

พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ซิลิคอนในดิน
ด้วยเทคนิคอินดักทีฟเปลวพลาสมาสเปคโตรเมทรี

Development and Method Validation of Silicon analysis in Soil by using
Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometry Techniques

จิตติรัตน์ ชูชาติ สงกรานต์ มะลิสอน พจมาลย์ ภู่อสาร ญาณธิชา จิตต์สะอาด
สุภา โพธิจันทร์ กัญธนา คล้ายแก้ว
Jittirat Choochat Songkrant Malisorn Pojjamarn Poosarn Yanticha Jittsa-aad
Supha Photichan Kanthana Klaigaew

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Development and Method Validation of Silicon in soil by using Inductively Coupled Plasma – Optical Emission Spectrometry (ICP-OES) found that analysis methods was also validated consisting 8.00 – 370 mg/kg silicon, the Limit of Detection (LOD) was 7.05 mg/kg and Limit of Quantitation (LOQ) was 7.90 mg/kg. To prove the trueness and precision of LOQ (8.00 mg/kg), % Recovery was 100.71 and HorRat (Horwitz' Ratio) was 1.24 (Acceptance criteria %Recovery in the ranges from 90 – 107% and HorRat (Horwitz'Ratio) < 1.3). The CRM analysis to prove concentrations at low, medium and high level of silicon (37, 185 and 370 mg/kg), %Recovery were 99.40, 99.95 and 101.70% respectively. HorRat (Horwitz' Ratio) were 0.41, 0.47 and 0.31 respectively. The results of analysis showed that the (AOAC) acceptance criteria (%Recovery in the ranges from 90 – 107% and HorRat (Horwitz'Ratio) < 1.3). When studying ruggedness using. It was found that the boron analysis was not affected by changes in the environment. Therefore, this method is effective and suitable for use in the analysis of silicon in soil. That is routine work and needs fast, accurate analysis results with Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometry Techniques.

Keywords : Method validation, Silicon in soil, Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometry

บทคัดย่อ

การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ซิลิคอนในดินด้วยเทคนิคอินดักทีฟเปลวพลาสมาสเปคโตรเมทรี โดยการสกัดดินด้วยวิธี 1 M CH₃COONa pH 4.0 และนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometer พบว่า การวิเคราะห์ซิลิคอนด้วยวิธี Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometry Techniques ให้ผลการทดสอบอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ โดยการตรวจสอบความได้ของวิธีมีขอบข่ายการวิเคราะห์ซิลิคอนในดินในช่วงความเข้มข้น 8.0 – 370.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีค่า Limit of Detection (LOD) เท่ากับ 7.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ Limit of Quantitation (LOQ) เท่ากับ 7.90 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และพิสูจน์ LOQ ที่ความเข้มข้นของซิลิคอน 8.00 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับ โดยมีค่าความถูกต้อง (Trueness) และค่าความเที่ยง (Precision) ของ LOQ ได้ค่า %Recovery เท่ากับ 100.71% และ HorRat (Horwitz'Ratio) เท่ากับ 1.24 ตามลำดับ (เกณฑ์การยอมรับ %Recovery อยู่ในช่วง 90 – 107% และ HorRat (Horwitz'Ratio) < 1.3) ทำการวิเคราะห์ CRM ที่ระดับ

ความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง มาคำนวณ %Recovery เพื่อความถูกต้อง (Trueness) และค่า HorRat (Horwitz'Ratio) ของการวิเคราะห์ซ้ำแบบต่างเวลากัน เพื่อพิสูจน์ความเที่ยง ได้ผลการทดลองดังนี้ ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และระดับความเข้มข้นสูง มี % Recovery เท่ากับ 99.40, 99.95 และ 101.70% ตามลำดับ ค่า HorRat (Horwitz'Ratio) ของการวิเคราะห์ซ้ำแบบต่างเวลากัน (Intermediate) เท่ากับ 0.41, 0.47 และ 0.31 ตามลำดับ ผ่านเกณฑ์การยอมรับตาม AOAC ทั้งหมด โดย %Recovery อยู่ในช่วง 90 – 107% และ HorRat (Horwitz'Ratio) < 1.3 ผลการศึกษาผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อม Ruggedness พบว่า การเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมของการทดสอบ ไม่มีผลกระทบต่อวิธีวิเคราะห์โบรอน และวิธีมีความคงทนต่อการนำไปใช้เป็นวิธีอ้างอิงของห้องปฏิบัติการได้ ดังนั้นวิธีวิเคราะห์ซิลิคอนที่สกัดได้ในดินด้วยเทคนิค Inductively Coupled Plasma (ICP) Emission Spectrometry จึงมีประสิทธิภาพ และเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการตรวจ ที่ทำเป็นงานประจำและต้องการผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้อง แม่นยำ

