



# พัฒนาวิธีวิเคราะห์และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ อินทรีย์คาร์บอนในปุ๋ยอินทรีย์

## Development and Validation Method of Organic Carbon Analysis in Organic Fertilizers

วรรณรัตน์ ชุตินุตร สงกรานต์ มะลิสอน นางอมรา หาญจวนิช และ จุลศักดิ์ บุญรัตน์  
กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

### บทคัดย่อ

พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอนในปุ๋ยอินทรีย์ เป็นการพัฒนา เพื่อให้ได้เทคนิคการวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอน และอินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์ ที่ถูกต้อง เทียบตรง และเหมาะสม โดยนำวิธีวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอนของกรมวิชาการเกษตร มาทดสอบหาอัตราส่วนระหว่าง ปริมาตรของสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต 1 N และปริมาตรของกรดซัลฟริกเข้มข้นที่ให้ประสิทธิภาพ การวิเคราะห์สูงสุด พบว่าที่อัตราส่วน 1:1.5 ให้ผลการวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอนสูงสุด ตรวจสอบความ ได้ได้ของเทคนิคดังกล่าวโดยพิสูจน์ความถูกต้อง ความเที่ยง ช่วงความเป็นเส้นตรง และปริมาณต่ำสุดที่ สามารถวัดได้ โดยใช้สารมาตรฐานที่ถูกออกซิไดซ์ได้ยากที่สุดจนถึงง่ายที่สุด พบว่า % Recovery อยู่ระหว่าง 73 % -128 % และ HORRAT  $\leq 2$  ช่วงความเป็นเส้นตรงคือ 0-72 มิลลิกรัม โดยมีค่า Correlation coefficient เท่ากับ 1 ปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ของวิธีเท่ากับ 0.28% และปริมาณต่ำสุดที่ สามารถรายงานผลได้เท่ากับ 0.73 % พิสูจน์ความถูกต้องวิธีวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุของกรมวิชาการเกษตร โดยเปรียบเทียบกับวิธีวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุในพีท ของ AOAC พบว่ามี %Recovery เฉลี่ย 86.06 % ศึกษา องค์ประกอบที่ส่งผลกระทบต่อผลการวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุของวิธีทั้ง 2 พบว่า คลอไรด์ เหล็ก ซัลเฟต แมงกานีส ทำให้ผลวิเคราะห์ของทั้ง 2 วิธีคลาดเคลื่อนจากค่าจริงเล็กน้อย ส่วนองค์ประกอบที่ส่งผลกระทบต่อ อย่างมากต่อผลการวิเคราะห์โดยวิธีวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุในพีท คือ แอมโมเนียมซัลเฟต และยูเรีย ทำให้ผล แตกต่างจากค่าจริง 66.66 % และ 99.64 % ตามลำดับ

### คำนำ

วิธีการควบคุมคุณภาพปุ๋ยอินทรีย์ของภาครัฐคือการกำหนดปริมาณสารต่างๆ และธาตุอาหารในปุ๋ย ให้เป็นไปตามประกาศของกรมวิชาการเกษตร ดังนั้นจึงต้องมีการวิเคราะห์หาปริมาณธาตุต่างๆ ในปุ๋ย อินทรีย์ รวมทั้งอินทรีย์คาร์บอน และอินทรีย์วัตถุด้วย เนื่องจากสถานการณ์ปุ๋ยอินทรีย์ในปัจจุบันมีตัวอย่าง ปุ๋ยอินทรีย์ที่ผลิตจากวัตถุดิบ และเทคนิคการผลิตที่หลากหลาย ซับซ้อนมากขึ้น รวมถึงการใส่วัสดุอินทรีย์ เพื่อให้ผลวิเคราะห์ที่ได้เป็นไปตามหลักเกณฑ์ตามประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง การขอขึ้นทะเบียน การออกใบสำคัญการขึ้นทะเบียน การขอแก้ไขรายการทะเบียน และการแก้ไขรายการทะเบียนปุ๋ยอินทรีย์



