



รายงานโครงการวิจัย

วิจัยและพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์ ปุ๋ย พืช ดิน และน้ำ  
Research and Development on Analytical System of  
Fertilizer, Plant, Soil and Water

นางสาววรรณรัตน์ ชุตินบุตร  
Miss Wannarut Chutibut

ปี พ.ศ. 2561



รายงานโครงการวิจัย

วิจัยและพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์ ปุ๋ย พืช ดิน และน้ำ  
Research and Development on Analytical System of  
Fertilizer, Plant, Soil and Water

นางสาววรรณรัตน์ ชุตินบุตร  
Miss Wannarut Chutibut

ปี พ.ศ. 2561

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยและพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์ ปุ๋ย พืช ดิน และน้ำ สำเร็จลุล่วงได้ด้วย ความกรุณา อนุเคราะห์จากกรมวิชาการเกษตร ที่ให้การสนับสนุนการดำเนินงาน และงบประมาณ เป็นอย่างดียิ่งมาโดยตลอด นอกจากนี้ คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ นางจิตติมา ยถาภูธานนท์ และนาง อมรา หาญจวนิช ที่ได้กรุณาให้ข้อคิด คำแนะนำ ช่วยเหลือในการแนะแนวทางการจัดทำงานวิจัยที่ ถูกต้อง จึงทำให้โครงการวิจัยดังกล่าวสมบูรณ์ด้วยดี และขอขอบพระคุณ บริษัท ไอซีพี อินเตอร์ เนชั่นแนล ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือในการทำวิจัยจนสำเร็จ ทำยนี้ ขอขอบพระคุณ ผู้อำนวยการ กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กลุ่มบริหารโครงการวิจัย หัวหน้ากลุ่มงานวิจัยระบบ ตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย หัวหน้ากลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำ หัวหน้ากลุ่มงาน วิเคราะห์วิจัยพืชวัตถุเคมีการเกษตรและนิวเคลียร์เทคนิคการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาและพัฒนากการ เกษตรเขตที่ 5 สำนักวิจัยพัฒนาและพัฒนากการเกษตรเขตที่ 6 สำนักวิจัยพัฒนาและพัฒนากการ เกษตรเขตที่ 7 สำนักวิจัยพัฒนาและพัฒนากการเกษตรเขตที่ 8 และบุคลากรกองวิจัยพัฒนาปัจจัย การผลิตทางการเกษตร ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำงานวิจัยจนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

นางสาววรรณรัตน์ ชูติบุตร  
หัวหน้าโครงการวิจัย

คณะผู้วิจัย

- |     |                               |        |                          |
|-----|-------------------------------|--------|--------------------------|
| 1.  | นางสาววรรณรัตน์ ชุตติบุตร     | สังกัด | กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ. |
| 2.  | นางสาวจรีรัตน์ กุศลวิริยะวงศ์ | สังกัด | กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ. |
| 3.  | นางทองจันทร์ พิมพ์เพชร        | สังกัด | กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ. |
| 4.  | นางรัตนาภรณ์ คชวงศ์           | สังกัด | กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ. |
| 5.  | นางสาวชฎาพร คงนาม             | สังกัด | กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ. |
| 6.  | นางสาวญาณธิชา จิตต์สะอาด      | สังกัด | กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ. |
| 7.  | นางสาวนันทกานต์ ขุนโหระ       | สังกัด | กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ. |
| 8.  | นางสาวพงศ์พิศ แก้วสุข         | สังกัด | กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ. |
| 9.  | นางสาวศุภากร ดวนใหญ่          | สังกัด | กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ. |
| 10. | นางสงกรานต์ มะลิสอน           | สังกัด | กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ. |
| 11. | นางสาวสุภา โปธิจันทร์         | สังกัด | กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ. |
| 12. | นางสาวอมรรัตน์ ใจยะเสน        | สังกัด | กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กปผ. |
| 13. | นายอำนาจ เอี่ยมวิจารณ์        | สังกัด | กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กปผ. |
| 14. | นางสาวจิตติรัตน์ ชูชาติ       | สังกัด | กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ. |
| 15. | นางสาวเจนจิรา เทเวศร์วรกุล    | สังกัด | กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ. |
| 16. | นางสาวพจมาลย์ ภูสาร           | สังกัด | กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ. |
| 17. | นางสาวสุลักษณ์ ไซยทอง         | สังกัด | กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ. |
| 18. | นางสาวอาธิยา ปุ่นประโคน       | สังกัด | กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ. |
| 19. | นายภัศษณภณ หมั่นแจ้ง          | สังกัด | กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กปผ. |
| 20. | นางสาวจริยา วงศ์ตรี           | สังกัด | กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ. |
| 21. | นางสาธิตา โพธิ์น้อย           | สังกัด | กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ. |
| 22. | นางสาวสุพิศสา ทองเขียว        | สังกัด | กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ. |
| 23. | นายมนต์ชัย มนต์สิลา           | สังกัด | กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กปผ. |
| 24. | นางสาวเพชรรัตน์ ศิริวิ        | สังกัด | กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ. |
| 25. | นางสาวกัญธนา คล้ายแก้ว        | สังกัด | กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ. |
| 26. | นางสาวจิริพันธ์ ศรีทองกุล     | สังกัด | กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ. |
| 27. | นางสาวชุตติมา วงษ์ไพศาล       | สังกัด | กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ. |
| 28. | นางสาวณัฐรา ขุยขำ             | สังกัด | กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ. |
| 29. | นางสาวภัทราพร คำผล            | สังกัด | กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ. |
| 30. | นางสาวเรวดี ศิริยาน           | สังกัด | กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ. |
| 31. | นางสาวอารีรัตน์ วงษ์สุวรรณ    | สังกัด | กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ. |
| 32. | นายมนต์ชัย อินทร์ทำอิฐ        | สังกัด | กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ. |
| 33. | นางสาวจิตรา เกาะแก้ว          | สังกัด | กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กปผ. |
| 34. | นางสาวจิราภา เมืองคล้าย       | สังกัด | สวพ.5 จ.ชัยนาท           |
| 35. | นางสาวรัตติญา คงเม่น          | สังกัด | สวพ.5 จ.ชัยนาท           |
| 36. | นางสาวทิตยา ประเสริฐกุล       | สังกัด | สวพ.5 จ.ชัยนาท           |

37.	นางอุมาพร รักษาพราหมณ์	สังกัด	สวพ.6 จ.จันทบุรี
38.	นางเกษสิริ ฉันทพิริยะพูน	สังกัด	สวพ.6 จ.จันทบุรี
39.	นางจิตติลักษณ์ เหมะ	สังกัด	สวพ.7 จ.สุราษฎร์ธานี
40.	นางอรพิน หนูทอง	สังกัด	สวพ.7 จ.สุราษฎร์ธานี
41.	นางสิริฉัตร เขาวนัฎมิกุล	สังกัด	สวพ.7 จ.สุราษฎร์ธานี
42.	นางสร้อยญา ช่างพิมพ์	สังกัด	สวพ.8 จ.สงขลา
43.	ว่าที่ร้อยตรีพิรุณ ตีระพัฒน์	สังกัด	สวพ.8 จ.สงขลา
44.	นางเยาวลักษณ์ แสงแก้ว	สังกัด	สวพ.8 จ.สงขลา

## สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ .....	ก
คณะผู้วิจัย.....	ข
บทนำ.....	1
บทคัดย่อ.....	7
Abstract.....	8
กิจกรรมที่ 1 พัฒนาเทคนิคระบบการตรวจวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์	
ปุ๋ย .....	11
- พัฒนาริธีวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โพแทสเซียมที่ละลายน้ำในปุ๋ย	
เคมี โดยเทคนิคเฟลมโฟโตเมทรี.....	11
- พัฒนาริธีวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ย	
เคมี โดยใช้แมกนีเซียมออกไซด์ .....	18
- พัฒนาริธีวิเคราะห์และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ธาตุอาหารรอง ธาตุอาหารเสริม	
ในปุ๋ยเคมีโดยใช้เทคนิคไมโครเวฟชนิดห้องปฏิบัติการเดี่ยวอย่าง .....	24
- พัฒนาริธีวิเคราะห์ความชื้นในปุ๋ยเคมีชนิดต่างๆ .....	34
- การทดสอบความเสถียรของปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในปุ๋ยเคมี .....	43
- อิทธิพลของปริมาณยูเรียที่มีผลกระทบต่อค่าวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนใน	
ตัวอย่างปุ๋ยที่มียูเรียเป็นส่วนผสม .....	54
- พัฒนาริธีวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยโดย	
เทคนิคคอมบัสชัน .....	60
- พัฒนาริธีวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยเคมี	
โดยวิธีเทคนิคอินดักทีฟฟลูออโรสเปกโตรสโกปี.....	64
- พัฒนาริธีวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายใน	
สารละลายแอมโมเนียมซัลเฟตในปุ๋ยเคมี .....	71
- การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ธาตุอาหารรองในปุ๋ยเคมีของห้องปฏิบัติการ	
พื้นที่ภาคกลาง .....	78
- การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ธาตุอาหารรองในปุ๋ยเคมีของห้องปฏิบัติการ	
พื้นที่ภาคตะวันออก .....	82
- การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ธาตุอาหารรองในปุ๋ยเคมีของห้องปฏิบัติการ	
พื้นที่ภาคใต้ตอนล่าง .....	86
กิจกรรมที่ 2 พัฒนาเทคนิคระบบการตรวจวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์	
ดินและน้ำ.....	91
- การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุในดินโดย	
เทคนิคการหาค่าสูญเสียน้ำหนักในการเผาไหม้.....	91
- พัฒนาริธีวิเคราะห์เนื้อดินในดินที่มีขนาดอนุภาคต่างๆ .....	99

กิจกรรมที่ 3 พัฒนาเทคนิคระบบการตรวจวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์	
พืช .....	106
- การผลิตตัวอย่างพืชอ้างอิงภายใน สำหรับการวิเคราะห์พืช .....	106
- การผลิตตัวอย่างพืชอ้างอิงภายใน สำหรับการวิเคราะห์พืชของห้องปฏิบัติการพื้นที่ภาคใต้	
ตอนบน .....	111
- การผลิตตัวอย่างพืชอ้างอิงภายใน สำหรับการวิเคราะห์พืชของห้องปฏิบัติการพื้นที่ภาคใต้	
ตอนล่าง .....	119
- พัฒนาริธีวิเคราะห์และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ในตรพในพืช .....	127
กิจกรรมที่ 4 การพัฒนาริธีวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของปัจจัยการผลิต โดยใช้เทคนิคสเปก	
โทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy; NIRS) .....	132
- ศึกษาวิธีวิเคราะห์หาค่าความเป็นกรด ต่าง ค่าการนำไฟฟ้าและธาตุอาหารรองในดิน-	
โดยเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ .....	132
- ศึกษาการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของธาตุอาหารหลักในตัวอย่างปุ๋ยเคมีอ้างอิง	
ภายในโดยเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ .....	141
- ศึกษาวิธีวิเคราะห์ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในปุ๋ยอินทรีย์	
โดยเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ .....	149
กิจกรรมที่ 5 การพัฒนาชุดทดสอบอย่างง่าย (Test Kit) เพื่อใช้ตรวจสอบคุณสมบัติทางเคมี	
และทางกายภาพของปัจจัยการผลิต .....	156
- วิจัยและพัฒนาชุดตรวจสอบอย่างง่ายไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในดิน .....	156
- การวิจัยและพัฒนาชุดตรวจสอบอย่างง่าย แคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถันและเหล็กในดิน .	168
- การวิจัยและพัฒนาชุดตรวจสอบอย่างง่าย คลอไรด์ คาร์บอเนตและไบคาร์บอเนต	
ไนเตรท และฟอสเฟตในน้ำ .....	183
กิจกรรมที่ 6 พัฒนาเทคนิคระบบการวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปุ๋ย	
ชีวภาพ .....	202
- การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณและประสิทธิภาพของไรโซเบียม	
ในปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม .....	202
- การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการจัดจำแนกไรโซเบียมในปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม .....	215
บทสรุปและข้อเสนอแนะ .....	224
บรรณานุกรม .....	226

## บทนำ

### ความสำคัญและที่มาของโครงการวิจัย

ปัจจุบัน คู่แข่งทางการค้าสินค้าเกษตรของประเทศไทยมีความสามารถในการแข่งขันมากขึ้น การพัฒนาศักยภาพให้มีขีดความสามารถในการแข่งขัน โดยลดต้นทุน และเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตมีความจำเป็นอย่างยิ่ง เกษตรกรจำเป็นต้องใช้ความรู้ และมีข้อมูลในการเพาะปลูกที่เพียงพอ ถูกต้อง แม่นยำ โดยเฉพาะข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ได้แก่ ปริมาณธาตุอาหารพืช ในดิน น้ำ ปุ๋ย พืช ซึ่งนำไปสู่การใช้ปัจจัยการผลิตทางการเกษตรอย่างคุ้มค่าและมีประสิทธิภาพ

ธาตุอาหารพืชเป็นสมบัติที่สำคัญที่มีอยู่ใน ดิน น้ำ ปุ๋ย และพืช ปริมาณธาตุอาหารที่พืชต้องการ ขึ้นกับความอุดมสมบูรณ์ของดิน น้ำ ชนิดและความต้องการของพืช การทราบถึงปริมาณความต้องการธาตุอาหารของพืชและวัตถุดิบจากแหล่งต่างๆ ไม่สามารถพิจารณาจากลักษณะทางกายภาพเพียงอย่างเดียว จำเป็นต้องใช้ผลการวิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการ หรือวิธีการทดสอบที่ถูกต้อง แม่นยำ และรวดเร็ว เพื่อให้เกษตรกรสามารถนำข้อมูลผลการวิเคราะห์ทดสอบนั้นไปใช้กับพืชได้อย่างถูกต้อง ทันต่อฤดูกาลเพาะปลูก และตรงกับความต้องการของพืชอย่างแท้จริง นอกจากนี้กรมวิชาการเกษตร ในฐานะหน่วยงานกำกับดูแลปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 ยังต้องใช้ผลการวิเคราะห์ในการกำกับดูแล และควบคุมคุณภาพปุ๋ยตามกฎหมาย เพื่อให้เกษตรกรได้ใช้ปุ๋ยที่ตรงตามความต้องการ และเป็นการป้องกันกลุ่มบุคคลที่หาผลประโยชน์จากเกษตรกรด้วยการปลอม หรือจำหน่ายสินค้าไม่ได้คุณภาพอีกด้วย

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ในสังกัดกรมวิชาการเกษตร รับผิดชอบภารกิจการตรวจวิเคราะห์สมบัติด้านต่างๆของ ดิน น้ำ ปุ๋ย พืช และปุ๋ยชีวภาพ มุ่งมั่นในการยกระดับห้องปฏิบัติการด้านปัจจัยการผลิตทางการเกษตรของกรมวิชาการเกษตร ให้ได้รับการยอมรับทั้งในประเทศและระหว่างประเทศ ตามมาตรฐานสากล ISO/IEC 17025 ประกอบกับกรมวิชาการเกษตรมีนโยบายพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการกรมวิชาการเกษตรทั้งส่วนกลางและส่วนภูมิภาคให้เป็นมาตรฐานเดียวกัน และเป็นที่ยอมรับตามมาตรฐานสากล เพื่อให้ผลวิเคราะห์ทดสอบที่ได้เป็นที่น่าเชื่อถือจากทั้งเกษตรกร ผู้รับบริการ และผู้มีส่วนได้ส่วนเสียที่เกี่ยวข้อง รวมทั้งการเลือกใช้แนวทางใหม่ๆ เพื่อให้ได้มาซึ่งผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้อง สะดวก รวดเร็ว จึงนำไปสู่การพัฒนากระบวนการตรวจวิเคราะห์ปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ซึ่งประกอบด้วยทางเลือกใช้วิธีวิเคราะห์ที่ถูกต้อง เหมาะสม การควบคุมคุณภาพภายในและการประกันคุณภาพของห้องปฏิบัติการ โดยปฏิบัติตามหลักเกณฑ์ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ที่ดี ( Good Laboratory Practice; GLP) การคำนึงถึงสิ่งแวดล้อม โดยเลือกใช้วิธีการวิเคราะห์ที่ไม่เพิ่มมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม และการทดสอบอย่างง่าย ที่สะดวก รวดเร็ว

จากปัญหาที่เกิดจากห้องปฏิบัติการในปัจจุบัน เช่น การแปรผันของผลการวิเคราะห์ การใช้วิธีการวิเคราะห์ที่ไม่เหมาะสมกับตัวอย่าง ทำให้ความถูกต้องของผลการวิเคราะห์ทดสอบลดลง และไม่น่าเชื่อถือ ห้องปฏิบัติการจึงต้องเลือกใช้วิธีวิเคราะห์ที่สามารถใช้ได้จริงกับตัวอย่างทดสอบ โดยการคัดเลือกหรือพัฒนาวิธีทดสอบที่เหมาะสมกับตัวอย่างและทรัพยากรที่ห้องปฏิบัติการมี ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีตามที่มาตรฐานสากล ISO/IEC 17025 กำหนด โดยการพิสูจน์ ความถูกต้อง ความเที่ยง ในช่วงความเข้มข้นของตัวอย่าง และขีดความสามารถในการวิเคราะห์ของวิธีการวิเคราะห์ เปรียบเทียบกับเกณฑ์การยอมรับ โดยวิธีที่ผ่านหลักเกณฑ์ดังกล่าวนี้ ถือได้ว่ามีความถูกต้อง น่าเชื่อถือ ตามที่มาตรฐานสากลกำหนด



การควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการ ในส่วนของการเฝ้าระวังวิธีทดสอบ จำเป็นต้องใช้วัสดุอ้างอิงรับรองที่มีค่ากำหนด หรือใช้ตัวอย่างควบคุมคุณภาพภายในที่มีความเป็นเนื้อเดียวกัน และมีความเสถียรในแต่ละรายการทดสอบ ในส่วนของวัสดุอ้างอิงรับรองด้านปัจจัยการผลิต นั้นยังไม่มีการผลิตใช้ในประเทศไทย ต้องนำเข้าจากต่างประเทศซึ่งมีราคาแพง การจัดหาวัสดุอ้างอิงที่สามารถผลิตได้เองภายในประเทศ ตามขั้นตอนตามมาตรฐานสากล ISO Guide 34 ซึ่งเป็นที่ยอมรับในระดับสากลนั้น ช่วยลดภาระต้นทุนการควบคุมคุณภาพผลการวิเคราะห์ และเพิ่มความมั่นใจให้แก่ ผู้ใช้บริการห้องปฏิบัติการ

การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศได้ถูกนำมาเป็นประเด็นหลักในการกีดกันทางการค้า ห้องปฏิบัติการเป็นหนึ่งในแหล่งกำเนิดมลภาวะที่เป็นพิษ เพื่อลดมลภาวะที่เกิดจากห้องปฏิบัติการ ปัจจุบันมีการคิดค้นเทคนิควิธีการวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม โดยลดการใช้สารเคมีที่ไม่จำเป็น เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ ( Near Infrared Spectroscopy; NIRS) เป็นทางเลือกหนึ่งของเทคนิควิเคราะห์ที่ตอบโจทย์ดังกล่าว และถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ ด้านต่างๆอย่างแพร่หลายในต่างประเทศ เนื่องจากเป็นเทคนิคที่สามารถทำนายค่าทางเคมีได้อย่างรวดเร็วแม่นยำ ห้องปฏิบัติการของกรมวิชาการเกษตรจึงศึกษาแนวทางการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีการวิเคราะห์ดังกล่าว ให้ความเหมาะสมกับประเภทตัวอย่าง ชนิดและปริมาณธาตุอาหารพืช เพื่อให้สามารถนำเทคนิควิเคราะห์ดังกล่าวมาใช้วิเคราะห์ธาตุอาหารพืชได้จริง เป็นการลดมลภาวะที่เกิดจากห้องปฏิบัติการจากการลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตราย รวมทั้งลดต้นทุน และระยะเวลาในการวิเคราะห์

ข้อมูลปริมาณธาตุอาหารพืชใน ดิน น้ำ ธาตุพืชที่เพาะปลูก เป็นส่วนสำคัญมากสำหรับเกษตรกร ในการพิจารณาว่าพื้นที่บริเวณนั้น มีธาตุอาหารพืชเพียงพอหรือไม่อย่างไร ซึ่งข้อมูลที่ได้จะต้องทันต่อฤดูกาลเพาะปลูก การวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการแม้ว่าจะมีความถูกต้อง แม่นยำ แต่ยังต้องใช้ระยะเวลาในการวิเคราะห์ เกษตรกรจึงไม่สามารถใช้ประโยชน์จากข้อมูลดังกล่าวได้ เกษตรกรส่วนใหญ่จึงปรับปรุงดินก่อนการเพาะปลูกตามคำแนะนำของผู้ค้าปัจจัยการผลิตทางการเกษตร และตามที่เคยปฏิบัติกันมาดั่งนั้นเพื่อให้เกษตรกรสามารถพัฒนา และปรับปรุงดินได้อย่างถูกต้อง ในช่วงระยะเวลาที่เหมาะสม ชุดตรวจสอบอย่างง่าย ( Test Kit) จึงเป็นทางเลือกที่ดี เนื่องจากใช้งานได้ง่าย สะดวก รวดเร็ว เกษตรกรสามารถทดสอบได้ด้วยตนเอง

ดังนั้นโครงการวิจัยนี้ จึงมุ่งเน้นในการศึกษาและพัฒนาวิธีวิเคราะห์ธาตุอาหารพืชใน ปุ๋ย พืช ดิน น้ำ และวิธีวิเคราะห์จุลินทรีย์ดินในปุ๋ยชีวภาพ ทั้งเทคนิควิธีวิเคราะห์ตามมาตรฐาน วิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น วิธีวิเคราะห์เชิงพื้นที่ และวิธีวิเคราะห์ที่ลดการใช้สารเคมี ให้มีความถูกต้อง แม่นยำ สะดวก รวดเร็ว เชื่อถือได้ ตามมาตรฐานสากล

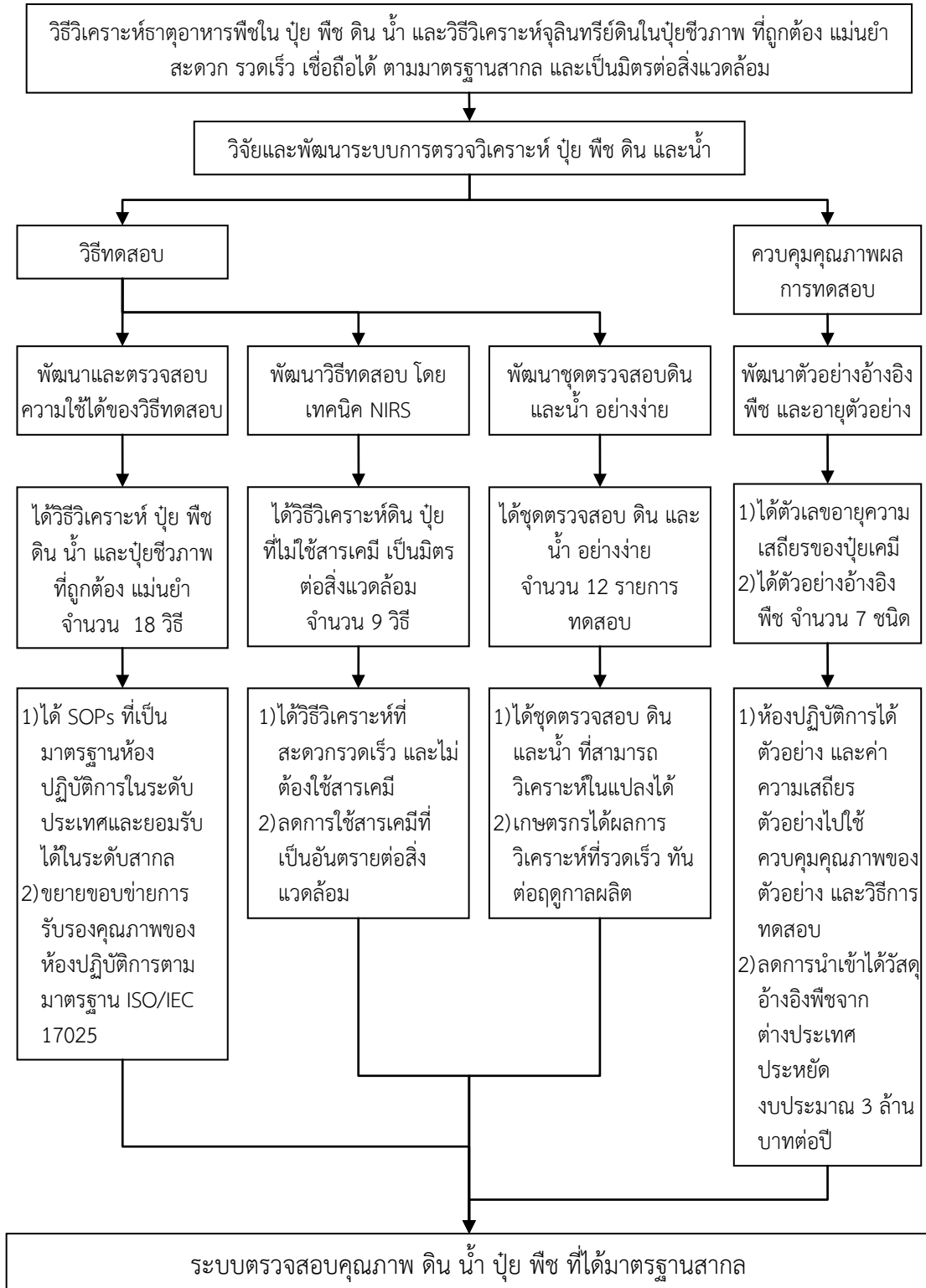
#### วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

- 1) ศึกษา และพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ ปุ๋ย พืช ดิน น้ำ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ สำหรับใช้เป็นข้อมูลในการขอการรับรองและขยายขอบข่ายคุณภาพห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025
- 2) ศึกษาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหารพืชในปุ๋ย และดิน ที่ ถูกต้อง แม่นยำ โดยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ เป็นการลดการใช้สารเคมีที่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม

- 3) ศึกษาเทคนิควิธีการผลิตตัวอย่างอ้างอิงภายในของพีช และปุ๋ย สำหรับใช้ควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์ให้กับห้องปฏิบัติการกรมวิชาการเกษตร และภาคเอกชน เป็นการลดการนำเข้าจากต่างประเทศ
- 4) ศึกษา และพัฒนาวิธีวิเคราะห์ เพื่อจัดทำ ชุดตรวจสอบอย่างง่าย สำหรับทดสอบปริมาณธาตุอาหารพีชในดิน และน้ำ ได้อย่างสะดวก รวดเร็ว เกษตรกร สามารถวิเคราะห์ได้ด้วยตนเอง เป็นการเพิ่มศักยภาพการผลิตพีช และลดต้นทุนการผลิต จากการใช้ปัจจัยการผลิตพีชได้อย่างถูกต้อง มีประสิทธิภาพ และยั่งยืน

### วิธีการวิจัย

โครงการวิจัยมีเป็นการพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ทดสอบหาสมบัติต่างๆ ใน ปุ๋ย ดิน พีช ได้แก่ ความชื้น ธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง และธาตุอาหารเสริมในปุ๋ยเคมี อินทรีย์วัตถุในดิน และเนื้อดิน ปริมาณไนเตรทในพีช การจำแนกโรโซเปียม และการวิเคราะห์ปริมาณ และประสิทธิภาพของโรโซเปียมในปุ๋ยชีวภาพโรโซเปียม ให้เป็นไปตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 นอกจากนี้ยังได้ศึกษาหาความเสถียร และอายุปุ๋ยเคมีเพื่อเป็นข้อมูลให้แก่เกษตรกร และผู้ประกอบการ ตลอดจนศึกษาวิธีการผลิตวัสดุอ้างอิงภายในของพีช เพื่อใช้ในการควบคุมคุณภาพให้กับห้องปฏิบัติการทั้งส่วนกลางและส่วนภูมิภาคตามมาตรฐาน ISO Guide 34:2009 รวมทั้งศึกษาหาแนวทางการวิเคราะห์ที่ลดการใช้และปลดปล่อยสารเคมีอันตราย และมีความรวดเร็ว ได้แก่ การใช้เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy; NIRS) ในการทดสอบปริมาณธาตุอาหารหลักในปุ๋ย ความเป็นกรด-ด่าง ค่าการนำไฟฟ้า และธาตุอาหารรองในดิน และเพื่อเพิ่มช่องทางการเข้าถึงผลการวิเคราะห์ปัจจัยการผลิตเบื้องต้นให้กับเกษตรกร จึงได้ศึกษาการจัดทำชุดตรวจสอบอย่างง่ายสำหรับวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน และเหล็กในดิน และสำหรับวิเคราะห์คลอไรด์ คาร์บอนเนต ไบคาร์บอนเนต ไนเตรท และฟอสเฟตในน้ำเพื่อการเกษตร เพื่อให้เกษตรกรสามารถใช้ข้อมูลผลวิเคราะห์ในการพิจารณาปรับปรุงดิน น้ำ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตพีช และลดต้นทุนในการผลิตอย่างยั่งยืน โดยมีกระบวนการวิจัยตามรูปที่ 1



หมายเหตุ : SOPs (Standard Operating Procedures)

รูปที่ 1 กระบวนการวิจัยและพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์ ปุ๋ย พืช ดิน และน้ำ

หลักการสำคัญของการพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์ ดิน น้ำ ปุ๋ย พืช ประกอบด้วย การศึกษาหาเทคนิค ขั้นตอน วิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสมกับทรัพยากรที่มีอยู่ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์นั้นๆ เพื่อให้ทราบถึงความถูกต้อง แม่นยำ ความเหมาะสมกับช่วงความเข้มข้น ประเภท และลักษณะของตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ รวมทั้งมีการควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์ที่ถูกต้องตามหลักวิชาการ นอกจากนี้จะต้องมีการพัฒนาเทคนิคต่างๆ ให้ทันเทคโนโลยีใหม่ๆ อยู่เสมอ เป็นการเพิ่มศักยภาพของระบบการตรวจวิเคราะห์ให้สูงขึ้น เช่น ลดระยะเวลาการวิเคราะห์ ลดการใช้สารเคมี การวิเคราะห์ที่ไม่ทำลายตัวอย่าง และลดมลภาวะที่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม เป็นต้น อย่างไรก็ตาม การพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์ให้มีประสิทธิภาพสูงสุดก็เพื่อให้ผู้ขอรับบริการ หรือผู้ใช้ประโยชน์จากผลการวิเคราะห์ได้รับประโยชน์สูงสุดตรงตามระยะเวลา และวัตถุประสงค์ของตนเอง การจัดทำชุดตรวจสอบอย่างง่ายเป็นทางเลือกหนึ่งสำหรับเกษตรกร หรือผู้ใช้ประโยชน์จากผลการวิเคราะห์ ซึ่งสามารถวิเคราะห์ทดสอบได้ด้วยตนเอง ในระยะเวลาที่ต้องการ การพัฒนาชุดตรวจสอบอย่างง่าย เป็นการจัดทำชุดตรวจสอบให้ใช้งานได้ง่ายไม่ซับซ้อน สามารถพกพาและทดสอบได้ทุกสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างจากห้องปฏิบัติการได้ ใช้เวลาในการทดสอบน้อย มีความเสถียรหรือมีอายุการใช้งานที่เหมาะสม ราคาถูก ทดสอบได้ครอบคลุมช่วงความเข้มข้นของตัวอย่าง และลักษณะตัวอย่าง มีความถูกต้องอยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสม

การปฏิบัติตามหลักการพัฒนาระบบการวิเคราะห์ตามที่กล่าวมานั้น แต่ละขั้นตอนจะต้องเป็นไปตามหลักวิชาการ และมาตรฐานสากล เช่น การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ให้เป็นไปตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2005 เป็นการศึกษาเพื่อพัฒนา/ปรับปรุงระบบการตรวจวิเคราะห์ให้มีความรวดเร็ว แม่นยำ เชื่อถือได้ โดยการเปรียบเทียบเทคนิควิธีวิเคราะห์ ขั้นตอน เครื่องมือ สารเคมี และประเภทของตัวอย่างที่แตกต่างกัน หาช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ ( Range) ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) ความแม่นยำ (Accuracy) ความเที่ยง (Precision) ขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) ขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ) และความคงทนของวิธี (Robustness) สำหรับการควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์ สามารถทำได้หลายวิธี การใช้วัสดุอ้างอิงเป็นวิธีหนึ่งในการควบคุมคุณภาพ วัสดุอ้างอิง (Reference Material; RM) หมายถึง วัสดุหรือสารที่มีสมบัติอย่างใดอย่างหนึ่งหรือมากกว่าซึ่งเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneous) เสถียร (Stable) และผ่านการจัดเตรียมมาอย่างดีตามมาตรฐาน ISO Guide 34:2009 เพื่อใช้ในการสอบเทียบ (Calibration) ประเมินวิธีวิเคราะห์ และกำหนดค่า (Assigning Value) ให้กับวัสดุอื่น (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2557) แบ่งออกเป็น วัสดุอ้างอิงหรือตัวอย่างอ้างอิงภายใน (Internal Reference Material; IRM) หมายถึง วัสดุหรือตัวอย่างที่ห้องปฏิบัติการพัฒนาขึ้นเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในห้องปฏิบัติการ วัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Material; CRM) หมายถึง วัสดุหรือตัวอย่างที่มีค่ากำหนด และรับรองโดยองค์กรที่ได้รับการยอมรับในความสามารถทางด้านวิชาการ และวัสดุอ้างอิงมาตรฐาน (Standard Reference Material; SRM) หมายถึง CRM ซึ่งผลิตโดย National Institute of Standard and Technology

การใช้ศึกษาและพัฒนาเทคนิควิธีวิเคราะห์โดยใช้เทคโนโลยีไม่ทำลายตัวอย่าง เช่น เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared spectroscopy; NIRS) เป็นเทคนิควิธีการวิเคราะห์โมเลกุลโดยไม่ทำลายตัวอย่าง (Non Destructive Testing) อาศัยหลักการตรวจวัดปริมาณแสงที่ถูกดูดกลืนของตัวอย่าง โดยคลื่นแสงในช่วงอินฟราเรดย่านใกล้ซึ่งอยู่ในช่วงความยาวคลื่นประมาณ 400-2,500 นาโนเมตร ส่งเข้าไปในตัวอย่าง ทำให้โมเลกุลของตัวอย่างดูดกลืน (Absorb) พลังงาน แล้ว

เกิดการสั่นสะเทือน (Vibration) ของโมเลกุลในกลุ่มฟังก์ชันนัล (Functional Groups) ได้แก่ การยืดหด (Stretching) และการเปลี่ยนมุม (Bending) การตรวจวัดพลังงานทำได้หลายรูปแบบ เช่น วัดการสะท้อน (Reflectance) วัดการส่องผ่าน (Transmittance) เป็นต้น สเปกตรัมที่ได้จะถูกนำมาแยกแยะลักษณะเฉพาะ เพื่อประมวลผล และหาความสัมพันธ์ทางคณิตศาสตร์และสถิติ (Chemometrics) กับข้อมูลของตัวอย่างที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีการทางเคมี หรือวิธีอื่นๆของห้องปฏิบัติการ จะได้สมการสอบเทียบมาตรฐาน (Calibration Equation) เพื่อใช้ทำนายค่าคุณสมบัติทางเคมี หรือคุณสมบัติอื่นๆของตัวอย่าง สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งในเชิงปริมาณ (Quantitative) และเชิงคุณภาพ (Qualitative) และสามารถวิเคราะห์ได้ข้อมูลหลายค่าในเวลาเดียวกัน เป็นวิธีการที่ให้ผลที่ดี รวดเร็ว ไม่ทำลายตัวอย่าง และลดการใช้สารเคมีในห้องปฏิบัติการ จึงถูกนำมาใช้ในการจำแนกองค์ประกอบและคุณสมบัติต่างๆของตัวอย่างทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณได้เป็นอย่างดี

## บทคัดย่อ

การแข่งขันของสินค้าเกษตรในตลาดโลกที่สูงขึ้น และการให้ความสำคัญด้านสิ่งแวดล้อม ทำให้เกษตรกรต้อง พัฒนาศักยภาพให้มีขีดความสามารถในการแข่งขันและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม การใช้ข้อมูลด้านปัจจัยการผลิตทางการเกษตรที่ถูกต้อง แม่นยำ ในการเกษตรเป็นหนทางหนึ่งที่จะช่วยให้การเพาะปลูกมีประสิทธิภาพ และมีต้นทุนการผลิตลดลง โครงการวิจัยนี้จึงทำการศึกษาพัฒนาเพื่อให้ได้ข้อมูลผลการวิเคราะห์ทดสอบด้านปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ได้แก่ ปุ๋ย ปุ๋ยชีวภาพ พีช ดิน และน้ำ ที่มีความถูกต้อง แม่นยำ สะดวก รวดเร็ว เหมาะสมกับการใช้งาน เป็นไปตามมาตรฐานสากล และไม่ทำลายสิ่งแวดล้อม โดยดำเนินการศึกษาและพัฒนา 1) เทคนิควิธีวิเคราะห์ที่ประยุกต์จากวิธีมาตรฐาน รวมทั้งข้อจำกัดของตัวอย่างและวิธีวิเคราะห์ทดสอบ พร้อมกับตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 2) เทคนิควิธีวิเคราะห์โดยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ ที่สามารถลดการใช้สารเคมีที่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมได้ 3) เทคนิควิธีวิเคราะห์อย่างง่ายของการทดสอบปริมาณธาตุอาหารพีชในดิน และน้ำ สำหรับให้เกษตรกรทดสอบด้วยตนเอง ได้อย่างสะดวก รวดเร็ว และ 4) การพัฒนาการผลิตตัวอย่างอ้างอิงภายในของพีช ตามหลักเกณฑ์ ISO Guide 34 สำหรับใช้ควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์ให้กับห้องปฏิบัติการ จากผลการวิจัยพบว่า 1) ได้วิธีวิเคราะห์ ปุ๋ย พีช ดิน น้ำ และปุ๋ยชีวภาพ ที่มีความถูกต้อง มีความเที่ยง อยู่ในเกณฑ์กำหนดตามมาตรฐานสากล จำนวน 18 วิธี 2) ได้วิธีวิเคราะห์ และสมการทำนายผลด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ โดยมีค่าความผิดพลาดอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ 9 รายการทดสอบ 3) ได้ชุดตรวจสอบ ดิน น้ำ อย่างง่ายที่สามารถนำไปใช้งานได้สะดวก รวดเร็ว และมีความถูกต้องร้อยละ 80 จำนวน 3 ชุด จำนวน 12 รายการทดสอบ และ 4) ได้ตัวอย่างอ้างอิงพีชที่มีความเป็นเนื้อเดียวกัน และมีความเสถียร 1 ปี 2 เดือน จำนวน 7 ชนิดพีช จากผลการวิจัยที่ได้สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการกำหนดวิธีวิเคราะห์มาตรฐานเพื่อขอรับรองตามมาตรฐานสากล การประกันคุณภาพผลการวิเคราะห์ทดสอบ การคัดกรองตัวอย่าง การควบคุมกำกับดูแลทางกฎหมาย และการทดสอบอย่างง่ายในพื้นที่ของเกษตรกร ของดิน น้ำ พีช ปุ๋ย และปุ๋ยชีวภาพ ได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ เป็นการเพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขันให้กับเกษตรกรได้เป็นอย่างดี

## Abstract

Competition of agricultural products and importance of environment in the world market incessantly grow. Therefore, farmers need to develop their potential to be competitive and environmentally friendly. The use of precise agricultural inputs is one of the factors to improve efficiency of cultivation and lower production costs. This research project was studied to achieve the accurate, precise, convenient, fast, and fit for purpose results of agricultural production analysis including fertilizers, bio-fertilizers, plants, soil and water. This research project was included 1) applied analytical techniques from standard methods including method validation with according to ISO / IEC 17025 2) analyzed near infrared spectroscopy techniques which can reduce toxic chemicals into the environment 3) developed soil and water test kits for farmer which can themselves test nutrients in the fields and 4) produced plant internal reference material according to ISO Guide 34 for controlling the quality of laboratory results. This research accomplished that 1) 18 accuracy and reliability methods according to international standards 2) 9 analytical methods complied with the predicted equation by near infrared spectroscopy method 3) 3 easily and quickly test kits composed of 12 parameters with average 80 percent accuracy and 4) 7 plant internal reference materials with 1.2 year long-term stability. From this project research, laboratory can determine the standard methods to be certified according to international standards. Nevertheless, quality assurance of test analysis results, sample screening, monitor quality agricultural production under regulation and test kits production for farmers. Finally, the accurate and precise results of soil, water, plants, fertilizers and biological fertilizers are one of the factors driving the farmer competitions.

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์ ปุ๋ย พืช ดิน และน้ำ ประกอบด้วย 5  
กิจกรรม 26 การทดลอง ดังนี้

- กิจกรรมที่ 1 พัฒนาเทคนิคระบบการตรวจวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปุ๋ย
- การทดลองที่ 1.1 พัฒนาวิธีวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โพแทสเซียมที่ละลายน้ำใน  
ปุ๋ยเคมี โดยเทคนิคเฟลมโฟโตเมทรี
- การทดลองที่ 1.2 พัฒนาวิธีวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนใน  
ปุ๋ยเคมีโดยใช้ แมกนีเซียมออกไซด์
- การทดลองที่ 1.3 พัฒนาวิธีวิเคราะห์และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ธาตุอาหารรอง ธาตุอาหาร  
เสริมในปุ๋ยเคมีโดยใช้เทคนิคไมโครเวฟชนิดห้องปฏิบัติการเดี่ยวตัวอย่าง
- การทดลองที่ 1.4 พัฒนาวิธีวิเคราะห์ความชื้นในปุ๋ยเคมีชนิดต่างๆ
- การทดลองที่ 1.5 การทดสอบความเสถียรของปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในปุ๋ยเคมี
- การทดลองที่ 1.6 อิทธิพลของปริมาณยูเรียที่มีผลกระทบต่อค่าวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนใน  
ตัวอย่างปุ๋ย ที่มียูเรียเป็นส่วนผสม
- การทดลองที่ 1.7 พัฒนาวิธีวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยโดย  
เทคนิคคอมบัสชัน
- การทดลองที่ 1.8 พัฒนาวิธีวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยเคมี  
โดยใช้เทคนิคอินดักทีฟฟลูออโรสโคปี
- การทดลองที่ 1.9 พัฒนาวิธีวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายใน  
สารละลาย แอมโมเนียมซีเตรทในปุ๋ยเคมี
- การทดลองที่ 1.10 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ธาตุอาหารรองในปุ๋ยเคมีของห้องปฏิบัติการพื้นที่  
ภาคกลาง
- การทดลองที่ 1.11 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ธาตุอาหารรองในปุ๋ยเคมีของห้องปฏิบัติการพื้นที่  
ภาคตะวันออก (2559-2560)
- การทดลองที่ 1.12 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ธาตุอาหารรองในปุ๋ยเคมีของห้องปฏิบัติการพื้นที่  
ภาคใต้ตอนล่าง
- กิจกรรมที่ 2 พัฒนาเทคนิคระบบการตรวจวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ดินและน้ำ
- การทดลองที่ 2.1 พัฒนาวิธีวิเคราะห์เนื้อดินในดินที่มีขนาดอนุภาคต่างๆ
- การทดลองที่ 2.2 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุในดินโดยเทคนิคการหาค่าสูญเสีย  
น้ำหนักในการเผาไหม้
- กิจกรรมที่ 3 พัฒนาเทคนิคระบบการตรวจวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์พืช
- การทดลองที่ 3.1 การผลิตตัวอย่างพืชอ้างอิงภายใน สำหรับการวิเคราะห์พืช
- การทดลองที่ 3.2 การผลิตตัวอย่างพืชอ้างอิงภายใน สำหรับการวิเคราะห์พืชของห้องปฏิบัติการพื้นที่ภาคใต้  
ตอนบน
- การทดลองที่ 3.3 การผลิตตัวอย่างพืชอ้างอิงภายใน สำหรับการวิเคราะห์พืชของห้องปฏิบัติการพื้นที่ภาคใต้  
ตอนล่าง
- การทดลองที่ 3.4 พัฒนาวิธีวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไนเตรทในพืช
- กิจกรรมที่ 4 การพัฒนาวิธีวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของปัจจัยการผลิต โดยใช้เทคนิคสเปกโตร สโกปี  
อินฟราเรดย่านใกล้ (NearInfrared Spectroscopy; NIRS)



- การทดลองที่ 4.1 ศึกษาวิธีวิเคราะห์หาค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าการนำไฟฟ้า และธาตุอาหารรองในดิน โดยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้
- การทดลองที่ 4.2 ศึกษาการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของธาตุอาหารหลักในตัวอย่างปุ๋ยเคมีอ้างอิงภายใน โดยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้
- การทดลองที่ 4.3 ศึกษาวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ในปุ๋ยอินทรีย์โดยเทคนิค สเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้
- กิจกรรมที่ 5 การพัฒนาชุดทดสอบอย่างง่าย (Test Kit) เพื่อใช้ตรวจสอบคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของปัจจัยการผลิต
- การทดลองที่ 5.1 วิจัยและพัฒนาชุดตรวจสอบอย่างง่ายไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในดิน
- การทดลองที่ 5.2 การวิจัยและพัฒนาชุดตรวจสอบอย่างง่าย แคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถันและเหล็กในดิน
- การทดลองที่ 5.3 การวิจัยและพัฒนาชุดตรวจสอบอย่างง่าย คลอไรด์ คาร์บอเนต และไบคาร์บอเนต ไนเตรท และฟอสเฟต ในน้ำ
- กิจกรรมที่ 6 พัฒนาเทคนิคระบบการวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยชีวภาพ
- การทดลองที่ 6.1 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณและประสิทธิภาพของไรโซเบียมในปุ๋ยชีวภาพ ไรโซเบียม
- การทดลองที่ 6.2 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการจัดจำแนกไรโซเบียมในปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม

## กิจกรรมที่ 1 พัฒนาเทคนิคระบบการตรวจวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปุ๋ย

### พัฒนาวิธีวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โพแทสเซียมที่ละลาย น้ำในปุ๋ยเคมี โดยเทคนิคเฟลมโฟโตเมทรี

#### Method Validation on Analysis of Water Soluble Potassium in Fertilizers by Flame Photometric Technique

รัตนาภรณ์ คชวงศ์ วรณรัตน์ ชุตินบุตร ภัทรภาพร คำผล จิรพันธ์ ศรีทองกุล  
Rattanaorn Cochawong Wannarut Chutibut Phattaraphon Khomphon  
Jirapan Srithongkul

#### คำสำคัญ (Keywords)

โพแทสเซียมที่ละลายน้ำ ปุ๋ย เทคนิคเฟลมโฟโตเมทรี

Water soluble potassium Fertilizer Flame photometric technique

#### บทคัดย่อ (Abstract)

ศึกษาและพัฒนาวิธีวิเคราะห์โพแทสเซียมที่ละลายน้ำในปุ๋ยเคมีด้วยเทคนิคเฟลมโฟโตเมทรี (Flame photometry) เพื่อเปรียบเทียบผลของการเติมและไม่เติมสารลดการรบกวนทางเคมี (Suppressor) ต่อปริมาณโพแทสเซียมที่ละลายน้ำในปุ๋ยเชิงเดี่ยว ปุ๋ยเชิงประกอบปุ๋ยเชิงผสมแบบปั้นเม็ดปุ๋ยเชิงผสมแบบคลุกเคล้าและปุ๋ยเชิงผสมแบบเกร็ด จำนวน 37 ตัวอย่าง พบว่า ค่าเฉลี่ยของปริมาณโพแทสเซียมที่ละลายน้ำจากวิธีวิเคราะห์ที่เติม สารลดการรบกวนทางเคมี มีค่ามากกว่าวิธีวิเคราะห์ที่ไม่เติม สารลดการรบกวนทางเคมีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ 25 ตัวอย่าง และจากการเปรียบเทียบความเที่ยง (Precision) โดยใช้สมการของ Horwitz's Ratio พบว่า ค่าความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ที่ไม่เติมสารลดการรบกวนทางเคมีไม่ผ่านเกณฑ์กำหนด 2 ตัวอย่าง โดยการไม่เติมสารลดการรบกวนทางเคมีมีผลให้ความเที่ยงของค่าวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมที่ละลายน้ำในตัวอย่างปุ๋ยลดลง 28 ตัวอย่าง ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โพแทสเซียมที่ละลายน้ำในปุ๋ยเคมีที่ไม่เติมสารลดการรบกวนทางเคมี พบว่า ช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity) ในการวิเคราะห์หาโพแทสเซียมอยู่ในช่วง 0-24 ppm เลือกช่วง 0-15 ppm ซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient;  $r$ ) เท่ากับ 0.9997 เป็นช่วงการใช้งาน (Range) ปริมาณโพแทสเซียมต่ำที่สุดที่สามารถทดสอบได้ (Limit of Detection ; LOD) เท่ากับ 0.07 %K<sub>2</sub>O ปริมาณโพแทสเซียมต่ำที่สุดที่สามารถรายงานผลได้ (Limit of Quantitation ; LOQ) เท่ากับ 10.0 %K<sub>2</sub>O พิสูจน์ความแม่นยำ (Accuracy) และความเที่ยงโดยการเติมวัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Material ; CRM) ลงใน Sample blank (Matrix effect) ความเข้มข้นสูง กลาง และต่ำเท่ากับ 60.34 34.61 และ 10.00 %K<sub>2</sub>O พบว่าการประเมินความแม่นยำโดยหาเปอร์เซ็นต์ Recovery อยู่ในช่วง 98-102 เปอร์เซ็นต์ ทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น และการประเมินความเที่ยงโดยใช้สมการของ Horwitz's Ratio มีค่าน้อยกว่า 2 ทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น ซึ่งค่าที่ได้ทั้งหมดนั้นผ่านเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐานสากล

Study and development of analytical water soluble potassium (WK<sub>2</sub>O) in fertilizer by flame photometry techniques to compare the effect of the addition and

without of interfering suppressor solution method. In single fertilizer, compound fertilizer and mixed fertilizer of 37 examples. The average amount of  $WK_2O$  from the addition of suppressor is greater than without suppressor statistically significant 25 samples. Comparison of precision by the equation of Horwitz's Ratio, the reliability of the analytical without suppressor method to reduce failed 2 samples and the precision of the determination of  $WK_2O$  decreased in 28 samples. Results of method validation of  $WK_2O$  without suppressor solution method, the linearity of 0-24 ppm and working range of 0. -15 ppm found that correlation coefficients (r) is 0.9997. Limit of Detection (LOD) is 0.07 % $K_2O$  and Limit of Quantitation (LOQ) is 10.0 % $K_2O$ . The Matrix effect by addition of Certified Reference Material (CRM) into the sample blank concentrations 60.34, 34.61 and 10.00 % $K_2O$  were assessed for accuracy by 98-102 %recovery. And to evaluate the precision of the equation Horwitz's Ratio is less than 2all levels. The bill has passed all acceptance criteria according to international standards.

## บทนำ (Introduction)

การวัดปริมาณโพแทสเซียมที่ละลายน้ำ ( Water soluble potassium ;  $WK_2O$ ) ในปุ๋ยเคมี โดยวิธีเปลวไฟโตเมตรีซึ่งกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัย พัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ได้พัฒนามาจากวิธีวิเคราะห์ของ AOAC (2016) และ OMAF (1987) นั้นได้ผ่านการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์แล้วว่ามี ความถูกต้องและแม่นยำ เป็นที่ยอมรับได้ตามมาตรฐานสากล (วรรณรัตน์และคณะ, 2549)ดำเนินการวิเคราะห์ด้วยเครื่องเปลวไฟโตมิเตอร์(Flame photometer) ซึ่งเป็นหลักการอิมิสชันสเปกโทรสโกปี (Emission spectroscopy) โดยให้พลังงานด้วยเปลวไฟทำให้อิเล็กตรอนวงนอกสุดของอะตอมเปลี่ยนจากสถานะพื้นไปสู่สถานะกระตุ้นซึ่งเป็นสถานะที่ไม่เสถียร อิเล็กตรอนจึงต้องกลับมาสู่สถานะพื้นที่ไม่เสถียรกว่าและเกิดการปล่อยพลังงานออกมาในรูปคลื่นแสง โดยเครื่องมือจะทำการวัดปริมาณคลื่นแสงที่ปล่อยออกมา (Intensity of emission) สำหรับการวิเคราะห์โดยหลักการนี้จะเกิดการรบกวนจากการแทรกสอดทางเคมี (Chemical interferences) ได้เสมอ เนื่องจากอุณหภูมิของเปลวไฟที่ใช้แก๊สอะเซทิลีน (Acetylene) เป็นเชื้อเพลิงและใช้อากาศ (Air) เป็นตัวออกซิเดนต์จะอยู่ในช่วง 2,300-2,500 เคลวินซึ่งเป็นข้อจำกัดให้ธาตุหลายชนิดที่ไม่สามารถถูกกระตุ้นได้และไปรบกวนการวิเคราะห์ (Interference) เกิดสารประกอบที่แตกตัวยากหรือเกิดแบคกราวด์ (Background)สูง และอาจมีอิทธิพลของแอนไอออน( Anion)ที่รบกวนการวิเคราะห์ปริมาณธาตุโลหะโดยในปัจจุบันเครื่องมือที่ใช้หลักการเดียวกันนี้สามารถพัฒนาให้มีอุณหภูมิสูงถึง 10,000 เคลวินและมีความเสถียรกว่าเปลวไฟของเปลวไฟโตมิเตอร์แต่อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมด้วยวิธีนี้ยังคงเป็นเทคนิคแบบเดิมที่สามารถใช้งานได้เหมาะสมทั้งนี้ต้องระวังการเลือกใช้อุณหภูมิของเปลวไฟและควรมีการเติมสารละลายซึ่งทำให้แอนไอออนที่รบกวนการวิเคราะห์ (Interfering anion)กลายเป็นสารประกอบที่ไม่รบกวนการวิเคราะห์ทั้งในสารละลายตัวอย่างและสารละลายมาตรฐาน(แมน และคณะ, 2552) เช่น การเติมกรดไฮโดรคลอริกเพื่อวิเคราะห์โพแทสเซียมและโซเดียมในตัวอย่างซีเมนต์ (Junsomboon and Jakmune, 2011) การเติมสารละลาย EDTA เพื่อวิเคราะห์แคลเซียมใน

ตัวอย่างพืช (Alexander, 1963) สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมในปุ๋ยเคมีโดยใช้เครื่องเฟลมโฟโตมิเตอร์ หรือ อะตอมมิคแอบซอร์ปชันสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Atomic Absorption Spectrophotometer: AAS) อาจมีการรบกวนจากฟอสเฟต กรดซัลฟริก และ กลีโกลอโมเนียม จึงมีการเติมสารละลายแคลเซียมคาร์บอเนตในกรดไฮโดรคลอริกเพื่อลดการรบกวนดังกล่าว (ลัดดาวัลย์ และคณะ, 2529) และในตัวอย่างปุ๋ยเคมีอาจมีธาตุอาหารพืชหรือสารประกอบที่รบกวนการวิเคราะห์ได้หากมีปริมาณมากกว่าโพแทสเซียมในสัดส่วนดังนี้คือ โซเดียม :โพแทสเซียม = 2:1 แคลเซียม :โพแทสเซียม = 20:1 แมกนีเซียม:โพแทสเซียม = 20:1 ฟอสเฟต:โพแทสเซียม = 50:1 และซัลเฟต:โพแทสเซียม = 100:1 (กิตติพร, 2536) ดังนั้นในการวิเคราะห์โพแทสเซียมที่ละลายน้ำในปุ๋ยสำหรับวิธีมาตรฐานเฟลมโฟโตเมตรีหรืออะตอมมิคแอบซอร์ปชันสเปกโตรโฟโตเมตรี จึงมีการเติมสารละลายเพื่อลดการรบกวนทางเคมี (Interference suppressor solution) 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรในปริมาตรสุดท้ายและระบุว่าในกรณีที่ตัวอย่างไม่มีสารรบกวนไม่ต้องเติมสารลดการรบกวนทางเคมี (OMAF, 1987) ซึ่งโดยปกติปุ๋ยเคมีควรจะมีสารรบกวนดังกล่าวน้อยกว่าปริมาณโพแทสเซียมดังนั้นการเติมสารละลายสารลดการรบกวนทางเคมีอาจไม่จำเป็นสำหรับการวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้ จากการศึกษาของลัดดาวัลย์และคณะ ( 2529) ซึ่งทำการวิเคราะห์โพแทสเซียมที่ละลายน้ำโดยวิธีสกัดตัวอย่างสารเคมีและปุ๋ยด้วยน้ำแล้วทดลองเติมและไม่เติมสารละลายแคลเซียมคาร์บอเนตในกรดไฮโดรคลอริก หรือ สารลดการรบกวนทางเคมีก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง AAS เพื่อเปรียบเทียบปริมาณโพแทสเซียม พบว่าให้ผลวิเคราะห์ไม่แตกต่างกันจึงมีความเป็นไปได้ว่าการไม่เติมสารลดการรบกวนทางเคมีอาจยังคงให้ผลวิเคราะห์ไม่แตกต่างกันและจะช่วยลดต้นทุนการวิเคราะห์หลังได้

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเติมและไม่เติมสารลดการรบกวนทางเคมีต่อปริมาณโพแทสเซียมที่ละลายน้ำในปุ๋ยเคมีและทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โพแทสเซียมที่ละลายน้ำในปุ๋ยเคมีแบบไม่เติมสารลดการรบกวนทางเคมี

### ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

อุปกรณ์และสารเคมีได้แก่ เครื่องเฟลมโฟโตมิเตอร์(Sherwood model 420) เครื่องชั่งอย่างละเอียด ทศนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง Volumetric flask class A ขนาด 100,500 และ 1,000 มิลลิลิตร Pipette class A ขนาด 1 2 3 4 5 6 9 10,15 และ 50 มิลลิลิตร Erlenmeyer flask ขนาด 125 มิลลิลิตร เครื่องเขย่ากระดาษกรองเบอร์ 1 เครื่องแก้วและวัสดุอื่น ๆ ที่ใช้ในการปฏิบัติการทดสอบ สารมาตรฐานโพแทสเซียมความเข้มข้น 1,000 ppm Potassium chloride (AR grade) Potassium chloride (CRM) Potassium dihydrogen phosphate (SRM) Hydrochloric acid 36-38 % (HCl) ( AR grade) และ Calcium carbonate (CaCO<sub>3</sub>) (AR grade)

### วิธีการ

1. ศึกษาผลของการเติมสารลดการรบกวนทางเคมีต่อปริมาณโพแทสเซียมที่ละลายน้ำในปุ๋ยเคมี
  - 1.1. จัดเตรียมตัวอย่างปุ๋ยเคมีเชิงผสมแบบคลุกเคล้า ปุ๋ยเคมีเชิงผสมแบบปั้นเม็ด ปุ๋ยเคมีเชิงผสมแบบเกล็ด ผง ปุ๋ยเชิงเดี่ยว และปุ๋ยเชิงประกอบ โดยครอบคลุมความเข้มข้นของโพแทสเซียมที่ระดับ ต่ำ กลางและสูง

- 1.2. วิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมที่ละลายน้ำ โดยเติมสารลดการรบกวนทางเคมีตามวิธีในคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี กรมวิชาการเกษตร ซึ่งประยุกต์จากวิธีวิเคราะห์ OMAF (1987) และไม่เติมสารลดการรบกวนทางเคมีในสารละลายตัวอย่าง และสารละลายมาตรฐาน
- 1.3. เปรียบเทียบปริมาณโพแทสเซียมที่ละลายน้ำของ 2 วิธีวิเคราะห์
  - 1.3.1. ทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณโพแทสเซียมที่ละลายน้ำ ได้แก่
    - 1.3.1.1. ความความแปรปรวนของปริมาณโพแทสเซียมที่ละลายน้ำ
    - 1.3.1.2. ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณโพแทสเซียมที่ละลายน้ำของวิธีวิเคราะห์ 2 วิธี แบบ Independent sample t-Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %
  - 1.3.2. พิสูจน์ความเที่ยงของปริมาณโพแทสเซียมที่ละลายน้ำจากการวิเคราะห์ของ 2 วิธี โดยใช้สถิติ HorRat( Horwitz's Ratio) เกณฑ์กำหนด <2.0 (AOAC, 2016)
2. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โพแทสเซียมที่ละลายน้ำแบบไม่เติมสารลดการรบกวน
  - 2.1. ศึกษาหาช่วงความเป็นเส้นตรงและช่วงการใช้งานของวิธีทดสอบโพแทสเซียมที่ละลายน้ำในปุ๋ย
    - 2.1.1. ชั่งตัวอย่างที่มีเนื้อสารชนิดเดียวกับปุ๋ยแต่ตัวไม่มีสารที่ทดสอบ (Sample blank) น้ำหนัก 1.xxxx กรัม เติมสารมาตรฐานโพแทสเซียม 7 ระดับความเข้มข้นคือ 0 4 8 12 16 20 และ 24 ppm
    - 2.1.2. วิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์โพแทสเซียมที่ละลายน้ำในปุ๋ย
    - 2.1.3. สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานโพแทสเซียม กับค่าความเข้มแสงที่อ่านจากเครื่องเฟลมโฟโตมิเตอร์ (Reading)
    - 2.1.4. พิจารณาค่าช่วงที่เป็นเส้นตรง
    - 2.1.5. เลือกช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง และดำเนินการตามข้อ 2.1.1 – 2.1.3 โดยเติมสารมาตรฐานโพแทสเซียม 7 ระดับในช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง
    - 2.1.6. คำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เกณฑ์การยอมรับ  $r \geq 0.995$
  - 2.2. ศึกษาหาค่าต่ำสุดที่วิธีวิเคราะห์สามารถวิเคราะห์ได้ (LOD) และค่าต่ำสุดที่สามารถรายงานผลได้ (LOQ)
    - 2.2.1. ชั่งตัวอย่างที่ไม่มีสารที่ทดสอบน้ำหนัก 1.xxxx กรัม
    - 2.2.2. วิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์โพแทสเซียมที่ละลายน้ำในปุ๋ย หาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)
 
$$\text{LOD} = 3 \times S'_0$$

$$\text{LOQ} = 10 \times S'_0$$
    - 2.2.3. พิสูจน์ค่าความถูกต้อง และความเที่ยงของ LOQ ตามข้อ 2.3
  - 2.3. พิสูจน์ค่าความถูกต้อง และความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์โพแทสเซียมที่ละลายน้ำในปุ๋ยที่ระดับความเข้มข้นสูง กลาง และ ต่ำ
    - 2.3.1. ชั่งตัวอย่างที่ไม่มีสารที่ทดสอบและชั่ง CRM ความเข้มข้นสูง กลาง และต่ำ เติมลงไปพร้อมกับทำตัวอย่างที่ไม่มีสารที่ทดสอบ
    - 2.3.2. วิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์โพแทสเซียมที่ละลายน้ำในปุ๋ย ระดับความเข้มข้นละ 15 ชั่ง
    - 2.3.3. ประเมินความถูกต้อง โดยเปรียบเทียบค่าที่ได้กับค่ารับรองของ CRM โดยมีเกณฑ์การยอมรับ 98-102 % Recovery (AOAC, 2016)

2.3.4. ประเมินความเที่ยงโดย HorRat (Horwitz's Ratio) เกณฑ์การยอมรับน้อยกว่า 2 (AOAC, 2016)

3. วิเคราะห์ความคุ้มค่าโดยเปรียบเทียบต้นทุนการวิเคราะห์ ระยะเวลาการวิเคราะห์ ขั้นตอนการวิเคราะห์ที่เปลี่ยนแปลง และความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์

ระยะเวลา เริ่มต้น ต.ค. 2558 สิ้นสุด ก.ย. 2561

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี  
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

**ผลการวิจัย (Results)**

1. ผลของการเพิ่มสารลดการรบกวนทางเคมีต่อปริมาณโพแทสเซียมที่ละลายน้ำในปุยเคมี

จากผลการศึกษาตัวอย่างปุย 31 สูตร 37 ตัวอย่าง โดย one-tailed test ได้แก่ ปุยเชิงเดี่ยว และเชิงประกอบสูตร 0-52-34 13-0-46 และ 0-0-60 ปุยเชิงผสมแบบปั่น เม็ดสูตร 8-3-15 6-0-30 และ 10-10-35 ปุยเชิงผสมแบบคลุกเคล้า สูตร 16-16-8 22-5-22 17-17-17 29-5-18 14-7-35 15-5-35 และ 14-7-35 และปุยเชิงผสมแบบเกร็ดผง สูตร 24-7-7 35-10-5 10-52-17 21-21-21 20-20-20 6-15-40 และ 10-5-40 รวม 20 สูตร 25 ตัวอย่าง พบว่าวิธีวิเคราะห์ที่เพิ่มสารลดการรบกวนทางเคมีให้มีความแม่นยำของโพแทสเซียมที่ละลายน้ำเฉลี่ยมากกว่าวิธีวิเคราะห์ที่ไม่เพิ่มสารลดการรบกวนทางเคมี อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 1) แตกต่างกับการศึกษาของกิตติพร (2536) ซึ่งเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์โพแทสเซียมที่ละลายน้ำโดยวิธีตกตะกอน ( Gravimetric sodium tetraphenylborate method) ซึ่งมีการเพิ่มสารละลาย EDTA-NaOH เพื่อกำจัดการรบกวน และวิธีเฟลมโฟโตเมตริก (Flame photometric method) ซึ่งไม่มีการเพิ่มสารลดการรบกวน ทดลองในปุยเคมีเชิงผสม 20 ตัวอย่าง พบว่าทั้งสองวิธีให้ผลวิเคราะห์ที่สอดคล้องกันแต่การวิเคราะห์ด้วยเฟลมโฟโตเมตริกมีค่าสูงกว่า และแตกต่างกับการศึกษาของลัดดาวลัยและคณะ ( 2529) ซึ่งเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์โพแทสเซียมที่ละลายน้ำโดยเติมและไม่เติม สารลดการรบกวนทางเคมี ของปุยโพแทสเซียมคลอไรด์ โพแทสเซียมซัลเฟต และปุยเคมีเชิงผสม 3 สูตร พบว่า ผลวิเคราะห์ของทั้งสองวิธีไม่แตกต่างกัน

ผลการเปรียบเทียบความเที่ยงของปริมาณโพแทสเซียมที่ละลายน้ำจากการวิเคราะห์ของ 2 วิธี โดยใช้สถิติ HorRat (Horwitz's Ratio) เกณฑ์กำหนดน้อยกว่า 2.0 (AOAC, 2016) ดังแสดงในตารางที่ 1 พบว่า การวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมที่ละลายน้ำที่เติมและไม่เติม สารลดการรบกวนทางเคมี มีค่า HorRat ไม่ผ่านเกณฑ์ จำนวน 1 และ 2 ตัวอย่าง ตามลำดับ และพบว่า ค่า HorRat ของวิธีวิเคราะห์ที่ไม่เพิ่มสารลดการรบกวนทางเคมีมีค่าสูงกว่าวิเคราะห์โดยเติม สารลดการรบกวนทางเคมีจำนวน 28 ตัวอย่าง จากทั้งหมด 37 ตัวอย่าง แสดงว่าการไม่เติม สารลดการรบกวนทางเคมี มีผลให้ความเที่ยงของค่าวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมที่ละลายน้ำในตัวอย่างปุยเคมีลดลง

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบปริมาณ %WK<sub>2</sub>O ที่ได้จากการวิเคราะห์โดยเต็ม และไม่เต็มสารลดการ  
รบกวนทางเคมี

Sample	Suppressor			Non Suppressor			P-value $\alpha = 0.05$		
	Mean	SD	HorRat	Mean	SD	HorRat	F-Test	t-Test	
<b>ปุ๋ยเชิงเดี่ยว/เชิงประกอบ</b>									
1	0-52-34	34.77	0.27	0.49	34.41	0.44	1.15	0.11	0.03*
2	0-52-34	34.84	0.29	0.55	34.54	0.34	0.98	0.35	0.04*
3	13-0-46	47.01	0.29	0.62	46.62	0.47	1.23	0.11	0.03*
4	13-0-46	45.97	0.36	0.52	45.47	0.38	1.00	0.44	0.01*
5	0-0-50	51.45	0.32	0.42	51.22	0.45	0.61	0.19	0.13
6	0-0-50	51.33	0.51	0.68	51.66	0.55	0.73	0.43	0.12
7	0-0-60	60.15	0.63	0.74	59.21	0.54	0.64	0.35	0.00*
8	0-0-60	60.94	0.28	0.39	60.67	0.33	0.76	0.33	0.04*
9	0-0-60	60.78	0.34	0.39	59.88	0.61	0.71	0.07	0.00*
10	0-0-60	61.77	0.23	0.47	61.11	0.45	0.51	0.04*	0.00*
<b>ปุ๋ยเชิงผสมแบบป้อนเม็ด : ต่ำ</b>									
11	10-0-4	4.36	0.03	0.38	4.37	0.06	0.67	0.07	0.25
12	8-8-8	10.47	0.17	0.85	10.54	0.22	1.13	0.23	0.22
13	12-3-3	3.64	0.03	0.43	3.61	0.07	0.85	0.04*	0.14
<b>ปุ๋ยเชิงผสมแบบป้อนเม็ด : กลาง</b>									
14	12-9-21	21.31	0.19	0.52	21.25	0.40	1.12	0.03*	0.35
15	8-3-15	13.62	0.21	0.85	13.39	0.20	0.82	0.45	0.02*
16	13-13-21	22.04	0.10	0.27	21.99	0.26	0.72	0.01*	0.33
<b>ปุ๋ยเชิงผสมแบบป้อนเม็ด : สูง</b>									
17	6-0-30	23.78	0.29	0.74	23.55	0.23	0.58	0.27	0.05
18	6-0-30	24.20	0.12	0.31	23.79	0.17	0.43	0.20	0.00*
19	10-10-35	30.43	0.46	0.95	29.95	0.28	0.59	0.11	0.01*
<b>ปุ๋ยเชิงผสมแบบคลุกเคล้า : ต่ำ</b>									
20	25-9-9	9.77	0.15	0.82	9.68	0.14	0.77	0.43	0.11
21	27-12-6	7.27	0.09	0.65	7.23	0.16	1.15	0.08	0.25
22	16-16-8	7.89	0.06	0.38	7.69	0.26	1.75	0.00*	0.03*
<b>ปุ๋ยเชิงผสมแบบคลุกเคล้า : กลาง</b>									
23	22-5-22	21.93	0.20	0.56	21.22	0.37	1.05	0.07	0.00*
24	17-17-17	17.23	0.30	1.58	16.87	0.25	0.87	0.34	0.04*
25	29-5-18	18.43	0.35	1.10	17.64	0.23	0.76	0.15	0.00*
<b>ปุ๋ยเชิงผสมแบบคลุกเคล้า : สูง</b>									
26	14-7-35	34.57	0.41	0.77	32.90	0.63	1.22	0.15	0.00*
27	15-5-35	34.70	0.33	0.62	32.85	0.51	0.99	0.14	0.00*
28	14-7-35	36.04	0.75	1.34	34.35	0.60	1.12	0.29	0.00*
<b>ปุ๋ยเชิงผสมแบบเกล็ดผง : ต่ำ</b>									
29	30-20-10	10.04	0.51	2.74**	9.62	0.46	2.54**	0.39	0.05
30	24-7-7	7.23	0.21	1.50	6.85	0.35	2.62**	0.11	0.01*
31	35-10-5	5.83	0.16	1.37	5.57	0.17	1.49**	0.45	0.04*
<b>ปุ๋ยเชิงผสมแบบเกล็ดผง : กลาง</b>									
32	10-52-17	17.80	0.23	0.77	17.21	0.27	0.92	0.35	0.00*
33	21-21-21	21.23	0.51	1.44	20.51	0.65	1.88	0.27	0.01*
34	20-20-20	22.09	0.31	0.84	21.51	0.33	0.93	0.42	0.00*
<b>ปุ๋ยเชิงผสมแบบเกล็ดผง : สูง</b>									
35	9-5-45	46.18	0.58	0.85	44.13	0.57	0.86	0.47	0.00*
36	6-15-40	41.96	0.32	0.51	40.33	0.70	1.15	0.03*	0.00*
37	10-5-40	41.16	0.45	0.73	39.97	1.12	1.86	0.01*	0.01*

\* ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

\*\* ค่า HorRat เกินเกณฑ์กำหนด (เกณฑ์กำหนด <2.0 (AOAC, 2016))

2. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โพแทสเซียมที่ละลายน้ำแบบไม่เติมสารลดการรบกวนทางเคมี
  - 2.1. ช่วงความเป็นเส้นตรงและช่วงการใช้งาน โดยสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียม ; ppm (แกน X) และค่าความเข้มของแสงที่อ่านจากเครื่อง (แกน y) พบว่าความเข้มข้น 0-24 ppm เป็นช่วงที่มีความเป็นเส้นตรง โดย r มีค่ามากกว่า 0.995 และเลือกความเข้มข้น 0-15 ppm เป็นช่วงการใช้งาน หาค่าความสัมพันธ์เชิงเส้น ได้ r เท่ากับ 0.9997 ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ
  - 2.2. หา LOD และ LOQ โดยใช้โดโลไมท์ (Dolomite) เป็นตัวอย่างที่ไม่มีสารที่ทดสอบ พบว่ามีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD หรือ  $S_0$ ) เท่ากับ 0.0247 LOD เท่ากับ 0.07 %K<sub>2</sub>O และ LOQ เท่ากับ 0.25 %K<sub>2</sub>O
  - 2.3. พิสูจน์ความถูกต้อง และความเที่ยง ของวิธีทดสอบ พบว่าวิธีวิเคราะห์โพแทสเซียมที่ละลายน้ำได้ ที่ระดับความเข้มข้น 10.0% 34.61% และ 60.39% มีความถูกต้องโดยมีร้อยละการคืนกลับ (%Recovery) เท่ากับ 98.34 100.14 และ 98.13 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ 98-102 และวิธีดังกล่าวมีความเที่ยงอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ คือ HorRat < 2 โดยมี HorRat เท่ากับ 0.48 0.75 และ 0.96 ตามลำดับ
3. วิเคราะห์ความคุ้มค่า พบว่าเมื่อรวมต้นทุนจาก ค่าเสื่อมราคาของเครื่องมือ 11 บาท/ตัวอย่าง ค่าสารเคมีและวัสดุวิทยาศาสตร์ 356 บาท/ตัวอย่าง ค่าสาธารณูปโภค 23 บาท/ตัวอย่าง ค่าแรงงาน 106 บาท/ตัวอย่าง ค่าจัดเตรียมเอกสาร 4 บาท/ตัวอย่าง เท่ากับ 500 บาท/ตัวอย่าง เมื่อรวมกับค่าความปลอดภัย (Safety Factor) 1.2 เท่ากับ 600 บาท/ตัวอย่าง โดยมีต้นทุนค่าสารลดการรบกวนทางเคมีซึ่งใช้แคลเซียมคาร์บอเนตละลายในกรดไฮโดรคลอริกเท่ากับ 5.70 บาทต่อตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 0.95 เมื่อพิจารณาจำนวนตัวอย่างที่กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมีวิเคราะห์หาปริมาณโพแทสเซียมที่ละลายน้ำได้ในปี 2556-2558 6,346 7,056 และ 5,877 ตัวอย่าง ตามลำดับ พบว่าการไม่เติมสารลดการรบกวนทางเคมีจะสามารถลดต้นทุนการวิเคราะห์โพแทสเซียมเฉพาะค่าสารเคมีได้เป็นมูลค่าถึง 61,047 บาท

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

การวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมที่ละลายน้ำในตัวอย่างปุ๋ยเชิงผสมแบบปั้นเม็ด ปุ๋ยเชิงผสมแบบคลุกเคล้า ปุ๋ยเชิงผสมแบบเกร็ดผง ปุ๋ยเชิงเดี่ยว และปุ๋ยเชิงประกอบ ให้ผลการวิเคราะห์ ปริมาณโพแทสเซียมจากวิธีวิเคราะห์ที่เติม สารลดการรบกวนทางเคมี มากกว่าวิธีวิเคราะห์ที่ไม่เติม สารลดการรบกวนทางเคมีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ 25 ตัวอย่าง จากทั้งหมด 37 ตัวอย่าง

การประเมินค่าความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ที่ไม่เติมสารลดการรบกวนทางเคมีไม่ผ่านเกณฑ์กำหนด 2 ตัวอย่าง และการไม่เติมสารลดการรบกวนทางเคมีมีผลให้ความเที่ยงของค่าวิเคราะห์ ปริมาณโพแทสเซียมที่ละลายน้ำในตัวอย่างปุ๋ยเคมีลดลง 28 ตัวอย่าง จากทั้งหมด 37 ตัวอย่าง โดยการไม่เติมสารลดการรบกวนทางเคมียังมีแนวโน้มทำให้ผลวิเคราะห์ต่ำ และทำให้ความเที่ยงลดลง

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โพแทสเซียมที่ละลายน้ำแบบไม่เติมสารลดการรบกวนทางเคมี มีช่วงที่เป็นเส้นตรงในการทดสอบอยู่ในช่วง 0-24 ppm เลือกช่วง 0-15 ppm ซึ่งมีค่า r เท่ากับ 0.9997 เป็นช่วงการใช้งาน มีปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ 0.07 %K<sub>2</sub>O และปริมาณต่ำสุดที่สามารถทดสอบและรายงานผลได้ 10.0 %K<sub>2</sub>O ความถูกต้อง และความเที่ยงของวิธีที่ระดับ



ความเข้มข้นสูง กลาง และต่ำ คือ 60.39 34.61 และ 10.0 %K<sub>2</sub>O อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ และมีต้นทุนต่ำกว่าวิธีวิเคราะห์ที่เติมสารลดการรบกวนคิดเป็นร้อยละ 0.95 ดังนั้นวิธีวิเคราะห์โพแทสเซียมที่ละลายน้ำได้โดยไม่เติมสารลดการรบกวน จึงเหมาะสำหรับตัวอย่างที่มีปริมาณโพแทสเซียมที่ละลายน้ำได้มากกว่าร้อยละ 10

**พัฒนาวิธีวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี โดยใช้แมกนีเซียมออกไซด์**

**Development and Method Validation on Analysis of Ammonium Nitrogen in Chemical Fertilizer using Magnesium Oxide**

ทองจันทร์ พิมพ์เพชร วรณรัตน์ ชุตินบุตร อาธิยา ปูนประโคน  
Thongchan Pimpet Wannarut Chutibut Arthiya Punprakhon

**คำสำคัญ (Keywords)**

แอมโมเนียมไนโตรเจน ปุ๋ยเคมี แมกนีเซียมออกไซด์

Ammonium nitrogen Chemical fertilizer Magnesium oxide

**บทคัดย่อ (Abstract)**

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี โดยใช้แมกนีเซียมออกไซด์ เริ่มดำเนินงานตั้งแต่เดือนตุลาคม 2558 ถึงเดือนกันยายน 2559 ณ กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ดำเนินการวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี ระหว่าง 2 วิธี คือ ใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (50% NaOH) และใช้แมกนีเซียมออกไซด์ (MgO) ในการกลั่นเปรียบเทียบกับผลทางสถิติ Paired t-test พบว่า ผลวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนของทั้ง 2 วิธี ในตัวอย่างปุ๋ยเชิงเดี่ยว ปุ๋ยเชิงประกอบ และปุ๋ยเชิงผสมที่ไม่มียูเรียเป็นส่วนผสม ไม่แตกต่างกัน แต่ในตัวอย่างปุ๋ยเชิงผสมที่มียูเรียเป็นส่วนผสม มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และจากการหาปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้เท่ากับ 0.15 และปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดปริมาณได้ โดยมีความแม่นยำและความเที่ยง เท่ากับ 0.50 การพิสูจน์ความแม่นยำ และความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง ได้ %Recovery เท่ากับ 100.38 100.08 และ 100.09 และค่า HorRat เท่ากับ 0.50 0.54 และ 0.34 ตามลำดับ และจากการศึกษาลักษณะเนื้อสาร (Matrix) โดยการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรอง ความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง ที่เติมลงในตัวอย่างที่ไม่มีแอมโมเนียมไนโตรเจน ได้ %Recovery เท่ากับ 99.61 99.18 และ 99.48 และค่า HorRat เท่ากับ 0.51 0.32 และ 0.34 ตามลำดับ ซึ่งผลวิเคราะห์ที่ได้มีค่าความแม่นยำและความเที่ยง ผ่านเกณฑ์การยอมรับ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าวิธีวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี โดยใช้แมกนีเซียมออกไซด์ เป็นวิธีมาตรฐานของห้องปฏิบัติการ ที่มีความถูกต้อง แม่นยำ และเหมาะสมกับการใช้งานตาม วัตถุประสงค์

Method Validation on Analysis of Ammonium Nitrogen in Chemical Fertilizer using Magnesium Oxide. Operated from October 2015 to September 2016. At the System Research of Fertilizer. Agricultural Chemistry Research Group. Agricultural

Production Science Research and Development Division. Analysis of Ammonium Nitrogen in Chemical Fertilizer between two method are using 50% Sodium hydroxide and Magnesium oxide. Then compare the results by Paired t-test. The straight, compound and mixed fertilizer without urea are components was not different, but mixed fertilizer containing urea were significant different. The limit of detection is 0.15 and limit of quantification is 0.50. Accuracy and precision of low, medium and high concentrations were 100.38, 100.08 and 100.09 %Recovery and HorRat were 0.50, 0.54 and 0.34. The study on the matrix were 99.61, 99.18 and 99.48 %Recovery and HorRat were 0.51, 0.32 and 0.34 acceptance criteria. Method on Analysis of Ammonium Nitrogen in Chemical Fertilizer using Magnesium Oxide is standard method for laboratory, and fit for the intended use.

### บทนำ (Introduction)

ไนโตรเจน เป็นธาตุที่พืชต้องการเป็นปริมาณมากหรือธาตุอาหารมหัพภาค (Macronutrient) ซึ่งถือว่าเป็นธาตุที่มีบทบาทสำคัญในการเจริญเติบโตของพืช (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา , 2548) ไนโตรเจนในปุ๋ยเคมีมีหลายรูป เช่น แอมโมเนียมไนโตรเจน ไนเตรทไนโตรเจน ยูเรียไนโตรเจน เป็นต้น การวิเคราะห์ไนโตรเจนในแต่ละรูปก็มีวิธีเฉพาะที่แตกต่างกัน เช่น ไนโตรเจนทั้งหมดใช้วิธีเจลดาล์ ( Kjeldahl Method) หรือวิธีคอมบัสชัน ( Combustion Method) (AOAC, 2016) แอมโมเนียมไนโตรเจนใช้วิธีแมกนีเซียมออกไซด์ (Magnesium Oxide Method) (AOAC, 2016) ไนเตรทไนโตรเจนใช้วิธีเดวาร์ดา ( Devarda Method)(AOAC, 2016) และยูเรียไนโตรเจนใช้วิธีเจลดาล์ (Kjeldahl Method for Nitrate Free)(AOAC, 2016) แต่วิธีวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนก็มีข้อจำกัด คือ เป็นวิธีที่ใช้สำหรับวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยที่มีแอมโมเนียมยกเว้นไนโตรเจนที่ย่อยสลายได้ง่ายเมื่อให้ความร้อนเช่นยูเรียและแคลเซียมไซยาไนด์ ( OMAF, 1987) และเป็นวิธีที่ไม่เหมาะกับยูเรีย(AOAC, 2016) เนื่องจากตัวอย่างที่ส่งมาวิเคราะห์หาสัดส่วนไนโตรเจนหรือไนโตรเจนในรูปต่างๆ ( Fraction-N) ณ กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ยนั้น มีวัตถุประสงค์ประกอบทั้งที่เป็นแอมโมเนียม ไนเตรท และยูเรีย ปัจจุบันยังไม่มีวิธีวิเคราะห์ใดที่เหมาะสมสำหรับแยกวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในตัวอย่างที่มียูเรียเป็นส่วนผสม โดยเฉพาะวิธีที่ใช้สารละลาย 50% NaOHในการกลั่น จะส่งผลต่อปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนที่วิเคราะห์ได้ให้มีค่าสูงกว่าปกติ อีกทั้งสารละลาย 50% NaOHที่ใช้ต้องผ่านการเตรียมให้อยู่ในรูปของสารละลาย ซึ่งเกิดความร้อนสูงมากในระหว่างการเตรียม อีกทั้งยังก่อให้เกิดอาการระคายเคืองต่อผู้เตรียมและต้องทิ้งไว้เป็นเวลาอย่างน้อย 6 ชั่วโมงเพื่อให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง จึงสามารถนำไปใช้งานได้ แต่เมื่อห้องปฏิบัติการได้เปลี่ยนวิธีวิเคราะห์มาใช้ MgOในการกลั่น แทนสารละลาย 50% NaOHจึงจำเป็นต้องดำเนินการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ เพื่อให้มั่นใจว่าวิธีวิเคราะห์ที่ใช้อยู่เหมาะสมกับการใช้งานตามวัตถุประสงค์

### ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

อุปกรณ์เครื่องมือ และสารเคมี ได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง และ 2 ตำแหน่ง Macro Kjeldahl Digestion Apparatus and Distilling Apparatus Magnetic stirrer เครื่องแก้วและวัสดุ

อื่นๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์สารเคมี ได้แก่ Boric Acid ( $H_3BO_3$ ), AR grade Ethyl Alcohol  $\geq 90\%$  ( $C_2H_5OH$ ), AR grade Methylene Blue, AR grade. Methyl Red, AR grade Pumice Stone Granular, AR grade. Standard Hydrochloric Acid 1 N (HCl), AR grade Sodium Hydroxide (NaOH), Commercial grade. Magnesium Oxide (MgO), Commercial grade วัสดุอ้างอิง (Reference Material ; RM) ได้แก่ Ammonium Sulphate 99.999 % Purity 21.20 % Nitrogen (Aldrich Chem. 204501) วัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Material ; CRM) ได้แก่ Ammonium Dihydrogen Phosphate  $12.15 \pm 0.01\%$  Nitrogen (SRM No.194 NIST) Sodium Carbonate  $99.970 \pm 0.014\%$  (SRM 351a) ตัวอย่างปุ๋ยสูตร 0-P-K (Sample Blank) ปุ๋ยเชิงเดี่ยว จำนวน 10 ตัวอย่างปุ๋ยเชิงประกอบ จำนวน 10 ตัวอย่าง และปุ๋ยเชิงผสมจำนวน 20 ตัวอย่าง

### วิธีการ

1. เปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนโดยใช้ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 50 % และแมกนีเซียมออกไซด์ ในการกลั่น
  - 1.1. จัดเตรียมตัวอย่างปุ๋ยเคมีเชิงเดี่ยว จำนวน 10 ตัวอย่าง ปุ๋ยเคมีเชิงประกอบ จำนวน 10 ตัวอย่าง และปุ๋ยเคมีเชิงผสม จำนวน 20 ตัวอย่าง
  - 1.2. วิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน (%AN) ในตัวอย่างปุ๋ยเคมี โดย
    - 1.2.1. วิธีที่ 1 เติมสารละลาย 50% NaOH ในการกลั่น
    - 1.2.2. วิธีที่ 2 เติมแมกนีเซียมออกไซด์ (MgO) ในการกลั่น
  - 1.3. เปรียบเทียบ Paired t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ระหว่าง 2 วิธี
2. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนของวิธีวิเคราะห์ที่ใช้ MgO ในการกลั่น
  - 2.1. ศึกษาหาค่าต่ำสุดที่วิธีวิเคราะห์สามารถวิเคราะห์ได้ (LOD) และค่าต่ำสุดที่สามารถรายงานผลได้ (LOQ)
    - 2.1.1. ชั่งตัวอย่างที่ไม่มีสารที่ทดสอบน้ำหนัก  $0.3xxx - 0.4xxx$  กรัม
    - 2.1.2. วิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจน หาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)
 
$$LOD = 3 \times S'_0$$

$$LOQ = 10 \times S'_0$$
    - 2.1.3. พิสูจน์ค่าความถูกต้อง และความเที่ยงของ LOQ ตามข้อ 2.2
  - 2.2. พิสูจน์ค่าความถูกต้อง และความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี ที่ระดับความเข้มข้นสูง กลาง และ ต่ำ
    - 2.2.1. ชั่งตัวอย่างที่ไม่มีสารที่ทดสอบและชั่ง CRM ความเข้มข้นสูง กลาง และต่ำ เติมลงไปพร้อมกับทำตัวอย่างที่ไม่มีสารที่ทดสอบ
    - 2.2.2. วิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ย ความเข้มข้นไม่น้อยกว่า 10 ช้ำ
    - 2.2.3. ประเมินความถูกต้อง โดยเปรียบเทียบค่าที่ได้กับค่ารับรองของ CRM โดยมีเกณฑ์การยอมรับ 98-102 % Recovery (AOAC, 2016)

2.2.4. ประเมินความเที่ยงโดย HorRat (Horwitz's Ratio) เกณฑ์การยอมรับน้อยกว่า 2 (AOAC, 2016)

3. วิเคราะห์ความคุ้มค่าโดยเปรียบเทียบต้นทุนการวิเคราะห์ ระยะเวลาการวิเคราะห์ ขั้นตอนการวิเคราะห์ที่เปลี่ยนแปลง และความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์

ระยะเวลา เริ่มต้น ต.ค. 2558 สิ้นสุด ก.ย. 256 0  
 สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี  
 กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

**ผลการวิจัย (Results)**

1. เปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนโดยใช้ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 50 % และแมกนีเซียมออกไซด์ ในการกลั่น โดยวิธีทางสถิติ Paired t-test จำนวน 10 ซ้ำ พบว่าค่า  $t_{exp}$  ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ของผลวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในตัวอย่าง ปุ๋ยเคมีเชิงเดี่ยว ปุ๋ยเคมีเชิงประกอบ ปุ๋ยเคมีเชิงผสมชนิดที่ไม่มียูเรียเป็นส่วนผสม และปุ๋ยเคมีเชิงผสมชนิดที่มียูเรียเป็นส่วนผสม เท่ากับ 1.04 1.91 2.13 และ 5.70 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับค่า  $t_{crit}$  ซึ่งเท่ากับ 2.26 พบว่าปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในตัวอย่างปุ๋ย เคมีเชิงเดี่ยว ปุ๋ยเคมีเชิงประกอบ ปุ๋ยเคมีเชิงผสมชนิดที่ไม่มียูเรียเป็นส่วนผสม ไม่มีความแตกต่างกัน ส่วนปุ๋ยเชิงผสมที่มียูเรียเป็นส่วนผสม มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

**ตารางที่ 1** เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในตัวอย่างปุ๋ยเชิงเดี่ยว โดยใช้ 50% NaOH และ MgO

ตัวอย่าง ที่	สูตรปุ๋ย	สูตรโมเลกุล	ลักษณะตัวอย่าง	%AN	
				ใช้ 50% NaOH	ใช้ MgO
<b>ปุ๋ยเคมีเชิงเดี่ยว</b>					
1	13-0-0	Ca.Mg(NO <sub>3</sub> )	แผ่นแบนเล็กสีขาวขุ่น	0.67	0.65
2	15-0-0	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O	เม็ดสีเหลืองอ่อน	1.29	1.28
3	15-0-0	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O	เม็ดสีขาวขุ่น	1.35	1.30
4	20-0-0	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	เม็ดใหญ่สีขาวขุ่น	21.36	21.33
5	21-0-0	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	เกล็ดเล็กๆ สีขาวใส	21.20	21.29
6	25-0-0	(NH <sub>4</sub> )Cl	เม็ดสีชมพู	25.75	25.81
7	25-0-0	(NH <sub>4</sub> )Cl	ผงสีขาว	25.29	25.28
8	26-0-0	5Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> 10H <sub>2</sub> O	เม็ดสีเทา	13.14	13.10
9	27-0-0	5Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> 10H <sub>2</sub> O	เม็ดสีขาวขุ่น	13.73	13.65
10	27-0-0	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> ·(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	เม็ดสีขาวขุ่น	19.12	19.02
<b>ปุ๋ยเคมีเชิงประกอบ</b>					
1	10-40-0	NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	เกล็ด/ผงสีขาว	10.40	10.36
2	11-52-0	NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	เม็ดสีเทา	11.63	11.60
3	12-60-0	NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	เกล็ดสีขาวใส	12.26	12.27

ตัวอย่าง ที่	สูตรปุ๋ย	สูตรโมเลกุล	ลักษณะตัวอย่าง	%AN	
				ใช้ 50% NaOH	ใช้ MgO
4	12-61-0	NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	เกล็ดสีขาวใส	12.22	12.12
5	16-18-0	-	เม็ดสีเทา	16.12	15.54
6	16-20-0	-	เม็ดสีเทา	16.14	16.15
7	17-46-0	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	เม็ดสีเทา	17.79	17.66
8	18-46-0	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	เม็ดสีน้ำตาล	17.99	17.66
9	20-53-0	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	เกล็ดสีขาวใส	21.14	21.09
10	21-53-0	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	เกล็ดสีขาวใส	21.23	21.29

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในตัวอย่างปุ๋ยเคมีเชิงผสม โดยใช้ 50% NaOH และ ใช้ MgO

ตัวอย่างที่	สูตร	%AN	
		ใช้ 50% NaOH	ใช้ MgO
<b>ปุ๋ยเคมีเชิงผสม ชนิดไม่มียูเรียเป็นส่วนผสม</b>			
1	3-3-35	3.66	3.61
2	6-32-32	5.64	5.60
3	7-56-13	7.09	7.16
4	8-24-24	8.59	8.53
5	10-26-26	10.03	9.89
6	15-15-15	8.73	8.65
7	16-16-16	9.24	9.28
8	17-17-17	8.83	8.79
9	19-9-19	10.17	10.14
10	24-5-5	13.33	13.26
<b>ปุ๋ยเคมีเชิงผสม ชนิดมียูเรียเป็นส่วนผสม</b>			
1	4-5-7	3.18	2.69
2	9-9-9	4.03	3.37
3	15-7-18	4.70	3.63
4	16-16-8	8.15	7.35
5	21-3-3	4.18	2.02
6	23-4-3	5.64	2.41
7	26-12-8	5.87	3.36
8	27-12-6	12.26	10.87
9	30-10-10	5.73	3.64
10	33-8-8	6.85	4.26

## 2. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนโดยใช้ MgO

- 2.1. หาค่า LOD และ LOQ ของวิธีวิเคราะห์ พบว่าค่า LOD โดยการวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในตัวอย่างที่ไม่มีแอมโมเนียมไนโตรเจน ( Sample blank) มีค่าเท่ากับศูนย์ ดังนั้นจึงดำเนินการวิเคราะห์เติมปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน ด้วยสารละลายมาตรฐานให้ความเข้มข้นต่ำประมาณ 0.50 %AN ได้ค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.15

- % และ 0.50 % ตามลำดับ โดยพบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.50 % มีความถูกต้อง และความเที่ยง โดยมี %Recovery เท่ากับ 100.50 และ HorRat เท่ากับ 0.54 ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ คือ 97-103 และ  $< 2$  ตามลำดับ
- 2.2. พิสูจน์ความถูกต้อง และความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ ที่ระดับความเข้มข้น 2.60% 12.15% และ สูง 21.20 % พบว่ามี %Recovery เท่ากับ 100.38 100.08 และ 100.09 ตามลำดับ และ ค่า HorRat เท่ากับ 0.50 0.54 และ 0.34 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ คือ %Recovery 98-102 และ Horrat  $< 2$  แสดงว่าวิธีวิเคราะห์สามารถนำไปใช้ได้โดยมีความถูกต้อง และมีความเที่ยง อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ
- 2.3. พิสูจน์ความถูกต้อง และความเที่ยงของตัวอย่างที่มีเนื้อสารแตกต่างจากตัวอย่างอ้างอิงรับรอง โดยนำตัวอย่างที่ไม่มีแอมโมเนียมไนโตรเจน เติม CRM ความเข้มข้น 2.60% 12.15% และ สูง 21.20 % และวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน พบว่าวิธีวิเคราะห์มีความถูกต้อง และมีความเที่ยง แสดงว่าวิธีวิเคราะห์นี้มีความคงทนต่อเนื้อสารที่แตกต่างกัน โดย %Recovery เท่ากับ 99.61 99.18 และ 99.48 และความเที่ยงได้ค่า HorRat เท่ากับ 0.51 0.32 และ 0.34 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ
3. การเปรียบเทียบต้นทุนการวิเคราะห์ พบว่าวิธีวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจน โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 50 % และแมกนีเซียมออกไซด์ ในการกลั่น มีต้นทุนในการวิเคราะห์โดยรวมค่าเสื่อมราคาของเครื่องมือ ค่าสารเคมีและวัสดุวิทยาศาสตร์ ค่าค่าใช้สาธารณูปโภค ค่าแรงงาน ค่าจัดเตรียมเอกสาร เท่ากับ 475 และ 474 ตามลำดับ ซึ่ง ไม่แตกต่างกัน แต่อย่างไรก็ตามพบว่าวิธีวิเคราะห์โดยใช้แมกนีเซียมออกไซด์ ช่วยลดขั้นตอน และระยะเวลาในการเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 50 % ได้อย่างน้อย 6 ชั่วโมง

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี โดยใช้  $MgO$  ทำให้มั่นใจว่าวิธีที่ใช้อยู่มีความ เหมาะสมกับการใช้งานตามวัตถุประสงค์ เป็นวิธีที่ช่วยลดขั้นตอน และระยะเวลาในการวิเคราะห์ อีกทั้งยังเป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว และมีความปลอดภัยต่อผู้วิเคราะห์มากขึ้น อย่างไรก็ตาม ทั้ง 2 วิธีก็ยังไม่เหมาะกับตัวอย่างปุ๋ยที่มียูเรียเป็นส่วนผสม โดยเฉพาะวิธีที่ใช้สารละลาย 50%  $NaOH$  ในการกลั่นซึ่งส่งผลให้ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนที่วิเคราะห์ได้มีค่าสูงกว่าปกติ

เนื่องจากยังไม่มีวิธีวิเคราะห์ใดที่เหมาะสมสำหรับแยกวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในตัวอย่างที่มียูเรียเป็นส่วนผสมได้ ดังนั้น จึงควรทำการศึกษาหาค่าคลาดเคลื่อน (Error) ของวิธีวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในตัวอย่างปุ๋ยที่มียูเรียเป็นส่วนผสม เพื่อให้ได้ค่าคงที่ หรือ Factor ที่ใช้สำหรับหาค่าปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่างปุ๋ยที่มียูเรียเป็นส่วนผสม หรือพัฒนาเป็นชุดทดสอบอย่างง่าย (Test Kit) ที่มีค่าความแม่นยำและความเที่ยง ที่เหมาะสมสำหรับทดสอบไนโตรเจนรูปต่างๆ ในปุ๋ยเคมีต่อไป

พัฒนาวิธีวิเคราะห์และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ธาตุอาหารรอง ธาตุอาหารเสริมใน  
ปุ๋ยเคมีโดยใช้เทคนิคไมโครเวฟชนิดห้องปฏิกิริยาเดี่ยวอย่าง  
Develop Methods for Analysis and Validation of Trace Elements in Chemical  
Fertilizers by Using a Single Reaction Chamber Microwave Technique

พงศ์พิศ แก้วสุข ชุตินา วงษ์ไพศาล วรณรัตน์ ชุตินบุตร  
Pongpit Kaewsuk Chutima Wongpaisarn Wannarut Chutibut

**คำสำคัญ (Keywords)**

ตรวจสอบความใช้ได้ ธาตุอาหารเสริม ไมโครเวฟชนิดห้องปฏิกิริยาเดี่ยว  
Validation Trace element Single reaction chamber microwave technique

**บทคัดย่อ(Abstract)**

การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีพบว่าวิธีการทดสอบ แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง โดยใช้เทคนิคไมโครเวฟชนิดห้องปฏิกิริยาเดี่ยวอย่าง ว่ามีความเหมาะสมตามวัตถุประสงค์ที่ต้องการใช้งาน โดยการพิสูจน์ ชัดจำกัดของวิธีทดสอบ ความถูกต้อง และความเที่ยง พบว่าผลการวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง มีค่า LOD เท่ากับ 50.19, 16.96, 3.44, 3.27, 3.34 และ 1.08 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ มีค่า LOQ เท่ากับ 85.12, 46.32, 8.18, 14.68, 13.78 และ 5.53 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรองที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง มีความเที่ยงและความถูกต้อง โดยมี ค่า HorRat น้อยกว่า 1.3 ทุกรายการทดสอบ ทุกระดับความเข้มข้น และมี %recovery ของการวิเคราะห์ซ้ำแบบต่างเวลากัน ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (0.94 %Ca, 1.79%Mg, 2.077%Fe, 0.325%Zn, 0.305%Mn และ 0.1225%Cu) เท่ากับ 101.55, 101.17, 98.36, 98.04, 98.20 และ 100.93 ระดับความเข้มข้นกลาง (21.41 %Ca, 12.70%Mg, 10.62%Fe, 38.82%Zn, 14.45%Mn และ 10.71%Cu) %recovery เท่ากับ 98.82, 99.50, 98.09, 101.78, 99.14 และ 99.75 ตามลำดับ และระดับความเข้มข้นสูง (37.03 %Ca, 48.87%Mg, 29.34%Fe, 56.49%Zn, 22.18%Mn และ 58.74%Cu) %recovery เท่ากับ 100.82, 101.62, 98.38, 101.31, 99.99 และ 98.26 ตามลำดับ การวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดงของตัวอย่างปุ๋ยที่มีลักษณะของเนื้อสาร (matrix) แตกต่างกัน โดยวิเคราะห์ซ้ำแบบต่างเวลา มีความเที่ยงและความถูกต้อง โดยมี ค่า HorRat น้อยกว่า 1.3 ทุกรายการทดสอบ ทุกระดับความเข้มข้น มี %recovery เท่ากับ 101.69, 101.73, 98.80, 98.22, 98.29 และ 101.80 ตามลำดับ %recovery เท่ากับ 98.44, 100.55, 98.14, 101.08, 98.10 และ 99.72 ตามลำดับ %recovery เท่ากับ 99.88, 101.70, 100.23, 101.24, 99.68 และ 98.35 ตามลำดับ ซึ่งผลการวิเคราะห์ทั้งหมดผ่านเกณฑ์การยอมรับตาม ซึ่งกำหนดให้ %recovery อยู่จะต้องอยู่ในช่วง 95-105, 97-103 และ 98-102 ตามปริมาณความเข้มข้น และ HorRat  $\leq$  1.3 ดังนั้นวิธีการวิเคราะห์ปริมาณ แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก สังกะสี แมงกานีส และทองแดง โดยใช้เทคนิคไมโครเวฟย่อย ตัวอย่างมีความเหมาะสม และมีต้นทุน

การวิเคราะห์ต่ำกว่าการย่อยด้วยเตาระเหยไฟฟ้า 5.10 บาทต่อตัวอย่าง ใช้ปริมาณกรดน้อยกว่า 10 เท่า โดยใช้เวลาการวิเคราะห์เท่ากัน

The sub-samples using microwave techniques for quantitative analysis of trace elements in fertilizers by ICP-OES must prove that the method is suitable to be used according to intended use. Thus, the validation method of calcium magnesium iron zinc manganese copper found that the Limit of Detection (LOD) 50.19, 16.96, 3.44, 3.27, 3.34, 1.08 mg/l. Limit of Quantitation (LOQ) 85.12, 46.32, 8.18, 14.68, 13.78, 5.53 mg/l. The Intermediate analysis CRM of calcium magnesium iron zinc manganese copper was accuracy, at concentrations (0.94%Ca, 1.79%Mg, 2.077%Fe, 0.325%Zn, 0.305%Mn, 0.1225%Cu) %Recovery as 101.55, 101.17, 98.36, 98.04, 98.20, 100.93 HorRat less than 1.3 , at concentrations (21.41%Ca, 12.70%Mg, 10.62%Fe, 38.82%Zn, 14.45%Mn, 10.71%Cu) %Recovery as 98.82, 99.50, 98.09, 101.78, 99.14, 99.75 HorRat as 1.02, 0.22, 0.19, 0.49, 0.64, 0.32, at concentrations (37.03%Ca, 48.87%Mg, 29.34%Fe, 56.49%Zn, 22.18%Mn, 58.74%Cu) %recovery as 100.82, 101.62, 98.38, 101.31, 99.99, 98.26 HorRat less than 1.3. The matrix analysis of calcium magnesium iron zinc manganese copper by CRM spiked in sample fertilizer was true, at concentrations (0.94%Ca, 1.79%Mg, 2.077%Fe, 0.325%Zn, 0.305%Mn, 0.1225%Cu) %recovery as 101.69, 101.73, 98.80, 98.22, 98.29, 101.80 HorRat less than 1.3 , at concentrations (21.41 %Ca, 12.70%Mg, 10.62%Fe, 38.82%Zn, 14.45%Mn, 10.71%Cu)%recovery as 98.44, 100.55, 98.14, 101.08, 98.10, 99.72 HorRat as 0.29, 0.14, 0.14, 0.23, 0.27, 0.23, at concentrations (37.03%Ca, 48.87%Mg, 29.34%Fe, 56.49%Zn, 22.18%Mn, 58.74%Cu) % recovery as 99.88, 101.70, 100.23, 101.24, 99.68, 98.35 HorRat less than 1.3. The results of analysis showed that the (AOAC,2016) acceptance criteria. (%Recovery in the concentration range95-105, 97-10, 98-102% and HorRat  $\leq$  1.3) Compared to the sub sample with hot plate digestion and microwave techniques. Cost per sample were prepared by evaporation at a cost of more than 5.10 baht per sample. Impact on the environment, preparation by evaporation acid content of more than 10 times. Amount of time, sample is equal to the day. The accuracy test for determination of calcium, magnesium, iron, manganese, zinc and copper can be used to prepare a sample to test for the determination of such elements without loss.

