TH02000๒๕

A09

การเตรียมตัวอย่างที่ตีตราด้วย N-15 เพื่อใช้เป็นวัสดุอ้างอิงภายใน

จริยา ประศาสน์ศรีสุภาพ

กลุ่มงานวิจัยนิวเคลียร์เทคนิคการเกษตร กองเกษตรเคมี กรมวิชาการเกษตร

โทรศัพท์ : 579-4114 โทรสาร : 579-7158 e-mail : jariya@doa.go.th

บทคัดย่อ

การเตรียมตัวอย่างที่ตีตราด้วย N-15 เพื่อใช้เป็นวัสดุอ้างอิงภายใน โดยทำการปลูกข้าวโพดพันธุ์ DK 888 5 แปลง ๆ ละ 2 ม. x 2 ม. ระยะปลูก 50 x 10 ซ.ม. ใส่ปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟต 2 at %^{15}N excess อัตรา 12 กก.N/ไร่ แบ่งใส่ 3 ครั้ง หลังปลูกได้ 78 วัน (ยังไม่เกิดช่อดอก) เก็บเกี่ยวข้าวโพด อบและบดให้ละเอียด < 500 µm คลุกเคล้าให้เข้ากัน ศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง (Homogeneity) ความคงที่หรือเสถียรภาพของตัวอย่าง (Stability) วิเคราะห์ตัวอย่างซ้ำ 25 ครั้ง ส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์เปรียบเทียบที่ห้องปฏิบัติการอ้างอิง (IAEA Laboratory)

ผลจากการเตรียมตัวอย่างได้ข้าวโพดน้ำหนักแห้ง 6.67 กิโลกรัม ที่มีความเป็นเนื้อเดียวกัน มีค่า %N = 0.88 ± 0.01 %N-15 = 0.599 ± 0.003 at % ^{15}N excess สามารถใช้ตัวอย่างข้าวโพดนี้เป็นวัสดุอ้างอิงภายในสำหรับควบคุมผลการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการต่อไป

Preparation of ^{15}N Labelled Plant Internal Reference Material

Jariya Prasatsrisupab

Nuclear Research in Agriculture Division of Agricultural Chemistry Department of Agriculture

Tel. : 579-4114 Fax : 579-7158 e-mail : jariya@doa.go.th

Abstract

Preparation of ^{15}N Labelled Plant Internal Reference Material by preparing five subplots (2 m x 2 m) and growing Maize DK 888, spacing was 50 cm x 10 cm. ^{15}N labelled ammonium sulphate 2% a.e. 12 kg N/rai was applied by splitting to 3 times. After growing 78 days, harvested the crop, dried in oven and finely ground to a fine flour consistency to < 500 µm particle size then mixed for 48 hr. The homogeneity and stability of the plant material was determined. Analysis of %N and %N-15 was carried out 25 times. Five gram of sample was sent to IAEA Laboratory to be analysed for %N and %N-15.

A seven kilogram of homogeneous maize plant material with total N content of 0.88 ± 0.01 and ^{15}N content of 0.599 ± 0.0003 at % ^{15}N excess was prepared to be used as long term laboratory internal reference material.

