

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด ปีงบประมาณ 2558

-
1. ชุดโครงการวิจัย : วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
 2. โครงการวิจัย : การพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์พืชและปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
กิจกรรมที่ 2 : การวิจัยและพัฒนาวิธีวิเคราะห์ เพื่อให้ได้วิธีใหม่ที่รวดเร็ว แม่นยำ
ปลอดภัย และรักษาสิ่งแวดล้อม
กิจกรรมย่อย 2.2 : การพัฒนาชุดทดสอบอย่างง่าย เพื่อใช้ตรวจสอบคุณสมบัติเบื้องต้นของพืช
และปัจจัยการผลิต
 3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : 2.2.1 วิจัยและพัฒนาชุดตรวจสอบ อินทรีย์วัตถุของดิน
ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Research and Development of soil organic matter Test kit
 4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง	:	นางสาวเจนจิรา เทเวศร์วรกุล	สังกัด	กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี	กปผ.
ผู้ร่วมงาน	:	นางสาวสุภา โปธิจันทร์	สังกัด	กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี	กปผ.
		นางสาวพจมาลย์ แก้ววิมล	สังกัด	กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี	กปผ.
		นางสาวสงกรานต์ มะลิสอน	สังกัด	กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี	กปผ.
		นางสาวญาณธิชา จิตต์สะอาด	สังกัด	กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี	กปผ.
		นางสาวจิตติรัตน์ ชูชาติ	สังกัด	กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี	กปผ.

5. บทคัดย่อ

เนื่องจากปัจจุบันคำแนะนำปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินยังคงใช้ปริมาณอินทรีย์วัตถุเป็นตัวประเมินระดับความอุดมสมบูรณ์ของดิน ซึ่งในการวิเคราะห์ยังคงใช้วิธี Walkley and Black ที่ต้องทำในห้องปฏิบัติการและใช้เวลานานกว่าจะทราบผลวิเคราะห์ ทางกลุ่มวิจัยเกษตรเคมีจึงได้ใช้วิธีการของโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่สัมพันธ์กับคาร์บอนที่ถูกออกซิไดส์โดยมีสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์กับวิธีเดิมเท่ากับ ร้อยละ 79.89 ทำการตรวจสอบความใช้ได้ โดยการหา Range Linear Accuracy Precision ของ Working Standard ที่ใช้ทำแผ่นเทียบสีชุดตรวจสอบ พบว่า ให้ % Recovery เท่ากับ 98-102 % (AOAC, 1993) และ ค่าHORRATS <2 ซึ่งประเมินจากความแตกต่างระหว่างค่าที่วิเคราะห์ได้กับค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน โดยใช้ t-test และประเมินค่า $t < t_c$ ที่ความเชื่อมั่น 95 % แสดงว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับ ได้ Range และ Linearity ให้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง $R^2=0.9999$ พัฒนาจัดทำเป็นชุดตรวจสอบอินทรีย์วัตถุในดินขึ้น พร้อมทั้งทดสอบความถูกต้อง แม่นยำ และความพึงพอใจของผู้ใช้ พบว่า ชุดตรวจสอบสามารถตรวจสอบได้ถูกต้องมากกว่า 80% ให้ความสัมพันธ์เป็น

เส้นตรงระหว่างค่าที่ได้จากแผ่นเทียบสีและค่าวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ($R^2=0.7116$, $n=194$) จากการสอบถามความพึงพอใจพบว่า พบว่ามีความพึงพอใจในเรื่องของความปลอดภัย สะดวกและรวดเร็วในการใช้งาน

ชุดตรวจสอบอินทรีย์วัตถุในดินที่พัฒนาขึ้นนี้มีขนาดกะทัดรัด สามารถพกพาไปใช้ในภาคสนามได้อย่างสะดวก คล่องตัว ให้ผลการตรวจสอบเบื้องต้นที่ถูกต้อง รวดเร็ว และปลอดภัย ทำให้เกษตรกรสามารถตรวจสอบตรวจสอบระดับอินทรีย์วัตถุในเบื้องต้นได้อย่างรวดเร็วที่ระดับต่ำ กลางและสูง ทราบผลภายในเวลา 15 นาที เพื่อนำไปสู่การจัดการปุ๋ยต่อไป ขณะที่การส่งตัวอย่างวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการต้องรอนานถึง 14 วันทำการ ซึ่งไม่ทันตามกำหนดการปลูกพืช การใช้ชุดตรวจสอบทำการทดสอบในเบื้องต้นทำให้ประหยัดทั้งเวลา และค่าใช้จ่ายในการส่งวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการ

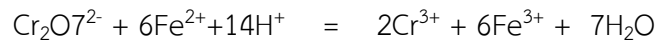
Abstracts

Today Organic Matter is important to recommend using fertilizers that spend long time to analyze by Walkley and Black method. Agricultures have to wait for long time to know their results. Chemistry Agricultural Group took Potassium Permanganate Oxidizable Carbon that related with soil organic matter with Walkley and Black ($R^2=0.7889$). Method Validation that investigated in Accuracy, Precision of working Standard for color chart found that % recovery is 98-102%, HORRAT >2 that are valid to use this method. The relationship of Range and Linearity are similar ($R^2=0.9999$). Use new method to develop test kit that have 80% accuracy, safety and convenience. The relationship of %OM color chart and laboratory is linearity ($R^2=0.7116$, $n=194$)

The developed test kit is small and portable. The application is very simple, rapid cheap and safety. Agricultures can be elementary to estimate the level of soil organic matter (low medium high) and get the results within 15 minutes. This will help them to manage fertilizer application instead of analyzing in laboratory which will take more than 14 days to get the results. Consequently, using the test kit will save time and budget compared to laboratory analysis.