พ.ศ. 2552 ทำให้อินทรีย์คาร์บอน และอินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์ที่ส่งเข้ามาวิเคราะห์ยังห้องปฏิบัติการมีปริมาณสาร และองค์ประกอบแตกต่างกันตามชนิดของวัสดุที่ใช้ในการผลิต ดังนั้นห้องปฏิบัติการจึงต้องตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ว่ามีความเหมาะสมกับตัวอย่างประเภทต่างๆ หรือไม่ วิธีวิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์คาร์บอน และอินทรีย์วัตถุ (พวงผกา สุทัศน์ ณ อยุธยา, 2548) ที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบระบบคุณภาพปุ๋ยใช้ในปัจจุบัน ประยุกต์ใช้วิธีของ Walkley and Black (Walkley, A. and C.A. Black, 1934) ซึ่ง Nelson, D.W. and L.E. Sommers (1996) ได้อธิบายว่าวิธีดังกล่าว ใช้หลักการย่อยตัวอย่างด้วยความร้อนที่ได้จากปฏิกิริยาของกรดซัลฟิวริกกับน้ำไดแกซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งถูกออกซิไดซ์ด้วยกรดโครมิกที่มากเกินพอ ไทเทรตกรดโครมิกที่เหลือด้วยสารละลายเฟอร์ริซัลเฟต ซึ่งความร้อนที่เกิดขึ้นนี้ไม่สูงพอที่จะทำให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันเกิดขึ้นได้อย่างสมบูรณ์ Walkley and Black จึงได้ศึกษาวิธีวิเคราะห์นี้ในดิน 20 ตัวอย่าง พบว่าอินทรีย์คาร์บอนที่วิเคราะห์ได้มีค่าเฉลี่ยคิดเป็น 76% ของค่าจริง คำนวณเป็นค่าคงที่เท่ากับ 1.32 ใช้ในการคูณเพื่อชดเชยอินทรีย์คาร์บอนส่วนที่ไม่ทำปฏิกิริยา อย่างไรก็ตามมีนักวิจัยมากมายได้ทดลองเพื่อหาปริมาณอินทรีย์คาร์บอนจากดินหลายชนิดที่วิเคราะห์โดยวิธีนี้พบว่า มีค่าคงที่แตกต่างกันไปตั้งแต่ 1 – 2.86 ดังนั้นผลวิเคราะห์ที่คำนวณจากวิธีนี้จึงเป็นเพียงการประมาณอินทรีย์คาร์บอนเท่านั้น และสำหรับการวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุก็ได้จากการนำปริมาณอินทรีย์คาร์บอนที่ได้ไปคูณกับค่าคงที่ของ Van Bemmelen คือ 1.7241 ซึ่งอยู่บนสมมุติฐานว่าอินทรีย์วัตถุในดินประกอบด้วยอินทรีย์คาร์บอน 58 % ค่าคงที่ดังกล่าวยังไม่ใช่ค่าคงที่ที่เหมาะสมสำหรับดินแต่ละชนิด ดังนั้นวิธีการนี้จึงเป็นการประมาณค่าอินทรีย์วัตถุจากปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในดินเท่านั้น จากคำอธิบายข้างต้น จะเห็นได้ว่าวิธีวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอน และอินทรีย์วัตถุที่กลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ยใช้นั้นเป็นเพียงวิธีประมาณค่าอินทรีย์คาร์บอน และอินทรีย์วัตถุในดิน จึงเป็นเหตุให้เกิดข้อสงสัยว่าวิธีการวิเคราะห์นี้มีความเหมาะสมกับการวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์หรือไม่ นอกจากนี้ยังมีวิธีวิเคราะห์อื่นๆ อีกหรือไม่ ที่อาจจะเหมาะสมมากกว่านี้ ผู้วิจัยจึงได้ค้นคว้าหาวิธีที่เป็นสากล และมีความเหมาะสมมากกว่า พบว่าวิธีวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอนโดยการเผาตัวอย่างที่อุณหภูมิสูง และวัดปริมาณคาร์บอนที่ออกมา (Dry Combustion) เป็นวิธีวิเคราะห์หาปริมาณคาร์บอนที่มีอยู่จริงในตัวอย่างโดยตรง จึงมีความถูกต้อง และเหมาะสมกว่า แต่ห้องปฏิบัติการยังไม่มีเครื่องมือวิเคราะห์ดังกล่าวจึงไม่ใช้วิธีนี้ในการวิเคราะห์ในงานประจำ สำหรับอินทรีย์วัตถุ พบว่าวิธีวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุในพีท (AOAC Method 967.05, 2000) เป็นวิธีวิเคราะห์หาอินทรีย์วัตถุโดยตรง ซึ่งใช้หลักการเผาตัวอย่าง และหาปริมาณน้ำหนัที่หายไป หักลบด้วยน้ำหนักของ ความชื้นและสารระเหยอื่นๆ คำนวณหาปริมาณอินทรีย์วัตถุ ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีสากลสำหรับวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุที่มีอยู่ในพีท จำเป็นต้องศึกษาความเหมาะสมของวิธีดังกล่าวในการนำมาประยุกต์ใช้กับการวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์ งานวิจัยนี้จัดทำโดยมีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาหาเทคนิค วิธีการวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอน อินทรีย์วัตถุ ที่ถูกต้อง มีประสิทธิภาพ และเหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ รวมทั้งศึกษาปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลกระทบต่อผลวิเคราะห์ของอินทรีย์วัตถุตามวิธีวิเคราะห์ตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์ และวิธีมาตรฐานสากล



## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง(Mettler), ตู้อบลมร้อน(Memmert), เต้าเผา(Thermolyne), แอมโมเนียมเพอร์ริสซัลเฟต, 1,10ฟีแนนโทรลีน อินดิเคเตอร์, โฟแทสเซียมไดโครเมต, กรดซัลฟูริกเข้มข้น, ตัวอย่างวิเคราะห์ได้แก่กลูโคส, เซลลูโลส, แป้ง, ผงถ่าน, ตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์, แคลเซียมคาร์บอเนต, โฟแทสเซียมคลอไรด์, โฟแทสเซียมซัลเฟต, โฟแทสเซียมเพอร์มังกานेट, เพอร์ริสซัลเฟต, แอมโมเนียมซัลเฟต, ยูเรีย

### วิธีการ

1. พัฒนาวิธีวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอน จากวิธีวิเคราะห์ตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์ (พวงผกา สุทัศน์ ณ อยุธยา, 2548)