คำสำคัญ : การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี ซิลิคอนในดิน เทคนิคอินดักทีฟพลาสมาสเปคโตรเมทรี

คำนำ

ซิลิคอน (Silicon; Si) ไม่จัดว่าเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อพืช แต่จัดเป็นธาตุเสริมประโยชน์ (beneficent element) (Synder *et al.* 2007) สำหรับพืชบางชนิด ซึ่งรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืชของซิลิคอน คือ SiO_2 ซิลิคอนมีผลทำให้เซลล์พืชแข็งแรง สามารถต้านทานโรคและแมลงได้ดี (ยงยุทธ, 2543) ในข้าว ซิลิคอนทำให้ใบของต้นข้าวตั้งตรงรับแสงแดดได้ดี ลำต้นแข็งแรงไม่ล้มง่าย และเพิ่มความต้านทานต่อสภาวะแห้งแล้ง (Epstein, 1999; Marschner, 1995) รวมทั้ง มีประโยชน์ทางอ้อมต่อผลผลิตของข้าว (Alyne *et al.*, 2016) มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช เช่น การพัฒนาราก การเจริญของผล และการเพิ่มผลผลิตพืช นอกจากนี้ซิลิคอนยังช่วยปกป้องพืชจากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม และจากการทำลายของศัตรูพืช และเมื่อพืชดูดซิลิคอนเข้าไปในเซลล์พืช ซิลิคอนถูกเปลี่ยนอยู่ในรูปของแข็งตามผนังเซลล์ซึ่งทำให้โครงสร้างของผนังเซลล์แข็งแรงขึ้นทนต่อการเข้าทำลายของโรคและแมลงอีกด้วย (Marschner, 1995)

การวิเคราะห์หาปริมาณซิลิคอน สามารถวิเคราะห์ได้โดยการสกัดดินด้วยน้ำยาสกัด 1 M CH_3COONa pH 4.0 และวิเคราะห์ปริมาณด้วยเครื่อง Spectrophotometer โดยวิธี Colorimetric silicomolybdic acid (Nayer *et al.*, 1975; Jones and Dreher, 1996) อย่างไรก็ตามพบว่าตามวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์ดิน Method of soil analysis (Sparks *et al.*, 1996) สามารถนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometer ได้เช่นเดียวกัน ซึ่งดีกว่าการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ซึ่งต้องผ่านการทำให้เกิดสีด้วยวิธี Silicomolybdic acid ซึ่งพบว่าการวิเคราะห์ปริมาณซิลิคอนด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometer ซึ่งใช้หลักการ Emission spectroscopy (แมน และคณะ, 2552) สามารถลดขั้นตอนการทำให้สารละลายเกิดสี ตามแบบวิธีเดิม และพบว่าการวิเคราะห์ด้วย Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometer มีความไวในการตรวจพบ และสามารถตรวจพบได้ในระดับที่ต่ำกว่าการใช้วิธี Spectrophotometric และ flame AES/AAS อีกด้วย การทดลองนี้จึงมุ่งเน้นในการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ซิลิคอนในดิน ด้วยเทคนิคอินดักทีฟพลาสมาสเปคโตรเมทรี (Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometry) เพื่อนำมาใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์ซิลิคอนของห้องปฏิบัติการต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง
3. เครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer (ICP)
4. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)
5. pH meter
6. สารละลายมาตรฐานซิลิคอน (Standard Silicon) ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร
7. สาร Sodium acetate (CH_3COONa , NaOAc)
8. ตัวอย่างดินอ้างอิงรับรอง CRM NCSDC8106a (0.37 ± 0.03 g/kg (370 mg/kg Available Silicon)
9. เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์ทดสอบ

วิธีการ

1. หาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer ในการวิเคราะห์ซิลิคอนในดิน โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานซิลิคอนความเข้มข้น 0, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสารละลาย 1 M CH_3COONa pH 4.0 นำสารละลายมาตรฐานไปวัดด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer (ICP-OES) ทำการปรับสภาวะของเครื่อง ได้แก่ wavelength plasma view ใช้มุมมอง Radial ค่า plasma flow, auxiliary flow, nebulizer flow, RF-power, Pump flow และ Uptake สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน กับสัญญาณของเครื่องมือ (Intensity) และเลือกสภาวะที่เหมาะสมโดยพิจารณาจากค่า correlation coefficient (r) ที่สูงที่สุด