6. คำนำ

ปัจจุบันการให้คำแนะนำปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินยังคงประเมินด้วยปริมาณอินทรีย์วัตถุ (กรมวิชาการ เกษตร, 2553) การวิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์วัตถุ มีหลายวิธีด้วยกัน (Schulte, 1995) ไม่ว่าจะเป็นการใช้วิธีการเผาไหม้ที่อุณหภูมิสูง (combustion) การเผาไหม้โดยการสูญเสียค่าน้ำหนัก (Loss on ignition) ซึ่งมีข้อดีคือไม่ต้องใช้สารเคมี รวมถึงการทำ Wet oxidation โดยวิธี Walkley and Black (1934) ที่ใช้กรดโครมิกมากเกินไปในการออกซิไดส์คาร์บอน



จากนั้นทำการไตเตรทด้วยสารประกอบของเหล็ก เพื่อวัดปริมาณโครเมตที่หายไปซึ่งทำปฏิกิริยาพอดีกับคาร์บอน ดูการเปลี่ยนสีซึ่งจะเปลี่ยนจากสีส้มจนถึงเขียวและกลายเป็นสีน้ำตาลแดงที่จุดยุติ

วรางคณาและคณะ (2549) ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุในดินโดยวิธี Walkley-Black ได้ Range ของการทดสอบอยู่ในช่วง 0.052-100.6% OM มีค่า Linearity ตั้งแต่ 0.052-100.6% และ Correlation coefficient (r) มีค่า 0.9993 ตรวจสอบ Accuracy โดยประเมินจากความแตกต่างระหว่างผลการทดสอบกับค่าจริงและประเมินจากช่วงของความเชื่อมั่นพบว่าอยู่ในเกณฑ์กำหนดโดยมีค่า Recovery 99.72 % ส่วนการตรวจสอบ Precision ประเมินจากค่า RSD โดยใช้ HORRAT (Horwitz's ratio) พบว่ามีค่า 0.37 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์กำหนด (Horwitz 's ratio ≤ 2) ที่ยอมรับได้สำหรับ LOD และ LOQ ของวิธีทดสอบมีค่า 0.09 และ 0.18 % ตามลำดับ จากการประเมินผลการทดสอบค่าวิเคราะห์ต่างๆพบว่าการวิเคราะห์ OM โดยวิธี Walkley-Black เป็นวิธีที่ให้ผลการทดสอบยอมรับได้และเป็นวิธีมาตรฐานสำหรับห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ดินวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุในดิน

จิตติมาและคณะ (2552) ทำการวิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์วัตถุด้วยวิธี Walkley-Black (1934) เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างวิธีวิเคราะห์ของชุดตรวจสอบและวิธีมาตรฐานที่ใช้วิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ พบว่ามีความสัมพันธ์เชิงบวกกับ โดยให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (The coefficient of correlation : r) เท่ากับ 0.81** ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ โดยทดสอบความเที่ยง (Precision) มีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative standard deviation, RSD) ไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์ และทดสอบความถูกต้อง (Accuracy) มี Recovery อยู่ในช่วง 80-120 เปอร์เซ็นต์ พร้อมทั้งจัดทำชุดตรวจสอบอินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์ที่พัฒนาขึ้นนี้มีขนาดกะทัดรัด สามารถพกพาไปใช้ในภาคสนามได้อย่างสะดวก และให้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้อง รวดเร็ว ทราบผลภายในเวลา 40 นาที



ขณะที่มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ใช้วิธีการของ Walkley and Black (1934) จัดทำชุดตรวจสอบอินทรีย์วัตถุในดินขึ้น เพื่อหาปริมาณอินทรีย์วัตถุในเบื้องต้น โดยการเทียบสีจากแผ่นเทียบสี พร้อมทั้งให้คำแนะนำปุ๋ยตามที่ระบุไว้



	ช่วงสี	ระดับอินทรีย์วัตถุในดิน (ความอุดมสมบูรณ์)*๑	ปริมาณอินทรีย์วัตถุ (เปอร์เซ็นต์)*๑	ข้อเสนอแนะการใช้ปุ๋ย
>3.5% High สูง	สีฟ้า	สูง	มากกว่า 3.50	ไม่ต้องใส่ปุ๋ยอินทรีย์
2.5% Medium ปานกลาง	สีเขียวอ่อน	ปานกลาง	1.60-3.50	อาจต้องใส่ปุ๋ยอินทรีย์บ้าง
1.5% Low ต่ำ	สีเหลือง	ต่ำ	0.60-1.59	จำเป็นต้องใส่ปุ๋ยอินทรีย์
0.5% Very low ต่ำมาก	สีส้ม	ต่ำมาก	0-0.59	จำเป็นต้องใส่ปุ๋ยอินทรีย์