- 1.1 หาปริมาณกรดซัลฟูริกที่เหมาะสม โดยวิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์คาร์บอน ในตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆโดยวิเคราะห์ตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์ แต่ปรับปริมาณกรดซัลฟูริกเป็น 8, 10, 15, 20 และ 25 มิลลิลิตร สร้างกราฟ หาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดซัลฟูริกกับปริมาณอินทรีย์คาร์บอน
- 1.2 หาปริมาณสารละลาย  $K_2Cr_2O_7$  ที่เหมาะสม โดยวิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์คาร์บอน ในตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยวิเคราะห์ตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์ แต่ปรับเปลี่ยนปริมาณสารละลาย  $K_2Cr_2O_7$  1 N เป็น 8, 10, 15, 20 และ 25 มิลลิลิตร สร้างกราฟ หาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารละลาย  $K_2Cr_2O_7$  กับปริมาณอินทรีย์คาร์บอน
- 1.3 หาอัตราส่วนกรดซัลฟูริกกับสารละลาย  $K_2Cr_2O_7$  ที่เหมาะสม โดยสร้างกราฟระหว่างอัตราส่วนกรดซัลฟูริกกับสารละลาย  $K_2Cr_2O_7$  พิจารณาอัตราส่วนที่ให้ผลการวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอนสูงสุดสรุปผลการทดลอง
- 1.4 เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอนของวิธีที่พัฒนาขึ้น (อัตราส่วนของโฟแทสเซียมไดโครเมต 1 N ต่อกรดซัลฟูริกเข้มข้น เท่ากับ 1:1.5) กับวิธีเดิม (อัตราส่วนของโฟแทสเซียมไดโครเมต 1 N ต่อกรดซัลฟูริกเข้มข้น เท่ากับ 1:1) โดยวิเคราะห์ตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ 16 ตัวอย่าง โดยควบคุมสัดส่วนของโฟแทสเซียมไดโครเมต 1 N ต่อกรดซัลฟูริกเข้มข้น เท่ากับ 1:1 และ 1:1.5 ทำการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ทั้ง 2 วิธี โดยใช้สถิติ t-Test: Paired Two Sample for Means
2. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอน ที่พัฒนาจากวิธีตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์
  - 2.1 พิสูจน์ความถูกต้อง ( Accuracy ) ของวิธีวิเคราะห์ โดยชั่งกลูโคส แป้ง ผงถ่าน ที่รู้ค่าอินทรีย์วัตถุและอินทรีย์คาร์บอน ไม่ต่ำกว่า 10 ซ้ำ ดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอน และอินทรีย์วัตถุตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์ โดยควบคุมสัดส่วนของโฟแทสเซียมไดโครเมต 1 N ต่อกรดซัลฟูริกเข้มข้น เท่ากับ 1:1.5 บันทึกผล คำนวณ % Recovery
  - 2.2 พิสูจน์ความเที่ยง ( Precision ) ของวิธีวิเคราะห์ โดยชั่งตัวอย่างที่มีระดับอินทรีย์คาร์บอน ต่ำ กลาง สูง 10 ซ้ำ วิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอน และอินทรีย์วัตถุในคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์ โดยควบคุมสัดส่วนของโฟแทสเซียมไดโครเมต 1 N ต่อกรดซัลฟูริกเข้มข้น เท่ากับ 1:1.5 บันทึกผล และ



คำนวณ HORRAT เพื่อพิสูจน์ความเที่ยง

2.3 การหาช่วงความเป็นเส้นตรง และช่วงใช้งาน (Range and Linearity) โดยซึ่งผงถ่าน (Charcoal) ที่น้ำหนัก 0.001, 0.005, 0.01, 0.03, 0.05, 0.07, 0.09, 0.11, 0.13 กรัม วิเคราะห์หาอินทรีย์คาร์บอน ตามวิธีที่พัฒนาจากวิธีวิเคราะห์ตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์ นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟระหว่าง ปริมาณของคาร์บอน กับปริมาตรสารละลายเฟอร์ริสซัลเฟต 0.5N พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรง คำนวณหา Correlation coefficient (r)

2.4 การศึกษาหาค่าความเข้มข้นที่วัดได้ (Limit of Detection ; LOD) และความเข้มข้นที่สามารถ รายงานผลการวิเคราะห์ได้ (Limit of Quantitation ; LOQ) โดยซึ่งตัวอย่างที่ไม่มีอินทรีย์คาร์บอน 10 ซ้ำ วิเคราะห์ตามวิธีวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุในคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์ โดยควบคุมสัดส่วนของโพแทสเซียม ไดโครเมต 1 N ต่อกรดซัลฟูริกเข้มข้น เท่ากับ 1:1.5 บันทึกผล คำนวณหา LOD และ LOQ

3. ศึกษาสารเคมีและปุ๋ยเคมี ที่มีผลกระทบต่อผลการวิเคราะห์ โดยใช้วิธีวิเคราะห์ตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ย อินทรีย์ และวิธีวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุในพีท โดยจัดหาสารเคมี ได้แก่  $\text{FeSO}_4$ ,  $\text{KMnO}_4$ ,  $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{NaCl}$ ,  $\text{KCl}$  (ปุ๋ยสูตร 0-0-60),  $\text{K}_2\text{SO}_4$  (ปุ๋ยสูตร 0-0-50) และ  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (ปุ๋ยสูตร 21-0-0) ซึ่งเป็นสารเคมีหรืออินทรีย์ วัตถุที่อาจส่งผลกระทบต่อผลการวิเคราะห์ของทั้ง 2 วิธีวิเคราะห์ และ Urea (ปุ๋ยสูตร 46-0-0) ซึ่งแม้ว่าจะ เป็นสารอินทรีย์สาร แต่ในทางกฎหมายไม่ถือว่าเป็นปุ๋ยอินทรีย์เนื่องจากเป็นสารที่ได้จากกระบวนการผลิต ทางเคมี ทำการวิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์วัตถุ และอินทรีย์คาร์บอน ตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์ และ วิธีวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุในพีท พิจารณาความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอน อินทรีย์วัตถุ และ สรุปผลการทดลอง

