DOA TOGETHER

Hearing for Changing, Acting for Moving forward

กรมวิชาการเกษตร

# ผลการปฏิบัติงาน ประจำปี 2564

## กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร







# ANNUAL REPORT 2021

## AGRICULTURAL PRODUCTION SCIENCE RESEARCH AND DEVELOPMENT DIVISION

ISBN : 978-974-436-966-6

https://qr.page/g/1zcMvQJilDj

เล่ม 2

เล่ม
2

# ผลการปฏิบัติงาน ประจำปีงบประมาณ 2564
# กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร (ANNUAL REPORT 2021)

ISBN : 978-974-436-966-6

## คณะผู้จัดทำ

**คณะที่ปรึกษา :**

| | | |
|---|---|---|
| นางจิราพรรณ | ทองหยอด | ผู้อำนวยการกองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร |
| นางสาวพนิดา | ไชยยันต์บูรณ์ | ผู้เชี่ยวชาญด้านวิเคราะห์และทดสอบ |
| นายประชาธิปัตย์ | พงษ์ภิญโญ | ผู้อำนวยการกลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร |
| นางสาววรรณรัตน์ | ชุติบุตร | ผู้อำนวยการกลุ่มวิจัยเกษตรเคมี |
| นางสาวศุภกาญจน์ | ล้วนมณี | ผู้อำนวยการกลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา |
| นางสาววนิดา | โนบรรเทา | ผู้อำนวยการกลุ่มบริหารโครงการวิจัย |
| นางอุชฎา | สุขจันทร์ | ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตรขอนแก่น |

**คณะผู้จัดทำและประสานงาน :**

| | | |
|---|---|---|
| นางสาวณัฐธิดา | ทองนาค | กลุ่มบริหารโครงการวิจัย |
| นางสาวยศวดี | เม่งเอียด | กลุ่มบริหารโครงการวิจัย |
| นางสาวสุนารี | แก้วดี | กลุ่มบริหารโครงการวิจัย |
| นางสาวนีลุบล | จันทชุม | กลุ่มบริหารโครงการวิจัย |
| นางสาวฤทัยรัตน์ | น้อยจาด | กลุ่มบริหารโครงการวิจัย |

จำนวนพิมพ์: 50 เล่ม
พิมพ์เมื่อ: สิงหาคม 2565
สถานที่ติดต่อ: กลุ่มบริหารโครงการวิจัย กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900
โทรศัพท์ 0 2940 5754 ต่อ 2115 และ 2117
โทรสาร 0 2579 157

# คำนำ

เอกสาร “ผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2564 กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร” ได้จัดทำขึ้นเพื่อรวบรวม และเผยแพร่ผลงานวิจัยที่ได้ดำเนินการศึกษาวิจัยตามแผนงาน/โครงการวิจัยของกรมวิชาการเกษตร และการนำผลงานวิจัยของกรมวิชาการเกษตรที่กลุ่มเป้าหมายนำไปใช้ประโยชน์เพื่อพัฒนาการเกษตรประจำปีงบประมาณ 2564 ประกอบด้วยผลการดำเนินงานของกลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา และศูนย์วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางกา รเกษตรขอนแก่น โดยมีกลุ่มบริหารโครงการวิจัยเป็นผู้ประสานงาน รวบรวมและดำเนินการตีพิมพ์ผลการดำเนินงานของกลุ่มวิจัยต่างๆ จำนวน 2 เล่ม รวม 75 เรื่อง

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร หวังเป็นอย่างยิ่งว่าเอกสารผลการปฏิบัติงานประจำปีฉบับนี้จะเกิดประโยชน์ต่อภาครัฐ ภาคเอกชน เกษตรกร ตลอดจนนักวิชาการและผู้สนใจทั่วไป ให้สามารถนำงานวิจัยไปประยุกต์ใช้ และต่อยอดงานวิจัยได้อย่างมีประสิทธิภาพอันจะเป็นประโยชน์ต่อประเทศชาติในการพัฒนางานวิจัยต่อไป และขอขอบคุณผู้เชี่ยวชาญด้านวิเคราะห์และทดสอบ ผู้เชี่ยวชาญด้านดินและปุ๋ย กลุ่มบริหารโครงการวิจัย นักวิชาการเจ้าของผลงาน และผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องในการดำเนินงานให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีไว้ ณ โอกาสนี้ด้วย

(นางจิราพรรณ ทองหยอด)
ผู้อำนวยการกองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
กรมวิชาการเกษตร
๒ สิงหาคม 2565

# สารบัญ


**กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร** **หน้า**

1 ศึกษาสารพิษตกค้างในพืชผัก พืชที่ปลูกในน้ำ พืชหัวใต้ดิน พืชสมุนไพรและพืชตระกูลกะหล่ำ 2
*บุญทวีศักดิ์ บุญทวี*

2 ศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างในผลไม้: พืชตระกูลส้ม (ส้มเขียวหวาน, ส้มโอ และมะนาว) ลิ้นจี่ ลำไย ชมพู่และฝรั่ง 20
*วะนิดา สุขประเสริฐ*

3 การประเมินความเสี่ยงจากการใช้สารกำจัดแมลงแลมบ์ดา-ไซฮาโลทริน (lambda-cyhalothrin) ต่อผู้ใช้ผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม 36
*อำนาจ กะฐินเทศ*

4 การประเมินผลกระทบของสารตกค้างไกลโฟเซต อะทราซีน และอะลาคลอร์ในดิน 51
*มลิสา เวชยานนท์*

5 การประเมินผลกระทบของสารตกค้างในแม่น้ำเจ้าพระยาและท่าจีน 63
*จันทิมา ผลกอง*

6 การประเมินผลกระทบสารกำจัดวัชพืชอะทราซีนตกค้างในไร่ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 76
*ปภัสรา คุณเลิศ*

7 การประเมินผลกระทบจากสารกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสต่อสุขภาพเกษตรกรในพื้นที่ปลูกผักจังหวัดนครปฐม 90
*สิริพร เหลืองสุชนกุล*

8 การประเมินผลกระทบสารกำจัดวัชพืชพาราควอตตกค้างในไร่ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต่อสุขภาพเกษตรกร 106
*ปภัสรา คุณเลิศ*

9 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์กลุ่มสารป้องกันกำจัดโรคพืชในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช : ไตรไซคลาโซล 122
*ทัศนี อัฏฐพรพงษ์*

**กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี**

10 ศึกษาเกณฑ์คลาดเคลื่อนจากค่าความไม่แน่นอนของการวัดปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ 132
*นันทกานต์ ขุนโหร*

11 ศึกษาเกณฑ์คลาดเคลื่อนจากค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ 140
*ศุภากร ดวนใหญ่*

12 ศึกษาเกณฑ์คลาดเคลื่อนจากความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์โพแทสเซียมทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ 147
*ชฎาพร คงนาม*

13 ศึกษาเกณฑ์คลาดเคลื่อนจากค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียมออกไซด์ แมกนีเซียมออกไซด์ และกำมะถันในปุ๋ยเคมีด้วยเทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี 154
*พงศ์พิศ แก้วสุข*

# สารบัญ

**กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี (ต่อ)** **หน้า**


14 ศึกษาเกณฑ์คลาดเคลื่อนจากค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์อินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี 171
*ศุภัคชญา ทาหาร*

15 ศึกษาเกณฑ์คลาดเคลื่อนจากค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์คลอไรด์ในปุ๋ยเคมี 177
*ศุภัคชญา ทาหาร*

16 พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โบรอนในปุ๋ยเคมีด้วยเทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี 182
*อาธิยา ปุ่นประโคน*

17 พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โบรอนในดินด้วยเทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี 195
*จิตติรัตน์ ชูชาติ*

18 พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โบรอนในพืชด้วยเทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี 208
*สุวลักษมิ์ ไชยทอง*

19 พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดินด้วยเทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี 220
*พจมาลย์ ภู่สาร*

20 พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โพแทสเซียม โซเดียม แคลเซียม และแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน ด้วยเทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี 230
*สุภา โพธิจันทร์*

21 พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์เหล็ก แมงกานีส สังกะสี และทองแดงที่เป็นประโยชน์ในดินด้วยเทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี 245
*สงกรานต์ มะลิสอน*

22 พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ซิลิคอนในดินด้วยเทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี 259
*จิตติรัตน์ ชูชาติ*

23 พิสูจน์เอกลักษณ์ และวิเคราะห์องค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมีด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ 270
*ชฎาพร คงนาม*

24 วิเคราะห์หาปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมีด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ 281
*ชฎาพร คงนาม*

25 พิสูจน์เอกลักษณ์ และสมบัติทางเคมีและกายภาพของสารปรับปรุงดินชนิดปูนขาว โดยเทคนิคอินฟาเรดย่านใกล้ 289
*สงกรานต์ มะลิสอน*

26 พิสูจน์เอกลักษณ์ และสมบัติทางเคมีและกายภาพของสารปรับปรุงดินชนิดโดโลไมค์โดยเทคนิคอินฟาเรดย่านใกล้ 303
*สุภา โพธิจันทร์*

# สารบัญ


**กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี (ต่อ)** **หน้า**

27 พิสูจน์เอกลักษณ์ และสมบัติทางเคมีและกายภาพของสารปรับปรุงดินชนิดปูนมาร์ล โดยเทคนิคอินฟาเรดย่านใกล้ 318
*ญาณธิชา จิตต์สะอาด*

28 ศึกษาหาค่ากำหนดของเหล็ก และทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินอ้างอิงด้วยเทคนิค Inductively coupled plasma–isotope dilution mass spectrometry (ICP–IDMS) 333
*กัญฐณา คล้ายแก้ว*

29 ศึกษาหาค่ากำหนดของเหล็ก และทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิงด้วยเทคนิค Inductively coupled plasma–isotope dilution mass spectrometry (ICP–IDMS) 345
*กัญฐณา คล้ายแก้ว*

30 เปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์เคมี และปุ๋ยหินฟอสเฟตด้วยวิธีโดยตรงและวิธีโดยอ้อม 357
*เจนจิรา เทเวศร์วรกุล*

31 พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด และหาค่าคงที่เพื่อประเมินความเค็มของน้ำทางการเกษตร 373
*จิตติรัตน์ ชูชาติ*

32 พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์กรดอะมิโนที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช 384
*สุพิศสา ทองเขียว*

33 การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid (GA3) ในผลิตภัณฑ์วัตถุเคมีการเกษตร 403
*เพชรรัตน์ ศิริวิ*

34 ศึกษาหาปริมาณฮอร์โมน indole acetic acid (IAA) gibberellic acid(GA3) และธาตุอาหารในกล้วยน้ำว้า 421
*สาธิดา โพธิ์น้อย*

35 การศึกษาและพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยธาตุอาหารรอง และธาตุอาหารเสริมในรูปที่ในละลายน้ำได้ผ่านโปรแกรมการทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการ 433
*จรีรัตน์ กุศลวิริยะวงศ์*

**ศูนย์วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตรขอนแก่น**

36 การจัดการสารละลายธาตุอาหารต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของมะเขือเทศเชอรี่ พริกขี้หนู ผลใหญ่ พริกหยวก แตงโมไร้เมล็ด และแตงกวาญี่ปุ่น ในระบบโรงเรือน 449
*อรัญญ์ ขันติยวิชย์*

37 พัฒนาเครือข่ายผู้มีส่วนได้ส่วนเสียผ่านกระบวนการเรียนรู้การผลิตมันสำปะหลังจังหวัดขอนแก่น 460
*สรรเสริญ เสียงใส*

**นิทรรศการหมุนเวียนเพื่อแสดงผลงานวิจัยและผลงานตามนโยบายของกองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร** 476

# กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร

# ศึกษาสารพิษตกค้างในพืชผัก พืชที่ปลูกในน้ำ พืชหัวใต้ดิน พืชสมุนไพร และพืชตระกูลกะหล่ำ

# Monitoring Pesticide Residues in aquatic plants, tuberous, herbs, and brassica vegetables

*บุญทวีศักดิ์ บุญทวี จินตนา ภู่มงกุฎชัย สุพัตรี หนูสังข์ ศศิณิฎา คงแช่มดี ประพันธ์ เคนท้าว*

*Boonthaweesak Boonthawee Jintana Poomongkutchai Supattri Noosang Sasinida Khongchamdee Praphn kenthao*

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

## ABSTRACT

Monitoring sample of aquatic vegetables, tuberous plants, herbs and brassica vegetables total 701 samples from markets in the area central of Thailand in 2017 to 2021. For analysis of 225 pesticide residues. Aquatic vegetables 204 samples, 50 samples or 24.5% of samples pesticide residues were found 0.1-2.92 mg/kg. Tuberous plants 210 samples, 33 samples or 15.7% of samples pesticide residues were found 0.1-0.46 mg/kg and 12 times found exceeded the MRL. Herbs 202 samples, 109 samples or 53.9% of samples pesticide residues were found 0.01-50.30 mg/kg and 68 times exceeded the MRL. Brassica 85 samples, 9 samples or 10.6% of samples pesticide residues were found 0.01-0.11 mg/kg. and 1 time exceeds the MRL. Some pesticide residues that detected in some samples Thailand, Codex, EU and Japan did not set the MRL. And some pesticide residues were found exceed the MRL risk assessment found that HQ (Hazard quotient) was less than 1 meaning that pesticide residues were found still be safe for consumers. Washing vegetables and using heat for cooking can reduce pesticide residues as well. Data from this monitoring let to know that vegetables in the market still found pesticide residues and exceed the MRL. Therefore both the public and private sectors should be attention on correct use of pesticides by farmers. In particular Department of Agriculture should strictness on plant production certification of Good agricultural practice (GAP) to reduce the chance of pesticide residues exceed the standard (MRL) especially the export crops. The countries for export such as European Union (EU) set very low MRL.

**Keywords :** Monitoring

## บทคัดย่อ

สุ่มเก็บตัวอย่าง พืชที่ปลูกในน้ำ พืชหัวใต้ดิน พืชสมุนไพร และพืชตระกูลกะหล่ำ จากแหล่งจำหน่ายในปี 2560 ถึงปี 2564 ในพื้นที่ภาคกลาง จำนวนรวม 701 ตัวอย่าง ตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างจำนวน 225 ชนิด เป็นพืชที่ปลูกในน้ำ ได้แก่ ผักบุ้ง ผักกะเฉด สายบัว ไหลบัวหือรากบัว จำนวน 204 ตัวอย่าง พบสารพิษตกค้างจำนวน 50 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 24.5 ปริมาณที่พบ 0.01-2.92 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พืชหัวใต้ดิน ได้แก่ หอมแดง กระเทียม หอมหัวใหญ่ หัวไชเท้า ข่า ขิง กระชาย เผือก ขมิ้นขาว ขมิ้นเหลือง มันเทศ จำนวน 210 ตัวอย่าง พบสารพิษตกค้าง 33 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 15.7 ปริมาณที่พบ 0.01-0.46 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณที่พบเกินค่า MRL รวม 12 ครั้ง พืชสมุนไพร ได้แก่ กะเพรา โหระพา ผักชีลาว ยี่หร่า สะระแหน่ ผักชี ผักชีฝรั่ง ตะไคร้ ผักแขยง ชะพลู ผักแพว แมงลัก จำนวน 202 ตัวอย่าง ตรวจพบสารพิษตกค้าง 109 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 53.9 ปริมาณที่พบ 0.01-50.30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณที่พบเกินค่า MRL รวม 68 ครั้ง สาเหตุของการพบปริมาณสารพิษตกค้างเกินค่า MRL ในพืชกลุ่มนี้บ่อยครั้งอาจเกิดจากเกษตรกรเก็บเกี่ยวผลผลิตก่อน PHI ที่กำหนดในฉลาก พืชกลุ่มนี้ส่วนใหญ่ใช้ในการปรุงอาหาร และใช้ปริมาณน้อยโอกาสที่จะบริโภคเกินอัตราจึงน้อย พืชตระกูลกะหล่ำ ได้แก่ กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก บร็อคโคลี่ ผักกาดเขียวปลี จำนวน 85 ตัวอย่าง พบสารพิษตกค้าง 9 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 10.6 ปริมาณที่พบ 0.01-0.11 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณที่พบเกินค่า MRL 1 ครั้ง สารพิษตกค้างที่ตรวจพบในตัวอย่างบางชนิด ไม่ได้มีการกำหนดค่า MRL ทั้ง Thai, Codex, EU และ Japan และสารพิษตกค้างบางชนิดพบในปริมาณที่สูงและเกินค่า MRL แต่เมื่อทำการประเมินความเสี่ยง พบว่า ค่า HQ (Hazard quotient) มีค่าน้อยกว่า 1 นั้นหมายความว่า สารพิษตกค้างที่ตรวจพบ ยังคงมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ซึ่งในการล้างทำความสะอาดผักและการใช้ความร้อนเพื่อประกอบอาหาร ยังสามารถช่วยลดปริมาณสารพิษตกค้างลงได้อีกด้วย ข้อมูลที่ได้ในการสุ่มตรวจตัวอย่างพืชผักในครั้งนี้ ทำให้ทราบว่ายังคงมีสารพิษตกค้างในพืชบางชนิด เกินปริมาณค่า MRL ดังนั้นทั้งภาครัฐและเอกชนต้องให้ความสำคัญ เรื่องการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ถูกต้องของเกษตรกร โดยเฉพาะกรมวิชาการเกษตรควรเพิ่มความเข้มงวด ต่อการรับรองการผลิตพืช (GAP) เพื่อลดโอกาสที่จะพบปริมาณสารพิษตกค้างเกินค่ามาตรฐาน โดยเฉพาะพืชที่ผลิตเพื่อการส่งออก ประเทศผู้ซื้อเช่นกลุ่มสหภาพยุโรปมีการกำหนดค่า MRL ไว้ต่ำมาก


## คำนำ

ในปัจจุบันปฏิเสธไม่ได้ว่า การเพิ่มขึ้นของจำนวนประชากรโลก ทำให้ความต้องการอาหารมีปริมาณเพิ่มขึ้นตามไปด้วยอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ จึงมีความจำเป็นต้องหาวิธีการเพื่อเพิ่มปริมาณผลผลิต ให้เพียงพอต่อความต้องการบริโภค เพราะฉะนั้นผู้ผลิตเองก็พยายามนำเทคโนโลยี รวมถึงนวัตกรรมต่างๆมาใช้เพื่อเพิ่มศักยภาพการผลิต รวมไปถึงการผลิตพืชก็เช่นเดียวกัน เกษตรกรเองก็ต้องมีการพัฒนาใช้เทคโนโลยีและปัจจัยการผลิต เพื่อเพิ่มปริมาณ และลดความเสียหายของผลผลิต หนึ่งในปัจจัยที่นำมาใช้เพื่อเพิ่มศักยภาพการผลิตก็คือ สารเคมีกำจัดศัตรูพืช ถึงแม้ในปัจจุบันประเทศไทยได้มีการส่งเสริมใช้ระบบการเกษตรดีที่เหมาะสม (Good Agriculture Practice : GAP) เพื่อควบคุมคุณภาพผลผลิตทางการเกษตร และเมื่อผลผลิตถูกส่งไปยังแหล่งจำหน่าย ก็ควรมีการตรวจติดตามเพื่อเป็นการเฝ้าระวัง กลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ที่มีหน้าที่และความรับผิดชอบ ในการวิจัยและค้นคว้า เกี่ยวกับชนิดและปริมาณของสารพิษตกค้าง ในผลิตผลและผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร จึงได้มีการตรวจติดตามโดยการสุ่มเก็บตัวอย่างผลผลิตทางการเกษตรได้แก่ พืชที่ปลูกในน้ำ พืชหัวใต้ดิน พืชสมุนไพร และพืชตระกูลกะหล่ำ จากแหล่งจำหน่ายในจังหวัดต่างๆ เพื่อนำมาตรวจวิเคราะห์หาสารพิษตกค้าง ตามวิธีการตรวจวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการ ซึ่งได้รับการรับรอง ISO 17025/2017 ซึ่งมีขอบข่ายของการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างทั้งสิ้นจำนวน 225 ชนิด

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1) ตู้อบ และเตาเผา, centrifuge tubes ขนาด 15, 50 มิลลิลิตร
2) autosampler vials for GC,HPLC ขนาด 1.8 มิลลิลิตร
3) เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิดทศนิยม 2 ตำแหน่ง และ 5 ตำแหน่ง
4) เครื่องบดสับตัวอย่าง (food processor)
5) เครื่องผสมตัวอย่าง (Stephan, เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)
6) อุปกรณ์ดูด-จ่ายสารละลาย (auto pipette) ขนาด 10-100 ไมโครลิตร, 20-200 ไมโครลิตร 100-1000 ไมโครลิตร
7) เครื่องแก้วชนิดและขนาดต่างๆ เช่น volumetric flask, beaker, cylinder
8) เครื่อง Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC-MSMS) 9) เครื่องลดปริมาตรโดยการเป่าด้วยแก๊สไนโตนเจน (nitrogen evaporator)

### สารเคมี

1) สารมาตรฐานของสารพิษตกค้างจำนวน 213 ชนิด
2) Acetonitrile ชนิด Pesticide grade (J.T baker)
3) Water HPLC grade
4) Anhydrous Magnesium sulfate (ACS powder-Fisher) เผาที่ 500°C นาน 5 ชั่วโมง
5) Sodium chloride ชนิด Analytical grade (Merck)
6) SPE sorbent ชนิด Primary-Secondary-Amine :PSA ( varian)
7) Di Sodium Hydrogen Citrate
8) Tri Sodium Citrate Dihydrate
9) Graphite Carbon black (GCB)
10) Formic acid

### วิธีการ

1. **สุ่มเก็บตัวอย่างจากแหล่งจำหน่าย**

สุ่มเก็บตัวอย่าง พืชที่ปลูกในน้ำ พืชหัวใต้ดิน พืชสมุนไพร และพืชตระกูลกะหล่ำ โดยอ้างอิงการจัดกลุ่มพืชของสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช., 2559) จากแหล่งจำหน่ายโดยสุ่มเก็บตัวอย่างในปี 2560 ถึงปี 2564 ดังนี้

1) ปี 2560 สุ่มเก็บตัวอย่างพืชที่ปลูกในน้ำ 3 ชนิด จำนวน 204 ตัวอย่าง แบ่งเป็น ผักบุ้ง 92 ตัวอย่าง ผักกระเฉด 70 ตัวอย่าง และผักหรือไหลบัวจำนวน 42 ตัวอย่าง ในพื้นที่จังหวัด นครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรี สมุทรสาคร สมุทรปราการ สุพรรณบุรี อยุธยา และอ่างทอง

2) ปี 2561 สุ่มเก็บตัวอย่างพืชหัวใต้ดิน 11 ชนิด จำนวน 210 ตัวอย่าง แบ่งเป็น หอมแดง 22 ตัวอย่าง กระเทียม 22 ตัวอย่าง หอมหัวใหญ่ 21 ตัวอย่าง หัวไชเท้า 24 ตัวอย่าง ขา่ 23 ตัวอย่าง ขิง 20 ตัวอย่าง กระชาย 25 ตัวอย่าง เผือก 16 ตัวอย่าง มันเทศ 12 ตัวอย่าง ขมิ้นเหลือง 16 ตัวอย่าง และขมิ้นขาว 9 ตัวอย่าง โดยสุ่มเก็บตัวอย่างในพื้นที่จังหวัด นนทบุรี นครปฐม ราชบุรี สมุทรสาคร สมุทรสงคราม กาญจนบุรี อ่างทอง และสุพรรณบุรี

3) ปี 2562-2563 สุ่มเก็บตัวอย่างพืชสมุนไพร 12 ชนิด จำนวน 202 ตัวอย่าง แบ่งเป็น กะเพรา 22 ตัวอย่าง โหระพา 23 ตัวอย่าง แมงลัก 22 ตัวอย่าง ยี่หร่า 14 ตัวอย่าง ผักชีลาว 14 ตัวอย่าง สะระแหน่ 20 ตัวอย่าง ผักชี 22 ตัวอย่าง ผักชีฝรั่ง 24 ตัวอย่าง ตะไคร้ 21 ตัวอย่าง ผักแขยง 5 ตัวอย่าง ผักแพว 6 ตัวอย่าง ชะพลู 9 ตัวอย่าง โดยสุ่มเก็บตัวอย่างในพื้นที่จังหวัด สุพรรณบุรี อ่างทอง สมุทรสาคร สมุทรสงคราม และนครปฐม

4) ปี 2564 สุ่มเก็บตัวอย่างพืชตระกูลกะหล่ำ 5 ชนิด จำนวน 85 ตัวอย่าง แบ่งเป็น กะหล่ำปลี 36 ตัวอย่าง กะหล่ำดอก 27 ตัวอย่าง บร็อคโคลี่ 18 ตัวอย่าง ผักกาดเขียวปลี 1 ตัวอย่าง กะหล่ำปลีม่วง 3 ตัวอย่าง โดยสุ่มเก็บตัวอย่างในพื้นที่จังหวัด นครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรี นนทบุรี เพชรบูรณ์ ปทุมธานี และลพบุรี

**2. การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง**

ตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง ในตัวอย่างที่สุ่มตรวจ ตามวิธีทดสอบของห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้าง ซึ่งดำเนินการตามวิธี QuEChERS (EN 15622, 2008) และ วิธี Ethyl acetate extraction (Pihlstrom *et al*., 2007)

1) วิธี QuEChERS ตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง จำนวน 129 ชนิด

ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม ใส่ในหลอด centrifuge ขนาด 50 มิลลิลิตร เติม acetonitrile 10 มิลลิลิตร เขย่า 1 นาที เติม $MGSO_4$ 4 กรัม NaCl 1 กรัม $Na_3$Citrate dehydrate 1 กรัม และ $Na_2$HCitrate sesquihydrate 0.5 กรัม เขย่า 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที่ นาน 5 นาที ดูดสารละลายส่วนใส 5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอด centrifuge ขนาด 15 มิลลิลิตร ที่มี PSA 125 มิลลิกรัม $MgSO_4$ 750 มิลลิกรัม และ GCB 50 มิลลิกรัม เขย่าด้วยเครื่อง vortex mixer 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที่ นาน 5 นาที กรองสารละลายส่วนใสผ่าน filter membrane 0.2 ไมครอน ใส่ vial ขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS

2) วิธี Ethyl acetate extraction ตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง จำนวน 96 ชนิด

ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม ใส่ในหลอด centrifuge ขนาด 50 มิลลิลิตร เติม ethyl acetate 20 มิลลิลิตร เขย่า 1 นาทีเติม NaCl 1 กรัม $Na_2SO_4$ 5 กรัม และ $NaHCO_3$ 1.5 กรัม เขย่า 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที่ นาน 5 นาที กรองสารละลายส่วนใสผ่าน filter membrane 0.2 ไมครอน ดูดสารละลาย 1 มิลลิลิตร ด้วย auto pipette ใส่ vial ขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปเป่าให้แห้งด้วย nitrogen evaporator แล้วเติมตัวทำละลายเป็น acetonitrile 1 มิลลิลิตร นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS ดูดสารละลายอีก 1 มิลลิลิตร ใส่ vial ขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS/MS

**ระยะเวลา** ตุลาคม 2560 – กันยายน 2564

**สถานที่ทำการทดลอง**

สถานที่สุ่มเก็บตัวอย่าง ในพื้นที่จังหวัด นนทบุรี นครปฐม ราชบุรี สมุทรสาคร สมุทรสงคราม กาญจนบุรี อ่างทอง สุพรรณบุรี นนทบุรี เพชรบูรณ์ ปทุมธานี ลพบุรี กาญจนบุรี สมุทรปราการ อยุธยา และราชบุรี

ตรวจวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

## ผลการทดลองและวิจารณ์

1. **ผลการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง**

สุ่มเก็บตัวอย่าง พืชที่ปลูกในน้ำ พืชหัวใต้ดิน พืชสมุนไพร และพืชตระกูลกะหล่ำ โดยอ้างอิงการจัดกลุ่มพืชของสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช., 2559) จากแหล่งจำหน่ายโดยสุ่มเก็บตัวอย่างในปี 2560 ถึง 2564 ดังนี้

**1.1 พืชที่ปลูกในน้ำ**

ดำเนินการในปี 2560 สุ่มเก็บตัวอย่าง จำนวน 204 ตัวอย่าง แบ่งเป็น ผักบุ้ง 92 ตัวอย่าง ผักกระเฉด 70 ตัวอย่าง และผักบัว, รากบัวหรือไหลบัวจำนวน 42 ตัวอย่าง ผลวิเคราะห์สารพิษตกค้างดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงผลวิเคราะห์สารพิษตกค้าง ในพืชที่ปลูกในน้ำ

| ชื่อตัวอย่าง | จำนวนตัวอย่างทั้งหมด | พบสาร (%) | ชนิดสารที่พบ | ปริมาณ (mg/kg) | เกินค่า MRL (%) | MRL (mg/kg) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| ผักบุ้ง | 92 | 19 (21) | 11 ชนิด | 0.01-0.3 | | |
| | | 1 (1) | Malathion | 0.01 | - | x |
| | | 2 (2) | Total carbosulfan | 0.07-0.19 | - | x |
| | | 4 (4) | L-cyhalothrin | 0.03-0.30 | - | x |
| | | 1 (1) | Ethion | 0.07 | - | x |
| | | 1 (1) | Acetamiprid | 0.02 | - | x |
| | | 2 (2) | Dimethomorph | 0.01-0.05 | | - |
| | | 1 (1) | Fenpyroximate | 0.07 | | - |
| | | 2 (2) | Imidacloprid | 0.01-0.02 | | - |
| | | 1 (1) | Indoxacarb | 0.01 | | - |
| | | 1 (1) | Kresoxim-methyl | 0.06 | | - |
| | | 4 (4) | Pyridaben | 0.01-0.10 | | - |
| ผักกะเฉด | 70 | 27 (39) | 7ชนิด | 0.01-2.92 | | |
| | | 1(1.4) | Total endosulfan | 0.01 | | - |
| | | 26 (37) | Cypermethrin | 0.01-1.4 | | - |
| | | 6 (9) | Triazophos | 0.01-2.92 | | - |
| | | 2 (3) | Imidacloprid | 0.14-0.37 | | - |
| | | 1 (1.4) | Dimethomorph | 0.4 | | - |
| | | 1 (1.4) | Prochloraz | 0.12 | | - |
| | | 1 (1.4) | Buprofezin | 0.01 | | - |
| สายบัว, | 42 | 4 (10) | 2 ชนิด | 0.01-0.02 | | |
| ไหลบัว, | | 2 (5) | L-cyhalothrin | 0.01 | | - |
| รากบัว | | 2 (5) | Cypermethrin | 0.02 | | - |

หมายเหตุ – ไม่กำหนดค่า MRL

ผลของการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง ในพืชที่ปลูกในน้ำ มีดังนี้

**1) ผักบุ้ง** ตรวจพบสารพิษตกค้าง จำนวน 19 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 21 สารพิษตกค้างที่พบ 11 ชนิด ปริมาณที่พบ 0.01-0.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

2) **ผักกะเฉด** จำนวน 70 ตัวอย่าง พบสารพิษตกค้างจำนวน 27 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 39 สารพิษตกค้างที่พบ 7 ชนิด ปริมาณที่พบ 0.01-2.92 มิลลิกรัมต่อ

3) **สายบัว ไหลบัว และรากบัว** พบสารพิษตกค้างจำนวน 4 ตัวอย่าง หรือร้อยละ 10 สารพิษตกค้างที่พบคือ L-cyhalothrin และ Cypermethrin ปริมาณ 0.01-0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ผักบุ้ง ผักกะเฉด สายบัว ไหลบัว และรากบัว ไม่ได้มีการกำหนดค่า MRL ทั้งของ ไทย (มกอช., 2559), Codex (Codex, 2022), EU (EU, 2022) และJapan (Japan, 2022)

**1.2 พืชหัวใต้ดิน**

ดำเนินการในปี 2561 สุ่มเก็บตัวอย่าง จำนวน 210 ตัวอย่าง แบ่งเป็น หอมแดง 22 ตัวอย่าง กระเทียม 22 ตัวอย่าง หอมหัวใหญ่ 21 ตัวอย่าง หัวไชเท้า 24 ตัวอย่าง ข่า 23 ตัวอย่าง ขิง 20 ตัวอย่าง กระชาย 25 ตัวอย่าง เผือก 16 ตัวอย่าง มันเทศ 12 ตัวอย่าง ขมิ้นเหลือง 16 ตัวอย่าง และขมิ้นขาว 9 ตัวอย่าง ผลวิเคราะห์สารพิษตกค้างดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงผลวิเคราะห์สารพิษตกค้าง ในพืชหัวใต้ดิน

| ชื่อตัวอย่าง | จำนวนตัวอย่างทั้งหมด | พบสาร (%) | ชนิดสารที่พบ | ปริมาณ (mg/kg) | เกินค่า MRL (%) | MRL (mg/kg) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| หอมแดง | 22 | 3 (14) | 5 ชนิด | 0.01-0.02 | | |
| | | 1 (4.5) | Profenofos | 0.02 | | 0.02 (EU), 0.05 (Thai) |
| | | 1 (4.5) | Bifenthrin | 0.01 | | 0.01 (EU) |
| | | 2 (9) | L-Cyhalothrin | 0.01, 0.02 | | 0.2 (EU), 0.05 (Japan) |
| | | 1 (4.5) | Clothianidin | 0.01 | | 1.5 (Codex) 0.02 (Japan) |
| | | 2 (9) | Thiamethoxam | 0.02 | | 0.01 (EU), 0.02 (Japan) |
| กระเทียม | 22 | - | - | - | | |
| หอมหัวใหญ่ | 21 | 2(9.5) | 2 ชนิด | 0.03 | 1 (4.7) | |
| | | 1(4.8) | Cypermethrin | 0.03 | 1 (100) | 0.01 (Codex), 0.10 (Japan), 0.01 (Thai) |
| | | 1(4.8) | Metalaxyl | 0.03 | | 2.0 (Codex), 0.02 (EU), 2.0 (Japan), 2.0 (Thai) |
| หัวไชเท้า | 24 | 7(29) | 7 ชนิด | 0.01-0.39 | | |
| | | 4(16.7) | Profenofos | 0.02-0.39 | 2 (50) | 0.01 (EU) |
| | | 3(12.5) | Cypermethrin | 0.02-0.05 | | 0.05 (EU) |
| | | 2(8.3) | L-Cyhalothrin | 0.01-0.01 | | 0.15 (EU) |
| | | 1(4.2) | Thiamethoxam | 0.02 | 1 (100) | 0.01 (EU) |
| | | 3(12.5) | Dinotefuran | 0.01 | | - |
| | | 3(12.5) | Acetamiprid | 0.01-0.02 | 1 (33) | 0.01 (EU) |
| | | 1(4.2) | Prothiofos | 0.01 | | - |
| ข่า | 23 | 1(4.3) | 3 ชนิด | 0.01-0.09 | | |
| | | 1 (4.3) | Cypermethrin | 0.09 | | 0.20 (Thai) |
| | | 1(4.3) | Bifenthrin | 0.01 | | - |
| | | 1(4.3) | Piridaben | 0.01 | | - |
| ขิง | 20 | 4(20) | 3 ชนิด | 0.01-0.28 | | |
| | | 1(5) | Bifenthrin | 0.28 | 1(100) | 0.05(EU), 0.05(Japan) |
| | | 2(10) | Difenoconazole | 0.01, 0.02 | - | 3 (EU), 0.05(Japan) |
| | | 1(5) | Azoxystrobin | 0.18 | 1 (100) | 0.05(EU), 0.5(Japan) |
| กระชาย | 25 | 10(40) | 6 ชนิด | 0.01-0.27 | | กลุ่ม Spices, Roots and Rhizomes |
| | | 1(4) | Profenofos | 0.014 | - | 0.05(Codex) |
| | | 6(24) | Cypermethrin | 0.08-0.27 | 1(16.7) | 0. 2(Codex), 0.2 (Thai) |
| | | 1(4) | Metalaxyl | 0.02 | | - |

ตารางที่2 ต่อ

| ชื่อตัวอย่าง | จำนวนตัวอย่างทั้งหมด | พบสาร (%) | ชนิดสารที่พบ | ปริมาณ (mg/kg) | เกินค่า MRL (%) | MRL (mg/kg) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| กระชาย | | 1(4) | Imidacloprid | 0.01 | | - |
| | | 2(8) | Dimethomorph | 0.02, 0.06 | | - |
| | | 1(4) | L-Cyhalothrin | 0.01 | | 0.05(Codex) |
| เผือก | 16 | 3(18.8) | 3 ชนิด | 0.01-0.15 | | |
| | | 1(6.3) | Cypermethrin | 0.15 | 1(100) | 0.05(Japan) |
| | | 1(6.3) | Piridaben | 0.01 | | 0.01(Japan) |
| | | 3(18.8) | Dimethomorph | 0.02-0.03 | | - |
| ขมิ้นขาว | 9 | 2(22.2) | 2 ชนิด | 0.010-1.0 | | |
| | | 1(11.1) | Cypermethrin | 1 | 1(100) | 0.2(Thai) |
| | | 1(11.1) | Dimethomorph | 0.01 | | - |
| ขมิ้นเหลือง | 16 | 1(6.3) | 1 ชนิด | 0.46 | | |
| | | 1(6.3) | Cypermethrin | 0.46 | 1 (100) | 0.2(Thai) |
| มันเทศ | 12 | - | - | - | | |

หมายเหตุ – ไม่กำหนดค่า MRL

ผลของการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง ในพืชหัวใต้ดิน จำนวน 210 ตัวอย่าง มีดังนี้

**1) หอมแดง** พบสารพิษตกค้าง 3 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 14 สารพิษตกค้างที่พบจำนวน 5 ชนิด ปริมาณ 0.01-0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งมีค่าน้อยกว่า MRL ของ Thai, Codex, EU และ Japan ยกเว้น Thiamethoxam ที่พบมีค่าเท่ากับ MRL ของ Japan ที่ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

**2) กระเทียม** 22 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง

**3) หอมหัวใหญ่** พบสารพิษตกค้าง 2 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 9.5 ซึ่ง Cypermethrin ที่พบ 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีค่าเกิน MRL ของ Codex และ Thai แต่น้อยกว่าค่า MRL ของ Japan พบ Metalaxyl 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งมีค่ามากกว่า MRL ของ EU แต่ไม่เกินค่า MRL ของ Thai, Codex และ Japan

**4) หัวไชเท้า** พบสารพิษตกค้าง 7 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 29 สารพิษตกค้างที่พบจำนวน 7 ชนิด ปริมาณ 0.01-0.39 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

**5) ข่า** พบสารพิษตกค้าง 1 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 4.3 สารพิษตกค้างที่พบ 3 ชนิด ปริมาณ 0.01-0.09 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และมีค่าไม่เกิน MRL

**6) ขิง** พบสารพิษตกค้าง 4 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 20 สารพิษตกค้างที่พบ 3 ชนิด ปริมาณ 0.01-0.28 มิลลิกรัมต่อ

**7) กระชาย** พบสารพิษตกค้าง 10 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 40 สารพิษตกค้างที่พบ 6 ชนิด ปริมาณที่พบ 0.01-0.27 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

**8) เผือก** พบสารพิษตกค้าง 3 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 18.8 สารพิษตกค้างที่พบ 3 ชนิด ปริมาณที่พบ 0.01-0.15 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยพบ Cypermethrin 1 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.15 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เกินค่า MRL ของ Japan ที่กำหนดไว้ 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

**9) ขมิ้นขาว** พบสารพิษตกค้าง 2 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 22.2 สารพิษตกค้างที่พบ 2 ชนิด คือ Dimethomorph ปริมาณ 0.01มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม Cypermethrin ปริมาณ 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เกินค่า MRL ของ Thai ที่กำหนดไว้ที่ 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

**10) ขมิ้นเหลือง** พบสารพิษตกค้าง 1 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 6.3 สารพิษที่พบมีชนิดเดียวคือ Cypermethrin ปริมาณ 0.46 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เกินค่า MRL ของ Thai ที่กำหนดไว้ที่ 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

**11) มันเทศ** จำนวน 12 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง

### 1.3 พืชสมุนไพร

ดำเนินการในปี 2562-2563 สุ่มเก็บตัวอย่าง จำนวน 202 ตัวอย่าง แบ่งเป็น กะเพรา 22 ตัวอย่าง โหระพา 23 ตัวอย่าง แมงลัก 22 ตัวอย่าง ยี่หร่า 14 ตัวอย่าง ผักชีลาว 14 ตัวอย่าง สะระแหน่ 20 ตัวอย่าง ผักชี 22 ตัวอย่าง ผักชีฝรั่ง 24 ตัวอย่าง ตะไคร้ 21 ตัวอย่าง ผักแขยง 5 ตัวอย่าง ผักแพว 6 ตัวอย่าง ชะพลู 9 ตัวอย่าง ผลวิเคราะห์สารพิษตกค้างดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงผลวิเคราะห์สารพิษตกค้าง ในพืชสมุนไพร

| ชื่อตัวอย่าง | จำนวนตัวอย่างทั้งหมด | พบสาร (%) | ชนิดสารที่พบ | ปริมาณ (mg/kg) | เกินค่า MRL (%) | MRL (mg/kg) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| กะเพรา | 22 | 11 (50) | 15 ชนิด | 0.01-9.41 | | |
| | | 2 (9) | Acetamiprid | 0.03-0.55 | | 3 (EU) |
| | | 4 (18.2) | Dimethomorph | 0.05-3.05 | | 10 (EU) |
| | | 2 (9) | pyraclostrobin | 0.1-9.41 | 1 (50) | 2 (EU) |
| | | 3 (13.6) | buprofezin | 0.01-9.16 | 1 (33) | 1.5 (Codex) 0.2 (EU) |
| | | 2 (9) | Isoprocarb | 0.71-2.31 | | - |
| | | 3 (13.6) | Carbaryl | 0.01-4.51 | 2 (66.7) | 0.02 (EU) |
| | | 1 (4.5) | Hexaconazole | 0.13 | 1 (100) | 0.02 (EU) |
| | | 5 (22.7) | Metalaxyl | 0.02-1.86 | | 3 (EU) |
| | | 1 (4.5) | Methomyl | 0.76 | 1 (100) | 0.02 (EU) |
| | | 1 (4.5) | Prochloraz | 0.04 | | 0.06 (EU) |
| | | 4 (18.2) | Propanil | 0.01 | | 0.02 (EU) |
| | | 1 (4.5) | Pencycuron | 0.01 | | 0.04 (EU) |
| | | 1 (4.5) | Pyridaben | 0.01 | | 0.02 (EU) |
| | | 1 (4.5) | Trifloxystrobin | 1.65 | | 15 (EU) |
| | | 9 (56.3) | Total Carbosulfan | 0.05-2.19 | 5 (55.5) | 0.02 (EU) |
| โหระพา | 23 | 15 (65.2) | 9 ชนิด | 0.01-39.42 | | |
| | | 11 (47.8) | Metalaxyl | 0.01-6.12 | 1 (4.3) | 3 (EU) |
| | | 5 (21.7) | Dimethomorph | 0.01-39.42 | 3 (13) | 10 (EU) |

ตารางที่ 3 ต่อ

| ชื่อตัวอย่าง | จำนวนตัวอย่างทั้งหมด | พบสาร (%) | ชนิดสารที่พบ | ปริมาณ (mg/kg) | เกินค่า MRL (%) | MRL (mg/kg) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| โหระพา | | 3 (13) | Difenoconazole | 8.79-15.26 | 1 (4.3) | 10 (EU) |
| | | 1 (4.3) | Prochloraz | 0.7 | 1 (4.3) | 0.06 (EU) |
| | | 1 (4.3) | Pyraclostrobin | 0.01 | | 2 (EU) |
| | | 2 (8.7) | Buprofezin | 0.19-1.99 | 1 (4.3) | 1.5 (Codex) |
| | | 2 (8.7) | Ametryn | 0.01 | | - |
| | | 2 (8.7) | pyridaben | 0.01 | | 0.02 (EU) |
| | | 4 (17.4) | Propiconazole | 0.87-5.95 | 3 (13) | 0.02 (EU) |
| ผักชีลาว | 14 | 6 (42.9) | 6 ชนิด | 0.01-3.04 | | |
| | | 1 (7.1) | Haxaconazole | 3.04 | 1 (7.1) | 0.05 (EU) |
| | | 1 (7.1) | Methoxyfenozide | 0.03 | | 0.05 (EU) |
| | | 1 (7.1) | Thiamethoxam | 1.28 | 1 (7.1) | 0.05 (EU) |
| | | 1 (7.1) | Ametryn | 0.01 | | - |
| | | 2 (14.3) | atrazine | 0.02-0.03 | | 0.1 (EU) |
| | | 1 (7.1) | Buprofezine | 0.02 | | 0.05 (EU) |
| ยี่หร่า | 14 | 8 (57.1) | 15 ชนิด | 0.01-6.02 | | |
| | | 4 (28.6) | Dimethomorph | 0.33-6.02 | | 30 (EU) |
| | | 4 (28.6) | Metalaxyl | 0.07-5.75 | 2 (50) | 0.1 (EU) |
| | | 1 (7.1) | Carbaryl | 0.03 | | 0.8 (EU) |
| | | 1 (7.1) | Cyazofamid | 0.25 | 1 (7.1) | 0.05 (EU) |
| | | 1 (7.1) | Diflubenzuron | 0.05 | | 0.05 (EU) |
| | | 1 (7.1) | Dimethoate | 0.02 | | 0.05 (EU) |
| | | 1 (7.1) | Difenoconazole | 0.34 | 1 (7.1) | 0.03 (EU) |
| | | 2 (14.3) | Imidacloprid | 0.02-4.19 | 1 (7.1) | 0.05 (EU) |
| | | 1 (7.1) | Methomyl | 1.16 | 1 (7.1) | 0.05 (EU) |
| | | 1 (7.1) | Prochloraz | 0.09 | | 0.15 (EU) |
| | | 1 (7.1) | Pyraclostrobin | 0.03 | | 0.1 (EU) |
| | | 1 (7.1) | Pencycuron | 0.01 | | 0.1 (EU) |
| | | 1 (7.1) | Profenofos | 0.01 | | 0.07 (EU) |

ตารางที่ 3 ต่อ

| ชื่อตัวอย่าง | จำนวนตัวอย่างทั้งหมด | พบสาร (%) | ชนิดสารที่พบ | ปริมาณ (mg/kg) | เกินค่า MRL (%) | MRL (mg/kg) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| ยี่หร่า | | 1 (7.1) | Pyridaben | 0.58 | 1 (7.1) | 0.05 (EU) |
| | | 5 (35.7) | Total Carbosulfan | 0.01-0.35 | 2 (14.3) | 0.05 (EU) |
| สะระแหน่ | 20 | 14 (70) | 23 ชนิด | 0.01-32.89 | | |
| | | 1 (5) | Acetamiprid | 1.59 | | - |
| | | 1 (5) | Buprofezin | 0.01 | | - |
| | | 7 (35) | Metalaxyl | 0.02-0.89 | | - |
| | | 6 (30) | Dimethomorph | 0.05-32.89 | | - |
| | | 4 (20) | Prochloraz | 0.40-1.73 | | - |
| | | 1 (5) | Isoprocarb | 0.03 | | - |
| | | 1 (5) | Imidacloprid | 0.83 | | - |
| | | 1 (5) | Bendiocarb | 0.11 | | - |
| | | 1 (5) | Buprofezin | 0.01 | | - |
| | | 3 (15) | Carbaryl | 0.04-1.32 | | - |
| | | 2 (10) | Chlorptrifos | 0.01 | | - |
| | | 4 (20) | Cypermethrin | 0.02-2.08 | | - |
| | | 3 (15) | Difenoconazole | 0.02-15.26 | | - |
| | | 1 (5) | Forchlofenuron | 0.04 | | - |
| | | 1 (5) | propamocarb | 0.02 | | - |
| | | 1 (5) | Propanil | 0.01 | | - |
| | | 1 (5) | Propiconazole | 0.34 | | - |
| | | 1 (5) | Pyraclostrobin | 0.02 | | - |
| | | 1 (5) | Profenofos | 0.23 | | - |
| | | 1 (5) | Temephos | 0.74 | | - |
| | | 1 (5) | Thiamethoxam | 0.01 | | 1.5 (Codex) |
| | | 1 (5) | Trifloxystrobin | 0.02 | | - |
| | | 2 (10) | Total Carbosulfan | 0.01-1.51 | | - |
| ผักชี | 22 | 10 (45.5) | 13 ชนิด | 0.01-0.99 | | |
| | | 3(13.6) | Dimethomorph | 0.01-0.07 | | 30 (EU) |

ตารางที่ 3 ต่อ

| ชื่อตัวอย่าง | จำนวนตัวอย่างทั้งหมด | พบสาร (%) | ชนิดสารที่พบ | ปริมาณ (mg/kg) | เกินค่า MRL (%) | MRL (mg/kg) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| ผักชี | | 1 (9.1) | Prochloraz | 0.01-0.99 | 1 (4.5) | 0.15 (EU) |
| | | 1 (4.5) | Buprofezin | 0.18 | 1 (4.5) | 0.05 (EU) |
| | | 1 (4.5) | Chlorthianidin | 0.01 | | - |
| | | 1 (4.5) | Dinotefuran | 0.02 | | - |
| | | 1 (4.5) | Fenobucarb | 0.13 | | - |
| | | 1 (4.5) | Imidacloprid | 0.56 | 1 (4.5) | 0.05 (EU) |
| | | 1 (4.5) | Isoprocarb | 0.01 | | - |
| | | 1 (4.5) | Metalaxyl | 0.02 | | 0.05 (EU) |
| | | 3 (13.6) | Pyridaben | 0.01 | | 0.05 (EU) |
| | | 1 (4.5) | Tebuconazole | 0.74 | | 1.5 (EU) |
| | | 1 (4.5) | Thiamethoxam | 0.01 | | 0.05 (EU) |
| | | 1 (4.5) | Total Carbosulfan | 0.05 | | 0.05 (EU) |
| ผักชีฝรั่ง | 24 | 15 (62.5) | 11 ชนิด | 0.01-1.42 | | |
| | | 1 (4.2) | Ametryn | 0.01 | | - |
| | | 8 (33.3) | Azoxystrobin | 0.03-0.84 | 6 (75) | 0.3 (EU) |
| | | 2 (8.3) | Dimethomorph | 0.04-0.06 | | 30 (EU) |
| | | 3 (12.5) | Buprofezin | 0.01-1.42 | 1 (33.3) | 0.05 (EU) |
| | | 1 (4.2) | Propiconazole | 2.88 | 1 (100) | 0.05 (EU) |
| | | 2 (8.3) | Pyraclostrbin | 0.01-0.11 | 1 (50) | 0.1 (EU) |
| | | 3 (12.5) | Pyridaben | 0.01-0.06 | 1 (33.3) | 0.05 (EU) |
| | | 1 (4.2) | Thiamethoxam | 0.038 | | 0.05 (EU) |
| | | 1 (4.2) | Thiophanate methyl | 0.01 | | 0.1 (EU) |
| | | 1 (4.2) | Tricyclazole | 0.01 | | 0.05 (EU) |
| | | 5 (20.8) | Total Carbosulfan | 0.01 | | 0.05 (EU) |
| ตะไคร้ | 21 | 4 (19) | 8 ชนิด | 0.01-0.73 | | |
| | | 1 (4.8) | Ametryn | 0.02 | | - |
| | | 3 (14.3) | Metalaxyl | 0.01-0.34 | | - |
| | | 2 (9.5) | Dimethomorph | 0.03-0.17 | | - |

ตารางที่ 3 ต่อ

| ชื่อตัวอย่าง | จำนวนตัวอย่างทั้งหมด | พบสาร (%) | ชนิดสารที่พบ | ปริมาณ (mg/kg) | เกินค่า MRL (%) | MRL (mg/kg) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| ตะไคร้ | | 1 (4.8) | Carbaryl | 0.73 | | - |
| | | 2 (9.5) | Difenoconazole | 0.01-.-03 | | - |
| | | 1 (4.8) | Pyraclostrobin | 0.02 | | - |
| | | 1 (4.8) | Trifloxystrobin | 0.01 | | - |
| | | 1 (4.8) | Total Carbosulfan | 0.71 | | - |
| ผักแขยง | 5 | 4 (80) | 7 ชนิด | 0.01-0.75 | | - |
| | | 3 (60) | Buprofezin | 0.01-0.08 | | - |
| | | 1 (20) | Cypermethrin | 0.03 | | - |
| | | 2 (40) | Imidaclorprid | 0.05-0.75 | | - |
| | | 1 (20) | Propanil | 0.02 | | - |
| | | 1 (20) | Propiconazole | 0.13 | | - |
| | | 1 (20) | Pyridaben | 0.16 | | - |
| | | 2 (40) | Total Carbosulfan | 0.02-0.14 | | - |
| ชะพลู | 9 | 2 (22.2) | 3 ชนิด | 0.01-0.04 | | |
| | | 1 (11.1) | Metalaxyl | 0.01 | | - |
| | | 1 (11.1) | Dimethomorph | 0.04 | | - |
| | | 1 (11.1) | Buprofezin | 0.01 | | - |
| ผักแพว | 6 | 4 (66.7) | 22 ชนิด | 0.01-20.51 | | |
| | | 1 (16.7) | Benalaxyl | 0.01 | | - |
| | | 2 (33.3) | Buprofezin | 0.01-0.21 | | - |
| | | 1 (16.7) | Cypermethrin | 2.22 | | - |
| | | 1 (16.7) | Cyproconazole | 0.04 | | - |
| | | 2 (33.3) | Difenoconazole | 0.57-2.48 | | - |
| | | 1 (16.7) | Dinotefuran | 0.34 | | - |
| | | 2 (33.3) | Dimethomorph | 0.03-20.51 | | - |
| | | 1 (16.7) | Etofenprox | 0.4 | | - |
| | | 1 (16.7) | Fenobucarb | 2.1 | | - |
| | | 1 (16.7) | Haxaconazole | 0.07 | | - |

ตารางที่ 3 ต่อ

| ชื่อตัวอย่าง | จำนวนตัวอย่างทั้งหมด | พบสาร (%) | ชนิดสารที่พบ | ปริมาณ (mg/kg) | เกินค่า MRL (%) | MRL (mg/kg) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| ผักแพว | | 1 (16.7) | Imidacloprid | 0.07 | | - |
| | | 1 (16.7) | Kresoxim-methyl | 0.43 | | - |
| | | 1 (16.7) | Metalaxyl | 1.43 | | - |
| | | 1 (16.7) | Profenofos | 0.21 | | - |
| | | 1 (16.7) | Propanil | 0.02 | | - |
| | | 1 (16.7) | Propagite | 0.27 | | - |
| | | 3 (50) | Pyridaben | 0.01-0.13 | | - |
| | | 3 (50) | Propiconazole | 0.04-0.20 | | - |
| | | 1 (16.7) | Spirodiclofen | 0.02 | | - |
| | | 1 (16.7) | Tricyclazole | 0.12 | | - |
| | | 1 (16.7) | Thiobencarb | 0.01 | | - |
| | | 3 (50) | Total Carbosulfan | 0.01-0.46 | | - |
| แมงลัก | 22 | 16 (72.7) | 21 ชนิด | 0.01-50.30 | | |
| | | 2 (9.1) | Acetamiprid | 1.29-1.70 | | 3 (EU) |
| | | 3 (13.6) | Ametryn | 0.01-0.09 | | - |
| | | 1 (4.5) | Azoxystrobin | 0.07 | | 70 (EU) |
| | | 2 (9.1) | Cypermethrin | 0.04-0.42 | | 2 (EU) |
| | | 1 (4.5) | Dinotefuran | 0.01 | | - |
| | | 11 (50) | Dimethomorph | 0.02-50.30 | 9 (81.8) | 10 (EU) |
| | | 1 (4.5) | Dioxacarb | 0.14 | | - |
| | | 2 (9.1) | Difenoconazole | 0.18-31.74 | 1 (50) | 10 (EU) |
| | | 1 (4.5) | Fenazaquin | 0.02 | 1 (100) | 0.01 (EU) |
| | | 2 (9.1) | Imidacloprid | 0.01-1.02 | | 20 (CODEX) 2 (EU) |
| | | 1 (4.5) | Indoxacarb | 0.19 | | 15 (EU) |
| | | 1 (4.5) | Isoprocarb | 0.03 | | - |
| | | 9 (40.9) | Metalaxyl | 0.03-10.99 | 1 (11.1) | 3 (EU) |
| | | 1 (4.5) | Methomyl | 0.04 | 1 (100) | 0.02 (EU) |
| | | 2 (9.1) | Procloraz | 0.05-0.07 | 1 (50) | 0.06 (EU) |

ตารางที่ 3 ต่อ

| ชื่อตัวอย่าง | จำนวนตัวอย่างทั้งหมด | พบสาร (%) | ชนิดสารที่พบ | ปริมาณ (mg/kg) | เกินค่า MRL (%) | MRL (mg/kg) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| แมงลัก | | 1 (4.5) | Pyrimethanil | 0.04 | | 20 (EU) |
| | | 5 (22.7) | Pyraclostrobin | 0.01-8.26 | 2 (40) | 0.1 (EU) |
| | | 3 (13.6) | Propiconazole | 0.23-1.14 | 3 (100) | 0.02 (EU) |
| | | 1 (4.5) | Tebuconazole | 0.12 | | 2 (EU) |
| | | 1 (4.5) | Trifloxysrobin | 0.2 | | 15 (EU) |
| | | 8 (36.4) | Total Carbosulfan | 0.01-7.04 | 4 (50) | 0.02 (EU) |

หมายเหตุ – ไม่กำหนดค่า MRL

ผลของการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง ในพืชสมุนไพรจำนวน 202 ตัวอย่าง มีดังนี้

**1) กระเพรา** ตรวจพบสารพิษตกค้าง 11 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 50 พบสารพิษตกค้าง 15 ชนิด ปริมาณ 0.01-9.41 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สารพิษตกค้างที่พบบ่อยที่สุดคือ Carbosulfan (Total Carbosulfan) จำนวน 9 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 56.3 ปริมาณที่พบ 0.05-2.19 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เกินค่า MRL ของ EU ที่กำหนดไว้ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 5 ตัวอย่าง

**2) โหระพา** พบสารพิษตกค้าง 15 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 65.2 พบสารพิษตกค้าง 9 ชนิดปริมาณที่พบ 0.01-39.42 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม Metalaxyl พบบ่อยที่สุดจำนวน 11 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 47.8 ปริมาณที่พบ 0.01-6.12 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เกินค่า MRL ของ EU ที่กำหนดไว้ 3.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 1

**3) ผักชีลาว** พบสารพิษตกค้าง 6 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 42.9 ปริมาณที่พบ 0.01-3.04 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สารที่พบบ่อยคือ Artazine พบ 2 ตัวอย่าง แต่ปริมาณต่ำกว่า

**4) สะระแหน่** พบสารพิษตกค้าง 14 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 70 สารพิษตกค้างที่ 23 ชนิด ปริมาณ 0.01-32.89 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สารส่วนใหญ่ที่พบไม่ได้กำหนดค่า MRL มีเพียง Thiamethoxam ที่ Coex กำหนดไว้ที่ปริมาณ 1.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

**5) ผักชี** พบสารพิษตกค้าง 10 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 45.5 สารพิษตกค้าง 13 ชนิด ปริมาณที่พบ 0.01-0.99 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

**6) ผักชีฝรั่ง** พบสารพิษตกค้าง 15 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 62.5 สารพิษตกค้าง 11 ชนิด ปริมาณ 0.01-1.42 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สารที่พบบ่อยที่สุดคือ Azoxystrobin พบใน 8 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 33.3 ปริมาณที่พบ 0.03-0.84 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เกินค่า MRL ของ EU ที่กำหนดไว้ 0.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 6 ตัวอย่าง

**7) ตะไคร้** พบสารพิษตกค้าง 4 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 19 พบสารพิษตกค้าง 8 ชนิด ปริมาณ 0.01-0.73 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทุกสารไม่มีการกำหนดค่า

**8) ผักแขยง** พบสารพิษตกค้าง 4 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 80 สารพิษตกค้าง 8 ชนิด ปริมาณ 0.01-0.75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทุกสารไม่มีการกำหนดค่า MRL

**9) ชะพลู** พบสารพิษตกค้าง 2 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 22.2 พบสารพิษตกค้าง 3 ชนิด ได้แก่ Metalaxyl, Dimethomorph และ Buprofezin ปริมาณ 0.01-0.04 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

**10) ผักแพว** พบสารพิษตกค้าง 4 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 66.7 จำนวนสารพิษตกค้างที่พบ 22 ชนิด ปริมาณ 0.01-20.51 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทุกสารไม่มีค่า MRL

**11) แมงลัก** พบสารพิษตกค้าง 16 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 72.7 สารพิษตกค้างที่พบ 21 ชนิด ปริมาณ 0.01-50.30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สารที่พบบ่อยที่สุดคือ Dimethomorph ใน 11 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 50 ปริมาณที่พบ 0.02-50.30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เกินค่า MRL ของ EU ที่กำหนดไว้ 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 9 ตัวอย่าง

**1.4 พืชตระกูลกะหล่ำ**

ดำเนินการในปี 2564 สุ่มเก็บตัวอย่าง จำนวน 85 ตัวอย่าง แบ่งเป็น กะหล่ำปลี 36 ตัวอย่าง กะหล่ำดอก 27 ตัวอย่าง บร็อคโคลี่ 18 ตัวอย่าง ผักกาดเขียวปลี 1 ตัวอย่าง กะหล่ำปลีม่วง 3 ตัวอย่าง ผลวิเคราะห์สารพิษตกค้างดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงผลวิเคราะห์สารพิษตกค้าง ในพืชตระกูลกะหล่ำ

| ชื่อตัวอย่าง | จำนวนตัวอย่างทั้งหมด | พบสาร (%) | ชนิดสารที่พบ | ปริมาณ (mg/kg) | เกินค่า MRL (%) | MRL (mg/kg) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| กะหล่ำปลี | 36 | 4 (11) | 2 ชนิด | 0.03-0.11 | | |
| | | 3 (8.3) | Thiamethoxam | 0.03-0.11 | - | 5 (Codex), 0.02 (EU)chinese cabbage |
| | | 1 (2.8) | Omethoate | 0.03 | 1 | 1 (Japan), 0.01 (EU)chinese cabbage |
| กะหล่ำดอก | 27 | 3 (11) | 2 ชนิด | 0.01-0.03 | | |
| | | 2 | Imidacloprid | 0.02-0.03 | - | 0.5 (Codex), 0.5 (EU) |
| | | 1 | Thiamethoxam | 0.01 | | 0.02 (EU), 5 (Japan) |
| บร๊อคโคลี่ | 18 | 1 (6) | 1 ชนิด | 0.01 | | |
| | | 1 (6) | Thiamethoxam | 0.01 | - | 0.3 (EU), 5 (Japan) |
| ผักกาดเขียวปลี | 1 | 1 (100) | 1 ชนิด | 0.03 | | |
| | | 1 (100) | Acetamiprid | 0.03 | - | 0.7 (cabbage)(Codex) |
| | | | | | - | 0.5 (Chinese cabbage) |
| กะหล่ำปลีม่วง | 3 | - | - | - | - | - |

หมายเหตุ – ไม่กำหนดค่า MRL

ผลของการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง ในพืชตระกูลกะหล่ำ จำนวน 85 ตัวอย่าง มีดังนี้

**1) กะหล่ำปลี** พบสารพิษตกค้าง 4 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 11 สารพิษตกค้างที่พบ 2 ชนิด ปริมาณ 0.03-0.11 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

**2) กะหล่ำดอก** พบสารพิษตกค้าง 3 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 11 สารพิษตกค้างที่พบคือ Imidacloprid และ Thiamethoxam ปริมาณ 0.02-0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และมีค่าไม่เกิน MRL

**3) บร็อคโคลี่** พบสารพิษตกค้าง 1 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 6 โดยพบ Thiamethoxam ปริมาณ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณที่พบไม่เกินค่า MRL

**4) ผักกาดเขียวปลี** 1 ตัวอย่าง พบ Acetamiprid ปริมาณ 0.03มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณที่พบไม่เกินค่า MRL

**5) กะหล่ำปลีม่วง** 3 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการสุ่มตรวจตัวอย่างพืชที่ปลูกในน้ำ พืชสมุนไพร และพืชตระกูลกะหล่ำ จำนวนรวม 701 ตัวอย่าง ตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างจำนวน 225 ชนิด พืชที่ปลูกในน้ำ 204 ตัวอย่าง พบสารพิษจำนวน 50 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 24.5 ปริมาณที่พบ 0.01-2.92 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พืชที่ปลูกในน้ำไม่ได้มีการกำหนดค่า MRL ทั้ง Thai, Codex, EU และ Japan พืชหัวใต้ดิน จำนวน 210 ตัวอย่าง พบสารพิษตกค้าง 33 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 15.7 ปริมาณที่พบ 0.01-0.46 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณที่พบเกินค่า MRL รวม 12 ครั้ง พืชสมุนไพร 202 ตัวอย่าง ตรวจพบสารพิษตกค้าง 109 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 53.9 ปริมาณที่พบ 0.01-50.30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณที่พบเกินค่า MRL รวม 68 ครั้ง พืชตระกูลกะหล่ำ 85 ตัวอย่าง พบสารพิษตกค้าง 9 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 10.6 ปริมาณที่พบ 0.01-0.11 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณที่พบเกินค่า MRL 1 ครั้ง สารพิษตกค้างที่ตรวจพบในตัวอย่างบางชนิด ไม่ได้มีการกำหนดค่า MRL ทั้ง Thai, Codex, EU และ Japan และสารพิษตกค้างบางชนิดพบในปริมาณที่สูงและเกินค่า MRL แต่เมื่อทำการประเมินความเสี่ยงต่อผู้บริโภคในช่วงอายุ 6-12.9 ปี จากข้อมูลค่าเปอร์เซ็นต์ไทล์ที่ 97.5 ของปริมาณอาหารที่บริโภคสำหรับประชากรทั้งหมด (per capita) (มกอช.2559 ) และค่า rfd จาก United States Environmental Protection Agency (EPA.2022) พบว่า ค่า HQ (Hazard quotient) มีค่าน้อยกว่า 1 นั้นหมายความว่า สารพิษตกค้างที่ตรวจพบยังคงมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ซึ่งในการล้างทำความสะอาดผักและการใช้ความร้อนเพื่อประกอบอาหาร ยังสามารถช่วยลดปริมาณสารพิษตกค้างลงได้อีกด้วย

จากการสุ่มตรวจตัวอย่างพืชผักในครั้งนี้ ทำให้ทราบว่ายังคงมีสารพิษตกค้างในพืชบางชนิด เกินปริมาณค่า MRL ดังนั้นทั้งภาครัฐและเอกชนต้องให้ความสำคัญ เรื่องการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ถูกต้องของเกษตรกร โดยเฉพาะกรมวิชาการเกษตรควรเพิ่มความเข้มงวด ต่อการรับรองการผลิตพืช (GAP) เพื่อลดโอกาสที่จะพบปริมาณสารพิษตกค้างเกินค่ามาตรฐาน โดยเฉพาะพืชที่ผลิตเพื่อการส่งออก ประเทศผู้ซื้อเช่นกลุ่มสหภาพยุโรปมีการกำหนดค่า MRL ไว้ต่ำมาก

## การนำไปใช้ประโยชน์

ได้ข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้างของพืชที่จำหน่ายในท้องตลาด ทำให้ทราบสถานการณ์โดยรวม ของสารพิษตกค้างในผลผลิตทางการเกษตร ที่ใช้บริโภคภายในประเทศ ได้ทราบว่าการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ของเกษตรกรยังคงทำให้มีสารพิษตกค้างที่เกินปริมาณค่า MRL เพื่อนำไปสู่การหาแนวทางการแก้ไขปัญหา สารพิษตกค้างในผลผลิตพืชและการกำหนดมาตรการแก้ไขปัญหาการส่งออก ข้อมูลสารพิษตกค้างที่ได้ สามาถนำไปใช้ในการประกอบการพิจารณากำหนดค่า MRL ของประทศ และเป็นข้อมูลสำหรับผู้บริหารระดับกรม กระทรวง ในการเจรจาข้อตกลงและต่อรองทางการค้าระหว่างประเทศได้

## เอกสารอ้างอิง


สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) .2559. มาตรฐานสินค้าเกษตร มกษ.9002-2559 สารพิษตกค้าง:ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด Pesticide Residues:Maximum Residue Limit สำนักงานมาตรฐานสินค้า เกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.). 2559. มาตรฐานสินค้าเกษตร มกษ.9045--2559 การจัดกลุ่มสินค้าพืช Classification of agricultural commodities : crop สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559ค. ข้อมูลการบริโภคอาหารของประเทศไทย Food consumption data of Thailand สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

Codex. 2022. Pesticide residues in food and feed. Codex Alimentarius International Food Standards. Retrieved October, 4, 2021, from, [on line] https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/en/

EN 15662. 2008. Foods of plant origin - Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE - QuEChERS-method

EU. 2022. EU Pesticide database. [on line] https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/mrls/index.cfm?event=search.pr&p=271%25252C273%25252C281&v=1

The Japan Food Chemical Research and Foundation. 2022. [on line] http//www.db.ffcr.or.jp/front/

Pihlstrom,T., Blomkvist, G., Friman, P., Pagard, U. and Osterdahl, B.G.2007. Analysis of Pesticide Residues in fruit and vetable with ethyl acetate extraction using gas and liquid Chromatography with tandem mass spectrometric detection. And Bioanal Chem. 389,1733-1789.

# ศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างในผลไม้: พืชตระกูลส้ม (ส้มเขียวหวาน, ส้มโอ และมะนาว) ลิ้นจี่ ลำไย ชมพู่และฝรั่ง

# Monitoring Pesticide Residues in Citrus fruits Lychee Longan Rose apple and Guava

*วะนิดา สุขประเสริฐ* *วีระสิงห์ แสงวรรณ* *ยงยุทธ ไผ่แก้ว*
*Wanida Sukprasert* *Weerasing Saengwan* *Yongyuth Phaikaew*

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

## ABSTRACT

Pesticide residues monitoring in citrus fruits from planting place, farmer garden and were to buy. has been studied. A total of 717 samples and, including oranges, pomelos lemons longan lychee rose apple and guava ; 177 147 74 175 41 50 and 53 samples respectively. All samples were analyzed by chromatographic techniques using LC-MS/MS and GC-MS/MS. The results showed that, all 20 types of pesticide residue were detected. found and in analyzed samples oranges, pomelos lemons longan lychee rose apple and guava ; 91, 135, 34, 13, 80, 43 and 10 samples with 51.4, 91.8, 56.6, 31.7, 45.7, 86 and 19 percent of all samples. The pesticide residue found including, azoxystrobin bifenthrin buprofezin carbaryl chlorpyrifos cypermethrin l-cyhalothrin ethion diazinon dimethoate difenoconazole deltamethrin methidathion metalaxyl pirimiphos-methyl profenofos prothiophos pyridaben fenitrothion and thiamethoxam. Are in the range of less than LOQ - 7.23 mg/kg. The residues found exceed MRL in the samples were chlorpyrifos in 4 samples, cypermethrin in 9 samples, ethion in 1 sample and profenofos was found in 6 oranges samples. Amount of pesticide found are in the range of 1.47 – 7.23 mg/kg while Codex and Japan MRL was set. In pomelo found that cypermethrin 2 samples were exceed while Codex MRL was set. Pesticide residues in lemon were detected found lowest, and all sample are in safe criteria. Therefore, it is important to pay attention to surveillance of pesticide residues and give an advice to the farmers on the correct and safely use of pesticide. in longan, lychee, rose apple and guava There is no set MRL in Codex and Thai MRL, but in some countries, there are set MRL from various sources, for example, Japan defines azoxystrobin in guava set to MRL 0.3 mg/kg, defined in thiamethoxam set to 0.2 mg/kg, respectively. In the European Union and Japan were defined as 0.01 mg/kg. In which rose apple does not set MRL configuration. From the results of the analysis of both rose apple and guava within the threshold that does not exceed the specified MRL. The health risk assessment was calculated using Hazard Quotient (HQ) values of pesticide residues in food It was calculated together with the daily intake and the residual amount detected in the sample. There are still some examples that exceed the Risk Index (HQ). These included cypermethrin dimethoate, ethion methidathion and profenophos in mandarin,

ethion and methidathion in pomelo, and ethion in longans. however, it is considered a very small amount that exceeds the safety threshold. compared to the total number of samples.

**Keyword :** pesticide residues, Maximum Residue limits (MRLs), citrus fruits**,** lychee, longan, rose apple, guava

## บทคัดย่อ

สุ่มตัวอย่างพืชตระกูลส้ม ได้แก่ ส้มเขียวหวาน ส้มโอ และมะนาว ลิ้นจี่ ลำไย ชมพู่และฝรั่ง จากแหล่งที่มีการปลูกเพื่อการค้า สวนเกษตรกร และแหล่งจำหน่ายต่างๆ 36 จังหวัด รวมทั้งสิ้น 717 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างส้มเขียวหวาน ส้มโอ มะนาว ลำไย ลิ้นจี่ ชมพู่และฝรั่ง จำนวน 177 147 74 175 41 50 และ 53 ตัวอย่าง ตามลำดับ นำมาตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟี โดยใช้ LC-MS/MS และ GC-MS/MS ผลปรากฏว่า ตรวจพบสารพิษตกค้างทั้งหมด 20 ชนิด พบในส้มเขียวหวาน ส้มโอ มะนาว ลิ้นจี่ ลำไย ชมพู่และฝรั่ง จำนวน 91 135 34 13 80 43 และ 10 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 51.4 91.8 56.6 31.7 45.7 86 และ 19 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด ตามลำดับ สารพิษตกค้างที่พบ ได้แก่ azoxystrobin, bifenthrin, buprofezin, carbaryl, chlorpyrifos, cypermethrin, l-cyhalothrin, ethion, diazinon, dimethoate, difenoconazole, deltamethrin, methidathion, metalaxyl, pirimiphos-methyl, profenofos, prothiophos, pyridaben, fenitrothion และ thiamethoxam ปริมาณอยู่ในช่วงต่ำกว่า LOQ – 7.23 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สารพิษตกค้างที่พบเกินค่ามาตรฐาน คือ chlorpyrifos จำนวน 4 ตัวอย่าง cypermethrin จำนวน 9 ตัวอย่าง ethion จำนวน 1 ตัวอย่าง และ profenofos จำนวน 6 ตัวอย่าง ในส้ม ซึ่งเกินค่ามาตรฐานที่ Codex และญี่ปุ่นกำหนดไว้ ปริมาณที่ตรวจพบ อยู่ระหว่าง 1.47-7.23 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในส้มโอมีเพียง cypermethrin 2 ตัวอย่าง ที่เกินค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ใน Codex MRL ส่วนมะนาวพบสารพิษตกค้างในปริมาณค่อนข้างต่ำ และทุกตัวอย่างอยู่ในเกณฑ์ที่ปลอดภัย ในลำไย ลิ้นจี่ ชมพู่และฝรั่ง ยังไม่มีกำหนดค่า MRL ทั้งใน Codex และ Thai MRL แต่ในฝรั่ง มีกำหนดค่ามาตรฐานจากแหล่งต่างๆ เช่น ญี่ปุ่นกำหนด azoxystrobin ในฝรั่ง เท่ากับ 0.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม กำหนดใน thiamethoxam เท่ากับ 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ในสหภาพยุโรปและญี่ปุ่น กำหนดสารทั้งสองชนิด เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งในชมพู่ยังไม่มีกำหนดค่า MRL และจากผลการตรวจวิเคราะห์ทั้งชมพู่แลฝรั่ง อยู่ในเกณฑ์ที่ไม่เกินค่า MRL ที่กำหนดไว้ เมื่อนำค่ามาประเมินความเสี่ยงของสารพิษตกค้างในอาหาร คำนวณร่วมกับปริมาณการบริโภคต่อวันและค่าปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจพบในตัวอย่าง ยังมีบางตัวอย่างที่เกินดัชนีชี้วัดความเสี่ยง (HQ) ได้แก่ cypermethrin, dimethoate, ethion, methidathion และ profenophos ในส้มเขียวหวาน ethion และ methidathion ในส้มโอ และ ethion ในลำไย แต่อย่างไรก็ตาม ถือว่าจำนวนตัวอย่างน้อยมากที่เกินค่าเกณฑ์ความปลอดภัย เมื่อเทียบกับจำนวนตัวอย่างทั้งหมด

**คำหลัก :** สารพิษตกค้าง ค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างที่ยอมรับ พืชตระกูลส้ม ลำไย ลิ้นจี่ ชมพู่ ฝรั่ง

## คำนำ

ส้มและส้มโอ เป็นผลไม้เมืองร้อนตระกูลส้ม สามารถปลูกและเจริญเติบโตได้ดีเกือบทุกภาคของประเทศไทย ส้มที่ปลูกในพื้นที่ที่มีอากาศเย็นโดยเฉพาะภาคเหนือ จะช่วยให้ผิวของส้มมีสีเหลืองเข้มมากขึ้น ซึ่งมีการปลูกในจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย เป็นส่วนใหญ่ สำหรับส้มโอมีการปลูกมากในจังหวัดเชียงรายพิจิตร ชัยนาท สมุทรสงคราม ปราจีนบุรี นครนายก นครปฐม ชุมพร นครศรีธรรมราช สงขลา ฯลฯ เนื่องจากส้มและส้มโอ เป็นผลไม้ที่มีรสเปรี้ยวอมหวาน ที่มีคุณค่าทางอาหารสูง คนไทยนิยมบริโภคกันทั่วไป นอกจากส้มเขียวหวานและส้มโอที่มีการปลูกในประเทศมาเป็นเวลาช้านานแล้ว ในระยะเวลาต่อมาเกษตรกรได้ทำการคัดเลือกต้นพันธุ์ และพัฒนาสายพันธุ์เดิมที่มีอยู่ รวมทั้งมีการนำพันธุ์ส้มชนิดและสายพันธุ์ต่างๆ ทั้งส้มโอ ส้มติดเปลือก และโดยเฉพาะส้มเปลือกล่อนจากต่างประเทศ เข้ามาทดลองปลูกอีกหลายสายพันธุ์ ส้มบางสายพันธุ์ที่มีการปรับตัวและการพัฒนาที่ดี สามารถเจริญเติบโตให้ผลผลิตที่ดีและมีคุณภาพเป็นที่ยอมรับและต้องการของผู้ บริโภค ทำให้ปัจจุบันมีสายพันธุ์ของส้มเปลือกล่อน และส้มที่มีความหลากหลาย ทั้งด้านลักษณะคุณภาพ และรสชาติ ให้เลือกบริโภคตามความต้องการ ปัจจุบันมีส้มเปลือกล่อนสายพันธุ์ส้มที่สำคัญที่เกษตรกรนิยมปลูกในประเทศไทย ได้แก่ ส้มเขียวหวาน พันธุ์บางมด (บางล่าง/กิ่งอ่อน) ส้มเขียวหวาน พันธุ์แหลมทอง (บางบน/กิ่งแข็ง) ส้มสีองหรือส้มผิวทองซึ่งตามความเป็นจริง คือส้มเขียวหวาน หรือพันธุ์แหลมทอง ที่นำไปปลูกจังหวัดน่านและจังหวัดเชียงใหม่ หากแต่ผลส้มที่มีสีของเปลือกผลเป็นสีส้มแดง แทนที่จะมีเปลือกเป็นสีเขียว เนื่องจากอิทธิพลของอากาศเย็น ส้มฟรีมองต์ ส้มสายน้ำผึ้ง (หรือส้มโชกุน) ส้มออร่า (พวงทอง/ออร่า 9) ส้มซัสซุมา ส้มพองแกน เป็นต้น

มีผู้รายงานไว้ว่า มีการตรวจพบสารพิษตกค้างหลายชนิดในส้มที่มีการนำเข้าสหราชอาณาจักรและสหรัฐอเมริกา ได้แก่ 2,4-D, imazalil, thiabendazole, methidathion, dicofol, chlorpyrifos และ dimethoate เป็นต้น (The Working Party on Pesticide Residue, 1999 และ U.S. Food and Drugs Administration, 2000)

Ortelli and *et al* (2005) ได้สำรวจสารพิษตกค้างทั้งสารป้องกันกำจัดโรคพืช สารกำจัดแมลง และสารกำจัดไรที่ใช้ในพืชตระกูล Citrus fruits จำนวน 240 ตัวอย่าง มีทั้งส้มและมะนาว พบสารพิษตกค้างมากถึง 38 ชนิด สารพิษตกค้างที่ตรวจพบบ่อยที่สุดคือ imazalil พบสูงถึงร้อยละ 70 ของตัวอย่างที่ตรวจพบสารพิษตกค้าง รองลงไปคือ thiabendazole พบร้อยละ 36 ทั้งสองชนิดนี้เป็นสารที่ใช้หลังการเก็บเกี่ยวเพื่อป้องกันเชื้อรา ทั้งยังพบสารพิษตกค้าง penconazole และ chlorpyrifos เกินค่า MRL ตามมาตรฐานของประเทศสวิสเซอร์แลนด์ นอกจากนี้ยังได้ตรวจส้มอินทรีย์อีก 23 ตัวอย่าง พบสารพิษตกค้าง 3 ตัวอย่าง แต่พบในปริมาณต่ำ ในประเทศสเปน ที่เป็นแหล่งปลูกส้มที่สำคัญก็ได้มีการสุ่มตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง 4 ชนิด ได้แก่ imidacloprid, carbendazim, methiocarb และ hexythiazox ในส้มและผลไม้อื่นๆ พบสารพิษตกค้างทั้ง 4 ชนิดนี้ในปริมาณ 0.02–0.75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในส้มชนิด orange 54 ตัวอย่าง จากทั้งหมดที่ตรวจ 56 ตัวอย่าง และในส้มชนิด tangerine 119 ตัวอย่าง จากทั้งหมดที่ตรวจ 134 ตัวอย่าง ซึ่งคิดเป็นร้อยละของการตรวจพบที่สูง และพบสารพิษตกค้าง methiocarb และ hexythiazox เกินค่า MRL 19 ตัวอย่าง (Blasco and *et al.,* 2003) สำหรับกรมวิชาการเกษตรได้เคยตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในส้มนำเข้าที่สุ่มจากด่านตรวจพืชและแหล่งจำหน่ายต่างๆ ในช่วงเดือนตุลาคม – ธันวาคม ปี 2556 ประภัสสราและคณะ (2556) ได้สำรวจตัวอย่างส้มนำเข้าจากประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีนจากด่านตรวจพืชเชียงของ ด่านตรวจพืชแหลมฉบัง และจากแหล่งรวบรวมผลผลิตส้มนำเข้า จำนวน 51 ตัวอย่าง และสำรวจตัวอย่างมะนาวนำเข้าจากประเทศกัมพูชา บริเวณด่านตรวจพืชบ้านแหลมและด่านตรวจพืชช่องผักกาด อำเภอโป่งน้ำร้อน จังหวัดจันทบุรี จำนวน 24 ตัวอย่าง รวมทั้งสิ้น 75 ตัวอย่าง ตรวจพบสารพิษตกค้างในส้มร้อยละ 45 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด สารพิษตกค้างที่ตรวจพบได้แก่ chlorpyrifos, methidathion, l-cyhalothrin, cypermethrin, bifenthrin และ profenofos ปริมาณอยู่ในช่วง 0.01 – 0.08 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนตัวอย่างมะนาวนำเข้านั้น ตรวจพบสารพิษตกค้างร้อยละ 29.2 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด สารพิษตกค้างที่ตรวจพบมีเพียงชนิดเดียวคือ chlorpyrifos ปริมาณอยู่ในช่วง 0.01 – 0.07 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

สำหรับการสำรวจสารพิษตกค้างในส้มโอ สมสมัยและประชาธิปัตย์ (2551) ได้สำรวจสารพิษตกค้างในส้มโอที่สุ่มจากแหล่งจำหน่ายต่างๆ จำนวน 43 ตัวอย่าง พบสารพิษตกค้าง 22 ตัวอย่าง สารพิษที่ตรวจพบได้แก่ chlorpyrifos, cypermethrin, profenofos, malathion และ ethion ปริมาณที่พบอยู่ในเกณฑ์ที่ปลอดภัย และพบวัตถุอันตรายประเภท

ที่ 4 คือ parathion-methyl จำนวน 1 ตัวอย่าง ส่วนงานวิจัยในส้มโอเช่นเดียวกันของ ประภัสสรา และ ยงยุทธ (2552) ได้สำรวจส้มโอใน 18 จังหวัดในภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 40 ตัวอย่าง พบสารพิษตกค้าง 6 ชนิด ได้แก่ cypermethrin, , ethion, chlorpyrifos methidathion, dimethoate และ parathion-methyl ในปริมาณ 0.01–1.16 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

การศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างในพืชตระกูลส้ม ที่มีการปลูกเพื่อการค้า สวนเกษตรกร และจากแหล่งจำหน่ายต่างๆ เพื่อให้ได้ข้อมูลพื้นฐานด้านสารพิษตกค้างจากการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดโรค แมลงและศัตรูพืช นำมารวบรวมสรุป ประเมินสถานการณ์ทางด้านสารพิษตกค้างเสนอต่อกรมวิชาการเกษตร เพื่อประกอบการพิจารณาแก้ไขปัญหาการใช้วัตถุมีพิษและจำกัดปริมาณการใช้สารเคมี เป็นการเฝ้าระวังเพื่อให้ประเทศไทยมีผลผลิตที่ปลอดภัยสำหรับผู้บริโภคทั้งในประเทศและส่งออกไปยังต่างประเทศ สามารถเป็นครัวของโลกได้อย่างแท้จริง

จากข้อมูลสถิติของกองงานเศรษฐกิจการเกษตรของลิ้นจี่ พันธุ์ที่นิยมปลูก สำหรับทางภาคเหนือ ได้แก่ พันธุ์ฮงฮวย พันธุ์โอวเฮียะ พันธุ์กิมเจ็ง และพันธุ์จักรพรรดิ์ ส่วนทางภาคกลาง ได้แก่ พันธุ์ค่อม สำหรับลำไยในประเทศไทยสามารถแบ่งออกเป็นกลุ่มและแยกเป็นชนิดย่อย เช่น กลุ่มลำไยพันธุ์ดี (ลำไยกะโหลก), กลุ่มลำไยป่า, กลุ่มลำไยพื้นเมือง (ลำไยกระดูก), กลุ่มลำไยเครือหรือลำไยเถา (ลำไยชลบุรี) และยังมีลำอีกอยากหลายชนิดที่ยังไม่ถูกจำแนก เช่น ลำไยใบหยก, ลำไยอีสร้อย, ลำไยตอหลวง, ลำไยเพรชน้ำเอก, ลำไยพวงเพชรบ้านแพ้ว เป็นต้น ซึ่งจากการทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้องที่ผ่านมา ศิริพันธ์ และ ประชาธิปัตย์ (2551) ได้สำรวจลิ้นจี่ จากแหล่งจำหน่ายทางภาคเหนือจำนวน 40 ตัวอย่าง พบสารพิษตกค้าง 19 ตัวอย่าง ได้แก่ chlorpyrifos, cypermethrin, methidathion และ triazophos ในปีเดียวกันนี้ ประชาธิปัตย์ และ ศิริพันธ์ (2551) ได้สุ่มสำรวจตัวอย่างลำไยจากแหล่งจำหน่ายรวม 22 ตัวอย่าง พบสารพิษตกค้าง cypermethrin และ chlorpyrifos เท่านั้น ประชาธิปัตย์ และคณะ (2557) ได้ตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในลิ้นจี่ และลำไย จากแหล่งเพาะปลูก และจำหน่ายในประเทศไทย ช่วงเวลาระหว่างเดือน พฤศจิกายน 2555 – ตุลาคม 2556 จำนวน 175 ตัวอย่าง แบ่งออกเป็นตัวอย่างลำไย 103 ตัวอย่าง และตัวอย่าง ลิ้นจี่ 72 ตัวอย่าง จากภาคกลางตะวันออกเฉียงเหนือ ใต้ และภาคเหนือ ตัวอย่างลิ้นจี่จากภาคเหนือคิดเป็นร้อยละ 60 และตัวอย่างลำไยจากภาคเหนือคิดเป็นร้อยละ 42 ตรวจไม่พบสารพิษตกค้างในตัวอย่างลิ้นจี่จำนวน 2 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 3 ตรวจไม่พบสารพิษตกค้างในตัวอย่างลำไยจำนวน 27 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 26 ตัวอย่างลำไยมีความปลอดภัยในการบริโภคจำนวน 76 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 74 และตัวอย่างลิ้นจี่มีความปลอดภัยในการบริโภคจำนวน 60 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 83 ตรวจพบชนิดของสารพิษตกค้างในลำไยจำนวน 14 ชนิด ได้แก่ carbendazim, chlorpyrifos, cypermethrin, difenoconazole, methomyl, carbaryl, ethion, profenofos, azoxystrobin, pirimiphos-methyl, prothiophos, malathion, omethoate และ azinphos-methyl โดยเรียงตามความถี่ในการตรวจพบตามลำดับ ตรวจพบชนิดของสารพิษตกค้างในตัวอย่างลิ้นจี่จำนวน 13 ชนิด ได้แก่ cypermethrin, chlorpyrifos, carbendazim, methomyl, metalaxyl, cyhalothrin, malathion, profenofos, monocrotophos, cyfluthrin, fenobucarb, omethoate และ dicrotophos โดยเรียงตามความถี่ในการตรวจพบตามลำดับ นอกจากนั้นยังตรวจพบสารพิษตกค้างที่ห้ามใช้ในประเทศไทยจำนวน 2 ตัวอย่างคือ azinphos-ethyl ในลำไยจำนวน 1 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ monocrotophos ในลิ้นจี่จำนวน 2 ตัวอย่างปริมาณ 0.08 และ 0.06 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

จากผลการสำรวจสารพิษตกค้างในชมพู่และฝรั่ง ลักษมีและคณะ (2557) ได้ตรวจสารพิษตกค้างจากแหล่งปลูกและแหล่งจำหน่าย รวม 19 จังหวัด จำนวนรวมทั้งสิ้น 269 ตัวอย่าง เป็นชมพู่ 101 ตัวอย่าง และฝรั่ง 168 ตัวอย่าง ในชมพู่พบสาร 86 ตัวอย่าง ร้อยละ 85.15 ของตัวอย่างชมพู่ทั้งหมด สารที่พบ 7 ชนิด ได้แก่ chlorpyrifos cypermethrin methomyl L-cyhalothrin omethoate ethion และ dimethoate ปริมาณ 0.01- 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สารที่พบเกินค่า MRLs ได้แก่ cypermethrin methomyl และ omethoate จำนวน 10 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 9.9 ของตัวอย่างชมพู่ทั้งหมด ในฝรั่งพบสาร 138 ตัวอย่าง ร้อยละ 82.14 ของตัวอย่างฝรั่งทั้งหมด สารที่พบ 15 ชนิด ได้แก่ chlorpyrifos cypermethrin methomyl omethoate carbofuran deltamethrin pirimiphos-methyl profenophos prothiophos 3 - OH carbofuran dimethoate ethion parathion-methyl dicrotophos และ malathion

ปริมาณ 0.01- 0.82 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สารที่พบเกินค่า MRLs ได้แก่ chlorpyrifos cypermethrin methomyl omethoate และ carbofuran จำนวน 35 ตัวอย่าง ร้อยละ 20.83 ของตัวอย่างฝรั่งทั้งหมด สารตกค้างที่ตรวจพบเกินค่า MRLs มากที่สุด 4 อันดับแรกในชมพู่และฝรั่ง ได้แก่ cypermethrin chlorpyrifos methomyl และ omethoate

ปัจจุบันการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในพืชผักผลไม้หรือผลิตผลการเกษตรถือเป็นเรื่องสำคัญและเร่งด่วน ทั้งนี้เพื่อความปลอดภัยในการบริโภคของประชาชน ซึ่งเป็นการเฝ้าระวังติดตาม ตรวจสอบสารพิษตกค้างภายหลังจากการใช้ของเกษตรกร เพื่อประเมินความเสี่ยงภัยต่อการบริโภค รวมทั้งยังสามารถนำข้อมูลมาพิจารณาสำหรับประกอบการตัดสินใจในการจัดการวัตถุอันตรายทางการเกษตร เช่น การพิจารณาการขึ้นทะเบียน การต่ออายุทะเบียน การทดลองประสิทธิภาพในพืช และการปรับปรุงคำแนะนำในฉลาก เป็นต้น โดยใช้ข้อมูลตามหลักการทางวิทยาศาสตร์ที่ยอมรับเป็นสากลอย่างมีเหตุผล เพื่อให้มีการใช้ประโยชน์จากสารเคมีควบคู่ไปกับการจัดการเพื่อความปลอดภัยในการบริโภค จึงมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาปริมาณสารพิษตกค้าง เพื่อเป็นข้อมูลในการควบคุมกำกับดูแลด้านวัตถุอันตรายทางการเกษตรของกรมวิชาการเกษตรต่อไป

## วิธีดำเนินการ

### สารเคมีและอุปกรณ์

1. สารมาตรฐานวัตถุมีพิษกลุ่ม 129 ชนิด
2. สารมาตรฐานวัตถุมีพิษกลุ่มไพรีทรอยด์ จำนวน 17 ชนิด
3. สารมาตรฐานวัตถุมีพิษกลุ่มกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส จำนวน 47 ชนิด
4. สารมาตรฐานวัตถุมีพิษกลุ่มสารกลุ่มคาร์บาเมท จำนวน 16 ชนิด
5. สารมาตรฐานกลุ่มอื่นๆ จำนวน 16 ชนิด
6. สารเคมีชนิดต่างๆ ได้แก่ acetone, ethyl acetate, acetonitrile, methanol, sodium sulfate anhydrous, PSA, Envi-carb, NaCl, $Na_3$Citrate dihydrate, $Na_2$HCitrate sesquihydrate ชนิด analytical และ pesticide residue grade
7. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างและภาชนะบรรจุที่เหมาะสมหรือถุงพลาสติกใหม่ที่สะอาด
8. เครื่องแก้วและอุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดและการเตรียมสารมาตรฐาน
9. เครื่องมือที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องชั่ง, centrifuge, vortex, nitrogen evaporator
9. เครื่องมือวิเคราะห์ชนิด LC-MS/MS (Liquid Chromatograph High Resolution Mass Spectrometer) และ GC-MS/MS (Gas Chromatograph High Resolution Mass Spectrometer)
10. ตัวอย่างพืชตระกูลส้ม ได้แก่ ส้มเขียวหวาน ส้มโอ และมะนาว ลิ้นจี่ ลำไย ชมพู่และฝรั่ง

### วิธีการ

สุ่มเก็บตัวอย่างตามวิธีใน Codex guidelines คือ ไม้ผลขนาดเล็ก มีน้ำหนักน้อยกว่า 25 กรัมต่อผล เก็บตัวอย่างปริมาณ 1 กิโลกรัม ได้แก่ ลำไย และลิ้นจี่ ไม้ผลขนาดกลาง มีน้ำหนัก 25-250 กรัมต่อผล เก็บตัวอย่างปริมาณ 1 กิโลกรัม อย่างน้อย 10 ผล ได้แก่ ส้มเขียวหวาน มะนาว ชมพู่ และฝรั่ง ส่วนไม้ผลขนาดใหญ่ มีน้ำหนักมากกว่า 250 กรัมต่อผล เก็บตัวอย่างปริมาณ 2 กิโลกรัม อย่างน้อย 5 ผล คือ ส้มโอ (FAO/WHO, 1999) จากแหล่งที่มีการปลูกเพื่อการค้า สวนเกษตรกร และแหล่งจำหน่ายต่างๆ รวมทั้งหมด 717 ตัวอย่าง ได้แก่

1. พืชตระกูลส้ม เก็บตัวอย่างในช่วงเดือน ตุลาคม 2559 ถึง กันยายน 2561 จำนวนรวม 398 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นตัวอย่างส้มเขียวหวาน จำนวน 177 ตัวอย่าง และตัวอย่างส้มโอ จำนวน 147 ตัวอย่าง มะนาว จำนวน 74 ตัวอย่าง ตามลำดับ พันธุ์ส้มที่เก็บ ได้แก่ ส้มสายน้ำผึ้ง ส้มเขียวหวานสีทอง ส้มเขียวหวานบ้านแพ้ว ส้มเขียวหวานดำเนิน ส้มบางมดปทุมธานี เป็นต้น ส้มโอ ได้แก่ ส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่ ขาวแตงกวา ขาวน้ำผึ้ง และทองดี มะนาว ได้แก่ มะนาวแป้น มะนาวพิจิตร และมะนาวไร้เมล็ด เป็นต้น

2. ลำไยและลิ้นจี่ เก็บตัวอย่างในช่วงเดือน ตุลาคม 2561 ถึง กันยายน 2563 จำนวนรวม 216 ตัวอย่าง ลำไย จำนวน 175 ตัวอย่าง ลิ้นจี่ จำนวน 41 ตัวอย่าง แบ่งตามสายพันธ์ของลำไย ได้แก่ พันธุ์พวงทอง (บ้านแพ้ว) พันธุ์อีดอ (ลำพูน) พันธุ์กะโหลก เป็นต้น และพันธุ์ของลิ้นจี่ ได้แก่ พันธุ์จักรพรรดิ์ ฮงฮวย ค่อม เป็นต้น พื้นที่เก็บตัวอย่าง ได้แก่ กรุงเทพมหานครกาญจนบุรี จันทบุรี ฉะเชิงเทรา ชลบุรี ปทุมธานี ประจวบคีรีขันธ์ ปราจีนบุรี นครปฐม นครนายก นครราชสีมาพระนครศรีอยุธยา เพชรบุรี ระยอง สระบุรี สมุทรปราการ สมุทรสงคราม สมุทรสาคร สุพรรณบุรี และอ่างทอง

3. ชมพู่และฝรั่ง เก็บตัวอย่างในช่วงตุลาคม 2563 ถึง กันยายน 2564 จำนวนรวม 103 ตัวอย่าง ชมพู่ จำนวน 50 ตัวอย่าง ฝรั่งจำนวน 53 ตัวอย่าง แบ่งตามสายพันธ์ของชมพู่ ดังนี้ พันธุ์เพชรสายรุ้ง พันธุ์ทูลเกล้า พันธุ์เพชรใต้หวัน พันธุ์ทับทิมจันทร์ เป็นต้น สำหรับฝรั่ง แบ่งเป็น พันธุ์กิมจู ฝรั่งไต้หวัน และฝรั่งแป้นสีทอง เป็นต้น พื้นที่ที่เก็บตัวอย่าง ได้แก่ กรุงเทพมหานคร กาญจนบุรี ฉะเชิงเทรา นครปฐม นครนายก นครราชสีมา ปทุมธานี พระนครศรีอยุธยา เพชรบูรณ์ ราชบุรี ลพบุรี สระบุรี สิงห์บุรี สุพรรณบุรี และอ่างทอง

บันทึกรายละเอียดและลักษณะของตัวอย่าง วันที่ สถานที่เก็บตัวอย่าง แล้วนำมาวิเคราะห์สารพิษตกค้าง ณ ห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้าง กลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

การเตรียมตัวอย่างและการสกัดตัวอย่าง โดยสุ่มตัวอย่างผักและผลไม้ อย่างน้อย 2 กิโลกรัม หั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำไปปั่นละเอียดอีกครั้งด้วยเครื่องเตรียมตัวอย่าง (Lab Micronizer) คนให้เข้ากันแล้วสุ่มชั่งตัวอย่างละ 10±0.05 กรัม แบ่งเก็บตัวอย่างสำรองไว้ใน freezer แล้วนำมาสกัดหาสารพิษตกค้าง ตามวิธีการที่การที่ได้รับรอง ISO/IEC 17025 ของห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมพิษการเกษตร โดยนำตัวอย่างนำตัวอย่างที่ชั่ง10±0.05 g เติม acetonitrile 10 ml แล้วเขย่าแรงๆ นาน 1 นาที เติม 4 g Magnesium Sulphate, 1 g Sodium Chloride, 0.5 g di-Sodium Hydrogen Citrate, 1 g tri-Sodium Citrate dehydrate หรือจากสารผสมสำเร็จรูป เขย่าแรงๆนาน 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3,000 rpm นาน 5 นาที ดูดสารละลาย 5 ml ใส่ centrifuge tube ขนาด 15 ml ที่มี 125 mg PSA, 750 mg Magnesium Sulphate, 50 mg GCB หรือจากสารผสมสำเร็จรูป แล้วนำไป vortex นาน 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3,000 rpm นาน 5 นาที ดูดสารละลาย 2 ml ใส่ syringe เติม 5% Formic acid 20 µl แล้วกรองผ่าน PTFE ใส่ vial ปิดฝา นำไปวิเคราะห์ ด้วยเครื่อง LC-MS/MS (Anastassiades, 2008)

คำนวณปริมาณสารพิษตกค้าง โดยวัดค่า retention time ของพีค เปรียบเทียบกับโครมาโทแกรม และ Calibration curve ของสารมาตรฐาน และคำนวณความเข้มข้นของสารพิษตกค้างในสารละลายตัวอย่าง โดยโปรแกรมสำเร็จรูปจากสมการ Linear Regression และต้องมีค่า Correlation ไม่น้อยกว่า 0.995 หาความเข้มข้นของสารในตัวอย่างตามสูตร ดังต่อไปนี้

$$C_{sample} = C_{calib.} \times V_{sample} \times F / W_{sample}$$

โดยที่ $C_{sample}$ = ความเข้มข้นของสารพิษในสารละลายตัวอย่าง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)

$C_{calib.}$ = ความเข้มข้นของสารพิษในสารละลายตัวอย่าง ที่ได้จากการเทียบ Calibration curve ใน GC/LC Report (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ดังนี้

$$C_{calib.} = \frac{\text{Area of sample x Conc. of Standard}}{\text{Area of Standard}}$$

$V_{sample}$ = ปริมาตรที่ปรับครั้งสุดท้ายของสารละลายตัวอย่างก่อนการฉีด (มิลลิลิตร)

$W_{sample}$ = น้ำหนักตัวอย่างที่นำมาสกัด (กรัม)

F = Correction Factor

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ แปรผลข้อมูลและสรุปข้อมูลช่วงความเข้มข้นของสารพิษตกค้างที่ตรวจพบ และเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานสารพิษตกค้าง รวมทั้งประเมินความเสี่ยงภัยต่อการบริโภคด้านอาหาร

**ระยะเวลา**

เดือนตุลาคม 2559 - เดือนกันยายน 2564

**สถานที่ดำเนินการ**

สถานที่สุ่มตัวอย่างในพื้นที่ต่างๆ และห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษทางการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

## ผลการทดลองและวิจารณ์

การสุ่มตัวอย่างและสารพิษตกค้างที่ตรวจพบ : สุ่มตัวอย่างผลไม้ ได้แก่ พืชตระกูลส้ม คือ ส้มเขียวหวาน ส้มโอ และมะนาว ลิ้นจี่ ลำไย ชมพู่และฝรั่ง ในช่วงเดือน ตุลาคม 2559 ถึง กันยายน 2564 รวมระยะเวลา 5 ปี จากแหล่งที่มีการปลูกเพื่อการค้า สวนเกษตรกร และแหล่งจำหน่ายต่างๆ รวมทั้งสิ้น 717 ตัวอย่าง ได้แก่ ส้มเขียวหวาน จำนวน 177 ตัวอย่าง ส้มโอ จำนวน 147 ตัวอย่าง มะนาว จำนวน 74 ตัวอย่าง ลิ้นจี่ จำนวน 41 ตัวอย่าง ลำไย จำนวน 175 ตัวอย่าง ชมพู่ จำนวน 50 ตัวอย่าง และ ฝรั่งจำนวน 53 ตัวอย่าง จาก 36 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดกรุงเทพมหานคร กำแพงเพชร กาญจนบุรี จันทบุรี ฉะเชิงเทรา ชัยนาท เชียงใหม่ ชลบุรี ตาก นครปฐม นครนายก นครราชสีมา นครสวรรค์ นนทบุรี ปทุมธานี ประจวบคีรีขันธ์ ปราจีนบุรี พระนครศรีอยุธยา พิจิตร พิษณุโลก เพชรบุรี เพชรบูรณ์ ระยอง ราชบุรี ลำพูน ลำปาง ลพบุรี สมุทรปราการ สมุทรสงคราม สมุทรสาคร สระบุรี สิงห์บุรี สุโขทัย สุพรรณบุรี อ่างทอง และอุทัยธานี ดังนี้

1. สารพิษตกค้างในพืชตระกูลส้ม ในช่วงเดือน ตุลาคม 2559 ถึง กันยายน 2561 สุ่มเก็บตัวอย่างพืชตระกูลส้ม ได้แก่ ส้มเขียวหวาน ส้มโอ และมะนาว จากแหล่งที่มีการปลูกเพื่อการค้า สวนเกษตรกร และแหล่งจำหน่ายต่างๆ รวมทั้งหมด 398 ตัวอย่าง จาก 33 จังหวัด ได้แก่ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 1 ซึ่งเป็นตัวอย่างส้มเขียวหวาน จำนวน 177 ตัวอย่าง และตัวอย่างส้มโอ จำนวน 147 ตัวอย่าง และมะนาว จำนวน 74 ตัวอย่าง ได้แก่ จังหวัดกรุงเทพมหานคร กำแพงเพชร กาญจนบุรี จันทบุรี ฉะเชิงเทรา ชัยนาท เชียงใหม่ ชลบุรี ตาก นครปฐม นครนายก นครราชสีมา นครสวรรค์ นนทบุรี ปทุมธานี ประจวบคีรีขันธ์ ปราจีนบุรี พระนครศีอยุธยา พิจิตร พิษณุโลก เพชรบุรี ระยอง ราชบุรี ลำพูน ลำปาง สมุทรปราการ สมุทรสงคราม สมุทรสาคร สระบุรี สิงห์บุรี สุโขทัย อ่างทอง และอุทัยธานี ดังแสดงในตารางที่ 1

**ตารางที่ 1** จังหวัดที่เดินทางสำรวจตัวอย่างส้ม ส้มโอ และมะนาว

| ภาคเหนือ | ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ | ภาคกลาง | ภาคตะวันออกและตะวันตก |
|---|---|---|---|
| กำแพงเพชร<br>เชียงใหม่<br>ตาก<br>พิจิตร<br>พิษณุโลก<br>ลำปาง<br>ลำพูน<br>สุโขทัย | นครราชสีมา | กรุงเทพมหานคร<br>ชัยนาท นครปฐม<br>นครนายก นครสวรรค์ นนทบุรี<br>ปทุมธานี พระนครศรีอยุธยา<br>สระบุรี สมุทรปราการ<br>สมุทรสงคราม สมุทรสาคร<br>สิงห์บุรี อ่างทอง อุทัยธานี | กาญจนบุรี จันทบุรี<br>ชลบุรี<br>ปราจีนบุรี<br>ประจวบคีรีขันธ์<br>เพชรบุรี<br>ระยอง<br>ราชบุรี<br>ฉะเชิงเทรา |

1.1 สารพิษตกค้างในส้ม

สุ่มเก็บตัวอย่างส้มเขียวหวาน จากแหล่งที่มีการปลูกเพื่อการค้า สวนเกษตรกร และแหล่งจำหน่ายต่างๆ รวมทั้งหมด 177 ตัวอย่าง นำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส กลุ่มออร์กาโนคลอรีนและไพรีทรอยด์ กลุ่มคาร์บาเมท และกลุ่มอื่นๆ ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟี โดยใช้ LC-MS/MS และ GC-MS/MS ตามวิธีการที่การที่ได้รับรอง ISO/IEC 17025 ของห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมพิษการเกษตร ผลปรากฏว่า ตรวจพบสารพิษตกค้าง จำนวน 91 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 51.4 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด สารพิษตกค้างที่ตรวจพบทั้งหมด 10 ชนิด ได้แก่ chlorpyrifos, cypermethrin, bifenthrin, L-cyhalothrin, ethion, dimethoate, methidathion, pirimiphos-methyl, profenofos และ fenitrothion ปริมาณอยู่ในช่วง 0.001 – 7.23 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ในส้ม พบว่า chlorpyrifos จำนวน 4 ตัวอย่าง cypermethrin จำนวน 9 ตัวอย่าง และ ethion จำนวน 1 ตัวอย่าง เกินค่ามาตรฐานที่ Codex และญี่ปุ่นกำหนดไว้ ปริมาณที่ตรวจพบอยู่ระหว่าง 1.47-7.23 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2

**ตารางที่ 2** ผลการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในส้มเขียวหวาน

| สารพิษตกค้างที่ตรวจพบส้มเขียวหวาน | จำนวนตัวอย่าง (ตัวอย่าง) | ร้อยละ (%) | ปริมาณที่พบ(mg/kg) ต่ำสุด | ปริมาณที่พบ(mg/kg) สูงสุด | เกินค่า MRL (ตัวอย่าง) | ค่า MRL (mg/kg) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| bifenthrin | 10 | 5.6 | 0.01 | 0.06 | - | 0.05 (Codex MRL)<br>2.0 (Japan MRL)<br>0.1 (EU MRL) |
| chlorpyrifos | 61 | 34.5 | <LOQ | 1.47 | 4 | 1.0 (Codex MRL) |
| cypermethrin | 84 | 47.5 | 0.03 | 7.23 | 9 | 0.3 (Codex MRL)<br>2.0 (EU MRL/ Japan MRL) |
| dimethoate | 4 | 2.3 | 0.05 | 0.18 | - | 5.0 (Codex MRL) |
| ethion | 55 | 31.1 | <LOQ | 5.21 | 1 | 5.0 (Japan MRL)<br>5.0 (Japan MRL) |
| methidathion | 17 | 9.6 | 0.01 | 0.57 | - | 0.5 (Codex MRL) |
| pirimiphos-methyl | 12 | 6.8 | 0.03 | 0.94 | - | 5.0 (Japan MRL) |
| omethoate | 4 | 2.3 | <LOQ | 0.02 | - | ไม่กำหนดค่า MRL<br>0.2 (Codex MRL/ EU MRL) |
| l-cyhalothrin | 12 | 6.8 | 0.01 | 0.09 | - | 1.0 (Japan MRL) |
| profenofos | 19 | 10.7 | 0.01 | 2.16 | 6 | 0.05 (Japan MRL) |

Codex MRL กำหนดใน Citrus fruits และ Japan MRL กำหนดใน Orange

1.2 สารพิษตกค้างในส้มโอ

สุ่มเก็บตัวอย่างส้มโอ จากแหล่งที่มีการปลูกเพื่อการค้า สวนเกษตรกร และแหล่งจำหน่ายต่างๆ รวมทั้งหมด 147 ตัวอย่าง นำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส กลุ่มออร์กาโนคลอรีนและไพรีทรอยด์ กลุ่มคาร์บาเมท และกลุ่มอื่นๆ โดยเทคนิคโครมาโทกราฟี ตามวิธีการที่การที่ได้รับรอง ISO/IEC 17025 ของห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมพิษการเกษตร ผลปรากฏว่า ตรวจพบสารพิษตกค้าง จำนวน 135 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 91.8 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด สารพิษตกค้างที่ตรวจพบ 6 ชนิด ได้แก่ chlorpyrifos, cypermethrin, ethion, fenitrothion, methidathion และ profenofos ปริมาณที่ตรวจพบอยู่ในช่วง ต่ำกว่า LOQ ถึง 1.40 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างที่กำหนดไว้ใน มี cypermethrin จำนวน 2 ตัวอย่าง ที่เกินค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ใน Codex MRL ดังแสดงในตารางที่ 3

**ตารางที่ 3** ผลการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในส้มโอ

| สารพิษตกค้างที่ตรวจพบส้มโอ | จำนวนตัวอย่าง (ตัวอย่าง) | ร้อยละ (%) | ปริมาณที่พบ(mg/kg) ต่ำสุด | สูงสุด | เกินค่า MRL (ตัวอย่าง) | ค่า MRL (mg/kg) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| chlorpyrifos | 30 | 20.4 | <LOQ | 0.98 | - | 1.0 (Codex MRL) |
| cypermethrin | 36 | 24.5 | 0.01 | 0.54 | 2 | 0.3 (Codex MRL) |
| ethion | 18 | 12.2 | <LOQ | 1.40 | - | 5.0 (Japan MRL) |
| fenitrothion | 4 | 2.7 | <LOQ | 0.01 | - | 2.0 (Japan MRL) |
| methidathion | 14 | 9.5 | 0.01 | 0.95 | - | 5.0 (Japan MRL) |
| profenofos | 14 | 9.5 | 0.01 | 0.03 | - | 0.05 (Japan MRL) |

1.3 สารพิษตกค้างในมะนาว

สุ่มเก็บตัวอย่างมะนาว จากแหล่งที่มีการปลูกเพื่อการค้า สวนเกษตรกร และแหล่งจำหน่ายต่างๆ รวมทั้งหมด 60 ตัวอย่าง นำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส กลุ่มออร์กาโนคลอรีนและไพรีทรอยด์ กลุ่มคาร์บาเมท และกลุ่มอื่นๆ โดยเทคนิคโครมาโทกราฟี ตามวิธีการที่การที่ได้รับรอง ISO/IEC 17025 ของห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมพิษการเกษตร ผลปรากฏว่า ตรวจพบสารพิษตกค้าง จำนวน 34 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 56.6 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด สารพิษตกค้างที่ตรวจพบ 4 ชนิด ได้แก่ chlorpyrifos cypermethrin ethion และ fenitrothion ปริมาณอยู่ในช่วง ต่ำกว่า <LOQ – 0.72 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบสารพิษตกค้างในปริมาณค่อนข้างต่ำ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างที่กำหนดไว้ พบว่า มะนาวทุกตัวอย่างอยู่ในเกณฑ์ที่ปลอดภัย ดังแสดงในตารางที่ 4

**ตารางที่ 4** ผลการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในมะนาว

| สารพิษตกค้างที่ตรวจพบมะนาว | จำนวนตัวอย่าง (ตัวอย่าง) | ร้อยละ (%) | ปริมาณที่พบ(mg/kg) ต่ำสุด | สูงสุด | เกินค่า MRL (ตัวอย่าง) | ค่า MRL (mg/kg) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| chlorpyrifos | 15 | 25 | <LOQ | 0.72 | - | 1.0 (Codex MRL) |
| cypermethrin | 3 | 5 | 0.01 | 0.04 | - | 0.3 (Codex MRL) |
| ethion | 32 | 53.3 | 0.01 | 0.02 | - | 5.0 (Japan MRL) |
| fenitrothion | 26 | 26.6 | 0.05 | 0.26 | - | 2.0 (Japan MRL) |

Codex และ Japan MRL กำหนด ใน Citrus fruits (Japan MRL, 2014).

หมายเหตุ: LOQ เท่ากับ 0.01 mg/kg และข้อมูล พืชตระกูลส้ม ทั้งหมด 398 ตัวอย่าง ตัวอย่างและใช้อ้างอิงในตัวอย่างที่วิเคราะห์เท่านั้น

2. สารพิษตกค้างในลิ้นจี่ ลำไย : ในช่วงเดือน ตุลาคม 2561 ถึง กันยายน 2563 สุ่มเก็บตัวอย่างลิ้นจี่และลำไยตามวิธีใน Codex Guidelines จากแหล่งที่มีการปลูกเพื่อการค้า สวนเกษตรกร และแหล่งจำหน่ายต่างๆ รวมทั้งสิ้น 216 ตัวอย่าง แบ่งเป็น ลำไย จำนวน 175 ตัวอย่าง ลิ้นจี่ จำนวน 41 ตัวอย่าง แบ่งตามสายพันธ์ของลำไย ได้แก่ พันธุ์พวงทอง (บ้านแพ้ว) พันธุ์อีดอ (ลำพูน) พันธุ์กะโหลก เป็นต้น และพันธุ์ของลิ้นจี่ ได้แก่ พันธุ์จักรพรรดิ์ ฮงฮวย ค่อม เป็นต้น จาก 20 จังหวัด ได้แก่ กรุงเทพมหานคร กาญจนบุรี จันทบุรี ฉะเชิงเทรา ชลบุรี ระยอง นครปฐม นครนายก นครราชสีมา ปทุมธานี ประจวบคีรีขันธ์ ปราจีนบุรี พระนครศรีอยุธยา เพชรบุรี สมุทรปราการ สมุทรสงคราม สมุทรสาคร สระบุรี สุพรรณบุรี และอ่างทอง (ดังแสดงในตารางที่ 5) นำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส กลุ่มออร์กาโนคลอรีน และไพรีทรอยด์ กลุ่มคาร์บาเมท และกลุ่มอื่นๆ โดยเทคนิคโครมาโทกราฟฟี ตามวิธีการที่การที่ได้รับรอง ISO/IEC 17025 ของห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมพิษการเกษตร ผลปรากฏว่า ตรวจพบสารพิษตกค้างในลำไย 80 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 45.7 จากจำนวนตัวอย่างทั้งหมด สารพิษตกค้างที่ตรวจพบ ได้แก่ bifenthrin, buprofezin , carbaryl, chlorpyrifos, cypermethrin, deltamethrin, diazinon, difenoconazole, ethion, l-cyhalothrin, metalaxyl, methidathion, profenofos, prothiofos, pyridaben และ thiamethoxam ปริมาณอยู่ในช่วง ต่ำกว่า LOQ – 2.89 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และในลิ้นจี่ตรวจพบสารพิษตกค้าง 13 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 31.7 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด สารพิษตกค้างที่ตรวจพบ ได้แก่ carbaryl, chlorpyrifos, cypermethrin, l-cyhalothrin, metalaxyl และ pyridaben ปริมาณอยู่ในช่วง ต่ำกว่า LOQ – 3.14 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งในลำไยและลิ้นจี่ยังไม่มีกำหนดค่า MRL ทั้งใน Codex และ Thai MRL ผลการวิเคราะห์ ดังแสดงในตารางที่ 6 และ 7

**ตารางที่ 5** จังหวัดที่สำรวจตัวอย่างลำไยและลิ้นจี่

| ภาคเหนือ | ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ | ภาคกลาง | ภาคตะวันออกและตะวันตก |
|---|---|---|---|
| | นครราชสีมา | กรุงเทพมหานคร นครปฐม นครนายก ปทุมธานี พระนครศรีอยุธยา สระบุรี สมุทรปราการ สมุทรสงคราม สมุทรสาคร สุพรรณบุรี อ่างทอง | กาญจนบุรี จันทบุรี ชลบุรี ฉะเชิงเทรา ปราจีนบุรี ประจวบคีรีขันธ์ เพชรบุรี ระยอง |

**ตารางที่ 6** ผลการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในลำไย

| สารพิษตกค้างที่ตรวจพบส้มโอ | จำนวนตัวอย่างที่พบ | ร้อยละ (%) | ปริมาณที่พบ(mg/kg) ต่ำสุด | ปริมาณที่พบ(mg/kg) สูงสุด | เกินค่า MRL (ตัวอย่าง) | ค่า MRL (mg/kg) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | - | Codex ไม่กำหนดค่า MRL ในลำไย |
| chlorpyrifos | 45 | 25 | 0.01 | 0.74 | | |
| cypermethrin | 5 | 2 | 0.01 | 0.21 | - | |
| L-cyhalothrin | 15 | 8 | <LOQ | 0.07 | - | |
| deltamethrin | 1 | 0.5 | - | 0.11 | - | |
| diazinon | 3 | 2 | 0.01 | 0.09 | - | |
| bifenthrin | 5 | 3 | <LOQ | 0.12 | - | |
| ethion | 28 | 16 | <LOQ | 2.11 | - | |
| profenofos | 15 | 9 | <LOQ | 0.56 | - | |
| carbaryl | 24 | 14 | 0.01 | 2.89 | - | |
| thiamethoxam | 1 | 0.5 | - | 0.04 | - | |
| prothiofos | 16 | 9 | 0.01 | 0.62 | - | |
| buprofezin | 5 | 3 | 0.01 | 0.04 | - | |
| difenoconazole | 47 | 27 | <LOQ | 0.49 | - | |
| metalaxyl | 11 | 6 | 0.01 | 0.56 | - | |
| methidathion | 4 | 2 | 0.02 | 0.06 | - | |
| pyridaben | 7 | 4 | <LOQ | 0.18 | - | |

หมายเหตุ: LOQ เท่ากับ 0.01 mg/kg ข้อมูลผลการวิเคราะห์ลำไย ทั้งหมด 175 ตัวอย่าง ใช้อ้างอิงในตัวอย่างที่วิเคราะห์เท่านั้น

**ตารางที่ 7** ผลการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในลิ้นจี่

| สารพิษตกค้างที่ตรวจพบ | จำนวนตัวอย่างที่พบ | ร้อยละ (%) | ปริมาณที่พบ(mg/kg) ต่ำสุด | ปริมาณที่พบ(mg/kg) สูงสุด | เกินค่า MRL (ตัวอย่าง) | ค่า MRL (mg/kg) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| chlorpyrifos | 9 | 22 | 0.01 | 2.43 | - | Codex ไม่กำหนดค่า MRL ในลิ้นจี่ |
| cypermethrin | 2 | 5 | 0.05 | 0.98 | - | |
| carbaryl | 6 | 15 | 0.05 | 3.14 | - | |
| l-cyhalothrin | 1 | 2 | 0.01 | 0.92 | - | |
| metalaxyl | 3 | 7 | 0.01 | 0.78 | - | |
| pyridaben | 7 | 17 | <LOQ | 0.18 | - | |

หมายเหตุ: LOQ เท่ากับ 0.01 mg/kg ข้อมูลผลการวิเคราะห์ลิ้นจี่ ทั้งหมด 41 ตัวอย่าง ใช้อ้างอิงในตัวอย่างที่วิเคราะห์เท่านั้น

3. สารพิษตกค้างในชมพู่ ฝรั่ง: ในช่วงเดือน ตุลาคม 2563 ถึง กันยายน 2564 สุ่มเก็บตัวอย่างชมพู่และฝรั่ง ตามวิธีใน Codex Guidelines จากแหล่งที่มีการปลูกเพื่อการค้า สวนเกษตรกร และแหล่งจำหน่ายต่างๆ รวมทั้งหมด 103 ตัวอย่าง แบ่งเป็นชมพู่ จำนวน 50 ตัวอย่าง ฝรั่งจำนวน 53 ตัวอย่าง จาก 13 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี ฉะเชิงเทรา นครนายก นครปฐม นครราชสีมา ปทุมธานี พระนครศรีอยุธยา เพชรบูรณ์ ราชบุรี ลพบุรี สิงห์บุรี สุพรรณบุรี และอ่างทอง (ดังแสดงในตารางที่ 8) แบ่งตามสายพันธ์ของชมพู่ ดังนี้ พันธุ์เพชรสายรุ้ง พันธุ์ทูลเกล้า พันธุ์เพชรใต้หวัน พันธุ์ทับทิมจันทร์ เป็นต้น และฝรั่ง แบ่งเป็น พันธุ์กิมจู ฝรั่งไต้หวัน และฝรั่งแป้นสีทอง เป็นต้น นำมาวิเคราะห์สารพิษตกค้างในห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้าง กลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ การเตรียมตัวอย่างและการสกัดตัวอย่างโดยสุ่มตัวอย่างลำไย อย่างน้อย 2 กิโลกรัม แล้วนำไปปั่นละเอียดอีกครั้งด้วยเครื่องเตรียมตัวอย่าง (Lab Micronizer) คนให้เข้ากันแล้วสุ่มชั่งตัวอย่าง และเก็บสำรองไว้ใน freezer หลังจากนั้น สกัดหาสารพิษตกค้าง ตามวิธีที่ได้รับรองมาตรฐาน ISO/IEC 17025 ของห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมพิษการเกษตร ผลปรากฏว่า ตรวจพบสารพิษตกค้างในชมพู่ 43 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 86 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด สารพิษตกค้างที่ตรวจพบ ได้แก่ azoxystrobin carbaryl metalaxyl และ thiamethoxam ปริมาณอยู่ในช่วง ต่ำกว่า ต่ำกว่า LOQ – 0.33 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และตรวจพบสารพิษตกค้างในฝรั่ง 10 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 19 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด สารพิษตกค้างที่ตรวจพบมีเพียง 2 ชนิด คือ azoxystrobin และ thiamethoxam ปริมาณอยู่ในช่วง ต่ำกว่า ต่ำกว่า LOQ – 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ใน Codex ยังไม่กำหนดค่า MRL ของพืชทั้งสองชนิดนี้ แต่ในฝรั่ง มีกำหนดค่ามาตรฐานจากแหล่งต่างๆ เช่น ญี่ปุ่น กำหนด azoxystrobin ในฝรั่ง เท่ากับ 0.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม กำหนดใน thiamethoxam เท่ากับ 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ในสหภาพยุโรปและญี่ปุ่น กำหนดสารทั้งสองชนิด เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมที่กำหนดไว้ ซึ่งในชมพู่ยังไม่มีกำหนดค่า MRL และจากผลการตรวจวิเคราะห์ทั้งชมพู่และฝรั่ง อยู่ในเกณฑ์ที่ไม่เกินค่า MRL ที่กำหนดไว้ผลการวิเคราะห์ ดังแสดงในตารางที่ 9 และ 10

**ตารางที่ 8** จังหวัดที่สำรวจตัวอย่างชมพู่และฝรั่ง

| ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ | ภาคกลาง | ภาคตะวันออกและตะวันตก |
|---|---|---|
| นครราชสีมา | กรุงเทพมหานคร นครปฐม นครนายก ปทุมธานี พระนครศรีอยุธยา เพชรบูรณ์ราชบุรี ลพบุรี สระบุรี สิงห์บุรี สุพรรณบุรี อ่างทอง | กาญจนบุรี ฉะเชิงเทรา |

**ตารางที่ 9** ผลการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในชมพู่

| สารพิษตกค้างที่ตรวจพบ | จำนวนตัวอย่างที่พบ | ร้อยละ (%) | ปริมาณที่พบ(mg/kg) ต่ำสุด | ปริมาณที่พบ(mg/kg) สูงสุด | เกินค่า MRL (ตัวอย่าง) | ค่า MRL (mg/kg) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| azoxystrobin | 43 | 86 | 0.01 | 0.33 | - | ชมพู่ยังไม่มีกำหนดค่า MRL |
| carbaryl | 1 | 2 | <LOQ | <LOQ | - | |
| metalaxyl | 2 | 4 | 0.01 | 0.02 | - | |
| thiamethoxam | 2 | 4 | <LOQ | <LOQ | - | |

**ตารางที่ 10** ผลการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในฝรั่ง

| สารพิษตกค้างที่ตรวจพบ | จำนวนตัวอย่างที่พบ | ร้อยละ (%) | ปริมาณที่พบ (mg/kg) ต่ำสุด | ปริมาณที่พบ (mg/kg) สูงสุด | เกินค่า MRL (ตัวอย่าง) | ค่า MRL (mg/kg) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| azoxystrobin | 8 | 15 | <LOQ | 0.2 | - | Japan 0.3 mg/kg, EU 0.01 mg/kg |
| thiamethoxam | 2 | 4 | <LOQ | 0.02 | - | Japan 0.2 mg/kg, EU 0.01 mg/kg |

เมื่อเปรียบเทียบค่ามาตรฐานจากแหล่งต่างๆ ที่กำหนดในฝรั่ง ซึ่งยุโรปและญี่ปุ่นมีการกำหนดค่า MRL ไว้แล้ว ดังแสดงในตารางที่ 11 ส่วนในชมพู่ยังไม่มีกำหนดค่า MRL และจากผลการตรวจวิเคราะห์ชมพู่แลฝรั่ง อยู่ในเกณฑ์ที่ไม่เกินค่า MRL ที่กำหนดไว้

**ตารางที่ 11** แสดงค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างจากแหล่งต่างๆ ที่กำหนดไว้ในฝรั่ง

| พืช | ชนิดสารพิษ | Thai MRL | Codex MRL | Japan MRL | EU MRL |
|---|---|---|---|---|---|
| ฝรั่ง | thiamethoxam | - | - | 0.2 (Ab 2009) | 0.01 (EU 2017/671) |
| ฝรั่ง | azoxysrtobin | - | - | 0.3 (Ab 2007) (Japan MRL, 2009) (Japan MRL, 2007) | 0.01 SANTE/10518/2021 |

การพบ chlorpyrifos ซึ่งเป็นวัตถุอันตรายชนิดที่ 4 ซึ่งห้ามใช้ทางการเกษตร มีการยกเลิกการใช้ตั้งแต่วันที่ 1 มิถุนายน 2563 แต่มีการพบในตัวอย่าง ส้มเขียวหวาน ส้มโอ มะนาว ซึ่งมีการเก็บตัวอย่างในช่วง 2559 ถึง 2561 ซึ่งสามารถพบได้เพราะยังมีการอนุญาตให้ใช้ทางการเกษตรได้ ส่วนการพบใน ลำไยและลิ้นจี่ ได้มีการเก็บตัวอย่างก่อนช่วงเดือนมิถุนายน 2563 จึงมีการพบสารตกค้างของ chlorpyrifos ซึ่ง Codex ไม่กำหนดค่า MRL ในลำไยลำไยและลิ้นจี่

จากการสุ่มตรวจตัวอย่างในครั้งนี้ ทำให้ทราบว่ายังคงมีสารพิษตกค้างในพืชบางชนิด เกินปริมาณค่า MRL และเมื่อนำผลการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในพืชต่างๆ มาคำนวณค่า HQ เพื่อประเมินความเสี่ยงภัยต่อการบริโภคของสารพิษตกค้างในอหาร โดยช่วงอายุที่นำมาใช้ในการประเมิน คือ 6-12 ปี และน้ำหนักเฉลี่ยที่นำมาใช้ในการประเมินเท่ากับ 33.38 กิโลกรัม โดยใช้ข้อมูลการบริโภคอาหารของประเทศไทย ค่าเปอร์เซ็นต์ไทล์ที่ 97.5 ของปริมาณอาหารที่บริโภคสำหรับประชากรทั้งหมด (per capita) ในแต่ละช่วงอายุ ค่าปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจพบในตัวอย่างที่เกินดัชนีชี้วัดความเสี่ยง HQ (Hazard quotient) คือมีค่ามากกว่า 1 (มกอช.,2559) และค่า rfd จาก United States Environmental Protection Agency (EPA.2022) ได้แก่ cypermethrin, dimethoate, ethion, methidathion และ profenophos ในส้มเขียวหวาน ethion และ methidathion ในส้มโอ และ ethion ในลำไย แต่ถือว่าปริมาณน้อยมากที่เกินค่าเกณฑ์ความปลอดภัย เมื่อเทียบกับจำนวนตัวอย่างทั้งหมด

ดังนั้นทั้งภาครัฐและเอกชนต้องให้ความสำคัญ เรื่องการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ถูกต้องของเกษตรกร โดยเฉพาะกรมวิชาการเกษตรควรเพิ่มความเข้มงวด ต่อการรับรองการผลิตพืช (GAP) เพื่อลดโอกาสที่จะพบปริมาณสารพิษตกค้างเกินค่ามาตรฐาน โดยเฉพาะพืชที่ผลิตเพื่อการส่งออก ประเทศผู้คู่ค้า เช่น กลุ่มสหภาพยุโรป หรือญี่ปุ่น ซึ่งมีการกำหนดค่า MRL ไว้ในระดับค่าต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ (Limit of Quantitation ; LOQ)

อย่างไรก็ตาม การเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างที่กำหนดไว้ เมื่อต้องการประเมินความเสี่ยงของสารพิษตกค้างในอาหาร ต้องใช้ค่า Acute Reference Dose (ARfD) ของสารชนิดนั้น คำนวณร่วมกับปริมาณการบริโภคต่อวันและค่าปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจพบในตัวอย่าง ซึ่งเป็นสิ่งที่ค่อนข้างยากเมื่อการประเมินการบริโภคต่อคนต่อวันยังมีความแตกต่างกันมาก แต่ทางหนึ่งที่จะสามารถทราบได้คือการเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างในพืชจากแหล่งต่างๆ ได้แก่ Codex MRL, EU-MRL และ Japan Positive Lists เป็นต้น

## สรุปผลการทดลอง

สุ่มเก็บตัวอย่างพืชตระกูลส้ม ได้แก่ ส้มเขียวหวาน ส้มโอ และมะนาว จากแหล่งที่มีการปลูกเพื่อการค้า สวนเกษตรกร และแหล่งจำหน่ายต่างๆ รวมทั้งหมด 717 ตัวอย่าง จาก 36 จังหวัด ได้แก่ ได้แก่ ส้มเขียวหวาน จำนวน 177 ตัวอย่าง ส้มโอ จำนวน 147 ตัวอย่าง มะนาว จำนวน 74 ตัวอย่าง ลิ้นจี่ จำนวน 41 ตัวอย่าง ลำไย จำนวน 175 ตัวอย่าง ชมพู่ จำนวน 50 ตัวอย่าง และ ฝรั่งจำนวน 53 ตัวอย่าง จาก 36 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดกรุงเทพมหานคร กำแพงเพชร กาญจนบุรี จันทบุรี ฉะเชิงเทรา ชัยนาท เชียงใหม่ ชลบุรี ตาก นครปฐม นครนายก นครราชสีมา นครสวรรค์ นนทบุรี ปทุมธานี ประจวบคีรีขันธ์ ปราจีนบุรี พระนครศีอยุธยา พิจิตร พิษณุโลก เพชรบุรี เพชรบูรณ์ ระยอง ราชบุรี ลำพูน ลำปาง ลพบุรี สมุทรปราการ สมุทรสงคราม สมุทรสาคร สระบุรี สิงห์บุรี สุโขทัย สุพรรณบุรี อ่างทองและอุทัยธานี ตรวจพบสารพิษตกค้างในส้มเขียวหวาน ส้มโอ มะนาว ลำไย ลิ้นจี่ ชมพู่และฝรั่ง จำนวน 91 135 34 13 80 43 และ 10 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 51.4 91.8 56.6 31.7 45.7 86 และ 19 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด ตามลำดับ azoxystrobin, bifenthrin, buprofezin, carbaryl, chlorpyrifos, cypermethrin, l-cyhalothrin, ethion, diazinon, dimethoate, difenoconazole, deltamethrin, methidathion, metalaxyl, pirimiphos-methyl, profenofos, prothiophos, pyridaben, fenitrothion และ thiamethoxam ปริมาณอยู่ในช่วง ต่ำกว่า LOQ – 7.23 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณอยู่ในช่วง ต่ำกว่า LOQ – 7.23 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ พบว่า chlorpyrifos จำนวน 4 ตัวอย่าง cypermethrin จำนวน 9 ตัวอย่าง และ ethion จำนวน 1 ตัวอย่าง ในส้มเขียวหวาน เกินค่ามาตรฐานที่ Codex และญี่ปุ่นกำหนดไว้ ปริมาณที่ตรวจพบ อยู่ระหว่าง 1.47-7.23 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในส้มโอมีเพียง cypermethrin 2 ตัวอย่าง ที่เกินค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ใน Codex MRL ส่วนมะนาวพบสารพิษตกค้างในปริมาณค่อนข้างต่ำ และทุกตัวอย่างอยู่ในเกณฑ์ที่ปลอดภัย ในลำไย ลิ้นจี่ ชมพู่และฝรั่ง ยังไม่มีกำหนดค่า MRL ทั้งใน Codex และ Thai MRL แต่ในฝรั่ง มีกำหนดค่ามาตรฐานจากแหล่งต่างๆ เช่น ญี่ปุ่นกำหนด azoxystrobin ในฝรั่ง เท่ากับ 0.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม กำหนดใน thiamethoxam เท่ากับ 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ในสหภาพยุโรปและญี่ปุ่น กำหนดสารทั้งสองชนิด เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งในชมพู่ยังไม่มีกำหนดค่า MRL และจากผลการตรวจวิเคราะห์ทั้งชมพู่แลฝรั่ง อยู่ในเกณฑ์ที่ไม่เกินค่า MRL ที่กำหนดไว้

เมื่อนำผลการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง มาคำนวณค่า HQ เพื่อประเมินความเสี่ยงภัยต่อการบริโภคของสารพิษตกค้างในอาหาร โดยช่วงอายุที่นำมาใช้ในการประเมิน คือ 6-12 ปี และน้ำหนักเฉลี่ยที่นำมาใช้ในการประเมินเท่ากับ 33.38 กิโลกรัม โดยใช้ข้อมูลการบริโภคอาหารของประเทศไทย ค่าเปอร์เซ็นต์ไทล์ที่ 97.5 ของปริมาณอาหารที่บริโภคสำหรับประชากรทั้งหมด (per capita) ในแต่ละช่วงอายุ ค่าปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจพบในตัวอย่าง ยังมีบางตัวอย่างที่เกินดัชนีชี้วัดความเสี่ยง (HQ) ได้แก่ cypermethrin, dimethoate, ethion, methidathion และ profenophos ในส้มเขียวหวาน ethion และ methidathion ในส้มโอ และ ethion ในลำไย แต่อย่างไรก็ตาม ถือว่าปริมาณตัวอย่างน้อยมากที่เกินค่าเกณฑ์ความปลอดภัย เมื่อเทียบกับจำนวนตัวอย่างทั้งหมด สารพิษตกค้างที่ตรวจพบ ยังคงมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ซึ่งในการนำมาบริโภคควรล้างทำความสะอาดก่อนนำมาบริโภค ยังสามารถช่วยลดปริมาณสารพิษตกค้างลงได้อีกด้วย

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ได้ข้อมูลชนิดและปริมาณสารพิษตกค้างในพืชตระกูลส้ม ลำไย ลิ้นจี่ ชมพู่ และฝรั่ง จากแหล่งผลิตและแหล่งจำหน่ายที่สำคัญของประเทศ พร้อมทั้งข้อมูลการประเมินความเสี่ยงภัยต่อการบริโภคความปลอดภัยทางด้านอาหารทำให้ทราบสถานการณ์โดยรวม ของสารพิษตกค้างในผลผลิตทางการเกษตร ที่ใช้บริโภคภายในประเทศ

2. เป็นข้อมูลเบื้องต้นพื้นฐานในการเฝ้าระวังสารพิษตกค้าง และนำไปสู่การพิจารณาการขึ้นทะเบียน การปรับปรุงฉลาก การต่ออายุวัตถุอันตรายทางการเกษตร รวมทั้งประกอบการพิจารณากำหนดค่า MRL ของประทศ การจำกัดการใช้ หรือยกเลิกการใช้ เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภคในประเทศ ที่กรมวิชาการเกษตรกำกับดูแลด้านวัตถุอันตรายทางการเกษตรของหน่วยงานที่เกี่ยวข้องอย่างมีประสิทธิภาพ

## เอกสารอ้างอิง


ประชาธิปัตย์ พงษ์ภิญโญ และ ศิริพันธ์ สุขมาก. 2551. วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างไซเพอร์เมทรินและคลอร์ไพริฟอสในลำไย เพื่อกำหนดค่าสูงสุดของสารพิษตกค้าง (MRL) ครั้งที่ 5 และ 6. ผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2549 (ฉบับเพิ่มเติม). สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด กรุงเทพฯ. หน้า 86-93.

ประภัสสรา พิมพ์พันธุ์ และ ยงยุทธ ไผ่แก้ว. 2552. วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างไซเพอร์เมทรินในส้มโอเพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ครั้งที่ 1 และ 2. ผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2551 (เล่มที่ 2). สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด กรุงเทพฯ. หน้า 1–10.

ประภัสสรา พิมพ์พันธุ์ ยงยุทธ ไผ่แก้ว และวะนิดา สุขประเสริฐ. 2556. สารพิษตกค้างในส้มและมะนาวนำเข้าจากประเทศ สาธารณรัฐประชาชนจีนและประเทศในกลุ่มอาเซียน. ผลงานฉบับเต็ม ของนางสาววะนิดาสุขประเสริฐ 2557. 10 หน้า.

มกอช. 2559. มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ มกอช. 9002-2559 “สารพิษตกค้าง: ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด. สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 55 หน้า.

ลักษมี เดชานุรักษ์นุกูล ศศิมา มั่งนิมิตร์ และวิทยา บัวศรี. 2557. ศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างในชมพู่ ฝรั่ง. รายงานผลงาน เรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด 2557.

ศิริพันธ์ สุขมาก และ ประชาธิปัตย์ พงษ์ภิญโญ. 2551. วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างไซเพอร์เมทรินและคลอร์ไพริฟอสในลิ้นจี่ เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ครั้งที่ 3 และ 4. ผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2550. สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด กรุงเทพฯ. หน้า 34-41.

สมสมัย ปาลกูล และ ประชาธิปัตย์ พงษ์ภิญโญ. 2551. วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของคลอร์ไพริฟอสในส้มโอเพื่อกำหนดค่าสูงสุดของสารมีพิษตกค้าง ครั้งที่ 5 และ 6. ผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2550. สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่ง ประเทศไทย จำกัด กรุงเทพฯ. หน้า 85-91.

สมสมัย ปาลกูล ประชาธิปัตย์ พงษ์ภิญโญ วิษณุ แจ้งใบ. 2557. ศึกษาสารพิษตกค้างในลิ้นจี่และลำไย. ผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2556. สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร โรงพิมพ์โพสต์เทค กรุงเทพฯ. หน้า 112-118.

Anastassiades. M.; D.I. Kolberg; D. Mack; I. Sigalova; D. Roux and D. Fugel. 2008. Quick Method for the Analysis of Residues of Highly Polar Pesticides in Foods of Plant Origin Involving Simultaneous Extraction with Methanol and LC-MS/MS Determination. version 6:1-37.

Blasco, C., M. Fernández, A. Pena, Lino, C., Silveira, M. I., Font, G., & Picó, Y. (2003). Assessment of Pesticide Residues in Honey Samples from Portugal and Spain. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51(27), 8132-8138.

SANTE. 2021. Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. European Commission, Directorate General for Health and Food Safety. Safety of the Food Chain Pesticides and Bioticides.

EU. 2022. EU Pesticide database. https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-

EPA. 2022. Rfd Toxicity Value. IRIS Advanced Search. United States Environmental Protection Agency. https://iris.epa.gov/AdvancedSearch/

FAO/WHO. 1999. Recommended Methods of Sampling for the Determination of Pesticide Residues for Compliance with MRLs (CAC/GL 33-1999). Joint FAO/WHO Food Standards Programme, FAO, Rome.

Japan MRL. 2014. Positive List System for Agricultural Chemical Residues in Foods. The Japan Food Chemical Research Foundation. http://www.m5.ws001.squarestart.ne.jp.

Ortelli, D., P. Edder and C. Corvi. 2005. Pesticide residues survey in citrus fruits. Food Addit. Contam. 22(5) : 423–428.

The Working Party on Pesticide Residue. 1999. Annual Report of the Working Party on Pesticide Residues Brand Name Annex. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food Safety, Directorate Health and Safety Executive. www.pesticides.gov.uk

U.S. Food and Drug Administration. 2000. FDA Pesticide Program : Pesticide.

# การประเมินความเสี่ยงจากการใช้สารกำจัดแมลงแลมบ์ดา-ไซฮาโลทริน (lambda-cyhalothrin) ต่อผู้ใช้ผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม
# Risk Assessment of Lambda-cyhalothrin Insecticide Used to Farmer, Consumer and Environment

*อำนาจ กะฐินเทศ* *จันทิมา ผลกอง* *ผกาสินี คล้ายมาลา*
*Amnaj Katintet* *Jantima Phonkong* *Pakasinee Klaimala*

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

## ABSTRACT

Risk assessment of the use of lambda-cyhalothrin for farmers, consumers and the environment. The Studied a kale crop in Nakhon Pathom and Suphanburi provinces between October 2019 to September 2021. Use the 2.5% EC of lambda-cyhalothrin formula at a rate of 60 grams per 20 liters of water by spraying 2 times when the outbreak of pests occurs. After spraying, keep the patch attached to 16 points on the body, hand wash, feet wash, water, soil, sediment, picker's hand wash, and kale to analyze pesticide residue. The results of experiments 1$^{st}$ and 2$^{nd}$ at Nakhon Pathom province showed that the lower leg-out patch has the highest residue are 12.29 and 9.94 µg/100cm$^2$. Hand wash not detected residue. Feet wash are 0.23 and 0.15 µg/L. The results of experiments 1$^{st}$ and 2$^{nd}$ at Suphanburi province showed that the lower leg-out patch has residues are 0.93 and 4.79 µg/100cm$^2$. Hand wash are 0.13 and 0.13 µg/L. Feet wash are 3.91 and 2.72 µg/L. Risk assessment first and second at Nakhon Pathom and Suphanburi province results of exposure to the body of the sprayer showed that the margin of exposure (MOE) are 96,154, 149,254, 6,276 and 8,390 respectively, which is an acceptable risk. The risk assessment hazard quotient (HQ) of kale consumption is 0.19 and 0.26, which are less than the defined safety criteria.

**Keywords :** lambda-cyhalothrin, soil, kale, gas chromatography

## บทคัดย่อ

การประเมินความเสี่ยงจากการใช้สารกำจัดแมลงแลมบ์ดา-ไซฮาโลทริน (lambda-cyhalothrin) ต่อผู้ใช้ผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม ได้ศึกษาในแปลงคะน้า 2 พื้นที่ ได้แก่ จังหวัดนครปฐมและจังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนตุลาคม 2562 ถึงเดือนกันยายน 2564 โดยใช้แลมบ์ดา-ไซฮาโลทริน สูตร 2.5% EC ปริมาณ 60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร พ่น 2 ครั้ง เมื่อพบการระบาดของศัตรูพืช หลังพ่นสารครั้งที่ 1 และ 2 ได้เก็บตัวอย่างแผ่นผ้าที่ติดบริเวณส่วนต่างๆของร่างกาย 16 จุด และน้ำล้างมือ-น้ำล้างเท้าเกษตรกร หลังพ่นครั้งที่ 2 เก็บตัวอย่าง น้ำ ดิน ตะกอน น้ำล้างมือคนเก็บคะน้าและผักคะน้า ผลการทดลองแปลงคะน้าจังหวัดนครปฐม พ่นครั้งที่ 1 และ 2 ในตัวอย่างแผ่นผ้า พบการตกค้างบริเวณแข้งนอกมากที่สุด ปริมาณ 12.29 และ 9.94 ไมโครกรัมต่อ 100 ตารางเซนติเมตร น้ำล้างมือ ไม่พบการตกค้าง น้ำล้างเท้าปริมาณ 0.23 และ 0.15 ไมโครกรัมต่อลิตร แปลงคะน้าจังหวัดสุพรรณบุรี พ่นครั้งที่ 1 และ 2 ในตัวอย่างแผ่นผ้า พบการตกค้างบริเวณแข้งนอก ปริมาณ 0.93 และ 4.79 ไมโครกรัมต่อ 100 ตารางเซนติเมตร น้ำล้างมือ ปริมาณ 0.13 และ 0.13 ไมโครกรัมต่อลิตร น้ำล้างเท้า ปริมาณ 3.91 และ 2.72 ไมโครกรัมต่อลิตร ผลการประเมินความเสี่ยงการรับสัมผัสสารเข้าสู่ร่างกายของผู้พ่นสาร พ่นครั้งที่ 1 และ 2 แปลงนครปฐมและสุพรรณบุรี พบค่าขอบเกณฑ์ความปลอดภัย (MOE)

เท่ากับ 96,154, 149,254, 6,276 และ 8,390 ซึ่งเป็นความเสี่ยงที่ยอมรับได้ และผลการประเมินความเสี่ยงต่อผู้บริโภคคะน้า (HQ) เท่ากับ 0.19 และ 0.26 ผู้บริโภคสามารถบริโภคคะน้าได้อย่างปลอดภัย

**คำสำคัญ :** แลมบ์ดา-ไซฮาโลทริน ดิน คะน้า เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟฟี

## คำนำ

ปัจจุบันประเทศไทยมีการใช้วัตถุมีพิษการเกษตรเพิ่มมากขึ้น เพื่อให้ได้ผลผลิตที่เพียงพอต่อการบริโภค จากการใช้วัตถุมีพิษทางการเกษตรดังกล่าวทำให้มีการตกค้างในผลผลิตและสิ่งแวดล้อม ทำให้เกิดปัญหาด้านสุขภาพและสิ่งแวดล้อมตามมา ดังนั้นการประเมินความเสี่ยงจากการใช้วัตถุมีพิษทางการเกษตรจึงเป็นสิ่งที่จำเป็นและสำคัญ เพื่อให้การใช้วัตถุมีพิษการเกษตรที่ปลอดภัยต่อผู้ใช้ และลดความเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค

แลมบ์ดา-ไซฮาโลทริน (lambda-cyhalothrin) เป็นสารกำจัดแมลง (insecticide) ชนิดสัมผัสแบบถูกตัวตายทันที จัดอยู่ในกลุ่มไพรีทรอยด์ (pyrethroid) สูตรโมเลกุล $C_{23}H_{19}ClF_3NO_3$ มวลโมเลกุลเท่ากับ 449.9 กรัมต่อโมล สูตรโครงสร้างแสดงดัง Figure 1

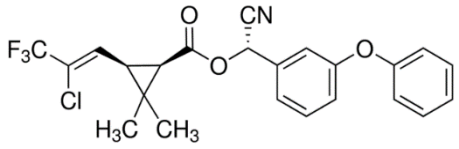



**Figure 1** The chemical structure of lambda-cyhalothrin (source: Merck, 2021)

ลักษณะทางกายภาพมีลักษณะเป็นของแข็ง มีจุดหลอมเหลว 49.2 องศาเซลเซียส (°C) จากการทบทวนงานวิจัยพบว่า ค่าครึ่งชีวิต (half life, $t_{1/2}$) ในดิน 30 วัน (pH=5) และค่าครึ่งชีวิตในพืช 40 วัน โดยแลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินจะไม่เคลื่อนย้ายไปสะสมในแหล่งน้ำ (WHO, 1990) พิษเฉียบพลันทางปาก (Acute oral) มีค่า $LD_{50}$ ในหนูเพศผู้ 79 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หนูเพศเมีย 56 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Tomlin, 2006) กลไกการออกฤทธิ์แลมบ์ดา-ไซฮาโลทริน โดยจะไปปรับ (modulator) ของ voltage-gated sodium channel ที่บริเวณผิว axon ของเซลล์ประสาท ทำให้การปิดของ voltage-gated sodium channel ช้ากว่าปกติ ทำให้ช่วงการถ่ายทอดกระแสประสาทเกิดยาวนาน (hyper excitation) เกิดกล้ามเนื้อชักกระตุก เป็นอัมพาต และตายได้ เมื่อได้รับสัมผัสแลมบ์ดา-ไซฮาโลทริน จะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน สารนี้สามารถกำจัดศัตรูพืชได้หลายชนิด ได้แก่ เพลี้ยอ่อนหนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกระทู้ผัก และหนอนผีเสื้อหัวกะโหลก (มานิตาและคณะ, 2553) ซึ่งนิยมนำมาใช้กำจัดแมลงศัตรูพืชในพืชเศรษฐกิจที่เป็นไม้ผลและพืชอาหาร ได้แก่ ข้าวฟ่าง มันสำปะหลัง ยาสูบ ถั่วเหลือง ถั่วเขียว งา ต้นทานตะวัน มะพร้าว ปาล์มน้ำมัน มะม่วงหิมพานต์ โกโก้ ทุเรียน ลิ้นจี่ ลำไย เงาะ พืชตระกูลส้ม มะเขือ ข้าวสาลี ข้าวโพด ฝ้าย แอปเปิ้ล ส้ม พืชตระกูลกะหล่ำ แตงกวา กระเพรา มะเขือเทศ และอื่นๆ ด้วยคุณสมบัติของสารที่ใช้ได้หลากหลาย เกษตรกรจึงนำมาใช้ในทางเกษตร เกิดปัญหาสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อมและผลผลิตทางการเกษตร มีผลกระทบต่อการส่งสินค้าไปขายในต่างประเทศ ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงสนใจทำการศึกษาปริมาณสารพิษแลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินที่ตกค้างในสิ่งแวดล้อมและผลผลิตทางการเกษตร ประเมินค่าครึ่งชีวิตและประเมินความเสี่ยงต่อผู้ใช้และผู้บริโภคในแปลงคะน้า

คะน้า (Kale) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Brassica alboglabra* ในประเทศไทยมีเนื้อที่การปลูกทั้งหมด 40,019 ไร่ พื้นที่ปลูก 69 จังหวัด ผลผลิตรวม 39,968,863 กิโลกรัม กระจายปลูกทั่วประเทศ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2564) โดยคะน้าเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย นิยมปลูกบริโภคภายในประเทศ และส่งออกไปขายในต่างประเทศ ในเอเชีย สหรัฐอเมริกาและยุโรป ศัตรูที่สำคัญคือ หนอนเจาะสมอฝ้าย และหนอนกระทู้ผัก เกิดปัญหาทำให้ผลผลิตเสียหาย เกษตรกรจึงมีการนำสารกำจัดแมลงศัตรูพืชชนิดแลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินมาใช้ในการกำจัดแมลงศัตรูพืช

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

**1. วัสดุและอุปกรณ์**

1.1 ขวดพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่างน้ำและน้ำล้าง-มือล้างเท้าชนิด HDPE ขนาด 1 ลิตร

1.2 ถุงพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่างดินและตัวอย่างคะน้า

1.3 ขวดแก้วสำหรับเก็บตัวอย่างตะกอนและตัวอย่างแผ่นผ้า ขนาด 250 มิลลิลิตร

1.4 อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างน้ำและตะกอน

1.5 อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างคะน้า

1.6 แผ่นผ้าฝ้ายขนาด 10x10 ตารางเซนติเมตร

1.7 ชุดเสื้อแขนยาวและกางเกงขายาวสำหรับผู้พ่นสาร

1.8 ป้ายสำหรับติดแสดงสถานะการทดลอง

1.9 เครื่องหาพิกัดทางภูมิศาสตร์ GPS (Global positioning system)

1.10 เครื่องมือเก็บตัวอย่างดิน (soil auger)

1.11 เครื่องมือวัดคุณภาพน้ำ ได้แก่ pH meter และ DO meter

1.12 สารป้องกันกำจัดแมลงชนิดแลมบ์ดา-ไซฮาโลทริน (lambda-cyhalothrin) สูตร 2.5% EC ชื่อทางการค้า คาราเต้ ผลการทดสอบเปอร์เซ็นต์สารออกฤทธิ์ได้ 2.15% W/V โดยห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

1.13 เครื่องพ่นเครื่องยนต์แรงดันน้ำสูง (High pressure pump sprayer)

**2. อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่**

2.1 Separatory funnel ขนาด 1,000 มิลลิลิตร

2.2 Cylinder ขนาด 10, 100 และ 1,000 มิลลิลิตร

2.3 Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร

2.4 Beaker ขนาด 100 และ 500 มิลลิลิตร

2.5 Round bottom flask ขนาด 250 มิลลิลิตร

2.6 Glass funnel ขนาด 100 มิลลิเมตร

2.7 Vial ขนาด 2 มิลลิลิตร

2.8 Graduated tube ขนาด 15 มิลลิลิตร

2.9 Volumetric flask ขนาด 10, 25 และ 50 มิลลิลิตร

2.10 Auto pipette ขนาด 50, 100, 250 และ 1,000 ไมโครลิตร

2.11 Centrifuge tube ขนาด 15 และ 50 มิลลิลิตร

**3. เคมีภัณฑ์ชนิดต่างๆ**

3.1 สารเคมีชนิด analytical grade (AR grade) ได้แก่ anhydrous sodium sulfate (anh. $Na_2SO_4$), hexane, ethyl acetate, acetonitrile, magnesium sulfate, sodium chloride, tri-sodium citrate dihydrate, di-sodium hydrogen citrate, primary secondary amine (PSA) และ graphitized carbon black (GCB)

3.2 สารเคมีชนิด ultra resi-analyzed (PR grade) ได้แก่ hexane, ethyl acetate

3.3 สารพิษมาตรฐานแลมบ์ดา-ไซฮาโลทริน สารเคมีที่มีความบริสุทธิ์ 99.10%

**4. เครื่องมือวิทยาศาสตร์**

4.1 ตู้ดูดความชื้น (Desiccator)

4.2 ตู้อบสารเคมี (Oven)

4.3 เครื่องเขย่าสกัดวัตถุมีพิษ (Separatory funnel shaker)

4.4 เครื่องเขย่า (Shaker)

4.5 เครื่อง Ultrasonic bath

4.6 เครื่อง Centrifuge

4.7 เครื่องลดปริมาตร (Rotary evaporator)

4.8 เครื่องระเหยสารชนิดไนโตรเจน (Nitrogen evaporator)

4.9 เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixer)

4.10 ตู้เย็น (Refrigerator) อุณหภูมิ 5±3 องศาเซลเซียส

4.11 ตู้แช่ (Freezer) อุณหภูมิ -20±5 องศาเซลเซียส

4.12 เครื่องชั่งความละเอียด ทศนิยม 2 และ 5 ตำแหน่ง

4.13 คอลัมน์ GC ชนิด DB-1701 (ความยาว 30 เมตร x เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร x ความหนาของสารเคลือบ 0.25 ไมโครเมตร)

4.14 เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ (Gas Chromatograph) หัววัดชนิด Electron capture Detector (GC-ECD) รุ่น 7890B บริษัท Agilent Technology

## วิธีการ

**1. การปฏิบัติงานในแปลงทดลอง**

1.1 การสำรวจข้อมูลแปลงคะน้า ในจังหวัดนครปฐมและสุพรรณบุรี

ปีที่ 1 พ.ศ. 2562 ได้เลือกแปลงทดลองคะน้า อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม พื้นที่ในการปลูกทั้งหมด 6 ไร่ ลักษณะแปลง เป็นแปลงยกร่อง ขนาดกว้าง 4 เมตร ยาว 70 เมตร ใช้น้ำจากคลองชลประทาน พืชผักที่ปลูก ได้แก่ คะน้า และกวางตุ้ง โดยมีแมลงศัตรูพืช ได้แก่ หนอนกระทู้หอม หนอนใยผัก และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล วัตถุอันตรายที่ใช้ ได้แก่ คลอร์ฟีนาเพอร์ โทลเฟนไพเรด และไดโนทีฟูแรน และปีที่ 2 พ.ศ. 2563 ได้เลือกแปลงอำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี พื้นที่ในการปลูกทั้งหมด 44 ไร่ ลักษณะแปลงเป็นแปลงยกร่อง ขนาดกว้าง 4 เมตร ยาว 200 เมตร โดยใช้น้ำจากคลองชลประทานและน้ำบาดาล พืชผักที่ปลูก ได้แก่ คะน้า และกวางตุ้ง โดยมีแมลงศัตรูพืช ได้แก่ หนอนใยผัก หนอนกระทู้หอม และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล วัตถุอันตรายที่ใช้ ได้แก่ คลอร์ฟีนาเพอร์ สไปนีโทแรม ฟิโพรนิล โทลเฟนไพเรด และบาซิลลัส เมื่อพบการระบาดจะพ่นแลมบ์ดา-ไซฮาโลทริน ประมาณ 2 ครั้ง ตามความจำเป็น วิธีการใช้ตามอัตราคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร สูตร 2.5% EC ในปริมาณ 60 กรัมต่อน้ำสะอาด 20 ลิตร (กลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2553) โดยใช้เทคนิคการพ่นด้วยเครื่องยนต์แบบแรงดันน้ำสูง (high pressure pump sprayer)

1.2 การติดแผ่นผ้าขนาด 10x10 ตารางเซนติเมตร (OECD, 1997) บนเสื้อผ้าและกางเกงบริเวณส่วนต่างๆ ของร่างกายผู้พ่นสาร จำนวน 16 จุด ได้แก่ บริเวณหมวก (1) แผ่นผ้าปิดจมูก (1) บ่า (2) ศอก (2) หน้าอก (ด้านนอกและด้านในเสื้อ 2) หลัง (ด้านนอกและด้านในเสื้อ 2) ต้นขา (2) และหน้าแข้ง (ด้านนอก 2 และด้านในกางเกง 2) หลังพ่นเก็บตัวอย่างแผ่นผ้า และน้ำล้างมือ-น้ำล้างเท้าครั้งที่ 1 และ 2

1.3 ทำการพ่นสารกำจัดศัตรูพืชชนิดแลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินในแปลงคะน้า บริเวณภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดนครปฐมและสุพรรณบุรี โดยในแต่ละแปลงพ่นทั้งหมด 2 ครั้ง ระยะห่างกัน 7 วัน พ่นครั้งสุดท้ายสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำ ดิน ตะกอน และคะน้า ตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างที่ 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14, 21 และ 30 วัน

1.4 การสุ่มตัวอย่าง

1.4.1 เก็บตัวอย่างควบคุม (Control sample) ก่อนพ่นแลมบ์ดา-ไซฮาโลทริน ได้แก่ น้ำ ดิน ตะกอน และคะน้า ตัวอย่างละ 7 ตัวอย่าง ใช้เป็นค่าอ้างอิงผลการทดสอบ

1.4.2 เก็บตัวอย่างหลังพ่นแลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินในครั้งที่ 2 โดยสุ่มตัวอย่างน้ำ ดิน ตะกอน คะน้า และน้ำล้างมือคนเก็บคะน้า หลังการพ่น 2 ชั่วโมง (0 วัน) (US.EPA, 1987) จากนั้นเก็บที่ 1 3 5 7 10 14 21 และ 30 วัน เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณแลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินที่ตกค้าง

**2. การปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ**

2.1 การเตรียมตัวอย่างดิน

นำตัวอย่างดินมาแยกเศษหิน กรวด และอินทรียวัตถุออก ผึ่งให้มีความชื้นประมาณ 10-20 เปอร์เซ็นต์ (%) บดตัวอย่างดินเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปชั่งวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์ความชื้นและวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างแลมบ์ดา-ไซฮาโลทริน

2.2 การหาความชื้นในตัวอย่างดิน (Back, 1965)

ชั่งตัวอย่างดิน 50.00 กรัม ลงใน Petri dish นำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105±5°C นาน 24 ชั่วโมง นำออกมาวางไว้ใน Desiccator ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ชั่งน้ำหนักและบันทึก จากนั้นนำตัวอย่างดินไปอบต่อนาน 3-4 ชั่วโมง เพื่อให้น้ำหนักคงที่ ทิ้งไว้ให้เย็น ชั่งน้ำหนักและบันทึก โดยมีสูตรคำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้น ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{(\text{น้ำหนักดินก่อนอบ} - \text{น้ำหนักดินหลังอบ}) \times 100}{(\text{น้ำหนักดินหลังอบ} - \text{น้ำหนัก Petri dish})}$$

2.3 เตรียมสารละลายมาตรฐานแลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินที่ 5 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0.0199 0.0794 0.1986 0.3972 และ 0.7944 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (µg/ml) ทดสอบความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (linearity)

2.4 ทดสอบค่าต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ (Limit of Detection; LOD) ค่าต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้อย่างถูกต้อง (Limit of Quantitation; LOQ) และค่าร้อยละการได้คืนกลับ (%recovery) สารพิษตกค้างแลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินในตัวอย่างน้ำ ดิน แผ่นผ้าและคะน้า เกณฑ์การยอมรับ recovery อยู่ระหว่าง 60-115%

2.5 สกัดตัวอย่างในน้ำ น้ำล้างมือ-ล้างเท้า ดิน ตะกอน แผ่นผ้าและคะน้า ตรวจวิเคราะห์แลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินด้วยเครื่อง GC-ECD โดยมีวิธีสกัดตัวอย่าง ดังนี้

2.5.1 การสกัดตัวอย่างในน้ำ และน้ำล้างมือ-ล้างเท้า ตวงตัวอย่างน้ำ ปริมาตร 800 มิลลิลิตร ใส่ใน separatory funnel ขนาด 1,000 มิลลิลิตร เติม hexane (AR grade) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่อง separatory funnel shaker นาน 3 นาที ทิ้งไว้ให้แยกชั้น ไขเก็บชั้น hexane ผ่านตัวกรอง anh. $Na_2SO_4$ ลงใน round bottom flask ขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นสกัดซ้ำอีก 2 ครั้งด้วย hexane ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ล้าง separatory funnel ด้วย hexane ปริมาตร 10 มิลลิลิตร 2 ครั้ง นำตัวอย่างไปลดปริมาตรด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40°C ให้เกือบแห้ง ปรับปริมาตร (adjust) ตัวอย่างใส่ใน graduated tube ขนาด 15 มิลลิลิตร เป่าตัวอย่างด้วยเครื่อง nitrogen evaporator สุดท้ายปรับปริมาตรให้เป็น 1 มิลลิลิตร ด้วย hexane (PR grade) นำตัวอย่างไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-ECD (กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร, 2565ก)

2.5.2 การสกัดตัวอย่างในดินและตะกอน ชั่งตัวอย่างดินและตะกอน 20±0.02 กรัม ใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร เติม ethyl acetate (AR grade) ปริมาตร 75 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่อง shaker ที่ 210 รอบต่อนาที (rpm) นาน 4 ชั่วโมง กรองสารละลายตัวอย่างผ่าน anh. $Na_2SO_4$ ลงใน round bottom flask ขนาด 250 มิลลิลิตร ล้างด้วย ethyl acetate ปริมาตร 20 มิลลิลิตร 2 ครั้ง นำตัวอย่างไปลดปริมาตรด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40°C ให้เกือบแห้ง ปรับปริมาตรตัวอย่างใส่ใน graduated tube ขนาด 15 มิลลิลิตร ด้วย ethyl acetate เป่าเปลี่ยนตัวทำละลาย (solvent) ด้วยเครื่อง nitrogen evaporator สุดท้ายปรับปริมาตรให้เป็น 5 มิลลิลิตร ด้วย hexane (PR grade) นำตัวอย่างไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-ECD (กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร, 2565ข)

2.5.3 การสกัดตัวอย่างในแผ่นผ้า นำแผ่นผ้าขนาด 10x10 ตารางเซนติเมตร ใส่ลงในขวด Duran ขนาด 250 มิลลิลิตร เติม ethyl acetate (AR grade) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่อง shaker ที่ 200 rpm นาน 60 นาที กรองสารละลายตัวอย่างผ่าน anh. $Na_2SO_4$ ลงใน round bottom flask ขนาด 250 มิลลิลิตร สกัดอีกครั้งด้วย ethyl acetate ปริมาตร 25 มิลลิลิตร นำตัวอย่างไปลดปริมาตรด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40°C ให้เกือบแห้ง ปรับปริมาตรตัวอย่างใส่ใน graduated tube ขนาด 15 มิลลิลิตร ด้วย ethyl acetate เป่าเปลี่ยนตัวทำละลายด้วยเครื่อง nitrogen evaporator สุดท้ายปรับปริมาตรให้เป็น 2 มิลลิลิตร ด้วย hexane (PR grade) นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-ECD

2.5.4 การสกัดตัวอย่างในคะน้า ชั่งตัวอย่างคะน้า 10±0.02 กรัม ลงในหลอด centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร เติม acetonitrile (AR grade) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าแรงๆ นาน 1 นาที จากนั้นเติม 4 กรัม Magnesium sulphate ($MgSO_4$) และ 1 กรัม Sodium chloride (NaCl) เขย่าด้วย vortex mixer นาน 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4,000 rpm นาน 10 นาที ปิเปตสารละลายใสปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอด centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร ที่มี 25 มิลลิกรัม PSA 150 มิลลิกรัม $MgSO_4$ และ 10 มิลลิกรัม GCB นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 6,000 rpm นาน 5 นาที ปิเปตสารละลายใสมา 0.5 มิลลิลิตร ใส่ใน graduated tube ขนาด 15 มิลลิลิตร เป่าเปลี่ยนตัวทำละลายด้วยเครื่อง nitrogen evaporator ปรับปริมาตรให้เป็น 0.5 มิลลิลิตรด้วย hexane (PR grade) นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-ECD (กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร, 2564)

2.6 ตรวจวัดด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ (Gas Chromatograph) หัวตรวจวัดชนิด Electron capture Detector (GC-ECD) โดยใช้สภาวะการทำงานของเครื่องดังนี้

| | |
|---|---|
| GC Column | : DB-1701 (30 m length x 0.32 mm i.d. x 0.25 µm film thickness) |
| Temperature conditioning | : injector = 230 °C, detector = 300 °C |
| Mode | : Splitless |
| Oven program | : 80°C (1 นาที) $\xrightarrow{20°C/นาที}$ 220°C (2 นาที) $\xrightarrow{1°C/นาที}$ 235°C (1 นาที) $\xrightarrow{20°C/นาที}$ 240°C (1 นาที) $\xrightarrow{25°C/นาที}$ 265°C (7 นาที) $\xrightarrow{20°C/นาที}$ 280°C (0.5 นาที) |
| Injection volumn | : 1 ไมโครลิตร |
| Carrier gas | : helium ; flow rate 1.4 มิลลิลิตร/นาที |

2.7 คำนวณหาเวลาที่สารพิษสลายตัวลดลงจนมีปริมาณครึ่งหนึ่ง (Half-life, $t_{1/2}$) ในตัวอย่างน้ำ ดิน และตะกอน จากสมการ $t_{1/2}$ =-0.693/b โดย b ได้มาจากสมการ $y=ae^{bx}$ ซึ่งหาได้จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารพิษและระยะเวลาหลังการพ่นสารพิษในช่วงเวลาต่างๆ

2.8 ประเมินสารพิษที่ปนเปื้อนบนร่างกายผู้พ่นสารแลมบ์ดา-ไซฮาโลทริน และประเมินความเสี่ยงจากการใช้วัตถุมีพิษ คำนวณค่าขอบเกณฑ์ความปลอดภัยจากการได้รับสารพิษ (Margin of Exposure, MOE) ตามหลักเกณฑ์ของ US. EPA โดยนำค่า NOAEL (No observed adverse effect level) หรือใช้ค่า $BMDL_{10}$ (lower limit of the Benchmark Dose for 10% response) หารด้วยปริมาณที่ได้รับ (exposure) ซึ่งค่า MOE ที่คำนวณได้ให้นำมาเปรียบเทียบกับค่า Pesticide uncertainty factor หากค่า MOE มีค่าต่ำกว่าค่า Pesticide uncertainty factor จะถือว่ามีความเสี่ยง และค่า MOE มากกว่าหรือเท่ากับ 100 ถือว่าเป็นความเสี่ยงที่ยอมรับได้

2.9 ประเมินความเสี่ยงจากการบริโภคผลผลิตการเกษตร (Hazard Quotient, HQ) (US. EPA, 2005) โดยคำนวณหาค่าปริมาณเฉลี่ยของสารพิษในผลผลิตการเกษตรที่คนได้รับจากการบริโภคต่อวันต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว (Average Daily Dose, ADD) หารด้วยปริมาณสารเคมีที่มนุษย์สามารถรับเข้าสู่ร่างกายได้ทุกวัน โดยไม่ทำให้เกิดความผิดปกติใดๆ ต่อสุขภาพอนามัย (Reference Dose, RfD) หากค่า HQ เท่ากับ 1 ถือว่าปริมาณสารพิษที่ตกค้างในผลผลิตการเกษตรมีความเสี่ยงต่อผู้บริโภค

2.10 บันทึกข้อมูลการทดลอง

2.10.1 ข้อมูลสารพิษตกค้างชนิดแลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินในตัวอย่างน้ำ ดิน ตะกอน แผ่นผ้า และคะน้า

2.10.2 ข้อมูลประเมินสารพิษที่ปนเปื้อนบนร่างกายผู้พ่นสารแลมบ์ดา-ไซฮาโลทริน ประเมินความเสี่ยงจากการใช้วัตถุมีพิษ คำนวณค่าขอบเกณฑ์ความปลอดภัยจากการได้รับสารพิษ (MOE) และประเมินความเสี่ยงจากการบริโภคผลผลิตการเกษตร (HQ)

**ระยะเวลา** เริ่มต้น ตุลาคม 2562 สิ้นสุด กันยายน 2564

**สถานที่ทำการทดลอง** 1. แปลงคะน้า จังหวัดนครปฐมและสุพรรณบุรี

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยผลกระทบจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

## ผลการทดลองและวิจารณ์

**1. การหาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์**

**1.1 การทดสอบความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (linearity)**

เตรียมสารละลายมาตรฐานแลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินที่ 5 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0.0199 0.0794 0.1986 0.3972 และ 0.7944 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (µg/ml) โดยโครมาโทรแกรม แสดงดัง Figure 2 ผลการทดสอบความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง มีค่า correlation determination ($R^2$) เท่ากับ 0.9983 แสดงดัง Figure 3

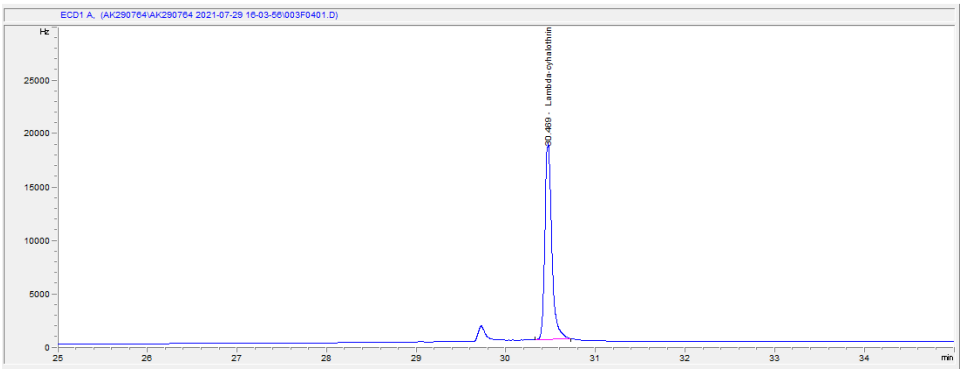



**Figure 2** Chromatogram of lambda-cyhalothrin.

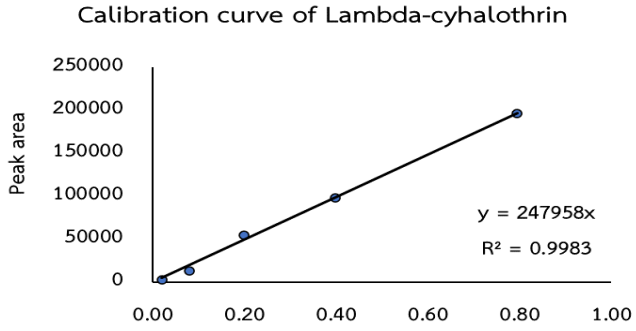



**Figure 3** Calibration curve of lambda-cyhalothrin standard solution 5 levels.

**1.2 ค่าต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ (LOD) ค่าต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้อย่างถูกต้อง (LOQ)**

ทำการทดสอบค่าต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ (LOD) ค่าต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้อย่างถูกต้อง (LOQ) และค่าร้อยละการได้คืนกลับในตัวอย่างน้ำ ดิน แผ่นผ้า และคะน้า โดย fortified สารมาตรฐานแลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินลงในตัวอย่าง ทดสอบแต่ละชนิด 5 ซ้ำ ผลการทดสอบค่า LOD ในน้ำ ดิน แผ่นผ้า และคะน้า เท่ากับ 0.04 ไมโครกรัมต่อลิตร 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม 0.02 ไมโครกรัมต่อ 100 ตารางเซนติเมตร และ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (LOD ประเมินจากค่า Signal to Noise Ratio≥3) ค่า LOQ เท่ากับ 0.13 ไมโครกรัมต่อลิตร 0.07 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม 0.07 ไมโครกรัมต่อ 100 ตารางเซนติเมตร และ 0.07 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (LOQ ประเมินจากค่า Signal to Noise Ratio≥10) และประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ (%recovery) เท่ากับ 100.07 109.99 104.94 และ 66.42 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยวิธีการตรวจวิเคราะห์แลมบ์ดา-ไซฮาโลทริน มีความถูกต้องและแม่นยำ แสดงใน Table 1

**Table 1** The results of Limit of Detection (LOD), Limit of Quantitation (LOQ) and percent recovery of lambda-cyhalothrin in samples.

| Samples | Concentration fortified | Average of recovery (n=5) | (LOD) | (LOQ) |
|---|---|---|---|---|
| water | 0.1986 µg/L | 100.07 | 0.04 µg/L | 0.13 µg/L |
| soil | 0.0794 mg/kg | 109.99 | 0.02 mg/kg | 0.07 mg/kg |
| patch | 0.3972 µg/100 $cm^2$ | 104.94 | 0.02 µg/100 $cm^2$ | 0.07 µg/100 $cm^2$ |
| kale | 0.1589 mg/kg | 66.42 | 0.02 mg/kg | 0.07 mg/kg |

**2. การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างแลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินในตัวอย่างจากแปลงทดลอง**

**2.1 ตัวอย่างน้ำ**

ตรวจวิเคราะห์แลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินในแปลงคะน้าจังหวัดนครปฐมและสุพรรณบุรี ผลการวิเคราะห์สารพิษตกค้างแลมบ์ดา-ไซฮาโลทริน ไม่พบการตกค้างแลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินในน้ำ แสดงใน Table 2 ซึ่งค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 7.70 และ 7.31 ค่าการนำไฟฟ้า 475 และ 365 ไมโครซีเมนส์ต่อเซนติเมตร จากคุณสมบัติของแลมบ์ดา-ไซฮาโลทริน เมื่อพ่นลงไปในแปลงทดสอบ แลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินจะถูกยึดเกาะกับดินอย่างเหนียวแน่น ไม่สามารถเคลื่อนย้าย (run-off) ไปสู่แหล่งน้ำบริเวณรอบๆ แปลงได้ (He *et al*., 2008) และแลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินที่ปะปนในแหล่งน้ำจะสลายตัวอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลา 5-11 ชั่วโมง (Tomlin, 2006)

**Table 2** The results of pesticide residue analysis of lambda-cyhalothrin in water at Nakhon Pathom and Suphanburi province.

| Provinces | Average lambda-cyhalothrin residue (µg/L) (n=3) | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | day 0 | day 1 | day 3 | day 5 | day 7 | day 10 | day 14 | day 21 | day 30 |
| Nakhon Pathom | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| Suphanburi | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |

Remark: ND = Not detected (<LOD = 0.04 µg/L)
LOQ = 0.13 µg/L

**2.2 ตัวอย่างน้ำล้างมือ-ล้างเท้าเกษตรผู้พ่นสาร**

จากการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างแลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินในน้ำล้างมือ-ล้างเท้าของเกษตรผู้พ่นสารแปลงคะน้าจังหวัดนครปฐมและสุพรรณบุรี หลังการพ่นครั้งที่ 1 และ 2 ผลการวิเคราะห์ในน้ำล้างมือคนพ่นแปลงคะน้าในจังหวัดนครปฐมไม่พบการตกค้าง และจังหวัดสุพรรณบุรี พบตกค้างปริมาณ 0.13 และ 0.13 ไมโครกรัมต่อลิตร และในน้ำล้างเท้าคนพ่นจังหวัดนครปฐม พบตกค้างปริมาณ 0.23 และ 0.15 ไมโครกรัมต่อลิตร และจังหวัดสุพรรณบุรี พบตกค้างปริมาณ 3.91 และ 2.72 ไมโครกรัมต่อลิตร แสดงใน Table 3 จากการตกค้างแลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินในน้ำล้างมือคนพ่นแปลงคะน้าจังหวัดสุพรรณบุรี เนื่องจากเกษตรกรผสมแลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินในการพ่น ทำให้ได้รับสัมผัสสารโดยตรง และในน้ำล้างเท้าคนพ่น พบการตกค้างปริมาณค่อนข้างสูงในแปลงคะน้าสุพรรณบุรีมากกว่าแปลงนครปฐม เนื่องจากวันพ่นมีกระแสลมแรง ทำให้ละอองสารเกิดการฟุ้งกระจายมากกว่า ทำให้ได้รับสัมผัสสารที่บริเวณเท้ามาก

**Table 3** The results of pesticide residue analysis of lambda-cyhalothrin in hand wash and feet wash at Nakhon Pathom and Suphanburi province.

| Farmer | lambda-cylahothrin (µg/L) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Nakhon Pathom | | Suphanburi | |
| | Spray no.1 | Spray no.2 | Spray no.1 | Spray no.2 |
| Hand wash | ND | ND | 0.13 | 0.13 |
| Feet wash | 0.23 | 0.15 | 3.91 | 2.72 |

Remark: ND = Not detected (<LOD = 0.04 µg/L)
LOQ = 0.13 µg/L

**2.3 ตัวอย่างน้ำล้างมือคนเก็บคะน้า**

ผลการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างแลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินในน้ำล้างมือคนเก็บคะน้า พบการตกค้างแปลงคะน้าจังหวัดนครปฐมในช่วง 0 วัน และ 1 วัน ปริมาณ 0.45 และ 0.29 ไมโครกรัมต่อลิตร และแปลงคะน้าจังหวัดสุพรรณบุรี ปริมาณ 0.39 ไมโครกรัมต่อลิตร ที่ 0 วัน แสดงใน Table 4 หลังพ่นที่ 3 วันไม่พบสารตกค้างทั้งสองแปลง เนื่องจากเกิดปฏิกิริยา photolysis ทำให้แลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินสลายตัวได้อย่างรวดเร็ว (He *et al*., 2008)

**Table 4** The results of pesticide residue analysis of lambda-cyhalothrin in picker's hand wash at Nakhon Pathom and Suphanburi province.

| picker's hand wash | lambda-cyhalothrin (µg/L) | |
|---|---|---|
| | Nakhon Pathom | Suphanburi |
| day 0 | 0.45 | 0.39 |
| day 1 | 0.29 | ND |
| day 3 | ND | ND |
| day 5 | ND | ND |
| day 7 | ND | ND |
| day 10 | ND | ND |
| day 14 | ND | ND |
| day 21 | ND | ND |
| day 30 | ND | ND |

Remark: ND = Not detected (<LOD = 0.04 µg/L)
LOQ = 0.13 µg/L

**2.4 ตัวอย่างดิน และตะกอน**

การตรวจวิเคราะห์แลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินในแปลงคะน้าจังหวัดนครปฐมและสุพรรณบุรี ผลการตรวจวิเคราะห์ไม่พบการตกค้างในดินและตะกอน แสดงใน Table 5 และ 6 เนื่องจากการพ่นครั้งที่ 1 อายุคะน้าประมาณ 20 วัน มีความสูงของต้นประมาณ 15-20 เซนติเมตร และพ่นครั้งที่ 2 อายุคะน้าประมาณ 30 วัน ความสูงของต้นประมาณ 25-30 เซนติเมตร ต้นคะน้ามีความหนาและโตคลุมดิน ลักษณะการปลูกเกษตรกรได้คลุมดินด้วยฟางข้าวที่หนา ทำให้แลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินที่พ่นไม่สามารถซึมผ่านลงไปบริเวณผิวดินได้ เมื่อระยะเวลาผ่านไปมีแสงแดดและสภาพอากาศที่ร้อนจัด ทำให้แลมบ์ดาไซฮาโลทรินเกิดปฏิกิริยา photolysis และสลายตัวไปอย่างรวดเร็ว จากรายงานการทดลองพ่นแลมบ์ดาไซฮา-โลทรินในแปลงพืช พบค่า half-life ประมาณ 30 วัน (WHO, 1990)

**Table 5** The results of pesticide residue analysis of lambda-cyhalothrin in soil at Nakhon Pathom and Suphanburi province.

| Provinces | Average lambda-cyhalothrin residue (mg/kg) (n=3) | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | day 0 | day 1 | day 3 | day 5 | day 7 | day 10 | day 14 | day 21 | day 30 |
| Nakhon Pathom | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| Suphanburi | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |

Remark: ND = Not detected (<LOD =0.02 mg/kg)
LOQ = 0.07 mg/kg

**Table 6** The results of pesticide residue analysis of lambda-cyhalothrin in sediment at Nakhon Pathom and Suphanburi province.

| Provinces | Average lambda-cyhalothrin residue (mg/kg) (n=3) | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | day 0 | day 1 | day 3 | day 5 | day 7 | day 10 | day 14 | day 21 | day 30 |
| Nakhon Pathom | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| Suphanburi | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |

Remark: ND = Not detected (<LOD =0.02 mg/kg)
LOQ = 0.07 mg/kg

**2.5 ตัวอย่างแผ่นผ้า**

การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างแลมบ์ดา-ไซฮาโลทริน แปลงคะน้าจังหวัดนครปฐมและสุพรรณบุรีในแผ่นผ้าที่ติดตามบริเวณส่วนต่างๆ ของร่างกาย (US.EPA, 1992) หลังการพ่นครั้งที่ 1 และ 2 ในทั้งสองแปลง พบสารพิษตกค้างมากที่สุด คือ บริเวณแข้งนอก โดยแข้งนอกแปลงคะน้าจังหวัดนครปฐม ตกค้างปริมาณ 12.29 และ 9.94 ไมโครกรัมต่อ 100 ตารางเซนติเมตร และสุพรรณบุรี ตกค้างปริมาณ 0.93 และ 4.79 ไมโครกรัมต่อ 100 ตารางเซนติเมตร ส่วนบริเวณต้นขาทั้งสองข้าง แปลงคะน้าจังหวัดนครปฐม ตกค้างปริมาณ 0.55 และ 0.41 ไมโครกรัมต่อ 100 ตารางเซนติเมตร และสุพรรณบุรี ปริมาณ 0.50 และ 0.92 ไมโครกรัมต่อ 100 ตารางเซนติเมตร แสดงใน Table 7 จากการพ่นครั้งที่ 1 และ 2 มีการปนเปื้อนในปริมาณที่สูงบริเวณส่วนของแข้งนอก เนื่องจากลักษณะการเดินพ่นในแนวราบ และมีกระแสลมค่อนข้างแรง เกิดการฟุ้งละอองสาร ทำให้การรับสัมผัสสารเกิดได้ค่อนข้างสูง

**Table 7** The results of pesticide residue analysis of lambda-cyhalothrin in the patch at Nakhon Pathom and Suphanburi province.

| Region of body | lambda-cyhalothrin (μg/100 $cm^2$) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Nakhon Pathom | | Suphanburi | |
| | Spray no.1 | Spray no.2 | Spray no.1 | Spray no.2 |
| 1. Head | | | | |
| - Hat | ND | ND | ND | ND |
| - Nose | ND | ND | ND | ND |
| 2. Shoulder | 0.08 | ND | ND | ND |
| 3. Chest | | | | |
| - Chest in | ND | ND | ND | ND |
| - Chest out | ND | ND | ND | ND |
| 4. Elbow | 0.10 | ND | 0.36 | 0.09 |
| 5. Back | | | | |
| - Back in | ND | ND | ND | ND |
| - Back out | ND | ND | 0.51 | 0.07 |
| 6. Upper leg | 0.55 | 0.41 | 0.50 | 0.92 |
| 7. Lower leg | | | | |
| - Lower leg in | 0.10 | 0.09 | ND | ND |
| - Lower leg out | 12.29 | 9.94 | 0.93 | 4.79 |

Remark: ND = Not detected (<LOD =0.02 μg/100$cm^2$)
LOQ = 0.07 μg/100$cm^2$

**2.6 ตัวอย่างคะน้า**

การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างแลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินในคะน้าแปลงคะน้าจังหวัดนครปฐมและสุพรรณบุรี พบว่ามีการตกค้างในคะน้าได้นานประมาณ 10 วัน ในทั้งสองแปลงหลังการพ่นสาร โดยแลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินจะถูกดูดซับได้ดีในส่วนของใบและลำต้นคะน้า หลังจากนั้นจะค่อยๆ สลายตัวไป และไม่พบการตกค้างในช่วง 14-30 วัน จากปฏิกิริยา photolysis และ hydrolysis ในแปลง (He *et al*., 2008) แสดงใน Table 8 และ 9

**Table 8** The results of pesticide residue analysis of lambda-cyhalothrin in kale at Nakhon Pathom province.

| Replicates (R) | Average lambda-cyhalothrin residue (mg/kg) (n=2) | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | day 0 | day 1 | day 3 | day 5 | day 7 | day 10 | day 14 | day 21 | day 30 |
| R1 | 1.17 | 0.96 | 0.55 | 0.34 | 0.17 | 0.07 | ND | ND | ND |
| R2 | 1.28 | 0.65 | 0.38 | 0.24 | 0.24 | 0.11 | ND | ND | ND |

Remark: ND = Not detected (<LOD =0.02 mg/kg)
LOQ = 0.07 mg/kg

**Table 9** The results of pesticide residue analysis of lambda-cyhalothrin in kale at Suphanburi province.

| Replicates | Average lambda-cyhalothrin residue (mg/kg) (n=2) | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| (R) | day 0 | day 1 | day 3 | day 5 | day 7 | day 10 | day 14 | day 21 | day 30 |
| R1 | 1.80 | 0.79 | 0.37 | 0.21 | 0.13 | 0.09 | ND | ND | ND |
| R2 | 1.54 | 0.67 | 0.30 | 0.17 | 0.08 | 0.08 | ND | ND | ND |

Remark: ND = Not detected (<LOD =0.02 mg/kg)
LOQ = 0.07 mg/kg

**3. การคำนวณระยะเวลาในการสลายตัวของแลมบ์ดา-ไซฮาโลทริน (Half-life, $t_{1/2}$) ในตัวอย่างน้ำ ดินและตะกอน**

ผลการวิเคราะห์สารพิษตกค้างแลมบ์ดา-ไซฮาโลทริน ในตัวอย่างน้ำ ดินและตะกอน ไม่สามารถกำหนดค่าการสลายตัวลดลงจนมีปริมาณครึ่งหนึ่งได้ เนื่องจากไม่พบค่าการตกค้างในน้ำ ดินและตะกอนในแปลงคะน้า

**4. ปริมาณสารพิษปนเปื้อนบนร่างกายเกษตรกรและประเมินความเสี่ยงจากการใช้แลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินในแปลงคะน้า**

ผลการคำนวณสารพิษตกค้างแลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินที่ปนเปื้อนบนแผ่นผ้าในบริเวณส่วนต่างๆ ของร่างกาย ได้แก่ ส่วนศีรษะ (บริเวณหมวกและจมูก) บ่า อก (บริเวณอกในและอกนอก) ศอก หลัง (บริเวณหลังในและหลังนอก) ต้นขาและแข้ง (บริเวณแข้งในและแข้งนอก) พ่นครั้งที่ 1 และ 2 แปลงคะน้าจังหวัดนครปฐม พบมีการปนเปื้อนบริเวณต้นขา ปริมาณ 0.17 และ 0.14 µg/region ส่วนบริเวณแข้ง ปริมาณ 2.36 และ 2.12 µg/region ตามลำดับ ส่วนแปลงคะน้าสุพรรณบุรี ไม่พบการปนเปื้อน

ผลการคำนวณสารพิษตกค้างแลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินในน้ำล้างมือคนพ่นครั้งที่ 1 และ 2 แปลงคะน้าจังหวัดนครปฐม ไม่พบการปนเปื้อน และแปลงคะน้าสุพรรณบุรี พบการปนเปื้อน ปริมาณ 104.8 และ 108.9 µg/region ตามลำดับ ส่วนในน้ำล้างเท้า แปลงคะน้าจังหวัดนครปฐม พบการปนเปื้อน ปริมาณ 301.3 และ 196.5 µg/region และแปลงคะน้าสุพรรณบุรี พบการปนเปื้อน ปริมาณ 5,119.35 และ 3,558.48 µg/region ตามลำดับ

ผลการคำนวณผู้พ่นมีโอกาสปนเปื้อนสารพิษตกค้างชนิดแลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินครั้งที่ 1 และ 2 แปลงคะน้านครปฐม ปริมาณ 0.0104 และ 0.0067 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักตัวต่อวัน (mg/kg bw/day) และแปลงคะน้าสุพรรณบุรี ปริมาณ 0.1593 และ 0.1192 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักตัวต่อวัน (mg/kg bw/day) จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ประเมินระดับความเสี่ยงจากปริมาณการได้รับสัมผัสสารแลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินเข้าสู่ร่างกายผู้พ่นสาร โดยใช้เกณฑ์การประเมินจาก Pesticide Risk Assessment (US.EPA, 1999) กำหนดค่า NOAEL มีค่าเท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักตัวต่อวัน และคำนวณหาค่า MOE โดยแปลงคะน้าจังหวัดนครปฐมค่า MOE เท่ากับ 96,154 และ 149,254 และแปลงคะน้าจังหวัดสุพรรณบุรี ค่า MOE เท่ากับ 6,276 และ 8,390 ตามลำดับ ซึ่งค่า MOE มีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 100 ถือว่าอยู่ในระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้ แสดงใน Table 10 และ 11

**Table 10** Risk assessment of lambda-cyhalothrin in farmer at Naknon pathom province.

| Farmer | Spray no. | lambda-cyhalothrin (mg/kg bw/day) | %Absorption | absorbed dose (mg/kg bw/day) (Exposure) | NOAEL (mg/kg bw/day) | MOE | Risk |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Sprayer | 1 | 0.0104 | 1.0 | 0.00010 | 10 | 96,154 | accept |
| Sprayer | 2 | 0.0067 | 1.0 | 0.00007 | 10 | 149,254 | accept |

Remark: Absorbed dose or Exposure (mg/kg bw/day) = (concentration of lambda-cyhalothrin (mg/kg bw/day) x %Absorption) / 100))
Margin of Exposure (MOE) = (NOAEL / Exposure)

**Table 11** Risk assessment of lambda-cyhalothrin in farmer at Suphanburi province.

| Farmer | Spray no. | lambda-cyhalothrin (mg/kg bw/day) | %Absorption | absorbed dose (mg/kg bw/day) (Exposure) | NOAEL (mg/kg bw/day) | MOE | Risk |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Sprayer | 1 | 0.1593 | 1.0 | 0.00159 | 10 | 6,276 | accept |
| Sprayer | 2 | 0.1192 | 1.0 | 0.00119 | 10 | 8,390 | accept |

การประเมินระดับความเสี่ยงจากปริมาณการได้รับสัมผัสสารแลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินเข้าสู่ร่างกายคนเก็บคะน้าจากน้ำล้างมือหลังพ่นครั้งที่ 2 แปลงคะน้าจังหวัดนครปฐมและสุพรรณบุรี พบการปนเปื้อน ปริมาณ $3x10^{-5}$ และ $2x10^{-5}$ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักตัวต่อวัน ตามลำดับ เมื่อคำนวณปริมาณปนเปื้อนที่สัมผัสร่างกาย กำหนดค่า %absorption เช่นเดียวกับแผ่นผ้า ผลประเมินความเสี่ยงคนเก็บคะน้าได้ค่า MOE เท่ากับ $3.3x10^{7}$ และ $5.0x10^{7}$ ซึ่งเป็นความเสี่ยงที่ยอมรับได้ แสดงดัง Table 12

**Table 12** Risk assessment of lambda-cyhalothrin in picker's hand wash.

| Locations | lambda-cyhalothrin (mg/kg bw/day) | %Absorption | absorbed dose (mg/kg bw/day) (Exposure) | NOAEL (mg/kg bw/day) | MOE | Risk |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Nakhon Pathom | 0.00003 | 1.0 | 0.0000003 | 10 | $3.3x10^{7}$ | accept |
| Suphanburi | 0.00002 | 1.0 | 0.0000002 | 10 | $5.0x10^{7}$ | accept |

**5. ประเมินความเสี่ยงจากการบริโภคคะน้า (Hazard Quotient, HQ)**

ผลการประเมิน HQ จากแปลงคะน้าจังหวัดนครปฐมและสุพรรณบุรี มีค่าเท่ากับ 0.19 และ 0.26 ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าเกณฑ์ที่กำหนดไว้ HQ เท่ากับ 1 จึงสรุปได้ว่า การใช้แลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินในแปลงคะน้าพันธุ์ศรแดงมีความปลอดภัยต่อการบริโภค จากรายงานของสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติได้กำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (Maximum Residue Limits; MRLs) ในผักตระกูลกะหล่ำเท่ากับ 0.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (มกอช, 2559)

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

จากการทดลองพ่นสารกำจัดศัตรูพืชชนิดแลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินในแปลงคะน้าจังหวัดนครปฐมและสุพรรณบุรี ผลการประเมินแลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินที่ปนเปื้อนบนร่างกายเกษตรกรผู้พ่น พบบริเวณที่มีการปนเปื้อนมากและมีความเสี่ยงที่สุดคือบริเวณแข้งนอก รองลงมาคือส่วนของต้นขาทั้งสองข้าง จากการพ่นในครั้งที่ 1 และ 2 ผู้พ่นสารพิษแลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินมีโอกาสปนเปื้อนปริมาณ 0.0104 และ 0.0067 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักตัวต่อวัน แปลงคะน้านครปฐมและปริมาณ 0.1593 และ 0.1192 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักตัวต่อวัน แปลงคะน้าสุพรรณบุรี ประเมินความเสี่ยงต่อผู้พ่นสาร (MOE) แปลงคะน้านครปฐม มีค่า MOE เท่ากับ 96,154 และ 149,254 และแปลงคะน้าสุพรรณบุรี ค่า MOE เท่ากับ 6,276 และ 8,390 โดยเกณฑ์ค่า MOE≥100 เป็นความเสี่ยงที่ยอมรับได้ ซึ่งเกษตรกรสามารถปฏิบัติงานได้อย่างปลอดภัย และผลการประเมินความเสี่ยงต่อผู้บริโภคคะน้า (HQ) มีค่าเท่ากับ 0.19 และ 0.26 ตามลำดับ โดยน้อยกว่าเกณฑ์ที่กำหนดไว้ HQ เท่ากับ 1 ผู้บริโภคสามารถบริโภคคะน้าได้อย่างปลอดภัย ไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ จากเกณฑ์กำหนดปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRLs) ในผักตระกูลกะหล่ำ 0.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม การประเมินความเสี่ยงจากการใช้สารกำจัดศัตรูพืชแลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินในคะน้า ใช้สูตร 2.5% EC ในปริมาณ 60 กรัมต่อน้ำสะอาด 20 ลิตร พ่นสาร 2 ครั้ง เมื่อพบการระบาดของศัตรูพืช โดยใช้เทคนิคการพ่นด้วยเครื่องยนต์แรงดันสูง (High pressure pump sprayer) ผลการวิเคราะห์ในตัวอย่างสิ่งแวดล้อม ไม่พบการตกค้าง จึงไม่สามารถกำหนดค่า half life ได้ การใช้กำจัดศัตรูพืช เกษตรกรผู้พ่นสารควรระมัดระวังในการพ่นและควรใช้อุปกรณ์ป้องกัน เช่น หน้ากาก ถุงมือ รองเท้าบูท เป็นต้น และต้องปฏิบัติตามคำแนะนำในการใช้แลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินของกรมวิชาการเกษตรอย่างเคร่งครัด

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. เป็นข้อมูลสำหรับเกษตรกรเพื่อให้การใช้สารแลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินเป็นไปอย่างระมัดระวังและถูกต้อง เพื่อความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ตลอดจนสิ่งแวดล้อม
2. เป็นข้อมูลสำหรับกรมวิชาการเกษตร ใช้พิจารณาประเมินความเสี่ยงภัยจากการใช้สารพิษแลมบ์ดา-ไซฮาโลทรินเพื่อใช้ประกอบการขอขึ้นทะเบียน หรือการห้ามใช้
3. เผยแพร่ข้อมูลที่ได้สู่สาธารณชน และหน่วยงานอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง ตลอดจนผู้ที่สนใจทั่วไป
4. เพื่อการบริหารจัดการควบคุมวัตถุมีพิษทางการเกษตรที่ก่อให้เกิดความเสี่ยงภัยสูง ตามภารกิจของกรมวิชาการเกษตร

## เอกสารอ้างอิง


กรมส่งเสริมการเกษตร. 2564. รายงานข้อมูลภาวะการผลิตพืช พืชอายุสั้น กลุ่มพืชผักชนิดคะน้า ปี 2564.

