



ANNUAL REPORT

ผลการปฏิบัติงาน
ประจำปีงบประมาณ
2566

2023

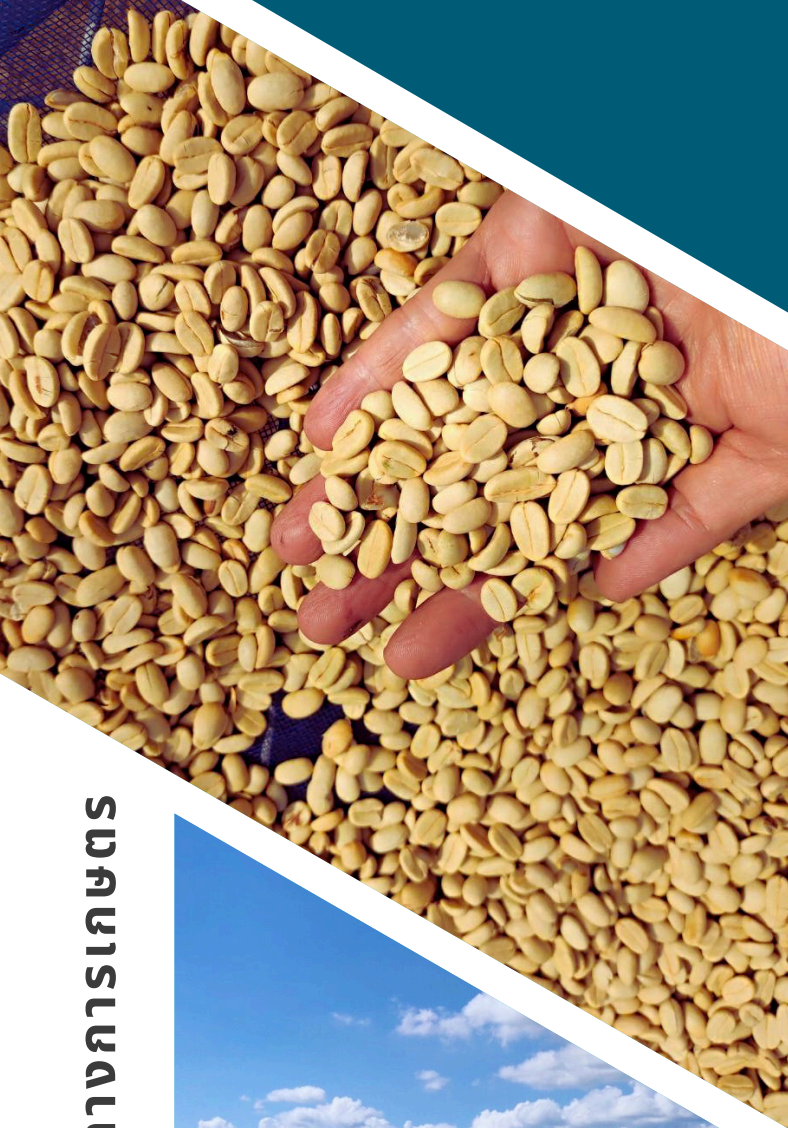
ISBN : 978-974-436-994-9

AGRICULTURAL
PRODUCTION SCIENCE
RESEARCH AND
DEVELOPMENT DIVISION



<https://bit.ly/3LqKI4n>

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร



ผลการปฏิบัติงาน ประจำปีงบประมาณ 2566 (ANNUAL REPORT 2023)

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ISBN : 978-974-436-994-9



คณะที่ปรึกษา :

| | | |
|-----------------|----------------|--|
| นางจิราพรรณ | ทองหยอด | ผู้อำนวยการกองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร |
| นางสาวศุภกัญญา | ล้วนมณี | ผู้เชี่ยวชาญด้านดินและปุ๋ย |
| นางมลิสรา | เวชยานนท์ | ผู้เชี่ยวชาญด้านวัตถุอันตรายทางการเกษตร |
| นางสาวจรีรัตน์ | กุศลวิริยะวงศ์ | รักษาการในตำแหน่งผู้เชี่ยวชาญด้านวิเคราะห์และทดสอบ |
| นายประชาติปัทย์ | พงษ์ภิญโญ | ผู้อำนวยการกลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร |
| นางสาววรรณรัตน์ | ชุตินุตร | ผู้อำนวยการกลุ่มวิจัยเกษตรเคมี |
| นายอนุสรณ์ | เทียนศิริฤกษ์ | ผู้อำนวยการกลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา |
| นางสาววนิดา | โนบรรเทา | ผู้อำนวยการกลุ่มบริหารโครงการวิจัย |
| นางอุชฎา | สุขจันทร์ | ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ขอนแก่น |

คณะผู้จัดทำและประสานงาน :

| | | |
|-----------------|---------|-------------------------|
| นางสาวณัฐธิดา | ทองนาค | กลุ่มบริหารโครงการวิจัย |
| นายเนติธร | กรุณา | กลุ่มบริหารโครงการวิจัย |
| นางสาวสุนารี | แก้วดี | กลุ่มบริหารโครงการวิจัย |
| นางสาวนทีลบล | จันทชุม | กลุ่มบริหารโครงการวิจัย |
| นางสาวฤทัยรัตน์ | น้อยจาด | กลุ่มบริหารโครงการวิจัย |

จำนวนพิมพ์: 50 เล่ม
พิมพ์เมื่อ: กันยายน 2567
สถานที่ติดต่อ: กลุ่มบริหารโครงการวิจัย กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900
โทรศัพท์ 0 2940 5754 ต่อ 2115 และ 2117
โทรสาร 0 2579 157

คำนำ

เอกสาร “ผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2566 กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร” ได้จัดทำขึ้นเพื่อรวบรวม และเผยแพร่ผลงานวิจัยที่ได้ดำเนินการศึกษาวิจัยตามแผนงาน/โครงการวิจัยของกรมวิชาการเกษตร ที่ได้รับงบประมาณสนับสนุนงานมูลฐาน (Fundamental Fund : FF) จากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (กองทุนส่งเสริม ววน.) สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สทว.) ตามขั้นตอนการพิจารณางานวิจัยของกรมวิชาการเกษตร ประกอบด้วยผลการดำเนินงานของกลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กลุ่มวิจัยสัตวศาสตร์ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี และศูนย์วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตรขอนแก่น โดยมีกลุ่มบริหารโครงการวิจัยเป็นผู้ประสานงานรวบรวมและดำเนินการตีพิมพ์ผลการดำเนินงานของกลุ่มวิจัยต่างๆ จำนวน 1 เล่ม รวม 27 เรื่อง

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร หวังเป็นอย่างยิ่งว่าเอกสารผลการปฏิบัติงานประจำปีฉบับนี้ จะเกิดประโยชน์ต่อภาครัฐ ภาคเอกชน เกษตรกร ตลอดจนนักวิชาการและผู้สนใจทั่วไป ขอขอบคุณผู้เชี่ยวชาญด้านดินและปุ๋ย ผู้เชี่ยวชาญด้านวิเคราะห์และทดสอบ ผู้เชี่ยวชาญด้านวัตถุอันตรายทางการเกษตร กลุ่มบริหารโครงการวิจัย นักวิชาการเจ้าของผลงาน และผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องในการดำเนินงานให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี



(นางจิราพรณ ทองหยอด)

ผู้อำนวยการกองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

กรมวิชาการเกษตร

กรกฎาคม 2567

สารบัญ

| <u>กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา</u> | หน้า |
|---|------|
| 1 การให้แคลเซียมต่อคุณภาพและการเกิดเชื้อราในฝักมะขามหวานเพชรบูรณ์ <i>ทิวพร ผดุง และคณะ</i> | 1 |
| 2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจนในใบในรอบปีและปริมาณธาตุอาหาร ที่สูญเสียออกนอกพื้นที่เพาะปลูกกาแฟอะราบิกา <i>ณัฐพงศ์ ศรีสมบัติ และคณะ</i> | 8 |
| 3 ศึกษาสมบัติดินทางเคมี และปริมาณธาตุอาหารพืชต่อการเจริญเติบโตและผลผลิต ของกาแฟอะราบิกาในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ <i>ณัฐพงศ์ ศรีสมบัติ และคณะ</i> | 22 |
| 4 ศึกษาการตอบสนองต่อการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนของกาแฟอะราบิกา <i>กิตติเมธ แจ่มศิริกุล และคณะ</i> | 33 |
| 5 ศึกษาการตอบสนองต่อการใช้ปุ๋ยฟอสเฟตของกาแฟอะราบิกา <i>วริศ แคนคอง และคณะ</i> | 48 |
| 6 การตอบสนองต่อการใช้ปุ๋ยโพแทชของกาแฟอะราบิกา <i>ปิยะนันท์ วิวัฒน์วิทยา และคณะ</i> | 62 |
| 7 การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการนับปริมาณจุลินทรีย์ ในปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต <i>อำนาจ เอี่ยมวิจารณ์ และคณะ</i> | 75 |
| 8 ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการจัดจำแนกจุลินทรีย์ในปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต <i>อำนาจ เอี่ยมวิจารณ์ และคณะ</i> | 91 |
| 9 ผลปุ๋ยโพแทชต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ปลูกในดินเหนียว จังหวัดเพชรบูรณ์ <i>สายน้ำ อดุพัย และคณะ</i> | 107 |
| <u>กลุ่มวิจัยวัตภูมิพิชการเกษตร</u> | |
| 10 การประเมินความเสี่ยงจากการใช้สารป้องกันกำจัดวัชพืชอะลาคลอร์ในหอมแดง ต่อเกษตรกรผู้ใช้ ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม <i>กาญจนาภา ต้วงนคร และคณะ</i> | 121 |
| 11 การประเมินความเสี่ยงจากการใช้สารป้องกันกำจัดวัชพืชอะลาคลอร์ในคะน้า ต่อเกษตรกร ผู้ใช้ ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม <i>ปภัศรา คุณเลิศ และคณะ</i> | 135 |
| 12 การสำรวจสารพิษตกค้างในคะน้า กวางตุ้ง และผักกาดหอม จากแหล่งผลิตบริเวณ จังหวัดนนทบุรี ปทุมธานี และนครปฐม <i>วนิดา สุขประเสริฐ และคณะ</i> | 154 |
| 13 การสำรวจสารพิษตกค้างในมะม่วงและทุเรียน ในแหล่งผลิตพื้นที่จังหวัดฉะเชิงเทรา ปราจีนบุรี ชลบุรี ระยอง และจันทบุรี <i>วิทยา บัวศรี และคณะ</i> | 166 |

สารบัญ

| <u>กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร (ต่อ)</u> | หน้า |
|---|------|
| 14 วิจัยการใช้เทคนิคที่แอลซีสมรรถนะสูง (HPTLC) ในการทำเอกลักษณ์โครมาโทกราฟีของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ในสารสกัดดาหลา <i>ณัฐพร ฉันทศักดิ์ดา และคณะ</i> | 179 |
| 15 การร่วมศึกษาทดสอบวิธีตรวจวิเคราะห์ Difenoconazole ในสูตรผสม TC WG และ EC โดยเทคนิค GC <i>อนุชา ผลไสว และคณะ</i> | 194 |
| 16 วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างโทลเฟนไพเรด (tolfenpyrad) ในค่น้ำ เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง <i>วาเลนไทน์ เจือสกุล และคณะ</i> | 211 |
| <u>กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี</u> | |
| 17 พัฒนาเกณฑ์ตลาดเคลื่อนของการวิเคราะห์หาปริมาณโบรอนในปุ๋ยเคมี <i>อาธิยา ปุ่นประโคน และคณะ</i> | 224 |
| 18 ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมซีเตรทในปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์เคมีและปุ๋ยหินฟอสเฟต <i>เจนจิรา เทเวศร์วรกุล และคณะ</i> | 233 |
| 19 ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โซเดียมที่ละลายน้ำในปุ๋ยอินทรีย์ <i>สุวรรณี ศรีทองอินทร์ และคณะ</i> | 243 |
| 20 ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยของเหลว <i>นันทกานต์ ชุนโหระ และคณะ</i> | 257 |
| 21 พัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์ และจัดทำเกณฑ์มาตรฐานการตรวจรับรองสารปรับปรุงดินปูนมาร์ล <i>ญาณธิชา จิตต์สะอาด และคณะ</i> | 268 |
| 22 พัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์และจัดทำเกณฑ์มาตรฐานการตรวจรับรองสารปรับปรุงดินปูนโดโลไมท์ <i>สุภา โพธิจันทร์ และคณะ</i> | 282 |
| 23 พัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์ และจัดทำเกณฑ์มาตรฐานการตรวจรับรองสารปรับปรุงดินปูนขาว <i>สงกรานต์ มะลิสอน และคณะ</i> | 298 |
| 24 พัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์ และจัดทำเกณฑ์มาตรฐานการตรวจรับรองสารปรับปรุงดินยิปซัม <i>พจมาลย์ ภูสาร และคณะ</i> | 312 |
| 25 พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ซีเอตินโคเนดิน และ 6-เบนซิลอะมิโนพิวรีน ในผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตรด้วยเทคนิคไฮเปอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี (HPLC) <i>เพชรรัตน์ ศิริวิ และคณะ</i> | 326 |

สารบัญ

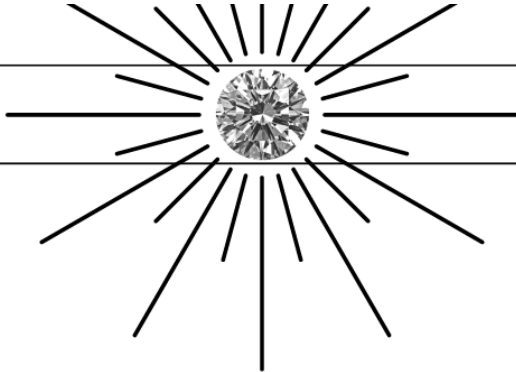
กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี (ต่อ)

หน้า

- 26 พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารแพกโคลบิวทราซอล ในผลิตภัณฑ์วัตถุ
อันตรายทางการเกษตร ด้วยเทคนิคแก๊สลิควิด โครมาโทกราฟี
ตวงพร อีระพิทยาพงศ์ และคณะ
- 340

ศูนย์วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตรขอนแก่น

- 27 การใช้ปุ๋ยอินทรีย์ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพเพื่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาวในระบบเกษตรอินทรีย์
สรรเสริญ เลียงใส และคณะ
- 356



กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา



การให้แคลเซียมต่อคุณภาพและการเกิดเชื้อราในฝักมะขามหวานเพชรบูรณ์
Application of Calcium on Fruit Quality and Fungal Occurrence
of Sweet Tamarind

ทิวาพร ผดุง¹ ภาณุมาศ โคตรพงศ์² ภักวิไล ยอดทอง² เสาวลักษณ์ กิตติธรรวัต³ เพ็ญรัตน์ เทียมเพ็ง⁴
Thiwaporn Phadung¹ Panumas Kotepong² Phakwilai Yodthod² Saowaluk Kittithanawat³
Penrat Thempeng⁴

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

This study was carried out to investigate foliar application of calcium chloride (CaCl₂) during fruit development to maintain the quality of the sweet tamarind cv. Sri Thong. Three different concentrations of 0% (control), 0.25% and 0.5% CaCl₂ were sprayed three times at the rate of 20 liters per plant in the period of six, seven, and eight months after flowering. The yield was harvested at the fully ripe stage, it was found that sweet tamarind treated with 0.5% CaCl₂ had the highest yield per plant, pod weight, pod size, and pod firmness, while the quality of sweet tamarind in terms of soluble solids, titratable acidity, and vitamin C were not different among treatments. Regarding the fungal incidence after harvested, sweet tamarind treated with 0.5% CaCl₂ showed the lowest total fungal count at 3.6x10³ CFU/g. After storage at room temperature (30±2 °C) for 3 months, the incidence of fungal increased with shelf life. Sweet tamarind treated with 0.5% CaCl₂ had the lowest total fungal count of 5.0x10³ CFU/g. However, low temperature (2±0.5 °C) storage retarded fungal growth in sweet tamarind, which sprayed 0.5% CaCl₂ (3.9 x 10³ CFU/g). It suggested that foliar application of 0.5% CaCl₂ during fruit development can be used to increase yield, improve quality and extend shelf life.

Keywords: calcium chloride, yield quality, sweet tamarind

¹ กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ 10900

¹ Agricultural Production Science Research and Development Division, Department of Agriculture, Bangkok 10900

² กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ 10900

² Postharvest and Processing Research and Development Division, Department of Agriculture, Bangkok 10900

³ สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ 10900

³ Horticultural Research Institute, Department of Agriculture, Bangkok 10900

⁴ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเพชรบูรณ์ กรมวิชาการเกษตร เพชรบูรณ์ 67000

⁴ Phetchabun Agricultural Research and Development Center, Department of Agriculture, Phetchabun 67000

บทคัดย่อ

ศึกษาการให้แคลเซียมคลอไรด์ทางใบในระหว่างการพัฒนาฝักเพื่อรักษาคุณภาพมะขามหวานพันธุ์สีทอง โดยให้แคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0% (กรรมวิธีควบคุม) 0.25% และ 0.5% จำนวน 3 ครั้ง อัตรา 20 ลิตรต่อต้น ในระยะ 6 7 และ 8 เดือนหลังดอกบาน แล้วเก็บเกี่ยวผลผลิตในระยะฝักสุกแก่เต็มที่ พบว่า มะขามหวานที่ได้รับแคลเซียมคลอไรด์ 0.5% มีปริมาณผลผลิตต่อต้น น้ำหนักฝัก ขนาดฝัก และความแน่นเนื้อฝักสูงสุด สำหรับคุณภาพของมะขามหวาน ได้แก่ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ และปริมาณวิตามินซีไม่มีความแตกต่างกัน ในทุกกรรมวิธี ส่วนการเกิดเชื้อราในมะขามหวานหลังการเก็บเกี่ยว พบว่า มะขามหวานที่ได้รับแคลเซียมคลอไรด์ 0.5% มีปริมาณเชื้อราทั้งหมดต่ำสุด คือ 3.6×10^3 CFU/g เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3 เดือน พบว่า การเกิดเชื้อราในมะขามหวานเพิ่มขึ้นตามอายุการเก็บรักษา โดยมะขามหวานที่ได้รับแคลเซียมคลอไรด์ 0.5% มีปริมาณเชื้อราทั้งหมดต่ำสุด คือ 5.0×10^3 CFU/g การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ (2 ± 0.5 องศาเซลเซียส) สามารถชะลอการเกิดเชื้อราในมะขามหวานได้ โดยมะขามหวานที่ได้รับแคลเซียมคลอไรด์ 0.5% มีปริมาณเชื้อราทั้งหมดต่ำสุด คือ 3.9×10^3 CFU/g จากการทดลองนี้การให้แคลเซียมคลอไรด์ทางใบที่ความเข้มข้น 0.5% ในระหว่างการพัฒนาของฝัก ทำให้ได้ผลผลิตที่เพิ่มขึ้น มีคุณภาพดีและอายุการเก็บรักษานานขึ้น

คำสำคัญ: แคลเซียมคลอไรด์ คุณภาพผลผลิต มะขามหวาน

บทนำ

มะขามหวานเป็นพืชอัตลักษณ์ของจังหวัดเพชรบูรณ์และเป็นพืชเศรษฐกิจที่สร้างรายได้หลักให้แก่เกษตรกร ในปี 2565 จังหวัดเพชรบูรณ์มีพื้นที่ปลูกมะขามหวานจำนวน 86,846 ไร่ ผลผลิตรวม 41,837 ตัน คิดเป็นมูลค่า 2,279 ล้านบาท (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2565) พื้นที่ปลูกส่วนใหญ่อยู่ในอำเภอเมืองเพชรบูรณ์ หล่มสักและหล่มเก่า เกษตรกรผู้ปลูกมะขามหวานหลายรายพบปัญหาการสูญเสียคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวและการเกิดเชื้อราในระหว่างการเก็บรักษาเพื่อรอจำหน่าย เนื่องจากมะขามหวานเมื่อสุกแก่เปลือกของฝักจะแห้งกรอบทำให้ง่ายต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา ซึ่งโรคเชื้อราในฝักเป็นปัญหาที่เกษตรกรพบบ่อยและยากที่จะป้องกัน ในปัจจุบันมีการใช้แคลเซียมซึ่งเป็นธาตุอาหารรองมาช่วยในการลดการสูญเสียคุณภาพผลไม้ทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว เนื่องจากแคลเซียมมีบทบาทสำคัญในโครงสร้างของผนังเซลล์ในการเชื่อมเพกตินที่เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ทำให้เซลล์มีความแข็งแรง (Poovaiyah and Reddy, 1993) ความเข้มข้นของแคลเซียมในผลไม้เป็นปัจจัยสำคัญที่บ่งบอกถึงคุณภาพโดยผลไม้ที่มีความเข้มข้นของแคลเซียมต่ำมักจะเกิดความผิดปกติทางสรีรวิทยา เชื้อโรคเข้าทำลายได้ง่าย และมีอายุการเก็บรักษาสั้น (Fallahi *et al.*, 2010) การพ่นแคลเซียมเพื่อเพิ่มปริมาณแคลเซียมแก่ผลเป็นแนวทางการปฏิบัติที่ได้รับความนิยมแพร่หลายในไม้ผลหลายชนิดเพื่อช่วยทำให้ผนังเซลล์คงความแข็งแรงและเพิ่มความแข็งแรงของแรงดึงระหว่างเซลล์พืช (เฉลิมชัย, 2561) นอกจากนี้การให้แคลเซียมยังทำให้เซลล์พืชต้านทานการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคได้ดีขึ้น Kaiser *et al.* (2001) รายงานว่าการใช้แคลเซียมคลอไรด์มีประสิทธิภาพต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราโรคผลเน่าในผลเงาะหลังการเก็บเกี่ยว หรือการใช้แคลเซียมในเตรทและแคลเซียมคลอไรด์กับผลมะม่วงทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวลดการเจริญของสาเหตุโรคแอนแทรคโนส และโรคผลเน่า เช่นเดียวกับ Bender (1998) ได้ทำการทดลองพ่นแคลเซียมคลอไรด์ทางใบความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะ 30 วันก่อนเก็บเกี่ยว พบว่า ช่วยเพิ่มปริมาณผลผลิตและลดการหลุดร่วงของผลมะม่วง ส่งเสริมการเพิ่มคุณภาพผลผลิตในด้านความแน่นเนื้อผลและป้องกันการสลายตัวของชั้นมิดเดิลลามลลาช่วยชะลอการสุกแก่ ลดอัตราการหายใจและการสูญเสียน้ำหนักของมะม่วงหลังการเก็บเกี่ยว อย่างไรก็ตามการพ่นแคลเซียมในไม้ผลแต่ละชนิดมีระยะเวลาการฉีดพ่นและความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ซึ่งในมะขามหวานยังไม่มีงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ดังนั้นการทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการให้แคลเซียมคลอไรด์ทางใบในความเข้มข้นที่เหมาะสมเพื่อรักษาคุณภาพและลดความเสียหายที่เกิดจากเชื้อราในผลผลิตมะขามหวานหลังการเก็บเกี่ยว

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. ต้นมะขามหวาน
2. ปุ๋ยแคลเซียมคลอไรด์
3. สารจับใบ
4. เครื่องวัดความแน่นเนื้อ
5. เครื่องวัดสี
6. เครื่องวัดปริมาณกรดที่ไตเตรทได้
7. เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้
8. กล้องกระดาศลูกฟูก

วิธีการ

1. คัดเลือกต้นมะขามหวานพันธุ์สีทองอายุ 10 ปี มีความสมบูรณ์ของต้นและขนาดทรงพุ่มประมาณ 8 เมตร จำนวน 30 ต้น ณ แปลงปลูกมะขามหวานของวิสาหกิจชุมชนแปรรูปมะขามหวานบ้านโนนเสาชาง ตำบลตะเบา อำเภอมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ การปฏิบัติดูแลรักษาแปลงเป็นไปตามวิธีของเกษตรกร โดยเกษตรกรแบ่งใส่ปุ๋ย 2 ครั้ง ครั้งที่ 1 หลังตัดแต่งกิ่ง ใส่ 46-0-0 จำนวน 0.8 กิโลกรัมต่อต้น 18-46-0 จำนวน 0.4 กิโลกรัมต่อต้น และ 0-0-60 จำนวน 1.0 กิโลกรัมต่อต้น ครั้งที่ 2 หลังจากติดฝัก ใส่ 46-0-0 จำนวน 0.6 กิโลกรัมต่อต้น 18-46-0 จำนวน 0.25 กิโลกรัมต่อต้น และ 0-0-60 จำนวน 1.2 กิโลกรัมต่อต้น

2. ทำการผูกข้อดอกเพื่อกำหนดอายุวันดอกบาน หลังจากนั้นให้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) ตามความเข้มข้นแตกต่างกันด้วยวิธีการพ่นทางใบ จำนวน 3 ครั้ง ในระหว่างการพัฒนาการของฝักที่อายุ 6 7 และ 8 เดือนหลังดอกบาน

วางแผนการทดลองแบบ Randomized complete block design (RCB) มี 3 กรรมวิธีๆ 10 ซ้ำๆ ละ 1 ต้น ดังนี้
กรรมวิธีที่ 1 ไม่ให้แคลเซียมคลอไรด์ (กรรมวิธีควบคุม)
กรรมวิธีที่ 2 ให้แคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.25%
กรรมวิธีที่ 3 ให้แคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.5%

3. เก็บเกี่ยวผลผลิตเมื่อมะขามหวานมีฝักที่สุกแก่เต็มที่แล้วนำผลผลิตไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 องศาเซลเซียส) และอุณหภูมิต่ำ (2 ± 0.5 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3 เดือน

การบันทึกข้อมูล

1. ปริมาณผลผลิตต่อต้น น้ำหนักฝัก ความกว้างฝัก ความยาวฝัก
2. คุณภาพมะขามหวานหลังการเก็บเกี่ยว ได้แก่ ความแน่นเนื้อฝัก (นิวตัน) ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (บริกซ์) ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (เปอร์เซ็นต์) และปริมาณวิตามินซี (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด)
3. การเกิดเชื้อราในฝักมะขามหวาน โดยวิเคราะห์ปริมาณเชื้อราทั้งหมด (CFU/g) ตามวิธีการของ AOAC (2019) ในมะขามหวานวันที่เก็บเกี่ยวและหลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิต่ำเป็นเวลา 3 เดือน

การวิเคราะห์สถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละ ทรีตเมนต์ ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2566

สถานที่ทำการทดลอง

1. แปลงเกษตรกรรมสมาชิกกลุ่มเกษตรกรวิสาหกิจชุมชนแปรรูปมะขามหวานบ้านโนนเสาธง ตำบลตะเบา อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์
2. อาคารปฏิบัติการวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวพืชสวน กลุ่มวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวพืชสวน กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร
3. กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร
4. ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเพชรบูรณ์ จังหวัดเพชรบูรณ์

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ปริมาณผลผลิตมะขามหวาน

มะขามหวานที่ได้รับแคลเซียมคลอไรด์ในแต่ละกรรมวิธีมีปริมาณผลผลิต น้ำหนักฝัก และความยาวฝักแตกต่างกันทางสถิติ โดยมะขามหวานที่ได้รับแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ให้ปริมาณผลผลิตสูงสุด คือ 26.12 กิโลกรัมต่อตัน น้ำหนักฝัก 33.02 กรัม และความยาวฝัก 12.26 เซนติเมตร ส่วนมะขามหวานที่ไม่ได้รับแคลเซียมคลอไรด์ในกรรมวิธีควบคุมให้ปริมาณผลผลิตต่ำสุด คือ 21.65 กิโลกรัมต่อตัน น้ำหนักฝัก 28.48 กรัม และความยาวฝัก 11.74 เซนติเมตร ในขณะที่ความกว้างฝักมะขามหวานในทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติโดยมีความกว้างฝัก 2.53-2.58 เซนติเมตร (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ปริมาณผลผลิตมะขามหวานที่ได้รับแคลเซียมคลอไรด์ระหว่างการพัฒนาของฝัก

| กรรมวิธี | ปริมาณผลผลิต/ตัน (กก.) | น้ำหนักฝัก (กรัม) | ขนาดฝัก | |
|-------------------------------------|---------------------------|----------------------|-------------|-----------|
| | | | กว้าง (ซม.) | ยาว (ซม.) |
| กรรมวิธีควบคุม | 21.65 b | 28.48 b | 2.53 | 11.74 b |
| CaCl ₂ ความเข้มข้น 0.25% | 22.73 b | 29.49 b | 2.57 | 11.81 b |
| CaCl ₂ ความเข้มข้น 0.5% | 26.12 a | 33.02 a | 2.58 | 12.26 a |
| F-test | * | * | ns | * |
| CV (%) | 23.11 | 15.78 | 24.57 | 19.34 |

- ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

- ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

- * แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

2. คุณภาพมะขามหวานหลังการเก็บเกี่ยว

มะขามหวานที่ได้รับแคลเซียมคลอไรด์ในแต่ละกรรมวิธีมีคุณภาพทางกายภาพในด้านความแน่นเนื้อฝักแตกต่างกันทางสถิติโดยมะขามหวานที่ได้รับแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ให้ความแน่นเนื้อฝักสูงสุด คือ 17.05 นิวตัน ในขณะที่มะขามหวานที่ไม่ได้รับแคลเซียมคลอไรด์ในกรรมวิธีควบคุมให้ความแน่นเนื้อฝักต่ำสุด คือ 15.66 นิวตัน ส่วนคุณภาพทางเคมีในด้านปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ และปริมาณวิตามินในมะขามหวานแต่ละกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติโดยมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ 47.46-48.96 ปริกซ์ ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ 1.61-1.80 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณวิตามินซี 5.23-5.62 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 คุณภาพผลผลิตมะขามหวานหลังการเก็บเกี่ยวที่ได้รับแคลเซียมคลอไรด์ระหว่างการพัฒนาของฝัก

| กรรมวิธี | ความแน่นเนื้อฝัก (N) | TSS (°Brix) | TA (%) | วิตามินซี (มก./100 กรัม) |
|-------------------------------------|-------------------------|----------------|-----------|-----------------------------|
| กรรมวิธีควบคุม | 15.66 b | 47.46 | 1.80 | 5.23 |
| CaCl ₂ ความเข้มข้น 0.25% | 16.15 b | 48.56 | 1.61 | 5.59 |
| CaCl ₂ ความเข้มข้น 0.5% | 17.05 a | 48.96 | 1.68 | 5.62 |
| F-test | * | ns | ns | ns |
| CV (%) | 13.56 | 23.11 | 19.45 | 17.39 |

- ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์
- ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ
- * แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

3. การเกิดเชื้อราในฝักมะขามหวาน

ผลผลิตมะขามหวานทุกกรรมวิธีมีปริมาณเชื้อราทั้งหมดแตกต่างกันทางสถิติ โดยมะขามหวานที่ได้รับแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.5% มีปริมาณเชื้อราทั้งหมดต่ำสุด คือ 3.6×10^3 CFU/g ในขณะที่มะขามหวานที่ไม่ได้รับแคลเซียมคลอไรด์มีปริมาณเชื้อราทั้งหมดสูงสุด คือ 6.5×10^3 CFU/g สอดคล้องกับ ยงยุทธ (2543) ที่รายงานว่า แคลเซียมมีบทบาทในการส่งเสริมการสร้างผนังเซลล์ในรูปของแคลเซียมเพกเตตและแคลเซียมไอออนในการไหลผ่านผนังเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้โครงสร้างเซลล์ขยายขนาดและมีความแข็งแรงขึ้น ทำให้มีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา เช่นเดียวกับการพ่นแคลเซียมคลอไรด์ในระยะก่อนเก็บเกี่ยวของงุ่นและสตรีบพบว่าสามารถลดอาการเน่าได้ (Nigro *et al.*, 2006; Wojcik and Lewandowski, 2003) สอดคล้องกับการทดลองของ Madani *et al.* (2014) ที่รายงานว่า การพ่นแคลเซียมคลอไรด์ทางใบในกับมะละกอรหว่างการพัฒนาของผลที่ระดับความเข้มข้น 1.5-2.0% สามารถชะลอการเกิดโรคแอนแทรคโนสได้ในระหว่างการเก็บรักษาได้ เมื่อทำการเก็บรักษามะขามหวานที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3 เดือน พบว่า การเกิดเชื้อราในฝักมะขามหวานเพิ่มขึ้นตามอายุการเก็บรักษา มะขามหวานที่ได้รับแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.5% มีปริมาณเชื้อราทั้งหมดต่ำสุด คือ 5.0×10^3 CFU/g ในขณะที่มะขามหวานที่ไม่ได้รับแคลเซียมคลอไรด์มีปริมาณเชื้อราทั้งหมดสูงสุด คือ 7.5×10^3 CFU/g สำหรับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ (2 ± 0.5 องศาเซลเซียส) สามารถชะลอการเกิดเชื้อราในฝักมะขามหวานได้ โดยมะขามหวานที่ได้รับแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.5% มีปริมาณเชื้อราทั้งหมดต่ำสุด คือ 3.9×10^3 CFU/g (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ปริมาณเชื้อราในฝักระยะขามหวานที่ได้รับแคลเซียมคลอไรด์ระหว่างการพัฒนาของฝักระยะหลังการเก็บเกี่ยว และเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือน

| กรรมวิธี | ปริมาณเชื้อรา วันที่เก็บเกี่ยว (CFU/g) | ปริมาณเชื้อราหลังเก็บรักษา 3 เดือน (CFU/g) | |
|-------------------------------------|---|--|------------------------|
| | | อุณหภูมิห้อง (30 ±2°C) | อุณหภูมิต่ำ (2±0.5 °C) |
| กรรมวิธีควบคุม | 6.5×10 ³ a | 7.5×10 ³ a | 7.3×10 ³ a |
| CaCl ₂ ความเข้มข้น 0.25% | 6.0×10 ³ a | 6.9×10 ³ a | 6.1×10 ³ a |
| CaCl ₂ ความเข้มข้น 0.5% | 3.6×10 ³ b | 5.0×10 ³ b | 3.9×10 ³ b |
| F-test | * | * | * |
| CV (%) | 23.34 | 21.89 | 25.67 |

- ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

- * แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

สรุปผลการทดลอง

การให้แคลเซียมคลอไรด์ทางใบ ความเข้มข้น 0.5% จำนวน 3 ครั้ง อัตรา 20 ลิตรต่อต้น ในระหว่างการพัฒนาของฝักระยะขามหวานที่อายุ 6 7 และ 8 เดือนหลังดอกบาน มีปริมาณผลผลิตต่อไร่ น้ำหนักฝัก ขนาดฝัก และความแน่นเนื้อฝักสูงสุดและสามารถชะลอการเกิดเชื้อราในมะขามหวานระหว่างการเก็บรักษาได้

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ผลงานวิจัยนี้สามารถนำความเข้มข้นและระยะเวลาการฉีดพ่นแคลเซียมคลอไรด์มาใช้เพื่อลดอัตราการเกิด เชื้อราในมะขามหวานหลังการเก็บเกี่ยวและช่วยยืดระยะเวลาการเก็บรักษาได้นานขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2565. รายงานข้อมูลภาวะการผลิตพืช พืชอายุยาว (รต.02) จำแนกตามพืช/แมลง กลุ่มไม้ผล ปี 2565. แหล่งที่มา: <https://production.doae.go.th/service/data-state-product/index>, 15 กุมภาพันธ์ 2567.
- เฉลิมชัย วงษ์อารี. 2561. การใช้แคลเซียมเพื่อคุณภาพของผลไม้ที่ตีหลังการเก็บเกี่ยว. Postharvest Newsletter 17(4).
- ยงยุทธ โอสสุภษา. 2543. ธาตุอาหารพืช. กองพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 424 หน้า.
- Bender, R. J. 1998. Elevated CO₂ in controlled atmosphere storage and regulation of mango ripening. Annual Review Phytopathology. 7: 97-112.
- Fallahi, E., B. Fallahi, G.H. Neilsen, D. Neilsen and F.J. Peryea. 2010. Effects of mineral nutrition on fruit quality and nutritional disorders in apples. Acta Horticulturae. 868: 49-59.
- Kaiser, S.A.K.M., Dhua, R. S. and Banik, A. K. 2001. Effect of pre- and postharvest treatments with calcium compounds on the incidence of postharvest fruit rots of mango. Journal of Mycopathological Research 39 (2): 91-94.

- Madani, B., Mohamed, M.T.M., Biggs, A.R., Kadir, J., Awang, Y., Tayebimeigooni, A. and T. R. Shojaei. 2014. Effect of pre-harvest calcium chloride applications on fruit calcium level and post-harvest anthracnose disease of papaya. *Crop Protection*. 55: 55-60.
- Nigro, F., L. Schena, A. Ligorio, I. Pentimone, A. Ippolito and M.G. Salerno. 2006. Control of table grape storage rots by pre-harvest applications of salts. *Postharvest Biology and technology*. 42: 142-149.
- Poovaliah, B.W. and A.S.N. Reddy. 1993. Calcium and signal transduction in plants. *Critical Reviews in Plant Science*. 12: 185-211.
- Wojcik, P. and M. Lewandowski. 2003. Effect of calcium and boron sprays on yield and quality of "Elsanta" strawberry. *Journal of Plant Nutrition*. 26: 671-682.

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณธาตุอาหารในใบในรอบปีและปริมาณธาตุอาหาร
ที่สูญเสียออกนอกพื้นที่เพาะปลูกกาแฟอาราบิกา

Study Change of Plant Nutrients in Leaves During Year and Lost of
Plant Nutrients Outside the Arabica Coffee Growing Area

ณัฐพงศ์ ศรีสมบัติ¹ วริศ แคนคอง¹ กิตจเมธ แจ้งศิริกุล¹ ปิยะนันท์ วิวัฒน์วิทยา¹
ฉัตรนภา ข่มอาวุธ² ศิริภรณ์ จรินทร์³

Nuttapong Srisombat¹ Varis Khaengkong¹ Kitjamate Jangsirikul¹ Piyanun Wiwatwittaya¹
Chatnapa Khomarwut² Siriporn Jarintorn³

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Efficient fertilizer management for Arabica coffee production requires knowledge of the appropriate timing for sampling to analyze the nutrient status in coffee leaves. Therefore, this experiment was conducted to study change of plant nutrients in leaves during year and plant nutrient removal in Arabica coffee growing area. This was done to determine the suitable sampling time to assess the nutrient status in coffee leaves. The experiment was studied on Arabica coffee growing areas in the Royal Agricultural Research Center Chiang Mai, Kunwang and Mae Chan Luang, with coffee plants aged 5-10 years. Data was collected from the years 2022-2023. Result showed that the changes of plant nutrient concentrations in coffee leaves during year from the Royal Agricultural Research Center Chiang Mai, Kunwang and Mae Chan Luang showed a similar trend. The concentrations of total nitrogen, phosphorus, and potassium in coffee leaves tended to decrease with increasing age of the coffee leaves. Meanwhile, the concentration of total calcium in coffee leaves tended to increase with leaf age but total magnesium concentration of coffee leaves was not clear. Moreover, from May to July 2022 (leaf age of 5-7 months) was identified the period with the least variation in nitrogen, phosphorus, potassium, calcium, and magnesium concentrations in coffee leaves. This period may therefore be considered for sampling leaves to analyze nutrient concentrations during that specific time frame.

Keywords: Plant Nutrients, Arabica coffee

¹ กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

¹ Agricultural Production Science Research and Development Division

² ศูนย์วิจัยและพัฒนากาเกษตรแพร่

² Phare Agricultural Research and Development Center

³ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่

³ Chiang Mai Royal Agricultural Research Center

บทคัดย่อ

การจัดการปุ๋ยอย่างมีประสิทธิภาพสำหรับการผลิตกาแฟอะราบิกา จำเป็นต้องทราบช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์สถานะธาตุอาหารพืชในใบกาแฟอะราบิกา จึงทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจนในใบในรอบปีและปริมาณธาตุอาหารที่สูญเสียออกนอกพื้นที่เพาะปลูกกาแฟอะราบิกา เพื่อให้ได้ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ในการประเมินสถานะธาตุอาหารพืชในใบกาแฟอะราบิกา โดยดำเนินการทดลองในพื้นที่ปลูกกาแฟอะราบิกา ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ชุนวาง และแม่จอนหลวง จังหวัดเชียงใหม่ช่วงอายุ 5-10 ปี เก็บข้อมูล ช่วงปี พ.ศ. 2565-2566 จากผลการทดลอง พบว่า การเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นธาตุอาหารพืชในใบกาแฟในรอบปี จากแปลงทดลอง ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ชุนวาง และ แม่จอนหลวงมีการเปลี่ยนแปลงไปในทิศทางเดียวกัน โดยความเข้มข้นของไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมทั้งหมดในใบกาแฟมีแนวโน้มลดลงตามอายุใบกาแฟที่เพิ่มขึ้น ขณะที่ความเข้มข้นของแคลเซียมทั้งหมดในใบกาแฟมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามอายุใบกาแฟที่เพิ่มขึ้น แต่ความเข้มข้นของแมกนีเซียมทั้งหมดในใบกาแฟไม่สามารถสังเกตถึงการเปลี่ยนแปลงตามอายุใบได้อย่างชัดเจน และในช่วงเดือนพฤษภาคม ถึง เดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2565 (อายุใบ 5-7 เดือน) เป็นช่วงที่ใบกาแฟมีการเปลี่ยนแปลงของ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมทั้งหมดน้อยที่สุดจึงอาจเป็นข้อพิจารณาสำหรับการเก็บตัวอย่างใบเพื่อวิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุอาหารพืชในใบในช่วงเวลาดังกล่าว

คำสำคัญ: ธาตุอาหารพืช, กาแฟอะราบิกา

บทนำ

กาแฟอะราบิกาเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทยที่ทำรายได้ให้เกษตรกรปีละ 5,500 ล้านบาท เนื้อที่ให้ผล 99,534 ไร่ ผลผลิต 9,090 ตัน และผลผลิตต่อไร่ 91 กิโลกรัม (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2566) ปัจจุบันผู้นิยมดื่มกาแฟเป็นจำนวนมาก ทำให้ตลาดมีการขยายตัว เกษตรกรจึงสนใจปลูกกาแฟอะราบิกาเพิ่มมากขึ้น แต่ยังคงขาดความรู้ความเข้าใจเทคโนโลยีการผลิตที่เหมาะสม เช่น การจัดการดิน ปุ๋ย การเกษตรกรรม ทำให้ผลผลิตส่วนใหญ่ไม่ได้มาตรฐาน ปริมาณผลผลิตไม่เพียงพอต่อความต้องการของโรงงานแปรรูป การนำผลการวิเคราะห์ธาตุอาหารในพืชมาใช้ในการจัดการธาตุอาหารพืชเป็นวิธีการหนึ่งที่ยอมรับใช้ในการประเมินสถานะธาตุอาหารพืชในไม้ยืนต้น โดยมีงานวิจัยที่ศึกษาปริมาณธาตุอาหารในพืชหลายชนิด เช่น ลองกอง (จำป๋น และคณะ, 2549) ทุเรียน (สุมิตรา และคณะ, 2545) ลำไย (ยุทธนา และคณะ, 2543) ลิ้นจี่ (อรุณศิริ, 2546) มะม่วง (อัศจรรย์, 2545) และส้ม (นันทรัตน์, 2544) ใช้วิธีการสร้างเส้นขอบเขตกำหนดค่าวิกฤตของธาตุอาหารพืชโดยการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลผลผลิต และความเข้มข้นของธาตุอาหารพืช เพื่อกำหนดระดับของธาตุอาหารพืชที่เพียงพอ (sufficient) ขาดแคลน (deficient) หรือมาก (excess) จนเป็นพิษกับพืช ทั้งนี้ความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบจะขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ฤดูกาลซึ่งเกี่ยวข้องกับระยะการพัฒนาด้านกิ่งก้าน การออกดอก และการพัฒนาของผล จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบลองกอง ที่มีอายุตั้งแต่ 1 ถึง 6 เดือน จากต้นที่มีผลผลิตและไม่มีผลผลิต พบว่า อายุใบมีผลชัดเจนต่อความเข้มข้นของธาตุอาหาร โดยไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมลดลงตามอายุใบ ส่วนแคลเซียมและแมกนีเซียมเพิ่มขึ้นตามอายุใบ (จำป๋น และคณะ, 2549) ซึ่งสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงของธาตุอาหารในใบทุเรียน (สุมิตรา และคณะ, 2545) ดังนั้น ในการเก็บใบเพื่อวิเคราะห์ธาตุอาหารพืชต้องระบุช่วงอายุที่ธาตุอาหารในใบมีการเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุด จึงจำเป็นที่จะต้องศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณธาตุอาหารพืชในแต่ละช่วงอายุของใบกาแฟอะราบิกา เพื่อหาช่วงอายุใบที่เหมาะสมสำหรับการเก็บตัวอย่างใบมาวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารพืชในการพัฒนาการจัดทำค่ามาตรฐานธาตุอาหารพืชในใบกาแฟอะราบิกาให้มีความแม่นยำมากขึ้น

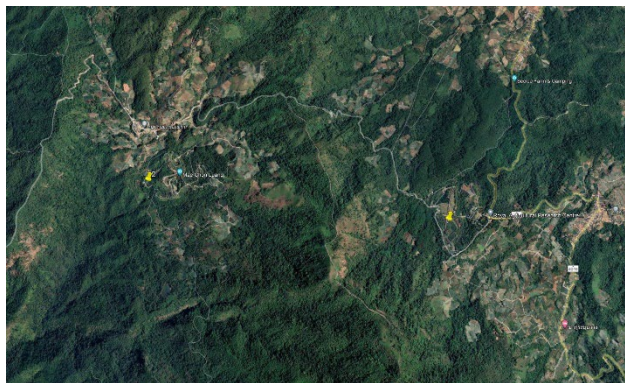
อุปกรณ์และวิธีการ

ดำเนินการทดลองที่ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ขุนวาง ตำบลแม่วีน อำเภอแม่วีน จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 1 แปลง พิกัด 47Q 447532X 2059841Y และที่ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ แม่จอนหลวง ตำบลแม่แจ่ม อำเภอแม่วีน จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 1 แปลง พิกัด 47Q 444362X 2061943Y (ภาพที่ 1) ทำการคัดเลือกต้นกาแฟอายุ 5-10 ปี ที่มีอาการเจริญเติบโตสม่ำเสมอ แปลงละ 15 ต้น ทำสัญลักษณ์ที่ลำต้น และกิ่งที่ทำกรเก็บตัวอย่างไปในแต่ละเดือน ทำการเก็บตัวอย่างดินและพืชจากต้นเดิมทุกครั้ง โดยตัวอย่างดินทำการเก็บตัวอย่างดินก่อนการทดลอง (ปี 2565) โดยเก็บ 4 ทิศ ใต้ทรงพุ่มต้นกาแฟตัวแทนของแปลงที่ระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร และ 15-30 เซนติเมตร นำตัวอย่างดินที่เก็บได้มาผึ่งลมให้แห้งบดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 0.5 และ 2 มิลลิเมตร ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างดิน ได้แก่ ค่าปฏิกิริยาดิน (Soil pH, ดิน:น้ำ = 1:1) สภาพการนำไฟฟ้าของดิน (Electrical Conductivity, EC, ดิน:น้ำ = 1:5) อินทรีย์วัตถุในดิน (Soil organic matter, Walkley-Black method) ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดิน (Available Phosphorus, Molybdenum blue method) โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน (Exchangeable Potassium, Calcium and Magnesium, Atomic Absorption Spectrophotometry method) และการเก็บตัวอย่างพืช ทำการเก็บตัวอย่างใบที่ได้ทำสัญลักษณ์ไว้เดือนละครั้งตามอายุในแต่ละเดือนนับจากการเริ่มผลิใบครั้งแรก โดยทำการเก็บใบตั้งแต่อายุ 1 เดือน (มกราคม 2565) จนถึงอายุ 9 เดือน (กันยายน 2565) (ภาพที่ 2) จากกิ่งที่ทำสัญลักษณ์ไว้ นำใบที่ได้มาล้างและเช็ดให้แห้ง นำไปอบที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 48 ถึง 72 ชั่วโมง จากนั้นนำไปบดด้วยเครื่องบดตัวอย่างพืช ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างพืช ได้แก่ ไนโตรเจน (Total Nitrogen, Kjeldahl method) ฟอสฟอรัส (Total Phosphorus, Vanadomolybdate method) โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมทั้งหมดในพืช (Total Potassium, Calcium and Magnesium, Atomic Absorption Spectrophotometry method) จากนั้นนำข้อมูลปริมาณธาตุอาหารในใบกาแฟมาสร้างกราฟการเปลี่ยนแปลงของธาตุอาหารพืชในใบกาแฟในรอบปี และปริมาณธาตุอาหารที่สูญเสียออกนอกพื้นที่ ทำการเก็บผลกาแฟทั้งต้นและกิ่งตัดแต่งที่นำออกนอกพื้นที่เพาะปลูก นำมาชั่งน้ำหนักสดและสุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ โดยทำการเตรียมตัวอย่างและวิเคราะห์เช่นเดียวกับตัวอย่างใบกาแฟ

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2566

สถานที่ทำการทดลอง

- 1) กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
- 2) ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ขุนวาง และแม่จอนหลวง จ.เชียงใหม่



ภาพที่ 1 ตำแหน่งสถานที่ทำการทดลองศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ขุนวาง ตำบลแม่วีน และ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ แม่จอนหลวง ตำบลแม่แจ่ม อำเภอแม่วีน จังหวัดเชียงใหม่



มกราคม 2565 (ใบอายุ 1 เดือน)



กุมภาพันธ์ 2565 (ใบอายุ 2 เดือน)



มีนาคม 2565 (ใบอายุ 3 เดือน)



เมษายน 2565 (ใบอายุ 4 เดือน)



พฤษภาคม 2565 (ใบอายุ 5 เดือน)



มิถุนายน 2565 (ใบอายุ 6 เดือน)



กรกฎาคม 2565 (ใบอายุ 7 เดือน)



สิงหาคม 2565 (ใบอายุ 8 เดือน)



กันยายน 2565 (ใบอายุ 9 เดือน)

ภาพที่ 2 พัฒนาการเปลี่ยนแปลงของใบกาแฟอาราบิก้า อายุ 1-9 เดือน

ผลการทดลองและวิจารณ์

สมบัติดินทางเคมี และการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ

ทำการเก็บตัวอย่างดินก่อนทำการทดลอง ที่ความลึก 0-15 และ 15-30 เซนติเมตร นำมาวิเคราะห์สมบัติดินทางเคมี พบว่า สมบัติดินทางเคมีของแปลงทดลองศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ชุนวาง และ แม่จอนหลวง มีค่าวิเคราะห์ที่ใกล้เคียงกัน โดยที่ระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร มีค่าปฏิกริยาดิน เท่ากับ 5.35 และ 5.69 ตามลำดับ ใกล้เคียงกับที่ระดับเหมาะสมของ Ling *et al.* (1990) and FAO (2005) โดยอยู่ในช่วง 5.5-6.0 ค่าการนำไฟฟ้าของดิน เท่ากับ 0.08 และ 0.09 เดซิซีเมนต์ต่อเมตร ตามลำดับ อยู่ในระดับที่ไม่ส่งผลเสียต่อการเจริญเติบโตของพืช (FAO, 2005) ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน เท่ากับ 5.15 และ 4.02 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ใกล้เคียงกับที่ระดับเหมาะสมของ Sousa *et al.* (2018) โดยอยู่ในช่วง 3.7-5.2 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน เท่ากับ 290 และ 263.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ใกล้เคียงกับระดับที่เหมาะสมของ Ling *et al.* (1990) Sousa *et al.* (2018) และ FAO (2005) โดยมีค่าไม่ต่ำกว่า 75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ

ปริมาณแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน เท่ากับ 81.2 และ 87.9 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าระดับที่เหมาะสมของ FAO (2005) โดยมีค่าไม่ต่ำกว่า 194.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แต่ในส่วนของปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดิน พบว่า แปลงทดลองศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ขุนวาง มีค่าสูงกว่า แม่จอนหลวง เท่ากับ 126.8 และ 85.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 2 แปลงมีค่าสูงกว่าระดับที่เพียงพอของ Ling *et al.* (1990) ที่มีค่าอยู่ในช่วง 60-80 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมขณะที่ปริมาณแคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน แปลงทดลองศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ แม่จอนหลวง มีค่าสูงกว่า ขุนวาง เท่ากับ 747 และ 443.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ โดยแปลงทดลองศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ แม่จอนหลวงมีค่าใกล้เคียงกับระดับที่เหมาะสมของ FAO (2005) ที่มีค่าอยู่ในช่วง 600-1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และนอกจากนี้ยังพบว่า ที่ระดับความลึก 15-30 เซนติเมตร มีค่าวิเคราะห์สมบัติดินทางเคมีที่ต่ำกว่าที่ระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร ทั้ง 2 แปลงทดลอง (ตารางที่ 1 และ 2)

ในระหว่างทำการทดลอง อุณหภูมิเฉลี่ยรายเดือนในแต่ละเดือนไม่ มีความแตกต่างกัน โดยจะต่ำสุดในเดือนธันวาคม พ.ศ. 2564 เท่ากับ 15.3 องศาเซลเซียส และสูงสุดในเดือนเมษายน พ.ศ. 2566 เท่ากับ 23.6 องศาเซลเซียส ด้านปริมาณน้ำฝนในเดือนพฤษภาคม และกันยายน พ.ศ. 2565 อยู่ในระดับสูงกว่าเดือนอื่น เท่ากับ 524 และ 579.8 มิลลิเมตร

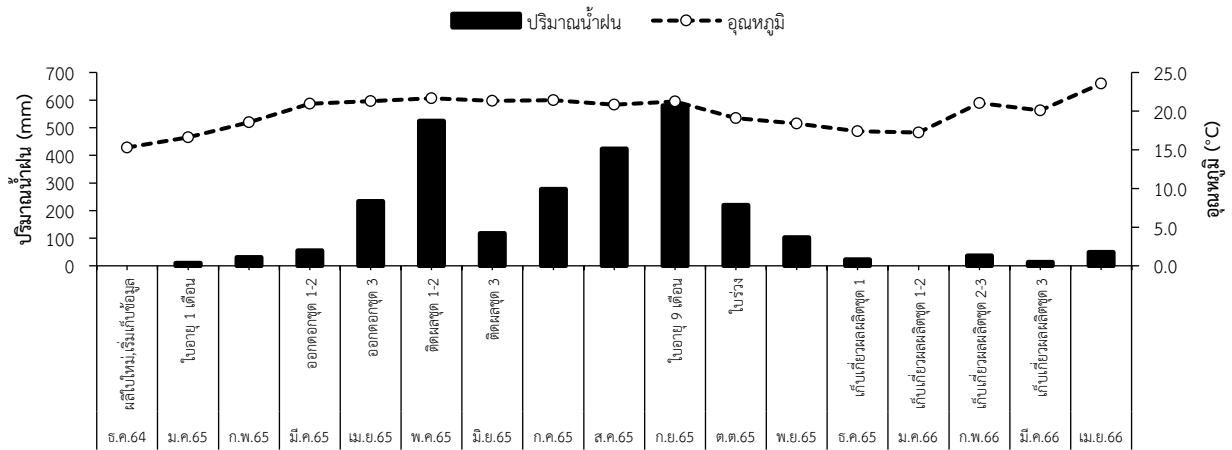
สำหรับการเปลี่ยนแปลงของต้นกาแฟ เริ่มทำสัญลักษณ์ในกิ่งที่มีการผลิใบใหม่ในเดือนธันวาคม พ.ศ. 2564 และทำการเก็บตัวอย่างใบถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2565 ต้นกาแฟเริ่มออกดอกชุดแรกในเดือนมีนาคม พ.ศ. 2565 เริ่มติดผลในเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2565 ผลเริ่มสุกและทำการเก็บเกี่ยวในเดือนธันวาคม พ.ศ. 2565 และเก็บเกี่ยวเสร็จเดือนมีนาคม พ.ศ. 2566 (ภาพที่ 3)

ตารางที่ 1 ผลวิเคราะห์สมบัติดินทางเคมีก่อนทำการทดลองแปลงศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ขุนวาง ตำบลแม่วีน อำเภอแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่

| Depth (cm) | pH (1:1) | EC (1:5) (dS/m) | OM (%) | Avail.P (mg/kg) | Exch.K (mg/kg) | Exch.Ca (mg/kg) | Exch.Mg (mg/kg) |
|------------|----------|-----------------|--------|-----------------|----------------|-----------------|-----------------|
| 0-15 | 5.35 | 0.08 | 5.15 | 126.8 | 290.0 | 443.1 | 81.2 |
| 15-30 | 5.33 | 0.05 | 4.39 | 53.1 | 169.3 | 283.8 | 42.8 |

ตารางที่ 2 ผลวิเคราะห์สมบัติดินทางเคมีก่อนทำการทดลองแปลงศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ แม่จอนหลวง ตำบลแม่แจ่ม อำเภอแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่

| Depth (cm) | pH (1:1) | EC (1:5) (dS/m) | OM (%) | Avail.P (mg/kg) | Exch.K (mg/kg) | Exch.Ca (mg/kg) | Exch.Mg (mg/kg) |
|------------|----------|-----------------|--------|-----------------|----------------|-----------------|-----------------|
| 0-15 | 5.69 | 0.09 | 4.02 | 85.1 | 263.2 | 747.0 | 87.9 |
| 15-30 | 5.48 | 0.06 | 3.10 | 30.4 | 198.1 | 346.8 | 38.0 |

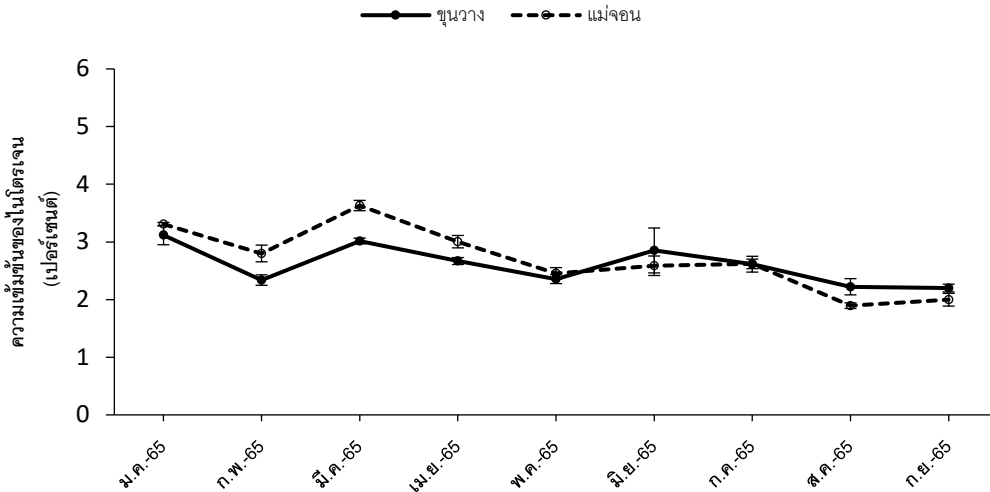


ภาพที่ 3 ปริมาณน้ำฝน และอุณหภูมิเฉลี่ยรายเดือนของพื้นที่ปลูกกาแฟ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ อำเภอมะนัง จังหวัดเชียงใหม่ ในระหว่างทำการทดลอง

การเปลี่ยนแปลงของธาตุอาหารพืชในใบ และธาตุอาหารพืชที่สูญเสียออกนอกพื้นที่ปลูกกาแฟอะราบิกา

การเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นธาตุอาหารพืชในใบกาแฟในรอบปี ได้แก่ ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมทั้งหมด มีดังนี้

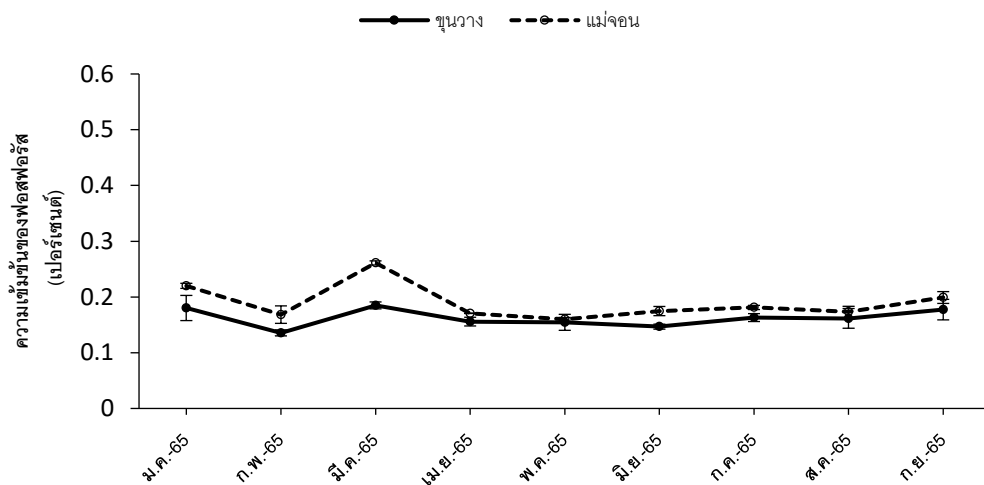
ความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบทั้งหมดเฉลี่ยในช่วงเดือน มกราคม ถึง กันยายน พ.ศ. 2565 จากแปลงทดลองศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ขุนวาง เท่ากับ 2.60 เปอร์เซ็นต์ มีค่าใกล้เคียงกับแปลงทดลองศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ แม่จอนหลวง เท่ากับ 2.70 เปอร์เซ็นต์ แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นของไนโตรเจนทั้งหมดทั้ง 2 แปลงเป็นไปในทิศทางเดียวกัน ความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบจากแปลงทดลองศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ขุนวาง และแม่จอนหลวงตั้งแต่เดือนมีนาคม พ.ศ. 2565 (อายุใบ 3 เดือน) คือ 3.02 และ 3.63 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องไปจนถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2565 (อายุใบ 9 เดือน) คือ 2.20 และ 2.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เนื่องจากไนโตรเจนเป็นธาตุที่เคลื่อนย้ายได้ง่ายในพืช เมื่อมีส่วนที่เกิดใหม่ไนโตรเจนในใบที่มีอายุมากจะถูกเคลื่อนย้ายไปสร้างใบอ่อนก่อน (ยงยุทธ, 2552) เช่นเดียวกับที่รายงานไว้ในใบมังคุด (จักรพงศ์, 2556) ใบใบทุเรียน (สุมิตรา และคณะ, 2545) และใบโลงกอง (จำเป็น และคณะ, 2549) โดยมีการเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุดในช่วงเดือนพฤษภาคม ถึง กรกฎาคม พ.ศ. 2565 (ภาพที่ 4) โดยความเข้มข้นของไนโตรเจนทั้งหมดจากแปลงทดลองศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ขุนวาง และแม่จอนหลวงจะมีความเข้มข้นต่ำสุดในเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2565 (อายุใบ 8 เดือน) คือ 2.22 และ 1.89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีค่าสูงสุดในเดือนมีนาคม พ.ศ. 2565 (อายุใบ 3 เดือน) คือ 3.02 และ 3.63 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 3 และ 4)



ภาพที่ 4 การเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นของไนโตรเจนทั้งหมดในใบกาแพ

หมายเหตุ : l = ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

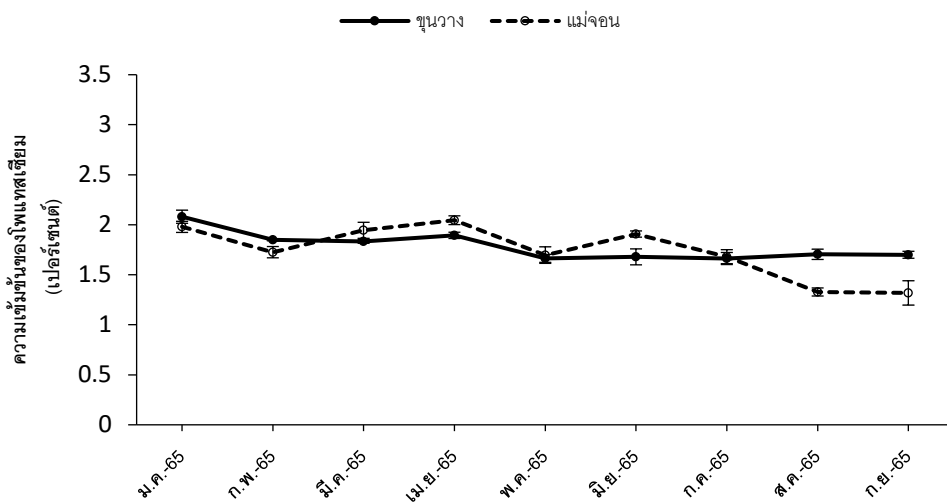
ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในใบทั้งหมดเฉลี่ยในช่วงเดือน มกราคม ถึง กันยายน พ.ศ. 2565 จากแปลงทดลอง ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ขุนวาง เท่ากับ 0.16 เปอร์เซ็นต์ มีค่าใกล้เคียงกับแปลงทดลองศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ แม่จอนหลวง เท่ากับ 0.19 เปอร์เซ็นต์ แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นของฟอสฟอรัสทั้งหมดทั้ง 2 แปลงเป็นไปในทิศทางเดียวกัน ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในใบจากแปลงทดลองศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ขุนวาง และแม่จอนหลวงตั้งแต่เดือนมีนาคม พ.ศ. 2565 (อายุใบ 3 เดือน) คือ 0.18 และ 0.26 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องไปจนถึงเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2565 (อายุใบ 8 เดือน) คือ 0.16 และ 0.17 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เนื่องจากฟอสฟอรัสเป็นธาตุที่เคลื่อนย้ายในพืชได้ง่าย จึงส่งผลให้ใบอ่อนมีฟอสฟอรัสสูงกว่าใบแก่ โดยฟอสฟอรัสในใบจะลดลงอย่างช้าๆ ตามอายุใบที่เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับไนโตรเจนในใบ (ยงยุทธ, 2552) โดยมีการเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุดในช่วงเดือน เมษายน ถึง สิงหาคม พ.ศ. 2565 (ภาพที่ 5) โดยความเข้มข้นของฟอสฟอรัสทั้งหมดจากแปลงทดลองศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ขุนวาง และแม่จอนหลวงจะมีความเข้มข้นต่ำสุดในเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2565 (อายุใบ 6 เดือน) คือ 0.15 และ 0.17 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีค่าสูงสุดในเดือนมีนาคม พ.ศ. 2565 (อายุใบ 3 เดือน) คือ 0.18 และ 0.26 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 3 และ 4)



ภาพที่ 5 การเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นของฟอสฟอรัสทั้งหมดในใบกาแพ

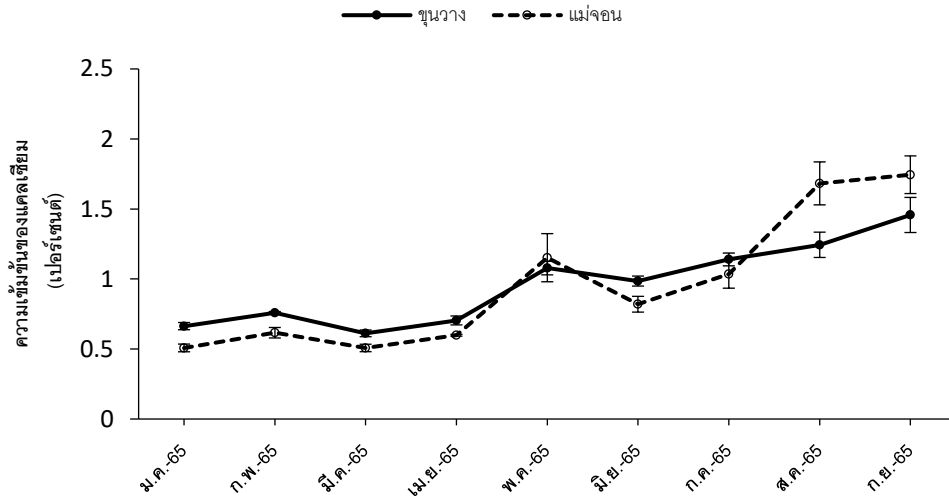
หมายเหตุ : l = ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

ความเข้มข้นของโพแทสเซียมในใบทั้งหมดเฉลี่ยในช่วงเดือน มกราคม ถึง กันยายน พ.ศ. 2565 จากแปลงทดลองศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ขุนวาง เท่ากับ 1.79 เปอร์เซ็นต์ มีค่าใกล้เคียงกับแปลงทดลองศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ แม่จอนหลวง เท่ากับ 1.74 เปอร์เซ็นต์ แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นของโพแทสเซียมทั้งหมดทั้ง 2 แปลงเป็นไปในทิศทางเดียวกัน ความเข้มข้นของโพแทสเซียมในใบจากแปลงทดลองศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ขุนวาง และแม่จอนหลวงตั้งแต่เดือนมกราคม พ.ศ. 2565 (อายุใบ 1 เดือน) คือ 2.08 และ 1.98 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องไปจนถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2565 (อายุใบ 9 เดือน) คือ 1.70 และ 1.32 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เนื่องจากโพแทสเซียมเป็นธาตุที่เคลื่อนย้ายในพืชได้ง่าย จึงส่งผลให้ในใบอ่อนมีโพแทสเซียมสูงกว่าในใบแก่เช่นเดียวกับไนโตรเจน และฟอสฟอรัสในใบ (ยงยุทธ, 2552) โดยมีการเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุดในช่วงเดือนพฤษภาคม ถึง กรกฎาคม พ.ศ. 2565 (ภาพที่ 6) โดยความเข้มข้นของโพแทสเซียมทั้งหมดจากแปลงทดลองศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ขุนวาง และแม่จอนหลวงจะมีความเข้มข้นต่ำสุดในเดือนกันยายน พ.ศ. 2565 (อายุใบ 9 เดือน) คือ 1.70 และ 1.32 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีค่าสูงสุดในเดือนมกราคม พ.ศ. 2565 (อายุใบ 1 เดือน) คือ 2.08 และ 1.98 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 3 และ 4)



ภาพที่ 6 การเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นของโพแทสเซียมทั้งหมดในใบกาแพ
 หมายเหตุ : l = ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

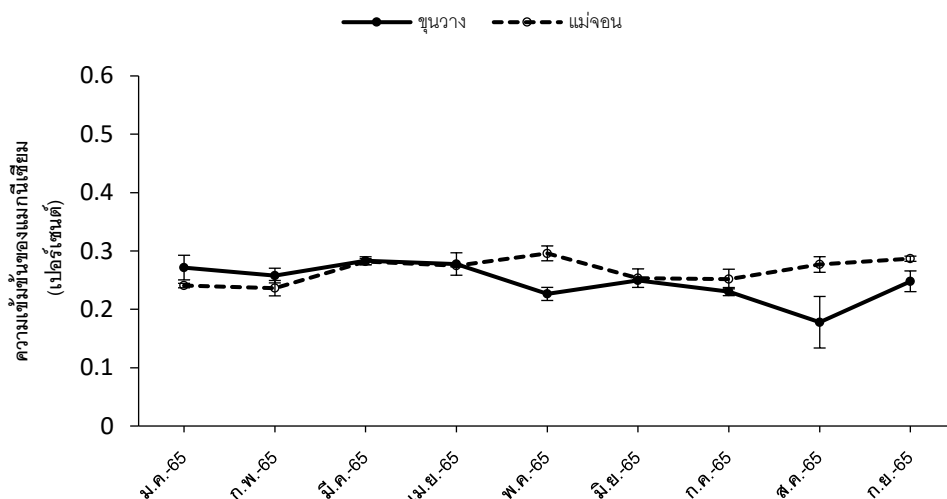
ความเข้มข้นของแคลเซียมในใบทั้งหมดเฉลี่ยในช่วงเดือน มกราคม ถึง กันยายน พ.ศ. 2565 จากแปลงทดลองศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ขุนวาง เท่ากับ 0.96 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับแปลงทดลองศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ แม่จอนหลวง แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นของแคลเซียมทั้งหมดทั้ง 2 แปลงเป็นไปในทิศทางเดียวกัน ความเข้มข้นของแคลเซียมในใบจากแปลงทดลองศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ขุนวาง และแม่จอนหลวงตั้งแต่เดือนมกราคม พ.ศ. 2565 (อายุใบ 1 เดือน) คือ 0.66 และ 0.51 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องไปจนถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2565 (อายุใบ 9 เดือน) คือ 1.46 และ 1.74 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เนื่องจากแคลเซียมเป็นธาตุที่เคลื่อนย้ายได้ยากในพืชจึงทำให้มีการสะสมในส่วนของพืชที่มีอายุเยอะมากกว่าส่วนที่มีอายุน้อย (ยงยุทธ, 2552) เช่นเดียวกับที่รายงานไว้ในใบยางพารา (ลิขิต และคณะ, 2515) โดยมีการเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุดในช่วงเดือนพฤษภาคม ถึง กรกฎาคม พ.ศ. 2565 (ภาพที่ 7) โดยความเข้มข้นของแคลเซียมทั้งหมดจากแปลงทดลองศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ขุนวาง และแม่จอนหลวงจะมีความเข้มข้นต่ำสุดในเดือนมกราคม พ.ศ. 2565 (อายุใบ 1 เดือน) คือ 0.66 และ 0.51 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีค่าสูงสุดในเดือนกันยายน พ.ศ. 2565 (อายุใบ 9 เดือน) คือ 1.46 และ 1.74 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 3 และ 4)



ภาพที่ 7 การเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นของแคลเซียมทั้งหมดในใบกาแฟ

หมายเหตุ : l = ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

ความเข้มข้นของแมกนีเซียมในใบทั้งหมดเฉลี่ยในช่วงเดือน มกราคม ถึง กันยายน พ.ศ. 2565 จากแปลงทดลองศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ขุนวาง เท่ากับ 0.25 เปอร์เซ็นต์ มีค่าใกล้เคียงกับแปลงทดลองศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ แม่จอนหลวง เท่ากับ 0.27 เปอร์เซ็นต์ แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นของแมกนีเซียมทั้งหมดทั้ง 2 แปลงเป็นไปในทิศทางเดียวกัน ความเข้มข้นของแมกนีเซียมในใบจากแปลงทดลองศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ขุนวาง และแม่จอนหลวงตั้งแต่เดือนมีนาคม พ.ศ. 2565 (อายุใบ 3 เดือน) คือ 0.28 และ 0.28 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องไปจนถึงเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2565 (อายุใบ 7 เดือน) คือ 0.23 และ 0.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เนื่องจากแมกนีเซียมเป็นธาตุที่เคลื่อนย้ายในพืชได้ง่าย จึงส่งผลให้ใบอ่อนมีแมกนีเซียมสูงกว่าใบแก่เช่นเดียวกับไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในใบ (ยงยุทธ, 2552) โดยมีการเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุดในช่วงเดือนเมษายน ถึง กรกฎาคม พ.ศ. 2565 (ภาพที่ 8) โดยความเข้มข้นของแมกนีเซียมทั้งหมดจากแปลงทดลองศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ขุนวางจะมีความเข้มข้นต่ำสุดในเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2565 (อายุใบ 8 เดือน) คือ 0.18 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าสูงสุดในเดือนมีนาคม พ.ศ. 2565 (อายุใบ 3 เดือน) คือ 0.28 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่แปลงทดลองศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ แม่จอนหลวงจะมีความเข้มข้นต่ำสุดในเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2565 (อายุใบ 2 เดือน) คือ 0.24 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าสูงสุดในเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2565 (อายุใบ 5 เดือน) คือ 0.30 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3 และ 4)



ภาพที่ 8 การเปลี่ยนแปลงของความชื้นชั้นของแมกนีเซียมทั้งหมดในใบกาแพ
 หมายเหตุ : l = ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

ตารางที่ 3 การเปลี่ยนแปลงของความชื้นชั้นธาตุอาหารพืชในใบกาแพในรอบปีแปลงศูนย์วิจัยเกษตรหลวง
 เชียงใหม่ ขุนวาง ตำบลแม่วิน อำเภอแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่

| เดือน (อายุใบ) | ความชื้นชั้นของธาตุอาหารพืชทั้งหมดในใบ (%) | | | | |
|-------------------|--|----------|------------|----------|------------|
| | ไนโตรเจน | ฟอสฟอรัส | โพแทสเซียม | แคลเซียม | แมกนีเซียม |
| ม.ค. 2565 | 3.12 a | 0.18 a | 2.08 a | 0.66 d | 0.27 a |
| ก.พ. 2565 | 2.34 bc | 0.14 b | 1.85 bc | 0.76 d | 0.26 a |
| มี.ค. 2565 | 3.02 a | 0.18 a | 1.83 bc | 0.61 d | 0.28 a |
| เม.ย. 2565 | 2.67 abc | 0.16 ab | 1.89 b | 0.70 d | 0.28 a |
| พ.ค. 2565 | 2.36 bc | 0.15 ab | 1.66 d | 1.08 bc | 0.23 ab |
| มิ.ย. 2565 | 2.85 ab | 0.15 b | 1.68 d | 0.99 c | 0.25 ab |
| ก.ค. 2565 | 2.61 abc | 0.16 ab | 1.66 d | 1.14 bc | 0.23 ab |
| ส.ค. 2565 | 2.22 c | 0.16 ab | 1.70 cd | 1.24 bc | 0.18 b |
| ก.ย. 2565 | 2.20 c | 0.18 a | 1.70 cd | 1.46 a | 0.25 ab |
| F-test | ** | * | ** | ** | * |
| CV (%) | 11.4 | 9.1 | 4.5 | 10.4 | 15.5 |

ตารางที่ 4 การเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นธาตุอาหารพืชในใบกาแพในรอบปีแปลงศูนย์วิจัยเกษตรหลวง เชียงใหม่ แม่จอนหลวง ตำบลแม่แจ่ม อำเภอแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่

| เดือน (อายุใบ) | ความเข้มข้นของธาตุอาหารพืชทั้งหมดในใบ (%) | | | | |
|-------------------|---|----------|------------|----------|------------|
| | ไนโตรเจน | ฟอสฟอรัส | โพแทสเซียม | แคลเซียม | แมกนีเซียม |
| ม.ค. 2565 | 3.31 ab | 0.22 b | 1.98 a | 0.51 e | 0.24 b |
| ก.พ. 2565 | 2.80 cd | 0.17 d | 1.73 bc | 0.62 de | 0.24 b |
| มี.ค. 2565 | 3.63 ab | 0.26 a | 1.94 a | 0.51 e | 0.28 ab |
| เม.ย. 2565 | 3.00 bc | 0.17 d | 2.05 a | 0.60 de | 0.27 ab |
| พ.ค. 2565 | 2.45 d | 0.16 d | 1.70 c | 1.15 b | 0.30 a |
| มิ.ย. 2565 | 2.59 d | 0.17 cd | 1.91 ab | 0.82 cd | 0.25 b |
| ก.ค. 2565 | 2.62 d | 0.18 cd | 1.68 c | 1.04 bc | 0.25 b |
| ส.ค. 2565 | 1.89 e | 0.17 d | 1.33 d | 1.68 a | 0.28 ab |
| ก.ย. 2565 | 2.00 e | 0.20 bc | 1.32 d | 1.74 a | 0.29 a |
| F-test | ** | ** | ** | ** | * |
| CV (%) | 7.2 | 7.3 | 6.7 | 16.6 | 6.9 |

ผลผลิตกาแพอะราบิกา และธาตุอาหารพืชที่สูญเสียออกนอกพื้นที่ปลูก

ด้านการให้ผลผลิตของกาแพอะราบิกา พบว่า แปลงทดลองศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ขุนวาง ให้ผลผลิตผลกาแพสด เท่ากับ 2,868.6 กิโลกรัมต่อไร่ โดยคิดเป็นเมล็ดกาแพ เท่ากับ 1,655 กิโลกรัมต่อไร่ และเปลือกผลกาแพ เท่ากับ 1,213.6 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งคิดเป็นไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมที่สูญเสียออกนอกพื้นที่ปลูกในรูปของผลผลิต เท่ากับ 17.51, 1.54, 22.66, 1.38 และ 0.72 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ แบ่งเป็นส่วนของเมล็ดกาแพ เท่ากับ 12.78, 1.03, 10.45, 0.52 และ 0.48 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ และส่วนของเปลือกผลกาแพ เท่ากับ 4.73, 0.51, 12.21, 0.86 และ 0.24 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ นอกจากนี้ได้ทำการตัดแต่งกิ่งเป็นน้ำหนักสด 356 กิโลกรัมต่อไร่ คิดเป็นไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมที่สูญเสียออกนอกพื้นที่ เท่ากับ 1.17, 0.04, 0.24, 0.4 และ 0.09 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 5) ขณะที่แปลงทดลองศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ แม่จอนหลวง ให้ผลผลิตต่ำกว่า แปลงทดลองศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ขุนวาง โดยให้ผลผลิตผลกาแพสด เท่ากับ 1,373.4 กิโลกรัมต่อไร่ โดยคิดเป็นเมล็ดกาแพ เท่ากับ 755.1 กิโลกรัมต่อไร่ และเปลือกผลกาแพ เท่ากับ 618.3 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งคิดเป็นไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมที่สูญเสียออกนอกพื้นที่ปลูกในรูปของผลผลิต เท่ากับ 7.25, 0.59, 8.66, 0.49 และ 0.52 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ แบ่งเป็นส่วนของเมล็ดกาแพ เท่ากับ 5.52, 0.38, 4.38, 0.16 และ 0.42 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ และส่วนของเปลือกผลกาแพ เท่ากับ 1.73, 0.21, 4.28, 0.33 และ 0.1 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ นอกจากนี้ได้ทำการตัดแต่งกิ่งเป็นน้ำหนักสด 337 กิโลกรัมต่อไร่ คิดเป็นไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมที่สูญเสียออกนอกพื้นที่ เท่ากับ 0.92, 0.07, 0.15, 0.36 และ 0.07 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 5 ธาตุอาหารพืชที่สูญเสียออกนอกพื้นที่ปลูกกาแฟอะราบิกาแปลงศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่
ขุนวาง ตำบลแม่วีน อำเภอแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่

| พารามิเตอร์ | ผลผลิต และธาตุอาหารพืชที่สูญเสียออกนอกพื้นที่ปลูก (กก./ไร่) | | | |
|-------------|---|-------|---------|-------------|
| | ผล | เมล็ด | เปลือก | กิ่งตัดแต่ง |
| ไนโตรเจน | 17.51 | 12.78 | 4.73 | 1.17 |
| ฟอสฟอรัส | 1.54 | 1.03 | 0.51 | 0.04 |
| โพแทสเซียม | 22.66 | 10.45 | 12.21 | 0.24 |
| แคลเซียม | 1.38 | 0.52 | 0.86 | 0.40 |
| แมกนีเซียม | 0.72 | 0.48 | 0.24 | 0.09 |
| น้ำหนักราก | 2,868.6 | 1,655 | 1,213.6 | 356 |

ตารางที่ 6 ธาตุอาหารพืชที่สูญเสียออกนอกพื้นที่ปลูกกาแฟอะราบิกาแปลงศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่
แม่จอนหลวง ตำบลแม่แจ่ม อำเภอแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่

| พารามิเตอร์ | ผลผลิต และธาตุอาหารพืชที่สูญเสียออกนอกพื้นที่ปลูก (กก./ไร่) | | | |
|-------------|---|-------|--------|-------------|
| | ผล | เมล็ด | เปลือก | กิ่งตัดแต่ง |
| ไนโตรเจน | 7.25 | 5.52 | 1.73 | 0.92 |
| ฟอสฟอรัส | 0.59 | 0.38 | 0.21 | 0.07 |
| โพแทสเซียม | 8.66 | 4.38 | 4.28 | 0.15 |
| แคลเซียม | 0.49 | 0.16 | 0.33 | 0.36 |
| แมกนีเซียม | 0.52 | 0.42 | 0.10 | 0.07 |
| น้ำหนักราก | 1,373.4 | 755.1 | 618.3 | 337 |

สรุปผลการทดลอง

จากผลการวิเคราะห์สมบัติดินทางเคมี และความเข้มข้นของธาตุอาหารพืชในใบกาแพ พบว่า สมบัติดินทางเคมี ได้แก่ ค่าปฏิกิริยาดิน ค่าการนำไฟฟ้าของดิน ปริมาณอินทรีย์วัตถุ โปแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ และแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน จากแปลงทดลองศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ขุนวาง และ แม่จอนหลวง มีค่าใกล้เคียงกัน ยกเว้น ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินจากแปลงทดลองศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ขุนวางมีค่าสูงกว่า ในขณะที่แปลงทดลองศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่แม่จอนหลวง มีปริมาณแคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้สูงกว่า ด้านการเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นธาตุอาหารพืชในใบกาแพในรอบปี จากแปลงทดลองศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ขุนวาง และ แม่จอนหลวงมีการเปลี่ยนแปลงไปในทิศทางเดียวกัน โดยความเข้มข้นของไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโปแทสเซียมทั้งหมดในใบกาแพมีแนวโน้มลดลงตามอายุใบกาแพที่เพิ่มขึ้น ขณะที่ความเข้มข้นของแคลเซียมทั้งหมดในใบกาแพมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามอายุใบกาแพที่เพิ่มขึ้น แต่ความเข้มข้นของแมกนีเซียมทั้งหมดในใบกาแพไม่สามารถสังเกตถึงการเปลี่ยนแปลงตามอายุใบได้อย่างชัดเจน และในช่วงเดือนพฤษภาคม ถึง เดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2565 (อายุใบ 5-7 เดือน) เป็นช่วงที่ใบกาแพมีการเปลี่ยนแปลงของไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โปแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมทั้งหมดน้อยที่สุดจึงอาจเป็นข้อพิจารณาสำหรับการเก็บตัวอย่างใบเพื่อวิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุอาหารพืชในใบในช่วงเวลาดังกล่าว ด้านการให้ผลผลิต แปลงทดลองศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ขุนวางให้ผลผลิตสูงกว่าแปลงทดลองศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่แม่จอนหลวง

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ร่วมกับกรมวิชาการเกษตร และขอขอบคุณผู้อำนวยการศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ที่ได้อนุเคราะห์แปลงกาแพอะราบิกาสำหรับใช้ในการทดลอง สุดท้ายขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ได้ให้การช่วยเหลือในการทำงานวิจัยในครั้งนี้

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

นักวิชาการและผู้ที่สนใจสามารถใช้อ้อมูลการเปลี่ยนแปลงของธาตุอาหารพืชในใบกาแพอะราบิกาต่อยอดเป็นแนวทางสำหรับการเก็บตัวอย่างใบเพื่อวิเคราะห์สถานะธาตุอาหารพืชในใบกาแพอะราบิกาในแต่ละช่วงการเปลี่ยนแปลงของต้นกาแพอะราบิกา และพัฒนาการจัดทำค่ามาตรฐานของธาตุอาหารพืชในใบกาแพอะราบิกา หรือไม้ผลยืนต้นชนิดอื่นได้

เอกสารอ้างอิง

- จักรพงษ์ จิระแพทย์. 2556. การพัฒนาในรอบปีและการเปลี่ยนแปลงของคาร์โบไฮเดรต ไนโตรเจน และฟอสฟอรัสในใบของมังคุดและลองกองที่จังหวัดนราธิวาส. ว. มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์ 5 : 69-78.
- จำเป็น อ่อนทอง, สายใจ กิมสงวน และ พิรุณ ตีระพัฒน์. 2549. ค่ามาตรฐานของไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โปแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมในใบลองกอง. ว. วิทย. กษ. 37: 257-268.
- นันทรัตน์ ศุภกานิต. 2544. โครงการวิจัยธาตุอาหารส้ม. ใน กลยุทธ์การจัดการธาตุอาหารพืชสู่รายได้ที่ยั่งยืน. ณ เค.ยู.โฮม 18-19 สิงหาคม 2544 หน้า 62-66.

- ยงยุทธ โอสดสภา. 2552. ธาตุอาหารพืช. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ยุทธนา เขาสุเมรุ, ชิติ ศรีตันทิพย์ และ สันติ ช่างเจรจา. 2543. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ โครงการการแก้ไข
ปัญหาต้นโทรมของลำไย: ความสัมพันธ์ระหว่างระดับธาตุอาหารในดิน และต้นลำไยกับการแสดง
อาการต้นโทรม สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง. ลำปาง. 145 น.
- ลิขิต นวลศรี, อาร์. เจ. ซี. มาเรนีสสัน และ จี. ดับบริว. อาร์นอทท์. 2515. การศึกษาวิธีเก็บตัวอย่างของต้น
ยางอายุมากเพื่อวิเคราะห์ธาตุอาหารสำหรับพิจารณาการใช้ปุ๋ย. ว. วิทย. กษ. 5 : 115-131.
- สุมิตรา ภู่วโรดม, นุกูล ถวิลถึง, สมพิศ ไม้เรียง, พิมพ์ เกษสยาม และ จีรพงษ์ ประสิทธิ์เขต. 2545. การสร้างค่า
มาตรฐานธาตุอาหารสำหรับทุเรียน : 2. ค่ามาตรฐานธาตุอาหาร. ว. วิทย. กษ. 33: 279 - 286.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. ข้อมูลการผลิตสินค้าเกษตร/สถานการณ์สินค้า เกษตรที่สำคัญและแนวโน้ม
ปี 2566. (ออนไลน์) www.oae.go.th. สืบค้น วันที่ 22 กุมภาพันธ์ 2566
- อรุณศิริ กำลั้ง, ยงยุทธ โอสดสภา, วิสุทธิ วีรสาร และ จันท์จรัส วีรสาร. 2546. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์
โครงการการวิเคราะห์ใบเพื่อกำหนดแนวทางในการประเมินระดับธาตุอาหารและการใช้ปุ๋ยอย่าง
เหมาะสมสำหรับลิ้นจี่ที่ปลูกในเขตภาคกลางของประเทศไทย. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.
กรุงเทพฯ. 203 น.
- อัศจรรย์ สุขธำรง. 2545. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ โครงการการจัดการธาตุอาหารพืชเพื่อการเพิ่มผลผลิต
และควบคุมคุณภาพของมะม่วง. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. กรุงเทพฯ. 264 น.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2005. Arabica coffee manual for
Lao-PDR. FAO Regional Office for Asia and the Pacific. Bangkok. Thailand.
- Ling A.H. P.E. Harding and V. Ranathan. 1990. Phosphorus requirements and management of
tea, coffee, and cacao In Phosphorus Requirements for Sustainable Agriculture in Asia
and Oceania. Proceedings of a Symposium 6-10 March 1989.
- Sousa, S. J., Neves, L. C. J., Martinez, H. E. P. and Alvarez V, V. H. 2018. Relationship between
Coffee Leaf Analysis and Soil Chemical Analysis. Rev Bra Cience Solo. 2018;42:
e0170109.

ศึกษาสมบัติดินทางเคมี และปริมาณธาตุอาหารพืชต่อการเจริญเติบโตและผลผลิต
ของกาแฟอาราบิกาในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่
Study Soil Chemical Properties and Plant Nutrients affecting to Growth
and Yield of Arabica Coffee in Chiang Mai Province

ณัฐพงศ์ ศรีสมบัติ¹ วริศ แคนคอง¹ กิตจเมธ แจ้งศิริกุล¹ ปิยะนันท์ วิวัฒน์วิทยา¹
ฉัตต์นภา ข่มอาวุธ² ศิริภรณ์ จรินทร์³

Nuttapong Srisombat¹ Varis Khaenkhongh¹ Kitjamate Jangsirikul¹ Piyanun Wiwatwittaya¹
Chatnapa Khomarwut² Siriporn Jarintorn³

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Efficiency of fertilizer use for arabica coffee productive must be known status of nutrients in soil and plant. Therefore, the soil chemical properties and amount of plant nutrients to growth and yield of Arabica coffee were studied. Experiments were conducted on Arabica coffee grown in Chiang Mai Province with 20 plots and randomly selecting 15 coffee trees in each plot for 5-10 years old to collect data during the year 2022-2023. Boundary-line method was estimated by establishing the scatter diagram between plant soil nutrients, leaf nutrients and relative yields. Result showed that the sufficient ranges of soil chemical analysis were 5.35-5.9 of soil pH, 0.037-0.058 dS/m of soil electrical conductivity, 5.42-7.3% of soil organic matter and 15.22-49.97 mg/kg of available phosphorus, while the appropriate soil content ranges of extractable potassium, calcium and magnesium were 74.54-194.72, 330.81-671.09 and 60.83-180.25 mg/kg respectively. The sufficient ranges of leaf N P K Ca and Mg were 2.25-2.59%, 0.166-0.2%, 2.18-2.83%, 0.752-0.95% and 0.229-0.295%, respectively.

Keywords: Soil chemical properties, Plant nutrients, Arabica coffee, Boundary line

¹ กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

¹ Agricultural Production Science Research and Development Division

² ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแพร่

² Phare Agricultural Research and Development Center

³ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่

³ Chiang Mai Royal Agricultural Research Center

บทคัดย่อ

การใช้ปุ๋ยอย่างมีประสิทธิภาพสำหรับการผลิตกาแฟอะราบิกา จำเป็นต้องทราบสถานะธาตุอาหารพืชในดินและในพืช จึงทำการศึกษาสมบัติดินทางเคมี และปริมาณธาตุอาหารพืชต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของกาแฟอะราบิกา โดยดำเนินการทดลองในพื้นที่ปลูกกาแฟอะราบิกา จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 20 แปลง ทำการสุ่มเลือกต้นกาแฟในแปลงกาแฟ แปลงละ 15 ต้น ช่วงอายุ 5-10 ปี สำหรับเก็บข้อมูล ช่วงปี พ.ศ. 2565-2566 นำข้อมูลการวิเคราะห์ธาตุอาหารพืชในดิน และธาตุอาหารพืชในใบมาสร้างกราฟกระจายกับผลผลิตสัมพัทธ์ เพื่อประเมินเส้นขอบเขตนอก พบว่า ระดับที่เหมาะสมของค่าปฏิกริยาไดโนอยู่ในช่วง 5.35-5.9 ค่าการนำไฟฟ้าของดินอยู่ในช่วง 0.037-0.058 เดซิซีเมนต์ต่อเมตร อินทรีย์วัตถุในดินอยู่ในช่วง 5.42-7.3 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินอยู่ในช่วง 15.22-49.97 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โปแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินอยู่ในช่วง 74.54-194.72 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินอยู่ในช่วง 330.81-671.09 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินอยู่ในช่วง 60.83-180.25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ขณะที่ ปริมาณธาตุอาหารพืชในใบที่เพียงพอสำหรับไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โปแทสเซียม แคลเซียมและแมกนีเซียมทั้งหมดอยู่ในช่วง 2.25-2.59, 0.166-0.2, 2.18-2.83, 0.752-0.95 และ 0.229-0.295 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

คำสำคัญ: สมบัติดินทางเคมี ธาตุอาหารพืช กาแฟอะราบิกา เส้นขอบเขตนอก

บทนำ

กาแฟอะราบิกาเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย เนื่องจากสภาพพื้นที่ที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของกาแฟอะราบิกาควรมีความสูงไม่ต่ำกว่า 700 เมตรจากระดับทะเล อุณหภูมิ 15-25 องศาเซลเซียส มีปริมาณน้ำฝนไม่ต่ำกว่า 1,500 มิลลิเมตรต่อปี จึงนิยมปลูกในพื้นที่ภาคเหนือ คิดเป็นร้อยละ 20 ของผลผลิตรวมของกาแฟในประเทศไทย (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2557) นอกจากนี้ปัจจัยดังกล่าว ธาตุอาหารพืชเป็นปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของพืช ปัจจุบันจึงได้นำการวิเคราะห์ธาตุอาหารในพืชมาใช้เป็นแนวทางในการจัดการปุ๋ยสำหรับไม้ผลและไม่ยืนต้น อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องทราบถึงสถานะของธาตุอาหารพืชก่อน การใช้เส้นขอบเขต (boundary line) กำหนดค่าวิกฤตของธาตุอาหาร เป็นวิธีการหนึ่งที่นิยมใช้ในการประเมินสถานะธาตุอาหารพืชในไม้ยืนต้น โดยกลุ่มข้อมูลที่ให้ผลผลิตสูงสุดในแต่ละระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารจะอยู่บนเส้นขอบเขต ซึ่งบนเส้นนี้ถือว่าปัจจัยอื่นๆ เหมาะสม มีงานวิจัยที่ศึกษาปริมาณธาตุอาหารในพืชหลายชนิดเช่น ลองกอง (จำป๋น และคณะ, 2549) ทูเรียน (สุมิตรา และคณะ, 2545) ลำไย (ยุทธนา และคณะ, 2543) และลิ้นจี่ (อรุณศิริ, 2546) โดยวิธีการใช้เส้นขอบเขตกำหนดค่าวิกฤตของธาตุอาหารสามารถทำได้โดยการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลผลผลิตสัมพัทธ์ (relative yield) และความเข้มข้นของธาตุอาหารพืช โดยกลุ่มข้อมูลที่ให้ผลผลิตสูงสุดในแต่ละระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารจะอยู่บนเส้นขอบเขต ซึ่งบนเส้นนี้ถือว่าปัจจัยอื่นๆ เหมาะสม และพบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลผลผลิต และความเข้มข้นของธาตุอาหารพืช จากนั้นอาศัยสมการเส้นตรงในช่วงที่ผลผลิตเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของธาตุอาหารพืช และสมการเส้นตรงในช่วงที่ผลผลิตลดลงเมื่อความเข้มข้นของธาตุอาหารพืชเพิ่มขึ้น ซึ่งจะทำให้สามารถกำหนดระดับช่วงค่าธาตุอาหารพืชว่าอยู่ในระดับใดได้ ทั้งนี้ความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบ ยังอาจจะขึ้นกับฤดูกาลซึ่งเกี่ยวข้องกับระยะการพัฒนาด้านกิ่งก้าน การออกดอก และการพัฒนาของผล ดังนั้น ในการเก็บใบเพื่อวิเคราะห์ธาตุอาหาร จึงต้องระบุช่วงอายุที่ธาตุอาหารในใบมีการเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุดซึ่งพบว่า ในลองกองควรใช้ใบอายุ 3-5 เดือน (จำป๋น และคณะ, 2549) ส่วนในทูเรียนให้ใช้ใบอายุ 5-7 เดือน (สุมิตรา และคณะ, 2545) ในปัจจุบันคำแนะนำการใช้ปุ๋ยสำหรับกาแฟส่วนใหญ่ต้องอาศัยข้อมูลสถานะธาตุอาหารพืชในดินและในพืชจากต่างประเทศ ซึ่งอาจให้ผลไม่ถูกต้องมากนักเนื่องจากแต่ละประเทศมีสภาพแวดล้อม ภูมิอากาศ ดิน ตลอดจนปัจจัยอื่นๆ แตกต่างกันไป จึงได้ศึกษาค่ามาตรฐานของสมบัติดินทางเคมี ธาตุอาหารพืชในดิน และธาตุอาหารพืชในใบของกาแฟอะราบิกา เพื่อใช้เป็นค่าสำหรับวินิจฉัยสถานะของสมบัติดินทางเคมี และธาตุอาหารพืชสำหรับพัฒนาคำแนะนำการใช้ปุ๋ยของกาแฟอะราบิกา

อุปกรณ์และวิธีการ

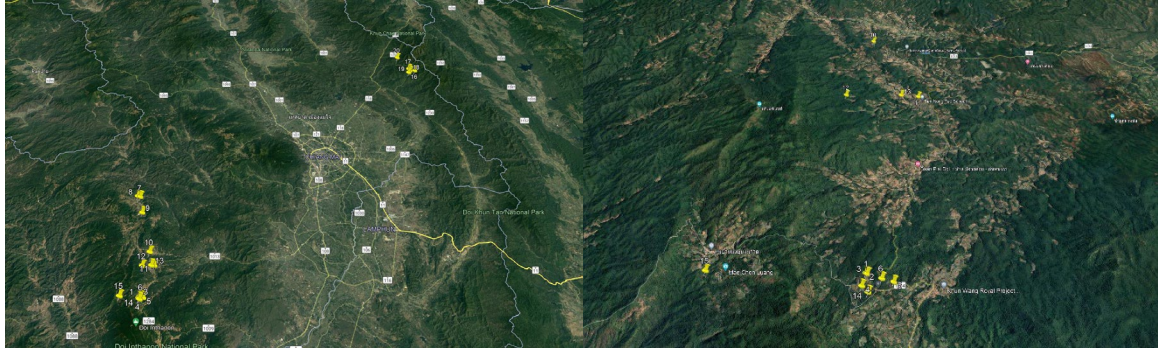
ศึกษาสมบัติดินทางเคมี และปริมาณธาตุอาหารพืชต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของกาแพะราบิกา โดยดำเนินการทดลองในแปลงกาแพพันธุ์อะราบิการะยะให้ผลผลิตช่วงอายุ 5-10 ปี ในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 20 แปลง (ตารางที่ 1) โดยแบ่งเป็นพื้นที่ในอำเภอแม่วาง 11 แปลง อำเภอแม่แจ่ม 1 แปลง (ภาพที่ 1) อำเภอสะเมิง 3 แปลง (ภาพที่ 2) และอำเภอดอยสะเก็ด 5 แปลง (ภาพที่ 3) สุ่มเลือกต้นกาแพในแปลงกาแพที่มีการเจริญเติบโตใกล้เคียงกัน แปลงละ 15 ต้น เพื่อเป็นตัวแทนของแปลงสำหรับเก็บตัวอย่าง ทำการเก็บตัวอย่างใบกาแพอะราบิกา โดยเก็บใบเพศลาด ที่ช่วงอายุ 6 เดือน ในเดือนมิถุนายน 2565 โดยเก็บใบคู่ที่ 3 นับจากปลายยอดของกิ่งประเภท secondary (ภาพที่ 4) (FAO, 2005) 4 ทิศ ของทรงพุ่ม ต้นละ 30 ใบ เพื่อวิเคราะห์ไนโตรเจน (Total Nitrogen, Kjeldahl method) ฟอสฟอรัส (Total Phosphorus, Vanadomolybdate method) โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม ทั้งหมดในพืช (Total Potassium, Calcium and Magnesium, Atomic Absorption Spectrophotometry method) และทำการเก็บตัวอย่างดินในช่วงเวลาเดียวกัน โดยเก็บ 4 ทิศ ได้ทรงทรงพุ่มต้นกาแพตัวแทนของแปลงที่ระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร เพื่อวิเคราะห์ค่าปฏิกิริยาดิน (Soil pH, ดิน:น้ำ = 1:1) สภาพการนำไฟฟ้าของดิน (Electrical Conductivity, EC, ดิน:น้ำ = 1:5) อินทรีย์วัตถุในดิน (Soil organic matter, Walkley-Black method) ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดิน (Available Phosphorus, Molybdenum blue method) โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน (Exchangeable Potassium, Calcium and Magnesium, Atomic Absorption Spectrophotometry method) และทำการบันทึกข้อมูลผลผลิตของกาแพอะราบิกาในแต่ละต้นที่ทำการเก็บตัวอย่างเพื่อหาปริมาณผลผลิตสัมพันธ์ ซึ่งเป็นค่าร้อยละของผลผลิตกาแพในแต่ละต้นเมื่อเทียบกับต้นที่ให้ผลผลิตสูงสุด

ทำการประเมินเกณฑ์ระดับมาตรฐานของสมบัติดินทางเคมี ธาตุอาหารพืชในดิน และธาตุอาหารพืชในใบของกาแพอะราบิกาด้วยวิธีเส้นขอบเขต โดยการนำข้อมูลค่าวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของดิน และปริมาณธาตุอาหารพืชในใบกาแพ มาสร้างกราฟกระจายกับผลผลิตสัมพันธ์ จากนั้นจึงพิจารณาเส้นขอบเขตนอก ของกราฟซึ่งเป็นจุดที่กาแพให้ผลผลิตสูงสุดในแต่ละระดับความเข้มข้นเมื่อปัจจัยอื่นๆ เหมาะสม นำจุดต่างๆ ที่อยู่บนเส้นขอบเขตนอกมาสร้างสมการที่แสดงความสัมพันธ์ของผลผลิตสัมพันธ์กับสมบัติทางเคมีของดิน และปริมาณธาตุอาหารพืชในใบกาแพ จากนั้นนำสมการมาใช้กำหนดช่วงความเข้มข้นมาตรฐานของสมบัติดินทางเคมี และธาตุอาหารพืชออกเป็น 4 ระดับ คือ ขาดแคลนหรือไม่เหมาะสม (Deficient) ต่ำ (Low) เพียงพอหรือเหมาะสม (Sufficient) และมากเกินไป (Excessive) โดยใช้ข้อมูลระดับผลผลิตในช่วง ต่ำกว่า 60 เปอร์เซ็นต์, 60-80 เปอร์เซ็นต์, 80-100 เปอร์เซ็นต์ และค่าความเข้มข้นที่เริ่มทำให้ผลผลิตกาแพลดลง ตามลำดับ (จำเริญ และคณะ, 2549)

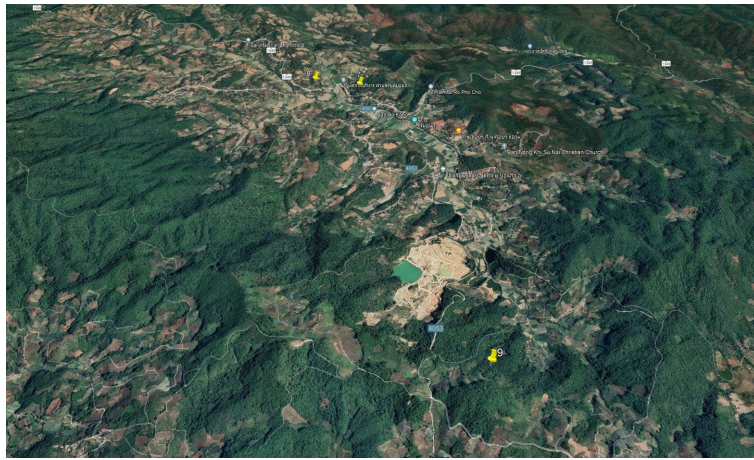
ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2566

สถานที่ทำการทดลอง

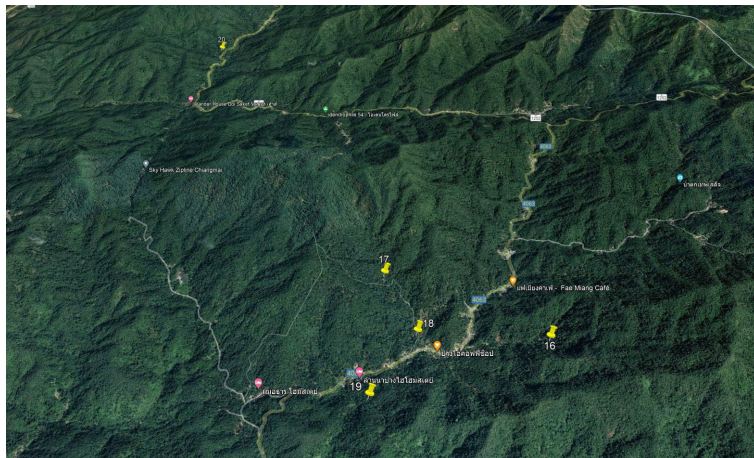
- 1) กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
- 2) ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ขุนวาง และแม่จอนหลวง จ.เชียงใหม่



ภาพที่ 1 ตำแหน่งสถานที่ทำการทดลอง อำเภอแม่วาง 11 แปลง และอำเภอแม่แจ่ม 1 แปลง ในจังหวัดเชียงใหม่



ภาพที่ 2 ตำแหน่งสถานที่ทำการทดลอง อำเภอสะเมิง 3 แปลง ในจังหวัดเชียงใหม่



ภาพที่ 3 ตำแหน่งสถานที่ทำการทดลอง อำเภอดอยสะเก็ด 5 แปลง ในจังหวัด เชียงใหม่



ภาพที่ 4 ตำแหน่งการเก็บใบเพลสดของกาแฟอาราบิก้า อายุ 6 เดือน (มิ.ย. 2565)

ตารางที่ 1 อายุต้นกาแฟอาราบิก้า และพิกัดสถานที่ทำการทดลองทำการทดลอง จังหวัดเชียงใหม่

| แปลงที่ | อำเภอ | อายุ (ปี) | UTM | X | Y | ความสูงจากระดับน้ำทะเล (เมตร) |
|---------|---------|-----------|-----|--------|---------|----------------------------------|
| 1 | แม่วาง | 8 | 47Q | 447940 | 2060083 | 1,383.1 |
| 2 | แม่วาง | 8 | 47Q | 447918 | 2060110 | 1,381.4 |
| 3 | แม่วาง | 8 | 47Q | 447940 | 2060083 | 1,383.1 |
| 4 | แม่วาง | 10 | 47Q | 447664 | 2059810 | 1,443.5 |
| 5 | แม่วาง | 8 | 47Q | 448434 | 2059587 | 1,365.1 |
| 6 | แม่วาง | 8 | 47Q | 448201 | 2059782 | 1,391.7 |
| 7 | สะเมิง | 10 | 47Q | 454657 | 2083873 | 979.7 |
| 8 | สะเมิง | 10 | 47Q | 454170 | 2084275 | 1,020.7 |
| 9 | สะเมิง | 5 | 47Q | 453883 | 2079350 | 1,186 |
| 10 | แม่วาง | 8 | 47Q | 452577 | 2069165 | 9,01.2 |
| 11 | แม่วาง | 7 | 47Q | 452532 | 2065580 | 1,018.5 |
| 12 | แม่วาง | 7 | 47Q | 450240 | 2066498 | 1,194 |
| 13 | แม่วาง | 5 | 47Q | 452006 | 2065845 | 1,052.1 |
| 14 | แม่วาง | 10 | 47Q | 447726 | 2059585 | 1,472.9 |
| 15 | แม่แจ่ม | 10 | 47Q | 444298 | 2061966 | 1,487.7 |

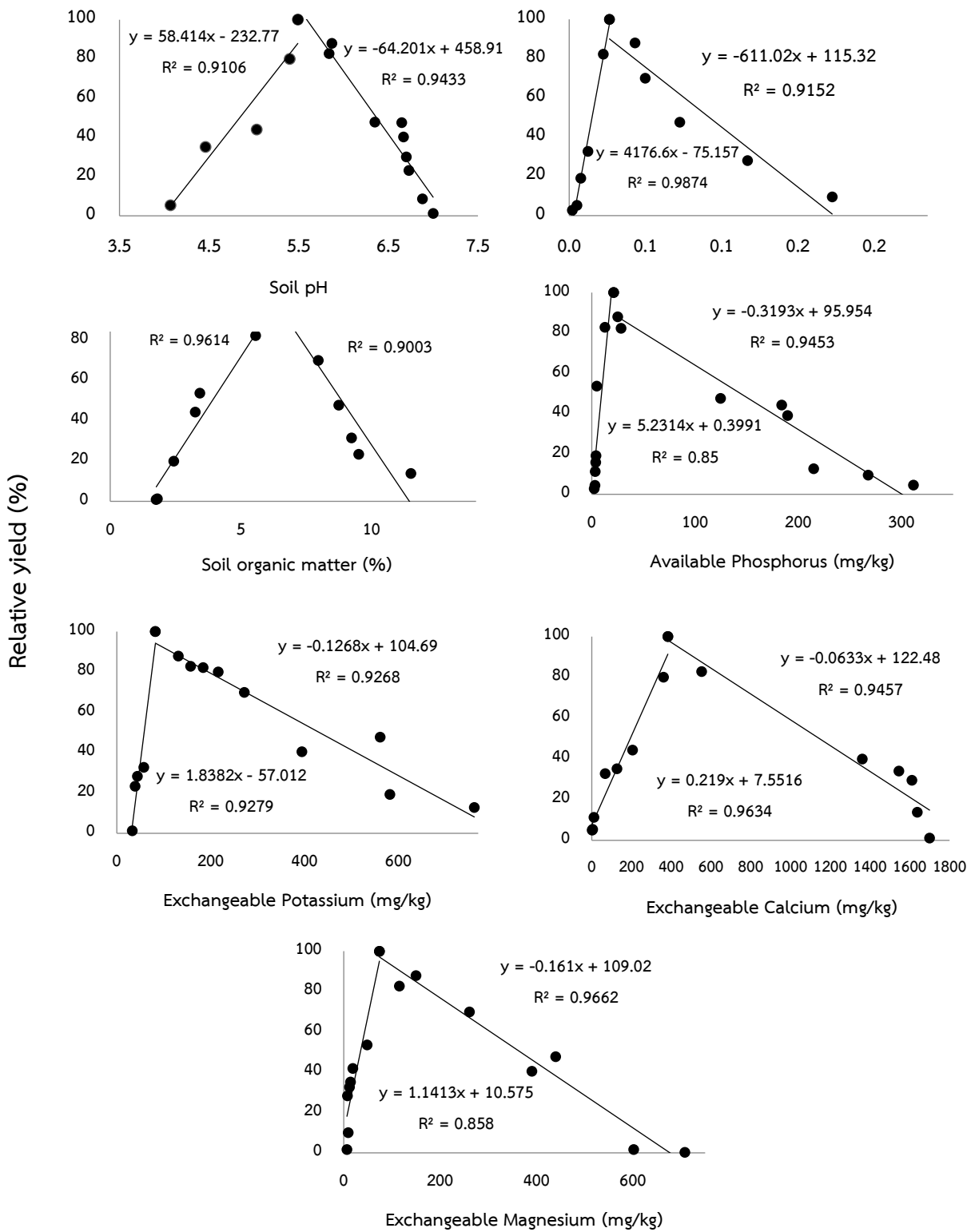
ตารางที่ 1 อายุต้นกาแพะราบิกา และพิกัดสถานที่ทำการทดลองทำการทดลอง จังหวัดเชียงใหม่ (ต่อ)

| แปลงที่ | อำเภอ | อายุ (ปี) | UTM | X | Y | ความสูงจากระดับน้ำทะเล (เมตร) |
|---------|-----------|-----------|-----|--------|---------|----------------------------------|
| 16 | ดอยสะเก็ด | 10 | 47Q | 535687 | 2091777 | 939.6 |
| 17 | ดอยสะเก็ด | 8 | 47Q | 534607 | 2093190 | 994.1 |
| 18 | ดอยสะเก็ด | 10 | 47Q | 534608 | 2092446 | 871.8 |
| 19 | ดอยสะเก็ด | 7 | 47Q | 533887 | 2092015 | 850 |
| 20 | ดอยสะเก็ด | 10 | 47Q | 534383 | 2098653 | 884.3 |

ผลการทดลองและวิจารณ์

ระดับความอุดมสมบูรณ์ของสมบัติดินทางเคมีและธาตุอาหารพืชในดินปลูกกาแพะราบิกา

เมื่อนำข้อมูลการวิเคราะห์สมบัติดินทางเคมีและธาตุอาหารพืชในดิน (n=287) มาสร้างกราฟกระจายกับผลผลิตสัมพัทธ์ (ภาพที่ 5) และทำการพิจารณาเส้นขอบเขตนอกของกราฟซึ่งเป็นจุดที่กาแพะราบิกาให้ผลผลิตสูงสุดในแต่ละระดับความเข้มข้นเมื่อปัจจัยอื่นๆ เหมาะสม (ตารางที่ 2) พบว่า ค่าปฏิกิริยาดินแบ่งเป็น ระดับไม่เหมาะสมต่ำกว่า 5.01 ระดับต่ำอยู่ในช่วง 5.01-5.35 ระดับเหมาะสมอยู่ในช่วง 5.35-5.9 และระดับมากเกินไปสูงกว่า 5.9 สอดคล้องกับ Ling *et al.* (1990) and FAO (2005) ที่ระดับเหมาะสม อยู่ในช่วง 5.5-6.0 ค่าการนำไฟฟ้าของดินแบ่งเป็นระดับขาดแคลนต่ำกว่า 0.032 เดซิซีเมนต์ต่อเมตร ระดับต่ำอยู่ในช่วง 0.032-0.037 เดซิซีเมนต์ต่อเมตร ระดับเหมาะสมอยู่ในช่วง 0.037-0.058 เดซิซีเมนต์ต่อเมตร และระดับมากเกินไปสูงกว่า 0.058 เดซิซีเมนต์ต่อเมตร ซึ่งทุกระดับต่ำกว่า 0.2 เดซิซีเมนต์ต่อเมตร ถือว่าไม่ส่งผลเสียต่อการเจริญเติบโตของพืช (FAO, 2005) อินทรีย์วัตถุในดินแบ่งเป็น ระดับขาดแคลนต่ำกว่า 4.41 เปอร์เซ็นต์ ระดับต่ำอยู่ในช่วง 4.41-5.42 เปอร์เซ็นต์ ระดับเพียงพออยู่ในช่วง 5.42-7.3 เปอร์เซ็นต์ และระดับมากเกินไปสูงกว่า 7.3 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับ Sousa *et al.* (2018) ที่ระดับเพียงพออยู่ในช่วง 3.7-5.2 เปอร์เซ็นต์ แต่สูงกว่าระดับเพียงพอของ FAO (2005) และ Ling *et al.* (1990) ที่อยู่ในช่วง 1-3 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินแบ่งเป็น ระดับขาดแคลนต่ำกว่า 11.39 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ระดับต่ำอยู่ในช่วง 11.39-15.22 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ระดับเพียงพออยู่ในช่วง 15.22-49.97 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และระดับมากเกินไปสูงกว่า 49.97 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สูงกว่าระดับเพียงพอของ Sousa *et al.* (2018) ที่อยู่ในช่วง 7.4-15.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แต่ต่ำกว่าระดับเพียงพอของ Ling *et al.* (1990) ที่อยู่ในช่วง 60-80 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินแบ่งเป็น ระดับขาดแคลนต่ำกว่า 63.66 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ระดับต่ำอยู่ในช่วง 63.66-74.54 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ระดับเพียงพออยู่ในช่วง 74.54-194.72 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และระดับมากเกินไปสูงกว่า 194.72 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สอดคล้องกับ Ling *et al.* (1990) Sousa *et al.* (2018) และ FAO (2005) ที่ระดับเพียงพอมีค่าไม่ต่ำกว่า 75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินแบ่งเป็น ระดับขาดแคลนต่ำกว่า 239.49 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ระดับต่ำอยู่ในช่วง 239.49-330.81 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ระดับเพียงพออยู่ในช่วง 330.81-671.09 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และระดับมากเกินไปสูงกว่า 671.09 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งต่ำกว่าระดับที่เพียงพอของ FAO (2005) ที่มีค่าอยู่ในช่วง 600-1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินแบ่งเป็น ระดับขาดแคลนต่ำกว่า 43.31 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ระดับต่ำอยู่ในช่วง 43.31-60.83 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ระดับเพียงพออยู่ในช่วง 60.83-180.25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และระดับมากเกินไปสูงกว่า 180.25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งใกล้เคียงกับระดับที่เพียงพอของ FAO (2005) ที่มีค่ามากกว่า 194.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม



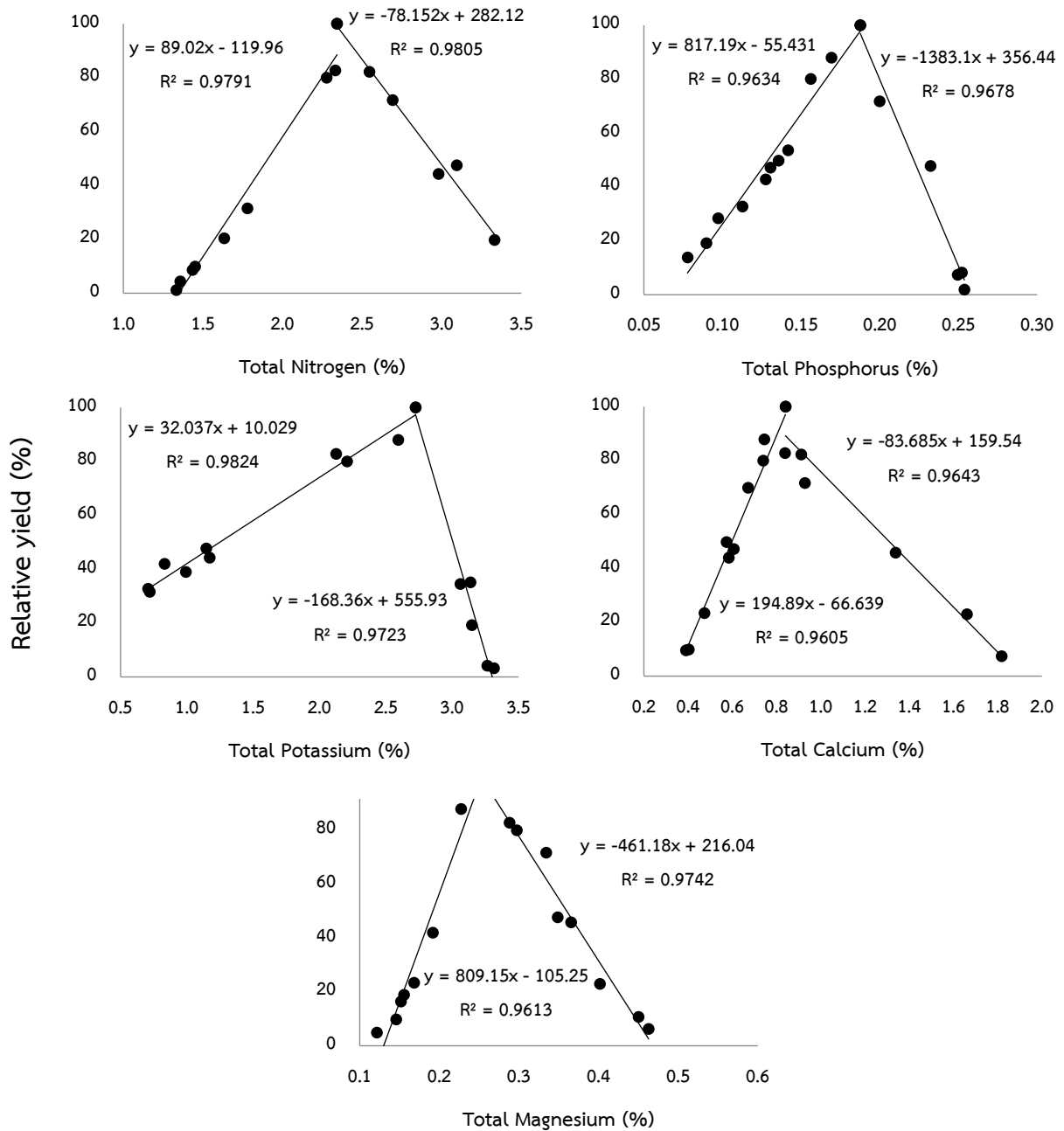
ภาพที่ 5 ความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างผลผลิตสัมพัทธ์ และสมบัติดินทางเคมีและธาตุอาหารพืชในดิน โดยวิธีเส้นขอบเขต

ตารางที่ 2 ค่ามาตรฐานของสมบัติดินทางเคมี และธาตุอาหารพืชในดินโดยวิธีเส้นขอบเขต

| Parameter | Deficient | Low | Sufficient | Excessive |
|-------------------------------------|-----------|---------------|---------------|-----------|
| Soil pH (1:1) | < 5.01 | 5.01-5.35 | 5.35-5.9 | > 5.9 |
| Electrical Conductivity (1:5, dS/m) | < 0.032 | 0.032-0.037 | 0.037-0.058 | > 0.058 |
| Soil organic matter (%) | < 4.41 | 4.41-5.42 | 5.42-7.3 | > 7.3 |
| Available Phosphorus (mg/kg) | < 11.39 | 11.39-15.22 | 15.22-49.97 | > 49.97 |
| Exchangeable Potassium (mg/kg) | < 63.66 | 63.66-74.54 | 74.54-194.72 | > 194.72 |
| Exchangeable Calcium (mg/kg) | < 239.49 | 239.49-330.81 | 330.81-671.09 | > 671.09 |
| Exchangeable Magnesium (mg/kg) | < 43.31 | 43.31-60.83 | 60.83-180.25 | > 180.25 |

ระดับความอุดมสมบูรณ์ของธาตุอาหารพืชในใบกาแพะราบิกา

เมื่อนำข้อมูลการวิเคราะห์ธาตุอาหารพืชในใบกาแพะราบิกา (n=287) มาสร้างกราฟกระจายกับผลผลิตสัมพัทธ์ (ภาพที่ 6) และทำการพิจารณาเส้นขอบเขตนอกของกราฟ โดยใช้ข้อมูลระดับผลผลิตในช่วงเดียวกับการแบ่งระดับความอุดมสมบูรณ์ของสมบัติดินทางเคมีและธาตุอาหารพืชในดินปลูกกาแพะราบิกา (ตารางที่ 3) พบว่า ไนโตรเจนทั้งหมดในใบแบ่งเป็น ระดับขาดแคลนต่ำกว่า 2.02 เปอร์เซ็นต์ ระดับต่ำอยู่ในช่วง 2.02-2.25 เปอร์เซ็นต์ ระดับเพียงพออยู่ในช่วง 2.25-2.59 เปอร์เซ็นต์ และระดับมากเกินไปสูงกว่า 2.59 เปอร์เซ็นต์ ใกล้เคียงกับระดับเพียงพอของ FAO (2005) ที่อยู่ในช่วง 2.5-3.0 เปอร์เซ็นต์ แต่ต่ำกว่าระดับเพียงพอของ Sousa *et al.* (2018) ที่อยู่ในช่วง 3.3-3.6 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัสทั้งหมดในใบแบ่งเป็น ระดับขาดแคลนต่ำกว่า 0.141 เปอร์เซ็นต์ ระดับต่ำอยู่ในช่วง 0.141-0.166 เปอร์เซ็นต์ ระดับเพียงพออยู่ในช่วง 0.166-0.2 เปอร์เซ็นต์ และระดับมากเกินไปสูงกว่า 0.2 เปอร์เซ็นต์ ใกล้เคียงกับระดับเพียงพอของ FAO (2005) ที่อยู่ในช่วง 0.15-0.20 เปอร์เซ็นต์ แต่สูงกว่าระดับเพียงพอของ Sousa *et al.* (2018) ที่อยู่ในช่วง 0.14-0.16 เปอร์เซ็นต์ โพแทสเซียมทั้งหมดในใบแบ่งเป็น ระดับขาดแคลนต่ำกว่า 1.56 เปอร์เซ็นต์ ระดับต่ำอยู่ในช่วง 1.56-2.18 เปอร์เซ็นต์ ระดับเพียงพออยู่ในช่วง 2.18-2.83 เปอร์เซ็นต์ และระดับมากเกินไปสูงกว่า 2.83 เปอร์เซ็นต์ ใกล้เคียงกับระดับเพียงพอของ FAO (2005) และ Sousa *et al.* (2018) ที่อยู่ในช่วง 2.1-2.6 และ 2.4-2.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แคลเซียมทั้งหมดในใบแบ่งเป็น ระดับขาดแคลนต่ำกว่า 0.65 เปอร์เซ็นต์ ระดับต่ำอยู่ในช่วง 0.65-0.752 เปอร์เซ็นต์ ระดับเพียงพออยู่ในช่วง 0.752-0.95 เปอร์เซ็นต์ และระดับมากเกินไปสูงกว่า 0.95 เปอร์เซ็นต์ ใกล้เคียงกับระดับเพียงพอของ FAO (2005) ที่อยู่ในช่วง 0.75-1.75 เปอร์เซ็นต์ และแมกนีเซียมทั้งหมดในใบแบ่งเป็น ระดับขาดแคลนต่ำกว่า 0.204 เปอร์เซ็นต์ ระดับต่ำอยู่ในช่วง 0.204-0.229 เปอร์เซ็นต์ ระดับเพียงพออยู่ในช่วง 0.229-0.295 เปอร์เซ็นต์ และระดับมากเกินไปสูงกว่า 0.295 เปอร์เซ็นต์ ใกล้เคียงกับระดับเพียงพอของ FAO (2005) ที่อยู่ในช่วง 0.25-0.40 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 6 ความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างผลผลิตสัมพัทธ์ และธาตุอาหารพืชในใบกาแฟอะราบิกาโดยวิธีเส้นขอบเขต

ตารางที่ 3 ค่ามาตรฐานของธาตุอาหารพืชในใบกาแพะราบิกาโดยวิธีเส้นขอบเขต

| Parameter | Deficient | Low | Sufficient | Excessive |
|----------------------|-----------|-------------|-------------|-----------|
| Total Nitrogen (%) | < 2.02 | 2.02-2.25 | 2.25-2.59 | > 2.59 |
| Total Phosphorus (%) | < 0.141 | 0.141-0.166 | 0.166-0.2 | > 0.2 |
| Total Potassium (%) | < 1.56 | 1.56-2.18 | 2.18-2.83 | > 2.83 |
| Total Calcium (%) | < 0.65 | 0.65-0.752 | 0.752-0.95 | > 0.95 |
| Total Magnesium (%) | < 0.204 | 0.204-0.229 | 0.229-0.295 | > 0.295 |

สรุปผลการทดลอง

จากการวิเคราะห์สมบัติดินทางเคมี ธาตุอาหารพืชในดิน และธาตุอาหารพืชในใบกาแพะราบิกาของพื้นที่ทดลองทั้ง 20 แปลง ในจังหวัดเชียงใหม่ นำมาสร้างเกณฑ์ระดับมาตรฐานโดยการใช้วิธีเส้นขอบเขตนอก พบว่าระดับที่เหมาะสมของค่าปฏิกิริยาดินอยู่ในช่วง 5.35-5.9 ค่าการนำไฟฟ้าของดินอยู่ในช่วง 0.037-0.058 เดซิซีเมนต์ต่อเมตร อินทรีย์วัตถุในดินอยู่ในช่วง 5.42-7.3 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินอยู่ในช่วง 15.22-49.97 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินอยู่ในช่วง 74.54-194.72 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินอยู่ในช่วง 330.81-671.09 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินอยู่ในช่วง 60.83-180.25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ไนโตรเจนทั้งหมดในใบอยู่ในช่วง 2.25-2.59 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัสทั้งหมดในใบอยู่ในช่วง 0.166-0.2 เปอร์เซ็นต์ โพแทสเซียมทั้งหมดในใบอยู่ในช่วง 2.18-2.83 เปอร์เซ็นต์ แคลเซียมทั้งหมดในใบอยู่ในช่วง 0.752-0.95 เปอร์เซ็นต์ และแมกนีเซียมทั้งหมดในใบอยู่ในช่วง 0.229-0.295 เปอร์เซ็นต์

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ร่วมกับกรมวิชาการเกษตร ขอขอบคุณผู้อำนวยการศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ และเกษตรกรผู้ปลูกกาแพะราบิกาในพื้นที่อำเภอแม่วาง อำเภอแม่แจ่ม อำเภอสะเมิง และอำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ ที่ได้อนุเคราะห์แปลงกาแพะราบิกาสำหรับการทดลอง สุดท้ายขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ได้ให้การช่วยเหลือในการทำงานวิจัยในครั้งนี้

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

นักวิชาการและผู้ที่เกี่ยวข้องสามารถใช้ข้อมูลค่ามาตรฐานของสมบัติดินทางเคมี และธาตุอาหารพืชของกาแพะราบิกาในการประเมินสถานะของสมบัติดินทางเคมี และธาตุอาหารพืชในตัวอย่างดิน และใบกาแพะราบิกาที่เก็บในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ และนำแนวทางการจัดทำค่ามาตรฐานของสมบัติดินทางเคมี และธาตุอาหารพืชของกาแพะราบิกาด้วยวิธีเส้นขอบเขตไปประยุกต์กับการจัดทำค่ามาตรฐานในพื้นที่อื่นที่สนใจหรือไม่ผลยีนต้นชนิดอื่นได้

เอกสารอ้างอิง

- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2557. การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตกาแฟ. กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.
- จำเป็น อ่อนทอง. 2560. การวิเคราะห์ดินและพืช. ภาควิชาธรณีศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ สงขลา.
- จำเป็น อ่อนทอง, สายใจ กิมสงวน และ พิรุณ ตีระพัฒน์. 2549. ค่ามาตรฐานของไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมในใบลองกอง. ว. วิทย. กษ. 37: 257-268.
- ยุทธนา เขาสุขเมรุ, ชิติ ศรีตันทิพย์ และ สันติ ช่างเจรจา. 2543. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ โครงการการแก้ไขปัญหาด้านโภชนาการของลำไย: ความสัมพันธ์ระหว่างระดับธาตุอาหารในดิน และต้นลำไยกับการแสดงอาการต้นโทรม สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง. ลำปาง. 145 น.
- สุมิตรรา ภู่วโรดม, นุกูล ถวิลถึง, สมพิศ ไม้เรียง, พิมล เกษสยาม และ จิรพงษ์ ประสิทธิ์เขต. 2545. การสร้างค่ามาตรฐานธาตุอาหารสำหรับทุเรียน: 2. ค่ามาตรฐานธาตุอาหาร. ว. วิทย. กษ. 33: 279 - 286.
- อรุณศิริ กำลั้ง, ยงยุทธ โอสถสกา, วิสุทธิ์ วีรสาร และ จันท์จรัส วีรสาร. 2546. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ โครงการการวิเคราะห์ใบเพื่อกำหนดแนวทางในการประเมินระดับธาตุอาหารและการใช้ปุ๋ยอย่างเหมาะสมสำหรับลำไยที่ปลูกในเขตภาคกลางของประเทศไทย. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. กรุงเทพฯ. 203 น.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2005. Arabica coffee manual for Lao-PDR. FAO Regional Office for Asia and the Pacific. Bangkok. Thailand.
- Ling A.H. P.E. Harding and V. Ranathan. 1990. Phosphorus requirements and management of tea, coffee, and cacao In Phosphorus Requirements for Sustainable Agriculture in Asia and Oceania. Proceedings of a Symposium 6-10 March 1989.
- Sousa, S. J., Neves, L. C. J., Martinez, H. E. P. and Alvarez V, V. H. 2018. Relationship between Coffee Leaf Analysis and Soil Chemical Analysis. Rev Bra Ciencia Solo. 2018;42: e0170109.

ศึกษาการตอบสนองต่อการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนของกาแฟอาราบิก้า

The Study of Arabica Coffee's Response to Nitrogen Fertilizer Application

กิตจเมธ แจ้งศิริกุล¹ วริศ แคนคอง¹ ปิยะนันท์ วิวัฒน์วิทยา¹ ณัฐพงศ์ ศรีสมบัติ¹
ฉัตรดนภา ชม่อาวุธ² ศิริภรณ์ จรินทร์³

*Kitjamate Jangsirikul¹ Varis Khaengkong¹ Piyanun Wiwatwittaya¹
Nuttapong Srisombat¹ Chatnapa Khomarwut² Siriporn Jarintorn³*

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The study of Arabica coffee's response to nitrogen fertilizer application in areas with different amounts of organic matter in the soil in Chiang Mai Province was conducted to obtain data on the response of Arabica coffee to nitrogen fertilizer usage. The experiments were conducted at the Chiang Mai Royal Agricultural Research Center (Mae Jon Luang), Mae Na Chon Subdistrict, Mae Chaem District, Chiang Mai Province and Chiang Mai Royal Agricultural Research Center (Khun Wang), Mae Win Subdistrict, Mae Wang District, Chiang Mai province. The experiment was performed in a randomized complete block (RCB) with four replicates, 6 plants per replicate. The treatments consisted of five levels of nitrogen rates (0, 55, 110, 165, and 220 g N per plant per year). All treatments were applied with phosphate and potassium fertilizer at the recommended rates of 46 g P₂O₅ per plant per year and 90 g K₂O per plant per year.

The results revealed that plot with an organic matter content of 3.6 percent, nitrogen fertilizer application at a rate of 220 g N per plant per year gave the highest average yield of 1,315 kilograms per rai. For plots with organic matter contents of 5.6 and 6.2 percent, nitrogen fertilizer application at a rate of 110 g N per plant per year gave the highest average yields of 1,098 and 1,260 kilograms per rai, respectively. Therefore, for the production of Arabica coffee in fields with an organic matter content of 3.6 percent, it is recommended to apply fertilizer at a rate of 220–46–90 grams of N–P₂O₅–K₂O per plant per year. While the plots with organic matter contents of 5.6 and 6.2 percent, it is recommended to apply fertilizer at a rate of 55–46–90 grams of N–P₂O₅–K₂O per plant per year. This will help increase the production of coffee.

Keywords: Arabica Coffee, Fertilizer, Nitrogen, Fertilizer Response

¹ กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

¹ Agricultural Production Science Research and Development Division

² ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแพร่

² Phare Agricultural Research and Development Center

³ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่

³ Chiang Mai Royal Agricultural Research Center

บทคัดย่อ

ศึกษาการตอบสนองต่อการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนของกาแฟอะราบิกาในพื้นที่ที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินแตกต่างกันในจังหวัดเชียงใหม่ เพื่อให้ได้ข้อมูลการตอบสนองต่อการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนของกาแฟอะราบิกา ดำเนินการทดลองที่ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ (ขุนวาง) ตำบลแม่วีน อำเภอแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่ และศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ (แม่จอนหลวง) ตำบลแม่่นาจร อำเภอแจ้ห่ม จังหวัดเชียงใหม่ วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) จำนวน 4 ซ้ำๆ ละ 6 ต้น กรรมวิธีประกอบด้วยอัตราปุ๋ยไนโตรเจน 5 อัตรา ได้แก่ 0 55 110 165 และ 220 กรัม N ต่อต้นต่อปี โดยทุกกรรมวิธีใส่ปุ๋ยฟอสเฟตและปุ๋ยโพแทช อัตราตามคำแนะนำ คือ 46 กรัม P_2O_5 ต่อต้นต่อปี และ 90 กรัม K_2O ต่อต้นต่อปี

ผลการทดลอง พบว่า แปลงที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 3.6 เปอร์เซ็นต์ การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 220 กรัม N ต่อต้นต่อปี ให้ผลผลิตสูงสุดเฉลี่ย 1,315 กิโลกรัมต่อไร่ สำหรับแปลงที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 5.6 และ 6.2 เปอร์เซ็นต์ การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 110 กรัม N ต่อต้นต่อปี ให้ผลผลิตสูงสุดเฉลี่ย 1,098 และ 1,260 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ดังนั้น การผลิตกาแฟอะราบิกาในแปลงที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 3.6 เปอร์เซ็นต์ แนะนำให้ใส่ปุ๋ยอัตรา 220-46-90 กรัม $N-P_2O_5-K_2O$ ต่อต้นต่อปี ส่วนแปลงที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 5.6 และ 6.2 เปอร์เซ็นต์ แนะนำให้ใส่ปุ๋ยอัตรา 55-46-90 กรัม $N-P_2O_5-K_2O$ ต่อต้นต่อปี ซึ่งจะช่วยให้เพิ่มผลผลิตให้กับกาแฟ

คำสำคัญ: กาแฟอะราบิกา ปุ๋ย ไนโตรเจน การตอบสนองต่อปุ๋ย

บทนำ

กาแพะราบิกาเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทยที่ทำรายได้ให้เกษตรกรปีละ 5,500 ล้านบาท ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกกาแพะราบิกาประมาณ 123,098 ไร่ ผลผลิตรวม 9,135 ตัน ผลผลิตต่อไร่ 91 กิโลกรัม ส่วนใหญ่นิยมปลูกในพื้นที่ภาคเหนือ เช่น จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย แม่ฮ่องสอน และน่าน ตามลำดับ โดยมีผลผลิตรวม 9,076 ตัน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2565) สภาพพื้นที่ที่เหมาะสมในการปลูกกาแพะราบิกาควรมีความสูงไม่ต่ำกว่า 700 เมตรจากระดับน้ำทะเล อุณหภูมิเฉลี่ย 15-25 องศาเซลเซียส มีปริมาณน้ำฝนไม่ต่ำกว่า 1,500 มิลลิเมตรต่อปี และต้องมีการกระจายน้ำฝนอย่างน้อย 5-8 เดือน มีแหล่งน้ำสะอาดและปริมาณเพียงพอในการให้น้ำได้ตลอดช่วงแล้ง สภาพดินมีชั้นดินลึกไม่ต่ำกว่า 50 เซนติเมตร (สถาบันวิจัยพืชสวน, 2562)

การผลิตกาแพะราบิกาให้ได้ผลผลิตและมีคุณภาพ ต้องมีการจัดการดินและปุ๋ยให้เหมาะสมกับสภาพพื้นที่ ร่วมกับการใช้พันธุ์ที่ดี โดยแต่ละสายพันธุ์มีลักษณะและมีการตอบสนองต่อการใช้ปุ๋ยแตกต่างกัน แต่พบว่าอัตราปุ๋ยที่แนะนำให้ใช้ในปัจจุบันยังเป็นคำแนะนำแบบกว้างๆ อัตราการใช้ไม่เฉพาะเจาะจงสำหรับดินแต่ละพื้นที่ ขาดการตรวจสอบ และไม่คำนึงถึงธาตุอาหารดั้งเดิมที่มีอยู่ในดิน ทำให้การใช้ปุ๋ยตามคำแนะนำดังกล่าวนี้ไม่มีประสิทธิภาพ ส่งผลให้ต้นทุนการผลิตเพิ่มสูงขึ้น และกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในกรณีที่ใช้ปุ๋ยมากเกินไป หรือหากใส่ปุ๋ยน้อยไปก็จะทำให้ธาตุอาหารในดินไม่เพียงพอต่อความต้องการของพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งไนโตรเจน ที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตของกาแพะ ซึ่งกาแพต้องการไนโตรเจนในปริมาณที่ค่อนข้างสูงเพื่อใช้ในการสร้างเนื้อเยื่อ ใบ ดอก และผล แต่ไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารที่มักมีปัญหาสูญเสียไปจากดินได้ง่าย เช่น ถูกชะล้างโดยน้ำ ระเหยไปในรูปก๊าซ ตลอดจนถูกเคลื่อนย้ายไปกับผลผลิตที่เก็บเกี่ยวออกไป (Snoeck and Jadin, 1990) กาแพที่ปลูกโดยไม่ใส่ปุ๋ย ต้องการไนโตรเจนในปริมาณที่มากกว่ากาแพที่ปลูกภายใต้ร่มเงา (Harer, 1962) ดังนั้นจึงควรใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในอัตราที่สูงขึ้น ผลของปุ๋ยไนโตรเจนต่อต้นกาแพที่เด่นชัด คือ ช่วยเร่งการเจริญเติบโตทางลำต้น กิ่งก้าน และใบ นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มจำนวนดอกต่อช่อ และการติดผลได้ด้วย (Mitchell, 1988) กาแพตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจนได้ดีมาก โดยการเพิ่มไนโตรเจนให้กับดินจะช่วยให้ผลผลิตกาแพเพิ่มขึ้น 30 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่ได้ให้ปุ๋ยไนโตรเจน (Miskiu *et al.*, 1972) ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาค้นคว้าการตอบสนองต่อการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราต่างๆ ของกาแพะราบิกา เพื่อให้ได้อัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่เหมาะสม และเป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาการให้คำแนะนำการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนที่เหมาะสมเฉพาะเจาะจงกับสภาพพื้นที่สำหรับการผลิตกาแพะราบิกาต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. ต้นกาแพพันธุ์อะราบิกา ระยะให้ผลผลิต อายุ 5-10 ปี
2. ปุ๋ยเคมี ได้แก่ ปุ๋ยยูเรีย (46-0-0) ปุ๋ยทรูปิเลซุเปอร์ฟอสเฟต (0-46-0) และปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ (0-0-60)
3. สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างดินและพืชในห้องปฏิบัติการ
4. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ และวัสดุวิทยาศาสตร์สำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างดินและพืชในห้องปฏิบัติการ
5. เครื่องมือ และอุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างดินและพืช

วิธีการ

ดำเนินการทดลอง จำนวน 3 แปลง ในพื้นที่ที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 3.6 5.6 และ 6.2 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ แปลงทดลองในศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ (แม่จอนหลวง) ตำบลแม่่นาจร อำเภอแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 1 แปลง พิกัดแปลงที่ 1 47Q 444362X 2061943Y (ต้นกาแพ อายุ 7 ปี) และแปลงทดลองในศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่

(ขุนวาง) ตำบลแม่วิน อำเภอแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 2 แปลง พิกัดแปลงที่ 2 47Q 447940X 2060083Y (ต้นกาแฟ อายุ 8 ปี) และ พิกัดแปลงที่ 3 47Q 447664X 2059810Y (ต้นกาแฟ อายุ 7 ปี)

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) จำนวน 4 ซ้ำๆ ละ 6 ต้น กรรมวิธีเป็น อัตราปุ๋ยไนโตรเจน ได้แก่

1. ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน
2. ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 0.5 เท่าตามคำแนะนำ (55 กรัม N ต่อต้นต่อปี)
3. ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 1.0 เท่าตามคำแนะนำ (110 กรัม N ต่อต้นต่อปี)
4. ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 1.5 เท่าตามคำแนะนำ (165 กรัม N ต่อต้นต่อปี)
5. ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 2.0 เท่าตามคำแนะนำ (220 กรัม N ต่อต้นต่อปี)

ทุกกรรมวิธีใส่ปุ๋ยฟอสเฟตและปุ๋ยโพแทช อัตราตามคำแนะนำ คือ ปุ๋ยฟอสเฟต 46 กรัม P_2O_5 ต่อต้นต่อปี และปุ๋ยโพแทช 90 กรัม K_2O ต่อต้นต่อปี (สถาบันวิจัยพืชสวน, 2562) แบ่งใส่ปุ๋ย 3 ครั้งต่อปี ดังนี้

ครั้งที่ 1 เดือนพฤษภาคม ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราต่างๆ ตามกรรมวิธี และปุ๋ยฟอสเฟต 23 กรัม P_2O_5 ต่อต้น

ครั้งที่ 2 เดือนสิงหาคม ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราต่างๆ ตามกรรมวิธี ปุ๋ยฟอสเฟต 23 กรัม P_2O_5 ต่อต้น และ ปุ๋ยโพแทช 45 กรัม K_2O ต่อต้น

ครั้งที่ 3 เดือนตุลาคม ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราต่างๆ ตามกรรมวิธี และปุ๋ยโพแทช 45 กรัม K_2O ต่อต้น

คัดเลือกแปลงกาแฟอะราบิกาที่ระยะให้ผลผลิต ที่ระยะปลูก 2x2 เมตร จำนวน 400 ต้น เก็บตัวอย่างดิน 4 จุดรอบโคนต้น ก่อนการใส่ปุ๋ยและหลังการใส่ปุ๋ย ที่ระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร และ 15-30 เซนติเมตร นำมาวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมีของดินก่อนการทดลอง ได้แก่ 1) เนื้อดิน โดยวิธี Hydrometer method 2) pH ใช้อัตราส่วนดินต่อน้ำ เท่ากับ 1:1 3) อินทรีย์วัตถุ โดยวิธี Walkley and Black method 4) ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ โดยวิธี Bray-II แล้ววิเคราะห์การเกิดสีด้วยวิธี molybdate ascorbic acid และ 5) โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้โดย NH_4OAc , pH 7 (กลุ่มงานวิจัยเคมีดิน, 2544)

ใส่ปุ๋ยในเดือนพฤษภาคม สิงหาคม และตุลาคม ตามอัตราที่กำหนดในกรรมวิธีต่างๆ (สถาบันวิจัยพืชสวน, 2562) เก็บเกี่ยวผลผลิตกาแฟ สุ่มเก็บตัวอย่างใบ โดยเก็บใบคู่ที่ 3 นับจากปลายยอดของกิ่งประเภท secondary หรือ tertiary (FAO, 2005) 4 ทิศของทรงพุ่ม ไม่เก็บใบที่เป็นโรคเกิน 5% ของพื้นที่ใบ จำนวนต้นละ 30 ใบ และ ผลผลิตกาแฟในแต่ละกรรมวิธี มาวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในพืช ได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม (กลุ่มงานวิจัยเคมีดิน, 2544) พร้อมสุ่มเก็บตัวอย่างดินหลังเก็บเกี่ยว และวัดการเจริญเติบโตหลังใส่ปุ๋ย

บันทึกข้อมูลผลวิเคราะห์ดินก่อนและหลังเก็บเกี่ยวผลผลิตกาแฟ ข้อมูลผลวิเคราะห์พืช และข้อมูลผลผลิต ประเมินผลของการตอบสนองต่อการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในแต่ละกรรมวิธีต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของกาแฟ วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ และวิเคราะห์ผลตอบแทนทางเศรษฐศาสตร์โดยใช้อัตราส่วนระหว่างรายได้ที่เพิ่มขึ้นจากการใช้ปุ๋ยต่อต้นทุนที่เพิ่มขึ้นจากการใช้ปุ๋ย (Value to Cost Ratio; VCR) (Pervaiz *et al.*, 2004)

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2566

สถานที่ทำการทดลอง 1. ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่
2. กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. สมบัติของดินก่อนการทดลอง

ผลวิเคราะห์สมบัติดินก่อนทำการทดลองที่ระดับความลึก 0 - 15 เซนติเมตร ในแปลงที่ 1 พบว่า เนื้อดินเป็นดินเหนียวปนทราย ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) 5.5 ค่าการนำไฟฟ้า 0.08 เดซิซีเมนส์ต่อเมตร ปริมาณอินทรีย์วัตถุ 3.6 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 104 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 193 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ตารางที่ 1) ซึ่งสมบัติดินดังกล่าวเหมาะสมต่อการปลูกกาแฟอาราบิก้า

แปลงที่ 2 พบว่า เนื้อดินเป็นดินเหนียว ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) 5.0 ค่าการนำไฟฟ้า 0.08 เดซิซีเมนส์ต่อเมตร ปริมาณอินทรีย์วัตถุ 5.6 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 77 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 164 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ตารางที่ 1) ซึ่งสมบัติดินดังกล่าวเหมาะสมต่อการปลูกกาแฟอาราบิก้า

และ แปลงที่ 3 พบว่า เนื้อดินเป็นดินร่วนเหนียวปนทราย ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) 5.8 ค่าการนำไฟฟ้า 0.08 เดซิซีเมนส์ต่อเมตร ปริมาณอินทรีย์วัตถุ 6.2 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 215 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ตารางที่ 1) ซึ่งสมบัติดินดังกล่าวเหมาะสมต่อการปลูกกาแฟอาราบิก้า

ตารางที่ 1 สมบัติของดินก่อนทำการทดลองที่ระดับความลึก 0 - 15 เซนติเมตร ณ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่

| สมบัติของดิน | แปลงที่ 1 | แปลงที่ 2 | แปลงที่ 3 | ค่าที่เหมาะสม* |
|--------------------------------------|---------------------|-----------|-------------------------|----------------|
| เนื้อดิน | ดินเหนียว ปนทราย | ดินเหนียว | ดินร่วนเหนียว ปนทราย | - |
| ความเป็นกรด-ด่างของดิน (1:1) | 5.5 | 5.0 | 5.8 | 5.0-6.0 |
| การนำไฟฟ้าของดิน (1:5) (dS/m) | 0.08 | 0.08 | 0.08 | - |
| อินทรีย์วัตถุ (%) | 3.6 | 5.6 | 6.2 | 3.7-5.2 |
| ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (มก./กก.) | 104 | 77 | 215 | 7.4-15.6 |
| โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (มก./กก.) | 193 | 164 | 225 | 76.4-127.2 |

ที่มา : * Sousa *et al.* (2018)

2. การเจริญเติบโตของกาแฟอาราบิก้า

จากการใส่ปุ๋ยตามกรรมวิธีต่างๆ พบว่า การเจริญเติบโตของต้นกาแฟมีเส้นรอบวงโคนต้น ขนาดทรงพุ่มทึบเหนือ-ใต้ และขนาดทรงพุ่มทึบทิศตะวันออก-ตะวันตก ในแปลงที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 3.6 5.6 และ 6.2 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยในแปลงที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 3.6 เปอร์เซ็นต์ ให้เส้นรอบวงโคนต้น ขนาดทรงพุ่มทึบเหนือ-ใต้ และขนาดทรงพุ่มทึบทิศตะวันออก-ตะวันตก ต่ำสุดเฉลี่ย 17.7 162.5 และ 162.5 เซนติเมตร (ตารางที่ 2) ในขณะที่แปลงที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 5.6 เปอร์เซ็นต์ ให้เส้นรอบวงโคนต้น ขนาดทรงพุ่มทึบเหนือ-ใต้ และขนาดทรงพุ่มทึบทิศตะวันออก-ตะวันตก เฉลี่ย 18.2 167.6 และ 169.2 ตามลำดับ (ตารางที่ 3) และแปลงที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 6.2 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มให้เส้นรอบวงโคนต้น ขนาดทรงพุ่มทึบเหนือ-ใต้ และขนาดทรงพุ่มทึบทิศตะวันออก-ตะวันตก สูงสุดเฉลี่ย 20.3 186.7 และ 184.8 ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 2 การเจริญเติบโตของต้นกาแฟแปลงที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 3.6 เปอร์เซ็นต์ ณ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวง เชียงใหม่ (แม่จอนหลวง) ตำบลแม่่นาจร อำเภอแจ้ห่ม จังหวัดเชียงใหม่

| อัตราปุ๋ยไนโตรเจน (กรัม N ต่อต้นต่อปี) | เส้นรอบวงโคนต้น (ซม.) | ขนาดทรงพุ่ม ทิศเหนือ-ใต้ (ซม.) | ขนาดทรงพุ่ม ทิศตะวันออก-ตะวันตก (ซม.) |
|---|--------------------------|-----------------------------------|--|
| 0 | 17.5 | 156.3 | 161.9 |
| 55 | 17.0 | 160.0 | 155.8 |
| 110 | 16.9 | 171.0 | 167.1 |
| 165 | 18.0 | 161.1 | 160.2 |
| 220 | 19.3 | 164.4 | 167.7 |
| Mean | 17.7 | 162.5 | 162.5 |
| F-test | ns | ns | ns |
| CV (%) | 8.4 | 7.4 | 10.5 |

หมายเหตุ ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 3 การเจริญเติบโตของต้นกาแฟแปลงที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 5.6 เปอร์เซ็นต์ ณ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวง เชียงใหม่ (ขุนวาง) ตำบลแม่วีน อำเภอแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่

| อัตราปุ๋ยไนโตรเจน (กรัม N ต่อต้นต่อปี) | เส้นรอบวงโคนต้น (ซม.) | ขนาดทรงพุ่ม ทิศเหนือ-ใต้ (ซม.) | ขนาดทรงพุ่ม ทิศตะวันออก-ตะวันตก (ซม.) |
|---|--------------------------|-----------------------------------|--|
| 0 | 17.4 | 162.9 | 167.1 |
| 55 | 17.7 | 169.8 | 165.2 |
| 110 | 18.8 | 169.2 | 173.8 |
| 165 | 17.6 | 168.1 | 173.3 |
| 220 | 19.6 | 167.9 | 166.5 |
| Mean | 18.2 | 167.6 | 169.2 |
| F-test | ns | ns | ns |
| CV (%) | 8.3 | 5.1 | 4.3 |

หมายเหตุ ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 4 การเจริญเติบโตของต้นกาแฟแปลงที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 6.2 เปอร์เซ็นต์ ณ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวง เชียงใหม่ (ขุนวาง) ตำบลแม่วิน อำเภอแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่

| อัตราปุ๋ยไนโตรเจน (กรัม N ต่อต้นต่อปี) | เส้นรอบวงโคนต้น (ซม.) | ขนาดทรงพุ่ม ทิศเหนือ-ใต้ (ซม.) | ขนาดทรงพุ่ม ทิศตะวันออก-ตะวันตก (ซม.) |
|---|--------------------------|-----------------------------------|--|
| 0 | 19.8 | 179.0 | 183.7 |
| 55 | 20.1 | 194.4 | 191.9 |
| 110 | 20.4 | 188.5 | 177.5 |
| 165 | 20.4 | 185.4 | 185.4 |
| 220 | 20.9 | 186.3 | 185.6 |
| Mean | 20.3 | 186.7 | 184.8 |
| F-test | ns | ns | ns |
| CV (%) | 7.3 | 6.4 | 7.4 |

หมายเหตุ ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

3. ผลผลิตและการตอบสนองต่อการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนของกาแฟอะราบิกา

แปลงที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 3.6 เปอร์เซ็นต์ พบว่า การตอบสนองของกาแฟอะราบิกาต่อปุ๋ยไนโตรเจนจะเห็นได้อย่างชัดเจน และเพิ่มขึ้นตามอัตราปุ๋ยที่ใส่เพิ่ม (Miskiu *et al.*, 1972) ซึ่งกาแฟตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจนที่อัตรา 2.0 เท่าตามคำแนะนำ หรือเมื่อมีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 220 กรัม N ต่อต้นต่อปี (ภาพที่ 1) ซึ่งอัตรานี้อาจยังไม่สูงสุดสำหรับแปลงนี้เพราะกราฟมีลักษณะคล้ายเส้นตรง นอกจากนี้ยังพบว่า การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราดังกล่าว ทำให้ผลผลิตกาแฟเพิ่มขึ้นจากไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 72 เปอร์เซ็นต์ และให้ผลผลิตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยให้ผลผลิตสูงสุด 1,315 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 5)

แปลงที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 5.6 เปอร์เซ็นต์ พบว่า กาแฟตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจนที่อัตรา 1.0 เท่าตามคำแนะนำ หรือใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 110 กรัม N ต่อต้นต่อปี (ภาพที่ 2) ซึ่งทำให้ผลผลิตกาแฟเพิ่มขึ้นจากการไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 58 เปอร์เซ็นต์ และให้ผลผลิตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยให้ผลผลิตสูงสุด 1,098 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 6)

ส่วนในแปลงที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 6.2 เปอร์เซ็นต์ พบว่า กาแฟตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจนที่อัตรา 1.0 เท่าตามคำแนะนำ หรือใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 110 กรัม N ต่อต้นต่อปี (ภาพที่ 3) ซึ่งทำให้ผลผลิตกาแฟเพิ่มขึ้นจากการไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 32 เปอร์เซ็นต์ และให้ผลผลิตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยให้ผลผลิตสูงสุด 1,260 กิโลกรัมต่อไร่ ใกล้เคียงกับการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนที่อัตรา 0.5 เท่าตามคำแนะนำ หรือใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 55 กรัม N ต่อต้นต่อปี ที่ให้ผลผลิต 1,228 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 5 ผลผลิตเมล็ด (กิโลกรัมต่อไร่) ของกาแฟอะราบิกาในแปลงที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 3.6 เปอร์เซ็นต์
 ฤดูกาลผลิตปี 2566 ณ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ (แม่จอนหลวง) ตำบลแม่นาจร อำเภอแจ้ห่ม
 จังหวัดเชียงใหม่ ที่ต้นกาแฟอะราบิกาอายุ 7 ปี

| อัตราปุ๋ยไนโตรเจน (กรัม N ต่อดันต่อปี) | ผลผลิตเมล็ด (กก.ต่อไร่) | ผลผลิตเพิ่มขึ้น (%) |
|---|----------------------------|------------------------|
| 0 | 365 c | - |
| 55 | 479 bc | 23.8 |
| 110 | 603 bc | 39.5 |
| 165 | 870 b | 58.0 |
| 220 | 1,315 a | 72.2 |
| CV (%) | 35.2 | |

ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
 โดยวิธี DMRT

*ผลผลิต = น้ำหนักสดเมล็ดกาแฟ

ตารางที่ 6 ผลผลิตเมล็ด (กิโลกรัมต่อไร่) ของกาแฟอะราบิกาในแปลงที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 5.6 เปอร์เซ็นต์
 ฤดูกาลผลิตปี 2566 ณ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ (ขุนวาง) ตำบลแม่วีน อำเภอแม่ว้าง
 จังหวัดเชียงใหม่ ที่ต้นกาแฟอะราบิกาอายุ 8 ปี

| อัตราปุ๋ยไนโตรเจน (กรัม N ต่อดันต่อปี) | ผลผลิตเมล็ด (กก.ต่อไร่) | ผลผลิตเพิ่มขึ้น (%) |
|---|----------------------------|------------------------|
| 0 | 458 b | - |
| 55 | 837 a | 45.3 |
| 110 | 1,098 a | 58.3 |
| 165 | 766 a | 40.2 |
| 220 | 737 a | 37.9 |
| CV (%) | 13.4 | |

ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
 โดยวิธี DMRT

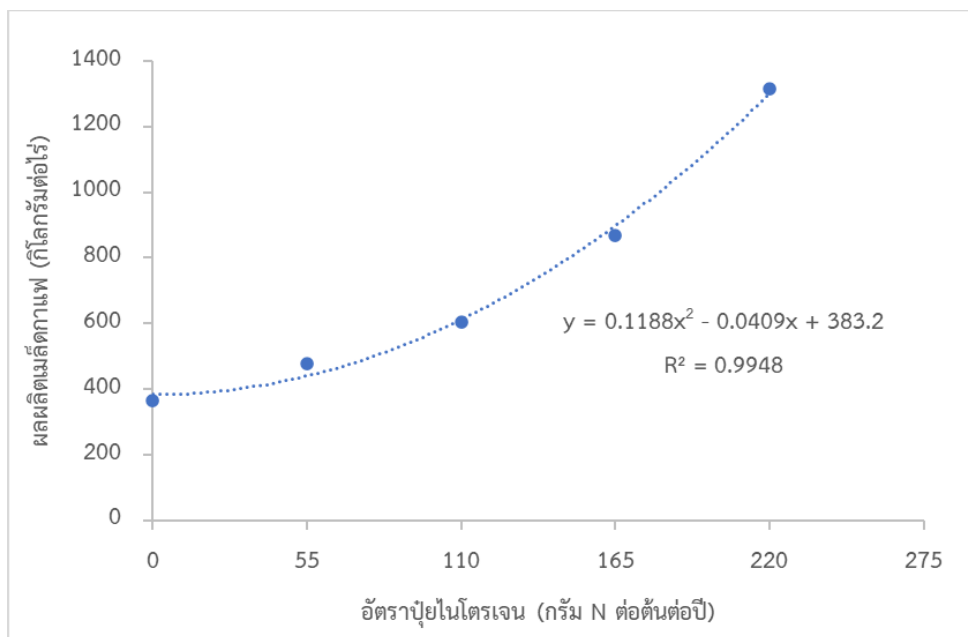
*ผลผลิต = น้ำหนักสดเมล็ดกาแฟ

ตารางที่ 7 ผลผลิตเมล็ด (กิโลกรัมต่อไร่) ของกาแพะราบิกาในแปลงที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 6.2 เปอร์เซ็นต์
 ฤดูกาลผลิตปี 2566 ณ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ (ขุนวาง) ตำบลแม่วิน อำเภอแม่วาง
 จังหวัดเชียงใหม่ ที่ต้นกาแพะราบิกาอายุ 7 ปี

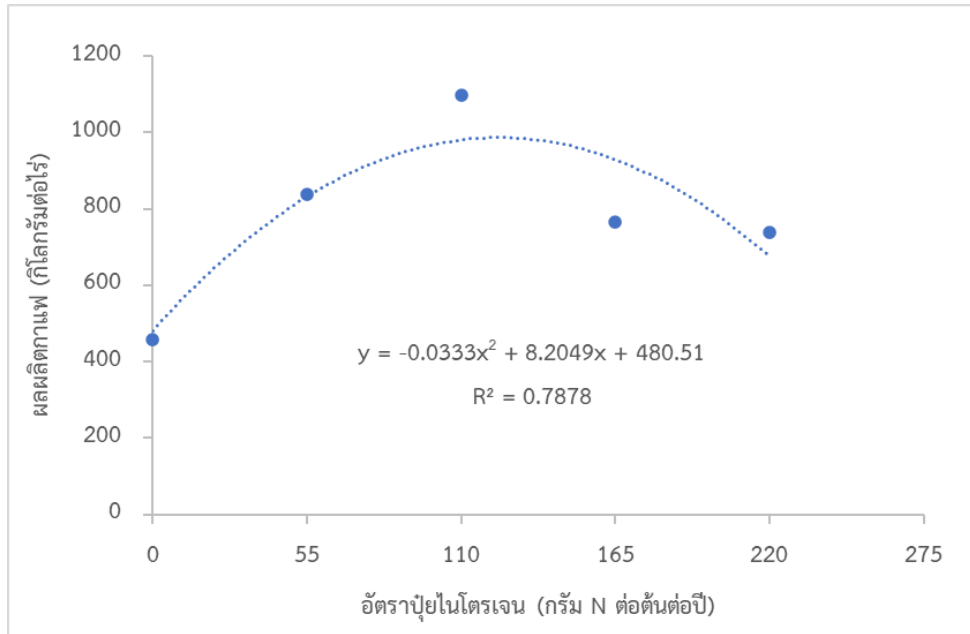
| อัตราปุ๋ยไนโตรเจน (กรัม N ต่อดันต่อปี) | ผลผลิตเมล็ด (กก.ต่อไร่) | ผลผลิตเพิ่มขึ้น (%) |
|---|----------------------------|------------------------|
| 0 | 852 b | - |
| 55 | 1,228 a | 30.6 |
| 110 | 1,260 a | 32.4 |
| 165 | 848 b | -0.5 |
| 220 | 880 b | 3.2 |
| CV (%) | 23.7 | |

ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
 โดยวิธี DMRT

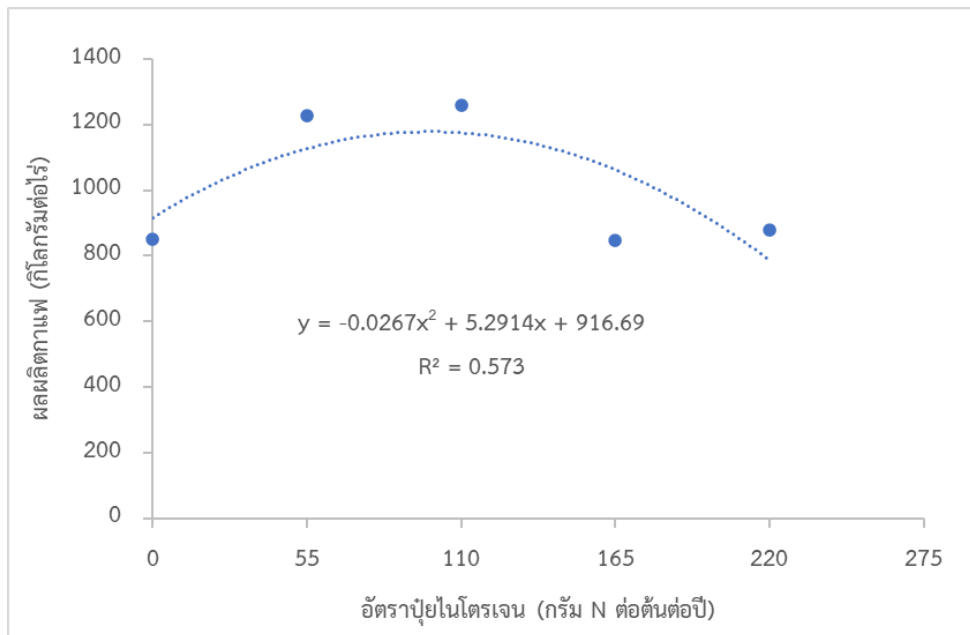
*ผลผลิต = น้ำหนักสดเมล็ดกาแพะ



ภาพที่ 1 การตอบสนองต่อการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนของกาแพะราบิกาแปลงที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ
 3.6 เปอร์เซ็นต์ ที่ต้นกาแพะราบิกาอายุ 7 ปี



ภาพที่ 2 การตอบสนองต่อการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนของกาแฟอะราบิกาแปลงที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 5.6 เปอร์เซ็นต์ ที่ต้นกาแฟอะราบิกาอายุ 8 ปี



ภาพที่ 3 การตอบสนองต่อการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนของกาแฟอะราบิกาแปลงที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 7.2 เปอร์เซ็นต์ ที่ต้นกาแฟอะราบิกาอายุ 7 ปี

4. ปริมาณธาตุอาหารในเมล็ดกาแฟอะราบิกา

การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนทุกอัตรา (55, 110, 165 และ 220 กรัม N ต่อต้นต่อปี) ในแปลงที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 3.6 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมที่สะสมในเมล็ดกาแฟแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 2.0 เท่าตามคำแนะนำ หรือที่อัตรา 220 กรัม N ต่อต้นต่อปี มีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม สูงกว่าอัตราอื่นๆ (ตารางที่ 8) ในขณะที่แปลงที่มีปริมาณ

อินทรีย์วัตถุ 5.6 และ 6.2 เปอร์เซ็นต์ พบว่า การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราต่างๆ ทำให้ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมที่สะสมในเมล็ดกาแฟไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 9 และ 10) นอกจากนี้ยังพบว่า ทั้ง 3 แปลง มีปริมาณธาตุอาหารหลักที่สะสมในเมล็ดกาแฟแตกต่างกัน โดยมีปริมาณไนโตรเจนมากที่สุด รองลงมาคือ โพแทสเซียม และฟอสฟอรัส ตามลำดับ (ตารางที่ 8, 9 และ 10)

ตารางที่ 8 ปริมาณธาตุอาหารที่สะสม (กรัมต่อต้น) ในเมล็ดกาแฟอะราบิกา แปลงที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 3.6 เปอร์เซ็นต์ ที่ต้นกาแฟอะราบิกาอายุ 7 ปี

| อัตราปุ๋ยไนโตรเจน (กรัม N ต่อต้นต่อปี) | น้ำหนักแห้ง เมล็ดกาแฟ (กรัม/ต้น) | ปริมาณธาตุอาหารที่สะสมในเมล็ดกาแฟ (กรัม/ต้น) | | |
|---|-------------------------------------|--|----------|------------|
| | | ไนโตรเจน | ฟอสฟอรัส | โพแทสเซียม |
| 0 | 353 | 3.73 c | 0.30 c | 3.35 c |
| 55 | 418 | 5.08 bc | 0.53 bc | 3.45 c |
| 110 | 416 | 5.68 bc | 0.65 abc | 6.03 b |
| 165 | 436 | 8.50 b | 0.75 ab | 6.33 b |
| 220 | 446 | 12.63 a | 0.90 a | 11.05 a |
| Mean | | 7.12 | 0.63 | 6.04 |
| F-test | | ** | ** | ** |
| CV (%) | | 36.0 | 36.5 | 39.1 |

หมายเหตุ : ** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 9 ปริมาณธาตุอาหารที่สะสม (กรัมต่อต้น) ในเมล็ดกาแฟอะราบิกา แปลงที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 5.6 เปอร์เซ็นต์ ที่ต้นกาแฟอะราบิกาอายุ 8 ปี

| อัตราปุ๋ยไนโตรเจน (กรัม N ต่อต้นต่อปี) | น้ำหนักแห้ง เมล็ดกาแฟ (กรัม/ต้น) | ปริมาณธาตุอาหารที่สะสมในเมล็ดกาแฟ (กรัม/ต้น) | | |
|---|-------------------------------------|--|----------|------------|
| | | ไนโตรเจน | ฟอสฟอรัส | โพแทสเซียม |
| 0 | 377 | 9.68 | 0.53 | 6.28 |
| 55 | 424 | 11.03 | 0.50 | 6.90 |
| 110 | 443 | 12.38 | 0.78 | 7.98 |
| 165 | 440 | 10.15 | 0.65 | 7.85 |
| 220 | 432 | 9.13 | 0.73 | 8.63 |
| Mean | | 10.48 | 0.63 | 7.53 |
| F-test | | ns | ns | ns |
| CV (%) | | 32.7 | 37.2 | 40.3 |

หมายเหตุ : ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 10 ปริมาณธาตุอาหารที่สะสม (กรัมต่อตัน) ในเมล็ดกาแฟอะราบิกา แปลงที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 7.2 เปอร์เซ็นต์ ที่ต้นกาแฟอะราบิกาอายุ 7 ปี

| อัตราปุ๋ยไนโตรเจน (กรัม N ต่อตันต่อปี) | น้ำหนักแห้ง เมล็ดกาแฟ (กรัม/ตัน) | ปริมาณธาตุอาหารที่สะสมในเมล็ดกาแฟ (กรัม/ตัน) | | |
|---|-------------------------------------|--|----------|------------|
| | | ไนโตรเจน | ฟอสฟอรัส | โพแทสเซียม |
| 0 | 332 | 11.90 | 0.65 | 9.78 |
| 55 | 450 | 14.88 | 0.85 | 11.05 |
| 110 | 421 | 14.05 | 0.73 | 10.95 |
| 165 | 397 | 11.45 | 0.55 | 7.83 |
| 220 | 403 | 11.28 | 0.63 | 9.00 |
| Mean | | 12.70 | 0.68 | 9.73 |
| F-test | | ns | ns | ns |
| CV (%) | | 22.8 | 33.2 | 14.4 |

หมายเหตุ : ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

5. ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ

จากการวิเคราะห์ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ โดยใช้อัตราส่วนระหว่างรายได้ที่เพิ่มขึ้นจากการใช้ปุ๋ยต่อรายจ่ายจากการใช้ปุ๋ย หรือค่า Value to Cost Ratio (VCR) หากค่า VCR มากกว่า 2 แสดงว่ามีความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ (Pervaiz *et al.*, 2004) พบว่า ในแปลงที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 3.6 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใส่ปุ๋ย ไนโตรเจน 2.0 เท่าตามคำแนะนำ หรือที่อัตรา 220 กรัม N ต่อตันต่อปี ให้ผลตอบแทนคุ้มค่ากับการลงทุนมากที่สุด ส่วนในแปลงที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 5.6 และ 6.2 เปอร์เซ็นต์ การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนที่ให้ผลตอบแทนคุ้มค่าแก่การลงทุนมากที่สุด คือที่อัตรา 0.5 เท่าตามคำแนะนำ หรือใส่เพียง 55 กรัม N ต่อตันต่อปี (ตารางที่ 11)

ตารางที่ 11 ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจต่อการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนของกาแฟ

| อัตราปุ๋ยไนโตรเจน (กรัม N ต่อต้นต่อปี) | ผลผลิต (กก./ไร่) | ผลผลิตเพิ่ม (กก./ไร่) | รายรับที่เพิ่ม | ต้นทุนจากการใช้ปุ๋ย (บาท/ไร่) | ต้นทุนที่เพิ่ม | VCR |
|--|---------------------|--------------------------|----------------|----------------------------------|----------------|-----|
| 1. แปลงที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 3.6 % | | | | | | |
| 0 | 365 | - | - | 2,880 | - | - |
| 55 | 479 | 114 | 2,280 | 4,224 | 1,344 | 1.7 |
| 110 | 603 | 238 | 4,760 | 5,568 | 2,688 | 1.8 |
| 165 | 870 | 505 | 10,100 | 6,912 | 4,032 | 2.5 |
| 220 | 1,315 | 950 | 19,000 | 8,256 | 5,376 | 3.5 |
| 2. แปลงที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 5.6 % | | | | | | |
| 0 | 458 | - | - | 2,880 | - | - |
| 55 | 837 | 379 | 7,580 | 4,224 | 1,344 | 5.6 |
| 110 | 1,098 | 640 | 12,800 | 5,568 | 2,688 | 4.8 |
| 165 | 766 | 308 | 6,160 | 6,912 | 4,032 | 1.5 |
| 220 | 737 | 279 | 5,580 | 8,256 | 5,376 | 1.0 |
| 3. แปลงที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 6.2 % | | | | | | |
| 0 | 852 | - | - | 2,880 | - | - |
| 55 | 1,228 | 376 | 7,520 | 4,224 | 1,344 | 5.6 |
| 110 | 1,260 | 408 | 8,160 | 5,568 | 2,688 | 3.0 |
| 165 | 848 | -4 | -80 | 6,912 | 4,032 | 0.0 |
| 220 | 880 | 28 | 560 | 8,256 | 5,376 | 0.1 |

หมายเหตุ : Value Cost Ratio (VCR) = $\frac{\text{รายรับที่เพิ่ม}}{\text{ต้นทุนที่เพิ่ม}}$

หมายเหตุ : กาแฟ 1 ไร่ มีจำนวน 400 ต้น (ระยะปลูก 2x2 เมตร)

ราคาผลผลิต : 20 บาท/กก.