บทนำ

วัสดุอ้างอิง (Reference material, RM) หมายถึง วัสดุหรือสารที่มีสมบัติอย่างหนึ่งหรือหลายอย่าง จัดทำมาอย่างดีเพียงพอสำหรับใช้สอบเทียบอุปกรณ์สำเร็จ ใช้ในการประเมินวิธีวัดหรือใช้ในการกำหนดค่าของวัสดุต่าง ๆ วัสดุอ้างอิงมีหลายชนิด ได้แก่ วัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified reference material, CRM) ซึ่งได้รับการรับรองโดยวิธีการดำเนินการที่ถูกต้องทางวิชาการ พร้อมมีใบรับรองหรือสามารถสอบกลับไปยังใบรับรอง หรือเอกสารอื่นใดที่ออกโดยหน่วยงานที่ให้การรับรอง วัสดุอ้างอิงมาตรฐาน (Standard reference material, SRM) จัดทำโดยสำนักมาตรฐานแห่งชาติ (National Bureau of Standard, NBS หรือ National Institute of Standards and Technology, NIST) วัสดุอ้างอิงภายใน (Internal reference material, IRM) จัดทำโดยห้องปฏิบัติการเอง เพื่อใช้ควบคุมคุณภาพภายในและ/หรือใช้ประเมินวิธีวัด วัสดุอ้างอิงภายนอก (External reference material, ERM) จัดทำโดยหน่วยงานอื่นหรือห้องปฏิบัติการอื่นที่ไม่ใช้ผู้ใช้เอง (1, 4) วัสดุอ้างอิงรับรองและวัสดุอ้างอิงมาตรฐานราคาแพงมากและหาซื้อยาก ในการควบคุมคุณภาพของผลการวิเคราะห์ภายในห้องปฏิบัติการ ซึ่งจำเป็นต้องใช้วัสดุอ้างอิงในการควบคุมผลการวิเคราะห์ต้องใช้วัสดุอ้างอิงจำนวนมาก ไม่สามารถใช้วัสดุอ้างอิงรับรองหรือวัสดุอ้างอิงมาตรฐานโดยตรงได้ จึงต้องจัดทำวัสดุอ้างอิงภายในขึ้น สิ่งที่ต้องคำนึงในการจัดเตรียมวัสดุอ้างอิงภายใน คือ เนื้อของสาร (Matrix) ความเป็นเนื้อเดียวกัน (Honogencity) ความคงที่หรือเสถียรภาพ (Stability) และจำนวนของตัวอย่างที่จัดเตรียมต้องมากเพียงพอ

เนื่องจากกลุ่มงานวิจัยนิวเคลียร์เทคนิคการเกษตร กองเกษตรเคมี กรมวิชาการเกษตร มีเครื่องมือ Stable Isotope Ratio Analysis Mass Spectrometer (Iso Prime) ต่อกับ Elemental Analyzer (NC 2500) ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนไอโซโทปอยู่ตัว-15 ซึ่งในการวิเคราะห์ทุกครั้งต้องใช้วัสดุอ้างอิง (RM) จากทบวงการพลังงานปรมาณูระหว่างประเทศ (IAEA) ในการควบคุมผลการวิเคราะห์ และจากการเข้าร่วมโครงการ External Quality Assurance for ^{15}N Analysis กับ IAEA IAEA ได้สนับสนุนให้ทุกห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมโครงการจัดเตรียมวัสดุอ้างอิงภายในขึ้นมาใช้เอง โดย IAEA ให้ความสนับสนุนด้านปุ๋ยไนโตรเจน-15 ความรู้และวิเคราะห์ผลสอบเทียบให้

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุอุปกรณ์

1. เตาอบขนาดใหญ่
2. เครื่องตัดต้นข้าวโพด
3. เครื่องบดตัวอย่างพืชธรรมดา บดตัวอย่างให้ได้ขนาด 2 mm
4. เครื่องบดละเอียด (Ultra centrifugal Mill) บดตัวอย่างพืชจาก 2 mm ให้ละเอียด < 500 μm
5. เครื่องคลุกเคล้าตัวอย่าง (Rolling Mill)
6. เครื่องชั่ง
7. ถาดอลูมิเนียมขนาดใหญ่
8. ขวดพลาสติกพร้อมฝาปิดสนิทขนาด 200 มล., 500 มล.
9. ลูกเหล็กขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2-3 ซ.ม.
10. เครื่อง Stable Isotope Ratio Analysis Mass Spectrometer (Iso Prime) ต่อกับเครื่อง Elemental Analyzer (NC 2500)

วิธีการ

- ทำการปลูกข้าวโพดพันธุ์ DK 888 ที่สถานีทดลองพืชไร่พระพุทธบาท จังหวัดลพบุรี ขนาดแปลงทดลอง 2 ม. x 2 ม. 5 แปลงทดลอง ระยะปลูกระหว่างแถว 50 ซ.ม. ระหว่างต้น 10 ซ.ม.