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2553. การป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร:กรุงเทพฯ.

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร. 2564. การหาปริมาณสารพิษตกค้างในกลุ่มผักใบ ผลไม้ตระกูลส้ม มะเขือเทศและมะม่วง โดยวิธี Ethyl Acetate Method ด้วยเทคนิค LC-MS/MS (TM-T04-R07). 16 หน้า.

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร. 2565ก. วิธีทดสอบสารพิษกลุ่ม Organochlorines ในน้ำ โดยวิธี Gas Chromatography (TM-T04-I01). 10 หน้า.

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร. 2565ข. วิธีทดสอบสารพิษกลุ่ม Organochlorines กลุ่ม Pyrethroids และกลุ่ม Organophosphorus ในดิน โดยวิธี Gas Chromatography (TM-T04-I02). 12 หน้า.

มกอช. 2559. มาตรฐานสินค้าการเกษตร มกษ.9002-2559 สารพิษตกค้าง:ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด. สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. สืบค้นจาก www.acfs.go.th/standard/download/maximum-residue_limit.pdf [ม.ค.2562].

มานิตา คงชื่นสิน, ชนิดา อุณหวุฒิ, ศรุต สุทธิอารมณ์, ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ, จีรนุช เอกอำนวย, สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และคณะ. 2553. คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและศัตรูพืช ปี 2553. กรุงเทพฯ: กรมวิชาการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กลุ่มกีฏและสัตววิทยา.

Back, C.A. 1965. “Method of soil analysis: part I physical and mineralogical properties”. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, USA.

He, L-M., J. Troiano, A. Wang and K. Goh. 2008. Environmental Chemistry, Ecotoxicity, and Fate of Lambda-Cyhalothrin. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology. pp. 71-88.

Merck. 2021. Empirical Formula lambda-cyhalothrin. [online]. Available from https://www.sigmaaldrich.com/TH/en/product/sial/31058 (December 2021)

OECD. 1997. Method for measuring dermal exposure. In Guidance Document for the Conduct of Studies of Occupational Exposure to Pesticides During Agricultural Application.

Tomlin, C. 2006. **The Pesticide Manual**. 14th ed. BCPC: UK. p. 1349.

US.EPA. 1987. Pesticide Assessment Guidelines, Subdivision K. Exposure: Re-entry Protection, US.EPA. Washington D.C.

US.EPA. 1992. Dermal exposure assessment: principles and application, U.S. Environmental Protection Agency, Washington D.C.

US.EPA. 1999. The role of use-related Information in pesticide risk assessment and risk management. Office of Pesticide Program, Item:6039 (June 29, 1999).

US.EPA. 2005. Characterizing Risk and Hazard. Human Health Risk Assessment Protocol, U.S. Environmental Protection Agency, Washington D.C.

WHO. 1990. International Programme on Chemical Safety Environmental Health Criteria99: Cyhalothrin. World Health Organization Geneva. Switzerland.

# การประเมินผลกระทบของสารตกค้างไกลโฟเซต อะทราซีน และอะลาคลอร์ในดิน
# Assessing the Impacts of Glyphosate, Atrazine and Alachlor Residues in Soil

*มลิสา เวชยานนท์* *อำนาจ กะฐินเทศ* *จันทิมา ผลกอง* *สิริพร เหลืองสุชนกุล*
*Malisa Wetchayanon* *Amnaj Katintet* *Jantima Phonkong* *Siriporn Luengsuchonkul*

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

## ABSTRACT

Long-term continuous use of glyphosate, atrazine and alachlor may be have cause impacted on health and residue in the environment. This study was conducted to crop soil sampling in Central region of Thailand; Kanchanaburi, Nakhon Pathom, Lop Buri, Saraburi, and Suphan Buri province areas. The samples were collected in both dry and wet seasons from February to July 2021. Thirty-four sites were collected in total, 130 samples. High performance liquid chromatography (HPLC) and Gas chromatography (GC) were used for pesticide analysis including glyphosate, atrazine and alachlor. Health risks of non-carcinogenic and environmental risk effects were calculated using hazard quotient (HQ) and risk quotient (RQ), respectively. The results revealed that the concentration of atrazine and alachlor at <0.01 - 0.45 mg/kg (27%) and <0.01 - 0.02 mg/kg (2%), respectively. These concentrations of pesticide were detected less than the environmental quality standard of pesticides in soil. Long-term health risk assessments in children and adults revealed that HQ in the range $3.59 \times 10^{-6}$ - $7.39 \times 10^{-5}$ and ecological risk that RQ in the range 0.01 - 0.05. However, the pesticides indicated that low potential risk to human health and the environment (HQ and RQ <1).

**Keywords** : Pesticide residue, Glyphosate, Atrazine, Alachlor, Soil

## บทคัดย่อ

การใช้สารกำจัดวัชพืชไกลโฟเซต อะทราซีน และอะลาคลอร์ต่อเนื่องเป็นเวลานาน อาจมีการตกค้าง รวมถึงส่งผลกระทบต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม การศึกษานี้ได้สุ่มเก็บตัวอย่างดินในแปลงปลูกพืชในเขตภาคกลาง พื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม ลพบุรี สระบุรี และสุพรรณบุรี ในช่วงฤดูแล้งและฤดูฝน ระหว่างกุมภาพันธ์ถึงกรกฎาคม 2564 รวม 34 แปลง จำนวนตัวอย่างดินทั้งหมด 130 ตัวอย่าง วิเคราะห์สารตกค้างชนิดไกลโฟเซต อะทราซีน และอะลาคลอร์ด้วยเครื่องลิควิดโครมาโตกราฟ และเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ รวมทั้งประเมินผลกระทบต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อมโดยใช้สัดส่วนความเสี่ยง (Hazard quotient; HQ) และ ค่าความเสี่ยง (Risk quotient; RQ) ตามลำดับผลการตรวจวิเคราะห์พบอะทราซีนและอะลาคลอร์ ปริมาณ <0.01 - 0.45 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ร้อยละ 27) และ <0.01 - 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ร้อยละ 2) ตามลำดับ ปริมาณที่ตรวจพบต่ำกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนดให้มีได้ในดิน และเมื่อนำไปประเมินผลกระทบต่อสุขภาพในเด็กและผู้ใหญ่ และผลกระทบในระยะยาวต่อสิ่งแวดล้อม มีค่า HQ และ RQ เท่ากับ $3.59 \times 10^{-6}$ - $7.39 \times 10^{-5}$ และ 0.01 - 0.05 ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม ปริมาณตกค้างในดินอยู่ในระดับความเสี่ยงต่ำต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม (HQ และ RQ <1)

**คำหลัก** : สารพิษตกค้าง ไกลโฟเซต อะทราซีน อะลาคลอร์ ดิน

## คำนำ

ไกลโฟเซต ($C_3H_8NO_5P$) เป็นสารกำจัดวัชพืชชนิดดูดซึม (systematic herbicide) ไม่เลือกทำลาย อะทราซีน ($C_8H_{14}ClN_5$) เป็นสารป้องกันกำจัดวัชพืชชนิดดูดซึม แบบเลือกทำลาย ใช้ก่อนวัชพืชงอก (pre-emergence) และหลังวัชพืชงอกในระยะเริ่มต้น (early post-emergence) ส่วนอะลาคลอร์ ($C_{14}H_{20}ClNO_2$) นั้น เป็นสารป้องกันกำจัดวัชพืชชนิดดูดซึม ทำลายได้ทั้งวัชพืชประเภทใบแคบ และใบกว้าง ใช้ก่อนวัชพืชงอก (Turner, 2018) ในปี พ.ศ. 2563 มีปริมาณการนำเข้าไกลโฟเซตมากที่สุด โดยมีปริมาณสารสำคัญ 5,870,488.36 กิโลกรัม ส่วนอะทราซีนและอะลาคลอร์มีปริมาณการนำเข้าสารสำคัญ 2,735,030.56 และ 303,717.15 กิโลกรัม ตามลำดับ (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2563) ความเป็นพิษของไกลโฟเซต อยู่ในระดับต่ำ $LD_{50}$ (หนู) >5000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักตัว (Henderson, 2010) มีความคงทนในดินระดับปานกลาง ค่าครึ่งชีวิตของการสลายตัวในดิน (degradation time; $DT_{50}$ ) ระหว่าง 1 ถึง 197 วัน (Giesy *et al*., 2000; Laitinen *et al*., 2007; Lewis *et al*., 2016; Bento *et al*., 2016) สามารถสลายตัวโดยขบวนการย่อยสลาย (oxiredutase) ของแบคทีเรียในดินโดยเปลี่ยนเป็น aminomethylphosphonic acid (AMPA) (Van et al., 2018) ส่วนอะทราซีน มีค่า $LD_{50}$ (หนู; ชนิดสารเข้มข้น) 1870 - 3090 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักตัว (Turner, 2018) ค่าครึ่งชีวิตในดิน 15.6 วัน (ประกิจและคณะ, 2556) สำหรับอะลาคลอร์มีค่าความเป็นพิษในระดับปานกลาง $LD_{50}$ (หนู) 930 - 1350 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักตัว ค่า $DT_{50}$ >17.1 วัน (ดินร่วนปนทราย, pH 7.5) (Turner, 2018)

สารกำจัดวัชพืชชนิดไกลโฟเซต พบว่ามีผลกระทบในระยะยาวทำให้เกิดมะเร็งในสัตว์ทดลอง (Chruscielska *et al*., 2000; Portier *et al*., 2020) ทั้งนี้ ยังไม่เป็นที่แน่ชัดที่จะทำให้เกิดมะเร็งในมนุษย์ (Henderson, 2010) สำหรับพิษของอะทราซีนนั้น เมื่อได้รับที่ความเข้มข้นสูง จะเกิดอาการคลื่นเหียน อาเจียน ท้องร่วง กล้ามเนื้อล้าและน้ำลายฟูมปาก รวมทั้งรบกวนการทำงานของต่อมไร้ท่อ (endocrine disruptor chemical; EDC) ทำให้เกิดมลภาวะทางฮอร์โมนเพศ (sex-hormone pollution) เกิดพฤติกรรมเบี่ยงเบนทางเพศ มีผลกระทบต่อระบบสืบพันธุ์ในสัตว์ทดลอง (Song et al., 2014) ส่วนสารกำจัดวัชพืชอะลาคลอร์นั้น ถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มสารที่เฝ้าระวังและเชื่อได้ว่าก่อให้เกิดมะเร็งต่อมนุษย์หากมีการใช้ในปริมาณสูง (US. EPA, 1998; Catherine *et al*., 2018)

จากปริมาณการนำเข้า รวมถึงความเป็นพิษของไกลโฟเซต อะทราซีน และอะลาคลอร์ ทำให้เกิดความกังวลต่อสุขภาพของผู้รับสัมผัสและการตกค้างในสิ่งแวดล้อม ซึ่งจะต้องมีการเฝ้าระวังผลกระทบที่อาจจะเกิดขึ้นในระยะยาว โดยการตรวจวิเคราะห์ปริมาณการตกค้างในพื้นที่เสี่ยง รวมทั้งประเมินความเสี่ยงจากปริมาณสารที่ตกค้างนี้ต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม เพื่อเป็นการเฝ้าระวังความเป็นอันตรายต่อสุขภาพ และสิ่งแวดล้อมให้มีความปลอดภัยจากการใช้สาร และนำไปสู่การบริหารจัดการเกี่ยวกับการจำกัดการใช้ การเข้มงวด และการยกเลิกการใช้ต่อไป

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. เครื่องแก้วและวัสดุวิทยาศาสตร์ ได้แก่ beaker, centrifuge tube, cylinder, desiccator, eppendorf, filter paper No. 1, funnel, graduated tube, laboratory bottle, micro-pipette, pasture pipette, round bottom flask, vial for auto sampler, volumetric flask, polytetrafluoroethylene (PTFE) filter membrane ขนาด 0.45 ไมโครเมตร พลั่วสแตนเลส ถุงพลาสติก คอลัมน์ BDS Hypersil™ C18 ยาว 250 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 4.6 มิลลิเมตร สารเคลือบ 5 ไมโครเมตร รูพรุนของอนุภาค 130 อังสตรอม คอลัมน์ DB-1701 ยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร สารเคลือบ 0.25 ไมโครเมตร คอลัมน์ DB-35 ยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.25 มิลลิเมตร สารเคลือบ 0.25 ไมโครเมตร

2. เคมีภัณฑ์ชนิดต่าง ๆ

2.1 สารเคมีชนิด analytical grade ได้แก่ กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid; HCl) ไดโซเดียม เตตระบอเรต เดคาไฮเดรต (di-sodium tetraborate decahydrate; $Na_2B_4O_7$•10 $H_2O$) ไดโซเดียม ไฮโดรเจน ฟอสเฟต (disodium hydrogen phosphate; $Na_2HPO_4$) ไดเอทิล อีเทอร์ (diethyl ether; $C_4H_{10O}$) ไตรโซเดียม ซิเตรท (trisodium citrate; $Na_3C_6H_5O_7$) น้ำกลั่น (distilled water; distilled $H_2O$) บอเรต บัฟเฟอร์ (borate buffer)

ฟลูออเรนิลเมทิลออกซีคาร์บอนิล คลอไรด์ (fluorenylmethyloxycarbonyl chloride (Fmoc-Cl); $C_{15}H_{11}ClO_2$) อะซีโตน (acetone; $C_3H_6O$) อะซีโตไนไตรล์ (acetonitrile; $C_2H_3N$) เอทิล อะซิเตท (ethyl acetate; $C_4H_8O_2$) แอนไฮดรัส โซเดียมซัลเฟต (anhydrous sodium sulfate; anh. $Na_2SO_4$) ไอโซ-ออกเทน (iso-octane; $C_8H_{18}$) และ เฮกเซน (hexane; $C_6H_{14}$)

2.2 สารเคมีชนิด HPLC grade ได้แก่ อะซิโตไนไตรล์ (acetonitrile; $CH_3CN$) เมทานอล (methanol; $CH_3OH$) และน้ำ (water; $H_2O$)

2.3 สารมาตรฐาน pesticide grade ความบริสุทธิ์สูง

2.3.1 กลุ่ม glycine ชนิด ไกลโฟเซต (glyphosate; $C_3H_8NO_5P$) และ อนุพันธ์ ชนิดอะมิโน เมทิลฟอสฟอนิค แอซิด (AMPA, aminomethylphosphonic acid; $CH_6NO_3P$)

2.3.2 กลุ่ม triazine ชนิด อะทราซีน (atrazine; $C_8H_{14}ClN_5$)

2.3.3 กลุ่ม chloroacetamide ชนิด อะลาคลอร์ (alachlor; $C_{14}H_{20}ClNO_2$)

3. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ ได้แก่ เครื่อง gas chromatograph ชนิดตัวตรวจวัด electron capture detector (GC-μECD) และ nitrogen phosphorus detector (GC-NPD) เครื่อง high performance liquid chromatograph ชนิดตัวตรวจวัด fluorescence detector (FLD) เครื่องกรองระบบสุญญากาศ (vacuum filtration apparatus) เครื่องเขย่าผสมสาร (votex mixer) เครื่องเขย่าสาร (shaker) เครื่องชั่ง (analytical balance) เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน (centrifuge) เครื่องลดปริมาตรสารละลาย (rotary evaporator) เครื่องลดปริมาตรสารละลายด้วยแก๊สไนโตรเจน (nitrogen evaporator) เครื่องล้างความถี่สูง (ultrasonic bath)

## วิธีการ

1. กำหนดจุดเก็บตัวอย่าง (Sampling sites)

แปลงปลูกพืชที่มีประวัติการใช้สารกำจัดวัชพืชชนิดไกลโฟเซต อะทราซีน และอะลาคลอร์ในพื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม ลพบุรี สุพรรณบุรี และสระบุรี โดยใช้พิกัดภูมิศาสตร์ ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างดินในช่วงฤดูแล้ง (กุมภาพันธ์ถึงมีนาคม 2564) และฤดูฝน (มิถุนายนถึงกรกฎาคม 2564) จำนวน 34 แปลง (ภาคผนวก; Table 1)

2. การสุ่มเก็บตัวอย่าง (Sample collection)

สุ่มเก็บตัวอย่างดินในแปลงปลูกพืชโดยวิธีการสุ่ม (random sampling) (กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร, 2564) ถางหญ้าหรือเศษพืชบริเวณที่ต้องการเก็บตัวอย่างออก ใช้พลั่วสแตนเลสขุดดินเป็นหลุมลึกรูปตัววี (V) ประมาณ 6 - 9 นิ้ว จากผิวดิน สุ่มเก็บอย่างน้อย 7 - 10 จุด รวมให้ได้น้ำหนักดินประมาณ 2 กิโลกรัม ใส่ถุงพลาสติก ติดฉลาก เก็บรักษาสภาพในถังน้ำแข็ง (4 องศาเซลเซียส) ระหว่างนำส่งห้องปฏิบัติการ จำนวนตัวอย่างรวมทั้งหมด 130 ตัวอย่าง

3. การสกัดตัวอย่าง (Sample preparation)

คำนวณความชื้นในตัวอย่างดิน และคำนวณน้ำหนักดินแห้งสุทธิ (dry weigh; dw) โดยชั่งตัวอย่างดิน 50 กรัม บันทึกน้ำหนักตัวอย่างดินก่อนอบ และหลังอบ 24 ชั่วโมง (Back, 1965) นำไปคำนวณความชื้นและน้ำหนักดินแห้งในช่วงเวลาเดียวกับนำตัวอย่างดินสกัดสารพิษตกค้าง สารกำจัดวัชพืชชนิดไกลโฟเซต และอนุพันธ์ สกัดโดยชั่งตัวอย่างดิน 10 กรัม สกัดด้วยสารละลายผสมระหว่าง 0.03M Disodium hydrogen phosphate และ 0.01M Trisodium citrate ปรับปริมาตร 50 มิลลิลิตร และ Derivatization ด้วย 0.02M FMOC-Cl วิเคราะห์ปริมาณด้วยเครื่อง high performance Liquid chromatograph (Sun et al., 2017) ส่วนสารกำจัดวัชพืชชนิดอะทราซีน และอะลาคลอร์ ชั่งตัวอย่างดิน 20 กรัม สกัดด้วย ethyl acetate ลดปริมาตร และปรับปริมาตร 2 มิลลิลิตร วิเคราะห์ปริมาณด้วยเครื่อง gas chromatograph (AOAC, 2016)

4. การวิเคราะห์สารตกค้าง (Sample analysis)

4.1 วิเคราะห์สารกำจัดวัชพืชชนิดไกลโฟเซต และอนุพันธ์ ดัดแปลงวิธีทดสอบของ Sun et al. (2017) ส่วนการวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืชชนิดอะทราซีน และอะลาคลอร์ดัดแปลงจากวิธีทดสอบของ AOAC (2016)

4.2 เตรียมสารละลายของสารมาตรฐาน stock standard solution ของสารพิษแต่ละชนิดให้มีความเข้มข้นประมาณ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียม intermediate standard solution ให้ได้สารละลายของสารมาตรฐานความเข้มข้นอยู่ในช่วง 20 - 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเตรียม working standard solution ที่ 5 ระดับความเข้มข้นของสารไกลโฟเซต อะทราซีน และอะลาคลอร์ ให้ได้ความเข้มข้นประมาณ 0.10 - 2.00, 0.02 - 1.50 และ 0.01 - 0.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

4.3 สภาวะการทำงานของเครื่อง High Performance Liquid Chromatograph (HPLC) และ Gas Chromatograph (GC) เพื่อตรวจวิเคราะห์สารแต่ละชนิด

4.3.1 ตรวจวิเคราะห์สารพิษชนิดไกลโฟเซตและอนุพันธ์ ปรับสภาวะการทำงานของเครื่อง HPLC ดังนี้

Column : BDS Hypersil™ C18, 250 mm x 4.6 mm, particle size 5 μm, pore size 130 A°

Detector : Fluorescence (FLD)

Excitation wavelength, $\lambda_{ex}$ : 270 nm; Emission wavelength, $\lambda_{em}$ : 315 nm

Column temperature : 40 °C, Injection volume : 20 μL

Run time : 14 minutes

Gradient cretic system :

| Time (minutes) | Mobile phase (Ratio) | | Flow rate (mL/min) |
|---|---|---|---|
| | 50mM $KH_2PO_4$ (pH = 5.50) | acetonitrile | |
| 0 | 70 | 30 | 0.7 |
| 5 | 50 | 50 | 0.7 |
| 8 | 20 | 80 | 0.7 |
| 10 | 70 | 30 | 0.7 |

4.3.2 ตรวจวิเคราะห์สารพิษชนิดอะทราซีน ปรับสภาวะการทำงานของเครื่อง GC ดังนี้

Column : DB-35, 30 m length x 0.25 mm id. x 0.25 μm film thickness

Detector : NPD, Injection mode : pulsed splitless

Temperature conditioning : injector = 230 °C, detector = 300 °C

Oven program : 55 °C (1 min) $\xrightarrow{10°C/min}$ 195 °C (2 min) $\xrightarrow{10°C/min}$ 230 °C (1 min) $\xrightarrow{20°C/min}$ 250 °C (1 min) $\xrightarrow{15°C/min}$ 280 °C (1 min)

Carrier gas : helium flow 1.4 mL/min

Ignite gas : hydrogen 2 mL/min, air 120 mL/min

Injection volume : 1 μL, run time: 26.5 minutes

4.3.3 ตรวจวิเคราะห์สารพิษชนิดอะลาคลอร์ ปรับสภาวะการทำงานของเครื่อง GC ดังนี้

Column : DB-1701, 30 m length x 0.32 mm id. x 0.25 μm film thickness

Detector : μECD, Injection mode: splitless

Temperature conditioning : injector = 230 °C, detector = 300 °C

Oven program : 80 °C (1 min) $\xrightarrow{20 °C/min}$ 220 °C (2 min) $\xrightarrow{1 °C/min}$ 235 °C (1 min) $\xrightarrow{20 °C/min}$ 240 °C (1 min) $\xrightarrow{25 °C/min}$ 265 °C (12 min) $\xrightarrow{20 °C/min}$ 280 °C (8 min)

Carrier : helium flow 1.4 mL/min

Injection volume : 1 μL, run time: 49 minutes

4.4 การคำนวณปริมาณสารพิษตกค้าง

ปริมาณสารพิษตกค้างในตัวอย่างคำนวณจาก

$$C = \frac{(R_x - B_0)}{A_0} \times \frac{V}{W} \times D$$

เมื่อ C (concentration) คือ ความเข้มข้นของสารพิษในตัวอย่างดินแห้ง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) $R_x$ คือ response (area) ของสารพิษในตัวอย่าง, $B_0$ คือ intercept ของ calibration curve, $A_0$ คือ slope ของ calibration curve (มิลลิลิตร/ไมโครกรัม), V (volume) คือ ปริมาตรสุดท้ายของสารละลายตัวอย่าง (มิลลิลิตร), W (weight) คือ น้ำหนักตัวอย่างดินแห้ง (กรัม) และ D (dilution factor) คือ จำนวนเท่าการเจือจาง

5. การประเมินผลกระทบ

5.1 การประเมินผลกระทบต่อสุขภาพ

ใช้สมการทางคณิตศาสตร์ในการคาดการณ์หรือทำนายแนวโน้มของผลกระทบที่อาจจะเกิดขึ้นเพื่อบ่งชี้ระดับความเป็นอันตรายของสารพิษ โดยสมการคณิตศาสตร์ที่ใช้ในการคำนวณผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์จะใช้สูตรคำนวณค่า Hazard quotient (HQ) (US. EPA, 2011) ดังนี้

$$HQ = ADI/RfD$$

เมื่อ ADI (average daily intake) คือ ปริมาณสารพิษเข้าสู่ร่างกายอย่างต่อเนื่องต่อน้ำหนักตัวกิโลกรัม, RfD (reference dose of the contaminant) คือ ปริมาณสารที่รับเข้าสู่ร่างกายได้ทุกวันโดยไม่ทำให้เกิดความผิดปกติใด ๆ ต่อสุขภาพอนามัย โดย ADI คำนวณจาก

$$ADI = (C \times IR \times EF \times ED)/(BW \times AT)$$

เมื่อ C (concentration) คือ ความเข้มข้นเฉลี่ยสารพิษในตัวอย่าง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม), IR (ingestion rate) คือ ปริมาณการรับสัมผัส (มิลลิกรัมต่อวัน), EF (exposure frequency) คือ ความถี่ของการรับสัมผัส (วันต่อปี ; 350/ปี), ED (exposure duration) คือ ระยะเวลาที่รับสัมผัส (ปี) (เด็ก 6 ปี ผู้ใหญ่ 30 ปี), BW (body weight) คือ น้ำหนักของร่างกาย (กิโลกรัม) (เด็ก (child) อายุ 6 ปี น้ำหนักเฉลี่ย 33.38 กิโลกรัม และผู้ใหญ่ (adult) อายุ 70 ปี น้ำหนักเฉลี่ย 55.77 กิโลกรัม) (มกอช., 2559), AT (average time) คือ ระยะเวลาเฉลี่ยที่รับสัมผัสตลอดช่วงอายุ (วัน) (เด็ก 2190 วัน ผู้ใหญ่ 10950 วัน) การแปรผลจากค่าที่คำนวณได้ HQ $\leq$1 คือ ไม่มีผลกระทบต่อสุขภาพอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ (acceptable risk) HQ >1 คือ มีผลกระทบหรือมีความเสี่ยงต่อสุขภาพ (risk)

5.2 การประเมินผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

ประเมินผลกระทบในระยะยาวต่อมีชีวิตในดินชนิด earthworm (ECB, 2003; ECHA, 2008) โดยใช้ค่าความเสี่ยง (Risk quotient; RQ) จากสมการ

$$RQ = MEC/PNEC$$

เมื่อ MEC (measured environment concentration) คือ ความเข้มข้นของสารในดิน (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม), PNEC (predicted no effect concentration) คือ ความเข้มข้นสูงสุดของสารที่ไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิต (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) (assessment factor เท่ากับ 10) ค่า RQ <1 คือ ไม่มีความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม (no immediate concern), RQ = 1-10 คือ มีความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อมเล็กน้อย แต่หากมีการเพิ่มปริมาณสารพิษที่ใช้ ต้องคำนึงถึงความเสี่ยงมากขึ้น (of concern if supply volumes increase), RQ = 10-100 คือ มีความเสี่ยง ต้องทำการลดความเสี่ยง (Further data require), RQ >100 คือ มีความเสี่ยงมากและจำเป็นต้องลดความเสี่ยงนั้นทันที (reduce risk immediate)

6. การควบคุมคุณภาพผลการทดสอบ (Quality assurance)

6.1 แต่ละชุดของการตรวจวิเคราะห์ ทำการทดสอบความเป็นเส้นตรงของสารละลายของสารมาตรฐานที่ 5 ระดับความเข้มข้น ได้ค่า correlation coefficient อยู่ระหว่าง 0.997 - 0.999 (เกณฑ์การยอมรับ $\geq$0.995)

6.2 แต่ละชุดของการวิเคราะห์ ทำการทดสอบ reagent blank, sample blank (พบสาร <LOD) และหาค่าการได้กลับคืนมาของสาร (เกณฑ์การยอมรับ %recovery 70-120%; SANTE/12682, 2019) ผลการทดสอบแสดงใน Table 1

**Table 1** Quality assurance of analysis

| Pesticides | Conc. (mg/kg) | Recovery (%) | LOD (mg/kg) | LOQ (mg/kg) |
|---|---|---|---|---|
| glyphosate | 1.03 | 81.00 | 0.05 | 0.17 |
| alachlor | 1.58 | 87.60 | 0.05 | 0.10 |
| atrazine | 0.10 | 93.63 | 0.001 | 0.01 |

LOD means limit of detection,
LOQ means limit of quantitation

7. การบันทึกข้อมูล

7.1 ข้อมูลภาคสนาม ได้แก่ อัตราการใช้สาร จำนวนครั้งในการพ่นสาร ข้อมูลการใช้สารไกลโฟเซต อะทราซีน และอะลาคลอร์จากการสัมภาษณ์เกษตรกร พิกัดจุดเก็บตัวอย่างดิน และคุณสมบัติทางเคมี-ฟิสิกส์ของดิน

7.2 ผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างในดิน หน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (mg/kg)

7.3 ผลกระทบของสารพิษจากการคำนวณ และการเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐาน

**ระยะเวลา** เริ่มต้น ตุลาคม 2563 สิ้นสุด กันยายน 2564

## สถานที่ทำการทดลอง

1. แปลงปลูกพืชในเขตภาคกลางพื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม ลพบุรี สระบุรี และสุพรรณบุรี
2. สกัดและตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

## ผลการทดลองและวิจารณ์

**1. สารตกค้างไกลโฟเซต อะทราซีน และอะลาคลอร์ในดิน**

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างดินในแปลงปลูกพืชในเขตภาคกลางพื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม ลพบุรี สระบุรี และสุพรรณบุรี รวม 34 แปลง จำนวนตัวอย่างดินรวมทั้งหมด 130 ตัวอย่าง ในช่วงฤดูแล้ง (กุมภาพันธ์ถึงมีนาคม 2564) พบอะทราซีน ปริมาณ <0.01 - 0.42 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 15 ตัวอย่าง และในช่วงฤดูฝน (มิถุนายนถึงกรกฎาคม 2564) พบอะทราซีน ปริมาณ <0.01 - 0.45 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 20 ตัวอย่าง และพบอะลาคลอร์ปริมาณ <0.01 - 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 2 ตัวอย่าง รวมจำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบสารพิษตกค้างคิดเป็น ร้อยละ 28 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด โดยตรวจพบอะทราซีนในช่วงฤดูฝนมีจำนวนตัวอย่างมากกว่าในฤดูแล้ง แต่ปริมาณที่ตรวจพบนั้นใกล้เคียงกัน ซึ่งสอดคล้องกับการใช้อะทราซีนกำจัดวัชพืชในช่วงต้นฤดูฝน เพื่อควบคุมวัชพืชก่อนงอก (pre-emergent) สำหรับเตรียมแปลงปลูกพืชไร่ ได้แก่ อ้อย ข้าวโพด เป็นต้น (PPDB, 2022a) ข้อมูลการตกค้างที่ยาวนานในสิ่งแวดล้อมของอะทราซีนที่มีค่าการสลายตัวของอะทราซีนในดิน $DT_{50}$ เท่ากับ 115 วัน (ผกาสินีและคณะ, 2555) ซึ่งหากมีการใช้อย่างต่อเนื่องจะทำให้มีตกค้างได้นานขึ้น อย่างไรก็ตาม ปริมาณที่ตรวจพบนี้ ต่ำกว่าค่ามาตรฐานคุณภาพดินของประเทศไทย ที่กำหนดค่ามาตรฐานของอะทราซีนในดินเพื่อที่อยู่อาศัยและเกษตรกรรมต้องไม่เกิน 22 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (คณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ, 2547) สำหรับสารกำจัดวัชพืชชนิดอะลาคลอร์ที่ตรวจพบการตกค้างในปริมาณต่ำนั้น ด้วยคุณสมบัติการละลายน้ำได้ปานกลาง 240 มิลลิกรัมต่อลิตร รวมทั้งค่า $DT_{50}$ ในดินที่มีขบวนการย่อยสลายของแบคทีเรียจะอยู่ในช่วงสั้น ๆ ที่ 6 - 15 วัน (Vencill, 2002) จึงทำให้พบปริมาณการตกค้างค่อนข้างต่ำ ซึ่งสอดคล้องกับการวิเคราะห์สารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้างในดินแปลง GAP ในพื้นที่จังหวัดขอนแก่น ที่พบการตกค้างของสารกำจัดวัชพืชชนิดอะลาคลอร์ในปริมาณต่ำที่ 0.01 - 0.06 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (จารุพงศ์และคณะ, 2562) ส่วนสารกำจัดวัชพืชชนิดไกลโฟเซตนั้น ไม่พบการตกค้างในตัวอย่างทั้ง 2 ฤดู ทั้งนี้ เนื่องจากการสลายตัวโดยจุลินทรีย์ดิน รวมทั้งปัจจัยทางด้านสภาพแวดล้อม (Van et al., 2018)

และคุณสมบัติการละลายน้ำได้ดีมากที่ 100 กรัมต่อลิตร รวมทั้งค่าการสลายตัว $DT_{50}$ ของไกลโฟเซตค่อนข้างสั้นที่ 6.45 วัน (field) (PPDB, 2022b) ประกอบกับคุณสมบัติของดินในพื้นที่ศึกษาเป็นกรดปานกลางถึงด่างปานกลาง pH ระหว่าง 6.0 - 8.3 (กรมพัฒนาที่ดิน, 2553) และเนื้อดินส่วนใหญ่เป็นดินเหนียว (ภาคผนวก; Table 2) มีความสามารถในการอุ้มน้ำได้ดี ทำให้น้ำละลายสารไกลโฟเซตจากชั้นดิน จึงทำให้ไม่พบการตกค้างของไกลโฟเซตและอนุพันธ์ดังกล่าว

**2. ผลกระทบของสารตกค้างไกลโฟเซต อะทราซีน และอะลาคลอร์ในดิน**

จากการประเมินผลกระทบต่อสุขภาพจากการรับสัมผัสที่มีการปนเปื้อนของสารพิษตกค้างที่ไม่ใช่สารก่อมะเร็ง โดยใช้ Hazard quotient (HQ) สำหรับเด็กอายุ 6 ปี และผู้ใหญ่อายุ 70 ปี และประเมินผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม โดยใช้ Risk quotient (RQ) จากปริมาณสารพิษที่ตรวจพบมีปริมาณค่อนข้างต่ำ <0.01 - 0.45 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อประเมินผลกระทบทั้งต่อสุขภาพ และสิ่งแวดล้อม พบว่าค่า HQ และ RQ ของอะทราซีนและอะลาคลอร์ที่พบตรวจนั้น มีค่า HQ ≤1 แสดงว่า เป็นความเสี่ยงระดับต่ำที่ยอมได้ (acceptable risk) (Table 2) โดยสอดคล้องกับการตรวจพบอะลาคลอร์ตกค้างในดินแปลงปลูกคะน้าในจังหวัดขอนแก่น และได้ทำการประเมินผลกระทบต่อสุขภาพของเกษตรกร พบว่าอยู่ในระดับต่ำเป็นความเสี่ยงที่ยอมรับได้ (HQ ≤1) (จารุพงศ์และคณะ, 2562)

**Table 2** Hazard quotient (HQ) and risk quotient (RQ) for detected pesticides

| Pesticides | Concentration (mg/kg) | | Hazard quotient (HQ) | | | | Risk quotient (RQ) | | Risk |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Dry season | Rainy season | Dry season | | Rainy season | | Dry season | Rainy season | |
| | (min - max) | (min - max) | Child | Adult | Child | Adult | | | |
| atrazine | <0.01-0.42 | <0.01-0.45 | $6.89 \times 10^{-5}$ | $2.15 \times 10^{-5}$ | $7.39 \times 10^{-5}$ | $2.31 \times 10^{-5}$ | 0.04 | 0.05 | acceptable risk |
| alachlor | ND | <0.01-0.02 | - | - | $1.15 \times 10^{-5}$ | $3.59 \times 10^{-6}$ | - | 0.01 | acceptable risk |

ND means not detected,

HQ ≤1 means no adverse health effects are expected as a result of exposure,

HQ >1 means adverse health effects are possible,

Average weight for 6-year-old child is 33.38 kilograms and 70-year-old adult is 55.77 kilograms (มกอช., 2559),

RQ <1 means no immediate concern, RQ = 1-10 means of concern if supply volumes increase, RQ = 10-100 means further data require, RQ >100 means reduce risk immediate

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

สารกำจัดวัชพืชไกลโฟเซต อะทราซีน และอะลาคลอร์ที่พบตกค้างในดินเขตภาคกลางพื้นที่จังหวัดนครปฐม สุพรรณบุรี กาญจนบุรี สระบุรี และลพบุรี ต่ำกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนดให้มีได้ในดิน ผลกระทบต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อมอยู่ในระดับความเสี่ยงต่ำที่ยอมรับได้ อย่างไรก็ตาม หากมีการใช้สารเกินอัตราที่แนะนำ การตกค้างและความเสี่ยงอาจจะมีผลกระทบต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อมได้ ฉะนั้น เพื่อให้สุขภาพและสิ่งแวดล้อมมีความปลอดภัยควรปฏิบัติตามคำแนะนำการใช้สารด้วยความถูกต้อง เหมาะสม รวมถึงจะต้องมีการเฝ้าระวัง และตรวจติดตามการใช้อย่างต่อเนื่องต่อไป

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. กรมวิชาการเกษตร ใช้กำหนดแนวทางสำหรับการบริหารจัดการเกี่ยวกับการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพื่อให้มีความปลอดภัย รวมทั้งกำหนดเป็นมาตรการในการลดผลกระทบจากการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

2. เกษตรกรที่มีส่วนร่วม เกิดการตระหนักรู้ มีจิตสำนึก และมีความระมัดระวังในการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช เพื่อให้มีความปลอดภัยต่อสุขภาพ และสิ่งแวดล้อม ตลอดจนประชาชนผู้บริโภคได้บริโภคอาหารที่ปลอดภัย

3. ประชาชนทั่วไป สถานศึกษา องค์กรเอกชน และหน่วยงานราชการอื่นที่เกี่ยวข้อง ได้รับรู้ข้อมูลด้านวิชาการเกี่ยวกับผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่มีต่อสุขภาพ และสิ่งแวดล้อม เป็นการเผยแพร่ข้อมูลในวงกว้าง ทำให้เกิดความร่วมมือในระหว่างภาคส่วนต่าง ๆ ในการช่วยลดผลกระทบที่เกิดขึ้น

# เอกสารอ้างอิง


กรมพัฒนาที่ดิน. 2553. คู่มือการปฏิบัติงานกระบวนการวิเคราะห์ตรวจสอบดินทางเคมี. 12 หน้า. [ระบบออนไลน์] สืบค้นจาก: https://www.ldd.go.th/PMQA/2553/Manual/OSD-03.pdf. (10 ก.พ. 2565).

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร. 2564. ***คู่มือการใช้บริการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในพืช ดิน น้ำ คุณภาพผลิตภัณฑ์วัตถุมีพิษการเกษตร และสารสกัดธรรมชาติ.*** 17 หน้า.

คณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ. 2547. ประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ 25 พ.ศ. 2547. เรื่อง กำหนดมาตรฐานคุณภาพดิน. ***ในราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 121*** ตอนพิเศษ 119 ง (ลงวันที่ 9 กันยายน 2547)

จารุพงศ์ ประสพสุข สุวิทย์ เลาหศิริวงศ์ อรุณี พรมคำบุตร และชุลีมาศ บุญไทย อิวาย. 2562. การประเมินความเสี่ยงสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้างในดินต่อสุขภาพของเกษตรกรผู้ปลูกคะน้าในจังหวัดขอนแก่น. ***วารสารวิชาการเกษตร ปีที่ 37*** ฉบับที่ 3 กันยายน-ธันวาคม 2562

ประกิจ จันทร์ติ๊บ ผกาสินี คล้ายมาลา และวรวิทย์ สุจิรธรรม. 2556. ศึกษาการสลายตัว และสะสมสารกำจัดวัชพืชกลุ่ม Triazine ในดิน น้ำ และตะกอนในแหล่งปลูกพืชสวน และพืชไร่; ชนิด atrazine ในไร่สับปะรด. ***เอกสารผลการปฏิบัติงาน ประจำปีงบประมาณ 2555***. สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. 201-211 หน้า.

ผกาสินี คล้ายมาลา ประกิจ จันทร์ติ๊บ และวรวิทย์ สุจิรธรรม. 2555. ศึกษาการสลายตัว และสะสมสารกำจัดวัชพืชกลุ่ม Triazine ในดิน น้ำ และตะกอนในแหล่งปลูกพืชสวน และพืชไร่; ชนิด atrazine ในไร่อ้อย. ***เอกสารผลการปฏิบัติงาน ประจำปีงบประมาณ 2554***. สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. 115-126 หน้า.

มกอช. 2559. ข้อมูลการบริโภคอาหารของประเทศไทย (FOOD CONSUMPTION DATA OF THAILAND). สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. [ระบบออนไลน์]. สืบค้นจาก: https://www.acfs.go.th/files/files/attach-files/867_20190606145951_625162.pdf (10 ก.ย. 2563).

สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2563. รายงานสรุปวัตถุอันตรายที่มีการนำเข้าสูงสุด 10 อันดับ ปี 2563. กรมวิชาการเกษตร. [ระบบออนไลน์] สืบค้นจาก: https://www.doa.go.th/ard/?page_id=386 (5 ม.ค. 2564).

AOAC. 2016. Organophosphorus Pesticide. General Multiresidue Method. Association of Official Analytical Chemists Method 970.52

Back, C. K. 1965. Method of soil analysis: part I physical and mineralogical properties. American Society of Agronomy. Madison. Wisconsin. USA. 4 p.

Bento, C.P.M., X. Yang and G. Gort. 2016. Persistence of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in loess soil under different combinations of temperature, soil moisture and light/darkness. ***Science of the Total Environment*** 572: 301-311.

Catherine, C. L., G. Andreotti, S. Koutros, W.J. Lee, J.N. Hofmann, D.P. Sandler, C.G. Parks, A. Blair, J. H. Lubin and L.E. Beane Freeman. 2018. Alachlor Use and Cancer Incidence in the Agricultural Health Study: An Updated Analysis. ***National Cancer Institute*** 110(9): 950-958.

Chruscielska, K.G.B., J. Brzezinski, K. Kita, B. Graffstein and P. A. Korzeniowski. 2000. Glyphosate: evaluation of chronic activity and possible far-reaching effects-Part 1. Studies on chronic toxicity. ***Pestycydy*** (3-4): 11-20.

ECB. 2003. Technical Guidance Document on Risk Assessment. Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for new notified substances. [Online]. European Chemicals Bureau. Available from: https://echa.europa.eu/documents/10162/987906/tgdpart2_2ed_en.pdf/138b7b71-a069-428e-9036-62f4300b752f (October 10, 2021)

ECHA. 2008. Guidance on information requirements and chemical safety assessment, chapter R.10: characterization of dose [concentration]-response for environment. [Online]. European Chemicals Agency. Available from: https://echa.europa.eu/documents/10162/13632/ information_ requirements_ r10_en.pdf/bb902be7-a503-4ab7-9036-d866b8ddce69 (October 10, 2021)

Giesy, J., S. Dobson and K. Solomon. 2000. Ecotoxicological risk assessment for Roundup herbicide. ***Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*** 167: 35-120.

Henderson, A. M., J. A. Gervais, B. Luukinen, K. Buhl, D. Stone, A. Cross and J. Jenkins. 2010. Glyphosate General Fact Sheet; National Pesticide Information Center, Oregon State University Extension Services. [Online]. Available from: http://npic.orst.edu/factsheets/glyphogen.html (April 10, 2021)

Laitinen, P., S. Rämö and K. Siimes. 2007. Glyphosate translocation from plants to soil-does this constitute a significant proportion of residues in soil? Plant Soil 300: 51- 60. [Online]. Available from: https://doi.org/10.1007/s11104-007-9387-1 (April 10, 2021)

Lewis, K.A., J. Tzilivakis, D.J. Warner and A. Green. 2016. An international database for pesticide risk assessments and management. ***Human and Ecological Risk Assessment*** 22: 1050-1064.

Portier, C.J.A. 2020. Comprehensive analysis of the animal carcinogenicity data for glyphosate from chronic exposure rodent carcinogenicity studies. ***Environ Health*** 19:18. 1-17.

PPDB. 2022a. Pesticide Properties DataBase; Atrazine. [Online]. Available from: http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ ppdb/en/Reports/43.htm (February 20, 2022)

PPDB. 2022b. Pesticide Properties DataBase; Glyphosate. [Online]. Available from: http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ ppdb/en/Reports/373.htm#1 (February 20, 2022)

SANTE/12682. 2019. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed. [Online]. Available from: https://ec.europa.eu/ food/system/ files/2020-1/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2019-12682.pdf (April 3, 2021)

Song, Y., Z. C. JIA, J.Y. CHEN, J. X. HU and L. S. Zhang. 2014. Toxic Effects of Atrazine on Reproductive System of Male Rats. ***Biomedical and Environmental Sciences*** 27(4): 281-288.

Sun, L., D. Konga, W. Gud, X. Guoa, W. Taoa, Z. Shana, Y. Wangc and N. Wang. 2017. Determination of glyphosate in soil/sludge by high performance liquid chromatography. ***Chromatography A*** 1502: 8-13.

Turner, J. A. 2018. ***A World Compendium; The Pesticide Manual. 18th edition.*** British Crop Production Council; BCPC: UK. 1385 p.

US. EPA. 1998. Alachlor Fact sheet. [Online]. Available from: https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/ reg_actions/reregistration/ fs_PC-090501_1-Dec-98.pdf (March 1, 2021)

US. EPA. 2011. Exposure Factors Handbook: 2011 Edition. National Center for Environmental Assessment, Washington, DC; EPA/600/R-09/052F. [Online]. Available from: https://www.epa.gov/sites/ production/ files/2015-09/documents/efh-frontmatter.pdf (March 20, 2021)

Van, A.H.C., M.M. He, K. Shin, V. Mai, K.C. Jeong, M.R. Finckh and J.G. Morris. 2018. Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. ***Sci. Total Environ.*** 616-617: 255-268.

Vencill, W.K. 2002. ***WSSA herbicide handbook (8th edition).*** Weed Science Society of America. Lawrence, KS, USA.

## ภาคผนวก

**Table 1** Locations of the samples collected in the Central region of Thailand

| Site | Description of sampling sites | Location by GPS | |
|---|---|---|---|
| | | UTM X | UTM Y |
| 1 | Khao Din Subdistrict, Doem Bang Nang Buat District, Suphan Buri Province | 14.780394 | 100.200547 |
| 2 | Khao Din Subdistrict, Doem Bang Nang Buat District, Suphan Buri Province | 14.780283 | 100.201222 |
| 3 | Khao Din Subdistrict, Doem Bang Nang Buat District, Suphan Buri Province | 14.778587 | 100.195748 |
| 4 | Khao Din Subdistrict, Doem Bang Nang Buat District, Suphan Buri Province | 14.787972 | 100.196697 |
| 5 | Chorakhe Samphan Subdistrict, U Thong District, Suphan Buri Province | 14.302300 | 99.859616 |
| 6 | Chorakhe Samphan Subdistrict, U Thong District, Suphan Buri Province | 14.290789 | 99.853827 |
| 7 | Chorakhe Samphan Subdistrict, U Thong District, Suphan Buri Province | 14.307936 | 99.850833 |
| 8 | Ban Yang Subdistrict, Mueang District, Nakhon Pathom Province | 13.854114 | 99.930264 |
| 9 | Ban Yang Subdistrict, Mueang District, Nakhon Pathom Province | 13.856781 | 99.931736 |
| 10 | Thung Luk Nok Subdistrict, Kamphaeng Saen District, Nakhon Pathom Province | 14.016889 | 99.906042 |
| 11 | Huai Mon Thong Subdistrict, Kamphaeng Saen District, Nakhon Pathom Province | 13.988156 | 99.943144 |
| 12 | Huai Mon Thong Subdistrict, Kamphaeng Saen District, Nakhon Pathom Province | 13.986358 | 99.944553 |
| 13 | Tha Mai Subdistrict, Tha Maka District, Kanchanaburi Province | 13.891900 | 99.813522 |
| 14 | Tha Mai Subdistrict, Tha Maka District, Kanchanaburi Province | 13.892047 | 99.813906 |
| 15 | Dan Makham Tia Subdistrict Dan Makham Tia District, Kanchanaburi Province | 13.836777 | 99.392905 |
| 16 | Dan Makham Tia Subdistrict Dan Makham Tia District, Kanchanaburi Province | 13.841689 | 99.398687 |
| 17 | Wang Dong Subdistrict, Mueang Kanchanaburi District, Kanchanaburi Province | 14.226396 | 99.329406 |
| 18 | Wang Dong Subdistrict, Mueang Kanchanaburi District, Kanchanaburi Province | 14.229878 | 99.317606 |
| 19 | Wang Dong Subdistrict, Mueang Kanchanaburi District, Kanchanaburi Province | 14.230444 | 99.318125 |
| 20 | Khao Wong Subdistrict, Phra Phutthabat District, Saraburi Province | 14.661408 | 100.834603 |
| 21 | Khao Wong Subdistrict, Phra Phutthabat District, Saraburi Province | 14.661131 | 100.834719 |
| 22 | Khao Wong Subdistrict, Phra Phutthabat District, Saraburi Province | 14.660758 | 100.835658 |
| 23 | Khao Wong Subdistrict, Phra Phutthabat District, Saraburi Province | 14.661808 | 100.835292 |
| 24 | Chon Saradet Subdistrict, Nong Muang District, Lopburi Province | 15.183919 | 100.669925 |
| 25 | Chon Saradet Subdistrict, Nong Muang District, Lopburi Province | 15.192000 | 100.656603 |
| 26 | Chon Saradet Subdistrict, Nong Muang District, Lopburi Province | 15.189781 | 100.657386 |
| 28 | Chon Saradet Subdistrict, Nong Muang District, Lopburi Province | 15.188811 | 100.721950 |
| 29 | Chon Saradet Subdistrict, Nong Muang District, Lopburi Province | 15.188664 | 100.722558 |
| 30 | Chon Saradet Subdistrict, Nong Muang District, Lopburi Province | 15.190439 | 100.729756 |
| 31 | Hin Son Subdistrict, Kengkoi District, Saraburi Province | 14.744119 | 101.039186 |
| 32 | Hin Son Subdistrict, Kengkoi District, Saraburi Province | 14.760022 | 101.038906 |
| 33 | Hin Son Subdistrict, Kengkoi District, Saraburi Province | 14.773011 | 101.001133 |
| 34 | Hin Son Subdistrict, Kengkoi District, Saraburi Province | 14.772553 | 101.000036 |

**Table 2** Physical and chemical properties of the soil samples

| Site | pH | EC (dS/m) | OM (%) | Avail P (mg/kg) | Avail K (mg/kg) | Sand (%) | Silt (%) | Clay (%) | Soil Texture |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 7.2 | 0.148 | 2.18 | 17 | 150 | 5.8 | 25.8 | 68.4 | clay |
| 2 | 6.6 | 0.195 | 3.22 | 49 | 127 | 11.6 | 26.3 | 62.1 | clay |
| 3 | 7.1 | 0.177 | 2.48 | 107 | 79 | 25.6 | 36.6 | 37.8 | clay loam |
| 4 | 8.0 | 0.125 | 2.08 | 82 | 239 | 21.6 | 38.6 | 39.8 | clay loam |
| 5 | 6.7 | 0.616 | 1.69 | 49 | 69 | 38.2 | 35.3 | 26.5 | loam |
| 6 | 6.2 | 0.081 | 1.42 | 7 | 60 | 31.6 | 42.8 | 25.6 | loam |
| 7 | 6.3 | 0.111 | 1.77 | 71 | 107 | 29.6 | 40.8 | 29.6 | clay loam |
| 8 | 6.9 | 0.099 | 1.50 | 98 | 107 | 40.8 | 34.9 | 24.3 | loam |
| 9 | 8.0 | 0.236 | 1.29 | 107 | 91 | 25.9 | 34.1 | 40.0 | clay |
| 10 | 7.6 | 0.172 | 1.27 | 290 | 168 | 28.0 | 44.0 | 28.0 | clay loam |
| 11 | 8.0 | 0.225 | 1.22 | 51 | 97 | 33.0 | 33.6 | 33.4 | clay loam |
| 12 | 8.0 | 0.225 | 1.22 | 51 | 97 | 33.0 | 33.6 | 33.4 | clay loam |
| 13 | 7.3 | 0.185 | 1.32 | 617 | 247 | 44.9 | 36.4 | 18.7 | loam |
| 14 | 6.7 | 0.145 | 1.44 | 26 | 92 | 40.6 | 39.0 | 20.4 | loam |
| 15 | 6.0 | 0.119 | 1.73 | 43 | 118 | 21.5 | 46.3 | 32.2 | clay loam |
| 16 | 6.2 | 0.052 | 1.15 | 191 | 77 | 51.6 | 30.1 | 18.3 | loam |
| 17 | 7.5 | 0.115 | 2.38 | 34 | 141 | 58.2 | 20.9 | 20.9 | silty clay loam |
| 18 | 6.5 | 0.037 | 1.86 | 9 | 188 | 46.0 | 27.0 | 27.0 | silty clay loam |
| 19 | 6.5 | 0.037 | 1.86 | 9 | 188 | 46.0 | 27.0 | 27.0 | silty clay loam |
| 20 | 7.7 | 0.196 | 3.23 | 565 | 322 | 21.0 | 39.5 | 39.5 | clay loam |
| 21 | 7.9 | 0.256 | 3.20 | 358 | 414 | 15.8 | 42.1 | 42.1 | silty clay |
| 22 | 8.2 | 0.145 | 2.46 | 274 | 264 | 23.0 | 38.5 | 38.5 | clay loam |
| 23 | 7.9 | 0.262 | 2.53 | 304 | 372 | 30.7 | 42.9 | 26.4 | loam |
| 24 | 8.1 | 0.120 | 2.56 | 33 | 97 | 30.5 | 42.8 | 26.7 | loam |
| 25 | 7.9 | 0.162 | 2.97 | 45 | 287 | 23.9 | 32.1 | 44.0 | clay |
| 26 | 7.8 | 0.157 | 2.82 | 30 | 179 | 19.9 | 16.9 | 63.2 | clay |
| 27 | 8.1 | 0.116 | 3.03 | 21 | 108 | 23.3 | 34.0 | 42.7 | clay |
| 28 | 7.5 | 0.711 | 2.10 | 54 | 304 | 20.0 | 27.2 | 52.8 | clay |
| 29 | 7.7 | 0.198 | 1.97 | 31 | 179 | 15.4 | 13.4 | 71.2 | clay |
| 30 | 8.0 | 0.134 | 2.97 | 17 | 340 | 18.0 | 28.3 | 53.7 | clay |
| 31 | 8.3 | 0.100 | 3.11 | 25 | 158 | 18.4 | 23.7 | 57.9 | clay |
| 32 | 7.7 | 0.166 | 2.66 | 51 | 200 | 22.8 | 16.2 | 61.0 | clay |
| 33 | 7.1 | 0.094 | 2.02 | 26 | 283 | 16.4 | 24.2 | 59.4 | clay |
| 34 | 7.0 | 0.119 | 1.58 | 52 | 222 | 35.1 | 25.7 | 39.2 | clay loam |



**Figure 1** Interview farmers and soil sample collection from field study



**Figure 2** Soil sample analysis

# การประเมินผลกระทบของสารตกค้างในแม่น้ำเจ้าพระยาและท่าจีน
# Impact Assessment of Pesticide Residues in Chao Phraya and Tha Chin River

*จันทิมา ผลกอง* *มลิสา เวชยานนท์* *อำนาจ กะฐินเทศ* *ประกิจ จันทร์ติ๊บ*
*Jantima Phonkong* *Malisa Wetchayanon* *Amnaj Katintet* *Prakit Chuntib*

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

## ABSTRACT

Environmental pesticide contamination is a major problem arising from the utilization of agricultural toxins in agricultural fields, causing the accumulation and spread of toxic residues especially around the water source used for consumption. This research examined the contamination of pesticide residues in the Chao Phraya River and the Tha Chin River, as well as the canal intersection. The purpose of the research is to assess impacts as well as to assess risks to humans and the environment. A total of 144 samples were randomly collected during dry and rainy season, analyzed by gas chromatography and liquid chromatography. Pesticide residues were found in the water samples of the Chao Phraya River as herbicide atrazine. The highest amounts detected during the dry season and the rainy season were 0.22 and 0.60 µg/L, respectively. In the Tha Chin River, pesticide residues were found in water samples as herbicide atrazine and ametryn. The highest concentrations of atrazine detected during the dry season and the rainy season were 0.28 and 0.33 µg/L, respectively. The maximum amount of ametryn detected during the rainy season was 0.43 µg/L. The contamination content of atrazine and ametryn did not exceed the established standard value. The results of the environment impact assessment were given a Hazard Quotient (HQ) and Risk Quotient (RQ) of less than 1 was an acceptable risk.

**Keywords**: Pesticide residues, Water, Sediment, Risk assessment, Environmental contamination

## บทคัดย่อ

การปนเปื้อนของสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อมถือเป็นปัญหาสำคัญที่เกิดจากการใช้ประโยชน์สารพิษทางการเกษตรในแหล่งเกษตรกรรม ทำให้เกิดการสะสมและแพร่กระจายของสารพิษตกค้าง โดยเฉพาะบริเวณแหล่งน้ำที่ใช้ในการอุปโภคบริโภค งานวิจัยนี้ได้ตรวจติดตามการปนเปื้อนของสารพิษตกค้างในบริเวณแม่น้ำเจ้าพระยาและแม่น้ำท่าจีน รวมทั้งบริเวณคลองแยก เพื่อประเมินผลกระทบ รวมทั้งความเสี่ยงต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม สุ่มเก็บตัวอย่างในช่วงฤดูแล้งและฝน รวมทั้งหมด 144 ตัวอย่าง ตรวจวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟีและลิควิดโครมาโทกราฟี พบสารพิษตกค้างในตัวอย่างน้ำบริเวณแม่น้ำเจ้าพระยา เป็นสารกำจัดวัชพืช atrazine โดยค่าสูงสุดที่ตรวจพบในช่วงฤดูแล้งและฤดูฝน เท่ากับ 0.22 และ 0.60 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนในแม่น้ำท่าจีน พบสารพิษตกค้างในตัวอย่างน้ำ เป็นสารกำจัดวัชพืช atrazine และ ametryn โดยค่าสูงสุดของ atrazine ที่ตรวจพบในช่วงฤดูแล้งและฤดูฝน เท่ากับ 0.28 และ 0.33 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ค่าสูงสุดของ ametryn ที่ตรวจพบในช่วงฤดูฝน เท่ากับ 0.43 ไมโครกรัมต่อลิตร ซึ่งปริมาณการปนเปื้อน atrazine และ ametryn ไม่เกินค่ามาตรฐานที่กำหนด ผลของการประเมินผลกระทบในสิ่งแวดล้อมได้ค่า Hazard Quotient (HQ) และ Risk Quotient (RQ) น้อยกว่า 1 เป็นความเสี่ยงที่ยอมรับได้

**คำหลัก :** สารพิษตกค้าง น้ำ ตะกอน การประเมินความเสี่ยง การปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม

## คำนำ

ปัจจุบันการปนเปื้อนของสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อมเป็นปัญหาที่เกิดขึ้นมานานและหลายประเทศทั่วโลกต่างให้ความสนใจ ในต่างประเทศมีงานวิจัยที่ตรวจพบสารตกค้างในสิ่งแวดล้อมโดยเฉพาะในแหล่งน้ำที่ใช้อุปโภคบริโภค ในช่วงปี 1999 - 2015 ประเทศฮังการีมีงานวิจัยที่รวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับการเฝ้าระวังสารพิษตกค้างในน้ำผิวดินและน้ำใต้ดินจากการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างมากกว่า 2,000 ตัวอย่าง โดยส่วนใหญ่ตรวจพบสารพิษตกค้างเป็นสารกำจัดวัชพืช เช่น acetochlor atrazine 2,4-D metolachlor เป็นต้น (Székács *et al*., 2015) นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยในประเทศแทนซาเนีย เมื่อปี 2011 มีการตรวจพบสารพิษตกค้างกลุ่ม Organochlorine ในตัวอย่างน้ำและตะกอน จากแม่น้ำ 4 สายที่ไหลผ่านแหล่งปลูกอ้อย (Harieth, 2011) ส่วนในประเทศไทยซึ่งถือว่าเป็นประเทศเกษตรกรรมมีการปลูกพืชเศรษฐกิจมากมาย ดังนั้นเพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพและปริมาณที่เพียงพอต่อการบริโภคและการส่งออก เกษตรกรส่วนใหญ่จึงจำเป็นต้องใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชปริมาณมากในการควบคุมศัตรูพืช พิจารณาได้จากสถิติการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตรในปี พ.ศ. 2560 - 2562 มีการนำเข้ามากกว่า 10,000 ตันต่อปี (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2560 - 2562) ส่งผลทำให้เกิดการสะสมและแพร่กระจายของสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อม จากงานวิจัยในปี พ.ศ. 2552 - 2555 การศึกษาการแพร่กระจายของสารพิษทางการเกษตรจากแหล่งเกษตรกรรมสู่แม่น้ำสายหลักของประเทศ ได้แก่ แม่น้ำเจ้าพระยา แม่น้ำป่าสัก แม่น้ำท่าจีน และแม่น้ำบางปะกง สุ่มเก็บตัวอย่างน้ำและตะกอน รวมทั้งพืชและสัตว์น้ำรวมทั้งหมด 890 ตัวอย่าง ตรวจพบสารพิษตกค้าง 370 ตัวอย่าง สารพิษตกค้างที่ตรวจพบเป็นสารกำจัดแมลงกลุ่ม Organochlorine กลุ่ม Organophosphorus กลุ่ม Pyrethroid กลุ่ม Carbamate สารกำจัดวัชพืชกลุ่ม Triazine กลุ่ม Chlorophenoxy compound และสารกำจัดโรคพืชกลุ่ม Phenylamide akylalanine (มลิสา และคณะ, 2555) ในปี 1998 มีงานวิจัยการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่ม Organochlorine ในตัวอย่างปลาจากแม่น้ำเจ้าพระยา โดยตรวจพบสารพิษ DDT & metabolites (Chinda, 1998) ในปี 2003 - 2005 มีงานวิจัยการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่ม Organochlorine ในแม่น้ำแม่กลอง ตรวจพบสารพิษ heptachlor epoxide สูงสุดในช่วงฤดูแล้ง (Poolpak *et al*., 2008) และมีงานวิจัยการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่ม Organochlorines ในภาคใต้ โดยสุ่มตัวอย่างจากแม่น้ำสายบุรี ปัตตานี และเทพา ในช่วงกรกฎาคม 2549 ถึงกุมภาพันธ์ 2550 พบว่าตัวอย่างจากแม่น้ำสายบุรี ตรวจพบการตกค้างสูงสุดและพบสารพิษ *p,p'*-DDE มากที่สุด (Samoh and Ibrahim, 2009)

จากข้อมูลงานวิจัยข้างต้นแสดงให้เห็นว่า มีการสะสมและแพร่กระจายของสารพิษตกค้างจากแหล่งเกษตรกรรมสู่สิ่งแวดล้อม มีการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม ส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศ ทำลายห่วงโซ่อาหาร และส่งผลกระทบต่อมนุษย์ผู้บริโภค ประเทศไทยเป็นรัฐภาคีใน 50 ประเทศ ของอนุสัญญาสตอกโฮล์มว่าด้วยสารมลพิษที่ตกค้างยาวนาน (Stockholm convention on Persistent Organic Pollutants, POPs) ได้ให้สัตยาบันโดยมีจุดมุ่งหมายในเรื่องการเฝ้าติดตามสถานการณ์การปนเปื้อนของสาร POPs เพื่อคุ้มครองสุขภาพอนามัยของมนุษย์และสิ่งแวดล้อม กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ได้ตระหนักถึงปัญหาและผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นจากสารพิษตกค้างทางการเกษตร รวมทั้งปฏิบัติตามข้อตกลงของอนุสัญญาระหว่างประเทศ จึงได้ศึกษางานวิจัยนี้เพื่อตรวจติดตามการปนเปื้อนของสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อม ประเมินผลกระทบจากการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตรในพื้นที่บริเวณลุ่มแม่น้ำเจ้าพระยาและท่าจีน รวมทั้งประเมินความเสี่ยงต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม

# วิธีดำเนินการ

## อุปกรณ์

1. เครื่องแก้ว ได้แก่ separatory funnel, beaker, cylinder, Erlenmeyer flask, Petri dish, round bottom flask, pipette, volumetric flask เป็นต้น

2. วัสดุวิทยาศาสตร์ ได้แก่ filter paper No.1, filter paper No.42, Solid-Phase Extraction (SPE) cartridge ชนิด $C_{18}$, florisil, Si-OH และ Envi-Carb$^{TM}$

3. เคมีภัณฑ์ชนิดต่างๆ

3.1 สารเคมี analytical grade, pesticide grade และ HPLC grade ได้แก่ acetone, ammonium chloride, anhydrous sodium sulfate, dichloromethane, ethyl ether, hexane, iso-octane, methanol, sodium hydroxide, sodium hydrogen carbonate, sulfuric acid, sodium chloride, primary secondary amine (PSA), magnesium sulfate, cation exchange resin (DOWEX 50W resin), ethyl acetate, ammonium formate, formic acid, phosphoric acid, hydrochloric acid, methanol, acetonitrile และ water

3.2 สารพิษมาตรฐาน pesticide grade ความบริสุทธิ์ไม่น้อยกว่า 95% ได้แก่ กลุ่ม Organochlorine 16 ชนิด ประกอบด้วย aldrin, alpha-BHC, alpha-endosulfan, beta-endosulfan, dieldrin, endosulfan sulfate, endrin, gamma-BHC, heptachlor, heptachlor epoxide, *o,p'*-DDE, *o,p'*-DDT, *o,p'*-TDE, *p,p'*-DDE, *p,p'*-DDT และ *p,p'*-TDE กลุ่ม Organophosphorus 22 ชนิด ประกอบด้วย azinphos ethyl, chlorpyrifos, chlorpyrifos ethyl, diazinon, dicrotophos, dimethoate, EPN, ethion, ethoprophos, fenthion, fenitrothion, malathion, methidathion, monocrotophos, parathion methyl, pirimiphos methyl, profenophos, triazophos, methamidophos, omethoate และ phosalone กลุ่ม Pyrethroid 7 ชนิด ประกอบด้วย bifenthrin, cyfluthrin, cypermethrin, lambda-cyhalothrin, deltamethrin, fenvalerate และ permethrin กลุ่ม Carbamate 6 ชนิด ประกอบด้วย carbaryl, carbofuran, isoprocarb, promecarb, metocarb และ methomyl กลุ่ม Triazine 3 ชนิด ประกอบด้วย ametryn, metribuzine และ atrazine กลุ่ม Phenoxy compound ชนิด 2,4-D กลุ่ม Bipyridirium ชนิด paraquat กลุ่ม Phenylamide akylalanine ชนิด metalaxyl กลุ่ม Triazole 4 ชนิด ประกอบด้วย difenoconazole, tetraconazole, hexaconazole และ propiconazole กลุ่ม Chloroacetamide 3 ชนิด ประกอบด้วย alachlor, acetochlor และ s-metolachlor สารกำจัดวัชพืชชนิด oxyfluorfen, oxadiazon และ pendimethalin

4. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ ได้แก่ เครื่องชั่งละเอียด เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง เครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้า เครื่องวัดค่าการแขวนลอยในน้ำ ตู้อบ เตาเผา เครื่องสกัดชนิด Separatory funnel shaker เครื่อง Shaker เครื่อง Homogenizer เครื่อง Rotary evaporator เครื่อง Nitrogen evaporator เครื่อง Centrifuge เครื่อง Gas Chromatograph ยี่ห้อ Agilent Technology รุ่น HP6890 หัวตรวจวัดชนิด Flame Photometric Detector (FPD) และ Electron Capture Detector (ECD) รุ่น 7890 หัวตรวจวัดชนิด Nitrogen Phosphorus Detector (NPD) เครื่อง Gas Chromatograph-Mass Spectrometry ยี่ห้อ Agilent Technology รุ่น 5973 และเครื่อง Ultra-High Performance Liquid Chromatograph ยี่ห้อ Agilent Technology รุ่น 1290 หัวตรวจวัดชนิด Diode Array Detector (DAD)

5. วัสดุอุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่าง ได้แก่ อุปกรณ์เก็บตัวอย่างน้ำ Grab sampling แบบ Vertical type water sampler อุปกรณ์เก็บตัวอย่างตะกอน แบบ Ekman grap แครงทำด้วย stainless steel ขวดพลาสติกชนิด polypropylene พร้อมฝาปิด ช้อนทำด้วย stainless steel ขวดแก้วพร้อมฝาปิด ถุงพลาสติก ถังแช่บรรจุน้ำแข็งพร้อมฝาปิดสำหรับเก็บรักษาสภาพตัวอย่างในระหว่างขนส่ง

## วิธีการ

1. สำรวจพื้นที่และสัมภาษณ์เกษตรกร บริเวณพื้นที่ลุ่มน้ำเจ้าพระยาและท่าจีน จังหวัดนครสวรรค์ อุทัยธานี ชัยนาท สุพรรณบุรี สิงห์บุรี อ่างทอง อยุธยา นครปฐม และปทุมธานี พร้อมทั้งกำหนดจุดเก็บตัวอย่างบริเวณคลองแยกและแม่น้ำหลัก ใกล้บริเวณพื้นที่แหล่งเกษตรกรรม ที่มีโอกาสสูงที่จะเกิดปนเปื้อนของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ใช้ระบบกำหนดตำแหน่งพื้นโลกด้วยดาวเทียม (Global Positioning System, GPS)

2. การสุ่มเก็บและเตรียมตัวอย่าง

2.1 ตัวอย่างน้ำ เก็บให้เต็มขวด ปริมาตรตัวอย่างละ 4 ลิตร

2.2 ตัวอย่างตะกอน เก็บตัวอย่างให้ได้น้ำหนักประมาณ 500 กรัม ก่อนสกัดนำไปผึ่งในถาดสแตนเลสที่อุณหภูมิห้อง ให้มีความชื้นประมาณ 10-20 เปอร์เซนต์ ทุบให้ละเอียด นำไปสกัดและหาเปอร์เซนต์ความชื้นในเวลาเดียวกัน

2.3 ตัวอย่างสัตว์น้ำ (ปลา) เก็บในถุงพลาสติก เลือกเฉพาะส่วนเนื้อ นำไปบดให้ละเอียด

2.4 ตัวอย่างพืช (ผักบุ้ง ผักกระเฉด) เก็บตัวอย่างให้ได้น้ำหนักมากพอสำหรับสกัด นำไปบดให้ละเอียด

3. การเตรียมสารละลายของสารมาตรฐาน เตรียม stock standard solution ให้มีความเข้มข้นประมาณ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียม intermediate standard solution ให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วงประมาณ 20-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเตรียม working standard solution

4. การสกัดตัวอย่าง

4.1 ตัวอย่างน้ำ

4.1.1 กลุ่ม Organochlorine กลุ่ม Pyrethroid กลุ่ม Triazole กลุ่ม Chloroacetamide pendimethalin oxyfluorfen และ oxadiazon ตวงตัวอย่างน้ำปริมาตร 800 มิลลิลิตร สกัดด้วย hexane (AR) ปริมาตร 100, 50 และ 50 มิลลิลิตร กรองผ่าน anh. sodium sulfate ใส่ round bottom flask นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรเป็น 1 มิลลิลิตร ด้วย hexane (PR) นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-ECD (TM-T04-I01) (กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร, 2564ก)

4.1.2 กลุ่ม Organophophorus กลุ่ม Carbamate กลุ่ม Triazine และกลุ่ม Phenylamide akylalanine ตวงตัวอย่างน้ำปริมาตร 800 มิลลิลิตร สกัดด้วย ethyl acetate (AR) ปริมาตร 100, 50 และ 50 มิลลิลิตร กรองผ่าน anh. sodium sulfate ใส่ round bottom flask นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรเป็น 1 มิลลิลิตร ด้วย ethyl acetate (PR) นำไปตรวจวิเคราะห์หาสารพิษกลุ่ม Organophophorus ด้วยเครื่อง GC-FPD และหาสารพิษกลุ่ม Carbamate กลุ่ม Triazine และกลุ่ม Phenylamide akylalanine ด้วยเครื่อง GC-NPD (TM-T04-I03) (กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร, 2564ค)

4.1.3 กลุ่ม Chlorophenoxy compound ชนิด 2,4-D ตวงตัวอย่างน้ำปริมาตร 800 มิลลิลิตร สกัดด้วย methanol: ethyl ether (2:8) ปริมาตร 100, 50 และ 50 มิลลิลิตร กรองผ่าน anh. sodium sulfate ใส่ round bottom flask เติม 10 M NaOH ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปต้มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นำไปสกัดต่อด้วย dichloromethane ปริมาตร 25, 25 และ 25 มิลลิลิตร กรองผ่าน anh. sodium sulfate ใส่ round bottom flask นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้ง เติม methanol: conc. $H_2SO_4$ (9:1) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เติม hexane (PR) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เติม 0.5 M $NaHCO_3$ ปริมาตร 15 มิลลิลิตร เขย่าตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น ทิ้งชั้นล่าง ชั้นบนกรองผ่าน anh. sodium sulfate นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-ECD (Rice *et al*., 2017)

4.1.4 กลุ่ม Bipyridirium ชนิด paraquat ตวงตัวอย่างน้ำปริมาตร 500 มิลลิลิตร นำไป clean up ด้วย SPE cartridge ชนิด Si-OH (ผ่านการเตรียม โดยชะ methanol (HPLC) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และ water (HPLC) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ตามลำดับ) ชะสารด้วย acetonitrile: 250 mM ammonium formate: phosphoric acid (30: 70: 1.25) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UHPLC-DAD (Robinson, 2006)

4.2 ตัวอย่างตะกอน

4.2.1 การหาความชื้นในตัวอย่างตะกอน (Back, 1965) เพื่อหาน้ำหนักตะกอนแห้งสุทธิ โดยชั่งตัวอย่างดิน 50 กรัม บันทึกน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ และหลังอบ 24 ชั่วโมง นำไปคำนวณความชื้นและน้ำหนักตะกอนแห้ง

<u>สูตรคำนวณ</u> $\%\text{ความชื้น} = \frac{(W_1+W_2)-W_3}{(W_3+W_1)} \times 100$

$W_1$ = น้ำหนัก Petri dish

$W_2$ = น้ำหนักดินก่อนอบ

$W_3$ = น้ำหนัก Petri dish+น้ำหนักดิน หลังอบ 3-4 ชม. (หลังจากอบ 24 ชม.)

4.2.2 การสกัดสารพิษ

4.2.2.1 กลุ่ม Organophophorus กลุ่ม Carbamate กลุ่ม Triazine กลุ่ม Phenylamide akylalanine กลุ่ม Organochlorine กลุ่ม Pyrethroid กลุ่ม Triazole กลุ่ม Chloroacetamide pendimethalin oxyfluorfen และ oxadiazon ชั่งตัวอย่างดินปริมาณ 20 กรัม สกัดด้วย ethyl acetate (AR) ปริมาตร 75 มิลลิลิตร เขย่า 4 ชั่วโมง ที่ความเร็วรอบ 210 รอบต่อนาที กรองผ่าน anh. sodium sulfate ใส่ round bottom flask นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรเป็น 2 มิลลิลิตร ด้วย ethyl acetate (PR) ดูดสารสกัด 1 มิลลิลิตร นำไปตรวจวิเคราะห์หาสารพิษกลุ่ม Organophophorus ด้วยเครื่อง GC-FPD และหาสารพิษกลุ่ม Carbamate กลุ่ม Triazine และกลุ่ม Phenylamide akylalanine ด้วยเครื่อง GC-NPD สารสกัดที่เหลือ 1 มิลลิลิตร นำไปเปลี่ยนและปรับปริมาตรเป็น 2.5 มิลลิลิตร ด้วย hexane (PR) นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-ECD เพื่อหาสารพิษกลุ่ม Organochlorine กลุ่ม Pyrethroid กลุ่ม Triazole กลุ่ม Chloroacetamide pendimethalin oxyfluorfen และ oxadiazon (TM-T04-I02) (กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร, 2564ข)

4.2.2.2 กลุ่ม Chlorophenoxy compound ชนิด 2,4-D ชั่งตัวอย่างดินปริมาณ 20 กรัม เติม methanol: water (8:2) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่อง shaker ที่ความเร็วรอบ 210 รอบต่อนาที นาน 30 นาที สกัดซ้ำ 2 รอบ ครั้งละ 50 มิลลิลิตร กรองผ่าน anh. sodium sulfate ใส่ round bottom flask เติม 10 M NaOH ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปต้มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นำไปสกัดต่อด้วย dichloromethane ปริมาตร 25, 25 และ 25 มิลลิลิตร กรองผ่าน anh. sodium sulfate ใส่ round bottom flask นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้ง เติม methanol: conc. $H_2SO_4$ (9:1) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เติม hexane (PR) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เติม 0.5 M $NaHCO_3$ ปริมาตร 15 มิลลิลิตร เขย่าตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น ทิ้งชั้นล่าง ชั้นบนกรองผ่าน anh. sodium sulfate นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-ECD (keller and Otto, 1985)

4.2.2.3 กลุ่ม Bipyridirium ชนิด paraquat ชั่งตัวอย่างดินปริมาณ 25 กรัม ใส่ round bottom flask เติมน้ำ 75 มิลลิลิตรและ conc. $H_2SO_4$ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร จากนั้น เติม oc-2-nol ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และเม็ดแก้ว นำไป reflux นาน 2 ชั่วโมง (เริ่มนับเวลาเมื่อความร้อนคงที่) กรองผ่าน filter paper No.42 และ celite ปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร ด้วยน้ำ DI นำไป clean up ผ่าน cation exchange resin (DOWEX 50W resin) ปริมาณ 5 กรัม (ผ่านการเตรียมโดยชะ sat[d] NaCl ปริมาตร 50 มิลลิลิตร และน้ำ DI ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ตามลำดับ) ล้างด้วยน้ำปริมาตร DI 25 มิลลิลิตร 2N HCl ปริมาตร 100 มิลลิลิตร น้ำ DI ปริมาตร 25 มิลลิลิตร 2.5% $NH_4Cl$ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร และน้ำ DI ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ตามลำดับ ชะสารด้วย sat[d] $NH_4Cl$ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ดูดสารสกัดมา 5 มิลลิลิตร นำไป clean up ด้วย SPE cartridge ชนิด Envi-Carb™ (ผ่านการเตรียมโดยชะด้วย methanol (HPLC) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และ water (HPLC) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ตามลำดับ) ล้างด้วย water (HPLC) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ชะสารด้วย acetonitrile: 250 mM ammonium formate: phosphoric acid (30: 70: 1.25) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UHPLC-DAD (Robinson, 2006)

4.3 ตัวอย่างพืช (Anastassiades *et al*., 2003)

ชั่งตัวอย่างพืชปริมาณ 10 กรัม ใส่ centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร เติม acetonitrile ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่า 1 นาที เติม ($MgSO_4$) ปริมาณ 4 กรัม และ (NaCl) ปริมาณ 1 กรัม ผสมกัน 1 นาที ด้วยเครื่อง vortex mixer สกัดด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที

4.3.1 ดูดสารละลายส่วนใสปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ micro-centrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่บรรจุ (PSA) ปริมาณ 25 มิลลิกรัม และ ($MgSO_4$) ปริมาณ 150 มิลลิกรัม สกัดด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ความเร็วรอบ 6,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ดูดสารละลายส่วนใสปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ micro-centrifuge tube นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้งด้วยเครื่อง Nitrogen evaporator ปรับปริมาตรเป็น 0.5 มิลลิลิตร ด้วย ethyl acetate (PR) ดูดสารสกัดนำไปตรวจวิเคราะห์หาสารพิษกลุ่ม Organophophorus ด้วยเครื่อง GC-FPD และหาสารพิษกลุ่ม Carbamate กลุ่ม Triazine และกลุ่ม Phenylamide akylalanine ด้วยเครื่อง GC-NPD

4.3.2 ดูดสารละลายส่วนใสปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ micro-centrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่บรรจุ (PSA) ปริมาณ 25 มิลลิกรัม และ ($MgSO_4$) ปริมาณ 150 มิลลิกรัม สกัดด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน ที่ความเร็วรอบ 6,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ดูดสารละลายส่วนใส 0.5 มิลลิลิตร ใส่ micro-centrifuge tube นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้งด้วยเครื่อง Nitrogen evaporator ปรับปริมาตรเป็น 0.5 มิลลิลิตร ด้วย hexane (PR) ดูดสารสกัด นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-ECD เพื่อหาสารพิษกลุ่ม Organochlorine กลุ่ม Pyrethroid กลุ่ม Triazole กลุ่ม Chloroacetamide pendimethalin oxyfluorfen และ oxadiazon

4.4 ตัวอย่างปลา (Feei *et al*., 2000)

ชั่งตัวอย่างปลาปริมาณ 10 กรัม สกัดด้วย acetonitrile ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน โดยใช้เครื่อง Homogenizer 1 นาที กรองตัวอย่างโดยใช้ปั๊มสุญญากาศ ล้างขวดใส่ตัวอย่าง ด้วย acetonitrile ปริมาตร 50 มิลลิลิตร 2 ครั้ง ตวงสารละลายปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปลดปริมาตร ด้วยเครื่อง Evaporator จนเกือบแห้ง เติม acetonitrile ปริมาตร 5 มิลลิลิตร กำจัดสิ่งรบกวนด้วย SPE cartridge ชนิด $C_{18}$ และ florisil ใช้เทคนิค Solid-Phase Extraction (SPE) ล้าง round bottom flask ด้วย acetonitrile 2 ครั้งๆละ 5 มิลลิลิตร นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้งด้วยเครื่อง Nitrogen evaporator ปรับปริมาตรเป็น 1 มิลลิลิตร ด้วย hexane (PR) ดูดสารสกัด 0.5 มิลลิลิตร นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-ECD เพื่อหาสารพิษกลุ่ม Organochlorine กลุ่ม Pyrethroid กลุ่ม Triazole กลุ่ม Chloroacetamide pendimethalin oxyfluorfen และ oxadiazon สารสกัดที่เหลือ 0.5 มิลลิลิตร นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้งด้วยเครื่อง Nitrogen evaporator ปรับปริมาตรเป็น 0.5 มิลลิลิตร ด้วย ethyl acetate (PR) นำไปตรวจวิเคราะห์หาสารพิษกลุ่ม Organophophorus ด้วยเครื่อง GC-FPD และหาสารพิษกลุ่ม Carbamate กลุ่ม Triazine และกลุ่ม Phenylamide akylalanine ด้วยเครื่อง GC-NPD

5. การบันทึกข้อมูล

5.1 ข้อมูลสารพิษตกค้างในตัวอย่างน้ำ หน่วยเป็นไมโครกรัมต่อลิตร (µg/L) ตัวอย่างตะกอน พืช และสัตว์น้ำ หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (mg/kg)

5.2 ข้อมูลผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่อสุขภาพ และสิ่งแวดล้อม ประเมินจากค่า Hazard quotient (HQ) และ Risk quotient (RQ)

**ระยะเวลา** เริ่มต้น ตุลาคม 2562 สิ้นสุด กันยายน 2564

**สถานที่ทำการทดลอง** ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

## ผลการทดลองและวิจารณ์

**1. คุณลักษณะและปริมาณสารพิษตกค้างในแม่น้ำเจ้าพระยา**

จากการสำรวจบริเวณพื้นที่ใกล้ลุ่มแม่น้ำเจ้าพระยา พบว่าเกษตรกรใช้ทั้งสารกำจัดแมลง สารกำจัดวัชพืช รวมทั้งสารป้องกันกำจัดโรคพืชร่วมกัน เพื่อใช้ในการควบคุมศัตรูพืช ซึ่งแหล่งเกษตรกรรมในบริเวณลุ่มแม่น้ำเจ้าพระยา ส่วนใหญ่เพาะปลูกข้าว รองลงมาปลูกพืชไร่ พืชสวน และพืชผัก ได้สุ่มเก็บตัวอย่างในระหว่างวันที่ 11 - 14 ธันวาคม 2562 (ฤดูแล้ง) และ 22 - 24 กรกฎาคม 2563 (ฤดูฝน) โดยเก็บตัวอย่างน้ำ ตะกอน พืช และสัตว์น้ำ บริเวณลุ่มแม่น้ำเจ้าพระยาและคลองแยก ตามจุดเก็บที่กำหนดไว้ จำนวน 20 จุด ได้ตัวอย่างรวมทั้งหมด 66 ตัวอย่าง แบ่งเป็นตัวอย่างน้ำ ตะกอน พืช (ผักบุ้ง) และปลา (ปลากดและปลาตะเพียน) จำนวน 40, 21, 3 และ 2 ตัวอย่าง ตามลำดับ

1.1 คุณสมบัติทางเคมี-ฟิสิกส์ของตัวอย่างน้ำในแม่น้ำเจ้าพระยา

จากการวัดค่าการนำไฟฟ้า ค่าความเป็นกรด-ด่าง และอุณหภูมิของตัวอย่างน้ำขณะทำการเก็บตัวอย่าง พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เท่ากับ 7.7±0.4 อยู่ในช่วงที่กำหนดไว้ตามมาตรฐานคู่มือคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดิน คือ ค่า pH อยู่ในช่วง 5.0 - 9.0 (คณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ, 2537) โดยค่า pH ในช่วงฤดูฝนมีค่าต่ำกว่าฤดูแล้ง การลดลงเล็กน้อยของค่า pH ในช่วงฤดูฝน อาจจะเกิดจากการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำเนื่องจากฝนตก ส่งผลให้ความเข้มข้นของไอออน $H^+$ เปลี่ยนแปลงไป (Samoh and Ibrahim, 2009) อุณหภูมิของน้ำ เท่ากับ 26.9±1.3 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของน้ำในสภาวะปกติของช่วงฤดูแล้งจะสูงกว่าฤดูฝน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพภูมิอากาศของแต่ละพื้นที่และเวลาที่สุ่มเก็บตัวอย่าง ค่าการนำไฟฟ้าของตัวอย่างน้ำ เท่ากับ 220±57 ไมโครซีเมนต์ต่อเซนติเมตร ซึ่งค่าสูงสุดที่ WHO ยอมให้มีได้สำหรับน้ำดื่ม คือ 2500 ไมโครซีเมนต์ต่อเซนติเมตร และค่าปริมาณของแข็ง สารอนินทรีย์และอินทรีย์ทั้งหมดที่ละลายอยู่ในน้ำ (Total dissolved solids; TDS) เท่ากับ 110±27 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งใกล้เคียงกับช่วงปกติสำหรับแม่น้ำธรรมชาติ คือ 0 - 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร (WHO, 1988) (Table 1)

1.2 ปริมาณสารพิษตกค้างในแม่น้ำเจ้าพระยา

ผลการตรวจวิเคราะห์พบสารพิษตกค้าง atrazine ในตัวอย่างน้ำ จำนวน 40 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 100 ปริมาณ 0.07 - 0.60 ไมโครกรัมต่อลิตร (Table 2) เมื่อเทียบกับค่าสูงสุดที่ยอมให้มีได้ในน้ำดื่มตามมาตรฐานต่าง ๆ ได้แก่ ประเทศออสเตรเลียที่กำหนดไว้เท่ากับ 20 ไมโครกรัมต่อลิตร (NHMRC and NRMMC, 2011) WHO กำหนดไว้เท่ากับ 2 ไมโครกรัมต่อลิตร (WHO, 2004) U.S. EPA กำหนดไว้ 3 ไมโครกรัมต่อลิตร (U.S. EPA, 2003) และประเทศแคนาดา กำหนดไว้ เท่ากับ 5 ไมโครกรัมต่อลิตร (Health Canada, 1993) อย่างไรก็ตาม ปริมาณที่ตรวจพบนี้ไม่เกินเกณฑ์ที่กำหนด และอยู่ในเกณฑ์ปลอดภัยสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งน้ำเพื่อการเกษตร และนำไปผลิตน้ำเพื่อการบริโภคได้

**Table 1.** Physicochemical parameter of water and sediment samples from the Chao Phraya and Tha Chin River

| Parameter | Chao Phraya River | Tha Chin River |
|---|---|---|
| *Water* | | |
| pH | 7.7±0.4 | 7.1±0.4 |
| Temperature (°C) | 26.9±1.3 | 30.8±2.6 |
| Conductivity (µS/cm) | 220±57 | 332±22 |
| TDS (mg/L) | 110±27 | 166±10 |

**Table 2.** Concentration of pesticide residues in sample during the two seasons from the Chao Phraya River

| Sampling time | Sample | Total sample/ Positive sample | Pesticides | Concentration |
|---|---|---|---|---|
| Dry season | Water | 20/20 | atrazine | 0.07 - 0.22 |
| | Sediment | 13/0 | ND | ND |
| Rainy season | Water | 20/20 | atrazine | 0.16 - 0.60 |
| | Sediment | 8/0 | ND | ND |
| | Aquatic plant | 3/0 | ND | ND |
| | Fish | 2/0 | ND | ND |

Unit of concentration of pesticide residues: water (µg/L), sediment (mg/kg), aquatic plant (mg/kg), fish (mg/kg)
ND: Not Detected

**2. คุณลักษณะและปริมาณสารพิษตกค้างในแม่น้ำท่าจีน**

จากการสำรวจบริเวณพื้นที่ใกล้ลุ่มแม่น้ำท่าจีน พบว่าเกษตรกรใช้ทั้งสารกำจัดแมลง สารกำจัดวัชพืช รวมทั้งสารป้องกันกำจัดโรคพืชร่วมกัน เพื่อใช้ในการควบคุมศัตรูพืช ซึ่งแหล่งเกษตรกรรมในบริเวณลุ่มแม่น้ำท่าจีน ส่วนใหญ่เพาะปลูกข้าว รองลงมาปลูกพืชสวนและพืชผัก ได้สุ่มเก็บตัวอย่างในระหว่างวันที่ 10 - 12 กุมภาพันธ์ 2564 (ฤดูแล้ง) และ 12 - 14 กรกฎาคม 2564 (ฤดูฝน) โดยเก็บตัวอย่างน้ำ ตะกอน พืช และสัตว์น้ำบริเวณลุ่มแม่น้ำท่าจีนและคลองแยกตามจุดเก็บที่กำหนดไว้ จำนวน 24 จุด ได้ตัวอย่างรวมทั้งหมด 84 ตัวอย่าง แบ่งเป็นตัวอย่างน้ำ ตะกอน และพืช (ผักบุ้งและผักกระเฉด) จำนวน 48, 19 และ 17 ตัวอย่าง ตามลำดับ

2.1 คุณสมบัติทางเคมี-ฟิสิกส์ของตัวอย่างน้ำในแม่น้ำท่าจีน

จากการวัดค่าการนำไฟฟ้า ค่าความเป็นกรด-ด่าง และอุณหภูมิของตัวอย่างน้ำขณะทำการเก็บตัวอย่าง ได้ผลดังตารางที่ 1 พบค่า pH เท่ากับ 7.1±0.4 อยู่ในช่วงที่กำหนดไว้ตามมาตรฐานคู่มือคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดินคือ pH อยู่ในช่วง 5.0 - 9.0 (คณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ, 2537) โดยค่า pH ในช่วงฤดูฝนมีค่าต่ำกว่าฤดูแล้ง สอดคล้องกับแม่น้ำเจ้าพระยา ในขณะที่อุณหภูมิของน้ำเท่ากับ 30.8±2.6 องศาเซลเซียส และค่าการนำไฟฟ้าเท่ากับ 332±22 ไมโครซีเมนต์ต่อเซนติเมตร เทียบกับค่าสูงสุดที่ WHO ยอมให้มีได้สำหรับน้ำดื่ม อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ คือ 2500 ไมโครซีเมนต์ต่อเซนติเมตร และค่า TDS เท่ากับ 166±10 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งใกล้กับช่วงปกติของแม่น้ำธรรมชาติ คือ 0 - 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร (WHO, 1988) (Table 1)

2.2 ปริมาณสารพิษตกค้างในแม่น้ำท่าจีน

ผลการตรวจวิเคราะห์พบสารพิษตกค้าง atrazine ในตัวอย่างน้ำ จำนวน 41 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 85 ปริมาณ 0.09 - 0.33 ไมโครกรัมต่อลิตร (Table 3) เมื่อเทียบกับค่าสูงสุดที่ยอมให้มีได้ในน้ำดื่มตามมาตรฐานต่างๆ ได้แก่ ประเทศออสเตรเลียที่กำหนดไว้เท่ากับ 20 ไมโครกรัมต่อลิตร (NHMRC and NRMMC, 2011) WHO กำหนดไว้เท่ากับ 2 ไมโครกรัมต่อลิตร (WHO, 2004) U.S. EPA กำหนดไว้เท่ากับ 3 ไมโครกรัมต่อลิตร (U.S. EPA, 2003) และประเทศแคนาดา กำหนดไว้เท่ากับ 5 ไมโครกรัมต่อลิตร (Health Canada, 1993) นอกจากนี้ ยังตรวจพบสารพิษตกค้าง ametryn ในตัวอย่างน้ำ จำนวน 4 ตัวอย่าง คิดเป็น ร้อยละ 8 ปริมาณ 0.16 - 0.43 ไมโครกรัมต่อลิตร เมื่อเทียบกับค่าสูงสุดที่ยอมให้มีได้ในน้ำดื่มตามมาตรฐานของประเทศออสเตรเลียที่กำหนดไว้เท่ากับ 70 ไมโครกรัมต่อลิตร (NHMRC and NRMMC, 2011) พบว่าปริมาณที่ตรวจพบนี้ ไม่เกินเกณฑ์ที่กำหนด อยู่ในเกณฑ์ที่ปลอดภัยสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งน้ำเพื่อการเกษตร และนำไปผลิตน้ำเพื่อการบริโภคได้

**Table 3.** Concentration ranges of pesticide residues in sample during the two seasons from the Tha Chin River

| Sampling time | Sample | Total sample/Positive sample | Pesticides | Concentration |
|---|---|---|---|---|
| Dry season | Water | 24/18 | atrazine | 0.09 - 0.28 |
| | Sediment | 12/0 | ND | ND |
| | Aquatic plant | 7/10 | ND | ND |
| Rainy season | Water | 24/23 | atrazine | 0.19 - 0.33 |
| | | | ametryn | 0.16 - 0.43 |
| | Sediment | 7/0 | ND | ND |
| | Aquatic plant | 10/0 | ND | ND |

Unit of concentration of pesticide residues: water (µg/L), sediment (mg/kg), aquatic plant (mg/kg)
ND: Not Detected

การตรวจพบ atrazine และ ametryn ในบริเวณลุ่มแม่น้ำทั้งแม่น้ำเจ้าพระยาและแม่น้ำท่าจีน คิดเป็นร้อยละ 92 และ 5 ตามลำดับ โดยบริเวณลุ่มแม่น้ำเจ้าพระยาพบ atrazine ตกค้างในตัวอย่างน้ำทุกตัวอย่าง เนื่องจากแม่น้ำเจ้าพระยาเป็นแม่น้ำสายหลัก เกิดจากการรวมกันของแม่น้ำปิงและแม่น้ำน่าน ในบริเวณแม่น้ำปิงและแม่น้ำน่านตอนล่างส่วนใหญ่เพาะปลูกอ้อย ข้าวโพด เกษตรกรใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิด atrazine และ ametryn เพื่อควบคุมวัชพืชในแหล่งเกษตรกรรม ทำให้มีโอกาสสูงที่จะเกิดการตกค้างในแหล่งน้ำ เกิดการแพร่กระจายสู่แม่น้ำเจ้าพระยา รวมทั้งบริเวณลุ่มแม่น้ำเจ้าพระยาและแม่น้ำท่าจีน เกษตรกรมีการใช้สารดังกล่าวเช่นกัน โดยพื้นที่เกษตรกรรมส่วนใหญ่ปลูกข้าว รองลงมาปลูกพืชไร่พืชผัก (สำนักบริหารจัดการน้ำและอุทกวิทยา, 2563) สอดคล้องกับปริมาณการนำเข้าในปี พ.ศ. 2563 ของสารกำจัดวัชพืชชนิด atrazine นำเข้าสูงเป็นอันดับ 5 ปริมาณสารสำคัญ 2,735,030.56 กิโลกรัม มูลค่า 370,460,037.11 บาท และ ametryn นำเข้าสูงเป็นอันดับ 9 ปริมาณสารสำคัญ 1,268,039.40 กิโลกรัม มูลค่า 214,970,577.43 บาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2563)

จากข้อมูลสารพิษตกค้างในบริเวณลุ่มแม่น้ำเจ้าพระยาและแม่น้ำท่าจีน พบว่าในตัวอย่างน้ำพบสารพิษ atrazine และ ametryn โดย ametryn พบตกค้างในช่วงฤดูฝนบริเวณลุ่มแม่น้ำท่าจีน ส่วน atrazine พบตกค้างบริเวณลุ่มแม่น้ำเจ้าพระยาและแม่น้ำท่าจีนทั้งในช่วงฤดูแล้งและฤดูฝน ช่วงฤดูฝนตรวจพบในปริมาณที่สูงกว่าฤดูแล้ง เนื่องจากในช่วงฤดูฝนมีโอกาสสูงที่จะเกิดการไหลบ่า (runoff) และการชะล้าง (leaching) ลงสู่แม่น้ำจากกรณีฝนตก ทำให้ปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจพบสูงกว่าในฤดูแล้ง อีกทั้งช่วงฤดูฝนเป็นระยะที่เริ่มทำการเพาะปลูก เกษตรกรใช้ atrazine และ ametryn เพื่อควบคุมวัชพืชก่อนและหลังงอก จึงส่งผลให้เกิดการปนเปื้อนของสารพิษมากขึ้น โดยพบสารพิษตกค้าง atrazine ในตัวอย่างน้ำที่สุ่มเก็บเกือบทั้งหมด สอดคล้องกับการศึกษาการแพร่กระจายของสารพิษทางการเกษตรจากแหล่งเกษตรกรรมสู่แม่น้ำสายหลักของประเทศ (มลิสาและคณะ, 2555) สำหรับตัวอย่างตะกอน พืช และสัตว์น้ำ ไม่พบสารพิษตกค้าง เนื่องจาก atrazine ในน้ำ เกิดการสลายตัวได้ด้วยแสง โดยค่า $DT_{50}$ ที่ pH 7 เท่ากับ 2.6 วัน (จัดเป็น moderately fast) ส่วน ametryn เกิดการสลายตัวได้ด้วยแสงแดด โอกาสที่จะเกิดการดูดซับบนตะกอนจึงเกิดขึ้นได้น้อยมาก atrazine และ ametryn มีความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตอยู่ในระดับปานกลาง แต่ปริมาณที่ตรวจพบในตัวอย่างน้ำอยู่ในระดับต่ำมาก และไม่อยู่ในระดับที่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ โดยค่า $LC_{50}$ (96 hour) ในปลา ของ atrazine และ ametryn เท่ากับ 4500 และ 5000 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (Lewis *et al*., 2016)

**3. ผลกระทบของสารพิษตกค้างต่อสิ่งแวดล้อม**

จากผลการตรวจวิเคราะห์ที่ได้ นำมาประเมินผลกระทบของสารพิษตกค้างต่อสุขภาพตาม Exposure Assessment ตาม U.S. EPA (U.S. EPA, 2017) และประเมินผลกระทบของสารพิษตกค้างต่อสิ่งแวดล้อมตาม European Chemicals Bureau (ECB, 2003) ประเมินผลกระทบต่อสุขภาพโดยใช้ค่า Hazard Quotient (HQ) จากการประเมินความผลกระทบต่อสุขภาพจากการรับสัมผัสโดยการบริโภคน้ำที่มีการปนเปื้อนของของสารพิษตกค้างที่ไม่ใช่สารก่อมะเร็ง สำหรับเด็กอายุ 6 ปี และผู้ใหญ่อายุ 70 ปี พบว่าค่า HQ ที่ได้ทั้งในฤดูแล้งและฤดูฝน มีค่าน้อยกว่า 1 (Table 4) แสดงว่าเป็นความเสี่ยงที่ยอมได้ (acceptable risk) ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมจากค่า Risk Quotient (RQ) พบว่าค่า RQ ที่ได้ทั้งในฤดูแล้งและฤดูฝน มีค่าน้อยกว่า 1 แสดงว่าเป็นความเสี่ยงที่ยอมได้ (acceptable risk) ดัง Table 5

**Table 4.** Hazard Quotient (HQ) of non-carcinogenic toxic residues for child 6 years old and adult 70 years old

| Pesticides | Chao Phraya River | | | | Tha Chin River | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Dry season | | Rainy season | | Dry season | | Rainy season | |
| | Child | Adult | Child | Adult | Child | Adult | Child | Adult |
| atrazine | $1.35 \times 10^{-4}$ | $1.02 \times 10^{-4}$ | $3.67 \times 10^{-4}$ | $2.78 \times 10^{-4}$ | $1.71 \times 10^{-4}$ | $1.30 \times 10^{-4}$ | $2.02 \times 10^{-4}$ | $1.53 \times 10^{-4}$ |
| ametryn | ND | ND | ND | ND | ND | ND | $2.02 \times 10^{-4}$ | $2.02 \times 10^{-4}$ |

ND: Not detected

HQ $\leq$1: acceptable risk, HQ $>$1: risk

Child 6 years old (average weight 33.38 kg), Adult 70 years old (average weight 55.77 kg) (มกอช., 2559)

**Table 5.** Risk Quotient (RQ) of pesticide residues in water samples during the two seasons from the Chao Phraya and Tha Chin River

| Pesticides | Chao Phraya River | | Tha Chin River | |
|---|---|---|---|---|
| | Dry season | Rainy season | Dry season | Rainy season |
| atrazine | 0.022 | 0.060 | 0.028 | 0.033 |
| ametryn | - | - | - | 0.043 |

RQ <1: No immediate concern), RQ = 1-10: Of concern if supply volumes increase, RQ = 10-100: (Further data require), RQ >100: Reduce risk immediate

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

จากการตรวจติดตามการปนเปื้อนของสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อม บริเวณลุ่มแม่น้ำเจ้าพระยาและแม่น้ำท่าจีน รวมทั้งบริเวณคลองแยก โดยสุ่มเก็บตัวอย่างในช่วงฤดูแล้งและฤดูฝน ตรวจพบสารพิษตกค้างในตัวอย่างน้ำ เป็นสารกำจัดวัชพืชกลุ่ม Triazine ชนิด atrazine และ ametryn โดยพบการปนเปื้อนของ atrazine ในช่วงฤดูฝนมากกว่าฤดูแล้งทั้งในบริเวณลุ่มแม่น้ำเจ้าพระยาและแม่น้ำท่าจีน ส่วน ametryn พบตกค้างในช่วงฤดูฝนในบริเวณลุ่มแม่น้ำท่าจีน ปริมาณของ atrazine และ ametryn ที่ตรวจพบอยู่ในระดับต่ำ ไม่เกินค่าสูงสุดที่ยอมให้มีได้ในน้ำดื่มที่กำหนดไว้ เท่ากับ 20 และ 70 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และไม่อยู่ในระดับที่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิต เมื่อเปรียบเทียบปริมาณของสารพิษตกค้าง atrazine และ ametryn ในตัวอย่างน้ำกับมาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดิน ตามประกาศของคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ 8 ซึ่งกำหนดให้สารฆ่าศัตรูพืชและสัตว์ที่มีคลอรีนทั้งหมด มีค่าไม่เกิน 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 50 ไมโครกรัมต่อลิตร นั้น พบว่าปริมาณการปนเปื้อนของ atrazine และ ametryn ไม่เกินค่ามาตรฐานที่กำหนดอยู่ในเกณฑ์ปลอดภัยสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งน้ำเพื่อการเกษตร และนำไปผลิตน้ำเพื่อการบริโภคได้ ซึ่งผลการประเมินผลกระทบในสิ่งแวดล้อม ค่า HQ และ RQ ที่ได้มีค่าน้อยกว่า 1 แสดงว่าเป็นความเสี่ยงที่ยอมรับได้ ข้อมูลของปริมาณสารพิษตกค้าง ผลการประเมินผลกระทบต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อมที่ได้จากงานวิจัยนี้มีความสำคัญในการเฝ้าระวังและประเมินสถานการณ์มลพิษของสารพิษตกค้างที่เกิดจากการใช้สารพิษในกลุ่มเสี่ยงที่ส่งผลกระทบต่อมนุษย์และระบบนิเวศ รวมทั้งใช้เป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาเพื่อกำหนดค่ามาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดินสำหรับสารกำจัดวัชพืชกลุ่ม Triazine และเป็นข้อมูลสนับสนุนการยกเลิกหรือการจำกัดการใช้สารพิษทางการเกษตรต่อไป

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. เกษตรกร ภาคเอกชน ผู้ที่สนใจ และหน่วยงานที่เกี่ยวข้องรับทราบผลกระทบและความเสี่ยงที่เกิดจากสารพิษตกค้างในบริเวณลุ่มแม่น้ำเจ้าพระยาและท่าจีน

2. ข้อมูลการตกค้างของสารพิษ รวมทั้งผลกระทบ และความเสี่ยงจากการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ในบริเวณลุ่มแม่น้ำเจ้าพระยาและท่าจีน สามารถคาดการณ์แนวโน้มสถานการณ์มลพิษของสารพิษตกค้างในอนาคต เฝ้าระวังผลกระทบต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม

## เอกสารอ้างอิง


กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร. 2564ก. วิธีทดสอบสารพิษกลุ่ม Organochlorines ในน้ำ โดยวิธี Gas Chromatography TM-T04-I01. 10 หน้า.

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร. 2564ข. วิธีทดสอบสารพิษกลุ่ม Organochlorines Organophosphorus และ Pyrethroidในดิน โดยวิธี Gas Chromatography TM-T04-I02. 12 หน้า.

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร. 2564ค. วิธีทดสอบสารพิษกลุ่ม Organophosphorus ในน้ำ โดยวิธี Gas Chromatography TM-T04-I03. 9 หน้า.

คณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ. 2537. ประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ 8 เรื่อง กำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดิน. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 111 ตอนที่ 16 ง. (ลงวันที่ 10 มกราคม 2537)

มลิสา เวชยานนท์ สิริพร เหลืองสุชนกุล ประกิจ จันทร์ติ๊บ เอกราช สิทธิมงคล และปภัสรา คุณเลิศ. 2555. การแพร่กระจายของสารพิษการเกษตรจากแหล่งเกษตรกรรมลงสู่แม่น้ำสายหลักในประเทศไทย. ผลงานวิจัยดีเด่น กรมวิชาการเกษตรประจำปี 2555. หน้า 231-255.

สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2560-2562. รายงานสรุปการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตร ปี 2560-2562. สืบค้นจาก: https://www.doa.go.th/ard [24 มิ.ย. 2564].

สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2563. รายงานสรุปการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตร ปี 2563. สืบค้นจาก: https://www.doa.go.th/ard [24 มิ.ย. 2564].

มกอช. 2559. ข้อมูลการบริโภคอาหารของประเทศไทย (FOOD CONSUMPTION DATA OF THAILAND). สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. สืบค้นจาก: https://www.acfs.go.th/files/files/attach- files/867_20190606145951_625162.pdf [15 ก.ย. 2563].

สำนักบริหารจัดการน้ำและอุทกวิทยา. 2563. แผนการบริหารจัดการน้ำและการเพาะปลูกพืชฤดูแล้งในเขตชลประทาน ปี 2563/64. สืบค้นจาก: https://www.rid.go.th [24 มิ.ย. 2564].

Anastassiades, M., S. J. Lehotay, D. Staibaher, and F. J. Schenck. 2003. Fast and Easy Multiresidues employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and Dispersive Solid-Phase Extraction for Determination of Pesticide Residues in Produce. *AOAC. J.* 86(2): 412-431.

Back, C. K. 1965. Method of soil analysis: part I physical and mineralogical properties. American Society of Agronomy. Madison. Wisconsin. USA. 4 p.

Chinda, S. 1998. Organochloine pesticide residues in fishes from the Chao Phraya River. Retrieved July 26, 2021, from https://agris.fao.org/agris-search

ECB. 2003. Technical Guidance Document on Risk Assessment. Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for notified substances. Retrieved Mar 20, 2019, from https://www.echa.europa.eu/documents/10162/16960216/tgdpart2_2ed_en.pdf

Feei, S., L. Feng-Yi., W. Sue-Sun, and L. Gwo-Chen. 2000. Determination of Organochlorine and Nitrogen-Containing Pesticide Residues in Fish with Different Fat Content. *Food and Drug Analysis. J.* 8(2): 103-111.

Harieth, H. K. 2011. Pesticide residues in four rivers running through an intensive agricultural area, Kilimanjaro, Tanzania. *Appl. Sci. Environ. Manage.* J. 15(2):307-316.

Health Canada. 1993. Guidelines for Canadian Drinking Water Quality. Guideline technical Document.Atrazine. Canada. 9 p.

Keller, W. and S. Otto. 1985. BASF Agricultural Research Station, Limburgerhof.

Lewis, K.A., J. Tzilivakis, D. Warner, and A. Green. 2016. An international database for pesticide risk assessments and management. Human and Ecological Risk Assessment. *An International J.* 22 (4): 1050-1064.

NHMRC and NRMMC. 2011. Australian Drinking Water Guidelines version 3.7 Paper 6 National Water Quality Management Strategy. National Health and Medical Research Council, National Resource Management Ministerial Council, Commonwealth of Australia, Canberra. Retrieved February 1, 2022, from https://www.nhmrc.gov.au/about-us/publications/australian-drinking-water-guidelines#block-views-block-file-attachments-content-block-1

Poolpak, T., P. Pokethitiyook, M. Kruatrachue, U. Arjarasirikoon, and N. Thanwaniwat. 2008. Residue Analysis of organochlorine pesticides in the Mae Klong River of Central Thailand. *Hazard Mater. J.* 156(1-3): 230-239.

Rice, E.W., R.B. Baird, and A.D. Eaton. 2017. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 23rd Edition. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. pp. 135-145.

Robinson, N. J. 2006. Paraquat: Residue Method for the Determination of Paraquat Dichloride as Paraquat cation in Soil (GRM012.04A). Syngenta. Jealott's Hill International Research Centre. UK. 49 p.

Samoh, A. N. H. and M. S. Ibrahim. 2009. Organochlorine Pesticide Residues in the Major Rivers of Southern Thailand. *EnvironmentAsia. J.* 1: 30-34.

Székács, A., M. Mörtl, and B. Darvas. 2015. Monitoring Pesticide Residues in Surface and Ground Water in Hungary: Surveys in 1990-2015. *Chemisty. J.* 2015: 1-15.

U.S. EPA. 2003. Edition of the Drinking Water Standards and Health Advisories. USA.

U.S. EPA. 2017. Exposure Factors Handbook Chapter 5: Soil and Dust Ingestion. U.S. EPA. Office of Research and Development. Washington, DC. EPA/600/R-17/384F.

WHO. 1988. Assessment of fresh water quality. Global environmental monitoring system (GEMS) report on the related environmental monitoring. World Health Organization.

WHO. 2004. Guidelines for Drinking-water Quality. 3rd Edition. WHO Geneva. Switzerland.

# การประเมินผลกระทบสารกำจัดวัชพืชอะทราซีนตกค้างในไร่ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์
# Assessment of the effects of atrazine residues in maize fields

*ปภัสรา คุณเลิศ* *สิริพร เหลืองสุชนกุล* *ประกิจ จันทร์ติ๊บ* *มลิสา เวชยานนท์*
*Paphatsara Khunlert* *Siriporn Luengsuchonkul* *Prakit Chuntib* *Malisa Wetchayanon*

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

## ABSTRACT

To evaluate the risk of atrazine residues in water and soil affected the health of maize's farmers during October 2020 to September 2021, the sixty maize fields and farmers located in Amphor Nongmong, Lopburi Province, and Amphor Phutthabat and Amphor Kang, Saraburi Province were chosen in this study. The farmers were interviewed, the samples of soil (n=120), water (n=40), sediment (n=4), and maize (n=19) were collected in dry and wet seasons during February and July. All samples were analyzed using Gas Chromatography with Nitrogen-Phosphorus Detector (GC-NPD). The results showed that the levels of atrazine residues were found in 59 samples including soil (0.03-0.92 mg/kg) and water (0.02-91.73 ug/L) samples collected in dry season. There are no atrazine residues in all samples collected from the maize field in Amphor Phutthabat, Saraburi Province. The health risk assessment was calculated using Hazard Quotient (HQ) values of soil and water for the ages of 6-12 years (the highest value was $1.57 \times 10^{-4}$, $0.60 \times 10^{-1}$), and for the age of 70 years (the highest value was $5.06 \times 10^{-5}$ – $0.50 \times 10^{-1}$). Environmental risk assessment was also calculated using Risk Quotient (RQ) values. In wet season, RQ values were less than 1 in soil and water samples, while only water samples in dry season showed RQ values were higher than 1 (RQ = $0.5 \times 10^{-2}$ – 9.17). These results indicated that atrazine using as herbicide do not affect to the health of farmers, but the atrazine residues in water samples present a risk affecting the environment in maize field.

**Keywords :** Impact assessment, Atrazine herbicide, Soil, Water, Mize

## บทคัดย่อ

ประเมินผลกระทบสารกำจัดวัชพืชอะทราซีน (atrazine) ตกค้างในไร่ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ทำการประเมินความเสี่ยงสารกำจัดวัชพืช atrazine ตกค้างในดิน น้ำ ตะกอนดิน และข้าวโพด ที่มีผลต่อสุขภาพของเกษตรกร ระหว่างเดือน ตุลาคม 2563 ถึงเดือนกันยายน 2564 ได้ศึกษาระดับครัวเรือน โดยเลือกอำเภอที่เกษตรกรมีอาชีพปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในเชิงพาณิชย์ ในพื้นที่อำเภอหนองหม่วง จังหวัดลพบุรี อำเภอพุทธบาท และอำเภอแก่งคอย จังหวัดสระบุรี โดยเลือกตัวอย่างแปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ของเกษตรกรแบบเฉพาะเจาะจงจำนวน 60 แปลง ใช้วิธีการสัมภาษณ์ สำรวจ สุ่มเก็บตัวอย่างดิน น้ำ ตะกอนดิน และข้าวโพด ร่วมกับการวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ ประเมินความเสี่ยงสารพิษตกค้างด้วยค่าดัชนีบ่งชี้อันตราย (Hazard quotient, HQ) และประเมินผลกระทบของสารกำจัดวัชพืช atrazine ที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม โดยสุ่มเก็บตัวอย่างดิน 120 ตัวอย่าง น้ำ 40 ตัวอย่าง ตะกอนดิน 4 ตัวอย่าง และข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 19 ตัวอย่าง ในฤดูแล้ง และฤดูฝน ช่วงเดือนกุมภาพันธ์ และกรกฎาคม รวมทั้งหมด 183 ตัวอย่าง มาตรวจวิเคราะห์หาสารพิษตกค้างด้วยเครื่อง Gas Chromatography ชนิดตัวตรวจวัด Nitrogen-Phosphorus Detector (GC-NPD) ผลการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ atrazine พบสารตกค้าง 59 ตัวอย่าง (32%) ในดินปริมาณ 0.03 – 0.92 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ในน้ำปริมาณ 0.02 – 91.73 ไมโครกรัมต่อลิตร ซึ่งพบการตกค้างสูงสุดในฤดูแล้ง จากแปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในอำเภอพุทธบาท จังหวัดสระบุรี ในตัวอย่างตะกอนดินและข้าวโพดไม่พบการตกค้างในทุกตัวอย่าง เมื่อนำผลการตรวจวิเคราะห์มาประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพด้วยค่า HQ ช่วงอายุ 6 – 12 ปี ได้ค่าสูงสุดเท่ากับ $1.57 \times 10^{-4}$ , $0.60 \times 10^{-1}$ และช่วงอายุ 70 ปี ได้ค่าสูงสุดเท่ากับ $5.06 \times 10^{-5}$ , $0.50 \times 10^{-1}$ ซึ่งมีค่าน้อยกว่า 1 อยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ และทำการประเมินผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมด้วยค่า RQ ในฤดูแล้ง และฤดูฝน ในดิน มีค่าน้อยกว่า 1 อยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ ในน้ำ ฤดูฝนมีค่า RQ น้อยกว่า 1 อยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ และฤดูแล้ง มีค่า RQ เท่ากับ $0.5 \times 10^{-2}$ – 9.17 มีค่ามากกว่า 1 พบว่ามีความเสี่ยง สรุปได้ว่าการใช้สารกำจัดวัชพืช atrazine ไม่มีความเสี่ยงต่อสุขภาพของเกษตรกร และมีความบ่งชี้อันตรายต่อสิ่งแวดล้อมจากการตกค้างของ atrazine ในน้ำ ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในไร่ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

**คำหลัก :** การประเมินผลกระทบ สารกำจัดวัชพืชอะทราซีน ดิน น้ำ ข้าวโพด

## คำนำ

อะทราซีน (atrazine) เป็นสารกำจัดวัชพืชในกลุ่ม Triazine มีสูตรทางเคมี คือ $C_8H_{14}ClN_5$ น้ำหนักโมเลกุล 215.96 ลักษณะทางกายภาพ เป็นผลึกขาวใส ไม่มีสี มีจุดหลอมเหลว 175 - 177 องศาเซลเซียส สภาพการละลายน้ำ 33 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพเป็นกลาง มีพิษระดับปานกลางทั้งทางปากและผิวหนัง ค่า acute oral $LD_{50}$ มีค่า 1,075 - 1,886 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในมนุษย์และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เมื่อได้รับที่ความเข้มข้นสูง จะเกิดอาการคลื่นเหียน อาเจียน ท้องร่วง กล้ามเนื้อล้า และน้ำลายฟูมปาก atrazine เป็นสารรบกวนการทำงานของต่อมไร้ท่อ (endocrine disruptor chemical; EDC) ทำให้เกิดมลภาวะทางฮอร์โมนเพศ (sex-hormone pollution) เกิดพฤติกรรมเบี่ยงเบนทางเพศ มีผลกระทบต่อระบบสืบพันธุ์ ทั้งในคน ปลา และสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ atrazine มีความคงทนในดินสูง มีค่าครึ่งชีวิตเฉลี่ย 6 - 12 เดือน มีโอกาสสามารถเคลื่อนย้ายจากดินสู่แหล่งน้ำใต้ดิน ส่วนในพืช สาร atrazine จะดูดซึมเข้าสู่พืชโดยทางราก แต่สามารถผ่านเข้าทางใบได้บ้างเล็กน้อย จากนั้นจะเคลื่อนย้ายขึ้นไปสู่ยอดและเข้าไปสะสมบริเวณเนื้อเยื่อเจริญ ในพืชที่อ่อนแอต่อสาร atrazine จะแสดงอาการใบเหลืองซีดและแห้ง (Turner*l*., 2018) ในแปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ตามรายงานการตรวจพบ atrazine ตกค้างในดินเฉลี่ย 133.59 - 183.23 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และพบตกค้างในน้ำเฉลี่ย 4.70 ไมโครกรัมต่อลิตร มีค่าสูงกว่าเกณฑ์ค่าสูงสุดที่ยอมให้มีการปนเปื้อนในน้ำ (ไม่เกิน 3 ไมโครกรัมต่อลิตร) อรอนงค์และคณะ (2554)

ในปี 2563 มีปริมาณการนำเข้า atrazine คิดเป็นปริมาณ เป็นลำดับที่ 5 ปริมาณ 3,216,466.40 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่า 370,460,037.11 ล้านบาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2563) ประโยชน์ใช้กำจัดวัชพืชใบแคบ เช่น หญ้านกสีชมพู หญ้าอกขาว และหญ้าตีนกา และวัชพืชใบกว้าง เช่น ผักโขม และผักโขมหิน ในอ้อย สับปะรด และข้าวโพด (กลุ่มวิจัยวัชพืช, 2554) อย่างไรก็ตาม การใช้สารกำจัดวัชพืช atrazine อย่างต่อเนื่อง ทำให้เกิดความเสี่ยงต่อสุขภาพของเกษตรกร และสิ่งแวดล้อม เพราะสารกำจัดวัชพืช atrazine สามารถเข้าสู่ร่างกายมนุษย์โดยตรงจากการสัมผัสดิน น้ำ และอากาศ (จารุพงศ์ และคณะ, 2562)

ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญของประเทศไทย ผลผลิตประมาณ 94 เปอร์เซ็นต์ ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ (สุมิตร และคณะ, 2561) ปัจจุบันพบว่าผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ผลิตภายในประเทศมีปริมาณไม่เพียงพอกับความต้องการของตลาดในประเทศ จึงต้องนำเข้าจากต่างประเทศ โดยในปี 2562 ประเทศไทยมีการนำเข้าข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จำนวน 681,459 ตัน มูลค่ารวม 4,772.33 ล้านบาท เพิ่มขึ้นจากปี 2560 ที่มีการนำเข้าเพียง 96,428 ตัน มูลค่ารวม 579.34 ล้านบาท ในขณะที่ความต้องการข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น แต่พื้นที่ปลูกมีแนวโน้มลดลง โดยในปีเพาะปลูกปี 2562/63 มีพื้นที่ปลูกข้าวโพด 6,533,971 ไร่ ลดลงจากปีการเพาะปลูก 2560/61 ที่มีพื้นที่ปลูก 6,579,194 ไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2563) เนื่องจากภาคอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์มีการขยายตัวเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ความต้องการใช้ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ เพื่อเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์เพิ่มขึ้น ในงานวิจัยนี้ จึงได้ทำการสำรวจ สัมภาษณ์เกษตรกร และสุ่มเก็บตัวอย่างดิน น้ำ ตะกอนดิน และข้าวโพด ในแปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ โดยเลือกพื้นที่ทำการทดลองในภาคกลาง ที่อำเภอแก่งคอย และอำเภอพระพุทธบาท จังหวัดสระบุรี มีเนื้อที่เพาะปลูกประมาณ 190,451 ไร่ เนื้อที่เก็บ

เกี่ยว 190,263 ไร่ ให้ผลผลิต 145,970 ตัน ผลผลิตเฉลี่ย 766 กิโลกรัมต่อไร่ และอำเภอหนองม่วง จังหวัดลพบุรี เนื้อที่เพาะปลูกประมาณ 262,295 ไร่ เนื้อที่เก็บเกี่ยว 262,459 ไร่ ให้ผลผลิต 193,985 ตัน ผลผลิตเฉลี่ย 738 กิโลกรัมต่อไร่ พันธุ์ที่เกษตรกรนิยมปลูกได้แก่ CPDK 888, ไพโอเนีย และ NK 48 โดยเกษตรกรจะปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 2 รุ่น รุ่นที่ 1 จะนิยมปลูกในฤดูฝน ตั้งแต่เดือนพฤษภาคมถึงตุลาคม ผลผลิตเก็บเกี่ยวในช่วงเดือนกันยายน และรุ่นที่ 2 จะนิยมปลูกในฤดูแล้ง เดือนพฤศจิกายนถึงเมษายน ผลผลิตจะเก็บเกี่ยวในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ ซึ่งเกษตรกรผู้ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จะปลูกต่อเนื่องตลอดปี และมักพบปัญหาวัชพืช โรค และแมลงศัตรูพืช โดยเฉพาะวัชพืชก่อนปลูก เช่น หญ้าแห้วหมู หญ้าตีนกา หญ้าคา และหญ้าขจรจบดอกเล็ก ขึ้นอย่างหนาแน่น เนื่องจากแปลงมีขนาดใหญ่ เกษตรกรจึงเลือกใช้สารกำจัดวัชพืช atrazine ซึ่งอาจพบการตกค้างในสิ่งแวดล้อม เช่น ดิน และแหล่งน้ำ โดยเฉพาะภายในแปลงปลูกที่เกษตรกรสัมผัสโดยตรงขณะปฏิบัติงานภายในแปลง

ดังนั้น การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อประเมินความเสี่ยงจากการได้รับสารกำจัดวัชพืช atrazine ในสิ่งแวดล้อมต่อสุขภาพเกษตรกร และประเมินผลกระทบของสารกำจัดวัชพืช atrazine ที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม โดยข้อมูลที่ได้จากการศึกษา จะนำไปใช้ในการวางแผนผลกระทบต่อสุขภาพที่อาจเกิดขึ้นในอนาคต ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อนักวิจัย และเป็นข้อมูลสำหรับกรมวิชาการเกษตร สามารถนำข้อมูลไปศึกษาต่อยอดเพื่อใช้ในการกำหนดนโยบายสาธารณะของหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง โดยมุ่งเน้นเพื่อการแก้ไขปัญหาผลกระทบต่อสุขภาพที่อาจเกิดขึ้นต่อเกษตรกร และสิ่งแวดล้อม เพื่อใช้ประกอบการพิจารณาบริหารจัดการควบคุมวัตถุมีพิษทางการเกษตรที่มีอันตราย ในการเข้มงวดการใช้ การจำกัดการใช้ หรือการห้ามใช้ เพื่อความปลอดภัยของผู้ใช้ ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อมต่อไป

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในแปลงทดลอง ได้แก่ อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างน้ำ และตะกอน ได้แก่ แครงตักน้ำและตะกอน ขวดพลาสติกชนิด PTFE ใส่ตัวอย่างน้ำ เครื่องมือเก็บตัวอย่างดิน (soil auger) และถุงพลาสติกใส่ตัวอย่างดิน เครื่องมือเก็บตัวอย่างดิน (soil auger) และถุงพลาสติกใส่ตัวอย่างดิน เครื่องมือวัดคุณภาพน้ำ และ เครื่องมือที่มีระบบระบุตำแหน่งบนพื้นโลกด้วยดาวเทียม (Global Positioning System; GPS)

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

3. เครื่องแก้วที่ใช้ในการเตรียมสารมาตรฐาน ได้แก่ auto pipette volumetric pipette และ volumetric flask class A

4. สารเคมี ได้แก่ สารมาตรฐานของอะทราซีน (atrazine) $C_8H_{14}ClN_5$ 99.5%, acetonitrile ($CH_3CN$), hexane ($C_6H_{14}$), acetone ($C_3H_6O$), ethyl acetate ($C_4H_8O_2$), anhydrous magnesium sulfate ($Mg_2SO_4$) เผาที่ 500 $^{o}$C นาน 5 ชั่วโมง, sodium chioride (NaCl), sodium hydroxide (NaOH), trisodium citrate dehydrate ($C_6H_5Na_3O_7.2H_2O$), disodium hydrogencitrate sesquihydrate ($C_6H_6Na_2O_7.1.5H_20$), primary secondary amines (PSA) และ น้ำกลั่น (distilled water)

5. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้า (electrical balances) ชนิดทศนิยม 5 ตำแหน่ง และ 2 ตำแหน่งที่สอบเทียบแล้ว ตู้เย็นแช่แข็ง (Deep Freezer) ที่ควบคุมอุณหภูมิได้ที่ -20 องศาเซลเซียส เครื่องบดตัวอย่าง (Food processor) เตาเผา (muffle furnace) ตู้อบ (hot air oven) เครื่องผสมตัวอย่าง (vortex mixer) เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) พร้อมด้วย adapter สำหรับหลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร เครื่องลดปริมาตร (Rotary Evaporator) เครื่องลดปริมาตรโดยการเป่าด้วยแก๊สไนโตรเจน (nitrogen evaporator) เครื่องเขย่าสำหรับสกัดตัวอย่างน้ำ (separatory funnel shaker) เครื่องเขย่าสำหรับสกัดตัวอย่างดิน (ultra sonic bath) เครื่อง Gas Chromatograph (GC) บริษัท Agilent technologies รุ่น 7890B ซึ่งมีหัวตรวจวัดชนิด Nitrogen-Phosphorus Detector (GC-NPD)

## วิธีการ

**1. การสำรวจและกำหนดจุดเก็บตัวอย่าง**

เลือกพื้นที่ไร่ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ในจังหวัดสระบุรี และลพบุรี ประสานหน่วยงานในพื้นที่ เกษตรอำเภอ เพื่อขอข้อมูลและความร่วมมือระหว่างดำเนินการ ทำการสัมภาษณ์ และเก็บข้อมูลเกษตรกรผู้ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จำนวน 58 ราย ใน 3 อำเภอ 2 จังหวัด คือ อำเภอหนองม่วง จังหวัดลพบุรี อำเภอพุทธบาท และอำเภอแก่งคอย จังหวัดสระบุรี ได้ข้อมูลเกษตรกรที่มีความเสี่ยงจากการใช้สารกำจัดวัชพืช atrazine จำนวน 34 ราย กำหนดจุดเก็บตัวอย่างในพื้นที่ ใช้เครื่องมือที่มีระบบระบุตำแหน่งพื้นโลกด้วยดาวเทียม (Global Positioning System; GPS) ซึ่งงานวิจัยนี้ได้เก็บตัวอย่าง 2 ครั้ง ในฤดูแล้ง และฤดูฝน ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ และ กรกฎาคม 2564 ทำการเก็บตัวอย่างดิน น้ำ ตะกอนดิน และข้าวโพดในแปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จากอำเภอหนองม่วง จังหวัดลพบุรี จำนวน 39 แปลง อำเภอพุทธบาท และอำเภอแก่งคอย จังหวัดสระบุรี จำนวน 21 แปลง รวมทั้งหมด 60 แปลง

**2. วิธีการเก็บตัวอย่าง**

2.1 ตัวอย่างน้ำ ใช้แครงสุ่มตักตัวอย่างน้ำบริเวณบ่อหรือจุดรวบรวมน้ำสำหรับใช้ในแปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ให้เต็มขวดพลาสติก ขนาด 1 ลิตร จำนวน 2 ขวด ขณะนำส่งห้องปฏิบัติการให้แช่ตัวอย่างไว้ในถังน้ำแข็ง หากยังไม่สกัดตัวอย่างให้นำแช่ไว้ในตู้เย็น ถ้าน้ำมีลักษณะใสสะอาด สามารถนำไปสกัดได้ทันที แต่ถ้ามีความขุ่นหรือสกปรก ให้กรองผ่านกระดาษกรองเพื่อแยกสิ่งปนเปื้อนออกก่อนการตรวจวิเคราะห์ รวมทั้งตรวจวิเคราะห์ดัชนีคุณภาพน้ำจากค่าพารามิเตอร์ในน้ำ ได้แก่ อุณหภูมิของน้ำ ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำ (pH) การนำไฟฟ้า (Conductivity, µs/cm) ค่าของแข็งทั้งหมด (Total Dissolve Solid, ppm) และค่าออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolve Oxygen, mg/L)

2.2 ตัวอย่างดิน ใช้ soil auger หรือช้อนตักดิน สุ่มเก็บดินจากแหล่งปลูก ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างให้ทั่วแปลง (random sampling) แปลงละ 10 จุด รวมทั้งหมดจากทุกจุดเข้าเป็นตัวอย่างเดียวกัน แล้วเก็บในถุงพลาสติกบรรจุให้ได้น้ำหนัก 1 กิโลกรัม ขณะนำส่งห้องปฏิบัติการให้แช่ตัวอย่างไว้ในถังน้ำแข็ง หากยังไม่สกัดตัวอย่างให้นำแช่ไว้ในตู้เย็นหรือตู้แช่แข็ง หรือถ้าตัวอย่างมีความชื้นสูง นำไปผึ่งในถาดที่อุณหภูมิห้อง ให้มีความชื้นประมาณ 10 - 20 เปอร์เซ็นต์ แล้วทุบให้ละเอียด หรือผสมคลุกเคล้าให้เข้ากันก่อนนำไปทดสอบ และหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นของตัวอย่างดิน

2.3 ตัวอย่างตะกอนดิน ใช้แครงสุ่มตักตัวอย่างตะกอนดินจากท้องน้ำบริเวณเดียวกับจุดเก็บน้ำให้ได้ประมาณ 0.5-1 กิโลกรัม นำใส่ในขวดแก้วที่มีฝาปิดสนิท หุ้มด้วยกระดาษหรือวัสดุกันกระแทกใส่ลงถุงพลาสติกขณะนำส่งห้องปฏิบัติการให้แช่ตัวอย่างไว้ในถังน้ำแข็ง หากยังไม่สกัดตัวอย่างให้นำแช่ไว้ในตู้เย็น

2.4 ตัวอย่างข้าวโพด สุ่มเก็บตัวอย่างปริมาณ 2 กิโลกรัม นำใส่ในถุงพลาสติก ขณะนำส่งห้องปฏิบัติการให้แช่ตัวอย่างไว้ในถังน้ำแข็ง หากยังไม่สกัดตัวอย่างให้นำแช่ไว้ในตู้เย็นหรือตู้แช่แข็ง เมื่อจะทำการเตรียมตัวอย่างให้นำออกจากตู้เย็นหรือตู้แช่แข็งตั้งไว้ให้ได้อุณหภูมิห้อง จากนั้นเตรียมตัวอย่างโดยหั่นตัวอย่างข้าวโพดเป็นชิ้นเล็กๆ นำไปปั่นละเอียดด้วยเครื่องปั่นย่อย (Food Processer) ก่อนนำไปทดสอบ

**3. วิธีการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างในห้องปฏิบัติการ**

ตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารพิษตกค้างประเภทสารกำจัดวัชพืชด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟฟีด้วยเครื่อง Gas chromatography ชนิดตัวตรวจวัด Nitrogen Phosphorus detector (GC-NPD) โดยวิธีการตรวจวิเคราะห์มีดังนี้

**3.1 การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในตัวอย่างน้ำ**

สกัดตัวอย่างน้ำ โดยใช้วิธี In-house method based on EPA method 8141A, rev.1, 1994. (U.S. EPA, 1994) ตวงตัวอย่างน้ำปริมาตร 800 มิลลิลิตรใส่ใน separatory funnel ขนาด 1000 มิลลิลิตร เติม ethyl acetate (AR) 100 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน หลังจากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่อง separatory funnel shaker นาน 3 นาที ทิ้งไว้ให้แยกชั้น ไขเก็บชั้น ethyl acetate ผ่านกระดาษกรองที่บรรจุ sodium sulfate ไว้ด้านบน ทำการสกัดซ้ำอีก 2 ครั้งด้วย ethyl acetate (AR) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ล้างด้วย ethyl acetate (AR) 2 ครั้งๆ ละ 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปลด

ปริมาตรด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ระเหยจนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรด้วย ethyl acetate (PR) ปริมาตร 1 มิลลิลิตรใส่ในขวด vial นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Chromatography ชนิดตัวตรวจวัด Nitrogen-Phosphorus Detector (GC-NPD)

**3.2 การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในตัวอย่างดินและตะกอนดิน**

(1) การหาความชื้นในตัวอย่างดิน (Back, 1965) นำตัวอย่างดินที่ชั่งใส่ใน petri dish ที่มีฝาปิด นำเข้าอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 ± 5 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แล้วนำออกมาวางใส่โถดูดความชื้น (desiccator) ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ชั่งและบันทึกน้ำหนักตัวอย่างดินพร้อม petri dish และนำตัวอย่างอบต่ออีกประมาณ 3 - 4 ชั่วโมง แล้วนำออกใส่โถดูดความชื้น (desiccator) ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ชั่งและบันทึกน้ำหนักครั้งที่ 2 ถ้าน้ำหนักที่หายไปจากการอบครั้งที่ 1 และ 2 แตกต่างกันไม่เกิน 1 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าน้ำระเหยออกจากตัวอย่างหมดแล้ว ถ้ามากกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ จะต้องนำไปอบต่อ 3 - 4 ชั่วโมง จนกระทั่งน้ำหนักที่หายไปแตกต่างกันไม่เกิน 1 เปอร์เซ็นต์ จึงจะนำไปคำนวณหาความชื้นและน้ำหนักตะกอนแห้ง

(2) สกัดตัวอย่างดินและตะกอนดิน ประยุกต์ใช้วิธี ultrasonic (Babic *et. al.*, 1998) นำตัวอย่างดินและตะกอนที่ชั่งไว้น้ำหนัก 20 ± 0.05 กรัม ในขวด erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร เติม ethyl acetate (AR) 75 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วย voter mixer นาน 1 นาที นำไปใส่ในเครื่อง ultra sonic bath เป็นเวลา 25 นาที หลังจากนั้นยกลงตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน แล้วกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 ที่บรรจุ sodium sulfate ไว้ด้านบน ล้างด้วย ethyl acetate (AR) 2 ครั้งๆ ละ 20 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปลดปริมาตรด้วยเครื่อง rotary evaporator อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ระเหยจนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรด้วย ethyl acetate (PR) ปริมาตร 2 มิลลิลิตรใส่ในขวด vial นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Chromatography ชนิดตัวตรวจวัด Nitrogen-Phosphorus Detector (GC-NPD)

**3.3 การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในตัวอย่างข้าวโพด**

สกัดตัวอย่างข้าวโพด ประยุกต์ใช้วิธี EN Extraction: EN Method 15662 (Zeying *et al.*, 2015) นำตัวอย่างข้าวโพดที่ชั่งไว้น้ำหนัก 5 ± 0.05 กรัม ในหลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำ (purified water) 10 มิลลิลิตร จากนั้นเติม ceramic ทำการเขย่าให้เข้ากันด้วย voter mixer นาน 1 นาที ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที จากนั้นเติม acetonitrile 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วย voter mixer นาน 1 นาที เติมสารสกัด anhydrous magnesium sulfate (anh.$MgSO_4$) 4.0 กรัม และ 1 กรัม sodium citrate, 0.5 กรัม sodium hydrogencitrate sesquihydrate และ 1 กรัม sodium chloride (NaCl) เขย่า และ voter mixer เป็นเวลา 1 นาที นำสารละลายที่สกัดได้ไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ใช้ auto pipette ดูดสารละลายส่วนบน 6 มิลลิลิตร ใส่ใน centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร ที่มี 150 มิลลิกรัม PSA, 150 มิลลิกรัม C18 และ 900 มิลลิกรัม anhydrous magnesium sulfate (anh.$MgSO_4$) เขย่าให้เข้ากันด้วย voter mixer นาน 1 นาที นำสารละลายที่สกัดได้ไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ใช้ auto pipette ดูดสารละลายส่วนบน 3 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลอง นำไประเหยให้แห้งด้วยเครื่อง nitrogen evaporator อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และปรับปริมาตรด้วย ethyl acetate (PR) ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตรใส่ในขวด vial นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Chromatography ชนิดตัวตรวจวัด Nitrogen-Phosphorus Detector (GC-NPD)

**4. การคำนวณความเสี่ยงจากการได้รับสารกำจัดวัชพืช atrazine ในน้ำ ตะกอนดิน ดิน และข้าวโพดต่อสุขภาพของเกษตรกร**

ค่าความเสี่ยงประเมินจากดัชนีชี้วัดความเสี่ยง หรือดัชนีบ่งชี้ความอันตราย (HQ) มีเกณฑ์กำหนด คือ HQ มากกว่า 1 หมายถึง สารกำจัดวัชพืช atrazine ตกค้างอยู่ในระดับเสี่ยงต่อสุขภาพของเกษตรกร หาก HQ น้อยกว่าหรือเท่ากับ 1 แสดงว่าสารกำจัดวัชพืช atrazine ตกค้างอยู่ในระดับยอมรับได้ ค่า HQ ของสารที่พบตกค้างในดิน และน้ำ โดยค่า HQ คำนวณจากค่า ADD (ปริมาณค่าเฉลี่ยที่เกษตรกรได้รับสารป้องกันกำจัดวัชพืชต่อวัน) เทียบกับค่า RfD (ค่าอ้างอิง คือค่าปริมาณสารพิษที่น้อยสุดที่ร่างกายรับได้โดยไม่ทำให้เกิดอันตรายหรือเป็นพิษต่อร่างกาย) มีสมการคำนวณ ดังนี้

ADD = (Csoil*CF*IRsoil*EF*ED)/(BW*AT) .....(สมการ 1)

เมื่อ: ADD คือ ปริมาณสารพิษเฉลี่ยต่อวันจากสารกำจัดวัชพืช atrazine ตกค้างในดิน (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน),

Csoil คือ ความเข้มข้นของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้างในดินที่แปลงปลูกพืช (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม),

CF คือ unit conversion factor = $10^{-6}$ กิโลกรัมต่อมิลลิกรัม

IRsoil คือ อัตราการได้รับสารพิษที่ตกค้างในดิน (มิลลิกรัมต่อวัน), 200 มิลลิกรัมต่อวัน สำหรับเด็ก, 100 มิลลิกรัมต่อวัน สำหรับผู้ใหญ่ (US. EPA., 2008)

EF คือ ความถี่ของการสัมผัส (365 วัน/ปี),

ED คือ ระยะเวลาที่สัมผัส (years) สำหรับเด็กอายุ 6-12 ปี และ 70 ปี สำหรับผู้ใหญ่ (U.S. EPA.,2003)

BW คือ ค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัว (กิโลกรัม); สำหรับเด็กอายุ 6-12 ปี (33.38 กิโลกรัม), ผู้ใหญ่ (52 กิโลกรัม) จากค่าเฉลี่ยแบบสอบถาม

AT คือ ระยะเวลาที่ใช้เฉลี่ย (365 วัน) (EF*ED)

การคำนวณค่าความเสี่ยงจากสารพิษตกค้างได้จากค่า hazard quotient (HQ) ซึ่งคำนวณจาก ค่า ADD และค่า RfD ดังสมการต่อไปนี้:

HQ = ADD/RfD .....(สมการ 2)

เมื่อ: RfD คือ reference dose เฉพาะของสารกำจัดวัชพืช atrazine มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน ใช้ค่า RfD ตามข้อมูล Pesticide Properties Database (PPDB) (IUPAC,2019) และ IRIS Assessment (U.S. EPA, 2019)

เมื่อ HQ >1 หมายถึง สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้างอยู่ในระดับเสี่ยงต่อเกษตรกร

HQ <1 หมายถึง สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้างอยู่ในระดับยอมรับได้

**5. การคำนวณและวิเคราะห์ความเสี่ยงที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม**

การคำนวณดัชนีบ่งชี้ความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม (risk quotient, RQ) คำนวณจากสมการที่ 3 โดย RQ คือ ค่าความเสี่ยง (risk quotient, RQ), MEC (measured environment concentration) คือ ความเข้มข้นของสารที่วัดในสิ่งแวดล้อม และ PNEC (predicted no effect concentration) คือ ความเข้มข้นสูงสุดของสารที่ไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิต

RQ = MEC/PNEC .....(สมการ 3)

เกณฑ์การตัดสิน กำหนดให้ RQ ≤ 0.1 หมายถึง มีความเสี่ยงต่ำ

RQ >0.1 – 1.0 หมายถึง มีความเสี่ยงระดับปานกลาง

RQ >1 หมายถึง มีความเสี่ยงสูง

RQ >10 หมายถึง มีความเสี่ยงสูงมาก (U.S. EPA., 2014)

**การบันทึกข้อมูล**

1. ข้อมูลสารกำจัดวัชพืช atrazine ตกค้างในตัวอย่างน้ำ หน่วยเป็น ไมโครกรัมต่อลิตร (µg/L)
2. ตัวอย่างดิน ตะกอนดิน และข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ หน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (mg/kg) และร้อยละของจำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบสารพิษตกค้าง

**ระยะเวลา** เริ่มต้น เดือน ตุลาคม 2562 สิ้นสุด เดือน กันยายน 2564

**สถานที่ทำการทดลอง** 1) แปลงทดลองข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ในจังหวัดลพบุรี และสระบุรี

2) ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยผลกระทบจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

## ผลการทดลองและวิจารณ์

**1. ปริมาณสารกำจัดวัชพืช atrazine ตกค้างที่ตรวจพบในตัวอย่างดิน**

ได้สุ่มเก็บตัวอย่างดินครั้งที่ 1 ในฤดูแล้ง ช่วงเดือนกุมภาพันธ์ - มีนาคม 2564 จำนวน 60 ตัวอย่าง ตรวจพบสาร atrazine จำนวน 16 ตัวอย่าง (27%) ปริมาณ <0.03 – 0.92 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งปริมาณที่ตรวจพบการตกค้างสูงสุด เป็นตัวอย่างดินจากแปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ในอำเภอพุทธบาท จังหวัดสระบุรี และครั้งที่ 2 ในฤดูฝน ช่วงเดือนกรกฎาคม 2564 จำนวน 60 ตัวอย่าง ตรวจพบสาร atrazine จำนวน 28 ตัวอย่าง (47%) ปริมาณ <0.03 – 0.20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งปริมาณที่ตรวจพบการตกค้างสูงสุด เป็นตัวอย่างดินจากแปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ในอำเภอพุทธบาท จังหวัดสระบุรี สรุปผลการตรวจวิเคราะห์ในตัวอย่างดินทั้งหมด 120 ตัวอย่าง พบการตกค้าง 44 ตัวอย่าง (37%) ในฤดูฝนมากกว่าฤดูแล้ง (ตารางที่1) ซึ่งปริมาณ atrazine ที่ตรวจพบมีค่าต่ำกว่าเกณฑ์ค่าสูงสุดที่ยอมให้มีการปนเปื้อนของ atrazine ในดินเพื่อเกษตรกรรมของ กรมควบคุมมลพิษ (2547) (ไม่เกิน 22 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) สอดคล้องกับรายงานการตรวจพบ atrazine ในตัวอย่างดินพื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ในบริเวณลุ่มน้ำห้วยกะโปะ อำเภอน้ำหนาว จังหวัดเพชรบูรณ์ ในช่วงฤดูน้ำหลาก (เดือนสิงหาคม ถึงพฤศจิกายน 2551) พบ atrazine ตกค้างในดิน เฉลี่ย 133.59 - 183.23 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม (อรอนงค์ และคณะ, 2554)

**2. ปริมาณสารกำจัดวัชพืช atrazine ตกค้างที่ตรวจพบในตัวอย่างน้ำ และตะกอนดิน**

ได้สุ่มเก็บตัวอย่างน้ำครั้งที่ 1 ในฤดูแล้ง ช่วงเดือนกุมภาพันธ์ - มีนาคม 2564 จำนวน 22 ตัวอย่าง ตรวจพบสาร atrazine จำนวน 2 ตัวอย่าง (9%) ปริมาณ 0.05 – 91.73 ไมโครกรัมต่อลิตร ซึ่งปริมาณที่ตรวจพบการตกค้างสูงสุด เป็นตัวอย่างน้ำจากถังที่เกษตรกรใช้สำหรับผสมระหว่างพ่นสารในแปลงปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ในอำเภอพุทธบาท จังหวัดสระบุรี และครั้งที่ 2 ในฤดูฝน ช่วงเดือนกรกฎาคม 2564 จำนวน 18 ตัวอย่าง ตรวจพบสาร atrazine จำนวน 11 ตัวอย่าง (61%) ปริมาณ <0.02 – 5.94 ไมโครกรัมต่อลิตร ซึ่งปริมาณที่ตรวจพบการตกค้างสูงสุด เป็นตัวอย่างน้ำจากแปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ในอำเภอแก่งคอย จังหวัดสระบุรี สรุปผลการตรวจวิเคราะห์ในตัวอย่างน้ำทั้งหมด 40 ตัวอย่าง พบการตกค้าง 13 ตัวอย่าง (33%) ในฤดูฝนมากกว่าฤดูแล้ง (ตารางที่1) ซึ่งปริมาณ atrazine ที่ตรวจพบมีค่าสูงกว่าเกณฑ์ค่าสูงสุดที่ยอมให้มีการปนเปื้อนของ atrazine ในน้ำดื่มตามค่า maximum contamination level (MCL) ของ US.EPA (2018) (ไม่เกิน 3 ไมโครกรัมต่อลิตร) พบความเข้มข้นของ atrazine ในแหล่งน้ำมีปริมาณสูง จำนวน 2 แปลง ในอำเภอหนองม่วง จังหวัดลพบุรี ปริมาณ 4.62 ไมโครกรัมต่อลิตร และอำเภอแก่งคอย จังหวัดสระบุรี ปริมาณ 5.94 ไมโครกรัมต่อลิตร เนื่องจากสภาพพื้นที่แปลงปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีความลาดเอียง จึงเป็นไปได้ที่จะเกิดการเคลื่อนย้าย atrazine จากพื้นที่เพาะปลูกรอบๆ ที่มีการใช้สารดังกล่าวลงสู่แปลงปลูกที่มีความลาดต่ำกว่า นอกจากนี้ยังอาจเกิดจากการชะละลายหรือการไหลบ่าของน้ำจากบริเวณแปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ หรือซึมละลายไปกับน้ำในดินลงสู่แหล่งน้ำใต้ดิน เพราะสาร atrazine เป็นสารที่มีศักยภาพในการปนเปื้อนลงสู่น้ำใต้ดินได้ เนื่องจากเกษตรกรส่วนใหญ่ใช้น้ำบาดาลในการเพาะปลูก ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการตรวจพบ atrazine ในตัวอย่างน้ำจากวิทยาลัยชัยบาดาลพิพัฒน์ จังหวัดลพบุรี ทั้งสามฤดูในตัวอย่างน้ำ 10 ตัวอย่าง ในช่วง 0.14 - 0.82 ไมโครกรัมต่อลิตร (รัศมีและคณะ, 2558) เช่นเดียวกับ อรอนงค์ และคณะ (2554) ตรวจพบ atrazine ในตัวอย่างน้ำท่า บริเวณพื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ลุ่มน้ำห้วยกะโปะ อำเภอน้ำหนาว จังหวัดเพชรบูรณ์ ในช่วงฤดูน้ำหลาก (เดือนสิงหาคม ถึงพฤศจิกายน 2551) พบ atrazine ตกค้างในน้ำท่า 38 ตัวอย่าง (63%) มีค่าเฉลี่ย 4.70 ไมโครกรัมต่อลิตร และน้ำท่า 15 ตัวอย่าง (39%) (ไม่เกิน 3 ไมโครกรัมต่อลิตร) มีค่าสูงกว่าเกณฑ์ค่าสูงสุดที่ยอมให้มีการปนเปื้อนในน้ำ แต่ตรวจไม่พบสารกำจัดวัชพืช atrazine ในตัวอย่างตะกอนดินทั้ง 4 ตัวอย่าง

**3. ปริมาณสารกำจัดวัชพืช atrazine ตกค้างที่ตรวจพบในตัวอย่างข้าวโพดเลี้ยงสัตว์**

ได้สุ่มเก็บตัวอย่างข้าวโพดระยะเก็บเกี่ยวครั้งที่ 1 ในฤดูแล้ง ช่วงเดือนกุมภาพันธ์ - มีนาคม 2564 จำนวน 9 ตัวอย่าง และครั้งที่ 2 ในฤดูฝน ช่วงเดือนกรกฎาคม 2564 จำนวน 10 ตัวอย่าง เพื่อนำไปสกัดหาสารพิษตกค้าง atrazine ในข้าวโพดด้วยเครื่อง Gas Chromatography ชนิดตัวตรวจวัด Nitrogen-Phosphorus Detector (GC-NPD) ผลการตรวจวิเคราะห์ไม่พบสารพิษตกค้างในตัวอย่างข้าวโพดทั้งหมดที่ระดับ LOQ 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้อยกว่า

ค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL) ของ atrazine ในข้าวโพดเมล็ดแห้ง เท่ากับ 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2559) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Zeying *et al.* (2015) ในการสุ่มตรวจตัวอย่างสารกำจัดศัตรูพืช 200 ชนิด ในตัวอย่างข้าวโพด 20 ตัวอย่าง พบปริมาณสารพิษตกค้าง dichlorvos 9.58 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม แต่ไม่พบสารกำจัดวัชพืชในทุกตัวอย่าง

**ตารางที่ 1** ผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสาร atrazine ตกค้างตัวอย่างในดิน น้ำ ตะกอนดิน และข้าวโพด ในแปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จังหวัดนนทบุรีและสระบุรี

| ช่วงเวลา | ชนิดตัวอย่าง | ตัวอย่างทั้งหมด | ตรวจพบ | ปริมาณสาร atrazine* | ค่ามาตรฐาน |
|---|---|---|---|---|---|
| ครั้งที่ 1 | ดิน | 60 | 16 (27%) | <0.03 – 0.92 mg/kg | 22 mg/kg[1)] |
| เดือน ก.พ - มี.ค. 64 | น้ำ | 22 | 2 (9%) | 0.05 – 91.73 µg/L | 3[2),] ,2 [3)]µg/L |
| (ฤดูแล้ง) | ตะกอนดิน | 2 | 0 (0%) | ND | - |
| | ข้าวโพด | 9 | 0 (0%) | ND | 0.1 mg/kg[4)] |
| ครั้งที่ 2 | ดิน | 60 | 28 (47%) | <0.03 – 0.20 mg/kg | 22 mg/kg[1)] |
| เดือน ก.ค. 64 | น้ำ | 18 | 11 (61%) | <0.02 – 5.94 µg/L | 3[2),] 2 [3)]µg/L |
| (ฤดูฝน) | ตะกอนดิน | 2 | 0 (0%) | ND | - |
| | ข้าวโพด | 10 | 0 (0%) | ND | 0.1 mg/kg[4)] |
| **รวมจำนวนตัวอย่างทั้งหมด** | | **183** | **59 (32%)** | | |

***หมายเหตุ** : น้ำ : ปริมาณที่พบหน่วยเป็นไมโครกรัมต่อลิตร (µg/L), ดิน : ปริมาณที่พบหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (mg/kg)
ND : not detected คือ ตรวจไม่พบ

1) ค่ามาตรฐานคุณภาพดิน ในดินเพื่อเกษตรกรรม กำหนดค่า atrazine เท่ากับ 22 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (mg/kg) (กรมควบคุมมลพิษ, 2547)

2) ค่ามาตรฐานคุณภาพน้ำดื่มที่สำนักงานปกป้องสิ่งแวดล้อม (Environmental Protection Agency, EPA) กำหนดไว้ในน้ำดื่มตามค่า maximum contamination level (MCL) ของ atrazine เท่ากับ 3 ไมโครกรัมต่อลิตร (µg/L) (US. EPA., 2018)

3) ค่ามาตรฐานเกณฑ์เสนอแนะคุณภาพน้ำบริโภคเพื่อการเฝ้าระวัง กรมอนามัย พ.ศ. 2563 กำหนดไวในพื้นที่เกษตรกรรม (สารฆ่าศัตรูพืชและสัตว์) ของ atrazine เท่ากับ 2 ไมโครกรัมต่อลิตร (µg/L) (กรมอนามัย, 2563)

4) ค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL) ของ atrazine ในข้าวโพดเมล็ดแห้ง เท่ากับ 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (mg/kg) (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2559)

**4. การประเมินความเสี่ยงสารกำจัดวัชพืช atrazine ตกค้างต่อสุขภาพของเกษตรกรในวัยเด็ก และผู้ใหญ่**

**1) ความเสี่ยงของสารกำจัดวัชพืช atrazine ตกค้างที่ตรวจพบในตัวอย่างดิน**

เมื่อนำผลการตรวจวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืช atrazine ตกค้างในดิน จากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 1 ในฤดูแล้ง (กุมภาพันธ์ – มีนาคม) และครั้งที่ 2 ในฤดูฝน (กรกฎาคม) มาคำนวณค่า HQ เพื่อประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพของเกษตรกรผู้ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ในช่วงอายุ 6 – 12 ปี และ 70 ปี พบว่าในฤดูแล้งมีค่า HQ มากกว่าฤดูฝน เท่ากับ $1.57 \times 10^{-4}$ และ $5.06 \times 10^{-5}$ ซึ่งเป็นแปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในอำเภอพุทธบาท จังหวัดสระบุรี ซึ่งค่า HQ จากการคำนวณใน ตารางที่ 2 พบว่าความเสี่ยงอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ (HQ < 1) ดังนั้นการประเมินความเสี่ยงสารกำจัดวัชพืช atrazine ตกค้างในดินแปลงปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต่อสุขภาพเกษตรกรในช่วงอายุ 6 – 12 ปี และ 70 ปี สรุปได้ว่าการใช้สารกำจัดวัชพืช atrazine ไม่มีความเสี่ยงต่อสุขภาพของเกษตรกร

**ตารางที่ 2** การประเมินความเสี่ยงสารกำจัดวัชพืช atrazine ตกค้างในดินแปลงปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต่อสุขภาพเกษตรกร ช่วงฤดูแล้งและฤดูฝน

| Season | Age | maize fields | atrazine (mg/kg) | ADD[1] (mg/kg-day) | RfD[2] (mg/kg-day) | HQ = ADD[3] / RfD | Health risk |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Dry season | Child | 25 | 0.11 | $6.59 \times 10^{-7}$ | 0.035 | $1.88 \times 10^{-5}$ | accept |
| | | 26 | 0.32 | $1.92 \times 10^{-6}$ | 0.035 | $5.48 \times 10^{-5}$ | accept |
| | | 51 | 0.92 | $5.52 \times 10^{-6}$ | 0.035 | $1.57 \times 10^{-4}$ | accept |
| | | 53 | 0.06 | $3.60 \times 10^{-7}$ | 0.035 | $1.03 \times 10^{-5}$ | accept |
| | | 57 | 0.51 | $3.06 \times 10^{-6}$ | 0.035 | $8.74 \times 10^{-5}$ | accept |
| | Adult | 25 | 0.11 | 6.59 x 10-7 | 0.035 | 1.88 x 10-5 | accept |
| | | 26 | 0.32 | 1.92 x 10-6 | 0.035 | 5.48 x 10-5 | accept |
| | | 51 | 0.92 | 5.52 x 10-6 | 0.035 | 1.57 x 10-4 | accept |
| | | 53 | 0.06 | 3.60 x 10-7 | 0.035 | 1.03 x 10-5 | accept |
| | | 57 | 0.51 | 3.06 x 10-6 | 0.035 | 8.74 x 10-5 | accept |
| Wet season | Child | 16 | 0.05 | 2.99 x 10-7 | 0.035 | 8.55 x 10-6 | accept |
| | | 28 | 0.19 | 1.14 x 10-8 | 0.035 | 3.25 x 10-5 | accept |
| | | 34 | 0.18 | 1.08 x 10-6 | 0.035 | 3.08 x 10-5 | accept |
| | | 40 | 0.20 | 1.20 x 10-6 | 0.035 | 3.42 x 10-5 | accept |
| | | 45 | 0.03 | 1.80 x 10-7 | 0.035 | 5.14 x 10-6 | accept |
| | | 49 | 0.03 | 1.80 x 10-7 | 0.035 | 5.14 x 10-6 | accept |
| | | 57 | 0.03 | 1.80 x 10-7 | 0.035 | 5.14 x 10-6 | accept |
| | Adult | 16 | 0.05 | 9.61 x 10-8 | 0.035 | 2.75 x 10-6 | accept |
| | | 28 | 0.19 | 3.65 x 10-7 | 0.035 | 1.04 x 10-5 | accept |
| | | 34 | 0.18 | 3.46 x 10-7 | 0.035 | 9.89 x 10-6 | accept |
| | | 40 | 0.20 | 3.85 x 10-7 | 0.035 | 1.10 x 10-5 | accept |
| | | 45 | 0.03 | 5.77 x 10-8 | 0.035 | 1.65 x 10-6 | accept |
| | | 49 | 0.03 | 5.77 x 10-8 | 0.035 | 1.65 x 10-6 | accept |
| | | 57 | 0.03 | 5.77 x 10-8 | 0.035 | 1.65 x 10-6 | accept |

**หมายเหตุ** : ช่วงอายุที่นำมาใช้ในการประเมินอายุ 6 -12 ปี และ 70 ปี
น้ำหนักเฉลี่ยที่นำมาใช้ในการประเมินเท่ากับ 33.38 กิโลกรัม และ 52 กิโลกรัม

1) ADD คือ ปริมาณสารพิษเฉลี่ยต่อวันจากสารกำจัดวัชพืช atrazine ตกค้างในดิน
2) Rfd คือ reference dose เฉพาะของสารกำจัดวัชพืช atrazine
3) HQ คือ ค่าความเสี่ยงประเมินจากดัชนีชี้วัดความเสี่ยง

**2) ความเสี่ยงของสารกำจัดวัชพืช atrazine ตกค้างที่ตรวจพบในตัวอย่างน้ำ**

เมื่อนำผลการตรวจวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืช atrazine ตกค้างในน้ำ จากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 1 ในฤดูแล้ง (กุมภาพันธ์ – มีนาคม) และครั้งที่ 2 ในฤดูฝน (กรกฎาคม) มาคำนวณค่า HQ เพื่อประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพของเกษตรกรผู้ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ในช่วงอายุ 6 – 12 ปี และ 70 ปี พบว่าในฤดูแล้งมีค่า HQ มากกว่าฤดูฝน เท่ากับ $0.60 \times 10^{-1}$ และ $0.50 \times 10^{-1}$ ซึ่งเป็นแปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในอำเภอพุทธบาท จังหวัดสระบุรี ซึ่งค่า HQ จากการคำนวณในตารางที่ 3 พบว่าความเสี่ยงอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ (HQ < 1) ดังนั้นการประเมินความเสี่ยงสารกำจัดวัชพืช atrazine ตกค้างในน้ำแปลงปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต่อสุขภาพเกษตรกรในช่วงอายุ 6 – 12 ปี และ 70 ปี สรุปได้ว่าการใช้สารกำจัดวัชพืช atrazine ไม่มีความเสี่ยงต่อสุขภาพของเกษตรกร

**ตารางที่ 3** การประเมินความเสี่ยงสารกำจัดวัชพืช atrazine ตกค้างในน้ำแปลงปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต่อสุขภาพเกษตรกร ช่วงฤดูแล้งและฤดูฝน

| Season | Age | maize fields. | atrazine (ug/L) | ADD[1)] (mg/kg-day) | RfD[2)] (mg/kg-day) | HQ =ADD[3)] RfD | Health risk |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Dry season | Child | 50 | 0.09 | $2.05 \times 10^{-3}$ | 0.035 | $0.60 \times 10^{-1}$ | accept |
| | | 51 | $0.5 \times 10^{-4}$ | $1.12 \times 10^{-6}$ | 0.035 | $3.20 \times 10^{-5}$ | accept |
| | Adult | 50 | 0.09 | $1.66 \times 10^{-3}$ | 0.035 | $0.50 \times 10^{-1}$ | accept |
| | | 51 | $0.5 \times 10^{-4}$ | $9.07 \times 10^{-7}$ | 0.035 | $2.59 \times 10^{-5}$ | accept |
| Wet season | Child | 23 | 1.9 x 10-3 | 4.24 x 10-6 | 0.035 | 1.21 x 10-3 | accept |
| | | 25 | 2.6 x 10-3 | 5.80 x 10-6 | 0.035 | 1.66 x 10-3 | accept |
| | | 34 | 4.6 x 10-2 | 1.03 x 10-3 | 0.035 | 2.94 x 10-2 | accept |
| | | 36 | 2.0 x 10-4 | 4.46 x 10-7 | 0.035 | 1.27 x 10-4 | accept |
| | | 40 | 6.9 x 10-3 | 1.54 x 10-5 | 0.035 | 4.40 x 10-3 | accept |
| | | 42 | 5.9 x 10-2 | 1.33 x 10-3 | 0.035 | 3.79 x 10-2 | accept |
| | | 45 | 2.7 x 10-3 | 6.03 x 10-6 | 0.035 | 1.72 x 10-3 | accept |
| | | 51 | 2.8 x 10-2 | 6.32 x 10-5 | 0.035 | 1.80 x 10-2 | accept |
| | | 58 | 1.4 x 10-2 | 3.13 x 10-5 | 0.035 | 8.92 x 10-3 | accept |
| | | 60 | 1.9 x 10-2 | 4.37 x 10-5 | 0.035 | 1.25 x 10-2 | accept |
| | Adult | 23 | 1.9 x 10-3 | 4.01 x 10-5 | 0.035 | 1.14 x 10-2 | accept |
| | | 25 | 2.6 x 10-3 | 5.50 x 10-5 | 0.035 | 1.57 x 10-2 | accept |
| | | 34 | 4.6 x 10-2 | 8.38 x 10-5 | 0.035 | 2.39 x 10-2 | accept |
| | | 36 | 2.0 x 10-4 | 3.63 x 10-7 | 0.035 | 1.04 x 10-4 | accept |
| | | 40 | 6.9 x 10-3 | 1.25 x 10-5 | 0.035 | 3.57 x 10-3 | accept |
| | | 42 | 5.9 x 10-2 | 1.08 x 10-3 | 0.035 | 3.08 x 10-2 | accept |
| | | 45 | 2.7 x 10-3 | 4.90 x 10-6 | 0.035 | 1.40 x 10-3 | accept |
| | | 51 | 2.8 x 10-2 | 5.13 x 10-5 | 0.035 | 1.46 x 10-2 | accept |
| | | 58 | 1.4 x 10-2 | 2.54 x 10-5 | 0.035 | 7.25 x 10-3 | accept |
| | | 60 | 1.9 x 10-2 | 3.55 x 10-5 | 0.035 | 1.01 x 10-2 | accept |

**หมายเหตุ** : ช่วงอายุที่นำมาใช้ในการประเมินอายุ 6 -12 ปี และ 70 ปี
น้ำหนักเฉลี่ยที่นำมาใช้ในการประเมินเท่ากับ 33.38 กิโลกรัม และ 52 กิโลกรัม

1) ADD คือ ปริมาณสารพิษเฉลี่ยต่อวันจากสารกำจัดวัชพืช atrazine ตกค้างในดิน
2) Rfd คือ reference dose เฉพาะของสารกำจัดวัชพืช atrazine
3) HQ คือ ค่าความเสี่ยงประเมินจากดัชนีชี้วัดความเสี่ยง

**5. ผลกระทบของสารกำจัดวัชพืช atrazine ต่อสิ่งแวดล้อม**

นำผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารกำจัดวัชพืช atrazine ตกค้างในดินและน้ำที่พบปริมาณต่ำสุดและสูงสุด มาคำนวณค่า RQ เพื่อประเมินผลกระทบของสารกำจัดวัชพืช atrazine ตกค้างในดินและน้ำแปลงปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในฤดูแล้ง โดยในดินมีค่า RQ เท่ากับ $0.6 \times 10^{-2}$ - $9.2 \times 10^{-1}$ และในฤดูฝน มีค่า RQ เท่ากับ $0.3 \times 10^{-2}$ - $0.2 \times 10^{-1}$ ซึ่งค่า RQ จาก ตารางที่ 4 พบว่าความเสี่ยงอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ (RQ < 1) ในน้ำ ฤดูแล้ง มีค่า RQ เท่ากับ $0.5 \times 10^{-2}$ - 9.17 และ ในฤดูฝน มีค่า RQ เท่ากับ $0.2 \times 10^{-2}$ - $5.9 \times 10^{-1}$ ซึ่งค่า RQ จาก ตารางที่ 5 พบว่ามีความเสี่ยง (RQ > 1) ดังนั้นการประเมินผลกระทบของสารกำจัดวัชพืช atrazine ตกค้างในดินและน้ำแปลงปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในฤดูแล้ง สรุปได้ว่าในดินมีความเสี่ยงอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ และในน้ำมีความเสี่ยงส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

**ตารางที่ 4** การประเมินผลกระทบของสารกำจัดวัชพืช atrazine ตกค้างในดินแปลงปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

| Season | Herbicides | MEC minimal[1)] (mg/kg) | MEC ex[1)] (mg/kg) | PNEC-soil[2)] (mg/kg) | RQ m[3)] | RQ ex[3)] |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Dry season | atrazine | 0.06 | 0.92 | 10 | $0.6 \times 10^{-2}$ | $9.2 \times 10^{-1}$ |
| Wet season | atrazine | 0.03 | 0.20 | 10 | $0.3 \times 10^{-2}$ | $0.2 \times 10^{-1}$ |

**หมายเหตุ** : 1) MEC (measured environment concentration) คือ ความเข้มข้นของสารที่วัดในสิ่งแวดล้อม
2) PNEC (predicted no effect concentration) คือ ความเข้มข้นสูงสุดของสารที่ไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิต
3) RQ ((risk quotient) คือ ดัชนีบ่งชี้ความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม

**ตารางที่ 5** การประเมินผลกระทบของสารกำจัดวัชพืช atrazine ตกค้างในน้ำแปลงปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

| Season | Herbicides | MEC minimal[1)] (µg/L) | MEC ex[1)] (µg/L) | PNEC-water[2)] (µg/L) | RQ m[3)] | RQ ex[3)] |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Dry season | atrazine | 0.05 | 91.73 | 10 | $0.5 \times 10^{-2}$ | 9.17 |
| Wet season | atrazine | 0.02 | 5.94 | 10 | $0.2 \times 10^{-2}$ | $5.9 \times 10^{-1}$ |

**หมายเหตุ** : 1) MEC (measured environment concentration) คือ ความเข้มข้นของสารที่วัดในสิ่งแวดล้อม
2) PNEC (predicted no effect concentration) คือ ความเข้มข้นสูงสุดของสารที่ไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิต
3) RQ (risk quotient) คือ ดัชนีบ่งชี้ความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

การประเมินผลกระทบสารกำจัดวัชพืช atrazine ตกค้างในไร่ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ในพื้นที่อำเภอหนองม่วง จังหวัดลพบุรี อำเภอพุทธบาท และอำเภอแก่งคอย จังหวัดสระบุรี สรุปได้ว่า ผลการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ atrazine ตกค้างในตัวอย่างดิน และน้ำ รวมทั้งหมด 59 ตัวอย่าง ซึ่งพบการตกค้างสูงสุดในฤดูแล้ง จากแปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในอำเภอพุทธบาท จังหวัดสระบุรี ในตัวอย่างตะกอนและข้าวโพดไม่พบการตกค้างในทุกตัวอย่าง และเมื่อนำมาประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพ พบว่าอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ และประเมินผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม พบน้ำในฤดูแล้งมีความเสี่ยง ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในไร่ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จากข้อมูลทำให้ทราบว่า เกษตรกรยังมีการใช้สารกำจัดวัชพืชในปริมาณมากในไร่ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ดังนั้นจึงควรมีการเก็บข้อมูลการใช้สารของเกษตรกร รวมถึงสำรวจเก็บตัวอย่างที่ต่อเนื่องเพื่อเป็นการเฝ้าระวังการใช้สารให้มีความปลอดภัยต่อผู้ใช้ ผู้บริโภค สิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม เพื่อลดความเสี่ยงต่อการได้รับสัมผัสสารกำจัดวัชพืชตกค้างของเกษตรกร

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. เพื่อติดตามตรวจสอบสถานการณ์การตกค้างของกำจัดวัชพืช atrazine ตกค้าง จากการใช้สารในบริเวณแหล่งปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ในจังหวัดลพบุรี และสระบุรี
2. เพื่อเป็นข้อมูลทางวิชาการแก่นักศึกษา นักวิชาการใช้ประกอบในการทำวิจัยด้านสารพิษตกค้าง
3. ถ่ายทอดองค์ความรู้จากการวิจัยโดยการเผยแพร่ในรายงานผลการวิจัยประจำแต่ละปี และรายงานการประชุมวิชาการกรมวิชาการเกษตร

# เอกสารอ้างอิง


กรมควบคุมมลพิษ. 2547.ประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ 25 (พ.ศ. 2547) ออกตามความในพระราชบัญญัติส่งเสริมและรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ พ.ศ. 2535 เรื่อง กำหนดมาตรฐานคุณภาพดิน. ***ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 121 ตอนพิเศษ 119 ง***, ลงวันที่ 20 ตุลาคม 2547.

กรมอนามัย. 2563. “ประกาศกรมอนามัย เรื่อง เกณฑ์เสนอแนะคุณภาพน้ำบริโภคเพื่อการเฝ้าระวัง กรมอนามัย พ.ศ. 2563”. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา https://www.krc.go.th/files/com_service_new1/2020-08_5db9e45ed4a3fbf.pdf (11 กุมภาพันธ์ 2565).

กลุ่มวิจัยวัชพืช. 2554. ***คำแนะนำการป้องกันกำจัดวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืชปี 2554***. สำนักวิจัยการพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 133 น.

จารุพงศ์ ประสพสุข , สุวิทย์ เลาหศิริวงศ์ , อรุณี พรมคำบุตร และ ชุลีมาศ บุญไทย อิวาย. 2562. การประเมินความเสี่ยงสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้างในดินต่อสุขภาพของเกษตรกร ผู้ปลูกคะน้าในจังหวัดขอนแก่น.***วารสารวิชาการเกษตร ปีที่ 37*** ฉบับที่ 3 กันยายน – ธันวาค***ม.*** น. 278 - 285.

รัศมี แสงศิริมงคลยิ่ง, มลิสา เวชยานนท์, ปภัสรา คุณเลิศ และพรชนก ชโลปกรณ์. 2558. การศึกษาการปนเปื้อนของสารกำจัดศัตรูพืชสู่สิ่งแวดล้อมในวิทยาลัยชัยบาดาลพิพัฒน์. ***วารสารวิจัยราชภัฏพระนคร ปีที่ 10*** ฉบับที่ 2 กรกฎาคม-ธันวาคม 2558. น. 22 – 37.

สุมิตร วิลัยพรม, ทวีพงษ์ ณ น่าน, ฉัตรสุดา เชิงอักษร และ ชัยกฤต พรมมา. 2561. ทดสอบการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์นครสวรรค์ 3 ในจังหวัดน่าน และจังหวัดเชียงใหม่. ***วารสารวิชาการเกษตร ปีที่ 36*** ฉบับที่ 2 พฤษภาคม - สิงหาคม 2561. น. 163 – 173.

สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2563. “รายงานสรุปการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตรปี พ.ศ. 2563”. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www.doa.go.th/ard/wp content /uploads /2019 /04 /HASTAT58_01 (3 พฤศจิกายน 2564).

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2563. ***สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี 2563***. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.กรุงเทพฯ. 206 น.

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559.“ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด” [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา https://www.acfs.go.th/standard/download/MAXIMUM-RESIDUE-LIMITS.pdf (11 กุมภาพันธ์ 2565).

อรอนงค์ ผิวนิล, ศุภมาศ พนิชศักดิ์ พัฒนา,นิพนธ์ ตังคณานุรักษ์, บงกชรัตน์ ปิติยนต์ และ น้ำเย็น ศิริพัฒน์. 2554. การศึกษาการตกค้างและเคลื่อนย้ายสารกำจัดวัชพืชอะทราซีนในดินพื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ตะกอนดิน และน้ำท่าบริเวณลุ่มน้ำห้วยกะโปะ อำเภอน้ำหนาว จังหวัดเพชรบูรณ์. ***การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49***: สาขาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม,น. 1-11.

Back, C.A. 1965. Method of soil analysis: part I physical and mineralogical properties. ***American Society of Agronomy***, Madison, Wisconsin, USA.

Babic, S., M. Petrovic and K. Kastelan-Macan. 1998. Ultrasonic solvent extraction of Pesticides from soil. ***Journal of Chromatography Analysis***. Vol. 823 :1-2, Oct. 1998: 3-9.

IUPAC. 2019. “Global availability of information onagrochemicals. Pesticide Properties DataBase”. [online]. Available https://www. sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/atoz. htm. (March 25, 2019)

Turner, C. Ed. 2018. ***The Pesticide Manual***. British Crop Protection Council. 18th Ed.U.S. EPA. 2003. Example Exposure Scenarios. EPA/600/R-03/036. National Center for Environmental Assessment, Washington, DC. 124 pp.

US. EPA, 1994. ***Organophosphorus compound by Gas Chromatography capillary column technique***. In-house method. 2005. EPA method 8141A, Revision 1.

US. EPA. 2003. **Example Exposure Scenarios. EPA/600/R-03/036**. National Center for Environmental Assessment, Washington, DC. 124 pp.

US. EPA. 2008. **Child-Specific Exposure Factors Handbook**. EPA/600/R-06/ 096F. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC. 687 pp.

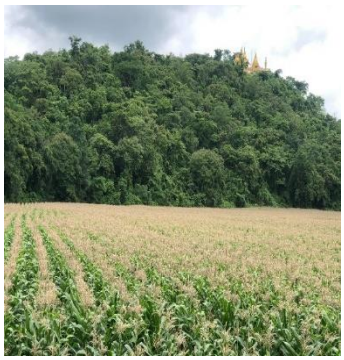
US. EPA. 2014. **Technical Overview of Ecological Risk Assessment Risk Characterization**. Washington, D.C.