4. เปรียบเทียบและพัฒนาวิธีวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุ ระหว่างวิธีวิเคราะห์ตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์ ที่ พัฒนาขึ้น (อัตราส่วนของโพแทสเซียมไดโครเมต 1N ต่อกรดซัลฟูริกเข้มข้นเท่ากับ 1:1.5) กับวิธีเดิม (อัตราส่วน ของโพแทสเซียมไดโครเมต 1 N ต่อกรดซัลฟูริกเข้มข้น เท่ากับ 1:1) และวิธีวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุในพีท โดย จัดหาตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ อยู่ในระดับต่ำ กลาง สูง (5% ถึง 80%) นำมาวิเคราะห์หา ปริมาณอินทรีย์วัตถุ ตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์ ที่พัฒนาขึ้น วิธีเดิม และวิธีวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุในพีท เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุ โดยใช้สถิติ t-test หาความสัมพันธ์ คำนวณเปอร์เซ็นต์คืนกลับ (% Recovery) และสรุปผลการทดลอง

ระยะเวลา ตุลาคม 2549 – กันยายน 2553

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

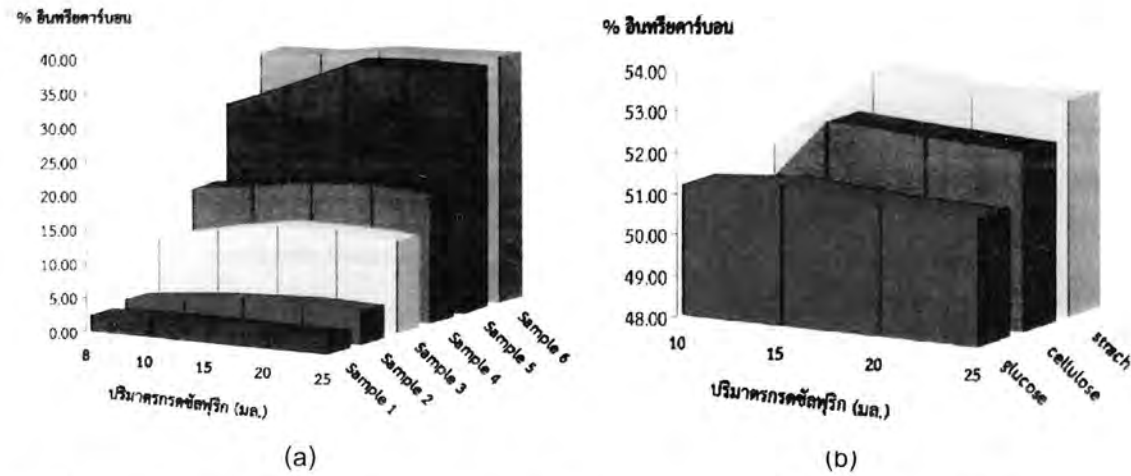
### ผลการทดลองและวิจารณ์

1. พัฒนาวิธีวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอนจากวิธีวิเคราะห์ตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์ (พวงผกา สุทัศน์ ณ อยุธยา, 2548)

1.1 หาปริมาณกรดซัลฟูริกที่ใช้ในการย่อยตัวอย่างที่เหมาะสม

จากการทดลองโดยใช้สารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต 10 มิลลิลิตร พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาตรของ

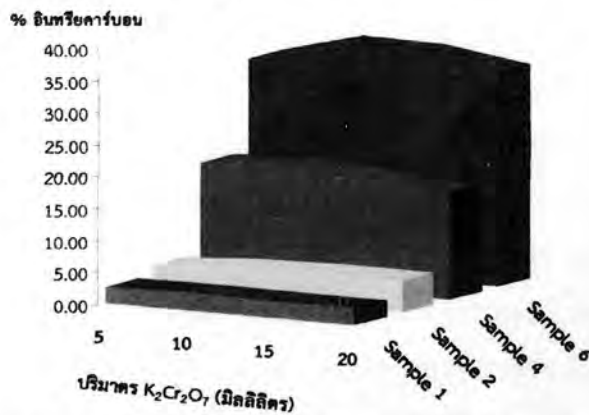
กรดซัลฟูริกเข้มข้นที่ใช้ในการย่อย จะทำให้ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนที่วิเคราะห์ได้เพิ่มขึ้น และจะเริ่มคงที่ที่ ปริมาตรของกรดซัลฟูริกเท่ากับ 15 มิลลิลิตร (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1. ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรกรดซัลฟูริกที่ใช้อยู่ และปริมาณอินทรีย์คาร์บอนที่ได้ใน (a) ตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ (b) กลูโคส (Glucose) เซลลูโลส (Cellulose) และ แป้ง (Starch)