## บทนำ (Introduction)

จากตัวอย่างปุ๋ยที่ส่งมาวิเคราะห์ ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหารรอง ธาตุอาหารเสริม ซึ่งมีอยู่หลายรูปในสารประกอบต่างๆ และมีในปริมาณที่แตกต่างกัน ความยุ่งยากในการวิเคราะห์ เช่น บางตัวอย่างต้องย่อยที่อุณหภูมิต่ำและใช้เวลานาน ปริมาณกรดที่ใช้ย่อยจำนวนมากนั้นมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และสุขอนามัยของผู้วิเคราะห์ ดังนั้นห้องปฏิบัติการจึงได้



พัฒนาเทคนิคการย่อยตัวอย่างด้วยเครื่องไมโครเวฟเพื่อให้การย่อยตัวอย่างมีความรวดเร็ว สะดวก และมีความถูกต้อง แม่นยำ ซึ่งเทคนิคดังกล่าวดำเนินการภายใต้ระบบปิดที่ควบคุมความดันได้ซึ่งค่อนข้างปลอดภัยต่อผู้วิเคราะห์เพราะไม่ต้องสัมผัสกับตัวอย่างสลายหรือไอกรดขณะที่เกิดการย่อย ปริมาณตัวอย่างและกรดที่ใช้ในการวิเคราะห์น้อยเมื่อเทียบกับวิธีอื่นๆ

ข้อกำหนดด้านคุณภาพ ตาม ISO/IEC 17025 (2017) กำหนดให้วิธีการวิเคราะห์ที่นำมาใช้ในห้องปฏิบัติการต้องได้รับการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี ซึ่งเป็นการพิสูจน์ว่าวิธีวิเคราะห์มีความเหมาะสมสามารถนำไปใช้ตามวัตถุประสงค์การใช้งาน โดยจัดทำหลักฐานยืนยันเพื่อแสดงถึงประสิทธิภาพของวิธี ซึ่งสามารถพิจารณาได้จาก 1. ความเป็นเส้นตรง (linearity) คือ ความสามารถของวิธีวิเคราะห์ที่ให้ผลการวิเคราะห์เป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารที่วิเคราะห์ในช่วงความเข้มข้นที่กำหนดประเมินจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient ; r) 2. การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่ต้องการวิเคราะห์ ที่วิธีวิเคราะห์สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ ( limit of detection ; LOD) และ LOQ (limit of quantitation) โดยการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีลักษณะเนื้อสารเหมือนตัวอย่างแต่ไม่มีสารที่ต้องการวิเคราะห์ (sample blank) ค่า LOD ได้จาก 3 เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) หรือรวมกับค่าเฉลี่ยเมื่อตัวอย่างแบบลบล้างมีสัญญาณ ส่วนการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่ต้องการวิเคราะห์ ซึ่งสามารถรายงานปริมาณได้โดยที่มีความแม่นยำ และความเที่ยง (limit of quantitation ; LOQ) โดยทั่วไป LOQ คือ 10 เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน หรือรวมกับค่าเฉลี่ยเมื่อตัวอย่างแบบลบล้างมีสัญญาณยืนยันค่า LOQ ของการวิเคราะห์ ตัวอย่างที่มีปริมาณสารเท่ากับค่า LOQ ต้องได้ผลอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ ความแม่นยำ (accuracy) ประกอบด้วย ความถูกต้อง (trueness) ที่เกิดจากความคลาดเคลื่อนของระบบ กับความเที่ยง (precision) ที่เกิดจากความคลาดเคลื่อนแบบสุ่ม ความถูกต้องจะพิจารณาในรูปแบบของ ความเอนเอียง โดยการเปรียบเทียบผลวิเคราะห์ที่ได้กับค่ารับรองของ วัสดุอ้างอิงรับรอง หรือค่าที่ยอมรับความเที่ยงเป็นการแสดงความใกล้เคียงของผลการวิเคราะห์ตัวอย่างเดียวกันซ้ำ ภายใต้สภาวะทดสอบที่กำหนด สภาวะการหาข้อมูลแบบแรก เป็นการวิเคราะห์ภายใต้สภาวะเดิมทั้งหมด ได้แก่ ตัวอย่าง เครื่องมือ สารเคมี วิธีทดสอบ (repeatability condition) แบบที่สองเป็นการวิเคราะห์ภายใต้สภาวะเดิม ในห้องปฏิบัติการเดิม ในช่วงเวลาหนึ่ง ซึ่งสามารถครอบคลุมการ เปลี่ยนแปลงที่อาจเกิดขึ้น เช่น ผู้ทดสอบ เครื่องมือ สารเคมี (intermediate precision condition) แบบที่สามเป็นสภาวะการวิเคราะห์ตัวอย่างเดิม ต่างห้องปฏิบัติการ การประเมินผลความเที่ยง โดยใช้ HorRat(Horwitz' Ratio) และกำหนดเกณฑ์ยอมรับโดยเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation ; RSD) ที่ได้จากการวิเคราะห์ กับ เปอร์เซ็นต์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ที่ได้จากการคำนวณความเข้มข้นของสาร โดยวิเคราะห์ตัวอย่างที่ทราบค่าแน่นอน หรือวัสดุอ้างอิงรับรอง (certified reference material ; CRM) ที่มีใบรับรอง และสามารถสอบกลับไปยังใบรับรอง หรือเอกสารอื่นใดที่ออกโดยหน่วยงานที่ให้การรับรอง ให้ครอบคลุมระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง ของตัวอย่าง นอกจากนี้ยังมีการพิสูจน์ความแม่นยำ และความเที่ยงในตัวอย่างปุ๋ยที่มีลักษณะของเนื้อสาร (matrix) เดียวกับตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง ลงในตัวอย่าง (Magnusson and Örnemark, 2012) การนำวิธีวิเคราะห์ที่ได้พัฒนาขึ้น หรือวิธีที่ประยุกต์มาจากวิธีวิเคราะห์มาตรฐานที่มีอยู่แล้ว มาใช้ในห้องปฏิบัติการจึงจำเป็นต้องตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ว่ามีความเหมาะสมหรือไม่ก่อนนำมาใช้งาน

### ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

อุปกรณ์และสารเคมี ได้แก่ เครื่อง inductively coupled plasma– optical emission spectrometer (ICP-OES) เครื่องชั่งตัวอย่าง ทศนิยม 4 ตำแหน่งเตาระเหย ไมโครเวฟชนิดห้องปฏิบัติการเดี่ยว เครื่องแก้วและวัสดุอื่นที่ใช้ในการปฏิบัติการวิเคราะห์ก๊าซอาร์กอนชนิดบริสุทธิ์มากกว่าหรือเท่ากับ 99.995%d ก๊าซไนโตรเจนชนิดบริสุทธิ์มากกว่าหรือเท่ากับ 99.999%d กรดไนตริก 69-70 เปอร์เซ็นต์ (HNO<sub>3</sub>), เกรดวิเคราะห์ (AR grade) กรดไฮโดรคลอริก 36-38 เปอร์เซ็นต์ (HCl), เกรดวิเคราะห์ (AR grade) สารละลายมาตรฐานแคลเซียม ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร สารละลายมาตรฐานแมกนีเซียมความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร สารละลายมาตรฐานเหล็กความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร สารละลายมาตรฐานสังกะสีความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร สารละลายมาตรฐานแมงกานีสความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร สารละลายมาตรฐานทองแดงความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร sample blank และ วัสดุอ้างอิงรับรอง (certified reference material)

### วิธีการ

1. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการทดสอบ แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง
  - 1.1. ศึกษาหาช่วงความเป็นเส้นตรงและช่วงการใช้งาน
    - 1.1.1. ชั่งตัวอย่างที่มีเนื้อสารชนิดเดียวกับปุ๋ยแต่ตัวไม่มีสารที่ทดสอบ (Sample blank) น้ำหนัก 0.3xxx กรัม เติมสารมาตรฐาน 7 ระดับความเข้มข้น วิเคราะห์หาปริมาณตามวิธีการวิเคราะห์ แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง
    - 1.1.2. สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน กับค่าความเข้มข้นแสงที่อ่านจากเครื่อง (Reading)
    - 1.1.3. พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรง
    - 1.1.4. เลือกช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง และดำเนินการตามข้อ 2.1.1 – 2.1.3 โดยเติมสารมาตรฐาน 7 ระดับในช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง
    - 1.1.5. คำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เกณฑ์การยอมรับ  $r \geq 0.995$
  - 1.2. ศึกษาหาค่าต่ำสุดที่วิธีวิเคราะห์สามารถวิเคราะห์ได้ (LOD) และค่าต่ำสุดที่สามารถรายงานผลได้ (LOQ)
    - 1.2.1. ชั่งตัวอย่างที่ไม่มีสารที่ทดสอบน้ำหนัก 3.xxxx กรัม
    - 1.2.2. วิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง หาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)
 
$$\text{LOD} = 3 \times S'_0$$

$$\text{LOQ} = 10 \times S'_0$$
    - 1.2.3. พิสูจน์ค่าความถูกต้อง และความเที่ยงของ LOQ ตามข้อ 2.3
  - 1.3. พิสูจน์ค่าความถูกต้อง และความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์โพแทชที่ละลายน้ำในปุ๋ยที่ระดับความเข้มข้นสูง กลาง และ ต่ำ

- 1.3.1. ชั่งตัวอย่างที่ไม่มีสารที่ทดสอบและชั่ง CRM ความเข้มข้นสูง กลาง และต่ำ เติมน้ำลงไปพร้อมกับทำตัวอย่างที่ไม่มีสารที่ทดสอบ
- 1.3.2. วิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง ระดับความเข้มข้นละไม่ต่ำกว่า 10 ซีซี
- 1.3.3. ประเมินความถูกต้อง โดยเปรียบเทียบค่าที่ได้กับค่ารับรองของ CRM โดยมีเกณฑ์การยอมรับ % Recovery ตาม AOAC, 2016
- 1.3.4. ประเมินความเที่ยงโดย HorRat (Horwitz's Ratio) เกณฑ์การยอมรับน้อยกว่า 1.3
2. ศึกษาผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสถานะและสิ่งแวดล้อมของวิธีการย่อยตัวอย่างด้วยเครื่องไมโครเวฟชนิดห้องปฏิกิริยาเดี่ยว (Single Reaction Chamber; SRC) ด้วยการทดสอบ Ruggedness 7 ตัวแปร
  - 2.1. สถานะการทดสอบปกติที่เวลา 30 นาที กับสถานะที่เปลี่ยนแปลง 35 นาที
  - 2.2. สถานะการทดสอบปกติที่ภาชนะบรรจุตัวอย่างเป็นแก้ว กับภาชนะบรรจุตัวอย่างเป็นพลาสติก
  - 2.3. สถานะการทดสอบปกติที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส กับสถานะที่เปลี่ยนแปลงที่อุณหภูมิ 220 องศาเซลเซียส
  - 2.4. สถานะการทดสอบปกติใช้ปริมาตรกรด  $\text{HNO}_3$  :  $\text{HCl}$  (1:3) กับสถานะที่เปลี่ยนแปลงใช้ปริมาตรกรด  $\text{HNO}_3$  :  $\text{HCl}$  (2:3)
  - 2.5. สถานะการทดสอบปกติเติมกรด  $\text{HNO}_3$  :  $\text{HCl}$  (1:3) แล้วตั้งทิ้งไว้ 5 นาที กับสถานะที่เปลี่ยนแปลง เติมกรด  $\text{HNO}_3$  :  $\text{HCl}$  (1:3) แล้วตั้งทิ้งไว้ 30 นาที
  - 2.6. สถานะการทดสอบปกติที่ภาชนะบรรจุตัวอย่างขนาด 15 มิลลิลิตร กับภาชนะบรรจุตัวอย่างขนาด 50 มิลลิลิตร
  - 2.7. สถานะการทดสอบปกติที่ความดัน 120 บาร์ กับสถานะที่เปลี่ยนแปลง ที่ความดัน 130 บาร์

คำนวณผลต่างตามค่าสัมบูรณ์ (E) และพิจารณาค่า E ดังนี้

กรณี  $E$  มากกว่า  $\sqrt{2} \times S$  : significant sensitive for changes

$E$  น้อยกว่า  $\sqrt{2} \times S$  : no significant sensitive for changes

โดย  $S = \sqrt{2/7x \Sigma(E^2)}$
3. การหาค่าความไม่แน่นอน
  - 3.1. รวบรวมแหล่งที่มาของความไม่แน่นอน ได้แก่ calibration curve, dilution factor, instrument, bias, precision, weight sample และ concentration ของแต่ละวิธีทดสอบ
  - 3.2. คำนวณความไม่แน่นอนของแต่ละแหล่ง
  - 3.3. รวมความไม่แน่นอนจากทุกแหล่ง (combined) ที่ระดับ ต่ำ กลาง สูง จากการย่อยด้วยเตาระเหยไฟฟ้า และเทคนิคไมโครเวฟ ของแต่ละวิธีทดสอบ
4. วิเคราะห์ความคุ้มค่าโดยเปรียบเทียบ ระยะเวลาการวิเคราะห์ ขั้นตอนการวิเคราะห์ที่เปลี่ยนแปลง ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ และต้นทุนการวิเคราะห์ โดยใช้หลักการของ cost benefit analysis ดังนี้
  - 4.1. การประเมินทางด้านค่าใช้จ่าย ได้แก่ ความเสื่อมสภาพของเครื่องมือ เครื่องแก้ว วัสดุ วิทยาศาสตร์ และสารเคมี

- 4.2. การประเมินผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม
- 4.3. การประเมินทางด้านกรอบเวลา
- 4.4. การประเมินด้านความถูกต้อง แม่นยำ

ระยะเวลา เริ่มต้น ต.ค. 2558 สิ้นสุด ก.ย. 2561

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี  
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

### ผลการวิจัย (Results)

1. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการทดสอบ แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง
  - 1.1. ช่วงใช้งานที่เป็นเส้นตรง (Working and linear ranges) ได้ผลการทดลองดังนี้
    - 1.1.1. แคลเซียม ครอบคลุมช่วงความเข้มข้น 0.5, 1, 10, 40, 100, 200, 250 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.999972 และ 0.999985 ตามลำดับ
    - 1.1.2. แมกนีเซียม ครอบคลุมช่วงความเข้มข้น 0.5, 1, 10, 30, 50, 80, 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.999980 และ 0.999951 ตามลำดับ
    - 1.1.3. เหล็ก ครอบคลุมช่วงความเข้มข้น 0.05, 1, 10, 30, 50, 80, 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.999985 และ 0.999964 ตามลำดับ
    - 1.1.4. สังกะสี ครอบคลุมช่วงความเข้มข้น 0.05, 1, 10, 30, 50, 80, 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.999924 และ 0.999959 ตามลำดับ
    - 1.1.5. แมงกานีส ครอบคลุมช่วงความเข้มข้น 0.05, 1, 10, 30, 50, 80, 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.999950 และ 0.999985 ตามลำดับ
    - 1.1.6. ทองแดง ครอบคลุมช่วงความเข้มข้น 0.05, 1, 10, 30, 50, 80, 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.999904 และ 0.999908 ตามลำดับ
  - 1.2. ประมาณ limit of detection (LOD) และ limit of quantitation (LOQ) จากการย่อยด้วย เตาระเหยไฟฟ้า และเทคนิคไมโครเวฟ ได้ผลการวิเคราะห์ดังนี้
    - 1.2.1. แคลเซียมได้ค่า LOD 48.44, 50.19 ได้ค่า LOQ 79.45, 83.59 ตามลำดับ
    - 1.2.2. แมกนีเซียมได้ค่า LOD 15.30, 16.96 ได้ค่า LOQ 46.48, 43.82 ตามลำดับ
    - 1.2.3. เหล็กได้ค่า LOD 3.44, 1.52 ได้ค่า LOQ 7.63, 5.11 ตามลำดับ
    - 1.2.4. สังกะสีได้ค่า LOD 3.09, 3.27 ได้ค่า LOQ 10.30, 10.90ตามลำดับ
    - 1.2.5. แมงกานีสได้ค่า LOD 3.47, 3.34 ได้ค่า LOQ 10.25, 10.04ตามลำดับ
    - 1.2.6. ทองแดงได้ค่า LOD 1.23, 1.08 ได้ค่า LOQ 4.10, 3.60ตามลำดับ
  - 1.3. พิสูจน์ค่าความถูกต้องและความเที่ยงที่ระดับความเข้มข้น LOQ ได้ผลการวิเคราะห์ ดังนี้
    - 1.3.1. แคลเซียมจากการย่อยด้วยเตาระเหยไฟฟ้าและเทคนิคไมโครเวฟ โดยการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรองได้ค่า %recovery เท่ากับ 102.64, 98.82 และค่า HorRat เท่ากับ 0.70, 1.23 ตามลำดับ พิสูจน์ LOQ โดยการวิเคราะห์ sample blank ที่

- เติมวัสดุอ้างอิงรับรอง ได้ค่า %recovery เท่ากับ 105.03, 100.41 และค่า HorRat เท่ากับ 1.14, 1.04 ตามลำดับ
- 1.3.2. แมกนีเซียมจากการย่อยด้วยเตาระเหยไฟฟ้าและเทคนิคไมโครเวฟ โดยการวิเคราะห์ วัสดุอ้างอิงรับรองได้ค่า %recovery เท่ากับ 106.41, 105.40 และค่า HorRat เท่ากับ 0.74, 0.33 ตามลำดับ พิสูจน์ LOQ โดยการวิเคราะห์ sample blank ที่เติมวัสดุอ้างอิงรับรอง ได้ค่า %recovery เท่ากับ 106.79, 106.53 และค่า HorRat เท่ากับ 1.13, 1.02 ตามลำดับ
  - 1.3.3. เหล็กจากการย่อยด้วยเตาระเหยไฟฟ้าและเทคนิคไมโครเวฟ โดยการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรองได้ค่า %recovery เท่ากับ 106.66, 103.30 และค่า HorRat เท่ากับ 0.86, 0.46ตามลำดับ พิสูจน์ LOQ โดยการวิเคราะห์ sample blank ที่เติมวัสดุอ้างอิงรับรอง ได้ค่า %recovery เท่ากับ 108.03, 103.96 และค่า HorRat เท่ากับ 0.58, 0.52 ตามลำดับ
  - 1.3.4. สังกะสีจากการย่อยด้วยเตาระเหยไฟฟ้าและเทคนิคไมโครเวฟ โดยการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรองได้ค่า %recovery เท่ากับ 105.91, 105.18 และค่า HorRat เท่ากับ 0.34, 0.63 ตามลำดับ พิสูจน์ LOQ โดยการวิเคราะห์ sample blank ที่เติมวัสดุอ้างอิงรับรอง และค่า %recovery เท่ากับ 104.50, 105.96 ได้ค่า HorRat เท่ากับ 0.43, 0.51 ตามลำดับ
  - 1.3.5. แมงกานีสจากการย่อยด้วยเตาระเหยไฟฟ้าและเทคนิคไมโครเวฟ โดยการวิเคราะห์ วัสดุอ้างอิงรับรองได้ค่า %recovery เท่ากับ 99.65, 97.53 และค่า HorRat เท่ากับ 0.09, 0.08ตามลำดับ พิสูจน์ LOQ โดยการวิเคราะห์ sample blank ที่เติมวัสดุอ้างอิงรับรอง ได้ค่า %recovery เท่ากับ 99.52, 97.57 และค่า HorRat เท่ากับ 0.21, 0.07 ตามลำดับ
  - 1.3.6. ทองแดงจากการย่อยด้วยเตาระเหยไฟฟ้าและเทคนิคไมโครเวฟ โดยการวิเคราะห์ วัสดุอ้างอิงรับรองได้ค่า %recovery เท่ากับ 92.67, 97.88 และค่า HorRat เท่ากับ 0.18, 0.36 ตามลำดับ พิสูจน์ LOQ โดยการวิเคราะห์ sample blank ที่เติมวัสดุอ้างอิงรับรอง ได้ค่า %recovery เท่ากับ 93.40, 96.11 และค่า HorRat เท่ากับ 0.31, 0.30 ตามลำดับ
- 1.4. พิสูจน์ความถูกต้องและความเที่ยงที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง สูง ( Trueness and precision) ได้ผลการวิเคราะห์ดังนี้
- 1.4.1. แคลเซียมจากการย่อยด้วยเตาระเหยไฟฟ้าและเทคนิคไมโครเวฟ โดยการวิเคราะห์ วัสดุอ้างอิงรับรองที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง สูง ได้ค่า %recovery เท่ากับ 102.47, 98.89, 101.74 ได้ค่า HorRat เท่ากับ 0.72, 0.37, 0.45ตามลำดับ โดยการวิเคราะห์ sample blank ที่เติมวัสดุอ้างอิงรับรอง ได้ค่า %recovery เท่ากับ 102.93, 99.79, 99.56 ได้ค่า HorRat เท่ากับ 0.63, 0.33, 0.19 ตามลำดับและเทคนิคไมโครเวฟโดยการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรองได้ค่า %recovery เท่ากับ 101.55, 98.82, 100.82 ได้ค่า HorRat เท่ากับ 0.25, 1.02, 0.32ตามลำดับ โดยการวิเคราะห์ sample blank ที่เติมวัสดุอ้างอิงรับรอง ได้ค่า %recovery เท่ากับ 101.69, 98.44, 99.88 ได้ค่า HorRat เท่ากับ 0.18, 0.29, 0.39 ตามลำดับ

- 1.4.2. แมกนีเซียมจากการย่อยด้วยเตาระเหยไฟฟ้าและเทคนิคไมโครเวฟ โดยการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรองที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง สูง ได้ค่า %recovery เท่ากับ 101.68, 100.55, 100.17 ได้ค่า HorRat เท่ากับ 0.45, 0.19, 0.31 ตามลำดับ โดยการวิเคราะห์ sample blank ที่เติมวัสดุอ้างอิงรับรอง ได้ค่า %recovery เท่ากับ 101.45, 100.78, 101.75 ได้ค่า HorRat เท่ากับ 0.30, 0.19, 0.41 ตามลำดับและเทคนิคไมโครเวฟโดยการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรองได้ค่า %recovery เท่ากับ 101.17, 99.50, 101.62 ได้ค่า HorRat เท่ากับ 0.23, 0.22, 0.51 ตามลำดับ โดยการวิเคราะห์ sample blank ที่เติมวัสดุอ้างอิงรับรอง ได้ค่า %recovery เท่ากับ 101.73, 100.55, 101.70 ได้ค่า HorRat เท่ากับ 0.29, 0.14, 0.38 ตามลำดับ
- 1.4.3. เหล็กจากการย่อยด้วยเตาระเหยไฟฟ้าและเทคนิคไมโครเวฟ โดยการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรองที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง สูง ได้ค่า %recovery เท่ากับ 98.27, 98.15, 98.15 ได้ค่า HorRat เท่ากับ 0.39, 0.33, 0.34 ตามลำดับ โดยการวิเคราะห์ sample blank ที่เติมวัสดุอ้างอิงรับรอง ได้ค่า %recovery เท่ากับ 98.41, 98.48, 98.18 ได้ค่า HorRat เท่ากับ 0.39, 0.20, 0.48 ตามลำดับและเทคนิคไมโครเวฟโดยการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรองได้ค่า %recovery เท่ากับ 98.36, 98.09, 98.38 ได้ค่า HorRat เท่ากับ 0.63, 0.19, 0.69 ตามลำดับ โดยการวิเคราะห์ sample blank ที่เติมวัสดุอ้างอิงรับรอง ได้ค่า %recovery เท่ากับ 98.80, 98.14, 100.23 ได้ค่า HorRat เท่ากับ 0.27, 0.14, 0.85 ตามลำดับ
- 1.4.4. สังกะสีจากการย่อยด้วยเตาระเหยไฟฟ้าและเทคนิคไมโครเวฟ โดยการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรองที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง สูง ได้ค่า %recovery เท่ากับ 99.32, 101.31, 101.98 ได้ค่า HorRat เท่ากับ 0.26, 0.61, 0.89 ตามลำดับ โดยการวิเคราะห์ sample blank ที่เติมวัสดุอ้างอิงรับรอง ได้ค่า %recovery เท่ากับ 98.28, 101.76, 101.81 ได้ค่า HorRat เท่ากับ 0.12, 0.23, 0.96 ตามลำดับและเทคนิคไมโครเวฟโดยการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรองได้ค่า %recovery เท่ากับ 98.04, 101.78, 101.31 ได้ค่า HorRat เท่ากับ 0.34, 0.49, 0.62 ตามลำดับ โดยการวิเคราะห์ sample blank ที่เติมวัสดุอ้างอิงรับรอง ได้ค่า %recovery เท่ากับ 98.22, 101.08, 101.24 ได้ค่า HorRat เท่ากับ 0.15, 0.23, 0.54 ตามลำดับ
- 1.4.5. แมงกานีสจากการย่อยด้วยเตาระเหยไฟฟ้าและเทคนิคไมโครเวฟ โดยการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรองที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง สูง ได้ค่า %recovery เท่ากับ 98.42, 99.57, 98.73 ได้ค่า HorRat เท่ากับ 0.28, 0.33, 0.23 ตามลำดับ โดยการวิเคราะห์ sample blank ที่เติมวัสดุอ้างอิงรับรอง ได้ค่า %recovery เท่ากับ 98.29, 99.65, 99.48 ได้ค่า HorRat เท่ากับ 0.27, 0.30, 0.29 ตามลำดับและเทคนิคไมโครเวฟโดยการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรองได้ค่า %recovery เท่ากับ 98.20, 99.14, 99.99 ได้ค่า HorRat เท่ากับ 0.32, 0.64, 0.37 ตามลำดับ โดยการวิเคราะห์ sample blank ที่เติมวัสดุอ้างอิงรับรอง ได้ค่า %recovery เท่ากับ 98.29, 98.10, 99.68 ได้ค่า HorRat เท่ากับ 0.24, 0.27, 0.28 ตามลำดับ
- 1.4.6. ทองแดงจากการย่อยด้วยเตาระเหยไฟฟ้าและเทคนิคไมโครเวฟ โดยการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรองที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง สูง ได้ค่า %recovery เท่ากับ

100.63, 101.46, 98.77 ได้ค่า HorRat เท่ากับ 0.18, 0.38, 0.44ตามลำดับ โดย  
การวิเคราะห์ sample blank ที่เติมวัสดุอ้างอิงรับรอง ได้ค่า %recovery เท่ากับ  
102.69, 100.79, 98.28 ได้ค่า HorRat เท่ากับ 0.21, 0.25, 0.51 ตามลำดับและ  
เทคนิคไมโครเวฟโดยการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรองได้ค่า %recovery เท่ากับ  
100.93, 99.75, 98.26 ได้ค่า HorRat เท่ากับ 0.25, 0.32, 0.32ตามลำดับ โดยการ  
วิเคราะห์ sample blank ที่เติมวัสดุอ้างอิงรับรอง ได้ค่า %recovery เท่ากับ  
101.80, 99.72, 98.35 ได้ค่า HorRat เท่ากับ 0.24, 0.23, 0.33 ตามลำดับ

2. ศึกษาผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสถานะและสิ่งแวดล้อมของวิธีการย่อยตัวอย่างด้วยเครื่อง  
ไมโครเวฟชนิดห้องปฏิกิริยาเดี่ยว (Single Reaction Chamber; SRC) ด้วยการทดสอบ  
Ruggedness 7 ตัวแปร ตามตารางที่ 1 จำนวน 8 การทดลอง ตามตารางที่ 2 โดยใช้  
Youden-Steiner testing ในการประเมิน พบว่าผลต่างตามค่าสัมบูรณ์ของธาตุแคลเซียม  
แมกนีเซียม เหล็ก สังกะสี แมงกานีส และทองแดง มีค่าน้อยกว่า  $\sqrt{2} \times S$  (ตารางที่ 3) แสดงว่า ไม่  
มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสถานะ และสิ่งแวดล้อมของการทดสอบดังกล่าว

**ตารางที่ 1** สถานะการทดสอบที่มีตัวแปร 7 ตัวแปร

ตัวแปร	สถานะการทดสอบปกติ (A-G)	สถานะที่เปลี่ยนแปลง (a-g)
A : เวลา (นาที)	30	35
B : ภาชนะบรรจุตัวอย่าง	แก้ว	พลาสติก
C : อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	200	220
D : ปริมาณกรด HNO <sub>3</sub> : HCl (มิลลิลิตร)	(1:3)	(2:3)
E : ตั้งทิ้งไว้หลังจากเติมกรด HNO <sub>3</sub> : HCl (1:3) (นาที)	5	30
F : ขนาดภาชนะบรรจุตัวอย่าง (มิลลิลิตร)	15	50
G : ความดัน (บาร์)	120	130

**ตารางที่ 2** สถานะการทดสอบที่มีตัวแปร 7 ตัวแปรจำนวน 8 การทดลอง

การทดลอง	สถานะที่วัด	รายละเอียดสถานะ
1	A B C D E F G	30 min/glass/200°C/(1:3)/5 min/15ml/120bar
2	A B c D e f g	30 min/glass/220°C/(1:3)/30 min/50ml/130bar
3	A B C D E f g	30 min/plastic/200°C/(2:3)/5 min/50ml/130bar
4	A B c D e F G	30 min/plastic /220°C/(2:3)/30 min/15ml/120bar
5	A B C D e F g	35 min/glass/200°C/(2:3)/30 min/15ml/130bar
6	A B c D E f g	35 min/glass/220°C/(2:3)/5 min/50ml/120bar
7	A B C D e f G	35 min/plastic /200°C/(1:3)/30 min/50ml/120bar
8	A B c D E F g	35 min/plastic /220°C/(1:3)/5 min/15ml/130bar

**ตารางที่ 3** ผลต่างของผลการทดสอบแคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก สังกะสี แมงกานีส และ  
ทองแดง จากการเปลี่ยนแปลงตัวแปรต่างๆ 7 ตัวแปร

สูตรการคำนวณ	ผลต่างตามค่าสัมบูรณ์					
	Ca	Mg	Fe	Zn	Mn	Cu
$E_A = \left[ \frac{R1+R2+R3+R4}{4} \right] - \left[ \frac{R5+R6+R7+R8}{4} \right]$	0.0125	0.0050	-0.040	0.0023	0.0010	0.0006
$E_B = \left[ \frac{R1+R2+R5+R6}{4} \right] - \left[ \frac{R3+R4+R7+R8}{4} \right]$	-0.0275	-0.0050	-0.005	0.0028	-0.0005	-0.0011

สูตรการคำนวณ	ผลต่างตามค่าสัมบูรณ์					
	Ca	Mg	Fe	Zn	Mn	Cu
$E_C = \left[ \frac{R1+R2+R5+R7}{4} \right] - \left[ \frac{R3+R4+R6+R8}{4} \right]$	-0.0225	0.0100	0.010	0.0023	-0.0015	-0.0005
$E_D = \left[ \frac{R1+R2+R7+R8}{4} \right] - \left[ \frac{R3+R4+R5+R6}{4} \right]$	0.0125	0.0100	-0.020	0.0028	-0.0010	-0.0002
$E_E = \left[ \frac{R1+R3+R6+R8}{4} \right] - \left[ \frac{R2+R4+R5+R7}{4} \right]$	0.0275	-0.0050	-0.020	0.0003	0.0015	0.0006
$E_F = \left[ \frac{R1+R4+R5+R8}{4} \right] - \left[ \frac{R2+R3+R6+R7}{4} \right]$	0.0275	-0.0050	-0.045	-0.0033	0.0010	-0.0004
$E_G = \left[ \frac{R1+R4+R6+R7}{4} \right] - \left[ \frac{R2+R3+R5+R6}{4} \right]$	0.0150	-0.0050	0.000	-0.0018	-0.0018	-0.0002
S	0.0284	0.0099	0.0361	0.0037	0.0018	0.0008
$\sqrt{2} \times S$	0.0402	0.0140	0.0510	0.0053	0.0025	0.0011

3. ประเมินค่าความไม่แน่นอน ที่ระดับ ต่ำ กลาง สูงของ การทดสอบ แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก สังกะสี แมงกานีส และทองแดง พบว่าได้ค่าความไม่แน่นอนจากการย่อยด้วยเตาระเหยไฟฟ้า และเทคนิคไมโครเวฟ ใกล้เคียงกัน ตามตารางที่ 4

**ตารางที่ 4** ค่าความไม่แน่นอน ต่ำ กลาง สูง จากการย่อย ด้วยเตาระเหยไฟฟ้า และเทคนิคไมโครเวฟ ของ แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก สังกะสี แมงกานีส และทองแดง

element	Uncertainty					
	ย่อยด้วยเตาระเหยไฟฟ้า			ย่อยด้วยเทคนิคไมโครเวฟ		
	ต่ำ	กลาง	สูง	ต่ำ	กลาง	สูง
Ca	0.97±0.09	21.37±0.39	36.87±0.81	0.96±0.09	21.08±0.37	36.98±0.85
Mg	1.82±0.12	12.80±0.23	49.73±1.04	1.82±0.13	12.77±0.25	49.70±1.13
Fe	2.04±0.07	10.46±0.22	28.81±0.54	2.05±0.08	10.42±0.23	29.36±0.73
Zn	0.319±0.032	39.50±0.69	57.51±1.41	0.319±0.059	39.24±0.82	57.19±1.17
Mn	0.300±0.066	14.40±0.41	22.07±0.51	0.300±0.027	14.18±0.27	22.11±0.40
Cu	0.126±0.052	10.80±0.27	57.73±1.15	0.125±0.044	10.68±0.24	57.77±1.06

4. เปรียบเทียบความคุ้มค่าของการทดสอบ และวิเคราะห์ปัจจัยที่ส่งผลต่อความคุ้มค่า สำหรับการย่อยตัวอย่างด้วยเตาระเหยไฟฟ้า และเทคนิคไมโครเวฟ โดยพิจารณาหลักการของ cost benefit analysis ดังนี้
- 4.1. ด้านค่าใช้จ่าย ได้แก่ ความเสื่อมสภาพของเครื่องมือ เครื่องแก้ว วัสดุวิทยาศาสตร์ และสารเคมีพบว่าการย่อยด้วยเตาระเหยไฟฟ้ามีค่าใช้จ่าย 15.57 บาทต่อตัวอย่าง การย่อยตัวอย่างด้วยเครื่องไมโครเวฟมีค่าใช้จ่าย 10.47 บาทต่อตัวอย่าง
  - 4.2. ด้านผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมพบว่าการย่อยด้วยเตาระเหยไฟฟ้าใช้กรดปริมาณ 40 มิลลิลิตรต่อตัวอย่างการย่อยตัวอย่างด้วยเครื่องไมโครเวฟ ใช้กรดปริมาณ 4.33 มิลลิลิตรต่อตัวอย่าง
  - 4.3. ด้านรอบเวลาการย่อยตัวอย่างทั้ง 2 แบบ ได้ปริมาณตัวอย่าง 90 ตัวอย่างต่อวัน เท่ากัน
  - 4.4. ด้านความถูกต้อง แม่นยำ การย่อยตัวอย่างทั้ง 2 แบบมีความถูกต้อง แม่นยำ (AOAC, 2016)

**สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)**



การเตรียมตัวอย่างด้วยเตาระเหยไฟฟ้า และเทคนิคไมโครเวฟ เมื่อเปรียบเทียบด้านค่าใช้จ่าย ต่อตัวอย่างพบว่า การเตรียมตัวอย่างด้วย เตาระเหยไฟฟ้ามีค่าใช้จ่ายมากกว่า 5.10 บาทต่อตัวอย่าง ด้านผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม การเตรียมตัวอย่างด้วย เตาระเหยไฟฟ้า ใช้ปริมาณกรดมากกว่า 10 เท่า ด้านกรอบเวลา ปริมาณตัวอย่างที่ได้ต่อวันเท่าเทียมกัน ด้านความถูกต้อง แม่นยำ สำหรับทดสอบหา ปริมาณ แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก สังกะสี แมงกานีส และทองแดง สามารถใช้ในการเตรียม ตัวอย่างเพื่อทดสอบหาปริมาณธาตุดังกล่าวได้โดยไม่เกิดการสูญหาย โดยพิจารณาจากค่าร้อยละของ การคืนกลับและค่า HorRat อยู่ในเกณฑ์ยอมรับ (AOAC, 2016) ซึ่งการย่อยตัวอย่างด้วย เตาระเหย ไฟฟ้ามีข้อดีคือวิธีการย่อย ไม่ยุ่งยากซับซ้อน ข้อเสียคือ ระบบตู้ดูดไอกรดต้องมีประสิทธิภาพเพราะใช้ ปริมาณกรดมากกว่า ใช้แรงงานมาก โอกาสเกิดการปนเปื้อนได้ง่าย เกิดการสูญหายของสารที่ระเหย ได้ถ้าการควบคุมอุณหภูมิเตาระเหยไฟฟ้าไม่เหมาะสม ส่วน การย่อยตัวอย่างด้วย เทคนิคไมโครเวฟ มี ข้อดีคือ ใช้แรงงานน้อย ไม่สิ้นเปลืองสารเคมี โอกาสเกิดการปนเปื้อนน้อย แต่ก็มีข้อเสียคือ อุปกรณ์มี ราคาสูง น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้มีขีดจำกัด

### พัฒนารีวิววิเคราะห์ความชื้นในปุ๋ยเคมีชนิดต่างๆ

#### Development on Analysis of Moisture in Chemical Fertilizers

ศุภากร ดวนใหญ่ ทองจันทร์ พิมพ์เพชร อารีรัตน์ วงศ์สุวรรณ

Supakorn Duanyai Thongchan Pimpet Areerat Wongsuwan

#### คำสำคัญ (Keywords)

ความชื้น ปุ๋ยเคมี

Moisture Chemical fertilizer

#### บทคัดย่อ(Abstract)

พัฒนารีวิววิเคราะห์ความชื้นในปุ๋ยเคมีชนิดต่างๆ โดย ประกอบด้วย 3 เทคนิค ได้แก่เทคนิคที่ 1 เทคนิค Inhouse method ดัดแปลงจาก AOAC Official Method 950.01 (Oven drying) เทคนิคที่ 2 เทคนิค Vacuum-Desiccation Methods 965.08 A. Method I (Vacuum desiccator) และเทคนิคที่ 3 เทคนิค Vacuum-Desiccation Methods 965.08 B. Method II (Vacuum oven) พบว่าปุ๋ยเชิงผสมแบบคลุกเคล้าปุ๋ยเชิงผสมแบบปั้นเม็ด ปุ๋ยเชิงผสมแบบเกล็ด ปุ๋ย เชิงเดี่ยวและเชิงประกอบมีค่าความชื้นของตัวอย่างปุ๋ยทั้ง 3 เทคนิคมีค่าความชื้นไปในทิศทางเดียวกัน คือมีค่าความชื้นไม่เกิน 3 เปอร์เซ็นต์ตามมาตรฐานพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 จากการวิเคราะห์ สารตัวเติมและตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบคลุกเคล้า ที่มีปริมาณธาตุอาหารรับรอง สูตรต่ำ กลาง และเข้มข้น พบว่า ความชื้นของสารตัวเติม เมื่อเปรียบเทียบกันทั้ง 3 เทคนิค ได้ค่า  $t_{Stat} > t_{Critical}$  แสดงว่าค่า ความชื้นเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ทั้ง 3 เทคนิค แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และจากการวิเคราะห์ทั้ง 3 เทคนิค พบว่าปุ๋ยเคมีแบบคลุกเคล้า สูตรต่ำมีความชื้นมากกว่า สูตรกลาง และสูตรสูง เนื่องมาจากปุ๋ยสูตรต่ำมีปริมาณสารตัวเติมมากกว่าสูตรกลาง และสูตรเข้มข้น ดังนั้นสารตัวเติมจึงมีความสำคัญในการผลิตปุ๋ยเคมีเชิงผสมแบบคลุกเคล้า และตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่มี

โมเลกุลของน้ำเป็นส่วนประกอบ เช่น คอปเปอร์ซัลเฟต ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) เฟอรัสซัลเฟต ( $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) แมกนีเซียมซัลเฟต ( $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) ซิงค์ซัลเฟต ( $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) บอแรกซ์ ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) กรดบอริก (Boric acid) แคลเซียมไนเตรท ( $5\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{NH}_4\text{NO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ) แมกนีเซียมไนเตรท ( $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) แคลเซียมไฮดรอกไซด์ ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) เมื่อนำตัวอย่างปุ๋ยเม็ดดังกล่าวมาทดสอบทั้ง 3 เทคนิค พบว่า ลักษณะของตัวอย่างเปลี่ยนแปลง เช่น สีเปลี่ยนไปจากสีเดิม ปุ๋ยบางส่วนละลาย

ปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (Limit of Detection; LOD) และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ (Limit of Quantitation; LOQ) เทคนิคที่ 1 LOD เท่ากับ 0.037% LOQ เท่ากับ 0.072%, เทคนิคที่ 2 LOD เท่ากับ 0.004% LOQ เท่ากับ 0.046% และเทคนิคที่ 3 LOD เท่ากับ 0.062% LOQ เท่ากับ 0.139% การหาความเที่ยง ของตัวอย่างปุ๋ยที่มีความชื้นต่ำ กลาง และสูง ของ 3 เทคนิค พบว่า เทคนิคที่ 1 มีค่าความเที่ยงมากกว่าเทคนิคที่ 2 และเทคนิคที่ 3 และทั้ง 3 เทคนิคเหมาะสำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างปุ๋ยเคมี แต่วิธีวิเคราะห์ความชื้นทั้ง 3 เทคนิคยังไม่เหมาะสม สำหรับตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่มีโมเลกุลของน้ำเป็นส่วนประกอบและปุ๋ยกลุ่มไนเตรท

The purpose this study was to development on analysis of moisture in chemical fertilizers. This study was composed of 3 methods. Method I; Inhouse method base on AOAC Official Method 950.01 (Oven drying). Method II; Vacuum-Desiccation Methods 965.08 A. Method I (Vacuum desiccator). And method III; Vacuum-Desiccation Methods 965.08 B. Method II (Vacuum oven). This study found that bulk blending fertilizer, compaction granulation fertilizer, scales fertilizer, single fertilizer and compound fertilizer. Three methods was moisture less than 3%. Follow up Fertilizer act B.E.2518 amended by fertilizer act (No.2) B.E.2550. Method I had most precision. Analysis filler and bulk blending fertilizer was low analysis fertilizer, medium analysis fertilizer and concentrated fertilizer. Found three method was moisture of filler  $t$  Stat >  $t$  Critical. Method had also statistically significant effect on moisture ( $p \leq 0.05$ ). Bulk blending fertilizer was low analysis fertilizer had moisture more than medium analysis fertilizer and concentrated fertilizer. Because low analysis fertilizer had filler quantity is greater than medium analysis fertilizer and concentrated fertilizer. So filler content is important to bulk blending fertilizer manufacturers. Chemical fertilizers had contain of water such as copper sulfate ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), ferrus sulfate ( $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ), magnesium sulfate ( $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), zinc sulfate ( $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ), borax ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), Boric acid, calcium nitrate ( $5\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{NH}_4\text{NO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ), magnesium nitrate ( $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), calcium hydroxide ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ). Test 3 methods found characteristics of the sample changed. Such as color and some soluble.

Limit of Detection (LOD) and Limit of Quantitation (LOQ). Method I 1 LOD had 0.037, LOQ had 0.072, Method II LOD had 0.004, LOQ had 0.046 and Method III LOD had 0.062, LOQ had 0.13. Precision was sample fertilizer had low, medium and high

moisture. Found method I had precision more than methodII and methodIII. And three methods was improper for chemical fertilizers had contained of water

## บทนำ (Introduction)

ความชื้นในปุ๋ยเป็นสมบัติที่สำคัญประการหนึ่ง ซึ่งมีความสำคัญต่อการผลิต ลูกค้า เจ้าหน้าที่ที่กำกับดูแล สูตรปุ๋ย และเกษตรกร ดังนั้นวิธีการวิเคราะห์ความชื้นในปุ๋ย จึงมีความสำคัญเพื่อให้ค่าวิเคราะห์ที่ได้มีความเชื่อถือ ( IFA, 2014) การวิเคราะห์ความชื้นในปุ๋ย มีบทบาทสำคัญในการควบคุมคุณภาพของปุ๋ยที่ผลิต หรือนำเข้า เพื่อให้เกษตรกรมีความมั่นใจในคุณภาพของปุ๋ยที่นำไปใช้ การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ความชื้นในปุ๋ยให้มีความเหมาะสมตรงตามวัตถุประสงค์การใช้งานและประเภทของปุ๋ย เป็นการยืนยันถึงวิธีการที่นำมาใช้ตรวจสอบว่าให้ผลวิเคราะห์ที่มีความถูกต้องแม่นยำ น่าเชื่อถือ และเป็นที่ยอมรับในระดับสากล (ISO/IEC 17025, 2005) ปัจจุบันห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ยใช้วิธีการวิเคราะห์ความชื้นที่พัฒนา (Inhouse method) จากวิธีการของ AOAC Official Method (ปิยะรัตน์, 2550) โดยใช้ตู้อบอากาศร้อนแบบธรรมดา (Hot air oven) ที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เวลา 20 ชั่วโมงเนื่องจากตัวอย่างปุ๋ยที่ส่งมาวิเคราะห์มีหลากหลายประเภท ซึ่งวิธีการที่ใช้อยู่ในปัจจุบันไม่เหมาะสมกับตัวอย่างปุ๋ยบางประเภท ทำให้ตัวอย่างเสียหาย ค่าวิเคราะห์ผิดพลาด หรือได้ผลทดสอบที่ไม่แน่นอน จนไม่สามารถทำการทดสอบและออกรายงานผลได้ ซึ่งอาจมาจากลักษณะเฉพาะของตัวอย่างปุ๋ย เช่น จุดหลอมเหลวต่ำ เป็นสารดูดซับความชื้น หรือมีโมเลกุลของน้ำเป็นส่วนประกอบผู้วิจัยจึงทำการศึกษาและพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ความชื้นในตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่เหมาะสม โดยใช้ Vacuum-Desiccation Method เป็นวิธีมาตรฐาน AOAC Official Method 965.08 (George and Latimer, 2016) ซึ่งวิธี Vacuum-Desiccation Method เป็นวิธีวิเคราะห์ความชื้นในสภาวะความดันบรรยากาศ (9-21 นิ้ว) อุณหภูมิต่ำและเวลาที่กำหนด ซึ่งการใช้ อุณหภูมิต่ำช่วยลดการเปลี่ยนแปลงสภาพของตัวอย่างปุ๋ยได้ เนื่องจากห้องปฏิบัติการไม่มีและไม่สามารถจัดหาวัสดุอ้างอิงรับรอง หรือวัสดุอ้างอิงที่ระบุค่าความถูกต้องของเปอร์เซ็นต์ความชื้นกับค่าความไม่แน่นอน เพื่อนำไปตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการโดยตรง ดังนั้นผู้วิจัยจึงทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของวิธีที่ทดสอบที่แตกต่างกัน (Paired t-test)

## ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

เครื่องมืออุปกรณ์และสารเคมี ได้แก่ ตัวอย่างปุ๋ยเคมีตัวอย่างปุ๋ยเชิงผสมแบบคลุกเคล้า ปุ๋ยเชิงผสมแบบปั้นเม็ด ปุ๋ยเชิงผสมแบบเกล็ด ปุ๋ยเชิงเดี่ยวและเชิงประกอบจำนวน 40 สูตรตัวอย่าง ปุ๋ยเชิงเดี่ยวและเชิงประกอบ สูตร 46-0-0 , 0-0-60 และ 18-46-0 ตัวอย่างปุ๋ยที่มีความชื้นอยู่ในระดับต่ำ สูตร 0-0-60 ตัวอย่างที่มีความชื้นอยู่ในระดับกลาง สูตร 28-10-5 และ ตัวอย่างที่มีความชื้นอยู่ในระดับสูง สูตร 12-3-3 ตัวอย่าง สารตัวเติม (Filler) และตัวอย่าง ปุ๋ยเคมีแบบคลุกเคล้าที่มีปริมาณธาตุอาหารรับรอง สูตรต่ำ กลาง และเข้มข้นสูตรละ 3 ตัวอย่าง ตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่มีส่วนประกอบของโมเลกุลน้ำจำนวน 10 ตัวอย่าง เครื่องมือ ได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Mettler Toledo Model MS 204 ) เครื่องอบลมร้อน (Memmert Model U 40) เครื่อง Vacuum desiccator (AS ONE Model MVD 100) เครื่อง Vacuum oven (WTB binder Model VD-23) ตู้ดูดความชื้นอัตโนมัติ (Sanplatec Model Auto C-3W) ปีกเกอร์แก้ว ขนาด 50 มิลลิลิตร ภาชนะลูมิเนียมและ ซ้อนตักสาร

## วิธีการ

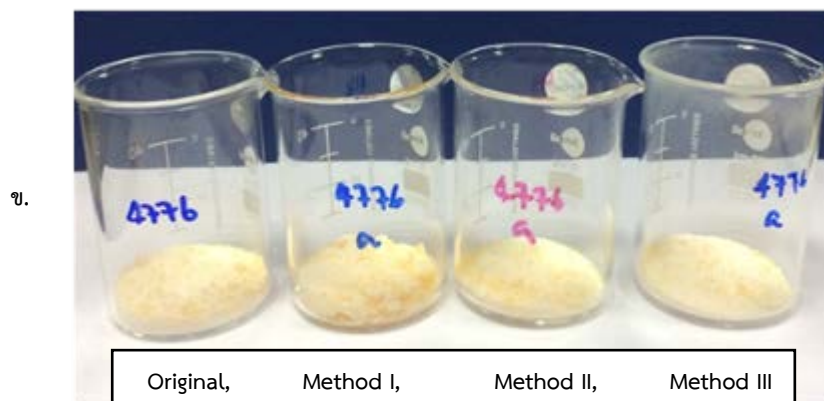
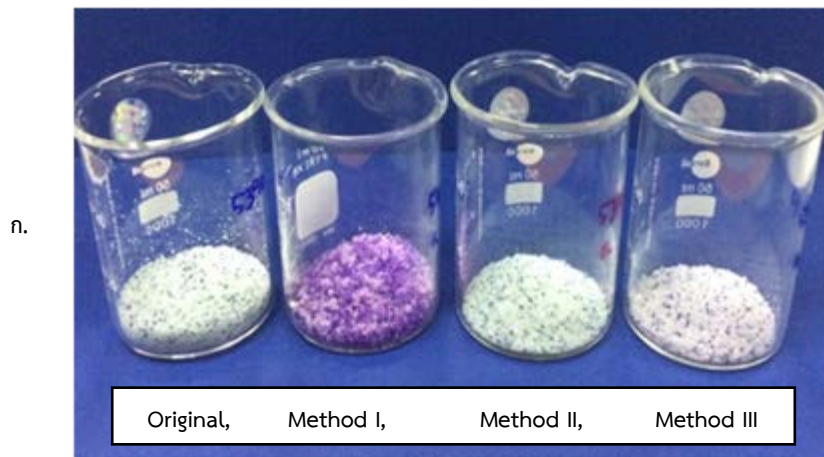
1. ศึกษา และเปรียบเทียบวิธีการวิเคราะห์ความชื้นในปุ๋ยเคมี
  - 1.1. เตรียมตัวอย่างปุ๋ยเคมี 2 แบบ ได้แก่
    - 1.1.1. ปุ๋ยเคมีเชิงผสมแบบคลุกเคล้าที่ผสมเอง สูตร 5-5-5 3-3-3 4-4-4 12-4-4 12-3-3 11-3-5 15-15-15 16-16-8 และ 13-13-21 โดยผสมปุ๋ยสูตร 46-0-0 0-0-60 18-46-0 และสารตัวเติม ให้ได้ตามสูตรที่กำหนด ตัวอย่างละ 200 กรัม เตรียมใส่ถุงพลาสติกซิปลงใส่ภาชนะปิดและปิดถุงให้สนิท เขียนป้ายบ่งชี้ตัวอย่าง
    - 1.1.2. ปุ๋ยเคมีที่ซื้อสำเร็จรูป โดย แบ่งตัวอย่างปุ๋ยเคมี เชิงผสมแบบคลุกเคล้า ปุ๋ยเชิงผสมแบบปั้นเม็ด จำนวน 10 สูตร ปุ๋ยเชิงผสม จำนวน 10 สูตร แบบเกล็ด จำนวน 10 สูตร ปุ๋ยเชิงเดี่ยวและเชิงประกอบ จำนวน 10 สูตร ปุ๋ยเคมีที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบในโมเลกุล และสารตัวเติม ( Filler) สูตรละ 700 กรัม เป็น 2 ส่วน ด้วยเครื่องแบ่งตัวอย่าง (Riffle) แล้วนำตัวอย่างปุ๋ย 2 ส่วนมาแบ่งอีกครั้ง จะได้ตัวอย่างปุ๋ย 4 ส่วน เตรียมใส่ถุงพลาสติกซิปลงใส่ภาชนะปิดและปิดถุงให้สนิท เขียนป้ายบ่งชี้ตัวอย่าง
  - 1.2. วิเคราะห์ความชื้นตัวอย่างละ 7 ซ้ำ โดยใช้วิธีวิเคราะห์ 3 วิธี ได้แก่
    - 1.2.1. วิธีที่ 1 Inhouse method base on Oven drying โดย ชั่งตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่ยังไม่ผ่านการบด จำนวน 5. xxxxกรัม ใส่ลงในบีกเกอร์แก้วขนาด 50 มิลลิลิตร นำตัวอย่างปุ๋ยไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง นำบีกเกอร์ออกจากตู้อบมาวางไว้ให้เย็นในตู้ดูดความชื้นอัตโนมัติ บีกเกอร์ไปชั่งอีกครั้ง
    - 1.2.2. วิธีที่ 2 Vacuum-Desiccation methods (Vacuum dessicator) โดย ชั่งตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่ยังไม่ผ่านการบด จำนวน 2. xxxxกรัม ใส่ลงในบีกเกอร์แก้วขนาด 50 มิลลิลิตร นำตัวอย่างปุ๋ยไปอบในเตชเคเตอร์สุญญากาศที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความดันบรรยากาศ 22 นิ้ว เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง นำมาวางไว้ให้เย็นใน ตู้ดูดความชื้นอัตโนมัติ นำบีกเกอร์ไปชั่งอีกครั้ง
    - 1.2.3. วิธีที่ 3 Vacuum-Desiccation methods (Vacuum oven) ชั่งตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่ยังไม่ผ่านการบด จำนวน 2. xxxxกรัม ใส่ลงในบีกเกอร์แก้วขนาด 50 มิลลิลิตร นำตัวอย่างปุ๋ยไปอบในตู้อบ สุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ความดันบรรยากาศ 21 นิ้ว เป็นเวลา 2 ชั่วโมง  $\pm 10$  นาที นำมาวางไว้ให้เย็นใน ตู้ดูดความชื้นอัตโนมัติ นำบีกเกอร์ไปชั่งอีกครั้ง
  - 1.3. เปรียบเทียบความชื้นในปุ๋ยเคมีแต่ละวิธีวิเคราะห์ ด้วยสถิติ Paired t-test
2. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ความชื้น
  - 2.1. หาปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ ( Limit of Detection; LOD) และปริมาณต่ำสุดที่สามารถทดสอบและรายงานผล (Limit of Quantitation; LOQ) โดยวิเคราะห์ตัวอย่างปุ๋ยที่มีความชื้นต่ำ สูตร 0-0-50 ลักษณะผงละเอียดสีขาว
  - 2.2. พิสูจน์ความเที่ยง (Precision) โดยการวิเคราะห์ตัวอย่าง 20 ซ้ำ ในปุ๋ยที่ไม่มีส่วนประกอบของ Volatile Substance และมีความชื้นอยู่ในระดับต่ำ กลาง และสูง ได้แก่ สูตร 0-0-60

28-10-5 และ 12-3-3 ตามลำดับ และคำนวณหาค่า HorRat เปรียบเทียบกับเกณฑ์การยอมรับคือ  $< 2$  (AOAC, 2012)

ระยะเวลา เริ่มต้น ต.ค. 2558 สิ้นสุด ก.ย. 25 59  
 สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี  
 กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

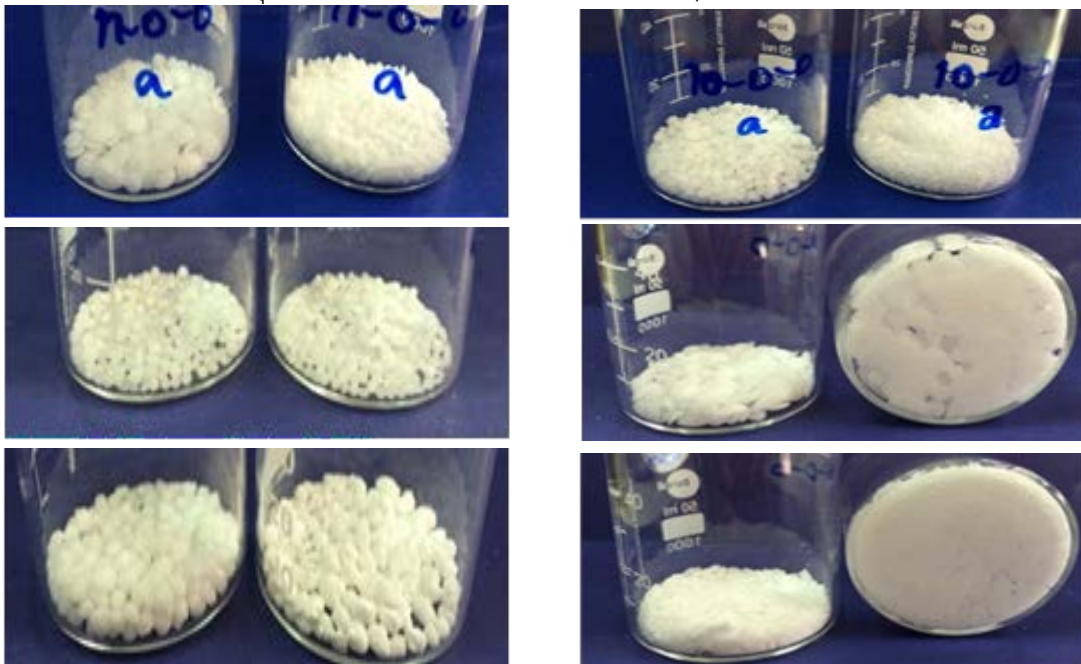
### ผลการวิจัย(Results)

1. ศึกษา และเปรียบเทียบวิธีการวิเคราะห์ความชื้น 3 วิธีวิเคราะห์ คือ วิธีที่ 1 Inhouse method based on oven drying วิธีที่ 2 Vacuum desiccation method (Vacuum dessicator) วิธีที่ 3 Vacuum desiccation method (Vacuum oven) ในปุ๋ยเคมีชนิดต่างๆ ดังนี้
  - 1.1. ปุ๋ยเคมีที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบในโมเลกุล พบว่าวิธีวิเคราะห์ทั้ง 3 ไม่วิเคราะห์ได้ เนื่องจากตัวอย่างปุ๋ยเปลี่ยนสภาพในขั้นตอนการอบ โดยมีการเปลี่ยนสภาพดังนี้
    - 1.1.1. กลุ่มธาตุอาหารรอง ธาตุอาหารเสริม เช่น คอปเปอร์ซัลเฟต(  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) เฟอร์รัสซัลเฟต(  $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) แมกนีเซียมซัลเฟต(  $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) ซิงค์ซัลเฟต (  $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) บอแรกซ์ (  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  ) กรดบอริก (Boric acid) แคลเซียมไนเตรท (  $5\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{NH}_4\text{NO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ) เปลี่ยนสภาพโดยเปลี่ยนสีเดิม หรือ ปุ๋ยละลายบางส่วน (ภาพที่ 1)



**ภาพที่ 1** ตัวอย่างปุ๋ยเปลี่ยนสภาพจากการวิเคราะห์ความชื้น 3 วิธีวิเคราะห์  
ก. สีเปลี่ยนจากเดิม    ข. ตัวอย่างละลายบางส่วน

1.1.2. ปุ๋ยเชิงเดี่ยวไนโตรเจน ได้แก่ แคลเซียมไนเตรท ( $5\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{NH}_4\text{NO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ) สูตร 15-0-0 แมกนีเซียมไนเตรท ( $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) สูตร 11-0-0 และสูตร 10-0-0 ตัวอย่างที่ทำการทดลองมีลักษณะ 3 แบบ ได้แก่ เม็ดสีขาว แผ่นกลมบางใส และแผ่นบางสีขาวขุ่นผสมผงสีขาว เปลี่ยนสภาพ จากเม็ดสีขาวเปลี่ยนเป็นเม็ดสีขาวขุ่น หรือ ปุ๋ยบางส่วนจะละลาย (ภาพที่ 2) เนื่องจากปุ๋ยกลุ่มไนเตรทดูดความชื้นได้ง่าย (Hygroscopic point ต่ำ) เมื่ออุณหภูมิเพิ่มมากขึ้น เช่น แคลเซียมไนเตรทมีค่าจุดวิกฤตของความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เท่ากับ 46.7 แอมโมเนียมไนเตรท มีค่าจุดวิกฤตของความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เท่ากับ 59.4 ดังนั้นความชื้นสัมพัทธ์วิกฤตมีผลต่อความชื้นของปุ๋ยเคมี ซึ่งจุดวิกฤตของความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศที่ปุ๋ยจะขึ้น โดยทั่วไปกำหนดไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส หากปุ๋ยใดมีค่าความชื้นสัมพัทธ์วิกฤตต่ำจะขึ้นง่ายกว่าปุ๋ยที่มีความชื้นสัมพัทธ์วิกฤตสูง (UNIDO and IFDC, 1979; Clayton, 1984; ยงยุทธ และคณะ, 2556; Fertilizers Europe, 2014)



ก.

ข.

**ภาพที่ 2** ลักษณะตัวอย่างปุ๋ยเปลี่ยนสภาพจากการวิเคราะห์ความชื้น 3 วิธีวิเคราะห์  
ก. สีเปลี่ยนจาก ใส เป็นขาวขุ่น    ข. ตัวอย่างละลายบางส่วน

- 1.2. ปุ๋ยเคมีที่ไม่มีน้ำเป็นองค์ประกอบในโมเลกุลในปุ๋ยเคมีชนิดต่างๆ มีผลการวิเคราะห์ความชื้นตามตารางที่ 1 และ 2 จากการเปรียบเทียบโดยใช้สถิติ Paired t-test พบว่า
- 1.2.1. ปุ๋ยเคมีเชิงเดี่ยว และปุ๋ยเคมีเชิงประกอบ มีผลวิเคราะห์ความชื้นของทั้ง 3 วิธีไม่แตกต่างกัน

1.2.2. ปุ๋ยเคมีเชิงผสมแบบคลุกเคล้า และปุ๋ยเชิงผสมเคมีแบบปั้นเม็ด มีผลวิเคราะห์ความชื้นเฉลี่ยเรียงลำดับ ดังนี้

วิธีที่ 1 (Oven drying) > วิธีที่ 2 (Vacuum dessicator) > วิธีที่ 3 (Vacuum oven)

โดยทั้ง 3 วิธีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

1.2.3. ปุ๋ยเคมีเชิงผสมแบบเกร็ด มีผลวิเคราะห์ความชื้นเฉลี่ยเรียงลำดับ ดังนี้

วิธีที่ 1 (Oven drying) > วิธีที่ 2 (Vacuum dessicator) > วิธีที่ 3 (Vacuum oven)

โดย วิธีที่ 1-3 และ วิธีที่ 2-3 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

1.2.4. สารตัวเติม มีผลวิเคราะห์ความชื้นเฉลี่ยเรียงลำดับ ดังนี้

วิธีที่ 1 (Oven drying) > วิธีที่ 3 (Vacuum oven) > วิธีที่ 2 (Vacuum dessicator)

โดยทั้ง 3 วิธี มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

1.2.5. ปุ๋ยเคมีเชิงผสมแบบคลุกเคล้าที่ผสมเอง สูตรต่ำ และกลาง มีผลวิเคราะห์ความชื้นเฉลี่ยเรียงลำดับ ดังนี้

วิธีที่ 1 (Oven drying) > วิธีที่ 3 (Vacuum oven) > วิธีที่ 2 (Vacuum dessicator)

โดยทั้ง 3 วิธี มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

1.2.6. ปุ๋ยเคมีเชิงผสมแบบคลุกเคล้าที่ผสมเอง สูตรเข้มข้น มีผลวิเคราะห์ความชื้นเฉลี่ยเรียงลำดับ ดังนี้

วิธีที่ 1 (Oven drying) > วิธีที่ 3 (Vacuum oven) > วิธีที่ 2 (Vacuum dessicator)

โดยทั้ง 3 วิธี มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

**ตารางที่ 1** ผลการวิเคราะห์ความชื้นในปุ๋ยเคมีชนิดต่างๆ เปรียบเทียบ 3 วิธีวิเคราะห์

ตัวอย่างที่	สูตร	ความชื้น (%)		
		Oven drying	Vacuum desicator	Vacumm oven
ปุ๋ยเชิงเดี่ยวและเชิงประกอบ				
1	0-0-50	0.1	0.0	0.0
2	0-0-60	0.1	0.2	0.1
3	46-0-0	0.1	0.1	0.1
4	21-0-0	0.0	0.0	0.0
5	12-60-0	0.0	0.0	0.0
6	0-52-34	0.2	0.0	0.1
7	21-53-0	0.5	0.0	0.1
8	0-40-54	1.7	1.0	0.7
9	18-46-0	1.9	0.5	0.4
10	13-0-46	0.2	0.1	0.0
ปุ๋ยเชิงผสมแบบคลุกเคล้า				
1	28-10-5	2.0	1.2	1.1
2	22-4-4	1.0	0.7	0.5
3	21-7-18	1.3	0.9	0.7
4	15-3-21	0.9	0.9	0.5

ตัวอย่างที่	สูตร	ความชื้น (%)		
		Oven drying	Vacuum desicator	Vacumm oven
5	20-10-12	1.6	1.2	0.9
6	28-11-5	1.5	1.3	0.9
7	16-24-10	1.6	0.8	0.6
8	15-6-35	1.7	1.3	1.1
9	16-16-16	1.8	1.2	0.8
10	16-20-0	1.9	0.7	0.6
ปุ๋ยเชิงผสมแบบปั้นเม็ด				
1	16-16-8	0.7	0.2	0.2
2	20-10-10	0.9	0.4	0.2
3	8-24-24	0.4	0.1	0.1
4	10-10-30	0.3	0.1	0.1
5	13-13-21	0.6	0.3	0.1
6	20-5-8	1.4	1.2	0.9
7	16-16-16	0.6	0.7	0.4
8	25-9-9	0.7	0.6	0.2
9	10-26-26	1.1	0.4	0.3
10	15-15-15	0.9	0.4	0.4
ปุ๋ยเชิงผสมแบบเกล็ด				
1	13-40-13	0.6	0.7	0.4
2	6-20-30	0.3	0.0	0.0
3	10-52-10	0.3	0.3	0.2
4	9-19-34	1.2	1.1	1.0
5	15-4-30	1.0	1.1	1.1
6	13-27-27	1.4	0.6	0.8
7	10-30-30	1.7	1.9	1.5
8	16-21-27	0.8	1.2	0.8
9	21-21-21	0.6	0.6	0.4
10	20-20-20	1.2	1.4	1.0

ตารางที่ 2 ความชื้นของตัวอย่างปุ๋ยเคมีเชิงผสมแบบคลุกเคล้าที่ผสมเอง ให้มีปริมาณธาตุอาหารร็บรอง สูตร ต่ำ กลาง และเข้มข้น

ปุ๋ยที่มีปริมาณธาตุอาหาร ร็บรอง	สูตร	ความชื้น (%)		
		เทคนิคที่ 1	เทคนิคที่ 2	เทคนิคที่ 3
สารตัวเดิม	-	1.68	0.62	0.91
ต่ำ	5-5-5	1.62	0.63	0.72
	3-3-3	1.53	0.67	0.96
	4-4-4	1.71	0.73	0.95
กลาง	12-4-4	1.55	0.56	0.73
	12-3-3	1.57	0.66	0.99
	11-3-5	1.72	0.95	1.16
เข้มข้น	15-15-15	1.34	0.41	0.47
	16-16-8	1.35	0.51	0.55
	13-13-21	1.24	0.51	0.54

## 2. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ความชื้นทั้ง 3 เทคนิค



- 2.1. หาปริมาณความชื้นต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (LOD) และที่สามารถรายงานผลได้ (LOQ) โดยใช้ตัวอย่างปุ๋ยที่มีความชื้นต่ำ สูตร 0-0-50 มีลักษณะผงละเอียดสีขาว พบว่าปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ ของวิธีที่ 1 เท่ากับ  $LOD = 0.037\%$ ,  $LOQ = 0.072\%$  วิธีที่ 2 เท่ากับ  $LOD = 0.004\%$ ,  $LOQ = 0.046\%$  และวิธีที่ 3 เท่ากับ  $LOD = 0.062\%$ ,  $LOQ = 0.139\%$  โดยค่าเฉลี่ย ของวิธีที่ 1-3 เท่ากับ 0.022 -0.014 และ 0.029 ตามลำดับ และมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับ 0.005 0.006 และ 0.011 ตามลำดับ
- 2.2. พิสูจน์ความเที่ยง (Precision) ในตัวอย่างปุ๋ยที่มีความชื้นอยู่ในระดับต่ำ กลาง และสูง พบว่าผลการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีความชื้นในระดับกลางขึ้นไป หรือความชื้นประมาณ 1 % ขึ้นไป วิธีวิเคราะห์ทั้ง 3 วิธี มีความเที่ยงอยู่ในเกณฑ์ยอมรับคือ  $HorRat < 2$  แต่สำหรับตัวอย่างที่มีความชื้นในระดับต่ำ หรือปริมาณ 0.01 % ทั้ง 3 วิธี ให้ผลการพิสูจน์ความเที่ยงไม่ผ่าน เกณฑ์การยอมรับ ตามตารางที่ 3

**ตารางที่ 3** ผลการพิสูจน์ความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ความชื้น ที่ระดับต่ำ กลาง สูง

ระดับความชื้น	ซ้ำที่	ความชื้น (%) โดยวิธีวิเคราะห์		
		วิธีที่ 1	วิธีที่ 2	วิธีที่ 3
ต่ำ	Mean	0.033	0.014	0.013
	SD	0.005	0.008	0.007
	RSD	15.15	57.14	53.85
	HorRat	7.55	7.03	7.55
กลาง	Mean	1.983	1.048	0.819
	SD	0.08	0.06	0.07
	RSD	4.29	5.72	8.18
	HorRat	1.44	1.99	1.44
สูง	Mean	8.043	6.693	5.513
	SD	0.18	0.22	0.29
	RSD	2.30	3.32	5.30
	HorRat	0.79	1.11	1.72

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

จากการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ความชื้นในปุ๋ยเคมีชนิดต่างๆ โดยวิธีที่ 1 Inhouse method ดัดแปลงจาก AOAC Official Method 950.01 (Oven drying) วิธีที่ 2 Vacuum-Desiccation Methods A.Method I (Vacuum desiccator) วิธีที่ 3 Vacuum-Desiccation Methods A.Method II (Vacuum oven) พบว่า

1. ในตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่ไม่มีน้ำเป็นองค์ประกอบในโมเลกุลในปุ๋ยเคมีชนิดต่างๆ ผลการวิเคราะห์ความชื้นในปุ๋ยเคมีเชิงเดี่ยว และปุ๋ยเคมีเชิงประกอบ มีผลวิเคราะห์ความชื้นของทั้ง 3 วิธีไม่แตกต่างกัน ปุ๋ยเคมีเชิงผสมแบบคลุกเคล้า ปุ๋ยเชิงผสมเคมีแบบปั้นเม็ดและปุ๋ยเคมีเชิงผสมแบบเกร็ด มีผลวิเคราะห์ความชื้นเฉลี่ยเรียงลำดับ ดังนี้ วิธีที่ 1 (Oven drying) > วิธีที่ 2 (Vacuum dessicator) > วิธีที่ 3 (Vacuum oven) ส่วนความชื้นในสารตัวเติม และตัวอย่างเชิงผสมแบบคลุกเคล้าที่เตรียมขึ้นเองพบว่า ทั้ง 3 วิธีวิเคราะห์ มีผลวิเคราะห์ความชื้นเฉลี่ยเรียงลำดับ ดังนี้ วิธีที่ 1 (Oven drying) > วิธีที่ 3 (Vacuum oven) > วิธีที่ 2 (Vacuum dessicator) โดยผลการ

วิเคราะห์จะสอดคล้องกับส่วนผสมที่มีความชื้นสูงสุด สำหรับตัวอย่าง ปุ๋ยเคมีที่มีโมเลกุลน้ำเป็นส่วนประกอบ วิธีวิเคราะห์ทั้ง 3 วิธี ไม่สามารถวิเคราะห์ได้ เนื่องจากตัวอย่างเปลี่ยนสภาพ โดยมีการเปลี่ยนแปลงของสี และตัวอย่างละลายบางส่วน

2. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ พบว่า ปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ / ปริมาณต่ำสุดที่สามารถรายงานผลได้ ของวิธีที่ 1-3 เท่ากับ 0.037/0.072 0.004/0.046 และ 0.062/0.139 ตามลำดับ และจากการพิสูจน์ ความเที่ยง พบว่าวิธีวิเคราะห์ทั้ง 3 วิธี มีความเที่ยง เมื่อนำไปใช้กับตัวอย่างที่มีความชื้นประมาณ 1 % ขึ้นไป

### ข้อเสนอแนะ

วิธีที่ 3 เป็นเทคนิคที่อบตัวอย่างที่ 50 องศาเซลเซียส ความดันบรรยากาศ 21 นิ้ว ใช้เวลา 2 ชั่วโมง  $\pm 10$  นาที ซึ่งต้องใช้ปั๊มสุญญากาศเป็นอุปกรณ์ประกอบ การทำงานต้องเปิดปั๊มตลอดการทำงาน ซึ่งปั๊มสุญญากาศแบบโรตารีเวน (Rotary vane) โดยการทำงานของปั๊มชนิดนี้จะใช้ใบเวน (Vane) หมุนกวาดไปรอบๆ ตัวเรือนจึงจำเป็นต้องใช้น้ำมันหล่อลื่นเพื่อลดแรงเสียดสีของใบเวนกับตัวเรือน ถ้าหากมีความชื้นเข้าสู่ปั๊มได้บ่อยๆ จะทำให้น้ำมันเสื่อมคุณภาพอย่างรวดเร็ว และส่งผลให้ภายในปั๊มเกิดการเสื่อมสภาพ และอายุการใช้งานสั้นลง จำเป็นต้องมีการเปลี่ยนน้ำมันหล่อลื่น และเปลี่ยนอะไหล่อยู่บ่อยครั้งทำให้มีค่าการบำรุงรักษาสูงกว่าวิธีที่ 1 และ 2

เนื่องจากวิธีทั้ง 3 ไม่เหมาะสมกับการวิเคราะห์ความชื้นในตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่มีโมเลกุลน้ำเป็นส่วนประกอบ ดังนั้นห้องปฏิบัติการจึงควรพัฒนาวิธีวิเคราะห์ตัวอย่างปุ๋ยเคมีด้วยวิธีอื่นๆ เช่น วิธี Karl- Fisher

### การทดสอบความเสถียรของปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในปุ๋ยเคมี Stability Studies of Nitrogen Phosphorus and Potassium in Chemical Fertilizer

รัตนาภรณ์ คชวงศ์ อาธิยา ปุ่นประโคน ศุภากร ดวนใหญ่ นันทกานต์ ขุนโหร วรณรัตน์ ชุตติบุตร  
Rattanaorn Cochawong Arthiya Punprakhon Supakorn Duanyai  
Nanthakan Khunhon Wannarut Chutibut

### คำสำคัญ (Keywords)

ปุ๋ยเคมี ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม ความเสถียร  
Chemical fertilizer Nitrogen Phosphorus Potassium Stability

### บทคัดย่อ (Abstract)

ศึกษาความเสถียรของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสทั้งหมดและโพแทสเซียมที่ละลายน้ำในปุ๋ยเคมีเชิงเดี่ยว ปุ๋ยเคมีเชิงประกอบ ปุ๋ยผสมแบบปั้นเม็ดและปุ๋ยผสมแบบคลุกเคล้า รวม 16 สูตร โดยทดสอบความเสถียรของตัวอย่างปุ๋ยภายใต้สภาวะควบคุมในระยะยาวและผลของอุณหภูมิต่อความเสถียรของตัวอย่างปุ๋ยในระยะสั้น โดยนำผลวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารมาทดสอบด้วยสถิติ Regression analysis โดยใช้ตัวแบบวิเคราะห์การถดถอยอย่างง่ายเพื่อหาความสัมพันธ์

ระหว่างเวลาและปริมาณธาตุอาหารของตัวอย่างปุ๋ยแต่ละสูตร ประเมินจากค่าสถิติ  $t$  พบว่า  $|t| \leq t_{\alpha/2, n-2}$  และประเมินความแปรปรวน โดยใช้สถิติ  $F$  พบว่า  $p\text{-value} \geq \alpha$  ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงว่าเวลาและปริมาณธาตุอาหารไม่มีความสัมพันธ์กัน ตัวอย่างปุ๋ยทั้ง 16 สูตร จึงมีความเสถียรภายใต้สภาวะการเก็บรักษาทั้งในตู้ดูดความชื้นและที่อุณหภูมิห้องตลอดอายุ 36 เดือน และมีความเสถียรภายใต้สภาวะของการทดสอบที่อุณหภูมิ 40, 55, 75 และ 85°C ในช่วงเวลา 8 สัปดาห์ โดยสามารถประมาณค่าความไม่แน่นอนของการหาค่าความเสถียรในระยะยาวเพื่อใช้กำหนดช่วงความเข้มข้นของปริมาณธาตุอาหารในตัวอย่างปุ๋ยตลอดอายุการเก็บรักษาได้

The stability studies of total nitrogen, total phosphorus and water soluble potassium of raw material fertilizers compound fertilizer and bulk blending fertilizer for 16 formulas. The stability testing of samples by storage conditions in long-term stability and temperature conditions in short-term stability by analyzed the element concentrations then evaluation of trend analysis by regression analysis. Find the relations between time and element concentrations by simple linear regression model. The result of F-test show that the  $p\text{-value} \geq \alpha$  and the t-test show that the  $|t| \leq t_{\alpha/2, n-2}$  at confidence level 95%. The estimation is non significance for chemical fertilizer 16 formulas and stable in storage conditions at desiccators and room temperature in 36 months and temperature conditions at 40, 55, 75 and 85°C in 8 weeks. The fertilizer samples were stability throughout the study period and calculate the uncertainty of the long term stability to determine the range of element concentrations in fertilizer samples throughout the shelf life.

### บทนำ (Introduction)

การเก็บรักษาปุ๋ยเคมีให้คงคุณภาพก่อนถึงมือเกษตรกรนั้นผู้ประกอบการควรป้องกันปัจจัยของสภาวะแวดล้อมที่จะทำให้ปุ๋ยเคมีเสื่อมคุณภาพไป โดยมีหลักการง่ายๆ คือ ป้องกันไม่ให้ถูกความร้อนและป้องกันไม่ให้เกิดความชื้น (วิเชียร, 2548) เนื่องจากประเทศไทยเป็นเมืองร้อนลักษณะทั่วไปของปุ๋ยเคมีที่เสื่อมคุณภาพคือการจับตัวเป็นก้อน (caking) โดยกลไกการจับตัวเป็นก้อนของเม็ดปุ๋ยมีสาเหตุจากปัจจัยต่างๆ ได้แก่ แร่กรดทับ อุณหภูมิ และความชื้น เป็นต้น เมื่ออุณหภูมิอากาศสูงขึ้นก็จะมีผลต่อความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศและค่าความชื้นสัมพัทธ์วิกฤตของปุ๋ย ทำให้ปุ๋ยดูดความชื้นและจับตัวเป็นก้อนง่ายขึ้น (มุกดา, 2544 ; ยงยุทธและคณะ, 2554) ซึ่งเป็นลักษณะกายภาพที่มีผลให้การใส่ปุ๋ยในพื้นที่เพาะปลูกไม่สะดวกเช่น ปุ๋ยยูเรียซึ่งมีความชื้นสัมพัทธ์วิกฤต 81%RH (Relative Humidity) ที่ 20°C และมีความชื้นสัมพัทธ์วิกฤตเท่ากับ 73%RH ที่ 30°C แสดงว่าหากโรงเก็บปุ๋ยมีอุณหภูมิ 20°C อากาศที่มีความชื้นสัมพัทธ์มากกว่าหรือเท่ากับ 81%RH จะทำให้ปุ๋ยยูเรียดูดความชื้นจากการมีน้ำเข้าสู่องค์ประกอบทางเคมี แต่หากอุณหภูมิสูงขึ้นเป็น 30°C ปุ๋ยยูเรียจะเกิดการดูดความชื้นตั้งแต่ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่าหรือเท่ากับ 73%RH เท่านั้น ทั้งนี้หากมีการนำปุ๋ยเคมีต่างๆ มาผสมกันค่าความชื้นสัมพัทธ์วิกฤตนี้จะมีค่าต่ำลงหรือดูดความชื้นได้ง่ายขึ้นนั่นเอง (ยงยุทธและคณะ, 2554)

นอกจากสมบัติทางกายภาพของปุ๋ยที่จะเกิดการเปลี่ยนแปลงได้เนื่องจากปัจจัยต่างๆ แล้วนั้น ปริมาณธาตุอาหารของปุ๋ยเคมีดังกล่าวก็อาจจะเกิดความเปลี่ยนแปลงไปด้วยเช่นกัน โดยการ

ดำเนินคดีในชั้นศาลตาม พ.ร.บ.ปุ๋ย มักมีข้อโต้แย้งถึงผลวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารรับรองที่ไม่ตรงตามสูตรว่าเป็นผลกระทบจากสภาพแวดล้อมในการเก็บตัวอย่าง การศึกษานี้จึงดำเนินการขึ้นเพื่อพิสูจน์ความมีเสถียรภาพของปริมาณธาตุอาหารในปุ๋ยเคมีจากการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิและระยะเวลาที่มีต่อปริมาณธาตุอาหาร ได้แก่ ไนโตรเจนทั้งหมด (Total nitrogen :TN) ฟอสฟอรัสทั้งหมด (Total phosphorus :TP<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) และโพแทสเซียมที่ละลายน้ำ (Water soluble potassium :WK<sub>2</sub>O) เพื่อเป็นข้อมูลในการชี้แจงข้อโต้แย้งดังกล่าว

การทดสอบความเปลี่ยนแปลงของปริมาณธาตุอาหารโดยประเมินความเสถียรของปริมาณธาตุอาหารรับรองในปุ๋ยเคมี สามารถนำไปประมาณค่าความไม่แน่นอนที่เกิดจากความไม่เสถียร เมื่อเก็บไว้ภายใต้สภาวะที่ต้องการศึกษาตามระยะเวลาที่กำหนดได้ ซึ่งใช้หลักการของการวิเคราะห์การถดถอย (Regression Analysis) มาเป็นเครื่องมือทางสถิติที่มีการนำมาประยุกต์ใช้ในการประมวลผลข้อมูลทางการวิจัยค่อนข้างมาก เช่น การทดสอบคุณภาพน้ำยางในด้านความเสถียรต่อแรงกล (Mechanical Stability Time :MST) (ฉลอง, 2555) หรือการประเมินความเสถียรของวัสดุอ้างอิงหรือวัสดุอ้างอิงรับรองตามข้อกำหนด ISO GUIDE 35 (2006) ซึ่งจากหลักการของ Regression Analysis สามารถประยุกต์ใช้เพื่อทดสอบความเสถียรระยะยาว (storage conditions, long-term stability) หมายถึงความเสถียรภายใต้สภาวะการเก็บรักษาที่กำหนดซึ่งจะแสดงถึงวันหมดอายุ (shelf life) หรือวันเสียสภาพของสาร (life time) และการทดสอบความเสถียรระยะสั้น (temperature conditions, short-term stability) หมายถึงความเสถียรภายใต้สภาวะของการทดสอบที่อุณหภูมิระดับต่างๆ ในช่วงเวลาสั้นๆ (คุชฎี และ จันทรรัตน์, 2552 ;จันทรรัตน์, 2557)

### ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

อุปกรณ์และเครื่องมือได้แก่ เครื่องมือและวัสดุวิทยาศาสตร์เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 2 ตำแหน่ง เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่งตู้ดูดความชื้น (desiccator) ตู้อบไอร้อน (hot air oven) True Spec NUV-Vis Spectrophotometer Flame Photometer เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ขวดแก้วฟลาอูมิเนียมสำหรับบรรจุตัวอย่างสารเคมี ได้แก่ สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดสารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดสารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมที่ละลายน้ำตัวอย่างปุ๋ย ปุ๋ยเชิงเดี่ยวและปุ๋ยเชิงประกอบ 6 สูตรปุ๋ยเชิงผสมแบบปั่นเม็ด 5 สูตรและ ปุ๋ยเชิงผสมแบบคลุกเคล้า 5 สูตร

### วิธีการ

1. เตรียมตัวอย่างปุ๋ยเคมี ได้แก่ ปุ๋ยเชิงเดี่ยวและปุ๋ยเชิงประกอบ 6 สูตร ปุ๋ยเชิงผสมแบบปั่นเม็ด 5 สูตร และปุ๋ยเชิงผสมแบบคลุกเคล้า 5 สูตร แบ่งใส่ขวดบรรจุตัวอย่าง
2. ศึกษาความเสถียรของตัวอย่างปุ๋ยภายใต้สภาวะควบคุมในระยะยาว (The long-term stability)
  - 2.1. นำขวดบรรจุตัวอย่างปุ๋ยเคมี ทั้งหมด แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุมซึ่งเก็บในตู้ดูดความชื้นที่อุณหภูมิ 20-30 °C ความชื้น 5-8% RH และ กลุ่มทดสอบซึ่งเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 0, 6, 12, 18, 24, 30, 36 เดือน

2.2. สุ่มตัวอย่างแต่ละสูตรตามเวลาที่กำหนดมาทดสอบครั้งละ 2 ขวด นำตัวอย่างแต่ละขวดมา บดด้วยเครื่องบดตัวอย่างปุยและร่อนผ่านตะแกรง 40 เมช และวิเคราะห์หาปริมาณ ไนโตรเจนทั้งหมด(TN) ฟอสฟอรัสทั้งหมด( $TP_2O_5$ ) และ โพแทสเซียมที่ละลายน้ำ ( $WK_2O$ ) ตามวิธีวิเคราะห์ของกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุย ขวดละ 2 ซ้ำ

2.3. วิเคราะห์ทางสถิติ Regression Analysis ตาม ISO Guide 35

2.3.1. สร้างสมการความถดถอยเชิงเส้น ( Simple Linear Regression) และแผนภาพการ กระจาย (Scatter Diagram) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระ (X) และตัว แปรตาม (Y)

ตัวแบบการวิเคราะห์การถดถอยอย่างง่าย (Simple Linear Regression Analysis)

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_i + \epsilon_i \quad = 1, 2, 3, \dots, n$$

เมื่อ  $Y_i$  คือ ค่าสังเกตของตัวแปรตามจากหน่วยที่  $i$

$X_i$  คือ ค่าสังเกตของตัวแปรอิสระจากหน่วยที่  $i$

$\beta_0$  คือ จุดตัดแกน Y

$\beta_1$  คือ สัมประสิทธิ์การถดถอย หรือความชันของเส้นถดถอย

$\epsilon_i$  คือ ความคลาดเคลื่อน

2.3.2. ทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระ (X) และตัวแปรตาม (Y)

โดยทดสอบสมมติฐานเกี่ยวกับ  $\beta_1$  สำหรับการทดสอบความเสถียร

2.3.2.1. การวิเคราะห์การถดถอยด้วยค่าสถิติ t

สมมติฐานที่ต้องการทดสอบ  $H_0 : \beta_1 = 0$

$H_1 : \beta_1 \neq 0$

สถิติทดสอบ  $t = \frac{|b_1|}{S(b_1)}$

ขอบเขตปฏิเสธ  $H_0$  : จะปฏิเสธ  $H_0$  เมื่อ  $|t| > t_{\alpha/2, n-2}$

สรุปผล: - ถ้าปฏิเสธ  $H_0$  คือยอมรับ  $H_1: \beta_1 \neq 0$  แสดงว่าความชันของเส้น ถดถอยไม่เป็นศูนย์ตัวอย่างปุยไม่มีความเสถียร

- ถ้ายอมรับ  $H_0 : \beta_1 = 0$  แสดงว่าความชันของเส้นถดถอยเป็น ศูนย์ตัวอย่างปุยมีความเสถียร

2.3.2.2. วิเคราะห์ความแปรปรวนของการทดสอบ F จากตาราง Regression

2.3.2.3. คำนวณค่าเฉลี่ยและวิเคราะห์ความแปรปรวนของการทดสอบแบบ F ที่ องศาความเป็นอิสระ (df) 1 และ n-2 ระดับนัยสำคัญ  $\alpha = 0.05$

สถิติทดสอบ  $F = \frac{MSR}{MSE}$

เมื่อ  $F > F_{1-\alpha}(1, n-2)$  หรือ p-value  $< \alpha$  แสดงว่าตัวอย่างปุยไม่มีความเสถียร

$F < F_{1-\alpha}(1, n-2)$  หรือ p-value  $> \alpha$  แสดงว่าตัวอย่างปุยมีความเสถียร

2.4. ประเมินค่าความไม่แน่นอนที่เกิดจากความไม่เสถียรของตัวอย่าง ( Long Term Stability)

เมื่อเวลาเปลี่ยนไป จากสูตร  $U_{Lts} = S_b \times t$

เมื่อ  $U_{Lts}$  คือ ค่าความไม่แน่นอนที่เกิดจากความไม่เสถียรของตัวอย่างปุย

$S_b$  คือ ค่าความไม่แน่นอนที่เกิดจากความชัน

$t$  คือ ระยะเวลาที่ทดสอบ(เดือน)

3. ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อความเสถียรของตัวอย่างปุ๋ยในระยะสั้น (The short-term stability)
  - 3.1. นำขวดบรรจุตัวอย่างปุ๋ยเคมี 16 สูตร อบอุ่นในตู้อบอากาศร้อน (hot air oven) ที่ระดับอุณหภูมิ 40, 55, 75 และ 85 °C เป็นเวลา 0, 2, 4, 6, 8 สัปดาห์โดยสุ่มตัวอย่างแต่ละสูตรตามเวลาที่กำหนดมาทดสอบครั้งละ 2 ขวดนำตัวอย่างแต่ละขวดมาบดด้วยเครื่องบดตัวอย่างปุ๋ยและร่อนผ่านตะแกรง 40 เมช
  - 3.2. วิเคราะห์หาปริมาณ TN, TP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> และ WK<sub>2</sub>O ตามเวลาที่กำหนด โดยทำการวิเคราะห์ทั้ง 2 ขวด แต่ละขวดทดสอบ 2 ซ้ำ พร้อมทั้งบันทึกลักษณะทางกายภาพที่มีการเปลี่ยนแปลงไป
  - 3.3. วิเคราะห์ทางสถิติตามข้อ 2.3

ระยะเวลา เริ่มต้น ต.ค. 2558 สิ้นสุด ก.ย. 2561

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี  
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

### ผลการวิจัย (Results)

ตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่ใช้ทดสอบสำหรับการทดลอง แสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ชนิดและลักษณะของตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่นำมาทดสอบ

ลำดับที่	ชนิด	สูตร	ส่วนประกอบ	ลักษณะ
1	ปุ๋ยเชิงเดี่ยว/เชิงประกอบ	46-0-0	ยูเรีย	เม็ดสีขาว
2	ปุ๋ยเชิงเดี่ยว/เชิงประกอบ	21-0-0	แอมโมเนียมซัลเฟต	เม็ดสีขาว
3	ปุ๋ยเชิงเดี่ยว/เชิงประกอบ	21-0-0	แอมโมเนียมซัลเฟต	เม็ดสีน้ำตาล
4	ปุ๋ยเชิงเดี่ยว/เชิงประกอบ	18-46-0	ไดแอมโมเนียมฟอสเฟต	เม็ดสีเหลือง
5	ปุ๋ยเชิงเดี่ยว/เชิงประกอบ	18-46-0	ไดแอมโมเนียมฟอสเฟต	เม็ดสีดำ
6	ปุ๋ยเชิงเดี่ยว/เชิงประกอบ	0-0-60	โพแทสเซียมคลอไรด์	เม็ดสีแดง
7	ปุ๋ยผสมแบบปั้นเม็ด	16-20-0	ไม่ระบุ	เม็ดสีเทา
8	ปุ๋ยผสมแบบปั้นเม็ด	16-12-8	ไม่ระบุ	เม็ดสีน้ำตาล
9	ปุ๋ยผสมแบบปั้นเม็ด	15-15-15	ไม่ระบุ	เม็ดสีชมพูอ่อน
10	ปุ๋ยผสมแบบปั้นเม็ด	16-16-16	ไม่ระบุ	เม็ดสีฟ้า
11	ปุ๋ยผสมแบบปั้นเม็ด	24-7-7	ไม่ระบุ	เม็ดสีฟ้าอ่อน
12	ปุ๋ยผสมแบบคลุกเคล้า	12-24-12	ไม่ระบุ	เม็ดสีเหลือง ชมพู เขียว
13	ปุ๋ยผสมแบบคลุกเคล้า	8-24-24	ไม่ระบุ	เม็ดสีเหลือง เทา เขียว
14	ปุ๋ยผสมแบบคลุกเคล้า	16-20-0	ยูเรีย, ไดแอมโมเนียมฟอสเฟต	เม็ดสีดำ ขาว
15	ปุ๋ยผสมแบบคลุกเคล้า	9-24-24	ไดแอมโมเนียมฟอสเฟต, โพแทสเซียมคลอไรด์	เม็ดสีดำ แดง
16	ปุ๋ยผสมแบบคลุกเคล้า	19-19-19	ยูเรีย, ไดแอมโมเนียมฟอสเฟต, โพแทสเซียมคลอไรด์	เม็ดสีขาว แดง เหลือง

1. ศึกษาความเสถียรของตัวอย่างปุ๋ยภายใต้สภาวะควบคุมในระยะยาว (The long-term stability)

พบว่าผลการทดสอบ Regression Analysis ของตัวอย่างปุ๋ยทั้ง 16 สูตร ในรายการไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม ในตัวอย่างกลุ่มควบคุมซึ่งเก็บในตู้ดูดความชื้นที่อุณหภูมิ 20-

30°C ความชื้น 5-8 %RH และกลุ่มทดสอบซึ่งเก็บที่อุณหภูมิห้อง 15-35°C ความชื้น 35-95 %RH มีความชื้นของเส้นถดถอยเป็นศูนย์ ( $|t| \leq t_{\alpha/2, n-2}$ ) และความแปรปรวนของการทดสอบ F จากตาราง Regression มีค่า p-value  $\geq \alpha$  แสดงว่า ปริมาณธาตุอาหารในตัวอย่างปุยทั้ง 2 กลุ่ม การทดสอบ มีความเสถียรตลอดอายุ 36 เดือน โดยมีค่าความไม่แน่นอนที่เกิดจากความเสถียรของตัวอย่างปุย ( $U_{lts}$ ) ในตารางที่ 2 และ 3 ตามลำดับ โดยตัวอย่างปุยผสมแบบปั่นเม็ดสูตร 15-15-15 ซึ่งเก็บที่อุณหภูมิห้อง 15-35°C ความชื้น 35-95 %RH มีลักษณะเม็ดปุยแตกร้าวและกลายเป็นฝุ่นบางส่วนหลังจากเก็บในอุณหภูมิห้องนาน 24 เดือน ส่วนตัวอย่างอื่นๆ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ

**ตารางที่ 3** ผลการทดสอบความเสถียรของปริมาณธาตุอาหารของปุยเคมีที่เก็บรักษาในตู้ดูดความชื้นที่อุณหภูมิ 20-30°C ความชื้น 5-8 %RH เป็นระยะเวลา 0-36 เดือน

ลำดับที่	ธาตุอาหาร	เวลา (เดือน)						ค่าเฉลี่ย	Simple Linear Regression Model $Y_i = B_0 + B_1X_i + \epsilon_i$	Statistical significance			$U_{lts}$ (%)			
		0	6	12	18	24	30			36	$ t $ $t_{\alpha/2, n-2} = 2.57$	F-Test $\alpha=0.05$		สรุป		
1	%TN	46.52	46.23	46.25	46.52	45.78	46.80	47.08	46.45	$Y = 46.20 + 0.014X$	1.06	NS	0.34	NS	เสถียร	0.47
2	%TN	21.20	21.19	21.00	21.16	21.04	21.10	21.33	21.15	$Y = 21.12 + 0.002X$	0.43	NS	0.69	NS	เสถียร	0.13
3	%TN	21.13	21.15	21.10	21.05	20.95	20.95	21.41	21.10	$Y = 21.07 + 0.002X$	0.32	NS	0.76	NS	เสถียร	0.19
4	%TN	17.74	17.60	17.66	17.64	17.53	17.65	17.86	17.67	$Y = 17.63 + 0.002X$	0.57	NS	0.59	NS	เสถียร	0.12
	%TP2O5	46.61	46.17	46.63	46.54	46.69	45.70	46.83	46.45	$Y = 46.47 - 0.001X$	0.09	NS	0.93	NS	เสถียร	0.48
5	%TN	17.94	17.87	17.92	17.91	17.80	18.00	18.14	17.94	$Y = 17.86 + 0.004X$	1.41	NS	0.22	NS	เสถียร	0.11
	%TP2O5	46.15	46.09	46.93	46.21	46.33	46.95	46.63	46.47	$Y = 46.19 + 0.015X$	1.43	NS	0.21	NS	เสถียร	0.39
6	%WK2O	60.80	61.20	60.96	60.51	60.00	60.35	60.70	60.65	$Y = 60.96 - 0.018X$	1.56	NS	0.18	NS	เสถียร	0.41
7	%TN	16.29	16.34	16.21	16.19	16.35	16.00	16.27	16.23	$Y = 16.30 - 0.004X$	0.94	NS	0.39	NS	เสถียร	0.14
	%TP2O5	20.32	20.37	20.49	20.09	20.56	20.10	20.41	20.33	$Y = 20.35 - 0.001X$	0.20	NS	0.85	NS	เสถียร	0.22
8	%TN	15.75	15.65	15.95	15.78	15.87	15.70	15.99	15.81	$Y = 15.74 + 0.004X$	1.10	NS	0.32	NS	เสถียร	0.14
	%TP2O5	12.24	12.20	12.40	12.37	12.38	12.48	12.30	12.33	$Y = 12.26 + 0.004X$	1.52	NS	0.19	NS	เสถียร	0.10
	%WK2O	8.00	8.30	8.22	8.19	8.10	8.20	8.20	8.17	$Y = 8.14 + 0.002X$	0.53	NS	0.62	NS	เสถียร	0.12
9	%TN	15.62	15.40	15.95	15.67	15.89	15.65	15.99	15.74	$Y = 15.57 + 0.009X$	1.52	NS	0.19	NS	เสถียร	0.22
	%TP2O5	15.26	15.32	15.29	15.30	15.26	15.24	15.54	15.31	$Y = 15.25 + 0.003X$	1.20	NS	0.28	NS	เสถียร	0.11
	%WK2O	15.10	15.00	15.20	15.72	15.20	15.70	15.45	15.34	$Y = 15.07 + 0.0146X$	1.96	NS	0.11	NS	เสถียร	0.27
10	%TN	16.46	16.39	16.71	16.54	16.54	16.35	16.86	16.55	$Y = 16.45 + 0.01X$	0.98	NS	0.37	NS	เสถียร	0.21
	%TP2O5	15.76	15.70	16.13	15.87	16.01	16.13	16.05	15.95	$Y = 15.78 + 0.01X$	2.23	NS	0.08	NS	เสถียร	0.15
	%WK2O	16.85	16.75	17.38	16.83	16.85	17.00	17.25	16.99	$Y = 16.86 + 0.007X$	0.91	NS	0.40	NS	เสถียร	0.28
11	%TN	23.90	23.48	23.72	24.09	24.28	23.90	24.18	23.94	$Y = 23.69 + 0.013 X$	1.80	NS	0.13	NS	เสถียร	0.27
	%TP2O5	6.66	6.70	6.41	6.71	6.83	6.70	6.77	6.68	$Y = 6.60 + 0.005 X$	1.13	NS	0.31	NS	เสถียร	0.15
	%WK2O	6.75	6.65	7.19	6.67	6.40	7.00	7.15	6.83	$Y = 6.71 + 0.007 X$	0.69	NS	0.52	NS	เสถียร	0.35
12	%TN	15.37	15.40	15.29	15.43	15.56	15.45	15.46	15.42	$Y = 15.36 + 0.00 X$	1.56	NS	0.18	NS	เสถียร	0.09
	%TP2O5	26.26	26.81	27.55	26.09	28.12	27.55	26.86	27.03	$Y = 26.62 + 0.023 X$	0.98	NS	0.37	NS	เสถียร	0.84
	%WK2O	15.80	15.55	15.50	15.48	15.25	15.15	15.60	15.47	$Y = 15.65 - 0.010 X$	1.61	NS	0.17	NS	เสถียร	0.22
13	%TN	9.77	9.77	9.89	9.82	9.91	9.80	9.83	9.83	$Y = 9.80 + 0.002 X$	0.92	NS	0.40	NS	เสถียร	0.06
	%TP2O5	26.44	26.46	26.87	26.29	26.22	26.54	26.81	26.52	$Y = 26.45 + 0.004 X$	0.43	NS	0.68	NS	เสถียร	0.30
	%WK2O	26.15	25.90	25.95	26.19	26.00	26.05	26.05	26.04	$Y = 26.03 + 0.000 X$	0.09	NS	0.93	NS	เสถียร	0.13
14	%TN	16.92	16.52	18.08	17.58	17.26	17.75	16.91	17.29	$Y = 17.12 + 0.01 X$	0.52	NS	0.63	NS	เสถียร	0.66
	%TP2O5	20.73	20.93	21.32	20.11	20.80	21.00	20.38	20.75	$Y = 20.90 - 0.008 X$	0.63	NS	0.55	NS	เสถียร	0.48
15	%TN	9.23	9.56	10.06	9.25	10.01	9.50	9.19	9.54	$Y = 9.57 - 0.00 X$	0.13	NS	0.90	NS	เสถียร	0.45
	%TP2O5	23.11	23.57	25.33	23.97	25.68	24.48	24.36	24.35	$Y = 23.72 + 0.035 X$	1.28	NS	0.26	NS	เสถียร	0.99

	%WK2O	26.25	25.40	22.60	24.74	23.10	24.75	25.55	24.63	$Y = 24.94 - 0.017 X$	0.38	NS	0.72	NS	เสถียร	1.62
16	%TN	19.18	18.26	19.25	18.13	18.88	18.25	19.17	18.73	$Y = 18.78 - 0.002 X$	0.15	NS	0.89	NS	เสถียร	0.62
	%TP2O5	19.88	19.98	17.65	18.57	18.10	18.89	19.58	18.95	$Y = 19.23 - 0.016 X$	0.52	NS	0.63	NS	เสถียร	1.09
	%WK2O	19.65	21.05	22.18	22.84	21.85	21.85	21.00	21.49	$Y = 20.92 + 0.032 X$	0.97	NS	0.38	NS	เสถียร	1.17

หมายเหตุ NS หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95  
 \* หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบความเสถียรของปริมาณธาตุอาหารของปุ๋ยเคมีที่เก็บรักษาในอุณหภูมิห้อง 15-35°C ความชื้น 35-95 %RH ระยะเวลา 0-36 เดือน

ลำดับ ที่	ธาตุอาหาร	เวลา (เดือน)							ค่าเฉลี่ย	Simple Linear Regression Model $Y_i = B_0 + B_1 X_i + \epsilon_i$	Statistical significance			U <sub>ts</sub> (%)		
		0	6	12	18	24	30	36			t  $t_{\alpha/2, n-2} = 2.57$	F-Test $\alpha=0.05$	สรุป			
1	%TN	46.52	46.35	46.31	46.61	46.11	46.75	46.82	46.49	$Y_i = 46.33 + 0.009 X_i$	1.15	NS	0.30	NS	เสถียร	0.28
2	%TN	21.20	21.24	21.06	21.19	21.00	21.20	21.36	21.18	$Y_i = 21.14 + 0.002 X_i$	0.49	NS	0.64	NS	เสถียร	0.14
3	%TN	21.13	21.13	21.10	21.12	20.94	21.15	21.29	21.12	$Y_i = 21.08 + 0.002 X_i$	0.65	NS	0.54	NS	เสถียร	0.12
4	%TN	17.74	17.65	17.55	17.58	17.47	17.45	17.64	17.58	$Y_i = 17.66 - 0.004 X_i$	1.56	NS	0.18	NS	เสถียร	0.10
	%TP2O5	46.61	46.27	46.84	46.07	46.44	46.50	46.82	46.50	$Y_i = 46.43 + 0.004 X_i$	0.42	NS	0.69	NS	เสถียร	0.34
5	%TN	17.94	18.00	17.83	17.88	17.65	17.85	17.85	17.86	$Y_i = 17.94 - 0.005 X_i$	1.43	NS	0.21	NS	เสถียร	0.11
	%TP2O5	46.15	46.19	46.84	46.51	46.58	46.01	46.55	46.40	$Y_i = 46.34 + 0.003 X_i$	0.34	NS	0.75	NS	เสถียร	0.36
6	%WK2O	60.80	60.25	60.51	60.45	60.40	61.15	60.00	60.51	$Y_i = 60.58 - 0.004 X_i$	0.33	NS	0.76	NS	เสถียร	0.46
7	%TN	16.29	16.28	16.30	16.09	15.91	16.10	16.15	16.16	$Y_i = 16.29 - 0.007 X_i$	1.90	NS	0.12	NS	เสถียร	0.14
	%TP2O5	20.32	20.25	20.41	20.02	20.40	20.20	20.28	20.27	$Y_i = 20.29 - 0.001 X_i$	0.29	NS	0.79	NS	เสถียร	0.16
8	%TN	15.75	15.75	15.74	15.65	15.29	15.75	15.67	15.66	$Y_i = 15.73 - 0.004 X_i$	0.75	NS	0.49	NS	เสถียร	0.19
	%TP2O5	12.24	12.22	12.55	12.15	12.59	12.52	12.42	12.38	$Y_i = 12.26 + 0.007 X_i$	1.33	NS	0.24	NS	เสถียร	0.19
	%WK2O	8.00	8.25	8.08	8.24	7.95	8.15	8.40	8.15	$Y_i = 8.06 + 0.005 X_i$	1.06	NS	0.34	NS	เสถียร	0.18
9	%TN	15.62	15.61	15.91	15.73	15.36	15.95	15.47	15.67	$Y_i = 15.70 - 0.002 X_i$	0.25	NS	0.81	NS	เสถียร	0.27
	%TP2O5	15.26	15.16	15.26	14.81	14.83	15.21	15.12	15.09	$Y_i = 15.17 - 0.004 X_i$	0.70	NS	0.52	NS	เสถียร	0.23
	%WK2O	15.10	15.40	15.59	15.81	15.50	15.10	15.05	15.36	$Y_i = 15.45 - 0.005 X_i$	0.51	NS	0.63	NS	เสถียร	0.35
10	%TN	16.46	16.48	16.44	16.51	16.15	16.60	16.71	16.48	$Y_i = 16.41 + 0.004 X_i$	0.72	NS	0.50	NS	เสถียร	0.20
	%TP2O5	15.76	15.96	16.16	15.55	15.57	15.68	15.98	15.81	$Y_i = 15.86 - 0.003 X_i$	0.39	NS	0.71	NS	เสถียร	0.28
	%WK2O	16.85	16.90	16.75	16.93	16.85	17.15	16.70	16.88	$Y_i = 16.86 + 0.001 X_i$	0.18	NS	0.86	NS	เสถียร	0.18
11	%TN	23.90	23.88	23.60	23.44	23.30	24.00	24.14	23.75	$Y_i = 23.68 + 0.004 X_i$	0.37	NS	0.73	NS	เสถียร	0.38
	%TP2O5	6.66	6.61	6.66	6.61	6.66	6.73	6.75	6.67	$Y_i = 6.61 + 0.003 X_i$	2.37	NS	0.06	NS	เสถียร	0.05
	%WK2O	6.75	7.00	7.24	6.97	6.65	6.75	6.85	6.89	$Y_i = 6.97 - 0.005 X_i$	0.72	NS	0.51	NS	เสถียร	0.24
12	%TN	15.37	15.20	15.62	15.30	15.26	15.60	15.45	15.40	$Y_i = 15.33 + 0.004 X_i$	0.71	NS	0.51	NS	เสถียร	0.19
	%TP2O5	26.26	27.02	27.02	26.72	26.20	27.08	27.56	26.84	$Y_i = 26.49 + 0.019 X_i$	1.32	NS	0.24	NS	เสถียร	0.52
	%WK2O	15.80	15.25	15.44	15.52	15.70	15.30	15.20	15.46	$Y_i = 15.61 - 0.009 X_i$	1.24	NS	0.27	NS	เสถียร	0.25
13	%TN	9.77	9.85	9.75	9.68	9.77	9.75	9.56	9.73	$Y_i = 9.82 - 0.005 X_i$	2.04	NS	0.10	NS	เสถียร	0.09
	%TP2O5	26.44	26.60	26.73	26.47	26.86	26.20	26.56	26.55	$Y_i = 26.58 - 0.001 X_i$	0.25	NS	0.81	NS	เสถียร	0.26
	%WK2O	26.15	26.10	26.33	25.97	25.80	25.95	25.80	26.01	$Y_i = 26.22 - 0.011 X_i$	2.54	NS	0.05	NS	เสถียร	0.16
14	%TN	16.92	17.80	17.06	16.48	17.03	16.50	16.90	16.96	$Y_i = 17.25 - 0.016 X_i$	1.20	NS	0.28	NS	เสถียร	0.48
	%TP2O5	20.73	20.42	19.75	19.58	20.62	20.08	20.91	20.30	$Y_i = 20.22 + 0.004 X_i$	0.25	NS	0.81	NS	เสถียร	0.62
15	%TN	9.23	9.30	9.16	9.27	9.27	9.25	8.84	9.19	$Y_i = 9.31 - 0.007 X_i$	1.51	NS	0.19	NS	เสถียร	0.17
	%TP2O5	23.11	24.79	24.01	23.65	23.93	24.29	23.38	23.88	$Y_i = 23.91 - 0.002 X_i$	0.08	NS	0.94	NS	เสถียร	0.70
	%WK2O	26.25	24.30	26.63	24.53	24.15	25.40	26.00	25.32	$Y_i = 25.43 - 0.006 X_i$	0.18	NS	0.87	NS	เสถียร	1.25
16	%TN	19.18	17.97	18.59	18.77	18.24	18.15	19.39	18.61	$Y_i = 18.54 + 0.004 X_i$	0.20	NS	0.85	NS	เสถียร	0.66
	%TP2O5	19.88	18.41	18.09	18.16	18.79	20.14	19.04	18.93	$Y_i = 18.75 + 0.010 X_i$	0.35	NS	0.74	NS	เสถียร	1.00



ลำดับ ที่	ธาตุอาหาร ที่	เวลา (เดือน)						ค่า เฉลี่ย	Simple Linear Regression Model $Y_i = B_0 + B_1X_i + \epsilon_i$	Statistical significance						
		0	6	12	18	24	30			36	t  $t_{\alpha/2, n-2} = 2.57$	F-Test $\alpha=0.05$	สรุป	$U_{its}$ (%)		
	%WK2O	19.65	20.90	22.14	21.24	21.40	20.80	19.75	20.84	$Y_i = 20.91 - 0.004 X_i$	0.12	NS	0.91	NS	เสถียร	1.10
หมายเหตุ		NS หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95						* หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95								

## 2. ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อความเสถียรของตัวอย่างปุ๋ยในระยะสั้น (The short-term stability)

พบว่าลักษณะทางกายภาพ ตัวอย่างที่เก็บในตู้อบอากาศร้อนที่อุณหภูมิ 85 °C บางตัวอย่าง ได้แก่ ตัวอย่างปุ๋ยยูเรีย ปุ๋ยเชิงผสมแบบบับเม็ดสูตร 16-12-8 และ 24-7-7 มีสภาพจับตัวเป็นก้อน สำหรับปุ๋ยไดแอมโมเนียมฟอสเฟต และปุ๋ยเชิงผสมแบบคลุกเคล้า สูตร 19-19-19 ที่มีส่วนผสมของไดแอมโมเนียมฟอสเฟต จะเปลี่ยนจากสีเหลือง เป็นสีเทา และมีสภาพจับตัวเป็นก้อน อย่างไรก็ตาม ผลการวิเคราะห์ในรายการไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม ของ ตัวอย่างปุ๋ยทั้ง 16 สูตร ที่เก็บในตู้อบอากาศร้อนที่อุณหภูมิ 40, 55, 75 และ 85 °C เป็นเวลา 0 - 8 สัปดาห์ ไม่เปลี่ยนแปลง โดยผลการทดสอบ Regression Analysis แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างทั้ง 16 ยังคงมีความเสถียร ตามตารางที่ 4-6

**ตารางที่ 4** ผลการทดสอบความเสถียรของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (%TN) ในปุ๋ยเคมีที่เก็บในอุณหภูมิ 40 55 70 85 °C เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ลำดับ ที่	ตัวอย่างปุ๋ย		อุณหภูมิ	เวลา (สัปดาห์)					ค่า เฉลี่ย	Simple Linear Regression Model $Y_i = B_0 + B_1X_i + \epsilon_i$	Statistical significance				
	ชนิด	สูตร		0	2	4	6	8			t  $t_{\alpha/2, n-2} = 2.57$	F-Test $\alpha=0.05$	สรุป		
1	ปุ๋ยเชิงเดี่ยว/ เชิงประกอบ	46-0-0	40°C	46.52	46.71	46.47	46.76	46.43	46.58	$Y = 46.6020 - 0.0063X$	0.24	NS	0.83	NS	เสถียร
			55°C	46.52	46.59	46.13	45.93	46.29	46.29	$Y = 46.5165 - 0.0563X$	1.47	NS	0.24	NS	เสถียร
			70°C	46.52	46.38	46.17	46.30	46.33	46.34	$Y = 46.4325 - 0.0229X$	1.20	NS	0.32	NS	เสถียร
			85°C	46.52	46.33	46.69	46.34	46.28	46.43	$Y = 46.5255 - 0.0238X$	0.86	NS	0.45	NS	เสถียร
2	ปุ๋ยเชิงเดี่ยว/ เชิงประกอบ	21-0-0	40°C	21.22	21.33	21.21	21.32	21.18	21.25	$Y = 21.2635 - 0.0036X$	0.30	NS	0.78	NS	เสถียร
			55°C	21.22	21.21	21.03	20.87	21.04	21.07	$Y = 21.2100 - 0.0346X$	2.07	NS	0.13	NS	เสถียร
			70°C	21.22	21.03	21.11	21.02	21.14	21.10	$Y = 21.1360 - 0.0083X$	0.59	NS	0.60	NS	เสถียร
			85°C	21.22	21.21	21.48	21.00	21.06	21.19	$Y = 21.2970 - 0.0260X$	0.84	NS	0.46	NS	เสถียร
3	ปุ๋ยเชิงเดี่ยว/ เชิงประกอบ	21-0-0	40°C	21.22	21.29	21.11	21.30	21.17	21.22	$Y = 21.2335 - 0.0046X$	0.32	NS	0.77	NS	เสถียร
			55°C	21.22	21.12	20.98	21.02	20.99	21.07	$Y = 21.18 - 0.0288X$	3.13	NS	0.05	NS	เสถียร
			70°C	21.22	20.98	20.94	20.95	21.07	21.03	$Y = 21.0995 - 0.0169X$	0.89	NS	0.44	NS	เสถียร
			85°C	21.22	21.18	21.47	20.97	21.03	21.18	$Y = 21.2935 - 0.0295X$	0.94	NS	0.42	NS	เสถียร
4	ปุ๋ยเชิงเดี่ยว/ เชิงประกอบ	18-46-0	40°C	17.74	17.70	17.52	17.71	17.53	17.64	$Y = 17.7175 - 0.0199X$	1.33	NS	0.28	NS	เสถียร
			55°C	17.74	17.67	17.77	17.46	17.47	17.62	$Y = 17.7670 - 0.0366X$	2.26	NS	0.11	NS	เสถียร
			70°C	17.74	17.62	17.65	17.64	17.78	17.68	$Y = 17.6595 - 0.0063X$	0.49	NS	0.66	NS	เสถียร
			85°C	17.74	17.77	18.15	17.75	17.69	17.82	$Y = 17.8415 - 0.0060X$	0.17	NS	0.87	NS	เสถียร
5	ปุ๋ยเชิงเดี่ยว/ เชิงประกอบ	18-46-0	40°C	17.96	18.13	17.94	18.24	18.09	18.07	$Y = 17.9930 + 0.0191X$	0.94	NS	0.41	NS	เสถียร
			55°C	17.96	18.18	18.23	17.79	17.93	18.02	$Y = 18.1050 - 0.0219X$	0.71	NS	0.53	NS	เสถียร
			70°C	17.96	17.98	17.89	17.87	18.07	17.95	$Y = 17.9315 - 0.0053X$	0.38	NS	0.73	NS	เสถียร
			85°C	17.96	18.10	18.40	18.08	18.05	18.11	$Y = 18.0800 + 0.0085X$	0.28	NS	0.79	NS	เสถียร
7	ปุ๋ยผสม แบบบับเม็ด	16-20-0	40°C	16.30	16.16	16.05	16.26	16.15	16.18	$Y = 16.2230 - 0.0104X$	0.61	NS	0.58	NS	เสถียร
			55°C	16.30	16.18	16.18	15.44	15.66	15.95	$Y = 16.3560 - 0.1014X$	2.73	NS	0.07	NS	เสถียร

ลำดับที่	ตัวอย่างปุ๋ย			เวลา (สัปดาห์)					ค่าเฉลี่ย	Simple Linear Regression Model $Y_i = B_0 + B_1X_i + \epsilon_i$	Statistical significance				
	ชนิด	สูตร	อุณหภูมิ	0	2	4	6	8			$ t $ $t_{\alpha/2, n-2} = 2.57$	F-Test $\alpha=0.05$	สรุป		
8	ปุ๋ยผสมแบบปั้นเม็ด	16-12-8	70°C	16.30	15.98	16.16	16.11	16.12	16.13	$Y = 16.1780 - 0.0115X$	0.57	NS	0.61	NS	เสถียร
			85°C	16.30	16.04	16.49	16.18	16.15	16.23	$Y = 16.2625 - 0.0080X$	0.26	NS	0.81	NS	เสถียร
			40°C	15.75	16.17	15.90	16.18	16.00	15.99	$Y = 15.8995 + 0.0249X$	0.83	NS	0.47	NS	เสถียร
			55°C	15.75	15.82	15.93	15.35	15.43	15.65	$Y = 15.8775 - 0.0558X$	1.67	NS	0.19	NS	เสถียร
			70°C	15.75	15.86	16.09	16.09	16.03	15.96	$Y = 15.8050 + 0.0393X$	2.47	NS	0.09	NS	เสถียร
9	ปุ๋ยผสมแบบปั้นเม็ด	15-15-15	40°C	15.60	15.81	15.66	15.96	15.65	15.74	$Y = 15.6875 + 0.0121X$	0.47	NS	0.67	NS	เสถียร
			55°C	15.60	15.65	15.81	15.77	15.66	15.70	$Y = 15.649 + 0.0123X$	0.84	NS	0.46	NS	เสถียร
			70°C	15.60	15.62	15.58	15.62	15.69	15.62	$Y = 15.5860 + 0.0088X$	1.62	NS	0.20	NS	เสถียร
			85°C	15.60	15.66	16.22	15.82	15.73	15.81	$Y = 15.7215 + 0.0209X$	0.48	NS	0.66	NS	เสถียร
			40°C	16.47	16.66	16.49	16.70	16.49	16.56	$Y = 16.5440 + 0.0043X$	0.21	NS	0.84	NS	เสถียร
10	ปุ๋ยผสมแบบปั้นเม็ด	16-16-16	55°C	16.47	16.53	16.69	16.17	16.37	16.45	$Y = 16.5565 - 0.0279X$	0.89	NS	0.44	NS	เสถียร
			70°C	16.46	16.28	16.33	16.31	16.53	16.38	$Y = 16.3490 + 0.0080X$	0.41	NS	0.71	NS	เสถียร
			85°C	16.47	16.55	17.00	16.51	16.48	16.60	$Y = 16.6000 - 0.0001X$	0.00	NS	0.99	NS	เสถียร
			40°C	23.90	24.17	24.15	24.06	24.03	24.06	$Y = 24.0290 + 0.0079X$	0.40	NS	0.71	NS	เสถียร
			55°C	23.90	23.91	24.18	23.74	23.55	23.86	$Y = 24.0250 - 0.0425X$	1.24	NS	0.30	NS	เสถียร
11	ปุ๋ยผสมแบบปั้นเม็ด	24-7-7	70°C	23.90	23.73	23.58	23.32	23.98	23.70	$Y = 23.7495 - 0.0128X$	0.27	NS	0.81	NS	เสถียร
			85°C	23.90	23.62	23.81	23.79	23.66	23.75	$Y = 23.8160 - 0.0158X$	0.84	NS	0.46	NS	เสถียร
			40°C	15.35	15.32	15.44	15.54	15.35	15.40	$Y = 15.3550 + 0.0111X$	0.73	NS	0.52	NS	เสถียร
			55°C	15.35	15.56	15.61	15.39	15.47	15.48	$Y = 15.4635 - 0.0033X$	0.16	NS	0.88	NS	เสถียร
			70°C	15.35	15.34	15.63	15.56	15.65	15.50	$Y = 15.3410 + 0.0405X$	2.80	NS	0.07	NS	เสถียร
12	ปุ๋ยผสมแบบปั้นเม็ด	12-24-12	85°C	15.35	15.89	15.79	15.72	15.76	15.70	$Y = 15.5715 + 0.0325X$	0.99	NS	0.39	NS	เสถียร
			40°C	9.80	9.88	9.79	9.85	9.77	9.82	$Y = 9.8365 - 0.0045X$	0.58	NS	0.61	NS	เสถียร
			55°C	9.80	9.86	9.89	9.72	9.72	9.80	$Y = 9.8570 - 0.0154X$	1.36	NS	0.27	NS	เสถียร
			70°C	9.80	9.71	9.76	9.62	9.71	9.72	$Y = 9.7745 - 0.0133X$	1.41	NS	0.25	NS	เสถียร
			85°C	9.80	9.61	9.74	9.86	9.76	9.75	$Y = 9.7175 + 0.0084X$	0.24	NS	0.64	NS	เสถียร
13	ปุ๋ยผสมแบบคลุกเคล้า	8-24-24	40°C	16.92	17.53	17.18	17.53	16.80	17.19	$Y = 17.2435 - 0.0125X$	0.20	NS	0.85	NS	เสถียร
			55°C	16.92	18.16	17.46	17.60	17.67	17.56	$Y = 17.3720 - 0.0468X$	0.61	NS	0.58	NS	เสถียร
			70°C	16.92	17.71	17.27	17.72	17.67	17.46	$Y = 17.1565 + 0.0755X$	1.58	NS	0.21	NS	เสถียร
			85°C	16.92	16.74	18.43	17.33	18.39	17.56	$Y = 16.8570 + 0.1765X$	1.67	NS	0.19	NS	เสถียร
			40°C	9.23	9.39	9.15	9.36	9.56	9.34	$Y = 9.2135 - 0.0311X$	1.42	NS	0.25	NS	เสถียร
14	ปุ๋ยผสมแบบคลุกเคล้า	16-20-0	55°C	9.23	9.90	9.58	9.56	9.78	9.61	$Y = 9.4595 - 0.0374X$	0.90	NS	0.43	NS	เสถียร
			70°C	9.23	9.13	9.35	10.19	9.37	9.45	$Y = 9.1850 + 0.0664X$	0.53	NS	0.39	NS	เสถียร
			85°C	9.23	8.89	9.50	9.65	9.11	9.28	$Y = 9.1710 + 0.0263X$	0.49	NS	0.65	NS	เสถียร
			40°C	19.17	18.98	18.29	19.21	18.32	18.79	$Y = 19.0870 - 0.0740X$	1.04	NS	0.37	NS	เสถียร
			55°C	19.17	19.07	19.85	19.18	18.92	19.24	$Y = 19.3155 - 0.0196X$	0.30	NS	0.78	NS	เสถียร
15	ปุ๋ยผสมแบบคลุกเคล้า	9-24-24	70°C	19.17	18.58	18.88	18.93	18.75	18.86	$Y = 18.9575 - 0.0243X$	0.64	NS	0.57	NS	เสถียร
			85°C	19.17	18.95	19.80	19.27	18.74	19.19	$Y = 19.2930 - 0.0266X$	0.37	NS	0.73	NS	เสถียร
			40°C	19.17	18.98	18.29	19.21	18.32	18.79	$Y = 19.0870 - 0.0740X$	1.04	NS	0.37	NS	เสถียร
16	ปุ๋ยผสมแบบคลุกเคล้า	19-19-19	55°C	19.17	18.58	18.88	18.93	18.75	18.86	$Y = 18.9575 - 0.0243X$	0.64	NS	0.57	NS	เสถียร
			85°C	19.17	18.95	19.80	19.27	18.74	19.19	$Y = 19.2930 - 0.0266X$	0.37	NS	0.73	NS	เสถียร
			40°C	19.17	18.98	18.29	19.21	18.32	18.79	$Y = 19.0870 - 0.0740X$	1.04	NS	0.37	NS	เสถียร

หมายเหตุ NS หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95  
\* หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบความเสถียรของปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด (%TP<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) ในปุ๋ยเคมี ที่เก็บในอุณหภูมิ 40 55 70 85°C เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ลำดับที่	ตัวอย่างปุ๋ย	อุณหภูมิ	เวลา (สัปดาห์)	ค่า	Simple Linear	Statistical significance
----------	--------------	----------	----------------	-----	---------------	--------------------------

ดัด ที่	ชนิด	สูตร	เฉลี่ย					Regression Model $Y_i = B_0 + B_1X_i + \varepsilon_i$	t		F-Test		สรุป		
			0	2	4	6	8		$t_{\alpha/2, n-2} = 2.57$	$\alpha=0.05$					
4	ปุ๋ยเชิงเดี่ยว/ เชิงประกอบ	18-46- 0	40°C	46.61	46.41	45.94	46.79	48.11	46.77	$Y = 46.0950 - 0.1689X$	1.52	NS	0.23	NS	เสถียร
			55°C	46.61	47.19	46.76	45.79	46.75	46.62	$Y = 46.8390 - 0.0553X$	0.63	NS	0.57	NS	เสถียร
			70°C	46.61	46.12	46.68	47.79	46.79	46.80	$Y = 46.3865 - 0.1025X$	1.08	NS	0.36	NS	เสถียร
			85°C	46.61	47.38	47.15	47.28	47.96	47.27	$Y = 46.7525 + 0.1304X$	2.77	NS	0.07	NS	เสถียร
5	ปุ๋ยเชิงเดี่ยว/ เชิงประกอบ	18-46- 0	40°C	46.15	46.45	46.44	46.35	46.55	46.39	$Y = 46.245 + 0.036X$	1.98	NS	0.14	NS	เสถียร
			55°C	46.15	47.22	47.11	47.17	47.01	46.93	$Y = 46.5985 - 0.0830X$	1.27	NS	0.29	NS	เสถียร
			70°C	46.15	46.18	46.95	47.62	46.50	46.68	$Y = 46.2535 - 0.1069X$	1.14	NS	0.34	NS	เสถียร
			85°C	46.15	47.11	47.01	46.34	47.34	46.79	$Y = 46.4675 + 0.0800X$	0.98	NS	0.40	NS	เสถียร
7	ปุ๋ยผสม แบบปั้นเม็ด	16-20- 0	40°C	20.32	20.29	20.49	20.44	20.78	20.46	$Y = 20.2480 - 0.0536X$	3.12	NS	0.05	NS	เสถียร
			55°C	20.32	20.73	20.42	20.48	20.32	20.45	$Y = 20.4990 - 0.0121X$	0.41	NS	0.71	NS	เสถียร
			70°C	20.32	20.06	20.24	20.84	20.32	20.35	$Y = 20.1985 + 0.0389X$	0.82	NS	0.47	NS	เสถียร
			85°C	20.32	20.42	20.19	20.39	20.54	20.37	$Y = 20.2885 + 0.0205X$	1.00	NS	0.39	NS	เสถียร
8	ปุ๋ยผสม แบบปั้นเม็ด	16-12- 8	40°C	12.24	12.28	12.49	12.38	12.99	12.48	$Y = 12.1535 + 0.0803X$	0.25	NS	0.08	NS	เสถียร
			55°C	12.24	12.26	12.63	12.31	12.29	12.34	$Y = 12.3115 - 0.0080X$	0.27	NS	0.80	NS	เสถียร
			70°C	12.24	12.47	12.57	12.83	12.50	12.52	$Y = 12.3430 + 0.0446X$	1.51	NS	0.22	NS	เสถียร
			85°C	12.24	12.18	12.16	12.39	12.20	12.23	$Y = 12.2055 + 0.0066X$	0.42	NS	0.70	NS	เสถียร
9	ปุ๋ยผสม แบบปั้นเม็ด	15-15- 15	40°C	15.26	15.08	15.18	15.23	15.89	15.33	$Y = 15.0465 + 0.0706X$	1.68	NS	0.19	NS	เสถียร
			55°C	15.26	15.63	15.73	15.24	15.02	15.37	$Y = 15.5480 - 0.0434X$	0.92	NS	0.43	NS	เสถียร
			70°C	15.26	14.98	15.34	15.64	15.40	15.32	$Y = 15.1345 + 0.0469X$	1.36	NS	0.27	NS	เสถียร
			85°C	15.26	15.40	15.11	15.58	16.14	15.50	$Y = 15.1095 + 0.0973X$	2.07	NS	0.13	NS	เสถียร
10	ปุ๋ยผสม แบบปั้นเม็ด	16-16- 16	40°C	15.76	15.94	16.05	15.84	16.47	16.01	$Y = 15.7480 + 0.0688X$	1.98	NS	0.14	NS	เสถียร
			55°C	15.76	15.95	15.86	15.74	15.40	15.74	$Y = 15.9260 - 0.0469X$	1.74	NS	0.18	NS	เสถียร
			70°C	15.76	15.49	15.73	15.94	15.59	15.70	$Y = 15.6815 + 0.0049X$	0.16	NS	0.88	NS	เสถียร
			85°C	15.76	16.02	15.75	16.13	16.18	15.97	$Y = 15.7770 + 0.0474X$	1.88	NS	0.16	NS	เสถียร
11	ปุ๋ยผสม แบบปั้นเม็ด	24-7-7	40°C	6.66	6.67	6.64	6.65	7.05	6.73	$Y = 6.5765 + 0.0388X$	1.61	NS	0.21	NS	เสถียร
			55°C	6.66	6.80	6.82	6.77	6.75	6.76	$Y = 6.7275 - 0.0076X$	0.71	NS	0.53	NS	เสถียร
			70°C	6.66	6.58	6.70	6.74	6.72	6.68	$Y = 6.6205 + 0.0139X$	1.71	NS	0.19	NS	เสถียร
			85°C	6.66	6.66	6.54	6.58	6.66	6.62	$Y = 6.6330 - 0.0034X$	0.34	NS	0.76	NS	เสถียร
12	ปุ๋ยผสม แบบปั้นเม็ด	12-24- 12	40°C	26.26	27.73	27.12	29.02	28.52	27.73	$Y = 26.5690 + 0.2901X$	2.65	NS	0.08	NS	เสถียร
			55°C	26.26	29.08	28.04	28.77	28.06	28.04	$Y = 27.3865 - 0.1640X$	0.93	NS	0.42	NS	เสถียร
			70°C	26.26	26.58	27.68	28.07	27.58	27.23	$Y = 26.4105 + 0.2060X$	2.70	NS	0.07	NS	เสถียร
			85°C	26.26	28.54	26.15	28.13	28.11	27.44	$Y = 26.7790 + 0.1645X$	0.89	NS	0.44	NS	เสถียร
13	ปุ๋ยผสม แบบ คลุกเคล้า	8-24- 24	40°C	26.44	26.58	26.17	26.07	26.68	26.39	$Y = 26.394 - 0.0018X$	0.04	NS	0.97	NS	เสถียร
			55°C	26.44	27.50	27.04	26.78	26.46	26.84	$Y = 26.9770 - 0.0338X$	0.43	NS	0.69	NS	เสถียร
			70°C	26.44	26.52	26.27	27.13	26.23	26.51	$Y = 26.4775 + 0.0093X$	0.14	NS	0.89	NS	เสถียร
			85°C	26.44	26.69	26.21	26.55	26.78	26.53	$Y = 26.4260 + 0.0268X$	0.71	NS	0.52	NS	เสถียร
14	ปุ๋ยผสม แบบ คลุกเคล้า	16-20- 0	40°C	20.73	20.34	20.40	20.77	21.18	20.68	$Y = 20.4150 + 0.0666X$	1.39	NS	0.26	NS	เสถียร
			55°C	20.73	21.07	19.63	20.49	20.86	20.55	$Y = 20.6155 - 0.0152X$	0.15	NS	0.89	NS	เสถียร
			70°C	20.73	20.95	20.75	20.79	20.33	20.71	$Y = 20.8975 - 0.0475X$	1.52	NS	0.23	NS	เสถียร
			85°C	20.73	21.15	20.23	21.15	20.65	20.78	$Y = 20.8095 - 0.0071X$	0.10	NS	0.93	NS	เสถียร
15	ปุ๋ยผสม แบบ คลุกเคล้า	9-24- 24	40°C	23.11	24.37	23.90	24.41	25.50	24.26	$Y = 23.2900 - 0.2415X$	3.16	NS	0.05	NS	เสถียร
			55°C	23.11	25.84	24.89	25.23	25.20	24.85	$Y = 24.1365 + 0.1790X$	1.13	NS	0.34	NS	เสถียร
			70°C	23.11	24.49	24.42	26.61	24.26	24.58	$Y = 23.6905 + 0.2213X$	1.14	NS	0.34	NS	เสถียร
			85°C	23.11	24.23	24.55	25.04	24.61	24.31	$Y = 23.5430 + 0.1914X$	2.54	NS	0.08	NS	เสถียร
16	ปุ๋ยผสม แบบ คลุกเคล้า	19-19- 19	40°C	19.88	19.04	18.43	18.87	18.60	18.96	$Y = 19.5095 - 0.1370X$	2.07	NS	0.13	NS	เสถียร
			55°C	19.88	21.89	19.77	19.67	17.62	19.76	$Y = 21.1130 - 0.0073X$	1.72	NS	0.18	NS	เสถียร
			70°C	19.88	18.4	17.96	18.33	19.78	18.87	$Y = 18.9240 - 0.0140X$	0.09	NS	0.94	NS	เสถียร
			85°C	19.88	21.12	21.35	22.43	19.28	20.81	$Y = 20.7910 + 0.0048X$	0.02	NS	0.98	NS	เสถียร

หมายเหตุ NS หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95  
\* หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 6 ผลการทดสอบความเสถียรของปริมาณโพแทสเซียมที่ละลายน้ำ (%WK<sub>2</sub>O) ในปุ๋ยเคมีที่เก็บในอุณหภูมิ 40 55 70 85°C เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ลำดับที่	ตัวอย่างปุ๋ย		อุณหภูมิ	เวลา (สัปดาห์)					ค่าเฉลี่ย	Simple Linear Regression Model $Y_i = B_0 + B_1X_i + \epsilon_i$	Statistical significance				
	ชนิด	สูตร		0	2	4	6	8			t  $t_{\alpha/2, n-2} = 2.57$	F-Test $\alpha=0.05$	สรุป		
6	ปุ๋ยเชิงเดี่ยว/ เชิงประกอบ	0-0-60	40°C	60.80	61.61	62.90	61.12	61.62	61.61	$Y = 61.3785 + 0.0573X$	0.40	NS	0.71	NS	เสถียร
			55°C	60.80	60.73	61.52	60.89	60.72	60.93	$Y = 60.9335 - 0.0005X$	0.01	NS	0.99	NS	เสถียร
			70°C	60.80	61.68	61.25	61.35	60.65	61.14	$Y = 61.2705 - 0.0315X$	0.42	NS	0.70	NS	เสถียร
			85°C	60.80	62.00	61.73	61.22	61.52	61.45	$Y = 61.3210 - 0.0328X$	0.40	NS	0.72	NS	เสถียร
8	ปุ๋ยผสม แบบปั้นเม็ด	16-12- 8	40°C	8.00	8.20	8.45	8.32	8.35	8.26	$Y = 8.0990 + 0.0411X$	2.00	NS	0.14	NS	เสถียร
			55°C	8.00	8.21	8.19	8.12	8.09	8.12	$Y = 8.1045 - 0.0041X$	0.27	NS	0.80	NS	เสถียร
			70°C	8.00	8.53	8.30	8.33	7.84	8.20	$Y = 8.3015 - 0.0258X$	0.54	NS	0.63	NS	เสถียร
			85°C	8.00	8.45	8.38	8.45	8.47	8.35	$Y = 8.1615 + 0.0469X$	1.95	NS	0.15	NS	เสถียร
9	ปุ๋ยผสม แบบปั้นเม็ด	15-15- 15	40°C	15.10	15.38	15.47	15.36	15.37	15.34	$Y = 15.2320 + 0.0260X$	1.27	NS	0.29	NS	เสถียร
			55°C	15.10	15.10	15.45	15.24	15.47	15.27	$Y = 15.0965 - 0.0438X$	2.13	NS	0.12	NS	เสถียร
			70°C	15.10	15.73	15.48	15.40	15.22	15.38	$Y = 15.4005 - 0.0040X$	0.09	NS	0.93	NS	เสถียร
			85°C	15.10	15.48	15.40	15.39	15.12	15.30	$Y = 15.3055 - 0.0019X$	0.06	NS	0.96	NS	เสถียร
10	ปุ๋ยผสม แบบปั้นเม็ด	16-16- 16	40°C	16.85	16.96	16.98	16.96	16.85	16.92	$Y = 16.9185 - 0.0001X$	0.01	NS	0.99	NS	เสถียร
			55°C	16.85	17.04	16.99	16.76	16.90	16.91	$Y = 16.9440 - 0.0093X$	0.48	NS	0.66	NS	เสถียร
			70°C	16.85	16.90	16.98	16.93	17.27	16.98	$Y = 16.8115 + 0.0430X$	2.52	NS	0.09	NS	เสถียร
			85°C	16.85	16.78	16.70	16.88	16.93	16.83	$Y = 16.7740 + 0.0133X$	0.90	NS	0.43	NS	เสถียร
11	ปุ๋ยผสม แบบปั้นเม็ด	24-7-7	40°C	6.75	6.85	6.89	7.00	6.60	6.81	$Y = 6.8455 - 0.0078X$	0.29	NS	0.79	NS	เสถียร
			55°C	6.75	6.74	6.62	6.59	6.82	6.70	$Y = 6.7045 - 0.0003X$	0.01	NS	0.99	NS	เสถียร
			70°C	6.75	6.75	6.60	6.92	6.53	6.71	$Y = 6.765 - 0.0138X$	0.51	NS	0.65	NS	เสถียร
			85°C	6.75	6.78	6.93	7.00	6.94	6.88	$Y = 6.7575 + 0.0300X$	3.05	NS	0.056	NS	เสถียร
12	ปุ๋ยผสม แบบปั้นเม็ด	12-24- 12	40°C	15.80	15.11	15.48	14.45	15.06	15.18	$Y = 15.6065 - 0.1071X$	1.56	NS	0.22	NS	เสถียร
			55°C	15.80	15.63	13.55	16.38	14.67	15.21	$Y = 15.505 - 0.075X$	0.38	NS	0.73	NS	เสถียร
			70°C	15.80	15.93	14.85	15.43	14.78	15.36	$Y = 15.8640 - 0.1270X$	2.03	NS	0.13	NS	เสถียร
			85°C	15.80	14.70	15.60	14.75	14.66	15.10	$Y = 15.5490 - 0.1121X$	1.45	NS	0.24	NS	เสถียร
13	ปุ๋ยผสม แบบ คลุกเคล้า	8-24- 24	40°C	26.15	26.06	26.00	26.57	25.91	26.14	$Y = 26.1305 - 0.0014X$	0.03	NS	0.98	NS	เสถียร
			55°C	26.15	25.72	25.78	25.89	25.75	25.86	$Y = 25.9850 - 0.0323X$	1.23	NS	0.31	NS	เสถียร
			70°C	26.15	26.43	26.10	26.38	26.16	26.24	$Y = 26.2480 - 0.0015X$	0.05	NS	0.96	NS	เสถียร
			85°C	26.15	26.40	25.98	25.87	25.60	26.00	$Y = 26.3245 - 0.0813X$	2.90	NS	0.06	NS	เสถียร
15	ปุ๋ยผสม แบบ คลุกเคล้า	9-24- 24	40°C	26.25	25.53	25.36	25.82	24.57	25.51	$Y = 26.1225 - 0.1540X$	2.16	NS	0.12	NS	เสถียร
			55°C	26.25	25.63	24.73	24.03	25.31	25.19	$Y = 25.8840 - 0.1745X$	1.47	NS	0.24	NS	เสถียร
			70°C	26.25	25.63	24.73	24.03	25.31	25.19	$Y = 25.8840 - 0.1745X$	1.47	NS	0.24	NS	เสถียร
			85°C	26.25	24.83	24.73	23.91	24.88	24.92	$Y = 25.6500 - 0.1831X$	1.64	NS	0.20	NS	เสถียร
16	ปุ๋ยผสม แบบ คลุกเคล้า	19-19- 19	40°C	19.65	21.00	21.64	20.47	21.07	20.77	$Y = 20.3025 - 0.1156X$	0.97	NS	0.40	NS	เสถียร
			55°C	19.65	18.04	19.31	19.35	21.71	19.61	$Y = 18.5280 - 0.2708X$	1.47	NS	0.24	NS	เสถียร
			70°C	19.65	21.75	21.80	21.25	20.99	21.09	$Y = 20.6520 + 0.1090X$	0.74	NS	0.51	NS	เสถียร
			85°C	19.65	18.95	17.90	18.02	20.94	19.09	$Y = 18.7620 + 0.0826X$	0.37	NS	0.74	NS	เสถียร

หมายเหตุ NS หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95  
\* หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

ตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่นำมาศึกษาความเสถียรภายใต้สภาวะควบคุมในระยะยาวและผลของอุณหภูมิต่อความเสถียรของปุ๋ยในระยะสั้น คือ ปุ๋ยเคมีเชิงเดี่ยวหรือปุ๋ยเคมีเชิงประกอบ ได้แก่ สูตร 46-0-0, 21-0-0, 18-46-0 และ 0-0-60 ปุ๋ยผสมแบบปั้นเม็ด ได้แก่ สูตร 16-20-0, 16-12-8, 15-15-15, 16-16-16 และ 24-7-7 ปุ๋ยผสมแบบคลุกเคล้า ได้แก่ สูตร 12-24-12, 8-24-24, 16-20-0, 9-24-24 และ 19-19-19 รวมทั้งหมด 16 สูตร มีความเสถียรของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสทั้งหมด และโพแทสเซียมที่ละลายน้ำ ภายใต้สภาวะควบคุมในระยะยาวที่ระยะเวลา 36 เดือน และมีความเสถียรภายใต้สภาวะอุณหภูมิ 40, 55, 70 และ 85°C ที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์

ตัวอย่างปุ๋ยบางชนิดเกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพระหว่างการทดสอบ โดยเมื่อเก็บตัวอย่างปุ๋ยในสภาวะอุณหภูมิห้องนาน 24 เดือน ผิวเม็ดปุ๋ยแตกกร้าวเมื่อบีบจะแตกเป็นผง จำนวน 1 ตัวอย่าง และปุ๋ยที่อยู่ในสภาวะอุณหภูมิ 85°C เป็นเวลา 8 สัปดาห์ มีการจับตัวเป็นก้อนและมีการเปลี่ยนสี 5 ตัวอย่าง และ 3 ตัวอย่าง ตามลำดับ

### อิทธิพลของปริมาณยูเรียที่มีผลกระทบต่อค่าวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในตัวอย่างปุ๋ยที่มียูเรียเป็นส่วนผสม

#### Influence of Urea to Ammonium Nitrogen Content in Fertilizer Containing Urea as an Ingredient

ทองจันทร์ พิมพ์เพชร วรณรัตน์ ชุตินบุตร อาธิยา ปูนประโคน  
Thongchan Pimpet Wannarut Chutibut Arthiya Punprakhon

### คำสำคัญ (Keywords)

ยูเรีย แอมโมเนียมไนโตรเจน ปุ๋ย  
Urea Ammonium nitrogen Fertilizer

### บทคัดย่อ(Abstract)

ผลของปริมาณยูเรียต่อค่าวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจน โดยวิธีแมกนีเซียมออกไซด์ในปุ๋ยเคมี เป็นการศึกษาผลกระทบของปริมาณยูเรียต่อค่าวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจน เพื่อนำไปหาปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนขั้นต่ำในปุ๋ยเคมีที่มียูเรียเป็นส่วนประกอบ และยังคงให้ผลการวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนตามวิธีแมกนีเซียมออกไซด์อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ สำหรับใช้เป็นแนวทางในการกำหนดเกณฑ์ของปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนขั้นต่ำในการขึ้นทะเบียนปุ๋ยเชิงเดี่ยวไนโตรเจนแบบคลุกเคล้า โดยวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนตามวิธีแมกนีเซียมออกไซด์ ในตัวอย่างปุ๋ยเชิงเดี่ยวไนโตรเจนแบบคลุกเคล้าที่ส่วนผสมของแอมโมเนียมไนโตรเจนและยูเรียไนโตรเจน ในอัตราส่วน 0:1 0.1:1 0.3:1 0.4:1 0.7:1 และ 1:1 แล้วนำผลวิเคราะห์ที่ได้ไปคำนวณหาความคลาดเคลื่อนจากค่าจริง และนำมาเปรียบเทียบกับเกณฑ์คลาดเคลื่อนไนโตรเจนทั้งหมดตามที่ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์กำหนด จากการทดลองพบว่าปุ๋ยที่มียูเรียเป็นส่วนประกอบจะทำให้ผลวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนมีความถูกต้องน้อยลง โดยปริมาณยูเรียที่เพิ่มขึ้นจะทำให้ค่าความแตกต่างระหว่างค่าวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนที่วิเคราะห์ได้กับค่าจริงเพิ่มขึ้นในเชิงบวก สำหรับ

ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนขั้นต่ำในปุ๋ยเชิงเดี่ยวไนโตรเจนแบบคลุกเคล้าที่มียูเรียเป็นส่วนประกอบ และให้ผลการวิเคราะห์ตามวิธีแมกนีเซียมออกไซด์อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ สูตร 20-0-0 25-0-0 และ 30-0-0 เท่ากับ 8% 10% และ 15% ตามลำดับ

Effect of urea content to ammonium nitrogen using magnesium oxide in chemical fertilizers. Study on the effects of urea content to ammonium nitrogen analysis the minimum amount of ammonium nitrogen in chemical fertilizers containing urea and still providing the results of the analysis of ammonium nitrogen according to magnesium oxide method is the acceptance criteria for use as a guideline for determining the criteria for the minimum amount of ammonium nitrogen in the registration of nitrogen single-fertilizer. Analyzing the amount of ammonium nitrogen according to the magnesium oxide method. In nitrogen single-fertilizer application, the mixture of ammonium nitrogen and urea nitrogen in the ratio 0: 1 0.1: 1 0.3: 1 0.4: 1 0.7: 1 and 1: 1 and then the results obtained were calculated. Deviated from the actual value and compared with all nitrogen tolerances as announced by the Ministry of Agriculture and Cooperatives from the experiment. It was found that the fertilizers containing urea would make the ammonium nitrogen analysis less accurate. The increasing amount of urea will increase the difference between the ammonium nitrogen analysis value and the actual value. For the minimum amount of ammonium nitrogen in nitrogen single-fertilizer containing urea and the results of the analysis according to the magnesium oxide method are in the acceptance criteria of 20-0-0 25-0-0 and 30-0-0, equal to 8%, 10% and 15% respectively.