- ใส่ปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟตตีตราด้วย N-15 2% a.e. อัตรา 12 กก. N/ไร่ โดยแบ่งใส่เป็น 3 ครั้ง คือ หลังปลูกข้าวโพด 3 วัน, 30 วัน และ 60 วัน

- หลังจากปลูกข้าวโพดได้ 78 วัน (ยังไม่เกิดช่อดอก) ทำการเก็บเกี่ยวต้นข้าวโพด โดยเว้นแถวนอก (border rows) โดยรอบ เพื่อหลีกเลี่ยงความไม่สม่ำเสมอของตัวอย่าง ชั่งน้ำหนักสดทั้งหมด ล้างทำความสะอาดต้นข้าวโพดด้วยน้ำสะอาดและตามด้วยน้ำกลั่น ตัดต้นข้าวโพดออกเป็นท่อน ๆ โดยใช้เครื่องตัดให้ได้ขนาด 1-2 ซ.ม. ใส่ถาดอลูมิเนียมขนาดใหญ่เข้าอบในตู้อบขนาดใหญ่ที่อุณหภูมิ 70 °C ± 2 °C เป็นเวลา 48 ชม. หรือจนน้ำหนักคงที่ ชั่ง น้ำหนักแห้งทั้งหมด

- บดตัวอย่างด้วยเครื่องบดพืชธรรมดาให้ได้ขนาด 2 มม. และบดอีกครั้งด้วยเครื่องบดละเอียด Ultra centrifugal ให้ได้ขนาด < 500 μm

- แบ่งตัวอย่างใส่ในขวดพลาสติกขนาดใหญ่ และใส่ลูกเหล็กเข้าไป ปิดฝาให้แน่น วางบนเครื่อง Rolling Mill ซึ่งหมุนขวดพลาสติกอยู่ตลอดเวลา เป็นเวลา 2 วัน นำตัวอย่างออกจากขวดใส่รวมกันในถุงพลาสติกขนาดใหญ่ แล้วคลุกเคล้าให้เข้ากันจนแน่ใจว่าตัวอย่างเป็นเนื้อเดียวกัน

- ทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง (Homogeneity) โดยการสุ่มตัวอย่างจากจุดต่าง ๆ ของขวดตัวอย่างออกมา 5 ตัวอย่าง ในแต่ละตัวอย่างวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดซ้ำ 5 ซ้ำ นำค่าวิเคราะห์มาหา sum square ภายในกลุ่มและระหว่างกลุ่ม แล้วคำนวณหา F-test คำนวณหาค่า Standard deviation ภายในกลุ่มเดียวกันด้วย

- เก็บตัวอย่างในขวดพลาสติกที่มีฝาปิดแน่น ขนาด 500 มล. จำนวนหลาย ๆ ขวด ใส่ตัวเลขกำกับและวันที่ นำออกมาคลุกเคล้าใหม่ทุก 12 เดือน คอยตรวจดูความผิดปกติของตัวอย่าง

- วิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดและปริมาณไนโตรเจน-15 25 ครั้ง

- ส่งตัวอย่างต้นข้าวโพดที่เตรียมได้ไปยังห้องปฏิบัติการ IAEA ซึ่งถือว่าเป็นห้องปฏิบัติการอ้างอง เพื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบ

- ศึกษาความคงที่หรือเสถียรภาพของตัวอย่าง (Stability) โดยนำตัวอย่างต้นข้าวโพดที่เก็บในขวดออกมาวิเคราะห์ซ้ำทุก ๆ 3, 6, 9, 12 เดือน เพื่อตรวจสอบความคงที่ของตัวอย่าง และหลังจากนั้นวิเคราะห์ตัวอย่างทุก ๆ ปี วิธีการตรวจสอบโดยการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และปริมาณไนโตรเจน-15 จำนวน 10 ครั้ง หาค่าเฉลี่ยและ Standard deviation