ต้นทุนปุ๋ย : ปุ๋ยยูเรีย (46-0-0) ราคา 28 บาท/กก., ปุ๋ยทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต (0-46-0) ราคา 27 บาท/กก.
ปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ (0-0-60) ราคา 30 บาท/กก.

สรุปผลการทดลอง

1. แปลงกาแฟอะราบิกาที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุต่ำที่สุด 3.6 เปอร์เซ็นต์ มีการตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจนสูงสุดเมื่อใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 220 กรัม N ต่อต้นต่อปี โดยมีสมการการตอบสนองต่อไนโตรเจนเป็นแบบ quadratic ดังนี้ $y = 0.1188x^2 - 0.0409x + 383.2$ ($R^2 = 0.9948$) โดยให้ผลผลิตสูงสุดเฉลี่ย 1,315 กิโลกรัมต่อไร่ และให้ผลตอบแทนคุ้มค่าแก่การลงทุนมากที่สุด

2. แปลงกาแฟอะราบิกาที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 5.6 เปอร์เซ็นต์ มีการตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจนสูงสุดเมื่อใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 110 กรัม N ต่อต้นต่อปี โดยมีสมการการตอบสนองต่อไนโตรเจนเป็นแบบ quadratic ดังนี้ $y = -0.0333x^2 + 8.2049x + 480.51$ ($R^2 = 0.7878$) ซึ่งให้ผลผลิตสูงสุดเฉลี่ย 1,098 กิโลกรัมต่อไร่ แต่เมื่อพิจารณาผลตอบแทนทางเศรษฐกิจกลับพบว่า การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนที่อัตรา 0.5 เท่าตามคำแนะนำ หรือใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 55 กรัม N ต่อต้นต่อปี ทำให้ผลตอบแทนคุ้มค่าแก่การลงทุนมากที่สุด

3. แปลงกาแฟอะราบิกาที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 6.2 เปอร์เซ็นต์ มีการตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจนสูงสุดเมื่อใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 110 กรัม N ต่อต้นต่อปี โดยมีสมการการตอบสนองต่อไนโตรเจนเป็นแบบ quadratic ดังนี้ $y = -0.0267x^2 + 5.2914x + 916.69$ ($R^2 = 0.5730$) ที่ให้ผลผลิตเฉลี่ย 1,260 กิโลกรัมต่อไร่ และเมื่อพิจารณาผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ พบว่า การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนที่อัตรา 0.5 เท่าตามคำแนะนำ หรือใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 55 กรัม N ต่อต้นต่อปี ให้ผลตอบแทนคุ้มค่าแก่การลงทุนมากที่สุด

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ร่วมกับกรมวิชาการเกษตร และขอขอบคุณผู้อำนวยการศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ตำบลแม่วิน อำเภอแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่ ที่ได้อนุเคราะห์แปลงกาแฟอะราบิกาสำหรับใช้ในการทดลอง สุดท้ายขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ได้ให้การช่วยเหลือในการทำงานวิจัยในครั้งนี้

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ข้อมูลการตอบสนองของกาแฟอะราบิกาต่อการจัดการธาตุอาหารในดิน สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการให้คำแนะนำการจัดการดินและการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนในการผลิตกาแฟอะราบิกาในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ เพื่อเป็นแนวทางให้เกษตรกรสามารถนำไปใช้ในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตกาแฟอะราบิกาที่ให้ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจคุ้มค่าแก่การลงทุน

2. สามารถนำข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยครั้งนี้ไปขยายผลหรือปรับใช้กับพื้นที่อื่นๆ ซึ่งจะเป็นประโยชน์กับนักวิชาการเกษตรของกรมวิชาการเกษตรและหน่วยงานอื่นๆ นำไปใช้ในการพัฒนางานวิจัยด้านดินและปุ๋ย และสามารถจัดทำคำแนะนำการใช้ปุ๋ยกับกาแฟอะราบิกาสำหรับให้คำแนะนำการใช้ปุ๋ยแก่เกษตรกรได้อย่างถูกต้อง

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มงานวิจัยเคมีดิน. 2544. คู่มือการวิเคราะห์ดินและพืช. กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ. 164 หน้า

สถาบันวิจัยพืชสวน. 2562. คู่มือการจัดการการผลิตกาแฟอะราบิกา. สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2565. สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี 2565. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. 224 หน้า. <http://www.oae.go.th>

Harer, A.E. 1962. Modern Coffee Production. Leonard Hill Ltd., London 495 p.

- Miskiu, E.E., C.R. Donald and N.M. Dale. (1972). Inheritance of physiological effects of stomatal frequency in barley. *Crop. Sci.* 12: 780-783.
- Mitchell, H.W. 1988. Cultivation and harvesting of the Arabica coffee tree, pp. 43-89 In: R.J. Clarke and R. Macrae (eds.). *Coffee*. Elsevier Applied Science, London.
- Pervaiz, Z., Hussain, K., Kazmi, S.S.H. and Gill, K.H. 2004. Agronomic efficiency of different N:P ratios in rain fed wheat. *International Journal of Agriculture & Biology*. 3: 455-457.
- Snoeck, J. and P Jadin. 1990. Calculation method to study mineral fertilization of coffee trees based on soil analyses. *Hort. Abstr.* 61(1): 96.
- Sousa, S. J., Neves, L. C. J., Martinez, H. E. P. and Alvarez V, V. H. 2017. Relationship between Coffee Leaf Analysis and Soil Chemical Analysis. *Rev Bra Ciencia Solo*. 2018;42: e0170109.
- Walkley, A. and I.A. Black. 1934. An Examination of Degtjajeff Method for Determining Soil Organic Matter and a Proposed Modification of the Chronic Acid Titration Method. *Soil Sci.* 37: 29-38.

ศึกษาการตอบสนองต่อการใช้ปุ๋ยฟอสเฟตของกาแฟอาราบิกา
Study on Response of Arabica Coffee to Phosphate Fertilizer
Application

วริศ แคนคอง¹ ปิยะนันท์ วิวัฒน์วิทยา¹ กิตจเมธ แจ่มศิริกุล¹ ณัฐพงศ์ ศรีสมบัติ¹
ฉัตรตัญญา ช่มอาวุธ² ศิริภรณ์ จรินทร³

Varis Khaenkhongh¹ Piyanun Wiwatwittaya¹ Kitjamate Jangsirikul¹
Nuttapong Srisombat¹ Chatnapa Khomarwut² Siriporn Jarintorn³

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Fertilizer management is a factor that affects production costs and the potential of coffee production in terms of both quantity and quality. This experiment aimed to study phosphate response on Arabica coffee grown in in Chiang Mai province with the different soil phosphorus (P) content The experiment was conducted in two experimental plots at the Royal Agricultural Research Center, Chiang Mai (Khun Wang), with coffee plants aged 12 years and 8 years, and in one farmer's plot with coffee plants aged 7 years. The experimental design was a Randomized Complete Block (RCB) with 4 replications of 6 plants each. Fertilizer rates included 5 levels of phosphate fertilizer: 0, 23, 46, 69, and 92 g P₂O₅/plant. Nitrogen and potash fertilizers were applied at recommended rates of 110 g.N /plant and 90 g K₂O/ plant for all treatments. The results showed that in plots with available P content of 9.60 mg/kg, applying 92 g P₂O₅ /plant was the most effective in phosphate fertilizer use, yielding an average of 715 g/plant. For plots with available P content of 64.60 mg/kg, applying 69 g P₂O₅ /plant was the most effective, yielding an average of 965 g./plant. As for plots with available P content of 86.20 mg/kg, applying 69 g P₂O₅ /plant was the most effective, yielding an average of 2,113 g/plant

Keywords: Arabica Coffee, Phosphate Fertilizer, Fertilizer Response

¹ กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

¹ Agricultural Production Science Research and Development Division

² ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแพร่

² Phare Agricultural Research and Development Center

³ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่

³ Chiang Mai Royal Agricultural Research Center

บทคัดย่อ

การจัดการปุ๋ยเป็นปัจจัยที่มีผลต่อต้นทุนการผลิตและศักยภาพการผลิตกาแพะราบิกาทั้งในด้านปริมาณและคุณภาพ การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการตอบสนองต่อการใส่ปุ๋ยฟอสเฟตของกาแพะราบิกาที่ปลูกบนพื้นที่ที่มีปริมาณธาตุอาหารในดินแตกต่างกันในจังหวัดเชียงใหม่ ดำเนินการทดลองที่แปลงทดลองในศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ (ขุนวาง) 2 แปลง ต้นกาแพอายุ 12 ปี และ 8 ปี และแปลงเกษตรกร 1 แปลง ต้นกาแพอายุ 7 ปี วางแผนการทดลองแบบ Randomized complete block (RCB) จำนวน 4 ซ้ำๆ ละ 6 ต้น กรรมวิธีเป็นอัตราปุ๋ยฟอสเฟต มี 5 อัตรา ได้แก่ 0 23 46 69 และ 92 กรัม P_2O_5 ต่อต้น โดยทุกกรรมวิธีใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และปุ๋ยโพแทช อัตราตามคำแนะนำ คือ 110 กรัม N ต่อต้น และ 90 กรัม K_2O ต่อต้น ผลการทดลอง พบว่า แปลงที่มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 9.60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม การใส่ปุ๋ยฟอสเฟต อัตรา 92 กรัม P_2O_5 ต่อต้น จะมีประสิทธิภาพในการใช้ปุ๋ยฟอสเฟตมากที่สุด ให้ผลผลิตเฉลี่ย 715 กรัมต่อต้น แปลงที่มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 64.60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมการใส่ปุ๋ยฟอสเฟต อัตรา 69 กรัม P_2O_5 ต่อต้น จะมีประสิทธิภาพในการใช้ปุ๋ยฟอสเฟตมากที่สุด ให้ผลผลิตเฉลี่ย 965 กรัมต่อต้น ส่วนแปลงที่มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 86.20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม การใส่ปุ๋ยฟอสเฟต อัตรา 69 กรัม P_2O_5 ต่อต้น มีประสิทธิภาพในการใช้ปุ๋ยฟอสเฟตมากที่สุด ให้ผลผลิตเฉลี่ย 2,113 กรัมต่อต้น

คำสำคัญ: กาแพะราบิกา ปุ๋ยฟอสเฟต การตอบสนองต่อปุ๋ย

บทนำ

กาแพะราบิกาเป็นพืชสำคัญทางเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ปัจจุบันการบริโภคกาแพมีแนวโน้มสูงขึ้น ส่งผลให้ความต้องการเมล็ดกาแพเพิ่มขึ้นตามไปด้วย ในปี 2566 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกกาแพะราบิกาประมาณ 123,098 ไร่ ผลผลิตรวม 9,135 ตัน ผลผลิตต่อไร่ 91 กิโลกรัม มีแหล่งปลูกที่สำคัญส่วนใหญ่ปลูกในพื้นที่ภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย แม่ฮ่องสอน และน่าน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2567) สภาพพื้นที่ที่เหมาะสมในการปลูกกาแพะราบิกาควรมีความสูงไม่ต่ำกว่า 700 เมตรจากระดับน้ำทะเล อุณหภูมิเฉลี่ย 15-25 องศาเซลเซียส มีปริมาณน้ำฝนไม่ต่ำกว่า 1,500 มิลลิเมตรต่อปี และต้องมีการกระจายน้ำฝนอย่างน้อย 5-8 เดือน มีแหล่งน้ำสะอาดและปริมาณเพียงพอในการให้น้ำได้ตลอดช่วงแล้ง สภาพดินมีชั้นดินลึกไม่ต่ำกว่า 50 เซนติเมตร ความเป็นกรด-ด่าง 5.5-6.0 และมีการระบายน้ำดี (สถาบันวิจัยพืชสวน, 2562) การผลิตกาแพะราบิกาให้ได้ผลผลิตสูงและมีคุณภาพนั้นนอกจากการใช้พันธุ์ที่เหมาะสมกับสภาพพื้นที่แล้วต้องมีการจัดการดินและการใส่ปุ๋ยให้เหมาะสมกับสภาพพื้นที่ปลูกและความอุดมสมบูรณ์ของดิน เนื่องจากกาแพแต่ละสายพันธุ์มีลักษณะประจำพันธุ์และมีการตอบสนองต่อการใส่ปุ๋ยแตกต่าง FAO (2005) รายงานว่าระดับความอุดมสมบูรณ์ในดินที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกาแพะราบิกาที่ประเทศลาว พบว่า ปริมาณอินทรีย์วัตถุ อยู่ในช่วง 1-3 เปอร์เซ็นต์ และฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ อยู่ในช่วง 60-80 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วน Sousa *et al.* (2017) พบว่าระดับปริมาณธาตุอาหารพืชที่เหมาะสมในใบกาแพะราบิกาในบราซิล พบว่า ไนโตรเจนอยู่ในช่วง 3.3-3.6 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัส อยู่ในช่วง 0.14-0.16 เปอร์เซ็นต์ และโพแทสเซียม อยู่ในช่วง 2.4-2.7 เปอร์เซ็นต์ และระดับความอุดมสมบูรณ์ในดินที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกาแพะราบิกา พบว่า ปริมาณอินทรีย์วัตถุ อยู่ในช่วง 3.7-5.2 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ อยู่ในช่วง 7.4-15.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ อยู่ในช่วง 76.4-127.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม นอกจากนี้สถาบันวิจัยพืชสวน (2562) แนะนำการใช้ปุ๋ยเคมีตามอายุของต้นกาแพ และใส่ปุ๋ยอินทรีย์ 3-5 กิโลกรัมต่อต้นหลังการเก็บเกี่ยว โดยระยะเวลาการใส่ปุ๋ยกาแพะราบิกานั้นขึ้นอยู่กับระดับความสูงของสภาพพื้นที่ปลูกซึ่งมีผลต่ออายุการเก็บเกี่ยว

ฟอสฟอรัส (P) เป็นธาตุอาหารพืชที่จำเป็นและพืชต้องการปริมาณมากเพื่อการเติบโต โดยเฉพาะการเจริญของราก การออกดอก และการให้ผลผลิตพืช ฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบสำคัญใน deoxyribonucleic acid (DNA), ribonucleic acid (RNA), adenosine triphosphate (ATP) และ Phospholipids ในสิ่งมีชีวิต ฟอสฟอรัสมีบทบาทในการถ่ายโอนพลังงาน โดยสารประกอบฟอสฟอรัสอินทรีย์เป็นตัวเคลื่อนย้ายพลังงานจากปฏิกิริยาหนึ่งไปสู่อีกปฏิกิริยาหนึ่งภายในเซลล์ (Leytem and Mikkelsen, 2005) ฟอสฟอรัสเป็นหนึ่งในสามธาตุอาหารหลักที่ไ้ลงไปในดินในรูปของปุ๋ย สำหรับกาแพฟอสฟอรัสช่วยในการเจริญเติบโตของราก และเพิ่มประสิทธิภาพการดูดธาตุโพแทสเซียม กระตุ้นการออกดอก สร้างเมล็ด เพิ่มความต้านทานโรคและแมลง (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2557) ปัจจุบันผู้คนนิยมเติมกาแพเป็นจำนวนมาก ทำให้ตลาดมีการขยายตัว เกษตรกรจึงสนใจปลูกกาแพอะราบิกาเพิ่มมากขึ้น แต่เกษตรกรส่วนใหญ่ยังขาดความรู้ความเข้าใจเทคโนโลยีการผลิตที่เหมาะสม เช่น การจัดการดิน ปุ๋ย การเกษตรกรรม ทำให้ผลผลิตส่วนใหญ่ไม่ได้มาตรฐาน ปริมาณผลผลิตไม่เพียงพอต่อความต้องการของโรงงานแปรรูป และปัจจุบันยังไม่มีคำแนะนำการใช้ปุ๋ยที่เฉพาะเจาะจงกับสภาพพื้นที่สำหรับกาแพอะราบิกา ดังนั้นจึงจำเป็นต้องศึกษาการตอบสนองต่อการใช้ปุ๋ยฟอสเฟตของกาแพอะราบิกาเพื่อให้ได้อัตราปุ๋ยที่เหมาะสม และเป็นข้อมูลพื้นฐานในการให้คำแนะนำการใช้ปุ๋ยฟอสเฟตที่เหมาะสมเฉพาะพื้นที่ในการผลิตกาแพอะราบิกาต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. กาแพพันธุ์อะราบิกา อายุ 7, 8 และ 12 ปี
2. ปุ๋ยเคมี ได้แก่ ปุ๋ยยูเรีย (46-0-0) ปุ๋ยทรูปเปิดชูเปอร์ฟอสเฟต (0-46-0) และปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ (0-0-60)
3. สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างดินและพืชในห้องปฏิบัติการ
4. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ และวัสดุวิทยาศาสตร์สำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างดินและพืชในห้องปฏิบัติการ
5. เครื่องมือ และอุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างดินและพืช

วิธีการ

1. ดำเนินการทดลองที่แปลงทดลองในศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ (ขุนวาง) ตำบลแม่วีน อำเภอแม่วีน จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 2 แปลง พิกัดแปลงที่ 1 47Q 447918X 2060110Y มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในระดับปานกลาง (Available-P 64.36 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) กาแพอายุ 12 ปี ระยะปลูก 2x2 เมตร จำนวน 400 ต้นต่อไร่ แปลงที่ 2 47Q 447940X 2060083Y ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในระดับสูง (Available-P 86.20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) กาแพอายุ 8 ปี ระยะปลูก 2x2 เมตร จำนวน 400 ต้นต่อไร่ และ แปลงที่ 3 แปลงเกษตรกร ตำบลแม่วีน อำเภอแม่วีน จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 1 แปลง พิกัดแปลง พิกัดแปลง 47Q 448201X 2059782Y ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในระดับต่ำ (Available-P 9.30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) กาแพอายุ 7 ปี ระยะปลูก 2x2 เมตร จำนวน 400 ต้นต่อไร่
2. เก็บตัวอย่างดิน 4 จุดรอบโคนต้น ก่อนการใส่ปุ๋ยและหลังการใส่ปุ๋ย โดยเก็บที่ระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร นำมาผึ่งให้แห้งในที่ร่มเมื่อตัวอย่างดินแห้งแล้ว ทำการแยกเศษพืชและกรวดออก นำตัวอย่างดินไปร่อนผ่านตะแกรงขนาด 0.5 และ 2 มิลลิเมตร จากนั้นจึงนำไปวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีของดินในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เนื้อดินด้วยวิเคราะห์การแจกกระจายขนาดอนุภาคดิน (particle size distribution: sand, silt, clay) โดยวิธี pipette (Gee and Bauder, 1986) วิเคราะห์สมบัติทางเคมีประกอบด้วย พีเอช ดินต่อน้ำ 1:1 (pH 1:1) ค่าการนำไฟฟ้าขณะดินอิ่มตัวด้วยน้ำ ดินต่อน้ำ 1:5 (ECe 1:5) ปริมาณคาร์บอนอินทรีย์ (organic carbon: OC) โดยวิธี Walkley and Black และคำนวณเป็นปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน (OM) โดย $OC \times 1.724$ โดยวิธี

Kjeldahl distillation วิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Available phosphorus) โดยวิธี Bray II (Bray and Kurtz, 1945) วิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด (Total phosphorus; Total-P) ด้วยการย่อยตัวอย่างดินด้วยกรดไนตริก:เพอร์คลอริก อัตราส่วน 3:1 แล้ววัดปริมาณฟอสฟอรัสด้วยเครื่อง spectrophotometer วิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ แคลเซียม และแมกนีเซียมที่สกัดได้ โดยวิธีสกัดด้วย 1M NH₄OAc แล้ววัดด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) (กลุ่มงานวิจัยเคมีดิน, 2544; National Soil Survey Center, 1996)

3. วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) จำนวน 4 ซ้ำๆ ละ 6 ต้น ประกอบด้วย 5 กรรมวิธี

- 1) ไม่ใส่ปุ๋ยฟอสเฟต
- 2) ใส่ปุ๋ยฟอสเฟต 0.5 เท่าตามคำแนะนำ (23 กรัม P₂O₅ ต่อต้น)
- 3) ใส่ปุ๋ยฟอสเฟต 1.0 เท่าตามคำแนะนำ (46 กรัม P₂O₅ ต่อต้น)
- 4) ใส่ปุ๋ยฟอสเฟต 1.5 เท่าตามคำแนะนำ (69 กรัม P₂O₅ ต่อต้น)
- 5) ใส่ปุ๋ยฟอสเฟต 2.0 เท่าตามคำแนะนำ (92 กรัม P₂O₅ ต่อต้น)

ทุกกรรมวิธีใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และปุ๋ยฟอสเฟต อัตราตามคำแนะนำ คือ ปุ๋ยไนโตรเจน 110 กรัม N ต่อต้น และปุ๋ยโพแทช 90 กรัม K₂O ต่อต้น (สถาบันวิจัยพืชสวน, 2562)

4. ปุ๋ยไนโตรเจนแบ่งใส่ 3 ครั้งในเดือนพฤษภาคม สิงหาคม และตุลาคม จำนวน 32, 55 และ 23 กรัม N ตามลำดับ ปุ๋ยฟอสเฟต แบ่งใส่ 2 ครั้งๆ ละ 23 กรัม P₂P₅ ในเดือน พฤษภาคมและสิงหาคม ส่วนปุ๋ยโพแทชแบ่งใส่ 2 ครั้ง ครั้งละ 45 กรัม K₂O ในเดือน สิงหาคม และตุลาคม (สถาบันวิจัยพืชสวน, 2562) พร้อมทั้งดูแลกำจัดวัชพืช และแมลงศัตรูพืช

5. เก็บเกี่ยวผลผลิตกาแฟ

6. วิเคราะห์ความเข้มข้นธาตุอาหารผลผลิตเมล็ดกาแฟ โดยวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน ปริมาณฟอสฟอรัส ปริมาณโพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม ทั้งหมด (กลุ่มงานวิจัยเคมีดิน, 2544)

7. ประเมินผลของการตอบสนองต่อการใส่ปุ๋ยฟอสเฟตในแต่ละกรรมวิธี ต่อผลผลิตของกาแฟ และวัดการเจริญเติบโตหลังใส่ปุ๋ย

8. วิเคราะห์วิเคราะห์หาผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ หรือค่า Value Cost Ratio (VCR) (Pevaiz *et al.*, 2004)

9. บันทึกข้อมูลผลวิเคราะห์ดิน ข้อมูลผลวิเคราะห์พืช และข้อมูลผลผลิต

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2566

สถานที่ทำการทดลอง 1. กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร
2. ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ และแปลงเกษตรกร ตำบลแม่วีน อำเภอแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. สมบัติของดินก่อนทำการทดลอง

1.1 แปลงที่มีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 9.60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พิกัดแปลง 47Q 448201X 2059782Y ผลการวิเคราะห์ดินก่อนทำการทดลองที่ระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร พบว่า ดินมีเนื้อดินเป็นดินร่วนเหนียวปนทราย มีค่าปฏิกิริยาดิน 5.5 ซึ่งจัดเป็นดินกรดจัด ค่าการนำไฟฟ้าของดิน 0.06 เดซิซีเมนต่อเมตร ดินไม่มีความเค็ม ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินอยู่ในระดับสูง เท่ากับ 16.4 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด 1,071 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณ

ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินอยู่ในระดับต่ำ เท่ากับ 9.30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินอยู่ในระดับสูง เท่ากับ 77.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ตารางที่ 1)

1.2 แปลงที่มีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 64.60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พิกัดแปลง 47Q 447918X 2060110Y ผลการวิเคราะห์ดินก่อนทำการทดลองที่ระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร พบว่า ดินมีเนื้อดินเป็นดินร่วนเหนียวปนทราย มีค่าปฏิกิริยาดิน 5.2 ซึ่งจัดเป็นดินกรดจัด ค่าการนำไฟฟ้าของดิน 0.04 เดซิซีเมนต่อเมตร ดินไม่มีความเค็ม ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินอยู่ในระดับสูง เท่ากับ 6.9 เปอร์เซ็นต์ เปอร์เซ็นต์ ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด 909 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินอยู่ในระดับปานกลาง เท่ากับ 64.36 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้อยู่ในระดับสูง 161 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

1.3 แปลงที่มีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 86.20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พิกัดแปลง 47Q 447940 2060083 ผลการวิเคราะห์ดินก่อนทำการทดลองที่ระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร พบว่า ดินมีเนื้อดินเป็นดินเหนียว มีค่าปฏิกิริยาดิน 5.1 ซึ่งจัดเป็นดินกรดจัด ค่าการนำไฟฟ้าของดิน 0.04 เดซิซีเมนต่อเมตร ดินไม่มีความเค็ม ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินอยู่ในระดับสูง เท่ากับ 5.6 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด 739 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินอยู่ในระดับสูง เท่ากับ 86.20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งมีในปริมาณที่สูงเกินไปอาจทำให้พืชดูดใช้สังกะสีลดลง (ยงยุทธ, 2558) และอาจกระทบต่อสภาพแวดล้อมในแหล่งน้ำที่เรียกว่า กระบวนการยูโทรฟิเคชัน (eutrophication) (ศุภมาศ, 2545) และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินอยู่ในระดับสูง เท่ากับ 186 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 สมบัติทางกายภาพและเคมีของดินปลูกกาแฟอะราบิกา ตำบลแม้วิน อำเภอแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่

| แปลง | เนื้อดิน | pH (1:1) | (ECe) (1:5) (dS/m) | OM (%) | Total-P (มก./กก.) | Avail-P (มก./กก.) | Avail-K (มก./กก.) | Exch.Ca (มก./กก.) | Exch.Mg (มก./กก.) |
|---|---------------------|-------------|--------------------------|-----------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| แปลงที่มีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 9.6 มก./กก. | ดินร่วนเหนียวปนทราย | 5.5 | 0.05 | 16.1 | 1,071 | 9.6 | 194 | 923 | 194 |
| แปลงที่มีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 64.6 มก./กก./กก. | ดินร่วนเหนียว | 5.2 | 0.03 | 6.9 | 909 | 64.6 | 161 | 408 | 113 |
| แปลงที่มีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 86.20 มก./กก. | ดินเหนียว | 5.1 | 0.04 | 5.6 | 739 | 86.2 | 209.0 | 290 | 53 |
| ค่าที่เหมาะสม | - | 5.0-6.0* | - | 3.7-5.2* | - | 60-80** | 76.4-127.2* | - | - |

ที่มา : * Sousa et al. (2018) **FAO (2005)

2. การเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของกาแฟอะราบิกา

2.1 แปลงที่มีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 9.60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากการใส่ปุ๋ยตามกรรมวิธีต่างๆ พบว่าการเจริญเติบโตของต้นกาแฟมีเส้นรอบวงโคนต้น ขนาดทรงพุ่มทึบเหนือ-ใต้ และขนาดทรงพุ่มทึบตะวันออก-ตะวันตก ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยทุกกรรมวิธีมีเส้นรอบวงโคนต้น เฉลี่ย 12 เซนติเมตร ขนาดทรงพุ่มทึบเหนือ-ใต้ เฉลี่ย 162 เซนติเมตร และขนาดทรงพุ่มทึบตะวันออก-ตะวันตก เฉลี่ย 166 เซนติเมตร (ตารางที่ 2) ผลผลิต พบว่าการใส่ปุ๋ยตามกรรมวิธีต่างๆ ทำให้ผลผลิตกาแฟแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยฟอสเฟต

2.0 เท่า (92 ก.P₂O₅/ตัน) ให้ผลผลิตเฉลี่ยสูงสุดคือเท่ากับ 715 กรัมต่อต้น รองลงมาคือ กรรมวิธีการใส่ปุ๋ยฟอสเฟต 69, 46, 23 ก.P₂O₅/ตัน และ ไม่ใส่ปุ๋ยฟอสเฟตตามลำดับ ซึ่งให้ผลผลิตเฉลี่ย เท่ากับ 553, 370, 253 และ 147 กรัมต่อต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

2.2 แปลงที่มีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 64.60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่า การเจริญเติบโตของต้นกาแพ มีเส้นรอบวงโคนต้น ขนาดทรงพุ่มทึบเหนือ-ใต้ และขนาดทรงพุ่มทึบตะวันออก-ตะวันตก ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยทุกกรรมวิธีมีเส้นรอบวงโคนต้น เฉลี่ย 19 เซนติเมตร ขนาดทรงพุ่มทึบเหนือ-ใต้ เฉลี่ย 181 เซนติเมตร และขนาดทรงพุ่มทึบตะวันออก-ตะวันตก เฉลี่ย 193 เซนติเมตร (ตารางที่ 3) ผลผลิต พบว่า การใส่ปุ๋ยตามกรรมวิธีต่างๆ ทำให้ผลผลิตกาแพแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยฟอสเฟต 1.5 และ 2.0 เท่า (69 และ 92 ก.P₂O₅/ตัน) ให้ผลผลิตเฉลี่ยสูงสุดคือเท่ากับ 965 และ 925 กรัมต่อต้น รองลงมาคือ กรรมวิธีการใส่ปุ๋ยฟอสเฟต 46, 23 ก.P₂O₅/ตัน และ ไม่ใส่ปุ๋ยฟอสเฟต ตามลำดับ ซึ่งให้ผลผลิตเฉลี่ย 625, 400 และ 208 กรัมต่อต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

2.3 แปลงที่มีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 86.20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากการใส่ปุ๋ยตามกรรมวิธีต่างๆ พบว่า การเจริญเติบโตของต้นกาแพมีเส้นรอบวงโคนต้น และขนาดทรงพุ่มทึบตะวันออก-ตะวันตก ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยทุกกรรมวิธีมีเส้นรอบวงโคนต้น เฉลี่ย 18 เซนติเมตร และขนาดทรงพุ่มทึบตะวันออก-ตะวันตก เฉลี่ย 188 เซนติเมตร ขณะที่ขนาดทรงพุ่มทึบเหนือ-ใต้ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีการใส่ปุ๋ยฟอสเฟต 69 และ 92 ก.P₂O₅/ตัน มีขนาดขนาดทรงพุ่มทึบเหนือ-ใต้สูงกว่ากรรมวิธีใส่ปุ๋ยฟอสเฟต 23 ก.P₂O₅/ตัน และ ไม่ใส่ปุ๋ยฟอสเฟตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งมีขนาดทรงพุ่มทึบเหนือ-ใต้เฉลี่ยเท่ากับ 200 และ 198 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4) ผลผลิต พบว่า กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยฟอสเฟต 1.0, 1.5 และ 2.0 เท่า (46, 69 และ 92 ก.P₂O₅/ตัน) ให้ผลผลิตเฉลี่ยสูงกว่ากรรมวิธี ใส่ปุ๋ยฟอสเฟต 0.5 เท่า และไม่ใส่ปุ๋ยฟอสเฟต อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ คือเท่ากับ 1,925, 2,113 และ 1,910 กรัมต่อต้น รองลงมาคือ กรรมวิธีการใส่ปุ๋ยฟอสเฟต 23 ก.P₂O₅/ตัน และ ไม่ใส่ปุ๋ยฟอสเฟต ตามลำดับ ซึ่งให้ผลผลิตเฉลี่ย 1,053 และ 665 กรัมต่อต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 2 การเจริญเติบโตของต้นกาแพแปลงที่มีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 9.60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมกาแพอายุ 7 ปี

| กรรมวิธี (ก.N-P ₂ O ₅ -K ₂ O/ตัน) | เส้นรอบวงโคนต้น (ซม.) | ขนาดทรงพุ่ม ทึบเหนือ-ใต้ (ซม.) | ขนาดทรงพุ่ม ทึบตะวันออก-ตะวันตก (ซม.) | ผลผลิต (กรัม/ต้น) |
|---|--------------------------|-----------------------------------|--|----------------------|
| 110-0-90 | 12 | 159 | 165 | 148 d |
| 110-23-90 | 12 | 160 | 166 | 253 d |
| 110-46-90 | 12 | 160 | 166 | 370 c |
| 110-69-90 | 13 | 164 | 166 | 553 b |
| 110-92-90 | 13 | 165 | 166 | 715 a |
| Mean | 12 | 162 | 166 | 408 |
| F-test | ns | ns | ns | ** |
| CV (%) | 9.1 | 4.1 | 4.6 | 18.41 |

หมายเหตุ ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

** = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 3 การเจริญเติบโตของต้นกาแฟแปลงที่มีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 64.60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม กาแฟอายุ 12 ปี

| กรรมวิธี (ก.N-P ₂ O ₅ -K ₂ O/ตัน) | เส้นรอบวงโคนต้น (ซม.) | ขนาดทรงพุ่ม ทิศเหนือ-ใต้ (ซม.) | ขนาดทรงพุ่ม ทิศตะวันออก-ตะวันตก (ซม.) | ผลผลิต (กรัม/ต้น) |
|---|--------------------------|-----------------------------------|--|----------------------|
| 110-0-90 | 18 | 181 | 180 | 208 d |
| 110-23-90 | 18 | 181 | 184 | 400 c |
| 110-46-90 | 18 | 192 | 197 | 625 b |
| 110-69-90 | 20 | 194 | 202 | 965 a |
| 110-92-90 | 19 | 192 | 201 | 925 a |
| Mean | 19 | 181 | 193 | 625 |
| F-test | ns | ns | ns | ** |
| CV (%) | 8.0 | 9.2 | 10.7 | 15.14 |

หมายเหตุ ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

** = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 4 การเจริญเติบโตของต้นกาแฟแปลงที่มีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 86.20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม กาแฟอายุ 8 ปี

| กรรมวิธี (ก.N-P ₂ O ₅ -K ₂ O/ตัน) | เส้นรอบวงโคน ต้น (ซม.) | ขนาดทรงพุ่ม ทิศเหนือ-ใต้ (ซม.) | ขนาดทรงพุ่ม ทิศตะวันออก-ตะวันตก (ซม.) | ผลผลิต (กรัม/ต้น) |
|---|---------------------------|-----------------------------------|--|----------------------|
| 110-0-90 | 17 | 1767 b | 179 | 665 c |
| 110-23-90 | 19 | 179 b | 183 | 1,053 b |
| 110-46-90 | 17 | 187 ab | 191 | 1,925 a |
| 110-69-90 | 18 | 198 a | 193 | 2,113 a |
| 110-92-90 | 18 | 200 a | 195 | 1,910 a |
| Mean | 18 | 188 | 188 | 1,533 |
| F-test | ns | * | ns | ** |
| CV (%) | 12.6 | 5.8 | 6.1 | 13.82 |

หมายเหตุ ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

* = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

** = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% โดยวิธี DMRT

3. ปริมาณธาตุอาหารในเมล็ดกาแฟอะราบิกา

3.1 แปลงที่มีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 9.60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่า การใส่ปุ๋ยฟอสเฟต 92 ก.P₂O₅/ตัน ทำให้ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมที่ในเมล็ดกาแฟสูงกว่าอัตราอื่นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยมีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม ในเมล็ดกาแฟเฉลี่ย 4.34, 0.28, 4.81, 0.33 และ 0.35 กรัมต่อต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ปริมาณธาตุอาหารในเมล็ดกาแฟแปลงที่มีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 9.60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

| กรรมวิธี (ก.N-P ₂ O ₅ -K ₂ O/ตัน) | น้ำหนักแห้ง เมล็ดกาแฟ (กรัม/ตัน) | ไนโตรเจน กรัม/ตัน | ฟอสฟอรัส กรัม/ตัน | โพแทสเซียม กรัม/ตัน | แคลเซียม กรัม/ตัน | แมกนีเซียม กรัม/ตัน |
|---|--|----------------------|----------------------|------------------------|----------------------|------------------------|
| 110-0-90 | 49 | 0.87d | 0.06d | 0.92e | 0.08d | 0.07d |
| 110-23-90 | 84 | 1.50cd | 0.10cd | 1.78d | 0.10cd | 0.12cd |
| 110-46-90 | 123 | 2.08c | 0.13c | 2.58c | 0.15c | 0.16c |
| 110-69-90 | 184 | 3.48b | 0.21b | 3.68b | 0.25b | 0.27b |
| 110-92-90 | 238 | 4.34a | 0.28a | 4.81a | 0.33a | 0.35a |
| Mean | | 2.46 | 0.16 | 2.75 | 0.18 | 0.19 |
| F-test | | ** | ** | ** | ** | ** |
| CV (%) | | 20.92 | 23.54 | 15.15 | 21.30 | 23.81 |

หมายเหตุ ** = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% โดยวิธี DMRT

3.2 แปลงที่มีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 64.60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่า พบว่า การใส่ปุ๋ยฟอสเฟต 69 และ 92 ก.P₂O₅/ตัน ทำให้ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม ในเมล็ดกาแฟสูงกว่าอัตราอื่นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยกรรมวิธีใส่ปุ๋ยฟอสเฟต 69 ก.P₂O₅/ตัน มีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ในเมล็ดกาแฟสูงที่สุดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.94, 0.47 และ 6.79 กรัมต่อตัน ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

3.3 แปลงที่มีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 86.20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่า พบว่า การใส่ปุ๋ยฟอสเฟต 46, 69 และ 92 ก.P₂O₅/ตัน ทำให้ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมในเมล็ดกาแฟสูงกว่าอัตราอื่นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยกรรมวิธีใส่ปุ๋ยฟอสเฟต 69 ก.P₂O₅/ตัน มีปริมาณการไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในเมล็ดสูงที่สุด มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 12.24, 1.04 และ 14.88 กรัมต่อตัน ตามลำดับ (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 6 ปริมาณธาตุอาหารในเมล็ดกาแฟแปลงที่มีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 64.60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

| กรรมวิธี (ก.N-P ₂ O ₅ -K ₂ O/ตัน) | น้ำหนักแห้ง เมล็ดกาแฟ (กรัม/ตัน) | ไนโตรเจน กรัม/ตัน | ฟอสฟอรัส กรัม/ตัน | โพแทสเซียม กรัม/ตัน | แคลเซียม กรัม/ตัน | แมกนีเซียม กรัม/ตัน |
|---|--|----------------------|----------------------|------------------------|----------------------|------------------------|
| 110-0-90 | 69 | 1.05d | 0.10d | 1.60d | 0.20c | 0.13c |
| 110-23-90 | 133 | 2.18c | 0.19c | 3.05c | 0.36bc | 0.18c |
| 110-46-90 | 208 | 3.21b | 0.33b | 4.56b | 0.58b | 0.33b |
| 110-69-90 | 322 | 4.94a | 0.47a | 6.79a | 1.00a | 0.53a |
| 110-92-90 | 308 | 4.74a | 0.45a | 6.70a | 1.02a | 0.53a |
| Mean | | 3.23 | 0.31 | 4.54 | 0.63 | 0.34 |
| F-test | | ** | ** | ** | ** | ** |
| CV (%) | | 10.55 | 12.05 | 6.28 | 24.71 | 15.50 |

หมายเหตุ ** = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% โดยวิธี DMRT

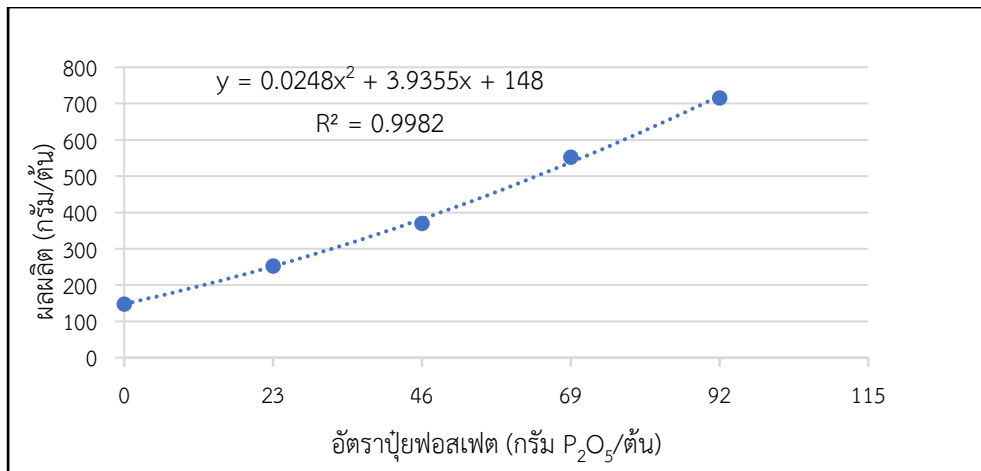
ตารางที่ 7 ปริมาณธาตุอาหารในเมล็ดกาแฟแปลงที่มีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 86.20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

| กรรมวิธี (ก.N-P ₂ O ₅ -K ₂ O/ตัน) | น้ำหนักแห้ง เมล็ดกาแฟ (กรัม/ตัน) | ไนโตรเจน กรัม/ตัน | ฟอสฟอรัส กรัม/ตัน | โพแทสเซียม กรัม/ตัน | แคลเซียม กรัม/ตัน | แมกนีเซียม กรัม/ตัน |
|---|--|----------------------|----------------------|------------------------|----------------------|------------------------|
| 110-0-90 | 188 | 3.60c | 0.34c | 4.37c | 0.77c | 0.36b |
| 110-23-90 | 351 | 5.83b | 0.48b | 7.22b | 1.17b | 0.59b |
| 110-46-90 | 642 | 10.81a | 0.96a | 13.01a | 2.24a | 1.12a |
| 110-69-90 | 704 | 12.24a | 1.04a | 14.88a | 1.93a | 1.03a |
| 110-92-90 | 637 | 10.51a | 0.91a | 13.06a | 1.95a | 0.98a |
| Mean | | 8.60 | 0.75 | 10.51 | 1.60 | 0.81 |
| F-test | | ** | ** | ** | ** | ** |
| CV (%) | | 16.83 | 12.72 | 13.96 | 16.96 | 18.91 |

หมายเหตุ ** = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% โดยวิธี DMRT

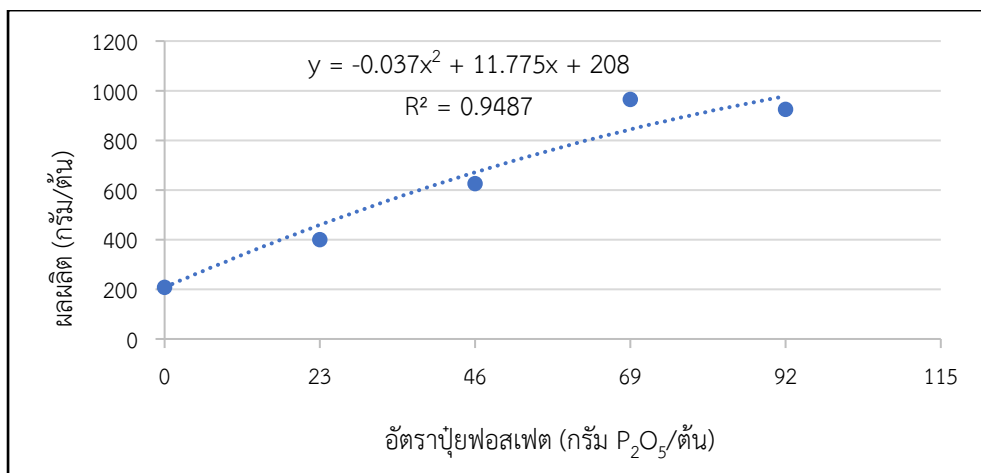
4. การตอบสนองต่อการใส่ปุ๋ยฟอสเฟตของกาแฟอะราบิกา

4.1 แปลงที่มีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 9.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่า ผลผลิตกาแฟเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราปุ๋ยฟอสเฟตเพิ่มขึ้น การปลูกกาแฟเมื่อไม่มีการใส่ปุ๋ยฟอสเฟต กาแฟให้ผลผลิต 148 กรัมต่อตัน เมื่อใส่ปุ๋ยฟอสเฟตอัตรา 23, 46, 69 และ 92 กรัม P₂O₅ ต่อตัน จะให้ผลผลิต 253, 370, 553 และ 715 กรัมต่อตัน ตามลำดับ จะเห็นได้ว่า กาแฟให้ผลผลิตสูงสุดเท่ากับ 715 กรัมต่อตัน ที่ระดับอัตราปุ๋ยฟอสเฟต 92 กรัม P₂O₅ ต่อตัน ดังสมการ quadratic $Y = 0.0248X^2 + 3.9355X + 148$ โดยมีค่า $R^2 = 0.9982$ (ภาพที่ 1)



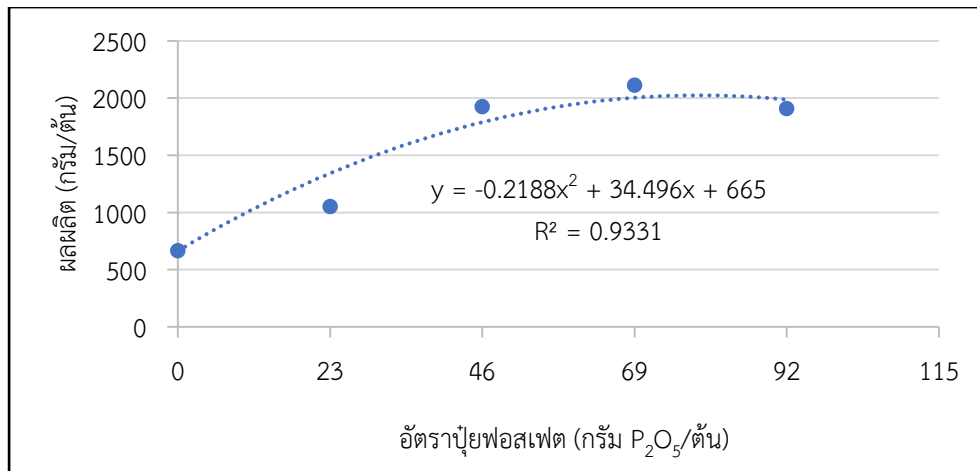
ภาพที่ 1 การตอบสนองต่อปุ๋ยฟอสเฟตของกาแฟแปลงที่มีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 9.6 มก/กก.

4.2 แปลงที่มีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 64.60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่า การปลูกกาแฟเมื่อไม่มีการใส่ปุ๋ยฟอสเฟต กาแฟให้ผลผลิต 208 กรัมต่อต้น เมื่อใส่ปุ๋ยฟอสเฟต อัตรา 23, 46, 69 และ 92 กรัม P₂O₅ ต่อต้น จะให้ผลผลิต 400, 624, 965 และ 925 กรัมต่อต้น ตามลำดับ จะเห็นได้ว่า กาแฟให้ผลผลิตสูงสุดเท่ากับ 965 กรัมต่อต้น ที่ระดับอัตราปุ๋ยฟอสเฟต 69 กรัม P₂O₅ ต่อต้น เมื่อเพิ่มปริมาณปุ๋ยจะทำให้ผลผลิตกาแฟลดลง ดังสมการ quadratic $Y = -0.037X^2 + 11.775X + 208$ โดยมีค่า $R^2 = 0.9487$ (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 การตอบสนองต่อปุ๋ยฟอสเฟตของกาแฟแปลงที่มีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 64.6 มก/กก.

4.3 แปลงที่มีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 86.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่า การปลูกกาแฟเมื่อไม่มีการใส่ปุ๋ยฟอสเฟต กาแฟให้ผลผลิต 665 กรัมต่อต้น เมื่อใส่ปุ๋ยฟอสเฟต อัตรา 23, 46, 69 และ 92 กรัม P₂O₅ ต่อต้น จะให้ผลผลิต 1,053, 1,925, 2,113 และ 1,910 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ จะเห็นได้ว่า กาแฟให้ผลผลิตสูงสุดเท่ากับ 2,113 กิโลกรัมต่อไร่ ที่ระดับอัตราปุ๋ยฟอสเฟต 69 กรัม P₂O₅ ต่อต้น เมื่อเพิ่มปริมาณปุ๋ยจะทำให้ผลผลิตกาแฟลดลง ดังสมการ quadratic $Y = -0.2188X^2 + 34.496X + 665$ โดยมีค่า $R^2 = 0.9331$ (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 การตอบสนองต่อปุ๋ยฟอสเฟตของกาแพแปลงที่มีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 86.2 มก/กก.

จากผลการทดลองด้านการตอบสนองต่อปุ๋ยฟอสเฟตของกาแพอะราบิก้าจะเห็นได้ว่าลักษณะกราฟความสัมพันธ์ระหว่างอัตราปุ๋ยฟอสเฟตกับผลผลิตกาแพมีทั้งแบบเป็นเส้นตรงและไม่เป็นเส้นตรง สอดคล้องกับผลการทดลองของ Reis *et al.* (2011) ได้ทดสอบอัตราปุ๋ยฟอสเฟต 3 รูปแบบ (triple superphosphate, simple superphosphate และ magnesium thermal phosphate) ที่อัตรา 0, 12, 16, 24, 32, 48, 72 และ 96 กิโลกรัม P₂O₅ ต่อไร่ ผลการทดลองพบว่า จากปุ๋ยฟอสเฟตทั้ง 3 รูปแบบ การตอบสนองต่อปุ๋ยฟอสเฟตของกาแพมีลักษณะเป็นเส้นตรงโดยอัตราปุ๋ยสูงสุดจะให้ผลผลิตสูงสุด ต่อมา Dias *et al.* (2015) ที่ทำการทดสอบอัตราปุ๋ยฟอสเฟตในรูปแบบ simple superphosphate ที่ระดับ 0, 12, 24, 48, 72 และ 96 กิโลกรัม P₂O₅ ต่อไร่ พบว่าอัตราปุ๋ยฟอสเฟตที่ใช้อัตราสูงสุดคือ 96 กิโลกรัม P₂O₅ ต่อไร่ ให้ผลผลิตกาแพสูงสุด ขณะที่ใส่ปุ๋ยฟอสเฟตรูป magnesium thermal phosphate พบว่า อัตราที่ให้ผลผลิตสูงสุดคือ 72 กิโลกรัม P₂O₅ ต่อไร่

5. ผลตอบแทนทางเศรษฐศาสตร์

การใส่ปุ๋ยเป็นปัจจัยสำคัญต่อการเพิ่มผลผลิตของพืช โดยการพิจารณาว่าจะใช้ปุ๋ยในอัตราใดจึงจะคุ้มค่าต่อการลงทุนต้องวิเคราะห์หาผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ หรือค่า Value Cost Ratio (VCR) ถ้าค่า VCR มากกว่า 2 แสดงว่ามีความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ (Pevaiz *et al.*, 2004) พบว่า แปลงที่มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 9.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม การใส่ปุ๋ยฟอสเฟต อัตรา 92 กรัม P₂O₅ ต่อต้น ให้ผลตอบแทนสุทธิ (4,540 บาทต่อไร่) และค่า VCR สูงสุด (2.10) และได้รับผลผลิตกาแพสูงสุด 286 กิโลกรัมต่อไร่ แปลงที่มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 64.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม การใส่ปุ๋ยฟอสเฟต อัตรา 23, 46, 69 และ 92 กรัม P₂O₅ ต่อต้น ให้ผลตอบแทนในค่า VCR อยู่ระหว่าง 2.60 ถึง 3.67 แต่เมื่อพิจารณาร่วมกับผลผลิตกาแพอะราบิก้าที่ได้รับและรายรับแล้ว จะเห็นว่า การใส่ปุ๋ยฟอสเฟต อัตรา 69 กรัม P₂O₅ ต่อต้น ได้ผลตอบแทนสุทธิ 5,940 บาทต่อไร่ และผลผลิต 386 กิโลกรัมต่อไร่ ขณะที่ แปลงที่มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 86.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม การใส่ปุ๋ยฟอสเฟตอัตราต่างๆ ให้ผลตอบแทนในค่า VCR อยู่ระหว่าง 4.61 ถึง 9.33 แต่การใส่ปุ๋ยฟอสเฟต อัตรา 69 กรัม P₂O₅ ต่อต้น ให้ผลตอบแทนสุทธิสูงสุด 11,580 บาทต่อไร่ ผลผลิต 845 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 วิเคราะห์ผลตอบแทนทางเศรษฐศาสตร์ต่อการใช้ปุ๋ยของกาแฟอะราบิกา

| แปลง | อัตราปุ๋ย (ก.น-P ₂ O ₅ -K ₂ O/ตัน) | ผลผลิต (กก./ไร่) | ผลผลิตเพิ่ม (กก./ไร่) | รายรับที่เพิ่ม | ต้นทุนจากการ ใช้ปุ๋ย | | VCR |
|---|--|---------------------|--------------------------|----------------|-------------------------|-------|------|
| | | | | | (บาท/ไร่) | | |
| แปลงที่มี ฟอสฟอรัสที่ เป็นประโยชน์ 9.6 มก/กก. | 110-0-90 | 59 | - | - | 4,478 | - | - |
| | 110-23-90 | 101 | 42 | 840 | 5,018 | 540 | 1.55 |
| | 110-46-90 | 148 | 89 | 1,780 | 5,558 | 1,080 | 1.65 |
| | 110-69-90 | 221 | 162 | 3,240 | 6,098 | 1,620 | 2.00 |
| | 110-92-90 | 286 | 227 | 4,540 | 6,638 | 2,160 | 2.10 |
| แปลงที่มี ฟอสฟอรัสที่ เป็นประโยชน์ 64.6 มก/กก. | 110-0-90 | 83 | - | - | 4,478 | - | - |
| | 110-23-90 | 160 | 71 | 1,420 | 5,018 | 540 | 2.63 |
| | 110-46-90 | 250 | 161 | 3,220 | 5,558 | 1,080 | 2.98 |
| | 110-69-90 | 386 | 297 | 5,940 | 6,098 | 1,620 | 3.67 |
| | 110-92-90 | 370 | 281 | 5,620 | 6,638 | 2,160 | 2.60 |
| แปลงที่มี ฟอสฟอรัสที่ เป็นประโยชน์ 86.2 มก/กก. | 110-0-90 | 226 | - | - | 4,478 | - | - |
| | 110-23-90 | 421 | 155 | 3,100 | 5,018 | 540 | 5.74 |
| | 110-46-90 | 770 | 504 | 10,080 | 5,558 | 1,080 | 9.33 |
| | 110-69-90 | 845 | 579 | 11,580 | 6,098 | 1,620 | 7.15 |
| | 110-92-90 | 764 | 498 | 9,960 | 6,638 | 2,160 | 4.61 |

หมายเหตุ : Value Cost Ratio (VCR) = $\frac{\text{รายรับที่เพิ่ม}}{\text{ต้นทุนที่เพิ่ม}}$

หมายเหตุ : กาแฟ 1 ไร่ จำนวน 400 ต้น

ผลผลิต : ราคา 20 บาทต่อกิโลกรัม

ต้นทุนปุ๋ย : ปุ๋ยยูเรีย (46-0-0) ราคา 28 บาทต่อกิโลกรัม N, ปุ๋ยทริเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต (0-46-0) ราคา 27 บาทต่อกิโลกรัม P₂O₅, ปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ (0-0-60) ราคา 30 บาทต่อกิโลกรัม K₂O

สรุปผลการทดลอง

แปลงที่มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 9.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ผลผลิตกาแฟเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราปุ๋ยฟอสเฟตเพิ่มขึ้น ลักษณะกราฟเป็น quadratic ซึ่งกาแฟอะราบิกาตอบสนองต่อปุ๋ยฟอสเฟตสูงสุดเมื่อใส่ปุ๋ยฟอสเฟตในอัตรา 92 กรัม ให้ผลผลิต 715 กรัมต่อต้น ให้ผลตอบแทนสุทธิ (4,540 บาทต่อไร่) และค่า VCR สูงสุด (2.10) แปลงที่มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 64.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม การตอบสนองต่อปุ๋ยฟอสเฟตสูงสุดเมื่อใส่ปุ๋ยฟอสเฟตในอัตรา 69 กรัม ให้ผลผลิตกาแฟสูงสุด 965 กรัมต่อต้น ให้ผลตอบแทนสุทธิ (5,940 บาทต่อไร่) และค่า VCR สูงสุด (3.67) ส่วนแปลงที่มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 86.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม กาแฟอะราบิกาตอบสนองต่อปุ๋ยฟอสเฟตสูงสุดเมื่อใส่ปุ๋ยฟอสเฟตในอัตรา 69 กรัม ให้ผลผลิตสูงสุดเฉลี่ย 2,113 กรัมต่อต้น ให้ผลตอบแทนสุทธิ (11,580 บาทต่อไร่) และค่า VCR เท่ากับ 7.15

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ร่วมกับกรมวิชาการเกษตร และขอขอบคุณผู้อำนวยการศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ที่ได้อนุเคราะห์แปลงกาแฟอาราบิกาส่งมาใช้ในการทดลอง สุดท้ายขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ได้ให้การช่วยเหลือในการทำงานวิจัยในครั้งนี้

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ข้อมูลการตอบสนองของกาแฟอาราบิกาต่อการจัดการธาตุอาหารในดิน สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการให้คำแนะนำการจัดการดินและปุ๋ยฟอสเฟตร่วมกับปุ๋ยชนิดอื่นในการผลิตกาแฟอาราบิกา เป็นแนวทางให้เกษตรกรสามารถนำไปใช้ในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตกาแฟอาราบิกาที่ให้ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจคุ้มค่าแก่การลงทุน

2. สามารถนำข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยครั้งนี้ไปขยายผลหรือปรับใช้กับพื้นที่อื่นๆ ซึ่งจะเป็นประโยชน์กับนักวิชาการเกษตรของกรมวิชาการเกษตรและหน่วยงานอื่นๆ นำไปใช้ในการพัฒนางานวิจัยด้านดินและปุ๋ย และสามารถจัดทำคำแนะนำการใช้ปุ๋ยกับกาแฟอาราบิกาสำหรับให้คำแนะนำการใช้ปุ๋ยแก่เกษตรกรได้อย่างถูกต้อง

เอกสารอ้างอิง

- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2557. การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตกาแฟ. กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.
- กลุ่มงานวิจัยเคมีดิน. 2544. คู่มือการวิเคราะห์ดินและพืช. กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ. 164 หน้า
- ยงยุทธ โอสดสภา. 2558. ธาตุอาหารพืช. พิมพ์ครั้งที่ 4. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- ศุภมาศ พนิชศักดิ์พัฒนา. 2540. ภาวะมลพิษของดินจากการใช้สารเคมี. พิมพ์ครั้งที่ 3. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- สถาบันวิจัยพืชสวน. 2562. คู่มือการจัดการการผลิตกาแฟอาราบิกา. สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2567. ข้อมูลการผลิตสินค้าเกษตร: ตารางแสดงรายละเอียดกาแฟ แหล่งข้อมูล <http://www.oae.go.th/view/1/ตารางแสดงรายละเอียดกาแฟ/TH-TH> สืบค้น: 5 มีนาคม 2567
- Dias, K. G. D. L., Neto, A. E. F., Guimarães, P. T. G., Reis, T. H. P. and C.H.C.D. Oliveira. 2015. Coffee yield and phosphate nutrition provided to plants by various phosphorus sources and levels. *Ciência e Agrotecnologia* 39: 110-120.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2005. Arabica coffee manual for Lao-PDR. FAO Regional Office for Asia and the Pacific. Bangkok. Thailand. Available at: <https://www.fao.org/3/ae939e/ae939e06.htm#bm06>. Assessment: March 7, 2024.
- Gee, G.W., and J. W. Bauder. 1986. Particle-size analysis, pp 383-411. In A. Klute, ed, *Methods of Soil Analysis Part 1*. Soil Science Society of America Book Series 5, Madison, Wisconsin, USA.

- Leytem, A. and R. Mikkelsen 2005. The nature of phosphorus in calcareous soils. *Better Crops* 89(2): 11–13.
- National Soil Survey Center. 1996. Soil Survey Laboratory Methods Manual. Soil Survey Investigation Report No. 42, Version 3.0. Natural Conservation Service, United States Department of Agriculture.
- Pevaiz, Z., K. Hussain, S.S.H. Kazmi and K.H. Gill. 2004. *Agronomic efficiency of different N:P ratios in rainfed wheat*. *International Journal of Agriculture & Biology*. 3: 455-457
- Reis, T. H. P., Guimarães, P. T. G., Furtini Neto, A. E., Guerra, A. F. and N. Curi. 2011. Soil phosphorus dynamics and availability and irrigated coffee yield. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 35: 503-515.
- Sousa, S. J., Neves, L. C. J., Martinez, H. E. P. and V.H.V. Alvarez. 2017. Relationship between Coffee Leaf Analysis and Soil Chemical Analysis. *Rev Bra Ciencia Solo*. 42, e0170109.

การตอบสนองต่อการใช้ปุ๋ยโพแทชของกาแฟอาราบิกา

Potassium Response on Arabica Coffee Production

ปิยะนันท์ วิวัฒน์วิทยา¹ วริศ แคนคอง¹ กิตจเมธ แจ้งศิริกุล¹ ณัฐพงศ์ ศรีสมบัติ¹
ฉัตรนภา ข่มอาวุธ² ศิริภรณ์ จรินทร³

Piyanun Wiwatwittaya¹ Varis Khaengkong¹ Kitjamate Jangsirikul¹ Nuttapon Srisombat¹
Chatnapa Khomarwut² Siriporn Jarintorn³

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Potash fertilizer application does not match to plant varieties and soil conditions, plant nutrient requirement may not been met its need that cause plant yield and quality limitation. Arabica coffee grown in areas with varying soil nutrient levels has the different soil potash requirements. The study of potash response on Arabica coffee with the different potassium in soil at Chiang Mai province was conducted to obtain the potassium response data in plant. The experiments were conducted at Chiang Mai Royal Agricultural Research Center (Khun Wang) and at farmer's fields in Mae Win sub-district, Mae Wang district, Chiang Mai province. Treatments were laid out in Randomized Complete Block (RCB) with four replicates and six plants per each. The treatments consisted of five levels of potash at the rate of 0, 45, 90, 135, and 180 grams K_2O per plant per year, fertilizer application for nitrogen and phosphorus at the recommended rate of 110 grams N per plant per year and 46 grams P_2O_5 per plant per year, respectively. The results showed that in plots with low available potassium levels responded best to the application of 135 grams per plant per year. This application rate resulted in the highest efficiency in potash fertilizer usage, yielding an average production of 2,503 grams per plant. Additionally, it provided the highest return on investment. In plots with moderate levels of available potassium, the most effective potash fertilizer application rate was found to be 90 grams per plant per year. This application rate yielded the highest efficiency in potash fertilizer usage, resulting in an average production of 735 grams per plant. Additionally, it provided the highest return on investment. For plots with high levels of available potassium, the most effective potash fertilizer application rate was found to be 45 grams per plant per year. This application rate yielded the highest efficiency in potash fertilizer usage, resulting in an average production of 2,559 grams per plant. Furthermore, it provided the highest return on investment.

Keywords: Arabica Coffee, Potash Fertilizer, Fertilizer Response

¹ กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

¹ Agricultural Production Science Research and Development Division

² ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแพร่

² Phare Agricultural Research and Development Center

³ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่

³ Chiang Mai Royal Agricultural Research Center

บทคัดย่อ

การให้ปุ๋ยโพแทชที่ไม่เหมาะสมกับสายพันธุ์และสภาพของพื้นที่ พืชอาจได้รับธาตุอาหารไม่ตรงตามความต้องการ จึงจำกัดการให้ผลผลิตและคุณภาพของพืช กาแฟอะราบิกาที่ปลูกบนพื้นที่ที่มีปริมาณธาตุอาหารในดินแตกต่างกัน จึงมีความต้องการปุ๋ยโพแทชที่ต่างกัน ดังนั้น จึงได้ศึกษาการตอบสนองต่อการให้ปุ๋ยโพแทชของกาแฟอะราบิกาที่ปลูกบนพื้นที่ที่มีปริมาณโพแทสเซียมในดินที่แตกต่างในจังหวัดเชียงใหม่ เพื่อให้ได้ข้อมูลการตอบสนองต่อการให้ปุ๋ยโพแทชของกาแฟอะราบิกา ดำเนินการทดลองที่แปลงทดลองในศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ (ขุนวาง) และแปลงเกษตรกร ตำบลแม่วีน อำเภอแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่ วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) จำนวน 4 ซ้ำๆ ละ 6 ต้น กรรมวิธีเป็นอัตราปุ๋ยโพแทช มี 5 อัตรา ได้แก่ 0 45 90 135 และ 180 กรัม K_2O ต่อต้นต่อปี โดยทุกกรรมวิธีใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และปุ๋ยฟอสเฟต อัตราตามคำแนะนำ คือ 110 กรัม N ต่อต้นต่อปี และ 46 กรัม P_2O_5 ต่อต้นต่อปี ผลการทดลอง พบว่า แปลงที่มีปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับต่ำ การใส่ปุ๋ยโพแทช อัตรา 135 กรัม K_2O ต่อต้นต่อปี จะมีประสิทธิภาพในการให้ปุ๋ยโพแทชมากที่สุด ให้ผลผลิตเฉลี่ย 2,503 กรัมต่อต้น และยังให้ผลตอบแทนคุ้มค่าต่อการลงทุนมากที่สุด แปลงที่มีปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับปานกลาง การใส่ปุ๋ยโพแทช อัตรา 90 กรัม K_2O ต่อต้นต่อปี จะมีประสิทธิภาพในการให้ปุ๋ยโพแทชมากที่สุด ให้ผลผลิตเฉลี่ย 735 กรัมต่อต้น และยังให้ผลตอบแทนคุ้มค่าต่อการลงทุน สำหรับแปลงที่มีปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับสูง การใส่ปุ๋ยโพแทช อัตรา 45 กรัม K_2O ต่อต้นต่อปี มีประสิทธิภาพในการให้ปุ๋ยโพแทชมากที่สุด ให้ผลผลิตเฉลี่ย 2,559 กรัมต่อต้น และยังให้ผลตอบแทนคุ้มค่าต่อการลงทุนมากที่สุดอีกด้วย

คำสำคัญ: กาแฟอะราบิกา ปุ๋ยโพแทช การตอบสนองต่อปุ๋ย

บทนำ

กาแฟอะราบิกาเป็นพืชสำคัญทางเศรษฐกิจที่มีการซื้อขายสำคัญระดับโลก เนื่องจากเป็นวัตถุดิบเพื่อผลิตเป็นเครื่องดื่มที่ปราศจากแอลกอฮอล์ ปัจจุบันการบริโภคกาแฟมีแนวโน้มสูงขึ้น ส่งผลให้ความต้องการเมล็ดกาแฟเพิ่มขึ้นตามไปด้วย ดังนั้นเกษตรกรหลายรายจึงหันมาปลูกกาแฟเพิ่มขึ้น โดยปี 2566 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกกาแฟอะราบิกาประมาณ 123,098 ไร่ ผลผลิตรวม 9,135 ตัน ผลผลิตต่อไร่ 91 กิโลกรัม มีแหล่งปลูกที่สำคัญส่วนใหญ่ปลูกในพื้นที่ภาคเหนือ โดยมีผลผลิต 9,076 ตัน จังหวัดที่มีพื้นที่เพาะปลูกมาก ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย แม่ฮ่องสอน และน่าน ตามลำดับ ผลผลิต 3,790 3,185 658 604 ตัน ตามลำดับ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2567) สภาพพื้นที่ที่เหมาะสมในการปลูกกาแฟอะราบิกาควรมีความสูงไม่ต่ำกว่า 700 เมตรจากระดับน้ำทะเล อุณหภูมิเฉลี่ย 15-25 องศาเซลเซียส มีปริมาณน้ำฝนไม่ต่ำกว่า 1,500 มิลลิเมตรต่อปี และต้องมีการกระจายน้ำฝนอย่างน้อย 5-8 เดือน มีแหล่งน้ำสะอาดและปริมาณเพียงพอในการให้น้ำได้ตลอดช่วงแล้ง สภาพดินมีชั้นดินลึกไม่ต่ำกว่า 50 เซนติเมตร (สถาบันวิจัยพืชสวน, 2562)

การผลิตกาแฟอะราบิกาให้ได้ผลผลิตสูงและมีคุณภาพนั้นนอกจากการใช้พันธุ์ที่เหมาะสมกับสภาพพื้นที่แล้วต้องมีการจัดการดินและการให้ปุ๋ยให้เหมาะสมกับสภาพพื้นที่ปลูกและความอุดมสมบูรณ์ของดิน เนื่องจากกาแฟแต่ละสายพันธุ์มีลักษณะประจำพันธุ์และการตอบสนองต่อการให้ปุ๋ยแตกต่างกัน หากมีการจัดการธาตุอาหารพืชที่ไม่เหมาะสมจะส่งผลให้พืชได้รับธาตุอาหารที่ไม่เพียงพอต่อความต้องการ ทำให้ได้ผลผลิตต่ำและไม่มีคุณภาพ หรือหากพืชได้รับธาตุอาหารที่มากเกินไปเกินความต้องการ จะทำให้ขาดความสมดุลของธาตุอาหาร ประกอบกับพื้นที่การปลูกกาแฟอะราบิกาส่วนใหญ่อยู่ในภาคเหนือที่มีความลาดชันสูงทำให้เกิดการชะล้างของธาตุอาหารพืชในดินจากการไหลบ่าของน้ำที่พาธาตุอาหารตามไปด้วย ซึ่งเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่ลดระดับความอุดมสมบูรณ์ของดิน แต่ปัจจุบันยังไม่มีคำแนะนำการให้ปุ๋ยที่เหมาะสมกับสภาพพื้นที่สำหรับกาแฟอะราบิกา โดยอัตราปุ๋ยที่แนะนำสำหรับกาแฟอะราบิกา

ส่วนใหญ่ต้องอาศัยข้อมูลจากต่างประเทศ ซึ่งอาจให้ผลไม่ถูกต้องมากนักเนื่องจากแต่ละประเทศมีสภาพแวดล้อม ภูมิอากาศ ดิน ตลอดจนปัจจัยอื่นๆ แตกต่างกันไป และนอกจากนี้สถาบันวิจัยพืชสวน (2562) แนะนำการใช้ปุ๋ยเคมี ตามอายุของต้นกาแฟ และใส่ปุ๋ยอินทรีย์ 3-5 กิโลกรัมต่อต้นหลังการเก็บเกี่ยว โดยระยะเวลาการใส่ปุ๋ยกาแฟอะราบิกา ขึ้นอยู่กับระดับความสูงของสภาพพื้นที่ปลูกซึ่งมีผลต่ออายุการเก็บเกี่ยว จึงทำให้ประสิทธิภาพการผลิตต่ำไม่เป็นไปตามเป้าหมาย อีกทั้งข้อมูลพื้นฐานด้านการจัดการธาตุอาหารในการผลิตกาแฟอะราบิกามีน้อยมาก

โพแทสเซียมมีบทบาทสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืช เป็นธาตุอาหารที่ควบคุมกระบวนการเมแทบอลิซึม ในเซลล์ กระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์และเสริมสร้างการเคลื่อนย้ายการดูดซึมธาตุอาหาร และการสังเคราะห์โปรตีน (Devlin and Witham, 1986) หรือมีความสำคัญในการสร้างและการเคลื่อนย้ายอาหารพวกแป้งและน้ำตาลไปเลี้ยงส่วนที่กำลังเจริญเติบโต และส่งไปเก็บไว้เป็นเสบียงที่หัวหรือลำต้น โพแทสเซียมในดินที่พืชนำไปใช้ประโยชน์ได้ มีแหล่งกำเนิดมาจากการสลายตัวของหินและแร่มากมายหลายชนิดในดิน โพแทสเซียมที่อยู่ในรูปอนุมูลบวก หรือ โพแทสเซียมไอออน (K+) เท่านั้นที่พืชจะสามารถดูดไปใช้ประโยชน์ได้ การใส่ปุ๋ยโพแทสเซียมอาจจะใส่แบบคลุกเคล้าให้เข้ากับดินก่อนปลูกพืชได้ หรือจะใส่โดยโรยบนผิวดินแล้วพรวนดินกลบก็ได้ถ้าปลูกพืชไว้แล้ว พืชที่ขาดโพแทสเซียมมักจะเหี่ยวง่าย ต้นแคระแกร็น ใบล่างเหลือง และเกิดเป็นรอยไหม้ตามขอบใบ สำหรับกาแฟโพแทสเซียมมีความสำคัญต่อการเพิ่มขนาดของผลกาแฟ ช่วยให้ผลเติบโต มีคุณภาพดี และต้นแข็งแรง ทนทานต่อโรค (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2557) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องศึกษาการตอบสนองต่อการใส่ปุ๋ยโพแทสเซียมของกาแฟอะราบิกา เพื่อให้ได้อัตราปุ๋ยโพแทสเซียมที่เหมาะสม และเป็นข้อมูลพื้นฐานในการให้คำแนะนำการใส่ปุ๋ยโพแทสเซียมที่เหมาะสมเฉพาะพื้นที่ในการผลิตกาแฟอะราบิกาต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. กาแฟพันธุ์อะราบิกา ระยะเวลาให้ผลผลิต อายุ 5-10 ปี
2. ปุ๋ยเคมี ได้แก่ ปุ๋ยยูเรีย (46-0-0) ปุ๋ยทรูปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต (0-46-0) และปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ (0-0-60)
3. สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างดินและพืชในห้องปฏิบัติการ
4. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ และวัสดุวิทยาศาสตร์สำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างดินและพืชในห้องปฏิบัติการ
5. เครื่องมือ และอุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างดินและพืช

วิธีการ

1. ดำเนินการทดลองที่แปลงทดลองในศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ (ขุนวาง) ตำบลแม่วิน อำเภอแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 2 แปลง พิกัดแปลงที่ 1 47Q 447940 2060083 มีปริมาณโพแทสเซียมเป็นประโยชน์ในระดับสูง แปลงที่ 2 47Q 447726 2059585 มีปริมาณโพแทสเซียมเป็นประโยชน์ในระดับปานกลาง และแปลงที่ 3. แปลงเกษตรกร ตำบลแม่วิน อำเภอแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 1 แปลง พิกัดแปลง 47Q 448434 2059587 มีปริมาณโพแทสเซียมเป็นประโยชน์ในระดับต่ำ โดยทั้ง 3 แปลง ทำการทดลองกับต้นกาแฟอายุ 8 ปี ระยะปลูก 2x2 เมตร จำนวน 400 ต้นต่อไร่
2. เก็บตัวอย่างดิน 4 จุดรอบโคนต้น ก่อนการใส่ปุ๋ยและหลังการเก็บเกี่ยวเมล็ดกาแฟ โดยเก็บที่ระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร และ 15-30 เซนติเมตร นำมาผึ่งให้แห้งในที่ร่มเมื่อตัวอย่างดินแห้งแล้ว ทำการแยกเศษพืชและกรวดออก นำตัวอย่างดินไปร่อนผ่านตะแกรง ขนาด 2 มิลลิเมตร จากนั้นจึงนำไปวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีของดินในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ได้แก่ เนื้อดิน โดยวิธีไฮโดรมิเตอร์ (hydrometer method) ค่าความเป็นกรด-ด่างของดิน (pH) วัดโดย pH meter ใช้อัตราส่วนดิน:น้ำ เท่ากับ 1:1 (Peech, 1965)

อินทรีย์วัตถุ (organic matter; OM) วิเคราะห์ด้วยวิธี Walkley and Black (Jackson, 1967) ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (available phosphorus; Avail.P) วิเคราะห์โดยการสกัดดินด้วยน้ำยาสกัด Bray II (Bray and Kurtz, 1945) วัดการเกิดสีตามวิธี molybdenum blue วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer และโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ (available potassium; Avail.K) วิเคราะห์โดยการสกัดดินด้วย 1N Ammonium Acetate, pH 7.0 วัดด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer (Chapman, 1965)

3. วางแผนการทดลองแบบ Randomized complete block (RCB) จำนวน 4 ซ้ำๆ ละ 6 ต้น ประกอบด้วย 5 กรรมวิธี

- 1) ไม่ใส่ปุ๋ยโพแทช
- 2) ใส่ปุ๋ยโพแทช 0.5 เท่าตามคำแนะนำ (45 กรัม K_2O ต่อต้นต่อปี)
- 3) ใส่ปุ๋ยโพแทช 1.0 เท่าตามคำแนะนำ (90 กรัม K_2O ต่อต้นต่อปี)
- 4) ใส่ปุ๋ยโพแทช 1.5 เท่าตามคำแนะนำ (135 กรัม K_2O ต่อต้นต่อปี)
- 5) ใส่ปุ๋ยโพแทช 2.0 เท่าตามคำแนะนำ (180 กรัม K_2O ต่อต้นต่อปี)

ทุกกรรมวิธีใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และปุ๋ยฟอสเฟต อัตราตามคำแนะนำ คือ ปุ๋ยไนโตรเจน 110 กรัม N ต่อต้นต่อปี และปุ๋ยฟอสเฟต 46 กรัม P_2O_5 ต่อต้นต่อปี แบ่งใส่ปุ๋ย 3 ครั้งต่อปี ดังนี้

ครั้งที่ 1 เดือนพฤษภาคม ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 27.5 กรัม N ต่อต้น และปุ๋ยฟอสเฟต 23 กรัม P_2O_5 ต่อต้น

ครั้งที่ 2 เดือนสิงหาคม ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 55 กรัม N ต่อต้น ปุ๋ยฟอสเฟต 23 กรัม P_2O_5 ต่อต้น และ

ปุ๋ยโพแทชอัตราต่างๆ ตามกรรมวิธี

ครั้งที่ 3 เดือนตุลาคม ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 27.5 กรัม N ต่อต้น และปุ๋ยโพแทชอัตราต่างๆ ตามกรรมวิธี

4. ดูแลกำจัดวัชพืช และแมลงศัตรูพืช

5. เก็บเกี่ยวผลผลิตกาแฟ

6. วิเคราะห์ความเข้มข้นธาตุอาหารไนโบ และผลผลิต โดยวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน (total nitrogen) ปริมาณฟอสฟอรัส (phosphorus) ปริมาณโพแทสเซียม (potassium) แคลเซียม (calcium) และแมกนีเซียม (magnesium) (กลุ่มงานวิจัยเคมีดิน, 2544)

7. ประเมินผลของการตอบสนองต่อการใส่ปุ๋ยโพแทชในแต่ละกรรมวิธี ต่อผลผลิตของกาแฟ และวัดการเจริญเติบโตหลังใส่ปุ๋ย

8. บันทึกข้อมูลผลวิเคราะห์ดินก่อนและหลังใส่ปุ๋ย ข้อมูลผลวิเคราะห์พืช ข้อมูลผลผลิต และผลตอบแทนทางเศรษฐศาสตร์

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2566

สถานที่ทำการทดลอง 1. กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร
2. ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ และแปลงเกษตรกร ตำบลแม่วีน อำเภอแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. สมบัติของดินก่อนทำการทดลอง

1.1 แปลงที่มีโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับต่ำ พิกัดแปลง 47Q 448434 2059587 ผลการวิเคราะห์ดินก่อนทำการทดลองที่ระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร พบว่า ดินมีเนื้อดินเป็นดินเหนียวปนทราย มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างของดิน 5.0 ซึ่งจัดเป็นดินกรดจัดมาก ค่าการนำไฟฟ้าของดิน 0.04 เดซิซีเมนส์ต่อเมตร ดินไม่มีความเค็ม ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินอยู่ในระดับสูง เท่ากับ 6.1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินอยู่ในระดับต่ำ เท่ากับ 5.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ในดินอยู่ในระดับต่ำ เท่ากับ 77.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ตารางที่ 1)

1.2 แปลงที่มีโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับปานกลาง พิกัดแปลง 47Q 447726 2059585 ผลการวิเคราะห์ดินก่อนทำการทดลองที่ระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร พบว่า ดินมีเนื้อดินเป็นดินร่วนเหนียวปนทราย มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างของดิน 5.1 ซึ่งจัดเป็นดินกรดจัด ค่าการนำไฟฟ้าของดิน 0.06 เดซิซีเมนส์ต่อเมตร ดินไม่มีความเค็ม ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินอยู่ในระดับสูง เท่ากับ 9.6 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินอยู่ในระดับสูง เท่ากับ 31.8 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ในดิน อยู่ในระดับปานกลาง เท่ากับ 123.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

1.3 แปลงที่มีโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับสูง พิกัดแปลง 47Q 447940 2060083 ผลการวิเคราะห์ดินก่อนทำการทดลองที่ระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร พบว่า ดินมีเนื้อดินเป็นดินเหนียว มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างของดิน 5.0 ซึ่งจัดเป็นดินกรดจัดมาก ค่าการนำไฟฟ้าของดิน 0.05 เดซิซีเมนส์ต่อเมตร ดินไม่มีความเค็ม ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินอยู่ในระดับสูง เท่ากับ 9.4 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินอยู่ในระดับสูง เท่ากับ 33.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ในดินอยู่ในระดับสูง เท่ากับ 209.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 สมบัติทางกายภาพและเคมีของดินปลูกกาแฟอะราบิกา ตำบลแม้วิน อำเภอแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่

| แปลง | เนื้อดิน | ความเป็นกรดเป็นด่างของดิน (pH) (1:1) | การนำไฟฟ้าของดิน (EC) (1:5) (dS/m) | อินทรีย์วัตถุ (%) | ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (มก./กก.) | โพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ (มก./กก.) |
|--|---------------------|--------------------------------------|------------------------------------|-------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|
| แปลงที่มีโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับต่ำ | ดินเหนียวปนทราย | 5.0 | 0.04 | 6.1 | 5.6 | 77.2 |
| แปลงที่มีโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับปานกลาง | ดินร่วนเหนียวปนทราย | 5.1 | 0.06 | 9.6 | 31.8 | 123.6 |
| แปลงที่มีโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับสูง | ดินเหนียว | 5.0 | 0.05 | 9.4 | 33.2 | 209.0 |
| ค่าที่เหมาะสม* | - | 5.0-6.0 | - | 3.7-5.2 | 7.4-15.6 | 76.4-127.2 |

ที่มา : * Sousa et al. (2018)

2. การเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของกาแฟอะราบิกา

2.1 แปลงที่มีโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับต่ำ จากการใส่ปุ๋ยตามกรรมวิธีต่างๆ พบว่าการเจริญเติบโตของต้นกาแฟมีเส้นรอบวงโคนต้น ขนาดทรงพุ่มทึบเหนือ-ใต้ และขนาดทรงพุ่มทึบทิศตะวันออก-ตะวันตก ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยทุกกรรมวิธีมีเส้นรอบวงโคนต้น เฉลี่ย 20.9 เซนติเมตร ขนาดทรงพุ่มทึบเหนือ-ใต้ เฉลี่ย 165.2 เซนติเมตร และขนาดทรงพุ่มทึบทิศตะวันออก-ตะวันตก เฉลี่ย 175.2 เซนติเมตร (ตารางที่ 2) ผลผลิต พบว่า การใส่ปุ๋ยตามกรรมวิธีต่างๆ ไม่ทำให้ผลผลิตกาแฟแตกต่างกันทางสถิติ โดยให้ผลผลิตเฉลี่ย 1,764 กรัมต่อต้น แต่มีแนวโน้มกรรมวิธีที่ 4 การใส่ปุ๋ยโพแทช 1.5 เท่าตามคำแนะนำจะให้ผลผลิตมากที่สุด (ตารางที่ 2)

2.2 แปลงที่มีโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับปานกลาง จากการใส่ปุ๋ยตามกรรมวิธีต่างๆ พบว่าการเจริญเติบโตของต้นกาแฟมีเส้นรอบวงโคนต้น ขนาดทรงพุ่มทึบเหนือ-ใต้ และขนาดทรงพุ่มทึบทิศตะวันออก-ตะวันตก ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยทุกกรรมวิธีมีเส้นรอบวงโคนต้น เฉลี่ย 18.4 เซนติเมตร ขนาดทรงพุ่มทึบเหนือ-ใต้ เฉลี่ย 171.5 เซนติเมตร และขนาดทรงพุ่มทึบทิศตะวันออก-ตะวันตก เฉลี่ย 170.5 เซนติเมตร (ตารางที่ 3) ผลผลิต พบว่า การใส่ปุ๋ยตามกรรมวิธีต่างๆ ไม่ทำให้ผลผลิตกาแฟแตกต่างกันทางสถิติ โดยให้ผลผลิตเฉลี่ย 735 กรัมต่อต้น (ตารางที่ 3)

2.3 แปลงที่มีโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับสูง จากการใส่ปุ๋ยตามกรรมวิธีต่างๆ พบว่า การเจริญเติบโตของต้นกาแฟมีเส้นรอบวงโคนต้น ขนาดทรงพุ่มทึบเหนือ-ใต้ และขนาดทรงพุ่มทึบทิศตะวันออก-ตะวันตก ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยทุกกรรมวิธีมีเส้นรอบวงโคนต้น เฉลี่ย 18.1 เซนติเมตร ขนาดทรงพุ่มทึบเหนือ-ใต้ เฉลี่ย 179.9 เซนติเมตร และขนาดทรงพุ่มทึบทิศตะวันออก-ตะวันตก เฉลี่ย 178.3 เซนติเมตร (ตารางที่ 4) ผลผลิต พบว่า การใส่ปุ๋ยตามกรรมวิธีต่างๆ ทำให้ผลผลิตกาแฟแตกต่างกันทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ 2 การใส่ปุ๋ยโพแทช 0.5 เท่าตามคำแนะนำ ให้ผลผลิตสูงสุด 2,559 กรัมต่อต้น ซึ่งไม่แตกต่างกับการใส่ปุ๋ยโพแทช 1.0 1.5 และ 2.0 เท่าตามคำแนะนำ แต่แตกต่างกับการไม่ใส่ปุ๋ยโพแทช (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 2 การเจริญเติบโตของต้นกาแฟอายุ 8 ปี แปลงที่มีโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับต่ำ (77.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ที่แปลงเกษตรกร ตำบลแม่วิน อำเภอแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่

| กรรมวิธี (กรัม N-P ₂ O ₅ -K ₂ O/ต้น) | เส้นรอบวงโคนต้น (ซม.) | ขนาดทรงพุ่ม ทึบเหนือ-ใต้ (ซม.) | ขนาดทรงพุ่ม ทึบทิศตะวันออก-ตะวันตก (ซม.) | ผลผลิต* (กรัม/ต้น) |
|--|--------------------------|-----------------------------------|---|-----------------------|
| 1. 110-46-0 | 21.7 | 162.1 | 176.5 | 1,428 |
| 2. 110-46-45 | 21.3 | 163.3 | 174.4 | 1,445 |
| 3. 110-46-90 | 20.6 | 160.2 | 166.6 | 1,577 |
| 4. 110-46-135 | 21.4 | 168.8 | 179.6 | 2,503 |
| 5. 110-46-180 | 19.7 | 171.9 | 178.8 | 1,868 |
| Mean | 20.9 | 165.2 | 175.2 | 1,764 |
| F-test | ns | ns | ns | ns |
| CV (%) | 9.8 | 8.2 | 4.0 | 35.7 |

หมายเหตุ ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

*ผลผลิต = น้ำหนักสดเมล็ดกาแฟ

ตารางที่ 3 การเจริญเติบโตของต้นกาแฟอายุ 8 ปี แปลงที่มีโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับปานกลาง (123.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ที่ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ (ขุนวาง) ตำบลแม่วิน อำเภอแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่

| กรรมวิธี (กรัม N-P ₂ O ₅ -K ₂ O/ตัน) | เส้นรอบวงโคนต้น (ซม.) | ขนาดทรงพุ่ม ทิศเหนือ-ใต้ (ซม.) | ขนาดทรงพุ่ม ทิศตะวันออก-ตะวันตก (ซม.) | ผลผลิต* (กรัม/ตัน) |
|--|--------------------------|-----------------------------------|--|-----------------------|
| 1. 110-46-0 | 18.8 | 167.5 | 167.7 | 281 |
| 2. 110-46-45 | 19.2 | 168.8 | 166.1 | 513 |
| 3. 110-46-90 | 17.7 | 163.9 | 162.5 | 735 |
| 4. 110-46-135 | 17.4 | 175.6 | 172.5 | 567 |
| 5. 110-46-180 | 19.1 | 181.5 | 183.8 | 545 |
| Mean | 18.4 | 171.5 | 170.5 | 528 |
| F-test | ns | ns | ns | ns |
| CV (%) | 7.4 | 5.8 | 5.7 | 35.1 |

หมายเหตุ ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

*ผลผลิต = น้ำหนักสดเมล็ดกาแฟ

ตารางที่ 4 การเจริญเติบโตของต้นกาแฟอายุ 8 ปี แปลงที่มีโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับสูง (209.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ที่ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ (ขุนวาง) ตำบลแม่วิน อำเภอแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่

| กรรมวิธี (กรัม N-P ₂ O ₅ -K ₂ O/ตัน) | เส้นรอบวงโคน ต้น (ซม.) | ขนาดทรงพุ่ม ทิศเหนือ-ใต้ (ซม.) | ขนาดทรงพุ่ม ทิศตะวันออก-ตะวันตก (ซม.) | ผลผลิต* (กรัม/ตัน) |
|--|---------------------------|-----------------------------------|--|-----------------------|
| 1. 110-46-0 | 17.3 | 176.0 | 175.6 | 662 b |
| 2. 110-46-45 | 18.0 | 180.4 | 168.5 | 2,559 a |
| 3. 110-46-90 | 19.0 | 179.4 | 182.5 | 1,824 a |
| 4. 110-46-135 | 17.5 | 184.2 | 188.3 | 1,963 a |
| 5. 110-46-180 | 18.7 | 179.6 | 176.7 | 1,778 a |
| Mean | 18.1 | 179.9 | 178.3 | 1,757 |
| F-test | ns | ns | ns | ** |
| CV (%) | 7.6 | 5.5 | 5.7 | 22.9 |

หมายเหตุ ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

** = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% โดยวิธี DMRT

*ผลผลิต = น้ำหนักสดเมล็ดกาแฟ

3. ปริมาณธาตุอาหารในเมล็ดกาแฟอาราบิก้า

3.1 ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมที่สะสมในเมล็ดกาแฟอาราบิก้า แปลงที่มีปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับต่ำ พบว่า การใส่ปุ๋ยตามกรรมวิธีต่างๆ ไม่ทำให้ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ในผลผลิตกาแฟแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมที่สะสมในเมล็ดกาแฟ เฉลี่ย 5.38 1.22 และ 5.13 กรัมต่อต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

3.2 ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมที่สะสมในเมล็ดกาแฟอะราบิกา แปลงที่มีปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับปานกลาง พบว่า การใส่ปุ๋ยตามกรรมวิธีต่างๆ ไม่ทำให้ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ในผลผลิตกาแฟแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมที่สะสมในเมล็ดกาแฟเฉลี่ย 3.73 0.27 และ 1.15 กรัมต่อตัน ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

3.3 ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมที่สะสมในเมล็ดกาแฟอะราบิกา แปลงที่มีปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับสูง พบว่า การใส่ปุ๋ยตามกรรมวิธีต่างๆ ไม่ทำให้ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ในผลผลิตกาแฟแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมที่สะสมในเมล็ดกาแฟเฉลี่ย 10.96 1.11 และ 3.59 กรัมต่อตัน ตามลำดับ (ตารางที่ 7) ซึ่งจะเห็นว่าทั้ง 3 แปลง มีปริมาณการสะสมไนโตรเจนมากที่สุด รองลงมาคือปริมาณโพแทสเซียม และปริมาณฟอสฟอรัสน้อยที่สุด

ตารางที่ 5 ปริมาณธาตุอาหารที่สะสมในเมล็ดกาแฟอะราบิกา (กรัมต่อตัน) แปลงที่มีโพแทสเซียมอยู่ในระดับต่ำ (77.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)

| กรรมวิธี (กรัม N-P ₂ O ₅ -K ₂ O/ตัน) | น้ำหนักแห้ง เมล็ดกาแฟ (กรัม/ตัน) | ปริมาณธาตุอาหารที่สะสมในเมล็ดกาแฟ (กรัม/ตัน) | | |
|--|-------------------------------------|--|----------|------------|
| | | ไนโตรเจน | ฟอสฟอรัส | โพแทสเซียม |
| 1. 110-46-0 | 231.75 | 4.18 | 0.88 | 4.88 |
| 2. 110-46-45 | 245.55 | 3.13 | 0.63 | 3.35 |
| 3. 110-46-90 | 247.50 | 5.78 | 0.88 | 4.73 |
| 4. 110-46-135 | 436.33 | 7.23 | 1.53 | 6.78 |
| 5. 110-46-180 | 630.13 | 6.60 | 2.18 | 5.93 |
| Mean | | 5.38 | 1.22 | 5.13 |
| F-test | | ns | ns | ns |
| CV (%) | | 44.1 | 57.8 | 41.7 |

หมายเหตุ ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 6 ปริมาณธาตุอาหารที่สะสมในเมล็ดกาแฟอะราบิกา (กรัมต่อตัน) แปลงที่มีโพแทสเซียมอยู่ในระดับปานกลาง (123.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)

| กรรมวิธี (กรัม N-P ₂ O ₅ -K ₂ O/ตัน) | น้ำหนักแห้ง เมล็ดกาแฟ (กรัม/ตัน) | ปริมาณธาตุอาหารที่สะสมในเมล็ดกาแฟ (กรัม/ตัน) | | |
|--|-------------------------------------|--|----------|------------|
| | | ไนโตรเจน | ฟอสฟอรัส | โพแทสเซียม |
| 1. 110-46-0 | 84.08 | 3.40 | 0.15 | 1.03 |
| 2. 110-46-45 | 89.25 | 3.83 | 0.15 | 1.25 |
| 3. 110-46-90 | 86.00 | 3.98 | 0.38 | 1.38 |
| 4. 110-46-135 | 95.00 | 3.78 | 0.38 | 1.03 |
| 5. 110-46-180 | 92.25 | 3.65 | 0.30 | 1.08 |
| Mean | | 3.73 | 0.27 | 1.15 |
| F-test | | ns | ns | ns |
| CV (%) | | 43.7 | 45.5 | 47.7 |

หมายเหตุ ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 7 ปริมาณธาตุอาหารที่สะสมในเมล็ดกาแฟอาราบิก้า (กรัมต่อตัน) แปลงที่มีโพแทสเซียมอยู่ในระดับสูง (209.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)

| กรรมวิธี (กรัม N-P ₂ O ₅ -K ₂ O/ตัน) | น้ำหนักแห้ง เมล็ดกาแฟ (กรัม/ตัน) | ปริมาณธาตุอาหารที่สะสมในเมล็ดกาแฟ (กรัม/ตัน) | | |
|--|-------------------------------------|--|----------|------------|
| | | ไนโตรเจน | ฟอสฟอรัส | โพแทสเซียม |
| 1. 110-46-0 | 172.08 | 5.70 | 0.53 | 2.23 |
| 2. 110-46-45 | 577.33 | 12.20 | 1.58 | 4.13 |
| 3. 110-46-90 | 448.88 | 14.48 | 1.13 | 3.75 |
| 4. 110-46-135 | 314.50 | 9.35 | 1.18 | 4.53 |
| 5. 110-46-180 | 266.71 | 13.05 | 1.13 | 3.33 |
| Mean | | 10.96 | 1.11 | 3.59 |
| F-test | | ns | ns | ns |
| CV (%) | | 39.9 | 35.5 | 35.8 |

หมายเหตุ ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

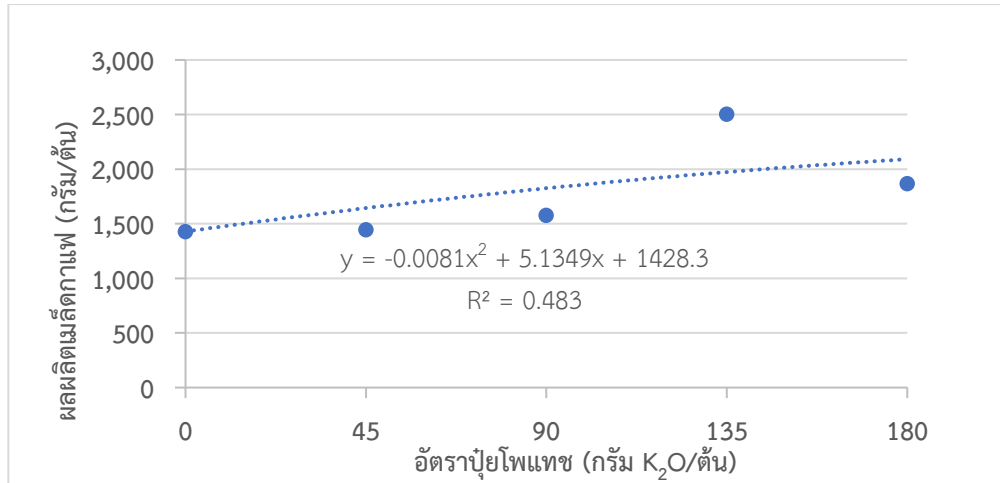
4. การตอบสนองต่อการใส่ปุ๋ยโพแทชของกาแฟอาราบิก้า

4.1 การตอบสนองต่อการใส่ปุ๋ยโพแทชของกาแฟอาราบิก้า แปลงที่มีปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับต่ำ (77.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) พบว่า การปลูกกาแฟเมื่อไม่มีการใส่ปุ๋ยโพแทช กาแฟให้ผลผลิต 1,428 กรัมต่อตัน แต่เมื่อใส่ปุ๋ยโพแทช อัตรา 45 90 135 และ 180 กรัม K₂O ต่อตัน จะให้ผลผลิต 1,445 1,577 2,503 และ 1,868 กรัมต่อตัน ตามลำดับ จะเห็นได้ว่า กาแฟให้ผลผลิตสูงสุดเท่ากับ 2,503 กรัมต่อตัน ที่ระดับอัตราปุ๋ยโพแทช 135 กรัม K₂O ต่อตัน ดังสมการ quadratic $Y = -0.0081x^2 + 5.1349x + 1428.3$ โดยมีค่า $R^2 = 0.483$ (ภาพที่ 1)

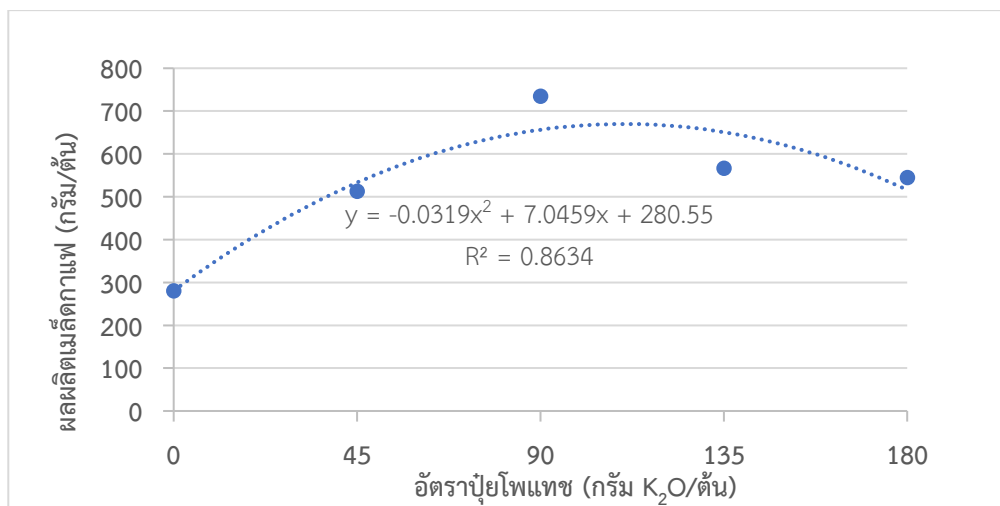
4.2 การตอบสนองต่อการใส่ปุ๋ยโพแทชของกาแฟอาราบิก้า แปลงที่มีปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับปานกลาง (123.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) พบว่า การปลูกกาแฟเมื่อไม่มีการใส่ปุ๋ยโพแทช กาแฟให้ผลผลิต 281 กรัมต่อตัน แต่เมื่อใส่ปุ๋ยโพแทช อัตรา 45 90 135 และ 180 กรัม K₂O ต่อตัน จะให้ผลผลิต 513 735 567 และ 545 กรัมต่อตัน ตามลำดับ จะเห็นได้ว่า กาแฟให้ผลผลิตสูงสุดเท่ากับ 735 กรัมต่อตัน ที่ระดับอัตราปุ๋ยโพแทช 90 กรัม K₂O ต่อตัน ดังสมการ quadratic $Y = -0.0319x^2 + 7.0459x + 280.55$ โดยมีค่า $R^2 = 0.863$ (ภาพที่ 2)

4.3 การตอบสนองต่อการใส่ปุ๋ยโพแทชของกาแฟอาราบิก้า แปลงที่มีปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับสูง (209.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) พบว่า การปลูกกาแฟเมื่อไม่มีการใส่ปุ๋ยโพแทช กาแฟให้ผลผลิต 662 กรัมต่อตัน แต่เมื่อใส่ปุ๋ยโพแทช อัตรา 45 90 135 และ 180 กรัม K₂O ต่อตัน จะให้ผลผลิต 2,559 1,824 1,963 และ 1,778 กรัมต่อตัน ตามลำดับ จะเห็นได้ว่า กาแฟให้ผลผลิตสูงสุดเท่ากับ 2,559 กรัมต่อตัน ที่ระดับอัตราปุ๋ยโพแทช 45 กรัม K₂O ต่อตัน ดังสมการ quadratic $Y = -0.1398x^2 + 30.29x + 662.23$ โดยมีค่า $R^2 = 0.548$ (ภาพที่ 3)

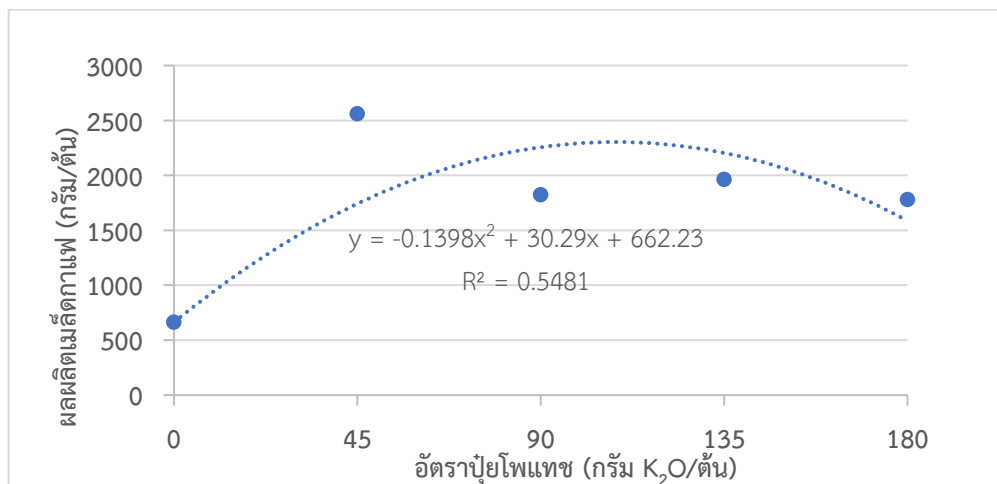
ซึ่งจะเห็นว่าทั้ง 3 แปลง มีปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ อยู่ในระดับต่ำ ปานกลาง และสูง เมื่อเพิ่มอัตราปุ๋ยโพแทชที่ให้กับกาแฟอาราบิก้า ไม่ทำให้ผลผลิตและการตอบสนองต่อปุ๋ยโพแทชเพิ่มขึ้นแต่อย่างใด Murrell (2017) รายงานว่า ปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ ในดินไม่ได้แสดงให้เห็นถึงปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมดที่พืชจะสามารถนำไปใช้ได้ ดินที่มีความอุดมสมบูรณ์จะมีทั้งปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนไม่ได้ ในปีแรกพืชจะดูดโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ ไปใช้ประโยชน์ เมื่อดินมีปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ ลดลง โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนไม่ได้จะถูกปลดปล่อยออกมาแทนที่ เพื่อรักษาสมดุลของโพแทสเซียมในดิน



ภาพที่ 1 การตอบสนองต่อการใช้ปุ๋ยโพแทชของกาแฟอะราบิกาแปลงที่มีโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับต่ำ (77.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)



ภาพที่ 2 การตอบสนองต่อการใช้ปุ๋ยโพแทชของกาแฟอะราบิกาแปลงที่มีโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับปานกลาง (123.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)



ภาพที่ 3 การตอบสนองต่อการใช้ปุ๋ยโพแทชของกาแฟอะราบิกาแปลงที่มีโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับสูง (209.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)

5. ผลตอบแทนทางเศรษฐศาสตร์

การใส่ปุ๋ยเป็นปัจจัยสำคัญต่อการเพิ่มผลผลิตของพืช โดยการพิจารณาว่าจะใช้ปุ๋ยในอัตราใดจึงจะคุ้มค่าต่อการลงทุนต้องวิเคราะห์หาผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ หรือค่า Value Cost Ratio (VCR) ถ้าค่า VCR มากกว่า 2 แสดงว่ามีความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ (Pevaiz et al., 2004) พบว่า แปลงที่มีปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับต่ำ การใส่ปุ๋ยโพแทช อัตรา 135 กรัม K₂O ต่อต้นต่อปี ให้ผลตอบแทนสุทธิ (8,600 บาทต่อไร่) และค่า VCR (3.18) สูงสุด และได้รับผลผลิตกาแฟสูงสุด 1,001 กิโลกรัมต่อไร่ แปลงที่มีปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับปานกลาง การใส่ปุ๋ยโพแทช อัตรา 90 และ 45 กรัม K₂O ต่อต้นต่อปี ให้ผลตอบแทนในค่า VCR อยู่ระหว่าง 2.02 ถึง 2.06 แต่เมื่อพิจารณาร่วมกับผลผลิตกาแฟอาราบิก้าที่ได้รับและรายรับแล้ว จะเห็นว่า การใส่ปุ๋ยโพแทช อัตรา 90 กรัม K₂O ต่อต้น ได้ผลตอบแทนสุทธิ 3,640 บาทต่อไร่ และผลผลิต 294 กิโลกรัมต่อไร่ ขณะที่แปลงที่มีปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับสูง การใส่ปุ๋ยโพแทชอัตราต่างๆ ให้ผลตอบแทนในค่า VCR อยู่ระหว่าง 2.47 ถึง 16.87 แต่การใส่ปุ๋ยโพแทช อัตรา 45 กรัม K₂O ต่อต้นต่อปี ให้ผลตอบแทนสุทธิสูงสุด 15,180 บาทต่อไร่ ผลผลิต 1,024 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 วิเคราะห์ผลตอบแทนทางเศรษฐศาสตร์ต่อการใส่ปุ๋ยของกาแฟอาราบิก้า

| แปลง | อัตราปุ๋ยโพแทช (กรัม N-P ₂ O ₅ -K ₂ O/ต้น/ปี) | ผลผลิต (กก./ไร่) | ผลผลิตเพิ่ม (กก./ไร่) | รายรับที่เพิ่ม | ต้นทุนจากการ ใช้ปุ๋ย | | VCR |
|-------------|---|---------------------|--------------------------|----------------|-------------------------|-------|-------|
| | | | | | (บาท/ไร่) | | |
| แปลงที่มี | 1. 110-46-0 | 571 | - | - | 3,758.26 | - | - |
| ปริมาณ | 2. 110-46-45 | 578 | 7 | 140 | 4,658.26 | 900 | 0.16 |
| โพแทสเซียม | 3. 110-46-90 | 630 | 59 | 1,180 | 5,558.26 | 1,800 | 0.65 |
| อยู่ในระดับ | 4. 110-46-135 | 1,001 | 430 | 8,600 | 6,458.26 | 2,700 | 3.18 |
| ต่ำ | 5. 110-46-180 | 747 | 176 | 3,520 | 7,358.26 | 3,600 | 0.97 |
| แปลงที่มี | 1. 110-46-0 | 112 | - | - | 3,758.26 | - | - |
| ปริมาณ | 2. 110-46-45 | 205 | 93 | 1,860 | 4,658.26 | 900 | 2.06 |
| โพแทสเซียม | 3. 110-46-90 | 294 | 182 | 3,640 | 5,558.26 | 1,800 | 2.02 |
| อยู่ในระดับ | 4. 110-46-135 | 227 | 115 | 2,300 | 6,458.26 | 2,700 | 0.85 |
| ปานกลาง | 5. 110-46-180 | 218 | 106 | 2,120 | 7,358.26 | 3,600 | 0.58 |
| แปลงที่มี | 1. 110-46-0 | 265 | - | - | 3,758.26 | - | - |
| ปริมาณ | 2. 110-46-45 | 1,024 | 759 | 15,180 | 4,658.26 | 900 | 16.86 |
| โพแทสเซียม | 3. 110-46-90 | 729 | 464 | 9,280 | 5,558.26 | 1,800 | 5.15 |
| อยู่ในระดับ | 4. 110-46-135 | 785 | 520 | 10,400 | 6,458.26 | 2,700 | 3.85 |
| สูง | 5. 110-46-180 | 711 | 446 | 8,920 | 7,358.26 | 3,600 | 2.47 |

หมายเหตุ : Value Cost Ratio (VCR) =
$$\frac{\text{รายรับที่เพิ่ม}}{\text{ต้นทุนที่เพิ่ม}}$$

หมายเหตุ : กาแฟ 1 ไร่ จำนวน 400 ต้น

ผลผลิต : ราคา 20 บาทต่อกิโลกรัม

ต้นทุนปุ๋ย : ปุ๋ยยูเรีย (46-0-0) ราคา 28 บาทต่อกิโลกรัม, ปุ๋ยทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต (0-46-0) ราคา 27 บาทต่อกิโลกรัม

ปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ (0-0-60) ราคา 30 บาทต่อกิโลกรัม

สรุปผลการทดลอง

แปลงที่มีปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับต่ำ (77.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) กาแฟอะราบิกาตอบสนองต่อปุ๋ยโพแทสเซียมสูงสุดเมื่อใส่ปุ๋ยโพแทสเซียม อัตรา 135 กรัม K_2O ต่อต้นต่อปี โดยให้ผลผลิตเฉลี่ย 2,503 กรัมต่อต้น และเมื่อพิจารณาผลตอบแทนทางเศรษฐศาสตร์ การใช้ปุ๋ยโพแทสเซียม อัตรา 1.5 เท่าตามคำแนะนำ (110-46-135 กรัม $N-P_2O_5-K_2O$ ต่อต้นต่อปี) มีประสิทธิภาพในการใช้ปุ๋ยโพแทสเซียมมากที่สุด และให้ผลตอบแทนคุ้มค่าต่อการลงทุนมากที่สุด

แปลงที่มีปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับปานกลาง (123.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) กาแฟอะราบิกาตอบสนองต่อปุ๋ยโพแทสเซียมสูงสุดเมื่อใส่ปุ๋ยโพแทสเซียม อัตรา 90 กรัม K_2O ต่อต้นต่อปี โดยให้ผลผลิตเฉลี่ย 735 กรัมต่อต้น และเมื่อพิจารณาผลตอบแทนทางเศรษฐศาสตร์ การใช้ปุ๋ยโพแทสเซียม อัตรา 1.0 เท่าตามคำแนะนำ (110-46-90 กรัม $N-P_2O_5-K_2O$ ต่อต้นต่อปี) มีประสิทธิภาพในการใช้ปุ๋ยโพแทสเซียมมากที่สุด และให้ผลตอบแทนคุ้มค่าต่อการลงทุน

แปลงที่มีปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับสูง (209.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) กาแฟอะราบิกาตอบสนองต่อปุ๋ยโพแทสเซียมสูงสุดเมื่อใส่ปุ๋ยโพแทสเซียม อัตรา 45 กรัม K_2O ต่อต้นต่อปี โดยให้ผลผลิตเฉลี่ย 2,559 กรัมต่อต้น และเมื่อพิจารณาผลตอบแทนทางเศรษฐศาสตร์ พบว่า การใช้ปุ๋ยโพแทสเซียม อัตรา 0.5 เท่าตามคำแนะนำ (110-46-45 กรัม $N-P_2O_5-K_2O$ ต่อต้นต่อปี) มีประสิทธิภาพในการใช้ปุ๋ยโพแทสเซียมมากที่สุด และให้ผลตอบแทนคุ้มค่าต่อการลงทุนมากที่สุด

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ร่วมกับกรมวิชาการเกษตร และขอขอบคุณผู้อำนวยการศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ที่ได้ดูแลและอำนวยความสะดวกแก่การทดลอง สดุดใจขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ได้ให้การช่วยเหลือในการทำงานวิจัยในครั้งนี้

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ข้อมูลการตอบสนองของกาแฟอะราบิกาต่อการจัดการธาตุอาหารในดิน สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการให้คำแนะนำการจัดการดินและปุ๋ยโพแทสเซียมในการผลิตกาแฟอะราบิกา เป็นแนวทางให้เกษตรกรสามารถนำไปใช้ในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตกาแฟอะราบิกาที่ให้ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจคุ้มค่าแก่การลงทุน
2. สามารถนำข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยครั้งนี้ไปขยายผลหรือปรับใช้กับพื้นที่อื่นๆ ซึ่งจะเป็นประโยชน์กับนักวิชาการเกษตรของกรมวิชาการเกษตรและหน่วยงานอื่นๆ นำไปใช้ในการพัฒนางานวิจัยด้านดินและปุ๋ย และสามารถจัดทำคำแนะนำการใช้ปุ๋ยกับกาแฟอะราบิกาสำหรับให้คำแนะนำการใช้ปุ๋ยแก่เกษตรกรได้อย่างถูกต้อง

เอกสารอ้างอิง

- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2557. การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตกาแฟ. กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.
- กลุ่มงานวิจัยเคมีดิน. 2544. คู่มือการวิเคราะห์ดินและพืช. กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ. 164 หน้า
- สถาบันวิจัยพืชสวน. 2562. คู่มือการจัดการการผลิตกาแฟอาราบิก้า. สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2567. ข้อมูลการผลิตสินค้าเกษตร: ตารางแสดงรายละเอียดกาแฟ แหล่งข้อมูล : <http://www.oae.go.th/view/1/ตารางแสดงรายละเอียดกาแฟ/TH-TH> สืบค้น: 5 มีนาคม 2567
- Bray, R. L. and L. T. Kurtz. 1945. Determination of total organic and Available forms of phosphorus in soils. *Soil Sci.* 59: 39-45.
- Chapman, D.D. 1965. Total exchangeable bases, pp. 902-904. In C. A. Black (ed). *Method of Soil analysis Part 2: Chemical and Microbiological Properties No.9.* Amer. Soc. Agron. Madison, Wisconsin.
- Devlin, R.M. and F.H. Witham. 1986. *Plant Physiology.* CBS Publishers, New Delhi. 558 p.
- Jackson, M.L. 1967. *Soil Chemical Analysis.* Prentice-Hall of India Pvt. Ltd., New Delhi.
- Murrell, S. 2017. The concept of “Minimal” exchangeable potassium. *Plant nutrition today.* The international plant nutrition institute (IPNI). Available at: <http://www.ipni.net/pnt>, Accessed March 4, 2024.
- Peech, M. 1965. Hydrogen-ion Activity, pp. 914-925. In C.A. Black (ed). *Method of Soil Analysis Part 2: Chemical and Microbiological Properties No.9.* Amer. Soc. Agron. Madison, Wisconsin.
- Pevaiz, Z., K. Hussain, S.S.H. Kazmi and K.H. Gill. 2004. Agronomic efficiency of different N:P ratios in rainfed wheat. *International Journal of Agriculture & Biology.* 3: 455-457
- Sousa, S. J., Neves, L. C. J., Martinez, H. E. P. and Alvarez V, V. H. 2018. Relationship between Coffee Leaf Analysis and Soil Chemical Analysis. *Rev Bra Ciencia Solo.* 2018;42: e0170109.

การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการนับปริมาณจุลินทรีย์
ในปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต

Method validation of quantification and efficacy of microorganism
in Phosphate solubilizing biofertilizer

อำนาจ เอี่ยมวิจารณ์¹ สุปรานี มั่นหมาย¹ สุธยา ขำดี¹ อมรรัตน์ ใจยะเสน²

Amnat Eamvijarn¹ Supranee munmai¹ Sonthaya khumtib¹ and Amornrat Chaiyasen²

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Phosphate solubilizing ability and Viable Plate Count are the methods for selecting the microbial quantity and efficiency for phosphate solubilizing biofertilizer. *Talaromyces flavus* and *Bacillus megaterium* had high ability to dissolve calcium hydrogen phosphate. Two these strains were used for method validation. The results revealed that the repeatability of *T. flavus* was 0.63 and 0.59% of coefficient of variation (CV). The accuracy test at 10^{-1} and 10^{-4} concentrations were 102.30 and 104.30%. The LOD and LOQ of method was 4.39 and 2.12 $\text{Log}_{10}\text{CFU/g}$. In addition, the uncertainty of measurement based on Viable Plate Count method was 0.11. Furthermore, repeatability of *B. megaterium* was 1.94 and 1.64% of CV. The accuracy test at 10^{-1} and 10^{-4} concentration was 94.80 and 97.87%. The LOD and LOQ of method was 6.40 and 3.88 $\text{Log}_{10}\text{CFU/g}$. The uncertainty of measurement based on Viable Plate Count method was 0.31. Importantly, the within laboratory reproducibility test by between-analyst variation of both strains were non significance at 95% confidence level. Thus, Phosphate solubilizing ability and Viable Plate Count methods were suitable for use according the standard of analytical method validation.

Keywords: method validation, microorganism, phosphate solubilizing biofertilizer

¹ กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

¹ Agricultural Production Science Research and Development Division

² ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชเชียงใหม่ กองวิจัยพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืช

² Chiangmai Seed Research and Development Center, Seed Research and Development Division

บทคัดย่อ

การทดสอบประสิทธิภาพการละลายแคลเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต และการนับปริมาณจุลินทรีย์ด้วยวิธี Viable plate count เป็นวิธีที่ใช้คัดเลือกจุลินทรีย์อ้างอิงเพื่อใช้ควบคุมคุณภาพปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต โดยคัดเลือก *Talaromyces flavus* และ *Bacillus megaterium* เพื่อใช้เป็นเชื้อจุลินทรีย์อ้างอิงในการทดลองผลการทดลอง พบว่า *T. flavus* และ *B. megaterium* มีความสามารถในการละลายแคลเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต และเจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบของเชื้อ *T. flavus* พบว่า การทดสอบความเที่ยง (Intermediate precision) มีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (CV) เท่ากับ 0.63 และ 0.59 เปอร์เซ็นต์ การทดสอบความแม่นยำของวิธีได้ค่าร้อยละการคืนกลับของวิธีทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 10^{-1} และ 10^{-4} มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 102.30 และ 104.30 เปอร์เซ็นต์ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ (LOD) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวัดเชิงปริมาณได้ (LOQ) เท่ากับ 4.39 และ 2.12 $\text{Log}_{10}\text{CFU/g}$ ตามลำดับ และค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบเท่ากับ 0.11 ขณะที่เชื้อ *B. megaterium* การทดสอบความเที่ยงมี CV เท่ากับ 1.94 และ 1.64 เปอร์เซ็นต์ ค่าร้อยละการคืนกลับของวิธีทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 10^{-1} และ 10^{-4} มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 94.80 และ 97.87 เปอร์เซ็นต์ มีค่า LOD และค่า LOQ เท่ากับ 6.40 และ 3.88 $\text{Log}_{10}\text{CFU/g}$ ตามลำดับ และค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบเท่ากับ 0.31 ขณะที่การทดสอบความเที่ยงแบบ between-analyst variation โดยใช้ Student's t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ของจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิด ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้นวิธีทดสอบประสิทธิภาพและการนับปริมาณจุลินทรีย์ในปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตด้วยวิธี Viable plate count จึงมีความเที่ยง ความแม่นยำ และให้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่ถูกต้องและน่าเชื่อถือ

คำสำคัญ: การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี, จุลินทรีย์, ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต

คำนำ

ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตที่ผลิตเป็นการค้าในปัจจุบันประกอบด้วยจุลินทรีย์ 2 ประเภท คือ ราและแบคทีเรีย โดยจุลินทรีย์เหล่านั้นต้องมีชีวิตและมีประสิทธิภาพการละลายตะกอน CaHPO_4 ในอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์สูตรสังเคราะห์ ในปัจจุบันภาคราชการและเอกชนทำการผลิตเพื่อจำหน่าย และขอขึ้นทะเบียนปุ๋ยชีวภาพ โดยตามประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง การขอขึ้นทะเบียน การออกใบสำคัญการขึ้นทะเบียน การขอแก้ไขรายการทะเบียน และการขอแก้ไขรายการทะเบียนปุ๋ยชีวภาพ พ.ศ. 2552 ต้องมีปริมาณจุลินทรีย์ประเภทรา ไม่น้อยกว่า 1.0×10^7 โคโลนีต่อน้ำหนักปุ๋ยชีวภาพ 1 กรัม หรือจุลินทรีย์ประเภทแบคทีเรียไม่น้อยกว่า 1.0×10^8 โคโลนีต่อน้ำหนักปุ๋ยชีวภาพ 1 กรัม และต้องระบุปริมาณจุลินทรีย์รับรองแต่ละสกุลด้วย ทั้งนี้กรมวิชาการเกษตรได้ทำการศึกษา ค้นคว้า วิจัยและพัฒนาจนได้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต โดยลักษณะของผลิตภัณฑ์เป็นผง มีจุลินทรีย์ประเภทราสกุล *Penicillium* sp. (ระยะสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ *Talaromyces* sp.) มีปริมาณจุลินทรีย์รับรองรวมทั้งหมดขั้นต่ำไม่น้อยกว่า 1.0×10^7 โคโลนีต่อน้ำหนักปุ๋ยชีวภาพ 1 กรัม ที่สามารถละลายหินฟอสเฟตและฟอสเฟตที่มีอยู่ในดินบางรูปที่พืชใช้ไม่ได้ให้ละลายออกมาเป็นประโยชน์แก่พืช และยังมีคุณสมบัติพิเศษสามารถสังเคราะห์สารช่วยในการเจริญเติบโตของพืช กล่าวได้ว่าผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตของกรมวิชาการเกษตร ช่วยพืชให้ได้ธาตุอาหารฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้น และช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชที่ใช้ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต (จดหมายข่าวผลิใบ ISBN 15013-0010)

ในปัจจุบันมีการศึกษาการคัดแยกและทดสอบกิจกรรมการละลายฟอสเฟตของจุลินทรีย์มากขึ้นเนื่องจากจุลินทรีย์สามารถเปลี่ยนฟอสเฟตให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ (HPO_4^{2-} หรือ H_2PO_4^-) มีรายงานจุลินทรีย์หลายสกุลที่สามารถละลายฟอสเฟต เช่น *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Pantoea* และ *Sinorhizobium* (Babalola and Glick 2012; Chen and Liu 2019; David et al. 2014; Istina

et al. 2015; Zhang et al. 2019) ซึ่งจุลินทรีย์จะผลิตกรดอินทรีย์และกรดอนินทรีย์ เช่น กรดฟอร์มิก กรดแลคติก กรดไกลโคลิก กรดฟูมาลิก ซัลฟิวริก และกรดไนตริก เป็นต้น ในการละลายฟอสเฟต (Kalayu 2019; Rashid et al. 2004) มีรายงานของ Elias et al. (2016) คัดแยกมาจากบริเวณรอบรากพืช เช่น กะหล่ำ ถั่ว มะเขือเทศ และอ้อย ในประเทศเอธิโอเปียบนอาหาร Pikovskaya's (PKV) agar ได้ทั้งหมด 359 ไอโซเลท ประกอบด้วยรา *Aspergillus*, *Penicillium* และ *Fusarium* ซึ่งมีค่า Phosphate solubilization index (SI) ในช่วง 1.10-3.05 สอดคล้องกับ Mahadevamurthy et al. (2016) ซึ่งทดสอบการละลายฟอสเฟตบนอาหาร PKV medium ของรา *Aspergillus niger* และ *Penicillium* sp. ที่แยกจากดินรอบรากถั่วลูกไก่ (chickpea) ในทางเดียวกันสามารถใช้อาหารดังกล่าว ทดสอบการละลายฟอสเฟตของแบคทีเรียได้เช่นกัน โดย Paul and Sinha (2017) ทดสอบการละลายฟอสเฟตของแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* KUPSB12 ในอาหาร PKV แบบเหลว ที่ระดับความเข้มข้น $219.64 \pm 0.330 \mu\text{g/mL}$ พบว่ามีค่า SI เท่ากับ 2.85 นอกจากนี้ Pande et al. (2017) สามารถใช้อาหาร PKV ทดสอบการละลายฟอสเฟตของ *Alcaligenes aquatilis* และ *Burkholderia cepacia* ที่แยกได้ดินในประเทศอินเดีย และมีการศึกษาประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตโดยใช้อาหาร Double-layered glucose yeast agar (GYA) เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus mojavensis* และ *B. megaterium* จากเชื้อที่แยกได้จากดินแปลงปลูกอ้อยในจังหวัดนครสวรรค์ได้ด้วย (Chungopast et al., 2021)

การวิเคราะห์ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต มักใช้อาหารจำเพาะในการนับปริมาณและทดสอบประสิทธิภาพ วิธีการที่นิยมใช้นับจุลินทรีย์สำคัญ คือ วิธีนับจุลินทรีย์ที่มีชีวิต (Viable plate count) เป็นการนับจำนวนจุลินทรีย์ที่ยังมีชีวิตอยู่ซึ่งสามารถเพิ่มปริมาณเจริญเติบโตเป็นรูปโคโลนีได้บนอาหารวุ้น (Agar media) การตรวจนับจะมีความแม่นยำที่สุดเมื่อตัวอย่างมีการเจือจางในระดับที่เหมาะสม จุลินทรีย์ในตัวอย่างกระจายตัวดี อาหารเลี้ยงเชื้อเหมาะสมกับจุลินทรีย์ อุณหภูมิและสภาวะแวดล้อมเหมาะสม ในปี พ.ศ. 2566 กรมวิชาการเกษตรได้ปรับปรุงหนังสือเรื่อง คู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยชีวภาพ เพื่อให้หน่วยงานที่เกี่ยวข้องทั้งภาครัฐและเอกชนสามารถนำไปประยุกต์ใช้ เพราะได้รวบรวมหลักการวิเคราะห์และเทคนิคต่าง ๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์จุลินทรีย์เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพให้มีคุณภาพ ทั้งนี้ยังไม่มีการศึกษาวิจัยด้านการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณ และประสิทธิภาพจุลินทรีย์ในปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต รวมทั้งการศึกษาวิจัยในหัวข้อดังกล่าวมีความสำคัญต่อการกำกับดูแลคุณภาพ มาตรฐาน และน่าเชื่อถือ

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ
 - 1.1 อาหารเลี้ยงแบคทีเรีย เช่น Nutrient agar (NA) หรือ Plate count agar (PCA) ที่เติมสารปฏิชีวนะ Cycloheximide และ Nystatin เพื่อยับยั้งการเจริญของรา
 - 1.2 อาหารเลี้ยงรา เช่น Potato dextrose agar (PDA) หรือ Glucose ammonium nitrate agar (GAN) ที่เติมสารปฏิชีวนะ Streptomycin เพื่อยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย
 - 1.3 GYA double-layered agar medium
2. สารเคมี
 - 2.1 95% Ethyl alcohol
 - 2.2 สารละลายสำหรับเจือจาง ได้แก่ น้ำกลั่นหรือน้ำกรอง หรือ 0.85% Sodium chloride
 - 2.3 1N Sodium hydroxide
 - 2.4 0.1N Hydrochloric acid

- 2.5 0.5% Cycloheximide
- 2.6 0.1% Nystatin
- 2.7 1% Streptomycin sulfate

3. เครื่องมือ

- 3.1 เครื่องชั่ง (Balance) 2 และ 4 ตำแหน่ง
- 3.2 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow)
- 3.3 หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave)
- 3.4 เครื่องผสมสารแบบปั่น (Vortex mixer)
- 3.5 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
- 3.6 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)
- 3.7 เครื่องเขย่า (Shaker)

4. อุปกรณ์

- 4.1 ขวดแก้วฝาเกลียว (Screw cap bottle)
- 4.2 หลอดทดลอง (Test tube)
- 4.3 จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
- 4.4 แท่งแก้วอ (Glass spreader)
- 4.5 ปิเปต (Pipette)
- 4.6 ชุดดูดจ่ายสารละลาย (Dispenser)
- 4.7 เครื่องแก้วที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่าง

เชื้อจางตัวอย่างตามลำดับ ลำดับละ 10 เท่า ด้วยสารละลายเชื้อจางตัวอย่างดังนี้

- 1.1 ชั่งตัวอย่างจำนวน 10 กรัม ใส่ในขวดที่มีสารละลายเชื้อจาง ที่นิ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 90 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่าให้เข้ากัน ประมาณ 20–30 นาที ที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที จะได้ตัวอย่างปฏิกิริยาเชื้อจาง 10^{-1}
- 1.2 ปิเปตตัวอย่างเชื้อจาง 10^{-1} ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายสำหรับเชื้อจางที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารแบบปั่น จะได้ตัวอย่างปฏิกิริยาเชื้อจาง 10^{-2} จากนั้นทำการเชื้อจางตามลำดับจนถึงระดับความเจือจาง 10^{-3} , 10^{-4} , ..., 10^{-n}

2. การนับปริมาณ

2.1 การนับปริมาณแบคทีเรีย

- 2.1.1 ปิเปตตัวอย่างสารแขวนลอยที่ระดับความเจือจางต่าง ๆ ตั้งแต่ 10^{-1} จนถึงระดับความเจือจางที่ต้องการ จากข้อ 1.2 ระดับละ 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหาร NA หรือ PCA ที่เตรียมไว้ เกลี่ยให้กระจายสม่ำเสมอทั่วผิวหน้าอาหารด้วยแท่งแก้วอ ในตู้ปลอดเชื้อ
- 2.1.2 บ่มจานเพาะเชื้อในตู้บ่มเชื้อ ที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 2–3 วัน
- 2.1.3 นับจำนวนโคโลนีในจานเพาะเชื้อที่มีเชื้อเจริญ 30–300 โคโลนี

2.2 การนับปริมาณรา

- 2.2.1 ปิเปตตัวอย่างสารแขวนลอยที่ระดับความเจือจางต่าง ๆ ตั้งแต่ 10^{-1} จนถึงระดับความเจือจางที่ต้องการ จากข้อ 1.2 ระดับละ 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหาร PDA หรือ GAN ที่เตรียมไว้ เกลี่ยให้กระจายสม่ำเสมอทั่วผิวหน้าอาหารด้วยแท่งแก้วอ ในตู้ปลอดเชื้อ

2.2.2 บ่มจานเพาะเชื้อในตู้บ่มเชื้อ ที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3–5 วัน

2.2.3 นับจำนวนโคโลนีในจานเพาะเชื้อที่มีเชื้อเจริญ 10–150 โคโลนี

3. การประเมินประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟต

3.1 เพาะจุลินทรีย์แบบจุด (Spot inoculation) รา จำนวน 10 ไอโซเลท และแบคทีเรีย จำนวน 13 ไอโซเลท บนอาหารเลี้ยงเชื้อ GYA double-layered agar medium ซึ่งมีตะกอน Calcium hydrogen phosphate ผสมอยู่ โดยใช้เข็มเขี่ยในการเพาะเชื้อ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 7 วัน

3.2 เมื่อบ่มเชื้อครบ 7 วัน วัดความกว้างของวงใสจากขอบโคโลนีถึงขอบนอกของวงใส

วัดความกว้างของวงใส = เส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส – เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี

3.3 ประเมินระดับกิจกรรมการสร้างวงใสของจุลินทรีย์ เมื่อบ่มเชื้อเป็นระยะเวลา 7 วัน โดยมีเกณฑ์การประเมินระดับประสิทธิภาพการละลายตะกอน Calcium hydrogen phosphate ของจุลินทรีย์ตามความกว้างของวงใส ดังนี้ ระดับ 1) 0 มิลลิเมตร ระดับ 2) 0–3 มิลลิเมตร ระดับ 3) 3–6 มิลลิเมตร ระดับ 4) 6–9 มิลลิเมตร และระดับ 5) มากกว่า 9 มิลลิเมตร

4. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี

4.1 การทดสอบความเที่ยง (Precision)

การทดสอบโดยเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ 2 คน (Intermediate precision: between-analyst variation) โดยทดสอบนับปริมาณจุลินทรีย์ต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพ จำนวน 20 ซ้ำ โดยเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ 2 คน โดยทดสอบในวันและสภาวะเดียวกัน คำนวณหาจำนวนจุลินทรีย์ในหน่วย CFU ต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพ ค่าเฉลี่ย และ %CV โดย %CV จะต้องมามีค่า ≤ 10 จึงยอมรับและประเมินการผ่านเกณฑ์ และเปรียบเทียบจำนวนจุลินทรีย์ต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพ ที่วัดได้จากเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ทั้ง 2 คน โดยใช้ Student's t-test ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.2 การทดสอบความแม่นยำ (Accuracy)

Relative Accuracy (AC) คือ ระดับของความตรงกันระหว่างปริมาณราและแบคทีเรียต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพ ที่ได้จากปุ๋ยชีวภาพแบบผงและหัวเชื้อ โดยนับปริมาณด้วยวิธี Viable Plate Count

4.2.1 นำตัวอย่างปุ๋ยชีวภาพแบบผงที่เตรียมจากรา *Talaromyces flavus* และแบคทีเรีย *Bacillus megaterium* สายพันธุ์บริสุทธิ์อ้างอิง จำนวน 10 กรัม มาทำการเจือจางลำดับส่วน 10 เท่า (ตามข้อ 1 การเตรียมตัวอย่าง) ตั้งแต่ 10^{-1} ถึง 10^{-8} แล้วทำการนับปริมาณจุลินทรีย์ต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพจากการทดสอบด้วยวิธี Viable plate count โดยทำการทดสอบที่ความเข้มข้นระดับ 10^{-1} (สูง) 10^{-4} (กลาง) 10^{-5} หรือ 10^{-6} (ต่ำ)

4.2.2 นำตัวอย่างหัวเชื้อปุ๋ยชีวภาพที่เตรียมจากรา *Talaromyces flavus* และแบคทีเรีย *Bacillus megaterium* สายพันธุ์บริสุทธิ์อ้างอิง จำนวน 10 กรัม มาทำการเจือจางลำดับส่วน 10 เท่า (ตามข้อ 1 การเตรียมตัวอย่าง) ตั้งแต่ 10^{-1} ถึง 10^{-8} แล้วทำการนับปริมาณจุลินทรีย์ต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพจากการทดสอบด้วยวิธี viable plate count โดยทำการทดสอบที่ความเข้มข้นระดับ 10^{-1} (สูง) 10^{-4} (กลาง) 10^{-6} (ต่ำ)

จากนั้นนำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่า % recovery โดยมีค่า 80–120 ขึ้นไปและค่า %CV มีค่าเท่ากับหรือน้อยกว่า 20 (กนิษฐา และคณะ, 2559)

4.3 การหาค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบ (Uncertainty) ทางจุลชีววิทยา

4.3.1 การนับปริมาณจุลินทรีย์

4.3.1.1 ชั่งตัวอย่าง 10 ± 0.1 กรัม อย่างน้อย 20 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ

4.3.1.2 ตัวอย่างชุดที่ 1 (Yj1) ให้ผู้ทดสอบคนที่ 1 เป็นผู้ทดสอบ และตัวอย่าง (Yj2) ให้ผู้ทดสอบคนที่ 2 เป็นผู้ทดสอบ

- 4.3.1.3 ทำการทดสอบตัวอย่างเพื่อหาปริมาณจุลินทรีย์
- 4.3.1.4 แปลงข้อมูลที่ได้จากผู้ทดสอบแต่ละคนให้อยู่ในรูป $\text{Log}_{10}\text{CFU}$
- 4.3.1.5 นำมาคำนวณตามสูตร

การหาค่า Standard deviation of reproducibility

$$S_R = \sqrt{\frac{1}{2n} \sum_{i=1}^n (Y_{j1} - Y_{j2})^2}$$

โดยที่

- S_R = Standard deviation of reproducibility
- $(Y_{j1} - Y_{j2})$ = ผลต่างของผลการทดสอบจากผู้ทดสอบแต่ละคนในรูป $\text{Log}_{10}\text{CFU}$
- n = จำนวนตัวอย่าง
- i = ลำดับที่ของตัวอย่าง

4.3.2 การคำนวณค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (Expanded Uncertainty)

$$U_{95\%} = 2 \sqrt{S_R^2 + \frac{0.18861}{\sum C}}$$

โดยที่

- $U_{95\%}$ = ค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (Expanded Uncertainty)
- S_R = Standard deviation of reproducibility ที่ได้จากการคำนวณ
- $\sum C$ = ผลรวมของจำนวนจุลินทรีย์ทุกซ้ำของการทดสอบ
- $\frac{0.18861}{\sum C}$ = Variance component due to Poisson distribution

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2566

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรุงเทพมหานคร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การวัดประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟต

คัดเลือกราละลายฟอสเฟต *Talaromyces flavus* จำนวน 10 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท PS8-63, PS12-63, PS14-63, PS17-63, PS34-63, PS8-64, PS9-64, PS10-64, PS11 - 64 และ PS12-64 และวัดประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตบนอาหาร GYA double-layered agar medium ซึ่งมีตะกอน Calcium hydrogen phosphate ผสมอยู่ เมื่อบ่มเชื้อครบ 7 วัน พบว่า สร้างวงใสอยู่ในช่วงระหว่าง 9.7 ± 0.15 ถึง 18.7 ± 0.12 มม. ซึ่งทั้ง 10 ไอโซเลท มีระดับกิจกรรมการละลายตะกอน CaHPO_4 ในระดับ 5 สามารถสร้างวงใสมากกว่า 9.0 มม. โดยไอโซเลท PS34-63 มีประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตสูงที่สุด เท่ากับ 18.7 ± 0.12 มม. รองลงมาคือ ไอโซเลท PS17-63 และ PS9-64 มีประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตเท่ากับ 17.3 ± 0.25 และ 16.7 ± 0.12 มม. ตามลำดับ ขณะที่ไอโซเลท PS14-63 มีประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตต่ำที่สุด เท่ากับ 9.7 ± 0.15 มม. (ตารางที่ 1) กรมวิชาการเกษตรมีการศึกษาวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตที่มีประสิทธิภาพและสามารถ

ใช้ได้กับพืชหลายชนิด เช่น มะม่วง ลำไย ส้มโอ ข้าวโพด มันสำปะหลัง พริก และมะเขือ เป็นต้น โดยใช้ราสกุล *Talaromyces aff. macrosporus* เป็นหัวเชื้อในการผลิต (กรมวิชาการเกษตร, 2564) ยังมีรายงานการศึกษาว่า *T. flavus* ที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตร่วมกับราไมคอร์ไรซา *Gigaspora rosea* ในการปลูกข้าวสาลี พบว่าสามารถกระตุ้นการงอกของสปอร์ราไมคอร์ไรซา ช่วยเพิ่มการเข้าอาศัยในราก และเพิ่มการละลายฟอสเฟต นอกจากนี้ยังมีรา *T. funiculosus* และ *T. pinophilus* สามารถละลายอินทรีย์ฟอสเฟตได้ดีเช่นกัน (Monica et al. 2014; Kanse et al. 2015; Majumder et al. 2019)

คัดเลือกแบคทีเรียละลายฟอสเฟต *Bacillus megaterium* จำนวน 13 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท PS1-65, PS2-65, PS9-65, PS13-65, PS16-65, PS23-65, PS24-65, PS38-65, PS41-65, PS1-66, PS2-66, PS7-66 และ PS16-66 พบว่า ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตอยู่ในช่วง 0 ถึง 10.3 ± 0.12 มม. มีระดับกิจกรรมการละลายตะกอน CaHPO_4 อยู่ในระดับ 1 - 5 โดย PS2-66 มีระดับกิจกรรมการละลายตะกอน CaHPO_4 ในระดับ 1 คือ ไม่ละลายการละลายตะกอนฟอสเฟต ไอโซเลท PS2-65 ระดับ 2 สร้างวงใสกว้าง 0.1 ซม. ส่วน PS1-65, PS9-65, PS1-66 และ PS16-66 ระดับ 3 สร้างวงใสกว้าง 4.7 ± 0.12 ถึง 5.3 ± 0.06 มม. PS16-65, PS23-65, PS24-65, PS38-65 และ PS41-65 ระดับ 4 สร้างวงใสกว้าง 6.3 ± 0.12 ถึง 8.0 ± 0.10 มม. และ PS13-65 และระดับ 5 สร้างวงใสกว้าง 10.3 ± 0.12 มม. คือ PS13-65 ซึ่งมีประสิทธิภาพการละลายตะกอนฟอสเฟตได้ดีที่สุด (ตารางที่ 1) สอดคล้องกับ Kang et al. (2014) ศึกษาแบคทีเรียละลายฟอสเฟต *B. megaterium* ในการปลูกมันฝรั่งในประเทศเกาหลี พบว่า ผลิตรวดมาติก กรดควินิก และทำให้ราก ยอด รวมทั้งน้ำหนักสดของพืชเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังมีรายงานแบคทีเรียอีกหลายสกุลที่สามารถผลิตกรดอินทรีย์ที่ละลายฟอสเฟตได้ เช่น *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Kluyvera*, *Streptomyces*, *Pantoea* และ *Pseudomonas* ซึ่งสามารถเพิ่มผลผลิตได้มากขึ้น (Martinez-Viveros et al., 2010)

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตของรา *Talaromyces flavus* จำนวน 10 ไอโซเลท และแบคทีเรีย *Bacillus megaterium* จำนวน 13 ไอโซเลท

| ลำดับ | สายพันธุ์จุลินทรีย์ | ประสิทธิภาพการละลาย | ระดับกิจกรรมการละลายตะกอน |
|-------|-------------------------------------|---------------------|---------------------------|
| | | ฟอสเฟต (มม.)* | CaHPO ₄ |
| 1 | <i>Talaromyces flavus</i> (PS8-63) | 10.7±0.06 | ระดับ 5 |
| 2 | <i>T. flavus</i> (PS12-63) | 12.0 | ระดับ 5 |
| 3 | <i>T. flavus</i> (PS14-63) | 9.7±0.15 | ระดับ 5 |
| 4 | <i>T. flavus</i> (PS17-63) | 17.3±0.25 | ระดับ 5 |
| 5 | <i>T. flavus</i> (PS34-63) | 18.7±0.12 | ระดับ 5 |
| 6 | <i>T. flavus</i> (PS8-64) | 12.0±0.52 | ระดับ 5 |
| 7 | <i>T. flavus</i> (PS9-64) | 16.7±0.12 | ระดับ 5 |
| 8 | <i>T. flavus</i> (PS10-64) | 13.3±0.29 | ระดับ 5 |
| 9 | <i>T. flavus</i> (PS11-64) | 14.3±0.06 | ระดับ 5 |
| 10 | <i>T. flavus</i> (PS12-64) | 12.7±0.25 | ระดับ 5 |
| 11 | <i>Bacillus megaterium</i> (PS1-65) | 5.3±0.06 | ระดับ 3 |
| 12 | <i>B. megaterium</i> (PS2-65) | 1.0 | ระดับ 2 |
| 13 | <i>B. megaterium</i> (PS9-65) | 6.3±0.15 | ระดับ 4 |
| 14 | <i>B. megaterium</i> (PS13-65) | 10.3±0.12 | ระดับ 5 |
| 15 | <i>B. megaterium</i> (PS16-65) | 7.0 | ระดับ 4 |
| 16 | <i>B. megaterium</i> (PS23-65) | 8.0±0.10 | ระดับ 4 |
| 17 | <i>B. megaterium</i> (PS24-65) | 8.0±0.10 | ระดับ 4 |
| 18 | <i>B. megaterium</i> (PS38-65) | 7.3±0.15 | ระดับ 4 |
| 19 | <i>B. megaterium</i> (PS41-65) | 6.7±0.06 | ระดับ 4 |
| 20 | <i>B. megaterium</i> (PS1-66) | 5.0 | ระดับ 3 |
| 21 | <i>B. megaterium</i> (PS2-66) | 0 | ระดับ 1 |
| 22 | <i>B. megaterium</i> (PS7-66) | 7.0 | ระดับ 4 |
| 23 | <i>B. megaterium</i> (PS16-66) | 4.7±0.12 | ระดับ 3 |

* เกณฑ์การประเมินระดับประสิทธิภาพการละลายตะกอน Calcium hydrogen phosphate ของจุลินทรีย์ตามความกว้างของวงใส ดังนี้ ระดับ 1) 0 มิลลิเมตร ระดับ 2) 0–3 มิลลิเมตร ระดับ 3) 3–6 มิลลิเมตร ระดับ 4) 6–9 มิลลิเมตร และระดับ 5) มากกว่า 9 มิลลิเมตร

2. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ

2.1 การทดสอบความเที่ยง (Precision)

การทดสอบโดยเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ 2 คน (Intermediate precision: between-analyst variation)

การทดสอบความเที่ยงของวิธีทดสอบปริมาณจุลินทรีย์ในปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตรา *T. flavus* จำนวน 20 ซ้ำ โดยเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ 2 คน โดยทดสอบในวันและสภาวะเดียวกัน พบว่า เจ้าหน้าที่วิเคราะห์คนที่ 1 ได้ปริมาณจุลินทรีย์เฉลี่ยเท่ากับ 8.40 Log₁₀CFU/g และมี %CV เท่ากับ 0.63 สำหรับเจ้าหน้าที่วิเคราะห์คนที่ 2 ได้ปริมาณจุลินทรีย์เฉลี่ยเท่ากับ 8.39 Log₁₀CFU/g และมี %CV เท่ากับ 0.59 (ตารางที่ 2) และเปรียบเทียบจำนวนจุลินทรีย์ต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพ ที่นับได้จากเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ทั้ง 2 คน โดยใช้ Student's t-test ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่า ค่า t Stat เท่ากับ 0.34 ส่วนค่า t Critical two-tail เท่ากับ 2.024 และค่า P เท่ากับ 0.736 แสดงให้เห็นว่า ผลการทดสอบของเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ทั้ง 2 คน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 2)

การทดสอบความเที่ยงของวิธีทดสอบปริมาณจุลินทรีย์ในปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตแบบที่เรีย *B. megaterium* จำนวน 20 ซ้ำ โดยเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ 2 คน โดยทดสอบในวันและสถานะเดียวกัน พบว่า เจ้าหน้าที่วิเคราะห์คนที่ 1 โดยได้ปริมาณจุลินทรีย์เฉลี่ยเท่ากับ 8.38 Log₁₀CFU/g และมี %CV เท่ากับ 1.94 สำหรับเจ้าหน้าที่วิเคราะห์คนที่ 2 ได้ปริมาณจุลินทรีย์เฉลี่ยเท่ากับ 8.34 Log₁₀CFU/g และมี %CV เท่ากับ 1.64 (ตารางที่ 3) และเปรียบเทียบจำนวนจุลินทรีย์ต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพ ที่นับได้จากเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ทั้ง 2 คน โดยใช้ Student's t-test ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่า ค่า t Stat เท่ากับ 0.82 ส่วนค่า t Critical two-tail เท่ากับ 2.024 และค่า P เท่ากับ 0.417 แสดงให้เห็นว่าผลการทดสอบของเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ทั้ง 2 คน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 3)

2.2 การทดสอบความแม่นยำ (Accuracy)

ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตที่ใช้รา *T. flavus* พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 10⁻¹ (ระดับสูง) มีปริมาณจุลินทรีย์เฉลี่ยเท่ากับ 7.42 Log₁₀CFU/g มีค่า %Recovery เฉลี่ยเท่ากับ 102.30% (ตารางที่ 4) ที่ระดับความเข้มข้น 10⁻⁴ (ระดับกลาง) มีปริมาณจุลินทรีย์เฉลี่ยเท่ากับ 4.39 Log₁₀CFU/g มีค่า %Recovery เฉลี่ยเท่ากับ 104.30% (ตารางที่ 5) ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 10⁻⁵ (ระดับต่ำ) มีปริมาณจุลินทรีย์เฉลี่ยเท่ากับ 2.12 Log₁₀CFU/g มีค่า %Recovery เฉลี่ยเท่ากับ 75.14% (ตารางที่ 6)

ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตที่ใช้แบคทีเรีย *B. megaterium* ที่ระดับความเข้มข้น 10⁻¹ (ระดับสูง) มีปริมาณจุลินทรีย์เฉลี่ยเท่ากับ 7.60 Log₁₀CFU/g มีค่า %Recovery เฉลี่ยเท่ากับ 94.80% (ตารางที่ 7) ที่ระดับความเข้มข้น 10⁻⁴ (ระดับกลาง) มีปริมาณจุลินทรีย์เฉลี่ยเท่ากับ 6.40 Log₁₀CFU/g มีค่า %Recovery เฉลี่ยเท่ากับ 97.87% (ตารางที่ 8) ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 10⁻⁶ (ระดับต่ำ) มีปริมาณจุลินทรีย์เฉลี่ยเท่ากับ 3.88 Log₁₀CFU/g มีค่า %Recovery เฉลี่ยเท่ากับ 134.16% (ตารางที่ 9) ทั้งนี้ปริมาณเชื้อในระยะแรกที่เพิ่มมากขึ้นหลังจากที่นำหัวเชื้อแบบเหลวผสมกับวัสดุพา (carrier) อาจเนื่องจากพื้นที่ในการเจริญเติบโต ปริมาณออกซิเจน อาหารเลี้ยงเชื้อที่ติดไปกับหัวเชื้อแบบเหลวธาตุอาหารที่ และชนิดของวัสดุพาที่ใช้ สอดคล้องกับการศึกษาของ Mohamed *et al.* (2016) รายงานว่าการใช้วัสดุพาที่ประกอบด้วย แคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO₃) ถ่าน มูลสัตว์ ดินเหนียว และทราย ในสัดส่วนต่าง ๆ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 10 และ 20 องศาเซลเซียส ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพจากเชื้อ *Bacillus megaterium var. phosphaticum* โดยในทุกกรรมวิธีปริมาณของเชื้อจะเพิ่มขึ้นในระยะแรก และจะลดลงเมื่อเก็บไว้เป็นระยะเวลา 2-3 เดือน

2.3 การประมาณค่าต่ำที่สุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (Limit of Detection: LOD) และการประมาณค่าต่ำที่สุดที่สามารถรายงานผลได้ (Limit of Quantization: LOQ)

ระดับความเข้มข้นของรา *T. flavus* ต่ำที่สุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (LOD) ด้วยวิธีทดสอบปริมาณในปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตอยู่ที่ระดับความเข้มข้น 10⁻⁴ หรือมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.39 Log₁₀CFU/g มีค่า %Recovery เฉลี่ยเท่ากับ 104.30% ส่วนจำนวน *T. flavus* ต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตที่สามารถตรวจได้ในระดับต่ำที่สุด แต่ยังไม่ถือว่ามีความถูกต้อง (Critical Level: LC) อยู่ที่ระดับความเข้มข้น 10⁻⁵ หรือมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.12 Log₁₀CFU/g เนื่องจากมีค่า %Recovery เฉลี่ยเท่ากับ 75.14% ดังนั้นจำนวน *T. flavus* ต่ำที่สุดที่สามารถรายงานผลได้ (LOQ) เท่ากับ 4.39 Log₁₀CFU/g

ระดับความเข้มข้นของแบคทีเรีย *B. megaterium* ต่ำที่สุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (LOD) ด้วยวิธีทดสอบปริมาณในปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตอยู่ที่ระดับความเข้มข้น 10⁻⁴ หรือมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.40 Log₁₀CFU/g มีค่า %Recovery เฉลี่ยเท่ากับ 97.87% ส่วนจำนวน *B. megaterium* ต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตที่สามารถตรวจได้ในระดับต่ำที่สุด แต่ยังไม่ถือว่ามีความถูกต้อง (Critical Level: LC) อยู่ที่ระดับความเข้มข้น 10⁻⁶ หรือมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.88 Log₁₀CFU/g

เนื่องจากมีค่า %Recovery เฉลี่ยเท่ากับ 134.16% ดังนั้นจำนวน *B. megaterium* ต่ำที่สุดที่สามารถรายงานผลได้ (LOQ) เท่ากับ 6.40 Log₁₀CFU/g

2.4 การหาค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบ (Uncertainty) ทางจุลชีววิทยา

การทดสอบตัวอย่างรา *T. flavus* ในปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต จำนวน 20 ตัวอย่าง (n = 20) ตัวอย่างละ 2 ชุด ให้เจ้าหน้าที่วิเคราะห์ 2 ค่าผลต่างของผลการทดสอบจากเจ้าหน้าที่วิเคราะห์แต่ละคนในรูป Log₁₀CFU ยกกำลังสอง $\sum_{i=1}^n (Y_{j1} - Y_{j2})^2$ เท่ากับ 0.10 ทำให้ได้ค่า Standard deviation of reproducibility (S_R) เท่ากับ 0.05 เมื่อคำนวณค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (Expanded Uncertainty) จะได้ค่าเท่ากับ 0.11 ขณะที่การทดสอบเชื้อ *B. megaterium* ค่าผลต่างของผลการทดสอบจากเจ้าหน้าที่วิเคราะห์แต่ละคนในรูป Log₁₀CFU ยกกำลังสอง $\sum_{i=1}^n (Y_{j1} - Y_{j2})^2$ เท่ากับ 0.93 ทำให้ได้ค่า S_R เท่ากับ 0.15 เมื่อคำนวณค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบได้ค่าเท่ากับ 0.31

ตารางที่ 2 ความเที่ยงของวิธีทดสอบปริมาณ *T. flavus* ในปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตโดยเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ 2 คน

| จำนวนซ้ำที่ | ปริมาณจุลินทรีย์ในหน่วย CFU ต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพ (Log ₁₀ CFU/g) | |
|---------------------|---|-----------------------------|
| | เจ้าหน้าที่วิเคราะห์คนที่ 1 | เจ้าหน้าที่วิเคราะห์คนที่ 2 |
| 1 | 8.40 | 8.38 |
| 2 | 8.47 | 8.42 |
| 3 | 8.45 | 8.46 |
| 4 | 8.42 | 8.41 |
| 5 | 8.314 | 8.40 |
| 6 | 8.39 | 8.42 |
| 7 | 8.30 | 8.39 |
| 8 | 8.43 | 8.37 |
| 9 | 8.38 | 8.31 |
| 10 | 8.35 | 8.44 |
| 11 | 8.47 | 8.42 |
| 12 | 8.31 | 8.42 |
| 13 | 8.38 | 8.42 |
| 14 | 8.43 | 8.42 |
| 15 | 8.37 | 8.46 |
| 16 | 8.42 | 8.37 |
| 17 | 8.42 | 8.31 |
| 18 | 8.31 | 8.31 |
| 19 | 8.44 | 8.31 |
| 20 | 8.42 | 8.33 |
| ค่าเฉลี่ย | 8.40 | 8.39 |
| %CV | 0.63 | 0.59 |
| t Stat | | 0.34 |
| t Critical two-tail | | 2.024 |

ตารางที่ 3 ความเที่ยงของวิธีทดสอบปริมาณ *B. megaterium* ในปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตโดยเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ 2 คน

| จำนวนซ้ำที่ | ปริมาณจุลินทรีย์ในหน่วย CFU ต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพ (Log ₁₀ CFU/g) | |
|---------------------|---|-----------------------------|
| | เจ้าหน้าที่วิเคราะห์คนที่ 1 | เจ้าหน้าที่วิเคราะห์คนที่ 2 |
| 1 | 8.52 | 8.68 |
| 2 | 8.42 | 8.48 |
| 3 | 8.29 | 8.39 |
| 4 | 8.29 | 8.30 |
| 5 | 8.57 | 8.35 |
| 6 | 8.34 | 8.40 |
| 7 | 8.32 | 8.26 |
| 8 | 8.72 | 8.26 |
| 9 | 8.29 | 8.21 |
| 10 | 8.58 | 8.24 |
| 11 | 8.23 | 8.28 |
| 12 | 8.41 | 8.58 |
| 13 | 8.11 | 8.37 |
| 14 | 8.38 | 8.15 |
| 15 | 8.70 | 8.18 |
| 16 | 8.26 | 8.20 |
| 17 | 8.20 | 8.35 |
| 18 | 8.32 | 8.51 |
| 19 | 8.44 | 8.34 |
| 20 | 8.30 | 8.35 |
| ค่าเฉลี่ย | 8.38 | 8.34 |
| %CV | 1.94 | 1.64 |
| t Stat | | 0.82 |
| t Critical two-tail | | 2.024 |

ตารางที่ 4 จำนวนเชื้อ *Talaromyces flavus* ในปุ๋ยชีวภาพแบบผงและหัวเชื้อ ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-1} โดยนับปริมาณด้วยวิธี Viable plate count

| ตัวอย่างที่ | ปุ๋ยชีวภาพแบบผง (Log ₁₀ CFU/g) | ปุ๋ยชีวภาพแบบเหลว (Log ₁₀ CFU/mL) | %Recovery |
|------------------|--|---|---------------|
| 1 | 7.40 | | 102 |
| 2 | 7.42 | | 102.10 |
| 3 | 7.50 | | 103.40 |
| 4 | 7.38 | 7.25* | 101.76 |
| 5 | 7.45 | | 102.68 |
| 6 | 7.39 | | 101.83 |
| ค่าเฉลี่ย | 7.42 | | 102.30 |

* ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ

ตารางที่ 5 จำนวนเชื้อ *Talaromyces flavus* ในปุ๋ยชีวภาพแบบผงและหัวเชื้อ ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-4} โดยนับปริมาณด้วยวิธี Viable plate count

| ตัวอย่างที่ | ปุ๋ยชีวภาพแบบผง (Log ₁₀ CFU/g) | ปุ๋ยชีวภาพแบบเหลว (Log ₁₀ CFU/mL) | %Recovery |
|------------------|--|---|---------------|
| 1 | 4.36 | | 103.74 |
| 2 | 4.37 | | 104 |
| 3 | 4.38 | | 104.18 |
| 4 | 4.40 | 4.20* | 104.60 |
| 5 | 4.48 | | 106.48 |
| 6 | 4.328 | | 102.80 |
| ค่าเฉลี่ย | 4.39 | | 104.30 |

* ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ

ตารางที่ 6 จำนวนเชื้อ *Talaromyces flavus* ในปุ๋ยชีวภาพแบบผงและหัวเชื้อ ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-5} โดยนับปริมาณด้วยวิธี Viable plate count

| ตัวอย่างที่ | ปุ๋ยชีวภาพแบบผง (Log ₁₀ CFU/ g) | ปุ๋ยชีวภาพแบบเหลว (Log ₁₀ CFU/mL) | %Recovery |
|------------------|---|---|--------------|
| 1 | 2.12 | | 75.71 |
| 2 | 2.0 | | 71.29 |
| 3 | 2.0 | | 71.29 |
| 4 | 2.30 | 2.80* | 82.02 |
| 5 | 2.0 | | 71.29 |
| 6 | 2.22 | | 79.23 |
| ค่าเฉลี่ย | 2.12 | | 75.14 |

* ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ

ตารางที่ 7 จำนวนเชื้อ *Bacillus megaterium* ในปุ๋ยชีวภาพแบบผงและหัวเชื้อ ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-1} โดยนับปริมาณด้วยวิธี Viable plate count

| ตัวอย่างที่ | ปุ๋ยชีวภาพแบบผง (Log ₁₀ CFU/g) | ปุ๋ยชีวภาพแบบเหลว (Log ₁₀ CFU/mL) | %Recovery |
|------------------|--|---|--------------|
| 1 | 7.65 | | 95.48 |
| 2 | 7.52 | | 94.41 |
| 3 | 7.41 | | 92.52 |
| 4 | 7.74 | 8.01* | 96.61 |
| 5 | 7.53 | | 93.99 |
| 6 | 7.67 | | 95.79 |
| ค่าเฉลี่ย | 7.60 | | 94.80 |

* ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ

ตารางที่ 8 จำนวนเชื้อ *Bacillus megaterium* ในปุ๋ยชีวภาพแบบผงและหัวเชื้อ ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-4} โดยนับปริมาณด้วยวิธี Viable plate count

| ตัวอย่างที่ | ปุ๋ยชีวภาพแบบผง (Log ₁₀ CFU/g) | ปุ๋ยชีวภาพแบบเหลว (Log ₁₀ CFU/mL) | %Recovery |
|------------------|--|---|--------------|
| 1 | 6.43 | | 98.39 |
| 2 | 6.40 | | 97.96 |
| 3 | 6.45 | | 98.78 |
| 4 | 6.32 | 6.53* | 96.75 |
| 5 | 6.36 | | 97.35 |
| 6 | 6.40 | | 97.99 |
| ค่าเฉลี่ย | 6.40 | | 97.87 |

* ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ

ตารางที่ 9 จำนวนเชื้อ *Bacillus megaterium* ในปุ๋ยชีวภาพแบบผงและหัวเชื้อ ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-6} โดยนับปริมาณด้วยวิธี Viable plate count

| ตัวอย่างที่ | ปุ๋ยชีวภาพแบบผง (Log ₁₀ CFU/g) | ปุ๋ยชีวภาพแบบเหลว (Log ₁₀ CFU/mL) | %Recovery |
|------------------|--|---|---------------|
| 1 | 3.86 | | 134.23 |
| 2 | 3.96 | | 137.94 |
| 3 | 3.64 | | 126.79 |
| 4 | 3.96 | 2.87* | 137.77 |
| 5 | 4.01 | | 139.50 |
| 6 | 3.70 | | 128.72 |
| ค่าเฉลี่ย | 3.88 | | 134.16 |

* ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ

สรุปผลการทดลอง

รา *Talaromyces flavus* ทั้ง 10 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพการละลายตะกอน CaHPO_4 ในระดับ 5 โดย 3 อันดับแรกที่มีประสิทธิภาพสูงสุด ได้แก่ ไอโซเลท PS34-63 PS17-63 และ PS9-64 มีประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟต เท่ากับ 18.7 17.3 และ 16.7 มม. ตามลำดับ ส่วนแบคทีเรีย *Bacillus megaterium* จำนวน 13 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตอยู่ในช่วง 0 – 10.3 มม. โดย 3 อันดับแรกที่มีประสิทธิภาพสูงสุด ได้แก่ ไอโซเลท PS13-65 PS23-65 และ PS24-65 มีประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟต เท่ากับ 10.3 8.0 และ 8.0 มม. ตามลำดับ การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบของเชื้อ *T. flavus* พบว่า การทดสอบความเที่ยง (Intermediate precision) มีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (CV) เท่ากับ 0.63 และ 0.59 เปอร์เซ็นต์ การทดสอบความแม่นยำของวิธีได้ค่าร้อยละการคืนกลับของวิธีทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 10^{-1} 10^{-4} และ 10^{-5} มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 102.30 104.30 และ 75.14 เปอร์เซ็นต์ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ (LOD) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวัดเชิงปริมาณได้ (LOQ) เท่ากับ 4.39 $\text{Log}_{10}\text{CFU/g}$ โดยที่ค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบเท่ากับ 0.11 ส่วนเชื้อ *B. megaterium* การทดสอบความเที่ยงมี CV เท่ากับ 1.94 และ 1.64 เปอร์เซ็นต์ ค่าร้อยละการคืนกลับของวิธีทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 10^{-1} 10^{-4} และ 10^{-6} มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 94.80 97.87 และ 134.16 เปอร์เซ็นต์ มีค่า LOD และค่า LOQ เท่ากับ 6.40 $\text{Log}_{10}\text{CFU/g}$ และค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบเท่ากับ 0.31 ขณะที่การทดสอบความเที่ยงแบบ between-analyst variation โดยใช้ Student's t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ของจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิด ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้นวิธีทดสอบประสิทธิภาพและการนับปริมาณจุลินทรีย์ในปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตด้วยวิธี Viable plate count จึงมีความเที่ยง ความแม่นยำ และให้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่ถูกต้องและเชื่อถือได้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) และที่สนับสนุนทุนวิจัยในปีงบประมาณ พ.ศ. 2565-2566

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ได้สายพันธุ์จุลินทรีย์ *Talaromyces flavus* และ *Bacillus megaterium* ที่สามารถใช้เป็นสายพันธุ์อ้างอิงในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณและประสิทธิภาพในปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตในการรับรองการขึ้นทะเบียนปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตตาม พรบ. ปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 นอกจากนี้ยังเป็นการเตรียมข้อมูลเพื่อขอการรับรองห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017

เอกสารอ้างอิง

- กนิษฐา ภูวนาถนรานูบาล วิชชุดา จิระพันธ์ และสายวรุฬ จตุรจิตตินันท์. 2559. การทดสอบความถูกต้องของวิธีการตรวจวิเคราะห์ความแรงของอิมมูโนโกลบูลินที่ทำจากมนุษย์สำหรับป้องกันโรคบาดทะยักด้วยชุดน้ำยาทดสอบสำเร็จรูป. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 58: 169-179.
- กรมวิชาการเกษตร. 2564. ปุ๋ยชีวภาพ. กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ. 30 หน้า.
- กรมวิชาการเกษตร. 2566. คู่มือวิเคราะห์ปุ๋ยชีวภาพ. กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ. 62 หน้า.