### 1.2 หาปริมาณสารละลาย $K_2Cr_2O_7$ 1 N ที่เหมาะสม

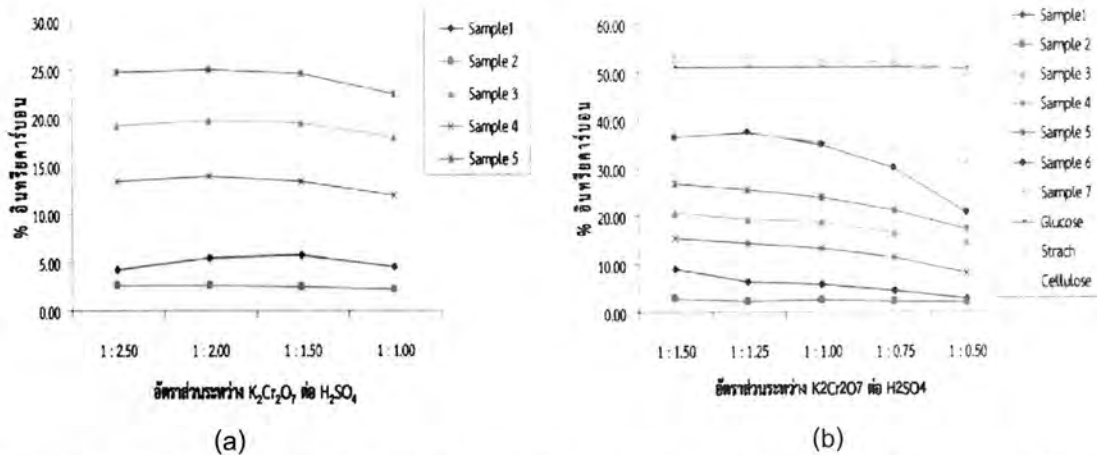
จากการทดลอง กำหนดให้ปริมาตรกรดซัลฟูริกเข้มข้นคงที่เท่ากับ 15 มิลลิลิตร และเติมสารละลาย โพแทสเซียมไดโครเมตปริมาตรแตกต่างกัน พบว่าปริมาตรของสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตที่ทำให้ผล การวิเคราะห์มีค่าสูงสุดคือ 10 มิลลิลิตร (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2. แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต และปริมาณ อินทรีย์คาร์บอนที่วิเคราะห์ ในตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์

### 1.3 หาอัตราส่วนกรดซัลฟูริกกับสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต ( $K_2Cr_2O_7$ ) ที่เหมาะสม

วิธีวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอนตามคู่มือการวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์กรมวิชาการเกษตร อาศัยหลักการ Walkley and Black โดยการไทเทรต  $Cr_2O_7^{2-}$  ที่เหลือด้วยสารละลายเฟอร์ริสซัลเฟต แต่จากการทดลองหา ปริมาณกรดซัลฟูริกเข้มข้น และสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตที่เหมาะสมนั้น พบว่าตัวอย่างบางชนิดมี ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนมากเกินกว่าจำนวน  $Cr_2O_7^{2-}$  ที่มีอยู่ในสารละลายทำให้ไม่สามารถวิเคราะห์หา ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนได้จึงจำเป็นต้องทดสอบหาอัตราส่วนระหว่างกรดซัลฟูริกกับสารละลายโพแทสเซียม ไดโครเมตที่เหมาะสม เพื่อให้สามารถวิเคราะห์ได้ครอบคลุมทุกระดับความเข้มข้นของอินทรีย์คาร์บอน



ภาพที่ 3. ความสัมพันธ์ระหว่าง ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนที่วิเคราะห์ และ อัตราส่วนของโพแทสเซียมไดโครเมต ต่อ กรดซัลฟูริกในตัวอย่างที่มีระดับความเข้มข้นต่างกัน

(a) โฟแทสเซียมไดโครเมต 10 มิลลิลิตร (b) โฟแทสเซียมไดโครเมต 20 มิลลิลิตร

จากภาพที่ 3 จะเห็นได้ว่าอัตราส่วน  $K_2Cr_2O_7 : H_2SO_4$  ที่ทำให้ผลวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอนมีค่าสูงที่สุดอยู่ในช่วง คือ 1:1.50 ถึง 1:2.00 ยกเว้นกลูโคส (Glucose) แป้ง (Starch) และเซลลูโลส (Cellulose) ซึ่งเป็นสารที่ถูกออกซิไดส์ได้ง่าย

จากการทดลองเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอนของตัวอย่างปุ๋ยที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ตั้งแต่ 1% ถึง 40% จำนวน 16 ตัวอย่าง โดยใช้วิธีที่พัฒนาขึ้น (อัตราส่วนของโพแทสเซียมไดโครเมต 1 N ต่อกรดซัลฟูริกเข้มข้น เท่ากับ 1:1.5) และวิธีเดิม (อัตราส่วนของโพแทสเซียมไดโครเมต 1 N ต่อกรดซัลฟูริกเข้มข้น เท่ากับ 1:1) พบว่าผลวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอนทั้ง 2 วิธี มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยวิธีที่พัฒนาขึ้นทำให้ผลการวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอนโดยเฉลี่ยเพิ่มขึ้น 9.46%

2. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอนตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์ โดยควบคุมสัดส่วนของโพแทสเซียมไดโครเมต 1 N ต่อกรดซัลฟูริกเข้มข้น เท่ากับ 1:1.5

### 2.1 พิสัยของความถูกต้อง (Accuracy)

เนื่องจากปุ๋ยอินทรีย์แต่ละแหล่งประกอบด้วยวัสดุที่แตกต่างกัน ดังนั้นการหาตัวอย่างที่เป็นตัวแทนของปุ๋ยอินทรีย์ในภาพรวมนั้นจึงทำได้ยาก ผู้วิจัยจึงนำตัวอย่างที่รู้ค่าและมีคุณสมบัติแตกต่างกันอย่างสิ้นเชิงมาเป็นตัวแทนของตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ในการวิเคราะห์ เพื่อให้ผลที่ได้สามารถครอบคลุมลักษณะที่ต่างกันของปุ๋ยอินทรีย์มากที่สุด ได้แก่ กลูโคส และแป้ง มีคุณสมบัติในการถูกออกซิไดส์ได้ง่าย และถ่าน ซึ่งมีคุณสมบัติในการถูกออกซิไดส์ได้ยาก จากผลการทดลองตามตารางที่ 1 พบว่า % Recovery สำหรับตัวอย่างที่ถูกออกซิไดส์ได้ยาก และง่าย เท่ากับ 72.69% และ 127.68% ตามลำดับ สามารถสรุปโดยภาพรวมได้ว่าความคลาดเคลื่อนมากที่สุดของผลการวิเคราะห์คือ  $\pm 30\%$