ผลการศึกษาวิจัย

น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง

จากการเก็บเกี่ยวต้นข้าวโพดโดยเว้นแถวริม (guard row) ชั่งน้ำหนักสดของข้าวโพดในแต่ละแปลงย่อยได้น้ำหนักสดทั้งมด 30.3 กิโลกรัม และน้ำหนักแห้งอบที่อุณหภูมิ 70 ± 2 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทั้งหมด 6.67 กิโลกรัม (ตารางที่ 1)

ศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง (Homogeneity)

จากตารางที่ 2 ตัวอย่างที่สุ่มออกมาจากขวดประมาณ 5 กรัม นำมาวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 5 ซ้ำ นำค่าวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดภายในตัวอย่างเดียวกัน และระหว่างตัวอย่างมาคำนวณหา F-test (3, 4) จะได้ค่า $F_{4, 20} = 1.445$ ซึ่งมีค่าน้อยกว่าค่า $F_{4, 20}$ จากตาราง (ตารางที่ 3) = 2.866 แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันระหว่างค่าวิเคราะห์ภายในตัวอย่างเดียวกันกับระหว่างตัวอย่างและค่า Standard Deviation ของค่าวิเคราะห์ภายในตัวอย่างเดียวกัน ≤ 3% แสดงว่าตัวอย่างที่เตรียมได้มีความเป็นเนื้อเดียวกัน (2, 3)

ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดและปริมาณไนโตรเจน-15 ของตัวอย่าง

จากตารางที่ 4 ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างต้นข้าวโพดที่เตรียมได้ เพื่อหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดและปริมาณไนโตรเจน-15 25 ซ้ำ ได้ค่า %N = 0.88 ± 0.01 และ %N-15 = 0.599 ± 0.003 ซึ่ง

ค่าไม่แตกต่างจากค่าที่ส่งไปวิเคราะห์เปรียบเทียบกับห้องปฏิบัติการอ้างอิง (IAEA laboratory) ซึ่งวิเคราะห์ได้ %N = 0.85 ± 0.01 และ at %N-15 excess = 0.603 ± 0.004 (ตารางที่ 5)

การศึกษาความคงที่หรือเสถียรภาพของตัวอย่าง (Stability)

จากตารางที่ 6, 7 เมื่อนำตัวอย่างที่จัดเตรียมเป็นวัสดุอ้างอิงภายในออกมาวิเคราะห์ดูความเปลี่ยนแปลงทุก ๆ 3 เดือน เป็นเวลา 1 ปี พบว่าค่าวิเคราะห์ทั้ง %N และ %N-15 ยังคงที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลง

บทวิจารณ์และผลสรุป

ตัวอย่างที่จะจัดเตรียมเป็นวัสดุอ้างอิงภายในควรที่จะมีจำนวนมากเพียงพอสำหรับการใช้ควบคุมผลการวิเคราะห์ภายในห้องปฏิบัติการ (ประมาณ 3-4 กิโลกรัมน้ำหนักแห้ง) ควรจะเป็นพืชชนิดเดียวกันและมีปริมาณไนโตรเจนใกล้เคียงกับที่เราทำการวิเคราะห์เป็นประจำ ตัวอย่างต้องเป็นเนื้อเดียวกัน และควรเป็นตัวอย่างที่ไม่เปลี่ยนแปลงไปตามเวลา เช่น พวกเมล็ดซึ่งมีน้ำมันมากเก็บไว้ไม่ได้นาน (2) กลุ่มงานวิจัยนิวเคลียร์ฯ กองเกษตรเคมี กรมวิชาการเกษตร ได้จัดเตรียมตัวอย่างข้าวโพดขึ้น เนื่องจากข้าวโพดเป็นพืชเศรษฐกิจ มีการทำวิจัยโดยใช้ข้าวโพดเป็นพืชหลักจำนวนมาก การตีตราข้าวโพดให้ได้ N-15 สม่ำเสมอ ทำโดยปลูกข้าวโพดเป็นแปลงเล็ก ๆ ปลูกให้ชิดกันมากกว่าปกติ คือระยะปลูก 50 x 10 ซ.ม. จากปกติ 50 x 25 ซ.ม. ให้ปุ๋ย N-15 เป็นระยะ ๆ อย่างสม่ำเสมอ เพื่อให้ข้าวโพดดูดปุ๋ย N-15 ทั่วถึงกัน เก็บเกี่ยวต้นข้าวโพดเฉพาะส่วนกลางยกเว้นแถวริม (guard row) ทำการตัดให้เล็ก 1-2 ซ.ม. อบให้แห้งที่ 70 °C ± 2 °C บดให้ละเอียด < 500 μm คลุกเคล้าจนเป็นเนื้อเดียวกัน จากการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันได้ค่า F จากการคำนวณความแตกต่างภายในกลุ่มและระหว่างกลุ่มน้อยกว่าค่า F จากตาราง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างภายในกลุ่มและระหว่างกลุ่ม นอกจากนี้ค่า SD ของค่าวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดของการวิเคราะห์ซ้ำภายในตัวอย่างเดียวกันก็ไม่เกิน ± 3% แสดงว่าตัวอย่างที่เตรียมได้มีความเป็นเนื้อเดียวกัน และเมื่อทดสอบความคงที่ของตัวอย่าง โดยนำตัวอย่างมาวิเคราะห์ซ้ำทุก ๆ 3 เดือนถึง 1 ปี พบว่าค่าวิเคราะห์ยังคงที่ไม่เปลี่ยนแปลง แสดงว่าตัวอย่างนี้สามารถใช้เป็นวัสดุอ้างอิงภายในได้เป็นระยะเวลานาน

จากการเตรียมตัวอย่างต้นข้าวโพดครั้งนี้ ทำให้ได้ตัวอย่างข้าวโพดจำนวน 6.67 กิโลกรัมน้ำหนักแห้ง มีค่าไนโตรเจนทั้งหมด = 0.88 ± 0.01 และค่าไนโตรเจนไอโซโทปอยู่ตัว-15 = 0.599 ± 0.003 at % N-15 excess สามารถใช้เป็นวัสดุอ้างอิงภายในควบคุมผลการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดและไนโตรเจน-15 ในห้องปฏิบัติการได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทบวงการพลังงานปรมาณูระหว่างประเทศ (IAEA) ที่ให้ความสนับสนุนในการจัดเตรียมวัสดุอ้างอิงภายใน (IRM) ครั้งนี้ โดยให้ปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟตตีตราด้วย N-15 วัสดุอ้างอิงรับรอง ความรู้ในการจัดเตรียมวัสดุภายใน และวิเคราะห์เปรียบเทียบตัวอย่างที่เตรียมได้ และขอขอบคุณผู้อำนวยการสถานีทดลองพืชไร่พระพุทธบาท ผอ.มนูญ พุ่มกล่อม ที่ให้ความอนุเคราะห์ที่ในการปลูกข้าวโพด และดูแลแปลงทดลองอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

1. จิตรา ชัยวิมล 2543. การตรวจสอบเพื่อพิสูจน์ความถูกต้องของวิธีทดสอบ/วิเคราะห์ทางเคมี การฝึกอบรมทางวิชาการ วันที่ 12-15 ธันวาคม 2543 กองเกษตรเคมี กรมวิชาการเกษตร.
2. นิดา ชาญบรรจง 2529. หลักวิชาการสถิติ เอกสารประกอบคำบรรยายการฝึกอบรมสถิติหลักสูตรการวางแผนงานทดลอง เล่มที่ 1 ฝ่ายวิเคราะห์ทางสถิติ กองแผนงานและวิชาการ กรมวิชาการเกษตร.
3. Aigner. M. 1998. Introduction to Quality Assurance Measures Applied in Total N and 15N Plant Analysis. IAEA Analysis. IAEA Technical Cooperation Project INT/2/010 Counterparts ' Workshop 9-13 March 1998. Irapuato, Mexico.
4. Miller, J.N. 1988. Statistics for Analytical Chemistry, Second Edition. Ellis Horwood limited, Chichester, West Sussese, Po191 EB, England.
5. Taylor, J.K. 1987. Quality Assurance of Chemical Measurements. Lewis Pablrshers, Inc. Michigan. USA