US. EPA. 2018. "National Primary Drinking Water Regulations. United States Environmental Protection Agency." [online]. Available http://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/national-primary-drinking-water-regulations (10 Feb. 2022)

US. EPA. 2019. "Integrated Risk Information System. IRIS Assessments". [online]. Available https://www.epa.gov/iris Accessed (10 Jul. 2020)

Zeying He, Lu Wang, Yi Peng, Ming Luo, Wenwen Wang and Xiaowei Liu. 2015. Multiresidue analysis of over 200 pesticides in cereals using a QuEChERS and gas chromatography–tandem mass spectrometry-based method. ***Food Chemistry***. 169: 372 - 380.

**รูปภาพประกอบการเก็บตัวอย่าง**











# การประเมินผลกระทบจากสารกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส ต่อสุขภาพเกษตรกรในพื้นที่ปลูกผักจังหวัดนครปฐม

# Assessing the Impacts of Organophosphorus Pesticides on Farmer health in the Vegetable area, Nakhon Pathom province

*สิริพร เหลืองสุชนกุล* *ปภัสรา คุณเลิศ* *มลิสา เวชยานนท์*

*Siriporn Luengsuchonkul* *Paphatsara Khunlert* *Malisa Wetchayanont*

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

## ABSTRACT

This research to determine the impact of organophosphorus pesticides to farmers and the environment was conducted in vegetation area in Nakhon Pathom province which has been used of pesticides for vegetation for long time, in year 2020-21 by assessing the risk of organophosphorus pesticides. Biomarker of exposure of organophosphorus pesticides, Dialkyl phosphates (DAPs) in urine (such as Diethyl phosphate (DEP), Diethyl thiophosphate (DETP), Dimethyl phosphate (DMP) and Dimethyl thiophosphate (DMTP)) was measured by Gas Chromatograph and Cholinesterase enzyme activity such as Acetylcholine esterase (AChE)and Serum choline esterase (SChE) were measured by Spectrophotometry technique. The pesticides residue in farm soil, water and vegetable were also measured by Gas Chromatograph. The data from the questionnaires shown that most of farmer (80%) have good attitude on Pesticides use and have knowledge about the way to use safety that they were trained by govern segment from Ministry of Agricultural and Cooperatives and Ministry of Public Health. The results from Cholinesterase reactive paper and Cholinesterase enzyme activity in blood, Acetylcholine esterase (AChE) and serum, Serum choline esterase (SChE) in year 2021was accorded to results from Cholinesterase reactive paper and indicated that all famers have in harmful. While as Dialkyl phosphates metabolites (DAPs) was found in form of DEP, DETP, DMP and DMTP and in some farmers (6 in 20 cases in year 2020 and 6 in 15 cases in year 2021). The pesticide residues in soil, water and vegetable were below the Limit of Quantitation; LOQ (LOQ in soil = 0.01 mg/kg and LOQ in water = 0.1 μg/L) and the risk was assessed and shown that no risk to farmer. However, DAPs, which was found in this research, might indicate the source of exposure are from both contamination on farm and out farm.

**Keywords**: Risk assessment, Organophosphorus insecticide, Cholinesterase activity, Dialkyphosphates metabolites, Pesticides residues

## บทคัดย่อ

การวิจัยเพื่อประเมินผลกระทบของสารป้องกันกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส ต่อสุขภาพเกษตรกรและสิ่งแวดล้อม ดำเนินการวิจัยในปี 2563-64 ในพื้นที่ปลูกผัก จังหวัดนครปฐม ที่มีการใช้สารป้องกันกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสในการผลิตผักอย่างยาวนาน โดยใช้การประเมินความเสี่ยง โดยสารบ่งชี้ทางชีวภาพ (Biomarker of exposure) ที่ตรวจวิเคราะห์ ได้แก่ สาร Dialkyl phosphates (DAPs) ในปัสสาวะ (ได้แก่ Diethyl phosphate (DEP), Diethyl thiophosphate (DETP), Dimethyl phosphate (DMP) and Dimethyl thiophosphate (DMTP)) ตรวจวิเคราะห์โดยวิธี Gas Chromatograph และการตรวจระดับการทำงานของเอนไซม์กลุ่ม Cholinesterase ได้แก่ Acetylcholine esterase (AChE) and Serum choline esterase (SChE) ตรวจวิเคราะห์โดยวิธี Spectrophotometry ส่วนการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในดิน น้ำ และผัก ใช้วิธี Gas Chromatograph เช่นเดียวกัน ผลการวิจัยจากแบบสอบถามพบว่าเกษตรกรมีทัศนคติที่ดีในการใช้สารป้องกันกำจัดแมลงอย่างปลอดภัยและถูกวิธี รวมทั้งมีความรู้ในการปฏิบัติตนในการใช้สาร ซึ่งความรู้ดังกล่าวฯ เกษตรกรส่วนใหญ่เข้าถึง/ได้รับมาจากการฝึกอบรมโดยกระทรวงเกษตรกรและสหกรณ์และกระทรวงสาธารณสุข ผลการตรวจคัดกรองความเสี่ยงจากการสัมผัสสารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสโดยใช้กระดาษทดสอบ Cholinesterase แสดงให้เห็นว่าเกษตรกรทั้งหมดอยู่ในเกณฑ์ไม่ปลอดภัยและเสี่ยง ผลการตรวจวัดระดับการทำงานของเอนไซม์ Acetylcholine esterase (AChE) และ Serum choline esterase (SChE) ในตัวอย่างเลือดของเกษตรกร ในปี 2563 พบว่ามีความสอดคล้องกับผลตรวจจากการใช้กระดาษทดสอบ Cholinesterase ส่วนสารเมตาบอไลท์ กลุ่มไดอัลคิลฟอสเฟต (Dialkylphosphates (DAPs)) ในปัสสาวะของเกษตรกร พบชนิด Diethyl phosphate (DEP) Diethyl thiophosphate (DETP) Dimethyl phosphate (DMP) และ Dibuthyl phosphate (DBP) (รวมจำนวน 6 ราย จาก 20 ราย ในปี 2563 และจำนวน 6 ราย จาก 15 ราย ในปี 2564) ผลการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง พบว่าตรวจพบทั้งในตัวอย่างดิน น้ำ และผัก ในปริมาณที่ต่ำกว่าความเข้มข้น/ปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ (Limit of Quantitation; LOQ) (LOQ ในดิน เท่ากับ 0.01 mg/kg และ LOQ ในน้ำเท่ากับ 0.1 μg/L) ผลการประเมินความเสี่ยงพบว่าปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจพบไม่มีผลกระทบต่อมนุษย์และต่อสิ่งแวดล้อม ทั้งนี้แสดงให้เห็นว่าแหล่งที่เกษตรกรได้รับสารกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสจากการรับสัมผัสสารพิษจากการใช้ในแปลง และ/หรือจากกิจกรรมอื่นๆ



**คำหลัก** : การประเมินความเสี่ยง สารป้องกันกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส การทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส สารเมทาบอไลท์ไดอัลคิลฟอสเฟส สารพิษตกค้าง


## คำนำ

พืชผักเป็นสินค้าเกษตรที่สำคัญของจังหวัดนครปฐม ซึ่งจังหวัดนครปฐมมีพื้นที่เพาะปลูกพืชผักมากที่สุดในภาคกลาง และมากเป็นอันดับห้าของประเทศ ซึ่งอำเภอที่มีการปลูกผักมาก 3 อันดับแรก ได้แก่ อำเภอเมือง อำเภอดอนตูม และอำเภอกำแพงแสน โดยอำเภอกำแพงแสน จะมีการปลูกผักหลากหลายชนิดที่สุด และส่งจำหน่ายสู่ตลาดหลักในประเทศ ห้างสรรพสินค้า และส่งออกต่างประเทศ (สำนักงานเกษตรจังหวัดนครปฐม, 2560)

เนื่องจากผักเป็นพืชที่มีความอวบน้ำ และมีอายุการเก็บเกี่ยวสั้น จึงทำให้มีแมลงศัตรูพืชมาก จึงทำให้เกษตรกรมีความจำเป็นต้องใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช โดยเฉพาะสารป้องกันกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส และกลุ่มคาร์บาเมท ปัจจุบันพบว่ายังมีรายงานการตรวจพบสารตกค้างในผัก และผลกระทบของสารป้องกันกำจัดแมลงต่อเกษตรกร ซึ่งคงแสดงให้เห็นว่ายังมีเกษตรกรบางส่วนที่ยังคงมีการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช และพบว่ามีการรายงานสารพิษตกค้างการเกษตรในผัก และการตรวจพบการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์โคลินเอสเตอเรสในตัวอย่างเลือด และสารไดอัลคิลฟอสเฟตเมตาโบไลท์ (Dialkylphosphates, DAPs) ในตัวอย่างปัสสาวะ ซึ่งบ่งชี้ถึงการได้รับสารเคมีกำจัดศัตรูพืช กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต เข้าสู่ร่างกาย จากกลุ่มเกษตรกร และกลุ่มที่ไม่ใช่เกษตรกร ทั้งหมดนี้สะท้อนให้เห็นว่ายังคงมีการปนเปื้อนของสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตในพืช และการตกค้างในร่างกาย และสามารถก่อให้เกิดผลกระทบต่อมนุษย์

และสิ่งแวดล้อมได้ โดยการปนเปื้อนอาจมาได้จากกิจกรรมการเกษตรและไม่ใช่กิจกรรมการเกษตร (ภาณุพันธ์ อิ่มแก้ว และสยาม อรุณศรีมรกต (2558): วรรณวิมลและคณะ (2557): นัฐวุฒิและคณะ (2557))

ดังนั้นการประเมินความเสี่ยงของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช จึงเป็นเครื่องมือที่สำคัญที่ช่วยจึงช่วยบอกผลกระทบที่เกิดขึ้นในมนุษย์ คือ เกษตรกร ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม และเพื่อใช้เป็นข้อมูลในการติดตามผลกระทบตลอดจนสร้างแนวทางการแก้ไขหรือการบริหารจัดการเพื่อการผลิตที่ปลอดภัยที่เน้นเป้าหมายหลัก 3 กลุ่มโดยตรง ได้แก่ เกษตรกร ผู้บริโภค และระบบนิเวศน์ ผ่านกระบวนการการมีส่วนร่วมของทุกภาคส่วนที่เกี่ยวข้อง โดยเฉพาะอย่างยิ่งภาคเกษตรกรซึ่งเป็นส่วนปัจจัยที่สำคัญ ในการลดผลกระทบที่จะเกิดขึ้น

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. เครื่องแก้วและวัสดุวิทยาศาสตร์ ได้แก่ separatory funnel, beaker,cylinder, Erlenmeyer flask, Petri dish, Round bottom flask, pipette, Volumetric flask, Centrifuge tube, Graduate tube filter paper No.1, filter paper No.42, กระดาษทดสอบโคลีนเอสเตอเรส (Cholinesterase reactive paper) วัสดุอุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่าง ได้แก่ อุปกรณ์เก็บตัวอย่างน้ำ อุปกรณ์เก็บตัวอย่างตะกอน แครงทำด้วย stainless steel ขวดพลาสติกชนิด polypropylene พร้อมฝาปิด กระปุกเก็บปัสสาวะพลาสติกชนิด polypropylene ช้อนทำด้วย stainless steel ขวดแก้วพร้อมฝาปิด ถุงพลาสติก และถังแช่บรรจุน้ำแข็งพร้อมฝาปิดสำหรับเก็บรักษาสภาพตัวอย่างในระหว่างขนส่ง

2. เคมีภัณฑ์ชนิดต่างๆ

2.1 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์สารพิษตกค้าง analytical grade, pesticide grade และ HPLC grade ได้แก่ acetone, ammonium chloride, anhydrous sodium sulfate, sodium hydrogen carbonate, ethyl acetate และ acetroniltrile เป็นต้น

2.2 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์สารชีวภาพ ได้แก่ สารกลุ่ม Diaklyphosphate metabolites (DAPs) (ได้แก่ สารDimethylphosphate (DMP) สาร Dimethylthiophosphate (DMTP) สาร Diethylphosphate (DEP) และสาร Dimethylthiophosphate (DETP) สาร 2,3,4,5,6-Pentafluorobenzyl สาร bromide (PFBBr) สารละลาย Standard protein BSA น้ำยาทดสอบโปรตีน (Protein Kit Biurets method) สาร Acetylcholinesterase substrate สาร Acetylcholine iodide และสาร DTNB

2.3 สารพิษมาตรฐาน pesticide grade ความบริสุทธิ์ไม่น้อยกว่า 95% ได้แก่ กลุ่ม Organophosphorus 22 ชนิด ประกอบด้วย azinphos ethyl, chlorpyrifos, chlorpyrifos ethyl, diazinon, dicrotophos, dimethoate, EPN, ethion, ethoprophos, fenthion, fenitrothion, malathion, methidathion, monocrotophos, parathion methyl, pirimiphos methyl, profenophos, triazophos, methamidophos, omethoate, phosalone

3. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ ได้แก่ เครื่องชั่งละเอียด 2 ตำแหน่ง และ 5 ตำแหน่ง เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง เครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้า เครื่องวัดค่าการแขวนลอยในน้ำ ตู้อบ เตาเผา เครื่องสกัดชนิด Separatory funnel shaker เครื่อง Shaker เครื่อง Homogenizer เครื่อง Rotary evaporator เครื่อง Nitrogen evaporator เครื่อง Centrifuge เครื่อง Freeze dryer เครื่อง Microplate Reader เครื่อง Gas Chromatograph หัวตรวจวัดชนิด Flame Photometric Detector (FPD)

## วิธีการ

1. ประสานหน่วยงานในพื้นที่ที่เกี่ยวข้อง เพื่อชี้แจงรายละเอียดของหัวข้อการวิจัย และขอความร่วมมือในระหว่างการดำเนินการ และการประสานงานข้อมูลที่เกี่ยวข้อง

2. คัดเลือกพื้นที่แหล่งผลิตผัก รับสมัครเกษตรกรปลูกผักในเขตจังหวัดนครปฐม ที่มีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนของสารกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส

3. จัดทำ/จัดหาแบบสอบถาม และจัดเตรียมความพร้อมของวัสดุอุปกรณ์รวมทั้งวิธีการที่ใช้วิเคราะห์ทดสอบ

4. ชี้แจงรายละเอียดการดำเนินการให้แก่อาสาสมัครเกษตรกรปลูกผักที่มีการใช้สารป้องกันกำจัดแมลงกลุ่มออร์แกโนฟอสฟอรัสในการปลูก

5. เก็บข้อมูลจากอาสาสมัครเกษตรกร โดยใช้แบบสอบถามเกี่ยวกับข้อมูลทัศนคติและพฤติกรรมที่เกี่ยวข้องกับสารเคมีกำจัดศัตรูพืช และการปฏิบัติตนในการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช

6.เก็บตัวอย่างเลือด ปัสสาสวะ และตัวอย่างดิน น้ำ และพืช เพื่อนำมาวิเคราะห์ ตามวิธีตรวจดังนี้

6.1 ตรวจคัดกรองความเสี่ยงจากการสัมผัสสารเคมีกำจัดศัตรูพืช กลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสโดยใช้กระดาษทดสอบ Cholinesterase ในตัวอย่างเลือดของเกษตรกรอาสาสมัคร โดยเจ้าหน้าที่ของโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล (รพสต.) และเก็บตัวอย่างปัสสาวะ เพื่อตรวจวิเคราะห์หาสาร Dialkylphosphate metabolites (DAPs)

6.2 ตรวจวัด Acetylcholinesterase (AChE) ในตัวอย่างเม็ดเลือดแดง ที่อุณหภูมิ 25°C อ้างอิงวิธีการตรวจวิเคราะห์จาก Ellman et al. (1961) โดยเจือจางเม็ดเลือดแดงในน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:200 ลงใน Eppendorf tube เขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกันแล้วดูด ตัวอย่างจำนวน 20 µl ใส่ลงใน 96 well plate (ทำการวิเคราะห์ 4 ซ้ำ) เติมสารละลาย DTNB 200 µl และ 5.5 mM Acetylcholinesterase substrate 20 µl นำไปวัดด้วยเครื่อง Microplate Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 405 nm แบบ Kinetic โดยทำการเขย่าครั้งละ 5 วินาที ทุกๆ 30 วินาที เป็นเวลา 10 นาที

6.3 ตรวจวัด Butyrylcholinesterase (BchE) ในตัวอย่างเม็ดเลือดแดง ที่อุณหภูมิ 25°C อ้างอิงวิธีการตรวจวิเคราะห์จาก Ellman et al. (1961) โดยเจือจางพลาสมาในน้ำกลั่นในอัตราส่วน1:100 แล้วทำการวิเคราะห์ตามขั้นตอนการตรวจวัด AChE ในตัวอย่างเม็ดเลือดแดง (ข้อ6.2) และทำการแปลผลหาค่า Activity ของ BchE โดยใช้ dilution factor เป็น 100

6.4 ตรวจวัดสาร กลุ่ม Dialkylphosphate metabolites (DAPs) ดัดแปลงวิธีการตรวจวิเคราะห์ จาก Chuhua Wu และคณะ (2010) และโดยดูดตัวอย่างตัวอย่างปัสสาวะจำนวน 5 ml เติม 10 mg/L Dibutyl phosphate 100 µL นำไปแช่เย็นไว้ที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียสและนำไประเหยแห้งด้วยเครื่อง lyophilizer เป็นเวลา 6-7 ชั่วโมง จากนั้นเติม acetronitrile 2 ml โพแทสเซียมคาร์บอเนต ($K_2CO_3$) 20 mg และสาร 2,3,4,5,6-Pentafluorobenzyl bromide (PFBBr) 25 µl เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปต้มใน water bath ที่ 60°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำสารละลายด้านบนไประเหยให้แห้งด้วยก๊าซไนโตรเจน เติม Ethylacetate 1 ml นำไปวิเคราะห์ด้วย เครื่อง Gas chromatography-Flame photometric detector (GC-FPD) ร้อยละของการเอากลับคืน (% recovery) เท่ากับ 77.25±11.77

6.5 ตรวจสารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสในตัวอย่างดิน น้ำ ตะกอน และพืช

6.5.1 ตรวจสารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสในตัวอย่างดิน และน้ำ โดยใช้ Gas Chromatograph หัวตรวจวัดชนิด Flame Photometric Detector (GC-FPD) อ้างอิงวิธีการตรวจวิเคราะห์ จาก AOAC (1995) โดยตัวอย่างน้ำจะตวงตัวอย่างน้ำ 800 มิลลิลิตร สกัดด้วย ethyl acetate (AR) ปริมาตร 100, 50 และ 50 มิลลิลิตร กรองผ่าน anh. Sodium sulfate ใส่ round bottom flask นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรเป็น 1 มิลลิลิตรด้วย ethyl acetate (PR) นำไปตรวจวิเคราะห์หาสารพิษกลุ่ม Organophophorus ด้วยเครื่อง GC-FPD และตัวอย่างดิน จะแบ่งออกเป็นสองส่วน ได้แก่ 1) การหาความชื้นในตัวอย่างดิน (C. K. Back, 1965) เพื่อหาน้ำหนักแห้งสุทธิ โดยชั่งตัวอย่างดิน 50 กรัม บันทึกน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ และหลังอบ 24 ชั่วโมง นำไปคำนวณความชื้นและน้ำหนักดินแห้ง และ 2) การสกัดสารพิษ โดยชั่งตัวอย่าง 20 กรัม สกัดด้วย ethyl acetate (AR) 75 มิลลิลิตร เขย่า 5 ชั่วโมง ที่ความเร็วรอบ 210 รอบต่อนาที กรองผ่าน anh. Sodium sulfate ใส่ round bottom flask นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้ง

ปรับปริมาตรเป็น 2 มิลลิลิตร ด้วย ethyl acetate (PR) ดูดสารสกัด 1 มิลลิลิตร นำไปตรวจวิเคราะห์หาสารพิษกลุ่ม Organophophorus ด้วยเครื่อง GC-FPD

6.5.2 ตรวจสารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสในตัวอย่างพืช โดยใช้ Gas Chromatograph หัวตรวจวัดชนิด Flame Photometric Detector (GC-FPD) อ้างอิงวิธีการสกัดจาก Anastassiades et al. (2003) โดยชั่งตัวอย่าง 10 กรัม ใส่ centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร เติม acetonitrile 10 มิลลิลิตร เขย่า 1 นาที เติม magnesium sulfate ($MgSO_4$) 4 กรัม และ sodium chloride (NaCl) 1 กรัม ผสมกัน 1 นาที ด้วยเครื่อง vortex mixer สกัดด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน ที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ดูดสารละลายส่วนใส 1 มิลลิลิตร ใส่ microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่บรรจุ primary secondary amine (PSA) 25 มิลลิกรัม และ magnesium sulfate ($MgSO_4$) 150 มิลลิกรัม สกัดด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน ที่ความเร็วรอบ 6,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ดูดสารละลายส่วนใส 0.5 มิลลิลิตร ใส่ microcentrifuge tube นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้งด้วยเครื่อง Nitrogen evaporator ปรับปริมาตรเป็น 0.5 มิลลิลิตร ด้วย ethyl acetate (PR) ดูดสารสกัด นำไปตรวจวิเคราะห์หาสารพิษกลุ่ม Organophophorus ด้วยเครื่อง GC-FPD

6.5.3 การปรับสภาพการทำงานของเครื่อง GC/FPD เพื่อตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสดังนี้

| | |
|---|---|
| Mode | Splitless |
| GC column | column DB 1701 capillary, 30 m x 0.25 mm id, 0.25 μm film thickness |
| Temperature | injector = 230 °C, detector = 250 °C |
| Oven temperature program | 80 °C (1 min) $\xrightarrow{20\,^{\circ}C/min}$ 194 °C (1 min) $\xrightarrow{2\,^{\circ}C/min}$ 197 °C (1 min) $\xrightarrow{5\,^{\circ}C/min}$ 200 °C (1 min) $\xrightarrow{1\,^{\circ}C/min}$ 210 °C (2 mins) $\xrightarrow{050\,^{\circ}C/min}$ 250 °C (2 mins) |
| Carrier gas | helium flow 1.2 mL/min |
| Make up gas | nitrogen flow 60 mL/min |
| Ignite gas | $H_2$ 110 mL/min, Air 150 mL/min |
| Inject volume | 1 μL |

7. วิเคราะห์และการแปรผลการทดลองข้อมูลจากการตอบแบบสอบถาม ผลการตรวจคัดกรองเอนไซม์ Cholinesterase ในตัวอย่างเลือด สารบ่งชี้กลุ่ม Dialkylphosphate metabolites (DAPs) ในปัสสาวะและสารพิษตกค้างในดิน น้ำ ตะกอนและพืช เพื่อประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพจากการรับสัมผัสสารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตต่อเกษตรกร ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม ตามแนวทางของ World Health Organization (WHO) (IPCS, 2010)

การบันทึกข้อมูล

1. ข้อมูลจากการตอบแบบสอบถาม
2. ข้อมูลผลการตรวจคัดกรองเอนไซม์ Cholinesterase ในตัวอย่างเลือด
3. ข้อมูลสารบ่งชี้กลุ่ม Dialkylphosphate metabolites (DAPs) ในตัวอย่างปัสสาวะ
4. ข้อมูลสารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสในตัวอย่างดิน น้ำ และพืช

**ระยะเวลา** เริ่มต้น ตุลาคม 2562 สิ้นสุด กันยายน 2564

**สถานที่ทำการทดลอง** 1. แปลงปลูกพืชในพื้นที่อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

## ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการลงพื้นเพื่อดำเนินการวิจัย ปี 2563-64 ณ อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ได้เก็บข้อมูลแบบสอบถาม ตรวจคัดกรองความเสี่ยงจากการสัมผัสสารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสโดยใช้กระดาษทดสอบ Cholinesterase ในตัวอย่างเลือดของอาสาสมัครเกษตรกร (ดำเนินการโดยเจ้าหน้าที่ของโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลวังน้ำเขียว และตรวจวิเคราะห์ระดับการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส Acetylcholinesterase (AChE) ในเลือด และสารเมทาบอไลท์ กลุ่ม Dialkyl Phosphate (DAPs) ในปัสสาวะของเกษตรกรปลูกของตำบลทุ่งบัว จำนวน 20 ราย และตำบลน้ำเขียว จำนวน 15 ราย พร้อมสุ่มเก็บตัวอย่างดิน น้ำ และผัก สรุปผลการดำเนินการ ได้ดังนี้

1. ทัศนคติของเกษตรกรตำบลทุ่งบัว อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐมต่อการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช เกษตรกรที่ร่วมโครงการแบ่งเป็น ชายร้อยละ 33.3 และหญิง ร้อยละ 66.7 โดยมีช่วงอายุอยู่ระหว่าง 16 – 65 ปี ระดับการศึกษาของเกษตรกรที่ร่วมโครงการ ได้แก่ ประถมศึกษา ร้อยละ 50 มัธยมศึกษา ร้อยละ 33.3 และปริญญาตรี ร้อยละ 16.7 เกษตรกรร้อยละ 83.3 มีที่มาของรายได้หลักจากการทำการเกษตร โดยร้อยละ 86.7 ทำการเกษตรเอง ส่วนอีกร้อยละ 6.3 รับจ้างทางการเกษตร และร้อยละ 7 มี รายได้หลักจากอาชีพอื่นๆ รายได้จากการทำการเกษตร อยู่ระหว่าง 5,000-10,000 บาท ต่อเดือน ชนิดพืชที่เกษตรกรปลูกได้แก่ พืชผัก (ร้อยละ 66.7) โดยเกษตรกรร้อยละ 33.3 จะปลูกผักมากกว่าหนึ่งชนิด ได้แก่ คะน้า กระเพรา สาระแหน่ ข้าวโพดฝักอ่อน กระชาย ผักบุ้ง ส่วนที่ชนิดพืชอื่นๆ ได้แก่ ข้าว และมะละกอ รูปแบบการปลูกพืช เป็น ปลูกแบบเชิงเดียว (ร้อยละ 66.7) และปลูกแบบผสมผสาน (ร้อยละ 33.3) เกษตรกรร้อยละ 50 มีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช โดยร้อยละ 12.5 จะพ่นสารทั้งก่อนและหลังศัตรูพืชระบาด และร้อยละ 87.5 จะพ่นสารหลังศัตรูพืชระบาด

เกษตรกรร้อยละ 81.1 มีทัศนคติในการใช้ป้องกันกำจัดศัตรูพืชอย่างปลอดภัยและถูกวิธี โดยเกษตรกรส่วนใหญ่ (มากกว่าร้อยละ 80) มีความเห็นด้วยอย่างยิ่งว่า หากมีการใช้สารอย่างถูกวิธี และมีการดูแลรักษาอุปกรณ์สม่ำเสมอจะสร้างความปลอดภัยให้แก่เกษตรกร และเชื่อว่าผลผลิตที่ได้ ก็จะมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคด้วย รวมทั้งการเก็บรักษาสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชอย่างถูกวิธี คือ ไม่เก็บภายในบ้าน และไม่วางในจุดที่เด็กสามารถหยิบถึงหรือเข้าไปสัมผัสได้ ก็จะเป็นสร้างความปลอดภัยให้กับคนในครอบครัว นอกจากนี้เกษตรกรมากกว่าร้อยละ 50 เห็นด้วยว่าระดับผลกระทบจะลดลงไม่ได้ขึ้นอยู่กับเกษตรกรมีร่างกายหรือจิตใจที่เข้มแข็ง แต่ขึ้นอยู่กับการปฏิบัติตนอย่างเคร่งครัดตามหลักวิธีเพียงใด รวมทั้งไม่เห็นด้วยว่าสามารถทิ้งสารที่เหลือใช้ ลงสู่ดินได้ เพราะสารจะเกิดการสลายตัวได้เองตามธรรมชาติ เกษตรกรมีความรู้เกี่ยวกับการปฏิบัติตนเพื่อความปลอดภัยในการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช ในระดับปานกลาง (ร้อยละ 66.7) โดยส่วนใหญ่มีความรู้ว่าต้องเลือกใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช ที่ต้องเลือกใช้ให้เหมาะกับชนิดของศัตรูพืช และต้องใช้ปริมาณตามอัตราที่แนะนำบนฉลาก ควรเตรียมสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช สำหรับใช้ให้หมดในคราวเดียว

ในส่วนของการดูแลตนเองพบว่าเกษตรกรร้อยละ 50 มีการสังเกตความผิดปกติที่เกิดขึ้นกับร่างกายตนเองหลังจากการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช และจะไปซื้อยารับประทานเองตามอาการ รวมทั้งยังขาดความรู้เรื่องการปฏิบัติตนหลังจากได้รับพิษจากสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ถูกต้อง การเข้าถึงความรู้เพื่อความปลอดภัยในการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช เกษตรกรทุกรายได้รับความรู้/การฝึกอบรมการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชอย่างถูกต้องและปลอดภัยจากเจ้าหน้าที่จากกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ รองลงมาคือ กระทรวงสาธารณสุข (ร้อยละ 83.3 ศูนย์การเรียนรู้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต (ศพก.) (ร้อยละ 66.7) สถาบันการศึกษา (ร้อยละ 33.3) และตัวแทนจำหน่ายสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช (ร้อยละ 16.7) ช่องทางที่เกษตรกรใช้เพื่อเข้าถึงความรู้มากที่สุด ได้แก่ วิทยุและโทรทัศน์ (ร้อยละ 83.3) รองลงมาคือร้านค้าที่จำหน่ายสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช (ร้อยละ 50) และน้อยที่สุด คือ หนังสือพิมพ์และอินเทอร์เนต (ร้อยละ 26.7) เกษตรกรกว่าร้อยละ 83.3 คิดว่าการฝึกอบรมเป็นการให้ความรู้ที่ดีที่สุด แต่โอกาสในการได้รับการฝึกอบรมยังมีน้อยเกิน

เกษตรกรมีความตระหนักถึงผลกระทบของสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชจากการบริโภคผลผลิตในระดับปานกลาง (ร้อยละ 68.8) กล่าวคือเกษตรกรคิดว่าผลผลิตที่ปลอดภัย ย่อมไม่มีผลกระทบต่อผู้บริโภค แต่เกษตรกรยังขาดความเชื่อมั่นว่าผลผลิตที่มีการรับรองการผลิต (ที่ระบุแหล่งผลิต ผู้ผลิต วิธีการผลิต (GAP/อินทรีย์) สถานที่จำหน่าย)

ว่าปลอดภัยนั้น มีปลอดภัยอย่างแท้จริง โดยเห็นว่าผลผลิตที่น่ารับประทานควรเป็นผลผลิตที่ไม่มีรอยการทำลายของแมลง ซึ่งเกษตรกรอาจจะใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชในการผลิต แม้ว่าเป็นการผลิตเพื่อบริโภคเอง

2. ผลการตรวจคัดกรองความเสี่ยงจากการสัมผัสสารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสของเกษตรกร ตำบลทุ่งบัว อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม โดยใช้กระดาษทดสอบ Cholinesterase

พบว่าอาสาสมัคร ร้อยละ 59 มีเกณฑ์อยู่ในระดับไม่ปลอดภัย และร้อยละ 41 มีเกณฑ์อยู่ในระดับเสี่ยง ส่วนผลการตรวจวัดระดับการทำงานของเอนไซม์ Acetylcholine esterase (AChE) และ Serum choline esterase (SChE) ด้วยเทคนิค Spectrophotometry พบว่าอาสาสมัครร้อยละ 50 มีระดับเอนไซม์ SChE ที่จำแนกอยู่ในเกณฑ์ผิดปกติ โดยเป็นอาสาสมัครเพศชาย ร้อยละ 40 และอาสาสมัครเพศหญิง ร้อยละ 60 ส่วนผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสาร Dialkyl metabolites ในปัสสาวะของอาสาสมัคร ตรวจพบสารเมตาบอไลท์ กลุ่ม Dialkyl phosphates (DAPs) ชนิด Diethyl thiophosphate (DETP) และdimethyl phosphate (DMP) รายละเอียดของผลตรวจวิเคราะห์ปรากฏดังในตารางที่ 1

3. ผลการตรวจปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจพบในตัวอย่างดิน น้ำ และพืช ที่สุ่มเก็บตัวอย่างจากแปลงของเกษตรกรตำบลทุ่งบัว อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

ในปี 2563 มีจำนวนตัวอย่างทั้งสิ้นตัวอย่าง 47 ตัวอย่าง (ดิน 18 ตัวอย่าง น้ำ 12 ตัวอย่าง และพืชผัก 17 ตัวอย่าง (ได้แก่ โหระพา (4 ตัวอย่าง) ผักบุ้งจีน (4 ตัวอย่าง) ผักกวางตุ้ง(2 ตัวอย่าง) ถั่วฝักยาว (2 ตัวอย่าง) ข้าวโพดฝักอ่อน (2 ตัวอย่าง) และมะเขือเปราะ พริก กระเพรา ชนิดละ 1 ตัวอย่าง) พบสารพิษชนิด chlorpyrifos ethyl EPN, และ parathion methyl ในตัวอย่างดิน ปริมาณความเข้มข้นต่ำกว่า LOQ และตรวจพบสารพิษชนิด ethion ในตัวอย่างน้ำ ปริมาณความเข้มข้นต่ำกว่า LOQ ส่วนในตัวอย่างพืช ตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง (LOQ คือ ความเข้มข้น/ปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ (Limit of Quantitation; LOQ) โดย chlorpyrifos ethyl มีค่า LOQ ในดิน เท่ากับ 0.01 mg/kg, EPN มีค่า LOQ ในดิน เท่ากับ 0.01 mg/kg, parathion methyl มีค่า LOQ ในดิน เท่ากับ 0.01 mg/kg และ ethion มีค่า LOQ ในน้ำ เท่ากับ 0.10 μg/L)

ตารางที่ 1 ผลการตรวจคัดกรองความเสี่ยงจากการสัมผัสสารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสโดยใช้กระดาษทดสอบ Cholinesterase การตรวจวิเคราะห์ระดับเอนไซม์ Acetylcholine esterase (AChE) และ Serum choline esterase (SChE) และผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารเมตาบอไลท์ กลุ่ม Dialkyl phosphates (DAPs) ปี 2563

| อาสาสมัคร | เพศ | อายุ (ปี) | กิจกรรมทางการเกษตร | ผลการตรวจคัดกรอง* | ระดับเอนไซม์ (unit/ml) | | ปริมาณของสารกลุ่ม DAPs**** | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | AChE** | SChE*** | ชนิด | มิลลิกรัม/เดซิลิตร | มิลลิกรัม/กิโลกรัม creatinine***** |
| 1 | หญิง | 37 | ปลูกผัก | ไม่ปลอดภัย | 69.12 | 2.12 | DBP | 0.49 | 606.16 |
| 2 | ชาย | 66 | ปลูกผัก | ไม่ปลอดภัย | 81.13 | 1.29 | DBP | 0.37 | 411.11 |
| 3 | หญิง | 56 | เกษตรทั่วไป | เสี่ยง | 67.89 | 4.47 | ND | | |
| 4 | หญิง | 59 | เกษตรทั่วไป | เสี่ยง | 71.57 | 0.54 | DBP | 0.25 | 317.44 |
| 5 | หญิง | 49 | ทำไร่ เกษตรทั่วไป | ไม่ปลอดภัย | 31.13 | 5.34 | ND | | |
| 6 | หญิง | 60 | เกษตรทั่วไป | ไม่ปลอดภัย | 34.56 | 4.81 | ND | | |
| 7 | หญิง | 59 | ปลูกผัก, ทำไร่ | เสี่ยง | 36.27 | 6.91 | DBP | 0.50 | 628.08 |
| 8 | ชาย | 62 | ปลูกผัก,รับจ้างเกษตร | ไม่ปลอดภัย | 28.43 | 0.65 | DMP | 0.03 | 40.38 |
| 9 | ชาย | 55 | นาข้าว | เสี่ยง | 39.22 | 10.03 | DETP | 0.18 | 202.89 |
| 10 | หญิง | 51 | ทำสวน | เสี่ยง | 39.46 | 16.21 | DBP | 0.33 | 419.40 |
| 11 | หญิง | 48 | นาข้าว | ไม่ปลอดภัย | 38.73 | 5.21 | ND | | |
| 12 | หญิง | 54 | ปลูกผัก รับจ้าง ทำไร่ | ไม่ปลอดภัย | 50.00 | 1.93 | DEP | 0.23 | 288.23 |
| 13 | หญิง | 50 | ทำนา | ไม่ปลอดภัย | 27.94 | 2.47 | DBP | 0.49 | 610.17 |
| 14 | ขาย | 31 | ทำนา ปลูกผัก ทำไร่ | ไม่ปลอดภัย | 27.94 | 3.97 | DEP | 0.45 | 506.08 |
| 15 | หญิง | 61 | เกษตรทั่วไป | เสี่ยง | 38.48 | 5.03 | DETP | 0.37 | 474.98 |
| 16 | หญิง | 54 | นาข้าว | ไม่ปลอดภัย | 50.74 | 4.40 | DBP | 0.50 | 628.11 |
| 17 | ชาย | 52 | นาข้าว | ไม่ปลอดภัย | 30.88 | 3.54 | DBP | 0.39 | 442.62 |
| 18 | ชาย | 84 | ผักบุ้ง | ไม่ปลอดภัย | 25.74 | 1.76 | ND | | |
| 19 | หญิง | 50 | สมุนไพร | เสี่ยง | 22.30 | 4.09 | DBP | 0.23 | 299.44 |
| 20 | หญิง | 53 | ทำนา | เสี่ยง | 26.96 | 4.51 | DMP | 0.05 | 66.07 |
| | | | | | | | DBP | 0.41 | 512.50 |

หมายเหตุ

*เกณฑ์บ่งชี้ระดับเอนไซม์ Acetylcholine esterase จากการตรวจคัดกรองด้วย กระดาษทดสอบ Cholinesterase จำแนกออกเป็น 4 ระดับ ได้แก่ ระดับปกติ (AChE $\geq$ 100 unit/ml) ระดับปลอดภัย ($\geq$ 87.5 unit/ml) ระดับมีความเสี่ยง (87.5 unit/ml $\geq$ AChE $\geq$ 75 unit/ml ) และระดับไม่ปลอดภัย ($\leq$ 75 unit/ml)

**AChE = เอนไซม์ Acetylcholine esterase

***SChE = เอนไซม์ Serum choline esterase บ่งชี้ระดับ SChE แบ่งออกเป็น 2 ระดับ คือ ระดับปกติ (≥ 4.9 unit/ml สำหรับเพศชาย และ≥ 4.3 unit/ml สำหรับเพศหญิง) ระดับผิดปกติ (< 4.9 unit/ml สำหรับเพศชาย และ< 4.3 unit/ml สำหรับเพศหญิง)

**** Diakyl phosphates; DAPs ที่ตรวจวิเคราะห์ ได้แก่ Diethyl phosphate; DEP, Diethyl thiophosphate; DETP , Dimethyl phosphate; DMP, Dimethyl thiophosphate; DMTP และ Dibutyl phosphate; DBT

***** ค่าเฉลี่ยปริมาณ creatinine ในเพศชาย เท่ากับ 0.9 มิลลิกรัม/เดซิลิตร และในเพศหญิง เท่ากับ 0.8 มิลลิกรัม/เดซิลิตร

ND = ตรวจไม่พบ (non detectable)

ตารางที่ 2 สรุปปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจพบจากตัวอย่างที่สุ่มเก็บจากแปลงของอาสาสมัครเกษตรกร ปี 2563

| อาสาสมัคร | กิจกรรมทางการเกษตร | ปริมาณสารพิษตกค้าง | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | ดิน (มิลลิกรัม/กิโลกรัม) | น้ำ (ไมโครกรัม/กิโลกรัม) | พืช (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)*** | |
| 1 | ปลูกผัก | ไม่พบ | ไม่พบ | ผักบุ้ง(1) | ไม่พบ |
| 2 | ปลูกผัก | ไม่พบ | ไม่พบ | กวางตุ้ง(1) โหระพา(1) | ไม่พบ |
| 3 | เกษตรทั่วไป | ไม่พบ | ไม่มีตัวอย่าง* | ข้าวโพดฝักอ่อน(1) | ไม่มีตัวอย่าง* |
| 4 | เกษตรทั่วไป | ไม่ได้เก็บตัวอย่าง** | | | |
| 5 | เกษตรทั่วไป | ไม่ได้เก็บตัวอย่าง** | | | |
| 6 | เกษตรทั่วไป | ไม่พบ | ไม่มีตัวอย่าง* | โหระพา(2) ถั่วฝักยาว(2) | ไม่พบ |
| 7 | ปลูกผัก, ทำไร่ | ไม่ได้เก็บตัวอย่าง | | | |
| 8 | ปลูกผัก,รับจ้างเกษตรทั่วไป | chlorpyrifos ethyl = 0.003 (<LOQ) EPN = 0.001 (<LOQ) | ไม่พบ | มะเขือเปราะ(1) พริก(1) | ไม่พบ |
| 9 | นาข้าว | ไม่ได้เก็บตัวอย่าง** | | | |
| 10 | ทำสวน | ไม่ได้เก็บตัวอย่าง** | | | |
| 11 | นาข้าว | ไม่ได้เก็บตัวอย่าง** | | | |
| 12 | ปลูกผัก รับจ้างทำไร่ | chlorpyrifos ethyl =0.003 (<LOQ) | ไม่พบ | นาข้าว แตงกวา | ไม่มีตัวอย่าง* |
| 13 | ทำนา | ไม่พบ | ethion = 0.02(<LOQ) | นาข้าว | ไม่มีตัวอย่าง* |
| 14 | ทำนา ปลูกผักทำไร่ | ไม่พบ | ethion = 0.06(<LOQ) | ข้าวโพดฝักอ่อน(1) โหระพา(1) กระเพรา(1) | ไม่พบ |
| 15 | เกษตรทั่วไป | chlorpyrifos ethy = 0.001 (<LOQ) | ไม่พบ | กวางตุ้ง(1) ผักบุ้ง(1) | ไม่พบ |
| 16 | นาข้าว | parathion methyl = 0.009(<LOQ) | ไม่พบ | ไม่มีตัวอย่าง* | ไม่พบ |
| 17 | นาข้าว | parathion methyl = 0.008(<LOQ) | ไม่พบ | ไม่มีตัวอย่าง* | ไม่พบ |
| 18 | ผักบุ้ง | ND | ไม่พบ | ผักบุ้ง(2) | ไม่พบ |
| 19 | สมุนไพร | ไม่ได้เก็บตัวอย่าง** | | | |
| 20 | ทำนา | ไม่ได้เก็บตัวอย่าง** | | | |

หมายเหตุ

*ไม่มีตัวอย่าง หมายถึง ตัวอย่างพืชยังไม่อยู่ในอยู่ช่วงที่เก็บเกี่ยวได้

**ไม่ได้เก็บตัวอย่าง หมายถึง เกษตรกรยังไม่เริ่มการทำการปลูกพืช

LOQ คือ ความเข้มข้น/ปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ (Limit of Quantitation; LOQ) โดย chlorpyrifos ethyl และ parathion methyl มีค่า LOQ ในดิน เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และ ethion มีค่า LOQ ในน้ำ เท่ากับ 0.10 ไมโครกรัม/ลิตร

*** ส่วนของพืชที่นำมาวิเคราะห์คือ ส่วนที่ใช้รับประทาน (Edible part)

4. ผลการประเมินความเสี่ยงจากการรับสัมผัสสารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ต่อสุขภาพเกษตรกร ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อมในตำบลทุ่งบัว อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

โดยนำค่าปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจพบในดิน น้ำ และพืช มาคำนวณเพื่อประเมินความเสี่ยงจากสารพิษตกค้างในดินต่อสุขภาพเกษตรกร และสิ่งแวดล้อม โดยถ้าสารพิษมีปริมาณต่ำกว่า “ปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ (Limit of Quantitation; LOQ)” จะใช้ค่าปริมาณสารพิษตกค้างที่เท่ากับค่า LOQ ในการคำนวณ โดยผลการประเมินความเสี่ยงพบว่าปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจพบไม่มีผลกระทบต่อมนุษย์และต่อสิ่งแวดล้อม รายละเอียดของผลการประเมิน ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการประเมินความเสี่ยงจากการรับสัมผัสสารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ต่อสุขภาพเกษตรกร ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม ปี 2563

| สารพิษ | ตัวอย่าง | LOQ | ปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจพบ | ประเมินความเสี่ยงต่อมนุษย์* | | ประเมินความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Hazard Quotien; HQ | Risk | Ecological Risk Quotien; EQ | Risk |
| chlorpyrifos ethyl | ดิน | 0.01 | 0.001 | $5.98 \times 10^{-4}$ | accept | 0.0002 | accept |
| parathion methyl | ดิน | 0.01 | 0.008-0.009 | $1.79 \times 10^{-3}$ | accept | 0.0004 | accept |
| EPN | ดิน | 0.01 | 0.001 | $7.17 \times 10^{-5}$ | accept | -*** | - |
| ethion | น้ำ | 0.10 | 0.02-0.06 | $3.59 \times 10^{-3}$ | accept | 0.0000025 | accept |

หมายเหตุ

*ปริมาณของ chlorpyrifos ethyl, parathion methyl และ EPN ที่ตรวจพบในตัวอย่างน้อยกว่าค่า LOQ จึงใช้ค่า LOQ ในดินของ chlorpyrifos ethyl, parathion methyl และ EPN ซึ่งเท่ากับ 0.01 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และค่า LOQ ในน้ำ ของ ethion ซึ่งเท่ากับ 0.10 ไมโครกรัม/ลิตร มาคำนวณค่าประเมินความเสี่ยงต่อมนุษย์แทน

**ใช้ค่า LC50 ของ earthworm สำหรับการประเมินความเสี่ยงของสารพิษตกค้างในดิน และใช้ค่า LC50 ของ fish สำหรับการประเมินความเสี่ยงของสารพิษตกค้างในน้ำ

***ยังไม่ได้มีการกำหนดค่า LC, NOEC, LOEC จึงไม่สามารถประเมินค่า EQ ได้

1. ทัศนคติของเกษตรกรตำบลวังน้ำเขียว อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐมต่อการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช

จากข้อมูลแบบสอบถามเกษตรกรที่ร่วมโครงการแบ่งเป็น ชายร้อยละ 20 และหญิง ร้อยละ 80 โดยมีช่วงอายุอยู่ระหว่าง 36 – 65 ปี ระดับการศึกษาของเกษตรกรที่ร่วมโครงการ ได้แก่ ประถมศึกษา ร้อยละ 50 มัธยมศึกษา ร้อยละ 33.3 และปริญญาตรี ร้อยละ 16.7 อาสาสมัครเกษตรกรร้อยละ 83.3 มีที่มาของรายได้หลักจากการทำการเกษตร โดยร้อยละ 86.7 ทำการเกษตรเอง ส่วนอีกร้อยละ 13.3 มีรายได้หลักจากอาชีพอื่นๆรายได้จากการทำการเกษตร อยู่ระหว่าง 5,000-10,000 บาท ต่อเดือนชนิดผักที่เกษตรกรปลูก ได้แก่ ผักกาดขาว ผักกาดเขียว คะน้า กระเพรา โหระพา สาระแหน่ กระชาย ผักบุ้งจีน กวางตุ้ง ผักสลัด ขึ้นฉ่าย หอม และพริก โดยเกษตรกรร้อยละ 33.3 จะปลูกผักมากกว่าหนึ่งชนิด รูปแบบการปลูกพืช เป็น ปลูกแบบเชิงเดียว (ร้อยละ 26.7) และปลูกแบบผสมผสาน (ร้อยละ 73.3) เกษตรกรร้อยละ 80 มีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช โดยร้อยละ 83.3 จะพ่นสารทั้งก่อนศัตรูพืชระบาด และร้อยละ 16.7 จะพ่นสารหลังศัตรูพืชระบาดเกษตรกรร้อยละ 20 มีการใช้ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในการป้องกันและกำจัดแมลงและโรคพืช

เกษตรกรกว่าร้อยละ 80 มีทัศนคติในการใช้ป้องกันกำจัดศัตรูพืชอย่างปลอดภัยและถูกวิธี โดยเห็นด้วยอย่างยิ่งว่า หากใช้สารอย่างถูกวิธี และดูแลรักษาอุปกรณ์อย่างสม่ำแสมอ จะสร้างความปลอดภัยให้แก่เกษตรกร และเชื่อว่าผลผลิตที่ได้ ก็จะมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคด้วย สำหรับการเก็บรักษาสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชอย่างถูกวิธี คือ ไม่เก็บภายในบ้าน และไม่วางในจุดที่เด็กสามารถหยิบถึงหรือเข้าไปสัมผัสได้นั้น พบว่าเกษตรกรกว่าร้อยละ 50 ยังมีการเก็บรักษาภายในตัวบ้าน หรือติดกับตัวบ้าน (เช่นวางไว้บริเวณมุมห้อง หรือมุมครัว หรือมุมเก็บอุปกรณ์ช่าง ในตัวบ้าน) อย่างไรก็ตามเกษตรกรทั้งหมดต่างเห็นด้วยว่าผลกระทบจะลดลง ไม่ได้ขึ้นอยู่กับเกษตรกรมีร่างกายหรือจิตใจที่เข้มแข็ง แต่ขึ้นอยู่กับการปฏิบัติตนอย่างเคร่งครัดตามหลักวิธีเพียงใด รวมทั้งไม่เห็นด้วยว่าสามารถทิ้งสารที่เหลือใช้ ลงสู่ดินได้ เพราะสารจะเกิดการสลายตัวได้เองตามธรรมชาติ เกษตรกรมีความรู้เกี่ยวกับการปฏิบัติตนเพื่อความปลอดภัยในการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช ในระดับปานกลาง (ร้อยละ 66.7) โดยส่วนใหญ่ มีความรู้ในการเลือกใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่เหมาะกับชนิดของศัตรูพืช ใช้ปริมาณตามอัตราที่แนะนำบนฉลาก และควรเตรียมสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช สำหรับใช้ให้หมดในคราวเดียว ในส่วนของการดูแลตนเองพบว่าเกษตรกรเพียงส่วนน้อย (ร้อยละ 6.7) จะสังเกตความผิดปกติที่เกิดขึ้นกับร่างกายตนเอง หลังจากการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช จะไปซื้อยารับประทานเองตามอาการ รวมทั้งยังขาดความรู้เรื่องการปฏิบัติตนหลังจากได้รับพิษจากสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ถูกต้อง

นอกจากนี้จากการสอบถามเพิ่มพบว่าเกษตรกรกว่าร้อยละ 80 ตัดสินเลือกซื้อผลิตภัณฑ์ป้องกันกำจัดศัตรูพืชตามการแนะนำของร้านจำหน่าย เกษตรกรทุกรายได้รับความรู้/การฝึกอบรมการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชอย่าง

ถูกต้องและปลอดภัยจากเจ้าหน้าที่จากกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ และกระทรวงสาธารณสุข (ร้อยละ 83.3) รองลงมา คือ สถาบันการศึกษา (ร้อยละ 66.7) และตัวแทนจำหน่ายสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช (ร้อยละ 66.7) ช่องทางที่เกษตรกรใช้เพื่อเข้าถึงความรู้มากที่สุด ได้แก่ วิทยุและโทรทัศน์ (ร้อยละ 83.3) รองลงมาคือร้านค้าที่จำหน่ายสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช (ร้อยละ 50) และน้อยที่สุด คือ หนังสือพิมพ์ และอินเทอร์เน็ต (ร้อยละ 16.7) เกษตรกรกว่าร้อยละ 80 คิดว่าการฝึกอบรมเป็นการให้ความรู้ที่ดีที่สุด แต่โอกาสเข้าร่วมการฝึกอบรมยังมีน้อย ความตระหนักถึงผลกระทบของสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชจากการบริโภคผลผลิต เกษตรกรมีความตระหนักถึงผลกระทบของสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชจากการบริโภคผลผลิต ระดับสูง (ร้อยละ 93.3) กล่าวคือเกษตรกรคิดว่าผลผลิตที่ปลอดภัย ย่อมไม่มีผลกระทบต่อผู้บริโภค แต่เกษตรกรยังขาดความเชื่อมั่นว่าผลผลิตที่มีการรับรองการผลิต (ที่ระบุแหล่งผลิต ผู้ผลิต วิธีการผลิต (GAP/อินทรีย์) สถานที่จำหน่าย) ว่าปลอดภัยนั้น มีปลอดภัยอย่างแท้จริง โดยเห็นว่าผลผลิตที่น่ารับประทานควรเป็นผลผลิตที่ไม่มีรอยการทำลายของแมลง ซึ่งเกษตรกรอาจจะใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชในการผลิต แม้ว่าเป็นการผลิตเพื่อบริโภคเอง

2. ผลการตรวจคัดกรองความเสี่ยงจากการสัมผัสสารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสของเกษตรกร ตำบลวังน้ำเขียว อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม โดยใช้กระดาษทดสอบ Cholinesterase

พบว่าอาสาสมัครเข้ารับการตรวจ 12 ราย โดย 7 ราย มีเกณฑ์อยู่ในระดับไม่ปลอดภัย คิดเป็นร้อยละ 58 และ 5 ราย มีเกณฑ์อยู่ในระดับเสี่ยง คิดเป็นร้อยละ 42 ส่วนผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารเมตาบอไลท์ กลุ่ม Dialkyl phosphates (DAPs) ในปัสสาวะของอาสาสมัคร ตรวจพบ DAPs ชนิด Diethyl phosphate (DEP) Diethyl thiophosphate (DETP) Dimethyl phosphate (DMP) และ Dibuthyl phosphate (DBP) รายละเอียดปรากฏในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลการตรวจคัดกรองความเสี่ยงจากการสัมผัสสารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสโดยใช้กระดาษทดสอบ Cholinesterase และผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารเมตาบอไลท์ กลุ่ม Dialkyl phosphates (DAPs) ในปัสสาวะของอาสาสมัคร ปี 2564

| อาสาสมัคร | เพศ | อายุ (ปี) | กิจกรรม | ผลการตรวจคัดกรอง* | ปริมาณของสารกลุ่ม DAPs** | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | ชนิด | มิลลิกรัม/เดซิลิตร | มิลลิกรัม/กิโลกรัม creatinine*** |
| 1 | หญิง | 37 | ปลูกผัก | ไม่ปลอดภัย | DEP<br>DBP | 0.15<br>0.40 | 195.15<br>391.50 |
| 2 | หญิง | 59 | ปลูกผัก | เสี่ยง | DBP | 0.25 | 317.82 |
| 3 | หญิง | 56 | เกษตรทั่วไป | เสี่ยง | ไม่พบ | | |
| 4 | หญิง | 59 | ปลูกผัก ทำไร่ ทำสวน | เสี่ยง | DBP | 0.25 | 316.66 |
| 5 | หญิง | 60 | ปลูกผัก | ไม่ปลอดภัย | ไม่พบ | | |
| 6 | ชาย | 62 | ปลูกผัก | ไม่ปลอดภัย | DETP | 0.27 | 331.97 |
| 7 | หญิง | 61 | ปลูกผัก | เสี่ยง | DMP<br>DBP | 0.16<br>0.32 | 177.45<br>350.86 |
| 8 | ชาย | 52 | ปลูกผัก ทำนา | เสี่ยง | DETP | 0.04 | 44.05 |
| 9 | ชาย | 61 | ปลูกผัก | ไม่ปลอดภัย | DBP | 0.30 | 390.09 |
| 10 | หญิง | 36 | ปลูกผัก | เสี่ยง | DEP<br>DBP | 0.08<br>0.32 | 83.55<br>350.86 |
| 11 | หญิง | 63 | ปลูกผัก | เสี่ยง | ไม่พบ | | |
| 12 | หญิง | 54 | ปลูกผัก รับจ้าง | ไม่ได้ตรวจคัดกรอง | DMP | 0.30 | 369.73 |
| 13 | หญิง | 65 | ปลูกผัก | ไม่ได้ตรวจคัดกรอง | ไม่ได้เก็บตัวอย่างปัสสาวะ | | |
| 14 | หญิง | 49 | ปลูกผัก ทำไร่ | ไม่ได้ตรวจคัดกรอง | DBP | 0.33 | 418.72 |
| 15 | หญิง | 50 | ปลูกผัก | ไม่ปลอดภัย | DBP | 0.22 | 279.60 |

หมายเหตุ

ไม่ได้ดำเนินการตรวจวิเคราะห์ระดับเอนไซม์ Acetylcholine esterase (AChE) และ Serum choline esterase (SChE)

*เกณฑ์บ่งชี้ระดับเอนไซม์ Acetylcholine esterase จากการตรวจคัดกรองด้วย กระดาษทดสอบ Cholinesterase จำแนกออกเป็น 4 ระดับ ได้แก่ ระดับปกติ (AChE $\geq$ 100 unit/ml) ระดับปลอดภัย ($\geq$ 87.5 unit/ml) ระดับมีความเสี่ยง (87.5 unit/ml $\geq$ AChE $\geq$ 75 unit/ml ) และระดับไม่ปลอดภัย ($\leq$ 75 unit/ml

** Diakyl phosphates; DAPs ที่ตรวจวิเคราะห์ ได้แก่ Diethyl phosphate; DEP, Diethyl thiophosphate; DETP , Dimethyl phosphate; DMP, Dimethyl thiophosphate; DMTP และ Dibutyl phosphate; DBT

*** ค่าเฉลี่ยปริมาณ creatinine ในเพศชาย เท่ากับ 0.9 มิลลิกรัม/เดซิลิตร และในเพศหญิง เท่ากับ 0.8 มิลลิกรัม/เดซิลิตร

3. ผลการตรวจปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจพบในตัวอย่างดิน น้ำ และพืช ที่สุ่มเก็บตัวอย่างจากแปลงของเกษตรกรตำบลวังน้ำเขียว อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

ในปี 2564 มีจำนวนตัวอย่างทั้งสิ้นตัวอย่าง 98 ตัวอย่าง (ดิน 38 ตัวอย่าง น้ำ 23 ตัวอย่าง และพืชผัก 37 ตัวอย่าง (ได้แก่ ผักบุ้งจีน (6 ตัวอย่าง) พริกจินดา (4 ตัวอย่าง) โหระพา (5 ตัวอย่าง) กระเพรา (4 ตัวอย่าง) กระชาย (2 ตัวอย่าง) ถั่วฝักยาว (2ตัวอย่าง) ผักกาดหอม (3ตัวอย่าง) และตะไคร้ หอมต้นคะน้า มะเขือเปราะ ผักกาดขาว ผักกาดเขียวขึ้นฉ่าย หอม กระชาย กวางตุ้ง และถั่วพู ชนิดละ 1 ตัวอย่าง) โดยพบสารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส ชนิด ethion ในดิน จำนวน 1 ตัวอย่าง (0.03 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) และชนิด chlorpyrifos ethyl จำนวน 2 ตัวอย่าง (ปริมาณต่ำกว่าค่า LOQ)

และชนิด ethion ในตัวอย่างพืชผัก จำนวน 1 ตัวอย่าง (0.05 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ) ตามลำดับ (LOQ โดย LOQ คือ ความเข้มข้น/ปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ (Limit of Quantitation; LOQ) โดย chlorpyrifos ethyl มีค่า LOQ ในดิน เท่ากับ 0.01 (มิลลิกรัม/กิโลกรัม) และ Ethion มีค่า LOQ ในดิน เท่ากับ 0.01 (มิลลิกรัม/กิโลกรัม) และส่วนของพืชที่นำมาวิเคราะห์คือ ส่วนที่ใช้รับประทาน (Edible part)

ตารางที่ 5 สรุปปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจพบจากตัวอย่างที่สุ่มเก็บจากแปลงของอาสาสมัครเกษตรกร ปี 2564

| อาสาสมัคร | กิจกรรม | ปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจพบ | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | ดิน (มิลลิกรัม/กิโลกรัม) | น้ำ (ไมโครกรัม/ลิตร) | พืช (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)* | |
| 1 | ปลูกผัก | ไม่พบ | ไม่พบ | ผักกาดหอม(1) ผักบุ้ง(2) พริก(1) ผักกาดเขียว(1) โหระพา(1) | ไม่พบ |
| 2 | ปลูกผัก | ไม่พบ | ไม่พบ | กะเพรา(1) คะน้า(1) พริก(1) กวางตุ้ง(1) ถั่วฝักยาว(1) | ไม่พบ |
| 3 | เกษตรทั่วไป | ไม่พบ | ไม่พบ | กระชาย(2) | ไม่พบ |
| 4 | ปลูกผัก ทำไร่ ทำสวน | ไม่พบ | ไม่พบ | ไม่มีตัวอย่าง** | |
| 5 | ปลูกผัก | ไม่พบ | ไม่พบ | โหระพา(1) ตะไคร้(1) พริก(1) ถั่วฝักยาว(1) กะเพรา(1) | ไม่พบ |
| 6 | ปลูกผัก | chlorpyrifos = 0.003 (<LOQ) | ไม่พบ | ถั่วพู(1) โหระพา(1) มะเขือ(1) | ไม่พบ |
| 7 | ปลูกผัก | ไม่พบ | ไม่พบ | ผักบุ้ง(2) คื่นฉ่าย(1) | ไม่พบ |
| 8 | ปลูกผัก ทำนา | ไม่พบ | ไม่พบ | กระชาย(1) | ไม่พบ |
| 9 | ปลูกผัก | chlorpyrifos = 0.001 (<LOQ) | ไม่พบ | โหระพา(1) ถั่วฝักยาว(1) | ไม่พบ |
| 10 | ปลูกผัก | ไม่พบ | ไม่พบ | ผักกาดหอม(1) ผักบุ้ง(1) | ไม่พบ |
| 11 | ปลูกผัก | ไม่พบ | ไม่พบ | หอมต้น(1) พริก(1) | ไม่พบ |
| 12 | ปลูกผัก รับจ้าง | ethion 0.03 | ไม่พบ | กะเพรา(1) | ethion=0.05 |
| | | | | กะเพรา(1) โหระพา(1) | ไม่พบ |
| 13 | ปลูกผัก | ไม่พบ | ไม่พบ | หอมต้น(1) | ไม่พบ |
| 14 | ปลูกผัก ทำไร่ | ไม่พบ | ไม่พบ | กระชาย(1) | ไม่พบ |
| 15 | ปลูกผัก | ไม่พบ | ไม่พบ | ผักบุ้ง(1) | ไม่พบ |

หมายเหตุ

LOQ คือ ความเข้มข้น/ปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ (Limit of Quantitation; LOQ) โดย chlorpyrifos ethyl และ ethion มีค่า LOQ ในดิน เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

*ส่วนของพืชที่นำมาวิเคราะห์คือ ส่วนที่ใช้รับประทาน

**ไม่มีตัวอย่าง หมายถึง ตัวอย่างพืชยังไม่อยู่ในอยู่ช่วงที่เก็บเกี่ยวได้

4. ผลการประเมินความเสี่ยงจากการรับสัมผัสสารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ต่อสุขภาพเกษตรกร ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อมในตำบลวังน้ำเขียว อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

โดยนำค่าปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจพบในดิน น้ำ และพืช มาคำนวณเพื่อประเมินความเสี่ยงจากสารพิษตกค้างในดินต่อสุขภาพเกษตรกร และสิ่งแวดล้อม โดยถ้าสารพิษมีปริมาณต่ำกว่า “ปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ (Limit of Quantitation; LOQ)” จะใช้ค่าปริมาณสารพิษตกค้างที่เท่ากับค่า LOQ ในการคำนวณ โดยผลการประเมินความเสี่ยงพบว่าปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจพบไม่มีผลกระทบต่อมนุษย์และต่อสิ่งแวดล้อม รายละเอียดของผลการประเมิน ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ผลการประเมินความเสี่ยงจากการรับสัมผัสสารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ต่อสุขภาพเกษตรกร ผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม

| สารพิษ | ตัวอย่าง | LOQ (มิลลิกรัม/กิโลกรัม) | ปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจพบ (มิลลิกรัม/กิโลกรัม) | ประเมินความเสี่ยงต่อมนุษย์* | | ประเมินความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Hazard Quotien; HQ | risk | Ecological Risk Quotien; EQ | risk |
| chlorpyrifos ethyl | ดิน | 0.01 | 0.001 และ 0.003 | $5.98 \times 10^{-4}$ | accept | 0.0002** | accept |
| ethion | ดิน | 0.01 | 0.03 | $1.08 \times 10^{-3}$ | accept | -*** | - |
| ethion | กระเพรา | - | 0.05 | $2.66 \times 10^{-3}$ | accept | - | |

*ปริมาณของ chlorpyrifos ethyl ที่ตรวจพบในตัวอย่างน้อยกว่าค่า LOQ จึงใช้ค่า LOQ ในดินของ chlorpyrifos ethyl ซึ่งเท่ากับ 0.01 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ในการคำนวณแทน

**ใช้ค่า LC50 ของ Earthworm สำหรับการประเมินความเสี่ยงของสารพิษตกค้างในดิน

***ยังไม่ได้มีการกำหนดค่า LC, NOEC, LOEC จึงไม่สามารถประเมินค่า EQ ได้

ผลการวิจัยปี 2563-64 พบว่าผลการตรวจคัดกรองความเสี่ยงจากการสัมผัสสารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสโดยใช้กระดาษทดสอบ Cholinesterase มีความสอดคล้องกับผลการตรวจวัดระดับการทำงานของเอนไซม์ Acetylcholine esterase (AChE) และ Serum choline esterase (SChE) และการตรวจพบสาร Dialkyl phosphates (DAPs) (ชนิด Diethyl phosphate (DEP), Diethyl thiophosphate (DETP) และDimethyl phosphate (DMP)) ในปัสสาวะของเกษตรกร 6 ราย จากทั้งหมด 20 ราย ในปี 2563 และ เกษตรกร 6 ราย จากทั้งหมด 15 ราย ในปี 2564 และผลการตรวจพบสารพิษตกค้างในดิน น้ำและผักจากแปลงเกษตรกร แสดงให้เห็นว่าสาร Dialkyl phosphates (DAPs) ที่ตรวจพบอาจจะเป็นผลจากการได้รับสารพิษที่ปนเปื้อนจากในแปลงผัก อย่างไรก็ตามก็อาจจะเป็นผลจากการได้รับสารพิษจากแหล่งอื่นๆ เช่นการบริโภค เป็นต้น เช่นเดียวกับผลการศึกษาของวรรณวิมลและคณะ (2557 และ 2560) ได้ศึกษาผลกระทบจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่มีต่อสุขภาพของเกษตรกร ในโครงการ การศึกษาพัฒนาแนวทางการลดใช้สารเคมีในการเกษตรด้วยกระบวนการวิจัยแบบมีส่วนร่วม กรณีอำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ ที่ตรวจพบสาร DAPs ในตัวอย่างปัสสาวะ ของกลุ่มเกษตรกรที่ไม่ใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช และเป็นเกษตรกรอินทรีย์ โดยบางรายเป็นเกษตรกรอินทรีย์ซึ่งไม่ใช้สารเคมีใดๆ มาเป็นเวลากว่า 10 ปี (ตั้งแต่ พ.ศ.2542) ยังสามารถตรวจพบสารบ่งชี้ดังกล่าวได้ ชี้ให้เห็นว่าอาจยังมีสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตตกค้างในร่างกาย หรือ มีโอกาสการได้รับสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต จากการรับประทานอาหารที่มิได้ผลิตเองและมีการปนเปื้อน เช่น การรับประทานอาหารนอกบ้านขณะทำกิจกรรมต่างๆ

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

ผลการประเมินผลกระทบของสารป้องกันกำจัดแมลงหลายกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส ต่อสุขภาพเกษตรกร ตำบลทุ่งบัว และตำบลวังน้ำเขียว อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ที่มีการใช้สารป้องกันกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสใช้ในการผลิตผัก ระหว่างปี 2563-64 ตรวจพบสารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสในตัวอย่างดิน น้ำ และพืชผักจากแปลงของเกษตรกร ในปริมาณที่ต่ำกว่าความเข้มข้น/ปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ (Limit of Quantitation; LOQ) และประเมินความเสี่ยงจากการรับสัมผัสสารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ต่อสุขภาพเกษตรกร ผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม พบว่าไม่มีผลกระทบต่อเกษตรกร และสิ่งแวดล้อม ในขณะที่ผลการตรวจคัดกรองความเสี่ยงจากการสัมผัสสารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสโดยใช้กระดาษทดสอบ Cholinesterase แสดงให้เห็นว่าเกษตรกรส่วนใหญ่มีเกณฑ์อยู่ในระดับไม่ปลอดภัย และส่วนที่เหลือมีเกณฑ์อยู่ในระดับเสี่ยง และไม่พบว่ามีรายใดอยู่ในเกณฑ์ปลอดภัย ผลการตรวจวัดระดับการทำงานของเอนไซม์ Acetylcholine esterase (AChE) และ Serum choline esterase (SchE) ในตัวอย่างเลือดของเกษตรกร ในปี 2563 พบว่าเกษตรกรร้อยละ 50 มีระดับเอนไซม์ SchE ที่จำแนกอยู่ในเกณฑ์ผิดปกติ โดยพบว่าเป็นเกษตรกรเพศหญิง (ร้อยละ 60) ผลตรวจพบสารเมตาบอไลท์ กลุ่ม สารไดอัลคิลฟอสเฟตเมตาโบไลท์ (Dialkylphosphates, DAPs) ในปัสสาวะของเกษตรกร ในปี 2563-64 พบชนิด Diethyl phosphate (DEP) Diethyl thiophosphate (DETP) Dimethyl phosphate (DMP) และ Dibuthyl phosphate (DBP) แสดงถึงเกษตรกรได้รับสารกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสจากการรับสัมผัสสารพิษ ทั้งนี้จากข้อมูลจากแบบสอบถามจากเกษตรกรจากทั้งสองตำบล แสดงให้เห็นว่าเกษตรกรมีทัศนคติที่ดีในการใช้สารป้องกันกำจัดแมลงอย่างปลอดภัยและถูกวิธี รวมทั้งมีความรู้ในการปฏิบัติตนในการใช้สาร ซึ่งความรู้ดังกล่าวฯ เกษตรกรส่วนใหญ่เข้าถึง/ได้รับมาจากบุคลากรกระทรวงเกษตรกรและสหกรณ์และกระทรวงสาธารณสุข ผ่านการฝึกอบรม แต่การตัดสินใจเลือกชนิดสารสารกำจัดแมลงนั้น ได้มาจากการแนะนำ/ให้ความรู้จากร้านเคมีการเกษตร

อย่างก็ตามเนื่องจากช่วงเวลาที่ดำเนินงานวิจัย (ปี 2563-64) เกิดสถานการณ์ระบาดของโควิด 19 จึงทำให้ไม่สามารถดำเนินการในส่วนของตรวจวัดระดับการทำงานของเอนไซม์ Acetylcholine esterase (AchE) และ Serum choline esterase (SchE) ในตัวอย่างเลือดของเกษตรกร ในปี 2564 เนื่องจากต้องปฏิบัติตามแนวทางปฏิบัติตนที่กำหนดโดย ศบค. ส่งผลกระทบต่อการลงพื้นที่เก็บตัวอย่าง ไม่ได้สัมพันธ์กับช่วงเวลาที่เกษตรกรมีการใช้ ดังนั้นเพื่อให้การประเมินผลกระทบมีความสมบูรณ์ในการนำข้อมูลไปใช้ทั้งในการด้านการวางแผนบริหารจัดการความเสี่ยง ควรดำเนินการการวิจัยเพิ่มเติม เพื่อติดตามว่าผลกระทบที่เกษตรกรได้รับจากการรับสัมผัสสารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. เกษตรกร และหน่วยงานที่เกี่ยวข้องในพื้นที่ ได้รับทราบข้อมูลผลการประเมินผลกระทบและความความเสี่ยงจากการรับสัมผัสสารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ต่อสุขภาพเกษตรกร ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม เพื่อนำไปในในการวางแผนการผลิตผักปลอดภัย ต่อทั้งตัวผู้ผลิตเอง และผู้บริโภค

2. กรมวิชาการเกษตร นำไปใช้เป็นข้อมูลในการติดตามผลกระทบ ตลอดจนสร้างแนวทางการแก้ไขหรือการบริหารจัดการเพื่อการผลิตที่ปลอดภัย

3. ประชาชนทั่วไป สถานศึกษา องค์กรเอกชน และหน่วยงานราชการ ได้รับรู้ข้อมูลผลการประเมินผลกระทบและความความเสี่ยงจากการรับสัมผัสสารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ต่อสุขภาพเกษตรกร ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม เพื่อการต่อยอดงานวิจัย หรือการสร้างความร่วมมือ เพื่อการเฝ้าติดตามผลกระทบ

# เอกสารอ้างอิง


สำนักงานเกษตรจังหวัดนครปฐม. 2560. **การจัดการความรู้ (KM) ปี 2560** [ระบบออนไลน์]. สืบค้นจาก http://www.nakhonpathom.doae.go.th/km%20%E0%B8%9B%E0%B8%B5%202560.html (20 มิถุนายน 2562)

ภาณุพันธุ์ อิ่มแก้ว และสยาม อรุณศรีมรกต. 2558. การศึกษาเปรียบเทียบสารกำจัดแมลงตกค้างในผักใบเขียวของการปลูกพืชแบบทั่วไป และแบบปลอดสารพิษ.**วารสารร่มพฤกษ์ มหาวิทยาลัยเกริก** ปีที่33 ฉบับที่ 3 กันยายน – ธันวาคม

นัฐวุฒิ ไผ่ผาด สมจิตต์ สุพรรณทัสน์ และธีรพัฒน์ สุทธิประภา. 2557. ผลจากการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชของเกษตรกรผู้ปลูกข้าวต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม อำเภอร่องคำ จังหวัดกาฬสินธุ์. **แก่นเกษตร.** 42(3): 301 – 310.

วรรณวิมล ภัทรสิริวงศ์ กฤษณะ ป้องนานาค สุรัตน์ หงส์สิบสอง และธัญภรณ์ เกิดน้อย. 2557. **รายงานผลการวิจัยเรื่องการศึกษาพัฒนาแนวทางการลดใช้สารเคมีในการเกษตรด้วยกระบวนการวิจัยแบบมีส่วนร่วม กรณีศึกษาอำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่**. ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมด้านสิ่งแวดล้อม กรมสงเสริมคุณภาพสิ่งแวดล้อม. 208 หน้า

วรรณวิมล ภัทรสิริวงศ์ สุวรรณา เตียรถ์สุวรรณ ทิพวรรณ ประภามณฑล ธัญภรณ์ เกิดน้อย สุรัตน์ หงส์สิบสอง และฐิติกมล สิทธิสอน. 2560. **รายงานผลการวิจัยเรื่องการศึกษาพัฒนาแนวทางการจัดการความเสี่ยง จากสารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ในพื้นที่ภาคเหนือตอนบนด้วยกระบวนการวิจัยแบบมีส่วนร่วม ปีที่ 3.** ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมด้านสิ่งแวดล้อม กรมส่งเสริมคุณภาพสิ่งแวดล้อม กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม พฤศจิกายน 2560. 109 น. [ระบบออนไลน์]. สืบค้นจาก http://www.oic.go.th/FILEWEB/CABINFOCENTER3/DRAWER083/GENERAL/DATA0001/00001221.PDF (10 มิถุนายน 2562)

Anastassiades, M., Lehotay, S. J., Stajbasher, D., and Schenck, F. J. 2003. Fast and Easy Multiresidues employing Acetonitrile Extraction/Partioning and “Dispersive solid-Phase Extraction” for determination of Pesticide Residues in Produce. **J.AOAC.** vol. 86 no.2 p. 412-431

AOAC.1995. Organophosphorus Pesticide. General Multiresidue Method. **AOAC Official Method 970.52**, 1995.

Chuhua Wu, Ping Liu, Lixing Zheng, Jia chen, and Zhijun Zhou. 2010. GC-FPD measurement of urinary dialkylphosphate metabolites of organophosphorus pesticides as pentafluorobenzyl derivatives in occupationally exposed workers and in a general population in Shanghai (Chaina). **Journal of Chromatography B**. Vol. 878; Iss. 27

Ellman, G.L.,Courtney,K.D.,Andres, V., and Featherstone, R.M. 1961. A new rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Journal of Biochemistry and Pharmacology.** 7:88-95

IPCS (2010). **WHO Human Health Risk Assessment Toolkit: Chemical Hazards** (IPCS harmonization project document no. 8) World Health Organization

# การประเมินผลกระทบสารกำจัดวัชพืชพาราควอตตกค้างในไร่ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต่อสุขภาพเกษตรกร

# Evaluation of the effects of paraquat residues in maize fields on the health of farmers

*ปภัสรา คุณเลิศ* *สิริพร เหลืองสุชนกุล* *ประกิจ จันทร์ติ๊บ* *มลิสา เวชยานนท์*

*Paphatsara Khunlert* *Siriporn Luengsuchonkul* *Prakit Chuntib* *Malisa Wetchayanon*

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

## ABSTRACT

To assess the risk of paraquat residues in water and soil affected the health of farmers during October 2019 to September 2020, the maize fields and farmers who cultivate the maize field in Amphor Nongmong, Lopburi Province, and Amphor Phutthabat and Amphor Kang, Saraburi Province were selected for this study. Fifty-eight farmers were selected for interview (n=58), and the water (n=12) and soil (n=26) samples were obtained from twenty-six farms (randomized sampling) in wet season (July). All samples were analyzed using Spectrophotometer and Ultra-High Performance Liquid Chromatograph (UHPLC). The results found that the paraquat residues were detected in all soil samples (1.42-11.51 mg/kg), whereas water samples were not found for paraquat residues. The health risk assessment was calculated using Hazard Quotient (HQ) values for the ages of 6-12 years (the highest value was $1.53 \times 10^{-2}$), and for the age of 70 years (the highest value was $3.93 \times 10^{-3}$). In addition, the risk assessment was calculated using Risk Quotient (RQ) values for environment (RQ = $1.42 \times 10^{-2}$– $1.15 \times 10^{-1}$). These HQ and RQ values are less than 1, which indicated the levels of paraquat residues were not affect to the health of farmers as well as the environment in their farms.

**Keywords :** Impact assessment, Paraquat herbicide, Soil, Water, Health

## บทคัดย่อ

ประเมินผลกระทบของสารกำจัดวัชพืชพาราควอต (paraquat) ตกค้างในไร่ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ทำการประเมินความเสี่ยงจากสารกำจัดวัชพืช paraquat ตกค้างในน้ำ และดิน ที่มีผลต่อสุขภาพของเกษตรกร ระหว่างเดือนตุลาคม 2562 ถึงเดือนกันยายน 2563 ได้ศึกษาระดับครัวเรือน โดยเลือกอำเภอที่เกษตรกรมีอาชีพปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในเชิงพาณิชย์ ในพื้นที่อำเภอหนองหม่วง จังหวัดลพบุรี อำเภอพุทธบาท และอำเภอแก่งคอย จังหวัดสระบุรี ใช้วิธีสัมภาษณ์เกษตรกร จำนวน 58 ราย โดยคัดเลือกตัวอย่างเกษตรกรแบบเฉพาะเจาะจงจำนวน 26 ราย ใช้วิธีการสำรวจ สุ่มเก็บตัวอย่าง น้ำ และดิน ร่วมกับการวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ ประเมินความเสี่ยงสารพิษตกค้าง ด้วยค่าดัชนีบ่งชี้อันตราย (Hazard quotient, HQ) และประเมินผลกระทบของสารกำจัดวัชพืช paraquat ที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ด้วยค่าดัชนีบ่งชี้อันตรายต่อสิ่งแวดล้อม (Risk Quotient (RQ) โดยสุ่มเก็บตัวอย่าง น้ำ และดิน รวมทั้งหมด 38 ตัวอย่าง ประกอบด้วยน้ำ 12 ตัวอย่าง และดิน 26 ตัวอย่าง ในฤดูฝน ช่วงเดือนกรกฎาคมมาตรวจวิเคราะห์หาสารพิษตกค้างด้วยเครื่อง Spectrophotometer และ Ultra-High Performance Liquid Chromatograph (UHPLC) ผลการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ paraquat พบสารตกค้าง 26 ตัวอย่าง (68%) ในน้ำไม่พบการตกค้างในทุกตัวอย่าง ในดิน ตรวจพบสาร paraquat ในทุกตัวอย่าง ปริมาณ 1.42 – 11.51 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากแปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในอำเภอพุทธบาท

จังหวัดสระบุรี นำมาประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพด้วยค่า HQ ในช่วงอายุ 6 – 12 ปี ได้ค่าสูงสุดเท่ากับ $1.53 \times 10^{-2}$ และช่วงอายุ 70 ปี ได้ค่าสูงสุดเท่ากับ $3.93 \times 10^{-3}$ ซึ่งมีค่าน้อยกว่า 1 อยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ และทำการประเมินผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมด้วยค่า RQ มีค่าเท่ากับ $1.42 \times 10^{-2}$– $1.15 \times 10^{-1}$ มีค่าน้อยกว่า 1 อยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ สรุปได้ว่าการใช้สารกำจัดวัชพืช paraquat ไม่มีความเสี่ยงต่อสุขภาพของเกษตรกร และผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในไร่ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

**คำหลัก :** การประเมินผลกระทบ สารกำจัดวัชพืชพาราครอต ดิน น้ำ สุขภาพ

## คำนำ

พาราควอต (paraquat) เป็นสารกำจัดวัชพืช (Herbicide) ในกลุ่มไบไพริดิเลียม (Bipyridilium) ที่มีคุณลักษณะแบบสัมผัสตายและไม่เลือกทำลาย (non-selective contract) สามารถดูดซึมทางใบ ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ และไซโทพลาสซึม ทำให้พืชเกิดความผิดปกติ เช่น ใบเหลือง จนถึงใบแห้งตาย และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ชนิดอื่นๆ (Leong *et al*., 2018) มีสูตรทางเคมี คือ $C_{12}H_{14}CL_2N_2$ มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 257.2 ลักษณะทางกายภาพเป็นผงสีขาว มีจุดหลอมเหลวที่ 340 องศาเซลเซียส ละลายได้ดีในน้ำ เนื่องจากเป็นสารที่มีขั้วสูง ละลายน้ำได้ 620 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ความเป็นกรด-ด่าง อยู่ระหว่าง 5 – 9 จัดเป็นกลุ่มตามกลไกหรือตำแหน่งการออกฤทธิ์ตาม Toxicity class: II WHO (a.i.) เป็นพิษต่อปลา และสิ่งมีชีวิตในน้ำ ค่า Acute oral $LD_{50}$ ในหนู (rat) เท่ากับ 58 - 113 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว ค่า ADI /RfD เท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว (Adam *et al*., 1990) คุณสมบัติทางกายภาพที่สำคัญของ paraquat คือยึดเกาะกับอนุภาคของดินที่มีประจุลบอย่างเหนียวแน่น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอินทรียวัตถุและองค์ประกอบของดิน ความเป็นกรด-ด่าง และความแรงของไอออนของอนุภาคในดินเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการดูดซับของสาร paraquat โดยเมื่อความเป็นด่างเพิ่มสูงขึ้น การดูดซับของสาร paraquat จะมีค่าลดลง ซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับในดิน ($K_{OC}$) อยู่ระหว่าง 8,000 – 40,000,000 มิลลิลิตรต่อกรัม มีความคงทนสูง (Degradation time ($DT_{50}$) ตกค้างยาวนาน 7 – 20 ปี (Lu *et al*., 2016) paraquat สามารถเข้าสู่ร่างกายได้หลายช่องทาง สำหรับทางเกษตรกรรมส่วนใหญ่ จะเป็นการสัมผัสสารผ่านทางผิวหนัง ผลกระทบทางสุขภาพที่สำคัญ และพบบ่อยเมื่อสัมผัสได้แก่ ผิวหนังแตก หรือไหม้ คลื่นไส้อาเจียน หายใจลำบากแบบเฉียบพลัน เวียนหัว หายใจสั้น การบาดเจ็บของดวงตาและเล็บเสียหาย (พันธ์เทพ, 2558) สำหรับเกษตรกรจะได้รับสาร paraquat จากการสัมผัสระหว่างการพ่นสาร ในอากาศ ดิน และกระบวนการชะล้าง (run-off) ไปสู่แหล่งน้ำ ในประเทศไทยตามรายงานการตรวจพบ paraquat ในตัวอย่างน้ำจากแหล่งปลูกส้ม จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 31 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.73 – 114.60 ไมโครกรัมต่อลิตร (ภิญญา และคณะ, 2554)

ในปี 2562 มีปริมาณการนำเข้า paraquat คิดเป็นมูลค่าเป็นลำดับที่ 4 ปริมาณ 9,943,932.80 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่า 794,856,810.98 ล้านบาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2562) ประโยชน์ ใช้กำจัดวัชพืช ในอ้อย สับปะรด ปาล์ม ยางพารา และมะพร้าว อย่างไรก็ตาม การใช้สารกำจัดวัชพืช paraquat อย่างต่อเนื่อง อาจทำให้เกิดความเสี่ยงต่อสุขภาพของเกษตรกร และสิ่งแวดล้อม เพราะ paraquat สามารถเข้าสู่ร่างกายมนุษย์โดยตรงจากการสัมผัสดิน น้ำ และอากาศ (จารุพงศ์ และคณะ, 2562)

ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญของประเทศไทย ผลผลิตประมาณ 94 เปอร์เซ็นต์ ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ (สุมิตร และคณะ, 2561) ในขณะที่ความต้องการข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น แต่พื้นที่ปลูกมีแนวโน้มลดลง โดยในปีเพาะปลูกปี 2562/63 มีพื้นที่ปลูกข้าวโพด 6,533,971 ไร่ ลดลงจากปีการเพาะปลูก 2560/61 ที่มีพื้นที่ปลูก 6,579,194 ไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2563) ในงานวิจัยนี้ จึงได้ทำการสำรวจ สัมภาษณ์เกษตรกร และสุ่มเก็บตัวอย่างดิน และน้ำ ในแปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ โดยเลือกพื้นที่ทำการทดลองในภาคกลาง ที่อำเภอแก่งคอย และอำเภอพระพุทธบาท จังหวัดสระบุรี มีเนื้อที่เพาะปลูกประมาณ 190,451 ไร่ เนื้อที่เก็บเกี่ยว 190,263 ไร่ ให้ผลผลิต 145,970 ตัน ผลผลิตเฉลี่ย 766 กิโลกรัมต่อไร่ และอำเภอหนองม่วง จังหวัดลพบุรี เนื้อที่เพาะปลูกประมาณ 262,295 ไร่ เนื้อที่เก็บเกี่ยว 262,459 ไร่ ให้ผลผลิต 193,985 ตัน ผลผลิตเฉลี่ย 738 กิโลกรัมต่อไร่ พันธุ์ที่เกษตรกรนิยมปลูกได้แก่ CPDK 888, ไพโอเนีย และ NK 48 โดยเกษตรกรจะปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 2 รุ่น รุ่นที่ 1 จะนิยมปลูกในฤดูฝน ตั้งแต่เดือนพฤษภาคมถึงตุลาคม ผลผลิตเก็บเกี่ยวในช่วงเดือนกันยายน และรุ่นที่ 2 จะนิยมปลูกในฤดูแล้ง เดือนพฤศจิกายนถึง

เมษายน ผลผลิตจะเก็บเกี่ยวในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ ซึ่งเกษตรกรผู้ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จะปลูกต่อเนื่องตลอดปี และมักพบปัญหาวัชพืช โรค และแมลงศัตรูพืช โดยเฉพาะวัชพืชก่อนปลูก เช่น หญ้าแห้วหมู หญ้าตีนกา หญ้าคา และหญ้าขจรจบดอกเล็ก ขึ้นอย่างหนาแน่น เนื่องจากแปลงมีขนาดใหญ่ เกษตรกรจึงเลือกใช้สารกำจัดวัชพืช paraquat ซึ่งอาจพบการตกค้างในสิ่งแวดล้อม เช่น ดิน และแหล่งน้ำ โดยเฉพาะภายในแปลงปลูกที่เกษตรกรสัมผัสโดยตรงขณะปฏิบัติงานภายในแปลง

ดังนั้น การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อประเมินความเสี่ยงจากการได้รับสารกำจัดวัชพืช paraquat ในสิ่งแวดล้อมต่อสุขภาพเกษตรกร และประเมินผลกระทบของสารกำจัดวัชพืช paraquat ที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม โดยข้อมูลที่ได้จากการศึกษา จะนำไปใช้ในการวางแผนผลกระทบต่อสุขภาพที่อาจเกิดขึ้นในอนาคต ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อนักวิจัย และเป็นข้อมูลสำหรับกรมวิชาการเกษตร สามารถนำข้อมูลไปศึกษาต่อยอดเพื่อใช้ในการกำหนดนโยบายสาธารณะของหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง โดยมุ่งเน้นเพื่อการแก้ไขปัญหาผลกระทบต่อสุขภาพที่อาจเกิดขึ้นต่อเกษตรกร และสิ่งแวดล้อม เพื่อใช้ประกอบการพิจารณาบริหารจัดการควบคุมวัตถุมีพิษทางการเกษตรที่มีอันตราย ในการเข้มงวดการใช้ การจำกัดการใช้ หรือการห้ามใช้ เพื่อความปลอดภัยของผู้ใช้ ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อมต่อไป

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในแปลงทดลอง ได้แก่ อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างน้ำ และตะกอน ได้แก่ แครงตักน้ำ ขวดพลาสติกชนิด PTFE ใส่ตัวอย่างน้ำ เครื่องมือเก็บตัวอย่างดิน (soil auger) และถุงพลาสติกใส่ตัวอย่างดิน เครื่องมือเครื่องมือวัดคุณภาพน้ำ และ เครื่องมือที่มีระบบระบุตำแหน่งบนพื้นโลกด้วยดาวเทียม (Global Positioning System; GPS)

2. เครื่องแก้วที่ใช้ในการสกัด ได้แก่ volumetric flask, volumetric pipette, cylinder, beaker, erlermeyer flask, round bottom flask, graduated plastic tube, plastic vial for auto sampler, cuvette, filter paper No. 42, polytetrafluoroethylene (PTFE), filter membrane ขนาด 0.45 ไมโครเมตร เม็ดแก้ว Buchner funnel, desiccator, glass funnel และ คอลัมน์ Primesep AB ชนิด zwitterionic reversed-phase ความยาว 150 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 4.6 มิลลิเมตร สารเคลือบหนา 5 ไมโครเมตร รูพรุนของอนุภาคขนาด 100 อังสตรอม

3. เครื่องแก้วที่ใช้ในการเตรียมสารมาตรฐาน ได้แก่ auto pipette, volumetric pipette และ volumetric flask class A

4. สารเคมี ได้แก่ สารมาตรฐาน ชนิด พาราควอต ไดคลอไรด์ (paraquat dichloride) $C_{12}H_{14}Cl_2N_2$ ความบริสุทธิ์ 99.5%, acetonitrile ($CH_3CN$), methanol ($CH_3OH$), ammonium chloride ($NH_4Cl$), sodium chioride (NaCl), sodium hydroxide (NaOH), ammonium formate ($NH_4HCO_2$), sulfuric acid (conc.$H_2SO_4$), hydrochloric acid (HCl), octan-2-ol ($C_8H_{18}O$), phosphoric acid ($H_3PO_4$), trifluoroacetic acid (TFA; $CF_3CO_2H$), formic acid ($CH_2O_2$), sodium dithionite ($Na_2S_2O_4$) น้ำกลั่น (distilled water) เรซิน ประจุบวก ขนาด 50 – 100 mesh (cation exchange resin), สารช่วยกรองชนิดซีไลท์ ขนาด 0.02 – 1 มิลลิเมตร (celite), วัสดุสำหรับสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งประกอบด้วยคาร์บอน 18 อะตอม ($C_{18}$ SPE cartridge) ซิลิกา (Si-OH SPE cartridge) และ เอนไว-คาร์บ (ENVI-Carb $^{TM}$ SPE cartridge) ขนาด 250 มิลลิกรัม 3 มิลลิลิตร

5. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้า (electrical balances) ชนิดทศนิยม 5 ตำแหน่ง และ 2 ตำแหน่งที่สอบเทียบแล้ว ตู้เย็นแช่แข็ง (Deep Freezer) ที่ควบคุมอุณหภูมิได้ที่ -20 องศาเซลเซียส เตาเผา (muffle furnace) ตู้อบ (hot air oven) เครื่องผสมตัวอย่าง (vortex mixer) เครื่องให้ความร้อนแบบเตาหลุมพร้อมชุด condenser เครื่องกรองแบบสุญญากาศ เครื่อง Spectrophotometer ยี่ห้อ Hitachi รุ่น UH5300 และเครื่อง Ultra-High Performance Liquid Chromatograph (HPLC) ยี่ห้อ Agilent technologies รุ่น 1290

## วิธีการ

**1. การสำรวจและกำหนดจุดเก็บตัวอย่าง**

เลือกพื้นที่ไร่ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ในจังหวัดสระบุรี และลพบุรี ประสานหน่วยงานในพื้นที่ เกษตรอำเภอ เพื่อขอข้อมูล และความร่วมมือระหว่างดำเนินการ ทำการสัมภาษณ์ และเก็บข้อมูลเกษตรกรผู้ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จำนวน 58 ราย ใน 3 อำเภอ 2 จังหวัด คือ อำเภอหนองม่วง จังหวัดลพบุรี อำเภอพุทธบาท และอำเภอแก่งคอย จังหวัดสระบุรี ประเด็นหลักในการสัมภาษณ์ คือ ข้อมูลทั่วไปของกลุ่มตัวอย่าง ข้อมูลศัตรูพืชและการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ความรู้เกี่ยวกับการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ข้อมูลด้านความเชื่อและทัศนคติการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช และข้อมูลด้านการปฏิบัติตนในการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ได้ข้อมูลเกษตรกรที่มีความเสี่ยงจากการใช้สารกำจัดวัชพืชพาราควอตจำนวน 26 ราย กำหนดจุดเก็บตัวอย่างในพื้นที่ ใช้เครื่องมือที่มีระบบระบุตำแหน่งบนพื้นโลกด้วยดาวเทียม (Global Positioning System; GPS) ซึ่งงานวิจัยนี้ได้เก็บตัวอย่าง 1 ครั้ง ในฤดูฝน เดือนกรกฎาคม ทำการเก็บตัวอย่างดิน และน้ำ ในไร่ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จากอำเภอหนองม่วง จังหวัดลพบุรี จำนวน 10 แปลง อำเภอพุทธบาท และอำเภอแก่งคอย จังหวัดสระบุรี จำนวน 16 แปลง รวมทั้งหมด 26 แปลง จุดเก็บแสดงดังตารางภาคผนวกที่ 2

**2. วิธีการเก็บตัวอย่าง**

2.1 ตัวอย่างน้ำ ใช้แครงสุ่มตักตัวอย่างน้ำบริเวณบ่อหรือจุดรวบรวมน้ำสำหรับใช้ในแปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ให้เต็มขวดพลาสติก ขนาด 1 ลิตร จำนวน 2 ขวด ขณะนำส่งห้องปฏิบัติการให้แช่ตัวอย่างไว้ในถังน้ำแข็ง หากยังไม่สกัดตัวอย่างให้นำแช่ไว้ในตู้เย็น ถ้าน้ำมีลักษณะใสสะอาด สามารถนำไปสกัดได้ทันที แต่ถ้ามีความขุ่นหรือสกปรก ให้กรองผ่านกระดาษกรองเพื่อแยกสิ่งปนเปื้อนออกก่อนการตรวจวิเคราะห์ รวมทั้งตรวจวิเคราะห์ดัชนีคุณภาพน้ำจากค่าพารามิเตอร์ในน้ำ ได้แก่ อุณหภูมิของน้ำ ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำ (pH), การนำไฟฟ้า (Conductivity, µs/cm), ค่าของแข็งทั้งหมด (Total Dissolve Solid, ppm) และค่าออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolve Oxygen, mg/L)

2.2 ตัวอย่างดิน ใช้ soil auger หรือช้อนตักดิน สุ่มเก็บดินจากแหล่งปลูก ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างให้ทั่วแปลง (random sampling) แปลงละ 10 จุด รวมทั้งหมดจากทุกจุดเข้าเป็นตัวอย่างเดียวกัน แล้วเก็บในถุงพลาสติกบรรจุให้ได้น้ำหนัก 1 กิโลกรัม ขณะนำส่งห้องปฏิบัติการให้แช่ตัวอย่างไว้ในถังน้ำแข็ง หากยังไม่สกัดตัวอย่างให้นำแช่ไว้ในตู้เย็นหรือตู้แช่แข็ง หรือถ้าตัวอย่างมีความชื้นสูง นำไปผึ่งในถาดที่อุณหภูมิห้อง ให้มีความชื้นประมาณ 10 - 20 เปอร์เซ็นต์ แล้วทุบให้ละเอียด หรือผสมคลุกเคล้าให้เข้ากันก่อนนำไปทดสอบ และหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นของตัวอย่างดิน

**3. วิธีการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างในห้องปฏิบัติการ**

ตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารพิษตกค้างประเภทสารกำจัดวัชพืชด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟฟีด้วยเครื่อง Spectrophotometer ยี่ห้อ Hitachi รุ่น UH5300 และยืนยันผลด้วยเครื่อง Ultra-High Performance Liquid Chromatograph (HPLC) ยี่ห้อ Agilent technologies รุ่น 1290 โดยวิธีการตรวจวิเคราะห์ มีดังนี้

**3.1 การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในตัวอย่างน้ำ**

สกัดตัวอย่างน้ำ (Kennedy, 1986) เตรียมตัวอย่างโดยตวงน้ำ 500 มิลลิลิตร จากนั้นทำการ clean-up ดังนี้เตรียม Burette ขนาด 50 มิลลิลิตร (เส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร) อุดปลายด้วย glass wool ใช้เป็น column ชั่ง cation exchange resin 5 กรัม ละลายน้ำเทใส่ใน column ไขน้ำทิ้งให้เหลือท้องน้ำแตะที่ส่วนบนของ cation exchange resin อย่าให้ cation exchange resin แห้ง Rinse column ด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์อิ่มตัว 50 มิลลิลิตร ไขทิ้ง อัตราการไหล 5 - 10 มิลลิลิตรต่อนาที ให้เหลือท้องน้ำแตะที่ส่วนบนของ cation exchange resin แล้ว rinse column ด้วยน้ำ deionized water 50 มิลลิลิตร ไขทิ้ง ให้เหลือท้องน้ำแตะที่ส่วนบนของ cation exchange resin ค่อยๆ เทสารละลายตัวอย่างลงใน column เปิดปลาย column อัตราการไหล 10 - 12 มิลลิลิตรต่อนาที จนตัวอย่างหมด ให้เหลือท้องน้ำแตะที่ส่วนบนของ cation exchange resin Rinse column ด้วยน้ำ deionized water 50 มิลลิลิตร ไขทิ้ง อัตราการไหล 5 มิลลิลิตรต่อนาที ตามด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริค 2 นอร์มอล 50 มิลลิลิตร ไขทิ้ง อัตราการไหล 5 มิลลิลิตรต่อนาที ตามด้วยน้ำ deionized water 50 มิลลิลิตร ไขทิ้ง อัตราการไหล 5 มิลลิลิตรต่อนาที ตามด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ร้อยละ 2.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร 50 มิลลิลิตร ไขทิ้ง อัตราการไหล 5 มิลลิลิตรต่อนาที

และตามด้วยน้ำ deionized water 50 มิลลิลิตร ไขทิ้ง อัตราการไหล 5 มิลลิลิตรต่อนาที Elute ตัวอย่างด้วยสารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์อิ่มตัว 50 มิลลิลิตร อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที เก็บสารละลายที่ได้ในขวดปริมาตรที่มีฝาปิดขนาด 50 มิลลิลิตร นำไปตรวจวัดด้วยวิธี Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 396 นาโนเมตร

วิธีการตรวจวิเคราะห์ Paraquat ด้วยเครื่อง Spectrophotometer

เตรียมสารละลายโซเดียมไดไธโอไนต์ ร้อยละ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (ละลายในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มอล) โดยเมื่อเตรียมแล้วสารละลายจะใช้ได้ 30 นาที (เตรียมให้พอใช้กับจำนวนครั้งที่ตรวจวัด โดยใช้ 1 มิลลิลิตรต่อการวัด 1 ครั้ง) ใช้สารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์อิ่มตัวเป็นตัวอย่างอ้างอิง (reference cell) ดูดสารละลายที่ได้จากการ clean-up 5 มิลลิลิตร ใส่ test tube ดูดสารละลายโซเดียมไดไธโอไนต์ ร้อยละ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มอล) 1 มิลลิลิตร ใส่ใน test tube ผสมให้เข้ากัน โดยค่อยๆกลับ test tube 1 ครั้ง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 396 นาโนเมตร ด้วยวิธี Spectrophotometer และตรวจยืนยันผลด้วย UHPLC-DAD

**3.2 การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในตัวอย่างดิน**

สกัดตัวอย่างดิน (Kennedy, 1986) นำตัวอย่างดินที่ชั่งไว้ 25 ± 0.05 กรัม ใส่ Round bottom flask ขนาด 500 มิลลิลิตร (ถ้าตัวอย่างเป็นดินแห้ง ให้เติมน้ำ 10 มิลลิลิตร) เติมน้ำ 65 มิลลิลิตร ค่อยๆ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 35 มิลลิลิตร จากนั้นเติม Octane-2-ol(octanol) 1 มิลลิลิตร ใส่เม็ดแก้ว 10 เม็ด นำไปตั้ง Reflux นาน 4 ชั่วโมง ในขณะที่ Reflux ให้เขย่า Round bottom flask เป็นครั้งคราว เพื่อไม่ให้ตัวอย่างไหม้และเกิดความร้อนสูงเป็นบางจุด เมื่อครบ 4 ชั่วโมงแล้วทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นล้าง reflux condenser ด้วยน้ำกลั่นครั้งละ 50 มิลลิลิตร จำนวน 2 ครั้ง นำตัวอย่างมากรองด้วยการ Suction โดยชั่ง Celite 10 กรัม ผสมน้ำ 150 มิลลิลิตร คนให้ละลายแล้วเทลงบน Buchner funnel ที่มีกระดาษกรอง เบอร์ 42 จำนวน 2 แผ่น เปลี่ยน Erlenmeyer flask ใหม่แล้วกรองสารละลายตัวอย่าง ล้างตัวอย่างที่กรองด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้งๆละ 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เก็บตัวอย่างที่อยู่ในรูปสารละลายไป clean-up ตามวิธีการ Clean-up Paraquat

การ Clean-up Paraquat ในตัวอย่างดิน

เตรียม Burette ขนาด 50 มิลลิลิตร (เส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร) อุดปลายด้วย glass wool ใช้เป็น column ชั่ง cation exchange resin 5 กรัม ละลายน้ำ เทใส่ในคอลัมน์ ไขน้ำทิ้งให้เหลือท้องน้ำแตะที่ส่วนบนของ cation exchange resin ระวังอย่าให้ cation exchange resin แห้ง Rinse column ด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์อิ่มตัว 50 มิลลิลิตร ไขทิ้ง อัตราการไหล 5-10 มิลลิลิตรต่อนาที ให้เหลือท้องน้ำแตะที่ส่วนบนของ cation exchange resin แล้ว rinse column ด้วยน้ำ deionized water 50 มิลลิลิตร ไขทิ้ง ให้เหลือท้องน้ำแตะที่ส่วนบนของ cation exchange resin ค่อยๆ เทสารละลายตัวอย่างลงใน column เปิดปลาย column ปรับให้ได้อัตราการไหล 10-12 มิลลิลิตรต่อนาที จนตัวอย่างหมด ให้เหลือท้องน้ำแตะที่ส่วนบนของ cation exchange resin Rinse column ด้วยน้ำ deionized water 25 มิลลิลิตร ไขทิ้ง อัตราการไหล 5 มิลลิลิตรต่อนาที สารละลายกรดไฮโดรคลอริค 2 นอร์มอล 100 มิลลิลิตร ไขทิ้ง อัตราการไหล 5 มิลลิลิตรต่อนาที จากนั้นเป็นน้ำ deionized water 25 มิลลิลิตร ไขทิ้ง อัตราการไหล 5 มิลลิลิตรต่อนาที ตามด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ร้อยละ 2.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร 25 มิลลิลิตร ไขทิ้ง อัตราการไหล 5 มิลลิลิตรต่อนาที และน้ำ deionized water 25 มิลลิลิตร ไขทิ้ง อัตราการไหล 5 มิลลิลิตรต่อนาที Elute ตัวอย่างด้วยสารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์อิ่มตัว 50 มิลลิลิตร อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที เก็บสารละลายที่ได้ในขวดปริมาตรที่มีฝาปิด ขนาด 50 มิลลิลิตร นำไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 396 นาโนเมตร ด้วยวิธี Spectrophotometer และตรวจยืนยันผลด้วย UHPLC-DAD

**4. การคำนวณความเสี่ยงจากการได้รับสารกำจัดวัชพืช paraquat ในน้ำ และดิน ต่อสุขภาพของเกษตรกร**

ค่าความเสี่ยงประเมินจากดัชนีชี้วัดความเสี่ยง (HQ) มีเกณฑ์กำหนด คือ HQ มากกว่า 1 หมายถึง สารกำจัดวัชพืช paraquat ตกค้างอยู่ในระดับเสี่ยงต่อสุขภาพของเกษตรกร หาก HQ น้อยกว่า 1 แสดงว่าสารกำจัดวัชพืช paraquatตกค้างอยู่ในระดับยอมรับได้ค่า HQ ของสารที่พบตกค้างในดิน และน้ำ โดยค่า HQ คำนวณจากค่า ADD (ปริมาณค่าเฉลี่ยที่เกษตรกรได้รับสารป้องกันกำจัดวัชพืชต่อวัน) เทียบกับค่า RfD (ค่าอ้างอิง คือค่าปริมาณสารพิษที่น้อยสุดที่ร่างกายรับได้โดยไม่ทำให้เกิดอันตรายหรือเป็นพิษต่อร่างกาย) มีสมการคำนวณ ดังนี้

$$ADD = (Csoil*CF*IRsoil*EF*ED)/(BW*AT) \quad \text{.....(สมการ 1)}$$

เมื่อ: ADD คือ ปริมาณสารพิษเฉลี่ยต่อวันจากสารกำจัดวัชพืช paraquat ตกค้างในดิน (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน),

Csoil คือ ความเข้มข้นของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้างในดินที่แปลงปลูกพืช (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม),

CF คือ unit conversion factor = $10^{-6}$ กิโลกรัมต่อมิลลิกรัม

IRsoil คือ อัตราการได้รับสารพิษที่ตกค้างในดิน (มิลลิกรัมต่อวัน), 200 มิลลิกรัมต่อวัน สำหรับเด็ก, 100 มิลลิกรัมต่อวัน สำหรับผู้ใหญ่ (U.S. EPA., 2008)

EF คือ ความถี่ของการสัมผัส (365 วัน/ปี),

ED คือ ระยะเวลาที่สัมผัส (years) สำหรับเด็กอายุ 6-12 ปี และ 70 ปี สำหรับผู้ใหญ่ (U.S. EPA., 2003)

BW คือ ค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัว (กิโลกรัม); สำหรับเด็กอายุ 6-12 ปี (33.38 กิโลกรัม), ผู้ใหญ่ (52 กิโลกรัม) จากค่าเฉลี่ยแบบสอบถาม

AT คือ ระยะเวลาที่ใช้เฉลี่ย (365 วัน) (EF*ED)

การคำนวณค่าความเสี่ยงจากสารพิษตกค้างได้จากค่า hazard quotient (HQ) ซึ่งคำนวณจาก ค่า ADD และค่า RfD ดังสมการต่อไปนี้:

$$HQ = ADD/RfD \quad \text{.....(สมการ 2)}$$

เมื่อ: RfD คือ reference dose เฉพาะของสารกำจัดวัชพืช paraquat มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน ใช้ค่า RfD ตามข้อมูล Pesticide Properties Database (PPDB) (IUPAC, 2019) และ IRIS Assessment (U.S. EPA, 2019)

เมื่อ HQ >1 หมายถึง สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้างอยู่ในระดับเสี่ยงต่อเกษตรกร

HQ <1 หมายถึง สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้างอยู่ในระดับยอมรับได้

**การบันทึกข้อมูล**

1. ข้อมูลสารกำจัดวัชพืช paraquat ตกค้างในตัวอย่างน้ำ หน่วยเป็น ไมโครกรัมต่อลิตร (µg/L)
2. ตัวอย่างดิน หน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (mg/kg) และร้อยละของจำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบสารพิษตกค้าง

**ระยะเวลา** เริ่มต้น เดือน ตุลาคม 2562 สิ้นสุด เดือน กันยายน 2563

**สถานที่ทำการทดลอง** 1) แปลงทดลองข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ในจังหวัดลพบุรี และสระบุรี

2) ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยผลกระทบจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

## ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการวิจัยนี้แบ่งออกเป็น 2 ด้าน คือด้านสำรวจเก็บข้อมูลจากการสัมภาษณ์เกษตรกรผู้ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ และด้านการวิเคราะห์ทางกายภาพและปริมาณสารตกค้างในตัวอย่างน้ำและดิน เพื่อประเมินความเสี่ยงสารกำจัดวัชพืช paraquat ตกค้างต่อสุขภาพของเกษตรกรและประเมินผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ผลการวิจัยมีดังนี้

**1. ผลการสำรวจเก็บข้อมูลจากการสัมภาษณ์เกษตรกรผู้ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์**

จากการสัมภาษณ์เกษตรกรผู้ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จำนวน 58 ราย ใน 3 อำเภอ 2 จังหวัด คือ อำเภอหนองม่วง จังหวัดลพบุรี อำเภอพุทธบาท และอำเภอแก่งคอย จังหวัดสระบุรี พบว่า กลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่เป็นเพศชาย มีอายุระหว่าง 46 – 64 ปี มีรายได้เฉลี่ยต่อปี 50,001 – 250,000 มีจำนวนไร่ข้าวโพดประมาณ 11 – 36 ไร่ เกษตรกรส่วนใหญ่มีปัญหาเรื่องศัตรูพืชและโรคระบาด โดยแมลงที่พบส่วนใหญ่ ได้แก่ หนอนกะทู้ข้าวโพด เพลี้ยอ่อน หนอนเจาะลำต้นข้าวโพด และหนอนเจาะฝักข้าวโพด สำหรับวัชพืชที่พบ ได้แก่ หญ้าแห้วหมู หญ้าตีนกา หญ้าคา และหญ้าขจรจบดอกเล็ก โรคพืชที่พบคือ โรคราน้ำค้าง และโรคใบไหม้แผลใหญ่ ซึ่งสารกำจัดวัชพืชที่นิยมใช้ คือสาร paraquat ใช้ 1 ครั้งต่อฤดูการปลูก ช่วงเดือนพฤษภาคม - มิถุนายน ใช้อัตรา 1 ลิตรต่อไร่ ใช้ในรูปแบบการพ่นยาน้ำหรือสารละลาย โดยพ่นสารกำจัดศัตรูพืชด้วยตนเอง ในช่วงเช้าหรือช่วงเย็น กลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่มีโรคประจำตัว ซึ่งส่วนมากเป็นโรคความดันและเบาหวาน นอกจากนี้กลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่ในรอบ 1 ปีที่ผ่านมา ไม่เคยตรวจเลือดหาสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

ความรู้เกี่ยวกับการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช กลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่มีความรู้เกี่ยวกับการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชอยู่ในระดับปานกลาง โดยคำถามที่เกษตรกรตอบถูกต้องมากที่สุด คือ ขณะพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชเกษตรกรควรสวมเสื้อผ้ามิดชิด ใช้ผ้าปิดจมูก สวมถุงมือ และใส่รองเท้าบูท ข้อมูลด้านความเชื่อและทัศนคติการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช เมื่อพิจารณาโดยภาพรวมพบว่ากลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่มีทัศนคติเกี่ยวกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชอยู่ในระดับปานกลาง ข้อมูลด้านการปฏิบัติตนในการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช เมื่อพิจารณาโดยภาพรวมพบว่ากลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่มีพฤติกรรมก่อนการใช้ ขณะใช้ และหลังการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชอยู่ในระดับปานกลาง (ตารางผนวกที่ 1)

จากการสัมภาษณ์เกษตรกรจำนวน 58 ราย ได้ข้อมูลเกษตรกรที่มีความเสี่ยงจากการใช้สารกำจัดวัชพืช paraquat จำนวน 26 ราย ที่ทำการพ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat ด้วยตนเอง

**2. ผลการวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืช paraquat ในน้ำ และดินในแปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์**

ได้สุ่มเก็บตัวอย่างน้ำ และดิน ในแปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ช่วงฤดูฝน ระหว่างเดือน กรกฎาคม 2563 ได้ตัวอย่างน้ำ จำนวน 12 ตัวอย่าง และตัวอย่างดิน จำนวน 26 ตัวอย่าง มาตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง ผลการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำ ตรวจไม่พบการตกค้างของสาร paraquat ในน้ำทุกตัวอย่าง สำหรับผลการตรวจวิเคราะห์ดัชนีคุณภาพน้ำ แสดงค่าพารามิเตอร์ในน้ำไว้ในตารางผนวกที่ 3 ในตัวอย่างดิน ผลการตรวจวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของดินตรวจพบการตกค้างของสาร paraquat ในทุกตัวอย่าง ปริมาณ 1.42 – 11.51 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ดังตารางที่ 1 และผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสาร paraquat ตกค้างในแต่ละจุดเก็บ แสดงดังตารางที่ 2 พบปริมาณตกค้างสูงสุดในแปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จากอำเภอพุทธบาท จังหวัดสระบุรี สอดคล้องกับรายงานการตรวจพบ paraquat ในตัวอย่างดินจากลุ่มแม่น้ำจังหวัดจันทบุรี ช่วงฤดูฝน ปริมาณ 1.30 – 9.15 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Poranee.P *et al*., 2012)

**ตารางที่ 1** ผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสาร paraquat ตกค้างในตัวอย่างดิน และน้ำ ในแปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จังหวัดลพบุรี และสระบุรี

| ชนิดตัวอย่าง | จำนวนตัวอย่าง | | | | ปริมาณ* |
|---|---|---|---|---|---|
| | ทั้งหมด | ตรวจพบ | กลุ่มสารพิษ | ชนิดสาร | |
| น้ำ | 12 | 0 (0%) | Bipyridilium | paraquat | ND |
| ดิน | 26 | 26 (100%) | Bipyridilium | paraquat | 1.42 – 11.51 |
| รวม | 38 | 26 (72%) | ตัวอย่าง | | |

*หมายเหตุ : น้ำ : ปริมาณที่พบหน่วยเป็นไมโครกรัมต่อลิตร (µg/L)
ดิน : ปริมาณที่พบหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (mg/kg)
ND : not detected คือ ตรวจไม่พบ

**3. การประเมินความเสี่ยงสารกำจัดวัชพืช paraquat ตกค้างต่อสุขภาพของเกษตรกร**

**3.1 การประเมินความเสี่ยงสารกำจัดวัชพืช paraquat ตกค้างในดินต่อสุขภาพของเกษตรกรในวัยเด็ก**

เมื่อนำผลการตรวจวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืช paraquat ตกค้างในดินมาคำนวณค่า HQ เพื่อประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพของเกษตรกรผู้ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในช่วงอายุ 6 – 12 ปี โดยมีค่า HQ มากที่สุดเท่ากับ $1.53 \times 10^{-2}$ ซึ่งเป็นแปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในอำเภอพุทธบาท จังหวัดสระบุรี และพบค่า HQ น้อยที่สุดเท่ากับ $1.89 \times 10^{-3}$ ซึ่งเป็นแปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในอำเภอหนองม่วง จังหวัดลพบุรี ซึ่งค่า HQ จากตารางที่ 2 พบว่าความเสี่ยงอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ (HQ < 1) ดังนั้นการประเมินความเสี่ยงสารกำจัดวัชพืช paraquat ตกค้างในดินแปลงปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต่อสุขภาพเกษตรกรในช่วงอายุ 6 – 12 ปี สรุปได้ว่าเกษตรกรผู้ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีความเสี่ยงอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้

**ตารางที่ 2** การประเมินความเสี่ยงสารกำจัดวัชพืช paraquat ตกค้างในดินแปลงปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต่อสุขภาพเกษตรกร

| maize fields | paraquat (mg/kg) | ADD[1)] (mg/kg-day) | RfD[2)] (mg/kg-day) | HQ = ADD[3)] / RfD | Health risk Child |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 3.92 | $2.35 \times 10^{-5}$ | 0.0045 | $5.22 \times 10^{-4}$ | accept |
| 2 | 3.25 | $1.95 \times 10^{-5}$ | 0.0045 | $4.33 \times 10^{-3}$ | accept |
| 3 | 1.42 | $8.51 \times 10^{-6}$ | 0.0045 | $1.89 \times 10^{-3}$ | accept |
| 4 | 1.79 | $1.07 \times 10^{-5}$ | 0.0045 | $2.37 \times 10^{-3}$ | accept |
| 5 | 7.17 | $4.30 \times 10^{-5}$ | 0.0045 | $9.55 \times 10^{-3}$ | accept |
| 6 | 9.51 | $5.70 \times 10^{-5}$ | 0.0045 | $1.27 \times 10^{-2}$ | accept |
| 7 | 1.56 | $9.35 \times 10^{-6}$ | 0.0045 | $2.08 \times 10^{-3}$ | accept |
| 8 | 7.28 | $4.37 \times 10^{-5}$ | 0.0045 | $9.71 \times 10^{-3}$ | accept |
| 9 | 8.22 | $4.93 \times 10^{-5}$ | 0.0045 | $1.09 \times 10^{-2}$ | accept |
| 10 | 1.92 | $1.15 \times 10^{-5}$ | 0.0045 | $2.55 \times 10^{-3}$ | accept |
| 9 | 8.22 | $4.93 \times 10^{-5}$ | 0.0045 | $1.09 \times 10^{-2}$ | accept |
| 10 | 1.92 | $1.15 \times 10^{-5}$ | 0.0045 | $2.55 \times 10^{-3}$ | accept |
| 11 | 8.01 | $4.80 \times 10^{-6}$ | 0.0045 | $1.07 \times 10^{-2}$ | accept |
| 12 | 5.00 | $2.99 \times 10^{-6}$ | 0.0045 | $6.64 \times 10^{-3}$ | accept |
| 13 | 5.55 | $3.33 \times 10^{-5}$ | 0.0045 | $7.40 \times 10^{-3}$ | accept |
| 14 | 6.96 | $4.17 \times 10^{-5}$ | 0.0045 | $9.27 \times 10^{-3}$ | accept |

| maize fields | paraquat (mg/kg) | ADD[1)] (mg/kg-day) | RfD[2)] (mg/kg-day) | HQ = ADD[3)] / RfD | Health risk Child |
|---|---|---|---|---|---|
| 16 | 11.51 | $6.90 \times 10^{-5}$ | 0.0045 | $1.53 \times 10^{-2}$ | accept |
| 17 | 6.63 | $3.97 \times 10^{-5}$ | 0.0045 | $8.82 \times 10^{-3}$ | accept |
| 18 | 6.83 | $4.09 \times 10^{-5}$ | 0.0045 | $9.09 \times 10^{-3}$ | accept |
| 19 | 3.54 | $2.12 \times 10^{-5}$ | 0.0045 | $4.71 \times 10^{-3}$ | accept |
| 20 | 2.01 | $1.20 \times 10^{-5}$ | 0.0045 | $2.66 \times 10^{-3}$ | accept |
| 21 | 6.11 | $3.67 \times 10^{-5}$ | 0.0045 | $8.15 \times 10^{-3}$ | accept |
| 22 | 4.91 | $2.95 \times 10^{-5}$ | 0.0045 | $6.55 \times 10^{-3}$ | accept |
| 23 | 1.86 | $1.11 \times 10^{-5}$ | 0.0045 | $2.47 \times 10^{-3}$ | accept |
| 24 | 1.81 | $1.08 \times 10^{-5}$ | 0.0045 | $2.40 \times 10^{-3}$ | accept |
| 25 | 1.90 | $1.14 \times 10^{-5}$ | 0.0045 | $2.53 \times 10^{-3}$ | accept |
| 26 | 2.66 | $1.59 \times 10^{-5}$ | 0.0045 | $3.53 \times 10^{-3}$ | accept |

หมายเหตุ : ช่วงอายุที่นำมาใช้ในการประเมินอายุ 6 -12 ปี

น้ำหนักเฉลี่ยที่นำมาใช้ในการประเมินเท่ากับ 33.38 กิโลกรัม

1) ADD คือ ปริมาณสารพิษเฉลี่ยต่อวันจากสารกำจัดวัชพืช paraquat ตกค้างในดิน
2) Rfd คือ reference dose เฉพาะของสารกำจัดวัชพืช paraquat
3) HQ คือ ค่าความเสี่ยงประเมินจากดัชนีชี้วัดความเสี่ยง

**3.2 การประเมินความเสี่ยงสารกำจัดวัชพืช paraquat ตกค้างในดินต่อสุขภาพของเกษตรกรในวัยผู้ใหญ่**

เมื่อนำผลการตรวจวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืช paraquat ตกค้างในดินมาคำนวณค่า HQ เพื่อประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพของเกษตรกรผู้ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในช่วงอายุ 70 ปี โดยมีค่า HQ มากที่สุดเท่ากับ $3.93 \times 10^{-3}$ ซึ่งเป็นแปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในอำเภอพุทธบาท จังหวัดสระบุรี และพบค่า HQ น้อยที่สุดเท่ากับ $4.84 \times 10^{-4}$ ซึ่งเป็นแปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในอำเภอหนองม่วง จังหวัดลพบุรี ซึ่งค่า HQ จากตารางที่ 3 พบว่าความเสี่ยงอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ (HQ < 1) ดังนั้นการประเมินความเสี่ยงสารกำจัดวัชพืช paraquat ตกค้างในดินแปลงปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต่อสุขภาพเกษตรกรในช่วงอายุ 70 ปี สรุปได้ว่าเกษตรกรผู้ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีความเสี่ยงอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้

**ตารางที่ 3** การประเมินความเสี่ยงสารกำจัดวัชพืช paraquat ตกค้างในดินแปลงปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต่อสุขภาพเกษตรกร

| maize fields | paraquat (mg/kg) | ADD[1)] (mg/kg-day) | RfD[2)] (mg/kg-day) | HQ = ADD[3)] / RfD | Health risk Adult |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 3.92 | $6.03 \times 10^{-6}$ | 0.0045 | $1.34 \times 10^{-3}$ | accept |
| 2 | 3.25 | $5.00 \times 10^{-6}$ | 0.0045 | $1.11 \times 10^{-3}$ | accept |
| 3 | 1.42 | $2.18 \times 10^{-6}$ | 0.0045 | $4.84 \times 10^{-4}$ | accept |
| 4 | 1.79 | $2.75 \times 10^{-6}$ | 0.0045 | $6.11 \times 10^{-4}$ | accept |
| 5 | 7.17 | $1.10 \times 10^{-5}$ | 0.0045 | $2.44 \times 10^{-3}$ | accept |
| 6 | 9.51 | $1.46 \times 10^{-5}$ | 0.0045 | $3.24 \times 10^{-3}$ | accept |
| 7 | 1.56 | $2.40 \times 10^{-6}$ | 0.0045 | $5.33 \times 10^{-4}$ | accept |
| 8 | 7.28 | $1.12 \times 10^{-5}$ | 0.0045 | $2.48 \times 10^{-3}$ | accept |
| 9 | 8.22 | $1.26 \times 10^{-5}$ | 0.0045 | $2.80 \times 10^{-3}$ | accept |
| 10 | 1.92 | $2.95 \times 10^{-6}$ | 0.0045 | $6.55 \times 10^{-4}$ | accept |
| 11 | 8.01 | $1.23 \times 10^{-5}$ | 0.0045 | $2.73 \times 10^{-3}$ | accept |

**ตารางที่ 3** การประเมินความเสี่ยงสารกำจัดวัชพืช paraquat ตกค้างในดินแปลงปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต่อสุขภาพเกษตรกร (ต่อ)

| maize fields | paraquat (mg/kg) | ADD[1] (mg/kg-day) | RfD[2] (mg/kg-day) | HQ = ADD[3] / RfD | Health risk Adult |
|---|---|---|---|---|---|
| 12 | 5.00 | $7.69 \times 10^{-6}$ | 0.0045 | $1.71 \times 10^{-3}$ | accept |
| 13 | 5.55 | $8.54 \times 10^{-6}$ | 0.0045 | $1.90 \times 10^{-3}$ | accept |
| 14 | 6.96 | $1.07 \times 10^{-5}$ | 0.0045 | $2.37 \times 10^{-3}$ | accept |
| 15 | 4.20 | $6.46 \times 10^{-6}$ | 0.0045 | $1.43 \times 10^{-3}$ | accept |
| 16 | 11.51 | $1.77 \times 10^{-5}$ | 0.0045 | $3.93 \times 10^{-3}$ | accept |
| 17 | 6.63 | $1.02 \times 10^{-5}$ | 0.0045 | $2.26 \times 10^{-3}$ | accept |
| 18 | 6.83 | $1.05 \times 10^{-5}$ | 0.0045 | $2.33 \times 10^{-3}$ | accept |
| 19 | 3.54 | $5.44 \times 10^{-6}$ | 0.0045 | $1.21 \times 10^{-3}$ | accept |
| 20 | 2.01 | $3.09 \times 10^{-6}$ | 0.0045 | $6.86 \times 10^{-4}$ | accept |
| 21 | 6.11 | $9.40 \times 10^{-6}$ | 0.0045 | $2.08 \times 10^{-3}$ | accept |
| 22 | 4.91 | $7.55 \times 10^{-6}$ | 0.0045 | $1.68 \times 10^{-3}$ | accept |
| 23 | 1.86 | $2.86 \times 10^{-6}$ | 0.0045 | $6.35 \times 10^{-4}$ | accept |
| 24 | 1.81 | $2.78 \times 10^{-6}$ | 0.0045 | $6.17 \times 10^{-4}$ | accept |
| 25 | 1.90 | $2.92 \times 10^{-6}$ | 0.0045 | $6.48 \times 10^{-4}$ | accept |
| 26 | 2.66 | $4.09 \times 10^{-6}$ | 0.0045 | $9.08 \times 10^{-4}$ | accept |

หมายเหตุ : ช่วงอายุที่นำมาใช้ในการประเมินอายุ 70 ปี
น้ำหนักเฉลี่ยที่นำมาใช้ในการประเมินเท่ากับ 52 กิโลกรัม เป็นค่าเฉลี่ยที่ได้จากแบบสอบถาม
1) ADD คือ ปริมาณสารพิษเฉลี่ยต่อวันจากสารกำจัดวัชพืช paraquat ตกค้างในดิน
2) Rfd คือ reference dose เฉพาะของสารกำจัดวัชพืช paraquat
3) HQ คือ ค่าความเสี่ยงประเมินจากดัชนีชี้วัดความเสี่ยง

**3.3 การประเมินผลกระทบของสารกำจัดวัชพืช paraquat ตกค้างในดินแปลงปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม**

เมื่อนำผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารกำจัดวัชพืช paraquat ตกค้างในดินที่พบปริมาณต่ำที่สุดและสูงที่สุดมาคำนวณค่า RQ เพื่อประเมินผลกระทบของสารกำจัดวัชพืช paraquat ตกค้างในดินแปลงปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม โดยมีค่า RQ เท่ากับ $1.42 \times 10^{-2}$– $1.15 \times 10^{-1}$ ซึ่งค่า RQ จากตารางที่ 4 พบว่าความเสี่ยงอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ (RQ < 1) ดังนั้นการประเมินผลกระทบของสารกำจัดวัชพืช paraquat ตกค้างในดินแปลงปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม สรุปได้ว่ามีความเสี่ยงอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้

**ตารางที่ 4** การประเมินผลกระทบของสารกำจัดวัชพืช paraquat ตกค้างในดินแปลงปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

| สารกำจัดวัชพืช | MEC minimal[1] (mg/kg) | MEC ex[1] (mg/kg) | PNEC-soil[2] (mg/kg) | RQ m[3] | RQ ex[3] |
|---|---|---|---|---|---|
| paraquat | 1.42 | 11.51 | 10 | $1.42 \times 10^{-2}$ | $1.15 \times 10^{-1}$ |

หมายเหตุ : 1) MEC (measured environment concentration) คือ ความเข้มข้นของสารที่วัดในสิ่งแวดล้อม
2) PNEC (predicted no effect concentration) คือ ความเข้มข้นสูงสุดของสารที่ไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิต
3) RQ ((risk quotient) คือ ดัชนีบ่งชี้ความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

การประเมินผลกระทบสารกำจัดวัชพืช paraquat ตกค้างในไร่ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ในพื้นที่อำเภอหนองม่วง จังหวัดลพบุรี อำเภอพุทธบาท และอำเภอแก่งคอย จังหวัดสระบุรี ในช่วงปี 2562 ถึงปี 2563 เกษตรกรใช้สารกำจัดวัชพืช paraquat ในแปลงช่วงเดือนพฤษภาคม ก่อนปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ สรุปได้ว่า พบการตกค้างของสารกำจัดวัชพืช paraquat ในดินทุกตัวอย่าง ปริมาณสูงสุด 11.51 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในแปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จากอำเภอพุทธบาท จังหวัดสระบุรี และเมื่อนำมาประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพ และประเมินผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม พบว่าอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ ซึ่งสารกำจัดวัชพืช paraquat ตามประกาศราชกิจจานุเบกษา ให้ยกเลิกการใช้ตั้งแต่วันที่ 1 มิถุนายน 2563 ดังนั้นจึงควรมีการศึกษา ตรวจติดตามอย่างต่อเนื่อง เป็นการเฝ้าระวังการใช้สาร เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค สิ่งมีชีวิต และสิ่งแวดล้อม

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. เพื่อติดตามตรวจสอบสถานการณ์การตกค้างของกำจัดวัชพืช paraquat ตกค้าง จากการใช้สารในบริเวณแหล่งปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ในจังหวัดลพบุรี และสระบุรี
2. เพื่อเป็นข้อมูลทางวิชาการแก่นักศึกษา นักวิชาการใช้ประกอบในการทำวิจัยด้านสารพิษตกค้าง
3. ถ่ายทอดองค์ความรู้จากการวิจัยโดยการเผยแพร่ในรายงานผลการวิจัยประจำแต่ละปี และรายงานการประชุมวิชาการกรมวิชาการเกษตร

## เอกสารอ้างอิง


จารุพงศ์ ประสพสุข , สุวิทย์ เลาหศิริวงศ์ , อรุณี พรมคำบุตร และ ชุลีมาศ บุญไทย อิวาย. 2562. การประเมินความเสี่ยงสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้างในดินต่อสุขภาพของเกษตรกร ผู้ปลูกคะน้าในจังหวัดขอนแก่น. ***วารสารวิชาการเกษตร ปีที่ 37 ฉบับที่ 3*** กันยายน – ธันวาคม.น. 278 - 285.

พันธ์เทพ เพชรผึ้ง. 2558. ผลกระทบทางสุขภาพจากการใช้พาราควอตและแนวทางจัดการความเสี่ยง กรณีศึกษาตำบลปงสนุก อำเภอเวียงสา จังหวัดน่าน. ***วารสารเภสัชกรรมไทย ปีที่7 เล่มที่ 2*** กุมภาพันธ์ - ธันวาคม 2558. น. 250 – 258.

สุมิตร วิลัยพรม, ทวีพงษ์ ณ น่าน, ฉัตรสุดา เชิงอักษร และ ชัยกฤต พรมมา. 2561 ทดสอบการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์นครสวรรค์ 3 ในจังหวัดน่าน และจังหวัดเชียงใหม่. ***วารสารวิชาการเกษตร ปีที่ 36 ฉบับที่ 2*** พฤษภาคม - สิงหาคม 2561.น. 163 – 173.

ภิญญา จุลินทร, วิภา ตั้งนิพนธ์, ประกิจ จันทร์ติ๊บ และเอกราช สิทธิมงคล. 2554. การสะสมและแพร่กระจายของสารพิษในสิ่งแวดล้อมแหล่งปลูกส้มพื้นที่ภาคเหนือ. ***รายงานผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2554 เล่ม 2***. สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร: กรุงเทพมหานคร. น. 137 - 153.

สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2562. “รายงานสรุปการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตรปี พ.ศ. 2562”. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www.doa.go.th/ard/wp content /uploads /2019 /04 /HASTAT58_01 (19 พ.ย. 2563).

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2563. ***สถิติการเกษตรของประเทศไทย ป 2552***. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.กรุงเทพฯ. 206 น.

Adam, A., L. L. Smith and G. M. Cohen.1990. An evaluation of the redox cycling potencies of paraquat and nitrofurantoin in microsomal and lung slice systems. ***Biochem. Pharmacol***. 40: 1533 - 1539.

Lu.H., J. Yua., L. Wua., J. Xingc., J. Wang., P. Huang., J. Zhang., H. Xiao. and R. Gao. 2016. Optimized ultra performance liquid chromatography tandem high resolution mass spectrometry method for the quantification of paraquat in plasma and urine. ***Journal of Chromatography B*** 1027: 96–102.

IUPAC. 2019. "Global availability of information onagrochemicals. Pesticide Properties DataBase". [online]. Available https://www. sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/atoz. htm. (March 25, 2019)

Kennedy, S. H. 1986. The determination of residues of paraquat in crops - a spectrophotometric method. ***Plant Protection Division Residue Analytical Method No. 18***, Imperial Chemical Industries, Bracknell, Berkshire, England. 8 pp.

Poranee. P., K. Duangta., and S. Kankanit. 2012. Paraquat contaminations in the Chanthaburi River and vicinity area, Chanthaburi province,thailand. ***Journal of Science, Technology, and Humanities***: Vol. 10, No. 1 pp. 17-24.

U.S. EPA. 2003. **Example Exposure Scenarios. EPA/600/R-03/036**. National Center for Environmental Assessment, Washington, DC. 124 pp.

U.S. EPA. 2008. **Child-Specific Exposure Factors Handbook**. EPA/600/R-06/ 096F. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC. 687 pp.

U.S. EPA. 2019. "Integrated Risk Information System. IRIS Assessments". [online]. Available https://www.epa.gov/iris Accessed (10 Jul. 2020)

Leong. Y.H., A. M. Ariff, H. R. Mohamed Khan, N. A. Abdul Rani and M. I. Abdul Majid. 2018. Paraquat poisoning calls to the Malaysia National Poison Centre following its ban and subsequent restriction of the herbicide from 2004 to 2015. ***Journal of Forensic and Legal Medicine*** 56: 16–20.

# ภาคผนวก

**ตารางภาคผนวกที่ 1** สรุปแบบสอบถามการใช้สารกำจัดวัชพืช paraquat ตกค้างในไร่ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในจังหวัดลพบุรี และสระบุรี (n = 58)

| **พารามิเตอร์** | | **ความถี่ (ร้อยละ)** |
|---|---|---|
| เพศ | ชาย | 35 (60.3) |
| | หญิง | 23 (39.7) |
| อายุ (ปี) | 46 – 64 | 41 (70.7) |
| | | |
| สถานภาพ | คู่ | 44 (75.9) |
| สถานภาพในครอบครัว | หัวหน้าครอบครัว | 40 (69.0) |
| ระดับการศึกษา | จบประถมศึกษา (ป1 – ป6) | 39 (67.2) |
| รายได้เฉลี่ยต่อปีจากการประกอบอาชีพเกษตรกรรม | 50,001 - 250,000 | 34 (58.6) |
| จำนวนไร่ข้าวโพด | 11 - 36 ไร่ | 31 (53.4) |
| ปัญหาเรื่องการประกอบอาชีพ | ปัญหาเรื่องศัตรูพืช/โรคระบาด | 49 (84.5) |
| เกี่ยวข้องกับการทำไร่ข้าวโพดในขั้นตอนใด | การใส่ปุ๋ย | 45 (77.6) |
| ปัญหาแมลง | หนอนกะทู้ข้าวโพด เพลี้ยอ่อน หนอนเจาะลำต้นข้าวโพด และหนอนเจาะฝักข้าวโพด | 58 (100) |
| ปัญหาวัชพืช | หญ้าแห้วหมู หญ้าตีนกา หญ้าคา และหญ้าขจรจบดอกเล็ก | 58 (100) |
| ปัญหาโรคพืช | โรคราน้ำค้าง และโรคใบไหม้แผลใหญ่ | 45 (77.6) |
| สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่นิยมใช้ในไร่ข้าวโพด | paraquat | 58 (100) |
| | glyphosate | 25 (43.1) |
| รูปแบบการใช้ | การพ่นยาน้ำหรือสารละลาย | 39 (67.2) |
| การใช้สารกำจัดศัตรูพืช | พ่นสารเอง | 31 (53.4) |
| โรคประจำตัว | ความดันและเบาหวาน | 29 (50.0) |
| อาการของการเกิดพิษจากสารกำจัดศัตรูพืช | ไม่เคย | 28 (48.3) |
| | เคยมีอาการเล็กน้อย | 27 (46.6) |
| วิธีการรักษาเมื่อมีอาการแพ้สารกำจัดศัตรูพืช | ปล่อยให้หายเอง | 10 (17.2) |
| | ไปโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล | 7 (12.1) |

**ตารางภาคผนวกที่ 1** สรุปแบบสอบถามการใช้สารกำจัดวัชพืช paraquat ตกค้างในไร่ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในจังหวัดลพบุรีและ สระบุรี (n = 58) (ต่อ)

| พารามิเตอร์ | | ความถี่ (ร้อยละ) |
|---|---|---|
| แหล่งข้อมูลเกี่ยวกับสารกำจัดศัตรูพืช | เจ้าหน้าที่เกษตร | 43 (74.1) |
| | โทรทัศน์ | 27 (46.6) |
| ในรอบ 1 ปีที่ผ่านมา เคยตรวจเลือดหาสารตกค้างหรือไม่ | ไม่เคย | 32 (55.2) |
| ความรู้เรื่องการใช้สารกำจัดศัตรูพืช | ระดับต่ำ | 12 (20.7) |
| | ระดับปานกลาง | 36 (62.1) |
| | ระดับสูง | 10 (17.2) |
| ความเชื่อและทัศนคติในการใช้สารกำจัดศัตรูพืช | ระดับต่ำ | 16 (27.6) |
| | ระดับปานกลาง | 30 (51.7) |
| | ระดับสูง | 12 (20.7) |
| การปฏิบัติตนในการใช้สารกำจัดศัตรูพืช | ระดับต่ำ | 7 (12.1) |
| | ระดับปานกลาง | 40 (69.0) |
| | ระดับสูง | 11 (19.0) |

**ตารางผนวกที่ 2** ที่ตั้งของจุดเก็บตัวอย่างดิน และน้ำในจังหวัดลพบุรี และจังหวัดสระบุรี

| จุดเก็บที่ | ชื่อ – สกุล | เลขที่ | หมู่ที่ | ตำบล | อำเภอ | จังหวัด | ชนิดและรหัสตัวอย่าง | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | ดิน | น้ำ | ตะกอน |
| 1 | นายคอย เม่นเกิด | 75 | 8 | ชอนสารเดช | หนองม่วง | ลพบุรี | S 1 | W 1 | - |
| 2 | นายสมทรง วงษ์ษา | 24 | 2 | ชอนสารเดช | หนองม่วง | ลพบุรี | S 2 | - | - |
| 3 | นายชัยณรงค์ คำชาติ | 77 | 2 | ชอนสารเดช | หนองม่วง | ลพบุรี | S 3 | W 3 | - |
| 4 | นายสุเทพ ฉิมมา | 95 | 10 | ชอนสารเดช | หนองม่วง | ลพบุรี | S 4 | - | - |
| 5 | นายทวี โพธิ์เงิน | 9 | 10 | ยางโทน | หนองม่วง | ลพบุรี | S 5 | W 5 | - |
| 6 | นางสุรัตน์ วรเจริญ | 48 | 6 | ยางโทน | หนองม่วง | ลพบุรี | S 6 | - | - |
| 7 | นายวินัย ใยบัวเอื่อม | 5 | 2 | ยางโทน | หนองม่วง | ลพบุรี | S 7 | - | - |
| 8 | นายมานพ อิ่มชื่น | 6/1 | 7 | ยางโทน | หนองม่วง | ลพบุรี | S 8 | - | - |
| 9 | นายอมรเดช อิ่มชื่น | 6 | 7 | ยางโทน | หนองม่วง | ลพบุรี | S 9 | - | - |
| 10 | นายเสกสรรค์ ทองแดง | 53 | 3 | ยางโทน | หนองม่วง | ลพบุรี | S 10 | - | - |
| 11 | นายนึง หนูทองแดง | 2 | 7 | เขาวง | พุทธบาท | สระบุรี | S 11 | W 11 | - |
| 12 | นางน้ำทิพย์ สุทธิรักษ์ | 47 | 7 | เขาวง | พุทธบาท | สระบุรี | S 12 | W 12 | - |
| 13 | นายสมพร บุญมากุล | 47/7 | 7 | เขาวง | พุทธบาท | สระบุรี | S 13 | - | - |
| 14 | นายสมบัติ ประดิษฐ์ภูมิ | 18 | 7 | เขาวง | พุทธบาท | สระบุรี | S 14 | W 14 | - |
| 15 | นายจำนงค์ นาบุญธันทร | 39 | 7 | เขาวง | พุทธบาท | สระบุรี | S 15 | - | - |
| 16 | นายชาติชาย ปิดป้อง | 20 | 7 | เขาวง | พุทธบาท | สระบุรี | S 16 | W 16 | - |
| 17 | นายคำน้อย จันทระ | 32/1 | 7 | เขาวง | พุทธบาท | สระบุรี | S 17 | W 17 | - |
| 18 | นายประทุม เตมีองค์ | 7 | 7 | เขาวง | พุทธบาท | สระบุรี | S 18 | W 18 | - |
| 19 | นายสมนึก อัมภิราย | 44/1 | 7 | เขาวง | พุทธบาท | สระบุรี | S 19 | - | - |
| 20 | นายสมพิศ น้อยเชื้อ | 12 | 7 | เขาวง | พุทธบาท | สระบุรี | S 20 | - | - |

**ตารางผนวกที่ 2** ที่ตั้งของจุดเก็บตัวอย่างดิน และน้ำในจังหวัดลพบุรี และจังหวัดสระบุรี (ต่อ)

| จุดเก็บที่ | ชื่อ – สกุล | เลขที่ | หมู่ที่ | ตำบล | อำเภอ | จังหวัด | ชนิดและรหัสตัวอย่าง | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | ดิน | น้ำ | ตะกอน |
| 21 | นายสมบัติ บุญแจ้ง | 1 | 5 | หินซ้อน | แก่งคอย | สระบุรี | S 21 | - | - |
| 22 | นายทวี โสภา | 116/1 | 9 | หินซ้อน | แก่งคอย | สระบุรี | S 22 | - | - |
| 23 | นายทวีวัฒน์ บัวละออ | 48/1 | 2 | หินซ้อน | แก่งคอย | สระบุรี | S 23 | - | - |
| 24 | นายสนอง ธรรมวิเศษ | 50 | 2 | หินซ้อน | แก่งคอย | สระบุรี | S 24 | W 24 | - |
| 25 | นายจำเนียน มุขแจ้ง | 5 | 5 | หินซ้อน | แก่งคอย | สระบุรี | S 25 | W 25 | - |
| 26 | นายกิตติศักดิ์ เฆมา | 125 | 9 | หินซ้อน | แก่งคอย | สระบุรี | S 26 | W 26 | - |

**ตารางภาคผนวกที่ 3** ผลการตรวจวิเคราะห์ดัชนีคุณภาพน้ำจากค่าพารามิเตอร์ในน้ำ

| รหัสตัวอย่าง | อุณหภูมิของน้ำ (°C) | กรด-ด่างของน้ำ (pH) | การนำไฟฟ้า (Conductivity, µs/cm) | ค่าของแข็งทั้งหมด (Total Dissolve Solid, ppm) | ค่าออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolve Oxygen, mg/L) |
|---|---|---|---|---|---|
| W 1 | 36.5 | 6.14 | 1,457 | 678 | 6.5 |
| W 3 | 35.5 | 7.20 | 84 | 42 | 4.6 |
| W 5 | 36.0 | 6.95 | 1,320 | 662 | 7.2 |
| W 11 | 37.4 | 6.52 | 748 | 374 | 6.8 |
| W 12 | 34.6 | 7.99 | 480 | 240 | 5.8 |
| W 14 | 34.0 | 7.15 | 3,450 | 1,730 | 7.2 |
| W 16 | 35.2 | 6.34 | 835 | 418 | 6.3 |
| W 17 | 34.2 | 6.35 | 675 | 337 | 5.8 |
| W 18 | 32.3 | 6.57 | 726 | 363 | 6.2 |
| W 24 | 28.8 | 6.90 | 766 | 387 | 5.6 |
| W 25 | 30.1 | 6.85 | 695 | 347 | 5.4 |
| W 26 | 31.0 | 6.37 | 685 | 342 | 5.2 |

**ตารางภาคผนวกที่ 4** ผลวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในดินแปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จังหวัดลพบุรี และสระบุรี

| จุดเก็บที่ | ชื่อ – สกุล | พารามิเตอร์ในการวิเคราะห์ | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | pH | EC (ds/m) | OM (%) | Avail P (mg/kg) | Avail K (mg/kg) | Sand (%) | Silt (%) | Clay (%) | เนื้อดิน |
| 1 | นายคอย เม่นเกิด | 6.7 | 0.179 | 2.30 | 29 | 130 | 13.3 | 37.8 | 48.9 | ดินเหนียว |
| 2 | นายสมทรง วงษ์ษา | 6.8 | 0.189 | 2.47 | 15 | 283 | 20.7 | 31.7 | 47.6 | ดินเหนียว |
| 3 | นายชัยณรงค์ คำชาติ | 6.9 | 0.219 | 2.59 | 25 | 246 | 18.6 | 33.6 | 47.8 | ดินเหนียว |
| 4 | นายสุเทพ ฉิมมา | 6.9 | 0.139 | 1.95 | 16 | 185 | 19.4 | 16.0 | 64.6 | ดินเหนียว |
| 5 | นายทวี โพธิ์เงิน | 6.9 | 0.101 | 1.90 | 13 | 115 | 17.5 | 20.0 | 62.5 | ดินเหนียว |
| 6 | นางสุรัตน์ วรเจริญ | 6.9 | 0.163 | 2.53 | 7 | 137 | 15.6 | 18.6 | 65.8 | ดินเหนียว |
| 7 | นายวินัย ใยบัวเอื่อม | 6.9 | 0.232 | 2.45 | 11 | 273 | 14.2 | 22.0 | 63.8 | ดินเหนียว |
| 8 | นายมานพ อิ่มชื่น | 6.7 | 0.429 | 2.19 | 29 | 165 | 19.0 | 19.1 | 61.9 | ดินเหนียว |
| 9 | นายอมรเดช อิ่มชื่น | 6.7 | 0.206 | 1.98 | 51 | 178 | 15.1 | 16.1 | 68.8 | ดินเหนียว |
| 10 | นายเสกสรรค์ ทองแดง | 6.6 | 0.380 | 2.20 | 19 | 119 | 18.8 | 18.5 | 62.7 | ดินเหนียว |
| 11 | นายนึง หนูทองแดง | 6.9 | 0.133 | 1.32 | 124 | 100 | 18.6 | 41.9 | 39.5 | ดินร่วนเหนียวปนทรายแป้ง |
| 12 | นางน้ำทิพย์ สุทธิรักษ์ | 7.0 | 0.150 | 1.74 | 83 | 125 | 24.6 | 39.4 | 36.0 | ดินร่วนเหนียว |
| 13 | นายสมพร บุญมากุล | 7.0 | 0.120 | 1.96 | 227 | 78 | 17.6 | 35.9 | 46.5 | ดินเหนียว |
| 14 | นายสมบัติ ประดิษฐ์ภูมิ | 7.0 | 0.427 | 2.63 | 311 | 493 | 22.1 | 42.0 | 35.9 | ดินร่วนเหนียว |
| 15 | นายจำนงค์ นาบุญธันทร | 7.0 | 0.188 | 1.99 | 127 | 106 | 19.9 | 33.8 | 46.3 | ดินเหนียว |
| 16 | นายชาติชาย ปิดป้อง | 7.0 | 0.356 | 3.67 | 64 | 569 | 34.0 | 38.9 | 27.1 | ดินร่วนเหนียว |
| 17 | นายคำน้อย จันทระ | 7.2 | 0.118 | 168 | 196 | 90 | 22.9 | 35.3 | 41.8 | ดินเหนียว |
| 18 | นายประทุม เตมีองค์ | 7.2 | 0.148 | 2.15 | 86 | 104 | 25.8 | 36.8 | 37.4 | ดินร่วนเหนียว |
| 19 | นายสมนึก อัมภิราย | 7.3 | 0.140 | 1.93 | 75 | 99 | 31.2 | 38.2 | 30.6 | ดินร่วนเหนียว |
| 20 | นายสมพิศ น้อยเชื้อ | 7.3 | 0.137 | 1.69 | 57 | 101 | 31.7 | 38.3 | 30.0 | ดินร่วนเหนียว |
| 21 | นายสมบัติ บุญแจ้ง | 6.2 | 0.079 | 2.13 | 64 | 175 | 21.3 | 32.1 | 46.6 | ดินเหนียว |
| 22 | นายทวี โสภา | 6.3 | 0.119 | 2.02 | 46 | 172 | 14.5 | 21.9 | 63.6 | ดินเหนียว |
| 23 | นายทวีวัฒน์ บัวละออ | 6.7 | 0.138 | 3.26 | 58 | 310 | 11.5 | 25.3 | 63.2 | ดินเหนียว |
| 24 | นายสนอง ธรรมวิเศษ | 6.7 | 0.217 | 2.36 | 23 | 241 | 17.9 | 30.8 | 51.3 | ดินเหนียว |
| 25 | นายจำเนียน มุขแจ้ง | 7.1 | 0.144 | 2.31 | 21 | 245 | 14.3 | 26.8 | 58.9 | ดินเหนียว |
| 26 | นายกิตติศักดิ์ เขมา | 7.1 | 0.201 | 2.65 | 39 | 197 | 14.3 | 26.3 | 59.4 | ดินเหนียว |

# การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์กลุ่มสารป้องกันกำจัดโรคพืช ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช : ไตรไซคลาโซล

# Method Validation for determination of the Active Ingredient of Fungicide Group in Pesticide Products : Tricyclazole

*ทัศนี อัฏฐพรพงษ์* *สุกัญญา คำคง*

*Tassanee Atthapornpong* *Sukanya Khomkhong*

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

## ABSTRACT

The study on method validation of fungicide group; Tricyclazole are determinationed by high performance liquid chromatography (HPLC) the methods are appropriated because there are accuracy and precision. Moreover, the results were accepted from universal standard. The results was described as follows, Working range of tricyclazole using 0.06-0.16mg/ml that were found correlation coefficient (r) 0.99995, respectively (accept of correlation coefficient ≥0.995). Next, precision considered HORRAT found 0.61 value and study from repeatability and within laboratory repeatability that was found 1.29 respectively. Then robustness/ruggedness of method was found HORRAT value as 0.48 which were followed by the AOAC (2016) that between 0.3–1.3 Lastly, Accuracy of method considers from % Recovery that was found 100.0

**Keyword :** method validation, Tricyclazole

## บทคัดย่อ

จากการศึกษาความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์กลุ่มสารกำจัดโรคพืชในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชด้วยเทคนิค high-performance liquid chromatography (HPLC) มีความเหมาะสมสามารถใช้เป็นวิธีวิเคราะห์ที่ให้ผลถูกต้องและแม่นยำ ยอมรับได้ตามเกณฑ์การยอมรับสากล เนื่องจากวิธีการนี้ ให้ค่า การตรวจสอบช่วงความเป็นเส้นตรงและช่วงของการวัดให้ช่วงความเข้มข้น 0.06-0.16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ค่า correlation coefficient (r) >0.99995 เกณฑ์ยอมรับ correlation coefficient (r) ต้องมากกว่า 0.995 และตรวจสอบความเที่ยง (Precision) ที่ให้ค่า HORRAT ของการทวนซ้ำ (repeatability) เท่ากับ 0.61 และการทำซ้ำ within laboratory repeatability ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 1.29 และตรวจสอบ robustness / ruggedness ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.48 ซึ่งอยู่ในช่วง 0.3-1.3 ตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC (2016) ตรวจสอบความถูกต้อง (accuracy) ได้ค่า %recovery เท่ากับ 100.0

**คำหลัก :** ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี ไตรไซคลาโซล

## คำนำ

ประเทศไทยมีการใช้ป้องกันและกำจัดโรคพืช (Fungicide) กันอย่างแพร่หลายเนื่องจากเป็นประเทศเกษตรกรรม สารป้องกันและกำจัดโรคพืชที่ผลิตขึ้นจึงนำมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมและการทำลายศัตรูพืช เพื่อลดความเสียหายของผลิตผลการเกษตรที่เกษตรกรปลูก ปริมาณข้อมูลการนำเข้าสารกำจัดศัตรูพืชในรายงานสรุปการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตร ปี พ.ศ 2561 ประเภทการใช้ (สำนักควบคุมพืชวัตถุการเกษตร, 2561) โดยมีปริมาณและมูลค่าการนำเข้าค่อนข้างสูง แสดงให้เห็นว่ามีการใช้สามารถป้องกันและกำจัดโรคพืชเป็นจำนวนมากดังนั้นเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์อันตรายทางการเกษตรที่มีคุณภาพและเกษตรกรนำไปใช้ได้ อย่างมีประสิทธิภาพการตรวจสอบผลผลิตก่อนการนำเข้าไปประเทศจึงเป็นสิ่งสำคัญห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุมีพิษการเกษตร กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาการผลิตทางการเกษตรเป็นหน่วยงานรับผิดชอบในการให้บริการตรวจวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตรทั้งการขึ้นทะเบียนเข้า นำเข้าและส่งออก รวมทั้งควบคุมคุณภาพตามพระบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ.2535 เพื่อให้ผลการวิเคราะห์มีความถูกต้องแม่นยำและเป็นที่น่าเชื่อถือนั้น ห้องปฏิบัติจึงจำเป็นต้องมีการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ หรือการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation) เพื่อให้มั่นใจว่าวิธีวิเคราะห์ที่ใช้อยู่ถูกต้องเหมาะสมที่จะนำไปใช้งานตรงตามวัตถุประสงค์ ซึ่งเป็นหนึ่งในข้อกำหนดตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 ได้กำหนดคุณลักษณะเฉพาะวิธีในการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีคือตรวจสอบช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity) ช่วงของการวัด(Working Range) ความเที่ยง (Precision) ความทนของวิธี (Robustness/Ruggedness) ความถูกต้อง (Accuracy) และความจำเพาะเจาะจง (Specificity) (EURACHEM Guide, 1998; APVMA, 2004; CIPAC, 2003) แล้วนำมาประเมินด้วยวิธีทางสถิติว่าวิธีวิเคราะห์สามารถนำไปใช้งานได้หรือไม่ ดังนั้นงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์กลุ่มสารป้องกันและกำจัดโรคพืชในผลิตภัณฑ์ : ไตรไซคลาโซล (Tricyclazole) ด้วยเทคนิคโครมาโทรกราฟีเพื่อให้วิธีวิเคราะห์มีความถูกต้องเหมาะสมสามารถใช้เป็นวิธีทดสอบในห้องปฏิบัติการ และนำไปขอการรับรองตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 รวมทั้งเพิ่มสมรรถนะของห้องปฏิบัติการในการตรวจสอบวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางเกษตร

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. เครื่อง high performance liquid chromatographที่ติดตั้งหัววัด UV detector
2. คอลัมน์ HPLC ขนาด 4.0 x 250 มิลลิเมตร ภายในบรรจุด้วย Octylsilain bonded silica gel ขนาด 5 ไมโครเมตร (Lichrosher100 RP-8)
3. คอลัมน์ HPLC ขนาด 4.0 x 250 มิลลิเมตร ภายในบรรจุด้วย Octylsilain bonded silica gel ขนาด 5 ไมโครเมตร (Hypersil ODS)
4. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (ชั่งได้ระดับ 0.1 มิลลิกรัม) ที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว
5. Ultrasonic bath
6. ขวดปริมาตรชนิด type A ขนาด 10, 25, 50 และ 100 มิลลิลิตรที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว
7. Auto pipette ขนาด 10-100 ไมโครลิตร, 100-1000 ไมโครลิตรและ 1-10 มิลลิลิตรที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว
8. บีกเกอร์ ขนาด 50,100 มิลลิลิตร
9. vial ขนาด 2 มิลลิลิตร
10. syringe ขนาด 10 มิลลิลิตร
11. syringe filters 0.22 ไมโครเมตร

## สารเคมี

1. สารมาตรฐาน Tricyclazole 99.4 %
2. Acetonitrile HPLC grade
3. Methanol HPLC grade
4. Water HPLC grade
5. ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ Tricyclazole 75%w/w WP

## วิธีการ

1. การปรับภาวะเครื่อง high performance liquid chromatography (HPLC) ดังนี้

คอลัมน์ชนิด : คอลัมน์ HPLC ขนาด 4.0 x 250 มิลลิเมตร ภายในบรรจุด้วย Octylsilain bonded silica gel ขนาด 5 ไมโครเมตร (Lichrosher100 RP-8)

อัตราการไหล : 1.0 มิลลิลิตร/นาที

เฟสเคลื่อนที่ : water : ACN (80:20)

อุณหภูมิคอลัมน์ : 30 °C ความยาวคลื่น : 252 นาโนเมตร

ปริมาตรการฉีด : 10 ไมโครลิตร

2. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ Tricyclazole

2.1 ตรวจสอบช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity / working range)

เตรียมสารละลายมาตรฐาน 6 ระดับความเข้มข้น ที่ 0.06, 0.08, 0.10, 0.12, 0.14, 0.16 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ใส่ใน ขวดวัดปริมาตร ขนาด 25 มิลลิลิตร เติมตัวทำละลายประมาณครึ่งขวดปิดจุกเขย่าให้ละลายด้วย ultrasonic bath 5 นาที ปล่อยให้สารละลายปรับตัวเข้าสู่อุณหภูมิห้องปรับปริมาตรด้วย methanol เขย่าให้เข้ากัน แบ่งใส่ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร จากนั้นฉีดสารละลายตัวอย่างเข้าเครื่อง HPLC โดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน ฉีดสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นละ 3 ซ้ำเข้าเครื่อง HPLC สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานกับ response พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรง คำนวณค่า correlation coefficient (r) ≥0.995 (Eugene et al, 2012)

2.2 ตรวจสอบความเที่ยง (precision)

2.2.1 ตรวจสอบความทวนซ้ำ (repeatability)

ตรวจ precision แบบ Repeatability ซึ่งเป็นการทดสอบจากห้องปฏิบัติการเดียวกัน ผู้ทดสอบคนเดียวกันเครื่องมือชุดเดียวกัน ในเวลาเดียวกัน ชั่งตัวอย่าง Tricyclazole 75% w/w WP ให้มีความเข้มข้น 0.08,0.10,0.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ระดับละ 10 ซ้ำ ครอบคลุมช่วงที่ใช้งาน ใส่ใน ขวดวัดปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมตัวทำละลายประมาณครึ่งขวดปิดจุกเขย่าให้ละลายด้วย ultrasonic bath 5 นาที ปล่อยให้สารละลายปรับตัวเข้าสู่อุณหภูมิห้องปรับปริมาตรด้วย methanol เขย่าให้เข้ากัน แบ่งใส่ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร จากนั้นฉีดสารละลายตัวอย่างเข้าเครื่อง HPLC โดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน

คำนวณหาค่าเฉลี่ย (mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation,SD) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation,%RSD) ที่คำนวณได้จากผลการทดลอง ($\%RSD_{exp}$) กับที่คำนวณได้จาก Horwitz's equation ($\%RSD_{Horwitz}$) และประเมินด้วย HORRAT (ทิพวรรณ,2549) โดย HORRAT ต้องอยู่ในช่วง 0.3-1.3 ตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC (2016)

ประเมิน precision โดยใช้ HORRAT

$$HORRAT = \%RSD_{exp.} / \%RSD_{Horwitz}$$

คำนวณ Predicted Horwitz RSD ตามสูตร

$$\%RSD_r = 2^{(1-0.5 \log C)}$$

$C$ = Concentration ratio

เกณฑ์ยอมรับค่า precision

AOAC (2016) ยอมรับ HORRAT = 0.3 – 1.3

2.2.2 ตรวจสอบความทำซ้ำ within laboratory repeatability

ซึ่งเป็นการทดสอบจากห้องปฏิบัติการเดียวกัน ผู้ทดสอบคนเดียวกัน เครื่องมือชุดเดียวกัน ในเวลาต่างวันกัน

วิเคราะห์ตัวอย่างเช่นเดียวกับข้อ 2.2.1 แต่จะวิเคราะห์ต่างวัน คำนวณหาค่าเฉลี่ย (mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation, %RSD) ที่คำนวณได้จากผลการทดลอง ($\%RSD_{exp}$) กับที่คำนวณได้จาก Horwitz's equation ($\%RSD_{Horwitz}$) และประเมินด้วย HORRAT ซึ่งต้องอยู่ในช่วง 0.3 - 1.3 ตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC (2016)

2.3 ตรวจสอบ Robustness และ Ruggedness

2.3.1 การตรวจสอบ Robustness

วิเคราะห์ตัวอย่างเช่นเดียวกับข้อ 2.2.1 โดยทำการตรวจสอบ Robustness วิเคราะห์หาปริมาณ Tricyclazole ที่สภาวะการใช้งานปกติ ใช้คอลัมน์ชนิด Lichrosher100 RP-8 อัตราการไหลของ Mobile phase จาก 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที และเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของ Mobile phase เป็น 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที และคำนวณหาค่าเฉลี่ย(mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation, %RSD) ที่คำนวณได้จากผลการทดลอง ($\%RSD_{exp}$) กับที่คำนวณได้จาก Horwitz's equation ($\%RSD_{Horwitz}$) และประเมินด้วย HORRAT ซึ่งต้องอยู่ในช่วง 0.3-1.3 ตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC (2016)

2.3.2 การตรวจสอบ Ruggedness

วิเคราะห์ตัวอย่างเช่นเดียวกับข้อ 2.2.1 โดยทำการตรวจสอบ Ruggedness วิเคราะห์หาปริมาณ Tricyclazole ที่สภาวะการใช้งานปกติ และทำการเปลี่ยนคอลัมน์จาก Lichrosher100 RP-8 เป็น Hypersil ODS และคำนวณหาค่าเฉลี่ย(mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation, %RSD) ที่คำนวณได้จากผลการทดลอง ($\%RSD_{exp}$) กับที่คำนวณได้จาก Horwitz's equation ($\%RSD_{Horwitz}$) และประเมินด้วย HORRAT ซึ่งต้องอยู่ในช่วง 0.3-1.3 ตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC (2016)

2.4 ตรวจสอบความถูกต้อง (Accuracy)

2.4.1 เตรียม stock standard

เตรียมสารละลายมาตรฐาน 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยการชั่งสารมาตรฐาน ใส่ใน ขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติมตัวทำละลายประมาณ ครึ่งขวด ปิดจุก เขย่าให้ละลายด้วย ultrasonic bath 5 นาที ปล่อยให้สารละลายปรับตัวเข้าสู่อุณหภูมิห้องแล้วเติมตัวทำละลายจนถึงขีดปริมาตร

2.4.2 เตรียม stock sample

เตรียมสารละลายตัวอย่าง Tricyclazole 75% w/w WP ให้มีปริมาณสารออกฤทธิ์ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยการชั่งตัวอย่างลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร ละลายด้วยตัวทำละลาย เทสารผ่านกรวยกรอง ลงใน

ขวดวัดปริมาตร 250 มิลลิลิตร เติมตัวทำละลายประมาณ ครึ่งขวด ปิดจุก เขย่าให้ละลายด้วย ultrasonic bath 15 นาที ปล่อยให้สารละลายปรับตัวเข้าสู่อุณหภูมิห้องแล้วเติมตัวทำละลายจนถึงขีดปริมาตร

2.4.3 เตรียมสารละลายมาตรฐานเพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน

เตรียมสารละลายมาตรฐาน 3 ระดับความเข้มข้น ที่ 0.08, 0.10 และ 0.12 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ลงใน ขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตรเติมตัวทำละลายประมาณ ครึ่งขวด ปิดจุก เขย่าให้ละลายด้วย ultrasonic bath 15 นาที ปล่อยให้สารละลายปรับตัวเข้าสู่อุณหภูมิห้องแล้วเติมตัวทำละลายจนถึงขีดปริมาตรแบ่งใส่ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร จากนั้นฉีดสารละลายตัวอย่างเข้าเครื่อง HPLC โดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน ตามลำดับความเข้มข้นจากน้อยไปมาก

2.4.4 เตรียมสารละลายเพื่อหา origin

ปิเปตสารละลาย stock sample ข้อ 2.4.2 ลงใน ขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร จำนวน 10 ซ้ำ ปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายจนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน แบ่งใส่ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร ฉีดสารละลายเข้าเครื่องโดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน ข้อ 2.4.3

2.4.5 เตรียมสารละลายเพื่อหาค่า spike

ปิเปตสารละลาย stock sample ข้อ 2.4.2 ลงใน ขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร จำนวน 3 ชุด ชุดละ 10 ซ้ำ จากนั้นเติมสารละลาย stock standard 3 ระดับความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ ปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายจนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน แบ่งใส่ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร ฉีดสารละลายเข้าเครื่องโดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน ข้อ 2.4.3

2.4.6 ประเมินค่า Accuracy จากค่า %recovery

การประเมินค่า accuracy จาก % recovery นำค่าปริมาณสารออกฤทธิ์ Tricyclazole ที่เป็นค่า origin และ spike มาหาค่าเฉลี่ย และคำนวณค่า % recovery โดยต้องอยู่ในช่วง 98-102 % ตามเกณฑ์พิจารณาสำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10 % ของ AOAC จากสูตร

$$\% \text{ recovery} = (A_{spike} - A_{origin}) \times 100 / A_{add}$$

$A_{spike}$ = ปริมาณสารออกฤทธิ์ในสารละลาย spike

$A_{origin}$ = ปริมาณสารออกฤทธิ์ในสารละลาย origin

$A_{add}$ = ปริมาณสารออกฤทธิ์ที่เติมลงในสารละลาย spike

2.5 ตรวจสอบความจำเพาะเจาะจง (Specificity)

ฉีด Solvent Blank สารละลายมาตรฐานและสารละลายตัวอย่างเข้าเครื่องตัว HPLC พิจารณาโครมาโทแกรมดูว่ามีสารอื่นแปลกปลอมรบกวนสารออกฤทธิ์หรือไม่

3. ประมาณค่าความไม่แน่นอนของการหาปริมาณสารออกฤทธิ์กลุ่มสารป้องกันกำจัดโรคพืชในผลิตภัณฑ์สารกำจัดศัตรูพืช Tricyclazole รายงานความไม่แน่นอนที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

**ระยะเวลา** เริ่มต้น ตุลาคม 2562 - สิ้นสุด กันยายน 2563

**สถานที่ทำการทดลอง** ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

## ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการทดลองจากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์กลุ่มสารกำจัดโรคพืชในผลิตภัณฑ์สารกำจัดศัตรูพืช Tricyclazole โดยหาคุณลักษณะเฉพาะต่างๆ และนำมาหาค่าและประเมินการยอมรับได้ดังนี้

1. ตรวจสอบช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity) และช่วงของการวัด (Working Range) ที่ความเข้มข้น 0.06, 0.08, 0.10, 0.12, 0.14 และ 0.16 พบว่าช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.06 - 0.16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ค่า correlation coefficient (r) ≥ 0.995

2. ตรวจสอบความเที่ยง Precision

2.1 ตรวจสอบความทวนซ้ำ (repeatability) ซึ่งเป็นการทดสอบจากห้องปฏิบัติการเดียวกัน ผู้ทดสอบคนเดียวกัน เครื่องมือชุดเดียวกัน ในเวลาเดียวกัน โดยทำการเตรียมสารละลายตัวอย่างที่ความเข้มข้นที่ระดับ 0.08, 0.10, 0.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ

2.2 ตรวจสอบความทำซ้ำ within laboratory repeatability ซึ่งเป็นการทดสอบจากห้องปฏิบัติการเดียวกัน ผู้ทดสอบคนเดียวกัน เครื่องมือชุดเดียวกัน ในเวลาต่างวันกัน โดยทำการเตรียมสารละลายตัวอย่างที่ความเข้มข้นที่ระดับ 0.08, 0.10, 0.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ

และนำผลที่ได้จากการทดสอบมาคำนวณหาค่าเฉลี่ย (mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation, %RSD) ที่คำนวณได้จากผลการทดลอง ($\%RSD_{exp}$) กับที่คำนวณได้จาก Horwitz's equation ($\%RSD_{Horwitz}$) และประเมินด้วย HORRAT (ทิพวรรณ, 2549) โดย HORRAT ต้องอยู่ในช่วง 0.3 - 1.3 ตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC (2016) ดังแสดงในตาราง

ตารางที่ 1 ผลการตรวจ Precision ที่ 3 ระดับความเข้มข้น

| สารป้องกัน | ความเข้มข้น | Repeatability (n=10) | | | | within laboratory repeatability (n=10) | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| กำจัดศัตรูพืช | mg/ml | mean | $\%RSD_{exp}$ | $\%RSD_{Horwitz}$ | HORRAT | mean | $\%RSD_{exp}$ | $\%RSD_{Horwitz}$ | HORRAT |
| Tricyclazole | 0.08 | 75.76 | 1.02 | 2.08 | 0.49 | 74.79 | 1.98 | 2.08 | 0.95 |
| | 0.10 | 75.35 | 0.80 | 2.08 | 0.38 | 75.42 | 1.69 | 2.08 | 0.81 |
| | 0.12 | 76.14 | 1.41 | 2.08 | 0.68 | 75.75 | 1.33 | 2.08 | 0.64 |

3. การตรวจสอบ Robustness ได้ทำการเปลี่ยนอัตราการไหลของ Mobile phase จาก 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที เปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของ Mobile phase เป็น 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที โดยทำการเตรียมสารละลายตัวอย่างที่ความเข้มข้นที่ระดับ 0.08, 0.10, 0.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ และนำผลที่ได้จากการทดสอบมาคำนวณหาค่าเฉลี่ย (mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation, %RSD) ที่คำนวณได้จากผลการทดลอง ($\%RSD_{exp}$) กับที่คำนวณได้จาก Horwitz's equation ($\%RSD_{Horwitz}$) และประเมินด้วย HORRAT (ทิพวรรณ, 2549) โดย HORRAT ต้องอยู่ในช่วง 0.3-1.3 ตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC (2016) ดังแสดงในตาราง

ตารางที่ 2 ผลการตรวจสอบ Robustness ที่ 3 ระดับความเข้มข้น (n=10)

| สารป้องกัน | ความเข้มข้น | เปลี่ยน flow ของ Mobile phase จาก 1.0 ml/min เป็น 1.2 ml/min | | | | เปลี่ยน Temperture จาก 30 °C เป็น 40 °C | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| กำจัดศัตรูพืช | mg/ml | mean | $\%RSD_{exp}$ | $\%RSD_{Horwitz}$ | HORRAT | mean | $\%RSD_{exp}$ | $\%RSD_{Horwitz}$ | HORRAT |
| Tricyclazole | 0.08 | 76.40 | 0.86 | 2.08 | 0.41 | 76.05 | 0.84 | 2.08 | 0.40 |
| | 0.10 | 75.65 | 0.80 | 2.08 | 0.38 | 76.01 | 0.69 | 2.08 | 0.33 |
| | 0.12 | 75.83 | 1.12 | 2.08 | 0.54 | 75.59 | 1.09 | 2.08 | 0.53 |

4. การตรวจสอบ Ruggedness ได้ทำการเปลี่ยนคอลัมน์จาก Lichrosher100 RP-8 เป็น Hypersil OD โดยทำการเตรียมสารละลายตัวอย่างที่ความเข้มข้นที่ระดับ 0.08, 0.10, 0.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ และผลการทดลองพบว่าได้ค่าเฉลี่ย (mean) ของ Tricyclazole ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation, %RSD) ที่คำนวณได้จากผลการทดลอง ($\%RSD_{exp}$) มีค่าน้อยกว่าที่คำนวณได้จาก Horwitz's equation ($\%RSD_{Horwitz}$) ดังนั้นการประเมินด้วย HORRAT ของ Tricyclazole มีค่า HORRAT อยู่ในช่วง 0.3-1.3 ตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC (2016) วิธีวิเคราะห์ Tricyclazole ให้ผลการทดลองอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ดังแสดงในตาราง

ตารางที่ 3 ผลการตรวจสอบ Ruggedness ที่ 3 ระดับความเข้มข้น (n=10)

| สารป้องกัน | ความเข้มข้น | เปลี่ยน Column Lichrospher เป็น Hypersil ODS | | | | เปลี่ยนเครื่อง | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| กำจัดศัตรูพืช | mg/ml | mean | $\%RSD_{exp}$ | $\%RSD_{Horwitz}$ | HORRAT | mean | $\%RSD_{exp}$ | $\%RSD_{Horwitz}$ | HORRAT |
| Tricyclazole | 0.08 | 75.73 | 0.884 | 2.08 | 0.42 | 76.15 | 0.669 | 2.08 | 0.321 |
| | 0.10 | 75.89 | 0.957 | 2.08 | 0.459 | 76.12 | 0.631 | 2.08 | 0.303 |
| | 0.12 | 75.27 | 0.696 | 2.08 | 0.334 | 75.21 | 0.705 | 2.08 | 0.338 |

5. ตรวจสอบความถูกต้อง (Accuracy) โดยหาค่า %recovery ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติมลงในสารละลายตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้น 0.08, 0.10, 0.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ระดับละ 10 ซ้ำ พบว่า %recovery ของ Tricyclazole อยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับที่ 98 - 102% ตามเกณฑ์พิจารณาสำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ของ AOAC

ตารางที่ 4 ผลตรวจสอบความถูกต้อง (Accuracy)

| AI Tricyclazole mg/ml | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| No. | Conc.0.08mg/ml | | | Conc.0.1mg/ml | | | Conc.0.12 mg/ml | | |
| | origin | add | Spike | origin | add | Spike | origin | add | Spike |
| 1 | 0.026 | 0.056 | 0.081 | 0.028 | 0.07 | 0.101 | 0.040 | 0.084 | 0.125 |
| 2 | 0.023 | 0.056 | 0.080 | 0.028 | 0.07 | 0.101 | 0.039 | 0.084 | 0.120 |
| 3 | 0.022 | 0.056 | 0.080 | 0.028 | 0.07 | 0.101 | 0.039 | 0.084 | 0.122 |
| 4 | 0.022 | 0.056 | 0.079 | 0.028 | 0.07 | 0.102 | 0.039 | 0.084 | 0.124 |
| 5 | 0.022 | 0.056 | 0.080 | 0.028 | 0.07 | 0.101 | 0.040 | 0.084 | 0.121 |
| 6 | 0.024 | 0.056 | 0.080 | 0.028 | 0.07 | 0.101 | 0.039 | 0.084 | 0.121 |
| 7 | 0.022 | 0.056 | 0.081 | 0.029 | 0.07 | 0.100 | 0.040 | 0.084 | 0.123 |
| 8 | 0.025 | 0.056 | 0.079 | 0.028 | 0.07 | 0.100 | 0.039 | 0.084 | 0.123 |
| 9 | 0.023 | 0.056 | 0.079 | 0.028 | 0.07 | 0.101 | 0.040 | 0.084 | 0.120 |
| 10 | 0.022 | 0.056 | 0.079 | 0.029 | 0.07 | 0.101 | 0.040 | 0.084 | 0.124 |
| mean | 0.023 | 0.056 | 0.080 | 0.028 | 0.07 | 0.101 | 0.039 | 0.084 | 0.122 |
| % Recovery | | 98.2 | | | 100 | | | 98.8 | |

6. ตรวจสอบความจำเพาะเจาะจง (Specificity) จากการฉีด Blank สารละลายมาตรฐานและสารละลายตัวอย่าง Tricyclazole พบว่า โครมาโทแกรม ของ Blank สารมาตรฐานและสารละลายตัวอย่าง ไม่มี Peak อื่นใดมารบกวน

7. ประมาณค่าความไม่แน่นอนของการหาปริมาณสารออกฤทธิ์กลุ่มสารป้องกันกำจัดโรคพืชในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช Tricyclazole 75±1.18% ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์กลุ่มสารป้องกันกำจัดโรคพืชในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช Tricyclazole โดยพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีด้วยการหาคุณลักษณะเฉพาะต่างๆได้แก่ ตรวจสอบช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity) และช่วงของการวัด (Working range) ให้ช่วงความเข้มข้น 0.06-0.16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ค่า $r > 0.995$ อยู่ในเกณฑ์ยอมรับค่า $r \geq 0.995$ ตรวจสอบความเที่ยง (Precision) รวมทั้งตรวจสอบ Robustness และ Ruggedness ประเมินด้วย HORRAT ของ Tricyclazole มีค่า HORRAT อยู่ในช่วง 0.3 - 1.3 ตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC (2016) ตรวจสอบความถูกต้อง (Accuracy) ได้ค่า %recovery ของ Tricyclazole อยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับที่ 98 - 102% ตามเกณฑ์พิจารณาสำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ของ AOAC และวิธีนี้มีความจำเพาะเจาะจง (Specificity) ไม่มีการรบกวนของสารอื่น และประมาณค่าความไม่แน่นอน ของ Tricyclazole 75 ± 1.18% ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ตามลำดับ จากผลการทดลองดังกล่าว พบว่าคุณลักษณะเฉพาะของวิธีเป็นไปตามเกณฑ์การยอมรับ ดังนั้นวิธีนี้จึงมีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์วัตถุมีพิษการเกษตรได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ สร้างความเชื่อถือแก่ผลการทดสอบ อีกทั้งเป็นที่ยอมรับในระดับสากล และสามารถนำไปขอการรับรองห้องปฏิบัติการตามระบบ ISO/IEC 17025 ได้

## การนำผลงานไปใช้ประโยชน์

วิธีนี้สามารถใช้เป็นวิธีทดสอบของห้องปฏิบัติการในการให้บริการตรวจวิเคราะห์คุณภาพผลิตภัณฑ์วัตถุมีพิษการเกษตรตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย และใช้ในการรับรองห้องปฏิบัติการตามมาตรฐานรวมถึงเผยแพร่ให้กับห้องปฏิบัติการของกรมวิชาการเกษตรในส่วนภูมิภาคต่อไป

## เอกสารอ้างอิง


ทิพวรรณ นิ่งน้อย. 2549. ***แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว.*** กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. กระทรวงสาธารณสุข.

สำนักงานควบคุมและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2561. "รายงายสรุปการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตร-ปี-พ.ศ-๒๕๖๑-ประเภทการใช้." [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา https://www.doa.go.th/ ard/wp-content/uploads/2020/01/HASTAT61_05รายงานสรุปการนำเข้าวัตถุอันตราย ทางการเกษตร-ปี-พ.ศ-๒๕๖๑-ประเภทการใช้.pdf (16 พฤศจิกายน 2561)

APVMA. 2004. Guidelines for the Validation of Analytical Methods for Active Constituent, Agricultura and Vterinary Chemical Products. Autralian Pesticides Veterinary Medicines Authority. Kingston. Australia.

Eugene, W.R, B.B Rodger, D.E. Andrew and S.C. Lenore. 2012. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 22nd ed. Washington, DC.USA.

EURACHEM Guide. 1998. The Fitness for Purpose of Analytical Method: A Labororatory Guide to Method Validation and Related Topics. EURACHEM Working Group. United Kingdom.

George W. and Jr., Latimer. 2016. Official method analysis of AOAC in international. Appendix F:; Guidelines for standard method performance requirements. 20th ed. AOAC international, 2016.p1-18



# กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี

# ศึกษาเกณฑ์คลาดเคลื่อนจากค่าความไม่แน่นอนของการวัดปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์
# Tolerance of uncertainty on total nitrogen in organic fertilizer

*นันทกานต์ ขุนโหร* *ศุภัคชญา ทาหาร*
*Nanthakan Khunhon* *Supakchaya Thahan*

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

## ABSTRACT

Tolerance of uncertainty on total nitrogen in organic fertilizer was study of usage data from the method validation of total nitrogen, sampling and analysis to be combined. The result of method validation, Range, Linearity, accuracy, precision were passed. All acceptance criteria, limit of detection (LOD), limit of quantitation (LOQ) were 0.03%TN and 0.11%TN. The measurement uncertainty from the method validation was assessed. At low concentrations (0.3% TN), medium and high concentrations (6.0 %TN) were 0.006 %N and 0.068 %N, respectively. Analysis of organic fertilizers at 3 concentration levels, found that the uncertainty from the sampling and testing at concentration 0.29-10.14%TN were 1.77-12.42% 1.51-22.63% and expanded uncertainty were 2.33-25.81%.