ตารางที่ 1. แสดงผลการพิสูจน์ความถูกต้องของการวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอนโดยวิธีตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์ โดยควบคุมสัดส่วนของโพแทสเซียมไดโครเมต 1 N ต่อกกรดซัลฟริกเข้มข้น เท่ากับ 1:1.5

ตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ยของ % OC	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	% OC จากสูตรอย่างง่าย	%Recovery
Glucose	51.19	0.10	40.00	127.98
Starch	52.82	0.21	44.17	119.58
Charcoal	72.69	0.78	100.00	72.69

## 2.2 พิสูจน์ความเที่ยง (Precision)

นำผลวิเคราะห์ที่ได้มาคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative Standard Deviation; RSD) เพื่อใช้ในการคำนวณค่า HORRAT (Horwitz's Ratio) ซึ่งเป็นอัตราส่วนของ %RSD ต่อค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ได้จากการทำนายตามสมการของ Horwitz (Predicted Horwitz RSD) เกณฑ์การยอมรับคือ  $HORRAT \leq 2$  ได้ผลการทดลองตามตารางที่ 2 พบว่าวิธีวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอนตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์ โดยควบคุมสัดส่วนของโพแทสเซียมไดโครเมต 1 N ต่อกกรดซัลฟริกเข้มข้น เท่ากับ 1:1.5 นั้น มีความเที่ยงโดยมีค่า HORRAT ผ่านเกณฑ์ประเมินทุกตัวอย่าง

ตารางที่ 2. แสดงผลการพิสูจน์ความเที่ยงของการวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอนโดยวิธีตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์ โดยควบคุมสัดส่วนของโพแทสเซียมไดโครเมต 1 N ต่อกกรดซัลฟริกเข้มข้น เท่ากับ 1:1.5

ตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ยของ % OC	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์	Predicted RSD	HORRAT	ผลการประเมิน
Sample 1	2.68	0.09	3.46	2.28	1.52	ผ่านเกณฑ์
Sample 2	19.22	0.54	2.83	1.69	1.67	ผ่านเกณฑ์
Glucose	51.19	0.10	0.20	1.46	0.14	ผ่านเกณฑ์
Starch	52.82	0.21	0.39	1.45	0.27	ผ่านเกณฑ์
Charcoal	72.69	0.78	1.07	1.38	0.77	ผ่านเกณฑ์

## 2.3 การหาช่วงความเป็นเส้นตรง และช่วงใช้งาน (Range and Linearity)

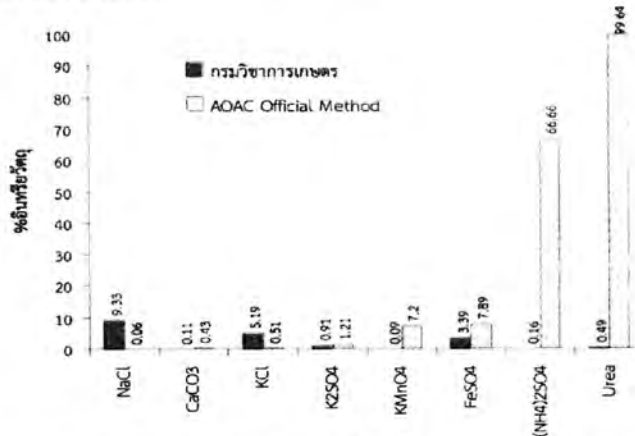
หาค่าปริมาณอินทรีย์คาร์บอนจากผลคูณของร้อยละอินทรีย์คาร์บอนเฉลี่ยกับน้ำหนักที่ชั่ง แล้วนำมาสร้างกราฟระหว่างปริมาณอินทรีย์คาร์บอน และปริมาณสารละลายเฟอร์ริซัลเฟตที่ใช้ไทเทรต หาช่วงปริมาณอินทรีย์คาร์บอนที่เป็นเส้นตรง โดยพิจารณาค่า Correlation coefficient ( $r \geq 0.995$ ) พบว่าความเข้มข้น 0-72 มิลลิกรัม มีค่า  $r$  เท่ากับ 1 ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ จึงเลือกเป็นช่วงความเข้มข้นสำหรับใช้งานในห้องปฏิบัติการ

2.4 การศึกษาหาค่าความเข้มข้นที่วัดได้ (Limit of Detection; LOD) และความเข้มข้นที่สามารถรายงานผลการวิเคราะห์ได้ (Limit of Quantitation; LOQ) พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.275 % และ 0.731 % ตามลำดับ

3. ศึกษาสารเคมี และปุ๋ยเคมี ที่มีผลกระทบต่อผลการวิเคราะห์ โดยใช้วิธีวิเคราะห์ตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์ (พวงผกา สุทัศน์ ณ อยุธยา, 2548) และวิธีวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุในพีท (AOAC Official Method, 967.05) จากการทดลองพบว่าผลการวิเคราะห์สารเคมีต่างๆ ของทั้ง 2 วิธีแตกต่างกัน และผลการวิเคราะห์สารเคมีทั้ง 2 วิธีไม่มีความสัมพันธ์กัน (ภาพที่ 5) นอกจากนี้ยังพบว่าวิธีตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์ ให้ผลการวิเคราะห์มากขึ้น เมื่อตัวอย่างปุ๋ยประกอบด้วย คลอไรด์ (เช่น NaCl, KCl) และเหล็ก ( $FeSO_4$ ) เป็น