ตารางที่ 1 น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นข้าวโพดที่เก็บเกี่ยวจากแปลงย่อยทั้ง 5 แปลง

แปลงย่อยที่	สด	แห้ง
1	6.20	1.36
2	5.80	1.28
3	6.70	1.47
4	5.50	1.21
5	6.10	1.34
	30.3	6.67

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของต้นข้าวโพด 5 ตัวอย่าง ที่ทำการวิเคราะห์ซ้ำ 5 ซ้ำ

ตัวอย่างต้นข้าวโพดที่สุ่มมา	จำนวนซ้ำ 5 ซ้ำ						ค่าเฉลี่ย ($\bar{\bar{x}}$)	SD
	1	2	3	4	5			
ตัวอย่างที่ 1	0.870	0.883	0.876	0.863	0.873		0.873	0.007
ตัวอย่างที่ 2	0.902	0.876	0.880	0.876	0.896		0.886	0.012
ตัวอย่างที่ 3	0.896	0.863	0.873	0.883	0.876		0.878	0.012
ตัวอย่างที่ 4	0.883	0.860	0.876	0.867	0.870		0.871	0.009
ตัวอย่างที่ 5	0.876	0.867	0.902	0.892	0.883		0.884	0.014
						Overall mean $\bar{\bar{x}}$	0.879	0.011

mean square ภายในตัวอย่างเดียวกัน = 0.0001204 degree of freedom = 5 x 4 = 20

mean square ระหว่างตัวอย่าง = 0.0001740 degree of freedom = 4

$F_{4, 20}$ = 0.0001740/0.0001204 = 1.445

เปิดค่า F จากตาราง one – tailed F-test

$F_{4, 20}$ (table) = 2.866

ตารางที่ 3 Table A.2 Critical values of F for a one – tailed test ($P = 0.05$)

V_2	V_1 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20
1	161.4	199.5	215.7	224.6	230.2	234.0	236.8	238.9	240.5	241.9	243.9	245.9	248.0
2	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38	19.40	19.41	19.43	19.45
3	10.13	9.552	9.277	9.117	9.013	8.941	8.887	8.845	8.812	8.786	8.745	8.703	8.660
4	7.709	6.944	6.591	6.388	6.256	6.193	6.094	6.041	5.999	5.964	5.912	5.858	5.803
5	6.608	5.786	5.409	5.192	5.050	4.950	4.876	4.818	4.772	4.735	4.678	4.619	4.558
6	5.987	5.143	4.757	4.534	4.387	4.284	4.217	4.147	4.099	4.060	4.000	3.938	3.874
7	5.591	4.737	4.347	4.120	3.972	3.866	3.787	3.726	3.677	3.637	3.575	3.511	3.445
8	5.318	4.459	4.066	3.838	3.687	3.581	3.500	3.438	3.347	3.347	3.284	3.218	3.150
9	5.117	4.256	3.863	3.633	3.482	3.374	3.293	3.230	3.137	3.137	3.073	3.006	2.936
10	4.965	4.103	3.708	3.478	3.326	3.217	3.135	3.072	2.913	2.978	2.978	2.845	2.774
11	4.844	3.982	3.587	3.357	3.204	3.095	3.012	2.948	2.896	2.854	2.788	2.719	2.646
12	4.747	3.885	3.490	3.259	3.106	2.996	2.913	2.849	2.796	2.753	2.687	2.617	2.544
13	4.667	3.806	3.411	3.179	3.025	2.915	2.832	2.767	2.714	2.671	2.604	2.533	2.459
14	4.600	3.739	3.344	3.112	2.958	2.848	2.764	2.699	2.646	2.602	2.534	2.463	2.388
15	4.543	3.682	3.287	3.056	2.901	2.790	2.707	2.641	2.588	2.544	2.475	2.403	2.328
16	4.494	3.634	3.239	3.007	2.852	2.741	2.657	2.591	2.538	2.494	2.425	2.352	2.276
17	4.451	3.592	3.197	2.965	2.810	2.699	3.614	2.548	2.494	2.450	2.381	2.308	2.230
18	4.414	3.555	3.160	2.928	2.773	2.661	2.577	2.510	2.456	2.412	2.342	2.269	2.191
19	4.381	3.522	3.127	2.895	2.740	2.628	2.544	2.477	2.423	2.378	2.308	2.234	2.155
20	4.351	3.493	3.098	**2.866**	2.711	2.599	2.514	2.447	2.393	2.348	2.278	2.203	2124