2. ศึกษาการรบกวนของธาตุแคลเซียมที่ส่งผลต่อการวัดปริมาณซิลิคอนในการวัดด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer โดยใช้แคลเซียมเป็นตัวรบกวนการวิเคราะห์ซิลิคอน โดยชั่งตัวอย่างดินที่มีปริมาณซิลิคอน 53, 112 และ 254 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 10 กรัม เติมสารละลายมาตรฐานแคลเซียมความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 250 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เตรียมด้วยสารละลาย 1 M CH_3COONa pH 4.0 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปิดด้วย reflux condenser นำไปให้ความร้อนในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง เขย่าทุก 1 ชั่วโมง หลังจากครบ 5 ชั่วโมง กรองสารละลายด้วยกระดาษเบอร์ 42 และวัดด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ เปรียบเทียบ Intensity และความเข้มข้นของซิลิคอนที่วัดได้เมื่อมีการเติมสารละลายมาตรฐานแคลเซียม

3. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ซิลิคอน โดยสกัดดินด้วย 1 M CH_3COONa pH 4.0 และวัดปริมาณด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer ดังนี้

3.1 การศึกษาความเป็นเส้นตรง (Linearity)

- 1) เตรียมสารละลายมาตรฐานซิลิคอนความเข้มข้น 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 และ 40 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เตรียมด้วยสารละลาย 1 M CH_3COONa pH 4.0 เติมลงในตัวอย่างดิน sample blank ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ
- 2) ปิดด้วย reflux condenser นำไปให้ความร้อนในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง เขย่าทุก 1 ชั่วโมง หลังจากครบ 5 ชั่วโมง กรองสารละลายด้วยกระดาษเบอร์ 42 และวัดด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer
- 3) สร้างกราฟมาตรฐานระหว่าง intensity กับความเข้มข้น หาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง พิจารณาค่าที่เป็นเส้นตรง คำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient: r) ซึ่งมีเกณฑ์การยอมรับที่ค่า $r \geq 0.995$

- 4) นำช่วงที่มีความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานที่นำมาใช้งาน (Range)
- 3.2 การศึกษาหาช่วงความเข้มข้นที่ใช้งาน (Working range)
- 1) เตรียมสารละลายมาตรฐานซิลิคอนความเข้มข้น 0, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เตรียมด้วยสารละลาย 1 M CH₃COONa pH 4.0 เติมลงในตัวอย่างดิน sample blank ปริมาตร 100 มิลลิตร ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ
 - 2) ปิดด้วย reflux condenser นำไปให้ความร้อนในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง เขย่าทุก 1 ชั่วโมง หลังจากครบ 5 ชั่วโมง กรองสารละลายด้วยกระดาษเบอร์ 42 และวัดด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer
 - 3) สร้างกราฟมาตรฐานระหว่าง intensity กับความเข้มข้น หาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง พิจารณา ช่วงที่เป็นเส้นตรง คำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient: r) ซึ่งมีเกณฑ์การยอมรับที่ค่า $r \geq 0.995$

3.3 หาค่า Trueness และ precision โดยการวิเคราะห์ตัวอย่างดินอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Material; CRM)

ซึ่งตัวอย่างดินอ้างอิงรับรองที่ความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง (37, 185 และ 370 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) โดยที่ระดับความเข้มข้นสูง ซึ่งตัวอย่างดินอ้างอิงรับรอง CRM NCSDC8106a จำนวน 10 กรัม ที่ความเข้มข้น กลาง ซึ่งตัวอย่างดิน sample blank จำนวน 5 กรัม และเติมตัวอย่างดินอ้างอิงรับรอง CRM NCSDC8106a จำนวน 5 กรัม รวมเป็น 10 กรัม และที่ความเข้มข้นต่ำซึ่งตัวอย่างดิน sample blank จำนวน 9 กรัม และเติมตัวอย่างดินอ้างอิงรับรอง CRM NCSDC8106a จำนวน 1 กรัม รวมเป็น 10 กรัม เติมสารละลาย 1 M CH₃COONa pH 4.0 ปริมาตร 100 มิลลิตร ปิดด้วย reflux condenser นำไปให้ความร้อนในอ่างน้ำ ควบคุมอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง เขย่าทุก 1 ชั่วโมง หลังจากครบ 5 ชั่วโมง กรอง สารละลายด้วยกระดาษเบอร์ 42 และวัดด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer โดยทำการทดสอบระดับความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ ประเมินผลการทดสอบ จาก % Recovery และ HorRat < 1.3 ตามมาตรฐานสากล Eurachem และ Official Method of Analysis of AOAC International (AOAC) (Eurachem, 2014; Latimer, 2016)