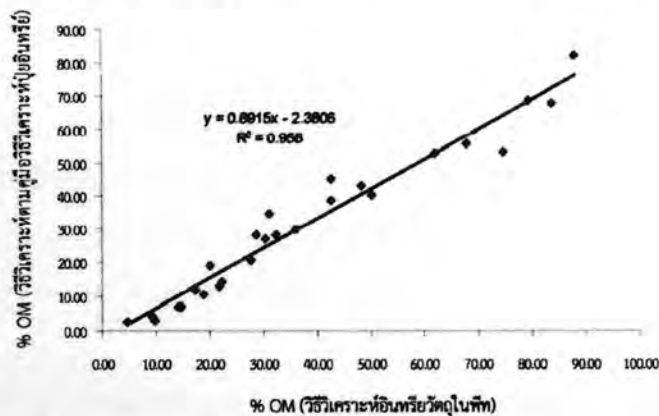


ส่วนประกอบ สำหรับวิธีวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุในพืชนั้นให้ผลการวิเคราะห์มากขึ้น เมื่อตัวอย่างปุ๋ยประกอบด้วย ซัลเฟต ( $K_2SO_4$ ) แมงกานีส ( $KMnO_4$ ) เหล็ก ( $FeSO_4$ ) แอมโมเนียมซัลเฟต ( $(NH_4)_2SO_4$ ) และยูเรีย (Urea) เป็นส่วนประกอบ โดยแอมโมเนียมซัลเฟต และยูเรีย ทำให้ผลการวิเคราะห์มีค่ามากขึ้นถึง 66.66% และ 99.64 % ตามลำดับ เป็นเหตุให้เกิดความผิดพลาดของผลการวิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์ที่มีสารทั้งสองเป็นส่วนประกอบ



ภาพที่ 5. เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์วัตถุในสารเคมี โดยวิเคราะห์ตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์ และวิธีวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุในพืช

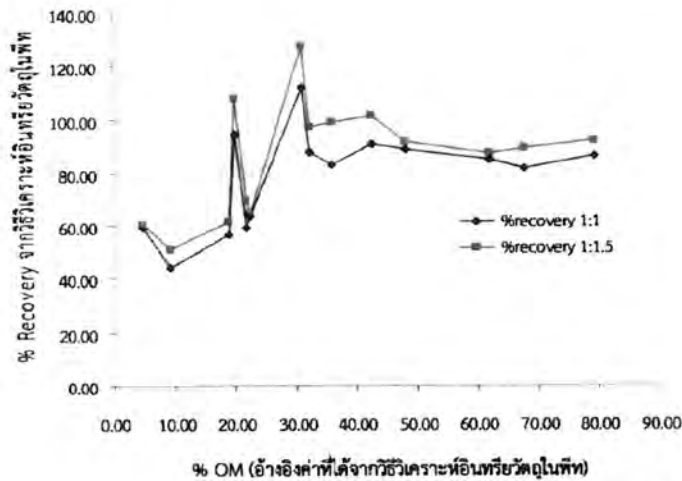
4. จากการเปรียบเทียบวิธีการวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุระหว่างวิธีวิเคราะห์ตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์และวิธีวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุในพืช พบว่าผลการวิเคราะห์จากทั้ง 2 วิธี แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ในทุกระดับความเข้มข้น เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง 2 วิธี พบว่าผลการวิเคราะห์ทั้ง 2 มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง (ภาพที่ 6) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation Coefficient : r) เท่ากับ 0.9788



ภาพที่ 5. แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณอินทรีย์วัตถุที่วิเคราะห์โดยวิธีวิเคราะห์ตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์ และวิธีวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุในพืช

เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์คืนกลับ (% Recovery) ตามภาพที่ 6 จะเห็นได้ว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นนั้นให้ผลการวิเคราะห์ที่ใกล้เคียงวิธีอ้างอิง (AOAC, 2000) มากกว่าวิธีเดิม โดยมีค่า Recovery เฉลี่ย 86.06 % เพิ่มจากเดิมวิธีซึ่งมี Recovery เฉลี่ย 78.46 % โดยในช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ 32 % ขึ้นไปจะมีค่า Recovery เฉลี่ย 98.49 % ความเข้มข้นตั้งแต่ 19 % - 32 % มีค่า Recovery เฉลี่ย 86.56 % และความเข้มข้นต่ำกว่า 19 % มีค่า Recovery เฉลี่ย 55.94 %





ภาพที่ 6. เปอร์เซนต์คืนกลับ ของผลการวิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์วัตถุระหว่างวิธีวิเคราะห์ตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์แบบเดิม (1:1) แบบที่พัฒนาขึ้น (1:1.5) โดยใช้วิธีวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุในพีทเป็นวิธีอ้างอิง