**Keywords :** Tolerance Total nitrogen Organic fertilizer

## บทคัดย่อ

การศึกษาเกณฑ์คลาดเคลื่อนของการวัดปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ โดยทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์ และทำการทดสอบตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ ที่ความเข้มข้น ต่ำ กลาง สูง เพื่อนำมาประเมินค่าความไม่แน่นอน ขั้นตอนการสุ่มตัวอย่าง และขั้นตอนการวิเคราะห์ การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์โดยวิธีการเผา (Combustion method) ทำการทดสอบ Range, Linearity, accuracy, precision, limit of detection(LOD), Limit of quantitation (LOQ) พบว่า Range, Linearity, accuracy, precision ผ่านเกณฑ์การยอมรับทั้งหมด ค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.03 %N และ 0.11%N ประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัดที่ค่าความเข้มข้นต่ำ (0.3%N) ความเข้มข้นสูง (6.0%N) เท่ากับ 0.006และ 0.068 ตามลำดับ การวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์ที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง สูง พบว่าค่าความไม่แน่นอนจากการสุ่มตัวอย่างและจากการทดสอบ ที่ความเข้มข้น 0.29-10.14%TN เท่ากับ 1.77-12.42% และ 1.51-22.63% ได้เกณฑ์ค่าความไม่แน่นอนขยายของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ที่ครอบคลุมระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง เท่ากับ 2.33-25.81%

**คำหลัก :** ค่าความคลาดเคลื่อน ไนโตรเจนทั้งหมด ปุ๋ยอินทรีย์

## คำนำ

ปุ๋ยอินทรีย์ ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 (มาตรา 3) หมายความว่า ปุ๋ยที่ได้หรือทำมาจากวัสดุอินทรีย์ ซึ่งผลิตด้วยกรรมวิธีทำให้ ชื้น สับ หมัก บด ร่อน หรือด้วยวิธีการอื่น และวัสดุอินทรีย์ถูกย่อยสลายสมบูรณ์ด้วยจุลินทรีย์แต่ไม่ใช่ปุ๋ยเคมีและปุ๋ยชีวภาพ การผลิตปุ๋ยอินทรีย์เพื่อการค้าต้องได้รับการอนุญาตจากพนักงานเจ้าหน้าที่ กรมวิชาการเกษตรในฐานะผู้รับผิดชอบหลักในการกำกับดูแลคุณภาพปุ๋ย การควบคุมปุ๋ย แบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ ฉลาก ขนาดบรรจุ และเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหาร ซึ่งเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหาร มีความสำคัญในการบ่งชี้ว่าปริมาณธาตุอาหารรับรองที่ระบุผ่านเกณฑ์คลาดเคลื่อนขั้นต่ำ ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหารรับรองของปุ๋ยเคมี ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมฉบับที่ 2 พ.ศ. 2550 พ.ศ. 2554 กำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหารรับรองที่มีในปุ๋ยเคมีทุกชนิดที่อนุญาตให้คลาดเคลื่อน หรือแตกต่างในการนำ การเตรียมการ และการวิเคราะห์ตัวอย่างปุ๋ยเคมีเพื่อตรวจสอบปริมาณธาตุอาหารรับรอง ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม และข้อมูลตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณอินทรียวัตถุ ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมฉบับที่ 2 พ.ศ. 2550 พ.ศ. 2552 กำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณอินทรียวัตถุที่มีในปุ๋ยอินทรียเคมีและปริมาณอินทรียวัตถุรับรองที่มีในปุ๋ยอินทรีย์ทุกชนิดที่อนุญาตให้คลาดเคลื่อน หรือแตกต่างในการนำ การเตรียมการ และการวิเคราะห์ตัวอย่างปุ๋ยอินทรียเคมีและปุ๋ยอินทรีย์เพื่อตรวจสอบปริมาณอินทรียวัตถุรับรอง แต่ปัจจุบันยังไม่มีเกณฑ์คลาดเคลื่อนของการตรวจสอบปริมาณธาตุอาหารรับรองของไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ เพื่อควบคุมคุณภาพปุ๋ย ควบคุมการผลิต และจำหน่ายปุ๋ยให้มีคุณภาพ ถูกต้องตามหลักเกณฑ์ และรักษาผลประโยชน์ของเกษตรกร ซึ่งต้องอาศัยผลการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในปุ๋ยของห้องปฏิบัติการ โดยในกระบวนการวิเคราะห์หรือวัดค่าสิ่งต่างๆ ย่อมมีความไม่แน่นอนหรือความคลาดเคลื่อนเกิดขึ้นเสมอ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการกำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนออกมารองรับปริมาณ หรือความคลาดเคลื่อนที่เกิดขึ้น อีกทั้งยังเป็นเกณฑ์สำหรับห้องปฏิบัติการใช้ในการพิจารณาดำเนินการตรวจสอบซ้ำ ในกรณีที่ผลวิเคราะห์ไม่ตรงกับปริมาณที่แจ้ง และเพื่อความเป็นธรรมของผู้ที่เกี่ยวข้อง ในกรณีที่มีการนำผลการวิเคราะห์มาใช้ตัดสินในทางกฎหมาย ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. เครื่องวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนโดยหลักการเผายี่ห้อ Leco รุ่น FP 628
2. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
3. เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆที่ใช้ในการปฏิบัติการทดสอบ
4. สารเคมี
   - 4.1 EDTA Standard (Leco)
   - 4.2 EDTA (AR grade)
   - 4.3 Lecosorb (Sodium Hydroxide และ coated on silicate)
   - 4.4 Anhydrone (Magnesium Perchlorate)
   - 4.5 Furnace Reagent (Calcium Oxide และ kaolin)
   - 4.6 N-catalyst Reagent
   - 4.7 Copper Turning Degassed
   - 4.8 Copper Sticks
   - 4.9 Quartz Wool Strips
   - 4.10 Steel Wool

4.11 Glass Wool

4.12 Sucrose

4.13 วัสดุอ้างอิงรับรอง/วัสดุอ้างอิงมาตรฐาน

Ammonium Dihydrogen Phosphate 12.15 ± 0.01 % Nitrogen (SRM No.194 NIST)

4.14 แก๊ส Helium ชนิดบริสุทธิ์ 99.999%

4.15 แก๊ส Oxygen ชนิดบริสุทธิ์ 99.7%

## วิธีการ

1. เตรียมปุ๋ยอินทรีย์สำหรับการวิเคราะห์ครอบคลุมที่มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ได้แก่ อุปกรณ์ สารเคมี วัสดุอ้างอิงรับรอง และตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์จำนวน 17 ตัวอย่างได้แก่ มูลวัวนม จำนวน 4 ตัวอย่าง มูลวัวปล่อยทุ่ง จำนวน 2 ตัวอย่าง มูลไส้เดือน จำนวน 3 ตัวอย่าง มูลค้างคาว จำนวน 1 ตัวอย่าง มูลไก่อัดเม็ด จำนวน 2 ตัวอย่าง ปุ๋ยอินทรีย์อัดเม็ด จำนวน 4 ตัวอย่าง และปุ๋ยอินทรีย์ผง จำนวน 1 ตัวอย่าง ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง ความเข้มข้นละ 3 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 2 กิโลกรัม

2. วิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดด้วยวิธี Combustion (ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2559)

2.1 การเตรียมกราฟมาตรฐานไนโตรเจน

นำสารมาตรฐาน EDTA มาชั่งน้ำหนัก อย่างน้อย 6 จุด ครอบคลุมปริมาณไนโตรเจนที่มีในตัวอย่าง เพื่อใช้เป็น Working standard เติมซูโครสไม่น้อยกว่า 0.5 เท่าของน้ำหนักทั้งหมด ใส่ Tin foil หรืออุปกรณ์ใส่ตัวอย่างสำหรับเผา นำสารมาตรฐานใส่ช่องใส่ตัวอย่างเพื่อเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิสูง สร้างกราฟมาตรฐาน

2.2 วิธีวิเคราะห์ตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่าง 0.1xxx กรัม เติมซูโครสไม่น้อยกว่า 0.5 เท่าของน้ำหนักทั้งหมด ใส่ Tin foil นำตัวอย่างใส่ช่องใส่ตัวอย่างเพื่อเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิสูง และบันทึกความเข้มข้นของไนโตรเจนทั้งหมด (%)

3. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดด้วยวิธี Combustion

3.1 ทดสอบ (Range) ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) โดยชั่ง Sample blank (ปุ๋ยอินทรีย์ที่มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในระดับต่ำ เติมสารมาตรฐานไนโตรเจน 7 ระดับความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐานกับค่าที่อ่านได้ พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรง คำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient : r) เกณฑ์การยอมรับ $r \geq 0.995$ (APHA, AWWA and WEF, 2017)

3.2 หาขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) ขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ) โดยชั่งตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ที่มีปริมาณไนโตรเจนน้อย (sample blank) ปริมาณ 0.1xxx กรัม ใส่ sucrose อย่างน้อย 0.5 เท่าของตัวอย่าง นำไปทดสอบด้วยเครื่องวิเคราะห์ไนโตรเจนโดยหลักการเผา บันทึกข้อมูลและคำนวณหาที่ได้ค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S) เพื่อคำนวณค่า LOD และ LOQ ตามสูตร

$$LOD = 3S'_0$$

$$LOQ = 10S'_0$$

โดยที่ $$S'_0 = S_0\sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{n_b}}$$

$S'_0$ คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสำหรับการคำนวณ LOD และ LOQ

$S_0$ คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดสอบ Repeatability ของ Sample Blank

$n$ คือ จำนวนซ้ำของตัวอย่างทดสอบ

$n_b$ คือ จำนวนซ้ำของ Blank

3.3 พิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) ความเที่ยง (Precision) โดยวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรอง และวัสดุอ้างอิงที่เติมลงในตัวอย่างปุ๋ยที่มีเนื้อสารต่างกัน (Matrix effect) ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ ชั่งตัวอย่างปุ๋ย 0.50XX กรัม และเติมวัสดุ

อ้างอิงรับรอง สูตร 12-60-0 ปริมาณ 0.012X กรัมคำนวณความเข้มข้น เท่ากับ 0.30 %N ความเข้มข้นสูงชั่ง EDTA 3.14 กรัม ใส่ในตัวอย่างปุ๋ย 1.86 กรัม คำนวณความเข้มข้น เท่ากับ 6.0 %N ชั่งตัวอย่างที่ได้ 0.1xxx กรัม เติม sucrose ในตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ 0.5 เท่า นำตัวอย่างที่ชั่งได้ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดโดยหลักการเผา ทำการวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นละ 10 ซ้ำและต่างวันเวลา นำผลการวิเคราะห์มาคำนวณทางสถิติประเมินค่า Trueness โดยเปรียบเทียบค่าที่ได้กับค่าที่รับรอง เกณฑ์การยอมรับ % Recovery 95-105 และ 97-103 (Eurachem, 2014 และ AOAC, 2016) และประเมินค่า Precision โดย HorRat (Horwitz's Ratio) เกณฑ์การยอมรับ <1.3 (AOAC, 2016)

3. ประเมินค่าความไม่แน่นอนตั้งแต่ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง ขั้นตอนการวิเคราะห์ และคำนวณเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์

3.1 แบ่งตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ (A) เป็น 2 ส่วน (A1, A2) ส่วนละ 1 กิโลกรัม แล้วนำปุ๋ยอินทรีย์ A1, A2 มาแบ่งเป็น 4 ส่วน (Eurachem, 2019) และบดตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ทั้ง 8 ส่วน นำตัวอย่างที่ได้ไปดำเนินการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดด้วยวิธี Combustion ตัวอย่างละ 2 คน คนละ 2 ซ้ำ

3.2 คำนวณค่าความไม่แน่นอนตั้งแต่ขั้นตอนเตรียมตัวอย่าง และขั้นตอนวิเคราะห์โตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ ตามสูตร

$$U = \%RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100$$

เมื่อ u = ค่าความไม่แน่นอน
% RSD = Relative standard deviation
SD = standard deviation

3.3 คำนวณเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ ตามสูตร

$$u_c = \sqrt{(u_{samp})^2 + (u_{anal})^2}$$

เมื่อ $u_c$ = Combined uncertainty
$u_{samp}$ = ค่าความไม่แน่นอนของการเตรียมตัวอย่าง
$u_{anal}$ = ค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์

**ระยะเวลา** เริ่มต้น ตุลาคม 2562 สิ้นสุด กันยายน 2564

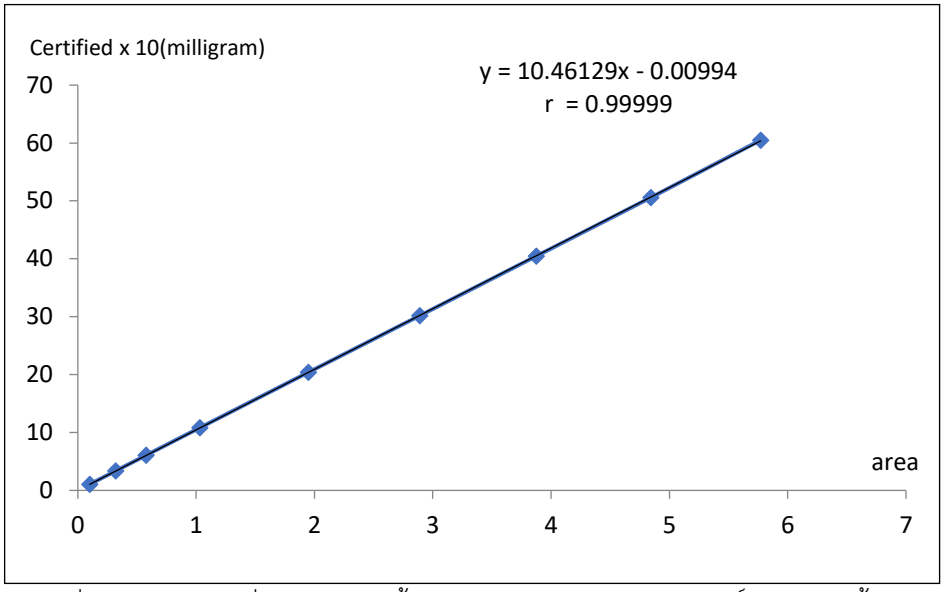
**สถานที่ทำการทดลอง**

กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

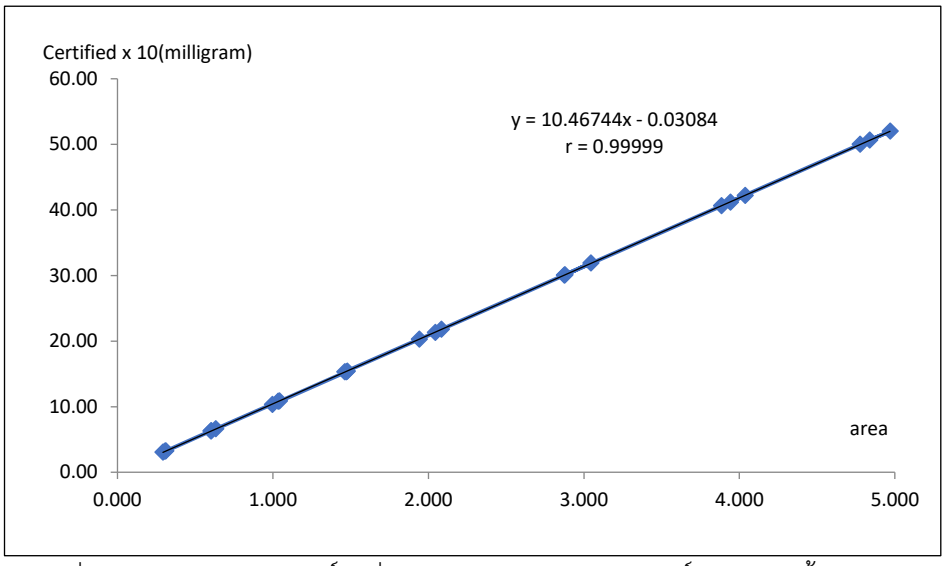
## ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดด้วยวิธี Combustion

1.1 Range and Linearity พบว่าอยู่ในช่วง 1.06-60.49 มิลลิกรัม (ภาพที่ 1) เลือกเอาช่วง 3-50 มิลลิกรัมไนโตรเจน นำมาหาค่า Linearity ได้ค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99999 (ภาพที่ 2) ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ




ภาพที่ 1 แสดงการหาช่วงความเป็นเส้นตรง (Range) ของการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด




ภาพที่ 2 แสดงผลการวิเคราะห์หาค่า Linearity ของการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด

1.2 ประมาณค่าต่ำที่สุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ และการประมาณค่าต่ำที่สุดที่สามารถรายงานผลได้ พบว่าค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.07 %N ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับ 0.009 %N คำนวณค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.03 %N และ LOQ เท่ากับ 0.11 %N

1.3 ความถูกต้อง (Trueness) ความเที่ยง (Precision)

พิสูจน์ความถูกต้อง โดยหาค่า % recovery ของวัสดุอ้างอิงรับรอง และวัสดุอ้างอิงที่เติมลงในตัวอย่างปุ๋ย พบว่า % recovery ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ และความเข้มข้นสูง อยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับและการตรวจสอบความเที่ยง โดยประเมินค่า Precision จาก HorRat (Horwitz's Ratio) ที่ความเข้มข้นต่ำและสูง อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ <1.3 ตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการตรวจสอบความถูกต้องและความเที่ยง

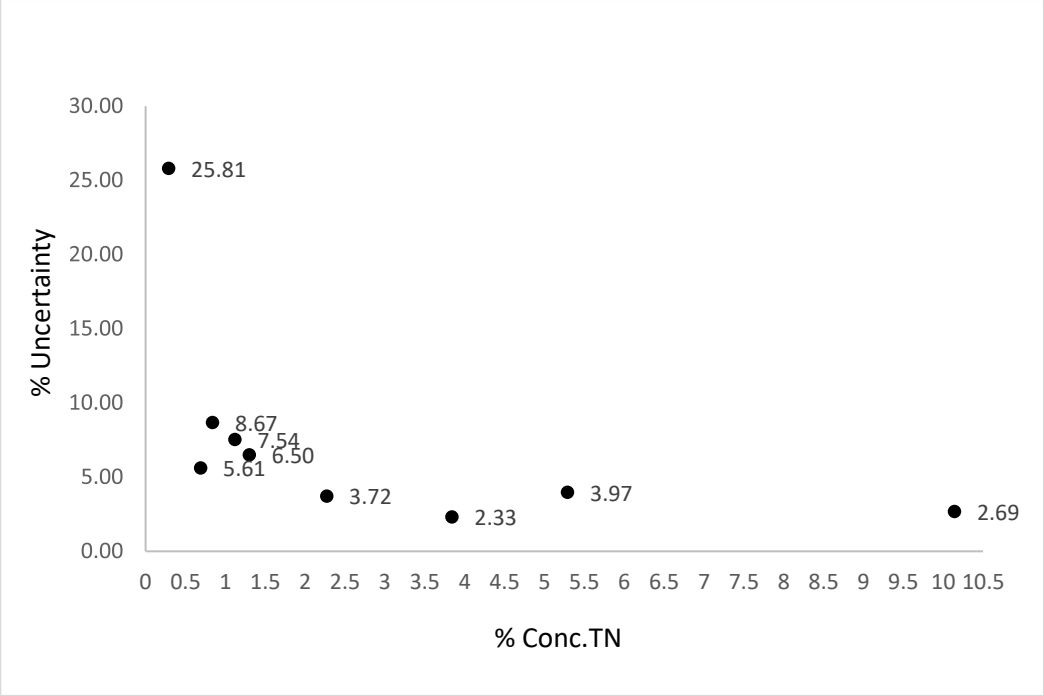
| Concentration | Accuracy | | Precision | |
|---|---|---|---|---|
| | %Recovery | Acceptance criteria | HorRat | Acceptance criteria |
| LOQ ( 0.3 %TN) | 100.00 | 95-105 | 0.63 | 1.3 |
| High (6.0 %TN) | 101.17 | 97-103 | 0.14 | 1.3 |

2. ประเมินค่า คำนวณค่าความไม่แน่นอนตั้งแต่ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง ขั้นตอนการทดสอบ และคำนวณเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์

2.1 เกณฑ์คลาดเคลื่อนจากค่าความไม่แน่นอนของการวัดของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ โดยคำนวณจากค่าความไม่แน่นอน จากการสุ่มตัวอย่างและการทดสอบ ที่ความเข้มข้นต่ำ เท่ากับ 25.81%, 5.61% และ 8.67% ความเข้มข้นกลาง เท่ากับ 7.54%, 6.52% และ 3.72% และความเข้มข้นสูง เท่ากับ 2.33%, 3.97% และ 2.69% ตามลำดับ ตามตารางที่ 2 และภาพที่ 3

ตารางที่ 2 ร้อยละค่าความไม่แน่นอนของไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์

| Concentration | %TN | Measurement uncertainty | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Sampling (%) | Analytical (%) | Total (%) |
| Low | 0.29 | 12.42 | 22.63 | 25.81 |
| | 0.69 | 2.62 | 4.95 | 5.61 |
| | 0.84 | 4.17 | 7.60 | 8.67 |
| Medium | 1.12 | 3.34 | 6.76 | 7.54 |
| | 1.30 | 4.99 | 4.19 | 6.52 |
| | 2.27 | 2.85 | 2.40 | 3.72 |
| High | 3.84 | 1.77 | 1.51 | 2.33 |
| | 5.29 | 2.80 | 2.83 | 3.97 |
| | 10.14 | 1.80 | 2.00 | 2.69 |




ภาพที่ 3 ค่าความไม่แน่นอนของช่วงความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูงของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์

ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ความเข้มข้น 1.0%TN มีค่าความไม่แน่นอนสูงสุดเท่ากับ 25.81% ซึ่งสอดคล้องกับกฎหมายของสหภาพยุโรป (Official Journal of the European Union, 2019) เกี่ยวกับการจำหน่ายปุ๋ยอินทรีย์ ที่ระบุว่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ที่ความเข้มข้น 1% มีค่าคลาดเคลื่อนได้ไม่เกิน 50%

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

การศึกษาเกณฑ์คลาดเคลื่อนของการวัดปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ โดยทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์ เพื่อนำมาประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด และทำการทดสอบตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ การทดสอบ range, linearity, accuracy, precision, limit of detection (LOD), Limit of quantitation (LOQ) พบว่า range, linearity, accuracy, precision ผ่านเกณฑ์การยอมรับทั้งหมด ค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.03 %TN และ 0.11%TN และได้เกณฑ์ค่าคลาดเคลื่อนของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ที่คลอบคลุมระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง (0.29-10.14% TN) มีค่าความคลาดเคลื่อนอยู่ในช่วง 2.33-25.81%

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ใช้เป็นข้อมูลในการสร้างความเชื่อมั่นด้านการตรวจวิเคราะห์ เพื่อพิสูจน์และยืนยันถึงวิธีการที่นำมาใช้ในการทดสอบว่ามีความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ สามารถสอบกลับได้ ลดข้อโต้แย้ง ในการกำกับ และบังคับใช้กฎหมายของกรมวิชาการเกษตร ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550

# เอกสารอ้างอิง


ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 (2560, 4 มกราคม). ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 134 ตอนพิเศษ 2 ง. หน้า 24.

American Public Health Association, American Water Works Association and World Economic Forum (APHA, AWWA and WEF). 2017. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Part 4000: Inorganic Nonmetallic Constituents. 23rd ed. Washington DC, USA.

AOAC. 2016. Official Methods of Analysis of AOAC International. 20th ed. AOAC International, Maryland, USA.

Eurachem. 2014. The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. 2nd ed. Available from http://www.eurachem.org. (30 Nov. 2021)

Eurachem. 2019. Measurement uncertainty arising from sampling: a guide to methods and approaches. 2nd ed. Available from http://www.eurachem.org. (30 Nov. 2021)

Official Journal of the European Union. 2019. *Laying down rules on the making available on the market of EU fertilising products and amending Regulations (EC) No 1069/2009 and (EC) No 1107/2009 and repealing Regulation (EC) No 2003/2003*. Available from https://assets.gov.ie/127589/228a7796-1204-49e0-834d-1966755c79e9.pdf. (30 Nov. 2021)

# ศึกษาเกณฑ์คลาดเคลื่อนจากค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์

# Tolerance of Uncertainty on Total Phosphorus in Organic Fertilizers

*ศุภากร ดวนใหญ่*
*Supakorn Duanyai*

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

## ABSTRACT

The purpose of this study was to validate the method of total phosphorus in organic fertilizers. Study the tolerance of uncertainty on total phosphorus in organic fertilizers. by using spectrophotometric molybdovanadophosphate method. The result of Limit of detection (LOD) 0.03%$TP_2O_5$. Limit of quantitation (LOQ) 0.10%$TP_2O_5$. To prove the trueness and precision of LOQ as 0.3%$TP_2O_5$. The intermediate analysis CRM of LOQ and 8.0% $TP_2O_5$. %Recovery as 98.67, 100.03 and HorRat as 0.70, 0.25. The results of analysis showed that the acceptance criteria. Test organic fertilizers samples covering concentration ranged from 0.25-7.25%$TP_2O_5$. The tolerance of uncertainty on total phosphorus in organic fertilizers was in the range of 4.25-9.63%.

**Keywords :** Organic fertilizer Total Phosphorus Tolerance

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ และเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหารรับรองของฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ โดยนำมาประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด และทดสอบตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ที่ความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง เพื่อประเมินค่าความไม่แน่นอนในขั้นตอนการสุ่มตัวอย่าง และขั้นตอนการทดสอบ โดยการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ โดยวิธี Spectrophotometric Molybdovanadophosphate พบว่า Range, Linearity, Accuracy, Precision ค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.03 %$TP_2O_5$ และ 0.10%$TP_2O_5$ ผลการพิสูจน์ Trueness และความเที่ยง (Precision) ของตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ที่มีลักษณะเนื้อสาร (Matrix) ที่ระดับความเข้มข้น LOQ (0.3%$TP_2O_5$) และความเข้มข้นสูง (8.0%$TP_2O_5$) ได้ %Recovery เท่ากับ 98.67 และ 100.03 ได้ HorRat เท่ากับ 0.70 และ 0.25 ตามลำดับ ผ่านเกณฑ์การยอมรับทั้งหมด ค่าความไม่แน่นอนจากการสุ่มตัวอย่างและการทดสอบคลอบคลุมที่ระดับความเข้มข้น 0.25-7.25%$TP_2O_5$ และได้เกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์อยู่ในช่วง 4.25-9.63%

**คำหลัก :** ปุ๋ยอินทรีย์ ฟอสฟอรัสทั้งหมด เกณฑ์คลาดเคลื่อน

## คำนำ

สถานการณ์ปุ๋ยเคมีภายในประเทศ พบว่า ปี 2564 ประเทศไทยมีปริมาณและมูลค่าการนำเข้าปุ๋ยเคมีเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับปี 2563 โดยราคาปุ๋ยในประเทศมีแนวโน้มปรับตัวสูงขึ้นตามราคาแม่ปุ๋ยในตลาดโลก เนื่องจากจีนซึ่งเป็นประเทศผู้ส่งออกปุ๋ยสำคัญจำกัดการส่งออก ส่งผลให้วัตถุดิบหรือแม่ปุ๋ยในตลาดโลกขาดแคลน ประกอบกับผลกระทบต่อเนื่องจากการระบาดของโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ที่ส่งผลต่อระบบโลจิสติกส์และค่าขนส่งที่สูงขึ้น รัฐบาลจึงมีมาตรการแก้ปัญหาระยะสั้น โดยส่งเสริมการใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินและการส่งเสริมการใช้ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2565) และในปี 2565 รัฐบาลมีการส่งเสริมให้เกษตรกรเข้าร่วมโครงการเกษตรอินทรีย์ ซึ่งตั้งเป้าหมายเพิ่มพื้นที่ปลูกเกษตรอินทรีย์ จำนวน 1.3 ล้านไร่ (ผู้จัดการออนไลน์, 2564)

เมื่อรัฐบาลส่งเสริมให้เกษตรกรใช้ปุ๋ยอินทรีย์ในภาคการเกษตรมากขึ้น ปุ๋ยอินทรีย์ที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดจึงเป็นทางเลือกหนึ่งของเกษตรกร ซึ่งตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 (มาตรา 3) ปุ๋ยอินทรีย์ หมายความว่า ปุ๋ยที่ได้หรือทำมาจากวัสดุอินทรีย์ ซึ่งผลิตด้วยกรรมวิธีทำให้ชื้น สับ หมัก บด หรือด้วยวิธีอื่น และวัสดุอินทรีย์ถูกย่อยสลายสมบูรณ์ด้วยจุลินทรีย์ แต่ไม่ใช่ปุ๋ยเคมีและ ปุ๋ยชีวภาพ กรมวิชาการเกษตรในฐานะผู้รับผิดชอบหลักในการกำกับดูแลคุณภาพปุ๋ย ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 โดยกองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ซึ่งเป็นหน่วยงานที่รับผิดชอบภารกิจการตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติด้านต่างๆ ของปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์ และปุ๋ยชีวภาพ เพื่อเป็นข้อมูลประกอบการขอขึ้นทะเบียน การขออนุญาตผลิต การนำเข้า การขาย การนำผ่านการส่งออก การดำเนินคดีกับผู้กระทำผิด

เกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหาร มีความสำคัญในการบ่งชี้ว่าปริมาณธาตุอาหารรับรองที่ระบุผ่านเกณฑ์คลาดเคลื่อนขั้นต่ำ ซึ่งตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ได้กำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณอินทรียวัตถุรับรองที่มีในปุ๋ยอินทรีย์เคมีและในปุ๋ยอินทรีย์ ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมฉบับที่ 2 พ.ศ. 2550 พ.ศ. 2552 และกำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหารรับรองของปุ๋ยเคมี ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไข เพิ่มเติมฉบับที่ 2 พ.ศ. 2550 พ.ศ. 2554 แต่ปัจจุบันยังไม่มีเกณฑ์คลาดเคลื่อนของการตรวจสอบปริมาณธาตุอาหารรับรองของปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ เพื่อให้การผลิตปุ๋ยอินทรีย์เป็นไปอย่างถูกต้องตามมาตรฐานและเป็นการรักษาผลประโยชน์ของเกษตรกรและเพื่อความเป็นธรรมของผู้ที่เกี่ยวข้อง ซึ่งต้องอาศัยผลการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารจากห้องปฏิบัติการ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการกำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนออกมารองรับปริมาณหรือความคลาดเคลื่อนที่เกิดขึ้น

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. ตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์
2. วัสดุอ้างอิงรับรอง
   2.1 Ammonium Dihydrogen Phosphate (SRM 194a); 61.71±0.14%$P_2O_5$
3. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น XS204
4. เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV-VIS Spectrophotometer) ยี่ห้อ PerkinElmer รุ่น Lambda 45
5. เครื่องบดตัวอย่าง ยี่ห้อ Retsch รุ่น ZM 200
6. เตาระเหยไฟฟ้า ยี่ห้อ Thermo Scientific รุ่น 2200
7. สารเคมี
   7.1 Potassium Dihydrogen Phosphate ($KH_2PO_4$), AR grade
   7.2 กรดไนตริก 69-70% ($HNO_3$), AR grade
   7.3 กรดเปอร์คลอริก 69-72% ($HClO_4$), AR grade
   7.4 Ammonium molybdate [$(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$], AR grade

7.5 Ammonium metavanadate ($NH_4VO_3$), AR grade

8. กระดาษกรองเบอร์ 1

9. ปิเปต ขนาด 1, 2, 4, 5, 6, 10, 15, 20 และ 25 มิลลิลิตร

10. เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในการทดลอง

## วิธีการ

1. เตรียมปุ๋ยอินทรีย์ สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดครอบคลุมช่วงความเข้มข้น จำนวน 17 ตัวอย่าง ได้แก่ มูลวัวนม จำนวน 4 ตัวอย่าง มูลวัวปล่อยทุ่ง จำนวน 2 ตัวอย่าง มูลไส้เดือน จำนวน 3 ตัวอย่าง มูลค้างคาว จำนวน 1 ตัวอย่าง มูลไก่อัดเม็ด จำนวน 2 ตัวอย่าง ปุ๋ยอินทรีย์อัดเม็ด จำนวน 4 ตัวอย่าง และปุ๋ยอินทรีย์ผง จำนวน 1 ตัวอย่าง ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง ความเข้มข้นละ 3 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 2 กิโลกรัม โดยนำตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์บดด้วยเครื่องบดตัวอย่างความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที ที่มีรูคัดขนาด 0.5 มิลลิเมตร เตรียมใส่ถุงพลาสติกซิบไล่อากาศออกให้หมด และปิดถุงให้สนิท เขียนป้ายบ่งชี้ตัวอย่าง

2. การเตรียมสารละลายตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์

ชั่งตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ จำนวน 1.xxxx กรัม ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 125 มิลลิลิตร เติมกรดผสม 20 มิลลิลิตร ($HNO_3$ : $HClO_4$ 1:1 V/V) นำไปย่อยบนเตาระเหยไฟฟ้า ย่อยจนมีควันสีขาวเกิดขึ้นเหนือสารละลายหรือสารละลายมีลักษณะใส ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 30–40 นาที จากนั้นยกลงจากเตาระเหยไฟฟ้า ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น ถ่ายสารละลายตัวอย่างและล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่นใส่ใน Volumetric flask ขนาด 250 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน ตั้งสารละลายตัวอย่างไว้ข้ามคืน ในกรณีที่เป็นสารละลายมีตะกอนขุ่นนำไปกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1

3. การวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ (ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2559) โดยนำสารละลายตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ มาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV-VIS Spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร หาค่าความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง โดยเปรียบเทียบกับ Standard curve และบันทึกผลการวิเคราะห์

การคำนวณ

$$\%P = \frac{\text{mg/L from standard curve x dilution factor}}{\text{wt of sample (g)} \times 10^6} \times 100$$

$$\%P_2O_5 = \%P \times 2.2914$$

4. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี

4.1 การหาค่า Range ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์

โดยชั่งตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ที่ไม่มีสารที่ต้องการศึกษา (Sample blank) จำนวน 1.xxxx กรัม เติมสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส 8 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0.5, 1, 3, 5, 7, 9, 12 และ 15 mg/L ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ นำไปเตรียมสารละลายตัวอย่างตามข้อ 2 และวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดตามข้อ 3 บันทึกข้อมูลจากนั้น Plot กราฟระหว่างความเข้มข้นของ Sample blank ที่ spiked standard (แกน x) กับค่าเฉลี่ย Absorbance (Abs.) (แกน y) และคำนวณหาสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient : r) เกณฑ์ยอมรับ : $r \geq 0.995$ (APHA, AWWA and WEF, 2017)

4.2 การหาค่า Linearity ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์

โดยชั่ง Sample blank จำนวน 1.xxxx กรัม เติมสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส 8 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 mg/L ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ นำไปเตรียมสารละลายตัวอย่าง ตามข้อ 2 และวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดตามข้อ 3 บันทึกข้อมูลจากนั้น Plot กราฟระหว่างความเข้มข้นของ Sample blank ที่ spiked standard (แกน x) กับค่าเฉลี่ย Absorbance (Abs.) (แกน y) และคำนวณหาสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient : r) เกณฑ์ยอมรับ : $r \geq 0.995$

4.3 การประมาณค่าปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (Limit of detection; LOD) และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ (Limit of quantitation; LOQ) ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์

โดยชั่ง Sample blank จำนวน 3.xxxx กรัม 10 ซ้ำ ทำการทดสอบซ้ำแบบต่างเวลา (Intermediate) บันทึกข้อมูล คำนวณหาค่าเฉลี่ย (Mean) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) จากนั้นคำนวณค่า LOD , LOQ (Eurachem, 2014) จากสูตร LOD = $3S_0'$ LOQ = $10S_0'$

4.4 พิสูจน์ค่าความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ระดับความเข้มข้น LOQ

โดยเตรียมสารละลายจากวัสดุอ้างอิงรับรอง Ammonium Dihydrogen Phosphate (SRM 194a) 61.71±0.14 %$P_2O_5$ ให้ได้ความเข้มข้น 0.3%$P_2O_5$ จากนั้นชั่งสารละลาย จำนวน 1.xxxx กรัม เติมลงใน Sample blank 10 ซ้ำ ทำการทดสอบซ้ำแบบต่างเวลา นำไปเตรียมสารละลายตัวอย่าง ตามข้อ 2 และวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดตามข้อ 3 บันทึกข้อมูล

4.5 การหาค่าความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ระดับความเข้มข้นต่ำและสูง

โดยชั่งสารที่ทราบค่าที่มีปริมาณความเข้มข้นต่ำและสูง ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ โดยใช้วัสดุอ้างอิงรับรอง ได้แก่ ระดับความเข้มข้นต่ำ 0.3%$P_2O_5$ เตรียมโดยการ Dilute Ammonium Dihydrogen Phosphate (SRM 194a); 61.71±0.17%$P_2O_5$) ชั่งตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ 0.9xxx กรัม และระดับความเข้มข้นสูง 8.0%$P_2O_5$ โดยการ Dilute Potassium Dihydrogen Phosphate ; 52.18%$P_2O_5$ ชั่งตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ 0.8xxx กรัม นำไปเตรียมสารละลายตัวอย่าง ตามข้อ 2 และวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดตามข้อ 3 บันทึกข้อมูล และคำนวณหาความเที่ยงโดยใช้ HorRat (Horwitz' Ratio) ตามสูตร

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

เกณฑ์การยอมรับ AOAC (2016) : HorRat ≤ 1.3

5. ประเมินค่าความไม่แน่นอนตั้งแต่ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง ขั้นตอนการทดสอบ และคำนวณเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์

5.1 นำตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ (A) จำนวน 2 กิโลกรัม แบ่งตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ (A) เป็น 2 ส่วน (A1, A2) ส่วนละ 1 กิโลกรัม แล้วนำปุ๋ยอินทรีย์ A1, A2 มาแบ่งเป็น 4 ส่วน (Eurachem, 2019) และบดตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ทั้ง 8 ส่วน

5.2 การวิเคราะห์ตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ ที่ 3 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ ตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (0.1-1.0 %$TP_2O_5$) กลาง (1.1-3.0 %$TP_2O_5$) และสูง (>3.0 %$TP_2O_5$) ความเข้มข้นละ 3 ตัวอย่าง โดยชั่งตัวอย่าง 1.xxxx กรัม วิเคราะห์ที่เวลาแตกต่างกัน ดำเนินการเตรียมสารละลายตัวอย่างเช่นเดียวกับขั้นตอน 2 และวิเคราะห์สารละลายตัวอย่างเช่นเดียวกับขั้นตอน 3 โดยวิเคราะห์ตัวอย่างละ 2 คน คนละ 2 ซ้ำ

5.3 คำนวณค่าความไม่แน่นอนตั้งแต่ขั้นตอนเตรียมตัวอย่าง และขั้นตอนวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ ตามสูตร

$$u = \%RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100$$

เมื่อ u = ค่าคลาดเคลื่อน
% RSD = Relative standard deviation
SD = Standard deviation

5.4 คำนวณเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ ตามสูตร

$$u_c = \sqrt{(u_{samp})^2 + (u_{anal})^2}$$

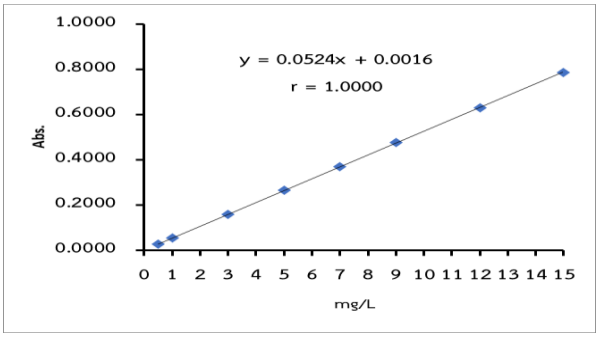
เมื่อ $u_c$ = Combine uncertainty
$u_{samp}$ = ค่าความไม่แน่นอนของการเตรียมตัวอย่าง
$u_{anal}$ = ค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์

**ระยะเวลา** เริ่มต้น ตุลาคม 2562 สิ้นสุด กันยายน 2564

**สถานที่ทำการทดลอง** กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

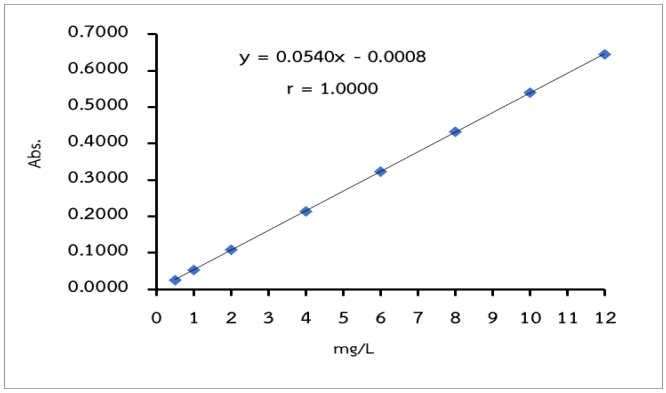
## ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (Range) โดยสร้างกราฟความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส (แกน x) กับค่าเฉลี่ย Absorbance (Abs.) 8 ความเข้มข้น (แกน y) ได้แก่ 0.5, 1, 3, 5, 7, 9, 12 และ 15 mg/L ได้ค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 1.0000 (ภาพที่ 1) ซึ่งผ่านเกณฑ์ยอมรับ




ภาพที่ 1 การหาช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (Range) ของการวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์

2. ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) โดยสร้างกราฟความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส (แกน x) กับค่าเฉลี่ย Absorbance (Abs.) 8 ความเข้มข้น (แกน y) ได้แก่ 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 mg/L ได้ค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 1.0000 (ภาพที่ 2) ซึ่งผ่านเกณฑ์ยอมรับ




ภาพที่ 2 ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) ของการวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์

3. การประมาณปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (LOD) และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ (LOQ) ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ ได้ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.04%$TP_2O_5$ และค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.01 ได้ค่า LOD เท่ากับ 0.03%$TP_2O_5$ และได้ค่า LOQ เท่ากับ 0.10%$TP_2O_5$

4. การพิสูจน์ค่าความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ของตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ที่มีลักษณะเนื้อสาร (Matrix) ที่ระดับความเข้มข้น LOQ (0.3%$TP_2O_5$) และความเข้มข้นสูง (8.0%$TP_2O_5$) ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ โดยการเติมวัสดุอ้างอิงรับรองหรือสารเคมีมาตรฐานลงไปใน Sample blank พบว่า %Recovery

ที่ระดับความเข้มข้น LOQ และสูง อยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับ และการตรวจสอบความเที่ยงโดยประเมินค่า Precision จาก HorRat (Horwitz's Ratio) ที่ความเข้มข้น LOQ และสูง อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการพิสูจน์ค่าความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision)

| Concentration | Accuracy | | Precision | |
|---|---|---|---|---|
| | %Recovery | Acceptance criteria | HorRat | Acceptance criteria |
| LOQ (0.3 %$TP_2O_5$) | 98.67 | 95-105 | 0.70 | 1.3 |
| High (8.0%$TP_2O_5$) | 100.03 | 97-103 | 0.25 | 1.3 |

5. ประเมินค่าความไม่แน่นอนจากการสุ่มตัวอย่างและการทดสอบ

เกณฑ์คลาดเคลื่อนจากค่าความไม่แน่นอนของการวัดของปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ โดยคำนวณจากค่าความไม่แน่นอนจากการสุ่มตัวอย่างและการทดสอบ ที่ช่วงความเข้มข้นต่ำ เท่ากับ 4.81%, 5.42% และ 4.25% ช่วงความเข้มข้นกลาง เท่ากับ 9.49%, 6.15% และ 6.86% และช่วงความเข้มข้นสูง เท่ากับ 9.63%, 8.13% และ 4.46% ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ค่าความไม่แน่นอนของปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์

| Concentration | %$TP_2O_5$ | Measurement uncertainty | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Sampling (%) | Analytical (%) | Total (%) |
| Low | 0.25 | 4.40 | 1.97 | 4.81 |
| | 0.72 | 2.70 | 4.70 | 5.42 |
| | 0.82 | 2.01 | 3.74 | 4.25 |
| Medium | 1.72 | 4.45 | 8.38 | 9.49 |
| | 2.12 | 3.26 | 5.21 | 6.15 |
| | 2.32 | 3.35 | 5.99 | 6.86 |
| High | 3.53 | 5.46 | 7.93 | 9.63 |
| | 4.12 | 4.46 | 6.79 | 8.13 |
| | 7.25 | 3.85 | 2.24 | 4.46 |

ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ช่วงความเข้มข้น 1.0%$TP_2O_5$ มีค่าความไม่แน่นอนมากที่สุดเท่ากับ 5.42% สอดคล้องกับกฎหมายของสหภาพยุโรป (Official Journal of the European Union. 2019) เกี่ยวกับการจำหน่ายปุ๋ยอินทรีย์ ที่ระบุว่าปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ที่ความเข้มข้น 1% มีค่าคลาดเคลื่อนได้ไม่เกิน 50%

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

การศึกษาเกณฑ์คลาดเคลื่อนของการวัดปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ โดยทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์ เพื่อนำมาประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด และทำการทดสอบตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ การทดสอบ Range, Linearity, Limit of detection (LOD), Limit of quantitation (LOQ), Accuracy และ Precision พบว่า Range, Linearity, Accuracy, Precision ผ่านเกณฑ์การยอมรับทั้งหมด ค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.03%$TP_2O_5$ และ 0.10%$TP_2O_5$ และได้เกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ครอบคลุมที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง (0.25 - 7.25%$TP_2O_5$) อยู่ในช่วง 4.25 - 9.63%

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ใช้เป็นข้อมูลในการสร้างความเชื่อมั่นด้านการตรวจวิเคราะห์ เพื่อพิสูจน์และยืนยันถึงวิธีการที่นำมาใช้ในการทดสอบว่ามีความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ สามารถสอบกลับได้ ลดข้อโต้แย้ง ในการกำกับและบังคับใช้กฎหมายของกรมวิชาการเกษตร ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550

## เอกสารอ้างอิง


ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 (2560, 4 มกราคม). ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 134 ตอนพิเศษ 2 ง. หน้า 24.

ผู้จัดการออนไลน์. 2564. รัฐบาลแจงปุ๋ยแพง เหตุจีนมีนโยบายส่งออกน้อย แนะเปลี่ยนปลูกพืชจากใช้ปุ๋ยเคมีเป็นปุ๋ยอินทรีย์. แหล่งที่มา https://mgronline.com/politics/detail/9640000090892. (30 พฤศจิกายน 2564)

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2565. นราพัฒน์ ติดตามสถานการณ์ปุ๋ยเคมี เร่งแก้ปัญหาปุ๋ยแพง เปิดแผนการบริหารจัดการปุ๋ย ปี 65-69. แหล่งที่มา https://www.oae.go.th/view/1/38107/TH-TH (21 เมษายน 2565)

American Public Health Association, American Water Works Association and World Economic Forum (APHA, AWWA and WEF). 2017. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Part 4000: Inorganic Nonmetallic Constituents. 23rd ed. Washington DC, USA.

AOAC. 2016. Official Methods of Analysis of AOAC International. 20th ed. AOAC International, Maryland, USA.

Eurachem. 2014. The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. 2nd ed. Available from http://www.eurachem.org. (30 Nov. 2021)

Eurachem. 2019. Measurement uncertainty arising from sampling: a guide to methods and approaches. 2nd ed. Available from http://www.eurachem.org. (30 Nov. 2021)

Official Journal of the European Union. 2019. *Laying down rules on the making available on the market of EU fertilising products and amending Regulations (EC) No 1069/2009 and (EC) No 1107/2009 and repealing Regulation (EC) No 2003/2003*. Available from https://assets.gov.ie/127589/228a7796-1204-49e0-834d-1966755c79e9.pdf. (30 NOV. 2021)

# ศึกษาเกณฑ์คลาดเคลื่อนจากความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์โพแทสเซียมทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์

# Tolerance of Uncertainty on Total Potassium in Organic Fertilizers

*ชฎาพร คงนาม*

*Chadaporn Khongnam*

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

## ABSTRACT

In this study, Tolerance of uncertainty on total potassium in organic fertilizers. The method validation of total potassium in organic fertilizers by flame photometric method, the result showed that the Limit of Detection (LOD) and Limit of Quantitation (LOQ) were 0.05 %$TK_2O$ and 0.16 %$TK_2O$, respectively. The Range, Linearity, Accuracy and Precision were passed the criteria for acceptance of AOAC. Organic fertilizer samples were tested at low medium and high concentrations to assess the uncertainty of the sampling procedure and analysis. The tolerance of uncertainty on total potassium content in organic fertilizers was in the range 1.57 – 10.15%.

**Keywords :** Tolerance Total potassium Organic fertilizers

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาเกณฑ์คลาดเคลื่อนจากความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์โพแทสเซียมทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ โดยตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โพแทสเซียมทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ โดย Flame Photometric Method พบว่ามีค่า Limit of Detection (LOD) และ Limit of Quantitation (LOQ) เท่ากับ 0.05 %$TK_2O$ และ 0.16 %$TK_2O$ ตามลำดับ ผลการทดสอบ Range Linearity Accuracy และ Precision ที่ระดับความเข้มข้น LOQ (0.2%$TK_2O$) และความเข้มข้นสูง (6.0%$TK_2O$) ผ่านเกณฑ์การยอมรับทั้งหมดตามมาตรฐานสากล AOAC ทำการทดสอบตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง เพื่อนำมาประเมินค่าความไม่แน่นอนจากขั้นตอนการสุ่มตัวอย่าง และการวิเคราะห์ พบว่าได้เกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ที่คลอบคลุมที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง (0.59 – 5.96%) อยู่ในช่วง 1.57 – 10.15%

**คำหลัก :** เกณฑ์คลาดเคลื่อน โพแทสเซียมทั้งหมด ปุ๋ยอินทรีย์

## คำนำ

ปุ๋ยอินทรีย์ ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ.2550 (มาตรา 3) หมายความว่า ปุ๋ยที่ได้หรือทำมาจากวัสดุอินทรีย์ ซึ่งผลิตด้วยกรรมวิธีทำให้ ชื้น สับ หมัก บด ร่อน หรือด้วยวิธีการอื่น และวัสดุอินทรีย์ถูกย่อยสลายสมบูรณ์ด้วยจุลินทรีย์แต่ไม่ใช่ปุ๋ยเคมีและปุ๋ยชีวภาพ การผลิตปุ๋ยอินทรีย์เพื่อการค้าต้องได้รับการอนุญาตจากพนักงานเจ้าหน้าที่กรมวิชาการเกษตรในฐานะผู้รับผิดชอบหลักในการกำกับดูแลคุณภาพปุ๋ย การควบคุมปุ๋ย แบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ ฉลาก ขนาดบรรจุ และเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหาร ซึ่งเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหาร มีความสำคัญในการบ่งชี้ว่าปริมาณธาตุอาหารรับรองที่ระบุผ่านเกณฑ์คลาดเคลื่อนขั้นต่ำ ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหารรับรองของปุ๋ยเคมี ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมฉบับที่ 2 พ.ศ. 2550 พ.ศ. 2554 กำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหารรับรองที่มีในปุ๋ยเคมีทุกชนิดที่อนุญาตให้คลาดเคลื่อน หรือแตกต่างในการนำการเตรียมการ และการวิเคราะห์ตัวอย่างปุ๋ยเคมีเพื่อตรวจสอบปริมาณธาตุอาหารรับรอง ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แต่ปัจจุบันยังไม่มีเกณฑ์คลาดเคลื่อนของการตรวจสอบปริมาณธาตุอาหารรับรองของโพแทสเซียมทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์เพื่อควบคุมคุณภาพปุ๋ย ควบคุมการผลิต และจำหน่ายปุ๋ยให้มีคุณภาพ ถูกต้องตามหลักเกณฑ์ และรักษาผลประโยชน์ของเกษตรกร ซึ่งต้องอาศัยผลการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในปุ๋ยของห้องปฏิบัติการ โดยในกระบวนการวิเคราะห์หรือวัดค่าสิ่งต่างๆ ย่อมมีความไม่แน่นอนหรือความคลาดเคลื่อนเกิดขึ้นเสมอ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการกำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนออกมารองรับปริมาณ หรือความคลาดเคลื่อนที่เกิดขึ้น อีกทั้งยังเป็นเกณฑ์สำหรับห้องปฏิบัติการใช้ในการพิจารณาดำเนินการตรวจสอบซ้ำ ในกรณีที่ผลวิเคราะห์ไม่ตรงกับปริมาณที่แจ้ง และเพื่อความเป็นธรรมของผู้ที่เกี่ยวข้อง ในกรณีที่มีการนำผลการวิเคราะห์มาใช้ตัดสินในทางกฎหมาย ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. เครื่องบดตัวอย่าง
2. เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
3. เครื่องวิเคราะห์หาปริมาณโพแทสเซียมและโซเดียม (Flame photometer)
4. สารเคมี เครื่องแก้ว และวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์รายการทดสอบโพแทสเซียมทั้งหมด ตามคู่มือการวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์ กรมวิชาการเกษตร
5. วัสดุอ้างอิงรับรอง Potassium dihydrogen phosphate, (SRM200b-NIST) และ Potassium chloride, (CRM-BCR113)
6. ตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์

### วิธีการ

1. เตรียมปุ๋ยอินทรีย์สำหรับการวิเคราะห์ ได้แก่ มูลวัวนม จำนวน 4 ตัวอย่าง มูลวัวปล่อยทุ่ง จำนวน 2 ตัวอย่าง มูลไส้เดือน จำนวน 3 ตัวอย่าง มูลค้างคาว จำนวน 1 ตัวอย่าง มูลไก่อัดเม็ด จำนวน 2 ตัวอย่าง ปุ๋ยอินทรีย์อัดเม็ด จำนวน 4 ตัวอย่าง และปุ๋ยอินทรีย์ผง จำนวน 1 ตัวอย่าง โดยให้ครอบคลุมปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมด ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง ความเข้มข้นละ 3 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 2 กิโลกรัม จากนั้นนำตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์มาบดด้วยเครื่องบดตัวอย่างให้มีความละเอียดไม่น้อยกว่า 20 เมช เทตัวอย่างที่บดแล้วใส่ถุงพลาสติกซิบ ไล่อากาศออกให้หมด และปิดถุงให้สนิท เขียนป้ายบ่งชี้ตัวอย่างเพื่อนำไปวิเคราะห์ (ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2559)

2. วิธีวิเคราะห์โพแทสเซียมทั้งหมด โดย Flame Photometric Method (กรมวิชาการเกษตร, 2551)

2.1 ชั่งตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ จำนวน 1.xxxx กรัม ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 125 มิลลิลิตร

2.2 เติมกรดผสม 20 มิลลิลิตร ($HNO_3$ : $HClO_4$ 1:1 V/V) นำไปย่อยบนเตาระเหยไฟฟ้า ย่อยจนมีควันสีขาวเกิดขึ้นเหนือสารละลายหรือสารละลายมีลักษณะใส ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 30 – 40 นาที จากนั้นยกลงจากเตาระเหยไฟฟ้าตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

2.3 ถ่ายสารละลายตัวอย่างและล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่น ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 250 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน ในกรณีที่เป็นสารละลายมีตะกอนขุ่น นำไปกรองผ่านกระดาษกรอง

2.4 ปิเปตสารละลายตัวอย่างให้ความเข้มข้นอยู่ในช่วงของกราฟมาตรฐาน เติมสารละลาย Suppressor อัตราส่วน 1:10 โดยปริมาตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน

2.5 นำสารละลายตัวอย่าง ไปวัดค่า Emission intensity ด้วย Flame photometer หาค่าความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง โดยเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ของสารละลายตัวอย่างกับกราฟมาตรฐาน ที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโพแทสเซียม กับค่า Emission intensity ของ Working standard

3. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โพแทสเซียมทั้งหมด โดย Flame Photometric Method

3.1 การหาช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (Range)

3.1.1 ชั่ง Sample blank (ตัวอย่างปุ๋ยที่มีปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมดในระดับต่ำหรือไม่มีโพแทสเซียมทั้งหมดเป็นส่วนประกอบ) จำนวน 1.xxxx กรัม ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 125 มิลลิลิตร และเติมสารมาตรฐานโพแทสเซียม 6 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0, 4, 8, 12, 16 และ 18 มิลลิกรัมต่อลิตร

3.1.2 ดำเนินการวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 2.2 – 2.5

3.1.3 สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐานโพแทสเซียมกับค่า Emission intensity เลือกช่วงการใช้งานที่มีความเป็นเส้นตรง และเหมาะสมกับความเข้มข้นของตัวอย่าง คำนวณหาสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient : r) เกณฑ์การยอมรับ $r \geq 0.995$ (APHA, AWWA and WEF, 2017)

3.2 การหาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity)

3.2.1 ชั่ง Sample blank จำนวน 1.xxxx กรัม ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 125 มิลลิลิตร และเติมสารมาตรฐานโพแทสเซียม 7 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0, 0.5, 3, 6, 9, 12 และ 15 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ

3.2.2 ดำเนินการวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 2.2 – 2.5

3.2.3 สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐานโพแทสเซียมกับค่า Emission intensity คำนวณหาสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient : r) เกณฑ์การยอมรับ $r \geq 0.995$ (APHA, AWWA and WEF, 2017)

3.3 การหาขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ)

3.3.1 ชั่ง Sample blank จำนวน 1.xxxx กรัม ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 125 มิลลิลิตร จำนวน 10 ซ้ำ

3.3.2 ดำเนินการวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 2.2 – 2.5

3.3.3 คำนวณหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) เพื่อคำนวณค่า LOD และ LOQ (Eurachem, 2014) จากสูตร

$$\text{LOD} = 3S_0'$$

$$\text{LOQ} = 10S_0'$$

โดยที่ $S_0' = \frac{S_0}{\sqrt{n}}$

$S_0'$ หมายถึง ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสำหรับการคำนวณ LOD และ LOQ

$S_0$ หมายถึง ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทำซ้ำของ Sample blank

n หมายถึง จำนวนซ้ำของตัวอย่างทดสอบ

3.4 พิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision)

3.4.1 วิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified reference material; CRM) ที่ระดับความเข้มข้น LOQ และสูง ที่เติมลงในตัวอย่างปุ๋ยที่มีเนื้อสารต่างกัน (Matrix effect) โดยที่ระดับความเข้มข้น LOQ และสูง เตรียม CRM ให้ได้ความเข้มข้น 0.2 %$TK_2O$ (จาก CRM สูตร 0-52-34) และ 6.0 %$TK_2O$ (จาก CRM สูตร 0-0-60) ตามลำดับ

3.4.2 ระดับความเข้มข้น LOQ ชั่ง Sample blank จำนวน 1.xxxx กรัม ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 125 มิลลิลิตร เติมวัสดุอ้างอิงรับรอง 0.2 %$TK_2O$ จำนวน 1.xxxx กรัม

3.4.3 ระดับความเข้มข้นสูง ชั่ง Sample blank จำนวน 1.xxxx กรัม ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 125 มิลลิลิตร เติมวัสดุอ้างอิงรับรอง 6.0 %$TK_2O$ จำนวน 1.xxxx กรัม

3.4.4 ดำเนินการวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 2.2 – 2.5 (โดยทำการวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ และต่างวันเวลา)

3.4.5 นำผลการวิเคราะห์มาคำนวณทางสถิติ ประเมินค่า Trueness โดยเปรียบเทียบค่าที่ได้กับค่าที่รับรองของ CRM เกณฑ์การยอมรับ % Recovery 95-105 และ 97-103 (AOAC, 2016) และประเมินค่า Precision โดย HorRat (Horwitz's Ratio) เกณฑ์การยอมรับ < 1.3 (AOAC, 2016)

4. ประเมินค่าความไม่แน่นอนตั้งแต่ขั้นตอนการสุ่มตัวอย่าง การวิเคราะห์ และคำนวณเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์

4.1 แบ่งตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ (A) เป็น 2 ส่วน (A1, A2) ส่วนละ 1 กิโลกรัม แล้วนำปุ๋ยอินทรีย์ A1, A2 มาแบ่งเป็น 4 ส่วน (Eurachem, 2019) และบดตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ทั้ง 8 ส่วน

4.2 วิเคราะห์ตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (0.1-1.0 %$TK_2O$) กลาง (1.1-3.0 %$TK_2O$) และสูง (>3.0 %$TK_2O$) ความเข้มข้นละ 3 ตัวอย่าง โดยชั่งตัวอย่าง 1.xxxx กรัม วิเคราะห์ที่เวลาแตกต่างกัน ดำเนินการวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 2 โดยวิเคราะห์ตัวอย่างละ 2 คน คนละ 2 ซ้ำ

4.3 คำนวณค่าความไม่แน่นอนตั้งแต่ขั้นตอนการสุ่มตัวอย่าง และการวิเคราะห์โพแทสเซียมทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ โดยใช้สูตรค่าความไม่แน่นอน (Eurachem, 2019)

$$u = \%RSD = \frac{SD}{\bar{x}} x\,100$$

โดยที่ u = ค่าคลาดเคลื่อน

% RSD = Relative standard deviation

SD = Standard deviation

4.4 คำนวณเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ ตามสูตร

$$u_c = \sqrt{(u_{samp})^2 + (u_{anal})^2}$$

โดยที่ $u_c$ = Combine uncertainty

$u_{samp}$ = ค่าความไม่แน่นอนของการสุ่มตัวอย่าง

$u_{anal}$ = ค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์

**ระยะเวลา** เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2562 สิ้นสุด เดือนกันยายน 2564

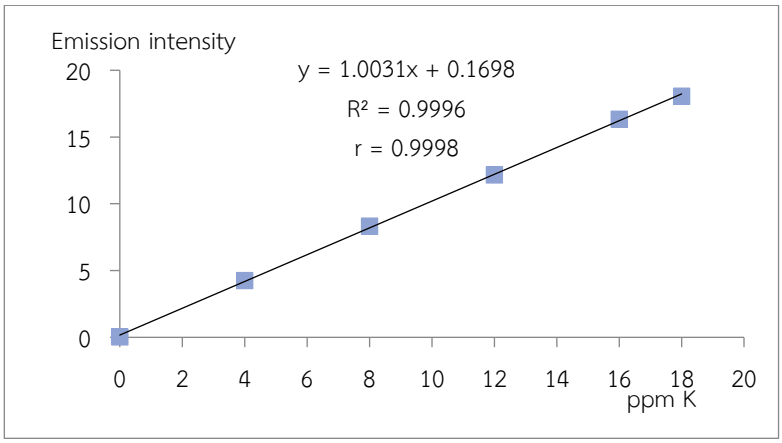
**สถานที่ทำการทดลอง**

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

## ผลการทดลองและวิจารณ์

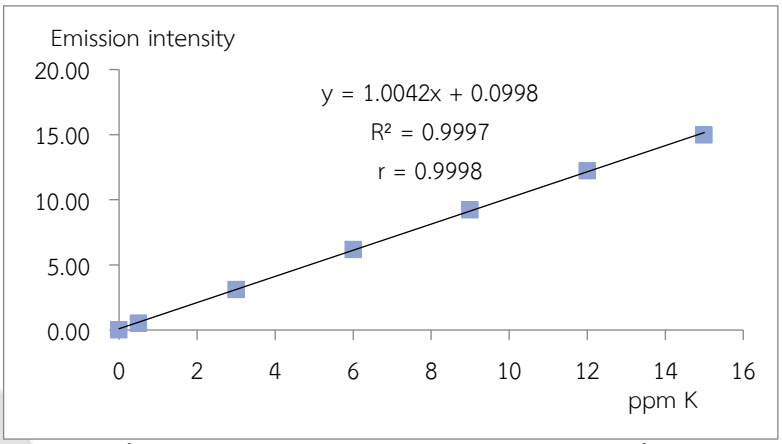
1. ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โพแทสเซียมทั้งหมด โดย Flame Photometric Method

1.1 การหาช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (Range) จากการสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียม (แกน X) กับค่า Emission intensity (แกน y) พบว่าอยู่ในช่วง 0-18 มิลลิกรัมต่อลิตรโพแทสเซียม ได้ค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.9998 ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ ($r \geq 0.995$) (ภาพที่ 1)




ภาพที่ 1 ช่วงความเป็นเส้นตรง (Range) ของการวิเคราะห์โพแทสเซียมทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์

1.2 การหาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) เลือกเอาช่วง 0-15 มิลลิกรัมต่อลิตรโพแทสเซียม นำมาหาค่า Linearity โดยสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียม (แกน X) กับค่า Emission intensity (แกน y) ได้ค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.9998 ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ ($r \geq 0.995$) จึงเลือกเป็นช่วงใช้งานในห้องปฏิบัติการ (ภาพที่ 2)




ภาพที่ 2 ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) ของการวิเคราะห์โพแทสเซียมทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์

1.3 การหาขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ) พบว่า ค่าเฉลี่ย เท่ากับ 0.05% และค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับ 0.0159% คำนวณค่า LOD เท่ากับ 0.05 %$TK_2O$ และ LOQ เท่ากับ 0.16 %$TK_2O$

1.4 ผลการพิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision)

จากการทดสอบวัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified reference material; CRM) ที่ระดับความเข้มข้น LOQ และสูง ที่เติมลงในตัวอย่างปุ๋ยที่มีเนื้อสารต่างกัน (Matrix effect) พบว่า % Recovery และ HorRat (Horwitz's Ratio) ที่ระดับความเข้มข้น LOQ และ สูง อยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับ (ตารางที่ 1) แสดงว่าความเหมาะสมของวิธีทดสอบโพแทสเซียมทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ อยู่ในช่วง 0.2 – 6.0%$TK_2O$

ตารางที่ 1 ผลการตรวจสอบความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision)

| Concentration | Accuracy | | Precision | |
|---|---|---|---|---|
| | %Recovery | Acceptance criteria | HorRat | Acceptance criteria |
| LOQ (0.2%$TK_2O$) | 99.39 | 95-105 | 0.34 | 1.3 |
| High (6.0%$TK_2O$) | 100.43 | 97-103 | 0.28 | 1.3 |

2. ประเมินค่าความไม่แน่นอนตั้งแต่ขั้นตอนการสุ่มตัวอย่าง การวิเคราะห์ และคำนวณเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์

เกณฑ์คลาดเคลื่อนจากความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์โพแทสเซียมทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ โดยคำนวณจากค่าความไม่แน่นอนจากการสุ่มตัวอย่าง และการวิเคราะห์ พบว่าค่าความไม่แน่นอนที่ระดับความเข้มข้นต่ำ เท่ากับ 7.60%, 9.15% และ 10.15% ความเข้มข้นกลาง เท่ากับ 4.64%, 5.42% และ 5.44% และความเข้มข้นสูง เท่ากับ 1.57%, 2.49% และ 4.31% (ตารางที่ 2)

ปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ช่วงความเข้มข้น 1.0%$TK_2O$ มีค่าความไม่แน่นอนมากที่สุดเท่ากับ 11% สอดคล้องกับกฎหมายของสหภาพยุโรป (Official Journal of the European Union, 2019) เกี่ยวกับการจำหน่ายปุ๋ยอินทรีย์ ที่ระบุว่าปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ที่ความเข้มข้น 1.0% มีค่าคลาดเคลื่อนได้ไม่เกิน 50%

ตารางที่ 2 ร้อยละค่าความไม่แน่นอนของปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์

| Concentration | %$TK_2O$ | Measurement uncertainty | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Sampling (%) | Analytical (%) | Total (%) |
| Low | 0.59 | 2.52 | 7.16 | 7.60 |
| | 0.82 | 3.22 | 9.62 | 10.15 |
| | 0.97 | 3.93 | 8.26 | 9.15 |
| Medium | 1.21 | 2.49 | 4.84 | 5.44 |
| | 1.89 | 2.78 | 4.65 | 5.42 |
| | 2.88 | 2.39 | 3.98 | 4.64 |
| High | 3.52 | 0.40 | 1.52 | 1.57 |
| | 4.58 | 1.12 | 2.23 | 2.49 |
| | 5.96 | 1.14 | 4.16 | 4.31 |

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

การศึกษาเกณฑ์คลาดเคลื่อนจากความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์โพแทสเซียมทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ โดยทดสอบตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เพื่อประเมินค่าความไม่แน่นอนจากขั้นตอนการสุ่มตัวอย่าง และการวิเคราะห์ พบว่าได้เกณฑ์คลาดเคลื่อนขั้นต่ำของปริมาณธาตุอาหารโพแทสเซียมทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ที่ครอบคลุมระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง (0.59 – 5.96%) อยู่ในช่วง 1.57 – 10.15%

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ใช้เป็นข้อมูลในการสร้างความเชื่อมั่นด้านการตรวจวิเคราะห์ เพื่อพิสูจน์และยืนยันถึงวิธีการที่นำมาใช้ในการทดสอบว่ามีความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ สามารถสอบกลับได้ ลดข้อโต้แย้ง ในการกำกับ และบังคับใช้กฎหมายของกรมวิชาการเกษตร ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550

## เอกสารอ้างอิง


กรมวิชาการเกษตร. 2551. คู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์. กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 (2560, 4 มกราคม). ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 134 ตอนพิเศษ 2 ง. หน้า 24.

American Public Health Association, American Water Works Association and World Economic Forum (APHA, AWWA and WEF). 2017. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Part 4000: Inorganic Nonmetallic Constituents. 23rd ed. Washington DC, USA.

AOAC. 2016. Official Methods of Analysis of AOAC International. 20th ed. AOAC International, Maryland, USA.

Eurachem. 2014. The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. 2nd ed. Available from http://www.eurachem.org. (30 Nov. 2021)

Eurachem. 2019. Measurement uncertainty arising from sampling: a guide to methods and approaches. 2nd ed. Available from http://www.eurachem.org. (30 Nov. 2021)

Official Journal of the European Union. 2019. Laying down rules on the making available on the market of EU fertilising products and amending Regulations (EC) No 1069/2009 and (EC) No 1107/2009 and repealing Regulation (EC) No 2003/2003. Available from https://assets.gov.ie/127589/228a7796-1204-49e0-834d-1966755c79e9.pdf. (30 Nov. 2021)

# ศึกษาเกณฑ์คลาดเคลื่อนจากค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียมออกไซด์ แมกนีเซียมออกไซด์ และกำมะถันในปุ๋ยเคมีด้วยเทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี

# Study the tolerance from the uncertainty of quantification analysis of calcium oxide, magnesium oxide, and sulfur in chemical fertilizers with inductively coupled plasma spectrometry technique

*พงศ์พิศ แก้วสุข* *วรรณรัตน์ ชุติบุตร* *จริยา วงค์ตรี*

*Pongpit Kaewsuk* *Wannarat Chutibut* *Jariya Wongtree*

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

## ABSTRACT

Study tolerance from the uncertainty of the calcium oxide quantitative analysis magnesium oxide and sulfur in chemical fertilizers by Inductively coupled plasma spectrometry. Implementation period from October 2019 to September 2021 at the Laboratory of Systemic Research of Fertilizer Quality, Agricultural Chemical Research Group, Agricultural Production Science Research and Development Division, Department of Agriculture. The objective was to find the error in the secondary nutrient fertilizer analysis suitable for each sample concentration range from taking the uncertainty value from the source of sampling (sub-sampling) from sampling precision and analytical precision using ANOVA statistics and certified reference material (CRM) based on the source weight, dilution sample, CRM precision, bias, factor, calibration curve, instrument and concentration calibration at 5 levels, concentration range $0.02 \leq X < 1.0$, $1.0 \leq X < 4.0$, $4.0 \leq X < 10.0$, $10.0 \leq X < 20.0$ and $X \geq 20$. There are tolerances for calcium oxide 29.9%, 22.0%, 16.8%, 12.3% and 6.4% magnesium oxide 28.1%, 23.1%, 12.8%, 6.0% and 6.7% and sulfur 30.8%, 25.7%, 14.7%, 9.7% and 9.6% which can assess the tolerance of calcium oxide. magnesium oxide and sulfur belong to the secondary nutrient in fertilizers. According to the concentration range of 15%, 11%, 7%, 5% and 3% which are lower tolerance ranges calcium oxide, magnesium oxide and sulfur from this data can be used as a decision rule.

The magnesium oxide test item and sulfur at the last 2 concentrations had similar discrepancies, possibly because most of the concentrations in the lower concentration ranges were straight fertilizers.

**Keywords :** Tolerance, uncertainty, calcium oxide magnesium oxide sulfur

## บทคัดย่อ

การศึกษาเกณฑ์คลาดเคลื่อนจากค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียมออกไซด์ แมกนีเซียมออกไซด์ และกำมะถันในปุ๋ยเคมีด้วยเทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี ระยะเวลาดำเนินการตั้งแต่ เดือนตุลาคม 2562 ถึง เดือนกันยายน 2564 ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อหาค่าเกณฑ์คลาดเคลื่อนของผลการวิเคราะห์ปุ๋ยธาตุอาหารรองที่เหมาะสมสำหรับแต่ละช่วงความเข้มข้นของตัวอย่าง จากการนำค่าความไม่แน่นอนจากแหล่งของการสุ่มตัวอย่าง (sub-sampling) จากแหล่ง sampling precision และ analytical precision โดยใช้สถิติ ANOVA และการทดสอบวัสดุอ้างอิงรับรอง (CRM) จากแหล่ง weight, dilution sample, CRM precision, bias, factor, calibration curve, instrument และconcentration calibration ที่ 5 ระดับช่วงความเข้มข้น $0.02 \leq X < 1.0$, $1.0 \leq X < 4.0$, $4.0 \leq X < 10.0$, $10.0 \leq X < 20.0$ และ $X \geq 20$ มีความคลาดเคลื่อนของแคลเซียมออกไซด์ 29.9% 22.0% 16.8% 12.3% และ6.4% ตามลำดับ แมกนีเซียมออกไซด์ 28.1% 23.1% 12.8% 6.0% และ6.7% ตามลำดับ และกำมะถัน 30.8% 25.7% 14.7% 9.7% และ9.6% ตามลำดับ ทั้งนี้รายการทดสอบแมกนีเซียมออกไซด์และกำมะถันที่ระดับความเข้มข้น 2 ช่วงสุดท้าย มีความคลาดเคลื่อนที่ใกล้เคียงกันอาจเนื่องมาจากช่วงความเข้มข้นดังกล่าวส่วนใหญ่เป็นแม่ปุ๋ย จากข้อมูลข้างต้นสามารถประมาณความคลาดเคลื่อนของแคลเซียมออกไซด์ แมกนีเซียมออกไซด์และกำมะถัน ที่อยู่ในกลุ่มธาตุอาหารรองในปุ๋ย ตามช่วงความเข้มข้นที่ 15% 11% 7% 5% และ 3% ตามลำดับ ซึ่งกำหนดเป็นความคลาดเคลื่อนช่วงล่างของแคลเซียมออกไซด์ แมกนีเซียมออกไซด์ และกำมะถัน จากข้อมูลนี้สามารถใช้กำหนดเป็นเกณฑ์การตัดสินใจ



**คำหลัก :** ความคลาดเคลื่อน, ความไม่แน่นอน, แคลเซียมออกไซด์ แมกนีเซียมออกไซด์ กำมะถัน


## คำนำ

ในการทดสอบทางเคมีวิธีทดสอบแคลเซียมออกไซด์ แมกนีเซียมออกไซด์ และกำมะถัน (NIAES, 1987) ที่ใช้ต้องผ่านการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ (Eurachem, 2014) โดยวิธีนั้นใช้เครื่องมือวัดหรือไม่ก็ตาม ต้องประเมินค่าความไม่แน่นอนของผลการทดสอบ (NATA, 2018) ซึ่งจะช่วยในการตัดสินใจในผลการทดสอบว่าจะยอมรับหรือไม่ยอมรับในผลิตภัณฑ์นั้น การประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์ (measurement uncertainty) เป็นค่าบวกลบที่ติดไปกับผลการวิเคราะห์ (NATA, 2013) ที่แสดงถึงการกระจายของข้อมูลผลการวิเคราะห์ โดยพิจารณาจากค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของผลการวิเคราะห์ รวมไปถึงค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ได้จากผู้วิเคราะห์ หรือข้อมูลอื่นๆที่เป็นองค์ประกอบในกระบวนการวิเคราะห์ (AOAC, 2019) ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดความไม่แน่นอนของผลการวิเคราะห์ (Eurachem, 2016 ; ISO/IEC 17025, 2017) แหล่งของความไม่แน่นอน แบ่งเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้ ความคลาดเคลื่อนแบบสุ่ม (random errors) เป็นแหล่งของความไม่แน่นอนที่เกิดขึ้นจากความแตกต่างกันของค่าที่ได้จากการวัดแต่ละครั้ง ทำให้ข้อมูลมีการกระจายตัวไปรอบๆ ค่าเฉลี่ย โดยไม่สามารถควบคุมได้และหลีกเลี่ยงไม่ได้ ไม่อาจคาดการณ์แนวโน้มของความคลาดเคลื่อนจะเป็นทางบวกหรือทางลบ ปริมาณหรือระดับการคลาดเคลื่อนมีค่าไม่แน่นอนการลดความคลาดเคลื่อนประเภทนี้สามารถทำได้โดยการเพิ่มจำนวนตัวอย่าง และทำการทดลองซ้ำหลายๆ ครั้ง (precision หรือ repeatability) ความคลาดเคลื่อนของระบบ (systematic error) เป็นค่าความคลาดเคลื่อนที่ประเมินโดยความเบี่ยงเบนทั้งระบบจากค่าแท้จริง (bias) ซึ่งในการวัดแต่ละครั้งจะเกิดความคลาดเคลื่อนขึ้นได้ทั้งแบบคลาดเคลื่อนมากกว่าค่าจริง หรือที่เรียกว่าความคลาดเคลื่อนทางบวก (positive determinate error) หรือคลาดเคลื่อนน้อยกว่าค่าจริง หรือที่เรียกว่าความคลาดเคลื่อนทางลบ (negative determinate error) เป็นความคลาดเคลื่อนแบบคาดการณ์ได้ จำแนกได้ดังนี้ ความคลาดเคลื่อนจากวิธีวิเคราะห์ (method error) เนื่องจากวิธีวิเคราะห์สารที่สนใจหนึ่งมีกระบวนการวิเคราะห์หลายขั้นตอน ซึ่งในแต่ละขั้นตอนตั้งแต่ การสุ่มตัวอย่าง (sub-sampling) เช่นตัวอย่างที่สุ่มไม่ได้เป็นตัวแทนของสารตัวอย่างทั้งระบบ ความแตกต่างของรูปร่าง ขนาด น้ำหนัก หรือจำนวนตัวอย่างที่สุ่มน้อยและในบริเวณที่อาจพบสารที่สนใจปริมาณสูงมากหรือน้อยมาก (Eurachem/CITAC, 2019) และการเตรียมตัวอย่าง (sample preparation) เนื่องจาก วิธีการเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ของสารที่สนใจ (ISO 14820-1, 2016) แต่ละชนิดแตกต่างกันออกไปตาม

วิธีวิเคราะห์ (ISO 21263, 2017) สารเคมีที่ใช้ในการเตรียม เช่นการละลายตัวอย่าง การย่อยด้วยความร้อน การเจือจาง และการตรวจวัด (measurement) เนื่องจากการทดลอง มีการใช้อุปกรณ์หรือเครื่องแก้วในการชั่ง ตวง วัด เช่น เครื่องชั่ง ขวดวัดปริมาตร ปิเปต เป็นต้น (ISO 21748, 2017) ความคลาดเคลื่อนที่เกิดจากเครื่องมือวิเคราะห์ (instrumental error) ความคลาดเคลื่อนจากผู้วิเคราะห์ (personal error) เป็นความคลาดเคลื่อนที่เกิดจากผู้ทดลอง ความคลาดเคลื่อนแบบควบคุมได้ สามารถทำได้หลายวิธี เช่นการเทียบมาตรฐานเครื่องมือทั้งระบบ หรือการวิเคราะห์โดยใช้สารมาตรฐานที่รู้ความเข้มข้นแท้จริง (certified reference material, CRM) แนวทางการประมาณค่าความไม่แน่นอน แบบ bottom-up approach โดยพิจารณาความไม่แน่นอนจากทุกแหล่งที่มีผลต่อการวัด (Eurachem, 2012) โดยเริ่มต้นการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบตั้งแต่การสุ่มตัวอย่าง (sub-sampling) ซึ่งประกอบด้วย sampling precision และ analysis precision เป็นความคลาดเคลื่อนแบบสุ่ม แล้วประเมินค่าความไม่แน่นอนโดยใช้สถิติ ANOVA (Eurachem/EUROLAB/CITAC/Nordtest/AMC, 2019)

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาเกณฑ์คลาดเคลื่อนของธาตุอาหารรองด้วยเทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี (Boss and Fredeen, 2004) ในปุ๋ยเคมีประเภทต่างๆ และระดับช่วงความเข้มข้นที่ต่างกัน จากค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์ โดยนำค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการวิเคราะห์ปุ๋ยเคมีธาตุอาหารรองจากแหล่งที่เกิดขึ้นในกระบวนการวิเคราะห์มารวมกัน แล้วพิจารณาความคลาดเคลื่อน โดยสามารถนำไปใช้เป็นเกณฑ์การตัดสินใจในการรายงานผลการวิเคราะห์ (Eurachem, 2015) ตามช่วงคุณลักษณะเฉพาะของงานที่ยอมรับข้อผิดพลาดได้ซึ่งเป็นไปตามข้อกำหนดทางมาตรวิทยา specification zone (ISO 14253-1, 2017 ; Eurachem, 2007) หรือช่วงการยอมรับ Tolerance interval (BIPM, 2012 ; ILAC, 2019)

## วิธีดำเนินการ

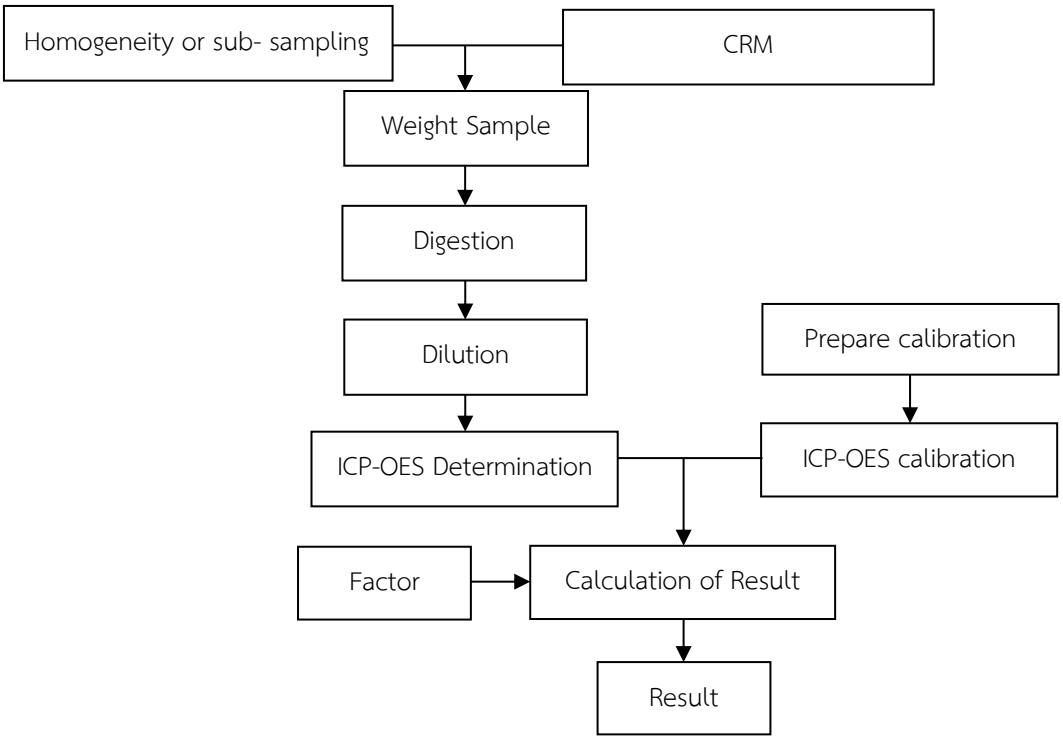
**อุปกรณ์**

1. เครื่อง inductively coupled plasma– optical emission spectrometer (ICP-OES) ยี่ห้อ : Perkin-Elmer รุ่น : Optima 8300 DV
2. เครื่องชั่งตัวอย่าง ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
3. เตาระเหย
4. เครื่องแก้วและวัสดุอื่นที่ใช้ในการปฏิบัติการวิเคราะห์
5. ก๊าซอาร์กอน ชนิดบริสุทธิ์มากกว่าหรือเท่ากับ 99.995%
6. ก๊าซไนโตรเจน ชนิดบริสุทธิ์มากกว่าหรือเท่ากับ 99.999%
7. กรดไนตริก 69-70 เปอร์เซ็นต์ ($HNO_3$), เกรดวิเคราะห์ (AR grade)
8. กรดไฮโดรคลอริก 36-38 เปอร์เซ็นต์ (HCl), เกรดวิเคราะห์ (AR grade)
9. สารละลายมาตรฐานแคลเซียม ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร
10. สารละลายมาตรฐานแมกนีเซียม ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร
11. สารละลายมาตรฐานกำมะถัน ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร

**วิธีการ**

การดำเนินการแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน คือ

**แผนผังการทดสอบ**




ขั้นตอนที่ 1 ประมาณค่าความไม่แน่นอนจากการทดสอบวัสดุอ้างอิงรับรอง (CRM)

1.1 ศึกษาเกณฑ์คลาดเคลื่อนจากค่าความไม่แน่นอนจากการทดสอบ CRM

1.1.1 ใช้สารมาตรฐานอ้างอิงรับรองที่ระดับความเข้มข้น LOQ ต่ำ กลาง และสูง

1.1.2 ประมาณค่าความไม่แน่นอนจากแหล่ง weight, dilution sample, CRM precision, bias, factor, calibration curve, instrument และconcentration calibration

ขั้นตอนที่ 2 ประมาณค่าความไม่แน่นอนจากการ sub-sampling

2.1 ศึกษาเกณฑ์คลาดเคลื่อนจากค่าความไม่แน่นอนจากการ sub-sampling

2.1.1 จัดหาตัวอย่างปุ๋ยแคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน 5 ช่วง เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นๆ ละ 3 ตัวอย่าง ต่อรายการทดสอบ

2.1.1.1 เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น มากกว่าหรือเท่ากับ 0.02 แต่น้อยกว่า 1.0

2.1.1.2 เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น มากกว่าหรือเท่ากับ 1.0 แต่น้อยกว่า 4.0

2.1.1.3 เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น มากกว่าหรือเท่ากับ 4.0 แต่น้อยกว่า 10.0

2.1.1.4 เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น มากกว่าหรือเท่ากับ 10.0 แต่น้อยกว่า 20.0

2.1.1.5 เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น มากกว่าหรือเท่ากับ 20.0

2.1.2 เตรียมตัวอย่างปุ๋ยที่ 5 ช่วงความเข้มข้น ตัวอย่างละ 1 kg จำนวน 2 ถุง แต่ละถุงแบ่งตามกรรมวิธีวิเคราะห์ปุ๋ย (1 ถุง แบ่งเป็น 4 ส่วน จะได้ 8 ส่วนต่อตัวอย่าง) บดตัวอย่างจำนวน 15 ตัวอย่าง ต่อรายการทดสอบ

2.1.3 วิเคราะห์ตัวอย่างปุ๋ยด้วยวิธีการหาปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถันในรูปทั้งหมดโดยการย่อยตัวอย่างด้วยกรดผสมไนตริก ไฮโดรคลอริก (1: 3) และนำสารละลายที่ได้วัดด้วยเครื่อง ICP-OES (ประกาศกรมวิชาการเกษตร, 2560) ทดสอบตัวอย่างปุ๋ยทั้ง 120 ส่วนต่อรายการทดสอบ โดยใช้ผู้วิเคราะห์ 2 คน ตามกรรมวิธี Sampling (Eurachem, 2019)

2.1.4 บันทึกผลวิเคราะห์แคลเซียมออกไซด์ แมกนีเซียมออกไซด์ กำมะถัน

2.1.5 ประมาณค่าความไม่แน่นอนส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ($u_{RSD}$) sampling precision และ analytical precision โดยใช้สถิติ ANOVA ซึ่งแต่ละความเข้มข้นคำนวณเป็นค่าความไม่แน่นอนส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์รวม ($u_{RSD\ (pool)}$) (Barwick and Ellison, 2000)

ขั้นตอนที่ 3 รวมแหล่งความไม่แน่นอนทุกแหล่งเพื่อกำหนดช่วงเกณฑ์คลาดเคลื่อน และประมาณเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อน

3.1 ประเมินความคลาดเคลื่อน จาก sub-sampling และการทดสอบ CRM

3.1.1 ค่าความไม่แน่นอนส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ($u_{RSD}$) ของ sub-sampling จากแหล่ง sampling precision และ analytical precision และการทดสอบ CRM จากแหล่ง weight, dilution sample, CRM precision, bias, factor, calibration curve, instrument และ concentration calibration Figure 1

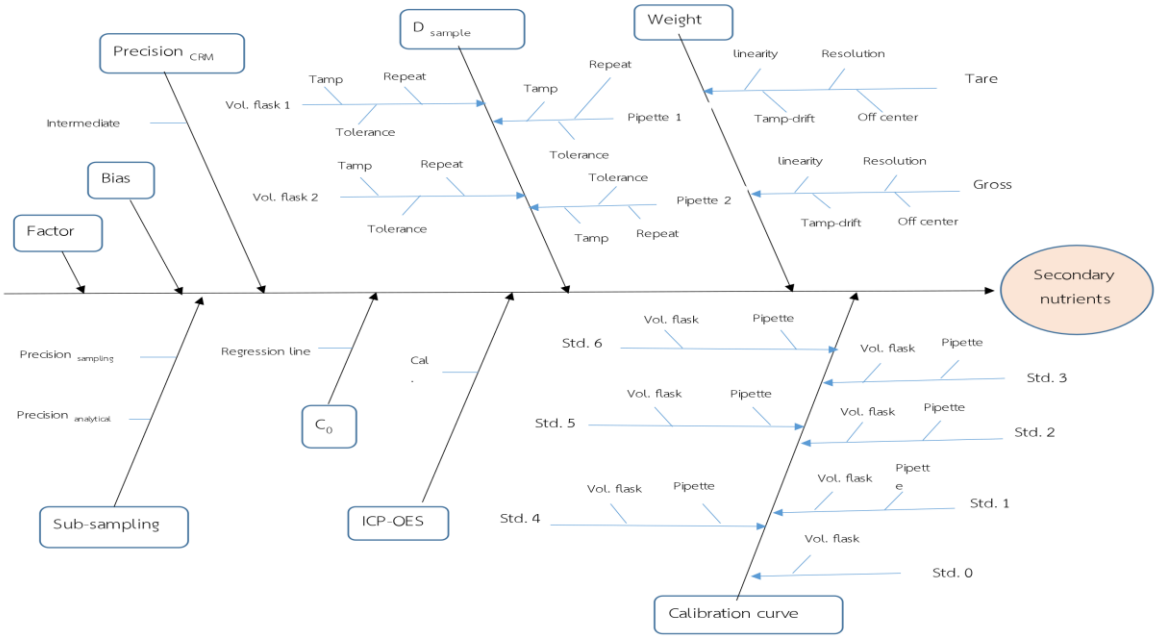



Figure 1 Fishbone diagram measurement uncertainty

นำค่าความไม่แน่นอนจากทุกแหล่งมารวมกัน ($u_c$)

หาค่า specification zone ($4 \times u_c$) แต่ละช่วงความเข้มข้น

3.1.1.1 เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นมากกว่าหรือเท่ากับ 0.02 แต่น้อยกว่า 1.0

3.1.1.2 เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นมากกว่าหรือเท่ากับ 1.0 แต่น้อยกว่า 4.0

3.1.1.3 เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นมากกว่าหรือเท่ากับ 4.0 แต่น้อยกว่า 10.0

3.1.1.4 เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นมากกว่าหรือเท่ากับ 10.0 แต่น้อยกว่า 20.0

3.1.1.5 เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นมากกว่าหรือเท่ากับ 20.0

3.1.2 กำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อน ตาม specification zone ($4_{uc}$)

3.1.3 ประมาณเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อน (%tolerance; $2_{uc}$)

**ระยะเวลา** เริ่มต้น ตุลาคม 2562 สิ้นสุด กันยายน 2564

**สถานที่ทำการทดลอง** กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

## ผลการทดลองและวิจารณ์

ขั้นตอนที่ 1 ประเมินค่าความไม่แน่นอนจากการทดสอบวัสดุอ้างอิงรับรอง (CRM)

คำนวณผล weight, dilution factor, CRM precision, bias, factor, calibration curve, instrument และ concentration calibration ความเข้มข้นแคลเซียมออกไซด์ Table 1 แมกนีเซียมออกไซด์ Table 2 และกำมะถัน Table 3

ขั้นตอนที่ 2 ประเมินค่าความไม่แน่นอนจาก sub-sampling

แคลเซียมออกไซด์ที่ช่วงเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น $0.02 \le CaO < 1.0$ , $1.0 \le CaO < 4.0$, $4.0 \le CaO < 10.0$ , $10.0 \le CaO < 20.0$ , $CaO \ge 20.0$ ได้ค่า sampling precision และ analytical precision เท่ากับ 2.70, 0.67, 1.11, 0.16, 0.00 และ 2.44, 4.34, 2.42, 2.27, 1.05 ตามลำดับ Table 4 แมกนีเซียมออกไซด์ที่ช่วงเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น $0.02 \le MgO < 1.0$ , $1.0 \le MgO < 4.0$, $4.0 \le MgO < 10.0$ , $10.0 \le MgO < 20.0$ , $MgO \ge 20.0$ ได้ค่า sampling precision และ analytical precision เท่ากับ 1.51, 0.45, 0.00, 0.00, 0.21 และ 2.72, 4.64, 1.44, 1.03, 1.16 ตามลำดับ Table 5 กำมะถันที่ช่วงเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น $0.02 \le S < 1.0$ , $1.0 \le S < 4.0$, $4.0 \le S < 10.0$ , $10.0 \le S < 20.0$ , $S \ge 20.0$ ได้ค่า sampling precision และ analytical precision เท่ากับ 0.00, 0.29, 0.52, 0.12, 1.02 และ 6.31, 3.62, 3.37, 1.76, 1.80 ตามลำดับ Table 6

Table 1 Calcium oxide measurement uncertainty in certified reference material

| Component | Symbol | $RSU^2$ | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $0.02 \le CaO < 1.0$ | $1.0 \le CaO < 4.0$ | $4.0 \le CaO < 10.0$ | $10.0 \le CaO < 20.0$ | $CaO < 20.0$ |
| Factor | F | 0.000000 | 0.000000 | 0.000000 | 0.000000 | 0.000000 |
| Precision CRM | Pre | 0.000169 | 0.000004 | 0.000062 | 0.000047 | 0.000010 |
| Weight of sample | $M_{sample}$ | 0.000000 | 0.000001 | 0.000001 | 0.000001 | 0.000001 |
| Dilution factor | $D_{sample}$ | 0.000001 | 0.000001 | 0.000001 | 0.000003 | 0.000003 |
| Calibration curve | $D_{std.}$ | 0.000046 | 0.000046 | 0.000046 | 0.000048 | 0.000048 |
| Concentration of Ca | $C_0$ | 0.003782 | 0.000686 | 0.000526 | 0.000269 | 0.000015 |
| ICP-OES | ICP-OES | 0.000004 | 0.000004 | 0.000004 | 0.000004 | 0.000004 |
| bias | B | 0.000246 | 0.000364 | 0.000422 | 0.000062 | 0.000069 |
| $\sum RSU^2$ | | 0.004247 | 0.001105 | 0.001061 | 0.000433 | 0.000148 |
| $\therefore \sqrt{\sum RSU^2}$ | | 0.065173 | 0.033245 | 0.032574 | 0.020798 | 0.012183 |
| $U_c$ | | 0.001427 | 0.107047 | 0.157331 | 0.316026 | 0.632885 |
| $u_{CRM}$ | | 5.52% | 3.32% | 3.26% | 2.08% | 1.22% |

Table 2 Magnesium oxide measurement uncertainty in certified reference material

| Component | Symbol | $RSU^2$ | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 0.02 ≤ MgO < 1.0 | 1.0 ≤ MgO < 4.0 | 4.0 ≤ MgO < 10.0 | 10.0 ≤ MgO < 20.0 | MgO < 20.0 |
| Factor | F | 0.000000 | 0.000000 | 0.000000 | 0.000000 | 0.000000 |
| Precision CRM | Pre | 0.000006 | 0.000001 | 0.000007 | 0.000006 | 0.000004 |
| Weight of sample | $M_{sample}$ | 0.000000 | 0.000001 | 0.000001 | 0.000001 | 0.000001 |
| Dilution factor | $D_{sample}$ | 0.000001 | 0.000001 | 0.000001 | 0.000003 | 0.000003 |
| Calibration curve | $D_{std.}$ | 0.000047 | 0.000047 | 0.000047 | 0.000047 | 0.000047 |
| Concentration of Mg | $C_0$ | 0.003866 | 0.000370 | 0.000022 | 0.000043 | 0.000046 |
| ICP-OES | ICP-OES | 0.000004 | 0.000004 | 0.000004 | 0.000004 | 0.000004 |
| bias | B | 0.000028 | 0.000727 | 0.000733 | 0.000017 | 0.000034 |
| $\sum RSU^2$ | | 0.003951 | 0.001150 | 0.000814 | 0.000121 | 0.000139 |
| $\therefore \sqrt{\sum RSU^2}$ | | 0.062858 | 0.033913 | 0.028523 | 0.010980 | 0.011793 |
| $U_c$ | | 0.001628 | 0.101400 | 0.170569 | 0.141251 | 0.580994 |
| $u_{CRM}$ | | 6.29% | 3.32% | 2.85% | 1.10% | 1.18% |

Table 3 Sulfur measurement uncertainty in certified reference material

| Component | Symbol | $RSU^2$ | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 0.02 ≤ S < 1.0 | 1.0 ≤ S < 4.0 | 4.0 ≤ S < 10.0 | 10.0 ≤ S < 20.0 | S < 20.0 |
| Precision CRM | Pre | 0.000091 | 0.000019 | 0.000012 | 0.000012 | 0.000025 |
| Weight of sample | $M_{sample}$ | 0.000000 | 0.000000 | 0.000001 | 0.000001 | 0.000001 |
| Dilution factor | $D_{sample}$ | 0.000001 | 0.000001 | 0.000001 | 0.000003 | 0.000003 |
| Calibration curve | $D_{std.}$ | 0.000021 | 0.000021 | 0.000021 | 0.000023 | 0.000023 |
| Concentration of S | $C_0$ | 0.001700 | 0.000963 | 0.000116 | 0.000201 | 0.000058 |
| ICP-OES | ICP-OES | 0.000004 | 0.000004 | 0.000004 | 0.000004 | 0.000004 |
| bias | B | 0.000122 | 0.001817 | 0.000730 | 0.000030 | 0.000030 |
| $\sum RSU^2$ | | 0.001939 | 0.002824 | 0.000185 | 0.000273 | 0.000143 |
| $\therefore \sqrt{\sum RSU^2}$ | | 0.044033 | 0.053143 | 0.013595 | 0.016520 | 0.011965 |
| $U_c$ | | 0.000876 | 0.096985 | 0.123173 | 0.299335 | 0.361460 |
| $u_{CRM}$ | | 4.40% | 5.31% | 1.36% | 1.65% | 1.20% |

ขั้นตอนที่ 3 รวมแหล่งความไม่แน่นอนทุกแหล่ง เพื่อกำหนดช่วงเกณฑ์คลาดเคลื่อน และประมาณเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อน

รวมค่าความไม่แน่นอนจากแหล่ง weight, dilution sample, CRM precision, bias, factor, calibration curve, instrument, concentration calibration, sampling precision และ analytical precision (Figure 2-17) ในการกำหนดช่วงเกณฑ์คลาดเคลื่อน โดยใช้ค่าคงที่เท่ากับ 4 ($4_{uc}$) รายการทดสอบแคลเซียมออกไซด์ แมกนีเซียมออกไซด์ และกำมะถัน ที่ช่วงเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นมากกว่าหรือเท่ากับ 0.02 แต่น้อยกว่า 1.0 ได้ค่า เท่ากับ 29.9, 28.1 และ 30.8 ตามลำดับ มากกว่าหรือเท่ากับ 1.0 แต่น้อยกว่า 4.0 ได้ค่า เท่ากับ 22.0, 23.1 และ 25.7 ตามลำดับ มากกว่าหรือเท่ากับ 4.0

แต่น้อยกว่า 10.0 ได้ค่า เท่ากับ 16.8, 12.8 และ 14.7 ตามลำดับ มากกว่าหรือเท่ากับ 10.0 แต่น้อยกว่า 20.0 ได้ค่า เท่ากับ 12.3, 6.0 และ 9.7 ตามลำดับ มากกว่า 20.0 ได้ค่า เท่ากับ 6.4, 6.7 และ 9.6 ตามลำดับ (Table 7) และประมาณเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนขอบเขตด้านล่างด้านเดียว โดยใช้ค่าคงที่เท่ากับ 2 ($2_{uC}$) เท่ากับ 15, 11, 7, 5 และ3 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (Figure 18)

| | |
|---|---|
| factor | 0.000059 |
| precision $_{CRM}$ | 0.012996 |
| weight of sample | 0.000098 |
| dilution factor | 0.000725 |
| calibration curve | 0.006808 |
| concentration of Ca | 0.061500 |
| ICP-OES | 0.001905 |
| bias | 0.015679 |
| Precision $_{Anal}$ | 0.024359 |
| Precision $_{sampling}$ | 0.026995 |

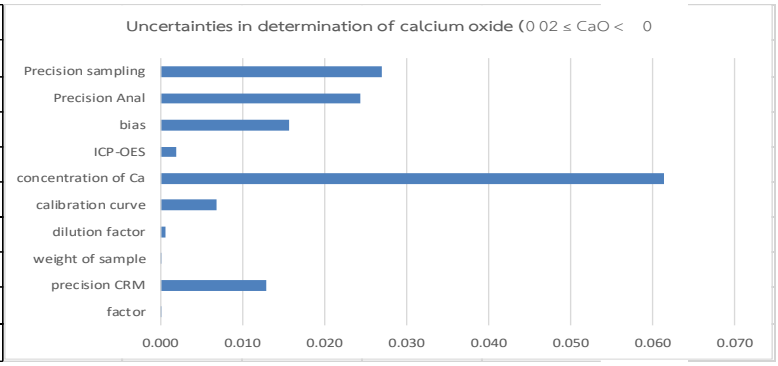



Figure 2 Histogram of calcium oxide measurement uncertainty, 0.02 ≤ CaO < 1.0

| | |
|---|---|
| factor | 0.000059 |
| precision $_{CRM}$ | 0.001964 |
| weight of sample | 0.000968 |
| dilution factor | 0.000725 |
| calibration curve | 0.006808 |
| concentration of Ca | 0.026183 |
| ICP-OES | 0.001905 |
| bias | 0.019089 |
| Precision $_{Anal}$ | 0.043360 |
| Precision $_{sampling}$ | 0.006687 |

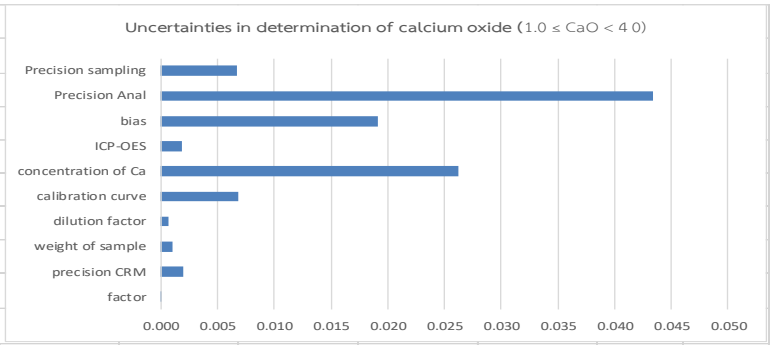



Figure 3 Histogram of calcium oxide measurement uncertainty, 1.0 ≤ CaO < 4.0

| | |
|---|---|
| factor | 0.000059 |
| precision $_{CRM}$ | 0.001964 |
| weight of sample | 0.000983 |
| dilution factor | 0.000725 |
| calibration curve | 0.006808 |
| concentration of Ca | 0.026183 |
| ICP-OES | 0.001905 |
| bias | 0.019089 |
| Precision $_{Anal}$ | 0.024174 |
| Precision $_{sampling}$ | 0.011076 |

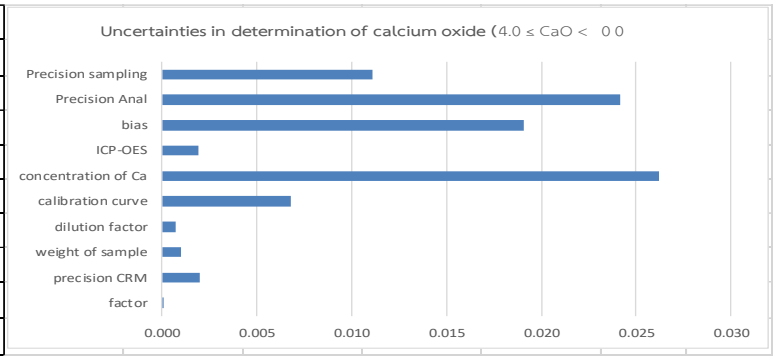



Figure 4 Histogram of calcium oxide measurement uncertainty, 4.0 ≤ CaO < 10.0

| | |
|---|---|
| factor | 0.000059 |
| precision $_{CRM}$ | 0.006868 |
| weight of sample | 0.000943 |
| dilution factor | 0.001675 |
| calibration curve | 0.006895 |
| concentration of Ca | 0.016392 |
| ICP-OES | 0.001905 |
| bias | 0.007862 |
| Precision $_{Anal}$ | 0.022665 |
| Precision $_{sampling}$ | 0.001574 |

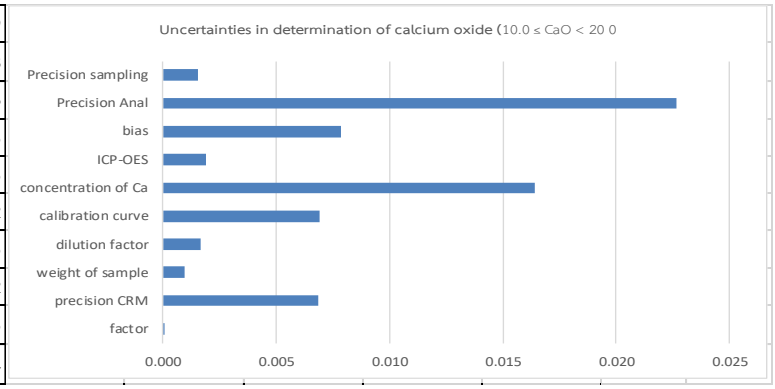



Figure 5 Histogram of calcium oxide measurement uncertainty, 10.0 ≤ CaO < 20.0

| | |
|---|---|
| factor | 0.000059 |
| precision $_{CRM}$ | 0.003104 |
| weight of sample | 0.000951 |
| dilution factor | 0.001675 |
| calibration curve | 0.006895 |
| concentration of Ca | 0.003825 |
| ICP-OES | 0.001905 |
| bias | 0.008323 |
| Precision $_{Anal}$ | 0.010487 |
| Precision $_{sampling}$ | 0.000000 |

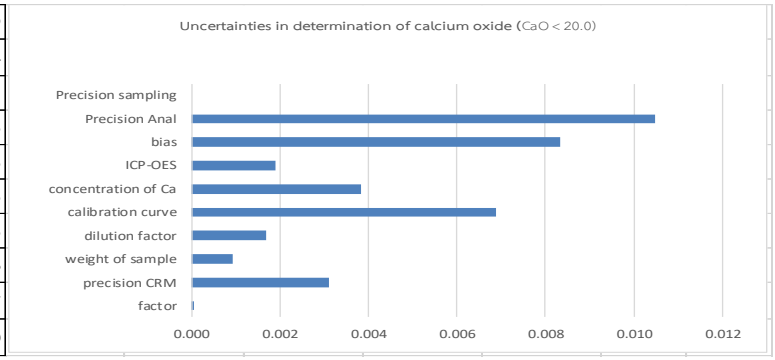



Figure 6 Histogram of calcium oxide measurement uncertainty, CaO ≥ 20.0

| | |
|---|---|
| factor | 0.000038 |
| precision $_{CRM}$ | 0.002442 |
| weight of sample | 0.000101 |
| dilution factor | 0.000725 |
| calibration curve | 0.006881 |
| concentration of Mg | 0.062174 |
| ICP-OES | 0.001905 |
| bias | 0.005297 |
| Precision $_{Anal}$ | 0.027179 |
| Precision $_{sampling}$ | 0.026995 |

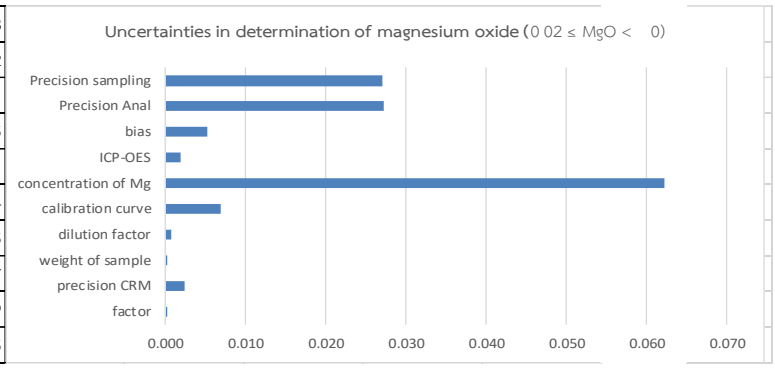



Figure 7 Histogram of magnesium oxide measurement uncertainty, 0.02 ≤ MgO < 1.0

| | |
|---|---|
| factor | 0.000038 |
| precision $_{CRM}$ | 0.001058 |
| weight of sample | 0.000995 |
| dilution factor | 0.000725 |
| calibration curve | 0.006881 |
| concentration of Mg | 0.019230 |
| ICP-OES | 0.001905 |
| bias | 0.026957 |
| Precision $_{Anal}$ | 0.046360 |
| Precision $_{sampling}$ | 0.004532 |

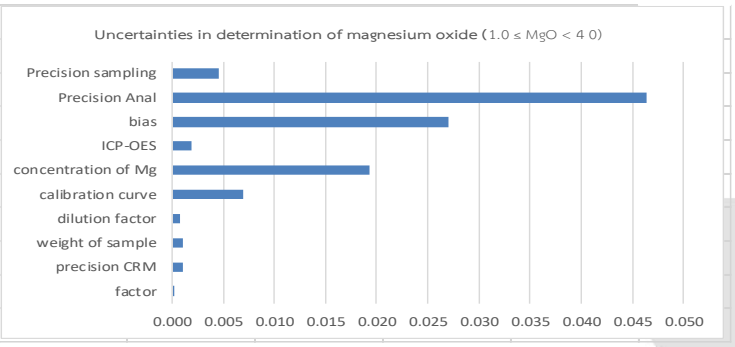



Figure 8 Histogram of magnesium oxide measurement uncertainty, 1.0 ≤ MgO < 4.0

| | |
|---|---|
| factor | 0.000038 |
| precision $_{CRM}$ | 0.002644 |
| weight of sample | 0.000995 |
| dilution factor | 0.000725 |
| calibration curve | 0.006881 |
| concentration of Mg | 0.004642 |
| ICP-OES | 0.001905 |
| bias | 0.027065 |
| Precision $_{Anal}$ | 0.014429 |
| Precision $_{sampling}$ | 0.000000 |

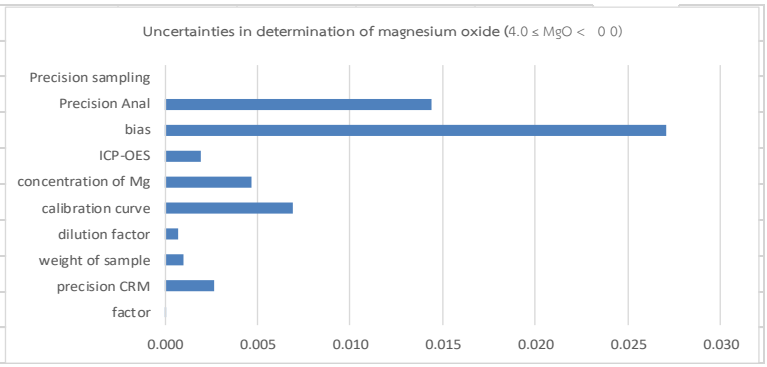



Figure 9 Histogram of magnesium oxide measurement uncertainty, 4.0 ≤ MgO < 10.0

| | |
|---|---|
| factor | 0.000038 |
| precision $_{CRM}$ | 0.002372 |
| weight of sample | 0.000969 |
| dilution factor | 0.001675 |
| calibration curve | 0.006881 |
| concentration of Mg | 0.006550 |
| ICP-OES | 0.001905 |
| bias | 0.004159 |
| Precision $_{Anal}$ | 0.010265 |
| Precision $_{sampling}$ | 0.000000 |

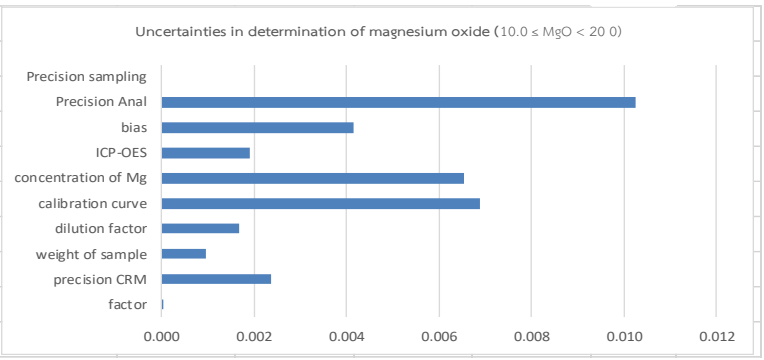



Figure 10 Histogram of magnesium oxide measurement uncertainty, 10.0 ≤ MgO < 20.0

| | |
|---|---|
| factor | 0.000038 |
| precision $_{CRM}$ | 0.001926 |
| weight of sample | 0.000952 |
| dilution factor | 0.001855 |
| calibration curve | 0.006881 |
| concentration of Mg | 0.006769 |
| ICP-OES | 0.001905 |
| bias | 0.005851 |
| Precision $_{Anal}$ | 0.011629 |
| Precision $_{sampling}$ | 0.002124 |

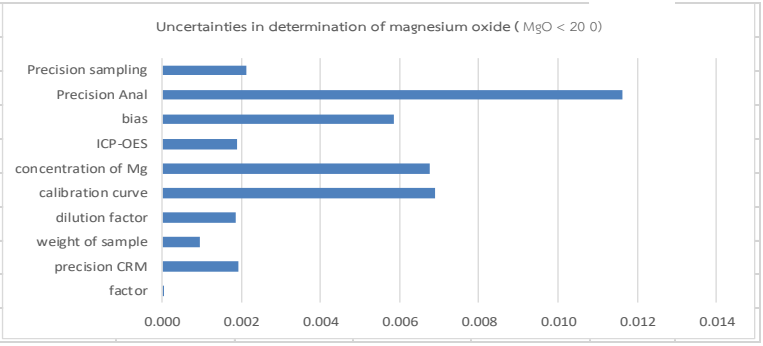



Figure 11 Histogram of magnesium oxide measurement uncertainty, MgO ≥ 20.0

| | |
|---|---|
| precision $_{CRM}$ | 0.009535 |
| weight of sample | 0.000097 |
| dilution factor | 0.000725 |
| calibration curve | 0.004627 |
| concentration of S | 0.041230 |
| ICP-OES | 0.001905 |
| bias | 0.011066 |
| Precision $_{Anal}$ | 0.063094 |
| Precision $_{sampling}$ | 0.000000 |

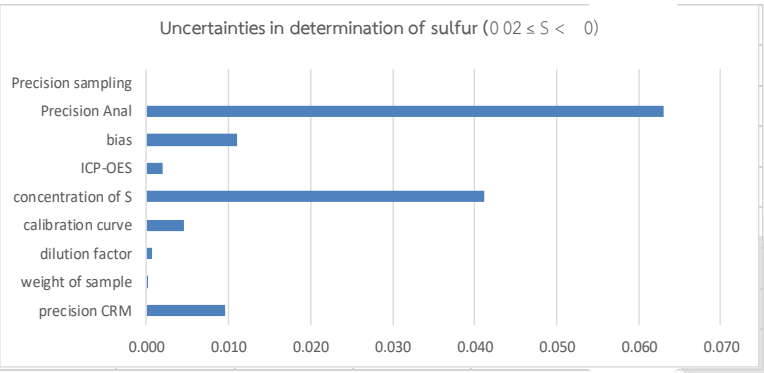



Figure 12 Histogram of sulfur measurement uncertainty, 0.02 ≤ S < 1.0

| | |
|---|---|
| precision $_{CRM}$ | 0.004332 |
| weight of sample | 0.000100 |
| dilution factor | 0.000725 |
| calibration curve | 0.004627 |
| concentration of S | 0.031033 |
| ICP-OES | 0.001905 |
| bias | 0.042624 |
| Precision $_{Anal}$ | 0.036185 |
| Precision $_{sampling}$ | 0.002874 |

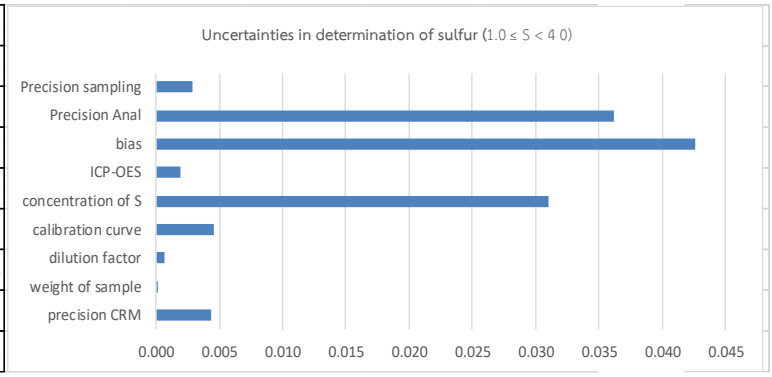



Figure 13 Histogram of sulfur measurement uncertainty, 1.0 ≤ S < 4.0

| | |
|---|---|
| precision $_{CRM}$ | 0.003490 |
| weight of sample | 0.000984 |
| dilution factor | 0.000725 |
| calibration curve | 0.004627 |
| concentration of S | 0.010786 |
| ICP-OES | 0.001905 |
| bias | 0.005457 |
| Precision $_{Anal}$ | 0.033689 |
| Precision $_{sampling}$ | 0.005191 |

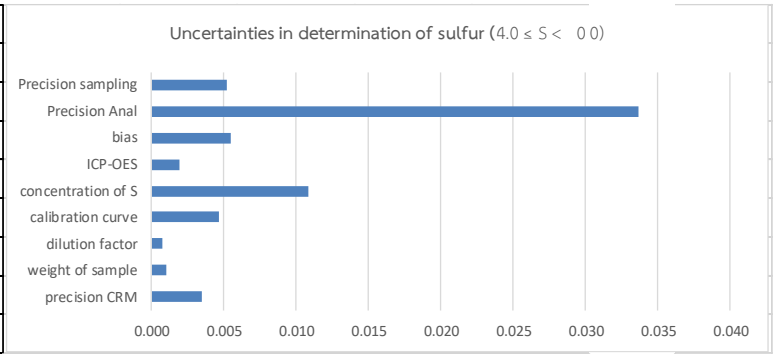



Figure 14 Histogram of sulfur measurement uncertainty, 4.0 ≤ S < 10.0

| | |
|---|---|
| precision $_{CRM}$ | 0.003490 |
| weight of sample | 0.000984 |
| dilution factor | 0.001675 |
| calibration curve | 0.004755 |
| concentration of S | 0.014175 |
| ICP-OES | 0.001905 |
| bias | 0.005457 |
| Precision $_{Anal}$ | 0.017551 |
| Precision $_{sampling}$ | 0.001243 |

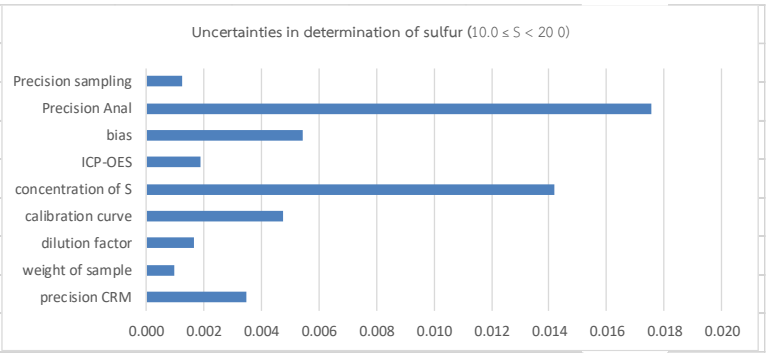



Figure 15 Histogram of sulfur measurement uncertainty, 10.0 ≤ CaO < 20.0

| | |
|---|---|
| precision $_{CRM}$ | 0.005024 |
| weight of sample | 0.000995 |
| dilution factor | 0.001675 |
| calibration curve | 0.004755 |
| concentration of S | 0.007638 |
| ICP-OES | 0.001905 |
| bias | 0.005435 |
| Precision $_{Anal}$ | 0.018032 |
| Precision $_{sampling}$ | 0.010242 |

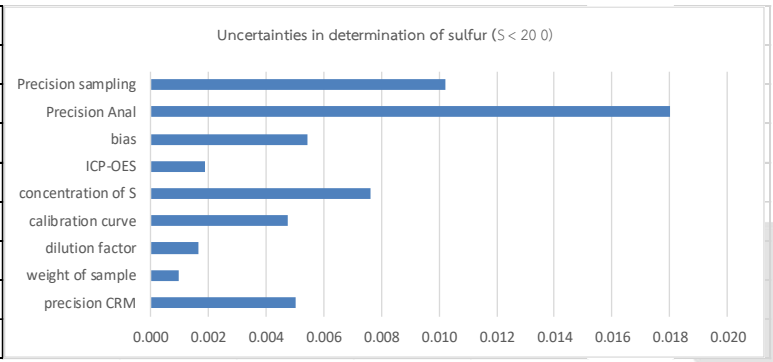



Figure 16 Histogram of sulfur measurement uncertainty, 10.0 ≤ S < 20.0

| | |
|---|---|
| precision $_{CRM}$ | 0.005024 |
| weight of sample | 0.000995 |
| dilution factor | 0.001675 |
| calibration curve | 0.004755 |
| concentration of S | 0.007638 |
| ICP-OES | 0.001905 |
| bias | 0.005435 |
| Precision $_{Anal}$ | 0.018032 |
| Precision $_{sampling}$ | 0.010242 |

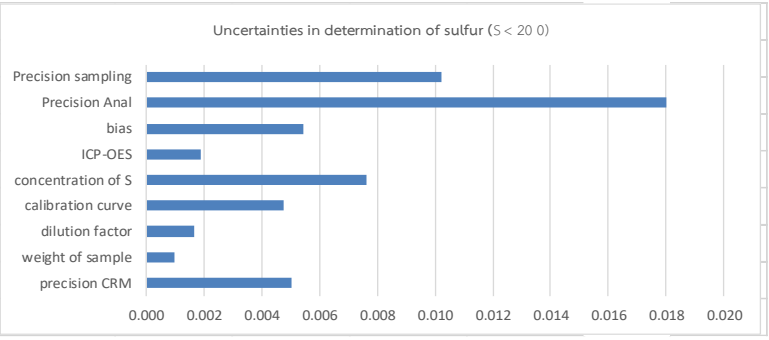



Figure 17 Histogram of sulfur measurement uncertainty, S < 20.0

Table 4 Tolerance of calcium oxide concentration (%) 0.02 ≤ CaO < 1.0, 1.0 ≤ CaO < 4.0, 4.0 ≤ CaO < 10.0, 10.0 ≤ CaO < 20.0, CaO ≥ 20.0

| Sample (%$CaO_{mean}$) | Sub-sampling | | CRM |
|---|---|---|---|
| | sampling | analytical | |
| | $u_{RSD}$ (n=8) | $u_{RSD}$ (n=16) | $u_{CRM}$ |
| 0.12531 | 3.99 | 3.15 | |
| 0.65906 | 2.99 | 2.29 | |
| 0.93094 | 0.38 | 1.95 | |
| $u_{RSD\ (pool)} = \sqrt{\frac{\sum((n-1)u^2)}{\sum(n-1)}}$ | 2.70 | 2.44 | 6.52 |
| Verification of conformity if the width of the specification zone is (4 x $u_c$) | | | 29.9% |
| 1.36156 | 1.18 | 2.04 | |
| 3.05250 | 0.37 | 1.15 | |
| 3.22156 | 0.00 | 7.39 | |
| $u_{RSD\ (pool)} = \sqrt{\frac{\sum((n-1)u^2)}{\sum(n-1)}}$ | 0.67 | 4.34 | 3.32 |
| Verification of conformity if the width of the specification zone is (4 x $u_c$) | | | 22.0% |
| 5.72875 | 0.00 | 2.08 | |
| 5.98719 | 2.05 | 2.97 | |
| 8.14375 | 0.00 | 2.36 | |
| $u_{RSD\ (pool)} = \sqrt{\frac{\sum((n-1)u^2)}{\sum(n-1)}}$ | 1.11 | 2.42 | 3.26 |
| Verification of conformity if the width of the specification zone is (4 x $u_c$) | | | 16.8% |
| 13.16688 | 0.00 | 3.53 | |
| 15.33594 | 0.00 | 1.45 | |
| 19.52438 | 0.29 | 1.38 | |
| $u_{RSD\ (pool)} = \sqrt{\frac{\sum((n-1)u^2)}{\sum(n-1)}}$ | 0.16 | 2.27 | 2.08 |
| Verification of conformity if the width of the specification zone is (4 x $u_c$) | | | 12.3% |
| 26.30281 | 0.00 | 1.03 | |
| 38.28406 | 0.00 | 0.72 | |
| 39.83281 | 0.00 | 1.39 | |
| $u_{RSD\ (pool)} = \sqrt{\frac{\sum((n-1)u^2)}{\sum(n-1)}}$ | 0.00 | 1.05 | 1.22 |
| Verification of conformity if the width of the specification zone is (4 x $u_c$) | | | 6.4% |

Table 5 Tolerance of magnesium oxide concentration (%) 0.02 ≤ MgO < 1.0, 1.0 ≤ MgO < 4.0, 4.0 ≤ MgO < 10.0, 10.0 ≤ MgO < 20.0, MgO ≥ 20.0

| Sample (%$MgO_{mean}$) | Sub-sampling | | CRM |
|---|---|---|---|
| | sampling | analyses | |
| | $u_{RSD}$ | $u_{RSD}$ | $u_{CRM}$ |
| 0.55250 | 2.56 | 2.52 | |
| 0.77406 | 1.12 | 1.43 | |
| 0.90063 | 0.00 | 3.91 | |
| $u_{RSD\ (pool)} = \sqrt{\frac{\sum((n-1)u^2)}{\sum(n-1)}}$ | 1.51 | 2.72 | 6.29 |
| Verification of conformity if the width of the specification zone is (4 x $u_c$) | | | 28.1% |
| 1.49969 | 0.00 | 6.81 | |
| 1.80125 | 0.00 | 4.36 | |
| 2.86531 | 0.84 | 1.86 | |
| $u_{RSD\ (pool)} = \sqrt{\frac{\sum((n-1)u^2)}{\sum(n-1)}}$ | 0.45 | 4.64 | 3.39 |
| Verification of conformity if the width of the specification zone is (4 x $u_c$) | | | 23.1% |
| 4.14188 | 0.00 | 1.56 | |
| 9.59219 | 0.00 | 1.67 | |
| 9.95625 | 0.00 | 1.20 | |
| $u_{RSD\ (pool)} = \sqrt{\frac{\sum((n-1)u^2)}{\sum(n-1)}}$ | 0.00 | 1.44 | 2.85 |
| Verification of conformity if the width of the specification zone is (4 x $u_c$) | | | 12.8% |
| 11.94656 | 0.00 | 0.72 | |
| 14.30094 | 0.00 | 1.15 | |
| 16.65781 | 0.00 | 1.24 | |
| $u_{RSD\ (pool)} = \sqrt{\frac{\sum((n-1)u^2)}{\sum(n-1)}}$ | 0.00 | 1.03 | 1.10 |
| Verification of conformity if the width of the specification zone is (4 x $u_c$) | | | 6.0% |
| 25.83650 | 0.39 | 1.20 | |
| 25.03250 | 0.00 | 1.25 | |
| 33.96156 | 0.00 | 1.14 | |
| $u_{RSD\ (pool)} = \sqrt{\frac{\sum((n-1)u^2)}{\sum(n-1)}}$ | 0.21 | 1.16 | 1.18 |
| Verification of conformity if the width of the specification zone is (4 x $u_c$) | | | 6.7% |

Table 6 Tolerance of sulfur concentration (%) 0.02 ≤ S < 1.0, 1.0 ≤ S < 4.0, 4.0 ≤ S < 10.0, 10.0 ≤ S < 20.0, S ≥ 20.0

| Sample ($\%S_{mean}$) | Sub-sampling | | CRM |
|---|---|---|---|
| | sampling | analyses | |
| | $u_{RSD}$ | $u_{RSD}$ | $u_{CRM}$ |
| 0.21125 | 0.00 | 4.82 | |
| 0.74813 | 0.00 | 2.99 | |
| 0.84875 | 0.00 | 9.76 | |
| $u_{RSD\ (pool)} = \sqrt{\frac{\sum((n-1)u^2)}{\sum(n-1)}}$ | 0.00 | 6.31 | 4.40 |
| Verification of conformity if the width of the specification zone is (4 x $u_c$) | | | 30.8% |
| 1.49594 | 0.00 | 5.80 | |
| 2.17844 | 0.53 | 1.43 | |
| 3.66844 | 0.00 | 2.49 | |
| $u_{RSD\ (pool)} = \sqrt{\frac{\sum((n-1)u^2)}{\sum(n-1)}}$ | 0.29 | 3.62 | 5.31 |
| Verification of conformity if the width of the specification zone is (4 x $u_c$) | | | 25.7% |
| 4.30656 | 0.00 | 3.50 | |
| 5.64469 | 0.96 | 1.13 | |
| 9.15313 | 0.00 | 4.77 | |
| $u_{RSD\ (pool)} = \sqrt{\frac{\sum((n-1)u^2)}{\sum(n-1)}}$ | 0.52 | 3.37 | 1.36 |
| Verification of conformity if the width of the specification zone is (4 x $u_c$) | | | 14.7% |
| 11.25063 | 0.00 | 0.92 | |
| 11.71281 | 0.00 | 2.84 | |
| 13.97438 | 0.23 | 0.96 | |
| $u_{RSD\ (pool)} = \sqrt{\frac{\sum((n-1)u^2)}{\sum(n-1)}}$ | 0.12 | 1.76 | 1.65 |
| Verification of conformity if the width of the specification zone is (4 x $u_c$) | | | 9.7% |
| 20.86750 | 1.88 | 2.05 | |
| 21.21688 | 0.00 | 2.31 | |
| 24.03344 | 0.25 | 0.91 | |
| $u_{RSD\ (pool)} = \sqrt{\frac{\sum((n-1)u^2)}{\sum(n-1)}}$ | 1.02 | 1.80 | 1.20 |
| Verification of conformity if the width of the specification zone is (4 x $u_c$) | | | 9.6% |

Table 7 Specification zone to estimate tolerance $2u_c$ (NATA, 2013)

| concentration range | specification zone (%) ($4u_c$) | | | Estimate tolerance (%) ($2u_c$) |
|---|---|---|---|---|
| | CaO | MgO | S | |
| 0.02 ≤ X < 1.0 | 29.9 | 28.1 | 30.8 | 15 |
| 1.0 ≤ X < 4.0 | 22.0 | 23.1 | 25.7 | 11 |
| 4.0 ≤ X < 10.0 | 16.8 | 12.8 | 14.7 | 7 |
| 10.0 ≤ X < 20.0 | 12.3 | 6.0 | 9.7 | 5 |
| X ≥ 20.0 | 6.4 | 6.7 | 9.6 | 3 |

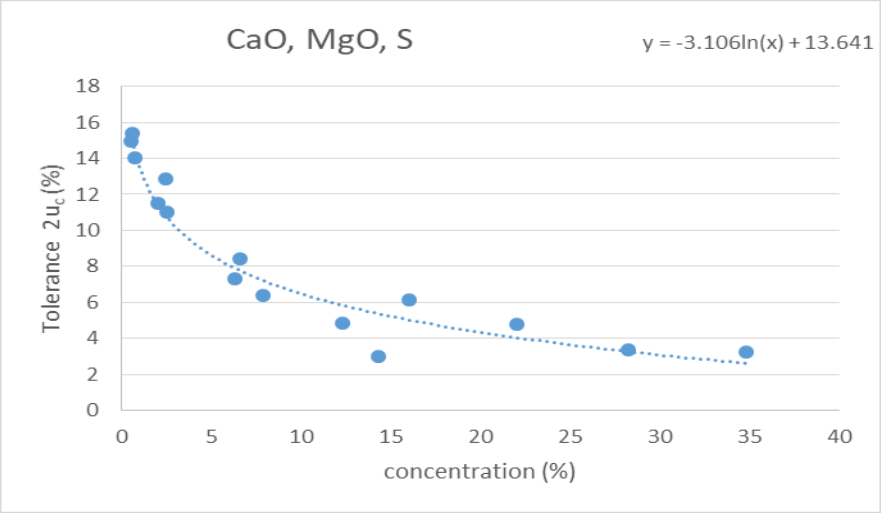



Figure 18 Chart of estimate tolerance

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การประเมินความคลาดเคลื่อนจากการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียมออกไซด์ แมกนีเซียมออกไซด์ และกำมะถันในปุ๋ยเคมีด้วยเทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี จากการนำค่าความไม่แน่นอนการสุ่มตัวอย่าง (sub-sampling) จากแหล่ง sampling precision และ analytical precision โดยใช้สถิติ ANOVA และการทดสอบวัสดุอ้างอิงรับรอง (CRM) จากแหล่ง weight, dilution sample, CRM precision, bias, factor, calibration curve, instrument และconcentration calibration ที่ 5 ระดับช่วงความเข้มข้น 0.02 ≤ X < 1.0, 1.0 ≤ X < 4.0, 4.0 ≤ X < 10.0, 10.0 ≤ X < 20.0 และ X ≥ 20 มีความคลาดเคลื่อนของแคลเซียมออกไซด์ 29.9, 22.0, 16.8, 12.3 และ 6.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แมกนีเซียมออกไซด์ 28.1, 23.1, 12.8, 6.0 และ 6.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และกำมะถัน 30.8, 25.7, 14.7, 9.7 และ9.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งสามารถประมาณความคลาดเคลื่อนของแคลเซียมออกไซด์ แมกนีเซียมออกไซด์ และกำมะถัน ที่อยู่ในกลุ่มธาตุอาหารรองในปุ๋ย ตามช่วงความเข้มข้นที่ 15, 11, 7, 5 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งกำหนดเป็นความคลาดเคลื่อนด้านล่างด้านเดียวของการประเมินแคลเซียมออกไซด์ แมกนีเซียมออกไซด์ และกำมะถัน

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ปรับปรุงประสิทธิภาพของห้องปฏิบัติการ และหาวิธีลดค่าความไม่แน่นอน โดยการพิจารณาแหล่งที่มาของความไม่แน่นอนจากขั้นตอนการทดสอบเริ่มตั้งแต่การสุ่มตัวอย่างจนกระทั่งถึงการรายงานผลการทดสอบ

2. นำค่าความคลาดเคลื่อน ของปริมาณแคลเซียมออกไซด์ แมกนีเซียมออกไซด์ และกำมะถัน ซึ่งอยู่ในกลุ่มธาตุอาหารรองในปุ๋ย เพื่อกำหนดเกณฑ์การตัดสินใจ (decision rule) ในการรายงานผลการวิเคราะห์

## เอกสารอ้างอิง


ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559. (2560, 4 มกราคม). ราชกิจจานุเบกษา. เล่มที่ 34 ตอนพิเศษ 2ง, หน้า 34-47

AOAC. 2019. Official Methods of Analysis of AOAC International. 20th ed. AOAC International Inc. Maryland, USA.

BIPM. 2012. Evaluation of measurement data - The role of measurement uncertainty in conformity assessment (JCGM 106). Available from www.bipm.org.

C.B. Boss and K.J. Fredeen. 2004. Concepts. Instrumentation and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. Perkin Elmer, Inc., USA.

NATA. 2013. Guidelines for Estimating and reporting measurement uncertainty of chemical test results (NATA Technical Note 33). Australia.

NATA. 2018. General Accreditation Guidance - validation and verification of quantitative and qualitative test methods (NATA Technical Note 17). Australia.

NIAES. 1987. Official Methods of Analysis of Fertilizers. The Nation Institute of Agro-environmental Sciences. Japan.

Eurachem. 2007. Use of uncertainty information in compliance assessment, 1th ed. UK.

Eurachem. 2012. Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. 3rd ed. UK.

Eurachem. 2014. The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. 2ndEd. ISBN 978-91-87461-59-0. Available from www.eurachem.org.

Eurachem. 2015. Setting and Using Target Uncertainty in Chemical Measurement. 1thed. UK.

Eurachem. 2016. Guide to Quality in Analytical Chemistry. An Aid to Accreditation. 2nded. UK. ISBN 978-0-948926-32-7. Available from www.eurachem.org.

Eurachem/CITAC. 2019. Metrological Traceability in Analytical measurement. 2nded. UK. ISBN 978-0-948926-34-1. Available from www.eurachem.org.

Eurachem. 2019. Blanks in method Validation-Supplement to Eurachem Guide The Fitness for Purpose of Analytical Methods.1thed.UK. Available from www.eurachem.org.

Eurachem/EUROLAB/CITAC/Nordtest/AMC. 2019. Measurement uncertainty arising from sampling. A guide to methods and approaches. 2nd ed. UK.

ILAC. 2019. Guidelines on Decision Rules and Statements of Conformity (ILAC-G8:09). Australia. Available from www.ilac.org

ISO 14820-1. 2016. Fertilizers and liming materials Sampling and sample preparation Part 1 : Sampling (ISO 14820-1). 1thed. Switzerland. Available from www.iso.org.

ISO 14253-1. 2017. Geometrical product specifications (GPS)-Inspection by measurement of workpieces and measuring equipment- Part 1: Decision rules for verifying conformity or nonconformity with specifications. 3thed. Switzerland. Available from www.iso.org.

ISO 21263. 2017. Slow-release fertilizers Determination of the release of the nutrients. Method for coated fertilizers. 1thed. Switzerland. Available from www.iso.org.

ISO 21748. 2017. Guidance for the use of repeatability, reproducibility and trueness estimates in measurement uncertainty evaluation. 2nded. Switzerland. Available from www.iso.org.

ISO/IEC 17025 (E). 2017. General Requirements for the Competence of Testing and Calibration Laboratories. 3thed. Switzerland. Available from www.iso.org.

VJ Barwick and SLR Ellison. 2000. Development and Harmonization of Measurement Uncertainty Principles (VAM Project 3.2.1). Protocol for uncertain evaluation from validation data. Teddington. UK.

# ศึกษาเกณฑ์คลาดเคลื่อนจากค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์อินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี

# Tolerance from the uncertainty of organic matter analysis in organic chemical fertilizers

*ศุภัคชญา ทาหาร* *นันทกานต์ ขุนโหร*

*Supakchaya Thahan* *Nanthakan Khunhon*

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

## ABSTRACT

Tolerance of uncertainty on organic matter in organic-chemical fertilizer was study of usage data from the method validation of Organic matter (OM), sampling and analysis to be combined. The result of method validation, Limit of detection (LOD) Limit of quantitation (LOQ) and Precision were passed. All acceptance criteria, LOD and LOQ were 0.21% and 0.70% OM. The measurement uncertainty from the method validation was assessed. The results of analysis showed the acceptance criteria. The uncertainty from the sampling and testing at low concentrations, middle concentrations and high concentrations (14.86-69.13% OM). Tolerance of uncertainty on organic matter in organic chemical fertilizer was in the ranged of 1.63-6.38%.

**Keywords :** Tolerance Organic matter Organic-chemical fertilizer

## บทคัดย่อ

การศึกษาเกณฑ์คลาดเคลื่อนของการวัดปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี โดยทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์เคมี เพื่อนำมาประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด และทำการทดสอบตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมี ที่ความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง เพื่อนำมาประเมินค่าความไม่แน่นอน ขั้นตอนการสุ่มตัวอย่าง และขั้นตอนการทดสอบ โดยการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์อินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี ทำการทดสอบหาค่า limit of detection(LOD), Limit of quantitation (LOQ) และ precision พบว่า ค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.21 และ 0.70 %OM ค่า Precision ผ่านเกณฑ์การยอมรับทั้งหมด ค่าความไม่แน่นอนจากการสุ่มตัวอย่างและการทดสอบ คลอบคลุมระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง (14.86-69.13% OM) ได้เกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี คลอบคลุมอยู่ในช่วง 1.63-6.38 %

**คำหลัก :** เกณฑ์คลาดเคลื่อน อินทรียวัตถุ ปุ๋ยอินทรีย์เคมี

## คำนำ

อินทรียวัตถุเป็นองค์ประกอบสำคัญของดิน มีผลในการเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ให้กับดินหากมีการใช้งานทำการเกษตรอย่างต่อเนื่องจะทำให้อินทรียวัตถุในดินลดลงลง จึงควรเติมอินทรียวัตถุให้ดินเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการเพาะปลูก การใส่ปุ๋ยอินทรีย์จึงเป็นการเพิ่มปริมาณอินทรียวัตถุให้กับดิน แต่เนื่องจากปุ๋ยอินทรีย์ให้อาหารพืชต่ำจึงต้องใช้ปริมาณมากอาจทำให้ค่าใช้จ่ายเพิ่มขึ้น ดังนั้น จึงต้องมีการปรับความเข้มข้นของธาตุอาหารพืชโดยการผสมอินทรีย์และปุ๋ยเคมีเข้าด้วยกัน เรียกว่า ปุ๋ยอินทรีย์เคมี ซึ่งเป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถเพิ่มความสมบูรณ์ของดินและธาตุอาหารพืช

ซึ่งตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ.2550 (มาตรา 3) ปุ๋ยอินทรีย์เคมี หมายความว่า ปุ๋ยที่มีธาตุอาหารรับรองแน่นอนโดยมีปริมาณอินทรียวัตถุไม่น้อยกว่า 10% การผลิตปุ๋ยอินทรีย์เคมีเพื่อการค้าต้องได้รับการอนุญาตจากพนักงานเจ้าหน้าที่กรมวิชาการเกษตร ในฐานะผู้รับผิดชอบหลักในการกำกับดูแลคุณภาพปุ๋ย ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดย พระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ซึ่งเป็นหน่วยงานที่รับผิดชอบภารกิจการตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติด้านต่างๆของปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์ และปุ๋ยชีวภาพ เพื่อเป็นข้อมูลประกอบการขอขึ้นทะเบียน การขออนุญาตผลิต การนำเข้า การขาย การนำผ่าน การส่งออก การดำเนินคดีกับผู้กระทำผิด การควบคุมปุ๋ย แบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ ฉลาก ขนาดบรรจุ และเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหาร ซึ่งเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหาร มีความสำคัญในการบ่งชี้ว่าปริมาณธาตุอาหารรับรองที่ระบุผ่านเกณฑ์คลาดเคลื่อนขั้นต่ำ ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหารรับรองของปุ๋ยเคมี ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมฉบับที่ 2 พ.ศ. 2550 พ.ศ. 2554 กำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหารรับรองที่มีในปุ๋ยเคมีทุกชนิดที่อนุญาตให้คลาดเคลื่อน หรือแตกต่างในการนำ การเตรียมการ และการวิเคราะห์ตัวอย่างปุ๋ยเคมีเพื่อตรวจสอบปริมาณธาตุอาหารรับรอง ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม และข้อมูลตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณอินทรียวัตถุ ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมฉบับที่ 2 พ.ศ. 2550 พ.ศ. 2552 กำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณอินทรียวัตถุที่มีในปุ๋ยอินทรีย์เคมีและปริมาณอินทรียวัตถุรับรองที่มีในปุ๋ยอินทรีย์ทุกชนิดที่อนุญาตให้คลาดเคลื่อน หรือแตกต่างในการนำการเตรียมการ และการวิเคราะห์ตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมีและปุ๋ยอินทรีย์เพื่อตรวจสอบปริมาณอินทรียวัตถุรับรอง

เนื่องจากยังไม่มีการกำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณอินทรียวัตถุจากการวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์เคมีโดยตรง จึงทำการวิเคราะห์หาปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมีเพื่อนำค่าวิเคราะห์มากำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนของการตรวจสอบปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี เพื่อควบคุมคุณภาพปุ๋ย ควบคุมการผลิต และจำหน่ายปุ๋ยให้มีคุณภาพถูกต้องตามหลักเกณฑ์ และรักษาผลประโยชน์ของเกษตรกร ซึ่งต้องอาศัยผลการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในปุ๋ยของห้องปฏิบัติการ โดยในกระบวนการวิเคราะห์ หรือวัดค่าสิ่งต่างๆ ย่อมมีความไม่แน่นอนหรือความคลาดเคลื่อนเกิดขึ้นเสมอ ดังนั้น จึงจำเป็นต้องมีการกำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนออกมารองรับปริมาณ หรือความคลาดเคลื่อนที่เกิดขึ้น อีกทั้งยังเป็นเกณฑ์สำหรับห้องปฏิบัติการใช้ในการพิจารณาดำเนินการตรวจสอบซ้ำ ในกรณีที่ผลวิเคราะห์ไม่ตรงกับปริมาณที่แจ้ง และเพื่อความเป็นธรรมของผู้ที่เกี่ยวข้อง ในกรณีที่มีการนำผลการวิเคราะห์มาใช้ตัดสินในทางกฎหมาย ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่2) พ.ศ. 2550

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. บิวเรต ขนาด 25 มิลลิลิตร
3. เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆที่ใช้ในการปฏิบัติการทดสอบ
4. แอมโมเนียมเฟอร์รัสซัลเฟต $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2.6H_2O$, AR grade
5. 1,10 ฟีแนนโทรลีน อินดิเคเตอร์ ($C_{18}H_8N_2.H_2O$), AR grade
6. โพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$), AR grade
7. กรดซัลฟุริกเข้มข้น (96-98% $H_2SO_4$), AR grade

## วิธีการ

1. เตรียมตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมี ที่มีปริมาณธาตุอาหารรับรองแน่นอน มีปริมาณอินทรียวัตถุไม่น้อยกว่า 10% ได้ตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมีคลอบคลุม ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง ความเข้มข้นละ 3 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 2 กิโลกรัม (A)

2. วิธีวิเคราะห์อินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี ด้วยวิธี Walkley and Black Method (ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2559)

2.1 ชั่งตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมี 0.1xxx กรัม ใส่ขวดรูปชมพู่ ขนาด 125 มิลลิลิตร

2.2 เติมสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต 10 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่าง

2.3 เติมกรดซัลฟูริก 15 มิลลิลิตร ลงในสารละลายตัวอย่าง ช้าๆ เขย่าเบาๆ ตั้งทิ้งไว้ในตู้ดูดควัน 16 ชั่วโมง

2.4 เติมน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติมสารละลาย O-phenanthroline ferrous sulfate ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร

2.5 นำสารละลายตัวอย่างมาไตเตรทด้วยสารละลาย Ammonium ferrous sulfate จนได้สารละลายสีเขียว และ เปลี่ยนจากสีเขียวเป็นน้ำตาลปนแดง แสดงว่าถึงจุดยุติ

2.6 บันทึกข้อมูล และคำนวณผล

3. ตรวจความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์อินทรียวัตถุ

3.1 หาขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) ขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ)

3.1.1 ชั่งตัวอย่างที่ไม่มีอินทรียวัตถุหรือตัวอย่างที่มีปริมาณอินทรียวัตถุต่ำ (Sample Blank) จำนวน 10 ซ้ำ

3.1.2 ดำเนินการวิเคราะห์ เช่นเดียวกับวิธีวิเคราะห์ข้อ 2 โดยทำการวิเคราะห์ที่เวลาแตกต่างกัน วันละ 1 ซ้ำ เป็นเวลา 10 วัน

3.1.3 บันทึกข้อมูล คำนวณหาค่า LOD และ LOQ (Eurachem, 2014) ตามสูตร

LOD = $3S'_0$

LOQ = $10S'_0$

เมื่อ $S'_0 = \frac{S_0}{\sqrt{n}}$

$S'_0$ คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสำหรับการคำนวณ LOD และ LOQ

$S_0$ คือค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดสอบ Repeatability ของ Sample Blank

n คือ จำนวนซ้ำของตัวอย่างทดสอบ

3.2 พิสูจน์ความเที่ยง (Precision) ของวิธีวิเคราะห์

3.2.1 ชั่งตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมีที่ระดับความเข้มข้น LOQ ต่ำ กลาง และสูง จำนวน 7 ซ้ำ

3.2.2 ดำเนินการวิเคราะห์ เช่นเดียวกับวิธีวิเคราะห์ข้อ 2 โดยทำการวิเคราะห์ที่เวลาแตกต่างกัน วันละ 1 ซ้ำเป็นเวลา 7 วัน

3.2.3 บันทึกข้อมูล คำนวณผล และประเมินค่า Precision โดย HorRat (Horwitz's Ratio) เกณฑ์การยอมรับ <1.3 (AOAC, 2016)

4. ประเมินค่า คำนวณค่าความไม่แน่นอนตั้งแต่ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง ขั้นตอนการทดสอบ และคำนวณเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี

4.1 แบ่งตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมี (A) เป็น 2 ส่วน (A1, A2) ส่วนละ 1 กิโลกรัม แล้วนำปุ๋ยอินทรีย์เคมี A1, A2 มาแบ่งเป็น 4 ส่วน (Eurachem, 2019)

4.2 บดตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมีทั้ง 8 ส่วน นำตัวอย่างที่ได้ไปดำเนินการวิเคราะห์ เช่นเดียวกับวิธีวิเคราะห์ข้อ 2 โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 2 คน คนละ 2 ซ้ำ บันทึกข้อมูลและคำนวณผล

4.3 คำนวณค่าความไม่แน่นอนตั้งแต่ขั้นตอนเตรียมตัวอย่าง และขั้นตอนวิเคราะห์อินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี ตามสูตร

$$U = \%RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100$$

เมื่อ u = ค่าคลาดเคลื่อน

% RSD = Relative standard deviation

SD = standard deviation

4.4 คำนวณเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณอินทรียวัตถุทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์เคมี ตามสูตร

$$u_c = \sqrt{(u_{samp})^2 + (u_{anal})^2}$$

เมื่อ $u_c$ = Combined uncertainty

$u_{samp}$ = ค่าความไม่แน่นอนของการเตรียมตัวอย่าง

$u_{anal}$ = ค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์

**ระยะเวลา** เริ่มต้น ตุลาคม 2562 สิ้นสุด กันยายน 2564

**สถานที่ทำการทดลอง** กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

## ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์อินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี

1.1 ประมาณค่าต่ำที่สุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ และประมาณค่าต่ำที่สุดที่สามารถรายงานผลได้ พบว่าค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.21%OM ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับ 0.07%OM คำนวณค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.21%OM และ LOQ เท่ากับ 0.70 %OM

1.2 พิสูจน์ความเที่ยง (Precision)

ตรวจสอบความเที่ยงของตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมี นำตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมีมาวิเคราะห์หาปริมาณอินทรียวัตถุ ที่ระดับความเข้มข้น LOQ ต่ำ กลาง สูง โดยประเมินค่า Precision จาก HorRat (Horwitz's Ratio) พบว่า ที่ความเข้มข้น LOQ ต่ำ กลาง สูง อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ <1.3 ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการตรวจสอบความเที่ยงในตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมี

| Concentration | Standard deviation | Relative standard deviation | Predicted RSD | HorRat | Assessment results |
|---|---|---|---|---|---|
| LOQ (1.24%) | 0.05 | 3.91 | 3.86 | 1.01 | Pass |
| Low (21.45%) | 0.19 | 0.86 | 2.52 | 0.34 | Pass |
| Medium (43.02%) | 0.19 | 0.43 | 2.27 | 0.19 | Pass |
| High (69.12%) | 0.63 | 0.91 | 2.11 | 0.43 | Pass |

2. ประเมินค่าความไม่แน่นอนในขั้นตอนการสุ่มตัวอย่างและการทดสอบ

เกณฑ์คลาดเคลื่อนจากค่าความไม่แน่นอนของการวัดของปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี โดยคำนวณจากค่าความไม่แน่นอนจากการสุ่มตัวอย่างและการทดสอบ ที่ช่วงความเข้มข้นต่ำ เท่ากับ 6.38%, 3.69% และ 5.83%

ช่วงความเข้มข้นกลาง เท่ากับ 3.77%, 2.70%และ 3.27% และช่วงความเข้มข้นสูง เท่ากับ 3.18%, 1.63% และ 2.27% ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

**ตารางที่ 2** ค่าความไม่แน่นอนของปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี

| Concentration | Organic matter | Measurement uncertainty | | |
|---|---|---|---|---|
| | (%) | Sampling (%) | Analytical (%) | Total (%) |
| Low | 14.86 | 3.36 | 5.42 | 6.38 |
| | 23.12 | 2.78 | 2.42 | 3.69 |
| | 25.01 | 3.60 | 4.60 | 5.83 |
| Medium | 27.72 | 3.30 | 1.82 | 3.77 |
| | 36.50 | 1.42 | 2.30 | 2.70 |
| | 42.26 | 2.62 | 1.96 | 3.27 |
| High | 50.56 | 2.68 | 1.72 | 3.18 |
| | 55.71 | 0.96 | 1.32 | 1.63 |
| | 69.13 | 1.28 | 1.88 | 2.27 |

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

การศึกษาเกณฑ์คลาดเคลื่อนของการวัดปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี โดยทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์เคมี เพื่อนำมาประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด และทำการทดสอบตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมี การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์อินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี การทดสอบ Limit of detection(LOD), Limit of quantitation (LOQ) และ Precision พบว่าค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.21%OM และ 0.70%OM ค่า Precision ผ่านเกณฑ์การยอมรับทั้งหมด และได้เกณฑ์ค่าคลาดเคลื่อนของปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมีที่คลอบคลุมระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง (14.86-69.13% OM) มีค่าความคลาดเคลื่อนอยู่ในช่วง 1.63-6.38%

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ใช้เป็นข้อมูลในการสร้างความเชื่อมั่นด้านการตรวจวิเคราะห์ เพื่อพิสูจน์และยืนยันถึงวิธีการที่นำมาใช้ในการทดสอบว่ามีความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ สามารถสอบกลับได้ ลดข้อโต้แย้ง ในการกำกับ และบังคับใช้กฎหมายของกรมวิชาการเกษตร ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550

# เอกสารอ้างอิง

ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 (2560, 4 มกราคม). ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 134 ตอนพิเศษ 2 ง. หน้า 92.

AOAC. 2016. Official Methods of Analysis of AOAC International. 20th ed. AOAC International, Maryland, USA.

Eurachem. 2014. The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. 2nd ed. Available from http://www.eurachem.org. (30 Nov. 2021)

Eurachem. 2019. Measurement uncertainty arising from sampling: a guide to methods and approaches. 2nd ed. Available from http://www.eurachem.org. (30 Nov. 2021)

# ศึกษาเกณฑ์คลาดเคลื่อนจากค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์คลอไรด์ในปุ๋ยเคมี

# Tolerance for the uncertainty of chloride analysis in chemical fertilizers

*ศุภัคชญา ทาหาร* *ทองจันทร์ พิมพ์เพชร*
*Supakchaya Thahan* *Thongchan Pimpet*

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

## ABSTRACT

Tolerance of uncertainty on chloride in chemical fertilizer was study of usage data from the method validation of chloride (Cl), sampling and analysis to be combined. The result of method validation, Limit of detection (LOD), Limit of quantitation (LOQ), Trueness and Precision were passed. All acceptance criteria, LOD and LOQ were 0.24% and 0.80% Cl. The measurement uncertainty from the method validation was assessed. The results of analysis showed that the acceptance criteria. The uncertainty from the sampling and testing at low concentrations, middle concentrations and high concentrations (6.50-67.41 %Chloride). Tolerance of uncertainty on chloride in chemical fertilizer was in the ranged 0.68-11.91%

**Keywords :** Tolerance Chloride Chemical fertilizer

## บทคัดย่อ

การศึกษาเกณฑ์คลาดเคลื่อนของการวัดปริมาณคลอไรด์ในปุ๋ยเคมีโดยทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์คลอไรด์ เพื่อนำมาประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด และทำการทดสอบตัวอย่างปุ๋ยเคมี ที่ความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง เพื่อนำมาประเมินค่าความไม่แน่นอน ขั้นตอนการสุ่มตัวอย่าง และขั้นตอนการทดสอบ การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์คลอไรด์ในปุ๋ยเคมีทำการทดสอบ Limit of detection(LOD), Limit of quantitation (LOQ), Trueness และ Precision พบว่า ค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.24% และ 0.80% คลอไรด์ ค่า Trueness และ Precision ผ่านเกณฑ์การยอมรับทั้งหมด ค่าความไม่แน่นอนจากการสุ่มตัวอย่างและการทดสอบคลอบคลุมระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง (6.50-67.41 % คลอไรด์) ได้เกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณคลอไรด์ในปุ๋ยเคมีคลอบคลุมอยู่ในช่วง 0.68-11.91%

**คำหลัก :** เกณฑ์คลาดเคลื่อน คลอไรด์ ปุ๋ยเคมี

## คำนำ

คลอไรด์ เป็นไอออนของคลอรีน ซึ่งเป็นธาตุอาหารเสริมหรือจุลธาตุอาหาร เป็นธาตุอาหารที่พืชต้องการใช้น้อย แต่เป็นธาตุอาหารทีมีอยู่ในธรรมชาติปริมาณสูง โดยคลอไรด์ในดินมาจากการสลายตัวของวัตถุต้นกำเนิดดิน นอกจากนี้ยังได้มาจากน้ำชลประทาน น้ำฝน และปุ๋ย มีบทบาทเกี่ยวข้องกับขบวนการสังเคราะห์แสงของพืชและช่วยให้พืชแก่เร็วขึ้น แต่หากพืชบางชนิดได้รับคลอไรด์มากเกินไปก็ทำให้ได้ผลผลิตลดลงและคุณภาพเสื่อมลงได้ (ยงยุทธ, 2543) ดังนั้นการผลิต

ปุ๋ยเคมีเพื่อการค้าต้องได้รับการอนุญาตจากพนักงานเจ้าหน้าที่ กรมวิชาการเกษตรในฐานะผู้รับผิดชอบหลักในการกำกับดูแลคุณภาพปุ๋ย ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 โดยกองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ซึ่งเป็นหน่วยงานที่รับผิดชอบภารกิจการตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติด้านต่างๆ ของปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์ และปุ๋ยชีวภาพ เพื่อเป็นข้อมูลประกอบการขอขึ้นทะเบียน การขออนุญาตผลิต การนำเข้า การขาย การนำผ่านการส่งออก การดำเนินคดีกับผู้กระทำผิด การควบคุมปุ๋ย แบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ ฉลาก ขนาดบรรจุ และเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหาร ซึ่งเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหาร มีความสำคัญในการบ่งชี้ว่าปริมาณธาตุอาหารรับรองที่ระบุผ่านเกณฑ์คลาดเคลื่อนขั้นต่ำ ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหารรับรองของปุ๋ยเคมี ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมฉบับที่ 2 พ.ศ. 2550 พ.ศ. 2554 กำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหารรับรองที่มีในปุ๋ยเคมีทุกชนิดที่อนุญาตให้คลาดเคลื่อน หรือแตกต่างในการนำ การเตรียมการ และการวิเคราะห์ตัวอย่างปุ๋ยเคมีเพื่อตรวจสอบปริมาณธาตุอาหารรับรอง ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม และข้อมูลตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณอินทรียวัตถุ ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมฉบับที่ 2 พ.ศ. 2550 พ.ศ. 2552 กำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อน ของปริมาณอินทรียวัตถุที่มีในปุ๋ยอินทรีย์เคมีและปริมาณอินทรียวัตถุรับรองที่มีในปุ๋ยอินทรีย์ทุกชนิดที่ อนุญาตให้คลาดเคลื่อน หรือแตกต่างในการนำ การเตรียมการ และการวิเคราะห์ตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมีและปุ๋ยอินทรีย์เพื่อตรวจสอบปริมาณอินทรียวัตถุรับรอง ซึ่งปัจจุบันยังไม่มีเกณฑ์คลาดเคลื่อนของการตรวจสอบปริมาณธาตุอาหารเสริมของคลอไรด์ในปุ๋ยเคมี เพื่อควบคุมคุณภาพปุ๋ย ควบคุมการผลิต และจำหน่ายปุ๋ยให้มีคุณภาพ ถูกต้องตามหลักเกณฑ์ และรักษาผลประโยชน์ของเกษตรกร ซึ่งต้องอาศัยผลการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในปุ๋ยของห้องปฏิบัติการ โดยในกระบวนการวิเคราะห์หรือวัดค่าสิ่งต่างๆ ย่อมมีความไม่แน่นอนหรือความคลาดเคลื่อนเกิดขึ้นเสมอ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการกำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนออกมารองรับปริมาณ หรือความคลาดเคลื่อนที่เกิดขึ้นอีกทั้งยังเป็นเกณฑ์สำหรับห้องปฏิบัติการใช้ในการพิจารณาดำเนินการตรวจสอบซ้ำ ในกรณีที่ผลวิเคราะห์ไม่ตรงกับปริมาณที่แจ้ง และเพื่อความเป็นธรรมของผู้ที่เกี่ยวข้อง ในกรณีที่มีการนำผลการวิเคราะห์มาใช้ตัดสินในทางกฎหมาย ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. บิวเรต ขนาด 10 มิลลิลิตร
3. เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆที่ใช้ในการปฏิบัติการทดสอบ
4. วัสดุอ้างอิงรับรองโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl)
5. วัสดุอ้างอิงแอมโมเนียมคลอไรด์ ($NH_4Cl$)
6. โพแทสเซียม โครเมต ($K_2CrO_4$), AR grade
7. โซเดียมคลอไรด์ (NaCl), AR grade

### วิธีการ

1. เตรียมตัวอย่างปุ๋ยเคมี ได้ตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่มีคลอไรด์คลอบคลุม ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง ความเข้มข้นละ 3 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 2 กิโลกรัม (A)

2. วิธีวิเคราะห์คลอไรด์ ด้วยวิธี Argentometric Method (ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2559)

2.1 ชั่งตัวอย่าง 1.xxxx กรัม ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน (กรณีที่สารละลายมีสีทำการฟอกสีด้วย Activated charcoal แล้วกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1)

2.2 ปิเปตสารละลายตัวอย่าง ปริมาณ 5 – 10 มิลลิลิตร หรือตามความเหมาะสมตามปริมาณความเข้มข้นของตัวอย่าง ใส่ขวดรูปชมพู่ ขนาด 125 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร หยดสารละลาย Potassium chromate ลงไป 3 – 4 หยด

2.3 นำสารละลายตัวอย่างไตเตรทกับสารละลาย Silver nitrate จนถึงจุดยุติจะได้ตะกอนที่สีส้มแดงของ Silver chromate ($Ag_2CrO_4$ )

2.4 บันทึกข้อมูล และคำนวณผล

3. ตรวจความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์คลอไรด์

3.1 หาขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) ขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ)

3.1.1 ชั่งตัวอย่างที่ไม่มีคลอไรด์ หรือตัวอย่างที่มีปริมาณคลอไรด์ต่ำ (Sample Blank) จำนวน 10 ซ้ำ

3.1.2 ดำเนินการวิเคราะห์ เช่นเดียวกับวิธีวิเคราะห์ข้อ 2 โดยทำการวิเคราะห์ที่เวลาแตกต่างกัน วันละ 1 ซ้ำเป็นเวลา 10 วัน

3.1.3 บันทึกข้อมูล คำนวณหาค่า LOD และ LOQ (Eurachem, 2014) ตามสูตร

$$LOD = 3S'_0$$

$$LOQ = 10S'_0$$

เมื่อ $$S'_0 = S_0\sqrt{\frac{1}{n}+\frac{1}{n_b}}$$

$S'_0$ คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสำหรับการคำนวณ LOD และ LOQ

$S_0$ คือค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดสอบ Repeatability ของ Sample Blank

n คือ จำนวนซ้ำของตัวอย่างทดสอบ

$n_b$ คือ จำนวนซ้ำของ Blank

3.2 พิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) ความเที่ยง (Precision)

3.2.1 ชั่งวัสดุอ้างอิงรับรองและวัสดุอ้างอิง ที่ระดับความเข้มข้น LOQ ต่ำ กลาง สูง ระดับความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ

3.2.2 ดำเนินการวิเคราะห์ เช่นเดียวกับวิธีวิเคราะห์ข้อ 2 โดยทำการวิเคราะห์ที่เวลาแตกต่างกัน วันละ 1 ซ้ำเป็นเวลา 7 วัน

3.2.3 ประเมินค่า Trueness โดยเปรียบเทียบค่าที่ได้กับค่าที่รับรอง เกณฑ์การยอมรับ % Recovery 95-105%, 97-103% และ 98-102% และประเมินค่า Precision โดย HorRat (Horwitz's Ratio) เกณฑ์การยอมรับ <1.3 (AOAC, 2016)

4. ประเมินค่า คำนวณค่าความไม่แน่นอนตั้งแต่ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง ขั้นตอนการทดสอบ และคำนวณเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณคลอไรด์ในปุ๋ยเคมี

4.1 แบ่งตัวอย่างปุ๋ยเคมี (A) เป็น 2 ส่วน (A1, A2) ส่วนละ 1 กิโลกรัม แล้วนำปุ๋ยเคมี A1, A2 มาแบ่งเป็น 4 ส่วน (Eurachem, 2019)

4.2 บดตัวอย่างปุ๋ยเคมีทั้ง 8 ส่วน นำตัวอย่างที่ได้ไปดำเนินการวิเคราะห์ เช่นเดียวกับวิธีวิเคราะห์ข้อ 2 โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 2 คน คนละ 2 ซ้ำ

4.3 คำนวณค่าความไม่แน่นอนตั้งแต่ขั้นตอนเตรียมตัวอย่าง และขั้นตอนวิเคราะห์คลอไรด์ในปุ๋ยเคมี ตามสูตร

$$u = \%RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100$$

เมื่อ u = ค่าคลาดเคลื่อน

% RSD = Relative standard deviation

SD = standard deviation

4.4 คำนวณเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณคลอไรด์ในปุ๋ยเคมี ตามสูตร

$$u_c = \sqrt{(u_{samp})^2 + (u_{anal})^2}$$

เมื่อ $u_c$ = Combined uncertainty

$u_{samp}$ = ค่าความไม่แน่นอนของการเตรียมตัวอย่าง

$u_{anal}$ = ค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์

**ระยะเวลา** เริ่มต้น ตุลาคม 2562 สิ้นสุด กันยายน 2564

**สถานที่ทำการทดลอง** กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

## ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์คลอไรด์

1.1 ประมาณค่าต่ำที่สุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ และประมาณค่าต่ำสุดที่สามารถรายงานผลได้ พบว่า ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.14%Cl ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับ 0.08%Cl คำนวณค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.24%Cl และ LOQ เท่ากับ 0.80%Cl

1.2 พิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision)

ตรวจสอบความถูกต้อง โดยหาค่า % recovery ของวัสดุอ้างอิง พบว่า % recovery ที่ระดับความเข้มข้น LOQ ต่ำ กลาง สูง อยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับและการตรวจสอบความเที่ยง โดยประเมินค่า Precision จาก HorRat (Horwitz's Ratio) ที่ความเข้มข้น LOQ ต่ำ กลาง สูง อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ <1.3 ตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการตรวจสอบความถูกต้องและความเที่ยง

| Concentration | Accuracy | | Precision | |
|---|---|---|---|---|
| (%Chloride) | %Recovery | Acceptance criteria | HorRat | Acceptance criteria |
| LOQ (0.5 %) | 96.0 | 95-105 | 0.97 | 1.3 |
| ต่ำ ( 2.05 %) | 102.7 | 97-103 | 0.39 | 1.3 |
| กลาง (47.56 %) | 99.5 | 98-102 | 0.26 | 1.3 |
| สูง (66.39 %) | 100.2 | 98-102 | 0.23 | 1.3 |

2. ประเมินค่าความไม่แน่นอนในขั้นตอนการสุ่มตัวอย่างและการทดสอบ

เกณฑ์คลาดเคลื่อนจากค่าความไม่แน่นอนของการวัดของปริมาณคลอไรด์ในปุ๋ยเคมี โดยคำนวณจากค่าความไม่แน่นอนจากการสุ่มตัวอย่างและการทดสอบ ที่ช่วงความเข้มข้นต่ำ เท่ากับ 11.91%, 2.68% และ 2.91% ช่วงความเข้มข้นกลาง เท่ากับ 3.62%, 6.79% และ 2.51% และช่วงความเข้มข้นสูง เท่ากับ 0.78%, 0.89% และ 0.68% ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ค่าความไม่แน่นอนของปริมาณคลอไรด์ในปุ๋ยเคมี

| Concentration | %Chloride | uncertainty | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Sampling (%) | Analytical (%) | Total (%) |
| Low | 6.50 | 10.96 | 4.66 | 11.91 |
| | 14.85 | 2.38 | 1.24 | 2.68 |
| | 20.29 | 1.22 | 2.64 | 2.91 |
| Medium | 26.57 | 2.92 | 2.16 | 3.63 |
| | 38.02 | 6.16 | 2.86 | 6.79 |
| | 47.35 | 0.68 | 2.42 | 2.51 |
| High | 66.27 | 0.18 | 0.76 | 0.78 |
| | 66.95 | 0.40 | 0.80 | 0.89 |
| | 67.41 | 0.02 | 0.68 | 0.68 |

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

การศึกษาเกณฑ์คลาดเคลื่อนของการวัดปริมาณคลอไรด์ในปุ๋ยเคมี โดยทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์คลอไรด์ในปุ๋ยเคมี เพื่อนำมาประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด และทำการทดสอบตัวอย่างปุ๋ยเคมี การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์คลอไรด์ในปุ๋ยเคมี การทดสอบ Limit of detection (LOD), Limit of quantitation (LOQ), Trueness และ Precision พบว่า ค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.24%Cl และ 0.80%Cl ค่า Trueness และ Precision ผ่านเกณฑ์การยอมรับและได้เกณฑ์ค่าคลาดเคลื่อนของปริมาณคลอไรด์ในปุ๋ยเคมีที่คลอบคลุมระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง (6.50-67.41%Cl) มีค่าค่าความคลาดเคลื่อนอยู่ในช่วง 0.68-11.91%

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ใช้เป็นข้อมูลในการสร้างความเชื่อมั่นด้านการตรวจวิเคราะห์ เพื่อพิสูจน์และยืนยันถึงวิธีการที่นำมาใช้ในการทดสอบว่ามีความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ สามารถสอบกลับได้ ลดข้อโต้แย้ง ในการกำกับ และบังคับใช้กฎหมายของกรมวิชาการเกษตร ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550

## เอกสารอ้างอิง


ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 (2560, 4 มกราคม). ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 134 ตอนพิเศษ 2 ง. หน้า 85.

ยงยุทธ โอสถสภา. 2543. ***ธาตุอาหารพืช.*** กรุงเทพฯ: ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

AOAC. 2016. Official Methods of Analysis of AOAC International. 20th ed. AOAC International, Maryland, USA.

Eurachem. 2014. The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. 2nd ed. Available from http://www.eurachem.org. (30 Nov. 2021)

Eurachem. 2019. Measurement uncertainty arising from sampling: a guide to methods and approaches. 2nd ed. Available from http://www.eurachem.org. (30 Nov. 2021)

# พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โบรอนในปุ๋ยเคมี ด้วยเทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี

# Develop and Validate the Boron Analysis Method in Chemical Fertilizers with Inductively Coupled Plasma Spectrometry Technique

*อาธิยา ปุ่นประโคน* *จริยา วงศ์ตรี* *วรรณรัตน์ ชุติบุตร*
*Arthiya Punprakhon* *Jariya Wongtree* *Wannarut Chutibut*

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

## ABSTRACT

Development of Boron Analysis Techniques in Chemical Fertilizers in order to obtain accurate, fast, accurate analytical techniques, can refer to international standards. Make it acceptable to the laboratory Verification of the validity of the analysis method was obtained, the correlation coefficient (r) indicating the linearity, the Linearity range and the working range passed the specified criteria. Limit of Detection (LOD) was 0.002%Boron and limit of Quantity (LOQ) 0.004 %Boron to proof trueness and Precision of LOQ as 100.0 %Recovery and HorRat as 0.33 acceptance criteria. Metrix effect test comparing the slope of the curve between Standard Boron and spike standard Boron in the sample blank by the curve. When calculating the slope of both curves. There was a difference of 3.92%, indicating that the slope difference was not more than 10%, so there was no Metrix effect on the standard curve. Certified Reference Material (CRM) analysis in chemical fertilizers at low, medium and high concentrations were used to assess the accuracy from 3 methods, %Recovery were 100.0, 99.62 and 100.77% HorRat were 0.33, 0.34 and 0.24 The results of analysis showed that the acceptance criteria. (%Recovery in the concentration range 80-110% 98-102% and HorRat ≤ 1.3). When studying ruggedness using Youden-Steiner testing. It was found that the boron analysis was not affected by changes in the environment. When calculating the cost of analysis. with ICP-OES and Spectrophotometer was calculated. It was also found that the ICP-OES analytical method was cheaper and a large number of samples can be analyzed samples per day more than Spectrophotometer. Method for analyzing boron in fertilizers using inductively coupled plasma spectrometry. can be properly used in the laboratory It was also found that the ICP-OES analytical method was able to analyze a large number of samples per day. no wasted chemicals making it more convenient and quick to analyze. Boron by inductive coupled plasma spectrometry technique can be used in the laboratory with accuracy and precision.

**Keyword:** method validation Boron inductively coupled plasma optical emission spectrometry

## บทคัดย่อ

การพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์โบรอนในปุ๋ยเคมี เพื่อให้ได้เทคนิควิธีการวิเคราะห์ที่ถูกต้อง รวดเร็ว แม่นยำ สามารถอ้างอิงได้ตามมาตรฐานสากล ทำให้เป็นที่ยอมรับห้องปฏิบัติการ ทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ ได้ค่า correlation coefficient (r) ที่แสดงความเป็นเส้นตรง Linearity range และ Working range ผ่านเกณฑ์กำหนด มีปริมาณที่ต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (LOD) เท่ากับ 0.002%B และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ (LOQ) เท่ากับ 0.004 %B ดำเนินการพิสูจน์ความถูกต้อง(trueness) และ ความเที่ยง (Precision) ของ LOQ ได้ %Recovery เท่ากับ 100.0 ได้ HorRat เท่ากับ 0.33 การทดสอบผ่านเกณฑ์ยอมรับ Metrix effect โดยเปรียบเทียบความชันของกราฟ ระหว่าง Std B spike standard B ลงใน Sample blank โดยกราฟ เมื่อคำนวณความชันของกราฟทั้งสอง มีความแตกต่างกัน เท่ากับ 3.92 % แสดงว่ามีความชันต่างกันไม่เกิน 10 % จึงไม่มี Metrix effect ต่อ standard curve วิเคราะห์ Certified Reference Material (CRM) ในปุ๋ยเคมี ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และ สูง นำมาประเมินความถูกต้องจาก 3 วิธีคือ หาค่า %Recovery ได้เท่ากับ 100.0 99.62 และ 100.77% ตามลำดับ หาค่า HorRat ได้เท่ากับ0.33 0.34 และ 0.24 ตามลำดับ ผ่านเกณฑ์ยอมรับ (%recovery อยู่ในช่วง 80-110% 98-102% และ HorRat ≤ 1.3) ทุกช่วงความเข้มข้น จากการศึกษาผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อม Ruggedness จำนวน 7 ตัวแปร 8 การทดลอง โดยใช้ Youden-Steiner testing พบว่า การทดลอบโบรอนไม่มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมของการทดสอบ วิธีวิเคราะห์มีความคงทนต่อการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปเล็กน้อย เมื่อคำนวณต้นทุนการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP-OES และเครื่อง Spectrophotometer พบว่า การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Spectrophotometer มีค่าใช้จ่ายต้นทุนการวิเคราะห์มากกว่าการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP-OES ด้านระยะเวลาการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Spectrophotometer สามารถวิเคราะห์จำนวนตัวอย่างต่อวันได้น้อยกว่าการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP-OES วิธีวิเคราะห์โบรอนในปุ๋ยโดยใช้เทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี สามารถนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการได้อย่างถูกต้อง และแม่นยำและยังพบว่าวิธีวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP-OES สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้จำนวนมากต่อวัน ไม่สิ้นเปลืองสารเคมี ทำให้มีความสะดวกรวดเร็วในการวิเคราะห์ โบรอนโดยใช้เทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี สามารถนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการได้อย่างถูกต้อง และแม่นยำ



**คำหลัก:** การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี โบรอน อินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี


## คำนำ

โบรอน (Boron: B) จัดเป็นจุลธาตุอาหารพืชที่สำคัญอีกธาตุหนึ่ง และที่เรียกว่าจุลธาตุอาหารนั้น เนื่องจากปริมาณที่พืชต้องการน้อยมาก แต่ก็มีความสำคัญต่อพืชไม่ยิ่งหย่อนไปกว่ากลุ่มธาตุอาหารพืชอื่นๆ เพราะถ้าหากมีไม่พอกับความต้องการของพืชแล้ว พืชย่อมเจริญเติบโตและให้ผลผลิตน้อยลง และพืชอาจตายก่อนที่จะผลิดอกออกผลก็ได้หากขาดแคลนอย่างรุนแรง (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2548) วิธีวิเคราะห์โบรอนในปุ๋ยเคมีด้วยเทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรีของห้องปฏิบัติการจำเป็นต้องมีวิธีวิเคราะห์ที่มีมาตรฐาน โดยเลือกใช้วิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสมกับเครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีที่มีอยู่ จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการปฏิบัติงาน ซึ่งการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีอย่างถูกต้องตามหลักวิชาการที่เป็นมาตรฐานสากล เป็นการยืนยันถึงวิธีวิเคราะห์ที่นำมาใช้ในการทดสอบว่ามีความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ สอบกลับได้ (ทิพวรรณ, 2549) และสอดคล้องกับข้อกำหนดของ ISO/IEC 17025: 2017 และจัดทำเป็นวิธีวิเคราะห์มาตรฐาน (Standard Operation Procedure) ทำให้เกิดความเชื่อมั่นในผลการวิเคราะห์ และเป็นที่ยอมรับตามมาตรฐานสากล เป็นผลดีต่อเกษตรกร ที่จะได้ใช้สินค้าที่มีคุณภาพ เนื่องจากกรมวิชาการเกษตรเป็นผู้รับผิดชอบหลักด้านปัจจัยการผลิตต่างๆ เช่น ดิน น้ำ ปุ๋ย พืช จำเป็นที่จะต้องพัฒนาห้องปฏิบัติการในด้านต่างๆ เช่น เทคนิควิธีการวิเคราะห์ ระบบการควบคุมคุณภาพ ระบบการให้บริการ ให้มีประสิทธิภาพ รวดเร็ว เข้าถึงเกษตรกร และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม รวมทั้งสร้างความเชื่อมั่นในด้านความถูกต้องของข้อมูลผลการวิเคราะห์ให้แก่เกษตรกร ผู้ประกอบการด้านปัจจัยการผลิต และประชาชนทั่วไปเพื่อใช้ประกอบการพิจารณาด้านการปรับปรุงคุณภาพและเพิ่มผลผลิตพืช เพื่อให้ผลวิเคราะห์เป็นที่น่าเชื่อถือของผู้ขอรับบริการ และยกระดับมาตรฐานของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์

ให้มีมาตรฐานเดียวกันและเทียบเท่าสากล ผู้วิจัยจึงจำเป็นต้องดำเนินการพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โบรอนในปุ๋ยเคมีด้วยเทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี เพื่อพิสูจน์ว่าวิธีนี้มีความเหมาะสมกับการใช้งานตามวัตถุประสงค์

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

สารเคมี

1) สารละลายมาตรฐานโบรอน ความเข้ม 1000 ppm
2) วัสดุอ้างอิงรับรอง Borate Ore (SRM1835)
3) วัสดุอ้างอิงรับรอง Boric Acid (SRM 973)
4) Hydrochloric acid 36 - 38% (HCl), AR grade
5) ก๊าซอาร์กอน ชนิดบริสุทธิ์มากกว่าหรือเท่ากับ 99.995%
6) ก๊าซไนโตรเจน ชนิดบริสุทธิ์มากกว่าหรือเท่ากับ 99.999%

วัสดุอุปกรณ์

1) Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer (ICP-OES)
2) เครื่องเขย่า
3) เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
4) เครื่องแก้ว และวัสดุอื่นที่ใช้ในการปฏิบัติการวิเคราะห์

### วิธีการ

1. เตรียมวัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Material; CRM) ที่มีค่ารับรอง (Certified Value) และค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty)ระดับความเข้มข้นสูง กลาง ต่ำ สำหรับทดสอบหาปริมาณโบรอน ได้แก่

1.1 Borate Ore (SRM1835) 5.83 %B

1.2 Boric Acid (SRM 973) 17.48 %B

2. หาสภาวะของเครื่อง ICP ที่เหมาะสม ได้แก่ wavelength, plasma, view, plasma flow, auxiliary flow, nebulizer flow, RF-power, Pump flow และ Uptake

3. ทดสอบหาปริมาณโบรอน ตามวิธีประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่องกำหนดกรรมวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 วิธี 1.21.01 โบรอน INDUCTIVELY COUPLED PLASMA EMISSION SPECTROSCOPIC METHOD (ราชกิจจานุเบกษา, 2560)

3.1 เตรียมสารละลายมาตรฐาน โบรอน 7 ความเข้มข้น ใส่ volumetric flask 100 มิลลิลิตร เติมกรดไฮโดรคลอริก (HCl) เจือจาง 10 มล.

3.2 ชั่งตัวอย่าง 0.3xxx - 1.xxxx กรัม โดย ใส่ volumetric flask 100 มิลลิลิตร สำหรับตัวอย่างที่ความเข้มข้นน้อยกว่า 0.1 %Boron และ volumetric flask 250 มิลลิลิตร สำหรับตัวอย่างที่ความเข้มข้น มากกว่า 0.1 %Boron เติมกรดไฮโดรคลอริก (HCl) เจือจาง 10 มล. และ 25 มล. ตามลำดับ

3.3 เขย่าด้วยเครื่องเขย่าเป็นเวลา 15 นาที ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1

3.4 นำไปวัดโดยใช้เครื่อง ICP-OES

4. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ โบรอน ตามขั้นตอน

4.1 การหาช่วงการใช้งานและความเป็นเส้นตรง (Working and linear range ) (Eurachem, 2014) โดยการชั่งตัวอย่างปุ๋ยที่ไม่มีธาตุที่สนใจ น้ำหนัก 1.xxxx กรัม เป็น sample blank และเติมสารละลายมาตรฐานโบรอน 7 ความเข้มข้น ใส่ volumetric flask 100 มิลลิลิตร เติมกรดไฮโดรคลอริก (HCl) เจือจาง 10 มล.

4.2 เขย่าด้วยเครื่องเขย่าเป็นเวลา 15 นาที ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1

4.3 นำไปวัดโดยใช้เครื่อง ICP-OES

4.4 สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายที่เตรียม กับสัญญาณเครื่องมือ

5. การหาค่าขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ)

5.1 ชั่งตัวอย่างที่ไม่มีธาตุที่สนใจ น้ำหนัก 1.xxxx กรัม ใส่ volumetric flask 100 มิลลิลิตร (โดยทำการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ)

5.2 เติมกรดไฮโดรคลอริก (HCl) เจือจาง 10 มล.