- Babalola, O.O., and B.R. Glick. 2012 The use of microbial inoculants in African agriculture: current practice and future prospects. *Journal of Food, Agriculture and Environment* 10:540–549.
- Chen, Q., and S. Liu. 2019. Identification and characterization of the phosphate-solubilizing bacterium *Pantoea* sp. S32 in reclamation soil in Shanxi, China. *Frontiers in Microbiology* 10:2171.
- Chungopast, S., C.Thongjoo, A.K.M. Mominul Islam and S.Yeasmin. Efficiency of phosphate-solubilizing bacteria to address phosphorus fixation in Takhli soil series: a case of sugarcane cultivation, Thailand. *Plant Soil* 460: 347-357.
- David, P., R.S. Raj, R. Linda and S.B. Rhema. 2014. Molecular characterization of phosphate solubilizing bacteria (PSB) and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) from pristine soils. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology* 1: 317–324.
- Elias, F., D. Woyessa and D. Muleta. 2016. Phosphate solubilization potential of rhizosphere fungi isolated from plants in Jimma Zone, Southwest Ethiopia. *International Journal of Microbiology*: Article ID 5472601, 11 pages.
- Istina, I.N., H. Widiastuti, B. Joy and M. Antralina. 2015. Phosphate solubilizing microbe from saprist peat soil and their potency to enhance oil palm growth and P uptake. *Procedia Food Science* 3:426–435.
- Kang, S.M., R. Radhakrishnan, Y.H. You, G.J. Joo, I.J. Lee, K.E. Lee and J.H. Kim. Phosphate solubilizing *Bacillus megaterium* mj1212 regulates endogenous plant carbohydrates and amino acids contents to promote mustard plant growth. *Indian Journal of Microbiology* 54(4): 427-433.
- Katznelson, H. and B. Boss. 1959. Metabolic activity and phosphate dissolving capability of Bacterial isolates from wheat roots: rhizosphere and non-rhizosphere soil. *Journal of Microbiology* 5: 79–85
- Mahadevamurthy, M., T.M. Channappa, M. Sidappa, M.S. Raghupathi and A.K. Nagaraj. 2016. Isolation of phosphate solubilizing fungi from rhizosphere soil and its effect on seed growth parameters of different crop plants. *Journal of Applied Biology and Biotechnology* 4(6): 22-26.
- Majumder, M.S.I., M.K. Islam, H. Akamine, A. Sano, M. Onjo and M. A. Hossain. 2019. Comparative study of phosphate solubilization potential of *Talaromyces pinophilus* strains. *Applied Ecology and Environmental Research* 17(6): 14973-14984.
- Martinez-Viveros, O., M. Jorquera, D. Crowley, G. Gajardo and M. Mora. 2010. Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 2010(10): 293-319.
- Mohamed, A.S.A., A.K. Khider and S. Muniandy. 2016. Effect of storage temperature, duration and types of biofertilizer carriers on survival and numbers of bacterial strains *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum*, *Azotobacter chroococcum*, *Rhizobium leguminosarum* and Transformant, Transconjugant *B. megaterium* var. *phosphaticum*. In *International*

Conference on Agricultural, Food, Biological and Health Sciences (AFBHS-16). Kuala Lumpur, Malaysia.

- Monica, I.F.D., P.J.S. Rubio, R.P. Cina, M. Recchi, A.M. Godeas and J.M. Scervino. 2014. Effects of the phosphate-solubilizing fungus *Talaromyces flavus* on the development and efficiency of the *Gigaspora rosea-Triticum aestivum* symbiosis. *Symbiosis* 64: 25-32.
- Pande, A., P. Pandey, S. Mehra, M. Singh and S. Kaushik. 2017. Phenotypic and genotypic characterization of phosphate solubilizing bacteria and their efficiency on the growth of maize. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* 15: 379-391.
- Paul, D. and S.N. Sinha. 2017. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacterium *Pseudomonas aeruginosa* KUPSB12 with antibacterial potential from river Ganga, India. *Annals of Agrarian Science* 15: 130-136.
- T. Zhang, F. Hu and L. Ma. 2019. Phosphate-solubilizing bacteria from safflower rhizosphere and their effect on seedling growth. *Open Life Sciences* 14: 246-254.

ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการจัดจำแนกจุลินทรีย์ในปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต

Validation of microbial identification method in Phosphate solubilizing biofertilizer

อำนาจ เอี่ยมวิจารณ์¹ สุปรานี มั่นหมาย¹ สุธยา ขำดีบ¹ อมรรัตน์ ใจยะเสน²

Amnat Eamvijarn¹ Supranee munmai¹ Sonthaya khumtib¹ and Amornrat Chaiyasen²

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Molecular technique was used to identify the microbial reference strains for phosphate solubilizing biofertilizer. The ITS and 16S rRNA gene fragment were amplified by using two sets of universal primers and were annotated using blastn on NCBI database. The results showed that microbial strains was *Talaromyces flavus* and *Bacillus megaterium*. The validation of *T. flavus* classification method found that the Trueness of percent sequence similarity from molecular identification method of *T. flavus* was 98 - 99% and score value of MALDI-TOF MS was 2.17 – 2.75. The Repeatability of analytical method of MALDI-TOF MS that shown Coefficient of Variation (%CV) value were 3.63 2.67 and 2.14 percent. The Intermediate precision was 4.09 and 3.93 at 95% confidence level (P = 0.666). Moreover, Trueness of % similarity from molecular identification method of *B. megaterium* were 98 – 99% and score value of MALDI-TOF MS was 2.25 – 2.40. The Repeatability of analytical method of MALDI-TOF MS that shown %CV were 3.26 6.02 and 2.27 percent. The Intermediate precision was 2.33 and 3.09 at 95% confidence level (P = 0.302). Thus, MALDI-TOF MS was suitable for use according the standard of validation of analytical method.

Keywords: method validation, microbial identification, phosphate solubilizing biofertilizer

¹ กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

¹ Agricultural Production Science Research and Development Division

² ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชเชียงใหม่ กองวิจัยพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืช

² Chiangmai Seed Research and Development Center, Seed Research and Development Division

บทคัดย่อ

การจำแนกชนิดจุลินทรีย์อ้างอิงที่ใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพละลายฟอสเฟตด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล โดยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีนบริเวณ ITS และ 16S rRNA แล้วนำดีเอ็นเอมาศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ พบว่าเป็น *Talaromyces flavus* และ *Bacillus megaterium* เมื่อทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบของ *T. flavus* พบว่า ค่าความถูกต้องของวิธีจำแนกชนิดด้วยเทคนิคทางอนุชีวโมเลกุล เท่ากับ 98 – 99 เปอร์เซ็นต์ และการใช้เครื่อง MALDI-TOF MS มีค่า score value เท่ากับ 2.17 – 2.75 ความเที่ยงของความสามารถในการทำซ้ำมีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (CV) เท่ากับ 3.63 2.67 และ 2.14 เปอร์เซ็นต์ และค่า Intermediate precision มีค่า CV เท่ากับ 4.09 และ 3.93 เปอร์เซ็นต์ และทดสอบทางสถิติโดยใช้ Student's t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ มีค่า *P* เท่ากับ 0.666 ขณะที่ *B. megaterium* มีค่าความถูกต้องของวิธีจำแนกชนิดด้วยเทคนิคทางอนุชีวโมเลกุล เท่ากับ 98 – 99 เปอร์เซ็นต์ และการใช้เครื่อง MALDI-TOF MS มีค่า score value เท่ากับ 2.25 – 2.40 ความเที่ยงของความสามารถในการทำซ้ำมีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (CV) เท่ากับ 3.26 6.02 และ 2.27 เปอร์เซ็นต์ และค่า Intermediate precision มีค่า CV เท่ากับ 2.33 และ 3.09 เปอร์เซ็นต์ และทดสอบทางสถิติโดยใช้ Student's t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ มีค่า *P* เท่ากับ 0.302 แสดงให้เห็นว่าผลการทดสอบของเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ทั้ง 2 คน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้นวิธีทดสอบการจำแนกชนิดจุลินทรีย์โดยใช้เครื่อง MALDI-TOF MS จึงมีความเที่ยง และมีความเหมาะสม และให้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่ถูกต้องและเชื่อถือได้

คำสำคัญ: การตรวจสอบความใช้ของวิธี, จุลินทรีย์, ผลิตภัณฑ์ชีวภาพละลายฟอสเฟต

คำนำ

การวิเคราะห์จุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ชีวภาพเป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญอย่างยิ่งในการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์เพื่อให้ได้มาตรฐาน ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 ผลิตภัณฑ์ชีวภาพละลายฟอสเฟตที่ผลิตเป็นการค้าในปัจจุบันประกอบด้วยจุลินทรีย์ 2 ประเภท คือ ราและแบคทีเรีย โดยตามประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง การขอขึ้นทะเบียน การออกใบสำคัญการขึ้นทะเบียน การขอแก้ไขรายการทะเบียน และการขอแก้ไขรายการทะเบียนผลิตภัณฑ์ชีวภาพ พ.ศ. 2552 ต้องระบุชื่อสกุลทางวิทยาศาสตร์ของจุลินทรีย์รับรองในผลิตภัณฑ์ด้วย ซึ่งวิธีที่ใช้ในการระบุชื่อสกุลทางวิทยาศาสตร์ของจุลินทรีย์ถูกพัฒนาและศึกษากันอย่างต่อเนื่อง เช่น การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphology) การทดสอบทางชีวเคมี (Biochemical testing) การศึกษาทางอนุชีววิทยา (Molecular biology method) และเทคนิคแมสสเปกโตรเมทรี (Mass Spectrometry) (Christopher and Bruno, 2003; Wilson and Walker, 2010; Tshikhudo *et al.*, 2013; Váradi *et al.*, 2017; Sparkman, 2000) กรมวิชาการเกษตรเป็นหน่วยงานหลักที่ให้บริการตรวจวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากภาคเอกชน ภาคราชการ นักศึกษา นักวิจัย และเกษตรกร ได้จัดทำหนังสือคู่มือตรวจวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ชีวภาพที่วิเคราะห์สกุล-ชนิดราและแบคทีเรียด้วยวิธีอนุชีววิทยาและเทคนิคแมสสเปกโตรเมทรี (กรมวิชาการเกษตร, 2566) นอกจากนี้ยังใช้ควบคุมและกำกับคุณภาพของผลิตภัณฑ์ชีวภาพที่จำหน่ายในท้องตลาดอีกด้วย มีงานวิจัยการใช้วิธีทางอนุชีววิทยาในการจำแนกจุลินทรีย์ เช่น Magwaza *et al.* (2019) แยกจากน้ำในเขื่อน Roodeplaat ประเทศแอฟริกาใต้ด้วยวิธี Pour plate บนอาหาร PDA และจำแนกชนิดราโดยวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ยีน Internal transcriber spacer (ITS) ด้วยไพรเมอร์ ITS1F และ ITS4 พบว่าเป็นรา *T. flavus* นอกจากนี้ยังสามารถวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ตรงยีน BenA CaM และ RPB2 ในการจำแนก *T. flavus* ได้เช่นกัน และรายงานของ Zhang *et al.* (2021) ทำการแยกเชื้อที่ผลิตเอนไซม์ที่ป้องกันการจับตัวและแข็งตัวน้ำมันในขบวนการหมักน้ำมัน และจำแนกเชื้อด้วยวิธีทางอนุชีววิทยาด้วยการหา

ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน 16S rDNA โดยใช้ไพรเมอร์ fD1 และ rP2 จำแนกเชื้อได้เป็น *Bacillus subtilis* ซึ่งเป็นเชื้อที่เป็นโพรไบโอติกใช้ในขบวนการผลิตถั่วเน่า นอกจากนี้สามารถใช้นิวคลีโอไทด์ ITS ในการจำแนก *B. megaterium* (TR57) ที่แยกได้จากรากชา (*Camellia sinensis*) ในประเทศอินเดีย มีประสิทธิภาพ IAA สารระเหย (volatiles) ธาตุเหล็กซีเดอโรฟออร์ (siderophores) และมีความสามารถในการละลายฟอสเฟตเช่นกัน (Chakraborty *et al.*, 2014) ส่วนการศึกษาวิจัยการจำแนกชนิดจุลินทรีย์ด้วยเทคนิคแมสสเปกโตรเมตรีเป็นเทคนิคที่ได้รับการยอมรับมากขึ้นในปัจจุบัน โดยมีรายชื่อของ Cardoso *et al.* (2021) ได้ศึกษาการจำแนกรากในกลุ่ม *Eurotiales* จำนวน 95 สายพันธุ์ แบ่งเป็น *Aspergillus* จำนวน 27 สายพันธุ์ *Penicillium* จำนวน 50 สายพันธุ์ และ *Talaromyces* จำนวน 18 สายพันธุ์ ที่แยกได้จากแหล่งต่าง ๆ ในประเทศบราซิลด้วยเครื่องมือลดีทอปแมสสเปกโตรเมตรี สามารถจำแนกรากลุ่มดังกล่าวได้ในระดับชนิด (species) ดังนี้ *Aspergillus* จำนวน 17 ชนิด *Penicillium* จำนวน 16 ชนิด และเครื่องมือลดีทอปแมสสเปกโตรเมตรีสามารถจำแนกแบคทีเรียได้หลายด้าน เช่น อุตสาหกรรมอาหาร การแพทย์ และการเกษตร โดย Zhang *et al.* (2022) ใช้เครื่องดังกล่าวในการจำแนก *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* และ *Micrococcus luteus* ที่ปนเปื้อนในอาหาร นอกจากนี้ยังสามารถแยก *Bacillus pumilus* group จำนวน 24 สายพันธุ์ จากแหล่งต่าง ๆ ออกเป็น *Bacillus pumilus* และ *Bacillus altitudinis* ซึ่งมีความคล้ายคลึงกันมากได้ด้วย (Starostin *et al.*, 2015)

การเลือกวิธีทดสอบที่ปฏิบัติง่าย ให้ผลที่รวดเร็ว แม่นยำ และปลอดภัยต่อผู้ปฏิบัติงานจึงเป็นเรื่องที่ต้องคำนึงถึงเป็นประการแรก ทั้งนี้หากเป็นวิธีทดสอบที่ห้องปฏิบัติการจะเลือกใช้ใช้งานเป็นวิธีมาตรฐาน การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีก่อนการใช้งานจึงเป็นเรื่องที่จัดทำก่อนนำไปปรับใช้งานในห้องปฏิบัติการเพื่อให้สอดคล้องกับข้อกำหนดในมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์อ้างอิง (Reference strain)

1.1 รา *Talaromyces flavus* จำนวน 10 ไอโซเลท ได้แก่ PS8-63, PS12-63, PS14-63, PS17-63, PS34-63, PS8-64, PS9-64, PS10-64, PS11-64 และ PS12-64

1.2 *Bacillus megaterium* จำนวน 9 ไอโซเลท ได้แก่ PS9-65, PS13-65, PS16-65, PS23-65, PS24-65, PS38-65, PS41-65, PS7-66 และ PS9-66

1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA), Potato dextrose broth (PDB), Nutrient agar (NA) และ Nutrient broth (NB)

2. สารเคมี

2.1 กระบวนการสกัดและเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม

2.1.1 สกัดดีเอ็นเอของรา AxyPrep Multisource Genomic DNA Miniprep Kit (Axygen® Inc., USA) และแบคทีเรีย Genomic DNA Mini Kit (Geneaid Biotech Ltd, Taiwan)

2.1.2 เอนไซม์ Taq DNA polymerase

2.1.3 ไพรเมอร์ (ITS1F (5' CTTGGTCATTTAGAGG AAGTAA 3') และ ITS4 (5'- TCCTCCGCTTATTGA TATGC -3')) (Gardes and Bruns, 1993; White *et al.* 1990) fD1 (5' AGAGTTTGTATCCTGGCTCAG 3') และ rP2 (5'-ACGGCTACCTTG TTACGAC TT-3') (Weisburg *et al.*, 1991)

2.1.4 ชุดทำความสะอาดสารพันธุกรรม (DNA purification Kit, Promega, USA)

- 2.2 กระบวนการจำแนกโดยใช้เครื่อง MALDI-TOF MS
 - 2.2.1 α -Cyano-4-hydroxycinnamic acid (Matrix HCCA, portioned)
 - 2.2.2 Bacterial test standard (BTS)
 - 2.2.3 Formic acid
 - 2.2.4 Deionized water
 - 2.2.5 Absolute alcohol
 - 2.2.6 Acetonitrile Trifluoroacetic acid

3. เครื่องมือ

- 3.1 เครื่องวิเคราะห์ชนิดจุลินทรีย์ (MALDI-TOF MS)
- 3.2 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow)
- 3.3 หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave)
- 3.4 เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (Thermal cycler)
- 3.5 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
- 3.6 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)
- 3.7 เครื่องเขย่า (Shaker)
- 3.8 เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง (Centrifuge)
- 3.9 เครื่องแยกดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้า (Gel electrophoresis)
- 3.10 เครื่องถ่ายและวิเคราะห์ภาพเจล (Gel Documentation)

วิธีการ

1. การจัดจำแนกด้วยเทคนิคอณูชีววิทยา (Molecular identification)

1.1 นำเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์อ้างอิงเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ ปั่นตกตะกอนเพื่อเก็บเส้นใยและเซลล์จุลินทรีย์

1.2 สกัดดีเอ็นเอของราตามวิธีการของชุดสกัด AxyPrep Multisource Genomic DNA Miniprep Kit (Axygen® Inc., USA) และแบคทีเรียตามวิธีการของชุดสกัด Genomic DNA Mini Kit (Geneaid Biotech Ltd, Taiwan)

1.3 เพิ่มปริมาณชิ้นส่วนยีนบริเวณ Internal transcribed spacer (ITS) ของราและ 16S rDNA ของแบคทีเรีย จากนั้นนำส่วนผสมทั้งหมดเข้าเครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม โดยมีลำดับของปฏิกิริยา (PCR reaction condition) ดังนี้

Internal transcribed spacer (ITS)

| | | | | |
|--------------|---------------------------|---|-------------|--------|
| ขั้นตอนที่ 1 | 94 องศาเซลเซียส 5 นาที | } | จำนวน 1 รอบ | |
| ขั้นตอนที่ 2 | 94 องศาเซลเซียส 30 วินาที | | } | 35 รอบ |
| | 51 องศาเซลเซียส 30 วินาที | | | |
| | 72 องศาเซลเซียส 30 นาที | | | |
| ขั้นตอนที่ 3 | 72 องศาเซลเซียส 7 นาที | | จำนวน 1 รอบ | |

16S rDNA

| | | | |
|--------------|---------------------------|---|-------------|
| ขั้นตอนที่ 1 | 94 องศาเซลเซียส 3 นาที | } | จำนวน 1 รอบ |
| ขั้นตอนที่ 2 | 94 องศาเซลเซียส 30 วินาที | | 35 รอบ |
| | 50 องศาเซลเซียส 30 วินาที | | |
| | 72 องศาเซลเซียส 1 นาที | | |
| ขั้นตอนที่ 3 | 72 องศาเซลเซียส 10 นาที | | จำนวน 1 รอบ |

ตรวจสอบ PCR product ด้วยเครื่องแยกดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้า

1.4 ทาลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีน rDNA ที่ได้จากการเพิ่มจำนวนด้วยเครื่อง DNA Sequencer

1.5 นำลำดับนิวคลีโอไทด์ของจุลินทรีย์แต่ละสายพันธุ์ที่ได้มาเปรียบเทียบกับความคล้ายคลึงกันกับสายพันธุ์จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตที่มีอยู่ในฐานข้อมูลของ The National Center for Biotechnology Information (NCBI) (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/) ด้วย Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)

1.6 นำลำดับนิวคลีโอไทด์ของสายพันธุ์จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตในฐานข้อมูลที่มีเปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึงกันมากที่สุด (% similarity) กับลำดับนิวคลีโอไทด์ของจุลินทรีย์สายพันธุ์อ้างอิงว่ามีความใกล้เคียงกับเชื้อจุลินทรีย์ชนิดใดในฐานข้อมูล และบ่งบอกชนิด (species) ของเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์อ้างอิง

2. การจัดจำแนกโดยใช้เครื่อง MALDI-TOF MS

2.1 รา

- 2.1.1 ใช้เข็มเขี่ยตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีลงในอาหาร PDB บ่มเชื้อในตู้บ่มเชื้อแบบเขย่าที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 วัน
- 2.1.2 ตกตะกอนเส้นใยราด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาทีเทส่วนใสด้านบนทิ้ง
- 2.1.3 เติมน้ำกลั่นหรือน้ำกรองปลอดเชื้อ 1 มิลลิลิตร และเขย่าตัวอย่างให้เข้ากัน เพื่อกำจัดอาหารเลี้ยงเชื้อที่ติดกับเส้นใยรา
- 2.1.4 ตกตะกอนเส้นใยราด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาทีเทส่วนใสด้านบนทิ้ง และทำซ้ำข้อ 2.1.3-2.1.4 อีกครั้ง
- 2.1.5 เติม Deionized water 300 ไมโครลิตร และ 95% Ethyl alcohol 900 ไมโครลิตร ผสมตัวอย่างให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสาร
- 2.1.6 ตกตะกอนเส้นใยราด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาทีเทส่วนใสด้านบนทิ้ง และทิ้งให้ตัวอย่างแห้งเพื่อกำจัด 95% Ethyl alcohol
- 2.1.7 เติม 70% Formic acid ที่ผสมกับ Acetonitrile ปริมาตร 10-100 ไมโครลิตร โดยใส่ให้ท่วมตัวอย่าง
- 2.1.8 ตกตะกอนตัวอย่างด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที
- 2.1.9 ดูดส่วนใส 1 ไมโครลิตร ลงบน Target plate รอให้ตัวอย่างแห้ง 10-15 นาที
- 2.1.10 หยด 70% Formic acid 1 ไมโครลิตร รอให้ตัวอย่างแห้งประมาณ 15-30 นาที
- 2.1.11 หยด Bacterial test standard 1 ไมโครลิตร รอให้ตัวอย่างแห้งประมาณ 15-30 นาที เพื่อใช้เป็นตัวควบคุมประสิทธิภาพของเครื่อง MALDI-TOF MS
- 2.1.12 หยด HCCA จำนวน 1 ไมโครลิตร เป็นลำดับสุดท้าย รอให้ตัวอย่างแห้งโดยสังเกตตัวอย่างจะมีลักษณะเป็นผลึกสีขาว
- 2.1.13 นำ Target plate เข้าเครื่อง MALDI-TOF MS

2.2 แบนที่เรีย

2.2.1 ใช้ไม้จิ้มฟันปลอดเชื้อแตะโคโลนีแบคทีเรียเกลี่ยลงบน Target plate รอให้ตัวอย่างแห้งประมาณ 10–15 นาที ในตู้ปลอดเชื้อ

2.2.2 หยด 70% Formic acid 1 ไมโครลิตร รอให้ตัวอย่างแห้งประมาณ 15–30 นาที

2.2.3 หยด BTS 1 ไมโครลิตร รอให้ตัวอย่างแห้งประมาณ 15–30 นาที เพื่อใช้เป็นตัวควบคุมประสิทธิภาพของเครื่อง MALDI-TOF MS

2.2.4 หยด HCCA 1 ไมโครลิตร เป็นลำดับสุดท้าย รอให้ตัวอย่างแห้งโดยสังเกตตัวอย่างจะมีลักษณะเป็นผลึกสีขาว

2.2.5 นำ Target plate เข้าเครื่อง MALDI-TOF MS

3. การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method validation)

3.1 การทดสอบความถูกต้อง (trueness)

3.1.1 ทดสอบหาชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตอ้างอิง อย่างละ 10 ตัวอย่าง (ไอโซเลท) โดยวิธีทางอนุชีวโมเลกุล และหาลำดับเบสเพื่อนำไปเปรียบเทียบกับความคล้ายคลึงกันกับสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีอยู่ในฐานข้อมูลของ The National Center for Biotechnology Information (NCBI) (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/) โดยการทำให้ BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) search รายงานผลการจำแนกชนิด และเปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึงกัน (% similarity)

3.1.2 ทดสอบหาชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตอ้างอิง อย่างละ 10 ตัวอย่าง (ไอโซเลท) โดยใช้เครื่องวิเคราะห์ชนิดจุลินทรีย์ โดยทดสอบในวันและสภาวะเดียวกัน คำนวณความคล้ายคลึงกัน (score value) ของชนิดจุลินทรีย์ที่ทำการทดสอบกับชนิดของจุลินทรีย์ในฐานข้อมูล และรายงานผลการจำแนกชนิด

3.1.3 นำผลการจำแนกชนิดของจุลินทรีย์ที่ได้จากวิธีที่ 3.1.1 และ 3.1.2 มาเปรียบเทียบกับกัน หากผลการจำแนกชนิดเดียวกัน จึงยอมรับและประเมินการผ่านเกณฑ์

3.2 การทดสอบความเที่ยง (Precision) ของเครื่อง MALDI-TOF MS

3.2.1 ความสามารถในการทำซ้ำ (Repeatability)

ทดสอบจำแนกชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ อย่างละ 3 ชนิด (species) โดยการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธี Direct Transfer ทำการทดสอบ 10 ซ้ำ โดยทดสอบในวันและสภาวะเดียวกัน นำค่า score value ของชนิดของจุลินทรีย์ที่ทำการทดสอบกับชนิดจุลินทรีย์ในฐานข้อมูล มาหาค่าเฉลี่ย และค่าร้อยละสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (coefficient of variation, CV) โดย %CV จะต้องมีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 10 จึงยอมรับและประเมินการผ่านเกณฑ์

3.2.2 การทดสอบโดยเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ 2 คน (Intermediate precision: between-analyst variation)

ทดสอบหาชนิดของราและแบคทีเรีย อย่างละ 1 ชนิด (species) ทำการทดสอบ 20 ซ้ำ โดยเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ 2 คน โดยทดสอบในวันและสภาวะเดียวกัน นำคะแนนความคล้ายคลึงกันของชนิดจุลินทรีย์ที่ทำการทดสอบกับชนิดของจุลินทรีย์ในฐานข้อมูล มาหาค่าเฉลี่ย และค่าร้อยละสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (coefficient of variation, CV) โดย %CV จะต้องมีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 10 จึงยอมรับและประเมินการผ่านเกณฑ์ และเปรียบเทียบคะแนนความคล้ายคลึงกันของชนิดจุลินทรีย์ที่วัดได้จากผู้ทดสอบทั้ง 2 คน โดยใช้ Student's t-test ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2566

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรุงเทพมหานคร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การจัดจำแนกด้วยเทคนิคอณูชีววิทยา (Molecular identification)

การจำแนกสกุล-ชนิด ด้วยเทคนิคอณูชีววิทยาของราละลายฟอสเฟต จำนวน 10 ไอโซเลท (PS8-63, PS12-63, PS14-63, PS17-63, PS34-63, PS8-64, PS9-64, PS17-65, PS18-65 และ PS19-65) ซึ่งผลการจำแนกพบว่า มีความคล้ายคลึงกับ *Talaromyces flavus* ทั้ง 10 ไอโซเลท โดยมี % similarity อยู่ในช่วง 98.32 – 99.63 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1) สอดคล้องกับรายงานของ Magwaza *et al.* (2019) แยกได้จากน้ำในเขื่อน Roodeplaart ประเทศแอฟริกาใต้ด้วยวิธี Pour plate บนอาหาร PDA และจำแนกชนิดราโดยวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ยีน Internal transcriber spacer (ITS) ด้วยไพรเมอร์ ITS1F และ ITS4 พบว่าเป็นรา *T. flavus* นอกจากนี้ยังสามารถวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ตรงยีน BenA CaM และ RPB2 ในการจำแนก รา *T. flavus* ได้เช่นกัน (Nuankaew *et al.*, 2022) และผลการจำแนกของแบคทีเรียละลายฟอสเฟต จำนวน 9 ไอโซเลท (PS9-65, PS13-65, PS16-65, PS23-65, PS24-65, PS38-65, PS41-65, PS7-66 และ PS9-66) พบว่า มีความคล้ายคลึงกับ *Bacillus megaterium* ทั้ง 9 ไอโซเลท โดยมี % similarity อยู่ในช่วง 98.33-99.20 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1) มีรายงานของ Zhang *et al.* (2021) ทำการแยกเชื้อที่ผลิตเอนไซม์ที่ป้องกันการจับตัว และทำให้แข็งตัวน้ำนมในขบวนการหมักน้ำนม และจำแนกเชื้อด้วยวิธีทางอณูชีววิทยาด้วยการหาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน 16S rDNA โดยใช้ไพรเมอร์ fD1 และ rP2 จำแนกเชื้อได้เป็น *Bacillus subtilis* ซึ่งเป็นเชื้อที่เป็นโพรไบโอติกใช้ในขบวนการผลิตถั่วเน่า นอกจากนี้สามารถใช้นิวคลีโอไทด์ตรงยีน ITS ในการจำแนก *B. megaterium* (TRS7) ที่แยกได้จากรากชา (*Camellia sinensis*) ในประเทศอินเดีย มีประสิทธิภาพ IAA สารระเหย (volatiles) ธาตุเหล็ก ซีเคอร์โรฟอรัส (siderophores) และมีความสามารถในการละลายฟอสเฟตเช่นกัน (Chakraborty *et al.*, 2014)

ตารางที่ 1 ผลการจัดจำแนกชนิดสายพันธุ์จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตด้วยเทคนิคอณูชีววิทยา

| ลำดับ | สายพันธุ์จุลินทรีย์ | สกุล-ชนิด | % Similarity |
|-------|---------------------|----------------------------|--------------|
| 1 | PS8-63 | <i>Talaromyces flavus</i> | 98.99 |
| 2 | PS12-63 | <i>T. flavus</i> | 98.32 |
| 3 | PS14-63 | <i>T. flavus</i> | 98.82 |
| 4 | PS17-63 | <i>T. flavus</i> | 98.99 |
| 5 | PS34-63 | <i>T. flavus</i> | 98.99 |
| 6 | PS8-64 | <i>T. flavus</i> | 98.50 |
| 7 | PS9-64 | <i>T. flavus</i> | 98.89 |
| 8 | PS17-65 | <i>T. flavus</i> | 98.99 |
| 9 | PS18-65 | <i>T. flavus</i> | 99.63 |
| 10 | PS19-65 | <i>T. flavus</i> | 99.15 |
| 11 | PS9-65 | <i>Bacillus megaterium</i> | 98.76 |
| 12 | PS13-65 | <i>B. megaterium</i> | 99.20 |
| 13 | PS16-65 | <i>B. megaterium</i> | 98.76 |
| 14 | PS23-65 | <i>B. megaterium</i> | 99.35 |
| 15 | PS24-65 | <i>B. megaterium</i> | 99.12 |
| 16 | PS38-65 | <i>B. megaterium</i> | 98.50 |
| 17 | PS41-65 | <i>B. megaterium</i> | 98.33 |
| 18 | PS7-66 | <i>B. megaterium</i> | 98.88 |
| 19 | PS9-66 | <i>B. megaterium</i> | 99.12 |

2. การจัดจำแนกโดยใช้เครื่อง MALDI-TOF MS

การจัดจำแนกจำแนกสกุล-ชนิด ด้วยเครื่อง MALDI-TOF MS พบว่า ราละลายฟอสเฟต จำนวน 10 ไอโซเลท (PS8-63, PS12-63, PS14-63, PS17-63, PS34-63, PS8-64, PS9-64, PS17-65, PS18-65 และ PS19-65) เป็น *Talaromyces flavus* มีค่า score value เท่ากับ 2.17 – 2.75 (ตารางที่ 2) สอดคล้องกับรายงานของ Cardoso *et al.* (2021) ศึกษาการจำแนกรากในกลุ่ม *Eurotiales* จำนวน 95 สายพันธุ์ แบ่งเป็น *Aspergillus* จำนวน 27 สายพันธุ์ *Penicillium* จำนวน 50 สายพันธุ์ และ *Talaromyces* จำนวน 18 สายพันธุ์ ที่แยกได้จากแหล่งต่างๆ ในประเทศบราซิลด้วยเครื่องมือลิตโทฟแมสสเปคโตรเมทรี สามารถจำแนกราดังกล่าวได้ในระดับชนิด (species) ดังนี้ *Aspergillus* จำนวน 17 ชนิด *Penicillium* จำนวน 16 ชนิด และ *Talaromyces* จำนวน 9 ชนิดและผลการจำแนกของแบคทีเรียละลายฟอสเฟต จำนวน 9 ไอโซเลท (PS9-65, PS13-65, PS16-65, PS23-65, PS24-65, PS38-65, PS41-65, PS7-66 และ PS9-66) เป็น *Bacillus megaterium* ทั้ง 9 ไอโซเลท มีค่า score value เท่ากับ 2.25 – 2.40 (ตารางที่ 2) เครื่องลิตโทฟแมสสเปคโตรเมทรีสามารถใช้จำแนกแบคทีเรียได้ทั้งกลุ่ม เช่น ในอุตสาหกรรมอาหาร การแพทย์ และด้านการเกษตร มีรายงานของ Zhang *et al.* (2022) ใช้เครื่องดังกล่าวในการจำแนก *Bacillus cereus* *Listeria monocytogenes* และ *Micrococcus luteus* ที่ปนเปื้อนในอาหาร นอกจากนี้ยังสามารถแยก *Bacillus pumilus* group จำนวน 24 สายพันธุ์ จากแหล่งต่าง ๆ ออกเป็น *Bacillus pumilus* และ *Bacillus altitudinis* ซึ่งมีความคล้ายคลึงกันมากได้ด้วย (Starostin *et al.*, 2015)

ตารางที่ 2 ผลการจดจำแนกชนิดสายพันธุ์จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตด้วยเครื่อง MALDI-TOF MS

| ลำดับ | สายพันธุ์จุลินทรีย์ | สกุล-ชนิด | Score value* |
|-------|---------------------|----------------------------|--------------|
| 1 | PS 8-63 | <i>Talaromyces flavus</i> | 2.34 |
| 2 | PS 12-63 | <i>T. flavus</i> | 2.66 |
| 3 | PS 14-63 | <i>T. flavus</i> | 2.67 |
| 4 | PS 17-63 | <i>T. flavus</i> | 2.75 |
| 5 | PS 34-63 | <i>T. flavus</i> | 2.23 |
| 6 | PS 8-64 | <i>T. flavus</i> | 2.48 |
| 7 | PS 9-64 | <i>T. flavus</i> | 2.50 |
| 8 | PS 17-65 | <i>T. flavus</i> | 2.17 |
| 9 | PS 18-65 | <i>T. flavus</i> | 2.55 |
| 10 | PS 19-65 | <i>T. flavus</i> | 2.54 |
| 11 | PS9-65 | <i>Bacillus megaterium</i> | 2.30 |
| 12 | PS13-65 | <i>B. megaterium</i> | 2.38 |
| 13 | PS16-65 | <i>B. megaterium</i> | 2.29 |
| 14 | PS23-65 | <i>B. megaterium</i> | 2.30 |
| 15 | PS24-65 | <i>B. megaterium</i> | 2.35 |
| 16 | PS38-65 | <i>B. megaterium</i> | 2.40 |
| 17 | PS41-65 | <i>B. megaterium</i> | 2.30 |
| 18 | PS7-66 | <i>B. megaterium</i> | 2.38 |
| 19 | PS9-66 | <i>B. megaterium</i> | 2.25 |

หมายเหตุ: score values ≥ 2.0 จำแนกได้ระดับสกุล (genus) และชนิด (species); score values 1.7 to 2.0 จำแนกได้ระดับสกุล (genus); score values < 1.7 ไม่สามารถจำแนกได้

3. การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์

3.1 การทดสอบความถูกต้อง (trueness)

ผลเปรียบเทียบการจำแนกชนิด (species) ของราละลายฟอสเฟต จำนวน 10 ไอโซเลท (PS8-63, PS12-63, PS14-63, PS17-63, PS34-63, PS8-64, PS9-64, PS17-65, PS18-65 และ PS19-65) ด้วยวิธีทางชีวโมเลกุลและเครื่อง MALDI-TOF MS พบว่ามีผลการจำแนกเป็น *Talaromyces flavus* มีความคล้ายคลึงกันอยู่ในช่วง 98.32 – 99.63 เปอร์เซ็นต์ และค่า score value อยู่ในช่วง 2.17 – 2.75 (ตารางที่ 3) และผลเปรียบเทียบการจำแนกชนิดของแบคทีเรียละลายฟอสเฟตทั้ง 9 สายพันธุ์ เป็น *Bacillus megaterium* มีความคล้ายคลึงกันอยู่ในช่วง 98.33 - 99.20 เปอร์เซ็นต์ และมีค่า score value เท่ากับ 2.25 – 2.40 (ตารางที่ 3) ซึ่งค่าความคล้ายคลึงกันด้วยวิธีทางชีวโมเลกุลและ MALDI-TOF MS อยู่ในเกณฑ์ประเมินการยอมรับผลการทดสอบ

3.2 การทดสอบความเที่ยง (Precision) ของเครื่อง MALDI-TOF MS

3.2.1 ความสามารถในการทำซ้ำ (Repeatability)

ผลการทดสอบความสามารถในการทำซ้ำ (Repeatability) ของการจำแนกชนิดราละลายฟอสเฟต จำนวน 3 ตัวอย่าง โดยการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธี Direct transfer ทำการทดสอบ 10 ซ้ำ โดยทดสอบในวันและสภาวะเดียวกัน มีค่า score value ที่ทำการทดสอบกับชนิดของจุลินทรีย์ในฐานข้อมูล พบว่า ตัวอย่างที่ 1 มีค่า score value อยู่ในช่วง 2.04 – 2.25 ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.15 และมีค่า %CV เท่ากับ 3.63 ตัวอย่างที่ 2 มีค่า score value อยู่ในช่วง 2.06 – 2.26 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.14 และมีค่า %CV เท่ากับ 2.67 และตัวอย่างที่ 3 มีค่า score

value อยู่ในช่วง 2.06 – 2.23 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.14 และมีค่า %CV เท่ากับ 3.09 (ตารางที่ 4) ขณะที่ผลการจำแนกชนิดแบคทีเรียละลายฟอสเฟต จำนวน 3 ตัวอย่าง พบว่า มีค่า score value ที่ทำการทดสอบกับชนิดของจุลินทรีย์ในฐานข้อมูล พบว่า ตัวอย่างที่ 1 มีค่า score value อยู่ในช่วง 2.14 – 2.40 ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.37 และมีค่า %CV เท่ากับ 3.26 ตัวอย่างที่ 2 มีค่า score value อยู่ในช่วง 2.00 – 2.36 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.19 และมีค่า %CV เท่ากับ 6.02 และตัวอย่างที่ 3 มีค่า score value อยู่ในช่วง 2.05 – 2.35 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.27 และมีค่า %CV เท่ากับ 4.25 (ตารางที่ 5) ซึ่ง CV มีค่าน้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ จึงยอมรับและผ่านเกณฑ์การประเมินผล

3.2.2 การทดสอบโดยเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ 2 คน (Intermediate precision: between-analyst variation)

ทดสอบหาชนิดของราละลายฟอสเฟต จำนวน 1 ชนิด (species) ทำการทดสอบ 20 ซ้ำ โดยเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ 2 คน โดยทดสอบในวันและสภาวะเดียวกัน พบว่า เจ้าหน้าที่วิเคราะห์คนที่ 1 ที่ทำการทดสอบกับชนิดของจุลินทรีย์ในฐานข้อมูล มีค่า score value อยู่ในช่วง 2.04 – 2.32 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.18 และมี %CV เท่ากับ 4.09 สำหรับเจ้าหน้าที่วิเคราะห์คนที่ 2 มีค่า score value อยู่ในช่วง 2.00 – 2.34 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.17 และมี %CV เท่ากับ 3.93 (ตารางที่ 6) และเมื่อเปรียบเทียบค่า score value ที่วัดได้ โดยทดสอบทางสถิติ Student's t-test ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่า P เท่ากับ 0.666 (ตารางที่ 6) ขณะที่การทดสอบหาชนิดของแบคทีเรียละลายฟอสเฟต พบว่า เจ้าหน้าที่วิเคราะห์คนที่ 1 มีค่า score value อยู่ในช่วง 2.26 – 2.47 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.38 และมี %CV เท่ากับ 2.33 สำหรับเจ้าหน้าที่วิเคราะห์คนที่ 2 มีค่า score value อยู่ในช่วง 2.24 – 2.48 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.33 และมี %CV เท่ากับ 3.09 (ตารางที่ 7) และเมื่อเปรียบเทียบค่า score value ที่วัดได้ โดยทดสอบทางสถิติ Student's t-test ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่า P เท่ากับ 0.302 (ตารางที่ 7) ซึ่งแสดงว่าค่า score value ของเจ้าหน้าที่ทั้ง 2 คน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 3 การทดสอบความถูกต้อง (trueness) ในการจำแนกสกุล-ชนิดของจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตด้วยเทคนิค
อณูชีววิทยาและด้วยเครื่อง MALDI-TOF MS

| สายพันธุ์ จุลินทรีย์ | วิธีทางอณูชีวโมเลกุล | | เครื่อง MALDI-TOF MS | |
|-------------------------|----------------------------|--------------|----------------------------|---------------|
| | สกุล - ชนิด | % Similarity | สกุล - ชนิด | Score values* |
| PS 8-63 | <i>Talaromyces flavus</i> | 98.99 | <i>Talaromyces flavus</i> | 2.34 |
| PS 12-63 | <i>T. flavus</i> | 98.32 | <i>T. flavus</i> | 2.66 |
| PS 14-63 | <i>T. flavus</i> | 98.82 | <i>T. flavus</i> | 2.67 |
| PS 17-63 | <i>T. flavus</i> | 98.99 | <i>T. flavus</i> | 2.75 |
| PS 34-63 | <i>T. flavus</i> | 98.99 | <i>T. flavus</i> | 2.23 |
| PS 8-64 | <i>T. flavus</i> | 98.50 | <i>T. flavus</i> | 2.48 |
| PS 9-64 | <i>T. flavus</i> | 98.89 | <i>T. flavus</i> | 2.50 |
| PS 17-65 | <i>T. flavus</i> | 98.99 | <i>T. flavus</i> | 2.17 |
| PS 18-65 | <i>T. flavus</i> | 99.63 | <i>T. flavus</i> | 2.55 |
| PS 19-65 | <i>T. flavus</i> | 99.15 | <i>T. flavus</i> | 2.54 |
| PS9-65 | <i>Bacillus megaterium</i> | 98.76 | <i>Bacillus megaterium</i> | 2.30 |
| PS13-65 | <i>B. megaterium</i> | 99.20 | <i>B. megaterium</i> | 2.38 |
| PS16-65 | <i>B. megaterium</i> | 98.76 | <i>B. megaterium</i> | 2.29 |
| PS23-65 | <i>B. megaterium</i> | 99.35 | <i>B. megaterium</i> | 2.30 |
| PS24-65 | <i>B. megaterium</i> | 99.12 | <i>B. megaterium</i> | 2.35 |
| PS38-65 | <i>B. megaterium</i> | 98.50 | <i>B. megaterium</i> | 2.40 |
| PS41-65 | <i>B. megaterium</i> | 98.33 | <i>B. megaterium</i> | 2.30 |
| PS7-66 | <i>B. megaterium</i> | 98.88 | <i>B. megaterium</i> | 2.38 |
| PS9-66 | <i>B. megaterium</i> | 99.12 | <i>B. megaterium</i> | 2.25 |

หมายเหตุ: score values ≥ 2.0 จำแนกได้ระดับสกุล (genus) และชนิด (species); score values 1.7 to 2.0 จำแนกได้ระดับ
สกุล (genus); score values < 1.7 ไม่สามารถจำแนกได้

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบความสามารถในการทำซ้ำ (Repeatability) ของการจำแนกชนิดราละลายฟอสเฟต

| ครั้งที่ | ค่า score value | | |
|----------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | ตัวอย่างที่ 1 | ตัวอย่างที่ 2 | ตัวอย่างที่ 3 |
| 1 | 2.25 | 2.13 | 2.06 |
| 2 | 2.06 | 2.06 | 2.14 |
| 3 | 2.26 | 2.26 | 2.04 |
| 4 | 2.10 | 2.09 | 2.19 |
| 5 | 2.09 | 2.10 | 2.22 |
| 6 | 2.14 | 2.12 | 2.09 |
| 7 | 2.04 | 2.15 | 2.23 |
| 8 | 2.18 | 2.15 | 2.17 |
| 9 | 2.22 | 2.20 | 2.17 |
| 10 | 2.13 | 2.13 | 2.10 |
| Species | <i>Talaromyces flavus</i> | <i>Talaromyces flavus</i> | <i>Talaromyces flavus</i> |
| เฉลี่ย | 2.15 | 2.14 | 2.14 |
| %CV | 3.63 | 2.67 | 3.09 |

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบความสามารถในการทำซ้ำ (Repeatability) ของการจำแนกชนิดแบคทีเรียละลายฟอสเฟต

| ครั้งที่ | ค่า score value | | |
|----------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | ตัวอย่างที่ 1 | ตัวอย่างที่ 2 | ตัวอย่างที่ 3 |
| 1 | 2.33 | 2.30 | 2.35 |
| 2 | 2.38 | 2.30 | 2.31 |
| 3 | 2.35 | 2.27 | 2.18 |
| 4 | 2.40 | 2.00 | 2.31 |
| 5 | 2.34 | 2.27 | 2.29 |
| 6 | 2.14 | 2.04 | 2.30 |
| 7 | 2.33 | 2.04 | 2.28 |
| 8 | 2.40 | 2.23 | 2.27 |
| 9 | 2.31 | 2.36 | 2.05 |
| 10 | 2.28 | 2.10 | 2.40 |
| Species | <i>Bacillus megaterium</i> | <i>Bacillus megaterium</i> | <i>Bacillus megaterium</i> |
| เฉลี่ย | 2.33 | 2.19 | 2.27 |
| %CV | 3.26 | 6.02 | 4.25 |

ตารางที่ 6 การทดสอบความเที่ยงโดยเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ 2 คน (Intermediate precision: between-analyst variation) ของรากละลายฟอสเฟต

| จำนวนซ้ำที่ | ค่า score value | |
|-----------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | เจ้าหน้าที่วิเคราะห์คนที่ 1 | เจ้าหน้าที่วิเคราะห์คนที่ 2 |
| 1 | 2.22 | 2.24 |
| 2 | 2.18 | 2.19 |
| 3 | 2.19 | 2.31 |
| 4 | 2.32 | 2.34 |
| 5 | 2.04 | 2.00 |
| 6 | 2.20 | 2.18 |
| 7 | 2.13 | 2.06 |
| 8 | 2.19 | 2.22 |
| 9 | 2.27 | 2.20 |
| 10 | 2.14 | 2.20 |
| 11 | 2.08 | 2.10 |
| 12 | 2.06 | 2.06 |
| 13 | 2.31 | 2.20 |
| 14 | 2.10 | 2.09 |
| 15 | 2.09 | 2.15 |
| 16 | 2.27 | 2.13 |
| 17 | 2.04 | 2.15 |
| 18 | 2.26 | 2.13 |
| 19 | 2.23 | 2.26 |
| 20 | 2.25 | 2.12 |
| ค่าเฉลี่ย | 2.18 | 2.17 |
| %CV | 4.09 | 3.93 |
| ค่าเฉลี่ย | | 2.17 |
| %CV | | 5.97 |
| Sig. (2-tailed) | | 0.666 |

ตารางที่ 7 การทดสอบความเที่ยงโดยเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ 2 คน (Intermediate precision: between-analyst variation) ของแบคทีเรียละลายฟอสเฟต

| จำนวนซ้ำที่ | ค่า score value | |
|-----------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | เจ้าหน้าที่วิเคราะห์คนที่ 1 | เจ้าหน้าที่วิเคราะห์คนที่ 2 |
| 1 | 2.36 | 2.44 |
| 2 | 2.26 | 2.48 |
| 3 | 2.36 | 2.36 |
| 4 | 2.43 | 2.34 |
| 5 | 2.47 | 2.46 |
| 6 | 2.41 | 2.46 |
| 7 | 2.4 | 2.34 |
| 8 | 2.32 | 2.4 |
| 9 | 2.33 | 2.32 |
| 10 | 2.46 | 2.26 |
| 11 | 2.36 | 2.41 |
| 12 | 2.35 | 2.33 |
| 13 | 2.37 | 2.24 |
| 14 | 2.42 | 2.32 |
| 15 | 2.31 | 2.3 |
| 16 | 2.36 | 2.44 |
| 17 | 2.4 | 2.4 |
| 18 | 2.47 | 2.38 |
| 19 | 2.43 | 2.29 |
| 20 | 2.36 | 2.44 |
| ค่าเฉลี่ย | 2.38 | 2.36 |
| %CV | 2.33 | 3.09 |
| ค่าเฉลี่ย | 2.37 | |
| %CV | 2.74 | |
| Sig. (2-tailed) | 0.302 | |

สรุปผลการทดลอง

การจำแนกชนิดราละลายฟอสเฟต จำนวน 10 ไอโซเลท ด้วยวิธีอณูชีวโมเลกุล พบว่า มีความคล้ายคลึงกัน (% similarity) กับ *Talaromyces flavus* อยู่ในช่วง 98.32 – 99.63 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ พบว่า ค่าความถูกต้องของวิธีจำแนกชนิดด้วยวิธีทางอณูชีวโมเลกุล เท่ากับ 98.32 – 99.63 เปอร์เซ็นต์ และเครื่อง MALDI-TOF MS มีค่า score value เท่ากับ 2.17 – 2.75 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ ค่าความเที่ยงของความสามารถในการทำซ้ำในการจำแนกมี CV ของตัวอย่าง 3 ตัวอย่าง มีค่า 3.63 2.67 และ 2.14 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และค่า Intermediate precision จากการทดสอบโดยเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ 2 คน มี CV เท่ากับ 4.09 และ 3.93 เปอร์เซ็นต์ และทดสอบทางสถิติโดยใช้ Student's t-test ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ มีค่า P เท่ากับ 0.666 แสดงให้เห็นว่าผลการทดสอบของเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ทั้ง 2 คน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิตินอกจากนี้ได้สายพันธุ์ราที่สามารถใช้เป็นสายพันธุ์อ้างอิงเพื่อใช้จัดจำแนกสกุล-ชนิดของจุลินทรีย์ในปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต

การจำแนกของแบคทีเรียละลายฟอสเฟต จำนวน 9 ไอโซเลท ด้วยวิธีอณูชีวโมเลกุล พบว่า มีความคล้ายคลึงกัน (% similarity) กับ *Bacillus megaterium* ทั้ง 9 ไอโซเลท โดยมี % similarity อยู่ในช่วง 98.33-99.20 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ พบว่า ค่าความถูกต้องของวิธีจำแนกชนิด ด้วยวิธีทางอณูชีวโมเลกุล เท่ากับ 98.33-99.20 เปอร์เซ็นต์ และเครื่อง MALDI-TOF MS มีค่า score value เท่ากับ 2.25 – 2.40 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ ค่าความเที่ยงของความสามารถในการทำซ้ำในการจำแนกของ ตัวอย่าง 3 ตัวอย่าง มีค่า CV เท่ากับ 3.26 6.02 และ 2.27 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และค่า Intermediate precision จากการทดสอบโดยเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ 2 คน มี CV เท่ากับ 2.33 และ 3.09 เปอร์เซ็นต์ และทดสอบทางสถิติโดยใช้ Student's t-test ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ มีค่า P เท่ากับ 0.302 แสดงให้เห็นว่าผลการทดสอบของเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ทั้ง 2 คน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ นอกจากนี้ได้สายพันธุ์แบคทีเรียที่สามารถใช้เป็นสายพันธุ์อ้างอิงเพื่อใช้จัดจำแนกสกุล-ชนิดของจุลินทรีย์ในปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) และที่สนับสนุนทุนวิจัยในปีงบประมาณ พ.ศ. 2565-2566

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ได้วิธีการจัดจำแนกสกุล-ชนิดของราและแบคทีเรียในปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต โดยใช้เครื่อง MALDI-TOF MS ทำให้สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ รวดเร็ว และแม่นยำ และได้ *Talaromyces flavus* และ *Bacillus megaterium* ใช้เป็นสายพันธุ์อ้างอิง เพื่อรับรองการขึ้นทะเบียนปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตตาม พรบ. ปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 และขอการรับรองห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC17025: 2017

เอกสารอ้างอิง

- กรมวิชาการเกษตร. 2566. คู่มือวิเคราะห์ปุ๋ยชีวภาพ. กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ. 62 หน้า.
- Christopher, K. and E. Bruno. 2003. Identification of Bacterial Species. Pages 103-130. In: *Tested Studies for Laboratory Teaching*. O'Donnell M.A. (ed.). Proceedings of the 24th Workshop /Conference of the Association for Biology Laboratory Education.
- Magwaza, N.M., E.N. Nxumalo, B.B. Mamba, H. Nyoni, K. Ntushelo and T.A.M. Msagati. 2019. Isolation of *Talaromyces flavus* from Roodeplaat dam and screening of its secondary metabolites in artificial media. *Applied Ecology and Environmental Research* 19(5): 3505-3518.
- Nuankaew, S., C. Chuaseharonnachai, S. Preedanon, S. Somrithipol, S. Saengkaewsuk, P. Kwantong, S. Phookongchai, P. Srikikulchai, N. Kobmoo, X.C. Wang, Z.F. Zhang, L. Cai, S. Suetrong and N. Boonyuen. 2022. Two novel species of *Talaromyces* discovered in a Karst Cave in the Satun UNESCO Global Geopark of Southern Thailand. *Journal of Fungi* 8(8): 825.

- Chakraborty, B.N., U. Chakraborty, A.P. Chakraborty and P.L. Dey. 2014. Molecular identification and immunological characterization of plant growth promoting rhizobacteria of *Camellia sinensis*. International Journal of Tea Science 10: 41-52.
- Sparkman, D.O. 2000. Mass Spectrometry Desk Reference. Global View Publishing, Pittsburgh, PA USA. 110 p.
- Starostin, K.V., E.A. Demidov, A.V. Bryanskaya, V.M. Efimov, A.S. Rozanov and S.E. Peltek. 2015. Identification of *Bacillus* strains by MALDI TOF MS using geometric approach. Scientific Report 5:16989.
- Tshikhudo, P., R. Nnzeru, K. Ntushelo and F. Mudau. 2013. Bacterial Species Identification Getting Easier. Afr. J. Biotechnol. 12(41): 5975-5982.
- Váradi, L., J.L. Luo, D.E. Hibbs, J.D. Perry, R.J. Anderson, S. Orenge and P.W. Groundwater. 2017. Methods for the Detection and Identification of Pathogenic Bacteria: Past, Present, and Future. Chem. Soc. Rev. 46(16): 4818–4832.
- Weisburg, W.G., S.M. Barns, D.A. Pelletier and D.J. Lane. 1991. 16S Ribosomal DNA Amplification for Phylogenetic Study. J. Bacteriol. 173: 697-703.
- Wilson, K. and J. Walker. 2010. Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology (7th Eds). Cambridge University Press. 744 p.
- Zhang, X., Y. Tong, J. Wang, X. Lyu and R. Yang. 2021. Screening of a *Bacillus subtilis* strain producing both nattokinase and milk-clotting enzyme and its application in fermented milk with thrombolytic activity. Journal of Dairy Science 104(9): 9437-9449.
- Zhang R., Y. Zhang, T. Zhang, M. Xu, H. Wang, S. Zhang, Y. Zhang and W. Zhou. 2022. Establishing a MALDI-TOF-TOF-MS method for rapid identification of three common Gram-positive bacteria (*Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, and *Micrococcus luteus*) associated with foodborne diseases. Food Science and Technology 42: e117021.

ผลปุ๋ยโพแทชต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ปลูกในดินเหนียว
จังหวัดเพชรบูรณ์

Effects of Potash Fertilizer on Growth and Yield of Maize in
Clay Soil at Phetchabun province

สายน้ำ อุดพวย¹ เพ็ญรัตน์ เทียมเพ็ง² ธัญพร นามงอน³
Sainam Udpuay¹ Penrat Thiempeng² Thunyaporn Ngamngorn³

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Potassium is an essential macronutrient for the growth and development of maize. The research aimed to investigate the effects of potash fertilizers on growth, primary nutrient uptake and yield of maize in clay soil at Phetchabun province. The experiment consisted of 12 treatments with four replications using the Factorial in Randomized Complete Block Design. Two factors were tested in the study. Factor No.1 included maize varieties, specifically Nakhon Sawan 3 and Pacific 339. Factor No. 2 had six levels of potash fertilizer, namely 0, 5, 10, 15, 20, and 25 kg K₂O/rai. All treatments were applied based on soil tests at the rate of 10 kg N/rai and 10 kg P₂O₅/rai of nitrogen and phosphate fertilizers, respectively. The results showed that different rates of potash fertilizer significantly affected the plant height, grain yield and soil properties after planting. However, there were no significant differences in stalk fresh weight, ear fresh weight, % shelling, total dry matter, and primary nutrient uptake, and. In addition, an evaluation of the efficiency of potash fertilizer use on maize showed that the application of 5 kg K₂O/rai provided the highest economic return.

Keywords: Potassium, Economic return, Fertilizer recommended rate, nutrient uptake

บทคัดย่อ

โพแทสเซียมเป็นธาตุอาหารหลักที่มีความสำคัญต่อการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้ปุ๋ยโพแทชต่อการเจริญเติบโต การดูดธาตุอาหารของพืช และผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในดินเหนียว จังหวัดเพชรบูรณ์ วางแผนการทดลองแบบ Factorial in RCBD มี 12 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ประกอบด้วยปัจจัยที่ 1 คือ พันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ได้แก่ 1) พันธุ์นครสวรรค์ 3 และ 2) พันธุ์แปซิฟิก 339 ปัจจัยที่ 2 คือ ปุ๋ยโพแทช 6 ระดับ ได้แก่ 0, 5, 10, 15, 20 และ 25 กิโลกรัม K₂O ต่อไร่ โดยใส่ปุ๋ยไนโตรเจนและปุ๋ยฟอสเฟตตามค่าวิเคราะห์ดิน ในอัตรา 10 กิโลกรัม N ต่อไร่ และ 10 กิโลกรัม P₂O₅ ต่อไร่ ในทุกกรรมวิธี ผลการศึกษา

¹ กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

¹ Agricultural Production Science Research and Development Division

² ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเพชรบูรณ์ เพชรบูรณ์ 67000

² Phetchabun Agricultural Research and Development Center, Phetchabun 67000

³ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2 พิษณุโลก 65130

³ Office Agriculture Research and Development Region 2, Phitsanulok 65130

พบว่า การใช้ปุ๋ยโพแทสเซียมแตกต่างกันทำให้ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีความสูงต้น ผลผลิตเมล็ดและสมบัติของดินหลังปลูกแตกต่างกันทางสถิติ แต่ไม่มีผลต่อน้ำหนักต้นสด น้ำหนักฝักสด เปอร์เซ็นต์กะเทาะ น้ำหนักแห้ง และการดูดธาตุอาหารของพืชแตกต่างกัน นอกจากนั้นการประเมินประสิทธิภาพการใช้ปุ๋ยโพแทสเซียมของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์แสดงให้เห็นว่าการใส่ปุ๋ยโพแทสเซียมในอัตรา 5 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ ให้ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจมากที่สุด

คำสำคัญ: ธาตุโพแทสเซียม ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ การดูดธาตุอาหารพืช

บทนำ

ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ (*Zea mays* L.) เป็นพืชไร่เศรษฐกิจที่สำคัญต่ออุตสาหกรรมอาหารสัตว์ ประมาณ 90% ของผลผลิตทั้งหมดนำมาใช้เป็นวัตถุดิบหลักในกระบวนการผลิตอาหารสัตว์ภายในประเทศไทย มีพื้นที่เพาะปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 6,764,210 ไร่ มีผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่ 724 กิโลกรัม และคิดเป็นผลผลิตรวมทั้งสิ้น 4,895,904 ล้านตัน จากความต้องการใช้ที่มีมากถึง 8,110,000 ตัน โดยจังหวัดที่เป็นแหล่งปลูกที่สำคัญ ได้แก่ เพชรบูรณ์ นครราชสีมา ตาก น่าน และลพบุรี (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2566) จังหวัดเพชรบูรณ์มีพื้นที่เพาะปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มากถึง 813,091 ไร่ และมีผลผลิตเฉลี่ย 683 ไร่ ปัจจุบันการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ผลิตในประเทศยังไม่เพียงพอ จึงต้องนำเข้าจากต่างประเทศปริมาณ 1,476,016 ตัน มูลค่า 15,022 ล้านบาท ทั้งนี้เนื่องจากศักยภาพการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในไทยยังมีคุณภาพและมีผลผลิตต่อไร่ในปริมาณต่ำ เนื่องจากมีข้อจำกัดหลายประการ เช่น ขาดเมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพที่เหมาะสมกับสภาพพื้นที่ การจัดการไม่เหมาะสม สภาพภูมิอากาศแห้งแล้ง และความอุดมสมบูรณ์ของดินต่ำ โดยการให้ธาตุอาหารพืชแก่ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เพิ่มเติมในรูปของปุ๋ยจัดเป็นข้อจำกัดที่สำคัญประการหนึ่งต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ เพราะข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เป็นพืชที่ดูดใช้ปุ๋ยได้ดี โดยในช่วง 30 ถึง 40 วันก่อนการผสมเกสรต้นข้าวโพดจะดูดใช้ธาตุอาหารที่จำเป็นทั้งหมดได้ถึง 75% (Raemaekers, 2001) โดย Saleem et al. (2011) พบว่าในประเทศปากีสถาน พันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมให้ผลผลิตสูงถึงสามเท่าเมื่อเทียบกับพันธุ์ข้าวโพดท้องถิ่น จึงมีความต้องการปุ๋ยเป็นสองเท่า โดยประเทศไทยได้มีการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมที่มีการตอบสนองต่อธาตุอาหารสูง เช่น พันธุ์นครสวรรค์ 3 ให้ผลผลิตเฉลี่ย 1,150 กิโลกรัมต่อไร่ (พิเชษฐ และคณะ, 2552) พันธุ์แปซิฟิก 339 ให้ผลผลิต 1,564-2,228 กิโลกรัมต่อไร่ (แปซิฟิกเมล็ดพันธุ์, ม.ป.ป.) ศิวีไล ลาภบรรจบ (2558) รายงานว่า การผลิตข้าวโพดให้ได้ผลผลิตสูงและมีคุณภาพ ควรมีการใช้พันธุ์ที่เหมาะสมกับสภาพพื้นที่ มีการจัดการดิน และการใช้ปุ๋ยให้เหมาะสมกับสภาพพื้นที่ปลูก ทั้งนี้ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์แต่ละพันธุ์อาจตอบสนองต่อการใช้ปุ๋ยและมีความต้องการธาตุอาหารพืชที่ต่างกัน (สายน้ำ และคณะ, 2565) โดยการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 1 ตัน มีความต้องการธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมเท่ากับ 18-4-17 กิโลกรัม N-P-K ต่อไร่ เทียบเท่ากับปุ๋ยเคมี 18-9-20 กิโลกรัม $N-P_2O_5-K_2O$ ต่อไร่ (สมฤทัย และคณะ, 2561) โดยสภาพพื้นที่และสมบัติของดินที่เหมาะสมกับข้าวโพดนั้น ควรเป็นพื้นที่ที่มีการระบายน้ำดี ลักษณะดินควรมีเนื้อดินร่วน ดินร่วนเหนียว ดินร่วนปนทราย และดินเหนียว ความเป็นกรด-ด่างของดิน (pH) 5.5-7.5 อินทรีย์วัตถุ 1% ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์มากกว่า 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์มากกว่า 60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (กรมวิชาการเกษตร, 2564) ดินเหนียว (clay) เป็นดินที่ประกอบด้วยอนุภาคดินเหนียวมากกว่า 40% อนุภาคทรายน้อยกว่า 45% และอนุภาคทรายแป้งน้อยกว่า 40% (สำนักงานราชบัณฑิตยสภา, 2562)

ปุ๋ยมีบทบาทสำคัญต่อการให้การผลิตพืช โดยเฉพาะข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมมีความต้องการทางโภชนาการสูง โดยทั่วไปแล้วจะตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) และโพแทสเซียม (K) (Sharma and Das, 1982) โดยธาตุโพแทสเซียมมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืช เสริมสร้างความแข็งแรงของลำต้น และการสร้างเมล็ด (กรมวิชาการเกษตร, 2553) กระตุ้นการทำงานของเอนไซม์มากกว่า 60 ชนิด ในกระบวนการเผาผลาญต่างๆ เกี่ยวกับกับการดูดซึมน้ำและการเคลื่อนย้ายไนเตรตจากรากไปยังส่วนเหนือดินของพืช (Saleem et al., 2011) ช่วยในการสร้างโปรตีน การสังเคราะห์ด้วยแสง คุณภาพผลไม้ และลดการเกิดโรค (CFAITC, 2009) ซึ่งธาตุโพแทสเซียมไม่ได้สะสมเพียงในส่วนเมล็ดเท่านั้น

แต่ยังอยู่ในส่วนของเศษซากพืช ได้แก่ ต้น ใบ และกาบฝัก เป็นต้น ความเข้มข้นของ โพแทสเซียม ในใบพืชทั่วไป อยู่ระหว่าง 1-4 % ส่วนระดับวิกฤติในดินของโพแทสเซียม เท่ากับ 100 มิลลิกรัม K ต่อกิโลกรัม (สมาคมดินและปุ๋ยแห่งประเทศไทย, 2564) การดูธาตุโพแทสเซียมในธัญพืช ส่วนใหญ่อยู่ในส่วนของลำต้นและเมล็ด การระบุสถานะโพแทสเซียม ว่ามีเพียงพอกับพืชหรือไม่ จึงสามารถใช้ความเข้มข้นของโพแทสเซียมในส่วนลำต้นและเมล็ดมาประเมิน (Mallarino and Higashi, 2009) โพแทสเซียมเป็นธาตุที่มีการสูญหายง่ายรองจากธาตุไนโตรเจน และเมื่อมีปริมาณ โพแทสเซียมมากเกินไป ยังส่งผลยับยั้งการดูดใช้ธาตุแคลเซียมและแมกนีเซียม (ยงยุทธ, 2558) อย่างไรก็ตามการขาดธาตุโพแทสเซียมเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ผลผลิตพืชต่ำ ปัจจุบันอัตราปุ๋ยที่แนะนำให้ใช้ในกรณีดินมีปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ระดับปานกลาง คือ 5-10 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ (กรมวิชาการเกษตร, 2553) จะเห็นว่า ธาตุโพแทสเซียมเป็นตัวจำกัดผลผลิตพืช จึงจำเป็นต้องวิจัยการใช้ปุ๋ยโพแทสเซียมที่เหมาะสมเพื่อเพิ่มผลผลิตพืช อีกทั้งยังไม่มีการศึกษาการตอบสนองต่อปุ๋ยโพแทสเซียมในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ พันธุ์นครสวรรค์ 3 และพันธุ์แปซิฟิก 339 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่เกษตรกรผู้ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จังหวัดเพชรบูรณ์นิยมปลูก จึงทำการศึกษาดังกล่าวทั้งสองสายพันธุ์นี้ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้ปุ๋ยโพแทสเซียมต่อการเจริญเติบโต การดูดธาตุอาหารพืช และผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ปลูกในดินเหนียว เพื่อนำไปใช้สำหรับปรับปรุงการจัดการปุ๋ยโพแทสเซียมที่เหมาะสมในการผลิตแบบออร์แกนิกในพื้นที่ดินเหนียว จังหวัดเพชรบูรณ์ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสม ได้แก่ พันธุ์นครสวรรค์ 3 และพันธุ์แปซิฟิก 339
2. ปุ๋ยเคมีที่ใช้ทดลอง ได้แก่ ปุ๋ยยูเรีย (46-0-0) ปุ๋ยทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต (0-46-0) และปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ (0-0-60)
3. สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช และกำจัดวัชพืช
4. อุปกรณ์ภาคสนาม สำหรับเก็บตัวอย่างดินและพืช
5. วัสดุอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เครื่องแก้ว และสารเคมี สำหรับวิเคราะห์ดินและพืช

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ 2×6 Factorial in RCB ทดลองทั้งหมด 4 ซ้ำ

ปัจจัยที่ 1 คือ พันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ได้แก่ พันธุ์นครสวรรค์ 3 และพันธุ์แปซิฟิก 339

ปัจจัยที่ 2 คือ ระดับของปุ๋ยโพแทสเซียม มี 6 ระดับ ได้แก่

- 1) 0 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ (กรรมวิธีควบคุม)
- 2) 5 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ (0.5 เท่าของปุ๋ย K ตามค่าวิเคราะห์ดิน)
- 3) 10 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ (1.0 เท่าของปุ๋ย K ตามค่าวิเคราะห์ดิน)
- 4) 15 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ (1.5 เท่าของปุ๋ย K ตามค่าวิเคราะห์ดิน)
- 5) 20 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ (2.0 เท่าของปุ๋ย K ตามค่าวิเคราะห์ดิน)
- 6) 25 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ (2.5 เท่าของปุ๋ย K ตามค่าวิเคราะห์ดิน)

โดยทุกกรรมวิธีใส่ปุ๋ยไนโตรเจนและปุ๋ยฟอสเฟตตามค่าวิเคราะห์ดิน

ปุ๋ยไนโตรเจน อัตรา 10 กิโลกรัม N ต่อไร่ และปุ๋ยฟอสเฟต อัตรา 10 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่

แบ่งใส่ปุ๋ย 2 ครั้ง ครั้งที่ 1 เมื่อวันที่ 15 พฤษภาคม พ.ศ. 2561 โดยใส่ปุ๋ยไนโตรเจนครึ่งอัตรา ปุ๋ยฟอสเฟตและโพแทสเซียมอัตรา และครั้งที่ 2 เมื่อวันที่ 13 พฤษภาคม พ.ศ. 2561 ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนครึ่งอัตรา

ดำเนินการทดลองในไร่เกษตรกร อำเภอหล่มสัก จังหวัดเพชรบูรณ์ โดยปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์แบบออร์แกนิกน้ำฝน ระหว่างเดือน พฤษภาคม ถึง กันยายน 2561 แปลงทดลองตั้งอยู่ในพิกัดละติจูด $16^{\circ}41'21.26''N$ และลองจิจูด $101^{\circ}16'11.186''E$ ซึ่งเป็นชุดดินวังชมพู (Very-fine, smectitic, isohyperthermic Chromic Haplusterts) สุ่มเก็บตัวอย่างดินก่อนปลูกที่

ระดับความลึก 0–20 เซนติเมตร เพื่อนำไปวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมี นำไปตากให้แห้งในที่ร่ม จากนั้นบดและร่อนผ่านตะแกรง 0.5 มิลลิเมตร และ 2 มิลลิเมตร แล้วนำไปวิเคราะห์ เนื้อดิน โดยวิธี Hydrometer (Bouyoucos, 1963) พีเอชดิน ในอัตราส่วนดินต่อน้ำ เท่ากับ 1:1 (Davis, 1943) ค่าการนำไฟฟ้าของดิน (EC) ในอัตราส่วนดินต่อน้ำ เท่ากับ 1:5 แล้ววัดด้วยเครื่อง electrical conductivity meter (Rayment and Higginson, 1992) อินทรีย์วัตถุ โดยวิธีของ Walkley and Black titration (Nelson and Sommer, 1982) ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ โดยการสกัดดินด้วยน้ำยาสกัด Bray II แล้ววัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer (Bray and Kurtz, 1945) โพแทสเซียมที่สกัดได้ โดยการสกัดดินด้วย 1N Ammonium acetate (pH 7.0) แล้ววัดด้วยเครื่อง atomic absorption spectrophotometer (Pratt, 1965)

สมบัติของดินก่อนการทดลอง

ผลวิเคราะห์สมบัติดิน พบว่า ดินมีลักษณะเป็นดินเหนียว (Clay Loam) (Table 1) ความเป็นกรด-ด่างของดิน (pH) เป็นกรดปานกลาง โดยมีค่า pH (ดิน:น้ำ 1:1) เท่ากับ 6.6 ซึ่งอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ค่าการนำไฟฟ้า (EC 1:5) เท่ากับ 0.02 เดซิซีเมนส์ต่อเมตร อยู่ในระดับไม่เค็ม มีปริมาณอินทรีย์วัตถุอยู่ในระดับสูง เท่ากับ 2.4 % มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับต่ำ เท่ากับ 5.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับปานกลาง เท่ากับ 86 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากการประเมินระดับความอุดมสมบูรณ์ของดินในพื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ดัดแปลงจากกองสำรวจดิน (2523) ดินก่อนปลูกมีความอุดมสมบูรณ์ปานกลาง เมื่อพิจารณาอัตราปุ๋ยที่เหมาะสมตามค่าวิเคราะห์ดิน คือ 5–10–10 กิโลกรัม N–P₂O₅–K₂O ต่อไร่ (กรมวิชาการเกษตร, 2553)

แปลงทดลอง มีขนาดแปลงย่อย เท่ากับ 4.5 × 5 เมตร รวมทั้งสิ้น 48 แปลงย่อย ระยะระหว่างแปลงย่อย เท่ากับ 1.5 เมตร ระยะปลูก 0.75 × 0.20 เมตร จำนวน 6 แถว ยาว 5 เมตร จำนวน 1 ต้นต่อหลุม ดำเนินการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ในวันที่ 15 พฤษภาคม พ.ศ. 2561 และใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดิน (กรมวิชาการเกษตร, 2553) โดยแบ่งใส่ 2 ครั้ง คือ ครั้งที่ 1 รองกันหลุมพร้อมปลูก (หยอดเมล็ด) ลึกจากผิวดินประมาณ 5–8 เซนติเมตร และห่างจากเมล็ดประมาณ 2–3 เซนติเมตร ด้วยปุ๋ยไนโตรเจนครึ่งอัตราของอัตราที่กำหนดไว้ในแต่ละกรรมวิธีพร้อมกับปุ๋ยฟอสเฟตและโพแทสเซียมอัตราที่กำหนดไว้ในแต่ละกรรมวิธี และครั้งที่ 2 เมื่อข้าวโพดเลี้ยงสัตว์อายุประมาณ 30 วัน ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนที่เหลือครึ่งอัตราที่กำหนดไว้ในแต่ละกรรมวิธี ด้วยการโรยปุ๋ยเป็นแถบ (แบบ Banding application) สองข้างของแถวปลูก และพรวนดินกลบ โดยใช้ปุ๋ยยูเรีย (46% N) ทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต (46% P₂O₅) และโพแทสเซียมคลอไรด์ (60% K₂O) พร้อมพูนโคน กำจัดวัชพืช และหมั่นตรวจดูศัตรูข้าวโพดและโรคต่าง ๆ จากนั้นเก็บเกี่ยวผลผลิตในวันที่ 12 กันยายน พ.ศ. 2561 เมื่อข้าวโพดอายุประมาณ 110–120 วัน พื้นที่เก็บเกี่ยวขนาด 3 × 4 ตารางเมตร (เก็บเกี่ยวจากแถวกลาง 4 แถว เว้นแถวริม ข้างละ 1 แถว และหัวแปลงท้ายแปลง ข้างละ 2 และ 3 ต้น) ดำเนินการบันทึกข้อมูลการเจริญเติบโต ผลผลิต และองค์ประกอบผลผลิต ได้แก่ ความสูง น้ำหนักต้นสด น้ำหนักฝักสด และสุ่มกะเทาะเมล็ดจากฝัก 10 ฝัก แล้ววัดความชื้นของเมล็ดด้วยเครื่องวัด คำนวณเปอร์เซ็นต์กะเทาะ โดย

$$\text{เปอร์เซ็นต์กะเทาะ (\%)} = 100 \times \frac{\text{น้ำหนักเมล็ด}}{\text{น้ำหนักฝัก}}$$

Table 1 Chemical and physical of soil before planting maize at Phetchabun province

| pH | EC | OM | Avail. P | Avail. K | Sand | Silt | Clay | Texture |
|-------|--------|---------------------|-----------|---------------------------|------|------|------|---------|
| (1:1) | (1:5) | (%) | (mg/kg) | (mg/kg) | (%) | (%) | (%) | |
| | (dS/m) | (Walkley and Black) | (Bray II) | (NH ₄ OAc pH7) | | | | |
| 5.9 | 0.02 | 2.4 | 5 | 86 | 24.6 | 29.6 | 48.8 | Clay |

Note: EC = Electrical conductivity; OM = Organic matter; Avail. P = Available phosphorus; Avail. K = Available potassium

สุ่มเก็บตัวอย่างพืช 2 ต้นต่อแปลง ในแต่ละกรรมวิธีมาวิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุอาหาร และปริมาณธาตุอาหารที่ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ดูดใช้ ได้แก่ ธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ซึ่งน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง แยกเป็น 5 ส่วน คือ เมล็ด ชัง กาบฝัก ลำต้นและใบ มาอบที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งน้ำหนักคงที่ จากนั้นนำไปดให้ละเอียดและวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ด้วยการย่อยตัวอย่างด้วยกรด H₂SO₄ เข้มข้น และกลั่นด้วยวิธี Kjeldahl method ส่วนธาตุฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมทำการย่อยตัวอย่างด้วยกรด HNO₃-HClO₄ อัตราส่วน 2:1 โดยปริมาตร แล้ววัดปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดด้วยวิธี vanado-molybdate yellow color และปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมด วิเคราะห์โดยใช้เครื่อง atomic absorption spectrophotometer (กรมวิชาการเกษตร, 2544) และเก็บตัวอย่างดินหลังปลูก ที่ระดับความลึก 0–20 เซนติเมตร

ปริมาณธาตุอาหารในส่วนต่าง ๆ ของข้าวโพด (nutrient content) คำนวณได้จาก

$$\text{ปริมาณธาตุอาหารที่พืชดูดดึง (กิโลกรัมต่อไร่)} = \frac{\text{น้ำหนักแห้ง (กิโลกรัมต่อไร่)} \times \text{ความเข้มข้นของธาตุอาหาร (\%)}}{100}$$

คำนวณประสิทธิภาพการใส่ปุ๋ยโพแทช (Agronomic K Use Efficiency; AKUE) (กิโลกรัมต่อกิโลกรัม K₂O) (Fageria *et al.*, 2010) คำนวณได้จาก

$$\text{Agronomic K Use Efficiency (AKUE) (กิโลกรัมต่อกิโลกรัม K}_2\text{O)} = \frac{\text{ผลผลิต (ใส่ปุ๋ย)} - \text{ผลผลิต (ไม่ใส่ปุ๋ย)}}{\text{ปริมาณปุ๋ยที่ใส่}}$$

วิเคราะห์การตอบสนองต่อปุ๋ยโพแทชโดยใช้ response curve นำข้อมูลผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จากการใส่ปุ๋ยโพแทชที่ระดับต่างๆ ไปสร้างกราฟ scatter plot ให้อัตราปุ๋ยโพแทชเป็นแกน X ผลผลิตเมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เป็นแกน Y และสร้างเส้นแนวโน้ม (trendline) โดยเลือกใช้สมการเส้นแนวโน้มที่ให้ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R²)

นำข้อมูลการเจริญเติบโต การดูดธาตุอาหารของพืช ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิต และสมบัติของดินหลังปลูกพืช วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยใช้ analysis of variance และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test Difference (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม IRRISTAT version 4.0 for Windows

นอกจากนั้นทำการวิเคราะห์ความคุ้มค่าต่อการลงทุน โดยวิธี value to cost ratio (VCR) คือ อัตราส่วนระหว่างรายได้สุทธิ (gross return) ต่อต้นทุนจากการใส่ปุ๋ยที่เพิ่มขึ้นจากกรรมวิธีควบคุม (expenditure on fertilizer) ค่าวิกฤติของ VCR อยู่ที่ 2.0 หมายความว่า ถ้าค่า VCR มีค่ามากกว่า 2.0 แสดงว่าการใส่ปุ๋ยให้ผลตอบแทนคุ้มค่าและจะให้ผลตอบแทนคุ้มค่ามากยิ่งขึ้นตามค่า VCR ที่สูงขึ้น

การบันทึกข้อมูล

1. ข้อมูลตัวอย่างดินก่อนและหลังการทดลองที่ระดับความลึก 0–20 เซนติเมตร
2. ข้อมูลการเจริญเติบโต องค์ประกอบผลผลิตและผลผลิตข้าวโพด ได้แก่ ความสูง น้ำหนักต้นสด น้ำหนักฝักสด เปอร์เซ็นต์กะเทาะเมล็ด (% shelling) และผลผลิตเมล็ดที่ความชื้น 15% (grain yield)
3. ข้อมูลความเข้มข้นของธาตุอาหาร และปริมาณธาตุอาหารที่ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ดูดไปใช้

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2560 สิ้นสุด กันยายน 2561
 สถานที่ทำการทดลอง ไร่เกษตรกร อำเภอหล่มสัก จังหวัดเพชรบูรณ์

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. สภาพภูมิอากาศในฤดูปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

ปริมาณน้ำฝนที่วัดจากสถานีอุตุนิยมวิทยาจังหวัดเพชรบูรณ์ เมื่อวันที่ 11 พฤษภาคม พ.ศ. 2561 มีปริมาณน้ำฝนมากถึง 13.6 และตกสม่ำเสมอ ทำให้มีน้ำสะสมอยู่ในดินเพียงพอสำหรับการงอกและการเจริญเติบโตของข้าวโพด ได้ทำการปลูกข้าวโพด วันที่ 15 พฤษภาคม พ.ศ. 2561 ข้าวโพดได้รับน้ำฝนอย่างสม่ำเสมอตลอดฤดูปลูก โดยมีปริมาณน้ำฝนสะสมในเดือน พฤษภาคม มิถุนายน กรกฎาคม สิงหาคม และกันยายน เป็น 48.4, 104.8, 122, 137.6 และ 54.6 มิลลิเมตรตามลำดับ ข้าวโพดเจริญเติบโตดี บางช่วงได้รับน้ำมากเกินไป ทำให้มีน้ำท่วมขัง ซึ่งส่งผลกระทบต่อ การเจริญเติบโตและการให้ผลผลิต Ren et al. (2013) รายงานว่า ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์อ่อนไหวต่อสภาพน้ำขังและได้รับความเสียหายมากที่สุดที่ระยะ V3 ตามด้วย V6 และ 10VT โดยความเสียหายจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่น้ำขังที่เพิ่มขึ้น โดยปริมาณน้ำฝนตั้งแต่ปลูกจนกระทั่งเก็บเกี่ยววันที่ 12 กันยายน พ.ศ. 2561 เท่ากับ 464.8 มิลลิเมตร ซึ่งปริมาณน้ำฝนทั้งหมดที่ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต้องการใช้ใน 1 ฤดูปลูก อยู่ในช่วง 500–800 มิลลิเมตร (FAO, 2021) (Figure 1)

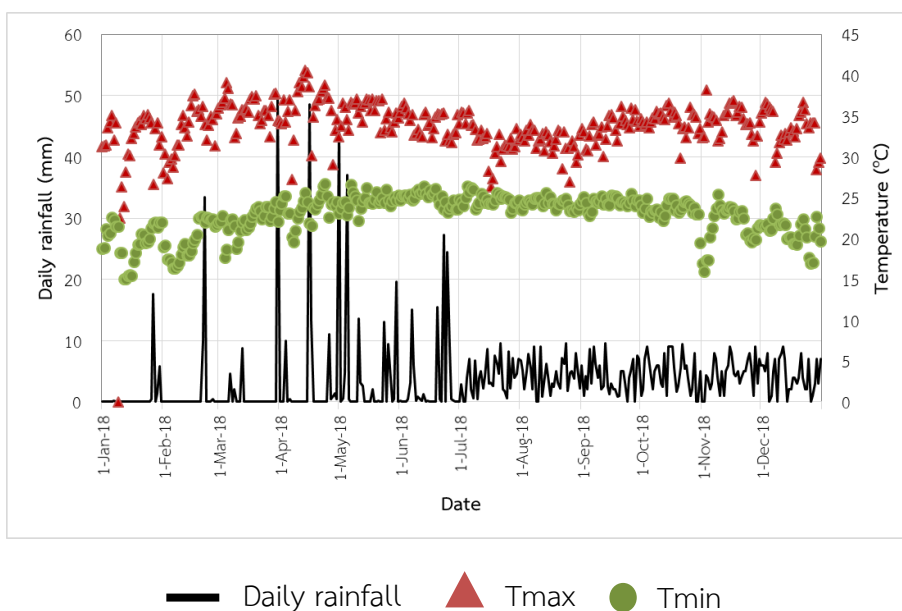


Figure 1 Daily rainfall and air temperature at Phetchabun meteorological station during January to December 2018.

Note: Planting date : 15 May 2018 and Harvesting date : 12 September 2018 on clay soil.
 Air temperature data was collected at Mueang district and located about 50 km from field trial.
 Daily rainfall data was collected at Lomsak district and located about 15 km from field trial

2. การเจริญเติบโต ผลผลิต และองค์ประกอบผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

การใส่ปุ๋ยโพแทชอัตราต่าง ๆ ไม่ทำให้น้ำหนักต้นสด น้ำหนักฝักสด และเปอร์เซ็นต์กะเทาะของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์แตกต่างกันทางสถิติ โดยข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ให้น้ำหนักต้นสด ระหว่าง 920–1,201 กิโลกรัมต่อไร่ น้ำหนักฝักสด ระหว่าง 631–973 กิโลกรัมต่อไร่ และเปอร์เซ็นต์กะเทาะ ระหว่าง 83%–87% แต่อัตราปุ๋ยโพแทชมีผลต่อการเจริญเติบโตด้านความสูงต้น และผลผลิตเมล็ดที่ความชื้น 15 % โดยผลของการให้ปุ๋ยโพแทชทำให้ความสูงต้น

และผลผลิตที่ความชื้น 15 % เพิ่มขึ้น 10%–27% และ 9%–44% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ใส่ปุ๋ยโพแทช (กรรมวิธีควบคุม) นอกนั้นพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์แปซิฟิก 339 ให้น้ำหนักต้นสด ผลผลิตเมล็ดที่ความชื้น 15 % และเปอร์เซ็นต์กะเทาะ สูงกว่าพันธุ์นครสวรรค์ 3 คิดเป็น 34% 20% และ 7% ตามลำดับ (Table 2) จะเห็นว่า การใส่ปุ๋ยโพแทชในทุกกรรมวิธีช่วยเพิ่มผลผลิตเมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับ งานวิจัยของ Bukhsh (2011)

3. น้ำหนักแห้งส่วนเหนือดิน และการดูธาตอาหารของพืช

พันธุ์และการใช้ปุ๋ยโพแทชในอัตราต่าง ๆ ไม่ส่งผลให้น้ำหนักแห้งและการดูธาตอาหารหลัก (N P และ K) ของ ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ปลูกในดินเหนียว จังหวัดเพชรบูรณ์ มีความแตกต่างทางสถิติ โดยมีการดูใช้ในโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ในพันธุ์นครสวรรค์ 3 เฉลี่ย 18.48–3.35–7.81 กิโลกรัม N–P–K ต่อไร่ ตามลำดับ พันธุ์แปซิฟิก 339 เฉลี่ย 20.95–3.60–10.44 กิโลกรัม N–P–K ต่อไร่ ตามลำดับ (Table 3) แสดงให้เห็นว่า ดินที่มีระดับโพแทสเซียมที่เป็น ประโยชน์ระดับปานกลาง การใส่ปุ๋ยโพแทชในอัตราที่สูงขึ้นและอัตราตามค่าวิเคราะห์ดินไม่ทำให้พืชดูดใช้ธาตอาหาร หลักเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามจะเห็นว่า ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ทั้งสองพันธุ์มีปริมาณการดูดใช้ธาตอาหารหลักแตกต่างกัน

Table 2 Plant height, yield components and yield of maize affected by different rates of potash fertilizer application

| Factors | Plant height (cm) | Stalk fresh weight (kg/rai) | Ear fresh weight (kg/rai) | Grain yield (kg/rai) | % Shelling |
|----------------------------|-------------------|-----------------------------|---------------------------|----------------------|------------|
| Varieties (V) | | | | | |
| Nakhon Sawan 3 | 135.7 | 947 b | 782 | 612 b | 82 |
| Pacific 339 | 140.8 | 1,266 a | 886 | 732 a | 88 |
| F-test (V) | ns | ** | ns | * | ** |
| Potash fertilizer (F) | | | | | |
| 0 kg K ₂ O/rai | 116.8 b | 1,039 | 631 | 536 b | 83 |
| 5 kg K ₂ O/rai | 140.2 a | 1,151 | 860 | 685 a | 84 |
| 10 kg K ₂ O/rai | 127.4 ab | 920 | 711 | 586 ab | 87 |
| 15 kg K ₂ O/rai | 149.9 a | 1,193 | 941 | 746 a | 85 |
| 20 kg K ₂ O/rai | 147.8 a | 1,201 | 889 | 708 a | 86 |
| 25 kg K ₂ O/rai | 147.4 a | 1,138 | 973 | 770 a | 85 |
| F-test (F) | * | ns | ns | * | ns |
| F-test (V x F) | ns | ns | ns | ns | ns |
| CV (%) | 14.3 | 19.4 | 28.9 | 26.3 | 2.7 |

Note : Means followed by a common letter are not significantly different at 5% level by DMRT

ns = not significant, * = significant at p<0.05, ** = significant at p<0.01

Nitrogen and phosphate fertilizer were applied at 10 kg N/rai and 10 kg P₂O₅/rai, respectively.

Table 3 Shoot dry matter and primary nutrients uptake of maize affected by different rates of potash fertilizer application

| Factors | Total dry matter (kg/rai) | Nutrient uptake (kg/rai) | | |
|----------------------------|------------------------------|--------------------------|------------|-----------|
| | | Nitrogen | Phosphorus | Potassium |
| Varieties (V) | | | | |
| Nakhon Sawan 3 | 1,541 | 18.48 | 3.35 | 7.81 b |
| Pacific 339 | 1,847 | 20.95 | 3.60 | 10.44 a |
| F-test (V) | ns | ns | ns | ** |
| Potash fertilizer (F) | | | | |
| 0 kg K ₂ O/rai | 1,804 | 21.57 | 3.61 | 9.52 |
| 5 kg K ₂ O/rai | 2,045 | 23.39 | 3.92 | 10.97 |
| 10 kg K ₂ O/rai | 1,498 | 21.40 | 4.20 | 10.50 |
| 15 kg K ₂ O/rai | 1,790 | 20.18 | 3.64 | 9.25 |
| 20 kg K ₂ O/rai | 1,760 | 18.26 | 3.28 | 9.02 |
| 25 kg K ₂ O/rai | 1,508 | 17.78 | 2.97 | 7.82 |
| F-test (F) | ns | ns | ns | ns |
| F-test (V x F) | ns | ns | ns | ns |
| CV (%) | 26.2 | 18.8 | 12.9 | 12.5 |

Note : Means followed by a common letter are not significantly different at 5% level by DMRT

ns = not significant, * = significant at p<0.05, ** = significant at p<0.01

Nitrogen and phosphate fertilizer were applied at 10 kg N/rai and 10 kg P₂O₅/rai, respectively.

4. ประสิทธิภาพการใส่ปุ๋ยโพแทชต่อการสร้างผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

การใส่ปุ๋ยโพแทชในอัตรา 5 กิโลกรัม K₂O ต่อไร่ ทำให้ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีประสิทธิภาพการใช้โพแทสเซียมจากปุ๋ยในการสร้างผลผลิตสูงสุด ในพันธุ์นครสวรรค์ 3 และ พันธุ์แปซิฟิก 339 เท่ากับ 18.0 และ 41.40 กิโลกรัมต่อกิโลกรัม K₂O ซึ่งค่าประสิทธิภาพการใส่ปุ๋ยนี้เป็นลักษณะที่บ่งชี้ถึงปริมาณโพแทสเซียมที่ถูกนำไปใช้สร้างผลผลิตของพืช โดยประสิทธิภาพการดูดใช้ธาตุอาหารที่มีค่ามากจะสะท้อนความสามารถในการดูดใช้ธาตุอาหารจากปุ๋ยไปสร้างเป็นผลผลิตได้มาก (ยุพดี และวรรณวิภา, 2564) การใส่ปุ๋ยที่มีประสิทธิภาพต้องใส่ตรงตามระดับความอุดมสมบูรณ์ของดินและความต้องการของพืช หากใส่ในอัตราที่น้อยหรือมากเกินไปอาจส่งผลให้ผลผลิตพืชลดลง ดังนั้นแม้จะมีการใส่ปุ๋ยโพแทชในอัตราสูงกว่า 5 กิโลกรัม K₂O ต่อไร่ หรืออัตราตามค่าวิเคราะห์ดินก็ไม่ทำให้ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีการดูดใช้โพแทสเซียมจากปุ๋ยเพิ่มขึ้น (Table 4)

Table 4 Agronomic K Use Efficiency (AKUE) of maize affected by different rates of potash fertilizer application

| Potash fertilizer ^{1/} (kg K ₂ O/rai) | Nakhon Sawan 3 | | Pacific 339 | |
|--|-------------------------|--|-------------------------|--|
| | Grain yield (kg/rai) | AKUE ^{2/} (kg grain/kg K ₂ O) | Grain yield (kg/rai) | AKUE (kg grain/kg K ₂ O) |
| 0 | 516 | - | 556 | - |
| 5 | 606 | 18.0 | 763 | 41.40 |
| 10 | 502 | -1.4 | 669 | 11.30 |
| 15 | 750 | 15.6 | 743 | 12.47 |
| 20 | 650 | 6.7 | 766 | 10.50 |
| 25 | 646 | 5.2 | 894 | 13.52 |

^{1/} Nitrogen and phosphate fertilizer were applied at 10 kg N/rai and 10 kg P₂O₅/rai, respectively.

^{2/}AKUE (kg/kg K₂O) : Agronomic K Use Efficiency

4. การตอบสนองต่อปุ๋ยโพแทชของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

จากการสร้างกราฟได้สมการการตอบสนองต่อปุ๋ยโพแทชในรูปแบบ Quadratic โดยให้สมการการตอบสนองข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในดินเหนียว จังหวัดเพชรบูรณ์ ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีการตอบสนองต่อปุ๋ยโพแทชในพันธุ์แปซิฟิก 339 ตอบสนองต่อปุ๋ยโพแทชถึง 25 กิโลกรัม K₂O ต่อไร่ โดยพันธุ์แปซิฟิก 339 ให้ผลผลิตสูงสุด 894 กิโลกรัมต่อไร่ และให้สมการการตอบสนองต่อปุ๋ยโพแทช $Y = -0.1806X^2 + 16.509X + 556$ มีค่า $R^2=0.6938$ ส่วนพันธุ์นครสวรรค์ 3 ตอบสนองต่อปุ๋ยโพแทชถึง 15 กิโลกรัม K₂O ต่อไร่ ให้ผลผลิตสูงสุด 750 กิโลกรัมต่อไร่ และให้สมการการตอบสนองต่อปุ๋ยโพแทช $Y = -0.3029X^2 + 13.286X + 516$ มีค่า $R^2=0.4095$ จะเห็นว่า ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์แต่ละพันธุ์ตอบสนองต่อการใช้ปุ๋ยโพแทชที่แตกต่างกัน (Figure 2)

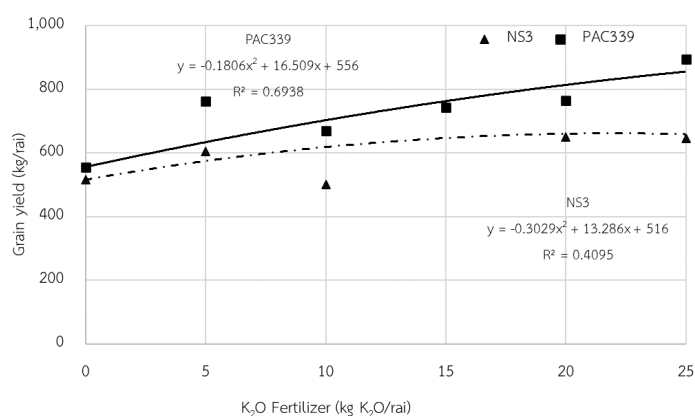


Figure 2 Response of grain yield of maize affected by different rates of potash fertilizer application

Note: NS3: Nakhon Sawan 3 variety; PAC339: Pacific 339 variety

5. คุณสมบัติของดินหลังปลูก

ผลการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของดินหลังปลูกที่ระดับความลึก 0–20 เซนติเมตร พบว่า การใส่ปุ๋ยโพแทชอัตราแตกต่างกันไม่ได้ทำให้ความเป็นกรด–ด่างของดินและปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์เปลี่ยนแปลงหรือแตกต่างกันหลังเก็บเกี่ยวของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ทั้งสองพันธุ์ และอัตราปุ๋ยโพแทชที่ระดับต่าง ๆ ไม่ทำให้ความเป็นกรด–ด่างของดินหลังเก็บเกี่ยวแตกต่างกัน และไม่มีปฏิสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์และอัตราปุ๋ยโพแทชที่ระดับต่าง ๆ แต่การใส่ปุ๋ยโพแทชที่ระดับต่าง ๆ ทำให้ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินและปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ในดินแตกต่างกันกับระดับของการใส่ปุ๋ยโพแทช อาจเป็นเพราะดินเหนียวที่มีปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในดินระดับปานกลาง เมื่อใส่ปุ๋ยโพแทชไปจึงมีปริมาณธาตุโพแทสเซียมตกค้างในดินอยู่ (Table 5) โดยดินหลังปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีค่าความเป็นกรด–เป็นด่างของดินเป็นกรดจัด (pH ระหว่าง 5.3–5.4) อินทรีย์วัตถุในดินอยู่ในระดับสูง (2.9%–3.4%) ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับต่ำ (2–8 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) และโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับสูง (197–305 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)

Table 5 Soil analysis after planting of maize affected by different rates of potash fertilizer application

| Factors | Soil pH (1:1) | OM (%) (Walkley and Black) | Avail.P (mg/kg) (Bray II) | Avail. K (mg/kg) (NH ₄ OAc pH7) |
|----------------------------|------------------|-------------------------------|------------------------------|---|
| Varieties (V) | | | | |
| Nakhon Sawan 3 | 5.4 | 3.1 | 4 | 247 |
| Pacific 339 | 5.3 | 2.9 | 4 | 248 |
| F–test (V) | ns | ns | ns | ns |
| Potash fertilizer (F) | | | | |
| 0 kg K ₂ O/rai | 5.4 | 2.7 c | 3 | 197 b |
| 5 kg K ₂ O/rai | 5.3 | 2.9 a–c | 3 | 256 ab |
| 10 kg K ₂ O/rai | 5.4 | 3.2 ab | 2 | 204 b |
| 15 kg K ₂ O/rai | 5.3 | 3.0 a–c | 3 | 239 ab |
| 20 kg K ₂ O/rai | 5.4 | 3.4 a | 8 | 305 a |
| 25 kg K ₂ O/rai | 5.3 | 2.9 bc | 4 | 283 a |
| F–test (F) | ns | * | ns | * |
| F–test (V x F) | ns | ns | ns | ns |
| CV (%) | 4.6 | 11.5 | 88.3 | 24.5 |

Note : Means followed by a common letter are not significantly different at 5% level by DMRT

ns = not significant, * = significant at p<0.05, ** = significant at p<0.01

Nitrogen and phosphate fertilizer were applied at 10 kg N/rai and 10 kg P₂O₅/rai, respectively

6. ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ

เมื่อพิจารณาถึงผลตอบแทนจากการลงทุนใช้ปุ๋ยสำหรับการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ที่ปลูกในดินเหนียวจังหวัดเพชรบูรณ์ พบว่า การใส่ปุ๋ยโพแทชอัตรา 5 กิโลกรัม K₂O ต่อไร่ ซึ่งเป็นการใส่ปุ๋ยต่ำกว่าค่าวิเคราะห์ดินอยู่ 0.5 เท่าของค่า K ตามค่าวิเคราะห์ดิน ให้ผลตอบแทนคุ้มค่าแก่การลงทุนมากที่สุด โดย VCR ในพันธุ์แปซิฟิก 339 และพันธุ์นครสวรรค์ 3 มีค่า 9.77 และ 4.24 ตามลำดับ เมื่อลงทุนใช้ปุ๋ยโพแทช 1 บาท จะได้รับผลตอบแทน 9.77 และ 4.24 บาท ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยโพแทชตามค่าวิเคราะห์ดิน อัตรา 10 กิโลกรัม K₂O ต่อไร่ ให้ VCR ในพันธุ์แปซิฟิก 339 และพันธุ์นครสวรรค์ 3 มีค่า 2.68 และ –0.33 ตามลำดับ ซึ่งการใส่ปุ๋ยโพแทชอัตรา

สูงกว่าการใส่ตามค่าวิเคราะห์ดินให้ผลตอบแทนไม่คุ้มค่าแก่การลงทุน (Table 6) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Equar et al. (2016) รายงานถึงอัตราปุ๋ยโพแทชที่เหมาะสมในดินที่มีปริมาณโพแทสเซียม 41 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เนื้อดินร่วนเหนียวปนทราย ควรใส่ปุ๋ยโพแทช อัตรา 8 K₂O ต่อไร่ และถ้าอัตราปุ๋ยสูงกว่านี้ปริมาณปุ๋ยที่เติมไม่ได้มีประสิทธิภาพและไม่ได้ผลตอบแทนคุ้มค่าแก่การลงทุน ดังนั้นการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในดินเหนียวชุดดินวังชมพู่ จังหวัดเพชรบูรณ์ ที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุอยู่ในระดับสูง ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับต่ำ และปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ได้อยู่ในระดับปานกลาง แนะนำให้ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์แปซิฟิก 339 ร่วมกับการใส่ปุ๋ยโพแทชอัตรา 5 กิโลกรัม K₂O ต่อไร่ มีความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์

Table 6 Value to cost ratio (VCR) of maize affected by different rates of potash fertilizer application

| Varieties | Potash fertilizer (kg K ₂ O/rai) | Grain yield (kg/rai) | Increase yield (kg/rai) | Gross benefit | Gross return | Cost on fertilizer | Expenditure on fertilizer | Net benefit | Net return | VCR |
|----------------|---|----------------------|-------------------------|---------------|--------------|--------------------|---------------------------|-------------|------------|-------|
| | | | | | | | | | | |
| Nakhon Sawan 3 | 1. 0 | 516 | - | 4259 | - | 674 | - | 3585 | - | - |
| | 2. 5 | 606 | 90 | 5001 | 742 | 849 | 175 | 4152 | 567 | 4.24 |
| | 3. 10 | 502 | -14 | 4143 | -116 | 1024 | 350 | 3119 | -466 | -0.33 |
| | 4. 15 | 750 | 233 | 6184 | 1925 | 1199 | 525 | 4985 | 1400 | 3.67 |
| | 5. 20 | 650 | 134 | 5363 | 1104 | 1374 | 700 | 3989 | 404 | 1.58 |
| | 6. 25 | 646 | 129 | 5326 | 1067 | 1199 | 525 | 4127 | 542 | 2.03 |
| Pacific 339 | 1. 0 | 556 | - | 4583 | - | 674 | - | 3909 | - | - |
| | 2. 5 | 763 | 207 | 6293 | 1711 | 849 | 175 | 5444 | 1536 | 9.77 |
| | 3. 10 | 669 | 114 | 5521 | 938 | 1024 | 350 | 4497 | 588 | 2.68 |
| | 4. 15 | 743 | 187 | 6128 | 1545 | 1199 | 525 | 4929 | 1020 | 2.94 |
| | 5. 20 | 766 | 211 | 6323 | 1740 | 1374 | 700 | 4949 | 1040 | 2.49 |
| | 6. 25 | 894 | 339 | 7378 | 2795 | 1199 | 525 | 6179 | 2270 | 5.32 |

Price of maize grain at 14.5% moisture content: 8.25 Baht/kg in 2018, Cost of fertilizer: Urea (46-0-0) 12

Baht/kg, Triple superphosphate (0-46-0) 26 Baht/kg, Potassium chloride (0-0-60) 21 Baht/kg

Nitrogen and phosphate fertilizer were applied at 10 kg N/rai and 10 kg P₂O₅/rai, respectively

Source: Office of Agricultural Economics (2018)

สรุปผลการทดลอง

การใส่ปุ๋ยโพแทชในการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์นครสวรรค์ 3 และพันธุ์แปซิฟิก 339 แบบอาศัยน้ำฝน ในดินเหนียว (ชุดดินวังชมพู่) จังหวัดเพชรบูรณ์ ซึ่งเป็นดินที่มีระดับความอุดมสมบูรณ์ปานกลาง และระดับโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ได้อยู่ในระดับปานกลาง (Avail. K เท่ากับ 86 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ส่งผลให้ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ทั้งสองพันธุ์ มีการตอบสนองต่อปุ๋ยโพแทชและให้ผลผลิตผลตอบแทนคุ้มค่าต่อการลงทุนมากที่สุด เมื่อใส่ปุ๋ยโพแทชในอัตรา 5 กิโลกรัม K₂O ต่อไร่ โดยให้ผลผลิตเฉลี่ยในพันธุ์แปซิฟิก 339 และ พันธุ์นครสวรรค์ 3 เท่ากับ 763 และ 606 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ โดยมีความสัมพันธ์แบบ quadratic ตามสมการ พันธุ์แปซิฟิก 339 เป็น $Y = -0.1806X^2 + 16.509X + 556$ มี $R^2 = 0.6938$ และ พันธุ์นครสวรรค์ 3 เป็น $Y = -0.3029X^2 + 13.286X + 516$ มี $R^2 = 0.4095$ โดยให้ผลผลิตเมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สูงกว่าการไม่ใส่ปุ๋ยโพแทช 37% และ 17% ตามลำดับ

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเพชรบูรณ์ที่ให้ความอนุเคราะห์ช่วยเหลือในการเก็บเกี่ยวข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

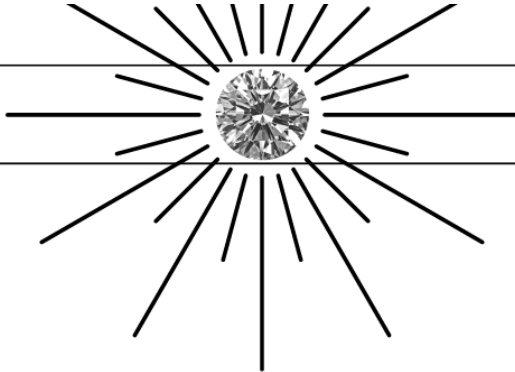
การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ได้รูปแบบการจัดการปุ๋ยโพแทชจากการใช้ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดินสำหรับการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

เอกสารอ้างอิง

- กรมวิชาการเกษตร. 2544. คู่มือวิเคราะห์ดินและพืช. ชุมชนสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ.
- กรมวิชาการเกษตร. 2553. คำแนะนำการใช้ปุ๋ยกับพืชเศรษฐกิจ. กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- กรมวิชาการเกษตร. 2564. คำแนะนำการใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน สำหรับพืชไร่เศรษฐกิจ. กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.
- กองสำรวจดิน. 2523. คู่มือการจำแนกความเหมาะสมของที่ดินสำหรับพืชเศรษฐกิจ. เล่มที่ 28. กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ.
- แปซิฟิกเมล็ดพันธุ์. ม.บ.ป. แปซิฟิกเมล็ดพันธุ์. แหล่งข้อมูล: <https://tongkarnkaset.com/แปซิฟิก>, สืบค้น: 9 มีนาคม 2567
- พิเชษฐ์ กรุดลอยมา, สุริพัฒน์ ไทยเทศ และกัลยา ภาพิณรุ. 2552. ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมทนแล้ง: พันธุ์นครสวรรค์ 3. เกษตร 37 ฉบับพิเศษ: 43-48.
- ยงยุทธ โอสถสภ. 2558. ธาตุอาหารพืช. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ยุพดี ระดาไสย และวรรณวิภา แก้วประดิษฐ์. 2564. การดูใบและประสิทธิภาพการดูใบธาตุอาหารของอ้อยพันธุ์ต่าง ๆ ภายใต้สภาพดินทรายที่ได้รับน้ำชลประทาน. เกษตร. 49 (6): 1402-1409.
- สมาคมดินและปุ๋ยแห่งประเทศไทย. 2564. พจนานุกรมศัพท์ปุ๋ยและธาตุอาหารพืช. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักงานสมาคมดินและปุ๋ยแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.
- สายน้ำ อุดพัวย, ชัชชนพร เกื้อหนูน, นุชนาฏ ตันวรรณ และณิชากรนต์ เกื้อนพรม. 2565. ผลของปุ๋ยโพแทชต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในดินร่วนเหนียว. วารสารวิชาการเกษตร. 40(3):307-320.
- สมฤทัย ตันเจริญ สุภาภรณ์ ล้วนมณี สมควร คล่องช้าง ชัชชนพร เกื้อหนูน รมิดา ชันตรีกรม และปิยะนันท์ วิวัฒน์วิทยา. 2561. การใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินในการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์. หน้า 105-119. ใน: เอกสารประกอบการฝึกอบรม หลักสูตร การใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินในการผลิตพืชเศรษฐกิจและการจัดการธาตุอาหารพืชในการผลิตพืชอินทรีย์. วันที่ 6 – 8 มีนาคม พ.ศ. 2561. ณ กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- สำนักงานราชบัณฑิตยสภา. 2562. พจนานุกรมศัพท์ปฐพีศาสตร์ ฉบับราชบัณฑิตยสภา. กรุงเทพฯ.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2566. สารสนเทศเศรษฐกิจการเกษตรรายสินค้า ปี 2565. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.
- ศิริไล ลาภบรรจบ. 2558. รายงานโครงการวิจัย: เทคโนโลยีการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่เหมาะสมในสภาพแห้งแล้ง. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- Bukhsh, M. A., A. H. Riaz, A. Iqbal, A. Hussain, J. S. R. Atique and M. Ishaque. 2011. Potassium application reduces bareness in different maize hybrids under crowding stress conditions. Pakistan Journal of Agricultural Sciences 48(1):41-48.
- Bouyoucos, G.J. 1936. Directions for Making Mechanical Analysis of Soils by the Hydrometer Method. Soil Science 42(3): 225-230.

- Bray, R. L. and L. T. Kurtz. 1945. Determination of total organic and available forms of phosphorus in soils. *Soil Science* 59: 39 – 45.
- CFAITC. 2009. Natural Resources Fact Sheet, Plant Nutrients–Potassium. California Foundation for Agriculture. Available at: www.calfertilizer.org, Assessment: March 11, 2015
- Davis, L.E. 1943. Measurements of pH with the glass electrode as affected by soil moisture. *Soil Science* 56(6): 405-422.
- Equar, M., F. Kebede, F. Abay, and T. Tesfay. 2016. Response of maize (*Zea mays* L.) varieties to potash fertilizer rates under irrigation condition in northern Ethiopia. *Journal of resources development and management*. 26:20-26.
- Fageria, N.K., A.B. dos Santos and M.F. de Moraes. 2010. Yield, Potassium Uptake, and Use Efficiency in Upland Rice Genotypes. *Communication in Soil Science and Plant Analysis*. 41: 2676-2684.
- FAO. 2021. Soil and water requirement. Available at: <https://www.fao.org/land-water/databases-and-software/crop-information/maize/en/> Accessed: October 4, 2021.
- Mallarino, A.P. and S.L. Higashi. 2009. Assessment of potassium supply for corn by analysis of plant parts. *Soil Science Society of America Journal* 73: 2177-2183
- Nelson, D.W. and L.E., Sommer. 1982. Total Carbon, Organic Carbon and Organic Matter. *Methods of Soil Analysis, Part 2. Chemical and Microbiological Properties*, 2nd Edition. ASA-SSSA, Madison, 595-579.
- Office of Agricultural Economics. 2018. *Monthly retail price of chemical fertilizers*. Office of Agricultural Economics, Ministry of Agriculture and Cooperatives. <https://www.oae.go.th/>, 19 November 2018.
- Pratt, P.F. 1965. Potassium. *Methods of Soil Analysis: Part II chemical and microbiological properties*. ASA. (9): 1022–1030.
- Raemaekers R. H. 2001. Crop production in tropical Africa. Directorate General for International Co-operation (DGIC). Ministry of Foreign Affairs, External Trade and International Co-operation. Brussels, Belgium.
- Rayment, G.E. and F.R. Higginson. 1992. Australian laboratory handbook of soil and water chemical methods. Inkata press. Melbourne.
- Ren, B., J. Zhang, X. Li, X. Fan, S. Dong, P. Lie and B. Zhao. 2013. Effects of waterlogging on the yield and growth of summer under field conditions. *Canadian Journal of Plant Science* 94:23-31.
- Saleem, A., H. Iqbal Javed, R. Saleem, M. Ansar and M.A. Zia. 2011. Effect of split application of potash fertilizer on maize and sorghum in Pakistan. *Pakistan Journal of Agricultural Research* 24(1-4):31-34.
- Sharma, S. and N.R. Das. 1982. Response of dwarf wheat to NPK and Ca. *Indian journal of plant physiology* 25: 364-370.



กลุ่มวิจัยวัตภูมิพิชการเกษตร



การประเมินความเสี่ยงจากการใช้สารป้องกันกำจัดวัชพืชอะลาคลอร์ในหอมแดง
ต่อเกษตรกรผู้ใช้ ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม
Risk Assessment of Herbicide Alachlor Used in Shallots to Farmers,
Consumers and Environment

กาญจนาภา ดั่งนคร¹ ปภัสรา คุณเลิศ¹ ประกิจ จันทร์ดี²
Kanjanapa Duangnakorn¹ Paphatsara Khunlert¹ Prakit Chuntib²

กลุ่มวิจัยวัชพืชการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Alachlor is a chloroacetanilide-class herbicide that is used to suppress pre-emergent weed from seeds in the cultivation of shallots. This herbicide is effective against both narrow-leaf and broad-leaf varieties. The pesticide suppresses the production of protein and inhibits the development of weed roots. This pesticide may have an impact on the environment and farmers near the cultivation area. The application of herbicide alachlor in specialty shallot cultivation may result in pesticide residues in the product, which could pose a health risk to both farmers and consumers. Consequently, this investigation examined the residues of alachlor used in shallot cultivation in the field located in Bo Ploi District, Kanchanaburi Province, from October 2022 to September 2023. The study employed a backpack-type sprayer with water at 80 L/rai to apply a 48% W/V EC of alachlor at a rate of 300 g a.i./rai. The pads that were attached to various locations on the body of users, as well as the water used for hand washing and foot washing, were collected after the spraying. In addition, samples of shallots, sediment, water, and soil were also collected from the harvest sites. The results have shown that the sprayer was contaminated with alachlor at a rate of 0.21 mg/kg body weight per day. The toxicological data of alachlor was employed to calculate the data for risk assessment (Margin of exposure, MOE). The use of alachlor was determined to be risky (MOE <100), with a MOE range of 23.81–714.29. Alachlor was detected in the soil samples at concentrations ranging from 0.05 ± 0.04 to 2.06 ± 1.43 mg/kg dry weight, while it was detected in the water samples at concentrations of 0.02 ± 0.02 and 0.35 ± 0.32 µg/L. The alachlor residues were found to be the highest after the application at 0 day (2 h). Alachlor residues were not detected in all sediment and shallot samples. The half-life of alachlor in the soil and water was 5.9 days and 8.7 days, respectively. The health risk assessment was calculated using Hazard Quotient (HQ) values. The average HQ in soil was 1.23 × 10⁻² for the age group of 6–12 years and 3.89 × 10⁻² for the age group of 70 years. For those aged 6–12 years and 70 years, the average HQ in water was 0.78 × 10⁻³ and 2.62 × 10⁻³, respectively, which is an acceptable value (HQ < 1). In addition, the Risk Quotient (RQ) values in soil and water were less than 1, which was a permissible level (RQ < 1).

Keywords: alachlor herbicide, Margin of exposure (MOE), Environment

¹ กลุ่มวิจัยวัชพืชการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

¹ Agricultural Toxic Substance Research Group, Agricultural Production Science Research and Development Division

² สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1

² Agricultural Research and Development Region 1

บทคัดย่อ

อะลาคลอร์เป็นสารกำจัดวัชพืชกลุ่ม Chloroacetanilides ใช้ในการควบคุมวัชพืชประเภทก่อนงอกจากเมล็ดทั้งประเภทใบแคบและใบกว้าง โดยยับยั้งการสร้างโปรตีนและขัดขวางการเจริญเติบโตของรากวัชพืช ด้วยคุณสมบัติของอะลาคลอร์ที่มีความเสี่ยงที่จะส่งผลกระทบต่อสุขภาพในระยะยาว การใช้อะลาคลอร์เพื่อกำจัดวัชพืชในแปลงปลูกพืชอย่างต่อเนื่อง อาจด้วยคุณสมบัติของอะลาคลอร์ที่มีความเสี่ยงที่จะส่งผลกระทบต่อสุขภาพในระยะยาว การใช้อะลาคลอร์เพื่อกำจัดวัชพืชในแปลงปลูกพืชอย่างต่อเนื่อง การใช้ในแปลงอย่างต่อเนื่อง ทำให้เกิดความเสียหายต่อสุขภาพของเกษตรกร และสิ่งแวดล้อมบริเวณแหล่งเพาะปลูก จึงได้ศึกษาและประเมินผลกระทบของสารอะลาคลอร์ต่อสิ่งแวดล้อม ในแปลงหอมแดงที่อำเภอปอพลอย จังหวัดกาญจนบุรี ระหว่างเดือนตุลาคม 2565 ถึงเดือนกันยายน 2566 โดยใช้อะลาคลอร์ 48% W/V EC อัตรา 300 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ใช้น้ำ 80 ลิตรต่อไร่ พ่นสารด้วยเครื่องพ่นแบบสะพายหลัง จากนั้นเก็บตัวอย่างแผ่นผ้าที่ติดบนส่วนต่างๆ ของร่างกาย น้ำล้างมือ น้ำล้างเท้า ตัวอย่างดิน, น้ำ, ตะกอนดิน และหอมแดงที่ระยะเก็บเกี่ยว ตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง พบว่าอะลาคลอร์ที่ปนเปื้อนบนร่างกายผู้พ่นสาร มีปริมาณ 0.21 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักตัวต่อวัน เมื่อประเมินความเสี่ยงต่อการสัมผัสจากค่าขอบเขตความปลอดภัย (Margin of exposure, MOE = 23.81-714.29) พบว่ามีความเสี่ยงจากการใช้สารอะลาคลอร์ (MOE <100) และพบสารอะลาคลอร์ตกค้างในดินปริมาณเฉลี่ย $0.05 \pm 0.04 - 2.06 \pm 1.43$ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักดินแห้ง ในน้ำเฉลี่ย $0.02 \pm 0.02 - 0.35 \pm 0.32$ ไมโครกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดหลังพ่น 0 วัน (2 ชั่วโมง) ส่วนในตะกอนดินและหอมแดงไม่พบการตกค้างในทุกตัวอย่าง ค่าครึ่งชีวิต (half life; $t_{1/2}$) ของอะลาคลอร์ ในดินและน้ำเท่ากับ 5.9 วัน และ 8.7 วัน ตามลำดับ เมื่อประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพด้วยค่า Hazard quotient (HQ) ในดิน ช่วงอายุ 6-12 ปี ได้ค่าเฉลี่ย 1.23×10^{-2} และช่วงอายุ 70 ปี ได้ค่าเฉลี่ย 3.89×10^{-2} ในน้ำ ช่วงอายุ 6-12 ปี ได้ค่าเฉลี่ย 0.78×10^{-3} และช่วงอายุ 70 ปี ได้ค่าเฉลี่ย 2.62×10^{-3} ซึ่งน้อยกว่า 1 จึงอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ และประเมินผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมด้วยค่า Risk quotient (RQ) ในดิน และน้ำ มีค่าน้อยกว่า 1 พบว่าไม่มีความเสี่ยง (RQ<1)

คำสำคัญ: สารกำจัดวัชพืชอะลาคลอร์, ค่าขอบเขตความปลอดภัย, สิ่งแวดล้อม

บทนำ

หอมแดง เป็นพืชผักที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เป็นที่นิยมบริโภคของคนไทย นำมาปรุงอาหารเพื่อเพิ่มรสชาติให้อร่อยยิ่งขึ้น หอมแดงมีชื่อวิทยาศาสตร์ *Allium ascalonicum* L. เป็นพืชในวงศ์ลิลิพลับ (Amaryllidaceae) มีการเพาะปลูกในเอเชียกลางและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ หอมแดงสามารถปลูกได้ตลอดปี ผลผลิตจะมีปริมาณมากที่สุดในช่วงหลังฤดูการทำนา ซึ่งเป็นฤดูหนาว หอมแดงมีการเจริญเติบโตได้สมบูรณ์ ปัจจุบันหอมแดงเป็นพืชที่ประเทศไทยมีการส่งออกสูง ตลาดที่รับซื้อ ได้แก่ มาเลเซีย อินโดนีเซีย สิงคโปร์ ตะวันออกกลาง เนเธอร์แลนด์ เยอรมัน และอังกฤษ เป็นต้น (กลุ่มสารสนเทศการเกษตร, 2563) อะลาคลอร์ (alachlor) เป็นสารกำจัดวัชพืชกลุ่ม Acetanilide ใช้ในการควบคุมวัชพืชประเภทก่อนงอกจากเมล็ดทั้งชนิดใบแคบและใบกว้าง ในการปลูกหอมแดง คมน้ำ ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ อ้อย ทานตะวัน และถั่วเหลือง โดยการพ่นคลุมดินก่อนปลูกหอมแดง ขณะดินมีความชื้น อะลาคลอร์จะไปยับยั้งการสร้างโปรตีนและขัดขวางการเจริญเติบโตของรากวัชพืช (กลุ่มวิจัยวัชพืช, 2554) มีความเป็นพิษจัดอยู่ในระดับอันตรายปานกลาง Class III พิษเฉียบพลันทางปาก (oral) ในหนูทดลองค่า LD₅₀ เท่ากับ 930 - 1,350 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว พิษเฉียบพลันทางผิวหนัง (dermal) LD₅₀ ในหนูทดลอง เท่ากับ 4,982 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักตัว และกระต่ายเท่ากับ 13,300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว (U.S.EPA., 1998) สำหรับการเข้าสู่สิ่งแวดล้อมของสารอะลาคลอร์ หลังพ่นในแหล่งเกษตรกรรม ละอองสารฟุ้งกระจายไปในอากาศ บางส่วนถูกชะล้างด้วยน้ำฝน ไหลบ่าลงสู่แหล่งน้ำ ตกค้างในดิน บางส่วนสามารถเคลื่อนย้าย (mobility) จากดินสู่แหล่งน้ำใต้ดิน เกณฑ์ค่าสูงสุดที่ยอมให้มีการปนเปื้อนของอะลาคลอร์ ในน้ำดื่มของ U.S.EPA (2018) (ไม่เกิน 2 ไมโครกรัมต่อลิตร) การใช้สารกำจัดศัตรูพืชอย่างต่อเนื่อง ทำให้เกิดความเสียหายต่อสุขภาพของเกษตรกร และสิ่งแวดล้อม งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความเสี่ยงจากการใช้สารกำจัดวัชพืชอะลาคลอร์ในหอมแดงจากปริมาณที่ตกค้างในแผ่นผ้าต่อสุขภาพเกษตรกรผู้ใช้ ปริมาณที่ตกค้างในผลผลิตต่อผู้บริโภคหอมแดง และประเมินผลกระทบต่อผู้รับสัมผัสและสิ่งแวดล้อมจากปริมาณที่ตกค้างในดิน น้ำ และตะกอนดิน

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในแปลงทดลอง ได้แก่ แครงตักน้ำและตะกอน เครื่องมือเก็บตัวอย่างดิน (soil auger) ขวดพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่างน้ำชนิด High-Density Polyethylene (HDPE) ขนาด 1 ลิตร ขวดแก้วสำหรับเก็บตัวอย่างตะกอนดิน ขวดพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่างดินและหอมแดง เครื่องมือวัดคุณภาพน้ำ ได้แก่ เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) และ เครื่องวัดการนำไฟฟ้า (conductometer) ถังบรรจุน้ำแข็งสำหรับเก็บรักษาสภาพตัวอย่างระหว่างการเดินทาง เครื่องพ่นแบบสเปรย์หลัง นาฬิกาจับเวลา เครื่องวัดความเร็วลม ชุดสำหรับผู้พ่นสาร แผ่นผ้าฝ้ายขนาด 10x10 เซนติเมตร ขวดแก้วมีฝาปิดสำหรับเก็บตัวอย่างแผ่นผ้า ป้ายกำหนดจุดเก็บตัวอย่างและพื้นที่ทำการทดลอง สารป้องกันกำจัดวัชพืชอะลาคลอร์ 48% W/V EC ตลับเมตรสำหรับวัดขนาดพื้นที่ทำการทดลอง

2. เครื่องแก้วและอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร กระจกตวงขนาด 100, 1,000 มิลลิลิตร ขวดก้นกลม ขนาด 250 มิลลิลิตร กรวยแก้ว กรวยแยก ขนาด 1,000 มิลลิลิตร Graduated tube ขนาด 15 มิลลิลิตร กระจกทรงเบอร์ 1 ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร หลอดเซนตริฟิวจ์ขนาด 15, 50 มิลลิลิตร

3. สารเคมี ได้แก่ สารมาตรฐานอะลาคลอร์ (alachlor – C₁₄H₂₀ClNO₂) ความบริสุทธิ์ 99.34%, สารเคมี AR grade ได้แก่ ethyl acetate (C₄H₈O₂), anhydrous sodium sulfate (NaSO₄), hexane (C₆H₁₄), acetone (C₃H₆O), acetonitrile (CH₃CN), anhydrous magnesium sulfate (MgSO₄), trisodium citrate dihydrate

($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), disodium hydrogen citrate sesquihydrate ($\text{Na}_2\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_7 \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$), sodium chloride (NaCl), Primary Secondary Amine (PSA), Graphitized Carbon Black (GCB)

4. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ ได้แก่ เครื่องซึ่งความละเอียดทศนิยม 2 ตำแหน่ง และ 5 ตำแหน่ง, เครื่องผสมสารละลาย (vortex mixer), เครื่องเขย่า (reciprocal shaker), เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (rotary evaporator), เครื่องระเหยสารแบบไนโตรเจน (nitrogen evaporator), เครื่องเขย่ากรวยแยก (separatory funnel shaker), เครื่องล้างความถี่สูง (ultrasonic bath), เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge), ตู้เย็น (refrigerator) ที่สามารถทำอุณหภูมิได้ 5 ± 3 องศาเซลเซียส, ตู้แช่แข็ง (freezer) ที่สามารถทำอุณหภูมิได้ในช่วง -25 ถึง 0 องศาเซลเซียส, ตู้อบ (oven) เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas Chromatograph) ตัวตรวจวัดชนิด Micro-Electron Capture Detector (GC- μ ECD) ของบริษัท Agilent Technologies รุ่น 6890N

วิธีการ

1. การปฏิบัติงานในแปลงทดลอง

1.1 สํารวจและคัดเลือกแปลงทดลองหอมแดงในพื้นที่ตำบลช่องด่าน อำเภอป่าพะยอม จังหวัดกาญจนบุรี มีพื้นที่ปลูกประมาณ 1 ไร่ ลักษณะแปลงเป็นแปลงยกร่อง ระยะห่างระหว่างร่องประมาณ 50 เซนติเมตร ใช้น้ำจากบ่อบาดาลและลำห้วยในการเพาะปลูก กำหนดจุดเก็บตัวอย่างและติดตั้งป้ายแสดงจุดเก็บตัวอย่างบริเวณแปลงปลูก สุ่มเก็บดิน 6 ตัวอย่าง ตัวอย่างน้ำ 5 ตัวอย่าง และตะกอนดิน 2 ตัวอย่าง เพื่อใช้เป็นตัวอย่าง control ก่อนพ่นสารป้องกันกำจัดวัชพืช alachlor

1.2 ติดแผ่นผ้าฝ้ายขนาด 10×10 เซนติเมตร ตามส่วนต่างๆบนเสื้อผ้าของผู้พ่นสาร ได้แก่ หมวก แผ่นผ้าปิดจมูก บ่า 2 ข้าง ออกเสื้อด้านใน ออกเสื้อด้านนอก สอก 2 ข้าง หลังด้านใน หลังด้านนอก ต้นขา 2 ข้าง แข้งด้านนอก 2 ข้าง และแข้งด้านใน 2 ข้าง รวมทั้งหมด 16 จุด เพื่อศึกษาปริมาณการปนเปื้อนสารพิษบนร่างกายของผู้พ่นสาร (OECD, 1997)

1.3 พ่นสารป้องกันกำจัดวัชพืช alachlor 48% W/V EC อัตราการใช้ 300 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ด้วยเครื่องพ่นสะพวยหลัง หลังพ่น เก็บตัวอย่างแผ่นผ้าจากร่างกายผู้พ่นสารใส่ในขวดแก้วที่มีฝาปิด เก็บตัวอย่างน้ำล้างมือ และน้ำล้างเท้าของผู้พ่นสาร สุ่มเก็บตัวอย่างดิน น้ำ และตะกอนดิน หลังพ่นสารที่ระยะเวลา 0 (2 ชั่วโมงหลังการพ่นสาร), 1, 3, 5, 7, 10, 15, 30 วัน และวันเก็บเกี่ยวผลผลิต มาตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง

1.4 สุ่มเก็บตัวอย่างหอมแดงที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยว จำนวน 10 ตัวอย่าง มาตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง ตัวอย่างทั้งหมดที่เก็บจากแปลงทดลองจะถูกเก็บรักษาไว้ในถังใส่น้ำแข็งเพื่อรักษาสภาพตัวอย่างไว้ก่อนนำไปวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ มีป้ายบ่งชี้ตัวอย่างชัดเจนและเก็บอยู่ในภาชนะที่เหมาะสม

2. การปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ

2.1. การเตรียมตัวอย่างดินและตะกอนดิน เก็บเศษหิน ใบไม้ กิ่งไม้ หรืออื่นๆ ปЛОมปนออก นำตัวอย่างดิน และตะกอนดินไปผึ่งในภาตสแตนเลสให้มีความชื้นเหลือประมาณ 10 - 20 เปอร์เซ็นต์ บดตัวอย่างให้ละเอียดก่อนทำการชั่งน้ำหนัก แบ่งตัวอย่างเป็น 2 ส่วน คือ นำไปหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นตามวิธี Back (1965) และสกัดเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง

2.2 การเตรียมตัวอย่างหอมแดง ปอกเปลือก นำไปปั่นละเอียดด้วย blender หรือ food processor ก่อนจึงนำไปชั่งเตรียมสกัด

2.3 การสกัดตัวอย่าง

2.3.1 ตัวอย่างแผ่นผ้า (U.S. EPA, 1998) นำขวด Duran ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีตัวอย่างแผ่นผ้า มาเติม ethyl acetate (AR) 75 มิลลิลิตร ปิดฝา เขย่าให้เข้ากันด้วย vortex mixer นาน 1 นาที จากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่า (reciprocal shaker) ความเร็ว 210 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง กรองสารละลายผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 ที่บรรจุ sodium sulfate ว่างลงในกระบอกตวง บันทึกปริมาตรที่ได้ เติมน้ำละลายใส่ขวดก้นกลมขนาด 250 มิลลิลิตร ทำการสกัดซ้ำด้วย ethyl acetate (AR) 25 มิลลิลิตร ปิดฝา เขย่าให้เข้ากันด้วย vortex mixer นาน 1 นาที นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่า (reciprocal shaker) ความเร็ว 210 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที กรองสารละลาย บันทึกปริมาตร และเติมน้ำละลายลงในขวดก้นกลมรวมกับการสกัดครั้งแรก นำไปลดปริมาตรด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนเกือบแห้ง ใส่น้ำด้วย ethyl acetate (PR) เก็บใน graduated tube ลดปริมาตรด้วยเครื่อง nitrogen evaporator แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 2 มิลลิลิตร ด้วย hexane (PR) ใส่ในขวด vial นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC- μ ECD

2.3.2 ตัวอย่างน้ำ น้ำล้างมือ และน้ำล้างเท้า (In-house method based on U.S. EPA, 1994) ตวงตัวอย่างน้ำ 800 มิลลิลิตรใส่ในกรวยแยกขนาด 1,000 มิลลิลิตร เติม hexane (AR) 100 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่ากรวยแยก (separatory funnel shaker) เป็นเวลา 3 นาที ทิ้งไว้ให้แยกชั้น ไซส่วนล่าง (ชั้นน้ำ) เก็บไว้สกัดซ้ำ ส่วนบน (ชั้น hexane) กรองผ่าน anhydrous sodium sulfate เก็บไว้ในขวดก้นกลมขนาด 250 มิลลิลิตร ทำการสกัดซ้ำด้วย hexane (AR) 50 มิลลิลิตร 2 ครั้ง เมื่อครบแล้วให้ชะกรวยแยกด้วย hexane (AR) 10 มิลลิลิตร อีก 2 ครั้ง เก็บสารสกัดในขวดก้นกลมใบเดิม นำไปลดปริมาตรโดยใช้ rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนเกือบแห้ง ใส่น้ำด้วย hexane (PR) เก็บใน graduated tube ลดปริมาตรด้วย nitrogen evaporator แล้วปรับปริมาตรด้วย hexane (PR) ให้ได้ 1 มิลลิลิตร ใส่ในขวด vial นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC- μ ECD

2.3.3 ตัวอย่างดินและตะกอน (ประยุกต์ใช้วิธี ultrasonic จาก Babic, S. *et.al.*, 1998) ชั่งตัวอย่างดินหรือตะกอนดินบดละเอียด 20 ± 0.05 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติม hexane : acetone (AR) (50:50) 75 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วย vortex mixer นาน 1 นาที แล้วนำไปเขย่าต่อด้วย ultrasonic bath นาน 25 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน กรองสารละลายผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 ที่บรรจุ sodium sulfate ใส่ในขวดก้นกลมขนาด 250 มิลลิลิตร ชะขวดด้วย hexane : acetone (AR) (50:50) 20 มิลลิลิตร 2 ครั้ง เก็บสารสกัดในขวดก้นกลมใบเดิม นำไปลดปริมาตรโดยใช้ rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนเกือบแห้ง ใส่น้ำด้วย hexane (PR) เก็บใน graduated tube ลดปริมาตรด้วย nitrogen evaporator แล้วปรับปริมาตรด้วย hexane (PR) ให้ได้ 2 มิลลิลิตร ใส่ในขวด vial นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC- μ ECD

2.3.4 ตัวอย่างหอมแดง (EN extraction: EN method 15662) ชั่งตัวอย่างหอมแดงหนัก 10.0 ± 0.02 กรัม ใส่ในหลอดเซนตริฟิวจ์ขนาด 50 มิลลิลิตร เติม acetonitrile 10 มิลลิลิตร ปิดฝา เขย่าด้วยมือ และ vortex mixer เป็นเวลา 1 นาที เติม anhydrous magnesium sulfate 4 กรัม trisodium citrate dehydrate 1 กรัม disodium hydrogen citrate sesquihydrate 0.5 กรัม และ sodium chloride 1 กรัม ปิดฝา เขย่าด้วยมือและ vortex mixer เป็นเวลา 1 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ดูดสารละลายส่วนใสมา 6 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดเซนตริฟิวจ์ขนาด 15 มิลลิลิตร ที่บรรจุ PSA 150 มิลลิกรัม GCB 45 มิลลิกรัม และ anhydrous magnesium sulfate 855 มิลลิกรัม ปิดฝา เขย่าด้วยมือและ vortex mixer เป็นเวลา 1 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ดูดสารละลายส่วนใสมา 3 มิลลิลิตร ใส่ใน graduated tube ลดปริมาตรด้วย nitrogen evaporator แล้วปรับปริมาตรด้วย hexane (PR) ให้ได้ 1.5 มิลลิลิตร ใส่ในขวด vial นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC- μ ECD

2.4 ตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างalachlor ในตัวอย่างแผ่นผ้า น้ำล้างมือ น้ำล้างเท้า น้ำ ดิน ตะกอนดิน และหอมแดง โดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี ตัวตรวจวัดชนิด Micro-Electron Capture Detector GC- μ ECD ซึ่งมีการควบคุมสถานะการทำงานของเครื่อง ดังนี้

Mode: Pulsed Spitless

Column: DB-1701 30 m x 0.32 mm x 0.25 μ m

Temperature: Injector 230°C, Detector 300°C

Oven program: 80°C (1 min) $\xrightarrow{20^\circ\text{C}/\text{min}}$ 220°C (1 min) $\xrightarrow{2^\circ\text{C}/\text{min}}$ 235°C (3 min)
 $\xrightarrow{30^\circ\text{C}/\text{min}}$ 280°C (2 min)

Carrier Gas: He 1.4 mL/min

Injection volume: 1 μ L

Run time: 23 minutes

2.5 คำนวณค่าครึ่งชีวิต (half-life, $t_{1/2}$) คำนวณหาระยะเวลาที่สารalachlor สลายตัวลดลงจนมีปริมาณครึ่งหนึ่ง (half-life, $t_{1/2}$) ในตัวอย่างดิน น้ำ และตะกอนดิน จากสมการ $t_{1/2} = -0.693/b$ โดย b ได้มาจากสมการ $y = ae^{bx}$ ซึ่งหาได้จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารalachlor ตกค้าง และระยะเวลาหลังพ่นสารalachlor (วัน)

2.6 การประเมินความเสี่ยง

2.6.1 การประเมินความเสี่ยงจากการรับสัมผัส (Exposure and Risk Assessment) ต่อเกษตรกร ผู้ใช้ คำนวณจากค่าขอบเขตความปลอดภัยจากการได้รับสารพิษ (Margin of Exposure, MOE) โดยใช้เกณฑ์การประเมินความเสี่ยง อ้างอิงจาก Pesticide Risk Assessment (U.S. EPA, 2005) ดังสมการ

$$\text{MOE} = \text{NOAEL}/\text{Exposure} \dots\dots\dots(\text{สมการ 1})$$

เมื่อ NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) คือ ค่าสูงสุดของปริมาณสารพิษที่ใช้ในการทดลองที่ไม่ทำให้เกิดผลอันไม่พึงประสงค์ทางพิษวิทยาของalachlor และ Exposure คือปริมาณalachlor ที่ดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย (mg/kg bw/day) การแปลผลจากค่า MOE ที่คำนวณได้เปรียบเทียบกับค่า Pesticide uncertainty factor หากค่า MOE มีค่าต่ำกว่าค่า Pesticide uncertainty factor จะถือว่ามีความเสี่ยง (Risk) และค่า $\text{MOE} \geq 100$ ถือว่าอยู่ในระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้ (Acceptable risk)

2.6.2 การศึกษาผลกระทบจากการแพร่กระจาย (Environmental Fate and Transport) โดย คำนวณหาระยะเวลาที่สารalachlor สลายตัวลดลงจนมีปริมาณครึ่งหนึ่ง (half-life, $t_{1/2}$) ในตัวอย่างดิน น้ำ และ ตะกอนดิน จากสมการ $t_{1/2} = -0.693/b$ โดย b ได้มาจากสมการ $y = ae^{bx}$ ซึ่งหาได้จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง ปริมาณสารalachlor ตกค้าง และระยะเวลาหลังพ่นสารalachlor (วัน)

2.6.3 การประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพจากการรับสัมผัสทางผิวหนังกับดินและน้ำที่ปนเปื้อน (Exposure and Risk Assessment) โดยใช้ดัชนีบ่งชี้ความอันตราย (HQ) ซึ่งค่า HQ คำนวณจากค่า ADI (ปริมาณ ค่าเฉลี่ยที่เกษตรกรได้รับสารalachlor ต่อวัน) เทียบกับค่า RfD (ค่าอ้างอิง คือ ปริมาณสารพิษที่น้อยที่สุดที่ร่างกาย รับประทานโดยไม่ทำให้เกิดอันตรายหรือเป็นพิษต่อร่างกาย) มีสมการคำนวณ ดังนี้

$$ADI = (C_{soil/water} * CF * IR_{soil/water} * EF * ED) / (BW * AT) \dots\dots\dots(\text{สมการ 2})$$

- เมื่อ: ADI คือ ปริมาณสารพิษเฉลี่ยต่อวันจากสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในดิน, หอมแดง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม), น้ำ (ไมโครกรัมต่อ ลิตร)
- C คือ ความเข้มข้นของสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในดิน หอมแดง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม), น้ำ (ไมโครกรัมต่อลิตร)
- CF คือ unit conversion factor = 10^{-6} กิโลกรัมต่อมิลลิกรัมในดิน
- IR คือ อัตราการได้รับสารพิษที่ตกค้างในดิน 200 มิลลิกรัมต่อวัน สำหรับเด็ก, 100 มิลลิกรัมต่อวัน สำหรับผู้ใหญ่ ในน้ำ 0.745 ลิตรต่อวัน สำหรับเด็ก, 0.943 ลิตรต่อวัน สำหรับผู้ใหญ่ (U.S. EPA., 2008)
- EF คือ ความถี่ของการสัมผัส (365 วัน/ปี)
- ED คือ ระยะเวลาที่สัมผัส (years) สำหรับเด็กอายุ 6-12 ปี และ 70 ปี สำหรับผู้ใหญ่
- BW คือ ค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัว (กิโลกรัม); สำหรับเด็กอายุ 6-12 ปี (33.38 กิโลกรัม), ผู้ใหญ่ (53 กิโลกรัม) จากการทดลอง
- AT คือ ระยะเวลาที่ใช้เฉลี่ย (365 วัน) (EF*ED)

การคำนวณค่าความเสี่ยงจากสารพิษตกค้างได้จากค่า hazard quotient (HQ) ซึ่งคำนวณจากค่า ADI และค่า RfD ดังสมการต่อไปนี้

$$HQ = ADI/RfD \dots\dots\dots(\text{สมการ 3})$$

เมื่อ: RfD คือ reference dose เฉพาะของสาร alachlor เท่ากับ 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน (IUPAC,2019)

เกณฑ์การตัดสินใจ กำหนดให้ $HQ \geq 1$ หมายถึง สาร alachlor ตกค้างอยู่ในระดับเสี่ยงต่อเกษตรกร (Risk)
 $HQ < 1$ หมายถึง สาร alachlor ตกค้างอยู่ในระดับยอมรับได้ (Acceptable risk)

2.6.4 การประเมินความเสี่ยงที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม (Environmental Effects; Ecological risk assessment) โดยใช้ค่าความเสี่ยง (Risk quotient; RQ) เมื่อ MEC (measured environment concentration) คือ ความเข้มข้นของสารที่วัดในสิ่งแวดล้อม และ PNEC (predicted no effect concentration) คือ ความเข้มข้นสูงสุดของสารที่ไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิต

$$RQ = MEC/PNEC \dots\dots\dots(\text{สมการ 4})$$

เกณฑ์การตัดสินใจ กำหนดให้ $RQ < 1$ แสดงว่าไม่มีความเสี่ยง (No immediate concern), $RQ 1-10$ แสดงว่ามีความเสี่ยงเล็กน้อย (Of concern if supply volumes increase) , $RQ 10-100$ แสดงว่ามีความเสี่ยง การลดความเสี่ยงจะต้องนำข้อมูลอื่นที่เกี่ยวข้องมาพิจารณาด้วย (Further data require) และ $RQ > 100$ แสดงว่ามีความเสี่ยงสูงต้องดำเนินการลดความเสี่ยงทันที (Reduce risk immediate) (ECB, 2003 and ECHA, 2008)

ระยะเวลา เริ่มต้น เดือน ตุลาคม 2565 สิ้นสุด เดือน กันยายน 2566
สถานที่ทำการทดลอง 1) แปลงทดลอง ในอำเภอปอพลอย จังหวัดกาญจนบุรี
2) ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยผลกระทบจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร
กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์การทดลอง

1. ปริมาณสาร alachlor ปนเปื้อนบนร่างกายผู้พ่น และการประเมินความเสี่ยงต่อเกษตรกรผู้ใช้ในแปลงหอมแดง

ผลการวิเคราะห์ปริมาณ alachlor บนแผ่นผ้าที่ติดตามส่วนต่างๆ ของร่างกายผู้พ่น พบการปนเปื้อนบริเวณหมวก (9.66) ,จมูก (8.92), ป่า (2.41), อกใน (0.75), อกนอก (4.43), ศอก (7.73), หลังนอก (0.26), ต้นขา (37.91), แข้งใน (14.96) และแข้งนอก (1,215.79) หน่วยไมโครกรัมต่อ 100 ตารางเซนติเมตร ซึ่งพบปริมาณปนเปื้อนสูงที่สุดบริเวณแข้งนอก ปริมาณ 1,215.79 ไมโครกรัมต่อ 100 ตารางเซนติเมตร ความเร็วลมในระหว่างพ่นสาร 1.5 เมตรต่อวินาที ไม่พบการตกค้าง บริเวณหลังด้านใน ส่วนน้ำล้างมือ และน้ำล้างเท้า ปนเปื้อนปริมาณ 459.14 และ 275.81 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ปริมาณ alachlor ที่ปนเปื้อนบนแผ่นผ้าจากส่วนต่างๆ ของร่างกาย รวมทั้งปนเปื้อนที่มือและเท้า เมื่อนำมาคำนวณ เป็นปริมาณสารพิษต่อพื้นที่ทั้งหมดของร่างกาย (U.S.EPA, 2009) ที่ได้จากการทดลองเพื่อประเมินปริมาณ alachlor ปนเปื้อนบนร่างกายภายหลังการพ่น คิดเป็นการปฏิบัติงานตามปกติในแต่ละวัน พบว่ามีปริมาณ alachlor ปนเปื้อน 0.21 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน แสดงในตารางที่ 1 นำข้อมูลปริมาณสาร alachlor ที่ปนเปื้อน บนแผ่นผ้าที่ได้จากการศึกษามาคำนวณเพื่อประเมินปริมาณสาร alachlor บนร่างกาย (Potential Exposure) เมื่อคิดเป็นการปฏิบัติงานทั้งวัน แล้วนำไปประเมินหาปริมาณสารพิษที่ดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย (Absorption Dose) จากรายงานการวิจัยของ Ronald *et al.* (2009) สามารถดูดซึมที่ผิวหนัง (10%) นำมาเปรียบเทียบกับค่า NOAEL ซึ่งเป็นค่าทางด้านพิษวิทยาของการทำให้เกิดพิษ แล้วคำนวณหาค่า MOE ผลการประเมินระดับความเสี่ยงจาก ปริมาณการได้รับสัมผัสสาร alachlor เข้าสู่ร่างกายผู้พ่นสารในแปลงปลูกหอมแดง โดยใช้เกณฑ์การประเมินอ้างอิง ของ Pesticide Risk Assessment (U.S. EPA, 2005) กำหนดค่า NOAEL มีค่าเท่ากับ 0.5 - 15 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน (U.S. EPA, 1998) คำนวณหาค่าขอบเขตความปลอดภัยจากการได้รับสารพิษ (MOE) เท่ากับ 23.81 – 714.29 ซึ่งค่า MOE มีค่าน้อยกว่า 100 ถือว่าเกษตรกรมีความเสี่ยงจากการใช้สาร alachlor ใน แปลงปลูกหอมแดง ดังตารางที่ 2 โดยเกณฑ์ค่า MOE น้อยกว่าหรือเท่ากับ 100 ถือว่าเป็นระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้ (U.S. EPA, 2005)

ตารางที่ 1 ปริมาณ alachlor บนแผ่นผ้าที่ปนเปื้อนบนร่างกาย น้ำล้างมือ และน้ำล้างเท้าของผู้พ่นสาร

| ตำแหน่งติดแผ่นผ้า (Region of body) | พื้นที่ผิว (Surface area) (cm ²) | ปริมาณปนเปื้อน บนแผ่นผ้า (µg/100 cm ²) | Penetration factor | ปริมาณปนเปื้อน ที่สัมผัสร่างกาย (µg/ region) |
|--|--|--|-----------------------|--|
| หัว - หมวก | 1300 | 9.66 | 1.00 | 120.78 |
| - จมูก | | 8.92 | | |
| ป่า 2 | 2910 | 2.41 | 0.07 | 5.07 |
| อก - ใน | 3550 | 0.75 | 0.14 | 22.77 |
| - นอก | | 4.43 | | |
| ศอก 2 | 1210 | 7.73 | 0.07 | 6.77 |
| หลัง - ใน | 3550 | ND | 0 | ND |
| - นอก | | 0.26 | | |
| ต้นขา 2 | 3820 | 37.91 | 0.97 | 1,404.72 |
| แข้ง - ใน | 2380 | 14.96 | 0.01 | 351.65 |
| - นอก | | 1,215.79 | | |
| มือ | 820 | | 1.00 | 459.14 |
| เท้า | 1310 | | 1.00 | 275.81 |
| รวมปริมาณสารพิษปนเปื้อนร่างกายระหว่างการพ่นนาน 16 นาที | | | | 2,646.71 |
| ปริมาณสารพิษปนเปื้อนร่างกายระหว่างการพ่นนาน 16 นาที ต่อวัน | | | | 11,292.62 |
| เกษตรกรมีน้ำหนักเฉลี่ย 53 กิโลกรัม จึงมีปริมาณสารพิษปนเปื้อนร่างกาย ต่อน้ำหนักตัว ต่อวัน | | | | 0.21mg/kg bw/day |

หมายเหตุ : ND คือ not detectable

ตารางที่ 2 ระดับความเสี่ยงจากปริมาณการได้รับสาร alachlor เข้าสู่ร่างกายผู้พ่นในแปลงหอมแดง

| ผู้ปฏิบัติงาน | ความเป็นพิษ alachlor | %Absorption | Absorbed dose (mg/kg bw/day) | NOAEL ¹⁾ (mg/kg/day) | MOE ²⁾ | ระดับ ความเสี่ยง | |
|---------------|-------------------------|-------------|---------------------------------------|------------------------------------|-------------------|---------------------|--------|
| ผู้พ่นสาร | Sub chronic | 0.21 | 10 | 0.02 | 15 | 714.29 | Accept |
| | chronic Toxicity | 0.21 | 10 | 0.02 | 14 | 666.67 | Accept |
| | chronic Toxicity | 0.21 | 10 | 0.02 | 2.5 | 119.05 | Accept |
| | Carcinogenicity | 0.21 | 10 | 0.02 | 0.5 | 23.81 | Risk |

หมายเหตุ: 1) NOAEL = No Observed Adverse Effect Level คือ ค่าสูงสุดของปริมาณสารพิษที่ใช้ในการทดลองที่ไม่ทำให้เกิดผลอันไม่พึงประสงค์ทางพิษวิทยาของ alachlor

2) MOE = Margin of Exposure คือ ค่าขอบเขตความปลอดภัยจากการได้รับสารพิษ ค่ายิ่งต่ำยิ่งมีความเสี่ยงสูง

2. ปริมาณสารพิษตกค้างalachlor ในดิน น้ำ และตะกอนดิน หลังพ่น

หลังจากพ่นสารalachlor ได้สัมผัสกับตัวอย่างดินในแปลงปลูกหอมแดง รวมทั้งน้ำบาดาล น้ำบ่อ น้ำจากห้วยลำพระเพลิง และตะกอนดินจากห้วยลำพระเพลิงรอบแปลงทดลอง มาตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง ผลการตรวจวิเคราะห์ดิน พบการตกค้างของสารalachlor ในดินทุกตัวอย่าง ตั้งแต่หลังพ่นจนถึง 30 วัน ปริมาณ $0.05 \pm 0.04 - 2.06 \pm 1.43$ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักดินแห้ง มีปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดหลังพ่น 1 วัน เนื่องจากลักษณะทางกายภาพของเนื้อดิน เป็นดินเหนียว มีอินทรีย์วัตถุค่อนข้างต่ำ (1.68%) ดินมีค่า pH เท่ากับ 7.0 มีลักษณะเป็นกลาง ส่วนในวันเก็บเกี่ยวผลผลิตหอมแดงไม่พบการตกค้างของสารalachlor ในดิน

ในน้ำพบปริมาณสารalachlor ตั้งแต่หลังพ่นจนถึง 30 วัน ปริมาณเฉลี่ย $0.35 \pm 0.32 - <0.04 \pm 0.04$ ไมโครกรัมต่อลิตร พบการตกค้างสูงสุดหลังพ่น 0 วัน ซึ่งปริมาณalachlor ที่ตรวจพบมีค่าต่ำกว่าเกณฑ์ค่าสูงสุดที่ยอมให้มีการปนเปื้อนของalachlor ในน้ำดื่มของ U.S.EPA (2018) (ไม่เกิน 2 ไมโครกรัมต่อลิตร) เนื่องจากบ่อบาดาลและห้วยลำพระเพลิงอยู่ห่างจากแปลงหอมแดง น้ำเกิดการหมุนเวียนตลอดเวลา ค่า pH ของน้ำในบ่อบาดาลและห้วยลำพระเพลิง มีค่าเฉลี่ยระหว่าง 6.7 – 8.9 อุณหภูมิเฉลี่ย 28.2 – 34.7 องศาเซลเซียส ซึ่งalachlor มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ปานกลาง 170 -179 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ pH 7-9 อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และสามารถสลายตัวได้อย่างรวดเร็วด้วยแสงแดด เกิดปฏิกิริยา hydrolysis ที่ pH 7 และในตัวอย่างตะกอนดิน ตรวจไม่พบการตกค้างในทุกตัวอย่าง เนื่องจากปริมาณสารที่ตรวจพบในน้ำค่อนข้างต่ำ จึงทำให้ไม่เกิดการสะสมและดูดซับในตะกอนดิน

นำข้อมูลที่ได้จากตารางที่ 3 คำนวณหาค่าการสลายตัวของalachlor และหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารพิษตกค้างกับระยะเวลาหลังพ่นสารalachlor ในช่วงเวลาต่างๆ จะได้สมการการสลายตัวของสารalachlor ในรูป Exponential ดังภาพ 1 ซึ่งมีสมการการสลายตัวเป็น $y = ae^{bx}$ จากสมการนำไปคำนวณระยะเวลาที่สารพิษสลายตัวจนลดลงมีปริมาณครึ่งหนึ่ง (half-life; $t_{1/2}$) ด้วยสมการ $t_{1/2} = -0.693/b$ จากภาพที่ 1 และ 2 คำนวณหาค่าครึ่งชีวิต (half-life; $t_{1/2}$) ของalachlor ในดิน มีค่าเท่ากับ 5.9 วัน และในน้ำ มีค่าเท่ากับ 8.7 วัน

ตารางที่ 3 ปริมาณสารalachlor ตกค้างในดิน น้ำ และตะกอนดิน หลังพ่นในแปลงหอมแดง

| วันหลังพ่น | ปริมาณalachlor เฉลี่ยในดินหลังพ่น (mg/kg) (N= 6) | ปริมาณalachlor เฉลี่ยในน้ำหลังพ่น ($\mu\text{g/L}$) (N= 5) | ปริมาณalachlor เฉลี่ยในตะกอนดินหลังพ่น (mg/kg) (N= 2) |
|--------------------|---|---|--|
| 0 | 2.06 ± 1.43 | 0.35 ± 0.32 | ND |
| 1 | 1.77 ± 1.42 | 0.17 ± 0.13 | ND |
| 3 | 0.49 ± 0.35 | 0.13 ± 0.13 | ND |
| 5 | 0.60 ± 0.58 | 0.10 ± 0.09 | ND |
| 7 | 0.29 ± 0.27 | 0.08 ± 0.06 | ND |
| 10 | 0.28 ± 0.21 | 0.07 ± 0.06 | ND |
| 15 | 0.20 ± 0.16 | 0.04 ± 0.04 | ND |
| 30 | 0.05 ± 0.04 | <LOQ | ND |
| วันเก็บเกี่ยว (87) | ND | ND | ND |

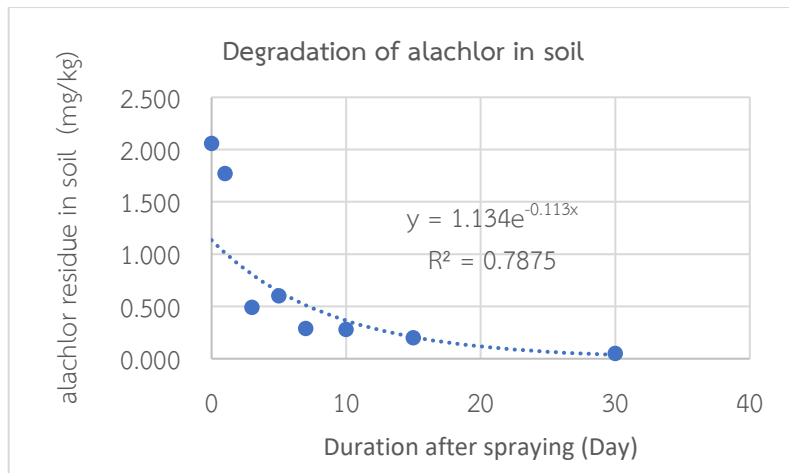
หมายเหตุ : 1/ดิน และตะกอนดิน ; Limit of Detection; LOD = 0.01 mg/kg ; Limit of Quantification; LOQ = 0.04 mg/kg

2/ ดิน \pm ; standard of deviation of 6 replicates

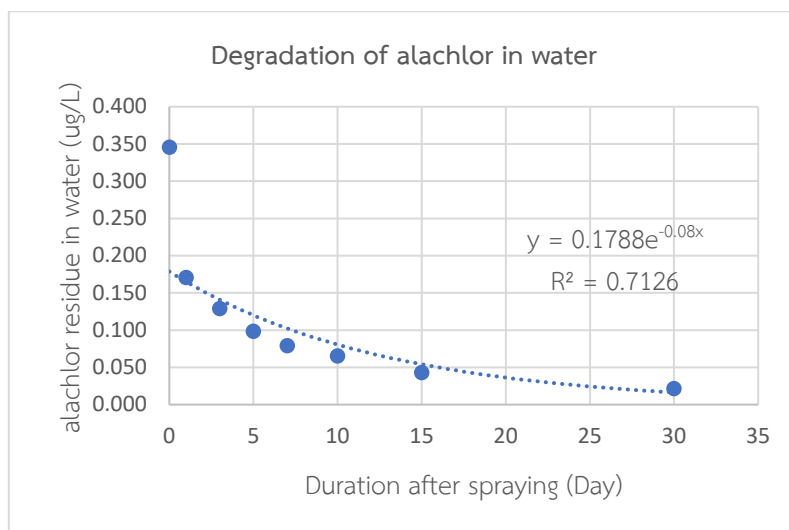
3/ น้ำ; Limit of Detection; LOD = 0.01 ($\mu\text{g/L}$); Limit of Quantification; LOQ = 0.04 ($\mu\text{g/L}$)

4/ น้ำ \pm ; standard of deviation of 5 replicates

5/ ND คือ not detectable



ภาพที่ 1 แสดงอัตราการสลายตัวของ alachlor ในดิน



ภาพที่ 2 แสดงอัตราการสลายตัวของ alachlor ในน้ำ

3. ปริมาณสารพิษตกค้าง alachlor ในหอมแดงระยะเก็บเกี่ยว

ระยะการเก็บเกี่ยวหอมแดงเว้นช่วงห่างจากการพ่นครั้งสุดท้าย 87 วัน โดยสุ่มเก็บตัวอย่างหอมแดงตลอดทั้งแปลง 10 ตัวอย่าง เพื่อนำไปสกัดหาสารพิษตกค้าง alachlor ในหอมแดงด้วยเครื่อง Gas Chromatography ชนิดตัวตรวจวัด Micro-Electron Capture Detector (GC- μ ECD) ผลการตรวจวิเคราะห์ไม่พบสารพิษตกค้างในหอมแดง ทุกตัวอย่างที่ระดับ LOQ 0.07 และ LOD 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL) ของ alachlor ในหอมแดง ของสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติยังไม่มีค่ากำหนด

4. การประเมินความเสี่ยงของสาร alachlor ในดินและน้ำที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพ และสิ่งแวดล้อม

เมื่อนำผลการตรวจวิเคราะห์สาร alachlor ตกค้างในดินและน้ำ มาประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพจากการรับสัมผัสทางผิวหนังกับดินและน้ำที่ปนเปื้อน (Exposure and Risk Assessment) สาร alachlor ตกค้าง โดยคำนวณจากค่า HQ เพื่อประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพของเกษตรกรผู้ปลูกหอมแดง ในดินช่วงอายุ 6 - 12 ปี ได้ค่าเฉลี่ย 1.23×10^{-2} และผู้ใหญ่ 70 ปี ได้ค่าเฉลี่ย 3.89×10^{-2} และในน้ำช่วงอายุ 6 - 12 ปี ได้ค่าเฉลี่ย 0.78×10^{-3} และผู้ใหญ่ 70 ปี ได้ค่าเฉลี่ย 2.62×10^{-3} ซึ่งค่า HQ จากการคำนวณในตารางที่ 4 พบว่าความเสี่ยงอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ ($HQ < 1$) ดังนั้นการประเมินความเสี่ยงสาร alachlor ตกค้างในดินและน้ำแปลงปลูกหอมแดงต่อสุขภาพ

เกษตรกรในช่วงอายุ 6 - 12 ปี และ 70 ปี สรุปได้ว่าการใช้สารกำจัดวัชพืช alachlor ไม่มีความเสี่ยงต่อสุขภาพของเกษตรกร และเมื่อนำไปประเมินความเสี่ยงที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม (Environmental Effects; Ecological risk assessment) ด้วยค่าความเสี่ยง (Risk quotient; RQ) ในดินและน้ำมีค่าเฉลี่ย 3.50×10^{-5} - 2.06×10^{-1} ถือว่าไม่มีความเสี่ยง (RQ < 1)

ตารางที่ 4 ประเมินความเสี่ยงของสาร alachlor ในดินและน้ำที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพ และสิ่งแวดล้อม

| Samples | Concentration | | Hazard quotient (HQ) | | Risk quotient (RQ) | Risk Levels |
|--------------|---------------|------|-------------------------|-----------------------|-----------------------|--------------------------------|
| | Min | Max | Child | Adult | | |
| Soil (mg/kg) | 0.04 | 2.06 | 1.23×10^{-2} | 3.89×10^{-2} | 2.06×10^{-1} | ¹⁾ acceptable risk |
| water (µg/L) | 0.04 | 0.35 | 0.78×10^{-3} | 2.62×10^{-3} | 3.50×10^{-5} | ²⁾ no hazard exists |

หมายเหตุ : 1) HQ >1 หมายถึง สาร alachlor ตกค้างอยู่ในระดับเสี่ยงต่อเกษตรกร (Risk) , HQ <1 หมายถึง สาร alachlor ตกค้างอยู่ในระดับยอมรับได้ (acceptable risk)

2) หากค่า RQ <1 แสดงว่าไม่มีความเสี่ยง (No immediate concern), ถ้าค่า RQ 1-10 แสดงว่ามีความเสี่ยงเล็กน้อย (Of concern if supply volumes increase), ถ้าค่า RQ 10-100 แสดงว่ามีความเสี่ยง การลดความเสี่ยงจะต้องนำข้อมูลอื่นที่เกี่ยวข้องมาพิจารณาด้วย (Further data require) และถ้าค่า RQ >100 แสดงว่ามีความเสี่ยงสูงต้องดำเนินการลดความเสี่ยงทันที (Reduce risk immediate) (ECB, 2003 and ECHA,2008)

สรุปผลการทดลอง

การประเมินความเสี่ยงของสารกำจัดวัชพืช alachlor 48% W/V EC อัตรา 300 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ในแปลงหอมแดง จังหวัดกาญจนบุรี พ่นสารด้วยเครื่องพ่นแบบสะพายหลัง ใช้เวลาพ่นนาน 16 นาที ภายหลังจากพ่นพบการปนเปื้อน alachlor บนร่างกายผู้พ่นสาร มีปริมาณปนเปื้อน 0.21 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน นำข้อมูลมาประมวลผลกับข้อมูลทางพิษวิทยาของ alachlor เพื่อประเมินความเสี่ยงต่อการสัมผัสพบว่ามีความเสี่ยงจากการใช้ alachlor (MOE <100) การตรวจวิเคราะห์ดิน น้ำ ตะกอนดิน และหอมแดง พบ alachlor มีปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดหลังพ่น 0 วัน (2 ชั่วโมง) ในตะกอนดินและหอมแดงไม่พบการตกค้างในทุกตัวอย่าง ค่าครึ่งชีวิตของ alachlor ในดินและในน้ำ เท่ากับ 5.9 และ 8.7 วัน ตามลำดับ ประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพด้วยค่า HQ ในดินและในน้ำ อยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ และประเมินผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมด้วยค่า RQ ไม่มีความเสี่ยง สรุปได้ว่าการใช้สาร alachlor มีความเสี่ยงต่อสุขภาพเกษตรกรผู้ใช้ แต่ไม่มีความเสี่ยงต่อสุขภาพผู้รับสัมผัสดิน น้ำ และผู้บริโภคหอมแดง และไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้นการใช้สารกำจัดวัชพืช alachlor เกษตรกรผู้พ่นสารควรระมัดระวังในการพ่นและควรใช้อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล เช่น หน้ากาก ถุงมือ รองเท้าบูท ปฏิบัติตามคำแนะนำในการใช้สารกำจัดวัชพืช alachlor บนฉลากของผลิตภัณฑ์อย่างเคร่งครัด ช่วยลดความเสี่ยงจากปัญหาผลกระทบต่อสุขภาพที่อาจเกิดขึ้นในอนาคต

คำขอขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณด้านวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (ววน.) ตามกรอบการสนับสนุนงานวิจัยมูลฐาน (Fundamental Fund) จากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ผ่านกรมวิชาการเกษตร ตามรหัสการทดลอง FF65-58-01-65-01-03-66 นอกจากนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณเกษตรกรใน ตำบลช่องด่าน อำเภอบ่อพลอย จังหวัดกาญจนบุรี และบุคลากรกลุ่มวิจัยผลกระทบจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตรที่ให้ความช่วยเหลือในการดำเนินงานวิจัย

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. นำข้อมูลที่ได้แนะนำเกษตรกรใช้สารalachlor ในแหล่งปลูกหอมแดงได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม เพื่อป้องกันการเกิดปัญหาสารพิษตกค้างที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพเกษตรกรผู้ใช้ ผู้บริโภคหอมแดง และส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม
2. เพื่อเป็นข้อมูลทางวิชาการแก่นักศึกษา นักวิชาการใช้ประกอบการทำวิจัยด้านการประเมินความเสี่ยงของสารกำจัดวัชพืช
3. ถ่ายทอดองค์ความรู้จากการวิจัยโดยการเผยแพร่ในรายงานผลการวิจัยประจำปี และการประชุมวิชาการในระดับชาติ รวมทั้งเผยแพร่ในวารสารวิชาการภายในประเทศ

เอกสารอ้างอิง

- กลุ่มวิจัยวัชพืช. 2554. คำแนะนำการป้องกันกำจัดวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืชปี 2554. สำนักวิจัยการพัฒนากาารอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 133 น.
- กลุ่มสารสนเทศการเกษตร. 2563. ฐานข้อมูลรายสินค้าหอมแดงศรีสะเกษ (GI) ภายใต้โครงการศูนย์บริการข้อมูลด้านการเกษตรและสหกรณ์แบบเบ็ดเสร็จ จังหวัดศรีสะเกษ. สำนักงานเกษตรและสหกรณ์จังหวัดศรีสะเกษ สิงหาคม 51 น.
- Back, C.A. 1965. Method of soil analysis: part I physical and mineralogical properties. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, USA.
- Babic, S., M. Petrovic and K. Kastelan-Macan. 1998. Ultrasonic solvent extraction of Pesticides from soil. Analysis. 823 : 3-9.
- ECB. 2003. Technical Guidance Document on Risk Assessment. Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for new notified substances. [Online]. European Chemicals Bureau. Available at: echa.europa.eu/documents/10162/987906/tgdpart2_2ed_en.pdf/138b7b71-a069-428e-9036-62f4300b752f. Assessment : March 18, 2022.
- ECHA. 2008. Guidance on information requirements and chemical safety assessment, chapter R.10: characterization of dose [concentration]-response for environment. [Online]. European Chemicals Agency. Available at: https://echa.europa.eu/documents/10162/13632/%20information_%20requirements_%20r10_en.pdf/bb902be7-a503-4ab7-9036-d866b8ddce69. Assessment : March 18, 2022.