*ระดับและปริมาณอินทรีย์วัตถุ ใช้สังเกตเทียบสีกับห้องวิเคราะห์ดินและปุ๋ย โครงการพัฒนาวิชาการดินปุ๋ยและสิ่งแวดล้อม. กาดวิชาปฐพีวิทยา. คณะเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การหาปริมาณอินทรีย์วัตถุด้วยวิธีของ Walkley and Black (1934) เป็นการวิเคราะห์หาในส่วนของอินทรีย์วัตถุในดิน ตั้งแต่เศษซากพืชซากสัตว์และจุลินทรีย์ รวมถึงกรดอินทรีย์ที่ได้จากกิจกรรมของจุลินทรีย์ ซึ่งอัตราเร็วของการย่อยสลายขึ้นกับอุณหภูมิ ความชื้นและสภาพแวดล้อม (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2548)

รูปของอินทรีย์วัตถุในดินสามารถจำแนกออกได้เป็น 3 ส่วน (DeLL, 2009) คือ ส่วนที่คงทนต่อการย่อยสลาย (Resistance C) ต้องใช้เวลากว่าศตวรรษในการย่อยสลาย คาร์บอนส่วนที่ย่อยสลายช้า (Slow C) สามารถย่อยสลายได้โดยใช้เวลาหลายสิบปี และส่วนที่ย่อยสลายเร็ว (Active C หรือ Labile C) สามารถย่อยสลายได้ภายในระยะเวลาสองถึงสามเดือน คาร์บอนในรูปนี้เป็นส่วนของคาร์บอนที่โครงสร้างไม่ซับซ้อน ชนิดความยากง่ายของการละลาย ขึ้นกับอุณหภูมิและสภาวะที่เหมาะสมต่อกิจกรรมการของจุลินทรีย์ มีความสัมพันธ์กับสมบัติ

ด้านชีวภาพของดินไม่ว่าจะเป็น การหายใจ มวลชีวภาพของจุลินทรีย์ และการเกาะกลุ่มกันของเม็ดดิน รวมถึงปริมาณอินทรีย์คาร์บอนทั้งหมด (Weil, 2003) ทั้งยังสามารถประเมินคุณภาพเพื่อการจัดการดินได้ (Culman, 2012)

ปัจจุบันได้มีการพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณคาร์บอนที่ละลายได้ (Labile Carbon) โดยวัดปริมาณคาร์บอนที่ถูกออกซิไดส์ด้วยโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต (KMnO_4) หรือต่างพับทิม ซึ่งเป็นวิธีที่ประหยัด สะดวก รวดเร็ว สามารถนำไปใช้ในภาคสนามได้ วิธีการของ KMnO_4 อาศัยหลักการของ Bayer's Test ที่ใช้ในการสลายพันธะคู่และพันธะสามของสารประกอบไฮโดรคาร์บอน แล้วได้สีที่จางลง (เกษรและสุนันท์, 2554) โดยเขย่าตัวอย่างดินด้วย 0.02M KMnO_4 2 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนประมาณ 10 นาที จากนั้นดูดตัวอย่าง dilute จากความเข้มข้นเดิมแล้วนำไปวัดด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร (Weil, 2003) เพื่อหาปริมาณคาร์บอนที่ถูกออกซิไดส์ Lucas และ Weil (2012) พบว่าปริมาณคาร์บอนที่ถูกออกซิไดส์โดยโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตให้สหสัมพันธ์สูงกับปริมาณคาร์บอนทั้งหมดในดินอย่างมีนัยสำคัญ ($R^2=0.944^{**}$) ขณะที่ Culman (2012) สหสัมพันธ์กับปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน ($R^2=0.52$) จากการวิเคราะห์ดินที่ทำการเกษตรวิเคราะห์ด้วยวิธีดังกล่าวพบว่าปริมาณ POC ได้เท่ากับ 1.27, 1.23, 1.13, และ 1.13 กรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ ส่วนดินที่ไม่ทำการเกษตรนั้นวิเคราะห์ปริมาณ POC ได้เท่ากับ 2.52, 2.50, 2.32 และ 2.29 กรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ (ศุภธิดา, 2553) ปริมาณการเปลี่ยนแปลง POXC (Permanganate Oxidizable Carbon) ขึ้นกับการใช้ประโยชน์ที่ดิน ในกรรมวิธีที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปแบบการใช้ประโยชน์ที่ดิน มักส่งผลให้ปริมาณ POXC สูงกว่า POC (Weil, 2003)

Card (2004) ได้ทำการศึกษาปริมาณ active carbon โดยวิธีการเทียบสีระหว่างวิธีของเปอร์แมงกาเนต และ Ethylenedinitro Tetraacetic acid พบว่าวิธีทั้งสองให้สหสัมพันธ์สูงกับค่าวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุในดินถึงร้อยละ 82 สามารถใช้ในการคาดคะเนปริมาณอินทรีย์วัตถุในห้องปฏิบัติการได้อย่างแม่นยำถึงร้อยละ 62 มีศักยภาพในการนำมาทำเป็นชุดตรวจสอบอย่างง่ายได้

7. วิธีดำเนินการ

1.1 อุปกรณ์

- 1.1. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 1.2. เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์
- 1.3. เครื่องเขย่า
- 1.4. เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆที่จำเป็นใช้ในการปฏิบัติการวิเคราะห์