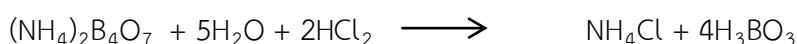
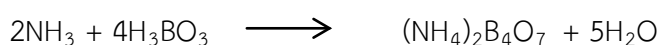
## บทนำ (Introduction)

ปัจจุบันประเทศไทยมีการผลิตปุ๋ยเคมีที่เป็นปุ๋ยเชิงเดี่ยวไนโตรเจนแบบคลุกเคล้ามากขึ้น โดยการนำปุ๋ยยูเรีย ปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟต และสารตัวเติม มาผสมกันแบบคลุกเคล้า ปุ๋ยดังกล่าวเมื่อนำไปขอขึ้นทะเบียน และออกใบสำคัญการขึ้นทะเบียน กับสำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร จะต้องแจ้งผลการวิเคราะห์ของไนโตรเจนในรูปยูเรียไนโตรเจน และแอมโมเนียมไนโตรเจนด้วย เพื่อเป็นการป้องกันการเอาเปรียบเกษตรกรจากการนำปุ๋ยยูเรียมาลดสูตรโดยการผสมปุ๋ยยูเรียกับสารตัวเติมเพียงอย่างเดียว แต่หากนำปุ๋ยยูเรีย และปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟตมาผสมกันจะทำให้ปุ๋ยนั้นแตกต่างจากปุ๋ยยูเรียเพียงอย่างเดียวเนื่องจากความแตกต่างกันของคุณสมบัติของปุ๋ยทั้งสองชนิดจึงไม่ถือเป็นการลดสูตรปุ๋ย อย่างไรก็ตามการใส่ปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟตในปริมาณมากจะทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้น ซึ่งจากข้อมูลปริมาณและมูลค่าการนำเข้าปุ๋ยเคมีสูตรที่สำคัญ ปี 2560 มีการนำเข้าปุ๋ยยูเรีย (46-0-0) ปริมาณ 2,466,887 ตัน มูลค่า 20,467 ล้านบาท และปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟต (21-0-0) ปริมาณ 207,092 ตัน มูลค่า 927 ล้านบาท (สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร, 2561) เมื่อคำนวณเปรียบเทียบต้นทุนวัตถุดิบของปุ๋ยเชิงเดี่ยวไนโตรเจนแบบคลุกเคล้าสูตร 20-0-0 พบว่าหากใช้ปุ๋ยยูเรียผสมกับสารตัวเติม จะมีต้นทุนเท่ากับ 3.65 บาท/กิโลกรัม แต่เมื่อใช้แอมโมเนียมซัลเฟตผสมกับสารตัวเติม จะมีต้นทุนเท่ากับ 4.32 บาท/กิโลกรัม จะเห็นได้ว่าต้นทุนการผลิตเป็นปุ๋ยเชิงเดี่ยวแบบ

คลุกเคล้าจากแอมโมเนียมซัลเฟตมีค่าสูงกว่าต้นทุนการผลิตจากยูเรีย ประกอบกับยังไม่มีกำหนดเกณฑ์ปริมาณขั้นต่ำของค่าวิเคราะห์แอมโมเนียมซัลเฟตและยูเรียในปุ๋ยเชิงเดี่ยวไนโตรเจนแบบคลุกเคล้า จึงมีผู้ประกอบการบางรายผสมปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟตเพียงปริมาณเล็กน้อยลงในปุ๋ยยูเรียเพียงเพื่อให้สามารถขึ้นทะเบียนได้เท่านั้น

แอมโมเนียมไนโตรเจน คือไนโตรเจนที่เป็นประโยชน์อยู่ในรูปของแอมโมเนียม ( $\text{NH}_4^+$ ) (ยงยุทธ, 2556) ที่มีประจุบวก (Cation) ซึ่งพืชสามารถดูดไปใช้ได้ทันที

วิธีแมกนีเซียมออกไซด์ เป็นวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 ใช้เทคนิคการกลั่นตัวอย่างด้วยแมกนีเซียมออกไซด์ ได้ก๊าซแอมโมเนียซึ่งถูกดักจับด้วยกรดบอริก ได้สารละลายแอมโมเนียมเตตระบอเรต และไทเทรตสารละลายที่ได้ด้วยกรดเกลือมาตรฐานเพื่อนำปริมาตรที่ได้มาคำนวณปริมาณไนโตรเจน ดังปฏิกิริยา



วิธีนี้ใช้สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมีที่ไม่มีไนโตรเจนที่ย่อยสลายได้ง่ายเมื่อให้ความร้อน เช่น ยูเรียแคลเซียมไซยานาไมด์เป็นส่วนประกอบ ( OMAF, 1987 และ AOAC, 2016) การนำวิธีวิเคราะห์ดังกล่าวมาใช้วิเคราะห์ตัวอย่างที่มียูเรียเป็นส่วนประกอบ อาจทำให้ผลการวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนคลาดเคลื่อนจากค่าจริงได้

อย่างไรก็ตามหากตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ที่มีปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนและยูเรียไนโตรเจนอยู่ในสัดส่วนที่เหมาะสม จะทำให้ผลวิเคราะห์ที่ได้มีความคลาดเคลื่อนน้อยลง และอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ งานวิจัยนี้จึงทำการศึกษา ผลของยูเรียที่มีต่อผลวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจน และศึกษาปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนขั้นต่ำในปุ๋ยเคมีที่มียูเรียเป็นส่วนประกอบ ที่ยังคงให้ผลการวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนตามวิธีแมกนีเซียมออกไซด์ซึ่งเป็นวิธีวิเคราะห์ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ เพื่อใช้เป็นแนวทางในการกำหนดเกณฑ์ของปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนขั้นต่ำสำหรับผลิตปุ๋ยเชิงเดี่ยวไนโตรเจนแบบคลุกเคล้า

### ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

อุปกรณ์ ได้แก่ เครื่องย่อยและกลั่นไนโตรเจน เครื่องแก้วและวัสดุวิทยาศาสตร์ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ วิเคราะห์สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจน และตัวอย่างปุ๋ยยูเรีย ปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟตและสารตัวเติม

#### วิธีการ

1. เตรียมตัวอย่างปุ๋ยเชิงเดี่ยวไนโตรเจนแบบคลุกเคล้า สูตร 20-0-0 25-0-0 และ 30-0-0 โดยนำปุ๋ยยูเรีย ปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟต และสารตัวเติม มาผสมแบบคลุกเคล้าให้เข้ากัน ให้มีปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน และยูเรียไนโตรเจน เท่ากับ 0:1 0.1:1 0.3:1 0.4:1 0.7:1 และ 1:1 ตามลำดับ

- วิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน โดยใช้วิธีวิเคราะห์ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 วิธีทดสอบ 1.05.02 และ 1.06.01 ตามลำดับ
- คำนวณร้อยละความแตกต่างสัมพัทธ์ (% Relative Percentage Difference: %RPD) ร้อยละความถูกต้อง (% Accuracy) ร้อยละความคลาดเคลื่อน (% Error) และความคลาดเคลื่อนสมบูรณ์ (Absolute Error) ของค่าวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจน
- นำผลที่ได้มาพิจารณาความสัมพันธ์ของปริมาณยูเรียและผลวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนของปุ๋ยแต่ละสูตร และประเมินการยอมรับผลการวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจน โดยเปรียบเทียบกับความคลาดเคลื่อนสมบูรณ์ที่ได้กับเกณฑ์คลาดเคลื่อนของไนโตรเจน ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหารรับรองของปุ๋ยเคมี ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 พ.ศ. 2552 ซึ่งค่าที่ได้จะต้องต่ำกว่าหรือเท่ากับเกณฑ์คลาดเคลื่อนตามประกาศกระทรวงฯ

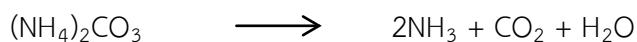
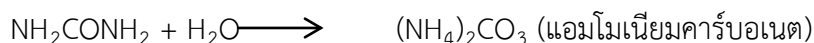
ระยะเวลา เริ่มต้น ต.ค. 2558 สิ้นสุด ก.ย. 256 0

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี  
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

### ผลการวิจัย (Results)

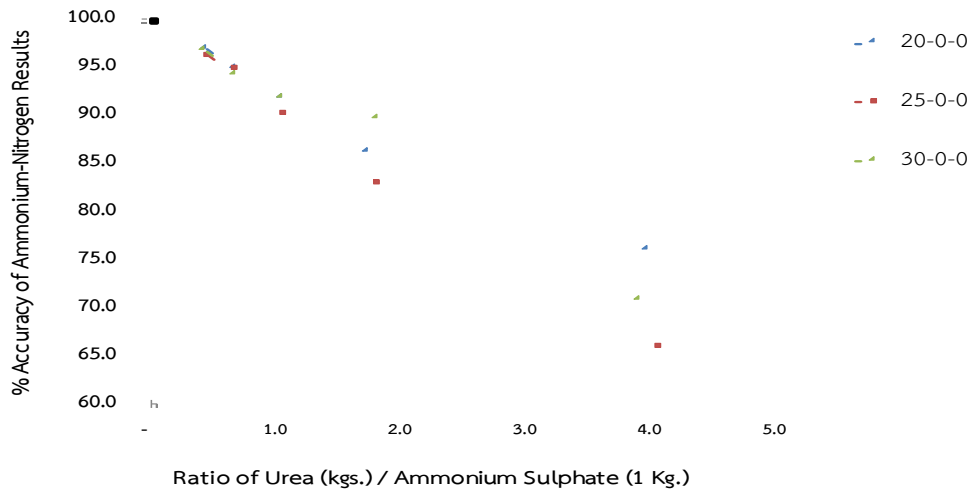
- ศึกษาผลของยูเรียที่มีต่อผลวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจน

จากการทดลองพบว่า เมื่อผสมปุ๋ยโดยเพิ่มปริมาณปุ๋ยยูเรียต่อปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟต จะทำให้ค่าวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนโดยวิธีการกลั่นด้วยแมกนีเซียมออกไซด์มีความถูกต้องของแอมโมเนียมไนโตรเจนลดลง (Figure 1) และมีค่าความแตกต่างระหว่างผลวิเคราะห์ที่ได้กับค่าจริงเพิ่มขึ้นในเชิงบวก (Figure 2) ทั้งนี้เนื่องจากยูเรียเป็นสารที่ละลายน้ำง่าย (ยงยุทธ และคณะ, 2556) เมื่อละลายน้ำจะแตกตัว ให้แอมโมเนียมคาร์บอเนตซึ่งเป็นเกลือที่ไม่มีเสถียรภาพ จึงสลายตัวได้แอมโมเนีย คาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำดังปฏิกิริยา

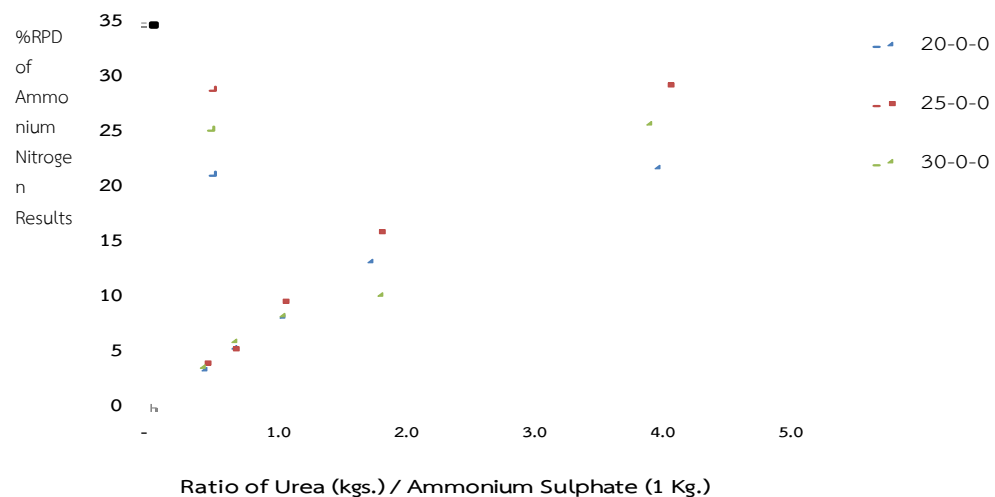


เมื่อนำปุ๋ยที่มียูเรียเป็นส่วนประกอบไปวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน ตามวิธีแมกนีเซียมออกไซด์ โดยนำตัวอย่างไปละลายน้ำ ต้มให้ร้อนด้วยแมกนีเซียมออกไซด์ จะทำให้ยูเรียบางส่วนสลายตัวเป็นแอมโมเนีย และถูกดักจับด้วย กรดบอริก ทำให้ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนที่วิเคราะห์ได้มีค่าเพิ่มขึ้นมากกว่าค่าจริง





**Figure 1** Relationship between the ratio of Urea (kgs.) :Ammonium Sulphate (1 kg.) and accuracy of Ammonium Nitrogen (%)



**Figure 2** Relationship between the ratio of Urea (kgs.) : Ammonium Sulphate (1 kg.) and Relative Percentage Difference of Ammonium Nitrogen (%)

2. ศึกษาปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนขั้นต่ำในปุ๋ยเคมีที่มียูเรียเป็นส่วนประกอบ ที่มีผลการวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ

เมื่อเปรียบเทียบความคลาดเคลื่อนสมบูรณ์ของค่าวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจน กับเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปุ๋ยไนโตรเจนเชิงเดี่ยว ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหารรับรองของปุ๋ยเคมีตามพระราชบัญญัติปุ๋ยพ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 พ.ศ. 2552 พบว่า ปุ๋ยเชิงเดี่ยวไนโตรเจนแบบคลุกเคล้า สูตร 20-0-0 และสูตร 25-0-0 ที่มีปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนต่อยูเรียไนโตรเจนเท่ากับ 0.7 : 1 และ 1:1 และปุ๋ยสูตร 30-0-0 ที่มียูเรียไนโตรเจนต่อแอมโมเนียมไนโตรเจน 1 :1 มีผลการวิเคราะห์อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ (ตารางที่ 1) แสดงว่า

ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนที่มีความเหมาะสมในการนำไปกำหนดเกณฑ์สำหรับปริมาณขั้นต่ำ  
ปุ๋ยไนโตรเจนเชิงเดี่ยวแบบคลุกเคล้าสูตร 20-0-025-0-0 และ 30-0-0 เท่ากับ 8% 10 % และ  
15 % ตามลำดับ

**ตารางที่ 1** Compared Absolute Error of Ammonium Nitrogen in Chemical Fertilizer  
with Accepted Error and Evaluated

Grade	Ammonium-N : Urea-N Ratio	% AN Theoretical	% AN Experimental	Absolute Error	Accepted Error*	Accept/ Reject**
20-0-0	0.0 : 1	-	0.9	0.9	-	-
	0.1 : 1	2.1	2.6	0.5	0.4	Reject
	0.3 : 1	4.2	4.8	0.6	0.4	Reject
	0.4 : 1	6.2	6.7	0.5	0.4	Reject
	0.7 : 1	8.3	8.7	0.4	0.5	Accept
	1.0 : 1	10.2	10.5	0.3	0.5	Accept
25-0-0	0.0 : 1	-	0.8	0.8	-	-
	0.1 : 1	2.6	3.4	0.9	0.4	Reject
	0.3 : 1	5.1	6.0	0.9	0.4	Reject
	0.4 : 1	7.6	8.4	0.8	0.5	Reject
	0.7 : 1	10.2	10.7	0.5	0.5	Accept
	1.0 : 1	12.7	13.2	0.5	0.5	Accept
30-0-0	0.0 : 1	-	0.9	0.9	-	-
	0.1 : 1	3.2	4.1	0.9	0.4	Reject
	0.3 : 1	6.2	6.8	0.6	0.4	Reject
	0.4 : 1	9.1	9.9	0.8	0.5	Reject
	0.7 : 1	12.3	13.0	0.7	0.5	Reject
	1.0 : 1	14.6	15.1	0.5	0.5	Accept

**Remark :** \* Notification of Ministry of agriculture and cooperatives Re: Determination  
of tolerances of Chemical Fertilizers analysis under the fertilizer act B.E.  
2518 amended by fertilizer act (no.2) B.E. 2550 B.E. 2552

\*\* Accept means Absolute Error is equal or less than Accepted Error

#### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

ปุ๋ยที่มียูเรียเป็นส่วนประกอบจะทำให้ค่าวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนมีความถูกต้อง  
น้อยลง โดยปริมาณปุ๋ยยูเรียที่เพิ่มขึ้นจะทำให้ค่าวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนเพิ่มขึ้น และมีค่า  
ความแตกต่างระหว่างค่าวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนที่วิเคราะห์ได้กับค่าจริงเพิ่มขึ้นด้วย สำหรับ  
ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนขั้นต่ำในปุ๋ยเชิงเดี่ยวไนโตรเจนแบบคลุกเคล้าที่มียูเรียเป็นส่วนประกอบ  
และให้ผลการวิเคราะห์ตามวิธีแมกนีเซียมออกไซด์อยู่ในเกณฑ์การยอมรับในสูตร 20-0-0 25-0-0  
และ 30-0-0 เท่ากับ 8% 10 % และ 15 % ตามลำดับ

พัฒนาวิธีวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยโดย  
เทคนิคคอมบัสชัน

Development and Method Validation on Analysis of Total Nitrogen in Fertilizer  
by Combustion Method

อาธิยา ปุ่นประโคน วรณรัตน์ ชุตติบุตร นางทองจันทร์ พิมพ์เพชร  
Arthiya Punprakhon Wannarut Chutibut Thongchan Pimpet

**คำสำคัญ (Keywords)**

ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี ไนโตรเจนทั้งหมด เทคนิคคอมบัสชัน

Method validation Total nitrogen Combustion method

**บทคัดย่อ(Abstract)**

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยโดยเทคนิคคอมบัสชัน โดยดำเนินงานในปีงบประมาณ 2559-2562 เริ่มตั้งแต่เดือนตุลาคม 2559 ถึงเดือนกันยายน 2561 ณ กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี ดำเนินการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในปุ๋ยเคมีและปุ๋ยอินทรีย์ ระหว่าง 2 วิธี คือ วิธีที่ 1 โดยเทคนิคเจลดดาห์ล(Kjeldahl Method)และ วิธีเทคนิคคอมบัสชัน (Combustion Method)เปรียบเทียบผลทางสถิติ Paired t-test พบว่าผลวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของทั้ง 2 วิธี ในปุ๋ยเคมีและปุ๋ยอินทรีย์ไม่แตกต่างกัน และจากการหาปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ในปุ๋ยเคมีและปุ๋ยอินทรีย์เท่ากับ 0.02 และ 0.06 และปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดปริมาณได้ โดยมีความแม่นยำและความเที่ยง เท่ากับ 0.24 และ 0.198 การพิสูจน์ความแม่นยำ และความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง ในปุ๋ยเคมี ได้ %Recovery เท่ากับ 99.5 100.19 และ 99.94 และค่า HorRat เท่ากับ 0.84 0.41 และ 0.08 และปุ๋ยอินทรีย์ ได้ %Recovery 100.49 98.50 และ 98.54 และค่า HorRat เท่ากับ 0.33 0.37 และ 0.15 ตามลำดับ ตามลำดับ ซึ่งผลวิเคราะห์ที่ได้มีค่าความแม่นยำและความเที่ยง ผ่านเกณฑ์การยอมรับ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมีและปุ๋ยอินทรีย์ โดยวิธี เทคนิคคอมบัสชัน (Combustion Method) เป็นวิธีมาตรฐานของห้องปฏิบัติการ ที่มีความถูกต้อง แม่นยำ และเหมาะสมกับการใช้งานตามวัตถุประสงค์

Method Validation on Analysis of Total Nitrogen in Chemical Fertilizer and Organic Fertilizer by Combustion Method Operated from October 2015 to September 2016. At the System Research of Fertilizer, Agricultural Chemistry Research Group, Agricultural Production Science Research and Development Division. Analysis of Total Nitrogen in Chemical Fertilizer and Organic Fertilizer between Kjeldahl Method and Combustion Method Then compare the results by Paired t-test. Were found, Total nitrogen content of both methods in chemical fertilizers and organic fertilizers is not different. The limit of detection of Chemical Fertilizer and Organic Fertilizer were 0.02 and 0.06 and limit of quantification is 0.24 and 0.198. Accuracy and precision of low, medium and high concentrations in Chemical Fertilizer were 99.5, 100.19 and 99.94 %Recovery and HorRat were 0.84, 0.41 and 0.08 in Organic Fertilizer were 100.49, 98.50 and 98.50 %Recovery and

HorRat were 0.33, 0.37 and 0.15 acceptance criteria. Combustion Method Analysis of Total Nitrogen in Chemical Fertilizer and Organic Fertilizer is standard method for laboratory, and fit for the intended use.

## บทนำ (Introduction)

ไนโตรเจน เป็นธาตุที่พืชต้องการเป็นปริมาณมากหรือธาตุอาหารมหัพภาค (Macronutrient) ซึ่งถือว่าเป็นธาตุที่มีบทบาทสำคัญในการเจริญเติบโตของพืช (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2548) ไนโตรเจนในปุ๋ยเคมีมีหลายรูป เช่น แอมโมเนียมไนโตรเจน ไนเตรทไนโตรเจน ยูเรียไนโตรเจน เป็นต้น การวิเคราะห์ไนโตรเจนในแต่ละรูปก็มีวิธีเฉพาะที่แตกต่างกัน เช่น ไนโตรเจนทั้งหมดใช้วิธีเจลดาล์ (Kjeldahl Method) หรือวิธีคอมบัสชัน (Combustion Method) (AOAC, 2016) การพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการให้มีมาตรฐานสากล จำเป็นที่จะต้องมียุทธศาสตร์ที่มีประสิทธิภาพ มีระบบการควบคุมคุณภาพ (Quality control) และการประกันคุณภาพของห้องปฏิบัติการ (Quality assurance) การเลือกใช้วิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสมกับเครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีที่มีอยู่ ทำให้ลดประสิทธิภาพในการปฏิบัติงานลง เทคโนโลยี เครื่องมือ และเทคนิควิธีวิเคราะห์ธาตุอาหารพืชในตัวอย่างประเภทต่างๆ มีการเปลี่ยนแปลง/ปรับปรุง/พัฒนา ให้มีความเหมาะสม ถูกต้อง รวดเร็ว และเป็นทางเลือกใหม่มากขึ้น และเนื่องจากตัวอย่างที่ส่งมาวิเคราะห์หาสัดส่วนไนโตรเจน หรือไนโตรเจนในรูปต่างๆ (Fraction-N) ณ กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ยนั้น มีปริมาณไม่ต่ำกว่า 5,000 ตัวอย่างต่อปี ดังนั้นจึงจำเป็นต้องพัฒนา วิเคราะห์ตัวอย่างให้มีความรวดเร็ว และแม่นยำ ทำให้เกิดความเชื่อมั่นในผลการวิเคราะห์ และเป็นที่ยอมรับตามมาตรฐานสากล

## ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมี ได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 2 ตำแหน่ง และ 4 ตำแหน่ง เครื่องวิเคราะห์ไนโตรเจนแบบคอมบัสชัน รุ่น TruSpec N เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์ Boric Acid ( $H_3BO_3$ ), AR grade EDTA Standard (Leco) EDTA (Merck) Ethyl alcohol 90% ( $C_2H_5OH$ ), AR grade Methylene blue, AR grade Methyl red, AR grade Potassium sulfate, AR grade Salicylic acid, AR grade Sulfuric acid 95-98%, AR grade Standard hydrochloric Acid 1 N, AR grade Sodium hydroxide, Commercial grade Sodium thiosulfate, AR grade Zinc granular, AR grade แก๊ส Helium ชนิดบริสุทธิ์ 99.999% แก๊ส Oxygen ชนิดบริสุทธิ์ 99.7% วัสดุอ้างอิงรับรอง/วัสดุอ้างอิงมาตรฐาน ได้แก่ Urea  $46.54 \pm 0.08$  % (CRM-BCR 179) Ammonium Dihydrogen Phosphate  $12.13 \pm 0.047$  % Nitrogen (SRM No.194 NIST) Potassium Nitrate  $13.85 \pm 0.01$  (SRM No.193 NIST) Calcium Ammonium Nitrate  $26.019 \pm 0.054$  % Nitrogen (CRM-BCR 178) CRM GBW07415a  $0.197 \pm 0.06$  % TN และ Sodium Carbonate  $99.970 \pm 0.014$  % (SRM 351a)

## วิธีการ

1. เปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยเคมี และปุ๋ยอินทรีย์ ตามวิธีประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ.2559

วิธี 1.05.01 โดยเทคนิคเจลดดาห์ล (Kjeldahl Method) และ วิธี 1.05.02 เทคนิคคอมบัสชัน (Combustion Method)

- 1.1. วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมี และปุ๋ยอินทรีย์ โดย
  - 1.1.1. วิธีที่ 1 วิธี 1.05.01 โดยเทคนิคเจลดดาห์ล (Kjeldahl Method)
  - 1.1.2. วิธีที่ 2 วิธี 1.05.02 โดยเทคนิคคอมบัสชัน (Combustion Method)
- 1.2. เปรียบเทียบผลวิเคราะห์โดยสถิติ t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ระหว่าง 2 วิธี
2. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด โดยเทคนิคคอมบัสชัน
  - 2.1. ศึกษาหาช่วงความเป็นเส้นตรงและช่วงการใช้งานของวิธีวิเคราะห์
    - 2.1.1. ชั่งตัวอย่างที่มีเนื้อสารชนิดเดียวกับปุ๋ยแต่ตัวไม่มีสารที่ทดสอบ (Sample blank) น้ำหนัก 0.05xx กรัม เติม เติม Sucrose 0.5 เท่า และเติม EDTA 7 ระดับปริมาณ น้ำหนัก คือ 0.03xx, 0.06xx, 0.1xxx, 0.2xxx, 0.3xxx, 0.4xxx และ 0.5xxx กรัม
    - 2.1.2. วิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ด้วยเทคนิคคอมบัสชัน
    - 2.1.3. สร้างกราฟระหว่างปริมาณไนโตรเจน (mg) กับพื้นที่ใต้กราฟ (Area)
    - 2.1.4. พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรง
    - 2.1.5. เลือกช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง และดำเนินการตามข้อ 2.1.1 – 2.1.3 โดยเติม EDTA 7 ระดับ ที่เป็นเส้นตรง
    - 2.1.6. คำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เกณฑ์การยอมรับ  $r \geq 0.995$
  - 2.2. ศึกษาหาค่าต่ำสุดที่วิธีวิเคราะห์สามารถวิเคราะห์ได้ (LOD) และค่าต่ำสุดที่สามารถรายงานผลได้ (LOQ)
    - 2.2.1. ชั่งตัวอย่างที่ไม่มีสารที่ทดสอบน้ำหนัก 0.1xxx กรัม และเติม Sucrose 0.5 เท่า
    - 2.2.2. วิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด หาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)
 
$$LOD = 3 \times S'_0$$

$$LOQ = 10 \times S'_0$$
    - 2.2.3. พิสูจน์ค่าความถูกต้อง และความเที่ยงของ LOQ ตามข้อ 2.3
  - 2.3. พิสูจน์ค่าความถูกต้อง และความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์
    - 2.3.1. ชั่งตัวอย่างที่ไม่มีสารที่ทดสอบ และชั่ง CRM ความเข้มข้นสูง กลาง และต่ำ เติมลงไป พร้อมกับทำตัวอย่างที่ไม่มีสารที่ทดสอบ
    - 2.3.2. วิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ความเข้มข้นไม่น้อยกว่า 10 ซ้ำ
    - 2.3.3. ประเมินความถูกต้อง โดยเปรียบเทียบค่าที่ได้กับค่ารับรองของ CRM โดยมีเกณฑ์การยอมรับ 98-102 % Recovery (AOAC, 2016)
    - 2.3.4. ประเมินความเที่ยงโดย HorRat (Horwitz's Ratio) เกณฑ์การยอมรับน้อยกว่า 2 (AOAC, 2016)

ระยะเวลา เริ่มต้น ต.ค. 2558 สิ้นสุด ก.ย. 2561

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี  
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

**ผลการวิจัย (Results)**

1. เปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด ระหว่างวิธีที่ 1 โดยเทคนิคเจลดดาห์ล (Kjeldahl Method) และ วิธีที่ 2 โดยเทคนิคคอมบัสชัน (Combustion Method) ในตัวอย่างปุ๋ยเคมี และ ปุ๋ยอินทรีย์ โดยวิธีทางสถิติ t-test จำนวน 20 ซ้ำ ตามลำดับ พบว่าค่า  $t_{exp}$  ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ของผลวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยเคมีระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง สูง และปุ๋ยอินทรีย์ เท่ากับ 1.90 1.73 1.08 และ 1.62 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับค่า  $t_{crit}$  ซึ่งเท่ากับ 2.06 พบว่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยเคมี และปุ๋ยอินทรีย์ ไม่มีความแตกต่างกัน ส่วนปุ๋ยเชิงผสมที่มียูเรียเป็นส่วนผสม มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
2. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด โดยเทคนิคคอมบัสชัน
  - 2.1. ช่วงความเป็นเส้นตรงและช่วงการใช้งาน โดยสร้างกราฟระหว่างปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณ (แกน X) และปริมาณไนโตรเจนที่วิเคราะห์ได้ (แกน y) พบว่า
    - 2.1.1. ปุ๋ยเคมี ช่วงความเข้มข้น 3.0595-48.56480 N mg มีความเป็นเส้นตรง เลือกช่วง 3-38 N mg โดยมีค่า  $r = 0.999995$  ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ
    - 2.1.2. ปุ๋ยอินทรีย์ ช่วงความเข้มข้น 3.3197-38.475 N mg มีความเป็นเส้นตรง เลือกช่วง 3-29 N mg โดยมีค่า  $r = 0.99998$  ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ
  - 2.2. หา LOD และ LOQ โดยใช้ตัวอย่างที่ไม่มีสารที่ทดสอบของปุ๋ยเคมี และปุ๋ยอินทรีย์ พบว่า
    - 2.2.1. ปุ๋ยเคมี มีค่าเฉลี่ย = 0.07 , SD = 0.01 , LOD = 0.06 , LOQ (Predict) = 0.06 , LOQ (confirm) = 0.24 , HorRat = 0.84
    - 2.2.2. ปุ๋ยอินทรีย์ mean = 0.00 , SD = 0.06 , LOD = 0.07 , LOQ (Predict) = 0.21 , LOQ (confirm) = 0.20 , HorRat = 0.33
  - 2.3. พิสูจน์ความถูกต้อง และความเที่ยง ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดโดยเทคนิคคอมบัสชัน
    - 2.3.1. พิสูจน์ในปุ๋ยเคมี โดยใช้โดโลไมท์เป็น Sample Blank พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 2.00 % 26.02 % และ 46.54 % มีความถูกต้องโดยมีร้อยละการคืนกลับ (%Recovery) เท่ากับ 99.5 100.19 และ 99.94 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ 98-102 และวิธีดังกล่าวมีความเที่ยงอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ คือ HorRat < 2 โดยมี HorRat เท่ากับ 0.84 0.41 และ 0.08 ตามลำดับ
    - 2.3.2. พิสูจน์ในปุ๋ยอินทรีย์ พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 0.197 % 12.13 % และ 13.85 % มีความถูกต้องโดยมีร้อยละการคืนกลับ ( %Recovery) เท่ากับ 100.49 98.50 และ 98.50 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ 98-102 และวิธีดังกล่าวมีความเที่ยงอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ คือ HorRat < 2 โดยมี HorRat เท่ากับ 0.33 0.37 และ 0.15 ตามลำดับ

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมีและปุ๋ย โดยดำเนินการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในปุ๋ยเคมีและปุ๋ยอินทรีย์ ระหว่าง 2 วิธี คือ วิธีที่ 1 โดยเทคนิคเจลดดาห์ล (Kjeldahl Method) และ วิธีเทคนิคคอมบัสชัน (Combustion Method) เปรียบเทียบผลทางสถิติ

Paired t-test พบว่าผลวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของทั้ง 2 วิธี ในปุ๋ยเคมีและปุ๋ยอินทรีย์ไม่แตกต่างกัน และจากการหาปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ในปุ๋ยเคมีและปุ๋ยอินทรีย์เท่ากับ 0.02 และ 0.06 และปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดปริมาณได้ โดยมีความแม่นยำและความเที่ยง เท่ากับ 0.24 และ 0.198 การพิสูจน์ความแม่นยำ และความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง ในปุ๋ยเคมี ได้ %Recovery เท่ากับ 99.5 100.19 และ 99.94 และค่า HorRat เท่ากับ 0.84 0.41 และ 0.08 และปุ๋ยอินทรีย์ ได้ %Recovery 100.49 98.50 และ 98.54 และค่า HorRat เท่ากับ 0.33 0.37 และ 0.15 ตามลำดับ ตามลำดับ ซึ่งผลวิเคราะห์ที่ได้มีค่าความแม่นยำและความเที่ยง ผ่านเกณฑ์การยอมรับ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมีและปุ๋ยอินทรีย์ โดยวิธี เทคนิคคอมบัสชัน (Combustion Method) เป็นวิธีมาตรฐานของห้องปฏิบัติการ ที่มีความถูกต้อง แม่นยำ และเหมาะสมกับการใช้งานตามวัตถุประสงค์ ทำให้มั่นใจว่าวิธีที่ใช้อยู่มีความเหมาะสมกับการใช้งานตามวัตถุประสงค์ เป็นวิธีที่ช่วยลดขั้นตอน และระยะเวลาในการวิเคราะห์ อีกทั้งยังเป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว และมีความปลอดภัยต่อผู้วิเคราะห์มากขึ้น-

### **พัฒนาวิธีวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยเคมีโดยวิธีเทคนิคอินดักทีฟลีคอปเปิลพลาสมาออปติคอลอิมิสชันสเปกโตรเมทรี**

#### **Development and Validation Method of Total Phosphorus in Chemical Fertilizer analysis by Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry**

ศุภากร ดวนใหญ่ พงศ์พิศ แก้วสุข ณัฐฐา ขุยขำ ชุตินา วงษ์ไพศาล

Supakorn Duanyai Pongpit Kaewsuk Nattha Khuykham Chutima Wongpaisarn

#### **คำสำคัญ (Keywords)**

ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี ฟอสฟอรัสทั้งหมด เทคนิคอินดักทีฟลีคอปเปิลพลาสมาออปติคอลอิมิสชันสเปกโตรเมทรี

Method validation Total phosphorus Inductively coupled plasma-optical emission spectrometry

#### **บทคัดย่อ(Abstract)**

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ พัฒนาวิธีวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยเคมีโดยวิธีเทคนิคอินดักทีฟลีคอปเปิลพลาสมาออปติคอลอิมิสชันสเปกโตรเมทรีโดยศึกษาเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์กับวิธีของห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีเทคนิคอินดักทีฟลีคอปเปิลพลาสมาออปติคอลอิมิสชันสเปกโตรเมทรี พบว่า เทคนิคอินดักทีฟลีคอปเปิลพลาสมาออปติคอลอิมิสชันสเปกโตรเมทรีให้ผลวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยเคมีเชิงประกอบและเชิงผสมสูงกว่าเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมทรี การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีด้วยเครื่อง ICO-OES พบว่า การหาปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (Limit of Detection; LOD) เท่ากับ 0.0021 และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ (Limit of Quantitation; LOQ) เท่ากับ 0.0070 จึงพิสูจน์ LOQ ที่ระดับ 0.0112 % ได้ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.0111%P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> %Recovery เท่ากับ 98.68 % และค่า HorRat เท่ากับ 0.22 จากการพิสูจน์ความ

ถูกต้องและความเที่ยงโดยใช้วัสดุอ้างอิงรับรอง ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (1.0244% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) ระดับความเข้มข้นกลาง (16.50% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) และระดับความเข้มข้นสูง (61.71% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) ได้ค่า %Recovery เท่ากับ 100.46%, 108.77% และ 101.75% ตามลำดับ และความเที่ยง(Precision)มีค่า HorRat เท่ากับ 0.07, 0.89 และ 0.21 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์ยอมรับ ส่วนที่ความเข้มข้น 16.50% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> มีค่าความถูกต้อง(Accuracy)% Recovery เท่ากับ 108.77% ซึ่งเกินเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดไว้ (อยู่ในช่วง 98-102%) การวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยเคมีของตัวอย่างปุ๋ยที่มีลักษณะของเนื้อสาร (Matrix) แตกต่างกัน โดยการเติมวัสดุอ้างอิงรับรอง ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (1.0244% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) ระดับความเข้มข้นกลาง (16.50% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) และระดับความเข้มข้นสูง (61.71% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) ได้ค่า %Recovery เท่ากับ 99.69%, 108.35% และ 101.81% ตามลำดับ และความเที่ยง(Precision)มีค่า HorRat เท่ากับ 0.16, 1.17 และ 0.25 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์ยอมรับ ส่วนที่ความเข้มข้น 16.50% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> มีค่าความถูกต้อง(Accuracy)% Recovery เท่ากับ 108.35% ซึ่งเกินเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดไว้ (อยู่ในช่วง 98-102%)

จากการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยเคมีโดยวิธีเทคนิคอินดักทีฟฟอสฟอรัสเปิดพลาสมาออปติคอลอิมิตชันสเปกโตรเมทรี พบว่า เทคนิคอินดักทีฟฟอสฟอรัสเปิดพลาสมาออปติคอลอิมิตชันสเปกโตรเมทรี ยังไม่เหมาะสมที่จะนำมาวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยเคมีในช่วงระดับความเข้มข้นกลาง

The purpose this study was to development and validation method of total phosphorus in chemical fertilizer analysis by Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry (ICP-OES). Comparison techniques during spectrometry and ICP-OES in compound fertilizer and mixed fertilizer. This study found phosphorus analysis by ICP-OES had high than analysis by spectrophotometer. Validation method of total phosphorus in chemical fertilizer analysis by ICP-OES. Limit of Detection (LOD) had 0.0021 and Limit of Quantitation (LOQ) had 0.0070. The proved that LOQ at 0.0112%. The value mean 0.0111% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, %Recovery 98.68% and HorRat 0.22. The prove an accuracy and precision by certificate reference material. At low concentration (1.0244% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) medium concentration (16.50% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) and high concentration (61.71% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) The value %Recovery 100.46%, 108.77% and 101.75% respectively. Precision had HorRat 0.07, 0.89 and 0.21 respectively. The medium concentration 16.50% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> had % Recovery 108.77% Which exceeds value acceptance criteria of AOAC (2016). The Analysis total phosphorus in chemical fertilizer of different matrix. By add certificate reference material in low concentration (1.0244% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) medium concentration (16.50% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) and high concentration (61.71% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>). The value %Recovery 99.69%, 108.35% and 101.81%, respectively. Precision had HorRat 0.16, 1.17 and 0.25 respectively. The medium concentration 16.50% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> had % Recovery 108.35%. Which exceeds value acceptance criteria of AOAC (2016).

The data obtained from development and validation method of total phosphorus in chemical fertilizer analysis by ICP-OES. This study found ICP-OES was



not appropriate to analyze total phosphorus of medium concentration in chemical fertilizers.

## บทนำ (Introduction)

เทคนิคอินดักทีฟพลาสมาออปติคอลลิมิสชันสเปกโตรเมทรี (ICP-OES) อาศัยหลักการอิมิสชันสเปกโตรสโกปี (Emission spectroscopy) เมื่อสารละลายที่จะวิเคราะห์ถูกส่งเข้าเครื่องไปสู่อุปกรณ์พลาสมา โดยสารละลายจะถูกเปลี่ยนเป็นละอองเล็กๆ สารละลายเมื่อได้รับพลังงานสูงจะเกิดการสลายตัวเป็นอะตอม และอะตอมจะถูกกระตุ้น (excited) ไปยังสถานะกระตุ้น อะตอมหรือไอออนที่ถูกกระตุ้นจะเปล่งแสงออกมาในช่วงยูวี-วิสิเบิล และมีลักษณะเฉพาะตัว (แม้น และ คณะ , 2552)เมื่อตัวอย่างเข้าสู่ระบบและทำให้เป็นอะตอมในสภาวะเร้าโดยใช้ Plasma generated by an argon อะตอมคายพลังงานเพื่อเข้าสู่สภาวะพลังงานที่ต่ำกว่าจะเปล่งแสง (Emission) เข้าสู่ดีเทคเตอร์วัดความเข้มแสงที่สัมพันธ์เชิงเส้นกับความเข้มข้นของสาร (Charles and Kenneth, 2004)

เทคนิคอินดักทีฟพลาสมาออปติคอลลิมิสชันสเปกโตรเมทรี ถูกนำมาใช้วิเคราะห์ธาตุต่างๆ อย่างแพร่หลาย เนื่องจากสามารถวัดปริมาณตั้งแต่ความเข้มข้นความเข้มข้นสูงถึงระดับความเข้มข้นต่ำ ได้เป็นอย่างดี ในแทบทุกชนิดของตัวอย่าง ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ทางเกษตรและอาหาร เช่น เนื้อเยื่อสัตว์ พืชผัก เมล็ดพันธุ์พืช ปุ๋ย ดิน ธาตุอาหาร เป็นต้น ตัวอย่างทางชีวภาพและการแพทย์ เช่น เนื้อเยื่อสมอง เลือด กระดูก อูจจาระ เซรั่มยา นมผง เป็นต้น ตัวอย่างทางธรณีวิทยา เช่น ถ่านหิน แร่ ฟอสซิล เชื้อเพลิงฟอสซิลหิน ตะกอนดิน เป็นต้น ตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อมและน้ำ เช่น ถ่านหิน น้ำดื่ม น้ำแร่ ฝุ่นละออง กากตะกอน เป็นต้น ตัวอย่างโลหะ เช่น อะลูมิเนียม เหล็ก ดีบุก อัลลอยด์ เป็นต้นตัวอย่างอินทรีย์สาร เช่น กรดอะมิโน เซลลูโลส น้ำตาล พอลิเมอร์ น้ำมัน เป็นต้น และวัตถุอื่น ๆ เช่นคาร์บอน อิเล็กทรอนิกส์ไฟเบอร์ พลาสติก ฟอสเฟต เป็นต้น ( Boss and Fredeen, 1997;Carey and Caruso. 1992)

ฟอสฟอรัสเป็นหนึ่งในธาตุอาหารหลักของพืช ซึ่งพืชต้องการในปริมาณมาก และสะสมในเนื้อเยื่อพืช ในความเข้มข้นสูงกว่า 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) เนื่องจากพืชต้องการในปริมาณมาก แต่พืชได้รับจากดินไม่ค่อยเพียงพอ จึงมีการใช้ปุ๋ยเพื่อให้ธาตุอาหารแก่พืช (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา , 2548) ปุ๋ยเคมีนับเป็นแหล่งธาตุอาหารพืชที่สำคัญ ในการวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในปุ๋ยเคมีนั้น ตาม AOAC (2016) ต้องวิเคราะห์ด้วยกันสองวิธี คือการวิเคราะห์หาฟอสฟอรัสทั้งหมด และวิธีวิเคราะห์หาฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในซีเตรท (AOAC, 2016) เพื่อนำผลวิเคราะห์ของทั้งสองวิธีมาหักลบกัน เทคนิคการวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดด้วยเครื่อง อินดักทีฟพลาสมาออปติคอลลิมิสชันสเปกโตร มิเตอร์ (Inductively Coupled Plasma – Optical Emission Spectrometer;ICP-OES) เป็นเทคนิคที่สามารถลดขั้นตอนการเจือจางตัวอย่างและลดสารเคมีอื่นๆ ในการวิเคราะห์ เช่น สารเคมีในการทำให้เกิดสี ด้วยวานาโดมอลิบเดต (Vanadomolybdate) ดังเช่นวิธีการวิเคราะห์ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) (George and Latimer, 2012) J.B. Lin (2002) ศึกษาวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ พบว่าสามารถใช้ ICP-OES วิเคราะห์หาปริมาณฟอสเฟต (Phosphate;P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) ได้อย่างถูกต้องในช่วงความเข้มข้นต่ำ อมรา และคณะ (2553) ได้ทำการพัฒนาและการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ธาตุอาหารหลักธาตุอาหารรองและธาตุอาหารเสริม โดยใช้เครื่อง ICP-OES พบว่าสามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้โดยไม่ต้องเจือจาง เช่นเดียวกับ Souza et

al. (2014) ได้พัฒนาวิธีและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ธาตุฟอสฟอรัสธาตุอาหารรองและธาตุอาหารเสริมในปุ๋ยเคมีเชิงประกอบ โดยใช้เครื่อง ICP-OES พบว่ามีความถูกต้องอย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาการวิเคราะห์ดังกล่าวในตัวอย่างปุ๋ยเคมีเชิงผสม ที่ครอบคลุมทุกช่วงความเข้มข้นดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาความเหมาะสมของการนำเครื่อง Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer (ICP-OES) มาใช้ในการวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

### ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

อุปกรณ์เครื่องมือ และสารเคมี ได้แก่ ตัวอย่างปุ๋ยเคมีเชิงเดี่ยว เชิงประกอบ และเชิงผสม จำนวน 45 ตัวอย่างวัสดุอ้างอิงรับรอง Ammonium Dihydrogen Phosphate (SRM194a)  $\%P_2O_5 = 61.71 \pm 0.14$  Trace Elements in Multi-Nutrient Fertilizer (SRM 695)  $\%P_2O_5 = 16.50 \pm 0.1$  เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Mettler Toledo Model XS 204) เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) (PerkinElmer Model Lambda45) เครื่องอินดักทีฟพลาสมาออปติคอลลิมิตชันสเปกโตรมิเตอร์ (Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometer; ICP-OES) (PerkinElmer Model DV2100) เครื่องบดตัวอย่าง (Retsch Model ZM 200) เตาระเหยไฟฟ้า (Thermo Scientific Model 2200) สารเคมี ได้แก่ สารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส 1000 ppm (Phosphorus ICP standard) Potassium Dihydrogen Phosphate ( $KH_2PO_4$ ), AR grade กรดไนตริก 60-70% ( $HNO_3$ ), AR grade กรดเปอร์คลอริก 69-72% ( $HClO_4$ ), AR grade กรดไฮโดรคลอริก 36-38% ( $HCl$ ), AR grade Ammonium molybdate  $[(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O]$ , AR grade Ammonium metavanadate ( $NH_4VO_3$ ), AR grade กระดาษกรองเบอร์ 1 และ 5 (Whatman) ปีเปต ขนาด 1,2,4,5,6,10,15,20 และ 25 มิลลิลิตร เครื่องแก้ว และวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในการทดลอง

### วิธีการ

1. เปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ปริมาณ ฟอสฟอรัสทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยเคมี ตามวิธีประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 ด้วยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมทรี (UV-Vis) และเทคนิคอินดักทีฟพลาสมาออปติคอลลิมิตชันสเปกโตรโฟโตเมทรี (ICP-OES) ครอบคลุมตัวอย่างปุ๋ยเคมีสูตร ต่ำ กลาง สูง จำนวน 45 ตัวอย่าง โดยใช้สถิติ Paired t-test
2. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมด โดยเทคนิคอินดักทีฟพลาสมาออปติคอลลิมิตชันสเปกโตรโฟโตเมทรี (ICP-OES)
  - 2.1. ศึกษาหาช่วงความเป็นเส้นตรงและช่วงการใช้งานของวิธีวิเคราะห์
    - 2.1.1. ชั่งตัวอย่างปุ๋ยยูเรีย ซึ่งมีเนื้อสารชนิดเดียวกับปุ๋ย แต่ตัวไม่มีสารที่ทดสอบ (Sample blank) น้ำหนัก 1.0000 กรัม และเติมสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส 8 ระดับความเข้มข้น คือ 0, 5, 10, 50, 100, 150, 200 และ 250 มิลลิกรัมต่อลิตร
    - 2.1.2. วิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด ด้วยเครื่อง ICP-OES
    - 2.1.3. สร้างกราฟระหว่าง ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (mg/l) กับค่าเฉลี่ยของ Intensity พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรง

- 2.1.4. เลือกช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง และดำเนินการตามข้อ 2.1.1 – 2.1.3 โดยเติมสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส 7 ระดับความเข้มข้น คือ 0, 5, 10, 50, 100, 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร
- 2.1.5. คำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เกณฑ์การยอมรับ  $r \geq 0.995$  (Eugene *et al*, 2012)
- 2.2. ศึกษาหาค่าต่ำสุดที่วิธีวิเคราะห์สามารถวิเคราะห์ได้ (LOD) และค่าต่ำสุดที่สามารถรายงานผลได้ (LOQ)
- 2.2.1. ชั่งตัวอย่างที่ไม่มีสารที่ทดสอบ โดยใช้ปุ๋ยยูเรีย น้ำหนัก 0.1xxx กรัม
- 2.2.2. วิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด หาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) (Eurachem, 2014)
- $$\text{LOD} = 3 \times S'_0$$
- $$\text{LOQ} = 10 \times S'_0$$
- 2.2.3. ยืนยันความถูกต้อง และความเที่ยงของ LOQ ตามข้อ 2.3
- 2.3. พิสูจน์ความถูกต้อง และความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์
- 2.3.1. ชั่งตัวอย่างที่ไม่มีสารที่ทดสอบโดยใช้ปุ๋ยยูเรีย และชั่ง CRM ความเข้มข้นสูง (61.71 %P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) กลาง (16.50 %P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) และต่ำ (1.0244%P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) เติมลงไป
- 2.3.2. วิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด ความเข้มข้นไม่น้อยกว่า 10 ช้ำ
- 2.3.3. ประเมินความถูกต้อง
- 2.3.3.1. เปรียบเทียบค่าที่ได้กับค่ารับรองของ CRM โดยมีเกณฑ์การยอมรับ 98-102 % Recovery (AOAC, 2016)
- 2.3.3.2. ประเมินความแตกต่างโดยใช้ t-test เกณฑ์การยอมรับ  $t_{\text{experiment}} < t_{\text{critical}}$  ที่ความเชื่อมั่น 95%
- 2.3.3.3. ประเมินช่วงความเชื่อมั่น โดยพิจารณาเปรียบเทียบ ค่าที่ได้กับค่ารับรองจากวัสดุอ้างอิงรับรอง และค่าความไม่แน่นอน
- 2.3.4. ประเมินความเที่ยงใน Fortified Sample และตัวอย่างปุ๋ยเคมีสูตร 15-5-36 6-30-30 12-60-0 โดย HorRat (Horwitz's R atio) เกณฑ์การยอมรับน้อยกว่า 2 (AOAC, 2016)

ระยะเวลา เริ่มต้น ต.ค. 2558 สิ้นสุด ก.ย. 25 59

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี  
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

### ผลการวิจัย (Results)

1. เปรียบเทียบ ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยเคมี ของ 2 เทคนิค โดยใช้ ตัวอย่างปุ๋ยเคมีเชิงประกอบ และปุ๋ยเคมีเชิงผสม ที่มีปริมาณฟอสฟอรัสในระดับ ต่ำ กลาง สูง จำนวน 45 ตัวอย่าง วิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดโดยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมทรี และเทคนิคอินทีฟลิคอปเปิลพลาสมาออปติคอลอิมิสชันสเปกโตรโฟโตเมทรี (ICP-OES) ที่ความยาวคลื่น 213.617 นาโนเมตร และเปรียบเทียบทางสถิติ โดยใช้ Paired t-test พบว่าค่า  $t_{\text{Stat}} > t_{\text{Critical}}$  แสดงว่า

ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ 2 เทคนิค มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยเทคนิคอินทีฟลีคอปเปิลพลาสมาออปติคอลลิมิสชันสเปกโตรโฟโตเมทรีมีค่าฟอสฟอรัสสูงกว่า เทคนิคสเปกโตรโฟโตเมทรี ตามตารางที่ 1

2. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมด โดยเทคนิค ICP-OES
  - 2.1. ช่วงความเป็นเส้นตรงและช่วงการใช้งาน โดยสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส ; ppm (แกน X) และค่า Intensity ที่อ่านจากเครื่อง (แกน y) พบว่าความเข้มข้น 0-24 ppm เป็นช่วงที่มีความเป็นเส้นตรง โดย r มีค่ามากกว่า 0.995 และเลือกความเข้มข้น 0, 5, 10, 50, 100, 150 และ 200 ppm เป็นช่วงการใช้งาน หาค่าความสัมพันธ์เชิงเส้น ได้ r เท่ากับ 1.0000 ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ
  - 2.2. หาปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (Limit of Detection; LOD) และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ (Limit of Quantitation; LOQ) ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยเคมี โดยใช้ ยูเรีย เป็น ตัวอย่างที่ไม่มีสารที่ทดสอบ พบว่ามีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD หรือ  $S_0$ ) เท่ากับ 0.0007 LOD เท่ากับ 0.0021 %P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> และ LOQ เท่ากับ 0.0070 %P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>
  - 2.3. พิสูจน์ความถูกต้อง และความเที่ยง ของวิธีทดสอบ โดยที่ระดับ LOQ เตรียมตัวอย่างที่ความเข้มข้น 0.0112 % พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.0112% 1.0244% 16.50% และ 61.71% มีความถูกต้องที่ระดับความเข้มข้น 0.0112 1.0244 และ 61.71 % โดยมีร้อยละการคืนกลับ (%Recovery) เท่ากับ 98.68 100.04 และ 101.75 ตามลำดับ เกณฑ์การยอมรับ 98-102 แต่ระดับความเข้มข้น 16.50 ไม่ผ่านเกณฑ์การยอมรับ โดยมีร้อยละการคืนกลับ 108.77 และวิธีวิเคราะห์นี้มีความเที่ยงอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ คือ HorRat < 2 โดยมี HorRat เท่ากับ 0.22 0.07 0.89 และ 0.21 ตามลำดับ
  - 2.4. พิสูจน์ความถูกต้อง และความเที่ยง ของวิธีทดสอบ ในตัวอย่างที่มีเนื้อสารแตกต่างกัน พบว่าวิธีวิเคราะห์โพแทสเซียมที่ละลายน้ำได้ ที่ระดับความเข้มข้น 1.0244% และ 61.71% มีความถูกต้องโดยมีร้อยละการคืนกลับ ( %Recovery) เท่ากับ 99.69 และ 101.81 ตามลำดับ แต่ที่ระดับความเข้มข้น 16.50% ไม่ผ่านเกณฑ์การยอมรับ โดยมีร้อยละการคืนกลับ 108.35ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ 98-102 และวิธีดังกล่าวมีความเที่ยงอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ คือ HorRat < 2 โดยมี HorRat เท่ากับ 0.16 1.17 และ 0.25 ตามลำดับ
  - 2.5. พิสูจน์ความเที่ยง จากการวิเคราะห์ ฟอสเฟตทั้งหมดใน ตัวอย่างสูตร 15-5-36 6-30-30 และ 12-60-0 พบว่าวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมด โดยเทคนิค ICP-OES มีความเที่ยง โดยมี ค่า RSD เท่ากับ 1.15 0.75 และ 0.37 ตามลำดับ และมีค่า HorRat เท่ากับ 0.37 0.41 และ 0.24 ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าเกณฑ์การยอมรับ

ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยเคมี โดยเทคนิคอินทีฟลี คอปเปิลพลาสมาออปติคอลลิมิสชันสเปกโตรโฟโตเมทรี และเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมทรี

No.	Grade	% Total Phosphorus as P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	
		ICP-OES	Spectrophotometer
1	20-3-20	3.79	3.41
2	12-3-30	4.45	4.13
3	18-4-5	4.55	4.42
4	10-4-26	4.85	4.53
5	5-5-30	6.80	6.48
6	15-5-20	5.66	5.46
7	22-5-22	6.14	5.89
8	12-6-42	8.20	7.75
9	15-7-15	6.89	6.83
10	16-8-8	9.80	9.08
11	18-8-8	9.27	8.46
12	18-8-26	9.71	8.87
13	14-9-15	9.93	9.21
14	30-10-0	12.25	11.34
15	10-10-30	11.10	10.11
16	6-11-39	12.13	11.23
17	12-12-17	14.27	13.39
18	13-13-21	15.62	14.44
19	3-13-23	15.72	14.02
20	15-15-15	16.21	16.21
21	16-16-16	17.97	16.82
22	16-16-16	16.87	15.67
23	17-17-17	26.16	24.08
24	9-19-34	20.85	19.53
25	18-20-0	20.82	19.59
26	10-20-30	21.65	20.45
27	8-24-24	26.28	24.16
28	8-24-24	27.04	25.48
29	12-24-24	26.06	24.50
30	9-25-25	29.33	25.96
31	6-30-30	35.52	32.54
32	10-40-0	51.16	48.81
33	0-42-56	44.05	41.81
34	18-46-0	47.89	47.10
35	18-46-0	48.86	46.70
36	12-48-8	49.72	47.21
37	10-50-10	48.76	48.56
38	10-50-10	53.20	50.92
39	10-52-17	51.89	49.07
40	10-52-17	50.98	49.65
41	0-52-34	55.33	52.17
42	20-53-0	55.015	53.31
43	11-55-0	56.415	55.79
44	9-59-8	60.915	59.50
45	12-60-0	61.975	60.68

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

การวิเคราะห์ปริมาณ ฟอสฟอรัสทั้งหมด ในตัวอย่างปุ๋ย เคมี โดยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมทรี และเทคนิคอินทีฟลิคอปเปิลพลาสมาออปติคอลอิมิสชันสเปกโตรโฟโตเมทรี (ICP-OES) ที่ความยาวคลื่น 213.617 นาโนเมตร มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยเทคนิค ICP-OES ให้ผลวิเคราะห์ฟอสฟอรัสสูงกว่า เทคนิคสเปกโตรโฟโตเมทรี

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ ฟอสฟอรัสทั้งหมด โดย เทคนิคสเปกโตรโฟโตเมทรี และเทคนิคอินทีฟลิคอปเปิลพลาสมาออปติคอลอิมิสชันสเปกโตรโฟโตเมทรี (ICP-OES) มีช่วงที่เป็นเส้นตรงในการทดสอบอยู่ในช่วง 0-2 50 ppm เลือกช่วง 0-200 ppm ซึ่งมีค่า r เท่ากับ 1.0000 เป็นช่วงการใช้งาน มีปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ 0.0021 %P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> และปริมาณต่ำสุดที่สามารถทดสอบและรายงานผลได้ 0.0112 %P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ความถูกต้องของวิธีที่ระดับความเข้มข้นสูง และต่ำ คือ 61.71 และ 1.0244 %P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ผ่านเกณฑ์การยอมรับ แต่ความเข้มข้นที่ระดับกลาง คือ 16.50 ไม่ผ่านเกณฑ์การยอมรับ สำหรับ ความเที่ยง ของวิธีพบว่า อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ ทุกระดับความเข้มข้น ดังนั้น เทคนิคอินทีฟลิคอปเปิลพลาสมาออปติคอลอิมิสชันสเปกโตรโฟโตเมทรี ยังไม่เหมาะสมที่จะนำมาวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยเคมีในช่วงระดับความเข้มข้นกลาง เนื่องมาจากการหาค่า Accuracy ในวิธีอ้างอิงรับรองความเข้มข้นระดับกลาง มีค่าเกินมาตรฐาน ซึ่งอาจเกิดจากความเข้มข้นของกรดที่ใช้ในการย่อยตัวอย่างสารละลายตัวอย่าง กับความเข้มข้นของกรดที่ใช้เตรียมสารละลายมาตรฐานไม่เท่ากัน

### ข้อเสนอแนะ

เทคนิคอินทีฟลิคอปเปิลพลาสมาออปติคอลอิมิสชันสเปกโตรโฟโตเมทรี ยังไม่เหมาะสมที่จะนำมาวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยเคมีในช่วงระดับความเข้มข้นกลาง ควรมีทดสอบความเหมาะสมของระดับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน และความเข้มข้นของกรดในสารละลายตัวอย่างและในสารละลายมาตรฐาน

### พัฒนาวิธีวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมซิเตรทในปุ๋ยเคมี

#### Development and Validation Method of Citrate Insoluble Phosphorus in Chemical Fertilizer

ศุภากร ดวนใหญ่ จรียา วงศ์ตรี วรณรัตน์ ชุตติบุตร

Supakorn Duanyai Jariya Wongtree Wannarut Chutibut

### คำสำคัญ (Keywords)

ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี ฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในแอมโมเนียมซิเตรท ปุ๋ยเคมี  
Method validation Citrate insoluble phosphorus Chemical fertilizer

## บทคัดย่อ(Abstract)

พัฒนาวิธีวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมซิเตรทในปุ๋ยเคมีด้วยเทคนิคใช้ suction และเทคนิคไม่ใช้ suction เพื่อเปรียบเทียบปริมาณฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมซิเตรท (CIP) ในปุ๋ยเชิงเดี่ยว ปุ๋ยเชิงประกอบ และปุ๋ยเชิงผสม ครอบคลุมสูตรต่ำ กลาง และสูง จำนวน 36 ตัวอย่าง พบว่า ค่าเฉลี่ยของ  $CIP_2O_5$  ของทั้งสองเทคนิคไม่แตกต่างกันผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีของสองเทคนิคพบว่า ช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วงความเข้มข้น 1-9 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.9962 และ 0.9971 ช่วงการใช้งานความเข้มข้น 1-7 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมซึ่งช่วงการใช้งานไม่มีผลกระทบจากลักษณะเนื้อสาร ( Matrix effect) ปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (Limit of Detection; LOD) และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ (Limit of Quantitation; LOQ) ของเทคนิคใช้ suction เท่ากับ 0.027 % $CIP_2O_5$  และ 0.090 % $CIP_2O_5$  ส่วนเทคนิคไม่ใช้ suction เท่ากับ 0.012 % $CIP_2O_5$  และ 0.040 % $CIP_2O_5$  จากการหาความเที่ยงของตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง พบว่า เทคนิคใช้ suction ได้ค่า HorRat เท่ากับ 1.03, 0.56 และ 1.04 ตามลำดับ และเทคนิคไม่ใช้ suction ได้ค่า HorRat เท่ากับ 0.75, 0.49 และ 0.99 ตามลำดับซึ่งค่าที่ได้ทั้งหมดนั้นผ่านเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐานสากลดังนั้นการพัฒนาริธีวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมซิเตรทในปุ๋ยเคมีสามารถวิเคราะห์ได้ทั้งสองเทคนิค

The purpose this study was to development and validation method of citrate insoluble phosphorus ( $CIP_2O_5$ ) in chemical fertilizer. Analysis by use suction filtration and gravity filtration. Comparison techniques during suction filtration and gravity filtration in straight, compound and mixed fertilizer of 36 samples. This average amount of  $CIP_2O_5$  analysis of two technique was not different. The range was concentrations from 1-9 mg/kg with correlation coefficient (r) was 0.9962 and 0.9971. The linearity using concentrations from 1-7 mg/kg with correlation coefficient (r) was 1.0000 and 1.0000. Limit of detection was 0.027 % $CIP_2O_5$  and 0.012 % $CIP_2O_5$ . Limit of quantitation was 0.090 % $CIP_2O_5$  and 0.040 % $CIP_2O_5$ . Precision, the suction filtration that HorRat value was 1.03, 0.56 and 1.04, respectively. The gravity filtration that HorRat value was 0.75, 0.49 and 0.99, respectively. From the result, validation method parameter are acceptable.

## บทนำ (Introduction)

ปุ๋ยเคมีที่มีฟอสฟอรัสทุกชนิดระบุเป็นเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของ Phosphorus pentoxide ( $P_2O_5$ ) รวมถึงในการรับประกันปริมาณธาตุฟอสฟอรัสในปุ๋ยเคมีด้วย ซึ่งปุ๋ยฟอสฟอรัสมีรูปต่างๆ ได้แก่ ฟอสฟอรัสในรูป  $P_2O_5$  ที่ละลายน้ำ (Water soluble  $P_2O_5$ ) ฟอสฟอรัสที่ละลายในสารละลายซิเตรท (Citrate soluble  $P_2O_5$ ) ฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในสารละลายซิเตรท (Citrate insoluble  $P_2O_5$ ) ฟอสฟอรัสที่มีประโยชน์ต่อพืช ( Available  $P_2O_5$ ) และฟอสฟอรัสทั้งหมด ( Total  $P_2O_5$ ) (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2548)

ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี รายงานผลการทดสอบฟอสฟอรัส ในรูป ฟอสฟอรัสที่มีประโยชน์ต่อพืช ซึ่งคำนวณจากปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดหักด้วยปริมาณฟอสฟอรัส ที่ไม่ละลายในสารละลายซีเตรท ซึ่งวิธีการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในสารละลายซีเตรท ตามวิธีมาตรฐาน (Georage and Latimer, 2016) ในขั้นตอนการกรองมีการใช้ suction โดยใช้ หลักการทำให้ความดันในขวดรองรับ ต่ำกว่าความดันเหนือกรวย ของเหลวจึงไหลผ่านกระดาษกรอง ได้เร็วยิ่งขึ้น การกรองแบบนี้ใช้ได้กับตะกอนที่มีลักษณะเป็นผลึก แต่ไม่เหมาะกับตะกอนที่มีลักษณะ อนุภาคละเอียด เพราะแรงดูดจะทำให้ตะกอนเล็กๆ อุดรูกระดาษกรอง และอัดแน่นจนของเหลวไม่สามารถผ่านไปได้ ขณะที่ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ยบางแห่ง วิเคราะห์ตามวิธีตามประกาศกระทรวง เกษตรและสหกรณ์ (ราชกิจจานุเบกษา, 2559) ซึ่งขั้นตอนการกรองแบบไม่ใช้ suctionเป็นการกรอง แบบธรรมดา อาศัยหลักการที่ของเหลวไหลผ่านตัวกลางด้วยแรงโน้มถ่วงของโลก ระยะเวลาที่ใช้ใน การกรองก็ขึ้นอยู่กับลักษณะของตัวอย่างปุ๋ย ซึ่งการกรองแบบธรรมดาส่งผลใช้ได้กับตัวอย่างปุ๋ยทุก ลักษณะ จะเห็นได้ว่าการกรองทั้งสองเทคนิคทั้งข้อดี และข้อจำกัดแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามยังไม่มี การศึกษาเปรียบเทียบการกรองทั้งสองเทคนิคในตัวอย่างปุ๋ยเคมี ผู้ทำการทดลองจึงสนใจศึกษาการ พัฒนาวิธีวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในสารละลาย แอมโมเนียมซีเตรทในปุ๋ยเคมีเพื่อเปรียบเทียบเทคนิคใช้ suctionและเทคนิคไม่ใช้ suction

#### ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

อุปกรณ์ เครื่องมี และสารเคมี ได้แก่ ตัวอย่างปุ๋ยเคมี เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่งยี่ห้อMettler Toledoรุ่นXS 204 UV-Vis Spectrophotometer ยี่ห้อ PerkinElmer รุ่น Lambda 45 อ่าง ควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Sharking water bath) ยี่ห้อ Heto รุ่น SBD 50เตาระเหยไฟฟ้า ยี่ห้อ Thermolyneรุ่น RC 2200 ชุดกรองแบบสุญญากาศ พร้อมอุปกรณ์ประกอบ ( Suction pump) เครื่องแก้วปริมาตร Class A ได้แก่ Volumetric flask ขนาด 25, 100, 250, 500 2000 มิลลิลิตร Pipette ขนาด 1, 2, 3, 4, 5, 6 , 7, 9, 10 มิลลิลิตรกระดาษกรองเบอร์ 1 และ 5 เครื่องแก้วและ วัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในการปฏิบัติการทดสอบ สารเคมี ได้แก่ Citric acid ( $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ ), AR grade Ammonium hydroxide 28-29% ( $NH_3OH$ ), AR grade Ammonium molybdate  $[(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O]$ , AR grade Ammonium metavanadate ( $NH_4VO_3$ ), AR grade Nitric acid 69-70% ( $HNO_3$ ), AR grade Perchloric acid 69-72% ( $HClO_4$ ), AR grade Potassium dihydrogen phosphate ( $KH_2PO_4$ ), AR grade และ Tricalcium phosphate ( $Ca_3(PO_4)_2$ ), AR grade

#### วิธีการ

1. เปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมซีเตรท โดย เทคนิคที่ใช้ Suction (Georage and Latimer, 2016) และ เทคนิคที่ไม่ใช้ Suction ตาม ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เทคนิคไม่ใช้ suction (ราชกิจจานุเบกษา, 2559) ใน ปุ๋ยเคมีตัวอย่างเชิงเดี่ยว ปุ๋ยเคมีเชิงประกอบ และปุ๋ยเคมีเชิงผสม จำนวน 36 ตัวอย่าง โดยใช้สถิติ Paired t-test
2. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมซีเตรทใน ปุ๋ยเคมี โดยเทคนิคที่ใช้ Suction และ เทคนิคที่ไม่ใช้ Suction



- 2.1. ศึกษาหาช่วงความเป็นเส้นตรงและช่วงการใช้งานของวิธีวิเคราะห์
- 2.1.1. ชั่งตัวอย่างปุ๋ยสูตร 15-0-6 ซึ่งมีเนื้อสารชนิดเดียวกับปุ๋ย แต่ตัวไม่มีสารที่ทดสอบ (Sample blank) น้ำหนัก 1.xxxx กรัม ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค Suction และไม่ใช่ Suction นำตะกอนพร้อมกระดาศกรองเติมสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส 9 ระดับความเข้มข้น คือ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 และ 9 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร
- 2.1.2. วิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด ด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร
- 2.1.3. สร้างกราฟระหว่าง ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (mg/l) กับค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรง
- 2.1.4. เลือกช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง และดำเนินการตามข้อ 2.1.1 – 2.1.3 โดยเติมสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส 7 ระดับความเข้มข้น คือ 1, 2, 3, 4, 5, 6, และ 7 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร
- 2.1.5. คำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เกณฑ์การยอมรับ  $r \geq 0.995$  (Eugene *et al*, 2012)
- 2.1.6. ทดสอบผลของ matrix effect โดยเปรียบเทียบความชันของกราฟมาตรฐานระหว่าง Standard P กับ Spiked Standard P ลงใน sample blank โดยเกณฑ์การยอมรับ คือ ความชันแตกต่างกันไม่เกิน 10% (NATA Technical Note 17, 2018)
- 2.2. ศึกษาหาค่าต่ำสุดที่วิธีวิเคราะห์สามารถวิเคราะห์ได้ (LOD) และค่าต่ำสุดที่สามารถรายงานผลได้ (LOQ)
- 2.2.1. ชั่งตัวอย่างที่ไม่มีสารที่ทดสอบ โดยใช้ปุ๋ยสูตร 15-0-6 น้ำหนัก 0.1xxx กรัม
- 2.2.2. วิเคราะห์โดยใช้เทคนิค Suction และไม่ใช่ Suction หาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) (Eurachem, 2014)
- $$\text{LOD} = 3 \times S'_0$$
- $$\text{LOQ} = 10 \times S'_0$$
- 2.2.3. ยืนยันความถูกต้อง และความเที่ยงของ LOQ ตามข้อ 2.3
- 2.3. พิสูจน์ความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์
- 2.3.1. ชั่งตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่มีปริมาณฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในแอมโมเนียมซัลเฟต ที่ความเข้มข้นสูง กลาง และต่ำ
- 2.3.5. วิเคราะห์ความเข้มข้นละไม่น้อยกว่า 10 ซ้ำ
- 2.3.6. ประเมินความเที่ยง โดย HorRat (Horwitz's R atio) เกณฑ์การยอมรับน้อยกว่า 2 (AOAC, 2016)

ระยะเวลา เริ่มต้น ต.ค. 2558 สิ้นสุด ก.ย. 2561

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี  
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

### ผลการวิจัย (Results)

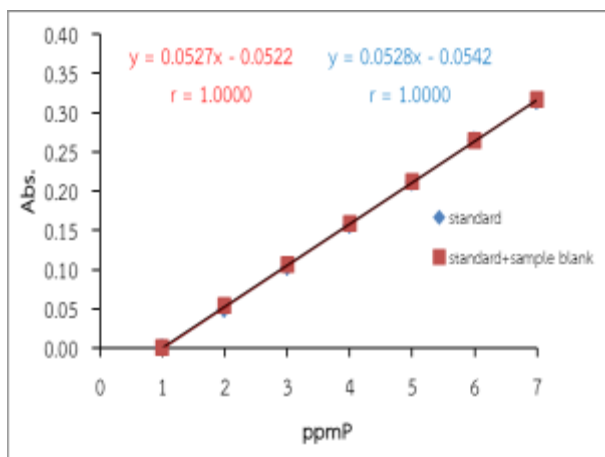
1. เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์หา ปริมาณฟอสฟอรัส ที่ไม่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมซิเตรท โดยวิธีวิเคราะห์ที่ใช้ suction และไม่ใช่ suction ในปุ๋ยเคมี 36 ตัวอย่าง วิเคราะห์ทางสถิติ โดยใช้ Paired t-test พบว่าค่า  $t \text{ Stat} < t \text{ Critical}$  แสดงว่าค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ ทั้ง 2 เทคนิค ไม่แตกต่างกัน โดยมีผลการวิเคราะห์ตามตารางที่ 1

**ตารางที่ 1** ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในแอมโมเนียมซิเตรทในตัวอย่างปุ๋ยเคมี โดยเทคนิควิธีวิเคราะห์ที่ใช้ และไม่ใช่ Suction

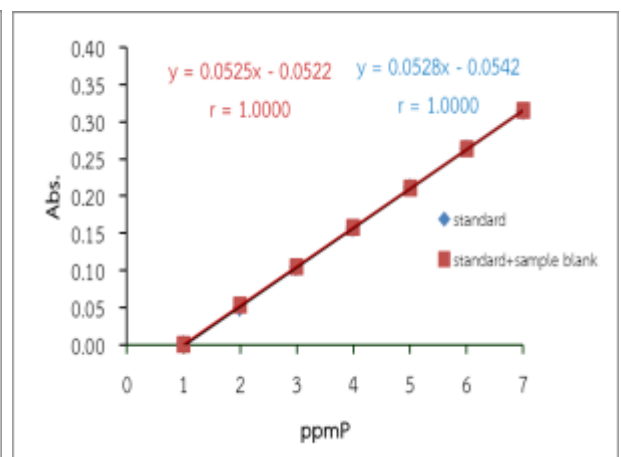
No.	Grade	% Citrate Insoluble Phosphorus as $P_2O_5$	
		with Suction	without Suction
1	0-3-0	26.43	25.25
2	12-3-6	0.00	0.01
3	3-9-9	0.03	0.03
4	18-8-8	0.26	0.27
5	5-10-40	0.00	0.01
6	15-5-20	0.01	0.03
7	15-5-30	0.00	0.01
8	12-3-42	0.00	0.00
9	16-3-8	0.05	0.01
10	8-4-0	3.55	3.12
11	10-3-0	0.07	0.06
12	9-3-27	0.00	0.01
13	8-24-24	0.08	0.04
14	8-26-26	0.01	0.12
15	30-18-10	0.00	0.03
16	21-21-21	0.00	0.03
17	9-18-17	0.00	0.00
18	16-16-16	0.08	0.09
19	13-13-21	0.04	0.01
20	20-20-20	0.00	0.03
21	18-18-18	0.00	0.02
22	9-16-36	0.00	0.01
23	15-15-15	0.00	0.00
24	19-19-19	0.00	0.02
25	3-40-40	0.01	0.05
26	9-57-8	0.02	0.03
27	0-35-40	0.01	0.03
28	8-48-16	0.03	0.05
29	10-52-10	0.03	0.05
30	0-40-54	0.02	0.05
31	8-50-15	0.03	0.05
32	4-41-27	0.03	0.04
33	16-45-0	0.26	0.18
34	10-52-17	0.04	0.04

No.	Grade	% Citrate Insoluble Phosphorus as P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	
		with Suction	without Suction
35	6-32-32	0.04	0.02
36	0-45-0	0.23	0.23

2. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในแอมโมเนียมซีเตรท โดยเทคนิค ใช้ Suction และ ไม่ใช้ Suction
  - 2.1. ช่วงความเป็นเส้นตรงและช่วงการใช้งาน ของวิธีวิเคราะห์เทคนิค ใช้ Suction และ ไม่ใช้ Suction โดยสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน ฟอสฟอรัส ; ppm (แกน X) และค่า Absorbance (แกน y) พบว่าความเข้มข้น 0-9 ppm P เป็นช่วงที่มีความเป็นเส้นตรง ของทั้ง 2 เทคนิค ตามสมการ  $y=0.0474x+0.0104$  และ  $y= 0.0464x + 0.0132$  ตามลำดับ โดยทั้ง 2 เทคนิคมีค่า r มีค่ามากกว่า 0.995 และเลือกความเข้มข้น 1, 2, 3, 4, 5, 6, และ 7 ppm P เป็นช่วงการใช้งาน หาค่าความสัมพันธ์เชิงเส้น ได้ r เท่ากับ 1.0000 ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ
  - 2.2. ทดสอบผลของ matrix effect โดยเปรียบเทียบความชันของกราฟ ระหว่างกราฟมาตรฐาน ฟอสฟอรัส (Standard P) กับ กราฟมาตรฐานฟอสฟอรัสที่เติม Sample Blank (Spiked Standard P) ลงใน sample blank พบว่าเทคนิคใช้ suction มีความชันของกราฟ Standard P เท่ากับ 0.0528 และความชันของกราฟ Spiked Standard P เท่ากับ 0.0527 (ภาพที่ 1ก) ซึ่งมีความแตกต่างกัน 0.19 % และเทคนิคไม่ใช้ suction มีความชันของกราฟ Standard P เท่ากับ 0.0528 ความชันของกราฟ Spiked Standard P เท่ากับ 0.0525 (ภาพที่ 1ข) ซึ่งมีความแตกต่างกัน 0.57% ต่ำกว่าเกณฑ์ยอมรับที่ 10 % แสดงว่ากราฟมาตรฐานในช่วง 1-7 ppmP ของเทคนิคทั้งสอง ไม่มีผลกระทบจากลักษณะเนื้อสาร



ภาพที่ 1ก เทคนิคใช้ suction



ภาพที่ 1ข เทคนิคไม่ใช้ suction

**ภาพที่ 1** การทดสอบผลของ matrix effect จากกราฟมาตรฐานระหว่าง Standard P กับ Spiked Standard P โดยวิธีวิเคราะห์ที่ใช้เทคนิค Suction และ ไม่ใช้ Suction

- 2.3. หาปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (Limit of Detection; LOD) และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ (Limit of Quantitation; LOQ) ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณ

ฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมซีเตรทในปุ๋ยเคมี โดยใช้ปุ๋ยสูตร 15-0-6 เป็นตัวอย่างที่ไม่มีสารที่ทดสอบ พบว่า เทคนิคที่ใช้ Suction และ ไม่ใช้ Suction มีค่า เบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD หรือ  $S_0$ ) เท่ากับ 0.009 และ 0.004 ตามลำดับ LOD เท่ากับ 0.027 % $P_2O_5$  และ 0.012% $P_2O_5$  ตามลำดับ LOQ เท่ากับ 0.090 % $P_2O_5$  และ 0.040 % $P_2O_5$  ตามลำดับ

- 2.4. พิสูจน์ความเที่ยง จากการวิเคราะห์ ฟอสเฟตที่ไม่ละลายในแอมโมเนียมซีเตรท ในตัวอย่าง สูตร 12-12-17 (0.28 % $P_2O_5$ ) และ 0-3-0 (17 % $P_2O_5$  และ 27 % $P_2O_5$ ) ของทั้ง 2 เทคนิคพบว่าเทคนิคที่ใช้ Suction มีความเที่ยง โดยมี ค่า RSD เท่ากับ 3.57 1.48 และ 2.55 ตามลำดับ และมีค่า HorRat เท่ากับ 1.03 0.56 และ 1.04 ตามลำดับ และเทคนิคที่ไม่ใช้ Suction มีความเที่ยง โดยมี ค่า RSD เท่ากับ 3.57 1.29 และ 2.39 ตามลำดับ และมีค่า HorRat เท่ากับ 0.75 0.49 และ 0.00 ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 2 เทคนิค มีค่า HorRat น้อยกว่าเกณฑ์การยอมรับ แสดงว่าเทคนิคทั้ง 2 มีความเที่ยง

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

วิธีวิเคราะห์ ฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมซีเตรทในปุ๋ยเคมี ตามประกาศ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ฯ โดยเทคนิค ใช้ Suction และ ไม่ใช้ Suction ในปุ๋ยเคมีเชิงเดี่ยว ปุ๋ยเชิงประกอบ และปุ๋ยเคมีเชิงผสม ไม่แตกต่างกัน

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ เทคนิคที่ใช้ Suction และ ไม่ใช้ Suction มีช่วงใช้งานที่เป็นเส้นตรงในการทดสอบอยู่ในช่วง 0-7 ppm P ค่า r 1.0000 มีปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ 0.027 % $P_2O_5$  และ 0.012 % $P_2O_5$  ตามลำดับ ปริมาณต่ำสุดที่สามารถทดสอบและรายงานผลได้ 0.090 % $P_2O_5$  และ 0.040 % $P_2O_5$  ตามลำดับ สำหรับความเที่ยงของวิธีพบว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับโดยมีค่า HorRat น้อยกว่า 2 ทุกระดับความเข้มข้น ตั้งแต่ความเข้มข้น 0.28 % $P_2O_5$  ถึง 27 % $P_2O_5$  ดังนั้นวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมซีเตรทในปุ๋ยเคมี ทั้ง 2 เทคนิค มีความเหมาะสม สามารถนำไปใช้งานในห้องปฏิบัติการได้

### ข้อเสนอแนะ

1. ตัวอย่างปุ๋ยที่มีลักษณะอนุภาคละเอียด การกรองโดยเทคนิคใช้ suction ใช้เวลานาน เนื่องจากอนุภาคขนาดเล็กไปอุดตันรูกระดากกรอง อาจส่งผลทำให้ปั๊มสูญญากาศเกิดชำรุดเสียหายได้ เพราะต้องใช้งานตลอดระยะเวลาที่กรอง สำหรับการกรองโดยเทคนิคไม่ใช้ suction ใช้เวลานานอย่างน้อย 24 ชั่วโมง ทำให้อุณหภูมิของน้ำกลั่นไม่คงที่ ซึ่งอุณหภูมิของน้ำกลั่นอาจมีผลต่อการทดสอบ
2. ตัวอย่างปุ๋ยที่มีส่วนประกอบของกระดูกสัตว์ การย่อยตัวอย่างปุ๋ยต้องใช้ความระมัดระวังอย่างมาก เนื่องจากกระดูกสัตว์มีไขมัน อาจเกิดการกระเด็นระหว่างการย่อยตัวอย่าง -

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ธาตุอาหารรองในปุ๋ยเคมีของห้องปฏิบัติการ  
พื้นที่ภาคกลาง

Method Validation on Analysis of Minor Element in Chemical Fertilizer of  
Laboratory in central Region

จิราภา เมืองคล้าย ทิตยา ประเสริฐกุล รัตติยา คงเม่น  
Chirapha Muangklai Thidtaya Prasertkul Rattiya Kongmen

**คำสำคัญ (Keywords)**

ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี ธาตุอาหารรอง ปุ๋ยเคมี พื้นที่ภาคกลาง

Method validation Minor element Chemical fertilizer Central region

**บทคัดย่อ(Abstract)**

ห้องปฏิบัติการปุ๋ยเคมีของสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5 (สวพ.5) มีความประสงค์จะขยายขอบข่ายการให้บริการวิเคราะห์ธาตุอาหารรองซึ่งได้แก่ แคลเซียมออกไซด์ (CaO) แมกนีเซียมออกไซด์ (MgO) และ กำมะถัน (S) ในปุ๋ยเคมี ให้แก่พนักงานเจ้าหน้าที่ของ สวพ.5 เพื่อใช้กำกับดูแลคุณภาพปุ๋ยเคมีในเขตรับผิดชอบและผู้ประกอบการที่มีความประสงค์จะขึ้นทะเบียนปุ๋ยเคมีเพื่อความเชื่อมั่นในผลการวิเคราะห์ ห้องปฏิบัติการปุ๋ยเคมีจึงดำเนินการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ธาตุอาหารรองดังกล่าว จากการ Validate พบว่า CaO มีช่วงที่มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงและเหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ คือ 0-250 ppm โดยมีค่า Correlation coefficient เท่ากับ 0.997 มีค่าต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (Limit of Detection; LOD) และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลให้ (Limit of Quantitation; LOQ) เท่ากับ 0.04 % และ 1.31 % ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ค่า Accuracy และ Precision วัสดุอ้างอิงมาตรฐานที่ความเข้มข้นของ CaO เท่ากับ 1.31 % 29.95 % และ 51.80 % พบว่าอยู่ในเกณฑ์ยอมรับทั้งหมด

จากการ Validate วิธีวิเคราะห์ MgO พบว่าช่วงที่มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงและเหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์คือ 0-100 ppm โดยมีค่า Correlation coefficient เท่ากับ 0.998 มีค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.015 % และ 0.40 % ตามลำดับ และมีค่า Accuracy และ Precision จากการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงมาตรฐานที่ความเข้มข้นของ MgO เท่ากับ 0.40 21.03 และ 81.03 พบว่าอยู่ในเกณฑ์ยอมรับทั้งหมด

ส่วนการ Validate วิธีวิเคราะห์ S พบว่าช่วงที่มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงและเหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ คือ 0-50 ppm โดยมีค่า Correlation coefficient เท่ากับ 0.997 มีค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.13 % และ 0.74 % ตามลำดับ และมีค่า Accuracy และ Precision จากการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงมาตรฐานที่ความเข้มข้นของ S เท่ากับ 0.74 % 17.79 % และ 33.07 % พบว่าค่า Accuracy ประเมินจาก % Recovery ผ่านเกณฑ์ยอมรับ 1 ค่าคือ 33.07 % ส่วนค่า Precision พบว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับทั้งหมด

## บทนำ (Introduction)

กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สวพ.5 มีความประสงค์จะขยายขอบข่ายการให้บริการวิเคราะห์ธาตุอาหารรอง ซึ่งได้แก่ แคลเซียมออกไซด์ แมกนีเซียมออกไซด์ และกำมะถันในปุ๋ยเคมี ให้กับพนักงานเจ้าหน้าที่ เพื่อใช้ในการควบคุมกำกับดูแลคุณภาพปุ๋ยเคมีในเขตรับผิดชอบและผู้ประกอบการที่มีความประสงค์จะขึ้นทะเบียนปุ๋ยเคมี เพื่อความเชื่อมั่นในผลการวิเคราะห์ และเป็นข้อมูลในการขอการรับรอง ISO/IEC 17025:2005 ต่อไป ห้องปฏิบัติการปุ๋ยเคมีจึงดำเนินการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์เพื่อใช้เป็นไปตามข้อกำหนดของ Validation method ในหัวข้อ 5.4.5.2 เนื่องจากวิธีที่ใช้วิเคราะห์ธาตุอาหารรองทั้ง 3 ชนิด ซึ่งวิเคราะห์ตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี (กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี, 2551) เป็นวิธีที่ดัดแปลงและปรับปรุงจากวิธีมาตรฐานของ AOAC (2000) และ OMAF (1987) ดังนั้นห้องปฏิบัติการปุ๋ยเคมี สวพ.5 จึงต้องตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์นี้ว่ามีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้กับการวิเคราะห์และเป็นไปตามมาตรฐานสากล

## ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมี ได้แก่ Spectrophotometer รุ่น Lambda 40 Perkin Elmer Microwave Digestion รุ่น Ultrawave ยี่ห้อ MILESTONE เครื่องแก้วที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ สารละลายมาตรฐาน Sulfate ความเข้มข้น 1000 ppm Nitric acid Barium chloride วัสดุอ้างอิง รongรับ/วัสดุอ้างอิงมาตรฐาน ได้แก่ BCR 032 Sulphur 0.737% BCR 114 Sulphur 17.79 % CZN-4 Sulphur 33.07 %

## วิธีการ

- ศึกษาหาช่วงความเป็นเส้นตรงและช่วงการใช้งาน
  - 1.1. ชั่งตัวอย่างที่มีเนื้อสารชนิดเดียวกับปุ๋ยแต่ตัวไม่มีสารที่ทดสอบ (Sample blank) เติมสารมาตรฐาน 7 ระดับความเข้มข้น วิเคราะห์หาปริมาณตามวิธีการวิเคราะห์
  - 1.2. สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน กับค่าความเข้มข้นแสงที่อ่านจากเครื่อง (Reading) หรือ ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance)
  - 1.3. พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรง
  - 1.4. เลือกช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง และดำเนินการตามข้อ 1.1 – 1.3 โดยเติมสารมาตรฐาน 7 ระดับในช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง
  - 1.5. คำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เกณฑ์การยอมรับ  $r \geq 0.995$
- ศึกษาหาค่าต่ำสุดที่วิธีวิเคราะห์สามารถวิเคราะห์ได้ (LOD) และค่าต่ำสุดที่สามารถรายงานผลได้ (LOQ)
  - 2.1. ชั่งตัวอย่างที่ไม่มีสารที่ทดสอบ วิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ หาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)
$$LOD = 3 \times S'_0$$
$$LOQ = 10 \times S'_0$$
  - 2.2. พิสูจน์ค่าความถูกต้อง และความเที่ยงของ LOQ ตามข้อ 3
  - 2.3. พิสูจน์ค่าความถูกต้อง และความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์

- 2.4. ซั่งตัวอย่างที่ไม่มีสารที่ทดสอบและซั่ง CRM ความเข้มข้นสูง กลาง และต่ำ เติมลงไปพร้อม กับทำตัวอย่างที่ไม่มีสารที่ทดสอบ
- 2.5. วิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ ระดับความเข้มข้นละไม่ต่ำกว่า 10 ซ้ำ
- 2.6. ประเมินความถูกต้อง
  - 2.6.1. เปรียบเทียบค่าที่ได้กับค่ารับรองของ CRM โดยมีเกณฑ์การยอมรับ 98-102 % Recovery (AOAC, 2016)
  - 2.6.2. ประเมินความแตกต่างโดย ใช้ t-test เกณฑ์การยอมรับ  $t_{\text{experiment}} < t_{\text{critical}}$  ที่ความ เชื่อมั่น 95%
- 2.7. ประเมินความเที่ยงโดย HorRat (Horwitz's Ratio) เกณฑ์การยอมรับน้อยกว่า 2

ระยะเวลา เริ่มต้น ต.ค. 2558 สิ้นสุด ก.ย. 256 0

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต  
สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5

### ผลการวิจัย (Results)

1. ช่วงใช้งานที่เป็นเส้นตรง (Working and linear range) ได้ผลการทดลองดังนี้
  - 1.1. แคลเซียมออกไซด์ ครอบคลุมช่วงความเข้มข้น 0, 50, 100, 150, 200, 250 มิลลิกรัม ต่อลิตร เป็นเส้นตรงตามสมการ  $y = 2.3214x + 0.000001$  มีค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.997 ตามลำดับ
  - 1.2. แมกนีเซียมออกไซด์ ครอบคลุมช่วงความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 80, 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเส้นตรงตามสมการ  $y = 27945x + 27629$  มีค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.998 ตามลำดับ
  - 1.3. กำมะถัน ครอบคลุมช่วงความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเส้นตรงตามสมการ  $y = 0.016x + 0.038$  มีค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.996 ตามลำดับ
2. ประมาณ limit of detection (LOD) และ limit of quantitation (LOQ) ได้ผลการวิเคราะห์ ดังนี้
  - 2.1. แคลเซียมออกไซด์ มีค่า LOD 0.015 % ได้ค่า LOQ 0.036 %
  - 2.2. แมกนีเซียมออกไซด์ มีค่า LOD 0.04 % ได้ค่า LOQ 0.10 %
  - 2.3. กำมะถัน มีค่า LOD 0.13 % ได้ค่า LOQ 0.27 %
3. พิสูจน์ค่าความถูกต้องและความเที่ยงที่ระดับความเข้มข้น LOQ ได้ผลการวิเคราะห์ ดังนี้
  - 3.1. แคลเซียมออกไซด์ เลือก LOQ = 1.31 % โดยการวิเคราะห์ sample blank ที่เติมวัสดุ อ้างอิงรับรอง ได้ค่า %recovery เท่ากับ 99.65 และค่า HorRat เท่ากับ 0.38
  - 3.2. แมกนีเซียมออกไซด์ เลือก LOQ = 0.40 % โดยการวิเคราะห์ sample blank ที่เติมวัสดุ อ้างอิงรับรอง ได้ค่า %recovery เท่ากับ 100.48 และค่า HorRat เท่ากับ 0.38
  - 3.3. กำมะถัน เลือก LOQ = 0.74 % โดยการวิเคราะห์ sample blank ที่เติมวัสดุอ้างอิงรับรอง ได้ค่า %recovery เท่ากับ 102.62 และค่า HorRat เท่ากับ 1.00

4. พิสูจน์ความถูกต้องและความเที่ยงที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง สูง (Trueness and precision) ได้ผลการวิเคราะห์ดังนี้
- 4.1. แคลเซียม ออกไซด์ โดยการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรองที่ระดับความเข้มข้น 1.31 % 29.95 % และ 51.80 % มีค่า %recovery เท่ากับ 99.65, 99.67 และ 100.38 ตามลำดับ และค่า  $t_{\text{experiment}}$  เท่ากับ 1.57 1.60 และ 1.95 ตามลำดับ ซึ่งค่าที่ได้ทั้งหมดผ่านเกณฑ์การยอมรับ พิสูจน์ความเที่ยงทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น มีค่า %RSD เท่ากับ 1.00 0.94 และ 0.88 ตามลำดับ และมีค่า HorRat เท่ากับ 0.38, 0.59, 0.60 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ แสดงว่าวิธีวิเคราะห์ที่ได้มีความถูกต้อง และมีความเที่ยง
- 4.2. แมกนีเซียม โดยการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรองที่ระดับความเข้มข้น 0.40 % 21.03 % และ 81.03 % มีค่า %recovery เท่ากับ 100.48, 100.28 และ 100.19 ตามลำดับ และค่า  $t_{\text{experiment}}$  เท่ากับ 1.87 1.42 และ 0.89 ตามลำดับ ซึ่งค่าที่ได้ทั้งหมดผ่านเกณฑ์การยอมรับ พิสูจน์ความเที่ยงทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น มีค่า %RSD เท่ากับ 1.15 0.88 และ 0.96 ตามลำดับ และมีค่า HorRat เท่ากับ 0.38, 0.53, 0.65 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ แสดงว่าวิธีวิเคราะห์ที่ได้มีความถูกต้อง และมีความเที่ยง
- 4.3. กำมะถัน โดยการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรองที่ระดับความเข้มข้น 0.74 % 17.79 % และ 33.07 % มีค่า %recovery เท่ากับ 102.62, 103.87 และ 100.67 ตามลำดับ และค่า  $t_{\text{experiment}}$  เท่ากับ 1.71 3.18 และ 3.32 ตามลำดับ โดยที่ระดับความเข้มข้น 0.74 % และ 33.07 % มีความถูกต้องอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ ในขณะที่ระดับความเข้มข้น 17.79 % ยังไม่ผ่านเกณฑ์การยอมรับ โดยผลการวิเคราะห์ที่ระดับความเข้มข้น 17.79 และ 33.07 มีความแตกต่างจากค่าจริงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % พิสูจน์ความเที่ยงทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น มีค่า %RSD เท่ากับ 1.00 0.94 และ 0.88 ตามลำดับ และมีค่า HorRat เท่ากับ 1.00, 1.92, 0.81 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ แสดงว่าวิธีวิเคราะห์ที่ได้มีความเที่ยง และมีความถูกต้องที่ระดับความเข้มข้นต่ำ และสูง

#### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

วิธีวิเคราะห์ แคลเซียมออกไซด์ แมกนีเซียมออกไซด์ ของห้องปฏิบัติการปุ๋ยเคมี กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สวพ.5 มีความถูกต้อง โดยมีค่า % Recovery และช่วงความแตกต่างอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ และมีความเที่ยง โดยค่า HorRat ผ่านเกณฑ์การยอมรับ ซึ่งค่าต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ / ค่าต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ ของวิธีวิเคราะห์ CaO และ MgO เท่ากับ 0.04% / 1.31 % และ 0.015% / 0.40 % ตามลำดับ และมีช่วงความเข้มข้นที่เป็นช่วงใช้งานซึ่งมีความเป็นเส้นตรง โดยมีค่า  $r < 0.995$  คือ 0-250 ppm และ 0-100 ppm ตามลำดับ

วิธีวิเคราะห์กำมะถัน ยังไม่มีความถูกต้อง โดยมีค่า % Recovery และช่วงความแตกต่างไม่ผ่านในเกณฑ์การยอมรับ ในช่วงความเข้มข้นกลาง แต่มีความเที่ยงในทุกช่วงความเข้มข้น โดยค่า HorRat ผ่านเกณฑ์การยอมรับ ซึ่งค่าต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ และ ค่าต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ เท่ากับ 0.13% และ 0.74 % มีช่วงความเข้มข้นที่เป็นช่วงใช้งานซึ่งมีความเป็นเส้นตรง โดยมีค่า  $r < 0.995$  คือ 0-50 ppm



จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ CaO MgO และ S ในปุ๋ยเคมี ของห้องปฏิบัติการ ปุ๋ย สวพ.5 ห้องปฏิบัติการปุ๋ยสามารถที่จะให้บริการวิเคราะห์ CaO และ MgO ในปุ๋ยเคมีได้ ส่วนค่า S ยังไม่สามารถให้บริการวิเคราะห์ได้ เนื่องจากการทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไม่ผ่าน

## การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ธาตุอาหารรองในปุ๋ยเคมี ของห้องปฏิบัติการ พื้นที่ภาคตะวันออก

### Validate method of Minor Nutrient in Chemical Fertilizer at Laboratory Eastern Region

อุมาพร รักษาพราหมณ์ เกษสิริ ฉันทพิริยะพูน  
Umaporn Raksapharm Kedsiri Chantapiriyapoon

#### คำสำคัญ (Keywords)

ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี ธาตุอาหารรอง ปุ๋ยเคมี พื้นที่ภาคตะวันออก

Method validation Minor element Chemical fertilizer Eastern region

#### บทคัดย่อ(Abstract)

การทดลองได้ทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ธาตุอาหารรองในปุ๋ยเคมีมีวัตถุประสงค์เพื่อทำการตรวจสอบเพื่อยืนยันความเหมาะสมของวิธีที่ห้องปฏิบัติการสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 6 นำมาใช้ในการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ธาตุอาหารรองในปุ๋ยเคมีเป็นการสร้างความเชื่อมั่นด้านการตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย เพื่อให้บริการทางวิชาการ และการดำเนินการทางกฎหมาย โดยการยืนยันคุณลักษณะเฉพาะของวิธีวิเคราะห์ (method performance characteristics) และประเมินด้วยวิธีทางสถิติว่าวิธีวิเคราะห์นี้มีความถูกต้องและเหมาะสมตามวัตถุประสงค์ของการทำงาน คุณลักษณะเฉพาะของวิธีเหล่านี้ได้แก่ ความแม่นยำ (Accuracy) โดยทำการประเมินค่าเปอร์เซ็นต์การคืนกลับ (Recovery) ของตัวอย่างอ้างอิง ที่ความเข้มข้นระดับสูง (ที่ความเข้มข้น CaO 43.6 % MgO 21.03 % และ S 24.20 %) ได้ค่าเปอร์เซ็นต์การคืนกลับ 100.83, 100.97, และ 98.67 % ตามลำดับ ที่ความเข้มข้นระดับกลางที่ CaO 31.48 % และ S 17.8 % ได้ค่าเปอร์เซ็นต์การคืนกลับ 99.59, 98.77 % ตามลำดับ ที่ความเข้มข้นระดับต่ำที่ระดับ CaO 1.3 % MgO 2.97 % และ S 14.3 %) ได้ค่าเปอร์เซ็นต์การคืนกลับ 102.38, 97.39, 98.16 % ตามลำดับ และจากการประเมินค่าความเที่ยง (Precision) โดยพิจารณาจากค่า HORRAT ค่าความเที่ยงของทุกระดับความเข้มข้นอยู่ในเกณฑ์ยอมรับคือน้อยกว่า 2 และได้ทำการประเมิน Intermediate Precision ค่าความเที่ยงของทุกระดับความเข้มข้นอยู่ในเกณฑ์ยอมรับคือน้อยกว่า 2 ความเป็นเส้นตรง (linearity) พบว่ามีความสัมพันธ์เชิงเส้นทุกธาตุจากการประเมินพบว่าและขีดจำกัดของการตรวจวัด (LOQ) อยู่ที่ CaO 0.4 % MgO 0.2 % และ S 0.2%) และเมื่อประเมินความถูกต้อง ความแม่นยำ และความเป็นเส้นตรงพบว่า ผ่านเกณฑ์ประเมิน ซึ่งทำให้สามารถยืนยันได้ว่าวิธีการวิเคราะห์ธาตุอาหารรองในปุ๋ยเคมีที่ห้องปฏิบัติการสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 6 ใช้มีความน่าเชื่อถือสามารถนำไปเป็นวิธี

มาตรฐานในการทดสอบ และสามารถนำไปใช้สำหรับให้บริการแก่เกษตรกรผู้ประกอบการ และการดำเนินการตามกฎหมายได้

## บทนำ (Introduction)

ปัจจุบันเกษตรกรมีการใช้ธาตุอาหารรองมากขึ้น เพื่อเป็นการคุ้มครองและช่วยรักษาผล ประโยชน์ของเกษตรกร กร สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 6 จึงได้ดำเนินการเพิ่มขีด ความสามารถของห้องปฏิบัติการให้สามารถรองรับการวิเคราะห์ปุ๋ยได้หลายรายการเพิ่มมากขึ้น จึง พัฒนาวีธีการวิเคราะห์ และดำเนินการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ปุ๋ยธาตุอาหารรองขึ้น

## ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมี ได้แก่ เครื่องแก้ว เครื่องวิเคราะห์ธาตุอาหาร ( Inductively Coupled Plasma Emission Spectroscopy) เครื่องซังไฟฟ้าทัศนียมทัศนียมสีตำแหน่ง เตาระเหย ไฟฟ้าสารเคมี ได้แก่ Nitric acid 69-70 % ( $\text{HNO}_3$ ), AR grade Hydrochloric acid 36-38 % (HCl), AR grade สารละลายมาตรฐาน ( Stock Standard ) แคลเซียม, แมกนีเซียม, กำมะถัน ความ เข้มข้นชนิดละ 1,000 ppm. สารมาตรฐานอ้างอิงที่ใช้ในการทดลอง ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สารมาตรฐานอ้างอิงที่ใช้ในการทดลอง

ชื่อสารอ้างอิง	Certified value (%)		
	CaO	MgO	S
BCR-033	31.48±0.3	0.21±0.02	14.3±0.1
SRM-88b	-	21.03±0.07	-
BCR-114 (Potassium Sulfate)	1.3±0.03	-	17.8±0.07
BCR-178	12.42±0.04	-	-
SRM-694	43.6±0.4	-	-
SRM-695	-	2.97±0.08	-
Ammonium sulfate	-	-	24.20±0.001

## วิธีการ

- ศึกษาหาช่วงความเป็นเส้นตรงและช่วงการใช้งาน
  - 1.1. ซังตัวอย่างที่มีเนื้อสารชนิดเดียวกับปุ๋ยแต่ตัวไม่มีสารที่ทดสอบ (Sample blank) เติมสาร มาตรฐาน 7 ระดับความเข้มข้น วิเคราะห์หาปริมาณตามวิธีการวิเคราะห์
  - 1.2. สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน กับค่าความเข้มข้นแสงที่อ่านจากเครื่อง (Reading) หรือ ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance)
  - 1.3. พิจารณาค่าช่วงที่เป็นเส้นตรง
  - 1.4. เลือกช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง และดำเนินการตามข้อ 1.1 – 1.3 โดยเติมสาร มาตรฐาน 7 ระดับในช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง
  - 1.5. คำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เกณฑ์การยอมรับ  $r \geq 0.995$
- ศึกษาหาค่าต่ำสุดที่วิธีวิเคราะห์สามารถวิเคราะห์ได้ (LOD) และค่าต่ำสุดที่สามารถรายงานผลได้ (LOQ)
  - 2.1. ซังตัวอย่างที่ไม่มีสารที่ทดสอบ วิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ หาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน (SD)

$$\text{LOD} = 3 \times S'_0$$

$$\text{LOQ} = 10 \times S'_0$$

- 2.2. พิสูจน์ค่าความถูกต้อง และความเที่ยงของ LOQ ตามข้อ 3
3. พิสูจน์ค่าความถูกต้อง และความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์
  - 3.1. ชั่งตัวอย่างที่ไม่มีสารที่ทดสอบและชั่ง CRM ความเข้มข้นสูง กลาง และต่ำ เติมลงไปพร้อม กับทำตัวอย่างที่ไม่มีสารที่ทดสอบ
  - 3.2. วิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ ระดับความเข้มข้นละไม่ต่ำกว่า 10 ซ้ำ
  - 3.3. ประเมินความถูกต้อง
    - 3.3.1. เปรียบเทียบค่าที่ได้กับค่ารับรองของ CRM โดยมีเกณฑ์การยอมรับ 98-102 % Recovery (AOAC, 2016)
    - 3.3.2. ประเมินความแตกต่างโดยใช้ t-test เกณฑ์การยอมรับ  $t_{\text{experiment}} < t_{\text{critical}}$  ที่ความ เชื่อมั่น 95%
  - 3.4. ประเมินความเที่ยงโดย HorRat (Horwitz's Ratio) เกณฑ์การยอมรับน้อยกว่า 2

ระยะเวลา เริ่มต้น ต.ค. 2558 สิ้นสุด ก.ย. 256 0

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต

สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 6

### ผลการวิจัย (Results)

1. ช่วงใช้งานที่เป็นเส้นตรง (Working and linear range) ได้ผลการทดลองดังนี้
  - 1.1. แคลเซียม ครอบคลุมช่วงความเข้มข้น 0 , 0.1, 1, 10, 50, 100, 200 และ 250 ppm มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99995 ตามลำดับ
  - 1.2. แมกนีเซียม ครอบคลุมช่วงความเข้มข้น 0, 1, 20, 40, 60, 80 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99993 ตามลำดับ
  - 1.3. กำมะถัน ครอบคลุมช่วงความเข้มข้น 0 , 1, 10, 40, 100, 200 และ 250 ppm มิลลิกรัม ต่อลิตร มีค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99997 ตามลำดับ
2. ประมาณ limit of detection (LOD) และ limit of quantitation (LOQ) ได้ผลการวิเคราะห์ ดังนี้
  - 2.1. แคลเซียมออกไซด์ มีค่า LOD 0.58 % ได้ค่า LOQ 0.58 %
  - 2.2. แมกนีเซียมออกไซด์ มีค่า LOD 0.05 % ได้ค่า LOQ 0.12 %
  - 2.3. กำมะถัน มีค่า LOD 0.08 % ได้ค่า LOQ 0.22 %
3. พิสูจน์ค่าความถูกต้องและความเที่ยงที่ระดับความเข้มข้น LOQ ได้ผลการวิเคราะห์ ดังนี้
  - 3.1. แคลเซียมออกไซด์ เลือก LOQ = 0.42 % โดยการวิเคราะห์ sample blank ที่เติมวัสดุ อ้างอิงรับรอง ได้ค่า %recovery เท่ากับ 98.33 และค่า HorRat เท่ากับ 1.62
  - 3.2. แมกนีเซียมออกไซด์ เลือก LOQ = 0.21 % โดยการวิเคราะห์ sample blank ที่เติมวัสดุ อ้างอิงรับรอง ได้ค่า %recovery เท่ากับ 98.69 และค่า HorRat เท่ากับ 1.79
  - 3.3. กำมะถัน เลือก LOQ = 0.20 % โดยการวิเคราะห์ sample blank ที่เติมวัสดุอ้างอิงรับรอง ได้ค่า %recovery เท่ากับ 100.00 และค่า HorRat เท่ากับ 1.97

4. พิสูจน์ความถูกต้องและความเที่ยงที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง สูง (Trueness and precision) ได้ผลการวิเคราะห์ดังนี้
- 4.1. แคลเซียม ออกไซด์ โดยการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรองที่ระดับความเข้มข้น 1.3 3 % 31.48 % และ 43.60 % มีค่า %recovery เท่ากับ 102.38, 99.59 และ 100.83 ตามลำดับ และค่า  $t_{\text{experiment}}$  เท่ากับ 1.57 1.60 และ 1.95 ตามลำดับ ซึ่งค่าที่ได้ทั้งหมดผ่านเกณฑ์การยอมรับ พิสูจน์ความเที่ยงทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น มีค่า %RSD เท่ากับ 5.14 2.54 และ 1.48 ตามลำดับ และมีค่า HorRat เท่ากับ 1.63, 1.60 และ 0.98 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ แสดงว่าวิธีวิเคราะห์ที่ได้มีความถูกต้อง และมีความเที่ยง
- 4.2. แมกนีเซียม โดยการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรองที่ระดับความเข้มข้น 2.89 % และ 21.03 % มีค่า %recovery เท่ากับ 97.39 และ 100.97 ตามลำดับ และค่า  $t_{\text{experiment}}$  เท่ากับ 1.87 และ 0.89 ตามลำดับ ซึ่งค่าที่ได้ทั้งหมดผ่านเกณฑ์การยอมรับ พิสูจน์ความเที่ยงทั้ง 2 ระดับความเข้มข้น มีค่า %RSD เท่ากับ 5.97 และ 1.12 ตามลำดับ และมีค่า HorRat เท่ากับ 1.89 และ 0.68 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ แสดงว่าวิธีวิเคราะห์ที่ได้มีความถูกต้อง และมีความเที่ยง
- 4.3. กำมะถัน โดยการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรองที่ระดับความเข้มข้น 14.30 % 17.8 % และ 22.40 % มีค่า %recovery เท่ากับ 102.62, 98.66 และ 98.67 ตามลำดับ พิสูจน์ความเที่ยงทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น มีค่า %RSD เท่ากับ 2.50 1.82 และ 1.71 ตามลำดับ และมีค่า HorRat เท่ากับ 1.41, 1.06 และ 1.04 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ แสดงว่าวิธีวิเคราะห์ที่ได้มีความเที่ยง และมีความถูกต้องที่ระดับความเข้มข้นต่ำ และสูง
5. ประเมินความเที่ยงโดยใช้ตัวอย่างควบคุม 2 ระดับความเข้มข้น พบว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับ โดย
- 5.1. แคลเซียมออกไซด์ ที่ระดับความเข้มข้น 22.0 และ 2.7 มีค่า RSD 2.13 และ 4.43 ตามลำดับ มีค่า HorRat 0.85 และ 1.76 ตามลำดับ
- 5.2. แมกนีเซียมออกไซด์ ที่ระดับความเข้มข้น 9.2 และ 1.46 มีค่า RSD 3.31 และ 5.59 ตามลำดับ มีค่า HorRat 1.17 และ 1.98 ตามลำดับ
- 5.3. กำมะถัน ที่ระดับความเข้มข้น 4.8 และ 8.93 มีค่า RSD 6.06 และ 3.63 ตามลำดับ มีค่า HorRat 1.87 และ 1.12 ตามลำดับ

#### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

วิธีวิเคราะห์ แคลเซียมออกไซด์ แมกนีเซียมออกไซด์ กำมะถัน ของห้องปฏิบัติการปุ๋ยเคมี กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สวพ.6 มีความถูกต้อง โดยมีค่า % Recovery และมีความเที่ยงโดยค่า HorRat ของการวิเคราะห์ตัวอย่างอ้างอิง และตัวอย่างจริง ผ่านเกณฑ์การยอมรับ ทุกตัวอย่าง ซึ่งค่าต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้และค่าต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ ของวิธีวิเคราะห์ CaO MgO และกำมะถัน LOD เท่ากับ 0.22% 0.05 % และ 0.08 ตามลำดับ และ LOQ 1.30 % 2.97 % และ 14.3 % ตามลำดับ และมีช่วงความเข้มข้นที่เป็นช่วงใช้งานซึ่งมีความเป็นเส้นตรง โดยมีค่า  $r < 0.995$  จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ CaO MgO และ S ในปุ๋ยเคมี ของห้องปฏิบัติการปุ๋ย สวพ.6 ดังนั้นวิธีวิเคราะห์ธาตุอาหารรองที่ได้มีความถูกต้อง มีความเที่ยง และเชื่อถือได้

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ธาตุอาหารรองในปุ๋ยเคมีของห้องปฏิบัติการ  
พื้นที่ภาคใต้ตอนล่าง

Method Validation on Analysis of Secondary Nutrients in Chemical Fertilizers in  
the Lower South Laboratory

สรัญญา ชวงพิมพ์ ว่าที่ร้อยตรีพิรุณ ตีระพัฒน์ เยาวลักษณ์ แสงแก้ว  
Saranya Choungpim Pirun Tirapat Yaowalak Sangkeaw

**คำสำคัญ (Keywords)**

ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี ธาตุอาหารรอง ปุ๋ยเคมี พื้นที่ภาคใต้ตอนล่าง

Method validation Minor element Chemical fertilizer Lower south region

**บทคัดย่อ(Abstract)**

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ธาตุอาหารรอง (แคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถัน) ในปุ๋ยเคมี เป็นการพัฒนา ปรับปรุง หรือดัดแปลงวิธีการวิเคราะห์ให้มีความเหมาะสมกับห้องปฏิบัติการ โดยใช้วิธีของ Official methods of analysis of fertilizers (The National Institute of Agro-Environmental Sciences, 1987) และคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี (2551) สำหรับการวิเคราะห์แคลเซียม และแมกนีเซียม ส่วนการวิเคราะห์กำมะถันปฏิบัติตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 ตรวจสอบคุณลักษณะต่างๆคือ 1) ความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน ( Range) 2) พิสัยความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานสำหรับใช้งาน (Linearity) 3) ปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ ( Limit of detection, LOD) และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ ( Limit of quantification, LOQ) 4) ความถูกต้องของการวิเคราะห์ ( Accuracy) ที่ระดับสูง กลาง และต่ำ และ 5) ความแม่นยำของการวิเคราะห์ ( Precision) ทั้งแบบทวนซ้ำ ( Repeatability precision) และ แบบการทำซ้ำ (Intermediate precision) โดยวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรอง ( Certified reference material, CRM) พบว่า Range ของวิธีวิเคราะห์แคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถัน อยู่ในช่วง 0 - 20 mg/LCa, 0 - 9 mg/LMg และ 10 - 80 mg/LSO<sub>4</sub><sup>2-</sup> ตามลำดับ Linearity ของวิธีวิเคราะห์อยู่ในช่วง 0 - 10 mg/LCa, 0 - 5 mg/LMg และ 10 - 50 mg/LSO<sub>4</sub><sup>2-</sup> ตามลำดับ LOD ของวิธีวิเคราะห์ได้ค่าเท่ากับ 0.4704 %CaO, 0.4758 %MgO และ 0.0351 %S ตามลำดับ LOQ ของวิธีวิเคราะห์ได้ค่าเท่ากับ 1.5680 %CaO, 1.5860 %MgO และ 0.1170 %S Accuracy ของแคลเซียมที่ระดับสูง กลาง และต่ำ ได้ค่า Mean Recovery เท่ากับ 99.51, 100.91 และ 99.92 % ตามลำดับ แมกนีเซียมได้ค่า Mean Recovery เท่ากับ 100.05, 101.17 และ 100.14 % ตามลำดับ และ Mean Recovery ของกำมะถัน ได้ค่าเท่ากับ 108.84, 106.09 และ 110.14 % ตามลำดับ 5.1) Repeatability precision ของแคลเซียมที่ระดับสูง กลาง ต่ำ โดยใช้สมการของ Horwitz's ratio ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.81, 0.48 และ 0.47 ตามลำดับ แมกนีเซียมได้ค่าเท่ากับ 0.93, 0.88 และ 0.17 ตามลำดับ และกำมะถันได้ค่าเท่ากับ 0.99, 1.01 และ 0.80 ตามลำดับ Intermediate precision ของแคลเซียมที่ระดับสูง กลาง และต่ำ โดยใช้สมการของ Horwitz's ratio ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.29, 0.08 และ 0.31 ตามลำดับ แมกนีเซียมได้ค่าเท่ากับ 0.50, 0.93 และ 0.05 ตามลำดับ และกำมะถันได้ค่าเท่ากับ 0.36, 0.76 และ

0.92 ตามลำดับ ซึ่งผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี ผ่านเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐานสากล ยกเว้น Mean Recovery ของวิธีวิเคราะห์กำมะถันให้ผลวิเคราะห์สูงค่าอ้างอิง สูงกว่าเกณฑ์ยอมรับ

Method validations on analysis of secondary nutrients (calcium magnesium and sulfur) in chemical fertilizers is the development, improvement or modification of analytical method to be suited for the laboratory. The methods those the laboratory modified for analysis Calcium (Ca) and magnesium (Mg) were the Official Methods of Analysis of Fertilizer (the National Institute of Agro-Environmental Sciences, 1987) and Fertilizer Analysis Manual (Department of Agriculture, 2009). For sulfur (S) method validation was base on Notification of Ministry Of Agriculture and Cooperative Re : Prescribing the methods of analysis of chemical fertilizer, B.E.2017. There were five characteristics assessed according to the Certified Reference Material (CRM). They are including 1) Range, 2) Linearity, 3) Limit of Detection (LOD) and Limit of Quantification (LOQ), 4) Accuracy and 5) Precision which can be divided into two categories; (1) repeatability precision and (2) intermediate precision. The assessments were conducted for three elements including calcium (Ca), magnesium (Mg) and sulfur (S). Results of the assessment can be summarized as follow. The **Range** period for the analysis of Ca, Mg and S were 0-20, 0-10 and 10-80 mg/ L, respectively. The **Linearity** were 0-10, 0-5 and 10-50 mg/L, respectively. The **LOD** were 0.4707 %CaO, 0.4758 %MgO and 0.0351 %S, respectively. The **LOQ** were 1.5680 %CaO, 1.5860 %MgO and 0.1170 %S, respectively. The **Accuracy** at high, medium and low levels of Ca were 99.51, 100.91 and 99.92% of mean recovery, respectively. While the mean recovery of Mg were 100.05, 101.17 and 100.14% and mean recovery of S were 108.84, 106.09 and 110.14%, respectively. The **Precision** were assessed by using Horwitz's ratio which are interpreted as HORRAT value. The HORRAT values for repeatability precision of Ca at high, medium and low levels were 0.81, 0.48 and 0.47%, respectively. While the values of Mg were 0.93, 0.88 and 0.17% and the values of S were 0.99, 1.01 and 0.80% respectively. The HORRAT values for intermediate Precision of Ca at high, medium and low levels were 0.29, 0.08 and 0.31%, respectively. While the values of Mg were 0.50, 0.93 and 0.05% and the values of S were 0.36, 0.76 and 0.92%, respectively. Most of the values achieved from the analysis were accepted when referred to the international standard. Except the Mean Recovery of S which was higher than the acceptable threshold.