- EN 15662. 2008. Foods of plant origin - Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LCMS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE - QuEChERS method.
- Ronald C. W., J. Melendres and H. I. Maibach. 2009. In vivo percutaneous absorption and skin decontamination of alachlor in rhesus monkey. *Toxicology and Environmental*. Vol. 36: 5-6.
- U.S. EPA., 1994. Organophosphorus compound by Gas Chromatography capillary column technique. In-house method. 2005. EPA method 8141A, Revision 1.
- U.S.EPA, 1998. Reregistration Eligibility Decision (RED) Alachlor. Available at: <http://www.epa.gov/opp00001/reregistration/REDS/0063.pdf>. Assessment : March 30, 2022
- US. EPA. 2005. Characterizing Risk and Hazard. Human Health Risk Assessment Protocol, U.S. Environmental Protection Agency, Washington D.C.
- U.S. EPA. 2009. Occupational and Residential Exposure Test Guidelines: OPPTS 875.2400 Dermal Exposure. Available at: <https://www.regulations.gov/document?D=EPA-HQOPPT-2009-0157-0012> . Accessment: March 30, 2022.
- U.S. EPA. 2018. National Primary Drinking Water Regulations. United States Environmental Protection Agency. Available at: <http://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/national-primary-drinking-water-regulations>. Accessment: Feb 10, 2022.

การประเมินความเสี่ยงจากการใช้สารป้องกันกำจัดวัชพืชอะลาคลอร์ในคะน้า
ต่อเกษตรกรผู้ใช้ ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม

Risk Assessment of Alachlor Herbicide in Kale to Farmer, Consumer and
Environment

ปัทสรา คุณเลิศ¹

กาญจนภา ด้วงนคร¹

ประกิจ จันทร์ดี²

Paphatsara Khunlert¹

Kanjanapa Duangnakorn¹

Prakit Chuntib²

กลุ่มวิจัยวัชพืชการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Alachlor is a widely used herbicide that is of considerable significance in the agricultural sector. Farmers and the environment surrounding the cultivation area may be adversely affected by the use of this pesticide. The application of alachlor as an herbicide during kale production may lead to pesticide residues in the product, which could pose a health risk to consumers as well as farmers. In this study, the effects of alachlor on kale were investigated and assessed by employing a backpack sprayer with an alachlor formula of 48% W/V EC at a rate of 300 g a.i./rai. After spraying, hand washing, and foot washing, the pads that were attached to a different position on the body were collected. Moreover, the soil, water, sediment, and kale from the harvest stage were also collected. Gas chromatography with a micro-electron capture detector (GC- μ ECD) was employed to analyze all samples. The sprayer was found to be contaminated with alachlor at a rate of 0.47 mg/kg body weight per day. The results were combined with toxicological data (margin of exposure, MOE) to evaluate the exposure and risks associated with alachlor. The use of alachlor was determined to be risky (MOE <100) with a MOE range of 10.64-319.15. In the soil samples, alachlor was detected at a concentration of 0.04 ± 0.02 to 9.50 ± 1.25 mg/kg dry weight, while water samples were detected between 0.09 ± 0.07 and 1.68 ± 0.44 μ g/L, respectively. After two hours of spraying, the highest amount of alachlor was detected. Alachlor residues were not present in all samples of kale or sediment. The half-life of alachlor in the soil was 3.8 days, while in the water it was 3.3 days. Hazard Quotient (HQ) values were employed to calculate the health risk assessment. The average HQ in soil was 5.69×10^{-3} for the age group of 6-12 years and 1.15×10^{-3} for the age group of 70 years. For individuals aged 6-12 years and 70 years, the average HQ in water was 3.75×10^{-3} and 1.93×10^{-3} , respectively. The acceptable HQ values were achieved with values less than 1. Furthermore, the risk quotient (RQ) values in soil and water were less than 1, which was a permissible level.

Keywords: alachlor herbicide, Margin of exposure (MOE), hazard quotient (HQ), risk quotient (RQ)

¹ กลุ่มวิจัยวัชพืชการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

¹ Agricultural Toxic Substance Research Group, Agricultural Production Science Research and Development Division

² สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1

² Agricultural Research and Development Region 1

บทคัดย่อ

อะลาคลอร์เป็นสารกำจัดวัชพืช การใช้อย่างต่อเนื่อง ทำให้เกิดความเครียดต่อสุขภาพของเกษตรกร และสิ่งแวดล้อม ได้ศึกษาและประเมินผลกระทบของสารalachlor ในคนน้ำ โดยใช้สารalachlor สูตร 48% W/V EC อัตรา 300 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ พ่นสารด้วยเครื่องพ่นแบบสพายหลัง จากนั้นเก็บตัวอย่างแผ่นผ้าที่ติดบนส่วนต่างๆ ของร่างกาย น้ำล้างมือ และน้ำล้างเท้า รวมทั้งสุ่มเก็บตัวอย่างดิน น้ำ ตะกอนดิน และคน้ำที่ระยะเก็บเกี่ยวเพื่อตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยเครื่อง Gas Chromatography ชนิดตัวตรวจวัด Micro-Electron Capture Detector (GC- μ ECD) วิเคราะห์หาปริมาณalachlor ที่ปนเปื้อนบนร่างกายผู้พ่นสาร มีปริมาณปนเปื้อน 0.47 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน ประเมินความเสี่ยงต่อการสัมผัสจากค่าขอบเขตความปลอดภัย (Margin of exposure, MOE = 10.64 - 319.15) พบว่ามีความเสี่ยงจากการใช้สารalachlor (MOE <100) ตัวอย่างดินพบalachlor $0.04 \pm 0.02 - 9.50 \pm 1.25$ มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักดินแห้ง และตัวอย่างน้ำมีปริมาณ $0.09 \pm 0.07 - 1.68 \pm 0.44$ ไมโครกรัม/ลิตร ซึ่งตรวจพบปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดหลังพ่น 0 วัน (2 ชั่วโมง) ส่วนในตะกอนดินและคน้ำไม่พบการตกค้าง ค่าครึ่งชีวิต (half-life; $t_{1/2}$) ของalachlor ในดินเท่ากับ 3.8 วัน และในน้ำเท่ากับ 3.3 วัน สำหรับความเสี่ยงต่อสุขภาพจากการสัมผัสดินและน้ำ (Hazard quotient ; HQ) ในช่วงอายุ 6 - 12 ปี และ 70 ปี ในดินมีค่าเฉลี่ย 5.69×10^{-3} และ 1.15×10^{-3} ในน้ำมีค่าเฉลี่ย 3.75×10^{-3} และ 1.93×10^{-3} ซึ่งค่า HQ < 1 ถือว่าอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ นอกจากนี้ยังพบว่าไม่มีความเสี่ยงต่อสภาพแวดล้อม (Risk quotient ;RQ) โดย RQ ของดินและน้ำมีค่าเฉลี่ย 9.50×10^{-1} และ 1.68×10^{-4} ถือว่าไม่มีความเสี่ยง (RQ<1)

คำสำคัญ: สารกำจัดวัชพืชอะลาคลอร์, ค่าขอบเขตความปลอดภัย, ค่าดัชนีบ่งชี้อันตราย, ค่าดัชนีบ่งชี้ความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม

บทนำ

คน้ำเป็นพืชผักทางเศรษฐกิจที่สำคัญ เป็นผลิตผลทางการเกษตรที่ได้รับความนิยมจากผู้บริโภค เนื่องจากอุดมด้วยแร่ธาตุและวิตามินที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย นิยมรับประทานทั้งลำต้น และใบ (วิจิตร และคณะ, 2563) ในปี 2565 มีเกษตรกรผู้ปลูกคน้ำทั้งหมดจำนวน 10,177 ครัวเรือน สำหรับในจังหวัดนครปฐม มีเกษตรกรผู้ปลูกคน้ำจำนวน 950 ครัวเรือน มีเนื้อที่เพาะปลูก 10,086 ไร่ เนื้อที่เก็บเกี่ยวผลผลิต 9,280 ไร่ ผลผลิตที่เก็บเกี่ยวได้ 14,906,262 กิโลกรัม ผลผลิตเฉลี่ย 1,606.28 กิโลกรัม/ไร่ ราคาที่เกษตรกรขายได้เฉลี่ย 18.68 บาท/กิโลกรัม (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2566) เกษตรกรผู้ปลูกคน้ำเชิงพาณิชย์จะปลูกต่อเนื่องตลอดปี และมักพบปัญหาวัชพืช โรคและแมลงศัตรูพืชบ่อยครั้ง เกษตรกรส่วนใหญ่ได้เลือกใช้สารกำจัดศัตรูพืช การใช้อย่างต่อเนื่อง นอกจากจะส่งผลทำให้สารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในผลผลิตแล้ว ยังอาจพบการตกค้างในสิ่งแวดล้อม เช่น ดิน และแหล่งน้ำได้ โดยเฉพาะดินบริเวณแปลงปลูกที่เกษตรกรสัมผัสโดยตรงขณะทำงานในแปลง (จารุพงศ์ และคณะ, 2562)alachlor เป็นสารกำจัดวัชพืชกลุ่ม Acetanilide ใช้ในการควบคุมวัชพืชประเภทก่อนงอกจากเมล็ดทั้งประเภทใบแคบและใบกว้าง ในการปลูกหอมแดง คน้ำ ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ อ้อย ทานตะวัน และถั่วเหลือง พนคลุมดินก่อนปลูกคน้ำ ขณะดินมีความชื้น โดยสารalachlor จะไปยับยั้งการสร้างโปรตีนและขัดขวางการเจริญเติบโตของรากวัชพืช (กลุ่มวิจัยวัชพืช, 2554) ในปี 2565 มีการนำเข้าสารalachlor ปริมาณ 152,073.20 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่า 65,064,314.89 ล้านบาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2565) ลักษณะกายภาพของสารalachlor เป็นของแข็งสีขาว ไม่มีกลิ่น มีจุดหลอมเหลว 41.5 องศาเซลเซียส

สภาพการละลายน้ำ 170 – 188 มิลลิกรัม/ลิตร ที่ pH 5 – 9 อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ คือ acetone, methanol, dichloroethane, xylene และ ethyl acetatealachlor ถูกจัดเป็นสารก่อมะเร็ง B 2 อาจเป็นสารก่อมะเร็งในมนุษย์ โดย United States Environmental Protection Agency (US EPA) (U.S.EPA, 1998 and Emine, 2018) มีความเป็นพิษจัดอยู่ในระดับอันตรายปานกลาง Class III (WHO, 2003) พิษเฉียบพลันทางปาก (oral) ในหนูทดลองค่า LD₅₀ เท่ากับ 930 - 1,350 มิลลิกรัม/กิโลกรัม พิษเฉียบพลันทางผิวหนัง (dermal) LD₅₀ ในหนูทดลอง เท่ากับ 4,982 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว และกระต่ายเท่ากับ 13,300 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว ค่าความเป็นพิษต่อปลา rainbow trout LC₅₀ ที่ 96 ชั่วโมง 5.3 มิลลิกรัม/ลิตร จากการศึกษาในสัตว์ทดลองในระยะเฉียบพลัน พบว่ามีอาการกล้ามเนื้ออ่อนแอ หายใจลำบาก และเกิดการชัก และในระยะเรื้อรัง พบว่ามีความเป็นพิษต่อเม็ดเลือด เกิดพิษในตับ ม้าม ไต ปอด และก่อให้เกิดเนื้องอกในปอด สำหรับในมนุษย์มีรายงานว่า การสัมผัสสารทำให้เกิดอาการปวดศีรษะ คลื่นไส้ อาเจียน เกิดอาการระคายเคืองต่อผิวหนังและดวงตา เป็นสารถูกห้ามใช้ในประเทศสหรัฐอเมริกา (U.S.EPA, 1998; Environmental and Occupational Health, 2003 and Bloomfield, 2017) แต่การวิจัยเกี่ยวกับผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์ยังมีข้อจำกัด สำหรับการเข้าสู่สิ่งแวดล้อมของสารalachlor หลังพ่นในแหล่งเกษตรกรรม ละอองสารฟุ้งกระจายไปในอากาศ บางส่วนถูกชะล้างด้วยน้ำฝน ไหลปลาลงสู่แหล่งน้ำ ตกค้างในดิน บางส่วนสามารถเคลื่อนย้าย (mobility) จากดินสู่แหล่งน้ำใต้ดิน เกณฑ์ค่าสูงสุดที่ยอมให้มีการปนเปื้อนของalachlor ในน้ำดื่มของ U.S.EPA (2018) (ไม่เกิน 2 ไมโครกรัม/ลิตร) การสลายตัวในดิน DT₅₀ ภายใต้สภาวะออกซิเจนค่อนข้างเร็วประมาณ 30 วัน ในแปลงทดลองใช้เวลา 4 - 24 วัน ค่าครึ่งชีวิต (half-life, t_{1/2}) ในดินของสารalachlor อยู่ระหว่าง 2- 4 สัปดาห์ (Camazano *et al.*, 2003) นอกจากนี้ Kumar *et al.* (2014) ได้ประเมินความเสี่ยงสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้างในดิน กลุ่มออร์กาโนคลอรีนสองชนิด คือ DDT และ HCH ต่อผู้ใหญ่ และเด็กที่สัมผัสกับดิน พบว่า ค่า HQ ผู้ใหญ่ อยู่ระหว่าง 1.8 × 10⁻⁶ - 1.4 × 10⁻⁴ และ HQ เด็ก อยู่ระหว่าง 9.5 × 10⁻⁶ - 7.2 × 10⁻⁴ ผลการประเมินความเสี่ยงอยู่ในระดับยอมรับได้ (HQ ≤ 1) และ Farina *et al.* (2016) ได้ประเมินความเสี่ยงสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้างในดินแปลงปลูกผัก ในเด็กและผู้ใหญ่ พบว่าอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ (HQ ≤ 1)

อย่างไรก็ตามการใช้สารalachlor อย่างต่อเนื่อง ทำให้เกิดความเสี่ยงต่อสุขภาพของเกษตรกรผู้พ่น และสิ่งแวดล้อมบริเวณโดยรอบแหล่งเพาะปลูก เนื่องจากขณะพ่นสารalachlor ละอองสารเกิดการฟุ้งกระจายไปในอากาศ ตกค้างในผลผลิต สะสมในดิน ชะละลายลงสู่แหล่งน้ำบริเวณใกล้เคียง เกิดการเคลื่อนย้ายในสิ่งแวดล้อมสะสมในสิ่งมีชีวิต และปนเปื้อนในห่วงโซ่อาหาร ส่งผลกระทบต่อสุขภาพผู้บริโภค เนื่องจากสารalachlor ที่ตกค้างในสิ่งแวดล้อม สามารถเข้าสู่ร่างกายมนุษย์โดยตรงจากการหายใจ การสัมผัส ดิน น้ำ ตะกอนดิน และผลผลิต ดังนั้นเกษตรกรจึงเป็นกลุ่มแรกที่มีความเสี่ยงอันตรายจากการได้รับสารพิษ เพื่อเป็นการแก้ปัญหาดังกล่าวข้างต้น การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อประเมินความเสี่ยงจากการใช้สารalachlor ในสิ่งแวดล้อมที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพเกษตรกร การสลายตัว และสะสมใน ดิน น้ำ ตะกอนดิน การตกค้างในผลผลิต รวมทั้งประเมินผลกระทบของสารalachlor ที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในแปลงทดลอง ได้แก่ อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างน้ำ และตะกอนดิน ได้แก่ แครงตักน้ำและตะกอนดิน ขวดพลาสติกชนิด PTFE ใส่ตัวอย่างน้ำ เครื่องมือเก็บตัวอย่างดิน (soil auger) และถุงพลาสติกใส่ตัวอย่างดิน เครื่องวัดคุณภาพน้ำ เครื่องวัดความเร็วลม นาฬิกาจับเวลา และเครื่องพ่นแบบสะพายหลัง

2. เครื่องแก้วที่ใช้ในการสกัด ได้แก่ volumetric flask, volumetric pipette, cylinder, beaker, erlenmeyer flask, round bottom flask, graduated tube, glass vial และ separatory funnel

3. สารเคมี ได้แก่ สารมาตรฐานอะลาคลอร์ (alachlor; $C_{14}H_{20}ClNO_2$ 99.34%), acetonitrile (CH_3CN), acetone (C_3H_6O), anhydrous sodium sulfate (Na_2SO_4), ethyl acetate ($C_4H_8O_2$), hexane (C_6H_{14}), anhydrous magnesium sulfate ($MgSO_4$), sodium chloride ($NaCl$), sodium hydroxide ($NaOH$), trisodium citrate dehydrate ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$), disodium hydrogen citrate sesquihydrate ($C_6H_6Na_2O_7 \cdot 1.5H_2O$), primary secondary amines (PSA) และ carbon SPE bulk sorbent (GCB)

4. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้า (electrical balances) ชนิดทศนิยม 5 ตำแหน่ง และ 2 ตำแหน่งที่สอบเทียบแล้ว, ตู้เย็นแช่แข็ง (deep Freezer) ที่ควบคุมอุณหภูมิได้ที่ -20 องศาเซลเซียส, เครื่องบดตัวอย่าง (food processor), เตาเผา (muffle furnace), ตู้อบ (hot air oven), เครื่องผสมตัวอย่าง (vortex mixer), เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge), เครื่องลดปริมาตร (rotary evaporator), เครื่องลดปริมาตรโดยการเป่าด้วยแก๊สไนโตรเจน (nitrogen evaporator), เครื่องเขย่าสำหรับสกัดตัวอย่างน้ำ (separatory funnel shaker), เครื่องเขย่า (reciprocal shaker) เครื่อง Ultrasonic bath, เครื่อง Gas Chromatograph (GC) บริษัท Agilent technologies รุ่น 6890N ซึ่งมีหัวตรวจวัดชนิด Micro-Electron Capture Detector (GC- μ ECD)

วิธีการ

1. การทำแปลงทดลอง

1.1 การสำรวจแปลงและวางแผนการทดลอง

สำรวจและคัดเลือกแปลงปลูกคะน้าของเกษตรกร ในตำบลมาบแค อำเภอเมืองนครปฐม จังหวัดนครปฐม พิกัดภูมิศาสตร์ (13.854952, 100.083498) มีพื้นที่ปลูกประมาณ 1 ไร่ ลักษณะแปลงเป็นแปลงยกร่อง ระยะห่างระหว่างร่องประมาณ 30 เซนติเมตร ให้ผลผลิตเฉลี่ย 1,500 - 2,000 กิโลกรัม/ไร่ พันธุ์ที่เกษตรกรนิยมปลูกได้แก่ พันธุ์ใบกลม และพันธุ์ใบแหลม โดยเกษตรกรจะปลูก 2 ช่วง คือ ช่วงเดือนตุลาคมถึงเมษายน และช่วงเดือนพฤษภาคมถึงกันยายน โดยใช้น้ำจากคลองชลประทานในการเพาะปลูก อายุการเก็บเกี่ยวคะน้าประมาณ 45 - 55 วัน ขึ้นอยู่กับสภาพภูมิอากาศ ก่อนปลูก ใช้สารกำจัดวัชพืช ได้แก่ อะลาคลอร์ (alachlor) อัตรา 288 - 300 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ พ่นคลุมดินก่อนปลูก วัชพืชที่ควบคุม คือวัชพืชที่งอกจากเมล็ดที่ประเภทใบแคบและใบกว้าง หลังปลูกเมื่อพบการระบาดของหนอนใยผัก (*Plutella Xylostella*) และหนอนกะทู้ผัก (*Spodoptera Litura*) ทำการพ่นบาซิลลัส ทูริงเยนซิส (*Bacillus thuringiensis*) อัตรา 200 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร พ่นเมื่อพบการระบาดของหนอนใยผักทุก 5 วัน เมื่อพบการระบาดของหนอนคืบกะหล่ำ (*Trichoplusia Ni*) ทำการพ่นแลมบ์ดา-ไซฮาโลทริน (lambda-cyhalothrin) อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และพบการระบาดของด้วงหมัดผักแถบลาย (*Phyllotreta sinuata*) ทำการพ่นคาร์บาริล (carbaryl) อัตรา 60 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

1.2. การปฏิบัติงานในแปลงทดลอง

1.2.1 ทำการติดตั้งป้ายเก็บตัวอย่าง เพื่อกำหนดพื้นที่ในการเก็บตัวอย่าง แปลงทดลองมีขนาดกว้าง x ยาวเท่ากับ 35.70 x 50.48 ตารางเมตร แบ่งออกเป็น 10 แถว โดยกำหนดให้ 2 แถวเป็น 1 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 6 ตัวอย่าง สำหรับเก็บตัวอย่างดิน และตัวอย่างคะน้า ส่วนตัวอย่างน้ำและตะกอนดิน กำหนดพื้นที่ในการเก็บตัวอย่างในคลองชลประทาน บ่อพักน้ำ และคลองส่งน้ำ รวมทั้งหมด 6 ตัวอย่าง จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างก่อนพ่นสารกำจัดวัชพืชalachlor ไว้เปรียบเทียบกับผลการวิเคราะห์ก่อนและหลังพ่นสารalachlor คือ ดิน จำนวน 6 ตัวอย่าง น้ำและตะกอนดินจำนวนตัวอย่างละ 6 ตัวอย่าง

1.2.2 ศึกษาปริมาณการปนเปื้อนสารพิษบนร่างกายผู้พ่นสาร ทำตามวิธีการทดลอง Methods for measuring dermal exposure; Patch method (U.S.EPA, 2009) โดยก่อนพ่นสารติดแผ่นผ้าฝ้ายขนาด 10 x 10 เซนติเมตร บนเสื้อผ้าตามส่วนต่างๆ ของร่างกายผู้พ่นสาร ได้แก่ หมวก (1), แผ่นผ้าปิดจมูก (1), อกเสื้อ (1), ด้านในอกเสื้อ (1), บ่า (2), ศอก (2), หลังเสื้อ (1) ด้านในของหลังเสื้อ (1), ต้นขา (2), หน้าแข้ง (2) และด้านในหน้าแข้ง (2) พ่นสารกำจัดวัชพืช alachlor 48% W/V EC อัตรา 300 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ ด้วยเครื่องพ่นแบบสะพาย หลัง ใช้ระยะเวลาการพ่น 14 นาที ความเร็วลม 1.2 เมตรต่อวินาที

1.2.4 หลังพ่นสาร alachlor เก็บตัวอย่างแผ่นผ้าที่ติดตามร่างกายผู้พ่นสารแต่ละชิ้นลงในขวดแก้วที่มีฝาปิด น้ำล้างมือ น้ำล้างเท้าของผู้พ่น และสุ่มเก็บตัวอย่างดิน น้ำ และตะกอนดินที่ระยะเวลาหลังพ่น คือ 0 วัน (2 ชั่วโมงหลังพ่น), 1, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 30 และ 45 วัน นำมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง

1.2.5 เก็บตัวอย่างคะน้ำที่ระยะเก็บเกี่ยวหลังพ่นสาร 45 วัน สุ่มเก็บตัวอย่างคะน้ำกระจายให้ทั่วทั้งแปลง ทดลอง ให้น้ำหนักรวมไม่น้อยกว่า 2 กิโลกรัม จำนวน 10 ตัวอย่าง

1.2.6 การเก็บรักษาตัวอย่างเพื่อนำส่งห้องปฏิบัติการ ตัวอย่างทุกชนิดหลังจากเก็บจากแปลงทดลอง เก็บในถุงพลาสติกหรือภาชนะที่เหมาะสม มีป้ายบ่งชี้ตัวอย่าง ประกอบด้วย รหัสการทดลอง ชื่อตัวอย่าง ชื่อสารกำจัดวัชพืช วันที่เก็บตัวอย่าง พร้อมทั้งเวลาที่สุ่มเก็บตัวอย่าง ปิดถุงให้แน่นบรรจุลงในกล่องที่บรรจุน้ำแข็ง ก่อนนำไปตรวจวิเคราะห์ ณ ห้องปฏิบัติการ

2. การปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ

2.1 การหาประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์ เพื่อทดสอบหาวิธีสกัดที่เหมาะสม โดยเติมสารมาตรฐาน alachlor ที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนในตัวอย่างแผ่นผ้า ดิน น้ำ ตะกอนดิน และคะน้ำที่ไม่มีสาร alachlor ตกค้าง แล้วนำมาสกัด และตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Chromatography ชนิดตัวตรวจวัด Micro-Electron Capture Detector (GC- μ ECD) เพื่อทดสอบหาประสิทธิภาพการเอาสารกลับคืน (recovery) เกณฑ์การยอมรับ recovery อยู่ระหว่าง 70 – 120% (SANTE/11312, 2021 and AOAC, 2016) ทดสอบค่าต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ (Limit of Detection; LOD) และค่าต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้อย่างถูกต้อง (Limit of Quantitation; LOQ)

2.3 การเตรียมตัวอย่างดินและตะกอนดิน นำตัวอย่างดินและตะกอนดินใส่ภาชนะที่ร้อม ให้มีความชื้นประมาณ 10 - 20 เปอร์เซ็นต์ กรณีที่มีการปนเปื้อนของหินหรือเศษซากพืช ให้แยกออก บดตัวอย่างให้ละเอียด เพื่อนำไปหาความชื้นตามวิธีของ Back (1965) และวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง

2.4 การเตรียมตัวอย่างคะน้ำ นำมาหั่นให้มีขนาดเล็ก จากนั้นใช้เครื่องบดสับตัวอย่าง (food processor) เพื่อให้ตัวอย่างมีความเป็นเนื้อเดียวกัน ทำการชั่งตัวอย่าง ตัวอย่างละ 2 ช้ำ น้ำหนัก 10 ± 0.05 กรัม ลงในหลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำตัวอย่างที่ชั่ง ไปสกัดและตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง

2.5 การสกัดตัวอย่างแผ่นผ้า (U.S.EPA, 2009) นำขวด Duran ขนาด 250 มิลลิลิตรที่มีแผ่นผ้าเติม ethyl acetate (AR) 75 มิลลิลิตร ใส่เครื่อง shaker ความเร็วรอบ 210 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 ที่บรรจุ sodium sulfate ลงใน cylinder จดปริมาตร เทใส่ round bottom flask ทำการสกัดซ้ำด้วย ethyl acetate (AR) 25 มิลลิลิตร นำไปใส่เครื่อง shaker เป็นเวลา 30 นาที กรองสารละลายและจดบันทึกปริมาตร จากนั้นนำไปลดปริมาตรด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ระเหยจนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรด้วย ethyl acetate (PR) ปริมาตร 2 มิลลิลิตรใส่ในขวด vial นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC- μ ECD

2.6 การสกัดตัวอย่างดินและตะกอนดิน ประยุกต์ใช้วิธี Ultrasonic (Babic,S. et. al., 1998) นำตัวอย่างดินและตะกอนดินที่ชั่งไว้ น้ำหนัก 20 ± 0.05 กรัม เติม hexane : acetone (AR) (อัตราส่วน 50:50 โดยปริมาตร) 75 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปใส่ในเครื่อง ultrasonic bath เป็นเวลา 25 นาที กรองผ่าน

กระดาษกรองที่บรรจุ sodium sulfate ไว้ด้านบน ล้างด้วย hexane : acetone (AR) 2 ครั้งๆ ละ 20 มิลลิลิตร นำไปลดปริมาตรด้วยเครื่อง rotary evaporator อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ระเหยจนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรด้วย hexane (PR) ปริมาตร 2 มิลลิลิตรใส่ในขวด vial นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC- μ ECD

2.7 การสกัดตัวอย่างน้ำ น้ำล้างมือ และน้ำล้างเท้า โดยใช้วิธี In-house method based on EPA method 8141A, rev.1, 1994. (U.S. EPA, 1994) ตวงตัวอย่างน้ำปริมาตร 800 มิลลิลิตรใส่ใน separatory funnel เติม hexane (AR) 100 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน หลังจากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่อง separatory funnel shaker นาน 3 นาที ทิ้งไว้ให้แยกชั้น ไขเก็บบน hexane ผ่านกระดาษกรองที่บรรจุ sodium sulfate ทำการสกัดซ้ำอีก 2 ครั้งด้วย hexane (AR) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปลดปริมาตรด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ระเหยจนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรด้วย hexane (PR) ปริมาตร 1 มิลลิลิตรใส่ในขวด vial นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC- μ ECD

2.8 การสกัดตัวอย่างคะน้า ประยุกต์ใช้วิธี EN Extraction: EN Method 15662 (EN 15622, 2008) นำตัวอย่างคะน้าที่ชั่งไว้หนัก 10 ± 0.05 กรัม ในหลอดทดลอง เติม acetonitrile 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน เติมสารสกัด anhydrous magnesium sulfate (anh.MgSO₄) 4 กรัม และ trisodium citrate dehydrate 1 กรัม disodium hydrogen citrate sesquihydrate 0.5 กรัม และ sodium chloride 1 กรัม ปิดฝา เขย่า และ voter mixer นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ใช้ auto pipette ดูดสารละลายส่วนบน 6 มิลลิลิตร ใส่ใน centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร ที่บรรจุ 150 มิลลิกรัม PSA, 45 มิลลิกรัม GCB และ 855 มิลลิกรัม anhydrous magnesium sulfate (anh.MgSO₄) เขย่าให้เข้ากันด้วย voter mixer นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ใช้ auto pipette ดูดสารละลายส่วนบน 3 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง นำไประเหยให้แห้งด้วยเครื่อง nitrogen evaporator และปรับปริมาตรด้วย hexane (PR) ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตรใส่ในขวด vial นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC- μ ECD

2.9 ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างalachlor ในตัวอย่างสารละลายที่สกัดได้ของแผ่นผ้า น้ำล้างมือ น้ำล้างเท้า ดิน น้ำ ตะกอนดิน และคะน้า ด้วยเครื่อง Gas Chromatography ชนิดตัวตรวจวัด Micro-Electron Capture Detector (GC- μ ECD) โดยกำหนดสภาวะการทำงานของเครื่องดังนี้

| | |
|--------------------------|---|
| Column | : DB-1701, 30 m length x 0.32 mm id. x 0.25 um film thickness |
| Detector | : μ ECD, Injection mode |
| mode | : pulsed spitless |
| Temperature conditioning | : injector = 230 ^o C, detector = 300 ^o C |
| Oven program | : 80 ^o C (1 min) $\xrightarrow{20^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ 220 ^o C (1 min) $\xrightarrow{2^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ 235 ^o C (3 min) $\xrightarrow{30^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ 280 ^o C (2 min) |
| Carrier gas | : helium flow 1.4 mL/min |
| Injection volume | : 1 μ L |
| run time | : 23 min |

2.10 การประเมินความเสี่ยง

2.10.1 การประเมินความเสี่ยงจากการรับสัมผัส (Exposure and Risk Assessment) ต่อเกษตรกร ผู้ใช้ คำนวณจากค่าขอบเขตความปลอดภัยจากการได้รับสารพิษ (Margin of Exposure, MOE) โดยใช้เกณฑ์ การประเมินความเสี่ยง อ้างอิงจาก Pesticide Risk Assessment (U.S. EPA, 2005) ดังสมการ

$$MOE = NOAEL/Exposure \dots\dots\dots(\text{สมการ 1})$$

เมื่อ NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) คือ ค่าสูงสุดของปริมาณสารพิษที่ใช้ในการ ทดลองที่ไม่ทำให้เกิดผลอันไม่พึงประสงค์ทางพิษวิทยาของ alachlor และ Exposure คือปริมาณ alachlor ที่ดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย (mg/kg bw/day) การแปลผลจากค่า MOE ที่คำนวณได้เปรียบเทียบกับค่า Pesticide uncertainty factor หากค่า MOE มีค่าต่ำกว่าค่า Pesticide uncertainty factor จะถือว่ามีความเสี่ยง (Risk) และค่า $MOE \geq 100$ ถือว่าอยู่ในระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้ (Acceptable risk)

2.10.2 การศึกษาผลกระทบจากการแพร่กระจาย (Environmental Fate and Transport) โดย คำนวณหาระยะเวลาที่สาร alachlor สลายตัวลดลงจนมีปริมาณครึ่งหนึ่ง (half-life, $t_{1/2}$) ในตัวอย่างดิน น้ำ และ ตะกอนดิน จากสมการ $t_{1/2} = -0.693/b$ โดย b ได้มาจากสมการ $y = ae^{bx}$ ซึ่งหาได้จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง ปริมาณสาร alachlor ตกค้าง และระยะเวลาหลังพ่นสาร alachlor (วัน)

2.10.3 การประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพจากการรับสัมผัสทางผิวหนังกับดินและน้ำที่ปนเปื้อน (Exposure and Risk Assessment) โดยใช้ดัชนีบ่งชี้ความอันตราย (HQ) ซึ่งค่า HQ คำนวณจากค่า ADI (ปริมาณ ค่าเฉลี่ยที่เกษตรกรได้รับสาร alachlor ต่อวัน) เทียบกับค่า RfD (ค่าอ้างอิง คือ ปริมาณสารพิษที่น้อยที่สุดที่ร่างกาย รับได้โดยไม่ทำให้เกิดอันตรายหรือเป็นพิษต่อร่างกาย) มีสมการคำนวณ ดังนี้

$$ADI = (C_{\text{soil/water}} * CF * IR_{\text{soil/water}} * EF * ED) / (BW * AT) \dots\dots\dots(\text{สมการ 2})$$

- เมื่อ: ADI คือ ปริมาณสารพิษเฉลี่ยต่อวันจากสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในดิน (มิลลิกรัม/กิโลกรัม), น้ำ (ไมโครกรัม/ลิตร)
- C คือ ความเข้มข้นของสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในดิน และคะน้ำ (มิลลิกรัม/กิโลกรัม), น้ำ (ไมโครกรัม/ลิตร)
- CF คือ unit conversion factor = 10^6 กิโลกรัม/มิลลิกรัมในดิน
- IR คือ อัตราการได้รับสารพิษที่ตกค้างในดิน 200 มิลลิกรัม/วัน สำหรับเด็ก, 100 มิลลิกรัม/วัน สำหรับผู้ใหญ่ ในน้ำ 0.745 ลิตร/วัน สำหรับเด็ก, 0.943 ลิตร/วัน สำหรับผู้ใหญ่ (U.S. EPA., 2008)
- EF คือ ความถี่ของการสัมผัส (365 วัน/ปี)
- ED คือ ระยะเวลาที่สัมผัส (years) สำหรับเด็กอายุ 6-12 ปี และ 70 ปี สำหรับผู้ใหญ่
- BW คือ ค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัว (กิโลกรัม); สำหรับเด็กอายุ 6-12 ปี (33.38 กิโลกรัม), ผู้ใหญ่ (82 กิโลกรัม) จากการทดลอง
- AT คือ ระยะเวลาที่ใช้เฉลี่ย (365 วัน) ($EF * ED$)

การคำนวณค่าความเสี่ยงจากสารพิษตกค้างได้จากค่า hazard quotient (HQ) ซึ่งคำนวณจากค่า ADI และค่า RfD ดังสมการต่อไปนี้

$$HQ = ADI/RfD \quad \dots\dots\dots(\text{สมการ 3})$$

เมื่อ: RfD คือ reference dose เฉพาะของสารalachlor เท่ากับ 0.05 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน (IUPAC,2019)

เกณฑ์การตัดสินใจ กำหนดให้ $HQ \geq 1$ หมายถึง สารalachlor ตกค้างอยู่ในระดับเสี่ยงต่อเกษตรกร (Risk)

$HQ < 1$ หมายถึง สารalachlor ตกค้างอยู่ในระดับยอมรับได้ (Acceptable risk)

2.10.4 การประเมินความเสี่ยงที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม (Environmental Effects; Ecological risk assessment) โดยใช้ค่าความเสี่ยง (Risk quotient; RQ) เมื่อ MEC (measured environment concentration) คือ ความเข้มข้นของสารที่วัดในสิ่งแวดล้อม และ PNEC (predicted no effect concentration) คือ ความเข้มข้นสูงสุดของสารที่ไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิต

$$RQ = MEC/PNEC \quad \dots\dots\dots(\text{สมการ 4})$$

เกณฑ์การตัดสินใจ กำหนดให้ $RQ < 1$ แสดงว่าไม่มีความเสี่ยง (No immediate concern), $RQ 1-10$ แสดงว่ามีความเสี่ยงเล็กน้อย (Of concern if supply volumes increase), $RQ 10-100$ แสดงว่ามีความเสี่ยง การลดความเสี่ยงจะต้องนำข้อมูลอื่นที่เกี่ยวข้องมาพิจารณาร่วมด้วย (Further data require) และ $RQ > 100$ แสดงว่ามีความเสี่ยงสูงต้องดำเนินการลดความเสี่ยงทันที (Reduce risk immediate) (ECB, 2003 and ECHA, 2008)

ระยะเวลา เริ่มต้น เดือน ตุลาคม 2565 สิ้นสุด เดือน กันยายน 2566

สถานที่ทำการทดลอง 1) แปลงทดลอง ในอำเภอเมืองนครปฐม จังหวัดนครปฐม
2) ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยผลกระทบจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร
กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลการทดสอบหาประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์

ทดสอบประสิทธิภาพของวิธีตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างalachlor สามารถพิสูจน์ความแม่นยำ (accuracy) ของวิธีการสกัดแผ่นผ้า ดิน น้ำ ตะกอนดิน และคะน้า ประเมินค่าจากค่าร้อยละการได้คืนกลับ (%recovery) โดยผลของ %recovery อยู่ในช่วง 85.65 - 99.52% พบว่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้คือ 70 - 120% (SANTE/11312, 2021 and AOAC, 2016) ดังนั้นวิธีการตรวจวิเคราะห์ดังกล่าว สามารถนำมาสกัดตัวอย่างแผ่นผ้า ดิน น้ำ ตะกอนดิน และคะน้าจากแปลงทดลองได้อย่างถูกต้อง (ตารางที่1) โดยมีค่า LOD ในตัวอย่างแผ่นผ้าเท่ากับ 0.02 ไมโครกรัม/ 100 ตารางเซนติเมตร, ดิน 0.01 มิลลิกรัม/กิโลกรัม, น้ำ 0.01 ไมโครกรัม/ลิตร, ตะกอนดิน 0.01 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และคะน้า 0.02 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (ประเมินค่า LOD เท่ากับ 3XSD) และ LOQ ในตัวอย่าง แผ่นผ้าเท่ากับ 0.04 ไมโครกรัม/100 ตารางเซนติเมตร, ดิน 0.04 มิลลิกรัม/กิโลกรัม, น้ำ 0.04 ไมโครกรัม/ลิตร ตะกอนดิน 0.04 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และคะน้า 0.07 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (ประเมินค่า LOQ เท่ากับ 10XSD)

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้างalachlor Average of recovery (%) n=7

| ตัวอย่าง | Linearity/ Range | Concentration fortified | Average of recovery (%) n = 7 | (LOD) | (LOQ) |
|----------|---------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| แผ่นผ้า | 0.04 -2.05 | 0.42 $\mu\text{g}/100\text{cm}^2$ | 87.53 | 0.02 $\mu\text{g}/100\text{cm}^2$ | 0.04 $\mu\text{g}/100\text{cm}^2$ |
| ดิน | 0.04 -2.05 | 0.10 mg/kg | 93.09 | 0.01 mg/kg | 0.04 mg/kg |
| น้ำ | 0.04 -2.05 | 0.27 $\mu\text{g}/\text{L}$ | 96.48 | 0.01 $\mu\text{g}/\text{L}$ | 0.04 $\mu\text{g}/\text{L}$ |
| ตะกอนดิน | 0.04 -2.05 | 1.06 mg/kg | 99.52 | 0.01 mg/kg | 0.04 mg/kg |
| คะน้า | 0.07 -2.05 | 1.06 mg/kg | 85.65 | 0.02 mg/kg | 0.07 mg/kg |

หมายเหตุ: LOD (limit of detection) หมายถึง ขีดจำกัดของการตรวจพบ

LOQ (limit of quantitation) หมายถึง ขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ

2. ปริมาณสารalachlor บนเปื้อนบนร่างกายผู้พ่น และความเสี่ยงต่อเกษตรกรผู้ใช้ในแปลงคะน้า

ผลการวิเคราะห์ปริมาณalachlor บนแผ่นผ้าที่ติดตามส่วนต่างๆ ของร่างกายผู้พ่น พบการปนเปื้อนบริเวณหมวก จมูก บ่า ออกใน ออกนอก คอก หลังใน หลังนอก ต้นขา แข็งใน และแข้งนอก เท่ากับ 2.85, 7.14, 4.99, <0.04, 4.40, 1.81, 0.09, 0.49, 140.44 และ 615.87 ไมโครกรัม/100 ตารางเซนติเมตร ซึ่งพบปริมาณปนเปื้อนสูงที่สุดบริเวณแข้งนอก 615.87 ไมโครกรัม/100 ตารางเซนติเมตร เนื่องจากในขณะพ่นสารalachlor ในแปลงปลูกคะน้า เกษตรกรใช้หัวพ่นแบบ พัดตรง (even spray) สารละลายที่พ่นออกมาจะมีลักษณะเป็นละออง และมีความสม่ำเสมอเท่ากัน พ่นก่อนวัชพืชงอก ความเร็วลมในระหว่างพ่นสาร 1.2 เมตร/วินาที ส่วนน้ำล้างมือ และน้ำล้างเท้า พบปนเปื้อน 1,209.09 และ 3.17 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ ปริมาณalachlor ที่ปนเปื้อนบนแผ่นผ้าจากส่วนต่างๆ ของร่างกาย รวมทั้งปนเปื้อนที่มือและเท้า เมื่อนำมาคำนวณเป็นปริมาณสารพิษต่อพื้นที่ทั้งหมดของร่างกาย (U.S.EPA 2009) ภายหลังการพ่น คิดเป็นการปฏิบัติงานตามปกติในแต่ละวัน พบว่ามีปริมาณalachlor ปนเปื้อน 0.47 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน (ตารางที่ 2) สอดคล้องกับงานวิจัยของWayn *et al.* (2010) พบปริมาณสารalachlor ตกค้างในแผ่นผ้าที่ติดบริเวณ เสื้อเกษตรกรผู้พ่นสาร มีปริมาณตั้งแต่ <0.01 - 32.0 ไมโครกรัม/ตารางเซนติเมตร ซึ่งพบการตกค้างบริเวณหน้า แข็งมากกว่าบริเวณอื่น และในน้ำล้างมือผู้พ่นสารพบสารalachlor 3 - 324 ไมโครกรัม/ตัวอย่าง เช่นเดียวกับ Redeerat *et al.* (2018) พบปริมาณสารalachlor ตกค้างในแผ่นผ้าที่ติดบริเวณขาของเกษตรกรผู้พ่นสารใน แปลงผักจำนวน 9.29 ไมโครกรัม/ชั่วโมง

เมื่อประเมินปริมาณสารalachlor บนร่างกาย (Potential Exposure) ที่สามารถดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย (Absorption Dose) ซึ่งจากวิจัยของRonald *et al.* (2009) สามารถดูดซึมที่ผิวหนังได้ 10% ผลการประเมิน ระดับความเสี่ยงจากปริมาณการได้รับสัมผัสสารalachlor เข้าสู่ร่างกายผู้พ่นสารในแปลงปลูกคะน้า โดยใช้เกณฑ์ การประเมินอ้างอิงของ Pesticide Risk Assessment (U.S. EPA, 2005 and U.S. EPA, 1998) กำหนด ค่า NOEAL มีค่าเท่ากับ 0.5 - 15 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน คำนวณหาค่าขอบเขตความปลอดภัยจากการได้รับสารพิษ (MOE) เท่ากับ 10.64 - 319.15 ซึ่งค่า MOE มีค่าน้อยกว่า 100 ถือว่าเกษตรกรมีความเสี่ยงจากการใช้สารalachlor ในแปลงปลูกคะน้า ดังตารางที่ 3 โดยเกณฑ์ค่า MOE มากกว่าหรือเท่ากับ 100 ถือว่าเป็น ระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้ (U.S. EPA, 2005)

ตารางที่ 2 ปริมาณ alachlor บนแผ่นผ้าที่ปนเปื้อนบนร่างกาย น้ำล้างมือ และน้ำล้างเท้าของผู้พ่นสาร

| ตำแหน่งติดแผ่นผ้า (Region of body) | พื้นที่ผิว (Surface area) (cm ²) | ปริมาณปนเปื้อน บนแผ่นผ้า (µg/100 cm ²) | Penetration factor | ปริมาณปนเปื้อน ที่สัมผัสร่างกาย (µg/ region) |
|--|--|--|--------------------|--|
| หัว - หมวก | 1300 | 2.85 | 1.00 | 64.94 |
| - จมูก | | 7.14 | | |
| บ่า 2 | 2910 | 4.99 | 0.08 | 11.76 |
| อก - ใน | 3550 | <0.04 | 0.01 | 1.06 |
| - นอก | | 4.40 | | |
| ศอก 2 | 1210 | 1.81 | 0.08 | 1.77 |
| หลัง - ใน | 3550 | 0.09 | 0.16 | 2.70 |
| - นอก | | 0.49 | | |
| ต้นขา 2 | 3820 | 140.44 | 0.97 | 5,203.86 |
| แข้ง - ใน | 2380 | 13.91 | 0.51 | 323.75 |
| - นอก | | 615.87 | | |
| มือ | 820 | | 1.00 | 1,209.09 |
| เท้า | 1310 | | 1.00 | 3.17 |
| รวมปริมาณสารพิษปนเปื้อนร่างกายระหว่างการพ่นนาน 14 นาที | | | | 6,822.09 |
| ปริมาณสารพิษปนเปื้อนร่างกายระหว่างการพ่นนาน 14 นาที ต่อวัน | | | | 38,203.72 |
| เกษตรกรมีน้ำหนักเฉลี่ย 82 กิโลกรัม จึงมีปริมาณสารพิษปนเปื้อนร่างกาย/น้ำหนักตัว/วัน | | | | 0.47 mg/kg bw/day |

ตารางที่ 3 ระดับความเสี่ยงจากปริมาณการได้รับสาร alachlor เข้าสู่ร่างกายผู้พ่นในแปลงคณน้ำ

| ผู้ปฏิบัติงาน | ความเป็นพิษ | alachlor (mg/kg bw/day) | % Absorption | Absorbed dose (mg/kg bw/day) | NOAEL ¹⁾ (mg/kg/day) | MOE ²⁾ | ระดับความ เสี่ยง |
|---------------|----------------------|-------------------------------|-----------------|---------------------------------------|------------------------------------|-------------------|---------------------|
| ผู้พ่นสาร | Sub chronic Toxicity | 0.47 | 10 | 0.05 | 15 | 319.15 | Accept |
| | chronic Toxicity | 0.47 | 10 | 0.05 | 14 | 297.87 | Accept |
| | chronic Toxicity | 0.47 | 10 | 0.05 | 2.5 | 53.19 | Risk |
| | carcinogenicity | 0.47 | 10 | 0.05 | 0.5 | 10.64 | Risk |

หมายเหตุ: 1) NOAEL = No Observed Adverse Effect Level คือ ค่าสูงสุดของปริมาณสารพิษที่ใช้ในการทดลองที่ไม่ทำให้เกิดผลอันไม่พึงประสงค์ทางพิษวิทยาของ alachlor

2) MOE = Margin of Exposure คือ ค่าขอบเขตความปลอดภัยจากการได้รับสารพิษ ค่ายิ่งต่ำยิ่งมีความเสี่ยงสูง

3. ปริมาณสารพิษตกค้างของalachlor ในดิน น้ำ และตะกอนดิน

ผลการตรวจวิเคราะห์ดินหลังการพ่น พบการตกค้างของสารalachlor ในดินทุกตัวอย่าง ตั้งแต่หลังพ่นจนถึง 30 วัน ปริมาณเฉลี่ย $9.50 \pm 1.25 - 0.04 \pm 0.02$ มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักดินแห้ง มีปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดหลังพ่น 0 วัน เนื่องจากลักษณะทางกายภาพของเนื้อดินเป็นดินร่วน มีอินทรีย์วัตถุค่อนข้างต่ำ (1.15%) ดินมีค่า pH เท่ากับ 8.3 มีลักษณะเป็นต่าง ปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อการย่อยสลายสารกำจัดวัชพืชalachlor ในดิน คือ จุลินทรีย์ อินทรีย์วัตถุ และชนิดของเนื้อดิน (Janaki *et al.*, 2015; Weber and Peter, 1982) ดินเหนียวที่มีอินทรีย์วัตถุ 5.1 เปอร์เซ็นต์ ที่ pH 7.5 ใช้เวลา 17.1 วัน การย่อยสลายของสารalachlor ยังขึ้นอยู่กับระยะเวลาและค่า pH ที่เพิ่มขึ้น (Patakioutas and Albanis, 2002) นอกจากนี้ในประเทศไทยมีรายงานการวิจัยของ มลิสสา และคณะ (2564) ตรวจพบสารalachlor ในดินแหล่งปลูกพืช ปริมาณ $0.01-0.02$ มิลลิกรัม/กิโลกรัม เช่นเดียวกับ จารุพงศ์ และคณะ (2562) ตรวจพบalachlor ในดินแปลงปลูกคะน้า จังหวัดขอนแก่น $0.01 - 0.06$ มิลลิกรัม/กิโลกรัม ส่วน Hunt *et al.* (1980) พบalachlor ในดินแปลงปลูกกะหล่ำปลี ตั้งแต่วันพ่นจนถึง 74 วัน $0.72 - 0.08$ มิลลิกรัม/กิโลกรัม เช่นเดียวกับรายงานการตรวจพบalachlor ในตัวอย่างดินแปลงปลูกทานตะวัน ตั้งแต่วันพ่นจนถึง 45 วัน $0.88 - 0.08$ มิลลิกรัม/กิโลกรัม (Janaki, *et al.*, 2015) ส่วนในวันเก็บเกี่ยวผลผลิตคะน้าไม่พบการตกค้างของสารalachlor ในดิน

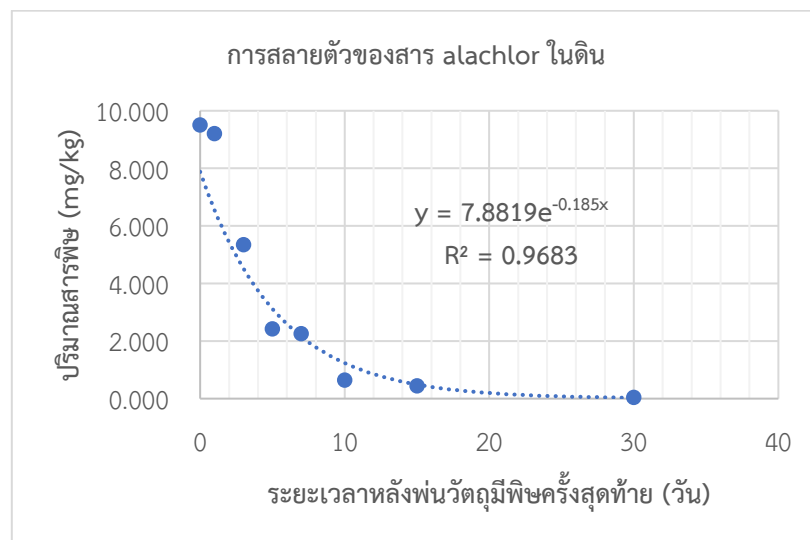
น้ำพบปริมาณสารalachlor ตั้งแต่หลังพ่นจนถึง 15 วัน $1.68 \pm 0.44 - 0.09 \pm 0.07$ ไมโครกรัม/ลิตร พบการตกค้างสูงสุดหลังพ่น 0 วัน ซึ่งปริมาณalachlor ที่ตรวจพบมีค่าต่ำกว่าเกณฑ์ค่าสูงสุดที่ยอมให้มีการปนเปื้อนของalachlor ในน้ำดื่มของ U.S.EPA (2018) ที่กำหนดไม่เกิน 2 ไมโครกรัม/ลิตร เนื่องจากบ่อและคลองส่งน้ำอยู่ห่างจากแปลงคะน้า น้ำเกิดการหมุนเวียนตลอดเวลา มีของแข็งละลายน้ำ (Total Dissolved Solid; TDS) ระหว่าง 122 - 287 มิลลิกรัม/ลิตร ที่ pH 6.2 - 8.2 อุณหภูมิเฉลี่ย 27.5 - 35.8 องศาเซลเซียส ซึ่งalachlor มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ปานกลาง 170 - 179 มิลลิกรัม/ลิตร ที่ pH 7-9 อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และสามารถสลายตัวได้อย่างรวดเร็วด้วยแสงแดด เกิดปฏิกิริยา hydrolysis ที่ pH 7 (Camazano *et al.*, 2003) และในตัวอย่างตะกอนดิน ตรวจไม่พบการตกค้างในทุกตัวอย่าง เนื่องจากปริมาณสารที่ตรวจพบในน้ำค่อนข้างต่ำ จึงทำให้ไม่เกิดการสะสมและดูดซับในตะกอนดิน ในปี 1979 - 1987alachlor ตรวจพบในน้ำผิวดินและน้ำบาดาลใน 10 รัฐ ของอเมริกา <math><0.1 - 16.6</math> ไมโครกรัม/ลิตร เช่นเดียวกับประเทศอิตาลีในปี 1987 - 1988 ตรวจพบalachlor ในน้ำดื่ม 1.6 ไมโครกรัม/ลิตร น้อยกว่าเกณฑ์ค่าสูงสุดที่ยอมให้มีการปนเปื้อนในน้ำดื่ม ที่กำหนดไว้ไม่เกิน 2 ไมโครกรัม/ลิตร (U.S.EPA, 2018) นอกจากนี้ปี 1981 - 1984 ในประเทศแคนาดา พบสารalachlor ในน้ำผิวดิน 9.1 ไมโครกรัม/ลิตร

นำข้อมูลที่ได้จากตารางที่ 4 ไปศึกษาผลกระทบจากการแพร่กระจาย (Environmental Fate and Transport) ของสารalachlor โดยคำนวณหาค่าการสลายตัวของalachlor และหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารพิษตกค้างกับระยะเวลาหลังพ่นสารalachlor ในช่วงเวลาต่างๆ ได้สมการการสลายตัวของสารalachlor ในแบบ Exponential ดังภาพ 1 คือ $y = ae^{bx}$ จากสมการนำไปคำนวณระยะเวลาที่สารพิษสลายตัวจนลดลงมีปริมาณครึ่งหนึ่ง (half-life; $t_{1/2}$) ด้วยสมการ $t_{1/2} = -0.693/b$ ซึ่งค่าครึ่งชีวิต (half-life; $t_{1/2}$) ของalachlor ในดิน มีค่า 3.8 วัน (ภาพที่ 1) เช่นเดียวกับรายงานการตรวจพบalachlor ในดินแปลงปลูกทานตะวันมีค่าครึ่งชีวิต (half-life, $t_{1/2}$) 9.8 วัน (Janaki *et al.*, 2015) ซึ่งค่าครึ่งชีวิต (half-life; $t_{1/2}$) ของalachlor ในน้ำ มีค่าเท่ากับ 3.3 วัน (ภาพที่2)

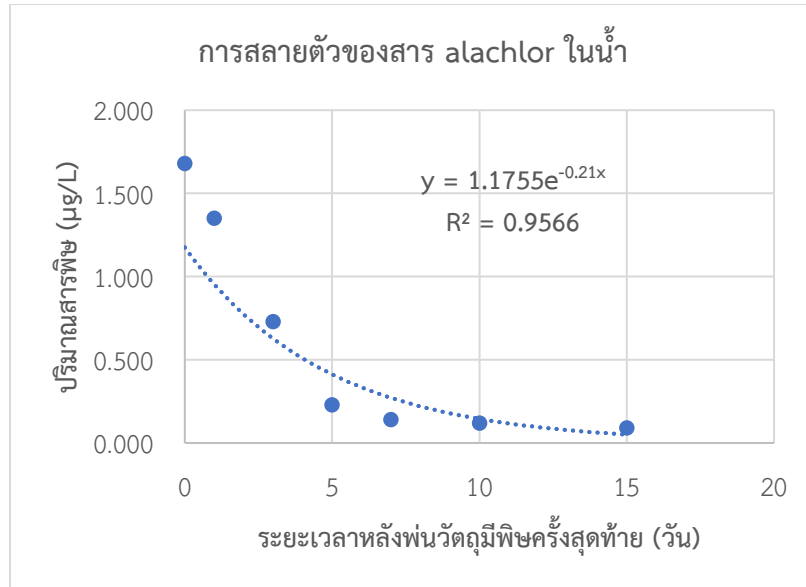
ตารางที่ 4 ปริมาณสาร alachlor ตกค้างในดิน น้ำ และตะกอนดิน หลังพ่นในแปลงคะน้า

| วันหลังพ่น | ปริมาณสาร alachlor เฉลี่ยในดิน หลังพ่น (mg/kg) (N= 6) | ปริมาณสาร alachlor เฉลี่ยในน้ำ หลังพ่น (µg/L) (N = 6) | ปริมาณสาร alachlor เฉลี่ยในตะกอนดินหลังพ่น (mg/kg) (N = 6) |
|--------------------|--|--|---|
| 0 | 9.50 ± 1.25 | 1.68 ± 0.44 | ND |
| 1 | 9.20 ± 1.96 | 1.35 ± 0.87 | ND |
| 3 | 5.35 ± 4.45 | 0.73 ± 0.28 | ND |
| 5 | 2.42 ± 1.16 | 0.23 ± 0.23 | ND |
| 7 | 2.26 ± 0.69 | 0.14 ± 0.09 | ND |
| 10 | 0.64 ± 0.21 | 0.12 ± 0.06 | ND |
| 15 | 0.44 ± 0.40 | 0.09 ± 0.07 | ND |
| 30 | 0.04 ± 0.02 | ND | ND |
| วันเก็บเกี่ยว (45) | <LOQ | ND | ND |

หมายเหตุ: ดินและตะกอนดิน; Limit of Detection; LOD = 0.01 mg/kg dry weight ; Limit of Quantification; LOQ = 0.04 mg/kg, น้ำ; Limit of Detection; LOD = 0.01 µg/L ; Limit of Quantification; LOQ = 0.04 µg/L , ND = ND = not detected, ดิน และน้ำ ±; standard of deviation of 6 replicates.



ภาพที่ 1 แสดงอัตราการสลายตัวของ alachlor ในดิน



ภาพที่ 2 แสดงอัตราการสลายตัวของalachlor ในน้ำ

4. ปริมาณการตกค้างของalachlor ในคะน้ำที่ระยะเก็บเกี่ยว

ผลการตรวจวิเคราะห์ไม่พบสารพิษตกค้างในคะน้ำทุกตัวอย่างที่ระดับ LOQ 0.07 และ LOD 0.02 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL) ของalachlor ในคะน้ำ ของสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติยังไม่มีค่ากำหนด แต่จากรายงานของ Arshveer (2020) ค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL) ของalachlor ในอ้อย 0.1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

5. ความเสี่ยงของสารalachlor ในดินและน้ำที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพ และสิ่งแวดล้อม

จากการประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพจากการรับสัมผัสทางผิวหนังกับดินและน้ำที่ปนเปื้อน (Exposure and Risk Assessment) ของเกษตรกรผู้ปลูกคะน้ำ ช่วงอายุ 6 – 12 ปี และผู้ใหญ่ 70 ปี ในดินมีค่าเฉลี่ย 5.69×10^{-3} และ 1.15×10^{-3} และในน้ำมีค่าเฉลี่ย 3.75×10^{-3} และ 1.93×10^{-3} ซึ่งค่า HQ จากการคำนวณในตารางที่ 5 พบว่าความเสี่ยงอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ ($HQ < 1$) แสดงว่าการใช้สารกำจัดวัชพืชalachlor ไม่มีความเสี่ยงต่อสุขภาพของเกษตรกร และเมื่อนำไปประเมินความเสี่ยงที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม (Environmental Effects; Ecological risk assessment) ด้วยค่าความเสี่ยง (Risk quotient; RQ) ในดินและน้ำมีค่าเฉลี่ย 1.68×10^{-4} - 9.50×10^{-1} ถือว่าไม่มีความเสี่ยง ($RQ < 1$)

ตารางที่ 5 ประเมินความเสี่ยงของสารalachlor ในดินและน้ำที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพ และสิ่งแวดล้อม

| Samples | Concentration | | Hazard quotient (HQ) | | Risk quotient (RQ) | Risk Levels |
|---------------------------|---------------|------|-------------------------|-----------------------|-----------------------|--------------------------------|
| | Min | Max | Child | Adult | | |
| Soil (mg/kg) | 0.04 | 9.50 | 5.69×10^{-3} | 1.15×10^{-3} | 9.50×10^{-1} | ¹⁾ acceptable risk |
| water ($\mu\text{g/L}$) | 0.09 | 1.68 | 3.75×10^{-3} | 1.93×10^{-3} | 1.68×10^{-4} | ²⁾ no hazard exists |

หมายเหตุ : 1) HQ >1 หมายถึง สารalachlor ตกค้างอยู่ในระดับเสี่ยงต่อเกษตรกร (Risk) , HQ <1 หมายถึง สารalachlor ตกค้างอยู่ในระดับยอมรับได้ (acceptable risk)

2) หากค่า RQ ≤ 1 แสดงว่าไม่มีความเสี่ยง (No immediate concern), ถ้าค่า RQ 1-10 แสดงว่ามีความเสี่ยงเล็กน้อย (Of concern if supply volumes increase), ถ้าค่า RQ 10-100 แสดงว่ามีความเสี่ยง การลดความเสี่ยงจะต้องนำข้อมูลอื่นที่เกี่ยวข้องมาพิจารณาร่วมด้วย (Further data require) และถ้าค่า RQ >100 แสดงว่ามีความเสี่ยงสูงต้องดำเนินการลดความเสี่ยงทันที (Reduce risk immediate) (ECB, 2003 and ECHA,2008)

สรุปผลการทดลอง

การประเมินความเสี่ยงของสารกำจัดวัชพืชalachlor 48% W/V EC ในแปลงคະນ້າ จังหวัดนครปฐม หลังการพ่นสาร พบalachlor ตกค้างในดินและน้ำ สูงสุดหลังการพ่น 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นจะพบในปริมาณน้อยลง โดยในดินพบตั้งแต่ $0.04 \pm 0.02 - 9.50 \pm 1.25$ มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักดินแห้ง ในน้ำ $0.09 \pm 0.07 - 168 \pm 0.44$ ไมโครกรัม/ลิตร ส่วนในตะกอนดินและคະນ້าไม่พบการตกค้างของalachlor โดยalachlor มีค่าครึ่งชีวิต (half - life; $t_{1/2}$) ในดิน 3.8 วัน และในน้ำ 3.3 วัน เมื่อประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพด้วยค่า Hazard quotient (HQ) ในช่วงอายุ 6 - 12 ปี และ 70 ปี ดินมีค่าเฉลี่ย 5.69×10^{-3} และ 1.15×10^{-3} และในน้ำมีค่าเฉลี่ย 3.75×10^{-3} และ 1.93×10^{-3} ซึ่ง HQ <1 ถือว่าอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ และประเมินผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมด้วยค่า Risk quotient (RQ) ในดินและน้ำมีค่าเฉลี่ย $1.68 \times 10^{-4} - 9.50 \times 10^{-1}$ ถือว่าไม่มีความเสี่ยง (RQ < 01) แสดงว่าการใช้สารalachlor มีความเสี่ยงต่อสุขภาพเกษตรกรผู้ใช้ แต่ไม่มีความเสี่ยงต่อสุขภาพผู้รับสัมผัสดิน น้ำ และผู้บริโภคคະນ້า และไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้นเพื่อความปลอดภัย เกษตรกรผู้ใช้ควรสวมอุปกรณ์ป้องกันในการปฏิบัติงาน เพื่อลดความเสี่ยงอันตรายจากการใช้สารกำจัดวัชพืช

คำขอขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณด้านวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (ววน.) ตามกรอบการสนับสนุนงานวิจัยมูลฐาน (Fundamental Fund) จากสำนักงานคณะกรรมการการส่งเสริมวิทยาศาสตร์วิจัยและนวัตกรรม (สกว.) ผ่านกรมวิชาการเกษตร ตามรหัสการทดลอง FF65-58-01-65-01-04-66 นอกจากนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณเกษตรกร ในตำบลมาบแค อำเภอเมืองนครปฐม จังหวัดนครปฐม และบุคลากรกลุ่มวิจัยผลกระทบจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตรที่ให้ความช่วยเหลือในการดำเนินงานวิจัย

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. นำข้อมูลที่ได้แนะนำเกษตรกรในการใช้ alachlor ในแหล่งปลูกคะน้าได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม เพื่อป้องกันการเกิดปัญหาสารพิษตกค้างที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพเกษตรกรผู้ใช้ ผู้บริโภคคะน้า และส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม
2. เพื่อเป็นข้อมูลทางวิชาการแก่นักศึกษา นักวิชาการ ใช้ประกอบในการทำวิจัยด้านการประเมินความเสี่ยงของสารกำจัดวัชพืช
3. ถ่ายทอดองค์ความรู้จากการวิจัยโดยการเผยแพร่ในรายงานผลการวิจัยประจำปี และการประชุมวิชาการในระดับชาติ รวมทั้งเผยแพร่ในวารสารวิชาการภายในประเทศ

เอกสารอ้างอิง

- กลุ่มวิจัยวัชพืช. 2554. คำแนะนำการป้องกันกำจัดวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืชปี 2554. สำนักวิจัยการพัฒนากาารอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 133 น.
- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2566. “เนื้อที่เพาะปลูกคะน้าในประเทศไทยปี พ.ศ. 2565”. แหล่งข้อมูล <https://production.doae.go.th/service/report-product-> สืบค้น: 15 กันยายน 2566.
- จารุงศ์ ประสพสุข, สุวิทย์ เลหาศิริวงศ์, อรุณี พรหมคำบุตร และชุลีมาศ บุญไทย อิวาย. 2562. การประเมินความเสี่ยงสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้างในดินต่อสุขภาพของเกษตรกรผู้ปลูกคะน้าในจังหวัดขอนแก่น. วารสารวิชาการเกษตร: ปีที่ 37 ฉบับที่ 3 กันยายน - ธันวาคม. น. 272-285.
- มลิสา เวชยานนท์, อำนวย กะฐินเทศ, จันทิมา ผลกอง และ สิริพร เหลืองสุชนกุล. 2564. การประเมินผลกระทบของสารตกค้างไกลโฟเซต อะทราซีน และอะลาคลอร์ในดิน. ผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2564 เล่ม 2. กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. น. 51-57.
- วิจิตรา เหลียวตระกูล, วชิรญา เหลียวตระกูล, ปรียานุช เพ็ญเลี้ยงชีพ และรวีวรรณ เต็มขันมณี. 2563. การตรวจสอบสารเคมีตกค้างกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมตในผักสดในจังหวัดพระนครศรีอยุธยาและประสิทธิภาพในการล้างผักต่อสารเคมีตกค้างในผักคะน้า. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 2563. น. 131- 138.
- สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2565. “รายงานสรุปการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตรปี พ.ศ. 2565”. แหล่งข้อมูล <https://www.doa.go.th/ard/wp-content/uploads/2023/03A2.pdf>. สืบค้น: 2 กุมภาพันธ์ 2566.
- AOAC. 2016. Organophosphorus Pesticide. General Multiresidue Method. Association of Official Analytical Chemists Method 970.52.
- Arshveer Singh Brar. 2020. Herbicide in soil, crop produce and in underground water: A review. Chemical Studies. 8(6): 1173-1175.
- Babic, S., M. Petrovic and K. Kastelan-Macan. 1998. Ultrasonic solvent extraction of Pesticides from soil. Chromatography Analysis. 823: 3-9.
- Back, C.A. 1965. Method of soil analysis: part I physical and mineralogical properties. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, USA.
- Bloomfield F. 2017. Alachlor-toxicity, side effects, diseases and environmental impacts. Available at: <https://www.naturalpedia.com/alachlor-toxicity-side-effects-diseases-and-environmental-impacts.html>. Assessment : March 18, 2022.

- Camazano M., LF. Lorenzo and MJ. Martin. 2003. Atrazine and alachlor inputs to surface and ground waters in irrigated corn cultivation areas of castilla-leon region, Spain. *Environment monitoring and assessment*. 105: 11-24.
- ECB. 2003. Technical Guidance Document on Risk Assessment. Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for new notified substances. [Online]. European Chemicals Bureau. Available at: echa.europa.eu/documents/10162/987906/tgdpart2_2ed_en.pdf/138b7b71-a069-428e-9036-62f4300b752f. Assessment : March 18, 2022.
- ECHA. 2008. Guidance on information requirements and chemical safety assessment, chapter R.10: characterization of dose [concentration]-response for environment. [Online]. European Chemicals Agency. Available at: https://echa.europa.eu/documents/10162/13632/%20information_%20requirements_%20r10_en.pdf/bb902be7-a503-4ab7-9036-d866b8ddce69. Assessment : March 18, 2022.
- Emine G. Bakirdere. 2018. Simultaneous determination of alachlor, bifenoxy and nitrofen as herbicides in lake, municipal wastewater and soil sample by gas chromatography mass spectrometry. *science and Technology*. 13: 108-111.
- Environmental and Occupational Health. 2003. Harmful Effect of Alachlor. Available at: <http://enhs.umn.edu/current/5103/pesticide/harmful.html>. Assessment : March 18, 2018.
- EN 15662. 2008. Foods of plant origin - Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LCMS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE – QuEChERS method.
- Farina, Y., Abdullah, M. P., Bibi N. and W. M. A. W. M. Khalik. 2016. Pesticide Residues in Agricultural Soil and Health Assessment for Humans in Cameron Highland Malaysia. *Analytical Sciences*, 20(6): 1346-1358.
- Hunt T.W., T.J. Monaco and T.J. Sheets. 1980. Residue and Efficacy Studies of Alachlor on Cabbage and soil. *Amer. Soc. Hort. Sci.* 105(6): 929-932.
- IUPAC. 2019. "Global availability of information on agrochemicals. Pesticide Properties DataBase". Available at: <https://www.sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/atoz.htm>. Assessment: March 18, 2018.
- Janaki P., C. Chinnusamy, N. Sakthivel and C. Nithya. 2015. Field dissipation of pendimethalin and alachlor in sandy clay loam soil and its terminal residues in sunflower (*Helianthus annuus L.*) *Applied and Natural Science* 7 (2): 709-713.
- Kumar, B., Verma, V.K., Mishra, M., Gaur, R., Kumar, S. and C.S. Sharma. 2014. DDT and HCH (Organochlorine Pesticides) in residential soils and health assessment for human populations in Korba, India. *Human and Ecological Risk Assessment*. 20: 1538-1549.
- Patakioutas, G. and T.A. Albanis. 2002. Adsorption-desorption studies of alachlor, metolachlor, EPTC, chlorothalonil and pirimiphos-methyl in contrasting soils. *Pest Management Science*. 58: 352-362.

- Redeerat, M., P. Kongtip, N. Nankongnab, M. Tipayamongkhogul, A. Bunngamchairat, W. Yoosook and S. Woskie. 2018. Evaluation of Dermal Exposure to the Herbicide Alachlor Among Vegetable Farmers in Thailand. *Annals of Work Exposures and Health*. 9: 1147-1158.
- Ronald C. W., J. Melendres and H. I. Maibach. 2009. In vivo percutaneous absorption and skin decontamination of alachlor in rhesus monkey. *Journal of Toxicology and Environmental*.
- SANTE/11312.2021. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed. [Online]. Available at: https://food.ec.europa.eu/system/files/2023-11/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2021-11312.pdf. Assessment : February 3, 2024.
- U.S. EPA, 1994. Organophosphorus compound by Gas Chromatography capillary column technique. In-house method. 2005. EPA method 8141A, Revision 1.
- U.S.EPA, 1998. Reregistration Eligibility Decision (RED) Alachlor. Available at: <http://www.epa.gov/opp00001/reregistration/REDS/0063.pdf>. Assessment : March 30, 2022.
- U.S.EPA. 2005. Characterizing Risk and Hazard. Human Health Risk Assessment Protocol, U.S. Environmental Protection Agency, Washington D.C.
- U.S. EPA. 2008. Child-Specific Exposure Factors Handbook. EPA/600/R-06/ 096F. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC. 687 pp.
- U.S. EPA. 2009. Occupational and Residential Exposure Test Guidelines: OPPTS 875.2400 Dermal Exposure. Available from: <https://www.regulations.gov/document?D=EPA-HQOPPT-2009-0157-0012> . Assessment : March 30, 2022.
- US. EPA. 2018. National Primary Drinking Water Regulations. United States Environmental Protection Agency. Available at: <http://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/national-primary-drinking-water-regulations>. Assessment : Feb 10, 2022.
- US.EPA. 2019. Integrated Risk Information System. IRIS Assessments. Available at: <https://www.epa.gov/iris>. Assessment : Feb 10, 2022.
- Wayne, T.S., V. Ringgenberg, and R. Biagini. 2010. Exposure of commercial pesticide applicators to the herbicide alachlor. *American Industrial Hygiene Association*. 56(9): 890 - 897.
- Weber, J.B. and J. Peter. 1982. Adsorption, bio-activity, and evaluation of soil tests for alachlor, acetochlor, and metolachlor. *Weed Science*.30: 14 - 20.
- WHO. 2003. Alachlor in Drinking-water. Available at: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/wash-documents/wash-chemicals/alachlor.pdf?sfvrsn=4965c100_6. Assessment : March 18, 2022.

ภาคผนวก



ภาพที่ 1 ประเมินความเสี่ยงของสารต่อเกษตรกรผู้ใช้จากแผ่นผ้าที่ติดบนร่างกาย และพ่นสารในแปลง



ภาพที่ 2 ขั้นตอนการเก็บตัวอย่างน้ำล้างมือ น้ำล้างเท้าของผู้พ่นสาร แผ่นผ้าที่ติดบนร่างกายผู้พ่นสาร



ภาพที่ 3 การสุ่มเก็บตัวอย่างดิน น้ำ ตะกอนดิน และคะน้ำที่ระยะเก็บเกี่ยว ในแปลงทดลอง

การสำรวจสารพิษตกค้างในคะน้า กวางตุ้ง และผักกาดหอม จากแหล่งผลิตบริเวณ
จังหวัดนนทบุรี ปทุมธานี และนครปฐม

Monitoring pesticide residues in Chinese broccoli, Flowering white
cabbage and Lettuce from plantation area in Nonthaburi, Pathum Thani
and Nakhon Pathom Provinces

วนิดา สุขประเสริฐ¹ บุญทวีศักดิ์ บุญทวี¹ มัลลิกา ทองเขียว² วิทยา บัวศรี¹

Wanida Sukprasert¹ Boonthaweesak Boonthawee¹ Malliga Thongkheaw² Wittaya Buasri¹

กลุ่มวิจัยวัฏภูมิพิชการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The notification of safety issues in Thai exported plant products prompted an investigation into the presence of pesticide residues exceeding the Maximum Residue Limits (MRLs). Samples of Chinese broccoli, flowering white cabbage, and lettuce were randomly collected from plantations in Nonthaburi, Pathum Thani, and Nakhon Pathom provinces from December 2021 to September 2023, totaling 331 samples (90 Chinese broccoli, 112 flowering white cabbage, and 129 lettuce). The 225 pesticide residues, including organophosphates, carbamates, fungicides, herbicides, and other insecticides, were analyzed using liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) and gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS). Results revealed pesticide residues in 132 samples, constituting 40% of the total samples. Notably, residues were found in 56% of Chinese broccoli, 51% of flowering white cabbage, and 25% of lettuce samples. The detected pesticides included acetamiprid, bifenthrin, cypermethrin, carbaryl, oxadiazon, l-cyhalothrin, metalaxyl, omethoate, and profenofos; the concentrations ranged from 0.01 to 4.38 mg/kg. Seventy-one samples (21%) exceeded the MRLs, with flowering white cabbage showing the highest residue levels of cypermethrin at 4.38 mg/kg, surpassing the Codex MRL of 0.7 mg/kg for leafy vegetables, may cause short-term health risks. However, the values are used to assess the risk of toxic residues in food evaluated together with the daily consumption amount found that the Hazard quotient (HQ) had a value of less than 1 in both children, ages 6-12 years, and adults, ages 65 and over, with HQ values equal to 0.21 and 0.12, respectively. This result was considered safe for long-term consumption.

Keywords: pesticide residues, plantations area, Maximum Residues Limits (MRLs), Hazard quotient (HQ)

¹ กลุ่มวิจัยวัฏภูมิพิชการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

¹ Agricultural Toxic Substance Research Group, Agricultural Production Science Research and Development Division

² กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4

² Development of Inspection for Crop and Production Group, Office of Agricultural Research and Development Region 4

บทคัดย่อ

จากข้อมูลที่ได้รับการแจ้งเตือนปัญหาความไม่ปลอดภัยในสินค้าพืชที่ส่งออกของไทย มีการตรวจพบสารตกค้างในตัวอย่างเกินค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (Maximum Residues Limits : MRLs) ที่กำหนดไว้ ซึ่งมีความสำคัญมากสำหรับเป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อแจ้งเตือนความปลอดภัยทางด้านอาหาร และใช้สำหรับการกำหนดแนวทางเพื่อนำไปสู่การจำกัดการใช้สารเคมีวัตถุอันตรายทางการเกษตร ดังนั้นจึงได้สำรวจสารพิษตกค้างจากบริเวณแหล่งผลิต โดยทำการสุ่มเก็บตัวอย่างคะน้า กวางตุ้ง และผักกาดหอม จากแปลงปลูกพืชของเกษตรกรบริเวณจังหวัดนนทบุรี ปทุมธานี และนครปฐม ช่วงเวลาระหว่างเดือนธันวาคม 2564 ถึง กันยายน 2566 รวมทั้งสิ้น 331 ตัวอย่าง ได้แก่ ตัวอย่างคะน้า 90 ตัวอย่าง กวางตุ้ง 112 ตัวอย่าง และผักกาดหอม 129 ตัวอย่าง นำมาตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต คาร์บาเมต ไพรีทรอยด์ สารพิษตกค้างของสารป้องกันกำจัดโรคพืช สารกำจัดวัชพืช และสารกำจัดแมลงชนิดอื่นๆ รวม 225 ชนิด ด้วยเทคนิคทางโครมาโตกราฟี โดยใช้เครื่อง LC-MS/MS และ GC-MS/MS ผลปรากฏว่า ตรวจพบสารพิษตกค้างในคะน้า กวางตุ้ง และผักกาดหอม รวม 132 ตัวอย่าง คิดเป็น ร้อยละ 40 ของตัวอย่างทั้งหมด ซึ่งพบในคะน้า 50 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 56 กวางตุ้ง 57 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 51 และ ผักกาดหอม 32 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 25 สารพิษตกค้างที่ตรวจพบรวม 9 ชนิด ได้แก่ acetamiprid, bifenthrin, cypermethrin, carbaryl, oxadiazon, l-cyhalothrin, metalaxyl, omethoate และ profenofos, ปริมาณที่พบอยู่ในช่วง 0.01- 4.38 มก./กก. ตัวอย่างที่พบเกินค่า MRL จำนวน 71 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 21 พืชที่พบสารพิษตกค้างสูงสุดคือ กวางตุ้ง พบสารพิษตกค้าง cypermethrin ที่ระดับ 4.38 มก./กก. เกินค่า MRLs ที่กำหนดไว้ ซึ่ง Codex กำหนดไว้ในกลุ่มผักใบ (Leafy vegetables (group)) คือ 0.7 มก./กก. อาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพในระยะสั้นแต่เมื่อนำค่ามาประเมินความเสี่ยงของสารพิษตกค้างในอาหาร คำนวณร่วมกับปริมาณการบริโภคต่อวันและค่าปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจพบในตัวอย่าง พบว่าค่า HQ มีค่าน้อยกว่า 1 ทั้งในวัยเด็กช่วงอายุ 6-12 ปี และวัยผู้ใหญ่ ช่วงอายุ 65 ปีขึ้นไป มีค่า HQ เท่ากับ 0.21 และ 0.12 ตามลำดับ ซึ่งถือว่าปลอดภัยต่อการบริโภคในระยะยาว

คำสำคัญ: สารพิษตกค้าง, แหล่งผลิต, ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRLs), ดัชนีชี้วัดความเสี่ยง

บทนำ

ในปัจจุบันมีผักปลอดสารพิษออกมาจำหน่ายมากมาย โดยในท้องตลาดจะมีตราหรือสัญลักษณ์ที่บ่งบอกที่มาของผลิตภัณฑ์เพื่อให้ผู้บริโภคมั่นใจในสินค้าที่ซื้อไป ความตื่นตัวในเรื่องความปลอดภัยด้านอาหารในประเทศไทยเรื่องการบริโภคอาหารธรรมชาติและห่วงใยเกี่ยวกับผลกระทบต่อสุขภาพจากการบริโภคอาหารที่มีสารเคมี การเกษตรตกค้างและปนเปื้อนอยู่มาก ประกอบกับปัญหาผลกระทบทางสิ่งแวดล้อมจากการใช้สารเคมีทางการเกษตร โดยขาดความรับผิดชอบและขาดการควบคุมดูแล และจากข้อมูลแจ้งเตือนปัญหาความไม่ปลอดภัยในสินค้าพืชที่ส่งออกของไทย มีการตรวจพบสารตกค้างในตัวอย่างเกินค่า MRLs (Maximum Residues Limits : MRLs) ที่กำหนดไว้ ดังนั้นการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในผลิตผลการเกษตรถือเป็นเรื่องสำคัญและเร่งด่วน จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งที่จะต้องเร่งดำเนินการ เป็นการเฝ้าระวังติดตาม ตรวจสอบสารพิษตกค้างภายหลังจากการใช้ของเกษตรกร ประเมินความเสี่ยงต่อการบริโภค เพื่อความปลอดภัยต่อเกษตรกร ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อมอย่างยั่งยืน ซึ่งสอดคล้องกับทิศทางการดำเนินงานวิจัยกรมวิชาการเกษตรในการสนับสนุนการปฏิบัติงานตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ. 2535 ที่กรมวิชาการเกษตรรับผิดชอบ ดังนั้นการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ สำรวจสารพิษตกค้างวัตถุอันตรายทางการเกษตรจากแหล่งปลูกพืชที่สำคัญและประเมินความเสี่ยงต่อการบริโภคความปลอดภัยทางด้านอาหาร และเฝ้าระวัง ติดตามหลังจากการใช้ของเกษตรกร เพื่อเป็นข้อมูลในการควบคุมกำกับดูแลด้านวัตถุอันตรายทางการเกษตรของกรมวิชาการเกษตร นำไปสู่ความร่วมมือกัน

ระหว่างหน่วยงานภาครัฐ ภาคประชาสังคม ชุมชน และเกษตรกรในการหาแนวทางในการป้องกัน ลด และควบคุม ความเสี่ยงจากการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชทั้งในระยะสั้นและระยะยาว รวมทั้งออกมาตรการในการใช้สารป้องกัน กำจัดศัตรูพืชให้มีความเหมาะสม ปลอดภัย และการบริหารจัดการในเรื่องการจำกัดการใช้ หรือการห้ามใช้ต่อไป

จากข้อมูลพบว่าชนิดพืชที่มีการแจ้งเตือนดังกล่าว เมื่อแบ่งตามกลุ่มพืชตาม การจัดกลุ่มสินค้าเกษตร: พืช CLASSIFICATION OF AGRICULTURAL COMMODITIES: CROP ของ สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและ อาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ แล้ว สามารถแยกกลุ่มพืชได้ดังนี้ (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตร และอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2559)

คะน้า กวางตุ้งและผักกาดหอม จัดอยู่ในกลุ่มผักใบ (leafy vegetables) ซึ่งเป็นกลุ่มหลัก 013 สินค้า เกษตรกลุ่มนี้รหัส VL 0053 คะน้าและกวางตุ้ง จัดอยู่ในกลุ่มย่อย 013B คือผักใบตระกูลกะหล่ำ (brassica Leafy vegetables) รหัส VL 0054 คะน้า (broccoli, Chinese) รหัส VL 0401 เป็นพืชหลัก และกวางตุ้ง (flowering white cabbage) รหัส VL 0468 เป็นพืชรอง ผักกาดหอม (lettuce, leaf) จัดอยู่ในกลุ่มย่อย 013A ผักใบเขียว (leafy greens) รหัส VL 2050 ครอบคลุมผักใบเขียว ผักกาดหอม รหัส VL 0483 เป็นพืชรอง

ในปี 2555 ลมัย และคณะ (2556) ได้เก็บตัวอย่างผักตระกูลกะหล่ำ จากแหล่งจำหน่ายต่าง ๆ รวมทั้งสิ้น 201 ตัวอย่าง ประกอบด้วย กวางตุ้ง กะหล่ำปลี คะน้า ผักกาดขาว ชนิดละ 34 ตัวอย่าง บล็อกโคลี 32 ตัวอย่าง และกะหล่ำดอก 33 ตัวอย่าง นำมาตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง 132 ชนิด ได้แก่ สารกลุ่ม organophosphate 40 ชนิด carbamate 14 ชนิด pyrethroid 7 ชนิด endosulfan และสารกลุ่มอื่นๆ 70 ชนิด โดยใช้เครื่องมือ GC, GC/MS และ LC/MS/MS พบสารพิษตกค้าง 121 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 60.2 ของตัวอย่างทั้งหมด ผลการ วิเคราะห์แยกตามชนิดพืช กวางตุ้ง พบสารพิษตกค้างคิดเป็นร้อยละ 67.6 ของตัวอย่างกวางตุ้งทั้งหมด ปริมาณ 0.01-9.53 มก./กก. ชนิดของสารที่พบบ่อย ได้แก่ cypermethrin, carbendazim, acetamiprid, profenofos และ chlorfluazuron พบสารพิษตกค้างเกินค่า EU-MRL 10 ชนิด เช่น acetamiprid, profenofos, carbendazim, chlorfluazuron , chlorpyrifos, cypermethrin และ ethion เป็นต้น เกินค่า Japan-MRL 9 ชนิด เช่น profenofos, cypermethrin และ ethion เป็นต้น คะน้า พบสารพิษตกค้างคิดเป็นร้อยละ 70.6 ปริมาณ 0.01-3.55 มก./กก. ชนิดของสารที่พบบ่อย ได้แก่ cypermethrin, metalaxyl, omethoate, parathion-methyl, acetamiprid, chlorfluazuron, carbendazim และ profenofos พบ สารเกิน ค่า EU-MRL 14 ชนิด เช่น cypermethrin, parathion-methyl, acetamiprid, omethoate และ profenofos เป็นต้น เกินค่า Japan-MRL 6 ชนิด เช่น cypermethrin, metalaxyl, dicotophos และ profenofos เป็นต้น

ต่อมาลักษ์มี และคณะ (2559) ที่ได้สุ่มเก็บตัวอย่างคะน้าตามแหล่งผลิตและแหล่งจำหน่ายรวม 18 จังหวัด จำนวน 93 ตัวอย่าง นำมาตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง 105 ชนิด ได้แก่ สารกลุ่ม organophosphate, pyrethroid, endosulfan, carbamate และสารชนิดอื่น ๆ ด้วยเครื่อง GC-ECD/FPD และ LC-MS/MS ตรวจพบสารพิษตกค้างในคะน้าจำนวน 47 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 50.5 ของตัวอย่างทั้งหมด วัตถุประสงค์ที่ตรวจพบ 20 ชนิด ได้แก่ profenofos, cypermethrin, chlorpyrifos, endosulfan, ethion, phenthoate, triflumuron, carbofuran, fenoxacarb, carbofuran, L-cyhalothrin, omethoate, methomyl, acephate, EPN, dimethoate, lufenuron, indoxacarb, dicotophos และ parathion ปริมาณ ที่พบ <0.01-6.47 มก./กก. สารที่พบเกินค่า MRLs ได้แก่ profenofos, cypermethrin, chlorpyrifos, endosulfan, ethion, phenthoate, triflumuron, carbofuran และ fenoxacarb จำนวน 29 ตัวอย่าง คิดเป็น ร้อยละ 31.2 ของตัวอย่างทั้งหมด สารพิษตกค้างที่ตรวจพบเกินค่า MRLs มากที่สุด 5 อันดับแรก ในคะน้า ได้แก่ profenofos, cypermethrin, chlorpyrifos, endosulfan และ ethion เช่นเดียวกับ ศศิมา และคณะ (2559) ทำการสำรวจและสุ่มเก็บตัวอย่างคะน้าจากแหล่งผลิตและแหล่งจำหน่ายในพื้นที่ใกล้เคียงและจังหวัดต่าง ๆ ได้แก่

จังหวัดปทุมธานี นครปฐม สมุทรสงคราม สมุทรสาคร ราชบุรี ลพบุรี และนครสวรรค์ จำนวน 30 ตัวอย่าง ตรวจวิเคราะห์วัฏภูมิพิษ จำนวน 108 ชนิด ด้วยเครื่อง GC และ LC-MS/MS พบสารพิษตกค้างจำนวน 23 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 77 ของตัวอย่างทั้งหมด พบสารพิษตกค้างจำนวนสองชนิดในตัวอย่างเดียว จำนวน 10 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 33 สารพิษที่พบจำแนกได้ ดังนี้ chlorpyrifos 5 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.02-0.64 มก./กก. omethoate 2 ตัวอย่าง ปริมาณที่พบ 0.04 และ 0.22 มก./กก. profenofos 12 ตัวอย่าง ปริมาณที่พบอยู่ในช่วง 0.04-2.88 มก./กก. cypermethrin 5 ตัวอย่าง ปริมาณที่พบอยู่ในช่วง 0.45-5.21 มก./กก. lambda-cyhalothrin 2 ตัวอย่าง ปริมาณที่พบ 0.02 และ 0.03 มก./กก. และ triflumuron 2 ตัวอย่าง ปริมาณที่พบ 0.07 และ 0.08 มก./กก. และ carbofuran 2 ตัวอย่าง ปริมาณที่พบ 0.01 และ 0.05 มก./กก.

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. สารมาตรฐานวัฏภูมิพิษกลุ่ม 129 ชนิด ได้แก่ acetamiprid, ametryn, aminocarb, benalaxyl, bendiocarb, bupirimate, buprofezin, butafenacil, butocarboxim, carbaryl, carbetamide, carbofuran, carboxim, carfentrazone-ethyl, chlorotoluron, chloroxuron, clofentezine, cyazofamid, cycluron, cymoxanil, cyproconazole, cyprodinil, desmedipham, dicrotophos, diethofencarb, difenoconazole, diflubenzuron, dimethirimol, dimethoate, dimethomorph, dimoxystrobin, diniconazole, dioxacarb, diuron, epoxiconazole, ethiofencarb, ethirimol, etoxazole, fenazaquin, fenbuconazole, fenobucarb, fenoxycarb, fenpropimorph, fenpyroximate, fenuron, flufenacet, flufenoxuron, fluometuron, flusilazole, flutolanil, flutriafol, forchlorfenuron, formetanate, furalaxyl, furathiocarb, hexaconazole, hexaflumuron, hexythiazox, imazalil, imidacloprid, indoxacarb, iproconazole, iprovalicarb, isoprocarb, isoproturon, kresoxim-methyl, mandipropamid, mefenacet, mepanipyrim, mepronil, metalaxyl, metconazole, methamidophos, methoprotryne, methoxyfenozide, metribuzin, mevinphos, mexacarbamate, monolinuron, moxidezin, myclobutanil, neburon, nuarimol, oxadixyl, paclobutrazole, penconazole, pencycuron, phenmedipham, picoxystrobin, piperonyl-butoxide, pirimicarb, prochloraz, prometon, prometryne, propagate, propamocarb, propiconazole, propoxur, pyraclostrobin, pyridaben, pyrimethanil, pyriproxyfen, quinoxifen, rotenone, secbumeton, siduron, simetryn, Spinosad A, spiroadiclofen, spiromesifen, tebuconazole, tebufenozide, tebufenpyrad, tebuthiuron, temephos, terbumeton, terbutryn, thiacloprid, thiamethoxam, thidiazuron, thiobencarb, thiophanate-methyl, thiadimefon, thiadimenon, tricyclazole, trifloxystrobin, triflumizole, triflumuron และ zoxamide

2. สารมาตรฐานวัฏภูมิพิษกลุ่มไพรีทรอยด์ จำนวน 17 ชนิด ได้แก่ acrinathrin, allethrin, anthraquinone, bifenthrin, cyfluthrin, lambda-cyhalothrin, cypermethrin, deltamethrin, fenvalerate, flucythrinate, fluvalinate-tau, permethrin, phenothrin, resmethrin, tefluthrin, tetramethrin และ transfluthrin

3. สารมาตรฐานวัตถุที่มีพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส จำนวน 47 ชนิด ได้แก่ azinphos-ethyl, azinphos-methyl, bromfeninfos, bromophos, bromophos-ethyl, carbophenothion, chlorfeninfos, chlorpyrifos, chlorpyrifos-methyl, chlorthiophos, coumaphos, diazinon, disulfoton, edifenphos, EPN, ethion, fenamiphos, fenitrothion, fenthion, fonofos, iodofenphos, isazofos, leptophos, malathion, methacrifos, mevinphos, parathion, parathion-methyl, phorate, phosalone, phosmet, piperonyl butoxide, pirimiphos-ethyl, pirimiphos-methyl, profenofos, prothiophos, pyraclofos, pyrazophos, pyridaphenthion, quinalphos, ronnel (fenchlorphos), sulfotep, sulprofos, terbufos, tetrachlorvinphos, tolclofos และ triazophos

4. สารมาตรฐานวัตถุที่มีพิษกลุ่มสารกลุ่มคาร์บาเมต จำนวน 16 ชนิด ได้แก่ 3-keto-carbofuran, 3-OH-carbofuran, aldicarb, aldicarb-sulfone, carbaryl, carbofuran, carbosulfan, fenobucarb, fenoxycarb, furathiocarb, isoprocarb, methiocarb, methomyl, oxamyl, pirimicarb และ promecarb

5. สารกลุ่มอื่นๆ จำนวน 16 ชนิด ได้แก่ acetochlor, alachlor, ametryn, anilofos, atrazine, azoxystrobin, clothianidin, dinotefuran, diuron, etofenprox, fenuron, linuron, omethoate, piperonyl butoxide, propanil และ thiamethoxam

6. สารเคมีชนิดต่างๆ ได้แก่ acetone, ethyl acetate, acetonitrile, methanol, sodium sulfate anhydrous, PSA, Envi-carb, NaCl, Na₃Citrate dihydrate, Na₂H Citrate sesquihydrate ชนิด analytical และ pesticide residue grade

7. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่าง

8. เครื่องแก้วและอุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดและการเตรียมสารมาตรฐาน

9. เครื่องมือที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องเตรียมตัวอย่าง (Lab Micronizer) เครื่องชั่ง, เครื่องปั่นหมุนเหวี่ยงตกตะกอน (centrifuge), เครื่องเขย่า (vortex), เครื่องเป่าระเหยแห้ง (nitrogen evaporator)

10. เครื่องมือวิเคราะห์ชนิด LC-MS/MS (Liquid Chromatograph High Resolution Mass Spectrometer) และ GC-MS/MS (Gas Chromatograph High Resolution Mass Spectrometer)

11. ตัวอย่างพืช ได้แก่ ค่ะน้ำ กวางตุ้งและผักกาดหอม

วิธีการ

1. สํารวจพื้นที่แหล่งปลูกคะน้ำ กวางตุ้ง และผักกาดหอมที่สำคัญเพื่อการคํ่า เลือกพื้นที่แปลงเกษตรกรจากข้อมูลการปลูกผักคะน้ำ กวางตุ้ง และผักกาดหอม ในพื้นที่จังหวัดนนทบุรี ปทุมธานี และนครปฐม สุ่มตัวอย่างจากแปลงเกษตรกร บันทึกรายละเอียดและลักษณะของตัวอย่าง วันที่ สถานที่เก็บตัวอย่าง แล้วนำมาตรวจวิเคราะห์สารพิษตกคํ่าง

2. การเตรียมตัวอย่างและการสกัดตัวอย่าง โดยสุ่มตัวอย่างคะน้ำ กวางตุ้ง และผักกาดหอม อย่างน้อย 2 กิโลกรัม หั่นให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปปั่นละเอียดกับไนโตรเจนเหลว ด้วยเครื่องเตรียมตัวอย่าง (Lab Micronizer) คนให้เข้ากันอีกครั้ง แล้วสุ่มชั่งตัวอย่างละ 10 ± 0.05 กรัม แบ่งเก็บตัวอย่างสำรองไว้ใน freezer แล้วนำมาสกัดหาสารพิษตกคํ่าง ตามวิธีการที่การที่ได้รับรอง ISO/IEC 17025 ของห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกคํ่าง กลุ่มวิจัยวัตถุพิษการเกษตร

3. คำนวณปริมาณสารพิษตกค้าง โดยวัดพื้นที่ใต้พีค เปรียบเทียบกับพื้นที่สารละลายมาตรฐาน โดยโปรแกรมสำเร็จรูปจากสมการ Linear Regression และต้องมีค่า coefficient of determination (R^2) ไม่น้อยกว่า 0.990 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด

4. รวบรวมข้อมูลสารพิษตกค้างที่ตรวจพบ นำข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้างไปประเมินความเสี่ยงต่อการบริโภค ความปลอดภัยทางด้านอาหาร ด้วยการเปรียบเทียบค่ามาตรฐานสารพิษตกค้าง MRL (Maximum Residue Limit) ของประเทศไทย ตามมาตรฐานสินค้าเกษตร มกษ. 9002-2559 (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2559) และ Codex และจากค่าการคำนวณเมื่อได้รับเข้าสู่ร่างกายด้วยการบริโภคต่อวัน Exposure (mg/kg bw/day) เทียบกับค่า ADI (Acceptable Daily Intake)

ระยะเวลา

เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2566

สถานที่ทำการทดลอง

1. พื้นที่แปลงเกษตรกรบริเวณจังหวัดนนทบุรี ปทุมธานี และนครปฐม
2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษทางการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างคะน้า กวางตุ้งและผักกาดหอม จากแปลงปลูกพืชของเกษตรกรบริเวณจังหวัดนนทบุรี ปทุมธานีและนครปฐม ช่วงเวลาระหว่างเดือนธันวาคม 2564 ถึง กันยายน 2566 รวมทั้งสิ้น 331 ตัวอย่าง ได้แก่ ตัวอย่างคะน้า 90 ตัวอย่าง กวางตุ้ง 112 ตัวอย่าง และผักกาดหอม 129 ตัวอย่าง ตามลำดับ นำมาตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต คาร์บาเมต ไพรีทรอยด์ สารพิษตกค้างของสารป้องกันกำจัดโรคพืช สารกำจัดวัชพืช และสารกำจัดแมลงชนิดอื่นๆ รวม 213 ชนิด ด้วยเทคนิคทางโครมาโตกราฟี โดยใช้เครื่อง LC-MS/MS และ GC-MS/MS ผลปรากฏว่า ตรวจพบสารพิษตกค้างในคะน้า กวางตุ้ง และผักกาดหอม รวม 139 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 40% ซึ่งพบในคะน้า 50 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 56 กวางตุ้ง 57 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 51 และผักกาดหอม 32 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 25 ตามลำดับ สารพิษตกค้างที่ตรวจพบรวม 9 ชนิด ได้แก่ acetamiprid, bifenthrin, cypermethrin, carbaryl, oxadiazon, l-cyhalothrin, metalaxyl, omethoate และ profenofos, ปริมาณที่พบอยู่ในช่วง 0.01- 4.38 มก./กก. ตัวอย่างที่พบเกินค่า MRL จำนวน 71 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 21 พืชที่พบสารพิษตกค้างสูงสุดคือ กวางตุ้ง พบสารพิษตกค้าง cypermethrin 4.38 มก./กก. เกินค่า MRLs ที่ Codex กำหนดไว้ในกลุ่มผักใบ (Leafy vegetables (group)) คือ 0.7 มก./กก. อาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพในระยะสั้น แต่เมื่อนำค่ามาประเมินความเสี่ยงของสารพิษตกค้างในอาหาร คำนวณร่วมกับปริมาณการบริโภคต่อวันและค่าปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจพบในตัวอย่าง พบว่าค่า HQ มีค่าน้อยกว่า 1 ทั้งในวัยเด็กช่วงอายุ 6-12 ปี และวัยผู้ใหญ่ ช่วงอายุ 65 ปีขึ้นไป มีค่า HQ เท่ากับ 0.09 และ 0.10 ตามลำดับ ซึ่งถือว่าปลอดภัยต่อการบริโภคในระยะยาว ผลการวิเคราะห์สารพิษตกค้างในตัวอย่างคะน้า กวางตุ้งและผักกาดหอม แสดงดัง Table 1-3

Table 1 Residual types and concentrations detected in Chinese broccoli samples

| Total No. of samples | No. pesticide | Residual types in Chinese broccoli | | | MRL (mg/kg) | | | |
|----------------------------|------------------|------------------------------------|--------------------------|--------------------|---------------------------|-----------------------------------|---------------------|------------------|
| | | No. of Detected sample | concentration (mg/kg) | Thai ^{1/} | Codex ^{2/} | EU ^{3/} | Japan ^{4/} | |
| 90 | 8 ชนิด | 50 | 0.01 - 1.79 | | | | | |
| | 1 | bifenthrin | 23 | 0.04 - 0.08 | 0.05 | - | 0.01 | 0.5 (Ab 2007) |
| | 2 | cypermethrin | 28 | 0.03 - 0.15 | 1.0 (cabbage, head) | 0.7 (2009 leafy vegetables) | 1.0 | 1.0 |
| | 3 | carbaryl | 7 | 0.14 | 1.0 (cabbage, head) | - | - | 1.0 |
| | 4 | lambda- cyhalothrin | 29 | 0.04 - 0.11 | 0.3 (cabbage, head) | 0.5 (2009 Chinese broccoli) | - | - |
| | 5 | omethoate | 15 | 0.05 - 0.27 | - | - | - | - |
| | 6 | acetamiprid | 12 | 0.02 | - | 0.4 | - | 5.0 |
| | 7 | oxadiazon | 22 | 0.01 - 0.20 | - | - | - | - |
| | 8 | profenofos | 14 | 0.02 - 0.07 | 0.5 (cabbage, head) | - | - | - |

หมายเหตุ : ข้อมูล วันที่ 30 เดือนกันยายน 2566 จาก 331 ตัวอย่างและใช้อ้างอิงในตัวอย่างที่วิเคราะห์เท่านั้น

ที่มา : 1/ Thai MRL ; มาตรฐานสินค้าเกษตร มกษ. 9002-2559 สารพิษตกค้าง : ปริมาณสารพิษตกค้าง

2/ Codex MRL ; <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/en/>

3/ EU MRL ; http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index

4/ Japan MRL ; <http://www.m5.ws001.squarestart.ne.jp>

Table 2 Residual types and concentrations detected in Flowering white cabbage samples

| Total No. of samples | No. pesticide | Residual types in Flowering white cabbage | | | MRL (mg/kg) | | | |
|----------------------------|------------------|---|--------------------------|-------------|---------------------------|------------------------------|------------------|----------------------------|
| | | No. of Detected sample | concentration (mg/kg) | | Thai ^{1/} | Codex ^{2/} | EU ^{3/} | Japan ^{4/} |
| 112 | 4 ชนิด | 57 | 0.01 - 4.38 | | | | | |
| | 1 | bifenthrin | 16 | 0.09 - 0.19 | - | - | - | 0.5 (Ab 2007) |
| | 2 | cypermethrin | 56 | 0.01 - 4.38 | 1.0 (cabbage, head) | 0.7 (leafy vegetables) | 1.0 | 1.0 Chinese cabbage) |
| | 3 | oxadiazon | 16 | 0.01 - 0.03 | - | - | - | - |
| | 4 | profenofos | 27 | 0.01 - 4.37 | 0.5 (cabbage, head) | - | - | - |

หมายเหตุ : ข้อมูล วันที่ 30 เดือนกันยายน 2566 จาก 331 ตัวอย่างและใช้อ้างอิงในตัวอย่างที่วิเคราะห์เท่านั้น

ที่มา : 1/ Thai MRL ; มาตรฐานสินค้าเกษตร มกษ. 9002-2559 สารพิษตกค้าง : ปริมาณสารพิษตกค้าง

2/ Codex MRL ; <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/en/>

3/ EU MRL ; http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index

4/ Japan MRL ; <http://www.m5.ws001.squarestart.ne.jp>

Table 3 Residual types and concentrations detected in Lettuce samples

| Total No. of samples | No. pesticide | Residual types in Lettuce | | | MRL (mg/kg) | | | |
|----------------------------|------------------|---------------------------|-------------|-------------|------------------------------|---------------------|------------------|----------------------------|
| | | No. of Detected | | | Thai ^{1/} | Codex ^{2/} | EU ^{3/} | Japan ^{4/} |
| 129 | 4 ชนิด | 32 | 0.01 - 0.75 | | | | | |
| | 1 | carbaryl | 16 | 0.09 - 0.75 | 1.0 (cabbage, head) | - | - | 1.0 |
| | 2 | metalaxyl | 56 | 0.01 - 0.03 | 2.0 (Chinese broccoli) | 1.5(2022) | 0.3 | 0.3 |
| | 3 | acetamiprid | 16 | 0.01 - 0.23 | - | 0.4 | - | 0.5 Chinese cabbage) |
| | 4 | oxadiazon | 17 | 0.01 - 0.03 | - | - | - | - |

หมายเหตุ : ข้อมูล วันที่ 30 เดือนกันยายน 2566 จาก 331 ตัวอย่างและใช้อ้างอิงในตัวอย่างที่วิเคราะห์เท่านั้น

ที่มา : 1/ Thai MRL ; มาตรฐานสินค้าเกษตร มกษ. 9002-2559 สารพิษตกค้าง : ปริมาณสารพิษตกค้าง

2/ Codex MRL ; <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/en/>

3/ EU MRL ; http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index

4/ Japan MRL ; <http://www.m5.ws001.squarestart.ne.jp>

เมื่อนำผลการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในพืชต่างๆ มาคำนวณค่า HQ เพื่อประเมินความเสี่ยงต่อการบริโภคของสารพิษตกค้างในอาหาร โดยช่วงอายุที่นำมาใช้ในการประเมินในวัยเด็ก คือ 6-12 ปี และน้ำหนักเฉลี่ยที่นำมาใช้ในการประเมินเท่ากับ 33.38 กิโลกรัม ในวัยผู้ใหญ่อายุ 65 ปีขึ้นไป น้ำหนักเฉลี่ยที่นำมาใช้ในการประเมินเท่ากับ 55.77 กิโลกรัม โดยใช้ข้อมูลการบริโภคอาหารของประเทศไทย ค่าเปอร์เซ็นต์ไทล์ที่ 97.5 ของปริมาณอาหารที่บริโภคสำหรับประชากรทั้งหมด (per capita) ในแต่ละช่วงอายุ (มกอช. 2559) แสดงได้ดังตารางที่ 4-6

ผลการประเมินความเสี่ยงต่อการบริโภคของสารพิษตกค้างในคะน้า เมื่อนำมาคำนวณค่า HQ เพื่อประเมินความเสี่ยงต่อการบริโภคของสารพิษตกค้างในอาหาร พบว่า ในวัยเด็ก มีค่า HQ มากที่สุดเท่ากับ 0.65 ในวัยผู้ใหญ่ มีค่า HQ มากที่สุดเท่ากับ 0.36 ดังนั้น ความเสี่ยงอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ (HQ < 1) ทุกตัวอย่างในคะน้า ทั้งในวัยเด็กและวัยผู้ใหญ่ สามารถบริโภคได้อย่างปลอดภัย ดังแสดงใน Table 4

Table 4 The risk assessment results for pesticide residues in Chinese broccoli samples that exceed Thai-MRLs or have not been determined Thai-MRLs yet.

| group | pesticides | Concentration (mg/kg) | IR (kg/day) | ADD (mg/kg-day) | Oral Rfd ¹ (mg/kg-day) | HQ = ADD/Rfd | Health risk |
|--------|--------------------|-----------------------|-------------|--------------------------|-----------------------------------|--------------|-------------|
| child | bifenthrin | 0.09 | 0.016 | 3.83463x10 ⁻⁵ | 0.013 | 0.00 | acceptable |
| | cypermethrin | 0.02 | 0.016 | 7.18993x10 ⁻⁵ | 0.01 | 0.01 | acceptable |
| | carbaryl | 0.04 | 0.016 | 6.71061x10 ⁻⁵ | 0.01 | 0.01 | acceptable |
| | lambda-cyhalothrin | 1.79 | 0.016 | 5.27262x10 ⁻⁵ | 0.005 | 0.01 | acceptable |
| | omethoate | 0.02 | 0.016 | 0.000129419 | 0.0002 | 0.65 | acceptable |
| | acetamiprid | 0.10 | 0.016 | 9.58658x10 ⁻⁶ | 0.10 | 0.00 | acceptable |
| | oxadiazon | 0.14 | 0.016 | 9.58658x10 ⁻⁵ | 0.05 | 0.00 | acceptable |
| | profenofos | 0.26 | 0.016 | 3.3553x10 ⁻⁵ | 0.00199 | 0.02 | acceptable |
| adults | bifenthrin | 0.09 | 0.016 | 2.1312x10 ⁻⁵ | 0.013 | 0.00 | acceptable |
| | cypermethrin | 0.02 | 0.016 | 3.996x10 ⁻⁵ | 0.01 | 0.00 | acceptable |
| | carbaryl | 0.04 | 0.016 | 3.7296x10 ⁻⁵ | 0.01 | 0.00 | acceptable |
| | lambda-cyhalothrin | 1.79 | 0.016 | 2.9304x10 ⁻⁵ | 0.005 | 0.01 | acceptable |
| | omethoate | 0.02 | 0.016 | 7.19281x10 ⁻⁵ | 0.0002 | 0.36 | acceptable |
| | acetamiprid | 0.10 | 0.016 | 5.32801x10 ⁻⁶ | 0.10 | 0.00 | acceptable |
| | oxadiazon | 0.14 | 0.016 | 5.32801x10 ⁻⁵ | 0.05 | 0.00 | acceptable |
| | profenofos | 0.26 | 0.016 | 1.8648x10 ⁻⁵ | 0.00199 | 0.01 | acceptable |

หมายเหตุ : ช่วงอายุที่นำมาใช้ในการประเมินอายุในวัยเด็กคือ 6 -12 ปี น้ำหนักเฉลี่ยที่นำมาใช้ในการประเมินเท่ากับ 33.38 กิโลกรัม วัยผู้ใหญ่ อายุ 65 ปีขึ้นไป น้ำหนักเฉลี่ยที่นำมาใช้ในการประเมินเท่ากับ 55.77 กิโลกรัม

ที่มา : 1/ JMPR2013. Residues of Pesticides in Food and Animal Feeds. Codex Committee on Pesticide Residues 43rd Session.

Table 5 The risk assessment results for pesticide residues in Flowering white cabbage samples that exceed Thai-MRLs or have not been determined Thai-MRLs yet.

| group | pesticides | Concentration (mg/kg) | IR (kg/day) | ADD (mg/kg-day) | Oral RfD ¹ (mg/kg-day) | HQ = ADD/RfD | Health risk |
|--------|--------------|-----------------------|-------------|--------------------------|-----------------------------------|--------------|-------------|
| child | bifenthrin | 0.19 | 0.00714 | 4.06411x10 ⁻⁵ | 0.013 | 0.00 | acceptable |
| | cypermethrin | 4.38 | 0.00714 | 0.000936884 | 0.01 | 0.09 | acceptable |
| | oxadiazon | 0.03 | 0.00714 | 6.41702x10 ⁻⁶ | 0.05 | 0.00 | acceptable |
| | profenofos | 4.37 | 0.00714 | 0.000934745 | 0.00199 | 0.47 | acceptable |
| adults | bifenthrin | 0.19 | 0.01429 | 4.52065x10 ⁻⁵ | 0.013 | 0.00 | acceptable |
| | cypermethrin | 4.38 | 0.01429 | 0.001042128 | 0.01 | 0.10 | acceptable |
| | oxadiazon | 0.03 | 0.01429 | 7.13786x10 ⁻⁶ | 0.05 | 0.00 | acceptable |
| | profenofos | 4.37 | 0.01429 | 0.001039749 | 0.00199 | 0.52 | acceptable |

หมายเหตุ : ช่วงอายุที่นำมาใช้ในการประเมินอายุในวัยเด็กคือ 6 -12 ปี น้ำหนักเฉลี่ยที่นำมาใช้ในการประเมินเท่ากับ 33.38 กิโลกรัม วัยผู้ใหญ่ อายุ 65 ปีขึ้นไป น้ำหนักเฉลี่ยที่นำมาใช้ในการประเมินเท่ากับ 55.77 กิโลกรัม
ที่มา : 1/ JMPR2013. Residues of Pesticides in Food and Animal Feeds. Codex Committee on Pesticide Residues 43rd Session.

ผลการประเมินความเสี่ยงต่อการบริโภคของสารพิษตกค้างในผักกาดหอม เมื่อนำมาคำนวณค่า HQ เพื่อประเมินความเสี่ยงต่อการบริโภคของสารพิษตกค้างในอาหาร พบว่า ในวัยเด็ก มีค่า HQ มากที่สุดเท่ากับ 0.02 ในวัยผู้ใหญ่ มีค่า HQ มากที่สุดเท่ากับ 0.01 ดังนั้น ความเสี่ยงอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ (HQ < 1) ทุกตัวอย่างในผักกาดหอม ทั้งในวัยเด็กและวัยผู้ใหญ่ สามารถบริโภคได้อย่างปลอดภัย ดังแสดงใน Table 6

Table 6 The risk assessment results for pesticide residues in Lettuce samples that exceed Thai-MRLs or have not been determined Thai-MRLs yet.

| group | pesticides | Concentration (mg/kg) | IR (kg/day) | ADD (mg/kg-day) | Oral RfD ¹ (mg/kg-day) | HQ = ADD/RfD | Health risk |
|--------|--------------|-----------------------|-------------|--------------------------|-----------------------------------|--------------|-------------|
| child | carbaryl | 0.75 | 0.00686 | 0.000154134 | 0.01 | 0.02 | acceptable |
| | metalaxyl | 0.03 | 0.00686 | 6.16537x10 ⁻⁶ | 0.06 | 0.00 | acceptable |
| | acetamiprid | 0.23 | 0.00686 | 4.72678x10 ⁻⁵ | 0.10 | 0.00 | acceptable |
| | oxadiazon | 0.03 | 0.00686 | 6.16537x10 ⁻⁶ | 0.05 | 0.00 | acceptable |
| adults | bifenthrin | 0.75 | 0.00686 | 8.56643x10 ⁻⁵ | 0.01 | 0.01 | acceptable |
| | cypermethrin | 0.03 | 0.00686 | 3.42657x10 ⁻⁶ | 0.06 | 0.00 | acceptable |
| | oxadiazon | 0.23 | 0.00686 | 2.62704x10 ⁻⁵ | 0.1 | 0.00 | acceptable |
| | profenofos | 0.03 | 0.00686 | 3.42657x10 ⁻⁶ | 0.05 | 0.00 | acceptable |

หมายเหตุ : ช่วงอายุที่นำมาใช้ในการประเมินอายุในวัยเด็กคือ 6 -12 ปี น้ำหนักเฉลี่ยที่นำมาใช้ในการประเมินเท่ากับ 33.38 กิโลกรัม วัยผู้ใหญ่ อายุ 65 ปีขึ้นไป น้ำหนักเฉลี่ยที่นำมาใช้ในการประเมินเท่ากับ 55.77 กิโลกรัม
ที่มา : 1/ JMPR2013. Residues of Pesticides in Food and Animal Feeds. Codex Committee on Pesticide Residues 43rd Session.

สรุปผลการทดลอง

ผลการศึกษาสารพิษตกค้างจากบริเวณแหล่งผลิต โดยทำการสุ่มเก็บตัวอย่างคะน้า กวางตุ้งและผักกาดหอม จากแปลงปลูกพืชของเกษตรกรบริเวณจังหวัดนนทบุรี ปทุมธานีและนครปฐม ช่วงเวลาระหว่างเดือนธันวาคม 2564 ถึง กันยายน 2566 รวมทั้งสิ้น 331 ตัวอย่าง ได้แก่ ตัวอย่างคะน้า 90 ตัวอย่าง กวางตุ้ง 112 ตัวอย่าง และ ผักกาดหอม 129 ตัวอย่าง ตามลำดับ นำมาตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต คาร์บาเมต ไพรีทรอยด์ สารพิษตกค้างของสารป้องกันกำจัดโรคพืช สารกำจัดวัชพืช และสารกำจัดแมลงชนิดอื่นๆ รวม 213 ชนิด ด้วยเทคนิคทางโครมาโตกราฟี โดยใช้เครื่อง LC-MS/MS และ GC-MS/MS ผลปรากฏว่า ตรวจพบสารพิษตกค้างในคะน้า กวางตุ้ง และผักกาดหอม รวม 139 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 40 ซึ่งพบในคะน้า 50 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 56 กวางตุ้ง 57 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 51 และ ผักกาดหอม 32 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 25 สารพิษตกค้างที่ตรวจพบรวม 9 ชนิด ได้แก่ acetamiprid, bifenthrin, cypermethrin, carbaryl, oxadiazon, l-cyhalothrin, metalaxyl, omethoate และ profenofos, ปริมาณที่พบอยู่ในช่วง 0.01- 4.38 มก./กก. ตัวอย่างที่พบเกินค่า MRL จำนวน 71 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 21 พืชที่พบสารพิษตกค้างสูงสุดคือ กวางตุ้ง พบสารพิษตกค้าง cypermethrin 4.38 มก./กก. เกินค่า MRLs ที่ Codex กำหนดไว้ในกลุ่มผักใบ (Leafy vegetables (group) คือ 0.7 มก./กก. อาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพในระยะสั้น แต่เมื่อนำค่ามาประเมินความเสี่ยงของสารพิษตกค้างในอาหาร คำนวณร่วมกับปริมาณการบริโภคต่อวันและค่าปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจพบในตัวอย่าง พบว่าค่าดัชนีชี้วัดความเสี่ยง (Hazard quotient : HQ) มีค่าน้อยกว่า 1 ทั้งในวัยเด็กช่วงอายุ 6-12 ปี และวัยผู้ใหญ่ ช่วงอายุ 65 ปีขึ้นไป มีค่า HQ เท่ากับ 0.09 และ 0.10 ตามลำดับ ซึ่งถือว่าปลอดภัยต่อการบริโภค

สารพิษตกค้างที่ตรวจพบ ถือว่าจำนวนตัวอย่างน้อยมากที่เกินค่าเกณฑ์ความปลอดภัย เมื่อเทียบกับจำนวนตัวอย่างที่ตรวจวิเคราะห์ทั้งหมด อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องให้ความสำคัญกับการสำรวจเฝ้าระวังสารพิษตกค้าง และให้ความรู้เกษตรกรให้มีการใช้สารเคมีอย่างถูกต้องและปลอดภัยต่อไป ดังนั้น ควรนำข้อมูลที่ได้มาเผยแพร่ให้คำแนะนำแก่เกษตรกรและผู้ที่เกี่ยวข้อง เพื่อให้มีการใช้ประโยชน์จากสารเคมีควบคู่ไปกับการจัดการเพื่อความปลอดภัยในการบริโภคและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมอย่างยั่งยืน

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ได้ข้อมูลและปริมาณสารพิษตกค้างรวมทั้งข้อมูลความเสี่ยงในการบริโภคคะน้า กวางตุ้งและผักกาดหอม จากแหล่งผลิตบริเวณจังหวัดนนทบุรี ปทุมธานีและนครปฐม เพื่อติดตามสถานการณ์การตกค้างการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตรของประเทศไทย
2. เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการเฝ้าระวังสารพิษตกค้าง และนำไปสู่การพิจารณาการขึ้นทะเบียน การปรับปรุงฉลาก การต่ออายุวัตถุอันตรายทางการเกษตร รวมทั้งประกอบการพิจารณาการจำกัดการใช้ หรือยกเลิกการใช้ เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภคในประเทศ

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) และคณะกรรมการพิจารณาการวิชาการเกษตร ที่ให้ความอนุเคราะห์การศึกษาวิจัยทั้งด้านงบประมาณ ข้อมูลความรู้ต่างๆ ตลอดจนสถานที่เพื่อการศึกษาวิจัย รวมถึงเกษตรกรที่ให้ความอนุเคราะห์เก็บตัวอย่างในการทำวิจัยในครั้งนี้ และทุกท่านซึ่งไม่ได้เอ่ยนามในที่นี้ ผู้มีส่วนร่วมในทุกการทดลอง ที่ให้ความร่วมมือและช่วยเหลือในการทำงานวิจัยจนสำเร็จลุล่วงด้วยดี เป็นผลให้การดำเนินงานมีความครบถ้วนและสมบูรณ์ตามเป้าหมายที่ตั้งไว้

เอกสารอ้างอิง

- มกอช. 2559. มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ มกอช. 9002-2559 “สารพิษตกค้าง : ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด. สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 5 หน้า.
- ลมัย ชูเกียรติวัฒนา ชนิตา ทองแซม ปิยะศักดิ์ อรรถบุตร และวิสุทธิ เซวงศรี. 2556. การศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างในผักตระกูลกะหล่ำ. ผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2556. กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรุงเทพฯ. 11 น.
- ลักษมี เดชานูร์รักษ์นุกูล ศศิมา มั่งนิมิตร และ วิทยา บัวศรี. 2559. วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างอินดอกซาคาร์บ (indoxacarb) ในคะน้าเพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ครั้งที่ 1-6. ผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2558. กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรุงเทพฯ. 10 หน้า.
- ศศิมา มั่งนิมิตร ลักษมี เดชานูร์รักษ์นุกูล และวิทยา บัวศรี. 2559. วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของแลมบ์ดาไซฮาโลทรินในคะน้าเพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารมีพิษตกค้าง (MRLs) ครั้งที่ 3-6. ผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2558. กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรุงเทพฯ. 6 น.
- EU Pesticide Database. http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index
- European Food Safety Authority. 2013. The 2010 European Union Report on Pesticide Residues in Food. EFSA Journal, 11(3): 880 pp.
- FAO/WHO. 2016. Maximum residue limits in Food and Feed. Codex Alimentarius Commission, Codex Committee on pesticide residues. <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/en/>.
- Japan MRL. 2014. Positive List System for Agricultural Chemical Residues in Foods. The Japan Food Chemical Research Foundation. <http://www.m5.ws001.squarestart.ne.jp>.
- JMPR. 2013. Residues of Pesticides in Food and Animal Feeds. Codex Committee on Pesticide Residues 43rd Session.

การสำรวจสารพิษตกค้างในมะม่วงและทุเรียน ในแหล่งผลิต
พื้นที่จังหวัดฉะเชิงเทรา ปราจีนบุรี ชลบุรี ระยอง และจันทบุรี

Monitoring of Pesticide Residues in Mangoes and Durians in the
Production Areas: Chachoengsao, Prachinburi, Chonburi, Rayong,
and Chanthaburi Provinces

วิทยา บัวศรี¹ ปกป้อง ทยานชัย¹ มัลลิกา ทองเขี้ยว² ภาสินี ไชยชนะ³

Wittaya Buasri¹ Pokpong Thananchai¹ Wanida Sukprasert¹ Malliga Thongkheaw² Pasinee Chaichana³

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Mango and durian have been widely popular fruits among Thai and foreign people. They, however, were often detected pesticide residues in amounts that exceed the standard values. This caused a risk concern to consumers. Due to this, the monitoring of pesticide residues in mangoes and durians in the important production areas: Chachoengsao, Prachinburi, Chonburi, Rayong, and Chanthaburi provinces between 2021 and 2023 was conducted. The analytical procedure selected 162 mango samples and 90 durian samples, using LC-MS/MS and GC-MS/MS as analytical techniques. In addition, the health-associated risk was assessed using a hazard quotient values (HQ) as an indicator. The analytical result in mango samples revealed the pesticide residues exceeded the maximum residue limits (MRLs): Thai-MRL 3 compounds, Codex-MRL 2 compounds, EU-MRL 9 compounds, and Japan-MRL 1 compound. The risk assessment results showed that consuming mangoes and durians, detected prothiofos, may cause long-term health risks. In addition, the consumption of durians, detected omethoate and triazophos, may cause both short-term and long-term health risks.

Keywords: monitoring, pesticide residues, maximum residue limits (MRLs), risk assessment

¹ กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

¹ Agricultural Toxic Substance Research Group, Agricultural Production Science Research and Development Division

² กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4

² Development of Inspection for Crop and Production Group, Office of Agricultural Research and Development Region 4

³ ด่านตรวจพืชเชียงใหม่ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร

³ Chiangsaen Plant Quarantine Station, Office of Agricultural Regulation

บทคัดย่อ

มะม่วงและทุเรียนเป็นผลไม้ที่ได้รับความนิยมอย่างกว้างขวางจากชาวไทยและชาวต่างชาติ แต่มักตรวจพบสารพิษตกค้างในปริมาณที่เกินค่ามาตรฐาน ทำให้เกิดความกังวลที่จะมีความเสี่ยงต่อผู้บริโภค ด้วยเหตุนี้จึงทำการสำรวจสารพิษตกค้างในมะม่วงและทุเรียน ในพื้นที่แหล่งผลิตสำคัญ ได้แก่ จังหวัดฉะเชิงเทรา ปราจีนบุรี ชลบุรี ระยอง และจันทบุรี ระหว่างปี พ.ศ. 2564 – 2566 ตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์เป็นมะม่วง 162 ตัวอย่าง และทุเรียน 90 ตัวอย่าง วิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยเทคนิค LC-MS/MS และ GC-MS/MS รวมทั้งประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพ โดยใช้ค่าสัดส่วนความเสี่ยง (Hazard Quotient, HQ) เป็นตัวชี้วัด ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างมะม่วงพบสารเกินค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRLs) Thai-MRL 3 ชนิดสาร Codex-MRL 2 ชนิดสาร EU-MRL 9 ชนิดสาร และ Japan-MRL 1 ชนิดสาร ในขณะที่ทุเรียนพบสารพิษตกค้างเกินค่า Thai-MRL 8 ชนิดสาร Codex-MRL 1 ชนิดสาร และ EU-MRL 37 ชนิดสาร ความเสี่ยงในการบริโภคมะม่วงและทุเรียนที่พบสารพิษตกค้าง prothiofos อาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพในระยะยาว และการบริโภคทุเรียนที่พบสารพิษตกค้าง omethoate และ triazophos อาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพในระยะสั้นและระยะยาว

คำสำคัญ: การสำรวจ, สารพิษตกค้าง, ค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRLs), การประเมินความเสี่ยง

บทนำ

มะม่วงและทุเรียนเป็นผลไม้เขตร้อนที่สำคัญต่อเศรษฐกิจการเกษตรของไทย ได้รับความนิยมอย่างมากจากทั้งชาวไทยและชาวต่างชาติ ปริมาณการส่งออกสูงและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกปี ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2562 – 2565 การส่งออกมะม่วงมีปริมาณโดยเฉลี่ย 126,506 ตันต่อปี คิดเป็นมูลค่า 5,276 ล้านบาทต่อปี ในขณะที่ปริมาณการส่งออกทุเรียนมีค่าเฉลี่ย 794,827 ตันต่อปี คิดเป็นมูลค่า 92,182 ล้านบาทต่อปี โดยในปี พ.ศ. 2565 การส่งออกมะม่วงและทุเรียนมีปริมาณสูงมากอย่างมีนัยสำคัญ อยู่ที่ 153,995 ตัน (มูลค่า 5,276 ล้านบาท) และ 916,850 ตัน (มูลค่า 125,818 ล้านบาท) ตามลำดับ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2566) การควบคุมคุณภาพและปริมาณการผลิตจึงเป็นสิ่งทีภาครัฐและเกษตรกรต้องให้ความสำคัญเป็นอย่างมาก เพื่อรักษาผลประโยชน์ทางการตลาดของผลไม้ทั้งสองชนิดนี้

มะม่วงและทุเรียนเป็นพืชที่มีความต้านทานต่อโรคระบาดต่ำและถูกทำลายจากศัตรูพืชหลายชนิด เกษตรกรจำเป็นต้องหาทางป้องกันและควบคุมความเสียหายด้วยการพ่นสารเคมีกำจัดศัตรูพืช แม้ว่าผลลัพธ์ที่ได้จะส่งผลดีต่อคุณภาพผลผลิต แต่ถ้าหากใช้สารเคมีมากเกินไปจนเกินความจำเป็น จะส่งผลให้ปริมาณสารพิษตกค้างในผลผลิตสูงจนก่อให้เกิดผลเสียต่อสุขภาพผู้บริโภคและทำลายความน่าเชื่อถือของผู้ผลิต โดยที่ผ่านมามีผลไม้ทั้งสองชนิดเคยถูกสุ่มตรวจยังประเทศปลายทางและได้รับการแจ้งเตือนเรื่องการพบสารพิษตกค้างเกินขีดจำกัดปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (maximum residue limit, MRL) มาแล้ว ตัวอย่างเช่น ในปี พ.ศ. 2548 มะม่วงน้ำดอกไม้ของไทยถูกตรวจพบว่ามีสาร chlorpyrifos เกินค่า MRL มาตรฐานของญี่ปุ่น (0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ส่งผลให้สินค้าถูกระงับการนำเข้าและสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติได้รับรายงานการแจ้งเตือน (กรุงเทพฯธุรกิจ, 2548)

กรณีของทุเรียน กระทรวงความปลอดภัยอาหารและยาของสาธารณรัฐเกาหลีได้แจ้งเตือนการตรวจพบ azoxystrobin carbendazim และ procymidone ในสินค้าทุเรียนที่นำเข้ามาจากประเทศไทยเกินค่า MRL ของสาธารณรัฐเกาหลี (0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2565) เช่นเดียวกับกับสินค้าส่งออกไปยังประเทศญี่ปุ่นในปี พ.ศ. 2566 ส่งผลให้ประเทศปลายทางต้องยกระดับมาตรฐานตรวจสินค้ากลุ่มทุเรียนและผลิตภัณฑ์แปรรูปจากทุเรียนที่นำเข้ามาจากประเทศไทยทั้งหมด (สำนักงานที่ปรึกษาการเกษตรต่างประเทศ ประจำกรุงโตเกียว, 2566)

ด้วยเหตุนี้ คณะผู้วิจัยจึงได้ดำเนินการสำรวจสารพิษตกค้างในมะม่วงและทุเรียน โดยเลือกสุ่มตัวอย่างจากพื้นที่จังหวัดฉะเชิงเทรา ปราจีนบุรี ชลบุรี ระยอง และจันทบุรี ซึ่งเป็นแหล่งเพาะปลูกมะม่วงและทุเรียนขนาดใหญ่และสำคัญของประเทศ ในปี พ.ศ. 2564 พื้นที่ปลูกทุเรียนใน 5 จังหวัดนี้ มีขนาดรวม 525,481 ไร่ คิดเป็น 43.15% ของพื้นที่เพาะปลูกทุเรียนทั้งหมด (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2566) สำหรับมะม่วง มีพื้นที่เพาะปลูกปี พ.ศ. 2562 มีขนาดรวม 70,626 ไร่ คิดเป็น 8.61% ของพื้นที่เพาะปลูกมะม่วงทั้งหมด (ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กรมส่งเสริมการเกษตร, 2563) ด้วยขนาดของพื้นที่ที่ใหญ่มาก จึงมีโอกาสพบเจอการระบาดของศัตรูพืชและโรคพืชหลายรูปแบบ ส่งผลต่อความต้องการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตรที่สูง ดังนั้นจึงเหมาะสมที่จะสำรวจสารพิษตกค้างในตัวอย่างจากพื้นที่นี้ เพื่อรวบรวมข้อมูลของชนิดและปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจพบ ประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพจากการบริโภค ข้อมูลการประเมินนี้จะมีความสำคัญต่อการรับรองคุณภาพการผลิตให้แก่เกษตรกร และใช้เป็นเงื่อนไขพิจารณาสำหรับการขึ้นทะเบียนวัตถุอันตรายทางการเกษตรต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องมือและอุปกรณ์

- 1.1 หลอดทดลอง (screw-capped polypropylene centrifuge tubes) ขนาด 50 มิลลิลิตร
- 1.2 หลอดทดลองขนาดเล็ก (micro centrifuge tubes) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร
- 1.3 ขวดบรรจุสาร (auto sampler vials) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร
- 1.4 อุปกรณ์ดูด-จ่ายสารละลาย (auto pipette) ขนาด 2-20, 10-100, 20-200, 100-1,000, 500-5,000 ไมโครลิตร และ 1-10 มิลลิลิตร ที่สอบเทียบแล้ว
- 1.5 อุปกรณ์ดูด-จ่ายสารเคมีจากขวด (dispenser) ขนาด 10 มิลลิลิตร ที่สอบเทียบแล้ว
- 1.6 เครื่องชั่งไฟฟ้า (electrical balances) ชนิดทศนิยม 5 ตำแหน่ง และ 2 ตำแหน่ง ที่สอบเทียบแล้ว
- 1.7 เครื่องบดตัวอย่าง (Food processor)
- 1.8 ตู้อบ (hot air oven) และเตาเผา (muffle furnace)
- 1.9 เครื่องผสมตัวอย่าง (vortex mixer)
- 1.10 เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) พร้อมด้วย adapter สำหรับหลอดทดลอง ขนาด 50 มิลลิเมตร
- 1.11 เครื่องปั่นเหวี่ยงหลอดทดลองขนาดเล็ก (micro centrifuge) สำหรับหลอดทดลอง ขนาด 1.5 มิลลิเมตร
- 1.12 เครื่องลดปริมาตรโดยการเป่าด้วยแก๊สไนโตรเจน (nitrogen evaporator)
- 1.13 เครื่องแก้วชนิดต่างๆ เช่น volumetric flask, beaker, cylinder
- 1.14 เข็มที่มีกระดาษกรอง (syringe with membrane filter) ขนาด 0.20 ไมโครเมตร
- 1.15 เครื่อง ultra performance liquid chromatography (UPLC) ต่อกับ tandem mass spectrometry (MS/MS) Agilent technologies
- 1.16 เครื่อง gas chromatography (GC) ต่อกับ tandem mass spectrometry (MS/MS) Agilent technologies

2. สารเคมี

- 2.1 สารมาตรฐานของสารพิษตกค้าง ความบริสุทธิ์ไม่น้อยกว่า 90 เปอร์เซ็นต์
- 2.2 acetonitrile (CH₃CN) ชนิด pesticide grade (PR)
- 2.3 ethyl acetate ชนิด pesticide grade (PR)

- 2.4 acetonitrile และ water (H₂O) ชนิด LC-MS grade
- 2.5 anhydrous magnesium sulfate (Mg₂SO₄) เเผาที่ 500°C นาน 5 ชั่วโมง
- 2.6 sodium citrate tribasic dyhydrate (C₆H₅Na₃O₇•2H₂O)
- 2.7 disodium hydrogen citrate sesquehydrate (C₆H₆Na₂O₇•1.5H₂O)
- 2.8 ammonium acetate

วิธีการ

1. การเก็บตัวอย่าง

สุ่มเก็บตัวอย่างมะม่วงและทุเรียนจากพื้นที่จังหวัดฉะเชิงเทรา ปราจีนบุรี ชลบุรี ระยอง และจันทบุรี โดยให้แต่ละตัวอย่างมีน้ำหนักรวมไม่น้อยกว่า 1 กิโลกรัม (FAO., 2016) การเก็บตัวอย่างถูกดำเนินการ 2 ช่วง ช่วงที่ 1 เริ่มตั้งแต่เดือนธันวาคม 2564 ถึงเดือนสิงหาคม 2565 จำนวน 91 ตัวอย่าง แบ่งเป็น มะม่วง 62 ตัวอย่าง และทุเรียน 29 ตัวอย่าง และช่วงที่ 2 เริ่มตั้งแต่เดือนธันวาคม 2565 ถึงเดือนมีนาคม 2566 จำนวน 161 ตัวอย่าง แบ่งเป็น มะม่วง 100 ตัวอย่าง และทุเรียน 61 ตัวอย่าง

2. การเตรียมตัวอย่าง

ตัวอย่างจะถูกตัดขั้วออก แล้วแบ่งทั้งลูกออกเป็น 4 ส่วน เลือกเอาเฉพาะส่วนตรงข้าม 2 ส่วนมาหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ใส่ถุงพลาสติก 2 ชั้น ชั่งน้ำหนักรวมทั้งตัวอย่างพร้อมกับบันทึกเป็นน้ำหนักตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์แบบเนื้อรวมเปลือก (whole fruit) (FAO, 2016) จากนั้นแช่ตัวอย่างในตู้แช่อุณหภูมิต่ำกว่า -18 องศาเซลเซียส แล้วนำตัวอย่างแช่แข็งมาปั่นผสมกับไนโตรเจนเหลวให้ละเอียดเป็นผง

3. การวิเคราะห์ตัวอย่าง

3.1 การวิเคราะห์ตัวอย่างด้วยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (LC-MS/MS)

สกัดตัวอย่างที่ถูกปั่นละเอียดด้วยวิธี QuEChERS เพื่อวิเคราะห์สารกลุ่ม 129 ชนิด โดยใช้เทคนิค LC-MS/MS EN QuEChERS (EN 15662: 2008) และใช้วิธี Ethyl Acetate สำหรับการสกัดตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์สารกลุ่มคาร์บาเมท 16 ชนิด และสารพิษตกค้างชนิดอื่นๆ อีก 16 ชนิด รวม 32 ชนิด โดยใช้เทคนิค LC-MS/MS

3.2 การวิเคราะห์ตัวอย่างด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (GC-MS/MS)

สกัดตัวอย่างที่ถูกปั่นละเอียดด้วยวิธี Ethyl Acetate เพื่อวิเคราะห์สารกลุ่มไพรีทรอยด์ 17 ชนิด และออร์การ์โนฟอสเฟต 47 ชนิด รวม 64 ชนิด โดยใช้เทคนิค GC-MS/MS

4. การประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพ

4.1 การประเมินความเสี่ยงระยะสั้น (short-term risk assessment)

รายงานผลด้วยค่าสัดส่วนความเสี่ยงระยะเฉียบพลัน (acute hazard quotient, HQa) ของสารพิษตกค้างแต่ละชนิด คำนวณจากสมการ $HQa = NESTI/ARfD$ ซึ่ง NESTI คือ ค่าปริมาณการบริโภคระยะสั้นของประชากรในประเทศ (national estimation of short-term intake) มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน และ ARfD คือ ค่าปริมาณอ้างอิงเฉียบพลัน (acute reference dose) มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน หากค่า HQa น้อยกว่าหรือเท่ากับ 1 บ่งชี้ว่าการบริโภคมะม่วงหรือทุเรียนที่ตรวจพบสารชนิดนั้นๆ จะไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพในระยะเฉียบพลัน (ภายใน 24 ชั่วโมง)

4.2 การประเมินความเสี่ยงระยะยาว (long-term risk assessment)

รายงานผลด้วยค่าสัดส่วนความเสี่ยงระยะเรื้อรัง (chronic hazard quotient: HQc) ของสารพิษตกค้างแต่ละชนิด สามารถคำนวณโดยใช้สมการ $HQc = NEDI/ADI$ ซึ่ง NEDI คือ ค่าปริมาณการบริโภคต่อวันของประชากรในประเทศ (national estimation of daily intake) มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน และ ADI คือ ค่าปริมาณการบริโภคต่อวันที่ยอมรับได้ (acceptable daily intake) มีหน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อ

กิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน หากค่า HQc น้อยกว่าหรือเท่ากับ 1 บ่งชี้ว่าการบริโภคมะม่วงหรือทุเรียนที่ตรวจพบสารชนิดนั้น ๆ ต่อเนื่อง จะไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพเป็นระยะเวลายาวนาน

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2566

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างมะม่วง

ตัวอย่างมะม่วงจำนวน 162 ตัวอย่าง ที่สุ่มเก็บมาจากแหล่งผลิตในพื้นที่จังหวัดฉะเชิงเทรา ปราจีนบุรี ชลบุรี และจันทบุรี ตรวจพบสารพิษตกค้างตั้งแต่ 1 ชนิดขึ้นไป 93 ตัวอย่าง คิดเป็น 57% ของตัวอย่างทั้งหมด และสารที่ตรวจพบมีทั้งหมด 23 ชนิด ดังรายละเอียดแสดงใน Table 1

สารพิษตกค้างที่ตรวจพบในตัวอย่างจำนวนมากที่สุดคือ cypermethrin โดยตรวจพบจำนวน 34 ตัวอย่าง มีปริมาณอยู่ในช่วง $<0.01 - 0.37$ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สารชนิดนี้ถูกใช้อย่างแพร่หลายในการป้องกันหนอนและเพลี้ยทำลายผลมะม่วง (ศรีจันทร์, 2565) แม้ว่าตรวจพบการตกค้างในตัวอย่างจำนวนมากแต่ปริมาณที่ตรวจพบไม่ได้สูงเกินเกณฑ์ค่า MRLs ของทั้ง 4 ประเทศ/กลุ่มประเทศ (กำหนดค่า MRLs ไว้เท่ากันที่ 0.7 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) และจากการศึกษาของอภิญญา จุลินทร และคณะ (2551) เกี่ยวกับการสลายตัวและพิษตกค้างของ cypermethrin ในมะม่วงจากสวนในจังหวัดสุพรรณบุรี พบว่า cypermethrin มีการสลายตัวช้ามาก จึงมีความเป็นไปได้ที่สารนี้จะมีค่าสูงเกินเกณฑ์ค่า MRLs ของทั้ง 4 ประเทศ/กลุ่มประเทศ (กำหนดค่า MRLs ไว้เท่ากันที่ 0.7 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) และจากการศึกษาของอภิญญา จุลินทร และคณะ (2551) เกี่ยวกับการสลายตัวและพิษตกค้างของ cypermethrin ในมะม่วงจากสวนในจังหวัดสุพรรณบุรี พบว่า cypermethrin มีการสลายตัวช้ามาก จึงมีความเป็นไปได้ที่สารนี้จะมีค่าสูงเกินเกณฑ์ค่า MRLs ของทั้ง 4 ประเทศ/กลุ่มประเทศ (กำหนดค่า MRLs ไว้เท่ากันที่ 0.7 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) และจากการศึกษาของอภิญญา จุลินทร และคณะ (2551) เกี่ยวกับการสลายตัวและพิษตกค้างของ cypermethrin ในมะม่วงจากสวนในจังหวัดสุพรรณบุรี พบว่า cypermethrin มีการสลายตัวช้ามาก จึงมีความเป็นไปได้ที่สารนี้จะมีค่าสูงเกินเกณฑ์ค่า MRLs ของทั้ง 4 ประเทศ/กลุ่มประเทศ (กำหนดค่า MRLs ไว้เท่ากันที่ 0.7 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) และจากการศึกษาของอภิญญา จุลินทร และคณะ (2551) เกี่ยวกับการสลายตัวและพิษตกค้างของ cypermethrin ในมะม่วงจากสวนในจังหวัดสุพรรณบุรี พบว่า cypermethrin มีการสลายตัวช้ามาก จึงมีความเป็นไปได้ที่สารนี้จะมีค่าสูงเกินเกณฑ์ค่า MRLs ของทั้ง 4 ประเทศ/กลุ่มประเทศ (กำหนดค่า MRLs ไว้เท่ากันที่ 0.7 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)

ตรวจพบคือ carbendazim 2.54 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในตัวอย่างมะม่วงแรดจากจังหวัดฉะเชิงเทรา จำนวน 1 ตัวอย่าง ปริมาณที่ตรวจพบนี้มีค่าสูงเกิน Thai-MRL (2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) EU-MRL (0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) และ Japan-MRL (2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ทั้งนี้ช่วงของปริมาณ carbendazim ที่ตรวจพบในตัวอย่างมะม่วงมีความกว้างมาก ($<0.01 - 2.54$ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) แสดงถึงอัตราการสลายตัวที่ไม่เท่ากัน สอดคล้องกับงานวิจัยของ P. Ahila Devi et al. (2014) ที่ระบุว่าค่าครึ่งชีวิตของ carbendazim อยู่ในช่วงตั้งแต่ 1 ถึง 5 วัน

จากจำนวน 23 ชนิดสาร มีการกำหนดค่า Thai-MRL (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2559) ในมะม่วง 12 ชนิดสาร ใช้ค่าดีฟอลต์ลิมิต (default limit) ที่อ้างอิงจากค่า LOQ ของการวิเคราะห์ 2 ชนิดสาร และไม่มีการกำหนดค่า Thai-MRL 8 ชนิดสาร โดยสารตรวจพบการตกค้างเกินค่า Thai-MRL ในตัวอย่างมากที่สุด ได้แก่ chlorpyrifos (กำหนดไว้ที่ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) จำนวน 5 ตัวอย่าง สารชนิดอื่นที่มีปริมาณตกค้างในตัวอย่างเกินค่า Thai-MRL ได้แก่ carbendazim (1 ตัวอย่าง) และ clothianidin (1 ตัวอย่าง) เมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ด้วยเกณฑ์ของ Codex-MRL สารที่มีปริมาณสูงเกินเกณฑ์ ได้แก่ clothianidin (1 ตัวอย่าง) และ difenoconazole (1 ตัวอย่าง) หากเปรียบเทียบด้วย EU-MRL มี 3 ชนิดสารที่ไม่ผ่านเกณฑ์ ได้แก่ carbendazim (1 ตัวอย่าง) clothianidin (1 ตัวอย่าง) และ difenoconazole (1 ตัวอย่าง) และเมื่อใช้ค่า default limit ของ EU-MRL มาพิจารณาร่วมด้วย จำนวนสารที่ตกค้างเกินเกณฑ์จะเพิ่มขึ้นเป็น 9 ชนิดสาร ได้แก่ buprofezin (1 ตัวอย่าง) carbaryl (1 ตัวอย่าง) carbendazim (1 ตัวอย่าง) clothianidin (1 ตัวอย่าง) difenoconazole (1 ตัวอย่าง) imidacloprid (9 ตัวอย่าง) methomyl (2 ตัวอย่าง) prochloraz (5 ตัวอย่าง) และ procymidone (1 ตัวอย่าง) สำหรับค่า Japan-MRL ผลการเปรียบเทียบพบว่ามี carbendazim (1 ตัวอย่าง) เพียงชนิดเดียวที่ไม่ผ่านเกณฑ์ของ Japan-MRL (The Tapan Food Chemical Research Foundation, 2023)

Table 1 Residual types and concentrations detected in mango samples

| No. | Pesticide | Number of detected samples | concentrations (mg/kg) | MRL (mg/kg) (number of samples exceeding the MRL) | | | |
|-----|----------------------|----------------------------|------------------------|---|---------|------------------------|-------|
| | | | | Thai | Codex | EU | Japan |
| 1 | acephate | 1 | 0.03 | 0.05 ^{1/} | - | 0.01 ^{2/} | - |
| 2 | azoxystrobin | 30 | <0.01 - 0.14 | 0.7 | 0.7 | 4 | 1 |
| 3 | bifenthrin | 5 | < 0.01 - 0.05 | 0.05 ^{1/} | - | 0.5 | 0.3 |
| 4 | buprofezin | 2 | 0.01 - 0.03 | - | 0.1 | 0.01 ^{2/} (1) | 0.9 |
| 5 | carbaryl | 1 | 0.60 | 3 | - | 0.01 ^{2/} (1) | - |
| 6 | carbendazim | 18 | < 0.01 - 2.54 | 2 (1) | 5 | 0.5 (1) | 2 (1) |
| 7 | chlorpyrifos | 5 | 0.02 - 0.42 | 0.005 ^{1/} (5) | - | 0.01 ^{2/} | - |
| 8 | clothianidin | 14 | < 0.01 - 0.12 | 0.04 (1) | 0.04(1) | 0.04 (1) | 1 |
| 9 | cyhalothrin (lambda) | 3 | < 0.01 - 0.01 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.5 |
| 10 | cypermethrin | 34 | < 0.01 - 0.37 | 0.7 | 0.7 | 0.7 | 0.7 |
| 11 | difenoconazole | 8 | < 0.01 - 0.19 | 0.6 | 0.07(1) | 0.1 (1) | 0.07 |
| 12 | imidacloprid | 11 | < 0.01 - 0.11 | 0.4 | 0.2 | 0.01 ^{2/} (9) | 1 |
| 13 | malathion | 1 | 0.01 | - | - | 0.02 ^{2/} | 8 |
| 14 | methomyl | 2 | 0.02 - 0.08 | - | - | 0.01 ^{2/} (2) | 3 |
| 15 | omethoate | 1 | < 0.01 | - | - | 0.01 ^{2/} | 1 |
| 16 | prochloraz | 14 | < 0.01 - 0.33 | 7 | 7 | 0.03 ^{2/} (5) | 2 |
| 17 | procymidone | 2 | < 0.01 - 0.01 | - | - | 0.01 ^{2/} (1) | - |
| 18 | profenofos | 1 | 0.01 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| 19 | propiconazole | 1 | < 0.01 | - | 0.05 | 0.1 | 0.1 |
| 20 | prothiofos | 1 | 0.05 | - | - | - | - |
| 21 | tebuconazole | 1 | < 0.01 | - | 0.05 | 0.1 | 0.1 |
| 22 | thiamethoxam | 7 | < 0.01 - 0.12 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| 23 | thiophanate-methyl | 1 | 0.03 | - | - | 1 | 2 |

^{1/} The default limit for Thai-MRL

^{2/} The default limit for EU-MRL

2. ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างทุเรียน

ตัวอย่างทุเรียนจำนวน 90 ตัวอย่าง ที่สุ่มเก็บมาจากแหล่งผลิตในพื้นที่จังหวัดฉะเชิงเทรา ปราจีนบุรี ชลบุรี และจันทบุรี ตรวจพบสารพิษตกค้างตั้งแต่ 1 ชนิดขึ้นไป 80 ตัวอย่าง คิดเป็น 89% ของตัวอย่างทั้งหมด และสารที่ตรวจพบมีทั้งหมด 49 ชนิด ดังรายละเอียดแสดงใน Table 2

สารพิษตกค้างที่ตรวจพบในตัวอย่างทุเรียนจำนวนมากที่สุด คือ cypermethrin โดยตรวจพบจำนวน 50 ตัวอย่างมีปริมาณอยู่ในช่วง $0.01 - 2.39$ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และมี 4 ตัวอย่างที่มี cypermethrin เกินค่า Thai-MRL Codex-MRL และ EU-MRL (กำหนดไว้เท่ากันที่ 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ได้แก่ ทุเรียนหอมทองจากจังหวัดจันทบุรี 1 ตัวอย่าง (2.39 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ทุเรียนพวงมณี ทุเรียนกระดุม และทุเรียนหอมทองจากจังหวัดระยอง สายพันธุ์ละ 1 ตัวอย่าง (1.32 1.65 และ 1.54 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ) ในขณะที่ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดที่ตรวจพบคือ carbaryl 8.10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในตัวอย่างทุเรียนหอมทองจากจังหวัดจันทบุรี 1 ตัวอย่าง ปริมาณการตกค้างนี้เกินค่า default limit ของ EU-MRL (0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) โดยสาร carbaryl ที่ตรวจพบนี้เป็นสารกำจัดแมลงที่ใช้ในการกำจัดหนอนเจาะเมล็ดทุเรียน ซึ่งเกษตรกรนิยมใช้ตั้งแต่เดือนแรกหลังจากทุเรียนติดผล (ศรีจันทร์, 2565) จึงทำให้มีโอกาสตรวจพบสารชนิดนี้ในปริมาณที่สูง สอดคล้องกับการศึกษาของประชาติปัทย์ และคณะ (2560) ที่ทำการทดลองฉีดพ่น carbaryl ลงในแปลงทุเรียนอำเภอมะขาม จังหวัดจันทบุรี 1 แปลง และอำเภอแหลมสิงห์ จังหวัดจันทบุรี 1 แปลง รายงานตรวจสารพิษตกค้าง carbaryl ที่ระยะเก็บเกี่ยวในทุเรียนจากแปลงอำเภอมะขาม 2.77 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และแปลงอำเภอแหลมสิงห์ 1.43 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

จากจำนวน 49 ชนิดสาร มีการกำหนดค่า Thai-MRL ในทุเรียน 8 ชนิดสาร ใช้ค่า default limit 5 ชนิดสารและไม่มีการกำหนดค่า Thai-MRL 36 ชนิดสาร สารที่ตรวจพบการตกค้างเกินค่า Thai-MRL ในตัวอย่างมากที่สุด ได้แก่ carbendazim จำนวน 10 ตัวอย่าง คิดเป็น 62% ของตัวอย่างทั้งหมดที่ตรวจพบ carbendazim ส่วนสารชนิดอื่นที่มีปริมาณตกค้างในตัวอย่างเกินค่า Thai-MRL ได้แก่ acephate (9 ตัวอย่าง) chlorpyrifos (6 ตัวอย่าง) cyfluthrin (1 ตัวอย่าง) fenvalerate (1 ตัวอย่าง) fipronil (2 ตัวอย่าง) และ profenofos (6 ตัวอย่าง)

เมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ด้วยเกณฑ์ MRLs จากหน่วยงานอื่น พบว่า Codex ได้กำหนดค่า MRL สำหรับทุเรียนไว้เพียง 1 ชนิดสาร คือ cypermethrin และ Japan-MRL ไม่มีข้อมูลค่า MRL ในขณะที่สหภาพยุโรป กำหนด EU-MRL ไว้ 3 ชนิดสาร ซึ่งพบการตกค้างเกินเกณฑ์ 1 ชนิดสาร คือ cypermethrin ใน 4 ตัวอย่างตามที่กล่าวข้างต้น และเป็นข้อมูลที่ใช้ default limit อีก 38 ชนิดสาร พบการตกค้างเกินเกณฑ์ 36 ชนิดสาร

Table 2 Residual types and concentrations detected in durian samples

| No. | Pesticide | Number of detected samples | concentration (mg/kg) | | MRL (mg/kg) (number of samples exceeding the MRL) | | | |
|-----|-------------------------|----------------------------|-----------------------|--------|---|-------|-------------------------|-------|
| | | | | | Thai | Codex | EU | Japan |
| 1 | acephate | 10 | 0.04 | - 1.17 | 0.05 ^{1/} (9) | - | 0.01 ^{2/} (10) | - |
| 2 | acetamiprid | 7 | 0.01 | - 0.20 | - | - | 0.01 ^{2/} (2) | - |
| 3 | azoxystrobin | 14 | <0.01 | - 1.10 | - | - | 0.01 ^{2/} (9) | - |
| 4 | bifenthrin | 3 | <0.01 | - 0.16 | - | - | 0.01 ^{2/} (2) | - |
| 5 | buprofezin | 5 | 0.03 | - 0.22 | - | - | 0.01 ^{2/} (5) | - |
| 6 | carbaryl | 7 | 0.01 | - 8.10 | 30 | - | 0.01 ^{2/} (5) | - |
| 7 | carbendazim | 16 | 0.02 | - 1.49 | 0.1 (10) | - | 0.1 ^{2/} (10) | - |
| 8 | carbofuran ⁺ | 1 | 0.01 | | 0.02 | - | 0.01 ^{2/} | - |
| 9 | chlorpyrifos | 9 | <0.01 | - 0.10 | 0.005 ^{1/} (6) | - | 0.01 ^{2/} (4) | - |
| 10 | clothianidin | 4 | <0.01 | - 0.02 | 0.9 | - | 0.01 ^{2/} (1) | - |
| 11 | cyfluthrin | 2 | 0.02 | - 0.09 | 0.02*(1) | - | 0.01 ^{2/} (2) | - |
| 12 | cyhalothrin (lambda) | 14 | <0.01 | - 0.33 | 0.5 | - | 0.01 ^{2/} (7) | - |
| 13 | cypermethrin | 50 | <0.01 | - 2.39 | 1 (4) | 1 (4) | 1 (4) | - |
| 14 | cyazofamid | 3 | 0.03 | - 0.37 | - | - | 0.01 ^{2/} (3) | - |
| 15 | diazinon | 1 | 0.04 | | - | - | 0.01 ^{2/} (1) | - |
| 16 | difenoconazole | 2 | 0.02 | - 0.03 | - | - | 0.1 | - |
| 17 | dinotefuran | 4 | <0.01 | - 0.41 | - | - | - | - |
| 18 | dimethomorph | 16 | 0.01 | - 0.84 | - | - | 0.01 ^{2/} (10) | - |
| 19 | ethaboxam | 2 | 0.03 | - 0.27 | - | - | - | - |
| 20 | ethion | 3 | 0.43 | - 0.87 | - | - | 0.01 ^{2/} (3) | - |
| 21 | fenitrothion | 1 | 0.03 | | - | - | 0.01 ^{2/} (1) | - |
| 22 | fenobucarb | 2 | <0.01 | - 0.01 | - | - | - | - |
| 23 | fenpyroximate | 1 | 0.04 | | - | - | 0.01 ^{2/} (1) | - |
| 24 | fenvalerate | 2 | 0.02 | - 0.09 | 0.02 ^{1/} (1) | - | 0.02 ^{2/} (1) | - |
| 25 | fipronil | 2 | 0.02 | - 0.05 | 0.005 ^{1/} (2) | - | 0.005 ^{2/} (2) | - |
| 26 | fluazinam | 2 | 0.04 | - 0.19 | - | - | 0.01 ^{2/} (2) | - |
| 27 | fluopicolid | 1 | 0.04 | | - | - | 0.01 ^{2/} (1) | - |
| 28 | imidacloprid | 12 | 0.01 | - 0.48 | - | - | 0.01 ^{2/} (9) | - |
| 29 | isoprothiolane | 1 | 0.21 | | - | - | - | - |
| 30 | metalaxyl | 15 | <0.01 | - 0.31 | 0.5 | - | 0.01 ^{2/} (14) | - |

Table 2 Residual types and concentrations detected in durian samples (cont.)

| No. | Pesticide | Number of detected samples | concentration (mg/kg) | | MRL (mg/kg) (number of samples exceeding the MRL) | | | |
|-----|--------------------|----------------------------|-----------------------|--------|---|-------|-------------------------|-------|
| | | | | | Thai | Codex | EU | Japan |
| 31 | methamidophos | 9 | 0.01 | - 0.27 | - | - | 0.01 ^{2/} (8) | - |
| 32 | methomyl | 17 | <0.01 | - 0.46 | - | - | 0.01 ^{2/} (5) | - |
| 33 | myclobutanil | 13 | 0.01 | - 0.27 | - | - | 0.01 ^{2/} (12) | - |
| 34 | omethoate | 19 | 0.01 | - 1.10 | - | - | 0.01 ^{2/} (17) | - |
| 35 | phenthoate | 1 | 0.13 | | - | - | - | - |
| 36 | pirimifos-methyl | 5 | <0.01 | - 0.05 | - | - | 0.01 ^{2/} (3) | - |
| 37 | prochloraz | 5 | 0.01 | - 0.10 | - | - | 7 | - |
| 38 | procymidone | 1 | 2.88 | | - | - | 0.01 ^{2/} (1) | - |
| 39 | profenofos | 13 | <0.01 | - 0.63 | 0.05 (6) | - | 0.01 ^{2/} (11) | - |
| 40 | propiconazole | 3 | <0.01 | - 0.16 | - | - | 0.01 ^{2/} (2) | - |
| 41 | prothiofos | 3 | <0.01 | - 0.11 | - | - | - | - |
| 42 | pyraclostrobin | 7 | <0.01 | - 0.14 | - | - | 0.02 ^{2/} (5) | - |
| 43 | pyridaben | 1 | 0.01 | | - | - | 0.01 ^{2/} | - |
| 44 | tebuconazole | 2 | 0.06 | - 0.56 | - | - | 0.02 ^{2/} (2) | - |
| 45 | tetraconazole | 1 | 0.04 | | - | - | 0.02 ^{2/} (1) | - |
| 46 | tolfenpyrade | 1 | 0.09 | | - | - | - | - |
| 47 | triazophos | 2 | 0.19 | - 0.74 | - | - | 0.01 ^{2/} (2) | - |
| 48 | thiamethoxam | 22 | <0.01 | - 0.11 | - | - | 0.01 ^{2/} (12) | - |
| 49 | thiophanate-methyl | 1 | 0.02 | | - | - | 0.1 ^{2/} | - |

^{1/} The default limit for Thai-MRL

^{2/} The default limit for EU-MRL

3. การประเมินความเสี่ยงต่อการบริโภคตัวอย่างมะม่วง

สารพิษตกค้างในตัวอย่างมะม่วงที่ตรวจพบว่ามีปริมาณสูงกว่าค่า Thai-MRL หรือยังไม่มีกำหนดค่า Thai-MRL จะถูกประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพทั้งระยะสั้นและระยะยาว โดยความเสี่ยงต่อการบริโภคมะม่วงในระยะสั้น ได้ค่า HQ_a อยู่ในช่วง 0.00 – 0.22 สารที่มีค่า HQ_a มากที่สุดคือ cypermethrin เท่ากับ 0.22 แสดงว่าการบริโภคมะม่วงที่ตรวจพบสารพิษตกค้างสูงกว่าค่า Thai-MRL หรือสารพิษตกค้างที่ยังไม่มีกำหนดค่า Thai-MRL เหล่านี้ จะไม่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพในระยะเฉียบพลัน ในขณะที่ความเสี่ยงต่อการบริโภคมะม่วงในระยะยาว ได้ค่า HQ_c อยู่ในช่วง 0.00 – 1.72 ซึ่งสารที่มีค่า HQ_c มากกว่า 1 คือ prothiofos (HQ_c = 1.72) บ่งชี้ว่าการบริโภคมะม่วงที่มีสารตกค้าง prothiofos อย่างต่อเนื่อง อาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพในระยะยาวได้ รายละเอียดดังแสดงใน Table 3

Table 3 The risk assessment results for pesticide residues in mango samples that exceed Thai-MRLs or have not been determined Thai-MRLs yet.

| Pesticide | Short-term risk assessment | | | Long-term risk assessment | | | References of ADI and ARfD values |
|--------------|----------------------------|-------------------|-----------------|---------------------------|------------------|-----------------|-----------------------------------|
| | NESTI (mg/kg bw-d) | ARfD (mg/kg bw-d) | HQ _a | NEDI (mg/kg bw-d) | ADI (mg/kg bw-d) | HQ _c | |
| carbendazim | 2.36×10 ⁻² | 0.1 | 0.24 | 1.00×10 ⁻² | 0.03 | 0.32 | JMPR 2005 |
| chlorpyrifos | 1.56×10 ⁻³ | 0.1 | 0.02 | 1.55×10 ⁻³ | 0.01 | 0.16 | JMPR 2004 |
| clothianidin | 5.16×10 ⁻⁴ | 0.6 | 0.00 | 2.08×10 ⁻⁴ | 0.1 | 0.00 | JMPR 2010 |
| cypermethrin | 8.61×10 ⁻³ | 0.04 | 0.22 | 3.47×10 ⁻³ | 0.02 | 0.17 | JMPR 2006 |
| methomyl | 4.76×10 ⁻⁴ | 0.02 | 0.02 | 3.06×10 ⁻⁴ | 0.02 | 0.02 | JMPR 2001 |
| procymidone | 8.07×10 ⁻⁵ | 0.1 | 0.00 | 3.77×10 ⁻⁵ | 0.1 | 0.00 | JMPR 2007 |
| prothiofos | 4.27×10 ⁻⁴ | 0.0047 | 0.09 | 1.72×10 ⁻⁴ | 0.0001 | 1.72 | Alterra-rapport 789 |

หมายเหตุ : NESTI คือ ค่าปริมาณการบริโภคระยะสั้นของประชากรในประเทศ (national estimation of short-term intake)

ARfD คือ ค่าปริมาณอ้างอิงเฉียบพลัน (acute reference dose)

HQ_a คือ ค่าสัดส่วนความเสี่ยงระยะเฉียบพลัน (acute hazard quotient)

NEDI คือ ค่าปริมาณการบริโภคต่อวันของประชากรในประเทศ (national estimation of daily intake)

ADI คือ ค่าปริมาณการบริโภคต่อวันที่ยอมรับได้ (acceptable daily intake)

HQ_c คือ ค่าสัดส่วนความเสี่ยงระยะเรื้อรัง (chronic hazard quotient)

4. การประเมินความเสี่ยงต่อการบริโภคตัวอย่างทุเรียน

สารพิษตกค้างในตัวอย่างทุเรียนที่ตรวจพบว่ามีปริมาณสูงกว่าค่า Thai-MRL หรือยังไม่มีกำหนดค่า Thai-MRL จะถูกประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพทั้งระยะสั้นและระยะยาว โดยผลการประเมินความเสี่ยงระยะสั้น ได้ค่า HQ_a อยู่ในช่วง 0.00 – 4.93 สารที่มีค่า HQ_a มากกว่า 1 ได้แก่ omethoate (HQ_a = 3.63) และ triazophos (HQ_a = 4.93) แสดงว่าการบริโภคทุเรียนที่ตรวจพบทั้งสารทั้ง 2 ชนิดนี้ อาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพในระยะเฉียบพลันได้ ในขณะที่ผลการประเมินความเสี่ยงระยะยาว ได้ค่า HQ_c อยู่ในช่วง 0.00 – 1.66 ซึ่งสารที่มีค่า HQ_c มากกว่า 1 ได้แก่ omethoate (HQ_c = 1.57) triazophos (HQ_c = 1.66) และ prothiofos (HQ_c = 1.61) ตามลำดับ การบริโภคทุเรียนที่มีสารพิษตกค้างทั้ง 3 ชนิดนี้ อาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพในระยะยาวได้ รายละเอียดดังแสดงใน Table 4

Table 4 The risk assessment results for pesticide residues in durian samples that exceed Thai-MRLs or have not been determined Thai-MRLs yet.

| Pesticide | Short-term risk assessment | | | Long-term risk assessment | | | References of ADI and ARfD values |
|--------------|----------------------------|-------------------|-----------------|---------------------------|------------------|-----------------|-----------------------------------|
| | NESTI (mg/kg bw-d) | ARfD (mg/kg bw-d) | HQ _a | NEDI (mg/kg bw-d) | ADI (mg/kg bw-d) | HQ _c | |
| acephate | 7.75×10 ⁻³ | 0.1 | 0.08 | 1.79×10 ⁻³ | 0.03 | 0.06 | JMPR 2005 |
| bifenthrin | 1.05×10 ⁻³ | 0.01 | 0.10 | 2.91×10 ⁻⁴ | 0.01 | 0.03 | JMPR 2009 |
| carbaryl | 5.36×10 ⁻² | 0.2 | 0.27 | 4.19×10 ⁻³ | 0.008 | 0.52 | JMPR 2001 |
| carbendazim | 9.83×10 ⁻³ | 0.1 | 0.10 | 3.44×10 ⁻³ | 0.03 | 0.11 | JMPR 2005 |
| chlorpyrifos | 6.41×10 ⁻⁴ | 0.1 | 0.01 | 1.72×10 ⁻⁴ | 0.01 | 0.02 | JMPR 2004 |
| cyfluthrin | 5.95×10 ⁻⁴ | 0.01 | 0.06 | 1.98×10 ⁻⁴ | 0.04 | 0.00 | JMPR 2006 |
| cypermethrin | 1.58E-02 | 0.04 | 0.39 | 6.12×10 ⁻³ | 0.02 | 0.31 | JMPR 2006 |
| fenvalerate | 5.65×10 ⁻⁴ | 0.2 | 0.00 | 3.03×10 ⁻⁴ | 0.02 | 0.02 | JMPR 2012 |
| fipronil | 3.35×10 ⁻⁴ | 0.03 | 0.01 | 1.33×10 ⁻⁴ | 0.0002 | 0.66 | JMPR 2021 |
| imidacloprid | 3.16×10 ⁻³ | 0.4 | 0.01 | 3.06×10 ⁻⁴ | 0.06 | 0.01 | JMPR 2001 |
| omethoate | 7.27×10 ⁻³ | 0.002 | 3.63 | 6.27×10 ⁻⁴ | 0.0004 | 1.57 | JMPR 2022 |
| procymidone | 1.91×10 ⁻² | 0.1 | 0.19 | 1.02×10 ⁻² | 0.1 | 0.10 | JMPR 2007 |
| profenofos | 4.15×10 ⁻³ | 1 | 0.00 | 4.70×10 ⁻⁴ | 0.03 | 0.02 | JMPR 2007 |
| prothiofos | 7.31×10 ⁻⁴ | 0.0047 | 0.16 | 1.61×10 ⁻⁴ | 0.0001 | 1.61 | Alterra-rapport 789 |
| triazophos | 4.93×10 ⁻³ | 0.001 | 4.93 | 1.66×10 ⁻³ | 0.001 | 1.66 | JMPR 2002 |

หมายเหตุ : NESTI คือ ค่าปริมาณการบริโภคระยะสั้นของประชากรในประเทศ (national estimation of short-term intake)

ARfD คือ ค่าปริมาณอ้างอิงเฉียบพลัน (acute reference dose)

HQ_a คือ ค่าสัดส่วนความเสี่ยงระยะเฉียบพลัน (acute hazard quotient)

NEDI คือ ค่าปริมาณการบริโภคต่อวันของประชากรในประเทศ (national estimation of daily intake)

ADI คือ ค่าปริมาณการบริโภคต่อวันที่ยอมรับได้ (acceptable daily intake)

HQ_c คือ ค่าสัดส่วนความเสี่ยงระยะเรื้อรัง (chronic hazard quotient)

สรุปผลการทดลอง

สารพิษตกค้างในตัวอย่างมะม่วงที่สุ่มจากแหล่งผลิตในพื้นที่จังหวัดฉะเชิงเทรา ปราจีนบุรี ชลบุรี ระยอง และ จันทบุรี ตรวจพบสารพิษตกค้างเกินค่า Thai-MRL ได้แก่ carbendazim, chlorpyrifos และ clothianidin นอกจากนี้ มีจำนวน 8 ชนิดสารที่ยังไม่มีการกำหนดค่า Thai-MRL ในขณะที่สารพิษตกค้างในตัวอย่างทุเรียน ตรวจพบสารพิษตกค้างเกินค่า Thai-MRL ได้แก่ acephate, carbendazim, chlorpyrifos, cyfluthrin, cypermethrin, fenvalerate, fipronil และ profenofos และมีจำนวน 33 ชนิดสารที่ยังไม่มีการกำหนดค่า Thai-MRL การบริโภค มะม่วงและทุเรียนที่มีสารพิษตกค้างชนิด prothiofos อาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพในระยะยาว และการบริโภคทุเรียนที่มีสารพิษตกค้างชนิด omethoate และ triazophos อาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพทั้งในระยะสั้นและระยะยาว

ข้อมูลการสำรวจสารพิษตกค้างในตัวอย่างและการประเมินความเสี่ยงต่อการบริโภคในผลการศึกษานี้จะ ใช้เป็นแนวทางสำหรับเฝ้าระวังการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตรในมะม่วงและทุเรียนในแหล่งผลิตที่สำคัญของ ประเทศ รวมถึงเป็นข้อมูลอ้างอิงที่ใช้ประเมินการขึ้นทะเบียนวัตถุอันตรายในอนาคต เพื่อเป็นประโยชน์ต่อความ มั่นคงทางอาหารและการเติบโตทางการส่งออกของภาคการเกษตรของประเทศ

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. เพื่อติดตามสถานการณ์การตกค้างของการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตรในมะม่วงและทุเรียนในแหล่ง ผลิตที่สำคัญ
2. เพื่อเป็นข้อมูลแนวทางสำหรับเฝ้าระวังการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตรในการผลิตมะม่วงและทุเรียน ของเกษตรกร
3. เพื่อใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงทางวิชาการสำหรับการตกค้างของการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตรและการ ประเมินความเสี่ยงต่อการบริโภคมะม่วงและทุเรียน
4. เพื่อใช้ในประกอบการพิจารณาการกำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRLs) ของประเทศไทย

เอกสารอ้างอิง

- กรุงเทพมหานคร. 2548. ญีปุ่นคุมสารตกค้างกระทบส่งออกมะม่วง. แหล่งข้อมูล:
<http://www.ftawatch.org/node/2298>. ค้นเมื่อ 15 ตุลาคม 2566.
- ประชาติปัทม์ พงษ์ภิญโญ, พรนภัส วิชานนธนาพันธ์, และเพชร เมินหา. 2560. . วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของ คาร์บาริล (Carbaryl) ในทุเรียน เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง. รายงานผลงานเรื่องเต็ม การทดลองที่สิ้นสุด ปี 2560.
- สำนักงานที่ปรึกษาการเกษตรต่างประเทศ ประจำกรุงโตเกียว. 2566. กระทรวงสาธารณสุข ญีปุ่น ตรวจพบสาร Procymidone ตกค้างเกินค่ามาตรฐานในทุเรียนที่ นำเข้าจากประเทศไทย. แหล่งข้อมูล:
<https://www.opsmoac.go.th/tokyo-news-preview-451491791075>. ค้นเมื่อ 15 ตุลาคม 2566.
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559. สารพิษตกค้าง: ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด. แหล่งข้อมูล: <https://www.acfs.go.th/standard/download/MAXIMUM-RESIDUE-LIMITS.pdf>. ค้น เมื่อ 7 กรกฎาคม 2566.
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2565. เกาหลีแจ้งเตือนสารเคมีตกค้างในผลไม้นำเข้าจาก ไทย. แหล่งข้อมูล: <https://www.warning.acfs.go.th/th/early-warning/view/?page=7914>. ค้น เมื่อ 15 ตุลาคม 2566.

- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2566. สินค้าเกษตรมะม่วง. แหล่งข้อมูล: <https://mis-app.oae.go.th/product/มะม่วง>. ค้นเมื่อ 15 ตุลาคม 2566.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2566. สินค้าเกษตรทุเรียน. แหล่งข้อมูล: <https://mis-app.oae.go.th/product/ทุเรียน>. ค้นเมื่อ 15 ตุลาคม 2566.
- ศรีจันทร์ ศรีจันทร์. 2565. เอกสารวิชาการ คำแนะนำการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช จากงานวิจัย ปี 2565. โครงการวิจัยและพัฒนาการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพื่อใช้เป็นคำแนะนำในการผลิตพืชบริโภคในประเทศและส่งออก. กรุงเทพฯ : กรมวิชาการเกษตร.
- ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กรมส่งเสริมการเกษตร. 2563. แสดงข้อมูลการเปรียบเทียบเนื้อที่ปลูกมะม่วง ปี 2558 -2562. แหล่งข้อมูล: <http://www.agriinfo.doae.go.th/year63/plant/rortor/fruit/mango.pdf>. ค้นเมื่อ 15 ตุลาคม 2566.
- อภิญา จุลินทร, ปรีชา ฉัตรสันติประภา, และณัฐชัชชร ชัตติยะพุดิเมธ. 2551. ศึกษาการสลายตัวและพิษตกค้างของวัตภูมิพิษการเกษตรในมะม่วง : cypermethrin. คลังผลงานวิจัย กรมวิชาการเกษตร 80.
- EN 15662 2008. Food of Plant Origin-Determination of Pesticide Residue Using GC-MS and/or LC-MS/MS Following Acetonitrile Extraction/Partitioning and Clean-up by Dispersive SPE-QuEChERS method.
- P. Ahila Devi, Paramasivam, M., and Prakasam, V. 2014. Degradation pattern and risk assessment of carbendazim and mancozeb in mango fruits. Environmental Monitoring and Assessment 187.
- FAO. 2016. Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of maximum residue levels in food and feed. Available: <http://www.fao.org/3/I5452e/I5452e.pdf>. Accessed Sep.14, 2023.
- FAO. Pesticides | CODEXALIMENTARIUS FAO-WHO. Available: <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/pesticides/en/>. Accessed Jul.7, 2023.
- The Japan Food Chemical Research Foundation. Available: <https://www.ffcr.or.jp/en/zanryu/>. Accessed Jul.7, 2023.
- WHO. 2023. Inventory of evaluations performed by the Joint Meeting on Pesticide Residues (JMPR). Available: <https://apps.who.int/pesticide-residues-jmpr-database/Home/Range/A-C>. Accessed Sep.14, 2023.

วิจัยการใช้เทคนิคที่แอลซีสมรรถนะสูง (HPTLC) ในการทำเอกลักษณ์โครมาโทกราฟี
ของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ในสารสกัดดาหลา

Study on HPTLC Technique for Providing Fingerprint of Flavonoids
Compounds in Torch Ginger Extract

ณัฐพร ฉันทศักดิ์¹ พรพยุ่ง คงสุวรรณ² ศิริพร สอนท่าโก¹ นนทกร จันทร์แสง² สุภาภรณ์ สาขาดี³
Nattaporn Chanthasakda¹ Pompayung Kongsuwon² Siriporn Sonthako¹
Nonthakorn Junsang² Supaporn Sacharti³

กลุ่มวิจัยวัตุภูมิพืชการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The present study was conducted to provide HPTLC fingerprint of flavonoids groups from torch ginger extracts from Yala Horticultural Research Center using High-Performance Thin-Layer Chromatography (HPTLC) technique. Stem with leaves and flowers of ten varieties of torch ginger extracted by ethanol gave crudes in range 1.83 - 3.98% W/W and 1.17 - 2.73% W/W, respectively. HPTLC fingerprint of flavonoids was performed by HPTLC plate silica gel 60 F₂₅₄ size 20x10 cm using a mixture of ethyl acetate : formic acid : water (18:1.5:1.5, v/v/v) as mobile phase. Post-chromatographic derivatization was employed by spraying with aluminium chloride to visualize flavonoid spots and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) to visualize antioxidant spots. The flavonoids were detected at wavelength 265 nm. Stem with leaves extracts provide 7 spots of main flavonoids at R_F 0.12, 0.22, 0.27, 0.30, 0.35, 0.42 and 0.50. Flower extracts provide 7 spots of main flavonoids at R_F 0.12, 0.24, 0.30, 0.35, 0.42, 0.70 and 0.81. Comparison flavonoids in each torch ginger varieties found that torch ginger in same group had same type of flavonoids but different content of flavonoids. Moreover, stem with leaves extracts showed higher quantity of flavonoids than flower extracts.

Keywords: flavonoids, HPTLC fingerprint, torch ginger

¹ กลุ่มวิจัยวัตุภูมิพืชการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

¹ Agricultural Toxic Substance Research Group, Agricultural Production Science Research and Development Division

² ศูนย์วิจัยพืชสวนยะลา

² Yala Horticultural Research Center

³ สถาบันวิจัยพืชสวน

³ Horticultural Research Institute

บทคัดย่อ

การทำเอกลักษณ์โครมาโทกราฟีของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์จากสารสกัดหยาดดาหลา ด้วยเทคนิคที่แอลซีสมรรถนะสูง (HPTLC) โดยศึกษาในตัวอย่างดาหลา 10 พันธุ์/สายต้น จากศูนย์วิจัยพืชสวนยะลา ได้แก่ พันธุ์ตรัง 1 ตรัง 2 ตรัง 3 ตรัง 4 ตรัง 5 สายต้นชมพูบ้านแห่ สายต้นแดงอินโด สายต้นดาหลาดำ สายต้นดาหลาไฟ และสายต้นดาหลาขี้แมว ที่อายุหลังปลูก 24 เดือน ดำเนินการสกัดส่วนต้นพร้อมใบ และดอก ด้วยเอทานอล ได้สารสกัดหยาดอยู่ระหว่าง 1.83 - 3.98% W/W และส่วนดอกได้ปริมาณสารสกัดหยาดอยู่ระหว่าง 1.17 - 2.73% W/W ศึกษาหาเอกลักษณ์โครมาโทกราฟีของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ ด้วยเทคนิค HPTLC โดยใช้ HPTLC plate silica gel 60 F₂₅₄ ขนาด 20x10 ซม. สภาวะที่เหมาะสมคือ mobile phase : ethyl acetate : formic acid : water (18:1.5:1.5, v/v/v); น้ำยาพ่น aluminium chloride สำหรับพิสูจน์กลุ่มสารฟลาโวนอยด์ และน้ำยาพ่น 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) สำหรับพิสูจน์สารต้านอนุมูลอิสระ ตรวจวัดกลุ่มสารที่ความยาวคลื่น 265 นาโนเมตร พบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาดส่วนต้นพร้อมใบที่ R_F 7 ตำแหน่ง คือ 0.12, 0.22, 0.27, 0.30, 0.35, 0.42 และ 0.50 และพบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาดส่วนดอกที่ R_F 7 ตำแหน่ง คือ 0.12, 0.24, 0.30, 0.35, 0.42, 0.70 และ 0.81 เมื่อเปรียบเทียบกลุ่มฟลาโวนอยด์ในดาหลาแต่ละพันธุ์/สายต้น พบว่าดาหลาชนิดเดียวกันจะมีชนิดฟลาโวนอยด์หลักเหมือนกัน แต่ปริมาณฟลาโวนอยด์แตกต่างกันทั้งในส่วนต้นพร้อมใบและส่วนดอก โดยที่ปริมาณฟลาโวนอยด์ในดาหลาส่วนต้นพร้อมใบมีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงกว่าส่วนดอก

คำสำคัญ: ฟลาโวนอยด์, เอกลักษณ์โครมาโทกราฟี, ดาหลา

บทนำ

ดาหลาเป็นพืชล้มลุก ในวงศ์ ZINGIBERACEAE มีกลิ่นหอมฉุนเฉพาะตัว มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Etlingera elatior* พบหลายสายพันธุ์ในประเทศไทย โดยเฉพาะในภาคใต้ตอนล่าง (ปัตตานี ยะลา นราธิวาส) นิยมนำมาประกอบอาหาร และใช้เป็นยาพื้นบ้าน เนื่องจากในดาหลามีกลิ่นหอมฉุนเฉพาะที่สามารถใช้ในด้านสมุนไพรบำบัด มีสารสำคัญกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต้านอนุมูลอิสระ จึงถูกนำมาพัฒนามาเป็นผลิตภัณฑ์สำหรับอุตสาหกรรมผลิตยา เวชสำอาง แพทย์แผนไทย อาหาร และสปา

จากการศึกษาของ Williams & Harborne (1977) พบว่า ใบดอกดาหลา (*E. elatior*) มีฟลาโวนอยด์ 4 ชนิด คือ kaempferol 3-glucuronide, quercetin 3-glucuronide, quercetin 3-glucuronide, quercetin 3-rhamnoside ในขณะที่ปิยศิริ (2551) พบว่า ดอกดาหลามีสารประกอบฟีนอลิก ในกลุ่มสารประกอบฟลาโวนอยด์ที่มีมวลสูง โดยสุรพงศ์และบันลือ (2559) พบว่า กลีบดอกดาหลามีสารต้านอนุมูลอิสระ 4 ชนิด คือ caffeoyquinic acid, chlorogenic, quercetin, iso-quercetin เช่นเดียวกับกฤติยา (2556) ได้ศึกษาทางด้านสารเคมีของดาหลาพบสารสำคัญในกลุ่มฟีนอลิก และ ฟลาโวนอยด์ ทั้งในส่วนของใบ ดอก และเหง้า ซึ่งล้วนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่โดดเด่น โดยมีลำดับความแรงดังนี้ สารสกัดจากส่วนใบ > สารสกัดจากส่วนดอก > สารสกัดจากส่วนเหง้า นอกจากนี้ยังพบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย (จากน้ำมันหอมระเหยและใบ) ฤทธิ์ต้านความเป็นพิษต่อตับ (จากช่อดอก) ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ tyrosinase (จากใบ) และฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง (จากเหง้า) นอกจากนี้ Lachumy *et al.* (2010) ได้ทดสอบฤทธิ์ทางยา คุณสมบัติทางพิษวิทยา และความเป็นพิษของสารสกัดเมทานอลของดอกดาหลา *Etlingera elatior* (torch ginger) พบว่า ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียในหลอดทดลอง (MIC value) เท่ากับ 1.563 - 50.0 mg/mL และพบกลุ่มสารทางพิษวิทยา คือ ฟลาโวนอยด์ เทอร์พีนอยด์ ซาโปนิน แทนนิน และไม่มีพิษต่อมนุษย์

การคัดเลือกสายพันธุ์และการส่งเสริมการปลูกดาหลาให้ได้กลุ่มสารสำคัญที่สอดคล้องกับความต้องการของภาคอุตสาหกรรม และกลุ่มเป้าหมาย จึงเป็นสิ่งสำคัญ คณะผู้วิจัยจึงมีแผนการวิจัยเพื่อปรับปรุงและคัดเลือก

สายพันธุ์ดาหลาให้มีลักษณะเป็นที่ต้องการของตลาดและพัฒนาเทคโนโลยีการปลูกดาหลา อย่างไรก็ตาม ยังพบปัญหาด้านข้อมูลพื้นฐานของสารสำคัญในดาหลาที่ไม่เพียงพอและไม่มีตัวบ่งชี้คุณภาพของดาหลา จึงมีความจำเป็นต้องศึกษาวิจัยกลุ่มสารสำคัญในพันธุ์ดาหลาแต่ละสายพันธุ์ เป็นข้อมูลเปรียบเทียบปริมาณและชนิดสารสำคัญในแต่ละสายพันธุ์ เพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนการคัดเลือกสายพันธุ์ไปใช้ประโยชน์ได้ตรงตามความต้องการและเป็นทางเลือกใหม่สำหรับอุตสาหกรรมการผลิตยา เวชสำอาง แพทย์แผนไทย อาหาร และสปา นำไปสู่การเพิ่มมูลค่าให้แก่ดาหลาพืชท้องถิ่นของภาคใต้ตอนล่าง เพื่อสร้างรายได้และยกระดับคุณภาพชีวิตของประชาชนในพื้นที่ให้มีความอยู่ดีกินและยั่งยืน โดยงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาสารสำคัญกลุ่มฟลาโวนอยด์จากดาหลา 10 พันธุ์/สายต้น ด้วยเทคนิคที่แอลซีสมรรถนะสูง (HPTLC) เพื่อเป็นข้อมูลการปรับปรุงและคัดเลือกสายพันธุ์ดาหลาต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องแก้ว ได้แก่ กรวยแก้ว, กรวยกรองบุชเนอร์, ปีกเกอร์, กระจบอกตวง, ขวดก้านกลม เป็นต้น
2. สารเคมี ได้แก่ ethyl acetate, ethanol, chloroform, hexane, toluene, diethyl ether, formic acid, acetic acid, aluminium chloride, antimony (III) chloride, *p*-toluenesulfonic acid, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) และ *p*-anisaldehyde sulfuric acid เป็นต้น
3. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ ได้แก่ เครื่องชั่งตวงวัดชนิดมีน้ำหนัก, เครื่องอัลตราโซนิก, บั๊มสุญญากาศ, เครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator), เครื่องที่แอลซีสมรรถนะสูง (High-Performance Thin-Layer Chromatography : HPTLC) เป็นต้น

วิธีการ

1. เตรียมตัวอย่าง ต้นพร้อมใบ และดอกดาหลา ที่อายุหลังปลูก 24 เดือน จากศูนย์วิจัยพืชสวนยะลา ล้างทำความสะอาด และสับตัวอย่างที่แยกไว้ให้ละเอียด โดยใช้ดาหลา 3 ชนิด ดังนี้ (1) **ดาหลาทัวไป** (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm.) คือ พันธุ์ตรง 1-5 สายต้นชมพู่บ้านแห และสายต้นแดงอินโด (2) **ดาหลาหอม** (*Etlingera fulgens* (Ridl.) C.K.Lim) คือ สายต้นดาหลาดำ และ สายต้นดาหลาไฟ (3) **ดาหลาขี้แมว** (*Etlingera maingayi* (Baker) R.M.Sm.) คือ สายต้นดาหลาขี้แมว รวม 10 พันธุ์/สายต้น (ศูนย์วิจัยพืชสวนยะลา, กรมวิชาการเกษตร)

2. สกัดสารสกัดหยาบจากต้นพร้อมใบ และดอก โดยวิธีการสันสะเทือนด้วยคลื่น ultrasonic ด้วยเอทานอล อัตราส่วน 1:10 เป็นเวลา 40 นาที แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปลดปริมาตรด้วยเครื่องลดปริมาตรสารแบบสุญญากาศ (rotary evaporator)

3. ศึกษาเอกลักษณ์โครมาโทกราฟีของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบดาหลาด้วยเทคนิค High-Performance Thin-Layer Chromatography (HPTLC)

3.1 ศึกษาสภาวะ (conditions) ของเครื่อง HPTLC ในการทดสอบกลุ่มสารสำคัญในสารสกัดหยาบดาหลา เพื่อใช้เป็นวิธีตรวจวัดชนิดและตำแหน่ง (R_f) ของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ ดังนี้

1) ศึกษาป้ายยาพ่น (spray reagent) 5 ชนิด ได้แก่ aluminium chloride, antimony (III) chloride, *p*-toluenesulfonic acid, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) และ *p*-anisaldehyde sulfuric acid

2) ศึกษาระบบวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase)

ขั้นตอนที่ 1 ขั้นเบื้องต้น ศึกษาวัฏภาคเคลื่อนที่จำนวน 4 ระบบ ได้แก่ ethyl acetate : formic acid : water (12:0.3:0.3, v/v/v), chloroform : diethyl ether : hexane : acetic acid (9:6:1.5, v/v/v), toluene : diethyl ether : acetic acid (6:9:1.5, v/v/v) และ toluene : ethyl acetate : formic acid (7.5:6:1.5, v/v/v)

ขั้นตอนที่ 2 ขั้นวิเคราะห์ ศึกษาภูมิภาคเคลื่อนที่จำนวน 5 ระบบ ได้แก่ ethyl acetate : formic acid : water (18:1.5:1.5, v/v/v), (18:1:1, v/v/v), (18:0.6:1.4, v/v/v), (18:1.4:0.6, v/v/v), และ (12:0.3:0.3, v/v/v)

3.2 ศึกษากลุ่มสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบจากต้นพร้อมใบ และดอกดาหลา ด้วยเครื่อง HPTLC ตามสภาวะที่ได้จากข้อ 3.1

3.3 เปรียบเทียบเอกลักษณ์โครมาโทกราฟีของดาหลาแต่ละสายพันธุ์

4. วิเคราะห์ข้อมูล สรุปและรายงานผล

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2563 สิ้นสุด กันยายน 2564

สถานที่ทำการทดลอง

1. กลุ่มงานวิจัยวัตถุที่มีพิษการเกษตรจากสารธรรมชาติ กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
2. ศูนย์วิจัยพืชสวนยะลา

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การสกัดสารสกัดหยาบจากต้นพร้อมใบ และดอกดาหลา

สารสกัดหยาบส่วนต้นพร้อมใบดาหลาที่อายุหลังปลูก 24 เดือน 10 พันธุ์/สายต้น ได้แก่ พันธุ์ตรัง 1 พันธุ์ตรัง 2 พันธุ์ตรัง 3 พันธุ์ตรัง 4 พันธุ์ตรัง 5 สายต้นชมพูบ้านแหร์ สายต้นแดงอินโด สายต้นดาหลาดำ สายต้นดาหลาไฟ และสายต้นดาหลาขี้แมว ด้วยเอทานอล พบว่าสารสกัดหยาบดาหลาดต้นพร้อมใบ พันธุ์ตรัง 1 - 5 สายต้นชมพูบ้านแหร์ สายต้นแดงอินโด สายต้นดาหลาดำ สายต้นดาหลาไฟ มีลักษณะทางกายภาพเป็นสารสีน้ำตาลเข้ม ชั้นหนืด และสายต้นดาหลาขี้แมว มีสารเป็นสีน้ำตาลดำ ชั้นหนืด ปริมาณสารสกัดหยาบ อยู่ระหว่าง 1.83 – 3.98% W/W โดยสายต้นดาหลาดำ มีปริมาณสารสกัดหยาบมากที่สุด 3.98% W/W สายต้นดาหลาขี้แมว มีปริมาณสารสกัดหยาบน้อยที่สุด 1.83% W/W ดัง Table 1

สารสกัดหยาบส่วนดอกดาหลา พบว่า พันธุ์ตรัง 1 มีลักษณะทางกายภาพ เป็นสารสีน้ำตาลเหลือง หนืด พันธุ์ตรัง 2 และตรัง 3 เป็นสารสีแดงเข้ม หนืด พันธุ์ตรัง 4 และตรัง 5 เป็นสารสีน้ำตาลแดงเข้ม หนืด สายต้นชมพูบ้านแหร์เป็นสารสีน้ำตาล หนืด สายต้นแดงอินโด สายต้นดาหลาดำ สายต้นดาหลาไฟ และสายต้นดาหลาขี้แมว เป็นสารสีน้ำตาลแดง หนืด และปริมาณสารสกัดหยาบอยู่ระหว่าง 1.17 – 2.73% W/W สายต้นชมพูบ้านแหร์ มีปริมาณสารสกัดหยาบมากที่สุด 2.73% W/W ส่วนสายต้นดาหลาไฟปริมาณสารสกัดหยาบน้อยที่สุด 1.17% W/W ดัง Table 1

2. ศึกษาเอกลักษณ์โครมาโทกราฟีของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบดาหลาด้วยเทคนิค

High-Performance Thin-Layer Chromatography (HPTLC)

2.1 ศึกษาสภาวะ (conditions) ของเครื่อง ในการทดสอบกลุ่มสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบดาหลา ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมบนแผ่น TLC ชนิด HPTLC plate silica gel 60 F₂₅₄ ขนาด 20x10 ซม. ในการทำเอกลักษณ์โครมาโทกราฟีสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ สารสกัดหยาบเอทานอลต้นพร้อมใบ และดอกดาหลา

2.1.1 ศึกษาชนิดน้ำยาพ่น (spray reagent)

ทำการสเปรย์น้ำยาพ่น (spray reagent) 5 ชนิด ได้แก่ aluminium chloride, antimony (III) chloride, *p*-toluenesulfonic acid, DPPH และ *p*-anisaldehyde/sulfuric acid reagent โดย aluminium chloride, antimony (III) chloride และ *p*-toluenesulfonic acid เป็นน้ำยาทดสอบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ *p*-anisaldehyde/sulfuric acid เป็นน้ำยาทดสอบสารกลุ่มเทอร์พีนอยด์ และ DPPH เป็นน้ำยาพ่นทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระ

การทดสอบน้ำยา DPPH ซึ่งใช้สำหรับตรวจสอบสารต้านอนุมูลอิสระ ผลการทดสอบ positive คือ ไม่ถูกย้อมสี เป็นสีม่วง เมื่อตรวจสอบภายใต้แสง white light ดังแสดงใน Figure 1 track 1 ในขณะที่ aluminium chloride, antimony (III) chloride และ *p*-toluenesulfonic acid เป็นน้ำยาพ่นใช้สำหรับตรวจสอบสารกลุ่ม ฟลาโวนอยด์ ผลการทดสอบ positive คือ ให้สีเรืองแสง เมื่อตรวจสอบภายใต้แสง UV 366 nm จากผลการทดลอง Figure 1 พบว่า aluminium chloride (track 2) พบแถบสีเหลืองเรืองแสงที่ตำแหน่งเดียวกับ DPPH ขณะที่ *p*-toluenesulfonic acid (track 4) พบแถบสีฟ้าเรืองแสงหลายตำแหน่ง แต่ antimony (III) chloride (track 3) ไม่พบแถบเรืองแสง ซึ่งไม่ต่างจาก track 7 ก่อนพ่นน้ำยา นอกจากนี้ *p*-anisaldehyde/sulfuric acid reagent ใช้สำหรับตรวจสอบสารกลุ่ม เทอร์พีนอยด์ โดยปกติผลการทดสอบ positive คือ ให้สีม่วง, ชมพู เมื่อตรวจสอบภายใต้แสง white light ผลพบว่า ไม่พบแถบสีม่วงดังกล่าวในสารสกัดหยาดตาหลา แสดงว่าไม่พบสารกลุ่มเทอร์พีนอยด์ในสารสกัดหยาดตาหลา และจากผลการทดสอบด้วยน้ำยาพ่น 5 ชนิด พบว่า aluminium chloride ให้ผล positive ในตำแหน่งเดียวกับ DPPH ซึ่งช่วยยืนยันว่าสารกลุ่มฟลาโวนอยด์นั้นมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นจึงเลือก aluminium chloride เป็นน้ำยาพ่นที่เหมาะสมในการพิสูจน์สารกลุ่ม ฟลาโวนอยด์ และ DPPH เป็นน้ำยาพ่นสำหรับตรวจสอบสารต้านอนุมูลอิสระ

Table 1 Physical characteristics and content of Torch ginger extracts

| Torch ginger (varieties) | Stem with leaves | | Flowers | |
|-----------------------------|--|---------|--|---------|
| | Physical characteristics | % (W/W) | Physical characteristics | % (W/W) |
| Trang 1 | dark brown liquid with high viscosity | 2.84 | light brown liquid with high viscosity | 2.07 |
| Trang 2 | dark brown liquid with high viscosity | 2.68 | deep red liquid with high viscosity | 1.46 |
| Trang 3 | dark brown liquid with high viscosity | 3.02 | deep red liquid with high viscosity | 1.96 |
| Trang 4 | dark brown liquid with high viscosity | 2.54 | red-brown liquid with high viscosity | 2.43 |
| Trang 5 | dark brown liquid with high viscosity | 3.10 | red-brown liquid with high viscosity | 2.02 |
| Chompoo Ban Rae | dark brown liquid with high viscosity | 2.01 | brown liquid with high viscosity | 2.73 |
| Daeng Indo | dark brown liquid with high viscosity | 2.82 | red-brown liquid with high viscosity | 1.86 |
| Torch Ginger Dum | dark brown liquid with high viscosity | 3.98 | red-brown liquid with high viscosity | 1.43 |
| Torch Ginger Fai | dark brown liquid with high viscosity | 2.24 | red-brown liquid with high viscosity | 1.17 |
| <i>Etlingera maingayi</i> | brown-black liquid with high viscosity | 1.83 | red-brown liquid with high viscosity | 1.71 |

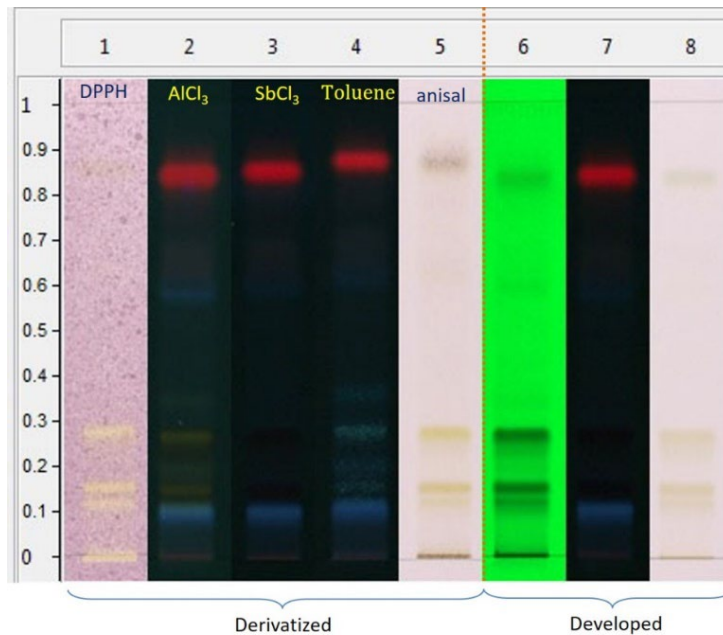


Figure 1 Comparison of spray reagent for derivatization flavonoids of torch ginger extracts. 1) DPPH under white light 2) aluminium chloride under UV 366 nm 3) antimony (III) chloride under UV 366 nm 4) *p*-toluenesulfonic acid under UV 366 nm 5) *p*-anisaldehyde/sulfuric acid reagent under white light 6) - 8) underivatized flavonoids under UV 254 nm, UV 366 nm and white light

2.1.2 ระบบวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase)

ขั้นตอนที่ 1 ชั้นเบื้องต้น ศึกษาวัฏภาคเคลื่อนที่จำนวน 4 ระบบ ดังนี้

| ระบบ | วัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) | ตำแหน่งฟลาโวนอยด์ (R_F) |
|------|---|-----------------------------|
| 1 | ethyl acetate : formic acid : water (12:0.3:0.3, v/v/v) | 0.00, 0.12, 0.14, 0.27 |
| 2 | chloroform : diethyl ether : acetic acid (9:6:1.5, v/v/v) | 0.00 – 0.05 |
| 3 | toluene : diethyl ether : acetic acid (6:9:1.5, v/v/v) | 0.00 – 0.09, 0.12 |
| 4 | toluene : ethyl acetate : formic acid (7.5:6:1.5, v/v/v) | 0.00 - 0.08 |

จากการศึกษาข้างต้นพบว่า วัฏภาคเคลื่อนที่ระบบที่ 1 ethyl acetate : formic acid : water (12:0.3:0.3, v/v/v) สามารถแยกสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ได้ดี ซึ่งแตกต่างจากระบบที่ 2-4 เกิดการรวมกลุ่มกันใกล้ตำแหน่ง R_F 0.00 จึงเลือกวัฏภาคเคลื่อนที่ระบบที่ 1 มาวิจัยต่อในขั้นตอนที่ 2 โดยปรับเปลี่ยนอัตราส่วนวัฏภาคเคลื่อนที่จากระบบที่ 1 ได้ดังนี้

ขั้นตอนที่ 2 ชั้นวิเคราะห์ ศึกษาวัฏภาคเคลื่อนที่จำนวน 5 ระบบ ได้แก่

| ระบบ | วัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) | ตำแหน่งฟลาโวนอยด์ (R_F) |
|------|---|-----------------------------|
| 1 | ethyl acetate : formic acid : water (18:1.5:1.5, v/v/v) | 0.30, 0.35, 0.50 |
| 2 | ethyl acetate : formic acid : water (18:1:1, v/v/v) | 0.25, 0.30, 0.45 |
| 3 | ethyl acetate : formic acid : water (18:0.6:1.4, v/v/v) | 0.15, 0.19, 0.32 |
| 4 | ethyl acetate : formic acid : water (18:1.4:0.6, v/v/v) | 0.26, 0.32, 0.50 |
| 5 | ethyl acetate : formic acid : water (12:0.3:0.3, v/v/v) | 0.11, 0.15, 0.28 |

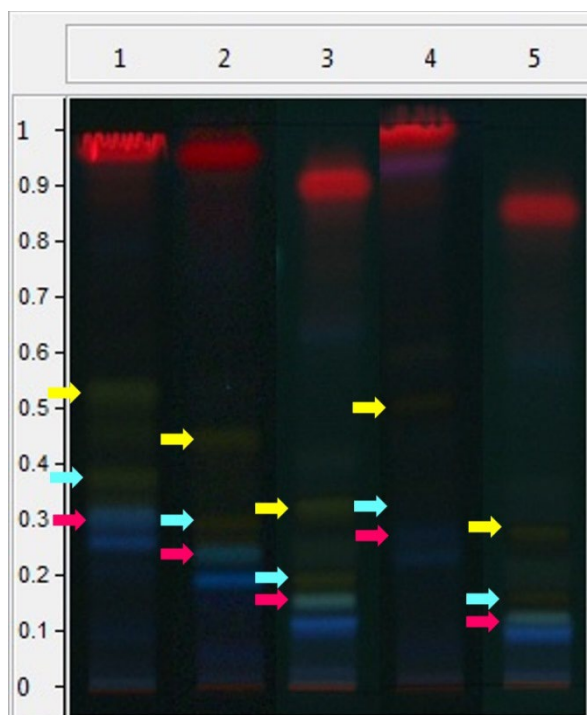


Figure 2 Comparison of mobile phase ratios on the separation of torch ginger extracts. Mobile phase: EtOAc : FA : water 1) 18:1.5:1.5, v/v/v; 2) 18:1:1, v/v/v; 3) 18:0.6:1.4, v/v/v; 4) 18:1.4:0.6, v/v/v; 5) 12:0.3:0.3, v/v/v). Derivatized: aluminium chloride, UV 366 nm

จากการศึกษาข้างต้นพบว่า วัฏภาคเคลื่อนที่ระบบ 1 ethyl acetate : formic acid : water (18:1.5:1.5, v/v/v) สามารถแยกสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ได้ดีที่สุด โดยไม่ถูกรบกวนจากพีคอื่น (Figure 2) จึงเลือกวัฏภาคเคลื่อนที่ระบบนี้ใช้วิเคราะห์สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาดดาหลา

จากผลการศึกษาได้สภาวะที่เหมาะสมในการศึกษาเอกลักษณ์โครมาโทกราฟีของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาดเอทานอลดาหลา ดังนี้

วัฏภาคคงที่ : แผ่น TLC ชนิด HPTLC plate silica gel 60 F254 size 20x10 cm

วัฏภาคเคลื่อนที่ : ethyl acetate : formic acid : water (18:1.5:1.5, v/v/v)

น้ำยาพ่น (Spray reagent) : aluminium chloride และ DPPH

2.2 ศึกษาสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาดจากต้นพร้อมใบ และดอกดาหลา ด้วยเครื่อง HPTLC

2.2.1 ศึกษาสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาดจากต้นพร้อมใบดาหลา

สารสกัดหยาดเอทานอลต้นพร้อมใบดาหลาในตัวอย่างดาหลา 10 พันธุ์/สายต้น พบสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 7 ชนิด เป็นฟลาโวนอยด์ที่ระบุชนิดไม่ได้เนื่องจาก ไม่มีสารมาตรฐานเปรียบเทียบ ผู้วิจัยจึงกำหนดให้เป็นชนิด A, B, C, D, E, F และ G โดยมีตำแหน่ง R_f ดัง Table 2 และสารแต่ละชนิดมีสเปกตรัมการดูดกลืนแสงเฉพาะตัว โดยสเปกตรัมของฟลาโวนอยด์ A - G แสดงดัง Figure 3

จาก Table 2 เปรียบเทียบ HPTLC fingerprint ที่ถูก derivatized ด้วย 1) aluminium chloride ภายใต้ UV 366 nm และ 2) DPPH ภายใต้ white light แสดงให้เห็นว่า เมื่อ spray ด้วย DPPH แล้ว ฟลาโวนอยด์ A-G เป็นแถบที่ไม่เปลี่ยนสีเป็นสีม่วง แสดงว่าแถบดังกล่าว เป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

2.2.2 ศึกษาสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาดจากดอกดาหลา

สารสกัดหยาดเอทานอลดอกดาหลาในตัวอย่างดาหลา 10 พันธุ์/สายต้น พบสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 7 ชนิด เป็นฟลาโวนอยด์ที่ระบุชนิดไม่ได้เนื่องจาก ไม่มีสารมาตรฐานเปรียบเทียบ ผู้วิจัยจึงกำหนดให้เป็นชนิด A, H, D, F, J, K และ E โดยมีตำแหน่ง R_f ดัง Table 3 และสารแต่ละชนิดมีสเปกตรัมการดูดกลืนแสงเฉพาะตัว โดยสเปกตรัมของฟลาโวนอยด์แต่ละชนิด แสดงดัง Figure 3

Table 2 R_F value of flavonoids and HPTLC fingerprint of torch ginger extracts (stem with leaves) derivatized by 1) aluminium chloride and 2) DPPH

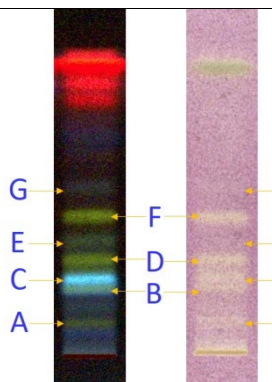
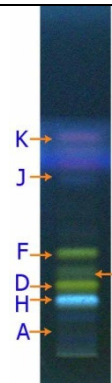
| Flavonoids | R _F | HPTLC fingerprint |
|-------------|----------------|--|
| flavonoid A | 0.12 |  |
| flavonoid B | 0.22 | |
| flavonoid C | 0.27 | |
| flavonoid D | 0.30 | |
| flavonoid E | 0.35 | |
| flavonoid F | 0.42 | |
| flavonoid G | 0.50 | |

Table 3 R_F value of flavonoids and HPTLC fingerprint of torch ginger extracts (flowers) derivatized by aluminium chloride

| Flavonoids | R _F | HPTLC fingerprint |
|-------------|----------------|--|
| flavonoid A | 0.12 |  |
| flavonoid H | 0.24 | |
| flavonoid D | 0.30 | |
| flavonoid E | 0.35 | |
| flavonoid F | 0.42 | |
| flavonoid J | 0.70 | |
| flavonoid K | 0.81 | |

2.3 เปรียบเทียบเอกลักษณ์โครมาโทกราฟีของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ในดาหลาแต่ละพันธุ์/สายต้น

ต้นพร้อมใบดาหลา

จากตัวอย่างดาหลาส่วนต้นพร้อมใบ อายุหลังปลูก 24 เดือน คือ ดาหลา 3 ชนิด ได้แก่ (1) **ดาหลาทัวไป** คือ พันธุ์ตรัง 1-5 สายต้นชมพูบ้านแห และสายต้นแดงอินโด (2) **ดาหลาหอม** คือ สายต้นดาหลาดำและ สายต้นดาหลาไฟ (3) **ดาหลาขี้แมว** คือ สายต้นดาหลาขี้แมว รวม 10 พันธุ์/สายต้น เมื่อนำมาวิเคราะห์ฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบเอทานอล โดยสภาวะที่เหมาะสมด้วยเครื่อง HPTLC จะได้เอกลักษณ์โครมาโทกราฟี (HPTLC fingerprint) ของแต่ละสายพันธุ์ ดัง Figure 4 และโครมาโทแกรม (HPTLC chromatogram) ดัง Figure 5 พบว่า **ดาหลาทัวไป** ทั้ง 7 พันธุ์/สายต้น (T1 - T7) พบ ฟลาโวนอยด์ A, D, F และ G เหมือนกัน ต่างกันที่ ฟลาโวนอยด์ B, C และ E ที่ พบใน (T2 - T5, T7), (T1, T3 - T5) และ (T1 - T5, T7) ตามลำดับ ส่วน**ดาหลาหอม** 2 สายต้น (T8 - T9) พบฟลาโวนอยด์ 4 ชนิด คือ ฟลาโวนอยด์ A, C, E และ G ดัง Table 4 แต่ดาหลาดำ (T8) มีปริมาณฟลาโวนอยด์มากกว่าดาหลาไฟ (T9) โดยพิจารณาจาก peak area ของการดูดกลืนแสง ดัง Figure 6 และ**ดาหลาขี้แมว** มีฟลาโวนอยด์ 2 ชนิด คือ ฟลาโวนอยด์ A และ G ในปริมาณค่อนข้างน้อยเมื่อเทียบกับทุกสายพันธุ์

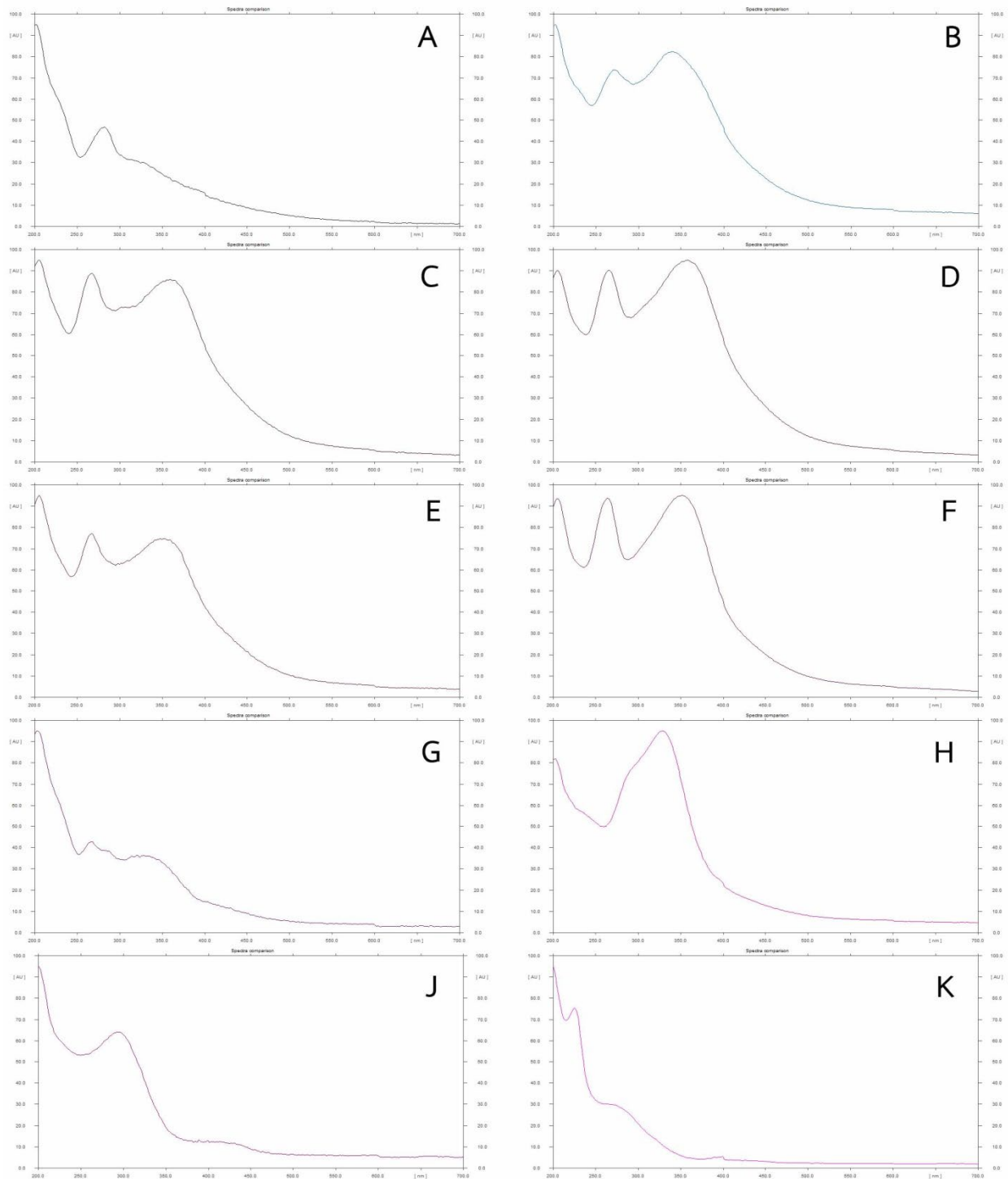


Figure 3 UV spectrum of main flavonoids (A, B, C, D, E, F, G, H, J, K) in torch ginger extracts both stem with leaf and flower parts

ดอกดาหลา

จากตัวอย่างดาหลาส่วนดอก อายุหลังปลูก 24 เดือน คือ ดาหลา 3 ชนิด ได้แก่ (1) ดาหลาทัวไป คือ พันธุ์ตรัง 1-5 สายต้นชมพูบ้านแห และสายต้นแดงอินโด (2) ดาหลาหอม คือ สายต้นดาหลาดำและ สายต้นดาหลาไฟ (3) ดาหลาขี้แมว คือ สายต้นดาหลาขี้แมว รวม 10 พันธุ์/สายต้น เมื่อนำมาวิเคราะห์ฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบ เอทานอล โดยสภาวะที่เหมาะสมด้วยเครื่อง HPTLC จะได้เอกลักษณ์โครมาโตกราฟี (HPTLC fingerprint) ของแต่ละ

สายพันธุ์ พบฟลาโวนอยด์ 8 ชนิด ดัง Figure 7 และโครมาโทแกรม (HPTLC chromatogram) ดัง Figure 8 พบว่า **ดาหลาทัวไป** พบฟลาโวนอยด์แตกต่างกัน โดยฟลาโวนอยด์ A, H, F และ K พบในทุกกรรมวิธี (T1 - T7) ฟลาโวนอยด์ D พบใน T1, T2 และ T4 เท่านั้น ฟลาโวนอยด์ J พบใน T1 - T3, T5 และ T7 และฟลาโวนอยด์ E พบในทุกกรรมวิธี ยกเว้น T1 ส่วน **ดาหลาหอม** 2 สายต้น (T8 - T9) พบฟลาโวนอยด์ 5 ชนิด ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ A, H, J, K และ E เหมือนกัน และ **ดาหลาขี้แมว** มี ฟลาโวนอยด์ 5 ชนิด ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ A, F, J, K และ E ดัง Table 5 และ Figure 9

Table 4 Flavonoids of stem with leaves extracts from torch ginger 10 varieties

| Torch ginger (varieties) | Flavonoids | | | | | | |
|-----------------------------|------------------------|---|---|---|---|---|---|
| | A | B | C | D | E | F | G |
| Trang 1 | + | - | + | + | + | + | + |
| Trang 2 | + | + | - | + | + | + | + |
| Trang 3 | + | + | + | + | + | + | + |
| Trang 4 | + | + | + | + | + | + | + |
| Trang 5 | + | + | + | + | + | + | + |
| Chompoo Ban Rae | + | - | - | + | - | + | + |
| Daeng Indo | + | + | - | + | + | + | + |
| Torch Ginger Dum | + | - | + | - | + | - | - |
| Torch Ginger Fai | + | - | - | - | + | - | + |
| <i>Etilingera maingayi</i> | + | - | - | - | - | - | + |
| Remark | + found flavonoids | | | | | | |
| | - not found flavonoids | | | | | | |

Table 5 Flavonoids of flowers extracts from torch ginger 10 varieties

| Torch ginger (varieties) | Flavonoids | | | | | | |
|-----------------------------|------------------------|---|---|---|---|---|---|
| | A | H | D | F | J | K | E |
| Trang 1 | + | + | + | + | + | + | - |
| Trang 2 | + | + | + | + | + | + | + |
| Trang 3 | + | + | - | + | + | + | + |
| Trang 4 | + | + | + | + | - | + | + |
| Trang 5 | + | + | - | + | + | + | + |
| Chompoo Ban Rae | + | + | - | + | - | + | + |
| Daeng Indo | + | + | - | + | + | + | + |
| Torch Ginger Dum | + | + | - | - | + | + | + |
| Torch Ginger Fai | + | + | | | + | + | + |
| <i>Etilingera maingayi</i> | + | | | + | + | + | + |
| Remark | + found flavonoids | | | | | | |
| | - not found flavonoids | | | | | | |

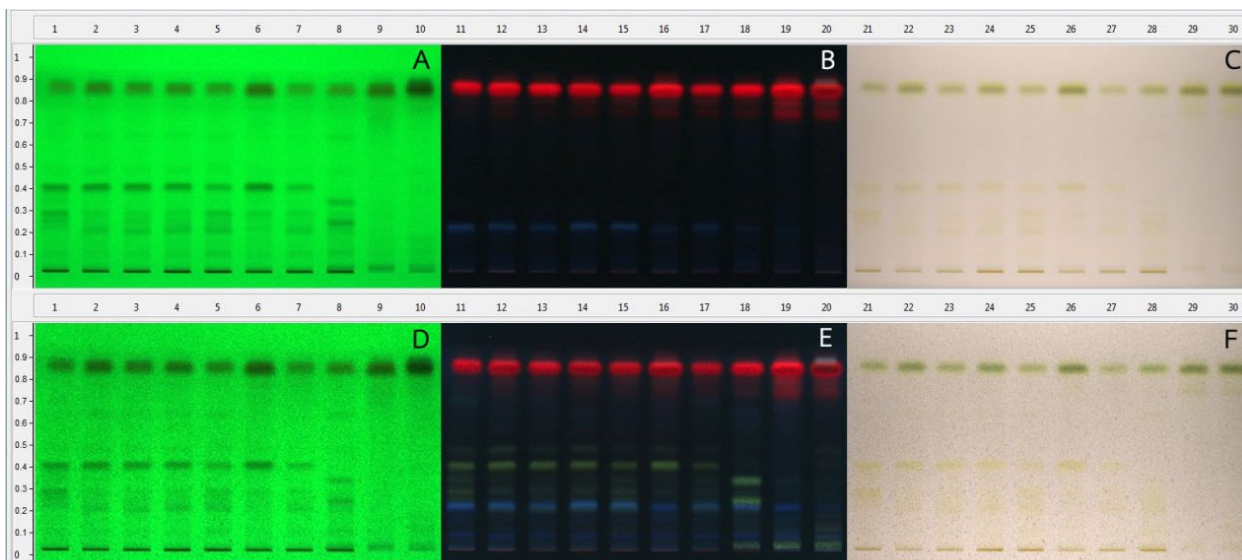


Figure 4 HPTLC fingerprint of flavonoids in stem with leaves extracts from torch ginger 10 varieties. A - C) underivatized, D - F) derivatized with aluminium chloride under UV 254 nm (track 1-10), UV 366 nm (track 11-20) and white light (track 21-30), respectively

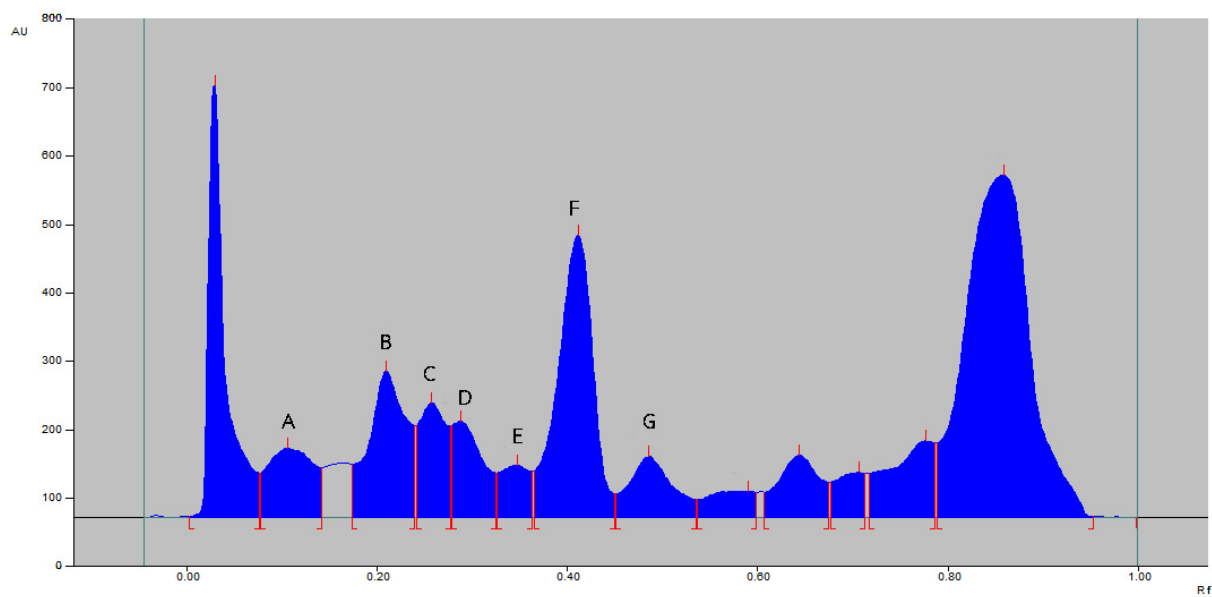


Figure 5 HPTLC chromatogram of flavonoid A, B, C, D, E, F and G in stem with leaves extracts from torch ginger

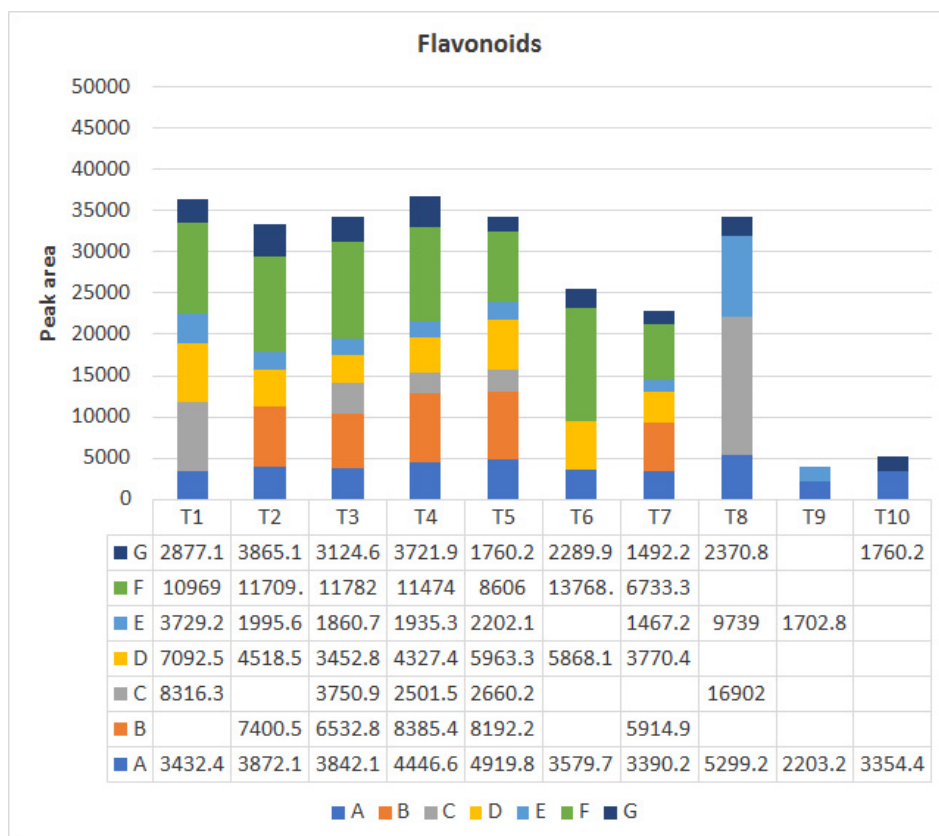


Figure 6 Flavonoid content of stem with leaves extracts from torch ginger 10 varieties that shown in peak area

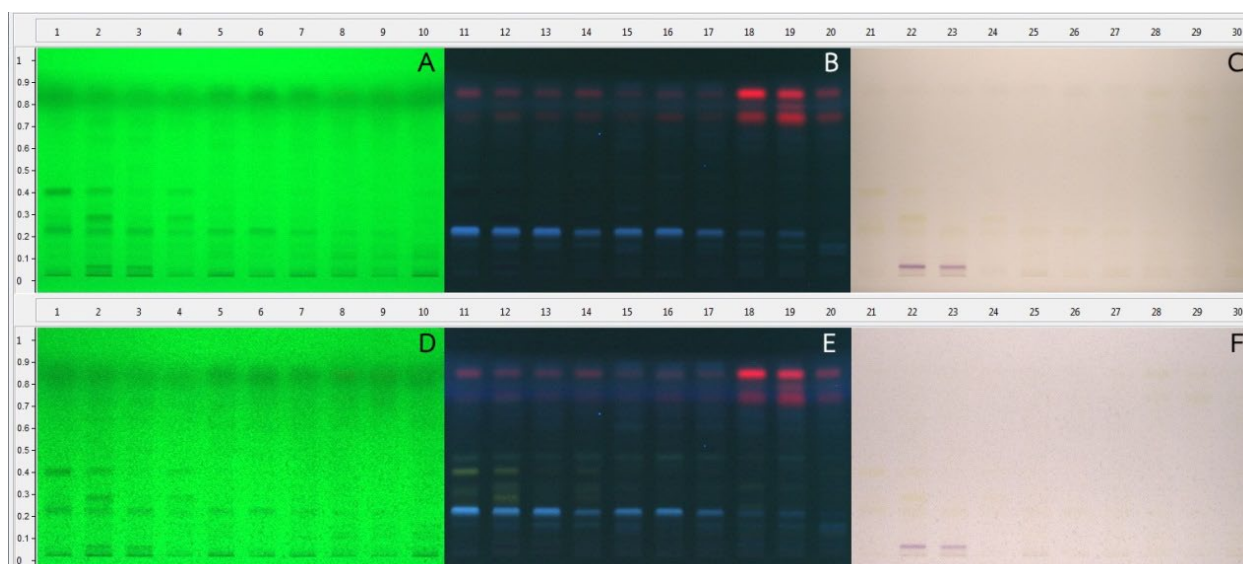


Figure 7 HPTLC fingerprint of flavonoids in flowers extracts from torch ginger 10 varieties. A - C) underivatized, D - F) derivatized by aluminium chloride under UV 254 nm (track 1-10), UV 366 nm (track 11-20) and white light (track 21-30), respectively

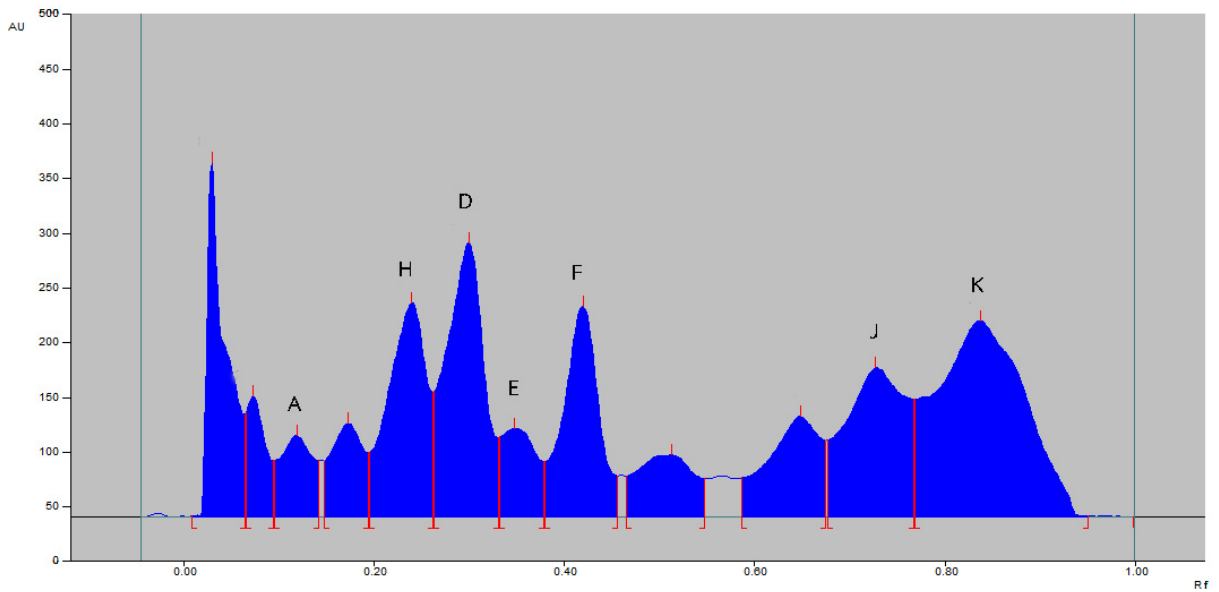


Figure 8 HPTLC chromatogram of flavonoid A, D, E, F, H, J and K in flower extracts from torch ginger

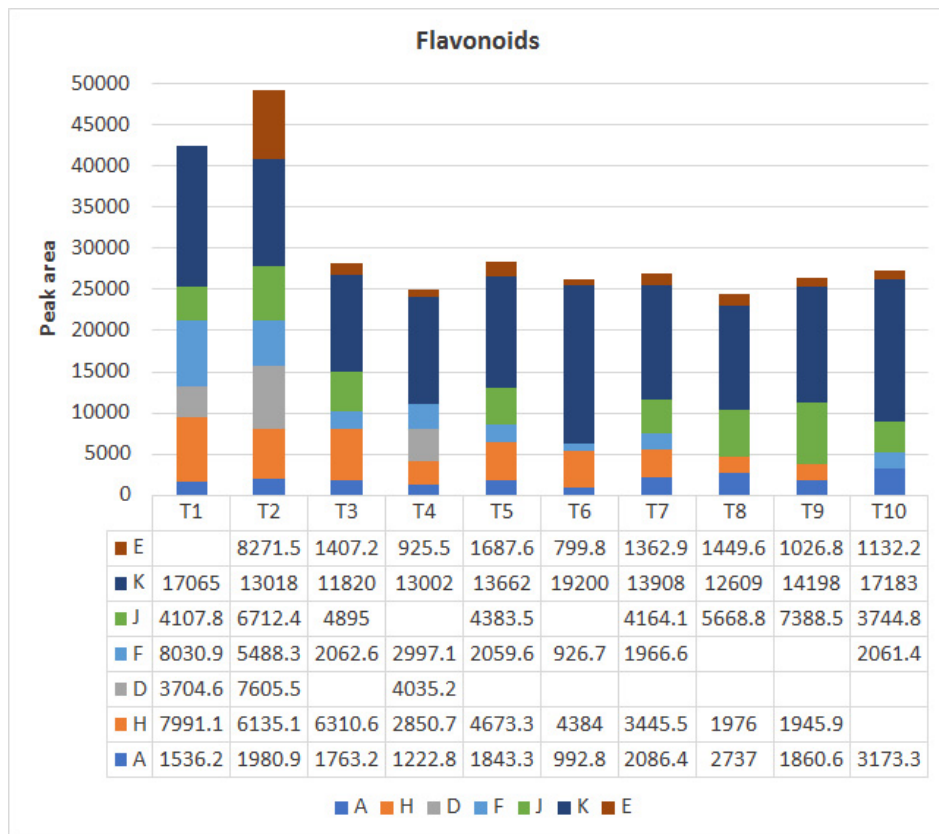


Figure 9 Flavonoid content of flower extracts from torch ginger 10 varieties that shown in peak area

สรุปผลการทดลอง

สภาวะที่เหมาะสมของเทคนิคที่แอลซีสมรรถนะสูง (HPTLC) ในการศึกษาสารสำคัญกลุ่มฟลาโวนอยด์ ได้แก่ ethyl acetate : water : acetic acid (18:1:5.15, v/v/v) ซึ่งเป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ที่แยกสารได้ดีที่สุด และ aluminium chloride และ DPPH ซึ่งเป็น spray reagent ที่ดีที่สุดในการตรวจพิสูจน์สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ และตรวจสารต้านอนุมูลอิสระ ตามลำดับ และตรวจวัดความยาวคลื่น 265 nm ผลการศึกษาฟลาโวนอยด์ในดาหลา ทั้ง 10 พันธุ์/สายต้น พบว่า ในส่วนต้นพร้อมใบ พบฟลาโวนอยด์ 7 ตำแหน่ง ที่ตำแหน่ง R_f 0.12, 0.22, 0.27, 0.30, 0.35, 0.42 และ 0.50 ที่ไม่สามารถระบุชนิดสารได้ กำหนดให้เป็น ฟลาโวนอยด์ A, B, C, D, E, F และ G ตามลำดับ ส่วนดอกนั้น พบฟลาโวนอยด์ 7 ชนิด ที่ตำแหน่ง R_f 0.12, 0.24, 0.30, 0.35, 0.42, 0.70 และ 0.81 ที่ไม่สามารถระบุชนิดสารได้ กำหนดให้เป็น ฟลาโวนอยด์ A, H, D, E, F, J และ K ตามลำดับ ดาหลา 3 ชนิด (ดาหลาทั่วไป ดาหลาหอม และดาหลาขี้แมว) จะพบชนิดของสารฟลาโวนอยด์แตกต่างกัน แต่จะพบคล้ายกัน ในพันธุ์/สายต้นที่ชนิดเดียวกัน เมื่อเปรียบเทียบฟลาโวนอยด์ของสารสกัดหยาบเอทานอล ต้นพร้อมใบ และดอกดาหลา พบว่า สารสกัดหยาบเอทานอล ส่วนต้นพร้อมใบ และส่วนดอก พบฟลาโวนอยด์ A, D, E, F เหมือนกัน แต่ไม่พบฟลาโวนอยด์ B, C, G ในส่วนดอก และไม่พบฟลาโวนอยด์ H, J, K ในส่วนต้นพร้อมใบ นอกจากนี้พบว่า สารสกัดส่วนต้นพร้อมใบมีปริมาณฟลาโวนอยด์ แต่ละชนิดมากกว่าส่วนดอกดาหลา และจากผลการวิจัย หากเกษตรกรต้องการดาหลาที่มีฟลาโวนอยด์หลากหลายชนิด และปริมาณมากกว่าพันธุ์อื่น แนะนำให้ปลูกดาหลาทั่วไป โดยเฉพาะพันธุ์ตรง 1 - 5 ในขณะที่สายต้นดาหลาดำซึ่งมีฟลาโวนอยด์ เพียง 4 ชนิด แต่มีปริมาณฟลาโวนอยด์มากเช่นกัน หากนำเฉพาะส่วนดอกดาหลามาใช้ แนะนำให้ปลูกพันธุ์ตรง 1 - 2 ซึ่งมีปริมาณฟลาโวนอยด์มากกว่าพันธุ์อื่น

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ผลงานวิจัยนี้ ทำให้ทราบข้อมูลเปรียบเทียบของกลุ่มสารสำคัญฟลาโวนอยด์ที่แตกต่างกันในดาหลา แต่ละพันธุ์/สายต้น ได้ข้อมูลเอกลักษณ์โครมาโทกราฟีของกลุ่มสารสำคัญฟลาโวนอยด์ในดาหลาที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นข้อมูลสนับสนุนการคัดเลือกสายพันธุ์ไปใช้ประโยชน์ได้ตรงตามความต้องการนำไปสู่การส่งเสริมการปลูกดาหลาแก่เกษตรกร แต่อย่างไรก็ตาม หากมีการศึกษาวิจัยการวิเคราะห์สารสกัดดาหลาด้วยเครื่อง HPLC-MS/MS เพื่อระบุชนิด และปริมาณสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่แน่นอนได้ จะเป็นข้อมูลทางวิชาการเกี่ยวกับสารสำคัญในดาหลาแต่ละพันธุ์/สายต้น ที่จะสนับสนุนการผลิตดาหลาเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อื่นๆที่นำไปสู่การเพิ่มมูลค่าให้แก่ดาหลาต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- Lachumy, S.J.T., S. Sasidharan, V. Sumathy and Z. Zuraini. 2010. Pharmacological activity, phytochemical analysis and toxicity of methanol extract of *Etlingera elatior* (torch ginger) flower. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* :769-774.
- Williams, C.A., and, J.B. Harborne. 1977. The leaf flavonoids of Zingiberales. *Biochemical Systematics and Ecology* 5:221-229.
- กฤติยา ไชยนอก. 2556 ดาหลาคความงามที่กินได้. สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. แหล่งข้อมูล <http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/158> สืบค้น: 18 สิงหาคม 2556
- ศุภยวีร์วิจัยพืชสวนยะลา. 2019 การพัฒนาพันธุ์ดาหลา. ศูนย์วิจัยพืชสวนยะลา สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร. แหล่งข้อมูล <https://www.doa.go.th/hc/yala/?p=182> สืบค้น: 15 พฤษภาคม 2567

ปิยศิริ สุนทรนนท์. 2551. สารต้านอนุมูลอิสระในดอกดาหลา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท (ชีวเคมี)
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สุรพงศ์ รัตนะ และบันลือ สังข์ทอง. 2559.ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดเมทานอลจากดอกไม้ห้าชนิด การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยมหาสารคามวิจัย ครั้งที่ 12 วันที่ 8-9 กันยายน 2559 ณ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. น.360-365

การร่วมศึกษาทดสอบวิธีตรวจวิเคราะห์ Difenconazole
ในสูตรผสม TC WG และ EC โดยเทคนิค GC
Participation in Collaborative Study of the Difenconazole
Analytical Method in TC, WG and EC Formulation by GC Technique

อนุชา ผลไสว ประชาธิปัตย์ พงษ์ภิญโญ ศศิมา มั่งนิมิตร์ พินิตนันต์ สรวายเอี่ยม
วิชชภรณ์ แกระวงค์ ณัฐฐา ศรีสุภาพ จีราพรรณ ทองหยอด

Anucha Phonswai Prachatipat Pongpinyo Sasima Mungnimitr Pinittun Sruay-iam
Witchaporn Kraewong Natta Srisupap Jirapan Thongyord

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Participation in the collaborative study of the Difenconazole test method in 5 samples of pesticide formulation (TC, WG and EC) was examined by the Laboratory of the Pesticide Quality System Development Subgroup, Agricultural Toxic Substances Research Group, Agricultural Production Science Research and Development Division. There were 22 international laboratories in this collaborative study for collation. The results of all laboratories were collection and comparison. Furthermore, the statistical evaluation of the test results was calculated for assessment of the acceptance of the Difenconazole test method. The standard method of difenconazole was in the CIPAC handbook. The method used the gas chromatography (GC) technique and flame ionization detector (FID). The capillary column used a DB-5 series with 0.25 μm film thickness, 0.32 mm internal diameter and 30 m length. The injection port had a temperature of 250 degrees Celsius and injection volume of 1 μl , the temperature programming started at 150 degrees Celsius (150 – 280 degrees Celsius, 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$), carrier gas flow rate was 1.5 ml/min and detector temperature was 300 degrees Celsius. All sample testing results from our laboratory found that they passed the acceptance criteria. The statistical evaluation of the test results showed that it was not an outlier in all the test samples, and thus the results demonstrate the capability and potential of the laboratory therefore the laboratory was a reliable and internationally acceptable.

Keyword: difenconazole, collaborative study, CIPAC handbook, GC technique

บทคัดย่อ

การเข้าร่วมศึกษาทดสอบวิธีวิเคราะห์สาร difenoconazole ในสูตรผสมของผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิด TC WG และ EC จำนวน 5 ตัวอย่าง โดยห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุพิษการเกษตร กลุ่มวิจัยวัตถุพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร เข้าร่วมศึกษาทดสอบกับห้องปฏิบัติการทั้งหมด 22 แห่ง เพื่อเปรียบเทียบผลวิเคราะห์ระหว่างห้องปฏิบัติการ และประมวลผลทางสถิติของผลการทดสอบเพื่อประเมินการยอมรับวิธีทดสอบ Difenoconazole เป็นวิธีมาตรฐานใน CIPAC handbook โดยใช้เทคนิค gas chromatography (GC) ตัวตรวจวัดชนิด flam Ionization Detector (FID) ใช้คอลัมน์ชนิด Capillary รุ่น DB-5 ความยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.32 มิลลิเมตร และความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร ส่วนฉีดสารแบบ split injection อุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส ปริมาณฉีดสาร 1 ไมโครลิตร อุณหภูมิคอลัมน์ 150-280 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของแก๊สพา 1.5 มิลลิตรต่อนาที ตัวตรวจวัดอุณหภูมิ 300 องศาเซลเซียส จากผลการทดสอบตัวอย่างทั้งหมดของห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุพิษการเกษตรพบว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับ โดยผลการประเมินทางสถิติของผลการทดสอบพบว่าไม่เป็น outlier ในทุกรายการทดสอบ แสดงให้เห็นถึงความสามารถและศักยภาพของห้องปฏิบัติการจึงถือได้ว่าเป็นที่น่าเชื่อถือและยอมรับได้ในระดับสากล

คำสำคัญ: difenoconazole, collaborative study, CIPAC handbook, GC technique

บทนำ

การเข้าร่วมทดสอบความชำนาญระหว่างห้องปฏิบัติการแบบการเปรียบเทียบผลทดสอบระหว่างห้องปฏิบัติการ ผู้จัดอาจมีวัตถุประสงค์ของการจัดโปรแกรมที่แตกต่างกันสำหรับการใช้ผลของการทดสอบความชำนาญ ด้านวัตถุอันตรายทางการเกษตรวัตถุประสงค์ของการดำเนินงานเพื่อนำผลการทดสอบที่ได้เสนอเป็นวิธีทดสอบมาตรฐานของสารนั้นใน CIPAC handbook โดยการตรวจสอบวิธีทดสอบตามแนวทางกระบวนการของการร่วมศึกษาการทดสอบเพื่อตรวจสอบลักษณะเฉพาะของวิธีทดสอบ (AOAC, 2005) โปรแกรมการทดสอบความชำนาญประกอบด้วย 3 แบบ คือ intra-laboratory, inter-laboratory และ collaborative study โดย intra-laboratory เป็นรูปแบบการทดสอบความชำนาญแบบหนึ่งที่เกิดขึ้นภายในหน่วยงานทดสอบนั้นๆ inter-laboratory เป็นโปรแกรมทดสอบความชำนาญที่จัดขึ้นโดยผู้เข้าร่วมเป็นห้องปฏิบัติการที่ต่างออกไป และ collaborative study เป็นโปรแกรมที่จัดขึ้นเพื่อวัตถุประสงค์เฉพาะอย่างใดอย่างหนึ่งและเป็นถือเป็นการทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการระหว่างประเทศ มีหน่วยงานผู้จัดที่มีวัตถุประสงค์ชัดเจน ดังนั้นผู้เข้าร่วมทดสอบจะเป็นห้องปฏิบัติการที่มีความสามารถเฉพาะด้านของการเข้าร่วมการทดสอบ

CIPAC เป็นชื่อย่อของ Collaborative International Pesticides Analytical Council ก่อตั้งเมื่อปี ค.ศ. 1957 เป็นองค์กรระหว่างประเทศที่ไม่แสวงหาผลกำไรและไม่ใช่หน่วยงานของภาครัฐ จัดตั้งขึ้นมาเพื่อทำข้อตกลงระหว่างประเทศเกี่ยวกับวิธีการทดสอบ จัดโปรแกรมการทดสอบระหว่างห้องปฏิบัติการ เผยแพร่วิธีการวิเคราะห์ที่ได้มาตรฐาน และเพื่อร่วมมือกับองค์กรอื่นๆ การทำงานเกี่ยวกับการส่งเสริมให้เกิดการยอมรับร่วมกันระหว่างประเทศเกี่ยวกับวิธีการวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช (analysis of pesticides test method) และวิธีการทดสอบทางเคมีกายภาพสำหรับสูตรผสมของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช (physico-chemical test method) และส่งเสริมให้มีการจัดโปรแกรมการทดสอบของห้องปฏิบัติการในระดับสากล (interlaboratory program) เพื่อการประเมินวิธีทดสอบ วิธีทดสอบจะถูกเสนอโดยผู้เกี่ยวข้องและได้รับการทดสอบโดยห้องปฏิบัติการจากหลายแห่ง เมื่อการประเมินผลการทดสอบผ่านการนำเสนอต่อการประชุมของ CIPAC และได้รับการยอมรับวิธีทดสอบนั้นแล้วจะได้รับการตีพิมพ์ใน CIPAC handbook และดำเนินการเผยแพร่โดย CIPAC

วิธีการทดสอบที่ได้จะใช้เพื่อการทดสอบขั้นทะเบียนสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช การติดตามคุณภาพหลังการขึ้นทะเบียน และการตรวจเพื่อนำเข้าและส่งออกสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช นอกจากนี้ยังต้องทำการทบทวนวิธีทดสอบโดย CIPAC อย่างเป็นระบบในรูปแบบงานก่อนการเผยแพร่ข้อมูลที่ได้ โดยทำการตรวจสอบจากห้องปฏิบัติการเฉพาะเกี่ยวกับสิ่งเจือปนที่สำคัญเกี่ยวข้องกับสารวิเคราะห์สารนั้น (CIPAC, 2018)

การทำ CIPAC collaborative trial เกี่ยวกับการศึกษาด้านสารกำจัดศัตรูพืชทั้งสารเทคนิคคอลและผลิตภัณฑ์ มีการดำเนินการโดยแบ่งออกเป็น 3 ส่วน ส่วนที่ 1 หน้าที่ของผู้ประสานงานในการทำ collaborative trial ทำการติดต่อประสานฝ่ายเลขานุการของ CIPAC เพื่อชี้แจงประเด็นในการเปิดการทำ collaborative trial และจัดทำร่างเอกสารข้อมูลต่างๆ วิธีทดสอบรวมถึงอุปกรณ์ที่จำเป็นสำหรับการทดสอบ ชนิดและประเภทของสูตรที่จะใช้ดำเนินการทดสอบ ระยะเวลาของการดำเนินการ รวมทั้งข้อมูลของการติดต่อบุคคล ส่วนที่ 2 หน้าที่ของ CIPAC จะทำการตรวจสอบข้อมูลทั้งหมดที่ผู้ประสานงานและควบคุมการทดลองได้ดำเนินการว่ามีข้อมูลที่จำเป็นทั้งหมดครบถ้วนหรือไม่อีกครั้ง และดำเนินการเผยแพร่ข้อมูลต่อสาธารณะ (โดยผ่านเว็บไซต์ของ CIPAC และกระจายข้อมูลผ่านรายชื่อทางอีเมล) และส่วนสุดท้ายคือ หน้าที่ของผู้เข้าร่วมทำ collaborative trial คือสามารถทำการวิเคราะห์ตามข้อกำหนดที่ให้มาได้ เช่น ความพร้อมของอุปกรณ์ เครื่องมือ รวมไปถึงรายละเอียดของคอลัมน์ที่ใช้ และทำการทดสอบในช่วงเวลาที่กำหนดได้ ผู้เข้าร่วมทำ collaborative trial ต้องปฏิบัติตามรายละเอียดของวิธีทดสอบที่ระบุไว้เนื่องจากเป้าหมายคือการตรวจสอบวิธีทดสอบ การดำเนินการใดที่แตกต่างออกไปจากวิธีการที่ระบุไว้จะต้องมีชี้แจงเป็นเอกสารและให้เหตุผลประกอบ (CIPAC, 2018)

difenoconazole มีชื่อตาม IUPAC name คือ *cis, trans*-3-chloro-4-[4-methyl-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)-1,3-dioxolan-2-yl]phenyl 4-chlorophenyl ether และมีชื่อตาม chemical abstracts name คือ 1-[2-[2-chloro-4-(4-chlorophenoxy)phenyl]-4-methyl-1,3-dioxolan-2-ylmethyl]-1*H*-1,2,4-triazole ซึ่งเป็นสารกลุ่ม triazole (Kidd and James, 1993) เป็นสารที่มี isomer เป็นชนิดสารที่มีการจัดเรียงอะตอมในลักษณะสามมิติต่างกัน (stereoisomer) เป็นแบบไครลิตี (chirality) มีการจัดเรียงอะตอมต่างๆ รอบคาร์บอนต่างกันแบบ diastereomer ซึ่งประกอบด้วย *cis*-และ *trans*-isomer (Syngenta Crop Protection, 2022)

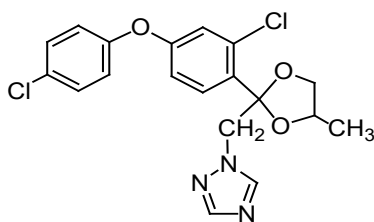
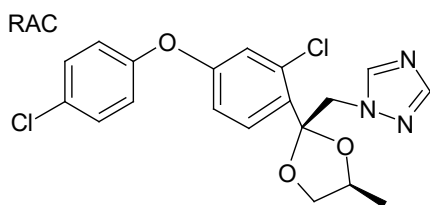
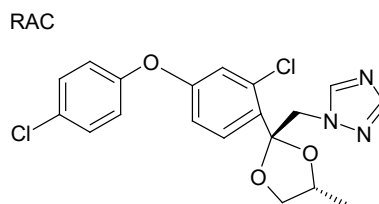


Figure 1 The difenoconazole compound structure (Kidd and James, 1993)



cis-isomer difenoconazole



trans-isomer difenoconazole

Figure 2 The difenoconazole compound consists of *cis*-and *trans*-isomer (Syngenta Crop Protection, 2022)

มีอัตราส่วนของ *cis*-ต่อ *trans*-isomer อยู่ในช่วง 0.7 ถึง 1.5 มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 406.3 กรัม และสูตรโมเลกุลคือ $C_{19}H_{17}Cl_2N_3O_3$ ลักษณะทางกายภาพของสารเป็นผลึกสีขาว จุดหลอมเหลว 82.0-83.0 องศาเซลเซียส มีค่า K_{ow} , $\log P=4.4$ (ที่ 25 °C) ทำให้ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ ความสามารถในการละลายในน้ำ 15 มิลลิกรัมต่อลิตร ละลายใน ethanol ได้ 330 กรัมต่อลิตร ใน acetone ได้ 610 กรัมต่อลิตร ใน toluene 490 กรัมต่อลิตร ละลายได้ใน n-hexane 3.4 กรัมต่อลิตร และใน n-octanol ได้ 95 กรัมต่อลิตร ที่ 25 °C จัดเป็นสารป้องกันกำจัดโรคพืช ตาม FRAC จัดอยู่ในกลุ่ม 3 ลักษณะสูตรผสมประกอบด้วย DS, EC, FS, SC และ WG นอกจากนี้ยังมีสารความเข้มข้นสูตรชนิด technical material (TC) และ technical concentrate (TK)

การทำ collaborative trial ของวิธีวิเคราะห์ difenoconazole เป็นวิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารโดยใช้ internal standard ในการทดสอบซึ่งแตกต่างจากการทำ collaborative trial ของวิธีทดสอบสารในช่วงปีก่อน เช่น สาร cyprodinil ในปี พ.ศ. 2551 ห้องปฏิบัติการเข้าร่วม 19 แห่ง (Syngenta Crop Protection AG, 2008) สาร thiacloprid ในปี พ.ศ. 2550 ห้องปฏิบัติการเข้าร่วม 14 แห่ง (Bayer crop Science AG, 2007) สาร pyraclostrobin ในปี พ.ศ. 2548 ห้องปฏิบัติการเข้าร่วม 17 แห่ง (BASF, 2005) เป็นต้น เป็นการวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์โดยใช้ external standard การวิเคราะห์ปริมาณ difenoconazole ในตัวอย่างโดยใช้ Internal standard มีข้อดีคือลดความความเบี่ยงเบนกรณีเกิดจากระบบการฉีดสารตัวอย่างคือ สามารถทำให้ระบบการฉีดสารทดสอบของเทคนิค GC มีความสมบูรณ์ทำให้ค่า response factor ของการฉีดตัวอย่างมีเปอร์เซ็นต์ความเบี่ยงเบนสัมพัทธ์ (%RSD) ต่างกันไม่เกิน 1.0 และทำให้ผลการทดสอบมีความเสถียรมากขึ้น ผลการทดสอบมีความน่าเชื่อถือ ตรวจสอบผลการทดสอบได้ง่าย ทั้งนี้การใช้ internal standard ในการวิเคราะห์ จะทำมีขั้นตอนในการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ difenoconazole เพิ่มขึ้น ซึ่งสามารถทำให้เกิดความไม่แน่นอนของการทดสอบได้หากผู้วิเคราะห์ขาดความชำนาญในการทดสอบหรือการใช้อุปกรณ์สำหรับเตรียม internal standard เช่น การเลือกใช้ปิเปตชนิด auto pipette หรือ manual pipette เพราะเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่ส่งผลต่อผลการทดสอบ

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่อง gas chromatograph (GC) Agilent รุ่น 7890B มีตัวตรวจวัดชนิด flame ionization detector (FID)
2. คอลัมน์ชนิด capillary รุ่น DB-5 (30 m (length) × 0.32 mm (i.d.), 0.25 μm (film thickness), coated with crosslinked dimethylpolysiloxane (5% phenyl-methyl polysiloxane)
3. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (±0.1 มิลลิกรัม) ที่ผ่านการสอบเทียบ
4. เครื่องอัลตราโซนิก (ultrasonic bath)
5. ปิเปต (pipette) ขนาด 10 มิลลิลิตร ที่ผ่านการสอบเทียบ
6. ขวดวัดปริมาตร type A ขนาด 50 และ 200 มิลลิลิตร ที่ผ่านการสอบเทียบ
7. vial ขนาด 2 มิลลิลิตร และ ฝาปิด
8. syringe filter ขนาดรูพรุน 0.2 ไมโครเมตร

สารเคมี

1. สารมาตรฐาน difenoconazole 98.8% W/W ระบุค่า *trans*-isomer 56.1% W/W และ *cis*-isomer 42.7% W/W
2. สารมาตรฐานภายใน (internal standard) 1,3,5-triphenylbenzene 97.0% W/W

3. ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ difenoconazole สูตรความเข้มข้น 10% WG
4. ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ difenoconazole สูตรความเข้มข้น 94% min tech.
5. ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ difenoconazole สูตรความเข้มข้น 25% W/V EC
6. acetone reagent grade ≥ 99.8 %
7. อุปกรณ์กรองตัวอย่าง ชนิดกรองสารอินทรีย์ รูพรุนขนาด 0.20 ไมโครเมตร

วิธีการ

รูปแบบและวิธีการทดลอง

1. ขั้นตอนการเข้าร่วม collaborative study

1.1 การทำ collaborative trial ของวิธีทดสอบสารกำจัดศัตรูพืชชนิด difenoconazole เป็นการศึกษายู่ในลำดับที่ 330 ของ CIPAC ได้ทำการประชาสัมพันธ์โครงการในเดือนมกราคม พ.ศ. 2565 และเริ่มดำเนินการในเดือนกุมภาพันธ์ ถึง เมษายน พ.ศ. 2565 เสนอโครงการโดย บริษัท ซินเจนทา ครอป โพรเทคชัน เอจี (Syngenta crop protection AG) ประเทศสวิตเซอร์แลนด์ในรูปแบบการศึกษาร่วมกันของวิธีวิเคราะห์ difenoconazole

1.2 ดำเนินการส่งหนังสือขอเข้าร่วมดำเนินการในเดือนมกราคม พ.ศ. 2565 และได้รับการตอบรับให้เข้าร่วมการทดลอง

1.3 ขออนุญาตนำวัตถุดิบอันตรายทางเกษตรเข้าประเทศไปยังสำนักควบคุมพืชและวัสดุทางการเกษตรกรมวิชาการเกษตร ตามระเบียบราชการ ประสานตัวแทนเพื่อดำเนินการทางศุลกากรในการนำตัวอย่างเข้าประเทศ

1.4 สารมาตรฐาน ตัวอย่าง และสารมาตรฐานภายใน ส่งมาช่วงปลายเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2565

1.5 ทำการทดสอบตัวอย่างตามวิธีทดสอบที่ระบุและส่งผลการทดสอบไปยังผู้จัด collaborative study ในวันที่ 14 มีนาคม พ.ศ. 2565

1.6 การประเมินผลการทดสอบดำเนินการผ่านที่ประชุมคณะกรรมการของ CIPAC หลังสิ้นสุดโครงการประมาณ 8 สัปดาห์

2. วิธีการทดลอง

ปฏิบัติการทดสอบตามวิธีรายละเอียดดังนี้

2.1 ปรับตั้งสภาวะการใช้งานของเครื่อง GC สำหรับการวิเคราะห์ดังนี้

Column: DB-5, 30 m (length) x 0.32 mm (i.d.), 0.25 μ m (film thickness), 5% phenyl-methyl polysiloxane

2.1.1 ระบบการฉีดสารตัวอย่าง

| | |
|------------------|-------------------|
| Injector | : split injection |
| Injection volume | : 1 ไมโครลิตร |
| Split ratio | : 50:1 |

2.1.2 ตัวตรวจวัด

: flame ionization detector (FID)

2.1.3 อุณหภูมิ

| | |
|-------------------|--|
| Injection port | : 250 องศาเซลเซียส |
| Detector | : 300 องศาเซลเซียส |
| Oven program temp | : 150 องศาเซลเซียส คงไว้ 1 นาที อัตราเพิ่ม 10 องศาเซลเซียสต่อนาที 280 องศาเซลเซียส คงไว้ 30 นาที |

2.1.4 อัตราการไหลของแก๊ส

Column

Helium (carrier) : 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที

Detector

Air : 400 มิลลิลิตรต่อนาที

Hydrogen : 30 มิลลิลิตรต่อนาที

Nitrogen (make up) : 30 มิลลิลิตรต่อนาที

2.1.5 Retention time

difenoconazole: *trans*-isomer ประมาณ 16.89 นาที และ *cis*-isomer ประมาณ 17.00 นาที และ internal standard ประมาณ 16.08 นาที

2.2 การเตรียมสารมาตรฐาน

2.2.1 เตรียม Stock สารละลายของสารมาตรฐานภายในจาก 1,3,5-triphenylbenzene ความเข้มข้น 1.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้เพียงพอต่อการทดสอบทั้งหมด โดยชั่งสาร 1,3,5-triphenylbenzene จำนวน 250 มิลลิกรัม (น้ำหนักที่แน่นอน 0.1 มิลลิกรัม) ละลายด้วย acetone ปรับปริมาตรในขวดวัดปริมาตรขนาด 200 มิลลิลิตร

2.2.2 เตรียมสารละลายมาตรฐาน difenoconazole ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งสารมาตรฐาน difenoconazole ให้ได้น้ำหนักระหว่าง 45-55 มิลลิกรัม (น้ำหนักที่แน่นอน 0.1 มิลลิกรัม) ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลายสารมาตรฐานภายในปริมาตร 10 มิลลิลิตรลงในขวดวัดปริมาตร ปรับปริมาตรให้ครบด้วย acetone จากนั้นนำไปเข้าเครื่องอัลตราโซนิกเป็นเวลา 2 นาที

2.2.3 การตรวจสอบความพร้อมของระบบ ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐาน 2 ความเข้มข้น (C_A , C_B) แล้วทำการฉีดสารละลาย C_A ปริมาตร 1 ไมโครลิตร จนกระทั่งค่าการตอบสนอง (response factor, f_i) ของการฉีดติดกัน 2 ครั้ง แตกต่างกันน้อยกว่า 1.0% จากนั้นทำการฉีดสารละลาย C_B โดยค่าการตอบสนอง (f_i) ที่ได้ไม่ควรแตกต่างกัน 1.0% จากค่าของสารละลาย C_A

2.3 การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

2.3.1 ทำการเตรียมสารละลายตัวอย่างละ 2 ซ้ำ โดยชั่งน้ำหนักตัวอย่างให้ได้ปริมาณของสารออกฤทธิ์ difenoconazole อยู่ระหว่าง 45-55 มิลลิกรัม ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร

2.3.1.1 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ difenoconazole technical (TC) ชั่งน้ำหนักของตัวอย่างสูตร 94 % W/W ปริมาณ 45-55 มิลลิกรัม (น้ำหนักที่แน่นอน 0.1 มิลลิกรัม)

2.3.1.2 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ difenoconazole สูตร emulsifiable concentrates (EC) ชั่งน้ำหนักของตัวอย่างสูตร 25 % W/V EC ปริมาณ 180 – 220 มิลลิกรัม (น้ำหนักที่แน่นอน 0.1 มิลลิกรัม)

2.3.1.3 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ difenoconazole สูตร water-dispersible granule (WG) ชั่งน้ำหนักของตัวอย่างสูตร 10 % WG ปริมาณ 450 – 550 มิลลิกรัม (น้ำหนักที่แน่นอน 0.1 มิลลิกรัม)

2.3.2 เติมสารละลาย internal standard ที่เตรียมไว้ โดยปิเปตปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ครบด้วย acetone จากนั้นปิดฝาให้สนิทแล้วนำไปเข้าเครื่องอัลตราโซนิกเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำมากรองผ่านแผ่นกรองรูพรุนขนาด 0.45 ไมโครเมตรก่อนการวิเคราะห์ จะได้สารละลาย S_A และ S_B

2.4 การตรวจวัด โดยทำการฉีดตัวอย่างปริมาตร 1 ไมโครลิตร จำนวน 2 ครั้งในหนึ่งตัวอย่าง ทำการวางเป็นแบบคร่อม (bracket) ดังนี้ C_A C_B C_A S_{1A} S_{1B} C_A S_{2A} S_{2B} C_A ... ทำต่อสำหรับตัวอย่างต่อไป ทำการวัดพื้นที่ใต้พีคที่เกี่ยวข้องในการหาปริมาณ

2.5 การคำนวณ โดยคำนวณค่าเฉลี่ยของ response factor ของสารมาตรฐานคู่ที่ฉีดพร้อมตัวอย่างนั้น และใช้ค่าเฉลี่ยนี้สำหรับคำนวณปริมาณสารออกฤทธิ์ difenoconazole ในตัวอย่างที่สารมาตรฐานคู่นี้พร้อมอยู่ ดังสมการ

$$f_i = \frac{I_r \times s \times P}{H_s}$$

ปริมาณของ *cis*-หรือ *trans*-isomer ของ difenoconazole เท่ากับ $\frac{f \times H_w}{I_q \times W}$ กรัมต่อกิโลกรัม (g/kg)

- เมื่อ f_i = ค่า response factor ของสารมาตรฐาน
 f = ค่าเฉลี่ยของ f_i
 H_s = peak area ของ *cis*-หรือ *trans*-isomer ของ difenoconazole ในสารละลายสารมาตรฐาน
 H_w = peak area ของ *cis*-หรือ *trans*-isomer ของ difenoconazole ในสารละลายตัวอย่าง
 I_r = peak area ของ internal standard ในสารละลายสารมาตรฐาน
 I_q = peak area ของ internal standard ในสารละลายตัวอย่าง
 S = ปริมาณของ *cis*-หรือ *trans*-isomer ของ difenoconazole ในสารละลายสารมาตรฐานในหน่วยมิลลิกรัม (mg)
 W = น้ำหนักของตัวอย่างที่ชั่งมาในหน่วยมิลลิกรัม (mg)
 P = ความบริสุทธิ์ของ *cis*-หรือ *trans*-isomer ของ difenoconazole

ปริมาณสารออกฤทธิ์ difenoconazole ได้จากผลรวมของปริมาณ *cis*-isomer difenoconazole และปริมาณ *trans*-isomer difenoconazole การคำนวณอัตราส่วนของ *cis*-ต่อ *trans*-isomer ได้จาก peak area (H_{cis}/H_{trans}) ของ isomer ทั้ง 2 ชนิด

2.6 ส่งผลการทดสอบปริมาณ difenoconazole ให้ผู้จัด collaborative study เพื่อประเมินผลการเข้าร่วมทดสอบ

ระยะเวลา เริ่มต้น มกราคม 2565 สิ้นสุด มิถุนายน 2565
สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบพืชการเกษตร กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

รายละเอียดของ สารมาตรฐาน ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ difenoconazole ชนิด TC WG และ EC จำนวน 5 ตัวอย่าง และสารมาตรฐานภายใน นำส่งโดยผู้จัด collaborative study แสดงดัง Table 1

Table 1 The samples detail for difenoconazole active ingredient analysis

| product | ID code | name | label | volume | packing |
|--------------------|----------------------|------------------------|-----------|--------------------|--|
| Reference material | CGA169374, AMS 255/5 | difenoconazole | 98.8 %W/W | 450 mg (1 bottle) | amber glass bottle with white seal cap |
| A | CGA169374, A8885C | SCORE 10 WG | 10 %W/W | 5 g (2 bottles) | amber glass bottle with white seal cap |
| B, C | CGA169374N | difenoconazole tech | 94 %W/W | 450 mg (2 bottles) | amber glass bottle with white seal cap |
| D, E | CGA169374, A7402P | SCORE 25 EC | 25 %W/V | 3 ml (2 bottles) | amber glass bottle with white seal cap |
| Internal standard | T82007, EXC5833 | 1,3,5-triphenylbenzene | 97 %W/W | 600 mg (1 bottles) | amber glass bottle with white seal cap |

เอกสารรับรองผลการทดสอบของสารมาตรฐาน (reference material) ระบุปริมาณสารออกฤทธิ์ difenoconazole 98.8% W/W ปริมาณของ *cis*-isomer เท่ากับ 42.7% W/W และปริมาณของ *trans*-isomer เท่ากับ 56.1 % W/W คำนวนอัตราส่วนค่า *cis*-ต่อ *trans*-isomer เท่ากับ 0.761 ผลการวิเคราะห์ตามวิธีได้โครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน difenoconazole แสดงดัง Figure 3 และผลจากการวิเคราะห์อัตราส่วนค่า *cis*-ต่อ *trans*-isomer เท่ากับ 0.766

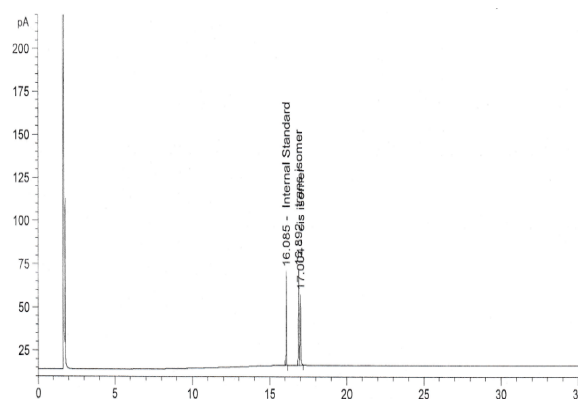


Figure 3 chromatogram of difenoconazole standard

โครมาโตแกรมของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชนิด A ถึง E ของ difenoconazole แสดงดัง Figure 4 ผลการคำนวณอัตราส่วนค่า *cis*-ต่อ *trans*-isomer เท่ากับ 1.387, 1.395, 1.292, 1.247 และ 1.459 ตามลำดับ โดยเป็นไปตามกำหนดอัตราส่วนในช่วง 0.7 ถึง 1.5 (Syngenta Crop Protection, 2022)

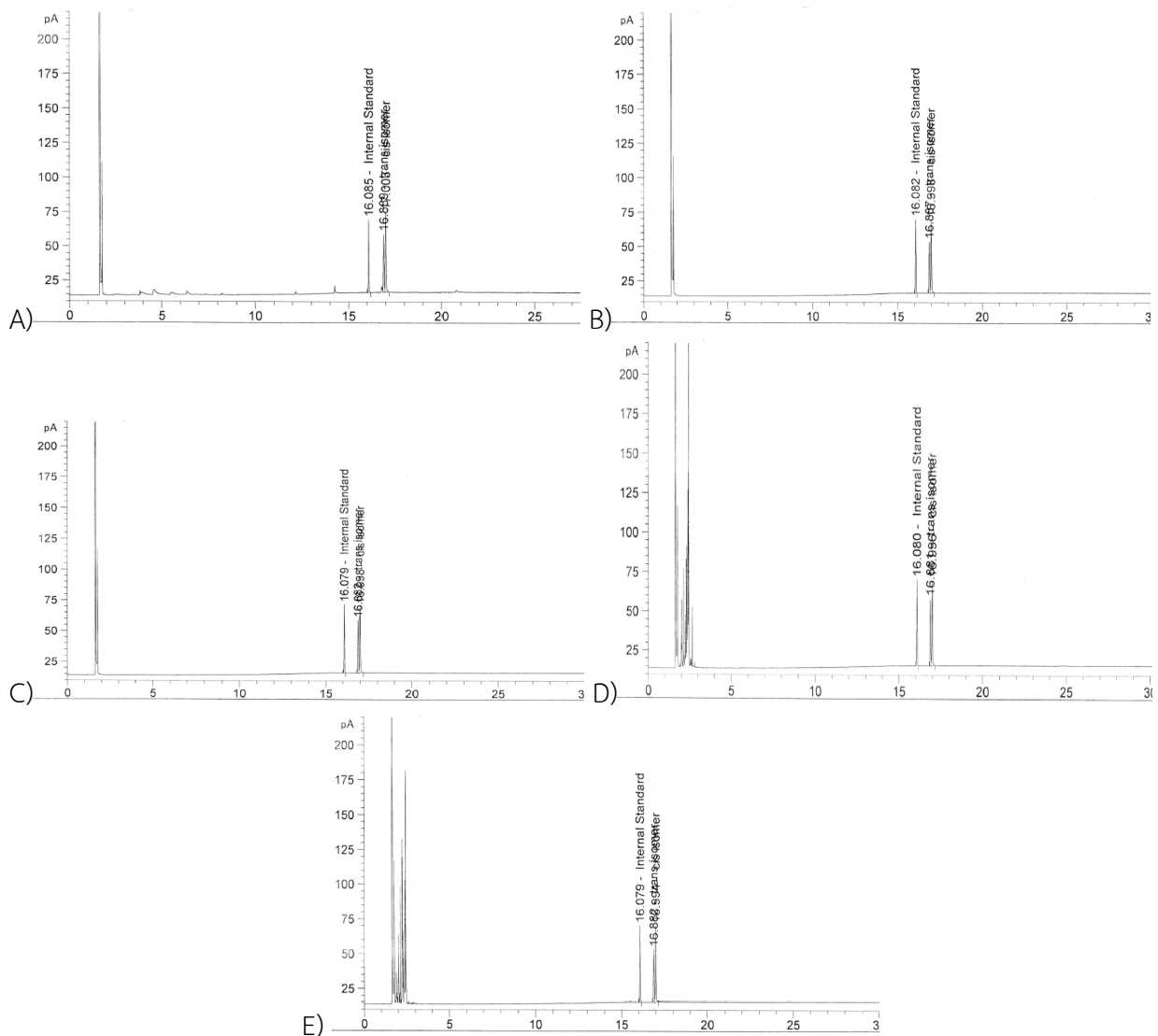


Figure 4 chromatogram of difenoconazole sample from A to E sample

การตรวจสอบความพร้อมของระบบตรวจสอบจาก equilibration ของการฉีดสารมาตรฐาน C1 ติดกันจำนวน 5 ครั้ง เกณฑ์กำหนดของ collaborative study ระบุให้มีการเบี่ยงเบนของค่า response factor (f) ไม่เกิน 1% พบว่าค่า %RSD ของ *trans*-isomer และ *cis*-isomer เท่ากับ 0.222 และ 0.461 ตามลำดับ แสดงดัง Table 2 ผลที่ได้ผ่านเกณฑ์กำหนด และพิจารณาค่าความแตกต่างในแบบ %RPD ของสารละลายสารมาตรฐาน C1 และ C2 แตกต่างกันไม่เกินเกณฑ์กำหนด 1% ค่าของการวิเคราะห์ *trans*-isomer ได้ค่า %RPD เท่ากับ 1.351 และ 0.670 และค่าของการวิเคราะห์ *cis*-isomer ได้ค่า %RPD เท่ากับ 1.826 และ 1.152 ตามลำดับ แสดงดัง Table 3 ทั้งนี้ในวิธีปฏิบัติกำหนดให้เตรียมสารมาตรฐานใหม่ทุกครั้ง ในข้อเท็จจริงปริมาณสารมาตรฐานที่ได้รับมามีเพียงเท่าที่จะดำเนินการได้ตามวิธีกำหนดเท่านั้น ผู้ทำการวิเคราะห์ต้องรายงานตามค่าที่ทำการวิเคราะห์ได้ซึ่งเพียงพอเฉพาะในการวิเคราะห์ 2 ครั้ง ดังข้อมูลที่ได้ใน ครั้งที่ 1 (day 1) และครั้งที่ 2 (day 2)

Table 2 The system suitability test for difenoconazole active ingredient analysis (day 1)

| equilibration of the system on day 1 | | | | | |
|--------------------------------------|-------------------------------------|----------------------|-------|---------------------|-------|
| difenoconazole reference substance | | <i>trans</i> -isomer | | <i>cis</i> -isomer | |
| solution type | mass of reference substance, s [mg] | response factor (f) | %RSD | response factor (f) | %RSD |
| C1 | 50.5 | 0.403620 | 0.222 | 0.407985 | 0.461 |
| | | 0.402725 | | 0.405666 | |
| | | 0.401874 | | 0.404184 | |
| | | 0.402820 | | 0.404431 | |
| | | 0.400997 | | 0.402333 | |
| mean | | 0.402407 | | 0.404920 | |
| SD | | 0.000896 | | 0.001867 | |

Table 3 Difference values of standard solutions difenoconazole in %RPD (day 1)

| equilibration of the system on day 1 | | | | | | | |
|--------------------------------------|-------------------------------------|----------------------|----------|-------|---------------------|----------|-------|
| difenoconazole reference substance | | <i>trans</i> -isomer | | | <i>cis</i> -isomer | | |
| solution type | mass of reference substance, s [mg] | response factor (f) | mean | %RPD | response factor (f) | mean | %RPD |
| C1 | 50.5 | 0.401532 | 0.402571 | 1.351 | 0.413041 | 0.413613 | 1.826 |
| | | 0.403610 | | | 0.414185 | | |
| C2 | 49.9 | 0.409515 | 0.408046 | 0.670 | 0.422855 | 0.421234 | 1.152 |
| | | 0.406576 | | | 0.419614 | | |
| C2 | 49.9 | 0.407147 | 0.407127 | 0.670 | 0.410755 | 0.412649 | 1.152 |
| | | 0.407107 | | | 0.414544 | | |
| C1 | 50.5 | 0.403142 | 0.404287 | 0.670 | 0.403058 | 0.407923 | 1.152 |
| | | 0.405432 | | | 0.412788 | | |

ผลการทดสอบปริมาณสารออกฤทธิ์ difenoconazole จากผลรวมของปริมาณ *cis*-isomer และปริมาณ *trans*-isomer ของผลิตภัณฑ์สูตรความเข้มข้น 10% WG (sample A), 94% min Tech. (sample B, C) และ 25% W/V EC (sample D, E) ในการวิเคราะห์ day 1 แสดงผลดัง Table 4

Table 4 Test results of difenoconazole active ingredient analysis (day 1)

| sample | mass of sample [mg] | <i>trans</i> -isomer difenoconazole | | <i>cis</i> -isomer difenoconazole | | difenoconazole |
|--------|------------------------|-------------------------------------|------------------------|-----------------------------------|------------------------|------------------------|
| | | content [g/kg] | mean content [g/kg] | content [g/kg] | mean content [g/kg] | mean content [g/kg] |
| A(a) | 503.1 | 44.40 | 44.57 | 60.20 | 60.39 | 104.96 |
| | | 44.35 | | 60.12 | | |
| A(b) | 500.0 | 44.48 | 44.57 | 60.26 | 60.39 | 104.96 |
| | | 45.06 | | 60.99 | | |
| B(a) | 49.4 | 403.91 | 406.91 | 555.97 | 562.74 | 969.65 |
| | | 404.05 | | 556.55 | | |
| B(b) | 50.2 | 410.08 | 406.91 | 573.00 | 562.74 | 969.65 |
| | | 409.58 | | 565.45 | | |
| C(a) | 49.9 | 423.74 | 424.26 | 542.78 | 541.77 | 966.03 |
| | | 423.35 | | 547.56 | | |
| C(b) | 51.7 | 425.64 | 424.26 | 539.16 | 541.77 | 966.03 |
| | | 424.30 | | 537.58 | | |
| D(a) | 202.7 | 111.69 | 111.38 | 138.65 | 137.44 | 248.81 |
| | | 111.54 | | 137.56 | | |
| D(b) | 201.5 | 110.95 | 111.38 | 137.24 | 137.44 | 248.81 |
| | | 111.32 | | 136.29 | | |
| E(a) | 199.7 | 102.89 | 102.67 | 150.29 | 149.39 | 252.06 |
| | | 101.99 | | 147.38 | | |
| E(b) | 202.3 | 103.11 | 102.67 | 150.19 | 149.39 | 252.06 |
| | | 102.69 | | 149.70 | | |

การวิเคราะห์ difenoconazole ทำการทดลองซ้ำ day 2 โดยทดลองด้วยวิธีเดียวกัน จากห้องปฏิบัติการเดียวกัน ผู้ทดลองคนเดียวกัน เครื่องมือชุดเดียวกัน แต่ทำการทดลองในเวลาต่างกัน ได้ตรวจสอบความพร้อมของระบบโดยตรวจสอบค่า equilibration ของการฉีดสารมาตรฐาน C1 จำนวน 5 ครั้ง เกณฑ์กำหนดของ collaborative study ระบุให้เกิดการเบี่ยงเบนของค่า response factor (f) ไม่เกิน 1% พบว่าค่า %RSD ของ *trans*-isomer และ *cis*-isomer เท่ากับ 0.376 และ 0.590 ตามลำดับ (Table 5) ซึ่งผลที่ได้ผ่านเกณฑ์กำหนดและพิจารณาค่าความแตกต่างในแบบ %RPD ของสารละลายสารมาตรฐาน C1 และ C2 แตกต่างกันมากกว่าเกณฑ์ที่กำหนด (%RPD ไม่เกิน 1%) ค่าของการวิเคราะห์ *trans*-isomer ได้ค่า %RPD เท่ากับ 0.327 และ 1.326 และค่าของการวิเคราะห์ *cis*-isomer ได้ค่า %RPD เท่ากับ 0.181 และ 1.540 ตามลำดับ (Table 6) ทั้งนี้ในวิธีปฏิบัติให้ดำเนินการเตรียมสารมาตรฐานใหม่ แต่ในข้อเท็จจริงปริมาณสารมาตรฐานที่ได้รับมาไม่เพียงพอที่จะสามารถเตรียมสารละลายเพิ่มได้อีกจึงต้องรายงานตามค่าที่ทำการวิเคราะห์ได้

Table 5 The system suitability test for difenoconazole active ingredient analysis (day 2)

| equilibration of the system on day 2 | | | | | |
|--------------------------------------|-------------------------------------|----------------------|-------|---------------------|-------|
| difenoconazole reference substance | | <i>trans</i> -isomer | | <i>cis</i> -isomer | |
| solution type | mass of reference substance, s [mg] | response factor (f) | %RSD | response factor (f) | %RSD |
| C1 | 50.4 | 0.407643 | 0.376 | 0.413852 | 0.590 |
| | | 0.407704 | | 0.414254 | |
| | | 0.406652 | | 0.413282 | |
| | | 0.406842 | | 0.413834 | |
| | | 0.410898 | | 0.419878 | |
| mean | | 0.402407 | | 0.415020 | |
| SD | | 0.001533 | | 0.002449 | |

Table 6 Difference values of standard solutions difenoconazole in %RPD (day 2)

| equilibration of the system on day 2 | | | | | | | |
|--------------------------------------|-------------------------------------|----------------------|----------|-------|---------------------|----------|-------|
| difenoconazole reference substance | | <i>trans</i> -isomer | | | <i>cis</i> -isomer | | |
| solution type | mass of reference substance, s [mg] | response factor (f) | mean | %RPD | response factor (f) | mean | %RPD |
| C1 | 50.4 | 0.407173 | 0.406641 | 0.327 | 0.414782 | 0.412891 | 0.181 |
| | | 0.406109 | | | 0.411000 | | |
| C2 | 51.5 | 0.408741 | 0.407972 | | 0.415357 | 0.413641 | |
| | | 0.407202 | | | 0.411924 | | |
| C2 | 51.5 | 0.410117 | 0.409654 | 1.326 | 0.412850 | 0.411243 | 1.540 |
| | | 0.409191 | | | 0.409636 | | |
| C1 | 50.4 | 0.402914 | 0.404258 | | 0.404474 | 0.404959 | |
| | | 0.405603 | | | 0.405444 | | |

ผลการทดสอบปริมาณสารออกฤทธิ์ difenoconazole จากผลรวมของปริมาณ *cis*-isomer และปริมาณ *trans*-isomer ของตัวอย่างความเข้มข้น 10% WG (sample A), 94% min Tech. (sample B, C) และ 25% W/V EC (sample D, E) ในการวิเคราะห์ day 2 แสดงดัง Table 7

Table 7 Test results of difenoconazole active ingredient analysis (day 2)

| sample | mass of sample [mg] | <i>trans</i> -isomer difenoconazole | | <i>cis</i> -isomer difenoconazole | | difenoconazole |
|--------|------------------------|-------------------------------------|------------------------|-----------------------------------|------------------------|------------------------|
| | | content [g/kg] | mean content [g/kg] | content [g/kg] | mean content [g/kg] | mean content [g/kg] |
| A(a) | 501.7 | 43.67 | 43.97 | 59.78 | 60.24 | 104.21 |
| | | 44.16 | | 60.54 | | |
| A(b) | 500.7 | 43.43 | | 59.34 | | |
| | | 44.61 | | 61.31 | | |
| B(a) | 52.4 | 402.64 | 403.52 | 558.53 | 561.65 | 965.17 |
| | | 404.04 | | 560.20 | | |
| B(b) | 53.0 | 405.09 | | 565.54 | | |
| | | 402.30 | | 562.33 | | |
| C(a) | 50.7 | 427.93 | 422.92 | 544.34 | 539.11 | 962.04 |
| | | 422.76 | | 535.62 | | |
| C(b) | 51.5 | 420.31 | | 538.15 | | |
| | | 420.69 | | 538.34 | | |
| D(a) | 200.5 | 111.62 | 110.69 | 136.87 | 136.08 | 246.77 |
| | | 111.28 | | 137.92 | | |
| D(b) | 203.0 | 109.49 | | 134.23 | | |
| | | 110.35 | | 135.31 | | |
| E(a) | 201.0 | 102.44 | 102.18 | 148.85 | 148.75 | 250.93 |
| | | 102.58 | | 149.56 | | |
| E(b) | 202.7 | 101.80 | | 149.05 | | |
| | | 101.90 | | 147.55 | | |

เปรียบเทียบผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ difenoconazole ใน day 1 และ day 2 ได้ค่า %RSD ไม่เกิน 1% ซึ่งผลที่ได้ผ่านเกณฑ์กำหนด มีปริมาณสาร difenoconazole ของ sample A, B, C, D และ E เท่ากับ 104.59, 967.41, 964.04, 247.79 และ 251.50 กรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ แสดงดัง Table 8

Table 8 Comparison of difenoconazole active ingredient testing results between day 1 and day 2

| difenoconazole, mean content [g/kg] | sample | day 1 | day 2 | mean content [g/kg] | %RPD |
|--|--------|--------|--------|------------------------|-------|
| <i>trans</i> -isomer difenoconazole | A | 44.57 | 43.97 | 44.27 | 1.355 |
| | B | 406.91 | 403.52 | 405.22 | 0.837 |
| | C | 424.26 | 422.92 | 423.59 | 0.316 |
| | D | 111.38 | 110.69 | 111.04 | 0.621 |
| | E | 102.67 | 102.18 | 102.43 | 0.478 |
| <i>cis</i> -isomer difenoconazole | A | 60.39 | 60.24 | 60.32 | 0.249 |
| | B | 562.74 | 561.65 | 562.20 | 0.194 |
| | C | 541.77 | 539.11 | 540.44 | 0.492 |
| | D | 137.44 | 136.06 | 136.75 | 1.009 |
| | E | 149.39 | 148.75 | 149.07 | 0.429 |
| <i>cis</i> -and <i>trans</i> -isomer difenoconazole | A | 104.96 | 104.21 | 104.59 | 0.717 |
| | B | 969.65 | 965.17 | 967.41 | 0.463 |
| | C | 966.03 | 962.04 | 964.04 | 0.414 |
| | D | 248.81 | 246.77 | 247.79 | 0.823 |
| | E | 252.06 | 250.93 | 251.50 | 0.449 |

จัดส่งผลการทดสอบปริมาณ difenoconazole ให้ผู้จัด collaborative study เพื่อประเมินผลการเข้าร่วมทดสอบกับห้องปฏิบัติการทั้งหมด 22 แห่ง ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร เป็นห้องปฏิบัติการ 4 (Lab 4) พบว่าการผลทางสถิติของผลการทดสอบในตัวอย่าง A (10% WG) ตัวอย่าง B และ C (94% min Tech.) และตัวอย่าง D และ E (25% W/V EC) ไม่เป็น outlier ในทุกรายการทดสอบ โดยแถบสีแดงแสดงถึงค่าการเบี่ยงเบนของผลการทดสอบใน day 1 และ day 2 ส่วนแถบสีน้ำเงินแสดงถึงค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบของแต่ละห้องปฏิบัติการ แสดงดัง Figure 5

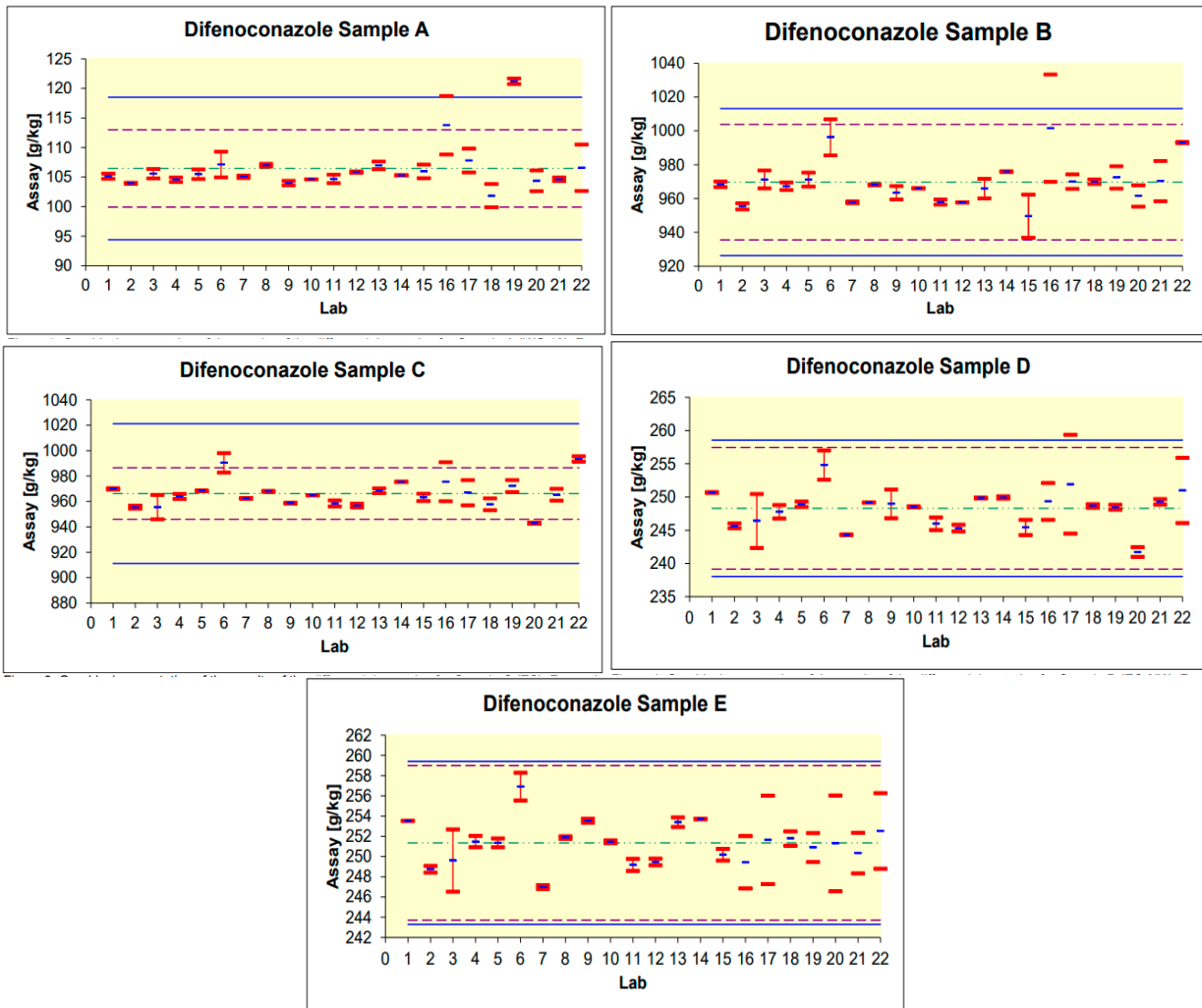


Figure 5 The analytical results difenoconazole of all participants (22 laboratories) in all 5 samples (sample A (10% WG), samples B and C (94% min Tech.) and samples D and E (25% W/V EC)) (Syngenta Crop Protection, 2022)

สรุปผลการทดลอง

การเข้าร่วมศึกษาวิธีวิเคราะห์ difenoconazole ตามวิธีทดสอบที่กำหนด เพื่อเปรียบเทียบผลวิเคราะห์ระหว่างห้องปฏิบัติการ และประมวลผลทางสถิติของผลการทดสอบเพื่อนำไปใช้ในการกำหนดให้เป็นวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ difenoconazole ของ CIPAC โดย Syngenta crop protection AG Switzerland เป็นผู้ดำเนินการ ทำหน้าที่ประสานงาน จัดส่งเอกสาร สารมาตรฐาน สารมาตรฐานภายใน และตัวอย่างจำนวน 5 ตัวอย่าง ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุมีพิษการเกษตรวิเคราะห์ใช้เทคนิค GC ตัวตรวจวัดชนิด FID ใช้คอลัมน์ชนิด capillary รุ่น DB-5 ความยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.32 มิลลิเมตร และความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร ส่วนฉีดสารแบบ split injection อุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส ปริมาณฉีดสาร 1 ไมโครลิตร อุณหภูมิคอลัมน์ 150-280 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของแก๊สพา 1.5 มิลลิเมตรต่อนาที ตัวตรวจวัดอุณหภูมิ 300 องศาเซลเซียส ผลการทดสอบของตัวอย่าง A, B, C, D และ E ได้ค่าสารออกฤทธิ์ difenoconazole เท่ากับ 10.4%, 96.7%, 96.4%, 24.7% และ 25.1% ตามลำดับ จากผลการทดสอบตัวอย่างทั้งหมดของห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุมีพิษการเกษตรพบว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ โดยผลการประเมินทางสถิติของผลการทดสอบพบว่าไม่เป็น outlier ในทุกรายการทดสอบ

คำขอบคุณ

รายงานการทดลองการร่วมศึกษาทดสอบวิธีวิเคราะห์ Difenoconazole ฉบับนี้ อยู่ภายใต้กิจกรรมของกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุที่มีพิษการเกษตร สามารถดำเนินงานได้สำเร็จตามวัตถุประสงค์ด้วยความช่วยเหลือจากบุคคลากรและเจ้าหน้าที่กลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุที่มีพิษการเกษตร กลุ่มวิจัยวัตถุที่มีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร และผู้ที่เกี่ยวข้องทุกท่าน ที่ช่วยในการดำเนินงานทั้งในด้านเอกสาร อำนวยความสะดวกในการนำตัวอย่างทดลองเข้าประเทศ การจัดเตรียมสิ่งอำนวยความสะดวกต่างๆ สำหรับใช้ในการทดลอง จึงขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. การเข้าร่วมทำ collaborative trial of difenoconazole ผู้จัดทำดำเนินการในนามของ CIPAC ซึ่งเป็นหน่วยงานในการทำวิธีวิเคราะห์ทดสอบสาร pesticide formulation ระดับสากลทำให้ห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมเป็นส่วนหนึ่งในการยืนยันวิธีวิเคราะห์ของ difenoconazole ด้วย
2. สามารถศึกษาผลงานการเข้าร่วมทดสอบจะทำให้ทราบถึงแนวทางการพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ใน Pesticide formulation ในปัจจุบัน เพื่อเป็นแนวทางการเข้าร่วมทำ collaborative study ระดับสากลได้
3. การร่วมทำ collaborative study เป็นการทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการ (proficiency testing) อย่างหนึ่งที่ห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรองมาตรฐานห้องปฏิบัติการ (ISO/IEC 17025) ต้องมีการเข้าร่วมการทดสอบความชำนาญเป็นประจำ

เอกสารอ้างอิง

- AOAC. 2005. Guidelines for Collaborative Study Procedures to Validate Characteristics of a Method of Analysis, Appendix D. Official Methods of Analysis of AOAC International (current edition), AOAC International, Rockville, MD, USA.
Available at: http://www.eoma.aoac.org/app_d.pdf. Assessment: June 25, 2022
- BASF. 2005. Collaborative Trial on the Determination of Pyraclostrobin in the Formulations and Technical Material Using HPLC-UV. Pyraclostrobin CIPAC-Collaborative trial [CIPAC 4454/Full study]. Germany : BASF.
- Bayer Crop Science AG. 2007. Collaborative Trial for the Determination of Thiachloprid in the Technical Active Ingredient and Formulations by High performance Liquid Chromatography. CIPAC Collaborative trial Thiachloprid. Germany : Bayer Crop Science AG.
- CIPAC. 2018. Guideline on how to conduct a CIPAC collaborative trial. Collaborative International Pesticides Analytical Council Limited. Available at: <http://www.cipac.org>. Assessment: June 25, 2022
- ISO/IEC 17025. 2017. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. Internal Standard ISO/IEC 17025:2017(E). Third edition 2017-11. Switzerland.
- Kidd, H. and D.R. James. 1993. Difenoconazole. The Agrochemicals Handbook Third edition update
4. Royal Society of chemistry/Information Services, England.

Syngenta Crop Protection AG. 2008. Full Scale Collaborative Study for the Determination of Cyprodinil Active Ingredient and Formulations by High performance Liquid Chromatography. Cyprodinil Collaborative study. Switzerland : Syngenta Crop Protection AG.

Syngenta Crop Protection. 2022. Full scale collaborative study for the determination of Difenoconazole in TC, WG and EC formulation by GC. Difenoconazole Collaborative study. Switzerland : Syngenta Crop Protection.

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างโทลเฟนไพเรต (tolfenpyrad) ในคะน้า เพื่อกำหนดค่า
ปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง

Pesticide Residue Trials of Tolfenpyrad in Broccoli, Chinese to Establish
Maximum Residue Limit (MRL), Trial 1-4

วาเลนไทน์ เจือสกุล วีระสิงห์ แสงวรรณ วิชุตตา ควรัตน์ ชนิตา ทองแซม
Valentine Juasakul Weerasing Saengwan Wichuta Kuanhut Chanita Thongsam

กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The study of supervised residue trials of tolfe n pyrad in broccoli, Chinese for establish maximum residue limit (MRL) were conducted at Kanchanaburi, Nakhon Pathom and Suphan Buri province, central of Thailand. The field trials consist of untreated (control) and treated (application) plot following Good Agricultural Practice (GAP) guideline. The application was performed with 60 milliliters of tolfe n pyrad 16% EC per 20 liters of water under 120 liters of water per rai (750 liters per hectare). The formulation of Hachi Hachi (tolfe n pyrad 16% EC) was applied to treated plot 2 times at 5 days interval. Method validation for analysis tolfe n pyrad in broccoli, Chinese was study and results found that the average recoveries were 91-97% with the relative standard deviation (RSD) between 2.0-5.9% while limit of quantification (LOQ) was 0.01 mg/kg. After the last application, samples including untreated and treated were collected at 0, 1, 3, 5, 7, 10 and 14 days for residue analysis with QuEChERS method (EN15662, 2008) by using LC-MS/MS. The analysis results of 4 trials found that residue was not detected or lower than LOQ in all untreated samples while treated samples from 0 to 14 days were found the residue contained between 0.13-24.58 mg/kg. Moreover, tolfe n pyrad in broccoli, Chinese at concentration 0.10 mg/kg was strong storage stability at least 360 days in freezer at temperature -20 ± 5 °C.

Keywords: tolfe n pyrad, broccoli Chinese, pesticide residue, MRL

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ทำการทดลองและวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างโทลเฟนไพเรด (tolfenpyrad) ในคะน้า เพื่อนำมากำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง โดยทำการทดลองในแปลงคะน้าของเกษตรกรทั้งหมด 4 แปลง บริเวณพื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม และสุพรรณบุรี ช่วงปลายปี พ.ศ. 2564 ถึงต้นปี พ.ศ. 2566 แต่ละแปลงทดลองแบ่งเป็น 2 แปลงทดลองย่อย คือแปลงที่ไม่พ่นโทลเฟนไพเรดเป็นแปลงควบคุม และแปลงที่พ่นโทลเฟนไพเรด 16% EC (ชื่อการค้า ฮาซี ฮาซี) อัตรา 60 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ พ่นสารติดต่อกัน 2 ครั้ง ทุก 5 วัน ก่อนทำแปลงทดลองได้ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ พบว่ามีความแม่นยำ (accuracy) ซึ่งได้จากร้อยละการกลับคืน (%recovery) อยู่ระหว่าง 91-97% มีความเที่ยง (precision) ซึ่งประเมินจากร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) อยู่ในช่วง 2.0-5.9% และมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ (limit of quantification; LOQ) เท่ากับ 0.01 มก./กก. หลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย สุ่มเก็บตัวอย่างคะน้าทั้งจากแปลงควบคุมและแปลงทดลองที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน มาสกัดตัวอย่างด้วยวิธี QuEChERS (EN15662, 2008) และวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างโทลเฟนไพเรดโดยใช้เทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรเมตรี (LC-MS/MS) พบว่าตัวอย่างจากแปลงควบคุมทั้ง 4 แปลง พบสารพิษตกค้างโทลเฟนไพเรดน้อยกว่า 0.01 มก./กก. ขณะที่ตัวอย่างจากแปลงทดลองที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยวตั้งแต่ 0 ถึง 14 วัน พบสารพิษตกค้างอยู่ในช่วง 0.13-24.58 มก./กก. นอกจากนี้ได้ศึกษาการสลายตัวของโทลเฟนไพเรดในคะน้าที่ความเข้มข้น 0.10 มก./กก. พบว่าสามารถเก็บตัวอย่างคะน้าได้นาน 360 วัน ในตู้แช่ (freezer) ที่อุณหภูมิ -20 ± 5 °C โดยไม่มีการสลายตัวของสารพิษตกค้าง

คำสำคัญ: โทลเฟนไพเรด, คะน้า, สารพิษตกค้าง, ปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง

บทนำ

ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดในผลิตผลและผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร (Maximum Residue Limit; MRL) หมายถึงปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดที่สามารถพบได้ในสินค้าเกษตร มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมสารพิษตกค้างต่อกิโลกรัมสินค้าเกษตร สำหรับประเทศไทยพิจารณาจากค่าโดยคณะกรรมการมาตรฐานสินค้าเกษตรของประเทศไทย (Thai MRL) ส่วนระดับนานาชาติจะอ้างอิงจากค่า MRL ของ Codex Alimentarius (Codex MRL) ซึ่งพิจารณากำหนดโดยคณะกรรมการมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศของโครงการมาตรฐานอาหาร FAO/WHO (Codex Alimentarius Commission, Joint FAO/WHO Food Standards Programme; Codex) โดยพิจารณาจากข้อมูลผลการทดลองของประเทศสมาชิกภายใต้แนวทางการดำเนินงานตามหลักเกณฑ์การทำแปลงทดลองสารพิษตกค้างของ Codex Guideline และหลักการปฏิบัติทางการเกษตรที่ดี (Good Agricultural Practice) ในการกำหนดค่า MRL จะพิจารณาตามชนิดของวัตถุดิบพืชและชนิดของพืช โดยส่วนใหญ่ คณะกรรมการจะพิจารณาพืชและวัตถุดิบพืชที่ใช้กันมากในสหภาพยุโรปและประเทศในซีกโลกตะวันตก สำหรับประเทศไทยซึ่งเป็นประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ส่วนมากมีการส่งออกผักและผลไม้เมืองร้อน จึงมีความจำเป็นต้องทำการทดลองในพืชเมืองร้อนเพื่อให้มีการกำหนดค่า MRL สำหรับพืชชนิดนี้ เพื่อเป็นประโยชน์ในการต่อรองทางการค้าและป้องกันการกีดกันทางการค้าสำหรับพืชและวัตถุดิบพืชที่ Codex ไม่มีการกำหนดค่า MRL ไว้ (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2559)

คะน้า (broccoli, Chinese/Chinese kale) จัดเป็นหนึ่งในพืชที่มีทั้งการนำเข้าและส่งออกเป็นอันดับต้นๆ ของประเทศไทย ซึ่งจากสถิติในปี พ.ศ. 2562 มีเนื้อที่ปลูกทั้งสิ้น 47,832 ไร่ ในพื้นที่ 69 จังหวัด มีผลผลิตรวม 45,162 ตัน และผลผลิตต่อไร่ 1,208 กิโลกรัม โดยพบพื้นที่ปลูกมากบริเวณภาคกลางของประเทศไทย ได้แก่

จังหวัดนครปฐม กาญจนบุรี สมุทรสาคร สุพรรณบุรี และอื่นๆ เป็นต้น (ระบบสารสนเทศการผลิตทางด้านเกษตร (รต.), 2562) ซึ่งตามการจัดหมวดหมู่ของสินค้าเกษตรและพืช ค่ะน้ำจัดอยู่ในผักใบตระกูลกะหล่ำ (Cruciferae family) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Brassica oleracea* var. *alboglabra* (L.H. Bailey) (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2559) ค่ะน้ำมีต้นกำเนิดในทวีปเอเชีย ปลูกมากในประเทศจีน ไต้หวัน ฮองกง มาเลเซีย รวมถึงประเทศไทย เป็นผักฤดูเดียว สามารถปลูกได้ตลอดปี แต่ช่วงเวลาเพาะปลูกที่ให้ผลผลิตที่ดีที่สุดจะอยู่ระหว่างเดือนตุลาคมถึงเมษายน อายุเก็บเกี่ยวประมาณ 45-55 วัน ค่ะน้ำที่นิยมปลูกในประเทศไทยมี 3 พันธุ์ คือ พันธุ์ใบกลม มีลักษณะใบกว้างใหญ่ ปล้องสั้น ปลายใบมนและผิวใบเป็นคลื่นเล็กน้อย ได้แก่ พันธุ์ฝางเบอร์ 1 พันธุ์ใบแหลม เป็นพันธุ์ที่มีลักษณะใบแคบกว่าพันธุ์ใบกลม ปลายใบแหลม ซอห่าง ผิวใบเรียบ ได้แก่ พันธุ์ P.L.20 และพันธุ์ยอดหรือก้าน มีลักษณะใบเหมือนกับคะน้ำใบแหลม แต่จำนวนใบต่อต้นมีน้อยกว่า ปล้องยาวกว่า ได้แก่ พันธุ์แม่โจ้ 2 (สุนิสา, 2551) แม้ว่าคะน้ำจะเป็นพืชอายุสั้นที่ปลูกและดูแลง่าย แต่พบว่ามีปัญหาการบวกรจากแมลงศัตรูพืช เช่น หนอนใยผัก หนอนกะตู้ผัก หนอนกะตู้หอม และด้วงหมัดผักแถบปลาย (กลุ่มบริหารศัตรูพืช/กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2554) ทำให้ได้ผลผลิตที่ลดลงหรือคุณภาพต่ำ ส่งผลต่อการส่งออกสินค้าเกษตรของไทย จึงจำเป็นต้องใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร

โทลเฟนไพเรด (tolfenpyrad) เป็นวัตถุอันตรายทางการเกษตรกลุ่ม pyrazole (Figure 1) เป็นสารกำจัดแมลง (insecticide) ที่ยับยั้งการขนส่งอิเล็กตรอนที่คอมเพล็กซ์ 1 ในไมโทคอนเดรีย มีกลไกการออกฤทธิ์ต่อระบบการผลิตพลังงาน โดยสารจะไปยับยั้งขบวนการถ่ายทอดอิเล็กตรอนที่โปรตีนคอมเพล็กซ์ 1 ที่อยู่ในไมโทคอนเดรีย (mitochondrial complex I electron transport inhibitors, MET I) จึงไม่สามารถผลิตพลังงานในรูป ATP ได้ ทำให้แมลงหายใจน้อยลง หัวใจเต้นช้าลงจนขาดออกซิเจน เกิดเป็นอัมพาต (paralysis) และตายในที่สุด (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2564) tolfenpyrad สามารถใช้ป้องกันและกำจัดหนอนใยผัก ด้วงหมัดผักแถบปลาย เพลี้ยอ่อน เพลี้ยไฟ และเพลี้ยไก่แจ้ส้ม อัตราแนะนำที่ใช้ในพืชตระกูลกะหล่ำ (กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก คะน้ำ ผักกาดขาวปลี และผักกาดเขียวปลี) สำหรับป้องกันกำจัดหนอนใยผัก คือ tolfenpyrad 16% EC ปริมาณ 40-60 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นเมื่อพบการระบาดของหนอนใยผักทุก 5 วัน ติดต่อกัน 2 ครั้ง (กลุ่มบริหารศัตรูพืช/กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2563)

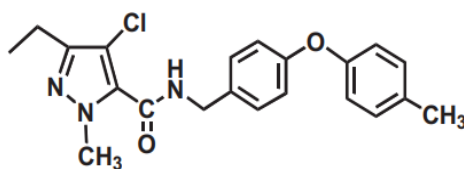


Figure 1 Structural formula of tolfenpyrad (JMPR, 2024)

แม้ว่า tolfenpyrad จะสามารถป้องกันและกำจัดหนอนใยผักในคะน้ำได้ แต่ในประเทศไทยและ Codex ยังไม่มีการกำหนดค่า MRL ในพืชตระกูลกะหล่ำรวมถึงคะน้ำ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงทำการทดลองและศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของ tolfenpyrad ในคะน้ำ แบบ supervised residue trials ในพื้นที่แปลงทดลองที่แตกต่างกัน ตามหลักเกณฑ์การทำแปลงทดลองสารพิษตกค้างของ Codex Guideline และหลักการปฏิบัติทางการเกษตรที่ดี (Good Agricultural Practice; GAP) ตามมาตรฐานสากล โดยจะนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองนี้เสนอคณะกรรมการวิชาการพิจารณามาตรฐานสินค้าเกษตร กำหนดปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดของประเทศไทยหรือ Thai MRLs สำหรับ tolfenpyrad ในคะน้ำ เพื่อใช้เป็นเกณฑ์อ้างอิงและควบคุมตรวจสอบคะน้ำที่ผลิต นำเข้า และส่งออก อีกทั้งยังสามารถกำหนดระยะเวลาตั้งแต่พ่นสารครั้งสุดท้ายจนถึงวันเก็บเกี่ยวหรือระยะหยุดพ่นสารก่อน

เก็บเกี่ยวที่ปลอดภัย (Pre harvest interval; PHI) เพื่อให้เกษตรกรนำวัฏภูมิพิษชนิดนี้ไปใช้อย่างถูกต้องและมีความปลอดภัยสูงสุดต่อผู้บริโภค อีกทั้งยังสามารถนำข้อมูลไปประกอบการพิจารณากำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดของ tolfenpyrad ในค่าน้ำระดับนานาชาติ ได้แก่ ASEAN MRLs และ Codex MRLs ต่อไป (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2559)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

แปลงทดลอง

1. เครื่องพ่นแบบติดเครื่องยนต์สะพายหลังขนาดถังบรรจุ 25 ลิตร (motorized knapsack sprayer)
2. อุปกรณ์ป้องกันสารเคมี ได้แก่ ชุดสวมใส่ (PPE) แว่นตา หมวก หน้ากากอนามัย และถุงมือ
3. อุปกรณ์ที่ใช้ในแปลงทดลอง ได้แก่ นาฬิกาจับเวลา เครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้น (temperature hygrometer) เครื่องวัดความเร็วลม ไม้ปักแปลง หมุดหัวน็อต ตลับเมตร เชือกฟาง แผ่นป้ายชื่อวัฏภูมิพิษ มีดตัดค่น้ำ ถุงเก็บตัวอย่าง หนัวยยาง กล่องโฟม และเครื่องบันทึกอุณหภูมิ (temperature data logger)
4. เครื่องแก้ว ได้แก่ กระจกตวง ปีกเกอร์ ปีเปตต์ และขวดแก้ว
5. วัฏภูมิพิษ tolfenpyrad 16% EC ชื่อการค้าฮาชิ ฮาชิ (Hachi Hachi)

ห้องปฏิบัติการ

1. สารมาตรฐาน tolfenpyrad ความบริสุทธิ์ 99.39%
2. เครื่องแก้ว ได้แก่ กระจกตวง ปีกเกอร์ ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) ขวดใส่สารละลาย (lab bottle) ขวดใส่สารตัวอย่าง (autosampler vial) และแท่งแก้วคนสาร
3. ออโต้ปีเปต (autopipettes) ขนาด 10-20, 10-100, 100-1,000 และ 1,000-5,000 ไมโครลิตร
4. หลอดทดลองพลาสติก (centrifuge tube) ขนาด 15 และ 50 มิลลิลิตร
5. ตัวกรองสารละลายขนาดเล็ก (syringe filter) PTFE ขนาด 0.2 ไมโครเมตร
6. เครื่องมือในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เครื่องชั่งทศนิยม 2 และ 5 ตำแหน่ง เครื่องเขย่าสาร (vortex mixer) เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) เครื่องปั่นตัวอย่าง (ยี่ห้อ Retsch รุ่น GM300) และตู้แช่แข็ง (freezer)
7. สารเคมี ได้แก่ acetonitrile (ACN), magnesium sulfate anhydrous ($MgSO_4$), primary-secondary amine (PSA), graphitized carbon black (GCB), sodium chloride (NaCl), sodium hydrogen carbonate ($NaHCO_3$), trisodium citrate dehydrate ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$), di-sodium hydrogen citrate sesquihydrate ($C_6H_6Na_2O_7 \cdot 1.5H_2O$), ammonium formate, formic acid และไนโตรเจนเหลว (liquid nitrogen)
8. เครื่องตรวจวิเคราะห์ Liquid chromatography tandem mass spectrometer (LC/MS-MS)

วิธีการ

1. การทำแปลงทดลอง

1.1 สํารวจและเลือกแปลงทดลอง โดยวางแผนการทดลองแบบ supervised trial คือแต่ละแปลงทดลองต้องห่างกันไม่น้อยกว่า 30 กิโลเมตร ภายใต้การทำแปลงทดลองในปีเดียวกัน สถานที่ทำแปลงทดลองมีดังนี้

แปลงที่ 1 ตำบลตะคร้ำเอน อำเภอดำรงวิทยารุจิรา จังหวัดกาญจนบุรี ตำแหน่ง GPS 13°57'41"N 99°46'46"E ทำการทดลองระหว่างเดือนธันวาคม 2564 ถึงเดือนมกราคม 2565

แปลงที่ 2 ตำบลธรรมศาลา อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม ตำแหน่ง GPS 13°48'10"N 100°6'55"E ทำการทดลองระหว่างเดือนมกราคมถึงเดือนกุมภาพันธ์ 2565

แปลงที่ 3 ตำบลบางงาม อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี ตำแหน่ง GPS 14°36'11"N 100°5'49"E ทำการทดลองระหว่างเดือนพฤศจิกายนถึงเดือนธันวาคม 2565

แปลงที่ 4 ตำบลรางหวาย อำเภอพนมทวน จังหวัดกาญจนบุรี ตำแหน่ง GPS 14°14'51"N 99°49'13"E ทำการทดลองระหว่างเดือนมกราคมถึงเดือนกุมภาพันธ์ 2566

1.2 แบ่งแปลงทดลองออกเป็น 2 แปลงทดลองย่อย คือแปลงควบคุม (untreated plot) เป็นแปลงทดลองที่ไม่พ่นวัฏุมิพิซ tolfenpyrad และแปลงทดลองที่พ่นวัฏุมิพิซ tolfenpyrad 16% EC (treated plot) ตามอัตราแนะนำคือ 60 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราการใช้ น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ (กลุ่มกัญและสัตววิทยา, 2553)

1.3 สอบเทียบ (calibrate) เครื่องพ่นก่อนทำการทดลอง เพื่อหาอัตราการใช้น้ำ (flow rate) และเวลา (target time) ในการเดินพ่นวัฏุมิพิซต่อพื้นที่แปลงทดลอง และทดสอบผู้พ่นวัฏุมิพิซให้เดินตรงกับเวลาที่ได้จากการ calibrate เพื่อควบคุมการพ่นวัฏุมิพิซให้มีความสม่ำเสมอและถูกต้องแม่นยำ

1.4 พ่นวัฏุมิพิซ tolfenpyrad 16% EC ในแปลงทดลองย่อย treated plot โดยพ่นสารทุก 5 วัน 2 ครั้ง ติดต่อกัน หลังการพ่นครั้งสุดท้าย สุ่มเก็บตัวอย่างคะน้ำที่ 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน โดยใช้มีดตัดคะน้ำทั้งต้น ยกเว้นส่วนราก สุ่มเก็บตัวอย่างให้ทั่วแปลงทดลองยกเว้นระยะหัวแปลงและท้ายแปลง เก็บตัวอย่างจากแปลง untreated ก่อน ตามด้วยตัวอย่างจากแปลง treated แต่ละแปลงทดลองย่อยจะสุ่มเก็บตัวอย่าง 2 ซ้ำต่อการเก็บตัวอย่างแต่ละครั้ง น้ำหนักตัวอย่างที่สุ่มเก็บต้องไม่น้อยกว่า 1 กิโลกรัมต่อซ้ำ เพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง tolfenpyrad

1.5 ขนส่งตัวอย่างที่สุ่มเก็บจากแปลงทดลองมาที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัฏุมิพิซการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร โดยบรรจุตัวอย่างใส่ถุงเก็บตัวอย่าง รัทหนึ่งยาง ปิดปากถุงให้สนิท แต่ละถุงมีป้ายชื่อตัวอย่างและชื่อวัฏุมิพิซระบุชัดเจน บันทึกน้ำหนัก อุณหภูมิ และเวลาที่สุ่มเก็บตัวอย่าง จากนั้นนำถุงตัวอย่างใส่ในกล่องโฟมที่มีถุงใส่น้ำแข็งบรรจุอยู่เพื่อรักษาสภาพตัวอย่างระหว่างการขนส่ง วางเครื่องบันทึกอุณหภูมิ (temperature data logger) ไว้ในกล่องโฟมกับถุงบรรจุตัวอย่างเพื่อตรวจสอบอุณหภูมิระหว่างการขนส่ง เมื่อถึงห้องปฏิบัติการให้เก็บตัวอย่างในตู้แช่แข็ง (freezer) ที่อุณหภูมิ -20 ± 5 °C

2. การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง tolfenpyrad ในคะน้ำ

2.1 ทดสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์

2.1.1 เตรียมสารละลายมาตรฐาน stock standard solution ของ tolfenpyrad ที่ความเข้มข้น 1,000 µg/ml โดยชั่งสารมาตรฐานที่เป็น primary standard ด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 5 ตำแหน่ง ให้น้ำหนักเนื้อสาร 10 มิลลิกรัมโดยประมาณ ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร เติมน้ำทำละลาย acetonitrile ลงใน volumetric flask ที่ละน้อย เขย่าจน primary standard ละลายหมด จากนั้นจึงเติม acetonitrile จนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน เทสารละลายมาตรฐานใส่ lab bottle ติดฉลาก ระบุชื่อสาร ความเข้มข้น ชื่อผู้เตรียมสารละลายที่ใช้ และวันที่เตรียมให้ชัดเจน เก็บสารมาตรฐานที่เตรียมในตู้แช่แข็ง (freezer) ที่อุณหภูมิ -20 ± 5 °C โดยความเข้มข้นของสารมาตรฐานสามารถคำนวณได้ดังนี้

$$\text{ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน (}\mu\text{g/ml)} = \frac{\text{น้ำหนักที่ชั่ง (mg)} \times \text{ความบริสุทธิ์ของสาร (\%)} \times 1000}{\text{ปริมาตรที่เตรียม (ml)} \times 100}$$

2.1.2 เตรียม intermediate standard solution ของ tolfenpyrad ที่ความเข้มข้น 100, 10 และ 1 µg/ml โดยใช้สูตรการคำนวณ ดังนี้

$$N_1V_1 = N_2V_2$$

โดยที่ N_1 = ความเข้มข้นของสารตั้งต้น (µg/ml)

N_2 = ความเข้มข้นของสารที่ต้องการเตรียม (µg/ml)

V_1 = ปริมาตรของสารตั้งต้นที่ต้องนำมา (ml)

V_2 = ปริมาตรของสารที่ต้องการเตรียม (ml)

ใช้ autopipette ดูด stock standard solution ตามปริมาตรที่คำนวณไว้ ลงใน volumetric flask เติม acetonitrile ลงใน volumetric flask จนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นเทสารละลายมาตรฐานใส่ lab bottle ตัดฉลาก ระบุชื่อสาร ความเข้มข้น ชื่อผู้เตรียม สารละลายที่ใช้ และวันที่เตรียมให้ชัดเจน เก็บสารมาตรฐานที่เตรียมในตู้แช่แข็ง (freezer) ที่อุณหภูมิ -20 ± 5 °C

2.1.3 ทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง tolfenpyrad ในค่น้ำ ที่ระดับความเข้มข้น 0.01, 0.10, 1.00 และ 10.00 mg/kg ความเข้มข้นละ 8-10 ซ้ำ โดยสกัดตัวอย่างด้วยวิธี QuEChERS (EN15662, 2008) จากนั้นพิสูจน์ความแม่นยำ (accuracy) จากร้อยละการกลับคืน (%recovery) และพิสูจน์ความเที่ยง (precision) จากร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD)

2.2 วิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง tolfenpyrad ในค่น้ำด้วยวิธี QuEChERS (EN15662, 2008)

2.2.1 เตรียมตัวอย่าง โดยนำตัวอย่างค่น้ำที่แช่แข็งผสมกับ liquid nitrogen จากนั้นปั่นด้วยเครื่องปั่นตัวอย่าง เก็บตัวอย่างที่ปั่นแล้วในตู้แช่แข็ง (freezer) ที่อุณหภูมิ -20 ± 5 °C

2.2.2 ชั่งตัวอย่างค่น้ำ 10 ± 0.1 กรัม ใส่ centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร สกัดตัวอย่างด้วยวิธี QuEChERS (EN15662, 2008) โดยเติม acetonitrile 10 มิลลิลิตร เขย่า 1 นาที เติม magnesium sulfate anhydrous 4 กรัม sodium chloride 1 กรัม trisodium citrate dihydrate 1 กรัม และ di-sodium hydrogen citrate sesquihydrate 0.5 กรัม เขย่าอีก 1 นาที นำไป centrifuge ด้วยความเร็ว 3,500 รอบต่อนาที อีก 5 นาที จากนั้นดูดสารละลายส่วนบนปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร ที่มี magnesium sulfate anhydrous 750 มิลลิกรัม PSA 125 มิลลิกรัม และ GCB 45 มิลลิกรัม เขย่าโดยใช้เครื่อง vortex mixer เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำไป centrifuge ที่ความเร็ว 3,500 รอบต่อนาที อีก 5 นาที กรองสารละลายที่ได้ด้วย syringe filter ขนาด 0.2 ไมโครเมตร ใส่ lab bottle ขนาด 10 มิลลิลิตร จากนั้นดูดสารละลายที่กรองแล้วด้วย autopipette ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ autosampler vial และเติม 10% formic acid 10 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเครื่อง LC-MS/MS

2.2.3 เตรียมสารละลายมาตรฐานของ tolfenpyrad ในสารละลายที่สกัดจาก sample blank ตามวิธีสกัดตัวอย่าง ที่ระดับความเข้มข้น 0.005 0.01 0.05 0.1 0.2 และ 0.5 µg/ml (working standard solution) เพื่อสร้าง calibration curve ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน tolfenpyrad (แกน x) กับ peak area (แกน y) โดยต้องมีค่า correlation coefficient (r) ไม่น้อยกว่า 0.995

2.3 ทดสอบความคงตัว (storage stability) ของสารพิษตกค้าง tolfenpyrad ในค่น้ำ

ศึกษาความคงตัวหรือสภาวะการสลายตัวระหว่างการเก็บรักษาสารพิษตกค้าง tolfenpyrad ในค่น้ำ ที่ระยะ 0, 14, 30, 45, 60, 90, 120, 180 และ 360 วัน โดยเติมสารมาตรฐาน tolfenpyrad (spiked) ความเข้มข้น 0.1 mg/kg (10 เท่าของ LOQ) ลงในค่น้ำที่ชั่งน้ำหนักได้ 10 ± 0.1 กรัม จำนวน 18 ตัวอย่าง จากนั้นเก็บตัวอย่างที่ spiked แล้วในตู้แช่แข็ง (freezer) ที่อุณหภูมิ -20 ± 5 °C (FAO, 2016) เมื่อถึงระยะเวลาที่ศึกษานำตัวอย่างมาสกัดและวิเคราะห์ด้วยวิธีเดียวกันกับตัวอย่างจากแปลงทดลอง และในการวิเคราะห์ตัวอย่าง

แต่ละครั้งจะทำการควบคุมคุณภาพของการวิเคราะห์ในชุดของการทดสอบตัวอย่าง (procedural recovery) เพื่อเปรียบเทียบตัวอย่าง storage stability และ procedural recovery ที่สกัดภายในวันเดียวกัน ซึ่งเป็นการตรวจสอบประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์

2.4 สภาวะการทำงานของเครื่อง LC-MS/MS สำหรับวิเคราะห์สารพิษตกค้าง tolfenpyrad ในคะน้ำ

Column: Phenomenex 2.6 μ m XB C18 100A, 100 mm \times 2.1 mm

Temperature: 40 $^{\circ}$ C

Ion mode: ESI (positive)

Source parameters: Gas Temp ($^{\circ}$ C) 325

Gas Flow (L/min) 10

Nebulizer (psi) 40

Capiilary (V) 3500

Injection volume: 5 μ L

Mass parameters:

| | Precursor ion | Product ion | Dwell | CE (V) |
|-------------|---------------|-------------|-------|--------|
| tolfenpyrad | 384.1473 | 197.1 | 80 | 30 |
| | 384.1473 | 171.1 | 80 | 20 |

Mobile phase : 5 mM ammonium formate in water (A), acetonitrile (B)

Run time : 8 min

| Time (min) | Flow rate (mL/min) | Solvent A (%) | Solvent B (%) |
|------------|--------------------|---------------|---------------|
| 0 | 0.4 | 80 | 20 |
| 0.5 | 0.4 | 80 | 20 |
| 2.0 | 0.4 | 20 | 80 |
| 5.0 | 0.4 | 20 | 80 |
| 6.0 | 0.4 | 80 | 20 |
| 8.0 | 0.4 | 80 | 20 |

ระยะเวลา เริ่มต้นเดือนตุลาคม 2564 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2566

สถานที่ทำการทดลอง 1. แปลงทดลองจังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม และสุพรรณบุรี
2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุเคมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ปริมาณวัฏภูมิพิชที่ลงในแปลงทดลอง

พ่นวัฏภูมิพิช tolfenpyrad 16% EC ในแปลงทดลองย่อย treated plot ตามอัตราแนะนำคือ 60 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ พ่นทุก 5 วัน จำนวน 2 ครั้งติดต่อกัน โดยมีสารออกฤทธิ์ (active ingredient; a.i.) เท่ากับ 48 กรัม a.i. ต่อเฮคโตลิตร และปริมาณวัฏภูมิพิชที่ลงในแปลงทดลองสามารถหาได้จากประสิทธิภาพการพ่น ซึ่งคำนวณจากเวลาในการพ่นเทียบกับ target time โดยทั้ง 4 แปลงทดลองมีประสิทธิภาพการพ่นอยู่ในช่วง 99-102% (Table 1) แสดงให้เห็นว่าทั้ง 4 แปลงทดลองมีปริมาณวัฏภูมิพิชที่ลงในแปลงทดลองถูกต้องตามเวลาที่ได้จากการคำนวณ

Table 1 Efficiency of test substance apply per treated plot

| Trial | Percent efficiency of test substance applied | |
|-------|--|-----------------------------|
| | 1 st application | 2 nd application |
| 1 | 99 | 100 |
| 2 | 100 | 99 |
| 3 | 101 | 100 |
| 4 | 101 | 102 |

2. ทดสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์

ตรวจสอบวิธีวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง tolfenpyrad ในคะน้า โดยสกัดตัวอย่างด้วยวิธี QuEChERS (EN15662, 2008) ศึกษาที่ระดับความเข้มข้น 0.01, 0.10, 1.00 และ 10.00 mg/kg พบว่ามี %recovery เฉลี่ยอยู่ในช่วง 91-97% และ %RSD อยู่ในช่วง 2.0-5.9% (Table 2) ซึ่งเป็นค่าที่อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ (SANTE, 2021) และความเข้มข้นต่ำสุดของวิธีวิเคราะห์ที่สามารถตรวจวัดได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ (limited of quantification; LOQ) เท่ากับ 0.01 mg/kg

Table 2 Result of method validation of tolfenpyrad in broccoli, Chinese

| Concentration (mg/kg) | %Recovery | Average of %recovery | %RSD |
|-----------------------|--|----------------------|------|
| 0.01* | 96, 92, 88, 88, 92, 90, 83, 87, 97, 94 | 91 | 4.3 |
| 0.10 | 97, 96, 98, 97, 95, 95, 101, 96 | 97 | 2.0 |
| 1.00 | 99, 100, 98, 97, 85, 86, 97, 96 | 95 | 5.9 |
| 10.00 | 91, 98, 97, 99, 89, 83, 96, 95 | 94 | 5.5 |

*limited of quantification; LOQ

3. ปริมาณสารพิษตกค้าง tolfenpyrad ในคะน้าจากแปลงทดลอง

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง tolfenpyrad ในคะน้าจาก 4 แปลงทดลองที่พ่นสารตามอัตราแนะนำ พบว่าหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายที่ระยะเก็บเกี่ยว 0 ถึง 14 วัน มีปริมาณสารพิษตกค้างลดลงตามระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่เพิ่มขึ้นเป็นแนวโน้มเดียวกันทั้ง 4 แปลงทดลอง ซึ่งเป็นการสลายตัวแบบ exponential (Figure 2) แต่จะเห็นว่าปริมาณสารพิษตกค้างที่แปลงทดลอง 1 และ 2 การสลายตัวของสารพิษตกค้างจะเกิดขึ้น

ค่อนข้างช้าเมื่อเทียบกับแปลงทดลอง 3 และ 4 โดยเฉพาะระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่ 5, 7 และ 10 วัน ของแปลงทดลอง 1 มีปริมาณสารพิษตกค้างค่อนข้างใกล้เคียงกัน ซึ่งอาจเกิดจากปัจจัยภายนอก เช่น สภาพอากาศ การรดน้ำ อายุคะน้า หรือการบำรุงรักษาแปลงทดลองของเกษตรกร เป็นต้น และจะเห็นว่าทั้ง 4 แปลงทดลองที่ระยะเก็บเกี่ยว 14 วัน ยังคงพบสารพิษตกค้าง tolfenpyrad มีปริมาณมากกว่า 0.01 mg/kg (Table 3) ส่วนตัวอย่างจากแปลง untreated มีปริมาณสารพิษตกค้าง tolfenpyrad น้อยกว่า 0.01 mg/kg ในทุกตัวอย่าง จึงสรุปได้ว่าการทดลองนี้มีการสลายตัวของ tolfenpyrad ในคะน้าเมื่อจำนวนวันหลังการเก็บเกี่ยวเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามประเทศไทยและ Codex ยังไม่มีการกำหนดค่า MRL ของ tolfenpyrad ในคะน้าหรือกลุ่มผักใบตระกูลกะหล่ำ แต่ประเทศญี่ปุ่นได้กำหนดค่า Japan MRL ของ tolfenpyrad ในบร็อกโคลี (broccoli) ซึ่งเป็นกลุ่มพืชชนิดเดียวกับคะน้าในกลุ่มผักตระกูลกะหล่ำ (Brassica vegetables) อยู่ที่ 0.7 mg/kg (JFCRF, 2024) ดังนั้นเมื่อพิจารณาจากค่า MRL ของประเทศญี่ปุ่นที่ใช้เป็นเกณฑ์อ้างอิงชั่วคราว จะเห็นว่าที่ระยะเก็บเกี่ยว 14 วัน ปริมาณสารพิษตกค้างของ tolfenpyrad ในคะน้าจากแปลงทดลอง 1, 2 และ 3 ยังคงมีค่ามากกว่า 0.7 mg/kg อย่างไรก็ตามการพิจารณากำหนดค่า MRL นั้น จะต้องนำปริมาณสารพิษตกค้างที่ได้มาประเมินความเสี่ยงจากการบริโภค (risk assessment for dietary intake) ทั้งแบบเฉียบพลัน (acute) และแบบเรื้อรัง (chronic) ตามเกณฑ์ของประเทศไทยและสากลเพื่อคำนึงถึงความปลอดภัยสูงสุดต่อผู้บริโภคก่อนที่จะนำมากำหนดเป็นค่า MRL

Table 3 Total residue of tolfenpyrad in broccoli, Chinese

| Day after last application (DALA) | Total residue of tolfenpyrad in broccoli, Chinese (mg/kg) | | | |
|-----------------------------------|---|---------|---------|---------|
| | Trial 1 | Trial 2 | Trial 3 | Trial 4 |
| 0 | 11.75 | 8.19 | 14.36 | 24.58 |
| 1 | 6.32 | 7.81 | 11.07 | 17.21 |
| 3 | 4.77 | 6.40 | 9.25 | 9.32 |
| 5 | 3.88 | 3.19 | 8.23 | 5.15 |
| 7 | 3.15 | 3.26 | 7.68 | 2.31 |
| 10 | 3.63 | 2.18 | 3.62 | 0.50 |
| 14 | 2.03 | 1.81 | 0.97 | 0.13 |

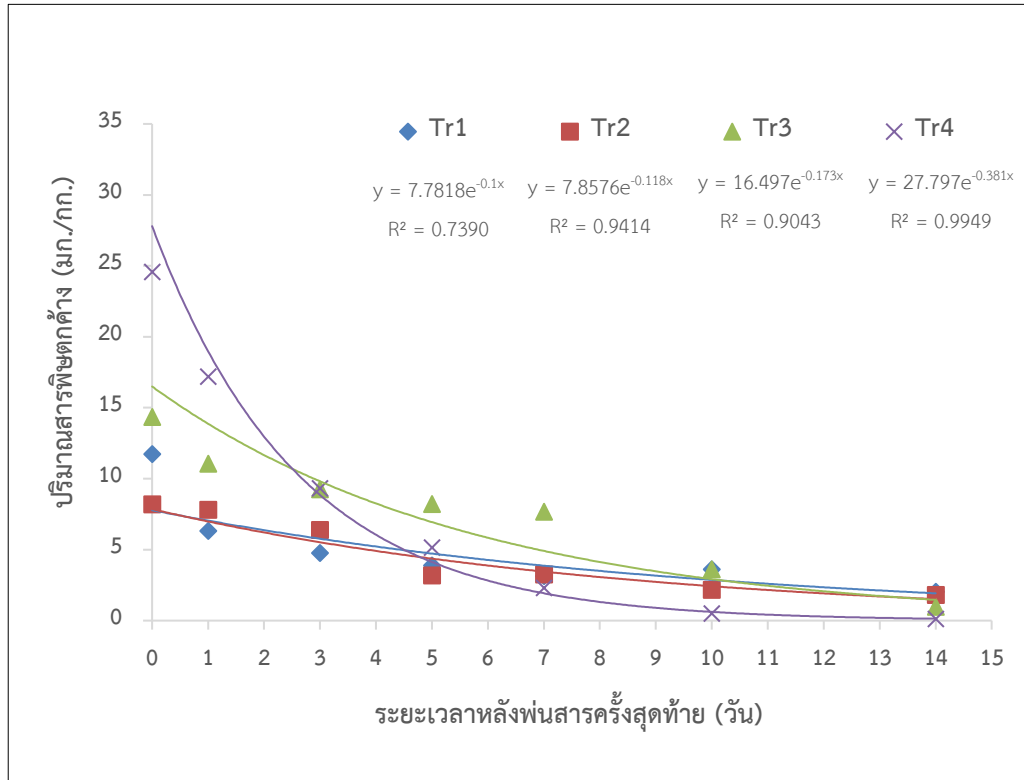


Figure 2 Trend line of decline study on tolfenpyrad in broccoli, Chinese

4. ความคงตัว (storage stability) ของสารพิษตกค้าง tolfenpyrad ในคะน้า

จากการทดสอบสภาวะการสลายตัวหรือความคงตัวระหว่างการเก็บรักษา (storage stability) ของสารพิษตกค้าง tolfenpyrad ในคะน้า ที่ระยะ 0 ถึง 360 วัน โดยเติมสารมาตรฐาน tolfenpyrad ลงในตัวอย่างคะน้าที่ความเข้มข้น 0.1 mg/kg จากนั้นเก็บตัวอย่างไว้ในตู้แช่แข็ง (freezer) ที่อุณหภูมิ -20 ± 5 °C เมื่อถึงระยะเวลาที่ศึกษานำตัวอย่างมาสกัดและวิเคราะห์ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ ด้วยวิธี QuEChERS (EN15662, 2008) และควบคุมคุณภาพของการวิเคราะห์ในชุดของการทดสอบตัวอย่าง (procedural recovery) เปรียบเทียบ %recovery ของตัวอย่าง storage stability กับ procedural recovery ที่สกัดภายในวันเดียวกัน เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ พบว่าค่าเฉลี่ยร้อยละสารพิษตกค้างที่เหลืออยู่ของ tolfenpyrad ในคะน้าที่เก็บไว้ตั้งแต่ 0 ถึง 360 วัน อยู่ในช่วง 85-100% (Table 4) กล่าวคือสารพิษตกค้างต้องไม่สลายตัวไปเกินกว่า 30% ของความเข้มข้นที่ศึกษา หรือค่าเฉลี่ยร้อยละสารพิษตกค้างที่เหลืออยู่มากกว่า 70% (FAO, 2016) ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ จึงสรุปได้ว่าสามารถเก็บตัวอย่างคะน้าที่มีสารพิษตกค้าง tolfenpyrad ไว้ได้นาน 360 วัน ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 ± 5 °C โดยไม่มีการสลายตัวของสารพิษตกค้าง

Table 4 Result of storage stability study on tolfenpyrad in broccoli, Chinese

| Storage interval (Day) | Procedural recovery (%) | | Residues in stored spiked samples (mg/kg) | | Average uncorrected residues remained (%) |
|------------------------|-------------------------|-----------|---|-----------|---|
| | Replicate | Replicate | Replicate | Replicate | |
| | 1 | 2 | 1 | 2 | |
| 0 | 104 | 102 | 0.0987 | 0.1020 | 100 |
| 14 | 92 | 87 | 0.0887 | 0.0821 | 85 |
| 30 | 90 | 89 | 0.0929 | 0.0925 | 93 |
| 45 | 93 | 100 | 0.0977 | 0.0955 | 97 |
| 60 | 96 | 96 | 0.0859 | 0.0880 | 87 |
| 90 | 97 | 90 | 0.0919 | 0.0881 | 90 |
| 120 | 91 | 92 | 0.0905 | 0.0874 | 89 |
| 180 | 107 | 107 | 0.0949 | 0.0952 | 95 |
| 360 | 100 | 105 | 0.0994 | 0.0899 | 95 |

สรุปผลการทดลอง

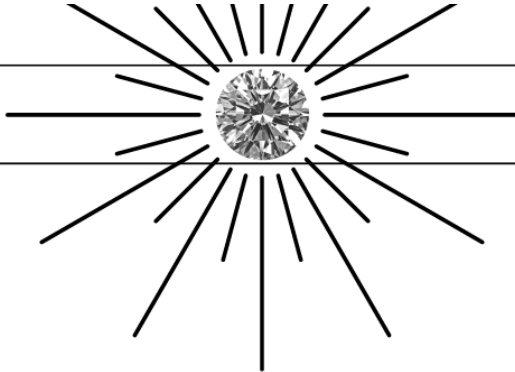
จากการทำแปลงทดลองและวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง tolfenpyrad ในคะน้า เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ทำการทดลองแบบ supervised residue trials ต่างเวลาและสถานที่จำนวน 4 แปลง โดยพ่นวัตถุที่มีพิษตามอัตราแนะนำคือ tolfenpyrad 16% EC ปริมาตร 60 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ พ่นวัตถุที่มีพิษห่างกัน 5 วัน ติดต่อกัน 2 ครั้ง สำหรับป้องกันและกำจัดหนอนใยผักในคะน้า หลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย สุ่มเก็บตัวอย่างคะน้าที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน นำตัวอย่างมาสกัดด้วยวิธี QuEChERS (EN15662, 2008) และวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง tolfenpyrad ด้วยเครื่อง LC-MS/MS จากผลการวิเคราะห์พบว่า tolfenpyrad มีการสลายตัวเมื่อจำนวนวันหลังการเก็บเกี่ยวเพิ่มขึ้น ตัวอย่างคะน้าจากแปลง treated ทั้ง 4 แปลง มีปริมาณสารพิษตกค้าง tolfenpyrad อยู่ระหว่าง 0.13-24.58 mg/kg ในขณะที่ตัวอย่างจากแปลง untreated มีปริมาณสารพิษตกค้าง tolfenpyrad น้อยกว่า 0.01 mg/kg หรือน้อยกว่าค่า LOQ ในทุกตัวอย่าง นอกจากนี้สามารถเก็บตัวอย่างคะน้าที่มีสารพิษตกค้าง tolfenpyrad ไว้ได้นาน 360 วัน ในตู้แช่ (freezer) ที่อุณหภูมิ -20 ± 5 °C โดยไม่เกิดการสลายตัวของสารพิษตกค้าง

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

- ข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้างของ tolfenpyrad ในคะน้าที่ศึกษานี้ สามารถนำไปประกอบการพิจารณา กำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด ไม่ว่าจะเป็นค่า MRLs ของประเทศไทย ASEAN หรือ Codex เพื่อใช้เป็นเกณฑ์อ้างอิงในการผลิต การค้า และการควบคุมตรวจสอบคะน้าที่ผลิต นำเข้า และส่งออก
- จากการศึกษาการสลายตัวของ tolfenpyrad ในคะน้า ทำให้ทราบอัตราการที่ใช้ที่ถูกต้อง ระยะเวลาการเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัย (PHI) ซึ่งสามารถนำข้อมูลไประบุบนฉลากหรือคำแนะนำการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตร เพื่อให้เกษตรกรนำข้อมูลนี้ไปใช้ได้อย่างถูกต้องและมีความปลอดภัยสูงสุดต่อผู้บริโภค

เอกสารอ้างอิง

- กลุ่มบริหารศัตรูพืช/กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2554. แมลงศัตรูผัก เห็ด และไม้ดอก. กรุงเทพฯ : สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.
- กลุ่มบริหารศัตรูพืช/กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2563. เอกสารวิชาการ การป้องกันกำจัดแมลง-สัตว์ศัตรูพืชอย่างปลอดภัยจากงานวิจัย. กรุงเทพฯ : สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.
- ระบบสารสนเทศการผลิตทางด้านเกษตร (รต.). 2562. กรมส่งเสริมการเกษตร. แหล่งข้อมูล <http://www.agriinfo.doae.go.th/year63/plant/rortor/veget/%E0%B8%84%E0%B8%B0%E0%B8%99%E0%B9%89%E0%B8%B2.pdf> สืบค้น: 20 กุมภาพันธ์ 2567
- สุนิสา ประไพตระกูล. 2551. พืชตระกูลกะหล่ำ (คะน้า, ผักกาดกวางตุ้ง): คู่มือนักวิชาการส่งเสริมการเกษตร. กรุงเทพฯ : กรมส่งเสริมการเกษตร.
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559. การจัดกลุ่มสินค้าเกษตร: พืช CLASSIFICATION OF AGRICULTURAL COMMODITIES: CROP. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559. สารพิษตกค้าง: ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด PESTICIDE RESIDUES: MAXIMUM RESIDUE LIMITS. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 2564. เอกสารวิชาการ การใช้สารกำจัดแมลงและไรศัตรูพืช เพื่อแก้ไขปัญหาความต้านทานศัตรูพืช. กรุงเทพฯ : กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- EN15662. 2008. Food of Plant Origin-Determination of Pesticide Residue Using GC-MS and/or LC-MS/MS Following Acetonitrile Extraction/Partitioning and Clean-up by Dispersive SPE-QuEChERS method.
- FAO. 2016. Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of maximum residue levels in food and feed. 3rded. FAO Plant Production and Protection Paper 225.
- JMPR. 2024. Joint FAO/JMPR Meeting on Pesticide Residues. Available at: https://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Evaluation13/Tolfenpyrad.pdf. Assessment: January 15, 2024
- SANTE. 2021. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed.
- The Japan Food Chemical Research Foundation (JFCRF). 2024. Table of MRLs for Agricultural Chemicals. Available at: https://db.ffcr.or.jp/front/pesticide_detail?id=46800. Assessment: January 25, 2024



กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี



พัฒนาเกณฑ์คลาดเคลื่อนของการวิเคราะห์หาปริมาณโบรอนในปุ๋ยเคมี

Study the Tolerance from the Uncertainty of Quantity Analysis of Boron in Chemical Fertilizers with Inductively Coupled Plasma Spectrometry technique

อาธิยา ปุ่นประโคน ทองจันทร์ พิมพ์เพชร พงศ์พิศ แก้วสุข
Arthiya Punprakhon Thongchan Pimpet Pongpit Kaewsuk

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Study tolerance from the uncertainty of boron analysis in chemical fertilizers by inductively coupled plasma spectrometry technique. The objective was to find the error in boron nutrient fertilizer suitable for each sample concentration range by taking the uncertainty from the sampling source. (sub-sampling) from the source of sampling precision and analytical precision using ANOVA statistics and standard substance testing from the source weight, dilution sample, precision, bias, factor, calibration curve, instrument and concentration at 5 levels, concentration range $0.06\% < B < 0.1\%$, $0.1\% \leq B < 1.0\%$, $1.0\% \leq B < 5.0\%$, $5.0\% \leq B < 10.0\%$, and $B \geq 10\%$ have boron tolerances of 17.12%, 14.73%, 12.91%, 8.94%, and 7.01%, respectively. Errors can be estimated according to concentration ranges of 8, 7, 6, 4, and 3 percent, respectively.