2. สารเคมี

2.1 Ammonium ferrous sulfate ($\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), AR grade

2.2 O- phenanthroline indicator ($\text{C}_{18}\text{H}_8\text{N}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$), AR grade

2.3 Potassium dichromate ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), AR grade

2.4 Sulfuric acid 98% (H_2SO_4), AR grade

2.5 Potassium Permanganate (KMnO_4), AR grade

3. ตัวอย่างดินที่มีระดับอินทรีย์วัตถุตั้งแต่ 0.5-1.0, 1.0-2.0, 2.01-3.0, 3.01-4.0, 4.01-5.0 %

วิธีการ

เก็บตัวอย่างดินที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุต่ำ กลาง สูง โดยแบ่งตามระดับอินทรีย์วัตถุตั้งแต่ 0.5-1.0, 1.0-2.0, 2.01-3.0, 3.01-4.0, 4.01-5.0 % เตรียมการศึกษาวิธีพัฒนาชุดตรวจสอบ ดังนี้

1. ศึกษาความสัมพันธ์ของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์วัตถุระหว่างวิธี Walkley-Black ในห้องปฏิบัติการ และวิธีของชุดตรวจสอบ โดยเปลี่ยนบิวเรตเป็นการไตเตรทด้วยหลอดฉีดยา พร้อมทั้งศึกษาการปรับลดปริมาณกรด ขั้นตอนสำหรับการวิเคราะห์ด้วยวิธีดังกล่าว ศึกษาความเสถียรและข้อจำกัดในการใช้งาน

2. ศึกษาความสัมพันธ์ของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์วัตถุระหว่างวิธี Walkley-Black ในห้องปฏิบัติการ และวิธีของการหาปริมาณคาร์บอนที่ละลายได้โดยวิธีโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต

2.1 ทำการวิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์วัตถุด้วยวิธี Walkey and Black ในห้องปฏิบัติการ

2.2 ทำการวิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์วัตถุด้วยวิธี Permanganate Oxidizable Carbon ในห้องปฏิบัติการ

2.3 หาความสัมพันธ์โดยการพล็อตกราฟระหว่างวิธีวิเคราะห์ทั้งสอง

3. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีชุดตรวจสอบโดยศึกษาค่า Precision Accuracy Linear Range ดังนี้

3.1 การทดสอบความเที่ยง (Precision) ของวิธีวิเคราะห์ แสดงความใกล้เคียงของชุดข้อมูลที่ทดสอบ ตัวอย่างเดียวหลายครั้ง ทำการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ระดับต่ำ กลาง สูง (0.0005, 0.001 และ 0.002) ระดับละ 10 ซ้ำ นำไปวัดด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เพื่อวัดความเข้มข้นของแมงกานีสในสารละลายนำผลการวิเคราะห์ที่ได้มาคำนวณ ค่าเฉลี่ย (Mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพันธ์ (% RSD)

$$\% \text{ RSD} = \frac{\text{SD}}{\text{Mean}} \times 100$$

Mean

3.2 การตรวจสอบค่าความถูกต้อง (Accuracy) ของวิธีวิเคราะห์ แสดงความใกล้เคียงกันของผลการวัดกับค่าจริง โดยทำการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ระดับต่ำ กลาง สูง

(0.0005, 0.001 และ 0.002) ระดับละ 10 ซ้ำ นำไปวัดด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เพื่อวัดความเข้มข้นของแมงกานีสในสารละลายนำผลวิเคราะห์ที่ได้มาคำนวณ ค่า % Recovery

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีของชุดตรวจสอบ}}{\text{ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐาน}} \times 100$$

3.3 การศึกษา Range และ Linearity ของวิธี โดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต 5 ระดับความเข้มข้น (0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mM) ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ นำไปวัดด้วยเครื่อง UV-VIS spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร Plot กราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ (แกน y) กับค่าความเข้มข้นของแมงกานีสในสารละลายมาตรฐาน (แกน x) พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรงจากสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เพื่อหา Range/Linearity

- 4 จัดทำผลิตภัณฑ์ชุดตรวจสอบอินทรีย์วัตถุของดินพร้อมทั้งทดสอบจริงในภาคสนาม
 - 4.1 เตรียมน้ำยา OM สำหรับวิเคราะห์ตัวอย่าง ซั่ง KMnO₄ 3.1586 กรัม คนให้ละลายแล้วเติมลงในขวดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตร พร้อมทั้งศึกษา stability ในระหว่างการใช้งาน
 - 4.2 เตรียมน้ำกลั่น บรรจุในขวดขนาด 100 มิลลิลิตร
 - 4.3 เตรียมอุปกรณ์สำหรับชุดตรวจสอบได้แก่ ขวดแก้วมีฝาปิด ซ้อน ที่ปาด ถุงมือ หลอดฉีดยาขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร
 - 4.4 จัดทำแผ่นเทียบสีและคำแนะนำ
 - 4.5 บรรจุกล่องและทดสอบการใช้งานในภาคสนาม โดยการจัดทำแบบสอบถามความพึงพอใจการใช้งานชุดตรวจสอบ