1) การคำนวณ % Recovery จากสูตร

- กรณี fortified sample

$$\text{Total \% recovery} = \frac{\text{ความเข้มข้นของสารใน fortified sample}}{\text{ความเข้มข้นของตัวอย่างเริ่มต้น} + \text{ความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติม}} \times 100$$

- กรณีการวิเคราะห์ CRM/IRM

$$\% \text{Recovery} = \frac{\text{ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์}}{\text{ค่าจริง}} \times 100$$

2) การคำนวณ Precision

$$\text{HorRat (Horwitz' Ratio)} = \frac{\text{RSD}(r)}{\text{PRSD}(R)}$$

RSD(r) และ PRSD(R) คำนวณจากสูตรดังนี้

$$\text{RSD}(r) = \frac{\text{SD} \times 100}{\text{mean}}$$

$$\text{PRSD}(R) = \frac{2C^{-0.15} (C = \text{mean})}{100}$$

- 3.4 หาค่าขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ) โดยใช้ค่า Standard deviation ของการวิเคราะห์ตัวอย่างดิน sample blank จำนวน 10 กรัม ความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ และต่างวันเวลา เติมสารละลาย 1 M CH₃COONa pH 4.0 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปิดด้วย reflux condenser นำไปให้ความร้อนในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง เขย่าทุก 1 ชั่วโมง หลังจากครบ 5 ชั่วโมง กรองสารละลายด้วยกระดาษเบอร์ 42 และวัดด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer บันทึกข้อมูลคำนวณหาค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

คำนวณค่า LOD และ LOQ จากสูตร

$$\text{LOD} = 3\text{SD}$$

$$\text{LOQ} = 10\text{SD}$$

- 3.5 ตรวจสอบความคงทนของวิธีทดสอบโดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อยจากสภาวะปกติ

หาความคงทนของวิธีวิเคราะห์ โดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อย ของการวิเคราะห์ตัวอย่างดินอ้างอิงรับรองที่มีความเข้มข้นของซิลิคอน ต่ำ กลาง และสูง (37, 185 และ 370 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) โดยเปลี่ยนแปลงสภาวะของวิธีวิเคราะห์ซิลิคอนในดิน จำนวน 3 ปัจจัย ปัจจัยละ 10 ซ้ำ ได้แก่ น้ำหนักตัวอย่าง ปริมาตรน้ำยาสกัด อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด ตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อยจากสภาวะปกติ จำนวน 3 ปัจจัย

ปัจจัย	สภาวะ	วิธีมาตรฐานที่ปฏิบัติ	วิธีที่มีเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย
1	น้ำหนักตัวอย่าง	10 กรัม	10.05 กรัม
2	ปริมาตรน้ำยาสกัด	100 มิลลิลิตร	105 มิลลิลิตร
3	อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด	40 °C	45 °C

ประเมินผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะและสิ่งแวดล้อมของวิธีวิเคราะห์ซิลิคอนในดิน โดยใช้ t-test เปรียบเทียบข้อมูล 2 กลุ่มที่สัมพันธ์กัน หรือไม่เป็นอิสระจากกัน (t-test dependent) โดยนำค่าที่คำนวณได้ (t-Stat) ไปเปรียบเทียบกับค่าที่จากตาราง (t-Critical) โดยมีเกณฑ์ว่าค่า t-Stat น้อยกว่าค่า t-Critical แสดงว่าค่าเฉลี่ยของการวัดจากข้อมูลทั้ง 2 ชุด ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2562 – สิ้นสุด กันยายน 2564

สถานที่ดำเนินงาน กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนา ปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer ในการวิเคราะห์ซิลิคอนในดิน พบว่า ใช้ค่า Wavelength ที่ 288.158 นาโนเมตร, plasma view ใช้มุมมอง Radial, Plasma flow เท่ากับ 14.0 ลิตรต่อนาที, Auxiliary flow เท่ากับ 0.8 ลิตรต่อนาที, Nebulizer flow เท่ากับ 1.2 ลิตรต่อนาที, RF-power 1.2 กิโลวัตต์, Pump Flow เท่ากับ 25 รอบต่อนาที และ Uptake เท่ากับ 25 วินาที ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 สภาวะของเครื่อง ICP ที่ใช้ในการวัดซิลิคอนในดิน