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

จากการพัฒนาวิธีวิเคราะห์และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอนในปุ๋ยอินทรีย์ เพื่อให้ได้เทคนิคการวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอน และอินทรีย์วัตถุ ที่ถูกต้อง เทียบตรง และเหมาะสม พบว่า อัตราส่วนระหว่างปริมาตรของสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต 1 N และปริมาตรของกรดซัลฟูริกเข้มข้น ( $K_2Cr_2O_7:H_2SO_4$ ) ที่ใช้ในการย่อยและออกซิไดซ์ตัวอย่าง แล้วให้ผลการวิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน สูงสุด คืออัตราส่วน 1:1.5 พิสูจน์ความถูกต้อง และความเที่ยงในสารมาตรฐานต่างๆ ที่มีคุณสมบัติในการถูกออกซิไดส์ง่ายที่สุด เพื่อให้ครอบคลุมองค์ประกอบในปุ๋ย ได้แก่ ผงคาร์บอน แปะ และกลูโคส พบว่า สารทั้ง 3 มี % Recovery เท่ากับ 72.69 % 119.58 % และ 127.98 % ตามลำดับ มีค่า HORRAT  $\leq 2$  ซึ่งผ่านเกณฑ์ยอมรับ มีช่วงที่เป็นเส้นตรงคือ 0-72 มิลลิกรัม โดยมีค่า Correlation coefficient เท่ากับ 1 ปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ของวิธีเท่ากับ 0.28 % และปริมาณต่ำสุดที่สามารถรายงานผลได้เท่ากับ 0.73% สำหรับการพิสูจน์ความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุโดยเทียบผลวิเคราะห์กับวิธีวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุในพีทนั้น พบว่า % Recovery เฉลี่ยเท่ากับ 86.06 % และจากการศึกษาองค์ประกอบที่ส่งผลกระทบต่อผลการวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุ พบว่า คลอไรด์ และเหล็ก ทำให้ผลวิเคราะห์ที่ได้จากวิธีวิเคราะห์ของกรมวิชาการเกษตรคลาดเคลื่อนไปจากค่าจริงเล็กน้อย ส่วน ซัลเฟต แมงกานีส เหล็ก แอมโมเนียมซัลเฟต ยูเรีย ทำให้ผลวิเคราะห์ที่ได้จากวิธีวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุในพีทคลาดเคลื่อนจากค่าจริง โดยแอมโมเนียมซัลเฟต และยูเรีย ทำให้ผลคลาดเคลื่อนจากค่าจริงมากถึง 66.66 % และ 99.64 % ตามลำดับ จากการทดลองสรุปได้ว่าวิธีวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอน และอินทรีย์วัตถุของกรมวิชาการเกษตรที่ได้รับการพัฒนาแล้ว มีความถูกต้อง เทียบตรง และเหมาะสม ในระดับหนึ่ง สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์เพื่อควบคุมให้เป็นไปตามกฎหมายได้ในระยะเริ่มต้น อย่างไรก็ตามผลที่ได้ยังไม่สามารถสอบกลับไปยังหน่วยงานมาตรฐานสากลได้ เนื่องจากสารเคมีที่ใช้ในการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ยังเป็นสารเคมีมาตรฐานเท่านั้น ไม่ใช่สาร/วัสดุอ้างอิงรับรอง วิธีวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอนนี้จึงมีความถูกต้องในเบื้องต้นเท่านั้น จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงโดยใช้สารอ้างอิงรับรอง (ถ้ามี) หรือใช้วิธีมาตรฐาน รวมทั้งศึกษา



องค์ประกอบของปุ๋ยอินทรีย์เพื่อให้วิธีวิเคราะห์มีความถูกต้อง เหมาะสม และเป็นไปตามมาตรฐานสากลมากยิ่งขึ้น

### การนำไปใช้ประโยชน์

เผยแพร่ให้กับหน่วยงานวิเคราะห์บริการปุ๋ยทั่วไป เพื่อใช้เป็นวิธีวิเคราะห์ รวมทั้งแนะนำวิธีที่เหมาะสม ขั้นตอน ข้อจำกัด และข้อสังเกตต่างๆ ของวิธีวิเคราะห์ ให้แก่ ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ยภาครัฐ และเอกชน รวมถึงสถาบันการศึกษาที่เกี่ยวข้อง ตลอดจนนำไปใช้เป็นกรณีศึกษา และข้อมูลประกอบการพิจารณา วิธีวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอน และอินทรีย์วัตถุ ในแนบท้ายประกาศกรมวิชาการเกษตรเกี่ยวกับวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์ เพื่อบังคับใช้ตามกฎหมาย

### เอกสารอ้างอิง

- กรมวิชาการเกษตร. 2552. *ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง การขอขึ้นทะเบียน การออกใบสำคัญ การขึ้นทะเบียน การขอแก้ไขรายการทะเบียนและการแก้ไขรายการทะเบียนปุ๋ยอินทรีย์ พ.ศ. ๒๕๕๒*. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม ๑๒๖ ตอนพิเศษ ๑๖๒ ง
- พวงมภา สุทัศน์ ณ อยุธยา. 2548. *คู่มือการวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์*. กรุงเทพฯ : ควิกปรีนท์ ออฟเซ็ท.
- จิตรา ชัยวิมล. 2545. *การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบทางเคมี*. กรุงเทพฯ : สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย.
- ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2519. *ปฐพีวิทยาเบื้องต้น*. กรุงเทพฯ : คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Bremner, J.M. and H. Lees. 1949. Part 2 the Extraction of Organic Matter from Soil by Reagents. *Studies on Soil Organic Matter*. 39: 274 – 279
- ISO/IEC 17025. 2005. General Requirements for the Competence of Testing and Calibration Laboratories.
- Nelson, D.W. and L.E. Sommers. 1996. *Methods of Soil Analysis Part 3: Chemical Methods*. USA: Soil Science Society of America, Madison. D.L. Sparks et al. (ed.): 961–1010
- Official Methods of Analysis of AOAC International. 2000. Official Method 938.02. *Official Methods of Analysis of AOAC International* 17: 21 - 24.
- Storer, D.A. 1984. A Simple High Sample Volume Ashing Procedure for Determining Soil Organic Matter. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 15: 759 - 772
- Walkley, A. and C.A. Black. 1934. An Examination Digestion Method for Determining Soil Organic Matter and Propose Modification of the Chromic Acid Titration Method. *Soil Sci.* 37:29-37