5.3 เขย่าด้วยเครื่องเขย่าเป็นเวลา 15 นาที ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1

5.4 นำไปวัดโดยใช้เครื่อง ICP-OES

5.5 คำนวณค่า LOD และ LOQ ตามสูตร

LOD = 3SD

LOQ = 10SD

6. การพิสูจน์ค่าความเที่ยงและความถูกต้องที่ระดับความเข้มข้น LOQ

6.1 ชั่งวัสดุอ้างอิงรับรอง ความเข้มข้นใกล้เคียงกับ LOQ น้ำหนัก 1.xxxx กรัม ใส่ volumetric flask 100 มิลลิลิตร (โดยทำการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ)

6.2 ดำเนินการเช่นเดียวกับ 5.2 – 5.4 (โดยทำการวิเคราะห์ที่เวลาแตกต่างกัน วันละ 1 ซ้ำ เป็นเวลา 10 วัน)

6.3 ชั่งตัวอย่างปุ๋ยที่ไม่มีธาตุที่สนใจ น้ำหนัก 1.xxxx กรัมเติมวัสดุอ้างอิงรับรองในแต่ละซ้ำ ความเข้มข้นใกล้เคียงกับ LOQ น้ำหนัก 0.3xxx กรัม

6.4 ดำเนินการเช่นเดียวกับ 5.2 – 5.4 (โดยทำการวิเคราะห์ที่เวลาแตกต่างกัน วันละ 1 ซ้ำ เป็นเวลา 10 วัน)

6.5 บันทึกผลข้อมูล แล้วเปรียบเทียบค่าที่วิเคราะห์ได้ กับค่าความเข้มข้นที่ทราบค่าโดยพิจารณาค่าเปอร์เซ็นต์คืนกลับ (%recovery) และค่า HorRat

การคำนวณ % Recovery จากสูตร

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

การคำนวณ Precision

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

RSD(r) และ PRSD(R) คำนวณจากสูตรดังนี้

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

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

โดยที่

RSD(r) หมายถึง ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดสอบซ้ำภายในห้องปฏิบัติการ

PRSD(R) หมายถึง ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดสอบซ้ำระหว่างห้องปฏิบัติการ คำนวณ จากสูตรของ Horwitz equation

SD หมายถึง ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดสอบซ้ำ

mean หมายถึง ค่าเฉลี่ยจากการทดสอบซ้ำ

C หมายถึง เศษส่วนมวล

เกณฑ์การยอมรับ AOAC (2016) : HorRat ≤ 1.3

7. หาค่าความถูกต้องและความเที่ยงที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง สูง (Trueness and precision) (Eurachem, 2014)

7.1 ชั่งตัวอย่างปุ๋ยที่ไม่มีธาตุที่สนใจ เติมวัสดุอ้างอิงรับรองในแต่ละซ้ำ ที่ความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง น้ำหนัก 0.3xxx กรัม จำนวน 10 ซ้ำ

7.2 ดำเนินการเช่นเดียวกับ 3.2 – 3.4 (โดยทำการวิเคราะห์ที่เวลาแตกต่างกัน วันละ 1 ซ้ำ เป็นเวลา 10 วัน)

8. ศึกษาผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะและสิ่งแวดล้อม ของวิธีการทดสอบโบรอนโดยใช้เครื่อง ICP-OES ด้วยการทดสอบ Ruggedness โดยมี 7 ตัวแปร จำนวน 8 การทดลอง การทดลองละ 4 ซ้ำ โดยใช้ Youden-Steiner testing (สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติ, 2564)

8.1 สภาวะการทดสอบปกติที่เขย่าตัวอย่างทันที กับสภาวะที่เปลี่ยนแปลงตั้งทิ้งไว้ก่อนเขย่า 15 นาที

8.2 สภาวะการทดสอบปกติที่ความเร็วรอบในการเขย่า 200 rpm กับสภาวะที่เปลี่ยนแปลงความเร็วรอบในการเขย่า 180 rpm

8.3 สภาวะการทดสอบปกติที่ระยะเวลาในการเขย่า 15 นาที กับสภาวะที่เปลี่ยนแปลงระยะเวลาในการเขย่า 20 นาที

8.4 สภาวะการทดสอบปกติที่ใช้กระดาษกรองเบอร์ 1 กับสภาวะที่เปลี่ยนแปลงที่ใช้กระดาษกรองเบอร์ 5

8.5 สภาวะการทดสอบปกติที่ใช้กรวยกรองพลาสติก กับสภาวะที่เปลี่ยนแปลงใช้กรวยกรองแก้ว

8.6 สภาวะการทดสอบปกติที่กรองตัวอย่างทันที กับสภาวะที่เปลี่ยนแปลงตั้งทิ้งไว้ 5 นาที ก่อนกรองตัวอย่าง

8.7 สภาวะการทดสอบปกติของการวัดที่ใช้เวลา up take ตัวอย่าง 25 วินาที กับสภาวะที่เปลี่ยนแปลงใช้เวลา up take ตัวอย่าง 20 วินาที

8.8 ชั่งสารมาตรฐานอ้างอิงรับรอง ค่าต่ำ น้ำหนัก 1.xxxx กรัม ค่ากลาง และสูง น้ำหนัก 0.3xxx กรัม ดำเนินการเช่นเดียวกับ 3.2 – 3.4

8.9 คำนวณผลกระทบของตัวแปร (E) ของแต่ละตัวแปร 7 ตัวแปร จาก 8 การทดลอง (Eftichia and Victoria, 2014)

8.10 พิจารณาค่า | E | ของแต่ละตัวแปร 7 ตัวแปร โดยถ้า

| E | > S แสดงว่า มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมของการทดสอบ (David, 2009)

โดย $S = \sqrt{\frac{2}{7} * \sum(E^2)}$

9. สรุปและรายงานผลการทดลอง พร้อมวิเคราะห์ความคุ้มค่า โดยเปรียบเทียบต้นทุนการวิเคราะห์ ระยะเวลาการวิเคราะห์ ขั้นตอนการวิเคราะห์ที่เปลี่ยนแปลง และความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์

10. สรุปและรายงานผล

**ระยะเวลา** 1 ตุลาคม 2562 - 30 กันยายน 2564

**สถานที่ทำการทดลอง** กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

## ผลการทดลองและวิจารณ์

1. สภาวะของเครื่อง ICP ที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ Boron ในปุ๋ยเคมี ใช้ค่า wavelength ที่ 249.772 นาโนเมตร plasma view ใช้มุมมอง radial ส่วน plasma flow, auxiliary flow, nebulizer flow, RF-power, Pump Flow และ Uptake ใช้ที่ 16 ลิตรต่อนาที, 0.8 ลิตรต่อนาที, 1.2 ลิตรต่อนาที, 1.200 กิโลวัตต์, 25 RPM, และ 25 วินาทีตามลำดับ ดังตารางที่ 1

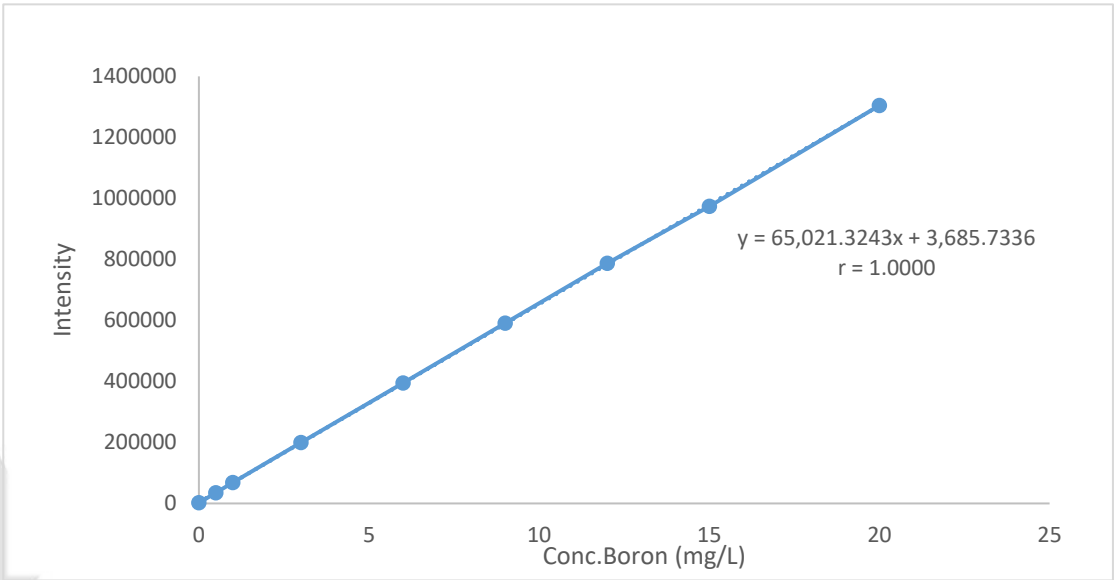
ตารางที่1 แสดงสภาวะที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการวิเคราะห์ โบรอน ในปุ๋ยเคมี โดยใช้เครื่อง ICP-OES

| Parameter | Wave Length (nm) | Plasma View | Plasma Flow (LPM) | Aux (LPM) | Neb (LPM) | RF Power (Kw) | Pump Flow (RPM) | Uptake (sec) | Conc. of STD (ppm) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| B | 249.772 | Radial | 16 | 0.8 | 1.2 | 1.200 | 25 | 25 | 0, 0.5, 1, 3, 6, 9, 12, 15 |

2. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบโบรอน ตามขั้นตอน

2.1 การหาช่วงใช้งาน และพิสูจน์ความเป็นเส้นตรง (working range and linearity)

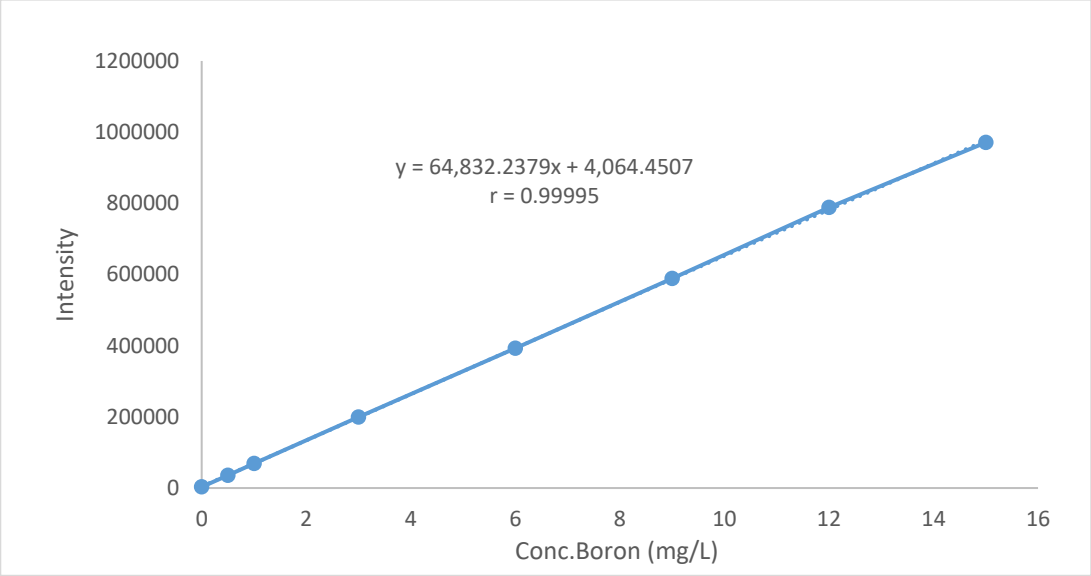
การหาค่า linearity range โดยสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโบรอน (แกน X) และค่าความเข้มของแสงที่อ่านจากเครื่อง (แกน y) หาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง พบว่าอยู่ในช่วง 0-20 mg/L B (ภาพที่ 1)




ภาพที่ 1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายที่เตรียม กับ สัญญาณจากเครื่องมือ

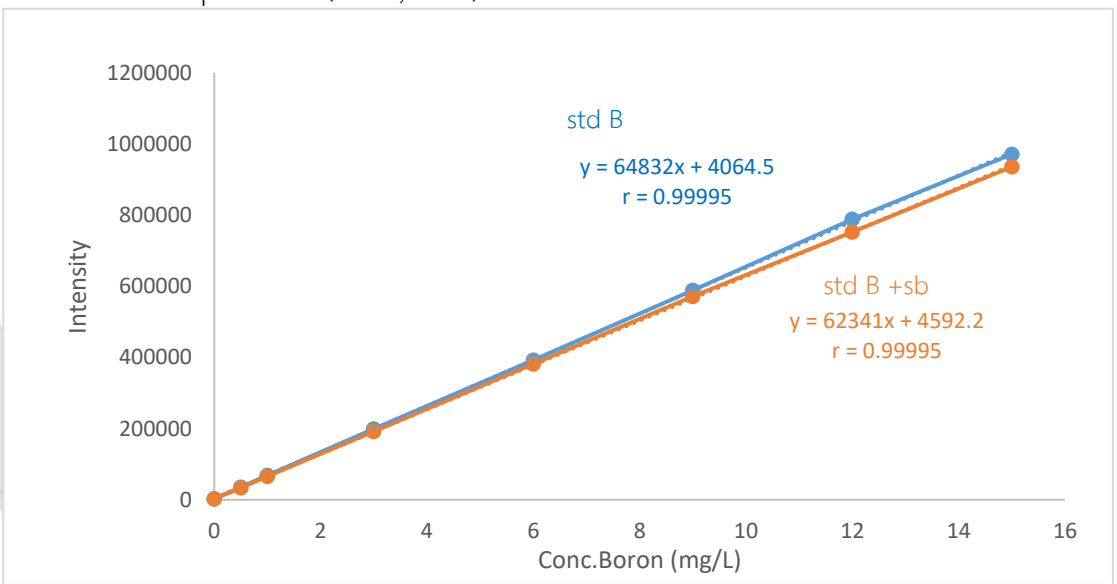
2.2 การหา Working range

2.2.1 เลือกเอาช่วง 0-15 mg/l B เป็นช่วงการใช้งาน (Working range) นำมาหาค่าความสัมพันธ์เชิงเส้น (Correlation coefficient ; r) เท่ากับ 1.0000 ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับจึงเลือกเป็นช่วงใช้งานในห้องปฏิบัติการ




ภาพที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายที่เตรียม กับ สัญญาณจากเครื่องมือ

2.2.2 ทดสอบผลของ matrix effect โดยเปรียบเทียบความชันของกราฟมาตรฐานระหว่าง Standard Boron solution กับ Spiked Standard Boron solution ลงใน sample blank ซึ่งผ่านเกณฑ์กำหนด % RPD ของ Slope < 10% (NATA, 2018)




ภาพที่ 3 แสดงการเปรียบเทียบความชันของกราฟสารละลายมาตรฐาน และกราฟของสารละลายมาตรฐานที่เติม standard Boron

2.2.3 การประมาณค่าต่ำที่สุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (Limit of Detection ; LOD) และการประมาณค่าต่ำที่สุดที่สามารถรายงานผลได้ (Limit of Quantitation ; LOQ)

2.2.3.1 หาปริมาณโบรอน (%B) ต่ำที่สุดที่สามารถทดสอบได้ (Limit of Detection ; LOD) และปริมาณโบรอน (%B) ต่ำสุดที่สามารถรายงานผลได้ (Limit of Quantitation ; LOQ) โดยการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ไม่มีสาร

ที่ทดสอบ (Sample blank) และ spike Boron 0.002 % โดยเตรียมสารละลายSRM 973 (Boric acid) ที่มี Boron 17.48% ที่ความเข้มข้น 0.002 % คำนวณหาค่าเฉลี่ยและค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ตารางที่ 2)
ตารางที่ 2 แสดงค่า LOD และ LOQ ของโบรอน

| ลำดับที่ | ผลวิเคราะห์ (%) |
|---|---|
| | Boron |
| 1 | 0.0020 |
| 2 | 0.0019 |
| 3 | 0.0018 |
| 4 | 0.0018 |
| 5 | 0.0017 |
| 6 | 0.0017 |
| 7 | 0.0016 |
| 8 | 0.0017 |
| 9 | 0.0018 |
| 10 | 0.0019 |
| **Average** | 0.0018 |
| **SD** | 0.00012 |
| **3SD (LOD)** | 0.0004 |
| **10SD (LOQ)** | 0.0012 |

3. พิสูจน์ความแม่น (Trueness) และ และความเที่ยง (Precision) ด้วยเทคนิค ICP-OES วิเคราะห์ Certified Reference Material (CRM) ในปุ๋ยเคมีที่ความเข้มข้นต่ำ ความเข้มข้น 0.004% กลาง 5.83 % และสูง 17.48%

จากการศึกษาพบว่ามีค่าความแม่น (Trueness) ที่แสดง % Recovery ที่ความเข้มข้นต่ำ 100.0 ความเข้มข้นกลาง 99.62 และความเข้มข้นสูง 100.77 ซึ่งผ่านเกณฑ์ยอมรับ % Recovery ความเข้มข้นต่ำ 90-107 ความเข้มข้นกลาง และสูง 98-102 % และ Precision มีค่า HorRat ที่ความเข้มข้นต่ำ 0.33 ความเข้มข้นกลาง 0.30 และความเข้มข้นสูง 0.24 ซึ่งผ่านเกณฑ์ยอมรับ HorRat ≤ 1.3 (AOAC, 2016) (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ผลการพิสูจน์ความแม่น (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (LOQ) กลาง สูง

| รายการวิเคราะห์ | ความเข้มข้น (%) | Trueness | | | Precision | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Mean | SD | %Recovery | $\%RSD_r$ | %PRSD (R) | HorRat (r) |
| Boron | LOQ | 0.004 | 0.0001 | 100.0 | 3.001 | 9.1389 | 0.33 |
| | middle | 5.80 | 0.052 | 99.62 | 0.905 | 3.066 | 0.30 |
| | high | 17.61 | 0.11 | 100.77 | 0.614 | 2.595 | 0.24 |

4. ผลการวิเคราะห์โบรอน 8 การทดลอง (ตาราง 6) และผลกระทบของตัวแปร (E) ทั้ง 7 ตัวแปร (ตารางที่ 7) พบว่าไม่มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะและสิ่งแวดล้อมของการทดสอบดังกล่าว
ตารางที่ 4 แสดง 7 ตัวแปร ที่ใช้ในการทดลอง

| ตัวแปร | สัญลักษณ์ตัวแปร | สภาวะ | ปกติ (A-G) | เปลี่ยนแปลง (a-g) |
|---|---|---|---|---|
| A | A/a | ระยะเวลาก่อนเขย่า | เขย่าทันที | ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที |
| B | B/b | รอบในการเขย่า | 200 rpm | 180 rpm |
| C | C/c | ระยะเวลาในการเขย่า | 15 นาที | 20 นาที |
| D | D/d | กระดาษกรอง | เบอร์ 1 | เบอร์ 5 |
| E | E/e | กรวยกรอง | พลาสติก | แก้ว |
| F | F/f | การกรอง | กรองทันที | ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที |
| G | G/g | ระยะเวลาการ up take | 25 วินาที | 20 วินาที |

ตารางที่ 5 แสดงแผนการทดลอง 8 การทดลองที่ใช้ในการทดสอบ Ruggedness

| การทดลอง | แผนการทดลอง | | | | | | | ค่าเฉลี่ยผลการวิเคราะห์ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| การทดลองที่ 1 | A | B | C | D | E | F | G | $R_1$ |
| การทดลองที่ 2 | A | B | c | D | e | f | g | $R_2$ |
| การทดลองที่ 3 | A | b | C | d | E | f | g | $R_3$ |
| การทดลองที่ 4 | A | b | c | d | e | F | G | $R_4$ |
| การทดลองที่ 5 | a | B | C | d | e | F | g | $R_5$ |
| การทดลองที่ 6 | a | B | c | d | E | f | G | $R_6$ |
| การทดลองที่ 7 | a | b | C | D | e | f | G | $R_7$ |
| การทดลองที่ 8 | a | b | c | D | E | F | g | $R_8$ |

ตารางที่ 6 ค่าเฉลี่ยของผลการทดส อบ Ruggedness โบรอนในตัวอย่างปุ๋ย

| การทดลอง | ค่าเฉลี่ยผลการวิเคราะห์ | | |
|---|---|---|---|
| | ความเข้มข้นต่ำ (%B) | ความเข้มข้นกลาง (%B) | ความเข้มข้นสูง (%B) |
| การทดลองที่ 1 | 0.004 | 5.77 | 17.62 |
| การทดลองที่ 2 | 0.004 | 5.72 | 17.42 |
| การทดลองที่ 3 | 0.004 | 5.72 | 17.48 |
| การทดลองที่ 4 | 0.004 | 5.74 | 17.51 |
| การทดลองที่ 5 | 0.004 | 5.72 | 17.45 |
| การทดลองที่ 6 | 0.004 | 5.76 | 17.20 |
| การทดลองที่ 7 | 0.004 | 5.74 | 17.31 |
| การทดลองที่ 8 | 0.004 | 5.76 | 17.57 |

ตารางที่ 7 ผลกระทบของตัวแปร (E)

| | **ผลต่างตามค่าสัมบูรณ์ E** | | |
|---|---|---|---|
| | **ช่วงความเข้มข้น Boron (%)** | | |
| | **ต่ำ** | **กลาง** | **สูง** |
| $E_A$ = [R1 + R2 + R3 + R4]/4 - [R5 + R6 + R7 + R8]/4 | 0.0002 | -0.01 | 0.13 |
| $E_B$ = [R1 + R2 + R5 + R6]/4 - [R3 + R4 + R7 + R8]/4 | 0.0001 | 0.00 | -0.05 |
| $E_C$ = [R1 + R3 + R5 + R7]/4 - [R2 + R4 + R6 + R8]/4 | 0.0000 | -0.01 | 0.04 |
| $E_D$ = [R1 + R2 + R7 + R8]/4 - [R3 + R4 + R5 + R6]/4 | -0.0001 | 0.01 | 0.07 |
| $E_E$ = [R1 + R3 + R6 + R8]/4 - [R2 + R4 + R5 + R7]/4 | 0.0001 | 0.02 | 0.04 |
| $E_F$ = [R1 + R4 + R5 + R8]/4 - [R2 + R3 + R6 + R7]/4 | 0.0001 | 0.01 | 0.19 |
| $E_G$ = [R1 + R4 + R6 + R7]/4 - [R2 + R3 + R5 + R6]/4 | 0.0001 | 0.02 | -0.07 |
| S | 0.0003 | 0.03 | 0.19 |

| E | > S แสดงว่า มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมของการทดสอบ

5. วิเคราะห์ความคุ้มค่า โดยเปรียบเทียบต้นทุนการวิเคราะห์ ระยะเวลาการวิเคราะห์ ขั้นตอนการวิเคราะห์ที่เปลี่ยนแปลง และความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ พบว่า ด้านค่าใช้จ่ายที่คิดต่อ 1 ตัวอย่าง การวิเคราะห์เครื่อง Spectrophotometer คิดเป็น 257.28 บาท เครื่อง ICP-OES คิดเป็น 180.43 บาท ด้านระยะเวลาในการวิเคราะห์ภายในระยะเวลา 1 วัน วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Spectrophotometer จำนวน 30 ตัวอย่าง วิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP-OES จำนวน 240 ตัวอย่าง มีความถูกต้องและความเที่ยง ทั้ง 2 วิธี และมีข้อดีข้อเสียแตกต่างกัน ดังแสดงตามตารางที่ 8

ตารางที่ 8 แสดงการเปรียบเทียบต้นทุนการวิเคราะห์ ระยะเวลาการวิเคราะห์ ความถูกต้อง และข้อดี ข้อเสีย ของการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Spectrophotometer และ เครื่อง ICP-OES

| การประเมิน | การวิเคราะห์ด้วยวิธี Azomethine H ด้วยเครื่อง Spectrophotometer | | การวิเคราะห์ด้วยวิธี Acid Soluble ด้วยเครื่อง ICP-OES | |
|---|---|---|---|---|
| **1. ด้านค่าใช้จ่าย/1ตัวอย่าง** | **ราคาเครื่องมือ** | **ความเสื่อมสภาพ/ปี** | **ราคาเครื่องมือ** | **ความเสื่อมสภาพ/ปี** |
| 1.1ค่าเสื่อมสภาพของเครื่องมือ | | | | |
| - เครื่อง Spectrophotometer | 924,480 | 5.84 | - | - |
| - เครื่อง ICP-OES | - | - | 3,390,000 | 10.70 |
| - เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง | 143,750 | 0.27 | 143,750 | 0.27 |
| - เครื่องบดตัวอย่างปุ๋ย | 368,750 | 4.66 | 368,750 | 4.66 |
| - เครื่องเขย่า | - | - | 242,000 | 2.62 |
| - เตาระเหย | 100,000 | 1.26 | - | - |
| 1.2 เครื่องแก้วและวัสดุวิทยาศาสตร์ | | 80.23 | | 69.95 |
| 1.3 สารเคมี | | 165.02 | | 92.23 |
| สรุปค่าใช้จ่าย | | 257.28 | | 180.43 |
| **2. ด้านระยะเวลา** | | | | |
| - จำนวนตัวอย่าง/วัน | | 30 | | 240 |
| **3. ด้านความถูกต้อง** | | | | |
| - % Recovery | | ✓ | | ✓ |
| - HorRat | | ✓ | | ✓ |
| **4. ข้อดี** | - เครื่องมือราคาไม่แพง | | - ไม่สิ้นเปลืองสารเคมี<br>- ประหยัดเวลาในการเตรียมตัวอย่าง<br>- วัดได้ครั้งละหลายตัวอย่าง | |
| **5.ข้อเสีย** | - ขั้นตอนในการเตรียมตัวอย่างยุ่งยาก<br>- สิ้นเปลืองสารเคมี<br>- วัดตัวอย่างได้น้อย | | - เครื่องมือมีราคาแพง | |
| หมายเหตุ Spectrophotometer | หมายถึง เครื่อง UV-VIS Spectrophotometer | | | |
| ICP-OES | หมายถึง เครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer | | | |

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

การพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์โบรอนในปุ๋ยเคมี โดยใช้เทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี ที่ wavelength ที่ 249.772 นาโนเมตร plasma view ใช้มุมมอง radial ส่วน plasma flow, auxiliary flow, nebulizer flow, RF-power, Pump Flow และ Uptake ใช้ที่ 16 ลิตรต่อนาที, 0.8 ลิตรต่อนาที, 1.2 ลิตรต่อนาที, 1.200 กิโลวัตต์, 25 RPM, และ 25 วินาทีตามลำดับ โดยมีผลจากการศึกษาการรบกวนจากการเปรียบเทียบกราฟสารละลายมาตรฐาน และกราฟสารละลายมาตรฐานที่เติมตัวอย่างปุ๋ย พบว่า % RPD ผ่านเกณฑ์กำหนด

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ พบว่า มีค่า correlation coefficient (r) ที่แสดงความเป็นเส้นตรงของ Linearity range เท่ากับ 1.0000 ทุกรายการวิเคราะห์ และ Working range เท่ากับ 0.99995 ผ่านเกณฑ์กำหนด $r \geq 0.995$ มีค่า LOD เท่ากับ 0.0004%Boron และ LOQ เท่ากับ 0.004%Boron การพิสูจน์ความแม่น (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ผ่านเกณฑ์กำหนดโดยมี % Recovery ที่ความเข้มข้นต่ำ 100.0 ความเข้มข้นกลาง 99.62 ความเข้มข้นสูง 100.77 ค่า HorRat ที่ความเข้มข้นต่ำ 0.33 ที่ความเข้มข้น 0.30 ความเข้มข้นสูง 0.24 ซึ่งผ่านเกณฑ์ยอมรับ

จากการศึกษาความคงทนของวิธี (Ruggedness) 7 ตัวแปร 8 การทดลอง โดยใช้ Youden-Steiner testing โดยการพิจารณาผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อม พบว่าไม่มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะและสิ่งแวดล้อมของการทดสอบดังกล่าว จากการคำนวณต้นทุนการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP-OES และเครื่อง Spectrophotometer พบว่า การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Spectrophotometer มีค่าใช้จ่ายต้นทุนการวิเคราะห์มากกว่าการวิเคราะห์ด้วย เครื่อง ICP-OES ด้านระยะเวลา การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Spectrophotometer สามารถวิเคราะห์จำนวนตัวอย่างต่อวันได้น้อยกว่าการวิเคราะห์ด้วย เครื่อง ICP-OES วิธีวิเคราะห์โบรอนในปุ๋ยโดยใช้เทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี สามารถนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการได้อย่างถูกต้อง และแม่นยำ

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

เป็นการพัฒนาวิธีเพื่อให้ได้เทคนิควิธีการวิเคราะห์ที่รวดเร็ว ลดความยุ่งยากของขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างได้อย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัยมากขึ้น เป็นข้อมูลเพื่อประกอบการขอการรับการรับรองห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025: 2017 เป็นการยกระดับห้องปฏิบัติการให้ได้มาตรฐานสากล ผลวิเคราะห์มีความถูกต้องแม่นยำ น่าเชื่อถือ สามารถตรวจสอบย้อนกลับได้ สร้างความเชื่อมั่นและลดข้อโต้แย้งของผลการวิเคราะห์

# เอกสารอ้างอิง


AOAC. 2016. ***Official Method of Analysis of AOAC International.*** 20thEd. AOAC International Gaithersburg, Maryland. USA.

David Harvey. 2009. Analytical Chemistry 2.0. (online). Available form: http://dpuadweb.depauw.edu/harvey_web/eTextProject/version_2.0.html. accessed 10 October 2020.

Eurachem. 2014. ***The Fitness for Purpose of Analytical Methods-A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics.*** 2nd Ed. ISBN 978-91-87461-59-0.

Eftichia Karageorgou, Victoria Samanidou. 2014. ***Youden test application in robustness assays during method.***

NATA. 2018. National Association of Testing Authorities. ***General Accreditation Guidance -Validation and Verification of Quantitative and Qualitative test Methods.*** Australia.

คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2548. ***ปฐพีวิทยาเบื้องต้น.*** พิมพ์ครั้งที่ 10. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 547 หน้า

ทิพวรรณ นิ่งน้อย. 2549. ***แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว.*** กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. กระทรวงสาธารณสุข. 124 หน้า.

ราชกิจจานุเบกษา. 2560.ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่องกำหนดกรรมวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 ฉบับกฤษฎีกา เล่ม 134 ตอนพิเศษ 2ง, หน้า 24

สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติ. 2564. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวัดทางเคมี. (ระบบออนไลน์). แหล่งที่มา: https://www.mwa.co.th/download/prd01/reference_ISO17025/Meth-validation-NIMT.pdf. (8 มีนาคม 2564)

# พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โบรอนในดินด้วยเทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี

# Development and Method Validation of Boron in soil by Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometry Techniques

*จิตติรัตน์ ชูชาติ* *สงกรานต์ มะลิสอน* *พจมาลย์ ภู่สาร* *ญาณธิชา จิตต์สะอาด*
*สุภา โพธิจันทร์* *กัณฐณา คล้ายแก้ว*
*Jittirat Choochat* *Songkrant Malisorn* *Pojjamarn Poosarn* *Yarnticha Jittsa-aad*
*Supha Photichan* *Kanthana Klaigaew*

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

## ABSTRACT

Development and Method Validation of boron in soil by using Inductively Coupled Plasma – Optical Emission Spectrometry (ICP-OES) found that validated range from 0.05 - 1.90 mg/kg boron, the Limit of Detection (LOD) was 0.03 mg/kg and Limit of Quantitation (LOQ) was 0.04 mg/kg. To prove the trueness and precision at LOQ concentration (0.05 mg/kg) was 99.06% Recovery and HorRat (Horwitz'Ratio) was 0.91. The CRM analysis to prove concentrations (0.17, 0.56, 1.90 mg/kg) %Recovery were 95.29, 101.61 and 100.05 % respectively. HorRat (Horwitz'Ratio) were 0.43, 0.38 and 0.46 respectively. The results of analysis showed that the acceptance criteria (% Recovery in the ranges from 80-110% 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 boron in soil. That is routine work and needs fast, accurate analysis results with Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometry Techniques.

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

## บทคัดย่อ

การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โบรอนในดินในรูปของ Extractable Boron โดยการสกัดดินด้วยวิธี Hot-$CaCl_2$ soluble Boron และนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometer โดยมีขอบข่ายของการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โบรอนในดินอยู่ในช่วง 0.05 – 1.90 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยมีผลการทดสอบ พบว่า ให้ผลการทดสอบอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ โดยมีค่า Limit of Detection (LOD) เท่ากับ 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ Limit of Quantitation (LOQ) เท่ากับ 0.04 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อพิสูจน์ค่าความถูกต้อง (Trueness) และค่าความเที่ยง (Precision) ของ LOQ ที่ความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ได้ค่า %Recovery เท่ากับ 99.06 และ HorRat (Horwitz'Ratio) เท่ากับ 0.91 ทำการวิเคราะห์ CRM ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง มาคำนวณ %Recovery เพื่อความถูกต้อง (Trueness) และค่า HorRat (Horwitz'Ratio) ของการวิเคราะห์ซ้ำแบบต่างเวลากัน เพื่อพิสูจน์ความเที่ยง ได้ผลการทดลองดังนี้ ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และระดับความเข้มข้นสูง มี % Recovery เท่ากับ 95.29, 101.61 และ 100.05 ตามลำดับ ค่า HorRat (Horwitz'Ratio) ของการวิเคราะห์ซ้ำแบบต่างเวลากัน (Intermediate) เท่ากับ 0.40, 0.38 และ 0.46 ตามลำดับ ผ่านเกณฑ์การยอมรับตาม AOAC ทั้งหมด โดย %Recovery อยู่ในช่วง 80-110% และ HorRat (Horwitz'Ratio) < 1.3 ผลการศึกษาผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลง

สภาวะแวดล้อม Ruggedness พบว่า การเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมของการทดสอบ ไม่มีผลกระทบต่อวิธีวิเคราะห์โบรอน และวิธีมีความคงทนต่อการนำไปใช้เป็นวิธีอ้างอิงของห้องปฏิบัติการได้ ดังนั้นวิธีวิเคราะห์โบรอนที่สกัดได้ในดินด้วยเทคนิค Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometry จึงมีประสิทธิภาพ และเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการตรวจ ที่ทำเป็นงานประจำและต้องการผลการวิเคราะห์ที่รวดเร็ว ถูกต้อง แม่นยำ

**คำสำคัญ :** การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี, โบรอนในดิน, เทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี

## คำนำ

โบรอนเป็นธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช เป็นธาตุอาหารเพียงธาตุเดียวที่ให้ผลตอบสนองสูงมากเมื่อใส่ให้พืชในปริมาณที่น้อย แต่ถ้าใส่โบรอนในปริมาณที่สูงเพียงเล็กน้อยจากอัตราที่แนะนำ โบรอนก็อาจเป็นพิษหรือทำให้เกิดความเสียหายได้ ในดินทั่วไปโบรอนในสารละลายดินอยู่ในรูป $H_3BO_3$ หรือ $B(OH)_3$ โบรอนละลายได้ดีในสภาพดินเป็นกรดและสามารถถูกชะละลายออกจากดินได้ง่าย โบรอนมีบทบาทอย่างมากต่อการสร้างและคงรูปของผนังเซลล์และการผสมของละอองเกสร นอกจากนั้นยังมีบทบาทเกี่ยวข้องกับความแข็งแรงของผนังเซลล์ พืชที่ขาดโบรอนมักมีรูปทรงผิดปกติที่ผลการใส่โบรอนและแคลเซียมมีผลทำให้เมล็ดมีความแข็งแรงขึ้น ในพืชหลายชนิดอาการขาดแคลเซียมและโบรอนมีลักษณะใกล้เคียงกัน เนื่องจากธาตุทั้งสองมีบทบาทและหน้าที่หลายอย่างร่วมกัน (Marschner, 1995) โดยถั่วลิสงเป็นพืชที่แสดงการขาดโบรอนได้อย่างชัดเจน ถั่วลิสงที่ปลูกในดินที่ขาดโบรอนทำให้เกิดเมล็ดกลวง หรือ Hollow heart seed (Cox *et al.*, 1982) ซึ่งเป็นเมล็ดที่มีเนื้อเยื่อด้านใน (เมื่อแยกเมล็ดออกเป็น 2 ซีก) มีลักษณะผิวขรุขระ หากอาการขาดรุนแรงมากขึ้นจนเนื้อเยื่อเจริญไม่เต็มพื้นผิวเมล็ดและเกิดเป็นหลุม สีของเนื้อเยื่อบริเวณนี้อาจเป็นสีเหลือง จนถึงสีเหลืองปนน้ำตาลเข้ม โดยปริมาณโบรอนที่สกัดได้ที่เพียงพอในดินจะอยู่ระหว่าง 0.5-2.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

การวิเคราะห์หาปริมาณโบรอน ที่นำมาใช้ในการทดลองนี้คือ การสกัดดินด้วยวิธี Hot-$Cacl_2$ soluble Boron แล้วสามารถนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometer โดยตรง ตามวิธีการวิเคราะห์ของ Method of soil analysis (Sparks *et al*., 1996) ซึ่งดีกว่าการวิเคราะห์ด้วยด้วยเครื่อง Spectrophotometer ซึ่งต้องผ่านการทำให้เกิดสีด้วยวิธี Curcumin หรือ Azomethine H แล้ววัดด้วยความยาวคลื่น 550 nm (Keren, 1996) ซึ่งพบว่าการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณโบรอนด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometer ซึ่งใช้หลักการ Emission spectroscopy (แม้น และคณะ, 2552) สามารถลดขั้นตอนการเจือจางความเข้มข้นและการทำให้สารละลายเกิดสีด้วย Azomethine H และ Curcumin ตามแบบวิธีเดิม และพบว่าการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometer มีความไวในการตรวจพบ และสามารถตรวจพบได้ในระดับที่ต่ำกว่าการใช้วิธี Spectrophotometer และ Flame photometer อีกด้วย (Sah and Brown, 1997) การทดลองนี้จึงมุ่งเน้นในการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์โบรอนในดินด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometer และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ โดยพิสูจน์ความแม่น (Trueness) ความเที่ยง (Precision) ช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง (Range, Linearity) ปริมาณต่ำสุดของสารที่สามารถตรวจวัด (Limit of detection ; LOD) และรายงานผลได้ (Limit of Quantitation ; LOQ) เพื่อนำมาใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์ดินในห้องปฏิบัติการ

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง
3. เครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer (ICP)
4. เครื่อง Hot plate
5. สาร Calcium chloride ($CaCl_2$)
6. สารละลายมาตรฐานโบรอน (Standard Boron) ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร
7. ตัวอย่างดินอ้างอิงรับรอง NCS DC 85106a (0.17 ± 0.05 mg/kg Available Boron)
8. ตัวอย่างดินอ้างอิงรับรอง GBW 07458 (0.56 ± 0.08 mg/kg Available Boron)
9. ตัวอย่างดินอ้างอิงรับรอง GBW 07459 (1.90 ± 0.30 mg/kg Available Boron)
10. เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์ทดสอบ

### วิธีการ

1. หาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer ในการวิเคราะห์โบรอนในดิน โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานโบรอนความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้สารละลาย 0.02 M $CaCl_2$ นำสารละลายมาตรฐานไปวัดด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer 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. ศึกษา matrix effect โดยเปรียบเทียบความชันของกราฟมาตรฐานระหว่างสารละลายมาตรฐานโบรอนที่เตรียมในสารละลาย 0.02 M $CaCl_2$ ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (Standard Boron) กับกราฟของสารละลายตัวอย่างดิน sample blank ที่เติมสารละลายมาตรฐานโบรอนที่เตรียมในสารละลาย 0.02 M $CaCl_2$ ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (Spiked standard Boron) ดำเนินการตามวิธีวิเคราะห์โบรอนในดินที่สกัดด้วยวิธี Hot-$Cacl_2$ soluble Boron ตามวิธีการวิเคราะห์ของ Method of soil analysis (Sparks *et al*., 1996) โดยชั่งตัวอย่างดิน sample blank จำนวน 25 กรัม ใส่ใน flask ขนาด 250 มิลลิลิตร เติม สารละลายมาตรฐานโบรอนที่เตรียมในสารละลาย 0.02 M $CaCl_2$ ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร (อัตราส่วนดินต่อน้ำยาสกัด 0.02 M $CaCl_2$ เท่ากับ 1: 2) ปิดด้วย reflux condenser ต้มให้เดือด 5 นาที บนเตา Hot plate ยกลงจากเตา ทิ้งให้เย็น กรองสารละลายด้วยกระดาษเบอร์ 42 และวัดด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer พิจารณาความชันของกราฟ Standard Boron เทียบกับ Spiked Standard Boron ถ้าพบว่าผลต่างของค่าความชันของกราฟ หรือ %RPD น้อยกว่า 10% แสดงว่าไม่มี Matrix effect (Nata, 2018)

3. ศึกษาการรบกวนของธาตุเหล็ก ที่มีผลต่อปริมาณโบรอนในการวัดด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer ที่ความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง โดยใช้เหล็กเป็นตัวรบกวนการวิเคราะห์โบรอน โดยชั่งตัวอย่างดินอ้างอิงรับรองที่มีปริมาณโบรอนความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง (0.17, 0.56 และ 1.90 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) จำนวน 25 กรัม เติมสารละลายมาตรฐานเหล็กที่เตรียมในสารละลาย 0.02 M $CaCl_2$ ที่มีความเข้มข้นของเหล็ก 0, 5, 10, 20, 50, 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ ปิดด้วย reflux condenser ต้มให้เดือด 5 นาที บนเตา Hot plate ยกลงจากเตา ทิ้งให้เย็น กรองสารละลายด้วยกระดาษเบอร์ 42 และ

วัดด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer เปรียบเทียบ Intensity และความเข้มข้นของโบรอนที่วัดได้เมื่อมีการเติมสารละลายมาตรฐานเหล็ก

4. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โบรอนในดิน ที่สกัดด้วยวิธี Hot-Cacl$_2$ soluble Boron และวัดปริมาณด้วยวิธี เครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer ดังนี้

4.1. ศึกษาความเป็นเส้นตรง (Linearity)

1) เตรียมสารละลายมาตรฐานโบรอนความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสารละลาย 0.02 M $CaCl_2$ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เติมลงในตัวอย่างดิน sample blank ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ

2) ปิดด้วย reflux condenser ต้มให้เดือด 5 นาที บนเตา Hot plate ยกลงจากเตา ทิ้งให้เย็น กรองสารละลายด้วยกระดาษเบอร์ 42 วัดปริมาณโบรอนด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer

3) สร้างกราฟมาตรฐานระหว่าง intensity กับความเข้มข้น หาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรง คำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient: r) ซึ่งมีเกณฑ์การยอมรับที่ค่า $r \geq 0.995$

4) นำช่วงที่มีความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานที่นำมาใช้งาน (Range)

4.2. ศึกษาหาช่วงความเข้มข้นที่ใช้งาน (Working range)

1) เตรียมสารละลายมาตรฐานโบรอนความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสารละลาย 0.02 M $CaCl_2$ เติมลงในตัวอย่างดิน sample blank ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ

2) ปิดจุกด้วย reflux condenser ต้มให้เดือด 5 นาที บนเตา Hot plate ยกลงจากเตา ทิ้งให้เย็น กรองสารละลายด้วยกระดาษเบอร์ 42 วัดปริมาณโบรอนด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer

3) สร้างกราฟมาตรฐานระหว่าง intensity กับความเข้มข้น หาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรง คำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient: r) ซึ่งมีเกณฑ์การยอมรับที่ค่า $r \geq 0.995$

4.3. พิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) โดยการวิเคราะห์ตัวอย่างดินอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Material; CRM) โดยชั่งตัวอย่างดินอ้างอิงรับรอง ที่มีความเข้มข้นของโบรอน 0.17, 0.56 และ 1.90 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ จำนวน 25 กรัม เติมสารละลาย 0.02 M $CaCl_2$ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ปิดด้วย reflux condenser ต้มให้เดือด 5 นาที บนเตา Hot plate ยกลงจากเตา ทิ้งให้เย็น กรองสารละลายด้วยกระดาษเบอร์ 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)

- การคำนวณ % Recovery จากสูตร

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

- การคำนวณ Precision

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

RSD(r) และ PRSD(R) คำนวณจากสูตรดังนี้

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

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

4.4. หาค่าขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ) โดยใช้ค่า Standard deviation ของการวิเคราะห์ตัวอย่างดิน sample blank จำนวน 25 กรัม ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ และต่างวันเวลา เติมสารละลาย 0.02 M $CaCl_2$ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ปิดด้วย reflux condenser ต้มให้เดือด 5 นาที บนเตา Hot plate ยกลงจากเตา ทิ้งให้เย็น กรองสารละลายด้วยกระดาษเบอร์ 42 บันทึกข้อมูลคำนวณหาค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

คำนวณค่า LOD และ LOQ จากสูตร

$$LOD = 3S0'$$

$$LOQ = 10S0'$$

4.5. ตรวจสอบความคงทนของวิธีทดสอบโดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อยจากสภาวะปกติ

หาความคงทนของวิธีวิเคราะห์ โดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อย ของการวิเคราะห์ตัวอย่างดินอ้างอิงรับรองที่มีความเข้มข้นของโบรอน 0.17, 0.56 และ 1.90 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยเปลี่ยนแปลงสภาวะของวิธีวิเคราะห์โบรอนในดิน จำนวน 3 ปัจจัย ปัจจัยละ 10 ซ้ำ ได้แก่ น้ำหนักตัวอย่าง ปริมาตรน้ำยาสกัด อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด ตามตารางที่ 1

**ตารางที่ 1** การเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อยจากสภาวะปกติ จำนวน 3 ปัจจัย

| ปัจจัย | สภาวะ | วิธีมาตรฐานที่ปฏิบัติ | วิธีที่มีเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย |
|---|---|---|---|
| 1 | น้ำหนักตัวอย่าง | 25 กรัม | 25.05 กรัม |
| 2 | ปริมาตรน้ำยาสกัด | 50 มิลลิลิตร | 51 มิลลิลิตร |
| 3 | อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด | 100 °C | 98 °C |

ประเมินผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะและสิ่งแวดล้อมของวิธีวิเคราะห์โบรอนในดิน โดยใช้ t-test เปรียบเทียบข้อมูล 2 กลุ่มที่สัมพันธ์กัน หรือไม่เป็นอิสระจากกัน (t-test dependent) โดยนำค่าที่คำนวณได้ ($t\text{-}_{Stat}$) ไปเปรียบเทียบกับค่าทีจากตาราง ($t\text{-}_{Critical}$) โดยมีเกณฑ์ว่าค่า $t\text{-}_{Stat}$ น้อยกว่าค่า $t\text{-}_{Critical}$ แสดงว่าค่าเฉลี่ยของการวัดจากข้อมูลทั้ง 2 ชุด ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

**ระยะเวลา** (เริ่มต้น-สิ้นสุด) ตุลาคม 2562 – กันยายน 2564

**สถานที่ทำการทดลอง** กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

## ผลการทดลองและวิจารณ์

1. สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer ในการวิเคราะห์โบรอนในดิน พบว่า ใช้ค่า wavelength ที่ 249.772 นาโนเมตร, plasma view ใช้มุมมอง Axial, Plasma flow เท่ากับ 14.0 ลิตรต่อนาที, Auxiliary flow เท่ากับ 0.8 ลิตรต่อนาที, Nebulizer flow เท่ากับ 1.20 ลิตรต่อนาที, RF-power 1.2 กิโลวัตต์, Pump Flow เท่ากับ 25 รอบต่อนาที และ Uptake เท่ากับ 25 วินาที ดังตารางที่ 2

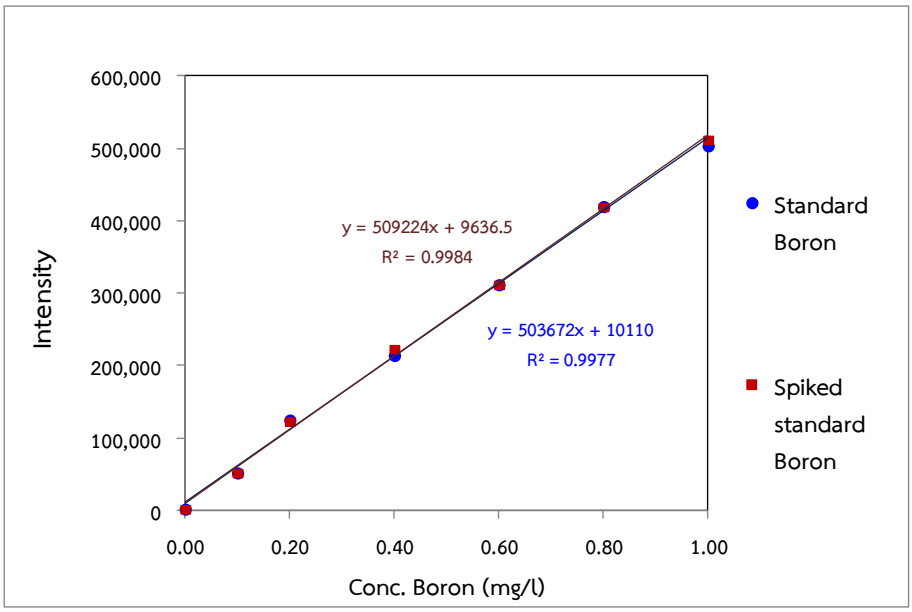
**ตารางที่ 2** สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง Inductively Coupled Plasma Spectrometer ในการวิเคราะห์โบรอนในดิน

| Parameter | Boron |
|---|---|
| Wave Length (nm) | 249.772 |
| Plasma View | Axial |
| Plasma (LPM) | 14 |
| Aux (LPM) | 0.8 |
| Neb (LPM) | 1.2 |
| RF Power (kW) | 1.2 |
| Pump Flow (RPM) | 25 |
| Uptake (sec) | 25 |
| Conc. of STD (mg/l) | 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 |

2. ผลการทดสอบ matrix effect โดยเปรียบเทียบความชันของกราฟมาตรฐานระหว่าง Standard Boron กับ Spiked Standard Boron ลงใน Sample blank พบว่า ความชันของกราฟ Standard Boron มีค่าความแตกต่าง (%RPD) เท่ากับ 1.10% ซึ่งผ่านเกณฑ์กำหนด % RPD ของความชันของกราฟต่างกันไม่เกิน 10% (NATA, 2018) แสดงว่า ไม่มีการรบกวนการวิเคราะห์โบรอนในช่วง 0 - 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังตารางที่ 3 และภาพที่ 1

**ตารางที่ 3** ความเข้มข้นของสารละลายที่เตรียม (Concentration) กับสัญญาณจากเครื่องมือ (intensity) 7 ระดับ

| standard Boron (mg/l) | Intensity of standard Boron | Intensity of spiked standard Boron |
|---|---|---|
| 0.0 | 2345 | 2123 |
| 0.1 | 52341 | 52145 |
| 0.2 | 125435 | 123453 |
| 0.4 | 214678 | 223443 |
| 0.6 | 312456 | 312343 |
| 0.8 | 420543 | 419866 |
| 1.0 | 504356 | 512678 |




**ภาพที่ 1** ความชันของ standard Boron และ spiked standard Boron ในช่วงความเข้มข้นของโบรอน 0-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

3. การรบกวนของธาตุเหล็กที่มีผลต่อปริมาณโบรอนที่สกัดดินด้วยวิธี Hot-Cacl$_2$ soluble Boron และวัดด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer ที่ความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง โดยใช้เหล็กเป็นตัวรบกวนการวิเคราะห์โบรอน ซึ่งปริมาณเหล็กจะส่งผลให้ปริมาณโบรอนที่วิเคราะห์ได้มีค่าสูงกว่าความเป็นจริง (Keren, 1996) จากการทดลอง พบว่า ตัวอย่างดินอ้างอิงรับรองที่ความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง ที่เติมสารละลายมาตรฐานเหล็ก 0, 5, 10, 20 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร มี % Recovery อยู่ระหว่าง 82.35 – 108.93% ผ่านเกณฑ์กำหนดตามมาตรฐาน Official Method of Analysis of AOAC International (AOAC) (Latimer, 2016) (% Recovery 80-110) ในขณะที่การวิเคราะห์ตัวอย่างดินอ้างอิงรับรองที่มีการเติมเหล็กปริมาณมากกว่า 100 มิลลิกรัมต่อลิตร จะส่งผลต่อการวิเคราะห์โบรอน เนื่องจากให้ผล % Recovery ไม่ผ่านเกณฑ์การยอมรับ (ตารางที่ 4, 5 และ 6) อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาปริมาณเหล็กในดินเขตร้อนของ Sillanpaa (1982) พบว่า ปริมาณเหล็กที่สกัดได้ในดินด้วยวิธี AAC-EDTA extracts ส่วนใหญ่อยู่ระหว่าง 22-104 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในขณะที่ Mielki *et al*. (2016) ที่ทำการศึกษาถึงน้ำยาที่ใช้สกัดเหล็กชนิดต่างๆ ในดินเขตร้อน ได้แก่ น้ำยาสกัด Pyrophosphate, Ammonium oxalate, Dithionite-citrate, 0.01 M $CaCl_2$, Mehlich- I และ Mehlich-III พบว่า น้ำยาสกัด 0.01 M $CaCl_2$ ซึ่งเป็นน้ำยาสกัดชนิดเดียวกับการสกัดโบรอนในดิน ให้ผลการวิเคราะห์ปริมาณเหล็กในดินเขตร้อนน้อยที่สุด เมื่อเทียบกับน้ำยาสกัดชนิดอื่น โดยพบว่ามีปริมาณเหล็กอยู่ระหว่าง 2.29 – 4.65 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (< 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ในขณะที่น้ำยาสกัด Mehlich- I ให้ผลการวิเคราะห์ปริมาณเหล็กสูงสุดอยู่ในช่วง 36.4 – 196.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สอดคล้องกับการศึกษาของ Turner *et al*., (2016) พบว่าสกัดโบรอนในดินด้วยวิธี Hot- $CaCl_2$ extracts ซึ่งสกัดดินด้วย $CaCl_2$ ไม่ส่งผลให้ปริมาณเหล็กรบกวนการวิเคราะห์โบรอน แต่การวิเคราะห์โบรอนด้วย Mehlich-III Extracts และ Total Boron ซึ่งการสกัดมีการใช้สารละลายที่มีความเป็นกรดสูง จะส่งผลให้ธาตุเหล็กละลายออกมาได้สูงจึงรบกวนการวิเคราะห์โบรอนได้ นอกจากนี้การศึกษาต่อมาของ Turner *et al*., (2017) พบว่าการวิเคราะห์ปริมาณโบรอนที่สกัดดินด้วยวิธี Hot-Cacl$_2$ soluble Boron และวัดด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer ที่ wavelength 249.772 นาโนเมตร ไม่พบการรบกวนของธาตุเหล็กที่ส่งผลต่อการวิเคราะห์โบรอนในดิน เนื่องจากปริมาณเหล็กที่ละลายออกมาจากการสกัดโบรอนมีปริมาณน้อยมาก ทั้งนี้หากวิเคราะห์ปริมาณโบรอนด้วยวิธี Mehlich-III Extracts และ Total Boron จะพบการรบกวนของเหล็ก และสามารถลดการรบกวนของเหล็กได้โดยใช้ wavelength 208.597 นาโนเมตร

**ตารางที่ 4** % recovery ของการวิเคราะห์ปริมาณโบรอนในตัวอย่างดินอ้างอิงรับรองที่มีโบรอน 0.17 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

| Analyte | Soil with Boron 0.17 mg/kg | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Fe Concentration (mg/l) | Intensity | Conc. Boron (mg/kg) | % Recovery |
| 1 | 0 | 77404 | 0.17 | 100.00 |
| 2 | 5 | 77246 | 0.16 | 94.12 |
| 3 | 10 | 77335 | 0.15 | 88.24 |
| 4 | 20 | 77654 | 0.18 | 105.88 |
| 5 | 50 | 77168 | 0.14 | 82.35 |
| 6 | 100 | 77123 | 0.12 | 70.59 |
| 7 | 200 | 77098 | 0.10 | 58.82 |

**ตารางที่ 5** % recovery ของการวิเคราะห์ปริมาณโบรอนในตัวอย่างดินอ้างอิงรับรองที่มีโบรอน 0.56 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

| Analyte | Soil with Boron 0.56 mg/kg | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Fe Concentration (mg/l) | Intensity | Conc. Boron (mg/kg) | % Recovery |
| 1 | 0 | 221741 | 0.57 | 101.79 |
| 2 | 5 | 222343 | 0.60 | 107.14 |
| 3 | 10 | 219236 | 0.49 | 87.50 |
| 4 | 20 | 222068 | 0.58 | 103.57 |
| 5 | 50 | 224353 | 0.61 | 108.93 |
| 6 | 100 | 218754 | 0.40 | 71.43 |
| 7 | 200 | 216451 | 0.39 | 69.64 |

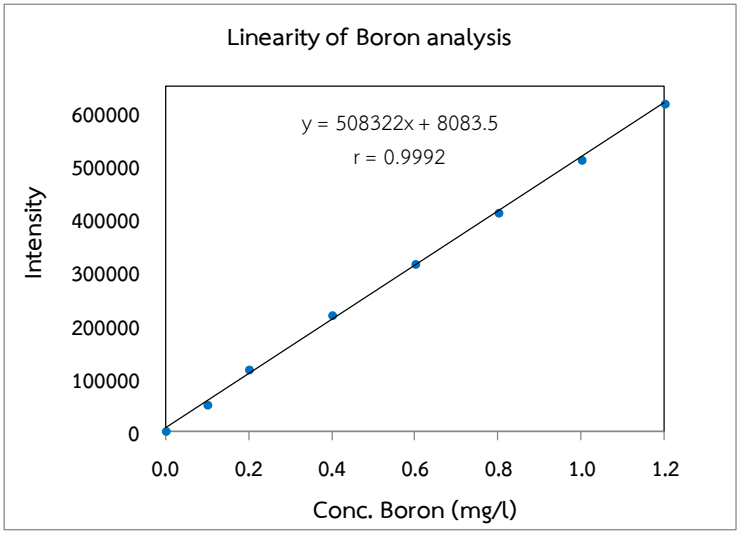
**ตารางที่ 6** % recovery ของการวิเคราะห์ปริมาณโบรอนในตัวอย่างดินอ้างอิงรับรองที่มีโบรอน 1.90 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

| Analyte | Soil with Boron 1.90 mg/kg | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Fe Concentration (mg/l) | Intensity | Conc. Boron (mg/kg) | % Recovery |
| 1 | 0 | 952732 | 1.98 | 104.21 |
| 2 | 5 | 964532 | 2.01 | 105.79 |
| 3 | 10 | 933341 | 1.88 | 98.95 |
| 4 | 20 | 954567 | 1.99 | 104.74 |
| 5 | 50 | 965314 | 2.06 | 108.42 |
| 6 | 100 | 925743 | 1.68 | 88.42 |
| 7 | 200 | 901236 | 1.54 | 75.79 |

4. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โบรอนในดิน ที่สกัดด้วยวิธี Hot-Cacl$_2$ soluble Boron และวัดปริมาณด้วยวิธี เครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer

4.1 การศึกษาความเป็นเส้นตรง (Linearity)

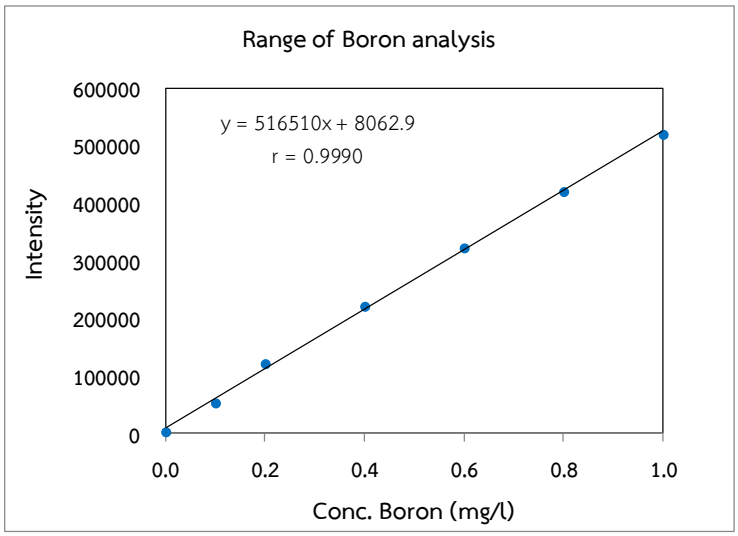
จากการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity) ของการวิเคราะห์โบรอนในดินที่ความเข้มข้นของโบรอนในช่วง 0 -1.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient : r) เท่ากับ 0.9992 พบว่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient : r) ≥ 0.995 ผ่านเกณฑ์การยอมรับ (ภาพที่ 2)




**ภาพที่ 2** ความเป็นเส้นตรง (Linearity) ของกราฟมาตรฐานการวิเคราะห์โบรอนที่ช่วงความเข้มข้น 0-1.2 มิลลิกรัมต่อลิตร

4.2 การศึกษาหาช่วงความเข้มข้นที่ใช้งาน (Working range)

จากการศึกษาความเข้มข้นที่ใช้งาน (Working range) ของการวิเคราะห์โบรอนในดินที่ความเข้มข้นของโบรอนในช่วง 0 -1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient : r) เท่ากับ 0.9990 พบว่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient : r) ≥ 0.995 ผ่านเกณฑ์การยอมรับ ผ่านเกณฑ์การยอมรับ (ภาพที่ 3)




**ภาพที่ 3** ช่วงความเข้มข้นที่ใช้งาน (Working range) ของกราฟมาตรฐานการวิเคราะห์โบรอนที่ช่วงความเข้มข้น 0-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

4.3 การพิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision)

พิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง ความเข้มข้นโดยวิเคราะห์ตัวอย่างดินอ้างอิงรับรอง ที่มีความเข้มข้นของโบรอน 0.17, 0.56 และ 1.90 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ประเมินผลความถูกต้อง จาก % Recovery และความเที่ยง จาก HorRat พบว่า ความถูกต้องที่ความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง มี % Recovery เท่ากับ 95.29, 101.61 และ 100.05 ตามลำดับ ผ่านเกณฑ์การยอมรับ 80 - 110 และความเที่ยงมี HorRat เท่ากับ 0.40, 0.38 และ 0.46 ตามลำดับอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ คือ HorRat < 1.3 ดังตารางที่ 7

**ตารางที่ 7** ผลการพิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง

| รายการ | ผลวิเคราะห์โบรอนในดิน (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) | | |
|---|---|---|---|
| | ความเข้มข้นต่ำ | ความเข้มข้นกลาง | ความเข้มข้นสูง |
| 1 | 0.17 | 0.57 | 1.80 |
| 2 | 0.16 | 0.60 | 2.01 |
| 3 | 0.15 | 0.52 | 1.88 |
| 4 | 0.18 | 0.58 | 1.99 |
| 5 | 0.16 | 0.61 | 1.85 |
| 6 | 0.14 | 0.57 | 1.76 |
| 7 | 0.15 | 0.54 | 1.99 |
| 8 | 0.14 | 0.59 | 2.05 |
| 9 | 0.17 | 0.61 | 2.00 |
| 10 | 0.20 | 0.50 | 1.68 |
| ค่าเฉลี่ย | 0.16 | 0.57 | 1.90 |
| SD | 0.01 | 0.04 | 0.01 |
| % recovery | 95.29 | 101.61 | 100.05 |
| HorRat | 0.40 | 0.38 | 0.46 |

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

หาขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) ขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ) โดยวิเคราะห์ Sample blank ดำเนินการทดสอบตามวิธีทดสอบปริมาณโบรอนในดิน 10 ซ้ำ บันทึกข้อมูลคำนวณหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ตารางที่ 8)

**ตารางที่ 8** ผลการวิเคราะห์ตัวอย่าง (Sample blank)

| ซ้ำที่ | Intensity | ปริมาณ Boron (mg/kg) |
|---|---|---|
| 1 | 2334 | 0.0344 |
| 2 | 2405 | 0.0424 |
| 3 | 2375 | 0.0378 |
| 4 | 2021 | 0.0184 |
| 5 | 2044 | 0.0188 |
| 6 | 2287 | 0.0292 |
| 7 | 2213 | 0.0244 |
| 8 | 2256 | 0.0276 |
| 9 | 2241 | 0.0262 |
| 10 | 2228 | 0.0252 |
| Mean $(\bar{x})$ | | 0.0258 |
| SD | | 0.0020 |

คำนวณค่า LOD และ LOQ ตามสูตร

$$LOD = \bar{X} + 3\,S_0'$$

$$LOQ = \bar{X} + 10\,S_0'$$

$$S_0' = \frac{SD}{\sqrt{n}} = \frac{0.0020}{\sqrt{2}} = 0.0014$$

LOD = 0.0258 + (3 x 0.0014) = 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

LOQ = 0.0258 + (10 x 0.0014) = 0.04 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ได้ขีดความเข้มข้นต่ำสุดที่วิธีสามารถวิเคราะห์ และรายงานผลได้ (LOD และ LOQ) คือ 0.03 และ 0.04 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ดังนั้น ทำการพิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ระดับ LOQ = 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยการประเมิน % Recovery และ HorRat ได้ผลดังตารางที่ 9

**ตารางที่ 9** ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ของการวิเคราะห์ ที่ระดับ LOQ

| LOQ | Accuracy | | Precision | |
|---|---|---|---|---|
| | %Recovery (80-110) | ผลการประเมิน | HorRat (< 1.3) | ผลการประเมิน |
| 0.05 mg/kg | 99.06 | ผ่าน | 0.91 | ยอมรับ |

ประเมินผลการทดสอบค่า Accuracyและ Precision ที่ระดับ LOQ = 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่า % Recovery และ HORRAT ผ่านเกณฑ์การยอมรับ (ตารางที่ 9)

4.5 ผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะและสิ่งแวดล้อมของวิธีวิเคราะห์โบรอนในดิน (Ruggedness) จากสภาวะปกติ ที่ความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง จำนวน 3 ปัจจัย ได้แก่ น้ำหนักตัวอย่าง ปริมาตรน้ำยาสกัด และอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด

**ตารางที่ 10** การเปลี่ยนแปลงสภาวะและสิ่งแวดล้อมของวิธีวิเคราะห์โบรอนในดิน

| ปัจจัย | สภาวะ | ความเข้มข้นต่ำ | | ความเข้มข้นกลาง | | ความเข้มข้นสูง | | การประเมิน |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $t\text{-}_{Stat}$ | $t\text{-}_{Critical}$ | $t\text{-}_{Stat}$ | $t\text{-}_{Critical}$ | $t\text{-}_{Stat}$ | $t\text{-}_{Critical}$ | |
| 1 | น้ำหนักตัวอย่าง | 0.7276 | 2.2622 | 0.9097 | 2.2622 | 0.7701 | 2.2622 | $t\text{-}_{Stat} < t\text{-}_{Critical}$ |
| 2 | ปริมาตรน้ำยาสกัด | 0.2308 | 2.2622 | 0.2750 | 2.2622 | -0.2657 | 2.2622 | $t\text{-}_{Stat} < t\text{-}_{Critical}$ |
| 3 | อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด | 1.1721 | 2.2622 | 0.2641 | 2.2622 | 0.2447 | 2.2622 | $t\text{-}_{Stat} < t\text{-}_{Critical}$ |

ผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะและสิ่งแวดล้อมของวิธีวิเคราะห์โบรอนในดิน ที่ความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง จำนวน 3 ปัจจัย ได้แก่ น้ำหนักตัวอย่าง ปริมาตรน้ำยาสกัด และอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด พบว่า ค่า t-Stat < t Critical แสดงว่าค่าเฉลี่ยของการวัดจากข้อมูลทั้ง 2 ชุด ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ทำให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อยไม่ส่งผลต่อการวิเคราะห์โบรอน (ตารางที่ 10)

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การวิเคราะห์โบรอนโดยการสกัดดินด้วยวิธี Hot-$CaCl_2$ soluble Boron และนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometer มีขอบข่ายของการวิเคราะห์โบรอนในดินอยู่ในช่วง 0.05 – 1.90 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และให้ผลการทดสอบอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ โดยมีค่า Limit of Detection (LOD) เท่ากับ 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ Limit of Quantitation (LOQ) เท่ากับ 0.04 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อพิสูจน์ค่าความถูกต้อง (Trueness) และค่าความเที่ยง (Precision) ของ LOQ ได้ค่า %Recovery เท่ากับ 99.06% และ HorRat (Horwitz'Ratio) เท่ากับ 0.91 ทำการวิเคราะห์ CRM ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง มาคำนวณ %Recovery เพื่อความถูกต้อง (Trueness) และค่า HorRat (Horwitz'Ratio) ของการวิเคราะห์ซ้ำแบบต่างเวลากัน เพื่อพิสูจน์ความเที่ยง ได้ผลการทดลองดังนี้ ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และระดับความเข้มข้นสูง มี % Recovery เท่ากับ 95.29, 101.61 และ 100.05 ตามลำดับ ตามลำดับ ค่า HorRat (Horwitz'Ratio) ของการวิเคราะห์ซ้ำแบบต่างเวลากัน (Intermediate) เท่ากับ 0.40, 0.38 และ 0.46 ตามลำดับ ผ่านเกณฑ์การยอมรับ (ตาม AOAC) ทั้งหมด (%Recovery อยู่ในช่วง 80-110% และ HorRat (Horwitz'Ratio) < 1.3) ผลการศึกษาผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อม Ruggedness พบว่า การเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมของการทดสอบ ไม่มีผลกระทบต่อวิธีวิเคราะห์โบรอน และวิธีมีความคงทนต่อการนำไปใช้เป็นวิธีอ้างอิงของห้องปฏิบัติการได้

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

วิธีการวิเคราะห์โบรอนในดิน สามารถใช้เป็นวิธีอ้างอิงแก่ห้องปฏิบัติการอื่นได้ รวมทั้งใช้เป็นวิธีมาตรฐานที่มีความน่าเชื่อถือของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ดินตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025: 2017 เป็นการยกระดับห้องปฏิบัติการให้ได้มาตรฐานสากล สามารถตรวจสอบย้อนกลับได้ และสามารถนำมาใช้เป็นวิธีมาตรฐานในงานบริการวิเคราะห์โบรอนในดินให้แก่ผู้รับบริการวิเคราะห์ โดยปัจจุบันได้ให้ความอนุเคราะห์การวิเคราะห์โบรอนในดินแก่สำนักวิจัยพัฒนาการเกษตรเขตที่ 6

# เอกสารอ้างอิง


แม้น อมรสิทธ์ อมร เพชรสม ยุวดี เชี่ยววัฒนา อทิตยา ศิริภิญญานนท์ ศรีวไล โอมอภิญญาณ และ อุมาพร สุขม่วง. 2552. ***หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ Principle and Techniques of Instrumental Analysis Spectroscopy***. ชวนพิมพ์ กรุงเทพมหานคร. 676 หน้า.

Latimer, G.W. 2016. ***Official Method of Analysis of AOAC International.*** 20th Ed. AOAC International Gaithersburg, Maryland. USA.

Cox, F. R., F. Adams, and B.B. Tucker. 1982. Liming, fertilization and mineral nutrition. ***In H.E. Pattee and C.T. Young. Peanut Science and Technology***. Amer. Peanut Res. And Ed. Soc., Inc. Texas, U.S.A. p.139-163.

Eurachem. 2014. ***The Fitness for Purpose of Analytical Methods***. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics.

Keren, R. 1996. Chapter 21 Boron, pp. 603-626. 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 Plants.*** 2nd ed. Academic Press, New York. pp. 405-435.

Mielki G.F., R.F. Novais, J.C. Ker, L. Vergütz and G.F. Castro. 2016. Iron Availability in Tropical Soils and Iron Uptake by Plants. ***Rev. Bras. Cienc. Solo***. 1: 1-14.

National Association of Testing Authorities (NATA). 2018. ***General Accreditation Guidance - Validation and Verification of Quantitative and Qualitative test Methods.*** Australia. Eftichia Karageorgou, Victoria Samanidou. 2014. Youden test application in robustness assays during method.

Sah, R.N. and P.H. Brown. 1997. Boron Determination-A Review of Analytical Methods. ***Microchemical Journal.*** 56 : 258-304.

Sillanpaa, M. 1982. ***Micronutrients and the Nutrient Status of Soils: A Global Study.*** FAO Soil Bulletin No. 48, FAO/ Finnish International Development agency, Rome.

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 Method.*** Madison, WI, Soil Science Society of America, Soil Science Society of America Book Series Number 5, 494 p.

Turner, B.L., A. Bielnicka, J. W. Dalling and J.A. Wolf. 2016. Interference by Iron in the Determination of Boron by ICP-OES in Mehlich-III Extracts and Total Element Digests of Tropical Forest Soils. ***Communications in Soil Science and Plant Analysis.*** 47 (21) : 2378-2386.

Turner, B.L., P.C. Zalamea, R. Condit, K. Winter, S.J. Wright and J. W. Dalling. 2017. No evidence that boron influences tree species distributions in lowland tropical forests of Panama. ***New Phytologist.*** 214: 108–119.

# พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โบรอนในพืช ด้วยเทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี

# Development and Method Validation of Boron Analysis in Plant by Inductively Coupled Plasma Spectrometry technique

*สุวลักษมิ์ ไชยทอง  สุภานันทน์ จันทร์ประอบ  สาธิดา โพธิ์น้อย*

*Suwaluck Chaitong  Supanun Junpra-ob  Sathida Phonoy*

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี  กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

## ABSTRACT

Development of boron analysis in plant using inductively coupled plasma spectrometry (ICP) was conducted by following guidelines from the "Handbook of Methods for Plant Analysis". Its analysis condition and matrix effects were studied. Results showed a suitable condition for boron in plant determination at 249.772 Axial wavelength, 1.2 kW RF power, 14.0 LPM plasma flow, 0.8 LPM Auxiliary flow, 1.2 LPM Nebulizer flow, 25 RPM pump speed, and 25 seconds uptake. The slope of boron standard calibration curve and matrix calibration curve at 0-1.2 mg/L boron concentration range with %RPD lower than 10% indicated that there is no matrix effects according to NATA standard. A working range and standard curve linearity were also validated. At 0-1.2 and 0-1.4 mg/L, the curve's correlation coefficients (r) are 0.9999 and 1.0000, respectively. The precision of the technique was determined by HorRat values at low, medium, and high boron concentrations which are 0.5, 0.7, and 0.3, respectively. These values are acceptable according to AOAC standards. %Recovery range is 85.5 - 90.9 % and is also acceptable by AOAC standard. The limit of detection and limit of quantitation are 0.15 and 6.75 mg/kg, respectively. Ruggedness under different temperatures, time, and HCl volume used in washing ashes from sample preparation process, was determined by t-test and found no significant difference in every parameter. Therefore, analysis range is 6.75 – 27.0 mg/kg for ICP technique from the "Handbook of Methods for Plant Analysis" is precise, accurate, reliable, and suitable for use in a laboratory.

**Keywords** : Boron in plant, Inductively coupled plasma spectrometry technique, Method validation

## บทคัดย่อ

พัฒนาวิธีวิเคราะห์โบรอนในพืชด้วยเทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี ตามวิธี Handbook of Methods for Plant Analysis โดยศึกษาสภาวะของการวิเคราะห์ และศึกษาผลของ Matrix effects ต่อการวิเคราะห์โบรอนในพืช พบว่าสภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์โบรอนด้วยเทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี ได้แก่ Wavelength เท่ากับ 249.772 Axail RF power เท่ากับ 1.2 kw Plasma flow เท่ากับ 14.0 LPM Auxiliary flow เท่ากับ 0.8 LPM Nebulizer flow เท่ากับ 1.20 LPM Pump เท่ากับ 25 RPM และ Uptake เท่ากับ 25 sec ผลการศึกษา Matrix effects พบว่าความชันของ Standard calibration curve และ Matrix calibration curve ในช่วงความเข้มข้นโบรอน 0-1.2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความต่างกันน้อยกว่า 10% (%RPD<10) แสดงว่าการทดสอบไม่มี Matrix effects ตามมาตรฐาน Nata ผลการตรวจสอบช่วงของการวิเคราะห์และช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานอยู่ในช่วงความเข้มข้น 0-1.2 และ 0-1.4 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีค่า Correlation coefficient, r เท่ากับ 0.9999 และ 1.0000

ตามลำดับ ผลการพิสูจน์ความแม่นยำที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง ได้ค่า HorRat (Horwitz's ratio) เท่ากับ 0.5 0.7 และ 0.3 ตามลำดับ และการพิสูจน์ความถูกต้อง โดยประเมินจาก %Recovery พบว่า อยู่ในช่วง 85.5 – 90.9 % ทั้งความแม่นยำและความถูกต้อง ผ่านเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐาน AOAC ปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ และปริมาณต่ำสุด ที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ มีค่าเท่ากับ 0.15 และ 6.75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม การทดสอบความคงทนของวิธีวิเคราะห์จากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ เวลา และปริมาณสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการล้างเถ้าตัวอย่าง โดยการประเมินค่าทางสถิติ t-test พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของการเปลี่ยนแปลงทั้งสามสภาวะการทดสอบ ทั้งนี้การวิเคราะห์โบรอนในพืชในช่วงความเข้มข้น 6.75 – 27.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ด้วยเทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี ตามวิธี Handbook of Methods for Plant Analysis เป็นวิธีที่เหมาะสมสามารถนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์พืชได้ เพราะเป็นวิธีที่ถูกต้อง แม่นยำและน่าเชื่อถือ

**คำหลัก**: โบรอนในพืช เทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

## คำนำ

โบรอนเป็นธาตุอาหารที่พืชต้องการในปริมาณน้อย แต่มีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการทางชีวเคมีภายในต้นพืชและสรีรวิทยาของพืช เช่น การสร้างผนังเซลล์ การสังเคราะห์ลิกนินและเมตาบอลิซึมของสารประกอบคาร์โบไฮเดรต เมื่อพืช ขาดโบรอนจะก่อให้เกิดความผิดปกติของผนังเซลล์ โดยเฉพาะเซลล์ของเนื้อเยื่อเจริญพืช จึงแสดงอาการใบอ่อนหงิกงอ หรือหักเป็นตะขอ ไส้กลวงหรือเป็นสีน้ำตาลเนื่องจากการตายของเซลล์บริเวณนั้น ผลบิดเบี้ยวเสียรูปทรง พืชที่ขาดโบรอนจะทำให้เกิดการสะสมของสารประกอบในกลุ่มฟีนอลิก ซึ่งเป็นอันตรายต่อเซลล์พืช การขาดโบรอนในพืชตระกูลถั่วทำให้พืช ตึงไนโตรเจนน้อยลง การขาดโบรอนมักส่งผลกระทบรุนแรงในระยะเจริญพันธุ์ของพืช พืชที่ขาดโบรอนมักมีดอกที่ไม่สมบูรณ์ เกสรตัวผู้เป็นหมัน ผลมีเมล็ดน้อยกว่าปกติหรือไม่มีเมล็ด เมล็ดลีบ มีอัตราการงอกต่ำ (สมศักดิ์, 2537)

การวิเคราะห์เนื้อเยื่อของพืช ช่วยให้ทราบถึงการขาดธาตุและความเป็นพิษของธาตุในพืชนั้นได้ ซึ่งมีการวิเคราะห์หลายเทคนิคที่สามารถตรวจวัดความเข้มข้นของธาตุต่างๆที่มีในเนื้อเยื่อพืชได้ อาทิเช่น เทคนิค Atomic absorption spectrometry (AAS) เทคนิค Inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES) เทคนิค Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) และเทคนิค Flame atomic absorption spectrometry (FASS) เป็นต้น (Bhandari, 2018)

การวิเคราะห์หาปริมาณโบรอนในพืชสามารถทำโดยการเผาที่อุณหภูมิสูง (High temperature dry oxidation of the organic matter) และทำการละลายเถ้าด้วยกรดไฮโดรคลอริก หลังจากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Atomic absorption spectrometry (AAS) หรือ เทคนิค Inductively coupled plasma spectrometry (ICP-AES) (Bhandari, 2018)

ปัจจุบันการวิเคราะห์โบรอนในพืชของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์วิจัยพืชวัตถุเคมีการเกษตรและนิวเคลียร์เทคนิคการเกษตร เป็นวิธี Azomethine-H ซึ่งเป็นวิธีวิเคราะห์ที่ใช้สารเคมีปริมาณมาก และใช้ระยะเวลานานในการวิเคราะห์ ดังนั้นจึงได้มีการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์โบรอนในพืช เป็นเทคนิค Inductively coupled plasma spectrometry ซึ่งเป็นวิธีที่มีสภาพไวสูง รวดเร็ว ใช้สารเคมีปริมาณน้อย และไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม โดยได้ศึกษาสภาวะการวิเคราะห์ของวิธีและสภาวะที่เหมาะสมของการใช้งานเครื่อง Inductively coupled plasma spectrometer สำหรับการวิเคราะห์โบรอนในพืช นอกจากนี้ได้ศึกษา Matrix effects พบว่าวิธีวิเคราะห์โบรอนในพืชด้วยเทคนิค inductively coupled plasma spectrometry ตามวิธี Handbook of Methods for Plant Analysis ไม่มี Matrix effects แสดงให้เห็นว่า สารและธาตุอื่นๆ ในตัวอย่างพืชไม่มีผลต่อการวิเคราะห์หาปริมาณโบรอน

ทั้งนี้ การตรวจหาปริมาณโบรอนในพืชมีความจำเป็นอย่างมาก เพราะจะทำให้ทราบว่าพืชนั้นๆ ขาดธาตุโบรอนหรือมีธาตุโบรอนเพียงพอต่อความต้องการของพืชหรือไม่ ในกรณีที่พืชมีปริมาณธาตุโบรอนที่น้อยเกินไปหรือขาดธาตุโบรอน เกษตรกรจะสามารถเพิ่มธาตุโบรอนให้กับพืช ทำให้แก้ปัญหาการขาดธาตุโบรอนได้ ซึ่งผลการวิเคราะห์ปริมาณธาตุโบรอนที่มีประสิทธิภาพ ต้องมาจากวิธีที่ถูกต้อง แม่นยำและเชื่อถือได้ จึงมีความจำเป็นต้องพัฒนาวิธีวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ถือเป็นกระบวนการหนึ่งของการประกันคุณภาพห้องปฏิบัติการทดสอบ เป็นกระบวนการที่พิสูจน์ว่าวิธีทดสอบมีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้ทดสอบตามวัตถุประสงค์ สำหรับวิธีทดสอบที่ต้องตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี ได้แก่ วิธีที่นำไปใช้ต่างห้องปฏิบัติการหรือต่างเครื่องมือกัน วิธีทดสอบที่ไม่ใช่วิธีมาตรฐาน หรือเป็นวิธีที่ห้องปฏิบัติการปรับเปลี่ยน ดัดแปลงจากวิธีมาตรฐาน วิธีที่ใช้นอกขอบเขตวิธีมาตรฐาน และเมื่อต้องการแสดงให้เห็นว่าวิธีสองวิธีไม่แตกต่างกัน คุณลักษณะเฉพาะโดยทั่วไปที่ใช้ประเมินในการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี ได้แก่ ความจำเพาะ ขีดจำกัดในการตรวจพบ ขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ ช่วงของการใช้งาน ความเป็นเส้นตรง สภาพไว ความถูกต้อง ความเที่ยง และความคงทนของวิธี (Eurachem, 2014)

เนื่องจาก กลุ่มงานวิเคราะห์วิจัยพืชวัตถุเคมีการเกษตรและนิวเคลียร์เทคนิคการเกษตร กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี ได้มีการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์โบรอนในพืช เป็นเทคนิค Inductively coupled plasma spectrometry ซึ่งเป็นวิธีใหม่ของห้องปฏิบัติการ ดังนั้นจึงต้องมีการพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โบรอนในพืช เพื่อให้ได้วิธีที่มีความถูกต้อง แม่นยำ และน่าเชื่อถือ เพื่อที่จะนำวิธีที่ได้ไปใช้กับห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ต่อไป

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. เครื่อง Inductively Coupled Plasma Spectrometer
2. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 และ 5 ตำแหน่ง
3. เตาเผา
4. ถ้วยกระเบื้อง (Crucible)
5. ปิเปต
6. ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 50 100 2000 มิลลิลิตร
7. หลอดพลาสติกก้นแหลมขนาด 15 และ 50 มิลลิลิตร
8. กระดาษกรองเบอร์ 42
9. กรวยกรองแก้ว
10. Rack สำหรับใส่หลอดพลาสติกก้นแหลม
11. สารเคมี ได้แก่ Boric acid ($H_3BO_3$), Hydrochloric acid (HCl), น้ำปราศจากไอออน (DI), Certified Reference Materials (CRMs); NIST-1515, NIST-1547

### วิธีการ

1. ศึกษาสภาวะของเครื่อง Inductively coupled plasma spectrometer (ICP) ที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์โบรอนในพืช ได้แก่ Wavelength RF Power Plasma flow Auxiliary flow Nebulizer flow Pump และ Uptake

1.1 พิจารณาค่าความเข้มแสง (Intensity) และค่า Correlation coefficient ของกราฟมาตรฐานสำหรับสารละลายมาตรฐานโบรอนช่วงความเข้มข้น 0-10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามวิธี Handbook of methods for plant analysis (Gupta, 1998)

1.1.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานโบรอน 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ละลาย Boric acid ($H_3BO_3$) 0.28580 กรัม ด้วยน้ำ DI และปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร

1.1.2 เตรียมสารละลายมาตรฐานโบรอน 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตสารละลายมาตรฐานโบรอน 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย 2% HCl

1.1.3 เตรียมสารละลายมาตรฐานโบรอน 0 0.5 2.0 4.0 6.0 8.0 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ปิเปตสารละลายมาตรฐานโบรอน 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0 0.5 2 4 6 8 และ 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย 2% HCl

1.1.4 นำสารละลายมาตรฐานโบรอน ความเข้มข้น 0 0.5 2.0 4.0 6.0 8.0 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มาวัดค่าความเข้มแสง (Intensity) ด้วยเครื่อง Inductively coupled plasma spectrometer (ICP) ที่ความยาวคลื่น (Wavelength) เท่ากับ 184.641 nm (axial, radial) 208.956 nm (axial, radial) 249.677 nm (axial, radial) และ 249.772 nm (axial, radial)

1.1.5 นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของโบรอน (แกน x) และค่าความเข้มแสง (Intensity) (แกน y)

1.1.6 พิจารณาค่าความเข้มแสง (Intensity) ที่ความเข้มข้นโบรอน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และ พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานจากการวัดค่าความเข้มแสง (Intensity) ที่ความยาวคลื่นต่างกัน โดยต้องมีค่า Correlation coefficient, $r \geq 0.995$

1.2 หาค่าความถูกต้อง ของการวิเคราะห์ CRMs ; NIST-1547

1.2.1 ชั่ง CRMs; NIST-1547 (ความเข้มข้นของโบรอนเท่ากับ 29 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) น้ำหนัก 1.xxxx กรัม ลงในถ้วยกระเบื้อง นำไปเผาด้วยเตาเผา ที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

1.2.2 ละลายเถ้า CRMs; NIST-1547 ด้วย 20% HCl ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

1.2.3 เทสารละลาย CRMs; NIST-1547 ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ผ่านกระดาษกรองเบอร์ 42 และปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI

1.2.4 นำสารละลาย CRMs; NIST-1547 ไปวัดค่าความเข้มแสง (Intensity) ด้วยเครื่อง ICP ที่ความยาวคลื่น 184.641 (axial, radial) 208.956 (axial, radial) 249.677 (axial, radial) และ 249.772 (axial, radial)

1.2.5 นำผลวิเคราะห์มาพิสูจน์ความถูกต้อง โดยประเมินจากค่า %Recovery (สมการ 1)

$$\%Recovery = (C1 / C2) \times 100 \quad \text{.....} \quad (1)$$

C1 = ความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้

C2 = ความเข้มข้นของสารที่ทราบค่า, 29 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

เกณฑ์การยอมรับ 80 - 110 % (AOAC, 2016)

1.3 เลือก Wavelength RF Power Plasma flow Auxiliary flow Nebulizer flow Pump และ Uptake ที่ทำให้ได้ค่าความเข้มแสง (Intensity) ของโบรอนความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตรมีค่าสูงที่สุด ค่า Correlation coefficient, $r \geq 0.995$ และผลการพิสูจน์ความถูกต้องของการวิเคราะห์ CRMs ต้องผ่านเกณฑ์กำหนด

2. ศึกษาการรบกวนของธาตุและสารอื่นๆ ต่อผลการวิเคราะห์โบรอนในพืช โดยการทดสอบ Matrix Effects

2.1 สร้าง Standard calibration curve

2.1.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานโบรอน 0 0.2 0.4 0.6 0.8 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อลิตร

1) ชั่ง Boric acid ($H_3BO_3$) 0.04773 0.09546 0.14290 0.19063 0.23836 และ 0.28580 กรัม ใส่ในถ้วยกระเบื้อง นำไปเผาที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็น

2) ละลาย Boric acid ($H_3BO_3$) ที่ได้จากการเผาด้วยน้ำ DI เทสารละลายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร โดยผ่านกระดาษกรองเบอร์ 42 และปรับปริมาตร (จะได้สารละลายมาตรฐานโบรอน 167 334 500 667 834 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร)

3) ปิเปตสารละลายมาตรฐานโบรอนแต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย 2% HCl

4) จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานโบรอนแต่ละความเข้มข้น (ข้อ 3) ปริมาตร 12 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย 2% HCl

2.1.2 นำสารละลายมาตรฐานโบรอนความเข้มข้น 0 0.2 0.4 0.6 0.8 1.0 1.2 มิลลิกรัมต่อลิตร หาค่าความเข้มแสง (Intensity) ด้วยเครื่อง ICP และนำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานโบรอนและค่าความเข้มแสง (Intensity)

2.2 สร้าง Matrix calibration curve

2.2.1 ชั่งตัวอย่างพืชน้ำหนัก 1.xxxx กรัมลงในถ้วยกระเบื้องและชั่งตัวอย่างพืชน้ำหนัก 1.xxxx กรัม โดยเติม Boric acid ($H_3BO_3$) ความเข้มข้นเช่นเดียวกับการเตรียมสารมาตรฐานโบรอนในการสร้าง Standard calibration curve

2.2.2 เผาตัวอย่าง ละลายเถ้า เจือจาง และปรับปริมาตรเช่นเดียวกับข้อ 2.1

2.2.3 นำสารละลายข้อ 2.2.2 หาค่าความเข้มแสง (Intensity) ด้วยเครื่อง ICP และนำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของโบรอน (แกน x) และค่าความเข้มแสง (Intensity) (แกน y)

2.3 พิจารณาความชันของ Standard calibration curve เทียบกับ Matrix calibration curve ถ้าพบว่าผลต่างของค่าความชัน หรือ %RPD น้อยกว่า 10% แสดงว่าไม่มี Matrix effects (Nata, 2018)

3. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โบรอนในพืชด้วยเทคนิค ICP ตามวิธี Handbook of methods for plant analysis

3.1 ศึกษาความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของวิธีวิเคราะห์ (Linearity)

3.1.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานโบรอนความเข้มข้น 0 0.2 0.4 0.6 0.8 1.0 1.2 และ 1.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นละ 1 ซ้ำ

ปิเปตสารละลายมาตรฐานโบรอน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข้อ 2.1.1) ปริมาตร 0 2 4 6 8 10 12 และ 14 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย 2%HCl

3.1.2 นำสารละลายมาตรฐานโบรอน ความเข้มข้น 0 0.2 0.4 0.6 0.8 1.0 1.2 และ 1.4 มิลลิกรัมต่อลิตร มาวัด ค่าความเข้มแสง (Intensity) ด้วยเครื่อง Inductively coupled plasma spectrometer (ICP) โดยเลือกความยาวคลื่นเท่ากับ 249.772 nm (axial) และสภาวะอื่นๆที่เหมาะสมกับการวิเคราะห์โบรอน (จากผลการศึกษาข้อ 1)

3.1.3 นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของโบรอน (แกน x) และค่าความเข้มแสง (Intensity) (แกน y)

3.1.4 พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรง โดยต้องมีค่า Correlation coefficient, $r \geq 0.995$ และ นำช่วงที่ได้มาศึกษาความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานที่นำมาใช้งาน (Range)

3.2 หาความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานที่นำมาใช้งาน (Range)

3.2.1 เลือกช่วงที่เป็นเส้นตรงจากการศึกษา Linearity โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานโบรอนความเข้มข้น 0 0.2 0.4 0.6 0.8 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ (เตรียมสารละลายมาตรฐานเช่นเดียวกับข้อ 3.1)

3.2.2 นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของโบรอน (แกน x) และค่าความเข้มแสง (Intensity) (แกน y)

3.2.3 พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรง ต้องมีค่า Correlation coefficient, $r \geq 0.995$

3.3 พิสูจน์ความแม่นยำ (Precision) ของวิธีวิเคราะห์โบรอนในพืช ที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง

3.3.1 ชั่ง CRMs และชั่งตัวอย่างพืช ความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง โดยใช้ Trace elements in apple leaves (NIST-1515) ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ ได้แก่ระดับความเข้มข้นต่ำ 6.75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ระดับความเข้มข้นกลาง 13.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และระดับความเข้มข้นสูง 27 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เตรียมโดยการเติมตัวอย่าง NIST-1515 ลงไปในตัวอย่างพืช โดยปริมาณ NIST-1515 : ตัวอย่างพืช เป็นดังนี้ 0.25xx : 0.75xx 0.5xxx : 0.5xxx และ 1.xxxx : 0 กรัม ตามลำดับ

3.3.2 ชั่งตัวอย่างพืช Sample blank 0.75xx และ 0.5xxx กรัม

3.3.3 ละลายเถ้าตัวอย่างข้อ 3.3.1, 3.3.2 จากการเผา ด้วย 20%HCl ปริมาตร 5 มิลลิลิตร จากนั้นเทสารละลาย ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ผ่านกระดาษกรองเบอร์ 42 และปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI

3.3.4 นำสารละลายตัวอย่าง ที่มีความเข้มข้นโบรอนในระดับต่ำ กลาง และสูง ได้แก่ 6.75 13.5 และ 27 mg/kg ตามลำดับ ไปวัดค่าความเข้มแสง (Intensity) ด้วยเครื่อง ICP ที่ความยาวคลื่น 249.772 nm (axial)

3.3.5 นำผลวิเคราะห์ที่ได้จากการหาค่าความเข้มแสง (Intensity) คำนวณค่าเฉลี่ย (Mean) ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ค่า $\%RSD_r$ ค่า Predicted Horwitz RSD และพิสูจน์ความแม่น โดยประเมินจากค่า HorRat (Horwitz's Ratio) ดังสมการ (2)

$$HorRat = \%RSD_r / \text{Predicted Horwitz RSD} \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \quad (2)$$

$$\text{Predicted Horwitz RSD} = 0.66 \times 2^{(1-0.5\log C)}$$

C = Concentration ratio

เกณฑ์การยอมรับ HorRat 0.3-1.3 (AOAC, 2016)

3.4 พิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) ของวิธีวิเคราะห์

3.4.1 ดำเนินการเช่นเดียวกับข้อ 3.3

3.4.2 นำผลวิเคราะห์มาพิสูจน์ความถูกต้อง โดยประเมินจากค่า %Recovery ดังสมการ (3)

$$\text{Total \% recovery} = 100(C_f)/(C_u + C_A) \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \quad (3)$$

$C_f$ = ความเข้มข้นของสารใน fortified samples

$C_u$ = ความเข้มข้นของ Unfortified samples

$C_A$ = ความเข้มข้นของ Analyte ที่เติม

เกณฑ์การยอมรับ 80 - 110 % (AOAC, 2016)

3.5 หาค่าปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (LOD) และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ (LOQ) จากนั้น พิสูจน์ความถูกต้องและความแม่นยำในการวิเคราะห์ที่ความเข้มข้นระดับ LOQ

3.5.1 ชั่งตัวอย่างพืชที่มีความเข้มข้นของโบรอนในระดับต่ำๆ น้ำหนัก 1.xxxx กรัม ลงในถ้วยกระเบื้อง จำนวน 10 ซ้ำ นำไปเผาด้วยเตาเผา ที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง โดยวิเคราะห์ ในวันเดียวกัน ใช้บุคคล และเครื่องมือเดียวกัน

3.5.2 ละลายเถ้าตัวอย่างข้อ 3.5.1 ด้วย 20% HCl ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

3.5.3 เทสารละลายตัวอย่างลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ผ่านกระดาษกรองเบอร์ 42 และปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI

3.5.4 นำสารละลาย 3.5.3 ไปวัดค่าความเข้มแสง (Intensity) ด้วยเครื่อง ICP ที่ความยาวคลื่น 249.772 nm (axial)

3.5.5 นำผลวิเคราะห์ที่ได้มาคำนวณค่า $S'_0$ เพื่อหาค่า LOD และค่า LOQ ดังสมการ (4) และ (5)

$$LOD = 3S'_0 \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \quad (4)$$

$$LOQ = 10\ S'_0 \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \quad (5)$$

3.5.6 พิสูจน์ความแม่นยำและความถูกต้อง ในการวิเคราะห์ที่ความเข้มข้นระดับ LOQ

1) วิเคราะห์ความเข้มข้นของโบรอน จากการ Spiked sample ที่ระดับ LOQ

2) นำผลวิเคราะห์ที่ได้ คำนวณค่าเฉลี่ย (Mean) ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ค่า $\%RSD_r$ ค่า Predicted Horwitz RSD และพิสูจน์ความแม่นยำ โดยประเมินจากค่า HorRat (Horwitz's Ratio) ดังสมการ (2)

3) นำผลวิเคราะห์มาพิสูจน์ความถูกต้อง โดยประเมินจากค่า %Recovery ดังสมการ (3)

3.6 ศึกษาความคงทนของวิธี (Robustness/Ruggedness)

หาความคงทนของวิธีวิเคราะห์ โดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อย ดัง Table 1

**Table 1** Boron in plant under slightly changed conditions.

| Conditions | Handbook of reference methods for plant analysis | Method for slightly changed conditions |
|---|---|---|
| 1 | Ashing 500° c 4 hr. | Ashing 500° c 3.5 hr. |
| 2 | Ashing 500° c 4 hr. | Ashing 498° c 4 hr. |
| 3 | - Ashing 500° c 4 hr.<br>- Dissolve the ash in 5 ml 20%HCl<br>- Dilute solution to 50 ml | - Ashing 500° c 4 hr.<br>- Dissolve the ash in 4.98 ml 20%HCl<br>- Dilute solution to 50 ml |

3.6.1 ทดสอบการเปลี่ยนแปลงสภาวะการทดลองที่ 1 -3 โดยทำการวิเคราะห์ความเข้มข้นของโบรอนจากการ Spiked sample ที่ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร การทดลองละ 10 ซ้ำ

3.6.2 นำผลการวิเคราะห์ที่ได้ของแต่ละการทดลอง มาทดสอบความแตกต่างของความแปรปรวน (F-test) และใช้สถิติเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มตัวอย่างสองกลุ่มที่เป็นอิสระจากกัน t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

**ระยะเวลา** เริ่มต้น ตุลาคม 2562 สิ้นสุด กันยายน 2564

**สถานที่ทำการทดลอง**

กลุ่มงานวิเคราะห์วิจัยพืชวัตถุเคมีการเกษตรและนิวเคลียร์เทคนิคการเกษตร

## ผลการทดลองและวิจารณ์

1. สภาวะของเครื่อง Inductively coupled Plasma spectrometer (ICP) ที่เหมาะสม สำหรับการวิเคราะห์โบรอนในพืช โดยทำการเลือก Wavelength RF Power Plasma flow Auxiliary flow Nebulizer flow Pump และ Uptake ที่เหมาะสม ซึ่งพิจารณาจากค่า $r^2$ ของกราฟมาตรฐานและความเข้มแสง (Intensity) ของโบรอนที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่า %Recovery จากการวิเคราะห์ CRMs พบว่าสภาวะที่เหมาะสม ในการวิเคราะห์โบรอน คือ Wavelength ที่ 249.772 nm (axail), RF Power เท่ากับ 1.2 kw Plasma flow เท่ากับ 14.0 LPM Auxiliary flow เท่ากับ 0.8 LPM Nebulizer flow เท่ากับ 1.20 LPM Pump เท่ากับ 25 RPM Uptake เท่ากับ 25 sec (Table 2) ซึ่งพบค่า r ของกราฟมาตรฐานโบรอน เท่ากับ 0.99992 และ ค่า Intensity ของโบรอนที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่า Intensity มากที่สุด เมื่อเทียบกับการวัดค่าที่ความยาวคลื่นอื่นๆ โดยมีค่าเท่ากับ 1,827,244 และพบว่าค่า %Recovery ของการวิเคราะห์ CRMs มีค่าเท่ากับ 97.2 ซึ่งผ่านเกณฑ์กำหนด (80-110)

**Table 2** Optimum conditions of an inductively coupled plasma spectrometer (ICP) for plant's boron analysis.

| Wavelength | RF Power (kw) | Plasma flow (LPM) | Auxiliary flow (LPM) | Nebulizer flow (LPM) | Pump (RPM) | Uptake (sec) | $r^2$ | Intensity B 10 mg/l | %Recovery |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 182.641a | 1.2 | 14.0 | 0.8 | 1.20 | 25 | 25 | 0.99972 | -2381 | - |
| 182.641r | 1.2 | 14.0 | 0.8 | 1.20 | 25 | 25 | 0.99868 | -911 | - |
| 208.956a | 1.2 | 14.0 | 0.8 | 1.20 | 25 | 25 | 0.99987 | 179,690 | - |
| 208.956r | 1.2 | 14.0 | 0.8 | 1.20 | 25 | 25 | 0.99988 | 17,295 | - |
| 249.677a | 1.2 | 14.0 | 0.8 | 1.20 | 25 | 25 | 0.99996 | 912,654 | 101.0 |
| 249.677r | 1.2 | 14.0 | 0.8 | 1.20 | 25 | 25 | 0.99987 | 127,434 | 105.9 |

**Table 2** Optimum conditions of an inductively coupled plasma spectrometer (ICP) for plant's boron analysis.

| Wavelength | RF Power (kw) | Plasma flow (LPM) | Auxiliary flow (LPM) | Nebulizer flow (LPM) | Pump (RPM) | Uptake (sec) | $r^2$ | Intensity B 10 mg/l | %Recovery |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 249.772a | 1.2 | 14.0 | 0.8 | 1.20 | 25 | 25 | 0.99992 | 1,827,244 | 97.2 |
| 249.772r | 1.2 | 14.0 | 0.8 | 1.20 | 25 | 25 | 0.99987 | 253,337 | 100.2 |

2. การรบกวนของธาตุและสารอื่นๆ ต่อผลการวิเคราะห์โบรอนในพืช

ผลการทดสอบ Matrix effects จาก Figure 1 พบว่า ความชันของ Standard calibration curve เทียบกับ Matrix calibration curve มีค่าความต่าง หรือ %RPD เท่ากับ 2.13% ซึ่งความชันต่างกันไม่เกิน 10% แสดงว่า ไม่มี Matrix effects หรือไม่มีการรบกวนของธาตุและสารอื่นๆต่อการวิเคราะห์โบรอนในช่วง 0-1.2 มิลลิกรัมต่อลิตร

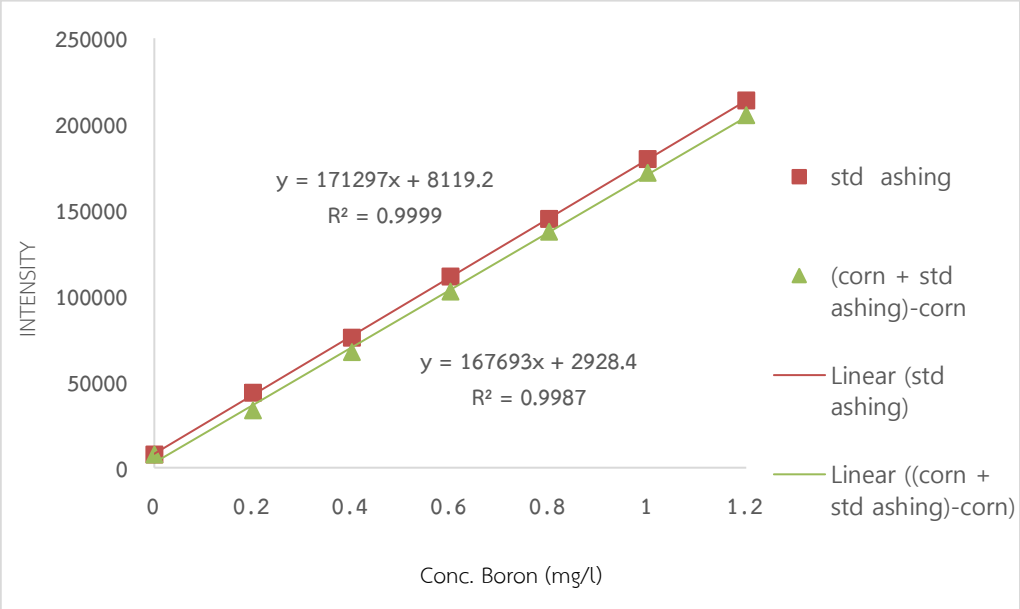



**Figure 1** The slope of standard calibration curve and matrix calibration curve in the range of boron at 0-1.2 mg/L

3. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิเคราะห์โบรอนในพืชด้วยเทคนิค ICP ตามวิธี Handbook of methods for plant analysis (Gupta, 1998)

3.1 การศึกษา Linearity ของวิธีวิเคราะห์โบรอนในพืช ความเข้มข้นโบรอนอยู่ในช่วง 0-1.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ค่า Correlation coefficient, r เท่ากับ 1.0000 (Figure 2) พบว่า ค่า Correlation coefficient, r ≥ 0.995 ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

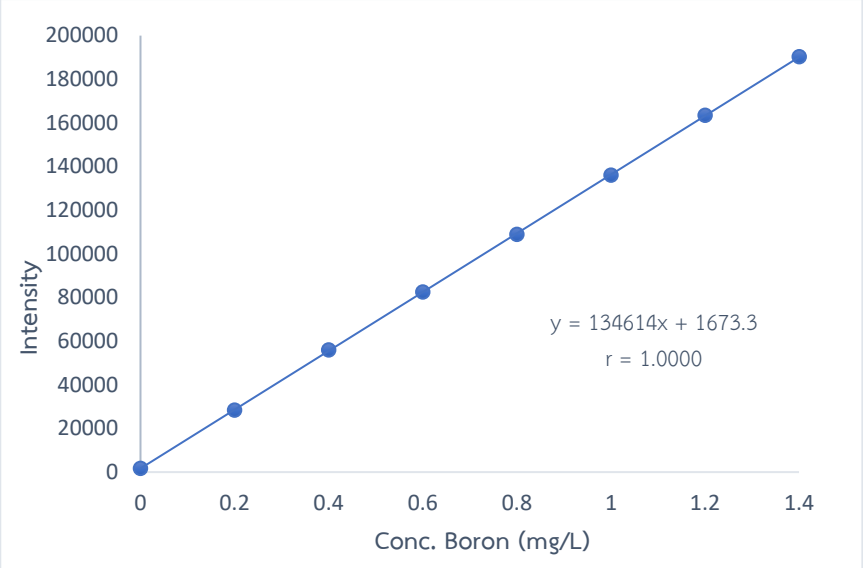



**Figure 2** The linearity of calibration curve for boron at 0-1.4 mg/L.

3.2 การศึกษา Range ของวิธีวิเคราะห์โบรอนในพืชความเข้มข้นโบรอนอยู่ในช่วง 0-1.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ค่า Correlation coefficient, r เท่ากับ 0.9999 (Figure 3) พบว่า ค่า Correlation coefficient, r ≥ 0.995 ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

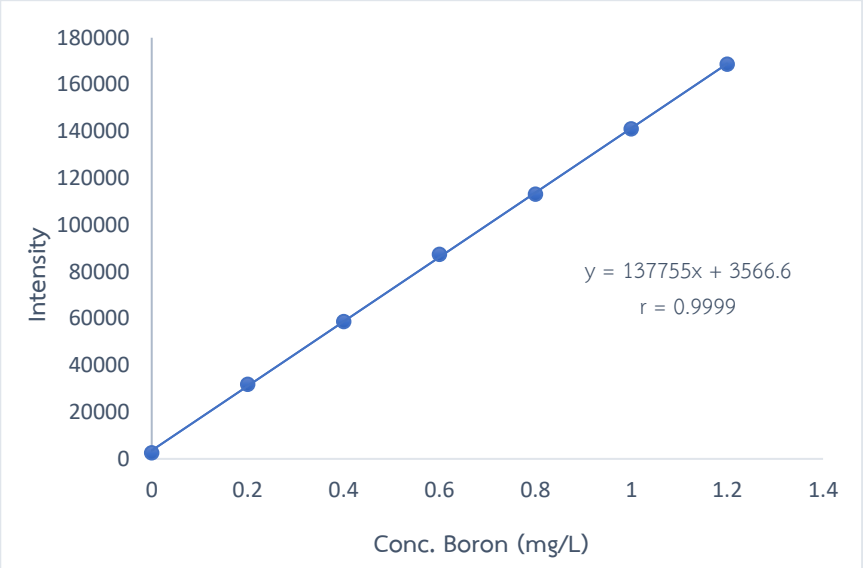



**Figure 3** The range of calibration curve for boron at 0-1.2 mg/L.

3.3 พิสูจน์ความแม่นยำ (Precision) ของวิธีวิเคราะห์โบรอนในพืชด้วยเทคนิค ICP ตามวิธี Handbook of methods for plant analysis ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง ประเมินจากค่า HorRat

ระดับความเข้มข้นต่ำ: 6.75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

Predicted Horwitz RSD $= 0.66 \times 2^{(1-0.5\log 5.50E-06)}$

$= 8.17$

HorRat (Horwitz's Ratio) $= 4.13/8.17$

$= 0.5$

ระดับความเข้มข้นกลาง: 13.50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

Predicted Horwitz RSD = $0.66 \times 2^{(1-0.5\log 1.149E-05)}$

= 7.31

HorRat (Horwitz's Ratio) = 5.37/7.31

= 0.7

ระดับความเข้มข้นสูง: 27.00 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

Predicted Horwitz RSD = $0.66 \times 2^{(1-0.5\log 2.308E-05)}$

= 6.58

HorRat (Horwitz's Ratio) = 1.74/6.58

= 0.3

ค่า HorRat ที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง เท่ากับ 0.5 0.7 และ 0.3 ตามลำดับ พบว่า ค่า HorRat อยู่ในช่วง 0.3-1.3 ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ แสดงว่าการวิเคราะห์โบรอนในพืชตามวิธี Handbook of methods for plant analysis มีความแม่นยำ

3.4 การพิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) ของวิธีวิเคราะห์โบรอนในพืชด้วยเทคนิค ICP ตามวิธี Handbook of methods for plant analysis ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง ประเมินจากค่า %Recovery

Total % Recovery = $100(C_f)/(C_u + C_A)$

$C_f$ = ความเข้มข้นของสารใน fortified samples

$C_u$ = ความเข้มข้นของ unfortified samples

$C_A$ = ความเข้มข้นของ analyte ที่เติม

เกณฑ์การยอมรับ 80 - 110 % (AOAC, 2016)

ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ $C_f$ = 12.50 $C_u$ = 7.0 และ $C_A$ = 6.75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

%Recovery = 100(12.50)/(7.0 + 6.75)

= 90.9%

ที่ระดับความเข้มข้นปานกลาง $C_f$ = 18.49 $C_u$ = 7.0 และ $C_A$ = 13.50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

%Recovery = 100 (18.49)/(7.0+13.50)

= 90.2 %

ที่ระดับความเข้มข้นสูง $C_f$= 23.08 $C_u$ = 0 และ $C_A$ = 27.00 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

%Recovery = 100 (23.08)/(0+27.00)

= 85.5 %

ค่า %Recovery ที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง เท่ากับ 90.9 90.2 และ 85.5 ตามลำดับ โดยมีเกณฑ์การยอมรับอยู่ในช่วง 80 - 110 ซึ่งการวิเคราะห์ Trueness ที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง ผ่านเกณฑ์การยอมรับ แสดงว่า การวิเคราะห์โบรอนในพืชตามวิธี Handbook of methods for plant analysis มีความถูกต้อง

3.5 การหาค่าปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (LOD) และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ (LOQ) และการพิสูจน์ความถูกต้องและความแม่นยำในการวิเคราะห์ที่ความเข้มข้นระดับ LOQ

ผลการวิเคราะห์ Sample blank จำนวน 10 ซ้ำ

LOD = $3S'_0$ = 3 × 0.05 = 0.15 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

LOQ = $10S'_0$ = 10 × 0.05 = 0.50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

เนื่องจากในตัวอย่างพืชมีค่าโบรอนในปริมาณที่สูง ทำให้ไม่สามารถหาตัวอย่างพืชเพื่อพิสูจน์ความถูกต้องและความแม่นยำที่ระดับความเข้มข้นโบรอน 0.50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมได้ จึงได้พิสูจน์ LOQ ที่ระดับความเข้มข้น 6.75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งเป็นความเข้มข้นน้อยที่สุดที่สามารถพบในตัวอย่างพืช

ผลการพิสูจน์ LOQ ด้วยการ Spiked sample ที่ความเข้มข้น 6.75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ได้ค่า %Recovery เท่ากับ 90.9 ผ่านเกณฑ์การยอมรับ (เกณฑ์การยอมรับ 80 - 110) และได้ค่า HorRat เท่ากับ 0.5 ผ่านเกณฑ์การยอมรับ (เกณฑ์การยอมรับ HorRat 0.3-1.3)

3.6 ทดสอบความคงทนของวิธีวิเคราะห์ โดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อยจากสภาวะเดิม ผลการวิเคราะห์หาความคงทนของวิธี พิจารณาจากค่าทางสถิติ t-test โดยเมื่อทำการเปลี่ยนแปลงสภาวะ สภาวะที่ 1 2 และ 3 (Table 3) พบว่าทั้งสามสภาวะมี ค่า $t_{cal} < t_{crit}$ ดังนั้นสรุปได้ว่า เมื่อเปลี่ยนแปลงสภาวะการทดลองจากเดิมเผาตัวอย่างที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง เป็น เผาตัวอย่างที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3.5 ชั่วโมง และเผาตัวอย่างที่อุณหภูมิ 498 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ไม่มีผลต่อการวิเคราะห์โบรอนในพืช นอกจากนี้ การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารละลาย 20% HCl ที่ใช้ล้างเถ้าตัวอย่าง จาก 5 เป็น 4.98 มิลลิลิตร พบว่า ไม่มีผลต่อการวิเคราะห์โบรอนในพืชเช่นเดียวกัน

**Table 3** T-test results between the plant's boron analysis using methods form a 'Handbook of reference methods for plant analysis' and methods with slightly changed conditions.

| Conditions | Handbook of Reference Methods for Plant Analysis (1) | Method for slightly changed conditions (2) | Average B mg/L | | Statistical Value ($t_{crit}$ 2.10) | Comparison |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | (1) | (2) | $t_{cal}$ | |
| 1 | Ashing 500° c 4 hr. | Ashing 500° c 3.5 hr. | 0.499 | 0.498 | 0.49 | ns |
| 2 | Ashing 500° c 4 hr. | Ashing 498° c 4 hr. | 0.499 | 0.493 | 1.92 | ns |
| 3 | - Ashing 500° c 4 hr.<br>- Dissolve the ash in 5 ml 20%HCl | - Ashing 500° c 4 hr.<br>- Dissolve the ash in 4.98 ml 20%HCl | 0.499 | 0.506 | 1.94 | ns |

ns = non significant at 95% confidence interval, *s = significant at 95% confidence interval

สรุปได้ว่าการวิเคราะห์โบรอนในพืชตามวิธี Handbook of Reference Methods for Plant Analysis มีความคงทนของวิธี

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

จากการพัฒนาวิธีวิเคราะห์โบรอนในพืช ตามวิธี Handbook of reference methods for plant analysis สภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์โบรอนด้วยเทคนิค ICP ไม่มี matrix effects ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ Linearity และ Range อยู่ในช่วงความเข้มข้น 0-1.4 และ 0-1.2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่า r เท่ากับ 1.0000 และ 0.9999 ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ คือ $r \geq 0.995$ ผลการตรวจสอบความแม่นยำ (Precision) และความถูกต้อง (Trueness) ที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง และ สูง ได้ค่า HorRat เท่ากับ 0.5 0.7 และ 0.3 ตามลำดับ พบค่า HorRat อยู่ในช่วง 0.3-1.3 ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ และได้ค่า %Recovery ที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง เท่ากับ 90.9, 90.2 และ 85.5 % ตามลำดับ พบว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับซึ่งอยู่ในช่วง 80 - 110 % และ ได้ค่า LOD เท่ากับ 0.15 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ค่า LOQ เท่ากับ 6.75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับผลการทดสอบความคงทนของวิธี (Robustness/Ruggedness) พบว่าการเปลี่ยนแปลงทั้งสามสภาวะมีค่า $t_{cal} < t_{crit}$ แสดงได้ว่าการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อยของวิธีวิเคราะห์โบรอนในพืช ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ จากผลการพัฒนาวิธีและตรวจสอบความใช้ได้ ของวิธีวิเคราะห์ แสดงให้เห็นว่าวิธีวิเคราะห์โบรอนในพืชช่วงความเข้มข้น 6.75 – 27.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ด้วยเทคนิค ICP ตามวิธี Handbook of reference methods for plant analysis เป็นวิธีที่เหมาะสม มีความแม่นยำ ถูกต้อง น่าเชื่อถือ และยอมรับได้

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

การวิเคราะห์โบรอนในพืช ด้วยเทคนิค ICP ตามวิธี Handbook of reference methods for plant analysis สามารถนำไปใช้ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์วิจัยพืชวัตถุเคมีการเกษตรและนิวเคลียร์เทคนิคการเกษตร กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี แทนวิธีเดิมที่ใช้ในห้องปฏิบัติการคือวิธี Azomethine-H โดยขอบข่ายการวิเคราะห์จะอยู่ในช่วงความเข้มข้นโบรอน 6.75 – 27.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งสามารถนำวิธีวิเคราะห์ดังกล่าวไปใช้ในด้านงานวิจัย งานบริการ และงานอื่นๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพราะเป็นวิธีที่มีความถูกต้อง แม่นยำ ใช้ระยะเวลาน้อยและลดปริมาณสารเคมีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการได้อีกด้วย

## เอกสารอ้างอิง


สมศักดิ์ มณีพงศ์. 2537. ***การวิเคราะห์ดินและพืช***. สงขลา: ภาควิชาธรณีศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

AOAC. 2016. Guidelines for standard method performance requirements. Appendix F.

Bhandari, N. 2018. Techniques used in plant tissue analysis for essential elements on horticultural plants and correlate with nutrient requirement. ***North American Academic Research*** 1: 94-113.

EURACHEM. 2014. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, The Fitness for Purpose of Analytical Methods.

Gupta, U.C. 1998. Determination of boron, molybdenum, and selenium in plant tissue. In: Y.P. Kalra (Ed.), Handbook of Reference Methods for Plant Analysis. First edition. Washington, D. C.

NATA. 2018. General Accreditation Guidance-Validation and Verification of Quantitative and Qualitative Test Methods.

# พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดินด้วยเทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี

# Development and Method Validation of phosphorus analysis in soil with Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer

*พจมาลย์ ภู่สาร* *จรีรัตน์ กุศลวิริยะวงศ์* *สุภา โพธิจันทร์* *สงกรานต์ มะลิสอน*
*ญาณธิชา จิตต์สะอาด* *จิตติรัตน์ ชูชาติ*

*Pojjamarrn Poosarrn* *Charirat Kusonwiriyawong* *Supha Photichan* *Songkrant Malisorn*
*Yarnthicha Jittsa-aad* *Jittirat Choochat*

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

## ABSTRACT

Development and Method Validation on Analysis of phosphorus analyzes in soil with Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer was developed to fit for purpose by Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer. The condition of the ICP used to measure phosphorus was obtained using a wavelength at 214.914. plasma view uses radial view, plasma flow, auxiliary flow, nebulizer flow, RF-power, Pump Flow and Uptake uses 16 liters per minute, 0.80 liters per minute, 1.20 liters per minute, 1.300 kW, 25 rpm and 25 seconds. Verify the durability of the test method by changing the condition only slightly from the normal condition (Ruggedness). 3 parameters are sample weight, extraction time and volume of extraction solution. The sample weight was changed from 1.25 g to 1.20 g, the extraction time from 30 min to 28 min. and the volume of extraction from 25 ml to 23 ml. with each parameter 3 iterations were found. Ruggedness with % Recovery passed the criteria 80 - 110 % at low, medium and high concentrations as specified by the standard, there was no effect from the change in environment conditions. Estimate the correlation coefficient; r of Linearity is 0.9997 of range is 0.9998. Limit of Detection (LOD) was 2.6545 mg/kg and Limit of Quantitative (LOQ) was 8.8484 mg/kg.Trueness with % Recovery passed the criteria 80 - 110 % at low, medium and high concentrations as specified by the standard, with precision passed the criteria, with HorRat values 0.3 - 1.3 for all analyzes at low, medium and high concentrations.

**Keywords :** phosphorus ICP Method Validation

## บทคัดย่อ

การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดินด้วยเทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี เป็นการพัฒนา ปรับปรุงโดยการการใช้เครื่อง ICP (Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer) ได้สภาวะของเครื่อง ICP ที่ใช้ในการวัดฟอสฟอรัส ใช้ค่า wavelength ที่ 214.914 plasma view ใช้มุมมอง radial ส่วน plasma flow, auxiliary flow, nebulizer flow, RF-power, Pump Flow และ Uptake ใช้ที่ 16 ลิตรต่อนาที, 0.80 ลิตรต่อนาที, 1.20 ลิตรต่อนาที, 1.300 กิโลวัตต์, 25 รอบต่อนาที และ 25 วินาที ตรวจสอบความคงทนของวิธีทดสอบโดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อยจากสภาวะปกติ (Ruggedness) 3 พารามิเตอร์ คือ น้ำหนักตัวอย่าง เวลาในการสกัด และปริมาณน้ำยาสกัด ความเป็นกรดด่าง โดยน้ำหนักตัวอย่างเปลี่ยน

จาก 1.25 กรัม เป็น 1.20 กรัม เวลาในการสกัดจาก 30 นาที เป็น 28 นาที และปริมาณน้ำยาสกัดจาก 25 มิลลิลิตร เป็น 23 มิลลิลิตร มี % Recovery ผ่านเกณฑ์กำหนด 80 - 110 % ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และ สูง พบว่าไม่มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมของการทดสอบ ประเมินค่า correlation coefficient; r ของ Linearity เท่ากับ 0.9997 ของ range เท่ากับ 0.9998 ประเมินหาปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (LOD) เท่ากับ 2.6545 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ (LOQ) เท่ากับ 8.8484 มิลลิกรัม/กิโลกรัม การพิสูจน์ความแม่น (Trueness) มี % Recovery ผ่านเกณฑ์กำหนด 80 - 110 % ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และ สูง ตามที่มาตรฐานกำหนด มีความเที่ยง (Precision) ผ่านเกณฑ์กำหนด โดยมีค่า HorRat 0.3 - 1.3

**คำหลัก :** ฟอสฟอรัส, ICP, ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี

## คำนำ

ฟอสฟอรัส (Phosphorus) เป็นธาตุอาหารที่พืชต้องการมากธาตุหนึ่งที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช ความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสในดินมีปัจจัยต่าง ๆ ควบคุม เช่น ความเป็นกรดเป็นด่างของดิน , ชนิดของแร่ดินเหนียว เป็นต้น ปริมาณของฟอสฟอรัสที่วิเคราะห์ได้โดยการสกัดดินด้วยน้ำยาต่างๆ เป็นค่าของฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ ค่านี้จะมีประโยชน์ต่อเมื่อทดลองแล้วว่ามี correlation กับการตอบสนองของพืช วิธีที่ใช้น้ำยาสกัดที่นิยมในปัจจุบัน Bray II (Bray and Kurtz ,1945) ระดับปริมาณของฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืช ดังนั้นวิธีการในการทดสอบที่มีความถูกต้องแม่นยำ และความรวดเร็วในการวิเคราะห์ ช่วยให้การประเมินความต้องการธาตุอาหารของพืช และปริมาณธาตุอาหารที่มีจากแหล่งต่างๆ มีประสิทธิภาพมากขึ้น เกษตรกรสามารถนำผลวิเคราะห์นั้นไปใช้กับพืชได้อย่างถูกต้อง ทันต่อฤดูกาลเพาะปลูก และตรงกับความต้องการของพืชอย่างแท้จริง ห้องปฏิบัติการจึงปรับปรุงและพัฒนาวิธีวิเคราะห์ให้ทันสมัย โดยนำเครื่อง Inductively Coupled Plasma (ICP) มาใช้ จึงต้องมีการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ว่าเหมาะสมหรือไม่

## วิธีดำเนินการ

### วัสดุอุปกรณ์

1) เครื่องเขย่า
2) เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง
3) เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
4) เครื่อง UV-Vis Spectrophotometer
5) เครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer (ICP)
6) เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆที่ใช้ในการวิเคราะห์

### สารเคมี

1) Argon gas
2) Ammonium fluoride ($NH_4F$), AR grade
3) Ammonium molybdate $\left[(NH_4)_4Mo_7O_{24}.4H_2O\right]$, AR grade
4) Antimony potassium tartrate $\left[KOOC(CHOH)_2COOSbO.1/2H_2O\right]$, AR grade
5) Ascorbic acid ($C_6H8O_6$), AR grade
6) Hydrochloric acid 36 -38 % (HCl), AR grade
7) Phosphate standard solution ($PO_4^{3-}$) concentration 1000 mg./L
8) Sodium bicarbonate
9) Sulfuric acid 98 % ($H_2SO_4$)
10) วัสดุอ้างอิงรับรอง/วัสดุอ้างอิงมาตรฐาน (CRM/SRM)

- วัสดุอ้างอิงรับรอง CRM GB 02 (Sandy soil) (38±4 mg/kg Available Phosphorus by Olsen)
- วัสดุอ้างอิงรับรอง CRM GBW07417a (90±10 mg/kg Available Phosphorus extraction by $NaHCO_3$)

## วิธีการ

1. หาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง ICP (Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer) ในการวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดิน เช่น Wavelenght, Sampleflowrate, Neubilizerflowrate, Plasma flow rate และ plasma scanning เป็นต้น
2. วิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดิน (Olsen et.al., 1954)
   2.1 ชั่งตัวอย่างดินที่บดร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร จำนวน 1.25 กรัม ใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 50 มิลลิลิตร
   2.2 เติมสารละลาย Olsen (ชั่ง $NaHCO_3$ 42 กรัม ใส่ในขวดปรับปริมาตร ขนาด 1,000 มิลลิลิตร ละลายด้วยน้ำกลั่น 950 มิลลิลิตร ปรับ pH เป็น 8.5 ด้วย 1 M NaOH จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร แล้วนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่มีความเร็วรอบ 160 rpm เป็นเวลา 30 นาที แล้วกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 5
   2.3 ดูดสารละลายตัวอย่างที่ผ่านการกรองแล้วมา 10 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร หยด p-nitrophenon 10 หยด เติม 2.5 M $H_2SO_4$ ให้สีหายไป แล้วเติมสารละลาย Ammonium molybdate ascorbic acid ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น แล้วเขย่าให้เข้ากัน
   2.4 สารละลายมาตรฐานฟอสเฟตความเข้มข้นที่ได้จากการหาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง ICP (ข้อ 1) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ตามลำดับ แล้วเติมสารละลาย Ammonium molybdate ascorbic acid ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น แล้วเขย่าให้เข้ากัน
   2.5 นำสารละลายตัวอย่าง (ข้อ 2.3) และสารละลายมาตรฐานฟอสเฟต (ข้อ 2.4) ไปวัดด้วยเครื่อง ICP (Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer)
3. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดินที่สกัดด้วยวิธี Olsen (Olsen *et al*., 1954) และวัดปริมาณโดยวิธี Inductively Coupled Plasma Emission Spectroscopic ดังนี้
   3.1 Linearity / range ทดสอบโดยการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐานฟอสฟอรัสที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน 12 ความเข้มข้น คือที่ความเข้มข้น 0, 0.2, 0.5, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 50, 100, 200 มิลลิกรัม/ลิตร ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ ประเมินค่า correlation coefficient; r ที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง response และปริมาณความเข้มข้นของฟอสฟอรัส ($r \geq 0.995$)
   3.2 หาค่าขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ) โดยใช้ค่า SD- standard deviation ของการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีฟอสฟอรัสปริมาณน้อย จำนวน 10 ซ้ำ บันทึกข้อมูลคำนวณหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

   คำนวณค่า LOD และ LOQ จากสูตร

   $$LOD = \overline{X} + 3SD$$

   $$LOQ = \overline{X} + 10SD$$

   3.3 หาค่า Trueness และ precision ที่ระดับความเข้มข้นต่ำชั่งตัวอย่างดินที่มีสารที่สนใจในปริมาณน้อย เติม CRM GB 02 ได้ที่ระดับความเข้มข้น LOQ (ต่ำ) ที่ระดับความเข้มข้นกลาง (45 mg/kg) โดยใช้ CRM GB 02 ที่ระดับความเข้มข้นสูง (90 mg/kg) โดยใช้ CRM GBW07417a ดำเนินการทดสอบตามวิธีทดสอบฟอสฟอรัส โดยทำการทดสอบ 10 ซ้ำ และต่างวันเวลา ประเมินผลการทดสอบ จาก % Recovery และ HorRat 0.3 - 1.3 (Eurachem, 2014; AOAC, 2016)

   การคำนวณ % Recovery จากสูตร

- กรณีมีการ Spiked sample

$$\%Recovery = \frac{(\text{ความเข้มข้นของ Spiked sample - ความเข้มข้นของตัวอย่างเริ่มต้น}) \times 100}{\text{ความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมลงไป}}$$

- กรณีการวิเคราะห์ CRM

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

3.4 การคำนวณ Precision

$$HorRat = \frac{RSD}{PRSD\ (R)}$$

โดยที่ $RSD = \frac{SD}{Mean} \times 100$

$PRSD\ (R) = 2C^{-0.15}$

เมื่อ C (mass fraction) ค่าเฉลี่ยผลการทดสอบ x $10^{-6}$ เมื่อความเข้มข้นของตัวอย่างมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร (mg/l)

3.5 ตรวจสอบความคงทนของวิธีทดสอบโดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อยจากสภาวะปกติ (Ruggedness) โดยเปลี่ยนแปลง น้ำหนัก ปริมาตรน้ำยาสกัด และเวลาเขย่า 3 พารามิเตอร์ คือ น้ำหนักตัวอย่าง เวลาในการสกัด ปริมาณน้ำยาสกัด และความเป็นกรดด่าง โดยน้ำหนักตัวอย่างเปลี่ยนจาก 1.25 กรัม เป็น 1.20 กรัม เวลาในการสกัดจาก 30 นาที เป็น 28 นาที และปริมาณน้ำยาสกัดจาก 25 มิลลิลิตร เป็น 23 มิลลิลิตร

**ระยะเวลา** เริ่มต้น 1 ตุลาคม 2562 สิ้นสุด 30 กันยายน 2564

**สถานที่ทำการทดลอง** ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ดิน กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

## ผลการวิเคราะห์และวิจารณ์

ได้มีแนวทางในการพัฒนาวิธีวิเคราะห์และการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ และใช้เครื่อง ICP (Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer) จาก อมรา และคณะ (2553) จึงได้ทำเนินการวิจัยดังหัวข้อต่างๆ ต่อไปนี้

1. สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง ICP (Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer) ในการวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดิน

สภาวะของเครื่อง ICP ที่ใช้ในการวัดฟอสฟอรัส ใช้ค่า wavelength ที่ 214.914 plasma view ใช้มุมมอง radial ส่วน plasma flow, auxiliary flow, nebulizer flow, RF-power, Pump Flow และ Uptake ใช้ที่ 16 ลิตรต่อนาที, 0.80 ลิตรต่อนาที, 1.20 ลิตรต่อนาที, 1.300 กิโลวัตต์, 25 รอบต่อนาที และ 25 วินาที ดังตารางที่ 1

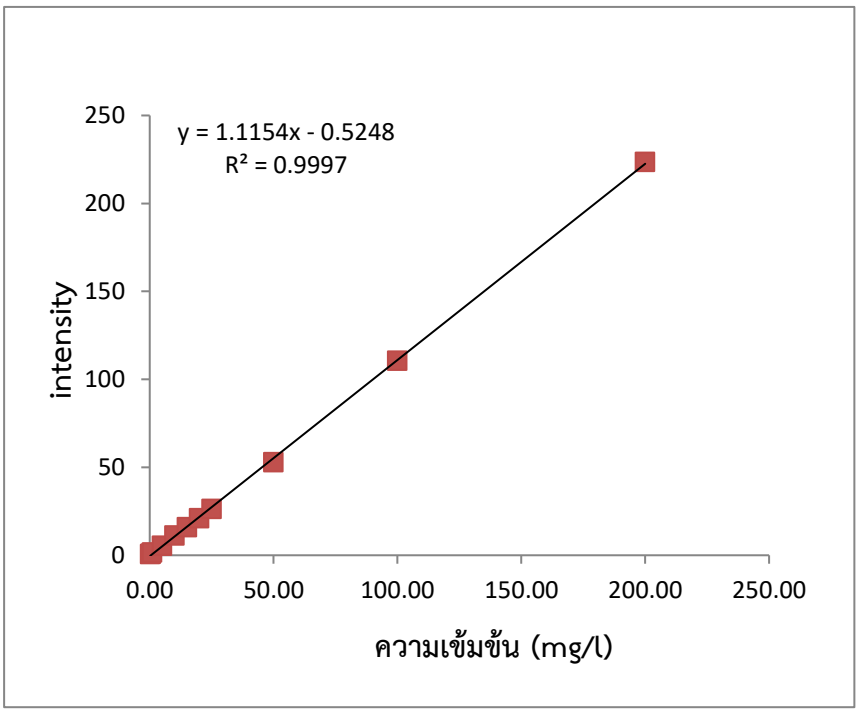
**ตารางที่ 1** สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง ICP ที่ใช้ในการวัดฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดิน

| Parameter | Wave Length (nm) | Plasma View | Plasma (LPM) | Aux (LPM) | Neb (LPM) | RF Power (Kw) | Pump Flow (RPM) | Uptake (min) | Conc. of STD (ppm) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| P | 214.914 | Radail | 16 | 0.80 | 1.20 | 1.300 | 25 | 25 | 0, 0.5, 1, 10, 50, 100, 200 |

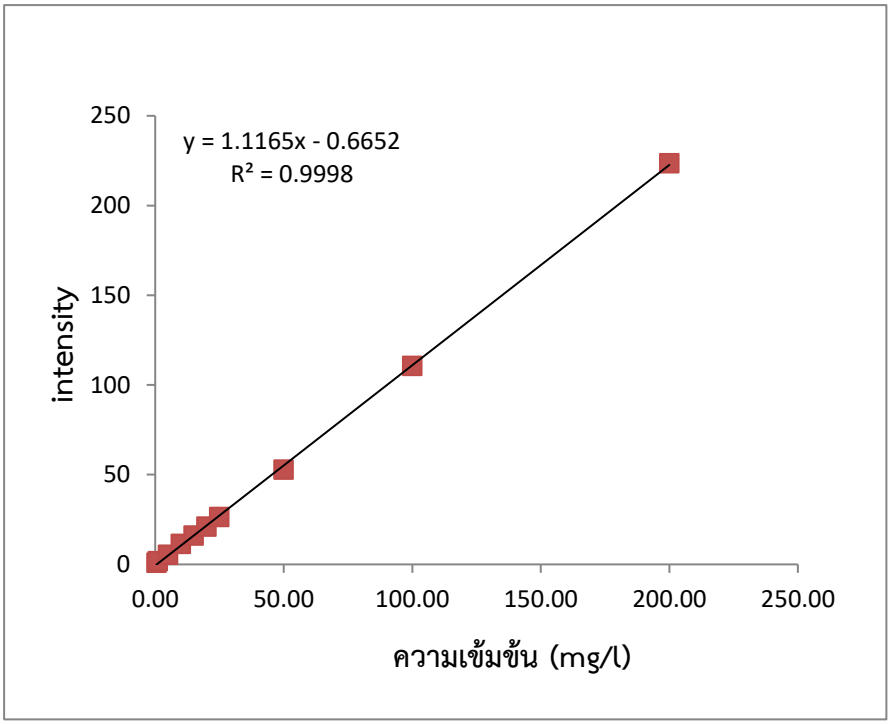
โดย Adesanwo *et al.* (2013) ได้ทำการวิจัยค่าฟอสฟอรัสที่สกัดจากดิน เปรียบเทียบการวัดระหว่างเครื่องทีวัดสี กับ เครื่อง ICP

2. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดินที่สกัดด้วยวิธี Olsen และวัดปริมาณโดยวิธี Inductively Coupled Plasma Emission Spectroscopic ดังนี้

2.1 Linearity / range ทดสอบโดยการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐานฟอสเฟตที่ทราบความเข้มข้น 12 ความเข้มข้นคือ 0, 0.2, 0.5, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 50, 100, 200 มิลลิกรัม/ลิตร ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ ประเมินค่า correlation coefficient; r ของ Linearity เท่ากับ 0.9997 ของ range เท่ากับ 0.9998 ดังภาพที่ 1 และภาพที่ 2 ตามลำดับ




ภาพที่ 1 กราฟประเมินค่า correlation coefficient ของ Linearity ที่วัดด้วยเครื่อง ICP




ภาพที่ 2 กราฟประเมินค่า correlation coefficient ของ range ที่วัดด้วยเครื่อง ICP

2.2 หาค่าขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ) โดยใช้ค่า SD- standard deviation ของการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีฟอสฟอรัสปริมาณน้อย จำนวน 10 ซ้ำ บันทึกข้อมูลคำนวณหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) โดยวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีฟอสฟอรัสปริมาณน้อย จำนวน 10 ซ้ำ คำนวณหาค่า X และ SD ของ P (mg/kg) ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 2

**ตารางที่ 2** ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีฟอสฟอรัสปริมาณน้อย จำนวน 10 ซ้ำ เพื่อหาค่า LOD และ LOQ

| ซ้ำที่ | น้ำหนักของตัวอย่างที่มีฟอสฟอรัสปริมาณน้อย (กรัม) | P (mg/kg) |
|---|---|---|
| 1 | 1.25 | 2.0101 |
| 2 | 1.25 | 1.3664 |
| 3 | 1.25 | 1.1068 |
| 4 | 1.25 | 3.2806 |
| 5 | 1.25 | 2.5775 |
| 6 | 1.25 | 3.0999 |
| 7 | 1.25 | 1.1974 |
| 8 | 1.25 | 1.1068 |
| 9 | 1.25 | 2.9323 |
| 10 | 1.25 | 2.7451 |
| | $\overline{X}$ | 2.1423 |
| | SD | 0.8848 |

จากข้อมูลตารางที่ 2 นำมาหาค่า LOD และ LOQ

ดังนั้น LOD = 3SD = 3 (0.8848) = 2.6545

LOQ = 10SD = 10 (0.8848) = 8.8484

สรุปได้ว่า P (mg/kg) ต่ำสุดที่สามารถวัดได้ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% คือ 2.6545 mg/kg และ P (mg/kg) ที่สามารถนำมารายงานผลได้ต้องไม่ต่ำกว่า 8.8484 mg/kg

2.3 หาค่า Trueness และ precision ที่ความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง

2.3.1 หาค่า Trueness ที่ระดับความเข้มข้นต่ำชั่งตัวอย่างดินที่มีสารที่สนใจในปริมาณน้อย เติม CRM GB 02 ได้ที่ระดับความเข้มข้น LOQ (ต่ำ) ที่ระดับความเข้มข้นกลาง (45 mg/kg) โดยใช้ CRM GB 02 ที่ระดับความเข้มข้นสูง (90 mg/kg) โดยใช้ CRM GBW07417a ให้ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 3 แล้วนำมาคำนวณหา % Recovery ของการวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดิน ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง เท่ากับ 98.27, 93.49 และ 102.14 % ตามลำดับ ค่า HorRat ของการวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดิน ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง เท่ากับ 1.04, 0.80 และ 0.69 ตามลำดับ

พบว่า Trueness (เกณฑ์ยอมรับ %recovery ความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง = 80-110 % และ Precision (เกณฑ์ยอมรับ 0.3 - 1.3) ผ่านเกณฑ์ยอมรับ

**ตารางที่ 3** ผลการพิสูจน์ Trueness และ Precision ของการวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดิน ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง

| ซ้ำที่ | P (mg/kg) | | |
|---|---|---|---|
| | ค่าต่ำ | ค่ากลาง | ค่าสูง |
| 1 | 11.23 | 42.81 | 89.51 |
| 2 | 10.09 | 39.39 | 91.35 |
| 3 | 9.72 | 44.09 | 92.79 |
| 4 | 11.39 | 46.61 | 97.57 |
| 5 | 9.41 | 44.21 | 97.90 |
| 6 | 11.17 | 40.28 | 97.90 |
| 7 | 11.02 | 40.06 | 95.18 |
| 8 | 10.49 | 39.84 | 85.33 |
| 9 | 12.40 | 41.40 | 89.68 |
| 10 | 11.51 | 42.02 | 82.04 |
| Average | 10.84 | 42.07 | 91.93 |
| SD | 0.91 | 2.35 | 5.45 |
| % Recovery | 98.27 | 93.49 | 102.14 |
| RSD | 11.54 | 7.17 | 5.60 |
| RSD (R) | 11.11 | 9.07 | 7.94 |
| HorRat | 1.04 | 0.80 | 0.69 |

ซึ่ง Latrou *et al.* (2014) ได้วิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดิน ในน้ำยาสกัดหลายๆ ชนิด เช่น น้ำยาสกัด Olsen หรือน้ำยาสกัด Mehlich 3 ซึ่งน้ำยาสกัด Olsen เป็นน้ำยาสกัดที่เลือกใช้ และวิธีการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีที่ดำเนินการมาเป็นไปในทิศทางเดียวกับ CAMELIA *et al.* (2012)

2.4 ตรวจสอบความคงทนของวิธีทดสอบ

ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ ชั่งตัวอย่างดินที่มีสารที่สนใจในปริมาณน้อย เติม CRM GB 02 ได้ที่ระดับความเข้มข้น LOQ (ต่ำ) ที่ระดับความเข้มข้นกลาง (45 mg/kg) โดยใช้ CRM GB 02 ที่ระดับความเข้มข้นสูง (90 mg/kg) โดยใช้ CRM GBW07417a โดยแต่ละพารามิเตอร์ทำ 10 ซ้ำ แล้วนำมาคำนวณหา % Recovery ดังตารางที่ 4-6 พบว่า % Recovery ความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง อยู่ในช่วง 80-110 ซึ่งเป็นเกณฑ์ยอมรับ ดังน้ำแสดงว่าผ่านเกณฑ์ยอมรับ

**ตารางที่ 4** ผลการทดสอบความคงทนของวิธีทดสอบโดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อยจากสภาวะปกติ (Ruggedness) ที่ระดับความเข้มข้น LOQ (ต่ำ)

| ซ้ำที่ | ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดิน (มิลลิกรัม/กิโลกรัม) | | |
|---|---|---|---|
| | น้ำหนักตัวอย่าง | เวลาในการสกัด | ปริมาณน้ำยาสกัด |
| 1 | 10.26 | 11.41 | 9.66 |
| 2 | 10.59 | 10.82 | 9.49 |
| 3 | 11.16 | 9.45 | 11.06 |
| 4 | 11.74 | 10.52 | 11.41 |
| 5 | 10.72 | 11.70 | 10.65 |
| 6 | 9.36 | 9.93 | 10.32 |
| 7 | 11.38 | 11.17 | 11.37 |
| 8 | 11.49 | 9.39 | 10.16 |
| 9 | 11.71 | 10.16 | 9.82 |
| 10 | 9.34 | 10.95 | 11.04 |
| Average | 10.78 | 10.55 | 10.50 |
| SD | 0.89 | 0.80 | 0.71 |
| % Recovery | 97.52 | 94.98 | 94.41 |

**ตารางที่ 5** ผลการทดสอบความคงทนของวิธีทดสอบโดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อยจากสภาวะปกติ (Ruggedness) ที่ระดับความเข้มข้นกลาง

| ซ้ำที่ | ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดิน (มิลลิกรัม/กิโลกรัม) | | |
|---|---|---|---|
| | น้ำหนักตัวอย่าง | เวลาในการสกัด | ปริมาณน้ำยาสกัด |
| 1 | 39.05 | 36.91 | 45.02 |
| 2 | 38.96 | 37.65 | 43.77 |
| 3 | 37.86 | 44.00 | 46.22 |
| 4 | 40.45 | 49.18 | 47.32 |
| 5 | 42.21 | 46.63 | 40.09 |
| 6 | 46.38 | 45.56 | 42.42 |
| 7 | 43.30 | 47.06 | 41.14 |
| 8 | 41.21 | 45.29 | 49.10 |
| 9 | 40.17 | 46.70 | 46.95 |
| 10 | 46.30 | 45.10 | 48.53 |
| Average | 41.59 | 44.41 | 45.06 |
| SD | 2.97 | 4.01 | 3.11 |
| % Recovery | 92.43 | 98.69 | 100.13 |

**ตารางที่ 6** ผลการทดสอบความคงทนของวิธีทดสอบโดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อยจากสภาวะปกติ (Ruggedness) ที่ระดับความเข้มข้นสูง

| ซ้ำที่ | ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดิน (มิลลิกรัม/กิโลกรัม) | | |
|---|---|---|---|
| | น้ำหนักตัวอย่าง | เวลาในการสกัด | ปริมาณน้ำยาสกัด |
| 1 | 91.37 | 89.79 | 97.94 |
| 2 | 97.72 | 96.40 | 90.80 |
| 3 | 98.69 | 97.26 | 94.13 |
| 4 | 90.72 | 96.06 | 92.18 |
| 5 | 93.91 | 94.52 | 93.33 |
| 6 | 92.43 | 97.26 | 94.04 |
| 7 | 79.69 | 86.99 | 98.82 |
| 8 | 86.02 | 89.03 | 87.51 |
| 9 | 91.46 | 92.23 | 98.58 |
| 10 | 97.22 | 90.21 | 93.96 |
| Average | 91.92 | 92.97 | 94.13 |
| SD | 5.76 | 3.80 | 3.59 |
| % Recovery | 102.14 | 103.30 | 104.59 |

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

ได้สภาวะของเครื่อง ICP ที่ใช้ในการวัดฟอสฟอรัส ใช้ค่า wavelength ที่ 214.914 plasma view ใช้มุมมอง radial ส่วน plasma flow, auxiliary flow, nebulizer flow, RF-power, Pump Flow และ Uptake ใช้ที่ 16 ลิตรต่อนาที, 0.80 ลิตรต่อนาที, 1.20 ลิตรต่อนาที, 1.300 กิโลวัตต์, 25 รอบต่อนาที และ 25 วินาที

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ พบว่า มีค่า correlation coefficient; r ของ Linearity เท่ากับ 0.9997 ของ range เท่ากับ 0.9998 ประเมินหาปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (LOD) เท่ากับ 2.6545 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ (LOQ) เท่ากับ 8.8484 มิลลิกรัม/กิโลกรัม การพิสูจน์ความแม่น (Trueness) มี % Recovery ผ่านเกณฑ์กำหนด 80 - 110 % ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และ สูง ตามที่มาตรฐานกำหนด มีความเที่ยง (Precision) ผ่านเกณฑ์กำหนด โดยมีค่า HorRat 0.3 - 1.3

ตรวจสอบความคงทนของวิธีทดสอบโดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อยจากสภาวะปกติ (Ruggedness) 3 พารามิเตอร์ คือ น้ำหนักตัวอย่าง เวลาในการสกัด ปริมาณน้ำยาสกัด และความเป็นกรดด่าง โดยน้ำหนักตัวอย่างเปลี่ยนจาก 1.25 กรัม เป็น 1.20 กรัม เวลาในการสกัดจาก 30 นาที เป็น 28 นาที และปริมาณน้ำยาสกัดจาก 25 มิลลิลิตร เป็น 23 มิลลิลิตร ที่ระดับความเข้มข้นต่ำชั่งตัวอย่างดินที่มีสารที่สนใจในปริมาณน้อย เติม CRM GB 02 ได้ที่ระดับความเข้มข้น LOQ (ต่ำ) ที่ระดับความเข้มข้นกลาง (45 mg/kg) โดยใช้ CRM GB 02 ที่ระดับความเข้มข้นสูง (90 mg/kg) โดยใช้ CRM GBW07417a โดยแต่ละพารามิเตอร์ทำ 10 ซ้ำ แล้วนำมาคำนวณหา % Recovery พบว่า % Recovery ความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง อยู่ในช่วง 80-110 ซึ่งเป็นเกณฑ์ยอมรับ ดังน้ำแสดงว่าผ่านเกณฑ์ยอมรับ

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

การวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดิน ได้รับการตรวจสอบความใช้ได้แล้วว่า เป็นวิธีมาตรฐาน เป็นวิธีที่มีความถูกต้อง เหมาะสมที่จะนำมาใช้และครอบคลุมความต้องการในการนำมาใช้ในการวิเคราะห์ดิน และสามารถรายงานผลการวิเคราะห์ได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ และเชื่อถือได้ กลุ่มเป้าหมายคือ ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ดิน

## เอกสารอ้างอิง


อมรา หาญจวณิช สงกรานต์ มะลิสอน พงศ์พิศ แก้วสุข และ วรรณรัตน์ ชุติบุตร. 2553. พัฒนาวิธีวิเคราะห์และการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง ธาตุอาหารเสริม และสารพิษในปุ๋ย โดยใช้เครื่อง Inductively Coupled Plasma (ICP). ใน รายงานผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2553 เล่มที่ 2 สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร.

AOAC. 2016. Official Method of Analysis of AOAC International. 20th Ed. AOAC International Gaithersburg, Maryland. USA.

Adesanwo, O. O., Ige, D. V., Thibault, L., Flaten, D. and W. Akinremi. 2013. Comparison of Colorimetric and ICP Methods of Phosphorus Determination in Soil Extracts. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 44:3061–3075,

Bray, R.H. and L.T. Kurtz. 1945. Determination of Total, Organic and Available Forms of Phosphorus in Soil. Soil Sci. 59:39-45

DRĂGHICI, CRISTINA JELESCU, CARMEN DIMA, MIHAELA SICA, ELISABETA CHIRILĂ, SIMONA DOBRINAŞ and ALINA SOCEANU. 2012. Method validation and uncertainty estimation for total phosphorus determination in wastewater sludge samples. STUDIA UBB CHEMIA, LVII, 1, 93 - 102

Eurachem. 2014. The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics.

Latrou, M., Papadopoulos, A., Papadopoulos, F., Dichala, O., Psoma, P., AND A. Bountla. 2014. Determination of Soil Available Phosphorus using the Olsen and Mehlich 3 Methods for Greek Soils Having Variable Amounts of Calcium Carbonate. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 45:16, 2207-2214

Olsen, S.R., Cole, C.V., Watanabe, F.S. and L.A. Dean. 1954. Estimation of available phosphorus in soil by extraction with sodium bicarbonate. vol. 939. U.S.Gov.Print Office, Washington D.C, pp. 1-19.

# พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โพแทสเซียม โซเดียม แคลเซียม และแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน ด้วยเทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี

# Method Validation and Development of Exchangeable Potassium, Sodium, Calcium and Magnesium in Soil by Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer

*สุภา โพธิจันทร์* *ญาณธิชา จิตต์สะอาด* *สงกรานต์ มะลิสอน* *จิตติรัตน์ ชูชาติ*
*พจมาลย์ ภู่สาร* *กัญฐณา คล้ายแก้ว*

*Supha Photichan* *Yarnticha Jittsa-aad* *Songkrant Malisorn* *Jittirat Choochart*
*Pojjamarn Poosarn* *Kanthana Klaigaew*

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

## ABSTRACT

Method validation and development of exchangeable Potassium (K), Sodium (Na), Calcium (Ca) and Magnesium (Mg) in soil by inductively coupled plasma emission spectrophotometer was intended to enhance optional analytical techniques for soil K, Na, Ca and Mg test items that are accurate, precise, fast and acceptable. Finding the condition of ICP, the extraction time for a single analysis of K, Na, Ca and Mg method validation. It was found that the optimum extraction time was 30 min. The LOQ values were at levels 15.50, 18.01, 14.82 and 17.40 mg/kg for K, Na, Ca and Mg respectively, with a correlation coefficient (r) indicating the linearity of the Linearity range and the working range passed the criteria. Trueness with % Recovery passed the criteria 80 - 110 %, 90 - 107% and 95-105% at low, medium and high concentrations as specified by the standard, with precision passed the criteria, with HorRat values < 1.3 for all analyzes at low, medium and high concentrations. The Ruggedness test by planning 7 variable and 8 experiments using the Youden-Steiner testing, it was found that the extract pH cannot be changed in the analysis process. The sample should be filtered until dry. The samples should be measured within 1 day. In conclusion, exchangeable K, Na, Ca and Mg in the soil analysis by using ICP, the accuracy, accuracy, reliability and traceability of the results ensure confidence in the analysis results. and is accepted according to international standards Saves up to 29.5% on analysis costs and can analyze up to 8 times the number of samples compared to the AAS and fame photometer method.

**Keyword**: exchangeable potassium, sodium, calcium, magnesium, Inductively Coupled Plasma (ICP)

## บทคัดย่อ

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โพแทสเซียม (K) โซเดียม (Na) แคลเซียม (Ca) และแมกนีเซียม (Mg) ที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน โดยใช้เครื่อง Inductively Coupled Plasma (ICP) มีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มเทคนิควิธีการวิเคราะห์ที่เป็นทางเลือก ในรายการทดสอบ K, Na, Ca และ Mg ในดิน ที่มีความแม่น เที่ยงตรง รวดเร็ว และเป็นที่ยอมรับ โดยหาสภาวะเครื่องมือ หาเวลาการสกัดตัวอย่างดินที่เหมาะสม สำหรับวิเคราะห์ K, Na, Ca และ Mg ในครั้งเดียว และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี พบว่า เวลาในการสกัดที่เหมาะสมคือ 30 นาที จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP พบว่า ปริมาณต่ำสุดที่สามารถรายงานผลได้อยู่ในระดับ 15.50, 18.01, 14.82 และ 17.40 มก/กก. สำหรับ K, Na, Ca และ Mg ตามลำดับ มีค่า correlation coefficient (r) ที่แสดงความเป็นเส้นตรงของ Linearity range และ Working range ผ่านเกณฑ์กำหนด การพิสูจน์ความแม่น (Trueness) มี % Recovery ผ่านเกณฑ์กำหนด 80 - 110 %, 90 - 107 % และ 95-105% ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และ สูง ตามที่มาตรฐานกำหนด มีความเที่ยง (Precision) ผ่านเกณฑ์กำหนด โดยมีค่า HorRat < 1.3 ทุกรายการวิเคราะห์ ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และ สูง และจากการทดสอบ Ruggedness โดยการวางแผนการทดลอง 7 ตัวแปร 8 การทดลอง โดยใช้ Youden-Steiner testing พบว่า ในขั้นตอนการวิเคราะห์ไม่สามารถเปลี่ยนแปลง pH น้ำยาสกัดได้ ควรกรองตัวอย่างจนแห้ง และควรวัดตัวอย่างภายใน 1 วัน สรุปว่า ในการวิเคราะห์ K, Na, Ca และ Mg ที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน โดยใช้เครื่อง ICP ความแม่น แม่นยำ น่าเชื่อถือ สอบกลับได้ ทำให้เกิดความเชื่อมั่นในผลการวิเคราะห์ และเป็นที่ยอมรับตามมาตรฐานสากล ประหยัดค่าจ่ายในการวิเคราะห์ไปได้ถึงร้อยละ 29.5 และสามารถวิเคราะห์ได้จำนวนตัวอย่างเพิ่มขึ้นถึง 8 เท่า เมื่อเทียบกับวิธีเดิม



**คำหลัก :** โพแทสเซียม โซเดียม แคลเซียม และแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน เครื่อง Inductively Coupled Plasma (ICP)


## คำนำ

การวิเคราะห์ดิน เป็นวิธีที่ทำให้ทราบถึงความอุดมสมบูรณ์ดิน เพื่อลดการใช้ปัจจัยการผลิต โดยเฉพาะอย่างยิ่งลดการใช้ปุ๋ยเคมี หรือการใช้ปุ๋ยเคมีอย่างมีประสิทธิภาพตามความอุดมสมบูรณ์ ลดการปนเปื้อนของปุ๋ยสู่สิ่งแวดล้อม การวิเคราะห์ดินประกอบด้วย 2 ขั้นตอนหลัก คือ ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างและขั้นตอนการวิเคราะห์ตัวอย่าง สำหรับการวิเคราะห์ K, Na, Ca และ Mg ที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน จะเตรียมตัวอย่างด้วยการสกัดดินด้วยน้ำยาสกัดที่สามารถแลกเปลี่ยน K, Na, Ca และ Mg ไอออนในดินได้ ซึ่งน้ำยาสกัดที่ใช้กันทั่วไป คือ 1N $NH_4OAc$ จากนั้นนำไปวิเคราะห์ปริมาณด้วยเครื่อง Flame photometer สำหรับ K และ Na และ Atomic adsorption spectrophotometer สำหรับ Ca และ Mg (กรมวิชาการเกษตร, 2553) ซึ่งทำให้เสียเวลาในการวิเคราะห์เนื่องจากเครื่องไม่สามารถวัดได้ทั้ง 4 ธาตุในเวลาเดียวกัน ดังนั้น จึงควรปรับปรุง และพัฒนาวิธีวิเคราะห์ให้ทันสมัยความแม่น แม่นยำ รวดเร็ว ประหยัด จึงได้นำเครื่อง Inductively Coupled Plasma (ICP) มาใช้ โดยอาศัยหลักการที่ทำให้สารที่วิเคราะห์เปลี่ยนสถานะจากสถานะพื้นไปยังสถานะกระตุ้นด้วยกระบวนการที่เหมาะสม ทำให้อะตอมของสารนั้นสามารถปล่งแสงออกมาในช่วงยูวี วิสิเบิล และมีลักษณะเฉพาะตัว (แม้น และ อมร, 2534) และเนื่องจากเครื่องมือนี้สามารถวิเคราะห์ได้พร้อมกันหลายธาตุ ทำให้ประหยัด รวดเร็วในการวิเคราะห์ แต่ในการที่จะนำวิธีวิเคราะห์ดังกล่าวมาใช้ จำเป็นต้องมีการพัฒนาเทคนิควิธีการวิเคราะห์ เพื่อหาสภาวะที่ถูกต้องในการใช้เครื่องมือ เปรียบเทียบความสามารถระหว่างวิธีวิเคราะห์ใหม่กับวิธีวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการในปัจจุบัน และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ โดยพิสูจน์ความแม่น (Trueness) ความเที่ยง (Precision) ช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง (Range, Linearity) ปริมาณต่ำสุดของสารที่สามารถตรวจวัด (Limit of detection ; LOD) และรายงานผลได้ (Limit of Quantitation ; LOQ) เพื่อให้มั่นใจในความแม่น เที่ยงตรง และเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียม โซเดียม แคลเซียม และแมกนีเซียม 1000 มิลลิกรัม/ลิตร
2. Ammonium acetate
3. Ammonium hydroxide
4. Acetic acid
5. ก๊าซอาร์กอน
6. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง
7. เครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer (ICP)
8. เครื่องเขย่า
9. pH meter
10. เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์

### วิธีการ

1. หาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง ICP (Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer) ในการวิเคราะห์ K, Na, Ca และ Mg
   1.1 เตรียมสารละลายมาตรฐาน K, Na, Ca และ Mg นำสารละลายมาตรฐานไปวัดด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer (ICP-OES)
   1.2 ทำการปรับสภาวะของเครื่อง ได้แก่ wavelength plasma view ใช้มุมมอง Radial ค่า plasma flow, auxiliary flow, nebulizer flow, RF-power, Pump flow และ Uptake
   1.3 สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน กับสัญญาณของเครื่องมือ และเลือกสภาวะที่เหมาะสมโดยพิจารณาจากค่า correlation coefficient (r) ที่สูงที่สุด
2. หาเวลาการสกัดตัวอย่างดินที่เหมาะสม สำหรับวิเคราะห์ K, Na, Ca และ Mg ในครั้งเดียว
   สกัดดินด้วย 1N $NH_4OAc$ อัตราส่วน ดินต่อน้ำยาสกัด (1:10) เขย่าเวลา 5, 15 และ 30 นาที วิเคราะห์หา K, Na, Ca และ Mg ด้วยเครื่อง ICP โดยใช้สภาวะที่ได้จากข้อ 1 พิจารณาวิธีการสกัดที่เหมาะสมโดยใช้สถิติ ANOVA
3. ศึกษาการรบกวนกันของธาตุ K, Na, Ca และ Mg ในการวัดด้วยเครื่อง ICP ในเวลาเดียวกัน ที่ความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง
   3.1 เตรียมสารละลายมาตรฐาน K, Na, Ca และ Mg จำนวน 8 ความเข้มข้น เติมลงตัวอย่างดินอ้างอิงภายใน S-004 ซึ่งเป็นตัวอย่างที่มีความเข้มข้นต่ำ ตัวอย่างละ 1 ความเข้มข้น
   3.2 สกัดดินตามวิธีการในข้อ (2) และนำไปวัดหาปริมาณ K, Na, Ca และ Mg ด้วยเครื่อง ICP
   3.3 สร้างกราฟมาตรฐานระหว่าง intensity กับความเข้มข้น คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างระหว่างความชันของกราฟสารละลายมาตรฐาน และกราฟสารละลายมาตรฐานที่เติมลงในตัวอย่างดิน (%RPD) และคำนวณค่า % recovery
4. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ แบ่งออกเป็น
   4.1 การศึกษาความเป็นเส้นตรง (linearity)
      4.1.1 เตรียมสารละลายมาตรฐาน K, Na และ Mg ที่ช่วงความเข้มข้น 0, 1, 10, 20, 40, 60, 80, 100 และ 120 mg/L Ca ช่วงความเข้มข้น 0, 1, 10, 50, 100, 150, 200, 250 และ 300 mg/L ใน 1N

$NH_4OAc$ เติมลงในตัวอย่างดินที่มี K, Na, Ca และ Mg ปริมาณน้อย (sample blank) นำไปสกัดตามวิธีการในข้อ (2)

4.1.2 นำไปวัดหาปริมาณ K, Na, Ca และ Mg ด้วยเครื่อง ICP

4.1.3 สร้างกราฟมาตรฐานระหว่าง intensity กับความเข้มข้น หาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง คำนวณหาค่า Correlation Coefficient (r) เพื่อหา linearity

4.2 การศึกษาหาช่วงความเข้มข้นที่ใช้งาน (working range)

4.2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐาน K, Na และ Mg ที่ช่วงความเข้มข้น 0, 1, 10, 20, 40, 60, 80 และ 100 mg/L Ca ช่วงความเข้มข้น 0, 1, 10, 50, 100, 150, 200 และ 250 mg/L ใน 1N $NH_4OAc$ เติมลงในตัวอย่างดินที่มี K, Na, Ca และ Mg ปริมาณน้อย (sample blank) นำไปสกัดตามวิธีการในข้อ (2)

4.2.2 นำไปวัดหาปริมาณ K, Na, Ca และ Mg ด้วยเครื่อง ICP

4.2.3 สร้างกราฟมาตรฐานระหว่าง intensity กับความเข้มข้น หาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง คำนวณหาค่า Correlation Coefficient (r) เพื่อหา working range

4.3 การศึกษาขีดจำกัดในการตรวจพบ Limit of Detection (LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ)

นำตัวอย่างดินที่มี K, Na, Ca และ Mg ปริมาณน้อย (sample blank) ดำเนินการตามวิธีวิเคราะห์และวัดด้วยเครื่อง ICP-OES โดยทำการวิเคราะห์ต่างวัน จำนวน 10 วัน คำนวณค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation ; SD) หาค่า LOD และ LOQ จากสมการ

LOD = 3SD

LOQ = 10SD

4.4 หาค่า Trueness และ precision ของวิธีวิเคราะห์

พิสูจน์หาค่า Trueness และ precision ที่ความเข้มข้นต่ำ ปานกลาง และสูง ความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ (ทำการวิเคราะห์ที่เวลาต่างวัน วันละ 1 ซ้ำ เป็นเวลา 7 วัน) โดยความเข้มข้นต่ำวิเคราะห์ sample blank ที่เติมสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น ที่ระดับ LOQ และ 200 mg/kg สำหรับความเข้มข้นต่ำและปานกลางตามลำดับ ส่วนที่ความเข้มข้นสูงวิเคราะห์ตัวอย่างดินอ้างอิงภายใน (S-003) ที่ผ่านโปรแกรมการทดสอบความชำนาญแล้ว ประเมินผลการทดสอบ และคำนวณทางสถิติ จาก % Recovery และ HorRat < 1.3 โดยใช้เกณฑ์กำหนดตามมาตรฐาน (AOAC, 2016)

4.4.1 การคำนวณ % Recovery จากสูตร

- กรณี fortified sample

$$\%\ \text{Total recovery} = \frac{\text{ความเข้มข้นของ fortified sample x 100}}{\text{ความเข้มของตัวอย่างเริ่ม + ความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมลงไป}}$$

- กรณีการวิเคราะห์ CRM/IRM

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

4.4.2 การคำนวณ Precision

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

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

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

4.5 ตรวจสอบความคงทนของวิธีทดสอบโดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อยจากสภาวะปกติ

4.5.1 ศึกษาผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงภาวะแวดล้อม ด้วยการทดสอบ Ruggedness โดยการวางแผนการทดลอง 7 ตัวแปร 8 การทดลอง การทดลองละ 4 ซ้ำ ตามวิธี Youden-Steiner testing (สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติ, 2564) (Table 1 และ Table 2) โดยใช้ตัวอย่างดินอ้างอิงภายใน S-004, S-003 และ 0763 ซึ่งมีค่าวิเคราะห์ K, Na, Ca และ Mg ต่ำ ปานกลาง และสูง ตามลำดับ

**Table 1** Variables of experiments under standard conditions and changing conditions

| Variables | Variable definition | Standard conditions | Changing conditions (-) |
|---|---|---|---|
| A | pH of the extraction solution | 7.0 | 6.8 |
| B | Soil weight (g) | 2.50 | 2.55 |
| C | Volume of extraction solution (ml) | 25.0 | 24.5 |
| D | Shaking speed (rpm) | 190 | 180 |
| E | Sample filtering after shaking | Immediately | 15 minute after shaking |
| F | Sample filtering | Until dry | 30 minutes |
| G | Waiting time before instrument | 1 day | 3 day |

**Table 2** Experiments of ruggedness test

| Experiment | Variables | | | | | | | Result |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | A | B | C | D | E | F | G | |
| 1 | + | + | + | + | + | + | + | $Y_1$ |
| 2 | + | + | - | + | - | - | - | $Y_2$ |
| 3 | + | - | + | - | + | - | - | $Y_3$ |
| 4 | + | - | - | - | - | + | + | $Y_4$ |
| 5 | - | + | + | - | - | + | - | $Y_5$ |
| 6 | - | + | - | - | + | - | + | $Y_6$ |
| 7 | - | - | + | + | - | - | + | $Y_7$ |
| 8 | - | - | - | + | + | + | - | $Y_8$ |

4.5.2 คำนวณค่าผลกระทบของตัวแปร (E) ของแต่ละตัวแปร 7 ตัวแปร จาก 8 การทดลอง จากนั้นนำผลการทดสอบมาคำนวณผลกระทบของตัวแปร (E) และค่า S ของการการเปลี่ยนแปลงสภาวะต่างๆ คือ

$$E_A = (Y1 + Y2 + Y3 + Y4)/4 - (Y5 + Y6 + Y7 + Y8)/4$$
$$E_B = (Y1 + Y2 + Y5 + Y6)/4 - (Y3 + Y4 + Y7 + Y8)/4$$
$$E_C = (Y1 + Y3 + Y5 + Y7)/4 - (Y2 + Y4 + Y6 + Y8)/4$$
$$E_D = (Y1 + Y2 + Y7 + Y8)/4 - (Y3 + Y4 + Y5 + Y6)/4$$
$$E_E = (Y1 + Y3 + Y6 + Y8)/4 - (Y2 + Y4 + Y5 + Y7)/4$$
$$E_F = (Y1 + Y4 + Y5 + Y8)/4 - (Y2 + Y3 + Y6 + Y7)/4$$
$$E_G = (Y1 + Y4 + Y6 + Y7)/4 - (Y2 + Y3 + Y5 + Y8)/4$$

โดยใช้เกณฑ์การประเมิน ดังนี้

| E | < S แสดงว่า ไม่มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมของการทดสอบ (David, 2009)

$$\text{โดย } S = \sqrt{\left(\frac{2}{7}\right) x \sum(E^2)}$$

5. วิเคราะห์ความคุ้มค่า โดยเปรียบเทียบต้นทุนการวิเคราะห์ ระยะเวลาการวิเคราะห์ ขั้นตอนการวิเคราะห์ที่เปลี่ยนแปลง และความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์

**ระยะเวลา** เริ่มต้น ตุลาคม 2562 สิ้นสุด กันยายน 2564

**สถานที่ทำการทดลอง** ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

## ผลการทดลองและวิจารณ์

1. สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง ICP (Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer) ในการวิเคราะห์ K, Na, Ca และ Mg

สภาวะของเครื่อง ICP ที่ใช้ในการวัด K, Na, Ca และ Mg ในดิน ใช้ค่า wavelength ที่ 766.491, 589.932, 317.933 และ 285.213 นาโนเมตร ตามลำดับ plasma view ใช้มุมมอง radial ส่วน plasma flow, auxiliary flow, nebulizer flow, RF-power, Pump Flow และ Uptake ใช้ที่ 1.60 ลิตรต่อนาที, 0.80 ลิตรต่อนาที, 1.20 ลิตรต่อนาที, 1.400 กิโลวัตต์, 25 รอบต่อนาที และ 20 วินาทีตามลำดับสำหรับทุกธาตุ ดัง Table 3

**Table 3** ICP condition for K, Na, Ca and Mg determination

| Parameter | Wave Length (nm) | Plasma View | Plasma (LPM) | Aux (LPM) | Neb (LPM) | RF Power (Kw) | Pump Flow (RPM) | Uptake (min) | Conc. of STD (mg/L) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| K | 766.491 | Radail | 1.60 | 0.80 | 1.20 | 1.400 | 25 | 25 | 0, 1, 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100 |
| Na | 589.592 | Radail | 1.60 | 0.80 | 1.20 | 1.400 | 25 | 25 | 0, 1, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 |
| Ca | 317.933 | Radail | 1.60 | 0.80 | 1.20 | 1.400 | 25 | 25 | 0, 10, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350 |
| Mg | 285.213 | Radail | 1.60 | 0.80 | 1.20 | 1.400 | 25 | 25 | 0, 1, 5, 10, 15, 20, 40, 60, 80 |

2. เวลาการสกัดตัวอย่างดินที่เหมาะสม สำหรับวิเคราะห์ K, Na, Ca และ Mg ในครั้งเดียว

จากการวิเคราะห์ตัวอย่างดินอ้างอิงภายใน S-003 ซึ่งมีปริมาณ K, Na, Ca และ Mg สูง โดยใช้เวลาในการสกัด 5, 15 และ 30 นาที เวลาละ 10 ซ้ำ พบว่า ค่าเฉลี่ยของ K, Na, Ca และ Mg ที่สกัด 30 นาที สูงที่สุดและมี %recovery ผ่านเกณฑ์มาตรฐานทุกรายการวิเคราะห์ (Table 4) และเมื่อนำผลวิเคราะห์มาวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้สถิติ ANOVA พบว่า ผลวิเคราะห์ K และ Na มีค่าไม่แตกต่างกัน (Fcal < Fcrit) ส่วนผลวิเคราะห์ Ca และ Mg มีค่าใดค่าหนึ่งแตกต่างกัน (Fcal > Fcrit) (Table 5) จึงเลือกเวลา 30 นาทีในการสกัด K, Na, Ca และ Mg ในครั้งเดียว เนื่องจากเป็นเวลาที่ใช้ในการสกัด Ca และ Mg ในวิธีมาตรฐานและมี %recovery ผ่านเกณฑ์มาตรฐานทุกรายการวิเคราะห์ (95-105%)

**Table 4** K, Na, Ca and Mg result of the internal reference material No. S-763 with different extraction time

| เวลาสกัด (นาที) | K | | Na | | Ca | | Mg | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | mg/kg | %recovery | mg/kg | %recovery | mg/kg | %recovery | mg/kg | %recovery |
| 5 | 396.20 | 93.60 | 1118.40 | 100.63 | 2850.97 | 78.58 | 1686.78 | 95.78 |
| 15 | 393.16 | 92.88 | 1121.10 | 100.87 | 3124.08 | 86.11 | 1697.38 | 96.38 |
| 30 | 404.28 | 95.51 | 1129.50 | 101.63 | 3631.54 | 100.10 | 1740.78 | 98.84 |

**Table 5** The variance (ANOVA) of the internal reference material No. S-763 with different extraction time

ANOVA

| | *Source of Variation* | *SS* | *df* | *MS* | *F* | *P-value* | *F crit* |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **K** | Between Groups | 660.608 | 2 | 330.304 | 1.604202 | 0.219627 | 3.354131 |
| | Within Groups | 5559.28 | 27 | 205.8993 | | | |
| | Total | 6219.888 | 29 | | | | |
| **Na** | Between Groups | 670.2 | 2 | 335.1 | 0.172621 | 0.842378 | 3.354131 |
| | Within Groups | 52413.8 | 27 | 1941.252 | | | |
| | Total | 53084 | 29 | | | | |
| **Ca** | Between Groups | 1187661 | 2 | 593830.7 | 87.7694 | 1.53E-12 | 3.354131 |
| | Within Groups | 182676.8 | 27 | 6765.806 | | | |
| | Total | 1370338 | 29 | | | | |
| **Mg** | Between Groups | 16373.31 | 2 | 8186.653 | 11.43351 | 0.000253 | 3.354131 |
| | Within Groups | 19332.61 | 27 | 716.0225 | | | |
| | Total | 35705.91 | 29 | | | | |

3. การรบกวนกันของธาตุ K, Na, Ca และ Mg ในการวัดด้วยเครื่อง ICP ในเวลาเดียวกัน ที่ความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง

จากการศึกษาการรบกวนกันของ K, Na, Ca และ Mg ในดิน โดยเตรียมสารละลายมาตรฐาน K, Na, Ca และ Mg จำนวน 8 ความเข้มข้น เติมลงตัวอย่างดินอ้างอิงภายใน S-004 ซึ่งเป็นตัวอย่างที่มีความเข้มข้นต่ำ ตัวอย่างละ 1 ความเข้มข้น ดำเนินการตามวิธีวิเคราะห์ วัดปริมาณด้วยเครื่อง ICP-OES สร้างกราฟมาตรฐานระหว่าง intensity กับความเข้มข้น คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างระหว่างความชันของกราฟสารละลายมาตรฐาน และกราฟสารละลายมาตรฐานที่เติมลงในตัวอย่างดิน (%RPD) และคำนวณค่า % recovery พบว่า มีค่า % RPD ของ Slope เท่ากับ 0.68, 1.85, 0.48, 3.23 สำหรับ K, Na, Ca และ Mg ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์กำหนด % RPD ของ Slope < 10% (NATA, 2018) (Figure 1 a-d)

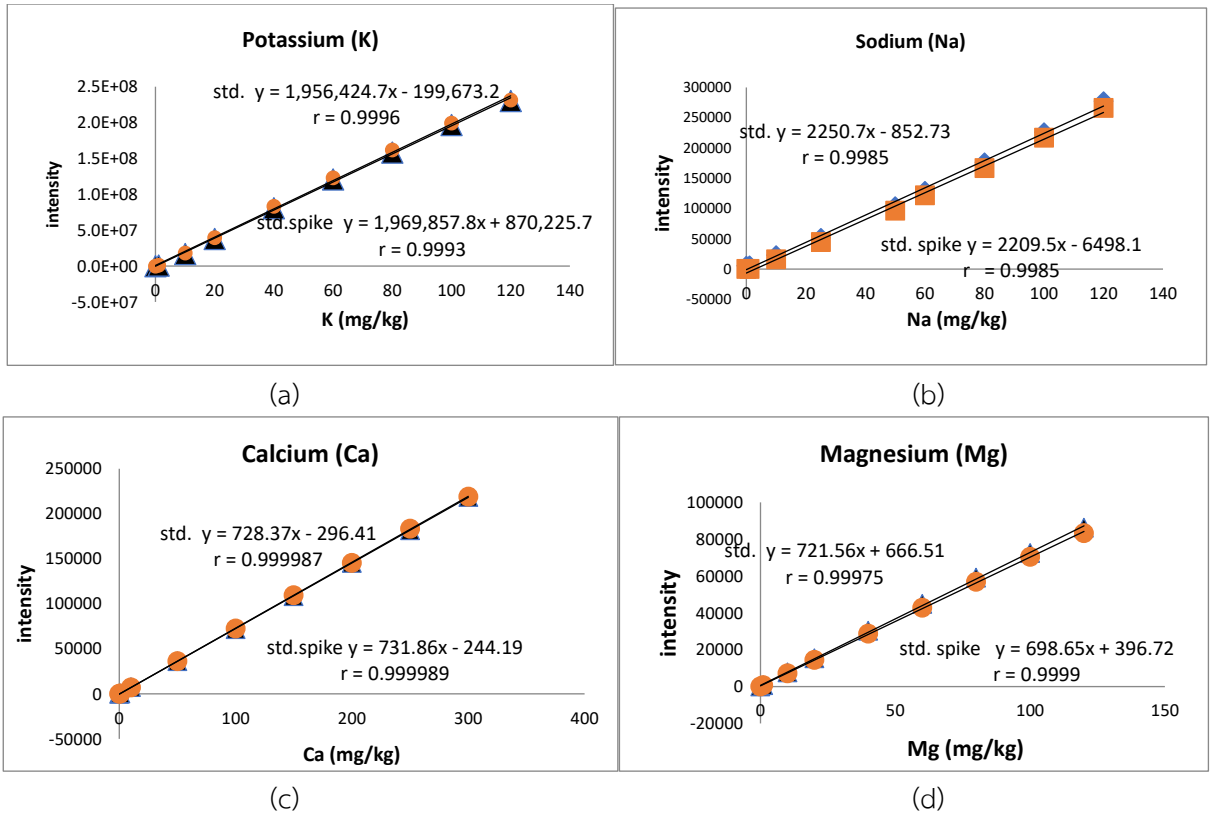



**Figure 1** Comparison between standard solution curves and curves of the standard solution added to the soil sample (a) K, (b) Na, (c) Ca, and (d) Mg

4. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

4.1 การศึกษาความเป็นเส้นตรง (linearity)

จากการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity) โดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานรายการวิเคราะห์ K, Na และ Mg ที่ช่วงความเข้มข้น 0, 1, 10, 20, 40, 60, 80, 100 และ 120 mg/L รายการวิเคราะห์ Ca ช่วงความเข้มข้น 0, 1, 10, 50, 100, 150, 200, 250 และ 300 mg/L ที่เติมตัวอย่างดินที่มีสารที่สนใจในปริมาณน้อย แล้วนำไปวัดด้วยเครื่อง ICP-OES พบว่ามีค่า r เท่ากับ 0.9993, 0.9985, 0.9999, 0.9999 ในรายการวิเคราะห์ K, Na, Ca และ Mg ตามลำดับ ดัง Figure 2 a-d

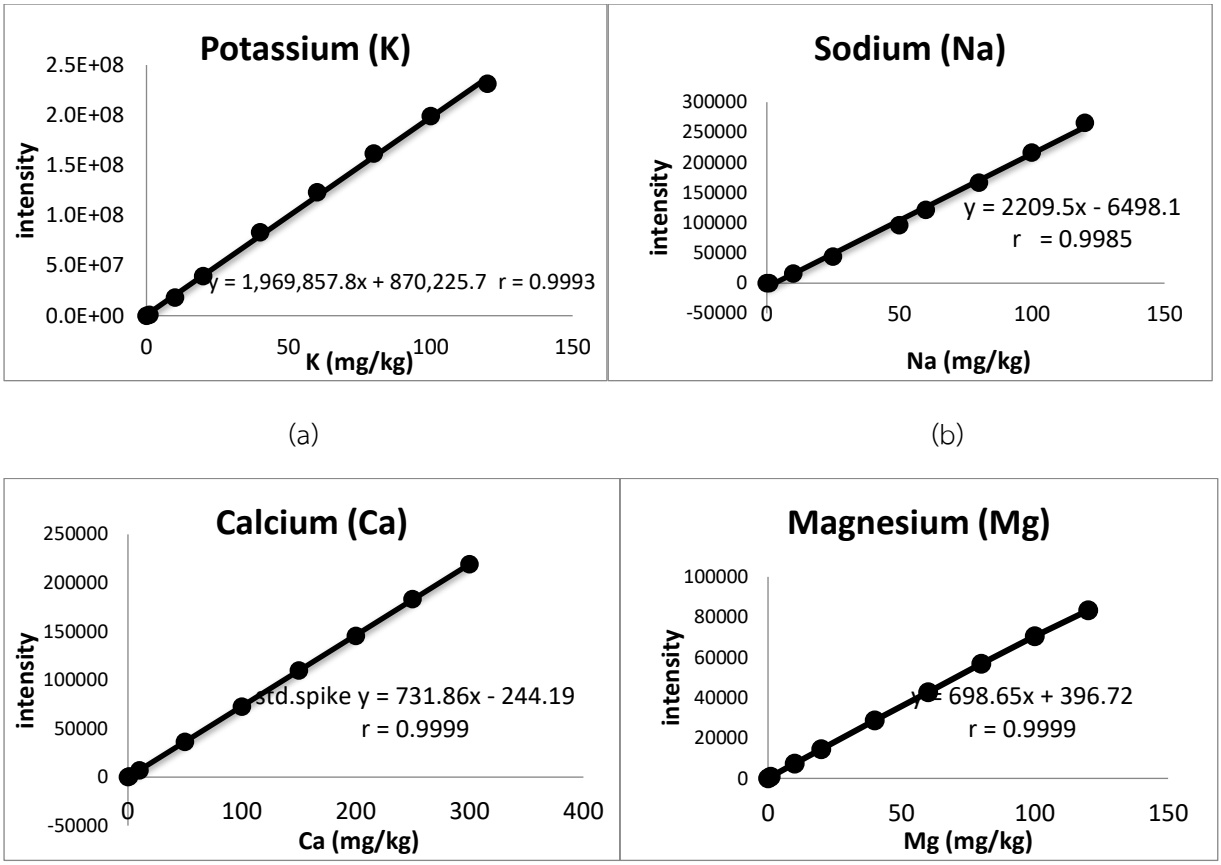



**Figure 2** Correlation between the standard solution filled with low-concentration soil samples and intensity for linearity studies (a) K, (b) Na, (c) Ca, (d) Mg

4.2 การศึกษาหาช่วงความเข้มข้นที่ใช้งาน (working range)

จากการศึกษาความเข้มข้นที่ใช้งาน (working range) โดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานวิเคราะห์ K Na และ Mg ที่ช่วงความเข้มข้น 0, 1, 10, 20, 40, 60, 80 และ 100 มก./ลิตร รายการวิเคราะห์ Ca ช่วงความเข้มข้น 0, 1, 10, 50, 100, 150, 200 และ 250 มก./ลิตร ที่เติมตัวอย่างดินที่มีสารที่สนใจในปริมาณน้อย แล้วนำไปวัดด้วยเครื่อง ICP-OES พบว่ามีค่า r เท่ากับ 0.9997, 0.9985, 0.9999, 0.9999 ในรายการวิเคราะห์ K, Na, Ca และ Mg ตามลำดับ ดัง Figure 3 a-d

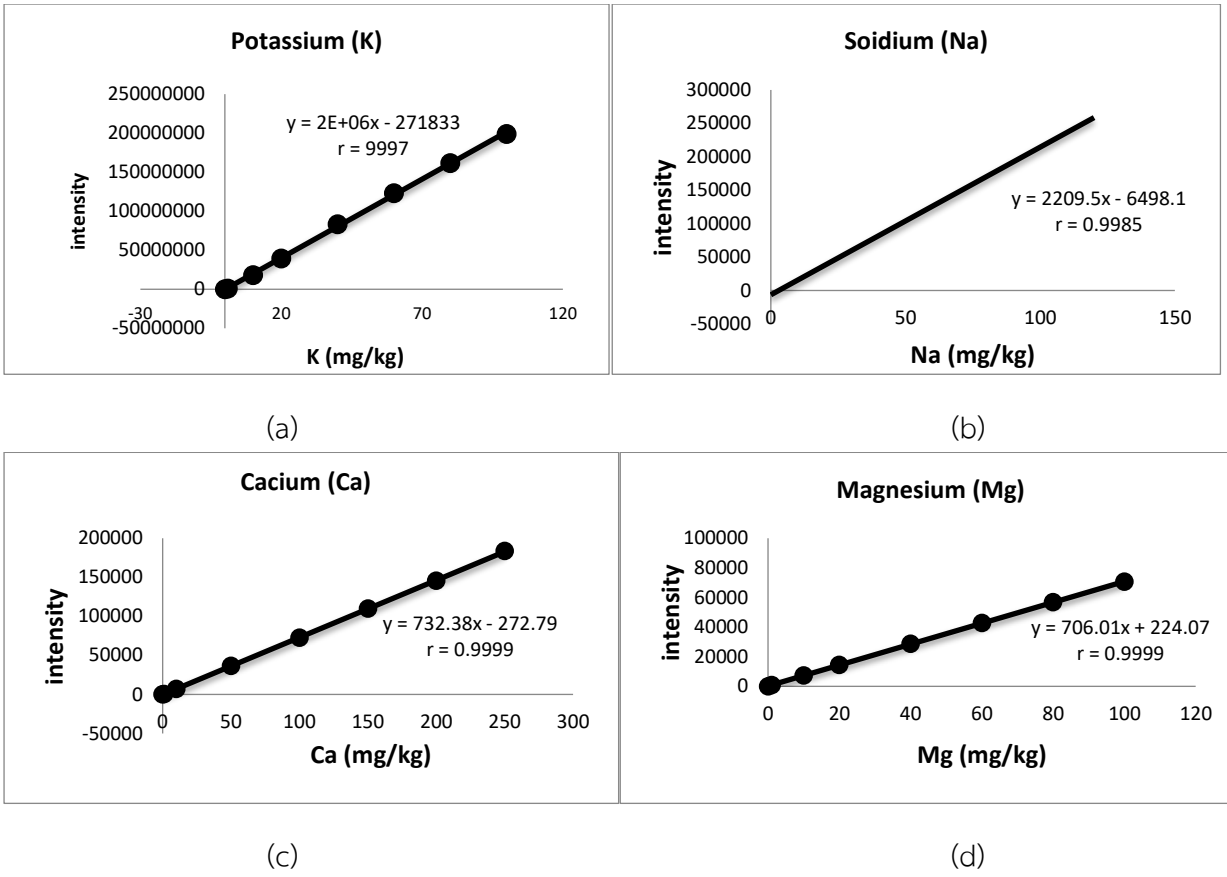



**Figure 3** Correlation between the standard solution filled with low-concentration soil samples and intensity for working range studies (a) K, (b) Na, (c) Ca, (d) Mg

4.3 การศึกษาหาค่า Limit of Detection (LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ)

จากการหาขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) ขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ) โดยการนำตัวอย่างดินที่มีสารที่สนใจในปริมาณน้อยมาดำเนินการตามวิธีวิเคราะห์และวัดด้วยเครื่อง ICP-OES โดยทำการวิเคราะห์ต่างวัน พบว่ามีค่า LOD เท่ากับ 4.65, 5.40, 4.45 และ 5.22 LOQ เท่ากับ 15.50, 18.01, 14.82 และ 17.40 ในรายการวิเคราะห์ K, Na, Ca และMg ตามลำดับ ดัง Table 4

4.4 การพิสูจน์ความแม่น (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ของวิธีวิเคราะห์

พิสูจน์ความแม่น (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ความเข้มข้นต่ำ ปานกลาง และสูง ความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ โดยวิเคราะห์ sample blank ที่เติมสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น ที่ระดับ LOQ และ 200 mg/kg สำหรับความเข้มข้นต่ำและปานกลาง ตามลำดับ ส่วนที่ความเข้มข้นสูงวิเคราะห์ตัวอย่างดินอ้างอิงภายในชุดดินบางเขน แล้วคำนวณความแม่น (Trueness) และความเที่ยง (Precision) พบว่า Trueness ผ่านเกณฑ์ยอมรับ (เกณฑ์ยอมรับ %recovery ความเข้มข้นต่ำ 10 mg/kg = 80-110% ความเข้มข้นปานกลาง 100 mg/kg = 90-107% ความเข้มข้นสูง 0.1% = 95-105%) และ Precision (เกณฑ์ยอมรับ 1.3) ดัง Table 7-9

**Table 6** LOD and LOQ of K, Na, Ca and Mg

| Replication | Result (mg/kg) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | K | Na | Ca | Mg |
| 1 | 7.714 | 12.014 | 30.655 | 25.428 |
| 2 | 12.084 | 12.320 | 32.176 | 26.624 |
| 3 | 11.164 | 13.858 | 31.427 | 27.910 |
| 4 | 11.779 | 11.490 | 31.203 | 28.585 |
| 5 | 12.919 | 11.848 | 29.857 | 24.787 |
| 6 | 11.819 | 11.909 | 31.498 | 28.988 |
| 7 | 12.460 | 11.179 | 29.238 | 25.395 |
| 8 | 12.571 | 14.692 | 34.515 | 30.054 |
| 9 | 12.076 | 11.671 | 30.234 | 26.229 |
| 10 | 13.240 | 12.830 | 30.253 | 26.845 |
| Mean | 11.782 | 12.381 | 31.11 | 27.08 |
| $S'_0$ | 1.550 | 1.801 | 1.482 | 1.740 |
| $3S'_0$ (LOD) | 4.65 | 5.40 | 4.45 | 5.22 |
| $10S'_0$ (LOQ) | 15.50 | 18.01 | 14.82 | 17.40 |

**Table 7** Trueness and precision study result at low concentration

| Replication | Result (mg/kg) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | K (16 mg/kg) | Na (18 mg/kg) | Ca (15 mg/kg) | Mg (18 mg/kg) |
| 1 | 16.5018 | 18.0642 | 15.1887 | 18.1247 |
| 2 | 16.5390 | 18.2485 | 15.2632 | 18.1470 |
| 3 | 16.5498 | 18.1535 | 15.2387 | 18.1934 |
| 4 | 16.4015 | 18.0739 | 15.3491 | 18.0830 |
| 5 | 16.3835 | 17.9839 | 15.3628 | 18.1884 |
| 6 | 16.3237 | 17.8237 | 15.2978 | 18.1749 |
| 7 | 16.3636 | 18.0620 | 15.2258 | 18.1184 |
| Mean | 16.4376 | 18.0585 | 15.2751 | 18.1471 |
| SD | 0.091 | 0.133 | 0.065 | 0.041 |
| % RSD (r) | 0.554 | 0.736 | 0.423 | 0.226 |
| % Total recovery | 102.84 | 100.47 | 101.62 | 100.86 |
| HorRat | 0.058 | 0.071 | 0.040 | 0.022 |

**Table 8** Trueness and precision study result at moderately concentration

| Replication | Result (mg/kg) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | K | Na | Ca | Mg |
| 1 | 184.9643 | 185.1104 | 212.2264 | 180.4443 |
| 2 | 184.7363 | 183.7114 | 202.0184 | 181.5293 |
| 3 | 186.2833 | 184.9029 | 197.4824 | 181.9378 |
| 4 | 187.9073 | 185.5129 | 197.4809 | 177.5128 |
| 5 | 185.7678 | 183.5754 | 194.8814 | 180.3203 |
| 6 | 183.7143 | 183.0724 | 198.7409 | 182.2198 |
| 7 | 189.1383 | 186.0334 | 199.1639 | 181.3293 |
| Mean | 186.0731 | 184.5598 | 200.2849 | 180.7563 |
| SD | 1.892 | 1.111 | 5.689 | 1.595 |
| % RSD (r) | 1.017 | 0.602 | 2.840 | 0.883 |
| % Total recovery | 93.04 | 92.28 | 100.14 | 90.38 |
| HorRat | 0.140 | 0.083 | 0.396 | 0.121 |

**Table 9** Trueness and precision study result at high concentration (Internal reference material No. S-003 Ca = 3628.04 mg/kg, Mg = 1761.14 mg/kg, K = 423.30 mg/kg, Na = 1111.44 mg/kg)

| Replication | Result (mg/kg) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | K | Na | Ca | Mg |
| 1 | 431.56 | 1036.82 | 3631.54 | 1725.73 |
| 2 | 420.20 | 1042.60 | 3518.20 | 1726.26 |
| 3 | 433.64 | 1059.19 | 3568.38 | 1749.24 |
| 4 | 438.25 | 1098.74 | 3765.14 | 1846.20 |
| 5 | 416.22 | 1069.06 | 3582.43 | 1765.48 |
| 6 | 396.72 | 1054.33 | 3574.20 | 1744.80 |
| 7 | 436.84 | 1081.96 | 3569.77 | 1766.18 |
| Mean | 424.78 | 1063.24 | 3601.38 | 1760.56 |
| SD | 14.91 | 21.85 | 79.41 | 41.14 |
| % RSD (r) | 3.51 | 2.055 | 2.205 | 2.337 |
| % Total recovery | 100.35 | 95.66 | 99.27 | 99.97 |
| HorRat | 0.773 | 0.523 | 0.475 | 0.637 |

4.5 ความคงทนของวิธีทดสอบโดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อยจากสภาวะปกติ

ได้ผลการทดสอบการเปลี่ยนแปลงสภาวะและสิ่งแวดล้อม ในตัวอย่างดินอ้างอิงภายในชุดดินยโสธร (Yt) ชุดดินบางเขน (Bn) และชุดดินบางเลน (Bl) การทดลองที่ 1-8 การทดลองละ 4 ซ้ำ ดัง Table 10

**Table 10** Ruggedness test results in internal reference material No. S-004, S-003 and 0763

| Experiment | Result (mg/kg) | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | K | | | Na | | | Ca | | | Mg | | |
| | S-004 | 0763 | S-003 | S-004 | 0763 | S-003 | S-004 | 0763 | S-003 | S-004 | 0763 | S-003 |
| 1 | 33.40 | 202.92 | 496.42 | 27.91 | 422.00 | 1291.16 | 128.26 | 3481.98 | 3446.39 | 59.31 | 860.34 | 1651.67 |
| 2 | 33.68 | 201.50 | 513.44 | 15.04 | 423.62 | 1281.38 | 128.81 | 4629.11 | 3944.60 | 60.66 | 1051.07 | 1771.85 |
| 3 | 34.30 | 205.02 | 515.89 | 12.23 | 424.83 | 1279.81 | 169.81 | 3999.74 | 4112.52 | 70.62 | 960.19 | 1948.20 |
| 4 | 29.52 | 213.42 | 503.84 | 23.85 | 445.30 | 1329.39 | 117.12 | 3564.09 | 3037.09 | 57.16 | 883.80 | 1455.30 |
| 5 | 29.13 | 205.88 | 498.18 | 20.70 | 538.78 | 1293.92 | 118.21 | 3481.46 | 3286.46 | 57.91 | 855.71 | 1613.98 |
| 6 | 30.59 | 211.68 | 508.46 | 27.08 | 442.15 | 1320.12 | 125.98 | 3615.28 | 3477.21 | 61.74 | 895.94 | 1727.78 |
| 7 | 29.63 | 208.50 | 507.88 | 23.59 | 438.78 | 1317.65 | 127.32 | 3599.44 | 3512.22 | 61.80 | 893.89 | 1714.08 |
| 8 | 28.85 | 213.85 | 524.41 | 19.68 | 444.31 | 1352.35 | 128.86 | 3649.41 | 3494.39 | 62.24 | 905.26 | 1751.15 |

ผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อม Ruggedness จำนวน 7 ตัวแปร คือ pH น้ำยาสกัด น้ำหนักดิน (กรัม) ปริมาตรน้ำยาสกัด (มิลลิลิตร) ความเร็วรอบในการเขย่า (rpm) การกรองตัวอย่าง เวลาในการกรองตัวอย่าง และเวลารอวัด โดยใช้ Youden-Steiner testing พบว่า การเปลี่ยนแปลง pH น้ำยาสกัดจาก 7.0 เป็น 6.8 มีผลทำให้ผลวิเคราะห์โพแทสเซียมมีค่าเพิ่มขึ้น การเปลี่ยนระยะเวลารอวัดจาก 1 วัน เป็น 3 วัน มีผลทำให้ผลวิเคราะห์โซเดียมมีค่าเพิ่มขึ้น และการกรองตัวอย่างเพียง 30 นาที มีผลทำให้ผลวิเคราะห์แคลเซียมและแมกนีเซียมลดลง แสดงว่า ในการวิเคราะห์ โพแทสเซียม โซเดียม แคลเซียม และแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน โดยใช้เครื่อง ICP ไม่สามารถเปลี่ยนแปลง pH น้ำยาสกัด ควรกรองตัวอย่างจนแห้ง และควรวัดตัวอย่างภายใน 1 วัน (Table 11)

**Table 11** The effect of variables (E) and S values of changing conditions in experiments 1-8

| Effect | Effect of variables (E) | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | K | | | Na | | | Ca | | | Mg | | |
| | **S-004** | **0763** | **S-003** | **S-004** | **0763** | **S-003** | **S-004** | **0763** | **S-003** | **S-004** | **0763** | **S-003** |
| $E_A$ | **3.18** | -4.26 | -2.33 | -3.01 | -37.07 | -25.57 | 10.91 | 332.33 | 192.58 | 1.02 | 51.15 | 5.01 |
| $E_B$ | 1.12 | -4.70 | -8.88 | 2.84 | 18.33 | -23.16 | -10.47 | 98.79 | -0.39 | -3.05 | 4.98 | -25.86 |
| $E_C$ | 0.95 | -4.53 | -7.94 | -0.31 | 17.25 | -25.18 | 10.71 | -223.82 | 101.07 | 1.96 | -41.49 | 55.46 |
| $E_D$ | 0.50 | -2.31 | 3.94 | 0.59 | -30.59 | 4.83 | -4.47 | 174.84 | 121.08 | -0.86 | 28.73 | 35.87 |
| $E_E$ | 1.30 | 1.04 | 5.46 | 0.93 | -28.30 | 5.28 | 15.36 | -131.93 | 187.53 | 4.10 | -15.69 | 130.90 |
| $E_F$ | -1.83 | 2.34 | -5.71 | 3.55 | 30.26 | 16.96 | -14.87 | **-416.66** | **-445.56** | **-4.55** | **-74.00** | **-172.45** |
| $E_G$ | -0.70 | 2.57 | -8.83 | **8.69** | -20.83 | 12.72 | -11.75 | -374.74 | -341.26 | -2.86 | -59.57 | -134.09 |
| **S** | **2.27** | **4.76** | **9.31** | **5.52** | **38.15** | **25.77** | **16.55** | **389.98** | **343.41** | **4.16** | **64.27** | **141.33** |

5. วิเคราะห์ความคุ้มค่า โดยเปรียบเทียบต้นทุนการวิเคราะห์ ระยะเวลาการวิเคราะห์ ขั้นตอนการวิเคราะห์ที่เปลี่ยนแปลง และความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ พบว่า ด้านค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์แคลเซียมและแมกนีเซียมด้วยเครื่อง Atomic absorption spectrophotometer (AAS) คิดเป็น 99.81 บาทต่อตัวอย่าง การวิเคราะห์โพแทสเซียมและโซเดียมด้วยเครื่อง Flame photometer คิดเป็น 54.58 บาทต่อตัวอย่าง รวม 154.39 บาท ต่อ ตัวอย่าง ส่วนการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer (ICP-OES) คิดเป็น 108.84 บาทต่อตัวอย่าง สามารถประหยัดค่าจ่ายไปได้ถึงร้อยละ 29.5 และประหยัดเวลาในการวิเคราะห์เนื่องจากสามารถวิเคราะห์ได้จำนวนตัวอย่างมากกว่าเครื่อง AAS และ Flame photometer ถึง 8 เท่า อีกทั้งมีความแม่นและความเที่ยง ทั้ง 2 วิธี ดังแสดงตาม Table 12

**Table 12** Comparison of cost analysis, analytical time, accuracy, advantages and disadvantages of ICP-OES method and other method

| การประเมิน | การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง AAS | | การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Flame photometer | | การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP-OES | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. ด้านค่าใช้จ่าย/1ตัวอย่าง | ราคาเครื่องมือ | ความเสื่อมสภาพ/ปี | ราคาเครื่องมือ | ความเสื่อมสภาพ/ปี | ราคาเครื่องมือ | ความเสื่อมสภาพ/ปี |
| 1.1ค่าเสื่อมสภาพของเครื่องมือ | | | | | | |
| - เครื่อง AAS | 1,3690,00 | 35.25 | - | - | - | - |
| - เครื่อง Flame | - | - | 685,000 | 8.65 | - | - |
| - เครื่อง ICP-OES | - | - | - | - | 3,390,000 | 10.70 |
| - เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง | 70000 | 0.27 | 70000 | 0.27 | 70,000 | 0.27 |
| - เครื่องบดตัวอย่างดิน | 220000 | 6.67 | 220000 | 6.67 | 220,000 | 6.67 |
| - เครื่องเขย่า | 242000 | 2.62 | 242000 | 2.62 | 242,000 | 2.62 |
| 1.2 เครื่องแก้วและวัสดุ | 29.16 | | 23.84 | | 32.79 | |
| 1.3 สารเคมี | 25.84 | | 12.23 | | 55.79 | |
| สรุปค่าใช้จ่าย | 99.81 | | 54.58 | | 108.84 | |
| 2. ด้านระยะเวลา | | | | | | |
| - จำนวนตัวอย่าง/วัน | 30 | | 30 | | 240 | |
| 3. ด้านความแม่น | | | | | | |
| - % Recovery | ✓ | | | | ✓ | |
| - HorRat | ✓ | | | | ✓ | |
| 4. ข้อดี | - เครื่องมือราคาไม่แพง | | | | - วิเคราะห์ได้หลายธาตุในครั้งเดียว<br>- ไม่ต้องเจือจางสารละลายเนื่องจากสารละลายมาตรฐานมีความเข้มข้นสูง | |
| 5.ข้อเสีย | - ต้องเจือจางสารละลายเนื่องจากสารละลายมาตรฐานมีความเข้มข้น<br>- วิเคราะห์ได้ทีละธาตุ | | | | - เครื่องมือมีราคาแพง | |
| หมายเหตุ AAS หมายถึง เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer<br>ICP-OES หมายถึง เครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer | | | | | | |

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

เวลาการสกัด 30 นาทีเหมาะสมสำหรับวิเคราะห์ K, Na, Ca และ Mg ในครั้งเดียว การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP พบว่า ปริมาณต่ำสุดที่สามารถรายงานผลได้อยู่ในระดับ 15.50, 18.01, 14.82 และ 17.40 mg/kg สำหรับ K, Na, Ca และ Mg ตามลำดับ จากการพิสูจน์ความแม่น เที่ยงตรง โดยใช้ ตัวอย่างดินอ้างอิงภายในพบว่ามี % Recovery และค่า HorRat ผ่านเกณฑ์ยอมรับทุกรายการทดสอบ การทดสอบความคงทนของวิธี โดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะทั้ง 7 ตัวแปร พบว่า การเปลี่ยนแปลง pH น้ำยาสกัดจาก 7.0 เป็น 6.8 มีผลทำให้ผลวิเคราะห์โพแทสเซียมมีค่าเพิ่มขึ้น การเปลี่ยนระยะเวลารอวัดจาก 1 วัน เป็น 3 วัน มีผลทำให้ผลวิเคราะห์โซเดียมมีค่าเพิ่มขึ้น และการกรองตัวอย่างเพียง 30 นาที มีผลทำให้ผลวิเคราะห์แคลเซียมและแมกนีเซียมลดลง ดังนั้นในขั้นตอนการวิเคราะห์จึงไม่สามารถเปลี่ยนแปลง pH น้ำยาสกัดได้ ควรกรองตัวอย่างจนแห้ง และควรวัดตัวอย่างภายใน 1 วัน สรุปว่า ในการวิเคราะห์ โพแทสเซียม โซเดียม แคลเซียม และแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน โดยใช้เครื่อง ICP ความแม่น แม่นยำ น่าเชื่อถือ สอบกลับได้ ทำให้เกิดความเชื่อมั่นในผลการวิเคราะห์ และเป็นที่ยอมรับตามมาตรฐานสากล ประหยัดค่าจ่ายในการวิเคราะห์ไปได้ถึงร้อยละ 29.5 และสามารถวิเคราะห์ได้จำนวนตัวอย่างเพิ่มขึ้นถึง 8 เท่า เมื่อเทียบกับเครื่อง AAS และ Flame photometer

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

เป็นข้อมูลเพื่อประกอบการขอการรับการรับรองห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025: 2017 เป็นการยกระดับห้องปฏิบัติการให้ได้มาตรฐานสากล ผลวิเคราะห์มีความแม่น แม่นยำ น่าเชื่อถือ สามารถตรวจสอบย้อนกลับได้ สร้างความเชื่อมั่นและลดข้อโต้แย้งของผลการวิเคราะห์

## เอกสารอ้างอิง


กรมวิชาการเกษตร. 2553. คู่มือวิธีวิเคราะห์ดินทางเคมีและฟิสิกส์. กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

ทิพวรรณ นิ่งน้อย. 2549. แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. กระทรวงสาธารณสุข. 124 หน้า.