Keywords: uncertainty, tolerances, Boron

บทคัดย่อ

การศึกษาเกณฑ์คลาดเคลื่อนจากค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์หาปริมาณโบรอนในปุ๋ยเคมี ด้วยเทคนิคอินดักทีฟพลาสมาสเปกโตรเมทรี โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อหาค่าเกณฑ์คลาดเคลื่อนของผลการวิเคราะห์ปุ๋ยธาตุอาหารโบรอนที่เหมาะสมแต่ละช่วงความเข้มข้นของตัวอย่างจากการนำค่าความไม่แน่นอนจากแหล่งของการสุ่มตัวอย่าง (sub-sampling) จากแหล่ง sampling precision และ analytical precision โดยใช้สถิติ ANOVA และการทดสอบสารมาตรฐาน จากแหล่ง weight, dilution sample, precision, bias, factor, calibration curve, instrument และ concentration ที่ 5 ระดับช่วงความเข้มข้น $0.06\% < B < 0.1\%$, $0.1\% \leq B < 1.0\%$, $1.0\% \leq B < 5.0\%$, $5.0\% \leq B < 10.0\%$ และ $B \geq 10\%$ มีความคลาดเคลื่อนของโบรอน 17.12% 14.73% 12.91% 8.94% และ 7.01% ตามลำดับ สามารถประเมินความคลาดเคลื่อนตามช่วงความเข้มข้น ที่ 8, 7, 6, 4 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

คำสำคัญ: ความไม่แน่นอน, ความคลาดเคลื่อน, โบรอน

บทนำ

กรมวิชาการเกษตร ได้ออกประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง หลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขเกี่ยวกับปุ๋ย ที่ได้รับการยกเว้นไม่ต้องขึ้นทะเบียนตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 พ.ศ. 2564 และกำหนดการรับแจ้งปุ๋ยเคมีธาตุอาหารรองและธาตุอาหารเสริม ในรูปที่ ละลายน้ำได้ ซึ่งโบรอน (Boron: B) จัดเป็นธาตุอาหารเสริมที่สำคัญอีกธาตุ ถึงแม้ปริมาณที่พืชต้องการน้อยมาก แต่ก็มีความสำคัญต่อพืชไม่น้อยกว่าธาตุอาหารพืชอื่นๆ เพราะถ้าหากมีไม่พอกับความต้องการของพืชแล้ว พืชย่อม เจริญเติบโตและให้ผลผลิตน้อยลง และพืชอาจตายก่อนที่จะผลิตดอกออกผลก็ได้หากขาดแคลนอย่างรุนแรง (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2548)

ปัจจุบันยังไม่มีเกณฑ์คลาดเคลื่อนของการตรวจสอบปริมาณธาตุอาหารรับรองของปริมาณโบรอนใน ปุ๋ยเคมี เนื่องจากมีหลายปัจจัยที่สามารถทำให้ค่าวิเคราะห์เกิดความคลาดเคลื่อนได้ ดังนั้นควบคุมคุณภาพปุ๋ย ให้เป็นไปอย่างถูกต้องและมีมาตรฐาน เกษตรกรได้รับผลประโยชน์ จึงจำเป็นต้องมีการกำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อน ออกมารองรับปริมาณหรือความคลาดเคลื่อนที่เกิดขึ้น เพื่อใช้เป็นเกณฑ์ตัดสินใจในการทดสอบซ้ำ ในกรณีที่ ผลวิเคราะห์ไม่ตรงกับปริมาณที่แจ้ง และเพื่อความเป็นธรรมของผู้ที่เกี่ยวข้อง

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องซังไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer (ICP-OES)
3. เครื่องเขย่า
4. สารเคมี
 - 4.1 Boric acid (H_3BO_3), AR grade
 - 4.2 กรดไนตริก 69-70% (HNO_3), AR grade
 - 4.3 สารละลายมาตรฐานโบรอน ความเข้มข้น 1000 ppm
5. กระดาษกรองเบอร์ 1 และ เบอร์ 5
6. เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในการทดลอง

วิธีการ

1. ประเมินค่าความไม่แน่นอนจากการทดสอบสารเคมี (Boric acid (H_3BO_3), AR grade)
 - 1.1 ศึกษาเกณฑ์คลาดเคลื่อนจากค่าความไม่แน่นอนจากการทดสอบสารเคมี (Boric acid (H_3BO_3), AR grade) ที่ระดับความเข้มข้น LOQ ต่ำ กลาง สูง
 - 1.2 ประมาณค่าความไม่แน่นอนจากแหล่ง weight, dilution sample, precision, bias, factor, calibration curve, instrument และ concentration calibration
2. ประเมินค่าความไม่แน่นอนจากการ sub-sampling
 - 2.1 จัดหาตัวอย่างปุ๋ยโบรอนที่มีความเข้มข้นของโบรอนแตกต่างกัน 5 ระดับๆ ละ 3 ตัวอย่าง
 - 2.1.1 ความเข้มข้นมากกว่าหรือเท่ากับ 0.06% แต่น้อยกว่า 0.1%
 - 2.1.2 ความเข้มข้น มากกว่าหรือเท่ากับ 0.1% แต่น้อยกว่า 1.0%
 - 2.1.3 ความเข้มข้น มากกว่าหรือเท่ากับ 1.0% แต่น้อยกว่า 5.0%
 - 2.1.4 ความเข้มข้น มากกว่าหรือเท่ากับ 5.0% แต่น้อยกว่า 10.0%
 - 2.1.5 ความเข้มข้น มากกว่าหรือเท่ากับ 10.0%
 - 2.2 เตรียมตัวอย่างปุ๋ยที่มีความเข้มข้น 5 ระดับ ตัวอย่างละ 1 กิโลกรัม จำนวน 2 ถัง แต่ละถัง แบ่งตามกรรมวิธีวิเคราะห์ปุ๋ย (1 ถังแบ่งเป็น 4 ส่วน จะได้ 8 ส่วนต่อตัวอย่าง) บดตัวอย่าง จำนวน 15 ตัวอย่าง
 - 2.3 วิเคราะห์ปริมาณโบรอนในรูปละลายน้ำในปุ๋ยด้วยวิธีการตาม(คู่มือวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี : ธาตุอาหารรอง ธาตุอาหารเสริม ในรูปที่ละลายน้ำได้ และสารหนู, 2565) โดย
 - 2.3.1 ชั่งตัวอย่าง 0.5xxx g ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร แล้วเขย่าด้วยเครื่องเขย่าเป็นเวลา 30 นาที
 - 2.3.2 ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปกรองผ่านกระดาษกรอง
 - 2.3.3 ปรับสารละลายตัวอย่างให้มีสภาวะเป็นกรด (acidification) โดยปิเปตสารละลาย ตัวอย่าง (ข้อ 2.3.2) 20 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตร เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น (โดยความเข้มข้นสุดท้ายของ HNO_3 เป็น 0.5 โมลาร์) หรือปรับสัดส่วนปริมาตรของสารละลายตัวอย่างและ HNO_3 ตามความเหมาะสม โดยความเข้มข้นสุดท้ายของ HNO_3 เป็น 0.5 โมลาร์

- 2.3.4 นำสารละลายที่ได้วัดด้วยเครื่อง ICP-OES
- 2.3.5 ทดสอบตัวอย่างปุย 24 ส่วน ต่อ 1 ระดับความเข้มข้นความเข้มข้น รวมทั้งหมด 120 ส่วน โดยใช้ผู้วิเคราะห์ 2 คน ตามกรรมวิธี Sampling (Eurachem, 2019)
- 2.4 บันทึกผลวิเคราะห์โบรอน
- 2.5 ประเมินค่าความไม่แน่นอนส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (u_{RSD}) sampling precision และ analytical precision โดยใช้สถิติ ANOVA ซึ่งแต่ละความเข้มข้นคำนวณเป็นค่าความไม่แน่นอนส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์รวม ($u_{RSD (pool)}$) (Barwick and Ellison, 2000)
3. รวมแหล่งความไม่แน่นอนทุกแหล่งเพื่อกำหนดช่วงเกณฑ์คลาดเคลื่อน และประมาณเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อน
- 3.1 ประเมินความคลาดเคลื่อนจากการ sub sampling และการทดสอบสารเคมี (Boric acid (H_3BO_3), AR grade) นำค่าความไม่แน่นอนจากทุกแหล่งมารวมกัน (u_c)
- 3.2 กำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนตาม specification zone (4_{uc})
- 3.3 ประมาณเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อน (%tolerance ; 2_{uc})

ระยะเวลา เริ่มต้น 1 ตุลาคม 2564 สิ้นสุด 30 กันยายน 2566

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ประเมินค่าความไม่แน่นอนจากการทดสอบสารเคมี (Boric acid (H_3BO_3), AR grade) คำนวณค่าความไม่แน่นอนจากแหล่ง weight, dilution sample, precision, bias, factor, calibration curve, instrument และ concentration calibration ดังตารางที่ 1
- ตารางที่ 1 ค่าความไม่แน่นอนจากการทดสอบสารเคมี (Boric acid (H_3BO_3), AR grade) ที่ 5 ระดับความเข้มข้น

| Component | Symbol | RSU ² | | | | |
|--------------------------------|--------------|------------------|-----------------|-----------------|------------------|-----------|
| | | 0.06% < B < 0.1% | 0.1% ≤ B < 1.0% | 1.0% ≤ B < 5.0% | 5.0% ≤ B < 10.0% | B ≥ 10% |
| precision | Pre | 0.0000533 | 0.0000159 | 0.0000617 | 0.0000177 | 0.0000012 |
| weight of sample | m_{sample} | 0.0000003 | 0.0000003 | 0.0000003 | 0.0000003 | 0.0000003 |
| dilution factor | D_{sample} | 0.0000591 | 0.0000591 | 0.0000162 | 0.0000162 | 0.0000037 |
| calibration curve | D_{std} | 0.0001420 | 0.0001420 | 0.0001420 | 0.0001420 | 0.0001420 |
| concentration of B | C_o | 0.0003057 | 0.0003057 | 0.0000124 | 0.0000124 | 0.0000034 |
| ICP-OES | ICP-OES | 0.0000051 | 0.0000051 | 0.0000051 | 0.0000051 | 0.0000051 |
| Bias | B | 0.0000533 | 0.0000000 | 0.0000617 | 0.0000190 | 0.0000012 |
| $\sum RSU^2$ | | 0.0006 | 0.0005 | 0.0002 | 0.0002 | 0.0002 |
| $\therefore \sqrt{\sum RSU^2}$ | | 0.0238 | 0.0230 | 0.0154 | 0.0139 | 0.0125 |
| U_c | | 0.001546 | 0.002367 | 0.047175 | 0.070695 | 0.221711 |
| U | | 0.0031 | 0.0047 | 0.0944 | 0.1414 | 0.4434 |

2. ประเมินค่าความไม่แน่นอนจากการ sub-sampling ของโบรอนที่ช่วงเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น $0.06\% < B < 0.1\%$, $0.1\% \leq B < 1.0\%$, $1.0\% \leq B < 5.0\%$, $5.0\% \leq B < 10.0\%$ และ $B \geq 10\%$ ได้ค่า sampling precision และ analytical precision เท่ากับ 2.59, 0.75, 2.07, 0.79, 0.45 และ 3.41, 3.61, 2.47, 2.90, 1.69 ตามลำดับ

ตารางที่ 2 ค่าความไม่แน่นอนของ sampling precision และ analytical precision ของโบรอนในปุ๋ยเคมี

| ระดับความเข้มข้น | % B | ค่าความไม่แน่นอน ของ sampling precision (%) | ค่าความไม่แน่นอน ของ analytical precision (%) |
|-------------------------|-----------------|--|--|
| $0.06\% < B < 0.1\%$ | 0.07 | 4.20 | 3.34 |
| | 0.09 | 0.00 | 3.73 |
| | 0.08 | 1.57 | 3.13 |
| | Combined | 2.59 | 3.41 |
| $0.1\% \leq B < 1.0\%$ | 0.46 | 1.04 | 2.50 |
| | 0.91 | 0.79 | 4.48 |
| | 0.56 | 0.00 | 3.57 |
| | Combined | 0.75 | 3.61 |
| $1.0\% \leq B < 5.0\%$ | 1.23 | 3.49 | 2.02 |
| | 2.05 | 0.00 | 3.57 |
| | 3.38 | 0.83 | 1.26 |
| | Combined | 2.07 | 2.47 |
| $5.0\% \leq B < 10.0\%$ | 5.77 | 0.00 | 2.50 |
| | 8.19 | 0.00 | 1.57 |
| | 9.71 | 1.36 | 2.10 |
| | Combined | 0.79 | 2.09 |
| $B > 10.0\%$ | 10.83 | 0.00 | 2.57 |
| | 15.28 | 0.79 | 0.66 |
| | 17.22 | 0.00 | 1.25 |
| | Combined | 0.45 | 1.69 |

3. รวมแหล่งความไม่แน่นอนทุกแหล่งเพื่อกำหนดช่วงเกณฑ์คลาดเคลื่อน (Eurachem, 2016) และประมาณเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อน จากแหล่ง sampling precision, analytical precision และจากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ ได้แก่ (Eurachem, 2014) weight, dilution sample, precision, bias, factor, calibration curve, instrument และ concentration calibration มารวมกัน แล้วหาค่า specification zone ($4 \times u_c$) ช่วงความเข้มข้น ($0.06\% < B < 0.1\%$), ($0.1\% \leq B < 1.0\%$) และ ($1.0\% \leq B < 5.0\%$) ($5.0\% \leq B < 10.0\%$) และ ($B \geq 10\%$) ของปริมาณโบรอนในปุ๋ยเคมี มีค่าความคลาดเคลื่อนเท่ากับ 17.12% 14.73% 22.55% 8.94% และ 7.01% ตามลำดับ ตามตารางที่ 3 – 7

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนของโบรอนในช่วงความเข้มข้น ($0.06\% < B < 0.1\%$)

| %B | ค่าความไม่แน่นอน | | | |
|---|------------------------|--------------------------|--------------|--------------|
| | sampling precision (%) | analytical precision (%) | Validate (%) | รวม (%) |
| 0.07 | 4.20 | 3.34 | | |
| 0.09 | 0.00 | 3.73 | | |
| 0.08 | 1.57 | 3.13 | | |
| Combined | 2.59 | 3.41 | 0.003 | 4.28 |
| Verification of conformity if the width of the specification zone is ($4 \times u_c$) | | | | 17.12 |

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนของโบรอนในช่วงความเข้มข้น ($0.1\% \leq B < 1.0\%$)

| %B | ค่าความไม่แน่นอน | | | |
|---|------------------------|--------------------------|--------------|--------------|
| | sampling precision (%) | analytical precision (%) | Validate (%) | รวม (%) |
| 0.46 | 1.04 | 2.50 | | |
| 0.91 | 0.79 | 4.48 | | |
| 0.56 | 0.00 | 3.57 | | |
| Combined | 0.75 | 3.61 | 0.01 | 3.68 |
| Verification of conformity if the width of the specification zone is ($4 \times u_c$) | | | | 14.73 |

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนของโบรอนในช่วงความเข้มข้น ($1.0\% \leq B < 5.0\%$)

| %B | ค่าความไม่แน่นอน | | | |
|---|------------------------|--------------------------|--------------|--------------|
| | sampling precision (%) | analytical precision (%) | Validate (%) | รวม (%) |
| 1.23 | 3.49 | 2.02 | | |
| 2.05 | 0.00 | 3.57 | | |
| 3.38 | 0.83 | 1.26 | | |
| Combined | 2.07 | 2.47 | 0.09 | 3.24 |
| Verification of conformity if the width of the specification zone is ($4 \times u_c$) | | | | 12.91 |

ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนของโบรอนในช่วงความเข้มข้น (5.0% ≤ B < 10.0%)

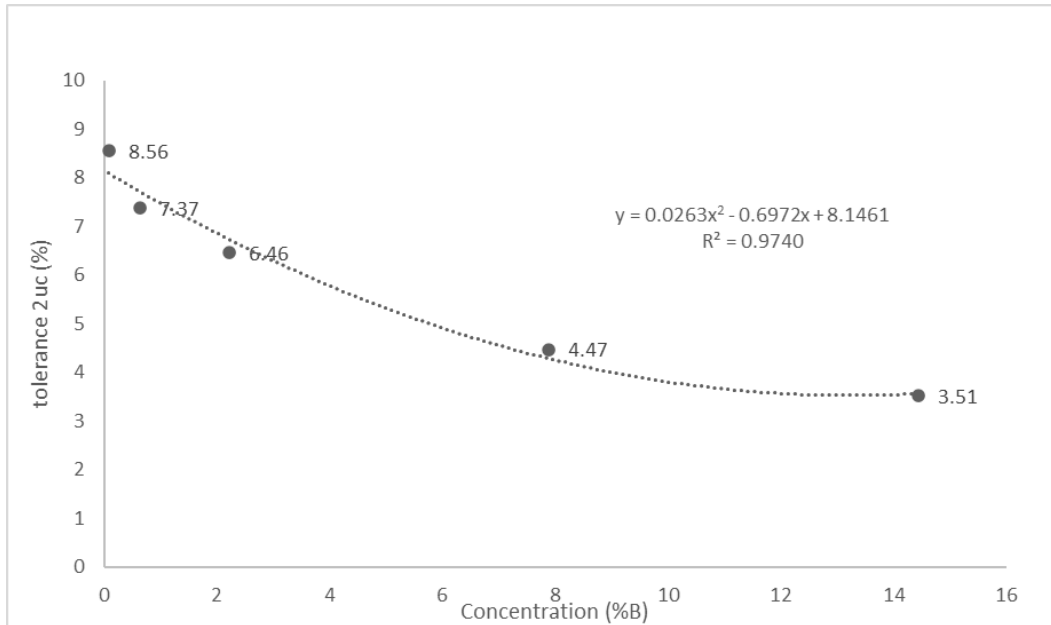
| %B | ค่าความไม่แน่นอน | | | |
|--|------------------------|--------------------------|--------------|-------------|
| | sampling precision (%) | analytical precision (%) | Validate (%) | รวม (%) |
| 5.77 | 0.00 | 2.50 | | |
| 8.19 | 0.00 | 1.57 | | |
| 9.71 | 1.36 | 2.10 | | |
| Combined | 0.79 | 2.09 | 0.01 | 2.24 |
| Verification of conformity if the width of the specification zone is (4 x u _c) | | | | 8.94 |

ตารางที่ 7 เปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนของโบรอนในช่วงความเข้มข้น (B > 10.0%)

| %B | ค่าความไม่แน่นอน | | | |
|--|------------------------|--------------------------|--------------|-------------|
| | sampling precision (%) | analytical precision (%) | Validate (%) | รวม (%) |
| 10.83 | 0.00 | 2.57 | | |
| 15.28 | 0.79 | 0.66 | | |
| 17.22 | 0.00 | 1.25 | | |
| Combined | 0.45 | 1.69 | 0.005 | 1.75 |
| Verification of conformity if the width of the specification zone is (4 x u _c) | | | | 7.01 |

ตารางที่ 8 การประเมินค่าความไม่แน่นอนของปริมาณโบรอนในปุ๋ยเคมี (%tolerance ; 2_{uc})

| ระดับความเข้มข้น | specification zone is (4 x u _c) | Estimate tolerance (%) (2 _{uc}) |
|------------------|---|---|
| | B | |
| 0.06% < B < 0.1% | 17.12 | 8.56 |
| 0.1% ≤ B < 1.0% | 14.73 | 7.37 |
| 1.0% ≤ B < 5.0% | 12.91 | 6.46 |
| 5.0% ≤ B < 10.0% | 8.94 | 4.47 |
| B > 10.0% | 7.01 | 3.51 |



ภาพที่ 1 ค่าความไม่แน่นอนของปริมาณโบรอนในปุ๋ยเคมี

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาเกณฑ์คลาดเคลื่อนจากค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์หาปริมาณโบรอนในปุ๋ยเคมี ด้วยเทคนิคอินดักทีฟลิคิฟเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี จากการนำค่าความไม่แน่นอนการสุ่มตัวอย่าง (sub-sampling) จากแหล่ง sampling precision และ analytical precision โดยใช้สถิติ ANOVA และการทดสอบสารเคมี จากแหล่ง weight, dilution sample, precision, bias, factor, calibration curve, instrument และ concentration calibration ที่ 5 ระดับช่วงความเข้มข้น 0.06% - 0.099% , 0.1% - 0.99% , 1.0% - 4.99% , 5.0% - 9.99% และ มากกว่า 10 ซึ่งสามารถประเมินความคลาดเคลื่อนตามช่วงความเข้มข้นที่ 0.06% - 0.1% ความคลาดเคลื่อน 8, 7, 6, 4 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับซึ่งกำหนดเป็นเกณฑ์คลาดเคลื่อนด้านล่างด้านเดียวของการประเมินโบรอน

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

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

คำขอบคุณ

รายงานวิจัยฉบับนี้ อยู่ภายใต้โครงการพัฒนาระบบการรับรองมาตรฐานการตรวจสอบคุณภาพปุ๋ยตามมาตรฐานสากล แผนงานวิจัยเรื่อง พัฒนาระบบการตรวจรับรองคุณภาพปัจจัยการผลิตเพื่อสร้างมาตรฐานและยกระดับคุณภาพห้องปฏิบัติการในประเทศไทย ได้รับทุนสนับสนุนจากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์วิจัยและนวัตกรรม สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) สามารถดำเนินงานได้สำเร็จตามวัตถุประสงค์ ด้วยความช่วยเหลือจาก บุคคลากรและเจ้าหน้าที่ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ที่ช่วยในการดำเนินการทั้งในด้านเอกสาร การเตรียมตัวอย่าง และดำเนินการวิจัย คณะผู้วิจัยจึงขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

เอกสารอ้างอิง

- กรมวิชาการเกษตร. 2565. คู่มือวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี : ธาตุอาหารรอง ธาตุอาหารเสริม ในรูปที่ละลายน้ำได้ และ สารหนู. กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี. กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร.
- คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2548. ปฐพีวิทยาเบื้องต้น. พิมพ์ครั้งที่ 10 สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 547 หน้า
- B. Magnusson and U. Örnemark (eds.) Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, (2nd ed. 2014). ISBN 978-91-87461-59-0. Available at: www.eurachem.org.
- M H Ramsey, S L R Ellison and P Rostron (eds.) Eurachem/EUROLAB/ CITAC/Nordtest/AMC Guide: Measurement uncertainty arising from sampling: a guide to methods and approaches. Second Edition, Eurachem (2019). ISBN (978-0-948926-35-8). Available at: <http://www.eurachem.org>

ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่ไม่ละลาย
ในสารละลายแอมโมเนียมซิเตรทในปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์เคมีและปุ๋ยหินฟอสเฟต
Method Validation of Citrate Insoluble Phosphate in Phosphatic
Fertilizers Chemical Organic Fertilizers and Rock Phosphates

เจนจิรา เทเวศร์วรกุล ศุภากร ดวนใหญ่ นันทกานต์ ขุนโทร
Janejira Teweswarakul Supakorn Duanyai Nanthakhan Khunhon

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Reporting of phosphatic fertilizers must be available form that is differentiate of total phosphorus and citrate insoluble phosphate (%CIP₂O₅) by AOAC 963.03. Study on method validation as Limit of Detection (LOD) Limit of Quantity (LOQ) Range Linearity Precision Uncertainty in calciumphosphate ammoniumphosphate chemical fertilizers organic chemical fertilizers and Rock Phosphates at low medium high concentration study on ruggedness. This study found that LOD and LOQ were 0.02 and 0.06. Range were 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6 and 7 mg.L⁻¹ and Correlation Coefficient of Linearity (r) was 0.9999 passed criteria. Proving of precision by HorRat at low were 1.23, 1.27, 0.68, 1.18 medium were 0.75, 1.26, 1.19, 1.19 and high were 0.41, 0.38, 0.85, 0.58. Uncertainty at low medium and high were 0.03 1.10 and 3.30 respectively. No significant of presonnal comparison and ruggedness by effects of changed environments. In conclusion AOAC 963.03 was suitable for analysis of citrate insoluble of chemical phosphatic fertilizer organic chemical fertilizer and Rock phosphate

Keyword: Method validation, Citrate Insoluble Phosphate

บทคัดย่อ

การรายงานผลวิเคราะห์ปุ๋ยฟอสฟอรัสนั้นต้องรายงานในรูปของความเป็นประโยชน์ หาได้จากผลต่างของปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด (%TP₂O₅) และปริมาณฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมซิเตรท (%CIP₂O₅) โดยวิธีมาตรฐาน AOAC 963.03 ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีโดยการหาค่าต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (LOD) ค่าต่ำสุดที่สามารถรายงานได้ (LOQ) ความเข้มข้นในช่วงใช้งาน (Range) ช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity) ความเที่ยง (Precision) ค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty) ในปุ๋ยเคมีแคลเซียมฟอสเฟต ปุ๋ยเคมีแอมโมเนียมฟอสเฟต ปุ๋ยอินทรีย์เคมีและปุ๋ยหินฟอสเฟต ที่ความเข้มข้นระดับต่ำ กลางและสูง พร้อมทั้งทดสอบความคงทนของวิธี (Ruggedness) ผลการศึกษาได้ค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.02 และ 0.06 ตามลำดับ ความเข้มข้นในช่วงใช้งาน (Range) คือ 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 mg.L⁻¹ ช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity) ให้สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.9999 ผ่านเกณฑ์ยอมรับ พิสูจน์ความเที่ยงจากการหาค่า HorRat ที่ระดับต่ำ 1.23, 1.27, 0.68 และ 1.18 กลางเท่ากับ 0.75, 1.26, 1.19 และ 1.19 สูง 0.41, 0.38, 0.85 และ 0.58 ค่าความไม่แน่นอนที่ระดับต่ำ กลางและสูง เท่ากับ 0.03 1.10 และ 3.30 ตามลำดับ ไม่พบความแตกต่างของการทดสอบระหว่างบุคลากร ไม่มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสถานะและสิ่งแวดล้อม จึงสรุปได้ว่าวิธี AOAC 963.03 มีความเหมาะสม

สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมซิเตรทในตัวอย่างปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์เคมี และปุ๋ยหินฟอสเฟต

คำสำคัญ: ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี, ฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมซิเตรท

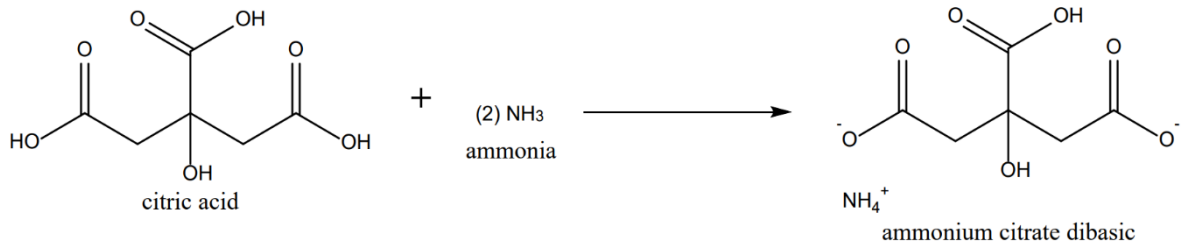
คำนำ

ปุ๋ยฟอสฟอรัส (Phosphorus fertilizers) คือ ปุ๋ยที่ให้ธาตุฟอสฟอรัสในรูปของแอนไอออนกรดฟอสฟอริก หรือเกลือฟอสเฟตต่างๆ (ยงยุทธและคณะ, 2556) แบ่งตามการละลายได้เป็นส่วนที่ละลายน้ำ (Water Soluble Phosphate : WSP) ส่วนที่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมซิเตรท (Citrate Soluble Phosphate : CSP) และส่วนที่ไม่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมซิเตรท (Citrate Insoluble Phosphate : CIP)

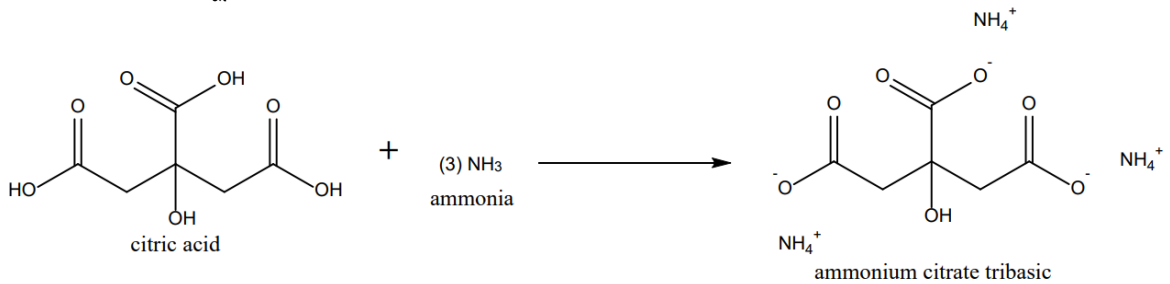
การเตรียมปุ๋ยฟอสเฟต โดยละลายหินฟอสเฟตด้วยกรดซัลฟิวริก (acidulation) ทำให้เกิดเป็นปุ๋ยซูเปอร์ฟอสเฟตที่ประกอบด้วยแคลเซียมโมโนฟอสเฟต ยิปซัม และไฮโดรเจนฟลูออไรด์ หากนำมาทำปฏิกิริยากับกรดฟอสฟอริกเกรดต่ำ จะได้เป็นดับเบิลซูเปอร์ฟอสเฟต (0-40-0) ถ้าทำปฏิกิริยากับกรดฟอสฟอริกเกรดสูงจะได้เป็นทริปเปิ้ลซูเปอร์ฟอสเฟต (0-46-0) และเมื่อซูเปอร์ฟอสเฟตผ่านกระบวนการคัดแยกออกไปจะได้กรดฟอสฟอริก และเพื่อให้สะดวกต่อการใช้งาน จึงได้มีการปรับสูตรให้ใช้งานได้ง่ายขึ้น โดยการเติมแอมโมเนียลงไป ในกรดฟอสฟอริกที่ได้ ทำให้แอมโมเนียที่เติมเข้าไปนั้นสามารถเข้าไปแทนที่แคลเซียมโมโนฟอสเฟตได้ จึงทำให้ปุ๋ยที่ผ่านกระบวนการดังกล่าวเรียกว่าแอมโมเนียมฟอสเฟต ที่นิยมใช้กันมากคือ Monoammonium phosphate (12-60-0), Diammonium phosphate (18-46-0) และเมื่อนำกรดฟอสฟอริกมาระเหยเอาน้ำออกจะได้เป็นซูเปอร์ฟอสฟอริกแอซิด ซึ่งเมื่อเติมต่างเข้าไปจะได้เป็นปุ๋ยแอมโมเนียมโพลีฟอสเฟต เช่น 10-34-0, 11-37-0 รวมถึงปุ๋ยที่เป็นสูตร 16-20-0, 10-45-0 และ 11-44-0 ซึ่งผลจากการเติมแอมโมเนียลงไปกรดฟอสฟอริกและซูเปอร์ฟอสฟอริกแอซิดนี้ ทำให้เกิดสารประกอบ $(Al,Fe)NH_4HF_2PO_4$ (Akiyama and Ando, 1972) ซึ่งเป็นรูปที่ไม่ละลายในน้ำและละลายในสารละลายแอมโมเนียมซิเตรทได้เพียงบางส่วน อัตราการเกิดมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับความบริสุทธิ์ของหินฟอสเฟตที่นำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตนั้นๆ pH และระยะเวลาการเติมแอมโมเนีย ส่งผลต่อความเป็นประโยชน์ของปุ๋ยฟอสฟอรัสที่ผลิตได้ โดยสารประกอบดังกล่าวสามารถเปลี่ยนรูปเป็นแอมโมเนียมฟอสเฟตได้อย่างมีเสถียรภาพที่อุณหภูมิ $155\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Akiyama and Ando, 1972) จึงมีผลทำให้ปุ๋ยดังกล่าวพบรูปของฟอสเฟตที่ไม่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมซิเตรทสูง นอกจากนี้การนำหินฟอสเฟตมาละลายในกรดไนตริกทำให้เกิดปุ๋ยไนโตรฟอสเฟตรูปต่างๆ ซึ่งมักจะมีสูตรเป็น x-x-0 โดยมีสัดส่วนของไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในปริมาณที่เท่ากัน เช่น 20-20-0 เป็นต้น ปุ๋ยที่เกิดจากกรรมวิธีที่กล่าวมาข้างต้นนั้นสามารถนำมาผสมทำเป็นปุ๋ย NPK สูตรต่างๆได้ต่อไป ซึ่งจากการเตรียมปุ๋ยฟอสเฟต พบว่าปริมาณฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมซิเตรท (%CIP₂O₅) ที่พบในปุ๋ยเคมีนั้นเกิดจากสารประกอบ $(Al,Fe)NH_4HF_2PO_4$ ที่เกิดจากกระบวนการ wet process ของปุ๋ยแอมโมเนียมโพลีฟอสเฟตที่สามารถละลายได้ในสารละลายแอมโมเนียมซิเตรทได้เพียงบางส่วน สำหรับปุ๋ยหินฟอสเฟตนั้นพบว่ารูปของ %CIP₂O₅ อยู่ในรูปของ Tri-Calciumphosphate ซึ่งขึ้นกับปริมาณแร่อะพาไทต์ที่อยู่ในหินฟอสเฟตนั้น และสำหรับในปุ๋ยซูเปอร์ฟอสเฟตนั้นรูปของ %CIP₂O₅ อยู่ในรูปของ Tri-Calciumphosphate เช่นเดียวกันนอกจากนี้ยังได้รับผลกระทบจากฟิสิกส์ที่เติมลงไปปุ๋ยอีกด้วย สำหรับปุ๋ยอินทรีย์เคมีทั่วไปมักพบ %CIP₂O₅ ในปริมาณที่ต่ำ ขณะที่ปุ๋ยอินทรีย์พวกปุ๋ยกระดูกนั้นพบว่าให้ %CIP₂O₅ ในระดับสูง เนื่องจากตัวอย่างประกอบด้วย เศษซากสัตว์ (By Product by slaughter house) เช่น กระดูกสัตว์ ซึ่งมีรูปของไตรแคลเซียมฟอสเฟตที่ละลายน้ำได้อยู่ มีผลทำให้ปุ๋ยอินทรีย์พวกกระดูกมี %CIP₂O₅ ในระดับสูงเช่นกัน

การรายงานธาตุอาหารฟอสฟอรัสในปุ๋ยทุกชนิดต้องรายงานในรูปของความเป็นประโยชน์ซึ่งหาได้จากผลต่างของปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด (Total Phosphorus : TP) และปริมาณฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมซิเตรท (Citrate Insoluble Phosphate : CIP)

สารละลายแอมโมเนียมซิเตรท pH 7.0 เตรียมได้จากการละลายกรดซิตริกและแอมโมเนีย มีด้วยกัน 2 รูปคือ แอมโมเนียมไดเบสิก และแอมโมเนียมไตรเบสิก ดังภาพที่ 1 และ 2

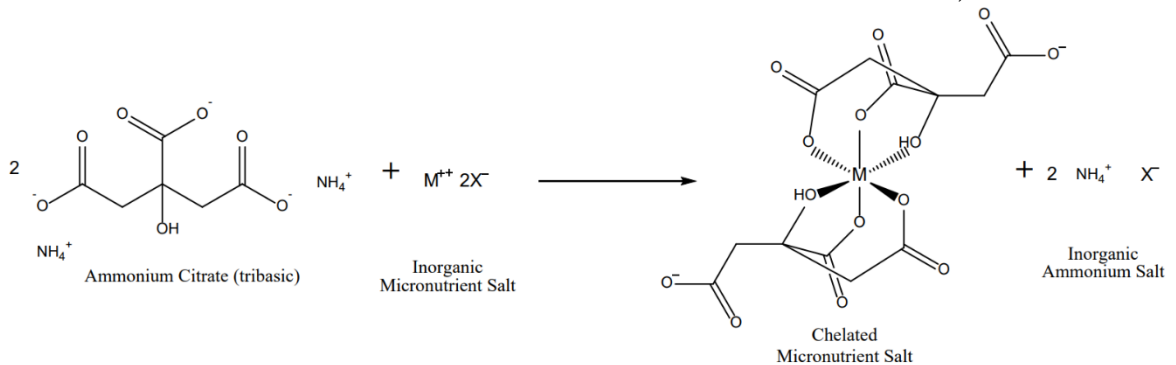


ภาพที่ 1 แสดงปฏิกิริยาการเกิดสารละลายแอมโมเนียมซิเตรทไดเบสิก



ภาพที่ 2 แสดงปฏิกิริยาการเกิดสารละลายแอมโมเนียมซิเตรทไตรเบสิก

ซึ่งจากสูตรโมเลกุลของสารจะเห็นได้ว่าเป็นสามารถเกิดสารเชิงซ้อนกับแคทไอออนที่เป็นประจุ 2+ เช่น Ca²⁺ Mg²⁺ Fe²⁺ ได้ จึงมีผลทำให้ฟอสเฟตที่รวมกับไอออนดังกล่าวสามารถละลายได้มากขึ้น (USDA, 2018) ดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 แสดงการเกิดสารเชิงซ้อนระหว่างไอออนที่มีประจุบวกและแอมโมเนียมซิเตรทไตรเบสิก

วิธี AOAC official method 963.03 คือไล่เอารูปที่ละลายน้ำ (Water Soluble P : WSP) ที่อยู่ในรูปกรดฟอสฟอริกอิสระ โมโนแคลเซียมฟอสเฟตและอัลคาไลน์ฟอสเฟต (Womer, et al., 2002) และสารละลายแอมโมเนียมซิเตรทออก (Citrate Soluble P : CSP) มักพบในรูปของสารประกอบไดแคลเซียมฟอสเฟต เหล็กและอะลูมิเนียมไฮดรอกไซด์ รวมถึงแคลเซียมไตรฟอสเฟตบางส่วนที่สามารถละลายได้ (Womer, et al., 2002) ด้วยสารละลายแอมโมเนียมซิเตรท pH 7.0 เหลือเพียงรูปที่ไม่ละลาย (Citrate Insoluble Phosphate: CIP) ได้แก่ สารประกอบไตรแคลเซียมฟอสเฟต แอนไฮดรรัสของเหล็กและอะลูมิเนียมและส่วนของอะพาไทต์ที่ไม่สามารถละลายได้ในปุ๋ยหินฟอสเฟต (Womer, et al., 2002) จากนั้นนำตะกอนที่ได้ไปย่อยเพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณ

ฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมซีเตรท (Latimer, 2019) ปัจจัยที่มีผลต่อการวิเคราะห์ขึ้นกับน้ำหนักตัวอย่างที่นำไปทดสอบชนิดของเกลือในสารละลายตัวอย่างปุ๋ยนั้น pH ของสารละลายแอมโมเนียมซีเตรท อุณหภูมิ ความละเอียดของอนุภาคตัวอย่าง ความถ่วงจำเพาะของสารละลาย แอมโมเนียมซีเตรทรวมทั้งระยะเวลาที่ตัวอย่างอยู่ในสารละลายแอมโมเนียมซีเตรท (Jacob, et al., 1932) ความละเอียดของตัวอย่างทั่วไป และระยะเวลาการสกัด (Jonhson and Farley, 1982) ศุภกรและคณะ (2561) ได้ทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมซีเตรท (%CIP₂O₅) ตาม AOAC Official Method 963.03 เปรียบเทียบกับวิธีประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ พบว่าได้ LOD ของทั้งสองวิธี เท่ากับ 0.02 และ 0.012 %CIP₂O₅ LOQ ของทั้งสองวิธี เท่ากับ 0.09 และ 0.04 พร้อมทั้งได้ความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ทั้งสองที่ระดับต่ำ กลางและสูงผ่านเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐานสากล

ทั้งนี้การวิเคราะห์ด้วยวิธีประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ พบว่าในตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมีที่มีส่วนประกอบของกระดูกและปุ๋ยหินฟอสเฟตนั้นใช้ระยะเวลาในการเตรียมตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์นานมากกว่า 4 ชั่วโมง และจากข้อมูลการเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์พบว่าวิธีของ AOAC official method 963.03 สามารถลดระยะเวลาการเตรียมตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์ (เจนจิรา, 2564) มีขั้นตอนการวิเคราะห์ใกล้เคียงกับวิธีที่ใช้งานจริงในปัจจุบัน จึงได้นำเอาวิธีดังกล่าวมาทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี พร้อมทั้งศึกษาผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะและสิ่งแวดล้อมของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในแอมโมเนียมซีเตรท ในปุ๋ยเคมีอินทรีย์เคมีและหินฟอสเฟต เพื่อให้ผลวิเคราะห์มีความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ และยกระดับห้องปฏิบัติการให้เป็นมาตรฐานสากลเดียวกัน

อุปกรณ์และวิธีการ

1. เตรียมสารเคมี อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์

- สารเคมี - Ammonium hydroxide 28 - 29% NH₃(NH₄OH), AR grade
- Ammonium metavanadate (NH₄VO₃), AR grade
- Ammonium molybdate[(NH₄)₆Mo₇O₂₄.4H₂O], AR grade
- Citric acid (C₆H₈O₇ .H₂O), AR grade
- Nitric acid 69 - 70% (HNO₃), AR grade
- Perchloric acid 69 - 72% (HClO₄), AR grade
- Potassium dihydrogen phosphate (KH₂PO₄), AR grade

วัสดุอุปกรณ์- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

- เครื่อง Hot plate
- เครื่อง uv-visible spectrophotometer
- Suction pump
- Shaker water bath
- Hot plate
- เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆที่ใช้ในการวิเคราะห์

2. เตรียมตัวอย่างปุ๋ย

2.1 เตรียมตัวอย่างปุ๋ยเคมี โดยแบ่งตามองค์ประกอบของปุ๋ย ดังนี้

- (a) Sample Blank : ปุ๋ยเคมีสูตร (13-0-46)
- (b) ปุ๋ยเคมีที่มีแคลเซียมฟอสเฟตเป็นองค์ประกอบ

- ที่ %CIP₂O₅ ระดับต่ำ (0.1%) : ปุ๋ยสูตรเสมอ (15-15-15)
- ที่ %CIP₂O₅ ระดับกลาง (6.8%): สารมาตรฐานไตรแคลเซียมฟอสเฟตที่มี %CIP₂O₅ = 6.8%
- ที่ %CIP₂O₅ ระดับสูง (23.0%): สารมาตรฐานไตรแคลเซียมฟอสเฟตที่มี %CIP₂O₅ = 23%

(c) ปุ๋ยเคมีที่มีแอมโมเนียมฟอสเฟตเป็นองค์ประกอบ

- ที่ %CIP₂O₅ ระดับต่ำ (0.1%) : ปุ๋ยไดแอมโมเนียมฟอสเฟต (18-46-0)
- ที่ %CIP₂O₅ ระดับกลาง (3.0%) : ปุ๋ยโพลีแอมโมเนียมฟอสเฟต (16-20-0)
- ที่ %CIP₂O₅ ระดับสูง (6.0%) : ปุ๋ยโพลีแอมโมเนียมฟอสเฟต (10-45-0)

2.2 เตรียมตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมี โดยแบ่งตามระดับ %CIP₂O₅ ดังนี้

- (a) ปุ๋ยอินทรีย์เคมี ที่ %CIP₂O₅ ระดับต่ำ (0.1%) : ปุ๋ยอินทรีย์เคมีสูตร 6-3-3
- (b) ปุ๋ยอินทรีย์เคมี ที่ %CIP₂O₅ ระดับกลาง (4%) : ปุ๋ยอินทรีย์เคมีสูตร 3-14-0 (ปุ๋ยกระดูก)
- (c) ปุ๋ยอินทรีย์เคมี ที่ %CIP₂O₅ ระดับสูง (6%) : ปุ๋ยอินทรีย์เคมีสูตร 8-4-0 (ปุ๋ยกระดูก)

2.3 เตรียมตัวอย่างปุ๋ยหินฟอสเฟต โดยแบ่งตามระดับ %CIP₂O₅ ดังนี้

- (a) ปุ๋ยหินฟอสเฟต ที่ %CIP₂O₅ ระดับต่ำ (<20%) : ปุ๋ยหินฟอสเฟตที่มี %CIP₂O₅ = 17%
- (b) ปุ๋ยหินฟอสเฟต ที่ %CIP₂O₅ ระดับกลาง (20%) : ปุ๋ยหินฟอสเฟตที่มี %CIP₂O₅ = 20%
- (c) ปุ๋ยหินฟอสเฟต ที่ %CIP₂O₅ ระดับสูง (>20%) : ปุ๋ยหินฟอสเฟตที่มี %CIP₂O₅ = 24%

3. เตรียมตัวอย่างปุ๋ยสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมซีเตรท โดยนำตัวอย่างในข้อ 2 มาทำการเตรียมตัวอย่าง ด้วยวิธีมาตรฐาน AOAC 963.03 ดังนี้

3.1 Remove H₂O-soluble P₂O₅ (AOAC 977.01) โดยชั่งตัวอย่างปุ๋ยประมาณ 1 กรัม กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 ล้างตะกอนตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นจนกระทั่งได้ปริมาตร filtrant 250 มิลลิลิตร ซึ่งควรใช้เวลาไม่เกิน 1 ชม. ซึ่งหากเกินนั้นต้องกรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ หากตะกอนชุ่มให้เติม HNO₃ 1-2 มิลลิลิตรแล้วปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร

3.2 Remove Citrate soluble P₂O₅ (AOAC 963.03) นำกระดาษกรองที่ได้จาก 3.1 เติมน้ำละลายแอมโมเนียมซีเตรทที่เป็นกลาง เขย่าที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมงจากนั้นกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 5 ด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ พร้อมทั้งล้างด้วยน้ำอุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียสหรือสูงกว่า จนกระทั่งได้ปริมาตร 350 มิลลิลิตร จากนั้นนำตะกอนที่ได้ไปทำการย่อยตามวิธีมาตรฐาน AOAC 957.02B ต่อไป

3.3 ทำการวิเคราะห์ทางเคมีหา %CIP₂O₅ โดยวิธี Spectrophotometric Molybdovanadophosphate Method (960.03D) บันทึกข้อมูล

4. ศึกษา LOD LOQ Range Linearity ในปุ๋ยเคมี อินทรีย์เคมีและหินฟอสเฟตที่มี %CIP₂O₅ ต่ำ

4.1 ศึกษาขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) ขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ) ในปุ๋ยเคมี 13-0-46 (Sample Blank) ศึกษาช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (Range) / ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) ของช่วงการใช้งานศึกษาผลกระทบของเมทริกซ์ (matrix effects)

4.2 ศึกษา Precision ในตัวอย่างปุ๋ยเคมีสูตรเสมอ (15-15-15) ที่มี %CIP₂O₅ ต่ำ (0.1%)

4.3 ศึกษา Precision ในตัวอย่างปุ๋ยแอมโมเนียมฟอสเฟต (18-46-0) ที่ความเข้มข้นระดับต่ำ (0.1%CIP₂O₅)

4.4 ศึกษา Precision ของปุ๋ยอินทรีย์เคมี (6-3-3) ที่ความเข้มข้นระดับต่ำ (0.1%CIP₂O₅)

4.5 ศึกษา Precision ของปุ๋ยหินฟอสเฟต (0-3-0) ที่ความเข้มข้นระดับต่ำ (<20%CIP₂O₅)

5. หาค่า Trueness และ Precision ในสารมาตรฐานไตรแคลเซียมฟอสเฟต พร้อมทั้งศึกษา Precision ในปุ๋ยเคมี อินทรีย์เคมีและหินฟอสเฟต ที่ระดับความเข้มข้นกลาง

5.1 ศึกษา Trueness ของตัวอย่างที่มีการเติมสารมาตรฐานไตรแคลเซียมฟอสเฟต (Spiked Tricalciumphosphate samples) ที่ความเข้มข้นระดับกลาง (6.8% CIP_2O_5)

5.2 ศึกษา Precision ของตัวอย่างที่มีการเติมสารมาตรฐานไตรแคลเซียมฟอสเฟต (Spiked Tricalciumphosphate samples) ที่ความเข้มข้นระดับกลาง (6.8% CIP_2O_5)

5.3 ศึกษา Precision ของปุ๋ยเคมีโพลีแอมโมเนียมฟอสเฟต (16-20-0) ที่ความเข้มข้นระดับกลาง (3% CIP_2O_5)

5.4 ศึกษา Precision ของปุ๋ยอินทรีย์เคมี (3-14-0) ที่ความเข้มข้นระดับกลาง (4% CIP_2O_5)

5.5 ศึกษา Precision ของปุ๋ยหินฟอสเฟต (0-3-0) ที่ความเข้มข้นระดับกลาง (20% CIP_2O_5)

6. หาค่า Trueness และ Precision ในสารมาตรฐานไตรแคลเซียมฟอสเฟต พร้อมทั้งศึกษา Precision ในปุ๋ยเคมีอินทรีย์เคมีและหินฟอสเฟต ที่ระดับความเข้มข้นสูง

6.1 ศึกษา Trueness ของสารมาตรฐานไตรแคลเซียมฟอสเฟตที่ความเข้มข้นระดับสูง (23% CIP_2O_5)

6.2 ศึกษา Precision ของสารมาตรฐานไตรแคลเซียมฟอสเฟตที่ความเข้มข้นระดับสูง (23% CIP_2O_5)

6.3 ศึกษา Precision ของปุ๋ยเคมีแอมโมเนียมฟอสเฟต (10-45-0) ที่ความเข้มข้นระดับสูง (5% CIP_2O_5)

6.4 ศึกษา Precision ของปุ๋ยอินทรีย์เคมี (8-4-0) ที่ความเข้มข้นระดับสูง (6% CIP_2O_5)

6.5 ศึกษา Precision ของปุ๋ยหินฟอสเฟต (0-3-0) ที่ความเข้มข้นระดับกลาง (>20% CIP_2O_5)

7. เปรียบเทียบค่าวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมซีเตรทในปุ๋ยหินฟอสเฟต โดยบุคลากรอื่น โดยการศึกษาครั้งนี้เลือกศึกษาปุ๋ยหินฟอสเฟตเนื่องจากเป็นปุ๋ยที่ให้ %CIP สูงสุด ซึ่งจะมี sensitivity มากกว่าระดับอื่น วิเคราะห์โดยนางสาวนิศาชม บุญแสง จากนั้นนำมาพิจารณา $t_{cal} > t_{cri}$ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พร้อมทั้งทำการหา precision และประเมินโดยใช้เกณฑ์ $HorRat < 1.3$

8. ประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด (%Relative Measurement uncertainty)

9. วิเคราะห์ข้อมูลและจัดทำรายงาน โดยทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ อภิปรายและสรุปผล พร้อมทั้งจัดทำรายงานการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมซีเตรท ในปุ๋ยเคมี อินทรีย์เคมีและปุ๋ยหินฟอสเฟต

10. ศึกษาผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสถานะและสิ่งแวดล้อมของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในแอมโมเนียมซีเตรท ในปุ๋ยเคมีอินทรีย์เคมีและหินฟอสเฟตที่มีระดับ % CIP_2O_5 สูง โดยมี 7 ตัวแปร จำนวน 8 การทดลอง

ระยะเวลา เริ่มต้น 1 ตุลาคม 2564 สิ้นสุด 30 กันยายน 2566

สถานที่ทำการทดลอง

กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการศึกษาได้ค่า LOD LOQ Range/Linearity ความเที่ยง (precision) ที่ระดับต่ำ กลาง และสูง ดังตารางที่ 1 2 และ 3

ตารางที่ 1 แสดง %CIP₂O₅ LOD LOQ Range Linearity HorRat at Low

| ชนิดปุ๋ย | %CIP ₂ O ₅ | LOD | LOQ | Range | Linear | %Recovery | HorRat | U |
|------------------------------------|----------------------------------|------|------|--------|--------|-----------|--------|------|
| ที่ความเข้มข้นระดับต่ำ | | | | | | | | |
| ปุ๋ยเคมี (15-15-15) | 0.1 | 0.02 | 0.06 | 0.9999 | 0.9999 | - | 1.23 | 0.03 |
| ปุ๋ยเคมีแอมโมเนียมฟอสเฟต (18-46-0) | 0.1 | 0.02 | 0.06 | | | - | 1.27 | |
| ปุ๋ยอินทรีย์เคมี (6-3-3) | 0.1 | 0.02 | 0.06 | | | - | 0.68 | |
| ปุ๋ยหินฟอสเฟต (0-3-0) | <20 | 1.63 | 5.43 | | | - | 1.18 | |

ตารางที่ 2 แสดง %CIP₂O₅ %Recovery and HorRat at medium and high

| ชนิดปุ๋ย | %CIP ₂ O ₅ | %Recovery | HorRat | U |
|------------------------------------|----------------------------------|-----------|--------|------|
| ที่ความเข้มข้นระดับกลาง | | | | |
| Spike Tricalcium Phosphates | 6.8 | 100.00 | 0.75 | 1.10 |
| ปุ๋ยเคมีแอมโมเนียมฟอสเฟต (16-20-0) | 3.0 | - | 1.26 | |
| ปุ๋ยอินทรีย์เคมี (3-14-0) | 4.0 | - | 1.19 | |
| ปุ๋ยหินฟอสเฟต (0-3-0) | 20 | - | 1.19 | |
| Spike Tricalcium Phosphates | 6.8 | 100.00 | 0.75 | |

ตารางที่ 3 แสดง %CIP₂O₅ %Recovery and HorRat at medium and high

| ชนิดปุ๋ย | %CIP ₂ O ₅ | %Recovery | HorRat | U |
|------------------------------------|----------------------------------|-----------|--------|------|
| ที่ความเข้มข้นระดับสูง | | | | |
| Tricalcium Phosphates | 23 | 100.57 | 0.41 | 3.30 |
| ปุ๋ยเคมีแอมโมเนียมฟอสเฟต (10-45-0) | 5 | - | 0.38 | |
| ปุ๋ยอินทรีย์เคมี (8-4-0) | 6.0 | - | 0.85 | |
| ปุ๋ยหินฟอสเฟต (0-3-0) | 24 | - | 0.58 | |
| ปุ๋ยหินฟอสเฟต (0-3-0) | 24 | - | 0.60 | |
| โดยนางสาวนิศาชม บุญแสง | | | | |

จากการเปรียบเทียบ $t_{cal} > t_{cri}$ ของค่าวิเคราะห์ %CIP₂O₅ พบว่าไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) ศึกษาค่าความไม่แน่นอนที่ระดับต่ำ กลาง และสูง 0.03, 1.10 และ 3.30% ทั้งทดสอบความคงทนของวิธี (Ruggedness) โดยศึกษาผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสถานะและสิ่งแวดล้อมของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในแอมโมเนียมซัลเฟต ในปุ๋ยเคมีอินทรีย์เคมีและหินฟอสเฟตที่มีระดับ %CIP₂O₅ สูง โดยมี 7 ตัวแปร จำนวน 8 การทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 4 และ 5 ได้ผลการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 4 Ruggedness test 7 factors

| Factor | Normal (A-G) | Change(a-g) |
|-----------------------------|--------------|-------------|
| A : pH>7.0 | 7 | 7.1 |
| B : volume of wsp (ml.) | 250 | 245 |
| C : shaker time (min.) | 60 | 55 |
| D : rpm | 150 | 140 |
| E : wait for suction (min.) | 0 | 5 |
| F : volume of csp (ml.) | 350 | 340 |
| G : temp. distilled water°C | 65 | 60 |

ตารางที่ 5 Ruggedness test 7 factors and 8 analysts

| analyst | Symbol | Design |
|---------|---------------|---|
| 1 | A B C D E F G | pH7.0, wsp 250, 60 min, 150 rpm, 0 min, csp 350 ml., 65°C |
| 2 | A B c D e f g | pH7.0, wsp 250, 55 min, 150 rpm, 5 min, csp 340 ml., 60°C |
| 3 | A b C d E f g | pH7.0, wsp 240, 60 min, 140 rpm, 0 min, csp 340 ml., 60°C |
| 4 | A b c d e F G | pH7.0, wsp 240, 55 min, 140 rpm, 5 min, csp 350 ml., 65°C |
| 5 | a B C d e F g | pH7.1, wsp 250, 60 min, 140 rpm, 5 min, csp 350 ml., 60°C |
| 6 | a B c d E f G | pH7.1, wsp 250, 55 min, 140 rpm, 0 min, csp 340 ml., 65°C |
| 7 | a b C D e f G | pH7.1, wsp 240, 60 min, 150 rpm, 5 min, csp 340 ml., 65°C |
| 8 | a b c D E F g | pH7.1, wsp 240, 55 min, 150 rpm, 0 min, csp 350 ml., 60°C |

ตารางที่ 6 %CIP₂O₅ of Tricalciumphosphate Ammoniumphosphate(10-45-0) Bone meal(3-14-0) and Rock phosphate(0-3-0)

| Tricalcium phosphate | Ammoniumphosphate 10-45-0 | Bone meal 3-14-0 | Rock Phosphate 0-3-0 |
|----------------------|---------------------------|------------------|----------------------|
| 22.91 | 4.72 | 4.30 | 24.40 |
| 22.57 | 4.77 | 4.43 | 24.24 |
| 22.11 | 4.65 | 4.40 | 24.69 |
| 22.33 | 4.49 | 4.52 | 24.72 |
| 22.71 | 4.65 | 4.51 | 25.10 |
| 22.34 | 4.84 | 4.07 | 24.32 |
| 23.26 | 4.83 | 4.32 | 23.83 |
| 22.41 | 5.03 | 4.44 | 24.66 |

จากการศึกษาพบว่าทั้งในตัวอย่าง Tricalciumphosphate (23%CIP₂O₅) ปุ๋ยแอมโมเนียมฟอสเฟต (10-45-0, 5%CIP₂O₅) ปุ๋ยอินทรีย์เคมี/กระดูก(3-14-0, 4%CIP₂O₅) และปุ๋ยหินฟอสเฟต (0-3-0, 24%CIP₂O₅) นั้นให้ผลวิเคราะห์ที่ไม่แตกต่างกัน (P>0.05) แม้กระทั่งมีการเปลี่ยนแปลงภาวะแวดล้อมไม่ว่าจะเป็น pH ของสารละลายแอมโมเนียมซัลเฟต ปริมาตรที่เหลือจากการล้างเอาส่วนของฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำออก ระยะเวลาการเขย่า ความเร็วรอบของการเขย่า ระยะเวลาการกรองเอาส่วนที่ไม่ละลาย ปริมาตรที่ใช้ล้างปริมาณฟอสฟอรัสที่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมซัลเฟต อุณหภูมิ น้ำที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่าง

ตารางที่ 7 The effect of change in level for 7 factors for factors for analytical of %CIP₂O₅ of Tricalciumphosphate Ammoniumphosphate(10-45-0) Bone meal(3-14-0) and Rock phosphate(0-3-0)

| | Value of change | | | |
|---|----------------------|------------------------------|--------------------|------------------------|
| | Tricalcium phosphate | Ammonium phosphate (10-45-0) | Bone meal (3-14-0) | Rock phosphate (0-3-0) |
| $E_A = \left[\frac{R1+R2+R3+R4}{4} \right] - \left[\frac{R5+R6+R7+R8}{4} \right]$ | -0.2000 | -0.1800 | 0.0525 | 0.0350 |
| $E_B = \left[\frac{R1+R2+R5+R6}{4} \right] - \left[\frac{R3+R4+R7+R8}{4} \right]$ | 0.1050 | -0.0050 | -0.0675 | 0.0400 |
| $E_C = \left[\frac{R1+R2+R5+R7}{4} \right] - \left[\frac{R3+R4+R6+R8}{4} \right]$ | 0.5650 | -0.0100 | 0.0575 | -0.2050 |
| $E_D = \left[\frac{R1+R2+R7+R8}{4} \right] - \left[\frac{R3+R4+R5+R6}{4} \right]$ | 0.4150 | 0.1800 | 0.0225 | -0.4250 |
| $E_E = \left[\frac{R1+R3+R6+R8}{4} \right] - \left[\frac{R2+R4+R5+R7}{4} \right]$ | -0.2750 | 0.1250 | -0.1675 | 0.0450 |
| $E_F = \left[\frac{R1+R4+R5+R8}{4} \right] - \left[\frac{R2+R3+R6+R7}{4} \right]$ | 0.0200 | -0.0500 | 0.1625 | 0.4500 |
| $E_G = \left[\frac{R1+R4+R6+R7}{4} \right] - \left[\frac{R2+R3+R5+R6}{4} \right]$ | 0.2600 | -0.0550 | -0.1175 | -0.3550 |
| $\sum E^2$ | 0.6861 | 0.0861 | 0.0794 | 0.5560 |
| S | 0.4428 | 0.1568 | 0.1506 | 0.3986 |
| $\sqrt{2} \times S$ | 0.6261 | 0.2218 | 0.2130 | 0.5637 |

แต่ทั้งนี้เมื่อพิจารณาความต่างของปัจจัยต่างๆพบว่า ในการวิเคราะห์ %CIP₂O₅ ในสารมาตรฐาน ไตรแคลเซียมฟอสเฟตพบว่าปัจจัยที่มีผลต่อค่าวิเคราะห์มากที่สุดคือ ระยะเวลาเขย่า (นาที) ปุ๋ยแอมโมเนียมฟอสเฟต (10-45-0) ปัจจัยที่มีผลมากที่สุดคือ ความเร็วรอบของการเขย่า (rpm.) ปุ๋ยอินทรีย์เคมี/กระดูก พบว่าปัจจัยที่มีผลมากที่สุดคือ ปริมาณน้ำที่ใช้ในขั้นตอนการล้างฟอสฟอรัสที่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมซีเตรท และสำหรับปุ๋ยหินฟอสเฟตนั้นพบว่าปัจจัยที่มีผลคือปริมาณน้ำที่ใช้ในขั้นตอนการล้างฟอสฟอรัสที่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมซีเตรท จึงสรุปได้ว่าการเปลี่ยนแปลงสถานะเพียงเล็กน้อยไม่มีผลต่อ %CIP₂O₅ ที่วิเคราะห์ได้ด้วยวิธี AOAC 963.03

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาค่า LOD = 0.02 LOQ = 0.06 Ragne/Linearity ช่วงความเข้มข้นที่ 0.5,1,2,3,4,5,6 และ 7 mg.L⁻¹ ให้สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) = 0.9999 เมื่อทำการทดสอบความเที่ยง (precision) ในปุ๋ยเคมี อินทรีย์เคมี และหินฟอสเฟตที่ระดับต่ำ กลางและสูงพบว่าผ่านเกณฑ์ HorRat < 1.3 ทั้งหมด เมื่อนำมาทดสอบด้วยผู้วิเคราะห์สองคนพบว่าไม่มีความแตกต่าง (P>0.05) ค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์ ที่ระดับต่ำ 0.03 กลาง 1.10 และสูง 3.30% ทดสอบ Ruggedness พบว่าการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยของปัจจัยในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างไม่มีผลสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมซีเตรทด้วยวิธี 963.03 02 ทำนองเดียวกันกับศุภากรและคณะ (2561) ที่พบว่า LOD = 0.02 และ LOQ = 0.09 พร้อมทั้งได้ความเที่ยงที่ระดับต่ำ กลางและสูงผ่านเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐานสากล มีความเหมาะสมสำหรับใช้ในการหา %CIP₂O₅ ในปุ๋ยเคมี อินทรีย์เคมีและหินฟอสเฟต ทั้งนี้การศึกษา Trueness ของสารมาตรฐานไตรแคลเซียมฟอสเฟตใช้สำหรับการควบคุมงานในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ยกลุ่มวิจัยเกษตรเคมีเท่านั้น

คำขอบคุณ

กราบขอบพระคุณผู้เชี่ยวชาญ ผู้อำนวยการกลุ่มวิจัยเกษตรเคมี หัวหน้ากลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพดิน น้ำ ปุ๋ย พืช ที่ได้ให้คำแนะนำในงานวิจัยชิ้นนี้ ขอขอบคุณนักวิทยาศาสตร์ชำนาญการ ปฏิบัติการ รวมทั้งเจ้าหน้าที่ประจำกลุ่มงานและที่ขาดไม่ได้คืองานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณด้านวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม (ววน.) ตามกรอบการสนับสนุนงานวิจัยมูลฐาน (Fundamental Fund) จากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ของกรมวิชาการเกษตร ที่สนับสนุนงานวิจัยชิ้นนี้ มาโดยตลอดส่งผลให้งานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอกราบขอบพระคุณมา ณ ที่นี้ด้วย

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ยทั้งภาครัฐและเอกชน รวมทั้งนิสิต นักศึกษา นักวิชาการที่มีความสนใจในงานด้านการวิเคราะห์ปุ๋ย

เอกสารอ้างอิง

- เจนจิรา เทเวศร์วรกุล, ศุภากร ดวนใหญ่ และจรรยา วงศ์ตรี. 2564. เปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์เคมีและปุ๋ยหินฟอสเฟตโดยวิธีโดยตรงและวิธีโดยอ้อม. ผลการปฏิบัติงานประจำปี 2564 กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร.
- ยงยุทธ โอสสถภา. 2556. ธาตุอาหารพืช. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 50 พหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กทม.
- ศุภากร ดวนใหญ่, จรรยา วงศ์ตรี และวรรณรัตน์ ชูติบุตร. 2561. พัฒนาริธีวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมซีเตรทในปุ๋ยเคมี. ผลการปฏิบัติงานประจำปี 2561 กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร.
- AOAC. 2016. Official Methods of Analysis of AOAC International. 20th ed. AOAC International, Maryland, USA.
- Latimer.G, 2019. Official Methods of Analysis of AOAC international 21st edition
- F..J.Jonhson and James A Farley. 1982. Factors Affecting the Determination of Citrate-Insoluble Phosphorus. Journal of Association of Official Analytical Chemists, 1982. Vol.65, Issue 3, 655- 658.
- K.D.Jacob, L.F. Rader, H.L. Marshall and K.C.Beeson. 1932. Citrate-insoluble phosphoric acid in di- and tricalcium phosphate: Some factors affecting its determination. Ind.Eng.Chem.Anal.Ed. 1932, 4, 1, 25-31.
- T. Akiyama and J. Ando, 1972. Constituents and Properties of Ammoniated Slurry From Wet-process Phosphoric Acid. Bulletin of The Chemical Society of Japan. Vol.45, 2195-2920.
- United States Department of Agriculture. 2018. Technical Evaluation Report : Ammonium citrate Crops. <https://www.ams.usda.gov/rules-regulations/organic/national-list/petitioned>
- Wormer, J., H.A. Elliott and R.C.Brandit. 2002. Determining phosphorus in biosolids : using ammonium citrate extraction. 16th Annual Residuals and solids management conference. Water Federation.

ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โซเดียมที่ละลายน้ำในปุ๋ยอินทรีย์
Method Validation of Water-Soluble Sodium in Organic Fertilizer

สุวรรณี ศรีทองอินทร์ ชฎาพร คงนาม ศุภากร ดวนใหญ่
Suwannee Sritongin Chadaporn Khongnam Supakorn Duanyai

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Method validation of water-soluble sodium in organic fertilizer by Flame Photometric Method. Verifying by analyzing various values, including Range, Linearity, Accuracy, Precision, Limit of detection (LOD), Limit of Quantitation (LOQ), Matrix effect, evaluating uncertainty of measurement and ruggedness. The results of analysis showed the acceptance criteria. The result of LOD 0.02 %Na and LOQ and 0.25 %Na. Matrix effect was not affected by the substance characteristics. Measurement uncertainty value at low, medium and high concentration levels equal to $\pm 0.01\%$, $\pm 0.06\%$ and $\pm 0.11\%$ respectively. The robustness of the method found that that changes in conditions and the environment of the analysis was not affected.

Keywords: Organic fertilizer, water-soluble sodium, Method validation

บทคัดย่อ

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โซเดียมที่ละลายน้ำในปุ๋ยอินทรีย์ โดย Flame Photometric Method ทำการตรวจสอบความใช้ได้จากการวิเคราะห์ค่าต่างๆ ได้แก่ Range Linearity Accuracy Precision LOD LOQ Matrix effect ประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด และความคงทนของวิธี จากการทดสอบพบว่า Range Linearity Accuracy และ Precision ผ่านเกณฑ์การยอมรับทั้งหมด ค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.02 %Na และ 0.25 %Na Matrix effect ไม่มีผลกระทบจากลักษณะเนื้อสาร ค่าความไม่แน่นอนของการวัดที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง เท่ากับ $\pm 0.01\%$, $\pm 0.06\%$ และ $\pm 0.11\%$ ตามลำดับ การทดสอบความคงทนของวิธี พบว่า การเปลี่ยนแปลงสภาวะ และสิ่งแวดล้อมของการทดสอบไม่มีผลกระทบ

คำสำคัญ: ปุ๋ยอินทรีย์, โซเดียมที่ละลายน้ำ, ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี

บทนำ

โซเดียมเป็นธาตุที่ต้องมีการเผื่อไว้ในเชิงการเกษตรเนื่องจากเกลือของโซเดียมนั้นมีสมบัติการละลายน้ำได้ดี และสามารถเข้าไปแทนที่แคลเซียมและแมกนีเซียมในดินได้ ดินที่มีโซเดียมไอออนปริมาณมากจะมีผลต่อสมบัติทางกายภาพของดินและการเจริญเติบโตของพืช คือ ส่งเสริมการฟุ้งกระจายของอนุภาคดินเหนียวทำให้ดินอัดตัวแน่นจนน้ำซึมผ่านยากจึงไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืชรวมถึงกิจกรรมของจุลินทรีย์ดิน นอกจากนี้ยังเกิดความเป็นพิษและการขาดแคลนธาตุอาหารพืชบางชนิดได้ (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2548) ดังนั้น แม้แต่การใช้ปุ๋ยอินทรีย์ก็ต้องระมัดระวังปริมาณโซเดียมที่ละลายน้ำและค่าการนำไฟฟ้าของปุ๋ยอินทรีย์ที่นำไปใช้เพราะอาจสร้างผลกระทบต่อพื้นที่เพาะปลูกได้ จากการศึกษาของ Gao *et al.* (2018) ได้เปรียบเทียบผลของการใส่ปุ๋ยกับสมบัติดินบางประการ พบว่าปริมาณโซเดียมในการใส่ปุ๋ยเคมีรวมกับการใส่ปุ๋ยที่ได้จากมูลหมู และมูลวัว เพิ่มขึ้นกว่าการใส่ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญ

การขอขึ้นทะเบียนปุ๋ยอินทรีย์กับกรมวิชาการเกษตรตามมาตรา 35 แห่ง พ.ร.บ.ปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดย พ.ร.บ.ปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 ทั้งกรณีไม่เป็นปุ๋ยอินทรีย์เหลวและเป็นปุ๋ยอินทรีย์เหลว เจ้าหน้าที่ต้องพิจารณาปริมาณโซเดียม (Na) ของปุ๋ยอินทรีย์ที่จะนำมาขึ้นทะเบียนต้องมีปริมาณไม่เกินร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก (ราชกิจจานุเบกษา, 2555) ซึ่งปัจจุบันกลุ่มวิจัยเกษตรเคมีได้ดำเนินการวิเคราะห์โซเดียมโดยใช้เทคนิค Flame photometric (ราชกิจจานุเบกษา, 2560) โดยยังไม่ได้ทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี ซึ่งเป็นสิ่งสำคัญสำหรับกระบวนการวิเคราะห์ จึงจำเป็นต้องดำเนินการศึกษาในครั้งนี้เพื่อให้สามารถมั่นใจได้ว่าการรายงานผลวิเคราะห์มีความถูกต้อง แม่นยำ ตามมาตรฐานการวิเคราะห์ทดสอบของสากล

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์
2. วัสดุอ้างอิงรับรอง
Potassium chloride (BCR 113) ; 1.53 ± 0.02 %Na
3. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
4. เครื่อง Flame Photometer
5. สารเคมี
 - 5.1 Sodium standard solution 1000 mg/L Na
 - 5.2 Sodium Chloride, AR grade
6. กระดาษกรองเบอร์ 1
7. ปิเปต ขนาด 3, 5, 6, 9, 12 และ 15 มิลลิลิตร
8. เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในการทดลอง

วิธีการ

1. จัดเตรียมปุ๋ยอินทรีย์สำหรับการวิเคราะห์ โดยให้ครอบคลุมปริมาณโซเดียมที่ละลายน้ำ ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (0.25 %Na), กลาง (3.00 %Na) และสูง (6.00 %Na)
2. การเตรียมสารละลายตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์
ชั่งตัวอย่างจำนวน 1.0000 กรัม ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาณ 100 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน ถ้าสารละลายมีตะกอน กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1

3. การวิเคราะห์หาปริมาณโซเดียมที่ละลายน้ำในปุ๋ยอินทรีย์ ตามวิธีประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (ราชกิจจานุเบกษา, 2559) โดยนำสารละลายตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์มาวัดค่าปริมาณความเข้มของแสง ด้วยเครื่อง Flame Photometer ที่ความยาวคลื่น 589.6 นาโนเมตร หาความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง โดยเปรียบเทียบกับ Standard curve และบันทึกผลการวิเคราะห์

การคำนวณ

$$\% \text{ Na} = \frac{\left(\frac{\text{mg}}{\text{l}} \text{ from standard curve} \right) \times \text{dilution factor}}{\text{wt. of sample (g)} \times 10^6} \times 100$$

4. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณโซเดียมที่ละลายน้ำในปุ๋ยอินทรีย์

4.1 การหาค่าความเป็นเส้นตรง (linearity)

ซึ่งตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ที่ไม่มีสารที่ต้องการศึกษา (Sample blank) จำนวน 1.xxxx กรัม เติมสารละลายมาตรฐานโซเดียม 9 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0, 0.5, 3, 6, 9, 12, 15, 20 และ 25 mg/L ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ ดำเนินการตามข้อ 2 และข้อ 3 บันทึกข้อมูล จากนั้นสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียม (แกน X) และค่าความเข้มของแสง (Reading) ที่อ่านจากเครื่อง (แกน y) และคำนวณหาสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient : r) เกณฑ์การยอมรับ $r \geq 0.995$ (APHA, AWWA and WEF, 2017)

4.2 การยืนยันความเหมาะสมของช่วงใช้งาน (Instrument working range)

ซึ่ง sample blank จำนวน 1.xxxx กรัม เติมสารละลายมาตรฐานโซเดียม 7 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0, 0.5, 3, 6, 9, 12 และ 15 mg/L ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ ดำเนินการตามข้อ 2 และข้อ 3 บันทึกข้อมูล จากนั้นสร้างกราฟระหว่างค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐานโซเดียม (แกน X) และค่าเฉลี่ยความเข้มของแสง (Reading) ที่อ่านจากเครื่อง (แกน y) และคำนวณหาสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient : r) เกณฑ์การยอมรับ $r \geq 0.995$

4.3 การเปรียบเทียบกราฟมาตรฐาน matrix effect

สร้างกราฟจากสารละลายมาตรฐานโซเดียม ความเข้มข้น 0, 0.5, 3, 6, 9, 12 และ 15 mg/L และสร้างกราฟจากสารละลายที่ได้จากการซึ่งตัวอย่างปุ๋ย (sample blank) และเติมสารละลายมาตรฐานโซเดียม ความเข้มข้น 0, 0.5, 3, 6, 9, 12 และ 15 mg/L ดำเนินการตามข้อ 2 และข้อ 3 บันทึกข้อมูลเปรียบเทียบกราฟมาตรฐาน เกณฑ์การยอมรับ คือ ความชันของกราฟสารมาตรฐานโซเดียม และกราฟสารมาตรฐานโซเดียมที่เติมตัวอย่างที่ไม่มีสารที่ทดสอบต่างกันไม่เกิน 10% (NATA, 2018)

4.4 การประมาณค่าต่ำที่สุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (Limit of Detection ; LOD และการประมาณค่าต่ำที่สุดที่สามารถรายงานผลได้ (Limit of Quantization ; LOQ)

ซึ่ง Sample blank จำนวน 1.xxxx กรัม 10 ซ้ำ ดำเนินการตามข้อ 2 และข้อ 3 บันทึกข้อมูล คำนวณหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) เพื่อคำนวณค่า LOD และ LOQ (Eurachem, 2014) จากสูตร $LOD = \bar{x} + 3SD$ $LOQ = \bar{x} + 10SD$

4.5 พิสูจน์ความถูกต้อง และความเที่ยงที่ระดับความเข้มข้น LOQ และต่ำ

เตรียมสารละลายวัสดุอ้างอิงรับรอง Potassium chloride (BCR 113) $1.53 \pm 0.02 \% \text{Na}$ ให้ได้ความเข้มข้น $0.25 \% \text{Na}$ ที่จากนั้นซึ่งสารละลาย จำนวน 1.xxxx กรัม เติมลงใน sample blank 10 ซ้ำ โดยทดสอบที่เวลาต่างกัน ดำเนินการตามข้อ 2 และข้อ 3 บันทึกข้อมูล

4.6 พิสูจน์ความถูกต้อง (trueness) และความเที่ยง (precision) ที่ระดับความเข้มข้นกลาง และสูง ซึ่งสารที่ทราบค่าที่มีปริมาณความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง ความเข้มข้นละ 10 ซีซี ทดสอบ ที่เวลาต่างกัน โดยใช้ Sodium Chloride ได้แก่ ความเข้มข้นกลาง 3.0 %Na เตรียมโดยการ Dilute Sodium Chloride (33.3392 %Na) ชั่งตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ 1.xxxx กรัม และระดับความเข้มข้นสูง 6.0 %Na โดยการ Dilute Sodium Chloride (33.3392 %Na) ชั่งตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ 1.xxxx กรัม ดำเนินการตามข้อ 2 และข้อ 3 บันทึกข้อมูล ประเมินค่า Trueness โดยเปรียบเทียบค่าที่ได้กับค่าที่รับรอง เกณฑ์การยอมรับ %Recovery 95-105 และ 97-103 (AOAC, 2019) และคำนวณหาความเที่ยงโดยใช้ HorRat (Horwitz'Ratio) ตามสูตร

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

เกณฑ์ยอมรับ : HorRat (r) ≤ 1.3 (AOAC, 2019)

5. ประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด (Measurement uncertainty)

5.1 รวบรวมข้อมูล repeatability ของอุปกรณ์และเครื่องมือเพื่อใช้ในการหาค่าความไม่แน่นอนของการวัด (Measurement uncertainty) ทำแผนผังก้างปลา และรวมแหล่ง uncertainty จากทุกแหล่ง ที่ช่วงความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง

5.2 คำนวณค่าความไม่แน่นอนของแต่ละแหล่ง

5.3 รวมความไม่แน่นอนจากทุกแหล่ง (combined) ที่ระดับ ต่ำ กลาง สูง

6. ศึกษาผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะและสิ่งแวดล้อมของวิธีวิเคราะห์โซเดียมที่ละลายน้ำในปุ๋ยอินทรีย์ด้วยการทดสอบ Ruggedness โดยมี 7 ตัวแปร จำนวน 8 การทดลอง

6.1 สภาวะการทดสอบปกติปริมาณน้ำกลั่นที่เติม 100 มิลลิลิตร กับเติมน้ำกลั่นที่ 150 มิลลิลิตร

6.2 สภาวะการทดสอบปกติเวลาในการตั้งตัวอย่างทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง กับสภาวะที่เปลี่ยนแปลงตั้งตัวอย่างทิ้งไว้ 18 ชั่วโมง

6.3 สภาวะการทดสอบปกติการกรองตัวอย่างทันที กับสภาวะที่เปลี่ยนแปลงกรองตัวอย่างหลังจากทิ้งไว้ 5 นาที

6.4 สภาวะการทดสอบปกติปริมาณตัวอย่างที่กรอง 50 มิลลิลิตร กับสภาวะที่เปลี่ยนแปลงปริมาณตัวอย่างที่กรอง 75 มิลลิลิตร

6.5 สภาวะการทดสอบปกติที่ชนิดของปิเปตเป็นแก้ว กับชนิดของปิเปตเป็นปิเปตอัตโนมัติ

6.6 สภาวะการทดสอบปกติเวลาตั้งแต่หลังกรองตัวอย่างถึงการวัด 10 นาที กับสภาวะที่เปลี่ยนแปลงเวลาตั้งแต่หลังกรองตัวอย่างถึงการวัด 30 นาที

6.7 สภาวะการทดสอบปกติที่อุณหภูมิขณะวัด 25°C กับสภาวะที่เปลี่ยนแปลงที่อุณหภูมิขณะวัด 30°C

6.8 ชั่ง Potassium chloride (BCR 113) น้ำหนัก 1.xxxx กรัม ใส่ ขวดวัดปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร

6.9 ดำเนินการตามข้อ 2 และข้อ 3

6.10 คำนวณผลต่างตามค่าสัมบูรณ์ (E)

6.11 พิจารณาว่า E มากกว่า S : significant sensitive for changes

ค่า E น้อยกว่า S : no significant sensitive for changes

$$\text{โดย } S = \sqrt{2/7x \sum(E^2)}$$

7. สรุปและรายงานผลการทดลอง พร้อมวิเคราะห์ความคุ้มค่า โดยเปรียบเทียบต้นทุนการวิเคราะห์ระยะเวลาการวิเคราะห์ ขั้นตอนการวิเคราะห์ที่เปลี่ยนแปลง และความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์

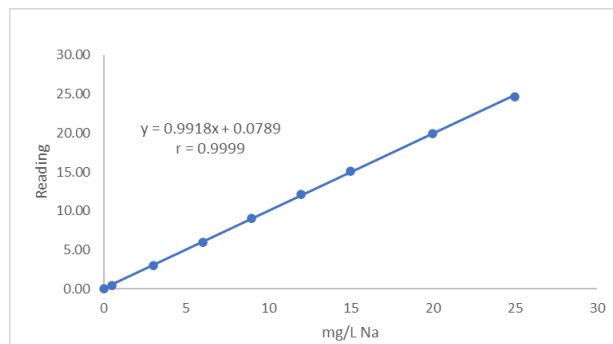
ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2565 สิ้นสุด กันยายน 2566

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

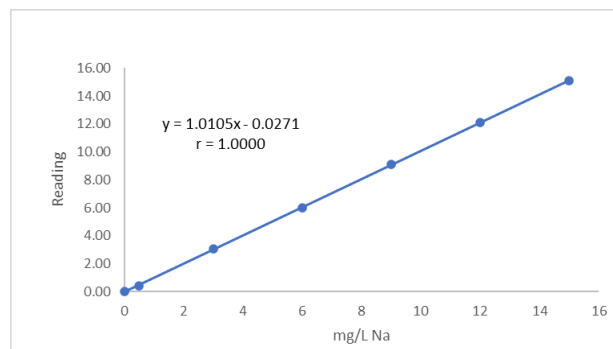
1. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณโซเดียมที่ละลายน้ำในปุ๋ยอินทรีย์

1.1 การหาค่าความเป็นเส้นตรง (linearity) โดยสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียม (mg/L) (แกน X) และค่าความเข้มของแสง (Reading) ที่อ่านจากเครื่อง (แกน y) หาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง พบว่าอยู่ในช่วง 0, 0.5, 3, 6, 9, 12, 15, 20 และ 25 mg/L โซเดียม (ภาพที่ 1)



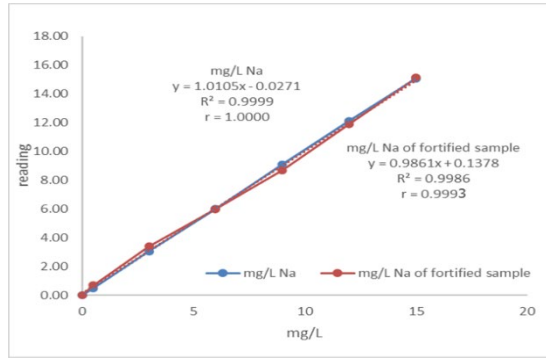
ภาพที่ 1 แสดงการหาค่าความเป็นเส้นตรง (Linearity) ของการวิเคราะห์โซเดียมที่ละลายน้ำในปุ๋ยอินทรีย์

1.2 การยืนยันความเหมาะสมของช่วงใช้งาน (Instrument working range) เลือกเอาช่วง 0, 0.5, 3, 6, 9, 12 และ 15 mg/L โซเดียม เป็นช่วงการใช้งาน (working range) นำมาหาความสัมพันธ์เชิงเส้น Correlation coefficient (r) เท่ากับ 1.0000 (ภาพที่ 2) ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ



ภาพที่ 2 แสดงความเหมาะสมของช่วงใช้งาน (Instrument working range) ของการวิเคราะห์โซเดียมที่ละลายน้ำในปุ๋ยอินทรีย์

1.3 การเปรียบเทียบกราฟมาตรฐาน matrix effect พบว่า ความชันของกราฟมาตรฐานโซเดียม มีค่าเท่ากับ 1.0105 และ สารมาตรฐานโซเดียมที่เติมลงใน Sample Blank มีค่าเท่ากับ 0.9861 มีความแตกต่างกัน เท่ากับ 2.44 % แสดงว่ามีความชันต่างกันไม่เกิน 10 % (NATA, 2018) กราฟมาตรฐานในช่วง 0-15 mg/L จึงไม่มีผลกระทบจากลักษณะเนื้อสาร (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 แสดงผลการวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสาร (Matrix effect) ของกราฟมาตรฐาน

1.4 การประมาณค่าต่ำที่สุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (Limit of Detection ; LOD และการประมาณค่าต่ำสุดที่สามารถรายงานผลได้ Limit of Quantization ; LOQ) ของวิธีวิเคราะห์โซเดียมที่ละลายน้ำในปุ๋ยอินทรีย์ได้ค่าเฉลี่ย เท่ากับ 0.0155% และค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับ 0.0009% ดังนั้นได้ค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.0181 %Na และ LOQ เท่ากับ 0.0243 %Na

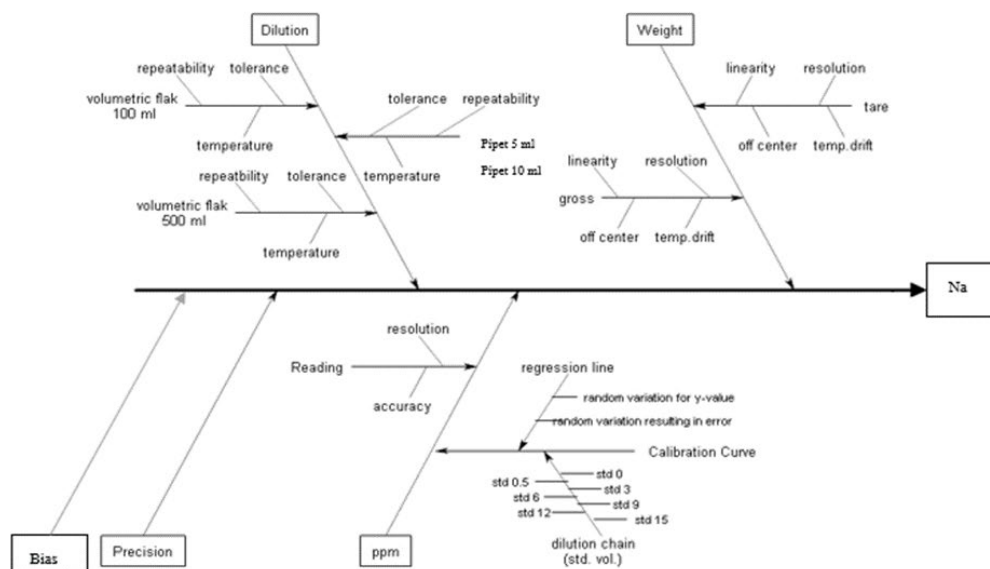
1.5 พิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ระดับความเข้มข้น LOQ, ต่ำ (0.25 %Na), กลาง (3.00 %Na) และสูง (6.00 %Na) ของวิธีวิเคราะห์โซเดียมที่ละลายน้ำในปุ๋ยอินทรีย์ โดยการเติมวัสดุอ้างอิงรับรองลงใน sample blank พบว่า % Recovery และ HorRat (Horwitz's Ratio) ที่ระดับความเข้มข้น LOQ, ต่ำ (0.25 %Na), กลาง (3.00 %Na) และสูง (6.00 %Na) อยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบ Trueness และ Precision

| ระดับความเข้มข้น | % Recovery | HorRat (เกณฑ์ยอมรับ < 1.3) | เกณฑ์ยอมรับ % Recovery |
|----------------------|------------|-------------------------------|---------------------------|
| LOQ และต่ำ (0.25%Na) | 96.35 | 0.30 | 95-105 |
| กลาง (3.00 %Na) | 98.01 | 0.18 | 97-103 |
| สูง (6.00 %Na) | 97.65 | 0.23 | 97-103 |

2. ประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด (Measurement uncertainty)

รวบรวมข้อมูล repeatability ของอุปกรณ์และเครื่องมือเพื่อใช้ในการหาค่าความไม่แน่นอนของการวัด (Measurement uncertainty) จัดทำแผนผังก้างปลา (ดังภาพที่ 4)

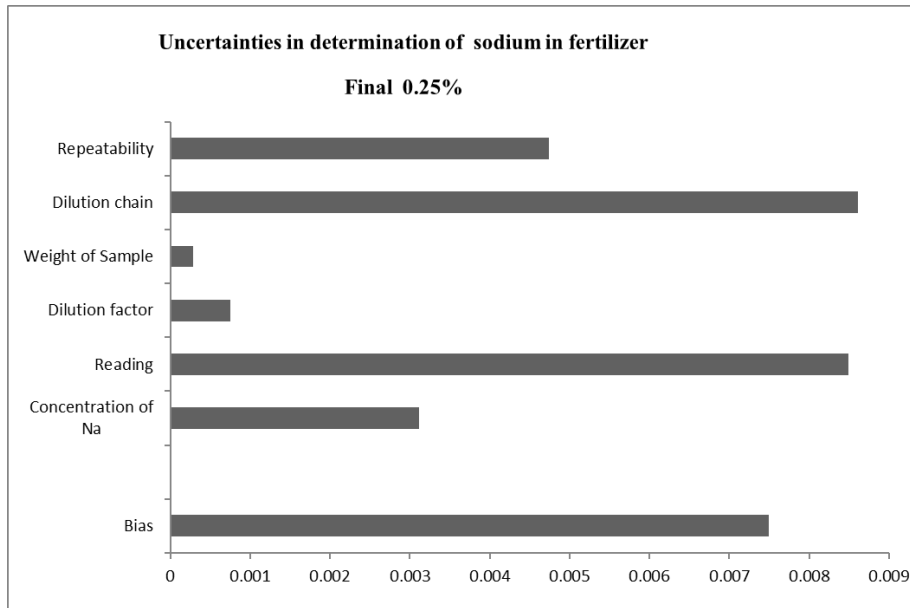


ภาพที่ 4 แสดงแหล่งของความคลาดเคลื่อนตามผังก้างปลา

นำค่าความไม่แน่นอนของแต่ละแหล่งมาประเมินค่าความไม่แน่นอน ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง ดังนี้ ความเข้มข้นต่ำ $\pm 0.0037\%$ ความเข้มข้นกลาง $\pm 0.0307\%$ และความเข้มข้นสูง $\pm 0.0570\%$ ตามตารางที่ 2, 3, 4 และ 5

ตารางที่ 2 Uncertainty in determination of sodium (0.25 %)

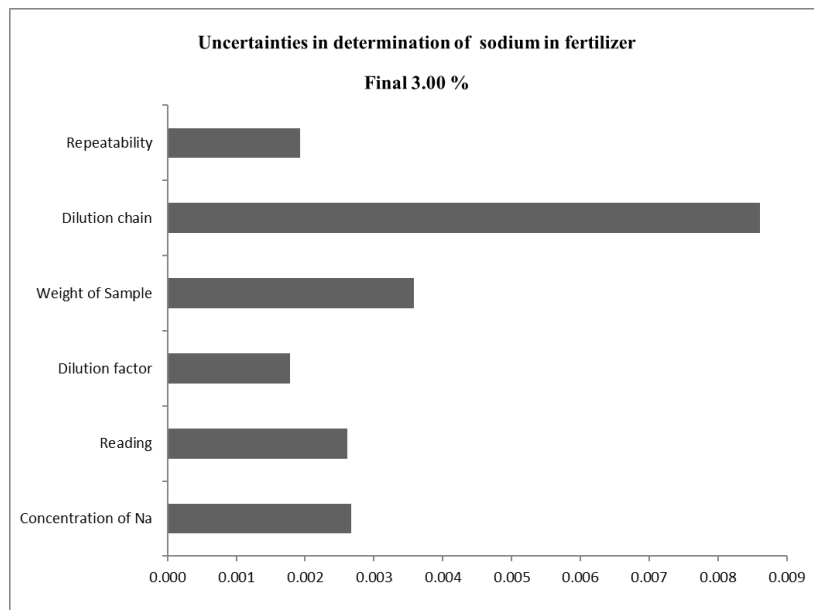
| Component | Symbol | RSU | RSU ² |
|-----------------------------|---------------------|----------|------------------|
| 1. Precision | rep | 0.004739 | 0.000022 |
| 2. Weight of sample | m_{sample} | 0.000288 | 0.000000 |
| 3. Dilution factor | D_{sample} | 0.000001 | 0.000001 |
| 4. Calibration curve | D_{std} | 0.008606 | 0.000074 |
| 5. Concentration of Na | C_0 | 0.003120 | 0.000010 |
| 6. Reading | reading | 0.008488 | 0.000072 |
| 7. Bias | bias | 0.007494 | 0.000056 |
| $\sum_{i=1}^n RSU^2$ | | | 0.000235 |
| $\sqrt{\sum_{i=1}^n RSU^2}$ | | | 0.015334 |
| Uncertainty = 0.0037 | | | |
| Expanded uncertainty = 0.01 | | | |



ภาพที่ 5 แหล่งที่มาของความไม่แน่นอนและค่าความไม่แน่นอนมาตรฐานของการวิเคราะห์โซเดียมที่ละลายน้ำในปุ๋ยอินทรีย์ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ

ตารางที่ 3 Uncertainty in determination of sodium (3.00 %)

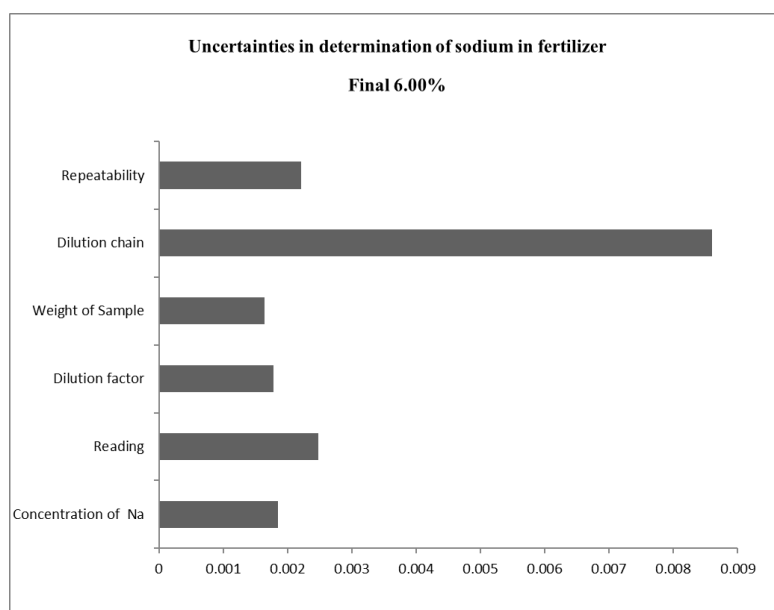
| Component | Symbol | RSU | RSU ² |
|-----------------------------|---------------------|---------|------------------|
| 1. Precision | rep | 0.00193 | 0.000004 |
| 2. Weight of sample | m _{sample} | 0.00358 | 0.000013 |
| 3. Dilution factor | D _{sample} | 0.00178 | 0.000003 |
| 4. Calibration curve | D _{std} | 0.00861 | 0.000074 |
| 5. Concentration of Na | C ₀ | 0.00267 | 0.000007 |
| 6. Reading | reading | 0.00261 | 0.000007 |
| $\sum^n RSU^2$ | | | 0.00011 |
| $\sqrt{\sum RSU^2}$ | | | 0.01038 |
| Uncertainty = 0.0307 | | | |
| Expanded uncertainty = 0.06 | | | |



ภาพที่ 6 แหล่งที่มาของความไม่แน่นอนและค่าความไม่แน่นอนมาตรฐานของการวิเคราะห์โซเดียมที่ละลายน้ำในปุ๋ยอินทรีย์ที่ระดับความเข้มข้นกลาง

ตารางที่ 4 Uncertainty in determination of sodium (6.00 %)

| Component | Symbol | RSU | RSU ² |
|-----------------------------|---------------------|---------|------------------|
| 1. Precision | rep | 0.00222 | 0.000005 |
| 2. Weight of sample | m _{sample} | 0.00165 | 0.000003 |
| 3. Dilution factor | D _{sample} | 0.00178 | 0.000003 |
| 4. Calibration curve | D _{std} | 0.00861 | 0.000074 |
| 5. Concentration of Na | C ₀ | 0.00185 | 0.000003 |
| 6. Reading | reading | 0.00248 | 0.000006 |
| $\sum_{i=1}^n RSU^2$ | | | 0.00009 |
| $\sqrt{\sum_{i=1}^n RSU^2}$ | | | 0.00972 |
| Uncertainty = 0.0570 | | | |
| Expanded uncertainty = 0.11 | | | |



ภาพที่ 7 แหล่งที่มาของความไม่แน่นอนและค่าความไม่แน่นอนมาตรฐานของการวิเคราะห์โซเดียมที่ละลายน้ำในปุ๋ยอินทรีย์ที่ระดับความเข้มข้นสูง

ตารางที่ 5 ค่าความไม่แน่นอนของปริมาณโซเดียมที่ละลายน้ำในปุ๋ยอินทรีย์

| ระดับความเข้มข้น | %Na | uncertainty | %Relative measurement uncertainty |
|------------------|------|-------------|-----------------------------------|
| ต่ำ | 0.24 | ± 0.01 | 4.17 |
| กลาง | 2.95 | ± 0.06 | 2.03 |
| สูง | 5.87 | ± 0.11 | 1.87 |

3. ผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะและสิ่งแวดล้อมของวิธีวิเคราะห์โซเดียมที่ละลายน้ำในปุ๋ยอินทรีย์โดยมี 7 ตัวแปร จำนวน 8 การทดลอง

การเปลี่ยนแปลงสภาวะ และสิ่งแวดล้อม โดยมี 7 ตัวแปร คือ ปริมาณน้ำที่เติม (มิลลิลิตร), เวลาในการตั้งตัวอย่างทิ้งไว้ (ชั่วโมง), การกรองตัวอย่าง, ปริมาณตัวอย่างที่กรอง (มิลลิลิตร), ชนิดของปิเปต, เวลาตั้งแต่หลังกรองตัวอย่างถึงการวัด (นาทื), อุณหภูมิขณะวัด (°C) โดยใช้ Youden-Steiner testing ในการประเมินพบว่า ผลต่างตามค่าสัมบูรณ์ของธาตุโซเดียม น้อยกว่า S ที่มีค่าเท่ากับ 0.0067 แสดงว่า ไม่มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะ และสิ่งแวดล้อมของการทดสอบดังกล่าว ตามตาราง 6, 7, 8 และ 9

ตารางที่ 6 ตัวแปรที่ใช้ในการทดลองการทดสอบ Ruggedness

| factor | normal (A-G) | change (a-g) |
|--|--------------|----------------|
| A : เติมน้ำกลั่น (ml.) | 100 | 150 |
| B : เวลาในการตั้งตัวอย่างทิ้งไว้ (hr.) | 12 | 18 |
| C : การกรองตัวอย่าง | กรองทันที | ทิ้งไว้ 5 นาที |
| D : ปริมาณตัวอย่างที่กรอง (ml.) | 50 | 75 |
| E : ปิเปต 10 ml. | แก้ว | Auto pipette |
| F : เวลาตั้งแต่หลังกรองตัวอย่างถึงการวัด (min) | 10 | 30 |
| G : อุณหภูมิขณะวัด (°C) | 25 | 30 |

ตารางที่ 7 แสดงแผนการทดลอง 8 การทดลองที่ใช้ในการทดสอบ Ruggedness

| analyst | symbol | | | | | | | design |
|---------|--------|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | A | B | C | D | E | F | G | 100 ml./12 hr./กรองทันที/50 ml./vol.pipette/10 min/25°C |
| 2 | A | B | c | D | e | f | g | 100 ml./12 hr./ทิ้งไว้ 5 min./50 ml./auto pipette/30 min/30°C |
| 3 | A | b | C | d | E | f | g | 100 ml./18 hr./กรองทันที/75 ml./vol.pipette/30 min/30°C |
| 4 | A | b | c | d | e | F | G | 100 ml./18 hr./ทิ้งไว้ 5 min./75 ml./auto pipette/10 min/25°C |
| 5 | a | B | C | d | e | F | g | 150 ml./12 hr./กรองทันที/75 ml./auto pipette/10 min/30°C |
| 6 | a | B | c | d | E | f | g | 150 ml./12 hr./ทิ้งไว้ 5 min./75 ml./vol.pipette/30 min/30°C |
| 7 | a | b | C | D | e | f | G | 150 ml./18 hour/กรองทันที/50 ml./auto pipette/30 min/25°C |
| 8 | a | b | c | D | E | F | g | 150 ml./18 hour/ทิ้งไว้ 5 min./50 ml./vol.pipette/10 min/30°C |

ตารางที่ 8 ค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบ Ruggedness โขติยมในวัสดุอ้างอิงรับรอง

| analyst | rep | Value (%) |
|---------|------------------------|-----------|
| | | Na |
| 1 | mean (R ₁) | 1.5449 |
| | %recovery | 100.98 |
| 2 | mean (R ₂) | 1.5502 |
| | %recovery | 101.32 |
| 3 | mean (R ₃) | 1.5663 |
| | %recovery | 102.37 |
| 4 | mean (R ₄) | 1.5458 |
| | %recovery | 101.04 |
| 5 | mean (R ₅) | 1.5505 |
| | %recovery | 101.34 |
| 6 | mean (R ₆) | 1.5497 |
| | %recovery | 101.29 |
| 7 | mean (R ₇) | 1.5535 |
| | %recovery | 101.53 |
| 8 | mean (R ₈) | 1.5484 |
| | %recovery | 101.20 |

ตารางที่ 9 ผลกระทบของตัวแปรที่มีต่อผลการทดสอบ Ruggedness

| | value of change |
|---|-----------------|
| | Na |
| $E_A = \left[\frac{R_1+R_2+R_3+R_4}{4} \right] - \left[\frac{R_5+R_6+R_7+R_8}{4} \right]$ | 0.00128 |
| $E_B = \left[\frac{R_1+R_2+R_5+R_6}{4} \right] - \left[\frac{R_3+R_4+R_7+R_8}{4} \right]$ | -0.00465 |
| $E_C = \left[\frac{R_1+R_2+R_5+R_7}{4} \right] - \left[\frac{R_3+R_4+R_6+R_8}{4} \right]$ | 0.00528 |
| $E_D = \left[\frac{R_1+R_2+R_7+R_8}{4} \right] - \left[\frac{R_3+R_4+R_5+R_6}{4} \right]$ | -0.00385 |
| $E_E = \left[\frac{R_1+R_3+R_6+R_8}{4} \right] - \left[\frac{R_2+R_4+R_5+R_7}{4} \right]$ | 0.00232 |
| $E_F = \left[\frac{R_1+R_4+R_5+R_8}{4} \right] - \left[\frac{R_2+R_3+R_6+R_7}{4} \right]$ | -0.00747 |
| $E_G = \left[\frac{R_1+R_4+R_6+R_7}{4} \right] - \left[\frac{R_2+R_3+R_5+R_8}{4} \right]$ | -0.00535 |
| S | 0.0067 |

4. สรุปต้นทุนการวิเคราะห์โซเดียมที่ละลายน้ำในปุ๋ยอินทรีย์

| | การประเมิน | ราคาเครื่องมือ | ความเสื่อมสภาพ/ปี |
|-----------|----------------------------------|----------------|-------------------|
| 1 | ด้านค่าใช้จ่ายต่อตัวอย่าง | | |
| 1.1 | ค่าเสื่อมราคาของเครื่องมือ | | |
| - | เครื่อง Flame Photometer | 474,000 | 3.99 |
| - | เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง | 136,000 | 0.43 |
| 1.2 | สารเคมีและวัสดุวิทยาศาสตร์ | | 150.98 |
| | สรุปค่าใช้จ่าย | | 155.40 |
| 2 | ด้านระยะเวลา | | |
| - | จำนวนตัวอย่าง/วัน | | 90 |
| 3. | ด้านความถูกต้อง | | |
| - | %Recovery | | ✓ |
| - | HorRat | | ✓ |

ต้นทุนการวิเคราะห์ การประเมินทางด้านค่าใช้จ่าย ได้แก่ ความเสื่อมสภาพของเครื่องมือ เครื่องแก้ว วัสดุวิทยาศาสตร์ และสารเคมีพบว่า วิธีวิเคราะห์โซเดียมที่ละลายน้ำในปุ๋ยอินทรีย์มีค่าใช้จ่าย 155.40 บาท ต่อตัวอย่าง ระยะเวลาการวิเคราะห์ สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้ 90 ตัวอย่าง/วัน และวิธีวิเคราะห์โซเดียมที่ละลายน้ำในปุ๋ยอินทรีย์มีความถูกต้องแม่นยำ

สรุปผลการทดลอง

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โซเดียมที่ละลายน้ำในปุ๋ยอินทรีย์ โดย Flame Photometric Method ทำการตรวจสอบความใช้ได้จากการวิเคราะห์ค่าต่างๆ ได้แก่ Range, Linearity, Accuracy, Precision, LOD, LOQ, Matrix effect, ประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด และ ความคงทนของวิธี จากการทดสอบพบว่า Range, Linearity, Accuracy และ Precision ผ่านเกณฑ์การยอมรับทั้งหมด ค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.02 %Na และ 0.24 %Na. Matrix effect ไม่มีผลกระทบจากลักษณะเนื้อสาร ค่าความไม่แน่นอนของการวัด ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (0.24 %Na), กลาง (2.95 %Na) และสูง (5.87 %Na) เท่ากับ $\pm 0.01\%$, $\pm 0.06\%$ และ $\pm 0.11\%$ ตามลำดับ การทดสอบความคงทนของวิธี พบว่า การเปลี่ยนแปลงสภาวะ และสิ่งแวดล้อมของการทดสอบไม่มีผลกระทบ

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

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

คำขอบคุณ

รายงานวิจัยฉบับนี้ อยู่ภายใต้โครงการพัฒนาระบบการรับรองมาตรฐานการตรวจสอบคุณภาพปุ๋ยตามมาตรฐานสากล แผนงานวิจัยเรื่อง พัฒนาระบบการตรวจรับรองคุณภาพปัจจัยการผลิตเพื่อสร้างมาตรฐานและยกระดับคุณภาพห้องปฏิบัติการในประเทศไทย ได้รับทุนสนับสนุนจากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์วิจัยและนวัตกรรม สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) สามารถดำเนินงานได้สำเร็จตามวัตถุประสงค์ ด้วยความช่วยเหลือจาก บุคคลากรและเจ้าหน้าที่ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ที่ช่วยในการดำเนินการทั้งในด้านเอกสาร การเตรียมตัวอย่าง และดำเนินการวิจัย คณะผู้วิจัยจึงขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

เอกสารอ้างอิง

- คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2548. ปฐพีเบื้องต้น. ภาควิชาปฐพีวิทยามหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพฯ. 547 หน้า.
- ราชกิจจานุเบกษา. 2555. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง การขอขึ้นทะเบียน การออกใบสำคัญการขึ้นทะเบียน การขอแก้ไขรายการทะเบียน และการแก้ไขรายการทะเบียนปุ๋ยอินทรีย์ พ.ศ. 2559 ฉบับกฤษฎีกา เล่ม 129 ตอนพิเศษ 59ง, หน้า 12-14.
- ราชกิจจานุเบกษา. 2560. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 ฉบับกฤษฎีกา เล่ม 134 ตอนพิเศษ 2ง, หน้า 24.
- APHA, AWWA and WEF. 2017. Standard Methods for the Examination of water and waste water. 23 rd ed. Part 1020: Quality Assurance. American Public Health Association, Washington, DC. USA.
- Association of analytical communities (AOAC). 2019. Official Methods of Analysis of AOAC International. 20th ed. AOAC International Inc., Maryland, USA.
- EURACHEM Guide. 2014. The Fitness for Purpose of Analytical Methods - A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, 2nd edition. Available: https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_EN.pdf, Accessed June 30, 2018.
- Gao, Z.C., Zhang, Z.B., Zhou, H., Rahman, M.T., Wang, D.Z., Guo, X.S., Li, L.J., Peng, X.H., 2018. Long-term animal manure application promoted biological binding agents but not soil aggregation in a Vertisol. Soil Tillage Research. 180: 232-237
- NATA. 2018. National Association of Testing Authorities. General Accreditation Guidance - Validation

ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยของเหลว

Method Validation of Total Nitrogen in Liquid Fertilizer

นันทกานต์ ขุนโหระ ศุภคชญา ทาทหาร อาธิยา ปุ่นประโคน
Nanthakan Khunhon Supakchaya Thahan Arthiya punprakhon

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The Combustion Method for total nitrogen testing is recognized as one of the approved methods by the Ministry of Agriculture and Cooperatives, as per the Notification on Prescribing the Method of Analysis of Chemical Fertilizer, B.E.2559. Prior to its application, it is imperative to verify its suitability to ensure its adequacy for intended purposes. Validation of the total nitrogen testing method for liquid fertilizer revealed a usable range and linearity from 2.90 to 47.95 mg nitrogen, unaffected by substance characteristics. The Limit of Detection (LOD) and the Limit of Quantitation (LOQ) stand at 0.08% and 0.25% respectively. The method's accuracy and precision were evaluated through recovery studies and HorRat value assessment. At low, medium, and high concentration levels, recovery percentages were 104.00%, 99.62%, and 99.96%, respectively, with HorRat values meeting acceptance criteria (0.87, 0.33, and 0.13, respectively). All values complied with international standards (recovery within 95-105%, precision HorRat \leq 1.3, with uncertainties at low, medium, and high concentrations of ± 0.008 , $\pm 0.72\%$, and $\pm 1.20\%$, respectively). Factors influencing the test include sucrose characteristics and analysis time. Comparing the Combustion Method with Kjeldahl, though the former incurs higher costs, it proves more time and labor-efficient with lesser environmental impact. Thus, for analyzing total nitrogen in liquid fertilizer, the Combustion Method emerges as a suitable analytical approach in laboratory settings.

Keywords: Total nitrogen, Combustion method, Liquid fertilizer

บทคัดย่อ

วิธีทดสอบไนโตรเจนทั้งหมด Combustion method เป็นหนึ่งในวิธีตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่องกำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ.2559 การนำวิธีมาใช้ต้องมีการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีเพื่อให้มั่นใจว่าวิธีวิเคราะห์มีความเหมาะสมสามารถนำไปใช้ตามวัตถุประสงค์ที่ต้องการใช้งาน จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยของเหลว พบว่าช่วงการใช้งานและช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 2.90-47.95 มิลลิกรัมไนโตรเจน ซึ่งไม่มีผลกระทบจากลักษณะเนื้อสาร ปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (Limit of detection: LOD) และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ (Limit of quantitation: LOQ) เท่ากับ 0.08% และ 0.25% ตรวจสอบความถูกต้องที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (0.5%) กลาง (26.02%) และสูง (46.54%) พบว่าร้อยละค่าคืนกลับ (% Recovery) เท่ากับ 104.00%, 99.62% และ 99.96% ตามลำดับ และมีความเที่ยงโดยประเมินจาก HorRat อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ คือ 0.87, 0.33 และ 0.13 ตามลำดับ ซึ่งค่าที่ได้ทั้งหมดนั้นผ่านเกณฑ์ยอมรับตามมาตรฐานสากล (เกณฑ์ยอมรับ %recovery อยู่ในช่วง 95-105 และ

98-102) เกณฑ์ความเที่ยง HorRat ≤ 1.3 มีค่าความไม่แน่นอน ความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง $\pm 0.008 \pm 0.72\%$ และ $\pm 1.20\%$ ตามลำดับ ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อผลการทดสอบ ได้แก่ ลักษณะซูโครส และ ระยะเวลาการวิเคราะห์ เมื่อวิเคราะห์ความคั่งค่า โดยเปรียบเทียบวิธี Combustion กับ Kjeldahl พบว่า Combustion method มีค่าใช้จ่ายสูงกว่า ใช้ระยะเวลาและแรงงานน้อยกว่า รวมทั้งมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมจากสารเหลือทิ้งน้อยกว่าวิธี Kjeldahl วิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยของเหลว จึงมีความเหมาะสมที่นำมาใช้เป็นวิธีวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

คำสำคัญ: ไนโตรเจนทั้งหมด วิธีการเผาไหม้ ปุ๋ยเคมีเหลว

บทนำ

ปัจจุบันกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ยได้ใช้วิธีตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 วิธีที่ 1.05.02 ไนโตรเจนทั้งหมด Combustion Method และ วิธี 1.05.01 ไนโตรเจน Kjeldahl Method ในการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มาขอรับบริการ สำหรับวิธีวิเคราะห์ ไนโตรเจนทั้งหมด Combustion Method ได้รับการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์แล้วพบว่ามีผลวิเคราะห์ที่มีค่าความแม่นยำและความเที่ยงผ่านเกณฑ์การยอมรับ (อาธิยา, 2561) โดยวิธีดังกล่าวเป็นการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีในตัวอย่างปุ๋ยที่เป็นของแข็ง สำหรับปุ๋ยตัวอย่างของเหลว ยังคงใช้วิธี Kjeldahl method ซึ่งต้องมีการใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้น และสารเคมีหลายชนิด ที่มีฤทธิ์กัดกร่อน เป็นอันตรายต่อสุขภาพ ใช้เวลานานในการวิเคราะห์ วิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนโดยวิธี Combustion มีหลักการคือเผาตัวอย่างปุ๋ยในบรรยากาศออกซิเจนบริสุทธิ์ที่อุณหภูมิมากกว่า $950\text{ }^{\circ}\text{C}$ (AOAC, 2019) ตามวิธี AOAC Official Method 993.13 การวิเคราะห์ในตัวอย่างของแข็งและตัวอย่างที่เป็นของเหลวจะมีเทคนิคที่แตกต่างกัน งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นตรวจสอบความใช้ได้วิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยของเหลวโดยวิธี Combustion เพื่อให้ได้วิธีวิเคราะห์ที่มีความรวดเร็ว ประหยัดเวลา ลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายและปลอดภัยกับผู้วิเคราะห์

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดโดยหลักการเผา (Leco : FP 628)
2. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
3. Tin foil / Tin capsule
4. เครื่องแก้วและวัสดุอื่น ที่ใช้ในการปฏิบัติการวิเคราะห์
5. สารเคมีเกรดวิเคราะห์ ได้แก่ สารมาตรฐาน EDTA, Sucrose, ดินเบา (diatomaceous earth)
6. วัสดุอ้างอิงรับรอง/วัสดุอ้างอิงมาตรฐาน
7. ก๊าซฮีเลียม ชนิดบริสุทธิ์ 99.999%
8. ก๊าซออกซิเจน ชนิดบริสุทธิ์มากกว่าหรือเท่ากับ 99.7%

วิธีการ

1. จัดเตรียม วัสดุ อุปกรณ์ ที่ต้องใช้ในการทดสอบ และจัดหาวัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Material; CRM) ที่มีค่า Certified Value และ Uncertainty ตัวอย่างปุ๋ยเคมี (sample blank)
2. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์
 - 2.1 การศึกษาหาค่า Range and Linearity และผลกระทบของเมทริกซ์ (matrix effects)
 - 2.1.1 ชั่ง สารมาตรฐาน EDTA 7 ระดับปริมาณน้ำหนักคือ 0.03xx, 0.06xx, 0.1xxx, 0.2xxx, 0.3xxx, 0.4xxx และ 0.5xxx กรัม ปริมาณน้ำหนักละ 3 ซ้ำ

- 2.1.2 นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดโดยหลักการเผา
- 2.1.3 นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างปริมาณไนโตรเจน (mg) กับพื้นที่ของสาร (Area)
- 2.1.4 พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรง
- 2.1.5 ชั่งตัวอย่างที่มีเนื้อสารชนิดเดียวกับปุ๋ย แต่ไม่มีสารทดสอบ (Sample Blank) 0.05xx กรัม, เติม Sucrose 0.5 เท่า และเติม EDTA 7 ระดับปริมาณน้ำหนัก คือ 0.03xx, 0.06xx, 0.1xxx, 0.15xx, 0.2xxx, 0.3xxx 0.4xxx และ 0.5xxx กรัมในช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง ปริมาณน้ำหนักละ 3 ซ้ำ
- 2.1.6 นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดโดยหลักการเผา
- 2.1.7 บันทึกผล สร้างกราฟระหว่างปริมาณไนโตรเจน (mg) กับพื้นที่ของสาร (Area) พิจารณาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient : r) : $r \geq 0.995$
- 2.1.8 ทำการทดสอบผลกระทบจากลักษณะเนื้อสาร (Matrix effect) ของกราฟมาตรฐาน โดยเปรียบเทียบความชันของกราฟมาตรฐานระหว่าง สารมาตรฐานไนโตรเจน และ สารมาตรฐานที่เติมลงในตัวอย่างที่มีเนื้อสารชนิดเดียวกับปุ๋ย แต่ไม่มีสารทดสอบ (Sample Blank)
- 2.2 การประมาณขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ)
- 2.2.1 ชั่งตัวอย่างที่มีเนื้อสารชนิดเดียวกับปุ๋ย แต่ไม่มีสารทดสอบ (Sample Blank) 0.1xxx กรัม และเติม Sucrose อย่างน้อย 0.5 เท่า
- 2.2.2 นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดโดยหลักการเผา
- 2.2.3 บันทึกข้อมูล และคำนวณหาค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- 2.2.4 คำนวณค่า LOD จากสูตร $LOD = 3S'_0$ และ $LOQ = 10S'_0$
- 2.3 พิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) ความเที่ยง (Precision) ที่ระดับความเข้มข้น LOQ ต่ำ กลาง สูง
- 2.3.1 ชั่งวัสดุอ้างอิงรับรองวิเคราะห์ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดโดยหลักการเผา
- 2.3.2 บันทึกข้อมูล พิจารณาความถูกต้อง โดยคำนวณหา ร้อยละค่าคืนกลับ (% Recovery) และประเมินความเที่ยง โดยใช้สมการ Horwitz's Ratio
3. ประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด (Measurement uncertainty) ตรวจสอบความคงทนของวิธีทดสอบโดยการเปลี่ยนแปลงสถานะเพียงเล็กน้อยจากสถานะปกติ (Ruggedness) เช่น ปริมาณสารดูดซับ ระยะเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ ปริมาณตัวอย่าง เป็นต้น
- 3.1 ประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด (Measurement uncertainty)
- 3.1.1 รวบรวมข้อมูล repeatability ของอุปกรณ์และเครื่องมือเพื่อใช้ในการหาค่าความไม่แน่นอนของการวัด (Measurement uncertainty) ทำแผนผังก้างปลา และรวมแหล่ง uncertainty จากทุกแหล่งที่ช่วงความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง
- 3.1.2 คำนวณค่าความไม่แน่นอนของแต่ละแหล่ง
- 3.1.3 รวมความไม่แน่นอนจากทุกแหล่ง (combined) ที่ระดับ ต่ำ กลาง สูง
- 3.2 ศึกษาผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสถานะและสิ่งแวดล้อม ด้วยการทดสอบ Ruggedness โดยการวางแผนการทดลอง 7 ตัวแปร 8 การทดลอง
- 3.2.1 สภาวะทดสอบปกติที่ระยะเวลาการเผา (burn time) 90 วินาที กับ สภาวะที่เปลี่ยนแปลง 85 วินาที

- 3.2.2 สภาวะทดสอบปกติที่อุณหภูมิเตาเผา (Furnace temperature) 950 องศาเซลเซียส กับ สภาวะที่เปลี่ยนแปลงที่อุณหภูมิ 940 องศาเซลเซียส
- 3.2.3 สภาวะทดสอบปกติที่ลักษณะของซูโครสที่บด กับ สภาวะที่เปลี่ยนแปลงซูโครสไม่บด
- 3.2.4 สภาวะทดสอบปกติที่แรงดันการปล่อยตัวอย่าง (Fill pressure drop) ที่ 200 mm Hg กับ สภาวะที่เปลี่ยนแปลง 190 mm Hg
- 3.2.5 สภาวะทดสอบปกติที่อุณหภูมิเตาส่วนหลังจากจากเผาไหม้ (After burner temperature) 850 องศาเซลเซียส กับ สภาวะที่เปลี่ยนแปลงที่อุณหภูมิ 840 องศาเซลเซียส
- 3.2.6 สภาวะทดสอบปกติที่ระยะเวลาในการรวบรวมสารตัวอย่าง (Equilibrate time) ที่ 30 วินาที กับ สภาวะที่เปลี่ยนแปลงที่ 28 วินาที
- 3.2.7 สภาวะทดสอบปกติที่ระยะเวลาในการวิเคราะห์ (Minimum analysis time) 40 วินาที กับ สภาวะที่เปลี่ยนแปลงที่ 35 วินาที
- 3.2.8 ซั่งตัวอย่างและเติมซูโครส นำไปวิเคราะห์ ตามสภาวะของแต่ละการทดลอง ทำการทดลอง ละ 5 ซ้ำ
- 3.2.9 คำนวณผลต่างตามค่าสัมบูรณ์ (E)
- 3.2.10 พิจารณาว่า E มากกว่า S : significant sensitive for changes
ถ้าค่า E น้อยกว่า S : no significant sensitive for changes

$$\text{โดย } S = \sqrt{2/7x \sum(E^2)}$$

4. สรุปและรายงานผลการทดลอง พร้อมวิเคราะห์ความคุ้มค่า โดยเปรียบเทียบต้นทุนการวิเคราะห์ ระยะเวลาการวิเคราะห์ ขั้นตอนการวิเคราะห์ที่เปลี่ยนแปลง และความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2565 สิ้นสุด กันยายน 2566

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

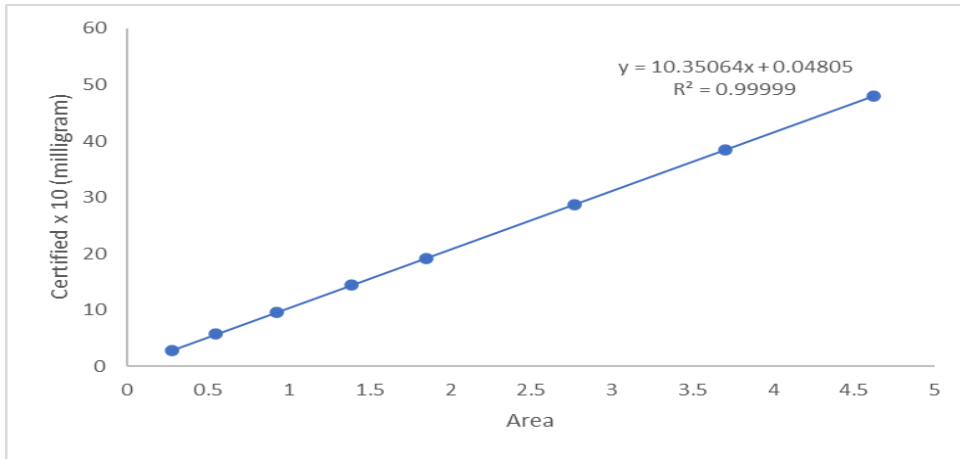
1. จัดเตรียม วัสดุ อุปกรณ์ ที่ต้องใช้ในการทดสอบ และจัดหาวัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Material; CRM) ที่มีค่า Certified Value และ Uncertainty ได้ดังนี้

- Urea 46.54 ± 0.08 %N (CRM-BCR 179)
- Calcium Ammonium Nitrate 26.019 ± 0.054 %N (CRM-BCR 178)
- Ammonium Dihydrogen Phosphate 12.13 ± 0.047 % Nitrogen (SRM No.194 NIST)

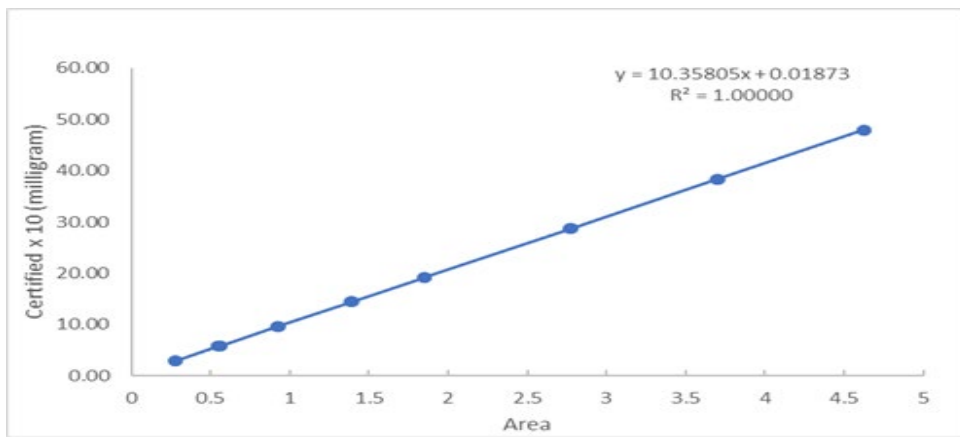
2. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

2.1 การศึกษาหาค่า Range and Linearity และผลกระทบของเมทริกซ์ (matrix effects)

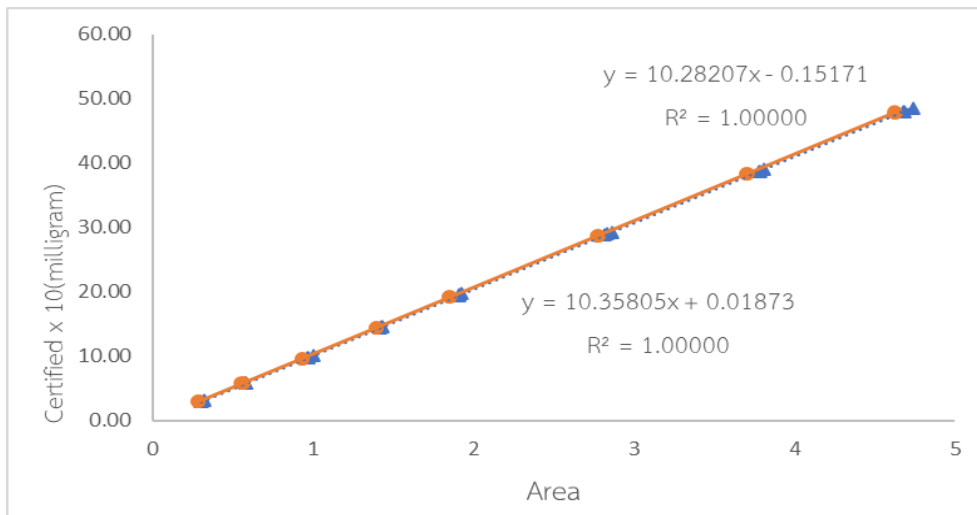
หาค่า Range and Linearity โดยสร้างกราฟระหว่างปริมาณไนโตรเจน(mg) (แกน y) กับพื้นที่ของสาร (Area) (แกน X) หาช่วงความเป็นเส้นตรง พบว่าอยู่ในช่วง 2.90-47.95 มิลลิกรัมไนโตรเจน ได้ค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99999 (ภาพที่ 1) เลือกเอาช่วง 2.90-47.95 มิลลิกรัมไนโตรเจน นำมาหาค่า Linearity ได้ค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 1.00000 (ภาพที่ 2) ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ



ภาพที่ 1 แสดงการหาช่วงความเป็นเส้นตรง (Range) ของการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด



ภาพที่ 2 แสดงผลการวิเคราะห์หาค่า Linearity ของการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด



ภาพที่ 3 แสดงผลการวิเคราะห์หาค่า Linearity ของการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดของสารมาตรฐาน และสารมาตรฐาน matrix effect

จากกราฟ (ภาพที่ 3) ความชันของ standard เท่ากับ 10.28207 และความชันของ matrix effect เท่ากับ 10.35805 เมื่อคำนวณความแตกต่างระหว่างความชันทั้งสอง เท่ากับ 0.73% ตามเกณฑ์ของ NATA Note 17 (2018) กำหนดไว้ว่าความชันของทั้งสองกราฟมีค่าแตกต่างกันไม่เกิน 10% ดังนั้น จึงไม่มี Matrix effect ต่อ standard curve

2.2 การประมาณขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ)

โดยการวัดวิเคราะห์ตัวอย่าง Sample blank จำนวน 10 ซ้ำ ได้ค่าเฉลี่ย เท่ากับ 0.11 %N และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับ 0.22 เมื่อนำมาคำนวณ ขีดจำกัดในการตรวจพบ (LOD) ได้เท่ากับ 0.08%N และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (LOQ) เท่ากับ 0.25%N

2.3 พิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) ความเที่ยง (Precision) ที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง

ซึ่งตัวอย่างปุย sample blank และเติมวัสดุอ้างอิงรับรองที่ความเข้มข้นที่กำหนด จำนวน 10 ซ้ำ ดำเนินการทดสอบตามวิธีทดสอบปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด โดยวิธี combustion 1.05.02 (ราชกิจจานุเบกษา, 2560) ได้ผลดังตารางที่ 1

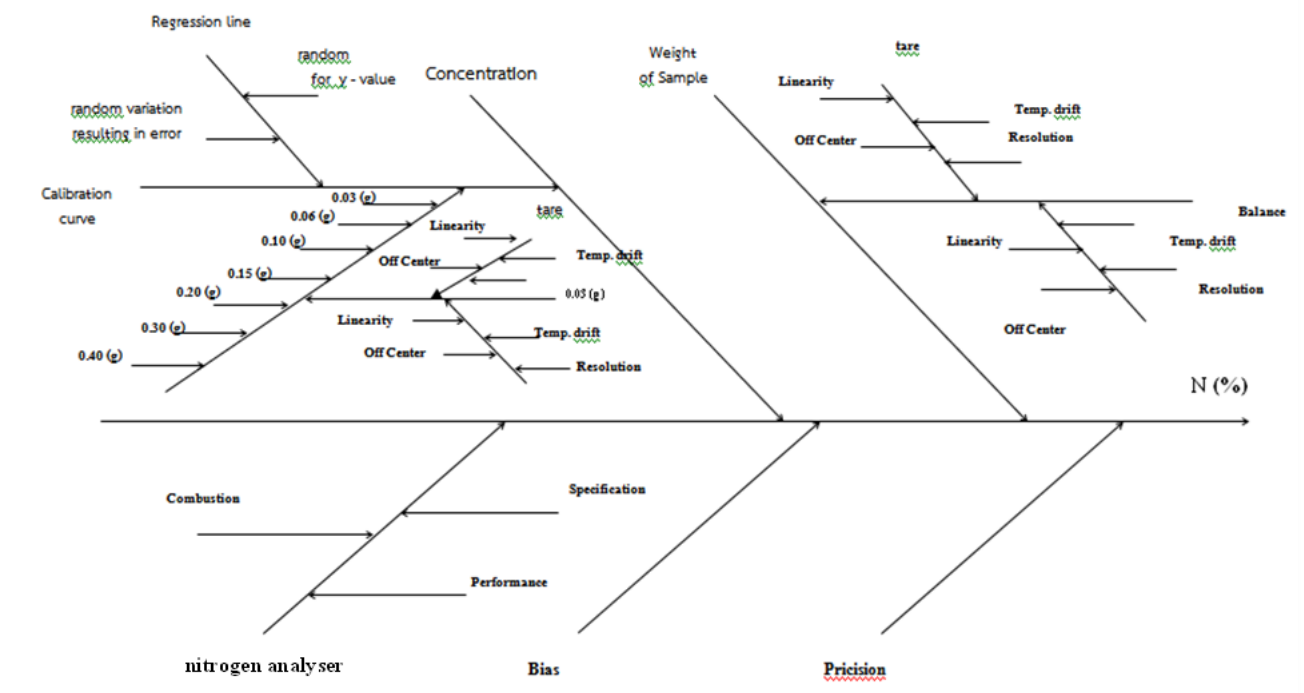
ตารางที่ 1 แสดงผลการพิสูจน์ความถูกต้องและความเที่ยง ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง

| ระดับความเข้มข้น | %Recovery | HorRat (เกณฑ์ยอมรับ <1.3) | เกณฑ์ยอมรับ %Recovery |
|-------------------|-----------|------------------------------|--------------------------|
| ต่ำ (LOQ, 0.5 %N) | 104.0 | 0.87 | 95-105 |
| กลาง (26.02 %N) | 99.62 | 0.33 | 98-102 |
| สูง (46.54 %N) | 99.96 | 0.13 | 98-102 |

3. ประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด (Measurement uncertainty) ตรวจสอบความคงทนของวิธีทดสอบโดยการเปลี่ยนแปลงสถานะเพียงเล็กน้อยจากสภาวะปกติ (Ruggedness)

3.1 ประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด (Measurement uncertainty)

รวบรวมข้อมูล repeatability ของอุปกรณ์และเครื่องมือเพื่อใช้ในการหาค่าความไม่แน่นอนของการวัด (Measurement uncertainty) นำมาทำแผนผังก้างปลา ได้ดังภาพที่ 4



ภาพที่ 4 แสดงแหล่งของความคลาดเคลื่อนตามผังก้างปลา

นำค่าความไม่แน่นอนของแต่ละแหล่งมาประเมินค่าความไม่แน่นอนในปุ๋ยของเหลว ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง ดังนี้ ความเข้มข้นต่ำ $\pm 0.008\%$ ความเข้มข้นกลาง $\pm 0.72\%$ ความเข้มข้นสูง $\pm 1.20\%$ โดยมีข้อมูลตามตารางที่ 2

ตารางที่ 2 สรุปค่า uncertainty ของการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด ใน ใน CRM :Urea ($46.54 \pm 0.08\%$) ที่เติมในตัวอย่างปุ๋ยของเหลว

| ระดับความเข้มข้น | uncertainty | % Relative measurement uncertainty |
|------------------|------------------|------------------------------------|
| ต่ำ | 0.52 ± 0.016 | 3.20 |
| กลาง | 25.92 ± 0.70 | 2.69 |
| สูง | 46.52 ± 1.24 | 2.66 |

3.2 ตรวจสอบความคงทนของวิธีทดสอบโดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อยจากสภาวะปกติ (Ruggedness) โดยมี 7 ตัวแปร จำนวน 8 การทดลอง

การเปลี่ยนแปลงสภาวะและสิ่งแวดล้อม โดยมี 7 ตัวแปร คือ ระยะเวลาการเผา (burn time) อุณหภูมิเตาเผา (Furnace temperature) ลักษณะของซูโครส แรงดันการปล่อยตัวอย่าง (Fill pressure drop) อุณหภูมิเตาส่วนหลังจากจากเผาไหม้ (After burner temperature) ระยะเวลาในการรวบรวมสารตัวอย่าง (Equilibrate time) และระยะเวลาในการวิเคราะห์ (Minimum analysis time) โดยใช้ Youden-Stainer testing ในการประเมินพบว่า ผลต่างตามค่าสัมบูรณ์ของธาตุไนโตรเจนที่ความเข้มข้น $0.5\%N$ มีค่าน้อยกว่า S แสดงว่า ไม่มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะ และสิ่งแวดล้อมดังกล่าว แต่ค่า ผลต่างตามค่าสัมบูรณ์ของธาตุไนโตรเจนที่ความเข้มข้น $46.37\%N$ ของภาวะแวดล้อม ลักษณะของซูโครส และระยะเวลาในการวิเคราะห์ (Minimum analysis time) มีค่ามากกว่า S แสดงว่า มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะตารางที่ 3, 4, 5, 6

ตารางที่ 3 ตัวแปรที่ใช้ในการทดสอบ Ruggedness

| Factor | normal (A-G) | change(a-g) |
|---------------------------------------|--------------|-------------|
| A : Burn time (sec) | 90 | 85 |
| B : Furnace temp ($^{\circ}C$) | 950 | 850 |
| C : Sucrose | บด | ไม่บด |
| D : Fill pressure drop (mm Hg) | 200 | 190 |
| E : After burner temp ($^{\circ}C$) | 850 | 840 |
| F : Equilibrate time (sec) | 30 | 28 |
| G : Minimum analysis time (sec) | 40 | 35 |

ตารางที่ 4 การทดสอบ Ruggedness ภายใต้ 7 ตัวแปร และ 8 สภาวะ

| analyst | symbol | | | | | | | design |
|---------|--------|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | A | B | C | D | E | F | G | 90 sec/950°C/บด/200mm Hg/850°C/30sec/40sec |
| 2 | A | B | c | D | e | f | g | 90 sec/950°C/ไม่บด/200mm Hg/840°C/28sec/35sec |
| 3 | A | b | C | d | E | f | g | 90 sec/940°C/บด/190mm Hg/850°C/28sec/35sec |
| 4 | A | b | c | d | e | F | G | 90 sec/940°C/ไม่บด/190mm Hg/840°C/30sec/40sec |
| 5 | a | B | C | d | e | F | g | 85 sec/950°C/บด/190mm Hg/840°C/30sec/35sec |
| 6 | a | B | c | d | E | f | g | 85 sec/950°C/ไม่บด/190mm Hg/850°C/28sec/35sec |
| 7 | a | b | C | D | e | f | G | 85 sec/940°C/บด/200mm Hg/840°C/28sec/40sec |
| 8 | a | b | c | D | E | F | g | 85 sec/940°C/ไม่บด/200mm Hg/850°C/30sec/35sec |

ตารางที่ 5 Mean and %recovery of N

| analyst | rep | value (%N) | |
|---------|-----------|--|---------------|
| | | 0.50% ((NH ₄) ₂ SO ₄) | 46.37% (Urea) |
| 1 | mean(R1) | 0.51 | 46.62 |
| | %recovery | 102.24 | 100.54 |
| 2 | mean(R2) | 0.51 | 46.41 |
| | %recovery | 102.16 | 100.09 |
| 3 | mean(R3) | 0.51 | 46.51 |
| | %recovery | 102.68 | 100.29 |
| 4 | mean(R4) | 0.52 | 46.66 |
| | %recovery | 103.28 | 100.63 |
| 5 | mean(R5) | 0.51 | 46.66 |
| | %recovery | 102.36 | 100.62 |
| 6 | mean(R6) | 0.52 | 46.52 |
| | %recovery | 103.48 | 100.33 |
| 7 | mean(R7) | 0.52 | 46.84 |
| | %recovery | 103.08 | 101.02 |
| 8 | mean(R8) | 0.52 | 46.43 |
| | %recovery | 103.32 | 100.14 |

ตารางที่ 6 Mean and %recovery of N in (NH₄)₂SO₄ and Urea

| analyst | rep | value (%N) | |
|----------------|---|--|---------------|
| | | 0.50% ((NH ₄) ₂ SO ₄) | 46.37% (Urea) |
| E _A | $\left(\frac{R1 + R2 + R3 + R4}{4}\right) - \left(\frac{R5 + R6 + R7 + R8}{4}\right)$ | -0.00235 | -0.06300 |
| E _B | $\left(\frac{R1 + R2 + R5 + R6}{4}\right) - \left(\frac{R3 + R4 + R7 + R8}{4}\right)$ | -0.00265 | -0.05900 |
| E _C | $\left(\frac{R1 + R2 + R5 + R7}{4}\right) - \left(\frac{R3 + R4 + R6 + R6}{4}\right)$ | -0.00235 | 0.14900 |
| E _D | $\left(\frac{R1 + R2 + R7 + R8}{4}\right) - \left(\frac{R3 + R4 + R5 + R6}{4}\right)$ | -0.00125 | -0.01000 |
| E _E | $\left(\frac{R1 + R3 + R6 + R8}{4}\right) - \left(\frac{R2 + R4 + R5 + R7}{4}\right)$ | 0.00105 | -0.12200 |
| E _F | $\left(\frac{R1 + R4 + R5 + R8}{4}\right) - \left(\frac{R2 + R3 + R6 + R7}{4}\right)$ | -0.00025 | 0.02400 |
| E _G | $\left(\frac{R1 + R4 + R6 + R7}{4}\right) - \left(\frac{R2 + R3 + R5 + R6}{4}\right)$ | 0.00195 | 0.16100 |
| | S | 0.0027 | 0.1426 |

4. วิเคราะห์ความคุ้มค่า โดยเปรียบเทียบต้นทุนการวิเคราะห์ระยะเวลาการวิเคราะห์ ขั้นตอนการวิเคราะห์ที่เปลี่ยนแปลง และความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ โดยพิจารณาหลักการของ cost benefit analysis ตารางที่ 10

4.1 ต้นทุนการวิเคราะห์ การประเมินทางด้านค่าใช้จ่าย ได้แก่ ความเสื่อมสภาพของเครื่องมือ เครื่องแก้ว วัสดุวิทยาศาสตร์ และสารเคมีพบว่า การวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดโดยหลักการเผามีค่าใช้จ่าย 104.40 บาทต่อตัวอย่าง การวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดโดยวิธี Kjeldahl มีค่าใช้จ่าย 90.65 บาทต่อตัวอย่าง

4.2 ระยะเวลาการวิเคราะห์ การวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดโดยหลักการเผาสามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้ 60 ตัวอย่าง/วัน การวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดโดยวิธี Kjeldahl สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้ 34 ตัวอย่าง/วัน

4.3 ขั้นตอนการวิเคราะห์ที่เปลี่ยนแปลง ขั้นตอนการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดโดยหลักการเผาจะมีขั้นตอนการวิเคราะห์ 3 ขั้นตอน และวิธี Kjeldahl มีขั้นตอนการวิเคราะห์ 5 ขั้นตอน

4.4 ด้านสิ่งแวดล้อม การวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดโดยหลักการเผาจะมีสิ่งเหลือทิ้งเป็นถ้าไม่เป็นอันตรายกับสิ่งแวดล้อม ในขณะที่การวิเคราะห์ด้วย วิธี kjeldahl จะมีสารเคมีที่เหลือทิ้งจากการวิเคราะห์ คือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ และน้ำที่มีฤทธิ์เป็นกรดจากการกำจัดไอกรดด้วยน้ำในขั้นตอนย่อย

4.5 ด้านความแม่นยำ การวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดโดยวิธีการเผาในปุ๋ยเหลวมีความถูกต้องแม่นยำ (AOAC, 2019)

ตารางที่ 7 ตารางเปรียบเทียบข้อดี ข้อเสีย ของการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดโดยหลักการเผา (combustion) และวิธี kjeldahl

| การประเมิน | วิธี combustion | | วิธี Kjeldahl | |
|--|-----------------|-------------------|----------------|-------------------|
| | ราคาเครื่องมือ | ความเสื่อมสภาพ/ปี | ราคาเครื่องมือ | ความเสื่อมสภาพ/ปี |
| 1.ด้านค่าใช้จ่าย/1 ตัวอย่าง | | | | |
| 1.1 ราคาเครื่องมือความเสื่อมสภาพของเครื่องมือ | | | | |
| เครื่องชั่ง(4ตำแหน่ง) | 100,000 | 0.38 | 100,000 | 0.38 |
| เครื่องมือวิเคราะห์ | 3,600,000 | 44.75 | 1,725,000 | 15 |

ตารางที่ 7 ตารางเปรียบเทียบข้อดี ข้อเสีย ของการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดโดยหลักการเผา (combustion) และวิธี kjeldahl (ต่อ)

| การประเมิน | วิธี combustion | | วิธี Kjeldahl | |
|--|--|-------------------|---|-------------------|
| | ราคาเครื่องมือ | ความเสื่อมสภาพ/ปี | ราคาเครื่องมือ | ความเสื่อมสภาพ/ปี |
| 1.2 เครื่องแก้วและวัสดุ วิทยาศาสตร์แก๊สสูงต้ม | 2.58 | | 39.52 | |
| 1.3 สารเคมี | 56.71 | | 34.11 | |
| สรุป ค่าใช้จ่าย/ตัวอย่าง | 104.40 | | 90.65 | |
| 2. ด้านผลกระทบต่อ สิ่งแวดล้อม | | | | |
| สารเหลือทิ้ง | เถ้าจากการเผา | | โซเดียมไฮดรอกไซด์ 200 มิลลิลิตร น้ำทิ้งที่มีฤทธิ์เป็นกรด | |
| 3. ด้านกรอบเวลา | | | | |
| จำนวนตัวอย่าง/วัน | 60 | | 34 | |
| ระยะเวลาวิเคราะห์/ตัวอย่าง | 3 ชั่วโมง | | 6 ชั่วโมง | |
| ขั้นตอนการวิเคราะห์ | 3 | | 5 | |
| 4. ด้านความถูกต้อง แม่นยำ (AOAC,2019) | | | | |
| % Recovery | ✓ | | ✓ | |
| HorRat | ✓ | | ✓ | |
| การประเมิน | วิธีการเผา | | วิธี Kjeldahl | |
| 5. ข้อดี | <ul style="list-style-type: none"> - ขั้นตอนการปฏิบัติงานน้อย ไม่ยุ่งยาก - ใช้แรงงานน้อย - ไม่สิ้นเปลืองสารเคมี - ปริมาณของเสียน้อย - ใช้ระยะเวลาวิเคราะห์รวดเร็ว | | <ul style="list-style-type: none"> - สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ ราคาไม่สูง | |
| 6. ข้อเสีย | <ul style="list-style-type: none"> - เครื่องมือแสะสารเคมีที่ใช้ในการ วิเคราะห์ราคาสูง | | <ul style="list-style-type: none"> - ใช้ผู้วิเคราะห์ที่มีความชำนาญ - โอกาสที่จะเกิดการวิเคราะห์ไม่ สมบูรณ์ได้ง่าย - มีปริมาณของเสียจากการวิเคราะห์ - มีขั้นตอนการวิเคราะห์หลายขั้นตอน และใช้เวลามาก | |

สรุปผลการทดลอง

การทดลองตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเหลว ปริมาณที่ต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (LOD) เท่ากับ 0.08%TN และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ (LOQ) เท่ากับ 0.25% TN ดำเนินการพิสูจน์ Accuracy และ Precision ของ LOQ ที่ความเข้มข้น 0.5% ที่ระดับความเข้มข้นกลาง 26.02% สูง 46.54% มีค่าความแม่นยำซึ่งหาได้จากร้อยละของค่าคืนกลับ (Recovery) เท่ากับ 104 99.62 และ 99.96 ตามลำดับ และมีความเที่ยงโดยประเมินจาก HorRat ในช่วง 0.13-0.83 ผ่านเกณฑ์ยอมรับตามมาตรฐานสากล การวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเหลวโดยหลักการเผา ใช้ระยะเวลา สารเคมี และแรงงาน น้อยกว่าวิธี Kjeldahl แต่มีค่าใช้จ่ายในส่วนของการวิเคราะห์และการดูแลรักษาเครื่องที่มากกว่า เทคนิคการทำงานในการชั่งตัวอย่างหากเป็นตัวอย่างที่มีความเข้มข้นต่ำ หรือตัวอย่างที่มีความเข้มข้นหนืด ควรชั่งใส่ Tin foil ที่บรรจุด้วยดินเบา แต่การใช้ดินเบาในการวิเคราะห์ทำให้ค่าใช้จ่ายเพิ่มสูงขึ้น

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. นำวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนในปุ๋ยของเหลวโดยหลักการเผามาใช้ในงานบริการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ย ของกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร
2. สามารถนำไปถ่ายทอดให้ห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ย ที่สนใจวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด โดยหลักการเผา

คำขอบคุณ

รายงานวิจัยฉบับนี้ อยู่ภายใต้โครงการพัฒนาระบบการรับรองมาตรฐานการตรวจสอบคุณภาพปุ๋ยตามมาตรฐานสากล แผนงานวิจัยเรื่อง พัฒนาระบบการตรวจรับรองคุณภาพปัจจัยการผลิตเพื่อสร้างมาตรฐานและยกระดับคุณภาพห้องปฏิบัติการในประเทศไทย ได้รับทุนสนับสนุนจากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์วิจัยและนวัตกรรม สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) สามารถดำเนินงานได้สำเร็จตามวัตถุประสงค์ ด้วยความช่วยเหลือจาก บุคคลากรและเจ้าหน้าที่ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ที่ช่วยในการดำเนินการทั้งในด้านเอกสาร การเตรียมตัวอย่าง และดำเนินการวิจัย คณะผู้วิจัยจึงขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

เอกสารอ้างอิง

- ราชกิจจานุเบกษา. 2560. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ.2559. เล่ม 134 ตอนพิเศษ 2 ง 4 มกราคม 2560.
- อาธิยา ปุ่นประโคน ทองจันทร์ พิมพ์เพชร และวรรณรัตน์ ชูติบุตร. 2561. พัฒนาวิธีวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยโดยเทคนิคคอมบัสชัน. หน้า 97-102. ใน รายงานผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2561 เล่มที่ 1 กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร.
- Association of analytical communities (AOAC). 2019. Official Methods of Analysis of AOAC International. 20th ed. AOAC International Inc., Maryland, USA.
- NATA Technical Note 17.2018. General Accreditation Guidance - validation and verification of quantitative and qualitative test methods.

พัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์ และจัดทำเกณฑ์มาตรฐานการตรวจรับรอง
สารปรับปรุงดินปูนมาร์ล

Developing standard analytical technique for certifying Marl- soil
conditioner

ญาณธิชา จิตต์สะอาด สุภา โปธิจันทร์ สงกรานต์ มะลิสอน พจมาลย์ ภู่อสาร
จิตติรัตน์ ชูชาติ กัญฐณา คล้ายแก้ว กอริอะ บิลหลี จริรัตน์ กุศลวิริยะวงศ์ วรณรัตน์ ชุตติบุตร
Yanthicha Jittsa-add Supha Photichan Songkrant Malisorn Pojjamarn Poosarn
Jittirat Choochat Kanthana KlaiGaew Charirat KusunwiriyaWong Wannarat Chutibut

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

X-Ray Diffraction is a technique used to quickly and non-destructively analyze the crystalline structure of compounds contained in the sample. Marl or calcite is a calcium carbonate compound. Studying marl with copper metal energy (Cu K α) of 1.5406 Å , Scan range 7 – 115 °2 θ , Step size 0.0217° and Time per step 30 s in overall measurement time 10.27 minutes. Using the Rietveld refinement method. Crystalline phases were confirmed using the search library match databases ICDD (PDF-4). The LOQ values were at levels 1.04%, with a correlation coefficient (r) indicating the linearity of the Linearity range passed the criteria. Trueness with %Recovery passed the criteria 98-102% , with HorRat values < 1.3 at low, medium and high concentrations as specified by the standard, with precision passed the criteria. Measurement Uncertainty 1.04 \pm 0.02, 39.92 \pm 0.98 and 99.26 \pm 2.2 Respectively. In conclusion, marl analysis by using XRD, the accuracy, reliability and traceability of the results ensure confidence in the analysis results, is accepted according to international standards. and can be used as a standard criterion for laboratory analysis.