## บทนำ (Introduction)

กรมวิชาการเกษตรในฐานะผู้รับผิดชอบหลักในการกำกับดูแล ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ.2550 เพื่อควบคุมคุณภาพปุ๋ย ที่นำเข้ามาผลิตและจำหน่ายในประเทศไทยให้มีคุณภาพเป็นไปตามความต้องการของเกษตรกร จำเป็นต้องอาศัยผลการวิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการเป็นสำคัญ กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต

สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 8 เป็นตัวแทนของกรมวิชาการเกษตรที่ให้บริการวิเคราะห์ปุ๋ย ในส่วนภูมิภาคของภาคใต้ตอนล่าง โดยได้ใช้วิธีการวิเคราะห์เช่นเดียวกับห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตรคือ คู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี (2551) และ ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 ทั้งนี้ห้องปฏิบัติการต้องดำเนินการเลือกใช้วิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสมกับเครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีที่มีอยู่ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ ( Validate Method) เพื่อยืนยันถึงวิธีการที่นำมาใช้ในการทดสอบว่ามีความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ สอบกลับได้ และจัดทำ เป็นวิธีวิเคราะห์มาตรฐาน ( Standard Operation Procedure) เพื่อให้เกิดความเชื่อมั่นในผลการ วิเคราะห์ และเป็นที่ยอมรับตามมาตรฐานสากล

การวิเคราะห์ธาตุอาหารรองในปุ๋ยเคมี เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถัน เป็น ข้อกำหนดในการตรวจประเมินคุณภาพปุ๋ย ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย และสำหรับการขึ้นทะเบียนปุ๋ยที่มี แคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถันเป็นส่วนประกอบ จึงมีความจำเป็นต้องตรวจสอบความใช้ได้ของ วิธีวิเคราะห์ธาตุอาหารรองในปุ๋ยเคมี การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์แคลเซียม แมกนีเซียม นั้น ห้องปฏิบัติการได้ดัดแปลงวิธีวิเคราะห์ จาก Official methods of analysis of fertilizers (The National Institute of Agro-Environmental Sciences, 1987) ร่วมกับคู่มือวิธี วิเคราะห์ปุ๋ยเคมี (2551) โดยใช้เทคนิค Atomic Absorption Spectrophotometric Method สำหรับการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์กำมะถัน ใช้วิธีวิเคราะห์ตามประกาศกระทรวงเกษตร และสหกรณ์ (2559) โดยใช้เทคนิค Turbidimetric Method โดยตรวจสอบคุณลักษณะต่างๆ คือ ความถูกต้องของการวัด ( Accuracy) ความเที่ยงของการวัด ( Precision) ทั้งแบบ Repeatability precision และ Intermediate precision ปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ ( Limit of detection, LOD) ปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ ( Limit of quantitation, LOQ) (ทิพวรรณ, 2549) เพื่อให้เป็นไปตามมาตรฐานสากล และสามารถใช่วิธีการวิเคราะห์ดังกล่าว เพื่อขอการรับรองมาตรฐานห้องปฏิบัติการในอนาคตต่อไป

#### ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมี ได้แก่ เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius รุ่น BP221S ) เครื่อง Spectrophotometer (PerkinElmer รุ่น Lambda 40) เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer (GBC รุ่น 933AA)เตาย่อยตัวอย่าง (Thermolyne รุ่น RC2240) เครื่องแก้ว และวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified reference material, CRM)และ สารเคมีได้แก่ Limestone (SRM 1d) มีแคลเซียมทั้งหมดรับรอง 52.85 %CaO) Dolomitic Limestone (SRM 88b) แคลเซียมทั้งหมดรับรอง 29.95 %CaO, แมกนีเซียมทั้งหมดรับรอง 21.03 %MgO) Trace Elements in Multi-Nutrient Fertilizer (SRM 695) มีแคลเซียมทั้งหมดรับรอง 3.16 %CaO, แมกนีเซียมทั้งหมดรับรอง 2.97 %MgO) Potassium sulfate (BCR 114) มีกำมะถันทั้งหมด รับรอง 17.79 %S Natural Moroccan Phosphate Rock (BCR-032) มีกำมะถันทั้งหมดรับรอง 0.74% S Ammonium sulfate (Sigma, product no. 204501) มีกำมะถันทั้งหมดรับรอง 24.27% S Sample blank (SB) Calcium standard solution (Ca std sol<sup>n</sup>) 1,000 mg/L Magnesium standard solution (Mg std soln) 1,000 mg/L Sulfate standard solution (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> std soln) 1,000 mg/L Calcium carbonate (CaCO<sub>3</sub>), AR grade Magnesium sulfate

(MgSO<sub>4</sub>), AR grade Strontium chloride hexahydrate (SrCl<sub>2</sub>•6H<sub>2</sub>O), AR grade Barium chloride dihydrate (BaCl<sub>2</sub>•2H<sub>2</sub>O), AR grade Sodium chloride (NaCl) > 99 %, AR grade Hydrochloric acid (HCl) 36 - 38 % AR grade Nitric acid (HNO<sub>3</sub>) 69-70 %, AR grade Perchloric acid (HClO<sub>4</sub>) 69- 72 %, AR grade Ethyl alcohol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH) 95 %, AR grade และ Glycerol (C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>) > 99 %, AR grade

## วิธีการ

1. ศึกษาหาช่วงความเป็นเส้นตรงและช่วงการใช้งาน
  - 1.1. ชั่งตัวอย่างที่มีเนื้อสารชนิดเดียวกับปุ๋ยแต่ตัวไม่มีสารที่ทดสอบ (Sample blank) เติมสารมาตรฐาน 7 ระดับความเข้มข้น วิเคราะห์หาปริมาณตามวิธีการวิเคราะห์
  - 1.2. สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน กับค่าความเข้มข้นแสงที่อ่านจากเครื่อง (Reading) หรือ ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance)
  - 1.3. พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรง
  - 1.4. เลือกช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง และดำเนินการตามข้อ 1.1 – 1.3 โดยเติมสารมาตรฐาน 7 ระดับในช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง
  - 1.5. คำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เกณฑ์การยอมรับ  $r \geq 0.995$
2. ศึกษาหาค่าต่ำสุดที่วิธีวิเคราะห์สามารถวิเคราะห์ได้ (LOD) และค่าต่ำสุดที่สามารถรายงานผลได้ (LOQ)
  - 2.1. ชั่งตัวอย่างที่ไม่มีสารที่ทดสอบ วิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ หาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)
$$LOD = 3 \times S'_0$$
$$LOQ = 10 \times S'_0$$
  - 2.2. พิสูจน์ค่าความถูกต้อง และความเที่ยงของ LOQ ตามข้อ 3
3. พิสูจน์ค่าความถูกต้อง และความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์
  - 3.1. ชั่งตัวอย่างที่ไม่มีสารที่ทดสอบและชั่ง CRM ความเข้มข้นสูง กลาง และต่ำ เติมลงไปพร้อม กับทำตัวอย่างที่ไม่มีสารที่ทดสอบ
  - 3.2. วิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ ระดับความเข้มข้นละไม่ต่ำกว่า 10 ช้ำ
  - 3.3. ประเมินความถูกต้อง
    - 3.3.1. เปรียบเทียบค่าที่ได้กับค่ารับรองของ CRM โดยมีเกณฑ์การยอมรับ 98-102 % Recovery (AOAC, 2016)
    - 3.3.2. ประเมินความแตกต่างโดยใช้ t-test เกณฑ์การยอมรับ  $t_{\text{experiment}} < t_{\text{critical}}$  ที่ความเชื่อมั่น 95%
  - 3.4. ประเมินความเที่ยงโดย HorRat (Horwitz's Ratio) เกณฑ์การยอมรับน้อยกว่า 2

ระยะเวลา เริ่มต้น ต.ค. 2558 สิ้นสุด ก.ย. 256 0

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต

สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 8



## ผลการวิจัย (Results)

- เลือกวิธีวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียมทั้งหมดในปุ๋ยเคมี โดยดัดแปลงจาก Official methods of analysis of fertilizers (The National Institute of Agro-Environmental Sciences, 1987) และการวิเคราะห์กำมะถันทั้งหมดในปุ๋ยเคมี ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559
- ช่วงใช้งานที่เป็นเส้นตรง (Working and linear range) ได้ผลการทดลองดังนี้
  - แคลเซียม ครอบคลุมช่วงความเข้มข้น 0 - 10 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความเป็นเส้นตรงตามสมการ  $y=0.0517x + 0.0019$  โดยมีค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99995 ตามลำดับ
  - แมกนีเซียม ครอบคลุมช่วงความเข้มข้น 0 - 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความเป็นเส้นตรงตามสมการ  $y=0.1039x + 0.0074$  โดยมีค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99955 ตามลำดับ
  - กำมะถัน ครอบคลุมช่วงความเข้มข้น 10 - 50 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความเป็นเส้นตรงตามสมการ  $y=0.0121x - 0.0709$  โดยมีค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.9991 ตามลำดับ
- ประมาณ limit of detection (LOD) และ limit of quantitation (LOQ) ได้ผลการวิเคราะห์ดังนี้
  - แคลเซียมออกไซด์ มีค่า SD = 0.1568 % ได้ค่า LOD 0.47 % และ LOQ 1.57 %
  - แมกนีเซียมออกไซด์ มีค่า SD = 0.1586 % ได้ค่า LOD 0.48 % และ LOQ 1.59 %
  - กำมะถัน มีค่า SD = 0.0117 % ได้ค่า LOD 0.04 % และ LOQ 0.11 %
- พิสูจน์ความถูกต้องและความเที่ยงที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง สูง (Trueness and precision) ได้ผลการวิเคราะห์ดังนี้
  - แคลเซียม ออกไซด์ โดยการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรองที่ระดับความเข้มข้น 3.16 % 29.95 % และ 52.85 % มีค่า %recovery เท่ากับ 99.92 %, 100.91 % และ 99.51 % ตามลำดับ พิสูจน์ความเที่ยงแบบทำซ้ำในครั้งเดียวกัน 3 ระดับความเข้มข้น มีค่า %RSD เท่ากับ 1.05 0.76 และ 1.17 ตามลำดับ และมีค่า HorRat เท่ากับ 0.47, 0.48 และ 0.81 ตามลำดับ พิสูจน์ความเที่ยงแบบทำซ้ำต่างเวลา 3 ระดับความเข้มข้น มีค่า %RSD เท่ากับ 1.06 0.19 และ 0.64 ตามลำดับ และมีค่า HorRat เท่ากับ 0.31, 0.08 และ 0.29 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ แสดงว่าวิธีวิเคราะห์ที่ได้มีความถูกต้อง และมีความเที่ยง
  - แมกนีเซียม โดยการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรองที่ระดับความเข้มข้น 2.97 % 10.64 % และ 21.03 ตามลำดับ มีค่า %recovery เท่ากับ 100.14%, 101.17 % และ 100.05 % ตามลำดับ พิสูจน์ความเที่ยงแบบทำซ้ำในครั้งเดียวกัน มีค่า %RSD เท่ากับ 0.39 1.62 และ 1.55 ตามลำดับ และมีค่า HorRat เท่ากับ 0.17 0.88 และ 0.93 ตามลำดับ พิสูจน์ความเที่ยงแบบทำซ้ำต่างเวลา 3 ระดับความเข้มข้น มีค่า %RSD เท่ากับ 0.16 2.60 และ 1.26 ตามลำดับ และมีค่า HorRat เท่ากับ 0.05, 0.93 และ 0.50 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ แสดงว่าวิธีวิเคราะห์ที่ได้มีความถูกต้อง และมีความเที่ยง

4.3. กำมะถัน โดยการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรองที่ระดับความเข้มข้น 0.74 % 17.71 % และ 24.27 % มีค่า %recovery เท่ากับ 110.14 %, 106.09 % และ 108.84 % ตามลำดับ พิสัยของความเที่ยงแบบทำซ้ำในครั้งเดียวกัน มี ค่า %RSD เท่ากับ 2.17 1.71 และ 1.59 ตามลำดับ และมีค่า HorRat เท่ากับ 0.80, 1.01 และ 0.99 ตามลำดับ พิสัยของความเที่ยงแบบทำซ้ำต่างเวลา 3 ระดับความเข้มข้น มีค่า %RSD เท่ากับ 1.49 1.94 และ 2.26 ตามลำดับ และมีค่า HorRat เท่ากับ 0.92, 0.76 และ 0.36 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ แสดงว่าวิธีวิเคราะห์ที่ได้มีความเที่ยง และมีความถูกต้องที่ระดับความเข้มข้นต่ำและสูง

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

วิธีวิเคราะห์แคลเซียมออกไซด์ แมกนีเซียมออกไซด์ โดยวิธี ดัดแปลงจาก Official methods of analysis of fertilizers (The National Institute of Agro-Environmental Sciences, 1987) และกำมะถันโดยวิธี ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการปุ๋ยเคมี กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สวพ. 8 มีความถูกต้อง โดยมีค่า % Recovery และมีความเที่ยงโดยค่า HorRat ของการวิเคราะห์ตัวอย่างอ้างอิง และตัวอย่างจริง ผ่านเกณฑ์การยอมรับทุกตัวอย่าง ซึ่งค่าต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้และค่าต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ ของวิธีวิเคราะห์ CaO MgO และกำมะถัน LOD เท่ากับ 0.4704 %CaO, 0.4758 %MgO และ 0.0351 %S ตามลำดับ และ LOQ 1.5680 %CaO, 1.5860 %MgO และ 0.1170 %S ตามลำดับ และมีช่วงความเข้มข้นที่เป็นช่วงใช้งานซึ่งมีความเป็นเส้นตรง โดยมีค่า  $r < 0.995$  จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ CaO MgO และ S ในปุ๋ยเคมี ของห้องปฏิบัติ ปุ๋ย สวพ.8 ดังนั้นวิธีวิเคราะห์ธาตุอาหารรองที่ได้มีความถูกต้อง มีความเที่ยง และสามารถนำไปใช้ในห้องปฏิบัติการได้อย่างเหมาะสม

### กิจกรรมที่ 2 พัฒนาเทคนิคระบบการตรวจวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ดินและน้ำ

#### การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุในดินโดยเทคนิคการหาค่าสูญเสียน้ำหนักในการเผาไหม้ Validation of Loss on Ignition In Soil Organic Matter

เจนจิรา เทเวศร์วรกุล สุภา โพธิจันทร์ พจมาลย์ แก้ววิมล สงกรานต์ มะลิสอน  
ญาณธิชา จิตต์สะอาด จิตติรัตน์ ชูชาติ จรรย์รัตน์ กุศลวิริยะวงศ์

Janejira Teweswarakul Supha Photichan Pojjamarn Poosarn Songkran Malisorn  
Yarnthicha Jittsa-aad Jittirat Choochat Charirat Kusonwiriyaong

### คำสำคัญ (Keywords)

สภาวะการอบ, สภาวะการเผา

Optimum temperatures and time of drying Optimum temperatures and time of Ignition

### บทคัดย่อ(Abstract)

เพื่อลดความผิดพลาดในการหาปริมาณอินทรีย์วัตถุ การใช้สารเคมีที่มีมูลค่าสูงขึ้นในทุกปี รวมทั้งระยะเวลาในการวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการกลุ่มงานจึงเลือกเอาวิธีการหาปริมาณอินทรีย์วัตถุ โดยการหาค่าการสูญเสียน้ำหนัก โดยศึกษาสภาวะการเตรียมตัวอย่างก่อนเผา ซึ่งได้สภาวะการอบที่ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับเผา พบว่าอุณหภูมิ การเผาที่เหมาะสมคือ 400 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นศึกษา Accuracy, Precision, Range, Linearity พบว่าให้ %recovery และ % RSD อยู่ในช่วงของเกณฑ์ยอมรับ (AOAC, 2016) ได้ช่วงความเป็นเส้นตรงของระดับ OM ต่ำ กลางและสูง โดยมีสหสัมพันธ์ = 0.999 สรุปได้ว่าวิธีดังกล่าวมีความเหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์วัตถุในห้องปฏิบัติการได้ เทียบเท่ากับวิธีของ Walkley and Black (1934)

Decreasing error in soil organic matter analysis, using chemical reagent that are going to be high cost and reducing analysis time we have to study in loss on ignition method to replace using chemical reagent. This study investigated in optimum temperatures and time of drying that is 105 C, 24 hour in preparing soil sample before ignite. Next, finding optimum temperatures and time of Ignition that is 400 C, 12 hour. Then, study on accuracy, precision, range and linearity of LOI method found that the result of % recovery and % RSD was AOAC criteria (AOAC, 2016) and correlation coefficient was 0.999. This method was suitable in Agricultural Chemistry Group.

### บทนำ (Introduction)

อินทรีย์วัตถุมีบทบาทสำคัญทั้งในด้านกายภาพ เคมีและชีวภาพ โดยเป็นแหล่งธาตุอาหารของ จุลินทรีย์พืช ได้แก่ ไนโตรเจน คาร์บอน และซัลเฟอร์ ช่วยยึดอนุภาคดิน และปรับปรุงโครงสร้างดิน เพื่อลดการไหลบ่าของน้ำ ปริมาณ CEC สูงช่วยในการดูดซับธาตุอาหารและสะสมคาร์บอนไว้ในดิน (Craswall and Lefroy, 1999) การวิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์วัตถุส่วนใหญ่หาได้จาก การวิเคราะห์หาปริมาณโดยน้ำหนัก ไม่ว่าจะเป็นการออกซิไดส์ด้วย  $H_2O_2$  การเผาด้วยเตาเผาความร้อนสูง รวมทั้งการเผาแห้งที่มี HF เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา นอกจากนี้อินทรีย์วัตถุยังหาได้จากการคูณค่าคงที่ของ พารามิเตอร์ที่สัมพันธ์กัน ซึ่งได้แก่ ไนโตรเจนและคาร์บอน ซึ่งปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในปัจจุบันยังคง นิยมใช้วิธี wet oxidation กันอย่างแพร่หลาย (Schulte and Haskin, 2011) โดยการนำเอากรด โครมิกเข้าไปย่อยสลายสารอินทรีย์จะได้คาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ จากนั้นทำการไตเตรทหาปริมาณ โครเมต ( $Cr^{3+}$ ) ที่เหลือเพื่อนำมาคำนวณกลับเป็นปริมาณอินทรีย์วัตถุต่อไป แต่การวิเคราะห์นี้พบว่า ปริมาณไดโครเมต ( $Cr_2O_7^{2-}$ ) ที่ได้จะให้ค่าวิเคราะห์ที่สูงเกินความจริง ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณเหล็กที่อยู่ใน ตัวอย่างดินแห้งจะมีการออกซิไดส์ออกมายุ่งในรูปของ  $Fe^{3+}$  ทำให้ค่าวิเคราะห์ที่ได้สูงเกินความเป็น จริง ขณะเดียวกันแมงกานีส ( $Mn^{2+}$ ) จะแข่งขันกับเหล็กในการเกิดปฏิกิริยากับไดโครเมต ( $Cr_2O_7^{2-}$ ) ทำให้ค่าวิเคราะห์ที่ได้ต่ำกว่าความเป็นจริง นอกจากนี้ ยังพบว่า % recovery ของวิธีนี้มีความถูกต้อง

แม่นยำน้อยกว่าวิธีการเผาด้วยความร้อนสูงและการเผาแห้งโดยใช้ตัวเร่งทำให้ต้องมีการคูณด้วยค่า Correlation Factor (CF) เข้าไปในสูตรคำนวณเพื่อให้ได้ปริมาณคาร์บอนอินทรีย์ที่มีความถูกต้องมากขึ้น (ปาวรินทร์, 2550) พบว่าอยู่ในช่วง 1.03-1.41 เฉลี่ยอยู่ที่ 1.3 (Nelson and Sommer, 1996)

สำหรับวิธีการเผาด้วยเตาเผาความร้อนสูง (Muffle furnace) เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์วัตถุโดยตรง จากการเผาปริมาณอินทรีย์วัตถุเป็นลำดับขั้น ในขั้นแรกเป็นการอบเอาน้ำออกที่อุณหภูมิ 105-110 องศาเซลเซียส (เป็นอุณหภูมิเริ่มต้นก่อนการเผาตัวอย่าง) จากนั้นทำการเผาไหม้ตัวอย่างด้วยอุณหภูมิตั้งแต่ 350-440 องศาเซลเซียสข้ามคืน (Schumacher, 2002) ที่อุณหภูมิ 360 องศาเซลเซียส อินทรีย์คาร์บอนสามารถเผาไหม้ได้หมด ขณะที่มีการสูญเสียในส่วนของสารประกอบอินทรีย์คาร์บอน น้ำที่อยู่ในโครงสร้างของอนุภาคดินเหนียวน้อยที่สุด ทั้งยังมีสัมพันธ์กับปริมาณอินทรีย์คาร์บอนที่วิเคราะห์โดย Walkley-Black (Salehi *et al.*, 2011) การเผาที่อุณหภูมิ 400 องศาเซลเซียส ที่เวลา 8-16 ชั่วโมงพบว่าให้ผลการสูญเสียน้ำหนักอินทรีย์วัตถุสูงสุดไม่แตกต่างกัน บางห้องปฏิบัติการใช้ 550 องศาเซลเซียส (AOAC, 2009) ขนาดของตัวอย่าง ระยะเวลาการเผาและตำแหน่งการวางในเตามีผลต่อค่าวิเคราะห์ที่อุณหภูมิดังกล่าว (Heiriet *et al.*, 2001) ความละเอียดของตัวอย่างและปริมาณแคลเซียมคาร์บอเนตในตัวอย่างทำให้ค่าน้ำหนักที่หายไปสูงเกินความจริง ทั้งนี้เพื่อความถูกต้องของวิธี LOI ต้องมีการเทียบค่ากับการวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอนทั้งหมด (Veres, 2002) รวมถึงในกรณีตัวอย่างดินมีอนุภาคดินเหนียวในปริมาณสูง เช่น ในดินล่าง จะมีปริมาณอินทรีย์วัตถุที่ถูกออกซิไดส์สูง 1.5%ของน้ำหนักดินทั้งหมด (Ranny, 1969)

ดังนั้นการเลือกใช้วิธีดังกล่าวต้องมีการศึกษาภาวะพร้อมทั้งจัดทำคุณลักษณะที่ใช้ตรวจสอบวิธีวิเคราะห์ เพื่อยืนยันว่าวิธีการที่ใช้สามารถบรรลุวัตถุประสงค์ได้ เป็นการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (Method Validation) และเกิดความมั่นใจว่าวิธีการเหมาะสมกับงานที่ทำ (สำนักพัฒนาคุณภาพนักวิทยาศาสตร์ปฏิบัติการ, 2550) โดยการหาค่าของตัวชี้วัดความถูกต้อง ได้แก่ Range, Linear, Accuracy, Precision, LOD, LOQ และการใช้สถิติทดสอบที่เหมาะสมในการประเมินผลการวิเคราะห์ (สถาบันอาหาร, 2543) ดังนั้นทางห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ดินและน้ำ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตรควรมีการศึกษาตัวชี้วัดดังกล่าวเพื่อให้ได้ข้อมูลเป็นหลักฐานว่าวิธีที่นำมาใช้นั้นมีความถูกต้องเหมาะสม และครอบคลุมความต้องการในการประยุกต์ใช้ เป็นการพัฒนาการรายงานผลวิเคราะห์ให้เกิดประโยชน์มากขึ้น ทั้งยังเป็นการพัฒนามาตรฐานห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยให้เข้าสู่ระดับสากลตามข้อกำหนดด้านวิชาการ

### ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมี ได้แก่ เตาเผาความร้อนสูง (Muffle Furnace) เตาอบCrucible สำหรับใส่ตัวอย่างดี ตัวอย่างดินที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุต่ำ กลาง และสูง

#### วิธีการ

1. ศึกษาระยะเวลาที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่างก่อนเผาโดยการอบที่อุณหภูมิ 100, 105 และ 110 องศาเซลเซียส
2. ศึกษาอุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเผาที่อุณหภูมิ 360, 400 และ 550 องศาเซลเซียส

3. ศึกษาความสัมพันธ์ของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์วัตถุระหว่างวิธี Walkley-Black และวิธี Loss-on-Ignition
4. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุ โดยวิธี Loss on Ignition
  - 4.1. หา range/ linearity ของการวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุด้วยวิธีการเผา จาก % recovery ของ sample blank (RM) และ CRM ที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลางและสูง ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ ต่อ CRM 1 ตัวอย่าง
  - 4.2. หา LOD และ LOQ จากการวิเคราะห์ SB 60 ซ้ำ
  - 4.3. พิสูจน์ความถูกต้อง โดยการประเมิน % recovery ของการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดที่ได้ จากวิธีที่ทำการศึกษากับจริงของ CRM โดยการทดสอบ CRM อย่างละ 10 ซ้ำพร้อมทั้งหาผลต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบ
  - 4.4. พิสูจน์ความเที่ยง โดยทดสอบความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่วิเคราะห์ซ้ำ โดยการทดสอบ CRM ที่ระดับกลางและสูง อย่างละ 10 ซ้ำ พร้อมทั้งประเมินโดยใช้ HorRat

ระยะเวลา เริ่มต้น ต.ค. 2558 สิ้นสุด ก.ย. 25

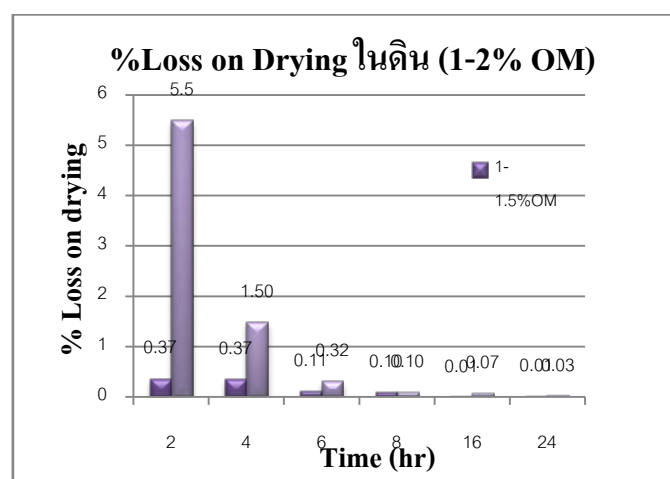
59

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพ ดินและน้ำ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี  
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

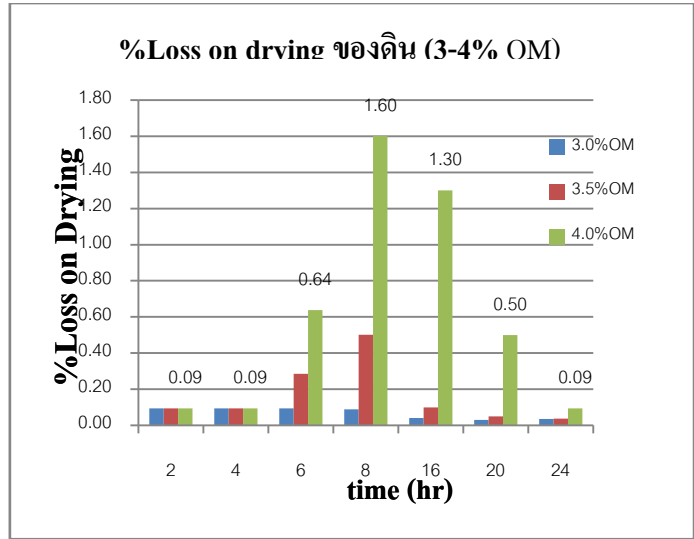
### ผลการวิจัย (Results)

1. ศึกษาระยะเวลาที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่างก่อนเผา โดยการอบที่อุณหภูมิ 100, 105 และ 110 องศาเซลเซียส

จากการศึกษาอุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างก่อนทำการเผา ให้ปริมาณน้ำที่สูญเสีย (%Loss on Drying: %LOD) การใช้อุณหภูมิ 100 และ 110 ให้แนวโน้มของ %LOD ที่ไม่แตกต่างกัน เพื่อสะดวกกับการใช้งานในห้องปฏิบัติการจึงได้เลือกgrayงานที่อุณหภูมิ 105 °C ดังกราฟ



ภาพที่ 1 % Loss on Drying ในดินทรายจนถึงดินร่วนทรายที่มีระดับอินทรีย์วัตถุ 1-2%

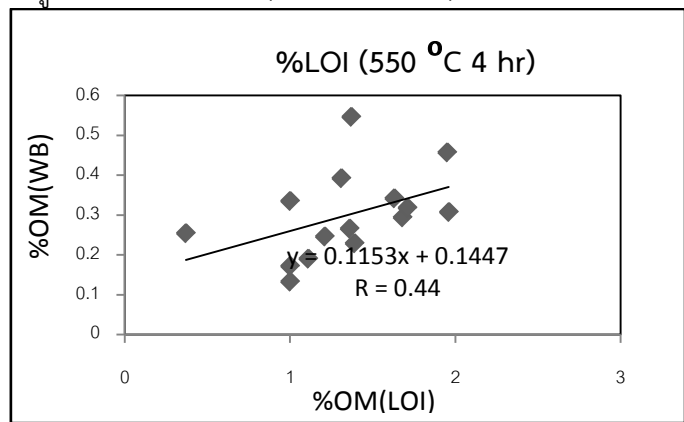


ภาพที่ 2 % Loss on Drying ในดินร่วนเหนียวจนถึงดินเหนียวที่มีระดับอินทรีย์วัตถุ 3-4%

เมื่อพิจารณาจากกราฟแท่งแสดง %LOD ในดินที่มี 1-2 % OM จะพบมากที่สุดในช่วง 2-6 ชั่วโมงแรก ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินและลักษณะของดิน กรณีดินทรายพบว่าปริมาณ %LOD ต่ำกว่าดินเหนียวอย่างเห็นได้ชัดที่ระยะเวลาดังกล่าว และจะคงที่ในระยะเวลา 16 ชั่วโมงสำหรับดินเหนียว Loss on drying จะคงที่ที่เวลา 24 ชั่วโมงเป็นต้นไป ขณะเดียวกันในดินที่มี 3-4 % OM พบว่ามีการเปลี่ยนแปลง %LOD ในช่วง 6-8 ชั่วโมง จากนั้นจึงค่อยลดลงจนกระทั่งที่เวลา 24 ชั่วโมง ทั้งนี้เพื่อความสะดวกในห้องปฏิบัติการจึงได้เลือกที่อุณหภูมิ 105 องศา เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เป็นสภาวะการเตรียมตัวอย่างก่อนเผา

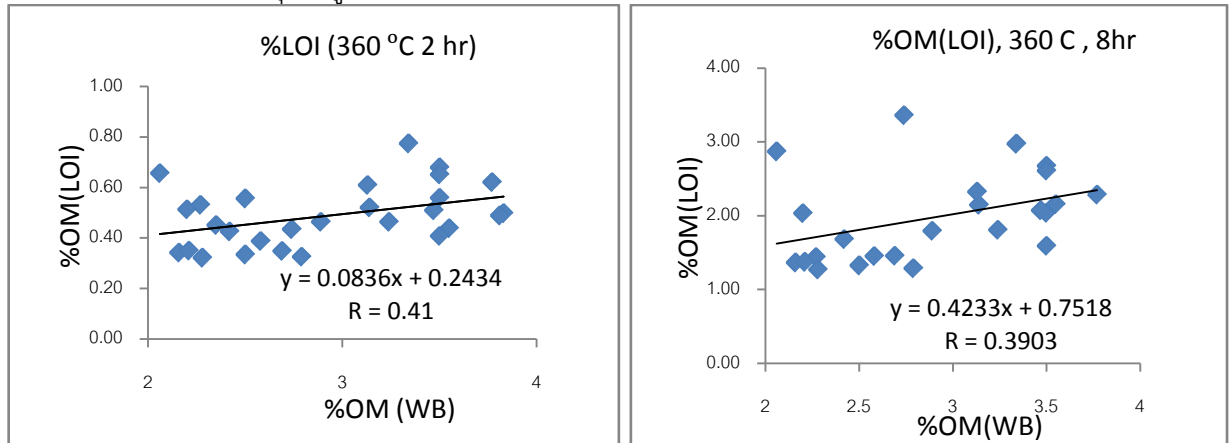
2. ศึกษาอุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเผาตัวอย่างดิน

จากการศึกษาอุณหภูมิการเผาตัวอย่าง โดยเริ่มจากการใช้อุณหภูมิสูงสุดก่อนคือ 550 °C โดยเลือกทำการเผาตัวอย่างที่มีอินทรีย์วัตถุปริมาณปานกลาง (1-2%) มีชนิดดินตั้งแต่ ร่วนปนทรายไปจนถึงดินเหนียว พบว่าค่าของ %OM (LOI) ที่ได้ในทุกเนื้อดินสูงเกินความเป็นจริง ซึ่งเมื่อนำมาหาความสัมพันธ์ระหว่างวิธีวิเคราะห์ทั้งสองวิธีพบว่าให้สัมพันธ์กันน้อยมาก (0.44) จึงสรุปได้ว่าอุณหภูมิดังกล่าวสูงเกินไป ทำให้การเผาเกิดการเผาเอาส่วนอื่นนอกจากอินทรีย์วัตถุออกไปด้วย ทำให้ค่าที่ได้สูงกว่าความเป็นจริง (Over estimate)



ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่าง %OM (WB) และ %OM (LOI)

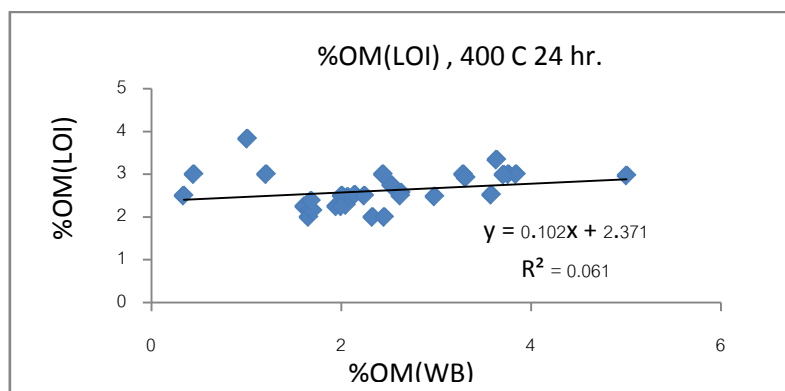
จากการศึกษาที่อุณหภูมิ 550 °C พบว่า % OM ที่สูงกว่าความเป็นจริง จึงเลือกทำการเผาที่อุณหภูมิต่ำ คือ 360 °C และ 400 °C ซึ่งที่อุณหภูมินี้จะทำให้ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนสามารถละลายออกมาได้หมด โดยเลือกใช้ตัวอย่างที่มีระดับ %OM(WB) 2-4 ทั้งนี้เพื่อทดสอบความเหมาะสมของอุณหภูมิโดยเริ่มจากการเผาที่ 360 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง



ภาพที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่าง %OM (WB) และ %OM (LOI) ที่อุณหภูมิ 360°C เป็นเวลา 2 และ 8 ชั่วโมง

พบว่า % OM ที่ได้จากวิธี Walkley and Black และ วิธีการเผาไม่มีความสัมพันธ์กัน โดยค่าที่ได้จากการเผาจะต่ำกว่าวิธี ของ Walkley and Black ทุกระดับ จึงกล่าวได้ว่าที่อุณหภูมิและระยะเวลาดังกล่าวยังไม่สามารถละลายเอาส่วนของอินทรีย์คาร์บอนจากอนุภาคดินออกมาได้ ซึ่งเมื่อทำการเพิ่มระยะเวลาเป็น 8 ชั่วโมง ทั้งสองวิธีจะให้ค่าที่ใกล้เคียงกัน แต่วิธีการเผายังคงให้ปริมาณอินทรีย์วัตถุที่ต่ำกว่า

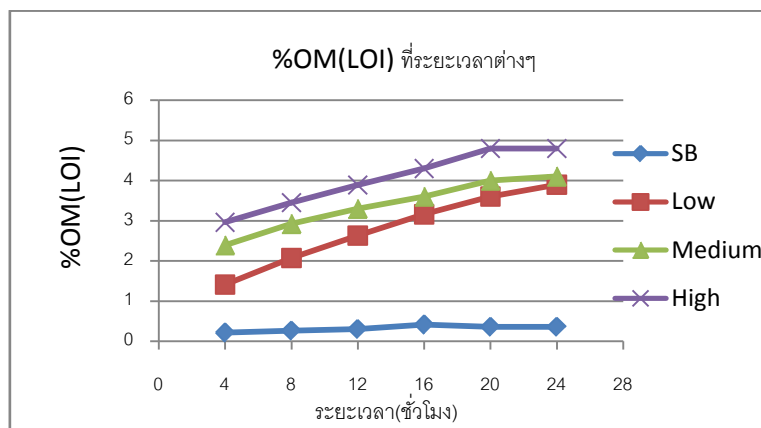
จะเห็นได้ว่าอุณหภูมิการเผาดังกล่าวไม่เพียงพอสำหรับการเผาคาร์บอนในดินที่มีลักษณะร่วนไปจนถึงเหนียว เหมาะสำหรับการเผาดินทรายเพียงเท่านั้น สำหรับเนื้อดินที่เป็นดินร่วนและเหนียวนั้น ยังคงให้ %OM ที่ต่ำกว่าความเป็นจริง นั่นคือ การละลายของคาร์บอนยังไม่สมบูรณ์ที่อุณหภูมิดังกล่าว น้ำหนักที่หายไปน้อยมาก ผลต่างระหว่าง %LOI ที่ได้จะน้อยมาก ทำให้ค่าสูงเกินความเป็นจริง ในขณะเดียวกัน เมื่อเพิ่มระยะเวลาพบว่า %OM ในดินทรายจะสูงขึ้น จึงทำการศึกษาที่อุณหภูมิ 400 องศา เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้การละลายของคาร์บอนที่อุณหภูมิดังกล่าวเกิดได้สมบูรณ์ จากผลการศึกษาพบว่า %OM(WB) และ %OM(LOI) ไม่มีสหสัมพันธ์ ดังภาพ



ภาพที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่าง %OM (WB) และ %OM (LOI) ที่อุณหภูมิ 400 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

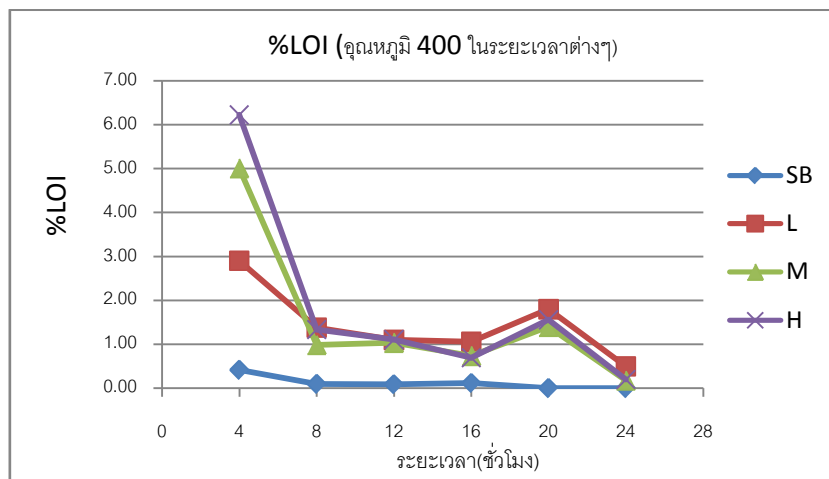
แต่จากความสัมพันธ์จะเห็นได้ว่า %OM (WB) และ %OM(LOI) จะให้ค่าที่ใกล้เคียงกันในช่วง 2-4 % จึงกล่าวได้ว่าอุณหภูมิดังกล่าวมีความเหมาะสมสำหรับการเผาคาร์บอนในดินที่มีลักษณะเนื้อดินเป็นดินร่วนจนถึงเหนียว แต่เนื่องจากระยะเวลาการเผาที่นานเกินไป มีผลต่อดินที่มีระดับ OM ต่ำ โดยจะให้ค่าของ %OM(LOI) สูงเกินความเป็นจริง ทั้งนี้เนื่องจากระยะเวลาการเผาดังกล่าวนานเกินไป มีผลทำให้เกิด dehydration ของแร่ 2:1 ในอนุภาคดินออกมา ทำให้ค่าที่ได้สูงเกินความเป็นจริง

จากการใช้ตัวอย่างรวมที่มีลักษณะหลากหลาย ไม่สามารถอธิบายถึงแนวโน้มของหลักการเผาได้ชัดเจน จึงเลือกทำการเผา CRM ที่มีลักษณะเป็นตัวแทนของดินเหนียวมีเนื้อละเอียดมาก รวมทั้ง Sample Blank ที่เป็นดินทราย มาทำการเผาที่ระยะเวลา 4, 8, 12, 16, 18, 20 และ 24 ชั่วโมง พบว่า %OM ที่ได้จากการเผาจะมีค่าสูงขึ้นเมื่อระยะเวลาการเผาเพิ่มขึ้น ดังภาพ



ภาพที่ 6 %OM (LOI) ที่อุณหภูมิ 400 °C ที่ระยะเวลาต่างๆ

จากภาพจะเห็นได้ว่า ใน Sample Blank ซึ่งเป็นดินทรายจะให้ % OM คงที่ ขณะที่ CRM ที่ระดับต่ำ กลางและสูง มีแนวโน้มที่จะให้ค่าที่สูงขึ้นตั้งแต่ที่ระยะเวลามากกว่า 12 ชั่วโมง เป็นต้นไป เมื่อพิจารณาจาก %LOI



ภาพที่ 6 %OM (LOI) ที่อุณหภูมิ 400 °C ที่ระยะเวลาต่างๆ

จะเห็นได้ว่า ที่ระยะเวลา 4-8 ชั่วโมง ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนที่หายไปเมื่อถูกเผาขึ้นกับลักษณะของเนื้อดิน โดยที่ระยะเวลาการเผา 12 ชั่วโมง จะให้ระดับ %OM ของ CRM ระดับปานกลางและสูงอยู่ในช่วงการยอมรับ และเมื่อเวลาผ่านไปพบว่า % LOI สูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องจาก

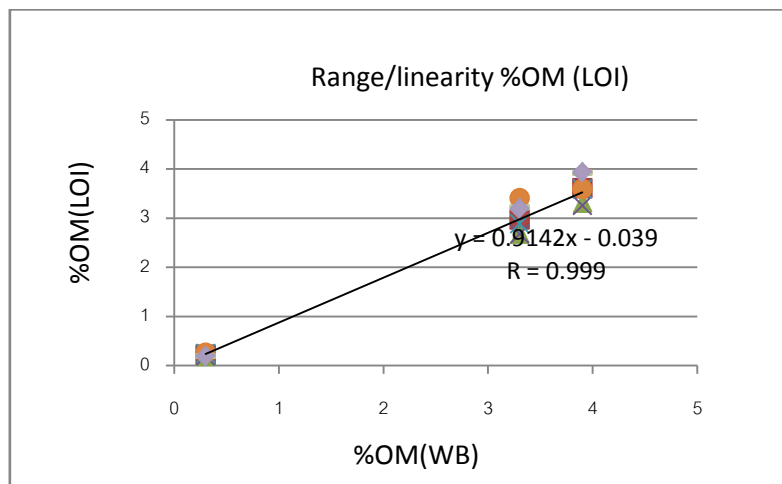


เกิด dehydroxylation ของแร่ที่อยู่ในอนุภาคดินดังกล่าว ทำให้ปริมาณน้ำหนัที่หายไปมีมากขึ้น ปริมาณอินทรีย์วัตถุที่วิเคราะห์ได้จะมีค่าสูงกว่าความเป็นจริง

3. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุ โดยวิธี Loss on Ignition

เลือก Sample Blank (%OM=0.30) และ CRM ที่ระดับกลาง (GBW 07415, %OM = 3.2-3.4) และสูง (NSC DC 85106, %OM = 3.72-3.98) สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์วัตถุ

3.1. หา range/ linearity ของการวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุ โดยวิธีการเผา ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (Sample Blank) กลาง และ สูงเมื่อพิสูจน์ Range/Linearity ช่วงความเป็นเส้นตรงให้สหสัมพันธ์ (Correlation Coefficient) เท่ากับ 0.999



ภาพที่ 8 ช่วงความเป็นเส้นตรงของ%OM ที่ได้จากวิธีการเผาเทียบกับวิธีของ Walkley and Black

3.2. ความเข้มข้นสูงสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (LOD) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ และรายงานผลได้ (LOQ) ได้ LOD = 3SD = 0.15 และ LOQ = 0.52

3.3. พิสูจน์ความถูกต้อง โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่าง CRM ที่ระดับกลางและสูง ทำการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ ให้ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 %OM (LOI) ที่การเผาอุณหภูมิ 400 C เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง 10 ซ้ำ

No. Rep	%OM(LOI) ที่ระยะเวลา 12 ชั่วโมง		
	SB	Med	High
Avg	0.30	3.27	3.89
SD	0.05	0.36	0.34
%CV	17.05	11.03	8.66
% Recovery (98-102)	-	99.06	-
t <sub>experiment</sub> (<2.26)	-	0.35	-

3.4. พิสูจน์ความเที่ยง ที่ความเข้มข้น ต่ำ กลาง สูง โดยคำนวณหาค่า %RSD แล้วประเมินโดยใช้ Horwitz's Ratio โดยพิจารณา %RSD ตามที่ AOAC ระบุไว้ ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 % %RSD = 3.7 ซึ่งพบว่า วิธีนี้ยังคงให้ค่า RSD สูง ไม่ผ่านเกณฑ์ยอมรับ

## สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

ได้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับเตรียมตัวอย่างก่อนเผา คือ อบตัวอย่างที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ได้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับเผาตัวอย่าง คือ เผาตัวอย่างที่อุณหภูมิ 400 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

ได้วิธีที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน

## พัฒนาวิธีวิเคราะห์เนื้อดินในดินที่มีขนาดอนุภาคต่างๆ

Development of analytical methods for soil texture in various particle sizes.

พจมาลย์ ภู่อสาร จรรย์รัตน์ กุศลวิริยะวงศ์ สุภา โปธิจันทร์ จิตติรัตน์ ชูชาติ

Pojjamarn Poosarn Charirat Kusonwiryawong Supha Photichan Jittirat Choochat

## คำสำคัญ (Keywords)

เนื้อดิน ขนาดอนุภาค ไฮโดรมิเตอร์

Soil texture Particle sizes Hydrometer

## บทคัดย่อ (Abstract)

ศึกษาเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์หาเนื้อดิน 3 วิธี คือ วิธีการวัดเชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์ วิธีการวัดเชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส และวิธีปิเปต โดยการเตรียมตัวอย่างให้ได้ดินที่ประกอบด้วยอนุภาคทราย ตั้งแต่ร้อยละ 0จนถึง 100 พบว่า % Recovery ของ % Sand ที่ได้จากการวัดเชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์ แสดงให้เห็นว่า %Sand ที่ 70-100 % ผ่านเกณฑ์การยอมรับ ส่วนวิธีการวัดเชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์โดย ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส ที่ 60-100 % ผ่านเกณฑ์การยอมรับ และวิธีปิเปต ผ่านเกณฑ์การยอมรับทั้งหมด คือ ตั้งแต่ 0-100 % เมื่อพิจารณาค่า t-test ของ % Sand ที่ได้จากการเปรียบเทียบวิธีการวัดเชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์กับวิธีปิเปตและเปรียบเทียบวิธีการวัดเชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส กับวิธีปิเปตที่ ทุก % Sand มีความแตกต่างกันทางสถิติ ยกเว้นที่ 80%แต่เมื่อเปรียบเทียบการทำนายชนิดเนื้อดินระหว่างวิธีการวัดเชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์กับวิธีปิเปต แสดงให้เห็นว่าสามารถทำนายชนิดเนื้อดินได้ชนิดเดียวกันร้อยละ 77 ส่วน วิธีการวัดเชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 25 °C กับวิธีปิเปต แสดงให้เห็นว่าสามารถทำนายชนิดเนื้อดินได้ชนิดเดียวกันร้อยละ 44 และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างวิธีการวัดเชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์ กับวิธีการวัดเชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์โดย ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 °C แสดงให้เห็นว่าสามารถทำนายชนิดเนื้อดินได้ชนิดเดียวกันร้อยละ 88 และเมื่อพิจารณาที่ขั้นตอนและเวลาในการวิเคราะห์ วิธีการปิเปตมีขั้นตอนและระยะเวลาที่มากกว่า วิธีการวัดเชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์ เชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์โดย ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส ดังนั้น สามารถคัดเลือกวิธีวิเคราะห์เนื้อดินระหว่าง วิธีการวัดเชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์ เชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์โดย ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียสและวิธีปิเปตคือวิธีการวัดเชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์

Comparison three method of particle sizes measurement by Hydrometer mechanical measurement, Hydrometer mechanical by controlled temperature at 25 ° C measurement and Pipette measurement method were examined for determining the particle-size distribution of soils. All methods utilized the same sample pretreatment procedures with preparing soil with the percentage of sand content from 0 to 100%. Comparisons among methods showed that the percentage of sand content obtained by Hydrometer mechanical measurement method in the ranges between 70-100% passed acceptance %recovery criteria, while Hydrometer mechanical by controlled temperature at 25 ° C measurement had the percentage of sand content were examined in the acceptance %recovery criteria at 60-100% sand content, rather than the use of Pipette measurement method were in acceptance %recovery criteria all from 0-100% soil content. When considering the t-test value of percentage of sand content obtained by comparing the mechanical method with the hydrometer and the pipette method. Comparison of mechanical methods between Hydrometer mechanical by controlled temperature at 25 ° C measurement and the Pipette method found that the percentage of sand content from 0 to 100% were statistically different at except for the percentage of sand content at 80%. Comparison of soil texture between Hydrometer mechanical measurement and pipette method showed that 77% of soil type could be predicted. On the other hand, method comparison of soil texture between Hydrometer mechanical by controlled temperature at 25 ° C measurement and Pipette method showed that 44% of soil texture could be predicted when compared to Pipette method. Likewise comparison between Hydrometer mechanical by controlled temperature at 25 ° C measurement showed that the same soil type could be predicted more than 88% when compared to Hydrometer mechanical measurement method. And considering the steps and time to analyze, the Pipette measurement method had more stages and duration may not be suitable for use in the laboratory when compare to measurement by hydrometer mechanical measurement and hydrometer mechanical with controlled at 25 ° C measurement method. Therefore hydrometer mechanical measurement method was performed procedures used in routine analysis in most agricultural soil laboratories in Department of Agriculture.

## บทนำ (Introduction)

เนื้อดิน (soil texture) ถูกกำหนดโดย สัดส่วนโดยมวลของอนุภาคดิน 3 กลุ่มขนาดใน สัดส่วนแตกต่างกัน ขนาดอนุภาคดินแบ่งออกได้เป็น ขนาดทราย ( sand) มีขนาดตั้งแต่ 0.05 - 2 มิลลิเมตร ทรายแป้ง (silt) มีขนาดตั้งแต่ 0.002- 0.05 และดินเหนียว ( clay) มีขนาดน้อยกว่า 0.002 มิลลิเมตร ความผันแปรของสัดส่วนผสมของอนุภาคทำให้สามารถแบ่งประเภทเนื้อดินได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มเนื้อดินหยาบ เช่น ดินทรายร่วน ( Loamy sand) กลุ่มดินเนื้อปานกลาง เช่น ดินร่วน

(Loam) และกลุ่มดินเนื้อละเอียด เช่น ดินเหนียวปนทรายแป้ง ( Silty clay); (ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2544)

การวิเคราะห์หาประเภทของเนื้อดินสามารถทำได้ 2 วิธี คือ 1) วิธีสัมผัส (feeling method) เป็นวิธีประเมินเนื้อดินโดยอาศัยความรู้สึกเมื่อสัมผัสดินด้วยมือ ซึ่งนิยมใช้ในภาคสนามเนื่องจากมีความสะดวกในการประเมิน ไม่จำเป็นต้องใช้วัสดุ หรือสารเคมี 2) วิธีวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Qualitative method) เป็นวิธีประเมินโดยการหาอนุภาคขนาดทราย ทรายแป้ง และดินเหนียว หลังจากนั้น นำมาหาประเภทเนื้อดินได้จากตารางสามเหลี่ยมมาตรฐาน ( Soil textural triangle) สามารถทำได้หลายวิธี เช่นวิธีร่อนด้วยตะแกรง ( Sieve method), วิธีตกตะกอน (Sedimentation method) อาศัยหลักการของ Stokes ว่า วัตถุที่มีขนาด และน้ำหนักแตกต่างกันจะตกตะกอนในสารละลายที่เวลาต่างกัน ประกอบด้วย วิธีไฮโดรมิเตอร์ ( hydrometer method) และวิธีปิเปต (Pipet method) ซึ่งแต่ละวิธีมีข้อดี หรือข้อจำกัดแตกต่างกันไปงานวิจัยนี้จึงทำขึ้นเพื่อพัฒนาและเปรียบเทียบวิธีการวิเคราะห์เนื้อดินระหว่างวิธีปิเปต วิธีไฮโดรมิเตอร์ และวิธีไฮโดรมิเตอร์โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียสเพื่อใช้ในการประเมินเนื้อดินในห้องปฏิบัติการ

### ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

อุปกรณ์เครื่องมือ และสารเคมี ได้แก่ ตู้อบ เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 2 ตำแหน่ง Dispersion cup Mechanical stirrer HydrometerSedimentation cylinderCylinder 100 mL.PlungerBeaker 600 mL.moisture can ตะแกรงร่อนขนาด 270 เมท กระบอกตวงขนาด 1000 มิลลิลิตร ปิเปต ขนาด 25 มิลลิลิตร แท่งแก้วคนตัวอย่าง เทอร์โมมิเตอร์ชนิดน้ำกลั่น และนาฬิกาจับเวลาสารเคมี ได้แก่ Sodium hexametaphosphat Anhydrous sodium carbonate และ Amyl alcohol

### วิธีการ

- เตรียมตัวอย่างดินให้มีลักษณะเหมือนดินชนิดต่างๆ ดังนี้
  - ดินทราย (Sand) โดยนำทรายละเอียด จำนวน 4400 กรัม ล้างน้ำกลั่นจนน้ำที่ล้างใส นำไปตากลมให้แห้ง ร่อนผ่านตะแกรงร่อนขนาด 2 มิลลิเมตร
  - ดินที่มีส่วนผสมของ ทรายแป้ง และดินเหนียว ( Silt+Clay) โดยนำดิน จำนวน 4400 กรัม บด และร่อนผ่านตะแกรงร่อนขนาด 0.053 มิลลิเมตร (53 ไมโครเมตร 270 เมท) เอาเฉพาะดินที่ร่อนผ่านตะแกรง
  - ดินที่มีส่วนผสมของ ทราย ทรายแป้ง และดินเหนียว ( Sand+Silt+Clay) ผสม Silt+Clay กับ Sand ให้ได้ตัวอย่างดินที่มี % Sand ร้อยละ 0-100 ตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ส่วนผสมของดินที่มี % Sand ในปริมาณร้อยละ 0-100

% Sand	น้ำหนัก sand (กรัม)	น้ำหนัก Silt+Clay (กรัม)	น้ำหนักรวม (กรัม)
0	0	800	800
10	80	720	800
20	160	640	800
30	240	560	800
40	320	480	800
50	400	400	800
60	480	320	800

% Sand	น้ำหนัก sand (กรัม)	น้ำหนัก Silt+Clay (กรัม)	น้ำหนักรวม (กรัม)
70	560	240	800
80	640	160	800
90	720	80	800
100	800	0	800

2. วิเคราะห์เนื้อดิน ด้วยวิธีการวัดเชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์ และ วิธีปิเปต (Glendon W.G. and Dani O, 2002) จำนวน 7 ซ้ำ

2.1. วิธีวัดเชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์ โดย อบดินที่บดร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร ที่ 105 องศาเซลเซียสประมาณ 17-24 ชั่วโมง (ค้ำคืน) ทิ้งให้เย็นใน Desiccator แล้วชั่งดิน 50 กรัม ใส่ในปิเปกเกอร์ขนาด 400 มิลลิลิตร เติมน้ำยา Calgon (Sodium hexametaphosphate ผสมกับ sodium carbonate) 5 % 100 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน ทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที ถ่ายใส่ใน Dispersion cup ปั่นด้วยเครื่อง Mechanical stirrer นาน 5 นาที ถ่ายใส่ใน Sedimentation cylinder ปรับปริมาตรให้ได้ 1130 มิลลิลิตรด้วย น้ำกลั่น วัดด้วย Hydrometer โดยใช้ Plunger คน 30 วินาที หย่อนไฮโดรมิเตอร์ใน สารละลายตัวอย่าง ทิ้งไว้ 40 วินาที บันทึกค่า Hydrometer Reading (HR) และหย่อน เทอร์โมมิเตอร์ บันทึกค่าอุณหภูมิ ตั้งทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง วัดค่า Hydrometer Reading (HR) และอุณหภูมิ อีกครั้ง ทำ Blank โดยไม่ใส่ตัวอย่างดิน ตามวิธีการเดียวกับตัวอย่างดิน

คำนวณหา % Sand % Silt และ % Clay ตามสมการ

$$\% \text{ Silt+Clay} = (\text{HR} - \text{HR}_{\text{blank}} + \text{Temperature correction})_{40 \text{ วินาที}} \times 2$$

$$\% \text{ Clay} = (\text{HR} - \text{HR}_{\text{blank}} + \text{Temperature correction})_{2 \text{ ชั่วโมง}} \times 2$$

$$\% \text{ Sand} = 100 - (\% \text{ Silt+Clay})$$

$$\% \text{ Silt} = (\% \text{ Silt+Clay}) - \% \text{ Clay}$$

2.2. วิธีปิเปต โดย ชั่งดินที่อบแล้ว 10 กรัม ใส่ในปิเปกเกอร์เติม calgon 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ประมาณ 24 ชั่วโมง ถ่ายใส่ใน Dispersion cup นำไปปั่นด้วย Mechanical stirrer ประมาณ 5 นาที กรองผ่านกรวยกรองที่มีตะแกรงร่อนขนาด 270 เมท ใส่กระบอก ตวงขนาด 1000 มิลลิลิตร ล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มิลลิลิตร ถ่าย ตะกอนที่แยกได้ ลง moisture can ที่ทราบน้ำหนักแล้ว อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่ แล้วชั่งน้ำหนัก คำนวณหา % Sand ปิเปตสารละลาย ตัวอย่างดินใน กระบอกตวง 1000 มิลลิลิตร จำนวน 20 มิลลิลิตร ใส่ moisture can ที่ทราบน้ำหนัก อบที่อุณหภูมิ 105 °C นาน 24 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่ ชั่งน้ำหนัก คำนวณหา เวลาที่ดูดตัวอย่างดิน % Clay ใช้ตามตารางที่ 2 ทำ Blank ตามวิธีการเดียวกัน

คำนวณหา % Sand % Silt และ % Clay ตามสมการ

$$\% \text{ Sand} = (\text{น้ำหนักตะกอนอบแห้ง} \times 100) / 10$$

$$\% \text{ Clay} = 5000 \times (\text{น้ำหนักสารละลายดินอบแห้ง} - \text{น้ำหนัก Blank อบแห้ง}) / 10$$

$$\% \text{ Silt} = 100 - (\% \text{ Sand} + \% \text{ Clay})$$

3. วิเคราะห์ความคุ้มค่า จากต้นทุนการวิเคราะห์ ขั้นตอนและระยะเวลาในการวิเคราะห์

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี  
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

## ผลการวิจัย (Results)

1. จากการเตรียมตัวอย่างดินให้มีลักษณะ Sand และ Silt+Clay ได้ดินที่มีลักษณะตามภาพที่ 1



ภาพที่ 1 แสดงตัวอย่างดินที่มีลักษณะเป็น Sand และ Silt+Clay

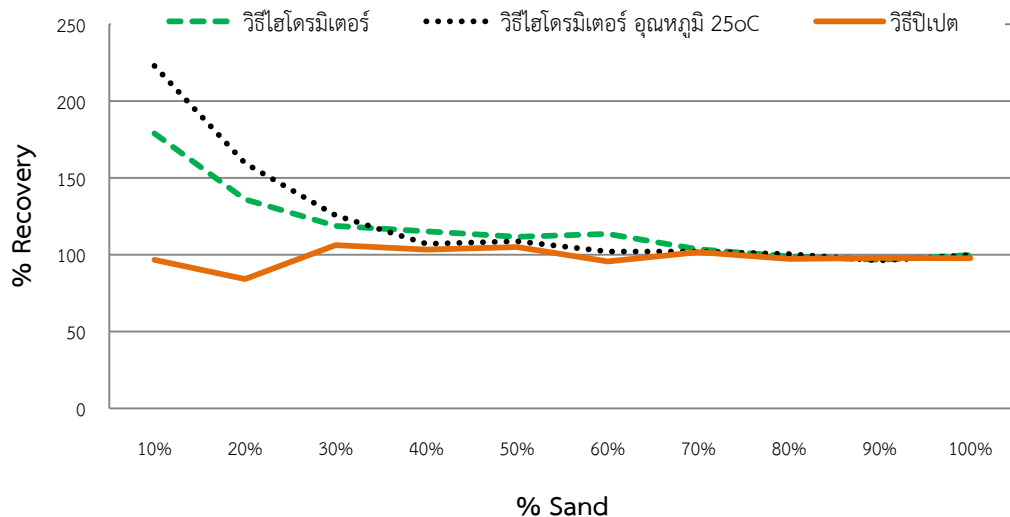
2. เปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ % Sand ระหว่างวิธีการวัดเชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์ เชงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 25 °C และวิธีเปียต ได้ผลการวิเคราะห์ตาม ตารางที่ 2 เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่าวิธีการวัดเชิงกลไฮโดรมิเตอร์ทั้ง 2 วิธีให้ผลการวิเคราะห์ % Sand แตกต่างกับวิธีเปียตอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ทุกระดับ %Sand ยกเว้นที่ระดับ 80 % Sand ซึ่งให้ผลวิเคราะห์ ระหว่าง 3 วิธีไม่แตกต่างกัน และเมื่อพิจารณาร้อยละของการคืนกลับ (% Recovery) พบว่าวิธีเปียตให้ผลวิเคราะห์ในช่วง % Sand 0 – 20 % ถูกต้องมากกว่าวิธีเชิงกลไฮโดรมิเตอร์ และที่ % Sand มากกว่า 30 % พบว่าทั้ง 3 วิธีมีความถูกต้องใกล้เคียงกัน และตั้งแต่ % Sand 70% ขึ้นไป ทั้ง 3 วิธีมีความถูกต้องอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ (AOAC, 2016) ตามภาพที่ 2 โดยวิธีเปียตมีความสัมพันธ์เชิงเส้น กับวิธีเชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์ และวิธีเชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยค่า  $r = 0.996$  และ  $0.995$  ตามลำดับ สอดคล้องกับ Day (1965) Andres และคณะ (2014) และ รัตน์า และ สิริ (2534) ว่าเมื่อทำการเปรียบเทียบผลวิเคราะห์ทั้ง วิธีเปียต และ วิธีการวัดเชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์ มีสหสัมพันธ์ต่อกัน และกันสูงมากพอที่จะใช้แทนกันได้
3. เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์เนื้อดิน ระหว่างวิธีการวัดเชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์ เชงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 25 °C และวิธีเปียต ตามตารางที่ 2 พบว่า
  - 3.1. ผลการวิเคราะห์ โดยวิธีเปียต กับ วิธีเชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์ ตรงกันร้อยละ 64 โดยเนื้อดิน Sandy loam ถึง Sand ซึ่งเป็นดินเนื้อที่มีความละเอียดปานกลางถึงหยาบ มีผลวิเคราะห์ตรงกันทั้งหมด ซึ่งบางส่วนสอดคล้องกับการศึกษาของ ชาตรี และ นฤมล (2539) ที่พบว่าวิธีเปียต และ วิธีการวัดเชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์ ในดินเนื้อละเอียด ดินเนื้อปานกลาง และ ดินเนื้อหยาบ ให้ผลการประเมินที่เหมือนกัน

3.2. ผลการวิเคราะห์ โดยวิธีปิเปต กับ วิธีเซกกลด้วยไฮโดรมิเตอร์ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ตรงกันร้อยละ 36

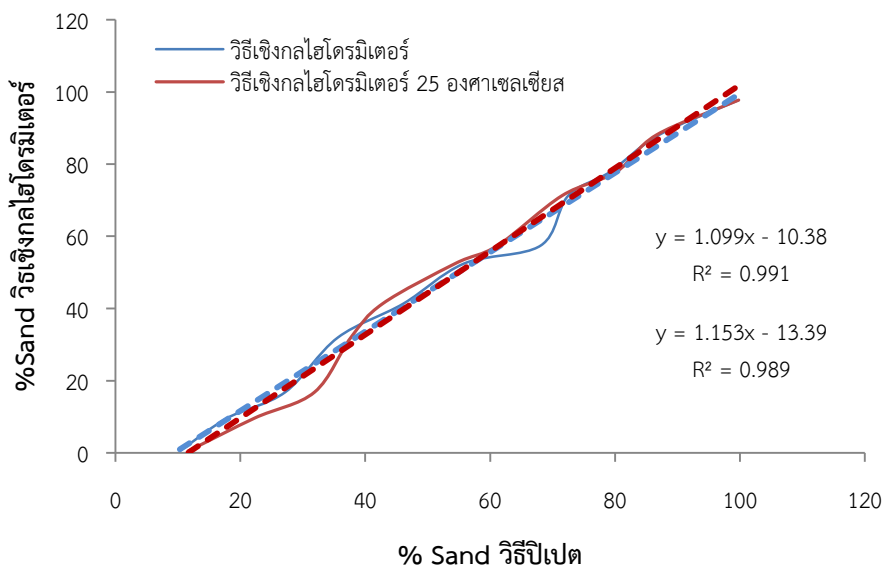
3.3. ผลการวิเคราะห์ โดยวิธีเซกกลด้วยไฮโดรมิเตอร์ที่ควบคุม และไม่ควบคุมอุณหภูมิ ตรงกัน ร้อยละ 73 โดยส่วนใหญ่เป็นเนื้อดินช่วง Silty clay loam ถึง Sandy loam

**ตารางที่ 2** ผลการวิเคราะห์ % Sand % Silt % Clay และเนื้อดิน ระหว่างวิธีการวัดเซกกลด้วย ไฮโดรมิเตอร์ เซกกลด้วยไฮโดรมิเตอร์โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 25 °C และวิธีปิเปต

% Sand		วิธีการวัดเซกกลด้วยไฮโดรมิเตอร์				วิธีการวัดเซกกลด้วยไฮโดรมิเตอร์ อุณหภูมิ 25 °C				วิธีปิเปต			
		Sand	Silt	Clay	เนื้อดิน	Sand	Silt	Clay	เนื้อดิน	Sand	Silt	Clay	เนื้อดิน
0%	Mean	10.3	53.3	36.4	Silty clay	11.7	49.3	39.0	Silty clay	0.5	60.2	39.3	Silty clay
	SD	0.3	0.8	0.8	loam	3.0	2.8	0.9	loam	0.2	1.8	1.9	
10%	Mean	17.9	47.1	35.0	Silty clay	22.3	41.7	36.0	Silty clay	9.6	61.8	28.6	Silty clay loam
	SD	1.7	1.9	1.2	loam	4.9	5.3	0.8	loam	0.8	6.7	6.9	
20%	Mean	27.2	42.1	30.6	Clay loam	31.9	35.1	33.0	Clay loam	16.8	63.9	19.3	Silty loam
	SD	1.1	1.7	0.8		1.6	2.2	1.0		1.6	1.9	1.9	
30%	Mean	35.6	36.2	28.2	Clay loam	37.7	31.9	30.4	Clay loam	31.9	43.1	25.0	Loam
	SD	1.9	1.4	0.9		3.1	2.4	1.0		1.2	4.8	4.1	
40%	Mean	46.1	30.4	23.4	Loam	42.8	28.9	28.3	Clay loam	41.3	39.3	19.4	Loam
	SD	2.3	1.7	1.2		2.2	2.5	1.5		1.9	2.7	1.6	
50%	Mean	55.8	22.1	22.1	Sandy clay	54.4	23.1	22.5	Sandy clay	52.4	34.7	12.9	Sandy loam
	SD	2.3	1.4	1.4	loam	1.4	1.6	0.8	loam	1.5	3.4	2.7	
60%	Mean	68.1	17.0	14.9	Sandy	61.2	19.9	18.9	Sandy	57.4	34.4	8.2	Sandy loam
	SD	1.4	1.3	1.6	loam	3.5	2.4	1.6	loam	1.2	1.3	1.4	
70%	Mean	72.5	15.9	11.6	Sandy	71.5	15.4	13.1	Sandy	71.2	19.6	9.2	Sandy loam
	SD	0.8	0.9	1.0	loam	2.3	1.9	1.2	loam	1.4	0.9	0.6	
80%	Mean	79.2	12.0	8.8	Sandy	80.2	9.5	10.3	Loamy	77.8	9.3	12.9	Sandy loam
	SD	0.3	0.0	0.3	loam	2.2	2.2	0.8	sand	1.5	5.8	5.7	
90%	Mean	87.0	8.6	4.4	Sand	86.6	6.9	6.5	Loamy	88.0	9.1	2.9	Sand
	SD	0.7	0.7	0.0		0.8	0.7	0.7	sand	0.4	2.7	2.7	
100%	Mean	99.8	0.0	0.2	Sand	99.8	0.2	0.0	Sand	97.7	2.3	0.0	Sand
	SD	0.0	0.0	0.0		0.1	0.1	0.0		0.6	0.6	0.0	



ภาพที่ 2 เปรียบเทียบร้อยละการคืนกลับ ของผลการวิเคราะห์ % Sand ของ 3 วิธีวิเคราะห์



ภาพที่ 3 เปรียบเทียบสหสัมพันธ์ของผลการวิเคราะห์ % Sand ระหว่างวิธีปิเปต และวิธีเชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์

4. จากการวิเคราะห์ความคุ้มค่าพบว่า ต้นทุนการวิเคราะห์ของวิธีปิเปต วิธีวัดเชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์ มีต้นทุนการวิเคราะห์ 345 บาท และ 358 บาท ตามลำดับ ซึ่งถือว่าไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบขั้นตอนการวิเคราะห์ พบว่า วิธีปิเปตมีขั้นตอน และใช้ระยะเวลาในการวิเคราะห์มากกว่าวิธีการวัดเชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์ สอดคล้องกับ Andres et al. (2014) ซึ่งอาจจะไม่เหมาะกับการใช้งานในห้องปฏิบัติการ

#### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยของ % Sand ที่อยู่ในช่วง 0-10 % วิธีการวัดเชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์เชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 25 °C มีค่าต่างกับวิธีปิเปต แต่เมื่อพิจารณาการทำนายชนิดเนื้อดินนั้น พบว่าทั้ง 3 วิธีทำนายได้เป็นชนิดเดียวกันคือ Silty clay loam และจากการรับ



วิเคราะห์ตัวอย่างดินในป่าประมาณ 2560 พบตัวอย่างดินที่มี % Sand อยู่ในช่วง 0-20 % เพียงร้อยละ 0.15 ส่วน % Recovery ของ % Sand ที่ได้จากวิธีการวัดเชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์ แสดงให้เห็นว่า %Sand ที่ 70-100 % ผ่านเกณฑ์การยอมรับ ส่วนวิธีการวัดเชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส ที่ 60-100 % ผ่านเกณฑ์การยอมรับ และวิธีเปียก ผ่านเกณฑ์การยอมรับทั้งหมด คือ ตั้งแต่ 0-100 % เมื่อพิจารณา ค่า t-test ของ % Sand ที่ได้จากการเปรียบเทียบวิธีการวัดเชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์กับวิธีเปียกและเปรียบเทียบวิธีการวัดเชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียสกับวิธีเปียกที่ ทุก % Sand มีความแตกต่างกันทางสถิติ ยกเว้นที่ 80 % แต่เมื่อพิจารณาที่ขั้นตอนและเวลาในการวิเคราะห์ วิธีการเปียกมีขั้นตอนและระยะเวลาที่มากกว่า วิธีการวัดเชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์ เชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์โดย ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส ดังนั้นสามารถคัดเลือกวิธีวิเคราะห์เนื้อดินระหว่าง วิธีการวัดเชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์เชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์โดย ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียสและวิธีเปียกคือวิธีการวัดเชิงกลด้วยไฮโดรมิเตอร์

### กิจกรรมที่ 3 พัฒนาเทคนิคระบบการตรวจวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์พืช

#### การผลิตตัวอย่างพืชอ้างอิงภายใน สำหรับการวิเคราะห์พืช

#### Preparation of Plant Internal Reference Material for Plant Analysis

นันทกานต์ ขุนโหร สุพิศสา ทองเขียว เพชรรัตน์ ศิริวิ สุวลักษณ์ ไชยทอง สาทิดา โพน้อย  
Nanthakan Khunhon Supissa Thongkheaw Phetcharat Siriwi  
Suwaluck Chaitong Sathida Phonoy

#### คำสำคัญ (Keywords)

ตัวอย่างอ้างอิงภายใน พืช

Internal reference material Plant

#### บทคัดย่อ (Abstract)

ทำการเตรียมตัวอย่างพืชอ้างอิงภายใน ( Internal Reference Material หรือ Inhouse Reference Material –IRM) จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ ใบลิ้นจี่ ใบข้าวโพดหวาน และใบถั่วเหลืองฝักสด ปริมาณชนิดละ 2,000 กรัม เตรียมตัวอย่างตาม Guidelines for quality management in soil and plant laboratories (FAO Soil Bulletin 74, 1998) คลุกเคล้าตัวอย่างแต่ละชนิดให้เข้ากัน เพื่อผสมตัวอย่างให้เป็นเนื้อเดียวกัน ทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง โดยการสุ่มตัวอย่างแต่ละชนิดมา 10 ตัวอย่าง ทำการวิเคราะห์ปริมาณ N P และ K ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ ตรวจสอบความเป็นเนื้อเดียวกันโดยนำข้อมูลไปวิเคราะห์ทางสถิติโดยหาความแปรปรวน (Analysis of Variance – ANOVA แบบทางเดียว) โดยไม่ตัด outliers ออก พบว่า  $F_{cal}$  ที่คำนวณได้จากข้อมูลผลวิเคราะห์ N P และ K ของใบลิ้นจี่ มีค่า 0.86 1.14 2.94 ตามลำดับ ใบข้าวโพดหวาน มีค่า 2.61 1.00 1.64

ตามลำดับ และใบกล้วยแห้งมีค่า 1.88 0.64 และ 0.67 ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าค่า  $F_{critical}$  ที่ได้จากการเปิดตาราง คือ 3.02 แสดงว่าตัวอย่างมีความเป็นเนื้อเดียวกัน

หาค่ากำหนด (assigned value) ปริมาณธาตุอาหาร N P K Ca Mg โดยสุ่มวิเคราะห์ 10 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ ได้ค่าเฉลี่ยเพื่อเป็นค่ากำหนดของรายการวิเคราะห์ คือ ใบลิ้นจี่ N  $1.60 \pm 0.004$  P  $0.18 \pm 0.048$  K  $0.87 \pm 0.012$  Ca  $0.61 \pm 0.004$  Mg  $0.39 \pm 0.002$  ใบข้าวโพดหวาน N  $3.56 \pm 0.009$  P  $0.38 \pm 0.000$  K  $1.72 \pm 0.007$  Ca  $1.18 \pm 0.006$  Mg  $0.20 \pm 0.003$  ใบกล้วยแห้ง N  $5.14 \pm 0.018$  P  $0.29 \pm 0.004$  K  $1.80 \pm 0.013$  Ca  $1.48 \pm 0.015$  Mg  $0.40 \pm 0.003$  นอกจากนี้ได้ทำการทดสอบความเสถียร (stability testing) ของพืชทั้ง 3 ชนิด โดยทำการวิเคราะห์ P ในตัวอย่าง ที่ระยะเวลา 0 3 6 12 และ 24 เดือน นำค่าวิเคราะห์ที่ได้มาวิเคราะห์ด้วย Regression พบว่า ใบลิ้นจี่ ใบข้าวโพดหวาน และใบกล้วยแห้ง มีค่า Significance F 1.0 0.66 และ 0.79 ตามลำดับ ซึ่งมีค่ามากกว่าระดับนัยสำคัญ 0.05 แสดงว่าตัวอย่างมีความเสถียร

Prepare 3 types of internal reference material, including lychee leaves, sweet corn leaves and soybean leaves, each prepared according to the guidelines for soil and plant laboratories (FAO Soil Bulletin 74, 1998). Mix each sample together. To mix the samples into homogeneous Test the homogeneity of the sample. By sampling each type of 10 samples, analyzing NP and K samples 2 times, checking homogeneity by Analysis of Variance - one way ANOVA withoutliers. That  $F_{cal}$  calculated from the NP and K analysis data of lychee leaves are 0.86 1.14 2.94, respectively. Sweet corn leaves are 2.61 1.00 1.64 respectively and soybean leaves are 1.88, 0.64 and 0.67, respectively, which is less than the  $F_{critical}$  from the tabel is 3.02, indicating that the sample is homogeneous.

Assigned value, NPK Ca Mg nutrient content, randomly analyzed 10 samples, 2 repeat samples, average value for determination of analytical list is Lychee leaf N  $1.60 \pm 0.004$  P  $0.18 \pm 0.048$  K  $0.87 \pm 0.012$  Ca  $0.61 \pm 0.004$  Mg  $0.39 \pm 0.002$  Sweet Corn N  $3.56 \pm 0.009$  P  $0.38 \pm 0.000$  K  $1.72 \pm 0.007$  Ca  $1.18 \pm 0.006$  Mg  $0.20 \pm 0.003$  Soybean N  $5.14 \pm 0.018$  P  $0.29 \pm 0.004$  K  $1.80 \pm 0.013$  Ca  $1.48 \pm 0.015$  Mg  $0.40 \pm 0.003$  In addition, the stability testing of all 3 plants was performed by analyzing P in the sample at a period of 0 3 6 12 and 24 months leading up analysis Regression analysis has found that the leaves of sweet corn, lychee. And the soybean leaves had the value of Significance F 1.0 0.66 and 0.79 respectively, which is greater than the significance level 0.05, indicating that the sample is stable.

## บทนำ (Introduction)

วัสดุอ้างอิง คือ วัสดุหรือสารที่มีคุณสมบัติหนึ่งอย่างหรือหลายอย่าง มีความเป็นเนื้อเดียวกัน อาจอยู่ในรูปของก๊าซ ของเหลว หรือของแข็ง อาจเป็นสารบริสุทธิ์หรือของผสม เช่น สารละลายที่ใช้ในการเปรียบเทียบในการวิเคราะห์ทางเคมี (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2557) ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ประเภท คือ วัสดุอ้างอิงมาตรฐาน วัสดุอ้างอิงรับรอง และวัสดุอ้างอิงภายใน ตามข้อกำหนดทางวิชาการของ ISO/IEC 17025 ข้อ 5.9 การประกันคุณภาพผลการทดสอบเทียบ ระบุไว้

ว่า ห้องปฏิบัติการต้องมีขั้นตอนการดำเนินงานในการควบคุมคุณภาพเพื่อเฝ้าระวังความใช้ได้ของการทดสอบและสอบเทียบที่ดำเนินการ ข้อมูลที่ได้ต้องได้รับการบันทึกไว้ในลักษณะที่สามารถตรวจสอบแนวโน้มต่างๆได้ และถ้าทำได้ต้องใช้วิธีทางสถิติในการทบทวนผลต่างๆ ด้วย การเฝ้าระวังนี้ต้องมีการวางแผน และทบทวน และอาจรวมถึง วิธีต่อไปนี้หรือวิธีอื่นที่เหมาะสม) มีการใช้วัสดุอ้างอิงรับรองเป็นประจำและ/หรือมีการควบคุมคุณภาพภายในโดยใช้วัสดุอ้างอิงทุติยภูมิ ข) การเข้าร่วมในการเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการ หรือโปรแกรมการทดสอบความชำนาญ ค) การทดสอบหรือสอบเทียบซ้ำโดยวิธีการเดิมหรือต่างวิธี ง) การทดสอบหรือสอบเทียบซ้ำอีกโดยใช้ตัวอย่างที่เก็บไว้ จ) การหาความสัมพันธ์ของผลที่ได้สำหรับคุณลักษณะที่แตกต่างกันของตัวอย่าง จากข้อกำหนดดังกล่าว แสดงให้เห็นว่า วัสดุอ้างอิงมีความสำคัญในการควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์ ซึ่งจะทำให้ห้องปฏิบัติการเป็นที่ยอมรับในระดับสากล

### ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมี ได้แก่ ตัวอย่างพืช 3 ชนิดถุงพลาสติก ถุงพอยด์สารเคมีที่จำเป็นในการวิเคราะห์เครื่องแก้วชนิดต่างๆ อุปกรณ์ที่เกี่ยวข้อง เช่น ตู้บตัวอย่างพืช เครื่องบดพืช ตะแกรงร่อนตัวอย่าง เครื่องชั่ง กระดาษกรอง ฯลฯ เครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่จำเป็นในการวิเคราะห์ได้แก่ เครื่องย่อยและกลั่นไนโตรเจน เครื่อง UV/VIS Spectrophotometer Atomic absorption Spectrophotometer

#### วิธีการ

##### 1. เก็บตัวอย่างพืช

ทำการเก็บตัวอย่างพืช ดังนี้ 1. ใบลั่นจี่ เก็บที่ระยะก่อนออกดอก โดยเก็บใบที่ 2-4 ของช่อใบที่ 3-4 ณ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 2. ใบข้าวโพด ที่ระยะแทงไหม โดยเก็บใบตรงข้ามฝักด้านบน เลือกลักษณะส่วนที่อยู่ช่วงกลางใบ ณ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 3. ใบถั่วเหลืองเลือกก้านใบที่โตเต็มที่ ที่สูงที่สุด (ก้านใบที่ 3 หรือ 4) ณ ศูนย์วิจัยพืชไร่ลพบุรี



ลั่นจี่ ข้าวโพด



ถั่วเหลือง

ภาพที่ 1 แสดงตำแหน่งการเก็บตัวอย่างพืชแต่ละชนิด

##### 2. เตรียมตัวอย่างพืช

ทำความสะอาดด้วยน้ำยาทำความสะอาด และล้างด้วยน้ำกลั่น จากนั้นผึ่งตัวอย่างให้หมาด นำตัวอย่างอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นำตัวอย่างที่ได้ไปบดครั้งที่ 1 ด้วยเครื่องบดตัวอย่าง นำมาคลุกเคล้าให้เข้ากัน และนำไปบดตัวอย่างครั้งที่ 2 เพื่อให้ตัวอย่างมีความ

ละเอียดเพิ่มมากขึ้น ตัวอย่างที่ได้นำมาใส่ถุงขนาดใหญ่เพื่อทำการผสมให้ตัวอย่างมีความเป็นเนื้อเดียวกันจากนั้นแบ่งบรรจุใส่ในถุงพรอยด์

### 3. ทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง

สุ่มตัวอย่างมา 10 ตัวอย่างเพื่อทำการวิเคราะห์หาความเป็นเนื้อเดียวกันในรายการธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม โดยอ้างอิงจาก ISO guide 35 โดยวิเคราะห์ข้อมูลด้วย ANOVA : single factor นำค่าที่ได้มาคำนวณค่าความคลาดเคลื่อนตามสมการ

$$s_{bb}^2 = s_A^2 = \frac{MS_{among} - MS_{within}}{n_0}$$

$$s_{bb} = u_{bb} = \sqrt{s_A^2}$$

$$s_r = \sqrt{MS_{within}}$$

เมื่อ

$s_{bb}$  = between-bottle (in)homogeneity standard deviation

$s_A^2$  = between-bottle variance

$u_{bb}$  = standard uncertainty due to between-bottle (in)homogeneity

$MS_{among}$  = Mean square between (ANOVA)

$MS_{within}$  = Mean square within (ANOVA)

$n_0$  = (effective) number of (sub)group members (ANOVA)

โดยมีเงื่อนไข  $s_r < s_{bb}$  จึงยอมรับความคลาดเคลื่อน  $s_{bb} = u_{bb}$

หาก  $s_r < s_{bb}$  ให้คำนวณความคลาดเคลื่อน  $u_{bb}$  โดยใช้สมการ

$$u_{bb} = \sqrt{\frac{MS_{within}}{n}} \cdot \sqrt[4]{\frac{2}{\gamma_{MS_{within}}}} = \sqrt{\frac{MS_{within}}{n}} \cdot \sqrt{\frac{2}{\gamma_{MS_{within}}}}$$

เมื่อ

$\gamma_{MS_{within}}$  = Degree of Freedom for  $MS_{within}$  = number of bottle x (n-1)

N = number of replicates

### 4. ทดสอบความเสถียร (Stability testing)

สุ่มตัวอย่างพืชซึ่งผ่านการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน และมีค่า Assigned Value แล้ว ดำเนินการโดยวิเคราะห์ เป็นระยะในช่วงเวลา 24 เดือน นำค่าที่วิเคราะห์ได้มาวิเคราะห์ค่าความเสถียร โดยใช้การวิเคราะห์การถดถอย (จันทรรัตน์, 2557) ซึ่งมีตัวแบบของการวิเคราะห์การถดถอยอย่างง่าย

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_i + \varepsilon_i \quad i=1, 2, 3, \dots, n$$

เมื่อ  $Y_i$  = ค่าสังเกตของตัวแปรตามจากหน่วยที่  $i$  (ผลของการทดสอบ)

$X_i$  = ค่าสังเกตของตัวแปรอิสระจากหน่วยที่  $i$  (ระยะเวลาในการเก็บวัสดุอ้างอิง/วัสดุอ้างอิงรับรอง)

$\beta_0$  และ  $\beta_1$  เป็นพารามิเตอร์ของตัวแบบโดยเป็นจุดตัดแกน Y และค่าของสัมประสิทธิ์การถดถอย (regression coefficient) เป็นความชันของเส้นถดถอย เมื่อประมาณค่าโดยวิธีกำลังสองน้อยที่สุด จะได้  $b_1 = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})(Y_i - \bar{Y})}{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}$  และ  $b_0 = \bar{Y} - b_1 \bar{X}$  ทดสอบสมมติฐานเกี่ยวกับ  $\beta_1$  สำหรับการทดสอบความเสถียร

สถิติทดสอบ :  $H_0: \beta_1 = 0$  และ  $H_a: \beta_1 \neq 0$   $t = \frac{(b_1 - \beta_1^*)}{S(b_1)}$

ถ้ากำหนดระดับนัยสำคัญเท่ากับ  $\alpha$  ดังนั้น จะปฏิเสธสมมติฐานหลัก หรือการทดสอบมีนัยสำคัญ เมื่อ  $|t| > t_{\alpha/2, n-2}$  แสดงว่าความชันของเส้นถดถอยไม่เป็น 0 นั่นคือวัสดุ / ตัวอย่างไม่มีความเสถียร หรือทดสอบเอฟ (F) จากตารางทดสอบความแปรปรวน โดยพิจารณาค่า Significance F มีค่ามากกว่าระดับนัยสำคัญ 0.05 จึงยอมรับสมมติฐานไม่มีสมการถดถอยในสมการ ความชันเป็น 0 ซึ่งแสดงว่าตัวอย่างมีความเสถียร

ระยะเวลา เริ่มต้น ค.ศ. 2558 สิ้นสุด ก.ย. 2561

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มงานวิเคราะห์วิจัยพืชวัตถุเคมีการเกษตรและนิเวศวิทยาเทคนิคการเกษตร  
 กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

### ผลการวิจัย (Results)

1. ทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance แบบทางเดียว) โดยไม่ตัด outliers ของ N P K พบว่ามีค่า F จากการคำนวณ ( $F_{cal}$ ) ตามตารางที่ 1 ซึ่งนำมาเปรียบเทียบกับค่าวิกฤต ( $F_{critical}$ ) พบว่าค่า  $F_{cal} =$  น้อยกว่าค่าวิกฤต ของ  $F_{0.05, 9, 10}$  3.02 แสดงว่าตัวอย่างใบพืชทั้ง 3 ชนิดมีความเป็นเนื้อเดียวกันทุกรายการวิเคราะห์ **ตารางที่ 1** ค่า F-Value ของผลการวิเคราะห์ธาตุอาหารไนโตรเจน จี ข้าวโพดหวาน และถั่วเหลือง

ชนิดพืช	$F_{cal}$		
	N (%)	P (%)	K (%)
ใบลิ้นจี่	0.8642	1.1410	2.9474
ใบข้าวโพดหวาน	2.6135	1.0000	1.6449
ใบถั่วเหลือง	1.8783	0.6374	0.6693

2. พิจารณาค่ากำหนดของตัวอย่างอ้างอิงพืชจากผลการวิเคราะห์ธาตุอาหาร ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม ตามตารางที่ 2 **ตารางที่ 2** แสดงค่าวิเคราะห์ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม ของตัวอย่างพืชอ้างอิง

ชนิดพืช	รายการ	ไนโตรเจน	ฟอสฟอรัส	โพแทสเซียม	แคลเซียม	แมกนีเซียม
		(N) (%)	(P) (%)	(K) (%)	(Ca) (%)	(Mg) (%)
ใบลิ้นจี่	ค่าเฉลี่ย	1.60	0.18	0.87	0.61	0.39
	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.010	0.021	0.015	0.008	0.004
	ค่าความคลาดเคลื่อน	0.004	0.048	0.012	0.004	0.002
ใบข้าวโพดหวาน	ค่าเฉลี่ย	3.56	0.38	1.72	1.18	0.2
	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.014	0.002	0.157	0.01	0.005
	ค่าความคลาดเคลื่อน	0.009	0	0.07	0.006	0.003
ใบถั่วเหลือง	ค่าเฉลี่ย	5.14	0.29	1.8	1.48	0.4
	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.032	0.009	0.028	0.026	0.007
	ค่าความคลาดเคลื่อน	0.018	0.004	0.023	0.015	0.003

3. ผลการทดสอบความเสถียร พบว่าค่า significance F ของ N P และ K ของตัวอย่างอ้างอิงพืช ในใบลิ้นจี่ มีค่า 0.07 1.0 0.10 และ ใบข้าวโพดหวาน มีค่า 0.8 0.66 0.36 ซึ่งมีค่ามากกว่าระดับนัยสำคัญ 0.05 จึงยอมรับสมมติฐานไม่มีสมการถดถอยในสมการ ความชันเป็น 0 ซึ่งแสดงว่าตัวอย่างมีความเสถียร ส่วนในใบถั่วเหลืองค่า significance F ของ N และ K มีค่า 0.01 และ

0.05 ซึ่งมีความน้อยกว่าระดับนัยสำคัญ 0.05 แต่ P มีค่า 0.79 ซึ่งมีความมากกว่าระดับนัยสำคัญ 0.05 แสดงว่าตัวอย่างใบกล้วยเห็ลียงมีความเสถียร

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

ตัวอย่างอ้างอิงภายใน ที่จัดทำขึ้นทั้ง 3 ชนิดพืช คือใบลิ้นจี่ ใบข้าวโพดหวาน และใบกล้วยเห็ลียง มีค่า assigned value ปริมาณธาตุอาหาร N P K Ca Mg คือ ใบลิ้นจี่ N  $1.60 \pm 0.004$  P  $0.18 \pm 0.048$  K  $0.87 \pm 0.012$  Ca  $0.61 \pm 0.004$  Mg  $0.39 \pm 0.002$  ใบข้าวโพดหวาน N  $3.56 \pm 0.009$  P  $0.38 \pm 0.000$  K  $1.72 \pm 0.007$  Ca  $1.18 \pm 0.006$  Mg  $0.20 \pm 0.003$  ใบกล้วยเห็ลียง N  $5.14 \pm 0.018$  P  $0.29 \pm 0.004$  K  $1.80 \pm 0.013$  Ca  $1.48 \pm 0.015$  Mg  $0.40 \pm 0.003$  และจากการทดสอบความเสถียร (stability testing) ที่ 1 3 6 12 และ 24 เดือนในใบลิ้นจี่ ใบข้าวโพดหวานและใบกล้วยเห็ลียง มีความเสถียร แต่หากค่า significance F ของ N และ K ในใบกล้วยเห็ลียงซึ่งมีความน้อยกว่าระดับนัยสำคัญ 0.05 ควรมีการวิเคราะห์หาปริมาณ N และ K เพิ่มเติม เพื่อพิจารณาว่าค่า assigned value ที่ให้ไว้เหมาะสมหรือไม่

### การผลิตตัวอย่างพืชอ้างอิงภายใน สำหรับการวิเคราะห์พืชของห้องปฏิบัติการพื้นที่ภาคใต้ตอนบน Preparation of Plant Internal Reference Material for Plant Analysis of the Upper Southern's Laboratory

จิตติลักษณ์ เหมะ อรพิน หนูทอง  
Jittiluk Hama Orapin Nuthong

### คำสำคัญ (Keywords)

ตัวอย่างอ้างอิงภายใน พื้นที่ภาคใต้ตอนบน พืช  
Internal reference material Upper southern Plant

### บทคัดย่อ(Abstract)

ทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างพืชโดยการบด คลุกเคล้า วิเคราะห์ N P K Ca และ Mg และนำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติหาความแปรปรวน ( Analysis of Variance – ANOVA แบบทางเดียว) โดยไม่ตัด outliers ออก พบว่าค่า  $F_{cal}$  ของใบปาล์มน้ำมัน มีค่า 0.98, 1.68, 2.73, 1.32 และ 0.47 ตามลำดับ ใบยางพารา มีค่า 1.68, 0.95, 2.30, 1.06 และ 1.43 ตามลำดับ และ ใบทุเรียน มีค่า 0.46, 0.74, 1.23, 1.14 และ 0.61 ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าค่า  $F_{critical}$  ที่ได้จากราง คือ 3.02 แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างใบปาล์มน้ำมัน ยางพารา และ ทุเรียน มีความเป็นเนื้อเดียวกัน สามารถนำไปหาค่ากำหนดให้ (Assigned Value) เพื่อเป็นตัวอย่างอ้างอิงภายในต่อไปได้

หาค่า Assigned Value ของ 3 ชนิดพืช โดยวิเคราะห์ธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรอง ได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม ซึ่งสุ่มตัวอย่างที่มีความเป็นเนื้อเดียวกัน ในตัวอย่างละ 20 ตัวอย่าง โดยดำเนินการควบคู่ไปกับวัสดุอ้างอิงมาตรฐาน ( Standard Reference Material- SRM) ได้ค่าเฉลี่ยของแต่ละรายการ เพื่อเป็น Assigned Value ของตัวอย่างพืชอ้างอิงใบปาล์มน้ำมัน N  $2.16 \pm 0.216\%$  P  $0.15 \pm 0.015\%$  K  $1.19 \pm 0.119\%$  Ca  $0.36 \pm 0.036\%$

และ Mg  $0.20 \pm 0.020\%$  ในส่วน Assigned Value ของตัวอย่างพืชอ้างอิงใบยางพารา N  $2.39 \pm 0.239\%$  P  $0.16 \pm 0.016\%$  K  $0.62 \pm 0.062\%$  Ca  $1.22 \pm 0.122\%$  และ Mg  $0.35 \pm 0.035\%$  และ Assigned Value ของตัวอย่างพืชอ้างอิงใบทุเรียน N  $1.73 \pm 0.173\%$  P  $0.19 \pm 0.019\%$  K  $1.50 \pm 0.150\%$  Ca  $1.92 \pm 0.192\%$  และ Mg  $0.72 \pm 0.072\%$

นอกจากนี้ได้ทำการทดสอบความเสถียร (stability testing) ของตัวอย่างพืชทั้ง 3 ชนิดพืช โดยทำการวิเคราะห์ N P K Ca และ Mg ในตัวอย่างละ 10 ตัวอย่าง ที่ระยะเวลา 3, 6, 9, 12 และ 17 เดือน เก็บรักษาตัวอย่างในตู้ดูดความชื้นที่อุณหภูมิห้อง ควบคุมความชื้นที่ 20 % RH ในระยะเวลา 1.5 ปี พบว่าค่าวิเคราะห์อยู่ในช่วง  $\bar{X} \pm 2$  SD ของค่า Assigned Value คือใบปาล์มน้ำมันอยู่ในช่วง N  $2.442 \pm 0.051$  P  $0.153 \pm 0.010$  K  $1.264 \pm 0.092$  Ca  $0.503 \pm 0.223$  และ Mg  $0.247 \pm 0.017$  ใบยางพารา อยู่ในช่วง N  $2.741 \pm 0.027$  P  $0.168 \pm 0.008$  K  $0.647 \pm 0.113$  Ca  $1.453 \pm 0.1736$  และ Mg  $0.396 \pm 0.032$  และใบทุเรียน N  $1.929 \pm 0.092$  P  $0.199 \pm 0.012$  K  $1.923 \pm 0.214$  Ca  $2.203 \pm 0.232$  และ Mg  $0.739 \pm 0.038$  แสดงให้เห็นว่าส่วนประกอบของตัวอย่างใบพืชทั้งสามชนิดพืช มีความเสถียร ดังนั้นใบปาล์มน้ำมัน ใบยางพารา และใบทุเรียน ที่ผลิตได้จึงมีสมบัติครบถ้วนสมบูรณ์ทุกประการในการเป็นตัวอย่างพืชอ้างอิงภายใน (IRM) และสามารถสอบกลับได้ไปยังวัสดุอ้างอิงมาตรฐาน (Standard Reference Material- SRM) ได้

ผลการทดลองครั้งนี้ทำให้ได้ตัวอย่างพืชอ้างอิงภายใน 3 ตัวอย่างๆละประมาณ 5 กิโลกรัม รวม 15 กิโลกรัม ซึ่งเมื่อคิดเป็นมูลค่าของวัสดุอ้างอิงรับรอง แล้วจะสามารถประหยัดงบประมาณแผ่นดินในการจัดซื้อ CRM หรือ SRM ได้ถึง 8.4 ล้านบาท (SRM ราคา 28,000 บาท/ 50 กรัม)

Production of internal reference plant specimens For the analysis of plants of the Upper Southern (Internal Reference Material & Inhouse Reference Material-IRM), 3 types of plants, including oil palm, rubber and durian, by following the guidelines for quality management in Soil and Plant Laboratories, FAO and testing Homogeneity and stability in a given time period By analyzing the main nutrients and secondary nutrients such as nitrogen, phosphorus, potassium, calcium and magnesium in accordance with the guidelines of the International Harmonized Protocol for Proficiency Testing of Stable in a given time period

Test the homogeneity of the plant specimens through grinding, mixing, analyzing NPK Ca and Mg and applying the statistical analysis to find variance (Analysis of Variance - ANOVA one-way) without cutting outliers. The  $F_{cal}$  value of Oil palm leaves were 0.98, 1.68, 2.73, 1.32 and 0.47, respectively. The rubber leaves were 1.68, 0.95, 2.30, 1.06 and 1.43 respectively and the durian leaves were 0.46, 0.74, 1.23, 1.14 and 0.61 respectively, which was less than The  $F_{critical}$  value obtained from the table is 3.02. That leaves palm oil, rubber and durian are homogeneous. Can be used to find the Assigned Value to be an internal reference example

Determine the Assigned Value of 3 plant species by analyzing the main nutrients and secondary nutrients such as nitrogen, phosphorus, potassium, calcium and magnesium. Which sampling the homogeneous samples of 20 specimens by parallel with the standard reference material (SRM) can get the average value of each

item to be an Assigned Value of the plant specimen reference oil palm leaf N  $2.16 \pm 0.216$  % P  $0.15 \pm 0.015$ % K  $1.19 \pm 0.119$ % Ca  $0.36 \pm 0.036$ % and Mg  $0.20 \pm 0.020$ % in the Assigned Value section of the reference rubber plant specimens N  $2.39 \pm 0.239$ % P  $0.16 \pm 0.016$ % K  $0.62 \pm 0.062$ % Ca  $1.22 \pm 0.122$ % and Mg  $0.35 \pm 0.035$ % and the Assigned Value of the reference sample of the Turia plant N  $1.73 \pm 0.173$ % P  $0.19 \pm 0.019$ % K  $1.50 \pm 0.150$ % Ca  $1.92 \pm 0.192$ %, and Mg  $0.72 \pm 0.072$ %.