V_1 = number of degrees of reedom of the numerator and $^1/_2$ = number of degrees of freedom of the denominator.

ตารางที่ 4 ค่าวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดและปริมาณไนโตรเจนไอโซโทปอยู่ตัว-15 ใน ตัวอย่างต้นข้าวโพดจำนวน 25 ซ้ำ

Replication	%N	%N-15	%N-15 excess
1	0.87	0.960	0.594
2	0.88	0.964	0.598
3	0.88	0.963	0.597
4	0.86	0.967	0.601
5	0.87	0.967	0.601
6	0.90	0.966	0.600
7	0.88	0.967	0.601
8	0.88	0.965	0.599
9	0.88	0.966	0.600
10	0.90	0.966	0.600
11	0.90	0.961	0.595
12	0.86	0.967	0.601
13	0.87	0.968	0.602
14	0.88	0.966	0.600
15	0.88	0.966	0.600
16	0.88	0.962	0.596
17	0.86	0.967	0.601
18	0.88	0.962	0.596
19	0.87	0.962	0.596
20	0.87	0.960	0.594
21	0.88	0.970	0.604
22	0.87	0.960	0.594
23	0.90	0.968	0.602
24	0.89	0.963	0.597
25	0.88	0.961	0.595
$\bar{X}$	0.88	0.965	0.599
SD	0.01	0.003	0.003

ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างวัสดุอ้างอิงภายในที่ส่งไปวิเคราะห์เปรียบเทียบที่ห้องปฏิบัติการ IAEA

Material code	% N (oven dry material*)	95% confidence interval	% N-15 atom excess	95% confidence interval
THA-01	**0.85**	**0.01**	**0.603**	**0.004**

ตารางที่ 6 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (%N) ของวัสดุอ้างอิงภายใน ในช่วงเวลาต่าง ๆ (เดือน)

ตัวอย่างที่	เดือน			
	3	6	9	12
1	0.89	0.87	0.88	0.89
2	0.87	0.88	0.88	0.88
3	0.88	0.89	0.88	0.88
4	0.89	0.88	0.87	0.88
5	0.87	0.88	0.89	0.87
6	0.89	0.88	0.88	0.88
7	0.89	0.87	0.87	0.88
8	0.89	0.89	0.89	0.88
9	0.88	0.88	0.89	0.89
10	0.88	0.87	0.87	0.89
$\overline{X}$	0.01	0.01	0.01	0.01
SD	0.88	0.88	0.88	0.88

* อบที่ $70 \pm 2\,^{\circ}C$ เป็นเวลา 18 ชั่วโมง

ตารางที่ 7 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนไอโซโทปอยู่ตัว-15 (%N-15) ของวัสดุอ้างอิงภายใน ในช่วงเวลาต่าง ๆ

ตัวอย่างที่	เดือน			
	3	6	9	12
1	0.960	0.964	0.965	0.966
2	0.963	0.967	0.960	0.968
3	0.964	0.968	0.967	0.963
4	0.962	0.967	0.962	0.968
5	0.968	0.965	0.965	0.965
6	0.965	0.965	0.965	0.962
7	0.967	0.964	0.967	0.964
8	0.965	0.967	0.963	0.961
9	0.966	0.963	0.967	0.965
10	0.968	0.965	0.965	0.968
$\overline{X}$	0.965	0.966	0.965	0.965
SD	0.003	0.002	0.002	0.003
at % ^{15}N e.c.	0.595	0.600	0.599	0.599