แม้น อมรสิทธ์ และ อมร เพชรสม. 2534. หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ Principles and Techniques of Instrumental Analysis. ชวนพิมพ์ กรุงเทพมหานคร. 866 หน้า.

สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติ. 2564. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวัดทางเคมี. (ออนไลน์). แหล่งที่มา : https://www.mwa.co.th/download/prd01/reference_ISO17025/Meth-validation-NIMT.pdf. 8 มีนาคม 2564

David Harvey. 2009. Analytical Chemistry 2.0. (online). Available form: http://dpuadweb.depauw.edu/harvey_web/eTextProject/version_2.0.html. accessed 10 October 2020.

Latimer, G.W. 2016. Official Method of Analysis of AOAC International. 20thEd. AOAC International Gaithersburg, Maryland. USA.

National Association of Testing Authorities. 2018. General Accreditation Guidance -Validation and Verification of Quantitative and Qualitative test Methods. Australia. Eftichia Karageorgou, Victoria Samanidou. 2014. Youden test application in robustness assays during method.

# พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์เหล็ก แมงกานีส สังกะสี และทองแดง ที่เป็นประโยชน์ในดินด้วยเทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมา สเปคโตรเมทรี

# Development and Method Validation of Iron, Manganese, Zinc, and Copper by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry

*สงกรานต์ มะลิสอน ญาณธิชา จิตต์สะอาด สุภา โพธิจันทร์ พจมาลย์ ภู่สาร จิตติรัตน์ ชูชาติ กัญฐณา คล้ายแก้ว*

*Songkrant Malisorn Yarnthicha Jittsa-add Supha Photichan Pojjamarn Poosarn Jittirat Choochat Kanthana Klaigaew*

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

## ABSTRACT

Development and method validation of iron, manganese, zinc, copper in soil were determined by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. This is considered the development of modern analytical methods with high-performance tools. high accuracy can analyze multiple elements simultaneously to make the laboratory convenient in operation and the service is fast and accurate. System Research of Soil and Water Quality Sub-group, Agricultural Chemistry Group Optimal conditions of the ICP-OES were determined for sample analysis. It was found that the technique did not interfere with other elements (matrix effect) in the analysis. %RPD of slope and % Recovery passed the specified criteria verification of the analytical method, the LOD values of 1.71 0.51 0.18 0.12 mg/kg and LOQ were 5.70 1.70 0.60 0.40 mg/kg in the iron, manganese, zinc, copper, respectively. The correlation coefficient (r) that shows linearity, Linearity range and Working range pass the specified criteria. The proof of accuracy (% Recovery passed the criteria) 80 – 110 % and 90 – 107 % at the concentration specified by the standard, the precision (Precision) passed the criteria, with the HorRat value ≤1.3. When studying ruggedness using Youden-Steiner testing, the effects of environmental changes were considered. There is an effect of the shaking speed, stand before filtering and pH of extract solution cannot be changed. When calculating the cost of analysis with ICP-OES, it was found that the cost of analysis was slightly high, but a large number of samples can be analyzed per day. Simultaneous analysis without solution dilution or less dilution make it convenient and quick to provide analysis services. Method for analyzing useful iron, manganese, zinc, copper using inductivecoupled plasma spectrometry can be used in laboratories accurately and reliably, in accordance with international standards.

**Keyword:** method validation, iron manganese zinc copper, inductively coupled plasma optical emission spectrometry

## บทคัดย่อ

จากการพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์เหล็ก แมงกานีส สังกะสี ทองแดงที่เป็นประโยชน์ในดิน ด้วยเทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี ซึ่งถือเป็นการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ให้ทันสมัยด้วยเครื่องมือที่มีสมรรถนะสูง มีความถูกต้องแม่นยำสูง สามารถวิเคราะห์ได้พร้อมกันหลายธาตุ เพื่อให้ห้องปฏิบัติการมีความสะดวกในการปฏิบัติงาน และการให้บริการได้อย่างรวดเร็วและถูกต้อง โดยห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพที่ดินและน้ำ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี ได้หาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง ICP-OES สำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่าง และพบว่าเทคนิคดังกล่าวไม่มีการรบกวนของธาตุอื่น (matrix effect) ในการวิเคราะห์ โดยมี % RPD ของ Slope สารละลายมาตรฐาน และสารละลายมาตรฐานที่เติมตัวอย่างดิน พร้อมทั้งมี % Recovery ผ่านเกณฑ์กำหนด การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ มีค่า LOD เท่ากับ 1.71 0.51 0.18 0.12 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ LOQ ที่ได้จากการคำนวณเท่ากับ 5.70 1.70 0.60 0.40 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในรายการวิเคราะห์เหล็ก แมงกานีส สังกะสี ทองแดง ตามลำดับ มีค่า correlation coefficient (r) ที่แสดงความเป็นเส้นตรง Linearity range และ Working range ผ่านเกณฑ์กำหนด การพิสูจน์ความแม่น (Trueness) มี % Recovery ผ่านเกณฑ์กำหนด 80 - 110 % และ 90 - 107 % ที่ระดับความเข้มข้นตามที่มาตรฐานกำหนด มีความเที่ยง (Precision) ผ่านเกณฑ์กำหนด โดยมีค่า HorRat ≤1.3 ทุกรายการวิคราะห์ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง และวัสดุอ้างอิงรับรอง เมื่อนำวิธีวิเคราะห์มาศึกษาความคงทนของวิธี (Ruggedness) 7 ตัวแปร 8 การทดลอง โดยใช้ Youden-Steiner testing พิจารณาผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อม พบว่าวิธีวิเคราะห์เหล็ก แมงกานีส สังกะสี ทองแดงที่เป็นประโยชน์ในดิน มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงความร็วรอบในการเขย่า ระยะเวลาตั้งทิ้งไว้ก่อนกรอง และ pH น้ำยาสกัด จึงไม่สามารถเปลี่ยนแปลงปัจจัยดังกล่าวได้ เมื่อคำนวณต้นทุนของการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP-OES พบว่า มีค่าใช้จ่ายต้นทุนการวิเคราะห์สูงเล็กน้อย แต่สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้จำนวนมากต่อวัน วิเคราะห์ได้พร้อมกันโดยไม่ต้องเจือจางสารละลายหรือมีการเจือจางน้อยลง ทำให้มีความสะดวกรวดเร็วในการให้บริการวิเคราะห์ วิธีวิเคราะห์เหล็ก แมงกานีส สังกะสี ทองแดงที่เป็นประโยชน์โดยใช้เทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี สามารถนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการได้อย่างถูกต้อง และแม่นยำ น่าเชื่อถือสอดคล้องตามมาตรฐานสากล



**คำหลัก :** การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี เหล็ก แมงกานีส สังกะสี ทองแดง อินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี


## คำนำ

เหล็ก แมงกานีส สังกะสี และ ทองแดง จัดเป็นกลุ่มจุลธาตุอาหารที่พืชต้องการในปริมาณน้อย แต่ก็มีความสำคัญไม่ยิ่งหย่อนกว่ากลุ่มธาตุอาหารอื่นๆ เพราะหากไม่เพียงพอต่อความต้องการ หรือมากเกินความต้องการก็จะส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืชได้ (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2548) การวิเคราะห์หาปริมาณจุลธาตุในดินที่ทำการเพาะปลูกจึงเป็นเรื่องสำคัญ กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพที่ดินและน้ำ วิเคราะห์หาปริมาณเหล็ก แมงกานีส สังกะสี และทองแดงในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืชโดยใช้สารละลายบัพเฟอร์ DTPA ที่ pH 7.3 สารละลาย DTPA จะอยู่ในรูปของสารประกอบเชิงซ้อนกับ $Ca^{2+}$ เมื่อนำสารละลายมาสกัดตัวอย่างดิน $Fe^{3+}$, $Mn^{2+}$, $Zn^{2+}$ และ $Cu^{2+}$ ที่ละลายอยู่ในดินจะเข้าไปแทนที่ $Ca^{2+}$ และเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับ DTPA จากนั้นนำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ของธาตุเหล็ก แมงกานีส สังกะสี และ ทองแดง ด้วยเครื่อง Atomic Absorbtion Spectrophotometer โดยสามารถวัดได้ทีละธาตุตามลำดับ (กรมวิชาการเกษตร, 2553) ในปัจจุบันบริษัทผู้ผลิตได้มีการพัฒนาเครื่องมือวัดที่มีสมรรถนะสูง เทคโนโลยีและเทคนิควิธีวิเคราะห์ในตัวอย่างประเภทต่างๆ มีการเปลี่ยนแปลง/ปรับปรุง/พัฒนา ให้มีความเหมาะสม ถูกต้อง รวดเร็วและเป็นทางเลือกใหม่มากขึ้น เครื่อง Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrophotometer (ICP-OES) ก็เป็นอีกเครื่องมือวัดหนึ่งที่สามารถวิเคราะห์ธาตุได้ทีละหลายๆธาตุพร้อมกัน ห้องปฏิบัติการจึงมีความจำเป็นต้องปรับปรุง/พัฒนาวิธีการวิเคราะห์ให้ทันสมัย มีความถูกต้องแม่นยำสูง สามารถวิเคราะห์ได้พร้อมกันหลายธาตุ เพื่อให้ห้องปฏิบัติการมีความสะดวก ในการปฏิบัติงาน และการให้บริการได้อย่างรวดเร็วและถูกต้อง พร้อมทั้งมีการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ว่าสามารถนำมาใช้งานได้ ถือเป็นกระบวนการในการยืนยันคุณลักษณะเฉพาะของวิธีวิเคราะห์

(Method Performance Characteristics) และประเมินด้วยวิธีการทางสถิติว่าวิธีมีความถูกต้อง เหมาะสม ตามวัตถุประสงค์ของการใช้งาน (ทิพวรรณ, 2549) อีกทั้งยังเป็นการดำเนินการให้สอดคล้องกับ ISO/IEC 17025: 2017 ที่ถือเป็นข้อกำหนดตามมาตรฐานสากล และสามารถนำไปจัดทำเป็นวิธีวิเคราะห์มาตรฐาน (Standard Operation Procedure) ได้

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1) สารละลายมาตรฐานเหล็ก แมงกานีส สังกะสี และทองแดง 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร
2) Diethylenetriaminepenta acetic acid (DPTA)
3) Triethanolamine
4) Calcium chloride
5) ก๊าซอาร์กอน
6) เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง
7) เครื่อง Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrophotometer (ICP-OES)
8) เครื่องเขย่า
9) เครื่อง pH meter
10) เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์

### วิธีการ

1. จัดเตรียม วัสดุ อุปกรณ์ ที่ต้องใช้ในการทดสอบ และจัดหาวัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Material; CRM) AgoMAT Sandy Soil (AG-2) ที่มีค่า Certified Value และ Uncertainty ในรายการวิเคราะห์เหล็ก 64.4±7.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แมงกานีส 16.8±2.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สังกะสี 0.79±0.06 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทองแดง 1.26±0.09 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และตัวอย่างดินอ้างอิงภายใน
2. หาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง ICP-OES ในการวิเคราะห์ เหล็ก แมงกานีส สังกะสี ทองแดงที่เป็นประโยชน์ในดิน
   2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐาน เหล็ก และแมงกานีส ความเข้มข้น 0, 1, 10, 20, 40, 60, 80, 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ สังกะสี และทองแดง ความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 มิลลิกรัมต่อลิตร
   2.2 นำสารละลายมาตรฐานไปวัดด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer (ICP-OES)
   2.3 ทำการปรับสภาวะของเครื่อง ได้แก่ wavelength, plasma, view, plasma flow, auxiliary flow, nebulizer flow, RF-power, pump flow และ uptake
   2.4 สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน กับสัญญาณของเครื่องมือ และเลือกสภาวะที่เหมาะสมโดยการพิจารณาจากค่า correlation coefficient (r) ที่สูงที่สุด และ %Recovery ของสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นกลาง ที่มาจากคนละยี่ห้อ
3. ศึกษาการรบกวนกันของธาตุ เหล็ก แมงกานีส สังกะสี และทองแดง ในการวัดด้วยเครื่อง ICP-OES ในเวลาเดียวกันที่ความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง ตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ดินทางเคมีและฟิสิกส์ (กรมวิชาการเกษตร, 2553)
   3.1 ชั่งตัวอย่างดินที่มีสารที่สนใจในปริมาณน้อย 25 กรัม และเติมสารละลายมาตรฐาน เหล็ก และแมงกานีส ความเข้มข้น 0, 1, 10, 20, 40, 60, 80, 100 มิลลิกรัมต่อลิตร สังกะสี และทองแดง ความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 มิลลิกรัมต่อลิตร ธาตุละ 7 ความเข้มข้น ตามลำดับ

3.2 นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 190 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และทำการกรองตัวอย่างด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5

3.3 นำสารละลายใสที่ได้จากการกรองไปวัดด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer (ICP-OES)

3.4 เปรียบเทียบความชัน (Slope) ของกราฟสารละลายมาตรฐาน และกราฟของสารละลายมาตรฐานที่เติมตัวอย่างดิน โดยการคำนวณ %RPD

3.5 คำนวณค่า % Recovery ของสารละลายมาตรฐานที่เติมตัวอย่างดิน เปรียบเทียบกับเกณฑ์มาตรฐาน

4. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์เหล็ก แมงกานีส สังกะสี ทองแดงที่เป็นประโยชน์ในดิน

4.1 การหาช่วงใช้งานที่เป็นเส้นตรง (Working range and Linearity range)

4.1.1 ชั่งตัวอย่างดินที่มีสารที่สนใจในปริมาณน้อย เติมสารมาตรฐานเหล็ก แมงกานีส สังกะสี และทองแดงที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน ธาตุละ 8 ความเข้มข้น (Linearity range) ธาตุละ 7 ความเข้มข้น (Working range) ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ

4.1.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ดินทางเคมีและฟิสิกส์ (กรมวิชาการเกษตร, 2553) สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน กับสัญญาณของเครื่องมือ

4.1.3 ประเมินค่า correlation coefficient; r ($r \geq 0.995$)

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

4.2.1 ชั่งตัวอย่างดินที่มีสารที่สนใจในปริมาณน้อย ดำเนินการตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ดินทางเคมีและฟิสิกส์ (กรมวิชาการเกษตร, 2553) จำนวนธาตุละ 7 ซ้ำ

4.2.2 คำนวณค่า Standard deviation (SD) ของการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีเหล็ก แมงกานีส สังกะสี และทองแดงปริมาณน้อย

4.2.3 คำนวณค่า LOD และ LOQ จากสูตร

$$LOD = 3SD$$

$$LOQ = 10SD$$

4.3 หาค่า Trueness และ Precision

4.3.1 ชั่งตัวอย่างดินที่มีสารที่สนใจในปริมาณน้อย เติมสารละลายมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น LOQ (ต่ำ) ความเข้มข้นกลาง สูง และวัสดุอ้างอิงรับรอง (CRM) จำนวนธาตุละ 7 ซ้ำ (โดยทำการวิเคราะห์ที่เวลาต่างวัน วันละ 1 ซ้ำ เป็นเวลา 7 วัน)

4.3.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ดินทางเคมีและฟิสิกส์ (กรมวิชาการเกษตร, 2553)

4.3.3 ประเมินผลการทดสอบ และคำนวณทางสถิติ จาก % Recovery และ HorRat < 1.3 (AOAC, 2016)

4.3.3.1 การคำนวณ % Recovery จากสูตร

- กรณีมีการ Fortified sample

$$\text{Total \% Recovery} = \frac{100 \times \text{ความเข้มข้นของ fortified sample}}{\text{ความเข้มข้นของตัวอย่างเริ่มต้น} + \text{ความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมลงไป}}$$

- กรณีการวิเคราะห์ CRM

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

4.3.3.2 การคำนวณ Precision

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

โดยที่ RSD (r) = $\frac{SD}{mean} x\ 100$

PRSD (R) = $2C^{-0.15}$

เมื่อ C (mass fraction) คือ ค่าเฉลี่ยผลการทดสอบ x $10^{-6}$ เมื่อความเข้มข้นของตัวอย่างมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร

5. ตรวจสอบความคงทนของวิธีทดสอบโดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเล็กน้อยจากสภาวะปกติ (Ruggedness)

5.1 ศึกษาผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงภาวะแวดล้อม ด้วยการทดสอบ Ruggedness โดยการวางแผนการทดลอง 7 ตัวแปร 8 การทดลอง การทดลองละ 4 ซ้ำ โดยใช้ Youden-Steiner testing (สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติ, 2564) แสดงตาม ตารางที่ 1 และ ตารางที่ 2

1) ตัวแปรที่ 1 ความเป็นกรด – ด่าง (pH) สภาวะการทดสอบปกติ 7.3 สภาวะที่เปลี่ยนแปลง 7.4
2) ตัวแปรที่ 2 น้ำหนักตัวอย่าง สภาวะการทดสอบปกติ 25.00 กรัม สภาวะที่เปลี่ยนแปลง 25.05 กรัม
3) ตัวแปรที่ 3 ปริมาตรน้ำยาสกัด สภาวะการทดสอบปกติ 50 มิลลิลิตร สภาวะที่เปลี่ยนแปลง 49 มิลลิลิตร
4) ตัวแปรที่ 4 ความเร็วรอบในการเขย่า สภาวะการทดสอบปกติ 190 rpm สภาวะที่เปลี่ยนแปลง 180 รอบ/นาที
5) ตัวแปรที่ 5 ระยะเวลาตั้งทิ้งไว้ก่อนกรอง สภาวะการทดสอบปกติ กรองทันที สภาวะที่เปลี่ยนแปลง ตั้งไว้ 15 นาที ก่อนกรอง
6) ตัวแปรที่ 6 เวลาในการกรอง สภาวะการทดสอบปกติ กรองทิ้งไว้ข้ามคืน สภาวะที่เปลี่ยนแปลง 3 ชั่วโมง
7) ตัวแปรที่ 7 กรวยกรอง สภาวะการทดสอบปกติ แก้ว สภาวะที่เปลี่ยนแปลง พลาสติก

ตารางที่ 1 แสดงตัวแปรที่ใช้ในการทดลอง

| ตัวแปรที่ | สัญลักษณ์ตัวแปร | สภาวะ | ปกติ (A-G) | เปลี่ยนแปลง (a-g) |
|---|---|---|---|---|
| 1 | A/a | pH น้ำยาสกัด | 7.3 | 7.4 |
| 2 | B/b | น้ำหนักตัวอย่าง | 25 กรัม | 25.05 กรัม |
| 3 | C/c | ปริมาตรน้ำยาสกัด | 50 มิลลิลิตร | 49 มิลลิลิตร |
| 4 | D/d | ความเร็วรอบในการเขย่า | 190 rpm | 180 rpm |
| 5 | E/e | ระยะเวลาตั้งทิ้งไว้ก่อนกรอง | กรองทันที | ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที ก่อนกรอง |
| 6 | F/f | ระยะเวลาในการกรอง | กรองทิ้งไว้ข้ามคืน | 3 ชั่วโมง |
| 7 | G/g | กรวยกรอง | แก้ว | พลาสติก |

ตารางที่ 2 แสดงการวางแผนการทดลอง

| Experiment | Design | Mean (R) |
|---|---|---|
| 1 | A B C D E F G | $R_1$ |
| 2 | A B c D e f g | $R_2$ |
| 3 | A b C d E f g | $R_3$ |
| 4 | A b c d e F G | $R_4$ |
| 5 | a B C d e F g | $R_5$ |
| 6 | a B c d E f G | $R_6$ |
| 7 | a b C D e f G | $R_7$ |
| 8 | a b c D E F g | $R_8$ |

5.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามแผนการทดลอง โดยใช้ตัวอย่างดินอ้างอิงภายใน รหัส S003 รหัส 0763 และ รหัส S004

5.3 คำนวณผลกระทบของตัวแปร (E) ของแต่ละตัวแปร 7 ตัวแปร จาก 8 การทดลอง

5.4 พิจารณาค่า | E | ของแต่ละตัวแปร 7 ตัวแปร โดยถ้า

| E | > S แสดงว่า มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมของการทดสอบ (David, 2009)

โดย S = $\sqrt{\frac{2}{7} * \Sigma(E^2)}$

6. วิเคราะห์ความคุ้มค่า โดยเปรียบเทียบต้นทุนการวิเคราะห์ ระยะเวลาการวิเคราะห์ ขั้นตอนการวิเคราะห์ที่เปลี่ยนแปลง และความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์

**ระยะเวลา** ตุลาคม 2562 - กันยายน 2564

**สถานที่ทำการทดลอง** กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

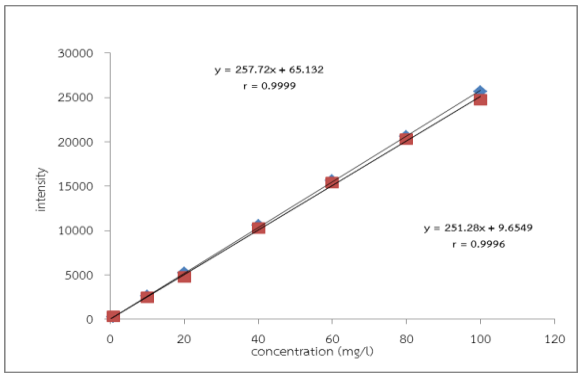
## ผลการทดลองและวิจารณ์

1. สภาวะของเครื่อง ICP สำหรับการวิเคราะห์ธาตุ เหล็ก สังกะสี แมงกานีส และทองแดง โดยค่า wavelength ที่ 259.940, 257.610, 213.856 และ 324.754 นาโนเมตร ตามลำดับ plasma view ใช้มุมมอง Radial, ค่า plasma flow, auxiliary flow, nebulizer flow, RF-power, Pump flow และ Uptake ที่ 18 ลิตรต่อนาที, 0.8 ลิตรต่อนาที, 1.2 ลิตรต่อนาที, 1.400 กิโลวัตต์, 25 รอบต่อนาที และ 25 วินาที ตามลำดับ สำหรับทุกรายการวิเคราะห์ ดังตารางที่ 3

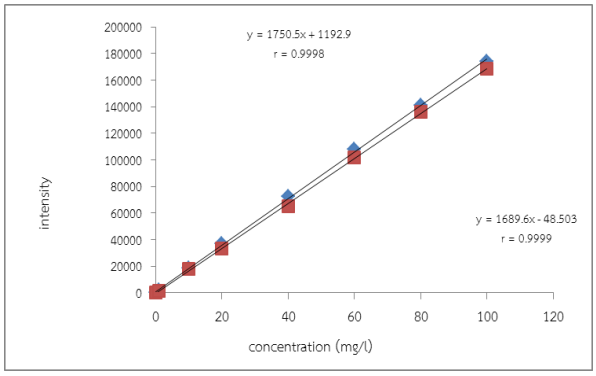
ตารางที่ 3 แสดงสภาวะที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการวิเคราะห์ Fe, Zn, Mn, Cu ที่เป็นประโยชน์ในดิน โดยใช้ เครื่อง ICP-OES

| Parameter | Wave Length (nm) | Plasma View | Plasma (LPM) | Aux (LPM) | Neb (LPM) | RF Power (Kw) | Pump Flow (RPM) | Uptake (min) | Conc. of STD (mg/L) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Fe | 259.940 | Radial | 18 | 0.8 | 1.2 | 1.400 | 25 | 25 | 0, 1, 10, 20, 40, 60, 80, 100 |
| Mn | 257.610 | Radial | 18 | 0.8 | 1.2 | 1.400 | 25 | 25 | 0, 1, 10, 20, 40, 60, 80, 100 |
| Zn | 213.856 | Radial | 18 | 0.8 | 1.2 | 1.400 | 25 | 25 | 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 |
| Cu | 324.754 | Radial | 18 | 0.8 | 1.2 | 1.400 | 25 | 25 | 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 |

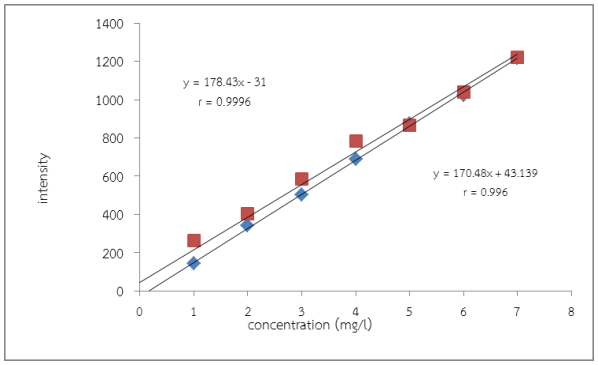
2. การรบกวนของการวิเคราะห์ เหล็ก แมงกานีส สังกะสี ทองแดงที่เป็นประโยชน์ในดิน พบว่า กราฟของสารละลายมาตรฐาน และสารละลายมาตรฐานที่เติมตัวอย่างดิน มีค่า % RPD ของ Slope เท่ากับ 2.53, 3.54, 4.56, 8.35 ซึ่งผ่านเกณฑ์กำหนด % RPD ของ Slope < 10% (NATA, 2018) ดังแสดงตามภาพที่ 1 และจากการคำนวณค่า % Recovery แต่ละความเข้มข้น 7 ความเข้มข้น ของรายการวิเคราะห์เหล็ก เท่ากับ 99.45, 93.05, 91.25, 99.32, 99.42, 98.30 และ 95.87 รายการแมงกานีส เท่ากับ 96.96, 102.12, 95.39, 93.29, 97.04, 97.03 และ 96.29 รายการสังกะสี เท่ากับ 106.81, 92.71, 96.16, 99.48, 88.85, 90.38, 92.11 รายการทองแดง เท่ากับ 85.40, 92.46, 90.20, 92.09, 87.91, 91.63, 90.89 ซึ่งผ่านเกณฑ์กำหนด 80 – 110 %ตามมาตรฐาน (AOAC, 2016) ดังแสดงตามตารางที่ 4



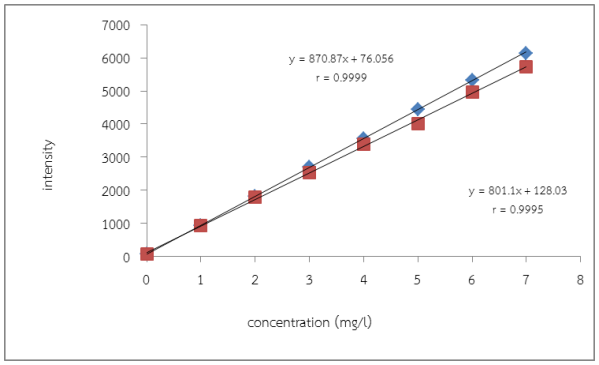

(a) เหล็ก




(b) แมงกานีส




(c) สังกะสี




(d) ทองแดง

ภาพที่ 1 แสดงการเปรียบเทียบความชันของกราฟสารละลายมาตรฐาน และกราฟของสารละลายมาตรฐานที่เติมตัวอย่างดิน

ตารางที่ 4 แสดงค่า % Recovery ของการเติมสารละลายมาตรฐาน 7 ระดับความเข้มข้นในตัวอย่างดินที่มีสารปริมาณน้อย

| | Fe | | Mn | | Zn | | Cu | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Analyst | Conc. (mg/l) | % Recovery | Conc. (mg/l) | % Recovery | Conc. (mg/l) | % Recovery | Conc. (mg/l) | % Recovery |
| 1 | 1 | 99.45 | 1 | 96.96 | 1 | 106.81 | 1 | 85.40 |
| 2 | 10 | 93.05 | 10 | 102.12 | 2 | 92.71 | 2 | 92.46 |
| 3 | 20 | 91.25 | 20 | 95.39 | 3 | 96.16 | 3 | 90.20 |
| 4 | 40 | 99.32 | 40 | 93.29 | 4 | 99.48 | 4 | 92.09 |
| 5 | 60 | 99.42 | 60 | 97.04 | 5 | 88.85 | 5 | 87.91 |
| 6 | 80 | 98.30 | 80 | 97.03 | 6 | 90.38 | 6 | 91.63 |
| 7 | 100 | 95.87 | 100 | 96.29 | 7 | 92.11 | 7 | 90.89 |

3. การหาช่วงใช้งานที่เป็นเส้นตรง (Working range and Linearity range)

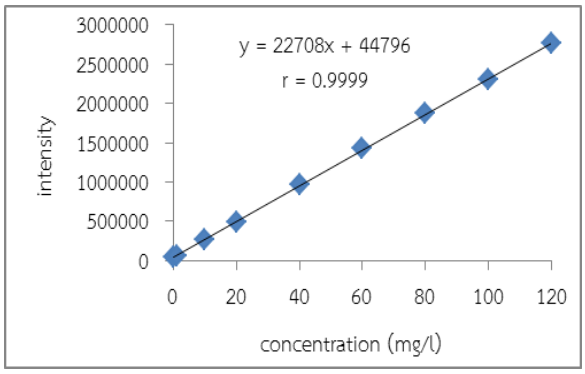
3.1 ศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity range) (Eurachem, 2014)

ผลการวัดสารละลายมาตรฐานรายการวิเคราะห์เหล็ก แมงกานีส ที่ช่วงความเข้มข้น 0, 1, 10, 20, 40, 60, 80, 100 และ 120 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ค่า รายการวิเคราะห์ สังกะสี ทองแดง ช่วงความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมตัวอย่างดินที่มีสารที่สนใจในปริมาณน้อย แล้วนำไปวัดด้วยเครื่อง ICP-OES พบว่ามีค่า correlation

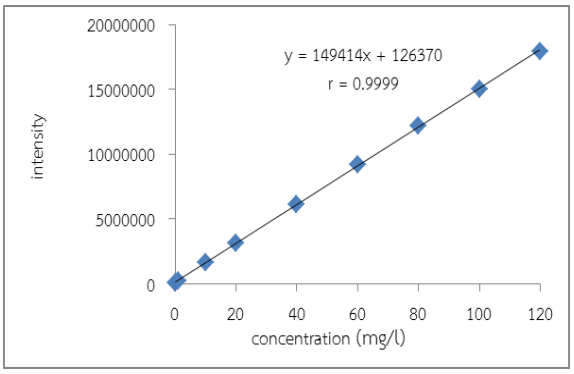
coefficient (r) เท่ากับ 0.9999, 0.9999, 0.9999, 0.9999 ในรายการวิเคราะห์เหล็ก แมงกานีส สังกะสี ทองแดง ตามลำดับ ดังแสดงตามภาพที่ 2

3.2. จากการศึกษาช่วงความเข้มข้นที่ใช้งาน (Working range) (Eurachem, 2014)

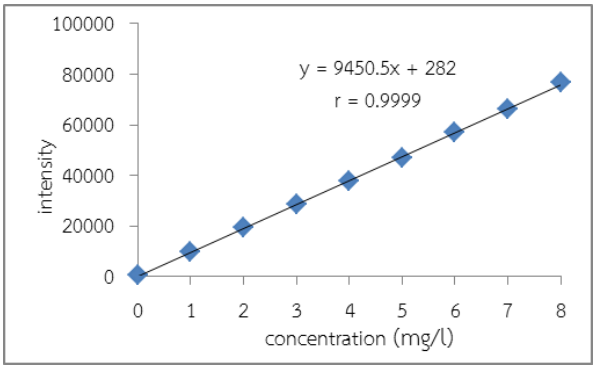
การวัดสารละลายมาตรฐานรายการวิเคราะห์เหล็ก แมงกานีส ที่ช่วงความเข้มข้น 0, 1, 10, 20, 40, 60, 80, 100 มิลลิกรัมต่อลิตร รายการวิเคราะห์ สังกะสี ทองแดง ช่วงความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมตัวอย่างดินที่มีสารที่สนใจในปริมาณน้อย แล้วนำไปวัดด้วยเครื่อง ICP-OES พบว่ามีค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.9999, 0.9998, 0.9998, 0.9999 ในรายการวิเคราะห์เหล็ก แมงกานีส สังกะสี ทองแดง ตามลำดับ ดังแสดงตามภาพที่ 3



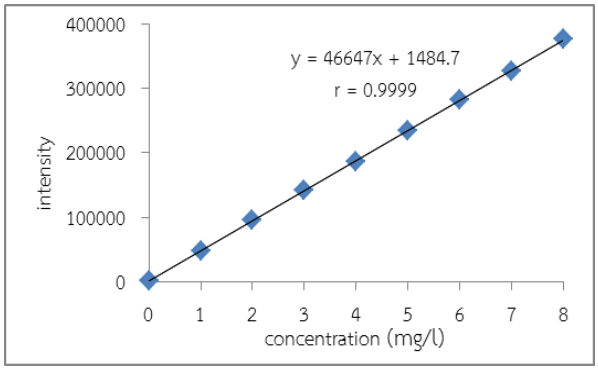

(a) เหล็ก




(b) แมงกานีส

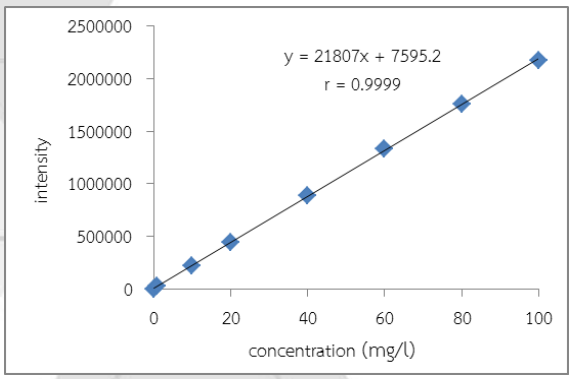



(c) สังกะสี

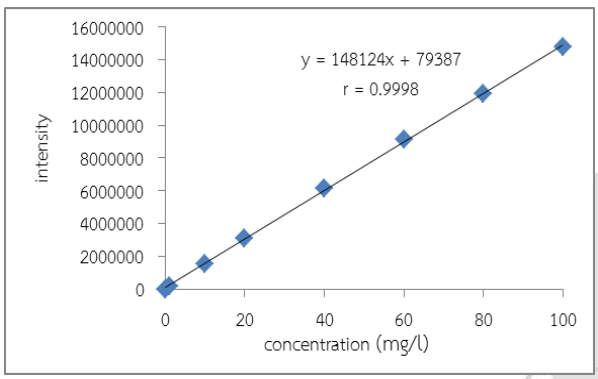



(d) ทองแดง

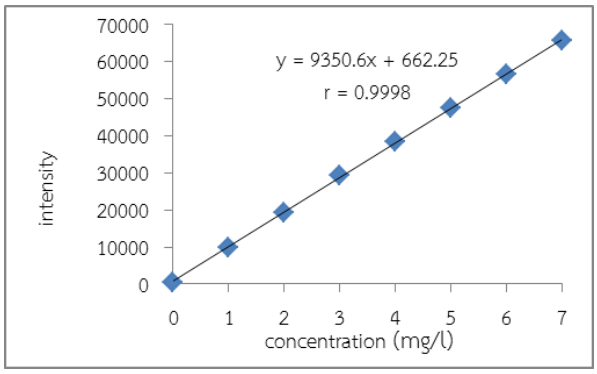
ภาพที่ 2 แสดงค่า correlation coefficient (r) ความสัมพันธ์เชิงเส้นของกราฟสารละลายมาตรฐาน ที่เติมตัวอย่างดินที่มีสารที่สนใจในปริมาณน้อย สำหรับการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity range)



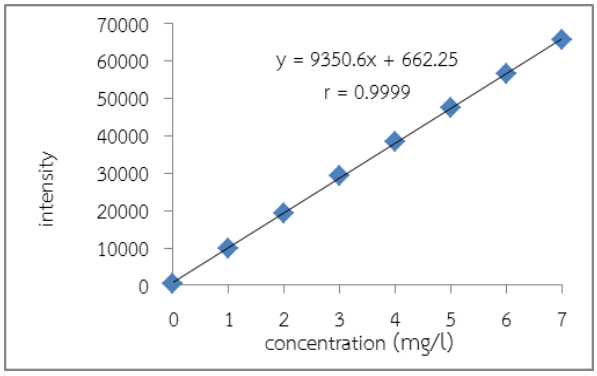

(a) เหล็ก




(b) แมงกานีส




(c) สังกะสี




(d) ทองแดง

ภาพที่ 3 แสดงค่า correlation coefficient (r) ความสัมพันธ์เชิงเส้นของกราฟสารละลายมาตรฐาน ที่เติมตัวอย่างดินที่มีสารที่สนใจในปริมาณน้อย สำหรับการศึกษาช่วงความเข้มข้นที่ใช้งาน (working range)

3. หาค่าขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ) (Eurachem, 2014) พบว่ามีค่า LOD เท่ากับ 1.71, 0.51, 0.18, 0.12 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ LOQ ที่ได้จากการคำนวณ เท่ากับ 5.70, 1.70, 0.60, 0.40 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในรายการวิเคราะห์เหล็ก แมงกานีส สังกะสี ทองแดง ตามลำดับ ดังแสดงตามตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงค่า LOD และ LOQ รายการวิเคราะห์เหล็ก แมงกานีส สังกะสี ทองแดง

| No. | Result (mg/kg) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Fe | Mn | Zn | Cu |
| 1 | 8.48 | 0.66 | 0.27 | 0.17 |
| 2 | 8.89 | 1.01 | 0.31 | 0.21 |
| 3 | 8.82 | 0.99 | 0.31 | 0.21 |
| 4 | 8.90 | 1.00 | 0.30 | 0.21 |
| 5 | 9.87 | 1.04 | 0.25 | 0.16 |
| 6 | 8.65 | 0.68 | 0.18 | 0.10 |
| 7 | 7.54 | 1.20 | 0.17 | 0.14 |
| 8 | 8.56 | 0.82 | 0.20 | 0.14 |
| 9 | 8.73 | 0.94 | 0.19 | 0.12 |
| 10 | 8.71 | 0.78 | 0.18 | 0.10 |
| **Average** | **8.71** | **0.91** | **0.24** | **0.16** |
| **SD** | **0.57** | **0.17** | **0.06** | **0.04** |
| **3SD (LOD)** | **1.71** | **0.51** | **0.18** | **0.12** |
| **10SD (LOQ)** | **5.70** | **1.70** | **0.60** | **0.40** |

4. พิสูจน์ความแม่น (Trueness) และ และความเที่ยง (Precision) (Eurachem, 2014) ที่ความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง และวัสดุอ้างอิงรับรอง (CRM)

- รายการวิเคราะห์เหล็ก และแมงกานีส ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 6 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ความเข้มข้นความเข้มข้นกลาง 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และที่ความเข้มข้นสูง 200 มิลลิกรัมต่อลิตร
- รายการวิเคราะห์สังกะสี และทองแดง ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นกลาง 7 มิลลิกรัมต่อลิตร และความเข้มข้นสูง 14 มิลลิกรัมต่อลิตร

พบว่า มีค่าความแม่น (Trueness) ที่แสดง % Recovery ที่ความเข้มข้นต่ำ 101.95, 81.43, 97.14, 100.96 ความเข้มข้นกลาง 107.63, 100.78, 97.43, 97.66 ความเข้มข้นสูง 99.45, 101.07, 89.35, 93.77 และวัสดุอ้างอิงรับรอง 101.06, 95.20, 99.82, 110.43 ในรายการวิเคราะห์เหล็ก แมงกานีส สังกะสี และทองแดง ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์ยอมรับ % Recovery ความเข้มข้นต่ำ กลาง และวัสดุอ้างอิงรับรอง 80-110 % ความเข้มข้นสูง 90-107 % และความเที่ยง (Precision) ที่แสดงโดยค่า HorRat ที่ความเข้มข้นต่ำ 0.28, 0.21, 0.08, 0.04 ที่ความเข้มข้นกลาง 0.32, 0.05, 0.03, 0.02 ความเข้มข้นสูง 0.43, 0.58, 0.24, 0.23 และวัสดุอ้างอิงรับรอง 0.13, 0.14, 0.38, 0.05 รายการวิเคราะห์เหล็ก แมงกานีส สังกะสี และทองแดง ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์ยอมรับ Horrat ≤ 1.3 (AOAC, 2016) ดังแสดงตามตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ผลการพิสูจน์ความแม่น (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (LOQ) กลาง สูง และ CRM

| Parameter | Concentration level | Trueness | | | Precision | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Mean (mg/kg) | SD | %Recovery | % $RSD_r$ | PRSD (R) | HorRat (r) |
| Fe | LOQ | 6.17 | 0.21 | 101.95 | 3.35 | 12.09 | 0.28 |
| | กลาง | 107.72 | 2.85 | 107.63 | 2.48 | 7.87 | 0.32 |
| | สูง | 198.89 | 6.43 | 99.45 | 3.04 | 7.16 | 0.43 |
| | CRM | 65.08 | 0.71 | 101.06 | 1.09 | 8.49 | 0.13 |
| Mn | LOQ | 1.63 | 0.05 | 81.43 | 3.06 | 14.76 | 0.21 |
| | กลาง | 100.78 | 0.39 | 100.78 | 0.38 | 7.95 | 0.05 |
| | สูง | 202.15 | 8.43 | 101.07 | 4.17 | 7.16 | 0.58 |
| | CRM | 15.99 | 0.24 | 95.20 | 1.50 | 10.48 | 0.14 |
| Zn | LOQ | 0.97 | 0.01 | 97.14 | 1.30 | 15.96 | 0.08 |
| | กลาง | 6.82 | 0.02 | 97.43 | 0.37 | 11.91 | 0.03 |
| | สูง | 12.48 | 0.32 | 89.35 | 2.55 | 10.85 | 0.24 |
| | CRM | 0.79 | 0.05 | 99.82 | 6.32 | 16.46 | 0.38 |
| Cu | LOQ | 1.01 | 0.01 | 100.96 | 0.57 | 15.86 | 0.04 |
| | กลาง | 6.84 | 0.02 | 97.66 | 0.24 | 11.91 | 0.02 |
| | สูง | 13.12 | 0.32 | 93.77 | 2.47 | 10.79 | 0.23 |
| | CRM | 1.39 | 0.01 | 110.43 | 0.77 | 15.12 | 0.05 |

5. ตรวจสอบความคงทนของวิธีทดสอบโดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อยจากสภาวะปกติ (Ruggedness)

จากการศึกษาผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อม ด้วยการทดสอบความคงทนของวิธี (Ruggedness) โดยการวางแผนการทดลอง 7 ตัวแปร 8 การทดลอง (Eftichia and Victoria, 2014) การทดลองละ 4 ซ้ำ โดยใช้ Youden-Steiner testing พบว่า ผลการวิเคราะห์เหล็ก แมงกานีส สังกะสี และทองแดง 8 การทดลอง ตัวอย่างดินอ้างอิงภายในรหัส S003 รหัส 0763 และ รหัส S004 (ตารางที่ 7) และผลกระทบของตัวแปร (E) ทั้ง 7 ตัวแปร (ตารางที่ 8) พบว่า

- รหัส S003 มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงความเร็วรอบในการเขย่า รายการทดสอบ เหล็ก และสังกะสี ระยะเวลาตั้งทิ้งไว้ก่อนกรอง รายการทดสอบแมงกานีส และทองแดง
- รหัส 0763 มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลง pH น้ำยาสกัด
- รหัส S004 ไม่มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมของการทดสอบ

ซึ่งแสดงให้เห็นว่าวิธีวิเคราะห์ไม่สามารถเปลี่ยนแปลงรอบในการเขย่า ระยะเวลาตั้งทิ้งไว้ก่อนกรอง และ pH น้ำยาสกัดได้

ตารางที่ 7 ค่าเฉลี่ยผลการวิเคราะห์เหล็ก แมงกานีส สังกะสี และทองแดง 8 การทดลอง

| Experiment | Mean (mg/kg) (R) | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | S003 | | | | 0763 | | | | S004 | | | |
| | Fe | Mn | Zn | Cu | Fe | Mn | Zn | Cu | Fe | Mn | Zn | Cu |
| 1 | 37.98 | 148.57 | 3.33 | 2.71 | 49.59 | 45.29 | 3.79 | 5.52 | 7.60 | 21.62 | 1.29 | 2.20 |
| 2 | 44.32 | 148.72 | 3.44 | 3.43 | 51.50 | 45.98 | 3.84 | 5.74 | 7.82 | 23.15 | 1.28 | 2.25 |
| 3 | 43.91 | 142.81 | 3.26 | 3.28 | 51.00 | 45.32 | 3.75 | 5.64 | 7.58 | 22.65 | 1.19 | 2.19 |
| 4 | 44.31 | 146.93 | 3.20 | 3.3 | 53.40 | 46.57 | 3.96 | 5.90 | 8.00 | 21.17 | 1.12 | 2.33 |
| 5 | 42.42 | 147.74 | 3.06 | 3.35 | 53.07 | 47.15 | 3.91 | 5.92 | 7.98 | 22.85 | 1.11 | 2.24 |
| 6 | 44.41 | 144.27 | 3.06 | 3.22 | 52.93 | 48.37 | 4.04 | 5.99 | 7.68 | 21.22 | 1.27 | 2.30 |
| 7 | 38.56 | 147.20 | 3.30 | 3.34 | 54.61 | 49.02 | 4.24 | 6.21 | 7.49 | 24.03 | 1.25 | 2.28 |
| 8 | 39.74 | 143.21 | 3.33 | 2.92 | 53.07 | 47.54 | 4.06 | 6.00 | 7.76 | 21.56 | 1.14 | 2.26 |



ตารางที่ 8 ผลกระทบของตัวแปร (E)

| | Effect of variables (E) | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | S003 | | | | 0763 | | | | S004 | | | |
| | Fe | Mn | Zn | Cu | Fe | Mn | Zn | Cu | Fe | Mn | Zn | Cu |
| $E_A$ = [R1 + R2 + R3 + R4]/4 - [R5 + R6 + R7 + R8]/4 | 1.35 | 1.15 | 0.12 | -0.03 | **-2.05** | **-2.23** | **-0.23** | **-0.33** | 0.02 | -0.27 | 0.03 | -0.05 |
| $E_B$ = [R1 + R2 + R5 + R6]/4 - [R3 + R4 + R7 + R8]/4 | 0.65 | 2.29 | -0.05 | -0.03 | -1.25 | -0.41 | -0.11 | -0.15 | 0.06 | -0.14 | 0.06 | -0.02 |
| $E_C$ = [R1 + R3 + R5 + R7]/4 - [R2 + R4 + R6 + R8]/4 | -2.48 | 0.80 | -0.02 | -0.05 | -0.66 | -0.42 | -0.05 | -0.09 | -0.15 | 1.01 | 0.01 | -0.06 |
| $E_D$ = [R1 + R2 + R7 + R8]/4 - [R3 + R4 + R5 + R6]/4 | **-3.61** | 1.49 | **0.21** | -0.19 | -0.41 | 0.10 | 0.07 | 0.00 | -0.14 | 0.62 | 0.07 | -0.02 |
| $E_E$ = [R1 + R3 + R6 + R8]/4 - [R2 + R4 + R5 + R7]/4 | -0.89 | **-2.93** | 0.00 | **-0.32** | -1.50 | -0.55 | -0.08 | -0.16 | -0.17 | -1.04 | 0.03 | -0.04 |
| $E_F$ = [R1 + R4 + R5 + R8]/4 - [R2 + R3 + R6 + R7]/4 | -1.69 | 0.86 | -0.03 | -0.25 | -0.23 | -0.54 | -0.04 | -0.06 | 0.19 | -0.96 | -0.08 | 0.00 |
| $E_G$ = [R1 + R4 + R6 + R7]/4 - [R2 + R3 + R5 + R6]/4 | -1.28 | 1.12 | -0.05 | -0.10 | 0.47 | 0.82 | 0.12 | 0.08 | -0.09 | -0.54 | 0.05 | 0.06 |
| **S** | **2.76** | **2.39** | **0.13** | **0.25** | **1.59** | **1.37** | **0.16** | **0.22** | **0.19** | **1.04** | **0.08** | **0.06** |

| E | > S แสดงว่า มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมของการทดสอบ

6. วิเคราะห์ความคุ้มค่า โดยเปรียบเทียบต้นทุนการวิเคราะห์ ระยะเวลาการวิเคราะห์ ขั้นตอนการวิเคราะห์ที่เปลี่ยนแปลง และความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ พบว่า ด้านค่าใช้จ่ายที่คิดต่อ 1 ตัวอย่าง การวิเคราะห์เครื่อง AAS คิดเป็น 99.81 บาท เครื่อง ICP-OES คิดเป็น 108.84 บาท ด้านระยะเวลาในการวิเคราะห์ภายในระยะเวลา 1 วัน วิเคราะห์ด้วยเครื่อง AAS จำนวน 30 ตัวอย่าง วิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP-OES จำนวน 240 ตัวอย่าง มีความถูกต้องและความเที่ยง ทั้ง 2 วิธี และมีข้อดีข้อเสียแตกต่างกัน ดังแสดงตามตารางที่ 9

ตารางที่ 9 แสดงการเปรียบเทียบตุ้นทุนการวิเคราะห์ ระยะเวลาการวิเคราะห์ ความถูกต้อง และข้อดี ข้อเสีย ของการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง AAS และ เครื่อง ICP-OES

| **การประเมิน** | **การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง AAS** | | **การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP-OES** | |
|---|---|---|---|---|
| **1. ด้านค่าใช้จ่าย/1ตัวอย่าง** | **ราคาเครื่องมือ** | **ความเสื่อมสภาพที่/ปี** | **ราคาเครื่องมือ** | **ความเสื่อมสภาพที่/ปี** |
| 1.1ค่าเสื่อมสภาพที่ของเครื่องมือ | | | | |
| - เครื่อง AAS | 1,369,000 | 35.25 | - | - |
| - เครื่อง ICP-OES | - | - | 3,390,000 | 10.70 |
| - เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง | 70000 | 0.27 | 70,000 | 0.27 |
| - เครื่องบดตัวอย่างดิน | 220000 | 6.67 | 220,000 | 6.67 |
| - เครื่องเขย่า | 242000 | 2.62 | 242,000 | 2.62 |
| 1.2 เครื่องแก้วและวัสดุวิทยาศาสตร์ | | 29.16 | | 32.79 |
| 1.3 สารเคมี | | 25.84 | | 55.79 |
| สรุปค่าใช้จ่าย | | 99.81 | | 108.84 |
| **2. ด้านระยะเวลา** | | | | |
| - จำนวนตัวอย่าง/วัน (คิด 1 ตัวอย่าง ต่อ 4 รายการวิเคราะห์ Fe Mn Zn Cu) | | 30 | | 240 |
| **3. ด้านความถูกต้อง** | | | | |
| - % Recovery | | ✓ | | ✓ |
| - HorRat | | ✓ | | ✓ |
| **4. ข้อดี** | - เครื่องมือราคาไม่แพง | | - วิเคราะห์ได้หลายธาตุในครั้งเดียว<br>- ไม่ต้องเจือจางสารละลายเนื่องจากสารละลายมาตรฐานมีความเข้มข้นสูง | |
| **5.ข้อเสีย** | - ต้องเจือจางสารละลายเนื่องจากสารละลายมาตรฐานมีความเข้มข้นต่ำ<br>- วิเคราะห์ได้ทีละธาตุ | | - เครื่องมือมีราคาแพง | |

หมายเหตุ AAS หมายถึง เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer

ICP-OES หมายถึง เครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

ห้องปฏิบัติการได้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างเหล็ก แมงกานีส สังกะสี ทองแดง ที่เป็นประโยชน์ในดิน โดยใช้เทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี มีผลการศึกษาการรบกวนจากการเปรียบเทียบกราฟสารละลายมาตรฐาน และกราฟสารละลายมาตรฐานที่เติมตัวอย่างดิน พบว่า % RPD และ % Recovery ผ่านเกณฑ์กำหนด

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ พบว่า มีค่า correlation coefficient (r) ที่แสดงความเป็นเส้นตรงของ Linearity range เท่ากับ 0.9999 ทุกรายการวิเคราะห์ และ Working range เท่ากับ 0.9999 ในรายการวิเคราะห์เหล็กและทองแดง 0.9998 ในรายการแมงกานีส และสังกะสี ผ่านเกณฑ์กำหนด $r \geq 0.995$ มีค่า LOD เท่ากับ 1.71, 0.51, 0.18, 0.12 มิลลิกรัมต่อลิตร และ LOQ ที่ได้จากการคำนวณ เท่ากับ 5.70, 1.70, 0.60, 0.40 มิลลิกรัมต่อลิตร ในรายการวิเคราะห์เหล็ก แมงกานีส สังกะสี ทองแดง ตามลำดับ การพิสูจน์ความแม่น (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ผ่านเกณฑ์กำหนดโดยมี % Recovery ที่ความเข้มข้นต่ำ 101.95, 81.43, 97.14, 100.96 ความเข้มข้นกลาง 107.63, 100.78, 97.43, 97.66 ความเข้มข้นสูง 99.45, 101.07, 89.35, 93.77 และวัสดุอ้างอิงรับรอง 101.06, 95.20, 99.82, 110.43 ค่า HorRat ที่ความเข้มข้นต่ำ 0.28, 0.21, 0.08, 0.04 ที่ความเข้มข้นกลาง 0.32, 0.05, 0.03, 0.02 ความเข้มข้นสูง 0.43, 0.58, 0.24, 0.23 และวัสดุอ้างอิงรับรอง 0.13, 0.14, 0.38, 0.05 ในรายการวิเคราะห์เหล็ก แมงกานีส สังกะสี และทองแดง ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์ยอมรับ

จากการศึกษาความคงทนของวิธี (Ruggedness) 7 ตัวแปร 8 การทดลอง โดยใช้ Youden-Steiner testing โดยการพิจารณาผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อม พบว่า ตัวอย่างดินอ้างอิงภายใน รหัส S003 มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงความเร็วรอบในการเขย่า และระยะเวลาตั้งทิ้งไว้ก่อนกรอง รหัส 0763 มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลง pH น้ำยาสกัด และ รหัส S004 ไม่มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมของการทดสอบ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าวิธีวิเคราะห์ไม่สามารถเปลี่ยนแปลงรอบในการเขย่า ระยะเวลาตั้งทิ้งไว้ก่อนกรอง และ pH น้ำยาสกัดได้ จากการคำนวณต้นทุนการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP-OES พบว่า มีค่าใช้จ่ายต้นทุนการวิเคราะห์สูงเล็กน้อย แต่สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้จำนวนมากต่อวัน การวิเคราะห์เหล็ก แมงกานีส สังกะสี และทองแดง ได้พร้อมกันโดยไม่ต้องเจือจางสารละลายหรือมีการเจือจางน้อยลง ทำให้มีความสะดวกรวดเร็วในการวิเคราะห์ วิธีวิเคราะห์เหล็ก แมงกานีส สังกะสี ทองแดงที่เป็นประโยชน์โดยใช้เทคนิค อินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี สามารถนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการได้อย่างถูกต้อง และแม่นยำ

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

เป็นข้อมูลเพื่อประกอบการขอการรับการรับรองห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025: 2017 เป็นการยกระดับห้องปฏิบัติการให้ได้มาตรฐานสากล ผลวิเคราะห์มีความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ สามารถตรวจสอบย้อนกลับได้ สร้างความเชื่อมั่นและลดข้อโต้แย้งของผลการวิเคราะห์

## เอกสารอ้างอิง


กรมวิชาการเกษตร. 2553. ***คู่มือวิธีวิเคราะห์ดินทางเคมีและฟิสิกส์.*** กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2548. ***ปฐพีวิทยาเบื้องต้น.*** พิมพ์ครั้งที่ 10. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 547 หน้า

ทิพวรรณ นิ่งน้อย. 2549. ***แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว.*** กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. กระทรวงสาธารณสุข. 124 หน้า.

สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติ. 2564. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวัดทางเคมี. (ระบบออนไลน์). แหล่งที่มา: https://www.mwa.co.th/download/prd01/reference_ISO17025/Meth-validation-NIMT.pdf. (8 มีนาคม 2564)

AOAC. 2016. ***Official Method of Analysis of AOAC International.*** 20$^{th}$Ed. AOAC International Gaithersburg, Maryland. USA.

Eurachem. 2014. ***The Fitness for Purpose of Analytical Methods-A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics.*** 2$^{nd}$ Ed. ISBN 978-91-87461-59-0.

NATA. 2018. National Association of Testing Authorities. ***General Accreditation Guidance -Validation and Verification of Quantitative and Qualitative test Methods.*** Australia.

Eftichia Karageorgou, Victoria Samanidou. 2014. ***Youden test application in robustness assays during method.***

David Harvey. 2009. Analytical Chemistry 2.0. (online). Available form: http://dpuadweb.depauw.edu/harvey_web/eTextProject/version_2.0.html. accessed 10 October 2020.

# พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ซิลิคอนในดิน ด้วยเทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี

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

*จิตติรัตน์ ชูชาติ สงกรานต์ มะลิสอน พจมาลย์ ภู่สาร ญาณธิชา จิตต์สะอาด*
*สุภา โพธิจันทร์ กัณฐณา คล้ายแก้ว*

*Jittirat Choochat Songkrant Malisorn Pojjamarn Poosarn Yarnticha 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

การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ซิลิคอนในดินด้วยเทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี โดยการสกัดดินด้วยวิธี 1 M $CH_3COONa$ pH 4.0 และนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometer พบว่า การวิเคราะห์ซิลิคอนด้วยวิธี Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometry Techniques ให้ผลการทดสอบอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ โดยการตรวจสอบความใช้ของวิธีมีขอบข่ายการวิเคราะห์ซิลิคอนในดินในช่วงความเข้มข้น 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 เทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี

## 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 ซิลิคอนถูกเปลี่ยนอยู่ในรูปของแข็งตามผนังเซลล์ ซึ่งทำให้โครงสร้างของผนังเซลล์แข็งแรงขึ้นทนต่อการเข้าทำลายของโรคและแมลงอีกด้วย (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 (แม้น และคณะ, 2552) สามารถลดขั้นตอนการทำให้สารละลายเกิดสี ตามแบบวิธีเดิม และพบว่าการวิเคราะห์ด้วย Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometer มีความไวในการตรวจพบและสามารถตรวจพบได้ในระดับที่ต่ำกว่าการใช้วิธี Spectrophotometric และ flame AES/AAS อีกด้วย การทดลองนี้จึงมุ่งเน้นในการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ซิลิคอนในดิน ด้วยเทคนิคอินดักทีพลีคัพเปิลพลาสมาสเปคโตรเมทรี (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 นำสารละลายมาตรฐานไปวัดด้วยไปวัดด้วยเครื่อง 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 พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรง 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 $CH_3COONa$ 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 พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรง คำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient: r) ซึ่งมีเกณฑ์การยอมรับที่ค่า $r \geq 0.995$

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

ชั่งตัวอย่างดินอ้างอิงรับรองที่ความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง (37, 185 และ 370 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) โดยที่ระดับความเข้มข้นสูง ชั่งตัวอย่างดินอ้างอิงรับรอง CRM NCSDC8106a จำนวน 10 กรัม ที่ความเข้มข้นกลาง ชั่งตัวอย่างดิน sample blank จำนวน 5 กรัม และเติมตัวอย่างดินอ้างอิงรับรอง CRM NCSDC8106a จำนวน 5 กรัม รวมเป็น 10 กรัม และที่ความเข้มข้นต่ำชั่งตัวอย่างดิน sample blank จำนวน 9 กรัม และเติมตัวอย่างดินอ้างอิงรับรอง CRM NCSDC8106a จำนวน 1 กรัม รวมเป็น 10 กรัมเติมสารละลาย 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 Spectrophotomete 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

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

- 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

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

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

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 $CH_3COONa$ 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 Spectrophotomete บันทึกข้อมูลคำนวณหาค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

คำนวณค่า LOD และ LOQ จากสูตร

$$LOD = 3S0'$$

$$LOQ = 10S0'$$

3.5 ตรวจสอบความคงทนของวิธีทดสอบโดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อยจากสภาวะปกติ

หาความคงทนของวิธีวิเคราะห์ โดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อย ของการวิเคราะห์ตัวอย่างดินอ้างอิงรับรองที่มีที่ความเข้มข้นของซิลิคอน 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 ($t\text{-}_{Stat}$) ไปเปรียบเทียบกับค่าทีจากตาราง ($t\text{-}_{Critical}$) โดยมีเกณฑ์ว่าค่า $t\text{-}_{Stat}$ น้อยกว่าค่า $t\text{-}_{Critical}$ แสดงว่าค่าเฉลี่ยของการวัดจากข้อมูลทั้ง 2 ชุด ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

**ระยะเวลา** เริ่มต้น ตุลาคม 2562 – สิ้นสุด กันยายน 2564

**สถานที่ดำเนินงาน** กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร 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 ที่ความเข้มข้น 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 เนื่องเป็นธาตุที่มีปริมาณมากในดิน

**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 |

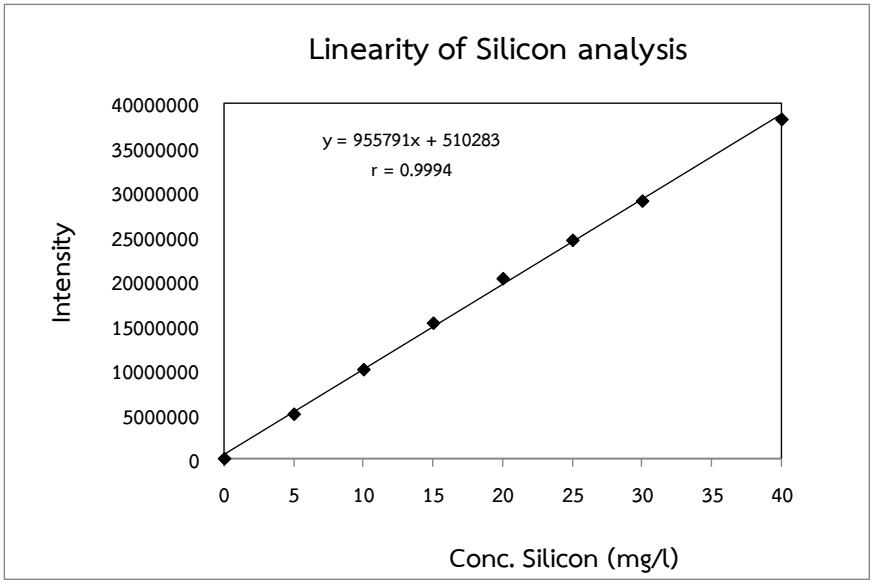
**ตารางที่ 5** % recovery ของการวิเคราะห์ปริมาณซิลิคอนในตัวอย่างดินที่มีซิลิคอน 254 mg/kg

| 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 $CH_3COONa$ pH 4.0 เครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer

3.1 การศึกษาความเป็นเส้นตรง (Linearity)

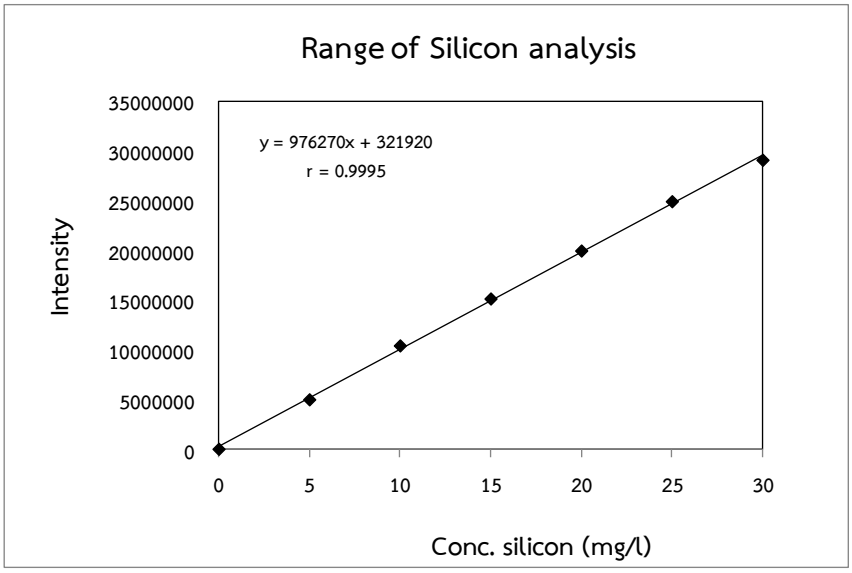
จากการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity) ของการวิเคราะห์ซิลิคอนในดินที่ความเข้มข้นของซิลิคอนในช่วง 0 - 40 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient : r) เท่ากับ 0.9994 พบว่า ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient : r) ≥ 0.995 ผ่านเกณฑ์การยอมรับ (ภาพที่ 2)




**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) ของกราฟมาตรฐานการวิเคราะห์ซิลิคอนที่ช่วงความเข้มข้น 0-30 มิลลิกรัมต่อลิตร

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

ความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ โดยชั่ง 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

$$LOD = \bar{X} + 3\,S_0'$$

$$LOQ = \bar{X} + 10\,S_0'$$

$$S_0' = \frac{S_0}{\sqrt{n}}$$

$$= \frac{0.17}{\sqrt{2}} = 0.12$$

LOD = 6.69 + (3 X 0.12) = 7.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

LOQ = 6.69 + (10 X 0.12) = 7.90 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

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 ปัจจัย ได้แก่ น้ำหนักตัวอย่าง ปริมาตรน้ำยาสกัด และอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด

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

**ตารางที่ 9** การเปลี่ยนแปลงสภาวะและสิ่งแวดล้อมของวิธีวิเคราะห์ซิลิคอนในดินตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง จำนวน 3 ปัจจัย ได้แก่ น้ำหนักตัวอย่าง ปริมาตรน้ำยาสกัด อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด

| ปัจจัย | 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 การตรวจสอบความใช้ของวิธี 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) ดังนั้นวิธีวิเคราะห์ซิลิคอนที่สกัดได้ในดินด้วยเทคนิค Inductively Coupled Plasma (ICP) Emission Spectrometry จึงมีประสิทธิภาพ และเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการตรวจ ที่ทำเป็นงานประจำและต้องการผลการวิเคราะห์ที่ ถูกต้อง แม่นยำ

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

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

## เอกสารอ้างอิง


แม้น อมรสิทธ์ อมร เพชรสม ยุวดี เชี่ยววัฒนา อทิตยา ศิริภิญญานนท์ ศรีวไล โอมอภิญญาณ และ อุมาพร สุขม่วง. 2552. ***หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ Principle and Techniques of Instrumental Analysis Spectroscopy.*** ชวนพิมพ์ กรุงเทพมหานคร. 676 หน้า.

ยงยุทธ โอสถสภา. 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.*** 20$^{th}$Ed. 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***, 2$^{nd}$ 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, Tayor and Francis Group, New York.

# พิสูจน์เอกลักษณ์ และวิเคราะห์องค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี ด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้

# Qualitative Identification and Nitrogen Constituent Analysis in Chemical Fertilizers by Near Infrared Spectroscopy

*ชฎาพร คงนาม* *วรรณรัตน์ ชุติบุตร* *จรีรัตน์ กุศลวิริยะวงศ์* *ศุภัคชญา ทาหาร* *ทองจันทร์ พิมพ์เพชร* *นันทกานต์ ขุนโหร*

*Chadaporn Khongnam* *Wannarut Chutibut* *Charirat Kusonwiriyawong* *Supakchaya Thahan* *Thongchan Pimpet* *Nanthakan Khunhon*

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

## ABSTRACT

In this study, Qualitative identification and nitrogen constituent analysis in chemical fertilizers by Near Infrared Spectroscopy (NIRS), is non-destructive technique to rapidly and accurately predictions. The chemical fertilizers were scanned by NIRS in the region 800 – 2500 nm or 4000 – 12500 $cm^{-1}$, the significant absorbance of ammonium nitrogen (AN) was 7184 $cm^{-1}$ nitrate nitrogen (NN) was 4768 $cm^{-1}$ and urea nitrogen (UN) were 6536, 6820, 6904 and 8452 $cm^{-1}$. Cluster prediction model for AN, NN and UN in chemical fertilizers were developed from the 1st Savitzky - golay a points (dg1) and Normalization to unit length (nle). Validation of the method, was found that the equations for separating nitrogen constituent (urea nitrogen ammonium nitrogen and nitrate nitrogen) in chemical fertilizers formulas 20-0-0, 21-0-0, 12-60-0, 12-61-0, 13-0-46, 15-0-0 and 46-0-0 were correct in all samples. For the mixed fertilizers, the nitrogen constituent was predicted with accuracy of 47%. Analysis of AN UN and NN in chemical fertilizers, the results of AN NN and UN the range were 3.4 – 21.7%, 7.4 – 16.4% and 4.6 – 46.4%, respectively. All spectra were pretreated by Multiplicative scatter correction full (mf), 2nd Savitzky-golay 9 points (dg2) and 2nd Savitzky-golay 9 points (dg2), respectively. The calibration for predicting AN NN and UN in chemical fertilizers, the correlation coefficient (R) were 0.98, 0.98 and 0.99, respectively. The standard error of calibration (SEC) were 0.86%, 0.17% and 1.08%, respectively.; and standard error of prediction (SEP) were 0.86%, 0.43% and 1.28%, respectively. Validation of the method, inspection of accurate by paired t-test showed that $t_{ext}$ lower than $t_{crit}$ of 95% (accepted $t_{ext} < t_{crit}$) and recovery was 84 -120%. Inspection of precision by RSD, the %RSD lower than 1.9. (AOAC accepted %RSD ≤ 1.9) Therefore, calibration model can be predict of AN NN and UN content in chemical fertilizers by NIRS with accuracy in the range of 84-120%.

**Keywords :** Near Infrared Spectroscopy Ammonium nitrogen Nitrate nitrogen Urea nitrogen

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการพิสูจน์เอกลักษณ์ และวิเคราะห์องค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี โดยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy, NIRS) ซึ่งเป็นวิธีการวัดแบบไม่ทำลายตัวอย่าง สามารถทำนายค่าทางเคมี และการวิเคราะห์จำแนกกลุ่ม ได้อย่างรวดเร็ว แม่นยำ ลดการใช้สารเคมี และมลภาวะที่เกิดจากห้องปฏิบัติการ โดยนำตัวอย่างปุ๋ยเคมีไปสแกนด้วยเทคนิค NIRS ที่ความยาวคลื่น 800 – 2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น 4000 – 12500 ต่อเซนติเมตร พบช่วงการดูดกลืนแสงที่สำคัญของแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ประมาณ 7184 $cm^{-1}$ ไนเตรท-ไนโตรเจน ประมาณ 4768 $cm^{-1}$ และยูเรีย-ไนโตรเจน ประมาณ 6536, 6820, 6904 และ 8452 $cm^{-1}$ สร้างสมการทำนายแบบจัดกลุ่ม (Cluster) พบว่าได้สมการทำนายสำหรับการจำแนกองค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี โดยใช้การปรับแต่งสมการ (Pretreatments) แบบ 1st Savitzky - golay a points (dg1) และ Normalization to unit length (nle) ทวนสอบสมการทำนายสำหรับการจำแนกองค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี โดยเทคนิค NIRS ด้วยแม่ปุ๋ยเคมีและปุ๋ยเชิงประกอบ สูตร 20-0-0, 21-0-0, 12-60-0, 12-61-0, 13-0-46, 15-0-0 และ 46-0-0 พบว่าสมการทำนายแยกชนิดองค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี (แอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน) ได้ถูกต้องทุกตัวอย่าง สำหรับตัวอย่างปุ๋ยที่มีการผสมแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน สามารถทำนายแยกชนิดองค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมีได้ถูกต้อง 47% การวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน พบว่าค่าพิสัยอยู่ในช่วง 3.4 – 21.7, 7.4 – 16.4 และ 4.6 – 46.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สร้างสมการเทียบมาตรฐาน (Calibration) เพื่อใช้ทำนายค่าด้วยวิธี Partial least square (PLS) regression ปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธี Multiplicative scatter correction full (mf), 2nd Savitzky-golay 9 points (dg2) และ 2nd Savitzky-golay 9 points (dg2) ตามลำดับ พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient, R) เท่ากับ 0.98, 0.98 และ 0.99 ตามลำดับ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายกลุ่มตัวอย่าง Calibration (Standard error of calibration, SEC) เท่ากับ 0.86, 0.17 และ 1.08 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายกลุ่มตัวอย่าง Validation (Standard error of prediction, SEP) เท่ากับ 0.86, 0.43 และ 1.28 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทวนสอบความใช้ได้ของวิธีด้วยตัวอย่างปุ๋ยเคมี พิจารณาความถูกต้องโดยใช้ Paired t-test พบว่าค่า $t_{ext}$ มีค่าน้อยกว่า $t_{crit}$ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ผลการวิเคราะห์ที่ได้ผ่านเกณฑ์การยอมรับ และ Recovery อยู่ในช่วง 84-120% พิจารณาความเที่ยงโดยใช้ %RSD พบว่ามีค่า %RSD เฉลี่ยน้อยกว่า 1.9 ผลการวิเคราะห์ผ่านเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (%RSD ≤ 1.9) สามารถนำสมการมาใช้ประเมินค่าปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี ได้อย่างรวดเร็ว ไม่ทำลายตัวอย่าง และมีความแม่นอยู่ในช่วง 84 – 120%



**คำหลัก :** สเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ แอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน ยูเรีย-ไนโตรเจน


## คำนำ

ปัจจุบันผู้ประกอบการมีการผลิตปุ๋ยไนโตรเจนเชิงเดี่ยวแบบผสมคลุกเคล้าจำนวนมาก ด้วยวิธีทางกายภาพ เช่น ปุ๋ยยูเรียผสมกับปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟต การขึ้นทะเบียนตัวอย่างปุ๋ยจะต้องมีผลทดสอบขององค์ประกอบของไนโตรเจน ได้แก่ ยูเรีย-ไนโตรเจน แอมโมเนียม-ไนโตรเจน แต่เนื่องจากการใส่ปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟตในปริมาณมากจะเป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิต ทำให้ผู้ประกอบการบางรายนำปุ๋ยยูเรียมาลดสูตรด้วยการผสมกับสารตัวเติม หรือ นำปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟตในปริมาณน้อยผสมกับยูเรีย การทดสอบองค์ประกอบของไนโตรเจนจึงมีการผิดพลาดเกิดขึ้น เนื่องจากวิธีทดสอบแอมโมเนียม-ไนโตรเจนในปุ๋ยที่มีส่วนประกอบของยูเรีย-ไนโตรเจน และแอมโมเนียม-ไนโตรเจน จะให้ผลทดสอบแตกต่างจากค่าจริง เพราะการทดสอบแอมโมเนียม-ไนโตรเจนจะทำให้ยูเรียบางส่วนแตกตัวออกมาเป็นแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ผลทดสอบแอมโมเนียม-ไนโตรเจนจึงมีค่าสูงกว่าค่าจริง ถ้าตัวอย่างปุ๋ยมียูเรียปริมาณมากและแอมโมเนียม-ไนโตรเจนปริมาณน้อย ผลทดสอบจะมีความแตกต่างจากค่าจริงมากขึ้น เทคนิค NIRS สามารถแยกพีคขององค์ประกอบของไนโตรเจนได้เนื่องจากแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน มีพีคที่แตกต่างกัน ทำให้สามารถแยกกันอย่างชัดเจน ประกอบกับวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรียไนโตรเจนใน

ปุ๋ยเคมี มีหลายขั้นตอน ต้องใช้สารเคมี และเวลาในการวิเคราะห์ ดังนั้นการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ที่รวดเร็ว ลดการใช้สารเคมี และปลอดภัยต่อผู้วิเคราะห์ จึงเป็นที่ต้องการในการวิเคราะห์ดังกล่าว

เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy, NIRS) เป็นเทคนิคที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากเป็นเทคนิคการวัดแบบไม่ทำลายตัวอย่าง สามารถทำนายค่าทางเคมีได้อย่างรวดเร็ว และแม่นยำ ทราบผลภายใน 3-4 นาที มีการศึกษาเทคนิค NIRS เพื่อจำแนกข้าวหอมมะลิออกจากข้าวพันธุ์อื่นด้วยเทคนิคสเปคโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้ (อารีรัตน์ และคณะ, 2555) การวิเคราะห์แอมโมเนียในมูลสัตว์ปีกด้วยเทคนิค NIRS (Reeves *et al.*, 2002) การวิเคราะห์ธาตุอาหารที่มีรายการแอมโมเนียม-ไนโตรเจนของมูลสุกรด้วยเทคนิค NIRS (Yang *et al.*, 2006) การวิเคราะห์ไนเตรทในดินด้วยเทคนิค NIRS (Ehsani *et al.*, 1999) การตรวจพบและหาปริมาณของสารเติมแต่ง (ยูเรีย ไบยูเร็ต) ในอัลฟาฟ่าโดย NIRS ด้วยโพรบไฟเบอร์ออปติก (Gonzalez-Martin and Hernandez-Hierro, 2008) เทคนิค NIRS 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 เนื่องจากโปรแกรมจะวิเคราะห์การถดถอย เพื่อสร้างสมการแคลิเบรชั่นอย่างอัตโนมัติ รวดเร็ว ทำให้ผู้ใช้สะดวก และเพื่อให้สมการแคลิเบรชั่นมีความเสถียร และมีปัจจัย (Factors) ที่เหมาะสม ควรตรวจสอบช่วงความยาวคลื่นที่ดีที่สุดที่สอดคล้องกับการดูดกลืนขององค์ประกอบที่สนใจ ดังนั้นระหว่างการสร้างสมการแคลิเบรชั่นควรลองปรับช่วงความยาวคลื่นที่ใช้วิธีการปรับแต่งสเปกตรัม และเงื่อนไขการปรับแต่งในแต่ละวิธี เพื่อให้ได้สร้างสมการแคลิเบรชั่นที่มีความแม่นยำที่สุด เพื่อใช้ทำนายค่าคุณสมบัติทางเคมีหรือคุณสมบัติอื่นๆ ของตัวอย่าง ที่สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้อย่างรวดเร็วและแม่นยำ ประหยัดเวลา และลดต้นทุนในการใช้สารเคมี (สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตร และอุตสาหกรรมเกษตร, 2555) งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นในการศึกษาองค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมีโดยเทคนิค NIRS เพื่อพิสูจน์เอกลักษณ์เบื้องต้นและวิเคราะห์เชิงปริมาณของแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน ยูเรีย-ไนโตรเจน ในตัวอย่างปุ๋ยเคมี โดยเทคนิค NIRS ที่มีความรวดเร็ว ประหยัดเวลา ลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตราย และปลอดภัยกับผู้วิเคราะห์

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. เครื่องบดตัวอย่าง
2. เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
3. เครื่อง Near-Infrared (NIR)
4. สารเคมี เครื่องแก้ว และวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์รายการทดสอบแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 วิธีทดสอบ 1.06.01 1.07.01 และ 1.08.01
5. ตัวอย่างปุ๋ยเคมี

## วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่างปุ๋ยเคมี (ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2559)

นำตัวอย่างปุ๋ยเคมีมาบดด้วยเครื่องบดตัวอย่างให้มีความละเอียดไม่น้อยกว่า 20 เมช เทตัวอย่างที่บดแล้วใส่ถุงพลาสติกซิบ ไล่อากาศออกให้หมด และปิดถุงให้สนิท เขียนป้ายบ่งชี้ตัวอย่างเพื่อนำไปวิเคราะห์

2. การวิเคราะห์ค่าทางเคมี (ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2559)

2.1 วิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน โดยการกลั่นด้วยแมกนีเซียมออกไซด์ และใช้กรดบอริกดักจับแอมโมเนีย ไตเตรทสารละลายกรดบอริกที่มีแอมโมเนียละลายอยู่ด้วยสารละลายกรดเกลือมาตรฐาน ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 วิธีทดสอบ 1.06.01

2.2 วิเคราะห์หาปริมาณไนเตรท-ไนโตรเจน โดยรีดิวซ์ไนเตรทไนโตรเจนให้เป็นแอมโมเนียด้วย Devarda alloy แล้วกลั่นด้วยด่าง โดยใช้กรดบอริกดักจับแอมโมเนีย ไตเตรทสารละลายกรดบอริกที่มีแอมโมเนียละลายอยู่ด้วยสารละลายกรดเกลือมาตรฐาน ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 วิธีทดสอบ 1.07.01

2.3 วิเคราะห์หาปริมาณยูเรีย-ไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี โดยการย่อยตัวอย่างปุ๋ยด้วยกรดซัลฟุริกเข้มข้น กรดซาลิไซลิก และโซเดียมไธโอซัลเฟต โดยมีโพแทสเซียมซัลเฟต และคอปเปอร์ซัลเฟตเป็นสารเร่งปฏิกิริยา แล้วกลั่นด้วยด่าง โดยใช้กรดบอริกดักจับแอมโมเนีย ไตเตรทสารละลายกรดบอริกที่มีแอมโมเนียละลายอยู่ด้วยสารละลายกรดเกลือมาตรฐาน จากนั้นนำผลวิเคราะห์ที่ได้มาหักลบแอมโมเนียม-ไนโตรเจนและไนเตรท-ไนโตรเจน สำหรับปุ๋ยเคมีที่ไม่มีไนเตรทเป็นองค์ประกอบ ใช้กรดซัลฟุริกย่อยสลายยูเรีย แล้วกลั่นด้วยด่าง โดยใช้กรดบอริกดักจับแอมโมเนีย แล้วไตเตรทสารละลายกรดบอริกที่มีแอมโมเนียละลายอยู่ด้วยสารละลายกรดเกลือมาตรฐาน ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 วิธีทดสอบ 1.08.01

3. วัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Near-Infrared (NIR)

วัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่ทราบปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน โดยใช้เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy, NIRS) แบบวิธีสะท้อน (Reflectance) โดยเทตัวอย่างปุ๋ยเคมี ใส่ลงใน Petri dish ให้มีความหนาประมาณ 1 เซนติเมตร แล้วนำไปวัดด้วยเครื่อง NIRS โดยใช้แสงที่ความยาวคลื่น (Wave length) 800-2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น (Wave number) 4000-12500 ต่อเซนติเมตร เพื่อเก็บสเปกตรัม

นำสเปคตรัม (Spectrum) ที่ได้มาปรับปรุง (Pretreatments) โดยวิธีทางคณิตศาสตร์ เพื่อหาความยาวคลื่นจำเพาะที่เป็นเอกลักษณ์ของแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน

4. สร้างและปรับปรุงสมการเทียบมาตรฐาน (Calibration) ของวิธีหาปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี โดยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy, NIRS)

หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น (Wave length) 800 – 2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น (Wave number) 4000-12500 ต่อเซนติเมตร และค่าทางเคมีของแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจนในตัวอย่างปุ๋ยเคมี โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป NIRCal ของเครื่อง NIR (Buchi NIRFlex N-500, Switzerland) และในงานวิจัยนี้เลือกใช้ PLS ซึ่งเป็นเทคนิคการวิเคราะห์หลายตัวแปร (Multivariate analysis) โดยการสร้างแฟกเตอร์แบบสมการเชิงเส้นตรงจากข้อมูลของสเปกตรัมเริ่มต้น และนำแฟกเตอร์ที่ได้ไปใช้ในสมการถดถอย วัตถุประสงค์ของ PLS เพื่อต้องการลดจำนวนข้อมูลสเปกตรัมให้ได้เฉพาะข้อมูลสเปกตรัมที่มีความสำคัญกับการทำนายค่าทางเคมีที่สนใจเท่านั้น เพื่อให้สามารถประเมินค่าทางเคมีได้ถูกต้องมากขึ้น การประเมินผลความสามารถของสมการแคลิเบรชั่นสามารถอธิบายได้จากค่าสถิติสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient, R) ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แนวทางการอธิบายความสามารถของสมการแคลิเบรชั่นด้วยค่า R (William, 2001)

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

5. สร้างสมการทำนายสำหรับการจำแนกองค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี โดยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy, NIRS)

นำสเปคตรัมของแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน ในตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่ความยาวคลื่น (Wave length) 800 – 2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น (Wave number) 4000-12500 ต่อเซนติเมตร มาสร้างสมการทำนายแบบจัดกลุ่ม (Cluster) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป NIRCal ของเครื่อง NIR (Buchi NIRFlex N-500, Switzerland ) สมการทำนายองค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมีที่ถูกต้อง ต้องได้ค่า Cluster/Property เท่ากับ 1

6. ทวนสอบสมการเทียบมาตรฐาน (Calibration) ที่ใช้ในการทำนายปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจนในตัวอย่างปุ๋ยเคมี

ทวนสอบสมการ Calibration โดยใช้ตัวอย่างปุ๋ยเคมี โดยพิจารณาความถูกต้อง และความเที่ยง เพื่อให้ได้สมการทำนายผลที่มีความถูกต้อง และแม่นยำ

6.1 พิจารณาความถูกต้อง โดยใช้ Paired t-test และ %Recovery เปรียบเทียบค่าที่ทำนายได้ด้วยวิธี NIRS กับค่าวิเคราะห์ทางเคมี

การคำนวณ

$$t_{ext} = \frac{\bar{d}}{sd/\sqrt{n}}$$

$$\%Recovery = \frac{\text{ค่าที่ทำนายด้วยวิธี NIR}}{\text{ค่าวิเคราะห์ทางเคมี}} \times 100$$

เมื่อ $\bar{d}$ = ค่าเฉลี่ยของความแตกต่าง

sd = ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของความแตกต่าง

n = จำนวนตัวอย่าง

6.2 พิจารณาความเที่ยง โดยใช้ %RSD (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ : Relative standard deviation)

การคำนวณ

$$\%RSD = \frac{sd}{\bar{x}} x\,100$$

เมื่อ sd = ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

$\bar{x}$ = ค่าเฉลี่ยของตัวอย่าง

7. ทวนสอบสมการทำนายสำหรับการจำแนกองค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี โดยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy, NIRS)

ทวนสอบสมการทำนายโดยใช้ตัวอย่างปุ๋ยเคมี โดยพิจารณาความถูกต้องของการจำแนกกลุ่มองค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี (แอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน)

**ระยะเวลา** เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2562 สิ้นสุด เดือนกันยายน 2564

**สถานที่ทำการทดลอง**

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

## ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลการวิเคราะห์ทางเคมี

จากการวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน ในตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่ใช้ในการสร้างสมการ Calibration จำนวน 138, 81 และ 140 ตัวอย่าง ตามลำดับ พบว่ามีค่าพิสัยอยู่ในช่วง 3.4 –21.7, 7.4 – 16.4 และ 4.6 – 46.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

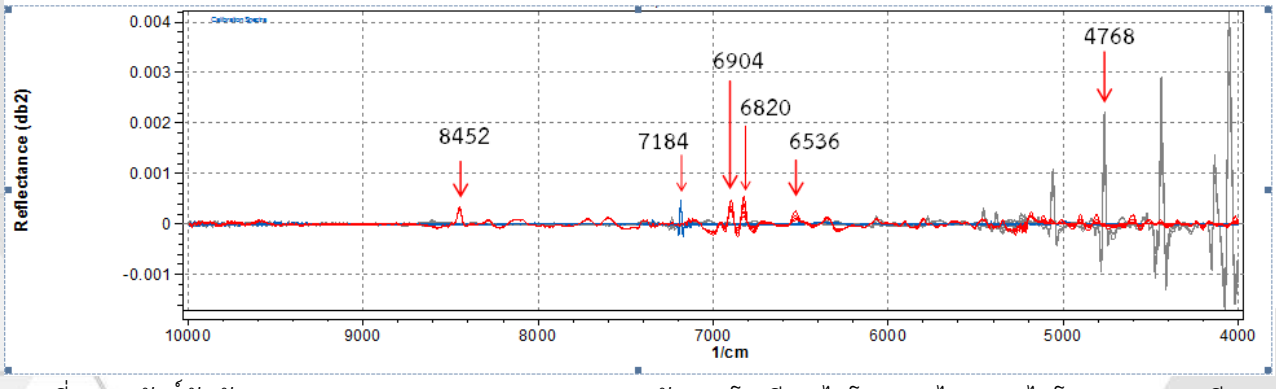
2. ผลการวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Near-Infrared (NIR)

จากการวัดตัวอย่างปุ๋ยเคมีเพื่อหาความยาวคลื่นจำเพาะที่เป็นเอกลักษณ์ของแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน โดยใช้เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy, NIRS) แบบวิธีสะท้อน (Reflectance) โดย Scan ที่ช่วงความยาวคลื่น (Wave length) 800-2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น (Wave number) 4000-12500 ต่อเซนติเมตร และทำการปรับแต่งสเปกตรัมของแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจนในตัวอย่างปุ๋ยเคมี ด้วยวิธี Second derivative แสดงในภาพที่ 1 พบช่วงการดูดกลืนแสงที่สำคัญของแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจนในตัวอย่างปุ๋ยเคมี ได้แก่

2.1 แอมโมเนียม-ไนโตรเจน พบช่วงการดูดกลืนแสงที่จำนวนคลื่นแสงต่อเซนติเมตรประมาณ 7184 $cm^{-1}$ (Yang *et al*., 2006) ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการสั่นของหมู่ R-O-H (ภาพที่ 1)

2.2 ไนเตรท-ไนโตรเจน พบช่วงการดูดกลืนแสงที่จำนวนคลื่นแสงต่อเซนติเมตรประมาณ 4768 $cm^{-1}$ ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการสั่นของหมู่ O-H และ C-O (ภาพที่ 1)

2.3 ยูเรีย-ไนโตรเจน พบช่วงการดูดกลืนแสงที่จำนวนคลื่นแสงต่อเซนติเมตรประมาณ 6536, 6820, 6904 และ 8452 $cm^{-1}$ (Gonzalez-Martin and Hernandez-Hierro, 2008) ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการสั่นของหมู่ $RNH_2$, $CONH_2$ และ C-H (ภาพที่ 1)




ภาพที่ 1 อนุพันธ์อันดับสอง (Second derivative) ของสเปกตรัมแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน ในตัวอย่างปุ๋ยเคมี

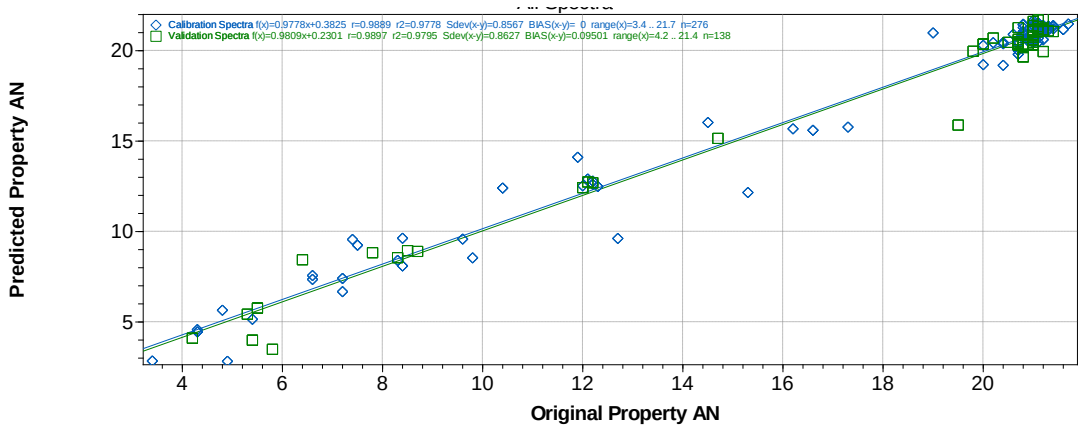
3. สมการเทียบมาตรฐาน (Calibration) ของปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน

นำค่าการดูดกลืนแสง และค่าทางเคมีของแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจนในตัวอย่างปุ๋ยเคมี มาสร้างสมการ Calibration โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป NIRCal ของเครื่อง NIR (Buchi NIRFlex N-500, Switzerland) ด้วยวิธี Partial least square (PLS) regression

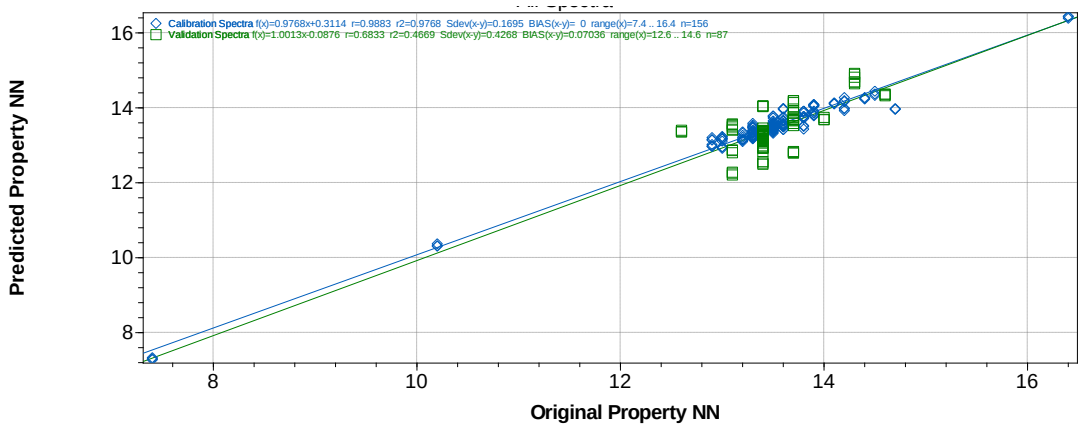
3.1. ได้สมการแอมโมเนียม-ไนโตรเจน โดยใช้การปรับแต่งสมการ (Pretreatments) แบบ Multiplicative scatter correction full (mf) พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient, R) เท่ากับ 0.98 แสดงว่าสามารถทำนายเพื่อการประกันคุณภาพ (Quality assurance) ได้ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายกลุ่มตัวอย่าง Calibration (SEC) เท่ากับ 0.86 เปอร์เซ็นต์ และค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายกลุ่มตัวอย่าง Validation (SEP) เท่ากับ 0.86 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 2)

3.2. ได้สมการไนเตรท-ไนโตรเจน โดยใช้การปรับแต่งสมการ (Pretreatments) แบบ 2nd Savitzky-golay 9 points (dg2) พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient, R) เท่ากับ 0.98 แสดงว่าสามารถทำนายเพื่อการประกันคุณภาพ (Quality assurance) ได้ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายกลุ่มตัวอย่าง Calibration (SEC) เท่ากับ 0.17 เปอร์เซ็นต์ และค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายกลุ่มตัวอย่าง Validation (SEP) เท่ากับ 0.43 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 3)

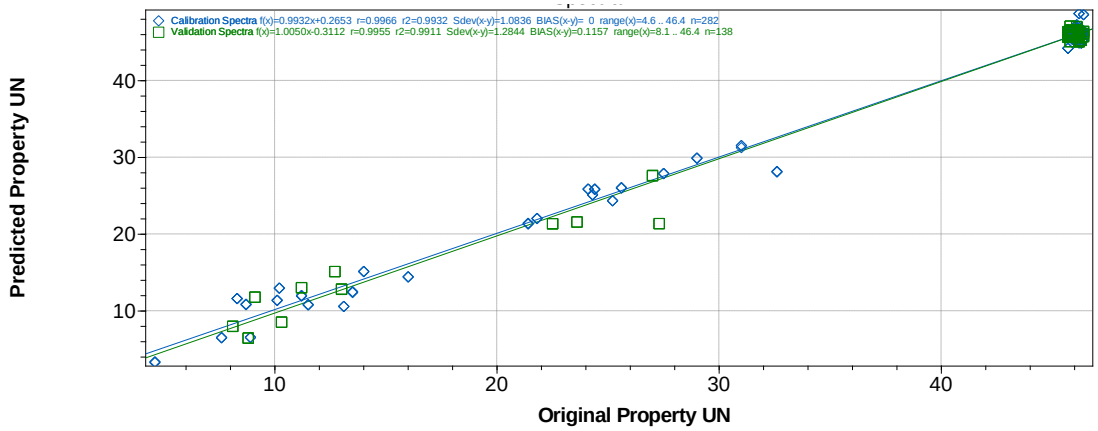
3.3. ได้สมการยูเรีย-ไนโตรเจน โดยใช้การปรับแต่งสมการ (Pretreatments) แบบ 2nd Savitzky-golay 9 points (dg2) พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient, R) เท่ากับ 0.99 แสดงว่าสามารถทำนายทุกงาน (Any application) ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายกลุ่มตัวอย่าง Calibration (SEC) เท่ากับ 1.08 เปอร์เซ็นต์ และค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายกลุ่มตัวอย่าง Validation (SEP) เท่ากับ 1.28 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 4)




ภาพที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าที่วิเคราะห์ได้จากวิธีทางเคมี และค่าที่ทำนายได้ด้วย NIRS ของปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ในตัวอย่างปุ๋ยเคมี



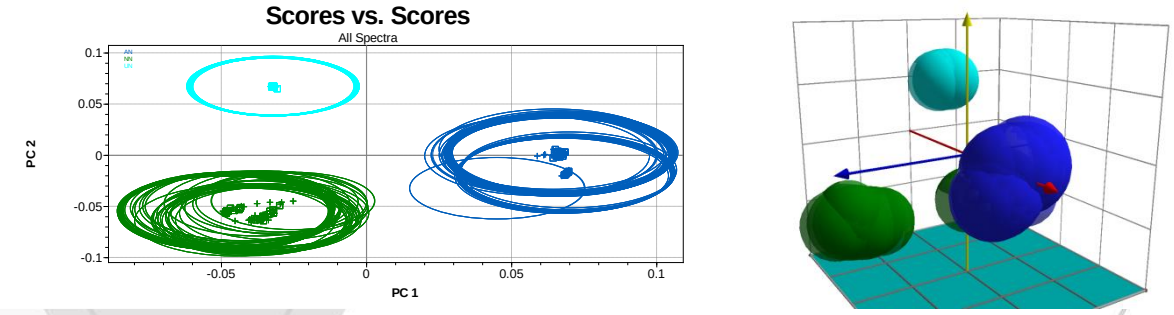

ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าที่วิเคราะห์ได้จากวิธีทางเคมี และค่าที่ทำนายได้ด้วย NIRS ของปริมาณไนเตรท-ไนโตรเจน ในตัวอย่างปุ๋ยเคมี



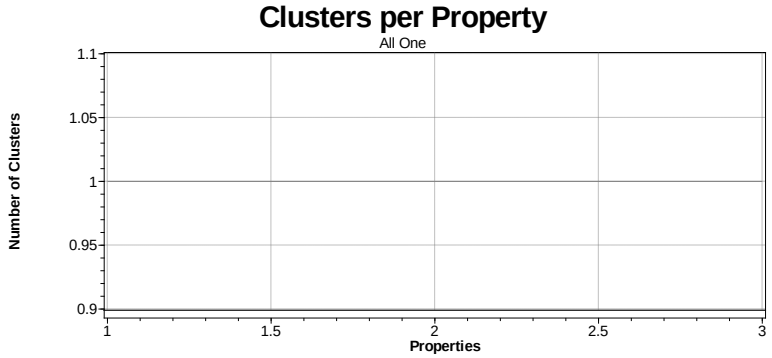

ภาพที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าที่วิเคราะห์ได้จากวิธีทางเคมี และค่าที่ทำนายได้ด้วย NIRS ของปริมาณยูเรีย-ไนโตรเจน ในตัวอย่างปุ๋ยเคมี

4. สมการทำนายสำหรับการจำแนกองค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี โดยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy, NIRS)

นำสเปกตรัมของแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจนในตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่ความยาวคลื่น (Wave length) 800 – 2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น (Wave number) 4000-12500 ต่อเซนติเมตร มาสร้างสมการทำนายแบบจัดกลุ่ม (Cluster) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป NIRCal ของเครื่อง NIR (Buchi NIRFlex N-500, Switzerland) พบว่าได้สมการทำนายสำหรับการจำแนกองค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี โดยใช้การปรับแต่งสมการ (Pretreatments) แบบ 1st Savitzky - golay a points (dg1) และ Normalization to unit length (nle) สมการที่ได้แบ่งแยกองค์ประกอบของไนโตรเจนได้อย่างชัดเจน และค่า Cluster/Property เท่ากับ 1 (ภาพที่ 5)




(a) (b)




(c)

ภาพที่ 5 สมการทำนายจัดกลุ่มแบบ 2D (a) และ 3D (b) ของตัวอย่างแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี และ (c) ความสัมพันธ์ระหว่างสเปกตรัมแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน ในปุ๋ยเคมี กับการจัดกลุ่มตัวอย่าง ด้วย NIRS

5. ผลทวนสอบสมการเทียบมาตรฐาน (Calibration) ที่ใช้ในการทำนายปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี โดยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy, NIRS)

เมื่อนำตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่มีปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน จำนวน 22, 20 และ 25 ตัวอย่าง ตามลำดับ มาทวนสอบสมการที่ใช้ทำนายปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน ในปุ๋ยเคมี พิจารณาความถูกต้องโดยเปรียบเทียบค่าที่ทำนายได้ (เทคนิค NIRS) กับค่าวิเคราะห์ทางเคมี ด้วย Paired t-test พบว่า มีค่า $t_{ext} < t_{crit}$ ทุกรายการทดสอบ แสดงว่าผลการวิเคราะห์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และ %Recovery อยู่ในช่วง 80-120% พิจารณาความเที่ยงด้วย %RSD พบว่า มีค่า %RSD เฉลี่ยน้อยกว่า 1.9 ทุกรายการทดสอบ แสดงว่าผลการวิเคราะห์ผ่านเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (AOAC, 2016) (ตารางที่ 2)

จากข้อมูลแสดงว่าสามารถนำสมการ Calibration มาใช้ประเมินค่าปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี ได้อย่างรวดเร็ว และไม่ทำลายตัวอย่าง ความถูกต้องของการประเมินค่าปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี อยู่ในช่วง 80-120% สำหรับสมการ Calibration ที่ดี ควรมีการปรับปรุงโดยการเพิ่มจำนวนกลุ่มตัวอย่างให้มีความหลากหลาย ค่าทางเคมีในตัวอย่างควรมีค่าที่กระจายอย่างสม่ำเสมอตลอดช่วงของค่าทั้งหมด หรือมีความแปรปรวนครอบคลุมค่าของตัวอย่างในอนาคต เพื่อให้ได้สมการ Calibration ที่เหมาะสม มีความถูกต้อง และแม่นยำ ตลอดการใช้งาน

ตารางที่ 2 ประเมิน Accuracy และ Precision ของสมการที่ใช้ในการทำนายปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน ในปุ๋ยเคมี

| Parameter | Accuracy | | | Precision | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Paired t-test | | %Recovery | $\%RSD_{ext}$ | $\%RSD_r$ |
| | $t_{ext.}$ | $t_{crit.}$ | | | |
| Ammonium nitrogen (AN) | 1.05 | 2.08 | 88 - 120 | 0.03 | 1.9 |
| Nitrate nitrogen (NN) | -0.65 | 2.09 | 87 - 107 | 0.36 | 1.9 |
| Urea nitrogen (UN) | -0.13 | 2.06 | 84 - 110 | 0.08 | 1.9 |

6. ทวนสอบสมการทำนายสำหรับการจำแนกองค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี โดยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy, NIRS)

นำตัวอย่างแม่ปุ๋ยเคมีและปุ๋ยเชิงประกอบที่มีแอมโมเนียม-ไนโตรเจน (สูตร 20-0-0, 21-0-0, 12-60-0, 12-61-0) ไนเตรท-ไนโตรเจน (สูตร 13-0-46, 15-0-0) และยูเรีย-ไนโตรเจน (สูตร 46-0-0) รายการทดสอบละ 20 ตัวอย่าง มาทวนสอบสมการสำหรับการจำแนกองค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี พบว่าสมการทำนายแยกชนิดองค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี (ยูเรีย-ไนโตรเจน แอมโมเนียม-ไนโตรเจน และไนเตรท-ไนโตรเจน) ได้ถูกต้องทุกตัวอย่าง คิดเป็น 100% และตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่มีการผสมแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน จำนวน 21 ตัวอย่าง สามารถทำนายแยกชนิดองค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมีได้ถูกต้อง 10 ตัวอย่าง จากตัวอย่างทั้งหมด 21 ตัวอย่าง คิดเป็น 47% อาจเนื่องมาจากพีคของตัวอย่างที่แสดงยังไม่เด่นชัดทำให้การแยกพีคขององค์ประกอบของไนโตรเจนคลาดเคลื่อนได้

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

การหาปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจนในตัวอย่างปุ๋ยเคมี โดยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy, NIRS) วิธีการวัดแบบ Reflectance สามารถนำสมการเทียบมาตรฐาน (Calibration) มาใช้ประเมินค่าปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน ในปุ๋ยเคมี ได้อย่างรวดเร็ว ไม่ทำลายตัวอย่าง และมีความถูกต้องของการประเมินค่าปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี อยู่ในช่วง 84-120% และการวิเคราะห์เชิงคุณภาพสำหรับจำแนกองค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี สามารถใช้ตรวจประเมินเพื่อแยกชนิดขององค์ประกอบของไนโตรเจนในกลุ่มตัวอย่างแม่ปุ๋ยเคมีและปุ๋ยเชิงประกอบสูตร 20-0-0, 21-0-0, 12-60-0, 12-61-0, 13-0-46, 15-0-0 และ 46-0-0 ได้อย่างรวดเร็ว และแม่นยำ สำหรับตัวอย่างปุ๋ยผสมที่มีแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ยูเรีย-ไนโตรเจน และไนเตรท-ไนโตรเจน สามารถทำนายแยกชนิดองค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมีได้ถูกต้อง 47%

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ได้วิธีวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจนในปุ๋ยเคมีด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ เพื่อเป็นทางเลือกในการวิเคราะห์ ที่รวดเร็ว ไม่ทำลายตัวอย่าง ลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายและปลอดภัยกับผู้วิเคราะห์

2. ได้วิธีวิเคราะห์เชิงคุณภาพเพื่อแยกชนิดขององค์ประกอบของไนโตรเจนของปุ๋ยเคมีในเบื้องต้น (Qualitative) ด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้

# เอกสารอ้างอิง


ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 (2560, 4 มกราคม). ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 134 ตอนพิเศษ 2 ง. หน้า 24.

สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตร และอุตสาหกรรมเกษตร. 2555. เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้และการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

อารีรัตน์ อิ่มศิลป์, ปิยรัตน์ สิริธัญกิจ และรจนา ประสิทธิ์. 2555. การจำแนกข้าวหอมมะลิออกจากข้าวพันธุ์อื่นด้วยเทคนิคสเปคโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้. วารสารวิจัยสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต. 5(2), 37-51

AOAC. 2016. Official Methods of Analysis of AOAC International. 20th ed. AOAC International, Maryland, USA.

Ehsani, M.R., S.K. Upadhyaya and D. A. Slaughter. 1999. NIR Technique for Rapid Determination of Soil Mineral Nitrogen. Precision Agriculture. 1: 217-234

Gonzalez-Martin, I. and J.M. Hernandez-Hierro. 2002. Detection and quantification of additives (urea, biuret and poultry litter) in alfaifas by nir spectroscopy with fibre-optic probe. Talanta. 76: 1130-1135

Reeves, J.B., J.S. Van Kessel and G.W. Malone. 2002. Quick Test for the Determination of Ammonia in Poultry Litter. Poultry Science. 81: 1301-1307

Williams, P.C. 2001. Implementation of Near-Infrared Technology. *In*: Williams, P.C. and K. Norris., eds. Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries. 2nd ed. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, 145-169.

Yang, Z., L.Han and X. Fan. 2006. Rapidly estimating nutrient contents of fattening pig manure from floor scrapings by near infrared reflectance spectroscopy. Near Infrared Spectrosc. 14: 261-268

# วิเคราะห์หาปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมีด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้

# Analysis of Organic Matter in Chemical Organic Fertilizers by Near Infrared Spectroscopy

*ชฎาพร คงนาม* *ศุภัคชญา ทาหาร*

*Chadaporn Khongnam* *Supakchaya Thahan*

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

## ABSTRACT

The objective of this study was to determine organic matter in chemical organic fertilizers by Near Infrared Spectroscopy (NIRS), is non-destructive technique to rapidly and accurately predictions. The chemical organic fertilizers are determined the organic matter content by Walkley and Black Method. The results of organic matter the range was 7.3 – 62.4%. All samples were scanned by NIRS in the region 800 – 2500 nm or 4000 – 12500 $cm.^{-1}$ All spectra were pretreated by Standard normal variate (SNV). NIRS-PLS technique showed the calibration for predicting organic matter in chemical organic fertilizers, the correlation coefficient (R) was 0.90. The standard error of calibration (SEC) was 4.89%; and standard error of prediction (SEP) was 4.94%. Validation of the method, inspection of accurate by paired t-test showed that $t_{ext}$ lower than $t_{crit}$ at confidence level of 95% (accepted $t_{ext} < t_{crit}$) and recovery at concentration more than 15.0% was 80 – 120%. Inspection of precision by RSD, the %RSD lower than 1.9. (AOAC accepted %RSD ≤ 1.9) Therefore, calibration model can be used to predict of organic matter contents in chemical organic fertilizers at concentration more than 15.0% with accuracy in the range of 81 – 117%.

**Keywords :** Near Infrared Spectroscopy Organic matter Chemical organic fertilizers

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี โดยโดยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy, NIRS) ซึ่งเป็นวิธีการวัดแบบไม่ทำลายตัวอย่าง สามารถทำนายค่าทางเคมีได้อย่างรวดเร็ว แม่นยำ ลดการใช้สารเคมี และมลภาวะที่เกิดจากห้องปฏิบัติการ โดยเตรียมตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมีให้ครอบคลุมทุกระดับความเข้มข้น จำนวน 178 ตัวอย่างวิเคราะห์หาปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี โดย Walkley and Black Method ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานของห้องปฏิบัติการวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย พบว่าค่าพิสัยอยู่ในช่วง 7.3 – 62.4 เปอร์เซ็นต์ นำไปสแกนด้วยเทคนิค NIRS ที่ความยาวคลื่น 800 – 2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น 4000 – 12500 ต่อเซนติเมตร สร้างสมการเทียบมาตรฐาน (Calibration) เพื่อใช้ทำนายค่าด้วยวิธี Partial least square (PLS) regression ปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธีการปรับความแปรปรวนให้เป็นมาตรฐาน Standard normal variate (SNV) พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient, R) เท่ากับ 0.90 ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายกลุ่มตัวอย่าง Calibration (Standard error of calibration, SEC) เท่ากับ 4.89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายกลุ่มตัวอย่าง Validation (Standard error of prediction, SEP) เท่ากับ 4.94 เปอร์เซ็นต์ ทวนสอบความใช้ได้ของวิธีด้วยตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมี พิจารณาความถูกต้องโดยใช้ Paired t-test

พบว่าค่า $t_{ext}$ มีค่าน้อยกว่า $t_{crit}$ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ผลการวิเคราะห์ที่ได้ผ่านเกณฑ์การยอมรับ และ %Recovery ที่ระดับความเข้มข้นมากกว่า 15.0% อยู่ในช่วง 81 – 117% พิจารณาความเที่ยงโดยใช้ %RSD พบว่ามีค่า %RSD เฉลี่ยน้อยกว่า 1.9 ผลการวิเคราะห์ผ่านเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (%RSD ≤ 1.9) สามารถนำสมการมาใช้ประเมินค่าปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี โดยเทคนิค NIRS ที่ระดับความเข้มข้นมากกว่า 15.0% ได้อย่างรวดเร็ว ไม่ทำลายตัวอย่าง และมีความแม่นอยู่ในช่วง 81 – 117%

**คำหลัก :** สเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ อินทรียวัตถุ ปุ๋ยอินทรีย์เคมี

## คำนำ

ปุยอินทรียเคมี ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 หมายความวา ปุยที่มีปริมาณธาตุอาหารรับรองแน่นอนโดยมีปริมาณอินทรียวัตถุตามที่รัฐมนตรีกำหนดโดยประกาศในราชกิจจานุเบกษา ซึ่งปริมาณอินทรียวัตถุรับรอง คือ ปริมาณขั้นต่ำของอินทรียวัตถุที่ผู้ผลิต หรือผู้นำเข้าปุยอินทรียรับรองในฉลากวามีอยู่ในปุย อินทรียที่ตนผลิตหรือนำเข้า แล้วแต่กรณี โดยคิดเป็นจำนวนร้อยละของน้ำหนักสุทธิของปุ๋ยอินทรีย์ และกำหนดให้ปุ๋ยอินทรีย์เคมีต้องมีปริมาณอินทรียวัตถุไม่ต่ำกว่าร้อยละ 10 ของน้ำหนัก ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดปริมาณอินทรียวัตถุที่ให้มีในปุ๋ยอินทรีย์เคมี ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 พ.ศ. 2554 การวิเคราะห์หาปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี ด้วยวิธี Walkley and Black Method ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 วิธีทดสอบ 1.28.01 ซึ่งเป็นวิธีที่ห้องปฏิบัติการวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ยใช้วิเคราะห์ปริมาณอินทรียวัตถุ มีหลายขั้นตอน ต้องใช้สารเคมี และเวลาในการวิเคราะห์ ดังนั้นการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ที่รวดเร็ว ลดการใช้สารเคมี และปลอดภัยต่อผู้วิเคราะห์ จึงเป็นที่ต้องการในการวิเคราะห์ดังกล่าว

ปัจจุบันได้มีการนำเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy, NIRS) มาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบต่างๆ ในตัวอย่าง เนื่องจากเป็นเทคนิคการวัดแบบไม่ทำลายตัวอย่าง สามารถทำนายค่าทางเคมีได้อย่างรวดเร็ว และแม่นยำ ทราบผลภายใน 3-4 นาที มีการศึกษาเทคนิค NIRS-PLS เพื่อประเมินองค์ประกอบทางเคมีหรือสมบัติทางกายภาพ เช่น ศึกษาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์โดยเทคนิค NIRS พบว่าช่วงคลื่นแสง 8800-5299 $cm^{-1}$ เหมาะสมที่จะใช้ประเมินอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์ (จิตติมา และสงกรานต์, 2556) การทำนายค่าอินทรียวัตถุ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในดินโดยใช้แสงอินฟราเรดย่านใกล้ พบว่า สมการที่ได้สามารถทำนายปริมาณอินทรียวัตถุในดินได้ค่อนข้างแม่นยำ โดยมีค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (SECV) เท่ากับ 0.12% (ชลันธร และสมศักดิ์, 2557) การหาปริมาณของอินทรียวัตถุในดินโดย NIRS และ PLS (Fidencio *et al.*, 2002) ศึกษาเทคนิค NIR-PLS เพื่อพัฒนาการประเมินปริมาณอินทรียคาร์บอนในปุ๋ยอินทรีย์ให้ได้ผลการทดสอบที่รวดเร็วและถูกต้อง (Wang *et al.,* 2014) การเลือกความยาวคลื่นของการวิเคราะห์อินทรียวัตถุในดินโดย NIRS (Pan *et al.*, 2009) การทำนายองค์ประกอบของเส้นใย เถ้า และอินทรียวัตถุในในข้าวโพด (Fassio *et al*., 2014) เทคนิค NIRS อาศัยหลักการวัดปริมาณแสงที่ถูกดูดกลืนของตัวอย่างเมื่อรังสีอินฟราเรดย่านใกล้ที่มีความยาวคลื่นตั้งแต่ 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 เนื่องจากโปรแกรมจะวิเคราะห์การถดถอย เพื่อสร้างสมการแคลิเบรชั่นอย่างอัตโนมัติ รวดเร็ว ทำให้ผู้ใช้สะดวก และเพื่อให้สมการแคลิเบรชั่นมีความเสถียร และมีปัจจัย (Factors) ที่เหมาะสม ควรตรวจสอบช่วงความยาวคลื่นที่ดีที่สุดที่สอดคล้องกับการดูดกลืนขององค์ประกอบที่สนใจ ดังนั้นระหว่างการสร้างสมการแคลิเบรชั่นควรลอง

ปรับช่วงความยาวคลื่นที่ใช้วิธีการปรับแต่งสเปกตรัม และเงื่อนไขการปรับแต่งในแต่ละวิธี เพื่อให้ได้สร้างสมการแคลิเบรชั่นที่มีความแม่นยำที่สุด เพื่อใช้ทำนายค่าคุณสมบัติทางเคมีหรือคุณสมบัติอื่นๆ ของตัวอย่างที่สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้อย่างรวดเร็วและแม่นยำ ประหยัดเวลา และลดต้นทุนในการใช้สารเคมี (สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร, 2556) งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นในการศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี โดยเทคนิค NIRS เพื่อให้ได้วิธีวิเคราะห์หาปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี ที่มีความรวดเร็ว ประหยัดเวลา ลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตราย และปลอดภัยกับผู้วิเคราะห์

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. เครื่องบดตัวอย่าง
2. เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
3. บิวเรต ขนาด 25 มิลลิลิตร
4. เครื่อง Near-Infrared (NIR)
5. สารเคมี เครื่องแก้ว และวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์รายการทดสอบอินทรียวัตถุ ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 วิธีทดสอบ 1.28.01
6. ตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมี

### วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมี (ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2559)

นำตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมีมาบดด้วยเครื่องบดตัวอย่างให้มีความละเอียดไม่น้อยกว่า 20 เมช เทตัวอย่างที่บดแล้วใส่ถุงพลาสติกซิบ ไล่อากาศออกให้หมด และปิดถุงให้สนิท เขียนป้ายบ่งชี้ตัวอย่างเพื่อนำไปวิเคราะห์

2. การวิเคราะห์ค่าทางเคมี (ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2559)

2.1 ชั่งตัวอย่างจำนวน 0.1xxx – 0.5xxx กรัม ใส่ Erlenmeyer flask ขนาด 125 มิลลิลิตร

2.2 ปิเปตสารละลาย Potassium dichromate ปริมาณ 10 มิลลิลิตร เติมลงไปในตัวอย่าง

2.3 เติม Sulfuric acid ปริมาณ 15 มิลลิลิตร ลงไปในสารละลายตัวอย่าง ข้อ 2.2 อย่างช้าๆ แกว่งเบาๆ ให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในตู้ดูดควัน 16 ชั่วโมง

2.4 เติมน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติมสารละลาย O-phenanthroline ferrous sulfate ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร

2.5 นำสารละลายตัวอย่างมาไตเตรทด้วยสารละลาย Ferrous sulfate จนได้สารละลายสีเขียว และเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นน้ำตาลปนแดง แสดงว่าถึงจุดยุติ บันทึกผล

การคำนวณ

$$\%\ \text{อินทรียคาร์บอน (OC)} = \frac{0.3896 \times N \times B(C-D)}{wt.of\ sample(g) \times C}$$

$$\%\ \text{อินทรียวัตถุ (OM)} = \frac{\%OC}{58} \times 100$$

3. วัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Near-Infrared (NIR)

วัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมี โดยใช้เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy, NIRS) แบบวิธีสะท้อน (Reflectance) โดยเทตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมีใส่ลงใน Petri dish

ให้มีความหนาประมาณ 1 เซนติเมตร แล้วนำไปวัดด้วยเครื่อง NIRS โดยใช้แสงที่ความยาวคลื่น (Wave length) 800-2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น (Wave number) 4000-12500 ต่อเซนติเมตร เพื่อเก็บสเปกตรัม

4. สร้างและปรับปรุงสมการเทียบมาตรฐาน (Calibration)

หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น (Wave length) 800 – 2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น (Wave number) 4000-12500 ต่อเซนติเมตร และค่าทางเคมีของอินทรียวัตถุในตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมี โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป NIRCal ของเครื่อง NIR (Buchi NIRFlex N-500, Switzerland ) และในงานวิจัยนี้เลือกใช้ PLS ซึ่งเป็นเทคนิคการวิเคราะห์หลายตัวแปร (Multivariate analysis) โดยการสร้างแฟกเตอร์แบบสมการเชิงเส้นตรงจากข้อมูลของสเปกตรัมเริ่มต้น และนำแฟกเตอร์ที่ได้ไปใช้ในสมการถดถอย วัตถุประสงค์ของ PLS เพื่อต้องการลดจำนวนข้อมูลสเปกตรัมให้ได้เฉพาะข้อมูลสเปกตรัมที่มีความสำคัญกับการทำนายค่าทางเคมีที่สนใจเท่านั้น เพื่อให้สามารถประเมินค่าทางเคมีได้ถูกต้องมากขึ้น การประเมินผลความสามารถของสมการแคลิเบรชั่นสามารถอธิบายได้จากค่าสถิติสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient, R) ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แนวทางการอธิบายความสามารถของสมการแคลิเบรชั่นด้วยค่า R (William, 2001)

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

5. ทวนสอบสมการเทียบมาตรฐาน (Calibration) ที่ใช้ในการทำนายปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี

ทวนสอบสมการ Calibration โดยใช้ตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมี โดยพิจารณาความถูกต้อง และความเที่ยง เพื่อให้ได้สมการทำนายผลที่มีความถูกต้อง และแม่นยำ

5.1 พิจารณาความถูกต้องโดยใช้ Paired t-test และ %Recovery เปรียบเทียบค่าที่ทำนายได้ด้วยวิธี NIRS กับค่าวิเคราะห์ทางเคมี

การคำนวณ

$$t_{ext} = \frac{\bar{d}}{sd/\sqrt{n}}$$

$$\%Recovery = \frac{\text{ค่าที่ทำนายด้วยวิธี NIR}}{\text{ค่าวิเคราะห์ทางเคมี}} \times 100$$

เมื่อ $\bar{d}$ = ค่าเฉลี่ยของความแตกต่าง

sd = ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของความแตกต่าง

n = จำนวนตัวอย่าง

5.2 พิจารณาความเที่ยง โดยใช้ %RSD (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ : Relative standard deviation) การคำนวณ

$$\%RSD = \frac{sd}{\bar{x}} x\,100$$

เมื่อ sd = ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

$\bar{x}$ = ค่าเฉลี่ยของตัวอย่าง

**ระยะเวลา** เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2562 สิ้นสุด เดือนกันยายน 2564

**สถานที่ทำการทดลอง**

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

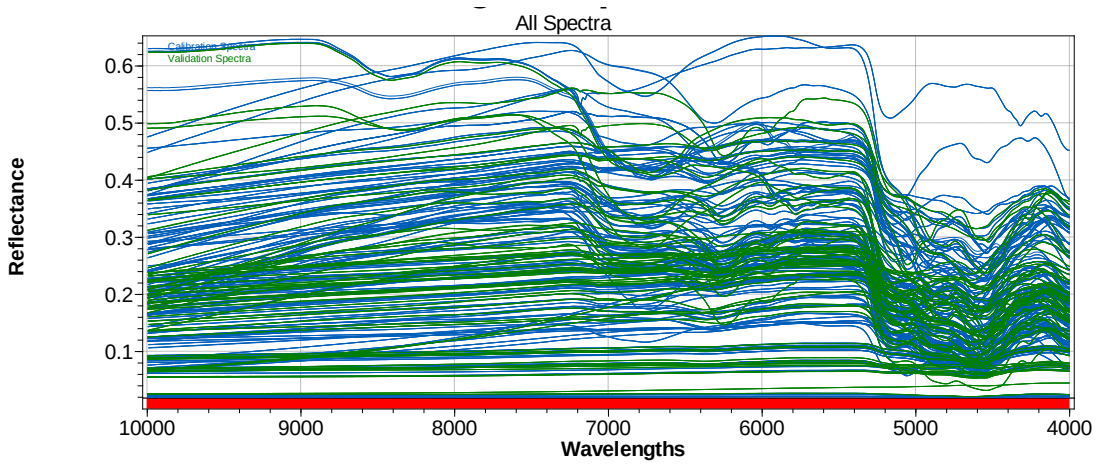
## ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลการวิเคราะห์ทางเคมี

จากการวิเคราะห์หาปริมาณอินทรียวัตถุโดย Walkley and Black Method ในตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมีที่ใช้ในการสร้างสมการ Calibration จำนวน 178 ตัวอย่าง พบว่ามีค่าพิสัยอยู่ในช่วง 7.3 – 62.4 เปอร์เซ็นต์

2. ผลการวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Near-Infrared (NIR)

จากการวัดตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมีเพื่อหาปริมาณอินทรียวัตถุ โดยใช้เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy, NIRS) แบบวิธีสะท้อน (Reflectance) พบว่าได้สเปกตรัมอยู่ในช่วงความยาวคลื่น (Wave length) 1000-2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น (Wave number) 4000-10000 ต่อเซนติเมตร (ภาพที่ 1)

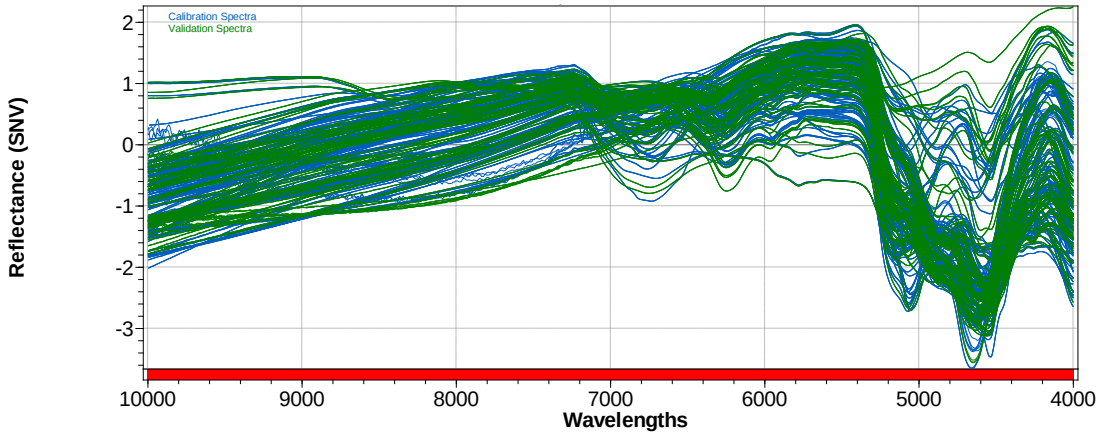



ภาพที่ 1 Original spectra ของตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมีในช่วงเลขคลื่น 4000-10000 ต่อเซนติเมตร

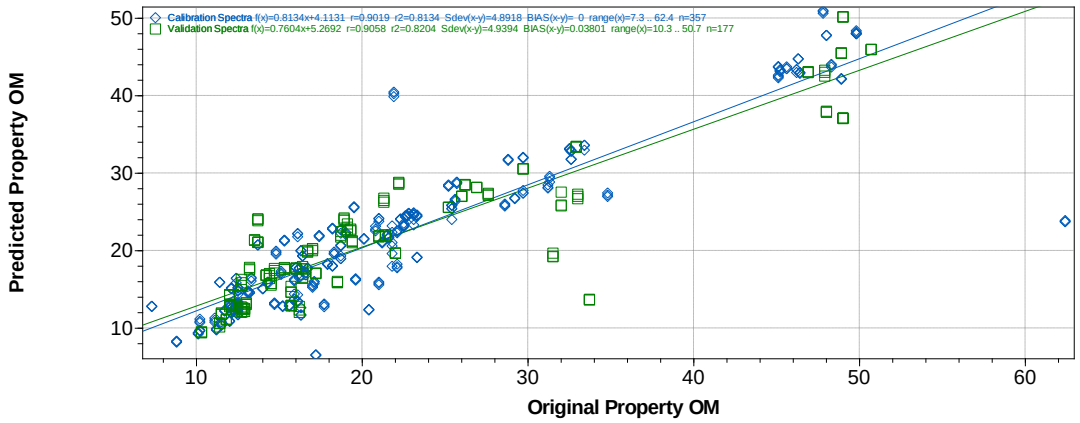
3. สมการเทียบมาตรฐาน (Calibration) ของปริมาณอินทรียวัตถุ

นำค่าการดูดกลืนแสง และค่าทางเคมีของอินทรียวัตถุในตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมี มาสร้างสมการ Calibration โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป NIRCal ของเครื่อง NIR (Buchi NIRFlex N-500, Switzerland ) ด้วยวิธี Partial least square (PLS) regression ปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธีการปรับความแปรปรวนให้เป็นมาตรฐาน Standard normal variate (SNV) เพื่อลดอิทธิพลของการกระเจิงแสงออกจากสเปกตรัม สาเหตุให้เกิดความแปรปรวนในข้อมูลที่วัด (ภาพที่ 2) พบว่า สมการ Calibration ของปริมาณอินทรียวัตถุ มีค่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient, R) เท่ากับ 0.90 แสดงว่าสามารถทำนายเพื่อการแบ่งระดับปริมาณ หรือประมาณค่าเบื้องต้น (Screening) ได้ ค่าความคลาด

เคลื่อนมาตรฐานในการทำนายกลุ่มตัวอย่าง Calibration (SEC) เท่ากับ 4.89 เปอร์เซ็นต์ และค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายกลุ่มตัวอย่าง Validation (SEP) เท่ากับ 4.94 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 3)




ภาพที่ 2 สเปกตรัมที่ปรับแต่งด้วย Standard normal variate (SNV) ของตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมี




ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าที่วิเคราะห์ได้จากวิธีทางเคมี และค่าที่ทำนายได้ด้วย NIRS ของปริมาณอินทรียวัตถุในตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมี

4. ผลทวนสอบสมการเทียบมาตรฐาน (Calibration) ที่ใช้ในการทำนายปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี โดยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy, NIRS)

เมื่อนำตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมีที่มีปริมาณอินทรียวัตถุที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง จำนวน 20, 31 และ 21 ตัวอย่าง ตามลำดับ มาทวนสอบสมการที่ใช้ทำนายปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี พิจารณาความถูกต้องโดยเปรียบเทียบค่าที่ทำนายได้ (เทคนิค NIRS) กับค่าวิเคราะห์ทางเคมี ด้วย Paired t-test พบว่า มีค่า $t_{ext} < t_{crit}$ ทุกระดับความเข้มข้น แสดงว่าผลการวิเคราะห์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และ %Recovery ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง อยู่ในช่วง 75-127%, 81-117% และ 92-114% ตามลำดับ พิจารณาความเที่ยงด้วย %RSD พบว่า มีค่า %RSD เฉลี่ย น้อยกว่า 1.9 ทุกระดับความเข้มข้น ผลการวิเคราะห์ผ่านเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (AOAC, 2016) (ตารางที่ 2)

จากข้อมูลแสดงว่าสามารถนำสมการ Calibration มาใช้ประเมินค่าปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมีได้อย่างรวดเร็ว และไม่ทำลายตัวอย่าง ความแม่นของการประเมินค่าปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมีโดย NIRS ที่

ระดับความเข้มข้นน้อยกว่าหรือเท่ากับ 15.1% อยู่ในช่วง 75 – 127% ความเข้มข้น 15.1-20.0% อยู่ในช่วง 81 – 117% และความเข้มข้นมากกว่า 20.0% อยู่ในช่วง 92 – 114%

ตารางที่ 2 ประเมิน Accuracy และ Precision ของสมการที่ใช้ในการทำนายปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี

| Concentration | Accuracy | | | Precision | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Paired t-test | | %Recovery | $\%RSD_{ext}$ | $\%RSD_r$ |
| | $t_{ext.}$ | $t_{crit.}$ | | | |
| Low (≤15.0%) | -0.29 | 2.09 | 75 - 127 | 1.66 | 1.9 |
| Medium (15.1-20.0%) | -1.28 | 2.13 | 81 - 117 | 1.46 | 1.9 |
| High (>20.0%) | -0.66 | 2.06 | 92 - 114 | 0.41 | 1.9 |

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

การหาปริมาณอินทรียวัตถุในตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมี โดยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy, NIRS) วิธีการวัดแบบ Reflectance สามารถนำสมการเทียบมาตรฐาน (Calibration) มาใช้ประเมินค่าปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมีโดย NIRS ที่ระดับความเข้มข้นมากกว่า 15.0% ได้อย่างรวดเร็ว ไม่ทำลายตัวอย่าง และมีความถูกต้อง อยู่ในช่วง 81 – 117% สำหรับที่ระดับความเข้มข้นน้อยกว่าหรือเท่ากับ 15.0% ยังคงต้องมีการปรับปรุงและพัฒนาสมการที่ใช้ในการทำนาย สมการ Calibration ที่ดีควรมีการปรับปรุง โดยเพิ่มจำนวนกลุ่มตัวอย่างให้มีความหลากหลาย ค่าทางเคมีในตัวอย่างควรมีค่าที่กระจายอย่างสม่ำเสมอตลอดช่วงของค่าทั้งหมด หรือมีความแปรปรวนครอบคลุมค่าของตัวอย่างในอนาคต เพื่อให้ได้สมการ Calibration ที่เหมาะสม มีความถูกต้อง และแม่นยำตลอดการใช้งาน

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ได้วิธีวิเคราะห์หาปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมีด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ เพื่อเป็นทางเลือกในการวิเคราะห์ ที่รวดเร็ว ไม่ทำลายตัวอย่าง ลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตราย และปลอดภัยกับผู้วิเคราะห์
2. สามารถพัฒนาผลงานวิจัยในการตรวจวิเคราะห์พารามิเตอร์อื่นๆ ของปุ๋ย

## เอกสารอ้างอิง


จิติมา และสงกรานต์. 2556. ศึกษาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์โดยเทคนิค NIRS. ใน เอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการ 2556 สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ

ชลันธร วิชาศิลป์ และสมศักดิ์ ระยัน. 2557. การทำนายค่าอินทรียวัตถุ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในดินโดยใช้แสงอินฟราเรดย่านใกล้. วารสารแก่นเกษตร 42 (1) (พิเศษ) 1 : 708-713

ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 (2560, 4 มกราคม). ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 134 ตอนพิเศษ 2 ง. หน้า 24.

ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดปริมาณอินทรียวัตถุที่ให้มีในปุ๋ยอินทรีย์เคมี ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 พ.ศ. 2554. (2554, 1 สิงหาคม). ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 128/ตอนพิเศษ 98 ง. หน้า 20.

สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตร และอุตสาหกรรมเกษตร. 2555. เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้และการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

AOAC. 2016. Official Methods of Analysis of AOAC International. 20th ed. AOAC International, Maryland, USA.

Fassio, A., E. Restaino and D. Cozzolino. 2014. Prediction of fiber fractions, ash and organic matter digestibility in untreated maize stover by near infrared reflectance spectroscopy. Agro Sur. 42(1): 81-86.

Fidencio, P.H., R.J. Poppi, J.C. Andrade and H. Cantarella. 2002. Determination of organic matter in solil using near-infrared spectroscopy and partial least squares regression. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 33(9&10): 1607-1615.

Pan, T., H. Chen, J. Xie, H. Yin and X. Chen. 2009. Wavelengths selection of near infrared diffuse reflection spectroscopy analysis for soil organic matter, pp. 159-162. *In* Proceedings of the 14th International Conference. IM Publications LLP, OHY, UK.

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. 2001. Implementation of Near-Infrared Technology. *In*: Williams, P.C. and K. Norris., eds. Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries. 2nd ed. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, 145-169.

# พิสูจน์เอกลักษณ์ และสมบัติทางเคมีและกายภาพของสารปรับปรุงดิน ชนิดปูนขาว โดยเทคนิคอินฟาเรดย่านใกล้

# Identity and Determine the Chemical and Physical Properties of Hydrated Lime by Near Infrared Spectrophotometer

*สงกรานต์ มะลิสอน* *ญาณธิชา จิตต์สะอาด* *สุภา โพธิจันทร์* *พจมาลย์ ภู่สาร*
*จิตติรัตน์ ชูชาติ* *กัญฐณา คล้ายแก้ว*

*Songkrant Malisorn* *Yarnthicha Jittsa-add* *Supha Photichan* *Pojjamarn Poosarn*
*Jittirat Choochat* *Kanthana Klaigaew*

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

## ABSTRACT

Identity and determine the chemical and physical properties of hydrated lime by Near Infrared Spectroscopy (NIRS). This is a technique that is fast in analysis and does not destroy samples to be used in qualitative and quantitative analysis It is a supplementary information for the determination of criteria to support the law on quality control of soil amendments. It was found that hydrated lime, marl and dolomite have unique spectral characteristics. Classification by cluster calibration. Derivatives 1st Savitzky - Golay 9 Points (dg1) and Normalization to Unit Length (nle) pretreatments can be classified well. 100% accurate prediction for that soil amendment sample without other calcareous samples. while 40.7% can be classified or detected of mixed soil amendment. It is best classified as a mixture of dolomite and marl, mixtures containing hydrate lime and other types of soil amendment were less classified or detectable.

Chemical evaluation results in the CaO. The pretreatment was Sa3, ncl, db1 with r-value of 0.93, SEC 2.46 and SEP 2.40, CCE was ds2 pretreatment had r-value 0.90, SEC 3.21 and SEP 2.57, pH was db1 pretreatment had an r-value of 0.82, a SEC value of 0.04 and a SEP value of 0.04. Accuracy of the t-test paired two sample for mean values were 0.15, -0.68 and 0.005, which were less than t-critical. Calculation of % Recovery, the items CaO were 92.10 – 109.23, CCE were 94.48 – 109.06 items, pH had an absolute difference of 0.01 – 0.11, and the precision assessment of %RSD was found to be 0.01 – 0.86. and 0.04 – 1.18 on the CaO CCE. The NIRS analysis was able to accurately and have precision for determine of CaO, CCE and pH in hydrate lime samples.

**Keywords :** hydrated lime**,** soil amendment, near infrared spectrophotometer

## บทคัดย่อ

จากการพิสูจน์เอกลักษณ์ และหาสมบัติทางเคมีและกายภาพของสารปรับปรุงดินชนิดปูนขาว โดยเทคนิคอินฟาเรดย่านใกล้ ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีความรวดเร็วในการวิเคราะห์และไม่ทำลายตัวอย่าง เพื่อนำมาใช้ในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและปริมาณ เป็นข้อมูลประกอบการกำหนดเกณฑ์เพื่อรองรับกฎหมายการควบคุมคุณภาพของสารปรับปรุงดิน พบว่า สารปรับปรุงดินชนิดปูนขาว ปูนมาร์ล และโดโลไมท์ มีลักษณะสเปกตรัมที่เป็นเอกลักษณ์ การจัดจำแนกโดยการจัดกลุ่ม (Cluster calibration) สมการปรับแต่ง (Pretreatments) แบบ Derivatives 1st Savitzky - Golay 9 Points (dg1) และ Normalization to Unit Length (nle) สามารถจัดจำแนกได้ดี ทำนายได้อย่างถูกต้องร้อยละ 100 สำหรับตัวอย่างสารปรับปรุงดินชนิดนั้นที่ไม่มีตัวอย่างปูนชนิดอื่นผสม ในขณะที่ตัวอย่างปูนผสม สามารถจำแนกได้หรือตรวจพบการผสมปูนชนิดอื่น ร้อยละ 40.7 ซึ่งพบว่า จำแนกได้ดีที่สุดในการผสมโดโลไมท์กับปูนมาร์ล ส่วนการผสมที่มีปูนขาวผสมกับปูนชนิดอื่นจะจำแนกหรือตรวจพบการผสมได้น้อยลง

การประเมินค่าทางเคมี ได้สมการที่ตอบสนองดีที่สุด ในรายการ CaO การปรับแต่งสมการ (Pretreatment) แบบ Sa3, ncl, db1 มีค่า r 0.93 ค่า SEC 2.46 และค่า SEP 2.40 รายการ CCE การปรับแต่งสมการ (Pretreatment) แบบ ds2 มีค่า r 0.90 ค่า SEC 3.21 และค่า SEP 2.57 รายการ pH การปรับแต่งสมการ (Pretreatment) แบบ db1 มีค่า r 0.82 ค่า SEC 0.04 และค่า SEP 0.04 การประเมินความแม่น (Accuracy) จากการประเมินทางสถิติ t-test paired two sample for mean พบว่า มีค่า 0.15, -0.68 และ 0.005 ซึ่งน้อยกว่า t จากตาราง ($t_{crit}$) การคำนวณ % Recovery รายการ CaO มีค่า 92.10 – 109.23 รายการ CCE มีค่า 94.48 – 109.06 รายการ pH มีค่า Absolute difference 0.01– 0.11 และการประเมินความเที่ยง (Precision) จาก %RSD พบว่า มีค่า 0.01 – 0.86 และ 0.04 – 1.18 ในรายการ CaO CCE การประเมินค่าทางเคมีแสดงให้เห็นว่า การวิเคราะห์ด้วยวิธี NIRS สามารถวิเคราะห์หาปริมาณ CaO CCE และ pH ในตัวอย่าง ปูนขาวได้อย่างแม่นยำ และมีความเที่ยง



**คำหลัก :** ปูนขาว สารปรับปรุงดิน เทคนิคอินฟาเรดย่านใกล้


## คำนำ

เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared spectroscopy; NIRS) อาศัยหลักการตรวจวัดปริมาณแสงที่ถูกดูดกลืนของตัวอย่างโดยคลื่นแสงในช่วงอินฟราเรดย่านใกล้ซึ่งอยู่ในช่วงความยาวคลื่นประมาณ 800-2,500 นาโนเมตรส่องเข้าไปในตัวอย่างทำให้โมเลกุลของตัวอย่างดูดกลืน (Absorb) พลังงาน แล้วเกิดการสั่นสะเทือน (Vibration) ของโมเลกุลในกลุ่มฟังก์ชันนัล (Functional Groups) ได้แก่ การยืดหด (Stretching) และการเปลี่ยนมุม (Blending) การตรวจวัดพลังงานทำได้หลายรูปแบบ เช่น วัดการสะท้อน (Reflectance) วัดการส่องผ่าน (Transmittance) เป็นต้น สเปกตรัมที่ได้จะถูกนำมาแยกแยะลักษณะเฉพาะ เพื่อประมวลผลและหาความสัมพันธ์ทางคณิตศาสตร์และสถิติ (Chemometrics) กับข้อมูลของตัวอย่างที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีการทางเคมีหรือวิธีอื่นๆ ของห้องปฏิบัติการ จะได้สมการสอบเทียบมาตรฐาน (Calibration Equation) เพื่อใช้ทำนายค่าคุณสมบัติทางเคมี สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งในเชิงปริมาณ (Quantitative) และเชิงคุณภาพ (Qualitative) เป็นวิธีการที่ให้ผลที่ดีรวดเร็ว ไม่ทำลายตัวอย่าง และลดการใช้สารเคมีในห้องปฏิบัติการจึงถูกนำมาใช้ในการจำแนกองค์ประกอบและคุณสมบัติต่างๆ ของตัวอย่างทั้งในเชิงคุณภาพ และปริมาณได้เป็นอย่างดี โดยพบว่ามีการศึกษาการประมาณค่าแคลเซียมออกไซด์ โดยใช้สเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ ในแร่หินปูนภายใต้สภาวะแห้งและเปียกในเหมืองแร่ (Sungchan *et al*., 2017) และการหาปริมานแคลเซียมไฮดรอกไซด์ในปูนซีเมนต์ โดยสามารถระบุตำแหน่งเลขคลื่น 7082 $cm^{-1}$ ที่เป็นเอกลักษณ์ของปูนซีเมนต์ และหาปริมาณได้ (Tanyapa *et al*., 2018)

สารปรับปรุงดิน ซึ่งเป็นสารที่ได้จากธรรมชาติหรือการสังเคราะห์ขึ้นเพื่อนำมาใช้ในการปรับปรุง คุณสมบัติของดินทั้งทางกายภาพและทางเคมีเพื่อให้ดินมีความอุดมสมบูรณ์มากขึ้นเหมาะแก่การปลูกพืช เกษตรกรจึงนิยมนำมาใช้ปรับปรุงบำรุงดินก่อนการเพาะปลูก โดยปูนขาว (Hydrate lime) ถือเป็นสารปรับปรุงดินชนิดหนึ่ง ที่มีองค์ประกอบในรูป $Ca(OH)_2$ เตรียมได้จากการนำปูนเผา (Quick lime หรือ Burned lime) ขณะที่ยังเป็นก้อนแข็ง เมื่อเย็นแล้วนำน้ำมาพรม

ให้ชุ่มสารประกอบออกไซด์จะทำปฏิกิริยากับน้ำเกิดเป็นสารประกอบไฮดรอกไซด์ (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2548) ถือเป็นปูนทางการเกษตรที่ใช้ในการปรับปรุงดินที่เป็นกรด โดยในปัจจุบันมีสารปรับปรุงดินที่จำหน่ายตามท้องตลาดแต่ละชนิดมีคุณสมบัติ และการนำไปใช้แตกต่างกัน อีกทั้งยังไม่มีหน่วยงานภาครัฐ หรือกฎหมายเข้ามากำกับดูแลด้านคุณภาพหรือเกณฑ์กำหนดปริมาณธาตุอาหารของสารปรับปรุงดิน จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาแนวทางการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีการวิเคราะห์ในการจัดจำแนกและตรวจหาปริมาณสารปรับปรุงดิน ที่มีจำหน่ายตามท้องตลาด เพื่อเป็นข้อมูลประกอบการกำหนดเกณฑ์ประกอบกับการเตรียมรองรับกฎหมายการควบคุมคุณภาพของสารปรับปรุงดินของกรมวิชาการเกษตร

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1) สารมาตรฐานแคลเซียม แมกนีเซียม 1000 มิลลิกรัม/ลิตร
2) Hydrochloric acid 35 – 37% (HCl) AR grade
3) Nitric acid 63 – 65% ($HNO_3$), AR grade
4) pH Buffer 4, 7 และ 10
5) เครื่องชั่งไฟฟ้า
6) เครื่อง Near Infrared Spectrophotometer
7) เครื่อง Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrophotometer (ICP-OES)
8) pH meter
9) เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์

### วิธีการ

1. เตรียมตัวอย่างที่ทราบชนิดตามมาตรฐานของตัวอย่างปูนขาว ปูนมาร์ล และโดโลไมท์ โดยตัวอย่างที่เตรียมจะนำมาใช้พิสูจเอกลักษณ์ สร้างสมการการจัดจำแนกชนิดปูน สร้างสมการประเมินค่าทางเคมี และใช้สำหรับทวนสอบสมการ
2. การวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยวิธี NIR โดยทำการเทตัวอย่างสารปรับปรุงดินปูนขาว ปูนมาร์ล และโดโลไมท์ ที่เตรียมใส่ลงใน Petridish ให้มีความหนาประมาณ 1 เซนติเมตร แล้วนำไปวัดด้วยเครื่อง NIRS แบบวิธีสะท้อน (Reflectance) โดยใช้แสงที่ความยาวคลื่น (wave length) 800-2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น (wave number) 4000-12500 ต่อเซนติเมตร
3. การจัดจำแนกชนิดปูน

3.1 นำสเปกตรัม (Spectrum) จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารปรับปรุงดินชนิดปูนขาว ปูนมาร์ล และโดโลไมท์มาพิจารณาสเปกตรัม (Spectrum) ที่เป็นเอกลักษณ์ของปูนแต่ละชนิด

3.2 ผสมสารปรับปรุงดินชนิดปูนขาวกับปูนชนิดอื่นในอัตราส่วนโดยปริมาตร 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2 และ 9:1

3.3 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง NIRS เพื่อพิจารณาสเปกตรัมที่เป็นเอกลักษณ์ของปูนแต่ละชนิด และตัวอย่างที่ได้จากการผสม

3.4 นำสเปกตรัม (Spectrum) จากการวัดค่าการดูดกลืนแสง มาปรับแต่ง (Pretreatments) โดยวิธีทางคณิตศาสตร์ โดยเลือกวิธีปรับแต่งสเปกตรัม (Pretreatment) ที่ตอบสนองดีที่สุด เพื่อจัดจำแนกชนิดของ ปูนขาว ปูนมาร์ล และโดโลไมท์

3.5 สร้างและปรับปรุงสมการจัดจำแนกชนิดปูน

3.6 ประเมินผลโดยสมการจัดจำแนกชนิดปูนของสารปรับปรุงดินชนิดปูนขาว ปูนมาร์ล โดโลไมท์ และการผสมสารปรับปรุงดิน

4. การประเมินผลทางเคมี

4.1 นำตัวอย่างปูนขาววิเคราะห์ปริมาณแคลเซียมออกไซด์ (CaO) ค่าการทำให้เป็นกลาง (CCE) และความเป็นกรดด่าง (pH) โดยปริมาณแคลเซียมออกไซด์ นำไปย่อยด้วยกรดผสม (ไนตริก 1 : ไฮโดรคลอริก 3) แล้วนำไปวัดด้วยเครื่อง ICP-OES และคำนวณค่าความสามารถทำให้เป็นกลาง และค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยใช้อัตราส่วนของปูนต่อน้ำเท่ากับ 1:1 นำไปวัดด้วยเครื่อง pH meter (ASTM International (ASTM), 2016)

4.2 นำสเปกตรัม (Spectrum) สร้างและปรับปรุงสมการความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและค่าทางเคมีจากห้องปฏิบัติการ คำนวณด้วยวิธี PLS calibration ปรับแต่งสเปกตรัมและเลือกวิธีปรับแต่งสเปกตรัม (Pretreatment) ที่ตอบสนองดีที่สุด พิจารณา ค่า correlation coefficient (r) ค่าค่าความผิดพลาดมาตรฐานของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้สร้างสมการ Calibration (standard error of calibration; SEC) และค่าความผิดพลาดมาตรฐานของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ทดสอบสมการ Validation (standard error of prediction; SEP) ในรายการทดสอบ ปริมาณแคลเซียมออกไซด์ (CaO) ค่าการทำให้เป็นกลาง (CCE) และความเป็นกรด ด่าง (pH)

4.3 สร้างและปรับปรุงสมการประเมินผลค่าทางเคมีของปูนขาว

4.4 ประเมินผลค่าทางเคมีของปูนขาว

5. ทวนสอบสมการ และประเมินความแม่น และความเที่ยง ของตัวอย่างปูนขาว

5.1 พิจารณาความแม่น (Accuracy) โดยใช้ Paired t-test เปรียบเทียบค่าที่ประเมินได้ด้วยวิธี NIRS กับค่าวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการ และ %Recovery หรือ Absolute difference

5.2 พิจารณาความเที่ยง (Precision) โดยใช้ %RSD (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ : Relative Standard Deviation)

6. สรุปผล และรายงานผล

**ระยะเวลา** เริ่มต้น เดือน ตุลาคม 2562 สิ้นสุด เดือน กันยายน 2564

**สถานที่ทำการทดลอง**

ห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

## ผลการทดลองและวิจารณ์

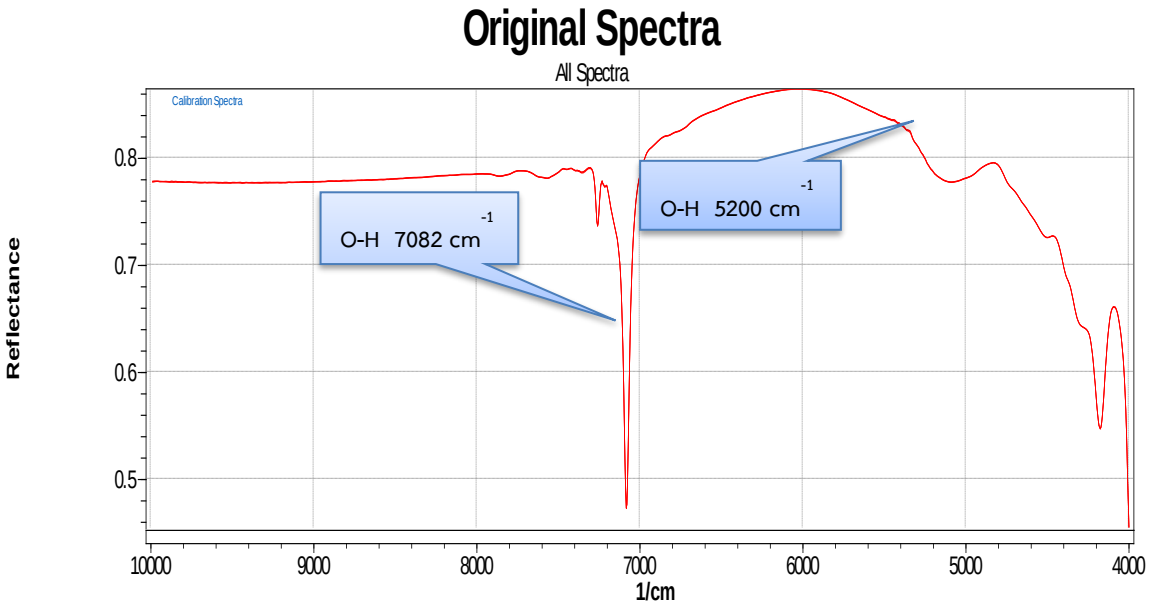
1. การจัดจำแนกชนิดปูน

1.1 พิจารณาสเปกตรัมของสารปรับปรุงดิน

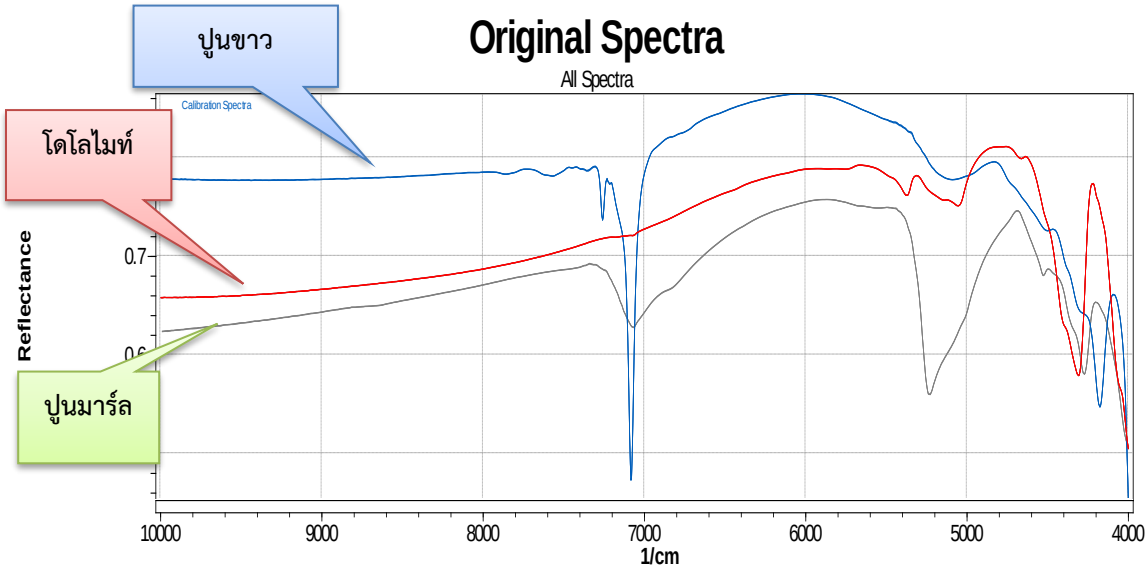
จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารปรับปรุงดินชนิดปูนขาว ปูนมาร์ล และโดโลไมท์ ด้วยเครื่อง NIRS พบว่าปูนขาวมีแถบการดูดกลืนแสงตำแหน่งเลขคลื่น 7082 $cm^{-1}$ และ5200 $cm^{-1}$ (Tanyapa *et al*., 2018) ซึ่งเป็นตำแหน่งหมู่ฟังก์ชัน O-H แสดงถึงเอกลักษณ์ของปูนขาวที่มีสูตรโครงสร้างของสาร คือ $Ca(OH_2)$ ตามภาพที่ 1 และเมื่อพิจารณาสเปกตรัมของปูนขาว ปูนมาร์ล และโดโลไมท์ ก็พบว่า สเปกตรัมมีลักษณะแตกต่างกัน ซึ่งเป็นเอกลักษณ์ของปูนแต่ละชนิดตามภาพที่ 2

1.2 พิจารณาสเปกตรัมการผสมสารปรับปรุงดิน

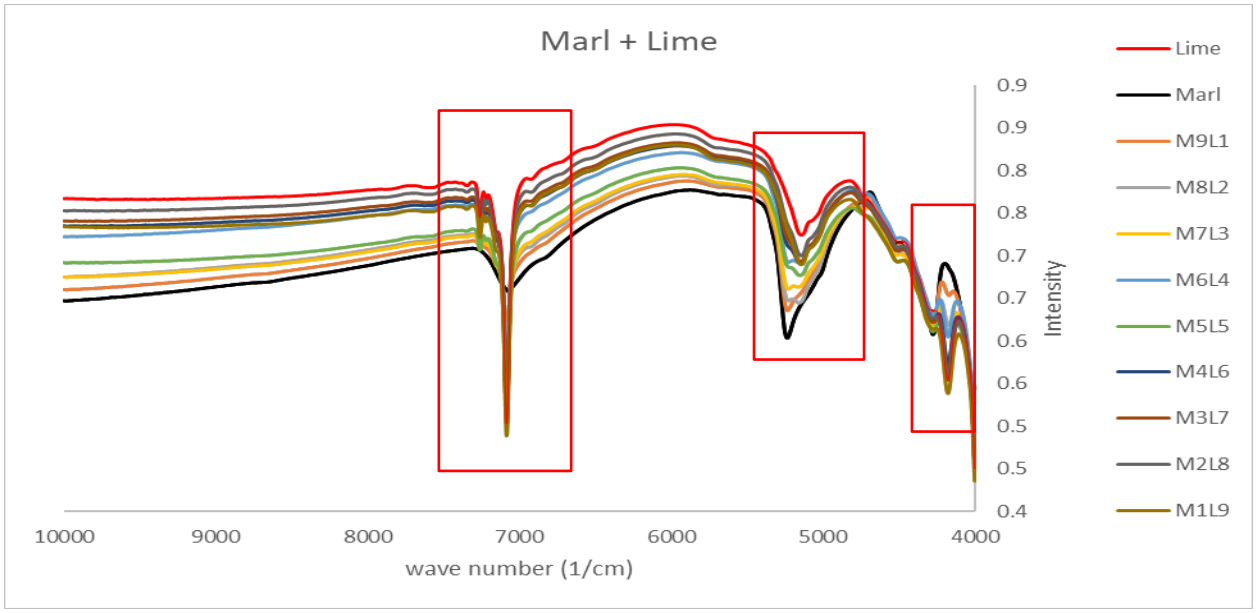
จากการผสมสารปรับปรุงดินสองชนิด ชนิดละ 9 อัตราส่วน โดยปริมาตร พบว่า การผสมปูนขาวผสมกับปูนมาร์ลแสดงสเปกตรัมที่ตำแหน่งเลขคลื่น 7000 - 7200, 5000 – 5300 และ 4100 – 4300 (ภาพที่ 3) และปูนขาวผสมกับโดโลไมท์แสดงสเปกตรัมที่ตำแหน่งเลขคลื่น 7000- 7200, 5000 – 5300 และ 4000 – 4400 (ภาพที่ 4) สเปกตรัมมีลักษณะเปลี่ยนแปลงตามอัตราส่วนในการผสม



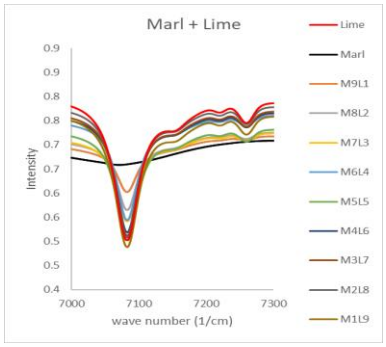

ภาพที่ 1 แสดงสเปกตรัมของสารปรับปรุงดินชนิดปูนขาว

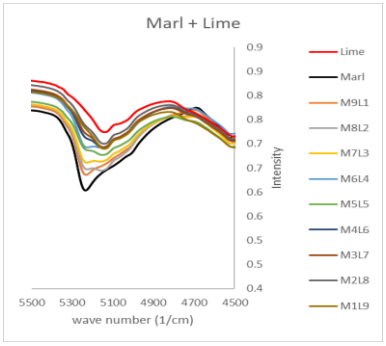


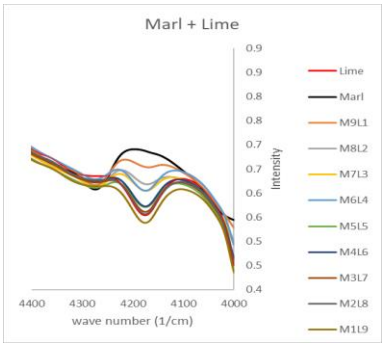

ภาพที่ 2 แสดงสเปกตรัมของสารปรับปรุงดินชนิดปูนขาว ปูนมาร์ล และโดโลไมท์




a)



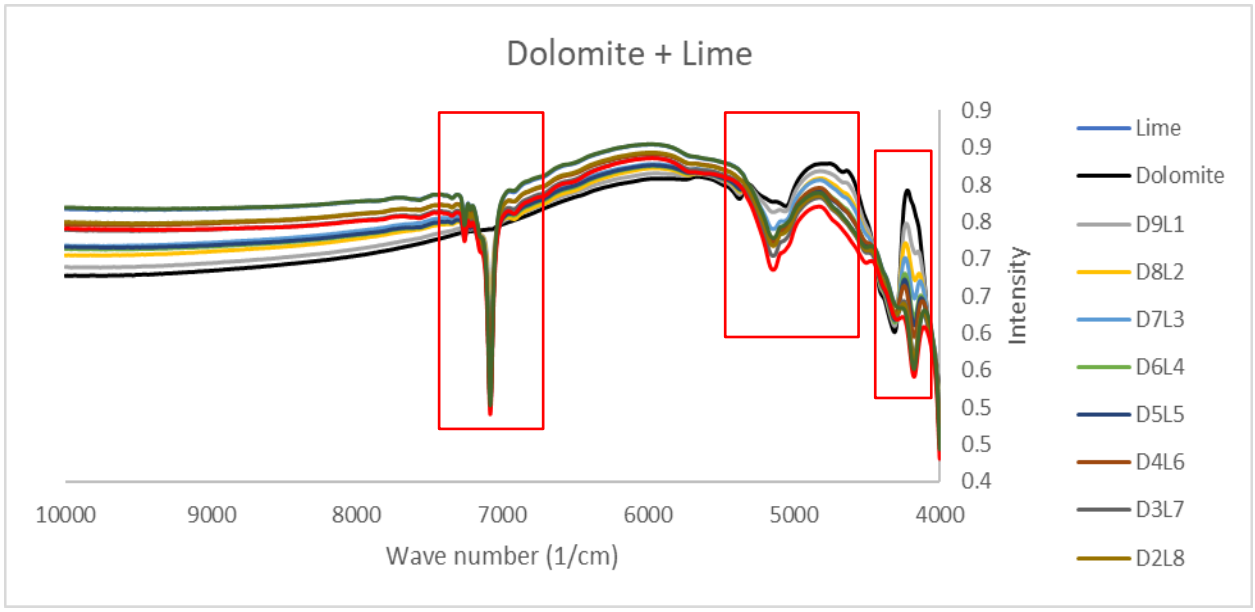



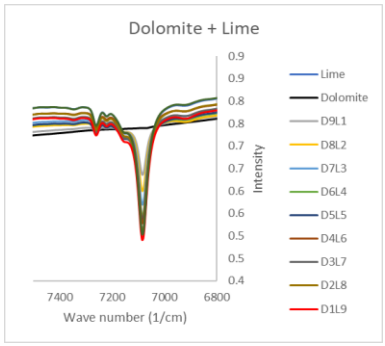

b) c) d)

ภาพที่ 3 แสดง Original spectra ของการผสมปูนขาวกับปูนมาร์ล 9 อัตราส่วนโดยปริมาตร

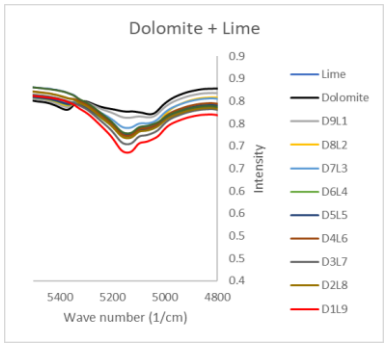
a) ตำแหน่งเลขคลื่น (wave number) 4000 – 10000
b) ตำแหน่งเลขคลื่น (wave number) 7000 – 7200
c) ตำแหน่งเลขคลื่น (wave number) 5000 – 5300
d) ตำแหน่งเลขคลื่น (wave number) 4100 – 4300



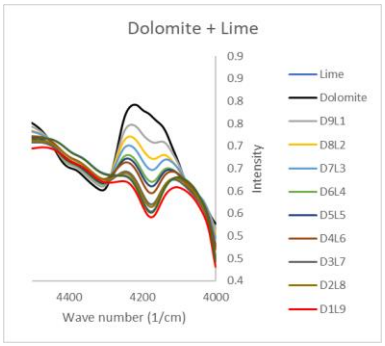

a)




b)




c)




d)

ภาพที่ 4 แสดง Original spectra ของการผสมปูนขาวกับโดโลไมท์ 9 อัตราส่วนโดยปริมาตร

a) ตำแหน่งเลขคลื่น (wave number) 4000 – 10000
b) ตำแหน่งเลขคลื่น (wave number) 7000 – 7200
c) ตำแหน่งเลขคลื่น (wave number) 5000 – 5300
d) ตำแหน่งเลขคลื่น (wave number) 4000 – 4400

1.3 จัดจำแนกสารปรับปรุงดินโดยใช้วิธีการจัดกลุ่ม

จากการนำตัวอย่างปูนขาว โดโลไมท์ และปูนมาร์ล ทั้งหมดจำนวน 150 ตัวอย่าง ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค NIRS ได้ Original spectra ดังแสดงตามภาพที่ 5 เพื่อนำไปสร้างสมการแบบจัดกลุ่ม (Cluster calibration) และทำการปรับแต่งสเปกตรัมเพื่อให้ได้สมการที่สามารถแยกได้ดีที่สุด พบว่า ได้สมการแบบจัดกลุ่มปรับแต่ง (Pretreatments) แบบ Derivatives 1st Savitzky - Golay 9 Points (dg1) และ Normalization to Unit Length (nle) ดังแสดงตาม ภาพที่ 6

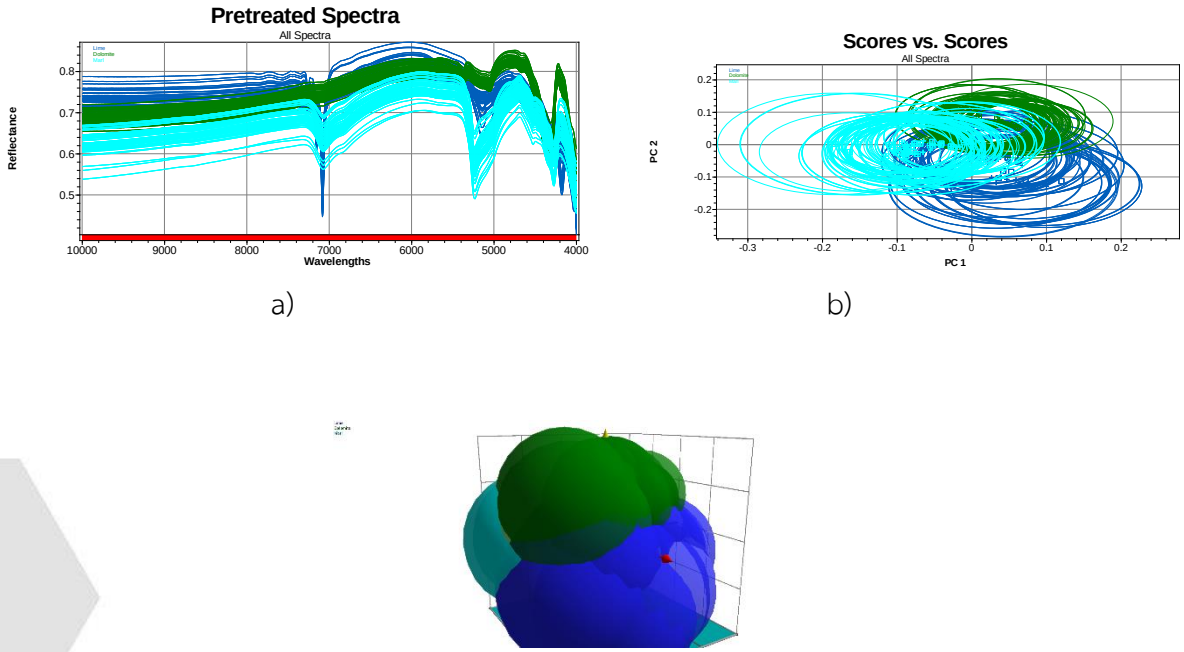
1.3.1 ประเมินผลการจัดจำแนกชนิดสารปรับปรุงดินปูนขาว โดโลไมท์ และปูนมาร์ล จำนวน 56 ตัวอย่าง สามารถจัดกลุ่มได้อย่างถูกต้องตรงตามชนิดปูนร้อยละ 100

1.3.2 ประเมินผลการจัดจำแนกชนิดสารปรับปรุงดินในตัวอย่างปูนผสมสองชนิด ชนิดละ 9 อัตราส่วนโดยปริมาตร ทั้งหมดจำนวน 27 ตัวอย่าง พบว่า สามารถทำนายได้อย่างถูกต้อง จำนวน 11 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 40.7 ดังนี้

1) การผสมปูนขาวกับโดโลไมท์ สามารถทำนายได้อย่างถูกต้อง จำนวน 1 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 11.1 เมื่อมีปริมาตรปูนขาวน้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 10

2) การผสมโดโลไมท์กับปูนมาร์ลสามารถทำนายได้อย่างถูกต้อง จำนวน 7 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 77.8 เมื่อมีปริมาตรโดโลไมท์มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 30

3) การผสมปูนขาวกับปูนมาร์ลสามารถทำนายได้อย่างถูกต้อง จำนวน 3 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 33.3 เมื่อมีปริมาตรปูนขาวน้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 30

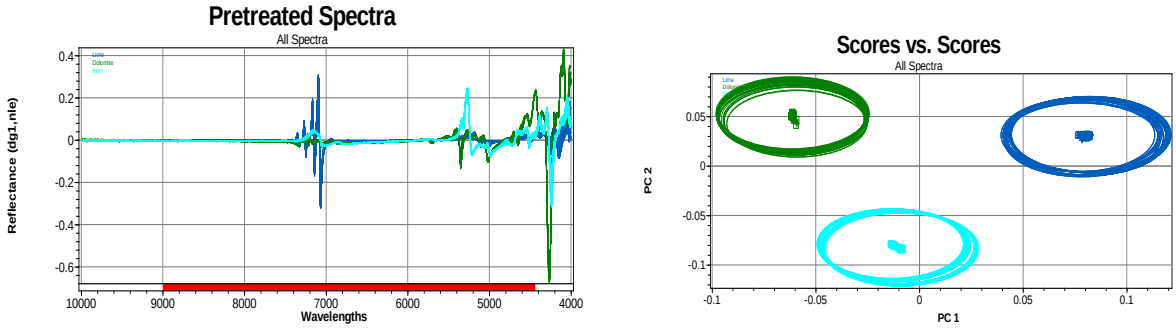



a) b)

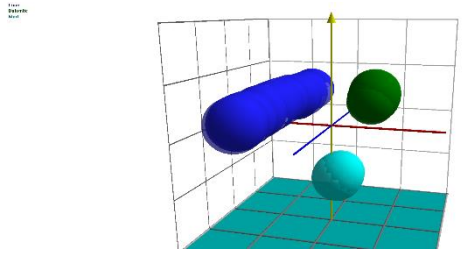
c)

ภาพที่ 5 สมการแบบจัดกลุ่ม Original spectra ของตัวอย่างปูนขาว โดโลไมท์ และปูนมาร์ล จำนวน 150 ตัวอย่าง

a) แบบ original b) แบบ original 2D c) แบบ original 3D




a) b)



c)

ภาพที่ 6 สมการแบบจัดกลุ่มปรับแต่ง (Pretreatments) แบบ Derivatives 1st Savitzky - Golay 9 Points (dg1) และ Normalization to Unit Length (nle) ของตัวอย่างปูนขาว โดโลไมท์ และปูนมาร์ล จำนวน 150 ตัวอย่าง a) แบบปรับแต่ง b) แบบปรับแต่ง 2D c) แบบปรับแต่ง 3D

2. การประเมินผลทางเคมี

2.1 จากการนำตัวอย่างปูนขาว 50 ตัวอย่างวิเคราะห์ผลค่าทางเคมี พบว่า รายการแคลเซียมออกไซด์ (CaO) มีค่า 49.27 - 74.95% รายการ ค่าความสามารถทำให้เป็นกลาง (CCE) มีค่า 100.64 - 135.30% และ รายการความเป็นกรด ด่าง (pH) มีค่า 12.70 - 12.96 (ตารางที่ 1)

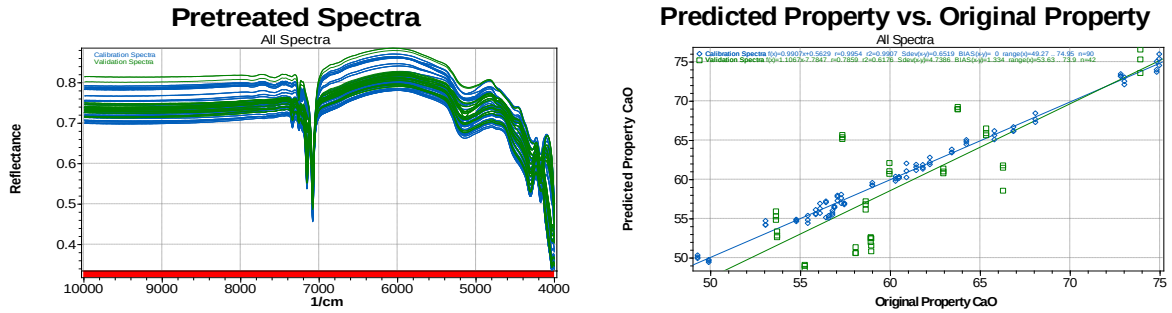
2.2 จากการนำสเปกตรัมเริ่มต้นไปสร้างและปรับปรุงสมการ ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและค่าทางเคมีจากห้องปฏิบัติการ คำนวณด้วยวิธี PLS calibration ปรับแต่งสเปกตรัมเพื่อให้ได้สเปกตรัม (Pretreatment) ที่ตอบสนองดีที่สุด โดยพิจารณา ค่า correlation coefficient (r) (Williams, 2001) ค่าค่าความผิดพลาดมาตรฐานของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้สร้างสมการ Calibration (standard error of calibration; SEC) และ ค่าความผิดพลาดมาตรฐานของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ทดสอบสมการ Validation (standard error of prediction; SEP) เพื่อใช้เป็นเกณฑ์ในการพิจารณาความแม่นยำของสมการประเมินค่าทางเคมี พบว่า รายการ CaO การปรับแต่งสมการ (Pretreatment) แบบ Sa3, ncl, db1 มีค่า r 0.93 ค่า SEC 2.46 และค่า SEP 2.40 รายการ CCE การปรับแต่งสมการ (Pretreatment) แบบ ds2 มีค่า r 0.90 ค่า SEC 3.21 และค่า SEP 2.57 รายการ pH การปรับแต่งสมการ (Pretreatment) แบบ db1 มีค่า r 0.82 ค่า SEC 0.04 และค่า SEP 0.04 (ตารางที่ 2) และแสดงสเปกตรัมในรายการ CaO ดังแสดงตามภาพที่ที่ 7- 8 รายการ CCE แสดงตามภาพที่ 9 - 10 และรายการความเป็นกรด - ด่าง แสดงตามภาพที่ 11 - 12

ตารางที่ 1 แสดงค่าทางเคมี และค่าประเมินทางเคมีด้วยวิธี NIR ของรายการ CaO CCE และ pH

| Method | Result | | |
|---|---|---|---|
| | CaO (%) | CCE (%) | pH (pH unit) |
| Laboratory method | 49.27 - 74.95 | 100.64 - 135.30 | 12.70 - 12.96 |
| NIR method | 53.81 - 73.82 | 109.76 - 135.94 | 12.74 - 12.88 |

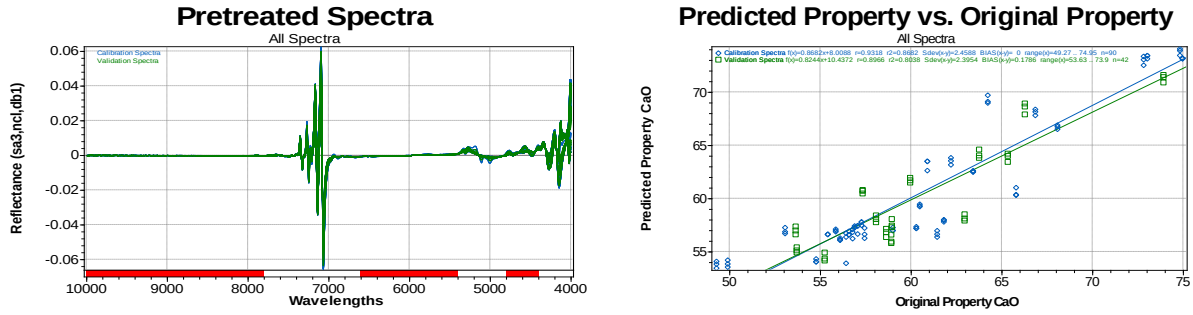
ตารางที่ 2 แสดง ค่าความสัมพันธ์ (r) ค่าความผิดพลาดมาตรฐานของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้สร้างสมการ Calibration (SEC) และ ค่าความผิดพลาดมาตรฐานของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ทดสอบสมการ Validation (SEP)

| Parameter | Pretreatment | r | SEC | SEP |
|---|---|---|---|---|
| CaO | Smmoting Average 3 Points, Nomalization by Closure, Derivatives 1st BCAP (Sa3, ncl, db1) | 0.93 | 2.46 | 2.40 |
| CCE | Derivatives 2nd Taylor 3 Points Segment5 Gap5 BCAP (ds2) | 0.90 | 3.21 | 2.57 |
| pH | Derivatives 1st BCAP (db1) | 0.82 | 0.04 | 0.04 |



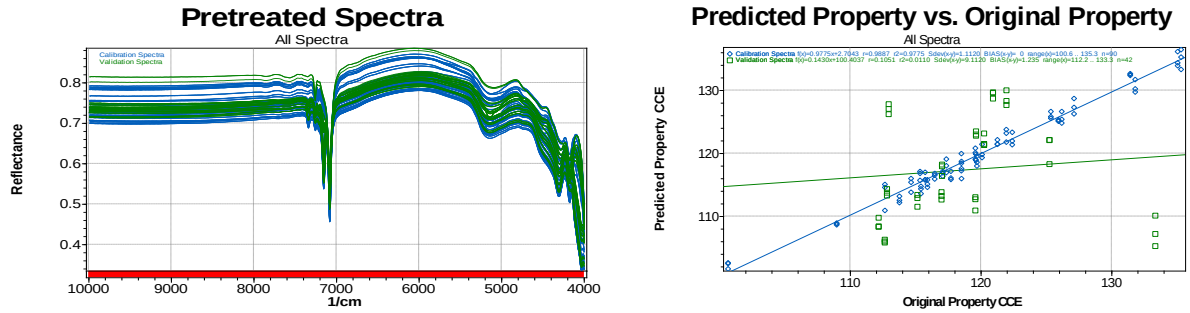

a) b)

ภาพที่ 7 Original spectra และค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าทางเคมี ของรายการวิเคราะห์ CaO
a) Original spectra b) และค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าทางเคมีจากห้องปฏิบัติการและค่าจากวิธี NIRS



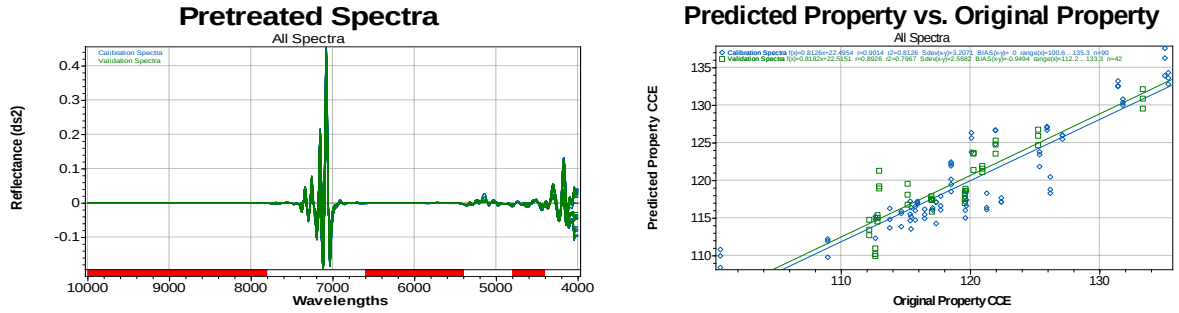

a) b)

ภาพที่ 8 สมการปรับแต่ง (Pretreatments) แบบ Sa3, ncl, db1 และค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าทางเคมี จากห้องปฏิบัติการ และค่าจากวิธี NIRS ของรายการวิเคราะห์ CaO
a) สมการปรับแต่ง (Pretreatments) แบบ Sa3, ncl, db1
b) ค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าทางเคมีจากห้องปฏิบัติการ และค่าจากวิธี NIRS




a) b)

ภาพที่ 9 Original spectra และค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าทางเคมีจากห้องปฏิบัติการ และค่าจากวิธี NIRS ของรายการวิเคราะห์ CCE a) Original spectra b) และค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าทางเคมีจากห้องปฏิบัติการ และค่าจากวิธี NIRS

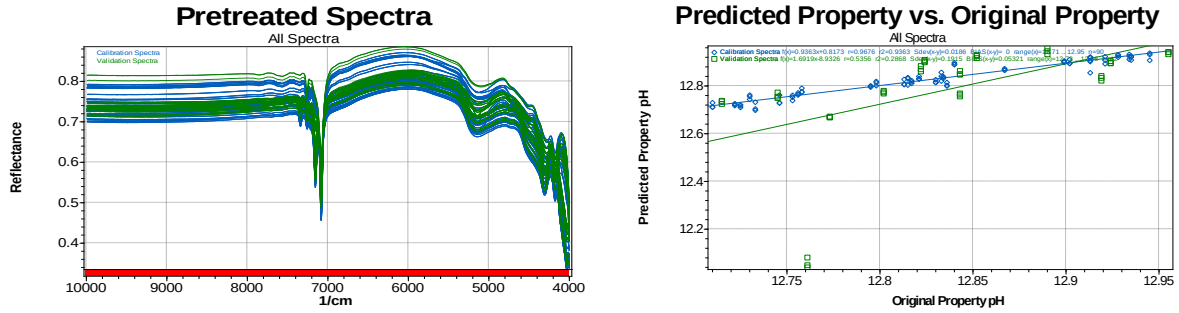



a) b)

ภาพที่ 10 สมการปรับแต่ง (Pretreatments) แบบ ds2 และค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าทางเคมีจากห้องปฏิบัติการ และค่าจากวิธี NIRS ของรายการทดสอบ CCE

a) สมการปรับแต่ง (Pretreatments) แบบ ds2

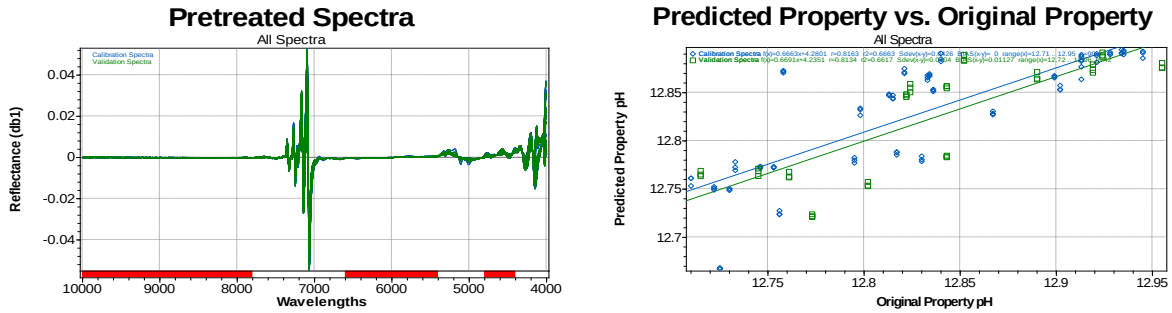
b) ค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าทางเคมีจากห้องปฏิบัติการ และค่าจากวิธี NIRS




a) b)

ภาพที่ 11 Original spectra และค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าทางเคมีจากห้องปฏิบัติการ และค่าจากวิธี NIRS ของรายการวิเคราะห์ pH

a) Original spectra b) ค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าทางเคมีจากห้องปฏิบัติการ และค่าจากวิธี NIRS




a) b)

ภาพที่ 12 สมการปรับแต่ง (Pretreatments) แบบ db1 และค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าทางเคมีจากห้องปฏิบัติการ และค่าจากวิธี NIRS ของรายการวิเคราะห์ pH
a) สมการปรับแต่ง (Pretreatments) แบบ db1
b) ค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าทางเคมีจากห้องปฏิบัติการ และค่าจากวิธี NIRS

2.3 การประเมินความแม่น (Accuracy) จากการประเมินทางสถิติ t-test paired two sample for mean พบว่า t ที่ได้จากการคำนวณ ($t_{ext}$ ) มีค่า 0.15, -0.68 และ 0.005 ซึ่งน้อยกว่า t จากตารางที่ ($t_{crit}$) การคำนวณ % Recovery รายการ CaO มีค่า 92.10 – 109.23 รายการ CCE มีค่า 94.48 – 109.06 รายการ pH มีค่า Absolute difference 0.01 – 0.11 อยู่ในเกณฑ์ยอมรับ (DEQ, 2013) และการประเมินความเที่ยง (Precision) จาก %RSD พบว่า มีค่า 0.01 – 0.86 และ 0.04 – 1.18 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ (AOAC, 2016) ในรายการ CaO CCE แสดงให้เห็นว่า การประเมินค่าทางเคมีด้วยวิธี NIRS ใช้วิเคราะห์หาปริมาณ CaO CCE และ pH (ตารางที่ 3) ในตัวอย่างปูนขาวได้อย่างแม่นยำ และมีความเที่ยง

อย่างไรก็ตามการทดลองครั้งนี้เป็นการสร้างสมการแคลิเบรชั่นจากกลุ่มตัวอย่างจำนวนน้อย ในการสร้างสมการแคลิเบรชั่นต้องมีกลุ่มตัวอย่างจำนวนมากพอและครอบคลุมความแปรปรวนของตัวอย่างหากต้องการนำไปใช้ต้องทำการพัฒนาและปรับปรุงสมการเพื่อนำมาใช้ประเมินค่าเชิงปริมาณให้ดีขึ้นโดยการเพิ่มปริมาณตัวอย่างในการสร้างสมการให้มากขึ้นและมีค่าทางเคมีที่กระจายอย่างสม่ำเสมอกันและคลอบคลุมการใช้งานจริง

ตารางที่ 3 ประเมินความแม่น (Accuracy) และ ความเที่ยง (Precision) ของการวิเคราะห์ด้วยวิธี NIR รายการทดสอบ CaO CCE และ pH จำนวน 45 ตัวอย่าง

| Parameter | Accuracy | | | | Precision | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | $t_{ext.}$ | $t_{crit.}$ | Evaluation | %Recovery[1]/ Absolute difference[2] | %RSD | Criteria | Evaluation |
| CaO | 0.15 | 2.02 | non significant | 92.10 - 109.23[1] | 0.01 – 0.86 | 1.9 | pass |
| CCE | -0.68 | 2.02 | non significant | 94.48 - 109.06[1] | 0.04 – 1.18 | 1.3 | pass |
| pH | 0.005 | 2.02 | non significant | 0.01 - 0.11[2] | - | - | - |

หมายเหตุ Absolute difference คือ ค่าสัมบูรณ์ผลต่างระหว่างค่าทางเคมี และค่าจากวิธี NIRS

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

สารปรับปรุงดินชนิดปูนขาว ปูนมาร์ล และโดโลไมท์ มีสเปกตรัมที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัวสามารถจัดจำแนกโดยการพิจารณาเอกลักษณ์ และยังพบว่าตัวอย่างการผสมสารปรับปรุงดินก็แสดงสเปกตรัมที่มีลักษณะเปลี่ยนแปลงตามอัตราส่วนในการผสมอีกด้วย การจัดจำแนกโดยการจัดกลุ่ม (Cluster calibration) สมการปรับแต่ง (Pretreatments) แบบ Derivatives 1st Savitzky - Golay 9 Points (dg1) และ Normalization to Unit Length (nle) สามารถจัดจำแนกได้ดี ทำนายได้อย่างถูกต้องร้อยละ 100 สำหรับตัวอย่างสารปรับปรุงดินชนิดนั้นที่ไม่มีตัวอย่างปูนชนิดอื่นผสม ในขณะที่ตัวอย่างปูนผสม สามารถจำแนกได้หรือตรวจพบการผสมปูนชนิดอื่น ร้อยละ 40.7 ซึ่งพบว่าจำแนกได้ดีที่สุดในการผสมโดโลไมท์กับปูนมาร์ล ส่วนการผสมที่มีปูนขาวผสมกับปูนชนิดอื่นจะจำแนกหรือตรวจพบการผสมได้น้อยลง

การประเมินค่าทางเคมีจากการนำสเปกตรัมเริ่มต้นไปสร้างและปรับปรุงสมการ ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและค่าทางเคมีจากห้องปฏิบัติการ คำนวณด้วยวิธี PLS calibration ปรับแต่งสเปกตรัมและเลือกวิธีปรับแต่งสเปกตรัม (Pretreatment) ที่ตอบสนองดีที่สุด พบว่า ได้สมการปรับแต่งดีที่สุด รายการ CaO การปรับแต่งสมการ (Pretreatment) แบบ Sa3, ncl, db1 มีค่า r 0.93 ค่า SEC 2.46 และค่า SEP 2.40 รายการ CCE การปรับแต่งสมการ (Pretreatment) แบบ ds2 มีค่า r 0.90 ค่า SEC 3.21 และค่า SEP 2.57 รายการ pH การปรับแต่งสมการ (Pretreatment) แบบ db1 มีค่า r 0.82 ค่า SEC 0.04 และค่า SEP 0.04 การประเมินความแม่น (Accuracy) จากการประเมินทางสถิติ t-test paired two sample for mean พบว่า t ที่ได้จากการคำนวณ (text ) มีค่า 0.15, -0.68 และ 0.005 ซึ่งน้อยกว่า t จากตารางที่ (tcrit) การคำนวณ % Recovery รายการ CaO มีค่า 92.10 – 109.23 รายการ CCE มีค่า 94.48 - 109.06 รายการ pH มีค่า Absolute difference 0.01 – 0.11 อยู่ในเกณฑ์ยอมรับ (DEQ, 2013) และการประเมินความเที่ยง (Precision) จาก %RSD พบว่า มีค่า 0.01 – 0.86 และ 0.04 – 1.18 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ (AOAC, 2016) ในรายการ CaO CCE แสดงให้เห็นว่า การประเมินค่าทางเคมีด้วยวิธี NIRS ใช้วิเคราะห์หาปริมาณ CaO CCE และ pH ในตัวอย่างปูนขาวได้อย่างแม่นยำ และมีความเที่ยง

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. สามารถนำเทคนิค NIRS ไปใช้ในการพิสูจเอกลักษณ์สเปกตรัมปูนขาวและปูนชนิดอื่น การจัดจำแนกชนิดปูนและนำมาใช้ประเมินค่าเชิงปริมาณในตัวอย่างปูนขาว เพื่อเป็นทางเลือกในการวิเคราะห์ ซึ่งประหยัด และรวดเร็ว โดยไม่ทำลายตัวอย่าง ลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายและปลอดภัยกับผู้วิเคราะห์

2. เป็นข้อมูลประกอบการกำหนดเกณฑ์ในการเตรียมพร้อมรองรับกฎหมายการควบคุมคุณภาพของสารปรับปรุงดินของกรมวิชาการเกษตร

# เอกสารอ้างอิง


กรมพัฒนาที่ดิน. 2556. ***ระเบียบกรมพัฒนาที่ดินว่าด้วยการใช้เครื่องหมายรับรองมาตรฐานปัจจัยการผลิตทางการเกษตร.*** กรุงเทพฯ.

คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2548. ***ปฐพีวิทยาเบื้องต้น.*** พิมพ์ครั้งที่ 10. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 547 หน้า

สถาบันวิจัยและค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร. 2555. ***เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้และการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม.*** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

ประกาศกระทรวงกระทรวงอุตสาหกรรม ***เรื่อง ยกเลิกและกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมปูนไลม์ เล่ม 1 บทนิยามเกี่ยวกับปูนไลม์และหินปูน.*** 2549. ราชกิจจานุเบกษา. เล่มที่ 123 ตอนที่ 84 ง. หน้า 5

ประกาศกระทรวงกระทรวงอุตสาหกรรม ***เรื่อง ยกเลิกมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมปูนไลม์อุตสาหกรรมและกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมปูนไลม์อุตสาหกรรม เล่ม 2 ปูนขาว.*** 2552. ราชกิจจานุเบกษา. เล่มที่ 126 ตอนพิเศษ 21 ง. หน้า 19

ASTM International (ASTM). 2016. ***Standard test method for chemical analysis of limestone, quicklime, and hydrated lime.*** ASTM C25-19. Pennsylvania, USA.

AOAC. 2016. ***Official Method of Analysis of AOAC International.*** 20th Ed. AOAC International Gaithersburg, Maryland. USA.

Sungchan Oh, Chang-Uk Hyun and Hyeong-Dong Park. ***Near-Infrared Spectroscopy of Limestone Ore for CaO Estimation under Dry and Wet Conditions.*** Minerals. 16 September 2017 : 1-11.

Williams P.C., ***Implementation of Near-Infrared Technology, in Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries***, 2nd edition, Ed by P.C. Williams and K.H. Noris. Amarican Association of Cereal Chemists, St Paul, MN, USA, p. 163-165 (2001)

Tanyapa Sangpongpitthaya, Alfred.A Chrity, Rein Terje. 2018. ***Quantitative Determination of Calcium Hydoxide by Using Near-Infrared Spectroscopy.***

DEQ. 2013. Oregon Department of Environmental Quality. Data Validation Criteria for Water Quality Parameters Measured in the Field. Portland, Orgeon, US. (online). Available form: https://www.oregon.gov/deq/FilterDocs/DataQualMatrix.pdf accessed 10 October 2020.

# พิสูจน์เอกลักษณ์ และสมบัติทางเคมีและกายภาพของสารปรับปรุงดินชนิดโดโลไมค์ โดยเทคนิคอินฟาเรดย่านใกล้

# Identify and Determine the Chemical and Physical Properties of Dolomite by Near Infrared Spectroscopy


*สุภา โพธิจันทร์* *ญาณธิชา จิตต์สะอาด* *สงกรานต์ มะลิสอน* *จิตติรัตน์ ชูชาติ*
*พจมาลย์ ภู่สาร* *กัญฐณา คล้ายแก้ว*

*Supha Photichan* *Yarnticha Jittsa-aad* *Songkrant Malisorn* *Jittirat Choochart*
*Pojjamarn Poosarn* *Kanthana Klaigaew*

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร


---


## ABSTRACT

Near Infrared Spectroscopy (NIRS) is a sample non-destructive measurement method. It can predict chemical values quickly, accurately, saving time, reducing the cost of using chemicals and does not harm the environment. Therefore laboratory is interested in studying this technique use for classification and predicting the chemical value of soil amendment. Studied by preparing samples of dolomite and other types of soil amendment. Identification by taking a sample to measure absorbance with Near-Infrared Spectroscopy (NIRS) in a wavelength range from 800 to 2500 nm was identified from the spectra of each soil amendment. The PLS calibration equations were created and improved and the chemical prediction equations were created. It was found that the soil amendment identity can be distinguished from different spectra. The 1st Savitzky - Golay a points (dg1) and to Unit Length (nle) cluster calibration equations were obtained that could accurately predict the results for the cluster calibration every sample and was able to predict the presence of other mixes by 40.7%. Quantitative prediction equations that had a correlation coefficient (r) 0.6313, 0.8952, 0.9326 and 0.9180, the standard error of calibration; SEC was 0.2483, 1.0904, 0.6292 and 3.4038, the standard error of predictions; SEP were 0.3106, 1.3722, 0.8099 and 3.8764 for pH, CaO, MgO and CCE respectively. The Accuracy testing by comparing the predicted results with the chemical analyses using paired t-tests. The pH, CaO, MgO and %CCE values were $t_{ext} < t_{crit}$ indicating that the NIR analysis showed no different results from the laboratory analysis. In concluded that Near Infrared Spectroscopy (NIRS) techniques could be used to classify dolomite from other soil amendments. The chemistry of dolomite can be predicted accurately and quickly, and equations can be developed and improved for better estimation by increasing the sample volume and consistency for the spectra. good representative of the example and cover the actual usage This will make the prediction equations more accurately.



**Keywords :** Near Infrared Spectroscopy, Dolomite, Soil amendment, Identity, Chemical properties

## บทคัดย่อ

เทคนิคอินฟาเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy-NIRS) เป็นวิธีการวัดแบบไม่ทำลายตัวอย่าง สามารถทำนายค่าทางเคมีได้อย่างรวดเร็ว แม่นยำ ประหยัดเวลา ลดต้นทุนในการใช้สารเคมี และไม่ทำลายสิ่งแวดล้อม ห้องปฏิบัติการจึงมีความสนใจศึกษาเทคนิคนี้ สำหรับใช้ในการจัดจำแนกชนิดและทำนายผลค่าทางเคมีของสารปรับปรุงดิน ประเภทปูน โดยเตรียมตัวอย่างโดโลไมท์และปูนชนิดอื่น พิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยการนำตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอินฟราเรดย่านใกล้ (Near-Infrared Spectroscopy, NIRS) ในช่วงความยาวคลื่น 800 ถึง 2500 นาโนเมตร พิสูจน์เอกลักษณ์จากสเปกตรัมของปูนแต่ละชนิด สร้างและปรับปรุงสมการคำนวณด้วยวิธี PLS calibration และสร้างสมการทำนายผลค่าทางเคมี พบว่า สามารถแยกเอกลักษณ์ของสารปรับปรุงดินได้จากสเปกตรัมที่แตกต่างกันได้ ได้สมการทำนายการจัดจำแนกชนิดปูนแบบจัดกลุ่ม (Cluster calibration) แบบ 1st Savitzky - Golay a points (dg1) และ to Unit Length (nle) ที่สามารถทำนายผลสำหรับการจัดจำแนกชนิดปูนแบบจัดกลุ่มได้ถูกต้องทุกตัวอย่างสำหรับปูนที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน และสามารถทำนายพบการมีปูนอื่นผสมอยู่สำหรับปูนผสมได้ร้อยละ 40.7 สมการทำนายเชิงปริมาณที่มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient ; r) เท่ากับ 0.6313, 0.8952, 0.9326 และ 0.9180 ค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างสร้างสมการแคลิเบรชั่น (Standard error of calibration ; SEC) เท่ากับ 0.2483, 1.0904, 0.6292 และ 3.4038 ค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบสมการ (Standard error of prediction ; SEP) เท่ากับ 0.3106, 1.3722, 0.8099 และ 3.8764 สำหรับ pH, CaO, MgO และ CCE ตามลำดับ จากการประเมินความแม่นยำโดยเปรียบเทียบผลการทำนายกับค่าวิเคราะห์ทางเคมี โดยใช้ paired t-test พบว่า pH, CaO, MgO และ %CCE มีค่า $t_{ext} < t_{crit}$ แสดงว่าการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง NIR ให้ผลไม่แตกต่างจากการวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการอย่างมีนัยสำคัญ สรุปว่า เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy-NIRS) สามารถใช้จัดจำแนกโดโลไมท์จากสารปรับปรุงดินชนิดอื่นได้ และสามารถทำนายผลค่าทางเคมีของโดโลไมท์ได้อย่างแม่นยำ และรวดเร็ว และสามารถพัฒนาและปรับปรุงสมการเพื่อนำมาใช้ประเมินค่าให้ดีขึ้นโดยการเพิ่มปริมาณตัวอย่างให้มากขึ้นและมีความสม่ำเสมอกันเพื่อให้สเปกตรัมเป็นตัวแทนที่ดีของตัวอย่าง และคลอบคลุมการใช้งานจริง จะทำให้สมการทำนายมีความถูกต้อง แม่นยำ มากขึ้น



**คำหลัก**: อินฟาเรดย่านใกล้ โดโลไมท์ สารปรับปรุงดิน พิสูจน์เอกลักษณ์ สมบัติทางเคมี


## คำนำ

ปูนเพื่อการเกษตร (Agricultural lime) หมายถึง วัสดุสารประกอบที่มีธาตุแคลเซียม หรือแคลเซียมและแมกนีเซียมเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ มีสมบัติเป็นด่าง หรือหมายถึงสารประกอบออกไซด์ ไฮดรอกไซด์ และคาร์บอเนตของแคลเซียมและแมกนีเซียม สามารถลดความเป็นกรดของดินได้ ได้แก่พวกปูนหรือหินปูนชนิดต่างๆ เช่น ปูนมาร์ล ปูนเปลือกหอยเผา ปูนขาว ปูนบด (หินฝุ่น) หรือแคลไซท์ (Calcite) ปูนโดโลไมท์ (Dolomite) และปูนยิปซัม เป็นต้น หรือความหมายของคาที่ใช้ในมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม หมายถึง ผลิตภัณฑ์ซึ่งมีสารประกอบของแคลเซียมและแมกนีเซียมที่สามารถปรับปรุงดินเปรี้ยวได้ เช่น ปูนสุก ปูนขาว หินปูน (แคลไซต์ และโดโลไมท์) ปูนมาร์ล เปลือกหอย และผลพลอยได้ต่างๆ เช่นผลพลอยได้ชนิดเป็นด่าง (base) ที่ได้จากการหลอมหรือถลุงโลหะและอโลหะ (กรมพัฒนาที่ดิน, 2542; คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา 2548; McCart *et al*., 2009) แต่ปูนเพื่อการเกษตรที่เป็นที่นิยม หรือมีจาหน่ายในท้องตลาด แบ่งออกเป็น ปูนมาร์ลหรือแคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) ปูนโดโลไมท์หรือแคลเซียมแมกนีเซียมคาร์บอเนต ($CaMg(CO_3)_2$) ปูนขาวหรือแคลเซียมไฮดรอกไซด์ [$Ca(OH_2)$] และปูนยิปซัม ($CaSO_4.2H_2O$) จากการศึกษาชนิดและแหล่งของปูนแล้ว จะเห็นได้ว่าปูนชนิดต่างๆ ดังกล่าวจะมีส่วนประกอบของแคลเซียมเป็นส่วนใหญ่ และจะมีสารประกอบของแมกนีเซียมอยู่บ้างไม่มากนัก ด้วยเหตุผลดังกล่าว การใส่ปูนจึงหมายถึง การใส่สารประกอบแคลเซียมอยู่ในปริมาณมาก และสารประกอบนี้ก็คือปูนซึ่งมีฤทธิ์เป็นด่าง (กรมพัฒนาที่ดิน 2542; Balog *et al*., 2014)

ปัจจุบันการตรวจสอบวัสดุปูนที่ใช้ในการเกษตรของประเทศไทย มีการศึกษาและจำแนกโดยกรมพัฒนาที่ดิน (2542) และคณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา (2548) ใช้วิธีศึกษาสมบัติทางเคมี และกายภาพ โดยสารปรับปรุงดินปูนโดโลไมท์เป็นสารปรับปรุงดิน ที่ได้จากแร่ที่เกิดจากตะกอนของแคลเซียมและแมกนีเซียมทับถมกัน [$CaMg(CO_3)_2$] มีสีต่างๆ กัน เช่น เทา ชมพู ขาว มีส่วนประกอบทางเคมีเป็น $CaCO_3$ และ $MgCO_3$ ใช้ปรับปรุงดินเพื่อแก้ความเป็นกรดของดิน และยังให้ธาตุอาหารแคลเซียมและแมกนีเซียมแก่พืชอีกด้วย มาตรฐานที่กำหนดคือ มีค่าความสามารถในการทาให้เป็นกลาง (CCE) ไม่น้อยกว่า 90 มีค่า CaO (Calcium Oxide) ไม่น้อยกว่าร้อยละ 25 และมีค่า MgO (Magnesium Oxide) ไม่น้อยกว่าร้อยละ 15 ขนาดอนุภาค มีค่าความละเอียดสามารถร่อนผ่านตะแกรงร่อนขนาด 0.177 มิลลิเมตร (80 เมช) ไม่น้อยกว่าร้อยละ 80 โดยน้าหนัก ปริมาณความชื้น ไม่เกินร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง ไม่น้อยกว่า 8.0 ปูนมาร์ล (Marl) หรือ ดินมาร์ล เป็นสารปรับปรุงดินประเภทวัสดุปูนเพื่อการเกษตร (Agricultural lime) ชนิดหนึ่ง องค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นแคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) และดินเหนียว (Clay) ในอัตราส่วน 35:65 หรือ 65:35 มีสีขาวหรือขาวขุ่นปนน้ำตาล ใช้ปรับปรุงดินเปรี้ยวเพื่อแก้ความเป็นกรดของดิน (กรมพัฒนาที่ดิน, 2556)

เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy; NIRS) เป็นทางเลือกหนึ่งของเทคนิควิเคราะห์เชิงคุณภาพและปริมาณ และถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ด้านต่างๆ อย่างแพร่หลายในต่างประเทศ เนื่องจากเป็นเทคนิคที่สามารถทำนายค่าได้อย่างรวดเร็วแม่นยำ และสามารถใช้พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารต่างๆได้โดยใช้ความยาวคลื่นจำเพาะขององค์ประกอบทางเคมีที่เป็นส่วนประกอบในสารนั้นๆ เช่น การประมาณค่า โดยสเปกโตรสโกปีใกล้อินฟราเรดของแร่หินปูนภายใต้สภาวะแห้งและเปียก (Sungchan *et al.,* 2017) ทำนายการชะล้างพังทลายของดินและ $CaCO_3$ โดยใช้สเปกตรัม Vis-NIR ในห้องปฏิบัติการ (Yaser *et al*., 2018) เป็นต้น เทคนิคนี้ใช้หลักการหาความสัมพันธ์การดูดกลืนแสงในช่วง อินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared) คือ ช่วงความยาวคลื่น 800-2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น 4000-12500 ต่อเซนติเมตร กับสสารที่ต้องการประเมินหรือสสารที่สามารถเกิดอันตรกริยากับรังสีอินฟราเรดย่านใกล้ อันตรกิริยาดังกล่าว คือ การที่โมเลกุลดูดกลืนรังสีอินฟราเรดย่านใกล้เข้าไป ซึ่งจะมีผลต่อการสั่นของพันธะต่างๆ ในโมเลกุล ระดับการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดย่านใกล้ของสสารที่ความยาวคลื่นต่างๆ จะปรากฏในสเปกตรัม NIRS (เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้และการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม, 2555) ซึ่งสารแต่ละชนิด เมื่อได้รับแสงจะมีคุณสมบัติในการดูดกลืนแสงได้ไม่เท่ากัน ทำให้ผลที่แสดงออกมาบอกถึงความแตกต่างได้ จึงนำค่าการดูดกลืนแสงมาประมวลผลวิเคราะห์ทั้งเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพที่ต้องการได้ ปัจจุบันมีการใช้สารปรับปรุงดินอย่างแพร่หลาย แต่ยังไม่มีการควบคุมคุณภาพของสารปรับปรุงดิน ห้องปฏิบัติการกรมวิชาการเกษตรจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาแนวทางการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีการวิเคราะห์ดังกล่าว ให้ความเหมาะสมกับประเภทตัวอย่าง ชนิดและปริมาณธาตุอาหารพืช เพื่อให้สามารถนำเทคนิควิธีวิเคราะห์ดังกล่าวมาใช้วิเคราะห์ได้ทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ นอกจากนี้ ยังเป็นการลดมลภาวะที่เกิดจากห้องปฏิบัติการจากการลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายที่ใช้ในการวิเคราะห์ รวมทั้งลดต้นทุน และระยะเวลาในการวิเคราะห์

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. เครื่อง Near Infrared Spectrophotometer
2. เครื่อง Inductively Coupled Plasma (ICP)
3. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง
4. pH Meter
5. ตู้อบ
6. เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์
7. สารมาตรฐานแคลเซียม แมกนีเซียม 1000 มิลลิกรัม/ลิตร
8. Nitric acid 63 - 65% ($HNO_3$), AR grade
9. pH Buffer 4, 7 และ 10
10. ตัวอย่างโดโลไมท์ ปูนมาร์ล และปูนขาว

### วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่างปูน

จัดหาตัวอย่างสารปรับปรุงดินโดโลไมท์ และปูนชนิดอื่น ได้แก่ ปูนมาร์ล และปูนขาว เพื่อนำมาใช้พิสูจน์เอกลักษณ์และสร้างสมการการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (Identification) สร้างสมการการวัดเชิงปริมาณ (quantification) และทวนสอบสมการการวัดเชิงคุณภาพหรือเอกลักษณ์และการวัดเชิงปริมาณ

2. การพิสูจน์เอกลักษณ์

2.1 ศึกษาสเปกตรัมที่เป็นเอกลักษณ์ของโดโลไมท์ และปูนชนิดอื่นที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน

นำตัวอย่างโดโลไมท์ ปูนขาว และปูนมาร์ล ชนิดละ 50 ตัวอย่าง มาวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยใช้เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy-NIRS) แบบวิธีสะท้อน (Reflectance) และทำการวัดเชิงคุณภาพหรือเอกลักษณ์ (Identification) โดยทำการเทตัวอย่างปูนที่เตรียม ใส่ลงใน Petridis ให้มีความหนาประมาณ 1 เซนติเมตร แล้วนำไปวัดด้วยเครื่อง NIRS โดยใช้แสงที่ความยาวคลื่น (wave length) 800-2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น (wave number) 4000-12500 ต่อเซนติเมตร

2.2 ศึกษาสเปกตรัมของปูนผสม โดยการผสมโดโลไมท์ และปูนชนิดอื่น

ศึกษาสเปกตรัมของสารปรับปรุงดินชนิดโดโลไมท์ ปูนมาร์ล และปูนขาว โดยนำนำสารปรับปรุงดินทั้ง 3 ชนิด วิเคราะห์ด้วยเครื่อง NIR และผสมสารปรับปรุงดินทั้งสามชนิดในอัตราส่วนต่างๆ แล้ววิเคราะห์ด้วยเครื่อง NIR และศึกษาสเปกตรัมที่เปลี่ยนแปลงไป โดยผสมกับปูนชนิดอื่นทีละ 1 ชนิด อัตราส่วน เท่ากับ 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2 และ 9:1 โดยปริมาตร

3. การวิเคราะห์เชิงคุณภาพ

3.1 นำสเปกตรัมที่ได้จาก ข้อ 2.1 ไปสร้างสมการแบบจัดกลุ่ม (Cluster calibration) เพื่อจัดจำแนกชนิดของสารปรับปรุงดิน โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป NIRCal ของเครื่อง NIR (Buchi NIRFlex N-500, Switzerland) และปรับปรุงสมการโดยการปรับแต่ง (Pretreatments)

3.2 นำสมการแบบจัดกลุ่มที่ได้จากการปรับแต่งสมการไปประเมินผลในตัวอย่างปูนทวนสอบ

3.2.1 ทวนสอบกับตัวอย่างโดโลไมท์ ปูนมาร์ล และปูนขาว จำนวนชนิดละ 25 ตัวอย่าง รวม 75 ตัวอย่าง

3.2.2 ทวนสอบกับตัวอย่างปูนผสมกับปูนชนิดอื่นทีละ 1 ชนิด อัตราส่วน เท่ากับ 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2 และ 9:1 โดยปริมาตร ทั้งหมดจำนวน 27 ตัวอย่าง

4. การวิเคราะห์เชิงปริมาณ

4.1 นำตัวอย่างโดโลไมท์ 50 ตัวอย่าง ไปวิเคราะห์ค่าทางเคมี ได้แก่

4.1.1 ความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยใช้อัตราส่วนของปูนต่อน้ำเท่ากับ 1:1 แล้วนำไปวัดด้วยเครื่อง pH meter

4.1.2 แคลเซียมออกไซด์ (CaO) และแมกนีเซียมออกไซด์ (MgO) โดยการย่อยด้วยกรดผสม (ไนตริก : เปอร์คลอริค เท่ากับ 1 : 3) แล้วนำไปวัดด้วยเครื่อง ICP-OES

4.1.3 นำผลวิเคราะห์ CaO และ MgO มาคำนวณค่า Calcium carbonate equivalent (CCE)

4.2 นำตัวอย่างโดโลไมท์ 50 ตัวอย่าง ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค NIR โดย Scan ที่ช่วงความยาวคลื่น 800 -2500 nm

4.3 หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น (wave length) 800-2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น (wave number) 4000-12500 ต่อเซนติเมตร กับ pH, CaO, MgO และ CCE โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป NIRCal ของเครื่อง NIR (Buchi NIRFlex N-500, Switzerland) และปรับปรุงสมการโดยการปรับแต่ง (Pretreatments)

4.4 พิจารณาเลือกสมการที่ความสัมพันธ์ (R) สูง ค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างสร้างสมการแคลิเบรชั่น (Standard of Calibration : SEC) และค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบสมการ (Standard of Error of Prediction: SEP) ต่ำ หมายถึงสามารถตอบสนองได้ดี

4.5 นำสมการที่ได้ไปประเมินค่า pH, CaO, MgO และ CCE ในตัวอย่างปูนทวนสอบ

**ระยะเวลา** เริ่มต้น เดือน ตุลาคม 2562 สิ้นสุด เดือน กันยายน 2564

## สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

## ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การพิสูจน์เอกลักษณ์

1.1 ศึกษาสเปกตรัมที่เป็นเอกลักษณ์ของปูนโดโลไมท์ และปูนชนิดอื่นที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน

จากการนำตัวอย่างโดโลไมท์ ปูนขาว และปูนมาร์ล ที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น (wave length) 800-2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น (wave number) 4000-12500 ต่อเซนติเมตร พบว่าตัวอย่างโดโลไมท์ด้วยเครื่อง NIR ตัวอย่างที่ผ่านเกณฑ์ได้สเปกตรัมของการดูดกลืนแสงที่เลขคลื่น 4036, 4308, 4620, 5024, 5348, 5684 และ 7020 $cm^{-1}$ ดัง Figure 1 และเมื่อพิจารณาสเปกตรัมของโดโลไมท์ ปูนมาร์ล และ ปูนขาว พบว่า สเปกตรัมมีลักษณะแตกต่างกัน ซึ่งเป็นเอกลักษณ์ของปูนแต่ละชนิด ดัง Figure 2 และ Table 1

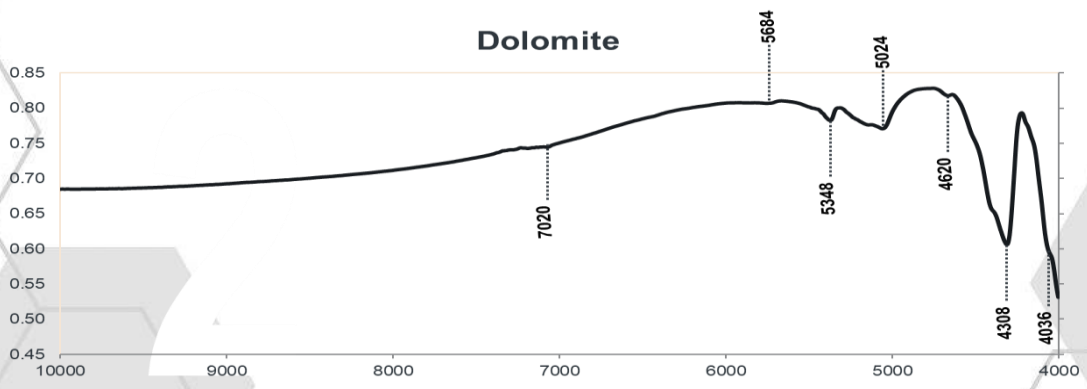



**Figure 1** Original spectrum of standard dolomite

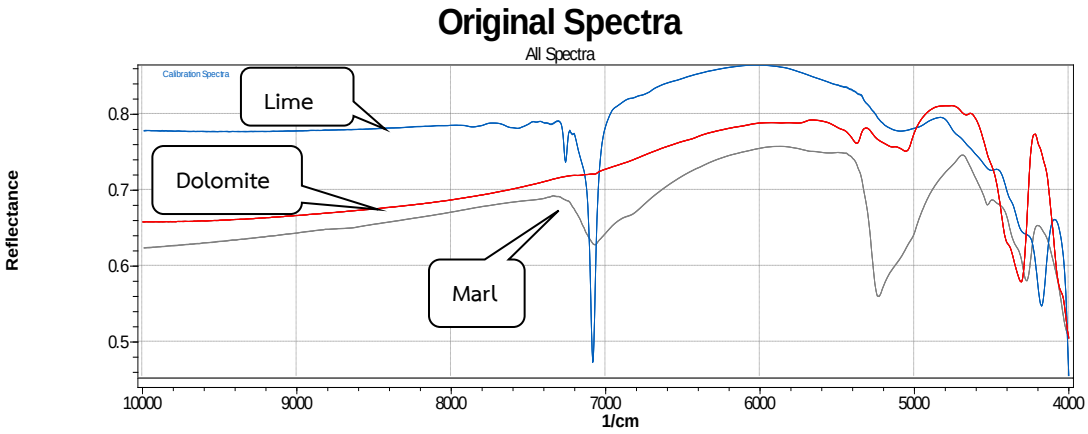



**Figure 2** NIR spectrum of standard dolomite marl and lime

**Table 1** The absorbance of standard dolomite, marl and lime

| Absorption band | Dolomite | Marl | Lime |
|---|---|---|---|
| | (.....Absorption ($cm^{-1}$).....) | | |
| 1 | 4036 | 4000 | - |
| 2 | 4308 | 4272 | 4172 |
| 3 | 4620 | 4500 | 4496 |
| 4 | 5024 | 5232 | 5112 |
| 5 | 5348 | | |
| 6 | 5684 | | |
| 7 | 7020 | 7068 | 7084 |
| 8 | | | 7260 |

1.2 ศึกษาสเปกตรัมของปูนผสม โดยการผสมปูนโดโลไมท์ และปูนชนิดอื่น

1.2.1 ผสมปูนโดโลไมท์ กับปูนมาร์ล

จากการผสมตัวอย่างปูนโดโลไมท์ กับปูนมาร์ล ที่อัตราส่วน 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2 และ 9:1 โดยปริมาตร แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง NIR พบว่า สเปกตรัมซึ่งเป็นเอกลักษณ์ของปูนมาร์ลชัดเจนกว่าโดโลไมท์ ที่ช่วงการดูดกลืนแสงที่ 4272 $cm^{-1}$, 4500 $cm^{-1}$, 5232 $cm^{-1}$ และ 7068 $cm^{-1}$ แต่ความชัดเจนลดลงตามอัตราส่วนของโดโลไมท์ที่เพิ่มขึ้น (Figure 3a) และเริ่มพบเอกลักษณ์ของโดโลไมท์ที่ 4308 $cm^{-1}$, 4620 $cm^{-1}$ และ 5348 $cm^{-1}$ ชัดเจนเพิ่มขึ้นตามอัตราส่วนโดโลไมท์ที่เพิ่มขึ้น (Figure 3b, 3c)

1.2.2 ผสมปูนโดโลไมท์ กับปูนขาว

จากการผสมตัวอย่างปูนโดโลไมท์กับปูนขาว ที่อัตราส่วน 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2 และ 9:1 โดยปริมาตร แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง NIR พบว่า สเปกตรัมซึ่งเป็นเอกลักษณ์ของปูนขาวชัดเจนกว่าโดโลไมท์ ที่การดูดกลืนแสงช่วง 4172 $cm^{-1}$, 5112 $cm^{-1}$ และ 7084 $cm^{-1}$ แต่ความชัดเจนจะลดลงตามอัตราส่วนของโดโลไมท์ที่เพิ่มขึ้น (Figure 4a) และพบเอกลักษณ์ของโดโลไมท์ที่ 4308 $cm^{-1}$ 5024 $cm^{-1}$และ 5348 $cm^{-1}$ ที่ชัดเจนเพิ่มขึ้นตามอัตราส่วนโดโลไมท์ที่เพิ่มขึ้น (Figure 4b, 4c)

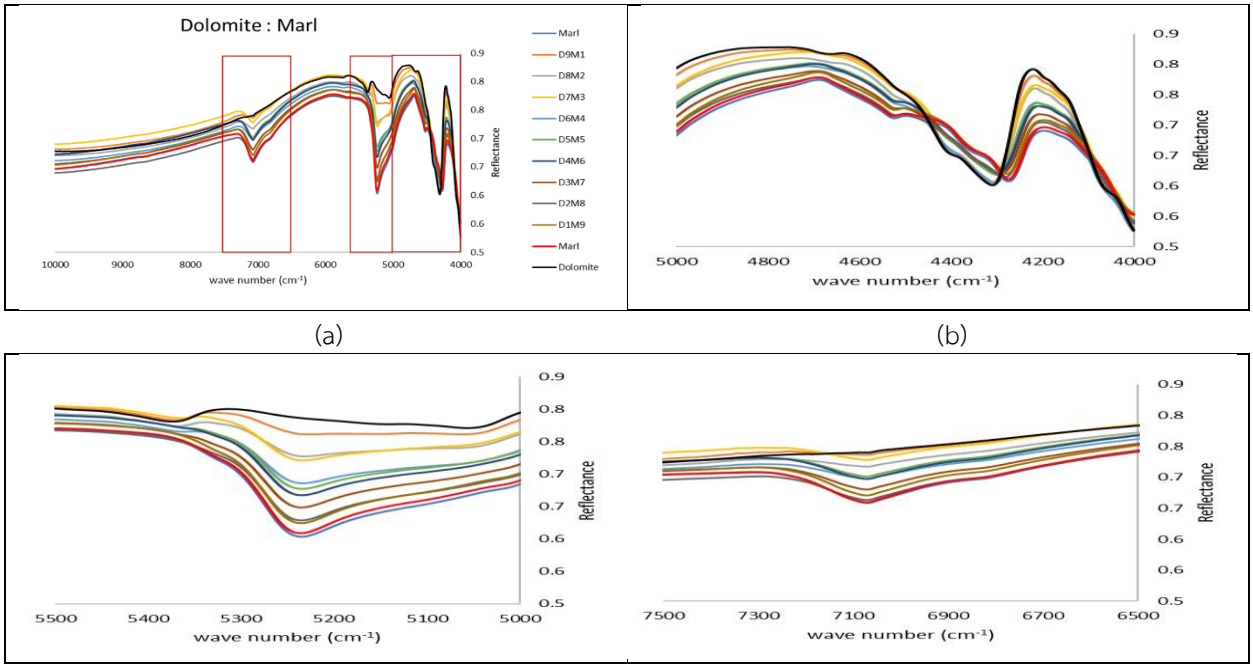



**Figure 3** The original spectrum of dolomite and marl mixture
(a) 4000-10000 $cm^{-1}$ (b) 4000-5000 $cm^{-1}$ (c) 5000-5500 $cm^{-1}$ (d) 6500-7500 $cm^{-1}$

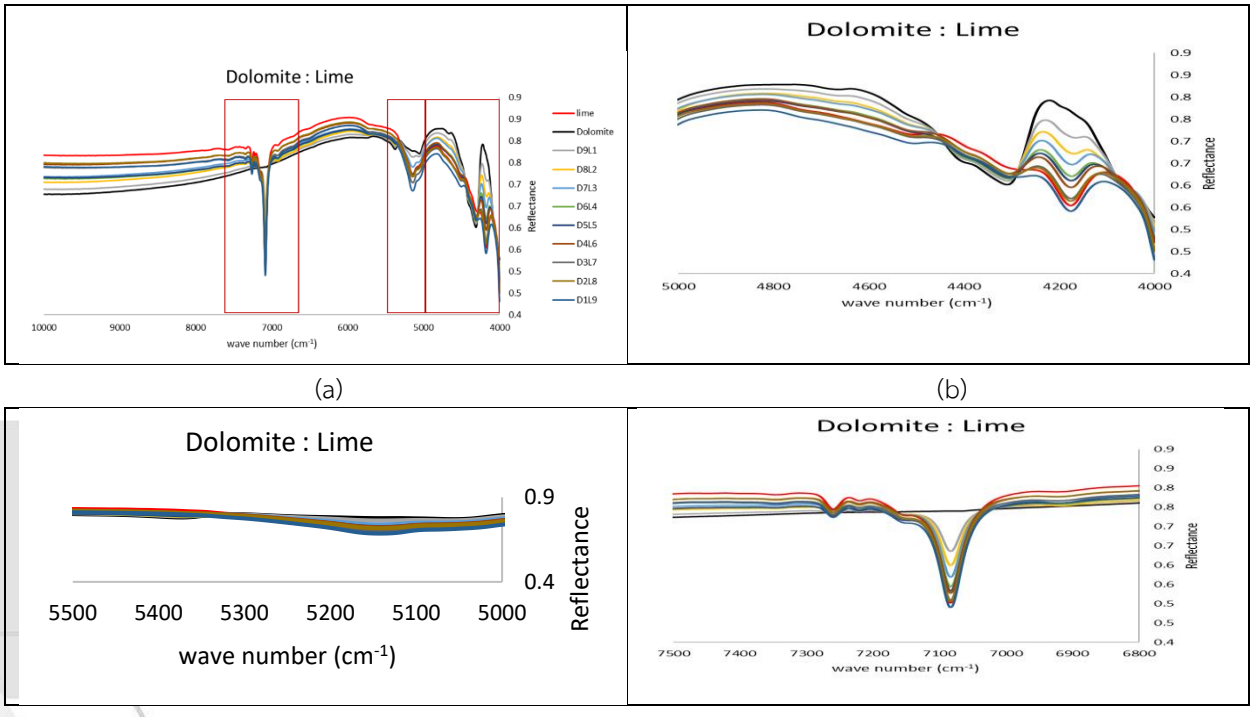



**Figure 4** The original spectrum of dolomite and lime mixture.
(a) 4000-10000 $cm^{-1}$ (b) 4000-5000 $cm^{-1}$ (c) 5000-5500 $cm^{-1}$ (d) 6800-7500 $cm^{-1}$

1.2.3 ผสมปูนมาร์ลและปูนขาว

จากการผสมตัวอย่างปูนโดโลไมท์ กับปูนขาว ที่อัตราส่วน 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2 และ 9:1 โดยปริมาตร แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง NIR พบว่า สเปกตรัมซึ่งเป็นเอกลักษณ์ของปูนขาว ชัดเจนกว่าปูนมาร์ล ที่การดูดกลืนแสงช่วง 4172 $cm^{-1}$, 5112 $cm^{-1}$ และ 7084 $cm^{-1}$ แต่ความชัดเจนจะลดลงตามอัตราส่วนของปูนมาร์ลที่เพิ่มขึ้น (Figure 5a) และพบเอกลักษณ์ของปูนมาร์ลที่ 4272 $cm^{-1}$ และ 5232 $cm^{-1}$ ที่ชัดเจนเพิ่มขึ้นตามอัตราส่วนปูนมาร์ลที่เพิ่มขึ้น (Figure 4b, 4c)

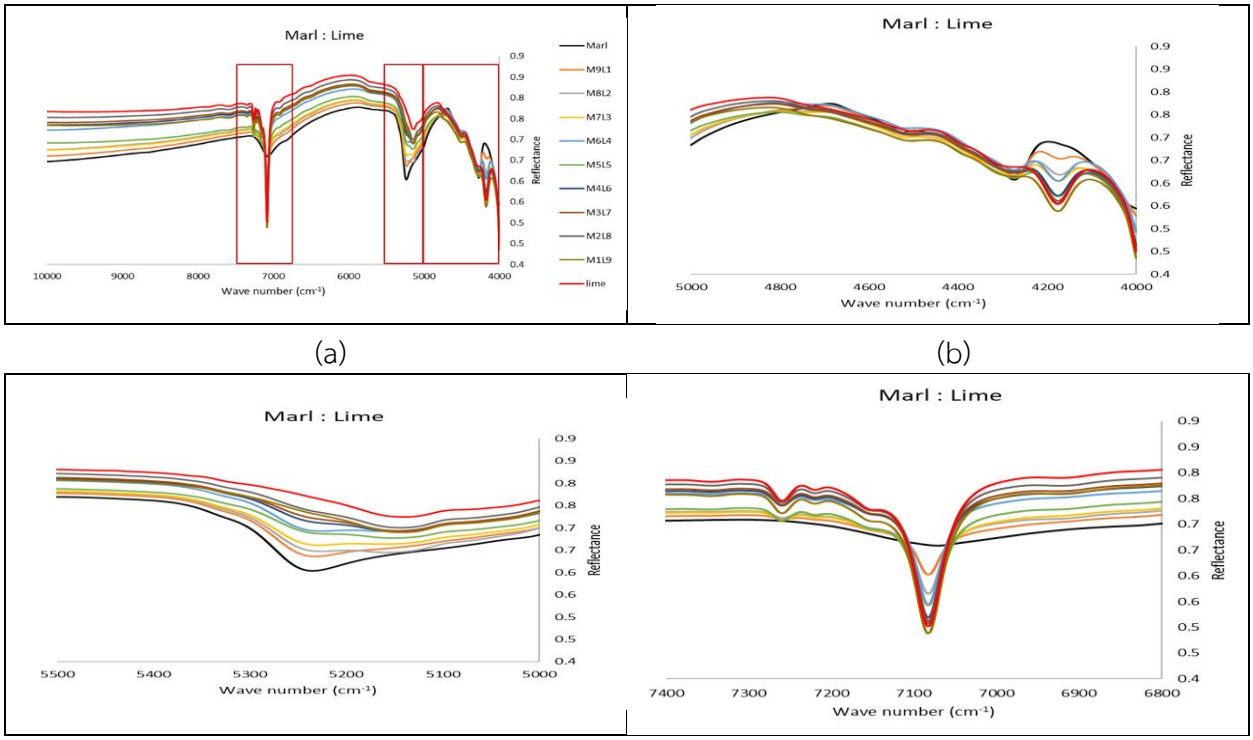


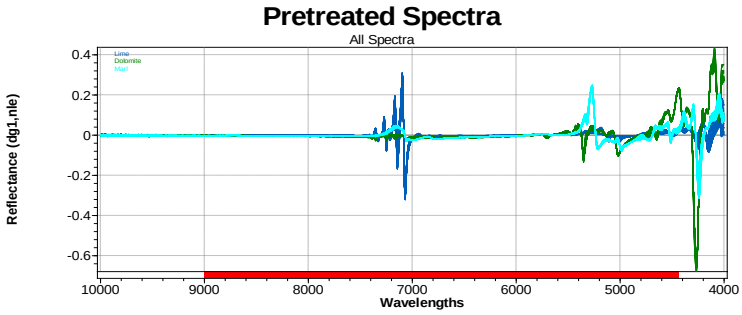

**Figure 5** The original spectrum of marl and lime mixture.
(a) 4000-10000 $cm^{-1}$ (b) 4000-5000 $cm^{-1}$ (c) 5000-5500 $cm^{-1}$ (d) 6800-7400 $cm^{-1}$

จากการศึกษาสเปกตรัมที่เปลี่ยนแปลงไปจากการผสมสารปรับปรุงดินในอัตราส่วนต่างๆ พบว่า สเปกตรัมซึ่งเป็นเอกลักษณ์ของปูนขาวชัดเจนที่สุด โดยเฉพาะที่ 7084 $cm^{-1}$ ซึ่งไม่ว่าจะผสมกับปูนชนิดอื่นเอกลักษณ์นี้ยังคงชัดเจนมาก แต่เมื่อพิจารณาสเปกตรัมที่ช่วงการดูดกลืนแสงที่ 4176 $cm^{-1}$ ที่มีการดูดกลืนแสงลดลง และเพิ่มขึ้นที่ช่วง 4272-4305 $cm^{-1}$ ก็จะทราบได้ว่ามีปูนชนิดอื่นผสมอยู่กับปูนขาว ส่วนการผสมกันระหว่างปูนมาร์ลกับโดโลไมท์ สเปกตัมที่เป็นเอกลักษณ์ของปูนมาร์ลก็จะชัดเจนกว่าโดโลไมท์เช่นเดียวกัน แต่เมื่อพิจารณาสเปกตรัมที่ช่วงการดูดกลืนแสงที่ 4232 $cm^{-1}$ และ 7068 $cm^{-1}$ ที่มีการดูดกลืนแสงลดลง และเกิดช่วงการดูดกลืนแสงที่ 5348 $cm^{-1}$ ขึ้น ก็จะทราบได้ว่ามีโดโลไมท์ผสมอยู่กับปูนมาร์ล

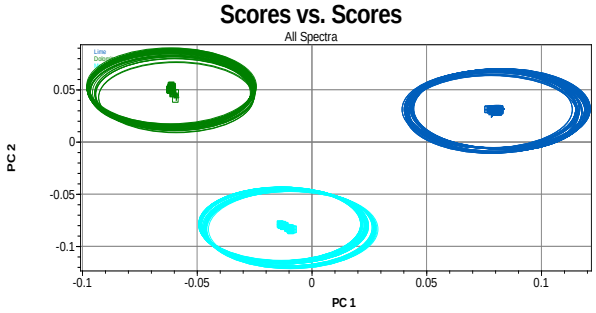
2. การวิเคราะห์เชิงคุณภาพ

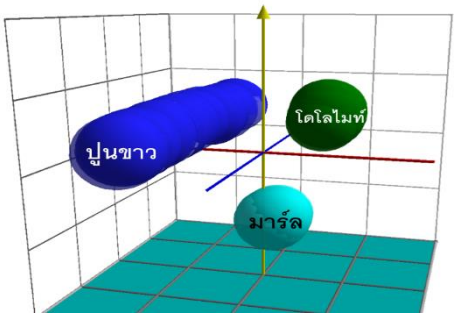
2.1 การสร้างสมการแบบจัดกลุ่ม (Cluster calibration)

จากการนำตัวอย่างโดโลไมท์ ปูนขาว และปูนมาร์ล ชนิดละ 50 ตัวอย่าง ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค NIR โดย Scan ที่ช่วงความยาวคลื่น 800 - 2500 nm ได้สเปกตรัมปรับแต่ง (Pretreatments) แบบ 1st Savitzky - Golay a points (dg1) และ to Unit Length (nle) (Figure 5a) และสามารถแบ่งกลุ่มชนิดโดโลไมท์ ปูนขาว และปูนมาร์ล ได้อย่างชัดเจน (Figure 5b, 5c)




(a)




(b) (c)

**Figure 5** Creation and improvement of equations to predict soil amendment classification

(a) Pretreatments spectrum of dolomite marl and lime

(b) 2D clustering equations of the pretreatments spectrum

(c) 3D clustering equations of the pretreatments spectrum

2.2 การทวนสอบสมการ

จากการสร้างสมการการจัดจำแนกชนิดปูนแบบจัดกลุ่ม (Cluster calibration) โดยใช้ สมการแบบจัดกลุ่มของสเปกตรัมปรับแต่ง (Pretreatments) แบบ 1st Savitzky - Golay a points (dg1) และ to Unit Length (nle) กับปูนทวนสอบ ได้ผลดังนี้

2.2.1 ทวนสอบกับตัวอย่างโดโลไมท์ ปูนมาร์ล และปูนขาว จำนวนชนิดละ 25 ตัวอย่าง พบว่าสามารถทำนายการจัดจำแนกชนิดปูนได้ถูกต้องทุกตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 100

2.2.2 ทวนสอบกับตัวอย่างปูนผสมสองชนิดใน 9 อัตราส่วนโดยปริมาตร ทั้งหมดจำนวน 27 ตัวอย่าง พบว่าสามารถทำนายพบการมีปูนอื่นผสมอยู่ได้ จำนวน 11 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 40.7 ดังนี้

- การผสมโดโลไมท์กับปูนขาว ที่อัตราส่วนโดโลไมท์ : ปูนขาว 1 : 9 – 8 : 2 สมการทำนายเป็นปูนขาว จำนวน 8 ตัวอย่าง สามารถทำนายพบการมีปูนอื่นผสมกับปูนขาว จำนวน 1 ตัวอย่าง ที่อัตราส่วนโดโลไมท์ : ปูนขาว 9 : 1 คิดเป็นร้อยละ 11.1 เมื่อมีปริมาตรปูนขาวน้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 10 (Table 2)
- การผสมโดโลไมท์กับปูนมาร์ล สมการทำนายเป็นปูนมาร์ล จำนวน 2 ตัวอย่าง ที่อัตราส่วนโดโลไมท์ : ปูนมาร์ล 1 : 9 – 2 : 8 สามารถทำนายพบการมีปูนอื่นผสมกับปูนมาร์ล จำนวน 6 ตัวอย่าง ที่อัตราส่วนโดโลไมท์ : ปูนมาร์ล 3 : 7 – 8 : 2 และทำนายพบการมีปูนอื่นผสมกับโดโลไมท์ 1 ตัวอย่าง อัตราส่วนโดโลไมท์ : ปูนมาร์ล 9 : 1 แสดงว่า สมการสามารถทำนายพบการผสมปูนได้ จำนวน 7 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 77.8 เมื่อมีปริมาตรโดโลไมท์มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 30 (Table 2)

- การผสมปูนมาร์ลกับปูนขาว สมการทำนายเป็นปูนขาว จำนวน 6 ตัวอย่าง ที่อัตราส่วนปูนมาร์ล : ปูนขาว 1 : 9 - 6 : 4 สามารถทำนายพบการมีปูนอื่นผสมกับปูนขาวจำนวน 3 ตัวอย่าง ที่อัตราส่วนปูนมาร์ล : ปูนขาว 7 : 3 - 9 : 1 คิดเป็นร้อยละ 33.3 เมื่อมีปริมาตรปูนขาวน้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 30 (Table 2)

**Table 2** Verification of cluster calibration equations with two mixed samples

| Ratio | Dolomite + Lime | Dolomite + Marl | Marl + Lime |
|---|---|---|---|
| 1 : 9 | Lime | Marl | Lime |
| 2 : 8 | Lime | Marl | Lime |
| 3 : 7 | Lime | Marl* | Lime |
| 4 : 6 | Lime | Marl* | Lime |
| 5 : 5 | Lime | Marl* | Lime* |
| 6 : 4 | Lime | Marl* | Lime* |
| 7 : 3 | Lime | Marl* | Lime* |
| 8 : 2 | Lime | Marl* | Lime* |
| 9 : 1 | Lime* | Dolomite* | Lime* |

Remark : * การทำนายพบปูนอื่นผสม

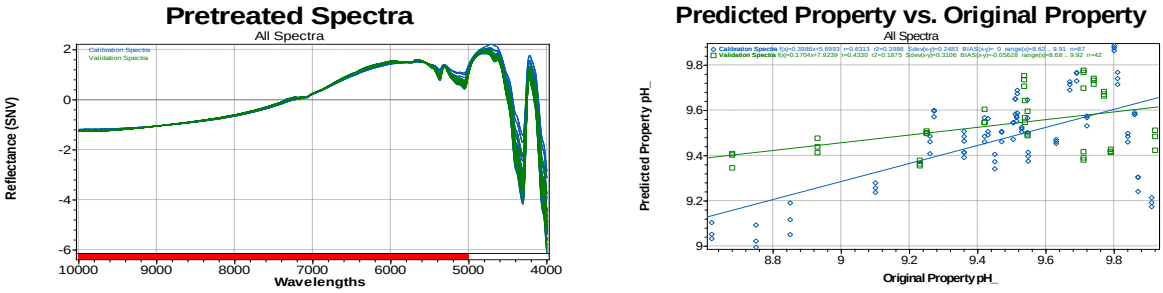
3. การวิเคราะห์เชิงปริมาณ

3.1 สร้างและปรับปรุงสมการประเมินผลค่าทางเคมี

จากการนำตัวอย่างโดโลไมท์ 50 ตัวอย่าง ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค NIR โดย Scan ที่ช่วงความยาวคลื่น 800-2500 nm นำสเปกตรัมที่ได้ไปสร้างสมการประเมินผลค่าทางเคมีโดยใช้สเปกตรัมปรับแต่ง (Pretreatments) เทียบกับผลวิเคราะห์ทางเคมีของโดโลไมท์ ได้แก่ pH, CaO, MgO และ CCE ได้ผลการดำเนินงาน ดังนี้

1) สมการประเมินผลค่า pH

ผลการเมื่อนำสเปกตรัมเริ่มต้นไปสร้างและปรับปรุงสมการ ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและ ความเป็นกรด-ด่าง (pH) คำนวณด้วยวิธี PLS calibration ปรับแต่งสเปกตรัมและเลือกวิธีปรับแต่งสเปกตรัม (Pretreatment) ที่ตอบสนองดีที่สุดได้ Standard Normal Variate (SNV) (Figure 6 a) มีค่าความสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.6313 ค่าความผิดพลาดมาตรฐานของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้สร้างสมการ Calibration (SEC) เท่ากับ 0.2483 และค่าความผิดพลาดมาตรฐานของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ทดสอบสมการ Validation (SEP) เท่ากับ 0.3106 (Figure 6 b)




(a) (b)

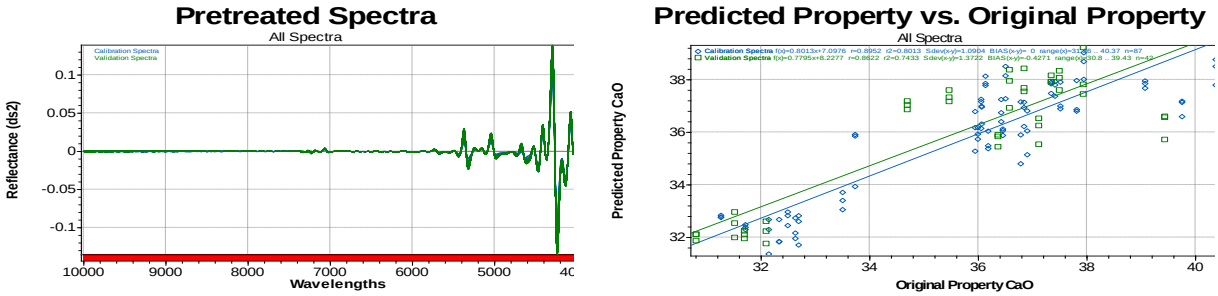
Figure 6 Creation and improvement of pH prediction equations

(a) Standard normal variate (SNV) pretreatments spectrum

(b) Correlation between the pH value that was analyzed by the laboratory and predicted by the NIR using standard normal variate (SNV) pretreatments spectrum

2) สมการประเมินผลค่า CaO

ผลการเมื่อนำสเปกตรัมเริ่มต้นไปสร้างและปรับปรุงสมการ ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและ CaO คำนวณด้วยวิธี PLS calibration ปรับแต่งสเปกตรัมและเลือกวิธีปรับแต่งสเปกตรัม (Pretreatment) ที่ตอบสนองดีที่สุดได้ 2nd Savitzky Golay 9 point (dg2) (Figure 7 a) มีค่าความสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.8952 ค่าความผิดพลาดมาตรฐานของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้สร้างสมการ Calibration (SEC) เท่ากับ 1.0904 และค่าความผิดพลาดมาตรฐานของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ทดสอบสมการ Validation (SEP) เท่ากับ 1.3722 (Figure 7 b)




(a) (b)

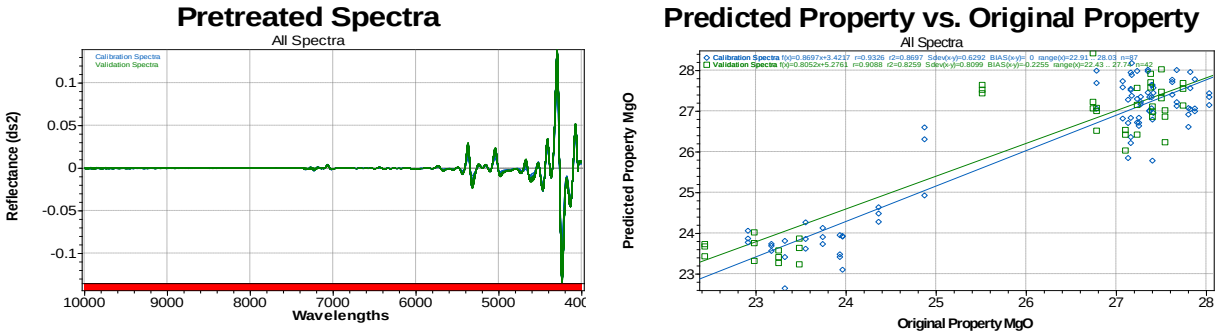
Figure 7 Creation and improvement of CaO prediction equations

(a) 2nd Savitzky Golay 9 point (dg2) pretreatments spectrum

(b) Correlation between the CaO that was analyzed by the laboratory and predicted by the NIR using 2nd Savitzky Golay 9 point (dg2) pretreatments spectrum

3) สมการประเมินผลค่า MgO

ผลการเมื่อนำสเปกตรัมเริ่มต้นไปสร้างและปรับปรุงสมการ ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและ MgO คำนวณด้วยวิธี PLS calibration ปรับแต่งสเปกตรัมและเลือกวิธีปรับแต่งสเปกตรัม (Pretreatment) ที่ตอบสนองดีที่สุดได้ 2nd Savitzky Golay 9 point (dg2) (Figure 8 a) มีค่าความสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.9326 ค่าความผิดพลาดมาตรฐานของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้สร้างสมการ Calibration (SEC) เท่ากับ 0.6292 และค่าความผิดพลาดมาตรฐานของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ทดสอบสมการ Validation (SEP) เท่ากับ 0.8099 (Figure 8 b)




(a) (b)

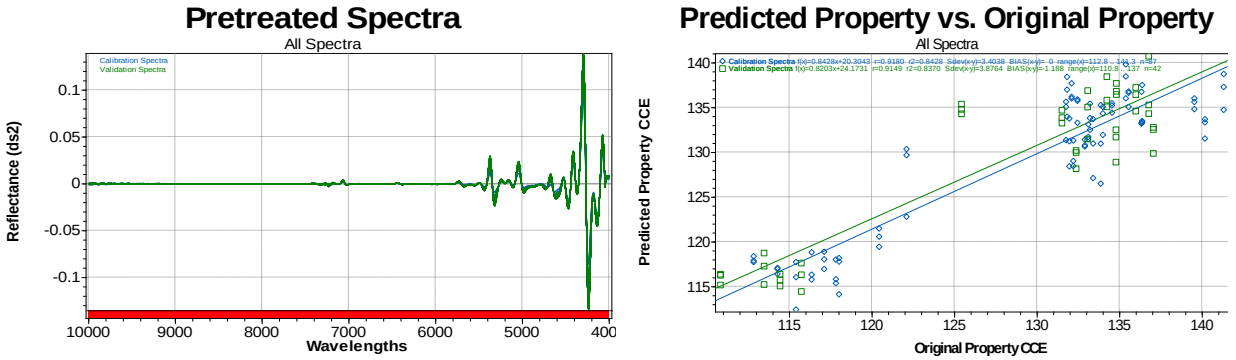
Figure 8 Creation and improvement of MgO prediction equations

(a) 2nd Savitzky Golay 9 point (dg2) pretreatments spectrum

(b) Correlation between the MgO that was analyzed by the laboratory and predicted by the NIR using 2nd Savitzky Golay 9 point (dg2) pretreatments spectrum

4) สมการประเมินผลค่า CCE

ผลการเมื่อนำสเปกตรัมเริ่มต้นไปสร้างและปรับปรุงสมการ ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและ CCE คำนวณด้วยวิธี PLS calibration ปรับแต่งสเปกตรัมและเลือกวิธีปรับแต่งสเปกตรัม (Pretreatment) ที่ตอบสนองดีที่สุดได้ 2nd Savitzky Golay 9 point (dg2) (Figure 9 a) มีค่าความสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.9180 ค่าความผิดพลาดมาตรฐานของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้สร้างสมการ Calibration (SEC) เท่ากับ 3.4038 และค่าความผิดพลาดมาตรฐานของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ทดสอบสมการ Validation (SEP) เท่ากับ 3.8764 (Figure 9 b)




(a) (b)

Figure 9 Creation and improvement of CCE prediction equations

(a) 2nd Savitzky Golay 9 point (dg2) pretreatments spectrum

(b) Correlation between the CCE that was analyzed by the laboratory and predicted by the NIR using 2nd Savitzky Golay 9 point (dg2) pretreatments spectrum

**Table 3** The correlation (r) standard error of calibration equation (SEC) and the standard error of the validation equation (SEP) of created equation

| รายการ | สมการ | r | SEC | SEP |
|---|---|---|---|---|
| pH | Standard Normal Variate (SNV) | 0.6313 | 0.2483 | 0.3106 |
| CaO | 2nd Savitzky Golay 9 point (dg2) | 0.8952 | 1.0904 | 1.3722 |
| MgO | 2nd Savitzky Golay 9 point (dg2) | 0.9326 | 0.6292 | 0.8099 |
| CCE | 2nd Savitzky Golay 9 point (dg2) | 0.9180 | 3.4038 | 3.8764 |

3.2 ทดสอบสมการและปรับปรุงสมการประเมินผลค่าทางเคมี

นำตัวอย่างปูนโดโลไมด์ 50 ตัวอย่าง ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค NIR โดย Scan ที่ช่วงความยาวคลื่น 800 nm-2500 nm ไปทดสอบทำนายผลค่าทางเคมีโดยใสมการปรับแต่ง (Pretreatments) สำหรับ pH, CaO, MgO และนำผลวิเคราะห์ CaO และ MgO จากค่าที่วิเคราะห์ได้ด้วยเครื่อง NIR มาคำนวณค่า %CCE พบว่า ค่าที่วิเคราะห์ได้โดยใช้เครื่อง NIR มีค่าวิเคราะห์ pH อยู่ในช่วง 9.04 - 9.88, CaO อยู่ในช่วง 32.04 – 38.58%, MgO อยู่ในช่วง 23.30 – 27.82% และ %CCE อยู่ในช่วง 115.43 – 138.13% ซึ่งผลวิเคราะห์ที่ได้จัดอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของสารปรับปรุงดินชนิดโดโลไมท์ทั้ง 50 ตัวอย่าง หรือร้อยละ 100 ผลดัง Table 4

**Table 4** The results of pH, CaO, MgO and CCE analysis by laboratory method and NIR method

| parameter | Lab | NIR Predicted |
|---|---|---|
| **pH** | 8.62 - 9.92 | 9.04 – 9.88 |
| **CaO (%)** | 30.80 – 40.37 | 32.04 – 38.58 |
| **MgO (%)** | 22.43 – 28.03 | 23.30 – 27.82 |
| **CCE (%)** | 110.82 – 141.30 | 115.43 – 138.13 |

ประเมินความแม่นยำโดยเปรียบเทียบผลการทำนายกับค่าวิเคราะห์ทางเคมี โดยใช้ paired t-test พบว่า pH, CaO, MgO และ %CCE มีค่า $t_{ext} < t_{crit}$ แสดงว่าการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง NIR ให้ผลไม่แตกต่างจากการวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการอย่างมีนัยสำคัญ ค่าความแตกต่างสัมบูรณ์ (Absolute different) สำหรับ pH ค่า %recovery และ %RSD ของ CaO, MgO และ CCE อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (AOAC, 2016) แสดงถึงความถูกต้อง แม่นยำ ของการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง NIR ซึ่งซึ่งผลวิเคราะห์ที่ได้จัดอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของสารปรับปรุงดินชนิดโดโลไมท์ทั้ง 50 ตัวอย่าง หรือร้อยละ 100 (Table 5)

**Table 5** Accuracy and precision of dolomite prediction equation

| parameter | Accuracy | | | | | Precision |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Paired t-test | | | % recovery | Absolute different | % RSD |
| | $t_{ext.}$ | $t_{crit.}$ | Evaluation | | | |
| **pH** | 1.51 | 2.01 | non significant | - | 0.05 - 0.77 | - |
| **CaO (%)** | 0.80 | 2.01 | non significant | 92.08 – 106.76 | - | 0.29 – 3.35 |
| **MgO (%)** | 0.62 | 2.01 | non significant | 91.70 – 107.95 | - | 0.34 – 3.48 |
| **CCE (%)** | 0.77 | 2.01 | non significant | 94.81 – 107.51 | - | 0.29 – 3.35 |

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy-NIRS) ใช้หลักการวัดความสัมพันธ์กับสสารที่ต้องการประเมินหรือสสารที่สามารถเกิดอันตรกริยากับรังสีอินฟราเรดย่านใกล้ ด้วยวิธีการสะท้อนแสง (Reflection) คุณสมบัติในการดูดกลืนแสงของสสารได้ไม่เท่ากัน ทำให้ผลที่แสดงออกมาบอกถึงความแตกต่างได้ จึงนำค่าการดูดกลืนแสงมาประมวลผลวิเคราะห์ทั้งเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพที่ต้องการได้ โดยใช้แสงที่ความยาวคลื่น (wave length) 800-2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น (wave number) 4000-12500 ต่อเซนติเมตร สามารถแยกเอกลักษณ์ของสารปรับปรุงดินได้จากสเปกตรัมที่แตกต่างกันได้ ได้การจัดจำแนกชนิดปูนแบบจัดกลุ่ม (Cluster calibration) แบบ 1st Savitzky - Golay a points (dg1) และ to Unit Length (nle) ที่สามารถทำนายผลสำหรับการจัดจำแนกชนิดปูนแบบจัดกลุ่ม (Cluster calibration) ได้ถูกต้องทุกตัวอย่างสำหรับปูนที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน และสามารถทำนายพบการมีปูนอื่นผสมอยู่สำหรับปูนผสมได้ร้อยละ 40.7 โดยจะทำนายพบได้ดีสำหรับการผสมระหว่างโดโลไมท์และปูนมาร์ล การทดสอบสมการทำนายผลค่าทางเคมี สามารถอธิบายความสามารถของสมการแคลิเบรชั่นแบบปรับแต่งสมการ (pretreatment) ด้วยค่า R ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ค่า R = 0.6313 สามารถคัดแยกตัวอย่างได้ดี ใช้ในการควบคุมคุณภาพได้แต่ความสัมพันธ์ยังไม่ดีพอ แคลเซียมออกไซด์ (CaO) ค่า R = 0.8952 สามารถคัดแยกตัวอย่างได้ยอดเยี่ยม ทำนายผลในระดับปริมาณได้เบื้องต้นหรือ screening แมกนีเซียมออกไซด์ (MgO) และค่าสมมูลแคลเซียมคาร์บอเนต (CCE) มีค่า R = 0.9326 และ 0.9180 ตามลำดับ สามารถคัดแยกตัวอย่างได้ยอดเยี่ยม สามารถใช้ทำนายผลในงานวิจัยหรืองานทั่วไปได้ จากการประเมินความแม่นยำโดยเปรียบเทียบผลการทำนายกับค่าวิเคราะห์ทางเคมี โดยใช้ paired t-test พบว่า pH, CaO, MgO และ %CCE มีค่า $t_{ext} < t_{crit}$ แสดงว่าการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง NIR ให้ผลไม่แตกต่างจากการวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการอย่างมีนัยสำคัญ ค่าความแตกต่างสัมบูรณ์ (Absolute different) สำหรับ pH ค่า %recovery และ %RSD ของ CaO, MgO และ CCE อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ แสดงถึงความถูกต้อง แม่นยำ ของการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง NIR ซึ่งซึ่งผลวิเคราะห์ที่ได้จัดอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของสารปรับปรุงดินชนิดโดโลไมท์ทั้ง 50 ตัวอย่าง หรือร้อยละ 100 สรุปว่า เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy-NIRS) สามารถใช้จัดจำแนกโดโลไมท์จากสารปรับปรุงดินชนิดอื่นได้ และสามารถทำนายผลค่าทางเคมีของโดโลไมท์ได้อย่างแม่นยำและรวดเร็ว และสามารถพัฒนาและปรับปรุงสมการเพื่อนำมาใช้ประเมินค่าให้ดีขึ้นโดยการเพิ่มปริมาณตัวอย่างให้มากขึ้นและมีความสม่ำเสมอกันเพื่อให้สเปกตรัมเป็นตัวแทนที่ดีของตัวอย่าง และคลอบคลุมการใช้งานจริง จะทำให้สมการทำนายมีความถูกต้อง แม่นยำ มากขึ้น

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

สามารถนำเทคนิค NIR Spectroscopy ไปใช้ในการประเมินค่าการจัดจำแนกชนิดปูนแบบจัดกลุ่ม (Cluster calibration) ตัวอย่างโดโลไมท์ ปูนมาร์ล และปูนขาว และวิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณแคลเซียมออกไซด์ แมกนีเซียมออกไซด์ และ Calcium carbonate equivalent (CCE) ในตัวอย่างโดโลไมท์ เพื่อเป็นทางเลือกในการวิเคราะห์ซึ่งประหยัด และรวดเร็ว โดยไม่ทำลายตัวอย่าง ลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายและปลอดภัยกับผู้วิเคราะห์ และสามารถพัฒนาผลงานวิจัยนี้ในการตรวจสอบคุณสมบัติอื่นของปัจจัยการผลิตทางการเกษตรต่อไป

## เอกสารอ้างอิง


คู่มือการใช้วัสดุปูนเพื่อการเกษตรเพื่อปรับปรุงดินเปรี้ยว. 2542. กรมพัฒนาที่ดิน, กรุงเทพฯ.

ระเบียบกรมพัฒนาที่ดินว่าด้วยการใช้เครื่องหมายรับรองมาตรฐานปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. 2556. กรมพัฒนาที่ดิน. กรุงเทพฯ.

เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้และการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม. 2555. สถาบันวิจัยและค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

Balog, A.A., Cobirzan N. and L. Barbu-Tudoran. 2014. Evaluation of Limestone with Non-Invasive Analytical Methods. Rom. Jour. Phys., Vol. 59, Nos. 5–6, P. 601–607.

Official Methods of Analysis of AOAC International. 2016. AOAC International Gaithersburg, MD, USA, Official Method 20th Ed.

Sungchan Oh, Chang-Uk Hyun and Hyeong-Dong Park. Near-Infrared Spectroscopy of Limestone Ore for CaO Estimation under Dry and Wet Conditions. Minerals. 16 September 2017 : 1-11.

Yaser Ostovaria, Shoja Ghorbani-Dashtakia, Hossein-Ali Bahramib, Mozhgan Abbasic, Alexandre M. Dematteee, Emmanuel Arthurd, Panos Panagos. Towards prediction of soil erodibility, SOM and $CaCO_3$ using laboratory Vis-NIR spectra: A case study in a semi-arid region of Iran. Geoderma Volume 314, 15 March 2018, 102-112.

# พิสูจน์เอกลักษณ์ และสมบัติทางเคมีและกายภาพของสารปรับปรุงดิน ชนิดปูนมาร์ล โดยเทคนิคอินฟาเรดย่านใกล้

# Identify and determine the chemical and physical properties of Marl by Near Infrared Spectroscopy

*ญาณธิชา จิตต์สะอาด* *สุภา โพธิจันทร์* *สงกรานต์ มะลิสอน* *พจมาลย์ ภู่สาร*
*จิตติรัตน์ ชูชาติ* *กัญฐณา คล้ายแก้ว*

*Yarnthicha Jittsa-add* *Supha Photichan* *Songkrant Malisorn* *Pojjamarn Poosarn*
*Jittirat Choochat* *Kanthana Klaigaew*

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

## ABSTRACT

Identify and determine the chemical and physical properties of Marl by Near Infrared Spectroscopy (NIRS). It's a new and popular technique. There is a non-destructive measurement method. Can predict values quickly, accurately, reducing the cost of using chemicals. and does not harm the environment. Prepare samples of marl and other types of agricultural liming material. The chemistry of marl samples was analyzed in the laboratory to calcium carbonate equivalent (CCE), calcium oxide (CaO) and pH. The sample was taken to measure the absorbance with an NIRS instrument in the wavelength range 800 to 2500 nm. Develop the cluster calibration equation for prediction of marl. It was found that the groups were clearly separated from each other. Partial Least Squares Regression (PLS) was used to develop the calibration equation for prediction of marl. The correlation coefficient (R) of 0.47, 0.50 and 0.93 standard error of calibration (SEC) of 3.04, 1.67 and 0.08, standard error of prediction (SEP) of 3.32, 1.83 and 0.07 respectively. Validation of the method, inspection of accurate 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 0.07-0.0.38% (AOAC accepted %RSD ≤ 1.3), 0.08-0.41 and 0.04-0.37 (AOAC accepted %RSD ≤ 1.9) and %Recovery the range were 93-111, 93-111 and 94 - 108. Can prove the identity of the marl and used to predict the results for classification according to the agricultural liming material. The mixed samples predicted correctly. accounted for 40.7% and evaluate CaO, CCE and pH Accurately and quickly. The equation should be developed and optimized for further use.

**Keyword :** Marl , Near Infrared Spectroscopy

## บทคัดย่อ

การพิสูจน์เอกลักษณ์ และหาสมบัติทางเคมีและกายภาพของสารปรับปรุงดินชนิดปูนมาร์ล โดยเทคนิคอินฟาเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy ; NIRS) เป็นเทคนิคใหม่ที่ได้รับความนิยม มีวิธีการวัดแบบไม่ทำลายตัวอย่าง สามารถทำนายค่าได้อย่างรวดเร็ว แม่นยำ ลดต้นทุนในการใช้สารเคมี และไม่ทำลายสิ่งแวดล้อม โดยเตรียมตัวอย่างปูนมาร์ลและปูนชนิดอื่น วิเคราะห์ค่าทางเคมีตัวอย่างปูนมาร์ลในห้องปฏิบัติการหาปริมาณค่าความสามารถทำให้เป็นกลาง (CCE) แคลเซียมออกไซด์ (CaO) และความเป็นกรด-ด่าง (pH) นำตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง NIRS ในช่วงความยาวคลื่น 800 ถึง 2500 นาโนเมตร สร้างและปรับปรุงสมการ พบว่า สมการทำนายผลเชิงคุณภาพที่สร้างด้วยวิธีจัดกลุ่ม (Cluster calibration) สามารถแยกกลุ่มชนิดปูนกันอย่างชัดเจน และสมการทำนายเชิงปริมาณที่สร้างด้วยวิธี Partial Least Square Regression (PLS) มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient ; r) เท่ากับ 0.47 0.50 และ 0.93 ตามลำดับ ค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างสร้างสมการแคลิเบรชั่น (Standard error of calibration ; SEC) เท่ากับ 3.04 1.67 และ 0.08 ตามลำดับ ค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบสมการ (Standard error of prediction ; SEP) เท่ากับ 3.32 1.83 และ 0.07 ตามลำดับ ทวนสอบความใช้ได้ของวิธีด้วยตัวอย่างปูนมาร์ลและปูนชนิดอื่น พิจารณาความแม่นโดยใช้ Paired t-test พบว่าค่า $t_{ext}$ มีค่าน้อยกว่า $t_{crit}$ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ผลการวิเคราะห์ที่ได้ผ่านเกณฑ์การยอมรับ และ % Recovery อยู่ในช่วง 93-111 93-111 และ 94-108 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และพิจารณาความเที่ยงโดยใช้ %RSD พบว่ามีค่า %RSD อยู่ในช่วง 0.07 – 0.38% (%RSD ≤ 1.3), 0.08 - 0.41 และ 0.04 - 0.37 (%RSD ≤ 1.9) ตามลำดับ สามารถพิสูจน์เอกลักษณ์ของปูนมาร์ลและนำมาใช้ทำนายผลสำหรับการจัดจำแนกได้ถูกต้องตามชนิดตัวอย่างสารปรับปรุงดิน ส่วนตัวอย่างผสมทำนายได้อย่างถูกต้อง คิดเป็นร้อยละ 40.7 และประเมินค่าค่าความสามารถทำให้เป็นกลาง แคลเซียมออกไซด์ ค่าความเป็นกรด-ด่างได้อย่างแม่นยำ และรวดเร็ว ควรทำการพัฒนาและปรับปรุงสมการให้เหมาะสมเพื่อการนำไปใช้งานต่อไป



**คำหลัก :** ปูนมาร์ล, เทคนิคอินฟาเรดย่านใกล้


## คำนำ

ปูนมาร์ล (Marl) หรือ ดินมาร์ล เป็นสารปรับปรุงดินประเภทวัสดุปูนเพื่อการเกษตร (Agricultural lime) ชนิดหนึ่งที่มีเนื้อเป็นสารประกอบแคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) ผสมกับดินเหนียว (Clay) สัดส่วน 35:65 หรือ 65:35 มีสัดส่วนไม่แน่นอน มีสีขาว หรือขาวขุ่นปนน้ำตาล (ราชกิจจานุเบกษา, 2549; กรมพัฒนาที่ดิน, 2556) เป็นหินปูนที่มีลักษณะเนื้อค่อนข้างร่วน ใช้ปรับปรุงดินเปรี้ยวเพื่อแก้ความเป็นกรดของดิน เป็นวัสดุปรับปรุงดินที่ให้แคลเซียมซึ่งมีประโยชน์สำหรับพืช มีราคาถูกกว่าปูนขาวหรือไดโลไมท์ เนื่องจากใช้ต้นทุนในการผลิตที่ต่ำกว่า จึงเป็นทางเลือกหนึ่งสำหรับใช้ในการเกษตร

เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy ; NIRS) เป็นทางเลือกหนึ่งของเทคนิควิเคราะห์เชิงคุณภาพและปริมาณ และถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ด้านต่างๆ อย่างแพร่หลายในต่างประเทศ เนื่องจากเป็นเทคนิคที่สามารถทำนายค่าได้อย่างรวดเร็วแม่นยำ และสามารถใช้พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารต่างๆได้โดยใช้ความยาวคลื่นจำเพาะที่เป็นส่วนประกอบในสารนั้นๆ สำหรับงานวิจัยที่มีการนำเทคนิคนี้มาใช้ซึ่งเกี่ยวข้องกับองค์ประกอบของปูนมาร์ล ได้แก่ การประมาณค่าแคลเซียมออกไซด์โดยสเปกโตรสโกปีใกล้อินฟราเรดของแร่หินปูนภายใต้สภาวะแห้งและเปียกในเหมืองแร่ (Sungchan *et al.,* 2017) ทำนายการชะล้างพังทลายของดินและแคลเซียมคาร์บอเนตโดยใช้สเปกตรัมวิสิเบิลสเปกโตรสโกปีใกล้อินฟราเรดในห้องปฏิบัติการ (Yaser *et al.,* 2018) เป็นต้น เทคนิคนี้ใช้หลักการหาความสัมพันธ์การดูดกลืนแสงในช่วง อินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared) คือ ช่วงความยาวคลื่น 800-2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น 4000-12500 ต่อเซนติเมตร กับสสารที่ต้องการประเมินหรือสสารที่สามารถเกิดอันตรกริยากับรังสีอินฟราเรดย่านใกล้ อันตรกิริยาดังกล่าว คือ การที่โมเลกุลดูดกลืนรังสีอินฟราเรดย่านใกล้เข้าไป ซึ่งจะมีผลต่อการสั่นของพันธะต่างๆ ในโมเลกุล ระดับการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดย่านใกล้ของสสารที่ความยาวคลื่นต่างๆ จะปรากฏในสเปกตรัม NIRS (สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร, 2555) ซึ่งสารแต่ละชนิด

เมื่อได้รับแสงจะมีคุณสมบัติในการดูดกลืนแสงได้ไม่เท่ากัน ทำให้ผลที่แสดงออกมาบอกถึงความแตกต่างได้ จึงนำค่าการดูดกลืนแสงมาประมวลผลวิเคราะห์ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณที่ต้องการได้ ปัจจุบันมีการใช้สารปรับปรุงดินอย่างแพร่หลาย แต่ยังไม่มีการควบคุมคุณภาพของสารปรับปรุงดิน ห้องปฏิบัติการกรมวิชาการเกษตรจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาแนวทางการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีการวิเคราะห์ดังกล่าว ให้ความเหมาะสมกับประเภทตัวอย่าง เพื่อให้สามารถนำเทคนิควิธีวิเคราะห์ดังกล่าวมาใช้วิเคราะห์ได้ทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ นอกจากนี้ ยังเป็นการลดมลภาวะที่เกิดจากห้องปฏิบัติการจากการลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายที่ใช้ในการวิเคราะห์ รวมทั้งลดต้นทุน และระยะเวลาในการวิเคราะห์

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. เครื่อง Near Infrared Spectrophotometer
2. เครื่อง Inductively Coupled Plasma (ICP)
3. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง
4. เครื่อง pH Meter
5. เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์
6. สารมาตรฐานแคลเซียม แมกนีเซียม 1000 มิลลิกรัม/ลิตร
7. Nitric acid 63 - 65% ($HNO_3$), AR grade
8. Perchloric acid, AR grade
9. pH Buffer 4, 7 และ 10
10. ตัวอย่างปูนมาร์ล โดโลไมท์ และปูนขาว

### วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่างปูน

เตรียมตัวอย่างที่ทราบชนิดตามมาตรฐานของตัวอย่างปูนมาร์ลและปูนชนิดอื่น ได้แก่ โดโลไมท์ และปูนขาว และทำการผสมปูน โดยตัวอย่างที่เตรียมจะนำมาใช้วัดการดูดกลืนแสงเพื่อพิสูจน์เอกลักษณ์ สร้างสมการการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (Identification) สร้างสมการการวัดเชิงปริมาณ (Quantification) และทวนสอบสมการการวัดเชิงคุณภาพและการวัดเชิงปริมาณ

2. วัดการดูดกลืนแสงเพื่อพิสูจน์เอกลักษณ์และการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ

พิสูจน์เอกลักษณ์โดยใช้ตัวอย่างปูนมาร์ล โดโลไมท์ และปูนขาว และผสมปูนมาร์ล กับโดโลไมท์ และปูนขาว วิเคราะห์เชิงคุณภาพโดยนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยใช้เทคนิค NIRS แบบวิธีสะท้อน (Reflectance) และทำการวัดเชิงคุณภาพหรือเอกลักษณ์ (Identification) โดยทำการเทตัวอย่างปูนที่เตรียม ใส่ลงใน Petridis ให้มีความหนาประมาณ 1 เซนติเมตร แล้วนำไปวัดด้วยเครื่อง NIRS โดยใช้แสงที่ความยาวคลื่น (wave length) 800-2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น (wave number) 4000-12500 ต่อเซนติเมตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ย่านนี้ และทำการพิจารณาสเปกตรัม (Spectrum)

3. วิเคราะห์ค่าทางเคมีและวัดการดูดกลืนแสงวิเคราะห์เชิงปริมาณ

3.1 ทำการวิเคราะห์หาปริมาณค่าทางเคมีในห้องปฏิบัติการหาปริมาณค่าความสามารถทำให้เป็นกลาง (CCE) ปริมาณแคลเซียมออกไซด์ (CaO) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยปริมาณแคลเซียมออกไซด์ ด้วยวิธีโดยการนำไปย่อยด้วยกรดผสม (ไนตริก 1 : เปอร์คลอริค 3) แล้วนำไปวัดด้วยเครื่อง ICP-OES และคำนวณค่าความสามารถทำให้เป็นกลาง และค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยการใช้อัตราส่วนของปูนต่อน้ำเท่ากับ 1:1 นำไปวัดด้วยเครื่อง pH meter (ASTM International, 2016)

3.2 วิเคราะห์เชิงปริมาณ โดยนำตัวอย่างปูนมาร์ลที่มีปริมาณค่าความสามารถทำให้เป็นกลาง แคลเซียมออกไซด์ และค่าความเป็นกรด-ด่าง มาวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยใช้เทคนิคส NIRS แบบวิธีสะท้อน (Reflectance) และทำการวัดเชิงปริมาณ (quantification) โดยทำการเทตัวอย่างปูนที่เตรียม ใส่ลงใน Petridis ให้มีความหนาประมาณ 1 เซนติเมตร แล้วนำไปวัดด้วยเครื่อง NIRS โดยใช้แสงที่ความยาวคลื่น (wave length) 800-2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น (wave number) 4000-12500 ต่อเซนติเมตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ย่านนี้

4. สร้างและปรับปรุงสมการ

4.1 หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับตัวอย่างปูนแต่ละชนิด เพื่อวิเคราะห์เชิงคุณภาพโดยวิธีการจัดกลุ่ม (Cluster calibration) ตัวอย่างปูนมาร์ล โดโลไมท์ และปูนขาว โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป NIRCal ของเครื่อง NIR (Buchi NIRFlex N-500, Switzerland) และปรับปรุงสมการโดยการปรับแต่ง (Pretreatments)

4.2 หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับค่าทางเคมีปริมาณค่าความสามารถทำให้เป็นกลาง ปริมาณแคลเซียมออกไซด์ และค่าความเป็นกรด-ด่าง เพื่อวิเคราะห์เชิงปริมาณโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป NIRCal ของเครื่อง NIR (Buchi NIRFlex N-500, Switzerland) และปรับปรุงสมการโดยการปรับแต่ง (Pretreatments)

5. ประเมินผลสมการ

5.1 นำสมการแบบจัดกลุ่มที่ได้จากการปรับแต่งสมการ เมื่อสมการที่ได้แบ่งแยกชนิดปูนกันอย่างชัดเจนแล้ว นำสมการไปประเมินผลในตัวอย่างปูนทวนสอบและปูนผสมโดยเปรียบเทียบผลการทำนายกับชนิดตัวอย่างปูน

5.2 นำสมการค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณค่าความสามารถทำให้เป็นกลาง แคลเซียมออกไซด์ และค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่ได้จากการปรับแต่งสมการให้มีประสิทธิภาพในการประเมิน โดยการพิจารณาเลือกสมการที่ความสัมพันธ์ (R) สูง ค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างสร้างสมการแคลิเบรชั่น (Standard of Calibration : SEC) และค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบสมการ (Standard of Error of Prediction: SEP) ต่ำ หมายถึงสามารถตอบสนองได้ดี นำสมการที่ได้ไปประเมินค่าในตัวอย่างปูนมาร์ลทวนสอบ

5.3 การประเมินผลความสามารถของสมการตามแนวทางการอธิบายความสามารถของสมการแคลิเบรชั่นด้วยค่า R (ตารางที่ 1) (William, 2001)

ตารางที่ 1 แนวทางการอธิบายความสามารถของสมการแคลิเบรชั่นด้วยค่า r

| ค่า r | ความสามารถของสมการแคลิเบรชั่น |
|---|---|
| ± 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) |

5.4 ทวนสอบสมการแคลิเบรชั่นโดยใช้ตัวอย่างปูนมาร์ลโดยพิจารณาความแม่น (Accuracy) และความเที่ยง (Precision) (AOAC, 2016 ; DEQ, 2013) เพื่อให้ได้สมการทำนายผลที่มีความถูกต้อง และแม่นยำ

5.4.1 พิจารณาความแม่น (Accuracy) โดยใช้ Paired t-test และ % Recovery หรือ Absolut different (AD) โดยการเปรียบเทียบค่าที่ทำนายได้ด้วยวิธี NIRS กับค่าวิเคราะห์ทางเคมี

5.4.2 พิจารณาความเที่ยง (Precision) โดยใช้ %RSD (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ : Relative Standard Deviation)

**ระยะเวลา** เริ่มต้น ตุลาคม 2562 – สิ้นสุด กันยายน 2564

**สถานที่ทำการทดลอง** กลุ่มงานวิเคราะห์ระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

## ผลการทดลองและวิจารณ์

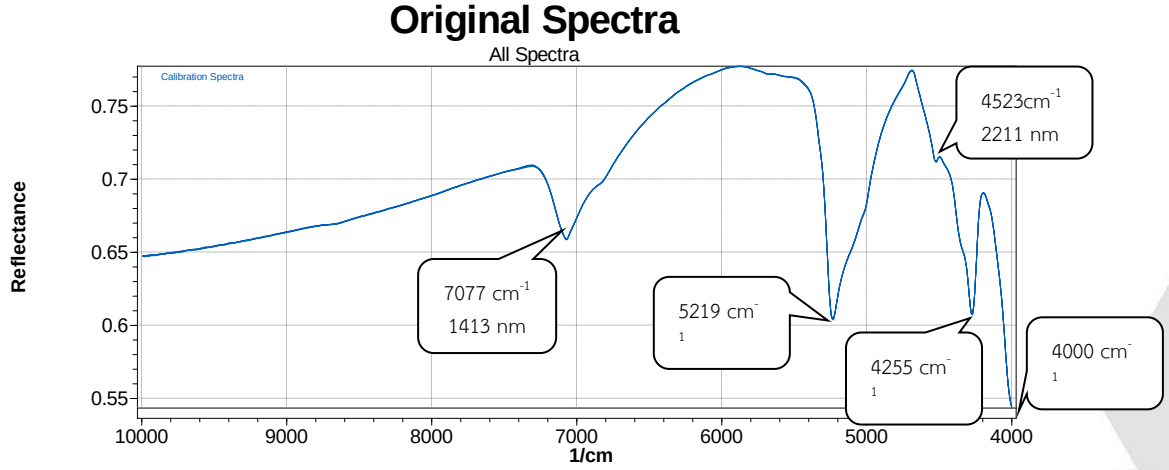
1. ผลการเตรียมตัวอย่างปูนเตรียมตัวอย่างที่ทราบชนิดตามมาตรฐานของตัวอย่างปูนมาร์ล ปูนชนิดอื่นและปูนผสม นำมาวัดการดูดกลืนแสงเพื่อพิสูจน์เอกลักษณ์ สร้างสมการการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ สร้างสมการการวัดเชิงปริมาณ และทวนสอบสมการการวัดเชิงคุณภาพและการวัดเชิงปริมาณ ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ตัวอย่างปูนมาร์ล ปูนชนิดอื่นและปูนผสม

| ชนิดตัวอย่างปูน | อัตราส่วน | ดำเนินงาน | จำนวน (ตัวอย่าง) |
|---|---|---|---|
| ปูนมาร์ล โดโลไมท์ และปูนขาว | - | พิสูจน์เอกลักษณ์ | ชนิดละ 1 |
| ปูนมาร์ล โดโลไมท์ และปูนขาว | - | สร้างสมการการวัดเชิงคุณภาพ | ชนิดละ 50 |
| ปูนมาร์ล | - | สร้างสมการการวัดเชิงปริมาณ | 50 |
| ปูนมาร์ล โดโลไมท์ และปูนขาว | - | ทวนสอบสมการการวัดเชิงคุณภาพ | 25 |
| ปูนมาร์ล | - | ทวนสอบสมการการวัดเชิงปริมาณ | 16 |
| ปูนมาร์ลผสมโดโลไมท์ | 1 : 9, 2 : 8, 3 : 7, 4 : | พิสูจน์เอกลักษณ์ และทวนสอบ | 9 |
| ปูนมาร์ลผสมปูนขาว | 6, 5 : 5, 6 : 4, 7 : 3, | สมการการวัดเชิงคุณภาพ | 9 |
| โดโลไมท์ผสมปูนขาว | 8 : 2 และ 9 : 1 | ทวนสอบสมการการวัดเชิงคุณภาพ | 9 |

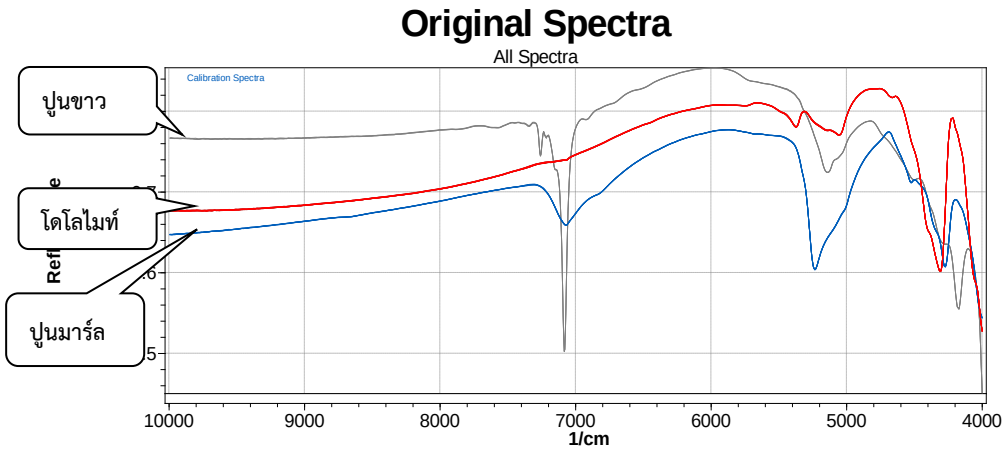
2. วัดการดูดกลืนแสงเพื่อพิสูจน์เอกลักษณ์และการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ

2.1 ผลการนำตัวอย่างปูนมาร์ลไปมาวัดค่าการดูดกลืนแสงเพื่อพิสูจน์เอกลักษณ์ได้สเปกตรัม NIR ภาพที่ 1 พบแถบการดูดกลืนรังสีอินฟาเรดย่านไกล้ของปูนมาร์ลที่ตำแหน่ง ตำแหน่ง 1413, 1916 และ 2211 nm (7077, 5219 และ 4523 $cm^{-1}$) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Yaser *et al.* (2018) ที่พบตำแหน่งการดูดกลืนแสงของดินเหนียว และตำแหน่ง 2350 และ 2500 nm (4255 และ 4000 $cm^{-1}$) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sungchan *et al.* (2017) พบตำแหน่งการดูดกลืนแสงของแคลเซียมออกไซด์ในหินปูน ตามองค์ประกอบของปูนมาร์ล

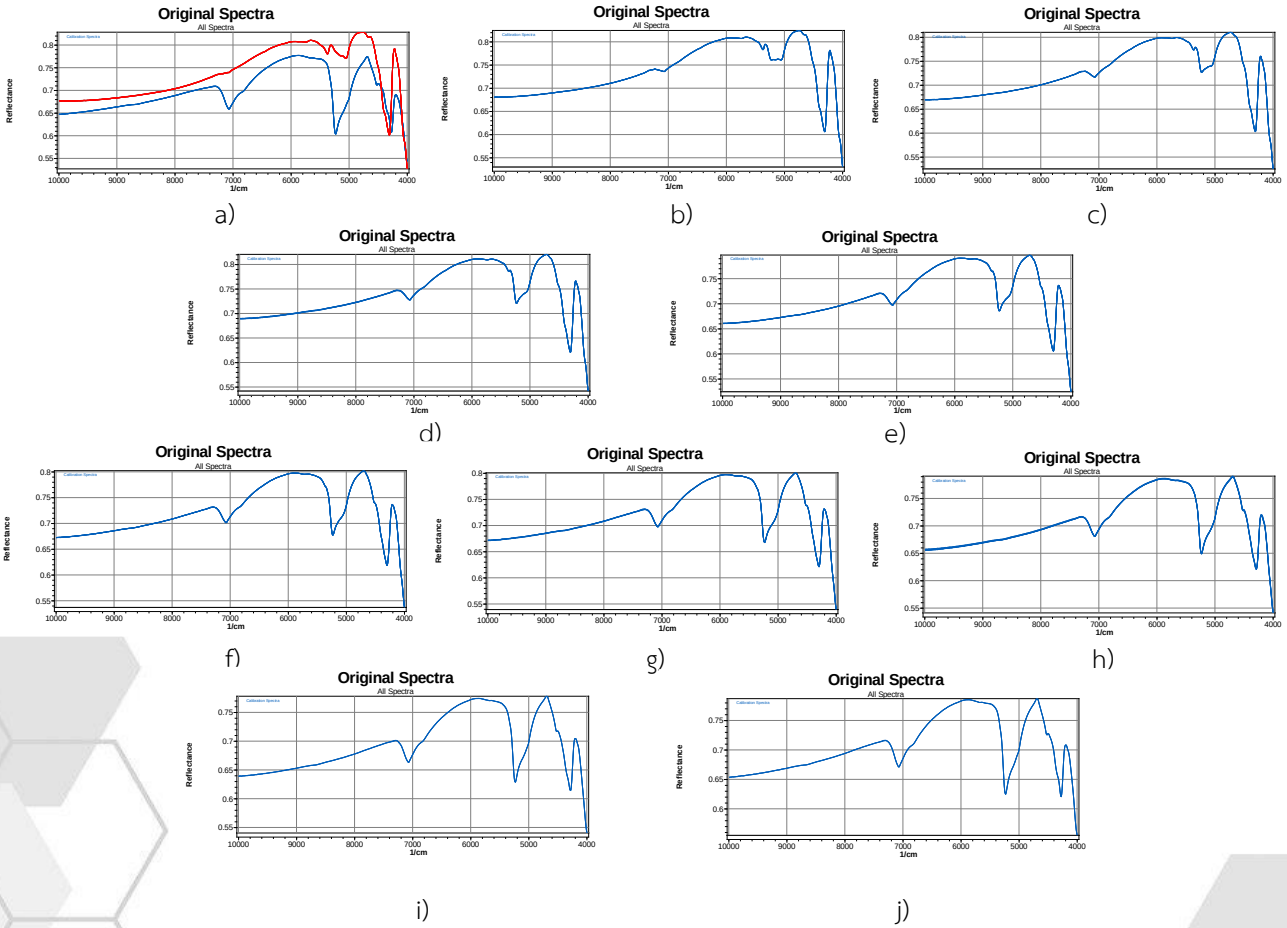



ภาพที่ 1 สเปกตรัม NIR ของตัวอย่างปูนมาร์ล

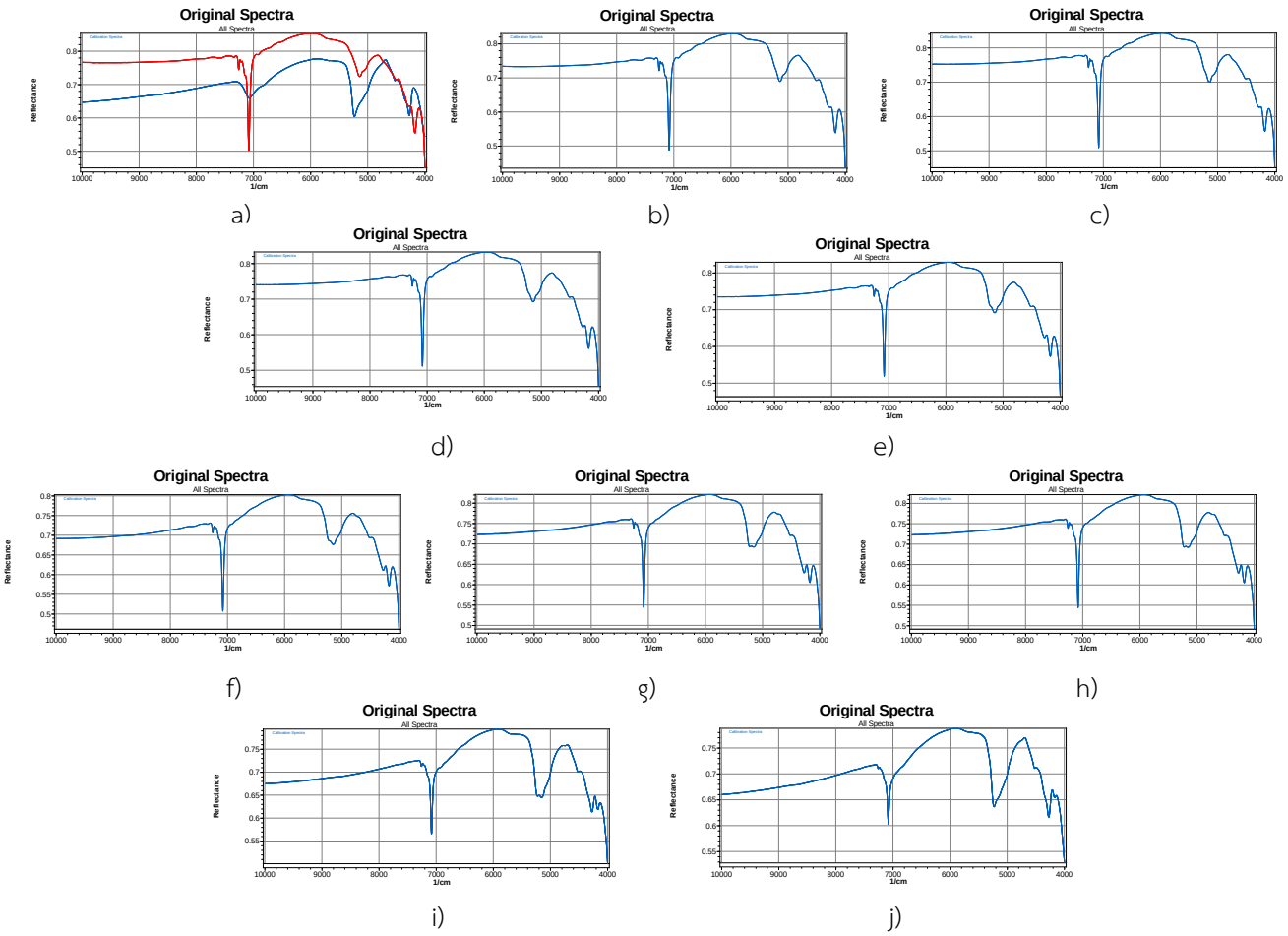
ผลการนำตัวอย่างปูนมาร์ล โดโลไมท์ และปูนขาว ไปมาวัดค่าการดูดกลืนแสงได้สเปกตรัม NIR ภาพที่ 2 เมื่อพิจารณาพบว่าแถบการดูดกลืนแสงและลักษณะรูปร่างของสเปกตรัมของปูนแต่ละชนิดมีเอกลักษณ์แตกต่างกันอย่างชัดเจน



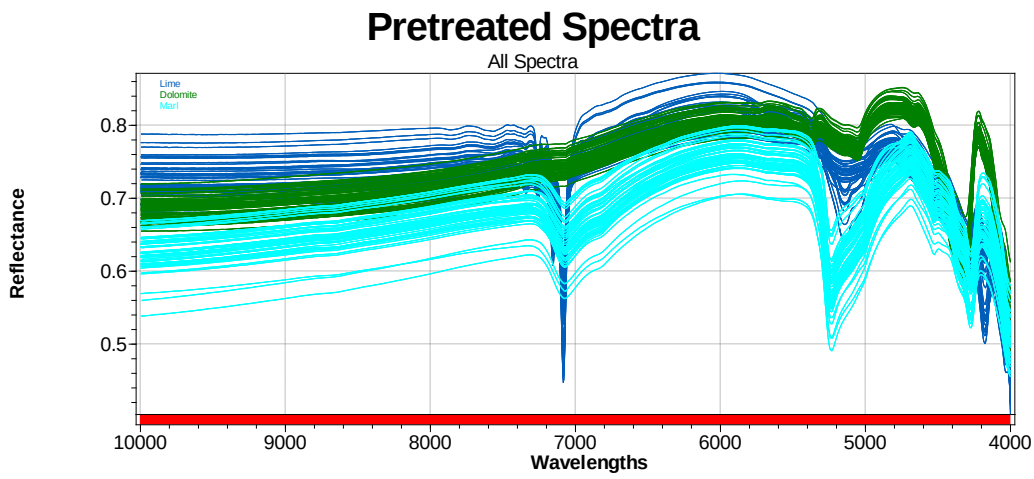

ภาพที่ 2 สเปกตรัม NIR ของตัวอย่างปูนมาร์ล โดโลไมท์ และปูนขาว




ภาพที่ 3 Original spectra ของปูนมาร์ลและโดโลไมท์และการผสมกันโดยปริมาตรในอัตราส่วนต่างๆ
a) ปูนมาร์ลและโดโลไมท์ b) อัตราส่วน (1:9) c) อัตราส่วน (2:8) d) อัตราส่วน (3:7) e) อัตราส่วน (4:6) f) อัตราส่วน (5:5) g) อัตราส่วน (6:4) h) อัตราส่วน (7:3) i) อัตราส่วน (8:2) j) อัตราส่วน (9:1)




ภาพที่ 4 Original spectra ของปูนมาร์ลและปูนขาวและการผสมกันโดยปริมาตรในอัตราส่วนต่างๆ
a) ปูนมาร์ลและปูนขาว b) อัตราส่วน (1:9) c) อัตราส่วน (2:8) d) อัตราส่วน (3:7) e) อัตราส่วน (4:6)
f) อัตราส่วน (5:5) g) อัตราส่วน (6:4) h) อัตราส่วน (7:3) i) อัตราส่วน (8:2) j) อัตราส่วน (9:1)




ภาพที่ 5 Original spectra ของตัวอย่างปูนมาร์ล โดโลไมท์ และปูนขาว จำนวน ชนิดละ 50 ตัวอย่าง

2.2 ผลการนำตัวอย่างปูนมาผสมกันพบว่า การผสมกันสองชนิดปูนโดยปริมาตรระหว่างปูนมาร์ลกับโดโลไมท์ (ภาพที่ 3) มีแถบการดูดกลืนแสงที่เป็นเอกลักษณ์ของปูนมาร์ลปรากฏที่อัตราส่วน 3 : 7 และเพิ่มขึ้นตามอัตราส่วนที่ตำแหน่ง 1916 nm (5219 $cm^{-1}$) และการผสมระหว่างปูนมาร์ลกับปูนขาว (ภาพที่ 4) พบแถบการดูดกลืนแสงที่เป็น

เอกลักษณ์ของปูนมาร์ลปรากฏที่อัตราส่วน 7 : 3 และเพิ่มขึ้นตามอัตราส่วนที่ตำแหน่ง 1916 และ 2350 nm (5219 และ 4255 $cm^{-1}$) และปูนขาวปรากฏลดลงที่ตำแหน่ง 1412 nm (7082 $cm^{-1}$) ตามอัตราส่วน

2.3 ผลการนำตัวอย่างปูนมาร์ล โดโลไมท์ และปูนขาว ชนิดละ 50 ตัวอย่างมาวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยใช้เครื่อง NIRS เพื่อการวิเคราะห์เชิงคุณภาพได้สเปกตรัมของตัวอย่างปูน แสดงให้เห็นเป็นสเปกตรัมเริ่มต้น (Original spectra) (ภาพที่ 5)

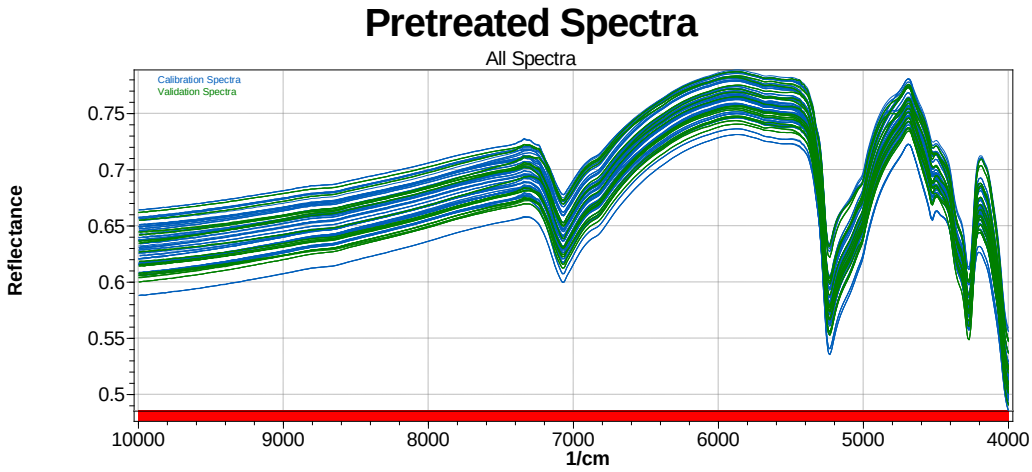
3. วิเคราะห์ค่าทางเคมีและวัดการดูดกลืนแสงวิเคราะห์เชิงปริมาณ

3.1 ผลการเตรียมตัวอย่างและวิเคราะห์ปริมาณค่าความสามารถทำให้เป็นกลาง แคลเซียมออกไซด์ และค่าความเป็นกรด-ด่าง จากตัวอย่างปูนทั้งหมดจำนวน 50 ตัวอย่าง ได้ผลวิเคราะห์ ในช่วง 91-106%, 50.95-59.41% และ 8.02-8.87 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 3.61, 2.24 และ 0.22 (ตารางที่ 3) ตัวอย่างปูนที่เตรียมได้เป็นตัวอย่างที่ใช้ศึกษาจำนวนหนึ่งซึ่งยังไม่ครอบคลุมช่วงการใช้งานได้ในปัจจุบัน

ตารางที่ 3 ผลการเตรียมตัวอย่างปูนมาร์ลและวิเคราะห์ปริมาณค่าความสามารถทำให้เป็นกลาง แคลเซียมออกไซด์ และค่าความเป็นกรด-ด่าง

| Parameter | CCE | CaO | pH |
|---|---|---|---|
| range | 91-106 | 50.95-59.41 | 8.02-8.87 |
| SD | 3.61 | 2.24 | 0.22 |
| Unit | % | % | pH Unit |

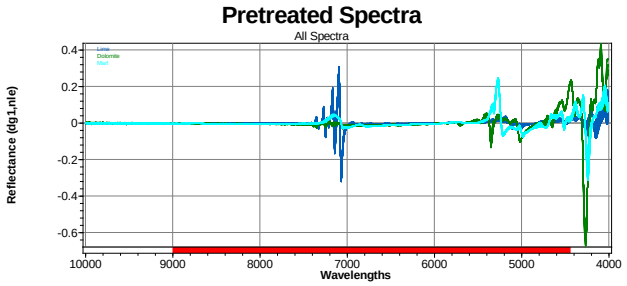
3.2 ผลการนำตัวอย่างปูนมาร์ล จำนวน 50 ตัวอย่างมาวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยใช้ เครื่อง NIRS เพื่อการวิเคราะห์เชิงปริมาณได้สเปกตรัมของตัวอย่างปูน แสดงให้เห็นเป็นสเปกตรัมเริ่มต้น (Original spectra) (ภาพที่ 6)



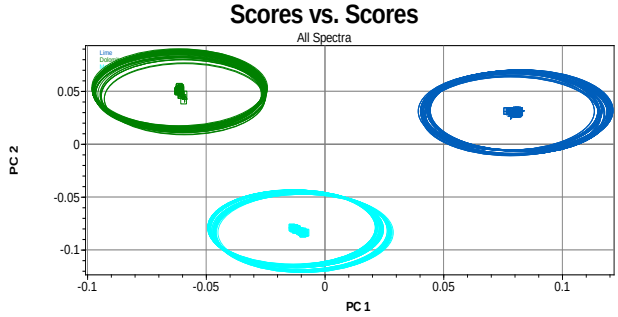

ภาพที่ 6 Original spectra ของปูนมาร์ล จำนวน 50 ตัวอย่าง

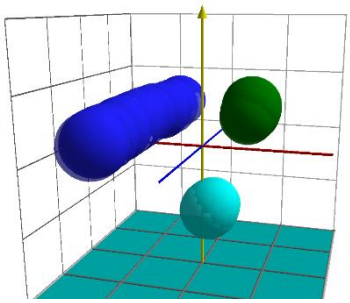
4. สร้างและปรับปรุงสมการ

4.1 การวัดเชิงคุณภาพ ผลการนำสเปกตรัมเริ่มต้น ไปสร้างสมการด้วยวิธีจัดกลุ่ม (Cluster calibration) ของปูนแต่ละชนิด ปรับแต่งสเปกตรัมและเลือกวิธีปรับแต่งสเปกตรัม (Pretreatment) ที่แยกกลุ่มกันอย่างชัดเจน ของตัวอย่างปูนมาร์ล โดโลไมท์ และปูนขาว ได้แบบ Derivatives 1st Savitzky - Golay a points (dg1) และ Normalization to Unit Length (nle) (ภาพที่ 7)




a)



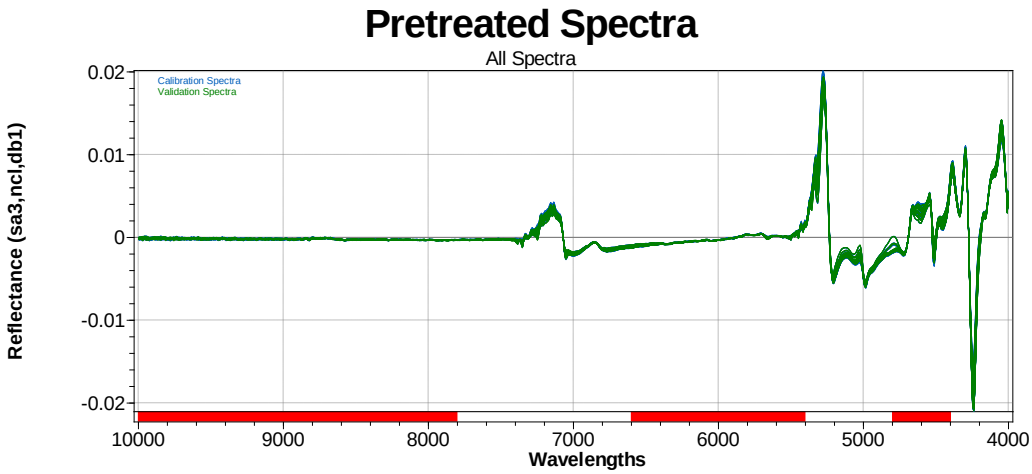



b) c)

ภาพที่ 7 สเปกตรัมปรับแต่ง (a) และสมการจัดกลุ่มแบบ 2D (b) และแบบ 3D (c) ของตัวอย่างปูนมาร์ล โดโลไมท์ และปูนขาว ปรับแต่ง Pretreatments แบบ Derivatives 1st Savitzky - Golay a points (dg1) และ Normalization to Unit Length (nle)

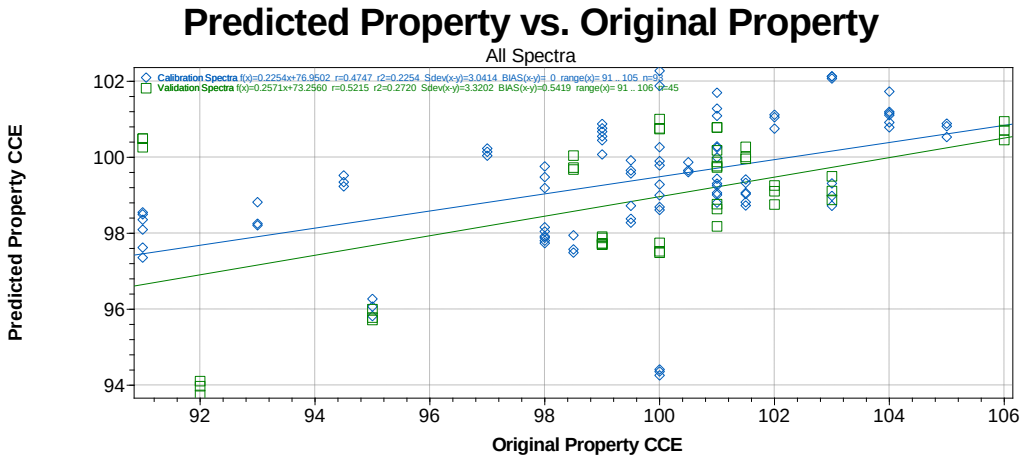
4.2 การวัดเชิงปริมาณ

4.2.1 เมื่อนำสเปกตรัมเริ่มต้นไปสร้างและปรับปรุงสมการ ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและค่าทางเคมีปริมาณค่าความสามารถทำให้เป็นกลาง คำนวณด้วยวิธี PLS calibration ปรับแต่งสเปกตรัมและเลือกวิธีปรับแต่งสเปกตรัม (Pretreatment) ที่ตอบสนองดีที่สุดได้ Smoothing Average 3 Points (sa3), Normalization by closure (ncl) และ Derivatives 1st BCAP (db1) (ภาพที่ 8)



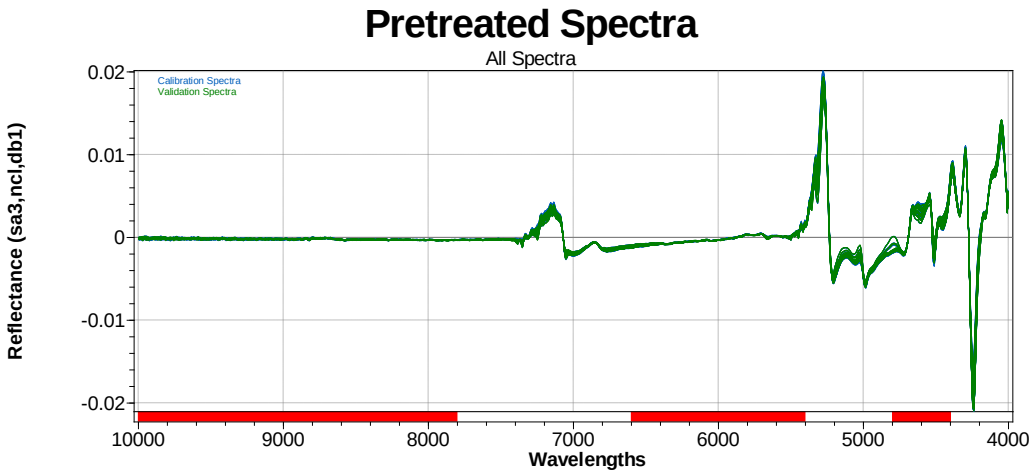

ภาพที่ 8 สเปกตรัมปรับแต่ง (Pretreatments) ของปริมาณค่าความสามารถทำให้เป็นกลาง จำนวน 50 ตัวอย่าง แบบ Smoothing Average 3 Points (sa3), Normalization by closure (ncl) และ Derivatives 1st BCAP (db1)

ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและค่าความสามารถทำให้เป็นกลาง มีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.47 ความผิดพลาดมาตรฐานของการจำลอง (SEC) เท่ากับ 3.04 ความผิดพลาดมาตรฐานของการทำนาย (SEP) เท่ากับ 3.02 (ภาพที่ 9 และตารางที่ 4)



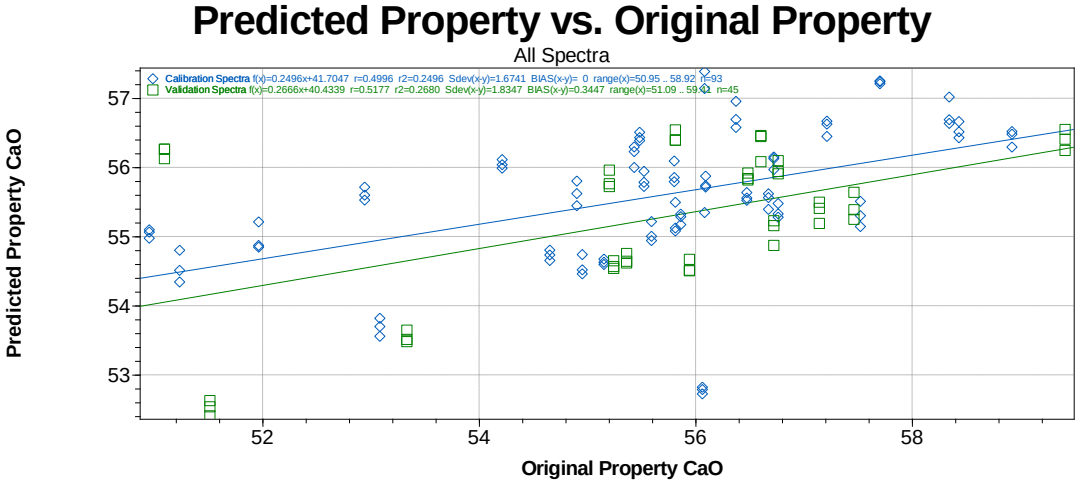

ภาพที่ 9 ค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าทางเคมีจากห้องปฏิบัติการของปริมาณค่าความสามารถทำให้เป็นกลาง และค่าจากการประเมินจากเทคนิค NIRS ปรับแต่ง Smoothing Average 3 Points (sa3), Normalization by closure (ncl) และ Derivatives 1st BCAP (db1)

4.2.2 เมื่อนำสเปกตรัมเริ่มต้นไปสร้างและปรับปรุงสมการ ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและค่าทางเคมีปริมาณแคลเซียมออกไซด์ คำนวณด้วยวิธี PLS calibration ปรับแต่งสเปกตรัมและเลือกวิธีปรับแต่งสเปกตรัม (Pretreatment) ที่ตอบสนองดีที่สุดได้ Smoothing Average 3 Points (sa3), Normalization by closure (ncl) และ Derivatives 1st BCAP (db1) (ภาพที่ 10)



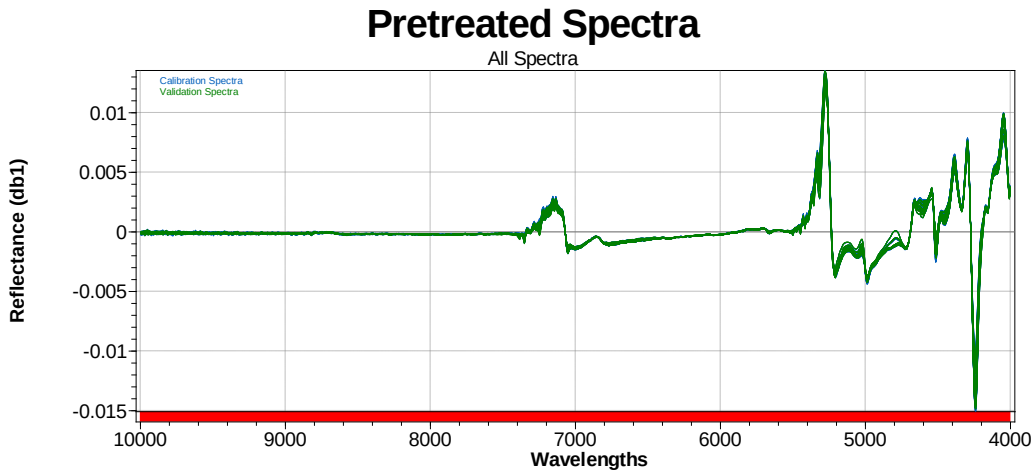

ภาพที่ 10 สเปกตรัมปรับแต่ง (Pretreatments) ของปริมาณแคลเซียมออกไซด์ จำนวน 50 ตัวอย่าง แบบ Smoothing Average 3 Points (sa3), Normalization by closure (ncl) และ Derivatives 1st BCAP (db1)

ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและปริมาณแคลเซียมออกไซด์ มีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.50 ความผิดพลาดมาตรฐานของการจำลอง (SEC) เท่ากับ 1.67 ความผิดพลาดมาตรฐานของการทำนาย (SEP) เท่ากับ 1.83 (ภาพที่ 11 และตารางที่ 4)



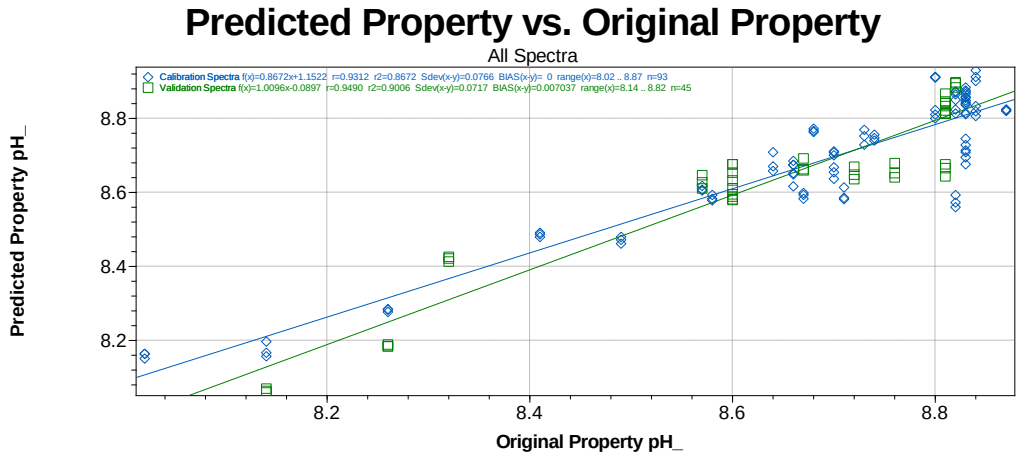

ภาพที่ 11 ค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าทางเคมีจากห้องปฏิบัติการของปริมาณแคลเซียมออกไซด์ และค่าจากการประเมินจากเทคนิค NIRS ปรับแต่ง Pretreatments แบบ Smoothing Average 3 Points (sa3), Normalization by closure (ncl) และ Derivatives 1st BCAP (db1)

4.2.3 เมื่อนำสเปกตรัมเริ่มต้นไปสร้างและปรับปรุงสมการ ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและค่าทางเคมีปริมาณค่าความเป็นกรด-ด่าง คำนวณด้วยวิธี PLS calibration ปรับแต่งสเปกตรัมและเลือกวิธีปรับแต่งสเปกตรัม (Pretreatment) ที่ตอบสนองดีที่สุดได้ Derivatives 1st BCAP (db1) (ภาพที่ 12)




ภาพที่ 12 สเปกตรัมปรับแต่ง (Pretreatments) ของปริมาณความเป็นกรด-ด่าง จำนวน 50 ตัวอย่าง แบบ Derivatives 1st BCAP (db1)

ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและปริมาณค่าความเป็นกรด-ด่าง มีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.93 ความผิดพลาดมาตรฐานของการจำลอง (SEC) เท่ากับ 0.08 ความผิดพลาดมาตรฐานของการทำนาย (SEP) เท่ากับ 0.07 (ภาพที่ 13 และตารางที่ 4)




ภาพที่ 13 ค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าทางเคมีจากห้องปฏิบัติการของปริมาณความเป็นกรด-ด่าง และค่าจากการประเมินจากเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy-NIRS) ปรับแต่ง Pretreatments แบบ Derivatives 1st BCAP (db1)

ตารางที่ 4 ค่าทางสถิติของสมการความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและค่าทางเคมีปริมาณค่าความสามารถทำให้เป็นกลาง (CCE) แคลเซียมออกไซด์ (CaO) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่ประเมินด้วยเทคนิค NIRS

| Parameter | No. of samples | Pretreatments | r | SEC | SEP |
|---|---|---|---|---|---|
| CCE (%) | 50 | sa3 | 0.47 | 3.04 | 3.32 |
| | | ncl | | | |
| | | db1 | | | |
| CaO (%) | 50 | sa3 | 0.50 | 1.67 | 1.83 |
| | | ncl | | | |
| | | db1 | | | |
| pH | 50 | db1 | 0.93 | 0.08 | 0.07 |

5. ประเมินผลสมการ

5.1 ทดสอบสมการทำนายผลเชิงคุณภาพสำหรับการจัดจำแนกชนิดปูนแบบจัดกลุ่ม (Cluster calibration)

5.1.1 ทดสอบตัวอย่างปูนมาร์ล โดโลไมท์ และปูนขาว ทวนสอบ จำนวน 25 ตัวอย่าง โดยเปรียบเทียบผลการทำนายกับชนิดตัวอย่างปูน พบว่าสามารถทำนายได้ถูกต้องทุกตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 100

5.1.2 ทดสอบตัวอย่างปูนผสมสองชนิดใน 9 อัตราส่วนโดยปริมาตร ทั้งหมดจำนวน 27 ตัวอย่าง พบว่าสามารถทำนายได้อย่างถูกต้อง จำนวน 11 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 40.7 ดังนี้

1) การผสมโดโลไมท์กับปูนขาว สามารถทำนายได้อย่างถูกต้อง จำนวน 1 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 11.1 เมื่อมีปริมาตรปูนขาวน้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 10

2) การผสมปูนมาร์ลกับโดโลไมท์สามารถทำนายได้อย่างถูกต้อง จำนวน 7 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 77.8 เมื่อมีปริมาตรโดโลไมท์มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 30

3) การผสมปูนมาร์ลกับปูนขาวสามารถทำนายได้อย่างถูกต้อง จำนวน 3 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 33.3 เมื่อมีปริมาตรปูนขาวน้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 30

5.2 ทดสอบสมการแคลิเบรชั่นโดยใช้ตัวอย่างปูนมาร์ลทวนสอบได้ค่าทำนายจากเทคนิค NIRS (ตาราง 5) พิจารณาความแม่น (Accuracy) โดยเปรียบเทียบค่าที่ทำนายได้กับค่าวิเคราะห์ทางเคมี โดยใช้ paired t-test และความเที่ยง (Precision) ด้วย %RSD ประเมินความแม่นพบว่าวิธีหาปริมาณค่าความสามารถทำให้เป็นกลาง แคลเซียมออกไซด์ ความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณความชื้น มีค่า ค่า $t_{ext}$ เท่ากับ 0.21, 0.21 , -0.08 และ -0.06 ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่า ค่า $t_{crit}$ แสดงว่าผลการทดสอบไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ประเมินความเที่ยง พบค่าความสามารถทำให้เป็นกลาง แคลเซียมออกไซด์ และความเป็นกรด-ด่าง มีค่า %RSD อยู่ในช่วง 0.07 - 0.38 (%RSD ≤ 1.3), 0.08 – 0.41 และ 0.04 – 0.37 (%RSD ≤ 1.9) เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับของ AOAC และ % Recovery อยู่ในช่วง 93-111, 93-111 และ 94-108 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 5 ผลวิเคราะห์ค่าทางเคมีโดยวิธีห้องปฏิบัติการและค่าทำนายจาก NIR ของตัวอย่างทวนสอบปูนมาร์ล

| Method | Result | | |
|---|---|---|---|
| | CCE (%) | CaO (%) | pH (pH unit) |
| Laboratory method | 91-106 | 50.95-59.41 | 8.02-8.87 |
| NIRS method | 94-102 | 52.46-57.27 | 8.20-8.85 |

ตารางที่ 6 ประเมิน Accuracy และ Precision ของสมการที่ใช้ในการทำนายค่าความสามารถทำให้เป็นกลาง แคลเซียมออกไซด์ และความเป็นกรด-ด่าง ในตัวอย่างปูนมาร์ล

| Parameter | Accuracy | | | | Precision | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | $t_{ext.}$ | $t_{crit.}$ | Evaluation | % Recovery[1] /AD[2] | %RSD | Criterion %RSD | Evaluation |
| CCE (%) | 0.21 | 2.13 | non significant | 93-111[1] | 0.07-0.38 | 1.3 | pass |
| CaO (%) | 0.21 | 2.13 | non significant | 93-111[1] | 0.08 – 0.41 | 1.9 | pass |
| pH | -0.08 | 2.13 | non significant | 0.0-0.7[2] | - | - | - |

จากข้อมูลการทำนายเชิงปริมาณแสดงว่าสามารถนำสมการมาใช้ประเมินค่าปริมาณค่าความสามารถทำให้เป็นกลาง แคลเซียมออกไซด์ และความเป็นกรด-ด่างในปูนมาร์ล ได้อย่างแม่นยำ และรวดเร็ว อย่างไรก็ตามการทดลองครั้งนี้เป็นการสร้างสมการแคลิเบรชั่นกลุ่มจำนวนตัวอย่างน้อย ในการสร้างสมการสมการแคลิเบรชั่นต้องมีจำนวนมากพอที่ครอบคลุมความแปรปรวนของตัวอย่างหากต้องการนำไปใช้ต้องทำการพัฒนาและปรับปรุงสมการเพื่อนำมาใช้ประเมินค่าเชิงปริมาณให้ดีขึ้นโดยการเพิ่มปริมาณตัวอย่างในการสร้างสมการให้มากขึ้นและมีค่าทางเคมีที่กระจายอย่างสม่ำเสมอกันและคลอบคลุมการใช้งานจริง

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

เทคนิคอินฟาเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy ; NIRS) ใช้หลักการวัดความสัมพันธ์กับสสารที่ต้องการประเมินหรือสสารที่สามารถเกิดอันตรกริยากับรังสีอินฟราเรดย่านใกล้ ด้วยวิธีการสะท้อนแสง (Reflection) คุณสมบัติในการดูดกลืนแสงของสสารได้ไม่เท่ากัน ทำให้ผลที่แสดงออกมาบอกถึงความแตกต่างได้ จึงนำค่าการดูดกลืนแสงมาประมวลผลวิเคราะห์ทั้งเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพที่ต้องการได้ สามารถพิสูจน์ เอกลักษณ์ของปูนมาร์ลและปูนชนิดอื่นได้จากแถบการดูดกลืนแสงและลักษณะรูปร่างของสเปกตรัมของชนิดตัวอย่างที่แตกต่างกัน ทำนายผลเชิงคุณภาพสำหรับการจัดจำแนกได้ถูกต้องตามชนิดตัวอย่างสารปรับปรุงดิน ส่วนตัวอย่างผสมทำนายได้อย่างถูกต้อง คิดเป็นร้อยละ 40.7 และสามารถนำมาใช้ประเมินค่าค่าความสามารถทำให้เป็นกลาง แคลเซียมออกไซด์ และความเป็นกรด-ด่างได้อย่างมีความแม่นยำ และรวดเร็ว สามารถพัฒนาและปรับปรุงสมการเพื่อนำมาใช้ประเมินค่าเชิงปริมาณให้ดีขึ้นโดยการเพิ่มปริมาณตัวอย่างในการสร้างสมการให้มากขึ้นและมีค่าทางเคมีที่กระจายอย่างสม่ำเสมอกันและคลอบคลุมการใช้งานจริง เพื่อให้ได้สมการ แคลิเบรชั่นที่เหมาะสม มีความถูกต้อง และแม่นยำ ในการนำไปใช้งานต่อไป

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. สามารถนำเทคนิค NIRS ไปใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์สเปกตรัมปูนมาร์ลและปูนชนิดอื่น ประเมินค่าการจัดจำแนกชนิดตัวอย่างสารปรับปรุงดิน และสามารถพัฒนาเพื่อนำมาใช้ประเมินค่าเชิงปริมาณในตัวอย่างปูนมาร์ล เพื่อเป็นทางเลือกในการวิเคราะห์ ซึ่งประหยัด และรวดเร็ว โดยไม่ทำลายตัวอย่าง ลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายและปลอดภัยกับผู้วิเคราะห์

2. นำไปใช้เป็นข้อมูลประกอบการกำหนดเกณฑ์การเตรียมพร้อมรองรับกฎหมายการควบคุมคุณภาพของสารปรับปรุงดินของกรมวิชาการเกษตร

3. สามารถพัฒนาผลงานวิจัยนี้ในการตรวจสอบวิเคราะห์ปัจจัยการผลิตทางการเกษตรอื่นต่อไป

# เอกสารอ้างอิง


กรมพัฒนาที่ดิน. 2556. ***ระเบียบกรมพัฒนาที่ดินว่าด้วยการใช้เครื่องหมายรับรองมาตรฐานปัจจัยการผลิตทางการเกษตร.*** กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

ประกาศกระทรวงกระทรวงอุตสาหกรรม. ***เรื่อง ยกเลิกและกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมปูนไลม์ เล่ม 1 บทนิยามเกี่ยวกับปูนไลม์และหินปูน.*** 2549. ราชกิจจานุเบกษา. เล่มที่ 123 ตอนที่ 84 ง. หน้า 1

สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร. 2555. ***เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้และการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม.*** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

ASTM International (ASTM). 2016. ***Standard test method for chemical analysis of limestone, quicklime, and hydrated lime.*** ASTM C25-19. Pennsylvania, USA.

AOAC. 2016. ***Official Method of Analysis of AOAC International.*** 20th Ed. AOAC International Gaithersburg, Maryland. USA.

DEQ. 2013. Oregon Department of Environmental Quality. Data Validation Criteria for Water Quality Parameters Measured in the Field. Portland, Oregon, US. (online). Available form: https://www.oregon.gov/deq/FilterDocs/DataQualMatrix.pdf accessed 20 June 2021.

Sungchan Oh, Chang-Uk Hyun and Hyeong-Dong Park. 2017. Near-Infrared Spectroscopy of Limestone Ore for CaO Estimation under Dry and Wet Conditions. ***Minerals*** 7(10): 1-11.

Williams P.C. ***Implementation of Near-Infrared Technology, in Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries,*** 2nd Edition, Ed by P.C. Williams and K.H. Noris. Amarican Association of Cereal Chemists, St Paul, MN, USA, p. 163-165 (2001)

Yaser Ostovaria, Shoja Ghorbani-Dashtakia, Hossein-Ali Bahramib, Mozhgan Abbasic, Alexandre M. Demattee, Emmanuel Arthurd and Panos Panagos. 2018. Towards prediction of soil erodibility, SOM and $CaCO_3$ using laboratory Vis-NIR spectra: A case study in a semi-arid region of Iran. ***Geoderma*** 314 :102-112.

# ศึกษาหาค่ากำหนดของเหล็ก และทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินอ้างอิงด้วยเทคนิค Inductively coupled plasma–isotope dilution mass spectrometry (ICP–IDMS)

# Study of the certified value of total iron and copper in soil by inductively coupled plasma–isotope dilution mass spectrometry (ICP–IDMS)

*กัญฐณา คล้ายแก้ว* *สงกรานต์ มะลิสอน* *สุภา โพธิจันทร์* *ญาณธิชา จิตต์สะอาด* *พจมาลย์ ภู่สาร* *จิตติรัตน์ ชูชาติ* *จรีรัตน์ กุศลวิริยะวงศ์*

*Kanthana Klaigaew* *Songkrant Malisorn* *Yarnthicha Jittsa-aad* *Supha Photichan* *Pojjamarn Poosarn* *Jittirat Choochat* *Charirat Kusonwiriyawong*

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

## ABSTRACT

A reference material for total iron and copper analysis in soil was produced and characterized according to the ISO Guide 35. Characterization of the reference material was performed using acid digestion and inductively coupled plasma–isotope dilution mass spectrometry (ICP–IDMS) for iron and copper analysis. The validated method was accurate and precise enough for determination of total iron and copper in soil as indicated by acceptable values of recovery and HorRat. The collected soil was ground, sieved, homogenized and divided into aluminium foil bag. The homogeneity and stability of the prepared reference material were investigated and evaluated using standard univariate analysis of variance (ANOVA) and regression analysis. Statistical evaluation of the data showed good homogeneity and stability of the reference material under the conditions studied. Homogeneity and stability assessment of the material demonstrated that the relative standard uncertainties due to the inhomogeneity, the short-term instability and the long-term instability were 0.91–0.98, 0.02-0.11 and 1.62-4.64%, respectively. The properties values and combined uncertainty for at the 95% confidence level (k=2) were 8340±298 mg/kg for total iron and 42.83±4.08 mg/kg for total copper.

**Keywords :** Reference material, Soil, Total iron, Total copper

## บทคัดย่อ

วัสดุอ้างอิงหรือตัวอย่างอ้างอิงสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณเหล็กทั้งหมดและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินได้ทำการจัดเตรียมและศึกษาตามแนวทางของ ISO Guide 35 การวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กทั้งหมดและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างอ้างอิงทำโดยการนำตัวอย่างไปย่อย และวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Inductively coupled plasma–isotope dilution mass spectrometry (ICP–IDMS) ตัวอย่างดินที่เก็บรวบรวมจะถูกนำมาบด ร่อน ทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน และแบ่งใส่ถุงอลูมิเนียมฟอยล์ ศึกษาและประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันและความเสถียรของตัวอย่างอ้างอิงด้วยสถิติ Standard univariate analysis of variance (ANOVA) และ Regression analysis จากการศึกษาพบว่าสามารถวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินได้ด้วยเทคนิค ICP–IDMS โดยการพิสูจน์ความแม่นและความเที่ยง อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด ในการประเมินความเป็นเนื้อเดียวและความเสถียรของตัวอย่างอ้างอิงที่เตรียมขึ้น พบว่ามีความเป็นเนื้อเดียวกันและมีความเสถียรเพียงพอภายใต้สภาวะที่ศึกษา ค่าความไม่แน่นอนจากความเป็นเนื้อเดียวกัน ความเสถียรระยะสั้น และความเสถียรระยะยาว เท่ากับ 0.91–0.98, 0.02-0.11 และ 1.62-4.64% ตามลำดับ ตัวอย่างดินอ้างอิงที่เตรียมขึ้นมีค่าคุณสมบัติและค่าความไม่แน่นอน ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (k=2) ของเหล็กทั้งหมดเท่ากับ 8340±298 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และทองแดงทั้งหมดเท่ากับ 42.83±4.08 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม



**คำหลัก :** วัสดุอ้างอิง ดิน เหล็กทั้งหมด ทองแดงทั้งหมด


## คำนำ

ในการวิเคราะห์ทดสอบในห้องปฏิบัติการจะต้องมีการควบคุมคุณภาพห้องปฏิบัติการอย่างสม่ำเสมอ เพื่อเฝ้าระวังไม่ให้เกิดความผิดพลาดของการทดสอบ ทำให้ผลการทดสอบมีความน่าเชื่อถือ นอกจากการควบคุมคุณภาพภายนอก เช่น การเข้าร่วมโปรแกรมการทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการ เป็นต้น ยังมีการควบคุมคุณภาพภายในโดยใช้วัสดุอ้างอิง (Reference Materials, RM) ควบคู่ไปกับการวิเคราะห์ตัวอย่าง วัสดุอ้างอิงหรือตัวอย่างอ้างอิงที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เป็นวัสดุหรือสารมาตรฐานที่ถูกจัดทำขึ้นเพื่อให้เหมาะสำหรับการใช้งานในกระบวนการวัด โดยจะถูกผลิตและทดสอบภายใต้กระบวนการผลิตที่เข้มงวด และมีคุณสมบัติที่เพิ่มเติมจากสารเคมีทั่ว ๆ ไป คือ วัสดุนั้นจะต้องมีคุณสมบัติความเป็นเนื้อเดียว (Homogeneity) และความเสถียร (Stability) (Quevauviller, 2019) วัสดุอ้างอิงถูกนำมาใช้เพื่อเพิ่มความน่าเชื่อถือในงานเคมีวิเคราะห์ โดยเฉพาะกับข้อกำหนดทางกฎหมาย งานด้านสิ่งแวดล้อม และงานวิเคราะห์ทางการแพทย์ จึงทำให้มีความต้องการใช้วัสดุอ้างอิงสำหรับการควบคุมคุณภาพ ไม่ว่าจะเป็นการสอบเทียบ การตรวจสอบวิธีทดสอบ การสอบกลับได้ของการวัด และการควบคุมคุณภาพ เป็นต้น วัสดุอ้างอิงจึงกลายเป็นเครื่องมือสำคัญสำหรับกระบวนการวัดของห้องปฏิบัติการเพื่อให้เกิดความน่าเชื่อถือของผลการวิเคราะห์ และเพื่อให้การดำเนินงานของห้องปฏิบัติการเป็นไปตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 (2017)

ตัวอย่างอ้างอิงที่นำมาใช้เป็นตัวอย่างสำหรับควบคุมคุณภาพภายใน สามารถนำมาใช้ได้ทั้งวัสดุอ้างอิงและวัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Materials, CRM) โดยวัสดุอ้างอิงรับรองจะมีคุณสมบัติที่ครอบคลุมและผ่านมาตรฐานการผลิตและทดสอบที่เข้มงวดมากกว่าวัสดุอ้างอิง ซึ่งความแตกต่างที่สำคัญคือ CRM นั้นจะต้องมีการตรวจสอบย้อนกลับทางมาตรวิทยา (Traceability) และความไม่แน่นอนของการวัด (Uncertainty) (Quevauviller, 2019) เพิ่มเติมจากคุณสมบัติของวัสดุอ้างอิงทั่วไปที่ต้องมีความเป็นเนื้อเดียวและความเสถียร โดยกระบวนการผลิตและทดสอบต้องได้รับการรับรองมาตรฐานตาม ISO 17034 (2016) โดยทั่วไปแล้วเมื่อมีการจัดหาและเตรียมตัวอย่างอ้างอิงแล้วจะต้องมีการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกัน ความเสถียร และค่าคุณสมบัติของตัวอย่างที่เตรียมขึ้น การหาค่าคุณสมบัติของวัสดุอ้างอิงตาม ISO 17034 (2016) สามารถทำได้หลายวิธี เช่น การวิเคราะห์ด้วยหลายห้องปฏิบัติการโดยใช้วิธีวิเคราะห์ต่างๆ กัน การวิเคราะห์หลายห้องปฏิบัติการโดยกำหนดวิธีวิเคราะห์เป็นวิธีเดียวกัน (Kawamoto *et al.*, 2019; Santana Santos *et al*., 2020) หรือการวิเคราะห์ด้วยห้องปฏิบัติการเดียวโดยวิธี Primary method เป็นต้น (Olivares *et al.,* 2018;

Linsinger *et al.*, 2019) Primary method เป็นวิธีที่มีความแม่นยำสูง สามารถตรวจสอบย้อนกลับไปยังระบบหน่วยสากล (SI) ได้ (Olivares *et al*., 2018) และจัดเป็นวิธีพื้นฐานที่ใช้ในการหาค่าคุณสมบัติของวัสดุอ้างอิง ซึ่งวิธีที่ได้รับการยอมรับจาก Consultative Committee for Amount of Substance: Metrology in Chemistry and Biology (CCQM) ให้เป็น Primary method มีหลายวิธี ดังนี้ Gravimetry, Titrimetry, Coulometry, Isotope dilution mass spectrometry (IDMS), Two-step IDMS และ Freezing-point depression (Milton and Quinn, 2001) มีหลายงานวิจัยที่นำวิธี IDMS มาประยุกต์ใช้ในการหาค่าคุณสมบัติของวัสดุอ้างอิงที่พัฒนาขึ้น ตัวอย่างเช่น การพัฒนาวัสดุอ้างอิงสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ Ethyl carbamate ในอาหารและเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ โดยใช้วิธี IDMS ร่วมกับ Gas chromatography (GC) (Vicentim *et al*., 2019) และการพัฒนาวัสดุอ้างอิงรับรองสำหรับวิเคราะห์ธาตุในน้ำทะเล โดยใช้วิธี IDMS ร่วมกับ ICP-MS (Ari and Bakırdere, 2020; Lee *et al.*, 2011) เป็นต้น

ดังนั้นในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเตรียมตัวอย่างดินอ้างอิงสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กและทองแดงทั้งหมด โดยนำตัวอย่างดินจากธรรมชาติมาเตรียมเป็นตัวอย่างดินอ้างอิง จากนั้นทำการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกัน ความเสถียร ค่าคุณสมบัติ และค่าความไม่แน่นอนจากแหล่งต่างๆ ของตัวอย่างอ้างอิงที่เตรียมขึ้น ตามมาตรฐาน ISO 17034 (2016) และ ISO Guide 35 (2017) เพื่อให้ได้ตัวอย่างอ้างอิงที่มีค่าคุณสมบัติที่เหมาะสมและนำไปใช้ในการควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการต่อไป

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1) เครื่อง Inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS; PerkinElmer; NexION 350D)
2) เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
3) เครื่องย่อยสาร
4) เครื่องบดตัวอย่าง
5) ตะแกรงร่อนขนาด 0.5 มิลลิเมตร
6) ถุงอลูมิเนียมฟอยล์
7) Nitric acid (concentrated), $HNO_3$, AR grade
8) Hydrochloric acid (concentrated), HCl, AR grade
9) $^{65}Cu$ in 1 M nitric acid (ERM – AE633)
10) $^{56}Fe$ solution (IRMM – 634)

### วิธีการ

1) ศึกษาการหาปริมาณเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินด้วยเทคนิค ICP–IDMS ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการหาปริมาณเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินด้วยเทคนิค ICP–IDMS เช่น อัตราการไหลของเชื้อเพลิง อัตราการไหลของตัวพา อัตราการไหลของสารละลายตัวอย่าง และอัตราการดูดสารละลายตัวอย่าง ศึกษา Mass spectral interferences หาค่าขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) หาค่าขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ) ตรวจสอบ Trueness และ Precision ของวิธีทดสอบเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินด้วยเทคนิค ICP–IDMS

2) เตรียมตัวอย่างดินอ้างอิง โดยจัดหาตัวอย่างดิน จากนั้นนำตัวอย่างมาบดและร่อนตัวอย่างด้วยตะแกรงร่อนขนาด 0.5 มิลลิเมตร นำตัวอย่างที่ร่อนแล้วทั้งหมดมาคลุกเคล้าให้เข้ากัน และตักใส่ซองอลูมิเนียมฟอยล์ ปิดซองให้แน่นและกำหนดหมายเลขตัวอย่างในแต่ละซอง

3) ทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างดินอ้างอิง โดยการสุ่มตัวอย่างแบบ Random จำนวน 10 ตัวอย่าง นำมาวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กและทองแดงทั้งหมด (Sastre *et al.*, 2002) ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ จากนั้นประเมินผลทางสถิติด้วย Cochran's test และ One-way ANOVA และคำนวณหาค่าความไม่แน่นอนจากความเป็นเนื้อเดียวกัน ($U_{bb}$) ตามแนวทาง ISO Guide 35 (2017)

4) ทดสอบความเสถียรระยะสั้น (Short-term stability) ของตัวอย่างดินอ้างอิง โดยการสุ่มตัวอย่างมาจำนวน 5 ตัวอย่าง และทำการจัดส่งตัวอย่างทางไปรษณีย์ลงทะเบียนเป็นระยะเวลา 7 และ 14 วัน และนำตัวอย่างมาวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กและทองแดงทั้งหมด จากนั้นสร้างกราฟระหว่างปริมาณของเหล็กและทองแดงทั้งหมด และระยะเวลาในการจัดส่งตัวอย่าง และนำผลวิเคราะห์มาประเมินทางสถิติ และคำนวณหาค่าความไม่แน่นอนจากความเสถียรระยะสั้น ($U_{sts}$) ตามแนวทาง ISO Guide 35 (2017)

5) ทดสอบความเสถียรระยะยาว (Long-term stability) ของตัวอย่างดินอ้างอิง โดยเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 12 เดือน และทำการสุ่มตัวอย่างในช่วงเวลา 0 1 3 6 และ 12 เดือน ครั้งละ 5 ตัวอย่าง มาวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กและทองแดงทั้งหมด และนำผลวิเคราะห์มาประเมินทางสถิติ จากนั้นคำนวณหาค่าความไม่แน่นอนจากความเสถียรระยะยาว ($U_{lts}$) ตามแนวทาง ISO Guide 35 (2017)

6) ศึกษาหาค่าคุณสมบัติและค่าความไม่แน่นอนจากการวิเคราะห์ตัวอย่างดินอ้างอิง โดยทำการสุ่มตัวอย่างอ้างอิงมาจำนวน 10 ตัวอย่าง ทำการวิเคราะห์ จากนั้นคำนวณค่าคุณสมบัติด้วยวิธี Weighted mean ดังนี้

$$y_{char} = \sum w_i x_i / \sum w_i$$

โดย

$$w_i = 1/u_i^2$$

และคำนวณค่าความไม่แน่นอนของการหาค่าคุณสมบัติจากสมการ

$$U_{char} = \sqrt{\sum w_i^2 u_i^2}$$

7) ประเมินความไม่แน่นอนของเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินอ้างอิง ตามแนวทาง ISO Guide 35 (2017) ตามสมการ

$$U_{RM} = k\sqrt{U_{\mathrm{char}}^2 + U_{bb}^2 + U_{lts}^2 + U_{sts}^2}$$

เมื่อ $U_{RM}$ = ค่าความไม่แน่นอนขยายของวัสดุอ้างอิง
$U_{char}$ = ค่าความไม่แน่นอนจากการศึกษาค่าคุณสมบัติของวัสดุอ้างอิง
$U_{bb}$ = ค่าความไม่แน่นอนจากความเป็นเนื้อเดียวกัน
$U_{lts}$ = ค่าความไม่แน่นอนจากความเสถียรระยะยาว
$U_{lts}$ = ค่าความไม่แน่นอนจากความเสถียรระยะสั้น
$k$ = Coverage factor (ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%, $k$ =2)

**ระยะเวลา** เริ่มต้น เดือน ตุลาคม 2562 สิ้นสุด เดือน กันยายน 2564

**สถานที่ทำการทดลอง**

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

## ผลการทดลองและวิจารณ์

1) ศึกษาการหาปริมาณเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินด้วยเทคนิค ICP–IDMS

1.1) สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง ICP-MS ในการหาปริมาณเหล็ก และทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดิน

จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง ICP-MS ในการหาปริมาณเหล็กทั้งหมดและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินด้วยเทคนิค ICP–IDMS ได้สภาวะที่เหมาะสมดังนี้ Plasma gas flow, Auxiliary gas flow และ Nebulizer gas flow เท่ากับ 18.0, 1.2 และ 0.86 L/min ตามลำดับ ค่า Sample uptake rate เท่ากับ 270 μL/min ค่า RF power เท่ากับ 1600 W ค่า Dead time เท่ากับ 35 ns โดยใช้ Ge เป็น Internal standard และวัดปริมาณไอโซโทปดังนี้ $^{54}Fe$, $^{56}Fe$, $^{57}Fe$, $^{63}Cu$, และ $^{65}Cu$ ดังตาราง 1

ตาราง 1 สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง ICP-MS ที่ใช้ในการหาปริมาณทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดิน

| Parameter | Value |
|---|---|
| Plasma gas flow | 18.0 L/min |
| Auxiliary gas flow | 1.2 L/min |
| Nebulizer gas flow | 0.86 L/min |
| Sample uptake rate | 270 μL/min |
| RF power | 1600 W |
| Dead time | 35 ns |
| Internal standard | Ge |
| Measured isotopes | $^{54}Fe$, $^{56}Fe$, $^{57}Fe$, $^{63}Cu$, $^{65}Cu$ |

1.2) ศึกษา Mass spectral interferences ในการหาเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินด้วยเทคนิค ICP–IDMS

ในการวิเคราะห์เหล็กและทองแดงด้วยเทคนิค ICP–IDMS นั้น มีสารรบกวนที่สำคัญ คือ แคลเซียมและโซเดียม ซึ่งจะมีผลทำให้สัญญาณของเหล็กและทองแดงเพิ่มขึ้น (Thomas and Wiedmeyer, 1998; Lum and Kelvin, 2016) เนื่องจากในตัวอย่างดินมีองค์ประกอบของแคลเซียมและโซเดียม ซึ่งอาจมีผลต่อการหาปริมาณเหล็กและทองแดงด้วยเทคนิค ICP–IDMS จึงได้ทำการศึกษาการรบกวนของแคลเซียมและโซเดียม ต่อการวิเคราะห์เหล็กและทองแดง โดยนำสารละลายมาตรฐานเหล็กและทองแดงที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มาเติมสารละลายมาตรฐานแคลเซียมและโซเดียมที่ความเข้มข้น 0, 1, 5, 10 และ 20% แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ICP–IDMS ผลการทดลองแสดงอยู่ในตาราง 2 พบว่าแคลเซียมที่ความเข้มข้น 0–200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ไม่มีผลต่อการวิเคราะห์ $^{54}Fe$, $^{63}Cu$ และ $^{65}Cu$ โดยผลการวิเคราะห์มี %recovery อยู่ในช่วง 96–107, 98–101 และ 96–107% ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในช่วง 80–110% ตามมาตรฐาน AOAC (2016) ในการวิเคราะห์ $^{56}Fe$ พบว่าที่ความเข้มข้นของแคลเซียมเท่ากับ 20% มี Recovery ที่สูง 106% เนื่องจากแคลเซียมเกิดปฏิกิริยากับออกซิเจนที่อยู่ในสารละลายเกิดเป็น $^{40}Ca^{16}O$ ซึ่งสามารถรบกวนการวิเคราะห์ $^{56}Fe$ ได้ (Cristina *et al.*, 1999) สำหรับการศึกษาผลของแคลเซียมต่อการวิเคราะห์ $^{57}Fe$ พบว่าค่า Recovery อยู่ในช่วง 99–158% ซึ่งเกินจากมาตรฐาน AOAC (2016) และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อปริมาณแคลเซียมเพิ่มขึ้น เนื่องจากแคลเซียมเกิดทำปฏิกิริยากับออกซิเจนที่อยู่ในสารละลายเกิดเป็น $^{40}Ca^{16}OH$ ซึ่งไปรบกวนการวิเคราะห์ $^{57}Fe$ (Cristina *et al.*, 1999) ปริมาณแคลเซียมในตัวอย่างดินในพื้นที่เขตร้อนมีปริมาณที่ต่ำ คือ 0.1–0.3% (Brandy *et al.*, 2002) เมื่อนำมาเตรียมเป็นตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ICP–IDMS จะมีความเข้มข้นไม่เกิน 20% ดังนั้นแคลเซียมจึงไม่มีผลต่อการวิเคราะห์ $^{56}Fe$ และ $^{57}Fe$ ในช่วงที่ศึกษา

จากการศึกษาผลกระทบของโซเดียมที่ความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0 1 5 10 และ 20% ต่อการวิเคราะห์เหล็กและทองแดง พบว่าค่า Recovery ของ $^{54}Fe$, $^{56}Fe$, $^{57}Fe$, $^{63}Cu$ และ $^{65}Cu$ อยู่ในช่วง 103–105, 99–106, 90–99, 99–106

และ 103–105% ตามลำดับ (ตาราง 2) ซึ่งอยู่ในช่วงตามมาตรฐาน AOAC (2016) ดังนั้นโซเดียมที่ความเข้มข้น 0–20% ไม่มีผลต่อการวิเคราะห์เหล็กและทองแดงด้วยเทคนิค ICP–IDMS

ตาราง 2 ผลการศึกษาการรบกวนของ Ca และ Na ต่อการวิเคราะห์เหล็กและทองแดงด้วยเทคนิค ICP–IDMS

| Interferences | Conc. | Recovery (%) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | (%) | $^{54}Fe$ | $^{56}Fe$ | $^{57}Fe$ | $^{63}Cu$ | $^{65}Cu$ |
| Ca | 0 | 99 | 99 | 103 | 101 | 99 |
| | 1 | 100 | 102 | 99 | 101 | 100 |
| | 5 | 96 | 101 | 113 | 98 | 96 |
| | 10 | 103 | 106 | 128 | 98 | 103 |
| | 20 | 107 | 106 | 158 | 98 | 107 |
| Na | 0 | 104 | 103 | 91 | 106 | 104 |
| | 1 | 105 | 103 | 90 | 104 | 105 |
| | 5 | 103 | 99 | 99 | 100 | 103 |
| | 10 | 105 | 106 | 92 | 103 | 105 |
| | 20 | 104 | 102 | 91 | 99 | 104 |

1.3) ขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ) ของการทดสอบเหล็กและทองแดงทั้งหมดในดินด้วยเทคนิค ICP-IDMS

การทดสอบ LOD และ LOQ ของเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดิน ทำโดยการทดสอบ Sample blank จำนวน 10 ซ้ำ ได้ค่า LOD และ LOQ ของเหล็กทั้งหมดเท่ากับ 276.14 และ 356.80 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และค่า LOD และ LOQ ของทองแดงทั้งหมดเท่ากับ 3.51 และ 4.15 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ดังแสดงในตาราง 3

ตาราง 3 ผลการทดสอบค่า LOD และ LOQ ของเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดิน

| | Fe | Cu |
|---|---|---|
| Mean (mg/kg) | 241.57 | 3.23 |
| $S'_0$ | 11.52 | 0.09 |
| LOD | 276.14 | 3.51 |
| LOQ | 356.80 | 4.15 |

1.4) Trueness และ Precision ของวิธีทดสอบทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินด้วยเทคนิค ICP–IDMS

การทดสอบ Trueness ทำโดยการหา Recovery ในตัวอย่างดินที่เติมสารละลายมาตรฐานลงไป 3 ระดับความเข้มข้น คือ 50, 200 และ 800 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และทำการทดสอบระดับละ 10 ซ้ำ ได้ค่า Recovery เฉลี่ยเท่ากับ 98.87, 100.58 และ 100.40% ตามลำดับ (ตาราง 4) ซึ่งค่าอยู่ในช่วงเกณฑ์ยอมรับที่ 90–107% ตามมาตรฐาน AOAC (2016) ในการทดสอบ Precision ของวิธีวิเคราะห์ทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง ได้ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 52.26, 203.98 และ 806.06 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และได้ค่า HorRat ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง เท่ากับ 0.88, 1.11 และ 1.11 ตามลำดับ (ตาราง 4) โดยค่า HorRat ที่ได้มีค่าอยู่ในช่วง 0.3–1.3 ซึ่งเป็นไปตามเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐาน AOAC (2016)

ตาราง 4 ผลการทดสอบ Trueness และ Precision ของวิธีทดสอบทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดิน

| | Low concentration | Medium concentration | High concentration |
|---|---|---|---|
| **Mean (mg/kg)** | 52.26 | 203.98 | 806.06 |
| **SD** | 0.52 | 2.54 | 10.10 |
| **%RSD** | 0.99 | 1.24 | 1.25 |
| **%Recovery** | 98.93 | 100.57 | 100.40 |
| **HorRat** | 0.88 | 1.11 | 1.11 |

2) ความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างดินอ้างอิง

จากผลการประเมินด้วยสถิติ Cochran's test สำหรับศึกษาความเบี่ยงเบนภายในตัวอย่างอ้างอิงที่เตรียมขึ้น แสดงอยู่ในตาราง 5 พบว่าปริมาณเหล็กทั้งหมดและทองแดงทั้งหมด มีค่า $C_{cal}$ เท่ากับ 0.303 และ 0.416 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับค่า $C_{crit}$ ซึ่งเท่ากับ 0.602 ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 พบว่าทั้งเหล็กและทองแดงที่ค่า $C_{cal} < C_{crit}$ แสดงว่าผลการวิเคราะห์ซ้ำภายในตัวอย่างเดียวกันไม่มีความแตกต่างกัน ดังนั้นจึงทำการวิเคราะห์ความเบี่ยงเบนระหว่างตัวอย่างต่อไป

ตาราง 5 ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างอ้างอิง

| | Fe | Cu |
|---|---|---|
| $\Sigma D_i^2$ | 278631 | 2.96 |
| $D_{MAX}^2$ | 84320.54 | 1.23 |
| $C_{cal}$ | 0.303 | 0.416 |
| $C_{crit}$ | 0.602 | 0.602 |
| Conclusion: $C_{cal} < C_{crit}$ | No outlier | No outlier |
| $MS_{between}$ | 12585.12 | 0.394 |
| $MS_{within}$ | 13931.55 | 0.148 |
| $F_{cal}$ | 0.903 | 2.662 |
| $F_{crit}$ | 3.02 | 3.02 |
| Conclusion: $F_{cal} < F_{crit}$ | Homogeneous | Homogeneous |
| $U_{bb}$ (mg/kg) | 55.81 | 0.35 |
| $U_{bb}$ (%) | 0.71 | 0.98 |

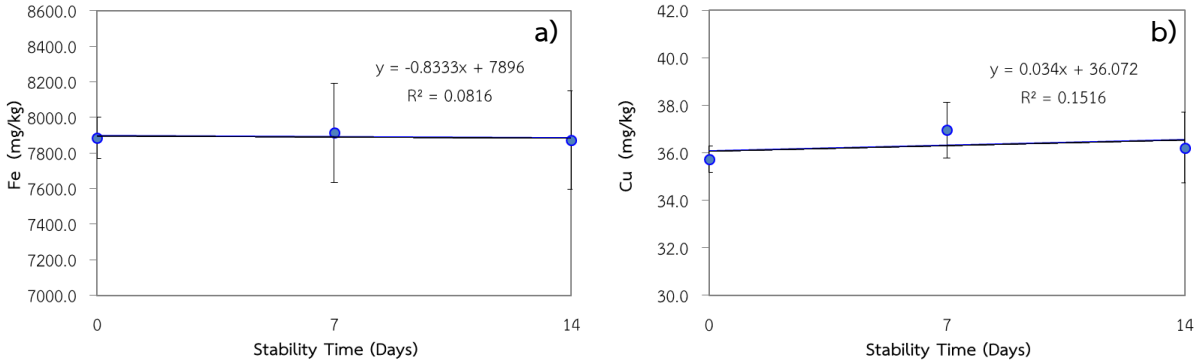
$D_i$ = Difference of each pair of duplicate, $D_{MAX}$ = The maximum difference of the duplicate,
$C_{cal}$ = Cochran calculation value, $C_{crit}$ = Cochran critical value at 95% confidence level ($n$=10),
$MS_{within}$ = Mean squares within sample, $MS_{between}$ = Mean squares between sample,
$F_{cal}$ = F calculation value, $F_{crit}$ = F critical value at 95 confidence level and
$U_{bb}$ = Standard uncertainty associated with between-unit variability

ผลการประเมินด้วยสถิติ One-way ANOVA สำหรับศึกษาความเบี่ยงเบนระหว่างตัวอย่าง แสดงอยู่ในตาราง 5 พบว่าปริมาณเหล็กทั้งหมดและทองแดงทั้งหมด มีค่า $F_{cal}$ เท่ากับ 0.903 และ 2.662 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับค่า $F_{crit}$ ซึ่งเท่ากับ 3.020 ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 พบว่าทั้งเหล็กและทองแดงที่ค่า $F_{cal} < F_{crit}$ แสดงว่าตัวอย่างที่เตรียมขึ้นมีความเป็นเนื้อเดียวกันอย่างเพียงพอ โดยปริมาณเหล็กทั้งหมดในตัวอย่างดินอ้างอิงมีค่าความไม่แน่นอนจากความเป็น

เนื้อเดียวกันเท่ากับ 0.71% และทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินอ้างอิงมีค่าความไม่แน่นอนจากความเป็นเนื้อเดียวกันเท่ากับ 0.98%

3) ความเสถียรระยะสั้นของตัวอย่างดินอ้างอิง

การทดสอบความเสถียรระยะสั้นเพื่อศึกษาความเสถียรของตัวอย่างในการขนส่ง ได้ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเหล็กและทองแดงทั้งหมดกับระยะเวลา ดังแสดงในภาพ 1 และตาราง 6 พบว่าปริมาณเหล็กทั้งหมด ได้ค่า $|b_1|/s(b_1)$ เท่ากับ 0.298 สำหรับปริมาณทองแดงทั้งหมด ได้ค่า $|b_1|/s(b_1)$ เท่ากับ 0.423 ซึ่งมีค่าน้อยกว่าค่า $t_{0.95,n-2}$ แสดงว่าตัวอย่างที่เตรียมขึ้นมีความเสถียรเพียงพอเมื่อทำการจัดส่งตัวอย่างทางไปรษณีย์ลงทะเบียนเป็นระยะเวลา 14 วัน ค่าความไม่แน่นอนจากความเสถียรระยะสั้น ($U_{sts}$) คำนวณจาก $U_{sts} = s(b_1) \times t$ เมื่อ t คือระยะเวลาในการจัดส่งตัวอย่าง 14 วัน โดยค่าความไม่แน่นอนจากความเสถียรระยะสั้นของเหล็กและทองแดงทั้งหมด เท่ากับ 0.02 และ 0.11% ตามลำดับ




ภาพ 1 ผลการทดสอบความเสถียรระยะสั้นของ a) เหล็กทั้งหมดและ b) ทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินอ้างอิง

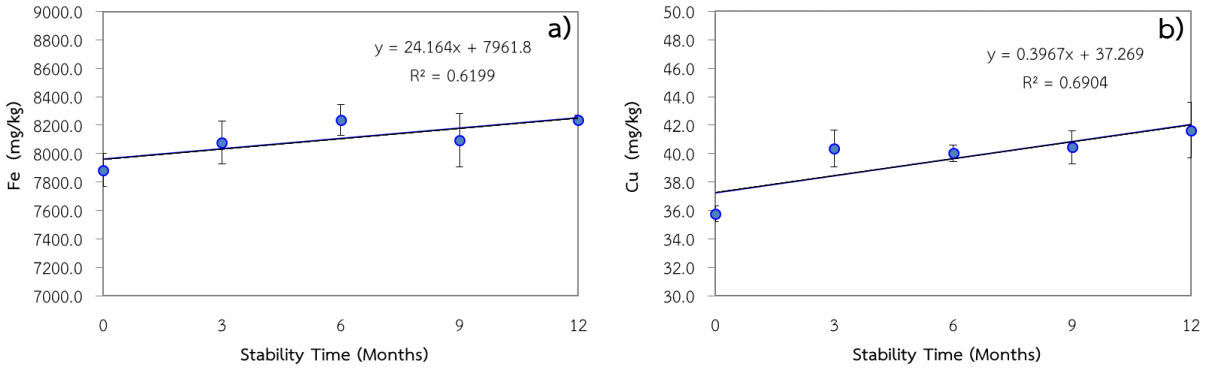
ตาราง 6 ผลการทดสอบความเสถียรระยะสั้นของเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินอ้างอิง

| | Fe | Cu |
|---|---|---|
| $\|b_1\|$ | 0.833 | 0.034 |
| $b_o$ | 7896.01 | 36.07 |
| $s(b_1)$ | 2.795 | 0.081 |
| $\|b_1\|/s(b_1)$ | 0.298 | 0.423 |
| $t_{0.95,n-2}$ | 12.706 | 12.706 |
| Conclusion: $\|b_1\|/s(b_1) < t_{0.95,n-2}$ | Stable | Stable |
| $U_{sts}$ (mg/kg) | 1.40 | 0.04 |
| $U_{sts}$ (%) | 0.02 | 0.11 |

$b_1$ = Slope of stability data, $b_o$ = Intercept of stability data, $s(b_1)$ = Standard deviation of slope (associated uncertainty), $t_{0.95,n-2}$ = t critical value at 95% confidence level and $U_{sts}$ = Standard uncertainty associated with short term stability

4) ความเสถียรระยะยาวของตัวอย่างดินอ้างอิง

ผลการศึกษาความเสถียรระยะยาวแสดงอยู่ในตาราง 7 และภาพ 2 พบว่าปริมาณเหล็กทั้งหมด ได้ค่า $|b_1|/s(b_1)$ เท่ากับ 2.212 สำหรับปริมาณทองแดงทั้งหมด ได้ค่า $|b_1|/s(b_1)$ เท่ากับ 2.586 ซึ่งค่าที่ได้น้อยกว่า $t_{0.95,n-2}$ แสดงว่าตัวอย่างที่เตรียมขึ้นมีความเสถียรเพียงพอเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลานาน 12 เดือน ค่าความไม่แน่นอนจากความเสถียรระยะยาว $U_{lts}$ คำนวณจาก $U_{lts} = s(b_1) \times t$ เมื่อ t คือระยะเวลาในการจัดเก็บตัวอย่าง 12 เดือน โดยค่าความไม่แน่นอนจากความเสถียรระยะยาวของเหล็กและทองแดงทั้งหมด เท่ากับ 1.62 และ 4.64% ตามลำดับ




ภาพ 2 ผลการทดสอบความเสถียรระยะยาวของ a) เหล็กทั้งหมด และ b) ทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินอ้างอิง

ตาราง 7 ผลการทดสอบความเสถียรระยะยาวของเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินอ้างอิง

| | Fe | Cu |
|---|---|---|
| $\|b_1\|$ | 24.164 | 0.397 |
| $b_o$ | 7961.81 | 37.27 |
| $s(b_1)$ | 10.925 | 0.153 |
| $\|b_1\|/s(b_1)$ | 2.212 | 2.586 |
| $t_{0.95,n-2}$ | 3.182 | 3.182 |
| Conclusion: $\|b_1\|/s(b_1) < t_{0.95,n-2}$ | Stable | Stable |
| $U_{lts}$ (mg/kg) | 131.10 | 1.84 |
| $U_{lts}$ (%) | 1.62 | 4.64 |

$b_1$ = Slope of stability data, $b_o$ = Intercept of stability data, $s(b_1)$ = Standard deviation of slope (associated uncertainty), $t_{0.95,n-2}$ = t critical value at 95% confidence level and $U_{sts}$ = Standard uncertainty associated with short term stability

5) คุณสมบัติและค่าความไม่แน่นอนจากการวิเคราะห์ตัวอย่างดินอ้างอิง

จากการศึกษาได้ค่าคุณสมบัติและค่าความไม่แน่นอนจากการวิเคราะห์เหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างอ้างอิง ดังแสดงในตาราง 8 พบว่าค่าคุณสมบัติของเหล็กทั้งหมดเท่ากับ 8340 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และค่าความไม่แน่นอนจากการวิเคราะห์เหล็กทั้งหมดเท่ากับ 0.25% ค่าคุณสมบัติของทองแดงทั้งหมดเท่ากับ 42.83 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และค่าความไม่แน่นอนจากการวิเคราะห์ทองแดงทั้งหมดเท่ากับ 0.43%

ตาราง 8 ผลการหาค่าคุณสมบัติของเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างอ้างอิง

| | Fe | Cu |
|---|---|---|
| $\sum w_i^2 u_i^2$ | 425.7288 | 0.0345 |
| $y_{char}$ (mg/kg) | 8340 | 42.83 |
| $U_{char}$ (%) | 0.25 | 0.43 |

$x_i$ = Analytical results of laboratory, $u_i$ = Associated standard uncertainty of the results, $w_i$ = Weighting, $y_{char}$ = Property values and $U_{char}$ = Standard uncertainty associated with a value assigned in a characterization study

6) ค่าความไม่แน่นอนของเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินอ้างอิง

การประมาณค่าความไม่แน่นอนของเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างอ้างอิงตามแนวทางของ ISO Guide 35 (2017) ได้ค่าตามแสดงในตาราง 9 โดยค่าคุณสมบัติและค่าความไม่แน่นอนของเหล็กทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 8340±298 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนค่าคุณสมบัติและค่าความไม่แน่นอนของทองแดงทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 42.83±4.08 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ตาราง 9 ผลการประมาณค่าความไม่แน่นอนของเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างอ้างอิง

| | **Fe** | **Cu** |
|---|---|---|
| $U_{bb}$ (%) | 0.71 | 0.98 |
| $U_{sts}$ (%) | 0.02 | 0.11 |
| $U_{lts}$ (%) | 1.62 | 4.64 |
| $U_{char}$ (%) | 0.25 | 0.43 |
| $U_{RM}$ (%) | 3.57 | 9.53 |
| $y_{char}$ (mg/kg) | 8340 | 42.83 |
| $U_{RM}$ (mg/kg) | 298 | 4.08 |
| Property values ± $U_{RM}$ (mg/kg) | 8340±298 | 42.83±4.08 |

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

จากการเตรียมตัวอย่างดินอ้างอิง และศึกษาการหาปริมาณเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินด้วยเทคนิค ICP-IDMS พบว่าสามารถหาปริมาณเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดินได้ด้วยเทคนิค ICP-IDMS โดยได้ค่า LOD และ LOQ ของเหล็กทั้งหมดเท่ากับ 276.14 และ 356.80 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และค่า LOD และ LOQ ของทองแดงทั้งหมดเท่ากับ 3.51 และ 4.15 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ค่า HorRat และ Recovery ของปริมาณทองแดงทั้งหมด เป็นไปตามเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐาน AOAC (2016) และจากการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกัน ความเสถียร และค่าคุณสมบัติของตัวอย่างอ้างอิง พบว่าตัวอย่างอ้างอิงที่เตรียมขึ้นมีความเป็นเนื้อเดียวกัน มีความเสถียรเมื่อทำการขนส่ง และมีความเสถียรเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 12 เดือน ค่าคุณสมบัติและค่าความไม่แน่นอนของเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างอ้างอิงเท่ากับ 8340±298 และ 42.83±4.08 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าตัวอย่างดินอ้างอิงที่เตรียมขึ้นนี้มีความเหมาะสมสำหรับนำมาใช้ในการควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการต่อไป

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

จากการศึกษาตัวอย่างดินอ้างอิงที่เตรียมขึ้นมีความเหมาะสมสำหรับนำมาใช้ในการควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการได้ เนื่องจากตัวอย่างมีความเป็นเนื้อเดียวกัน มีความเสถียรที่เพียงพอ และมีค่าคุณสมบัติที่เหมาะสม ซึ่งจะช่วยเพิ่มความเชื่อมั่นในการตรวจวิเคราะห์ และช่วยประหยัดงบประมาณในการจัดซื้อวัสดุอ้างอิงรับรองของห้องปฏิบัติการ และยังสามารถนำมาใช้เป็นตัวอย่างสำหรับการจัดโปรแกรมทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการได้อีกด้วย

# เอกสารอ้างอิง


AOAC. 2016. ***Official Methods of Analysis of AOAC International***. AOAC International Gaithersburg, MD, USA, Official Method 20th Ed.

Ari, B. and S. Bakırdere. 2020. A primary reference method for the characterization of Cd, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn in a candidate certified reference seawater material: TEA/$Mg(OH)_2$ assisted $ID^3MS$ by triple quadrupole ICP-MS/MS. ***Analytica Chimica Acta*** 1140:178–189.

Brandy, N. C. and R. R. Weil. 2002. ***The nature and properties of soils***. 13th ed. New Jersey: Prentice Hall.

Cristina, S. M., M. M. G. Juan, J. I. G. Alonso, and S. Alfredo. 1999. Accurate determination of iron, copper and zinc in human serum by isotope dilution analysis using double focusing ICP-MS. ***Journal of analytical atomic spectrometry*** 14:1505-1510.

ISO 17034. 2016. ***ISO 17034:2016 - General requirements for the competence of reference material producers***. International Organization for Standardization (ISO), Geneva.

ISO Guide 35. 2017. ***ISO Guide 35:2017 - Reference materials – guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability***. International Organization for Standardization (ISO), Geneva.

ISO/IEC 17025. 2017. ***ISO/IEC 17025:2017 - General requirements for the competence of testing and calibration laboratories***. International Organization for Standardization (ISO), Geneva.

Kawamoto, M. S., G. B. de Souza and A. R. de Araujo Nogueira. 2019. Preparation and evaluation of a new reference material for macro- and micronutrients in fish feed. ***Microchemical Journal*** 149:104027.

Lee, J.-M., E. A. Boyle, Y. Echegoyen-Sanz, J. N. Fitzsimmons, R. Zhang and R. A. Kayser. 2011. Analysis of trace metals (Cu, Cd, Pb, and Fe) in seawater using single batch nitrilotriacetate resin extraction and isotope dilution inductively coupled plasma mass spectrometry. ***Analytica Chimica Acta*** 686(1-2):93–101.