In addition, stability testing of all three plant specimens has been performed by analyzing NPK Ca and Mg in 10 samples each at 3, 6, 9, 12 and 17 months. At room temperature Control humidity at 20% RH in 1.5 year period. It was found that the analysis value was within the range of  $X \pm 2$  SD of Assigned Value. The value of oil palm leaf was in the range of N  $2.442 \pm 0.051$  P  $0.153 \pm 0.010$  K  $1.264 \pm 0.092$  Ca  $0.503 \pm 0.223$  and Mg  $0.247 \pm 0.017$  Rubber leaves are in the range N  $2.741 \pm 0.027$  P  $0.168 \pm 0.008$  K  $0.647 \pm 0.113$  Ca  $1.453 \pm 0.1736$  and Mg  $0.396 \pm 0.032$  and Durian leaves N  $1.929 \pm 0.092$  P  $0.199 \pm 0.012$  K  $1.923 \pm 0.214$  Ca  $2.203 \pm 0.232$  and Mg  $0.739 \pm 0.038$  shows that the components of all three types of plant leaves are stable. Therefore, palm oil, rubber leaves, and durian leaves are all fully qualified for being an internal reference plant (IRM) and can be traced back to standard reference material (SRM)

The results of this experiment gave the sample reference within 3 samples, each of about 5 kilograms, a total of 15 kilograms. And will be able to save the budget in the purchase of CRM or SRM up to 8.4 million baht (SRM price 28,000 baht / 50 grams)

## บทนำ (Introduction)

กรมวิชาการเกษตร โดยกองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร และสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 1-8 ให้บริการวิเคราะห์ธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง ทั้งในปุ๋ย พืช ดิน น้ำ เพื่อพัฒนางานวิจัยด้านการปรับปรุงคุณภาพและเพิ่มผลผลิตพืช ลดการใช้ปุ๋ย จำเป็นต้องใช้วัสดุอ้างอิงในการควบคุมคุณภาพผลวิเคราะห์ซึ่งต้องใช้ในปริมาณมาก จึงต้องจัดทำวัสดุอ้างอิงภายในขึ้น โดยต้องคำนึงถึง ความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity) ความคงที่หรือเสถียรภาพ (Stability) และจำนวนของตัวอย่างที่จัดเตรียมต้องมากเพียงพอ แทนการใช้วัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified reference material, CRM) หรือวัสดุอ้างอิงมาตรฐาน (Standard Reference Material- SRM) ที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ วัสดุอ้างอิงรับรองยังไม่ใช้พืชในท้องถิ่น ที่ทำการวิเคราะห์อยู่เป็นประจำ และทำให้สามารถประหยัดงบประมาณของประเทศได้เป็นจำนวนมาก ( CRM/SRM ราคา 28,800 บาท/ 50 กรัม)

ตัวอย่างพืชอ้างอิงภายใน ( Internal Reference Material - IRM) หมายถึง ตัวอย่างพืชที่ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์พืชพัฒนา (เตรียม) ขึ้นจากตัวอย่างพืชที่มีความสำคัญในเขตภาคใต้ตอนบน เพื่อใช้เป็นตัวควบคุมคุณภาพของผลการวิเคราะห์ ดำเนินการควบคุมไปกับวัสดุอ้างอิงรับรอง



(Certified reference material, CRM) หรือวัสดุอ้างอิงมาตรฐาน (Standard Reference Material- SRM) ตามมาตรฐานสากล เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในห้องปฏิบัติการ ครั้งนี้นับเป็นการผลิตตามมาตรฐานสากลครั้งแรกของเขตภาคใต้ตอนบน และได้มีการ นำมาใช้ประโยชน์ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์พืชอย่างต่อเนื่อง IRM ที่ผลิตได้นำไปใช้ประโยชน์ในการ ประเมินคุณภาพภายใน (internal quality assessment) ของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์พืชและเป็นการ บ่งชี้ขีดความสามารถในการทดสอบของห้องปฏิบัติการอย่างต่อเนื่อง โดยนำมาวิเคราะห์ควบคู่ไป กับการวิเคราะห์ตัวอย่างพืชในงานประจำ ทำให้เกิดความมั่นใจแก่ผู้วิเคราะห์และผู้ให้บริการ ว่าผล วิเคราะห์มีความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ เพื่อใช้ในการแนะนำการใช้ปุ๋ยแก่พืช ลดต้นทุนการผลิตพืช และเป็นการช่วยรักษาสภาพสิ่งแวดล้อมทางอ้อม

### ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

อุปกรณ์เครื่องมือ และสารเคมี ได้แก่ ใบปาล์มน้ำมัน ใบยางพารา ใบทุเรียน วัสดุอ้างอิงมาตรฐาน (Standard Reference Material) ได้แก่ ตัวอย่างพืชอ้างอิง SRM 1515 Apple Leaves ตู้อบลมร้อน ตู้ดูดควันกรรไกรตัดกิ่งเครื่องบดตัวอย่างพืช ตะแกรงขนาด 1 mm เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง ถังแช่เย็นเก็บตัวอย่างถั่วกระดาศสีน้ำตาล ไซลิ่งพลาสติกใส ขนาด A4 ถังพลาสติกใส ขนาด 14x22 นิ้ว 20x30 นิ้ว ถังกระดาศใส่ตัวอย่างที่บดแล้ว ถังอลูมิเนียม ซีลกลาง พับข้าง ขนาด 9x19+5 ซม. ตู้ดูดความชื้นและโถดูดความชื้นเครื่องซีลถุงขนาดเล็ก เครื่องแก้วชนิดต่างๆ เช่น บิวเรต 50 ml. ปีกเกอร์ ขวดปริมาตร ขวดรูปชมพู่ หลอดย่อย หลอดกลั่น เครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่จำเป็นใน การวิเคราะห์ ได้แก่ เครื่องย่อยไนโตรเจน Gerhardt, เครื่องกลั่นไนโตรเจน Gerhardt, UV/VIS Spectrophotometer, Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS), เตาให้ความร้อน (hotplate) สารเคมี ได้แก่ Boric acid ( $H_3BO_3$ ), AR grade Kjeldahl tablets 3 กรัม, AR grade Sodium hydroxide (NaOH) Methyl red ( $C_{15}H_{15}N_3O_2$ ) Bromocresol green Ethanol ( $C_2H_5OH$ ) Sulfuric acid conc. 98 % ( $H_2SO_4$ ), AR grade Nitric acid 65% ( $HNO_3$ ), AR grade Perchloric acid 70-72 % ( $HClO_4$ ), AR grade Ammonium molybdate Ammonium metavanadate ( $NH_4VO_3$ ) Potassium dihydrogen phosphate ( $KH_2PO_4$ ), AR grade Strontium chloride hexahydrate ( $SrCl_2 \cdot 6H_2O$ ), AR grade สารละลายมาตรฐาน โพแทสเซียม 1000 ppm สารละลายมาตรฐาน แคลเซียม 1000 ppm และ สารละลายมาตรฐาน แมกนีเซียม 1000 ppm

### วิธีการ

1. สํารวจพืชและเก็บตัวอย่างพืชจากพื้นที่ปลูกดังนี้ ปาล์มน้ำมัน (palm oil: P) จากศูนย์วิจัยปาล์ม น้ำมันสุราษฎร์ธานี จ.สุราษฎร์ธานี ยางพารา (Rubber plant : R) จากศูนย์วิจัยและพัฒนาการ เกษตรกระบี่ จ.กระบี่ และ ทุเรียน (Durian: D) ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรชุมพร จ.ชุมพร และแปลงนายประสิทธิ์ ทองพิชัย ม.4 ต.ทุ่งระยะ อ.สวี จ.ชุมพร โดยเก็บตัวอย่างพืชดังนี้
  - 1.1. ปาล์มน้ำมันเก็บตัวอย่าง ณ จากทางใบที่ 17 จากใบที่อยู่กึ่งกลางของทางใบ ช้างละ 6 ใบ ย่อย การนับทางใบต้องดูจากการเวียนของทางใบ เนื่องจากการเวียนของทางใบจะมี ลักษณะเวียนซ้ายและเวียนขวา และตัดส่วนที่อยู่ตรงกลางของทางใบย่อย ความยาว

ประมาณ 8-10 นิ้ว แล้วฉีกเอาก้านใบ และขอบใบทั้ง 2 ข้างออก (ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี, 2551)

- 1.2. ยางพารา เก็บตัวอย่างจาก 4 ทิศทางรอบต้น เก็บใบที่เจริญเติบโตเต็มที่ (นุชนารถ, 2552)
- 1.3. ทูเรียน เก็บตัวอย่างจาก 4 ทิศทางรอบต้น เก็บใบที่อยู่ส่วนกลางของช่อใบ ใบที่ 2 และ ใบที่ 3 จากยอด เมื่อใบมีอายุ 5-7 เดือน (สุมิตราและคณะ, 2545) เก็บให้ได้ตัวอย่างปริมาณมากพอ ใบมีสภาพสมบูรณ์ ไม่ถูกทำลาย
2. เตรียมตัวอย่างพืช ตาม Guidelines for quality management in soil and plant laboratories (Reeuwijk, 1998) โดยล้างทำความสะอาดตัวอย่างพืชในน้ำสะอาด 2 ครั้ง แล้วตามด้วยน้ำกลั่น 1 ครั้ง เพื่อให้ปราศจากปุ๋ย สารเคมี ฝุ่นละออง หรือสิ่งปนเปื้อนอื่นใดที่ติดมาในใบพืช จากนั้นนำตัวอย่างใส่ตะกร้า ให้ตัวอย่างสะเด็ดน้ำ แล้วนำตัวอย่างใส่ถุงกระดาษ นำไปอบในตู้อบความร้อนขนาดใหญ่ อุณหภูมิ  $70\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 48-72 ชม. หรือจนน้ำหนักแห้งคงที่ แล้วนำตัวอย่างที่แห้งมาบดด้วยเครื่องบดตัวอย่างพืชใช้ตะแกรงที่มีขนาด 1 มม. จากนั้นนำไปคลุกเคล้าให้เป็นเนื้อเดียวกัน โดยการนำตัวอย่างทั้งหมดใส่ถุงพลาสติกขนาด  $20 \times 30$  นิ้ว เขย่าไปมาหลายๆครั้ง และแบ่งเป็นส่วนย่อยๆ หลายๆถุง ในถุงพลาสติกขนาด  $14 \times 22$  นิ้ว เขย่าไปมาหลายๆครั้ง นำแต่ละส่วนย่อยๆ หลายๆถุง มารวมกัน และบดตัวอย่างอีกครั้งผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร ทำการคลุกเคล้าอย่างนี้ทั้งหมด 5 ครั้ง ในแต่ละชนิดพืช ชั่งตัวอย่างใส่ถุงกระดาษ 100 กรัม จำนวน 50 ถุง จากนั้นนำไปทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน
3. การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างพืช ดำเนินการตามแนวทางของ International Harmonized Protocol for Proficiency Testing of (Chemical) Analytical Laboratories, AOAC (Thompson & Wood, 1993) โดยแบ่งตัวอย่างพืชทั้งหมดของแต่ละชนิด ซึ่งเป็น bulk sample ออกเป็น 50 subsample สุ่มตัวอย่างพืชมาแต่ละชนิดพืช 10 subsample แบ่งแต่ละ subsample เป็น 2 ส่วน วิเคราะห์ N P K Ca และ Mg ตามคู่มือการวิเคราะห์ธาตุอาหารในพืช (ปรีดาและคณะ, 2535. จำเป็น, 2536.; กลุ่มงานวิจัยเคมี, 2544.; จำเป็น, 2551) ควบคู่ไปกับการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงมาตรฐาน (SRM)
  - 3.1. ประเมินทางสถิติ เพื่อหาความแปรปรวน (Analysis of Variance – ANOVA แบบทางเดียว) โดยไม่ตัด outliers ออก (อมราและคณะ, 2545 ; Wernimont, 1996)
  - 3.2. ประเมินค่า Assigned Value ของ Internal Reference Material และการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงมาตรฐาน (Standard Reference Material- SRM)
4. ทดสอบความเสถียร (Stability testing) โดยสุ่มตัวอย่างพืชซึ่งผ่านการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน และมีค่า Assigned Value แล้ว ดำเนินการโดยวิเคราะห์เป็นระยะในช่วงเวลา 17 เดือน นำค่าที่วิเคราะห์ได้มาวิเคราะห์ค่าความเสถียร และเปรียบเทียบกับค่ากำหนด

ระยะเวลา เริ่มต้น ต.ค. 2558 สิ้นสุด ก.ย. 256

1

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต

สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 7

**ผลการวิจัย (Results)**

- ทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance แบบทางเดียว) โดยไม่ตัด outliers ของผลการวิเคราะห์ธาตุอาหารพืช พบว่ามีค่า F จากการคำนวณ ( $F_{cal}$ ) ตามตารางที่ 1 ซึ่งนำมาเปรียบเทียบกับค่าวิกฤต ( $F_{critical}$ ) พบว่าค่า  $F_{cal}$  = น้อยกว่าค่าวิกฤต ของ  $F_{0.05, 9, 10}$  3.02 แสดงว่าตัวอย่างใบพืชทั้ง 3 ชนิดมีความเป็นเนื้อเดียวกันทุกรายการวิเคราะห์

**ตารางที่ 1** ค่า F-Value ของผลการวิเคราะห์ธาตุอาหารในใบปาล์มน้ำมัน ยางพารา และทุเรียน

ชนิดพืช	$F_{cal}$				
	N	P	K	Ca	Mg
ปาล์มน้ำมัน	0.98	1.68	2.73	1.32	0.47
ยางพารา	1.63	0.95	2.30	1.06	1.43
ทุเรียน	0.46	0.74	1.23	1.14	0.61

- พิจารณาค่ากำหนดของตัวอย่างอ้างอิงพืชจากผลการวิเคราะห์ธาตุอาหาร ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม ตามตารางที่ 2 ซึ่งวิเคราะห์ควบคู่กับตัวอย่างอ้างอิงรับรอง โดยมีผลการวิเคราะห์ที่ได้อยู่ในช่วงของค่ารับรองทุกรายการวิเคราะห์

**ตารางที่ 2** แสดงค่าวิเคราะห์ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมของตัวอย่างพืชอ้างอิง

ชนิดพืช	รายการ	ไนโตรเจน (N) (%)	ฟอสฟอรัส (P) (%)	โพแทสเซียม (K) (%)	แคลเซียม (Ca) (%)	แมกนีเซียม (Mg) (%)
ใบปาล์มน้ำมัน	ค่าเฉลี่ย	2.490	0.155	1.272	0.411	0.239
	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.249	0.015	0.127	0.041	0.023
	ช่วงการยอมรับ	± 0.498	± 0.03	± 0.254	± 0.082	± 0.046
ใบยางพารา	ค่าเฉลี่ย	2.822	0.171	0.624	1.415	0.386
	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.282	0.017	0.062	0.141	0.038
	ช่วงการยอมรับ	± 0.564	± 0.034	± 0.124	± 0.282	± 0.076
ใบทุเรียน	ค่าเฉลี่ย	1.961	0.204	1.892	2.161	0.730
	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.196	0.020	0.189	0.216	0.073
	ช่วงการยอมรับ	± 0.392	± 0.04	± 0.378	± 0.432	± 0.146

- ผลการทดสอบความเสถียร ที่ระยะเวลา 3, 6, 9, 12 และ 17 เดือน ค่าวิเคราะห์ปริมาณ N P K Ca และ Mg อยู่ในช่วงยอมรับของค่า Assigned Value พบว่า ของใบปาล์มน้ำมัน คือ 2.391-2.493%, 0.143-0.163 %, 1.172-1.356 %, 0.280-0.726 % และ 0.230-0.264 % ส่วนใบยางพารา คือ 2.714 -2.768 %, 0.160-0.1760 %, 0.534-0.760 %, 1.280-1.626 % และ 0.364-0.428 % และใบทุเรียน คือ 1.837-2.021 %, 0.1870-0.211 %, 1.709-2.137 %, 1.971-2.435 % และ 0.701-0.777 %

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

การผลิตตัวอย่างพืชอ้างอิงภายใน สำหรับการวิเคราะห์พืชของห้องปฏิบัติการพื้นที่ภาคใต้ ตอนบน (Internal Reference Material หรือ Inhouse Reference Material –IRM) จำนวน 3 ชนิดพืช ได้แก่ ปาล์มน้ำมัน ยางพารา และ ทุเรียน โดยดำเนินการตาม Guidelines for Quality Management in Soil and Plant Laboratories, FAO และทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันและความเสถียรในช่วงเวลาที่กำหนด โดยวิเคราะห์ธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม ตามแนวทางของ International Harmonized

Protocol for Proficiency Testing of (Chemical) Analytical Laboratories, AOAC ทำการสุ่มตัวอย่างเพื่อนำไปทดสอบจนได้ตัวอย่างที่มีความเป็นเนื้อเดียวกันและความเสถียรในช่วงเวลาที่กำหนด

ทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างพืชโดยการบด คลุกเคล้า วิเคราะห์ N P K Ca และ Mg และนำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติหาความแปรปรวน ( Analysis of Variance – ANOVA แบบทางเดียว) โดยไม่ตัด outliers ออก พบว่าค่า  $F_{cal}$  ของไบปาล์มน้ำมัน มีค่า 0.98, 1.68, 2.73, 1.32 และ 0.47 ตามลำดับ ไบยางพารา มีค่า 1.68, 0.95, 2.30, 1.06 และ 1.43 ตามลำดับ และ ใบทุเรียน มีค่า 0.46, 0.74, 1.23, 1.14 และ 0.61 ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าค่า  $F_{critical}$  ที่ได้จากตาราง คือ 3.02 แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างไบปาล์มน้ำมัน ไบยางพารา และ ทุเรียน มีความเป็นเนื้อเดียวกัน สามารถนำไปหาค่ากำหนดให้ (Assigned Value) เพื่อเป็นตัวอย่างอ้างอิงภายในต่อไปได้

หาค่า Assigned Value ของ 3 ชนิดพืช โดยวิเคราะห์ธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรอง ได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม ซึ่งสุ่มตัวอย่างที่มีความเป็นเนื้อเดียวกัน ในตัวอย่างละ 20 ตัวอย่าง โดยดำเนินการควบคู่ไปกับวัสดุอ้างอิงมาตรฐาน ( Standard Reference Material- SRM) ได้ค่าเฉลี่ยของแต่ละรายการ เพื่อเป็น Assigned Value ของตัวอย่างไบปาล์มน้ำมัน N  $2.16 \pm 0.216\%$  P  $0.15 \pm 0.015\%$  K  $1.19 \pm 0.119\%$  Ca  $0.36 \pm 0.036\%$  และ Mg  $0.20 \pm 0.020\%$  ในส่วน Assigned Value ของตัวอย่างไบยางพารา N  $2.39 \pm 0.239\%$  P  $0.16 \pm 0.016\%$  K  $0.62 \pm 0.062\%$  Ca  $1.22 \pm 0.122\%$  และ Mg  $0.35 \pm 0.035\%$  และ Assigned Value ของตัวอย่างใบทุเรียน N  $1.73 \pm 0.173\%$  P  $0.19 \pm 0.019\%$  K  $1.50 \pm 0.150\%$  Ca  $1.92 \pm 0.192\%$  และ Mg  $0.72 \pm 0.072\%$

นอกจากนี้ได้ทำการทดสอบความเสถียร ( stability testing) ของตัวอย่างพืชทั้ง 3 ชนิดพืช โดยทำการวิเคราะห์ N P K Ca และ Mg ในตัวอย่างละ 10 ตัวอย่าง ที่ระยะเวลา 3, 6, 9, 12 และ 17 เดือน เก็บรักษาตัวอย่างในตู้ดูดความชื้นที่อุณหภูมิห้อง ควบคุมความชื้นที่ 20 % RH ในระยะเวลา 1.5 ปี พบว่าค่าวิเคราะห์อยู่ในช่วง  $X \pm 2$  SD ของค่า Assigned Value คือไบปาล์มน้ำมันอยู่ในช่วง N  $2.442 \pm 0.051$  P  $0.153 \pm 0.010$  K  $1.264 \pm 0.092$  Ca  $0.503 \pm 0.223$  และ Mg  $0.247 \pm 0.017$  ไบยางพารา อยู่ในช่วง N  $2.741 \pm 0.027$  P  $0.168 \pm 0.008$  K  $0.647 \pm 0.113$  Ca  $1.453 \pm 0.1736$  และ Mg  $0.396 \pm 0.032$  และใบทุเรียน N  $1.929 \pm 0.092$  P  $0.199 \pm 0.012$  K  $1.923 \pm 0.214$  Ca  $2.203 \pm 0.232$  และ Mg  $0.739 \pm 0.038$  แสดงให้เห็นว่าส่วนประกอบของตัวอย่างพืชทั้งสามชนิดพืชมีความเสถียร ดังนั้นไบปาล์มน้ำมัน ไบยางพารา และใบทุเรียน ที่ผลิตได้จึงมีสมบัติครบถ้วนสมบูรณ์ทุกประการในการเป็นตัวอย่างพืชอ้างอิงภายใน ( IRM) และสามารถสอบกลับได้ไปยังวัสดุอ้างอิงมาตรฐาน (Standard Reference Material- SRM) ได้

ผลการทดลองครั้งนี้ทำให้ได้ตัวอย่างพืชอ้างอิงภายใน 3 ตัวอย่างๆละประมาณ 5 กิโลกรัม รวม 15 กิโลกรัม ซึ่งเมื่อคิดเป็นมูลค่าของวัสดุอ้างอิงรับรอง แล้วจะสามารถประหยัดงบประมาณแผ่นดินในการจัดซื้อ CRM หรือ SRM ได้ถึง 8.4 ล้านบาท (SRM ราคา 28,000 บาท/ 50 กรัม)

ในการคลุกเคล้าตัวอย่างพืชเมื่อบดและผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร แล้ว ควรแบ่งเป็นส่วนย่อยๆ หลายๆส่วน และทำการเขย่าในถุงที่พองในแต่ละส่วนที่ย่อยก่อน แล้วจึงนำส่วนย่อยมาคลุกเคล้ารวมกันอีกครั้งในเครื่องบดตัวอย่าง ดีกว่าการคลุกเคล้าถุงใหญ่เพียง 1-2 ถุง

ในการนำตัวอย่างไปวิเคราะห์แต่ละครั้งควรนำตัวอย่างไปอบก่อนแล้วปล่อยให้เย็นใน  
โถดูดความชื้น ก่อนที่จะทำการชั่งตัวอย่าง เพื่อให้ได้น้ำหนักที่แท้จริงของตัวอย่าง และผลการ  
วิเคราะห์จะไม่คลาดเคลื่อน

ในการย่อยด้วยกรดผสมนานเกินไปจะทำให้ตัวอย่างแห้งเป็นซีถ้าสีม่วงอ่อน ไม่สามารถเอา  
ไปใช้เป็นตัวอย่างได้

การผลิตตัวอย่างพืชอ้างอิงภายใน สำหรับการวิเคราะห์พืชของห้องปฏิบัติการพื้นที่ภาคใต้ตอนล่าง  
Preparation of Plant Internal Reference Material for Plant Analysis of  
the Lower Southern's Laboratory

สร้อยญา ช่วงพิมพ์ ว่าที่ร้อยตรีพิรุณ ตีระพัฒน์ เยาวลักษณ์ แสงแก้ว  
Saranya Choungpim Pirun Tirapat Yaowalak Sangkeaw

**คำสำคัญ (Keywords)**

ตัวอย่างอ้างอิงภายใน พื้นที่ภาคใต้ตอนบน พืช

Internal reference material Lower southern Plant

**บทคัดย่อ(Abstract)**

การผลิตตัวอย่างพืชอ้างอิงภายใน สำหรับการวิเคราะห์พืชของห้องปฏิบัติการพื้นที่ภาคใต้ตอนล่าง (Internal Reference Material หรือ Inhouse Reference Material –IRM) โดยสุ่มเก็บตัวอย่างใบพืชจำนวน 3 ชนิดพืช ได้แก่ ยางพารา ปาล์มน้ำมัน และ ลองกอง โดยดำเนินการตาม Guidelines for Quality Management in Soil and Plant Laboratories, FAO และทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันและความเสถียรในช่วงเวลาที่กำหนด วิเคราะห์หาค่าจริง (Assign Value) ของธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม ตามแนวทางของ International Harmonized Protocol for Proficiency Testing of (Chemical) Analytical Laboratories, AOAC

การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างพืชโดยผ่านการบด คลุกเคล้า วิเคราะห์ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมและนำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติหาความแปรปรวน (Analysis of Variance – ANOVA แบบทางเดียว) โดยไม่ตัด outliers ออก พบว่าค่า  $F_{cal}$  ของใบยางพารา มีค่า 2.44, 1.85, และ 1.59 ตามลำดับ ใบปาล์มน้ำมัน มีค่า 2.28, 0.74 และ 1.41 ตามลำดับ และ ใบลองกอง มีค่า 2.03, 1.99 และ 0.41 ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าค่า  $F_{critical}$  ที่ได้จากรายการ คือ 3.02 แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างใบ ยางพารา ปาล์มน้ำมัน และ ลองกอง มีความเป็นเนื้อเดียวกัน สามารถนำไปหาค่ากำหนดให้ (Assigned Value) เพื่อเป็นตัวอย่างอ้างอิงภายในต่อไปได้

การวิเคราะห์ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม ในใบ ยางพารา ปาล์มน้ำมัน และ ลองกอง ที่มีความเป็นเนื้อเดียวกัน เพื่อกำหนดเป็นค่า Assigned Value โดยดำเนินการวิเคราะห์ควบคุมไปกับวัสดุอ้างอิงมาตรฐาน ( Standard Reference Material- SRM) พบว่าปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมในใบยางพาราได้ค่าเท่ากับ  $2.51 \pm 0.251$ ,  $0.24 \pm 0.024$ ,  $1.23 \pm 0.123$ ,  $1.16 \pm 0.116$  และ  $0.20 \pm 0.020$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในใบปาล์มน้ำมันได้ค่าเท่ากับ  $2.26 \pm 0.226$ ,  $0.14 \pm 0.014$ ,  $0.84 \pm 0.084$ ,  $0.92 \pm 0.092$  และ  $0.35 \pm 0.035$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนใบลองกองได้ค่าเท่ากับ  $2.42 \pm 0.242$ ,  $0.17 \pm 0.017$ ,  $2.10 \pm 0.210$ ,  $1.48 \pm 0.148$  และ  $0.27 \pm 0.027$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

สำหรับการทดสอบความเสถียร (stability testing) ของตัวอย่างพืชทั้ง 3 ชนิด โดยทำการวิเคราะห์ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมในตัวอย่างพืชละ 10 ซ้ำ ที่ระยะเวลา 3, 6, 12 และ 18 เดือน ที่ระยะเวลา 18 เดือนหรือ 1.5 ปี พบว่าค่าวิเคราะห์อยู่ในช่วง X

$\pm 2$  SD ของค่า Assigned Value นั้นคือปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และ แมกนีเซียมในใบยางพาราอยู่ในช่วง  $2.475 \pm 0.099$ ,  $0.239 \pm 0.008$ ,  $1.181 \pm 0.231$ ,  $0.999 \pm 0.349$  และ  $0.201 \pm 0.017$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในใบปาล์มน้ำมันอยู่ในช่วง  $2.207 \pm 0.176$ ,  $0.138 \pm 0.008$ ,  $0.768 \pm 0.166$ ,  $0.777 \pm 0.243$  และ  $0.355 \pm 0.030$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และใบลองกองอยู่ในช่วง  $2.376 \pm 0.094$ ,  $0.168 \pm 0.008$ ,  $2.142 \pm 0.171$ ,  $1.207 \pm 0.392$  และ  $0.276 \pm 0.024$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าส่วนประกอบของตัวอย่างใบพืชทั้งสามชนิดมีความเสถียร ดังนั้นใบยางพารา ปาล์มน้ำมัน และ ลองกอง ที่ผลิตได้จึงมีสมบัติครบถ้วนสมบูรณ์ทุกประการในการเป็นตัวอย่างพืชอ้างอิงภายใน (IRM) และสามารถสอกลับได้ไปยังวัสดุอ้างอิงมาตรฐาน (Standard Reference Material- SRM) ได้ทำให้ได้ตัวอย่างพืชอ้างอิงภายใน 3 ตัวอย่างๆละประมาณ 2 กิโลกรัม รวม 6 กิโลกรัม ซึ่งเมื่อคิดเป็นมูลค่าของวัสดุอ้างอิงรับรอง แล้วจะสามารถประหยัดงบประมาณแผ่นดินในการจัดซื้อ CRM หรือ SRM ได้ถึง 8.4 ล้านบาท (SRM ราคา 28,000 บาท/ 50 กรัม)

Production of internal reference plant specimens (Internal Reference Material & Inhouse Reference Material-IRM) for plant analysis in the Lower Southern laboratory, conducted by using leaves of 3 plants included para-rubber, oil palm and longkong. The leaves were random sampled followed the guidelines of FAO for quality management in Soil and Plant Laboratories. Testing of homogeneity and stability in a given time period, and analyzing assigned values of the main and secondary nutrients including nitrogen (N), phosphorus (P), potassium (K), calcium (Ca) and magnesium (Mg), were conducted in accordance with the guidelines of the International Harmonized Protocol for Proficiency Testing of (Chemical) Analytical Laboratories, AOAC.

Homogeneity of the plant specimens were tested through grinding, mixing, analyzing N, P and K and the Analysis of Variance (ANOVA one-way) was applied for data analysis which without cutting outliers. It was found that the  $F_{cal}$  value of N, P, K in para-rubber leaves were 2.44, 1.85 and 1.59, respectively. While the  $F_{cal}$  value in oil palm leaves were 2.28, 0.74 and 1.41 and of longkong leaves were 2.03, 1.99 and 0.41, respectively. These values are less than the  $F_{critical}$  value obtained from the table which is 3.02. It can be expressed that para-rubber, oil palm and longkong leaves were homogeneous and can be used as internal reference samples for finding the assigned value.

Determining the contents of N, P, K, Ca and Mg in these 3 homogenous plant leaves in order to set the assigned values, were conducted in parallel with the standard reference material (SRM). It was found that the contents of N, P, K, Ca and Mg in para-rubber leaves were  $2.51 \pm 0.251$ ,  $0.24 \pm 0.024$ ,  $1.23 \pm 0.0123$ ,  $1.16 \pm 0.116$  and  $0.20 \pm 0.020$  percent, respectively. While the contents in oil palm leaves were  $2.26 \pm 0.226$ ,  $0.14 \pm 0.014$ ,  $0.84 \pm 0.084$ ,  $0.92 \pm 0.092$  and  $0.35 \pm 0.035$  percent, and in

longkong leaves were  $2.42 \pm 0.242$ ,  $0.17 \pm 0.017$ ,  $2.10 \pm 0.210$ ,  $1.48 \pm 0.148$  and  $0.27 \pm 0.027$  percent, respectively.

Stability testing of these 3 plant leaf specimens were carried out by analyzing the contents of N, P, K, Ca and Mg. Ten samples of each plant leaf were analyzed at 3, 6, 12 and 18 months. During these 18 months or 1.5 year period, it was found that the analysis values were within the range of  $X \pm 2$  SD of the assigned value. The value of N, P, K, Ca and Mg in para-rubber leaves were  $2.475 \pm 0.099$ ,  $0.239 \pm 0.008$ ,  $1.181 \pm 0.231$ ,  $0.999 \pm 0.349$  and  $0.201 \pm 0.017$  percent respectively. The values in oil palm leaves were  $2.207 \pm 0.176$ ,  $0.138 \pm 0.008$ ,  $0.768 \pm 0.166$ ,  $0.777 \pm 0.243$  and  $0.355 \pm 0.030$  percent, respectively. While the values in longkong leaves were  $2.376 \pm 0.094$ ,  $0.168 \pm 0.008$ ,  $2.142 \pm 0.171$ ,  $1.207 \pm 0.392$  and  $0.276 \pm 0.024$  percent, respectively. The result showed that components of all these 3 plant leaves are stable. Therefore, it can be concluded that the leaves of para-rubber, oil palm and longkong are fully qualified for being an IRM and can be traced back to the standard reference material (SRM).

This experiment can also be revealed that, if using these 3 reference samples leaves which weighed about 2 kilograms each or 6 kilograms in total, 8.4 million baht of the government budget can be saved annually instead of purchasing CRM or SRM which its price is 28,000 baht per 50 grams.

## บทนำ (Introduction)

กรมวิชาการเกษตร โดยกองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร และสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 1-8 มีหน้าที่ให้บริการวิเคราะห์ธาตุอาหารในดิน พืช น้ำ และปุ๋ย เพื่อพัฒนางานวิจัยด้านการปรับปรุงคุณภาพและเพิ่มผลผลิตพืช ลดการใช้ปุ๋ย กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 8 เป็นตัวแทนของกรมวิชาการเกษตรที่ให้บริการวิเคราะห์พืชในส่วนภูมิภาคของภาคใต้ตอนล่าง ผลวิเคราะห์ที่ได้ต้องมีความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ ดังนั้นห้องปฏิบัติการจะต้องมีการควบคุมคุณภาพภายในโดยเฉพาะการการใช้วัสดุอ้างอิง (Reference material) ทดสอบควบคู่ไปกับตัวอย่างเป็นขั้นตอนการดำเนินงานในการควบคุมคุณภาพเพื่อเฝ้าระวังความใช้ได้ของการทดสอบและสอบเทียบที่ดำเนินการตามข้อกำหนดทางวิชาการของ ISO/IEC 17025 : 2005 ข้อ 5.9 การประกันคุณภาพผลการทดสอบ วัสดุอ้างอิงที่ใช้มีทั้ง วัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified reference material, CRM) วัสดุอ้างอิงมาตรฐาน (Standard reference material, SRM) ต้องนำเข้าจากต่างประเทศและมีราคาแพง วัสดุอ้างอิงภายใน (Internal reference material, IRM) จัดทำโดยห้องปฏิบัติการเองใช้ควบคุมคุณภาพภายใน ในการควบคุมคุณภาพผลการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ จำเป็นต้องใช้วัสดุอ้างอิงในการควบคุมผลวิเคราะห์ ซึ่งต้องใช้ในปริมาณมาก ไม่สามารถใช้วัสดุอ้างอิงรับรอง หรือวัสดุอ้างอิงมาตรฐานโดยตรงได้ จึงต้องจัดทำวัสดุอ้างอิงภายในขึ้น โดยต้องคำนึงถึงเนื้อของสาร (matrix) ความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity) ความคงที่หรือเสถียรภาพ (Stability) และจำนวนของตัวอย่างที่จัดเตรียมต้องมากเพียงพอ



การผลิตตัวอย่างอ้างอิงภายใน (IRM) เพื่อควบคุมคุณภาพผลการตรวจวิเคราะห์

วัสดุอ้างอิง (Reference Material :RM) หมายถึง วัสดุหรือสารที่มีสมบัติอย่างใดอย่างหนึ่งหรือมากกว่าซึ่งเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneous) เสถียร (stable) และผ่านการจัดเตรียมมาอย่างดีเพื่อใช้ในการสอบเทียบ (calibration) การประเมิน (assessment) วิธีวิเคราะห์ และการกำหนดค่า (assigning values) ให้กับวัสดุอื่น (ISO/IEC Guide 43-1; กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2557) ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ประเภท คือ 1) วัสดุอ้างอิงภายในหรือตัวอย่างอ้างอิงภายใน ( Internal Reference Material : IRM หรือ Inhouse Reference Material หรือ Quality Control Sample (QC Sample) หรือ Control Sample) หมายถึง RM ที่ห้องปฏิบัติการพัฒนาขึ้นเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในห้องปฏิบัติการ 2) วัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Material : CRM) หมายถึง RM ซึ่งผลิตและรับรองโดยองค์กรที่ได้รับการยอมรับในความสามารถทางด้านวิชาการและ 3) วัสดุอ้างอิงมาตรฐาน (Standard Reference Material : SRM) หมายถึง CRM ซึ่งผลิตโดยสำนักงานมาตรฐานแห่งชาติ (National Bureau of Standards : NBS) (Taylor , 1987) ตามข้อกำหนดทางวิชาการของ ISO/IEC 17025 ข้อ 5.9 การประกันคุณภาพผลการทดสอบ สอบเทียบ ระบุไว้ว่าห้องปฏิบัติการต้องมีขั้นตอนการดำเนินงานในการควบคุมคุณภาพเพื่อเฝ้าระวังความใช้ได้ของการทดสอบและสอบเทียบที่ดำเนินการ ข้อมูลที่ได้ต้องได้รับการบันทึกไว้ในลักษณะที่สามารถตรวจสอบแนวโน้มต่างๆได้ และถ้าทำได้ต้องใช้วิธีทางสถิติในการทบทวนผลต่างๆ ด้วยการเฝ้าระวังนี้ต้องมีการวางแผน และทบทวน และอาจรวมถึง วิธีต่อไปนีหรือวิธีอื่นที่เหมาะสม คือ ก) มีการใช้วัสดุอ้างอิงรับรองเป็นประจำและ/หรือมีการควบคุมคุณภาพภายในโดยใช้วัสดุอ้างอิงทุติยภูมิ ข) การเข้าร่วมในการเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการ หรือโปรแกรมการทดสอบความชำนาญ ค) การทดสอบหรือสอบเทียบซ้ำโดยวิธีการเดิมหรือต่างวิธี ง) การทดสอบหรือสอบเทียบซ้ำอีกโดยใช้ตัวอย่างที่เก็บไว้ จ) การหาความสัมพันธ์ของผลที่ได้สำหรับคุณลักษณะที่แตกต่างกันของตัวอย่าง จากข้อกำหนดดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า วัสดุอ้างอิงมีความสำคัญในการควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์ ซึ่งจะทำให้ห้องปฏิบัติการเป็นที่ยอมรับในระดับสากล ซึ่งการพัฒนาวัสดุอ้างอิงภายในหรือตัวอย่างอ้างอิงภายในเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในห้องปฏิบัติการมีหลายขั้นตอน คือ 1) การเก็บตัวอย่าง (collecting sample) 2) การเตรียมตัวอย่าง (sample preparation) 3) การคลุกตัวอย่าง (sample mixing) 4) การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity Testing) 5) การหาค่ากำหนดให้ (Establishing the Assigned Value) 6) การทดสอบความคงที่หรือความเสถียร (Stability Testing) (ISO/IEC Guide 35; ISO/IEC Guide 43-1; ISO 13528 : 2005 (E) Thompson & Wood, 1993)

ครั้งนั้นเป็นการผลิตพืชอ้างอิงภายในตามมาตรฐานสากลครั้งแรกของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์พืช กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 8 พืชอ้างอิงภายในที่ผลิตได้นำไปใช้ประโยชน์ในการประเมินคุณภาพภายใน ( internal quality assessment) ของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์พืชและเป็น การบ่งชี้ขีดความสามารถในการทดสอบของห้องปฏิบัติการอย่างต่อเนื่อง โดยนำมาวิเคราะห์ควบคู่ไปกับการวิเคราะห์ตัวอย่างพืชในงานประจำทำให้เกิดความมั่นใจแก่ผู้วิเคราะห์และผู้ให้บริการ ว่าผลวิเคราะห์มีความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ เพื่อใช้ในการแนะนำการใช้ปุ๋ยแก่พืช ลดต้นทุนการผลิตพืช และเป็นการช่วยรักษาสภาพสิ่งแวดล้อมทางอ้อมและที่สำคัญเป็นการลดต้นทุนการวิเคราะห์ที่ต้องนำเข้าวัสดุอ้างอิงมาตรฐานจากต่างประเทศ

**ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)**

อุปกรณ์เครื่องมือ และสารเคมี เครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่จำเป็นในการวิเคราะห์ ได้แก่ เครื่องย่อย ไนโตรเจนเครื่องกลั่นไนโตรเจนเครื่อง UV/VIS Spectrophotometer เครื่อง Flame Photometer เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) และเตาให้ความร้อน (hotplate) สารเคมี ได้แก่ Boric acid ( $H_3BO_3$ ), AR grade Kjeldahl tablets, AR grade Sodium hydroxide (NaOH), commercial grade Methyl red ( $C_{15}H_{15}N_3O_2$ ), indicator grade Methylene blue indicator grade Ethanol ( $C_2H_5OH$ ), AR grade Sulfuric acid conc. 95-97 % ( $H_2SO_4$ ), AR grade Nitric acid 65% ( $HNO_3$ ), AR grade Perchloric acid 70-72 % ( $HClO_4$ ), AR grade Ammonium molybdate, AR grade Ammonium metavanadate ( $NH_4VO_3$ ), AR grade Potassium dihydrogen phosphate ( $KH_2PO_4$ ), AR grade Strontium chloride hexahydrate ( $SrCl_2 \cdot 6H_2O$ ), AR grade สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียม 1000 ppm สารละลายมาตรฐานแคลเซียม 1000 ppm สารละลายมาตรฐานแมกนีเซียม 1000 ppm และ สารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส 1000 ppm

### วิธีการ

1. สํารวจพืชและเก็บตัวอย่างพืชจากพื้นที่ปลูกดังนี้ ปาล์มน้ำมัน (palm oil: P) จากแปลงนาย ประยูร แสงแก้ว อ.สะเตา จ.สงขลา ยางพารา (Rubber plant : R) จากศูนย์วิจัยและพัฒนาการ เกษตรสงขลา จ.สงขลา และ ลองกอง (Longkong: L) จากแปลงนางน้อย สุวรรณกาญจน์ ต. ควนลัง อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา โดยเก็บตัวอย่างพืชดังนี้
  - 1.1. ปาล์มน้ำมันเก็บตัวอย่าง ณ จากทางใบที่ 17 จากใบที่อยู่กึ่งกลางของทางใบ ช้างละ 6 ใบ ย่อย การนับทางใบต้องดูจากการเวียนของทางใบ เนื่องจากการเวียนของทางใบจะมี ลักษณะเวียนซ้ายและเวียนขวา และตัดส่วนที่อยู่ตรงกลางของทางใบย่อย ความยาว ประมาณ 8-10 นิ้ว แล้วฉีกเอาก้านใบ และขอบใบทั้ง 2 ช้างออก (ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมัน สุราษฎร์ธานี, 2551)
  - 1.2. ยางพารา เก็บตัวอย่างจาก 4 ทิศทางรอบต้น เก็บใบที่เจริญเติบโตเต็มที่ (นุชนารถ, 2552)
  - 1.3. ลองกอง เก็บตัวอย่างใบย่อยคูกกลางจากใบประกอบตำแหน่งที่ 2 ของกิ่งที่อยู่ในระดับล่างใน ระยะหลังการเก็บเกี่ยวซึ่งเป็นใบที่มีอายุประมาณ 5 เดือน (จำเป็นและคณะ, 2547) เก็บให้ ได้ตัวอย่างปริมาณมากพอ ใบมีสภาพสมบูรณ์ ไม่ถูกทำลาย
2. เตรียมตัวอย่างพืช ตาม Guidelines for quality management in soil and plant laboratories (Reeuwijk, 1998) โดยล้างทำความสะอาดตัวอย่างพืชในน้ำสะอาด 2 ครั้ง แล้ว ตามด้วยน้ำกลั่น 1 ครั้ง เพื่อให้ปราศจากปุ๋ย สารเคมี ฝุ่นละออง หรือสิ่งปนเปื้อนอื่นใดที่ติดมาใน ใบพืช จากนั้นนำตัวอย่างใส่ตะกร้า ให้ตัวอย่างสะเด็ดน้ำ แล้วนำตัวอย่างใส่ถุงกระดาษ นำไปอบ ในตู้อบความร้อนขนาดใหญ่ อุณหภูมิ  $70 \text{ }^\circ\text{C} \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 48-72 ชม. หรือจนน้ำหนักแห้ง คงที่ แล้วนำตัวอย่างที่แห้งมาบดด้วยเครื่องบดตัวอย่างพืชใช้ตะแกรงที่มีขนาด 0.5 มม. จากนั้น นำไปคลุกเคล้าให้เป็นเนื้อเดียวกัน โดยการนำตัวอย่างทั้งหมดใส่ถุงพลาสติกขนาด  $20 \times 30$  นิ้ว เขย่าไปมาหลายๆครั้ง และแบ่งเป็นส่วนย่อยๆ หลายๆถุง ในถุงพลาสติกขนาด  $14 \times 22$  นิ้ว เขย่า ไปมาหลายๆครั้ง นำแต่ละส่วนย่อยๆ หลายๆถุง มารวมกัน และบดตัวอย่างอีกครั้งผ่านตะแกรง ขนาด 1 มิลลิเมตร ทำการคลุกเคล้าอย่างนี้ทั้งหมด 5 ครั้ง ในแต่ละชนิดพืช ชั่งตัวอย่างใส่ถุง กระดาษ 100 กรัม จำนวน 20 ถุง จากนั้นนำไปทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน

3. การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างพืช ดำเนินการตามแนวทางของ International Harmonized Protocol for Proficiency Testing of (Chemical) Analytical Laboratories, AOAC (Thompson & Wood, 1993) โดยแบ่งตัวอย่างพืชทั้งหมดของแต่ละชนิด ซึ่งเป็น bulk sample ออกเป็น 50 subsample สุ่มตัวอย่างพืชมาแต่ละชนิดพืช 10 subsample แบ่งแต่ละ subsample เป็น 2 ส่วน วิเคราะห์ N P K Ca และ Mg ตามคู่มือการวิเคราะห์ธาตุอาหารในพืช (ปรีดาและคณะ, 2535. จำเป็น, 2536.; กลุ่มงานวิจัยเคมี, 2544.; จำเป็น, 2551) ควบคู่ไปกับการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงมาตรฐาน (SRM)
  - 3.1. ประเมินทางสถิติ เพื่อหาความแปรปรวน (Analysis of Variance – ANOVA แบบทางเดียว) โดยไม่ตัด outliers ออก (อมราและคณะ, 2545 ; Wernimont, 1996)
  - 3.2. ประเมินค่า Assigned Value ของ Internal Reference Material และการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงมาตรฐาน (Standard Reference Material- SRM)
4. ทดสอบความเสถียร (Stability testing) โดยสุ่มตัวอย่างพืชซึ่งผ่านการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน และมีค่า Assigned Value แล้ว ดำเนินการโดยวิเคราะห์เป็นระยะในช่วงเวลา 18 เดือน นำค่าที่วิเคราะห์ได้มาวิเคราะห์ค่าความเสถียร และเปรียบเทียบกับค่ากำหนด

ระยะเวลา เริ่มต้น ต.ค. 2558 สิ้นสุด ก.ย. 256 1

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต

สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 8

### ผลการวิจัย (Results)

1. ทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance แบบทางเดียว) โดยไม่ตัด outliers ของผลการวิเคราะห์ธาตุอาหารพืช พบว่ามีค่า F จากการคำนวณ ( $F_{cal}$ ) ตามตารางที่ 1 ซึ่งนำมาเปรียบเทียบกับค่าวิกฤต ( $F_{critical}$ ) พบว่าค่า  $F_{cal}$  = น้อยกว่าค่าวิกฤต ของ  $F_{0.05, 9, 10}$  3.02 แสดงว่าตัวอย่างใบพืชทั้ง 3 ชนิดมีความเป็นเนื้อเดียวกันทุกรายการวิเคราะห์

**ตารางที่ 1** ค่า F-Value ของผลการวิเคราะห์ธาตุอาหารในใบปาล์มน้ำมัน ยางพารา และลองกอง

ชนิดพืช	$F_{cal}$		
	N	P	K
ปาล์มน้ำมัน	2.28	0.74	1.41
ยางพารา	2.44	1.85	1.59
ลองกอง	2.03	1.99	0.41

2. พิจารณาค่ากำหนด (Establishing Assigned Value) ของตัวอย่างอ้างอิงพืชจากผลการวิเคราะห์ธาตุอาหาร ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม ตามตารางที่ 2 ซึ่งวิเคราะห์ควบคู่กับตัวอย่างอ้างอิงรับรอง (SRM 1515 Apple Leaves) โดยมีผลการวิเคราะห์ที่ได้อยู่ในช่วงของค่ารับรองทุกรายการวิเคราะห์

**ตารางที่ 2** แสดงค่าวิเคราะห์ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมของตัวอย่างพืชอ้างอิง

ชนิดพืช	รายการ	ไนโตรเจน (N) (%)	ฟอสฟอรัส (P) (%)	โพแทสเซียม (K) (%)	แคลเซียม (Ca) (%)	แมกนีเซียม (Mg) (%)
ใบปาล์มน้ำมัน	ค่าเฉลี่ย	2.26	0.14	0.84	0.92	0.35
	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.088	0.004	0.083	0.121	0.015
	ค่าความแปรปรวน	0.226	0.014	0.084	0.092	0.035
ใบยางพารา	ค่าเฉลี่ย	2.51	0.24	1.23	1.16	0.20
	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.050	0.004	0.115	0.174	0.008
	ค่าความแปรปรวน	0.251	0.024	0.123	0.116	0.020
ใบลองกอง	ค่าเฉลี่ย	2.42	0.17	2.10	1.48	0.27
	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.047	0.004	0.085	0.197	0.012
	ค่าความแปรปรวน	0.242	0.017	0.210	0.148	0.027

3. ผลการทดสอบ ความเสถียร ที่ระยะเวลา 3, 6, 12 และ 18 เดือน ค่าวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม อยู่ในช่วง ยอมรับ ของค่า Assigned Value พบว่า ของใบยางพาราอยู่ในช่วง  $2.475 \pm 0.099$ ,  $0.239 \pm 0.008$ ,  $1.181 \pm 0.231$ ,  $0.999 \pm 0.349$  และ  $0.201 \pm 0.017$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในใบปาล์มน้ำมันอยู่ในช่วง  $2.207 \pm 0.176$ ,  $0.138 \pm 0.008$ ,  $0.768 \pm 0.166$ ,  $0.777 \pm 0.243$  และ  $0.355 \pm 0.030$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และใบลองกองอยู่ในช่วง  $2.376 \pm 0.094$ ,  $0.168 \pm 0.008$ ,  $2.142 \pm 0.171$ ,  $1.207 \pm 0.392$  และ  $0.276 \pm 0.024$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

จากการผลิตตัวอย่างพืชอ้างอิงภายใน ( Internal Reference Material หรือ Inhouse Reference Material –IRM) สำหรับการวิเคราะห์พืชของห้องปฏิบัติการพื้นที่ภาคใต้ตอนล่าง จำนวน 3 ชนิดพืช ได้แก่ ยางพารา ปาล์มน้ำมัน และ ลองกอง โดยดำเนินการตาม Guidelines for Quality Management in Soil and Plant Laboratories, FAO ทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันและความเสถียรในช่วงเวลาที่กำหนด วิเคราะห์หาค่าจริง ( Assign Value) ของธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม ตามแนวทางของ International Harmonized Protocol for Proficiency Testing of (Chemical) Analytical Laboratories, AOAC สรุปผลได้ดังนี้

1. การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างพืชโดยผ่านการบด คลุกเคล้า วิเคราะห์ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมและนำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติหาความแปรปรวน ( Analysis of Variance – ANOVA แบบทางเดียว) โดยไม่ตัด outliers ออก พบว่าค่า  $F_{cal}$  ของใบยางพารา มีค่า 2.44, 1.85, และ 1.59 ตามลำดับ ใบปาล์มน้ำมัน มีค่า 2.28, 0.74 และ 1.41 ตามลำดับ และใบลองกอง มีค่า 2.03, 1.99 และ 0.41 ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าค่า  $F_{critical}$  ที่ได้จากรายการ คือ 3.02 แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างใบยางพารา ปาล์มน้ำมัน และ ลองกอง มีความเป็นเนื้อเดียวกัน สามารถนำไปหาค่ากำหนดให้ (Assigned Value) เพื่อเป็นตัวอย่างอ้างอิงภายในต่อไปได้
2. การหาค่ากำหนดให้ (Establishing the Assigned Value โดยดำเนินการวิเคราะห์ควบคู่ไปกับ วัสดุอ้างอิงมาตรฐาน (Standard Reference Material- SRM) : SRM 1515 Apple Leaves พบว่าปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมในใบยางพาราได้ค่า

เท่ากับ  $2.51 \pm 0.251$ ,  $0.24 \pm 0.024$ ,  $1.23 \pm 0.123$ ,  $1.16 \pm 0.116$  และ  $0.20 \pm 0.020$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในใบปาล์มน้ำมันได้ค่าเท่ากับ  $2.26 \pm 0.226$ ,  $0.14 \pm 0.014$ ,  $0.84 \pm 0.084$ ,  $0.92 \pm 0.092$  และ  $0.35 \pm 0.035$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนใบลองกองได้ค่าเท่ากับ  $2.42 \pm 0.242$ ,  $0.17 \pm 0.017$ ,  $2.10 \pm 0.210$ ,  $1.48 \pm 0.148$  และ  $0.27 \pm 0.027$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

3. การทดสอบความเสถียร (stability testing) ของตัวอย่างพืชทั้ง 3 ชนิด โดยทำการวิเคราะห์ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมในตัวอย่างพืชละ 10 ซ้ำ ที่ระยะเวลา 3, 6, 12 และ 18 เดือน ที่ระยะเวลา 18 เดือนหรือ 1.5 ปี พบว่าค่าวิเคราะห์อยู่ในช่วง  $\pm 2$  SD ของค่า Assigned Value นั่นคือปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมในใบยางพาราอยู่ในช่วง  $2.475 \pm 0.099$ ,  $0.239 \pm 0.008$ ,  $1.181 \pm 0.231$ ,  $0.999 \pm 0.349$  และ  $0.201 \pm 0.017$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในใบปาล์มน้ำมันอยู่ในช่วง  $2.207 \pm 0.176$ ,  $0.138 \pm 0.008$ ,  $0.768 \pm 0.166$ ,  $0.777 \pm 0.243$  และ  $0.355 \pm 0.030$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และใบลองกองอยู่ในช่วง  $2.376 \pm 0.094$ ,  $0.168 \pm 0.008$ ,  $2.142 \pm 0.171$ ,  $1.207 \pm 0.392$  และ  $0.276 \pm 0.024$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าส่วนประกอบของตัวอย่างใบพืชทั้งสามชนิดมีความเสถียร
4. สรุปได้ว่าใบยางพารา ปาล์มน้ำมัน และ ลองกอง ที่ผลิตได้มีสมบัติครบถ้วนสมบูรณ์ทุกประการในการเป็นตัวอย่างพืชอ้างอิงภายใน (IRM) และสามารถสอบกลับได้ไปยังวัสดุอ้างอิงมาตรฐาน (Standard Reference Material- SRM) ได้
5. ได้ตัวอย่างพืชอ้างอิงภายใน 3 ตัวอย่างๆละประมาณ 2 กิโลกรัม รวม 6 กิโลกรัม ซึ่งเมื่อคิดเป็นมูลค่าของวัสดุอ้างอิงรับรองแล้วจะสามารถประหยัดงบประมาณแผ่นดินในการจัดซื้อ CRM หรือ SRM ได้ถึง 8.4 ล้านบาท (SRM ราคา 28,000 บาท/ 50 กรัม)
6. ในการคลุกเคล้าตัวอย่างพืชเมื่อบดและผ่านตะแกรงขนาด 0.5 มิลลิเมตร แล้ว ควรแบ่งเป็นส่วนย่อยๆ หลายๆส่วน และทำการเขย่าในถุงที่มีอากาศโปร่งในแต่ละส่วนที่ย่อยก่อน แล้วจึงนำส่วนย่อยมาคลุกเคล้ารวมกันอีกครั้งในเครื่องบดตัวอย่าง ดีกว่าการคลุกเคล้าถุงใหญ่เพียง 1-2 ถุง
7. ในการนำตัวอย่างไปวิเคราะห์แต่ละครั้งควรนำตัวอย่างไปอบก่อนแล้วปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น ก่อนที่จะทำการชั่งตัวอย่าง เพื่อให้ได้น้ำหนักที่แท้จริงของตัวอย่าง และผลการวิเคราะห์จะไม่คลาดเคลื่อน

**พัฒนาวิธีวิเคราะห์และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไนเตรทในพืช**  
**Development and Method Validation on Analysis of Nitrate in Plant**

สุวลักษณ์ ไชยทอง นันทกานต์ ขุนโหร มนต์ชัย อินทร์ท่าอิฐ เรวดี ศิริยาน สาธิตา โพน้อย  
 Suwaluck Chaitong Nanthakan Khunhon Sathida Phonoy

**คำสำคัญ (Keywords)**

ไนเตรทในพืช วิธี Salicylic acid การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์  
 Nitrate in plants Salicylic acid method Method validation

**บทคัดย่อ (Abstract)**

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ไนเตรทในพืชด้วยวิธี Salicylic acid โดยศึกษาขั้นตอนการสกัดตัวอย่างพืชด้วยวิธีปั่นเหวี่ยงและวิธีกรองตัวอย่างด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และศึกษาการรบกวนของแอมโมเนียมไนโตรเจนจากการเติมสาร Diammonium hydrogen phosphate พบว่าผลการวิเคราะห์ทางสถิติของทั้งสองวิธีไม่มีความแตกต่างกัน และไม่พบการรบกวนของแอมโมเนียมไนโตรเจน จากนั้นทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี Salicylic acid โดยวิธีกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 ผลการตรวจสอบช่วงของการวัดและช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานที่จะนำมาใช้งานอยู่ในช่วงความเข้มข้น 0-2.00 และ 0-1.25 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีค่า Correlation coefficient, r เท่ากับ 0.9994 และ 0.9998 ตามลำดับ พิสัยของความเที่ยงที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูงได้ค่า HorRat(Horwitz's ratio) เท่ากับ 0.42, 0.36 และ 0.29 ตามลำดับ และการพิสูจน์ความแม่นยำโดยประเมินจาก %Recovery อยู่ในช่วง 99.87 – 108.00 % ทั้งความเที่ยงและความแม่นยำผ่านเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐาน AOAC ปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้มีค่าเท่ากับ 0.041 และ 0.106 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมการตรวจสอบความคงทนของวิธีวิเคราะห์จากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดตัวอย่างพืช โดยการประเมินค่าทางสถิติ t-test พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการวิเคราะห์ไนเตรทในพืชด้วยวิธี Salicylic acid เป็นวิธีที่เหมาะสมสามารถนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์พืชได้ เพราะเป็นวิธีที่ถูกต้อง แม่นยำและน่าเชื่อถือ

Development on salicylic acid method for determination of nitrate in plant samples, study on the extraction of plant samples by centrifuge and filter using filter paper No.1. In addition, Diammonium hydrogen phosphate was added into plant samples for study on  $\text{NH}_4^+$ -N interfere. As a result, both by centrifuge and filter, could possibly determine the  $\text{NO}_3^-$  - N concentration in plant samples without any significance from the determination by salicylic acid method. Moreover,  $\text{NH}_4^+$ -N did not interfere. Salicylic acid method for determination of nitrate in plant samples for laboratory was validated. The results showed linear range 0-2.00 mg/L and 0-1.25 mg/L with correlation coefficient, r 0.994 and 0.9998 ,respectively. HorRat values of precision at low medium and high  $\text{NO}_3^-$  - N concentration were 0.42, 0.36 and 0.29 ,respectively. The accuracy was evaluated by %recovery in range 99.87-108.00%

which were accepted by AOAC. Limit of detection and Limit of quantitation were 0.041 and 0.106mg/kg, respectively. Ruggedness under different temperature for the extraction of plant samples, the results showed that it was without any significance by t-test. Accordingly, analysis of nitrate in plant samples by Salicylic acid method was suitable for operating in laboratory.

## บทนำ (Introduction)

ไนเตรท เป็นเกลือของกรดไนตริก ซึ่งเป็นกรดแก่ เกลือไนเตรทที่ใช้ในทางการเกษตรและอุตสาหกรรม ได้แก่ เกลือไนเตรทของโซเดียม โพตัสเซียม แอมโมเนียม ทองแดง เหล็ก อลูมิเนียม โครเมียม โปรท และตะกั่ว นอกจากนี้สารไนเตรทถูกนำมาใช้ในทางด้านเกษตรกรรม เป็นปุ๋ยในพืชบางชนิด ได้แก่ แอมโมเนียมไนเตรท โพตัสเซียมไนเตรทและแคลเซียมไนเตรท ไนเตรทเป็นรูปหนึ่งของไนโตรเจนที่เป็นประโยชน์ต่อพืชสารไนเตรทที่พืชดูดขึ้นไปใช้ส่วนใหญ่พืชนำไปใช้ในการสร้างสารประกอบอินทรีย์หลายชนิด ส่วนที่ไม่สามารถนำไปใช้ยังคงเป็นไนเตรทไอออนสะสมอยู่ในเซลล์พืช หากสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการสะสมไนเตรท เช่น การปลูกพืชในสภาพแสงน้อย พืชจะมีการดูดสารไนเตรทจากดินเข้าไปมาก เนื่องจากพืชมีการกระตุ้นการสะสมไนเตรทเป็นการชดเชยแรงดันออสโมติก ทดแทนความเข้มข้นของอินทรีย์สาร(คาร์โบไฮเดรต) ที่ลดลงซึ่งเป็นผลมาจากอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงลดลงเมื่อความเข้มแสงลดลง นอกจากนี้ไนเตรทที่พืชดูดเข้าไปจะถูกรีดิวซ์ให้เป็นไนไตรต์และแอมโมเนียมตามลำดับ หลังจากนั้นแอมโมเนียมจะถูกนำไปสังเคราะห์เป็นกรดอะมิโนและอะไมด์ต่อไป (ศุภลักษณ์, 2549)

สารไนเตรทจะสะสมในส่วนต่างๆของพืชแตกต่างกันไป ในพืชต้นเดียวกันส่วนที่แก่กว่าจะมีการสะสมมากกว่าส่วนที่อ่อนกว่า ดอกจะมีความเข้มข้นของสารไนเตรทน้อยที่สุด รองลงมาคือ ผล ใบ รากและก้านใบจะมีการสะสมของไนเตรทมากที่สุด ในผักบางชนิดจะมีการสะสมของไนเตรทค่อนข้างสูงเช่น ปวยเล้ง ผักกาดเขียว ผักกาดหอม ปืท เป็นต้น

การบริโภคผักหรืออาหารที่มีไนเตรทสามารถทำให้เกิดอันตรายต่อร่างกายมนุษย์ได้ สารไนเตรทเมื่อเข้าสู่กระเพาะอาหารบางส่วนจะถูกเปลี่ยนให้เป็นสารไนไตรท์สามารถดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดไปทำปฏิกิริยากับเม็ดโลหิตโดยกระบวนการ oxidation เปลี่ยนแปลงเม็ดโลหิตจาก hemoglobin ให้กลายเป็น Methaemoglobin โดย oxidize  $Fe^{2+}$  ไนโมเลกุลของเม็ดเลือดในรูปของ hemoglobin ให้กลายเป็น  $Fe^{3+}$  เม็ดโลหิตที่เปลี่ยนแปลงไปนี้จะไม่มีคุณสมบัติในการรับและนำพาออกซิเจนไปเลี้ยงเซลล์ต่างๆในร่างกาย ทำให้เกิดอาการตัวเขียว อ่อนเพลีย หายใจหอบ ปวดศีรษะ และหัวใจเต้นแรง ดังนั้นการบริโภคสารไนเตรทเข้าไปจำนวนมาก ร่างกายจะเกิดภาวะขาดออกซิเจนอย่างฉับพลันได้ (กรรณิกา, 2555)

วิธี Salicylic acid เป็นวิธีวิเคราะห์ไนเตรทในพืชวิธีหนึ่งในห้องปฏิบัติการ โดยมีขั้นตอนการสกัดตัวอย่างเป็นวิธีปั่นเหวี่ยง ซึ่งเมื่อทำการปิเปตสารละลายไปวิเคราะห์จะมีตะกอนตัวอย่างพืชติดมากับสารละลาย ในการนี้จึงได้พัฒนาขั้นตอนการสกัดตัวอย่างเป็นวิธีกรองตัวอย่างด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ ( Method validation) เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นภายหลังการพัฒนาวิธี ปรับปรุง หรือดัดแปลงวิธีให้เหมาะสมแล้ว และมีจุดมุ่งหมายหลักเพื่อแสดงให้เห็นว่าวิธีทดสอบที่พัฒนาขึ้น หรือเลือกมานั้นเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการวิเคราะห์เพื่อให้บรรลุ

วัตถุประสงค์เฉพาะที่ตั้งไว้ การทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์และประเมินด้วยวิธีการทางสถิติ ว่าวิธีวิเคราะห์นี้มีความถูกต้อง และเหมาะสมตามวัตถุประสงค์ของการทำงาน คุณลักษณะเฉพาะของวิธีเหล่านี้ได้แก่ ความแม่นยำ ความเที่ยง ช่วงของการทำงาน และความเป็นเส้นตรง ขีดจำกัดของวิธีเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณและความทนของวิธี (ทิพวรรณ, 2549)

เนื่องจากในปัจจุบันนี้ กลุ่มงานวิเคราะห์วิจัยพืช วัตถุเคมีการเกษตร และนิวเคลียร์เทคนิคการเกษตร กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี ยังไม่มีวิธีสำหรับวิเคราะห์ไนเตรทในพืช ดังนั้นจึงต้องมีการพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีสำหรับวิเคราะห์ไนเตรทในพืช เพื่อให้ได้วิธีที่มีความถูกต้อง แม่นยำ และน่าเชื่อถือเพื่อที่จะนำวิธีที่ได้ไปใช้กับห้องปฏิบัติการวิเคราะห์

### ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

อุปกรณ์เครื่องมือ และ สารเคมี ได้แก่ เครื่อง UV-Visible Spectrophotometer เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 3 และ 5 ตำแหน่ง เครื่อง Water bath เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆที่ใช้ในการวิเคราะห์สารเคมี ได้แก่ Diammonium hydrogen phosphate Sulfuric acid Sulfanilic acid.H<sub>2</sub>O Potassium nitrate Salicylic acid และ Sodium hydroxide

### วิธีการ

1. ศึกษาและพัฒนาวิธีวิเคราะห์ไนเตรทในพืชด้วยวิธี Salicylic acid (Cataldo et al., 1975)
  - 1.1. เปรียบเทียบขั้นตอนการสกัดตัวอย่างพืชเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณ NO<sup>3-</sup>-N
    - 1.1.1. ชั่งตัวอย่างพืชที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสและบดละเอียดประมาณ 0.1xxx กรัม เติมน้ำปราศจากไอออน (DI) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนด้วยเครื่อง Water bath ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
    - 1.1.2. ปั่นหเวียง 15 นาที เปรียบเทียบกับวิธีการกรองตัวอย่างด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1
    - 1.1.3. ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 0.2 มิลลิลิตร เติมสารละลาย 5% Salicylic acid-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที และเติมสารละลาย Sodium hydroxide ความเข้มข้น 2 N ปริมาตร 19 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
    - 1.1.4. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-VIS spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร นำผลการวิเคราะห์ที่ได้มาทดสอบความแตกต่างของความแปรปรวน (F-test) และใช้สถิติ t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
  - 1.2. ศึกษาการรบกวนของ NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N ต่อวิธีวิเคราะห์ โดยเติม Diammonium hydrogen phosphate (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.1xxx กรัม ลงไปในตัวอย่างพืช สกัดและวิเคราะห์ NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N ประเมินทางสถิติ โดยใช้ t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
2. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไนเตรทในพืชด้วยวิธี Salicylic acid
  - 2.1. ศึกษาหาช่วงความเป็นเส้นตรงและช่วงการใช้งาน
    - 2.1.1. ชั่งตัวอย่างที่มีเนื้อสารชนิดเดียวกับ พืชแต่ตัวไม่มีสารที่ทดสอบ (Sample blank) เติมสารมาตรฐาน 7 ระดับความเข้มข้น วิเคราะห์หาปริมาณตามวิธีการวิเคราะห์
    - 2.1.2. สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน กับค่าความเข้มข้นแสงที่อ่านจากเครื่อง (Reading)



- 2.1.3. พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรง
- 2.1.4. เลือกช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง และดำเนินการตามข้อ 2.1.1 – 2.1.3 โดยเติมสารมาตรฐาน 7 ระดับในช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง
- 2.1.5. คำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เกณฑ์การยอมรับ  $r \geq 0.995$
- 2.2. ศึกษาหาค่าต่ำสุดที่วิธีวิเคราะห์สามารถวิเคราะห์ได้ (LOD) และค่าต่ำสุดที่สามารถรายงานผลได้ (LOQ)
  - 2.2.1. ชั่งตัวอย่างที่ไม่มีสารที่ทดสอบ และวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ หาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)
 
$$LOD = 3 \times S'_0$$

$$LOQ = 10 \times S'_0$$
  - 2.2.2. พิสูจน์ค่าความถูกต้อง และความเที่ยงของ LOQ ตามข้อ 2.3
- 2.3. พิสูจน์ค่าความถูกต้อง และความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์
  - 2.3.1. ชั่งตัวอย่างที่ไม่มีสารที่ทดสอบและชั่ง CRM เติมลงไปพร้อมกับทำตัวอย่างที่ไม่มีสารที่ทดสอบ
  - 2.3.2. วิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์ ระดับความเข้มข้นละไม่ต่ำกว่า 10 ซีซี
  - 2.3.3. ประเมินความถูกต้อง โดยเปรียบเทียบค่าที่ได้กับค่ารับรองของ CRM โดยมีเกณฑ์การยอมรับ % Recovery ตาม AOAC, 2016
  - 2.3.4. ประเมินความเที่ยงโดย HorRat (Horwitz's Ratio) เกณฑ์การยอมรับน้อยกว่า 1.3
- 2.4. ศึกษาความคงทนของวิธี (Ruggedness) ทดสอบ โดยเปลี่ยนอุณหภูมิการสกัดตัวอย่างพืช จาก 45 องศาเซลเซียส เป็น อุณหภูมิห้อง เปรียบเทียบทางสถิติ โดยใช้ t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ระยะเวลา เริ่มต้น ต.ค. 2558 สิ้นสุด ก.ย. 256 0

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มงานวิเคราะห์วิจัยพืชวัตถุเคมีการเกษตรและนิวเคลียร์เทคนิคการเกษตร  
 กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

### ผลการวิจัย (Results)

1. ศึกษาและพัฒนาวิธีการวิเคราะห์  $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 
  - 1.1. เปรียบเทียบเทคนิคการสกัดพืช ระหว่างการ ปั่นเหวี่ยง และกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 โดยใช้สถิติ t-test พบว่า  $t_{\text{exp}} < t_{\text{crit}}$  ( $t_{\text{exp}} = 1.04$ ,  $t_{\text{crit}} = 2.31$ ) แสดงว่าเทคนิคทั้ง 2 ให้ผลการวิเคราะห์ไม่แตกต่างกัน
  - 1.2. ศึกษาผลการรบกวนของ  $\text{NH}_4^+ \text{-N}$  โดยเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ของตัวอย่างที่ เติมและไม่เติมสาร Diammonium hydrogen phosphate พบว่าให้ผลการวิเคราะห์ไม่แตกต่างกัน โดยมีค่า  $t_{\text{exp}} < t_{\text{crit}}$  ( $t_{\text{exp}} = 0.47$ ,  $t_{\text{crit}} = 2.31$ ) แสดงให้เห็นว่า  $\text{NH}_4^+ \text{-N}$  ไม่มีผลรบกวนต่อการวิเคราะห์ไนเตรทในพืชด้วยวิธี Salicylic acid
2. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไนเตรทในพืชด้วยวิธี Salicylic acid (Cataldo et al., 1975)

- 2.1. ช่วงความเป็นเส้นตรงและช่วงการใช้งาน โดยสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน  $\text{NO}_3^- \text{-N}$  ; มิลลิกรัมต่อลิตร (แกน X) และค่าความเข้มของแสงที่อ่านจากเครื่อง (แกน y) พบว่าความเข้มข้น 0-2.00 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นช่วงที่มีความเป็นเส้นตรง ตามสมการ  $y=0.7121x - 0.008$  โดยมีค่า Correlation coefficient, r มากกว่า 0.995 เลือกความเข้มข้น 0-1.25 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นช่วงการใช้งาน โดยมีความเป็นเส้นตรงตามสมการ  $y=0.7313 + 0.0059$  มีค่า r เท่ากับ 0.9998 ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ
- 2.2. หา LOD และ LOQ โดยใช้ตัวอย่าง พืชที่ไม่มีสารที่ทดสอบ พบว่ามีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD หรือ  $S_0$ ) เท่ากับ 0.005 LOD เท่ากับ 0.041 มิลลิกรัมต่อลิตร และ LOQ เท่ากับ 0.076 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อพิสูจน์ LOQ ด้วยการ Spiked sample ที่ความเข้มข้น 0.076 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงใน Sample blank ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.026 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าได้ค่าความเข้มข้นของ  $\text{NO}_3^- \text{-N}$  เท่ากับ 0.106 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังนั้นในการทดลองนี้จึงมีค่า LOQ เท่ากับ 0.106 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการพิสูจน์ LOQ ด้วยการ Spiked sample ที่ความเข้มข้น 0.076 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงใน Sample blank ซึ่งมีค่า 0.026 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ค่า %recovery เท่ากับ 105.26 % ผ่านเกณฑ์การยอมรับ (เกณฑ์การยอมรับ 80 - 110 %) และ ได้ค่า HorRat เท่ากับ 0.38 ผ่านเกณฑ์การยอมรับ (เกณฑ์การยอมรับ HorRat < 2)
- 2.3. พิสูจน์ความถูกต้อง และความเที่ยง ของวิธีทดสอบ พบว่าวิธีวิเคราะห์ไนเตรท ที่ระดับความเข้มข้น 0.10 มิลลิกรัมต่อลิตร 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.75 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความถูกต้องโดยมีร้อยละการคืนกลับ (%Recovery) เท่ากับ 108.00 104.40 และ 99.87 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ 80 - 110 (AOAC, 2016) และวิธีดังกล่าวมีความเที่ยงอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ คือ HorRat < 2 โดยมี HorRat เท่ากับ 0.42 0.36 และ 0.26 ตามลำดับ
- 2.4. ศึกษา ความคงทนของวิธีจากอุณหภูมิที่เปลี่ยนไป พบว่าผลการวิเคราะห์จากการสกัดตัวอย่างพืชโดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และไม่ให้ความร้อนโดยวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างกัน โดยมีค่า  $t_{\text{exp}} < t_{\text{crit}}$  ( $t_{\text{exp}} = 0.79$ ,  $t_{\text{crit}} = 2.31$ )

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

พัฒนาขั้นตอนการสกัดตัวอย่างพืชด้วยวิธีปั่นเหวี่ยงเป็นวิธีการสกัดตัวอย่างด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และศึกษาผลการรบกวนของ  $\text{NH}_4^+ \text{-N}$  จากการเติมสาร Diammonium hydrogen phosphate ผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าทั้ง 2 วิธีไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และไม่พบการรบกวนของ  $\text{NH}_4^+ \text{-N}$  ต่อการวิเคราะห์ไนเตรทในพืชด้วยวิธี Salicylic acid ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไนเตรทในพืชด้วยวิธี Salicylic acid พบว่า Range และ Linearity อยู่ในช่วงความเข้มข้น 0-2.00 และ 0-1.25 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่า r เท่ากับ 0.9994 และ 0.9998 ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ คือ  $r > 0.995$  ผลการตรวจสอบ Precision และ Accuracy ที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง และ สูง ได้ค่า HorRat เท่ากับ 0.42, 0.36 และ 0.29 ตามลำดับ พบว่าค่า HorRat < 2 ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ และได้ค่า % Recovery ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และ สูง เท่ากับ 108.00, 104.40 และ 99.87 % ตามลำดับพบว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับซึ่งอยู่ในช่วง 80 - 110

%ได้ค่า LODเท่ากับ 0.041 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมและ LOQเท่ากับ 0.106 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมผลการทดสอบ Ruggedness จากการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ t-test พบว่าเมื่อเปลี่ยนอุณหภูมิการสกัดตัวอย่างพืชจากเดิมให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เปลี่ยนเป็นไม่ให้ความร้อนโดยวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมงผลของทั้ง 2 วิธีไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญจากผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่า วิธีวิเคราะห์ในเตรทในพืชด้วยวิธี Salicylic acid เป็นวิธีที่เหมาะสมแม่นยำ น่าเชื่อถือ และยอมรับได้

การวิเคราะห์ในเตรทในพืช ตามวิธี Salicylic acid สามารถนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์หิวใจพืช วัตถุประสงค์มีการเกษตรและนิเวศวิทยาเทคนิคการเกษตร กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี เพราะเป็นวิธีที่ผ่านการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี และเป็นวิธีที่แม่นยำ น่าเชื่อถือ และยอมรับได้

#### กิจกรรมที่ 4 การพัฒนาวิธีวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของปัจจัยการผลิต โดยใช้เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy; NIRS)

##### ศึกษาวิธีวิเคราะห์หาค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าการนำไฟฟ้าและธาตุอาหารรองในดิน โดยใช้เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้

##### The Study of pH, Electrical conductivity and Secondary macronutrients in Soil by Near Infrared Spectroscopy

ญาณธิชา จิตต์สะอาด จรรย์รัตน์ กุศลวิริยะวงศ์ สุภา โปธิจันทร์ สงกรานต์ มะลิซอน  
พจมาลย์ ภู่อสาร จิตติรัตน์ ชูชาติ

Yarnthicha Jittsa-aad Charirat Kusonwiriwong Supha Photichan Songkran Malisorn  
Pojjamarn Poosarn Jittirat Choochat

#### คำสำคัญ (Keywords)

ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าการนำไฟฟ้า ธาตุอาหารรอง เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้  
pH Electrical conductivity Secondary macronutrients Near infrared spectroscopy

#### บทคัดย่อ(Abstract)

การศึกษาวิธีวิเคราะห์หาคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของดิน โดยใช้เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy-NIRS) เนื่องจากเป็นวิธีใหม่ที่ได้รับการยอมรับอยู่ในปัจจุบัน เป็นวิธีการวัดแบบไม่ทำลายตัวอย่าง สามารถทำนายค่าทางเคมีได้อย่างรวดเร็ว แม่นยำ ประหยัดเวลา ลดต้นทุนในการใช้สารเคมี และไม่ทำลายสิ่งแวดล้อม ห้องปฏิบัติการจึงมีความสนใจศึกษาเทคนิคใหม่นี้เพื่อนำมาพัฒนาใช้ในห้องปฏิบัติการ โดยทำการศึกษาในปีงบประมาณ 2559 - 2561 ณ กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร โดยเตรียมตัวอย่างดินและวิเคราะห์ค่าทางเคมีในห้องปฏิบัติการ หาปริมาณค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยวิธีโดยการใช้อัตราส่วนของดินต่อน้ำเท่ากับ 1:1

แล้วนำไปวัดด้วย pH meter ค่าการนำไฟฟ้าด้วยวิธีโดยการใช้อัตราส่วนของดินต่อน้ำเท่ากับ 1:5 ส่วนของสารละลายไปวัดด้วย Conductivity meter ปริมาณแคลเซียม (Ca) และ แมกนีเซียม (Mg) ด้วยวิธีโดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์ Ammonium acetate 1 N ที่ pH 7.0 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย Atomic absorption spectrophotometer หรือ Inductive couple plasma และปริมาณกำมะถัน (S) ด้วยวิธี Turbidity นำตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอินฟราเรดย่านใกล้ (Near-Infrared Spectroscopy, NIRS) ในช่วงความยาวคลื่น 800 ถึง 2500 นาโนเมตร สร้างและปรับปรุงสมการคำนวณด้วยวิธี PLS calibration ได้สมการทำนาย มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient, R) เท่ากับ 0.86, 0.86, 0.92, 0.94 และ 0.84 ตามลำดับ ค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างสร้างสมการแคลิเบรชัน (Standard error of calibration, SEC) เท่ากับ 0.48, 0.12, 632.03, 51.10 และ 43.44 ค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบสมการ (Standard error of prediction, SEP) เท่ากับ 0.46, 0.10, 617.57, 53.76 และ 46.15 ตามลำดับ การศึกษานี้สามารถนำเทคนิค NIR Spectroscopy ไปใช้ในการประเมินค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ได้ในระดับการทำนายเพื่อปริมาณอย่างหยาบหรือประมาณค่าเบื้องต้น (Screening) ปริมาณแคลเซียม (Ca) ปริมาณแมกนีเซียม (Mg) และปริมาณกำมะถัน (S) ใช้เพื่อการแบ่งปริมาณอย่างหยาบ (Very rough screening) เป็นประโยชน์ต่อการให้บริการวิเคราะห์ดินได้ในระดับหนึ่งรวมทั้งทำให้ประหยัดกำลังคน เวลา สารเคมี และงบประมาณของแผ่นดินได้และสามารถพัฒนาผลงานวิจัยนี้ในการตรวจสอบคุณสมบัติอื่นของดินและปัจจัยการผลิตทางการเกษตรต่อไป

The study of chemical and physical properties analysis method in soil using Near Infrared Spectroscopy (NIRS), a new popular measurement method today. These new measurement method were to develop for non-destructive evaluation techniques, to measure fast, accurately, reduce times, costs and chemical uses in order to be appropriate environmentally safe. The study in 2011 - 2015 at System Development of Soil and Water Sub Group, Agricultural Chemistry Group, Agricultural Production Science Research and Development Division. Department of Agricultural. The soil preparation and chemical properties were measured by standard method for the pH using pH meter 1:1 (soil : water), electrical conductivity (EC) using Conductance meter 1:1 (soil : water), calcium (Ca) and magnesium (Mg) using ammonium acetate 1 N at pH 7.0 extraction, and sulfur (S) using turbidity method. The standard method analysis results will be compared with those of NIR measurement method using correlation analysis. Measure the spectrum with wavelength region from 800 nm to 2500 nm. Partial Least Squares Regression (PLSR) was used to develop the calibration equation for prediction of soil. The correlation coefficient (R) of 0.86, 0.86, 0.92, 0.94 and 0.84, standard error of calibration (SEC) of 0.48, 0.12, 632.03, 51.10 and 43.44 and standard error of prediction (SEP) is 0.46, 0.10, 617.57, 53.76 and 46.15 respectively. Research has found that the NIR spectroscopy technique can be used to evaluate soil pH had a prediction in screening. Similarly to calcium (Ca), magnesium (Mg) and sulfur (S) had a prediction in very rough

screening. Without destroying the sample, it is beneficial to provide soil analysis to a certain extent. This saves time and manpower, chemicals and budget earth. The development of this research will be use to examine the properties of soils and agricultural inputs effectively further.

## บทนำ (Introduction)

ดินมีคุณสมบัติแตกต่างกันไปตามปัจจัยการกำเนิดดิน สภาวะแวดล้อม ตลอดจนการใช้และจัดการพื้นที่ของมนุษย์ ประเทศไทยได้มีการใช้ทรัพยากรดินต่อเนื่องกันเป็นเวลานาน ดังนั้นความอุดมสมบูรณ์ของดินที่มีตามธรรมชาติจึงนับวันลดน้อยลง ทำให้ความอุดมสมบูรณ์ของดินในแต่ละพื้นที่มีความแตกต่างกัน การใช้ดินเพื่อทำการเกษตรให้ได้ผลดีจึงจำเป็นต้องวิเคราะห์ดินเพื่อประเมินคุณภาพดินก่อนเพื่อนำไปใช้ปรับปรุงบำรุงดินให้มีความเหมาะสมในการเพาะปลูกให้ได้ผลผลิตดีมีประสิทธิภาพ คุณสมบัติของดินตามคู่มือการเก็บตัวอย่างดินและน้ำเพื่อวิเคราะห์ กรมวิชาการเกษตร (2548) นำมาใช้ประเมินความอุดมสมบูรณ์ของดินเบื้องต้น ได้แก่ ความเป็นกรด-ด่างของดิน ( pH), ความต้องการปูนของดิน (LR), การนำไฟฟ้าของดิน (EC), อินทรีย์วัตถุในดิน (OM), ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดิน (P), โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน ( K) และเนื้อดิน (Texture) เป็นต้น ธาตุอาหารรอง ได้แก่ แคลเซียม (Ca) แมกนีเซียม (Mg) และกำมะถัน (S) เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีธาตุอาหารเสริมและอื่นตามความเหมาะสม

การวิเคราะห์ดินจะมีวิธีวิเคราะห์ที่แตกต่างกันและหลากหลายมาก ซึ่งในแต่ละวิธีก็มีข้อจำกัดและความเหมาะสมกับดินแตกต่างกัน ปัจจุบันกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ให้บริการวิเคราะห์ดินมีรายการวิเคราะห์ไม่น้อยกว่า 7 รายการต่อตัวอย่างต่อราย ในการวิเคราะห์ตัวอย่างแต่ละครั้งต่อรายการใช้เวลาในการวิเคราะห์ 1-2 วันทำการ จะต้องใช้ทั้งกำลังคนและสารเคมีมากเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy-NIRS) เป็นวิธีใหม่ที่ได้รับการนิยมนิยมอยู่ในปัจจุบัน เนื่องจากเป็นวิธีการวัดแบบไม่ทำลายตัวอย่าง สามารถทำนายค่าทางเคมีได้อย่างรวดเร็ว แม่นยำ ประหยัดเวลา ลดต้นทุนในการใช้สารเคมี และไม่ทำลายสิ่งแวดล้อมจากเหตุผลดังกล่าว ห้องปฏิบัติการจำเป็นจะต้องศึกษาเทคนิคใหม่นี้เพื่อนำมาพัฒนาใช้ในห้องปฏิบัติการ โดยทำการศึกษามาแล้วในปีงบประมาณ 2555-2558 รวมระยะเวลา 4 ปี จำนวน 4 รายการวิเคราะห์คือ เนื้อดิน อินทรีย์วัตถุ (OM) ฟอสฟอรัส (P) และโพแทสเซียม (K) ซึ่งยังไม่ครอบคลุมรายการที่ให้บริการวิเคราะห์ที่มีอยู่ในปัจจุบัน และผลการศึกษาออกมาเป็นไปในแนวโน้มที่ดี จึงทำการศึกษารายการวิเคราะห์เพิ่มเติม คือ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ค่าการนำไฟฟ้า (EC) แคลเซียม (Ca) แมกนีเซียม (Mg) และกำมะถัน (S) เพื่อให้ครอบคลุมรายการที่จำเป็นในการวิเคราะห์ดินต่อไป ซึ่งเทคนิค NIRS หากสามารถหาวิธีใหม่ที่ใช้ประเมินคุณสมบัติของดินเบื้องต้นได้ จะเป็นประโยชน์มากต่อการให้บริการวิเคราะห์ดินรวมทั้งทำให้ประหยัดกำลังคน เวลา สารเคมีและ งบประมาณของแผ่นดินได้

เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ ( Near Infrared Spectroscopy-NIRS) เป็นเทคนิคที่ใช้กันอย่างแพร่หลายทั้งในสหรัฐอเมริกา ยุโรป ญี่ปุ่น เกาหลี และจีน เป็นวิธีการวัดแบบไม่ทำลายตัวอย่าง สามารถทำนายค่าทางเคมีได้อย่างรวดเร็ว แม่นยำ ประหยัดเวลา ลดต้นทุนในการใช้สารเคมี ทราบผลภายใน 2-3 นาที และไม่ทำลายสิ่งแวดล้อม สามารถใช้ประเมินองค์ประกอบทาง

เคมีหรือสมบัติทางกายภาพ เช่น คุณสมบัติเชิงเคมีและเชิงคุณภาพของปุ๋ยอินทรีย์เคมี (จิตติมา, 2012) การพัฒนาระบบการวัดอินฟราเรดย่านใกล้สำหรับดินและปุ๋ยหมัก ( Ootake Y. *et al*,1980) การศึกษาและการทำนายองค์ประกอบของดินเหนียว ( Viscarraet *al*, (1998) ; Viscarraet *al*, (2009)) และมีการศึกษาวิธีวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของดินโดยเทคนิค NIRS (ญาณธิดา และคณะ , 2558) เทคนิคนี้ใช้หลักการหาความสัมพันธ์การดูดกลืนแสงในช่วง อินฟราเรด ย่านใกล้ (Near Infrared) คือ ช่วงความยาวคลื่น 800-2500 นาโนเมตรหรือเลขคลื่น 4000-12500 ต่อเซนติเมตร กับสารที่ต้องการประเมินหรือสารที่สามารถเกิดอันตรกิริยากับรังสีอินฟราเรดย่านใกล้ อันตรกิริยาดังกล่าว คือ การที่โมเลกุลดูดกลืนรังสีอินฟราเรดย่านใกล้เข้าไป ซึ่งจะมีผลต่อการสั่นของพันธะต่างๆ ในโมเลกุล ระดับการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดย่านใกล้ของสารที่ความยาวคลื่นต่างๆ จะปรากฏในสเปกตรัม NIRS (เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้และการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม, 2555) ซึ่งสารแต่ละชนิด เมื่อได้รับแสงจะมีคุณสมบัติในการดูดกลืนแสงได้ไม่เท่ากัน ทำให้ผลที่แสดงออกมาบอกถึงความแตกต่างได้ จึงนำค่าการดูดกลืนแสงมาประมวลผลวิเคราะห์ทั้งเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพที่ต้องการได้

### ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

อุปกรณ์เครื่องมือ และ สารเคมี ได้แก่ สเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ ( Near Infrared Spectroscopy-NIRS) เครื่องชั่ง 2 และ 4 ตำแหน่ง เครื่องเขย่า pH Meter Conductivity Meter Conductivity Standard 1413  $\mu\text{S}/\text{cm}$  Atomic Absorption Spectrophotometer UV-Vis spectrophotometer เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ สารเคมี ได้แก่ สารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน pH 4.0, 7.0 และ 10.0 สารละลายมาตรฐานแคลเซียม (Ca) และ แมกนีเซียม (Mg) 1000 mg/L Ammonium acetate ( $\text{NH}_4\text{OAc}$ ), AR grade Strontium chloride hexahydrate ( $\text{SrCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), AR grade Ammonium hydroxide ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ), AR grade Ammonium molybdate ( $(\text{NH}_4)_4\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ), AR grade Acetic acid ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ), AR grade สารละลายมาตรฐานซัลเฟต ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) ความเข้มข้น 1000 mg/L Calcium tetrahydrogen Di-orthophosphat ( $\text{CaH}_4(\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ), AR grade Barium chloride ( $\text{BaCl}_2$ ), AR grade Gum acacia, AR grade Activated charcoal, AR grade และตัวอย่างดินเครื่องมือ วัสดุ วิทยาศาสตร์ และสารเคมีทุกรายการวิเคราะห์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ ตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ ดินทางเคมีและฟิสิกส์ของห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำ

### วิธีการ

1. เตรียมตัวอย่างดิน (Reeuwijk, 1998 ; คู่มือการเก็บตัวอย่างดินและน้ำเพื่อวิเคราะห์ , 2548) โดยผึ่งดินให้แห้งในที่ร่มด้วยการนำดินมาเกลี่ยบนแผ่นพลาสติกที่วางอยู่บนชั้นในห้องที่มีอากาศถ่ายเทได้สะดวก เป็นห้องที่สะอาดปราศจากปุ๋ย สารเคมี หรือสิ่งปนเปื้อน หลังจากดินแห้งแล้วนำไปบดด้วยเครื่องบดดินและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร
2. วิเคราะห์ค่าทางเคมี 5 รายการ ตามวิธีมาตรฐานของห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำ (Devis & Freitas, 1976; Rhoades, 1996 ; คู่มือวิธีวิเคราะห์ดินทางเคมีและฟิสิกส์, 2553) ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยใช้อัตราส่วนของดินต่อน้ำเท่ากับ 1:1 วัดด้วย pH meter ค่าการนำไฟฟ้า (EC) โดยใช้อัตราส่วนของดินต่อน้ำเท่ากับ 1:5 วัดด้วย

Conductivity meter แคลเซียม ( Ca) และแมกนีเซียม ( Mg) โดยสกัดด้วยสารละลาย Ammonium acetate 1 N ที่ pH 7.0 วัดด้วย Atomic absorption spectrophotometer หรือ Inductive couple plasma และกำมะถัน (S) โดยวิธี Turbidity

3. พัฒนาวิธีวิเคราะห์ด้วย เทคนิค สเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ ( Near Infrared Spectroscopy-NIRS) โดยใช้ตัวอย่างดินเดียวกับตัวอย่างที่วิเคราะห์โดยวิธีห้องปฏิบัติการ ร่อน ผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร ใส่ใน Petri dish ให้มีความหนาประมาณ 1 เซนติเมตร

3.1. วัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้ แบบวิธีสะท้อน (Reflectance) ด้วยเครื่อง NIRS ที่ความยาวคลื่น (wave length) 800-2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น (wave number) 4000-12500 ต่อเซนติเมตร

3.2. สร้างสมการเพื่อใช้ประเมิน โดยหาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง กับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ค่าการนำไฟฟ้า (EC) ปริมาณแคลเซียม (Ca) ปริมาณแมกนีเซียม (Mg) และ ปริมาณกำมะถัน (S) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป NIRCal ของเครื่อง NIR (Buchi NIR Flex N-500, Switzerland )

3.3. ปรับปรุงสมการ โดย

3.3.1. ลดจำนวนข้อมูลสเปกตรัมให้ได้เฉพาะข้อมูลสเปกตรัมที่มีความสำคัญกับการทำนาย ค่าทางเคมีที่สนใจ ด้วยวิธี Partial Least Square (PLS) regression ซึ่งเป็นเทคนิค การวิเคราะห์หลายตัวแปร ( multivariate analysis) โดยการสร้างแพ็คเกจแบบ สมการเชิงเส้นตรงจากข้อมูลของสเปกตรัมเริ่มต้น และนำแพ็คเกจที่ได้ไปใช้ใน สมการถดถอย เพื่อให้สามารถประเมินค่าทางเคมีได้ถูกต้องมากขึ้น การประเมินผล ความสามารถของสมการแคลิเบรชัน (William, 2001) สามารถอธิบายได้จาก ค่าสถิติสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( Correlation coefficient, R) ดังตารางที่ 1 เลือก สมการ แคลิเบรชัน ที่มีค่าความสัมพันธ์ (R) สูง ค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างสร้างสมการแคลิเบรชัน (Standard of Calibration : SEC) และค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบ สมการ (Standard of Error of Prediction: SEP) ต่ำ

**ตารางที่ 1** แนวทางการอธิบายความสามารถของสมการแคลิเบรชันด้วยค่า R

ค่า R	ความสามารถของสมการแคลิเบรชัน
± 0.5	ไม่ควรใช้ในการทำนาย (Not usable)
± 0.51-0.70	ความสัมพันธ์ไม่ดีพอ (Poor correlation)
± 0.71-0.80	การทำนายเพื่อการแบ่งระดับปริมาณอย่างหยาบ (Rough screening)
± 0.81-0.90	การทำนายเพื่อแบ่งระดับปริมาณอย่างหยาบ หรือปริมาณค่าเบื้องต้น (Screening)
± 0.91-0.95	การทำนายเพื่องานวิจัย (Research) และงานทั่วไป
± 0.96-0.98	การทำนายเพื่อการประกันคุณภาพ (Quality assurance)
± 0.99 ขึ้นไป	ทุกงาน (Any application)

3.3.2. ประเมินความสามารถของสมการแคลิเบรชัน จากค่าทางสถิติ RPD (Ratio of standard error of performance to standard deviation) ซึ่งเป็นสัดส่วน ระหว่างค่า SEP และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าทางเคมี ของตัวอย่างในกลุ่มที่ใช้ ในการทดสอบความแม่นยำของสมการแคลิเบรชัน ตามแนวทางในตารางที่ 2

**ตารางที่ 2** แนวทางการพิจารณาค่าความสัมพันธ์ ของค่า RPD สมการแคลิเบรชัน

ค่า RPD	การคัดแยกกลุ่มตัวอย่าง (Classification)	การประยุกต์ใช้เพื่อวิเคราะห์เชิงปริมาณ
0.0-2.3	แย่มาก (Very poor)	ไม่แนะนำให้ใช้ (Not recommended)
2.4-3.0	ไม่ดีพอ (Poor)	การแบ่งระดับปริมาณอย่างหยาบ (Very rough screening)
3.1-4.9	ปานกลาง (Fair)	การแบ่งระดับปริมาณ (Screening)
5.0-6.4	ดี (Good)	การควบคุมคุณภาพ (Quality control)
6.5-8.0	ดีมาก (Very good)	การควบคุมกระบวนการ (Process control)
8.1 ขึ้นไป	ยอดเยี่ยม (Excellent)	ทุกงาน (Any application)

3.3.3. นำสมการไปประเมินค่าความเป็นกรด-ด่าง ( pH) ค่าการนำไฟฟ้า (EC) ปริมาณแคลเซียม (Ca) ปริมาณแมกนีเซียม (Mg) และปริมาณกำมะถัน (S) ในตัวอย่างดินอื่นๆ จนแน่ใจว่าสมการมีประสิทธิภาพในการประเมิน

ระยะเวลา เริ่มต้น ต.ค. 2558 สิ้นสุด ก.ย. 2561

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มงาน วิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี  
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

#### ผลการวิจัย (Results)

1. เตรียม และวิเคราะห์ตัวอย่างด้วยวิธีห้องปฏิบัติการ จำนวน 530 ตัวอย่าง ได้ผลการวิเคราะห์ในค่าความกรด-ด่าง (pH) ค่าการนำไฟฟ้า (EC) แคลเซียม (Ca) แมกนีเซียม (Mg) และกำมะถัน (S) ได้ผลการวิเคราะห์ตามตารางที่ 3

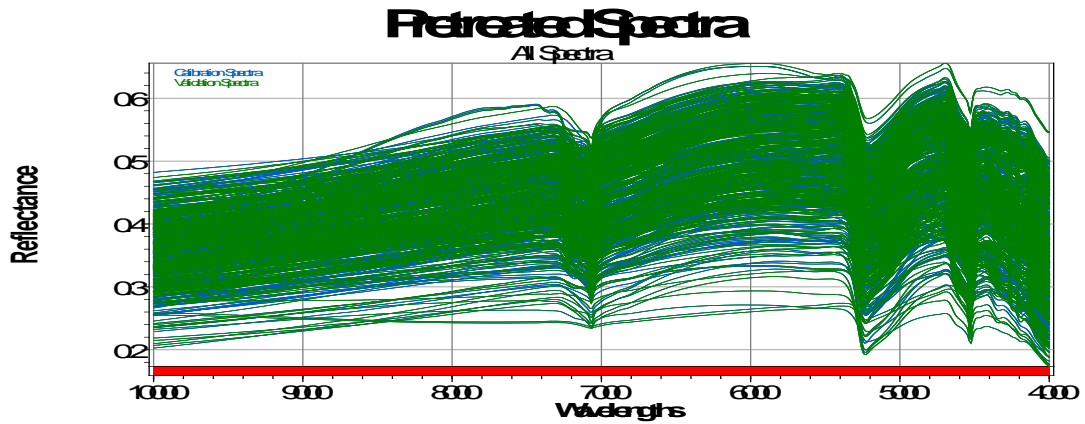
**ตารางที่ 3** ผลวิเคราะห์หาค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ค่าการนำไฟฟ้า (EC) ปริมาณแคลเซียม (Ca) ปริมาณแมกนีเซียม (Mg) และปริมาณกำมะถัน (S) โดยวิธีห้องปฏิบัติการ

รายการวิเคราะห์	pH	EC	Ca	Mg	S
จำนวนตัวอย่าง	530	530	469	432	489
พิสัย	3.0-8.3	0.009-3.730	11-7,783	4-873	0-490
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.91	0.23	1513.05	155.90	127.37
หน่วย	-	ds/m	mg/kg	mg/kg	mg/kg

2. พัฒนาริธีวิเคราะห์ด้วยเทคนิค NIRS

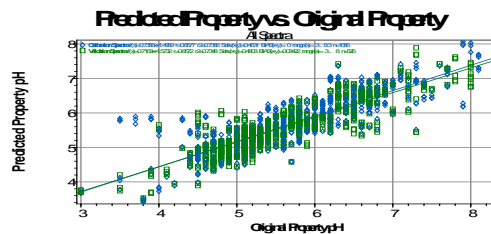
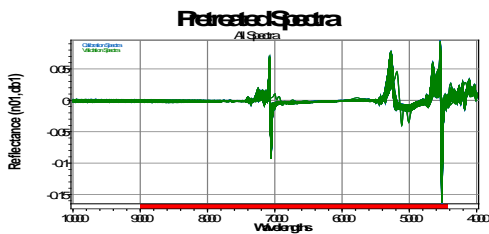
2.1. นำตัวอย่างดิน 530 ตัวอย่าง มาวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้ เครื่อง NIRS แบบวิธีสะท้อน (Reflectance) โดยใช้แสงที่มีความยาวคลื่น (wave length) 800-2500 นาโนเมตร ได้สเปกตรัมของตัวอย่างดิน เริ่มต้น (Original spectra) ตามภาพที่ 1





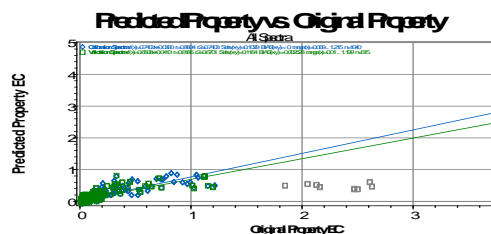
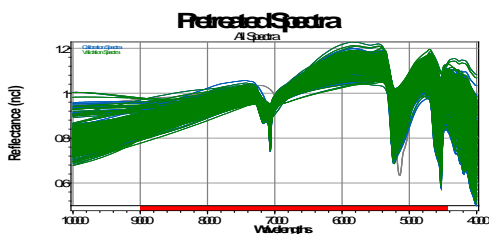
ภาพที่ 1 ตัวอย่างสเปกตรัมเริ่มต้น (Original spectra) ของตัวอย่างดิน โดย NIRS

- 2.2. สร้างและปรับปรุงสมการทำนายค่า โดยปรับแต่งด้วยวิธีแตกต่างกัน ได้ผลการปรับแต่งดังนี้
- 2.2.1. สมการความเป็นกรด-ด่าง (pH) ปรับแต่งสเปกตรัม (Pretreatment) ที่ตอบสนองดีที่สุด ด้วยวิธี Normalization between 0 and 1 (n01) และ Derivative 1st BCAP (db1) ได้ผลการปรับแต่งตามภาพที่ 2



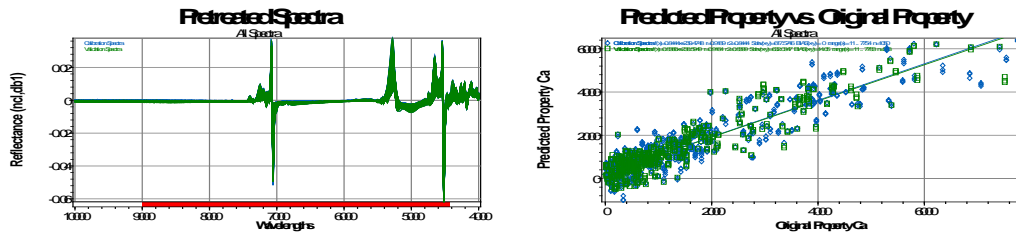
ภาพที่ 2 ค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าทางเคมีจากห้องปฏิบัติการของค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และค่าจากการประเมินจากเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy-NIRS)

- 2.2.2. สมการ ค่าการนำไฟฟ้า ปรับแต่งสเปกตรัมที่ตอบสนองดีที่สุด ด้วยวิธี Normalization by closure (ncl) ตามภาพที่ 3



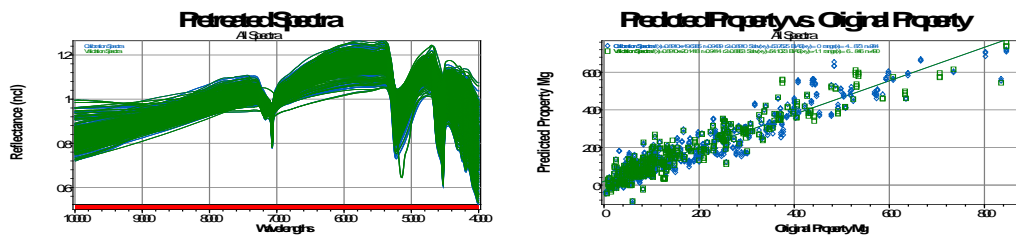
ภาพที่ 3 ค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าทางเคมีจากห้องปฏิบัติการของค่าการนำไฟฟ้า (EC) และค่าจากการประเมินจากเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy-NIRS)

2.2.3. สมการ แคลเซียม (Ca) ปรับแต่งสเปกตรัมที่ตอบสนองดีที่สุด ด้วยวิธี Normalization by closure(ncl) และ Derivative 1st BCAP (db1) ตามภาพที่ 4



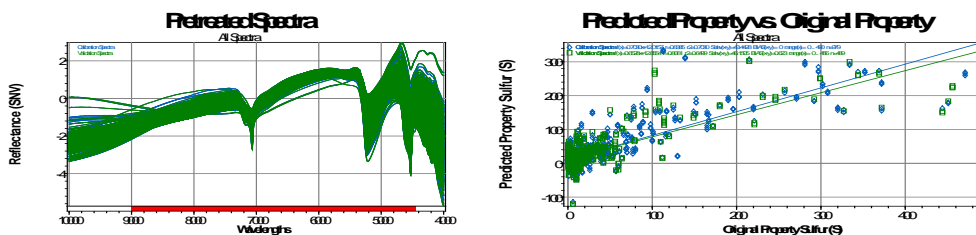
ภาพที่ 4 ค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าทางเคมีจากห้องปฏิบัติการของปริมาณแคลเซียม (Ca) และค่าจากการประเมินจากเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy-NIRS)

2.2.4. สมการ แมกนีเซียม (Mg) ปรับแต่งสเปกตรัมที่ตอบสนองดีที่สุด ด้วยวิธี Normalization by closure (ncl) ตามภาพที่ 5



ภาพที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าทางเคมีจากห้องปฏิบัติการของปริมาณแมกนีเซียม (Mg) และค่าจากการประเมินจากเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy-NIRS)

2.2.5. สมการ กำมะถัน (S) ปรับแต่งสเปกตรัมที่ตอบสนองดีที่สุด ด้วยวิธี Standard Normal Variant (SNV) ตามภาพที่ 6



ภาพที่ 6 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าทางเคมีจากห้องปฏิบัติการของปริมาณกำมะถัน (S) และค่าจากการประเมินจากเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy-NIRS)

ประเมินความสามารถของสมการทำนาย พบว่ามีผลจาก ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ ( R) ค่าความผิดพลาดมาตรฐานของการจำลอง ( SEC) ความผิดพลาดมาตรฐานของการทำนาย (SEP) และสัดส่วนระหว่างค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าทางเคมีและค่า SEP (RPD) ได้ผล

การประเมินตามตารางที่ 4 จะเห็นได้ว่าสมการแคลิเบรชันในรายการค่าความเป็นกรดต่าง และค่าการนำไฟฟ้ามีความสามารถอยู่ในระดับ การทำนายปริมาณเบื้องต้นได้ แต่ยังไม่สามารถประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณได้ ส่วนรายการแคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถัน พบว่าสมการแคลิเบรชันมีความสามารถอยู่ในระดับการทำนายเพื่อวิจัย โดยสามารถประยุกต์ใช้ในการแบ่งระดับปริมาณอย่างหยาบได้ แต่ยังมี การตอบสนองยังไม่ดีพอ เนื่องจากค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างสร้างสมการแคลิเบรชัน (SEC) และค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบสมการ (SEP) สูง

**ตารางที่ 4** ค่าทางสถิติของสมการค่าการดูดกลืนแสงของค่าความเป็นกรด-ต่าง ( pH) ค่าการนำไฟฟ้า (EC) ปริมาณแคลเซียม (Ca) ปริมาณแมกนีเซียม (Mg) และปริมาณกำมะถัน (S) ที่ประเมินจากเทคนิคสเปกโตรสโกปี อินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy-NIRS)

รายการวิเคราะห์	R	SEC	SEP	RPD	ความสามารถของสมการแคลิเบรชัน	การคัดแยกกลุ่มตัวอย่าง	การประยุกต์ใช้เพื่อวิเคราะห์เชิงปริมาณ
ค่าความเป็นกรด-ต่าง (pH)	0.86	0.48	0.46	1.97	การทำนายเพื่อแบ่งระดับปริมาณอย่างหยาบ หรือปริมาณค่าเบื้องต้น (Screening)	แย่มาก (Very poor)	ไม่แนะนำให้ใช้ (Not recommended)
ค่าการนำไฟฟ้า (EC)	0.86	0.12	0.10	2.30	การทำนายเพื่อแบ่งระดับปริมาณอย่างหยาบ หรือปริมาณค่าเบื้องต้น (Screening)	แย่มาก (Very poor)	ไม่แนะนำให้ใช้ (Not recommended)
แคลเซียม (Ca)	0.92	632.03617.57	2.45	2.45	การทำนายเพื่องานวิจัย (Research) และงานทั่วไป	ไม่ดีพอ (Poor)	การแบ่งระดับปริมาณอย่างหยาบ (Very rough screening)
แมกนีเซียม (Mg)	0.94	51.10	53.76	2.90	การทำนายเพื่องานวิจัย (Research) และงานทั่วไป	ไม่ดีพอ (Poor)	การแบ่งระดับปริมาณอย่างหยาบ (Very rough screening)
กำมะถัน (S)	0.84	43.44	46.15	2.76	การทำนายเพื่อแบ่งระดับปริมาณอย่างหยาบ หรือปริมาณค่าเบื้องต้น (Screening)	ไม่ดีพอ (Poor)	การแบ่งระดับปริมาณอย่างหยาบ (Very rough screening)

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy-NIRS) ใช้หลักการวัดความสัมพันธ์ระหว่างค่าวิเคราะห์ทางเคมีในห้องปฏิบัติการและปริมาณการดูดกลืนแสง ด้วยวิธีการสะท้อนแสง โดยใช้แสงที่มีความยาวคลื่น 800-2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น 4000-12500 ต่อเซนติเมตร สามารถนำมาใช้ประเมินค่าความเป็นกรด-ต่าง (pH) ได้ในระดับการทำนายเพื่อปริมาณอย่างหยาบหรือ ปริมาณค่าเบื้องต้น (Screening) ปริมาณแคลเซียม (Ca) ปริมาณแมกนีเซียม (Mg) และปริมาณกำมะถัน (S) การประยุกต์ใช้เพื่อวิเคราะห์เชิงปริมาณใช้เพื่อการแบ่งปริมาณอย่างหยาบ (Very rough screening) ส่วนค่าการนำไฟฟ้า (EC) การประยุกต์ใช้เพื่อวิเคราะห์เชิงปริมาณไม่แนะนำให้ใช้ (Not recommended) และสามารถพัฒนาและปรับปรุงสมการเพื่อนำมาใช้ประเมินค่าให้ดีขึ้นโดยการเพิ่มปริมาณตัวอย่างให้มากขึ้นและมีความสม่ำเสมอเพื่อให้สเปกตรัมเป็นตัวแทนที่ดีของตัวอย่าง และครอบคลุมการใช้งานจริง หรือสามารถแบ่งช่วงสเปกตรัมเพื่อสร้างสมการให้แคบลง จะทำให้สามารถลดค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างสร้างสมการแคลิเบรชัน

(SEC) และค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบสมการ (SEP) จะทำให้สมการทำนายมีความถูกต้อง แม่นยำมากขึ้น

ศึกษาการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของธาตุอาหารหลักในตัวอย่างปุ๋ยเคมีอ้างอิงภายใน  
โดยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้

Study on Homogeneity of Internal Reference Material By Near Infrared  
Spectroscopy

สงกรานต์ มะลิสอน ชฎาพร คงนาม สุภากร ดวนใหญ่ รัตนาภรณ์ คชวงศ์ อาธิยา ปุ่นประโคน  
ญาณธิชา จิตต์สะอาด จีร์รัตน์ กุศลวิริยะวงศ์

Songkran Malisorn Chadaporn Khongnam Supakorn Duanyai  
Rattanaporn Cochawong Arthiya Punprakhon Yarnthicha Jittsa-aad  
Charirat Kusonwiriya-wong

คำสำคัญ (Keywords)

ความเป็นเนื้อเดียวกัน ตัวอย่างอ้างอิงภายใน สเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้  
Homogeneity Internal reference material Near infrared spectroscopy

บทคัดย่อ (Abstract)

งานวิจัยนี้มุ่งศึกษาการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของธาตุอาหารหลักในตัวอย่างปุ๋ยเคมีอ้างอิงภายในโดยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ เพื่อเป็นทางเลือกที่มีความสะดวก รวดเร็วในการวิเคราะห์ ลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายต่อผู้วิเคราะห์ โดยการรวบรวมตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสทั้งหมด ( $P_2O_5$ ) และโพแทสเซียมที่ละลายน้ำ ( $K_2O$ ) ให้ครอบคลุมช่วงความเข้มข้นตัวอย่างปุ๋ยเคมี และนำไปวิเคราะห์โดยวิธีของห้องปฏิบัติการกรมวิชาการเกษตร แล้ววัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง NIR จำนวน 381 ตัวอย่าง พบว่า ได้สเปกตรัมและสมการปรับแต่งสเปกตรัมแสดงความสัมพันธ์ ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสทั้งหมด ( $P_2O_5$ ) และโพแทสเซียมที่ละลายน้ำ ( $K_2O$ ) เพื่อใช้เป็นสมการทำนายผลที่มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สูง (Correlation coefficient ; R) ค่าความคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์ต่ำ (Standard of Calibration : SEC) ค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมินต่ำ (Standard of Error of Prediction: SEP) พบว่ารายการทดสอบไนโตรเจนทั้งหมดได้สมการทำนายผลที่มีการปรับแต่งสเปกตรัมแบบ Normalization by Maxima\*, Second Derivative Smoothing Gap2 (nma,ds2g2) ค่า R 0.9292 ค่า SEC 2.2194 ค่า SEP 2.4472 รายการทดสอบฟอสฟอรัสทั้งหมด ( $P_2O_5$ ) มีการปรับแต่งสเปกตรัมแบบ First Derivative Taylor 3 Points, Normalization between 0 to 1\* (dt1,n01) ค่า R 0.9140 ค่า SEC 3.7199 ค่า SEP 3.2735 และรายการทดสอบโพแทสเซียมที่ละลายน้ำ ( $K_2O$ ) ใช้สเปกตรัมแบบ Original ค่า R 0.8250 ค่า SEC 6.1296 ค่า SEP 6.2192

จากการเตรียมตัวอย่างปุ๋ยเคมีอ้างอิงภายในที่มีสูตรต่างๆ จำนวน 14 สูตร วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสทั้งหมด ( $P_2O_5$ ) และโพแทสเซียมที่ละลายน้ำ ( $K_2O$ ) โดยวิธีของ

ห้องปฏิบัติการกรมวิชาการเกษตร และวิธี NIR เพื่อพิสูจน์ความเป็นเนื้อเดียวกันโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One way Analysis of variance)เปรียบเทียบ ค่า F จากการคำนวณ (F - cal) และค่า F จากตารางที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (F - crit) พบว่า ผลการพิสูจน์ความเป็นเนื้อเดียวกันของทั้ง 2 วิธีสอดคล้องกันร้อยละ 100

จากงานวิจัยนี้ทำให้กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี ได้วิธีทางเลือกในการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสทั้งหมด ( $P_2O_5$ ) และโพแทสเซียมที่ละลายน้ำ ( $K_2O$ ) เพื่อพิสูจน์ความเป็นเนื้อเดียวกันสำหรับตัวอย่างปุ๋ยเคมีอ้างอิงภายใน ที่มีความสะดวกรวดเร็วมากยิ่งขึ้น ลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายต่อผู้วิเคราะห์

The aim of the research to study on homogeneity of Internal reference material by Near Infrared Spectroscopy. It was rapid method, reduce chemicals, no harmful to analysts. Collected samples were comprehensive concentration about 381 sample. The samples was total nitrogen, total phosphorus as  $P_2O_5$  and water soluble potassium as  $K_2O$ . Analyzed by reference method and NIR method both. Create and improve equations to evaluated of Internal Reference Material, found that total nitrogen had a pretreatment of spectra was Normalization by Maxima \*, Second Derivative Smoothing Gap2 (nma, ds2g2), R 0.9292, SEC 2.2194 and SEP 2.4472. Total phosphorus as  $P_2O_5$ , First Derivative Taylor 3 Points, Normalization between 0 to 1 \* (dt1, n01), R 0.9140, SEC 3.7199 and SEP 3.2735. Water soluble potassium as  $K_2O$  using original spectra, R 0.8250, SEC 6.1296 and SEP 6.2192

Internal reference material was analyze by reference methods both NIR method as total nitrogen, total phosphorus as  $P_2O_5$  and water soluble potassium as  $K_2O$  for testing homogeneity, compare F values from calculate (F - cal) and F values from the table at the significance level 0.05 (F - crit). It was found the results of the homogeneous of both methods were 100 percent is going the same.

Agricultural Chemistry Research Group had alternative methods for total nitrogen, total phosphorus as  $P_2O_5$  and water soluble potassium as  $K_2O$  to evaluated homogeneity of Internal reference material.