Parameter	Silicon
Wavelength (nm)	288.158
Plasma View	Radial
Plasma (LPM)	14
Aux (LPM)	0.8
Neb (LPM)	1.2
RF Power (kW)	1.2
Pump Flow (RPM)	25
Uptake (min)	25
Conc. of STD (ppm)	0, 5, 10, 15, 20, 25, 30

2. การรบกวนของธาตุแคลเซียม ที่มีผลต่อปริมาณซิลิคอนในการวัดด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer ที่ ความเข้มข้น ต่ำกลาง และสูง (53, 112 และ 254 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ที่เติมสารละลายมาตรฐานแคลเซียม 0, 50, 100 และ 250 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า % Recovery ของการวิเคราะห์ซิลิคอนในตัวอย่างดินที่มีปริมาณซิลิคอน 53, 112 และ 254 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีค่าอยู่ระหว่าง 98.11 – 105.66, 98.21 – 103.57 และ 97.64 – 101.97% ตามลำดับ (ตารางที่ 3, 4, 5) ซึ่งผ่านเกณฑ์กำหนดตามมาตรฐาน (Eurachem, 2014) (% Recovery 90-107) สรุปได้ว่า ปริมาณแคลเซียมไม่รบกวนการวิเคราะห์ซิลิคอน สอดคล้องกับ Jones and Dreher (1996) ที่พบว่า ไม่มีธาตุหรือสารรบกวนในการวิเคราะห์ซิลิคอนในดิน เนื่องจากเป็นธาตุที่มีปริมาณมากในดิน

ตารางที่ 3 ค่า % recovery ของการวิเคราะห์ปริมาณซิลิคอนในตัวอย่างดินที่มีซิลิคอน 53 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

Analyte	Soil with Silicon 53 mg/kg		
	Ca Concentrations (ppm)	Silicon conc. (mg/kg)	% Recovery
1	0	37	101.89
2	50	56	105.66
3	100	52	98.11
4	250	55	103.77

ตารางที่ 4 % recovery ของการวิเคราะห์ปริมาณซิลิคอนในตัวอย่างดินที่มีซิลิคอน 112 mg/kg

Analyte	Soil with Silicon 112 mg/kg		
	Ca Concentrations (ppm)	Silicon conc. (mg/kg)	% Recovery
1	0	115	102.68
2	50	116	103.57
3	100	110	98.21
4	250	108	96.43

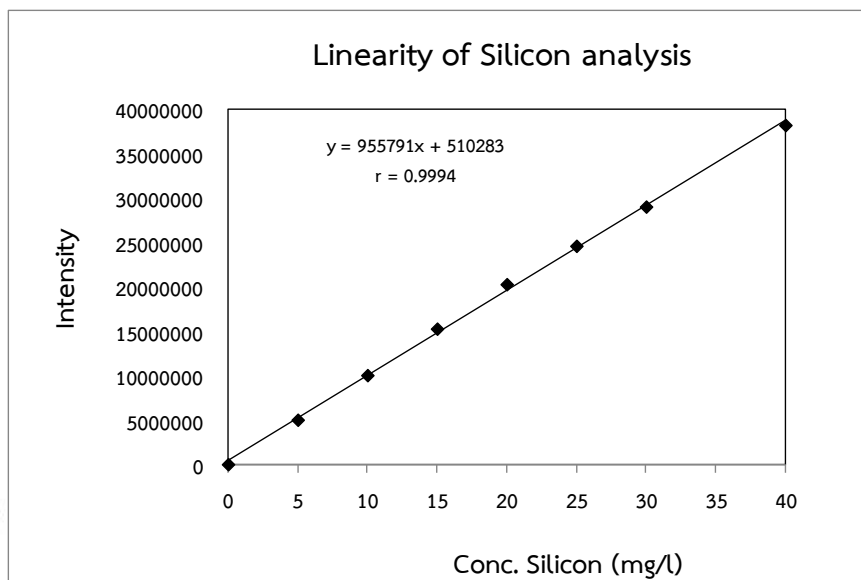
ตารางที่ 5 % recovery ของการวิเคราะห์ปริมาณซิลิคอนในตัวอย่างดินที่มีซิลิคอน 254 mg/kg

Analyte	Soil with Silicon 254 mg/kg		
	Ca Concentration (ppm)	Silicon conc. (mg/kg)	% Recovery
1	0	254	100.00
2	50	259	101.97
3	100	248	97.64
4	250	253	99.61

3. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ซิลิคอนในดิน ที่สกัดด้วยวิธี 1 M CH₃COONa pH 4.0 เครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer

3.1 การศึกษาความเป็นเส้นตรง (Linearity)

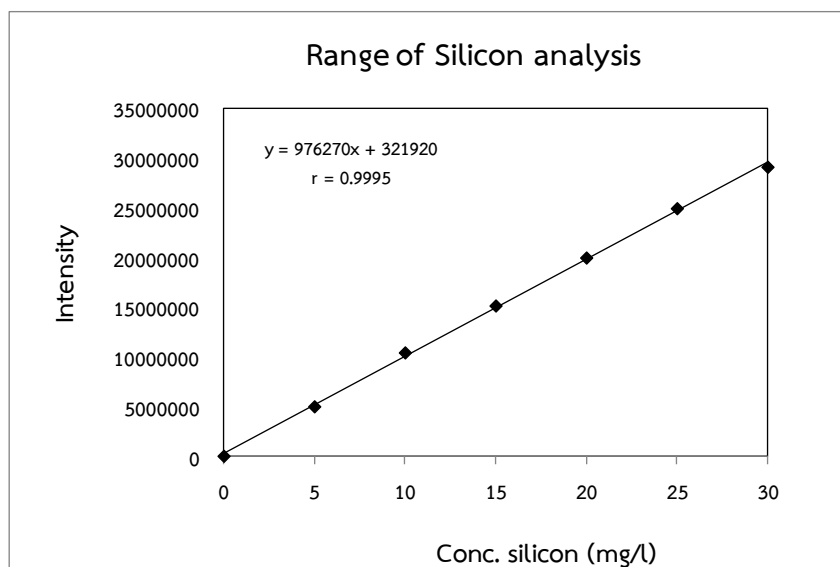
จากการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity) ของการวิเคราะห์ซิลิคอนในดินที่ความเข้มข้นของซิลิคอนในช่วง 0 - 40 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient : r) เท่ากับ 0.9994 พบว่า ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient : r) ≥ 0.995 ผ่านเกณฑ์การยอมรับ (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 ความเป็นเส้นตรง (Linearity) ของกราฟมาตรฐานการวิเคราะห์ซิลิคอนที่ช่วงความเข้มข้น 0 - 40 มิลลิกรัมต่อลิตร

3.2 การศึกษาหาช่วงความเข้มข้นที่ใช้งาน (Working range)

จากการศึกษาความเข้มข้นที่ใช้งาน (Working range) ของการวิเคราะห์โบรอนในดินที่ความเข้มข้นของโบรอนในช่วง 0 - 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient : r) เท่ากับ 0.9990 พบว่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient : r) ≥ 0.995 ผ่านเกณฑ์การยอมรับ (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 ช่วงความเข้มข้นที่ใช้งาน (Working range) ของกราฟมาตรฐานการวิเคราะห์ซิลิคอนในช่วงความเข้มข้น 0-30 มิลลิกรัมต่อลิตร

3.3 พิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง

ความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ โดยซั้ง CRM ที่มีซิลิคอนความเข้มข้น 37, 185 และ 370 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ แล้วคำนวณความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) พบว่ามี %recovery เท่ากับ 99.40, 99.95 และ 101.70%ตามลำดับ และมีค่า HorRat เท่ากับ 0.41, 0.47 และ 0.31 ผ่านเกณฑ์ยอมรับโดยมี %recovery = 90-107% และ Precision (เกณฑ์ยอมรับ HorRat < 1.3) ผ่านเกณฑ์ยอมรับ (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 การพิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision)

รายการ	ผลวิเคราะห์ซิลิคอนในดิน (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)		
	ความเข้มข้นต่ำ	ความเข้มข้นกลาง	ความเข้มข้นสูง
1	39	190	378
2	39	191	367
3	35	184	368
4	37	170	380
5	36	183	366
6	38	185	373
7	36	184	382
8	36	182	388
9	38	192	377
10	36	188	384

รายการ	ผลวิเคราะห์ซิลิคอนในดิน (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)		
	ความเข้มข้นต่ำ	ความเข้มข้นกลาง	ความเข้มข้นสูง
ค่าเฉลี่ย	37	185	376
SD	1.41	6.31	7.59
% recovery	99.40	99.95	101.70
HorRat	0.41	0.47	0.31

3.4 หาค่าขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ)

หาขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) ขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ) โดยวิเคราะห์ Sample blank ดำเนินการทดสอบตามวิธีทดสอบปริมาณโบรอนในดิน 7 ซ้ำ บันทึกข้อมูลคำนวณหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่าง (Sample blank)

ซ้ำที่	น้ำหนัก	Intensity	Conc Silicon (mg/kg)
1	10.0	211874	6.56
2	10.0	212665	6.61
3	10.0	213343	6.66
4	10.0	215792	6.83
5	10.0	216838	6.90
6	10.0	215771	6.83
7	10.0	213079	6.42
mean			6.69
SD			0.17

คำนวณค่า LOD และ LOQ ตามสูตร

$$\begin{aligned}
 \text{LOD} &= \bar{X} + 3 S_0' \\
 \text{LOQ} &= \bar{X} + 10 S_0' \\
 S_0' &= \frac{S_0}{\sqrt{n}} \\
 &= \frac{0.17}{\sqrt{2}} = 0.12 \\
 \text{LOD} &= 6.69 + (3 \times 0.12) = 7.05 \text{ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม} \\
 \text{LOQ} &= 6.69 + (10 \times 0.12) = 7.90 \text{ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม}
 \end{aligned}$$

ได้ขีดความเข้มข้นต่ำสุดที่วิธีสามารถวิเคราะห์ และรายงานผลได้ (LOD และ LOQ) คือ 7.05 และ 7.90 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ดังนั้น ทำการพิสูจน์ความถูกต้อง Trueness และความเที่ยง Precision ที่ระดับ LOQ = 8.00 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ดังนี้

ตารางที่ 8 การประเมินความถูกต้อง Trueness และ Precision ของการวิเคราะห์ ที่ระดับ LOQ = 8.00 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

LOQ	Trueness (90 – 107%)		Precision	
	%Recovery (80-110)	ผลการประเมิน	HorRat (< 1.3)	ผลการประเมิน
8.00	100.71	ผ่าน	1.24	ยอมรับ

ประเมินผลการทดสอบค่า Trueness และ Precision ที่ระดับ LOQ = 8.00 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่า % Recovery และ HorRat ผ่านเกณฑ์การยอมรับ (ตารางที่ 8)

3.5 ศึกษาผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะและสิ่งแวดล้อมของวิธีวิเคราะห์ซิลิคอนในดิน ที่ความเข้มข้นต่ำ และกลาง จำนวน 3 บัญชี ได้แก่ น้ำหนักตัวอย่าง ปริมาตรน้ำยาสกัด และอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด

ผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะและสิ่งแวดล้อมของวิธีวิเคราะห์ซิลิคอนในดิน ที่ความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง จำนวน 3 บัญชี ได้แก่ น้ำหนักตัวอย่าง ปริมาตรน้ำยาสกัด และอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด พบว่า ค่า $t_{Stat} < t_{Critical}$ ยอมรับ H_0 ซึ่งแสดงว่าค่าเฉลี่ยของการวัดจากข้อมูลทั้ง 2 ชุด ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ทำให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อยไม่ส่งผลต่อการวิเคราะห์ (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 การเปลี่ยนแปลงสภาวะและสิ่งแวดล้อมของวิธีวิเคราะห์ซิลิคอนในดินตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง จำนวน 3 บัญชี ได้แก่ น้ำหนักตัวอย่าง ปริมาตรน้ำยาสกัด อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด

บัญชี	สภาวะ	ความเข้มข้นต่ำ		ความเข้มข้นกลาง		ความเข้มข้นสูง		การประเมิน
		t-Stat	t - Critical	t-Stat	t - Critical	t-Stat	t - Critical	
1	น้ำหนักตัวอย่าง	1.1739	2.2622	1.0439	2.2622	1.1095	2.2622	t-Stat < t - Critical
2	ปริมาตรน้ำยาสกัด	1.6500	2.2622	0.5571	2.2622	0.2641	2.2622	t-Stat < t - Critical
3	อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด	1.4056	2.2622	0.8182	2.2622	0.3734	2.2622	t-Stat < t - Critical