ระยะเวลาและสถานที่ดำเนินการ

ระยะเวลา : ตุลาคม 2558 – กันยายน 2559

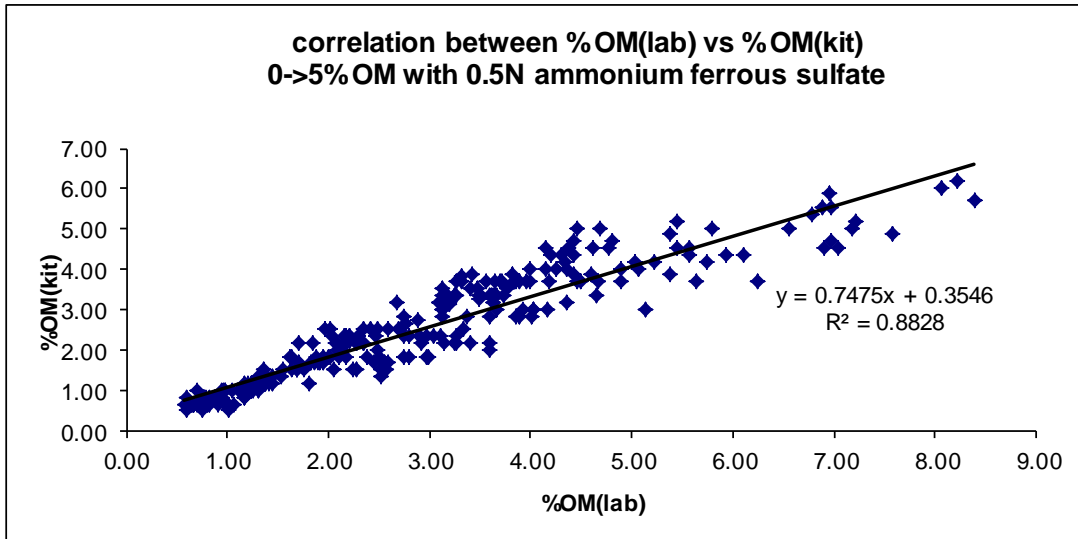
สถานที่ดำเนินการ : กลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

8. ผลการทดลอง

1. ศึกษาความสัมพันธ์ของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์วัตถุระหว่างวิธี Walkley-Black ในห้องปฏิบัติการและวิธีของชุดตรวจสอบ

เนื่องจากห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำได้ทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุโดยวิธี Walkley and Black (1934) แล้ว จึงเลือกศึกษาความสัมพันธ์ของวิธีวิเคราะห์

ในห้องปฏิบัติการและวิธีของชุดตรวจสอบซึ่งเปลี่ยนขั้นตอนการไตเตรท จากการใช้บิวเรตมาเป็นหลอดฉีดยาเพื่อจะนำไปทดสอบในภาคสนาม ซึ่งพบว่าให้สหสัมพันธ์สูงที่ $R^2=0.8828$



ภาพที่ 1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการวิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์วัตถุด้วยวิธี Walkey and Black โดยวิธีในห้องปฏิบัติการ(ใช้บิวเรต)และวิธีการไตเตรทด้วยหลอดฉีดยา

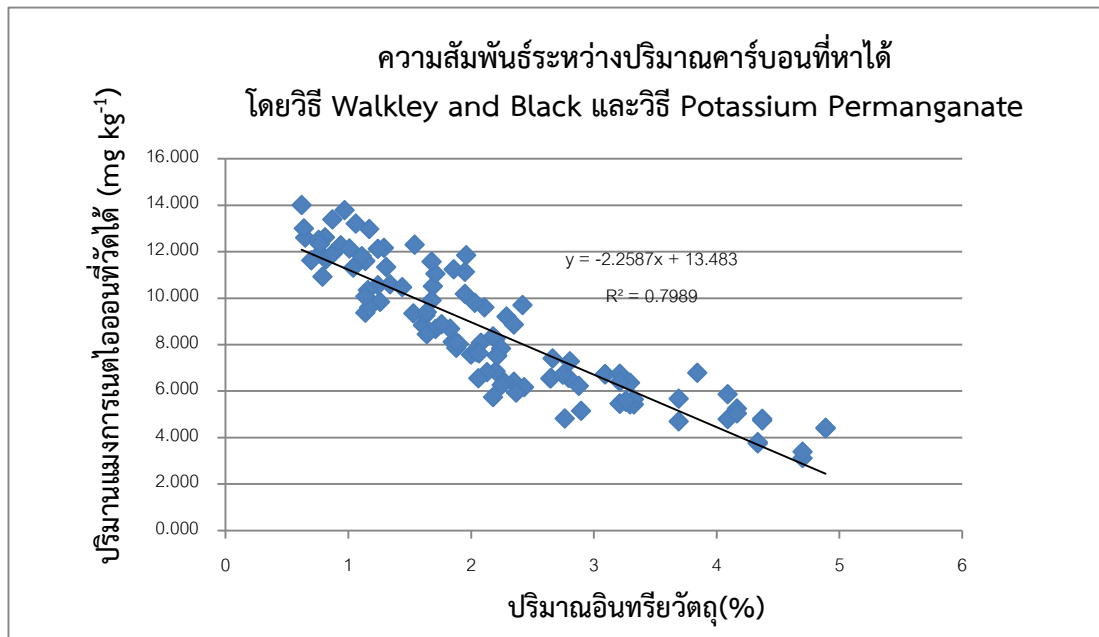
□ เมื่อทำการศึกษาปริมาณกรดที่ใช้ในชุดตรวจสอบพบว่า ไม่สามารถลดปริมาณกรดเข้มข้น เนื่องจากการใช้กรดในปริมาณที่ต่างกันให้ปริมาณอินทรีย์วัตถุในแต่ละดินแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จึงได้เลือกเอาวิธีของโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตคาร์บอน (Culman, *et al.* 2012) มาเป็นต้นแบบในจัดทำกรตรวจสอบอินทรีย์วัตถุอย่างง่ายในดิน เนื่องจากมีขั้นตอนที่สามารถทำได้ง่ายและไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม

2. ศึกษาความสัมพันธ์ของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์วัตถุระหว่างวิธี Walkley-Black ในห้องปฏิบัติการและวิธีของการหาปริมาณคาร์บอนที่ละลายได้โดยวิธีโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต



ภาพที่ 2 แสดงวิธีของการหาปริมาณคาร์บอนที่ละลายได้โดยวิธีโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต

จากการศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณอินทรีย์วัตถุโดยวิธีเดิม Walkley and Black และวิธีโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตออกซิไดส์คาร์บอน พบว่าให้สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.7989 ดังภาพที่ 3 ทำนองเดียวกันกับ Lucas และ Weil (2012) พบว่าปริมาณคาร์บอนที่ถูกออกซิไดส์โดยโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตให้สหสัมพันธ์สูงกับปริมาณคาร์บอนทั้งหมดในดินอย่างมีนัยสำคัญ ขณะที่ Culman (2012) พบสหสัมพันธ์กับปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน





ภาพที่ 3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณอินทรีย์วัตถุที่ได้จากวิธี Walkley and Black และปริมาณแมงกานัตไอออนที่เหลือจากการออกซิไดส์คาร์บอนโดยโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต

จากสหสัมพันธ์ดังกล่าว สามารถจำแนกระดับอินทรีย์วัตถุเพื่อใช้เป็นต้นแบบในการจัดทำแผนเทียบสี ได้เป็นต่ำ กลาง และสูง ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงระดับปริมาณอินทรีย์วัตถุด้วยวิธีในห้องปฏิบัติการและวิธีโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต

สีที่ปรากฏ	POXC (mg kg ⁻¹)	%OM	ระดับ
	<134	<1.0	ต่ำ
	151	1.0-2.0	กลาง

	169	1.5-2.0	สูง
	>169	>2.5	สูงมาก

3. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี

เนื่องจากวิธีการหาคาร์บอนที่ละลายน้ำได้ยังคงเป็นวิธีใหม่ จึงไม่มีตัวอย่างดินอ้างอิง การตรวจสอบความใช้ได้จึงทำได้เพียงการหา Accuracy Precision Range Linearity ในสารละลายมาตรฐานที่นำมาทำเป็น working standard เท่านั้น

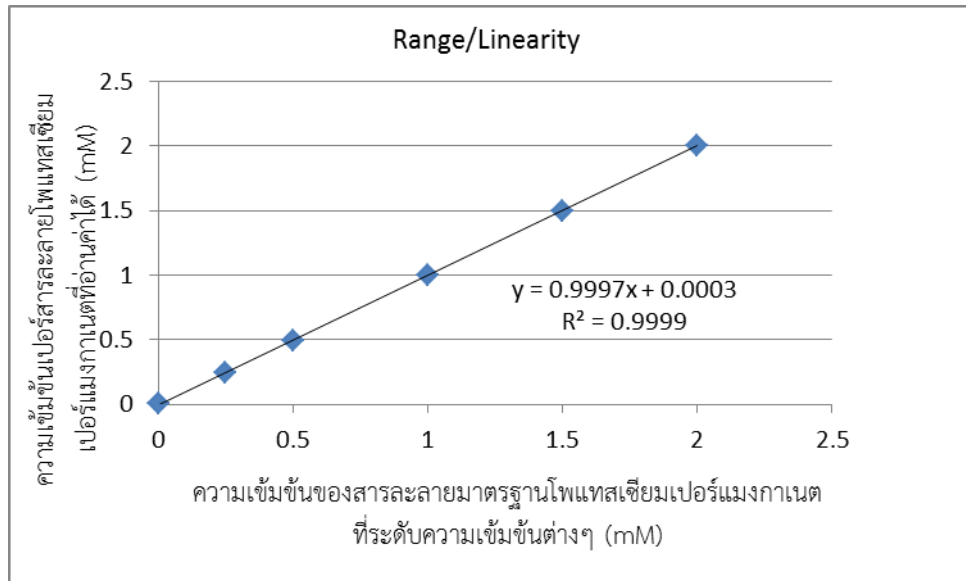
3.1 การหา Accuracy และ Precision โดยทำการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต ที่ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ ต่ำ (0.5mM) กลาง (1.0 mM) และสูง (2.0 mM) ผลที่ได้เป็นไปดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 การประเมิน Accuracy Precision Range Linearity ในสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต

ระดับความเข้มข้น	%recovery	ช่วงความเชื่อมั่น	เกณฑ์กำหนด	HORRAT	เกณฑ์กำหนด
ต่ำ (0.5 mM)	99.21	-0.0424	98-102 %	1.67	<2
กลาง (1.0 mM)	100.67	1.0174	(AOAC , 1993)	1.98	
สูง (2.0 mM)	100.11	2.0095		0.66	