## บทนำ (Introduction)

วัสดุอ้างอิง (reference materials; RM) หมายถึงวัสดุหรือสารที่มีสมบัติหนึ่งอย่างหรือหลายอย่าง มีความเป็นเนื้อเดียวกัน และจัดทำอย่างดีที่สุด สำหรับใช้สอบเทียบอุปกรณ์ใช้ในการประเมินวิธี หรือใช้ในการกำหนดค่าวัสดุต่างๆ การศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกันของวัสดุอ้างอิง เพื่อยืนยันว่าตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันในสิ่งที่ต้องการวัดอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งควรทำก่อนแจกจ่ายตัวอย่าง และใช้สถิติที่เหมาะสมในการประเมิน (อุทุมพร และอุษา , 2549) โดยการวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันจะใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way Analysis of Variance) ซึ่งเป็นวิธีทางสถิติที่ใช้ทดสอบเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของกลุ่มประชากร ในกรณีที่มีกลุ่มประชากรตั้งแต่ 2 กลุ่มขึ้นไป (บุญเรียง, 2536)

ปัจจุบันกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ยดำเนินการในขั้นตอนการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิงภายในโดยการสุ่มตัวอย่างจากตัวอย่างทั้งหมดที่ผสมคลุกเคล้ากันเป็นอย่างดี 10 ตัวอย่าง แต่ละตัวอย่างแบ่งออกเป็น 2 ส่วน รวม 20 ตัวอย่าง ส่งตัวอย่างวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสทั้งหมด ( $P_2O_5$ ) และโพแทสเซียมที่ละลายน้ำ ( $K_2O$ ) โดยวิธีวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการกรมวิชาการเกษตร ซึ่งแต่ละรายการทดสอบจะดำเนินการโดยมีขั้นตอนระยะเวลา และสารเคมีที่ใช้แตกต่างกัน จากนั้นนำผลวิเคราะห์ที่ได้วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way Analysis of Variance) และประเมินผลโดยการเปรียบเทียบ ค่า F จากการคำนวณ ( $F - cal$ ) และค่า F จากตารางที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ( $F - crit$ ) แสดงว่าตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่เตรียมขึ้นมีความเป็นเนื้อเดียวกัน สามารถนำไปใช้เป็นตัวอย่างปุ๋ยเคมีอ้างอิงภายในได้ กรณี  $F-cal > F-crit$

เทคนิคการใช้พลังงานคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าย่านความถี่ Near Infrared (NIR) เป็นเทคนิคที่วิเคราะห์องค์ประกอบต่างๆในตัวอย่าง เป็นองค์ความรู้หนึ่งที่ใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลายในต่างประเทศ ปัจจุบันในประเทศไทยก็ได้มีการนำเทคนิคนี้มาใช้และพัฒนาอย่างต่อเนื่องทั้งด้านอุตสาหกรรมและการเกษตร เนื่องจากเป็นเทคนิคที่สามารถทำนายค่าทางเคมีได้อย่างรวดเร็ว ประหยัดเวลา ไม่ทำลายตัวอย่าง ลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตราย และปลอดภัยกับผู้วิเคราะห์ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของธาตุอาหารหลักในตัวอย่างปุ๋ยเคมีอ้างอิงภายใน เพื่อเป็นทางเลือกวิธีวิเคราะห์เพื่อพิสูจน์ความเป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้เทคนิค NIRS

### ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

อุปกรณ์เครื่องมือ และสารเคมี ได้แก่ เครื่อง Spectrophotometer เครื่อง Flame photometer อุปกรณ์การย่อยและกลั่นไนโตรเจน (Macro Kjeldahl Digestion Apparatus and Distillation Apparatus) เครื่อง NIR (BuchiNIRFlex N-500, Switzerland) บิวเรตเตอระเหยไฟฟ้าเครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง เครื่องแก้ว และวัสดุอื่นๆ สำหรับวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสทั้งหมด ( $P_2O_5$ ) และโพแทสเซียมที่ละลายน้ำ ( $K_2O$ ) ขวดพลาสติกสำหรับบรรจุตัวอย่างสารเคมีได้แก่ สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสทั้งหมด ( $P_2O_5$ ) และโพแทสเซียมที่ละลายน้ำ ( $K_2O$ )

### วิธีการ

1. คัดเลือก รวบรวมตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสทั้งหมด ( $P_2O_5$ ) และโพแทสเซียมที่ละลายน้ำ ( $K_2O$ ) ให้ครอบคลุมทุกระดับความเข้มข้น พร้อมกับรวบรวมข้อมูลของตัวอย่าง
2. วิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสทั้งหมด ( $P_2O_5$ ) และโพแทสเซียมที่ละลายน้ำ ( $K_2O$ ) โดยวิธีห้องปฏิบัติการ ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559
3. วิเคราะห์ด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy-NIRS)
  - 3.1. วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง NIRS แบบวิธีสะท้อน (Reflectance) ด้วยหัววัดใยแก้วนำแสง (Fiber optic probe) โดยใช้แสงที่มีความยาวคลื่น (wave length) 800-2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น (wave number) 4000-12500 ต่อเซนติเมตร

- 3.2. สร้างสมการทำนายปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสทั้งหมด ( $P_2O_5$ ) และโพแทสเซียมที่ละลายน้ำ ( $K_2O$ ) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป NIRCal ของเครื่อง NIR (BuchiNIRFlex N-500, Switzerland )
- 3.3. ปรับปรุงสมการ โดยพิจารณาจาก ค่าความสัมพันธ์กับค่าการดูดกลืนแสง โดยมีสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สูง (Correlation coefficient ; R) ค่าความคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์ต่ำ (Standard of Calibration : SEC) และค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมินต่ำ (Standard of Error of Prediction: SEP) แล้วนำสมการไปประเมินในตัวอย่างปุ๋ยเคมี จนแน่ใจว่าสมการมีประสิทธิภาพในการประเมิน
4. พิสูจน์ความเป็นเนื้อเดียวกันของปุ๋ยเคมี
  - 4.1. เตรียมตัวอย่างปุ๋ยเคมีอ้างอิงภายใน บดตัวอย่างปุ๋ยเคมีผ่านตะแกรงขนาด 0.5 มิลลิเมตร สูตรละ 5 กิโลกรัม ร่อนตัวอย่างที่บดได้ทั้งหมดด้วยตะแกรงขนาด 40 เมช คลุกเคล้าให้เข้า ตักใส่ขวดพลาสติกขนาด 30 มิลลิลิตร ปิดฝาให้แน่น และกำหนดหมายเลขตัวอย่างในแต่ละขวด สุ่มตัวอย่าง สูตรละ 10 ขวด แบ่งตัวอย่างแต่ละขวดเป็น 2 ส่วน
  - 4.2. วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสทั้งหมด ( $P_2O_5$ ) และโพแทสเซียมที่ละลายน้ำ ( $K_2O$ ) ในตัวอย่างที่เตรียมด้วยวิธีวิเคราะห์ห้องปฏิบัติการ และวิธี NIRS
  - 4.3. พิสูจน์ความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างปุ๋ยเคมีอ้างอิงภายใน โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One way Analysis of variance)
5. เปรียบเทียบผลการพิสูจน์ความเป็นเนื้อเดียวกันระหว่างวิธีห้องปฏิบัติการ และวิธี NIRS

ระยะเวลา เริ่มต้น ต.ค. 2558 สิ้นสุด ก.ย. 2561

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มงาน วิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี  
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

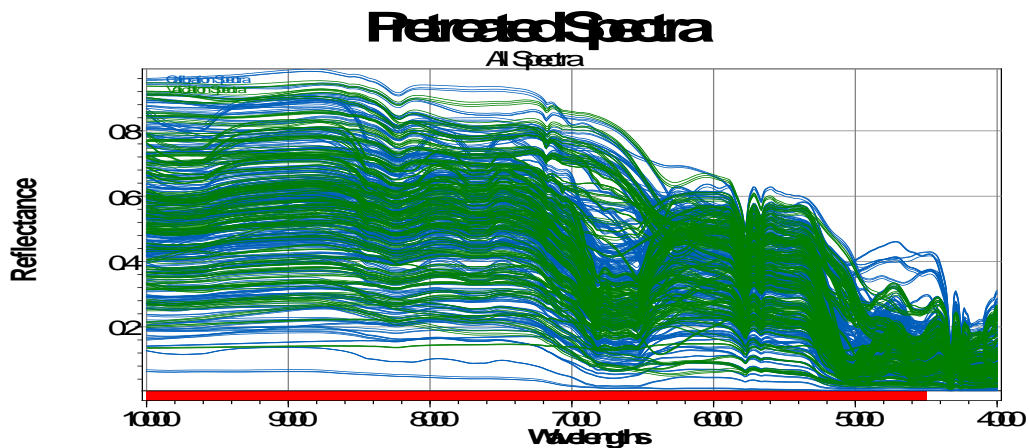
## ผลการวิจัย(Results)

1. ได้ตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสทั้งหมด ( $P_2O_5$ ) และโพแทสเซียมที่ละลายน้ำ ( $K_2O$ ) จากการวิเคราะห์โดยวิธีของห้องปฏิบัติการกรมวิชาการเกษตร จำนวน 381 ตัวอย่าง ตามตารางที่ 1

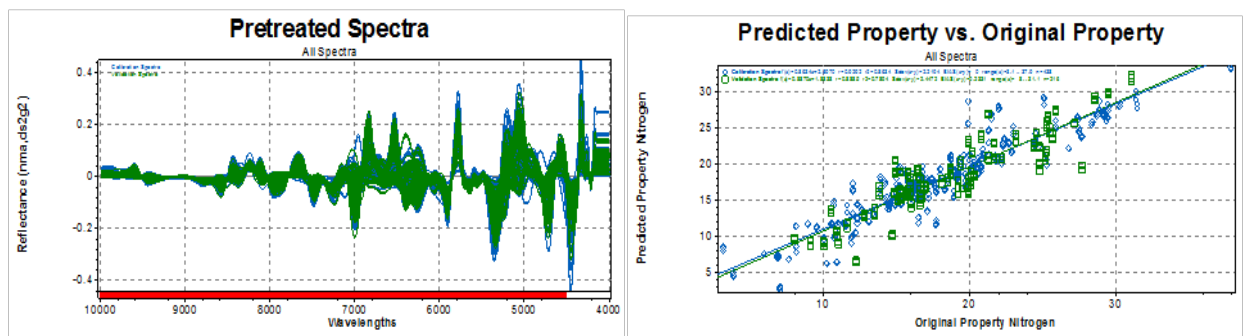
**ตารางที่ 1** ผลวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสทั้งหมด ( $P_2O_5$ ) และโพแทสเซียมที่ละลายน้ำ ( $K_2O$ ) โดยวิธีห้องปฏิบัติการ

รายการทดสอบ	ช่วงความเข้มข้น (%)	จำนวนตัวอย่าง
ไนโตรเจนทั้งหมด	3-8	42
	9-20	260
	21-38	79
ฟอสฟอรัสทั้งหมด ( $P_2O_5$ )	3-8	217
	9-20	135
	21-52	29
โพแทสเซียมที่ละลายน้ำ( $K_2O$ )	3-8	143
	9-20	161
	21-40	77

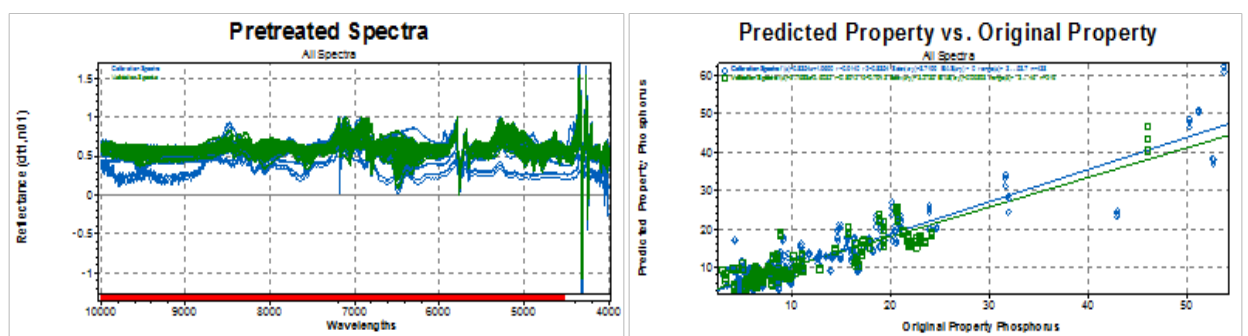
- วิเคราะห์ด้วยเทคนิค NIRS โดยนำตัวอย่างปุ๋ยเคมี 381 ตัวอย่าง มา วัดการดูดกลืนแสงของตัวอย่างปุ๋ยเคมีด้วยเครื่อง NIRS ได้สเปกตรัมและสมการปรับแต่งสเปกตรัม แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสทั้งหมด ( $P_2O_5$ ) และโพแทสเซียมที่ละลายน้ำ ( $K_2O$ ) เพื่อใช้ในการทำนาย ดังแสดงตามภาพ 1 - 4 และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient ; R) ความคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์ (Standard of Calibration : SEC) ความคลาดเคลื่อนในการประเมิน (Standard of Error of Prediction: SEP) ดังแสดงตามตาราง 2



ภาพที่ 1 สเปกตรัมของตัวอย่างปุ๋ยเคมี

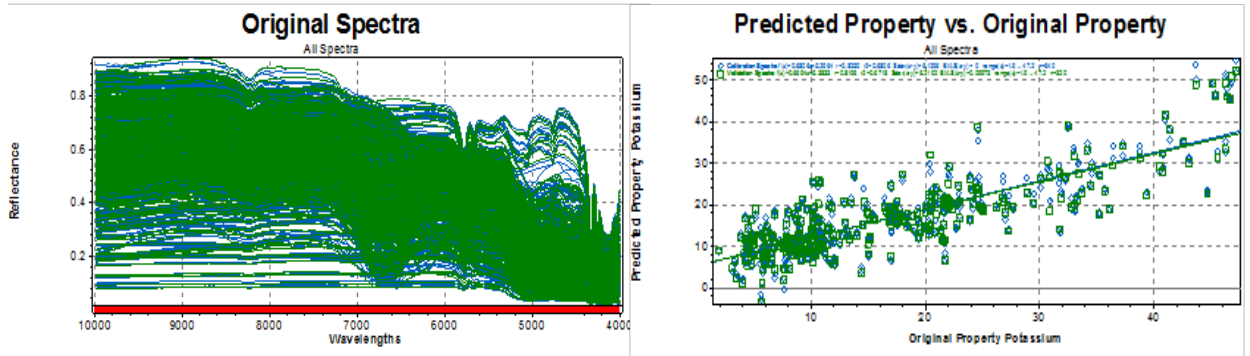


ภาพที่ 2 สมการแสดงความสัมพันธ์และการปรับแต่งสเปกตรัม รายการทดสอบไนโตรเจนทั้งหมดของตัวอย่างปุ๋ยเคมี





ภาพที่ 3 สมการแสดงความสัมพันธ์และการปรับแต่งสเปกตรัม รายการทดสอบฟอสฟอรัสทั้งหมด ( $P_2O_5$ ) ของตัวอย่างปุ๋ยเคมี



ภาพที่ 4 สมการแสดงความสัมพันธ์และการปรับแต่งสเปกตรัม รายการทดสอบโพแทสเซียมที่ละลายน้ำ ( $K_2O$ ) ของตัวอย่างปุ๋ยเคมี

ตารางที่ 2 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient ; R) ความคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์ (Standard of Calibration : SEC) ความคลาดเคลื่อนในการประเมิน (Standard of Error of Prediction: SEP) และรูปแบบการปรับแต่งสเปกตรัม

รายการทดสอบ	R	SEC	SEP	การปรับแต่งสเปกตรัม
ไนโตรเจนทั้งหมด	0.9292	2.2194	2.4472	Normalization by Maxima*,Second Derivative Smoothing Gap2 (nma,ds2g2)
ฟอสฟอรัสทั้งหมด ( $P_2O_5$ )	0.9140	3.7199	3.2735	First Derivative Taylor 3 Points ,Normalization between 0 to 1* (dt1,n01)
โพแทสเซียมที่ละลายน้ำ ( $K_2O$ )	0.8250	6.1296	6.2192	ไม่ปรับแต่งสเปกตรัม

- เตรียมตัวอย่างปุ๋ยเคมีอ้างอิงภายใน จำนวน 16 สูตร เปรียบเทียบผลการพิสูจน์ความเป็นเนื้อเดียวกันของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสทั้งหมด ( $P_2O_5$ ) และโพแทสเซียมที่ละลายน้ำ ( $K_2O$ ) ระหว่างวิธีห้องปฏิบัติการ และวิธี NIRS โดยวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One way Analysis of variance) เปรียบเทียบ ค่า F จากการคำนวณ ( $F - cal$ ) และค่า F จากตารางที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ( $F - crit$ ) หากค่า  $F - cal < F - crit$  แสดงถึงตัวอย่างปุ๋ยเคมีอ้างอิงภายในมีความเป็นเนื้อเดียวกัน พบว่า ผลการพิสูจน์ความเป็นเนื้อเดียวกันของทั้ง 2 วิธี สอดคล้องกันร้อยละ 100 ตามตาราง 3 - 5

**ตารางที่ 3** ผลการพิสูจน์ความเป็นเนื้อเดียวกันในปุ๋ยเคมีอ้างอิง(IRM) โดยวิธีของห้องปฏิบัติการ และวิธี NIRS รายการทดสอบไนโตรเจนทั้งหมด

Grade of IRM	Homogeneity testing									
	Reference method					NIR				
	Mean	MS <sub>B</sub>	MS <sub>W</sub>	F - cal	evaluation	Mean	MS <sub>B</sub>	MS <sub>W</sub>	F - cal	evaluation
16-20-0	16.37	0.0633	0.0621	1.02	accept	16.84	0.4480	0.3734	1.19	accept
16-8-8	16.52	0.0390	0.0202	1.93	accept	15.67	0.7036	0.4356	1.62	accept
19-19-19	19.33	0.1318	0.0657	2.01	accept	25.26	0.3378	0.2302	1.47	accept
10-52-17	10.4	0.0154	0.0117	1.32	accept	9.42	0.2857	0.5541	0.52	accept
12-24-12	13.53	0.0704	0.0492	1.43	accept	13.89	0.2677	0.1592	1.68	accept
15-7-18	15.31	0.0152	0.0241	0.63	accept	17.7	0.5611	0.2309	2.43	accept
16-16-8	16.16	0.0114	0.0253	0.45	accept	15.36	0.2579	0.2192	1.18	accept
18-46-0	18.25	0.0311	0.0125	2.49	accept	13.61	0.1001	0.0358	2.79	accept
20-10-10	20.54	0.0345	0.0475	0.73	accept	18.78	0.2713	0.1682	1.61	accept
18-0-0	18.89	0.0221	0.0234	0.94	accept	23.38	0.0119	0.0106	1.12	accept
28-12-8	27.8	0.0383	0.0525	0.73	accept	29.57	0.5118	0.4184	1.22	accept
16-20-0+urea	17.31	17.0728	0.0649	263.1	not accept	17.48	7.5607	0.2176	34.75	not accept
16-8-8+urea	17.41	16.6021	0.0277	599.35	not accept	16.41	10.9828	0.4370	25.13	not accept
19-19-19+urea	20.38	20.4835	0.0666	307.56	not accept	26.76	4.5012	0.1995	22.61	not accept

เกณฑ์การประเมิน F - cal < F - crit เมื่อ F - crit = 3.02

F - cal หมายถึง ความแปรปรวนของตัวอย่างที่ได้จากการคำนวณ

F - crit หมายถึง ความแปรปรวนที่ได้จากตารางการแจกแจงแบบ F ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

**ตารางที่ 4** ผลการพิสูจน์ความเป็นเนื้อเดียวกันในปุ๋ยเคมีอ้างอิง(IRM) โดยวิธีของห้องปฏิบัติการ และวิธี NIRS รายการทดสอบฟอสฟอรัสทั้งหมด (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>)

Grade of IRM	Homogeneity testing									
	Reference method					NIR				
	Mean	MS <sub>B</sub>	MS <sub>W</sub>	F - cal	evaluation	Mean	MS <sub>B</sub>	MS <sub>W</sub>	F - cal	evaluation
16-8-8	9.17	0.0058	0.0090	0.64	accept	15.08	0.2974	0.2304	1.29	accept
19-19-19	19.65	0.0295	0.0099	2.98	accept	21.85	0.9811	1.6797	0.58	accept
10-52-17	50.41	0.7386	0.3903	1.89	accept	49.66	3.0990	3.9625	0.78	accept
12-24-12	25.98	0.0287	0.0169	1.69	accept	11.11	0.2773	0.1487	1.86	accept
15-7-18	6.92	0.0127	0.0122	1.04	accept	16.42	0.1759	0.1260	1.39	accept
16-16-8	16.78	0.0169	0.0085	1.99	accept	20.45	0.5054	0.2595	1.95	accept
18-46-0	48.12	0.1023	0.1025	0.99	accept	38.59	2.2649	1.5927	1.42	accept
20-10-10	9.96	0.0074	0.0195	0.38	accept	15.52	0.5119	0.2591	1.98	accept
20-8-20	8.33	0.0084	0.0200	0.42	accept	6.62	0.6020	0.2600	2.31	accept
28-12-8	12.6	0.0277	0.0166	1.67	accept	15.93	0.7307	0.4190	1.74	accept
13-13-21	13.98	0.0285	0.0124	2.30	accept	15.84	0.5184	0.5545	0.93	accept
15-15-15	15.65	0.0588	0.0452	1.30	accept	15.4	0.3392	0.3274	1.04	accept
18-4-6	4.76	0.0072	0.0025	2.88	accept	3.33	0.2081	0.0851	2.45	accept
0-52-34	51.85	0.2262	0.1453	1.56	accept	52.14	1.0245	0.5176	1.98	accept
15-7-18 +urea	6.7	0.9973	0.0134	74.42	not accept	15.86	5.3738	0.1130	45.56	not accept
16-16-8 +urea	16.27	5.5023	0.0125	440.18	not accept	19.8	7.0423	0.2473	28.48	not accept

เกณฑ์การประเมิน F - cal < F - crit เมื่อ F - crit = 3.02

F - cal หมายถึง ความแปรปรวนของตัวอย่างที่ได้จากการคำนวณ

F - crit หมายถึง ความแปรปรวนที่ได้จากตารางการแจกแจงแบบ F ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

**ตารางที่ 5** ผลการพิสูจน์ความเป็นเนื้อเดียวกันในปุ๋ยเคมีอ้างอิง(IRM) โดยวิธีของห้องปฏิบัติการ และวิธี NIRS รายการทดสอบโพแทสเซียมที่ละลายน้ำ (K<sub>2</sub>O)

Grade of IRM	Homogeneity testing									
	Reference method					NIR				
	Mean	MS <sub>B</sub>	MS <sub>W</sub>	F - cal	evaluation	Mean	MS <sub>B</sub>	MS <sub>W</sub>	F - cal	evaluation
16-8-8	8.57	0.0144	0.0067	2.14	accept	5.21	0.1473	0.0768	1.92	accept
19-19-19	20.7	0.0479	0.0259	1.85	accept	14.3	1.3611	0.5382	2.53	accept
10-52-17	17.18	0.0179	0.0150	1.19	accept	13.7	0.9936	1.0528	0.94	accept
12-24-12	14.54	0.0054	0.0159	0.34	accept	15.42	0.3015	0.2650	1.14	accept
15-7-18	17.63	0.0414	0.0385	1.08	accept	14.37	0.3391	0.4799	0.71	accept
16-16-8	8.37	0.0113	0.0053	2.13	accept	15.56	0.2663	0.1236	2.15	accept
0-52-34	34.65	0.2561	0.1152	2.22	accept	37.91	4.2067	2.7736	1.52	accept
20-10-10	11.09	0.0069	0.0065	1.06	accept	10.06	0.6838	0.2611	2.62	accept
20-8-20	21.69	0.0139	0.0199	0.70	accept	19.27	0.6871	0.2699	2.55	accept
28-12-8	9.52	0.0182	0.0222	0.82	accept	12.12	0.7664	0.3230	2.37	accept
13-13-21	21.65	0.0581	0.0452	1.28	accept	18.04	0.2952	0.1125	2.62	accept
15-15-15	15.56	0.0433	0.0168	2.57	accept	19.39	0.5298	0.4900	1.08	accept
18-4-6	6.31	0.0171	0.0084	2.04	accept	20.02	1.0577	0.4502	2.35	accept
15-7-18+urea	17.06	6.7398	0.0210	320.94	not accept	13.86	5.2320	0.2382	21.96	not accept
16-16-8+urea	8.1	1.3679	0.0098	139.58	not accept	14.83	10.4310	0.1095	95.26	not accept

เกณฑ์การประเมิน F - cal < F - crit เมื่อ F - crit = 3.02

F - cal หมายถึง ความแปรปรวนของตัวอย่างที่ได้จากการคำนวณ

F - crit หมายถึง ความแปรปรวนที่ได้จากตารางการแจกแจงแบบ F ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

จากการรวบรวมตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสทั้งหมด ( P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) และโพแทสเซียมที่ละลายน้ำ ( K<sub>2</sub>O) ให้ครอบคลุมช่วงความเข้มข้นตัวอย่างปุ๋ยเคมี และนำไปวิเคราะห์ โดยวิธีของห้องปฏิบัติการกรมวิชาการเกษตร แล้ววัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง NIRS จำนวน 381 ตัวอย่างพบว่า ได้สเปกตรัมและสมการปรับแต่งสเปกตรัมแสดงความสัมพันธ์ ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสทั้งหมด ( P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) และโพแทสเซียมที่ละลายน้ำ ( K<sub>2</sub>O) เพื่อใช้เป็นสมการทำนายผลที่มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สูง ( Correlation coefficient ; R) ค่าความคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์ค่า ( Standard of Calibration : SEC) ค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมินค่า ( Standard of Error of Prediction: SEP) พบว่า รายการทดสอบไนโตรเจนทั้งหมด มีการปรับแต่งสเปกตรัมแบบ Normalization by Maxima\*, Second Derivative Smoothing Gap2(nma,ds2g2) ค่า R 0.9292 ค่า SEC 2.2194ค่า SEP 2.4472รายการทดสอบ ฟอสฟอรัส ทั้งหมด (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>)มีการปรับแต่งสเปกตรัมแบบ First Derivative Taylor 3 Points, Normalization between 0 to 1\* (dt1,n01) ค่า R 0.9140 ค่า SEC 3.7199 ค่า SEP 3.2735 และรายการทดสอบ โพแทสเซียมที่ละลายน้ำ (K<sub>2</sub>O) ใช้สเปกตรัมแบบ Original ไม่มีการปรับแต่งสเปกตรัม ค่า R 0.8250 ค่า SEC 6.1296 ค่า SEP 6.2192ตามลำดับ

จากการเตรียมตัวอย่างปุ๋ยเคมีอ้างอิงภายในที่มีสูตรต่างๆ จำนวน 14 สูตร วิเคราะห์ปริมาณ ไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสทั้งหมด ( P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) และโพแทสเซียมที่ละลายน้ำ ( K<sub>2</sub>O) โดยวิธีของ ห้องปฏิบัติการกรมวิชาการเกษตรและวิธี NIR เพื่อพิสูจน์ความเป็นเนื้อเดียวกันโดยการวิเคราะห์

ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One way Analysis of variance) เปรียบเทียบ ค่า F จากการคำนวณ ( $F - cal$ ) และค่า F จากตารางที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ( $F - crit$ ) หากค่า  $F - cal < F - crit$  แสดงถึงตัวอย่างปุ๋ยเคมีอ้างอิงภายในมีความเป็นเนื้อเดียวกัน พบว่า ผลการพิสูจน์ความเป็นเนื้อเดียวกันของทั้ง 2 วิธีสอดคล้องกันร้อยละ 100

ศึกษาวิธีวิเคราะห์ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในปุ๋ยอินทรีย์  
โดยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้

Study on Nitrogen Phosphorus and Potassium Analysis Method in Organic  
Fertilizers by Near Infrared Spectroscopy

ชฎาพร คงนาม วรณรัตน์ ชุตติบุตร จริยา วงศ์ตรี สงกรานต์ มะลิสอน อาธิยา ปุ่นประโคน  
ศุภากร ดวนใหญ่ รัตนาภรณ์ คชวงศ์

Chadaporn Khongnam Wannarat Chutibut Jariya Wongtree Songkran Malisorn  
Arthiya Punprakhon Supakorn Duanyai Rattanaporn Cochawong

คำสำคัญ (Keywords)

-

บทคัดย่อ(Abstract)

การศึกษาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในปุ๋ยอินทรีย์ โดยเทคนิค NIRS เป็นวิธีการวัดแบบไม่ทำลายตัวอย่างสามารถทำนายค่าทางเคมีได้อย่างรวดเร็ว แม่นยำ ลดการใช้สารเคมี และมลภาวะที่เกิดจากห้องปฏิบัติการ โดยเตรียมตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ ให้ครอบคลุมทุกระดับความเข้มข้น และวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนโดย Kjeldahl method ฟอสฟอรัสโดย Spectrophotometric molybdovanadophosphate method และโพแทสเซียมโดย Flame photometric method ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานของห้องปฏิบัติการวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย พบว่าค่าพิสัยอยู่ในช่วง 0.2– 4.5, 0.1 – 6.9 และ 0.2–6.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นำไปสแกนด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (NIRS) ที่ความยาวคลื่น 800 – 2500 นาโนเมตร สร้างสมการเพื่อใช้ทำนายค่าด้วยวิธี Partial Least Square (PLS) regression พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient, R) เท่ากับ 0.90, 0.77 และ 0.57 ตามลำดับ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายกลุ่มตัวอย่าง Calibration (Standard error of Calibration, SEC) เท่ากับ 0.28, 1.03 และ 0.74 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และค่า ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายกลุ่มตัวอย่าง Validation (Standard error of prediction, SEP) เท่ากับ 0.28, 0.71 และ 0.65 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทวนสอบความใช้ได้ของวิธีด้วยตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ พิจารณา ความแม่นยำ โดยใช้ Paired t-test พบว่าค่า  $t_{ext}$  มีค่าน้อยกว่า  $t_{crit}$  ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ผลการวิเคราะห์ที่ได้ผ่านเกณฑ์การยอมรับ และพิจารณาความเที่ยงโดยใช้ %RSD พบว่ามีค่า %RSD อยู่ในช่วง 0.04 – 1.09, 0.02 – 2.35 และ 0.06 – 4.76 ตามลำดับ (%RSD  $\leq$  4) สามารถนำสมการมาใช้

ประเมินค่าปริมาณไนโตรเจน และฟอสฟอรัสในปุ๋ยอินทรีย์ ได้อย่างแม่นยำ และรวดเร็ว สำหรับสมการที่ใช้ทำนายปริมาณโพแทสเซียมยังไม่เหมาะสมที่จะนำวิธี NIRS มาใช้ในการทำนายค่า

Study on nitrogen, phosphorus and potassium analysis method in organic fertilizers by Near Infrared Spectroscopy (NIRS), is a non-destructive technique to rapidly and accurately predict. The organic fertilizers are determined the nitrogen content by Kjeldahl method, phosphorus content by spectrophotometric molybdo vanadophosphate method and potassium content by flame photometric method. The results of nitrogen, phosphorus and potassium, the range were 0.2 – 4.5%, 0.1 – 6.9% and 0.2 – 6.2% respectively. All samples were scanned by NIRS in the region 800 – 2500 nm. NIRS-PLS technique showed the calibration for predicting nitrogen, phosphorus and potassium in organic fertilizer, the correlation coefficient (R) were 0.90, 0.77 and 0.57 respectively. The standard error of calibration (SEC) were 0.28%, 1.03% and 0.74%; and standard error of prediction (SEP) were 0.28%, 0.71% and 0.65% respectively. Validation of the method, inspection of accuracy by paired t-test showed that the  $t_{ext}$  is less than the  $t_{crit}$  at confidence level of 95% (accepted  $t_{ext} < t_{crit}$ ). Inspection of precision by RSD, the range were 0.04 – 1.09%, 0.02 – 2.35%, 0.06–4.76% respectively. (AOAC accepted %RSD  $\leq$  4) Therefore, calibration model can be used to predict of nitrogen and phosphorus contents in organic fertilizer. The calibration model of potassium isn't suitable to be used for predicting phosphorus contents in organic fertilizer.

## บทนำ (Introduction)

ปุ๋ยอินทรีย์ หมายถึง ปุ๋ยที่ได้มาจากอินทรีย์สารที่ผลิตขึ้นโดยกรรมวิธีต่างๆ และก่อนที่จะนำไปใช้ให้เป็นประโยชน์ต่อพืช จะต้องผ่านกระบวนการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ทางชีวภาพเสียก่อน ปุ๋ยอินทรีย์ที่สำคัญได้แก่ ปุ๋ยหมัก ปุ๋ยคอก และปุ๋ยพืชสด สำหรับปุ๋ยอินทรีย์ตามความในพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 นั้น เน้นความหมายหนักไปในลักษณะของปุ๋ยหมัก กล่าวคือ เป็นปุ๋ยที่ได้จากอินทรีย์วัตถุซึ่งผลิตด้วยกรรมวิธีทำให้ขึ้น สับ บด หมัก ร่อน หรือวิธีการอื่นๆ (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2548)

ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม เรียกรวมกันว่า ธาตุอาหารหลัก (primary nutrient elements) หรือ ธาตุปุ๋ย (fertilizer elements) เนื่องจากพืชต้องการในปริมาณมาก แต่พืชได้รับจากดินไม่เพียงพอ จึงมีการใช้ปุ๋ยที่ประกอบด้วยธาตุทั้งสาม ธาตุไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบหลักของกรดอะมิโน โปรตีน คลอโรฟิลล์ กรดนิวคลีอิก และเอนไซม์ในพืช ส่งเสริมการเจริญเติบโตของยอดอ่อน ใบ และกิ่งก้าน ธาตุฟอสฟอรัสช่วยในการสังเคราะห์โปรตีนและสารอินทรีย์ที่สำคัญในพืชเป็นองค์ประกอบของสารที่ทำหน้าที่ถ่ายทอดพลังงานในกระบวนการต่างๆ เช่น การสังเคราะห์แสงและการหายใจ โพแทสเซียมช่วยสังเคราะห์น้ำตาล แป้ง และโปรตีน ส่งเสริมการเคลื่อนย้ายของน้ำตาลจากใบไปยังผล ช่วยให้ผลเจริญเติบโตเร็ว พืชแข็งแรง มีความต้านทานต่อโรคบางชนิด (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2548) การวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในปุ๋ยอินทรีย์ ด้วยวิธีมาตรฐานของห้องปฏิบัติการวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย มีหลายขั้นตอน ต้องใช้

สารเคมี และเวลาในการวิเคราะห์ ดังนั้นการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ที่รวดเร็ว ประหยัด จึงเป็นที่ต้องการในการวิเคราะห์ดังกล่าว

ปัจจุบันได้มีการนำเทคนิค สเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ ( Near Infrared Spectroscopy ; NIR) มาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบต่างๆ ในตัวอย่าง เนื่องจากเป็นเทคนิคการวัดแบบไม่ทำลายตัวอย่าง สามารถทำนายค่าทางเคมีได้อย่างรวดเร็ว และแม่นยำ มีการศึกษาเทคนิค NIR-PLS เพื่อพัฒนาการประเมินคุณภาพของไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ (Wang et al., 2014) พัฒนาระบบการวัดอินฟราเรดย่านใกล้สำหรับดินและปุ๋ยหมัก ( Ootake Y, 2009) ศึกษาการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในใบฝ้ายด้วยเทคนิค FT-NIR (Riley and Canaves, 2002) เทคนิค NIR อาศัยหลักการวัดปริมาณแสงที่ถูกดูดกลืนของตัวอย่าง เมื่อรังสีอินฟราเรดย่านใกล้ที่มีความยาวคลื่นตั้งแต่ 800 – 2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น 4000 – 12500 ต่อเซนติเมตร เดินทางผ่านเข้าไปในตัวอย่าง ทำให้เกิดอันตรกิริยา ( interaction) กับอะตอม และโมเลกุลของตัวอย่างนั้น โมเลกุลดูดกลืนรังสีอินฟราเรดย่านใกล้เข้าไปจะมีผลต่อการสั่นของพันธะต่างๆ ในโมเลกุล ระดับการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดย่านใกล้ของตัวอย่างที่ความยาวคลื่นต่างๆ จะปรากฏในสเปกตรัม NIR การหาความสัมพันธ์ระหว่างการดูดกลืนแต่ละความยาวคลื่นกับค่าทางเคมี โดยทั่วไปมักใช้การวิเคราะห์ถดถอย (regression analysis) ซึ่งมีหลายวิธี เช่น การถดถอยเชิงเส้นพหุคูณ ( multiple linear regression; MLR) การถดถอยกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วน ( partial least square (PLS) regression) การถดถอยองค์ประกอบหลัก (Principle Component Regression; PCR) เป็นต้น โดยวิธีที่ได้รับความนิยมมากที่สุดในขณะนี้ คือ PLS และ PCR เนื่องจากโปรแกรมจะวิเคราะห์การถดถอยเพื่อสร้างสมการแคลิเบรชันอย่างอัตโนมัติ รวดเร็ว ทำให้ผู้ใช้สะดวก และเพื่อให้สมการแคลิเบรชันมีความเสถียร และมีปัจจัย (factors) ที่เหมาะสม ควรตรวจสอบช่วงความยาวคลื่นที่ดีที่สุดที่สอดคล้องกับการดูดกลืนขององค์ประกอบที่สนใจ ดังนั้นระหว่างการสร้างสมการแคลิเบรชันควรลองปรับช่วงความยาวคลื่นที่ใช้วิธีการปรับแต่งสเปกตรัม และเงื่อนไขการปรับแต่งในแต่ละวิธี เพื่อให้ได้สร้างสมการแคลิเบรชันที่มีความแม่นยำที่สุด เพื่อใช้ทำนายค่าคุณสมบัติทางเคมีหรือคุณสมบัติอื่นๆ ของตัวอย่าง ที่สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้อย่างรวดเร็วและแม่นยำ ประหยัดเวลา และลดต้นทุนในการใช้สารเคมี ( เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้และการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม, 2555 ) งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นในการศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในปุ๋ยอินทรีย์ โดยเทคนิค NIRs เพื่อให้ได้วิธีวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในปุ๋ยอินทรีย์ ที่มีความรวดเร็ว และปลอดภัยกับผู้วิเคราะห์ โดยอยู่บนพื้นฐานความแม่นยำ และความเที่ยง

### ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

อุปกรณ์เครื่องมือ และ สารเคมี ได้แก่ เครื่องวัดตัวอย่างเครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง เครื่องย่อยและกลั่นไนโตรเจนเครื่องวิเคราะห์หาปริมาณโพแทสเซียมและโซเดียม ( Flame Photometer) เครื่องวัดการดูดกลืนแสง ( Spectrophotometer) เครื่อง Near-Infrared (NIR) สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ตามคู่มือการวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์ กรมวิชาการเกษตร

### วิธีการ

1. เตรียม ตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ที่คัดเลือก และรวบรวม โดย บดด้วยเครื่องบดตัวอย่างให้มีความละเอียดไม่น้อยกว่า 20 เมชเทตัวอย่างที่บดแล้วใส่ถุงพลาสติกซิปลงใส่ภาชนะให้หมด และปิดถุงให้สนิท เขียนป้ายบ่งชี้ตัวอย่างเพื่อนำไปวิเคราะห์ (คู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์, 2551)
2. วิเคราะห์ค่าทางเคมี 3 รายการ ได้แก่ ไนโตรเจนโดย Kjeldahl method ฟอสฟอรัสทั้งหมดโดย Spectrophotometric molybdovanado phosphate method และโพแทสเซียมทั้งหมดโดย Flame photometric method ตามวิธีห้องปฏิบัติการ (คู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์, 2551)
3. พัฒนาวิธีวิเคราะห์ด้วย เทคนิค สเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ ( Near Infrared Spectroscopy-NIRS) โดยใช้ตัวอย่างปุ๋ยเดียวกับตัวอย่างที่วิเคราะห์โดยวิธีห้องปฏิบัติการ เทใส่ลงใน Petri dish ให้มีความหนาประมาณ 1 เซนติเมตร
  - 3.1. วัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้ แบบวิธีสะท้อน (Reflectance) ด้วยเครื่อง NIRS ที่ความยาวคลื่น (wave length) 800-2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น (wave number) 4000-12500 ต่อเซนติเมตร
  - 3.2. สร้างสมการเพื่อใช้ประเมิน โดยหาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง กับค่าทางเคมีของห้องปฏิบัติการ โดยใช้โปรแกรม The Unscrambler (version 10.2, CAMO, Oslo, Norway)
  - 3.3. ปรับปรุงสมการโดย
    - 3.3.1. ลดจำนวนข้อมูลสเปกตรัมให้ได้เฉพาะข้อมูลสเปกตรัมที่มีความสำคัญกับการทำนายค่าทางเคมีที่สนใจด้วยวิธี Partial Least Square (PLS) regression ซึ่งเป็นเทคนิคการวิเคราะห์หลายตัวแปร ( multivariate analysis) โดยการสร้างแพ็คเกจแบบสมการเชิงเส้นตรงจากข้อมูลของสเปกตรัมเริ่มต้น และนำแพ็คเกจที่ได้ไปใช้ในสมการถดถอย เพื่อให้สามารถประเมินค่าทางเคมีได้ถูกต้องมากขึ้น การประเมินผลความสามารถของสมการแคลิเบรชัน (William, 2001) สามารถอธิบายได้จากค่าสถิติสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( Correlation coefficient, R) ดังตารางที่ 1 เลือกสมการแคลิเบรชัน ที่มีค่าความสัมพันธ์ (R) สูง ค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างสร้างสมการแคลิเบรชัน (Standard of Calibration : SEC) และค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบสมการ (Standard of Error of Prediction: SEP) ต่ำ

**ตารางที่ 1** แนวทางการอธิบายความสามารถของสมการแคลิเบรชันด้วยค่า R

ค่า R	ความสามารถของสมการแคลิเบรชัน
± 0.5	ไม่ควรใช้ในการทำนาย (Not usable)
± 0.51-0.70	ความสัมพันธ์ไม่ดีพอ (Poor correlation)
± 0.71-0.80	การทำนายเพื่อการแบ่งระดับปริมาณอย่างหยาบ (Rough screening)
± 0.81-0.90	การทำนายเพื่อแบ่งระดับปริมาณอย่างหยาบ หรือปริมาณค่าเบื้องต้น (Screening)
± 0.91-0.95	การทำนายเพื่องานวิจัย (Research) และงานทั่วไป
± 0.96-0.98	การทำนายเพื่อการประกันคุณภาพ (Quality assurance)
± 0.99 ขึ้นไป	ทุกงาน (Any application)

- 3.3.2. ทวนสอบสมการ Calibration Curve โดยใช้ตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ โดยพิจารณาความแม่นยำ (Accuracy) และความเที่ยง (Precision) โดยใช้ Paired t-test เปรียบเทียบ

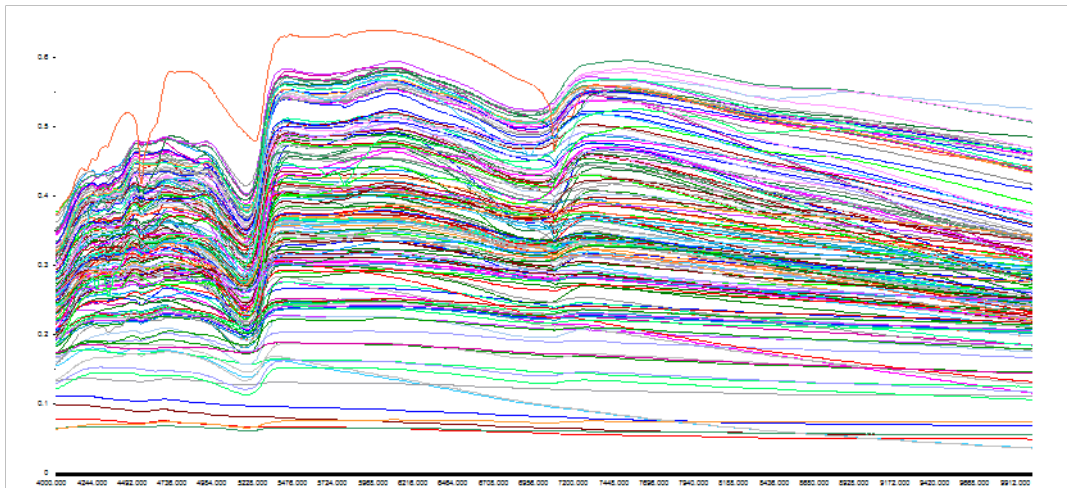
ค่าที่ทำนายได้ด้วยวิธี NIRS กับค่าวิเคราะห์ทางเคมี และ %RSD (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ : Relative Standard Deviation)

ระยะเวลา เริ่มต้น ต.ค. 2558 สิ้นสุด ก.ย. 2561

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มงาน วิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี  
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

## ผลการวิจัย (Results)

1. จากการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสทั้งหมด และโพแทสเซียมทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ จำนวน 171, 160 และ 150 ตัวอย่าง ตามลำดับ พบว่ามีค่าพิสัยอยู่ในช่วง 0.2 – 4.5, 0.1 – 6.9 และ 0.2 – 6.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ
2. พัฒนารีวิววิเคราะห์ด้วยเทคนิค NIRS
  - 2.1. นำตัวอย่างดิน 530 ตัวอย่าง มาวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้ เครื่อง NIRS แบบวิธีสะท้อน (Reflectance) โดยใช้แสงที่ความยาวคลื่น (wave length) 800-2500 นาโนเมตร ได้สเปกตรัมของตัวอย่างดิน เริ่มต้น (Original spectra) ตามภาพที่ 1



ภาพที่ 1 Original spectra ของตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ในช่วงเลขคลื่น 4000-9912 ต่อเซนติเมตร

- 2.2. สร้างและปรับปรุงสมการทำนายค่า โดยปรับแต่งด้วยวิธีแตกต่างกัน ได้ผลการปรับแต่งดังนี้
  - 2.2.1. สมการ Calibration ของไนโตรเจนทั้งหมด ปรับแต่งสเปกตรัม (Pretreatment) ที่ตอบสนองดีที่สุด ด้วยวิธี Standard Normal Variate (SNV) เพื่อลดอิทธิพลของการกระเจิงแสงออกจากสเปกตรัม สาเหตุให้เกิดความแปรปรวนในข้อมูลที่วัด มี ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient, R) เท่ากับ 0.90 แสดงว่าสามารถทำนายเพื่อการแบ่งระดับปริมาณหรือประมาณค่าเบื้องต้น (screening) ได้ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายกลุ่มตัวอย่าง Calibration (SEC) เท่ากับ 0.28 เปอร์เซ็นต์ และค่า ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายกลุ่มตัวอย่าง Validation (SEP) เท่ากับ 0.28 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2 และภาพที่ 2)
  - 2.2.2. สมการ Calibration ของปริมาณฟอสฟอรัสปรับแต่งสเปกตรัม (Pretreatment) ที่ตอบสนองดีที่สุด ด้วยวิธี Standard Normal Variate เพื่อลดอิทธิพลของการ



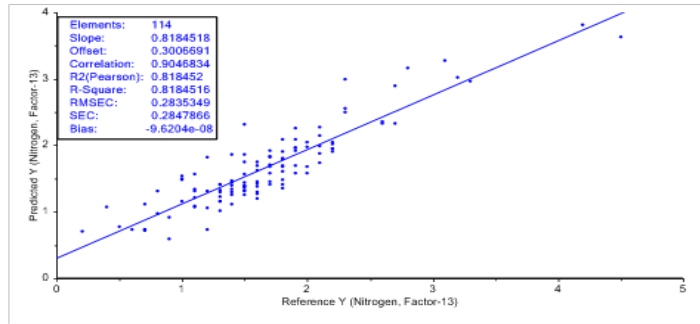
กระเจิงแสงออกจากสเปกตรัม และ Savitzky-Golay ลดสัญญาณรบกวนต้องการให้สัญญาณเรียบและยังคงรูปร่างของสเปกตรัมเริ่มต้น มี ค่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient, R) เท่ากับ 0.77 แสดงว่าสามารถทำนายเพื่อการแบ่งระดับปริมาณอย่างหยาบ (rough screening) ได้ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายกลุ่มตัวอย่าง Calibration (SEC) เท่ากับ 1.03 เปอร์เซ็นต์ และค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายกลุ่มตัวอย่าง Validation (SEP) เท่ากับ 0.71 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2 และภาพที่ 2)

- 2.2.3. สมการ Calibration ของปริมาณโพแทสเซียมปรับแต่งสเปกตรัม (Pretreatment) ที่ตอบสนองดีที่สุด ด้วยวิธี Standard Normal Variate เพื่อลดอิทธิพลของการกระเจิงแสงออกจากสเปกตรัม และ Savitzky-Golay ลดสัญญาณรบกวน ต้องการให้สัญญาณเรียบและยังคงรูปร่างของสเปกตรัมเริ่มต้น มี ค่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient, R) เท่ากับ 0.57 แสดงว่าสามารถทำนายเพื่อการแบ่งระดับปริมาณหรือประมาณค่าเบื้องต้น (screening) ได้ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายกลุ่มตัวอย่าง Calibration (SEC) เท่ากับ 0.74 เปอร์เซ็นต์ และค่า ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายกลุ่มตัวอย่าง Validation (SEP) เท่ากับ 0.65 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2 และภาพที่ 2)

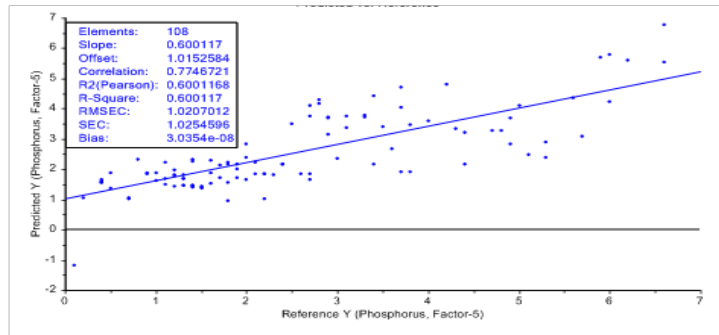
**ตารางที่ 2** ค่าทางสถิติสมการ Calibration ของปริมาณ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์

รายการวิเคราะห์	ปรับแต่งสเปกตรัม	R	SEC (%)	%SEP (%)	Bias
ไนโตรเจน	SNV	0.90	0.28	0.28	$-9.62 \times 10^{-8}$
ฟอสฟอรัส	SNV Savitzky-Golay	0.77	1.03	0.71	$3.04 \times 10^{-8}$
โพแทสเซียม	SNV Savitzky-Golay	0.57	0.74	0.65	$-2.43 \times 10^{-8}$

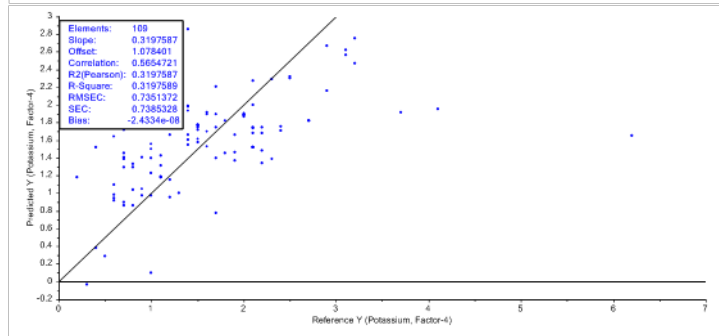
ก)



ข)



ค)



ภาพที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า ที่วิเคราะห์ได้จากวิธีทางเคมี และค่าที่ทำนายได้ด้วย NIRS ของ ปริมาณ (ก) ไนโตรเจน (ข) ฟอสฟอรัส และ (ค) โพแทสเซียม ในตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์

2.3. ทวนสอบสมการของวิธีหาปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมโดยเทคนิค NIRS โดยพิสูจน์ความถูกต้องจากการ เปรียบเทียบค่าที่ทำนายได้ (เทคนิค NIRS) กับค่าวิเคราะห์ ทางเคมี ด้วย Paired t-test และพิสูจน์ความเที่ยงจาก %RSD พบว่าปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ที่วิเคราะห์โดยเทคนิค NIRS ไม่แตกต่าง อย่างมีนัยสำคัญที่ ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ กับวิธีห้องปฏิบัติการ โดยมี ค่า  $t_{ext}$  เท่ากับ -2.05, -1.85 และ -0.53 ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่า ค่า  $t_{crit}$  คือ 2.07 2.05 และ 2.05 ตามลำดับ สำหรับ %RSD พบว่าอยู่ในช่วง 0.04 – 1.09, 0.02 – 2.35 และ 0.06 – 4.76 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยเกณฑ์การยอมรับ %RSD  $\leq$  4 (AOAC, 2016) แสดงว่าเทคนิค NIRS มีความ เที่ยงในการวิเคราะห์ ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส ดังนั้นสมการที่ได้สามารถทำนายค่า ปริมาณไนโตรเจน และฟอสฟอรัสในปุ๋ยอินทรีย์ ได้อย่างแม่นยำ และรวดเร็ว สำหรับ โพแทสเซียมในปุ๋ยอินทรีย์ยังไม่เหมาะสมที่จะนำวิธี NIRS มาใช้ เนื่องจากมีช่วงระยะห่าง ของค่าทางเคมี ที่นำมาใช้สร้างสมการ ค่อนข้างกว้าง ทำให้ค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าทาง เคมีของโพแทสเซียม และค่า NIRS มีค่า R ต่ำ สมการที่ได้จึงไม่เหมาะสม

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

การหาปริมาณ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ในตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ โดยเทคนิค สเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ ( Near Infrared Spectroscopy ; NIRS) วิธีการวัดแบบ Reflectance สามารถนำมาใช้ประเมินค่าปริมาณไนโตรเจน และฟอสฟอรัสในปุ๋ยอินทรีย์ได้อย่างมีความแม่นยำ และรวดเร็วสำหรับ สมการที่ใช้ในการทำนาย ปริมาณโพแทสเซียมในปุ๋ยอินทรีย์ยังไม่เหมาะสมที่จะนำวิธี NIRS มาใช้เนื่องจากยังไม่ให้ผลที่ดีในการทำนายค่า ต้องมีการปรับปรุงและพัฒนาสมการที่ใช้ในการทำนาย โดยการเพิ่มจำนวนกลุ่มตัวอย่างให้มีความหลากหลาย ค่าทางเคมีในตัวอย่างควรมีค่าที่กระจายอย่างสม่ำเสมอตลอดช่วงของค่าทั้งหมด หรือมีความแปรปรวนครอบคลุม ค่าของตัวอย่างในอนาคต เพื่อให้ได้สมการ Calibration ที่เหมาะสมมีความถูกต้อง และแม่นยำ ในการใช้งานต่อไป

## กิจกรรมที่ 5 การพัฒนาชุดทดสอบอย่างง่าย (Test Kit) เพื่อใช้ตรวจสอบคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของปัจจัยการผลิต

### วิจัยและพัฒนาชุดตรวจสอบอย่างง่ายไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในดิน Development of Soil Test Kitsto Determine Nitrogen Phosphorus and Potassium in Soils

สุภา โปธิจันทร์ ญาณธิชา จิตต์สะอาด สงกรานต์ มะลิสอน พจมาลย์ ภู่อสาร  
จิตติรัตน์ ชูชาติ จีรรัตน์ กุศลวิริยะวงศ์

Supha Photichan Yarnthicha Jittsa-aad Songkran Malisorn Pojjamarn Poosarn  
Jittirat Choocha tCharirat Kusonwiriya Wong

#### คำสำคัญ (Keywords)

ชุดตรวจสอบ น้ำยาสกัด อินทรีย์วัตถุ ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม

Soil test kits Extractant Organic matter Available phosphorus Exchangeable potassium

#### บทคัดย่อ (Abstract)

การพัฒนา ชุดตรวจสอบอย่างง่ายอินทรีย์วัตถุ ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในดิน มีวัตถุประสงค์เพื่อให้เกษตรกรและผู้สนใจในการเข้าถึงการวิเคราะห์ดินทางการเกษตรได้ง่ายขึ้น ทำให้สามารถทราบผลวิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็ว ใช้งานง่ายสามารถวิเคราะห์เองได้ด้วยตนเอง ชุดตรวจสอบที่ได้พัฒนาขึ้นนี้มีแนวคิดให้มีขั้นตอนน้อย ใช้งานง่าย ทราบผลเร็วและไม่ใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายต่อผู้ใช้งานและสิ่งแวดล้อม โดยการหาปริมาณอินทรีย์วัตถุใช้หลักการการออกซิไดซ์คาร์บอนด้วย  $\text{KMnO}_4$  และการสกัดหาปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้โดยใช้น้ำยาสกัดเดี่ยว (Mehlich I) หลังจากนั้น นำไปหาปริมาณโดยดัดแปลงจาก Molybdenum blue method และ Turbidimetric method ตามลำดับ โดยน้ำยาที่ใช้ในชุดตรวจสอบอย่างง่ายให้ผลวิเคราะห์ที่มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับน้ำยาสกัดที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ โดยมีสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.959\*\* และ 0.945\*\* สำหรับฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และโพแทสเซียมที่

แลกเปลี่ยนได้ ตามลำดับ หาตัวแปรระหว่างน้ำยาสกัดเดี่ยวและน้ำยาสกัดที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ โดยใช้สมการ Linear regression ระหว่างค่าวิเคราะห์ที่ได้จากน้ำยาสกัดเดี่ยวและน้ำยาสกัดที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ คือ  $y=0.9581x-12.973$  สำหรับฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และ  $y=0.5372x+15.283$  สำหรับโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ เพื่อให้สอดคล้องกับการให้คำแนะนำการใช้ปุ๋ยและการปรับปรุงดินของกรมวิชาการเกษตร ทดสอบการใช้งานชุดตรวจสอบอย่างง่ายโดยเกษตรกรในพื้นที่จังหวัดพิจิตร ร้อยเอ็ดและนครนายก จำนวน 36 ราย สำนวความพึงพอใจของผู้ใช้งานและปรับปรุงชุดตรวจสอบจากข้อเสนอแนะของผู้ใช้งานทำให้ได้ชุดตรวจสอบที่มีขั้นตอนน้อยใช้งานง่าย มีความแม่นยำ 93.3, 80.0 และ 69.6 เปอร์เซ็นต์ และค่าสัมประสิทธิ์แคปป่าแบบถ่วงน้ำหนัก 0.97, 0.83 และ 0.80 สำหรับชุดตรวจสอบอินทรีย์วัตถุ ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมตามลำดับ

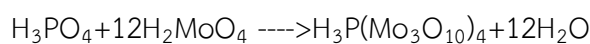
Organic matter, available phosphorus and exchangeable potassium soil test kits were conducted to farmer can be easily reached to soil nutrient analysis, rapidly received analytical results and simply used by themselves. Soil test kits were distinctly developed not only to less complicated steps but also no hazard chemicals were released to environment. Organic matter soil test kit was principally created by oxidizing carbon  $KMnO_4$ . In addition, single extractant (Mehlich I) was applied to extract available phosphorus and exchangeable potassium. Molybdenum blue method and turbidimetric method were adapted to analyze available phosphorus and exchangeable potassium, respectively. Single extractant using in soil test kits were highly significant extractant using standard laboratory ( $r=0.959^{**}$  and  $0.945^{**}$  for available phosphorus and exchangeable potassium, respectively). Linear regressions were statistically calculated between single extractant and standard laboratory extractant ( $y = 0.9581x - 12.973$  for available phosphorus and  $y=0.5372x+15.283$  for exchangeable potassium, respectively). These equations were applied to be consistency with fertilizer recommendation of Department of Agriculture. To validate quality, Soil test kits were distributed to farmer and others. Satisfaction questionnaires and improved the soil test kits from the suggestions of users. Resulting procedures that are easy to use, with accuracy of 93.3, 80.0 and 69.6 percent, and Kappa weighted coefficients 0.97, 0.83 and 0.80 for organic matter, phosphorus and potassium soil test kits respectively.

## บทนำ (Introduction)

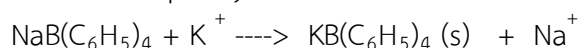
การวิเคราะห์ดิน เป็นวิธีที่ทำให้ทราบถึงความอุดมสมบูรณ์ดิน เพื่อลดการใช้ปัจจัยการผลิต โดยเฉพาะอย่างยิ่งลดการใช้ปุ๋ยเคมี หรือการใช้ปุ๋ยเคมีอย่างมีประสิทธิภาพตามความอุดมสมบูรณ์ ลดการปนเปื้อนของปุ๋ยสู่สิ่งแวดล้อม โดยทั่วไป เกษตรกรต้องส่งตัวอย่างเพื่อตรวจสอบความอุดมสมบูรณ์ดินในห้องปฏิบัติการ ซึ่งในบางพื้นที่อาจไม่มีห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์ดินทำให้เกษตรกรต้องเดินทาง และต้องรอรายงานผลการวิเคราะห์ซึ่งอาจไม่ทันต่อช่วงการปลูก หรือการใส่ปุ๋ย ดังนั้น กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี ซึ่งเป็นหน่วยงานหลักในการให้บริการตรวจวิเคราะห์ดินเพื่อตรวจสอบธาตุอาหาร

และความอุดมสมบูรณ์ของดินเพื่อการเพาะปลูก จึงได้พัฒนานวัตกรรมการตรวจสอบอินทรีย์วัตถุ ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในดิน อย่างง่ายเพื่อใช้ตรวจสอบคุณภาพดินเบื้องต้น หรือใช้สำหรับ ตรวจสอบในพื้นที่ที่ไม่สามารถส่งตัวอย่างมาทดสอบด้วยเครื่องมือในห้องปฏิบัติการได้ นอกจากนี้ การใช้ชุดตรวจสอบอย่างง่ายจะช่วยให้เกษตรกร นักวิชาการและผู้ที่มีสนใจในการเข้าถึงการวิเคราะห์ ดินทางการเกษตรได้ง่ายขึ้น ได้ผลวิเคราะห์ที่รวดเร็ว

ปัจจุบัน มีการพัฒนาชุดตรวจสอบธาตุอาหารอย่างแพร่หลายในประเทศไทย เช่น ชุด ตรวจสอบปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียมในดิน (Attanadanaet *al.*, 2001) ชุด ตรวจสอบปริมาณอินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์ (จิตติมา และคณะ, 2552) ชุดตรวจสอบปริมาณ อินทรีย์วัตถุในดิน (มณีทิพย์, 2556) ชุดตรวจวิเคราะห์ดิน (ชูชาติ, 2560) แต่อย่างไรก็ตาม ชุด ตรวจสอบต่างๆ ยังมีข้อจำกัดในการใช้งาน เนื่องจากมีการใช้สารเคมีที่มีฤทธิ์กัดกร่อนสูง ทำให้ต้อง ระมัดระวังในการใช้งาน และมีขั้นตอนการใช้งานหลายขั้นตอน ค่อนข้างยุ่งยาก นอกจากนี้ การให้ คำแนะนำปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินของกรมวิชาการเกษตร ใช้การประเมินการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนจาก ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน เนื่องจากปริมาณไนโตรเจนในดินไม่คงที่สามารถเปลี่ยนรูป หรือสูญเสีย ออกจากดินได้ตลอดเวลาตามวัฏจักร จึงทำให้ชุดตรวจสอบที่มีอยู่ไม่สอดคล้องกับคำแนะนำการใส่ปุ๋ย ที่กรมวิชาการเกษตรให้คำแนะนำกองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร โดยกลุ่มวิจัยเกษตร เคมี ได้พัฒนาชุดตรวจสอบอย่างง่าย โดยเลือกใช้สารเคมีที่ไม่เป็นอันตราย หรือมีฤทธิ์กัดกร่อนสูง โดยการทดสอบหาปริมาณอินทรีย์วัตถุเลือกใช้วิธีวิเคราะห์หาปริมาณคาร์บอนที่ละลายได้ (Labile carbon) โดยวัดปริมาณคาร์บอนที่ถูกออกซิไดส์ด้วยโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต ( $\text{KMnO}_4$ ; Culmanet *al.*, 2012) เป็นการทำปฏิกิริยาระหว่าง  $\text{KMnO}_4$  กับคาร์บอนในดินนั้นจะทำให้คุณสมบัติ ของ  $\text{KMnO}_4$  เปลี่ยนไปคือสีม่วงเข้มเปลี่ยนเป็นสารละลายใสไม่มีสี ( $\text{KMnO}_4$  1 โมลลาร์จะออกซิไดซ์ คาร์บอนได้ 9,000 มิลลิกรัม) และมีความสัมพันธ์กับปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน (ศุภจิตา, 2553; Culmanet *al.*, 2012; Lucus and Weil, 2012) เพื่อทดแทนการใช้ กรดซัลฟิวริก และ โพแทสเซียมไดโครเมต และเลือกใช้น้ำยาสกัดเดี่ยว (Single extractant) เพื่อลดขั้นตอนการ ปฏิบัติงาน เลือกริธีที่ทำให้เกิดสีอย่างชัดเจน โดยการวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดิน (Available phosphorus: Avail. P) ประยุกต์ใช้วิธี คือ Molybdenum blue method เนื่องจาก เป็นวิธีที่สามารถเห็นความแตกต่างของสีน้ำเงินชัดเจน โดยเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณฟอสฟอรัส ที่มีอยู่ในดิน โดยสีน้ำเงินเกิดจาก Phosphate ion จากสารละลายดิน ทำปฏิกิริยากับ Ammonium molybdate ascorbic acid ทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน ดังสมการ



การวิเคราะห์โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน (Exchangeable potassium: Exch. K) ประยุกต์ใช้วิธี Turbidimetric method (Engelbrecht and MaCoy, 1956) โดยตกตะกอน โพแทสเซียมกับ Sodium tetraphenylboron ดังสมการ



และนำผลการทดสอบที่ได้ชุดตรวจสอบอย่างง่ายไปปรับให้สอดคล้องกับผลการทดสอบที่ได้จาก ห้องปฏิบัติการ เพื่อให้สอดคล้องกับคำแนะนำการใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน เพื่อให้ เกษตรกรสามารถ ตรวจสอบความอุดมสมบูรณ์เบื้องต้นได้ด้วยตนเอง เพื่อให้การใช้ปุ๋ยเคมีอย่างมีประสิทธิภาพตาม ความอุดมสมบูรณ์ดิน

## ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

อุปกรณ์เครื่องมือ และสารเคมี ได้แก่ เครื่องมือและวัสดุวิทยาศาสตร์เครื่อง UV/Visible Spectrophotometer เครื่อง Flame Photometer เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง สารเคมี ได้แก่ Potassium permanganate ( $\text{KMnO}_4$ ), Sodium hydroxide ( $\text{NaOH}$ ), Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), Ammonium acetate ( $\text{NH}_4\text{OAc}$ ), Sodium cobaltinitrile, Calcium chloride ( $\text{CaCl}_2$ ) เครื่องแก้วและวัสดุวิทยาศาสตร์ ได้แก่ Automatic zero burette ขนาด 25 มล., Volumetric ขนาด 50 และ 100 มล., Volumetric pipet ขนาด 2, 3, 5 และ 10 มล

### วิธีการ

1. คัดเลือกน้ำยาสกัด และวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุ ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ดังนี้
  - 1.1. อินทรีย์วัตถุ โดยเปรียบเทียบวิธีการสกัด และวิเคราะห์ ดังนี้
    - 1.1.1.  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  method โดยการสกัดดินด้วย 0.05 M  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  ( $\text{NaOH}$  10 กรัม + EDTA 18.6 กรัม ในน้ำ 2 ลิตร) สารละลายดินที่สกัดได้จะมีสีน้ำตาลและสีเข้มขึ้นตามความเข้มข้นของอินทรีย์วัตถุในดิน (Bowman *et al.*, 1997)
    - 1.1.2.  $\text{KMnO}_4$  oxidize carbon method โดยการสกัดดินด้วย  $\text{KMnO}_4$  เป็นการทำให้ปฏิกิริยาระหว่าง  $\text{KMnO}_4$  กับคาร์บอนในดิน ซึ่งสีของ  $\text{KMnO}_4$  เปลี่ยนไปคือสีม่วงเข้มและจางลงตามความเข้มข้นของอินทรีย์วัตถุในดิน (เจนจิรา และคณะ, 2558; Ray *et al.*, 2003)
  - 1.2. ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ เปรียบเทียบวิธีการสกัด โดยใช้ น้ำยาสกัดเดี่ยว Mehlich I และ AB-DTPA (ตารางที่ 1) กับน้ำยาสกัดที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ น้ำยาสกัด Bray II และ 1 N  $\text{NH}_4\text{OAc}$  สำหรับฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ ตามลำดับ ในตัวอย่างดินที่มีสมบัติแตกต่างกัน โดย หาสัมประสิทธิ์ สหสัมพันธ์ระหว่างผลวิเคราะห์จากการใช้น้ำยาสกัดที่ใช้ในห้องปฏิบัติการและน้ำยาสกัดเดี่ยว

ตารางที่ 1 Reagents used for extraction of available phosphorus and exchangeable potassium

Extractant	Reagent	Ratio (Soil: Extractant)	time	element
Bray II	0.03M $\text{NH}_4\text{F}$ + 0.1M $\text{HCl}$	1 : 10	5 min	P
Ammonium acetate	1N $\text{NH}_4\text{OAc}$	1 : 10	5 min	K
Mehlich I	0.05M $\text{HCl}$ , 0.0125M $\text{H}_2\text{SO}_4$	1 : 5	5 min	NPK
AB-DTPA	1M $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ , 0.005M DTPA	1 : 2	15 min	PK

2. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างชุดตรวจสอบอย่างง่าย และวิธีห้องปฏิบัติการ
  - 2.1. จัดทำชุดตรวจสอบอย่างง่าย โดยจำลองจากวิธีห้องปฏิบัติการ และปรับเปลี่ยนขั้นตอนให้สามารถสะดวกในการวิเคราะห์ ได้แก่ เปลี่ยนขั้นตอนการชั่งตัวอย่างดินเป็นการ ใช้ช้อนตวง ตักดินขนาด 5 กรัม และเปลี่ยนน้ำยาสกัดเป็น น้ำยาสกัดเดี่ยวที่คัดเลือก แล้วเขย่าดินด้วยมือให้เข้ากัน ลดปริมาณสารเคมีจากวิธีห้องปฏิบัติการ
  - 2.2. หาความสัมพันธ์ และตัวแปรระหว่างวิธีวิเคราะห์ห้องปฏิบัติการ และชุดตรวจสอบอย่างง่าย โดยเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ ฟอสฟอรัส ที่เป็นประโยชน์และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้

ในตัวอย่างดิน 3 กลุ่มเนื้อดิน คือกลุ่มดินเนื้อละเอียด (Fine-textured soils) กลุ่มดินเนื้อปานกลาง (Medium-textured soils) กลุ่มดินเนื้อหยาบ (Coarse-textured soil) สร้างสมการเส้นตรง(Linear regression) พิจารณาความสัมพันธ์ และตัวแปรจากสมการ

3. พัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างดินที่เหมาะสม โดยเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ ระหว่างตัวอย่างดินที่บด ผ่านตะแกรงขนาด 2.0 มม. และบดโดยการทุบ (ไม่บด) จำนวน 20 ตัวอย่าง
4. พัฒนาและปรับปรุงชุดตรวจสอบอย่างง่าย
  - 4.1. จัดเตรียมวัสดุอุปกรณ์ เช่น หลอดทดลอง ชั้นวางหลอดทดลอง ขวดเขย่าและรองรับสารละลายดิน และหลอดฉีดยา เป็นต้น
  - 4.2. ปรับอัตราส่วนของสารเคมีที่ใช้ให้เหมาะสำหรับการใช้งานในรูปแบบของชุดตรวจสอบ โดยการทดสอบหาปริมาณอินทรีย์วัตถุเลือกใช้วิธี  $\text{KMnO}_4$  oxidize carbon method ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์เลือกใช้วิธี Molybdenum blue method และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้เลือกใช้วิธี Turbidimetric method โดยใช้ Sodium cobaltinitrile เนื่องจากเป็นวิธีที่ทำให้เกิดสี หรือเห็นปฏิกิริยาเกิดขึ้นชัดเจน
  - 4.3. จัดทำแผ่นเทียบสีให้สอดคล้อง และครอบคลุมช่วงปริมาณอินทรีย์วัตถุ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินที่พบในประเทศไทย พร้อมคู่มือการใช้งานชุดตรวจสอบอย่างง่าย
5. ตรวจสอบ ความใช้ได้ของชุดตรวจสอบอย่างง่าย โดย นำชุดตรวจสอบอย่างง่ายที่ได้ไปให้เกษตรกรทดสอบดินในพื้นที่ และเก็บตัวอย่างที่ทดสอบมาวิเคราะห์ภายในห้องปฏิบัติการ เพื่อนำมาทดสอบหาความถูกต้อง แม่นยำของชุดตรวจสอบอย่างง่ายดินจัดทำแบบสำรวจ
6. ปรับปรุงชุดตรวจสอบตามข้อเสนอแนะของผู้ใช้งานชุดตรวจสอบ และนำผลการทดสอบจากชุดตรวจสอบที่ปรับปรุงใหม่ มาแจกแจงความถี่แบบ 2 ทาง โดยใช้ตาราง three by three ตามระดับความเข้มข้นต่ำ ปานกลาง สูง เพื่อประเมินประสิทธิภาพชุดตรวจสอบโดยวิเคราะห์ข้อมูลเปรียบเทียบกับผลวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการโดยหาความแม่นยำ (relative accuracy) และค่าสถิติ Kappa coefficient (k) เพื่อประเมินการยอมรับและความน่าเชื่อถือของชุดตรวจสอบ (Harold *et al.*, 2003) โดยเกณฑ์การประเมินที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95%

ระยะเวลา เริ่มต้น ค.ศ. 2558 สิ้นสุด ก.ย. 2561

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มงาน วิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี  
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

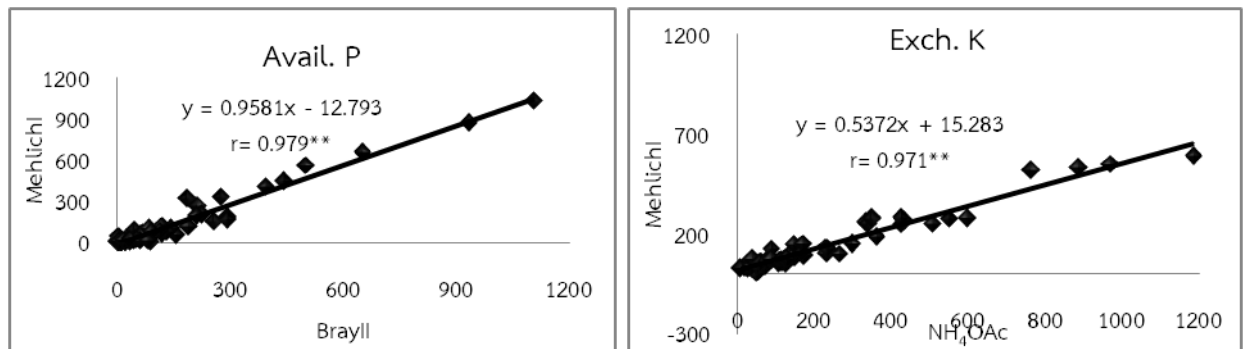
## ผลการวิจัย (Results)

### 1. การศึกษาน้ำยาสกัด

- 1.1. อินทรีย์วัตถุ พบว่า  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  method ใช้เวลากรองประมาณ 3 ชั่วโมง และมีความชุ่มของดินปนออกมา สีของสารละลายดินไม่มีแนวโน้มไปตามลำดับความเข้มข้นของอินทรีย์วัตถุในดิน วิธีนี้จึงไม่เหมาะต่อการนำมาพัฒนาเป็นชุดตรวจสอบอินทรีย์วัตถุในดิน ส่วนวิธี  $\text{KMnO}_4$  oxidize carbon method (เจนจิรา และคณะ, 2558) พบว่าในชนิดดินที่มีสีค่อนข้างเข้มจะมีสีดินเข้ามารบกวนทำให้สีของ  $\text{KMnO}_4$  ผิดไปจากความเป็นจริง และ

ต้องตั้งทิ้งไว้นานขึ้นประมาณ 40 นาที ทำให้ปฏิกิริยาระหว่างอินทรีย์คาร์บอนในดินกับ  $\text{KMnO}_4$  อาจเกิดมากเกินไปจนเกินความเป็นจริง แต่เมื่อเติม 0.1 M  $\text{CaCl}_2$  (Ray *et al.*, 2003) พบว่า ดินตกตะกอนเร็วขึ้น และไม่มีสีรบกวน จึงได้คัดเลือกวิธีนี้มาพัฒนาเป็นเป็นชุดตรวจสอบอินทรีย์วัตถุในดิน

- 1.2. ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ พบว่าในการสกัดตัวอย่าง 73 ตัวอย่าง ด้วยน้ำยาสกัดเดี่ยว Mehlich I และ AB-DTPA พบว่ามีค่าวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ต่ำกว่าน้ำยาสกัดที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์กับวิธีห้องปฏิบัติการ พบว่าน้ำยา Mehlich I ให้ค่าวิเคราะห์ที่มีสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับน้ำยาสกัดที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ( $r=0.959^{**}$  และ  $r=0.945^{**}$  ตามลำดับ) ส่วน AB-DTPA ให้ค่าวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่ไม่มีความสัมพันธ์กับน้ำยาสกัดที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ( $r=0.661$ ) จึงเลือก Mehlich I เป็นน้ำยาสกัดเดี่ยวสำหรับวิเคราะห์ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในดิน
2. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างชุดตรวจสอบอย่างง่าย และวิธีห้องปฏิบัติการ โดยเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ พบว่า ทุกกลุ่มเนื้อดินมีสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับวิธีมาตรฐานที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ( $r=0.979^{**}$  และ  $r=0.971^{**}$ ตามลำดับ) เลือกสมการเส้นตรงของค่าวิเคราะห์ตัวอย่างดินทั้งหมด คือ  $y=0.9581x-12.793$  ( $r=0.979^{**}$ ) สำหรับฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และ  $y=0.5372x+15.283$  ( $r=0.971^{**}$ ) สำหรับโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (figure 1) ในการหาตัวแปรระหว่างน้ำยาสกัดที่ใช้ในห้องปฏิบัติการและน้ำยาสกัดเดี่ยว



ภาพที่ 1 Correlation coefficients between single extractant and standard laboratory extractant for analyzing available phosphorus and exchangeable potassium

3. พัฒนารูปการเตรียมตัวอย่างดินที่เหมาะสม โดยวิเคราะห์ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้พบว่า ซ้อนดวงขนาด 5 กรัม ตักตัวอย่างดิน ที่บดผ่านตะแกรงขนาด 2.0 มม. จะได้น้ำหนักดินเฉลี่ย 5.668 กรัม มากกว่าดินที่บดโดยการทุบ ซึ่งมีน้ำหนักเฉลี่ย 5.212 กรัม เปรียบเทียบกับผลการวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ ระหว่างการเตรียมตัวอย่างที่บดผ่านตะแกรงและไม่บด พบว่ามีผลวิเคราะห์ที่ใกล้เคียงกัน สำหรับโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ ผลวิเคราะห์ตัวอย่างดินที่บดสูงกว่าดินที่ไม่บดเล็กน้อย เฉลี่ย 77.509 ก./กก. และ 71.202 ก./กก. ตามลำดับ จึงประยุกต์ใช้การบดดินโดยการทุบในการจัดทำชุดตรวจสอบอย่างง่าย
4. พัฒนาชุดตรวจสอบอย่างง่าย



- 4.1. ชุดตรวจสอบอินทรีย์วัตถุ
  - 4.1.1. ดัดแปลงสัปดาห์สารเคมีและขั้นตอนการวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุ  $\text{KMnO}_4$  oxidize carbon method (Ray *et al.*, 2003) และจัดทำแผ่นเทียบสี จากนั้นได้ทดสอบแผ่นเทียบสีโดยคัดเลือกตัวอย่างดินจำนวน 10 ตัวอย่างมาทดสอบ และอ่านผลจากแผ่นเทียบสี พบว่า การสังเกตสีของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นของสารละลายในขวดปฏิกิริยาเทียบกับแผ่นเทียบสียังอ่านค่อนข้างยาก
  - 4.1.2. ปรับปรุงขั้นตอนเขย่าและตั้งทิ้งไว้ให้ดินตกตะกอน จากนั้นนำกระดาษกรองมาจุ่มสารละลายแล้วเทียบสี พบว่า สามารถแยกสีได้ชัดเจนยิ่งขึ้นและเทียบสีได้ง่ายยิ่งขึ้น จึงได้พัฒนาเป็นแผ่นเทียบสีที่สามารถอ่านค่าเป็นช่วงความเข้มข้นของอินทรีย์วัตถุในดินได้ ตั้งแต่ 0 ถึง 5 เปอร์เซ็นต์
  - 4.1.3. ทดสอบอิทธิพลของขนาดดิน โดยเปรียบเทียบตัวอย่างดินที่มี ขนาด 0.5 มม. และขนาด 2 มม. วิเคราะห์ด้วยวิธีห้องปฏิบัติการ และ ชุดตรวจสอบอย่างง่าย พบว่า ความสัมพันธ์ระหว่างค่าวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุได้จากการอ่านผลจากแผ่นเทียบสีที่พัฒนาขึ้นและห้องปฏิบัติการของดินขนาด 2.0 มม. สูงกว่า 0.5 มม. ทุกกลุ่มเนื้อดิน (ตารางที่ 5) สามารถสรุปได้ว่า ใช้ดินขนาด 2.0 มม. ในการหาปริมาณอินทรีย์วัตถุ โดยใช้ชุดตรวจสอบอย่างง่ายได้ ดังนั้น จึงสามารถใช้ดินขนาด 2.0 มม. ได้โดยไม่ต้องบดตัวอย่างดินและผ่านตะแกรงร่อนขนาด 0.5 มม. ก่อนการวิเคราะห์
  - 4.1.4. จัดเตรียมน้ำยาสกัดที่ใช้ ปรับปรุงอุปกรณ์ที่ใช้สำหรับชุดตรวจสอบ และพัฒนาเป็นชุดตรวจสอบอย่างง่ายสำหรับหาปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน พร้อมคู่มือการใช้งาน
- 4.2. ชุดตรวจสอบฟอสฟอรัส
  - 4.2.1. ดัดแปลงวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ด้วย Molybdenum blue method ด้วยการใช้น้ำยาสกัดเดี่ยว คือ Mehlich I และใช้ phosphorus test strip และเพื่อให้ง่ายต่อการแปรผล จึงได้ทำการปรับตัวแปรจากชุดตรวจสอบอย่างง่าย ให้สอดคล้องกับค่าที่อ่านได้ กับค่าวิเคราะห์โดยใช้น้ำยาสกัด Brayll
  - 4.2.2. พัฒนาแผ่นเทียบสีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ ซึ่งแผ่นเทียบสีที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถอ่านผลวิเคราะห์ได้ตั้งแต่ 0-900 มล./กก.
  - 4.2.3. ปรับปรุงอุปกรณ์และพัฒนาเป็นชุดตรวจสอบฟอสฟอรัสอย่างง่ายในดิน
- 4.3. การพัฒนาชุดตรวจสอบโพแทสเซียม
  - 4.3.1. ดัดแปลงวิธีทำให้เกิดความขุ่นด้วย Sodium cobaltinitrile พบว่า สารดังกล่าวสามารถตกตะกอนโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ ที่ความเข้มข้นสูงมากกว่า 1000 มล./กก.
  - 4.3.2. ปรับปรุงโดยทำให้เกิดความขุ่นด้วย sodium tetraphenyl boron โดยตัดขั้นตอนการใช้ formaldehyde ออกไป เนื่องจากเป็นสารอันตราย ซึ่งสามารถตกตะกอนโพแทสเซียมได้ตั้งแต่ความเข้มข้นต่ำๆ
  - 4.3.3. จัดทำ ชุดเทียบความขุ่นของปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ที่เกิดขึ้น และเพื่อให้ง่ายต่อการแปรผล จึงได้ปรับตัวแปรให้ค่าที่อ่านได้เป็น เทียบเท่ากับผลวิเคราะห์ที่ได้จากน้ำยาสกัด  $\text{NH}_4\text{OAc}$  ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานในห้องปฏิบัติการ ซึ่งชุดเทียบความขุ่นที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถอ่านผลวิเคราะห์ได้ตั้งแต่ 0-1500 มล./กก.

#### 4.3.4. ทำการปรับปรุงอุปกรณ์พัฒนาเป็นชุดตรวจสอบโพแทสเซียมในดิน

### 5. การทดสอบความใช้ได้ของชุดตรวจสอบ

- 5.1. ชุดตรวจสอบอินทรีย์วัตถุ จากการนำชุดตรวจสอบไปให้เกษตรกรจำนวน 36 ราย ทดลองใช้พบว่าได้ผลที่เป็นแนวโน้มเดียวกับผลวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ ( $r = 0.761^{**}$ ) และเมื่อนำมาปริมาณอินทรีย์วัตถุที่ได้ มาแบ่งตามเกณฑ์ความอุดมสมบูรณ์ของดิน พบว่า มีค่าความถูกต้องคิดเป็นร้อยละ 71.0
- 5.2. ชุดตรวจสอบฟอสฟอรัส ให้ผลวิเคราะห์ที่มีสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ผลวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ( $r = 0.994^{**}$ ) และเมื่อนำมาปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ มาแบ่งตามเกณฑ์ความอุดมสมบูรณ์ของดิน พบว่า มีค่าความถูกต้องคิดเป็นร้อยละ 63.9
- 5.3. ชุดตรวจสอบโพแทสเซียมได้ผล วิเคราะห์ที่มีสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ผลวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ ( $r = 0.751^{**}$ ) และเมื่อนำมาปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ มาแบ่งตามเกณฑ์ความอุดมสมบูรณ์ของดิน พบว่า มีค่าความถูกต้องคิดเป็นร้อยละ 65.5

### 6. สสำรวจความพึงพอใจของผู้ทดสอบใช้งานพบว่า

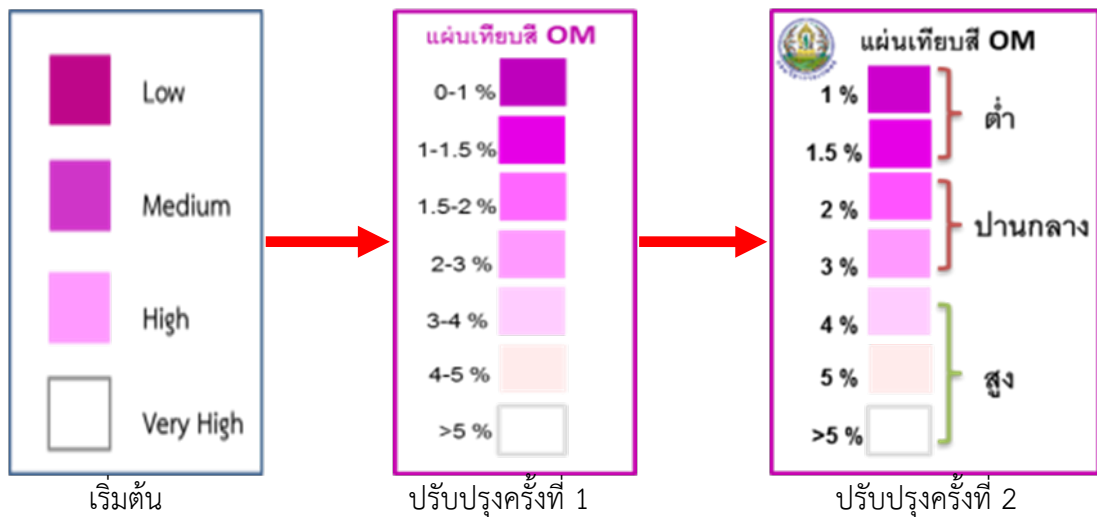
- 6.1. ชุดตรวจสอบอินทรีย์วัตถุทั้งหมด ร้อยละ 80 ของผู้ใช้งาน เห็นว่ามีความสะดวกในการใช้งาน ความปลอดภัยในการใช้งาน การอ่านผลการทดสอบง่ายมีความชัดเจนมาก และผู้ใช้งานทั้งหมดเห็นว่าระยะเวลาในการทดสอบมีความเหมาะสมมาก
- 6.2. ชุดตรวจสอบฟอสฟอรัสทั้งหมด ผู้ใช้งานเห็นว่ามีความสะดวกในการใช้งาน ความปลอดภัยในการใช้งานมาก และร้อยละ 80 ของผู้ใช้งานทั้งหมด เห็นว่าชุดตรวจสอบมีการอ่านผลการทดสอบง่ายมีความชัดเจน และระยะเวลาในการทดสอบมีความเหมาะสมมาก
- 6.3. ชุดตรวจสอบโพแทสเซียมทั้งหมด ผู้ใช้งานเห็นว่ามีความสะดวกในการใช้งานปานกลาง ร้อยละ 80 ของผู้ใช้งานทั้งหมด เห็นว่ามีความปลอดภัยในการใช้งานและระยะเวลาในการทดสอบมีความเหมาะสมปานกลาง และร้อยละ 60 ของผู้ใช้งานทั้งหมด เห็นว่ามีการอ่านผลการทดสอบง่ายมีความชัดเจนปานกลาง

ภาพรวมของชุดตรวจสอบอย่างง่ายอินทรีย์วัตถุ ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในดิน พบว่าผู้ใช้งานทั้งหมดเห็นว่า ขนาดของชุดตรวจสอบมีความเหมาะสมสามารถพกพาได้สะดวก ประหยัด ปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม และทราบผลการทดสอบรวดเร็ว และร้อยละ 80 ของผู้ใช้งานทั้งหมดเห็นว่า วิธีการใช้งานง่ายและสามารถปฏิบัติตามได้ สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้จริง และมีความพึงพอใจในภาพรวมของชุดตรวจสอบอย่างง่ายอินทรีย์วัตถุ ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในดินมาก ข้อเสนอแนะเพิ่มเติมของผู้ใช้งานชุดตรวจสอบ ได้แก่ แผ่นเทียบสีควรแบ่งเป็นช่วงความอุดมสมบูรณ์ด้วย เพื่อให้สามารถแปรผลได้เองอย่างคร่าวๆ ชุดเทียบสีโพแทสเซียมเทียบสีค่อนข้างยาก จึงควรพัฒนาให้เทียบสีได้ง่ายขึ้นอีก ควรทำการทดสอบลดระยะเวลาการเขย่าลงอีก ควรลดขั้นตอนให้น้อยลงอีก

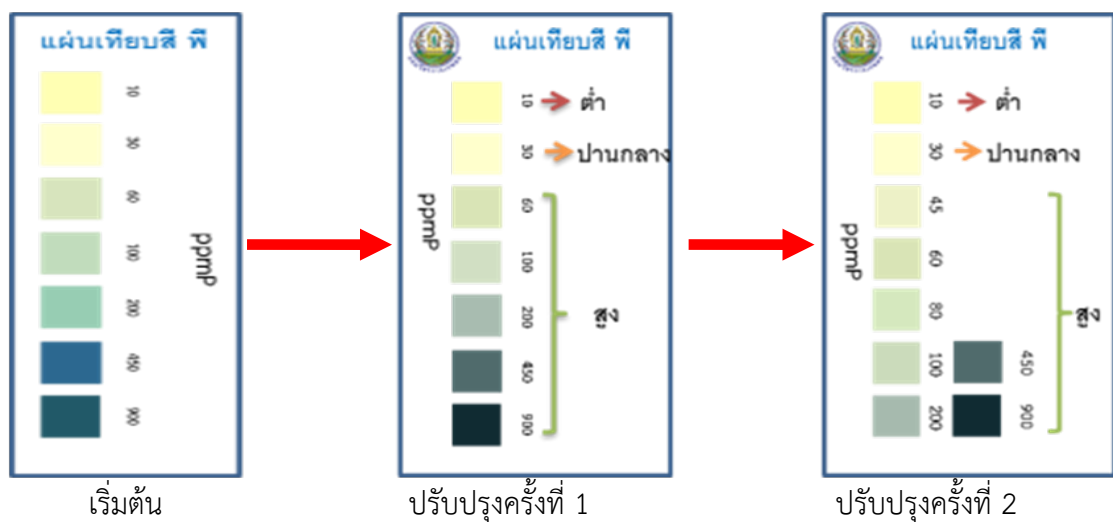
### 7. ปรับปรุงชุดตรวจสอบจากข้อเสนอแนะของผู้ใช้งานชุดตรวจสอบดังนี้

- 7.1. ชุดตรวจสอบอินทรีย์วัตถุ ปรับปรุงโดยปรับแผ่นเทียบสี OM โดยระบุเกณฑ์ทั่วไป ต่ำ ปานกลาง สูงลงไป และ เปลี่ยนจากการอ่านเป็นช่วงเป็นค่าเดียวรวมน้ำยา OM1 OM2 เป็นตัวเดียวกัน และลดเวลาในการเขย่าจาก 2 นาที และ 1 นาทีทำให้สามารถลดอุปกรณ์ลงได้ 2 ชิ้น (ภาพที่ 2)

- 7.2. ชุดตรวจสอบฟอสฟอรัสปรับปรุงโดยปรับแผนเทียบสีโดยเพิ่มช่วงความเข้มข้นให้ละเอียดมากขึ้น และระบุเกณฑ์ทั่วไป ต่ำ ปานกลาง สูงลงไปและลดเวลาในการเขย่าจาก 5 นาที เป็น 1 นาที (ภาพที่ 3)
- 7.3. ชุดตรวจสอบโพแทสเซียมปรับปรุงโดยปรับชุดเทียบสีโดย เป็นกระดาดความขุ่นของสารละลายและระบุเกณฑ์ทั่วไป ต่ำ ปานกลาง สูงลงไปและลดเวลาในการเขย่าจาก 5 นาที เป็น 1 นาทีทำให้สามารถลดอุปกรณ์ในการทำชุดเทียบสีเดิมลงได้ 9 ชิ้น (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 2 การปรับปรุงแผ่นเทียบสีอินทรีย์วัตถุ

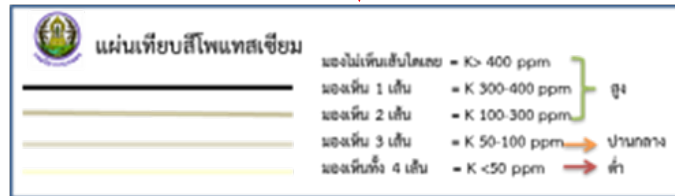


ภาพที่ 3 การปรับปรุงของแผ่นเทียบสีฟอสฟอรัส

เริ่มต้น



ปรับปรุงครั้งที่ 1



ภาพที่ 4 ปรับปรุงชุดเทียบสีโพแทสเซียมเป็นแผ่นเทียบสีโพแทสเซียม

คัดเลือกตัวอย่างดินที่มี อินทรีย์วัตถุ ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ต่ำถึงสูง นำมาวิเคราะห์โดยใช้ชุดตรวจสอบชุดเก่า และชุดตรวจสอบที่ปรับปรุงขึ้นใหม่ เปรียบเทียบผลวิเคราะห์ที่ได้จากชุดตรวจสอบชุดเก่า และชุดตรวจสอบที่ปรับปรุงขึ้นใหม่โดยใช้ t-test พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ นำผลการทดสอบจากชุดตรวจสอบที่ปรับปรุงใหม่ มาแจกแจงความถี่แบบ 2 ทาง โดยใช้ตาราง three by three ตามระดับความเข้มข้นต่ำ ปานกลาง สูง (ตารางที่ 6) เพื่อประเมินประสิทธิภาพชุดตรวจสอบโดยวิเคราะห์ข้อมูลเปรียบเทียบกับผลวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ พิสูจน์ความแม่นยำ (relative accuracy) โดยนำผลรวมของตัวอย่างที่อยู่ในช่วงเดียวกัน ทหารด้วยผลรวมของตัวอย่างทั้งหมด และคูณด้วย 100 พบว่าค่าความแม่นยำที่ได้ คือ 93.3, 80.0 และ 69.6 เปอร์เซ็นต์ และค่าสัมประสิทธิ์แคปป่าแบบถ่วงน้ำหนัก 0.97, 0.83 และ 0.80 สำหรับชุดตรวจสอบอินทรีย์วัตถุ ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ตามลำดับ

หาค่าสถิติ Kappa coefficient (k) แบบถ่วงน้ำหนัก เพื่อประเมินการยอมรับและความน่าเชื่อถือของชุดตรวจสอบ (Harold *et al.*, 2003) โดยเกณฑ์การประเมินที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% โดยมีขั้นตอน

- หาสัดส่วนของผลวิเคราะห์ที่อ่านได้ในแต่ละช่วงความเข้มข้นที่ได้จากห้องปฏิบัติการและชุดตรวจสอบ คือ ค่าที่ได้หารด้วยจำนวนตัวอย่างทั้งหมดได้ผลดัง ตารางที่ 7
- หาสัดส่วนของการถ่วงน้ำหนักของค่าสังเกตและค่าที่คาดหวังโดยสัดส่วนของการถ่วงน้ำหนักของค่าสังเกต ได้จากผลคูณของสัดส่วนของผลวิเคราะห์ (ตารางที่ 7) และค่าจากสมการกำลังสองของตารางแบบ 3x3 (ตารางที่ 8)
- หาสัดส่วนของการถ่วงน้ำหนักของค่าที่คาดหวังได้จากผลคูณของสัดส่วนของผลวิเคราะห์ ผลรวมของสัดส่วนของผลวิเคราะห์ในแต่ละช่วงความเข้มข้น (ตารางที่ 7) และค่าจากสมการกำลังสองของตารางแบบ 3x3 (ตารางที่ 8) ได้ผลดัง ตารางที่ 9
- หาค่าสถิติ Kappa coefficient (k) แบบถ่วงน้ำหนัก โดยใช้สมการ

$$kw = \frac{Po(w) - Pe(w)}{1 - Pe(w)}$$

เมื่อ  $Po(w)$  คือ ผลรวมของสัดส่วนของการถ่วงน้ำหนักของค่าสังเกต

$Pe(w)$  คือ ผลรวมของสัดส่วนของการถ่วงน้ำหนักของค่าที่คาดหวัง  
 ค่าสัมประสิทธิ์แคปป่าแบบถ่วงน้ำหนักที่ได้คือ 0.97, 0.83 และ 0.80 สำหรับชุด  
 ตรวจสอบอินทรีย์วัตถุ ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ตามลำดับแสดงว่าชุดตรวจสอบที่  
 พัฒนาขึ้นนี้มีความน่าเชื่อถือมาก (Harold *et al.*, 2003) ตามภาพที่ 5



ภาพที่ 5 ชุดตรวจสอบอินทรีย์วัตถุ ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในดิน

ตารางที่ 6 Frequency of results of laboratory and organic matter phosphorus and potassium soil test kits who rate as low medium or high

Lab	OM kit				P Kit				K Kit			
	Low	Medium	High	Total	Low	Medium	High	Total	Low	Medium	High	Total
Low	4	0	0	4	1	0	1	2	5	2	1	8
Medium	1	2	0	3	1	2	1	4	0	3	3	6
High	0	0	8	8	0	0	9	9	1	0	8	9
Total	5	2	8	15	2	2	11	15	6	5	12	23

ตารางที่ 7 Proportion of results of laboratory and organic matter phosphorus and potassium soil test kits who rate as low medium or high

Lab	OM kit				P Kit				K Kit			
	Low	Medium	High	Total	Low	Medium	High	Total	Low	Medium	High	Total
Low	0.27	0.00	0.00	0.27	0.07	0.00	0.07	0.13	0.22	0.09	0.04	0.35
Medium	0.07	0.13	0.00	0.20	0.07	0.13	0.07	0.27	0.00	0.13	0.13	0.26
High	0.00	0.00	0.53	0.53	0.00	0.00	0.60	0.60	0.04	0.00	0.35	0.39
Total	0.33	0.13	0.53	1.00	0.13	0.13	0.73	1.00	0.26	0.22	0.52	1.00

ตารางที่ 8 Quadratic for 3x3 table

	Low	Medium	High
Low	1.00	0.75	0.00
Medium	0.75	1.00	0.75
High	0.00	0.75	1.00

ตารางที่ 9 Weighted proportion of observed and expected result

Soil fertility level	Observed weighted proportions for soil fertility level			Expected weighted proportions for soil fertility level			
	Low	Medium	High	Low	Medium	High	
OM	Low	0.27	0.00	0.00	0.07	0.00	0.00
	Medium	0.05	0.13	0.00	0.01	0.03	0.00
	High	0.00	0.00	0.53	0.00	0.00	0.28
	Sum ( $P_o(w)$ )			0.98	Sum ( $P_e(w)$ )		0.39
P	Low	0.07	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
	Medium	0.05	0.13	0.05	0.01	0.04	0.01
	High	0.00	0.00	0.60	0.00	0.00	0.36
	Sum ( $P_o(w)$ )			0.90	Sum ( $P_e(w)$ )		0.43
K	Low	0.22	0.07	0.00	0.08	0.02	0.00
	Medium	0.00	0.13	0.10	0.00	0.03	0.03
	High	0.00	0.00	0.35	0.00	0.00	0.14
	Sum ( $P_o(w)$ )			0.86	Sum ( $P_e(w)$ )		0.29

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

ได้น้ำยาสกัดเดี่ยว (Mehlich 1) ที่สามารถสกัดหาปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในครั้งเดียว ที่ให้ค่าวิเคราะห์ที่มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับวิธีมาตรฐานที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ โดยมีสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.959\*\* และ 0.945\*\* สำหรับฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ ตามลำดับ

ได้ตัวแปรระหว่างน้ำยาสกัดเดี่ยวและน้ำยาสกัดที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ โดยใช้สมการ Linear regression ระหว่างค่าวิเคราะห์ที่ได้จากน้ำยาสกัดเดี่ยวและน้ำยาสกัดที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ คือ  $y=0.9581x-12.973$  สำหรับฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และ  $y=0.5372x+15.283$  สำหรับโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้

เพื่อความสะดวกในการใช้งานชุดตรวจสอบอย่างง่ายสามารถใช้ตัวอย่างดินที่เก็บจากแปลงที่ไม่มีน้ำท่วมขังความชื้นดินไม่เกิน 20 เปอร์เซ็นต์ หรือดินที่ฝังให้แห้งในที่ร่มแล้วบดโดยไม่ต้องใช้ตะแกรงร่อน

ได้ชุดตรวจสอบอย่างง่าย โดยหาปริมาณอินทรีย์วัตถุใช้หลักการการออกซิโดซ์คาร์บอนด้วย  $KMnO_4$  ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ดัดแปลงจาก Molybdenum blue method และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ดัดแปลงจาก Turbidimetric method โดยการตกตะกอนโพแทสเซียมด้วย Sodium tetraphenylborate โดยเลือกใช้สารเคมีที่ปลอดภัย ลดขั้นตอนการปฏิบัติงาน วัสดุที่ใช้ และเวลาในการทดสอบลง

จากการทดสอบชุดตรวจสอบอย่างง่ายได้ผลที่เป็นแนวโน้มเดียวกับผลวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ โดยแบ่งตามเกณฑ์ความอุดมสมบูรณ์ของดิน พบว่า มีค่าความถูกต้องคิดเป็นร้อยละ 71.0 63.9 และ 65.5 สำหรับอินทรีย์วัตถุ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ ตามลำดับ

จากการทดลองให้เกษตรกรนำไปใช้ประโยชน์เบื้องต้นในพื้นที่จังหวัดพิจิตรร้อยเอ็ดและนครนายก และผู้ที่สนใจ พบว่า ผู้ใช้งานทั้งหมดเห็นว่า ขนาดของชุดตรวจสอบมีความเหมาะสม สามารถพกพาได้สะดวก ประหยัด ปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม และทราบผลการทดสอบรวดเร็ว และร้อยละ 80 ของผู้ใช้งานทั้งหมดเห็นว่า วิธีการใช้งานง่ายและสามารถปฏิบัติตามได้ สามารถนำไปใช้

ประโยชน์ได้จริง และมีความพึงพอใจในภาพรวมของชุดตรวจสอบอย่างง่ายอินทรีย์วัตถุ ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในดินมาก

จากการปรับปรุงชุดตรวจสอบตามข้อเสนอแนะของผู้ใช้งานชุดตรวจสอบทำให้ได้ชุดตรวจสอบที่มีความแม่นยำร้อยละ 93.3, 80.0 และ 69.6ซึ่งเพิ่มขึ้น ร้อยละ 22.3, 16.1 และ 4.4และค่าสัมประสิทธิ์แคปป่าแบบถ่วงน้ำหนัก 0.97, 0.83 และ 0.80 สำหรับอินทรีย์วัตถุ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ ตามลำดับซึ่งมีความน่าเชื่อถือมาก ชุดตรวจสอบขนาด 50ตัวอย่างราคาต้นทุน 2931 บาท คิดเป็น 58.6 บาทต่อตัวอย่างซึ่งราคาถูกกว่าชุดตรวจสอบทั่วไปที่มีจำหน่ายในท้องตลาด

## การวิจัยและพัฒนาชุดตรวจสอบอย่างง่าย แคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถันและเหล็กในดิน Research and Development of Soil Testkits to Determine Calcium Magnesium Sulfur and Iron in Soils

จรรย์รัตน์ กุศลวิริยะวงศ์ เจนจิรา เทเวศร์วรกุล จิตติรัตน์ ชูชาติ สงกรานต์ มะลิสอน  
กัญฐณา คล้ายแก้ว

Charirat Kusonwiriawong Janejira Teweswarakul Jittirat Choochat  
Songkran Malisorn Kanthana Klaijaew

### คำสำคัญ (Keywords)

ชุดตรวจสอบอย่างง่าย แคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน เหล็ก ดิน  
Soil testkits Calcium Magnesium Sulfur Iron Soil

### บทคัดย่อ(Abstract)

การพัฒนาชุดตรวจสอบอย่างง่ายแคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน และเหล็ก ในดิน มีแนวคิดให้มีส่วนน้อย ใช้งานง่าย ทราบผลเร็วและไม่ใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายต่อผู้ใช้งานและสิ่งแวดล้อม โดยประยุกต์ใช้วิธีการสกัดดินสำหรับวิเคราะห์แคลเซียม แมกนีเซียม และเหล็ก ด้วยน้ำยาสกัดเดี่ยว Mehlich III และหาปริมาณ แคลเซียม และแมกนีเซียมโดยใช้วิธี EDTA Titration หาปริมาณเหล็ก ด้วยวิธี Phenanthroline method และการวิเคราะห์กำมะถันใช้วิธีสกัดดินด้วย  $\text{Ca}_2\text{HPO}_4$  และหาปริมาณโดยวิธี Turbidimetric method ทดสอบประสิทธิภาพ และการใช้งานชุดตรวจสอบ แคลเซียม แมกนีเซียมกำมะถัน และเหล็ก โดยใช้ตรวจสอบตัวอย่างดินของเกษตรกร จำนวน 200 ตัวอย่าง ในพื้นที่จังหวัดพิจิตร ร้อยเอ็ด นครนายก สมุทรปราการ และนครปฐม ในการปลูกมะม่วง มะยงชิด พืชผัก ข้าวโพด และมันสำปะหลัง ประเมินประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบ โดยใช้ผลการตรวจสอบตัวอย่างดินด้วยชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้น เปรียบเทียบกับผลการตรวจสอบด้วยวิธีมาตรฐานของห้องปฏิบัติการคำนวณหาค่าความแม่นยำและหาค่าสถิติ Kappa coefficient (K) ซึ่งเป็นเกณฑ์ในการประเมินการยอมรับหรือความน่าเชื่อถือของชุดตรวจสอบพบว่าชุดตรวจสอบมีความแม่นยำเฉลี่ยร้อยละ 81.0 มีค่าสถิติ Kappa coefficient (K) เฉลี่ยเท่ากับ 0.57 ถือว่าชุดตรวจสอบนี้อยู่ในเกณฑ์การยอมรับหรือมีความน่าเชื่อถืออยู่ในระดับที่ดี ( $P < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดตรวจสอบ

อื่น พบว่า ชุดตรวจสอบอื่นมีความแม่นยำเฉลี่ยร้อยละ 72.2 มีค่าสถิติ Kappa coefficient (**K**) เฉลี่ยเท่ากับ 0.22 อยู่ในเกณฑ์การยอมรับหรือมีความน่าเชื่อถืออยู่ในระดับปานกลาง ประเมินความพึงพอใจของผู้ใช้งานชุดตรวจสอบ พบว่า ชุดตรวจสอบมีขั้นตอนการใช้งานง่าย ใช้เวลาในการวิเคราะห์เพียง 5 นาที เมื่อเทียบกับชุดตรวจสอบอื่นซึ่งใช้เวลานาน 10 นาที มีต้นทุนค่าวิเคราะห์ต่อตัวอย่างเฉลี่ย 58.84 บาท ในขณะที่ชุดตรวจสอบอื่นมีต้นทุนต่อตัวอย่างเฉลี่ยมากกว่า 85.00 บาท เมื่อเปรียบเทียบด้านราคา พบว่า ชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นมีราคาถูกกว่าชุดตรวจสอบอื่นในท้องตลาดเฉลี่ยถึงร้อยละ 44 ดังนั้นชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นเป็นชุดตรวจสอบที่ประหยัด มีประสิทธิภาพเหมาะสม สามารถพกพาได้สะดวกเหมาะสมสำหรับการนำไปใช้พื้นที่

Development of TestKits for determine Calcium, Magnesium, Sulfur and Iron in the soil is thought to have a small step, easy to use, know the results quickly and do not use chemicals that are harmful to users and the environment. By applying soil extraction methods for calcium, magnesium and iron extraction using Mehlich III single extraction and determination of calcium and magnesium content by using EDTA Titration, iron by using phenanthroline method and sulfur analysis using soil extraction method with  $\text{Ca}_2\text{HPO}_4$  and determine sulfur with Turbidimetric method. Performance test And the use of calcium, sulfur and iron test kits using 200 soil samples in Phichit, Roi Et, Nakhon Nayok, SamutPrakan and Nakhon Pathom for growing mangoes, rhizomes, vegetables, corn and cassava. Evaluate the efficiency of the test kits By using the results of the soil sample examination with the developed test kits compare with the results of the laboratory standard method. Calculate the accuracy and find the statistical value of Kappa coefficient (**K**) which is the criterion for evaluating the acceptance or reliability of the test kit. It is found that the average accuracy of the test set is 81.0 percent with the Kappa coefficient (**K**), which is equal to 0.57. With the reliability at a good level ( $P < 0.05$ ) when compared with other test kits, it was found that the other test kits had an average accuracy of 72.2 percent, with the Kappa coefficient (**K**) statistically equal to 0.22 in the acceptance criteria at moderate level. Assessing the satisfaction from the users found that the test kits have easy to use procedures. The analysis time is only 5 minutes, compared to other test kits which take 10 minutes. The average cost of analysis per sample is 58.84 baht, while others has an average cost per sample of more than 85.00 baht. That the developed test kits are 44% cheaper than other test kits in the market. It was concluded that test kits can be carried easily, suitable for use in the field.

## บทนำ (Introduction)

การพัฒนาชุดตรวจสอบธาตุอาหารในดิน ถูกพัฒนาขึ้นโดยใช้น้ำยาสกัดธาตุอาหารต่างชนิดกันได้ครั้งเดียวหรือเป็นน้ำยาสกัดเดียวจะทำให้วิเคราะห์ธาตุอาหารต่างชนิดกันได้ง่ายสะดวกรวดเร็ว ประหยัดเวลาและค่าใช้จ่ายเกษตรกรสามารถวิเคราะห์ได้เองในภาคสนาม และมีโอกาสทราบถึงปริมาณธาตุอาหารที่มีอยู่เป็นทุนเดิมในดินและพืชก่อนปลูกหรือก่อนใส่ปุ๋ยของพื้นที่



แคลเซียม แมกนีเซียมและกำมะถัน จัดเป็นธาตุอาหารรอง ( Secondary Essential Elements) เหล็กจัดเป็นธาตุอาหารเสริม (Micronutrient) เป็นธาตุอาหารที่พืชต้องการปริมาณน้อยมากและสะสมในเนื้อเยื่อพืชในความเข้มข้นต่ำกว่า 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (พืชแห้ง) เป็นธาตุที่เป็นองค์ประกอบของสารที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของพืช (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2548) แม้ว่าพืชมีความต้องการน้อย แต่หากขาดธาตุใดธาตุหนึ่งไปพืชไม่อาจเจริญเติบโตตามปกติได้ (ยงยุทธ, 2546) เนื่องจากพืชมีปริมาณความต้องการน้อยและมักพบมากในดินรวมทั้งจากการใส่ปุ๋ยก็จะได้ธาตุอาหารดังกล่าวมาด้วย จึงไม่เกิดอาการขาดยกเว้นแต่ว่าเป็นพื้นที่ที่มีปัญหาเช่น พื้นที่ที่เป็นดินกรดจัด ความเป็นประโยชน์ของแคลเซียมจะน้อย ขณะที่พื้นที่ดินปูนมักจะพบปัญหาการขาดธาตุ (Bashour and sayegh, 2007) เป็นต้น การทราบถึงปริมาณความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารดังกล่าว นำไปสู่การจัดการธาตุอาหารได้อย่างแม่นยำและเหมาะสมในการวิเคราะห์ธาตุอาหารดังกล่าวในห้องปฏิบัติการสามารถทำได้หลายวิธี ไม่ว่าจะเป็นการชั่งน้ำหนัก การไตเตรท รวมทั้งการวัดค่าการดูดกลืนแสง ซึ่งเป็นวิธีปัจจุบันที่นำมาใช้ในห้องปฏิบัติการ (กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี, 2553) แต่ว่าการวิเคราะห์ต้องใช้เวลาอันยาวนาน ดังนั้น ทางกลุ่มงานจึงได้จัดทำชุดตรวจสอบธาตุรองและธาตุเสริมดังกล่าวขึ้น โดยการประยุกต์ใช้วิธีในห้องปฏิบัติการที่เป็นที่ยอมรับและน่าเชื่อถือ หรือวิธีที่มีความสัมพันธ์สูงกับวิธีในห้องปฏิบัติการดังกล่าวมาพัฒนาจัดทำเป็นชุดตรวจสอบขึ้น ทั้งนี้เพื่อให้เกษตรกรรวมทั้งผู้ที่ต้องการนำชุดตรวจสอบไปใช้ สามารถนำชุดทดสอบไปใช้ในภาคสนาม พร้อมทั้งแปลผลวิเคราะห์จากชุดตรวจสอบ ทั้งนี้เพื่อนำไปสู่การจัดการธาตุอาหารต่อไปพร้อมทั้งทดสอบความพึงพอใจการใช้งานในภาคสนามต่อไป

### ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

อุปกรณ์เครื่องมือ และสารเคมี ได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง Atomic Absorption Spectrophotometer UV-vis Spectrophotometer สารเคมี เครื่องแก้ว และวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างดินที่มีปริมาณ Ca Mg S Fe ต่ำ กลาง และสูง

### วิธีการ

1. พัฒนาวิธีการ สกัด และวิเคราะห์ ที่เหมาะสมสำหรับ จัดทำชุดตรวจสอบ ปริมาณ แคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน และเหล็กในดิน
  - 1.1. เลือกวิธีการสกัดเดี่ยว โดย เปรียบเทียบ น้ำยาสกัดเดี่ยว Mehlich III กับน้ำยาสกัดที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ น้ำยาสกัด  $\text{NH}_4\text{OAc}$ , DTPA และ  $\text{Ca}_2\text{HPO}_4$  ในการสกัด แคลเซียม และแมกนีเซียม กำมะถัน และเหล็ก ตามลำดับ พร้อมทั้งศึกษาความสัมพันธ์ของน้ำยาสกัดเดี่ยว และน้ำยาสกัดที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ
  - 1.2. พัฒนาวิธีการวิเคราะห์สำหรับใช้ทำชุดตรวจสอบ โดยคัดเลือกและวิเคราะห์เปรียบเทียบกับวิธีห้องปฏิบัติการ ใน ตัวอย่างดินที่มีสมบัติแตกต่างกัน 3 กลุ่ม ตามกลุ่มเนื้อดิน คือ กลุ่มดินเนื้อละเอียด (Fine-textured soils) กลุ่มดินเนื้อปานกลาง (Medium-textured soils) กลุ่มดินเนื้อหยาบ (Coarse-textured soil) โดยใช้น้ำยาสกัดเดี่ยวที่คัดเลือกได้ แล้วเขย่าดินด้วยมือแทนการเขย่าด้วยเครื่อง เปรียบเทียบ และหาความสัมพันธ์ระหว่างผลวิเคราะห์ที่ได้จากวิธีมาตรฐานที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ กับชุดตรวจสอบอย่างง่าย

2. พัฒนาชุดตรวจสอบจากวิธีห้องปฏิบัติการ รวมทั้งศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างวิธีที่ประยุกต์ใช้ในชุดตรวจสอบและในห้องปฏิบัติการ
- 2.1. จัดเตรียมวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในชุดตรวจสอบดิน เช่น หลอดทดลอง ชั้นวางหลอดทดลอง ขวดเขย่าและรองรับสารละลายดิน และหลอดฉีดยา เป็นต้น
- 2.2. ปรับอัตราส่วนของสารเคมีที่ใช้ให้เหมาะสำหรับการใช้งานในรูปแบบของชุดตรวจสอบ โดยการทดสอบหาปริมาณแคลเซียม และแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ เลือกใช้วิธี EDTA Titration method ปริมาณกำมะถันที่เป็นประโยชน์เลือกใช้วิธี Turbidimetric method และปริมาณเหล็กที่สกัดได้เลือกใช้วิธี Phenanthroline method เนื่องจากเป็นวิธีที่ทำให้เกิดสี หรือเห็นปฏิกิริยาเกิดขึ้นชัดเจน
- 2.3. ทดสอบประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบ โดยใช้ชุดตรวจสอบทดสอบตัวอย่างดิน จำนวนกว่า 200 ตัวอย่าง ประเมินประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบโดย หาค่าความแม่นยำ (accuracy) ความไว (Sensitivity) ความจำเพาะ (Specificity) ของชุดตรวจสอบ จากข้อมูลผลการทดสอบจากชุดตรวจสอบ (Expected results) และผลการทดสอบจากห้องปฏิบัติการ (Obtained results) โดยใช้ผลบวกจริง (TP) คือ ผลการทดสอบโดยใช้ชุดตรวจสอบให้ผลความเข้มข้นของสารทดสอบในตัวอย่างสูงตรงกับผลการทดสอบในห้องปฏิบัติการผลบวกปลอม (FP) คือ ผลการทดสอบโดยชุดตรวจสอบให้ผลความเข้มข้นสูงในขณะที่ผลการทดสอบในห้องปฏิบัติการให้ผลความเข้มข้นต่ำ ผลลบปลอม (FN) คือ ผลการทดสอบโดยชุดตรวจสอบให้ผลความเข้มข้นต่ำในขณะที่ผลการทดสอบในห้องปฏิบัติการให้ผลความเข้มข้นสูง และผลลบจริง (TN) คือ ผลการทดสอบโดยใช้ชุดตรวจสอบให้ผลความเข้มข้นต่ำตรงกับผลการทดสอบในห้องปฏิบัติการและประเมินค่าสถิติ Kappa coefficient (K) เพื่อประเมินระดับของการยอมรับ หรือความน่าเชื่อถือ (Degree of agreement) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ตามตารางที่ 1 พร้อมทั้งประเมินค่าความแม่นยำของชุดตรวจสอบตามตารางที่ 2 ตามวิธีของ National Association of Testing Authorities, Australia; NATA (2018) และ Validation of proprietary chemical methods (test kits) ตามวิธีของ Association of Official Analytical Chemists; AOAC (2010) โดยมีสูตรในการคำนวณดังต่อไปนี้

$$\begin{aligned} \text{ความแม่นยำ} \quad (\% \text{ accuracy}) &= \frac{(TP + TN)}{(TP + FP + FN + TN)} \times 100 \\ \text{ความไว} \quad (\% \text{ sensitivity}) &= \frac{TP}{(TP + FN)} \times 100 \\ \text{ความจำเพาะ} \quad (\% \text{ specificity}) &= \frac{TN}{(TN + FP)} \times 100 \\ \text{Kappa coefficient (K)} &= \frac{2 ((TP \times TN) - (FN \times FP))}{(TP+FN) (FN+TN) + (TP+FP) (FP+TN)} \end{aligned}$$

**ตารางที่ 1** ค่าสถิติ Kappa coefficient (K) เพื่อประเมินระดับของการยอมรับ หรือความ น่าเชื่อถือ (Degree of agreement) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (AOAC, 2010; NATA, 2018)

ค่าสถิติkappa (K) value	ประเมินระดับของการยอมรับ หรือความน่าเชื่อถือของชุดตรวจสอบ
0-0.20	Poor agreement
0.21-0.40	Fair agreement
0.41-0.60	Moderate agreement
0.61-0.80	Good agreement
0.81-1.00	Very good agreement

**ตารางที่ 2** ประเมินประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบจากค่าความแม่นยำ (% Accuracy) (WHO, 2006)

% Accuracy	Ranking	Rating	การประเมินประสิทธิภาพชุดตรวจสอบ
>90 to ≤100	A1	Excellent	Kit is almost perfect
>80 to ≤90	A2	Very Good	Kit requires very little intervention for up gradation
>70 to ≤80	B1	Good	Kit needs little improvement
>60 to ≤70	B2	Moderate	Kit needs considerable improvement
>50 to ≤60	C1	Average	Major interventions required for up gradation
>40 to ≤50	C2	Below Average	Major interventions required for up gradation
>30 to ≤40	D1	Poor	Lots of R&D inputs required for compliance with quality standards
>20 to ≤30	D2	Very Poor	Lots of R&D inputs required for compliance with quality standards
>10 to ≤20	E1	Very Poor	Lots of R&D inputs required for compliance with quality standards
≤ 10	E2	Very Poor	Lots of R&D inputs required for compliance with quality standards

2.4. ประเมินความพึงพอใจจากผู้ใช้งานชุด ตรวจสอบ พร้อมทั้งประเมินการเก็บรักษาชุด ตรวจสอบเพื่อกำหนดอายุการใช้งานของชุดตรวจสอบ วิเคราะห์ต้นทุนการผลิต

ระยะเวลา เริ่มต้น ต.ค. 2558 สิ้นสุด ก.ย. 2561

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มงาน วิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

**ผลการวิจัย (Results)**

1. พัฒนาวิธีการสกัด และวิเคราะห์ ที่เหมาะสมสำหรับ จัดทำชุดตรวจสอบ แคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน และเหล็กในดิน พบว่า
  - 1.1. วิธีสกัดโดยใช้ น้ำยาสกัด Mehlich III ในการสกัด แคลเซียม และแมกนีเซียม และเหล็กที่ แลกเปลี่ยนได้ในดิน มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับวิธีสกัดโดยใช้น้ำยาสกัด NH<sub>4</sub>OAc และ DTPA โดยมี สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.947\*\* 0.934\*\* และ 0.851\*\* ตามลำดับ ในขณะที่การสกัดด้วยน้ำยาสกัด Mehlich III เพื่อสกัดกำมะถันในดิน มีความสัมพันธ์ต่ำ โดยมีสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.471 จึงเลือกน้ำยาสกัดดินให้ได้ น้ำยาสกัด Mehlich III สำหรับสกัดแคลเซียม แมกนีเซียม และเหล็ก และได้ น้ำยาสกัด Ca<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> สำหรับสกัดกำมะถันในดิน

- 1.2. ประยุกต์วิธีวิเคราะห์ที่ใช้ทำชุดตรวจสอบจากวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์ดิน Methods of soil analysis (Sparks *et al*, 1996) โดยวิธีวิเคราะห์แคลเซียม แมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ ใช้วิธี EDTA–Titration method วิเคราะห์ปริมาณเหล็กที่สกัดได้ ใช้วิธี phenanthroline Method และวิเคราะห์ปริมาณกำมะถันในดิน ใช้วิธี Turbidity method ให้ผลการวิเคราะห์ที่ความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง กับวิธีห้องปฏิบัติการในทุกกลุ่มเนื้อดิน โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ตามตารางที่ 3

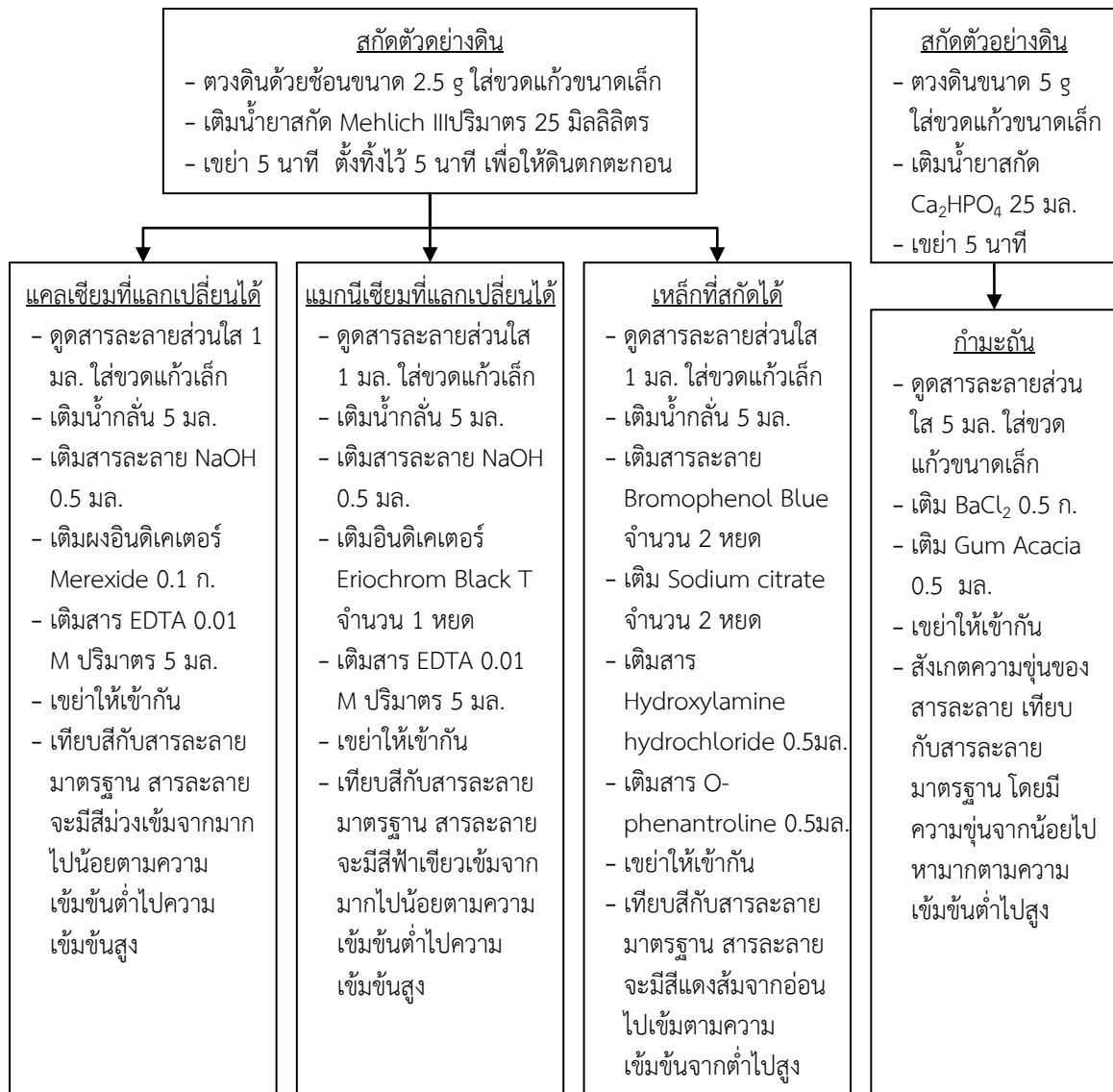
**ตารางที่ 3** ความสัมพันธ์ระหว่างค่าวิเคราะห์แคลเซียม แมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ เหล็กที่สกัดได้ และกำมะถันในดินโดยวิธีที่จะใช้จัดทำชุดตรวจสอบและวิธีมาตรฐานที่ใช้ในห้องปฏิบัติการในแต่ละกลุ่มเนื้อดิน (correlation coefficient: r)

กลุ่มเนื้อดิน	สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient: r)			
	Ca (Mehlich III)	Mg (Mehlich III)	Fe (Mehlich III)	S (Ca <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )
ดินเนื้อละเอียด	0.895**	0.947**	0.986**	0.878**
ดินเนื้อปานกลาง	0.963**	0.897**	0.935**	0.867**
ดินเนื้อหยาบ	0.886**	0.938**	0.944**	0.912**

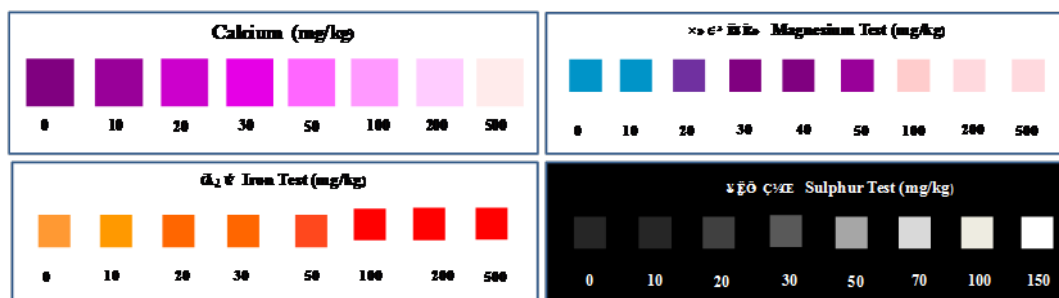
2. พัฒนาชุดตรวจสอบแคลเซียม และแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ กำมะถัน และเหล็ก โดยนำวิธีการสกัด และวิเคราะห์ที่ได้คัดเลือกแล้ว มาปรับอัตราส่วนสารเคมีให้เหมาะสมกับการใช้งานในรูปแบบชุดตรวจสอบ และ จัดทำเป็นชุดตรวจสอบเชิงกึ่งปริมาณ (Semi-quantitative) และพัฒนาวิธีการเทียบสีโดยใช้แผ่นเทียบสี (Paper Strip/ Colorimetric Strip) โดยใช้สีของปฏิกิริยาเคมีที่ได้จากการทดสอบตัวอย่างดินอ่านผลจากแผ่นเทียบสีนำผลการทดสอบที่ได้ชุดตรวจสอบไปปรับให้สอดคล้องกับผลการทดสอบจากห้องปฏิบัติการ พัฒนาจนสามารถแยกสีได้ชัดเจนตามระดับความเข้มข้น และสอดคล้องกับคำแนะนำการใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน (ตารางที่ 4) จัดทำขั้นตอนการวิเคราะห์ในชุดตรวจสอบตามภาพที่ 1 และปรับปรุงแผ่นเทียบสี จนสามารถแยกสีได้ชัดเจนตามระดับความเข้มข้น และนำไปทดสอบการใช้งาน ตามภาพที่ 2

**ตารางที่ 4** วิธีวิเคราะห์ และการทำปฏิกิริยาที่ใช้ในการจัดทำของชุดตรวจสอบ

ชุดตรวจสอบ	วิธีวิเคราะห์	วิธีวิเคราะห์ และการทำปฏิกิริยาของชุดตรวจสอบ
แคลเซียม	EDTA Titration	<b>Colour:</b> Reaction Ca and EDTA with Murexide Indicator form pink to wine-red complex at pH 12
แมกนีเซียม	EDTA Titration	<b>Colour:</b> Reaction Mg and EDTA with Eriochrome black T (EBT) Indicator form Blue-green to Wine-red at pH 10
กำมะถัน	Turbidimetric method	<b>Turbidity:</b> Sulfate reaction with barium chloride to form an insoluble barium sulfate salt which produces turbidity.
เหล็ก	Phenanthroline method	<b>Colour:</b> Iron reaction with O-phenanthroline to form an orange-red coloured complex.