Keyword: Method validation, Marl, X-Ray Diffraction

บทคัดย่อ

เทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD) ใช้ในการวิเคราะห์สมบัติเชิงโครงสร้างผลึกและส่วนประกอบเชิงแร่ของสารตัวอย่างแบบรวดเร็วและไม่ทำลายตัวอย่าง โดยหาสภาวะเครื่องมือที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณปูนมาร์ลที่มีองค์ประกอบเป็นสารประกอบแคลเซียมคาร์บอเนตหรือแคลไซต์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี พบว่า ใช้รังสีเอกซ์ที่มีเป้าเป็นโลหะทองแดง (Cu K α) ความยาวคลื่น 1.5406 Å สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ด้วยค่ามุม 7 – 115 °2 θ ขนาด Step size 0.0217° ใช้เวลาแต่ละ step 30 วินาที เวลาในการวิเคราะห์ตัวอย่าง 10.27 นาที วิเคราะห์ข้อมูลด้วยเทคนิค Rietveld refinement และตรวจสอบกับฐานข้อมูลมาตรฐาน ICDD (PDF-4) ได้ปริมาณต่ำสุดที่รายงานผลได้ร้อยละ 1.04 มีค่า correlation coefficient (r) ที่แสดงความเป็นเส้นตรง การพิสูจน์ความถูกต้อง มี %Recovery ร้อยละ 98-102 พิสูจน์ความเที่ยง โดยมีค่า HorRat < 1.3 ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และ สูง ผ่านเกณฑ์กำหนดตามมาตรฐาน มีค่าความไม่แน่นอนเท่ากับ 1.04 \pm 0.02, 39.92 \pm 0.98 และ 99.22 \pm 2.2 ตามลำดับ สรุปว่า ในการวิเคราะห์ปูนมาร์ล โดยใช้เครื่อง XRD มีความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ สอบกลับได้ ทำให้เกิดความเชื่อมั่นในผลการวิเคราะห์ เป็นที่ยอมรับตามมาตรฐานสากล และสามารถนำไปใช้เป็นเกณฑ์มาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

คำสำคัญ: การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี ปูนมาร์ล เทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD)

คำนำ

ปูนมาร์ล (Marl) หรือ ดินมาร์ล เป็นสารปรับปรุงดินประเภทวัสดุปูนเพื่อการเกษตร (Agricultural lime) ชนิดหนึ่งที่มีเนื้อเป็นสารประกอบแคลเซียมคาร์บอเนต หรือแคลไซต์ (CaCO₃) ผสมกับดินเหนียว (Clay) สัดส่วน 35:65 หรือ 65:35 มีสัดส่วนไม่แน่นอน มีสีขาว หรือขาวขุ่นปนน้ำตาล (ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2549 และ กรมพัฒนาที่ดิน, 2556) เป็นหินปูนที่มีลักษณะเนื้อค่อนข้างร่วน ใช้ปรับปรุงดินเปรี้ยวเพื่อแก้ความเป็นกรดของดิน เป็นวัสดุปรับปรุงดินที่ให้แคลเซียมซึ่งมีประโยชน์สำหรับพืช มีราคาถูกกว่าปูนขาวหรือโดโลไมท์ เนื่องจากใช้ต้นทุนในการผลิตที่ต่ำกว่า จึงเป็นทางเลือกหนึ่งสำหรับการเกษตร การทดสอบเพื่อให้ทราบว่าเป็นปูนมาร์ล ต้องทำการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและกายภาพในห้องปฏิบัติการหลายรายการวิเคราะห์ เช่น ค่าความสามารถทำให้เป็นกลาง (CCE) แคลเซียมออกไซด์ (CaO) แมกนีเซียมออกไซด์ (MgO) ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ความชื้น และขนาดอนุภาค (ASTM, 2016) ซึ่งต้องใช้ระยะเวลาในการวิเคราะห์นาน และวิธีดังกล่าวยังไม่สามารถบ่งบอกองค์ประกอบของปูนได้โดยตรง

การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-Ray Diffraction ; XRD) เป็นเทคนิคที่ไม่ทำลายตัวอย่าง สามารถวิเคราะห์ได้รวดเร็ว แม่นยำ ลดต้นทุนในการใช้สารเคมี และไม่ทำลายสิ่งแวดล้อม วิเคราะห์ได้ทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณ โดยทำการวิเคราะห์โครงสร้างผลึก (Crystalline Structure) ของสารประกอบและแร่ที่มีอยู่ในสารตัวอย่าง โดยทำการวัดค่าความเข้มของรังสีที่สะท้อนออกมาที่มุมต่างๆ เปรียบเทียบกับข้อมูลมาตรฐานที่ทำการตรวจวัดโดยองค์กร The International Centre for Diffraction Data (ICDD, 2019) เนื่องจากสารประกอบแต่ละชนิดมีรูปแบบโครงสร้างผลึกแตกต่างกันและระยะห่างระหว่างระนาบของอะตอมที่จัดเรียงกันอย่างเป็นระเบียบแตกต่างกัน โดยที่ขนาดและประจุของอะตอมของสารประกอบแต่ละชนิดจะมีรูปแบบ (XRD pattern) เฉพาะตัว เปรียบได้กับลายนิ้วมือของคนที่แตกต่างกัน ผลการวิเคราะห์จาก XRD สามารถแยกแยะประเภทและชนิดของวัสดุที่พบว่ามีรูปแบบโครงสร้างผลึกแบบใดหรือจำแนกได้ว่าวัสดุที่พบเป็นสารประกอบหรือแร่ชนิดใด (Reid *et al.*, 2006) ทำให้สามารถนำเทคนิคนี้มาประยุกต์ใช้เพื่อในการตรวจสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์สารปรับปรุงดินปูนมาร์ลได้ การนำวิธีวิเคราะห์ดังกล่าวมาใช้จำเป็นต้องมีการพัฒนาเทคนิควิธีการวิเคราะห์ เพื่อหาสภาวะที่ถูกต้องในการใช้เครื่องมือ และตรวจสอบความ

ใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ โดยพิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) ความเที่ยง (Precision) ช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง (Linearity) ปริมาณต่ำสุดของสารที่สามารถตรวจวัด (Limit of detection ; LOD) และรายงานผลได้ (Limit of Quantitation ; LOQ) เพื่อให้มั่นใจในความถูกต้อง เที่ยงตรง และเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ตามมาตรฐานสากล

ปัจจุบันมีการใช้สารปรับปรุงดินอย่างแพร่หลาย แต่ยังไม่มีการควบคุมคุณภาพของสารปรับปรุงดิน ห้องปฏิบัติการกรมวิชาการเกษตรจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาแนวทางการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีการวิเคราะห์ดังกล่าว ให้ความเหมาะสมกับประเภทตัวอย่าง เพื่อให้สามารถนำเทคนิควิธีวิเคราะห์ดังกล่าวมาใช้วิเคราะห์ได้ในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ นอกจากนี้ ยังเป็นการลดมลภาวะที่เกิดจากห้องปฏิบัติการจากการลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายที่ใช้ในการวิเคราะห์ รวมทั้งลดต้นทุน และระยะเวลาในการวิเคราะห์

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องมือและวัสดุทางวิทยาศาสตร์
 - 1.1 เครื่องวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-Ray Diffractometer; XRD)
 - 1.2 เครื่องบด XRD mill
 - 1.3 เครื่องชั่งอย่างละเอียดทศนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง
 - 1.4 ที่ใส่ตัวอย่าง (Sample holder)
 - 1.5 เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์ทดสอบ
2. สารเคมี
 - 2.1 สารมาตรฐานแคลเซียมคาร์บอเนตความบริสุทธิ์ 99.6% (CaCO_3)
 - 2.2 สารมาตรฐานแคลเซียมแมกนีเซียมคาร์บอเนตความบริสุทธิ์ 98.0% ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$)
 - 2.3 สารมาตรฐานแคลเซียมไฮดรอกไซด์ความบริสุทธิ์ 98% ($\text{Ca}(\text{OH})_2$)
 - 2.4 สารมาตรฐานแคลเซียมซัลเฟตไดไฮเดรตความบริสุทธิ์ 99.7% ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
 - 2.5 สารมาตรฐานแมกนีเซียมไฮดรอกไซด์ความบริสุทธิ์ 95.0% ($\text{Ca}(\text{OH})_2$)
 - 2.6 Isopropyl alcohol

วิธีการ

1. พัฒนารูปวิธีวิเคราะห์สารปรับปรุงดินปูนมาร์ลด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์
 - 1.1 เตรียมสารมาตรฐาน สำหรับการใช้ในการวิเคราะห์ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ ปริมาณ 1 - 2 กรัม ในรูปของแข็งที่เป็นผงขนาดเล็กกว่า 45 ไมครอน จะถูกบรรจุลงใน Sample holder ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 27 มิลลิเมตร ความหนา 2 มิลลิเมตร และอัดด้วยแรงสม่ำเสมอเท่ากันทุกทิศทางจนมีผิวหน้าเรียบ และมีการจัดเรียงตัวของผลึกอย่างอิสระ (random orientation)
 - 1.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมการวิเคราะห์ปริมาณปูนมาร์ลหรือแคลไซต์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์
 - 1.2.1 เตรียมตัวอย่างสารมาตรฐาน CaCO_3 ตามข้อ 1.1 นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง XRD ใช้รังสีเอกซ์ที่มีเป้าเป็น (Cu $\text{K}\alpha$) ความยาวคลื่น 1.5406 Å ที่ 25 องศาเซลเซียส (Cu anode, $\text{K}\alpha$ at wavelength 1.5906 Å at 25 °C) รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ (XRD Patterns) ถูกประเมินด้วยเทคนิค Rietveld Refinement โดยใช้โปรแกรม PANalytical X'Pert High Score plus (Ver. 4.9a (4.9.1.29739) 2021;

Malvern PANalytical B.V. Almelo, The 'Netherlands) เพื่อตรวจสอบชนิดของสารประกอบ ข้อมูลโครงสร้างผลึกและส่วนประกอบเชิงแร่ (Crystalline phase) ที่มีอยู่ในตัวอย่าง โดยอ้างอิงจากค่า 2θ ของตำแหน่งพีค (Position) ค่าระยะห่างระหว่างผลึก (d-spacing) และค่าดัชนีมิลเลอร์ (hkl) ของผลึก (Miller indices (hkl) values) และตรวจสอบกับฐานข้อมูลอ้างอิง ICDD (PDF-4) (ICDD, 2019)

1.2.2 ปรับสถานะของเครื่อง ได้แก่ ช่วงค่ามุมที่วัด, Step size, Time per step, Divergence slit และ Beam mask

1.2.3 เลือกสถานะที่เหมาะสมโดยการพิจารณา ช่วงค่ามุมที่วัดของ XRD Patterns ครอบคลุมทุกพีค มีลำแสงของรังสีที่ตกกระทบและความคมชัดของพีคที่เหมาะสม และมี %Recovery ของสารมาตรฐานแคลเซียมคาร์บอเนต ผ่านเกณฑ์กำหนด 98-102 %

1.3 ศึกษาการรบกวนกันขององค์ประกอบปูนมาร์ลหรือแคลไซต์กับสารปรับปรุงดินชนิดอื่น (Matrix effect)

1.3.1 โดยผสม CaCO_3 กับ $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ และ $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ที่ความเข้มข้นของ CaCO_3 ต่ำ กลาง และสูง เตรียมตัวอย่าง ตามข้อ 1.1 นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง XRD ในเวลาเดียวกัน โดยทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

1.3.2 คำนวณ และประเมิน % Recovery ของสารมาตรฐาน CaCO_3 ตามเกณฑ์กำหนด (AOAC, 2016) ดังแสดงตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงเกณฑ์การยอมรับ % Recovery

| Unit | Mean recovery, % |
|-------------|------------------|
| 100% | 98 – 102% |
| 10% | 98 – 102% |
| 1% | 97 – 103% |
| 0.1% | 95 – 105% |
| 100 (mg/kg) | 90 – 107% |
| 10 (mg/kg) | 80 – 110% |
| 1 (mg/kg) | 80 – 110% |

2. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์เชิงปริมาณของปูนมาร์ลหรือแคลไซต์

2.1 การหาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) โดยการใช้ $\text{Mg}(\text{OH})_2$ ผสม CaCO_3 ให้ได้ CaCO_3 ที่ความเข้มข้น จำนวน 8 ความเข้มข้น ทำการวิเคราะห์ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของ % CaCO_3 ที่ได้ กับผลการวัด % CaCO_3 ด้วยเครื่อง XRD

2.2 ศึกษาขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) โดยการใช้ $\text{Mg}(\text{OH})_2$ เป็นตัวอย่างที่ไม่มีสารที่สนใจ (Sample blank) ผสม CaCO_3 ในปริมาณน้อย เพื่อศึกษา LOD ทำการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ (โดยทำการทดสอบที่เวลาแตกต่างกัน วันละ 1 ซ้ำเป็นเวลา 10 วัน) คำนวณหาค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน คำนวณค่า LOD และ LOQ จากสมการ \bar{x}

$$\text{LOD} = \bar{x} + 3\text{SD} \quad \dots\dots\dots 1)$$

$$\text{LOQ} = \bar{x} + 10\text{SD} \quad \dots\dots\dots 2)$$

\bar{x} หมายถึง ค่าเฉลี่ยของการทำซ้ำของตัวอย่าง Sample blank

SD หมายถึง ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานการทำซ้ำของตัวอย่าง Sample blank

2.3 คีตาษาซัดจำกััดในการวัดเซ็งปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ) จากกาารพิสูจน์ โดยการใช้ Mg(OH)₂ เป็นตัวอย่างที่ไมม่สารที่สนใจ (Sample blank) ผสม CaCO₃ ที่ระดับความเข้มข้นที่ได้จากกาารพิสูจน์ ทำการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ (โดยทำการทดสอบที่เวลาแตกต่างกัน วันละ 1 ซ้ำเป็นเวลา 10 วัน)

2.4 พิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ความเข้มข้นระดับ LOQ กลาง สูง โดยผสมสารมาตรฐาน CaCO₃ ที่ความเข้มข้น LOQ กลาง สูง ดำเนินการทดสอบตามวิธีทดสอบที่กำหนด (โดยทำการทดสอบที่เวลาแตกต่างกัน วันละ 1 ซ้ำเป็นเวลา 10 วัน) บันทึกผลปริมาณแคลไซต์ในหน่วยเปอร์เซ็นต์ (%) ประเมินความถูกต้องโดยเปรียบเทียบค่าที่ทดสอบได้กับค่ามาตรฐาน โดยการพิจารณา % Recovery (98-102) และประเมินความเที่ยงโดยพิจารณาจากค่า HorRat < 1.3 โดยใช้เกณฑ์กำหนดตามมาตรฐาน (AOAC, 2016)

2.4.1 การคำนวณ % Recovery จากสูตร

$$\% \text{ Total recovery} = \frac{\text{ความเข้มข้นของ fortified sample} \times 100}{\text{ความเข้มข้นของตัวอย่างเริ่มต้น} + \text{ความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมลงไป}}$$

กรณีการวิเคราะห์ CRM/IRM

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

2.4.2 การคำนวณ Precision

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

โดยที่

$$RSD (r) = \frac{SD}{mean} \times 100$$

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

2.5 คำนวณค่าความไม่แน่นอนที่ความเข้มข้นระดับ LOQ กลาง และ สูง (Eurachem, 2012)

2.5.1 รวบรวมแหล่งที่มาของค่าความไม่แน่นอน ดังนี้

- ค่าความไม่แน่นอน Type A ได้แก่ การวิเคราะห์ซ้ำในการหาความเที่ยง (Precision)
- ค่าความไม่แน่นอน Type B ได้แก่ ค่าความไม่แน่นอนของน้ำหนักตัวอย่าง ค่าความเอนเอียง (Bias) ค่าความไม่แน่นอนของ XRD และค่าความไม่แน่นอนของ Atomic weights

2.5.2 คำนวณค่าความไม่แน่นอนแต่ละแหล่ง

2.5.3 รวมค่าความไม่แน่นอนจากทุกแหล่ง (combined uncertainty)

2.5.4 คำนวณค่าความไม่แน่นอนแบบขยาย

3. ทดสอบวิธีกับตัวอย่างสารปรับปรุงดินในท้องตลาด

ระยะเวลา เริ่มต้น 1 ตุลาคม 2564 สิ้นสุด 30 กันยายน 2566 รวม 2 ปี

สถานที่ทำการทดลอง

ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. พัฒนาวิธีวิเคราะห์สารปรับปรุงดินปูนมาร์ลด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์

1.1 สภาพของเครื่อง XRD ที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณปูนมาร์ลหรือแคลไซต์ ใช้รังสีเอกซ์ที่มีเป้าเป็นโลหะทองแดง (Cu K α) ความยาวคลื่น 1.5406 Å วิเคราะห์ด้วยค่ามุมที่ 7 – 115 °2 θ ขนาด Step size 0.02° ใช้เวลาวิเคราะห์แต่ละ step 30 วินาที ขนาด Divergence slit 1/2° และขนาด Beam mask 23 มิลลิเมตร วิเคราะห์ข้อมูลโครงสร้างผลึกและส่วนประกอบเชิงแร่ด้วยเทคนิค Rietveld refinement พบว่ามีค่า 2 θ ของตำแหน่งพีคหลัก และค่าดัชนีมิลเลอร์ (hkl) ของผลึก เท่ากับ 29.37° (1 0 4), 35.94° (1 1 0), 39.37° (1 1 3), 43.12° (2 0 2), 47.45° (0 1 8) และ 48.45° (1 1 6) ค่าระยะห่างระหว่างผลึก (d-spacing) เท่ากับ 3.04 ใช้เวลาวิเคราะห์รวมเท่ากับ 10.27 นาที สามารถเทียบกับฐานข้อมูลอ้างอิง ICDD (PDF-4) พบว่าสารมาตรฐาน CaCO₃ สอดคล้องกับฐานข้อมูลอ้างอิง ICDD 01-072-1937 ซึ่งระบุว่าเป็นสารประกอบแคลเซียมคาร์บอเนตหรือแร่แคลไซต์ (Calcite) ที่มีโครงสร้างผลึกแบบบรอมโบฮีดรัล (Rhombohedral) และมีรูปแบบ (XRD pattern) เฉพาะตัว

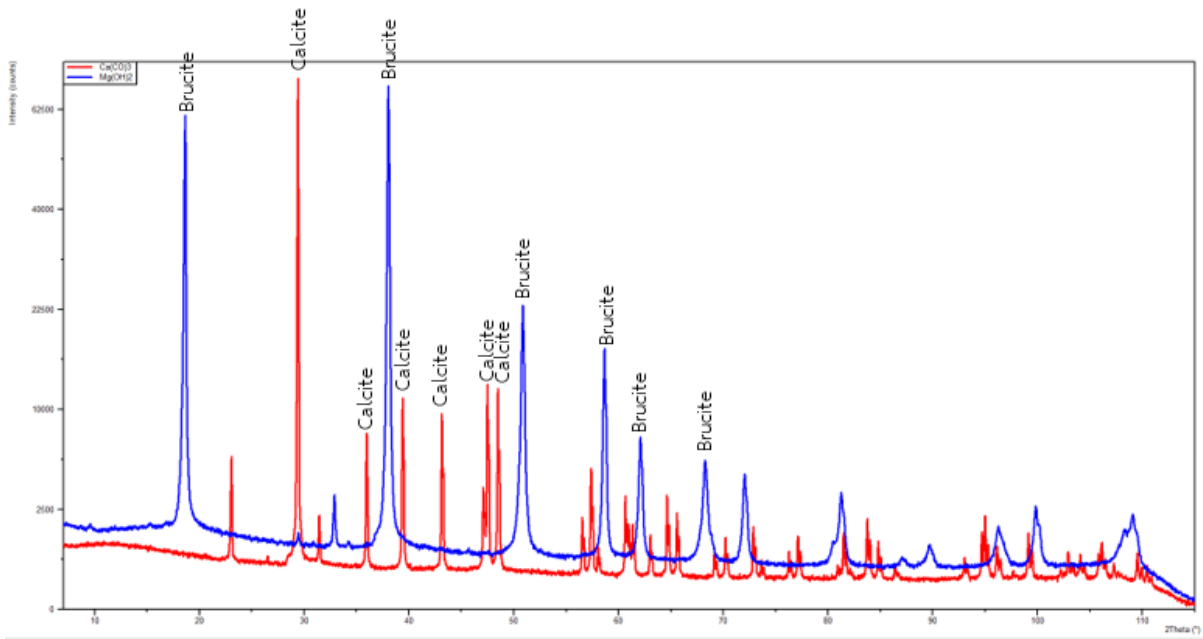
1.2 ผลการศึกษาการรบกวนกันขององค์ประกอบปูนมาร์ลกับสารปรับปรุงดินชนิดอื่น (Matrix effect) ในการวัดด้วยเครื่อง XRD ในเวลาเดียวกัน โดยผสม CaCO₃ กับ CaMg(CO₃)₂, Ca(OH)₂ และ CaSO₄•2H₂O ที่ความเข้มข้นของ CaCO₃ ต่ำ กลาง และสูง โดยทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ พบว่าที่ความเข้มข้น \leq 9.95% มีการรบกวนกันมาก คิดเป็น %recovery ในช่วง 114.17 - 227.14 % และที่ความเข้มข้น $>$ 9.95% มีการรบกวนกันน้อยคิดเป็น %recovery ในช่วง 92.38 – 106.96 % ขององค์ประกอบปูนมาร์ลกับสารปรับปรุงดินชนิดอื่น (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 การรบกวนกันขององค์ประกอบสารปรับปรุงดินปูนมาร์ลกับสารปรับปรุงดินชนิดอื่น (Matrix effect)

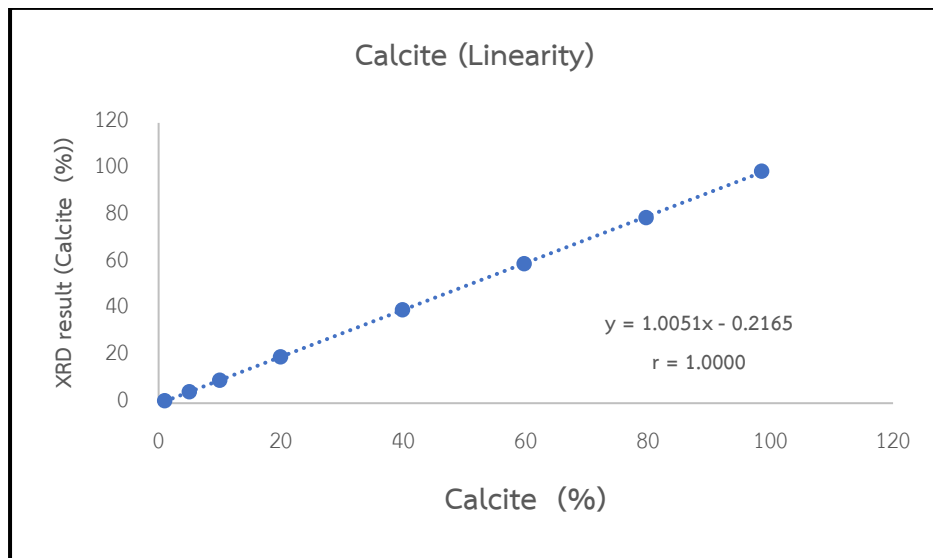
| %CaCO ₃ | XRD result (%CaCO ₃) | %recovery |
|--------------------|----------------------------------|-----------|
| 0.99 | 2.24 | 227.14 |
| 5.00 | 6.91 | 138.21 |
| 9.95 | 11.36 | 114.17 |
| 19.67 | 21.03 | 106.93 |
| 39.79 | 38.09 | 95.73 |
| 56.60 | 52.29 | 92.38 |
| 79.45 | 74.68 | 93.99 |
| 89.06 | 88.83 | 99.73 |

2. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์เชิงปริมาณของปูนมาร์ลหรือแคลไซต์

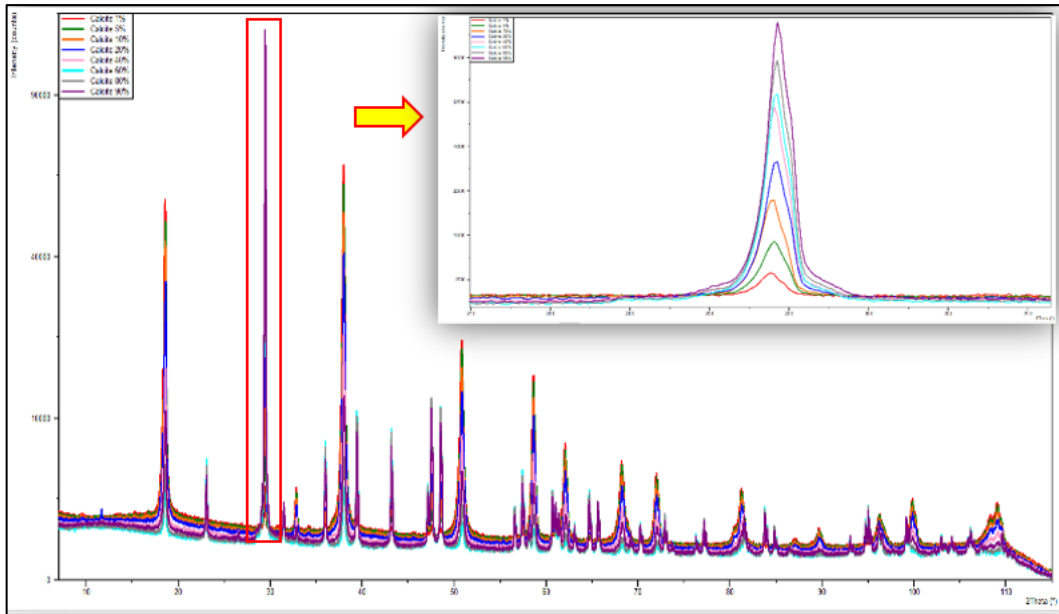
2.1 ผลศึกษาการหาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) โดยการใช้ Mg(OH)₂ ผสม CaCO₃ ซึ่งมีรูปแบบ (XRD pattern) เฉพาะตัว ตำแหน่งพีคหลักไม่ซ้อนทับกัน (ภาพที่ 1) โดยเตรียมความเข้มข้นของ CaCO₃ ช่วงประมาณ 1-99% ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของ %CaCO₃ ที่ได้ กับผลการวัด %CaCO₃ จากเครื่อง XRD ได้ค่า Correlation coefficient, $r = 1.0000$ (ภาพที่ 2) และแสดงการดูดกลืนแสงความเข้มของรังสีเอกซ์ (Intensity) ของ CaCO₃ (Calcite) ที่ตำแหน่ง peak สูงสุด (2 $\theta = 29.37^\circ$) (ภาพที่ 3 (a)-(b))



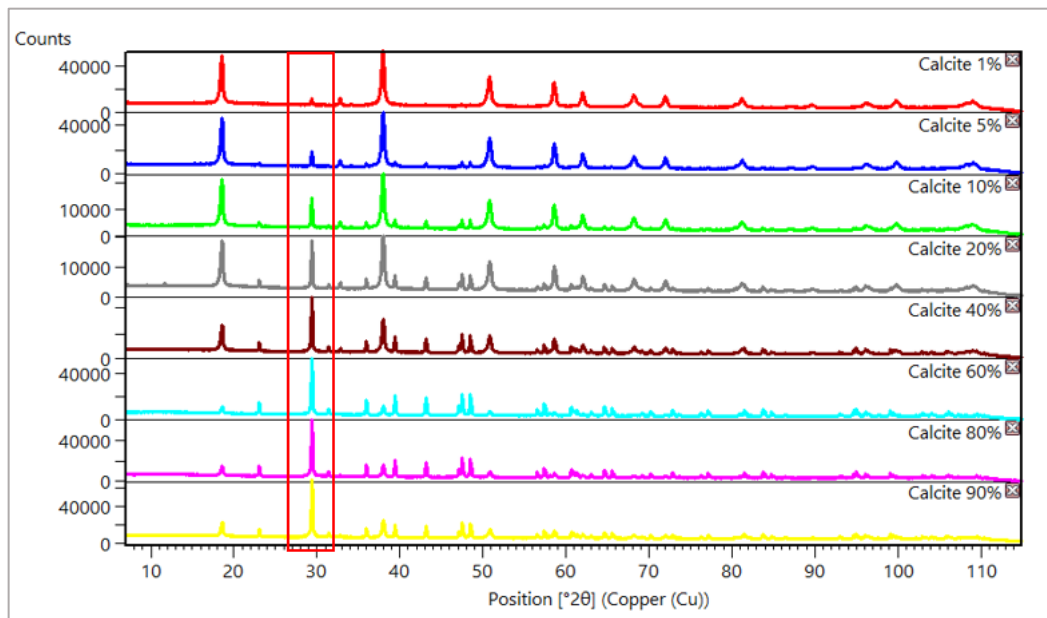
ภาพที่ 1 รูปแบบ (XRD pattern) ของ CaCO_3 (Calcite) และ Mg(OH)_2 (Brucite) ที่มีรูปแบบเฉพาะตัว



ภาพที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ CaCO_3 (Calcite) กับผลการวัดจากเครื่อง XRD ช่วงความเข้มข้นประมาณ 1-99%



(a)



(b)

ภาพที่ 3 การดูกลืนแสงความเข้มของรังสีเอกซ์ (Intensity) ของ %CaCO₃ (Calcite) ที่ตำแหน่ง peak สูงสุด (2θ = 29.37°) ช่วงความเข้มข้นประมาณ 1-90%

2.2 ผลการศึกษาขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) โดยการใช้ Mg(OH)₂ เป็นตัวอย่างที่ไม่มีสารที่สนใจ (Sample blank) ผสม CaCO₃ ในปริมาณน้อย เพื่อศึกษา LOD ทำการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ พบว่า มีค่า LOD เท่ากับ 0.12 และ LOQ ที่ได้จากการคำนวณ เท่ากับ 0.40 (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ไม่มีสารที่สนใจ (Sample blank) ผสมกับ CaCO₃ ในปริมาณน้อย ด้วยเครื่อง XRD

| Rep. | XRD result (%CaCO ₃) |
|-------------|----------------------------------|
| 1 | 0.42 |
| 2 | 0.45 |
| 3 | 0.41 |
| 4 | 0.46 |
| 5 | 0.50 |
| 6 | 0.47 |
| 7 | 0.49 |
| 8 | 0.43 |
| 9 | 0.41 |
| 10 | 0.51 |
| Average (x) | 0.46 |
| SD | 0.04 |
| LOD (3SD) | 0.12 |
| LOQ (10SD) | 0.40 |

2.3 ผลการศึกษาขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ) จากการพิสูจน์โดยใช้ Mg(OH)₂ เป็นตัวอย่างที่ไม่มีสารที่สนใจ (Sample blank) ผสม CaCO₃ ที่ความเข้มข้น 1.04 % เพื่อศึกษา LOQ จากการพิสูจน์ ทำการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ พบว่า มีค่า LOQ จากการพิสูจน์ เท่ากับ 1.04 (ตารางที่ 4)

2.4 พิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ความเข้มข้นระดับ LOQ กลาง สูง เตรียมสารมาตรฐานโดยผสมสารมาตรฐาน CaCO₃ กับ sample blank (Mg(OH)₂) ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (ระดับ LOQ) ระดับความเข้มข้นกลาง และระดับความเข้มข้นสูง วิเคราะห์เชิงปริมาณโดยวัดด้วยเครื่อง XRD ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ วัดวันละ 1 ซ้ำเป็นเวลา 10 วัน ประเมิน ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) พบว่า

2.4.1 ที่ระดับ LOQ เตรียมความเข้มข้นของ CaCO₃ ได้เท่ากับ 1.04 % วิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยเครื่อง XRD ได้ความเข้มข้นเฉลี่ย เท่ากับ 1.04 % มีค่าถูกต้อง (Trueness) ที่แสดง % Recovery เท่ากับ 100.00% และ Precision ที่แสดง %RSD เท่ากับ 2.28 โดยมีค่า HoRRat เท่ากับ 1.15 (ตารางที่ 4 ; ภาพที่ 4(a))

2.4.2 ที่ระดับความเข้มข้นกลาง เตรียมความเข้มข้นของ CaCO₃ ได้เท่ากับ 39.86 % วิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยเครื่อง XRD ได้ความเข้มข้นเฉลี่ย เท่ากับ 39.92 % มีค่าความถูกต้อง (Trueness) ที่แสดง % Recovery เท่ากับ 100.15 % และ Precision ที่แสดง %RSD เท่ากับ 1.38 โดยมีค่า HoRRat เท่ากับ 1.20 (ตารางที่ 4 ; ภาพที่ 4(b))

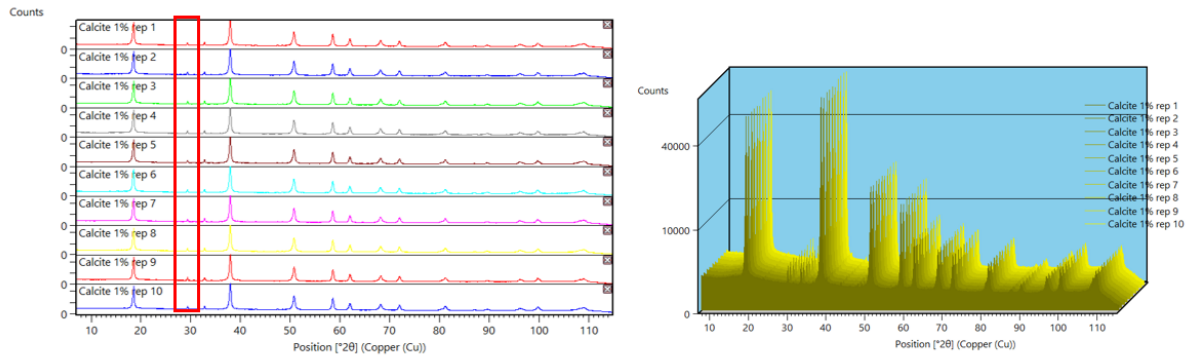
2.4.3 ที่ระดับความเข้มข้นสูงเตรียมความเข้มข้นของ CaCO₃ ได้เท่ากับ 98.53% วิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยเครื่อง XRD ได้ความเข้มข้นเฉลี่ย เท่ากับ 99.26 % มีค่าความถูกต้อง (Trueness) ที่แสดง % Recovery เท่ากับ 100.74 % และ Precision ที่แสดง %RSD เท่ากับ 0.02 โดยมีค่า HoRRat เท่ากับ 0.02 (ตารางที่ 4 ; ภาพที่ 4(c))

2.5 ทาค่าความไม่แน่นอนของการวัด (Uncertainty)

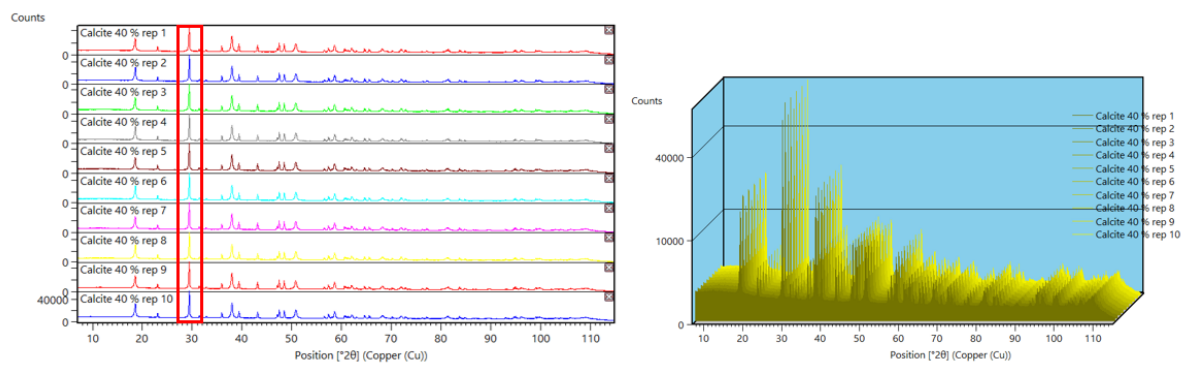
ผลการคำนวณค่าความไม่แน่นอนที่ความเข้มข้นระดับ LOQ กลาง และ สูง โดยค่าความไม่แน่นอน Type A ได้แก่ การวิเคราะห์ซ้ำในการหาความเที่ยง (Precision) และค่าความไม่แน่นอน Type B ได้แก่ ค่าความไม่แน่นอนของน้ำหนักตัวอย่าง ค่าความเอนเอียง (Bias) ค่าความไม่แน่นอนของ XRD และค่าความไม่แน่นอนของ Atomic weights พบว่า การวิเคราะห์โดโลไมท์เชิงปริมาณด้วยเทคนิค XRD มีค่าความไม่แน่นอนที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เท่ากับ 0.02 0.98 และ 2.2 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้นระดับ LOQ กลาง และ สูง ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 การพิสูจน์ความถูกต้อง ความเที่ยง ที่ความเข้มข้นระดับ LOQ กลาง และสูง

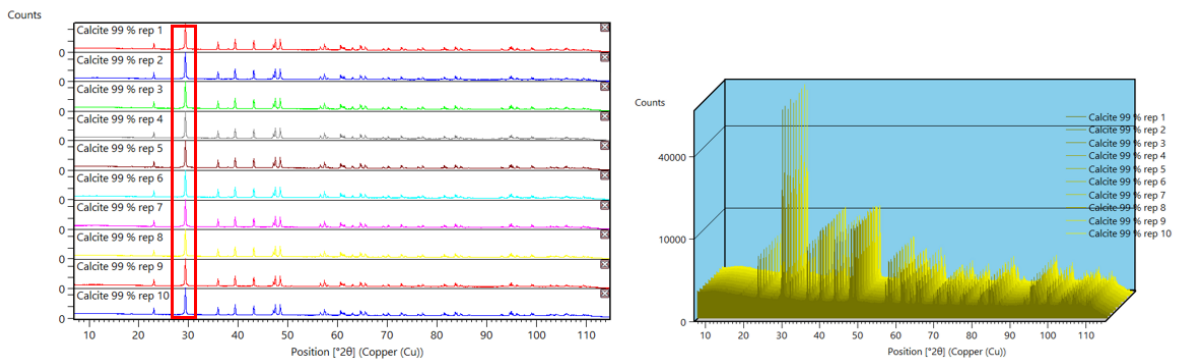
| XRD result (% CaCO ₃) | | | |
|---|-------------|----------------|--------------|
| Rep | LOQ (1.04%) | กลาง (39.86 %) | สูง (98.53%) |
| 1 | 1.03 | 39.46 | 99.25 |
| 2 | 1.06 | 39.72 | 99.27 |
| 3 | 1.02 | 41.28 | 99.29 |
| 4 | 1.00 | 39.91 | 99.26 |
| 5 | 1.07 | 40.06 | 99.23 |
| 6 | 1.04 | 39.81 | 99.27 |
| 7 | 1.05 | 39.57 | 99.25 |
| 8 | 1.01 | 39.47 | 99.24 |
| 9 | 1.02 | 40.31 | 99.24 |
| 10 | 1.06 | 39.59 | 99.25 |
| <hr/> | | | |
| Average | 1.04 | 39.92 | 99.26 |
| SD | 0.02 | 0.55 | 0.03 |
| Trueness (%recovery) | 100.00 | 100.15 | 100.74 |
| %RSDr | 2.28 | 1.38 | 0.02 |
| PRSD (R) | 1.99 | 1.15 | 1.00 |
| Precision (HoRRat) | 1.15 | 1.20 | 0.02 |
| ค่าความไม่แน่นอนรวม (u _c) | 0.01 | 0.49 | 1.1 |
| Uncertainty (U) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% | 0.02 | 0.98 | 2.2 |



(a) LOQ



(b) ความเข้มข้นกลาง

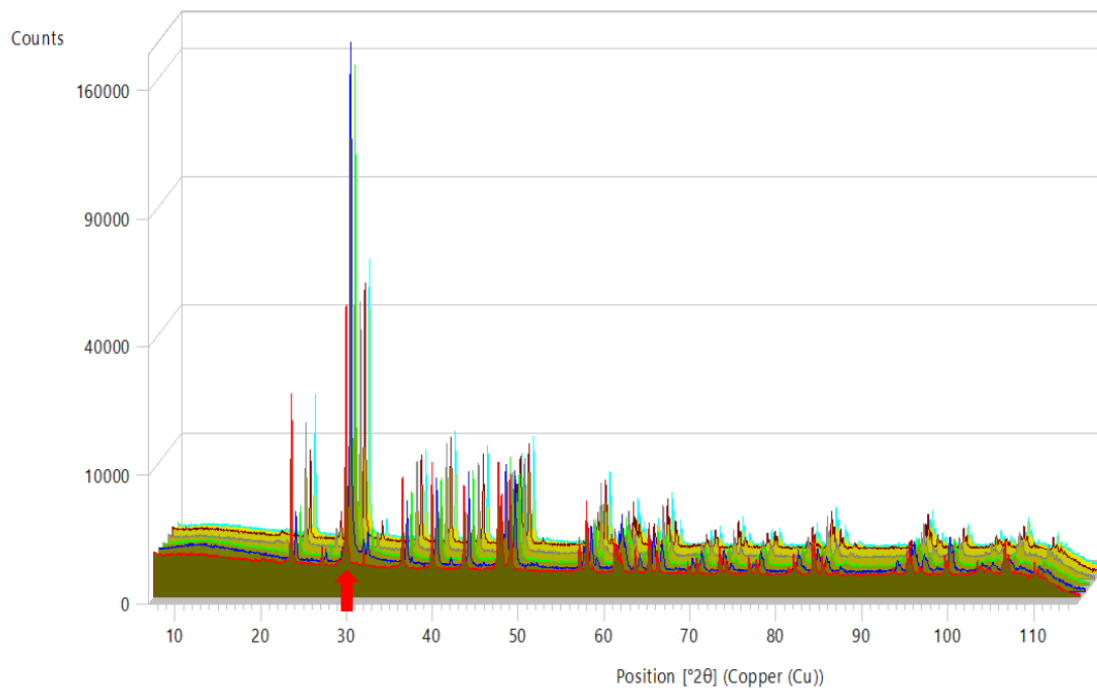


(c) ความเข้มข้นสูง

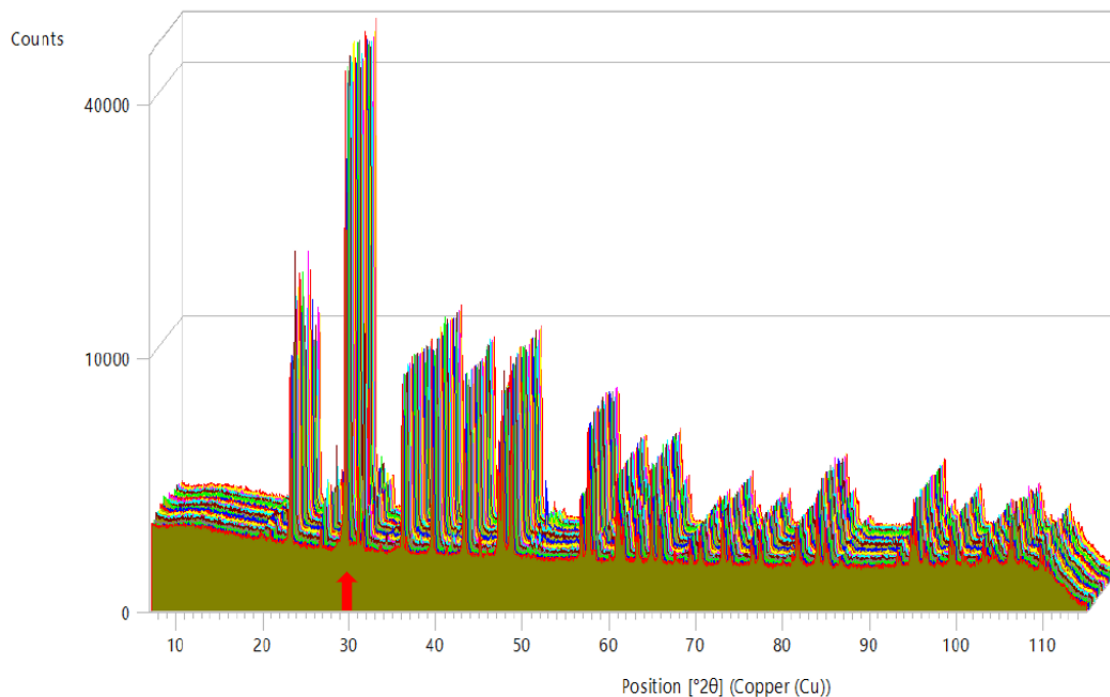
ภาพที่ 4 การดูตกเส้นแสงความเข้มของรังสีเอกซ์ (Intensity) ของ %CaCO₃ (Calcite) ที่ตำแหน่ง peak สูงสุด (2θ = 29.37°) ที่ความเข้มข้นระดับ LOQ กลาง และสูง

3. ทดสอบวิธีกับตัวอย่างสารปรับปรุงดินในท้องตลาด

ผลการทดสอบวิธีวิเคราะห์ปูนมาร์ลด้วยเครื่อง XRD โดยการวิเคราะห์ตัวอย่างสารปรับปรุงดินปูนมาร์ลที่จำหน่ายในท้องตลาดที่ฉลากระบุเป็นปูนมาร์ล จำนวน 6 ตัวอย่าง พบว่า มีตำแหน่งพีค (Peak position) แตกต่างกัน เนื่องจากมีสารประกอบอื่นผสมอยู่ ซึ่งตัวอย่างที่มีปูนมาร์ลหรือแคลไซต์ จะต้องปรากฏพีคหลักที่ตำแหน่ง $29.4^\circ 2\theta$ (ภาพที่ 5) ทำการวิเคราะห์เชิงปริมาณโดยตรวจสอบกับฐานข้อมูล ICDD (PDF-4) พบว่า ตัวอย่างปูนที่จำหน่ายในท้องตลาดมีองค์ประกอบของแคลไซต์ (CaCO_3) ทุกตัวอย่าง อยู่ในช่วง 97.99 - 99.51% และจะผสมกับควอตซ์ (SiO_2) หรือโดโลไมท์ ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$) อย่างใดอย่างหนึ่งหรือทั้งสองอย่างผสมอยู่ ซึ่งสอดคล้องกับตัวอย่างปูนมาร์ลที่เป็นมาตรฐาน จำนวน 25 ตัวอย่าง (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 5 X-ray diffraction patterns ของสารปรับปรุงดินปูนมาร์ลที่จำหน่ายในท้องตลาดจำนวน 6 ตัวอย่าง



ภาพที่ 6 X-ray diffraction patterns ของสารปรับปรุงดินปูนมาร์ล

สรุปผลการทดลอง

การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปูนมาร์ลด้วยเครื่อง XRD โดยการวิเคราะห์ข้อมูลโครงสร้างผลึกและส่วนประกอบเชิงแร่และการวิเคราะห์เชิงปริมาณ พบว่าใช้รังสีเอกซ์ที่มีเป้าเป็นโลหะทองแดง (Cu K α) ความยาวคลื่น 1.5406 Å สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ด้วยค่ามุมที่ 7 – 115 °2 θ ขนาด Step size 0.0217° ใช้เวลาวิเคราะห์แต่ละ step 30 วินาที ขนาด Divergence slit ½ ° และขนาด Beam mask 23 มิลลิเมตร และใช้เวลาวิเคราะห์รวม 10.27 นาที วิเคราะห์ข้อมูลด้วยเทคนิค Rietveld refinement โดยใช้โปรแกรม PANalytical X'Pert High Score plus (Ver. 4.9a (4.9.1.29739) 2021; Malvern PANalytical B.V. Almelo, The 'Netherlands) พบว่า มีค่า 2 θ ของตำแหน่งพีคหลัก และค่าดัชนีมิลเลอร์ (*hkl*) ของผลึก เท่ากับ 29.37° (1 0 4), 35.94° (1 1 0), 39.37° (1 1 3), 43.12° (2 0 2), 47.45° (0 1 8) และ 48.45° (1 1 6) สามารถเทียบกับฐานข้อมูลอ้างอิง ICDD (PDF-4) พบว่าสารมาตรฐาน CaCO₃ สอดคล้องกับฐานข้อมูลอ้างอิง ICDD 01-072-1937 ปริมาณต่ำสุดที่สามารถรายงานผลได้ร้อยละ 1.04 จากการพิสูจน์ความถูกต้อง เทียบตรง พบว่ามี % Recovery และค่า HorRat ผ่านเกณฑ์ยอมรับ ค่าความไม่แน่นอนที่ความเข้มข้นระดับ LOQ กลาง และ สูง เท่ากับ 1.04 ± 0.02, 39.92 ± 0.98 และ 99.26 ± 2.2 ตามลำดับ สรุปว่า ในการวิธีวิเคราะห์ปูนมาร์ลโดยใช้เครื่อง XRD ความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ สอบกลับได้ ทำให้เกิดความเชื่อมั่นในผลการวิเคราะห์ เป็นที่ยอมรับตามมาตรฐานสากล สามารถนำไปใช้ปูนมาร์ลและเป็นเกณฑ์มาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

คำขอขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริม วิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม (สกว) ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัย และขอขอบพระคุณผู้เชี่ยวชาญ ผู้อำนวยการ ที่ให้คำปรึกษา และข้อเสนอแนะ ตลอดจนการทำงานวิจัยที่ทำให้บรรลุวัตถุประสงค์ของงานวิจัยในครั้งนี้

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ของกรมวิชาการเกษตร ใช้ในการให้บริการตรวจวิเคราะห์ ห้องปฏิบัติการหน่วยงานรัฐ ห้องปฏิบัติการเอกชน และมหาวิทยาลัย สามารถนำวิธีมาตรฐาน การวิเคราะห์เชิงปริมาณของสารสารปรับปรุงดินปูนมาร์ล ไปใช้ในเป็นวิธีมาตรฐานในห้องปฏิบัติการ
2. หน่วยงานรัฐที่กำกับดูแล ใช้ข้อมูลผลการวิเคราะห์สารปรับปรุงดิน ในการควบคุม ดูแลคุณภาพสารปรับปรุงดิน ที่ผลิตและจำหน่าย รวมทั้งนำเข้าและส่งออก ทั้งภายในและต่างประเทศ ตามกฎหมายสารปรับปรุงดิน
3. เกษตรกรได้ใช้สารปรับปรุงดินที่ได้มาตรฐาน ตามฉลากระบุ มีคุณภาพตรงตามฉลากระบุ ลดการสูญเสีย หรือลดการทำลายคุณภาพของดินที่เกิดจากการใช้สารปรับปรุงดินผิดประเภทไม่ได้มาตรฐานในพื้นที่
4. ผู้ประกอบการ ในการนำผลวิเคราะห์ไปใช้ในการควบคุมคุณภาพสารปรับปรุงดิน ตามการควบคุมดูแลคุณภาพสารปรับปรุงดิน ที่ผลิตและจำหน่าย และการบังคับใช้กฎหมาย

เอกสารอ้างอิง

- กรมพัฒนาที่ดิน. 2556. ระเบียบกรมพัฒนาที่ดินว่าด้วยการใช้เครื่องหมายรับรองมาตรฐานปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2549. เรื่อง ยกเลิกและกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมปูนโลม์ เล่ม 1 บทนิยามเกี่ยวกับปูนโลม์และหินปูน. ราชกิจจานุเบกษา. เล่มที่ 123 ตอนที่ 84 ง.
- ASTM International (ASTM). 2016. Standard Test Method for Chemical Analysis of Limestone, Quicklime, and Hydrate lime. ASTM C25-11. Pennsylvania, USA.
- International Center for Diffraction Data (ICDD). 2019. Powder Diffraction file (PDF-4 / Minerals). International Center for Diffraction Data, Pennsylvania, USA.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2016. Official Method of Analysis of AOAC International. 20nd Ed. AOAC International Gaithersburg, Maryland. USA.
- Reid, J. W., A. Jason and J. Hendry. 2006. Rapid, Accurate Phase Quantification of Multiphase Calcium Phosphate Materials Using Rietveld Refinement. Journal of Applied Crystallography.39:536-543.
- Eurachem. 2012. Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. 3rd Ed. EURACHEM/CITAC Guide CG 4, London, UK.

พัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์และจัดทำเกณฑ์มาตรฐานการตรวจรับรอง
สารปรับปรุงดินปูนโดโลไมท์

Development Analytical Techniques and Produce
Standards Certification Criteria of Dolomite

สุภา โฟธิจันทร์ จิตติรัตน์ ชูชาติ สงกรานต์ มะลิสอน ญาณธิชา จิตต์สะอาด พจมาลัย ภู่อสาร
กัญธนา คล้ายแก้ว กอริอะ บิลลี่ จริรัตน์ กุศลวิริยะวงศ์ วรรณรัตน์ ชุตินบุตร

*Supha Photichan Jittirat Choochat Songkrant Malisorn Yanthicha Jittsa-add Pojjamarn Poosarn
Kanthana Klaigaew Koreeah binlee Charirat Kusunwiryawong Wannarut Chutibut*

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

X-ray diffraction (XRD) technique is non-destructive sample measurement methods. This methods can be analyze quickly, accurately, save time and does not use chemical reagents. XRD can analyze the crystal structure and crystalline phase of soil amendments. In this study, XRD techniques were employed for qualitative and quantitative analysis of dolomite ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$). Crystal structure and mineral composition data were analyzed using the Rietveld refinement technique based on the 2θ value of the peak position. Miller index value (hkl) of the crystals and checking with the ICDD database (PDF-4) found that the identity of the dolomite standard can be separated from the diffractogram with peak positions 31.94° (1 0 4), 37.35° (1 1 0), 41.12° (1 1 3), 44.92° (2 0 2), 50.52° (0 1 8) และ 51.60° (1 1 6) It has rhombohedral crystal structure. This method can be measured without interference. The method validation has a method working range 1 - 98 % linearity ($r = 0.9998$), LOD value of 0.528%, a calculated LOQ value of 0.176%, has accuracy (Trueness) shown with a % Recovery value of 101.73, 102.59 and 101.28. Precision shown with HorRat values of 1.93, 0.35 and 0.31. The accuracy suitable for use as a method for analyzing dolomite at concentrations of 1.966 ± 0.09 , 40.298 ± 0.881 , 99.400 ± 2.173 at concentrations level low, medium and high respectively. This method can verification of the purity of dolomite from mineral sources in Thailand sold in the market from diffractogram identity of dolomite must contain more than 80 percent of $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$, which can be used as a criterion for certifying dolomite soil conditioner standards in Thailand.

Keywords: Soil amendment, Dolomite, XRD pattern, ICDD database (PDF-4)

บทคัดย่อ

เทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD) เป็นวิธีการวัดแบบไม่ทำลายตัวอย่าง สามารถวิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็ว แม่นยำ ประหยัดเวลา และไม่ใช้สารเคมีในการวิเคราะห์ สามารถวิเคราะห์ข้อมูลโครงสร้างผลึกและส่วนประกอบเชิงแร่ (Crystalline phase) ของสารปรับปรุงดินได้ ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาการใช้เทคนิค XRD ในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณของสารปรับปรุงดินโดโลไมท์ ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$) วิเคราะห์ข้อมูลโครงสร้างผลึกและส่วนประกอบเชิงแร่ด้วยเทคนิค Rietveld refinement โดยอ้างอิงจากค่า 2θ ของตำแหน่งพิกัด ค่าดัชนีมิลเลอร์ (hkl) ของผลึก และตรวจสอบกับฐานข้อมูล ICDD (PDF-4) พบว่า สามารถแยกเอกลักษณ์ของสารมาตรฐานโดโลไมท์ ได้จาก Diffractogram ที่มีตำแหน่งพิกัด (Position) 31.94° (1 0 4), 37.35° (1 1 0), 41.12° (1 1 3), 44.92° (2 0 2), 50.52° (0 1 8) และ 51.60° (1 1 6) มีโครงสร้างผลึกแบบรอมโบฮีดรัล (Rhombohedral) สามารถวัดได้โดยไม่เกิดการรบกวนกันกับสารปรับปรุงดินชนิดอื่น การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ มีช่วงการใช้งาน (Method working range) 1 – 98 % ความเป็นเส้นตรง ($r = 0.9998$) มีค่า LOD 0.528% ค่า LOQ จากการคำนวณ 0.176% มีความแม่นยำ (Trueness) ที่แสดงด้วยค่า % Recovery ที่ 101.73, 102.59 และ 101.28 มีความเที่ยง (Precision) ที่แสดงด้วยค่า HorRat 1.93, 0.35 และ 0.31 แสดงให้เห็นถึงวิธีมีความแม่นยำ และความเที่ยงเหมาะสมที่จะใช้เป็นวิธีวิเคราะห์โดโลไมท์ ที่ความเข้มข้น 1.966 ± 0.09 , 40.298 ± 0.881 , 99.400 ± 2.173 ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูงตามลำดับ การพิสูจน์เอกลักษณ์และตรวจสอบความบริสุทธิ์ของโดโลไมท์จากแหล่งแร่ในประเทศไทยที่จำหน่ายในท้องตลาดจาก diffractogram ที่เป็นเอกลักษณ์ของโดโลไมท์ที่ชัดเจนต้องมียอดประกอบของ $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$ มากกว่าร้อยละ 80 ซึ่งสามารถใช้เป็นเกณฑ์ในการรับรองมาตรฐานสารปรับปรุงดินโดโลไมท์ในประเทศไทยได้

คำสำคัญ: สารปรับปรุงดิน โดโลไมท์ รูปแบบ XRD ฐานข้อมูล ICDD (PDF-4)

คำนำ

สารปรับปรุงดินปูนโดโลไมท์ เป็นสารปรับปรุงดินที่ได้จากแร่ที่เกิดจากตะกอนของแคลเซียมและแมกนีเซียมทับถมกัน [$\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$] มีสีต่างๆ กัน เช่น เทา ชมพู ขาว มีส่วนประกอบทางเคมีเป็น CaCO_3 และ MgCO_3 ใช้ปรับปรุงดินเพื่อแก้ความเป็นกรดของดิน และยังให้ธาตุอาหารแคลเซียมและแมกนีเซียมแก่พืชอีกด้วย ปัจจุบันการตรวจสอบวัสดุปูนที่ใช้ในการเกษตรของประเทศไทย มีการศึกษาและจำแนกโดยกรมพัฒนาที่ดิน (2556) และคณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา (2548) ใช้วิธีศึกษาสมบัติทางเคมี และกายภาพ มาตรฐานที่กำหนดคือ มีค่าความสามารถในการทำให้เป็นกลาง (CCE) ไม่น้อยกว่า 90 มีค่า CaO (Calcium Oxide) ไม่น้อยกว่าร้อยละ 25 และมีค่า MgO (Magnesium Oxide) ไม่น้อยกว่าร้อยละ 15 ขนาดอนุภาค มีค่าความละเอียดสามารถร่อนผ่านตะแกรงร่อนขนาด 0.177 มิลลิเมตร (80 เมช) ไม่น้อยกว่าร้อยละ 80 โดยน้ำหนัก ปริมาณความชื้น ไม่เกินร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง ไม่น้อยกว่า 8.0 (กรมพัฒนาที่ดิน, 2556) ซึ่งการทดสอบมีความยุ่งยาก ใช้เวลาและงบประมาณในการทดสอบค่อนข้างมาก ใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายต่อผู้ทดสอบและสิ่งแวดล้อม อีกทั้งยังไม่สามารถบ่งบอกองค์ประกอบเชิงแร่ของปูนได้โดยตรง เทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD) จึงเป็นทางเลือกหนึ่งของเทคนิควิเคราะห์เชิงคุณภาพและปริมาณ และถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ด้านต่างๆ เนื่องจากเป็นวิธีการวัดแบบไม่ทำลายตัวอย่าง สามารถวิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็ว แม่นยำ ประหยัดเวลา ไม่ใช้สารเคมีในการวิเคราะห์ สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งในเชิงคุณภาพ (Qualitative) และเชิงปริมาณ (Quantitative) เป็นเครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์โครงสร้างผลึกของสารประกอบและแร่ ผลการวิเคราะห์จาก XRD ทำให้สามารถแยกแยะประเภทและชนิดของวัสดุที่พบในธรรมชาติว่ามีรูปแบบโครงสร้างผลึกแบบใดหรือจำแนกได้ว่าวัสดุที่พบเห็นนั้นเป็นแร่ชนิดใด เนื่องจากสารประกอบแต่ละชนิดมีรูปแบบโครงสร้างผลึกแตกต่างกันและระยะห่างระหว่างระนาบของอะตอมที่จัดเรียงกันอย่างเป็นระเบียบก็แตกต่างกันไปด้วย โดยที่ขนาดและประจุของอะตอมของสารประกอบแต่ละชนิดจะมี

รูปแบบ (XRD pattern) เฉพาะตัวเปรียบได้กับลายนิ้วมือของคนที่แตกต่างกัน โดยทำการวัดค่าความเข้มของรังสีที่สะท้อนออกมาที่มุมต่าง ๆ เปรียบเทียบกับข้อมูลมาตรฐานที่ทำการตรวจวัดโดยองค์กร องค์กร The International Centre for Diffraction Data (ICDD) ใช้การประเมินด้วยวิธี Rietveld refinement (Daniel *et al.*, 2018) ทำให้สามารถจำแนกเอกลักษณ์และปริมาณของสารปรับปรุงดินแต่ละชนิดได้อย่างแม่นยำ

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

สารเคมี

- 1) Calcium carbonate (CaCO_3) : AR Grade
- 2) Magnesium Oxide (MgO) : AR Grade
- 3) Magnesium hydroxide (Mg(OH)_2) : AR Grade
- 4) Calcium sulfate (CaSO_4) : AR Grade
- 5) Silica gel
- 6) 2-Propanol, 2.5 L
- 7) สารปรับปรุงดินปูนโดโลไมท์
- 8) สารมาตรฐานสารปรับปรุงดินปูนโดโลไมท์
- 9) Si XRD standard

วัสดุอุปกรณ์

- 1) เครื่องวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD)
- 2) เครื่องบดตัวอย่าง XRD mill
- 3) ตู้อบ
- 4) เครื่องชั่งอย่างละเอียดทศนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง
- 5) กระจกตวง ขนาด 10 มิลลิเมตร
- 6) Grinding jar
- 7) Grinding element (Agate)
- 8) ตะแกรงร่อน 0.5 มิลลิเมตร
- 9) Petri dish
- 10) แท่นเตรียมตัวอย่างแบบ Powder
- 11) Holder powder sample ring
- 12) Powder sample ring 27 mm.

วิธีการ

1. หาวิธีและสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารปรับปรุงดินปูนโดโลไมท์ โดยการตั้งค่ามุมเริ่มต้นของการวัด (Start angle), มุมสุดท้ายของการวัด (End angle), ขนาดของการกวาดมุม (Step size), ช่วงเวลาที่ใช้วัดในแต่ละ step (Time per step), ตัวควบคุมความยาวลำแสงเพื่อให้ตกกระทบที่ตัวอย่าง (Divergence slit) ตัวควบคุมความกว้างลำแสงเพื่อให้ตกกระทบที่ตัวอย่าง (Beam mask) โดยการใช้สารมาตรฐาน ตามลำดับดังนี้

- 1.1 หา Start angle และ End angle ที่เหมาะสม โดยการวัดสารมาตรฐาน ที่ $0-140^\circ 2\theta$, Divergence slit 1/2, Step size, Time per step 0.02 และ Beam mask 23 เลือกตัดช่วงที่ไม่มีตำแหน่งพีกเกิดขึ้น
- 1.2 คัดเลือก Divergence slit ที่เหมาะสม โดยการวัดสารมาตรฐานที่ Start angle และ End angle ที่หาได้และสภาวะอื่น ๆ ตามข้อ 1.1 โดยเปรียบเทียบ Divergence slit 1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 และ 1/32 คัดเลือก Divergence slit จาก diffractogram ที่มี intensity สูง และมี baseline ต่ำ
- 1.3 คัดเลือก Step size ที่เหมาะสม โดยการวัดสารมาตรฐานที่ Start angle และ End angle และขนาด Divergence slit ที่คัดเลือกได้ และสภาวะอื่น ๆ ตามข้อ 1.1 เปรียบเทียบ Step size 0.002, 0.01, 0.02, 0.04 และ 0.06 เปรียบเทียบตำแหน่งพีกที่เกิดขึ้น
- 1.4 หา Time per step ที่เหมาะสม โดยการวัดสารมาตรฐานที่ Start angle และ End angle และขนาด Divergence slit และ Step size ที่คัดเลือกได้ และสภาวะอื่น ๆ ตามข้อ 1.1 เปรียบเทียบ Time per step 10, 20, 40, 60 s/step คัดเลือก diffractogram ที่มีพีกชัดเจน intensity สูง และมี baseline ต่ำ
2. ศึกษาการรบกวนกันขององค์ประกอบสารปรับปรุงดินโคลโลไมท์กับสารปรับปรุงดินชนิดอื่น (Matrix effect) ในการวัดด้วยเครื่อง XRD ในเวลาเดียวกัน ที่ความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง
 - 2.1 เตรียมตัวอย่างสารมาตรฐานสารปรับปรุงดินปูนโคลโลไมท์ ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$), $\text{Mg}(\text{OH})_2$, CaCO_3 , CaOH_2 และ $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ขนาดน้อยกว่า 45 ไมครอน (325 เมช) โดยนำตัวอย่างสารปรับปรุงดินใส่ในกระบอกบดตัวอย่าง เติม 2-propanol จำนวน 10 มิลลิลิตร บดตัวอย่างด้วยเครื่องบด XRD mill และนำไปประเหยแห้ง ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนตัวอย่างแห้ง
 - 2.2 ผสมสารปรับปรุงดินโคลโลไมท์กับ $\text{Mg}(\text{OH})_2$ ที่ใช้เป็น sample blank ที่ช่วงความเข้มข้นของโคลโลไมท์ เท่ากับ 1, 10, 20, 40, 60 และ 80 %
 - 2.3 ผสมสารปรับปรุงดินโคลโลไมท์กับ CaCO_3 , CaOH_2 และ $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ที่ช่วงความเข้มข้นของโคลโลไมท์ เท่ากับ 1, 10, 20, 40, 60 และ 80 %
 - 2.4 วิเคราะห์เชิงปริมาณโดยวัดด้วยเครื่อง XRD อัตราส่วนละ 3 ซ้ำ คำนวณค่าเฉลี่ยของผลวิเคราะห์ทั้ง 3 ซ้ำ และคำนวณค่า % recovery
 - 2.5 สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานปรับปรุงดินโคลโลไมท์ที่คำนวณได้จากการเตรียม กับความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้ด้วยเครื่อง XRD คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างระหว่างความชันของกราฟสารมาตรฐานปรับปรุงดินโคลโลไมท์ที่ผสมกับ sample blank และกราฟสารมาตรฐานปรับปรุงดินโคลโลไมท์ที่ผสมกับสารปรับปรุงดินชนิดอื่น (%RPD)
3. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โคลโลไมท์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์
 - 3.1 ศึกษาการทดสอบช่วงการใช้งาน (Method working range) เตรียมตัวอย่างสารมาตรฐานสารปรับปรุงดินปูนโคลโลไมท์ และ $\text{Mg}(\text{OH})_2$ ขนาดน้อยกว่า 45 ไมครอน (325 เมช) โดยนำตัวอย่างสารปรับปรุงดินใส่ในกระบอกบดตัวอย่าง เติม 2-propanol จำนวน 10 มิลลิลิตร บดตัวอย่างด้วยเครื่องบด XRD mill และนำไปประเหยแห้ง ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนตัวอย่างแห้ง
 - 3.1.1 ผสมสารปรับปรุงดินโคลโลไมท์กับ $\text{Mg}(\text{OH})_2$ ที่ช่วงความเข้มข้นของโคลโลไมท์ เท่ากับ 1, 10, 20, 40, 60, 80 และ โคลโลไมท์ 100 %
 - 3.1.2 วิเคราะห์เชิงปริมาณโดยวัดด้วยเครื่อง XRD อัตราส่วนละ 3 ซ้ำ หาค่าเฉลี่ย

- 3.1.3 สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารปรับปรุงดินโดโลไมท์ที่คำนวณได้จากการเตรียม กับความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้ด้วยเครื่อง XRD หาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง คำนวณหาค่า Correlation Coefficient (r) เพื่อหา linearity
- 3.2 หาขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ)
 - 3.2.1 ใช้ Mg(OH)₂ เป็น Sample blank และเติมสารมาตรฐานสารปรับปรุงดินปูนโดโลไมท์ในปริมาณที่สามารถตรวจพบได้ด้วยเครื่อง XRD
 - 3.2.2 วิเคราะห์ด้วยเครื่อง XRD โดยทำการวิเคราะห์ต่างวัน จำนวน 10 วัน คำนวณค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation ; SD) หาค่า LOD และ LOQ จากสมการ

$$\begin{aligned} \text{LOD} &= 3\text{SD} && \dots\dots\dots 1) \\ \text{LOQ} &= 10\text{SD} && \dots\dots\dots 2) \end{aligned}$$

- 3.3 พิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ความเข้มข้นระดับ LOQ กลางสูง และ ความไม่แน่นอนของการวัด (Uncertainty)
 - 3.3.1 เติมสารมาตรฐานสารปรับปรุงดินปูนโดโลไมท์ที่ความเข้มข้น LOQ ดำเนินการทดสอบตามวิธีทดสอบ ที่กำหนด (โดยทำการทดสอบที่เวลาแตกต่างกัน วันละ 1 ซ้ำเป็นเวลา 10 วัน)
 - 3.3.2 บันทึกผลปริมาณสารปรับปรุงดินปูนโดโลไมท์ ในหน่วยเปอร์เซ็นต์ (%) ประเมินความถูกต้องโดยเปรียบเทียบค่าที่ทดสอบได้กับค่ามาตรฐาน โดยการพิจารณา % Recovery ตาม (AOAC, 2016)

$$\%recovery = \frac{\text{ความเข้มข้นของ } fortified \text{ sample}}{\text{ความเข้มข้นของตัวอย่างเริ่มต้น} + \text{ความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมลงไป}} \dots\dots\dots 3)$$

- 3.3.3 ประเมินความเที่ยงโดยพิจารณาจากค่า HorRat
การประเมินค่า Precision ในเกณฑ์การประเมิน : ใช้ HorRat (AOAC, 2016)

$$HorRat(r) = \frac{RSD(r)}{PRSD(R)} \dots\dots\dots 4)$$

$$RSD(r) = \frac{SD}{mean} \times 100 \dots\dots\dots 5)$$

$$PRSD(R) = 2C^{-0.15} \dots\dots\dots 6)$$

เมื่อ C (mass fraction) คือ ค่าเฉลี่ยผลการทดสอบ $\times 10^{-2}$

- 3.4 คำนวณค่าความไม่แน่นอนที่ความเข้มข้นระดับ LOQ กลาง และ สูง
 - 3.4.1 รวบรวมแหล่งที่มาของค่าความไม่แน่นอน ดังนี้
 - ค่าความไม่แน่นอน Type A ได้แก่ การวิเคราะห์ซ้ำในการหาความเที่ยง (Precision)

- ค่าความไม่แน่นอน Type B ได้แก่ ค่าความไม่แน่นอนของน้ำหนักตัวอย่าง ค่าความเอนเอียง (Bias) ค่าความไม่แน่นอนของ XRD และค่าความไม่แน่นอนของ Atomic weights

3.4.2 คำนวณค่าความไม่แน่นอนแต่ละแหล่ง

3.4.3 รวมค่าความไม่แน่นอนจากทุกแหล่ง (combined uncertainty)

3.4.4 คำนวณค่าความไม่แน่นอนแบบขยาย

4. ทดสอบวิธีกับตัวอย่างสารปรับปรุงดินในห้องตลาด

5. สรุปวิธีการจำแนก พิสูจน์เอกลักษณ์ ชนิดของแร่ และสารประกอบในตัวอย่างสารปรับปรุงดินปูนโดโลไมท์

6. สรุปและรายงานผล

ระยะเวลา เริ่มต้น 1 ตุลาคม 2564 สิ้นสุด 30 กันยายน 2566

สถานที่ทำการทดลอง

กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำ กลุ่มงานวิจัยเกษตรเคมี

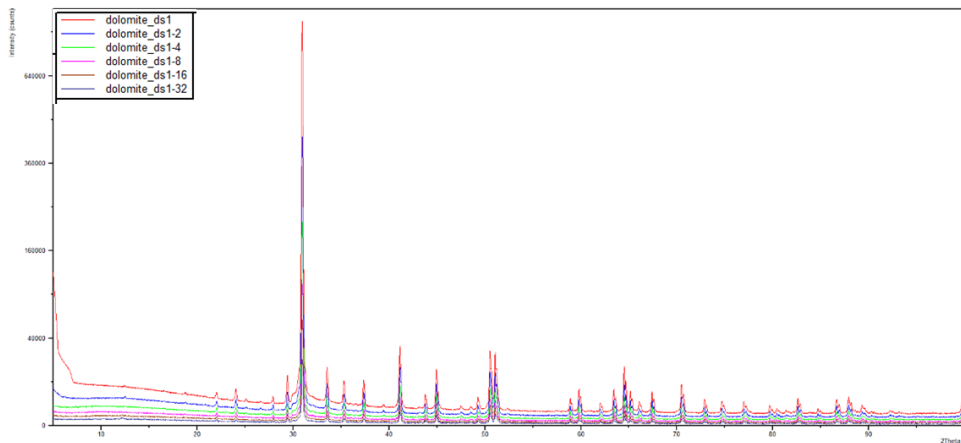
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. เปรียบเทียบสภาวะที่ของเครื่อง XRD ในการวิเคราะห์สารปรับปรุงดินปูนโดโลไมท์ ดังนี้

1.1 Start angle และ end angle ที่มีตำแหน่งพีคเกิดขึ้น ในช่วง $20 - 110^\circ 2\theta$

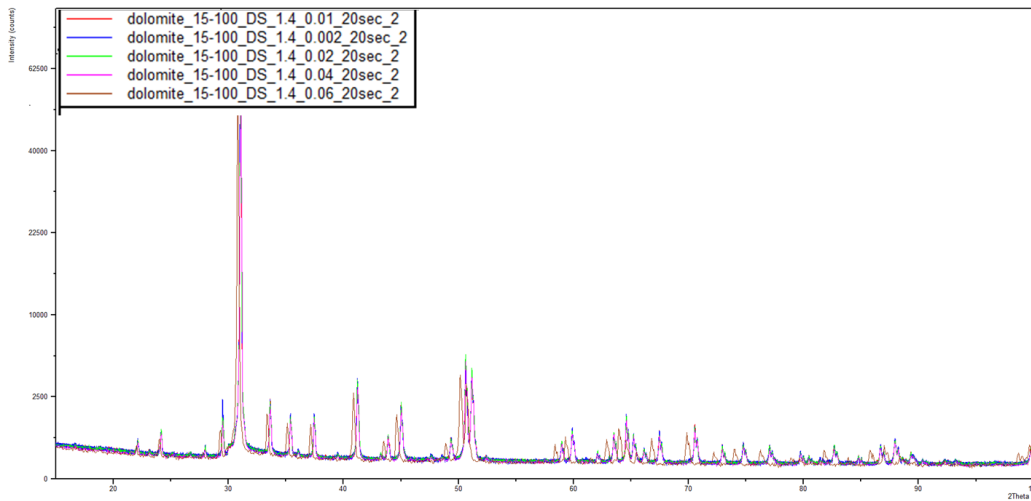
1.2 เปรียบเทียบ Divergence slit 1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 และ 1/32 และคัดเลือก Divergence slit 1/4 เนื่องจากให้ diffractogram ที่ intensity ของตำแหน่งพีคหลักและพีคอื่น ๆ ชัดเจน และมี baseline ต่ำ (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 XRD pattern ของการวัดสารมาตรฐานโดโลไมท์โดยใช้ Divergence slit ที่แตกต่างกัน

1.3 เปรียบเทียบ Step size 0.002, 0.01, 0.02, 0.04 และ 0.06 พบว่า Step size 0.06 ให้ diffractogram

ที่มีตำแหน่งพีคหลักที่ 30.9° แตกต่างจาก Step size อื่นๆ ที่พบที่ 31.9° จึงเลือกใช้ Step size เนื่องจาก ตำแหน่งพีคอื่นชัดเจน และใช้เวลาวัดไม่นานเกินไป (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 XRD pattern ของการวัดสารมาตรฐานโดโลไมท์โดยใช้ Time per step ที่แตกต่างกัน

1.4 เปรียบเทียบ Time per step 10, 20, 40, 60 s/step พบว่า ที่เวลา 40 และ 60 s/step ความชัดเจนของพีคดีกว่า Time per step 10, 20 s/step จึงเลือก Time per step 40 s/step เนื่องจากใช้เวลาในการวัดน้อยกว่า

สรุปสถานะที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์โดโลไมท์ด้วยเครื่อง XRD ได้ดังนี้

Sample holder : Bottom plate and ring diameter 27 mm

X-ray tube : Cu anode

X-ray power : Tension 40 KV Current 15 mA

Beta filter : Ni-filter

Divergence : $\frac{1}{4}$ degree $^{\circ}2\theta$

Detector : Pixcel 1D

Scan range : 20 – 110 $^{\circ}2\theta$

Step size : 0.02 $^{\circ}2\theta$

Beam mask : 23 mm.

Time per step : 40 Second

Estimated time : 12 min

ใช้สถานะที่คัดเลือกได้วิเคราะห์ข้อมูลโครงสร้างผลึกและส่วนประกอบเชิงแร่ของโดโลไมท์ด้วยเทคนิค Rietveld refinement โดยอ้างอิงจากค่า 2θ ของตำแหน่งพีค ค่าดัชนีมิลเลอร์ (hkl) ของผลึก และตรวจสอบกับฐานข้อมูล ICDD (PDF-4) พบว่า สามารถแยกเอกลักษณ์ของสารมาตรฐานโดโลไมท์ได้จาก Diffractogram ที่มีตำแหน่งพีค (Position) 31.94° (1 0 4), 37.35° (1 1 0), 41.12° (1 1 3), 44.92° (2 0 2), 50.52° (0 1 8) และ 51.60° (1 1 6) มีโครงสร้างผลึกแบบบรอมโบฮีดรัล (Rhombohedral) สอดคล้องกับฐานข้อมูลมาตรฐาน ICDD (PDF-4) Reference code 00-044-0422 ของสารประกอบ $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$ ชื่อทางแร่ Dolomite และ S.S. Al-Jaroudi. *et. al* (2007) ที่ได้ศึกษาการวิเคราะห์เชิงปริมาณของหินคาร์บอเนตด้วย XRD พบว่า Dolomite มีตำแหน่งพีคหลักที่ 31.9°

2. ศึกษาการรบกวนกันขององค์ประกอบสารปรับปรุงดินโดโลไมท์กับสารปรับปรุงดินชนิดอื่น (Matrix effect)
- 2.1 ผสมสารปรับปรุงดินที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างแล้ว ที่ช่วงความเข้มข้นของโดโลไมท์ เท่ากับ 1, 10, 20, 40, 60 และ 80 % โดยสารปรับปรุงดินมาตรฐาน $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$ 98.14%, CaCO_3 99.7%, CaOH_2 99.6% และ $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 95.0% ใช้น้ำหนักรวมประมาณ 3 กรัม และคำนวณความเข้มข้นที่เตรียมได้ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 การผสมสารปรับปรุงดินโดโลไมท์กับสารปรับปรุงดินชนิดอื่น ที่ช่วงความเข้มข้นของโดโลไมท์ เท่ากับ 1, 10, 20, 40, 60 และ 80 % สำหรับการศึกษการรบกวนกัน (Matrix effect)

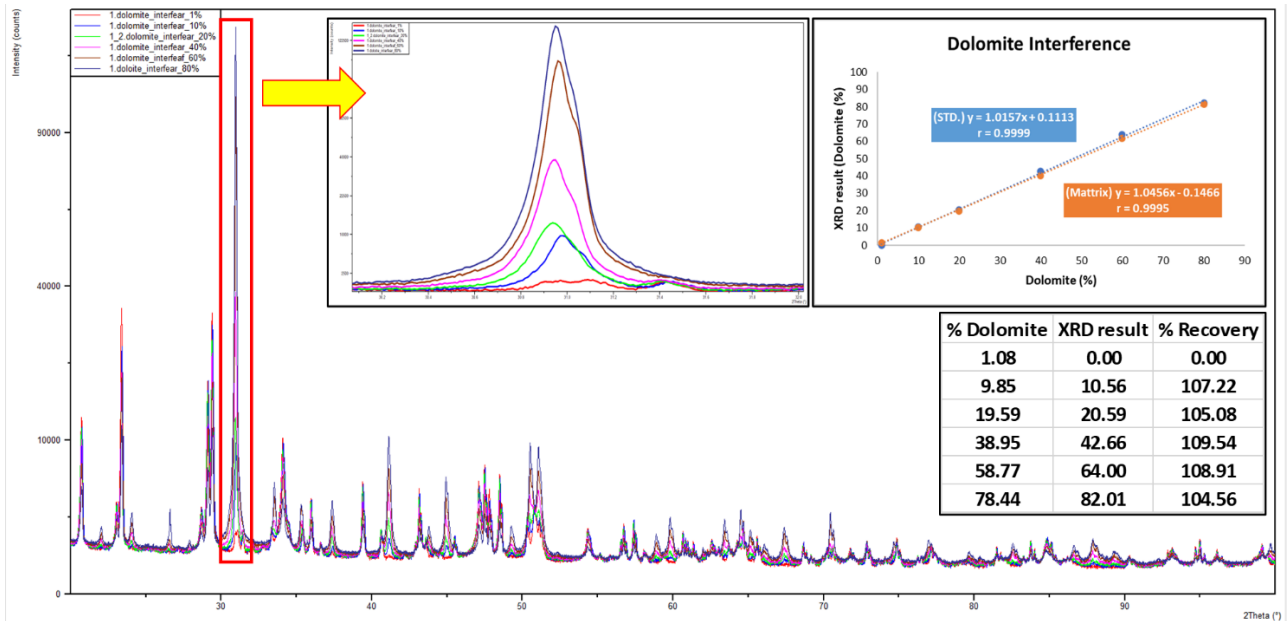
| % | Weight (g) | | | | | Concentration (%) | | | |
|----|------------|--------|--------|--------|--------|-------------------|--------|--------|--------|
| | D | G | C | L | Total | D | G | C | L |
| 1 | 0.0332 | 0.9915 | 0.9918 | 0.9992 | 3.0157 | 1.080 | 32.779 | 32.756 | 31.477 |
| 10 | 0.3017 | 0.9004 | 0.9005 | 0.9047 | 3.0073 | 9.846 | 29.851 | 29.824 | 28.579 |
| 20 | 0.6013 | 0.8024 | 0.8074 | 0.8012 | 3.0123 | 19.590 | 26.558 | 26.696 | 25.268 |
| 40 | 1.2021 | 0.5995 | 0.6064 | 0.6212 | 3.0292 | 38.946 | 19.731 | 19.938 | 19.482 |
| 60 | 1.8023 | 0.3996 | 0.4005 | 0.4075 | 3.0099 | 58.765 | 13.236 | 13.253 | 12.862 |
| 80 | 2.4045 | 0.2012 | 0.202 | 0.2008 | 3.0085 | 78.437 | 6.668 | 6.687 | 6.341 |

หมายเหตุ: D = Dolomite, G = Gypsum, C = Calcite, L = Lime

ผลการทดสอบ พบว่า การสารผสมสารปรับปรุงดินโดโลไมท์กับสารปรับปรุงดินชนิดอื่นที่ความเข้มข้นของโดโลไมท์ 1 % ไม่สามารถตรวจพบได้ด้วยเครื่อง XRD ในขณะที่ช่วงความเข้มข้นของโดโลไมท์ตั้งแต่ 10 – 80 % สามารถวิเคราะห์ได้ และมี % recovery อยู่ในช่วง 104.555 – 109.541 (ตารางที่ 2) มีค่า % RPD ของ Slope ของกราฟสารมาตรฐานปรับปรุงดินโดโลไมท์ที่ผสมกับ sample blank และกราฟสารมาตรฐานปรับปรุงดินโดโลไมท์ที่ผสมกับสารปรับปรุงดินชนิดอื่น เท่ากับ 0.11% ซึ่งผ่านเกณฑ์กำหนด % RPD ของ Slope < 10% (NATA: 2018) (ภาพที่ 3)

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยเครื่อง XRD ของสารผสมสารปรับปรุงดินโดโลไมท์กับสารปรับปรุงดินชนิดอื่น จากการศึกษาการรบกวนกัน (Matrix effect)

| $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$ (%) | XRD result ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$ (%)) | | | | % recovery |
|----------------------------------|--|--------|--------|--------|------------|
| | rep1 | rep2 | rep3 | mean | |
| 1.080 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 9.846 | 10.550 | 10.830 | 10.291 | 10.557 | 107.225 |
| 19.590 | 20.483 | 20.705 | 20.567 | 20.585 | 105.078 |
| 38.946 | 42.512 | 42.683 | 42.789 | 42.661 | 109.541 |
| 58.765 | 63.882 | 64.047 | 64.077 | 64.002 | 108.911 |
| 78.437 | 82.029 | 81.918 | 82.083 | 82.010 | 104.555 |



ภาพที่ 3 XRD pattern การวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยเครื่อง XRD ของสารผสมสารปรับปรุงดินโดโลไมท์กับสารปรับปรุงดินชนิดอื่น

3. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โดโลไมท์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์

3.1 ศึกษาการทดสอบช่วงการใช้งาน (Method working range)

3.1.1 ผสมสารปรับปรุงดินที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างแล้ว ที่ช่วงความเข้มข้นของโดโลไมท์ เท่ากับ 1, 10, 20, 40, 60 และ 80 % โดยสารปรับปรุงดินมาตรฐาน $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$ 98.14% กับ sample blank ($\text{Mg}(\text{OH})_2$) ใช้น้ำหนักรวมประมาณ 2 กรัม และคำนวณความเข้มข้นที่เตรียมได้ (ตารางที่ 3)

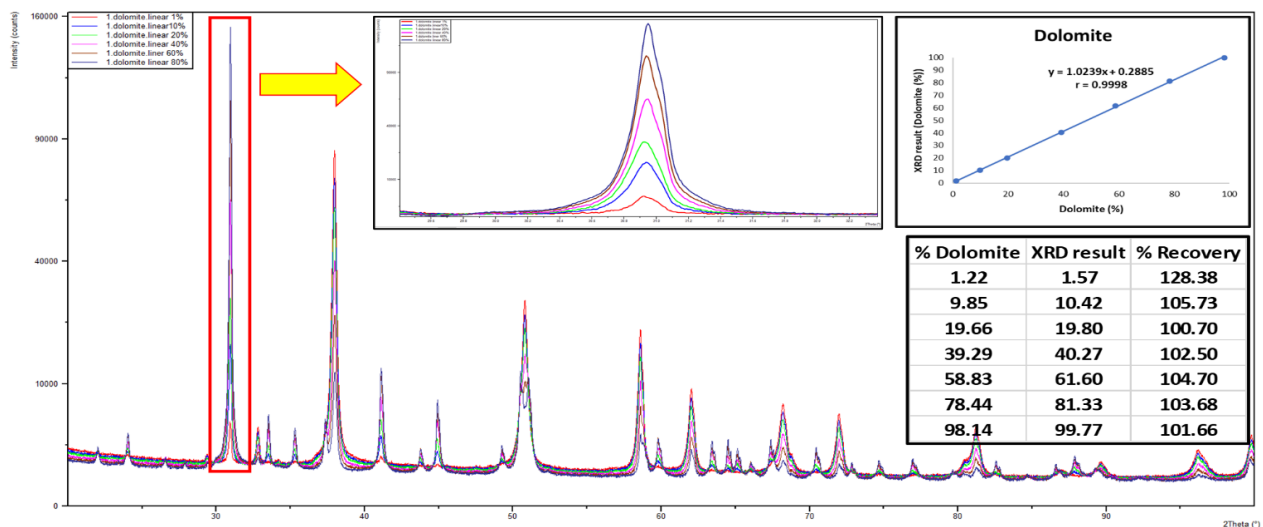
ตารางที่ 3 การผสมสารปรับปรุงดินโดโลไมท์กับ sample blank ($\text{Mg}(\text{OH})_2$) ที่ช่วงความเข้มข้นของโดโลไมท์ เท่ากับ 1, 10, 20, 40, 60, 80 % และ โดโลไมท์ 100 % สำหรับศึกษาการทดสอบช่วงการใช้งาน

| % | Weight (g) | | | $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$ (%) |
|-----|------------------------------|--------------------------|-------|----------------------------------|
| | $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$ | $\text{Mg}(\text{OH})_2$ | Total | |
| 1 | 0.025 | 1.981 | 2.006 | 1.223 |
| 10 | 0.201 | 1.800 | 2.001 | 9.854 |
| 20 | 0.401 | 1.600 | 2.001 | 19.663 |
| 40 | 0.802 | 1.202 | 2.004 | 39.288 |
| 60 | 1.201 | 0.803 | 2.004 | 58.828 |
| 80 | 1.602 | 0.402 | 2.004 | 78.441 |
| 100 | - | - | - | 98.140 |

3.1.2 วิเคราะห์เชิงปริมาณโดยวัดด้วยเครื่อง XRD อัตราส่วนละ 3 ซ้ำ คำนวณค่าเฉลี่ยของผลวิเคราะห์ทั้ง 3 ซ้ำ และประเมิน %recovery พบว่า การสารผสมสารปรับปรุงดินโดโลไมท์กับ sample blank มีค่า % recovery อยู่ในช่วง 100.70 – 128.38 (ตารางที่ 4) จากการประเมินสถิติ Regression พบว่า มีความเป็นเส้นตรง ($r = 0.9998$) ค่า significance F น้อยกว่า 0.05 แสดงว่า ตัวแปรมีความสัมพันธ์กันทางสถิติ มีช่วงความเป็นเส้นตรงหรือช่วงการใช้งานของวิธี (Method working range) ครอบคลุมความเข้มข้น 1 – 98 % (ภาพที่ 4)

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยเครื่อง XRD ของสารผสมสารปรับปรุงดินโดโลไมท์กับ sample blank ($Mg(OH)_2$) จากศึกษาการทดสอบช่วงการใช้งาน

| CaMg(CO ₃) ₂ (%) | XRD result (CaMg(CO ₃) ₂ (%)) | | | | %recovery |
|---|--|---------|--------|--------|-----------|
| | rep1 | rep2 | rep3 | mean | |
| 1.223 | 1.618 | 1.651 | 1.442 | 1.571 | 128.38 |
| 9.854 | 10.396 | 10.414 | 10.444 | 10.418 | 105.73 |
| 19.663 | 19.763 | 19.814 | 19.823 | 19.800 | 100.70 |
| 39.288 | 40.245 | 40.331 | 40.236 | 40.271 | 102.50 |
| 58.828 | 61.575 | 61.524 | 61.689 | 61.596 | 104.70 |
| 78.441 | 81.368 | 81.244 | 81.379 | 81.330 | 103.68 |
| 98.140 | 100.000 | 100.000 | 99.307 | 99.769 | 101.66 |



ภาพที่ 4 XRD pattern การวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยเครื่อง XRD ของสารผสมสารปรับปรุงดินโดโลไมท์กับ sample blank ($Mg(OH)_2$)

3.2 หาขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of of Quantitation; LOQ) โดยการใช้ $Mg(OH)_2$ เป็น Sample blank พบว่า มีค่า LOD เท่ากับ 0.528 และ LOQ เท่ากับ 1.760 (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 แสดงผลการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ไม่มีสารที่สนใจ (Sample blank) ผสมโดโลไมท์ ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$) ในปริมาณน้อยด้วยเครื่อง XRD สำหรับการการศึกษาขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ)

| Limit of Detection; LOD | |
|-------------------------|--|
| Rep | XRD result (% $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$) |
| 1 | 0.432 |
| 2 | 0.352 |
| 3 | 0.515 |
| 4 | 0.339 |
| 5 | 0.485 |
| 6 | 0.479 |
| 7 | 0.458 |
| 8 | 0.908 |
| 9 | 0.639 |
| 10 | 0.303 |
| Average | 0.491 |
| S_0 | 0.176 |
| $3S_0$ (LOD) | 0.528 |
| $10S_0$ (LOQ) | 1.760 |

3.3 พิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ความเข้มข้นระดับ LOQ กลาง สูง เปรียบมาตรฐานโดยผสมมาตรฐานโดโลไมท์กับ sample blank ($\text{Mg}(\text{OH})_2$) ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (ระดับ LOQ) ระดับความเข้มข้นกลาง (ความเข้มข้นของโดโลไมท์ เท่ากับ 40%) และระดับความเข้มข้นสูงใช้มาตรฐานโดโลไมท์ความเข้มข้น 98.14% วิเคราะห์เชิงปริมาณโดยวัดด้วยเครื่อง XRD ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ วัดวันละ 1 ซ้ำเป็นเวลา 10 วัน ประเมิน ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ตาม (AOAC, 2016) พบว่า

3.3.1 ที่ระดับ LOQ เปรียบความเข้มข้นของโดโลไมท์ได้เท่ากับ 1.933 % วิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยเครื่อง XRD ได้ความเข้มข้นเฉลี่ย 1.966 % มีค่าความแม่นยำ (Trueness) ที่แสดง % Recovery 101.728% ผ่านเกณฑ์การยอมรับที่ 97-103 % และ Precision ที่แสดง %RSD เท่ากับ 4.609 โดยมีค่า HorRat เท่ากับ 1.933 (ตารางที่ 6)

3.3.2 ที่ระดับความเข้มข้นกลาง (ความเข้มข้นของโดโลไมท์ เท่ากับ 40%) ความเข้มข้นที่เตรียมได้เท่ากับ 39.281% วิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยเครื่อง XRD ได้ความเข้มข้นเฉลี่ย 40.298 % มีค่าความแม่นยำ (Trueness) ที่แสดง % Recovery 102.590 % และ Precision ที่แสดง %RSD เท่ากับ 0.523 โดยมีค่า HorRat เท่ากับ 0.346 (ตารางที่ 6)

3.3.3 ที่ระดับความเข้มข้นสูงใช้สารมาตรฐานโดโลไมท์ความเข้มข้น 98.14% วิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยเครื่อง XRD ได้ความเข้มข้นเฉลี่ย 99.400 % มีค่าความแม่นยำ (Trueness) ที่แสดง % Recovery 101.284 % และ Precision ที่แสดง %RSD เท่ากับ 0.407 โดยมีค่า HorRat เท่ากับ 0.308 (ตารางที่ 6)

3.4 คำนวณค่าความไม่แน่นอนที่ความเข้มข้นระดับ LOQ กลาง และ สูง

จากการคำนวณค่าความไม่แน่นอนที่ความเข้มข้นระดับ LOQ กลาง และ สูง โดยค่าความไม่แน่นอน Type A ได้แก่ การวิเคราะห์ซ้ำในการหาความเที่ยง (Precision) และค่าความไม่แน่นอน Type B ได้แก่ ค่าความไม่แน่นอนของน้ำหนักตัวอย่าง ค่าความเอนเอียง (Bias) ค่าความไม่แน่นอนของ XRD และค่าความไม่แน่นอนของ Atomic weights พบว่า การวิเคราะห์โดโลไมท์เชิงปริมาณด้วยเทคนิค XRD มีค่าความไม่แน่นอนที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เท่ากับ 0.091, 0.881 และ 2.173 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้นระดับ LOQ กลาง และ สูง ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

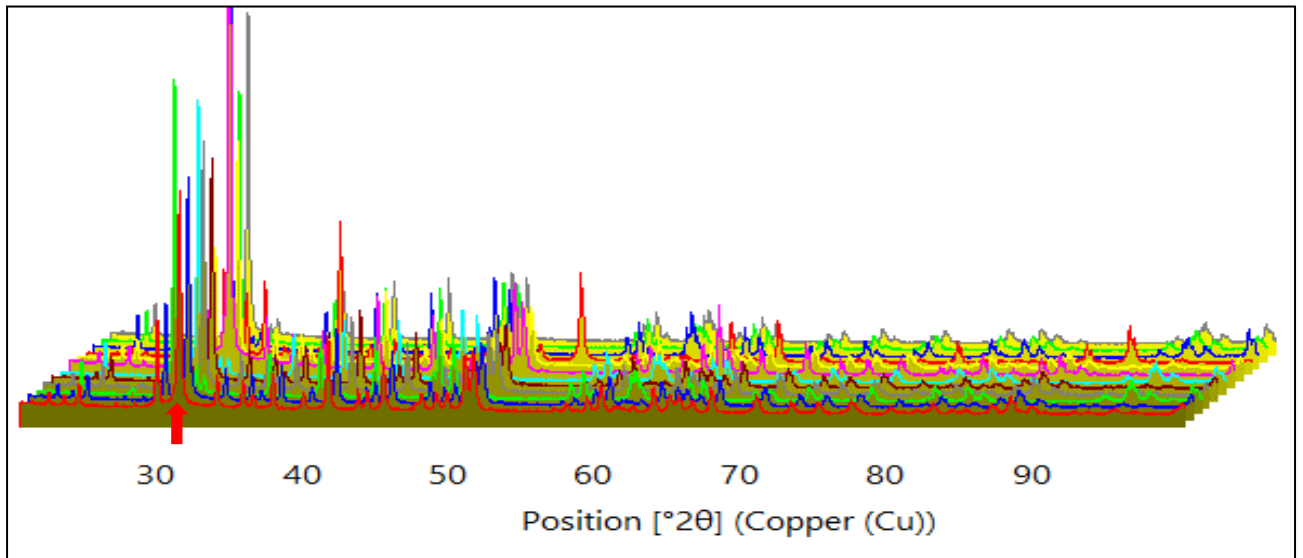
ตารางที่ 6 การพิสูจน์ความถูกต้อง และความเที่ยง ที่ความเข้มข้นระดับ LOQ กลาง และสูง

| Rep | XRD result (% CaMg(CO ₃) ₂) | | |
|--|---|----------------|----------------|
| | LOQ (1.933%) | กลาง (39.281%) | สูง (98.140%) |
| 1 | 2.027 | 40.245 | 99.651 |
| 2 | 1.871 | 40.125 | 99.345 |
| 3 | 1.917 | 40.375 | 99.769 |
| 4 | 1.954 | 40.114 | 99.011 |
| 5 | 2.133 | 40.545 | 99.123 |
| 6 | 1.872 | 40.331 | 99.764 |
| 7 | 1.846 | 40.681 | 99.238 |
| 8 | 2.015 | 40.236 | 99.963 |
| 9 | 2.000 | 40.365 | 98.652 |
| 10 | 2.029 | 39.965 | 99.482 |
| Average | 1.966 | 40.298 | 99.400 |
| SD | 0.091 | 0.211 | 0.404 |
| Trueness (%recovery) | 101.728 | 102.590 | 101.284 |
| Precision (%RSDr) | 4.609 | 0.523 | 0.407 |
| HorRat | 1.933 | 0.346 | 0.308 |
| ค่าความไม่แน่นอนรวม (u_c) | 0.045 | 0.441 | 1.086 |
| Uncertainty (U) | 0.091 | 0.881 | 2.173 |
| ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% | | | |

4. ทดสอบวิธีกับตัวอย่างสารปรับปรุงดินในท้องตลาด

4.1 การพิสูจน์เอกลักษณ์

จากการทดสอบวิธีวิเคราะห์โดโลไมท์ด้วยเครื่อง XRD โดยการวิเคราะห์ตัวอย่างสารปรับปรุงดินโดโลไมท์ที่จำหน่ายในท้องตลาดที่ฉลากระบุเป็นโดโลไมท์ จำนวน 12 ตัวอย่าง พบว่ามีตำแหน่งพีก (Peak position) แตกต่างกัน ซึ่งตัวอย่างที่มีโดโลไมท์จะต้องปรากฏพีกหลักที่ตำแหน่ง 31.94° (1 0 4), 37.35° (1 1 0), 41.12° (1 1 3), 44.92° (2 0 2), 50.52° (0 1 8) และ 51.60° (1 1 6) ° (ภาพที่ 5) ถ้าปรากฏพีกที่ตำแหน่งอื่น แสดงว่ามีองค์ประกอบอื่นผสมอยู่ ทำให้สามารถพิสูจน์เอกลักษณ์และตรวจสอบความบริสุทธิ์ของโดโลไมท์ได้จาก diffractogram ได้

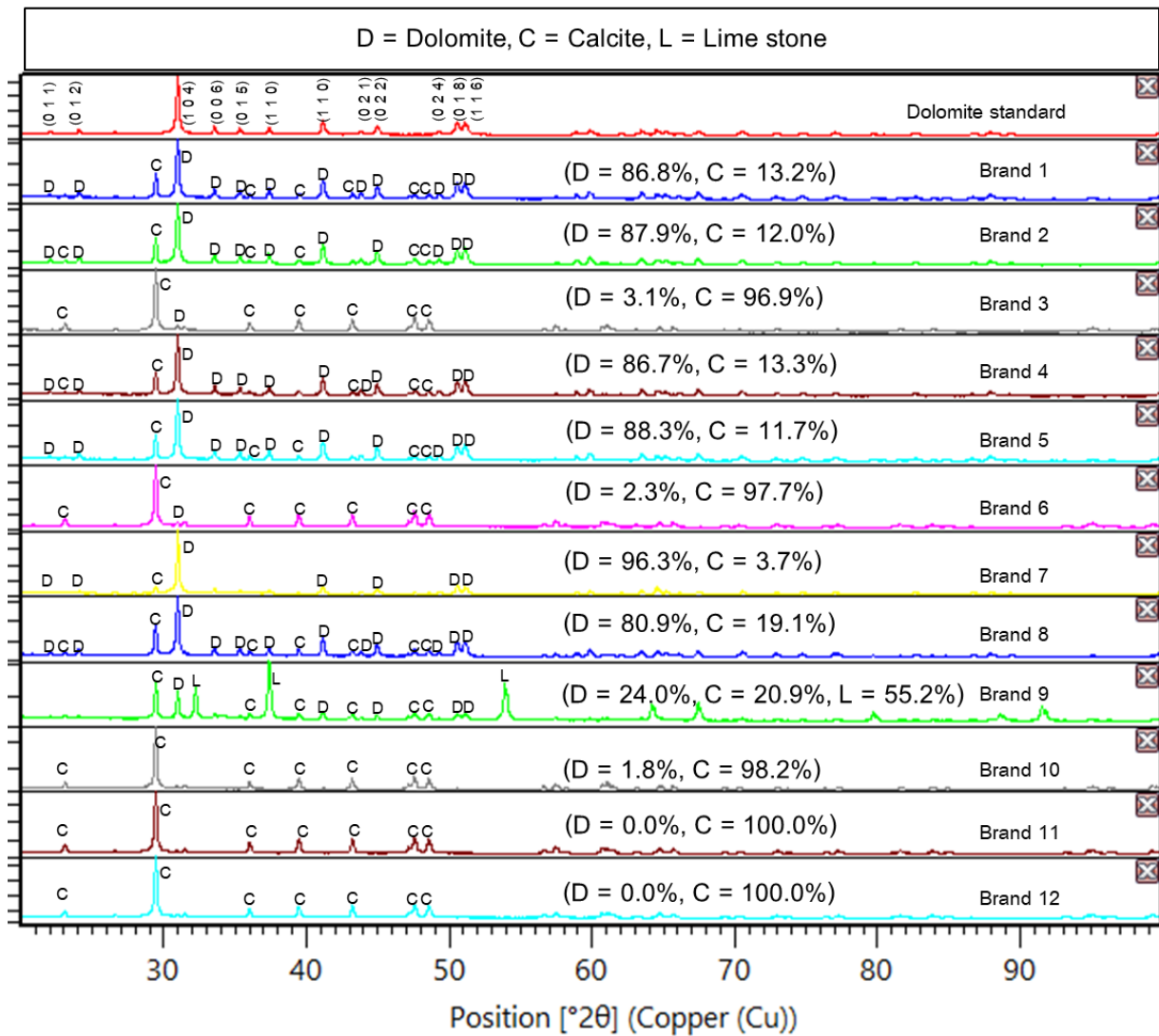


ภาพที่ 5 X-ray diffraction patterns ของสารปรับปรุงดินโดโลไมท์ที่จำหน่ายในท้องตลาดจำนวน 12 ตัวอย่าง

4.2 การวิเคราะห์เชิงปริมาณ

จากการวิเคราะห์เชิงปริมาณโดยตรวจสอบกับฐานข้อมูล ICDD (PDF-4) พบว่า ตัวอย่างปูนที่จำหน่ายในท้องตลาดที่ฉลากระบุเป็นโดโลไมท์ 12 ตัวอย่าง มีองค์ประกอบต่างๆ (ภาพที่ 6) ดังนี้

- 4.2.1 มีองค์ประกอบของโดโลไมท์ $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$ จำนวน 10 ตัวอย่าง อยู่ในช่วง 1.8-96.3% โดยมีตัวอย่างที่มีองค์ประกอบของ $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$ มากกว่า 80% จำนวน 6 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 50.0 ของตัวอย่างทั้งหมด
- 4.2.2 มีองค์ประกอบของแคลไซต์ (CaCO_3) จำนวน 12 ตัวอย่าง อยู่ในช่วง 3.6-100% โดยมีตัวอย่างที่มีองค์ประกอบของ CaCO_3 มากกว่า 90% จำนวน 5 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 41.7 ของตัวอย่างทั้งหมด
- 4.2.3 มีองค์ประกอบของปูนเผา (CaO) 55.2% จำนวน 1 ตัวอย่าง



ภาพที่ 6 X-ray diffraction patterns ของสารปรับปรุงดินโดโลไมท์ที่จำหน่ายในท้องตลาดจำนวน 12 ตัวอย่าง วิเคราะห์เชิงปริมาณโดโลไมท์โดยตรวจสอบกับฐานข้อมูล ICDD (PDF-4)

สรุปผลการทดลอง

1. การวิเคราะห์สารปรับปรุงดินโดโลไมท์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์เป็นการวิเคราะห์แบบไม่ทำลายตัวอย่างโดยเริ่มจากการหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารปรับปรุงดินปูนขาว มีค่ามุมที่ $10 - 110^\circ 2\theta$, Step size $0.02^\circ 2\theta$, Time per step 40 s, Divergence slit $1/2^\circ$ degree $^\circ 2\theta$ และ Beam mask 23 mm
2. วิเคราะห์ข้อมูลโครงสร้างผลึกและส่วนประกอบเชิงแร่ด้วยเทคนิค Rietveld refinement โดยอ้างอิงจากค่า 2θ ของตำแหน่งพีค ค่าดัชนีมิลเลอร์ (hkl) ของผลึก และตรวจสอบกับฐานข้อมูล ICDD (PDF-4) สามารถแยกเอกลักษณ์ของสารมาตรฐานโดโลไมท์ ได้จาก Diffractogram ที่มีตำแหน่งพีค (Position) 31.94° (1 0 4), 37.35° (1 1 0), 41.12° (1 1 3), 44.92° (2 0 2), 50.52° (0 1 8) และ 51.60° (1 1 6) มีโครงสร้างผลึกแบบ ромбоэдрический (Rhombohedral)
3. การผสมสารปรับปรุงดินโดโลไมท์กับสารปรับปรุงดินปูนขาว แคลเซียมคาร์บอเนต และ ยิปซัม มีค่า % RPD ของ Slope ของกราฟสารมาตรฐานปรับปรุงดินโดโลไมท์ที่ผสมกับ sample blank และกราฟสารมาตรฐานปรับปรุงดินโดโลไมท์ที่ผสมกับสารปรับปรุงดินชนิดอื่น เท่ากับ 0.11% ซึ่งผ่านเกณฑ์กำหนด % RPD ของ Slope < 10% (NATA: 2018) แสดงว่า การวิเคราะห์สารปรับปรุงดินโดโลไมท์ด้วยเทคนิค XRD ไม่เกิดการรบกวนกันกับองค์ประกอบสารปรับปรุงดินอื่น สามารถวิเคราะห์โดโลไมท์ได้แม้ในสภาวะที่มีสารปรับปรุงดินอื่นผสมอยู่ได้
4. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ มีช่วงการใช้งาน (Method working range) 1 – 98 %ความเป็นเส้นตรง ($r = 0.9998$) มีค่า LOD 0.528% ค่า LOQ จากการคำนวณ 0.176% มีความแม่นยำ (Trueness) ที่แสดงด้วยค่า % Recovery ที่ 101.723, 102.590 และ 101.284 มีความเที่ยง (Precision) ที่แสดงด้วยค่า HorRat 1.933, 0.346 และ 0.308 แสดงให้เห็นถึงวิธีมีความแม่นยำ และความเที่ยงเหมาะสมที่จะใช้ป็นวิธีวิเคราะห์โดโลไมท์ด้วยเทคนิค XRD ความเข้มข้น 1.966 ± 0.091 , 40.298 ± 0.881 , 99.400 ± 2.173 ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง ตามลำดับ
5. การทดสอบวิธีกับตัวอย่างสารปรับปรุงดินในห้องตลาดที่ฉลากระบุเป็นโดโลไมท์ สามารถพิสูจน์เอกลักษณ์ และตรวจสอบความบริสุทธิ์ของโดโลไมท์ได้จาก diffractogram ได้ โดยตัวอย่างที่พบองค์ประกอบของ $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$ สูง คือ มากกว่า 80% ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นเกณฑ์ในการรับรองมาตรฐานสารปรับปรุงดินโดโลไมท์ที่ได้แหล่งแร่ในประเทศไทย ที่นำมาจำหน่ายในห้องตลาดได้

คำขอบคุณ

1. ขอขอบคุณทุนสนับสนุนงบประมาณการวิจัยด้าน ววน. จากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม (สกสว.)
2. ขอขอบคุณคณะผู้เชี่ยวชาญ ผู้อำนวยการ สำหรับคำปรึกษา ข้อเสนอแนะ ทำให้งานวิจัยสำเร็จตรงตามวัตถุประสงค์

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร ใช้ข้อมูลผลการวิเคราะห์สารปรับปรุงดิน ในการควบคุม ดูแลคุณภาพสารปรับปรุงดิน ที่ผลิตและจำหน่าย รวมทั้งนำเข้าและส่งออก ทั้งภายในและต่างประเทศ
2. ห้องปฏิบัติการหน่วยงานรัฐ (กรมพัฒนาที่ดิน กรมโรงงานอุตสาหกรรม) และห้องปฏิบัติการเอกชน มหาวิทยาลัย นำวิธีไปใช้เป็นวิธีมาตรฐานในห้องปฏิบัติการ
3. ห้องปฏิบัติการส่วนภูมิภาค สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1 – 8 ของกรมวิชาการเกษตร เพื่อให้เป็นวิธีวิเคราะห์มาตรฐาน ผ่านการยอมรับในระดับสากล เพื่อเพิ่มศักยภาพ และสร้างมาตรฐานการวิเคราะห์ทดสอบให้สามารถนำวิธีที่ได้ไปใช้ในการตรวจสอบได้อย่างเท่าเทียมกันในระดับประเทศ
4. เกษตรกรได้ใช้สารปรับปรุงดินที่ได้มาตรฐาน ตามฉลากระบุ มีคุณภาพตรงตามฉลากระบุ ลดการสูญเสีย หรือลดการทำลายคุณภาพของดินที่เกิดจากการใช้สารปรับปรุงดินผิดประเภทไม่ได้มาตรฐานในพื้นที่
5. ผู้ประกอบการ ในการนำผลวิเคราะห์ไปใช้ในการควบคุมคุณภาพสารปรับปรุงดิน ตามการควบคุม ดูแลคุณภาพสารปรับปรุงดิน ที่ผลิตและจำหน่าย และการบังคับใช้กฎหมาย

เอกสารอ้างอิง

- คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2548. ปฐพีวิทยาเบื้องต้น. พิมพ์ครั้งที่ 10. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 547 หน้า
- ระเบียบกรมพัฒนาที่ดินว่าด้วยการใช้เครื่องหมายรับรองมาตรฐานปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. 2556. กรมพัฒนาที่ดิน. กรุงเทพฯ.
- Daniel N., S. Kenneth S. Mark and C. Elleman. 2018. Rietveld-Based Quantitative Phase Analysis of Sugars in Confectionery. Food Analytical Methods, 11:2673–2681.
- National Association of Testing Authorities. 2018. General Accreditation Guidance -Validation and Verification of Quantitative and Qualitative test Methods. Australia. Eftichia Karageorgou, Victoria Samanidou. 2014. Youden test application in robustness assays during method.
- Said S Al-Jaroudi, Anwar Ul-Hamid, Abdul-Rashid I Mohammed, Salih Saner. Use of X-ray powder diffraction for quantitative analysis of carbonate rock reservoir samples. Powder Technology. 2007;175(3): 115-121.

พัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์ และจัดทำเกณฑ์มาตรฐานการตรวจรับรอง
สารปรับปรุงดินปูนขาว

Developing Analytical Technique and Standard Criteria
for Hydrated Lime Certification

สงกรานต์ มะลิสอน ญาณธิชา จิตต์สะอาด สุภา โพรธิจันทร์ พจมาลย์ ภู่อสาร จิตติรัตน์ ชูชาติ
กัญธนา คล้ายแก้ว กอริอะ บิลลี่ จีรัตน์ กุศลวิริยะวงศ์ วรณรัตน์ ชุตติบุตร

Songkrant Malisorn Yamthicha Jittsa-add Supha Photichan Pojjamarn Poosarn Jittirat Choochat
Kanthana Klaiagaw Koreeah Binlee Charirat Kusunwiriyawong Wannarat Chutibut

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

X-ray diffraction analysis is a non-destructive analysis of samples. The crystalline structure of compounds contained in the sample can be analyzed. This gives details about the crystal structure and crystal plane of the sample. It has been used to study the phase analysis and quantitative analysis of compounds and minerals. Hydrated lime is a calcium hydroxide compound which is soil amendment that farmers prefer to use to improve soil and adjust the pH in the soil. The objective is for farmers to use quality soil amendments and exactly as needed. The researchers therefore applied the X-ray diffraction technique to study on phase analysis and quantitative analysis of hydrated lime to be able to accurately screening method of soil amendment. Studying hydrated lime with copper metal energy (Cu K α) of 1.5406 Å and optimum conditions for analysis range $10-115^\circ 2\theta$, step size $0.01^\circ 2\theta$, time per step 60s, divergence slit $1/2^\circ$ and beam mask 23 mm using rietveld refinement method, simultaneously detecting them based on 2θ of peak position and miller index (hkl) were $18.05^\circ(0\ 0\ 1)$, $28.67^\circ(1\ 0\ 0)$, $34.08^\circ(1\ 0\ 1)$, $47.10^\circ(1\ 0\ 2)$, $50.78^\circ(1\ 1\ 0)$, $54.34^\circ(1\ 1\ 1)$ and $62.59^\circ(2\ 0\ 1)$ confirmed using the search library match databases ICDD (PDF-4) of the compound $\text{Ca}(\text{OH})_2$ mineral name Portlandite. It has a hexagonal crystal structure. Hydrated lime has a unique XRD pattern. This method can be screening and quantitative analysis of hydrated lime. This method is suitable for study on phase analysis and quantitative analysis of hydrated lime. There is no interference. Method validation show LOD value of 0.10%, LOQ value of 0.34%, Trueness shown % Recovery values of 103.18, 98.18 and 99.46. Precision shown with HorRat values of 0.84, 0.94, and 0.32 at low, medium, and high concentrations. Method suitable to be used analyzing hydrated lime 10.07 ± 0.31 , 58.55 ± 1.64 , 86.78 ± 1.93

Keyword: soil amendments, hydrated lime, X-ray diffraction techniques, crystal structure, quantitative analysis

บทคัดย่อ

การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์เป็นการวิเคราะห์แบบไม่ทำลายตัวอย่าง สามารถทำการวิเคราะห์โครงสร้างของผลึกสารประกอบที่มีอยู่ในสารตัวอย่าง ซึ่งจะให้รายละเอียดเกี่ยวกับโครงสร้างผลึกและระนาบผลึกของสารตัวอย่าง จึงถูกนำมาใช้เพื่อศึกษาโครงสร้างผลึกและหาปริมาณของสารประกอบและแร่ปูนขาวจัดเป็นสารประกอบแคลเซียมไฮดรอกไซด์ซึ่งเป็นสารปรับปรุงดินชนิดหนึ่งที่เกษตรกรนิยมนำมาใช้ปรับค่าความเป็นกรดต่างในดิน เพื่อให้เกษตรกรได้ใช้สารปรับปรุงดินที่มีคุณภาพ และตรงตามความต้องการ ผู้วิจัยจึงได้นำเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์มาประยุกต์ใช้ในการศึกษาโครงสร้างผลึก และการวิเคราะห์เชิงปริมาณปูนขาวได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ โดยจากการศึกษาโครงสร้างผลึกของสารมาตรฐานปูนขาว ด้วยรังสีเอกซ์เป้าโลหะทองแดง (Cu K α) ความยาวคลื่น 1.5406 Å พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์มีค่ามุมที่ 10 – 115 °2 θ , Step size 0.01°2 θ , Time per step 60 s, Divergence slit ½ ° และ Beam mask 23 mm ใช้การประเมินด้วยวิธี Rietveld refinement พบว่า มีค่า 2 θ ของตำแหน่งพีคหลัก และค่าดัชนีมิลเลอร์ (hkl) ของผลึกเท่ากับ 18.05°(0 0 1), 28.67°(1 0 0), 34.08°(1 0 1), 47.10°(1 0 2), 50.78°(1 1 0), 54.34°(1 1 1) และ 62.59°(2 0 1) สอดคล้องกับฐานข้อมูลมาตรฐาน ICDD (PDF-4) ของสารประกอบ Ca(OH)₂ ชื่อทางแร่ Portlandite และเมื่อนำรูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD pattern) ของปูนขาวเปรียบเทียบกับปูนชนิดอื่นก็พบว่า มีลักษณะเฉพาะแตกต่างจากปูนชนิดอื่น ไม่เกิดการรบกวนกันขององค์ประกอบอื่น สามารถวิเคราะห์ปูนขาวได้ในสภาวะที่ตัวอย่างปูนขาวผสมกับปูนชนิดอื่น การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ มีค่า LOD 0.10% ค่า LOQ จากการคำนวณ 0.34% มีความแม่นยำ (Trueness) ที่แสดงด้วยค่า % Recovery ที่ 103.18, 98.18 และ 99.46 มีความเที่ยง (Precision) ที่แสดงด้วยค่า HorRat 0.84, 0.94 และ 0.32 ที่ความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง แสดงให้เห็นถึงวิธีมีความแม่นยำ และความเที่ยงเหมาะสมที่จะใช้เป็นวิธีวิเคราะห์ปูนขาว ที่ความเข้มข้น 10.07±0.31, 58.55±1.64, 86.78±1.93

คำสำคัญ : สารปรับปรุงดิน, ปูนขาว, เทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์, โครงสร้างผลึก, การวิเคราะห์เชิงปริมาณ

คำนำ

ปูนขาว มีส่วนประกอบทางเคมีเป็น Ca(OH)₂ เกิดจากการใช้ปูนเผาขณะที่ยังเป็นก้อนแข็ง เมื่อเย็นแล้วนำน้ำมาพรมให้ชุ่ม สารประกอบออกไซด์จะทำปฏิกิริยากับน้ำเกิดเป็นสารประกอบไฮดรอกไซด์ ซึ่งปูนขาวจัดเป็นสารปรับปรุงดินชนิดหนึ่งที่ใช้เพื่อลดความเป็นกรดของดิน (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2548) แต่ก็ยังไม่มีข้อกำหนดเกี่ยวกับมาตรฐานของสารปรับปรุงดินที่ใช้เป็นข้อบังคับทางกฎหมายในการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์เพื่อให้เกษตรกรได้ใช้สารปรับปรุงดินที่มีคุณภาพ และตรงตามความต้องการ ปัจจุบันการจะได้มาซึ่งข้อมูลเพื่อบ่งบอกชนิดและปริมาณสารประกอบของปูน จะต้องอาศัยหลักการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและกายภาพ เช่น ค่า CCE, CaO, MgO, pH, ความชื้น และขนาดอนุภาค (กรมพัฒนาที่ดิน, 2556) เช่น การวิเคราะห์หาปริมาณ CaO ด้วยวิธี Gravimetric method, Volumetric method, EDTA method และการวิเคราะห์ MgO ด้วยวิธี Pyrophosphate method (ASTM, 2016a) หรือการวิเคราะห์ Ca และ Mg โดยใช้ Inductively coupled plasma emission spectroscopic method หรือ Atomic absorption spectrophotometric method แล้วนำมาคำนวณเป็น CaO และ MgO เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามวิธีดังกล่าวยังไม่สามารถบ่งบอกองค์ประกอบของปูนได้โดยตรง การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-ray Diffraction; XRD) จึงได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้เพื่อวิเคราะห์โครงสร้างผลึกของสารประกอบและแร่ เป็นเทคนิคที่ได้รับการยอมรับและเป็นวิธีมาตรฐาน (ASTM, 2016b) เนื่องจากในผลึกของตัวอย่างหรือปูนแต่ละชนิดมีรูปแบบโครงสร้างผลึกแตกต่างกันไป เมื่อลำแสงของรังสีเอกซ์ ตกกระทบกับผิวของผลึกที่มุมตกกระทบ รังสีเอกซ์บางส่วนจะเกิด

การเลี้ยวเบน (Diffract) ในขณะที่บางส่วนจะผ่านทะลุลงไปยังผลึกที่อยู่ถัดลงไป และจะเกิดการเลี้ยวเบนอีกครั้ง ทำให้รูปแบบ (XRD pattern) ของการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ที่ออกมาไม่เท่ากันจึงมีลักษณะเฉพาะตัว หลังจากนั้นนำข้อมูลที่ได้อไปเปรียบเทียบกับข้อมูลมาตรฐานที่ทำการตรวจวัดโดยองค์กร The International Centre for Diffraction Data (ICDD) ใช้การประเมินด้วยวิธี Rietveld refinement (Daniel et al., 2018) ทำให้สามารถยืนยันโครงสร้างของผลึกเพื่อจำแนกชนิดของสารปรับปรุงดินได้อย่างแม่นยำ และสามารถวิเคราะห์เชิงปริมาณของปูนขาว ในรูปองค์ประกอบ Ca(OH)_2 ได้โดยตรง ผู้วิจัยจึงได้นำเทคนิคการเลี้ยวเบน รังสีเอกซ์มาประยุกต์ใช้ในการศึกษาโครงสร้างผลึก และการวิเคราะห์เชิงปริมาณปูนขาวให้สามารถตรวจคัดกรองให้ทราบชนิดปูนก่อนการนำไปวิเคราะห์เชิงปริมาณได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

สารเคมี

- 1) Calcium hydroxide (Ca(OH)_2)
- 2) Silica gel
- 3) 2-Propanol, 2.5 L
- 4) สารปรับปรุงดินปูนขาว
- 5) สารมาตรฐานสารปรับปรุงดินปูนขาว ปูนมาร์ล โดโลไมท์ และยิปซัม

วัสดุอุปกรณ์

- 1) เครื่องวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD)
- 2) เครื่องบดตัวอย่าง XRD mill
- 3) ตู้อบ
- 4) เครื่องชั่งอย่างละเอียดทศนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง
- 5) กระจกตวง ขนาด 10 มิลลิลิตร
- 6) Grinding jar
- 7) Grinding element (Agate)
- 8) Petri dish
- 9) แท่นเตรียมตัวอย่างแบบ Powder
- 10) Holder powder sample ring
- 11) Powder sample ring 27 mm.
- 12) เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์

วิธีการ

1. จัดหาสารมาตรฐานปูนขาว ตัวอย่างตามท้องตลาดของสารปรับปรุงดินปูนขาวและปูนชนิดอื่น
2. การเตรียมตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์
 - 2.1 เตรียมตัวอย่างปูนขาวในรูปของแข็งที่เป็นผง ขนาดน้อยกว่า 45 ไมครอน (325 เมช) โดยนำตัวอย่างปูนขาว ใส่ในกระบอกบดตัวอย่าง เติม 2-propanol จำนวน 7 มิลลิลิตร บดตัวอย่างด้วยเครื่องบด XRD mill
 - 2.2 นำตัวอย่างไประเหยแห้ง ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนตัวอย่างแห้ง คลุกเคล้าผงตัวอย่างปูนขาว

- 1.3 นำผงตัวอย่างปริมาณ 1-2 กรัม อัดตัวอย่างลงในอุปกรณ์แบบวงกลม (Sample holder) ให้ผิวหน้าของตัวอย่างเรียบเสมอกัน
3. พัฒนาวิธีวิเคราะห์สารปรับปรุงดินปูนขาวด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์
- 3.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารปรับปรุงดินปูนขาว
- 3.1.1 นำสารมาตรฐานปูนขาววัดด้วย XRD โดยการตั้งค่ามุมเริ่มต้นของการวัด (Start angle), มุมสุดท้ายของการวัด (End angle), ขนาดของการกวาดมุม (Step size), ช่วงเวลาที่ใช้วัดในแต่ละ step (Time per step), ตัวควบคุมความยาวลำแสงเพื่อให้ตกกระทบที่ตัวอย่าง (Divergence slit) ตัวควบคุมความกว้างลำแสงเพื่อให้ตกกระทบที่ตัวอย่าง (Beam mask) ดังนี้
- 1) ค่ามุมเริ่มต้นของการวัด (Start angle) และมุมสุดท้ายของการวัด (End angle) ตั้งตั้งแต่ $0 - 145^{\circ}2\theta$
 - 2) ขนาดของการกวาดมุม (Step size) $0.01^{\circ}2\theta$ และ $0.02^{\circ}2\theta$
 - 3) ช่วงเวลาที่ใช้วัดในแต่ละ step (Time per step) 20s, 40s และ 60s
 - 4) ตัวควบคุมความยาวลำแสงเพื่อให้ตกกระทบที่ตัวอย่าง (Divergence slit) $1/2^{\circ}$ และ $1/4^{\circ}$
 - 5) ตัวควบคุมความกว้างลำแสงเพื่อให้ตกกระทบที่ตัวอย่าง (Beam mask) 20 และ 23 mm
- 3.1.2 พิจารณารูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ที่เหมาะสม
- 3.2 ศึกษาการรบกวนขององค์ประกอบสารปรับปรุงดินปูนขาว กับสารปรับปรุงดินชนิดอื่น (Matrix effect) ในการวัดด้วยเครื่อง XRD ในเวลาเดียวกัน
- 3.2.1 เติมสารมาตรฐานสารปรับปรุงดินปูนขาว ที่ช่วงความเข้มข้น 0-90 % ในตัวอย่างสารปรับปรุงดินปูนมาร์ล โดโลไมท์ และยิปซัม นำไปทดสอบด้วยเครื่อง XRD ที่ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ
- 3.2.2 หา % Recovery ของสารมาตรฐานสารปรับปรุงดินปูนขาวที่เติมลงในตัวอย่างสารปรับปรุงดินปูนมาร์ล โดโลไมท์ และยิปซัม
4. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปูนขาวด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์
- 4.1 ศึกษาการทดสอบช่วงการใช้งาน (Method working range)
- 4.1.1 เติมสารมาตรฐานสารปรับปรุงดินปูนขาว ที่ช่วงความเข้มข้น 0-90 % ในตัวอย่างสารปรับปรุงดินที่ใช้เป็น Sample blank นำไปทดสอบด้วยเครื่อง XRD ที่ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ
- 4.1.2 ประเมินความเป็นเส้นตรงโดยการหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของตัวอย่างกับความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้ (Correlation coefficient (r))
- 4.1.3 ประเมินทางสถิติ Regression โดยพิจารณา Significance F
- 4.2 หาค่าขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation; LOQ)
- ซึ่งตัวอย่าง Sample Blank เติมสารมาตรฐานสารปรับปรุงดินปูนขาวลงไปเป็นปริมาณน้อยคำนวณหาค่าขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation; LOQ) จากสมการ
- $$\text{LOD} = 3\text{SD} \quad (1)$$
- $$\text{LOQ} = 10\text{SD} \quad (2)$$
- โดย SD คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- 4.3 พิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ความเข้มข้นระดับ LOQ กลาง สูง และ ความไม่แน่นอนของการวัด (Uncertainty)

4.3.1 เตรียมสารมาตรฐานสารปรับปรุงดินปูนขาวที่ความเข้มข้น LOQ กลาง และสูง ดำเนินการทดสอบตามวิธีทดสอบที่กำหนด ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ (โดยทำการทดสอบที่เวลาแตกต่างกัน วันละ 1 ซ้ำ เป็นเวลา 10 วัน)

4.3.2 บันทึกผลปริมาณสารปรับปรุงดินปูนขาวในหน่วยเปอร์เซ็นต์ (%)

4.3.3 ประเมินความถูกต้องโดยการพิจารณา %Recovery (AOAC, 2016)

การประเมิน %Recovery เปรียบเทียบค่าที่ทดสอบได้กับค่ามาตรฐาน จากสูตร

$$\% \text{ Recovery} = \frac{100 \times \text{ความเข้มข้นของ fortified sample}}{\text{ความเข้มข้นของตัวอย่างเริ่มต้น} + \text{ความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมลงไป}} \quad (3)$$

4.3.4 ประเมินความเที่ยงโดยพิจารณาจากค่า HorRat

การประเมินค่า Precision ในเกณฑ์การประเมิน : ใช้ HorRat (AOAC, 2016)

$$\text{HorRat (r)} = \frac{\text{RSD (r)}}{\text{PRSD (R)}} \quad (4)$$

$$\text{RSD (r)} = \frac{\text{SD}}{\text{mean}} \times 100 \quad (5)$$

$$\text{PRSD (R)} = 2C^{-0.15} \quad (6)$$

เมื่อ C (mass fraction) คือ ค่าเฉลี่ยผลการทดสอบ $\times 10^{-2}$

4.4 คำนวณค่าความไม่แน่นอนที่ความเข้มข้นระดับ LOQ กลาง และ สูง (EURACHEM, 2012)

4.4.1 รวบรวมแหล่งที่มาของค่าความไม่แน่นอน ดังนี้

- ค่าความไม่แน่นอน Type A ได้แก่ การวิเคราะห์ซ้ำในการหาความเที่ยง (Precision)

- ค่าความไม่แน่นอน Type B ได้แก่ ค่าความไม่แน่นอนของน้ำหนักตัวอย่าง ค่าความเอนเอียง (Bias) ค่าความไม่แน่นอนของ XRD และค่าความไม่แน่นอนของ Atomic weights (IUPAC, 2013; IUPAC, 2016)

4.4.2 คำนวณค่าความไม่แน่นอนแต่ละแหล่ง

4.4.3 รวมค่าความไม่แน่นอนจากทุกแหล่ง (combined uncertainty)

4.4.4 คำนวณค่าความไม่แน่นอนแบบขยาย

5. วิเคราะห์สารปรับปรุงดินในท้องตลาด

ระยะเวลา เริ่มต้น 1 ตุลาคม 2564 สิ้นสุด 30 กันยายน 2566

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. จัดหาสารมาตรฐาน ตัวอย่างตามท้องตลาด ของสารปรับปรุงดินปูนขาวและปูนชนิดอื่น

จากการจัดหาสารมาตรฐานปูนขาวและปูนชนิดอื่น พบว่า ได้สารมาตรฐานแคลเซียมไฮดรอกไซด์

(Ca(OH)₂) 98%, แคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO₃) 95%, โดโลไมท์ (CaMg(CO₃)₂), ยิปซัม (CaSO₄•2H₂O) 96%

ตัวอย่างซึ่งจัดอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของปูนขาว และตัวอย่างจากท้องตลาด

2. การเตรียมตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์

การเตรียมตัวอย่างสารปรับปรุงดินก่อนการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ โดยการบดและ

อัดตัวอย่างในอุปกรณ์แบบวงกลม (Sample holder) ให้ผิวหน้าของตัวอย่างเรียบ ดังแสดงตามภาพที่ 1



a)

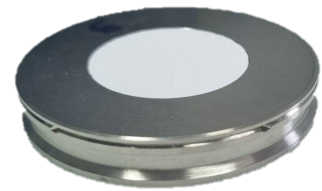
ภาพที่ 1 การเตรียมตัวอย่าง



b)

a) บดตัวอย่างด้วยเครื่องบด XRD mill

b) อัดตัวอย่างในอุปกรณ์แบบวงกลม (Sample holder)



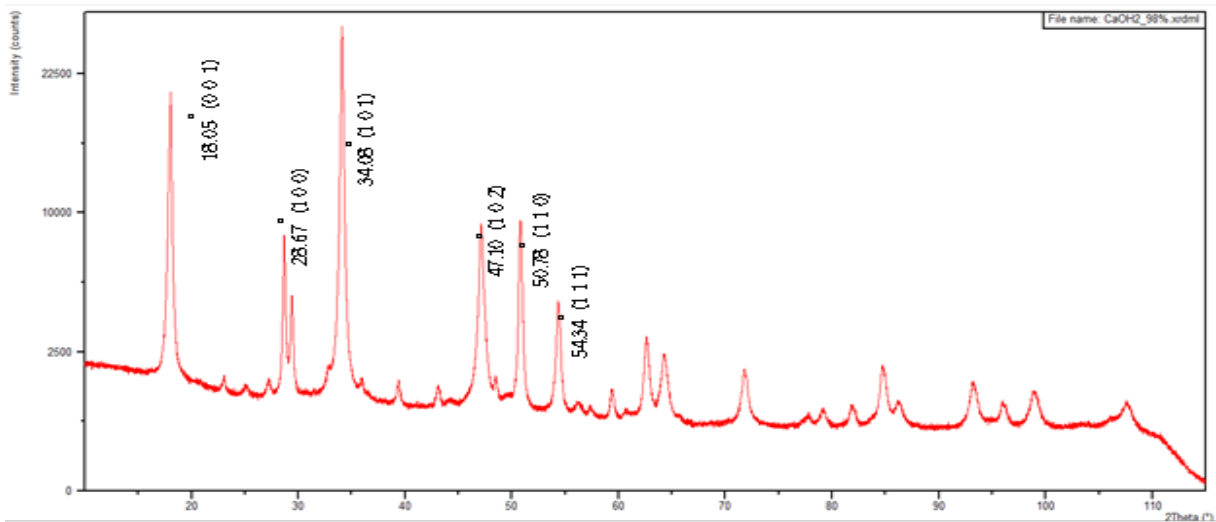
c)

c) ตัวอย่างก่อนนำเข้าเครื่อง XRD

3. พัฒนาวิธีวิเคราะห์สารปรับปรุงดินปูนขาวด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์

3.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารปรับปรุงดินปูนขาว

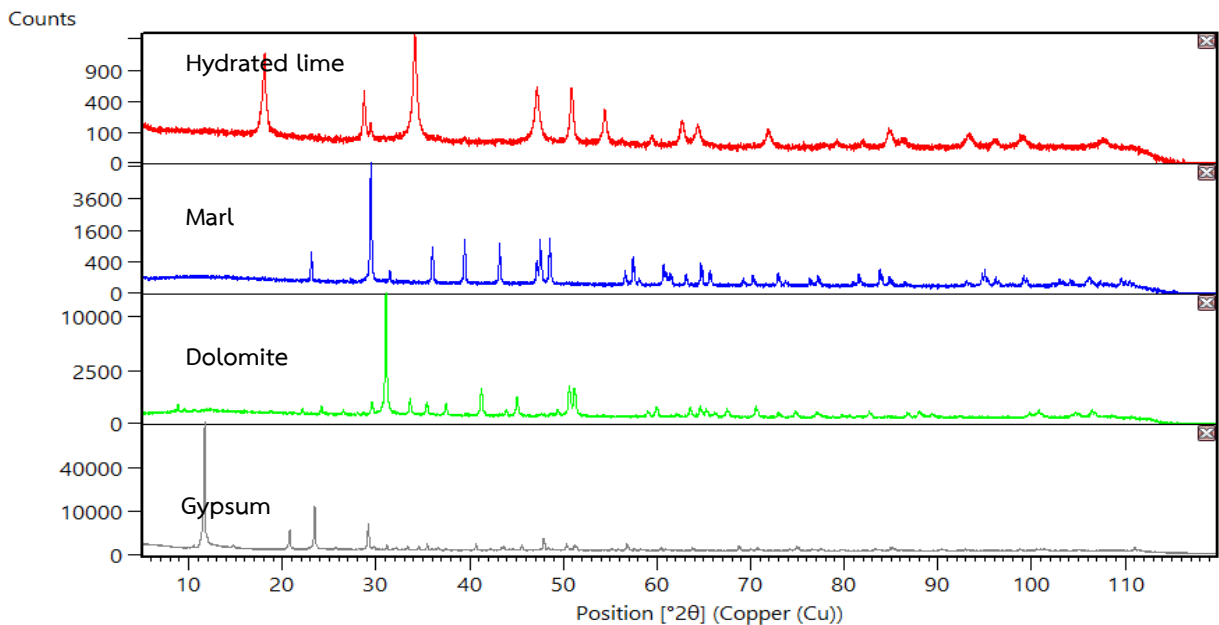
จากการศึกษาสภาวะในการวิเคราะห์โดยการวิเคราะห์สารมาตรฐานปูนขาวด้วย XRD พบว่า สภาวะที่ให้ตำแหน่งพีคสอดคล้องกับฐานข้อมูลมาตรฐาน ICDD และมี Intensity สูง เหมาะสมในการวิเคราะห์ มีค่ามุมเริ่มต้นของการวัด (Start angle) และมุมสุดท้ายของการวัด (End angle) ที่ $10 - 115^\circ 2\theta$ ซึ่งครอบคลุมตำแหน่งพีคของปูนขาวเริ่มต้นที่ค่า $2\theta 18.05^\circ 2\theta$ และสิ้นสุดที่ $107.48^\circ 2\theta$, ขนาดของการวัด แต่ละ Step (Step size) $0.01^\circ 2\theta$, ช่วงเวลาที่ใช้วัดในแต่ละ Step (Time per step) 60s, ตัวควบคุมความยาวลำแสงเพื่อให้ตกกระทบที่ตัวอย่าง (Divergence slit) $1/2^\circ$ และตัวควบคุมความกว้างลำแสงเพื่อให้ตกกระทบที่ตัวอย่าง (Beam mask) 23 mm พบว่า การวิเคราะห์สารมาตรฐานแคลเซียมไฮดรอกไซด์ มีค่า 2θ ของตำแหน่งพีคหลัก และค่าดัชนีมิลเลอร์ (hkl) ของผลึก เท่ากับ $18.05^\circ (0\ 0\ 1)$, $28.67^\circ (1\ 0\ 0)$, $34.08^\circ (1\ 0\ 1)$, $47.10^\circ (1\ 0\ 2)$, $50.78^\circ (1\ 1\ 0)$, $54.34^\circ (1\ 1\ 1)$ และ $62.59^\circ (2\ 0\ 1)$ ตามภาพที่ 2 สอดคล้องกับฐานข้อมูลมาตรฐาน ICDD (PDF-4) สอดคล้องกับฐานข้อมูลมาตรฐาน ICDD (PDF-4) Reference code 00-044-1481 ของสารประกอบ $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ชื่อทางแร่ Portlandite



ภาพที่ 2 รูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD pattern) และตำแหน่งพีคหลักของสารมาตรฐานปูนขาว

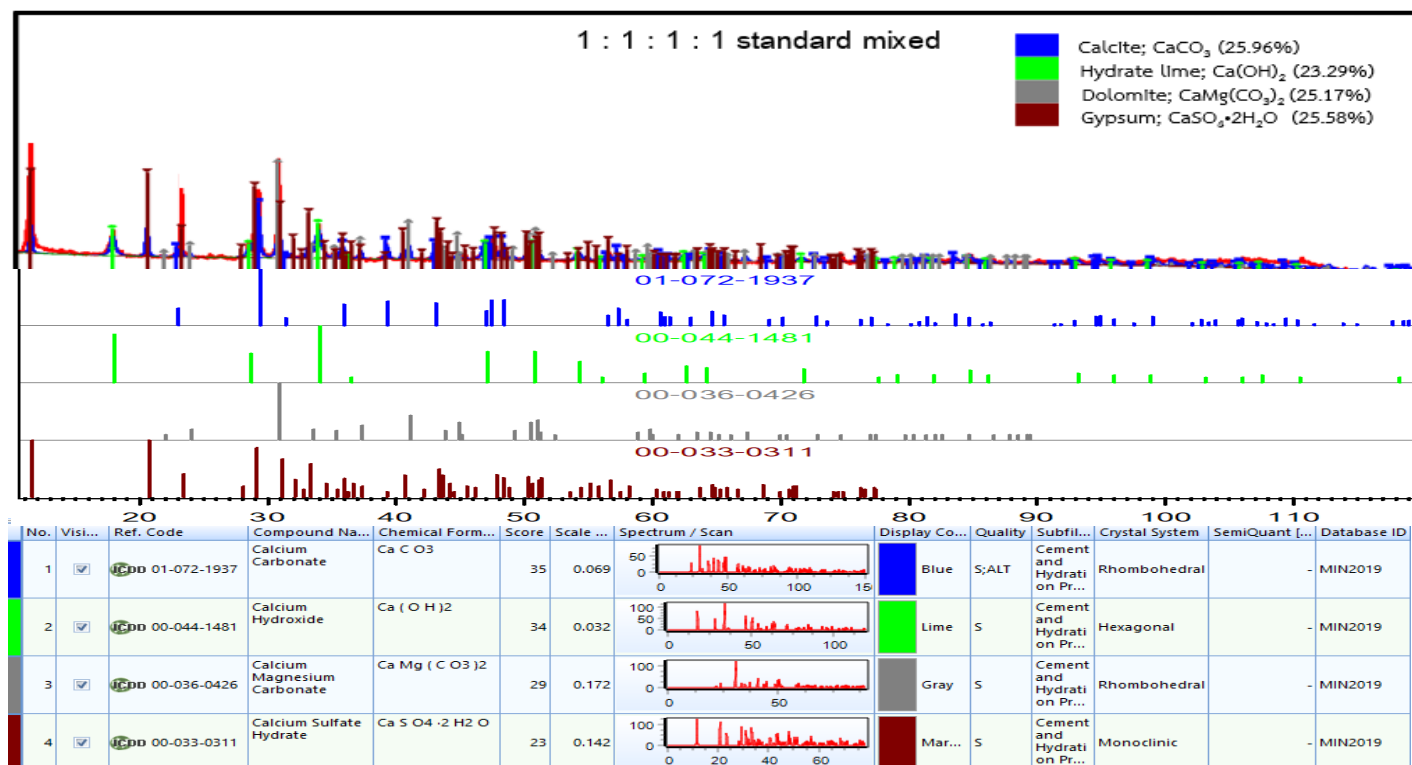
3.2 ศึกษาการรบกวนขององค์ประกอบสารปรับปรุงดินปูนขาว กับสารปรับปรุงดินชนิดอื่น (Matrix effect) ในการวัดด้วยเครื่อง XRD ในเวลาเดียวกัน

3.2.1 นำสารมาตรฐานปูนขาว ปูนมาร์ล โดโลไมท์ และยิปซัม มาทำการวิเคราะห์ด้วยสภาวะในการวิเคราะห์ปูนขาว พบว่า รูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD pattern) และตำแหน่งพีคหลักของสารมาตรฐานปูนขาวมีลักษณะเฉพาะแตกต่างจากปูนชนิดอื่น ซึ่งสามารถตรวจคัดกรองว่าเป็นปูนขาวได้แสดงตามภาพที่ 3



ภาพที่ 3 รูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD pattern) ที่แสดงตำแหน่งพีคหลักของสารมาตรฐานปูนขาว ปูนมาร์ล โดโลไมท์ และยิปซัม

3.2.2 นำสารปรับปรุงดินปูนขาวผสมกับสารปรับปรุงดินชนิดอื่น โดยการผสม CaCO_3 , $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ และ $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ที่อัตราส่วน 1:1:1:1 คิดเป็นร้อยละที่ได้จากการคำนวณ 25.34 : 24.94 : 24.35 : 25.37 แล้วนำไปวัดด้วยเครื่อง XRD จำนวน 7 ซ้ำ พบว่า ได้ผลการวิเคราะห์ปริมาณ CaCO_3 , $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ and $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ เท่ากับ 25.96, 25.17, 23.29 และ 25.58 มี % Recovery 102.44, 100.93, 95.63 และ 100.85 ซึ่งไม่เกิดการรบกวนกัน (Matrix effect) ขององค์ประกอบสารปรับปรุงดินปูนขาว กับสารปรับปรุงดินชนิดอื่น แสดงตามภาพที่ 4

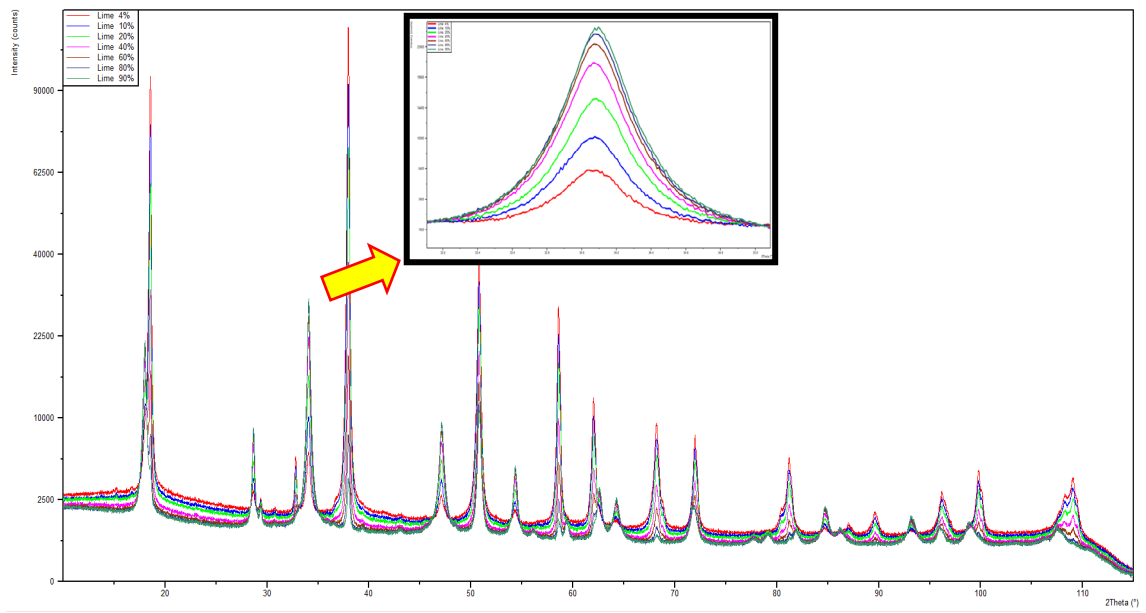


ภาพที่ 4 ผลการวัดด้วย XRD ของปูนขาวผสมกับสารปรับปรุงดินชนิดอื่น โดยการผสม CaCO_3 , $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ and $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ที่อัตราส่วน 1:1:1:1

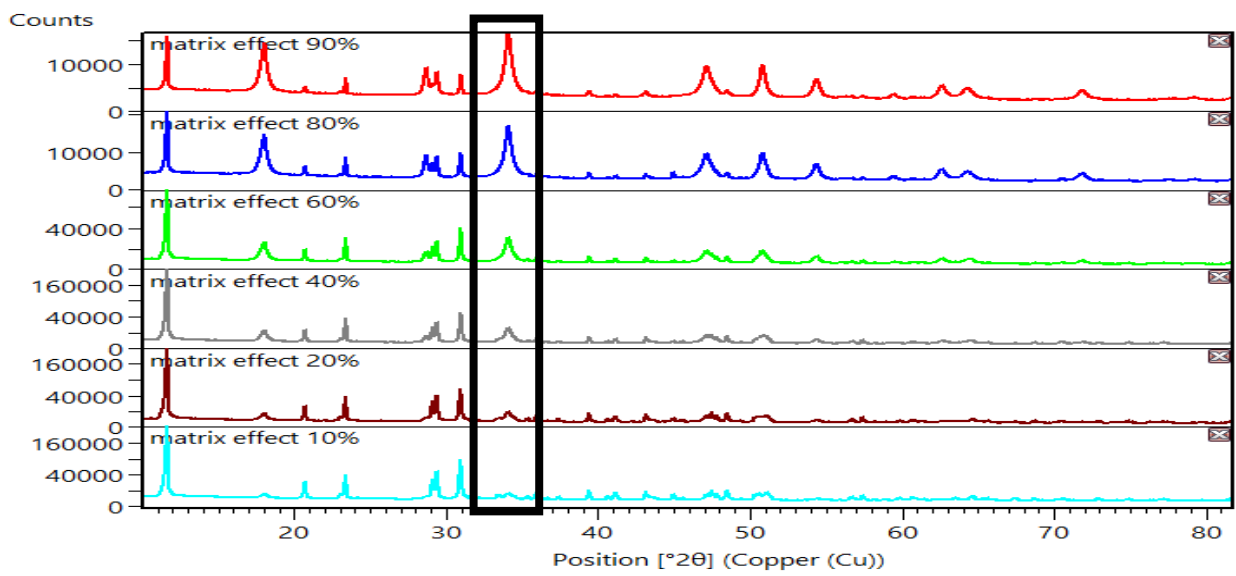
4. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปูนขาวด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์

4.1 การทดสอบช่วงการใช้งานของวิธีทดสอบปูนขาวด้วย XRD (Method working range)

จากการทดสอบช่วงการใช้งาน (Method working range) พบว่า เมื่อเติมสารมาตรฐานปูนขาวลงใน Sample blank ที่ความเข้มข้นสูงขึ้น Intensity ก็จะมีเพิ่มสูงขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกัน แสดงตามภาพที่ 5 ซึ่งครอบคลุมความเข้มข้นปูนขาวที่วิเคราะห์ได้ด้วย XRD 9.20 – 91.13 % ดังแสดงตามตารางที่ 1 มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง r เท่ากับ 0.9998 แสดงตามภาพที่ 6 การประเมินทางสถิติ Regression พบว่า มีค่า Significance F 4.4×10^{-8} ซึ่งน้อยกว่า 0.05 ปฏิเสธ H_0 แสดงว่า ค่าจริงกับค่าที่วิเคราะห์ได้ด้วย XRD มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นช่วงใช้งานของวิธีทดสอบปูนขาวด้วย XRD ครอบคลุมช่วงความเข้มข้น 9.20 – 91.13 % มีความเหมาะสม



a)

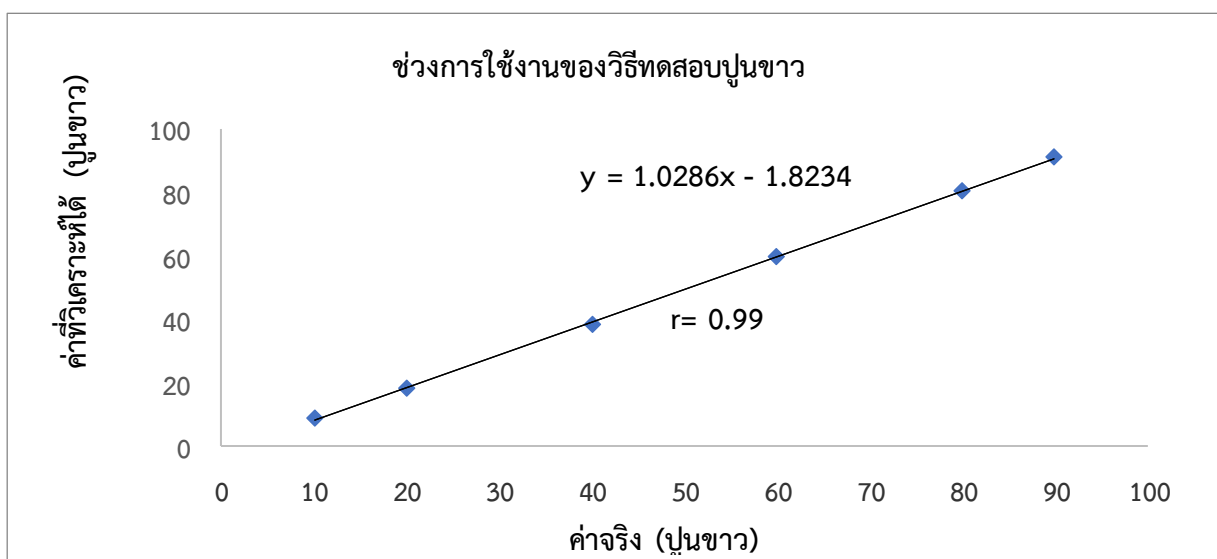


b)

ภาพที่ 5 Intensity ของสารมาตรฐานปูนขาวที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้น

ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์สารปรับปรุงดินปูนขาวที่วิเคราะห์ได้ด้วย XRD

| No. | % Hydrated lime (Ca(OH ₂)) ค่าจริง | % Hydrated lime (Ca(OH ₂)) ที่วิเคราะห์ได้ด้วย XRD |
|-----|---|---|
| 1 | 10.04 | 9.20 |
| 2 | 19.95 | 18.71 |
| 3 | 40.00 | 38.27 |
| 4 | 59.90 | 59.68 |
| 5 | 79.96 | 80.38 |
| 6 | 89.87 | 91.13 |



ภาพที่ 6 ช่วงการใช้งานของวิธีทดสอบปูนขาวด้วย XRD (Method working range)

4.2 หาค่าขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of detection; LOD) และค่าขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ) ของการวิเคราะห์ปูนขาว

จากการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ไม่มีสารที่สนใจ (Sample blank) ผสมปูนขาวในปริมาณน้อย เพื่อศึกษาขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of detection; LOD) ทำการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ พบว่า มีค่า LOD เท่ากับ 0.10 และ LOQ ที่ได้จากการคำนวณ เท่ากับ 0.34 จากการคำนวณ ดังแสดงตามตาราง 2

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ไม่มีสารที่สนใจ (Sample blank) ผสมปูนขาว (Ca(OH)₂) ในปริมาณน้อยด้วยเครื่อง XRD

| Replicate | % Hydrated lime (Ca(OH) ₂) |
|------------|--|
| 1 | 0.25 |
| 2 | 0.23 |
| 3 | 0.23 |
| 4 | 0.14 |
| 5 | 0.26 |
| 6 | 0.24 |
| 7 | 0.20 |
| 8 | 0.23 |
| 9 | 0.23 |
| 10 | 0.20 |
| Average | 0.22 |
| SD | 0.03 |
| LOD (3SD) | 0.10 |
| LOQ (10SD) | 0.34 |

4.3 พิสูจน์ความแม่นยำ (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ของการวิเคราะห์ปูนขาว ที่ความเข้มข้นต่ำ (LOQ) กลาง และสูง

จากการผสมสารมาตรฐานปูนขาวกับ sample blank ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (9.76%) ระดับความเข้มข้นกลาง (59.64%) และระดับความเข้มข้นสูง (86.76%) วิเคราะห์ปริมาณปูนขาว (Ca(OH)₂) โดยวัดด้วยเครื่อง XRD ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ โดยการวิเคราะห์ต่างวัน พบว่า ค่าเฉลี่ยที่วิเคราะห์ได้และค่าความไม่แน่นอนที่ระดับความเข้มข้นต่ำ เท่ากับ 10.07 ± 0.31 ระดับความเข้มข้นกลาง เท่ากับ 58.55 ± 1.64 และระดับความเข้มข้นสูง เท่ากับ 86.78 ± 1.93 แล้วทำการประเมินความถูกต้อง (Trueness) จาก % Recovery และความเที่ยง (Precision) จากค่า HorRat พบว่า มีความแม่นยำ (Trueness) ที่แสดงด้วยค่า % Recovery ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 103.18 ความเข้มข้นกลาง 98.18 และความเข้มข้นสูง 99.46 มีความเที่ยง (Precision) ที่แสดงด้วยค่า HorRat ที่ความเข้มข้นต่ำ 0.84 ความเข้มข้นกลาง 0.94 ความเข้มข้นสูง 0.32 ดังแสดงตามตารางที่ 3

ตารางที่ 3 การพิสูจน์ความถูกต้อง ความเที่ยงของการวิเคราะห์ปูนขาว ที่ความเข้มข้นระดับต่ำ กลาง และสูง

| Replicate | XRD result (% Ca(OH) ₂) | | |
|---|-------------------------------------|--------------|-------------|
| | ต่ำ (9.76) | กลาง (59.64) | สูง (87.25) |
| 1 | 10.03 | 59.68 | 88.07 |
| 2 | 9.68 | 59.33 | 86.75 |
| 3 | 10.31 | 59.36 | 87.33 |
| 4 | 9.72 | 58.04 | 86.36 |
| 5 | 10.21 | 57.61 | 86.22 |
| 6 | 10.03 | 59.36 | 87.33 |
| 7 | 10.31 | 59.35 | 86.36 |
| 8 | 10.21 | 57.61 | 86.22 |
| 9 | 9.89 | 56.02 | 86.22 |
| 10 | 10.31 | 59.18 | 86.36 |
| Average | 10.07 | 58.55 | 86.78 |
| SD | 0.24 | 1.19 | 0.56 |
| %RSDr | 2.38 | 2.03 | 0.65 |
| PRSD (R) | 2.82 | 2.17 | 2.04 |
| Trueness (%recovery) | 103.18 | 98.18 | 99.46 |
| Precision (HorRat) | 0.84 | 0.94 | 0.32 |
| ค่าความไม่แน่นอนรวม (u _c) | 0.153 | 0.819 | 0.964 |
| Uncertainty (U) ที่ระดับ ความเชื่อมั่น 95% | 0.31 | 1.64 | 1.93 |

5. ทดสอบวิธีวิเคราะห์ปูนขาวด้วย XRD กับตัวอย่างสารปรับปรุงดินในท้องตลาด

จากการนำตัวอย่างที่จำหน่ายตามท้องตลาด ที่ฉลากระบุว่าเป็นปูนขาว จำนวน 13 ตัวอย่าง มาวิเคราะห์ด้วย XRD พบว่า ตัวอย่างมีองค์ประกอบ 2 ชนิดปูน ได้แก่ ปูนขาว (Ca(OH)₂) หรือชื่อทางแร่ Portlandite และ Calcite (CaCO₃) จำนวน 9 ตัวอย่าง มีองค์ประกอบ 3 ชนิดปูน ได้แก่ ปูนขาว (Ca(OH)₂), Calcite (CaCO₃) และ Dolomite (CaMg(CO₃)₂) จำนวน 2 ตัวอย่าง และมีองค์ประกอบ Calcite (CaCO₃) เพียงองค์ประกอบเดียว จำนวน 2 ตัวอย่าง โดยมีปริมาณ Ca(OH)₂ อยู่ในช่วง 0.46 – 93.16%, Calcite (CaCO₃) อยู่ในช่วง 6.84 – 100%, Dolomite (CaMg(CO₃)₂) อยู่ในช่วง 2.02 – 23.87% ดังแสดงตามตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลวิเคราะห์ตัวอย่างสารปรับปรุงดินปูนขาวตามท้องตลาด ด้วย XRD

| Sample | Result (%) | | |
|-----------|---------------------------------------|---------------------------------|---|
| | Portlandite (Ca(OH) ₂) | Calcite (CaCO ₃) | Dolomite CaMg(CO ₃) ₂) |
| Sample 1 | 92.95 | 7.05 | - |
| Sample 2 | 88.13 | 11.87 | - |
| Sample 3 | 92.64 | 7.36 | - |
| Sample 4 | 93.16 | 6.84 | - |
| Sample 5 | 0.47 | 99.53 | - |
| Sample 6 | - | 100 | - |
| Sample 7 | 2.27 | 97.73 | - |
| Sample 8 | - | 100 | - |
| Sample 9 | 0.46 | 99.54 | - |
| Sample 10 | 1.99 | 98.01 | - |
| Sample 11 | 0.59 | 99.41 | - |
| Sample 12 | 45.08 | 31.05 | 23.87 |
| Sample 13 | 28.67 | 69.31 | 2.02 |

สรุปผลการทดลอง

การวิเคราะห์สารปรับปรุงดินปูนขาวด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์เป็นการวิเคราะห์แบบไม่ทำลาย ตัวอย่างโดยเริ่มจากการหาสถานะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ พบว่า สถานะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ สารปรับปรุงดินปูนขาว มีค่ามุมที่ 10 – 115 °2θ, Step size 0.01°2θ, Time per step 60 s, Divergence slit 1/2 ° และ Beam mask 23 mm ใช้การประเมินด้วยวิธี Rietveld refinement มีค่า 2θ ของตำแหน่งพีคหลัก และ ค่าดัชนีมิลเลอร์ (hkl) ของผลึกเท่ากับ 18.05°(0 0 1), 28.67°(1 0 0), 34.08°(1 0 1), 47.10°(1 0 2), 50.78°(1 1 0), 54.34°(1 1 1) และ 62.59°(2 0 1) สอดคล้องกับฐานข้อมูลมาตรฐาน ICDD (PDF-4) ของสารประกอบ Ca(OH)₂ ชื่อทางแร่ Portlandite โครงสร้างผลึกเป็นแบบเฮกซะโกนอล รูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD pattern) ของปูนขาวเปรียบเทียบกับปูนชนิดอื่นพบว่า มีลักษณะเฉพาะแตกต่างจากปูนชนิดอื่น และเมื่อนำ สารปรับปรุงดินปูนขาวผสมกับสารปรับปรุงดินชนิดอื่น โดยการผสม CaCO₃, CaMg(CO₃)₂, Ca(OH)₂ และ CaSO₄•2H₂O ที่อัตราส่วน 1:1:1:1 ได้ผลการวิเคราะห์ เท่ากับ 25.96, 25.17, 23.29 และ 25.58 มี % Recovery 102.44, 100.93, 95.63 และ 100.85 ซึ่งไม่เกิดการรบกวนกันขององค์ประกอบอื่น สามารถวิเคราะห์ปูนขาวได้แม้ในสถานะที่ตัวอย่างปูนขาวผสมกับปูนชนิดอื่น การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ มีค่า LOD 0.10% ค่า LOQ จากการคำนวณ 0.34% มีความแม่นยำ (Trueness) ที่แสดงด้วยค่า % Recovery ที่ 103.18, 98.18 และ 99.46 มีความเที่ยง (Precision) ที่แสดงด้วยค่า HorRat 0.84, 0.94 และ 0.32 ที่ความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง แสดงให้เห็นถึงวิธีมีความแม่นยำ และความเที่ยงเหมาะสมที่จะใช้เป็นวิธีวิเคราะห์ปูนขาว ที่ความเข้มข้น 10.07±0.31, 58.55±1.64, 86.78±1.93

คำขอบคุณ

คณะวิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม (สกสว.) ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัย และขอขอบพระคุณคณะผู้เชี่ยวชาญ ผู้อำนวยการ ที่ให้คำปรึกษา และข้อเสนอแนะ ตลอดจนการทำงานวิจัยที่ทำให้บรรลุวัตถุประสงค์ของงานวิจัยในครั้งนี้

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร ใช้ข้อมูลผลการวิเคราะห์สารปรับปรุงดิน ในการควบคุม ดูแลคุณภาพสารปรับปรุงดิน ที่ผลิตและจำหน่าย รวมทั้งนำเข้าและส่งออก ทั้งภายในและต่างประเทศ
2. ห้องปฏิบัติการหน่วยงานรัฐ (กรมพัฒนาที่ดิน กรมโรงงานอุตสาหกรรม) และห้องปฏิบัติการเอกชน มหาวิทยาลัย นำวิธีไปใช้ในเป็นวิธีมาตรฐานในห้องปฏิบัติการ
3. ห้องปฏิบัติการส่วนภูมิภาค สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1 – 8 ของกรมวิชาการเกษตร เพื่อให้เป็นวิธีวิเคราะห์มาตรฐาน ผ่านการยอมรับในระดับสากล เพื่อเพิ่มศักยภาพ และสร้างมาตรฐานการวิเคราะห์ทดสอบให้สามารถนำวิธีที่ได้ไปใช้ในการตรวจสอบได้อย่างเท่าเทียมกันในระดับประเทศ
4. เกษตรกรได้ใช้สารปรับปรุงดินที่ได้มาตรฐาน ตามฉลากระบุ มีคุณภาพตรงตามฉลากระบุ ลดการสูญเสีย หรือลดการทำลายคุณภาพของดินที่เกิดจากการใช้สารปรับปรุงดินผิดประเภทไม่ได้มาตรฐานในพื้นที่
5. ผู้ประกอบการ ในการนำผลวิเคราะห์ไปใช้ในการควบคุมคุณภาพสารปรับปรุงดิน ตามการควบคุม ดูแลคุณภาพสารปรับปรุงดิน ที่ผลิตและจำหน่าย และการบังคับใช้กฎหมาย

เอกสารอ้างอิง

- คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2548. ปฐพีวิทยาเบื้องต้น. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
กรมพัฒนาที่ดิน. 2556. ระเบียบกรมพัฒนาที่ดินว่าด้วยการใช้เครื่องหมายรับรองมาตรฐานปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. กรุงเทพฯ.
- ASTM International (ASTM). 2016a. Standard Test Method for Chemical Analysis of Limestone, Quicklime, and Hydrate lime. ASTM C25-11. Pennsylvania, USA.
- ASTM International (ASTM). 2016b. Standard Test Method for X-ray Spectrometric Analysis of Lime and Limestone. ASTM C1271-99. Pennsylvania, USA.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2016. Official Method of Analysis of AOAC International. 20th Ed. AOAC International Gaithersburg, Maryland. USA.
- Daniel N., S. Kenneth S. Mark and C. Elleman. 2018. Rietveld-Based Quantitative Phase Analysis of Sugars in Confectionery. Food Analytical Methods, 11:2673–2681.
- EURACHEM/CITAC. 2012. Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. 3th Edition. EURACHEM/CITAC Guide CG 4, <https://www.eurachem.org>.
- IUPAC. 2013. Atomic weights of the elements 2013 (IUPAC Technical Report). Pure and Applied Chemistry. 88(3): 265-291.
- IUPAC. 2016. Guidelines for The Use of Atomic Weights. International Union of Pure and Applied Chemistry. 13 P.

พัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์ และจัดทำเกณฑ์มาตรฐานการตรวจรับรอง
สารปรับปรุงดินยิปซัม

Develop analytical techniques and establish standards for certification
of gypsum in soil conditioner

พจมาลย์ ภู่อสาร จิตติรัตน์ ชูชาติ สงกรานต์ มะลิสอน สุภา โฟธิจันทร์ ญาณธิชา จิตต์สะอาด
กัญธนา คล้ายแก้ว กอริอะ บิลลี่ จริรัตน์ กุศลวิริยะวงศ์ วรณรัตน์ ชุตติบุตร

Pojjamarn Poosarm Jittirat Choochat Songkrant Malisom Supha Photichan Yarnthicha Jittsa-aad
Kanthana Klaigaew Korreah Binlee Charirat Kusonwiryawong Wannarat Chutibut

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The objective of this study was analysis of the quantitative and components of gypsum in soil conditioner by a rapid, non-destructive technique analysis of samples. x-ray diffraction (XRD) with copper metal Cu K α energy ($\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$) at 25 °C. Optimum conditions for analysis range 5 – 70 °2 θ , Divergence 1/4 degree °2 θ , Beam mask 23 mm. step size 0.020° 2 θ and measurement time 20.17 minutes. using rietveld refinement method, simultaneously detecting them based on 2 θ of peak position and miller index (hkl) were 11.61° (0 2 0), 20.70° (0 2 1), 23.36° (0 4 0), 29.08° (0 4 1), 35.93° (0 6 0) and 47.82° (0 8 0) confirmed using the search library match databases ICDD (PDF-4) of the compound CaSO₄•2H₂O mineral name Gypsum. Find the LOD value equal to 0.44 LOQ obtained from calculation is equal to 1.48. Verified the accuracy (Trueness) and precision (Precision) at low, medium and high concentrations by mixing gypsum standard substance (CaSO₄•2H₂O) with Samples that do not contain the substance of interest (Sample blank) by using calcium carbonate standard substance (CaCO₃). This method can be quantitative analysis of gypsum found That there is accuracy (Trueness) shown by the % Recovery value at low concentration 98.74, middle concentration 95.53 and high concentration 99.61. There is Precision shown by HorRat value at low concentration 0.73, medium concentration 0.89 concentration. Height 0.12. From taking samples sold in the market The label indicates that there are 12 samples analyzed with XRD and then compared with the ICDD reference database (PDF-4). The samples contain 3 types of cement: CaSO₄•2H₂O, CaCO₃ and MgCrCO₃(OH₂). The amount of CaSO₄•2H₂O is in the range of 49.6 – 73.1 %, CaCO₃ is in the range of 26.9 – 50.4 % and MgCrCO₃(OH₂) is in the range of 26.9 – 31.7 %.