จากตาราง พบว่าเกณฑ์การยอมรับ % Recovery เท่ากับ 98-102 % (AOAC, 1993) ประเมินความแตกต่างผลการวิเคราะห์ระหว่างค่าที่วิเคราะห์ได้กับค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน โดยใช้ t-test และประเมินค่า $t < t_c$ ที่ความเชื่อมั่น 95 % ซึ่งทุกระดับให้ค่า HORRATS น้อยกว่า 2 แสดงว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับ

3.2 การหา Range/Linearity โดยทำการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ความเข้มข้น 6 ระดับ คือ 0.0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mM ให้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง $R^2=0.9999$



ภาพที่ 4 Range/Linearity ของสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต

4. การจัดทำชุดตรวจสอบ ดำเนินการทดสอบพร้อมทั้งศึกษาการใช้งาน



ภาพที่ 5 ชุดตรวจสอบอินทรีย์วัตถุในดินพร้อมคำแนะนำการใช้งาน

4.1 ศึกษาน้ำหนักช้อน โดยการชั่งดิน พบว่าให้น้ำหนักเฉลี่ยอยู่ที่ 2.33 ± 0.46 กรัม

4.2 ศึกษาวิธีการใช้งานชุดตรวจสอบ โดยการนำตัวอย่างดินที่มีความเข้มข้น ต่ำ กลาง สูงมาทำการทดสอบด้วยชุดตรวจสอบ

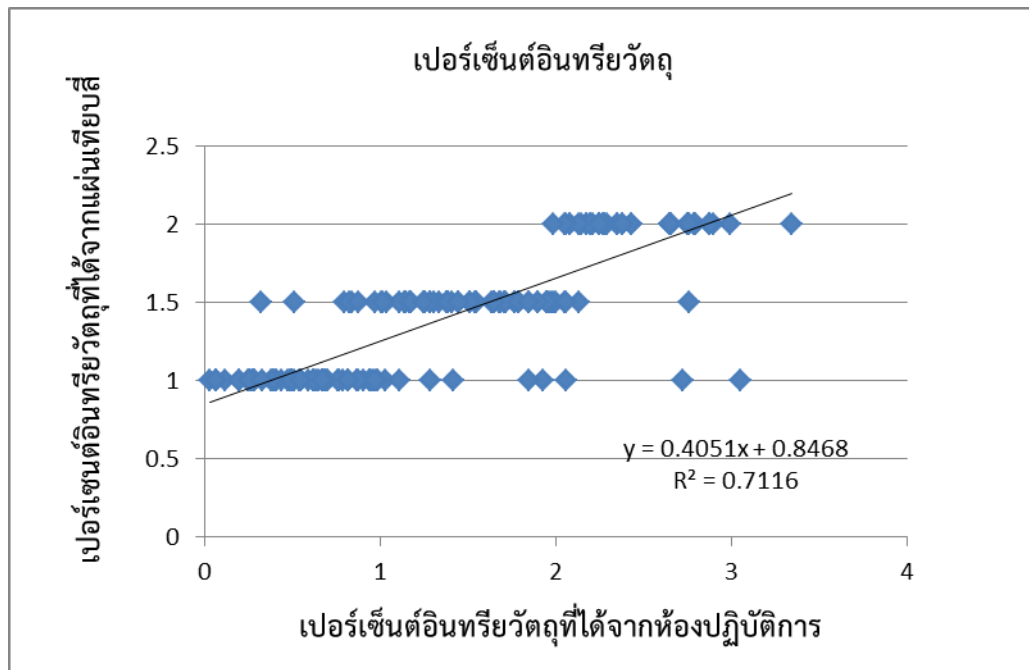


(a)

(b)

ภาพที่ 6 (a) การทดสอบใช้งานชุดตรวจสอบ (b) สีของน้ำยา OM ที่ได้จากการสกัดตัวอย่างดินที่มีความเข้มข้นของอินทรีย์วัตถุต่ำ กลาง สูง ตามลำดับ

พร้อมทั้งเปรียบเทียบค่าที่ได้จากชุดตรวจสอบและ %OM ที่ได้ในห้องปฏิบัติการ พบว่า ชุดตรวจสอบสามารถตรวจสอบได้ถูกต้องมากกว่า 80% ให้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง ($R^2=0.7116$) ดังภาพที่ 7



ภาพที่ 7 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์อินทรีย์วัตถุที่ได้จากห้องปฏิบัติการและชุดตรวจสอบ

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1. ได้ทราบความสัมพันธ์ของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์วัตถุระหว่างวิธี Walkley-Black ในห้องปฏิบัติการและวิธีของชุดตรวจสอบ (ไตเตรทด้วยหลอดชนิดยา) พบว่าให้สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.8828 รวมถึงข้อจำกัดการใช้งานของวิธีดังกล่าวในการนำไปใช้ในภาคสนาม

2. ได้ความสัมพันธ์ของปริมาณอินทรีย์วัตถุโดยวิธีเดิม Walkley and Black และวิธีโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตออกซิไดส์คาร์บอน พบว่าให้สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.7989 สีของสารละลายมาตรฐานจะเปลี่ยนแปลงไปเร็วมากเมื่อได้รับแสง โดยเปลี่ยนจากสีม่วงชมพูเป็นแดง ในขณะที่สีที่ได้จากตัวอย่างยังคงเป็นม่วงอมชมพู จึงไม่เหมาะที่จะใช้สารละลายมาตรฐานในการเทียบสี จำเป็นที่จะต้องมีแผ่นเทียบสีเพื่อให้ใกล้เคียงกับสีของสารละลายมาตรฐานที่เตรียมใหม่และสีของตัวอย่างดินที่สกัดเสมอ