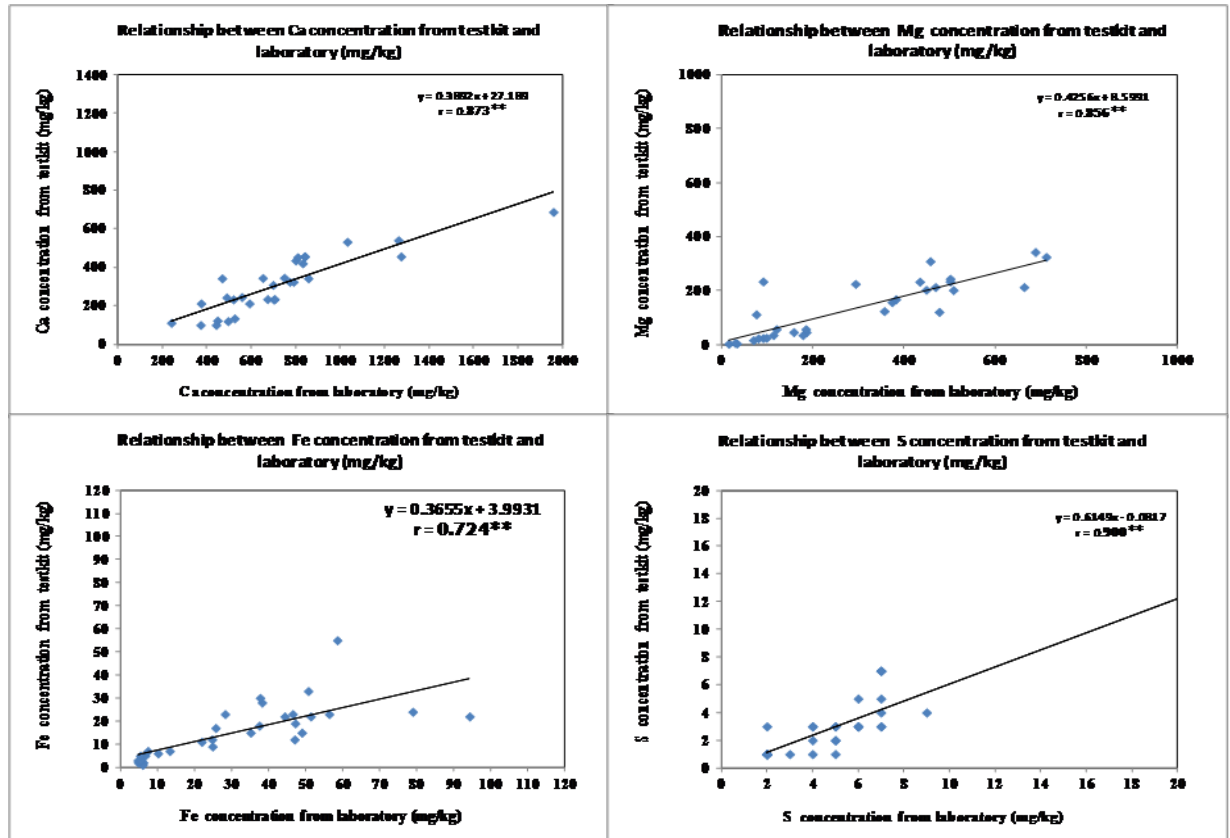
ภาพที่ 1 ขั้นตอนการวิเคราะห์ชุดตรวจสอบอย่างง่าย แคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน และเหล็กในดิน



ภาพที่ 2 แผ่นเทียบสี สำหรับวัดปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียม และเหล็ก และกำมะถัน

3. ทดสอบการใช้ชุดตรวจสอบวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ เหล็กที่สกัดได้ และกำมะถันในดินเบื้องต้น โดยหาสหสัมพันธ์ระหว่างการวิเคราะห์แคลเซียม แมกนีเซียมที่

แลกเปลี่ยนได้ เหล็กที่สกัดได้ และกำมะถันในดิน โดยใช้ชุดตรวจสอบและวิธีห้องปฏิบัติการพบว่า ค่าวิเคราะห์วิเคราะห์ปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ เหล็กที่สกัดได้ และกำมะถัน ในดินมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับวิธีวิเคราะห์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ โดยมีสัมประสิทธิ์ สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.873\*\* 0.856\*\* 0.724\*\* และ 0.900\*\* ตามลำดับ ตามภาพที่ 2



ภาพที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ เหล็กที่สกัดได้ และกำมะถันในดิน โดยวิธีชุดตรวจสอบและวิธีห้องปฏิบัติการ

ตารางที่ 6 การทดสอบความถูกต้องของชุดตรวจสอบแคลเซียม แมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน โดยผู้ใช้งานจำนวนมากกว่า 20 ราย

Ranges	Calcium test kit			no. of samples	Magnesium test kit			no. of samples
	False (-)	False (+)	True		False (-)	False (+)	True	
0 - 100 mg/kg	7 (35%)	3 (15%)	10 (50%)	20 (100%)	6 (30%)	3 (15%)	11 (55%)	20 (100%)
100 - 500 mg/kg	3 (15%)	3 (15%)	14 (70%)	20 (100%)	5 (25%)	5 (25%)	10 (50%)	20 (100%)
>500 mg/kg	6 (30%)	4 (20%)	10 (50%)	20 (100%)	5 (25%)	5 (25%)	10 (50%)	20 (100%)
Total	16 (27%)	10 (17%)	34 (56%)	60 (100%)	16 (27%)	13 (22%)	23 (52%)	60 (100%)

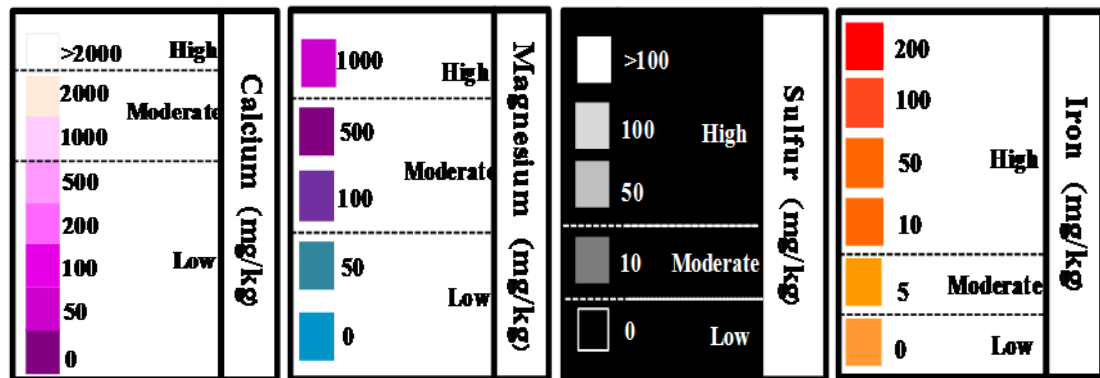
4. ทดสอบความถูกต้องของการใช้งานชุดตรวจสอบในการวิเคราะห์กำมะถันและเหล็กในดิน โดยใช้ชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นโดยผู้ใช้งานชุดตรวจสอบจำนวนมากกว่า 30 ราย ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างดินตามช่วงความเข้มข้น 0 - 25, 25 - 50 และมากกว่า 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมพบว่า ผลการใช้ชุดตรวจสอบวิเคราะห์กำมะถันมีความถูกต้องร้อยละ 60, 75 และ 55 ตามลำดับ ในขณะที่ผลการวิเคราะห์เหล็ก ด้วยชุดตรวจสอบ มีความถูกต้องร้อยละ 70, 60 และ 75 ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 7 การทดสอบความถูกต้องของชุดตรวจสอบเหล็กที่สกัดได้ และกำมะถันในดินโดยผู้ใช้งาน จำนวนมากกว่า 20 ราย

Ranges	Sulphur test kit			no. of samples	Iron test kit			no. of samples
	False (-)	False (+)	True		False (-)	False (+)	True	
0 - 25 mg/kg	5 (25%)	3 (15%)	12 (60%)	20 (100%)	3 (15%)	3 (15%)	14 (70%)	20 (100%)
25 - 50 mg/kg	3 (15%)	2 (10%)	15 (75%)	20 (100%)	3 (15%)	5 (25%)	12 (60%)	20 (100%)
>50 mg/kg	3 (15%)	6 (30%)	11 (55%)	20 (100%)	2 (10%)	3 (15%)	15 (75%)	20 (100%)
Total	11 (18%)	11 (18%)	38 (64%)	60 (100%)	8 (13%)	11 (18%)	41 (69%)	60 (100%)

จากผลการใช้ชุดตรวจสอบ วิเคราะห์แคลเซียม และแมกนีเซียม เหล็ก และกำมะถันในดิน จากผู้ใช้งาน จำนวนกว่า 30 คน พบว่า ผลการใช้งานชุดตรวจสอบ วิเคราะห์แคลเซียม และแมกนีเซียม เหล็ก และกำมะถันในดิน มีความถูกต้องร้อยละ 56, 52, 64 และ 69 ตามลำดับ ซึ่งจำเป็นต้องปรับปรุงและพัฒนาให้มีความถูกต้องมากขึ้น โดยใช้ชุดตรวจสอบทดสอบตัวอย่างดินเพิ่มขึ้นและปรับปรุงแผ่นเทียบสีให้ใช้งานได้ง่ายขึ้น (ตารางที่ 7)

- ปรับปรุงแผ่นเทียบสีของชุดตรวจสอบ แคลเซียม แมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน เหล็กที่เป็นประโยชน์ต่อพืช และกำมะถันในดินโดยระบุเกณฑ์ทั่วไป ต่ำ ปานกลาง สูงเพื่อให้สอดคล้องกับค่าวิเคราะห์ดินและการใส่ปุ๋ยของพืชดังนี้



ภาพที่ 3 การปรับปรุงแผ่นเทียบสีของชุดตรวจสอบแคลเซียม แมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน เหล็กที่เป็นประโยชน์ต่อพืช และกำมะถันในดิน ที่สอดคล้องกับคำแนะนำการใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน

หลังจากปรับปรุงชุดตรวจสอบและแผ่นเทียบสี ทดสอบการใช้งาน โดยนำชุดตรวจสอบอย่างง่ายไปให้เกษตรกร และผู้สนใจจำนวน 39 ราย ทดสอบใช้ชุดตรวจสอบอย่างง่ายโดยเก็บอย่างดินคลุกเคล้าให้เข้ากัน แล้วนำมาทดสอบโดยไม่ฝังดินให้แห้ง ความชื้นดินประมาณ 3 – 15 เปอร์เซ็นต์ ได้ผลการทดสอบ ดังนี้

6. ทดสอบความถูกต้องของการใช้งานชุดตรวจสอบในการวิเคราะห์แคลเซียม และแมกนีเซียมในดิน โดยใช้ชุดตรวจสอบและแผ่นเทียบสีที่พัฒนาขึ้นโดยผู้ใช้งานชุดตรวจสอบจำนวนมากว่า 41 ราย จำนวนตัวอย่างดิน 100 ตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างดินตามช่วงความเข้มข้น 0 – 100, 100 – 500, 500 – 1,000 และมากกว่า 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่า ผลการใช้ชุดตรวจสอบวิเคราะห์แคลเซียม มีความถูกต้องร้อยละ 55, 72, 59 และ 64 ตามลำดับ ในขณะที่ผลการวิเคราะห์แมกนีเซียมด้วยชุดตรวจสอบมีความถูกต้องร้อยละ 56, 64, 69 และ 64 ตามลำดับ (ตารางที่ 8)

**ตารางที่ 8** การทดสอบความถูกต้องของชุดตรวจสอบแคลเซียม แมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน โดยผู้ใช้งานจำนวน 41 ราย ตัวอย่างดิน 100 ตัวอย่าง

Ranges	Calcium test kit			no. of samples	Magnesium test kit			no. of samples
	False (-)	False (+)	True		False (-)	False (+)	True	
0 - 100 mg/kg	6 (34%)	2 (11%)	10 (55%)	18 (100%)	4 (22%)	4 (22%)	10 (56%)	18 (100%)
>100 - 500 mg/kg	3 (14%)	3 (14%)	16 (72%)	22 (100%)	4 (18%)	4 (18%)	14 (64%)	22 (100%)
>500-1000 mg/kg	6 (19%)	7 (22%)	19 (59%)	32 (100%)	9 (28%)	1 (3%)	22 (69%)	32 (100%)
>1000 mg/kg	6 (21%)	4 (14%)	18 (64%)	28 (100%)	7 (25%)	3 (11%)	18 (64%)	28 (100%)
Total	21 (21%)	16 (16%)	63 (63%)	100 (100%)	24 (24%)	12 (12%)	64 (64%)	100 (100%)

ทดสอบความถูกต้องของการใช้งานชุดตรวจสอบในการวิเคราะห์กำมะถันและเหล็กในดิน โดยใช้ชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นโดยผู้ใช้งานชุดตรวจสอบโดยผู้ใช้งานจำนวน 41 ราย จำนวนตัวอย่างดิน 100 ตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างดินตามช่วงความเข้มข้น 0 – 25, 25 – 50, 50-100 และมากกว่า 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่า ผลการใช้ชุดตรวจสอบวิเคราะห์กำมะถันมีความถูกต้องร้อยละ 55, 62, 53 และ 62 ตามลำดับ ในขณะที่ผลการวิเคราะห์เหล็ก ด้วยชุดตรวจสอบมีความถูกต้องร้อยละ 57, 64, 84 และ 79 ตามลำดับ (ตารางที่ 9)

**ตารางที่ 9** การทดสอบความถูกต้องของชุดตรวจสอบเหล็กที่สกัดได้ และกำมะถันในดินโดยผู้ใช้งานจำนวน 41 ราย ตัวอย่างดิน 100 ตัวอย่าง

Ranges	Sulphur test kit			no. of samples	Iron test kit			no. of samples
	False (-)	False (+)	True		False (-)	False (+)	True	
0 - 25 mg/kg	4 (20%)	5 (25%)	11 (55%)	20 (100%)	2 (11%)	4 (22%)	10 (57%)	18 (100%)
>25 - 50 mg/kg	3 (14%)	5 (24%)	13 (62%)	21 (100%)	4 (18%)	5 (23%)	14 (64%)	22 (100%)
>50-100mg/kg	6 (19%)	9 (28%)	17 (53%)	32 (100%)	4 (13%)	1 (3%)	22 (84%)	32 (100%)
>100 mg/kg	5 (19%)	5 (19%)	17 (62%)	27 (100%)	4 (14%)	2 (7%)	22 (79%)	28 (100%)
Total	18 (18%)	24 (24%)	58 (58%)	100 (100%)	14 (14%)	12 (12%)	74 (74%)	100 (100%)

จากผลการใช้ชุดตรวจสอบ วิเคราะห์แคลเซียม และแมกนีเซียม เหล็ก และกำมะถันในดิน จากผู้ใช้งานมากกว่า 41 คน พบว่า ผลการใช้ชุดตรวจสอบ วิเคราะห์แคลเซียม และแมกนีเซียม เหล็ก และกำมะถันในดิน มีความถูกต้องร้อยละ 63, 64, 58 และ 74 ตามลำดับ ซึ่ง



จำเป็นที่จะต้องปรับปรุงและพัฒนาให้มีความถูกต้องมากขึ้น เพื่อเพิ่มจำนวนตัวอย่างและจำนวนผู้ใช้ชุดตรวจสอบและทดสอบประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบ

7. ทดสอบประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ เหล็กที่สกัดได้ และกำมะถันในดิน

7.1. ประเมินความสัมพันธ์ระหว่างผลการทดสอบโดยใช้ชุดตรวจสอบและผลการทดสอบของห้องปฏิบัติการ ด้วยสมการถดถอยเชิงเส้น (Linear regression) พบว่า ผลการทดสอบตัวอย่างดินด้วยชุดตรวจสอบมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับผลการทดสอบของห้องปฏิบัติการ โดยมีสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ มากกว่า 0.80 ทุกชุดตรวจสอบ และสามารถ ใช้สมการ Linear regression ประเมินผลการทดสอบด้วยชุดตรวจสอบได้ใกล้เคียงกับห้องปฏิบัติการมากขึ้น (ตารางที่ 9)

**ตารางที่ 9** ประเมินความสัมพันธ์ระหว่างผลการทดสอบโดยใช้ชุดตรวจสอบและผลการทดสอบของห้องปฏิบัติการของการทดสอบตัวอย่างดินมากกว่า80 ตัวอย่าง

DOA Test kits	Regression equation	Correlation coefficients	Number of Sample
Ca	$y = 0.9759x + 1.3812$	0.847*	83
Mg	$y = 0.9816x + 1.3695$	0.884*	82
S	$y = 0.9230x + 4.1926$	0.893*	83
Fe	$y = 0.9406x + 3.5579$	0.830*	92

7.2. ประเมินประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบ จากการ ใช้ชุดตรวจสอบทดสอบตัวอย่างดินของเกษตรกร จำนวนกว่า 80 ตัวอย่าง และหาค่าความแม่นยำ (accuracy) ความไว (Sensitivity) ความจำเพาะ (Specificity) และประเมินค่าสถิติ Kappa coefficient (K) เพื่อประเมินระดับของการยอมรับ หรือความน่าเชื่อถือ (Degree of agreement) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พร้อมทั้งประเมินค่าความแม่นยำของชุดตรวจสอบผลการทดสอบ พบว่า การใช้ชุดตรวจสอบทดสอบปริมาณแคลเซียมแมกนีเซียม กำมะถัน เหล็ก ในดิน 83, 82, 83 และ 92 ตัวอย่างตามลำดับ เปรียบเทียบกับผลการทดสอบด้วยวิธีห้องปฏิบัติการ (ตารางที่ 10) ผลจากการวิเคราะห์ค่าสถิติของการตรวจด้วยชุดตรวจสอบ พบว่า ชุดตรวจสอบมีความแม่นยำ เท่ากับ 79.5%, 78.0%, 82.1% และ 88.0%ตามลำดับ มีความไว เท่ากับ 75.0%, 61.8%, 69.2% และ 95.9% ตามลำดับและมีความจำเพาะ เท่ากับ 62.1%, 80.8%, 90.0% และ 89.7% ตามลำดับทดสอบความน่าเชื่อถือโดยใช้สถิติ Kappa coefficient (K) พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.53, 0.53, 0.64 และ 0.60 ตามลำดับประเมินความน่าเชื่อถือของชุดตรวจสอบ พบว่า ชุดตรวจสอบกำมะถัน มีความน่าเชื่อถืออยู่ในระดับดี (Good agreement) ในขณะที่ชุดตรวจสอบแคลเซียมแมกนีเซียม และเหล็กมีความน่าเชื่อถืออยู่ในเกณฑ์ปานกลาง (Moderate agreement) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยต่ำสุดที่ชุดตรวจสอบแคลเซียมแมกนีเซียม กำมะถัน และเหล็ก สามารถตรวจวัดได้ เท่ากับ 80, 10, 1.0 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 10)

**ตารางที่ 10** ค่าความแม่นยำ (accuracy) ความไว (Sensitivity) ความจำเพาะ (Specificity) และ ประเมินหาค่าสถิติ Kappa coefficient (K) เพื่อประเมินระดับของการยอมรับ หรือ ความน่าเชื่อถือ (Degree of agreement) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

Test Kits	Test kit Expected results	Laboratory obtained results			LOD	Accuracy (%)	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Kappa coefficient (K)	Test kit agreement
		No. Positive	No. Negative	No. Negative						
Ca	No. Positive	TP (a) = 18	FP (c) = 11		80	79.5	75.0	62.1	0.53	Moderate agreement
	No. Negative	FN (b) = 6	TN (d) = 48							
Mg	No. Positive	TP (a) = 21	FP (c) = 5		10	78.0	61.8	80.8	0.53	Moderate agreement
	No. Negative	FN (b) = 13	TN (d) = 43							
S	No. Positive	TP (a) = 27	FP (c) = 3		1.0	82.1	69.2	90.0	0.64	Good agreement
	No. Negative	FN (b) = 12	TN (d) = 42							
Fe	No. Positive	TP (a) = 70	FP (c) = 8		0.5	88.0	95.9	89.7	0.60	Moderate agreement
	No. Negative	FN (b) = 3	TN (d) = 11							

หมายเหตุ : TP (a) = True positive FN (b) = False negative FP (c) = False positive TN (d) = True negative

8. เปรียบเทียบ ประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นกับชุดตรวจสอบอื่นที่ผลิตในประเทศไทย และต่างประเทศ ทดสอบตัวอย่างดิน ตามตารางที่ 11 พบว่าชุดตรวจสอบ แคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถันและเหล็ก ที่พัฒนาขึ้น มีค่าสถิติ Kappa coefficient (K) อยู่ระหว่าง 0.53 - 0.64 ประเมินความน่าเชื่อถือของชุดตรวจสอบอยู่ในระดับปานกลางถึงดี มีค่าความแม่นยำอยู่ในช่วง 78.0% - 88.0% ประเมินความใช้ได้ของชุดตรวจสอบ อยู่ในระดับดีถึงดีมาก ในขณะที่ชุดตรวจสอบอื่นๆมีค่าสถิติ Kappa coefficient (K) อยู่ระหว่าง 0.10 - 0.70 ประเมินความน่าเชื่อถือของชุดตรวจสอบอยู่ในระดับพอใช้ถึงดี มีค่าความแม่นยำ อยู่ในช่วง 56.7% - 85.0% ประเมินความใช้ได้ของชุดตรวจสอบ พบว่า อยู่ในระดับปานกลางถึงดีมาก จะเห็นได้ว่าชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นมีความน่าเชื่อถือสูงกว่าเมื่อเทียบกับชุดตรวจสอบอื่นๆ โดยเฉพาะชุดตรวจสอบเหล็กในดิน

**ตารางที่ 11** เปรียบเทียบประสิทธิภาพและต้นทุนการวิเคราะห์ของชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นกับชุดตรวจสอบอื่นๆ

Test kit	Statistical metric value				No. of samples per 1 kit	Test kit cost/ Sample (THB)	Storage time (years)	Lab cost/ sample (THB)	
	Accuracy (%)	Sensitivity (%)	Kappa (K)	n					
DOA	79.5	75.0	0.53	83	20	61.24	0.5		
Ca <sup>a</sup>	Other1	56.7	80.0	0.10	47	100	85.00	-	200
	Other2 (digital)	76.7	88.9	0.22	47	-	-	-	
Mg	DOA	78.0	61.8	0.53	82	20	61.24	0.5	200
	Other	-	-	-	-	-	-	-	
S	DOA	82.1	69.2	0.64	83	20	56.80	1	
	Other1	77.8	40.0	0.05	30	100	85.00	-	250
	Other2	77.3	80.0	0.51	30	50	80.00	-	
Fe	DOA	88.0	95.9	0.60	92	20	50.78	1	200
	Other	85.0	90.0	0.70	20	50	85.00	-	

หมายเหตุ : <sup>a</sup> = Japan, Germany or USA manufactured test kit n = number of samples

เปรียบเทียบขั้นตอนการใช้งานชุดตรวจสอบ ตามตารางที่ 12 และ 13 พบว่าชุดตรวจสอบที่ได้พัฒนาขึ้นมีขั้นตอนการใช้งานไม่ยุ่งยาก 5 - 7 ขั้นตอน ใช้เวลาในการทดสอบ 5 นาที โดยใช้อุปกรณ์ในการทดสอบ 4 - 8 ชิ้น ซึ่งทำให้การใช้ชุดตรวจสอบไม่ยุ่งยากซับซ้อน ในขณะที่ชุดตรวจสอบอื่นใช้เวลาในการตรวจสอบนาน 10 นาที และจากการเปรียบเทียบการวิเคราะห์แคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน และเหล็ก ด้วยชุดตรวจสอบพบว่ามีความวิเคราะห์ ถูกกว่าส่งตัวอย่างวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ซึ่งมีค่าวิเคราะห์ต่อตัวอย่าง 200 - 250 บาท นอกจากนี้ชุดตรวจสอบธาตุอาหารรอง และธาตุอาหารเสริม ได้แก่ ชุดตรวจสอบแคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน และเหล็ก เป็นชุดตรวจสอบที่ยังไม่มีหน่วยงานใดในประเทศไทยผลิตขึ้นเพื่อใช้งาน ทั้งนี้ชุดตรวจสอบที่ผลิตขึ้นสามารถให้ผลการทดสอบที่เป็นเชิงกึ่งปริมาณ โดยบอกทั้งปริมาณเป็นตัวเลข พร้อมทั้งมีแถบสีบอกปริมาณต่ำ กลาง สูง

**ตารางที่ 12** เปรียบเทียบขั้นตอน อุปกรณ์ และเวลาในการวิเคราะห์ตัวอย่างด้วยชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นกับชุดตรวจสอบอื่น

Test kit	Method	procedure	reading	Material (piece)	Time (min)	
Ca	DOA	EDTA Titration	5 steps	0-2,000 mg/kg	6	5
	Other	EDTA Titration	7 steps	0-500 mg/kg	7	10
Mg	DOA	EDTA Titration	7 steps	0-1,000 mg/kg	8	5
	Other	-	-	-	-	-
S	DOA	Turbidimetric method	5 steps	0-100 mg/kg	5	5
	Other	Turbidimetric method	7 steps	0-100 mg/kg	10	10
Fe	DOA	Phenanthroline method	5 steps	0-200 mg/kg	7	5
	Other	Phenanthroline method	5 steps	0-200 mg/kg	9	10

**ตารางที่ 13** เปรียบเทียบข้อดีและข้อจำกัดของวิธีวิเคราะห์ของชุดตรวจสอบกับวิธีของห้องปฏิบัติการ

วิธีของ Test Kit	วิธีของห้องปฏิบัติการ
1. ใช้เวลาในการตรวจสอบประมาณ 5 นาที	1. ใช้เวลาในการวิเคราะห์ไม่น้อยกว่า 24 ชั่วโมง
2. วิธีการตรวจใช้วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ง่าย สะดวก และราคาไม่แพง ได้แก่	2. วิธีการวิเคราะห์ที่ใช้วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้งานยาก และมีราคาแพง ได้แก่
2.1 ข้อนพลาสติกขนาดเล็ก	2.1 เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิดนิยม 4 ตำแหน่ง
2.2 หลอดชนิดยา	2.2 Burette และ Pipette
2.3 ขวดทำปฏิกิริยาขนาดเล็ก	2.3 เครื่องวิเคราะห์ AAS, ICP
3. ผู้ใช้ไม่จำเป็นต้องเป็นผู้มีความชำนาญมาก่อนเกษตรกรสามารถตรวจสอบได้เอง	3. ผู้ใช้ต้องเป็นผู้ที่มีความชำนาญ ละเอียด ในทุกขั้นตอนการวิเคราะห์
4. มีความถูกต้อง และแม่นยำ น้อยกว่าวิธีของห้องปฏิบัติการ	4. มีความถูกต้อง และแม่นยำ มากกว่าวิธีของชุดตรวจสอบ
5. ใช้ตรวจสอบตัวอย่างทดสอบต้องไม่สลับซับซ้อน	5. สามารถวิเคราะห์ได้ทุกตัวอย่าง
6. ต้นทุนการผลิต มีราคา 58.84 บาท ต่อ 1 ตัวอย่าง กล่องบรรจุ มี 2 ขนาด คือกล่องเล็ก ตรวจสอบได้ 10 ตัวอย่าง กล่องใหญ่ ตรวจสอบได้ 20 ตัวอย่าง	6. ค่าธรรมเนียมการให้บริการตรวจวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการ ราคา 200-250 บาท ต่อ 1 ตัวอย่าง
7. ชุดตรวจสอบมีขนาดพกพา สามารถใช้ในงานภาคสนาม	7. ผู้ประกอบการหรือเกษตรกรต้องเดินทางมาส่งตัวอย่างที่กลุ่มวิจัยเกษตรเคมีและรอยคยผลวิเคราะห์เป็นเวลานาน

9. ประเมินการเก็บรักษาชุดตรวจสอบ ต้นทุนการผลิต และความพึงพอใจของผู้ใช้งาน โดยประเมินการเก็บรักษา และต้นทุนการผลิตชุดตรวจสอบ (ตารางที่ 11) จากการทดสอบอายุการเก็บรักษาของชุดตรวจสอบโดยนำมาทดสอบทุกเดือนพบว่าน้ำยาทดสอบที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 6

เดือน ถึง 12 เดือนหากมีการเก็บรักษาเกินระยะเวลาจะทำให้สีของน้ำยาทดสอบมีสีเข้มขึ้นบ้างเล็กน้อยทำให้ยากต่อการมองเห็นการเปลี่ยนแปลงของสี ทั้งนี้อาจศึกษาการเก็บชุดตรวจสอบไว้ที่ตู้เย็นเพิ่มเติม ซึ่งอาจช่วยยืดระยะเวลาการเก็บน้ำยาทดสอบได้นานขึ้น การวิเคราะห์ต้นทุนการผลิตชุดตรวจสอบ พบว่า ชุดตรวจสอบของกองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร มีต้นทุนค่าวิเคราะห์ต่อตัวอย่า 58.84 บาท ในขณะที่ชุดตรวจสอบอื่นๆ มีค่าวิเคราะห์ต่อหนึ่งตัวอย่าง 85.00 บาท ซึ่งประหยัดกว่าการส่งตัวอย่างวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการที่มีราคาค่าวิเคราะห์ 150 - 250 บาท ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบด้านราคาพบว่า ชุดตรวจสอบของกองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตรราคาถูกกว่าชุดตรวจสอบอื่นในห้องตลาดถึงร้อยละ 61

10. ประเมินความพึงพอใจของผู้ใช้งานชุดตรวจสอบ ภาพรวมของชุดตรวจสอบธาตุอาหารพืชในดิน และชุดตรวจสอบคุณภาพน้ำทางการเกษตร พบว่า ผู้ใช้งานทั้งหมดมีความพึงพอใจในภาพรวมเฉลี่ยมากกว่าร้อยละ 80 โดยผลการประเมินความพึงพอใจด้านความปลอดภัยของชุดตรวจสอบมีผลความพึงพอใจน้อยเฉลี่ยร้อยละ 57 โดยเฉพาะชุดตรวจสอบแมกนีเซียมซึ่งใช้น้ำยาทดสอบหลายตัว และก้ำมะถันใช้วิธีวิเคราะห์โดยทำให้สารละลายขุ่น ซึ่งอาจทำให้เกษตรกรผู้ใช้งานซึ่งไม่มีความรู้ความเข้าใจ หรือเคยใช้ชุดตรวจสอบมาก่อน เกิดความกังวลด้านความปลอดภัยได้ ถึงแม้ว่าสารเคมีที่ใช้จะปลอดภัยต่อผู้ใช้งานก็ตาม ทั้งนี้ในการจัดทำชุดตรวจสอบได้มีการจัดทำคู่มือการใช้งานชุดตรวจสอบให้แก่เกษตรกรเพื่อให้มีความรู้ความเข้าใจในการใช้งานมากขึ้น และผลการสำรวจความพึงพอใจ 4 ข้อ ผู้ทดสอบรายงาน ดังนี้

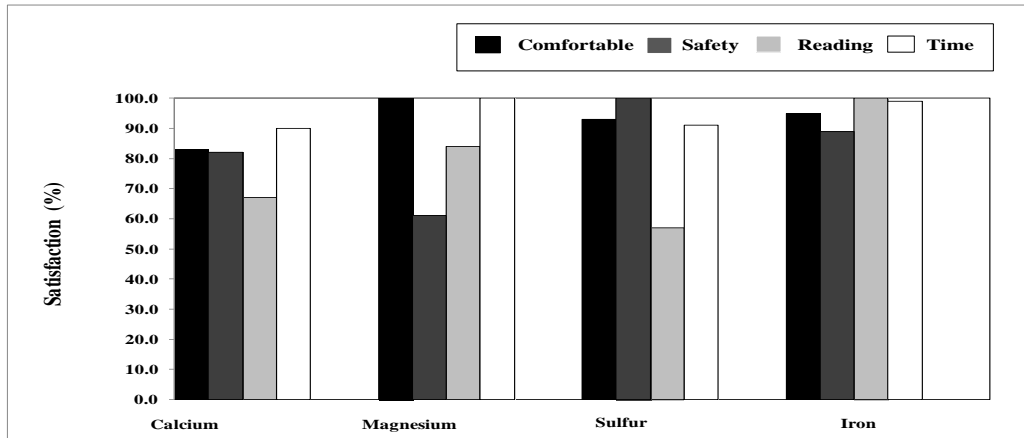
จากการใช้งานชุดตรวจสอบวิเคราะห์แคลเซียม และแมกนีเซียมก้ำมะถัน และเหล็กในดิน พบว่า ผู้ใช้งานทั้งหมด เห็นว่า ชุดตรวจสอบมี ขั้นตอนการวิเคราะห์ที่มีความง่ายร้อยละ 82, 100, 93 และ 95ตามลำดับ

ในขณะที่ความพึงพอใจด้านความปลอดภัย พบว่าผู้ใช้งานชุดแคลเซียม และแมกนีเซียมก้ำมะถัน และเหล็กในดินมีความพึงพอใจร้อยละ 81, 60, 100 และ 87 ตามลำดับ

ทดสอบความพึงพอใจด้านการอ่านผลการทดสอบ พบว่า ผู้ใช้งานทั้งหมดเห็นว่าชุดตรวจสอบสามารถอ่านผลวิเคราะห์ได้ง่าย โดยผู้ใช้งานชุดแคลเซียม และแมกนีเซียมก้ำมะถัน และเหล็กในดิน มีความพึงพอใจ ร้อยละ 68, 82, 58 และ 100ตามลำดับ

ผลการประเมินความพึงพอใจด้านการใช้เวลาวิเคราะห์ของชุดตรวจสอบ พบว่า ชุดแคลเซียม และแมกนีเซียมก้ำมะถัน และเหล็กในดิน สามารถวิเคราะห์ได้อย่างร้อยละ 89, 100, 90 และ 100 ตามลำดับ

ภาพรวมของชุดตรวจสอบอย่างง่าย แคลเซียม และแมกนีเซียม เหล็ก และก้ำมะถันในดิน พบว่า ผู้ใช้งานทั้งหมดเห็นว่า ขนาดของชุดตรวจสอบมีความเหมาะสมสามารถพกพาได้สะดวก และทราบผลการทดสอบรวดเร็ว วิธีการใช้งานง่ายและสามารถปฏิบัติตามได้ สามารถนำไปใช้งานได้จริง



ภาพที่ 4 การสำรวจความพึงพอใจในการใช้งานชุดตรวจสอบอย่างง่ายวิเคราะห์แคลเซียม และแมกนีเซียม กำมะถัน และเหล็กในดิน



ภาพที่ 5 ชุดตรวจสอบอย่างง่ายวิเคราะห์แคลเซียม และแมกนีเซียม กำมะถัน และเหล็กในดิน

#### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

การพัฒนาชุดตรวจสอบธาตุอาหารพืชในดิน เป็นชุดที่มีประสิทธิภาพเพียงพอที่จะสามารถนำมาใช้งานได้จริงในภาคสนาม เพื่อประกอบการให้คำแนะนำการใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน โดยประเมินความน่าเชื่อถือของชุดตรวจสอบจาก ค่าความแม่นยำ พบว่ามีความแม่นยำ ร้อยละ 72.9 - 88.0 อยู่ในระดับดีถึงดีมาก รวมทั้งประเมินความน่าเชื่อถือโดยใช้ค่า สถิติ Kappa coefficient (K) มีค่าอยู่ในช่วง 0.53 - 0.64 ซึ่งถือว่าชุดตรวจสอบอยู่ในเกณฑ์การยอมรับระดับปานกลางถึงดี ทดสอบการใช้งานชุดตรวจสอบพบว่า มีขั้นตอนใช้งานไม่ซับซ้อน ใช้เวลาในการวิเคราะห์เพียง 5 นาที มีต้นทุนค่าวิเคราะห์ต่อตัวอย่างเฉลี่ย 58.84 บาท ในขณะที่ชุดตรวจสอบอื่นมีต้นทุนต่อตัวอย่างเฉลี่ย 85.00 บาท ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบด้านราคาพบว่า ชุดตรวจสอบของกองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตรราคาถูกกว่าชุดตรวจสอบอื่นในท้องตลาดถึงร้อยละ 44 ซึ่งช่วยให้เกษตรกรสามารถประหยัดค่าใช้จ่ายได้

การวิจัยและพัฒนาชุดตรวจสอบอย่างง่าย คลอไรด์ คาร์บอเนตและไบคาร์บอเนต  
ไนเตรท และฟอสเฟตในน้ำ

Research and Development of Water Test kits to Determine Chloride Carbonate  
Bicarbonate Nitrate and Phosphate in Water

จิตติรัตน์ ชูชาติ เจนจิรา เทเวศร์วรกุล พจมาลย์ ภู่อสาร ญาณธิดา จิตต์สะอาด  
สุภา โปธิจันทร์ จรรย์รัตน์ กุศลวิริยะวงศ์

Jittirat Choochat Janejira Teweswarakul Pojjamarn Poosarn Yarnthicha Jittsa-aad  
Supha Photichan Charirat Kusonwiriya Wong

**คำสำคัญ (Keywords)**

ชุดตรวจสอบอย่างง่าย คลอไรด์ คาร์บอเนต ไบคาร์บอเนต ไนเตรท ฟอสเฟต  
Test kits Chloride Carbonate Bicarbonate Nitrate Phosphate

**บทคัดย่อ(Abstract)**

วิจัยและพัฒนาชุดตรวจสอบเพื่อวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางการเกษตร พัฒนาชุดตรวจสอบ  
คลอไรด์ คาร์บอเนต และไบคาร์บอเนต โดยดัดแปลงประยุกต์ใช้วิธี Argentometric และ Indicator  
Method และชุดตรวจสอบไนเตรท และฟอสเฟตประยุกต์ใช้วิธี Brucine และวิธี Ascorbic acid  
ตามลำดับ ตามตามวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์น้ำในห้องปฏิบัติการลดสัดส่วนของตัวอย่างน้ำ และ  
สารเคมีที่ใช้ ทดสอบการเกิดสี และพัฒนาแผ่นเทียบสีและจัดทำเป็นชุดตรวจสอบ หาคความสัมพันธ์  
ระหว่างการวิเคราะห์ปริมาณ คลอไรด์ คาร์บอเนต และไบคาร์บอเนตในน้ำ ด้วยชุดตรวจสอบกับผล  
วิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ พบว่า ปริมาณ คลอไรด์ คาร์บอเนต และไบคาร์บอเนต ในน้ำที่วิเคราะห์  
ด้วยชุดตรวจสอบ มีสหสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับผลการวิเคราะห์ด้วยวิธีใน  
ห้องปฏิบัติการโดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( r ) เท่ากับ 0.983\*\*, 0.890\*\*, 0.876\*\*, 0.893\*\*  
และ 0.865\*\* ตามลำดับ ตามลำดับ ซึ่งทำให้ชุดตรวจสอบที่ได้พัฒนาขึ้นให้ผลถูกต้องมากกว่าร้อยละ  
80 ทดสอบการใช้งานชุดตรวจสอบโดยเกษตรกรจำนวน 20 ราย พบว่าการวิเคราะห์หาปริมาณ คลอ  
ไรด์ คาร์บอเนต และไบคาร์บอเนตในน้ำด้วยชุดตรวจสอบมีความถูกต้องมากกว่าร้อยละ 70

Research and development of test kits to determine Chloride, Carbonate, Bicarbonate, Nitrate and Phosphate in water was conducted at Chemical research group laboratory. These test kits were modified by Argentometric method, Indicator method, Brucine method and Ascorbic method respectively following standard method for water laboratory. The objectives of this research were to apply the standard method of chloride carbonate and bicarbonate analysis in the laboratory for simply and rapidly insitu method and to develop test kits for screening agricultural water that contain the several level of chloride carbonate and bicarbonate. The analysis results of the test kits were compared with those of the standard method using correlation analysis. The results showed that there were positive relationship between the results of the test kits and those of the standard

method in laboratory. The correlation coefficient (r) of chloride carbonate and bicarbonate in water were 0.983\*\*, 0.890\*\*, 0.876\*\*, 0.890\*\* and 0.867\*\* respectively , indicated that test kits had high accurately results more than 80%. Meanwhile research in field from 20 farmers showed that the accuracy analysis of test kits had high accurately results more than 70%. It can be concluded that the results of chloride carbonate and bicarbonate from the test kits were accurated and can be used in field.

## บทนำ (Introduction)

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม น้ำจึงเป็นปัจจัยที่สำคัญในการผลิตพืช เนื่องจากน้ำเป็นตัวละลายธาตุอาหารในดินและปุ๋ย เพื่อเป็นอาหารแก่พืช และเป็นตัวนำธาตุอาหารไปเลี้ยงส่วนต่างๆ ของพืช คุณภาพน้ำและปริมาณน้ำจึงมีความสำคัญ เมื่อพืชขาดน้ำจะไม่สามารถเจริญเติบโต ผลผลิตต่ำและอาจตายได้ หรือหากมีน้ำ แต่คุณภาพไม่ดีพืชก็ไม่เจริญเติบโต หรือในบางครั้งก็ทำให้สมบัติดินเสื่อมลงอีกด้วย การประเมินคุณภาพน้ำทางการเกษตรให้ความสำคัญกับเกลือที่เป็นอันตรายกับพืช ได้แก่ คลอไรด์ คาร์บอเนต และไบคาร์บอเนต โดยแหล่งน้ำทางการเกษตรกรรมจะต้องมีคลอไรด์ไม่เกิน 250 มิลลิกรัมต่อลิตร หากมีปริมาณคลอไรด์เกินในน้ำที่ใช้ในการเกษตร จะทำให้เกิดผลกระทบต่อพืชอาจทำให้ใบและรากของพืชไหม้ การเจริญเติบโตหยุดชะงัก หรือตายได้ (White and Broadley, 2001) ในขณะที่ปริมาณ คาร์บอเนต และไบคาร์บอเนต ที่มีอยู่ในน้ำจะเป็นตัวบ่งชี้ความแตกต่างของน้ำ ในสภาพปกติของแหล่งน้ำธรรมชาติ จะมีปริมาณไบคาร์บอเนตเป็นส่วนใหญ่ น้ำที่มีความเป็นด่างเกิดจากคาร์บอเนตอย่างเดียวจะมีค่าพีเอชมากกว่า 9.4 ส่วนน้ำที่มีค่าความเป็นด่างเกิดจากคาร์บอเนตและไบคาร์บอเนตรวมกัน จะมีค่าพีเอชมากกว่า 8.3 น้ำชลประทานที่มีไบคาร์บอเนตสูงจะทำให้เกิดสีขาวเกาะติดที่ใบหรือผลซึ่งทำให้ราคาผลผลิตตกต่ำนอกจากนี้ปริมาณ คาร์บอเนต และไบคาร์บอเนตในน้ำ จะใช้เป็นดัชนีบ่งบอกคุณภาพของแหล่งน้ำ โดยนำมาประเมินค่า Residual Sodium Carbonate (RSC) ซึ่งเป็นค่าแสดงความสัมพันธ์ของปริมาณคาร์บอเนตและไบคาร์บอเนตแคลเซียมและแมกนีเซียมหากมีการใช้น้ำที่มีสภาพเป็นด่างมาใช้รดพืชต่างๆ ไป จะส่งผลให้ดินมีสภาพเป็นด่าง ธาตุเหล็กและจุลธาตุอื่นๆ ละลายออกมาได้น้อย การดูค่าจุลธาตุในพืชลดลงเป็นสาเหตุให้พืชเกิดอาการเหลืองซีด (chlorosis) ได้ (FAO, 1985; WHO, 2011; Burowet *al.*, 2017) การวิเคราะห์ปริมาณ คลอไรด์ คาร์บอเนต และไบคาร์บอเนต ในน้ำ จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งเพื่อบ่งบอกคุณภาพน้ำซึ่งส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืชโดยตรง

ไนโตรเจนและฟอสฟอรัสมีพบในแหล่งน้ำธรรมชาติ ไนโตรเจนแบ่งได้เป็น 2 ประเภท ได้แก่ สารประกอบอนินทรีย์ไนโตรเจน เช่น แอมโมเนียม ( $\text{NH}_4^+$ ) และไนเตรท ( $\text{NO}_3^-$ ) ซึ่งอยู่ในรูปปุ๋ยเคมี ส่วนอีกชนิดหนึ่ง คือ สารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจน เช่น โปรตีน กรดอะมิโน กรดนิวคลีอิก ซึ่งสามารถเปลี่ยนรูปจากสารอินทรีย์ไปเป็นสารอนินทรีย์ได้ โดยขบวนการที่เรียกว่า Mineralization ส่วนฟอสฟอรัสในน้ำ จะอยู่ในรูปต่าง ๆ กันของฟอสเฟต การปนเปื้อนของฟอสฟอรัสในแหล่งน้ำอาจเกิดจากการเติมฟอสฟอรัสลงไปในน้ำ เช่น การใส่ปุ๋ยเคมีในการเกษตร นอกจากนี้ยังมาจากการใช้ผงซักฟอก หรือน้ำยาล้างจานที่อยู่ในรูปฟอสเฟต และโพลีฟอสเฟต โดยไนเตรท และฟอสเฟตที่พบในแหล่งน้ำนั้นเป็นธาตุที่จำเป็นสำหรับใช้ในการเจริญเติบโตของพืชและสัตว์ และมักพบว่าเป็น Growth Limiting Nutrient ของแหล่งน้ำ ดังนั้น การปนเปื้อนของแหล่งน้ำธรรมชาติที่มีไนเตรทและฟอสเฟต

ที่มีปริมาณสูง จะทำให้เกิดการเจริญเติบโตของพืชอย่างรวดเร็ว และในขณะเดียวกันแหล่งน้ำดื่มที่มีการปนเปื้อนของไนเตรทในปริมาณที่สูง สามารถก่อให้เกิดโรคในมนุษย์ได้ โดยเฉพาะในเด็กทารกทำให้เกิดโรค Methenoglobinemiaซึ่งในน้ำดื่ม กำหนดให้ไม่ควรมีไนเตรทเกิน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และแหล่งน้ำทางการเกษตรไม่ควรมีไนเตรทเกิน 30 มิลลิกรัมต่อลิตร (FAO, 1985; WHO, 2011) ในขณะที่ค่าวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตของแหล่งน้ำทางการเกษตรไม่ควรเกิน 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (EPA, 2005)

ในปัจจุบันการวิเคราะห์ปริมาณ คลอไรด์ คาร์บอเนต และไบคาร์บอเนตในเตรท และฟอสเฟต ในน้ำจะต้องดำเนินการในห้องปฏิบัติการ ตามวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์น้ำของ American Public Health Association, the American Water Works Association and the Water Environment Federation (APHA, AWWA and WEF)(2012) และ United States Environmental Protection Agency (EPA) (1971) ซึ่งต้องใช้สารเคมี และเจ้าหน้าที่ที่มีความชำนาญ เกษตรกรไม่สามารถปฏิบัติได้เอง การพัฒนา ชุดตรวจสอบเพื่อวิเคราะห์ คลอไรด์ คาร์บอเนต และไบคาร์บอเนต จึงมีความสำคัญในปัจจุบัน เพื่อให้เกษตรกรสามารถทราบผลการวิเคราะห์อย่างรวดเร็ว และสามารถตรวจสอบได้เอง ลดระยะเวลาการส่งตัวอย่างน้ำไปวิเคราะห์ยังห้องปฏิบัติการลดการใช้สารเคมี พร้อมทั้งสามารถประเมินคุณภาพน้ำและความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืชได้ทันที ดังนั้นการวิจัยและพัฒนาชุดตรวจสอบสำหรับวิเคราะห์ คลอไรด์ คาร์บอเนต และไบคาร์บอเนตในน้ำ จึงเป็นพัฒนาการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ที่ใช้อุปกรณ์ที่มีการใช้งานง่าย สะดวกรวดเร็ว มีความแม่นยำ และสามารถพกพาไปใช้งานในภาคสนามได้

### ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมี ได้แก่ เครื่องมือและวัสดุวิทยาศาสตร์เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง เครื่องแก้วและวัสดุอื่น ๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์และพัฒนาชุดตรวจสอบสารเคมี ได้แก่ สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ ได้แก่ phenolphthalein indicator, methyl red indicator, Ethanol, Standard silver nitrate solution, Potassium chromate, Sodium hydroxide, Sulfuric acid, Sodium chloride, Brucine และ Ascorbic acid ตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำทางการเกษตรแหล่งต่างๆ

### วิธีการ

1. พัฒนาชุดตรวจสอบอย่างง่ายคลอไรด์คาร์บอเนต ไบคาร์บอเนต ไนเตรท และฟอสเฟต ในน้ำ โดยใช้หลักการวิเคราะห์และวัดปริมาณเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ โดยการวิเคราะห์ปริมาณคลอไรด์ใช้ วิธีวิเคราะห์ด้วยซิลเวอร์ไนเตรท( Argentometric Method) การวิเคราะห์ปริมาณคาร์บอเนต และไบคาร์บอเนตในน้ำด้วยวิธีอินดิเคเตอร์ ( Indicator Method) วิเคราะห์ไนเตรท ( $\text{NO}_3^-$ ) โดยใช้วิธี Brucine ตามวิธีมาตรฐานของ EPA (1971)และวิเคราะห์ฟอสเฟต (ในรูป Orthophosphates ได้แก่  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$  และ  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ) ด้วยวิธี Ascorbic acid ตามวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์น้ำของ (1971) (APHA, AWWA and WEF,2012)
2. ปรับเปลี่ยนและประยุกต์ใช้อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ และลดการใช้สารเคมี ลดระยะเวลาลดขั้นตอนที่ยุ่งยาก เพื่อเพิ่มความสะดวกรวดเร็วในการวิเคราะห์
3. ทำการทดสอบวิเคราะห์ปริมาณคลอไรด์คาร์บอเนต และไบคาร์บอเนต ในตัวอย่างน้ำที่เตรียมขึ้น และตัวอย่างน้ำจากแหล่งต่างๆ จำนวนไม่ต่ำกว่า 50 ราย เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ภายใน



ห้องปฏิบัติการ กับผลการวิเคราะห์ที่ได้จากชุดตรวจสอบ โดยหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคลอไรด์คาร์บอเนต และไบคาร์บอเนต ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยชุดตรวจสอบกับวิธีของห้องปฏิบัติการ โดยหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (The Coefficient of Correlation, r)

4. ทำการทดสอบการใช้งานชุดตรวจสอบกับผู้ใช้งานทั่วไปจำนวน 50 ราย โดยใช้ตัวอย่างน้ำที่เตรียมขึ้นในห้องปฏิบัติการ ตามระดับความเข้มข้นของคลอไรด์ คาร์บอเนต และไบคาร์บอเนต เป็นตัวอย่างน้ำทดสอบ
5. ทำการทดสอบการใช้งานชุดตรวจสอบจริงในภาคสนาม โดยเกษตรกรเกษตรกรจำนวนมากกว่า 20 ราย
6. ทำการปรับปรุงและพัฒนาชุดตรวจสอบจนได้ผลการวิเคราะห์ที่ใกล้เคียงกับการวิเคราะห์ภายในห้องปฏิบัติการพร้อมวิเคราะห์ความคุ้มค่าข้อดี และข้อจำกัด เปรียบเทียบต้นทุนการวิเคราะห์ ระยะเวลาการวิเคราะห์ ความยากง่ายหรือความสะดวกของใช้งาน

ระยะเวลา เริ่มต้น ต.ค. 2558 สิ้นสุด ก.ย. 2561

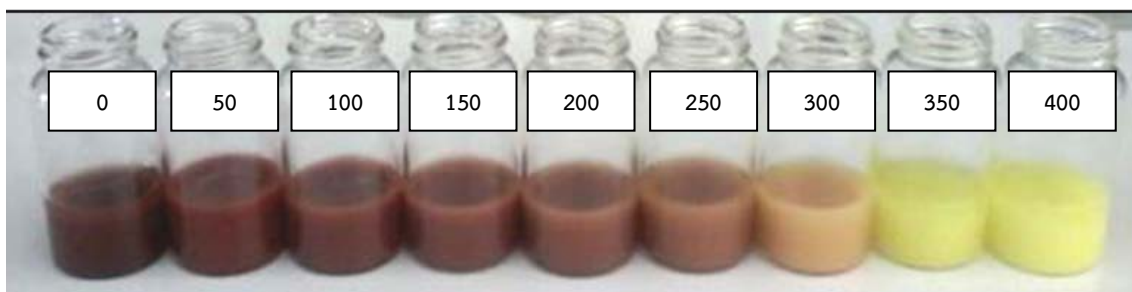
สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มงาน วิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี  
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

## ผลการวิจัย (Results)

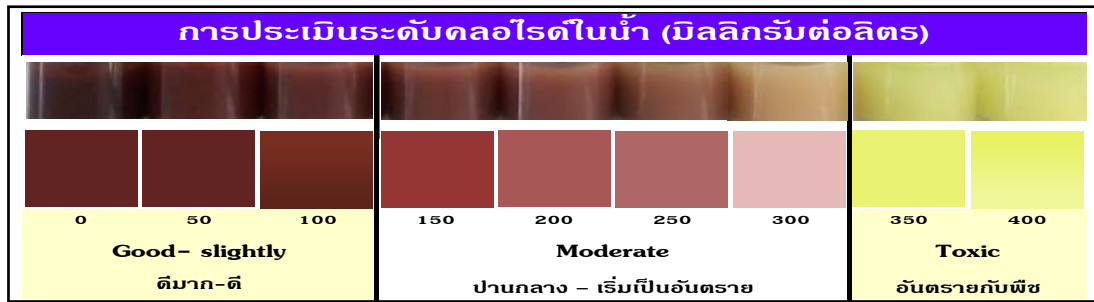
### 1. การพัฒนาและทดสอบชุดตรวจสอบ

#### 1.1. พัฒนาชุดตรวจสอบคลอไรด์

1.1.1. พัฒนาชุดตรวจสอบคลอไรด์ โดยลดสัดส่วนของตัวอย่างน้ำ และสารเคมีที่ใช้ จากวิธีมาตรฐานของห้องปฏิบัติการ Argentometric Method (APHA, AWWA and WEF, 2012) ซึ่งวิเคราะห์ปริมาณคลอไรด์ ด้วยซิลเวอร์ไนเตรท ทดสอบสัดส่วนของน้ำและสารเคมี จนได้สัดส่วนของตัวอย่างน้ำ จำนวน 5 มิลลิลิตร โปแทสเซียมไดโครเมตจำนวน 4 หยด และซิลเวอร์ไนเตรท จำนวน 1 มิลลิลิตร ทดสอบการเกิดสี ตามความเข้มข้นของคลอไรด์ (ภาพที่ 1) พัฒนาแผ่นเทียบสีเพื่อใช้ประเมินคุณภาพน้ำ ตามเกณฑ์ดีมาก - ดีปานกลาง - เริ่มอันตราย และเป็นอันตรายกับพืช (FAO, 1985; WHO, 2011; Burrowet *al.*, 2017) พัฒนาเป็นชุดตรวจสอบคลอไรด์ตามภาพที่ 2 และ 3



ภาพที่ 1 การทดสอบการเกิดสีของคลอไรด์ตามความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 0, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350 และ 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เรียงจากซ้ายไปขวา

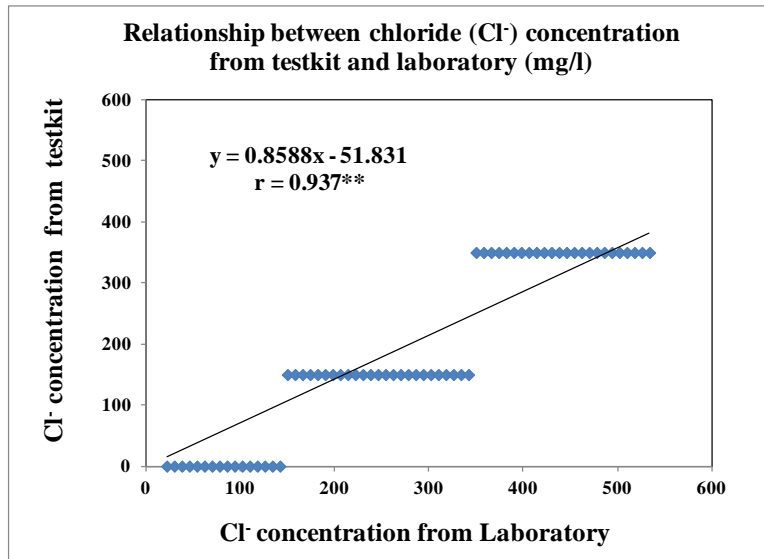


ภาพที่ 2 การพัฒนาแผ่นเทียบสีตามระดับของคุณภาพน้ำ ดีมาก -ดี, ปานกลาง- เริ่มเป็นอันตรายกับพืช และเป็นอันตรายกับพืช



ภาพที่ 3 ชุดตรวจสอบคลอไรต์พัฒนา

- 1.1.2. การทดสอบชุดตรวจสอบคลอไรต์กับตัวอย่างน้ำที่เตรียมขึ้นที่มีความเข้มข้นของคลอไรต์ ตั้งแต่ 0 - 600 มิลลิกรัมต่อลิตรจำนวน 65 ตัวอย่าง
- 1.1.3. ทดสอบตัวอย่างน้ำที่เตรียมขึ้นที่มีความเข้มข้นของคลอไรต์ ตั้งแต่ 0 - 600 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 65 ตัวอย่างด้วยชุดตรวจสอบที่ได้พัฒนาปรับปรุงขึ้นหาความสัมพันธ์กับผลการวิเคราะห์ภายในห้องปฏิบัติการ พบว่า ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำด้วยชุดตรวจสอบ (testkit) มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์กับผลการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำด้วยวิธีในห้องปฏิบัติการ ( $r=0.937^{**}$ ,  $N=65$ ,  $p < 0.001$ ) ดังนั้นชุดตรวจสอบอย่างง่าย คลอไรต์ที่ได้พัฒนาขึ้นให้ผลใกล้เคียงกับการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการสูง (ภาพที่ 4)

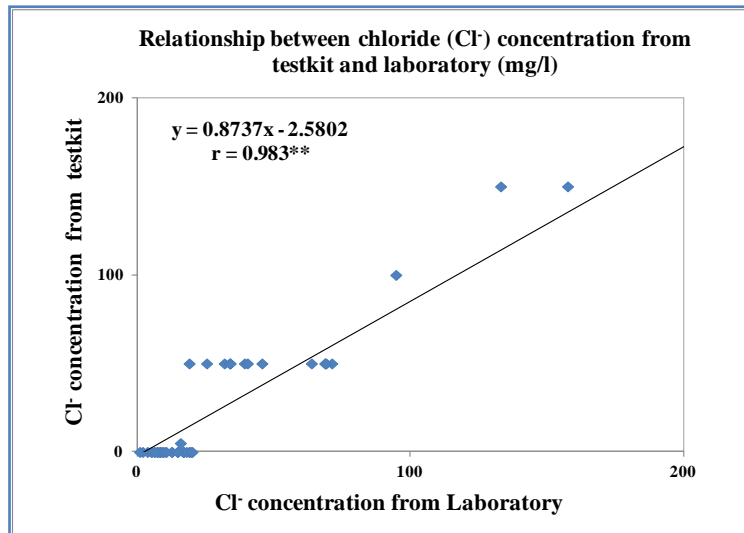


ภาพที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างผลการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำที่เตรียมขึ้นด้วยชุดตรวจสอบ ( Test kit) และผลการวิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการ

1.1.4. การทดสอบชุดตรวจสอบคลอไรด์ กับตัวอย่างน้ำจากแหล่งต่างๆ โดยทดสอบตัวอย่างน้ำจากแหล่งต่างๆ ได้แก่ น้ำสระ น้ำบาดาล น้ำคลอง น้ำบ่อ และน้ำประปา จำนวน 52 ตัวอย่างที่มีค่าวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการดังตารางที่ 1 มาทดสอบด้วยชุดตรวจสอบที่ได้พัฒนาปรับปรุงขึ้น หาความสัมพันธ์กับผลการวิเคราะห์ภายในห้องปฏิบัติการ พบว่า ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำด้วยชุดตรวจสอบ (testkit) มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สูง กับผลการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำด้วยวิธีในห้องปฏิบัติการ ( $r=0.983^{**}$ ,  $N=52$ ,  $p < 0.001$ ) ดังนั้นชุดตรวจสอบอย่างง่าย คลอไรด์ที่ได้พัฒนาขึ้นให้ผลใกล้เคียงกับการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการสูง สามารถนำมาใช้เป็นชุดตรวจสอบตัวอย่างน้ำได้ (ภาพที่ 5)

ตารางที่ 1 ผลวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำจากแหล่งต่างๆ จำนวน 52 ตัวอย่างในห้องปฏิบัติการ

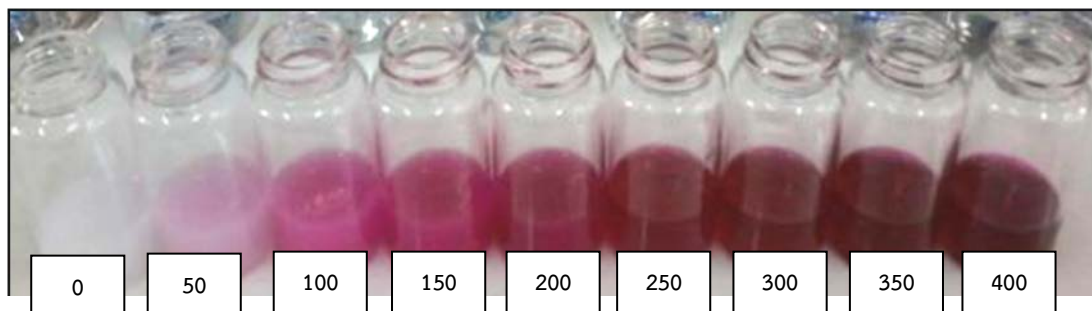
แหล่งน้ำ	จำนวนตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ย		
		pH	ค่าการนำไฟฟ้า ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	คลอไรด์ ( $\text{mg}/\text{l}$ )
น้ำสระ	28	7.9	355	16.3
น้ำบาดาล	14	7.8	1535	213.2
น้ำคลอง	5	7.9	556	46.6
น้ำบ่อ	2	8.3	763	145.4
ประปา	3	7.3	477	69.2



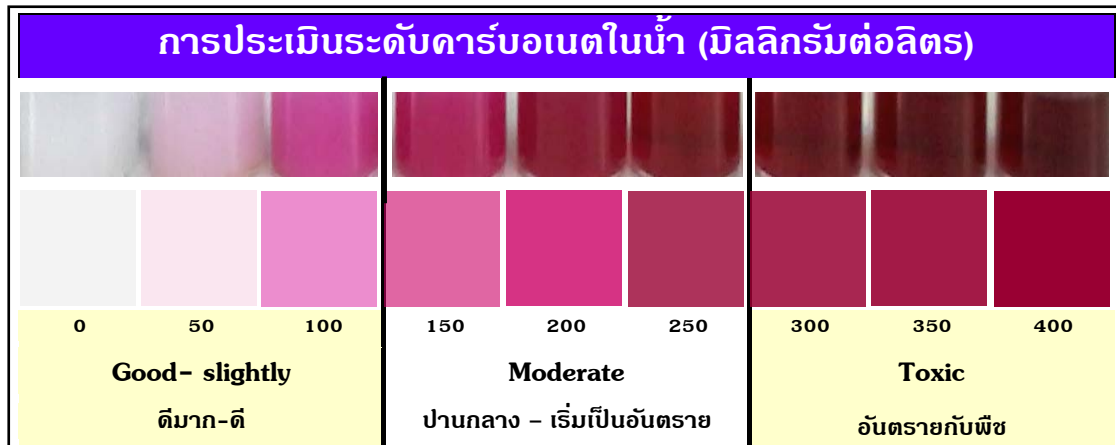
ภาพที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่างผลการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำจากแหล่งต่างๆ ด้วยชุดตรวจสอบ (Test kit) และผลการวิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการ

## 1.2. การพัฒนาและทดสอบชุดตรวจสอบคาร์บอนเนต

1.2.1. พัฒนาชุดตรวจสอบคาร์บอนเนตจากหลักการวิเคราะห์ ด้วยวิธี Indicator Method (APHA, AWWA and WEF, 2012) โดยลดสัดส่วนของตัวอย่างน้ำ และสารเคมี เช่นเดียวกับการพัฒนาชุดตรวจสอบคลอไรด์ จนได้สัดส่วนของตัวอย่างน้ำจำนวน 5 มิลลิลิตร และฟีนอล์ฟทาไลน์อินดิเคเตอร์จำนวน 1 มิลลิลิตร ทดสอบการเกิดสีตามความเข้มข้นของคาร์บอนเนต (ภาพที่ 6) พัฒนาแผ่นเทียบสีเพื่อใช้ประเมินคุณภาพน้ำตามเกณฑ์ ดีมาก - ดีปานกลาง - เริ่มอันตรายกับพืช และเป็นอันตรายกับพืช (FAO, 1985; WHO, 2011; Burowet *al.*, 2017) พัฒนาเป็นชุดตรวจสอบคาร์บอนเนตตามภาพที่ 7 และ 8



ภาพที่ 6 การทดสอบการเกิดสีของคาร์บอนเนตตามความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 0, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350 และ 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เรียงจากซ้ายไปขวา

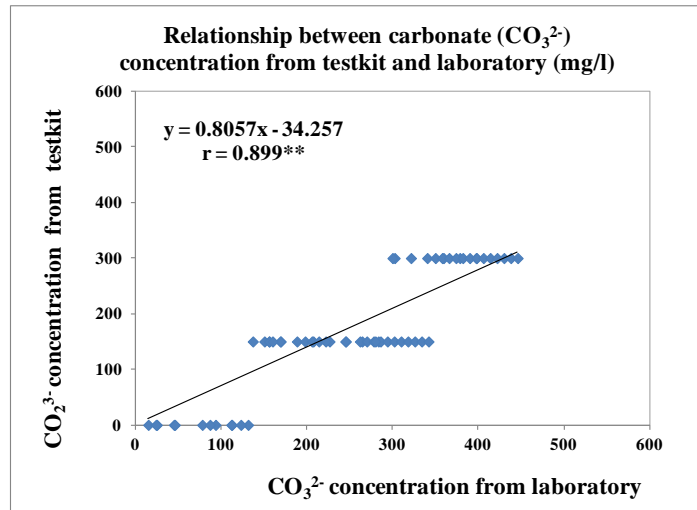


ภาพที่ 7 การพัฒนาแผ่นเทียบสีตามระดับของคุณภาพน้ำ ดีมาก-ดี ปานกลาง และเป็นอันตรายกับพืช



ภาพที่ 8 ชุดตรวจสอบคาร์บอนที่ได้พัฒนาขึ้น

- 1.2.2. การทดสอบชุดตรวจสอบ คาร์บอนกับตัวอย่างน้ำที่เตรียมขึ้นที่มีความเข้มข้นของคาร์บอน ตั้งแต่ 0 - 500 มิลลิกรัมต่อลิตรจำนวน 62 ตัวอย่าง
- 1.2.3. ทดสอบตัวอย่าง น้ำที่เตรียมขึ้นที่มีความเข้มข้นของคาร์บอนตั้งแต่ 0 - 500 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 62 ตัวอย่างด้วยชุดตรวจสอบที่ได้พัฒนาปรับปรุงขึ้น หาความสัมพันธ์กับผลการวิเคราะห์ภายในห้องปฏิบัติการ พบว่า ผลการวิเคราะห์ ตัวอย่างน้ำด้วยชุดตรวจสอบ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สูงกับผลการวิเคราะห์ ตัวอย่างน้ำด้วยวิธีในห้องปฏิบัติการ ( $r=0.899^{**}$ ,  $N=62$ ,  $p < 0.001$ ) มีดังนั้นชุดตรวจสอบอย่างง่าย คาร์บอน ที่ได้พัฒนาขึ้นให้ผลใกล้เคียงกับการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการสูง (ภาพที่ 9)

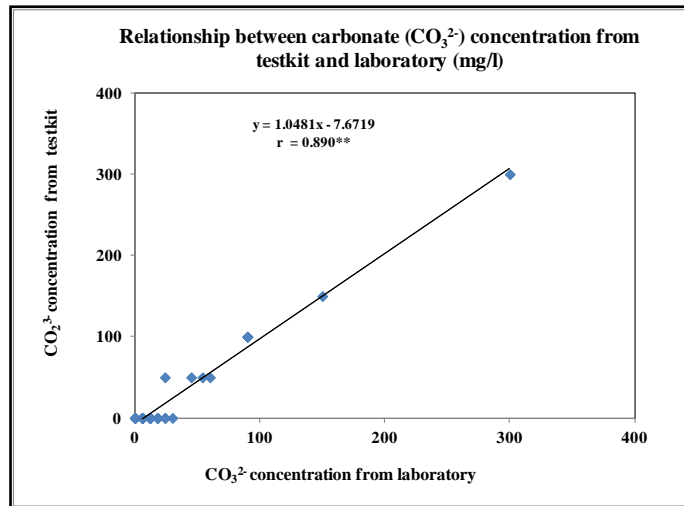


ภาพที่ 9 ความสัมพันธ์ระหว่างผลการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำที่เตรียมขึ้นด้วยชุดตรวจสอบ ( Test kit) และผลการวิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการ

1.2.4. ทดสอบชุดตรวจสอบคาร์บอนเนตกับ ตัวอย่างน้ำจากแหล่งต่างๆ จากน้ำบ่อ น้ำคลอง น้ำบาดาล และน้ำประปา จำนวน 52 ตัวอย่างที่มีค่าวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการดัง ตารางที่ 2 มาทดสอบด้วยชุดตรวจสอบที่ได้พัฒนาปรับปรุงขึ้น หาความสัมพันธ์กับ ผลการวิเคราะห์ภายในห้องปฏิบัติการ พบว่า ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำด้วยชุด ตรวจสอบ (testkit) มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สูง กับผลการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำ ด้วยวิธีในห้องปฏิบัติการ ( $r=0.890^{**}$ ,  $N=52$ ,  $p < 0.001$ ) ดังนั้น ชุดตรวจสอบ อย่างง่ายคาร์บอนเนตที่ได้พัฒนาขึ้นให้ผลใกล้เคียงกับการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ สูง สามารถนำมาใช้เป็นชุดตรวจสอบตัวอย่างน้ำได้ (ภาพที่ 10)

ตารางที่ 2 ผลวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำจากแหล่งต่างๆ จำนวน 52 ตัวอย่างในห้องปฏิบัติการ

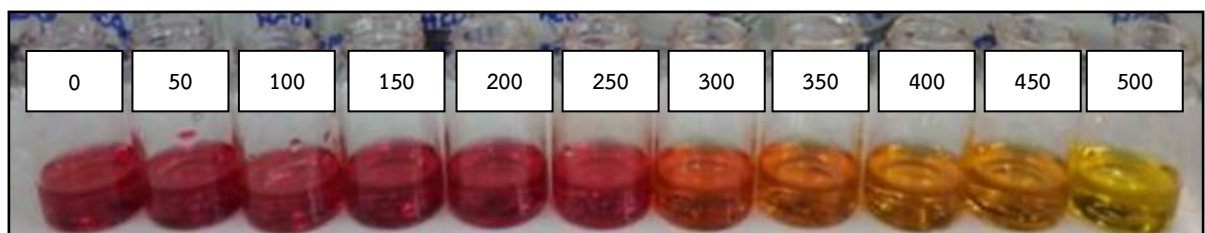
แหล่งน้ำ	จำนวนตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ย		
		pH	ค่าการนำไฟฟ้า ( $\mu\text{S/cm}$ )	คาร์บอนเนต (mg/l)
น้ำบ่อ	15	7.5	1134	62.0
น้ำคลอง	30	7.7	1472	9.0
น้ำบาดาล	3	7.8	762	2.0
ประปา	4	8.2	688	21.0



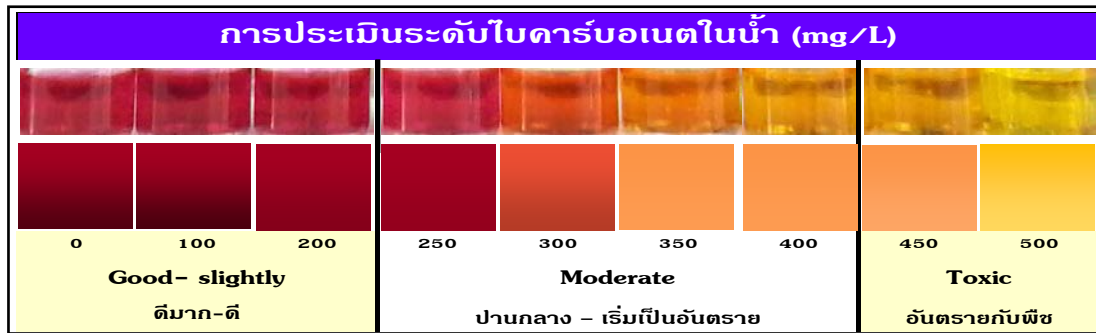
ภาพที่ 10 ความสัมพันธ์ระหว่างผลการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำจากแหล่งต่างๆ ด้วยชุดตรวจสอบ (Test kit) และผลการวิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการ

### 1.3. การพัฒนาและทดสอบชุดตรวจสอบไบคาร์บอเนต

1.3.1. พัฒนาชุดตรวจสอบไบคาร์บอเนต อาศัยหลักการวิเคราะห์ ด้วยวิธี Indicator Method (APHA, AWWA and WEF, 2012) เป็นการไทเทรตตัวอย่างน้ำด้วยกรดซัลฟิวริก โดยใช้เมทิลเรดเป็นอินดิเคเตอร์โดยลดสัดส่วนของตัวอย่างน้ำและสารเคมี เช่นเดียวกับชุดตรวจสอบ คลอไรด์และคาร์บอเนตโดยใช้ตัวอย่างน้ำจำนวน 5 มิลลิลิตร เมทิลเรด จำนวน 3 หยด กรดซัลฟิวริก จำนวน 3 หยด ทดสอบการเกิดสีตามความเข้มข้นของไบคาร์บอเนต (ภาพที่ 11) พัฒนาแผ่นเทียบสีเพื่อใช้ประเมินคุณภาพน้ำตามเกณฑ์ดีมาก - ดีปานกลาง - เริ่มอันตรายกับพิษ และเป็นอันตรายกับพิษ (FAO, 1985; WHO, 2011; Burowet *et al.*, 2017)พัฒนาเป็นชุดตรวจสอบไบคาร์บอเนตตามภาพที่ 12 และ 13



ภาพที่ 11 การเกิดสีของไบคาร์บอเนตตามความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 0, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เรียงจากซ้ายไปขวา



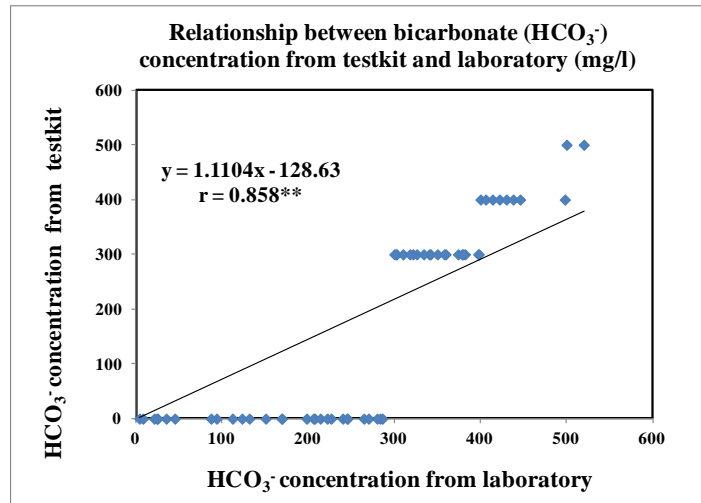
ภาพที่ 12 การพัฒนาแผ่นเทียบสีตามระดับของคุณภาพน้ำ ดีมาก-ดี, ปานกลาง, เริ่มเป็นอันตราย และเป็นอันตรายกับพืช



ภาพที่ 13 ชุดตรวจสอบไบคาร์บอเนตที่ได้พัฒนาขึ้น

- 1.3.2. การทดสอบชุดตรวจสอบไบคาร์บอเนต กับตัวอย่างน้ำที่เตรียมขึ้นที่มีความเข้มข้นของคาร์บอเนต ตั้งแต่ 0 - 500 มิลลิกรัมต่อลิตรจำนวน 58 ตัวอย่าง โดยทดสอบตัวอย่างน้ำที่เตรียมขึ้นที่มีความเข้มข้นของไบคาร์บอเนตตั้งแต่ 0 - 500 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 58 ตัวอย่างด้วยชุดตรวจสอบที่ได้พัฒนาปรับปรุงขึ้น เปรียบเทียบกับผลการวิเคราะห์ภายในห้องปฏิบัติการ พบว่า ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำด้วยชุดตรวจสอบ (testkit) มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สูงกับการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำด้วยวิธีในห้องปฏิบัติการ ( $r=0.858^{**}$ ,  $N=58$ ,  $p < 0.001$ ) ดังนั้น ชุดตรวจสอบอย่างง่ายไบคาร์บอเนต ที่ได้พัฒนาขึ้นให้ผลใกล้เคียงกับการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการสูง (ภาพที่ 14)



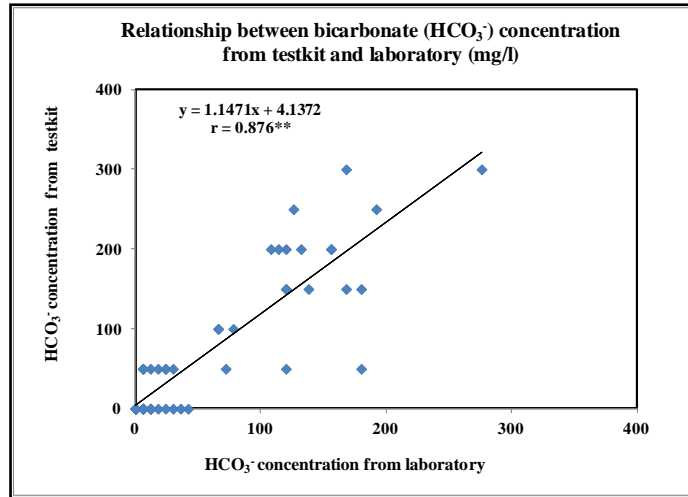


ภาพที่ 14 ความสัมพันธ์ระหว่างผลการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำด้วยชุดตรวจสอบ (Test kit) และผลการวิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการ

1.3.3. การทดสอบชุดตรวจสอบไบคาร์บอเนตกับตัวอย่างน้ำจากแหล่งต่างๆ โดยทดสอบตัวอย่างน้ำจากแหล่งต่างๆ ได้แก่ น้ำบ่อ น้ำคลอง น้ำบาดาล และน้ำประปา จำนวน 51 ตัวอย่างที่มีค่าวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการดังตารางที่ 3 มาทดสอบด้วยชุดตรวจสอบที่ได้พัฒนาปรับปรุงขึ้น หากความสัมพันธ์กับผลการวิเคราะห์ภายในห้องปฏิบัติการ พบว่า ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำด้วยชุดตรวจสอบ (testkit) มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สูง กับผลการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำด้วยวิธีในห้องปฏิบัติการ ( $r=0.876^{**}$ ,  $N=51$ ,  $p < 0.001$ ) ดังนั้น ชุดตรวจสอบอย่างง่ายไบคาร์บอเนต ที่ได้พัฒนาขึ้นให้ผลใกล้เคียงกับการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการสูง สามารถนำมาใช้เป็นชุดตรวจสอบตัวอย่างน้ำได้ (ภาพที่ 15)

ตารางที่ 3 ผลวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำจากแหล่งต่างๆ จำนวน 51 ตัวอย่างในห้องปฏิบัติการ

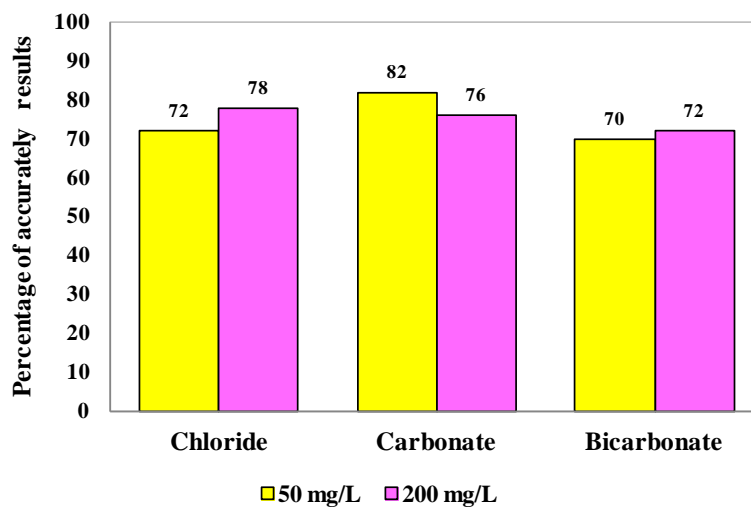
แหล่งน้ำ	จำนวนตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ย		
		pH	ค่าการนำไฟฟ้า ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	ไบคาร์บอเนต ( $\text{mg}/\text{l}$ )
น้ำบ่อพักสวนกล้วยไม้	11	8.1	1084	150.5
น้ำบ่อ	8	6.7	74	15.8
น้ำสระ	25	6.6	226	21.4
น้ำบาดาล	4	7.5	291	157.5
น้ำคลอง	3	7.1	140	90.0



ภาพที่ 15 ความสัมพันธ์ระหว่างผลการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำจากแหล่งต่างๆ ด้วยชุดตรวจสอบ (Test kit) และผลการวิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการ

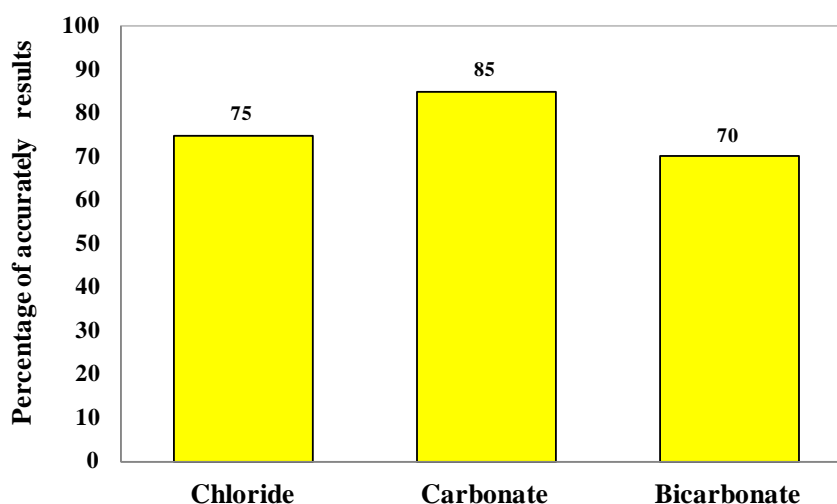
2. ทำการทดสอบการใช้งานจริงของชุดตรวจสอบโดยใช้ตัวอย่างน้ำที่เตรียมขึ้น และตัวอย่างน้ำแหล่งต่างๆในพื้นที่จริงของเกษตรกร

2.1. ทดสอบการใช้งานชุดตรวจสอบโดยใช้ตัวอย่างน้ำที่เตรียมขึ้น โดยทดสอบการใช้งานชุดตรวจสอบโดยผู้ใช้งานซึ่งเป็นบุคคลทั่วไปจำนวน 50 ราย โดยมีการใช้ตัวอย่างน้ำที่ห้องปฏิบัติการได้เตรียมขึ้นที่มีความเข้มข้นของ คลอไรด์ คาร์บอเนต และไบคาร์บอเนต ความเข้มข้น 50 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการใช้ชุดตรวจสอบ พบว่า ผู้ใช้งานชุดตรวจสอบจำนวน 50 ราย มีการรายงานผลการทดสอบคลอไรด์ คาร์บอเนต และไบคาร์บอเนต ของตัวอย่างน้ำที่มีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรถูกต้อง จำนวน 36 41 และ 35 รายคิดเป็นร้อยละ 72 82 และ 70 ตามลำดับ ในขณะที่มีการรายงานผลการทดสอบคลอไรด์ คาร์บอเนต และไบคาร์บอเนต ของตัวอย่างน้ำที่มีความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตรถูกต้อง จำนวน 39 38 และ 36 รายคิดเป็นร้อยละ 78 76 และ 72 ตามลำดับ (ภาพที่ 16)



ภาพที่ 16 ร้อยละของผู้ทดสอบที่รายงานผลถูกต้อง โดยใช้ตัวอย่างน้ำทดสอบที่มีความเข้มข้นของ คลอไรด์ คาร์บอเนต และไบคาร์บอเนต ความเข้มข้น 50 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร

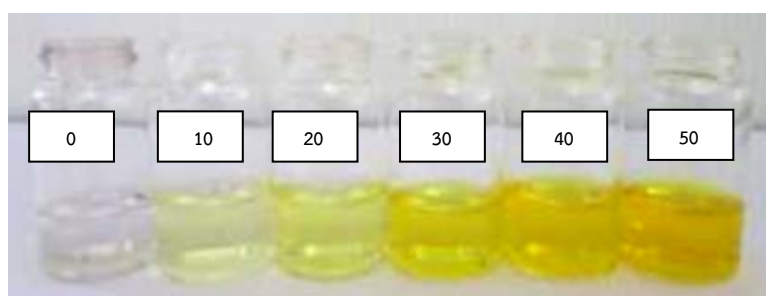
2.2. ทดสอบการใช้งานชุดตรวจสอบโดยใช้น้ำจากแหล่งต่างๆ ในพื้นที่ของเกษตรกร โดยทดสอบการใช้งานชุดตรวจสอบโดยผู้ใช้งานซึ่งเป็นเกษตรกรจำนวน 20 ราย โดยใช้ตัวอย่างน้ำทดสอบจากแหล่งน้ำต่างๆ ในพื้นที่ของเกษตรกร ผลการใช้ชุดตรวจ พบว่า ผู้ใช้งานชุดตรวจสอบจำนวน 20 ราย มีการรายงานผลการทดสอบคลอไรด์ คาร์บอเนต และไบคาร์บอเนตในน้ำถูกต้องจำนวน 15 17 และ 14 รายคิดเป็นร้อยละ 75 85 และ 70 ตามลำดับ (ภาพที่ 17)



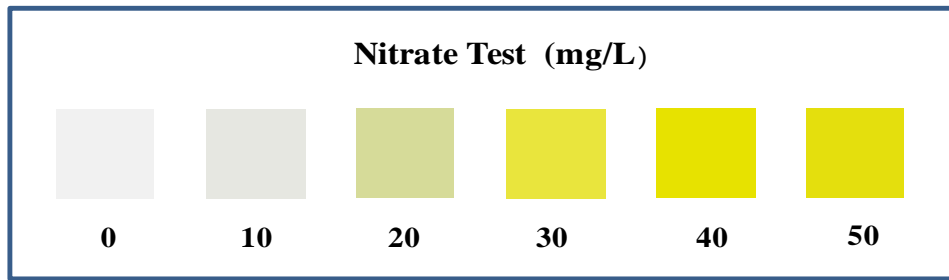
ภาพที่ 17 แสดงร้อยละของผู้ทดสอบที่รายงานผลถูกต้องในภาคสนาม

2.3. การพัฒนาและทดสอบชุดตรวจสอบอย่างง่ายในเตรท

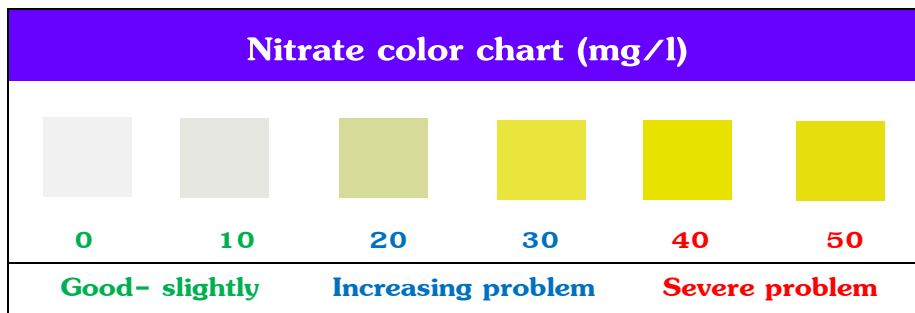
2.3.1. วิจัยพัฒนา และจัดทำชุดตรวจสอบในเตรท โดยปรับลดสัดส่วนของตัวอย่างน้ำ และสารเคมีที่ใช้ จากวิธีที่มาตรฐานที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ซึ่งได้สัดส่วนของตัวอย่างน้ำ และสารเคมี ดังต่อไปนี้ ตัวอย่างน้ำ 2 มิลลิลิตรสารละลาย Sodium chloride 30% ปริมาตร 1 มิลลิลิตรสารละลาย Sulfuric acid ปริมาตร 2 มิลลิลิตรสารละลาย Brucine - sulfanilic acid ปริมาตร 1 มิลลิลิตรทดสอบการเกิดสีของในเตรทตามความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตรเทียบกับวิธีมาตรฐานในห้องปฏิบัติการ พร้อมทั้งพัฒนาแผ่นเทียบสีสำหรับวิเคราะห์ในเตรท (ภาพที่ 18 และ 19) รวมทั้งปรับปรุงแผ่นเทียบสีให้สอดคล้องกับคำแนะนำคุณภาพน้ำทางการเกษตร (ภาพที่ 20)



ภาพที่ 18 การทดสอบการเกิดสีของไนเตรทที่ปรับลดสัดส่วนของตัวอย่างน้ำและสารเคมีความเข้มข้น 0 10 20 30 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

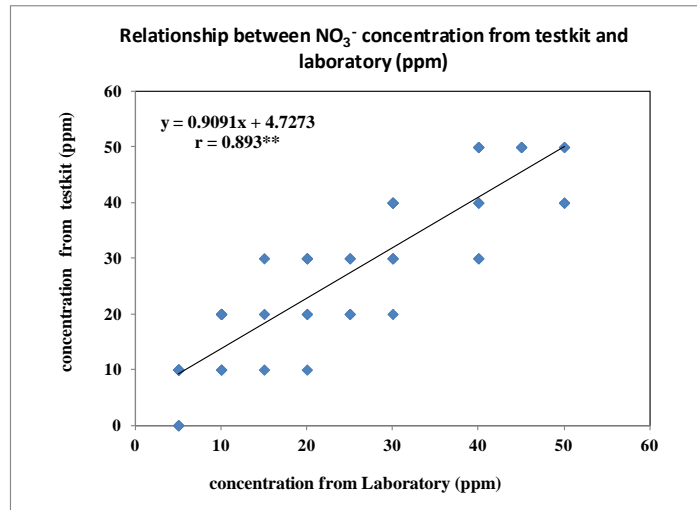


ภาพที่ 19 การพัฒนาแผ่นเทียบสี



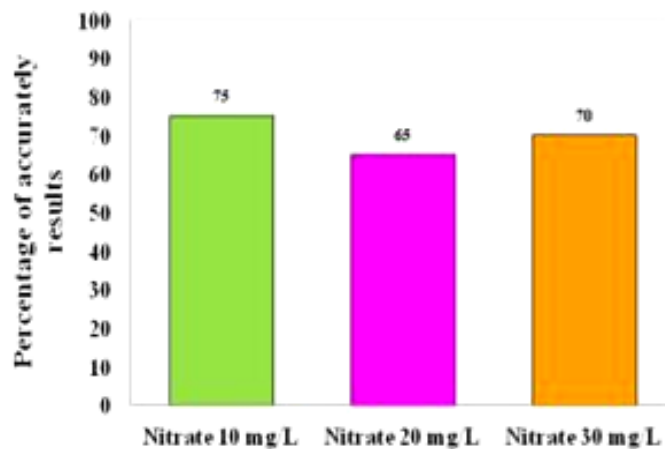
ภาพที่ 20 การปรับปรุงแผ่นเทียบสีตามคุณภาพของน้ำ ดิมาก -ดี, ปานกลาง - เริ่มอันตรายกับพืช และอันตรายกับพืช

2.3.2. เปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ระหว่างวิธีวิเคราะห์ปริมาณไนเตรทของชุดตรวจสอบ กับวิธีวิเคราะห์มาตรฐานที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบการใช้ชุดตรวจสอบวิเคราะห์ปริมาณไนเตรทในตัวอย่างน้ำที่เตรียมขึ้นความเข้มข้น 5 – 50 มิลลิกรัมต่อลิตรหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าวิเคราะห์ไนเตรทด้วยชุดตรวจสอบ และผลการวิเคราะห์ภายในห้องปฏิบัติการ โดยหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (The Coefficient of Correlation, r) พบว่า ผลการวิเคราะห์ไนเตรทด้วยชุดตรวจสอบมีสหสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับวิธีการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.893\*\* ตามลำดับ ดังนั้น ชุดตรวจสอบที่ได้พัฒนาขึ้นสามารถให้ผลวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำทางการเกษตรใกล้เคียงกับการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการมากกว่าร้อยละ 80 (ภาพที่ 21)



ภาพที่ 21 ความสัมพันธ์ระหว่างผลการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำด้วยชุดตรวจสอบ (Test kit) และผลการวิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการ

2.3.3. ทดสอบการใช้งานชุดตรวจสอบโดยวิเคราะห์ปริมาณไนเตรทในตัวอย่างน้ำที่ความเข้มข้น 10 20 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตรโดยใช้แผ่นเทียบสีที่พัฒนาขึ้นกับผู้ใช้จำนวน 12 ราย พบว่าผู้ใช้งานชุดตรวจสอบมีการรายงานผลการใช้แผ่นเทียบสีวิเคราะห์ปริมาณไนเตรทได้ถูกต้องมากกว่าร้อยละ 65 ตามภาพที่ 22

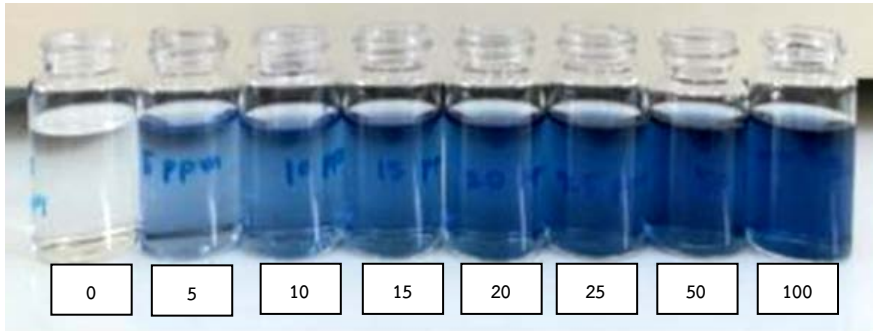


ภาพที่ 22 การใช้งานชุดตรวจสอบโดยวิเคราะห์ปริมาณไนเตรทในตัวอย่างน้ำที่เตรียมขึ้นความเข้มข้น 10 20 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตรโดยใช้แผ่นเทียบสีที่พัฒนาขึ้นกับผู้ใช้จำนวน 12 ราย

#### 2.4. วิจัยพัฒนาและจัดทำชุดตรวจสอบฟอสเฟต

2.4.1. พัฒนาชุดตรวจสอบ ฟอสเฟต โดยสกัดส่วนของตัวอย่างน้ำ และสารเคมีที่ใช้ จากวิธีห้องปฏิบัติการ ซึ่งได้สกัดส่วนของตัวอย่างน้ำ และสารเคมี ดังนี้ ตัวอย่างน้ำ 10 มิลลิลิตรสารละลาย Ascorbic acid ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ทดสอบการเกิดสีของฟอสเฟตตามความเข้มข้น 0, 5, 10, 15, 20, 25, 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

เทียบกับวิธีมาตรฐานในห้องปฏิบัติการ พร้อมทั้งพัฒนาแผ่นเทียบสีสำหรับวิเคราะห์ฟอสเฟต (ภาพที่ 23 และ 24)



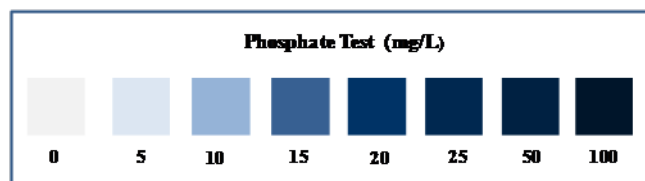
ภาพที่ 23 การทดสอบการเกิดสีของฟอสเฟตที่ปรับลดสัดส่วนของตัวอย่างน้ำและสารเคมีความเข้มข้น 0 - 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

**Phosphate Test (mg/L)**

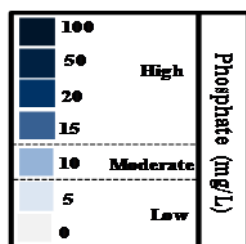
0                    5                    10                    15                    20                    25                    50                    100

ภาพที่ 24 การพัฒนาแผ่นเทียบสี

2.4.2. การปรับปรุงชุดตรวจสอบและแผ่นเทียบสี    ดังนี้ แผ่นเทียบสี ทำการปรับปรุงโดยแบ่งตามเกณฑ์ ต่ำ ปานกลาง และสูง ปรับอุปกรณ์ให้มีแผ่นเทียบสีอยู่ข้างขวดทำปฏิกิริยา ตามคุณภาพของน้ำ ดีมาก -ดี, ปานกลาง - เริ่มอันตรายกับพืช และอันตรายกับพืช

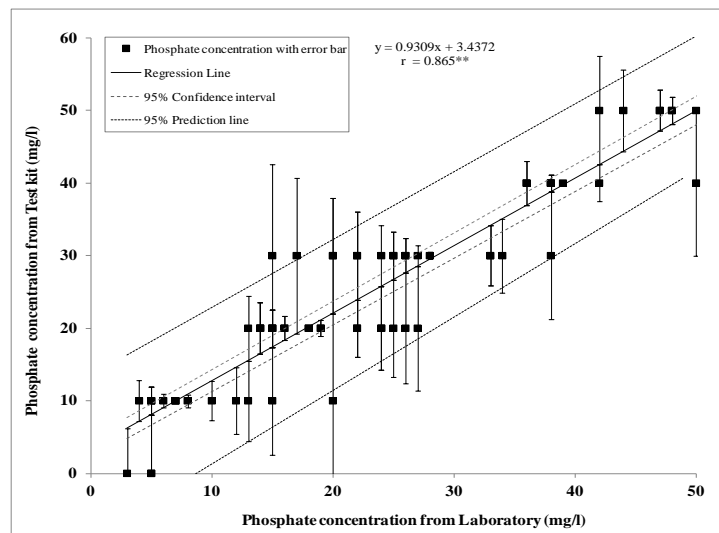


**Phosphate**



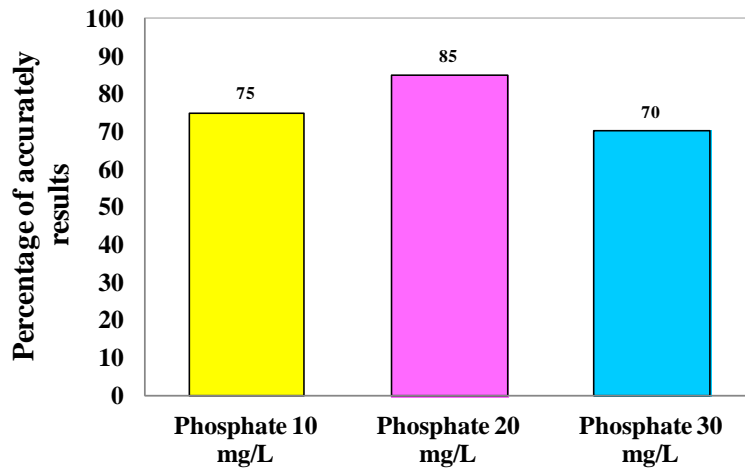
ภาพที่ 25 การปรับปรุงแผ่นเทียบสีตามคุณภาพของน้ำ ตีมาก -ดี, ปานกลาง - เริ่มอันตรายกับพืช และอันตรายกับพืช

2.4.3. ทดสอบการใช้ชุดตรวจสอบวิเคราะห์ฟอสเฟตในตัวอย่างน้ำ โดยเตรียมตัวอย่างน้ำ ให้มีปริมาณฟอสเฟต ระหว่าง 0-50 มิลลิกรัมต่อลิตร และตัวอย่างน้ำทางการเกษตร จำนวนรวม 70 ตัวอย่างทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างการวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟต ด้วยชุดตรวจสอบ และผลการวิเคราะห์ภายในห้องปฏิบัติการ พบว่า ผลการวิเคราะห์ฟอสเฟตด้วยชุดตรวจสอบมีสหสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับวิธีการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.865\*\* ทำให้ชุดตรวจสอบที่ได้พัฒนาขึ้นสามารถให้ผลวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำทางการเกษตร ได้ใกล้เคียงกับการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการสูง (ภาพที่26)



ภาพที่ 26 ผลการใช้งานชุดตรวจสอบวิเคราะห์ฟอสเฟตในตัวอย่างน้ำเปรียบเทียบกับผลวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

2.4.4. ทดสอบการใช้งานชุดตรวจสอบโดยเกษตรกรจำนวน 20 ราย โดยใช้ตัวอย่างน้ำที่เตรียมขึ้นโดยมีปริมาณฟอสเฟต 10, 20 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการใช้งานชุดตรวจสอบ พบว่า มีผู้ใช้ชุดตรวจสอบฟอสเฟต รายงานผลการทดสอบฟอสเฟตในน้ำ ถูกต้องจำนวน 15, 17 และ 14 ราย คิดเป็นร้อยละ 75, 85 และ 70 ตามลำดับ (ภาพที่ 27) และผลการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำจากแหล่งต่างๆ ตามช่วงความเข้มข้นของฟอสเฟต ได้แก่ ช่วงความเข้มข้น 0 – 20, 20 - 40 และมากกว่า 40 มิลลิกรัมต่อลิตร ช่วงความเข้มข้นละ 20 ตัวอย่าง พบว่า ผลการวิเคราะห์ฟอสเฟต ด้วยชุดตรวจสอบมีความถูกต้องร้อยละ 70, 75 และ 75 ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

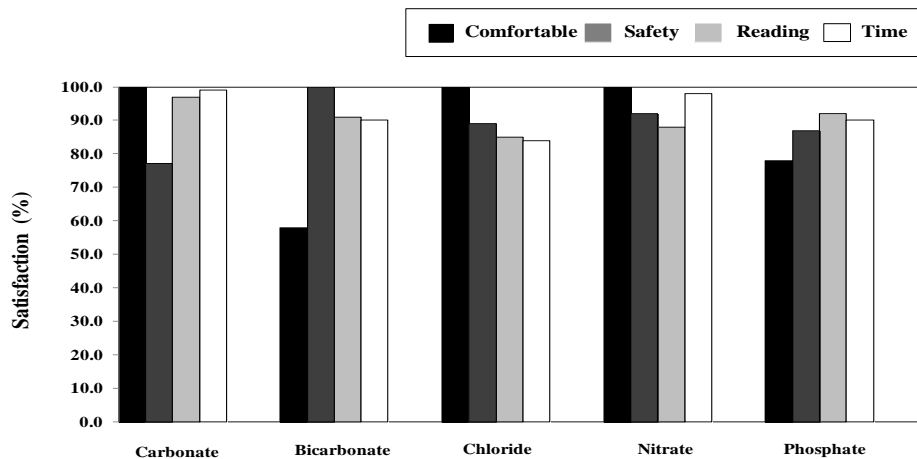


ภาพที่ 27 ทดสอบการใช้งานชุดตรวจสอบโดยผู้ใช้งานซึ่งเป็นเกษตรกรจำนวน 20 ราย โดยใช้ตัวอย่างน้ำที่เตรียมขึ้นโดยมีปริมาณฟอสเฟต 10, 20 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4 การทดสอบความถูกต้องของการใช้ชุดตรวจสอบ จากผู้ใช้งานชุดตรวจสอบ 20 ราย

Ranges	no. of samples	Phosphate test kit			no. of samples
		False (-)	False (+)	True	
0 - 20 mg/l	20 (100%)	3 (15%)	3 (15%)	14 (70%)	20 (100%)
20 - 40 mg/l	20 (100%)	3 (15%)	2 (10%)	15 (75%)	20 (100%)
>40 mg/l	20 (100%)	2 (10%)	3 (15%)	15 (75%)	20 (100%)
<b>Total</b>	<b>60 (100%)</b>	<b>8(13%)</b>	<b>8(13%)</b>	<b>44 (74%)</b>	<b>60 (100%)</b>

3. สสำรวจความพึงพอใจของผู้ทดสอบใช้งาน เมื่อนำชุดตรวจสอบไปใช้งานจริงโดยเกษตรกรในภาคสนามพบว่า มากกว่าร้อยละ 70 ของผู้ใช้งานทั้งหมด เห็นว่าชุดตรวจสอบมีความสะดวกในการใช้งาน การอ่านผลการทดสอบง่ายมีความชัดเจนมาก เวลาในการทดสอบ และรูปแบบของชุดตรวจสอบมีความเหมาะสมมาก (ภาพที่ 28)



ภาพที่ 28 การสำรวจความพึงพอใจในการใช้งานชุดตรวจสอบอย่างง่าย

4. เปรียบเทียบข้อดี ข้อจำกัด และต้นทุนของวิธีวิเคราะห์ของชุดตรวจสอบ ( Test Kit) กับวิธีของห้องปฏิบัติการ โดยวิเคราะห์ต้นทุนการผลิตชุดตรวจสอบ พบว่า ชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้น มี



ต้นทุนค่าวิเคราะห์ต่อตัวอย่าง 36.64 – 53.36บาท ซึ่งประหยัดกว่าการส่งตัวอย่างวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการที่มีราคาค่าวิเคราะห์ 90 - 250 บาท

5.

**ตารางที่ 4** เปรียบเทียบข้อดีและข้อจำกัดของวิธีวิเคราะห์ของชุดตรวจสอบ (Test Kit) กับวิธีของห้องปฏิบัติการ

วิธีของ Test Kit	วิธีของห้องปฏิบัติการ
1. ใช้เวลาในการตรวจสอบประมาณ 5 นาที	1. ใช้เวลาในการวิเคราะห์ไม่น้อยกว่า 15 นาที
2. วิธีการตรวจใช้วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ง่าย สะดวก และราคาไม่แพง ได้แก่ หลอดฉีดยา หลอดหยด ขวดทดสอบขนาด 10 มิลลิลิตร	2. วิธีการวิเคราะห์ใช้วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้งานยาก และมีราคาแพง ได้แก่ Burette Pipette และ Volumetric flask, Erlenmeyer Flask, กรวยกรองแก้ว
3. ผู้ใช้ไม่ต้องเป็นผู้มีความชำนาญมาก่อนเกษตรกรสามารถตรวจสอบได้เอง	3. ผู้ใช้ต้องเป็นผู้ที่มีความชำนาญ
4. ขั้นตอนไม่สลับซับซ้อน	4. ขั้นตอนการวิเคราะห์ละเอียด
5. ต้นทุนการผลิต คลอไรด์ 36.64 บาท คาร์บอนเต 36.64. บาท ไบคาร์บอนเต 45.23 บาท ไนเตรท 50.64 บาท ฟอสเฟต 53.36 บาท	5. ต้นทุนการวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการ คลอไรด์ ราคา 110 บาท ต่อ 1 ตัวอย่าง คาร์บอนเต ราคา 90 บาท ต่อ 1 ตัวอย่าง ไบคาร์บอนเต ราคา 90 บาท ต่อ 1 ตัวอย่าง ไนเตรท ราคา 250 บาท ต่อ 1 ตัวอย่าง ฟอสเฟต ราคา 250 บาท ต่อ 1 ตัวอย่าง
6. ชุดตรวจสอบมีขนาดพกพา สามารถใช้ในภาคสนาม และทราบผลวิเคราะห์ทันที	6. เกษตรกรต้องเดินทางมาส่งน้ำที่กลุ่มวิจัยเกษตรเคมีและรอยผลวิเคราะห์เป็นเวลานาน

**สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)**

ผลการวิเคราะห์คลอไรด์ คาร์บอนเต และไบคาร์บอนเต ไนเตรท และฟอสเฟต ในน้ำด้วยชุดตรวจสอบ มีความสัมพันธ์อย่างสูงยิ่งทางสถิติกับผลการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำด้วยวิธีวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการโดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สูง (r) เท่ากับ 0.983\*\*, 0.890\*\*, 0.876\*\* 0.893\*\* และ 0.865\*\* ตามลำดับ ซึ่งทำให้ชุดตรวจสอบที่ได้พัฒนาขึ้นให้ผลถูกต้องตรงกับผลการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการมากกว่าร้อยละ 80 สามารถนำมาใช้เป็นชุดตรวจสอบตัวอย่างน้ำได้ จริง หลังจากนั้นนำไปชุดตรวจสอบไปใช้งานจริงโดยเกษตรกรจำนวน 20 คน ในภาคสนาม ผลการใช้ชุดตรวจสอบพบว่าการวิเคราะห์หาปริมาณคลอไรด์ คาร์บอนเต ไบคาร์บอนเตไนเตรท และฟอสเฟต ในน้ำ มีความถูกต้องมากกว่าร้อยละ 70

**กิจกรรมที่ 6 พัฒนาเทคนิคระบบการวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยชีวภาพ**

**การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณและประสิทธิภาพของไรโซเบียม  
ในปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม  
The validation of quantity and efficiency analysis for rhizobium  
in rhizobium biofertilizer**

นายอำนาจ เอี่ยมวิจารณ์ จิตรา เกาะแก้ว มนต์ชัย มนต์สิลา  
ภัศชญณ หมื่นแจ้ว อมรรัตน์ ไชยะเสน

### คำสำคัญ (Keywords)

ไรโซเบียม ประสิทธิภาพ ปุ๋ยชีวภาพ ตรวจสอบความใช้ได้ ถั่วเขียว ถั่วลิสง ถั่วเหลือง  
rhizobium efficiency biofertilizer validation mung bean groundnut soy bean

### บทคัดย่อ(Abstract)

การคัดเลือกสายพันธุ์ไรโซเบียมอ้างอิงเพื่อใช้ควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยชีวภาพ ไรโซเบียมสำหรับถั่วเหลือง ถั่วเขียว และถั่วลิสงทำโดยวิธีการตรึงไนโตรเจนด้วยวิธี Acetylene Reduction Assay (ARA) และการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ด้วยวิธี Most Probable Number (MPN) โดยคัดเลือกสายพันธุ์ไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนดีที่สุดของแต่ละชนิด อย่างละ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ DASA 01023 01001 01014 02009 02008 02002 03069 03071 และ 03018 ซึ่งนำมาใช้เป็นเชื้ออ้างอิงในการทดลอง ผลการทดลองพบว่า ที่ความเข้มข้นของเชื้อ อย่างน้อย  $1.0 \times 10^6$  เซลล์/มิลลิลิตร สามารถก่อให้เกิดปมในรากถั่วทั้ง 3 ชนิด อย่างไรก็ตามมีเพียงไรโซเบียมสายพันธุ์ DASA 01001 01014 01023 ที่จำเพาะต่อถั่วเหลืองเพียงอย่างเดียว เมื่อตรวจสอบความถูกต้องและความเหมาะสมของวิธีการวิเคราะห์ (method validation) โดยศึกษา ความจำเพาะสัมพันธ์และค่าความถูกต้องสัมพันธ์ พบว่าเชื้อไรโซเบียมถั่วเหลือง ถั่วเขียว และถั่วลิสง มีค่าความจำเพาะสัมพันธ์ เท่ากับ 100 56.94 และ 54.16 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ค่าความถูกต้องสัมพันธ์ เท่ากับ 100 71.30 และ 69.44 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ขณะที่ค่าความไวสัมพันธ์มีค่าเท่ากัน คือ 100 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นไรโซเบียมทั้ง 9 สายพันธุ์ สามารถใช้เป็นเชื้อสายพันธุ์อ้างอิงได้อย่างได้ อย่างเหมาะสมในการวิเคราะห์ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม

Acetylene Reduction Assay (ARA) and the Most Probable Number (MPN) are the methods for analyzing the efficiency and quantity of rhizobium in rhizobium biofertilizer. Three of each rhizobium strains from soybean mung bean and ground nut (DASA 01023 01001 01014 02009 02008 02002 03069 03071 and 03018) that provide the highest nitrogen fixing rate were used as reference strains in this experiment. For inoculation method, the minimum concentration of  $1.0 \times 10^6$  cfu/ml of these strains could produce nodules in their hosts. However, only DASA 01001 01014 01023 had specific to soybean. Method validation was performed to analyze the specificity of rhizobium strains in rhizobium biofertilizer. The result showed that the relative specificity of this method were 100 56.94 54.16%, which resulted in 100 71.30 69.44% relative accuracy respectively. Whereas, all strains had 100% relative sensitivity. Therefore, 9 rhizobium strains in this study can be used to analyze the quantity and efficiency of rhizobium in rhizobium biofertilizer.