Keywords: Method validation, X-ray Diffraction (XRD), Gypsum in Soil Conditioner

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ เพื่อวิเคราะห์ปริมาณและองค์ประกอบของสารปรับปรุงดินยิปซัม ด้วยเทคนิคการวิเคราะห์ที่มีความรวดเร็ว และไม่ทำลายตัวอย่าง คือเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-ray diffraction ; XRD) ใช้รังสีเอกซ์ที่มีเป้าเป็นโลหะทองแดง (Cu K α) ความยาวคลื่นของรังสีเอกซ์ (λ) เท่ากับ 1.5406 Å ที่ 25 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ข้อมูลโครงสร้างผลึก และองค์ประกอบ โดยอ้างอิงจากค่า 2 θ ของตำแหน่งพีก ตรวจสอบกับฐานข้อมูล ICDD (PDF-4) พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ตั้งค่ามุมวิเคราะห์ 5 – 70 °2 θ Divergence ที่ 1/4 degree °2 θ Beam mask ที่ 23 mm. step size ที่ขนาด 0.020° ใช้เวลาวิเคราะห์รวม 20.17 นาที และเมื่ออ้างอิงจากค่า 2 θ ของตำแหน่งพีก กับค่าดัชนีมิลเลอร์ (hkl) แสดงที่ 11.61° (0 2 0), 20.70° (0 2 1), 23.36° (0 4 0), 29.08°(0 4 1), 35.93° (0 6 0) และ 47.82° (0 8 0) ตามลำดับ ทำการหาค่า LOD เท่ากับ 0.44 LOQ ที่ได้จากการคำนวณ เท่ากับ 1.48 และทำการพิสูจน์ความแม่นยำ (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง จากการผสมสารมาตรฐานยิปซัม (CaSO $_4$ •2H $_2$ O) กับ ตัวอย่างที่ไม่มีสารที่สนใจ (Sample blank) โดยการใช้สารมาตรฐานแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO $_3$) พบว่า มีความแม่นยำ (Trueness) ที่แสดงด้วยค่า % Recovery ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 98.74 ความเข้มข้นกลาง 95.53 และความเข้มข้นสูง 99.61 มีความเที่ยง (Precision) ที่แสดงด้วยค่า HorRat ที่ความเข้มข้นต่ำ 0.73 ความเข้มข้นกลาง 0.89 ความเข้มข้นสูง 0.12 จากการนำตัวอย่างที่กำหนดตามท้องตลาด ที่ฉลากระบุว่าเป็น จำนวน 12 ตัวอย่าง มาวิเคราะห์ด้วย XRD แล้วทำการเทียบกับฐานข้อมูลอ้างอิง ICDD (PDF-4) ตัวอย่างมีองค์ประกอบ 3 ชนิดปูน คือ CaSO $_4$ •2H $_2$ O, CaCO $_3$ และ MgCrCO $_3$ (OH $_2$) ปริมาณ CaSO $_4$ •2H $_2$ O อยู่ในช่วง 49.6 – 73.1%, CaCO $_3$ อยู่ในช่วง 26.9 – 50.4% และ MgCrCO $_3$ (OH $_2$) อยู่ในช่วง 26.9 – 31.7% สามารถนำวิธีการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ มาประยุกต์ใช้ในงานตรวจสอบองค์ประกอบผลิตภัณฑ์สารปรับปรุงดินได้

คำสำคัญ: การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี เทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD) สารปรับปรุงดินยิปซัม

คำนำ

ยิปซัม เป็นแร่ชนิดหนึ่งชื่อแคลเซียมซัลเฟตไฮเดรต (calcium sulphate hydrated) ลักษณะเป็นรูปผลึกขนาดต่าง ๆ กัน สีขาว หรือขาวอมเหลือง โปร่งแสง มีความแข็งน้อย มีสูตร CaSO $_4$. 2H $_2$ O จากสูตรทางเคมียิปซัมจึงมีโครงสร้างหลักประกอบด้วย แคลเซียมไอออน (Ca $^{2+}$) ซัลเฟตไอออน (SO $_4^{2-}$) และโมเลกุลของน้ำ (H $_2$ O) มีปฏิกิริยาเป็นกลาง ละลายในน้ำได้ดีหรือค่อนข้างดี ขึ้นอยู่กับความละเอียดของเนื้อยิปซัม จากโครงสร้างดังกล่าวจึงมีการนำไปใช้ประโยชน์ด้านการเกษตร กล่าวคือ ใช้เป็นสารปรับสภาพดินกรดและดินเค็ม ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ช่วยลดระดับความเป็นกรดและความเค็มในดิน ทำให้ดินมีความเหมาะสมกับการใช้ประโยชน์ทางการเกษตรมากขึ้น (จักรชัยวัฒน์, 2561) แต่เนื่องจากการวิเคราะห์เพื่อพิสูจน์ว่าเป็นยิปซัม คือ ต้องมีองค์ประกอบของ CaO, SO $_3$ และ CEC ซึ่งต้องใช้สารเคมี เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม การวิจัยครั้งนี้จึงใช้เทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-ray diffraction; XRD) เป็นการวิเคราะห์แบบไม่ทำลายตัวอย่าง (non-destructive analysis) เข้ามาใช้เนื่องจากเทคนิคนี้ ประหยัด รวดเร็ว ใช้ตัวอย่างน้อย ไม่ใช้สารเคมี ปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม โดยเทคนิคนี้ถูกนำมาประยุกต์ใช้เพื่อวิเคราะห์โครงสร้างผลึกของสารประกอบ ซึ่งจะมีรูปแบบโครงสร้างผลึกที่จัดเรียงเป็นรูปแบบต่างๆ เมื่อลำแสงของรังสีเอกซ์ ตกกระทบกับผิวของผลึก รังสีเอกซ์จะเกิดการเลี้ยวเบน (diffract) ในขณะที่บางส่วนจะผ่านทะลุลงไปยังผลึกที่อยู่ต่ำลงไป และจะเกิดการเลี้ยวเบนอีกครั้ง ทำให้รูปแบบ (XRD pattern) ของการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์แตกต่างกัน ตามชนิดของสารประกอบ ผลการวิเคราะห์จาก XRD ทำให้สามารถแยกประเภทและชนิดของวัสดุ ว่ามีรูปแบบโครงสร้างผลึกแบบใด (Al-Jaroudi *et al.*, 2007) ซึ่งหลักการทำงานของเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ อาศัยการวัดค่าความเข้มของรังสีที่สะท้อนออกมาที่มุมต่าง ๆ โดยที่ขนาดและประจุของอะตอม

ของสารประกอบแต่ละชนิดจะมีรูปแบบเฉพาะตัว เปรียบได้กับลายนิ้วมือของคนที่แตกต่างกัน หลังจากนั้นนำข้อมูลที่ได้ออกไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลมาตรฐานที่ทำการตรวจวัดโดยองค์กร The International Centre for Diffraction Data ทำให้สามารถยืนยันได้ว่าเป็นสารประกอบ หรือผลิตภัณฑ์เหล่านั้นจริง (ICDD, 2019; Reid *et al.*, 2006) ซึ่งสามารถนำเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ มาประยุกต์ใช้ในการหายิปซัม หรือสารปรับปรุงดินชนิดอื่นๆ โดยยิปซัมเป็นแร่ที่มีสารประกอบหลักคือ แคลเซียมซัลเฟตไดไฮเดรต ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Al-Jaroudi *et al.*, 2007; Nesse, 2016)

งานวิจัยนี้จึงได้นำเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-ray diffraction; XRD) มาประยุกต์ใช้ในการตรวจสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์สารปรับปรุงดิน โดยศึกษาเกี่ยวกับสารประกอบต่างๆ ที่ทำให้สามารถแยกประเภท ชนิดของวัสดุ หรือสิ่งเจือปนในสารปรับปรุงดินที่มีจำหน่าย (Reid *et al.*, 2006) โดยมุ่งเน้นว่าสารปรับปรุงดินที่มีจำหน่าย ณ ปัจจุบัน ระบุได้ตรงตามองค์ประกอบของผลิตภัณฑ์เหล่านั้นหรือไม่ (Shinde *et al.*, 2019; Tamer, 2013)

อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุอุปกรณ์

- 1) เครื่องวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD)
- 2) เครื่องบดตัวอย่าง XRD mill
- 3) ตู้อบ
- 4) เครื่องชั่งอย่างละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 5) กระจกบด ขนาด 10 มิลลิเมตร
- 6) Grinding jar
- 7) Grinding element (Agate)
- 8) ตะแกรงร่อน 0.5 มิลลิเมตร
- 9) Petri dish
- 10) แท่นเตรียมตัวอย่างแบบ Powder
- 11) Holder powder sample ring
- 12) Powder sample ring 27 mm.
- 13) เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์

สารเคมี

- 1) สารมาตรฐานแคลเซียมซัลเฟตไดไฮเดรตความบริสุทธิ์ 99.7% ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, purity 99.7%)
- 2) สารมาตรฐานแคลเซียมคาร์บอเนตความบริสุทธิ์ 99.6% (CaCO_3 , purity 99.6%)
- 3) สารมาตรฐานแคลเซียมแมกนีเซียมคาร์บอเนตความบริสุทธิ์ 98.0% ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$, purity 98.0%)
- 4) สารมาตรฐานแคลเซียมไฮดรอกไซด์ความบริสุทธิ์ 95.7% ($\text{Ca}(\text{OH})_2$, purity 95.7%)
- 5) Silica gel
- 6) 2-Propanol, 2.5 L
- 7) สารปรับปรุงดินปูนยิปซัม
- 8) Si XRD standard

วิธีการ

1. รวบรวมตัวอย่างและศึกษาสมบัติทางกายภาพและทางเคมี
รวบรวมตัวอย่างสารปรับปรุงดินยิปซัม และศึกษาสมบัติทางกายภาพและทางเคมีตามคุณลักษณะทางเทคนิคของสารปรับปรุงดินยิปซัม คุณลักษณะทางเทคนิคของยิปซัม ได้แก่ ปริมาณ CaO, ปริมาณ SO₃, CEC และขนาดอนุภาค ตามมาตรฐานที่กรมทรัพยากรธรณีกำหนด
2. วิเคราะห์ลักษณะเฉพาะเชิงคุณภาพของตัวอย่างยิปซัม (XRD pattern)
ยิปซัม มีสมบัติทางแร่คือ มีส่วนประกอบของแคลเซียมซัลเฟตเป็นองค์ประกอบหลัก ตัวอย่างสารมาตรฐาน และผลิตภัณฑ์สารปรับปรุงดิน จะถูกนำมาวิเคราะห์โดยใช้เครื่องวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD) ใช้รังสีเอกซ์ที่มีเป้าเป็นโลหะทองแดง (Cu K α) ความยาวคลื่นของรังสีเอกซ์ (λ) เท่ากับ 1.5406 Å ที่ 25 องศาเซลเซียส (Cu anode, K α at wavelength 1.5406 Å at 25 °C) วิเคราะห์ด้วยมุม 5 - 70 °2 θ รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ (XRD patterns) ถูกประเมินด้วยเทคนิค Rietveld Refinement โดยใช้โปรแกรม PANalytical X'Pert High Score Plus (Ver. 4.9a (4.9.1.29739) 2021; Malvern PANalytical B.V. Almelo, The Netherlands) เพื่อตรวจสอบชนิดของสารประกอบ ข้อมูลโครงสร้างผลึก และองค์ประกอบที่มีอยู่ในตัวอย่าง โดยอ้างอิงจากค่า 2 θ ของตำแหน่งพีค (position) และตรวจสอบกับฐานข้อมูลอ้างอิง ICDD (PDF-4) (ICDD, 2019)
3. ทาวิธีและสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารปรับปรุงดินปูนยิปซัม
โดยการเตรียมตัวอย่างก่อนการนำไปวิเคราะห์โดยใช้เครื่องวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD) ตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารปรับปรุงดินยิปซัม ปริมาณ 1 - 2 กรัม ในรูปของแข็งที่เป็นผงขนาดเล็กกว่า 45 ไมครอน จะถูกบรรจุลงในเบ้าใส่ตัวอย่าง (Sample holder) ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 27 มิลลิเมตร ความหนา 2 มิลลิเมตร และอัดด้วยแรงสม่ำเสมอเท่ากันทุกทิศทางจนมีผิวหน้าเรียบ และมีการจัดเรียงตัวของผลึกอย่างอิสระ (random orientation) สภาวะที่เหมาะสมจะต้องหา Start angle, End angle, Step size, Time per step, Tension, Current โดยการใช้สารมาตรฐานปูนยิปซัม
4. ศึกษาการรบกวนกันขององค์ประกอบสารปรับปรุงดินปูนยิปซัมกับสารปรับดินชนิดอื่น (Matrix effect) ในการวัดด้วยเครื่อง XRD ในเวลาเดียวกัน ที่ความเข้มข้น 7 ระดับ
เติมสารมาตรฐานสารปรับปรุงดินปูนยิปซัม ที่ช่วงความเข้มข้น 4-95 % ในตัวอย่างสารปรับปรุงดินปูนมาร์ล ปูนขาว และโดโลไมท์ นำไปทดสอบด้วยเครื่อง XRD ที่ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ
5. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์
 - 5.1 ศึกษาการทดสอบช่วงการใช้งาน (Method working range)
 - 5.1.1 เติมสารมาตรฐานสารปรับปรุงดินปูนยิปซัม ที่ช่วงความเข้มข้น 4-95 % ในตัวอย่างสารปรับปรุงดิน ที่ใช้เป็น Sample blank นำไปทดสอบด้วยเครื่อง XRD ที่ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ
 - 5.1.2 ประเมินความเป็นเส้นตรงโดยการหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของตัวอย่างกับความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้ (Correlation coefficient (r))
 - 5.1.3 ประเมินทางสถิติ Regression โดยพิจารณา Significance F
 - 5.2 หาค่าขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation; LOQ)
 - 5.2.1 ชั่งตัวอย่าง Sample Blank เติมสารมาตรฐานยิปซัม ลงไปในปริมาณน้อย คำนวณหาค่าขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation; LOQ) จากสมการ

$$\text{LOD} = 3\text{SD} \quad (1)$$

$$\text{LOQ} = 10\text{SD} \quad (2)$$

โดย SD คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

5.3 พิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ความเข้มข้นระดับ ต่ำ กลาง สูง และ ความไม่แน่นอนของการวัด (Uncertainty)

5.3.1 เตรียมสารมาตรฐานยิปซัม ที่ความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง ดำเนินการทดสอบตามวิธีทดสอบที่กำหนด ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ (โดยทำการทดสอบที่เวลาแตกต่างกัน วันละ 1 ซ้ำเป็นเวลา 10 วัน)

5.3.2 บันทึกผลปริมาณสารมาตรฐานยิปซัมในหน่วยเปอร์เซ็นต์ (%)

5.3.3 ประเมินความถูกต้องโดยเปรียบเทียบค่าที่ทดสอบได้กับค่ามาตรฐาน โดยพิจารณา %Recovery โดยใช้เกณฑ์ AOAC (2016) จากสูตร

$$\% \text{ Recovery} = \frac{100 \times \text{ความเข้มข้นของ fortified sample}}{\text{ความเข้มข้นของตัวอย่างเริ่มต้น} + \text{ความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมลงไป}} \quad (3)$$

ความเข้มข้นของตัวอย่างเริ่มต้น + ความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมลงไป

5.3.4 ประเมินความเที่ยงโดยพิจารณาจากค่า HorRat

การประเมินค่า Precision ในเกณฑ์การประเมิน : ใช้ HorRat (AOAC : 2016)

$$\text{HorRat} (r) = \frac{\text{RSD} (r)}{\text{PRSD} (R)} \quad (4)$$

$$\text{RSD} (r) = \frac{\text{SD}}{\text{mean}} \times 100 \quad (5)$$

$$\text{PRSD} (R) = 2C^{-0.15} \quad (6)$$

เมื่อ C (mass fraction) คือ ค่าเฉลี่ยผลการทดสอบ $\times 10^{-2}$

6. ทดสอบวิธีกับตัวอย่างสารปรับปรุงดินในท้องตลาด

7. สรุปและรายงานผล

ระยะเวลา เริ่มต้น 1 ตุลาคม 2565 สิ้นสุด 30 กันยายน 2566

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ดิน กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

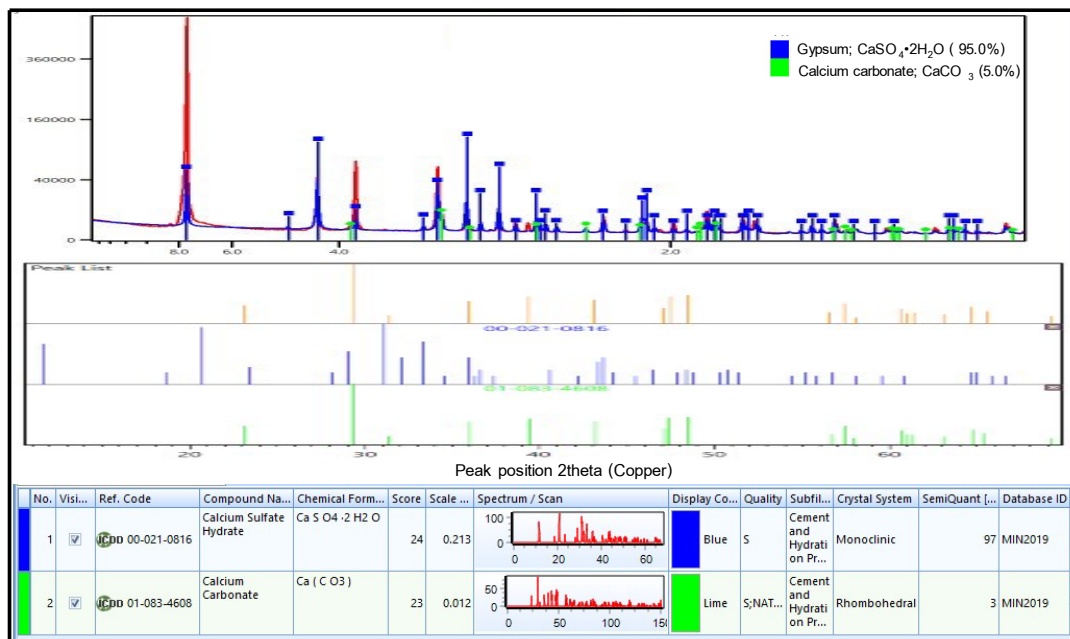
ได้รวบรวมตัวอย่างสารปรับปรุงดินยิปซัม และได้ศึกษาสมบัติทางกายภาพและทางเคมีตามคุณลักษณะทางเทคนิคของสารปรับปรุงดินยิปซัม พบว่ามี CaO อยู่ในช่วงร้อยละ 32.90 – 33.00, SO₃ อยู่ในช่วงร้อยละ 45.00 – 45.60 และค่า CEC อยู่ในช่วง 0.2 - 0.6 (cmol_c/kg)

ตารางที่ 1 สมบัติทางเคมีของยิปซัมธรรมชาติและยิปซัมสังเคราะห์ (ประเภทฟอสโฟยิปซัม)

| สมบัติของยิปซัม | ประเภทยิปซัม | |
|---|----------------|-------------|
| | ยิปซัมธรรมชาติ | ฟอสโฟยิปซัม |
| CaSO ₄ · 2H ₂ O (%) | 93.36 | 95.48 |
| CaO (%) | 33.38 | 32.98 |
| SO ₃ (%) | 45.63 | 45.34 |
| Solubility (g/100 g H ₂ O) | 0.2635 | 0.2713 |
| ขนาดอนุภาคเฉลี่ย (µm) | 337.70 | 200.30 |
| ค่า CEC (cmol _c /kg) | 0.2 | 0.6 |

ที่มา : นุจรินทร์, 2554

การวิเคราะห์โครงสร้างผลึก และส่วนประกอบเชิงแร่ด้วย XRD ของสารมาตรฐานยิปซัม (CaSO₄·2H₂O) ด้วยเทคนิค Rietveld refinement พบว่า รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ ของสารมาตรฐานยิปซัม (CaSO₄·2H₂O) ปรากฏตำแหน่งพีค 2θ ที่ 11.61° (0 2 0), 20.70° (0 2 1), 23.36° (0 4 0), 29.08° (0 4 1), 35.93° (0 6 0) และ 47.82° (0 8 0) ตามลำดับ สามารถเทียบกับฐานข้อมูลอ้างอิง ICDD (PDF-4) พบว่า สอดคล้องกับฐานข้อมูลอ้างอิง ICDD 00-021-0816 ซึ่งเป็นสารประกอบแคลเซียมซัลเฟตไฮเดรต หรือแร่ยิปซัม (Gypsum) ที่มีโครงสร้างผลึกแบบโมโนคลินิก (Monoclinic) (ICDD, 2019) (ภาพที่ 1 และ ตารางที่ 2)



ภาพที่ 1 รูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD pattern) ของ CaSO₄·2H₂O และ CaCO₃ ที่ใช้ฐานข้อมูลอ้างอิง ICDD (PDF-4)

ตารางที่ 2 ข้อมูลของสารมาตรฐานยิปซัม ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ที่อ้างอิงกับฐานข้อมูลอ้างอิง ICDD (PDF-4)

| General Parameters | Reference database ICDD Code |
|---------------------|---|
| | 00-021-0816 |
| Scan axis | Gonio |
| Start scan position | 5.0109 [$^{\circ}2\theta$] |
| End scan position | 69.9769 [$^{\circ}2\theta$] |
| Step size | 0.0220 [$^{\circ}2\theta$] |
| Scan step time | 94.0950 [s] |
| Measurement time | 20.17 [M] |
| Type of scan | Continuous |
| Cu K- α | 1.5406 [Å] |
| Cu K- α 2 | 1.5444 [Å] |
| Cu K-Beta | 1.3922 [Å] |
| Compound name | <i>Calcium Sulfate Dihydrate</i> |
| Mineral name | <i>Gypsum</i> |
| Chemical formula | $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ |
| Space group | C2/c (15) |
| Crystal system | Monoclinic |

ผลการทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่องวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ ในการวิเคราะห์สารมาตรฐานยิปซัม ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) โดยทำการทดสอบ Divergence ที่ขนาด 3 ระดับ ดังนี้ 1/2, 1/4 และ 1/8 degree $^{\circ}2\theta$ Beam mask ที่ขนาด 3 ระดับ ดังนี้ 13, 20 และ 23 mm. และ step size ที่ขนาด 3 ระดับ ดังนี้ 0.002 $^{\circ}$, 0.010 $^{\circ}$ และ 0.020 $^{\circ}$ สามารถเลือกสภาวะที่ใช้ในการวัดสารปรับปรุงดินยิปซัสดังนี้ Divergence ที่ 1/4 degree $^{\circ}2\theta$ Beam mask ที่ 23 mm. step size ที่ขนาด 0.020 $^{\circ}$ และ ใช้เวลาวิเคราะห์รวม 20.17 นาที

จากการศึกษาการรบกวนกันขององค์ประกอบสารมาตรฐานยิปซัมกับสารมาตรฐานชนิดอื่น (Matrix effect) โดยการผสมยิปซัม ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ปูนมาร์ล (CaCO_3) ปูนขาว (Ca(OH)_2) และโดโลไมท์ ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$) ที่ระดับความเข้มข้น 3.87%, 9.70%, 19.51%, 39.20%, 58.58%, 78.33% และ 95.12% แล้วนำไปวัดด้วยเครื่อง XRD จำนวน 3 ซ้ำ พบว่า ได้ผลการวิเคราะห์ปริมาณยิปซัม ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) เท่ากับ 3.98, 9.90, 20.08, 40.36, 58.53, 80.67 และ 95.32 มี % Recovery 102.83, 102.10, 102.93, 102.96, 99.92, 102.99 และ 100.21 ซึ่งไม่เกิดการรบกวนกันขององค์ประกอบสารมาตรฐานยิปซัมกับสารมาตรฐานชนิดอื่น (Matrix effect) ดังแสดงตามตารางที่ 3

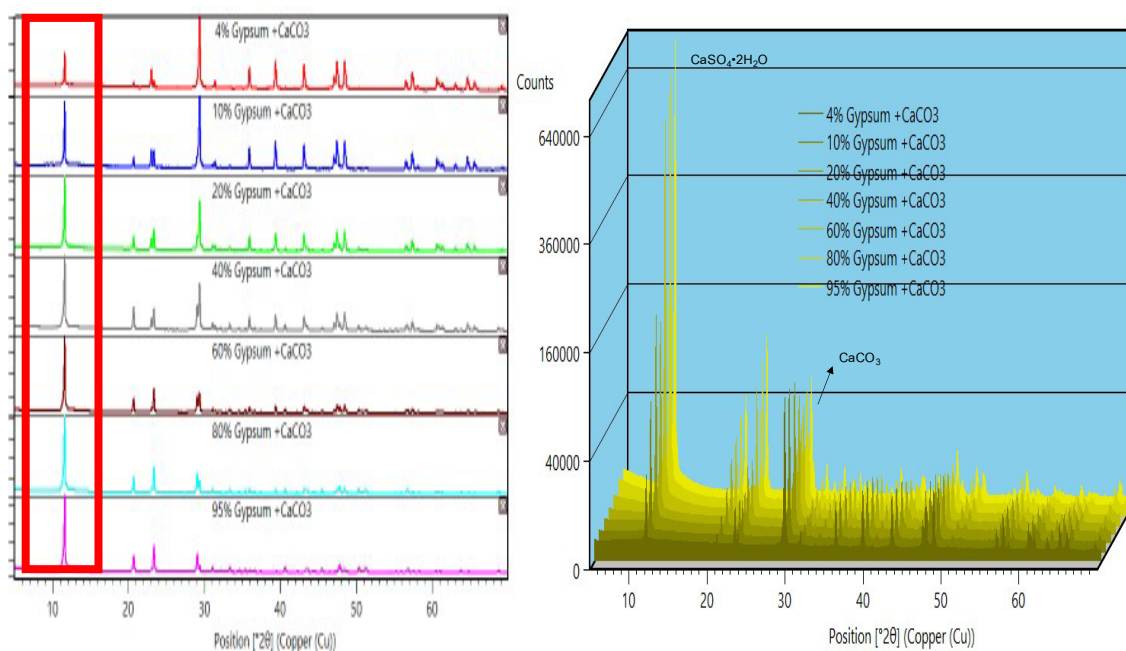
ตารางที่ 3 แสดงผลการวิเคราะห์สารมาตรฐานยิปซัมผสมกับปูนมาร์ล ปูนขาว และโดโลไมท์ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ 7 ระดับความเข้มข้น

| ระดับความเข้มข้น | % CaSO ₄ •2H ₂ O ที่เตรียม | % CaSO ₄ •2H ₂ O ที่วัดได้ด้วย XRD | % Recovery |
|------------------|--|--|------------|
| 1 | 3.87 | 3.98 | 102.83 |
| 2 | 9.70 | 9.90 | 102.10 |
| 3 | 19.51 | 20.08 | 102.93 |
| 4 | 39.20 | 40.36 | 102.96 |
| 5 | 58.58 | 58.53 | 99.92 |
| 6 | 78.33 | 80.67 | 102.99 |
| 7 | 95.12 | 95.32 | 100.21 |

ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ของ AOAC (2016) ที่กำหนดไว้ว่า ที่ระดับ 1% % Recovery จะอยู่ในช่วง 97-103% และที่ระดับ 10% % Recovery จะอยู่ในช่วง 98-103% โดยระดับความเข้มข้นทั้ง 7 ระดับ คือ 3.87, 9.70, 19.51, 39.20, 58.58, 78.33 และ 95.12 มี %Recovery อยู่ในเกณฑ์ทั้งหมด

ศึกษาการทดสอบช่วงการใช้งาน (Method working range)

จากการทดสอบช่วงการใช้งาน (Method working range) พบว่า เมื่อเติมสารมาตรฐานยิปซัมลงใน Sample blank ที่ความเข้มข้นสูงขึ้น Intensity ก็เพิ่มสูงขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกัน แสดงตามภาพที่ 2 ซึ่งครอบคลุมความเข้มข้นสารมาตรฐานยิปซัมที่วิเคราะห์ได้ด้วย XRD 4.14 – 95.23 % ดังแสดงตามตารางที่ 4 มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง r เท่ากับ 0.9998 แสดงตามภาพที่ 3 การประเมินทางสถิติ Regression พบว่า มีค่า Significance F 4.4×10^{-8} ซึ่งน้อยกว่า 0.05 ปฏิเสธ H₀ แสดงว่า ค่าจริงกับค่าที่วิเคราะห์ได้ด้วย XRD มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นช่วงใช้งานของวิธีทดสอบสารมาตรฐานยิปซัมด้วย XRD ครอบคลุมช่วงความเข้มข้น 4.14 – 95.23 % มีความเหมาะสม

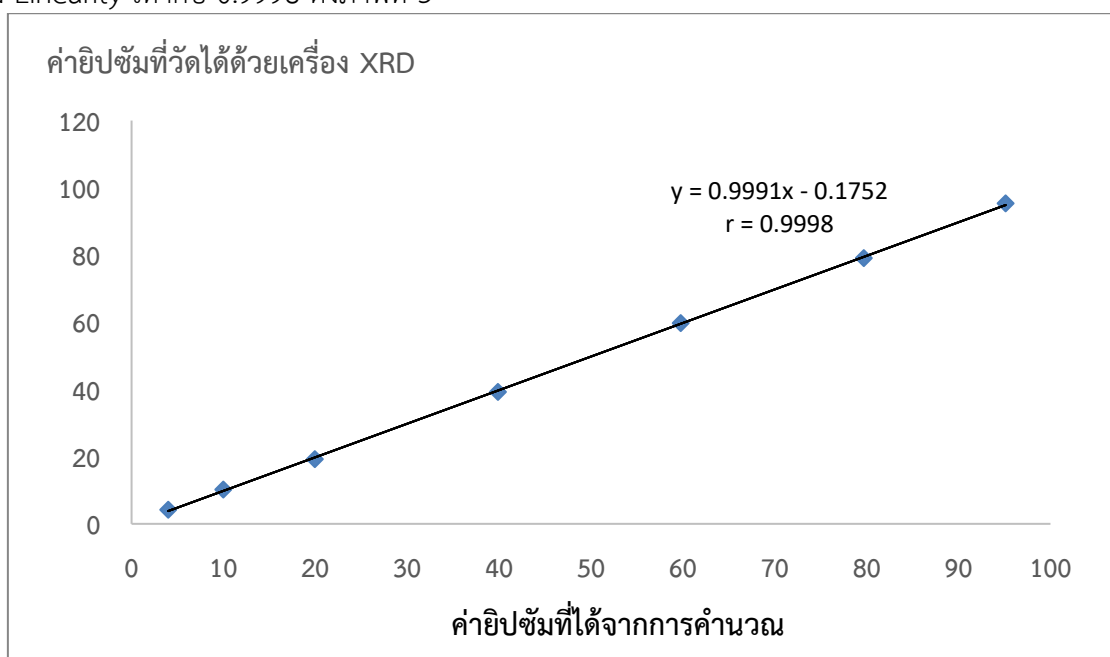


ภาพที่ 2 Intensity ของสารมาตรฐานยิปซัมที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้น

ตารางที่ 4 แสดงผลการวิเคราะห์สารมาตรฐานยิปซัมที่วิเคราะห์ได้ด้วย XRD

| ระดับความเข้มข้น | % CaSO ₄ •2H ₂ O ที่เตรียม | % CaSO ₄ •2H ₂ O ที่วัดได้ด้วย XRD |
|------------------|--|--|
| 1 | 3.98 | 4.14 |
| 2 | 9.96 | 10.12 |
| 3 | 19.92 | 19.24 |
| 4 | 39.84 | 39.20 |
| 5 | 59.76 | 59.71 |
| 6 | 79.68 | 79.03 |
| 7 | 95.87 | 95.23 |

หาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) จากการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ไม่มีสารที่สนใจ (Sample blank) โดยการใช้ CaCO₃ ผสมกับสารมาตรฐานยิปซัม ที่ทราบความเข้มข้นสารมาตรฐานยิปซัม 7 ระดับ คือ 3.98%, 9.96%, 19.92%, 36.84%, 59.76%, 79.68 และ 95.12% ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ ประเมินค่า correlation coefficient; r ของ Linearity เท่ากับ 0.9998 ดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 กราฟประเมินค่า correlation coefficient ของ Linearity ที่วัดด้วยเครื่อง XRD

หาค่าขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of detection; LOD)

จากการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ไม่มีสารที่สนใจ (Sample blank) โดยการใช้ CaCO₃ ผสมสารมาตรฐานยิปซัมในปริมาณน้อย เพื่อศึกษาขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of detection; LOD) ทำการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ พบว่า มีค่า LOD เท่ากับ 0.44 และ LOQ ที่ได้จากการคำนวณ เท่ากับ 1.48 ดังแสดงตามตารางที่ 5

ตารางที่ 5 การศึกษาขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD)

| Rep. | XRD result (% CaSO ₄ •2H ₂ O) |
|-------------|--|
| 1 | 1.20 |
| 2 | 1.10 |
| 3 | 1.50 |
| 4 | 1.20 |
| 5 | 1.30 |
| 6 | 1.10 |
| 7 | 1.40 |
| 8 | 1.20 |
| 9 | 1.50 |
| 10 | 1.30 |
| Average (x) | 1.28 |
| SD | 0.15 |
| LOD (3SD) | 0.44 |
| LOQ (10SD) | 1.48 |

ทำการพิสูจน์ความแม่นยำ (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ความเข้มข้นต่ำ (LOQ) กลาง และสูง จากการผสมสารมาตรฐานยิปซัม (CaSO₄•2H₂O) กับตัวอย่างที่ไม่มีสารที่สนใจ (Sample blank) โดยการใช้สารมาตรฐานแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO₃) ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (4.01%) ระดับความเข้มข้นกลาง (39.90%) และระดับความเข้มข้นสูง (95.87%) วิเคราะห์ปริมาณสารมาตรฐานยิปซัม (CaSO₄•2H₂O) โดย วัดด้วยเครื่อง XRD ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ โดยการวิเคราะห์ต่างวัน แล้วทำการประเมินความถูกต้อง (Trueness) จาก %Recovery และความเที่ยง (Precision) จากค่า HorRat พบว่า มีความแม่นยำ (Trueness) ที่แสดงด้วยค่า %Recovery ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 98.74 ความเข้มข้นกลาง 95.53 และความเข้มข้นสูง 99.61 มีความเที่ยง (Precision) ที่แสดงด้วยค่า HorRat ที่ความเข้มข้นต่ำ 0.73 ความเข้มข้นกลาง 0.89 ความเข้มข้นสูง 0.12 ดังแสดงตาม ตารางที่ 6 จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี พบว่า วิธีวิเคราะห์สารมาตรฐานยิปซัม ด้วยเทคนิค XRD มีความแม่นยำและความเที่ยงเหมาะสมที่ระดับความเข้มข้น 3.95 – 94.63 %

ตารางที่ 6 การพิสูจน์ความถูกต้อง ความเที่ยง ที่ความเข้มข้นระดับต่ำ กลาง และสูง

| Rep | XRD result (% CaSO ₄ •2H ₂ O) | | |
|-----|---|---------------|--------------|
| | ต่ำ (4.01%) | กลาง (39.90%) | สูง (95.87%) |
| 1 | 3.874 | 38.257 | 94.278 |
| 2 | 4.004 | 37.458 | 94.839 |
| 3 | 4.070 | 37.308 | 94.407 |
| 4 | 4.049 | 39.437 | 94.481 |
| 5 | 3.977 | 37.457 | 94.866 |
| 6 | 3.829 | 38.037 | 94.450 |

ตารางที่ 6 การพิสูจน์ความถูกต้อง ความเที่ยง ที่ความเข้มข้นระดับต่ำ กลาง และสูง (ต่อ)

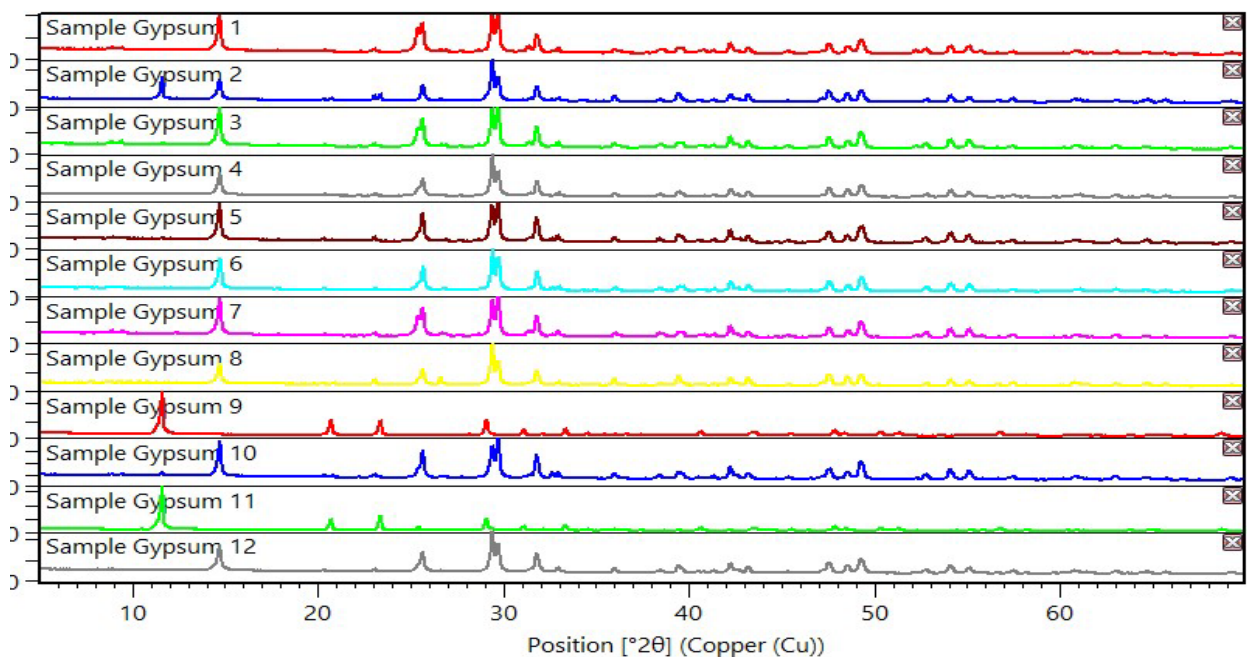
| XRD result (% CaSO ₄ •2H ₂ O) | | | |
|---|-------------|---------------|--------------|
| Rep | ต่ำ (4.01%) | กลาง (39.90%) | สูง (95.87%) |
| 7 | 3.799 | 38.498 | 94.752 |
| 8 | 3.898 | 37.857 | 94.465 |
| 9 | 4.014 | 39.583 | 94.892 |
| 10 | 3.982 | 38.226 | 94.826 |
| Average | 3.95 | 38.21 | 94.63 |
| SD | 0.09 | 0.79 | 0.23 |
| %RSDr | 2.37 | 4.28 | 0.24 |
| PRSD (R) | 3.25 | 2.80 | 2.02 |
| Trueness (%recovery) | 98.74 | 95.53 | 99.61 |
| Precision (HorRat) | 0.73 | 0.89 | 0.12 |

วิเคราะห์ปริมาณยิปซัมในตัวอย่างสารปรับปรุงดินในท้องตลาด

จากการนำตัวอย่างที่จำหน่ายตามท้องตลาด ที่ฉลากระบุว่าเป็นสารปรับปรุงดินยิปซัม จำนวน 12 ตัวอย่าง มาวิเคราะห์ด้วย XRD แล้วทำการเทียบกับฐานข้อมูลอ้างอิง ICDD (PDF-4) ตัวอย่างมีองค์ประกอบ 3 ชนิดปน ได้แก่ ยิปซัม (CaSO₄•2H₂O) ซึ่งตรงกับข้อมูลอ้างอิง ICDD (PDF-4) หลายรหัส เช่น รหัส 00-021-0816, รหัส 01-074-2787 เป็นต้น แคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO₃) ซึ่งตรงกับข้อมูลอ้างอิง ICDD (PDF-4) หลายรหัส เช่น รหัส 01-078-4614, 01-083-4602 และ แมกนีเซียมโครเมียมคาร์บอเนตไฮดรอกไซด์ (MgCrCO₃(OH₂)) ซึ่งตรงกับข้อมูลอ้างอิง ICDD (PDF-4) รหัส 01-080-3037 โดยที่ สามารถแยกแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO₃) กับ แมกนีเซียมโครเมียมคาร์บอเนตไฮดรอกไซด์ (MgCrCO₃(OH₂)) โดยสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม แต่ละกลุ่มประกอบด้วยปูน 2 ชนิด คือ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยตัวอย่างจำนวน 10 ตัวอย่าง ในตัวอย่างประกอบด้วยสารปรับปรุงดินยิปซัม (CaSO₄•2H₂O) และแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO₃) และ กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยตัวอย่างจำนวน 2 ตัวอย่าง ในตัวอย่างประกอบด้วยสารปรับปรุงดินยิปซัม (CaSO₄•2H₂O) และแมกนีเซียมโครเมียมคาร์บอเนตไฮดรอกไซด์ (MgCrCO₃(OH₂)) และยังพบว่ามี 1 ตัวอย่างที่มีปริมาณสารปรับปรุงดินยิปซมน้อยกว่า 50 % โดยตรวจวัดได้ 49.6 % ดังนั้น จะพบปริมาณสารปรับปรุงดินยิปซัม (CaSO₄•2H₂O) อยู่ในช่วง 49.6 – 73.1 %, แคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO₃) อยู่ในช่วง 26.9 – 50.4 % และ แมกนีเซียมโครเมียมคาร์บอเนตไฮดรอกไซด์ (MgCrCO₃(OH₂)) อยู่ในช่วง 26.9 – 31.7 % (ตารางที่ 7 และ ภาพที่ 4)

ตารางที่ 7 ผลวิเคราะห์ตัวอย่างสารปรับปรุงดินตามท้องตลาด ด้วย XRD

| ตัวอย่าง | ผลวิเคราะห์ (%) | | |
|----------------|--------------------------------------|-------------------|--|
| | CaSO ₄ •2H ₂ O | CaCO ₃ | MgCrCO ₃ (OH ₂) |
| ตัวอย่างที่ 1 | 69.6 | 30.4 | - |
| ตัวอย่างที่ 2 | 53.0 | 47.0 | - |
| ตัวอย่างที่ 3 | 71.2 | 28.8 | - |
| ตัวอย่างที่ 4 | 61.8 | 38.2 | - |
| ตัวอย่างที่ 5 | 71.7 | 28.3 | - |
| ตัวอย่างที่ 6 | 69.3 | 30.7 | - |
| ตัวอย่างที่ 7 | 73.1 | 26.9 | - |
| ตัวอย่างที่ 8 | 49.6 | 50.4 | - |
| ตัวอย่างที่ 9 | 73.1 | - | 26.9 |
| ตัวอย่างที่ 10 | 70.1 | 29.9 | - |
| ตัวอย่างที่ 11 | 68.3 | - | 31.7 |
| ตัวอย่างที่ 12 | 64.4 | 35.6 | - |



ภาพที่ 4 รูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD pattern) ของตัวอย่างสารปรับปรุงดินยิปซัม จำนวน 12 ตัวอย่าง โดยที่ใช้ฐานข้อมูลอ้างอิง ICDD (PDF-4)

สรุปผลการทดลอง

การวิเคราะห์ปริมาณและองค์ประกอบของสารปรับปรุงดินยิปซัม ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ สามารถทำได้โดยการวิเคราะห์สารมาตรฐานยิปซัม ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ และสารมาตรฐานแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) ที่มีความบริสุทธิ์สูงมากกว่า 95% โดยได้สภาวะที่ใช้ในการวัดสารปรับปรุงดินยิปซัมดังนี้ Divergence ที่ $1/4$ degree 2θ Beam mask ที่ 23 mm. step size ที่ขนาด 0.020° และ ใช้เวลาวิเคราะห์รวม 20.17 นาที และเมื่ออ้างอิงจากค่า 2θ ของตำแหน่งพีค กับค่าดัชนีมิลเลอร์ (hkl) แสดงที่ 11.61° (0 2 0), 20.70° (0 2 1), 23.36° (0 4 0), 29.08° (0 4 1), 35.93° (0 6 0) และ 47.82° (0 8 0) ตามลำดับ ทำการหาค่า LOD เท่ากับ 0.44 LOQ ที่ได้จากการคำนวณ เท่ากับ 1.48 และทำการพิสูจน์ความแม่นยำ (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ความเข้มข้นต่ำ (4.01%), กลาง (39.90%) และ สูง (95.87%) จากการผสมสารมาตรฐานยิปซัม ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) กับ (Sample blank) โดยการใช้สารมาตรฐานแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) พบว่า มีความแม่นยำ (Trueness) ที่แสดงด้วยค่า % Recovery ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 98.74% ความเข้มข้นกลาง 95.53% และความเข้มข้นสูง 99.61% มีความเที่ยง (Precision) ที่แสดงด้วยค่า HorRat ที่ความเข้มข้นต่ำ 0.73 ความเข้มข้นกลาง 0.89 ความเข้มข้นสูง 0.12 จากการนำตัวอย่างที่จำหน่ายตามท้องตลาด ที่ฉลากระบุว่าเป็น จำนวน 12 ตัวอย่าง มาวิเคราะห์ด้วย XRD แล้วทำการเทียบกับฐานข้อมูลอ้างอิง ICDD (PDF-4) ตัวอย่างมีองค์ประกอบ 3 ชนิดปูน คือ $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, CaCO_3 และ $\text{MgCrCO}_3(\text{OH})_2$ ปริมาณ $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ อยู่ในช่วง 49.6 – 73.1 %, CaCO_3 อยู่ในช่วง 26.9 – 50.4 % และ $\text{MgCrCO}_3(\text{OH})_2$ อยู่ในช่วง 26.9 – 31.7 % สามารถนำวิธีการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบน รังสีเอกซ์มาประยุกต์ใช้ในงานตรวจองค์ประกอบผลิตภัณฑ์สารปรับปรุงดินได้

คำขอขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม (สกสว.) ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัยในการศึกษาครั้งนี้ และขอขอบพระคุณผู้เชี่ยวชาญ ผู้อำนวยการกองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ผู้อำนวยการกลุ่มวิจัยเกษตรเคมี และผู้ร่วมงานวิจัยทุกท่าน ที่ให้คำปรึกษา และขอแนะนำ ตลอดจนการทำงานวิจัยที่ทำให้บรรลุวัตถุประสงค์ของงานวิจัยในครั้งนี้

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร ใช้ข้อมูลผลการวิเคราะห์สารปรับปรุงดิน ในการควบคุม ดูแลคุณภาพสารปรับปรุงดิน ที่ผลิตและจำหน่าย รวมทั้งนำเข้าและส่งออก ทั้งภายในและต่างประเทศ
2. ห้องปฏิบัติการหน่วยงานรัฐ (กรมพัฒนาที่ดิน กรมโรงงานอุตสาหกรรม) และห้องปฏิบัติการเอกชน มหาวิทยาลัย นำวิธีไปใช้เป็นวิธีมาตรฐานในห้องปฏิบัติการ
3. ห้องปฏิบัติการส่วนภูมิภาค สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1 – 8 ของกรมวิชาการเกษตร เพื่อให้เป็นวิธีวิเคราะห์มาตรฐาน ผ่านการยอมรับในระดับสากล เพื่อเพิ่มศักยภาพ และสร้างมาตรฐานการวิเคราะห์ทดสอบให้สามารถนำวิธีที่ได้ไปใช้ในการตรวจสอบได้อย่างเท่าเทียมกันในระดับประเทศ
4. เกษตรกรได้ใช้สารปรับปรุงดินที่ได้มาตรฐาน ตามฉลากระบุ มีคุณภาพตรงตามฉลากระบุ ลดการสูญเสีย หรือลดการทำลายคุณภาพของดินที่เกิดจากการใช้สารปรับปรุงดินผิดประเภทไม่ได้มาตรฐานในพื้นที่
5. ผู้ประกอบการ ในการนำผลวิเคราะห์ไปใช้ในการควบคุมคุณภาพสารปรับปรุงดิน ตามการควบคุมดูแลคุณภาพสารปรับปรุงดิน ที่ผลิตและจำหน่าย และการบังคับใช้กฎหมาย

เอกสารอ้างอิง

- จักรชัยวัฒน์ กาวิวงศ์. 2561. การใช้ยิปซัมที่ได้จากการกำจัดก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ของโรงไฟฟ้าที่ใช้ถ่านหินเป็นเชื้อเพลิงในการเกษตร วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 36(1): 161-172.
- นุจรินทร์ ศิริวัลย์. 2554. การปรับปรุงคุณภาพดินโดยใช้ยิปซัมเพื่อความยั่งยืนทางการเกษตร. วารสารวิชาการและวิจัย, มทร. พระนคร 5(1): มีนาคม 2554.
- Al-Jaroudi, S. S., A. Ul-Hamid, A. I. Mohammed and S. Saner. 2007. Use of X-ray powder diffraction for quantitative analysis of carbonate rock reservoir samples. Powder Technology 175: 115–121.
- AOAC. 2016. Official Method of Analysis of AOAC International. 20th Ed. AOAC International Gaithersburg, Maryland. USA.
- International Center for Diffraction Data (ICDD). 2019. Powder Diffraction file (PDF-4 / Minerals). USA : International Center for Diffraction Data, Pennsylvania.
- Nesse, W.D. 2016. Introduction to mineralogy. 3rd ed. New York : Oxford University Press.
- Reid, J. W., A. Jason and J. Hendry. 2006. Rapid, Accurate Phase Quantification of Multiphase Calcium Phosphate Materials Using Rietveld Refinement. Journal of Applied Crystallography. 39: 536-543.
- Shinde, R., P. K. Sarkar and N. Thombare. 2019. Soil Conditioners. Agriculture & Food: e-Newsletter. 1(10): 1-5.
- Tamer, M. 2013. Quantitative Phase Analysis Based on Rietveld Structure Refinement for Carbonate Rocks. Journal of Modern Physics. 4: 1149-1157.

พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ซีเอติน ไคเนติน และ 6-เบนซิลอะมิโนพิวรีน ในผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตรด้วยเทคนิค ไฮเปอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี (HPLC)

Development and Method Validation of Plant Growth Regulators Zeatin, Kinetin and 6-Benzylaminopurine in Agricultural Pesticide Substance Products by High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

เพชรรัตน์ ศิริวิ สุพิศสา ทองเขียว สุวัลักษณ์ ไชยทอง สาทิดา โพร้น้อย
Phetcharat Siriwi Supissa Thongkheaw Suwaluck Chaitong Sathida Phonoy

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

A method was developed and validated for determination of plant growth regulators zeatin kinetin and 6-benzylaminopurine in agricultural pesticide substance products. The pesticide samples were prepared by solid phase extraction (SPE) technique before analyzed by HPLC. The separation was carried out on a C18 Sunfire column, using methanol:water (40:60, v/v) adjusted to pH 3.2 with acetic acid as the mobile phase and a flow rate of 0.8 mL/min. All three plant growth regulators were eluted within 12 min. The results of method validation demonstrated that a limit of detection of this method was within 0.002-0.003 mg/L range and a limit of quantitation was 0.05 mg/L. The validation results for accuracy and precision at low, medium and high concentrations passed the acceptance criteria according to the AOAC (2019). Therefore, the proposed method is applicable to analysis three plant growth regulators in agricultural pesticide substance products.

Keywords: plant growth regulators, zeatin, kinetin, 6-benzylaminopurine (6-BAP), agricultural pesticide substance products

บทคัดย่อ

พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีเพื่อให้ได้วิธีวิเคราะห์สารควบคุมการเจริญโตของพืช ซีเอติน ไคเนติน และ 6-เบนซิลอะมิโนพิวรีน ในผลิตภัณฑ์วัตถุดิบอันตรายทางการเกษตร โดยเตรียมสารด้วยเทคนิค Solid phase extraction (SPE) จากนั้นนำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ที่มีสถานะการแยกสารด้วย Column ชนิด Sunfire C18 ใช้เฟสเคลื่อนที่เป็น MeOH:H₂O อัตราส่วน 40:60 ที่ pH เท่ากับ 3.2 ปรับด้วยกรดอะซิติก ที่อัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ใช้เวลาในการวิเคราะห์ 12 นาที และทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี ซึ่งพบว่ามีความชัดเจนในการตรวจพบอยู่ในช่วง 0.002-0.003 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่าขีดจำกัดในการตรวจวัดเชิงปริมาณเท่ากับ 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลการตรวจสอบความถูกต้องและความเที่ยงที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง สูง ผ่านเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐาน AOAC (2019) วิธีนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์สารควบคุมการเจริญโตของพืชทั้ง 3 ชนิดในตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุดิบอันตรายทางการเกษตรได้

คำสำคัญ: สารควบคุมการเจริญโตของพืช ซีเอติน ไคเนติน 6-เบนซิลอะมิโนพิวรีน (6-BAP) และผลิตภัณฑ์วัตถุดิบอันตรายทางการเกษตร

คำนำ

ไซโตไคนินเป็นสารควบคุมการเจริญโตของพืชกลุ่มหนึ่งซึ่งใช้ประโยชน์ทางการเกษตร และพืชสามารถสร้างไซโตไคนินขึ้นมาเพื่อใช้ในการเจริญโตได้คือสาร ซีเอติน (Zeatin) ส่วนสารสังเคราะห์ในกลุ่มไซโตไคนิน ได้แก่ ไคเนติน (Kinetin) และ 6-benzylaminopurine (6-BAP) สารในกลุ่มนี้มีผลต่อการแบ่งเซลล์ และกระตุ้นการเจริญทางด้านลำต้นของพืชกระตุ้นการเจริญโตของตาข้าง และยังมีผลเล็กน้อยต่อการพัฒนาของผล ใช้กันมากในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อกระตุ้นการเจริญโตของก้อนแคลลัส (Callus) ให้เติบโตขึ้นมาเป็นลำต้น (พีรเดช, 2537) ปัจจุบันเกษตรกรได้มีการนำผลิตภัณฑ์วัตถุดิบอันตรายทางการเกษตรที่เป็นประเภทสารควบคุมการเจริญโตของพืชมาใช้กันอย่างแพร่หลาย ทั้งที่มีและไม่มีทะเบียน หรือขอใบอนุญาตวางจำหน่ายในท้องตลาดเป็นจำนวนมาก และมีการรอดอ้างถึงสรรพคุณกันอย่างมากมาย โดยสารควบคุมการเจริญโตของพืชจัดเป็นวัตถุดิบอันตรายทางการเกษตรชนิดที่ 3 ตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตรายทางการเกษตร ซึ่งวัตถุประสงค์ของพระราชบัญญัติดังกล่าวเพื่อตรวจสอบ ควบคุม กำกับ ดูแล ผู้ประกอบกิจการให้ปฏิบัติตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย ทั้งนี้เพื่อป้องกันอันตรายที่จะเกิดกับบุคคล สัตว์ พืช ทรัพย์สิน และสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ยังเป็นการควบคุมผู้ประกอบการ ทำให้ไม่กล้าละเมิดกฎหมาย และการคุ้มครองเกษตรกร ทำให้ได้ใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพ ลดความเสียหายที่เกิดจากการใช้สารผิดวัตถุประสงค์ ลดต้นทุนในการผลิต และถูกเอารัดเอาเปรียบในทางการค้าให้น้อยลง (ทวีศักดิ์, 2559) ซึ่งปัจจุบันวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณ Zeatin, Kinetin และ 6-BAP ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุดิบอันตรายทางการเกษตรที่มีใช้ในท้องปฏิบัติการยังมีข้อจำกัดในขั้นตอนการวิเคราะห์ และยังไม่ได้มีการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้มีการพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สาร Zeatin Kinetin และ 6-BAP ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุดิบอันตรายทางการเกษตร เพื่อให้ได้วิธีการวิเคราะห์ที่มีความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ สะดวกในการนำไปใช้กับเครื่องมือวิเคราะห์ที่มีในท้องปฏิบัติการได้อย่างเหมาะสม

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

เครื่อง High Performance Liquid Chromatograph (HPLC) ยี่ห้อ Water รุ่น Alliance e2695 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 5 ตำแหน่ง เครื่องวัด pH-Meter เครื่องปั่นเหวี่ยง เครื่อง Ultrasonic bath

เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ขวดแก้วปริมาตร, Beaker, Syringe, Vial, Column C18, ชุดสกัดสาร SPE-Cartridge, Syringe filter, Nylon membrane filter 0.22 μ m และ Centrifuge tube, Auto pipette 1000 และ 5000 μ L

สารมาตรฐานและสารเคมี ได้แก่ Zeatin 96.0%, Kinetin 99.5%, 6-benzylaminopurine (6-BAP) 99.0%, Formic acid (FA) >98%, Acetic acid >99%, Methanol > 99%, Ammonium hydroxide solution 28-30% และผลิตภัณฑ์วัดอุณหภูมิตรายนทางการเกษตร (Sample blank)

วิธีการ

1. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สาร Zeatin, Kinetin และ 6-BAP ด้วยเทคนิค HPLC

ปรับตั้งสภาวะการทำงานของเครื่อง HPLC-PDA ในการวิเคราะห์สาร Zeatin, Kinetin และ 6-BAP ภายใต้สภาวะที่ดัดแปลงมาจากวิธีของ ChOez *et al.* (2014) ดังนี้

1.1 การแยกสารด้วยเทคนิค HPLC ทำการปรับเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สาร ได้แก่ อุณหภูมิของ Column อัตราส่วน Mobile phase อัตราการไหล (Flow rate) และปริมาตรของสารที่ใช้ในการฉีด (Injection volume)

1.2 การตรวจวัดสารด้วยหัวตรวจวัดชนิด Photodiode Array Detector (PDA) ทำการศึกษาความยาวคลื่นที่ใช้ในการตรวจวัดสารทั้ง 3 ชนิด ที่ความยาวคลื่น 254 และ 280 นาโนเมตร (Qi *et al.*, 2021)

2. การศึกษาวิธีการเตรียมตัวอย่าง

2.1 การเตรียมตัวอย่างก่อนการสกัดด้วยเทคนิค Solid phase extraction (SPE)

ตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบเป็นตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัดอุณหภูมิตรายนทางการเกษตรที่มีลักษณะเป็นสารละลายใส ซึ่งทำการเตรียมตัวอย่างก่อนนำไปสกัดด้วยเทคนิค Solid phase extraction (SPE) โดยเขย่าและเทตัวอย่างใส่ใน Centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างส่วนที่ใสมาทำการปรับให้มีค่า pH เท่ากับ 3.0 ก่อนนำไปสกัดด้วยเทคนิค Solid phase extraction (SPE) ต่อไป

2.2 การสกัดตัวอย่างด้วยเทคนิค Solid phase extraction (SPE)

นำสารละลายตัวอย่างที่เตรียมได้จากข้อ 1 มาทำการสกัดด้วย Cartridge ชนิด HR-XC ภายใต้สภาวะที่ดัดแปลงมาจากวิธีของ Cui *et al.* (2015) โดยมีขั้นตอนดังนี้ Pre-condition Cartridge ด้วย Methanol ปริมาตร 2 mL, Equilibrate Cartridge ด้วยสารละลาย 1.0 M Formic acid ปริมาตร 2 mL, Load ตัวอย่างลงใน Cartridge ปริมาตร 2 mL, Wash Cartridge เพื่อเป็นการล้าง Impurity ออกจากสารที่สนใจ ด้วยสารละลาย 1.0 M Formic acid ปริมาตร 2 mL และ Elute สารที่สนใจออกจาก Cartridge ด้วยสารละลาย 0.30 M NH_4OH ใน 60% Methanol ปริมาตร 2 mL จากนั้นทำการเจือจางสารละลายตัวอย่างที่ผ่านการ Elute ออกจาก Cartridge ด้วยสารละลาย Mobile phase กรองด้วย Syringe filter 0.22 ไมโครเมตร ใส่ใน Vial ขนาด 2 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

3. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สาร Zeatin, Kinetin และ 6-BAP

3.1 หาความจำเพาะเจาะจงของวิธีวิเคราะห์ (Selectivity หรือ Specificity) ของวิธีวิเคราะห์ทดสอบ

ทดสอบตัวอย่าง Sample blank (ตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุดิบอันตรายทางการเกษตรที่มีสาร Zeatin, Kinetin และ 6-BAP ที่ปริมาณต่ำ หรือไม่มี) และเติมสารละลายมาตรฐาน Zeatin, Kinetin และ 6-BAP ที่ความเข้มข้นต่ำ ลงใน Sample blank และเปรียบเทียบสัญญาณของ Sample blank และสัญญาณที่ได้จากการเติมสารละลายมาตรฐาน Zeatin Kinetin และ 6-BAP ที่ความเข้มข้นต่ำ ลงใน Sample blank

3.2 การศึกษาผลของ Matrix effect ของวิธีทดสอบ

ทดสอบ Matrix calibration curve เปรียบเทียบกับ Standard calibration curve ของสาร Zeatin, Kinetin และ 6-BAP ที่ช่วงความเข้มข้น 0.005-10.00 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยแบ่งออกเป็น 2 ชุด ชุดแรกเตรียมในสารละลาย Mobile phase และชุดที่ 2 เตรียมใน Matrix ของผลิตภัณฑ์วัตถุดิบอันตรายทางการเกษตร (Sample blank) ดำเนินการทดสอบตามวิธีทดสอบ นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมลงไป (แกน x) กับค่าพื้นที่ใต้พีคที่อ่านได้จากเครื่อง HPLC (แกน y) จากนั้นนำค่าความชันจากสมการเส้นตรงที่ได้จากทั้ง 2 ชุดการทดสอบมาเปรียบเทียบกัน โดยพิจารณาค่า %RPD ในการเปรียบเทียบ ซึ่งมีเกณฑ์การยอมรับ < 10% ตาม NATA (2018)

3.3 การหาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) และช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (Range)

ทดสอบสารมาตรฐาน Zeatin, Kinetin และ 6-BAP จำนวน 7 ระดับความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐานกับค่าพื้นที่ใต้พีคที่อ่านได้จากเครื่อง HPLC พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรงคำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient: r) ซึ่งมีเกณฑ์การยอมรับที่ค่า $r \geq 0.995$ ตาม AOAC (2019)

3.4 การหาค่า Limit of Detection (LOD) และค่า Limit of Quantitation (LOQ)

ทดสอบ Sample blank (ตัวอย่างที่มีสาร Zeatin, Kinetin และ 6-BAP ในระดับต่ำ หรือไม่มี) ที่มีการเติมสารละลายมาตรฐาน Zeatin, Kinetin และ 6-BAP ที่ความเข้มข้นต่ำ ลงใน Sample blank ดำเนินการทดสอบตามวิธีทดสอบ 10 ซ้ำ บันทึกข้อมูลคำนวณค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) คำนวณค่า LOD และ LOQ ตามสูตร $LOD = 3 S_0$ และ $LOQ = 10 S_0$ ตามวิธีของ EURACHEM (2014) และพิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ระดับ LOQ โดยทำการทดสอบสารมาตรฐานที่ระดับ LOQ ดำเนินการทดสอบตามวิธีทดสอบความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ นำผลการวิเคราะห์มาคำนวณทางสถิติ ประเมินค่า Trueness โดยมีเกณฑ์การยอมรับ %Recovery อยู่ในช่วง 80-110 และประเมินค่า Precision ด้วยการหาค่า HorRat อยู่ในช่วง 0.3-1.3 ตามเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (2019)

3.5 การพิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision)

ทดสอบสารมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง ดำเนินการทดสอบตามวิธีทดสอบสาร Zeatin, Kinetin และ 6-BAP โดยทำการทดสอบต่างวันเวลาแบบ Intermediate precision (ทำการทดสอบจำนวน 1 ชุดการทดสอบที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 10 วัน) นำผลการวิเคราะห์มาคำนวณทางสถิติ การพิสูจน์ Trueness โดยประเมินค่า %Recovery ซึ่งมีเกณฑ์การยอมรับอยู่ในช่วง 80-110 และการพิสูจน์ Precision โดยประเมินจากค่า HorRat ซึ่งอยู่ในช่วง 0.3-1.3 ตามเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (2019)

3.6 การทดสอบความคงทนของวิธี (Ruggedness)

ทดสอบความคงทนของวิธีทดสอบในการวิเคราะห์สาร Zeatin, Kinetin และ 6-BAP ที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง โดยการวางแผนการทดลอง 7 ตัวแปร 8 การทดลอง การทดลองละ 4 ซ้ำ (Table 1) โดยใช้ Youden-Steiner testing (Eftichia and Victoria, 2014) (Table 2)

- 1) ตัวแปรที่ 1 ความเร็วรอบที่ใช้ในการปั่นเหวี่ยงตัวอย่าง สภาวะการทดสอบปกติ 3,500 rpm สภาวะที่เปลี่ยนแปลง 4,000 rpm
- 2) ตัวแปรที่ 2 เวลาที่ใช้ในการปั่นเหวี่ยงตัวอย่าง สภาวะการทดสอบปกติ 30 นาที สภาวะที่เปลี่ยนแปลง 15 นาที
- 3) ตัวแปรที่ 3 ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของสารละลายตัวอย่าง สภาวะการทดสอบปกติ 3.0 สภาวะที่เปลี่ยนแปลง 2.8
- 4) ตัวแปรที่ 4 ความเข้มข้นของ NH_4OH ที่ใช้ในการ Elute ตัวอย่าง สภาวะการทดสอบปกติ 3.0 M สภาวะที่เปลี่ยนแปลง 3.5 M
- 5) ตัวแปรที่ 5 อัตราการไหลของตัวอย่างผ่าน Cartridge สภาวะการทดสอบปกติ 10 หยด/นาที สภาวะที่เปลี่ยนแปลง 15 หยด/นาที
- 6) ตัวแปรที่ 6 ปริมาณของกรด Acetic acid ในสารละลาย Mobile phase สภาวะการทดสอบปกติ 0.25% สภาวะที่เปลี่ยนแปลง 0.35%
- 7) ตัวแปรที่ 7 อุณหภูมิของ Column ที่ใช้ในการแยกสาร สภาวะการทดสอบปกติ $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ สภาวะที่เปลี่ยนแปลง $35\text{ }^{\circ}\text{C}$

Table 1 Factors for testing ruggedness of Zeatin, Kinetin and 6-BAP analytical methods

| No. | Parameter | Factors | Normal Conditions (A-G) | Changing conditions (a-g) |
|-----|-----------|---|-------------------------|---------------------------|
| 1 | A/a | Centrifugation speed (rpm) | 3,500 | 4,000 |
| 2 | B/b | Centrifugation time (min.) | 30 | 15 |
| 3 | C/c | pH of sample | 3.0 | 2.8 |
| 4 | D/d | Concentration of NH_4OH for elution solvent (M) | 3.0 | 3.5 |
| 5 | E/e | Flow rate for loading sample (drop/min.) | 10 | 15 |
| 6 | F/f | Concentration of Acetic acid in Mobile phase (%) | 0.25 | 0.35 |
| 7 | G/g | Column temperature ($^{\circ}\text{C}$) | 30 | 35 |

Table 2 Experimental planning for Youden-Steiner testing method. (Eftichia and Victoria, 2014)

| Experiment | Design | | | | | | | Mean (R) |
|------------|--------|---|---|---|---|---|---|----------|
| 1 | A | B | C | D | E | F | G | R_1 |
| 2 | A | B | c | D | e | f | g | R_2 |
| 3 | A | b | C | d | E | f | g | R_3 |
| 4 | A | b | c | d | e | F | G | R_4 |
| 5 | a | B | C | d | e | F | g | R_5 |
| 6 | a | B | c | d | E | f | G | R_6 |
| 7 | a | b | C | D | e | f | G | R_7 |
| 8 | a | b | c | D | E | F | g | R_8 |

ดำเนินการวิเคราะห์ตามแผนการทดลอง โดยการ Spike สารมาตรฐาน Zeatin, Kinetin และ 6-BAP ที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง ลงใน Sample Blank คำนวณผลกระทบของตัวแปร (E) ของแต่ละตัวแปร 7 ตัวแปร จาก 8 การทดลอง จากนั้นพิจารณาว่า $|E|$ ของแต่ละตัวแปร 7 ตัวแปร โดยการพิจารณาว่า $|E| > S$ แสดงว่า มีผลกระทบต่อเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมของการทดสอบ (David, 2009)

$$\text{โดยที่ } S = \sqrt{\frac{2}{7} * \sum(E^2)}$$

เมื่อ S คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของผลต่าง (Standard deviation of the differences)

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2566

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลของการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สาร Zeatin, Kinetin และ 6-BAP ด้วยเทคนิค HPLC

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง HPLC ในการแยกสาร Zeatin, Kinetin และ 6-BAP สภาวะที่ได้ในการแยกสารทั้ง 3 ชนิด พบว่าการแยกสารด้วย Column ชนิด Sunfire C18 โดยใช้เฟสเคลื่อนที่เป็น MeOH:H₂O อัตราส่วน 40:60 ที่ pH เท่ากับ 3.2 ปรับด้วยกรดอะซิติก ที่อัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที และตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร (Table 3) ให้ผลการทดสอบในการแยกสารทั้ง 3 ชนิด ออกจาก Column ได้ดี และยังใช้เวลาในการวิเคราะห์สารทั้ง 3 ชนิด น้อยลง โดยสารทั้ง 3 ชนิด มีค่า Retention time ในการวิเคราะห์ที่เวลา 2.56 5.13 และ 9.36 นาที ตามลำดับ ซึ่งโครมาโทแกรมที่ได้จากการแยกสารทั้ง 3 ชนิด (Figure 1)

Table 3 Optimized HPLC conditions for the analysis of Zeatin, Kinetin and 6-BAP

| Parameters | Conditions |
|--------------------|--|
| Column | Sunfire C18 (5 μ m, 4.6 mm x 150 mm) |
| Column temperature | 30 $^{\circ}$ C |
| Detector | PDA λ 280 nm |
| Mobile phase | MeOH:H ₂ O (40:60) at pH 3.2 with Acetic acid |
| Flow rate | 0.8 mL/min. |
| Injection volume | 10 μ l |
| Run Time | 12 min |

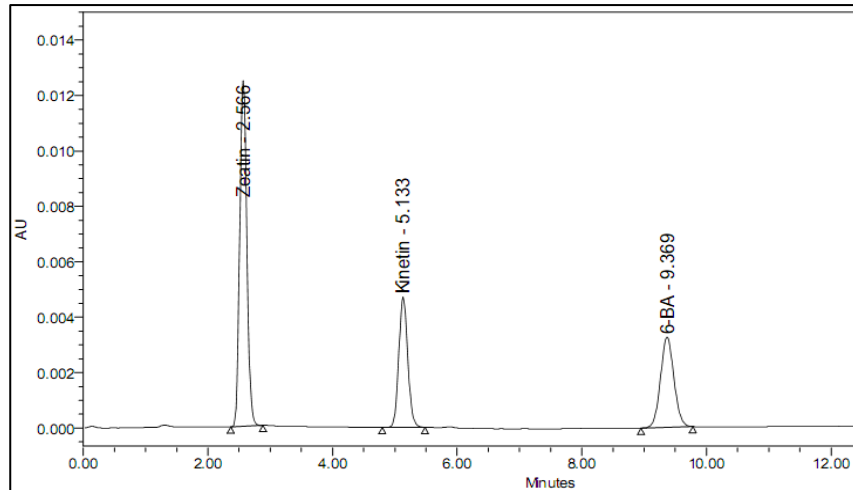


Figure 1 Chromatograms of the mixed standard solution (zeatin, kinetin and 6-BAP) containing 1 mg/L under the optimized conditions

2. ผลของการศึกษาวิธีการสกัดตัวอย่างด้วยเทคนิค Solid phase extraction

จากการศึกษาวิธีการสกัดตัวอย่างด้วยเทคนิค Solid phase extraction ในการสกัดสาร Zeatin, Kinetin และ 6-BAP พบว่าการสกัดด้วย Cartridge ชนิด HR-XC ได้ค่า %Recovery ในการสกัดสารทั้ง 3 ชนิด อยู่ในช่วง 87.04-105.91 ซึ่งค่าที่ได้อยู่ในเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (2019)

3. ผลของการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สาร Zeatin, Kinetin และ 6-BAP

3.1 ผลการหาความจำเพาะเจาะจงของวิธีวิเคราะห์ (Selectivity หรือ Specificity) ของวิธีทดสอบ

จากการทดสอบความจำเพาะเจาะจงของวิธีวิเคราะห์ โดยการเปรียบเทียบโครมาโทแกรมที่ตรวจวัดได้จากตัวอย่างและโครมาโทแกรมของสารมาตรฐาน Zeatin, Kinetin และ 6-BAP ซึ่งจากการพิจารณาโครมาโทแกรมที่ได้ของตัวอย่างเทียบกับสารมาตรฐาน (Figure 2) พบว่าวิธีนี้มีความจำเพาะเจาะจงกับการวิเคราะห์สาร Zeatin, Kinetin และ 6-BAP ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารชีวอินทรีย์สกัดจากธรรมชาติพืชและสัตว์ที่มีลักษณะตัวอย่างเป็นสารละลายใส ไม่เหนียวหรือไม่ข้นหนืดเท่านี้

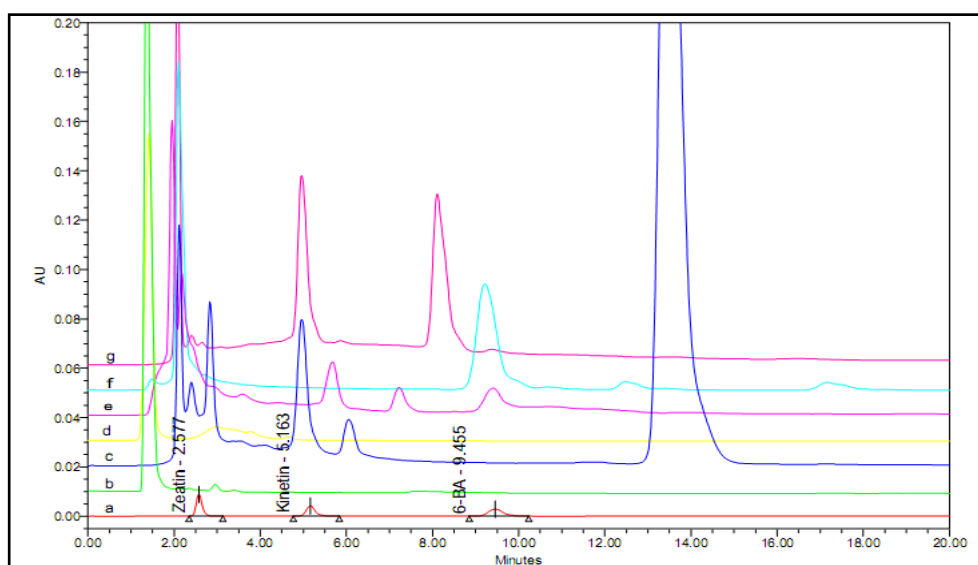


Figure 2 Chromatogram of a) Standard solution of zeatin, kinetin and 6-BAP b) Bio-organic extracts sample (Clear solution) c) Organic extracts sample d) Bio-organic extracts sample (Brown clear solution) e) Concentrated seaweed extract sample (Green solution) f) natural algae extract sample g) Concentrated seaweed extract sample (Black solution)

3.2 ผลการศึกษา Matrix effect ของวิธีทดสอบ

จากผลการทดสอบ Matrix Effect ที่มีผลต่อการวิเคราะห์สาร Zeatin, Kinetin และ 6-BAP พบว่ามีค่า %RPD เท่ากับ 1.23, 1.56 และ 8.98 ตามลำดับ (Table 4) ซึ่งมีค่าอยู่ในเกณฑ์การยอมรับของ NATA (2018) (%RPD<10%) ดังนั้นในการวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณสาร Zeatin, Kinetin และ 6-BAP สามารถเตรียม Calibration curve ในสารละลาย Mobile phase ได้ ซึ่งให้ผลการวิเคราะห์ที่ไม่แตกต่างกัน

Table 4 Slope of the linear equation from standard solution of Zeatin, Kinetin and 6-BAP compared with spike standard solution in sample blank

| Type of PGRs | Equation | | Slope | | %RPD |
|--------------|--|---|---|------------|------------|
| | Solvent | Matrix | Solvent | Matrix | |
| Zeatin | $y = 75,404.025x - 1,491.514$ $r=0.99995$ | $y = 76,336.806x - 383.902$ $r=0.99996$ | 75,404.025 | 76,336.806 | 1.23 |
| | Kinetin | $y = 58,633.178x - 1,658.295$ $r= 0.99990$ | $y = 57,728.404x - 1,031.532$ $r= 0.99990$ | 58,633.178 | |
| 6-BAP | | $y = 70,282.255x - 1,834.978$ $r=0.99993$ | $y = 64,293.954x - 6,430.564$ $r=0.99652$ | 70,282.255 | 64,293.954 |

3.3 ผลการหาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) และช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (Range)

ผลการทดสอบหาค่า Linearity และ Working range ของวิธีวิเคราะห์สาร Zeatin, Kinetin และ 6-BAP พบว่าได้ค่าอยู่ในช่วง 0.005-10.00 mg/L โดยสารทั้ง 3 ชนิด มีค่า Correlation Coefficient (r) เท่ากับ 0.9999 ซึ่งมีค่าอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ $r \geq 0.995$ ตามมาตรฐาน AOAC (2019) (Table 5)

Table 5 Equation of correlation Coefficient (r) from working range of Zeatin, Kinetin and 6-BAP

| Type of plant hormone | Equation | Correlation Coefficient (r) |
|-----------------------|-------------------------------|-----------------------------|
| Zeatin | $y = 75,404.025x - 1,491.514$ | 0.99995 |
| Kinetin | $y = 58,633.178x - 1,658.295$ | 0.99990 |
| 6-BAP | $y = 70,282.255x - 1,834.978$ | 0.99993 |

3.4 ผลการหาค่า Limit of Detection (LOD) และค่า Limit of Quantitation (LOQ)

จากการหาค่า LOD และ LOQ ของสาร Zeatin, Kinetin และ 6-BAP ได้ค่า LOD ของสาร Zeatin, Kinetin และ 6-BAP เท่ากับ 0.002, 0.002 และ 0.003 mg/L ตามลำดับ (Table 6) และจากผลการพิสูจน์ความถูกต้องและความแม่นยำที่ระดับ LOQ ของสาร Zeatin, Kinetin และ 6-BAP พบว่าทั้ง 3 สาร มีค่าเท่ากับ 0.05 mg/L ซึ่งให้ผลการทดสอบที่มีทั้งความถูกต้อง และความแม่นยำที่ระดับ LOQ ผ่านเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (2019) (Table 7)

Table 6 Limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) for Zeati, Kinetin and 6-BAP

| Number of repetitions | Zeatin (0.02 mg/L) | | Kinetin (0.02 mg/L) | | 6-BAP (0.02 mg/L) | |
|-----------------------|--------------------|--------------|---------------------|--------------|-------------------|--------------|
| | Sample blank | Conc. (mg/L) | Sample blank | Conc. (mg/L) | Sample blank | Conc. (mg/L) |
| 1 | 0.000 | 0.0216 | 0.000 | 0.0213 | 0.000 | 0.0215 |
| 2 | 0.000 | 0.0221 | 0.000 | 0.0215 | 0.000 | 0.0214 |
| 3 | 0.000 | 0.0228 | 0.000 | 0.0199 | 0.000 | 0.0201 |
| 4 | 0.000 | 0.0231 | 0.000 | 0.0202 | 0.000 | 0.0198 |
| 5 | 0.000 | 0.0218 | 0.000 | 0.0204 | 0.000 | 0.0227 |
| 6 | 0.000 | 0.0230 | 0.000 | 0.0214 | 0.000 | 0.0213 |
| 7 | 0.000 | 0.0227 | 0.000 | 0.0211 | 0.000 | 0.0201 |
| 8 | 0.000 | 0.0225 | 0.000 | 0.0203 | 0.000 | 0.0214 |
| 9 | 0.000 | 0.0215 | 0.000 | 0.0201 | 0.000 | 0.0207 |
| 10 | 0.000 | 0.0225 | 0.000 | 0.0204 | 0.000 | 0.0219 |
| Mean | | 0.0224 | | 0.0207 | | 0.0211 |
| SD | | 0.0006 | | 0.0006 | | 0.0009 |
| S'_0 | | 0.0004 | | 0.0004 | | 0.0006 |
| LOD | | 0.002 | | 0.002 | | 0.003 |
| LOQ | | 0.010 | | 0.010 | | 0.010 |

หมายเหตุ $S'_0 = SD/\sqrt{n}$

Table 7 Trueness and precision at the Limit of Quantitation (LOQ) concentration level of Zeatin, Kinetin and 6-BAP

| Number of repetitions | Zeatin | | Kinetin | | 6-BAP | |
|-----------------------|--------------|-----------|--------------|-----------|--------------|-----------|
| | Conc. (mg/L) | %Recovery | Conc. (mg/L) | %Recovery | Conc. (mg/L) | %Recovery |
| 1 | 0.0486 | 96.91 | 0.0507 | 100.58 | 0.0497 | 98.20 |
| 2 | 0.0436 | 86.94 | 0.0497 | 98.60 | 0.0489 | 96.62 |
| 3 | 0.0464 | 92.52 | 0.0503 | 99.79 | 0.0475 | 93.86 |
| 4 | 0.0445 | 88.73 | 0.0493 | 97.80 | 0.0505 | 99.79 |
| 5 | 0.0434 | 86.54 | 0.0465 | 92.25 | 0.0454 | 89.71 |
| 6 | 0.0518 | 103.29 | 0.0454 | 90.07 | 0.0423 | 83.58 |
| 7 | 0.0434 | 86.54 | 0.0438 | 86.89 | 0.0417 | 82.40 |
| 8 | 0.0427 | 85.14 | 0.0416 | 82.53 | 0.0460 | 90.89 |
| 9 | 0.0514 | 102.49 | 0.0491 | 97.41 | 0.0490 | 96.82 |
| 10 | 0.0489 | 97.51 | 0.0504 | 99.99 | 0.0486 | 96.03 |
| MEAN | 0.0465 | 92.66 | 0.0477 | 94.59 | 0.0470 | 92.79 |
| SD | 0.0035 | | 0.0032 | | 0.0030 | |
| %RSD | 7.47 | | 6.66 | | 6.49 | |
| HorRat | 0.30 | | 0.30 | | 0.30 | |

3.5 ผลการพิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ของวิธีวิเคราะห์สาร Zeatin, Kinetin และ 6-BAP

ผลการทดสอบความถูกต้องและความเที่ยงของวิธีที่ความเข้มข้นระดับต่ำ กลาง และสูง ของสาร Zeatin, Kinetin และ 6-BAP ที่ความเข้มข้น 0.05, 25.0 และ 50.0 mg/L ตามลำดับ จากผลการทดสอบความถูกต้องและความเที่ยงของวิธีทดสอบที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง ให้ผลการทดสอบที่มีทั้งความถูกต้องและความเที่ยง (Appendix table 1) เนื่องจากทุกระดับความเข้มข้นที่ทดสอบให้ค่า %Recovery ของการทดสอบอยู่ในช่วง 80-110% ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (2019) และค่า HorRat ที่ได้มีค่าอยู่ในช่วง 0.3-1.3 ทุกระดับความเข้มข้นที่ทำการทดสอบ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (2019)

3.6 ผลการทดสอบความคงทนของวิธี (Ruggedness) วิเคราะห์สาร Zeatin, Kinetin และ 6-BAP

ผลการศึกษาผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อม ด้วยการทดสอบความคงทนของวิธี โดยการวางแผนการทดลอง 7 ตัวแปร 8 การทดลอง (Eftichia and Victoria, 2014) การทดลองละ 4 ซ้ำ โดยใช้ Youden-Steiner testing ทดสอบความคงทนของวิธีทดสอบสาร Zeatin, Kinetin และ 6-BAP ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุดิบอันตรายทางการเกษตร พบว่าการวิเคราะห์สารทั้ง 3 ชนิด (Table 8) มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของสารละลายตัวอย่าง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าวิธีวิเคราะห์ไม่สามารถเปลี่ยนแปลงค่า pH ของสารละลายตัวอย่างได้ (Table 9)

Table 8 Result analysis of Zeatin, Kinetin and 6-BAP by Youden-Steiner testing method at low medium and high concentration

| Experiment | Mean (mg/L) (R) | | | | | | | | |
|------------|------------------|---------|-------|---------------------|---------|-------|-------------------|---------|-------|
| | Low (0.050 mg/L) | | | Medium (25.00 mg/L) | | | High (50.00 mg/L) | | |
| | Zeatin | Kinetin | 6-BAP | Zeatin | Kinetin | 6-BAP | Zeatin | Kinetin | 6-BAP |
| 1 | 0.048 | 0.045 | 0.049 | 21.61 | 22.99 | 21.99 | 44.68 | 46.25 | 43.98 |
| 2 | 0.036 | 0.037 | 0.037 | 20.53 | 20.46 | 17.95 | 45.80 | 45.28 | 32.63 |
| 3 | 0.041 | 0.042 | 0.047 | 21.74 | 22.91 | 20.93 | 48.58 | 47.85 | 43.23 |
| 4 | 0.039 | 0.040 | 0.039 | 18.39 | 19.75 | 17.80 | 37.33 | 38.78 | 37.15 |
| 5 | 0.044 | 0.047 | 0.043 | 20.89 | 21.91 | 20.68 | 45.70 | 48.80 | 42.08 |
| 6 | 0.040 | 0.037 | 0.037 | 20.10 | 21.06 | 18.03 | 40.08 | 39.70 | 34.20 |
| 7 | 0.044 | 0.047 | 0.045 | 20.95 | 21.43 | 20.88 | 44.70 | 43.68 | 42.93 |
| 8 | 0.040 | 0.037 | 0.036 | 19.60 | 20.63 | 19.96 | 42.25 | 42.00 | 35.33 |

Table 9 The results of influence of each variable for determination of Zeatin, Kinetin and 6-BAP at low, medium and high concentration

| Influence of each variable | Mean (mg/L) (R) | | | | | | | | |
|---|------------------|---------------|---------------|---------------------|-------------|-------------|-------------------|-------------|-------------|
| | Low (0.050 mg/L) | | | Medium (25.00 mg/L) | | | High (50.00 mg/L) | | |
| | Zeatin | Kinetin | 6-BAP | Zeatin | Kinetin | 6-BAP | Zeatin | Kinetin | 6-BAP |
| $E_A = [R1+R2+R3+R4]/4 - [R5+R6+R7+R8]/4$ | -0.0006 | -0.0012 | 0.0025 | 0.18 | 0.27 | -0.22 | 0.91 | 0.99 | 0.61 |
| $E_B = [R1+R2+R5+R6]/4 - [R3+R4+R7+R8]/4$ | 0.0006 | 0.0011 | -0.0003 | 0.61 | 1.04 | -0.23 | 0.85 | 2.58 | -1.44 |
| $E_C = [R1+R3+R5+R7]/4 - [R2+R4+R6+R8]/4$ | 0.0056 | 0.0077 | 0.0087 | 1.64 | 1.83 | 2.68 | 4.55 | 5.21 | 8.22 |
| $E_D = [R1+R2+R7+R8]/4 - [R3+R4+R5+R6]/4$ | 0.0009 | 0.0001 | 0.0003 | 0.39 | -0.03 | 0.84 | 1.44 | 0.52 | -0.45 |
| $E_E = [R1+R3+R6+R8]/4 - [R2+R4+R5+R7]/4$ | 0.0014 | -0.0026 | 0.0013 | 0.58 | 1.01 | 0.90 | 0.51 | -0.18 | 0.49 |
| $E_F = [R1+R4+R5+R8]/4 - [R2+R3+R6+R7]/4$ | 0.0033 | 0.0017 | 0.0005 | -0.37 | -0.15 | 0.66 | -1.69 | -0.17 | 1.39 |
| $E_G = [R1+R4+R6+R7]/4 - [R2+R3+R5+R8]/4$ | 0.0024 | 0.0016 | 0.0017 | -0.55 | -0.28 | 0.28 | -3.34 | -3.31 | 1.53 |
| *S | 0.0038 | 0.0046 | 0.0050 | 1.07 | 1.27 | 1.63 | 3.32 | 3.62 | 4.62 |

*S = Standard deviation of the difference

สรุปผลการทดลอง

จากการพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สาร Zeatin, Kinetin และ 6-BAP ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุดิบอันตรายทางการเกษตร โดยใช้เทคนิค HPLC ได้สภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารทั้ง 3 ชนิด ออกจากกันและเป็นวิธีที่มีความจำเพาะเจาะจง (Selectivity) ในการตรวจวิเคราะห์สารทั้ง 3 ชนิด ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารชีวอินทรีย์สกัดจากธรรมชาติพืชและสัตว์ที่มีลักษณะตัวอย่างเป็นสารละลายใส ไม่เหนียวหรือไม่ข้นหนืด จากผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ พบว่าสารทั้ง 3 ชนิด มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์มากกว่า 0.995 มีค่าขีดจำกัดในการตรวจวัด (LOD) ของสาร Zeatin, Kinetin และ 6-BAP เท่ากับ 0.002, 0.002 และ 0.003 mg/L ตามลำดับ และมีค่าขีดจำกัดในการตรวจวัดเชิงปริมาณ (LOQ) ของทั้ง 3 สาร เท่ากับ 0.05 mg/L จากการพิสูจน์ความถูกต้องและความเที่ยงของวิธีทดสอบที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง พบว่าสาร Zeatin, Kinetin และ 6-BAP ให้ค่า %Recovery และค่า HorRat ที่ได้อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ AOAC (2019) และจากผลการทดสอบความคงทนของวิธีทดสอบของสารทั้ง 3 ชนิด พบว่าค่า pH ของสารละลายตัวอย่างที่เปลี่ยนแปลงมีผลต่อวิธีการสกัดสารทั้ง 3 ชนิด ด้วยเทคนิค Solid phase extraction (SPE) ชนิด HR-XC Cartridge ดังนั้นในขั้นตอนการสกัดสารด้วยเทคนิค SPE จะต้องมีการควบคุมค่า pH ของสารละลายตัวอย่างให้มีค่าเท่ากับ 3.0 อย่างไรก็ตามวิธีนี้สามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสาร Zeatin, Kinetin และ 6-BAP ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุดิบอันตรายทางการเกษตรได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ และมีความน่าเชื่อถือ

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่สนับสนุนทุนในการวิจัย และขอขอบพระคุณผู้เชี่ยวชาญ ผู้อำนวยการกองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร และผู้อำนวยการกลุ่มวิจัยเกษตรเคมี ที่ให้คำปรึกษา และข้อเสนอแนะ ตลอดจนการทำงานวิจัยที่ทำให้บรรลุวัตถุประสงค์ของงานวิจัยในครั้งนี้

การนำไปใช้ประโยชน์

1. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิเคราะห์วิจัยพืชวัตถุเคมีการเกษตรและนิเวศวิทยาเทคนิคการเกษตร สามารถนำวิธีที่ได้นี้ไปใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจวิเคราะห์สาร Zeatin, Kinetin และ 6-BAP ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุดิบอันตรายทางการเกษตร
2. เพิ่มประสิทธิภาพและศักยภาพให้กับห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชให้มากยิ่งขึ้น และสามารถถ่ายทอดวิธีการวิเคราะห์ดังกล่าวให้แก่เจ้าหน้าที่ของสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1-8 และหน่วยงานอื่นๆ ที่สนใจได้
3. สามารถนำวิธีการวิเคราะห์ที่ได้พัฒนาขึ้นนี้ ไปขยายขอบข่ายในการขอรับรองห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 ได้

เอกสารอ้างอิง

- ทวีศักดิ์ แสงอุดม.2559. สารควบคุมการเจริญเติบโตพืชและแนวทางการใช้กับไม้ผล. สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.
- พีรเดช ทองอำไพ.2537. ฮอโมนและสารสังเคราะห์ แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศ. วิชาการพิมพ์ กรุงเทพฯ.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2019. Official Method of Analysis of AOAC International. 21th Ed. AOAC International Gaithersburg, Maryland, USA.
- ChÓez, I., S. Manzano and E. Peralta.2014. Quantification of trans-zeatin in corn wastes and liquid organic fertilizers by HPLC chromatography. Emir. J. Food Agric. 26 (9): 813-817.
- Cui, K., Y. Lin, X. Zhou, S. Li, H. Lui, F. Zeng, F. Zhu, G. Ouyang and Z. Zeng.2015. Comparison of sample pretreatment methods for the determination of multiple phytohormones in plant samples by liquid chromatography-electrospray ionization-tandam mass spectrometry. Microchemical Journal 121: 25-31.
- David Harvey. 2009. Analytical Chemistry 2.0. (Online). Available at: http://dpuadweb.depauw.edu/harvey_web/eTextProject/version_2.0.html. Assessment : September 19, 2023.
- EURACHEM. 2014. The Fitness for Purpose of Analytical Methods A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. 2nd ISBN 978-91-87461-59-0.
- Karageorgou, E. and S. Victoria.2014. Youden test application in robustness assays during method validation. Journal of Chromatography A 1353: 131-139.
- NATA. 2018. Nation Association Testing Authorities. General Accreditation Guidance-Validation and verification of Quantitative and Qualitative Test Methods. Australia.
- Qi, B., W. Chao, L. Huiling, C. Kehui, F. Shah, W. Manlian, L. Baoyu, N. Lixiao, H. Jianlinag and T. Hui. 2021. Optimized High-Performance Liquid Chromatography Method for Determining Nine Cytokinins, Indole-3-acetic acid and Abscisic acid. *Sustainability* 2021 13 (13), 6998.

Appendix table 1. Trueness and precision of Zeatin, Kinetin and 6-BAP analysis at low, medium and high concentration levels

| Number of repetitions | Zeatin | | | | | | Kinetin | | | | | | 6-BAP | | | | | |
|-----------------------|--------------|--------------|--------------|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|-------------|--------------|--------------|
| | Low | | Medium | | High | | Low | | Medium | | High | | Low | | Medium | | High | |
| | Conc. (mg/L) | % Recovery | Conc. (mg/L) | % Recovery | Conc. (mg/L) | % Recovery | Conc. (mg/L) | % Recovery | Conc. (mg/L) | % Recovery | Conc. (mg/L) | % Recovery | Conc. (mg/L) | % Recovery | Conc. (mg/L) | % Recovery | Conc. (mg/L) | % Recovery |
| | (0.05 mg/L) | (25.00 mg/L) | (50.00 mg/L) | (0.05 mg/L) | (25.00 mg/L) | (50.00 mg/L) | (0.05 mg/L) | (25.00 mg/L) | (50.00 mg/L) | (0.05 mg/L) | (25.00 mg/L) | (50.00 mg/L) | (0.05 mg/L) | (25.00 mg/L) | (50.00 mg/L) | (0.05 mg/L) | (25.00 mg/L) | (50.00 mg/L) |
| 1 | 0.0486 | 96.91 | 21.60 | 86.14 | 49.000 | 97.71 | 0.0507 | 100.58 | 21.95 | 86.21 | 49.80 | 97.79 | 0.0497 | 98.20 | 21.95 | 87.74 | 44.30 | 88.54 |
| 2 | 0.0436 | 86.94 | 21.60 | 86.14 | 46.100 | 91.92 | 0.0497 | 98.60 | 22.20 | 87.19 | 46.30 | 90.92 | 0.0489 | 96.62 | 21.85 | 87.34 | 44.50 | 88.94 |
| 3 | 0.0464 | 92.52 | 21.75 | 86.74 | 46.900 | 93.52 | 0.0503 | 99.79 | 22.00 | 86.40 | 47.50 | 93.28 | 0.0475 | 93.86 | 21.70 | 86.74 | 44.80 | 89.54 |
| 4 | 0.0445 | 88.73 | 25.20 | 100.50 | 47.300 | 94.32 | 0.0493 | 97.80 | 25.00 | 98.19 | 47.10 | 92.49 | 0.0505 | 99.79 | 21.85 | 87.34 | 41.70 | 83.34 |
| 5 | 0.0434 | 86.54 | 25.45 | 101.49 | 47.200 | 94.12 | 0.0465 | 92.25 | 25.10 | 98.58 | 47.70 | 93.67 | 0.0454 | 89.71 | 20.80 | 83.14 | 46.50 | 92.94 |
| 6 | 0.0518 | 103.29 | 24.00 | 95.71 | 49.900 | 99.50 | 0.0454 | 90.07 | 23.30 | 91.51 | 49.80 | 97.79 | 0.0423 | 83.58 | 21.05 | 84.14 | 46.90 | 93.74 |
| 7 | 0.0434 | 86.54 | 23.50 | 93.72 | 49.800 | 99.30 | 0.0438 | 86.89 | 22.95 | 90.13 | 50.00 | 98.19 | 0.0417 | 82.40 | 20.80 | 83.14 | 43.60 | 87.14 |
| 8 | 0.0427 | 85.14 | 26.05 | 103.89 | 46.800 | 93.32 | 0.0416 | 82.53 | 25.75 | 101.13 | 48.10 | 94.45 | 0.0460 | 90.89 | 24.15 | 96.53 | 45.80 | 91.54 |
| 9 | 0.0514 | 102.49 | 25.00 | 99.70 | 48.400 | 96.51 | 0.0491 | 97.41 | 21.35 | 83.85 | 49.00 | 96.22 | 0.0490 | 96.82 | 20.85 | 83.34 | 46.30 | 92.54 |
| 10 | 0.0489 | 97.51 | 25.45 | 101.49 | 48.300 | 96.31 | 0.0504 | 99.99 | 25.05 | 98.38 | 48.80 | 95.83 | 0.0486 | 96.03 | 21.50 | 85.94 | 41.50 | 82.94 |
| Mean | 0.0465 | 92.66 | 23.96 | 99.55 | 47.97 | 95.65 | 0.0477 | 94.59 | 23.47 | 92.16 | 48.41 | 95.06 | 0.0470 | 92.79 | 21.65 | 86.54 | 44.59 | 89.12 |
| SD | 0.0035 | | 1.66 | | 1.24 | | 0.0032 | | 1.54 | | 1.20 | | 0.0030 | | 0.94 | | 1.80 | |
| %RSD | 7.47 | | 6.94 | | 2.59 | | 6.66 | | 6.54 | | 2.49 | | 6.49 | | 4.36 | | 4.04 | |
| HorRat | 0.30 | | 0.70 | | 0.30 | | 0.30 | | 0.66 | | 0.30 | | 0.30 | | 0.43 | | 0.45 | |

พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารแพกโคลบิวทราซอล ในผลิตภัณฑ์
วัตถุอันตรายทางการเกษตร ด้วยเทคนิคแก๊สลิควิด โครมาโทกราฟี

Development and Method Validation of Paclobutrazol in Hazardous
Agricultural Products By Gas Liquid Chromatography Techniques

ดวงพร ธีระพิทยาพงศ์ จรีรัตน์ กุศลวิริยะวงศ์ สาทิดา โพน้อย สุภานันท์ จันทร์ประอบ
ทิตากร แต่เกษม สุวลักษณ์ ไชยทอง

Tuangporn Teerapitthayapong Charirat Kusonwiryawong Sathida Phonoy Supanun Junpra-ob
Titakorn Teakasem Suwaluck Chaitong

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The development and validation of a method for analyzing paclobutrazol (PBZ) in samples of hazardous agricultural products using gas-liquid chromatography (GLC) aims to find a suitable analytical method for laboratory instruments to achieve accurate and precise test results. The validation of the analytical method for PBZ involved checking specificity matrix effect linearity working range trueness precision and method robustness/ruggedness found that the analytical method for PBZ is specific and free from interference by other substances. The linearity and working range were within the concentration ranges of 5-250 mg/L and 25-250 mg/L, respectively with correlation coefficients (r) of 0.9999 and 1.0000, respectively which met the acceptance criteria of correlation coefficient (r) at ≥ 0.995 . The evaluation of trueness from %recovery and precision within laboratory precision were based on the HorRat (Horwitz' Ratio). The PBZ analysis to prove concentrations at low medium and high level revealed that %recovery were 99.61 100.72 and 99.69, respectively. The HorRat (Horwitz' Ratio) were 0.9 0.4 and 0.3, respectively. These results meet the acceptance criteria according to AOAC (2016) (%recovery in the range of 98-102% and HorRat (Horwitz' Ratio) in the range of 0.3-1.3) During the ruggedness testing using the Youden-Steiner testing method, minor deviations from normal conditions were made. It was found that a 10% PBZ sample was affected by changes in sample weight, a 25% PBZ sample was affected by changes in acetone volume and a 95% PBZ sample was affected by changes in ultrasonic bath shaking time. This indicates that the analytical method cannot tolerate changes in sample weight, acetone volume and ultrasonic bath shaking time.

Keywords: method validation, paclobutrazol, precision, ruggedness, accuracy

บทคัดย่อ

การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารแพกโคลบิวทราซอล (paclobutrazol, PBZ) ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตรด้วยเทคนิคแก๊สลิควิด โครมาโทกราฟี (Gas-Liquid Chromatography) มีวัตถุประสงค์เพื่อหาวิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสมกับเครื่องมือในห้องปฏิบัติการให้ผลการทดสอบมีความถูกต้องและแม่นยำ จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารแพกโคลบิวทราซอล ซึ่งได้มีการตรวจสอบความจำเพาะเจาะจง (Specificity) การรบกวนของสารอื่น (Matrix effect) ความเป็นเส้นตรง (Linearity) ช่วงของการวัด (Working Range) ความถูกต้อง (Trueness) ความเที่ยง (precision) และความคงทนของวิธี (Robustness/Ruggedness) พบว่า วิธีวิเคราะห์สารแพกโคลบิวทราซอลมีความจำเพาะเจาะจง (Specificity) และไม่มีการรบกวนของสารอื่น โดยช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity) ช่วงของการวัด (Working range) ที่ช่วงความเข้มข้น 5-250 และ 25-250 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) เท่ากับ 0.9999 และ 1.0000 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ correlation coefficient (r) ≥ 0.995 การประเมินค่าความถูกต้อง (Trueness) จาก %Recovery และความแม่นยำ (Precision) แบบ within laboratory precision จากค่า HorRat พบว่า การวิเคราะห์ตัวอย่างแพกโคลบิวทราซอล ที่ความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง มี %Recovery เท่ากับ 99.61 100.72 และ 99.69 ตามลำดับ และมีค่า HorRat เท่ากับ 0.9 0.4 และ 0.3 ตามลำดับ ผ่านเกณฑ์การยอมรับตาม AOAC (2016) (เกณฑ์การยอมรับ %Recovery อยู่ในช่วง 98-102% และมีค่า HorRat อยู่ในช่วง 0.3-1.3) การตรวจสอบ Ruggedness โดยมีการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อยจากสภาวะปกติ ตามวิธี Youden-Steiner testing พบว่า ตัวอย่าง แพกโคลบิวทราซอล 10% มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักสาร ตัวอย่างแพกโคลบิวทราซอล 25% มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงปริมาตร Acetone และ ตัวอย่างแพกโคลบิวทราซอล 95% มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงเวลาที่เขย่าด้วย Ultrasonic bath ซึ่งแสดงให้เห็นว่าวิธีวิเคราะห์ไม่สามารถเปลี่ยนแปลงน้ำหนักที่ใช้ในการชั่งตัวอย่าง ปริมาตร Acetone ในการละลาย และเวลาที่เขย่าด้วย Ultrasonic bath ได้

คำสำคัญ: การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ แพกโคลบิวทราซอล ความเที่ยง ความคงทน ความถูกต้อง

บทนำ

สารแพกโคลบิวทราซอล (Paclobutrazol; PBZ) มีชื่อทางเคมีคือ (2RS, 3RS)-1-(4-Chlorophenyl)-4,4-dimethyl-2-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)pentan-3-ol จัดอยู่ในกลุ่มสารชะลอการเจริญเติบโตของพืชที่นิยมใช้กับไม้ผล เช่น มะม่วง ทูเรียน และยังมีการใช้กับพืชไร่อีกด้วย (พีรเดช, 2537) โดยเป็นสารที่ออกฤทธิ์ในทางตรงข้ามกับ จิบเบอเรลลิน โดยยับยั้งการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน ลดการยืดตัวของปล้อง เพิ่มการเจริญเติบโตของราก เร่งให้ เกิดดอก ทำให้ออกผลเร็วและเพิ่มการผลิตเมล็ดในพืช เช่น มะเขือเทศและพริกไทย (ทวีศักดิ์, 2559)

การวิเคราะห์หาปริมาณสาร Paclobutrazol (PBZ) ในผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร ได้มีการปรับเปลี่ยนวิธีการวิเคราะห์ไปจากอดีต โดยมีการลดขั้นตอน ลดปริมาณสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ ทำให้ปลอดภัยต่อผู้วิเคราะห์มากยิ่งขึ้น อีกทั้งเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ก็ได้พัฒนาขึ้นด้วย โดยมีรายงานจากหลายๆ งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สารแพกโคลบิวทราซอล ในผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตรด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี ดังนี้ Bhattacharjee and Singh (2002) ได้ศึกษาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณสาร Paclobutrazol (PBZ) ที่ตกค้างในตัวอย่างดิน โดยใช้วิธีการสกัดตัวอย่างในสารละลาย methanol จากนั้นนำไปกรอง แล้วนำสารละลายที่ได้ไประเหยลดความดันจนพอดีแห้ง เสร็จแล้วให้นำมาเติมสารละลาย methanol จำนวน 1 ml แล้วนำไปวิเคราะห์หาสาร Paclobutrazol (PBZ) ที่ตกค้างในดินด้วยเทคนิค GLC-ECD

โดยเติมสารละลายสารมาตรฐาน Paclitaxel (PBZ) ความเข้มข้น 0.1 1.0 และ 2.0 mg/L ได้ค่าเฉลี่ยของค่าร้อยละการกลับคืนมา เท่ากับ 86.82% ซึ่งค่าต่ำสุดที่เครื่องสามารถวิเคราะห์ 0.0001 mg/L ซึ่งวิธีนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดหาสารแพกโคลบิวทราซอล ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟีได้

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (Method validation) เป็นการศึกษาอย่างเป็นระบบของห้องปฏิบัติการในการจัดทำคุณลักษณะของวิธีทดสอบ เพื่อให้มั่นใจว่าเป็นไปตามกำหนดและเหมาะสมกับวัตถุประสงค์การใช้งาน (นිරะนาถ, 2565) ทั้งนี้ยังเป็นกระบวนการศึกษาขอบเขตข้อจำกัดของวิธีทดสอบ รวมทั้งบ่งชี้ถึงอิทธิพลที่มีผลต่อความเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะและระดับความแม่นยำ (accuracy) และความเที่ยง (precision) ของวิธี โดยได้จัดทำคุณลักษณะเฉพาะวิธี คือ ตรวจสอบช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity) ช่วงของการวัด (working Range) ความแม่นยำ (precision) ความคงทนของวิธี (robustness/ruggedness) ความถูกต้อง (accuracy) และความจำเพาะเจาะจง (specificity) รวมทั้งความไม่แน่นอนของการวัด (measurement uncertainty) ซึ่ง accuracy เป็นการรวมกันของความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (precision) อีกด้วย (Eurachem, 2014)

ประเทศไทยได้มีการนำเข้าสารแพกโคลบิวทราซอลจากประเทศจีน ปริมาณ 2,379,295.00 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่าสูงถึง 229,677,737.72 บาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2563 ก) ซึ่งสารแพกโคลบิวทราซอลเป็นสารที่ใช้ควบคุมการเจริญเติบโตของพืช การวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช เป็นส่วนหนึ่งในการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร เพื่อให้เป็นไปตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ. 2535 (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2563 ข) โดยมีห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิเคราะห์วิจัยพืชวัตถุเคมีการเกษตรและนิเวศวิทยุเทคนิคการเกษตร กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ภายใต้การกำกับดูแลของกรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เป็นหน่วยงานรับผิดชอบในการให้บริการตรวจวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร ทั้งการขึ้นทะเบียนนำเข้าและส่งออก เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่มีคุณภาพและเกษตรกรนำไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้น การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method validation) ที่พัฒนาวิธีขึ้นมาใหม่หรือดัดแปลงมาจากวิธีมาตรฐานให้เหมาะสมกับอุปกรณ์หรือเครื่องมือในห้องปฏิบัติการ เพื่อสร้างมาตรฐานการทดสอบ ให้ผลการทดสอบมีความถูกต้อง แม่นยำ ยอมรับได้ตามเกณฑ์การยอมรับที่เป็นมาตรฐาน รวมทั้งสามารถขอการรับรองมาตรฐานคุณภาพห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 เพื่อเพิ่มสมรรถนะของห้องปฏิบัติการในการตรวจวิเคราะห์สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช งานวิจัยนี้จึงสอดคล้องกับกลยุทธ์ของกรมวิชาการเกษตรด้านการวิจัยและพัฒนา ระบบมาตรฐานการตรวจสอบคุณภาพพืช ปัจจัยการผลิต และผลิตภัณฑ์ ที่มุ่งให้มีมาตรฐานการทดสอบเป็นที่น่าเชื่อถือยอมรับได้ในระดับประเทศและระดับสากล

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas chromatograph: GC) มีตัวตรวจจับชนิดเฟรมไอออนเซชัน (Flame Ionization Detector : FID)
2. คอลัมน์ชนิด HP-5 ขนาด 0.25 ไมโครเมตร ความยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง (i.d.) 0.32 มิลลิเมตร
3. เครื่องชั่งละเอียด 5 ตำแหน่ง (± 0.1 มิลลิกรัม) ที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว
4. Ultrasonic bath
5. ขวดวัดปริมาตรชนิด type A ขนาด 10 25 50 และ 100 มิลลิลิตร
6. pipette ขนาด 1 - 10 มิลลิลิตร
7. ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร
8. syringe ขนาด 5 มิลลิลิตร และ syringe filters ขนาด 0.22 และ 0.45 ไมโครเมตร
9. ปีกเกอร์ ขนาด 10 และ 250 มิลลิลิตร

สารเคมี

1. สารมาตรฐาน paclobutrazol 98.69% และ 99.1%
2. สารอะซิโตน (AR grade)
3. ตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตรแพกโคลบิวทราซอล

วิธีการ

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สาร paclobutrazol ด้วยเทคนิค GC-FID

1. ปรับตั้งสภาวะการทำงานของเครื่อง GC-FID ในการวิเคราะห์สาร paclobutrazol ส่วนของการแยกสารด้วยเทคนิค GC-FID ทำการปรับเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สาร ได้แก่ ชนิดของ Column อุณหภูมิของ Oven อุณหภูมิของ Injector และ อุณหภูมิของ Detector อัตราการไหลของ Carrier gas (Flow rate) ปริมาตรของสารที่ใช้ในการฉีด (Injection volume) และระยะเวลาที่ใช้ในการ Run (Run time)

การศึกษาวิธีการเตรียมสารละลายมาตรฐานที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สาร paclobutrazol

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานแพกโคลบิวทราซอล ช่วงความเข้มข้น 25-250 มิลลิกรัมต่อลิตร พิจารณา ค่า Correlation coefficient ของกราฟมาตรฐาน
 - 1.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานแพกโคลบิวทราซอล 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ชั่งสารมาตรฐานแพกโคลบิวทราซอล 0.02553 กรัม ละลายด้วย Acetone และปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร
 - 1.2 เตรียมสารละลายมาตรฐานแพกโคลบิวทราซอล 25-250 มิลลิกรัมต่อลิตร ปิเปตสารมาตรฐานแพกโคลบิวทราซอล ข้อ 1.1 ปริมาตร 0.5 1 2 3 4 และ 5 มิลลิลิตรละลายด้วย Acetone และปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร
 - 1.3 นำสารละลายมาตรฐานแพกโคลบิวทราซอล ความเข้มข้น 25 50 100 150 200 และ 250 มิลลิกรัมต่อลิตร มาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas chromatograph (GC)
 - 1.4 นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของแพกโคลบิวทราซอล (แกน x) และพื้นที่ใต้พีค (peak area) (แกน y) โดยต้องมีค่า Correlation coefficient, $r \geq 0.995$

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สาร paclobutrazol

1. หาความจำเพาะเจาะจงของวิธีวิเคราะห์ (Selectivity หรือ Specificity) ของวิธีวิเคราะห์ทดสอบ

เตรียมสารละลายมาตรฐานและสารละลายตัวอย่างความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และเตรียม Solvent blank ทำการวิเคราะห์ตามวิธีทดสอบ จากนั้นพิจารณา Chromatogram จากผลการทดสอบว่า Chromatogram ของสารที่สนใจในการทดสอบมีการแยกและมีความจำเพาะเจาะจงที่ดี

2. การศึกษาผลของ Matrix effect ของวิธีทดสอบ

ศึกษา matrix effect โดยเปรียบเทียบความชันของกราฟมาตรฐานระหว่างสารละลายมาตรฐานแพกโคลบิวทราซอลที่เตรียมในสารละลาย Acetone ความเข้มข้น 25 50 100 150 200 และ 250 มิลลิกรัมต่อลิตร (Standard paclobutrazol) กับกราฟของสารละลายตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุดิบอันตรายทางการเกษตร (Sample blank) ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมสารละลายมาตรฐานแพกโคลบิวทราซอลที่เตรียมในสารละลาย Acetone ความเข้มข้น 25 50 100 150 200 และ 250 มิลลิกรัมต่อลิตร (Spiked standard paclobutrazol) ดำเนินการตามวิธีวิเคราะห์สารแพกโคลบิวทราซอล แล้วนำผลความชันที่ได้มาคำนวณหาค่า %RPD ซึ่งมีเกณฑ์กำหนด <math><10</math> ตามมาตรฐาน NATA (2018)

3. การหาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) และช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (Range)

3.1 ทดสอบความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ (Linearity)

3.1.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานแพกโคลบิวทราซอล 5 10 25 50 100 150 200 และ 250 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งสารมาตรฐานแพกโคลบิวทราซอล 0.02553 กรัม ละลายด้วย Acetone และปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ปิเปตสารมาตรฐานแพกโคลบิวทราซอล ปริมาตร 0.1 0.2 0.5 1 2 3 4 และ 5 มิลลิลิตร ละลายด้วย Acetone และปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร

3.1.2 นำสารละลายมาตรฐานแพกโคลบิวทราซอล ความเข้มข้น 5 10 25 50 100 150 200 และ 250 มิลลิกรัมต่อลิตร มาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas chromatograph (GC)

3.1.3 นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของแพกโคลบิวทราซอล (แกน x) และพื้นที่ใต้พีค (peak area) (แกน y)

3.1.4 พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรง โดยต้องมีค่า Correlation coefficient, $r \geq 0.995$

3.2 หาความเป็นเส้นตรงของช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (Range)

3.2.1 เลือกช่วงที่เป็นเส้นตรงจากการศึกษา Linearity โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานแพกโคลบิวทราซอล 25 50 100 150 200 และ 250 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ (เตรียมสารละลายเช่นเดียวกับข้อ 3.1)

3.2.2 นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของแพกโคลบิวทราซอล (แกน x) และพื้นที่ใต้พีค (peak area) (แกน y)

3.2.3 พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรง โดยต้องมีค่า Correlation coefficient, $r \geq 0.995$

4. พิสูจน์ความแม่นยำ (Precision) ของวิธีวิเคราะห์สารแพกโคลบิวทราซอล ที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ

4.1 ชั่งสารมาตรฐานแพกโคลบิวทราซอล 0.025xx กรัม ละลายด้วย Acetone และปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร

4.2 ซั่งตัวอย่างสารแพกโคลบิวทราซอล ความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง โดยใช้ตัวอย่าง 10% 25% และ 95% ตามลำดับ จำนวน 0.1xxxx กรัม ใส่ขวดวัดปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำมาตรฐานแพกโคลบิวทราซอล 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เติมน้ำ Acetone 30 มิลลิลิตร ปิดจุก นำมาเขย่าด้วยเครื่อง Ultrasonic bath 15 นาที ปล่อยให้สารละลายปรับตัวเข้าสู่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วย Acetone เขย่าให้เข้ากัน กรองผ่าน syringe filters Nylon membrane ใส่ vial ขนาด 2 มิลลิลิตร นำสารละลายตัวอย่างไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-FID

4.3 นำผลวิเคราะห์ที่ได้มาคำนวณค่าเฉลี่ย (Mean) ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ค่า %RSDr ค่า Predicted Horwitz RSD และพิสูจน์ความแม่นยำ โดยประเมินจากค่า HorRat (Horwitz's Ratio) ดังสมการ

$$\text{HorRat} = \%RSDr / \text{Predicted Horwitz RSD}$$

$$\text{Predicted Horwitz RSD} = 2C^{-0.15}$$

$$C = \text{Mass fraction concentration, } C = \text{mean}/100$$

เกณฑ์การยอมรับ HorRat 0.3-1.3 (AOAC, 2016)

5 พิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) ของวิธีวิเคราะห์

5.1 ดำเนินการเช่นเดียวกับข้อ 4

5.2 นำผลวิเคราะห์มาพิสูจน์ความถูกต้อง โดยประเมินจากค่า % Recovery ดังสมการ

$$\text{Total \% Recovery} = 100(C_f)/(C_U + C_A)$$

C_f = ความเข้มข้นของสารใน fortified sample

C_U = ความเข้มข้นของ Unfortified sample

C_A = ความเข้มข้นของ Analyte ที่เติม

6. ตรวจสอบความทนของวิธีทดสอบโดยการเปลี่ยนแปลงสถานะเพียงเล็กน้อยจากสถานะปกติ

6.1 ศึกษาผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสถานะแวดล้อม ด้วยการทดสอบ Ruggedness โดยการวางแผนการทดลอง 7 ตัวแปร 8 การทดลอง การทดลองละ 4 ซ้ำ ตามวิธี Youden-Steiner testing (สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติ, 2564) แสดงตามตารางที่ 1 และตารางที่ 2

ตารางที่ 1 แสดงตัวแปรที่ใช้ในการทดลองภายใต้สถานะปกติและสถานะที่เปลี่ยนแปลง

| ตัวแปร | ความหมายของตัวแปร | สถานะปกติ (A-G) | สถานะที่เปลี่ยนแปลง (a-g) |
|--------|--|-----------------------------------|--------------------------------------|
| A/a | น้ำหนักสาร (กรัม) | 0.1xxxx (A) | 0.2xxxx (a) |
| B/b | ขวดปรับปริมาตร (มิลลิลิตร) | 100 (B) | 50 (b) |
| C/c | ปริมาตร Acetone (มิลลิลิตร) | ~30 (C) | ~25 (c) |
| D/d | เวลาที่เขย่าด้วย Ultrasonic bath (นาที) | 15 (D) | 20 (d) |
| E/e | เวลารอเย็น (นาที) | 45 (E) | 60 (e) |
| F/f | syringe filters Nylon membrane (μm) | 0.22 (F) | 0.45 (f) |
| G/g | การกรองตัวอย่าง | กรองทันทีหลังปรับปริมาตรเสร็จ (G) | กรองหลังปรับปริมาตรเสร็จ 15 นาที (g) |

ตารางที่ 2 แสดงการวางแผนการทดลองที่ใช้ในการทดสอบ Ruggedness

| การทดลองที่ | แผนการทดลอง | | | | | | | ค่าเฉลี่ยผลการวิเคราะห์ |
|-------------|-------------|---|---|---|---|---|---|-------------------------|
| 1 | A | B | C | D | E | F | G | R ₁ |
| 2 | A | B | c | D | e | f | g | R ₂ |
| 3 | A | b | C | d | E | f | g | R ₃ |
| 4 | A | b | c | d | e | F | G | R ₄ |
| 5 | a | B | C | d | e | F | g | R ₅ |
| 6 | a | B | c | d | E | f | G | R ₆ |
| 7 | a | B | C | D | e | f | G | R ₇ |
| 8 | a | b | c | D | E | F | g | R ₈ |

6.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามแผนการทดลอง โดยใช้ตัวอย่างแพกโคลบิวทราซอล 10%, 25% และ 95%

6.3 คำนวณผลกระทบของตัวแปร (E) ของแต่ละตัวแปร 7 ตัวแปร 8 การทดลอง

$$E_A = (R_1 + R_2 + R_3 + R_4)/4 - (R_5 + R_6 + R_7 + R_8)/4$$

$$E_B = (R_1 + R_2 + R_5 + R_6)/4 - (R_3 + R_4 + R_7 + R_8)/4$$

$$E_C = (R_1 + R_3 + R_5 + R_7)/4 - (R_2 + R_4 + R_6 + R_8)/4$$

$$E_D = (R_1 + R_2 + R_7 + R_8)/4 - (R_3 + R_4 + R_5 + R_6)/4$$

$$E_E = (R_1 + R_3 + R_6 + R_8)/4 - (R_2 + R_4 + R_5 + R_7)/4$$

$$E_F = (R_1 + R_4 + R_5 + R_8)/4 - (R_2 + R_3 + R_6 + R_7)/4$$

$$E_G = (R_1 + R_4 + R_6 + R_7)/4 - (R_2 + R_3 + R_5 + R_8)/4$$

6.4 พิจารณาค่า $|E|$ และค่า S ของการเปลี่ยนแปลงสถานะต่างๆ คือ

$|E| < S$ แสดงว่า ไม่มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสถานะแวดล้อมของการทดสอบ

$$\text{โดย } S = \sqrt{\left(\frac{2}{7}\right) \times \sum(E^2)}$$

7. ตรวจสอบสารแพกโคลบิวทราซอลในตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุดิบอันตรายทางการเกษตรที่ได้จากการสุ่มจากแหล่งจำหน่าย จำนวน 28 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิค GLC-FID

7.1 สุ่มเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุดิบอันตรายทางการเกษตรแพกโคลบิวทราซอลในเขตพื้นที่จังหวัดสมุทรสาคร สมุทรสงคราม เพชรบุรี ราชบุรี สุพรรณบุรี นครปฐม อุทัยธานี และพิจิตร

7.2 ทดสอบสารแพกโคลบิวทราซอลในตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุดิบอันตรายทางการเกษตรที่สุ่มเก็บจากแหล่งจำหน่าย

ระยะเวลา เริ่มต้น 1 ตุลาคม 2564 สิ้นสุด 30 กันยายน 2566

สถานที่ทำการทดลอง

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร 50 ถ.พหลโยธิน ลาดยาว จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลของการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สาร Paclobutrazol ด้วยเทคนิค GC-FID

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas chromatograph: GC) มีตัวตรวจจับชนิดเฟรมไอออนไนเซชัน (Flame Ionization Detector : FID) ในการแยกสาร paclobutrazol พบว่าการแยกสารด้วย Column ชนิด HP-5 (30 m x 0.32 mm (i.d.), 0.25 μm) โดยตั้งค่าอุณหภูมิที่ใช้ใน 3 ตำแหน่ง ได้แก่ อุณหภูมิของ Oven Injector และ Detector ที่อุณหภูมิ 240 260 และ 280 $^{\circ}\text{C}$ ตามลำดับ ในส่วนของ Carrier gas ใช้แก๊ส He โดยมีอัตราการไหล 2.0 มิลลิลิตรต่อนาที ซึ่งให้ผลการทดสอบในการแยกสาร Paclobutrazol ออกจาก Column ได้ดี มีค่า Retention time ในการวิเคราะห์ที่เวลา 3.525 ซึ่งโครมาโทแกรมที่ได้จากการแยกสาร Paclobutrazol (ภาพที่ 1)

1.1 การเตรียมสภาวะเครื่อง GC-FID สำหรับวิเคราะห์สารแพกโคลบิวทราซอล

Column : HP-5 (30 m x 0.32 mm (i.d.), 0.25 μm)

Oven temperature : 240 $^{\circ}\text{C}$

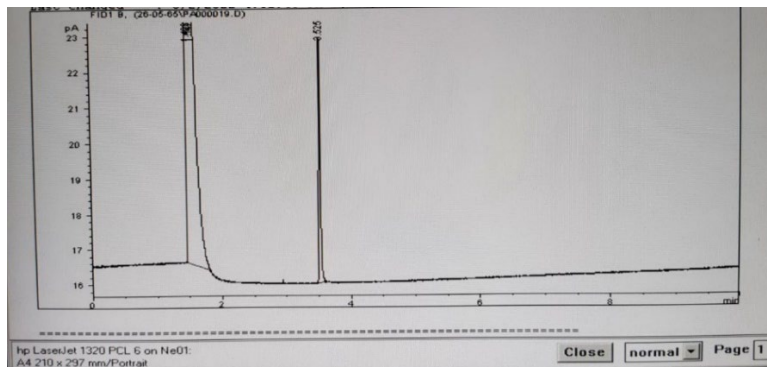
Injector temperature : 260 $^{\circ}\text{C}$

Detector temperature : 280 $^{\circ}\text{C}$

Carrier gas : He 2.0 ml/min

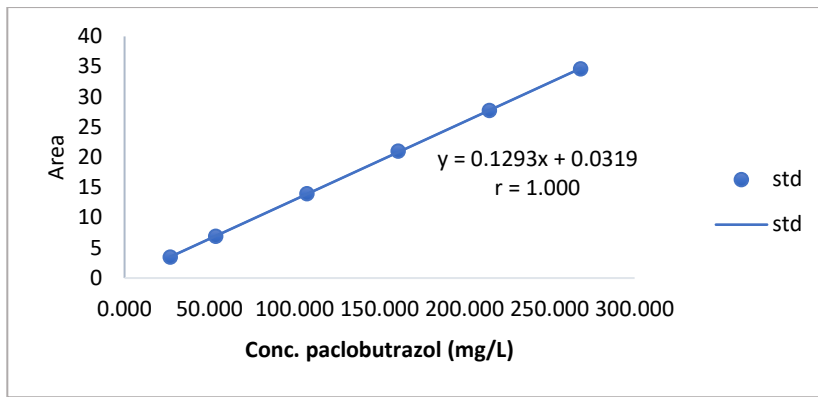
Injection volume : 1.0 μL

Run time : 10.0 min



ภาพที่ 1 Chromatogram ของสารละลายมาตรฐานแพกโคลบิวทราซอล ความเข้มข้น 100 mg/L ตามสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง

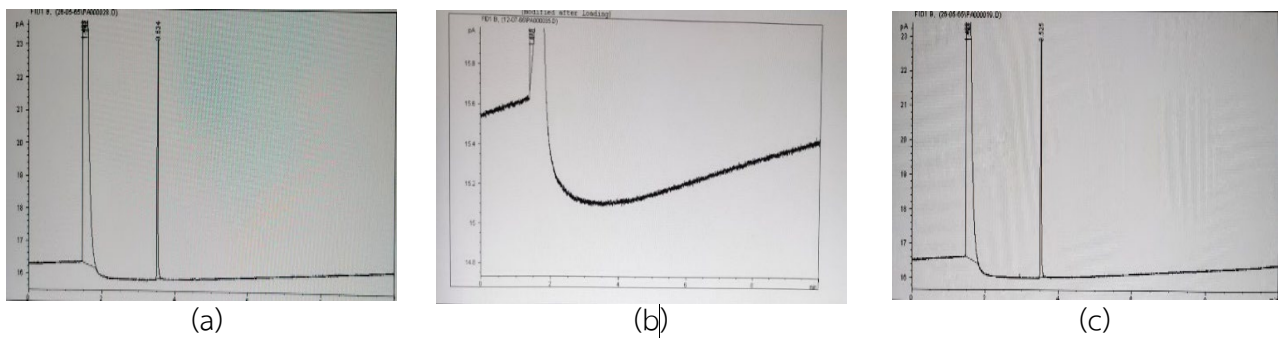
1.2 ผลการศึกษากราฟมาตรฐานสำหรับสารละลายมาตรฐานแพกโคลบิวทราซอล ช่วงความเข้มข้น 25-250 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ค่า Correlation coefficient, r เท่ากับ 1.000 (ภาพที่ 1) พบว่า ค่า Correlation coefficient, $r \geq 0.995$ ผ่านเกณฑ์การยอมรับ



ภาพที่ 2 กราฟมาตรฐานสำหรับสารละลายมาตรฐานแพคโคลบิวทราซอล ช่วงความเข้มข้น 25-250 mg/L

ผลของการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สาร paclobutrazol

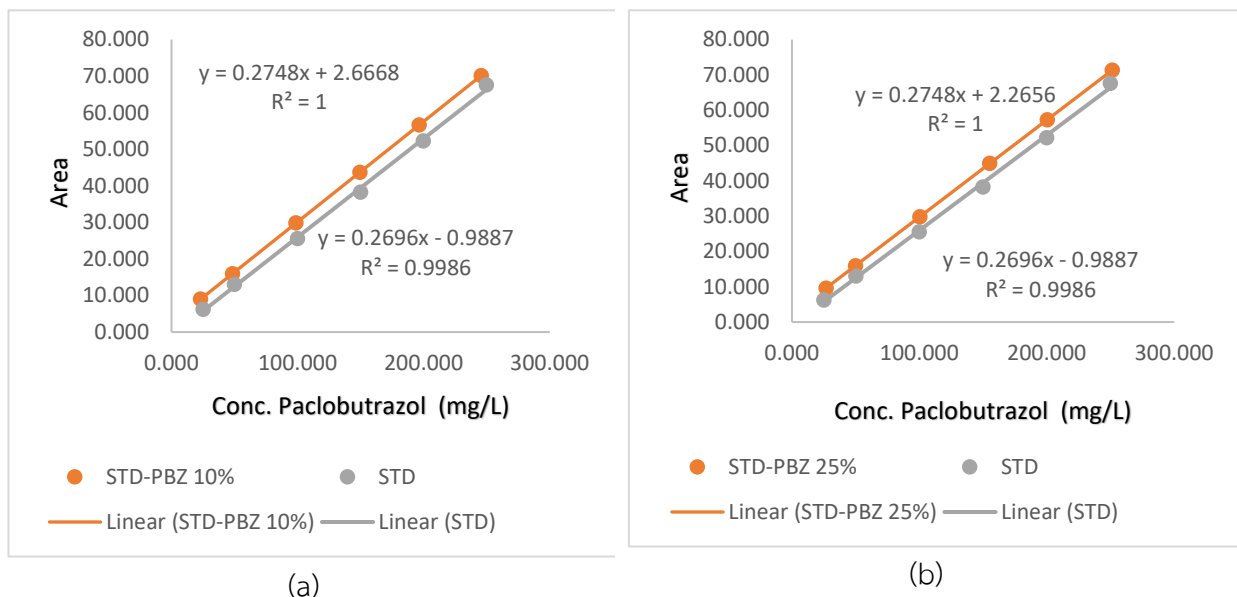
1. ผลการหาความจำเพาะเจาะจงของวิธีวิเคราะห์ (Selectivity หรือ Specificity) ของวิธีทดสอบ จากการทดสอบความจำเพาะเจาะจงของวิธีวิเคราะห์ โดยการเปรียบเทียบโครมาโทแกรมที่ตรวจวัดได้จาก ตัวอย่างและโครมาโทแกรมของสารมาตรฐาน paclobutrazol โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานและสารละลาย ตัวอย่าง ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการวิเคราะห์ตามวิธีทดสอบจากนั้น พิจารณา Chromatogram จากผลการทดสอบว่า Chromatogram ของสารที่สนใจในการทดสอบมีการแยก และมีความจำเพาะเจาะจงที่ดี



ภาพที่ 3 Chromatogram ของสาร มีการแยกและความจำเพาะเจาะจงที่ดี (a) สารละลายมาตรฐาน แพคโคลบิวทราซอล ความเข้มข้น 100 mg/L (b) Solvent blank (Acetone) (c) สารละลายตัวอย่าง แพคโคลบิวทราซอล ความเข้มข้น 100 mg/L

2. ผลการศึกษา Matrix effect ของวิธีทดสอบ

จากผลการทดสอบ Matrix Effect ที่มีผลต่อการวิเคราะห์สาร Paclobutrazol พบว่า ความชันของ Standard calibration curve เทียบกับ Matrix calibration curve มีค่าความต่าง %RPD เท่ากับ 1.91% ซึ่งความชันต่างกันไม่เกิน 10% แสดงว่า ไม่มี Matrix effects หรือไม่มีการรบกวนของสารละลายตัวอย่าง แพคโคลบิวทราซอลในช่วงความเข้มข้น 25-250 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งแสดงดังภาพที่ 4



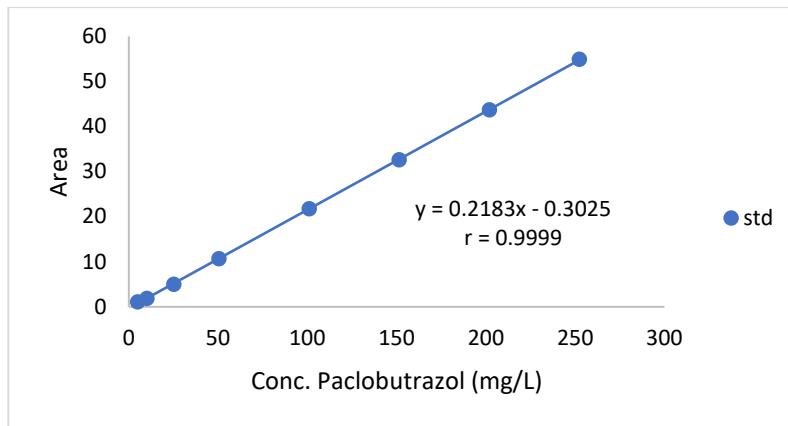
ภาพที่ 4 ความชันของ Standard calibration curve เทียบกับ Matrix calibration curve ในช่วงความเข้มข้น 25-250 มิลลิกรัมต่อลิตร (a) สารแพกโคลบิวทราซอล 10% (b) สารแพกโคลบิวทราซอล 25%

ตารางที่ 1 ความเข้มข้นและพื้นที่ใต้กราฟของ Standard เทียบกับ Standard in matrix ในช่วงความเข้มข้น 25-250 มิลลิกรัมต่อลิตร

| Conc. (mg/L) | Standard (STD) | | Standard in matrix (mSTD) | | | |
|-----------------|------------------|--------|---------------------------|--------|-------------------------|--------|
| | | | Paclobutrazol (PBZ) 10% | | Paclobutrazol (PBZ) 25% | |
| | concentration | area | Conc.-PBZ 10% | Area | Conc.-PBZ 25% | area |
| 25 | 24.973 | 6.215 | 23.005 | 8.989 | 26.620 | 9.581 |
| 50 | 49.946 | 12.987 | 48.272 | 15.933 | 49.726 | 15.931 |
| 100 | 99.893 | 25.560 | 98.752 | 29.805 | 100.278 | 29.823 |
| 150 | 149.840 | 38.230 | 149.332 | 43.705 | 155.115 | 44.893 |
| 200 | 199.790 | 52.230 | 196.378 | 56.634 | 200.302 | 57.311 |
| 250 | 249.730 | 67.571 | 245.607 | 70.163 | 251.290 | 71.323 |
| สมการ | y=0.2696x-0.9887 | | y=0.2748x+2.6668 | | y=0.2748x+2.2656 | |
| %RPD | | | 1.91 | | 1.91 | |

3. ผลการหาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) และช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (Range)

3.1 ผลการทดสอบ Linearity ของวิเคราะห์แพกโคลบิวทราซอล ความเข้มข้นอยู่ในช่วง 5-250 mg/L ได้ค่า Correlation coefficient, r เท่ากับ 0.9999 (ภาพที่ 5) พบว่า ค่า Correlation coefficient, $r \geq 0.995$ ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

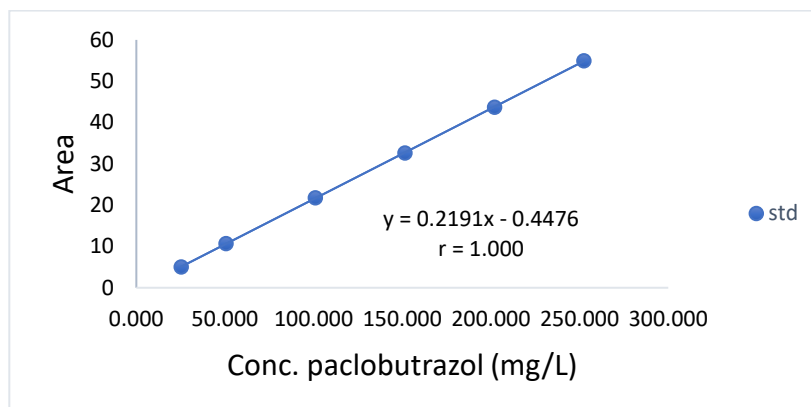


ภาพที่ 5 ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (linearity) กราฟมาตรฐานสำหรับสารละลายมาตรฐานแพกโคลบิวทราซอล ช่วงความเข้มข้น 5-250 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 2 ความเข้มข้นและพื้นที่ใต้กราฟของสารละลายมาตรฐานแพกโคลบิวทราซอลในช่วงความเข้มข้น 5-250 มิลลิกรัมต่อลิตร

| Concentration (mg/L) | Standard (STD) | |
|-------------------------|----------------|--------|
| | Concentration | area |
| 5 | 5.048 | 1.089 |
| 10 | 10.096 | 1.857 |
| 25 | 25.239 | 5.025 |
| 50 | 50.478 | 10.665 |
| 100 | 100.960 | 21.779 |
| 150 | 151.430 | 32.638 |
| 200 | 201.910 | 43.684 |
| 250 | 252.390 | 54.935 |

3.2 ผลการทดสอบ Range ของวิธีวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานแพกโคลบิวทราซอล 25-250 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ค่า Correlation coefficient, r เท่ากับ 1.0000 (ภาพที่ 6) พบว่า ค่า Correlation coefficient, $r \geq 0.995$ ผ่านเกณฑ์การยอมรับ



ภาพที่ 6 ช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (Range) กราฟมาตรฐานสำหรับสารละลายมาตรฐานแพกโคลบิวทราซอล ช่วงความเข้มข้น 25-250 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 3 ความเข้มข้นและพื้นที่ใต้กราฟของสารละลายมาตรฐานแพกโคลบิวทราซอล ในช่วงความเข้มข้น 25-250 มิลลิกรัมต่อลิตร

| Concentration (mg/L) | Standard (STD) | |
|-------------------------|----------------|--------|
| | Concentration | area |
| 25 | 25.239 | 5.025 |
| 50 | 50.478 | 10.665 |
| 100 | 100.960 | 21.779 |
| 150 | 151.430 | 32.638 |
| 200 | 201.910 | 43.684 |
| 250 | 252.390 | 54.935 |

4. พิสูจน์ความแม่นยำ (Precision) และความถูกต้อง (Trueness) ของวิธีวิเคราะห์สารแพกโคลบิวทราซอล ที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ โดยใช้ตัวอย่าง 10%, 25% และ 95% ตามลำดับ ประเมินจากค่า HorRat (Horwitz's Ratio) ซึ่งเกณฑ์การยอมรับ อยู่ในช่วง 0.3-1.3 (AOAC, 2016) และ ค่า %Recovery เกณฑ์การยอมรับ 98-102% (AOAC, 2016)

ตารางที่ 4 ผลการพิสูจน์ความแม่นยำ (Precision) และความถูกต้อง (Trueness) ของวิธีวิเคราะห์สาร แพกโคลบิวทราซอล ที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง

| รายการ วิเคราะห์ | ความเข้มข้น (%) | Trueness | | | Precision | | |
|---------------------|--------------------|----------|--------|-----------|-------------------|-----------|------------|
| | | Mean | SD | %Recovery | %RSD _r | %PRSD (R) | HorRat (r) |
| paclobutrazol | ต่ำ (10%) | 9.96 | 0.2401 | 99.61 | 2.4102 | 2.8267 | 0.9 |
| | กลาง (25%) | 25.18 | 0.2746 | 100.72 | 1.0903 | 2.4596 | 0.4 |
| | สูง (95%) | 95.70 | 0.5105 | 99.69 | 0.5334 | 2.0132 | 0.3 |

6. ตรวจสอบความทนของวิธีทดสอบโดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อยจากสภาวะปกติ (Ruggedness) จากการศึกษผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมด้วยการทดสอบความทนของวิธี (Ruggedness) การวางแผนการทดลอง 7 ตัวแปร 8 การทดลอง การทดลองละ 4 ซ้ำ ตามวิธี Youden-Steiner testing พบว่า ผลการวิเคราะห์สารแพกโคลบิวทราซอล 8 การทดลอง ตัวอย่างสารแพกโคลบิวทราซอล 10% 25% และ 95% (ตารางที่ 5) และผลกระทบของตัวแปร (E) ทั้ง 7 ตัวแปร (ตารางที่ 6) พบว่า ตัวอย่างแพกโคลบิวทราซอล 10% มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักสาร ตัวอย่างแพกโคลบิวทราซอล 25% มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงปริมาตร Acetone และ ตัวอย่างแพกโคลบิวทราซอล 95% มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงเวลาที่เขย่าด้วย Ultrasonic bath ซึ่งแสดงให้เห็นว่าวิธีวิเคราะห์ไม่สามารถเปลี่ยนแปลงน้ำหนักที่ใช้ในการชั่งตัวอย่าง ปริมาตร Acetone ในการละลาย และเวลาที่เขย่าด้วย Ultrasonic bath ได้

ตารางที่ 5 ค่าเฉลี่ยผลการวิเคราะห์ตัวอย่างแพกโคลบิวทราซอล 8 การทดลอง

| Experiment | Mean (%) (Y) | | |
|------------|--------------|-------|-------|
| | 10% | 25% | 95% |
| 1 | 10.10 | 24.57 | 96.20 |
| 2 | 10.22 | 24.26 | 97.17 |
| 3 | 10.13 | 25.05 | 94.82 |
| 4 | 10.48 | 24.23 | 95.45 |
| 5 | 10.51 | 24.52 | 95.10 |
| 6 | 10.41 | 24.27 | 96.40 |
| 7 | 10.58 | 24.07 | 97.06 |
| 8 | 10.60 | 23.95 | 95.21 |

ตารางที่ 6 ผลกระทบของตัวแปร (E)

| | Effect of variables (E) | | |
|---|-------------------------|-------------|-------------|
| | 10% | 25% | 95% |
| $E_A = (Y1 + Y2 + Y3 + Y4)/4 - (Y5 + Y6 + Y7 + Y8)/4$ | -0.29 | 0.32 | -0.03 |
| $E_B = (Y1 + Y2 + Y5 + Y6)/4 - (Y3 + Y4 + Y7 + Y8)/4$ | -0.14 | 0.08 | 0.58 |
| $E_C = (Y1 + Y3 + Y5 + Y7)/4 - (Y2 + Y4 + Y6 + Y8)/4$ | -0.09 | 0.37 | -0.26 |
| $E_D = (Y1 + Y2 + Y7 + Y8)/4 - (Y3 + Y4 + Y5 + Y6)/4$ | -0.01 | -0.30 | 0.97 |
| $E_E = (Y1 + Y3 + Y6 + Y8)/4 - (Y2 + Y4 + Y5 + Y7)/4$ | -0.14 | 0.19 | -0.54 |
| $E_F = (Y1 + Y4 + Y5 + Y8)/4 - (Y2 + Y3 + Y6 + Y7)/4$ | 0.09 | -0.09 | -0.87 |
| $E_G = (Y1 + Y4 + Y6 + Y7)/4 - (Y2 + Y3 + Y5 + Y8)/4$ | 0.03 | -0.16 | 0.70 |
| S | 0.20 | 0.34 | 0.91 |

$|E| < S$ แสดงว่า ไม่มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมของการทดสอบ

7. ตรวจวัดสารแพกโคลบิวทราซอลในตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ได้จากการสุ่มจากแหล่งจำหน่าย จำนวน 28 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิค GLC-FID

7.1 ได้ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตรแพกโคลบิวทราซอลในเขตพื้นที่จังหวัดสมุทรสาคร สมุทรสงคราม เพชรบุรี ราชบุรี สุพรรณบุรี นครปฐม อุทัยธานี และพิจิตร

ผลการทดสอบสารแพกโคลบิวทราซอลในตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตรที่สุ่มเก็บจากแหล่งจำหน่าย จำนวน 28 ตัวอย่าง โดยทดสอบตัวอย่าง 10% WP จำนวน 17 ตัวอย่าง พบว่าผลการทดสอบอยู่ในช่วง 9.27-10.60% W/W ตัวอย่าง 15% WP จำนวน 7 ตัวอย่าง พบว่าผลการทดสอบอยู่ในช่วง 13.01-15.25% W/W และตัวอย่าง 25% W/V SC จำนวน 4 ตัวอย่าง พบว่า ผลการทดสอบอยู่ในช่วง 23.84-24.61% W/V

สรุปผลการทดลอง

จากการตรวจสอบวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์สารแพกโคลบิวทราซอล (Paclobutrazol) ในผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร โดยพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธี โดยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟี (Chromatography) ด้วยการทดสอบคุณลักษณะเฉพาะต่างๆ ของสารออกฤทธิ์ Paclobutrazol พบว่า มีความสามารถในการแยกและความจำเพาะเจาะจง (specificity) ให้พีคของสารทดสอบชัดเจน ไม่มีพีคอื่นมารบกวนพีคของสาร แสดงว่าวิธีวิเคราะห์สามารถแยกและมีความเฉพาะเจาะจงที่ดีต่อสารที่ทำการทดสอบ ทั้งนี้การตรวจสอบช่วงของการวัด (working Range) และค่าความเป็นเส้นตรง (linearity) ในช่วงความเข้มข้น 5-250 และ 25-250 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ได้ค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.9999 และ 1.0000 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับค่า $r \geq 0.995$ (AOAC, 2016) ตรวจสอบความแม่นยำ (Precision) แบบ within laboratory precision ที่ความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง โดยใช้ตัวอย่างที่ความเข้มข้น 10 25 และ 95% ได้ค่า HorRat เท่ากับ 0.9 0.4 และ 0.3 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 0.3-1.3 ผ่านเกณฑ์ยอมรับตามมาตรฐาน AOAC (2016) การตรวจสอบความถูกต้อง (Trueness) ที่ความเข้มข้น 10 25 และ 95% พบว่า ได้ค่า %Recovery เท่ากับ 99.61 100.72 และ 99.69 ตามลำดับซึ่งอยู่ในช่วง 98-102 ตามเกณฑ์พิจารณาสำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่าร้อยละ 10 ของ AOAC (2016) เมื่อตรวจสอบความคงทน (ruggedness) โดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อยจากสภาวะปกติ มีการวางแผนการทดลอง 7 ตัวแปร 8 การทดลอง การทดลองละ 4 ซ้ำ ตามวิธี Youden-Steiner testing พบว่า ผลการวิเคราะห์สารแพกโคลบิวทราซอล 8 การทดลอง พบว่า ตัวอย่างแพกโคลบิวทราซอล 10% มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักสาร ตัวอย่างแพกโคลบิวทราซอล 25% มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงปริมาตร Acetone และ ตัวอย่างแพกโคลบิวทราซอล 95% มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงเวลาที่เขย่าด้วย Ultrasonic bath ซึ่งแสดงให้เห็นว่าวิธีวิเคราะห์ไม่สามารถเปลี่ยนแปลงน้ำหนักที่ใช้ในการชั่งตัวอย่าง ปริมาตร Acetone ในการละลาย และเวลาที่เขย่าด้วย Ultrasonic bath ได้ นอกจากนี้ยังได้ทำการทดสอบสารแพกโคลบิวทราซอลในตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตรที่สุ่มเก็บจากแหล่งจำหน่าย จำนวน 28 ตัวอย่าง โดยทดสอบตัวอย่าง 10% WP จำนวน 17 ตัวอย่าง พบว่าผลการทดสอบอยู่ในช่วง 9.27-10.60% W/W ตัวอย่าง 15% WP จำนวน 7 ตัวอย่าง พบว่าผลการทดสอบอยู่ในช่วง 13.01-15.25% W/W และตัวอย่าง 25% W/V SC จำนวน 4 ตัวอย่าง พบว่าผลการทดสอบอยู่ในช่วง 23.84-24.61% W/V ดังนั้นการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นมานั้น จึงมีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ paclobutrazol ในผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตรได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ สร้างความน่าเชื่อถือแก่ผลการทดสอบ และสามารถนำไปขอการรับรองห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025: 2017 ได้ เพื่อแสดงถึงความสามารถของห้องปฏิบัติการในระดับสากล

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

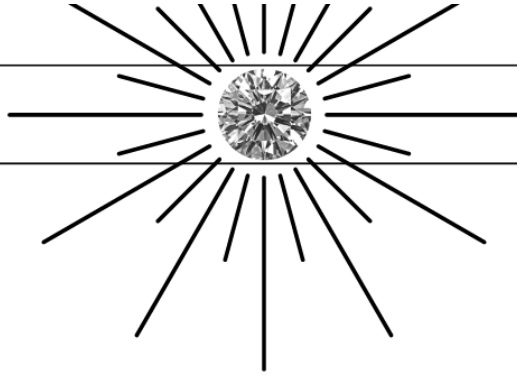
1. ใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตรในห้องปฏิบัติการ เพื่อการขึ้นทะเบียนนำเข้าและส่งออก รวมทั้งควบคุมคุณภาพวัตถุอันตรายทางการเกษตร ตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ.2535 และรวบรวมเป็นวิธีมาตรฐาน สามารถตีพิมพ์เผยแพร่ให้แก่ห้องปฏิบัติการของกรมวิชาการเกษตรในส่วนภูมิภาค ส่วนภาครัฐหรือภาคเอกชน และหน่วยงานที่เกี่ยวข้องได้อย่างเป็นที่น่าสนใจ
2. ใช้ยื่นขอขยายขอบข่ายการรับรองห้องปฏิบัติการ ตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025: 2017 เพื่อเพิ่มศักยภาพให้กับหน่วยงานและองค์กรให้เป็นที่ยอมรับในระดับสากล

คำขอบคุณ

รายงานวิจัยฉบับนี้ อยู่ภายใต้โครงการวิจัยและพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร แผนงานวิจัยเรื่อง พัฒนาระบบการตรวจรับรองคุณภาพปัจจัยการผลิตเพื่อสร้างมาตรฐานและยกระดับคุณภาพห้องปฏิบัติการในประเทศไทย ได้รับทุนสนับสนุนจากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์วิจัยและนวัตกรรม สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) สามารถดำเนินงานได้สำเร็จตามวัตถุประสงค์ ด้วยความช่วยเหลือจาก บุคคลากรและเจ้าหน้าที่ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ที่ช่วยในการดำเนินการทั้งในด้านเอกสาร การเตรียมตัวอย่าง และดำเนินการวิจัย คณะผู้วิจัยจึงขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

เอกสารอ้างอิง

- ทวีศักดิ์ แสงอุดม. 2559. เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการ: สารควบคุมการเจริญเติบโตพืชและแนวทางการใช้กับไม้ผล. กรุงเทพฯ: สถาบันวิจัยพืชสวน.
- นිරระนาถ แจ้งทอง. 2565. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทางเคมี. ในเอกสารประกอบการฝึกอบรมปีงบประมาณ 2565 ของกลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ
- พีรเดช ทองอำไพ. 2537. ฮอริโมนพืชและสารสังเคราะห์ แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ: วิจัยการพิมพ์.
- สถาบันมาตรฐานแห่งชาติ. การตรวจความใช้ได้ของวิธีวัดทางเคมี (ออนไลน์). 2564. สืบค้นเมื่อ 6 เมษายน 2565. จาก : <https://www.mwa.co.th/wp-content/uploads/2021/01/Single-Laboratory-Validation-NIMT.pdf>
- สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2563 ก. กฎ ระเบียบ ประกาศ (ออนไลน์). สืบค้นเมื่อ 16 มิถุนายน 2563. จาก : <http://www.doa.go.th/ard/>
- สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2563 ข. รายงานสรุปการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตร (ออนไลน์). สืบค้นเมื่อ 16 มิถุนายน 2563. จาก : http://www.doa.go.th/ard/?page_id=386
- AOAC. 2016. Appendix F. Guidelines for Standard Method Performance Requirements. The Association of Official Analysis Chemists. Accessed on April 1, 2022, from <http://www.eoma.aoac.org>
- A.K. Bhattacharjee and V.K. Singh. 2002. Paclobutrazol Etytimation by Gas Chromatography-A New method for its Residue Analysis in Soil. *Indian J. Plant Physiol*, 7(3): 282-284.
- Eurachem. 2014. Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, (2nd ed. 2014). Torino, Italy.
- NATA. 2018. General Accreditation Guidance-Validation and Verification of Quantitative and Qualitative Test Methods.



ศูนย์วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิต
ทางการเกษตรขอนแก่น



การใช้ปุ๋ยอินทรีย์ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพเพื่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาว
ในระบบเกษตรอินทรีย์

Use of organic fertilizer in combination with bio-fertilizer for
Long Bean seed production in organic farming system

สรรเสริญ เลียงใส¹ ศิริลักษณ์ พุทธรังศรี² อรรณู ชันติยวิชัย¹
ศศิษา พิทักษ์² กาญจนา มหาเวศย์สกุล²
Sansoen Siangsai¹ Sirilak Phutthawong² Aran Kantiyawit¹
Salisa Pituk² Kanchana Mahawetsaku²

ศูนย์วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตรขอนแก่น

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Research and development of the use of organic fertilizers in combination with bio-fertilizers for the production of lentil seeds in organic farming systems aims to obtain the technology of organic lentil seed production and nutrient management suitable for seed production in organic farming systems. Prepare experimental plots. Sub-plot size: width 4 meters, length 20 meters, planting distance 1.0 x 0.5 meters, distance between plots 1.0 meters. Soil management of vegetable plots according to recommended technology and organic agriculture standards, improve soil nourishment by adding manure and aeration compost at comparable rates according to the analysis of soil properties together with bio-fertilizers according to methods 1-5. Prepare lentil seeds and planting. Method 1 and 3: Take lentil seeds. Phichit 3 varieties are planted by sowing seeds directly in the hole. The 2nd, 4th and 5th process brings lentil seeds. Phichit 3 variety is mixed with bio-fertilizer and then planted by sowing seeds directly in the hole, the distance between the plants is 50 x 50 centimeters, and planted in rows of 50 centimeters apart. Let the drip irrigation system 2 times a day, 30 minutes at a time. Pest prevention uses integrated pest management technology for organic agriculture of the Department of Agriculture. Number of pods of lentils per square meter, dry pod weight per square meter, dry seed weight per square meter and seed quality. The five methods had no statistical differences but method 3, aerated compost, comparable rate according to soil analysis value 100%, yielded the highest dry pod weight and dry seed weight of 14.7 and 35.7 grams per square meter. Method 1, manure compost, comparable rate according to soil analysis value 100%, yielded dry pod weight up to 11.5 and 35.2 grams per

¹ ศูนย์วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตรขอนแก่น 117 ม.14 ต.ในเมือง อ.เมือง จ.ขอนแก่น

¹ Khon Kaen Agricultural Production Sciences Research and Development Center 117 M.14 Naimuang Muang Khon Kaen

² ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชขอนแก่น 343 ม.15 ต.ท่าพระ อ.เมือง จ.ขอนแก่น

² Khon Kaen Seed Research and Development Center 343 M.15 Tha-pra Muang Khon Kaen

square meter. As for the seed quality of method 3, aerated compost, the comparable rate according to the soil analysis value is 100% and method 4, aerated compost, the comparable rate according to the soil analysis value is 100% with bio-fertilizer, the most normal seedlings is 20%.

Keywords: Long Bean, organic seeds, organic fertilizers, bio-fertilizers, production seed

บทคัดย่อ

การวิจัยและพัฒนาการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมเพื่อการผลิตเมล็ดถั่วฝักยาวในระบบเกษตรอินทรีย์ มุ่งให้ได้เทคโนโลยีการผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาวอินทรีย์และการจัดการธาตุอาหารที่เหมาะสม สำหรับการผลิตเมล็ดพันธุ์ในระบบเกษตรอินทรีย์ เตรียมแปลงทดลอง ขนาดแปลงย่อย กว้าง 4 เมตร ยาว 20 เมตร ระยะปลูก 1.0 x 0.5 เมตร ระยะห่างระหว่างแปลง 1.0 เมตร การจัดการดินแปลงผักตามเทคโนโลยีที่แนะนำและมาตรฐานเกษตรอินทรีย์ ปรับปรุงการบำรุงดิน โดยการเติมปุ๋ยคอกและปุ๋ยหมักเติมอากาศในอัตราที่เทียบเคียงได้ตามการวิเคราะห์คุณสมบัติของดินร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมตามวิธีที่ 1-5 เตรียมเมล็ดถั่วฝักยาวและปลูกกรรมวิธีที่ 1 และ 3: ใช้เมล็ดถั่วฝักยาวพันธุ์พิจิตร 3 ปลูกโดยการหว่านเมล็ดลงในหลุมโดยตรง กรรมวิธีที่ 2, 4 และ 5 นำเมล็ดถั่วฝักยาว พันธุ์พิจิตร 3 ผสมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม แล้วปลูกโดยการหว่านเมล็ดลงในหลุมโดยตรง ระยะห่างระหว่างต้น 50 x 50 เซนติเมตร ปลูกเป็นแถวห่างกัน 50 เซนติเมตร ปล่อยให้ระบบน้ำหยดวันละ 2 ครั้ง ครั้งละ 30 นาที การป้องกันศัตรูพืชโดยใช้เทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสานเพื่อเกษตรอินทรีย์ของกรมวิชาการเกษตร พบว่าจำนวนฝักของถั่วฝักยาวต่อตารางเมตร น้ำหนักฝักแห้งต่อตารางเมตร น้ำหนักเมล็ดแห้งต่อตารางเมตร และคุณภาพเมล็ด ทั้ง 5 กรรมวิธี ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่กรรมวิธีที่ 3 ปุ๋ยหมักเติมอากาศ อัตราเทียบเคียงตามค่าวิเคราะห์ดิน 100 % ให้ผลผลิตน้ำหนักฝักแห้งและเมล็ดแห้งสูงสุด 14.7 และ 35.7 กรัมต่อตารางเมตร รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ 1 ปุ๋ยหมักคอก อัตราเทียบเคียงตามค่าวิเคราะห์ดิน 100 % ให้ผลผลิตน้ำหนักฝักแห้งและเมล็ดแห้งสูงสุด 11.5 และ 35.2 กรัมต่อตารางเมตร ส่วนคุณภาพเมล็ดพันธุ์ของกรรมวิธีที่ 3 ปุ๋ยหมักเติมอากาศ อัตราเทียบเคียงตามค่าวิเคราะห์ดิน 100 % และ กรรมวิธีที่ 4 ปุ๋ยหมักเติมอากาศ อัตราเทียบเคียงตามค่าวิเคราะห์ดิน 100 % ร่วมปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม มีต้นกล้าปกติมากที่สุด คือ 20 %

คำสำคัญ: ถั่วฝักยาว เมล็ดพันธุ์อินทรีย์ ปุ๋ยอินทรีย์ ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม การผลิตเมล็ดพันธุ์

บทนำ

ปัจจุบันประชากรทั่วโลกรวมถึงประเทศไทยมีความต้องการบริโภคอาหารจากแหล่งผลิตที่น่าเชื่อถือปลอดภัยจากสารพิษ สารเคมี โลหะหนัก และจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค การรักษาสุขภาพเมื่อเข้าสู่สังคมผู้สูงอายุ รวมถึงการคำนึงถึงสภาพแวดล้อมอันเนื่องมาจากภาวะโลกร้อน โดยเฉพาะแหล่งผลิตที่เป็นระบบเกษตรอินทรีย์ เนื่องจากผู้บริโภคมีความเชื่อมั่นว่าเป็นระบบการเกษตรที่ให้ผลผลิตปลอดภัยต่อสุขภาพร่างกาย เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ปัจจุบันตลาดสินค้าเกษตรอินทรีย์ของประเทศไทยมีการเติบโตอย่างต่อเนื่อง โดยเริ่มจากปี พ.ศ. 2557 ตลาดสินค้าเกษตรอินทรีย์มีมูลค่ารวม 2,331.55 ล้านบาท แบ่งเป็นตลาดส่งออก 1,187.10 ล้านบาท (77.9 %) ตลาดในประเทศ 514.45 ล้านบาท (22.06 %) (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2556) ประเทศไทยจึงมีนโยบายด้านเกษตรอินทรีย์สนับสนุนเกษตรอินทรีย์อย่างต่อเนื่องและครบวงจร ทั้งในด้านการผลิต การแปรรูป การสร้างมูลค่า การตลาด ระบบการตรวจสอบมาตรฐานที่เป็นที่ยอมรับ แต่เนื่องจากการเพิ่มการผลิตพืชในระบบเกษตรอินทรีย์ยังมีปัจจัยพื้นฐานที่มีความสำคัญต่อการขยายการผลิตอันได้แก่ เมล็ดพันธุ์ ตามข้อกำหนดมาตรฐานเกษตรอินทรีย์ที่กำหนดว่าเมล็ดพันธุ์ที่ใช้ต้องผลิตในระบบเกษตรอินทรีย์เท่านั้น ปัจจุบัน พ.ศ.2566 มีแหล่งผลิต

เมล็ดพันธุ์ในระบบเกษตรอินทรีย์เพื่อการค้าแต่ยังไม่แพร่หลายและไม่เพียงพอต่อความต้องการ จากการสำรวจโดยศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชขอนแก่นพบว่าภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีแหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์อินทรีย์โดยเกษตรกรที่ยังไม่ผ่านการรับรองมาตรฐานเกษตรอินทรีย์ทำให้ขาดความน่าเชื่อถือไม่สามารถพัฒนาต่อยอดได้ และแหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์ถูกผสมโดยเครือข่ายบริษัทเอกชนแต่เป็นการผลิตเพื่อการส่งออกต่างประเทศ ในขั้นตอนการรับรองมาตรฐานจึงอนุโลมให้ใช้เมล็ดพันธุ์จากแหล่งทั่วไปได้ แต่ต้องไม่มีการคลุกสารเคมี หากใช้เมล็ดพันธุ์ที่คลุกสารเคมีจะต้องล้างและจัดการสารเคมีที่เหมาะสม เกษตรกรจะต้องพัฒนาการผลิตเมล็ดพันธุ์ขึ้นเองในไร่นาหรือแลกเปลี่ยนกันระหว่างสมาชิกที่ทำเกษตรอินทรีย์ภายหลัง (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2552) ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชขอนแก่นได้ดำเนินการสำรวจข้อมูลจากแหล่งผลิตเกษตรอินทรีย์ที่ได้รับการรับรองจากกรมวิชาการเกษตร และเครือข่ายผู้ผลิตเมล็ดพันธุ์ของบริษัท อัดัมส์เอ็นเตอร์ไพรเซส จำกัดผู้ผลิตและจัดจำหน่ายเมล็ดพันธุ์พืชผักอินทรีย์เพื่อการส่งออก โดยวิเคราะห์ประเด็นปัญหาและความเสี่ยงที่อาจกระทบต่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ในระบบอินทรีย์ ได้แก่ (1) ปัจจัยด้านธาตุอาหารที่พืชมีความต้องการในระยะที่พืชติดผลและสร้างเมล็ด ซึ่งจะต้องเป็นธาตุอาหารบำรุงดินและพืชที่ได้จากธรรมชาติ เช่น ปุ๋ยอินทรีย์ ปุ๋ยชีวภาพ เป็นต้น และ (2) ระยะที่พืชสร้างเมล็ดเป็นระยะที่พืชอ่อนแอต่อศัตรูพืชจำเป็นต้องมีแนวทางการควบคุมโดยเฉพาะการควบคุมโรคที่อาจจะติดไปกับเมล็ดพันธุ์ และต้องเป็นวิธีการจัดการศัตรูพืชที่ไม่ใช้สารเคมีด้วย

กรมวิชาการเกษตรมีเทคโนโลยีการจัดการธาตุอาหารพืชและศัตรูพืชโดยไม่ใช้สารเคมีเพื่อการผลิตพืชในระบบเกษตรอินทรีย์แต่ยังไม่มียุทธศาสตร์หรือคำแนะนำสำหรับการผลิตเป็นเมล็ดพันธุ์ เพื่อแก้ปัญหาที่กล่าวมาของศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชซึ่งเป็นหน่วยงานที่รับผิดชอบด้านการวิจัยการผลิตเมล็ดพันธุ์ จึงจำเป็นต้องมีการวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตเมล็ดพันธุ์พืชผักในระบบเกษตรอินทรีย์ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา ค้นคว้า ทดลอง เพื่อให้ได้เทคโนโลยีการผลิต การจัดการธาตุอาหาร การจัดการศัตรูพืชเพื่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ในระบบเกษตรอินทรีย์ ชนิดพืชที่ใช้ศึกษาเป็นกลุ่มพืชผัก โดยดำเนินการในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เมื่อได้เทคโนโลยีการผลิตแล้วจึงพัฒนาต้นแบบและเครือข่ายผู้ผลิตเมล็ดพันธุ์พืชผักในระบบเกษตรอินทรีย์โดยการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีการจัดการแหล่งผลิตพืชกรมวิชาการเกษตร

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. ปุ๋ยมูลวัว ปุ๋ยหมัก ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม และชีวภัณฑ์เชื้อราบีวเวอเรีย
2. เมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาว พันธุ์พิจิตร 3
3. จอบ เสียม คราด เสียม สแลนกันแดด พลาสติกคลุมดิน ตาข่ายไนล่อนสีขาว
4. ระบบน้ำหยด
5. ตาข่าย ไม้บรรทัด เทปวัดระยะทาง ถังกระดาด ถังพลาสติก

วิธีการ

ขั้นตอนและวิธีในการวิจัย ดำเนินการตามขั้นตอนต่อไปนี้

แผนการทดลอง แบบ RCB 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี

วิธีปฏิบัติทดลอง

ดำเนินการทดลองการจัดการธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาว ในแปลงเกษตรกรที่ผ่านการรับรองระบบเกษตรอินทรีย์ โดยการขนาดแปลงทดลองย่อย กว้าง 4 เมตร ยาว 20 เมตร ระยะปลูก 1.0 x 0.5 เมตร ระยะห่างระหว่างแปลง 1.0 เมตร มี 5 กรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ปุ๋ยมูลวัว เทียบเคียง NPK 100 % ของอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน (2 กิโลกรัมต่อตารางเมตร)

กรรมวิธีที่ 2 ปุ๋ยมูลวัว เทียบเคียง NPK 100 % ของอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม

กรรมวิธีที่ 3 ปุ๋ยหมักเติมอากาศ เทียบเคียง NPK 100 % ของอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน (2 กิโลกรัมต่อตารางเมตร)

กรรมวิธีที่ 4 ปุ๋ยหมักเติมอากาศ เทียบเคียง NPK 100 % ของอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม

กรรมวิธีที่ 5 ปุ๋ยหมักเติมอากาศ เทียบเคียง NPK 75 % ของอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน (1.5 กิโลกรัมต่อตารางเมตร) + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม

ขั้นตอนที่ 1 การปลูกทดสอบ

1. เก็บตัวอย่างดินเพื่อตรวจวิเคราะห์สมบัติทางเคมีบางประการของดินในแปลงปลูกก่อนและหลังทดสอบ

2. จัดทำแปลงทดลอง ขนาดแปลงทดลองย่อย กว้าง 4 เมตร ยาว 20 เมตร ระยะปลูก 1.0x0.5 เมตร ระยะห่างระหว่างแปลง 1.0 เมตร ทำการเตรียมดินโดย ไถตากดิน 2 ครั้งเป็นเวลา 10 วัน การจัดการดินแปลงพืชผักตามเทคโนโลยีแนะนำและมาตรฐานเกษตรอินทรีย์ ปรับปรุงบำรุงดินโดยใส่ปุ๋ยมูลวัว และปุ๋ยหมักเติมอากาศ อัตราเทียบเคียงตามค่าวิเคราะห์สมบัติของดินร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม ตามกรรมวิธีที่ 1-5

3. การเตรียมเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาวและการปลูก กรรมวิธีที่ 1 และ 3 นำเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาว พันธุ์พิจิตร 3 ปลูกโดยการหยอดเมล็ดในหลุมโดยตรง ส่วน กรรมวิธีที่ 2 4 และ 5 นำเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาว พันธุ์พิจิตร 3 คลุกกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม แล้วจึงนำไปปลูกโดยการหยอดเมล็ดในหลุมโดยตรง ระยะห่างระหว่างต้น 50x50 เซนติเมตร และปลูกเป็นแถวคู่เว้นทางเดิน 50 เซนติเมตร พร้อมทำค้างตาข่าย

4. การดูแลรักษา

4.1 การให้น้ำระบบน้ำหยด วันละ 2 ครั้ง ครั้งละ 30 นาที

4.2 การใส่ปุ๋ยอินทรีย์ตามกรรมวิธีทดลอง โดย กรรมวิธีที่ 1 และ 2 ใส่ปุ๋ยมูลวัว เทียบเคียง NPK 100 % ของอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน กรรมวิธีที่ 3 และ 4 ใส่ปุ๋ยหมักเติมอากาศ เทียบเคียง NPK 100 % ของอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน และ กรรมวิธีที่ 5 ปุ๋ยหมักเติมอากาศ เทียบเคียง NPK 75 % ของอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน

4.3 การป้องกันกำจัดศัตรูพืชใช้เทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสานสำหรับเกษตรอินทรีย์ของกรมวิชาการเกษตรโดยเป็นการป้องกันก่อนเกิดการระบาดร่วมกับการแก้ไขปัญหาเมื่อเริ่มมีแนวโน้มการระบาด ได้แก่ การถอนกำจัดให้ออกนอกพื้นที่แปลง การใช้สารสกัดสมุนไพรและปุ๋ยอินทรีย์บำรุงต้นพืชอย่างสม่ำเสมอ หากมีการระบาดที่อาจกระทบกับผลผลิตจึงเริ่มดำเนินการป้องกันกำจัดโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมศัตรูพืช เช่น ไตรโคเดอร์มา บิวเวอเรีย บาซิลลัส ทูริงเจนซิส บาซิลลัส ซับทีลิส

5. การเก็บเกี่ยวผลผลิตเมล็ดพันธุ์ โดยเก็บเมื่อถั่วฝักยาวสุกแก่เต็มที่จากนั้นลดความชื้นของฝักจนแห้งแล้วกะเทาะเมล็ดพันธุ์ออกจากฝัก และนำเมล็ดไปลดความชื้น ชั่งน้ำหนัก บรรจุในถุงปิดสนิทเก็บรักษาที่ห้องควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสำหรับเก็บเมล็ดพันธุ์

ขั้นตอนที่ 2 การวิเคราะห์คุณภาพและสุขอนามัยเมล็ดพันธุ์

สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ของแต่ละกรรมวิธี การตรวจสอบคุณภาพและสุขอนามัย โดยการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ส่งตรวจสอบคุณภาพและสุขอนามัย ได้แก่ ความชื้นก่อนและหลังการลดความชื้น ความบริสุทธิ์ (เมล็ดพืชชนิดหรือพันธุ์อื่น สิ่งเจือปน) ความงอก ความแข็งแรง และการตรวจเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดส่งผลต่อความงอก ความแข็งแรง และโรคที่ติดไปกับเมล็ดพันธุ์ โดยอ้างอิงวิธีการตามมาตรฐาน ISTA ณ ห้องปฏิบัติการตรวจสอบคุณภาพและสุขอนามัยเมล็ดพันธุ์ ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชขอนแก่น

ระยะเวลา เริ่มต้น 1 ตุลาคม 2564 สิ้นสุด 30 กันยายน 2566

สถานที่ทำการทดลอง ศูนย์วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตรขอนแก่น

ผลการทดลองและวิจารณ์

ได้ทำแปลงทดสอบที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตรขอนแก่น ได้นำตัวอย่างดินไปวิเคราะห์โดยใช้ soil test kit ของกรมวิชาการเกษตรพบว่า pH ของดิน 7.06 ปริมาณอินทรีย์วัตถุ (OM, %) 0.445 % ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 23 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Table 1) เมื่อหมักปุ๋ยแบบเติมอากาศแล้ว พบว่า ปุ๋ยหมัก มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 50.25 % ไนโตรเจนทั้งหมด 1.22 % ฟอสฟอรัสทั้งหมด 3.1 % โพแทสเซียมทั้งหมด 2.18 % (Table 2) แล้วนำไปใส่แปลงทดสอบตามกรรมวิธี พบว่า จำนวนฝักของถั่วฝักยาวต่อตารางเมตร น้ำหนักฝักแห้งต่อตารางเมตร และน้ำหนักเมล็ดแห้งต่อตารางเมตร ทั้ง 5 กรรมวิธี ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 3) แต่กรรมวิธีที่ 3 เทียบเคียง NPK 100 % ของอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน ให้ผลผลิตน้ำหนักฝักแห้งและเมล็ดแห้งสูงสุด 14.7 และ 35.7 กรัมต่อตารางเมตร รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ 1 ปุ๋ยมูลวัว เทียบเคียง NPK 100 % ของอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน ให้ผลผลิตน้ำหนักฝักแห้งและเมล็ดแห้งสูงสุด 11.5 และ 35.2 กรัมต่อตารางเมตร ส่วนกรรมวิธีที่ 2 ปุ๋ยมูลวัว เทียบเคียง NPK 100 % ของอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน ร่วมปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม ให้ผลผลิตน้ำหนักฝักแห้งและเมล็ดแห้งสูงสุด 10.0 และ 28.8 กรัมต่อตารางเมตร ตามลำดับ

Table 1 Soil properties analysis

| Soil depth (cm) | pH | Lime (kg/rai) | EC (dS/m) | OM (%) | Avail P (mg/kg) | Avail K (mg/kg) | Sand(%) | Silt (%) | Clay (%) | Texture |
|-----------------|------|---------------|-----------|--------|-----------------|-----------------|---------|----------|----------|------------|
| 0-20 | 7.06 | 100 | 0.033 | 0.445 | 23 | 60 | 76 | 17.8 | 6.2 | Sandy loam |

Table 2 compost analysis

| Composting duration (day) | pH | EC (dS/m) | %MC | %TN | %TP | %TK | %OM | %OC | C/N ratio | %GI |
|---------------------------|-----|-----------|------|------|------|------|-------|-------|-----------|------|
| 0 | 8.2 | 5.41 | - | 2.53 | 3.12 | 2.37 | 34.63 | 20.09 | 7:1 | - |
| 30 | 8.5 | 4.55 | - | 1.95 | 3.46 | 2.34 | 42.77 | 24.81 | 8:1 | - |
| 60 | 8.6 | 5.13 | 35.7 | 1.22 | 3.10 | 2.18 | 50.25 | 29.15 | 12:1 | 68.9 |

Table 3 Yield and yield composition of lentils (square meters)

| Treatment | No.pod/m ² | Dried Pods Weight (g/m ²) | Dried Seeds Weight (g/m ²) |
|----------------------------------|-----------------------|--|---|
| 1. Manure 100 % | 18.6 | 11.5 | 35.2 |
| 2. Manure 100 %+ Bio-fertilizer | 14.2 | 10.0 | 28.8 |
| 3. compost 100 % | 20.4 | 14.7 | 35.7 |
| 4. compost 100 %+ Bio-fertilizer | 19.9 | 11.8 | 33.6 |
| 5. compost 75 %+ Bio-fertilizer | 17.5 | 11.4 | 29.3 |
| F-test | NS | NS | NS |
| C.V.(%) | 30.07 | 51.01 | 32.62 |

จำนวนฝักของถั่วฝักยาวต่อตารางเมตร น้ำหนักฝักแห้งต่อตารางเมตร และน้ำหนักเมล็ดแห้งต่อตารางเมตร ทั้ง 5 กรรมวิธี ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เนื่องจากภายในแปลงทดลองมีความแปรปรวนสูง

Table 4 Seed testing and analysis

| Treatment | Normal Seed (%) | Abnormal Seed (%) | Dead Seed (%) |
|----------------------------------|--------------------|----------------------|------------------|
| 1. Manure 100 % | 19 | 12 | 69 |
| 2. Manure 100 %+ Bio-fertilizer | 14 | 10 | 76 |
| 3. compost 100 % | 20 | 15 | 65 |
| 4. compost 100 %+ Bio-fertilizer | 20 | 12 | 68 |
| 5. compost 75 %+ Bio-fertilizer | 18 | 11 | 71 |
| F-test | NS | NS | NS |
| C.V.(%) | 30.07 | 51.01 | 32.62 |

หมายเหตุ วิเคราะห์คุณภาพเมล็ดพันธุ์ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชขอนแก่น

หลังจากส่งวิเคราะห์คุณภาพเมล็ดพันธุ์ ที่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชขอนแก่น พบว่า คุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาว ของทั้ง 5 กรรมวิธี ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ กรรมวิธีที่ 3 ปุ๋ยหมักเติมอากาศ เทียบเคียง NPK 100 % ของอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน และ กรรมวิธีที่ 4 ปุ๋ยหมักเติมอากาศ เทียบเคียง NPK 100 % ของอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน ร่วมปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม มีต้นกล้าปกติมากที่สุด คือ 20 % ส่วนกรรมวิธีที่ 2 ปุ๋ยมูลวัว เทียบเคียง NPK 100 % ของอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน ร่วมปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม มีต้นกล้าปกติต่ำที่สุด เพียง 14 %

สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลอง ทั้ง 5 กรรมวิธี มีจำนวนฝักของถั่วฝักยาวต่อตารางเมตร น้ำหนักฝักแห้งต่อตารางเมตร น้ำหนักเมล็ดแห้งต่อตารางเมตร และคุณภาพเมล็ด ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่กรรมวิธีที่ 3 ปุ๋ยหมักเติมอากาศ เทียบเคียง NPK 100 % ของอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน ให้ผลผลิตน้ำหนักฝักแห้งและเมล็ดแห้งสูงสุด รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ 3 ปุ๋ยหมักคอก เทียบเคียง NPK 100 % ของอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน ส่วนคุณภาพเมล็ดพันธุ์ของกรรมวิธีที่ 3 ปุ๋ยหมักเติมอากาศ เทียบเคียง NPK 100 % ของอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน และ กรรมวิธีที่ 4 ปุ๋ยหมักเติมอากาศ เทียบเคียง NPK 100 % ของอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน ร่วมปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม มีต้นกล้าปกติมากที่สุด

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพืชขอนแก่นในการให้ครุภัณฑ์แนะนำการเพาะต้นกล้าถั่วฝักยาวและการดูแลรักษาต้นถั่วฝักยาวในระบบเกษตรอินทรีย์ และ สกสว. ที่ได้สนับสนุนงบประมาณการวิจัยด้าน ววน. โครงการฯ นี้

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

นำผลงานวิจัยไปแนะนำเกษตรกรผู้ผลิตฝักและเมล็ดพันธุ์ฝักในระบบเกษตรอินทรีย์ ภายในพื้นที่จังหวัดขอนแก่น ชัยภูมิ ร้อยเอ็ดและกาฬสินธุ์ นอกจากนี้นำผลงานเสนอในการจัดนิทรรศการงานเกษตรภาคอีสาน ณ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น

อ้างอิง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2556. แผนยุทธศาสตร์การพัฒนาเกษตรอินทรีย์แห่งชาติ ปี 2557-2559 เข้าक्रम. ตั้งเป่าต้นไทยเป็นศูนย์กลางสินค้าและบริการด้านเกษตรอินทรีย์ในระดับสากล. สืบค้นเมื่อ 24 ธันวาคม 2556 แหล่งที่มา http://www.moac.go.th/ewt_news.php?nid=12247.

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2552. มาตรฐานสินค้า เกษตรอินทรีย์เล่ม 1 การผลิต การแปรรูป แสดงฉลาก และจำหน่ายผลิตผลและผลิตภัณฑ์เกษตรอินทรีย์. สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, กรุงเทพฯ. รัตนภรณ์ พรหมศรีธธา เสริม สีมา มัณฑนา มิลน์ อุดมลักษณ์ อุ้นจิตต์วรรณนะ พรณิกา อุตตนนท์ ถวิล จอมเมือง สมบัติ แผนดี สุภาณี พิมพ์สมาน สุรพล วิเศษสรรค์ รังสี เจริญสถาพร อมรรักษ์ศักดิ์ใจเดียว สุจินต์ แก้วฉืด ทศนาพร ทศคร ช่อม เปรมัชเชียร และศิริพร ชิงสนธิพร. 2548. โครงการวิจัยหาสารสกัดจากพืชเพื่อทดแทนสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช. รายงานความก้าวหน้าโครงการวิจัยประจำปี 2548. กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 601 น.



☎ 0 2940 5754 ต่อ 2115

✉ apsrdo.kbv@doa.in.th

📍 กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร
เลขที่ 50 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว
เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900