3. ได้วิธีต้นทุนต่ำสำหรับชุดตรวจสอบอินทรีย์วัตถุที่สะดวก รวดเร็ว และไม่ทำลายสิ่งแวดล้อม แต่ทั้งนี้ยังคงต้องปรับแผ่นเทียบสีให้มีความชัดเจนมากขึ้น รวมทั้งมีการ calibrate ซ้อนตักดินด้วยกระบอกตวง เพื่อให้มีความแม่นยำในเรื่องของน้ำหนักมากยิ่งขึ้น และเพิ่มปริมาณขวดเขย่าให้มากขึ้นเพื่อรองรับตัวอย่างที่มีปริมาณมาก

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ได้ชุดตรวจสอบอินทรีย์วัตถุในดินที่ผ่านการตรวจสอบความถูกต้องร้อยละ 80 โดยนำข้อมูลจากการประเมินผลมาปรับปรุงแก้ไขให้มีการใช้งานได้ง่ายขึ้น และเพียงพอต่อความต้องการวิเคราะห์ตัวอย่าง ทั้งนี้เพื่อให้เกษตรกรสามารถทราบปริมาณอินทรีย์วัตถุภายในระยะเวลาเพียง 15 นาที โดยไม่ทำลายสิ่งแวดล้อม

11. คำขอบคุณ (ถ้ามี)

กราบขอบพระคุณผู้เชี่ยวชาญจิตินา ยลาภูรานนท์ ผู้อำนวยการกลุ่มวิจัยเกษตรเคมี หัวหน้ากลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพดิน น้ำและปุ๋ย ที่ได้ให้คำแนะนำในงานวิจัยชิ้นนี้ ขอขอบคุณ นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการ ปฏิบัติการ รวมทั้งเจ้าหน้าที่ประจำกลุ่มงานที่สนับสนุนงานวิจัยนี้มาโดยตลอด และที่ขาดไม่ได้คือ พี่รัชดาวัลย์ อัมมินทร์ หัวหน้างานวิเคราะห์ดิน กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สวพ.4 ที่ให้ความร่วมมือในการทดสอบการใช้งาน ส่งผลให้งานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอกราบขอบพระคุณมา ณ ที่นี้ด้วย

12. เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2553. **คำแนะนำการใช้ปุ๋ยกับพืชเศรษฐกิจ**. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
 เกสร พะลัง และ สุนันท์ ชัยชนะกุล. 2554. เคมีอินทรีย์. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.
 คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2548. **ปฐพีเบื้องต้น**. ภาควิชาปฐพีวิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพฯ.

- จิตติมา ยถาภูษานนท์, วรณรัตน์ ชุตติบุตร, สงกรานต์ มะลิสอน, อมรา หาญจวนิช และจรรยา ประศาสน์ศรีสุภาพ.
2552. การพัฒนาชุดตรวจสอบอินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์. กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร.
- วรางคณา สระบัว, ยุพิน จิตต์สะอาด, ชรินทร์น์ สุวรรณสม, สุภา โพธิจันทร์และสรพรเพชญ์ อิมพัฒน์.2549. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุในดิน. รายงานเรื่องเต็มผลการทดลองที่สิ้นสุดปีงบประมาณ 2549. กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี. สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.
- ศุภจิตา อ่าทอง, 2553. การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ Permanganate Oxidizable Carbon เพื่อใช้ในการวัดปริมาณอินทรีย์วัตถุในการประเมินความอุดมสมบูรณ์ของดิน. รายงานผลการวิจัยมหาวิทยาลัยแม่โจ้. ภาควิชาทรัพยากรดินและสิ่งแวดล้อม คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 37หน้า.
- Card S. 2004. Evaluation of two Field Methods to Estimate Soil Organic Matter in Alberta Soils. Alberta Agriculture, Food and Rural Development Conservation and Development Branch.
- 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. Vol. 76. No.2.: 494-504.
- Dell, C.J. 2009. Potential for quantification of biologically active soil carbon with potassium permanganate. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**. Vol. 40 : 1604-1609.
- Lucas, S.T. and R.R. Weil. 2012. Can a Labile Carbon Test be Used to Predict Crop Responses to Improved Soil Organic Matter Management. *Agronomy Journal*. Vol.104: pp 1160-1170.
- Schulte, E.E. 1995. Chapter 8 Recommended Soil Organic Matter Tests. In Recommended Soil Testing Procedures For The Northeastern United States, 2nd Ed., Northeastern Regional Publication No. 493. Cooperative Extension, University of Delaware College of Agriculture & Natural Resources.
- Walkley, A. and I. A. Black. 1934. An examination of Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci*. 37: 29-37.

Weil. R.R., K.R.Islam, M.A. Stine, J.B. Gruver and S.E. Samson-Liebig. 2003. Estimating active carbon for soil quality assessment: A simplified method for laboratory and field use. American Journal of Alternative Agriculture. Vol.18. No.1: 3-17.