### บทนำ (Introduction)

ปัจจุบันเอกชนมีการผลิตปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมเพื่อจำหน่ายกันอย่างแพร่หลาย ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพเพื่อการค้านั้น มีการควบคุมคุณภาพโดยต้องขอขึ้นทะเบียนปุ๋ย ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดย พระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ. ศ. 2550 ซึ่งได้กำหนดมาตรฐานปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม จะต้องมิจุลินทรีย์ไรโซเบียม อย่างน้อย  $1 \times 10^6$  หรือ 1 ล้านเซลล์ต่อน้ำหนักปุ๋ยชีวภาพ 1 กรัม

ไรโซเบียมเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถเข้าสร้างปมรากกับพืชตระกูลถั่วและเจริญอยู่ในปมรากแบบพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกัน (symbiosis) โดยปมรากพืชตระกูลถั่วที่มีไรโซเบียมอาศัยอยู่เปรียบเสมือนโรงงานปุ๋ยไนโตรเจนทางชีวภาพ เนื่องจากไรโซเบียมสามารถตรึงไนโตรเจนจากบรรยากาศให้เป็นสารประกอบไนโตรเจน เพื่อให้พืชใช้ในการเจริญเติบโตได้ ทั้งนี้ไรโซเบียมแต่ละสายพันธุ์จะมีความเฉพาะเจาะจงกับพืชตระกูลเช่น ถั่วเหลือง ถั่วเขียว และถั่วลิสง ที่แตกต่างกันและมีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนต่างกัน จากการทดสอบการตรึงไนโตรเจนได้ตั้งแต่ 7.096 ถึง 28.099 (ไมโครโมลเอทิลีน/พืช/ชม.) ของสายพันธุ์ไรโซเบียมที่อาศัยอยู่กับถั่วเหลือง ถั่วเขียว และถั่วลิสง

การตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพ (Biological Nitrogen Fixation) เป็นกระบวนการผลิตแอมโมเนียจากสิ่งมีชีวิตกลุ่มโปรแคริโอต (prokaryote) ที่สามารถใช้แก๊สไนโตรเจนจากบรรยากาศได้ (หนึ่ง, 2554) โดยสามารถแบ่งตามความสัมพันธ์ระหว่างโปรแคริโอตและพืช เป็น 2 ประเภท ได้แก่ การตรึงไนโตรเจนแบบอิสระ (Free-Living Heterotrophs) และแบบพึ่งพาอาศัย (Symbiotic Nitrogen Fixation) ในที่นี้จะกล่าวถึงเฉพาะแบบพึ่งพาอาศัย คือแบคทีเรียที่ต้องอยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตอื่น (จำเพาะเจาะจง) จึงจะสามารถตรึงไนโตรเจนในบรรยากาศได้ เช่น ไรโซเบียม แฟรงเคีย และไซยาโนแบคทีเรีย เป็นต้น ไรโซเบียมเป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีรูปร่างเป็นแท่งสั้น ขนาด  $0.5-0.9 \times 1.2-3.0$  ไมครอน ไม่สร้างเอนโดสปอร์ (endospore) เคลื่อนที่ด้วย flagella มีทั้งแบบ single polar และ peritrichous เซลล์มีการสะสมอาหารใน granule ที่ภายในบรรจุ Polymeric beta-hydroxybutaric acid (PHB) ไรโซเบียมเป็นแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนในการเจริญ สามารถใช้แหล่งคาร์บอนจากคาร์โบไฮเดรตหลายชนิด อุณหภูมิที่ 25-30 องศาเซลเซียส และค่า pH 6-7 เป็นช่วงที่เหมาะสมกับการเจริญของเชื้อ

การประยุกต์ใช้ไรโซเบียมในการเกษตรสามารถใช้ได้ทั้งในรูปของปุ๋ยพืชสด (พืชตระกูลถั่ว) โดยไถกลบพืชตระกูลถั่ว จะสลายตัวและปล่อยธาตุอาหาร โดยเฉพาะไนโตรเจนในชั้นดิน มีรายงานว่า โสนแอฟริกัน (Sesbaniarostrata) และ โสน (S. canabina) สามารถตรึงไนโตรเจนได้ 190 และ 149 กิโลกรัม/ไร่/ปี (นันทกร บุญเกิด , 2529) ซึ่งเป็นประโยชน์แก่พืชเศรษฐกิจที่เป็นพืชหลักต่อไป และการใช้หัวเชื้อไรโซเบียมร่วมกับพืชตระกูลถั่วเศรษฐกิจ โดยมีปัจจัยที่ต้องคำนึงถึง ได้แก่ เชื้อไรโซเบียมดั้งเดิมที่มีอยู่ในดิน (indigenous rhizobia) เนื่องจากเป็นเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการสร้างปมต่ำ ปริมาณไนโตรเจนในดิน และหัวเชื้อควรมีจำนวนเซลล์ของไรโซเบียมในปริมาณที่มากพอที่จะแข่งขันกับเชื้อไรโซเบียมดั้งเดิม ทั้งนี้ไรโซเบียมเป็นจุลินทรีย์ที่นิยมใช้ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพ เนื่องจากกลไกการตรึงไนโตรเจนที่มีอยู่ในอากาศ มาเปลี่ยนให้เป็นแอมโมเนียหรือสารประกอบไนโตรเจนที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ เชื้อไรโซเบียมมีความสามารถในการสร้างปมที่รากหรือที่ลำต้นของพืชตระกูลถั่ว ทำให้พืชได้ประโยชน์จากการตรึงไนโตรเจนโดยตรง ซึ่งต้องอาศัยการทำงานร่วมกันระหว่างพืชตระกูลถั่วกับไรโซเบียม ดังนั้นการใช้ไรโซเบียมเป็นปุ๋ยชีวภาพจึงมีความสำคัญในการช่วยลดการใช้ปุ๋ยเคมีไนโตรเจนในการผลิตพืชตระกูลถั่ว ส่งผลให้มีต้นทุนการผลิตลดลง และช่วยลดปัญหา

จากการใช้ปุ๋ยเคมี เช่น การสะสม ตกค้างของปุ๋ยเคมี เนื่องจากพืชไม่สามารถนำไปใช้ได้ทั้งหมด รวมถึงการชะล้างปุ๋ยเคมีทำให้เกิดการปนเปื้อนไปยังแหล่งน้ำอุปโภค บริโภคได้

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณไรโซเบียมในตัวอย่างปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมโดยวิธีการตรวจสอบ การเข้าสร้างปมที่รากต้นถั่ว (plant infection method) เป็นวิธีการตรวจนับจำนวนไรโซเบียมที่มีชีวิตและมีประสิทธิภาพในการเข้าสร้างปม เริ่มด้วยการเตรียมสารละลายปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมให้มีระดับความเจือจางที่แตกต่างกัน และนำไปปลูกใส่ให้กับผิวนอกของถั่วซึ่งปลูกในถุงปลูก โดยทั่วไป นิยมใช้ถั่วเซอร์ราโตร (siratro) และถั่วที่อยู่ในกลุ่มเดียวกับชนิดถั่วที่ระบุในฉลากปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม ตรวจนับจำนวนถุงปลูกที่มีการสร้างปมเกิดขึ้นที่รากถั่วแล้วนำไปเปิดตารางหาค่า Most Probable Number (MPN) เพื่อประเมินปริมาณแบคทีเรียในกลุ่มไรโซเบียมที่มีชีวิตในปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม

ใน ค.ศ. 1994 ได้เริ่มมีการจำแนกไรโซเบียมโดยใช้การสร้างปมในพืชตระกูลถั่วแต่ละชนิด เป็นเกณฑ์ แต่ผลที่ได้ยังไม่สามารถนำไปใช้ในการจัดจำแนกได้อย่างชัดเจน ในปัจจุบันหลักเกณฑ์ต่างๆ ไปที่ใช้ในการจัดจำแนกไรโซเบียม เช่น การทดสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา ชีวเคมี ชนิดของพืชตระกูลถั่วที่สามารถสร้างปม ความสามารถในการทนเกลือ และความสามารถในการเจริญในสภาวะที่มีสารปฏิชีวนะต่างๆ (หนึ่ง, 2554)

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณไรโซเบียมในตัวอย่างปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมโดยวิธีการตรวจสอบ การเข้าสร้างปมที่รากต้นถั่ว (plant infection method) เป็นวิธีการตรวจนับจำนวนไรโซเบียมที่มีชีวิตและมีประสิทธิภาพในการเข้าสร้างปม (nodule) ทำโดยเริ่มด้วยการเตรียมสารละลายปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมให้มีระดับความเจือจางที่แตกต่างกัน และนำไปปลูกใส่ให้กับผิวนอกของถั่วซึ่งปลูกในถุงปลูก โดยทั่วไปนิยมใช้ถั่วเซอร์ราโตรและถั่วที่อยู่ในกลุ่มเดียวกับชนิดถั่วที่ระบุในฉลากปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม ตรวจนับจำนวนถุงปลูกที่มีการสร้างปมเกิดขึ้นที่รากถั่วแล้วนำไปเปิดตารางหาค่า Most Probable Number (MPN) เพื่อประเมินปริมาณแบคทีเรียในกลุ่มไรโซเบียมที่มีชีวิตในปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม โดยวิธีที่ปฏิบัติอยู่ซึ่งมีข้อจำกัดหลายประการ เช่น ขาดเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์อ้างอิง (reference strain) ในการตรวจวิเคราะห์ ความจำเพาะของเชื้อไรโซเบียมต่อพืชอาศัย เป็นต้น

ดังนั้น จึงได้คัดเลือกสายพันธุ์ไรโซเบียมเพื่อใช้เป็นสายพันธุ์อ้างอิงในการการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณและประสิทธิภาพของไรโซเบียมในปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม เพื่อรองรับการขึ้นทะเบียนปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ.2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550

### ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมี ที่ใช้ในการทดลองได้แก่ เชื้อไรโซเบียมถั่วเหลือง ถั่วเขียว และถั่วลิสง สายพันธุ์บริสุทธิ์ จากห้องปฏิบัติการวิจัยไรโซเบียม กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมถั่วเหลือง ถั่วเขียว และถั่วลิสง ถั่วเหลือง (พันธุ์เชียงใหม่ 60) เมล็ดถั่วเขียว (พันธุ์ชยันต 84-1) และถั่วลิสง (พันธุ์เทวนาน 9) เมล็ดถั่วเซอร์ราโตรอาหาร yeast mannitol broth (YMB) สารละลายธาตุอาหาร N-free plant nutrient เครื่องมือวิทยาศาสตร์ ได้แก่ ตู้บ่มเชื้อ หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ เครื่องเขย่าสาร เป็นต้นเครื่องแก้วและวัสดุอื่น ๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์

## วิธีการ

### 1. การวัดประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน

เชื้อไรโซเบียมถั่วเหลืองสายพันธุ์ DASA 01001 01007 01013 01014 01015 01022 01023 01034 01054 และ 01059 เชื้อไรโซเบียมถั่วเขียวสายพันธุ์ DASA 02001 02002 02006 02007 02008 02009 02010 02020 02062 และ 02080 เชื้อไรโซเบียมถั่วลิสงสายพันธุ์ DASA 03018 03026 03027 03028 03043 03069 03071 03083 03084 และ 03094 (ตารางที่ 1) ซึ่งเป็นเชื้อไรโซเบียมที่แยกมาจากปมรากถั่วและมีความจำเพาะกับการสร้างปมรากในต้นถั่วแต่ละชนิดเท่านั้น โดยได้รับมาจากห้องปฏิบัติการวิจัยไรโซเบียม กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร นำเชื้อทั้ง 30 สายพันธุ์ดังกล่าวมาทำการเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ yeast mannitol broth นับจำนวนเชื้อไรโซเบียมด้วยวิธี standard plate count จากนั้นทำการปลูกเชื้อไรโซเบียมดังกล่าวให้กับต้นถั่วที่ปลูกใน Leonard jar (Leonard, 1943) โดยวางแผนการทดลองแบบ Complete randomized design จำนวน 3 ซ้ำ เมื่อต้นถั่วมีอายุประมาณ 32 วันหลังจากปลูกเชื้อทำการศึกษาประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของไรโซเบียมในปมรากถั่ว ด้วยเทคนิค Acetylene Reduction Assay (ARA) ตามวิธีการของ Hardy et al. (1973) แล้วนำตัวอย่างแก๊สที่ได้ไปวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณเอทิลีนด้วยเครื่อง Gas Chromatograph (GC) คำนวณหาปริมาณแก๊สเอทิลีน โดยเปรียบเทียบกับพื้นที่ใต้กราฟของเอทิลีนมาตรฐานจากสูตรดังนี้

$$\text{อัตราการตรึงไนโตรเจน} = (103 \times B \times V) / (250 \times \text{Std.} \times A \times 22.4)$$

B = พื้นที่ใต้กราฟของพืชตัวอย่าง

V = ปริมาตรของขวดกรวยแก้วที่ใช้เก็บตัวอย่างเป็นมิลลิลิตร

Std. = พื้นที่ใต้กราฟเฉลี่ยของแก๊สอะเซทิลีนมาตรฐาน

A = เวลาที่ใช้ในการรีดิวซ์แก๊สอะเซทิลีนเป็นชั่วโมง

อัตราการตรึงไนโตรเจน มีหน่วยเป็นไมโครโมลของเอทิลีน (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>) ต่อต้นพืชต่อชั่วโมง เมื่อใช้เอทิลีนมาตรฐานที่ทราบปริมาตรที่แน่นอน (250 มิลลิลิตร) นำข้อมูลอัตราการตรึงไนโตรเจนของถั่วแต่ละชนิดที่ได้รับการปลูกเชื้อไรโซเบียมแต่ละสายพันธุ์มาเปรียบเทียบกัน เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนดีที่สุดในขั้นตอนการทดลองต่อไปการบันทึกข้อมูล

### 2. การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ในปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม โดยวิธีการหาค่า MPN (Most Probable Number)

#### 2.1. การเตรียมถุงปลูก

ถุงปลูกพีชทำจากถุงพลาสติกอย่างหนาขนาด 5 x 8 นิ้ว ภายในบรรจุกระดาดขสภาพพับขอบด้านหนึ่งของถุงปลูกใส่หลอดพลาสติกเพื่อสะดวกในการเติมธาตุอาหารพีชปริมาณ 100 มิลลิลิตร/ถุงปลูก นำถุงปลูกที่เตรียมเรียบร้อยแล้วไปผ่านการฆ่าเชื้อปนเปื้อน แล้วนำไปจัดวางในชั้นวางถุงปลูกที่ทำจากลวดสแตนเลสตัดเป็นกรอบสี่เหลี่ยมตอกลงบนแผ่นไม้ โดยมีช่องห่างระหว่างกรอบลวด 1 เซนติเมตร

#### 2.2. การเพาะเมล็ดถั่ว

นำเมล็ดถั่วเซอร่าโตร ถั่วเขียว ถั่วเหลือง และถั่วลิสง มาฆ่าเชื้อปนเปื้อนที่ผิวหุ้มเมล็ด จากนั้นแช่เมล็ดถั่วและเพาะบนสำลีที่มีความชื้นเหมาะสมในสภาวะปลอดเชื้อบนจาน

เพาะเมล็ดพร้อมฝาปิด กลี๋ยเมล็ดให้ทั่ว นำไปบ่มที่อุณหภูมิประมาณ 30 องศาเซลเซียสทิ้งไว้จนเมล็ดงอกรากมีความยาวประมาณ 0.5 – 1.0 เซนติเมตร

### 2.3. การเตรียมสารละลายเชื้อจากตัวอย่างปุ๋ยชีวภาพ

ชั่งตัวอย่างปุ๋ยชีวภาพจำนวน 10 กรัม ใส่ในขวดแก้วที่บรรจุน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 90 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องสสารเป็นเวลา 30 นาที ที่ความเร็ว 30 รอบ/นาที จะได้สารละลายปุ๋ยชีวภาพที่มีความเจือจาง  $10^{-1}$  เท่า จากนั้นทำสารละลายดังกล่าวให้มีความเจือจางเพิ่มขึ้นตามลำดับ (serial dilution) ตั้งแต่  $10^{-1}$  ถึง  $10^{-8}$  โดยใช้ น้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อเป็นตัวละลายเจือจาง (diluent)

### 2.4. การปลูกถั่วในถุงปลูก

นำถุงปลูกที่ผ่านการฆ่าเชื้อวางในชั้นวางถุงปลูก เติมสารละลายธาตุอาหารพืชที่ปราศจากไนโตรเจน (N-free plant nutrient) ที่ผ่านการนิ่งฆ่าเชื้อถุงละ 100 มิลลิลิตร ใช้ปากคีบเจาะรูบนขอบกระดาษฟางที่พับไว้ 2 รู โดยมีระยะห่างประมาณ 5 เซนติเมตร สอดรากเมล็ดถั่วเซอร่าโตรที่รากงอกแล้วลงในรูที่เจาะไว้ด้านใดด้านหนึ่งของถุงปลูกโดยเมล็ดถั่วจะอยู่บนขอบกระดาษฟางที่พับไว้ ส่วนรูที่เหลือให้ปลูกถั่วที่ต้องการทดสอบ ด้วยวิธีการเช่นเดียวกัน ดูดสารละลายปุ๋ยชีวภาพที่มีระดับของความเจือจางที่  $10^{-1}$  ถึง  $10^{-8}$  โดยเริ่มจากระดับความเจือจางมากที่สุดไปจนถึงน้อยที่สุดคือ เริ่มจาก  $10^{-1}$  ถึง  $10^{-8}$  ทำการหยดสารละลายเจือจางปุ๋ยชีวภาพจำนวน 1 มิลลิลิตร/ถุงปลูก บริเวณรากถั่ว ทำ 4 ซ้ำต่อระดับความเจือจาง โดยใช้ถุงที่ปลูกถั่วอย่างเดียวกันที่มีการเติมน้ำกลั่นเป็นชุดควบคุมชนิดลบ (negative control) และถุงที่ปลูกเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์บริสุทธิ์ที่จำเพาะเจาะจงกับถั่วแต่ละชนิดที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนสูงเป็นชุดควบคุมชนิดบวก (positive control) จากนั้นนำชั้นวางถุงปลูกไปวางบนชั้นแสง ให้แสงสว่างแก่พืช 12 ชั่วโมง/วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ดูแลให้ธาตุอาหารพืชที่ปราศจากไนโตรเจนเมื่อพืชต้องการ จนครบกำหนด 3 สัปดาห์ ทำการทดลองในข้อ 4 ซ้ำ โดยเปลี่ยนจากเมล็ดถั่วเหลือง เป็นเมล็ดถั่วเขียว และถั่วลิสง ตามลำดับ โดยทุกถุงที่ปลูกจะต้องมีถั่วเซอร่าโตรเป็นตัวอย่างควบคุมชนิดบวก (positive sample) ทุกถุง เนื่องจากถั่วเซอร่าโตรสามารถเกิดปมรากได้กับเชื้อไรโซเบียมทุกชนิด

### 2.5. การคำนวณจำนวนไรโซเบียมต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพ

เมื่อครบกำหนดเวลา 3 สัปดาห์ ทำการตรวจนับจำนวนถั่วที่ต้นถั่วติดปม และนำไปเปิดตาราง MPN (Somasegaran and Hoben, 1994) เพื่อหาค่าประเมินของจำนวนไรโซเบียมที่เข้าสู่รากที่รากต้นถั่ว (m) จากนั้นคำนวณจำนวนไรโซเบียมต่อกรัมของปุ๋ยชีวภาพดังนี้

$$X = \frac{m \times d}{v}$$

X = จำนวนไรโซเบียมต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพ

m = ตัวเลขที่ได้จากการเปิดตาราง MPN

d = ระดับความเจือจางต่ำสุดของสารละลายปุ๋ยชีวภาพที่ใส่ให้กับต้นถั่ว (10<sup>1</sup>)

v = ปริมาตรสารละลายปุ๋ยชีวภาพที่ใส่ให้กับต้นถั่ว (1 มิลลิลิตร) เวลาและสถานที่

2.6. การตรวจสอบความถูกต้องของของสายพันธุ์ไรโซเบียมวิธีวิเคราะห์ปริมาณในปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม (สถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีขั้นสูง และสมาคม เอ โอ เอ ซี ประเทศไทย, 2558) โดยการหาค่าความถูกต้องสัมพัทธ์ (Relative Accuracy) ความจำเพาะสัมพัทธ์ (Relative Specificity) และความไวสัมพัทธ์ (Relative sensitivity)

Responses	Reference method positive (R+)	Reference method negative (R-)
Test kit positive (A+)	+/+ Positive Agreement (PA)	+/- Positive Deviation (PD)
Test kit negative (A-)	-/+ Negative Deviation (ND)	-/- Negative Agreement (NA)

ความถูกต้องสัมพัทธ์ =  $(PA+NA)/N \times 100\%$

ความจำเพาะสัมพัทธ์ =  $NA/N- \times 100\%$

ความไวสัมพัทธ์ =  $PA/N+ \times 100\%$

โดย N คือ จำนวนตัวอย่างทั้งหมด (PA + PD + NA + ND)

N- คือ จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลลบทั้งหมดของวิธีอ้างอิง (NA + PD)

N+ คือ จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวกทั้งหมดของวิธีอ้างอิง (PA + ND)

การบันทึกข้อมูล

1. ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของเชื้อไรโซเบียมแต่ละสายพันธุ์

2. การเกิดปมที่รากของถั่วเหลือง ถั่วเขียวและถั่วลิสง

ระยะเวลา เริ่มต้น ต.ค. 2558 สิ้นสุด ก.ย. 2561

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการวิจัย(Results)

1. การวัดประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน

ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของเชื้อไรโซเบียมสำหรับถั่วเหลือง ถั่วเขียวและถั่วลิสงสายพันธุ์ต่าง ๆ พบว่า สายพันธุ์ DASA 01023 01014 01001 02009 02008 02002 03069 03071 และ 03018 มีค่าการตรึงไนโตรเจนดีที่สุดที่ 3 อันดับแรกของถั่วแต่ละชนิด ตามลำดับ (ตารางที่ 1) จึงได้ทำการคัดเลือกเชื้อไรโซเบียมทั้ง 9 สายพันธุ์ไปใช้เป็นเชื้ออ้างอิงในการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ในปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมด้วยวิธี MPN โดยทำการปลูกเชื้อไรโซเบียมทั้ง 9 สายพันธุ์ดังกล่าวให้กับถั่วเหลือง ถั่วเขียว และถั่วลิสง เพื่อทดสอบความจำเพาะของเชื้อไรโซเบียมต่อการสร้างปมรากในถั่วเหลืองถั่วเขียว และถั่วลิสงต่อไป

**ตารางที่ 1** Number of cell and nitrogen fixation efficiency of each rhizobium strain for 3 kinds of bean

Order	Rhizobium strain	Specificity to the beans	Nitrogen fixing rate* (μmoles ethylene/plant/hour)
1	DASA 01001	Soybean	21.809
2	DASA 01007	Soybean	14.503

Order	Rhizobium strain	Specificity to the beans	Nitrogen fixing rate* ( $\mu$ moles ethylene/plant/hour)
3	DASA 01013	Soybean	16.814
4	DASA 01014	Soybean	20.934
5	DASA 01015	Soybean	8.824
6	DASA 01022	Soybean	15.182
7	DASA 01023	Soybean	25.124
8	DASA 01034	Soybean	16.926
9	DASA 01054	Soybean	20.036
10	DASA 01059	Soybean	14.741
11	DASA 02001	Mung bean	6.524
12	DASA 02002	Mung bean	7.858
13	DASA 02006	Mung bean	7.704
14	DASA 02007	Mung bean	2.843
15	DASA 02008	Mung bean	8.891
16	DASA 02009	Mung bean	13.456
17	DASA 02010	Mung bean	4.90
18	DASA 02020	Mung bean	6.466
19	DASA 02062	Mung bean	6.409
20	DASA 02080	Mung bean	5.493
21	DASA 03018	Ground nut	11.013
22	DASA 03026	Ground nut	14.118
23	DASA 03027	Ground nut	17.945
24	DASA 03028	Ground nut	13.109
25	DASA 03043	Ground nut	23.740
26	DASA 03069	Ground nut	23.601
27	DASA 03071	Ground nut	18.647
28	DASA 03083	Ground nut	18.181
29	DASA 03084	Ground nut	13.316
30	DASA 03094	Ground nut	7.096

\* Mean of three replicates of each strain.

- การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ในปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม โดยวิธีการหาค่า MPN (Most Probable Number) และการตรวจสอบความถูกต้องของเชื้อไรโซเบียมในวิธีวิเคราะห์ปริมาณไรโซเบียมในปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม

ผลการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ในปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมสำหรับถั่วเหลืองถั่วเขียว และถั่วลิสงด้วยวิธี MPN พบว่า เชื้อไรโซเบียมทั้ง 9 สายพันธุ์ ที่ความเข้มข้นของเชื้ออย่างน้อย  $1.0 \times 10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร สามารถก่อให้เกิดปมในรากทั้ง 3 ชนิดได้ดี เมื่อเปรียบเทียบกับถั่วที่ปลูกถั่วอย่างเดียวโดยไม่มีการเติมสารละลายปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม ( negative control) (ตารางที่ 2-4)



โดยพบว่าถั่วเซอร์ราโตรที่ตัวอย่างควบคุมชนิดบวก (positive sample) มีการสร้างปมในทุกถุงที่มีการปลูกเชื้อไรโซเบียมสำหรับถั่วเหลืองถั่วเขียว และถั่วลิสง เนื่องจากถั่วเซอร์ราโตรจัดเป็นพืชตระกูลถั่วที่ใช้เป็นพืชกับดัก (trap host) สำหรับเชื้อไรโซเบียม ถั่วเซอร์ราโตรจึงสามารถเกิดปมรากได้กับเชื้อไรโซเบียมทุกชนิด (Somasegaran and Hoben, 1994)

**ตารางที่2** Most probable number of rhizobium for soybean strains: DASA 01001 01014 and 01023

Concentration of serial dilution	Number of growth pouch that have nodule		
	01001	01014	01023
10 <sup>-1</sup>	4	4	4
10 <sup>-2</sup>	4	4	4
10 <sup>-3</sup>	4	4	4
10 <sup>-4</sup>	4	4	4
10 <sup>-5</sup>	4	4	4
10 <sup>-6</sup>	4	4	4
10 <sup>-7</sup>	4	3	4
10 <sup>-8</sup>	1	0	0
Total	29	27	28
Number of cell (cells per gram biofertilizer)	3.4 × 10 <sup>7</sup>	1.0 × 10 <sup>7</sup>	1.8 × 10 <sup>7</sup>
Positive Sample*	4	4	4
Negative Control*	0	0	0

\* Positive sample means siratro beans grown with rhizobial inoculant. Negative control means soy beans grown without rhizobial inoculant

**ตารางที่3** Most probable number of rhizobium for mung bean strains: DASA 02002 02008 and 02009

Concentration of serial dilution	Number of growth pouch that have nodule		
	02002	02008	02009
10 <sup>-1</sup>	4	4	4
10 <sup>-2</sup>	4	4	4
10 <sup>-3</sup>	4	4	4
10 <sup>-4</sup>	4	4	4
10 <sup>-5</sup>	3	4	4
10 <sup>-6</sup>	3	3	3
10 <sup>-7</sup>	1	1	2
10 <sup>-8</sup>	0	0	0
Total	23	24	25

Concentration of serial dilution	Number of growth pouch that have nodule		
	02002	02008	02009
Number of cell (cells per gram biofertilizer)	$1.0 \times 10^6$	$1.7 \times 10^6$	$3.1 \times 10^6$
Positive Sample*	4	4	4
Negative Control*	0	0	0

\* Positive sample means siratro beans grown with rhizobial inoculant. Negative control means mung beans grown without rhizobial inoculant

**ตารางที่ 4** Most probable number of rhizobium for ground nut strains: DASA 03018 03069 and 03071

Concentration of serial dilution	Number of growth pouch that have nodule		
	03018	03069	03071
$10^{-1}$	4	4	4
$10^{-2}$	4	4	4
$10^{-3}$	4	4	4
$10^{-4}$	4	4	4
$10^{-5}$	4	4	3
$10^{-6}$	3	2	4
$10^{-7}$	1	1	1
$10^{-8}$	0	0	0
Total	24	23	24
Number of cell (cells per gram biofertilizer)	$1.7 \times 10^6$	$1.0 \times 10^6$	$1.7 \times 10^6$
Positive Sample*	4	4	4
Negative Control*	0	0	0

\* Positive sample means siratro beans grown with rhizobial inoculant. Negative control means ground nuts grown without rhizobial inoculant

ผลการทดสอบความจำเพาะของเชื้อไรโซเบียมสำหรับถั่วเหลืองสายพันธุ์ DASA 01014 01001 และ 01023 ต่อการสร้างปมรากกับถั่วเหลืองถั่วเขียว และถั่วลิสง พบว่าเชื้อไรโซเบียมที่จำเพาะสำหรับถั่วเหลืองทั้ง 3 สายพันธุ์สามารถสร้างปมรากในถั่วเหลืองเพียงอย่างเดียวเท่านั้น (ตารางที่ 5) ส่วนผลการทดสอบความจำเพาะของเชื้อไรโซเบียมสำหรับถั่วเขียวสายพันธุ์ DASA 02002 02008 และ 02009 ต่อการสร้างปมรากกับถั่วเขียว ถั่วเหลือง และถั่วลิสง พบว่าเชื้อไรโซเบียมทั้ง 3 สายพันธุ์ สามารถสร้างปมรากในถั่วเขียวและถั่วเหลืองได้ แต่ไม่สามารถสร้างปมรากในถั่วลิสง (ตารางที่ 6) โดยที่ผลการทดสอบความจำเพาะของเชื้อไรโซเบียมสำหรับถั่วลิสงสายพันธุ์ DASA 03018 03069 และ 03071 ต่อการสร้างปมรากของถั่วลิสง ถั่วเขียว และถั่วเหลือง พบว่าเชื้อไรโซเบียมทั้ง 3 สายพันธุ์ สามารถสร้างปมรากในถั่วเขียวและถั่วเหลือง ในขณะที่สายพันธุ์ DASA 03071 ไม่สามารถสร้างปมรากในถั่วเหลือง (ตารางที่ 7) ซึ่งตามสมมุติฐาน

เชื้อไรโซเบียมทั้ง 9 สายพันธุ์จะมีความเฉพาะเจาะจงกับถั่วที่เป็นพืชอาศัยเพียงอย่างเดียว เช่น เชื้อไรโซเบียมถั่วเหลือง เท่านั้น (Wanget *al.*, 2012) ยกเว้นเชื้อไรโซเบียมถั่วเขียวและถั่วลิสง ดังนั้นจึงต้องวิเคราะห์ความจำเพาะของเชื้อไรโซเบียมทางสถิติเพื่อตรวจสอบความถูกต้องของสายพันธุ์ไรโซเบียมทั้ง 9 สายพันธุ์

**ตารางที่ 5** Specificity of rhizobium for soybean strains: DASA 01001 01014 and 01023 on nodulation with soybean and other non-host plants as mung bean and ground nut\*

Replicate	Hypothetical result**	Negative Control***	DASA 01001		DASA 01014		DASA 01023	
			mung bean	ground nut	mung bean	ground nut	mung bean	ground nut
1	+	-	-	-	-	-	-	-
2	+	-	-	-	-	-	-	-
3	+	-	-	-	-	-	-	-
4	+	-	-	-	-	-	-	-
5	+	-	-	-	-	-	-	-
6	+	-	-	-	-	-	-	-
7	+	-	-	-	-	-	-	-
8	+	-	-	-	-	-	-	-
9	+	-	-	-	-	-	-	-
10	+	-	-	-	-	-	-	-
11	+	-	-	-	-	-	-	-
12	+	-	-	-	-	-	-	-
Total	12	0	0	0	0	0	0	0

\* +means nodule, - means without nodule

\*\* Hypothetical result means soybeans grown with rhizobial inoculant and produce nodules.

\*\*\* Negative control means soybeans grown without rhizobial inoculant.

**ตารางที่ 6** Specificity of rhizobium for mung bean strain: DASA 02002 02008 and 02009 on nodulation with mung bean and other non-host plants as soybean and groundnut\*

Replicate	Hypothetical result**	Negative Control***	DASA 02002		DASA 02008		DASA 02009	
			soybean	groundnut	soybean	groundnut	soybean	groundnut
1	+	-	+	-	+	-	+	-
2	+	-	+	-	+	-	+	-
3	+	-	+	-	+	-	+	-
4	+	-	+	-	+	-	+	-
5	+	-	+	-	+	-	+	-
6	+	-	+	-	+	-	+	-
7	+	-	+	-	+	-	+	-
8	+	-	+	-	+	-	+	-
9	+	-	+	-	+	-	+	-
10	+	-	+	-	+	-	+	-
11	+	-	+	-	-	-	-	-
12	+	-	-	-	-	-	-	-
Total	12	0	11	0	10	0	10	0

\* +means nodule, - means without nodule

\*\* Hypothetical result means soybeans grown with rhizobial inoculant and produce nodules.

\*\*\* Negative control means soybeans grown without rhizobial inoculant.

ตารางที่ 7 Specificity of rhizobium for ground nut strains: DASA 03018 03069 and 03071 on nodulation with ground nut and other non-host plants as soybean and mung bean\*

Replicate	Hypothetical result**	Negative Control***	DASA 03018		DASA 03069		DASA 03071	
			soybean	mung bean	soybean	mung bean	soybean	mung bean
1	+	-	+	+	+	+	-	+
2	+	-	+	+	+	+	-	+
3	+	-	+	+	+	+	-	+
4	+	-	+	+	+	+	-	+
5	+	-	+	+	-	+	-	+
6	+	-	+	+	-	+	-	+
7	+	-	+	+	-	+	-	+
8	+	-	+	+	-	+	-	+
9	+	-	+	+	-	+	-	+
10	+	-	+	+	-	+	-	+
11	+	-	+	+	-	-	-	+
12	+	-	-	-	-	-	-	+
Total	12	0	11	11	4	10	0	12

\* +means nodule, - means without nodule

\*\* Hypothetical result means soybeans grown with rhizobial inoculant and produce nodules.

\*\*\* Negative control means soybeans grown without rhizobial inoculant.

เมื่อนำผลทดสอบความจำเพาะของเชื้อไรโซเบียมดังกล่าวมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติ เพื่อตรวจสอบความถูกต้องและความเหมาะสมของวิธีการวิเคราะห์ (method validation) (ตารางที่ 8-10) พบว่าเชื้อไรโซเบียมถั่วเหลือง ถั่วเขียว และถั่วลิสง มีค่าความจำเพาะสัมพัทธ์ เท่ากับ 100 56.94 และ 54.16 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ค่าความถูกต้องสัมพัทธ์ เท่ากับ 100 71.30 และ 69.44 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และค่าความไวสัมพัทธ์มีค่าเท่ากัน คือ 100 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้เชื้อไรโซเบียมถั่วเหลืองทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ DASA 01014 01001 และ 01023 มีความจำเพาะเจาะจง เนื่องจากสร้างปมรากเฉพาะกับถั่วเหลืองทำให้ค่าความจำเพาะสัมพัทธ์เท่า 100 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้ค่าค่าความถูกต้องสัมพัทธ์และค่าความไวสัมพัทธ์สูงด้วย ส่วนเชื้อไรโซเบียมถั่วเขียว (DASA 0200202008 และ 02009) และถั่วลิสง (DASA 03018 03069 และ 03071) ไม่มีความจำเพาะต่อถั่วเขียว และถั่วลิสง เพราะสามารถก่อให้เกิดปมรากกับถั่วทั้ง 3 ชนิด ทำให้ค่าความจำเพาะสัมพัทธ์ต่ำ และส่งผลให้ค่าค่าความถูกต้องสัมพัทธ์และค่าความไวสัมพัทธ์ต่ำ

ตารางที่ 8 Validation of quantity and efficiency method for rhizobium in soybean's rhizobium biofertilizer

Responses	Reference method positive (R+)	Reference method negative (R-)
Test kit positive (A+)	+/+ Positive Agreement (PA) = 36	-/+ Positive Deviation (PD) = 0
Test kit negative (A-)	+/- Negative Deviation (ND) = 0	-/- Negative Agreement (NA) = 72

when  $N = \text{total number of samples (NA + PA + PD + ND)} = 72+36+0+0 = 108$

$N^- = \text{total number of samples which had negative result (NA + PD)} = 72+0 = 72$

$N^+ = \text{total number of samples which had positive result (PA + ND)} = 36+0 = 36$

Relative Accuracy =  $(PA+NA)/N \times 100 = (36+72)/108 \times 100 = 100.00$

Relative Specificity =  $(NA/N^-) \times 100 = 72/(0+72) \times 100 = 100.00$

Relative sensitivity =  $(PA/N^+) \times 100 = 36/(36+0) \times 100 = 100.00$

ตารางที่ 9 Validation of quantity and efficiency method for rhizobium in mung bean's rhizobium biofertilizer

Responses	Reference method positive (R+)	Reference method negative (R-)
Test kit positive (A+)	+/+ Positive Agreement (PA) = 36	-/+ Positive Deviation (PD) = 31
Test kit negative (A-)	+/- Negative Deviation (ND) = 0	-/- Negative Agreement (NA) = 41

when  $N = \text{total number of samples (NA + PA + PD + ND)} = 36+31+0+41 = 108$

$N^- = \text{total number of samples which had negative result (NA + PD)} = 31+41 = 72$

$N^+ = \text{total number of samples which had positive result (PA + ND)} = 36+0 = 36$

Relative Accuracy means  $(PA+NA)/N \times 100 = (36+41)/108 \times 100 = 71.30$

Relative Specificity means  $(NA/N^-) \times 100 = (41/72) \times 100 = 56.94$

Relative sensitivity means  $(PA/N^+) \times 100 = (36/36) \times 100 = 100.00$

ตารางที่ 10 Validation of quantity and efficiency method for rhizobium in ground nut's rhizobium biofertilizer

Responses	Reference method positive (R+)	Reference method negative (R-)
Test kit positive (A+)	+/+ Positive Agreement (PA) = 36	-/+ Positive Deviation (PD) = 33
Test kit negative (A-)	+/- Negative Deviation (ND) = 0	-/- Negative Agreement (NA) = 39

when  $N = \text{total number of samples (NA + PA + PD + ND)} = 39+36+33+0 = 108$

$N^- = \text{total number of samples which had negative result (NA + PD)} = 39+33 = 72$

$N^+ = \text{total number of samples which had positive result (PA + ND)} = 36+0 = 36$

Relative Accuracy means  $(PA+NA)/N \times 100 = (36+39)/108 \times 100 = 69.44$

Relative Specificity means  $(NA/N^-) \times 100 = 39/(33+39) \times 100 = 54.16$

Relative sensitivity means  $(PA/N^+) \times 100 = 36/(36+0) \times 100 = 100.00$

จากผลการติดปมรากของเชื้อไรโซเบียมที่จำเพาะต่อถั่วชนิดนั้นๆ จากตาราง 8-10 แสดงให้เห็นว่าเชื้อไรโซเบียมเป็นตัวอย่างประเภทบวก (positive sample) คือ จะพิจารณาผลบวกเฉพาะปมรากที่เกิดขึ้นตามชนิดของถั่วที่ได้ระบุไว้บนฉลากปุ๋ยเท่านั้น ซึ่งเชื้อไรโซเบียมทั้ง 9 สายพันธุ์สามารถทำให้เกิดปมกับถั่วที่จำเพาะและจากรายงาน ใน ค.ศ. 1994 มีการจำแนกไรโซเบียมโดยใช้การสร้างปมในพืชตระกูลถั่วแต่ละชนิดเป็นเกณฑ์ แต่ผลที่ได้ยังไม่สามารถนำไปใช้ในการ

จัดจำแนกได้อย่างชัดเจน (หนึ่ง, 2554) จึงได้พิจารณาผลบวกเฉพาะปมรากที่เกิดกับถั่วชนิดนั้นๆ เท่านั้น ดังนั้นวิธีวิเคราะห์ปริมาณไรโซเบียมนี้จึงสามารถใช้วิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ในปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมได้อย่างเหมาะสม

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

เชื้อไรโซเบียมสำหรับถั่วเหลือง ถั่วเขียว และถั่วลิสง ทั้ง 9 สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนดีที่สุด 3 อันดับแรกของถั่วแต่ละชนิด คือ DASA 01023 01001 01014 02009 02008 02002 03069 03071 และ 03018 ซึ่งความเข้มข้นของเชื้อไรโซเบียมอย่างน้อย  $1.0 \times 10^6$  เซลล์/มิลลิลิตร สามารถก่อให้เกิดปมในรากถั่วทั้ง 3 ชนิด โดยที่การตรวจสอบความถูกต้องและความเหมาะสมของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณไรโซเบียม พบว่าเชื้อไรโซเบียมถั่วเหลืองมีความจำเพาะเจาะต่อการสร้างปมรากต่อพืชอาศัยเท่านั้น ทำให้มีค่าความจำเพาะสัมพันธ์และค่าความถูกต้องสัมพันธ์เท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเชื้อไรโซเบียมถั่วเขียวและถั่วลิสง มีค่าความจำเพาะสัมพันธ์และค่าความถูกต้องสัมพันธ์เท่ากับ 56.94 54.16 71.30 และ 69.44 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทั้งนี้ค่าความสัมพันธ์ของเชื้อไรโซเบียมของถั่วทั้ง 3 ชนิดมีค่าเท่ากันคือ 100 เปอร์เซ็นต์

### การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการจัดจำแนกไรโซเบียมในปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม

#### The validation of rhizobium classification method in rhizobium biofertilizer

จิตรา เกาะแก้ว มนต์ชัย มนัสสิลา ภัชชญภณ หมิ่นแจ้ง อมรรัตน์ ไจยะเสน

Jitra Kokaew Monchai Manassila Phatchayaphon Meunchang Amornrat Chaiyasen

### คำสำคัญ (Keywords)

ไรโซเบียม ปุ๋ยชีวภาพ ตรวจสอบความใช้ได้ จัดจำแนก ถั่วเขียว ถั่วลิสง ถั่วเหลือง  
rhizobium biofertilizer validation classification mung bean groundnut soy bean

### บทคัดย่อ (Abstract)

การจำแนกชนิดของเชื้อไรโซเบียมสำหรับถั่วเขียว ถั่วลิสง และถั่วเหลืองสายพันธุ์อ้างอิงทั้งหมด 9 สายพันธุ์ ที่คัดเลือกจากประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนดีที่สุด 3 อันดับแรกจากจำนวนทั้งหมด 10 สายพันธุ์ของเชื้อไรโซเบียมแต่ละชนิดถั่ว โดยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ FD1 (forward primer) และ rP2 (reverse primer) แล้วนำชิ้นดีเอ็นเอมาหาลำดับเบส จากนั้นทำแผนภูมิวิวัฒนาการ เปรียบเทียบกับลำดับเบสของเชื้อไรโซเบียมอื่น ๆ ที่ใกล้เคียงกันในฐานข้อมูล NCBI ด้วยวิธี Neighbor-joining phylogenetic analysis โดยใช้โปรแกรม MEGA 6.0 พบว่า เชื้อไรโซเบียมถั่วเขียวสายพันธุ์ DASA 02002 02008 และ 02009 จัดอยู่ในกลุ่มของ *Bradyrhizobium japonicum* โดยมีค่า Bootstrap 85% จึงสรุปได้ว่าชนิดของเชื้อไรโซเบียมอ้างอิงสำหรับถั่วเขียวสายพันธุ์ DASA 02002 02008 และ 02009 คือ *B. japonicum* ส่วนเชื้อไรโซเบียมถั่วลิสงสายพันธุ์ DASA 03069 และ 03071 จัดอยู่ในกลุ่มของ *B. yuanmingense* โดยมีค่า Bootstrap 87% ในขณะที่สายพันธุ์ DASA 03018 จัดอยู่ในกลุ่มของ *B. liaoningense* โดยมีค่า Bootstrap 87% จึงทำการยืนยันการจำแนกชนิดด้วย phylogenetic analysis พบว่า *B. yuanmingense* และ *B.*

*liaoningense* มีวิวัฒนาการที่มีความใกล้เคียงกันมาก จึงจัดอยู่ในกลุ่ม (clade) เดียวกัน โดยมีค่า Bootstrap 100% จึงสรุปได้ว่า ชนิดของเชื้อไรโซเบียมถั่วลิสงสายพันธุ์ DASA 03069 และ 03071 คือ *B. yuanmingense* และสายพันธุ์ DASA 03018 คือ *B. liaoningense* ในขณะที่เชื้อไรโซเบียมถั่วเหลืองสายพันธุ์ DASA 01001, DASA 01014 และ DASA 01023 จัดอยู่ในกลุ่มของ *B. japonicum* ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าไพรเมอร์ fD1 และ rP2 สามารถใช้ในการจัดจำแนกเชื้อไรโซเบียมสำหรับถั่วเขียว ถั่วลิสง และถั่วเหลืองในระดับชนิด (species) ได้

The identification of nine reference rhizobium strains for mung bean, groundnut and soy bean that selected from the top three highest nitrogen fixing rate for each leguminous plant. fD1 (forward primer) and rP2 (reverse primer) primers were used to increase DNA fragments of those rhizobium strains. Then rhizobium DNAs were sequenced and used to construct the phylogenetic tree by comparing with other rhizobium strains in NCBI database. Neighbor-joining phylogenetic analysis was performed using MEGA 6.0 program. The result showed that rhizobium for mung bean strains DASA 0200202008 and 02009 were grouped in *Bradyrhizobium japonicum* with 85% bootstrap support. Therefore, the species of rhizobium for mung bean strains DASA 0200202008 and 02009 was *B. japonicum*. Rhizobium for groundnut strains DASA 03069 and 03071 were grouped in *B. yuanmingense* with 87% bootstrap support while DASA 03018 was grouped in *B. liaoningense* with 87% bootstrap support. The result of phylogenetic analysis revealed that *B. yuanmingense* and *B. Liaoningense* had similar evolution which resulted in their grouping in the same clade with 100% bootstrap support. Therefore, the species of rhizobium for groundnut strains DASA 03069 and 03071 was *B. yuanmingense* while, DASA 03018 was *B. liaoningense*. The rhizobiums for soy bean strains DASA 01001 01014 and 01023 were *B. japonicum*. Therefore, it was concluded that the primer fD1 and rP2 can be used to classify rhizobium into species level.

## บทนำ (Introduction)

ไรโซเบียมเป็นจุลินทรีย์ที่นิยมใช้ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพ โดยใช้กลไกการตรึงไนโตรเจนที่มีอยู่ในอากาศ มาเปลี่ยนให้เป็นแอมโมเนียหรือสารประกอบไนโตรเจนที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ ความพิเศษของเชื้อกลุ่มไรโซเบียมคือ ความสามารถในการสร้างปมที่รากหรือที่ลำต้นของพืชตระกูลถั่ว ทำให้พืชได้ประโยชน์จากการตรึงไนโตรเจนโดยตรงซึ่งจำเป็นจะต้องอาศัยการทำงานร่วมกันระหว่างพืชตระกูลถั่วกับไรโซเบียมที่สัมพันธ์กัน เนื่องจากไรโซเบียมสามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ ดังนั้นการใช้ไรโซเบียมเป็นปุ๋ยชีวภาพจึงมีความสำคัญ การใช้ไรโซเบียมนอกจากจะทำให้ลดการใช้ปุ๋ยเคมียังผลทำให้มีต้นทุนการผลิตลดลงอีกด้วย จึงลดปัญหาการใช้ปุ๋ยเคมีได้แก่ การสะสมตกค้างของสารเคมีเนื่องจากพืชไม่สามารถนำไปใช้ได้ทั้งหมดซึ่งการใช้ทำให้เกิดการปนเปื้อนไปยังแหล่งน้ำได้

การวิเคราะห์จุลินทรีย์ในปุ๋ยชีวภาพเป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญอย่างยิ่งในการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์เพื่อให้ได้มาตรฐาน ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 เนื่องจาก

จุลินทรีย์ที่มีชีวิตในปุ๋ยชีวภาพมีบทบาทสำคัญในการให้สารประกอบธาตุอาหารพืช อัตราการมีชีวิตรอดของจุลินทรีย์ในวัสดุคอกปุ๋ย ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในการสร้างธาตุอาหารให้แก่พืช การสร้างมาตรฐานวิธีการตรวจวิเคราะห์ให้เป็นที่ยอมรับในระดับอาเซียนและนานาชาติ

เนื่องจากในปัจจุบันบริษัทเอกชนผลิตปุ๋ยชีวภาพโรโซเปียมจำหน่ายกันอย่างแพร่หลาย และขอขึ้นทะเบียนปุ๋ยชีวภาพตามพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 โดยปริมาณจุลินทรีย์โรโซเปียม  $1.0 \times 10^6$  เซลล์ต่อน้ำหนักปุ๋ยชีวภาพ 1 กรัม ดังนั้นการตรวจสอบความความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยชีวภาพโรโซเปียมจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งเพื่อรับรองคุณภาพของปุ๋ยชีวภาพและเป็นประโยชน์ต่อการนำวิธีการวิเคราะห์ดังกล่าวไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ น่าเชื่อถือ และรองรับประชาคมเศรษฐกิจอาเซียนในปีพ.ศ. 2558

### ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมี ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (Thermal cycler) เครื่องถ่ายภาพเจล (Gel documentation) ไพร์เมอร์ (primer) ชุดสกัดดีเอ็นเอ เครื่องแก้ว และวัสดุอื่น ๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์ สารเคมี / จุลินทรีย์ ได้แก่ สารเคมีในกระบวนการสกัดสารพันธุกรรม อาหารเลี้ยงเชื้อโรโซเปียม เชื้อโรโซเปียมถั่วเขียว ถั่วลิสง และถั่วเหลือง สายพันธุ์บริสุทธิ์

#### วิธีการ

1. นำเชื้อโรโซเปียมถั่วเขียว ถั่วลิสง และถั่วเหลือง สายพันธุ์บริสุทธิ์เลี้ยงในอาหาร yeast mannitol broth medium ปั่นตกตะกอนเพื่อเก็บเซลล์โรโซเปียม
2. สกัดดีเอ็นเอของโรโซเปียมสายพันธุ์ต่าง ๆ ตามวิธีการของชุดสกัด Genomic DNA Mini Kit (Tissue) (Geneaid Biotech Ltd., Taiwan)
3. เพิ่มปริมาณชิ้นส่วนยีน 16 S rDNA ที่ต้องการโดยวิธี Polymerase chain reaction (PCR) โดยใช้ไพร์เมอร์ fD1 (5' AGAGTTTGATCCTGGCTCAG 3') และ rP2 (5'-ACGGCTACCTTGTTAC GAC TT-3') (Weisburg et al., 1991) จากนั้นนำส่วนผสมทั้งหมดเข้าเครื่อง PCR โดยมีลำดับของปฏิกิริยา (PCR reaction condition) ดังนี้

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

ตรวจสอบ PCR product ด้วยเครื่อง agarose gel electrophoresis

4. หาลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีน 16 S rDNA ที่ได้จากการเพิ่มจำนวนด้วยเครื่อง DNA Sequencer
5. นำลำดับนิวคลีโอไทด์ของโรโซเปียมแต่ละสายพันธุ์ที่ได้มาเปรียบเทียบกับความคล้ายคลึงกันกับสายพันธุ์โรโซเปียมที่มีอยู่ในฐานข้อมูลของ The National Center for Biotechnology Information (NCBI) ([www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/)) ด้วย Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)



- นำลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อไรโซเบียมในฐานะข้อมูลที่มีเปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึงกันมากที่สุด (% similarity) กับลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์อ้างอิง มาสร้างแผนภูมิวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) ด้วยวิธี Neighbor-joining โดยใช้โปรแกรม MEGA 6.0 เพื่อศึกษาเปรียบเทียบข้อมูลวิวัฒนาการทางพันธุกรรมของเชื้อ ไรโซเบียมทดสอบแต่ละสายพันธุ์ว่ามีความใกล้เคียงกับเชื้อไรโซเบียมชนิดใดในฐานะข้อมูล และบ่งบอกชนิด ( species) ของเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์อ้างอิง

#### การบันทึกข้อมูล

- รูปถ่ายเจลปริมาณสารพันธุกรรมที่ได้จากการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ
- ตารางผลการเปรียบเทียบความคล้ายคลึงกัน (% similarity) ของลำดับเบสของไรโซเบียมทดสอบแต่ละสายพันธุ์กับสายพันธุ์ไรโซเบียมที่มีอยู่ในฐานข้อมูลของ The National Center for Biotechnology Information (NCBI)
- แผนภูมิวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree)

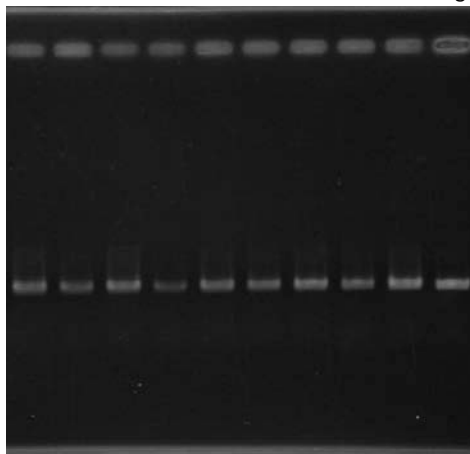
เวลาและสถานที่ ระยะเวลาเริ่มต้น ต.ค. 2558 สิ้นสุด ก.ย. 2561

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา  
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

#### ผลการวิจัย (Results)

##### ถั่วเขียว

เมื่อทำการสกัดดีเอ็นเอของเชื้อไรโซเบียมถั่วเขียวได้ 10 สายพันธุ์ ได้แก่ DASA 02001 02002 02006 02007 02008 02009 02010 02020 02062 และ 02080 และเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ fD1 และ rP2 จนได้ปริมาณดีเอ็นเอตามภาพถ่ายเจล (Figure 1)



**Figure 1** The amount of DNA of 10 selected mung bean rhizobium

เมื่อนำขึ้นดีเอ็นเอของเชื้อไรโซเบียมทั้ง 10 สายพันธุ์ที่เพิ่มจำนวนได้ด้วยไพรเมอร์ fD1 และ rP2 ไปหาลำดับเบส แล้วนำไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลลำดับเบสของเชื้อไรโซเบียมอื่น ๆ ในฐานข้อมูลของ The National Center for Biotechnology Information (NCBI) พบว่า ลำดับเบสของดีเอ็นเอเชื้อไรโซเบียมทั้ง 10 สายพันธุ์มีความคล้ายคลึงกันกับเชื้อ *Bradyrhizobium japonicum*

99% (ตารางที่ 1) สำหรับการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ขึ้นอยู่กับระยะทางวิวัฒนาการ (evolutionary distance) การวิเคราะห์จากค่าเปอร์เซ็นต์อัตลักษณ์ (identitypercentage) จะให้ค่าประมาณที่เป็นประโยชน์ ซึ่งโดยปกติจะพิจารณาว่าสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ มีวิวัฒนาการใกล้เคียงกัน หรือเป็นชนิดเดียวกัน เมื่อเปอร์เซ็นต์อัตลักษณ์มีค่าแตกต่างกันไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์ (Pearson, 2013)

**ตารางที่ 1** Classification of selected mung bean rhizobium

Strains	Species	Similarity(%)	NCBI accession number
DASA 02001	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	99	KY000645
DASA 02002	<i>B. japonicum</i>	99	AB931151
DASA 02006	<i>B. japonicum</i>	99	CP017637
DASA 02007	<i>B. japonicum</i>	99	KY284085
DASA 02008	<i>B. japonicum</i>	99	AB931151
DASA 02009	<i>B. japonicum</i>	99	KF995119
DASA 02010	<i>B. japonicum</i>	100	KY000644
DASA 02020	<i>B. japonicum</i>	99	KF995119
DASA 02062	<i>B. japonicum</i>	99	AY904774
DASA 02080	<i>B. japonicum</i>	99	KY000645

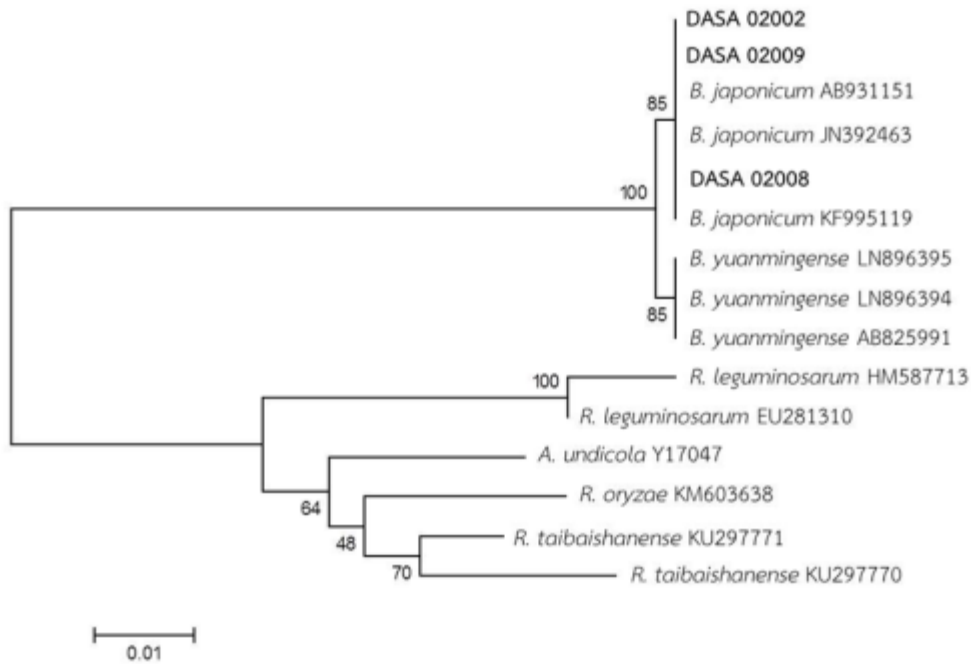
ยืนยันผลการจำแนกชนิดโดยนำลำดับเบสของเชื้อไรโซเบียมถั่วเขียวสายพันธุ์อ้างอิงทั้ง 3 สายพันธุ์ที่คัดเลือกจากประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนดีที่สุดในอันดับแรก ได้แก่ DASA 02002 02008 และ 02009 มาทำแผนภูมิวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) เปรียบเทียบกับลำดับเบสของเชื้อไรโซเบียมอื่น ๆ ที่ใกล้เคียงกันในฐานข้อมูล NCBI ด้วยวิธี Neighbor-joining phylogenetic analysis โดยใช้โปรแกรม MEGA 6.0 พบว่าเชื้อไรโซเบียมถั่วเขียวสายพันธุ์ DASA 02002 02008 และ 02009 ยังคงจัดอยู่ในกลุ่มของ *B. japonicum* (Figure 2) โดยมีค่า Bootstrap 85% ซึ่งค่า Bootstrap นี้มีความสัมพันธ์กับความเชื่อมั่นในผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (Richardson *et al.*, 2000) ดังนี้

ค่า Bootstrap 85-100% แสดงถึงความเชื่อมั่นระดับสูง

ค่า Bootstrap 71-84% แสดงถึงความเชื่อมั่นระดับปานกลาง

ค่า Bootstrap 50-70% แสดงถึงความเชื่อมั่นระดับต่ำ

ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า ชนิดของเชื้อไรโซเบียมถั่วเขียวสายพันธุ์ DASA 02002, DASA 02008 และ DASA 02009 คือ *Bradyrhizobium japonicum*



**Figure 2** Neighbor-joining phylogenetic tree of partial 16S rDNA gene of three reference mung bean rhizobium strains: DASA 02002, 02008 and 02009 versus reference strains from NCBI database. The percentage support values are based on 1000 bootstraps.

### ถั่วลิสง

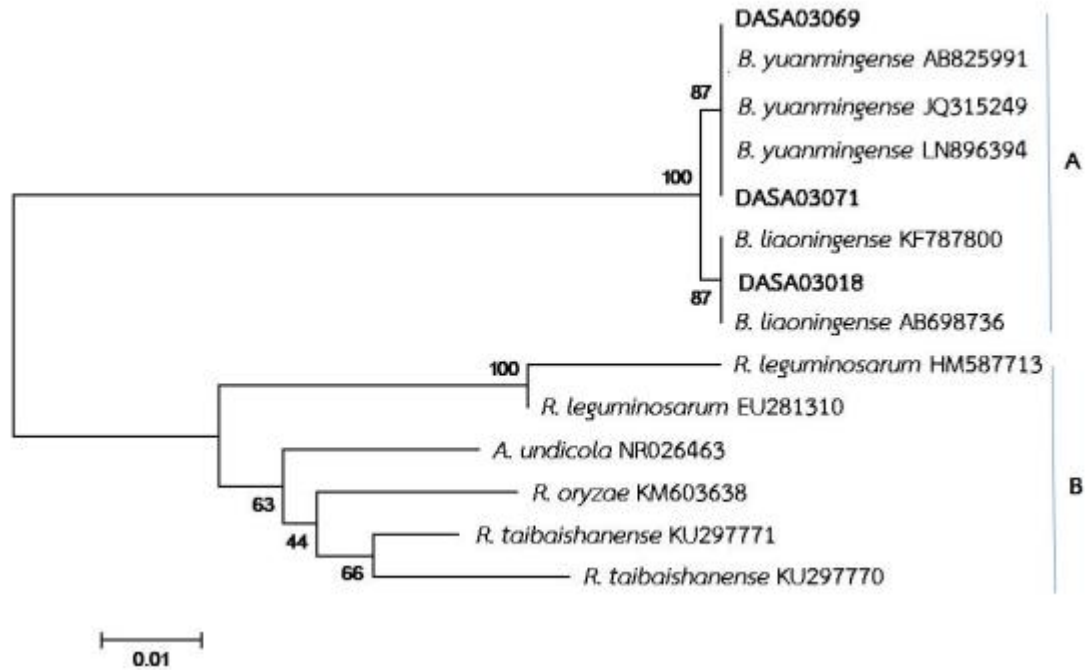
คัดเลือกเชื้อไรโซเบียมถั่วลิสงจากประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนดีที่สุด 1 สายพันธุ์บริสุทธิ์ ได้แก่ DASA 03001, 03007, 03017D, 03018, 03043, 03069, 03071, 03084, 03183 และ 03184 นำเซลล์เชื้อไรโซเบียมดังกล่าวมาสกัดดีเอ็นเอและเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ FD1 และ rP2 แล้วนำไปหาลำดับเบส เพื่อนำไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลลำดับเบสของเชื้อไรโซเบียมอื่นๆ ในฐานข้อมูลของ The National Center for Biotechnology Information (NCBI) พบว่า สายพันธุ์ไรโซเบียมส่วนใหญ่มีความคล้ายคลึงกันกับเชื้อ *Bradyrhizobium liaoningense* และ *B. yuanmingense* โดยมีเปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึงกัน (% similarity) อยู่ในช่วง 97 – 100% เนื่องจากเชื้อไรโซเบียมทั้งสองชนิดมีความคล้ายคลึงกันทางวิวัฒนาการสูง (ตารางที่ 2)

**ตารางที่ 2** Classification of selected groundnut rhizobium

Strains	Species	Similarity (%)	NCBI accession number
DASA 03001	<i>B. yuanmingense</i>	100	KY908463
	<i>B. liaoningense</i>	100	KX230054
DASA 03006	<i>B. yuanmingense</i>	98	FJ418699
	<i>B. liaoningense</i>	98	KX230054
DASA 03007	<i>B. liaoningense</i>	99	AB931151
	<i>B. japonicum</i>	99	EU481826
DASA 03017	<i>B. yuanmingense</i>	99	KY908463

Strains	Species	Similarity (%)	NCBI accession number
	<i>B. liaoningense</i>	99	KX230054
DASA 03018	<i>B. liaoningense</i>	99	KX682021
DASA 03069	<i>B. yuanmingense</i>	99	KY908463
	<i>B. liaoningense</i>	99	KX230054
DASA 03071	<i>B. yuanmingense</i>	100	KY908463
	<i>B. liaoningense</i>	100	KX230054
DASA 03084	<i>B. japonicum</i>	99	KR092321
	<i>B. daqingense</i>	99	HQ664955
DASA 03183	<i>B. yuanmingense</i>	98	KY908463
	<i>B. liaoningense</i>	98	KX230054
DASA 03184	<i>B. yuanmingense</i>	97	KY908463
	<i>B. liaoningense</i>	97	KX230054

การยืนยันผลการจำแนกชนิดโดยนำลำดับเบสของเชื้อไรโซเบียมถั่วลิสงสายพันธุ์อ้างอิงทั้ง 3 สายพันธุ์ ที่คัดเลือกจากประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนดีที่สุดในอันดับแรก ได้แก่ DASA 03018 03069 และ 03071 ด้วยการทำแผนภูมิวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) เปรียบเทียบกับลำดับเบสของเชื้อไรโซเบียมอื่น ๆ ที่ใกล้เคียงกันในฐานข้อมูล NCBI ด้วยวิธี Neighbor-joining phylogenetic analysis โดยใช้โปรแกรม MEGA 6.0 พบว่า เชื้อไรโซเบียมถั่วลิสงสายพันธุ์ DASA 03069 และ 03071 จัดอยู่ในกลุ่มของ *Bradyrhizobium yuanmingense* (Figure 3) โดยมีค่า Bootstrap 87% ในขณะที่สายพันธุ์ DASA 03018 จัดอยู่ในกลุ่มของ *B. liaoningense* โดยมีค่า Bootstrap 87% เช่นกัน จากภาพแสดงให้เห็นว่า *B. yuanmingense* และ *B. Liaoningense* มีวิวัฒนาการที่มีความใกล้เคียงกันมาก จึงจัดอยู่ในกลุ่ม (clade) A เช่นเดียวกัน โดยมีค่า Bootstrap 100% ซึ่งค่า Bootstrap นี้แสดงถึงความเชื่อมั่นระดับสูง (Richardson *et al.*, 2000) จึงสรุปได้ว่า ชนิดของเชื้อไรโซเบียมถั่วลิสงสายพันธุ์ DASA 03069 และ 03071 คือ *B. yuanmingense* และสายพันธุ์ DASA 03018 คือ *B. liaoningense* (Figure 3) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Zhanget al. (2011) ที่พบว่าเชื้อไรโซเบียมส่วนใหญ่ที่ก่อให้เกิดปมรากในถั่วลิสงจัดอยู่ใน 2 กลุ่มใหญ่คือ *B. yuanmingense* และ *B. Liaoningense* ดังนั้นจึงสามารถใช้เชื้อไรโซเบียมทั้งสองชนิดเป็นสายพันธุ์อ้างอิงของเชื้อไรโซเบียมที่สามารถก่อให้เกิดปมรากในถั่วลิสงได้ เพื่อให้ครอบคลุมกับชนิดของไรโซเบียมที่พบในปมรากถั่วลิสงมากที่สุด



**Figure 3** Neighbor-joining phylogenetic tree of partial 16S rDNA gene of three reference groundnut rhizobium strains: DASA 03018 03069 and 03071 versus reference strains from NCBI database. The percentage support values are based on 1000 bootstraps.

### ถั่วเหลือง

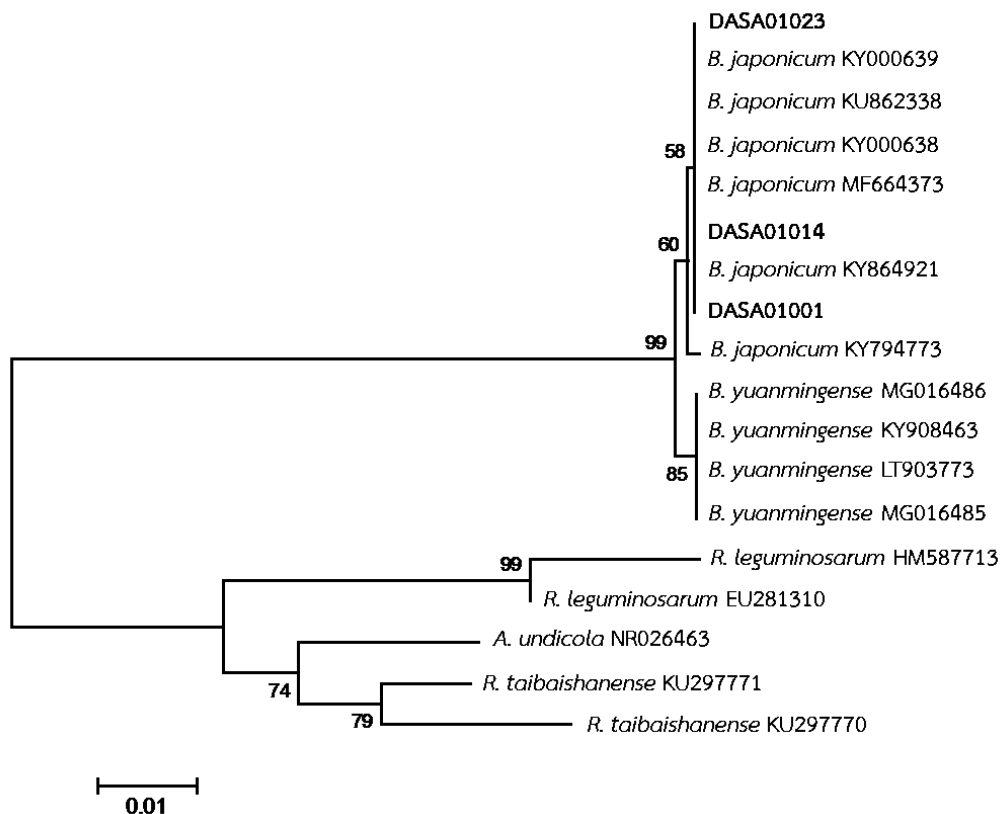
คัดเลือกเชื้อไรโซเบียมถั่วเหลือง 10 สายพันธุ์บริสุทธิ์และเลี้ยงในอาหาร yeast mannitol broth medium ปั่นตกตะกอนเพื่อเก็บเซลล์ไรโซเบียม และสกัดดีเอ็นเอ จากนั้นเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ fD1 และ rP2 เมื่อนำชิ้นดีเอ็นเอที่เพิ่มจำนวนได้ไปหาลำดับเบส แล้วนำลำดับเบสของเชื้อไรโซเบียม 3 สายพันธุ์ ไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลลำดับเบสของเชื้อไรโซเบียมอื่นๆ ในฐานข้อมูลของ The National Center for Biotechnology Information (NCBI) พบว่า สายพันธุ์ไรโซเบียมถั่วเหลืองทั้งหมดมีความคล้ายคลึงกันกับเชื้อ *Bradyrhizobium japonicum* 99% (ตารางที่ 3) และต้องทำแผนภูมิวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) ด้วยวิธี Neighbor-joining เพื่อศึกษาเปรียบเทียบข้อมูลวิวัฒนาการทางพันธุกรรมของเชื้อไรโซเบียมทดสอบแต่ละสายพันธุ์ว่ามีความใกล้เคียงกับเชื้อไรโซเบียมชนิดใดในฐานข้อมูลมากที่สุด และเป็นที่ยืนยันผลการบ่งบอกชนิดอีกครั้ง

**ตารางที่ 3** Classification of selected soybean rhizobium

Strains	Species	Similarity (%)	NCBI accession number
DASA 01001	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	99	KY000639
DASA 01007	<i>B. japonicum</i>	99	KY000643
DASA 01013	<i>B. japonicum</i>	99	KY000644
DASA 01014	<i>B. japonicum</i>	99	KY000638
DASA 01015	<i>B. japonicum</i>	99	KY000644
DASA 01022	<i>B. japonicum</i>	99	AY904786
DASA 01023	<i>B. japonicum</i>	99	MF664373

Strains	Species	Similarity (%)	NCBI accession number
DASA 01034	<i>B. japonicum</i>	99	KY000638
DASA 01054	<i>B. japonicum</i>	99	KY000638
DASA 01059	<i>B. japonicum</i>	99	KY000636

การยืนยันผลการจำแนกชนิดโดยนำลำดับเบสของเชื้อไรโซเบียมถั่วเหลืองสายพันธุ์อ้างอิงทั้ง 3 สายพันธุ์ที่คัดเลือกจากประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนสูงที่สุด 3 อันดับแรกได้แก่ DASA 01001 01014 และ 01023 มาทำแผนภูมิวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) เปรียบเทียบกับลำดับเบสของเชื้อไรโซเบียมอื่น ๆ ที่ใกล้เคียงกันในฐานข้อมูล National Center for Biotechnology Information (NCBI) ด้วยวิธี Neighbor-joining phylogenetic analysis โดยใช้โปรแกรม MEGA 6.0 พบว่า เชื้อไรโซเบียมถั่วเหลืองสายพันธุ์ DASA 01001 01014 และ 01023 จัดอยู่ในกลุ่มของ *Bradyrhizobium japonicum* (Figure 4)



**Figure 4** Neighbor-joining phylogenetic tree of partial 16S rDNA gene of three reference soybean rhizobium strains: DASA 01001, 01014 and 01023 versus reference strains from NCBI database. The percentage support values are based on 1000 bootstraps.

#### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

ผลการจำแนกชนิดของเชื้อไรโซเบียมสำหรับถั่วเขียว ถั่วลิสง และถั่วเหลืองสายพันธุ์อ้างอิงทั้งหมด 9 สายพันธุ์ที่คัดเลือกจากประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนดีที่สุดในอันดับแรกจากจำนวนทั้งหมด 10 สายพันธุ์ของเชื้อไรโซเบียมแต่ละถั่ว โดยการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ fd1

(forward primer) และ rP2 (reverse primer) แล้วนำชิ้นดีเอ็นเอมาหาลำดับเบส จากนั้นทำแผนภูมิวิวัฒนาการ เปรียบเทียบกับลำดับเบสของเชื้อโรโซเปียมอื่น ๆ ที่ใกล้เคียงกันในฐานข้อมูล NCBI ด้วยวิธี Neighbor-joining phylogenetic analysis โดยใช้โปรแกรม MEGA 6.0 พบว่า ชนิดของเชื้อโรโซเปียมอ้างอิงสำหรับถั่วเขียวสายพันธุ์ DASA 0200202008 และ 02009 คือ *B. japonicum* ส่วนชนิดของเชื้อโรโซเปียมถั่วลันเตาสายพันธุ์ DASA 03069 และ 03071 คือ *B. yuanmingense* และสายพันธุ์ DASA 03018 คือ *B. liaoningense* ในขณะที่เชื้อโรโซเปียมถั่วเหลืองสายพันธุ์ DASA 01001 01014 และ 01023 จัดอยู่ในกลุ่มของ *B. japonicum* ดังนั้นการใช้ไพรเมอร์ fD1 และ rP2 สามารถใช้ในการจัดจำแนกเชื้อโรโซเปียมสำหรับถั่วเขียว ถั่วลันเตา และถั่วเหลืองในระดับชนิด (species) ได้

## บทสรุปและข้อเสนอแนะ

### บทสรุป

จากผลการวิจัย พบว่าเป็นไปตามวัตถุประสงค์ของโครงการ โดยสรุปดังนี้

- 1) เทคนิควิธีการวิเคราะห์ ดิน น้ำ ฟืช ปุ๋ย และปุ๋ยชีวภาพมีความเหมาะสม มีความถูกต้อง แม่นยำ โดยให้ค่าการทดสอบความเป็นเส้นตรง (Linearity) ช่วงของการวัด (Working range) ความแม่นยำ (Accuracy) ความเที่ยง (Precision) ผ่านเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐาน AOAC ตามหลักการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ จำนวน 18 วิธี ดังนี้
  - วิธีวิเคราะห์ฟืช ได้แก่ วิธีวิเคราะห์ไนเตรท
  - วิธีวิเคราะห์ดิน ได้แก่ วิธีวิเคราะห์เนื้อดิน และอินทรียวัตถุ
  - วิธีวิเคราะห์ปุ๋ย ได้แก่ วิธีวิเคราะห์ความชื้น ไนโตรเจนทั้งหมด แอมโมเนียมไนโตรเจน ฟอสฟอรัสทั้งหมด ฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในซีเตรท โพแทสเซียมที่ละลายน้ำ แคลเซียมทั้งหมด แมกนีเซียมทั้งหมด กำมะถันทั้งหมด เหล็กทั้งหมด สังกะสีทั้งหมด แมงกานีสทั้งหมด และทองแดงทั้งหมด พร้อมทั้งข้อจำกัดของปริมาณยูเรียที่มีผลกระทบต่อค่าวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยที่มียูเรียเป็นส่วนผสม
  - วิธีวิเคราะห์ปุ๋ยชีวภาพ ได้แก่ วิธีการจำแนกปุ๋ย และวิธีทดสอบประสิทธิภาพเชื้อโรโซเปียม
- 2) ตัวอย่างอ้างอิงฟืช 7 ชนิด มีความเป็นเนื้อเดียวกัน และมีความเสถียรในระยะเวลา 1 ปี 2 เดือน โดยมีค่ากำหนดและค่าความไม่แน่นอนในรายการ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม ได้แก่ ใบถั่วเหลือง ใบลิ้นจี่ ใบข้าวโพด ใบทุเรียน ใบยางพารา ใบลองกอง และใบปาล์มน้ำมัน
- 3) ปุ๋ยเคมีเชิงเดี่ยว เชิงประกอบ และเชิงผสม มีอายุไม่ต่ำกว่า 3 ปี โดยพบว่ามีปริมาณธาตุอาหารไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อถูกเก็บไว้ในอุณหภูมิไม่เกิน 85 องศาเซลเซียส หรือเมื่อเก็บไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลาไม่น้อยกว่า 3 ปี แสดงว่าอุณหภูมิ และระยะเวลาไม่ใช่อุปสรรคที่ทำให้ปุ๋ยเสื่อมสภาพ
- 4) เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ สามารถให้ผลการเส้นตรง ในการทำนายสมบัติในดิน ในรายการความเป็นกรด-ด่างในดิน การนำไฟฟ้า แคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถันในดิน และธาตุอาหารในปุ๋ยในรายการ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม และสามารถทำนายผลการพิสูจน์ความเป็นเนื้อเดียวกันของปุ๋ยได้ โดยมีค่าความผิดพลาดอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ

- 5) ชุดตรวจสอบอย่างง่ายที่ผลิตขึ้น สำหรับทดสอบไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน และเหล็กในดิน และคลอไรด์ คาร์บอเนต และไบคาร์บอเนต ไนเตรท และ ฟอสเฟตในน้ำ มีความถูกต้องในระดับพื้นที่ถึงร้อยละ 80 และเกษตรกรร้อยละ 80 ขึ้นไปมีความพึงพอใจในการใช้งาน โดยชุดตรวจสอบที่ได้ มีความสะดวก รวดเร็ว และเหมาะสมในการใช้งานในพื้นที่

#### ข้อเสนอแนะ

1. การได้รับการรับรองห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025; 2017 เป็นการยกระดับห้องปฏิบัติการให้ได้มาตรฐานสากล ผลวิเคราะห์มีความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ สามารถตรวจสอบย้อนกลับได้ สร้างความเชื่อมั่นและลดข้อโต้แย้งของผลการวิเคราะห์ ที่ใช้ประกอบการขึ้นทะเบียน การนำเข้าปุ๋ย ป้องกันการจำหน่ายปุ๋ยที่ด้อยคุณภาพ และเป็นพยานหลักฐานประกอบการดำเนินคดีใช้เป็นข้อมูลเผยแพร่ให้ห้องปฏิบัติการของกรมวิชาการเกษตรในส่วนภูมิภาค และห้องปฏิบัติการอื่น ๆ นำไปใช้ต่อไป
2. การพิสูจน์ ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี เป็นการยืนยันถึงวิธีการที่นำมาใช้ในการทดสอบว่ามีความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ สามารถสอบกลับ สามารถสร้างความเชื่อมั่นด้านการตรวจวิเคราะห์ และลดข้อโต้แย้งระหว่างการดำเนินคดีของศาลในการให้บริการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยปลอมที่สารวัตรตรวจจับเพื่อการดำเนินคดี ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550
3. การนำวิธีมาตรฐานใช้สำหรับวิเคราะห์เพื่อให้บริการวิเคราะห์ปัจจัยการผลิตของกรมวิชาการเกษตร สามารถให้ความมั่นใจได้ว่าห้องปฏิบัติการของกรมวิชาการเกษตรมีมาตรฐานเดียวกัน
4. การใช้วัสดุอ้างอิงภายใน เพื่อควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์ สามารถเพิ่มประสิทธิภาพห้องปฏิบัติการและลดต้นทุนการวิเคราะห์ จากการวัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified reference material, CRM) จากต่างประเทศ ช่วยให้ประหยัดงบประมาณของประเทศได้เป็นจำนวนมาก ซึ่งการวิเคราะห์โดยใช้ IRM ควบคุมคุณภาพผลวิเคราะห์ สามารถแก้ไขปัญหาความผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้นในระบบการวิเคราะห์ก่อนที่จะออกรายงานผลและเป็นยกระดับมาตรฐานการวิเคราะห์ให้เป็นไปตามมาตรฐานสากล
5. การนำวิธีวิเคราะห์ ปริมาณธาตุอาหารในปุ๋ย พีช ดิน และน้ำ โดยใช้เทคนิค NIR สามารถช่วยคัดกรองตัวอย่างก่อนนำไปวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ช่วยลดมลพิษที่เกิดจากสารเคมี
6. ชุดตรวจสอบอย่างง่าย ในดิน และน้ำ สามารถนำไปให้เกษตรกรใช้ในกระบวนการผลิตพืชที่มีประสิทธิภาพ และรวดเร็ว สามารถประหยัดต้นทุนจากการใช้ปุ๋ยที่เกินความต้องการได้



## บรรณานุกรม

### การทดลอง 1.1

- กิตติพร เหล่าแสงธรรม. 2530. การศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมที่ละลายน้ำในปุ๋ยเคมี โดย Flame Photometric Method. กองเคมี กรมวิทยาศาสตร์บริการ, กรุงเทพมหานคร.
- แม่น อมรสิทธิ์ อมร เพชรสม ยูวดี เชี่ยววัฒนา อทิตยา ศิริภิญโญานนท์ ศรีวไล โอมอภิภูญาณ และ อุมภาพร สุขม่วง. 2552. หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ Principle and Techniques of Instrumental Analysis Spectroscopy. ชวนพิมพ์ กรุงเทพมหานคร. 676 หน้า.
- ลัดดาวัลย์ มีสุขจันทรา อริยธัชสมบูรณ์ ประภาพรรณพงศ์และ.เพ็ญศรี ชูวรเวช 2529. เอกสาร วิชาการด้านปฐพีวิทยาผลงานวิจัยประจำปี 2529 เล่ม 1. กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการ เกษตร, กรุงเทพมหานคร.
- วรรณรัตน์ ชุตินุตร อมรา หาญจวนิช และ ชฎาพร คงนาม. 2549. ผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2549 สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพมหานคร.
- Alexander K. E. F. 1963. Flame Photometric Determination of Cations in Cane Leaves and Stalks. Proceeding of The South African Sugar Technologists' Association : 130-133.
- Junsomboon J. and Jakmune J. 2011. Determination of Potassium, Sodium and Alkalies in Portland Cement, Fly Ash, Admixtures and Water of Concrete by a Simple Flow Injection Flame Photometric System. Journal of Automate Methods and Management in Chemistry vol2011: 1-9.
- Official Method of Analysis of AOAC International. 2016. AOAC International Maryland, USA. Official Method 955.06. 20 th ED. p.26-27
- Official Method of Analysis of Fertilizers. 1987. The National Institute of Agriculture Sciences Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Japan. Official Method 4.3.3 p 34-36

### การทดลอง 1.2

- กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2559. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 134 ตอนพิเศษ 2 ง 4 มกราคม 2560
- คณะกรรมการด้านวิชาการของกรมวิทยาศาสตร์บริการ. 2554. แนวทางการจัดทำความสมเหตุสมผลของการวัด. โรงพิมพ์สำนักงานพระพุทธศาสนาแห่งชาติ. กรุงเทพฯ. 131 หน้า
- คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2548. ปฐพีวิทยาเบื้องต้น. ครั้งที่ 10. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ 547 หน้า
- ทวีชัย อมรศักดิ์ชัย และคณะ. 2555. เคมี 2. พิมพ์ครั้งที่ 10. สุทธิสาร พญาไท กรุงเทพฯ. 411 หน้า

อุมาพร สุขม่วง และอารีศุภฤทธิ. 2553. เอกสารประกอบการฝึกอบรม หลักสูตร “ความใช้ได้ของวิธีทดสอบ”. กรมวิทยาศาสตร์บริการกระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. กรุงเทพฯ. 33 หน้า

American Society of Testing and Materials (ASTM). 2001. Standard Practice for Preparation, Standardization, and Storage of Standard and Reagent Solutions for Chemical Analysis. Washington. Oct. 2001. p. 336–350.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2016. Official Method of Analysis of AOAC International 20<sup>th</sup> ed. Gaithersburg Maryland, USA. Official Method 920.03. p.15

Eurachem. 2014. The Fitness for Purpose of Analytical Methods A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. 2<sup>nd</sup> Ed. 62 pp.

Official Method of Analysis of Fertilizer (OMAF). 1987. The National Institute of Agro-Environmental Sciences. Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Japan. Official Method 4.1.2 p.10-11

### การทดลอง 1.3

Ellison SLR, and Williams A, 2012. Eurachem/CITAC Guide CG4 Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. 3<sup>th</sup> Ed. UK.

Hayami, A. 1987. Official Methods of Analysis of Fertilizers. The Nation Institute of Agro-environmental Sciences. Japan.

Latimer, G.W. 2016. Official Methods of Analysis of AOAC International. 20th Ed. AOAC International Gaithersburg, Maryland. USA.

Magnusson, B., and Ornemark, U. 2014. Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods-A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. 2<sup>nd</sup> Ed. ISBN 978-91-87461-59-0. Available from: <http://www.eurachem.org>.

National Association of Testing Authorities, 2018. General Accreditation Guidance - validation and verification of quantitative and qualitative test methods. Australia

National Association of Testing Authorities, 2018. General Accreditation Guidance – Estimating and reporting measurement uncertainty of chemical test results. Australia.

### การทดลอง 1.4

ปิยะรัตน์ ปานอินทร์. 2550. การพัฒนาวิธีวิเคราะห์และการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ความชื้นในปุ๋ย. ใน ผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2550 สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร หน้า 328-337.

- ราชกิจจานุเบกษา. 2552. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดปุ๋ยเคมีมาตรฐาน ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ.2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550. เล่ม 126 ตอนพิเศษ 63 ง. 29 เมษายน 2552.
- ยงยุทธ โอสดสภา อรรถศิษฐ์ วงศ์มณีโรจน์ และ ขวลิต ฮงประยูร. 2556. ปุ๋ยเพื่อการเกษตรยั่งยืน. พิมพ์ครั้งที่ 3. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.
- Clayton, W.E. 1984. Humidity Factors Affecting Storage and Handling of Fertilizers. International Fertilizer Development Center. Muscle Shoals. AL 35662, USA.
- Fertilizer Europe. 2014. Guidance for Compatibility of fertilizer blending Materials Product Stewardship fertilizers.
- George, W. and Jr. Latimer. 2016. Official Methods of Analysis of AOAC international. 20<sup>th</sup> ed. Maryland 20850-3250, USA.
- International Fertilizer Industry Association. 2014. Determination of Moisture of Fertilizer. Paris, France.
- ISO/IEC 17025:2005. 2005. General Requirements for the Competence of Testing and Calibration Laboratories. Thai Industrial Standard.28p.
- United Nations Industrial Development Organization and International Fertilizer Development Center. 1979. Fertilizer Manual. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands.

#### การทดลอง 1.5

- จันทร์ตน์ วรสรพรวิทย์. 2557. การศึกษาความเสถียรของวัสดุอ้างอิง/วัสดุอ้างอิงรับรอง โดยใช้การวิเคราะห์การถดถอย. วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ ปีที่ 62 ฉบับที่ 194 : 26-29.
- ฉลอง สีแก้วสีว. 2555. Regression Analysis / Correlation Analysis. Google Site <https://sites.google.com/site/mystatistics01/regression-correlation-analysis>(17 กรกฎาคม 2557)
- ดุขฎี มั่นความดี และ จันทร์ตน์วรสรพรวิทย์. 2552. เอกสารประกอบการฝึกอบรมตามแผนพัฒนาบุคลากรของกรมวิชาการเกษตร เรื่อง การผลิตวัสดุอ้างอิงและการสอบกลับได้. กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. พระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 และฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2550. 2551. ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 125 ตอนที่ 7 (ลงวันที่ 11 มกราคม พ.ศ. 2551)
- มุกดา สุขสวัสดิ์. 2544. ความอุดมสมบูรณ์ของดิน. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพมหานคร. 333 หน้า
- ยงยุทธ โอสดสภา อรรถศิษฐ์ วงศ์มณีโรจน์และขวลิต ฮงประยูร. 2554. ปุ๋ยเพื่อการเกษตรยั่งยืน. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร. 519 หน้า
- วิเชียร ฝอยพิกุล. 2548. เทคนิคและการใช้ดิน-ปุ๋ย-น้ำ. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์, สุรินทร์.

ISO Guide 35. 2006. Reference materials-General and statistical principle for certification, 3<sup>rd</sup> Edition, ISO, Geneva, Switzerland.

#### การทดลอง 1.6

- กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2552. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่องกำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหารรับรองของปุ๋ยเคมีตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 พ.ศ. 2552. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 126 ตอนพิเศษ 63 ง 29 เมษายน 2552
- กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2559. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ.2559. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 134 ตอนพิเศษ 2 ง 4 มกราคม 2560
- ยงยุทธ โอสดสภา อรรถศิษฐ์ วงศ์มณีโรจน์ และชวลิต ฮงประยูร.2556. *ปุ๋ยเพื่อการเกษตรยั่งยืน*. พิมพ์ครั้งที่ 3. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 519 หน้า.
- สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร.2561. *ปริมาณและมูลค่าการนำเข้าปุ๋ยเคมีสูตรที่สำคัญ ปี 2555-2560*. สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. สืบค้นจาก :  
[http://www.oae.go.th/download/FactorOfProduct/Fertilizer\\_value49-54.html](http://www.oae.go.th/download/FactorOfProduct/Fertilizer_value49-54.html), (2 พฤษภาคม 2561)
- Association of Official Analytical Chemises (AOAC). 2016. Official Methods of Analysis of AOAC International 20<sup>th</sup> ed. Gaithersburg Maryland, USA. Official Method 920.03. p.15
- Official Methods of Analysis of Fertilizers (OMAF). 1987. The National Institute of Agro-Environmental Sciences. Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Japan. Official Method 4.1.2 p.10-11

#### การทดลอง 1.7

- กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.2559. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ ปุ๋ยเคมี พ .ศ. 2559. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 134 ตอนพิเศษ 2 ง 4 มกราคม 2560
- คณะกรรมการด้านวิชาการของกรมวิทยาศาสตร์บริการ. 2554. แนวทางการจัดทำความสมเหตุสมผลของการวัด. โรงพิมพ์สำนักงานพระพุทธศาสนาแห่งชาติ. กรุงเทพฯ. 131 หน้า
- คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2548.ปฐพีวิทยาเบื้องต้น. ครั้งที่ 10. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ
- อุมาพร สุขม่วง และอารีย์ ศษฤทธิ. 2553. เอกสารประกอบการฝึกอบรม หลักสูตร “ความใช้ได้ของวิธีทดสอบ”. กรมวิทยาศาสตร์บริการกระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. กรุงเทพฯ. 33 หน้า547 หน้า

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2016. Official Method of Analysis of AOAC International 20<sup>th</sup> ed. Gaithersburg Maryland, USA. Official Method 920.03. p.15

American Society of Testing and Materials (ASTM). 2001. Standard Practice for Preparation, Standardization, and Storage of Standard and Reagent Solutions for Chemical Analysis.

### การทดลอง 1.8

คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2548. ปฐพีวิทยาเบื้องต้น. พิมพ์ครั้งที่10. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 547 หน้า.

แมน อมรสิทธิ์ และคณะ.2552. หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ Principle and Techniques of Instrumental Analysis Spectroscopy. ชวนพิมพ์, กรุงเทพมหานคร. 676 หน้า.

อมรา หาญจวนิช สงกรานต์ มะลิสอน พงศ์พิศ แก้วสุข และวรรณรัตน์ ชูติบุตร. 2553. พัฒนาการวิเคราะห์และการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง ธาตุอาหารเสริม และสารพิษในปุ๋ย โดยใช้เครื่อง Inductively Coupled Plasma (ICP). หน้า 224-232 .ใน; รายงานผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2553 เล่มที่ 2 กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร.

Boss, C.B. and K.J. Fredeen. 1997. Concept, Instrumentation and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. 2<sup>nd</sup> ed. Perkin-Elmer. Norwalk CT.

Carey, J.M. and J.A. Caruso. 1992. Electrothermal Vaporization for Sample Introduction in Plasma Source Spectrometry. Crit. Rev. Anal. Chem, 23(5): 397-49.

Charles B. Boss and J. Kenneth. 2004. Concept. Instrumentation and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry.USA. Perkin-Elmer,Inc.,

Eugene, W.R., B.B. Rodger, D.E. Andrew and S.C. Lenore. 2012. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 22<sup>nd</sup> ed. Washington, DC.USA.

Eurachem. 2014. The Fitness for Purpose of Analytical Methods A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. 2<sup>nd</sup> ed. 2014.ISBN 978-91-87461-59-0.From www.eurachem.org.

George, Dr. and W.Jr. Latimer. 2016. Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL. 20<sup>th</sup> ed.2016.AOAC International., Maryland. USA.

Jin-Biau Lin. 2002. The studies and evaluation of the analysis methods on the contents of nitrogen, phosphorus,potassium in organic fertilizers.Department and Graduate Institute of Applied Chemistry.

Souza, S.O.; S.S.L. Costa; D.M. Santos; J.S. Pinto; C.A.B. Garcia; J.P.H Alves and R.G.O. Araujo. 2014. Simultaneous determination of macronutrients, micronutrients and trace elements in mineral fertilizers by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. Pages 1-7.*In*; Spectrochimica Acta Part B. The National Institute of Agro-Environmental Sciences. 1987. Official Method Of Analysis Of Fertilizers. Foundation Norin Kosai Kai, Tsukuba-shi, Ibaraki-ken.Japan.130 pp

#### การทดลอง 1.9

คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2548. ปฐพีวิทยาเบื้องต้น. พิมพ์ครั้งที่10. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 547 หน้า.

ราชกิจจานุเบกษา. 2559. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ.2559. เล่ม 134 ตอนพิเศษ 2 ง 4 มกราคม 2560.

Eugene, W.R., B.B. Rodger, D.E. Andrew and S.C. Lenore. 2012. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 22<sup>nd</sup> ed. Washington, DC.USA.

Eurachem. 2014. The Fitness for Purpose of Analytical Methods A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. 2<sup>nd</sup> ed. 2014. ISBN 978-91-87461-59-0.From www.eurachem.org.

NATA Technical Note 17. 2018. General Accreditation Guidance - Validation and verification of quantitative and qualitative test methods.

George, W. and Jr. Latimer. 2016. Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL.20<sup>th</sup> ed.2016. AOAC International., Maryland. USA..

#### การทดลอง 1.10

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี. 2551. คู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี. สำนักวิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตรกรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ถนนพหลโยธิน เขตจตุจักร, กรุงเทพฯ.

AOAC. 2000. Official Method of Analysis of AOAC International. 17<sup>th</sup> Ed. AOAC International Inc., Gaithersberg, MD.

The National Institute of Agro-environmental Sciences. 1987. Official Methods of Analysis of Fertilizers. Foundation Norin Kosail, Tsukuba-shi. 130 pp.

#### การทดลอง 1.11

ทิพวรรณ นิ่งน้อย.แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดี่ยว.2549. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข นนทบุรี

วรรณรัตน์ ชุตินุตร และชฎาพร คงนาม.2541. คู่มือวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี. ฟันนี้ พิมพ์ครั้งที่ 66 หน้า

Peter,F.K.(ed.). 2005. Official Method of Analysis Of AOAC International 18<sup>th</sup> Method 938.02.AOAC International Inc., Gaithersberg, MD.

The National Institute of Agro-environmental Sciences. 1987. Official Method of Analysis of Fertilizers. Foundation Norin Kosa ikai, Tsukuba-shi,Ibaraki-ken. 133 pp.

#### การทดลอง 1.12

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี. 2551.คู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี.สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 66 หน้า.

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2560. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559.

พระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ.2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ.2550.

ทิพวรรณ นิ่งน้อย. 2549. แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดี่ยว. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. 124 หน้า.

อุมาพร สุขม่วง. 2556. การใช้ประโยชน์จากความสัมพันธ์เชิงเส้น. กรมวิทยาศาสตร์บริการ 1 หน้า ([http://blpd.dss.go.th/knowledge\\_el/knowledge\\_uma.pdf](http://blpd.dss.go.th/knowledge_el/knowledge_uma.pdf), 23 สิงหาคม 2556)

AOAC, 2012b. Appendix F : Guidelines for Standard Method Performance Requirements. 19<sup>th</sup>Ed. AOAC International Inc. Gaithersberg MD.

The National Institute of Agro-Environmental Sciences. 1987. Official Methods of Analysis of Fertilizers. Foundation NorinKosaikai, Tsukuba-shi, Ibaraki-ken, 130 p.

#### การทดลอง 2.1

ปวรินทร์ สุวรรณอินทร์, 2550. การศึกษาเปรียบเทียบปริมาณคาร์บอนอินทรีย์ของดินที่ต่างชนิดกัน และการกำหนดค่า correlation factor ของวิธี Walkley-Black โดยใช้เทคนิคการเผาให้แห้ง. วิทยานิพนธ์หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม. มหาวิทยาลัยศิลปากร.กรุงเทพฯ.

สถาบันอาหาร, 2543. การทำ Validation วิธีทดสอบทางเคมี. เอกสารประกอบการอบรมสัมมนาวิชาการด้านอุตสาหกรรมอาหาร. ณ โรงแรมมารวย กรุงเทพฯ.

สำนักพัฒนาศักยภาพนักวิทยาศาสตร์ปฏิบัติการ. 2550. เอกสารประกอบการฝึกอบรม หลักสูตร “นักวิเคราะห์มืออาชีพสาขาเคมี (Professional Chemical Analyst) รุ่นที่ 4 ณ อาคารสถานศึกษาเคมีปฏิบัติชั้น 3 ห้อง 312. สำนักพัฒนาศักยภาพนักวิทยาศาสตร์ปฏิบัติการ. กรมวิทยาศาสตร์บริการ. กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.22 กันยายน 2549 -24 กุมภาพันธ์ 2550

AOAC international. 2009. Official Methods of Analysis of AOAC International 18th edition. Method 2.7.08. Chapter2.p37.

- Ben-Dor, E., and A. Banin. 1989. Determination of organic matter content in arid-zone soils using a simple "loss-on-ignition" method. *Commun. Soil. Sci. Soc. Am. J.* 43:78-83.
- Craswell, E.T. and R.D.B. Lefroy. 1999. The role and function of organic matter in tropical soils. *Nutrient Cycling in Agroecosystem.* 61:7-18.
- Ecological Risk Assessment Support Center office of Research and Development. United States Environmental Protection Agency.
- Heiri, O., A.F. Lotter and G. Lemcke. 2001. Loss on ignition as a method for estimating organic and carbonate content in sediments: reproducibility and comparability of results. *Journal of Paleolimnology.* 25: 101-110.
- Nelson, D.W. and L.E. Sommers. 1996. Chapter 34 total carbon, organic carbon and organic matter, pp. 961-1010. In Sparks, D.L., J.M. Bartels and J.M. Bigham, eds. *Methods of Soil Analysis, Part 3. Chemical Methods.* Soil Science Society of America and American Society of Agronomy. Madison. Wisconsin.
- Ranny, R.W. 1969. An organic carbon – organic matter conversion equation for Pennsylvania surface soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 33:809-811.
- Robertson, S. 2011. Direct Estimation of Organic matter by loss on ignition: Method. Property of SFU Soil Science lab.
- Salehi, M.H., O. H. Beni, H. B. Harchigani, I.E. Borujeni and H.R. Motaghian. 2011. Refining soil organic matter determination by Loss-on-ignition. *Pedosphere.* 21(4): 473-482.
- Schulte, E.E. and B. Hoskins. 2011. Chapter 8: Recommended Soil Organic Matter Tests. In *Soil Testing Procedures for the Northeastern United States.* Northern Regional Publication. Cooperative Extension. College of Agriculture and natural resources. University of Delaware.
- Schumacher, B.A. 2002. Methods for the determination of total organic carbon (TOC) in soil and sediments. Environmental Sciences Division National Exposure Research Laboratory.
- Veres, D.S., 2002. A comparative study between loss on ignition and total carbon analysis on minerogenic sediments. *Geoglacina, XLLVII, 1.* 171-182.

## การทดลอง 2.2

- คู่มือวิธีวิเคราะห์ดินทางเคมีและฟิสิกส์. 2553. กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.
- ชาตรี สระแสงตา และ นฤมล บุญเกษม. 2539. การเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ปริมาณขนาดอนุภาคดินโดยวิธี Syringe กับวิธี Pipette และวิธี Hydrometer. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง 106 หน้า.



- รัตนา อ่อนสนิท และ สิริ สุวรรณเขตนิคม. 2534. วิธีวิเคราะห์ดินทางฟิสิกส์. กลุ่มงานวิเคราะห์ดิน และน้ำ กองเกษตรเคมี. กรุงเทพฯ.
- Andres, N.B., Ana V.S., Leonardo P., Deborah T., Daniel B., Raquel M. and Adriana G-L. 2014. Soil texture analyses using a hydrometer: modification of the Bouyoucos method. Ciencia e Investigacion. 41(2): 263-271.
- Day, P.R. 1965. Particle Fraction and Particle-Size Analysis, pp. 545-567. In C.A. Black et al.(ed.).Methods of soil analysis, Part 1. Agronomy Mo. 9. Amer. Soc. Agron. Inc., Madison, Wisconsin.
- Glendon W. G. and Dani O. 2002. Specific Methods of Particle-Size Analysis. pp. 264-288 In Warren A. Dick, Methods of Soil Analysis Part 4 Physical Methods Publish by: Soil Science Society of America, Inc. Madison, Wisconsin, USA

### การทดลอง 3.1

- กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ .2557.วัสดุอ้างอิงคืออะไร ? สืบค้น จาก<http://webdb.dmsc.moph.go.th/rm/>[มี.ค. 2557].
- จันทร์ต้นวรรสรวิทย์. 2557. การศึกษาความเสถียรของวัสดุอ้างอิง /วัสดุอ้างอิงรับรอง โดยใช้การวิเคราะห์การถดถอย. วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ 62(194) : 26-29.
- ISO Guide 35. 2006.Reference Materials – General and statistical principles for certification, Geneva, Switzerland
- Reeuwijk, L.P. van. 1998. Guidelines for Quality Management in Soil and Plant Laboratories. FAO Soil Bulletin 74. International and Information Center. Rome

### การทดลอง 3.2

- กลุ่มงานวิจัยเคมีดิน. 2544. คู่มือการวิเคราะห์ดินและพืช. กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.ISBN: 974-436-054-2. 164 หน้า
- จำเป็น อ่อนทอง. 2536. หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์ธาตุอาหารในพืช. ศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร. 125 หน้า.
- จำเป็น อ่อนทอง. 2551. การวิเคราะห์ดินและพืช. ภาควิชาธรณีศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จ.สงขลา. 225 หน้า.
- นุชนารถ กังพิศดาร. 2552. การจัดการสวนยางพาราอย่างยั่งยืน: ดิน น้ำ และธาตุอาหารพืช. สถาบันวิจัยยาง กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 210 หน้า.
- ปรีดา พากเพียร, พิชิต พงษ์สกุล และวิศิษฐ์ โชติสกุล. 2535. การวิเคราะห์ธาตุอาหารในพืช. กลุ่มงานวิจัยเคมีดิน กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตรการวิเคราะห์ดิน พืช น้ำ และปุ๋ยเคมี. 15 หน้า.
- ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี. 2551. เอกสารคู่มือปาล์มน้ำมันชุดที่ 1. คำแนะนำการใช้ปุ๋ยเคมีในสวนปาล์มน้ำมัน. กรมวิชาการเกษตร. ISBN: 974-436-433-5. 34 หน้า

- สุมิตรา ภู่วโรดม, นุกูล ถวิลถึง, สมพิศ ไม้เรียง, พิมล เกษสยาม และ จีรพงษ์ ประสิทธิ์เขต. 2545. การสร้างค่ามาตรฐานธาตุอาหารสำหรับทุเรียน: 2. ค่ามาตรฐานธาตุอาหาร. ว. วิทย. กษ. 33: 279-286.
- อมรา วงษ์พุทธพิทักษ์ กนกพร อธิสุข และทิพวรรณ นิ่งน้อย. 2545. การทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการ (Laboratory Proficiency Testing) เอกสารประกอบการอบรมเรื่อง “การทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการ” 10 กันยายน 2545 ณ กองเกษตรเคมี กรมวิชาการเกษตร.
- Reeuwijk, L.P. van. 1998. Guidelines for Quality Management in Soil and Plant Laboratories. FAO Soil Bulletin 74. International and Information Center. Rome.
- Thompson, M. and R. Wood, 1993. International Harmonized Protocol for Proficiency Testing of (Chemical) Analytical Laboratories. Journal of AOAC International. Vol.76 no.4
- Wernimont, G.T. 1996. Use of Statistic to Develop and Evaluate Analytical Methods. W. Spendley (ed.). Intralaoratory Studies. Fifth printing. AOAC

### การทดลอง 3.3

- กลุ่มงานวิจัยเคมีดิน. 2544. คู่มือการวิเคราะห์ดินและพืช. กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. ISBN: 974-436-054-2. 164 หน้า
- จำเป็น อ่อนทอง. 2536. หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์ธาตุอาหารในพืช. ศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร. 125 หน้า.
- จำเป็น อ่อนทอง, สุรชาติ เพชรแก้ว, จรัสศรี นวลศรี, มงคล แซ่หลิม, และสายใจ กัมสงวน. 2547 วิธีมาตรฐานในการเก็บตัวอย่างใบลองกองสำหรับประเมินสถานะธาตุอาหารพืช. ว.สงขลา นครินทร์ วทท. 26 : 1-12.
- จำเป็น อ่อนทอง. 2551. การวิเคราะห์ดินและพืช. ภาควิชาธรณีศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จ.สงขลา. 225 หน้า.
- นุชนารถ กังพิศดาร. 2552. การจัดการสวนยางพาราอย่างยั่งยืน: ดิน น้ำ และธาตุอาหารพืช. สถาบันวิจัยยาง กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 210 หน้า.
- ปรีดา พากเพียร, พิชิต พงษ์สกุล และวิศิษฐ์ ไชลิตกุล. 2535. การวิเคราะห์ธาตุอาหารในพืช. กลุ่มงานวิจัยเคมีดิน กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตรการวิเคราะห์ ดิน พืช น้ำ และปุ๋ยเคมี. 15 หน้า.
- ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี. 2551. เอกสารคู่มือปาล์มน้ำมันชุดที่ 1. คำแนะนำการใช้ปุ๋ยเคมีในสวน ปาล์มน้ำมัน. กรมวิชาการเกษตร. ISBN: 974-436-433-5. 34 หน้า
- อมรา วงษ์พุทธพิทักษ์ กนกพร อธิสุข และทิพวรรณ นิ่งน้อย. 2545. การทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการ (Laboratory Proficiency Testing) เอกสารประกอบการอบรมเรื่อง “การทดสอบ ความชำนาญของห้องปฏิบัติการ” 10 กันยายน 2545 ณ กองเกษตรเคมี กรมวิชาการเกษตร.

Reeuwijk, L.P. van. 1998. Guidelines for Quality Management in Soil and Plant Laboratories. FAO Soil Bulletin 74. International and Information Center. Rome.

Thompson, M. and R. Wood, 1993. International Harmonized Protocol for Proficiency Testing of (Chemical) Analytical Laboratories. Journal of AOAC International. Vol.76 no.4

Wernimont, G.T. 1996. Use of Statistic to Develop and Evaluate Analytical Methods. W. Spendley (ed.). Intralaoratory Studies. Fifth printing. AOAC

#### การทดลอง 3.4

กรรณิกา จำเริญ. 2555. ปริมาณไนเตรทที่ตกค้างในผักสลัด (Green oak). คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี. ปทุมธานี.

ทิพวรรณ นิ่งน้อย. 2549. แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. กระทรวงสาธารณสุข. กรุงเทพมหานคร.

ศุภลักษณ์ สิงหนุต. 2549. โรคขาดธาตุอาหารของพืช. โอเดียนสโตร์. กรุงเทพมหานคร.

AOAC. 2016. Official Method of Analysis of AOAC International 20th Edition. Washington, DC., USA. p.1-7

CatadoDA.,M.Haroon, L.E.Schrader and V.L.Youngs. 1975. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid.Comun. Soil Sci. Plant Anal. 6(1): 71-80

#### การทดลอง 4.1

คู่มือการเก็บตัวอย่างดินและน้ำเพื่อวิเคราะห์. 2548. กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร.กรุงเทพฯ

คู่มือวิธีวิเคราะห์ดินทางเคมีและฟิสิกส์. 2553. กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

จิตติมา วีระนนทนาพันธ์. 2555. การใช้ประโยชน์ NIRS ในภาคอุตสาหกรรมปุ๋ยครั้งแรกในประเทศไทย. ใน The 3<sup>rd</sup> Asian Near-Infrared Symposium , Shot Course in Thai เทคนิค Near-Infrared Spectroscopy (NIRs).Kasetsart University and Asian Near-Infrared Consortium. May 14-18, 2012 .Bangkok : Amari Watergate Hotel, Thailand. pp.1-7.

ญาณธิชา จิตต์สะอาด จริรัตน์ กุศลวิริยะวงศ์ พงมาลย์ แก้ววิมล เทวี แสนกล้า และเจนจิรา เทเวศร์วรกุล. 2558. ศึกษาวิธีวิเคราะห์หาคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของดินโดยเทคนิค NIRS. ผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2558 กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. หน้า 80-91

- เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้และการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม. 2555. สถาบันวิจัยและค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.
- Davis, J. and F. Freitas. 1976. Physical and Chemical Methods of Soil and Water Analysis. FAO Soils Bulletin 10. FAO. Rome.
- Ootake Y., K. Takeda, K. Suzuki, T. Okazaki, K. Maezuka, T. Okura, S. Park and K. Sashida.1980. Development of Near-Infrared-Measurement-System for Soil and Compost Based on SIMCA Classification and X-Leverage Method. In 3<sup>rd</sup> Asian Near-Infrared Symposium, Kasetsart University and Asian Near-Infrared Consortium. May 14-18, 2012.Bangkok : Amari Watergate Hotel, Thailand.pp.108-109.
- Reeuwijk, L.P. van. 1998. Guidelines for Quality Management in Soil and Plant Laboratories. FAO Soil Bulletin 74. International and Information Center. Rome.
- Rhoades, J.D. 1996. Salinity : Electrical Conductivity and Total Dissolved Solids. In D.L. Sparks et. al (eds). Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods SSSA Book Series No. 5. SSSA, Inc. Amer. Soc. of Agro. Inc., Madison, Wisconsin : 417-435.
- ViscarraRossel, R. A., and A. B. McBratney. 1998. Laboratory evaluation of a proximal sensing technique for simultaneous measurement of soil clay and water content. *Geoderma*, 85(1), 19-39.
- ViscarraRossel, R. A., S. R. Cattle, A.Ortega, and Y. Fouad. 2009. In situ measurements of soil color, mineral composition and clay content by vis-NIR spectroscopy. *Geoderma*, 150(3): 253-266.
- Williams P.C., Implementation of Near-Infrared Technology, in Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries, 2<sup>nd</sup> edition, Ed by P.C. Williams and K.H. Norris. American Association of Cereal Chemists, St Paul, MN, USA, p. 163-165 (2001)

#### การทดลอง 4.2

- กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี. 2551. คู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี. สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 66 หน้า
- ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ.2559. 4 มกราคม 2560. ราชกิจจานุเบกษา. เล่มที่ 134 ตอนพิเศษ 2 ง.
- รองศาสตราจารย์ ดร.วิชัย หุทธิทยานาสันต์. 2555. เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้และการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วรรณรัตน์ และคณะ 2551. การทดสอบความชำนาญในการวิเคราะห์ตรวจสอบปุ๋ย. ผลงานวิจัยดีเด่น และผลงานวิจัยที่เสนอเข้าร่วมพิจารณารับเป็นผลงานวิจัยดีเด่นประจำปี 2550. กรมวิชาการ เกษตร. หน้า 49-62.

ISO Guide 35, 2006. Reference Materials - General and Statistical Principles for Certification.

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

Official Methods of Analysis of Fertilizers. 1987. The National Institute of Agriculture Sciences. Ministry of Agriculture, Forestry, and Fisheries, Japan 130 p.

#### การทดลอง 4.3

กรมวิชาการเกษตร. 2551. คู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์. กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2548. ปฐพีเบื้องต้น. พิมพ์ครั้งที่ 10. สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 547 หน้า

เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้และการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม.2555. สถาบันวิจัยและค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ

Ootake Y., K. Takeda, K. Suzuki, T. Okazaki, K. Maezuka, T. Okura, S. Park and K. Sashida.1980. Development of Near-Infrared-Measurement-System for Soil and Compost Based on SIMCA Classification and X- Leverage Method.In 3rd Asian Near-Infrared Symposium, Kasetsart University and Asian Near-Infrared Consortium.May 14-18, 2012. Bangkok: Amari Watergate Hotel, Thailand.

Riley, R. and C. Loreto. 2002. FT-NIR Spectroscopic Analysis of Nitrogen in Cotton Leaves. Applied Spectroscopy. 56:1484-1489

Wang, C., C. Huang, J. Qian, J. Xiao, H. Li, Y. Wen, X. He, W. Ran, Q. Shen and G. Yu. 2014. Rapid and Accurate Evaluation of the Quality of Commercial Organic Fertilizers Using Near Infrared Spectroscopy. Evaluation of Commercial Organic Fertilizers. 9(2) : 1-7.

Williams P.C., Implementation of Near-Infrared Technology, in Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries, 2<sup>nd</sup> edition, Ed by P.C. Williams and K.H. Norris. American Association of Cereal Chemists, St Paul, MN, USA, p.163-165 (2001).

#### การทดลอง 5.1

จิตติมา ยถาภูฐานนท์ วรรณรัตน์ ชูติบุตร และสงกรานต์ มะลิสอน. 2552. การพัฒนาชุดตรวจสอบอินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์. ผลการปฏิบัติงาน ประจำปีงบประมาณ 2552. สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. (2) :199-223

เจนจิรา เทเวศร์วรกุล จิตติรัตน์ ชูชาติ สงกรานต์ มะลิสอน ญาณธิชา จิตต์สะอาด สุภา โภธิจันทร์ และพจนาลัย แก้ววิมล. 2558.วิจัยและพัฒนาชุดตรวจสอบอินทรีย์วัตถุของดิน. ใน: ผลการปฏิบัติงาน ประจำปีงบประมาณ 2558.กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. :1-7

ชูชาติ สันธทรัพย์. 2560. การใช้ชุดตรวจวิเคราะห์ดิน. สืบค้นจาก

: [www.agri.cmu.ac.th/upload/download/50040002.ppt](http://www.agri.cmu.ac.th/upload/download/50040002.ppt). [ธ.ค.2560].

มณีทิพย์ ขุนทอง. 2556. การพัฒนาชุดตรวจสอบอินทรีย์วัตถุเพื่อประเมินปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศุภธิดา อ่ำทอง. 2553. การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ Permanganate Oxidizable Carbon เพื่อใช้ในการวัดปริมาณอินทรีย์วัตถุในการประเมินความอุดมสมบูรณ์ของดิน. รายงานผลการวิจัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้. ภาควิชาทรัพยากรดินและสิ่งแวดล้อม. คณะผลิตกรรมการเกษตร. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 37 หน้า.

Attanandana, T., C. Suwannarat, T. Veerasilp, S. Kongton, R. Meesawat, P. Boonampol, K. Soitong, C. Tipanuka and R.S. Yost. 2001. NPK fertilizer recommendation systems for corn: Decision aids and test kits. Paper Presented at the International Conference on Nutrient Balances for Sustainable Agriculture Production and Natural Resource Management in Southeast Asia. 20-22 February, 2001. IBSRAM and DOA-URRC, Bangkok, Thailand.

Bowman, R.A., USDA-ARS, Akron C.O. 1997. Field method to estimate soil organic matter. Conservation tillage fact sheet#5-97 published by USDA-ARS, and USDA-NRCS.

Culman, S.W., S.S. Snap and M.A. Freeman. 2012. Permanganate Oxidizable Carbon Reflects a Processed Soil Fraction that Sensitive to Management. Soil Sci. Am.J. 76(2): 494-504

Engelbrecht R.M. and F.A. McCoy. 1956. Determination of Potassium by Tetraphenylborate Method. Anal. Chem., 1956, 28 (11), p 1772-1773

Harold L., MD Marcia Polandsky, ScD. 2003. Measurement of observer agreement. Radlology. 228(2), 303-308

Ray R. Weil, Kandikar R. Islam, Melissa A. Stine, Joel B. Gruver and Susan E. Samson-Liebig. 2003. Estimating active carbon for soil quality assessment: A simplified method for laboratory and field use. American Journal of Alternative Agriculture. Volume 18, Number 1.

## การทดลอง 5.2

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี. 2553. คู่มือวิเคราะห์ดินทางเคมีและฟิสิกส์. กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. 79 หน้า.

คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2548. ปฐพีเบื้องต้น. ภาควิชาปฐพีวิทยามหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพฯ

ยงยุทธ โอสถสภา.2546. ธาตุอาหารพืช. ภาควิชาปฐพีวิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพฯ.

Bashour, I.I. and A.H. Sayegh. 2007. Methods of Analysis for Soils of Arid and Semi-arid Region. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome.pp.128.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2010. Protocol describes validation of proprietary chemical methods (test kits). NordVal Protocol No. 2. Washington, DC.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 1985. Water Quality for Agriculture. FAO Irrigation and Drainage paper 29 Rev 1. FAO Rome. 188 p.

National Association of Testing Authorities (NATA). 2018. Validation and verification of quantitative and qualitative test methods. Australia. 31p.

Sparks D. L., A. L. Page, P.A. Helmke, R. H. Loeppert, P. N. Soltanpour, M. A. Tabatabai, C. T. Johnston, M. E. Sumnerane. 1996. Methods of Soil Analysis, Part 3, Chemical Methods: Madison, WI, Soil Science Society of America, Soil Science Society of America Book Series Number 5, 494 p.

World Health Organization (WHO). 2006. QC Qualitative and Semi-quantitative Procedures. World Health Organization, Geneva. 564 p.

### การทดลอง 5.3

American Public Health Association, the American Water Works Association and the Water Environment Federation (APHA, AWWA and WEF). 2012. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 22<sup>nd</sup> ed. Washington D.C. American Public Health Association. 1360 p.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 1985. Water Quality for Agriculture. FAO Irrigation and Drainage paper 29 Rev 1. FAO Rome. 188 p.

United States Environmental Protection Agency (EPA) 1971. Method 352.1: Nitrogen, Nitrate (Colorimetric, Brucine) by Spectrophotometer. 6 p.

United States Environmental Protection Agency (EPA). 2005. Nitrogen and Phosphorus in Agricultural Streams. 6 p.

World Health Organization (WHO). 2011. Guideline for drinking-water quality. World Health Organization, Geneva. 564 p.

### การทดลอง 6.1

นันทกร บุญเกิด. 2529. คู่มือการใช้ไรโซเบียม. อรุณการพิมพ์ กรุงเทพมหานคร

หนึ่ง เตียอำรุง. 2554. แบคทีเรียตรึงไนโตรเจน (Nitrogen fixing bacteria). สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีขั้นสูง และสมาคม เอ โอ เอ ซี ประเทศไทย. 2558. หลักการตรวจสอบความถูกต้องของชุดทดสอบทางจุลชีววิทยา (วิธีทางเลือก) และขั้นตอนการรับรอง. บริษัทพรินท์เอเบิลจำกัด กรุงเทพฯ. 40 หน้า.

Hardy, R.W.F.; R.C. Burns and R.D. Holsten. 1973. Application of the acetylene-ethylene assay for measurement of nitrogen fixation. *Soil Biology and Biochemistry* 5: 47-81.

Leonard, L.T. 1943. A simple assembly for use in the testing of cultures of rhizobia. *Journal of Bacteriology* 45: 523-525.

Somasegaran, P. and H.J. Hoben. 1994. Handbook for Rhizobia: Methods in legume-rhizobium technology. Springer-Verlag, New York. 367 p.

Wang, D.; S. Yang; F. Tang and H. Zhu. 2012. Symbiosis specificity in the legume – rhizobial mutualism. *Cellular Microbiology* 14(3): 334-342.

#### การทดลอง 6.2

Pearson WR. 2013. An Introduction to Sequence Similarity (“Homology”) Searching. *Current Protocols in Bioinformatics* 3: doi: 10.1002/047125 0953.bi0301s42.

Richardson JE, Fay MF, Cronk QCB, Bow-man D and Chase M. 2000. A phylogenetic analysis of Rhamnaceae using *rbcl* and *trnL-F* plastid DNA sequences. *American Journal of Botany* 87: 1309-1324.

Weisburg WG, Barns SM, Pelletier DA and Lane DJ. 1991. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of Bacteriology* 173: 697-703.

Zhang S, Xie F, Yang J, Li Y. 2011. Phylogeny of bradyrhizobia from Chinese cowpea miscellany inferred from 16S rRNA, *atpD*, *glnII*, and 16S–23S intergenic spacer sequences. *Canadian Journal of Microbiology*, 57(4): 316-327