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ซิลิคอนในดิน โดยการสกัดดินด้วยวิธี 1 M CH_3COONa pH 4.0 และนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometer พบว่า การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี มีขอบข่ายการวิเคราะห์ซิลิคอนในดินในช่วงความเข้มข้น 8.00 – 370.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีค่า Limit of Detection (LOD) เท่ากับ 7.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ Limit of Quantitation (LOQ) เท่ากับ 7.90 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และพิสูจน์ LOQ ที่ความเข้มข้นของซิลิคอน 8.00 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับ โดยมีค่าความถูกต้อง (Trueness) และค่าความเที่ยง (Precision) ของ LOQ ได้ค่า %Recovery เท่ากับ 100.71% และ HorRat (Horwitz'Ratio) เท่ากับ 1.24 ตามลำดับ (เกณฑ์การยอมรับ %Recovery อยู่ในช่วง 90 - 107% และ HorRat (Horwitz'Ratio) < 1.3) ทำการวิเคราะห์ CRM ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง มาคำนวณ %Recovery เพื่อความถูกต้อง (Trueness) และค่า HorRat (Horwitz'Ratio) ของการวิเคราะห์ซ้ำแบบต่างเวลากัน เพื่อพิสูจน์ความเที่ยง ได้ผลการทดลองดังนี้ ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และระดับความเข้มข้นสูง มี % Recovery เท่ากับ 99.40, 99.95 และ 101.70% ตามลำดับ ค่า HorRat (Horwitz'Ratio) ของการวิเคราะห์ซ้ำแบบต่างเวลากัน (Intermediate) เท่ากับ 0.41, 0.47 และ 0.31 ตามลำดับ ผ่านเกณฑ์การยอมรับตาม AOAC ทั้งหมด โดย %Recovery อยู่ในช่วง 90 - 107% และ HorRat (Horwitz'Ratio) < 1.3) ดังนั้นวิธีวิเคราะห์ ซิลิคอนที่สกัดได้ในดิน ด้วยเทคนิค Inductively Coupled Plasma (ICP) Emission Spectrometry จึงมีประสิทธิภาพ และเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการตรวจ ที่ทำเป็นงานประจำและต้องการผลการวิเคราะห์ที่ ถูกต้อง แม่นยำ

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

วิธีการวิเคราะห์ซิลิคอนในดิน สามารถใช้เป็นวิธีอ้างอิงแก่ห้องปฏิบัติการอื่นได้ รวมทั้งใช้เป็นวิธีมาตรฐานที่มีความน่าเชื่อถือของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ดินตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025: 2017 เป็นการยกระดับห้องปฏิบัติการให้ได้มาตรฐานสากล สามารถตรวจสอบย้อนกลับได้ และสามารถนำมาใช้เป็นวิธีมาตรฐานในงานบริการวิเคราะห์ซิลิคอนในดินให้แก่ผู้รับบริการวิเคราะห์

เอกสารอ้างอิง

- แมน อมรสิทธิ์ อมร เพชรสม ยวดี เชี่ยววัฒนา อติตยา ศิริภิญญานนท์ ศรีวิไล โอมภิญญาณ และ อุมภาพร สุขม่วง. 2552. **หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ Principle and Techniques of Instrumental Analysis Spectroscopy**. ชวนพิมพ์ กรุงเทพมหานคร. 676 หน้า.
- ยงยุทธ โอสดสภา. 2543. **ธาตุอาหารพืช**. กรุงเทพฯ, ภาควิชาปฐพีวิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 424 หน้า.
- Alyne, O.L., C.D. Kelly, V.R. Josimar, T.A. Rodrigo, L.S. Matheus, F.P. Lucas, M.V.P.S. Lilian, A.R. Fabricio, L.A. Wagner and M.D. Fabio. 2016. Silicon Improves Rice Grain Yield and Photosynthesis Specifically when Supplied During the Reproductive Growth Stage, *Journal of Plant Physiology*. 206: 125–132.
- Latimer, G.W. 2016. *Official Method of Analysis of AOAC International*. 20thEd. AOAC International Gaithersburg, Maryland. USA.
- Epstein, E. 1999. Silicon. *Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 50(1): 641-664.
- Eurachem. 2014. *The Fitness for Purpose of Analytical Methods*. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics.
- Jones, R.W. and G.B. Dreher. 1996. Chapter 22 Silicon, pp. 627-637. 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.
- Marschner, H. 1995. *Mineral Nutrition of Higher plant*, 2nd ed., Academic Press, New York, 889p.
- Nayer, P.K., A.K. Misra and S. Patnaik. 1975. Rapid microdetermination of silicon in rice plant. *Plant and Soil*. 42: 491-494.
- Sparks, D.L., A.L. Page, P.A. Helmke, R.H. Loeppert, P.N. Soltanpour, M.A. Tabatabai, C.T. Johnston and 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.
- Synder, G.H., V.V. Matichenkov and L.E. Datnoff. 2007. Silicon. *In Handbook of Plant Nutrition*. CRC Press, Taylor and Francis Group, New York.