Linsinger T.P.J. and A. Botha. 2019. Principles for the characterisation and the value assignment of the candidate reference material in the new ISO Guide 35:2017. ***Accreditation and Quality Assurance*** 24:157–161.

Lum, T., and S. L. Kelvin. 2016. Strategies to overcome spectral interference in ICP-MS detection. ***Journal of analytical atomic spectrometry*** 31:1078-1088.

Milton, M. J. T. and T. J. Quinn. 2001. Primary methods for the measurement of amount of substance. ***Metrologia*** 38(4):289–296.

Olivares, I. R. B., G. B. Souza, A. R. A. Nogueira, G. T. K. Toledo and D. C. Marcki. 2018. Trends in developments of certified reference materials for chemical analysis - Focus on food, water, soil, and sediment matrices. ***TrAC Trends in Analytical Chemistry*** 100:53–64.

Quevauviller, P. 2019. Quality Assurance | Reference Materials. ***Encyclopedia of Analytical Science (Third Edition)***:514-518.

Santana Santos, A., L. Oliveira dos Santos, J. B. Pereira Junior, F. M. de Oliveira and S. L. C. Ferreira. 2020. Development of reference material from powdered milk: uncertainties and interlaboratory evaluation through confidence ellipses. ***Microchemical Journal*** 159: 105330.

Sastre, J., A. Sahuquillo, M. Vidal and G. Rauret. 2002. Determination of Cd, Cu, Pb and Zn in environmental samples: microwave-assisted total digestion versus aqua regia and nitric acid extraction. ***Analytica Chimica Acta*** 462: 59–72.

Thomas, W. M., and R. H. Wiedmeyer. 1998. A Table of Polyatomic Interferences in ICP-MS. ***Atomic spectroscopy*** 19(5):150-155.

Vicentim, M. P., T. M. Monteiro, R. R. R. de Almeida, A. D. A. Soares, J. M. Rodrigues and E. C. P. do Rego. 2019. Isotope dilution gas chromatography - mass spectrometry for the development of certified reference material of ethyl carbamate in hydroalcoholic matrix. ***Microchemical Journal*** 147:497–506.

# ศึกษาหาค่ากำหนดของเหล็ก และทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิงด้วยเทคนิค Inductively coupled plasma–isotope dilution mass spectrometry (ICP–IDMS)

# Study of the certified value of total iron and copper in chemical fertilizer by inductively coupled plasma–isotope dilution mass spectrometry (ICP–IDMS)

*กัญฐณา คล้ายแก้ว สงกรานต์ มะลิสอน สุภา โพธิจันทร์ ญาณธิชา จิตต์สะอาด พจมาลย์ ภู่สาร จิตติรัตน์ ชูชาติ จรีรัตน์ กุศลวิริยะวงศ์*

*Kanthana Klaigaew Songkrant Malisorn Yarnthicha Jittsa-aad Supha Photichan Pojjamarn Poosarn Jittirat Choochat Charirat Kusonwiriyawong*

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

## ABSTRACT

Reference material for determination total iron and total copper in chemical fertilizer was investigated. Characterization and evaluation of the uncertainty of chemical fertilizer laboratory reference material were proposed following the recommendations of the ISO Guide 35. The chemical fertilizer was crushed, finely ground, sieved through a <40 μm sieve, and well mixed in a plastic bag, prior to divided into 30 ml bottles. Characterization of the reference material was carried out by inductively coupled plasma–isotope dilution mass spectrometry (ICP–IDMS) with acid digestion. The validated method was accurate and precise enough for determination of total iron and copper in fertilizer as indicated by acceptable values of recovery and HorRat. The homogeneity testing shown that ten bottles with duplicate analysis are enough to demonstrate the homogeneity of this reference material. The statistical results also showed no significant trends in both transportation stability test and long-term stability test for twelve months. Homogeneity and stability assessment of the material demonstrated that the relative standard uncertainties due to the inhomogeneity, the instability for transportation and the instability for twelve months were 0.97–1.27, 0.05–0.14 and 3.12–4.60%, respectively. The certified values of total Fe and Cu concentrations with expanded uncertainties (coverage factor k=2, approximate 95% confidence interval) calculated using the results of the characterization, homogeneity and stability assessment were 12478±1075 mg/kg for total iron and 1028±68 mg/kg for total copper.

**Keywords :** Reference material, Chemical fertilizer, Total iron, Total copper

## บทคัดย่อ

การศึกษาวัสดุอ้างอิงสำหรับหาปริมาณเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิง ได้ทำการศึกษาและประมาณค่าความไม่แน่นอนของตัวอย่างอ้างอิงปุ๋ยอ้างอิงตามแนวทางของ ISO Guide 35 ตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่จัดหามาได้จะนำมาบด ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 40 เมช ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน และแบ่งใส่ขวดพลาสติกขนาด 30 มิลลิลิตร การวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กทั้งหมดและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิงทำโดยการนำตัวอย่างไปย่อย และวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Inductively coupled plasma–isotope dilution mass spectrometry (ICP–IDMS) จากการศึกษาพบว่าสามารถวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยได้ด้วยเทคนิค ICP–IDMS โดยการพิสูจน์ความแม่นและความเที่ยง พบว่าค่า % Recovery และ HorRat อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด การศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกันโดยทำการวิเคราะห์ 10 ตัวอย่าง จำนวน 2 ซ้ำ พบว่าตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิงที่เตรียมขึ้นมีความเป็นเนื้อเดียวกันเพียงพอ และจากการประเมินทางสถิติพบว่าตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิงมีความเสถียรเพียงพอในการขนส่ง และมีความเสถียรเพียงพอเมื่อเก็บไว้เป็นระยะเวลา 12 เดือน ค่าความไม่แน่นอนจากความเป็นเนื้อเดียวกัน ความเสถียรในการขนส่ง และความเสถียรระยะยาว เท่ากับ 0.97–1.27, 0.05–0.14 และ 3.12–4.60% ตามลำดับ ตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิงที่เตรียมขึ้น มีค่าคุณสมบัติและค่าความไม่แน่นอน (ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%, k=2) ของเหล็กทั้งหมดเท่ากับ 12478±1075 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และทองแดงทั้งหมดเท่ากับ 1028±68 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม



**คำหลัก:** วัสดุอ้างอิง ปุ๋ยเคมี เหล็กทั้งหมด ทองแดงทั้งหมด


## คำนำ

ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ย เป็นอีกหนึ่งส่วนงานที่สำคัญในกระบวนการผลิตและขึ้นทะเบียนปุ๋ย ปุ๋ยที่มีปริมาณธาตุอาหารที่ไม่ตรงตามสูตรที่ขอขึ้นทะเบียน จะไม่สามารถซื้อขายได้ นอกจากนี้ยังเป็นการประกันคุณภาพของปุ๋ยว่าเกษตรกรจะได้ใช้ปุ๋ยที่มีปริมาณธาตุอาหารตรงตามที่ระบุในฉลาก ดังนั้นการควบคุมคุณภาพของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ยจึงมีความสำคัญอย่างมาก เพื่อให้ได้ผลการวิเคราะห์ที่มีความถูกต้อง น่าเชื่อถือ และเกิดประโยชน์สูงสุดแก่เกษตรกร ซึ่งการควบคุมคุณภาพแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ การควบคุมคุณภาพภายใน (Internal Quality Control) และการประเมินคุณภาพโดยองค์กรภายนอก (External Quality Assessment) ซึ่งการควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการเป็นกระบวนการที่สำคัญในการวิเคราะห์ทดสอบในห้องปฏิบัติการ ห้องปฏิบัติการจะต้องมีการดำเนินการในการเฝ้าระวังตรวจสอบความถูกต้องของการทดสอบ เพื่อให้เกิดความน่าเชื่อถือของผลการทดสอบก่อนการรายงานผล และเพื่อให้การดำเนินงานของห้องปฏิบัติการเป็นไปตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 (2017) ในปัจจุบันมีเทคนิคการควบคุมคุณภาพภายในมากมายหลายวิธี เช่น การวิเคราะห์ตัวอย่างควบคุม (QC sample) ได้แก่ วัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Materials, CRM), การวิเคราะห์รีเอเจนต์แบลงค์หรือแบลงค์ของวิธีทดสอบ (Reagent Blank or Method Blank), การวิเคราะห์ซ้ำในตัวอย่างเดียวกัน (Duplicate Analysis Pair), การวิเคราะห์ Spiked Sample หรือ การหาค่าร้อยละการคืนกลับ (%recovery) เป็นต้น

วัสดุอ้างอิง (Reference Materials, RM) และวัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Materials, CRM) มีความสำคัญและมีบทบาทอย่างมากในกระบวนการวิเคราะห์ทดสอบตัวอย่างสำหรับทุกห้องปฏิบัติการ โดยวัตถุประสงค์ของการใช้งานแตกต่างกันออกไป ผู้วิเคราะห์จะต้องมีการเลือกใช้ประเภทของวัสดุอ้างอิงที่เหมาะสมตามลักษณะงานที่ปฏิบัติ โดยทั่วไปห้องปฏิบัติการจะใช้วัสดุอ้างอิง หรือสารมาตรฐานประกอบในการวิเคราะห์หาปริมาณของสารในตัวอย่าง วัสดุอ้างอิง หมายถึงวัสดุหรือสารที่มีสมบัติหนึ่งอย่างหรือหลายอย่างที่จัดทำมาอย่างดี มีความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity) และความเสถียร (Stability) (Quevauviller, 2019) และสำหรับใช้สอบเทียบอุปกรณ์ใช้ในการประเมินวิธีหรือใช้ในการกำหนดค่าวัสดุต่างๆ สำหรับวัสดุอ้างอิงรับรอง หมายถึงวัสดุอ้างอิงที่มีคุณสมบัติที่ครอบคลุมและ

ผ่านมาตรฐานการผลิตและทดสอบที่เข้มงวด และมีค่าระบุที่มีการรับรองสามารถตรวจสอบย้อนกลับทางมาตรวิทยา (Traceability) และมีความไม่แน่นอนของการวัด (Uncertainty) (Quevauviller, 2019) เพิ่มเติมจากความเป็นเนื้อเดียวกันและความเสถียร

การผลิตวัสดุอ้างอิงเพื่อให้ได้คุณสมบัติที่เป็นที่ยอมรับจะต้องจัดเตรียมและประเมินผลทางสถิติตามมาตรฐาน ISO 17034 (2016) และ ISO Guide 35 (2017) ซึ่งจะต้องมีการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกัน ความเสถียร และค่าคุณสมบัติของตัวอย่างที่เตรียมขึ้น การหาค่าคุณสมบัติของวัสดุอ้าอิงตาม ISO 17034 (2016) สามารถทำได้หลายวิธี เช่น การวิเคราะห์ด้วยหลายห้องปฏิบัติการโดยใช้วิธีวิเคราะห์ต่างๆ กัน การวิเคราะห์หลายห้องปฏิบัติการโดยกำหนดวิธีวิเคราะห์เป็นวิธีเดียวกัน (Kawamoto *et al*., 2019; Santana Santos *et al.*, 2020) หรือการวิเคราะห์ด้วยห้องปฏิบัติการเดียวโดยวิธี Primary method เป็นต้น (Olivares *et al*., 2018; Linsinger *et al.*, 2019) Primary method เป็นวิธีที่มีความแม่นยำสูง สามารถตรวจสอบย้อนกลับไปยังระบบหน่วยสากล (SI) ได้ (Olivares *et al*., 2018) และจัดเป็นวิธีพื้นฐานที่ใช้ในการหาค่าคุณสมบัติของวัสดุอ้างอิง ซึ่งวิธีที่ได้รับการยอมรับจาก Consultative Committee for Amount of Substance: Metrology in Chemistry and Biology (CCQM) ให้เป็น Primary method มีหลายวิธี ดังนี้ Gravimetry, Titrimetry, Coulometry, Isotope dilution mass spectrometry (IDMS), Two-step IDMS และ Freezing-point depression (Milton and Quinn, 2001) มีหลายงานวิจัยที่นำวิธี IDMS มาประยุกต์ใช้ในการหาค่าคุณสมบัติของวัสดุอ้างอิงที่พัฒนาขึ้น ตัวอย่างเช่น การพัฒนาวัสดุอ้างอิงสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ Ethyl carbamate ในอาหารและเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ โดยใช้วิธี IDMS ร่วมกับ Gas chromatography (GC) (Vicentim *et al*., 2019) และการพัฒนาวัสดุอ้างอิงรับรองสำหรับวิเคราะห์ธาตุในน้ำทะเล โดยใช้วิธี IDMS ร่วมกับ ICP-MS (Ari and Bakırdere, 2020; Lee *et al.*, 2011) เป็นต้น

สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยเคมีนั้น ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ต้องทำการซื้อวัสดุอ้างอิงรับรองจากต่างประเทศ ซึ่งมีผู้จำหน่ายน้อยรายและมีราคาแพง คณะผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะผลิตวัสดุอ้างอิงสำหรับวิเคราะห์เหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยเคมี เพื่อใช้เป็นตัวอย่างในการควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี ซึ่งช่วยเพิ่มความเชื่อมั่นในการตรวจวิเคราะห์ ช่วยประหยัดงบประมาณ และลดระยะเวลาในการจัดซื้อวัสดุอ้างอิงรับรองของห้องปฏิบัติการ การจัดทำวัสดุอ้างอิงปุ๋ยเคมีสำหรับวิเคราะห์เหล็กและทองแดงทั้งหมดจะดำเนินการตามแนวทาง ISO Guide 35 (2017) เพื่อให้ได้วัสดุอ้างอิงที่มีความเป็นเนื้อเดียวกัน มีความเสถียร มีค่าปริมาณเหล็กและทองแดง และค่าความไม่แน่นอนของการวัด

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1) เครื่อง Inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS ; PerkinElmer ; NexION 350D)
2) เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Mettler Toledo; AB204-S)
3) เตาให้ความร้อน
4) เครื่องบดตัวอย่าง (Retsch; ZM 200)
5) ตะแกรงร่อนขนาด 0.5 มิลลิเมตร (Retsch)
6) ขวดพลาสติกพร้อมฝาปิด
7) Nitric acid (concentrated), $HNO_3$, AR grade
8) Hydrochloric acid (concentrated), HCl, AR grade
9) $^{65}Cu$ in 1 M nitric acid (ERM – AE633)
10) $^{56}Fe$ solution (IRMM-634)

## วิธีการ

1) ศึกษาการหาปริมาณเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยด้วยเทคนิค ICP–IDMS โดยศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการหาปริมาณเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยด้วยเทคนิค ICP–IDMS เช่น อัตราการไหลของเชื้อเพลิง อัตราการไหลของตัวพา อัตราการไหลของสารละลายตัวอย่าง และอัตราการดูดสารละลายตัวอย่าง ศึกษา Mass spectral interferences หาค่าขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) หาค่าขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ) ตรวจสอบ Trueness และ Precision ของวิธีทดสอบเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยด้วยเทคนิค ICP–IDMS

2) เตรียมตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิง โดยจัดหาตัวอย่างปุ๋ยจากท้องตลาด และนำตัวอย่างมาคลุกเคล้าให้เข้ากัน ทำการบดด้วยเครื่องบดตัวอย่าง นำตัวอย่างที่ผ่านการบดแล้ว มาร่อนผ่านตะแกรงขนาด 40 เมช จากนั้นนำตัวอย่างที่ร่อนแล้วทั้งหมดมาคลุกเคล้าให้เข้ากัน และตักใส่ขวดพลาสติกขนาด 30 มิลลิลิตร และกำหนดหมายเลขตัวอย่างในแต่ละขวด

3) ทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิง โดยการสุ่มตัวอย่างแบบ Random จำนวน 10 ตัวอย่าง นำมาวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กและทองแดงทั้งหมด (ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559, 2560) ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ จากนั้นประเมินผลทางสถิติด้วย Cochran's test และ One-way ANOVA และคำนวณหาค่าความไม่แน่นอนจากความเป็นเนื้อเดียวกัน ($U_{bb}$) ตามแนวทาง ISO Guide 35 (2017)

4) ทดสอบความเสถียรระยะสั้น (Short-term stability) ของตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิง โดยการทดลองส่งตัวอย่างทางไปรษณีย์ลงทะเบียนเป็นระยะเวลา 7 และ 14 วัน จากนั้นวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กและทองแดงทั้งหมด และนำผลวิเคราะห์มาประเมินทางสถิติ และคำนวณหาค่าความไม่แน่นอนจากความเสถียรระยะสั้น ($U_{sts}$) ตามแนวทาง ISO Guide 35 (2017)

5) ทดสอบความเสถียรระยะยาว (Long-term stability) ของตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิง โดยเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 12 เดือน และทำการสุ่มตัวอย่างในช่วงเวลา 0, 1, 3, 6 และ 12 เดือน ครั้งละ 5 ตัวอย่าง มาวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กและทองแดงทั้งหมด และนำผลวิเคราะห์มาประเมินทางสถิติ และคำนวณหาค่าความไม่แน่นอนจากความเสถียรระยะยาว ($U_{lts}$) ตามแนวทาง ISO Guide 35 (2017)

6) ศึกษาหาค่าคุณสมบัติและค่าความไม่แน่นอนจากการวิเคราะห์ตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิง โดยทำการสุ่มตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิงมาจำนวน 10 ตัวอย่าง ทำการวิเคราะห์ จากนั้นคำนวณค่าคุณสมบัติด้วยวิธี Weighted mean ดังนี้

$$y_{char} = \sum w_i x_i / \sum w_i$$

โดย

$$w_i = 1/u_i^2$$

และคำนวณค่าความไม่แน่นอนของการหาค่าคุณสมบัติจากสมการ

$$U_{char} = \sqrt{\sum w_i^2 u_i^2}$$

7) ประเมินความไม่แน่นอนของเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิง ตามแนวทาง ISO Guide 35 (2017) ตามสมการ

$$U_{RM} = k\sqrt{U_{char}^2 + U_{bb}^2 + U_{lts}^2 + U_{sts}^2}$$

เมื่อ $U_{RM}$ = ค่าความไม่แน่นอนขยายของวัสดุอ้างอิง
$U_{char}$ = ค่าความไม่แน่นอนจากการศึกษาค่าคุณสมบัติของวัสดุอ้างอิง
$U_{bb}$ = ค่าความไม่แน่นอนจากความเป็นเนื้อเดียวกัน
$U_{lts}$ = ค่าความไม่แน่นอนจากความเสถียรระยะยาว
$U_{lts}$ = ค่าความไม่แน่นอนจากความเสถียรระยะสั้น
$k$ = Coverage factor (ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%, $k$ =2)

**ระยะเวลา** เริ่มต้น เดือน ตุลาคม 2562 สิ้นสุด เดือน กันยายน 2564

**สถานที่ทำการทดลอง**

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

## ผลการทดลองและวิจารณ์

1) การหาปริมาณเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิงด้วยเทคนิค ICP–IDMS

1.1) สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง ICP-MS ในการหาปริมาณเหล็ก และทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิง

จากการศึกษาได้สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง ICP-MS ที่ใช้สำหรับการวัดปริมาณเหล็กและทองแดงในตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิง ดังนี้ ค่า Plasma gas flow, Auxiliary gas flow และ Nebulizer gas flow เท่ากับ 18.0, 1.2 และ 0.86 L/min ตามลำดับ ค่า Sample uptake rate เท่ากับ 270 μL/min ค่า RF power เท่ากับ 1600 W ค่า Dead time เท่ากับ 35 ns โดยใช้ Ge เป็น Internal standard และวัดปริมาณไอโซโทปดังนี้ $^{54}Fe$, $^{56}Fe$, $^{57}Fe$, $^{63}Cu$, และ $^{65}Cu$ ดังตาราง 1

ตาราง 1 สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง ICP-MS ที่ใช้ในการหาปริมาณทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิง

| Parameter | Value |
|---|---|
| Plasma gas flow | 18.0 L/min |
| Auxiliary gas flow | 1.2 L/min |
| Nebulizer gas flow | 0.86 L/min |
| Sample uptake rate | 270 μL/min |
| RF power | 1600 W |
| Dead time | 35 ns |
| Internal standard | Ge |
| Measured isotopes | $^{54}Fe$, $^{56}Fe$, $^{57}Fe$, $^{63}Cu$, $^{65}Cu$ |

1.2) การรบกวนของแคลเซียมและโซเดียมต่อการวิเคราะห์เหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิงด้วยเทคนิค ICP–IDMS

ในการวิเคราะห์เหล็กและทองแดงด้วยเทคนิค ICP–IDMS นั้น มีสารรบกวนที่สำคัญ คือ แคลเซียมและโซเดียม ซึ่งจะมีผลทำให้สัญญาณของเหล็กและทองแดงเพิ่มขึ้น (Thomas and Wiedmeyer, 1998; Lum and Kelvin, 2016) แต่ในตัวอย่างปุ๋ยธาตุอาหารเสริมโดยทั่วไปจะไม่มีส่วนผสมของแคลเซียมหรือโซเดียมในตัวอย่าง จึงไม่จำเป็นต้องศึกษาการรบกวนของแคลเซียมและโซเดียมต่อการวิเคราะห์เหล็กและทองแดงด้วยเทคนิค ICP–IDMS ผู้วิจัยจึงได้ศึกษาผลกระทบของสารรบกวนในตัวอย่างปุ๋ย ต่อการวิเคราะห์เหล็กและทองแดงด้วยเทคนิค ICP–IDMS โดยนำตัวอย่างปุ๋ย 4 ตัวอย่าง คือ F1, F2, F3 และ F4 มาเติมด้วยสารละลายมาตรฐานเหล็ก ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และสารละลายมาตรฐานทองแดง ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากนั้นไปวิเคราะห์หาปริมาณ $^{54}Fe$, $^{56}Fe$, $^{57}Fe$, $^{63}Cu$ และ $^{65}Cu$ ด้วยเทคนิค ICP–IDMS และคำนวณค่า Recovery ซึ่งค่า Recovery ของการวิเคราะห์ที่ความเข้มข้น 1–10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ต้องอยู่ในช่วง 80–110% จึงเป็นที่ยอมรับตามมาตรฐาน AOAC (2016) ตาราง 2 แสดงค่า Recovery ของการวิเคราะห์ $^{54}Fe$, $^{56}Fe$, $^{57}Fe$, $^{63}Cu$ และ $^{65}Cu$ ในตัวอย่างปุ๋ย โดยพบว่าค่า Recovery ของการวิเคราะห์ $^{54}Fe$, $^{56}Fe$, $^{57}Fe$, $^{63}Cu$ และ $^{65}Cu$ อยู่ในช่วง 93–104, 94–103, 101–109, 89–98 และ 91–96% ตามลำดับ ซึ่งเป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐาน AOAC (2016) ดังนั้นสารรบกวนในตัวอย่างปุ๋ยไม่มีผลต่อการวิเคราะห์เหล็กและทองแดงด้วยเทคนิค ICP–IDMS

ตาราง 2 ผลการศึกษาการรบกวนของแคลเซียมและโซเดียมต่อการวิเคราะห์เหล็กและทองแดงในตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิงด้วยเทคนิค ICP–IDMS

| Samples | Recovery (%) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | $^{54}Fe$ | $^{56}Fe$ | $^{57}Fe$ | $^{63}Cu$ | $^{65}Cu$ |
| **F1** | 103 | 101 | 109 | 96 | 96 |
| **F2** | 104 | 103 | 107 | 90 | 95 |
| **F3** | 101 | 103 | 102 | 98 | 91 |
| **F4** | 93 | 94 | 101 | 89 | 91 |

1.3) ขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ) ของการทดสอบเหล็กและทองแดงทั้งหมดในปุ๋ยอ้างอิง

การทดสอบหาค่าขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ) ของเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ย โดยการทดสอบ Sample blank จำนวน 10 ซ้ำ ได้ค่า LOD และ LOQ ของเหล็กทั้งหมดเท่ากับ 6.42 และ 12.33 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และค่า LOD และ LOQ ของทองแดงทั้งหมดเท่ากับ 4.17 และ 5.49 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ดังแสดงในตาราง 3

ตาราง 3 ผลการทดสอบค่า LOD และ LOQ ของเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิง

| | Fe | Cu |
|---|---|---|
| **Mean (mg/kg)** | 3.88 | **3.60** |
| **$S'_0$** | 0.85 | **0.19** |
| **LOD** | 6.42 | **4.17** |
| **LOQ** | 12.33 | **5.49** |

1.4) ตรวจสอบ Trueness และ Precision ของวิธีทดสอบทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิงด้วยเทคนิค ICP–IDMS

การทดสอบ Precision ของวิธีวิเคราะห์ทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิงที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง ได้ค่าเฉลี่ย เท่ากับ 1208.88, 2611.40 และ 4456.62 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ดังแสดงในตาราง 4 และเมื่อนำมาคำนวณหาค่า HorRat ได้ค่า HorRat ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง เท่ากับ 0.46, 0.82 และ 0.94 ตามลำดับ โดยค่า HorRat ที่ได้มีค่าอยู่ในช่วง 0.3 – 1.3 ซึ่งเป็นไปตามเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐาน AOAC (2016) สำหรับการตรวจสอบ Trueness ทำโดยการหา Recovery ในตัวอย่างปุ๋ยที่เติมสารละลายมาตรฐานลงไป 3 ระดับความเข้มข้น คือ 400, 1800 และ 3600 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และทำการทดสอบระดับละ 10 ซ้ำ ได้ค่า Recovery เฉลี่ยเท่ากับ 101.09, 100.38 และ 101.45% ตามลำดับ ซึ่งค่าอยู่ในช่วงเกณฑ์ยอมรับที่ 95–105% ตามมาตรฐาน AOAC (2016)

ตาราง 4 ผลการทดสอบ Trueness และ Precision ของวิธีทดสอบทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิง

| | Low concentration | Medium concentration | High concentration |
|---|---|---|---|
| **Mean (mg/kg)** | 1208.88 | 2611.4 | 4456.62 |
| **SD** | 6.29 | 24.21 | 47.09 |
| **%RSD** | 0.52 | 0.93 | 1.06 |
| **%Recovery** | 101.09 | 100.38 | 101.45 |
| **HorRat** | 0.46 | 0.82 | 0.94 |

2) ความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิง

ทำการสุ่มตัวอย่างจำนวน 10 ตัวอย่าง นำมาวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กและทองแดงทั้งหมด ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ และทำการประเมินผลทางสถิติ ผลการประเมินด้วยสถิติ Cochran's test สำหรับศึกษาความเบี่ยงเบนภายในตัวอย่างอ้างอิงที่เตรียมขึ้น แสดงอยู่ในตาราง 5 พบว่าปริมาณเหล็กทั้งหมดและทองแดงทั้งหมด มีค่า $C_{cal}$ เท่ากับ 0.169 และ 0.334 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับค่า $C_{crit}$ ซึ่งเท่ากับ 0.602 ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 พบว่าทั้งเหล็กและทองแดงที่ค่า $C_{cal} < C_{crit}$ แสดงว่าผลการวิเคราะห์ซ้ำภายในตัวอย่างเดียวกันไม่มีความแตกต่างกัน ดังนั้นจึงทำการวิเคราะห์ความเบี่ยงเบนระหว่างตัวอย่างต่อไป

ผลการประเมินด้วยสถิติ One-way ANOVA สำหรับศึกษาความเบี่ยงเบนระหว่างตัวอย่าง แสดงอยู่ในตาราง 5 พบว่าปริมาณเหล็กทั้งหมดและทองแดงทั้งหมด มีค่า $F_{cal}$ เท่ากับ 2.154 และ 0.682 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับค่า $F_{crit}$ ซึ่งเท่ากับ 3.020 ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 พบว่าทั้งเหล็กและทองแดงที่ค่า $F_{cal} < F_{crit}$ แสดงว่าตัวอย่างที่เตรียมขึ้นมีความเป็นเนื้อเดียวกันอย่างเพียงพอ ผลการคำนวณค่าความไม่แน่นอนจากความเป็นเนื้อเดียวกัน ($U_{bb}$) พบว่าปริมาณเหล็กทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิงมีค่าความไม่แน่นอนจากความเป็นเนื้อเดียวกันเท่ากับ 1.27% สำหรับทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิงมีค่าความไม่แน่นอนจากความเป็นเนื้อเดียวกันเท่ากับ 0.97%

ตาราง 5 ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิง

| | **Fe** | **Cu** |
|---|---|---|
| $\sum D_i^2$ | 601967.35 | 5931.57 |
| $D_{MAX}^2$ | 118115.94 | 1982.03 |
| $C_{cal}$ | 0.196 | 0.334 |
| $C_{crit}$ | 0.602 | 0.602 |
| Conclusion: $C_{cal} < C_{crit}$ | No outlier | No outlier |
| $MS_{between}$ | 64843.545 | 202.258 |
| $MS_{within}$ | 30098.368 | 296.578 |
| $F_{cal}$ | 2.154 | 0.682 |
| $F_{crit}$ | 3.020 | 3.020 |
| Conclusion: $F_{cal} < F_{crit}$ | Homogeneous | Homogeneous |
| $U_{bb}$ (mg/kg) | 131.80 | 8.14 |
| $U_{bb}$ (%) | 1.27 | 0.97 |

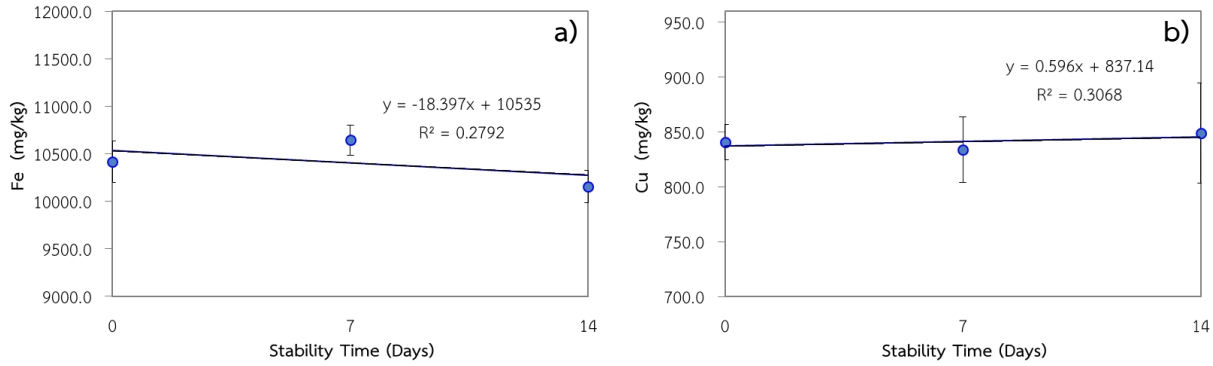
$D_i$ = Difference of each pair of duplicate, $D_{MAX}$ = The maximum difference of the duplicate,
$C_{cal}$ = Cochran calculation value, $C_{crit}$ = Cochran critical value at 95% confidence level ($n$=10),
$MS_{within}$ = Mean squares within sample, $MS_{between}$ = Mean squares between sample,
$F_{cal}$ = F calculation value, $F_{crit}$ = F critical value at 95 confidence level and
$U_{bb}$ = Standard uncertainty associated with between-unit variability

3) ความเสถียรระยะสั้นของตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิง

การทดสอบความเสถียรระยะสั้นเพื่อศึกษาความเสถียรของตัวอย่างในการขนส่ง ได้กราฟระหว่างปริมาณของเหล็กและทองแดงทั้งหมด และระยะเวลาในการจัดส่งตัวอย่าง ดังภาพ 1 และได้ผลการทดสอบทางสถิติดังแสดงในตาราง 6 พบว่าปริมาณเหล็กทั้งหมด ได้สมการถดถอย คือ y = -18.397x + 10535.08 โดยค่าสัมบูรณ์ของความชัน ($|b_1|$) เท่ากับ 18.397 และค่า $s(b_1)$ เท่ากับ 29.562 จะได้ค่า $|b_1|/s(b_1)$ เท่ากับ 0.622 สำหรับปริมาณทองแดงทั้งหมด ได้สมการถดถอย คือ y = 0.596x + 837.14 โดยค่าสัมบูรณ์ของความชัน ($|b_1|$) เท่ากับ 0.596 และค่า $s(b_1)$ เท่ากับ

0.896 จะได้ค่า $|b_1|/s(b_1)$ เท่ากับ 0.665 ซึ่งค่า $|b_1|/s(b_1)$ ของเหล็กและทองแดงทั้งหมดน้อยกว่าค่า $t_{0.95,n-2}$ แสดงว่าตัวอย่างที่เตรียมขึ้นมีความเสถียรเพียงพอเมื่อทำการจัดส่งตัวอย่างทางไปรษณีย์ลงทะเบียนเป็นระยะเวลา 14 วัน

ค่าความไม่แน่นอนจากความเสถียรระยะสั้น ($U_{sts}$) คำนวณจาก $U_{sts} = s(b_1)$ x t เมื่อ t คือระยะเวลาในการจัดส่งตัวอย่าง 14 วัน โดยค่าความไม่แน่นอนจากความเสถียรระยะสั้นของเหล็กและทองแดงทั้งหมด เท่ากับ 0.14 และ 0.05% ตามลำดับ




ภาพ 1 ผลการทดสอบความเสถียรระยะสั้นของ a) เหล็กทั้งหมด และ b) ทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิง

ตาราง 6 ผลการทดสอบความเสถียรระยะสั้นของเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิง

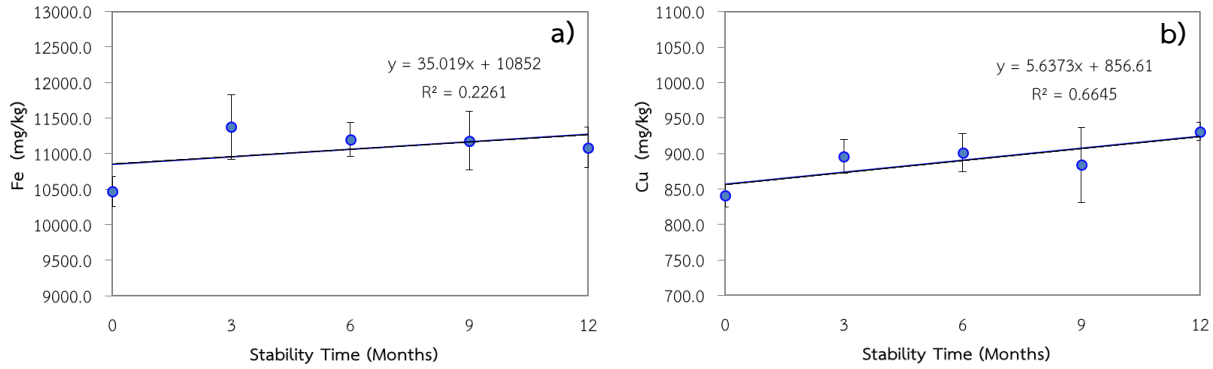
| | Fe | Cu |
|---|---|---|
| $\|b_1\|$ | 18.397 | 0.596 |
| $b_o$ | 10535.08 | 837.14 |
| $s(b_1)$ | 29.562 | 0.896 |
| $\|b_1\|/s(b_1)$ | 0.622 | 0.665 |
| $t_{0.95,n-2}$ | 12.706 | 12.706 |
| Conclusion: $\|b_1\|/s(b_1) < t_{0.95,n-2}$ | Stable | Stable |
| $U_{sts}$ (mg/kg) | 14.78 | 0.45 |
| $U_{sts}$ (%) | 0.14 | 0.05 |

$b_1$ = Slope of stability data, $b_o$ = Intercept of stability data, $s(b_1)$ = Standard deviation of slope (associated uncertainty), $t_{0.95,n-2}$ = t critical value at 95% confidence level and $U_{sts}$ = Standard uncertainty associated with short term stability

4) ความเสถียรระยะยาวของตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิง

จากการศึกษาความเสถียรของตัวอย่างขณะการเก็บรักษาทำโดยเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้อง ได้กราฟระหว่างปริมาณของสารและระยะเวลาการเก็บรักษาตัวอย่าง และสมการถดถอย ดังแสดงใน 2 และตาราง 7 พบว่าเหล็กทั้งหมดได้สมการถดถอย คือ y = 35.091x + 10852.05 โดยค่าสัมบูรณ์ของความชัน ($|b_1|$) เท่ากับ 35.091 และค่า $s(b_1)$ เท่ากับ 37.406 จะได้ค่า $|b_1|/s(b_1)$ เท่ากับ 0.936 สำหรับปริมาณทองแดงทั้งหมด ได้สมการถดถอย คือ y = 5.637x + 856.61 โดยค่าสัมบูรณ์ของความชัน ($|b_1|$) เท่ากับ 5.637 และค่า $s(b_1)$ เท่ากับ 2.313 จะได้ค่า $|b_1|/s(b_1)$ เท่ากับ 2.437 ซึ่งค่า $|b_1|/s(b_1) < t_{0.95,n-2}$ ทั้งเหล็กและทองแดง แสดงว่าตัวอย่างที่เตรียมขึ้นมีความเสถียรเพียงพอเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลานาน 12 เดือน

ค่าความไม่แน่นอนจากความเสถียรระยะยาว $U_{lts}$ คำนวณจาก $U_{lts} = s(b_1)$ x t เมื่อ t คือระยะเวลาในการจัดเก็บตัวอย่าง 12 เดือน โดยค่าความไม่แน่นอนจากความเสถียรระยะยาวของเหล็กและทองแดงทั้งหมด เท่ากับ 4.06 และ 3.12% ตามลำดับ




ภาพ 2 ผลการทดสอบความเสถียรระยะยาวของ a) เหล็กทั้งหมด และ b) ทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิง

ตาราง 7 ผลการทดสอบความเสถียรระยะยาวของเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิง

| | Fe | Cu |
|---|---|---|
| $b_1$ | 35.019 | 5.637 |
| $b_o$ | 10852.05 | 856.61 |
| $s(b_1)$ | 37.406 | 2.313 |
| $\|b_1\|/s(b_1)$ | 0.936 | 2.437 |
| $t_{0.95,n-2}$ | 3.182 | 3.182 |
| Conclusion: $\|b_1\|/s(b_1) < t_{0.95,n-2}$ | Stable | Stable |
| $U_{sts}$ (mg/kg) | 448.87 | 27.75 |
| $U_{sts}$ (%) | 4.06 | 3.12 |

$b_1$ = Slope of stability data, $b_o$ = Intercept of stability data, $s(b_1)$ = Standard deviation of slope (associated uncertainty), $t_{0.95,n-2}$ = t critical value at 95% confidence level and $U_{lts}$ = Standard uncertainty associated with long term stability

5) คุณสมบัติและค่าความไม่แน่นอนจากการวิเคราะห์เหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิง

จากการศึกษาได้ค่าคุณสมบัติและค่าความไม่แน่นอนจากการวิเคราะห์เหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิง ได้ค่าดังแสดงในตาราง 8 พบว่า ค่าคุณสมบัติของเหล็กทั้งหมดเท่ากับ 12478 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และค่าความไม่แน่นอนจากการวิเคราะห์เหล็กทั้งหมดเท่ากับ 0.68% ค่าคุณสมบัติของทองแดงทั้งหมดเท่ากับ 1028 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และค่าความไม่แน่นอนจากการวิเคราะห์ทองแดงทั้งหมดเท่ากับ 0.37%

ตาราง 8 ผลการหาค่าคุณสมบัติของเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิง

| | Fe | Cu |
|---|---|---|
| $\Sigma w_i^2 u_i^2$ | 7106.90 | 14.81 |
| $y_{char}$ (mg/kg) | 12478 | 1028 |
| $U_{char}$ (mg/kg) | 84 | 4 |
| $U_{char}$ (%) | 0.68 | 0.37 |

$x_i$ = Analytical results of laboratory, $u_i$ = Associated standard uncertainty of the results,
$w_i$ = Final weighting, $y_{char}$ = Property values and
$U_{char}$ = Standard uncertainty associated with a value assigned in a characterization study

6) ค่าความไม่แน่นอนของเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิง

การประมาณค่าความไม่แน่นอนของเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิงตามแนวทางของ ISO Guide 35 (2017) ได้ค่าตามตาราง 9 โดยค่าคุณสมบัติและค่าความไม่แน่นอนของเหล็กทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 12478±441 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนค่าคุณสมบัติและค่าความไม่แน่นอนของทองแดงทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 1028±98 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ตาราง 9 ผลการประมาณค่าความไม่แน่นอนของเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิง

| | Fe | Cu |
|---|---|---|
| $U_{bb}$ (%) | 0.71 | 0.98 |
| $U_{sts}$ (%) | 0.02 | 0.11 |
| $U_{lts}$ (%) | 1.62 | 4.64 |
| $U_{char}$ (%) | 0.0004 | 0.3742 |
| $U_{RM}$ (%) | 3.54 | 9.52 |
| $y_{char}$ (mg/kg) | 12478 | 1028 |
| $U_{RM}$ (mg/kg) | 441 | 98 |
| Property values ± $U_{RM}$ (mg/kg) | 12478±441 | 1028±98 |

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

จากการเตรียมตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิง และศึกษาการหาปริมาณทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิงด้วยเทคนิค ICP-IDMS พบว่าสามารถหาปริมาณเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิงได้ด้วยเทคนิค ICP-IDMS โดยได้ค่า LOD และ LOQ ของเหล็กทั้งหมดเท่ากับ 6.42 และ 12.33 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ และค่า LOD และ LOQ ของทองแดงทั้งหมดเท่ากับ 4.17 และ 5.49 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ค่า HorRat และ % Recovery ของปริมาณทองแดงทั้งหมด เป็นไปตามเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐาน AOAC (2016) และจากการศึกษาคุณสมบัติของตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิงที่เตรียมขึ้น พบว่าตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิงที่เตรียมขึ้นมีความเป็นเนื้อเดียวกัน มีความเสถียรเมื่อทำการขนส่ง และมีความเสถียรเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 12 เดือน ค่าคุณสมบัติและค่าความไม่แน่นอนของเหล็กและทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิงเท่ากับ 12478±1075 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ 1028±68 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

จากการศึกษาตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิงที่เตรียมขึ้นมีความเหมาะสมสำหรับนำมาใช้ในการควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการได้ เนื่องจากตัวอย่างมีความเป็นเนื้อเดียวกัน มีความเสถียรที่เพียงพอ และมีค่าคุณสมบัติที่เหมาะสม ซึ่งจะช่วยเพิ่มความเชื่อมั่นในการตรวจวิเคราะห์ และช่วยประหยัดงบประมาณในการจัดซื้อวัสดุอ้างอิงรับรองของห้องปฏิบัติการ และยังสามารถนำมาใช้เป็นตัวอย่างสำหรับการจัดโปรแกรมทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการได้อีกด้วย

## เอกสารอ้างอิง


ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559. (2560, 4 มกราคม). ***ราชกิจจานุเบกษา.*** เล่มที่ 134 ตอนพิเศษ 2 ง, หน้า 24.

AOAC. 2016. ***Official Methods of Analysis of AOAC International***. AOAC International Gaithersburg, MD, USA, Official Method 20th Ed.

Ari, B. and S. Bakırdere. 2020. A primary reference method for the characterization of Cd, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn in a candidate certified reference seawater material: TEA/$Mg(OH)_2$ assisted $ID^3MS$ by triple quadrupole ICP-MS/MS. ***Analytica Chimica Acta*** 1140:178–189.

ISO 17034. 2016. ***ISO 17034:2016 - General requirements for the competence of reference material producers***. International Organization for Standardization (ISO), Geneva.

ISO Guide 35. 2017. ***ISO Guide 35:2017 - Reference materials – guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability***. International Organization for Standardization (ISO), Geneva.

ISO/IEC 17025. 2017. ***ISO/IEC 17025:2017 - General requirements for the competence of testing and calibration laboratories***. International Organization for Standardization (ISO), Geneva.

Kawamoto, M. S., G. B. de Souza and A. R. de Araujo Nogueira. 2019. Preparation and evaluation of a new reference material for macro- and micronutrients in fish feed. ***Microchemical Journal*** 149:104027.

Lee, J.-M., E. A. Boyle, Y. Echegoyen-Sanz, J. N. Fitzsimmons, R. Zhang and R. A. Kayser. 2011. Analysis of trace metals (Cu, Cd, Pb, and Fe) in seawater using single batch nitrilotriacetate resin extraction and isotope dilution inductively coupled plasma mass spectrometry. ***Analytica Chimica Acta*** 686(1-2):93–101.

Linsinger T.P.J. and A. Botha. 2019. Principles for the characterisation and the value assignment of the candidate reference material in the new ISO Guide 35:2017. ***Accreditation and Quality Assurance*** 24:157–161.

Lum, T., and S. L. Kelvin. 2016. Strategies to overcome spectral interference in ICP-MS detection. ***Journal of analytical atomic spectrometry*** 31:1078-1088.

Milton, M. J. T. and T. J. Quinn. 2001. Primary methods for the measurement of amount of substance. ***Metrologia*** 38(4):289–296.

Olivares, I. R. B., G. B. Souza, A. R. A. Nogueira, G. T. K. Toledo and D. C. Marcki. 2018. Trends in developments of certified reference materials for chemical analysis - Focus on food, water, soil, and sediment matrices. ***TrAC Trends in Analytical Chemistry*** 100:53–64.

Quevauviller, P. 2019. Quality Assurance | Reference Materials. ***Encyclopedia of Analytical Science (Third Edition)***:514-518.

Santana Santos, A., L. Oliveira dos Santos, J. B. Pereira Junior, F. M. de Oliveira and S. L. C. Ferreira. 2020. Development of reference material from powdered milk: uncertainties and interlaboratory evaluation through confidence ellipses. ***Microchemical Journal*** 159:105330.

Thomas, W. M., and R. H. Wiedmeyer. 1998. A Table of Polyatomic Interferences in ICP-MS. ***Atomic spectroscopy*** 19(5):150-155.

Vicentim, M. P., T. M. Monteiro, R. R. R. de Almeida, A. D. A. Soares, J. M. Rodrigues and E. C. P. do Rego. 2019. Isotope dilution gas chromatography - mass spectrometry for the development of certified reference material of ethyl carbamate in hydroalcoholic matrix. ***Microchemical Journal*** 147:497–506.

# เปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์เคมี และปุ๋ยหินฟอสเฟตด้วยวิธีโดยตรงและวิธีโดยอ้อม

# Comparison analysis of available phosphorus in chemical fertilizers organic fertilizers and Rock Phosphates by Direct extraction and Indirect method

*เจนจิรา เทเวศร์วรกุล* *ศุภากร ดวนใหญ่* *จริยา วงศ์ตรี*
*Janejira Teweswarakul* *Supakorn Duanyai* *Jariya Wongtree*

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

## ABSTRACT

Comparison of available phosphorus (%$AVP_2O_5$) in low (0-1%) medium (1-2%) high (>2%) %$CIP_2O_5$ in chemical fertilizers, chemical organic fertilizers as bone meal low (0-1%) medium (1-2%) high (>2%) and rock phosphates low (<20%) medium (20%) high (>20%) between Direct extraction method (AOAC 993.31) and 2 methods of Indirect Extraction Method (%$TP_2O_5$-%$CIP_2O_5$) were 1.10.01 and AOAC 963.03 found that %$AVP_2O_5$ (1.10.01) and %$AVP_2O_5$ (AOAC 963.03) were similary. In Chemical organic fertilizers: AOAC 963.03 < 1.10.01 < AOAC 993.31 %$AVP_2O_5$(1.10.01) and %$AVP_2O_5$(AOAC 963.03) were significantly. %$AVP_2O_5$(AOAC 963.03) were similary to %$AVP_2O_5$(AOAC 993.31) In Phosphate Rock: %$AVP_2O_5$(1.10.01) and %$AVP_2O_5$(AOAC 963.03) were similary. %$AVP_2O_5$(AOAC 993.31) were significantly both ($P<0.05$). Classified on 4 level % Relative $AVP_2O_5$ and kind of phosphate fertilizer : Chemical fertilizer (%Relative AVP 80-100%) Chemical Organic fertilizer (%Relative AVP 80-100%) Chemical Organic fertilizer (%Relative AVP 40-60%) that were high correlated with %AVP (1.10.01,AOAC 963.03) and %TP (>90%) as %AVP (AOAC 993.31) were correlated 77 84 and 91% Phosphate Rock (%Relative AVP 10.44-17.41%), were not corrleted with %AVP from all and %TP (20,17 and 11%) Study on Sample preparation P-fraction amount of P and critiria of availability found that AOAC 963.03 was suitable for analysis of P in All P fertilizers. %$AVP_2O_5$ (1.10.01) and %$AVP_2O_5$ (AOAC 963.03) were high correlated more than 90% in Chemical and Chemical Organic Fertilizers (%Relative $AVP_2O_5$ 80-100), more than 80% in Rock Phosphate (%Relative $AVP_2O_5$ 10.44-17.41) and more than 70 % in Chemical Organic fertilizer (%Relative $AVP_2O_5$ 40-60). %$AVP_2O_5$ (AOAC 963.03) and %$AVP_2O_5$ (AOAC 993.31) were high correlated more than 80% in Rock Phosphate (%Relative $AVP_2O_5$ 10.44-17.41) and Chemical Organic fertilizer (%Relative $AVP_2O_5$ 40-60), more than 70% in Chemical Fertilizer (%Relative $AVP_2O_5$ 80-100) and more than 60% in Chemical Organic fertilizer (%Relative $AVP_2O_5$ 40-60).

**Keyword :** available phosphorus(%$AVP_2O_5$) 1.10.01 method AOAC 963.03 AOAC 993.31

## บทคัดย่อ

จากการเปรียบเทียบปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (%$AVP_2O_5$) ในปุ๋ยเคมี ที่มี %$CIP_2O_5$ ระดับต่ำ (0-1%) กลาง (1-2%) และสูง (>2%) ปุ๋ยอินทรีย์เคมีที่มี %$CIP_2O_5$ ระดับต่ำ (0-1%) กลาง (1-2%) และสูง (>2%) ปุ๋ยหินฟอสเฟตที่มี %$CIP_2O_5$ ระดับต่ำ (<20%) กลาง (20%) และสูง (>20%) ด้วยวิธีสกัดโดยตรง (AOAC 993.31) และวิธีโดยอ้อม ได้จากผลต่างของปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด (%$TP_2O_5$) กับปริมาณฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมซิเตรท (%$CIP_2O_5$) 2 วิธี คือ วิธี 1.10.01 และวิธี AOAC 963.03 พบว่า %$AVP_2O_5$ ในปุ๋ยเคมีที่มี %$CIP_2O_5$ ต่ำ (0-1%) กลาง (1-2%) และสูง (>2%) ที่วิเคราะห์โดยวิธี 1.10.01 และ AOAC 963.03 ไม่แตกต่างกัน ในขณะที่ วิเคราะห์ด้วยวิธี AOAC 993.31 นั้นให้ %$AVP_2O_5$ ในระดับที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) %$AVP_2O_5$ในปุ๋ยอินทรีย์เคมี AOAC 963.03 < 1.10.01 < AOAC 993.31 พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ของวิธี 1.10.01 และ AOAC 963.03 แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างวิธี AOAC 963.03 และ AOAC 993.31 %$AVP_2O_5$ ในปุ๋ยหินฟอสเฟตที่วิเคราะห์โดย1.10.01 และ AOAC 963.03 นั้นไม่แตกต่างกัน ในขณะที่ วิธีทั้ง 2 นั้น ให้ความแตกต่างกันกับ AOAC 993.31 อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ศึกษา % Relative $AVP_2O_5$ ของตัวอย่างทั้งหมด สามารถจำแนกตัวอย่างได้เป็น 4 กลุ่มคือ ปุ๋ยเคมี (%Relative $AVP_2O_5$ 80-100%) ปุ๋ยอินทรีย์เคมี (%Relative $AVP_2O_5$ 80-100%) ปุ๋ยอินทรีย์เคมี (%Relative $AVP_2O_5$ 40-60%) ให้สหสัมพันธ์ระหว่าง %$AVP_2O_5$ และ %TP ในวิธี 1.10.01 และ AOAC 963.03 มากกว่าร้อยละ 90 ขณะที่ 993.31 ให้สหสัมพันธ์ร้อยละ 77 84 และ 91 ตามลำดับ และปุ๋ยหินฟอสเฟต ให้สหสัมพันธ์ระหว่าง %$AVP_2O_5$ และ %TP ในวิธี 1.10.01 AOAC 963.03 และ AOAC 993.31 เพียงร้อยละ 20 17 และ 11 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาระยะเวลาการเตรียมตัวอย่าง รูปและปริมาณฟอสฟอรัสที่วิเคราะห์ได้ รวมทั้งการผ่านเกณฑ์ความเป็นประโยชน์ พบว่า วิธี AOAC 963.03 มีความเหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์เคมีและปุ๋ยหินฟอสเฟต พบสหสัมพันธ์ระหว่าง %$AVP_2O_5$ (1.10.01) และ %$AVP_2O_5$ (AOAC 963.03) มากกว่าร้อยละ 90 ในปุ๋ยเคมีและอินทรีย์เคมีที่มี %Relative $AVP_2O_5$ 80-100% มากกว่าร้อยละ 80 ในปุ๋ยหินฟอสเฟต ที่มี %Relative $AVP_2O_5$ 10.44-17.41% และ มากกว่าร้อยละ 70 ในปุ๋ยอินทรีย์เคมีที่มี %Relative $AVP_2O_5$ 40-60% พบสหสัมพันธ์ระหว่าง %$AVP_2O_5$ (AOAC 963.03) และ %$AVP_2O_5$ (AOAC 993.31) มากกว่าร้อยละ 80 ในปุ๋ยหินฟอสเฟต (%Relative $AVP_2O_5$ 10.44-17.41%) และปุ๋ยอินทรีย์เคมี (%Relative $AVP_2O_5$ 40-60%) มากกว่าร้อยละ 70 ในปุ๋ยเคมี (%Relative $AVP_2O_5$ 80-100%) และมากกว่าร้อยละ 60 ในปุ๋ยอินทรีย์เคมี (%Relative AVP 80-100%)

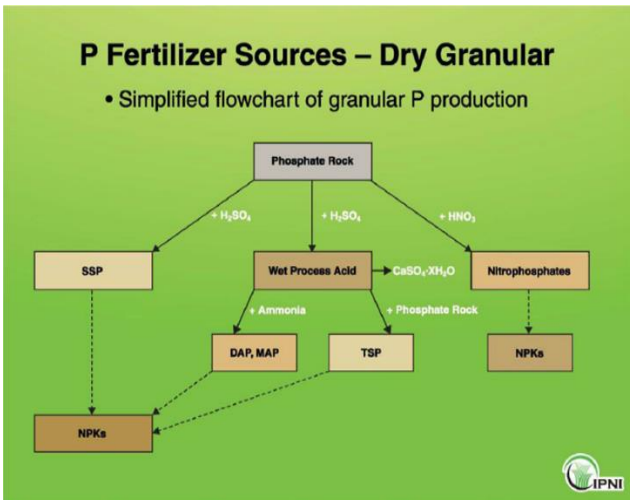


**คำหลัก :** ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ วิธี 1.10.01 วิธี AOAC 963.03 วิธี AOAC 993.31


## คำนำ

ปุ๋ยฟอสฟอรัส (Phosphorus fertilizers) คือ ปุ๋ยที่ให้ธาตุฟอสฟอรัสและธาตุนี้อยู่ในรูปของสารประกอบฟอสเฟตในรูปของแอนไอออนกรดฟอสฟอริกหรือเกลือฟอสเฟตต่างๆ (ยงยุทธ, 2556) รูปของปุ๋ยฟอสฟอรัส แบ่งตามการละลายในสารละลายแอมโมเนียมซิเตรท (Diaz *et al*., 2011) ออกเป็น 3 ชนิด คือ **Water Soluble P (WSP)** : ปุ๋ยที่ประกอบด้วย monocalcium phosphates : $CaH_2PO_4$ (Mulanula and Oggema, 1978) เป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งเป็นรูปของฟอสฟอรัสที่สามารถละลายน้ำได้และพืชนำไปใช้ได้ทันที (Diaz *et al*., 2011) ได้แก่ Single superphosphate (16-18 % $P_2O_5$) ,Double superphosphate (32 % $P_2O_5$), Triple superphosphate (46-48 % $P_2O_5$) **Citrate Soluble P (CSP)** : ปุ๋ยที่ประกอบด้วย dicalciumphosphate : $CaHPO_4$ (Mulanula and Oggema, 1978) เป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งเป็นรูปของฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายน้ำแต่สามารถละลายได้ในสารสกัด เช่น สารละลายแอมโมเนียมซิเตรทที่เป็นกลาง (Diaz *et al.*, 2011) ได้แก่ Basic slag (14-18% $P_2O_5$), Dicalcium phosphate (34-39% $P_2O_5$), Rhenania phosphate (23-26% $P_2O_5$) **Citrate Insoluble P (CIP)** : ปุ๋ยที่ประกอบด้วย Tricalciumphosphate : $Ca_3(PO_4)_2$ (Mulanula and Oggema, 1978) เป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งเป็นรูปของฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายน้ำและในสารละลายแอมโมเนียมซิเตรทที่เป็นกลาง

(Diaz *et al*., 2011) การวิเคราะห์หา CIP มีประโยชน์ในแง่ของการจัดการปุ๋ย ปุ๋ยเคมีและปุ๋ยอินทรีย์เคมีที่มีส่วนผสมระหว่างเคมีและปุ๋ยอินทรีย์ โดยทั่วไปจะพบรูป CIP ปริมาณน้อยมาก มีเพียงปุ๋ยที่สำคัญบางชนิด (Ramauniversity, 2021) ได้แก่ ปุ๋ยหินฟอสเฟต มีลักษณะสำคัญคือ ไม่พบรูปของการละลายน้ำ มี CSP ประมาณ 3% $P_2O_5$ ที่เหลือจะอยู่ในรูปของ CIP ประมาณ 33-36 %$CIP_2O_5$ ปุ๋ยกระดูกที่ยังไม่ผ่านกรรมวิธี (Raw bone meal) โดยเก็บตัวอย่าง ผึ่งให้แห้ง จากนั้นจึงทำการบดและร่อนผ่านตะแกรง ซึ่งให้ไนโตรเจนทั้งหมด 3 % ฟอสฟอรัสทั้งหมด 20% และ %$AVP_2O_5$ ใน 2% citric acid 8% ปุ๋ยกระดูกที่ผ่านกรรมวิธีแล้ว (Steam bone meal) โดยต้มตัวอย่างภายใต้ความดัน มีผลทำให้ไขมันและไนโตรเจนบางส่วนถูกกำจัดออกไป และปริมาณฟอสเฟตในตัวอย่างเพิ่มขึ้น ส่งผลให้มีฟอสฟอรัสทั้งหมด 22% และพบ %$AVP_2O_5$ ใน 2% citric acid ถึง16% ปุ๋ยแอมโมเนียมฟอสเฟต ค่า CIP เกิดขึ้นจากกระบวนการผลิต ในขั้นตอนที่มีการเติมแอมโมเนียลงไปในปฏิกิริยา (Jacob *et al*.,1930) มีผลทำให้เกิดรูป (Al,Fe)$NH_4HF_2PO_4$ (Akiyama and Ando, 1972) ซึ่งไม่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมซิเตรทและสามารถเปลี่ยนรูปเป็น $NH_4H_2PO_4$ มีเสถียรภาพที่อุณหภูมิ 155 °C ปุ๋ยซุปเปอร์ฟอสเฟตบางชนิด ค่า CIP เป็นผลมาจาก Filler ที่เติมลงไป ได้แก่ ปูนขาว หรือ โดโลไมท์ ซึ่งทำให้ความเป็นประโยชน์ของปุ๋ยลดลง (Hignett and Brabson, 1961)




**ภาพที่ 1** การผลิตปุ๋ยฟอสเฟต
*ที่มา : International Plant Nutrition, 2010*

ปุ๋ยฟอสฟอรัสเตรียมโดยใช้หินฟอสเฟตเป็นวัตถุดิบในการผลิต เมื่อมีการเติมกรดซัลฟิวริกเข้าไปจะได้กรดฟอสฟอริกและยิปซัมออกมา นำไปผลิตปุ๋ยแอมโมเนียมฟอสเฟตโดยการเติมแอมโมเนียเข้าไปในกรดฟอสฟอริกที่ได้จะได้ปุ๋ยไดแอมโมเนียมฟอสเฟตและโมโนแอมโมเนียมฟอสเฟต กรดฟอสฟอริคบางส่วนนำไปทำปฏิกิริยากับหินฟอสเฟตได้ปุ๋ยทริปเปิ้ลซุปเปอร์ฟอสเฟต และเมื่อเติมกรดซัลฟิวริกในปริมาณที่มากเกินพอทำให้ได้ปุ๋ยซุปเปอร์ฟอสเฟต (SSP) และการล้างหินฟอสเฟตด้วยกรดไนตริกทำปุ๋ยไนโตรฟอสเฟตซึ่งสามารถที่จะนำมาใช้เป็นแม่ปุ๋ยในการผลิตปุ๋ยเชิงผสม (NPKs) สูตรต่างๆ ต่อไป

ในการเตรียมปุ๋ยเคมีเพื่อให้ได้น้ำหนักครบ 100 กิโลกรัม จำเป็นต้องมีการเติมสารเติมแต่ง (Filler) ปุ๋ยลงไปด้วย ส่งผลต่อรูปความเป็นประโยชน์ของปุ๋ยเคมีโดยเฉพาะฟอสฟอรัส ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีวิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสมเพื่อหาผลกระทบจากการเติมสารดังกล่าว ว่าในปุ๋ยชนิดนั้นๆ จะมีการเติมสารเติมแต่งในปริมาณที่มากเกินไป อาจมีผลทำให้รูปความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสอยู่ในระดับต่ำกว่าเกณฑ์ที่กำหนด เมื่อนำไปผลิตเป็นปุ๋ยสูตรอื่นๆต่อไป อาจมีผลทำให้ปุ๋ยนั้นไม่ได้มาตรฐานตามที่กำหนด เนื่องจากการรายงานความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารฟอสฟอรัสในปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์เคมีและปุ๋ยหินฟอสเฟต ต้องรายงานในรูปของฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ ซึ่งสามารถทำได้ 2 วิธี คือ

**1. การวิเคราะห์โดยอ้อม (Indirect method)** ด้วยวิธี AOAC 960.02 ซึ่งเป็นการหาผลต่างจากปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด (AOAC 957.02) และปริมาณฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมซิเตรท (AOAC 963.03) ซึ่งทางห้องปฏิบัติการได้ประยุกต์หลักการดังกล่าวมาใช้งานพร้อมทั้งปรับลดขั้นตอนการล้างในส่วนของ ฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำออก (1.10.01)

**2. การวิเคราะห์โดยตรง (Direct Extraction Method)** ด้วยวิธี AOAC 993.31 ซึ่งเป็นการหาปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ได้โดยการสกัดเอารูปของฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ออกมาด้วยสารละลายแอมโมเนียมซิเตรทที่มีส่วนผสมของอีดีทีเอเข้าไป เพื่อให้การละลายฟอสฟอรัสเกิดได้มากขึ้นในปุ๋ยที่มีรูปของแคลเซียมไตรฟอสเฟตสูง เช่น ปุ๋ยกระดูกและปุ๋ยหินฟอสเฟต โดยวิธีทั้งสองนี้ถูกกำหนดไว้ในวิธีมาตรฐานการวิเคราะห์ปุ๋ยของ AOAC (AOAC, 2016) มีความยากง่ายในการเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ที่แตกต่างกัน โดยการวิเคราะห์โดยอ้อมนั้นต้องวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดและปริมาณฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมซิเตรท มีขั้นตอนการย่อยตะกอนด้วยกรดเข้มข้น ขณะที่วิธีการวิเคราะห์โดยตรง (AOAC 993.31) นั้นสามารถทำสกัดหาปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในตัวอย่างปุ๋ยได้โดยไม่ต้องผ่านขั้นตอนการย่อย จึงเป็นไปได้ว่าหากวิธีทั้งสองให้ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์เคมีและหินฟอสเฟตไม่แตกต่างกัน สามารถที่จะพัฒนาวิธีวิเคราะห์ไปเป็นการสกัดปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ได้โดยตรง โดยไม่ต้องผ่านขั้นตอนการย่อยตะกอนด้วยกรดเข้มข้น แต่ทั้งนี้ยังไม่พบหลักฐานการเปรียบเทียบปริมาณฟอสอรัสที่เป็นประโยชน์จากการวิเคราะห์โดยตรงและโดยอ้อมในปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์เคมีและปุ๋ยหินฟอสเฟต การศึกษาสหสัมพันธ์ของวิธีการวิเคราะห์ ทั้งนี้เพื่อให้ได้มาซึ่งวิธีวิเคราะห์ที่ถูกต้อง แม่นยำ และเหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์เคมีและปุ๋ยหินฟอสเฟต เป็นการยกระดับห้องปฏิบัติการทั้งภาครัฐและเอกชนให้เป็นมาตรฐานสากลต่อไป

## วิธีดำเนินการ

1. **เตรียมวัสดุอุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์ ได้แก่** เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง, เครื่อง Hot plate, เครื่อง UV-Visible spectrophotometer, Suction pump, Shaker water bath, เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆที่ใช้ในการวิเคราะห์
2. **เตรียมสารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ ได้แก่** Ammonium hydroxide 28 - 29% $NH_3$($NH_4OH$), Ammonium metavanadate($NH_4VO_3$), Ammonium molybdate[$(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$], Citric acid ($C_6H_8O_7 . H_2O$), Nitric acid 69 - 70% ($HNO_3$), Perchloric acid 69 - 72% ($HClO_4$), Potassium dihydrogen phosphate ($KH_2PO_4$) AR grade ทั้งหมด
3. **เตรียมตัวอย่างปุ๋ย** โดยมีกรรมวิธีทดลอง : แผนการทดลองเป็นแบบ CRD 3 ซ้ำมีขั้นตอนการศึกษา ดังนี้
   3.1 เตรียมตัวอย่างปุ๋ยเคมี โดยใช้ระดับ %CIP$_2O_5$ เป็นเกณฑ์ ดังนี้ ปุ๋ยเคมีที่มี %CIP$_2O_5$ ที่ระดับต่ำ 0-1% กลาง 1-2 % สูง > 2.0%
   3.2 เตรียมตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมี โดยใช้ระดับ %CIP$_2O_5$ เป็นเกณฑ์ ดังนี้ ปุ๋ยอินทรีย์เคมีที่มี %CIP$_2O_5$ ที่ระดับต่ำ 0-1% กลาง 1-2 % สูง > 2%
   3.3 เตรียมตัวอย่างปุ๋ยหินฟอสเฟต โดยใช้ระดับ %CIP$_2O_5$ เป็นเกณฑ์ ดังนี้ ปุ๋ยหินฟอสเฟตที่มี %CIP$_2O_5$ ที่ระดับต่ำ <20 % กลาง 20 % สูง >20 %
4. **เปรียบเทียบ %AVP$_2O_5$** ในปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์เคมีและปุ๋ยหินฟอสเฟตที่มี %CIP ต่ำ กลางและสูง จาก 3 วิธีวิเคราะห์ คือ
   4.1 **Indirect Extraction Method** : วิธีมาตรฐาน AOAC 963.03
   4.2 **Indirect Extraction Method** : วิธีประการศกระทรวงฯ (1.10.01)
   4.3 **Direct Extraction Method** : วิธีมาตรฐาน AOAC 993.31
5. **ทำการวิเคราะห์ทางเคมี** หา %TP, %CIP$_2O_5$ โดยวิธี 4.1, 4.2 และ %AVP$_2O_5$ โดยวิธีในข้อ 4.3 โดยวิธี Spectrophotometric Molybdovanadophosphate Method (960.03D) เพื่อคำนวนหาปริมาณ Available P บันทึกข้อมูล
6. **เปรียบเทียบปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์จากทั้ง 3 วิธี** ด้วยโปรแกรมทางสถิติ อภิปรายและสรุปผล

**ระยะเวลา** เริ่มต้น เดือน ตุลาคม 2562 สิ้นสุด เดือน กันยายน 2564

**สถานที่ทำการทดลอง**

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

## ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการศึกษาพบว่าปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในปุ๋ยเคมี (% Available Phosphorus : %$AVP_2O_5$)

**ตารางที่ 1** %$AVP_2O_5$ at Low %$CIP_2O_5$ (0-1%) Medium %$CIP_2O_5$ (1-2%) and High %$CIP_2O_5$ (>2%) in Chemical Fertilizers by 3 method

| Lab No. | Formulas | %$AVP_2O_5$ | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Indirect Method | | Direct Method |
| | | 1.10.01 | AOAC 963.03 | AOAC 993.31 |
| **Chemical Fertilizers : Low %$CIP_2O_5$ (0-1%)** | | | | |
| 63I 923 | 29-9-9 | 9.7 | 9.6 | 9.9 |
| 62I 1342 | 13-13-21 | 9.6 | 12.7 | 10.5 |
| 63I 173 | 12-12-17 | 11.7 | 11.5 | 7.4 |
| 63I 80 | 16-20-0 | 19.9 | 19.7 | 11.5 |
| 62I 1460 | 16-20-0 | 20.6 | 20.6 | 19 |
| 62I 2493 | 16-20-0 | 20.8 | 20.7 | 18.9 |
| 62I 1869 | 20-20-0 | 19.6 | 19.5 | 17.4 |
| 63I 212 | 0-42-0 | 44.5 | 44.8 | 17.3 |
| 62I 2524 | 17-45-0 | 46.7 | 46.2 | 44.4 |
| 63I 342 | 17-45-0 | 46.9 | 46.6 | 18.7 |
| 63I 343 | 17-45-0 | 45.9 | 45.4 | 18.8 |
| 63I 729 | 18-46-0 | 45.6 | 45.7 | 18.8 |
| 62I 2330 | 18-46-0 | 47.0 | 47.0 | 45 |
| **Chemical Fertilizers : Medium %$CIP_2O_5$ (1-2%)** | | | | |
| 63I 203 | 12-6-17 | 9.8 | 10.4 | 6.9 |
| 62I 2235 | 19-9-0 | 10.5 | 10.1 | 7.1 |
| 62I 2377 | 15-15-15 | 15.6 | 16.3 | 14.3 |
| 63I 309 | 15-15-15 | 16.9 | 17.0 | 9.9 |
| 63I 464 | 15-15-15 | 17.0 | 16.5 | 9.5 |
| 62I 2381 | 16-16-16 | 16.0 | 15.6 | 11.1 |
| **Chemical Fertilizers : Medium %$CIP_2O_5$ (1-2%)** | | | | |
| 63I 307 | 16-16-16 | 16.8 | 16.9 | 9.8 |
| 62I 212 | 16-18-0 | 19.1 | 18.5 | 17.3 |
| 63I 68 | 16-20-0 | 18.8 | 18.5 | 11.7 |
| 63I 780 | 16-20-0 | 18.6 | 18.2 | 9.9 |
| 63I 416 | 16-20-0 | 19.3 | 19.4 | 10.9 |
| 63R 1461 | 0-20-0 | 19.1 | 19.0 | 6.1 |
| 63R 1469 | 0-20-0 | 19.1 | 19.0 | 15.9 |

| Lab No. | Formulas | %$AVP_2O_5$ | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Indirect Method | | Direct Method |
| | | 1.10.01 | AOAC 963.03 | AOAC 993.31 |
| 64I 1086 | 12-22-6 | 22.7 | 22.9 | 4.8 |
| 63I 304 | 8-24-24 | 22.8 | 23.0 | 13.5 |
| 62I 2291 | 8-24-24 | 23.6 | 22.8 | 21.0 |
| 62I 795 | 0-42-0 | 44.2 | 43.5 | 44.8 |
| 63I 381 | 11-44-0 | 43.8 | 45.0 | 18.5 |
| 63I 382 | 10-45-0 | 44.6 | 46.0 | 19.1 |
| 62I 1980 | 10-45-0 | 45.4 | 45.3 | 45.3 |
| Chemical Fertilizers : High %$CIP_2O_5$ (>2%) | | | | |
| 63I 9 | 16-5-9 | 4.8 | 4.9 | 3.4 |
| 62I 1534 | 8-24-24 | 23.0 | 23.0 | 21.5 |
| 62I 2054 | 10-40-0 | 47.1 | 46.4 | 50.8 |
| 62I 1303 | 11-44-0 | 47.4 | 45.6 | 44.4 |
| 62I 1363 | 11-44-0 | 50.1 | 46.1 | 45.0 |
| 63I 886 | 10-45-0 | 38.5 | 41.3 | 16.5 |
| 62I 991 | 10-45-0 | 40.5 | 38.3 | 36.6 |
| 62I 1495 | 0-46-0 | 45.1 | 43.0 | 59.9 |
| 62I 2278 | 0-46-0 | 44.2 | 44.1 | 42.6 |

จากตารางที่ 1 %$AVP_2O_5$ ที่วิเคราะห์โดยวิธี 1.10.01 และ AOAC 963.03 ไม่แตกต่างกัน ในขณะที่วิเคราะห์ด้วยวิธี AOAC 993.31 นั้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ซึ่งไม่สอดคล้องกับความเป็นประโยชน์ตามสูตรที่ระบุไว้

**ตารางที่ 2** %$AVP_2O_5$ at Low %$CIP_2O_5$ (0-1%) Medium %$CIP_2O_5$ (1-2%) and High %$CIP_2O_5$ (>2%) in Organic Chemical Fertilizers by 3 method

| Lab No. | Formulas | %$AVP_2O_5$ | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Indirect Method | | Direct Method |
| | | 1.10.01 | AOAC 963.03 | AOAC 993.31 |
| 64R 1238 | 3-3-9 | 5.9 | 6.1 | 1.7 |
| 64R 976 | 6-3-3 | 3.0 | 3.1 | 0.9 |
| 64R 1094 | 6-3-3 | 4.6 | 4.6 | 1.5 |
| 64R 1236 | 6-3-10 | 5.8 | 6.1 | 1.7 |
| 64R 1095 | 7-3-10 | 5.3 | 5.3 | 1.2 |
| 64R 1093 | 9-3-9 | 4.3 | 4.2 | 1.4 |
| 64R 1237 | 10-3-3 | 5.4 | 5.6 | 1.6 |
| 64R 989 | 4-4-4 | 6.3 | 6.6 | 1.9 |
| 58I 765 | 6-6-0 | 9.8 | 7.5 | 9.9 |
| 58I 892 | 6-6-0 | 9.6 | 7.3 | 10.6 |
| 58I 961 | 6-6-0 | 8.8 | 8.4 | 11.6 |
| 58I 2538 | 6-7-0 | 6.5 | 5.9 | 5.7 |
| 58I 2604 | 6-7-0 | 6.7 | 6.9 | 6.9 |
| 58I 2606 | 6-7-0 | 7.1 | 7.4 | 7.1 |

| Lab No. | Formulas | %$AVP_2O_5$ | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Indirect Method | | Direct Method |
| | | 1.10.01 | AOAC 963.03 | AOAC 993.31 |
| 58I 2534 | 6-7-0 | 6.5 | 6.1 | 4.8 |
| 58I 2485 | 6-7-0 | 6.2 | 7.1 | 5.3 |
| 58I 209 | 8-4-0 | 5.4 | 5.3 | 2.6 |
| 58I 955 | 8-4-0 | 7.1 | 7.2 | 6.8 |
| 58I 308 | 8-4-0 | 5.8 | 5.3 | 3.4 |
| 58I 226 | 8-4-0 | 6.3 | 6.6 | 5.7 |
| 58I 315 | 8-4-0 | 5.5 | 5.2 | 5.7 |
| 58I 367 | 8-5-0 | 7.6 | 6.7 | 9.3 |
| 58I 368 | 8-5-0 | 7.4 | 6.5 | 10.3 |
| 58I 1139 | 8-5-0 | 7.8 | 6.8 | 7.5 |
| 58I 1796 | 8-5-0 | 7.7 | 6.8 | 9.4 |
| 58I 1458 | 8-5-0 | 8.0 | 7.0 | 6.3 |

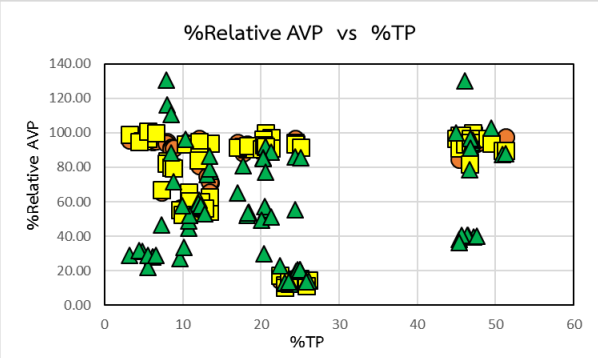
จากตารางที่ 2 พบว่าปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (%$AVP_2O_5$) ในปุ๋ยอินทรีย์เคมีที่วิเคราะห์โดยวิธีทั้ง 3 นั้น เป็นดังนี้ AOAC 963.03 < 1.10.01 < AOAC 993.31 พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ของวิธี 1.10.01 และ AOAC 963.03 แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างวิธี AOAC 963.03 และ AOAC 993.31

**ตารางที่ 3** %$AVP_2O_5$ at Low %$CIP_2O_5$ (0-1%) Medium %$CIP_2O_5$ (1-2%) and High %$CIP_2O_5$ (>2%) in Rock Phosphate Fertilizers by 3 method

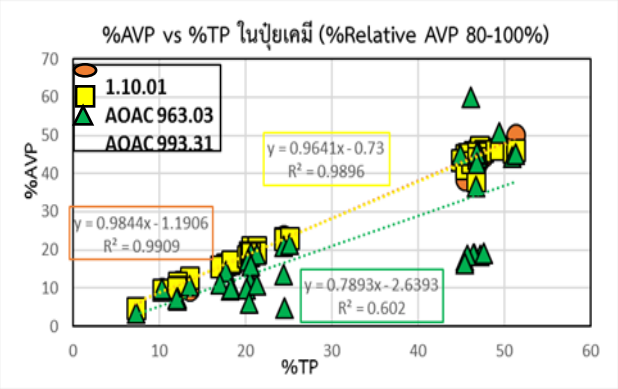
| Lab No. | Formulas | %$AVP_2O_5$ | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Indirect Method | | Direct Method |
| | | 1.10.01 | AOAC 963.03 | AOAC 993.31 |
| 63I 394 | 0-3-0 | 3.7 | 3.7 | 5.1 |
| 63I 395 | 0-3-0 | 3.6 | 3.8 | 5.1 |
| 63I 396 | 0-3-0 | 3.2 | 3.9 | 5.1 |
| 63I 600 | 0-3-0 | 3.3 | 3.9 | 5.1 |
| 64I 451 | 0-3-0 | 3.1 | 3.2 | 3.7 |
| 64I 452 | 0-3-0 | 3.4 | 3.8 | 3.7 |
| 64I 545 | 0-3-0 | 2.9 | 3.0 | 2.9 |
| 64I 706 | 0-3-0 | 2.9 | 2.9 | 3.5 |
| 64I 1045 | 0-3-0 | 2.7 | 2.7 | 2.9 |
| 64I 1805 | 0-3-0 | 3.2 | 3.0 | 3.2 |
| 64I 1806 | 0-3-0 | 3.3 | 3.3 | 3.2 |

จากตารางที่ 3 จะเห็นได้ว่าปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (%$AVP_2O_5$) ที่วิเคราะห์โดย 1.10.01 และ AOAC 963.03 นั้นไม่แตกต่างกัน ในขณะที่ วิธีทั้ง 2 นั้น ให้ความแตกต่างกันกับ AOAC 993.31 อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ทั้งนี้เนื่องจาก AOAC 993.31 ถูกพัฒนาขึ้นโดยการเพิ่ม EDTA เข้าไปในสารละลายแอมโมเนียมซิเตรทเพื่อให้เกิดสารเชิงซ้อนกับแคลเซียมในองค์ประกอบของปุ๋ยหินฟอสเฟตและปุ๋ยอินทรีย์เคมีที่เป็นพวกปุ๋ยกระดูก ส่งผลให้เกิดการละลายของฟอสเฟตในตัวอย่างปุ๋ยเกิดมากขึ้น มีผลทำให้ความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสในตัวอย่างปุ๋ยเพิ่มมากขึ้น (Newlon, 2003) และให้ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (%$AVP_2O_5$) สูงกว่าวิธี AOAC 963.03 อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่

สารละลายแอมโมเนียมซิเตรทอีดีทีเอ สามารถละลายเหล็กและอะลูมินัมที่อยู่ภายในหินฟอสเฟตซึ่งเป็นวัตถุดิบในการผลิตปุ๋ยเคมีแอมโมเนียมฟอสเฟต เช่น 16-20-0 หรือ 10-45-0 ได้เพียงบางส่วน โดยสารประกอบแอมโมเนียมเหล็กและอะลูมินัมฟอสเฟต สามารถเปลี่ยนรูปเป็นแอมโมเนียมฟอสเฟตได้อย่างมีเสถียรภาพที่อุณหภูมิ 155 °C (Akiyama and Ando, 1972) เกิดขึ้นในขั้นตอนการเติมแอมโมเนียในกระบวนการ Wet Process (Jacob *et al*.,1930) จึงทำให้ %$AVP_2O_5$ ที่วิเคราะห์ได้จาก AOAC 993.31 ในตัวอย่างปุ๋ยดังกล่าวต่ำกว่าวิธีอื่นและไม่เป็นไปตามเกณฑ์ความเป็นประโยชน์ที่กำหนด เห็นได้จาก %$AVP_2O_5$ ที่ลดลงครึ่งหนึ่งแม้สูตรเดียวกัน ดังแสดงในตารางที่ 1




**ภาพที่ 2** แสดง%Relative $AVP_2O_5$ และ %TP โดยวิธี 1.10.01 AOAC 963.03 และ AOAC 993.31




**ภาพที่ 3** %Relative $AVP_2O_5$ และ %TP ในตัวอย่างปุ๋ยเคมี (%Relative $AVP_2O_5$ 80-100%)

จากการศึกษาความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสในตัวอย่างปุ๋ยทั้ง 3 ชนิด สามารถนำมาวิเคราะห์หา % Relative $AVP_2O_5$ ได้โดยหาจากอัตราส่วน %$AVP_2O_5$/%TP x 100 จากนั้นนำมาพล็อตกราฟกับ %TP ดังภาพที่ 2 สามารถจัดกลุ่มตาม %Relative $AVP_2O_5$ ได้ ดังนี้

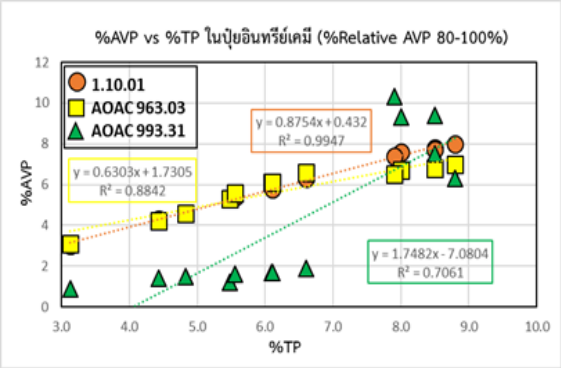
**กลุ่มที่ 1 ปุ๋ยเคมี(% Relative $AVP_2O_5$ 80-100%)** โดยมี %TP อยู่ในช่วง 7.30-51.30% ให้สหสัมพันธ์เป็นดังนี้ 1.10.01=960.03>993.31 โดยสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์และ slope แสดงในตารางที่ 4

จากภาพที่ 3 พบสหสัมพันธ์ระหว่าง %TP และ %$AVP_2O_5$ ในปุ๋ยเคมีที่มี %Relative $AVP_2O_5$ 80-100% เป็นดังนี้ 1.10.01 = 963.03 ซึ่งให้สหสัมพันธ์ที่สูงมาก และไม่พบความแตกต่างของ % Relative $AVP_2O_5$ ที่ได้จากวิธีทั้งสอง (P>0.05) ในขณะที่ 993.31 นั้นให้สหสัมพันธ์และค่าวิเคราะห์ที่ต่ำกว่าทั้งนี้เนื่องจากวิธีนี้ถูกพัฒนาขึ้นโดยเพิ่ม EDTA เข้าไปในสารละลายแอมโมเนียมซิเตรทเพื่อให้ เกิดสารเชิงซ้อนกับแคลเซียมในตัวอย่าง (AOAC, 2016) ทำให้

สารประกอบแคลเซียมฟอสเฟตในตัวอย่างปุ๋ยสามารถปลดปล่อยฟอสฟอรัสออกมาได้มากขึ้นเหมาะสำหรับการวิเคราะห์ปุ๋ยที่มีแคลเซียมฟอสเฟตเป็นองค์ประกอบหลัก เช่นปุ๋ยหินฟอสเฟตและปุ๋ยอินทรีย์เคมีพวกปุ๋ยกระดูกที่มีเศษซากกระดูกสัตว์ซึ่งเป็นรูปของไตรแคลเซียมที่ละลายน้ำได้เป็นองค์ประกอบ ทั้งนี้จะเห็นได้จาก %$AVP_2O_5$ ที่เพิ่มขึ้นของปุ๋ยหินฟอสเฟตและปุ๋ยอินทรีย์เคมี

**กลุ่มที่ 2 ปุ๋ยอินทรีย์เคมี** จำแนกตาม %Relative $AVP_2O_5$ ออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

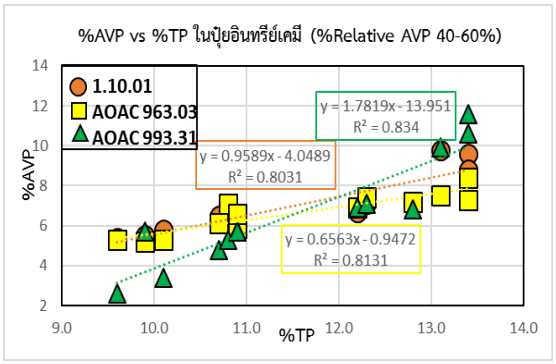
**2.1 ปุ๋ยอินทรีย์เคมี (% Relative $AVP_2O_5$ 80-100%)** มี %TP อยู่ในช่วง 3.13-8.80% ให้สหสัมพันธ์เป็นดังนี้ 1.10.01 > AOAC 960.03 > AOAC 993.31 โดยสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์และ slope แสดงในตารางที่ 4




**ภาพที่ 4** %Relative $AVP_2O_5$ และ %TP ในตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมี (%Relative $AVP_2O_5$ 80-100%)

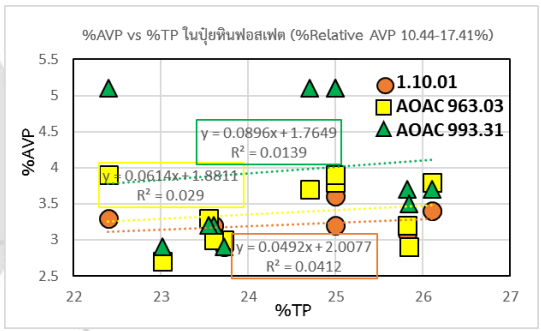
จากภาพแสดงให้เห็นว่า %$AVP_2O_5$ ที่ได้จาก 1.10.01 นั้นใกล้เคียงกับ AOAC 963.03 ในขณะที่ AOAC 993.31 นั้นให้ต่ำกว่า ทั้งนี้เนื่องจากตัวอย่างที่มี %TP 3-7% ไม่มีแคลเซียมฟอสเฟตเป็นองค์ประกอบหลัก เป็นเพียงปุ๋ยเคมีที่มีส่วนผสมของปุ๋ยอินทรีย์ ทำให้ %$AVP_2O_5$ ที่ได้ต่ำ ในขณะที่ตัวอย่างที่มี %TP อยู่ระหว่าง 8-9 % เป็นตัวอย่างของปุ๋ยอินทรีย์เคมีที่มีเศษซากกระดูกสัตว์เป็นองค์ประกอบ ซึ่งเป็นรูปของแคลเซียมไตรฟอสเฟตที่ละลายน้ำได้ จึงทำให้แคลเซียมในรูปดังกล่าวสามารถปลดปล่อยฟอสฟอรัสออกมาได้ ทำให้ค่าที่ได้สูงกว่าวิธีอื่น

**2.2 ปุ๋ยอินทรีย์เคมี (%Relative $AVP_2O_5$ 40-60%)** มี %TP อยู่ในช่วง 9.60-13.40% ให้สหสัมพันธ์เป็นดังนี้ 1.10.01>993.31>963.03 โดยสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์และ slope แสดงในตารางที่ 4




**ภาพที่ 5** %Relative $AVP_2O_5$ และ %TP ในตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เคมี (%Relative $AVP_2O_5$ 40-60%)

จากภาพแสดงให้เห็นว่า %$AVP_2O_5$ ที่ได้จาก 1.10.01 นั้นให้ปริมาณ $AVP_2O_5$ ที่ใกล้เคียงกับ AOAC 963.03 ในขณะที่ AOAC 993.31 นั้นให้ %$AVP_2O_5$ ในตัวอย่างที่มี %TP อยู่ระหว่าง 10-14 % ใกล้เคียงกับวิธีทั้งสองที่กล่าวมา ซึ่งเป็นตัวอย่างของปุ๋ยอินทรีย์เคมีที่มีองค์ประกอบเป็นพวก แคลเซียมไตรฟอสเฟตที่ละลายน้ำได้ พบได้ในเศษซากกระดูกสัตว์จึงมีผลทำให้แคลเซียมในรูปดังกล่าวสามารถปลดปล่อยฟอสฟอรัสออกมาได้ ทำให้ค่าที่ได้สูงกว่าวิธีอื่น




**ภาพที่ 6** % $AVP_2O_5$ ที่ได้จาก 1.10.01, AOAC 963.03, AOAC 993.31 และ %TP ในตัวอย่างปุ๋ยหินฟอสเฟต (%Relative $AVP_2O_5$ 10.44-17.41)

**กลุ่มที่ 3 ปุ๋ยหินฟอสเฟต** (%Relative $AVP_2O_5$ 10.39-17.41%) ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ที่วิเคราะห์ได้จาก AOAC 963.03 อยู่ในช่วง 2.39-3.70 ในขณะที่ %TP อยู่ในช่วงระหว่าง 22.4-26.1 จึงไม่พบสหสัมพันธ์ระหว่าง %TP และ %$AVP_2O_5$ ดังภาพที่ 6

จากนั้นทำการศึกษาเปรียบเทียบเปรียบเทียบขั้นตอน ระยะเวลา รูปและปริมาณฟอสฟอรัสที่วิเคราะห์ และความสอดคล้องเกณฑ์ความเป็นประโยชน์ ดังตารางที่ 6

**ตารางที่ 4** %TP,%$AVP_2O_5$, %AVP/%TP and Slope by 1.10.01, AOAC 963.03 and AOAC 993.31 Method

| P Fertilizers | Chemical Fertilizers | | | Organic Chemical Fertilizers | | | | | | Rock Phosphates | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| %Relative AVP | 80-100% | | | 80-100% | | | 40-60% | | | 10.3-17.41% | | |
| %TP | (7.30-51.30) | | | (3.13-8.80) | | | (9.60-13.40) | | | (22.4-26.1) | | |
| Method | 1.10.01 | 963.03 | 993.31 | 1.10.01 | 963.03 | 993.31 | 1.10.01 | 963.03 | 993.31 | 1.10.01 | 963.03 | 993.31 |
| %$AVP_2O_5$ | 4.80-50.10 | 4.90-47.00 | 3.40-59.90 | 3.00-8.00 | 3.10-7.00 | 0.90-10.30 | 5.40-9.80 | 5.20-8.40 | 2.60-11.60 | 2.69-3.70 | 2.39-3.90 | 2.90-5.10 |
| %$AVP_2O_5$/%TP | 0.65-1.00 | 0.67-1.00 | 0.19-1.29 | 0.91-0.97 | 0.80-1.00 | 0.22-0.13 | 0.55-0.75 | 0.52-0.66 | 0.27-0.87 | 0.11-0.15 | 0.10-0.17 | 0.12-0.23 |
| R | 0.99 | 0.99 | 0.77 | 0.99 | 0.94 | 0.84 | 0.90 | 0.90 | 0.91 | 0.20 | 0.17 | 0.11 |
| Slope | 0.98 | 0.96 | 0.79 | 0.88 | 0.63 | 1.75 | 0.96 | 0.66 | 1.78 | 0.05 | 0.06 | 0.09 |

**ตารางที่ 5** Comparison %$AVP_2O_5$ by 1.10.01, AOAC 963.03, AOAC 993.31 method

| %$AVP_2O_5$/%TP | %$AVP_2O_5$ 1.10.01 AOAC 963.03 | %$AVP_2O_5$ 1.10.01 AOAC 993.31 | %$AVP_2O_5$ AOAC 963.03 AOAC 993.31 |
|---|---|---|---|
| Chemical Fertilizers (%Relative $AVP_2O_5$ 80-100%) | *ns* | ** | ** |
| Organic Chemical P Fertilizers (%Relative $AVP_2O_5$ 80-100%) | *ns* | * | * |
| Organic Chemical P Fertilizers (%Relative $AVP_2O_5$ 40-60%) | ** | *ns* | * |
| Rock Phosphate (%Relative $AVP_2O_5$ 3-30%) | *ns* | ** | ** |

**ตารางที่ 6** Comparison of differential between 1.10.01 AOAC 963.03 and 993.31 method

| ขั้นตอน | 1.10.01 | AOAC 963.03 | AOAC 993.31 |
|---|---|---|---|
| การเตรียมตัวอย่าง | | | |
| การกรองเอารูปของฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำออก | ไม่มีการกรองเอารูปของฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายน้ำออก | กรองเอารูปของฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายน้ำออก | - |
| การสกัด | สารละลายแอมโมเนียมซิเตรท pH 7.0 | สารละลายแอมโมเนียมซิเตรท pH 7.0 | สารละลายแอมโมเนียมซิเตรท pH 7.0- EDTA |
| การเขย่า | | 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง | |
| การกรอง | กรองธรรมดา | กรองสุญญากาศ | ไม่กรอง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นปรับปริมาตร |
| ระยะเวลาที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่าง(ไม่รวมการเขย่า)ก่อนนำไปย่อยตะกอน | | | |
| ปุ๋ยเคมี | 15-45 นาทีต่อตัวอย่าง | 15-30 นาที | 2 ชั่วโมง |
| ปุ๋ยอินทรีย์เคมี | >4 ชั่วโมง | 15 นาที | 2 ชั่วโมง |
| ปุ๋ยหินฟอสเฟต | >4 ชั่วโมง | 45 นาที | 2 ชั่วโมง |
| การย่อยตะกอน | ตะกอนขาวหรือสารละลายใส ปริมาตร 4 มิลลิลิตรหรือระยะเวลาประมาณ 45 นาที | ตะกอนขาวหรือสารละลายใส ปริมาตร 4 มิลลิลิตรหรือระยะเวลาประมาณ 45 นาที | - |

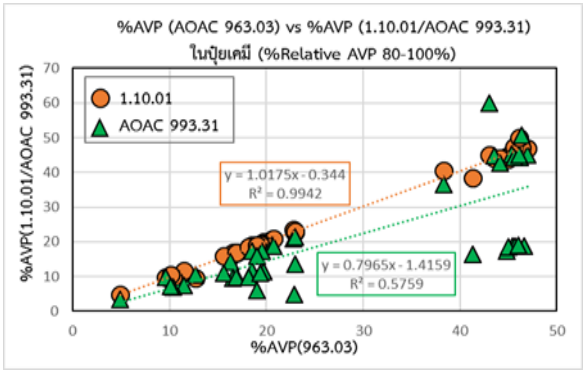
| ขั้นตอน | 1.10.01 | AOAC 963.03 | AOAC 993.31 |
|---|---|---|---|
| ระยะเวลาที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่าง(กรอง + เขย่า + ย่อย)เพื่อนำไปวัด | | | |
| ปุ๋ยเคมี | 2 ชั่วโมง 30 นาที | 2 ชั่วโมง 15 นาที | 2 ชั่วโมง |
| ปุ๋ยอินทรีย์เคมี | 5 ชั่วโมง 45 นาทีหรือมากกว่า | 2 ชั่วโมง | 2 ชั่วโมง |
| ปุ๋ยหินฟอสเฟต | 5 ชั่วโมง 45 นาทีหรือมากกว่า | 2 ชั่วโมง 30 นาที | 2 ชั่วโมง |
| ปริมาณฟอสฟอรัสที่วิเคราะห์ได้จากวิธี (%) | | | |
| ฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำ (WSP) | - | วิเคราะห์ได้ตาม 977.01 (AOAC, 2016) | - |
| ฟอสฟอรัสที่ในสารละลายแอมโมเนียมซิเตรท (CSP) | | วิเคราะห์ได้ตาม AOAC 960.01 (AOAC, 2016) | - |
| ฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมซิเตรท (CIP) | วิเคราะห์ได้ตามประกาศกระทรวงฯ | วิเคราะห์ได้ตาม AOAC 963.03 (AOAC, 2016) | - |
| ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (AVP2O5) | TP - CIP | TP - CIP | วิเคราะห์ได้ตาม AOAC 993.31 (AOAC, 2016) |
| การผ่านเกณฑ์ความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสในรูป %$P_2O_5$ (%) | | | |
| ปุ๋ยเคมี(%Relative AVP$_2O_5$ 80-100%) | 71.42 | 66.67 | 21.42 |
| ปุ๋ยอินทรีย์เคมี (%Relative AVP$_2O_5$ 80-100%) | 100.00 | 100.00 | 38.46 |
| ปุ๋ยอินทรีย์เคมี (%Relative AVP$_2O_5$ 40-60%) | 61.54 | 69.23 | 46.15 |
| ปุ๋ยหินฟอสเฟต (%Relative AVP$_2O_5$ 10.44 -17.41%) | 100 | 100 | 100 |

จากการเปรียบเทียบระยะเวลาการเตรียมตัวอย่าง รูปและปริมาณฟอสฟอรัสที่วิเคราะห์ได้ รวมทั้งการผ่านเกณฑ์ความเป็นประโยชน์ในตารางที่ 6 พบว่าวิธี AOAC 963.03 นั้นมีความเหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในปุ๋ยเคมี อินทรีย์เคมี และหินฟอสเฟต เนื่องจากสามารถวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสรูปต่างๆได้ไม่ว่าจะเป็น ฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำ ฟอสฟอรัสที่ละลายและไม่ละลายในสารละลายแอมโมเนียมซิเตรท ในการทดสอบเพียงครั้งเดียว ทั้งยังใช้เวลาในการเตรียมตัวอย่างน้อยที่สุด ให้ความถูกต้องและผ่านเกณฑ์ความเป็นประโยชน์ได้เท่ากับวิธี 1.10.01 ในขณะที่วิธี AOAC 993.31 นั้นมีความเหมาะสมเฉพาะปุ๋ยหินฟอสเฟตและปุ๋ยอินทรีย์เคมีที่เป็นพวกปุ๋ยกระดูก แต่ไม่สามารถละลายสารประกอบเหล็กและอะลูมินัมฟอสเฟตในหินฟอสเฟตที่เป็นวัตถุดิบในการผลิตปุ๋ยแอมโมเนียมฟอสเฟตเช่น 16-20-0 หรือ 10-45-0 ได้ทั้งหมด จึงทำให้ %AVP$_2O_5$ ต่ำและไม่เป็นไปตามเกณฑ์ความเป็นประโยชน์ที่กำหนด

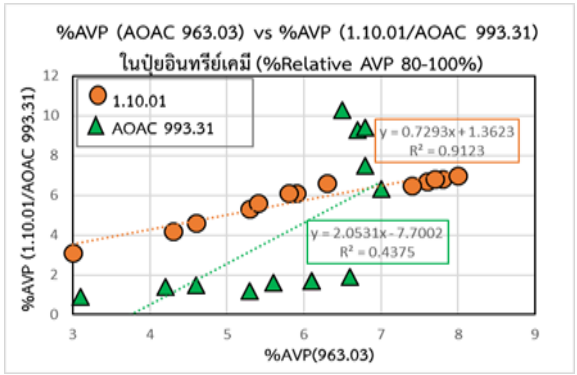
**ตารางที่ 7** Classification of Phosphorus fraction by AOAC 963.03 in Chemical, Organic Chemical and Rock Phosphate Fertilizers

| P Fertilizers | Chemical Fertilizers | Organic Chemical Fertilizers | | Rock Phosphates |
|---|---|---|---|---|
| | (%Relative $AVP_2O_5$ 80-100%) | (%Relative $AVP_2O_5$ 80-100%) | (%Relative $AVP_2O_5$ 40-60%) | (%Relative $AVP_2O_5$ 10-18%) |
| Water Soluble P (%) | 0.3-35 | 5.0-10.0 | | 0-0.1 |
| Citrate Soluble P (%) | 0.5-10.0 | 4.0-8.0 | | 5 |
| Citrate Insoluble P (%) | 0-2 | 2 | | 18-21 |
| Available P (%) | 1-45 | 9-18 | | 5 |

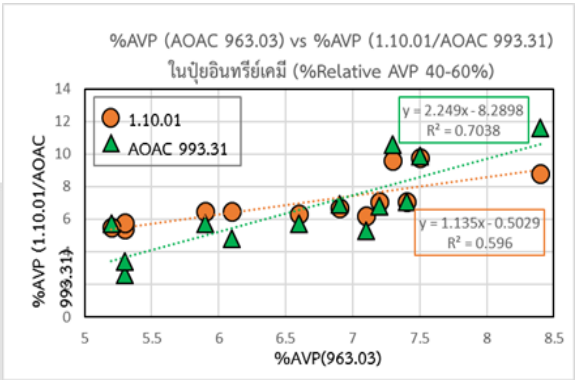
จากนั้นทำการศึกษา %Recovery ของวิธี 1.10.01 และ วิธี AOAC 993.31 โดยเทียบกับ %$AVP_2O_5$ ที่วิเคราะห์ AOAC 963.03 และ %Recovery ที่ผ่านเกณฑ์ 98-102 รวมถึงศึกษาสหสัมพันธ์ระหว่าง %Recovery ของวิธีทั้งสองได้ ซึ่งได้ความสัมพันธ์ดังภาพที่ และได้ R และ Slope ดังแสดงในตารางที่ 9



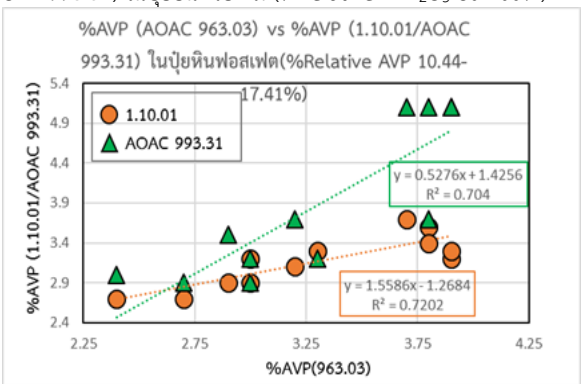

**ภาพที่ 7** %$AVP_2O_5$ (AOAC 963.03) %$AVP_2O_5$ (1.10.01) และ %$AVP_2O_5$ (AOAC 993.31) ในปุ๋ยเคมี (%Relative $AVP_2O_5$ 80-100%)




**ภาพที่ 8** %$AVP_2O_5$ (AOAC 963.03) %$AVP_2O_5$ (1.10.01) และ %$AVP_2O_5$ (AOAC 993.31) ในปุ๋ยอินทรีย์เคมี (%Relative $AVP_2O_5$ 80-100%)




**ภาพที่ 9** %$AVP_2O_5$ (AOAC 963.03) %AVP2O5 (1.10.01) และ %$AVP_2O_5$ (AOAC 993.31) ในปุ๋ยอินทรีย์เคมี (%Relative $AVP_2O_5$ 40-60%)




**ภาพที่ 10** %$AVP_2O_5$ (AOAC 963.03) %$AVP_2O_5$ (1.10.01) และ %$AVP_2O_5$ (AOAC 993.31)ในหินฟอสเฟต (%Relative $AVP_2O_5$ 10.44-17.41%)

**ตารางที่ 8** %Recovery, % Recovery passed criteria 98-102 and Correlation between %$AVP_2O_5$ (963.03),%$AVP_2O_5$ (1.10.01) and %$AVP_2O_5$ (993.31)

| P Fertilizers | Chemical Fertilizers | | Organic Chemical Fertilizers | | | | Rock Phosphates | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| %$AVP_2O_5$/%TP | 80-100 | | 80-100 | | 40-60 | | 10.3-17.41% | |
| %TP | (7.30-51.30) | | (3.13-8.80) | | (9.60-13.40) | | (22.4-26.1) | |
| Method | 1.10.01 | 993.31 | 1.10.01 | 993.31 | 1.10.01 | 993.31 | 1.10.01 | 993.31 |
| %Recovery | 75.59-108.68 | 20.96-139.30 | 95.08-114.71 | 22.64-158.46 | 87.32-121.88 | 49.06-145.21 | 88.89-121.88 | 96.67-137.84 |
| %Recovery 98-102 | 59.52 | 0.0 | 46.15 | 0 | 53.85 | 7.69 | 33.33 | 0 |
| R | 0.99 | 0.76 | 0.96 | 0.66 | 0.77 | 0.84 | 0.84 | 0.84 |
| Slope | 1.02 | 0.80 | 0.73 | 2.05 | 1.13 | 2.25 | 1.56 | 0.53 |
| Urea | 28.95 (11) | | 76.92 (10) | | 100 (13) | | - | |
| Ammonia | 47.37 (18) | | 23.08 (3) | | - | | - | |
| Ammonium Sulphate | 5.26 (2) | | 15.38 (2) | | 23.08 (3) | | - | |
| Ammonium Carbonate | 13.16 (5.0) | | - | | - | | - | |
| Ammonium Nitrate | 2.63 (1.00) | | - | | - | | - | |
| By product/ bone meal/ organic fertilizers | - | | 53.85 (7) | | 100 (13) | | - | |
| DAP | 5.62 (2) | | 46.15 (6) | | 38.46 (5) | | - | |
| MAP | 28.95 (11) | | 38.46 (5) | | 30.77 (4) | | - | |
| Phosphoric acid | 26.32 (10) | | 15.38 (2) | | 23.08 (3) | | - | |
| Phosphate Rock | 31.58 (12) | | - | | - | | 100 (20) | |
| SSP | 2.63 (1) | | - | | - | | - | |
| DSP | 5.26 (1) | | - | | - | | - | |
| TSP | 5.26 (1) | | - | | - | | - | |
| Monopotassium phosphate | - | | 15.38 (2) | | - | | - | |
| Tetrapotassium phosphate | - | | 15.38 (2) | | - | | - | |
| KCl | 21.50 (8) | | 46.15 (6) | | - | | - | |

| P Fertilizers | Chemical Fertilizers | | Organic Chemical Fertilizers | | | | Rock Phosphates | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| %AVP$_2$O$_5$/%TP | 80-100 | | 80-100 | | 40-60 | | 10.3-17.41% | |
| %TP | (7.30-51.30) | | (3.13-8.80) | | (9.60-13.40) | | (22.4-26.1) | |
| Method | 1.10.01 | 993.31 | 1.10.01 | 993.31 | 1.10.01 | 993.31 | 1.10.01 | 993.31 |
| $K_2SO_4$ | 10.53 (4) | | - | | - | | - | |
| KOH | 2.63 (1) | | - | | - | | - | |
| $H_2SO_4$ | 36.84 (14) | | - | | - | | - | |
| $HNO_3$ | 2.63 (1) | | - | | - | | - | |
| MnO | 5.26 (2.0) | | - | | - | | - | |
| $MgSO_4$ | 2.63 (1) | | - | | - | | - | |
| Clay mineral | 5.26 (2) | | - | | - | | - | |
| Filler | 13.16 (5) | | 30.77 (4) | | - | | - | |

**(1,2,..) = จำนวนตัวอย่าง**

%Recovery ของปุ๋ยเคมี (%Relative AVP$_2$O$_5$ 80-100%) ที่ได้จาก 1.10.01 เทียบกับ AOAC 963.03 อยู่ในช่วง 75.59 – 108.68 ผ่านเกณฑ์ %Recovery 98-102 ถึงร้อยละ 59.52 ในขณะที่ AOAC 993.31 %Recovery อยู่ในช่วง 20.96-139.30 ซึ่งมีทั้งช่วงสูงและต่ำ สำหรับช่วง %Recovery ต่ำ เมื่อพิจารณาองค์ประกอบของตัวอย่างที่นำมาศึกษาพบว่าในตัวอย่างประกอบด้วย แอมโมเนีย DAP MAP Phosphoric Acid Phosphate Rock เป็นหลัก ซึ่งทำให้เกิดสารประกอบแอมโมเนียมเหล็กอะลูมินัมฟอสเฟตที่สารละลายแอมโมเนียมซิเตรท อีดีทีเอไม่สามารถสกัดออกมาได้ %Recovery ที่ได้จึงต่ำลง ขณะที่ในบางตัวอย่างจะมีสารประกอบซุปเปอร์ฟอสเฟตเป็นองค์ประกอบ ไม่ว่าจะเป็นดับเบิ้ลซุปเปอร์ฟอสเฟตหรือ ทริปเปิลซุปเปอร์ฟอสเฟต ซึ่งการละลายจะเข้าหลักการของ AOAC 993.31 จึงทำให้ %Recovery ของ AOAC 993.31 อยู่ในช่วงสูง มีผลทำให้ผ่านเกณฑ์ 98-102 เพียงร้อยละ 1.95

%Recovery ของปุ๋ยอินทรีย์เคมี (%Relative AVP$_2$O$_5$ 80-100%) ที่ได้จาก 1.10.01 เทียบกับ AOAC 963.03 อยู่ในช่วง 95.08 – 114.71 ผ่านเกณฑ์ %Recovery 98-102 ถึงร้อยละ 46.15 ในขณะที่ AOAC 993.31 %Recovery อยู่ในช่วง 22.64-158.46 ซึ่งไม่ผ่านเกณฑ์ %Recovery 98-102 %Recovery ของปุ๋ยอินทรีย์เคมี (%Relative AVP$_2$O$_5$ 40-60%) ที่ได้จาก 1.10.01 เทียบกับ AOAC 963.03 อยู่ในช่วง 87.32 – 131.51 ผ่านเกณฑ์ %Recovery 98-102 ถึงร้อยละ 53.85 ในขณะที่ AOAC 993.31 อยู่ในช่วง 49.06-145.21 เมื่อพิจารณาองค์ประกอบของตัวอย่างที่นำมาศึกษาพบว่าในตัวอย่างประกอบด้วย เศษซากสัตว์ (By Product by sloughter house) เช่นกระดูกสัตว์ ซึ่งมีรูปของไตรแคลเซียมฟอสเฟตที่ละลายน้ำได้อยู่ จึงสามารถละลายได้มากขึ้นเมื่อเทียบกับปุ๋ยหินฟอสเฟต ในขณะที่ AOAC 993.31 นั้นมี EDTA เข้ามาช่วยทำให้การละลายเกิดได้มากขึ้น จึงทำให้%Recovery ของ AOAC 993.31 สูงและผ่านเกณฑ์การยอมรับที่ %Recovery 98-102 เพียงร้อยละ 7.69

%Recovery ของปุ๋ยหินฟอสเฟต (%Relative AVP$_2$O$_5$ 10.44-17.41%) ที่ได้จากวิธี 1.10.01 เทียบกับ AOAC 963.03 อยู่ในช่วง 29.41-112.50 ผ่านเกณฑ์ %Recovery 98-102 ถึงร้อยละ 33.33 ในขณะที่ AOAC 993.31 นั้นให้ %Recovery อยู่ในช่วง 96.67-137.84 ซึ่งไม่ผ่านเกณฑ์ %Recovery 98-102 เมื่อพิจารณาองค์ประกอบของปุ๋ยพบว่าประกอบด้วยหินฟอสเฟตทั้งหมด ดังนั้นการละลายของหินฟอสเฟตในวิธีทั้งสองมีความแตกต่าง %Recovery ที่ได้นั้นจึง

แตกต่างกัน โดยเฉพาะในวิธี AOAC 993.31 จะให้ %Recovery ในทางที่สูงมาก ทั้งนี้เนื่องจาก EDTA ในสารละลายแอมโมเนียมซิเตรทสามารถเกิดสารเชิงซ้อนกับแคลเซียมในตัวอย่าง (AOAC, 2016) มีผลทำให้ฟอสเฟตละลายออกมาได้มากขึ้นเมื่อเทียบกับสารละลายแอมโมเนียมซิเตรทที่เป็นกลาง มีผลทำให้ %AV$P_2O_5$ สูงและผ่านเกณฑ์ความเป็นประโยชน์ทั้งหมด

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

วิธี 1.10.01 และ AOAC 963.03 มีความเหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในปุ๋ยทุกชนิดไม่ว่าจะเป็นปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์เคมีและปุ๋ยหินฟอสเฟต ในขณะที่วิธี AOAC 993.31 เหมาะสำหรับปุ๋ยที่มีแคลเซียมฟอสเฟตเป็นองค์ประกอบหลัก เช่น ปุ๋ยหินฟอสเฟต หรือปุ๋ยที่มีเศษซากสัตว์เป็นองค์ประกอบ แต่เมื่อพิจารณาถึงระยะเวลาการเตรียมตัวอย่าง รูปและปริมาณฟอสฟอรัสที่วิเคราะห์ได้ รวมทั้งการผ่านเกณฑ์ความเป็นประโยชน์พบว่าวิธี AOAC 963.03 มีความเหมาะสมมากที่สุด

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ได้วิธีวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในปุ๋ยเคมี ปุ๋ยหินฟอสเฟต และปุ๋ยอินทรีย์เคมีที่เหมาะสมถูกต้อง รวมทั้งได้แนวทางการปรับปรุงวิธีการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการให้มีความถูกต้อง แม่นยำมากยิ่งขึ้นและเป็นมาตรฐานระดับสากล ขณะที่สหสัมพันธ์ที่ได้จากการวิธีการสกัดโดยตรง AOAC 993.31 และ AOAC สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการทำชุดตรวจสอบฟอสฟอรัสในปุ๋ยเคมีต่อไป

## เอกสารอ้างอิง


ยงยุทธ โอสถสภา. 2556. ธาตุอาหารพืช. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 50 พหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กทม.

AOAC. 2016. Official Methods of Analysis of AOAC International. 20th ed. AOAC International, Maryland, USA.

Dorivar A. Ruiz Diaz, David B. Mengel and Kent L. Martin. 2011. **Phosphorus Facts, soil, plant and fertilizers**. Department of Agronomy. Kansas State University Agricultural Experiment Station and Cooperative Extension Service.

H.H.A. Mulanula and M.W.Oggema, 1978. The Comparative Effect of Water Soluble Phosphorus and Citrate Soluble Phosphorus on Yield and Plant Characters of Wheat in Kenya. **East African Agricultural and Forestry journal**, Vol.43, Issue 3, 179-184.

International Plant Nutrition Institue. 2010. Phosphorus Fertilizer Production and Technology. **International Plant Nutrition Institue.** 3500 Parkway Lane. Suite 550 Norcross. Georgia USA.

K.D.Jacob, W.L.Hill, W.H. Ross and L.F.Rader.Jr, 1930. Composition of Citrate-Insoluble Residues from Superphosphates and Ammoniated Superphosphates. **Ind.Eng.Chem.**1930,22,12,1385-1392.

N. F. Newlon. 2003. Comparison of the Ammonium Oxalate Extraction of Fertilizer for $K_2O$, Method 983.02, with the Ammonium Citrate/EDTA Extraction, Method 993.31. **Journal of Association of Official Analytical Chemists**. Volume 86. No.4.

Ramauniversity, 2021. Lecture 8: Classification, Composition, Synthesis and Properties Straight Phosphatic Fertilizer. Retrived 24 Februaty 2021, from https://www.Ramauniversity.ac.th

T. Akiyama and J. Ando, 1972. Constituents and Properties of Ammoniated Slurry From Wet-process Phosphoric Acid**. Bulletin of The Chemical Society of Japan.** Vol.45, 2195-2920.

T.P.Hignett and J.A.Brabson. 1961. Phosphate Solubility, Evaluation of Water-Insoluble Phosphorus in Fertilizers by Extraction with Alkaline Ammonium Citrate Solutions. **J.Agric.Food Chem**. 9, 4. 272-276.

# พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด และหาค่าคงที่เพื่อประเมินความเค็มของน้ำทางการเกษตร

# Development and Method Validation of Total Dissolve Solid and Constance factor (K) to determine the Salinity of Agricultural Water

*จิตติรัตน์ ชูชาติ* *สงกรานต์ มะลิสอน* *พจมาลย์ ภู่สาร* *ญาณธิชา จิตต์สะอาด*
*สุภา โพธิจันทร์* *กัณฐณา คล้ายแก้ว*

*Jittirat Choochat* *Songkrant Malisorn* *Pojjamarn Poosarn* *Yarnticha Jittsa-aad*
*Supha Photichan* *Kanthana Klaigaew*

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

## ABSTRACT

Development and method validation of total dissolve solid in agricultural water found that analysis methods was also validated consisting 30-7,230 mg/l, the Limit of Detection (LOD) was 16.45 mg/l and Limit of Quantitation (LOQ) was 30.0 mg/l. The CRM analysis to prove concentrations (47, 692, 7230 mg/l) %Recovery were 98.48, 95.48 and 99.5 respectively. HorRat (r) were 0.27, 0.36 and 0.42 respectively. The results of analysis showed that the (AOAC) acceptance criteria (%Recovery in the range from 80 –110% and HorRat (r) <1.3). Therefore, this method is effective and suitable for use in the analysis of boron in soil. That is routine work and needs fast, accurate analysis results.

The water samples were taken 344 samples. Water quality parameters, which obtained pH, EC, TDS, Ca, Mg, Na, K, $CO_3^{2-}$, $HCO_3^-$, $Cl^-$ and $SO_4^{2-}$. The results considered, the pH values ranged from 3.9 – 8.4. The EC values of the water samples varied from 30 – 30,900 µS/cm at 25 °C. TDS values varied from 13-21,758 mg/l. Calcium ($Ca^{2+}$) varied from 0.05 – 17.77 me/l. Magnesium ($Mg^{2+}$) varied from 0.03 – 66.88 me/l. Sodium ($Na^+$) varied from 0.00 - 256.55 me/l. Potassium ($K^+$) varied from 0.01 – 8.29 me/l. Carbonate ($CO_3^{2-}$) varied from 0.00 – 6.00 me/l. Bicarbonate ($HCO_3^-$) varied from 0.00 – 7.70 me/l. Chloride ($Cl^-$) varied from 0.00 – 306.60 me/l. Sulphate ($SO_4^{2-}$) varied from 0.00 – 34.47 me/l. These results make research in revealing TDS/EC ratios interesting to do. By finding the ratio value, TDS concentration can be measured from EC, which are used to describe salinity level. These two parameters are correlated and usually expressed by a simple equation : TDS = K x EC. The process of obtaining TDS = 0.60 x EC, can be written as Ratio TDS/EC (K) = 0.60 ($R^2$ = 0.99). Indicates that the correlation of both parameters is strongly influenced by the EC values. Even so, all the findings are in agreement with the conclusion in which the obtained variation of TDS/EC ratio for natural water, Irrigation water and water slightly affected by seawater can be. The type of water is generally sodium, calcium, magnesium type or calcium, sodium, chloride and sulfate. In line with this, it has been found that the most correlated major ions, especially to TDS are Na, K, Mg, $Cl^-$ and $SO_4^2$.

**Keywords :** Method validation, Total Dissolve Solid, Constance factor: TDS/EC Ratio (K)

## บทคัดย่อ

การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด โดยมีขอบข่ายของวิธีวิเคราะห์อยู่ในช่วง 30 – 7,230 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลการทดสอบอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ โดยมีค่า Limit of Detection (LOD) เท่ากับ 16.45 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Limit of Quantitation (LOQ) เท่ากับ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการวิเคราะห์ CRM ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง มาคำนวณ %Recovery เพื่อความถูกต้อง (Trueness) และค่า HorRat (r) เพื่อพิสูจน์ความเที่ยง ได้ผลการทดลองดังนี้ ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และระดับความเข้มข้นสูง มี % Recovery เท่ากับ 98.48, 95.48 และ 99.51 ตามลำดับ ค่า HorRat (Horwitz'Ratio) ของการวิเคราะห์ซ้ำแบบต่างเวลากัน (Intermediate) เท่ากับ 0.27, 0.42 และ 0.36 ตามลำดับ ตามลำดับ ผ่านเกณฑ์การยอมรับตาม AOAC ทั้งหมด โดย %Recovery อยู่ในช่วง 80 – 110 และ HorRat (r) <1.3 ดังนั้นวิธีวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมดในน้ำ จึงมีประสิทธิภาพ และเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการตรวจ ที่ทำเป็นงานประจำและต้องการผลการวิเคราะห์ที่รวดเร็ว ถูกต้อง แม่นยำ

นำวิธีวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด (Total Dissolve Solid; TDS) มาใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำทางการเกษตร จำนวน 344 ตัวอย่าง พร้อมทั้งวิเคราะห์ pH, EC, TDS, Ca, Mg, Na, K, $CO_3^{2-}$, $HCO_3^-$, $Cl^-$ และ $SO_4^{2-}$ พบว่า ตัวอย่างน้ำทางการเกษตร มีค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) มีค่าตั้งแต่ 3.9 – 8.4 ค่าการนำไฟฟ้า (EC) มีค่าตั้งแต่ 30 – 30,900 ไมโครซีเมนส์ต่อเซนติเมตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด (TDS) มีค่าตั้งแต่ 13-21,758 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณแคลเซียม (Ca) มีค่าตั้งแต่ 0.05 – 17.77 มิลลิอิควิวาเลนท์ต่อลิตร ปริมาณแมกนีเซียม (Mg) มีค่าตั้งแต่ 0.03 – 66.88 มิลลิอิควิวาเลนท์ต่อลิตร ปริมาณโซเดียม (Na) มีค่าตั้งแต่ ไม่พบ – 256.55 มิลลิอิควิวาเลนท์ต่อลิตร ปริมาณโพแทสเซียม (K) มีค่าตั้งแต่ 0.01 – 8.29 มิลลิอิควิวาเลนท์ต่อลิตร ปริมาณคาร์บอเนต ($CO_3^{2-}$) มีค่าตั้งแต่ ไม่พบ – 6.00 มิลลิอิควิวาเลนท์ต่อลิตร ปริมาณไบคาร์บอเนต ($HCO_3^-$) มีค่าตั้งแต่ ไม่พบ – 7.70 มิลลิอิควิวาเลนท์ต่อลิตร ปริมาณคลอไรด์ ($Cl^-$) มีค่าตั้งแต่ ไม่พบ – 306.60 มิลลิอิควิวาเลนท์ต่อลิตร และมีปริมาณเกลือซัลเฟต ($SO_4^{2-}$) มีค่าตั้งแต่ ไม่พบ – 34.47 มิลลิอิควิวาเลนท์ต่อลิตร ตามลำดับ หาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายในน้ำกับค่าการนำไฟฟ้า และประมาณค่าคงที่ K หรือค่า Ratio TDS/EC (K) ของน้ำทางการเกษตรคือ 0.60 ($R^2$ = 0.99) หรือสามารถเขียนเป็นสมการได้ เท่ากับ TDS = 0.60 x EC และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมดตัวอย่างน้ำทางการเกษตรของประเทศไทย มีความสัมพันธ์กับค่าการนำไฟฟ้า และเกลือที่ละลายน้ำได้ในรูปของ $Na^+$, $K^+$ $Mg^{2+}$, $Cl^-$, และ $SO_4^{2-}$ ซึ่งทำให้สามารถคำนวณ ค่าคงที่ Ratio TDS/EC (K) = 0.60 ($R^2$ = 0.99) ซึ่งเป็นค่าคงที่ของน้ำธรรมชาติทั่วไป น้ำชลประทาน และน้ำที่ได้รับผลกระทบเล็กน้อยจากน้ำทะเล มาใช้ในทางการเกษตร



**คำสำคัญ:** การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด และหาค่าคงที่ประเมินความเค็ม


## คำนำ

การวิเคราะห์ความเค็มของน้ำ สามารถทำได้โดยการวัดปริมาณผลรวมของความเข้มข้นของไอออนทั้งหมดที่ละลายในน้ำ (Total dissolve ions) ซึ่งไม่ใช่แต่เฉพาะไอออนของโซเดียมคลอไรด์เท่านั้น แต่หมายรวมถึงไอออนอื่นๆ ที่ละลายน้ำได้ โดยแสดงผลออกมาเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร แต่ถ้าหากในน้ำปริมาณของไอออนละลายสูงจะแสดงผลเป็นกรัมต่อลิตร ความเค็มของน้ำที่มีค่าแตกต่างกันไปแล้วแต่สถานที่ โดยมีข้อกำหนดค่าความเค็มของน้ำ สำหรับการเพาะปลูกทางการเกษตร ไม่มากกว่า 2 กรัมต่อลิตร Scanlon *et al*. (2007) ได้ศึกษาความเค็มของแหล่งน้ำทางการเกษตร พบว่าเกิดจากเกลือที่ปนอยู่ในน้ำ หรือมาจากน้ำใต้ดินเค็มที่อยู่ตื้นใกล้ผิวดิน ทำให้เกิดเกลือสะสมในดินบริเวณรากพืช เมื่อมีปริมาณมากขึ้นทำให้พืชไม่สามารถดึงน้ำจากดินได้ตามปกติ เมื่อน้ำที่จะนำไปใช้ได้ลดลง พืชก็จะมีอัตราการเจริญเติบโตลดลง มีอาการคล้ายพืชขาดน้ำ เช่น เหี่ยว และแห้งตายในที่สุด ปัญหาดินเค็มเกิดขึ้นเมื่อเกลือที่ละลายน้ำได้และเคลื่อนย้ายไปกับน้ำ ซึ่งขึ้นกับปริมาณและชนิดของเกลือในน้ำ ยิ่งมีเกลือในน้ำที่ใช้ในการชลประทานมากก็จะยิ่งเสี่ยงต่อการเกิดปัญหาน้ำเค็มมากขึ้น การวิเคราะห์ปริมาณเกลือที่ละลายน้ำทำได้โดยการวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด

(Total Dissolve Solid; TDS) วิธีนี้หากนำมาใช้จำเป็นต้องมีการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ ซึ่งค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด มีผลทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อการการเพาะปลูก และมีอิทธิพลต่อแหล่งน้ำอย่างสำคัญ เป็นดัชนีบ่งชี้คุณภาพทางเคมีและความสมดุลของเกลือในน้ำ และส่งผลต่อค่าการนำไฟฟ้าที่มีความเกี่ยวข้องกับความเค็มของน้ำ Thirumalini and Joseph (2009) พบว่า ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายในน้ำจะเป็นสัดส่วนและปฏิภาคโดยตรงกับการนำไฟฟ้าของน้ำ เป็นคุณลักษณะหรือดัชนีคุณภาพน้ำที่สำคัญชนิดหนึ่ง โดยจะบ่งบอกถึงความสามารถของน้ำในการนำกระแสไฟฟ้า ซึ่งมีค่ามากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น ความเข้มข้นทั้งหมดของสารที่มีประจุที่ละลายอยู่ในน้ำ อุณหภูมิของน้ำขณะทำการตรวจวัด ชนิดของสารที่มีประจุ และความเข้มข้นของสารมีประจุแต่ละชนิด ซึ่งส่วนมากจะเกิดจากสารประกอบเกลือ หรือปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด โดยเกลือที่มักพบบ่อยในน้ำ ได้แก่ เกลือ Na, $Cl^-$, $SO_4^{2-}$, Mg, Ca และ K

Food and Agriculture Organization of the United Nations (1985) ได้แบ่งชั้นคุณภาพของน้ำเพื่อการชลประทาน จากผลของค่าการนำไฟฟ้า และค่าวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด (Total Dissolve Solid; TDS) ในการปลูกพืช พบว่า น้ำที่มีคุณภาพดี มีค่าการนำไฟฟ้าต่ำกว่า 700 ไมโครซีเมนส์ต่อเซนติเมตร หรือมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด (Total Dissolve Solid; TDS) น้อยกว่า 450 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นน้ำชลประทานที่ใช้ได้โดยไม่มีข้อจำกัด หากมีค่ามากกว่านี้จะทำให้น้ำเค็ม ความเค็มทำให้การเจริญเติบโต ผลผลิต และคุณภาพของพืชลดลง เนื่องจากความเครียดออสโมติก (Osmotic stress) และความเป็นพิษของธาตุบางชนิด (Ion toxicity) พืชที่ขึ้นบนพื้นที่ดินเค็มจะต้องใช้พลังงานมากกว่าปกติเพื่อดูดน้ำ และธาตุอาหารมาใช้ในการเจริญเติบโต เกลือในดินทำให้น้ำในดินมีแรงดันออสโมติกเพิ่มขึ้น และความต่างศักย์ของน้ำ (Water potential) ลดลง เซลล์พืชมีอาการขาดน้ำและอาจถึงตายได้ เกลือที่ละลายในน้ำเข้มข้นกว่าในพืช ความเป็นประโยชน์ของน้ำในดินจะลดลง ทำให้พืชไม่สามารถดูดน้ำจากดินได้ พืชแสดงอาการเฉา หรือขอบใบไหม้ ซึ่งเป็นผลจากอิทธิพลร่วมของเกลือ ดังนั้นในการทดลองนี้จึงมุ่งเน้น ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด และศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมดกับค่าการนำไฟฟ้า เพื่อหาค่าคงที่เพื่อประเมินความเค็มของน้ำทางการเกษตร

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง
3. เครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer
4. เครื่อง Hot air oven ที่มีเครื่องควบคุมอุณหภูมิ
5. เครื่อง pH meter
6. เครื่อง EC Meter
7. กระดาษกรองใยแก้ว Glass-fiber filter (Whatman GF/C)
8. กระดาษกรองเบอร์ 5
9. ถ้วยระเหย (Evaporating dishes) ความจุ 250 มิลลิลิตร
10. โถดูดความชื้น (Desiccator)
11. Methyl red indicator
12. สารละลาย Buffer pH 4, 7 และ 10
13. สารละลาย Buffer Conductivity 100 และ 1,413 ไมโครซีเมนส์ต่อเซนติเมตร
14. สารละลายมาตรฐานแคลเซียม แมกนีเซียม โพแทสเซียม โซเดียม และซัลเฟต (Ca, Mg, Na, K และ $SO_4^{2-}$) ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร
15. Nitric acid ($HNO_3$)

16. Standard silver nitrate solution ($AgNO_3$)
17. Potassium chromate ($K_2CrO_4$)
18. Phenolphthalein indicator
19. Sodium hydroxide (NaOH)
20. Sulfuric acid ($H_2SO_4$)
21. วัสดุอ้างอิงรับรอง Standard TDS standard 47 มิลลิกรัมต่อลิตร (Thermo Scientific)
22. วัสดุอ้างอิงรับรอง Standard TDS standard 692 มิลลิกรัมต่อลิตร (Thermo Scientific)
23. วัสดุอ้างอิงรับรอง Standard TDS standard 7,230 มิลลิกรัมต่อลิตร (Thermo Scientific)
24. วัสดุอ้างอิงรับรอง Standard TDS standard 30 มิลลิกรัมต่อลิตร (HACH)
25. เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์ทดสอบ

## วิธีการ

1. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด (Total Dissolve Solid; TDS) ดังนี้
   1.1. พิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) โดยการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Material; CRM) ที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด (TDS) ระดับ ต่ำ กลาง สูง (47, 692 และ 7,230 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ) ดำเนินการทดสอบตามวิธีทดสอบปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด (TDS) ตามวิธี Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, AWWA and WEF, 2017) โดยการกรอง Standard TDS standard 47, 692 และ 7,230 มิลลิกรัมต่อลิตร ผ่านกระดาษกรองใยแก้ว Glass-fiber filter (Whatman GF/C) นำตัวอย่างน้ำที่ผ่านกระดาษกรองใส่ลงในถ้วยระเหยที่ทราบน้ำหนัก ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 180±2 องศาเซลเซียส ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นหลังจากอบแห้ง ถือเป็นปริมาณของแข็งที่ละลายทั้งหมดในตัวอย่าง 100 มิลลิลิตร และคำนวณให้อยู่ในหน่วยมิลลิกรัมต่อลิตร ทำการทดสอบระดับละ 7 ซ้ำ จาก % Recovery และ HorRat < 1.3 ตามมาตรฐานสากล Eurachem และ Official Method of Analysis of AOAC International (AOAC) (Eurachem, 2014; Latimer, 2016)

   - การคำนวณ % Recovery จากสูตร

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

   - การคำนวณ Precision

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

RSD(r) และ PRSD(R) คำนวณจากสูตรดังนี้

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

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

   1.2. หาค่าขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ) โดยวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด (TDS) ปริมาณน้อย (Sample blank) จำนวน 10 ซ้ำ บันทึกข้อมูลคำนวณหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน คำนวณค่า LOD และ LOQ จากสูตร

$$\text{LOD} = 3S0'$$

LOQ = 10S0’

2. สำรวจพื้นที่และเก็บตัวอย่างน้ำตามข้อมูลสภาพแวดล้อมทั่วไป และลักษณะทางการเกษตร จากแหล่งน้ำผิวดินและใต้ดิน แบ่งตามพื้นที่เกษตรกรรม ได้แก่ นาข้าว พืชผักพืชไร่ ไม้ดอกไม้ประดับ และพืชสวน ในบริเวณลุ่มน้ำเจ้าพระยา ลุ่มแม่น้ำท่าจีน ลุ่มแม่น้ำแม่กลอง และลุ่มแม่น้ำบางประกง และตัวอย่างน้ำทางการเกษตรในภูมิภาคต่างๆ พื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือเก็บตัวอย่างน้ำจากจังหวัดนครราชสีมา เพชรบูรณ์ พิษณุโลก และพิจิตร พื้นที่ภาคตะวันตก จังหวัดราชบุรี และกาญจนบุรี พื้นที่ภาคตะวันออกจังหวัดจันทบุรี และพื้นที่ภาคกลางจังหวัดนนทบุรี นครปฐม กรุงเทพมหานคร และสมุทรสงคราม และนครนายก จำนวน 344 ตัวอย่าง

3. วิเคราะห์สมบัติของตัวอย่างน้ำ ได้แก่ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด ความเป็นกรด - ด่าง, ค่าการนำไฟฟ้า, ปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียม โพแทสเซียม โซเดียม และซัลเฟต, ปริมาณคาร์บอเนต ไบคาร์บอเนต และคลอไรด์ ตามวิธี Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, AWWA and WEF, 2017) ดังนี้

3.1. วิเคราะห์ความเป็นกรด – ด่าง โดยใช้ตัวอย่างน้ำที่ไม่ผ่านการกรอง ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร ก่อนทำการวัดตัวอย่างน้ำ Calibrate pH meter โดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน pH 4, 7 และ 10 ที่อุณหภูมิห้อง Slope ต้องมากกว่า 95% วัดค่า pH ของตัวอย่างน้ำ โดยจุ่มอิเล็กโทรดลงในน้ำตัวอย่าง คนตัวอย่างน้ำด้วย Stirrer แล้วบันทึกผล

3.2. วิเคราะห์ค่าการนำไฟฟ้า โดยใช้ตัวอย่างน้ำที่ไม่ผ่านการกรอง ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร ก่อนทำการวัดตัวอย่างน้ำ Calibrate Conductivity meter โดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน Conductivity Standard 100 และ 1413 ไมโครซีเมนส์ต่อเซนติเมตร วัดค่าการนำไฟฟ้าของตัวอย่างน้ำ โดยจุ่มอิเล็กโทรดลงในน้ำตัวอย่าง วัดค่าการนำไฟฟ้า แล้วบันทึกผล

3.3. วิเคราะห์ปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียม โพแทสเซียม โซเดียม และซัลเฟต โดยกรองตัวอย่างน้ำ ด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 5 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติมกรดไนตริกเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer หาความเข้มข้นของตัวอย่างจากกราฟของสัญญาณของเครื่องมือ (Intensity) และสารละลายมาตรฐาน แคลเซียม แมกนีเซียม โพแทสเซียม โซเดียม และซัลเฟต

3.4. วิเคราะห์คาร์บอเนต และไบคาร์บอเนต โดยกรองตัวอย่างน้ำ ด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 5 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร หยด 1% phenolphthalein indicator ลงไป 5 หยด ถ้าตัวอย่างน้ำมีคาร์บอเนตจะเกิดสีชมพู (แต่ถ้าไม่มีคาร์บอเนตจะไม่มีสี) ทำการไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐาน 0.1N $H_2SO_4$ จนกระทั่งสีชมพูหายไป

3.5. วิเคราะห์ไบคาร์บอเนต โดยกรองตัวอย่างน้ำ ด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 5 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร หยด 0.1% methyl red indicator ลงไป 2-3 หยด จะได้สารละลายสีเหลือง ทำการไทเทรตกับสารละลายมาตรฐาน 0.1N $H_2SO_4$ ต่อไป จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีแดงกุหลาบ

3.6. วิเคราะห์คลอไรด์ โดยกรองตัวอย่างน้ำ ด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 5 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร หยดสารละลาย phenolphthalein 4 หยด หากมีสีชมพูแสดงว่า pH > 8 ต้องหยดสารละลาย $H_2SO_4$ 0.05 N ลงไปทีละหยดจนกว่าสีชมพูหายไป (ไม่มีสี) เพื่อปรับ pH ให้อยู่ระหว่าง 7 - 8 แต่ถ้าหยดสารละลาย phenolphthalein ลงไป แล้วไม่มีสี ต้องหยดสารละลาย NaOH 0.05 N ลงไปทีละหยดจนกว่าจะได้สีชมพู แล้วใช้สารละลาย $H_2SO_4$ 0.05 N หยดลงไปทีละ 1 หยด เพื่อปรับตัวอย่างน้ำไม่ให้มีสี เติมสารละลาย $K_2CrO_4$ indicator ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร แล้วนำไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐาน Silver nitrate ($AgNO_3$) ความเข้มข้น 0.03 N จนกระทั่งสีเหลืองเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดงตะกอน (สีเหลืองอมแดง)

4. ศึกษาสหสัมพันธ์ (correlation) ระหว่างปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด ค่าการนำไฟฟ้า และชนิดของเกลือที่ละลายน้ำ ได้แก่ แคลเซียม แมกนีเซียม โพแทสเซียม โซเดียม ซัลเฟต คาร์บอเนต ไบคาร์บอเนต และคลอไรด์ และหาค่าคงที่เพื่อประเมินปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด จากค่าการนำไฟฟ้า และเกลือที่ละลายในน้ำ

**ระยะเวลา** เริ่มต้น ตุลาคม 2562 สิ้นสุด กันยายน 2564

**สถานที่ทำการทดลอง**

กลุ่มงานวิเคราะห์ระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

## ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด (Total Dissolve Solid; TDS) ดังนี้

1.1. การพิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision)

พิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ของการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรอง ที่ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมดที่ความเข้มข้นต่ำ 47 มิลลิกรัมต่อลิตร, ความเข้มข้นกลาง 692 มิลลิกรัมต่อลิตร และความเข้มข้นสูง 7,230 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ประเมินผลความถูกต้องจาก % Recovery และความเที่ยง จาก HorRat พบว่า ความถูกต้องที่ความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง มี % Recovery เท่ากับ 98.48, 95.48 และ 99.51 ตามลำดับ ผ่านเกณฑ์การยอมรับที่ความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง เท่ากับ 80 – 110, 90 - 107 และ 95 - 105% ตามลำดับ และความเที่ยงมี HorRat เท่ากับ 0.27, 0.36 และ 0.42 ตามลำดับอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ คือ HorRat < 1.3 ดังตารางที่ 1 และ 2

**ตารางที่ 1** ประเมิน Trueness โดยการหา %recovery ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง

| SRM | ค่าที่วิเคราะห์ได้ | ค่าจริงจากใบ Cer | % Recovery | เกณฑ์ |
|---|---|---|---|---|
| TDS ความเข้มข้นต่ำ 47 mg/l | 46 | 47 | 98.48 | 80 -110 |
| TDS ความเข้มข้นปานกลาง 692 mg/l | 667 | 692 | 95.48 | 90 – 107 |
| TDS ความเข้มข้นสูง 7230 mg/l | 7195 | 7273 | 99.51 | 95 – 105 |

**ตารางที่ 2** ผลการพิสูจน์ความเที่ยง (Precision) ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง

| รายการ | ผลวิเคราะห์ TDS (มิลลิกรัมต่อลิตร) | | |
|---|---|---|---|
| | ระดับต่ำ (47 มิลลิกรัมต่อลิตร) | ระดับกลาง (692 มิลลิกรัมต่อลิตร) | ระดับสูง (7230 มิลลิกรัมต่อลิตร) |
| 1 | 46 | 668 | 7422 |
| 2 | 48 | 670 | 7138 |
| 3 | 45 | 640 | 7135 |
| 4 | 47 | 665 | 7330 |
| 5 | 45 | 688 | 7145 |
| 6 | 46 | 674 | 7094 |
| 7 | 47 | 661 | 7100 |
| ค่าเฉลี่ย | 46 | 667 | 7195 |
| SD | 1.11 | 14.54 | 128.02 |
| HorRat (r) | 0.27 | 0.36 | 0.42 |

1.2. ทดสอบขีดความเข้มข้นต่ำสุดที่วิธีสามารถวิเคราะห์ และรายงานผลได้ (LOD และ LOQ)

วิเคราะห์ตัวอย่างน้ำที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด (TDS) ปริมาณน้อย (Sample blank) จำนวน 10 ซ้ำ นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาค่า LOD และ LOQ ดังตารางที่ 3 พบว่า ขีดความเข้มข้นต่ำสุดที่วิธีสามารถวิเคราะห์ และรายงานผลได้ (LOD และ LOQ) คือ 16.45 และ 21.23 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังนั้น ทำการพิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง

(Precision) ที่ระดับ LOQ = 30 มิลลิกรัมต่อลิตร และทำการประเมินผลที่ได้ โดยใช้ % Recovery และ HorRat ประเมินผลความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ระดับ LOQ = 30 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า % Recovery เท่ากับ 98.27 และ HorRat เท่ากับ 0.46 ผ่านเกณฑ์การยอมรับ (ตารางที่ 4)

จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด (TDS) พบว่าการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด ผ่านเกณฑ์การยอมรับตาม

**ตารางที่ 3** ผลการวิเคราะห์ตัวอย่าง (Sample blank)

| ซ้ำที่ | ความแตกต่างของน้ำหนักก่อนและหลังอบที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส | TDS (มิลลิกรัมต่อลิตร) |
|---|---|---|
| 1 | 0.0014 | 14 |
| 2 | 0.0013 | 13 |
| 3 | 0.0015 | 15 |
| 4 | 0.0015 | 15 |
| 5 | 0.0014 | 14 |
| 6 | 0.0015 | 15 |
| 7 | 0.0016 | 16 |
| 8 | 0.0014 | 14 |
| 9 | 0.0015 | 15 |
| 10 | 0.0013 | 13 |
| mean | 14.40 | |
| SD | 0.96 | |

คำนวณค่า LOD และ LOQ ตามสูตร

$$LOD = \bar{X} + 3\,S'_0$$

$$LOQ = \bar{X} + 10\,S'_0$$

$$S'_0 = \frac{S_0}{\sqrt{n}} = \frac{0.96}{\sqrt{2}} = 0.68$$

LOD = 14.40 + (3 X 0.68) = 16.45 มิลลิกรัมต่อลิตร

LOQ = 14.40 + (10 X 0.68) = 21.23 มิลลิกรัมต่อลิตร

**ตารางที่ 4** ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ระดับ LOQ = 30 มิลลิกรัมต่อลิตร

| LOQ | Trueness | | Precision | |
|---|---|---|---|---|
| | %Recovery (80-110) | ผลการประเมิน | HorRat (< 1.3) | ผลการประเมิน |
| 30 มิลลิกรัมต่อลิตร | 98.27 | ผ่าน | 0.46 | ยอมรับ |

2. สมบัติของตัวอย่างน้ำทางการเกษตรที่ใช้ในการศึกษา

วิเคราะห์ตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำทางการเกษตร จำนวน 344 ตัวอย่าง พบว่า ตัวอย่างน้ำทางการเกษตร มีค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) มีค่าตั้งแต่ 3.9 - 8.4 ค่าการนำไฟฟ้า (EC) มีค่าตั้งแต่ 30 – 30,900 ไมโครซีเมนส์ต่อเซนติเมตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด (TDS) มีค่าตั้งแต่ 13-21,758 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณแคลเซียม (Ca) มีค่าตั้งแต่ 0.05 – 17.77 มิลลิอิควิวาเลนท์ต่อลิตร ปริมาณแมกนีเซียม (Mg) มีค่าตั้งแต่ 0.03 – 66.88 มิลลิอิ-

ควิวาเลนท์ต่อลิตร ปริมาณโซเดียม (Na) มีค่าตั้งแต่ ไม่พบ - 256.55 มิลลิอิควิวาเลนท์ต่อลิตร ปริมาณโพแทสเซียม (K) มีค่าตั้งแต่ 0.01 – 8.29 มิลลิอิควิวาเลนท์ต่อลิตร ปริมาณคาร์บอเนต ($CO_3^{2-}$) มีค่าตั้งแต่ ไม่พบ – 6.00 มิลลิอิควิวาเลนท์ต่อลิตร ปริมาณไบคาร์บอเนต ($HCO_3^-$) มีค่าตั้งแต่ ไม่พบ – 7.70 มิลลิอิควิวาเลนท์ต่อลิตร ปริมาณคลอไรด์ ($Cl^-$) มีค่าตั้งแต่ ไม่พบ – 306.60 มิลลิอิควิวาเลนท์ต่อลิตร และมีปริมาณเกลือซัลเฟต ($SO_4^{2-}$) มีค่าตั้งแต่ ไม่พบ – 34.47 มิลลิอิควิวาเลนท์ต่อลิตร ตามลำดับ ตามตารางที่ 5

**ตารางที่ 5** สมบัติของตัวอย่างน้ำทางการเกษตรที่ใช้ในการศึกษา

| Parameters | pH<br>- | EC<br>(µS/cm) | TDS<br>(mg/l) | Ca<br>me/l | Mg<br>me/l | Na<br>me/l | K<br>me/l | $CO_3^{2-}$<br>me/l | $HCO_3^-$<br>me/l | $Cl^-$<br>me/l | $SO_4^{2-}$<br>me/l |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| N | 344 | 344 | 344 | 344 | 344 | 344 | 344 | 344 | 344 | 344 | 344 |
| Average | 7.6 | 1,807 | 1,184 | 3.26 | 3.80 | 11.20 | 0.43 | 0.36 | 2.46 | 12.60 | 3.11 |
| Minimum | 3.9 | 30 | 30 | 0.05 | 0.03 | 0.03 | 0.01 | ไม่พบ* | ไม่พบ* | ไม่พบ* | ไม่พบ* |
| Maximum | 8.4 | 30,900 | 21,758 | 17.77 | 66.88 | 256.55 | 8.29 | 6.00 | 7.70 | 306.60 | 34.47 |
| Std. Dev | 0.4 | 4045 | 2826 | 2.11 | 8.14 | 33.21 | 0.95 | 0.93 | 1.11 | 39.57 | 4.39 |
| Mode | 7.5 | 710 | 372 | 2.45 | 1.35 | 2.30 | 0.17 | 0.20 | 2.40 | 0.15 | 1.67 |

* ไม่พบ คือ ปริมาณน้อยกว่าค่า LOD; LOD ของการวิเคราะห์ $CO_3^{2-}$, $HCO_3^-$, $Cl^-$, $SO_4^{2-}$ เท่ากับ 0.80, 0.91, 0.08 และ 0.05 มิลลิอิควิวาเลนท์ต่อลิตร (me/l)

3. สหสัมพันธ์ (Correlation) ระหว่างปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด ค่าการนำไฟฟ้า และชนิดของเกลือที่ละลายน้ำได้แก่ แคลเซียม แมกนีเซียม โพแทสเซียม โซเดียม ซัลเฟต คาร์บอเนต ไบคาร์บอเนต และคลอไรด์

ผลการศึกษาสมบัติของตัวอย่างน้ำทางการเกษตรของประเทศไทยจำนวน 344 ตัวอย่าง พบว่า ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมดมีสหสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับค่าการนำไฟฟ้า และเกลือที่ละลายน้ำได้ในรูปของแมกนีเซียม (Mg), โซเดียม (Na), โพแทสเซียม (K), คลอไรด์ ($Cl^-$), และ ซัลเฟต ($SO_4^{2-}$) โดยมีค่า r = 0.989, 0.987, 0.983, 0.989 และ 0.908 ตามลำดับ (ตารางที่ 6) สอดคล้องกับการศึกษาของ Viscony *et al.* (2004) และ Iyasele *et al.* (2015) ที่ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายในน้ำกับค่าการนำไฟฟ้า และส่วนประกอบของเกลือที่ละลายน้ำ ของน้ำธรรมชาติทั่วไปและน้ำชลประทานที่ใช้ทางการเกษตร ที่พบว่าส่วนใหญ่มักมีความสัมพันธ์กับปริมาณ Na, Mg, $Cl^-$, และ $SO_4^{2-}$

**ตารางที่ 6** ความสัมพันธ์ของค่าวิเคราะห์ของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด ค่าการนำไฟฟ้า และรูปของเกลือที่ละลายได้

| Correlation (r) | pH | EC | TDS | Ca | Mg | Na | K | $CO_3^{2-}$ | $HCO_3^-$ | $Cl^-$ | $SO_4^{2-}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| pH | 1.000 | | | | | | | | | | |
| EC | -0.049 | 1.000 | | | | | | | | | |
| TDS | -0.052 | **0.989** | 1.000 | | | | | | | | |
| Ca | 0.053 | 0.651 | 0.634 | 1.000 | | | | | | | |
| Mg | -0.042 | 0.996 | **0.987** | 0.664 | 1.000 | | | | | | |
| Na | -0.052 | 0.998 | **0.990** | 0.621 | 0.995 | 1.000 | | | | | |
| K | -0.051 | 0.991 | **0.983** | 0.621 | 0.993 | 0.993 | 1.000 | | | | |
| $CO_3^{2-}$ | -0.015 | -0.037 | -0.053 | 0.235 | -0.021 | -0.053 | -0.052 | 1.000 | | | |
| $HCO_3^-$ | 0.296 | 0.050 | 0.049 | 0.244 | 0.065 | 0.036 | 0.026 | -0.292 | 1.000 | | |
| $Cl^-$ | -0.053 | 0.998 | **0.989** | 0.616 | 0.995 | 1.000 | 0.994 | -0.071 | 0.036 | 1.000 | |
| $SO_4^{2-}$ | -0.048 | 0.920 | **0.908** | **0.840** | 0.929 | 0.907 | 0.908 | 0.136 | 0.006 | 0.903 | 1.000 |

* Correlation at 95% significan

ศึกษาคาปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมดของตัวอย่างน้ำทางการเกษตร พบว่า เป็นปฏิภาคโดยตรงกับค่าการนำไฟฟ้าของน้ำ ที่จะทำให้ทราบค่าคงที่ (K) โดย Viscony *et al.* (2004) และ Iyasele *et al.* (2015) ศึกษาคาคงที่เกิดจากความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายในน้ำกับค่าการนำไฟฟ้า จะมีค่าอยู่ระหว่าง 0.50 – 1.0 ซึ่งการจะใช่คาคงที่คาใดในการคูณจะขึ้นอยู่กับรูป และส่วนประกอบที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด สำหรับประเทศไทยยังไม่ได้มีการศึกษาและกำหนดค่าคงที่ที่แท้จริง น้ำที่มีค่าการนำไฟฟ้าสูง ก็จะมีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายในน้ำสูงเช่นกัน และในแหล่งน้ำแหล่งใดแหล่งหนึ่ง จะมีค่าความสัมพันธ์ดังกล่าวค่อนข้างคงที่ ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายในน้ำกับค่าการนำไฟฟ้า สามารถอธิบายได้โดยสมการ ดังนี้

$$K = TDS/EC$$

หรือ

$$TDS = K(EC)$$

เมื่อ K = ค่าคงที่ที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง EC และ TDS

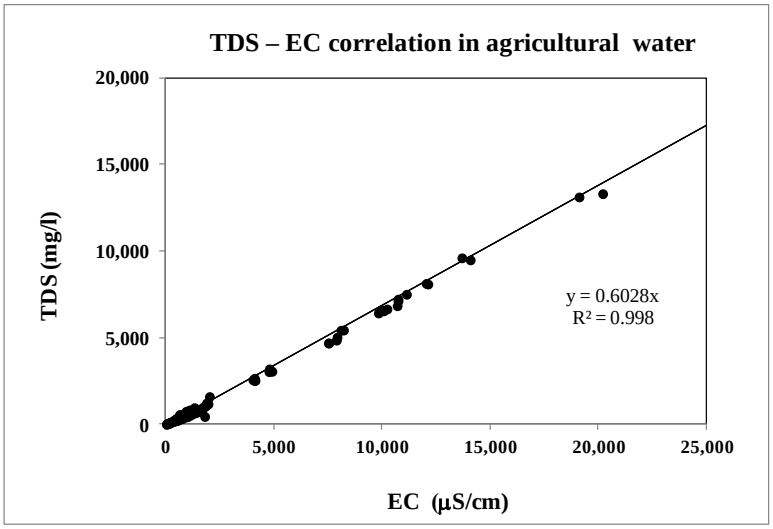
EC = ค่าการนำไฟฟ้า มีหน่วยเป็นไมโครซีเมนต่อเซนติเมตร

TDS = ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด (Total Dissolved Solid) มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร

ซึ่งจากการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำทั้งหมด 344 ตัวอย่าง นั้น สามารถนำหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายในน้ำกับค่าการนำไฟฟ้า และประมาณค่าคงที่ K จากสมการข้างต้น

TDS/EC ratio ของน้ำทางการเกษตรคือ 0.60 ($R^2$ = 0.998) หรือสามารถเขียนเป็นสมการได้ ตามภาพที่ 1

$$TDS = 0.60 \times EC$$




**ภาพที่ 1** TDS – EC correlation ของน้ำทางการเกษตร ที่มีค่า TDS/EC ratio หรือค่า K = 0.60 ($R^2$ = 0.998)

อย่างไรก็ตามปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด มีค่าเฉพาะ ตามที่มา และรูปของเกลือของแหล่งน้ำนั้นๆ ซึ่งหากมีการใช่คาคงที่ที่มีค่าสูง จะทำให้คุณภาพน้ำของแหล่งน้ำนั้นมีค่าความเค็มที่สูงกว่าปกติ ดังนั้นจึงใช้ความสัมพันธ์ของค่าวิเคราะห์ของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด ค่าการนำไฟฟ้า และรูปของเกลือที่ละลายได้ เพื่อประเมินความเค็มของน้ำซึ่งสามารถประเมินคุณภาพของแหล่งน้ำโดยอาศัยความสัมพันธ์ที่เกิดขึ้นโดย Food and Agriculture Organization of the United Nations (1985) ได้แบ่งชั้นคุณภาพของน้ำเพื่อการชลประทาน จากผลของค่าการนำไฟฟ้า และค่าวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด โดยน้ำที่มีคุณภาพดี มีค่าการนำไฟฟ้าต่ำกว่า 700 ไมโครซีเมนส์ต่อเซนติเมตร หรือมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมดน้อยกว่า 450 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นน้ำชลประทานที่ใช้ได้โดยไม่มีข้อจำกัด ในขณะที่น้ำที่มีคุณภาพต่ำ มีค่าการนำไฟฟ้าสูงกว่า 3,000 ไมโครซีเมนต์ต่อเซนติเมตร หรือมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด มากกว่า 2,000 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นน้ำชลประทานที่มีข้อจำกัดรุนแรงในการใช้ Food and Agriculture Organization of the

United Nations (1985) รายงานว่าความเค็มทำให้การเจริญเติบโต ผลผลิต และคุณภาพของพืชลดลง เนื่องจากความเครียดออสโมติก (Osmotic stress) และความเป็นพิษของธาตุบางชนิด (Ion toxicity) มีผลกระทบต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืช พืชแสดงอาการเฉา หรือขอบใบไหม้ ซึ่งเป็นผลจากอิทธิพลร่วมของเกลือ ความเป็นพิษเนื่องจากไอออนบางชนิดที่พืชดูดเข้าไปสะสมมากเกินความต้องการ ไอออนที่มีอิทธิผลต่อการเจริญเติบโตของพืชในน้ำ และมีผลต่อปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมดและค่าการนำไฟฟ้าที่สำคัญ ได้แก่ $Na^{+}$, $Mg^{2+}$, $Cl^{-}$, และ $SO_4^{2-}$ (Viscony *et al.*, 2004; Iyasele *et al.*, 2015) ซึ่งจากการศึกษาสมบัติของตัวอย่างน้ำในภูมิภาคต่างๆ ของประเทศไทยจำนวน 344 ตัวอย่าง พบว่า คุณภาพน้ำในประเทศไทยส่วนใหญ่ยังจัดน้ำชลประทานที่ใช้ได้โดยไม่มีข้อจำกัด เนื่องจากมีค่าคงที่ TDS/EC ratio หรือค่า K = 0.60 ซึ่งสามารถใช้ทำการเกษตรได้ (ตารางที่ 7)

**ตารางที่ 7** ค่าคงที่ Ratio TDS/EC (k) ของน้ำแต่ละประเภท

| EC at 25 $^{0}$C | Ratio TDS/EC (k) |
|---|---|
| Natural water for irrigation EC = 500 – 3,000 µS/cm | 0.55 - 0.75 |
| Natural water, EC = 500 – 3,000 µS/cm | 0.55 - 0.75 |
| Distillate water, EC = 1 – 10 µS/cm | 0.50 |
| Freshwater, EC = 300 – 800 µS/cm | 0.55 |
| Seawater, EC = 45,000 – 60,000 µS/cm | 0.70 |
| Brine water, EC = 65,000 – 85,000 µS/cm | 0.75 |

ที่มา : Viscony *et al.* (2004) และ Iyasele *et al.* (2015)

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด ให้ผลการทดสอบอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ โดยมีค่า Limit of Detection (LOD) จากการประเมินเท่ากับ 16.45 มิลลิกรัมต่อลิตร และพิสูจน์ค่า Limit of Quantitation (LOQ) ที่ระดับ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการวิเคราะห์ CRM ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง มาคำนวณ %Recovery เพื่อความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ได้ผลการทดลองดังนี้ ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และระดับความเข้มข้นสูง มี % Recovery เท่ากับ 98.48, 95.48 และ 99.51 ตามลำดับ ค่า HorRat เท่ากับ 0.27, 0.42 และ 0.36 ตามลำดับ ผ่านเกณฑ์การยอมรับตาม AOAC ทั้งหมด โดย %Recovery อยู่ในช่วง 80 - 110 และ HorRat (r) <1.3 ดังนั้นวิธีวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด (Total Dissolve Solid; TDS) จึงมีประสิทธิภาพ และเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการตรวจ ที่ทำเป็นงานประจำและต้องการผลการวิเคราะห์ที่รวดเร็ว ถูกต้อง แม่นยำ

นำวิธีวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด (Total Dissolve Solid; TDS) มาใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำทางการเกษตร จำนวน 344 ตัวอย่าง พร้อมทั้งวิเคราะห์ pH, EC, TDS, Ca, Mg, Na, K, $CO_3^{2-}$, $HCO_3^{-}$, $Cl^{-}$ และ $SO_4^{2-}$ พบว่า ตัวอย่างน้ำทางการเกษตร มีค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) มีค่าตั้งแต่ 3.9 - 8.4 ค่าการนำไฟฟ้า (EC) มีค่าตั้งแต่ 30 – 30,900 ไมโครซีเมนส์ต่อเซนติเมตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด (TDS) มีค่าตั้งแต่ 13-21,758 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณแคลเซียม (Ca) มีค่าตั้งแต่ 0.05 – 17.77 มิลลิอิควิวาเลนท์ต่อลิตร ปริมาณแมกนีเซียม (Mg) มีค่าตั้งแต่ 0.03 – 66.88 มิลลิอิควิวาเลนท์ต่อลิตร ปริมาณโซเดียม (Na) มีค่าตั้งแต่ ไม่พบ - 256.55 มิลลิอิควิวาเลนท์ต่อลิตร ปริมาณโพแทสเซียม (K) มีค่าตั้งแต่ 0.01 – 8.29 มิลลิอิควิวาเลนท์ต่อลิตร ปริมาณคาร์บอเนต ($CO_3^{2-}$) มีค่าตั้งแต่ ไม่พบ – 6.00 มิลลิอิควิวาเลนท์ต่อลิตร ปริมาณไบคาร์บอเนต ($HCO_3^{-}$) มีค่าตั้งแต่ ไม่พบ – 7.70 มิลลิอิควิวาเลนท์ต่อลิตร ปริมาณคลอไรด์ ($Cl^{-}$) มีค่าตั้งแต่ ไม่พบ – 306.60 มิลลิอิควิวาเลนท์ต่อลิตร และมีปริมาณเกลือซัลเฟต ($SO_4^{2-}$) มีค่าตั้งแต่ ไม่พบ – 34.47 มิลลิอิควิวาเลนท์ต่อลิตร

หาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายในน้ำกับค่าการนำไฟฟ้า และประมาณค่าคงที่ K หรือค่า Ratio TDS/EC (K) ของน้ำทางการเกษตรเท่ากับ 0.60 ($R^2$ = 0.99) หรือสามารถเขียนเป็นสมการได้ เท่ากับ TDS = 0.60 x EC ซึ่งทำให้สามารถคำนวณ ค่าคงที่ Ratio TDS/EC (k) = 0.60 ซึ่งเป็นค่าคงที่ของน้ำธรรมชาติทั่วไป และน้ำชลประทานที่ใช้ทางการเกษตร และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมดตัวอย่างน้ำทางการเกษตรของประเทศไทย มีความสัมพันธ์กับค่าการนำไฟฟ้า และเกลือที่ละลายน้ำได้ในรูปของแมกนีเซียม (Mg), โซเดียม (Na), โพแทสเซียม (K), คลอไรด์ ($Cl^-$), และ ซัลเฟต ($SO_4^{2-}$)

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

วิธีวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด สามารถใช้เป็นวิธีอ้างอิงแก่ห้องปฏิบัติการอื่นได้ รวมทั้งใช้เป็นวิธีมาตรฐานที่มีความน่าเชื่อถือของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ดินตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025: 2017 เป็นการยกระดับห้องปฏิบัติการให้ได้มาตรฐานสากล สามารถตรวจสอบย้อนกลับได้ และสามารถนำมาใช้เป็นวิธีมาตรฐานในงานบริการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมดให้แก่ผู้รับบริการวิเคราะห์ และค่าคงที่ Ratio TDS/EC (k) = 0.60 เป็นค่าที่ใช้ประเมินความคุณของตัวอย่างน้ำทางการเกษตรในประเทศไทย

## เอกสารอ้างอิง


APHA, AWWA and WEF. 2017. ***Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.*** 23rd ed. American Public Health Association, the American Water Works Association and the Water Environment Federation, Washington D.C. American Public Health Association. 1360 p.

Eurachem. 2014. ***The Fitness for Purpose of Analytical Methods.*** A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. 1985. ***Water Quality for Agriculture.*** FAO Irrigation and Drainage Paper No. 29. FAO Rome.

Iyasele, J.U., J. David and D.J. Idiata. 2015. Investigation of the Relationship between Electrical Conductivity and Total Dissolved Solids for Mono-Valent, Di-Valent and Tri-Valent Metal Compounds. ***International Journal of Engineering Research and Reviews*** 3: 40-48.

Latimer, G.W. 2016. ***Official Method of Analysis of AOAC International.*** 20thEd. AOAC International Gaithersburg, Maryland. USA.

Scanlon, B.R., I. Jolly, M. Sophocleous, and L. Zhang. 2007. Global impacts of conversions from natural to agricultural ecosystems on water resources: Quantity versus quality. ***Water Resources Research*** 43 (3): 1-18.

Viscony, R.F., J.M. de Paz Becares, R.D.Z. Hernandez, and J.S. Diaz. 2004. Development of an equation to relate electrical conductivity to soil and water salinity in a Mediterranean agricultural environment. ***Australian Journal of Soil Research*** 42 (4) : 381 – 388.

Thirumalini, S. and K. Joseph. 2009. Correlation between Electrical Conductivity and Total Dissolved Solids in Natural Waters. ***Malaysian Journal of Science*** 28 (1): 55-61.

# พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์กรดอะมิโนที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช

# Development and Validation Method for Analysing Essential Amino Acids for Plant Growth

*สุพิศสา ทองเขียว* *เพชรรัตน์ ศิริวิ* *สาธิดา โพธิ์น้อย*

*Supissa Thongkheaw* *Phetcharat Siriwi* *Sathida Phonoi*

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

## ABSTRACT

Analytical method of amino acids was developed for aspartic acid, glutamic acid, proline, phenylalanine and tryptophan using high performance liquid chromatography technique. The stationary phase ratio and concentrations of buffer conditions were optimized for amino acids separation including studing of derivatize time and stability after derivatize. Amino acids were separated by gradient profile between acetonitrile and 100 mM sodium acetate trihydrate with triethylamine at a concentration of 12 mM. The time of preparation of the derivatives was 10 min. The stability of amino acid after derivatives was 4 days.

The required validation parameter i.e., specificity, matrix effect, limit of detection, limit of quantitation, range, linearity, trueness, precision and ruggedness were studied for 5 types of amino acids. The method is characterized by high specificity and no matrix effect for clearless seaweed extract and powder extract sample. The limit of detection (LOD) for aspartic acid, glutamic acid, proline, phenylalanine and tryptophan were 0.78, 0.68, 0.69, 0.05 and 4.76 μg/L, respectively and the limit of quantitation (LOQ) were in the range 0.5-50 μg/L. Verification of accuracy and precision at all LOQ levels passed the criteria. The Linearity of the instrument were found between 5-100, 5-100, 5-100, 0.5-10 and 50-1000 μg/L, respectively, and the range were found at 5-60, 5-60, 5-60, 0.5-6 and 50-600 μg/L, respectively, which correlation coefficient (r) > 0.995 passed the acceptance criteria. The accuracy from %recovery and precision from HorRat values as intermediate precision were evaluated. Recovery studies using three spiking concentratons at varying levels showed recoveries of 94.3-103.2, 96.4-102.8 and 95.9-103.5, respectively. Precision studies using three spiking concentratons at varying levels showed HorRat values of 0.31-0.61, 0.51-0.93 and 0.30-0.65, respectively. Recovery with in the range of 80-110 and HorRat values not more than 1.3 according to AOAC,2016 criteria were accepted. Ruggedness verification with changes the test conditions and comparing amino acid concentrations by statistical t-test, it was found that all values $t_{cal}$ less than $t_{critical}$.

From the results, it was found that the characteristics of the method the acceptance criteria.This developed method is suitable for the for determine aspartic acid glutamic acid proline content within 0.005-500 mg/L concentration range, phenylalanine content within 0.0005-100 mg/L concentration range, and tryptophan content within 0.05-1000 mg/L concentration range. The results given by the

method are accurate and precise. Therefore, this method can be used as standard method for analysis of amino acid products in the laboratory.

**Keywords:** Amino acid  Plant growth  Validation method

## บทคัดย่อ

พัฒนาวิธีตรวจวิเคราะห์กรดอะมิโน Aspartic acid Glutamic acid Proline Phenylalanine และ Tryptophan ด้วยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography โดยศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการแยกกรดอะมิโน ความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์ ระยะเวลาในการเตรียมอนุพันธ์ ความคงสภาพหลังการเตรียมอนุพันธ์ พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการแยกกรดอะมิโนใช้การปรับเฟสเคลื่อนที่แบบ Gradient ด้วย Acetonitrile และสารละลายบัฟเฟอร์ผสมระหว่าง Sodium acetate trihydrate ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์และ Triethylamine ความเข้มข้น 12 มิลลิโมลาร์ ระยะเวลาของการเตรียมอนุพันธ์ 10 นาที ภายหลังจากการเตรียมอนุพันธ์กรดอะมิโนมีความคงสภาพได้ถึง 4 วัน

จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ กรดอะมิโนทั้ง 5 ชนิด ซึ่งจะตรวจสอบ Specificity Matrix effect LOD LOQ Range Linearity Trueness Precision และ Ruggedness พบว่าวิธีวิเคราะห์กรดอะมิโนนั้นมีความจำเพาะเจาะจงและไม่มีการรบกวนของสารอื่นสำหรับการวิเคราะห์กรดอะมิโนในสารสกัดจากสาหร่ายที่มีลักษณะใสและชนิดผง การวิเคราะห์กรดอะมิโน Aspartic acid Glutamic acid Proline Phenylalanine และ Tryptophan มีค่า LOD เท่ากับ 0.78 0.68 0.69 0.05 และ 4.76 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และมีค่า LOQ อยู่ในช่วง 0.5-50 ไมโครกรัมต่อลิตร การพิสูจน์ความถูกต้องและความเที่ยงที่ระดับ LOQ พบว่าทุกค่าผ่านเกณฑ์ยอมรับ จากผลการตรวจสอบ Range และ Linearity พบว่ามี Linearity ของเครื่องมือวิเคราะห์อยู่ในช่วง 5-100 5-100 5-100 0.5-10 และ 50-1000 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และประเมิน Range ในช่วง 5-60 5-60 5-60 0.5-6 และ 50-600 ไมโครกรัม ต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์ยอมรับ Correlation coefficient ( r ) >0.995 การประเมินค่า Trueness จาก %Recovery และ Precision แบบ within laboratory precision จากค่า HorRat พบว่าการวิเคราะห์กรดอะมิโนที่ความเข้มข้นต่ำ กลางและสูง มี %Recovery อยู่ในช่วง 94.3-103.2 96.4-102.8 และ 95.9-103.5 ตามลำดับ มีค่า HorRat อยู่ในช่วง 0.31-0.61 0.51-0.93 และ 0.30-0.65 ตามลำดับ ซึ่งทั้งหมดมี %Recovery อยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับและค่า 80-110 และมีค่า HorRat ไม่เกิน 1.3 ตามเกณฑ์กำหนดของ AOAC (2016) การตรวจสอบ Ruggedness โดยมีการเปลี่ยนแปลงสภาวะที่มีผลต่อการทดสอบและเปรียบเทียบความเข้มข้นของกรดอะมิโนด้วยวิธีทางสถิติ t-test พบว่าทุกค่า มีค่า $t_{stat}$ น้อยกว่า $t_{critical}$

จากผลการทดสอบดังกล่าวข้างต้นพบว่าคุณลักษณะเฉพาะของวิธีเป็นไปตามเกณฑ์การยอมรับและวิธีที่พัฒนานี้มีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการวิเคราะห์หาความเข้มข้นของกรดอะมิโน Aspartic acid Glutamic acid Proline อยู่ในช่วง 0.005-500 มิลลิกรัมต่อลิตร Phenylalanine อยู่ในช่วง 0.0005-100 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Tryptophan อยู่ในช่วง 0.05-1000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยให้ค่าที่มีความถูกต้องและแม่นยำจึงสามารถนำมาใช้เป็นวิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์กรดอะมิโนในห้องปฏิบัติการได้

**คำหลัก:** กรดอะมิโน การเจริญเติบโตของพืช การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี

## คำนำ

ปัจจุบันเกษตรกรให้ความสำคัญกับการผลิตพืชปลอดสารพิษมากขึ้น ลดการใช้สารเคมีหรือผลิตภัณฑ์ที่มีสารพิษตกค้างทางการเกษตรและหันกลับมาใช้ผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรที่เป็นมิตรกับสุขภาพและสิ่งแวดล้อม อาทิเช่น การใช้สารสกัดอินทรีย์ น้ำหมักชีวภาพ สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช และสารสกัดจากสาหร่าย เป็นต้น ทำให้หน่วยงานสารวัตรเกษตรได้มีการส่งตัวอย่างเพื่อให้ทำการตรวจสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์กันมากขึ้น เนื่องจากผลิตภัณฑ์บางตัวมีการอ้างว่าเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช แต่ฉลากข้างขวดมีการเติมสารอาหารบำรุงพืชชนิดอื่นๆ ลงไปด้วย เช่น กรดอะมิโน (Amino acid) วิตามิน (Vitamin) กรดฮิวมิก (Humic acid) และสารอื่นๆจากข้อมูลการรับตัวอย่างของ

ห้องปฏิบัติการพบว่า ผลิตภัณฑ์ที่ส่งมาวิเคราะห์ส่วนใหญ่เป็นสารสกัดอินทรีย์และสารสกัดจากสาหร่ายที่ระบุว่ามีกรดอะมิโนมากถึงร้อยละ 50 ซึ่งเป็นสารที่มีความสำคัญต่อพืช ช่วยเสริมสร้างพืชให้แข็งแรง ต้านทานโรค และมีสารอาหารจำเป็นต่างๆ ที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ง่าย Al-Said and Kamal (2008), Awad *et al.* (2007) กล่าวว่ากรดอะมิโนมีผลทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อกิจกรรมทางสรีรวิทยาของพืชและช่วยเพิ่มคลอโรฟิลล์ในพืช กรดอะมิโนบางตัวยังเป็นสารตั้งต้นในการสร้างฮอร์โมนพืชอีกด้วย (Rivier and Crozier, 1987) และกรดอะมิโนที่พบในสารสกัดจากสาหร่ายมากที่สุด 4 อันดับแรก ได้แก่ กรดอะมิโน Aspartic acid Glutamic acid Proline และ Phenylalanine ซึ่งมีมากถึง 35-40% สำหรับการวิเคราะห์กรดอะมิโนได้มีการศึกษาและวิจัยเกี่ยวกับการพัฒนาวิธีวิเคราะห์และตรวจหาปริมาณกรดอะมิโนในผลิตภัณฑ์หรือในเมทริกซ์ต่างๆ เช่น จากการศึกษาของ Fang *et al.* (2015) ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนอิสระ 21 ชนิด ในน้ำผลไม้ ด้วยเทคนิค High Performance Liquid Chromatograpy (HPLC) ที่มีการเตรียมอนุพันธ์ด้วยการใช้สาร 6-Aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl Carbamate (AQC) ก่อนนำไปวิเคราะห์พบว่า ในน้ำผลไม้ 6 ชนิด มีปริมาณกรดอะมิโนอิสระอยู่ในช่วง 56.97-469.45 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์กรดอะมิโน 17 ชนิดในอาหาร พบว่า มี% Recovery อยู่ในช่วง 87-104 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ (Katarzyna *et al*., 2017) จากข้อมูลข้างต้นจะพบว่ากรดอะมิโนนั้นมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืช และการวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรสามารถวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC เช่นเดียวกันกับการวิเคราะห์สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่ห้องปฏิบัติการใช้เทคนิคนี้ในการตรวจวิเคราะห์ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์กรดอะมิโนที่มีในผลิตภัณฑ์สารสกัดอินทรีย์หรือสารสกัดจากสาหร่ายเพื่อให้ได้วิธีวิเคราะห์กรดอะมิโนที่เป็นมาตรฐานสำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการ สามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนจากสารสกัดอินทรีย์หรือสารสกัดจากสาหร่ายที่มีจำหน่ายตามท้องตลาด เพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการให้ความรู้และแนะนำเกษตรกรในการใช้ประโยชน์จากสารสกัดอินทรีย์ได้

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. เครื่องลิควิดโครมาโทรกราฟ (High performance liquid chromatograph (HPLC)) ยี่ห้อ Waters รุ่น Alliance ที่ติดตั้งตัวตรวจวัดชนิด Fluorescence
2. เครื่องมืออื่นๆ ได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 5 ตำแหน่ง เครื่องอัลตราโซนิค ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) เครื่องเขย่าสาร (Vortex mixer) และเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)
3. อุปกรณ์การกรอง ได้แก่ Pump เครื่องแก้วกรองสาร ขวดปริมาตร และกระดาษกรอง 0.22 ไมโครเมตร
4. ปิเปตอัตโนมัติ ขนาด 10-100 20-200 และ 1000 ไมโครลิตร
5. เครื่องแก้วต่าง ๆ เช่น Descicator Volumetric Flask Class A Beaker Syringe และ Recovery vial ขนาด 1 มิลลิลิตร เป็นต้น
6. วัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น Column C18 Syringe filter และ Centrifuge tube เป็นต้น
7. สารมาตรฐานกรดอะมิโน ได้แก่ Aspartic acid 99.7% Glutamic acid 99.6% Proline 99.7% Phenylalanine 99.7% และ Tryptophan 99.5%
8. ชุดเตรียมอนุพันธ์กรดอะมิโน ประกอบด้วย 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate (AQC) + Acetonitrile (Solvent 2A) และ Borate buffer
9. สารเคมี ได้แก่ Acetonitrile ชนิด HPLC grade สารละลายบัฟเฟอร์สำหรับเตรียม Mobile phase (Sodium acetate trihydrate+Triethylamine) และ สารละลาย 0.1 N Hydrochloric
10. ตัวอย่างผลิตภัณฑ์กรดอะมิโน

## วิธีการ

1. การเตรียมสารละลายมาตรฐานและการเตรียมอนุพันธ์ (Derivatization) กรดอะมิโน
   1.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดอะมิโน Aspartic acid Glutamic acid Proline Phenylalanine และ Tryptophan ในสารละลาย 0.1 N HCl โดยเตรียม Stock standard ที่ความเข้มข้นประมาณ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และเตรียม Working standard ที่ความเข้มข้นต่างๆ สำหรับทำเป็น Standard calibration curve และ Spike ลงในตัวอย่าง
   1.2 เตรียมสารอนุพันธ์กรดอะมิโนโดยปิเปตสารละลายมาตรฐานหรือสารละลายตัวอย่างที่กรองผ่าน syringe filter ชนิด Polyvinylidene fluoride (PVDF) ขนาด 0.45 ไมโครเมตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ใส่ใน Vial ขนาด 1 มิลลิลิตร (Recovery vial) เติมสารละลาย Borate buffer ปริมาตร 70 ไมโครลิตร และเติม Solvent 2A ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC
   1.3 การเตรียมสภาวะของเครื่อง HPLC สำหรับวิเคราะห์กรดอะมิโน (ดัดแปลงจาก Fang *et al*., 2015) ดังนี้

| | | |
|---|---|---|
| Column | : | Athena C18 (5 µm, 4.6 mm x 150 mm) |
| Column Temp. | : | 35 °C |
| Detector | : | Wavelength $\lambda$ex=250 นาโนเมตร, $\lambda$em = 395 นาโนเมตร |
| Mobile phase | : | A = Eluent A (Sodium acetate trihydrate+Triethylamine) |
| | | B = Acetonitrile |
| Elution | : | Gradient |
| Flow rate | : | 1.0 ml/min. |
| Injection volume | : | 5 µl |
| Run Time | : | 30 min. |

2. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์กรดอะมิโน
   2.1 ศึกษาปรับอัตราส่วนการไหลของเฟสเคลื่อนที่ (Gradient profile) สำหรับการแยกกรดอะมิโน

ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการแยกกรดอะมิโน 5 ชนิด ได้แก่ Aspartic acid Glutamic acid Proline Phenylalanine และ Tryptophan โดยมีวิธีการทดสอบ ดังนี้

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดอะมิโน 5 ชนิด โดยกรดอะมิโน Aspartic acid Glutamic acid และ Proline ที่ความเข้มข้น 60 ไมโครกรัมต่อลิตร Phenylalanine ที่ความเข้มข้น 6 ไมโครกรัมต่อลิตร และ Tryptophan ที่ความเข้มข้น 600 ไมโครกรัมต่อลิตร นำสารละลายที่ได้ไปเตรียมอนุพันธ์ แล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง HPLC โดยทดสอบการปรับอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่ โดยอัตราส่วนสาร A : สาร B ตามอัตราส่วนดังนี้ 35:65 45:55 50:50 และ 70:30 ตามลำดับ ผลการทดสอบที่ได้นำมาพิจารณาค่าการแยก (Resolution) ของสารต้องมากกว่า 2

2.2 ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายบัฟเฟอร์ที่ใช้ในการวิเคราะห์กรดอะมิโน

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดอะมิโน 5 ชนิด โดยกรดอะมิโน Aspartic acid Glutamic acid และ Proline ที่ความเข้มข้น 60 ไมโครกรัมต่อลิตร Phenylalanine ที่ความเข้มข้น 6 ไมโครกรัมต่อลิตร และ Tryptophan ที่ความเข้มข้น 600 ไมโครกรัมต่อลิตร นำสารละลายที่ได้ไปเตรียมอนุพันธ์ และเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้

1) ความเข้มข้น 140 mM sodium acetate trihydrate + 17 mM triethylamine
2) ความเข้มข้น 100 mM sodium acetate trihydrate + 12 mM triethylamine
3) ความเข้มข้น 70 mM sodium acetate trihydrate + 8.5 mM triethylamine
4) ความเข้มข้น 50 mM sodium acetate trihydrate + 6 mM triethylamine

ฉีดเข้าเครื่อง HPLC ตามสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 1.3 ที่มีการปรับความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์ ผลทดสอบที่ได้นำมาพิจารณาค่าการแยก (Resolution) ของสารต้องมากกว่า 2

2.3 ศึกษาผลของระยะเวลาในการเตรียมอนุพันธ์กรดอะมิโน

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดอะมิโน 5 ชนิด โดยกรดอะมิโน Aspartic acid Glutamic acid และ Proline ที่ความเข้มข้น 60 ไมโครกรัมต่อลิตร Phenylalanine ที่ความเข้มข้น 6 ไมโครกรัมต่อลิตร และ Tryptophan ที่ความเข้มข้น 600 ไมโครกรัมต่อลิตร นำสารละลายที่ได้ไปเตรียมอนุพันธ์และทดสอบการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 10 12 และ 15 นาที แล้วฉีดเข้าเครื่อง HPLC ตามสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 1.3 ที่มีการปรับความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์ตามข้อ 2.2 ผลทดสอบที่ได้นำมาคำนวณหาค่า % Recovery

2.4 ศึกษาความคงสภาพของกรดอะมิโนหลังการเตรียมอนุพันธ์

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดอะมิโน 5 ชนิด โดยกรดอะมิโน Aspartic acid Glutamic acid และ Proline ที่ความเข้มข้น 60 ไมโครกรัมต่อลิตร Phenylalanine ที่ความเข้มข้น 6 ไมโครกรัมต่อลิตร และ Tryptophan ที่ความเข้มข้น 600 ไมโครกรัมต่อลิตร นำสารละลายที่ได้ไปเตรียมอนุพันธ์ตามสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 2.3 แล้วฉีดเข้าเครื่อง HPLC ตามสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 1.3 และ 2.2 จากนั้นนำสารละลายไปเก็บในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และนำมาทดสอบหาความเข้มข้นของกรดอะมิโนในวันที่ 2 4 และ 6 ซึ่งผลทดสอบที่ได้นำมาคำนวณหา % Recovery เปรียบเทียบกับความเข้มข้นเริ่มต้น

3. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์กรดอะมิโน

3.1 การหาความจำเพาะเจาะจง (Specificity) ของวิธีทดสอบ

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดอะมิโน 5 ชนิด โดยกรดอะมิโน Aspartic acid Glutamic acid และ Proline ที่ความเข้มข้น 60 ไมโครกรัมต่อลิตร Phenylalanine ที่ความเข้มข้น 6 ไมโครกรัมต่อลิตรและ Tryptophan ที่ความเข้มข้น 600 ไมโครกรัมต่อลิตร สารละลายแบลงค์ และสารละลายตัวอย่างกรดอะมิโน 3 ลักษณะ ได้แก่ ตัวอย่างกรดอะมิโนที่มีลักษณะใส ข้นหนืด และชนิดผง ที่ Spike สารละลายมาตรฐานกรดอะมิโนทั้ง 5 ชนิด นำสารละลายที่ได้ไปเตรียมอนุพันธ์ตามสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 2.3 แล้วฉีดเข้าเครื่อง HPLC ตามสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 1.3 และ 2.2 พิจารณาโครมาโทแกรม โดยดูว่ามีโครมาโทแกรมมีสารอื่นมาปลอมปนหรือรบกวนโครมาโทแกรมของสาร Aspartic acid Glutamic acid Proline Phenylalanine และ Tryptophan หรือไม่

3.2 การพิสูจน์ Matrix effect

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดอะมิโน Aspartic acid Glutamic acid Proline Phenylalanine และ Tryptophan อย่างละ 5 ความเข้มข้น จำนวน 2 ชุด โดยชุดที่ 1 ไม่เติมสารละลายตัวอย่าง ส่วนชุดที่ 2 เติมสารละลายตัวอย่าง นำไปเตรียมอนุพันธ์ตามสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 2.3 แล้วฉีดเข้าเครื่อง HPLC ตามสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 1.3 และ 2.2 แล้วนำผลความชันที่ได้มาคำนวณหาค่า %RPD ซึ่งมีเกณฑ์กำหนด < 10 ตามมาตรฐาน NATA (2018)

3.3 การหาค่าขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ)

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดอะมิโน Aspartic acid Glutamic acid Proline Phenylalanine และ Tryptophan ความเข้มข้นต่ำๆ ใส่ลงใน Sample blank จำนวน 10 ซ้ำ นำไปเตรียมอนุพันธ์ตามสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 2.3 แล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง HPLC ตามสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 1.3 และ 2.2 โดยวิเคราะห์แบบ Intermediate ไม่ต่ำกว่า 10 ซ้ำ ที่ทำต่างเวลากัน ผลทดสอบที่ได้นำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน คำนวณค่า LOD และ LOQ ตามสูตร

$$LOD = 3\,S'_0$$

$$LOQ = 10\,S'_0$$ , EURACHEM (2014)

3.4การพิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ระดับ LOQ

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดอะมิโน Aspartic acid Glutamic acid Proline Phenylalanine และ Tryptophan ที่เติมใน Sample blank ที่มีความเข้มข้น ระดับ LOQ จำนวน 10 ซ้ำ นำสารละลายไปเตรียมอนุพันธ์ตามสภาวะที่เหมาะสม

ที่ได้จากข้อ 2.3 แล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง HPLC ตามสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 1.3 และ 2.2 โดยวิเคราะห์แบบ Intermediate ไม่ต่ำกว่า 10 ซ้ำ ที่ทำต่างเวลากันคำนวณหาความเข้มข้นของกรดอะมิโนและประเมินความถูกต้องโดยพิจารณาค่า %Recovery อยู่ในช่วง 80-110 และประเมินความเที่ยง โดยพิจารณาจากค่า HorRat ≤ 1.3 AOAC (2016)

3.5 หาค่าช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity) และช่วงความเข้มข้นที่ใช้งาน (Range) ของวิธี

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดอะมิโน Aspartic acid Glutamic acid Proline Phenylalanine และ Tryptophan ใน Sample blank จำนวน 7 ความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ นำสารละลายไปเตรียมอนุพันธ์ตามสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 2.3 แล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง HPLC ตามสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 1.3 และ 2.2 จากนั้นสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสาร (x) กับ Response (y) พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรงคำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient: r) ซึ่งมีเกณฑ์การยอมรับที่ค่า r ≥ 0.995

3.6 การพิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision)

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดอะมิโน Aspartic acid Glutamic acid Proline Phenylalanine และ Tryptophan ใน Sample blank ที่ความเข้มข้นระดับต่ำ กลาง และสูง นำสารละลายไปเตรียมอนุพันธ์ตามสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 2.3 แล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง HPLC ตามสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 1.3 และ 2.2 โดยทำการทดสอบแบบ intermediate precision (ทำการทดสอบ 1 ชุดการทดสอบที่ระดับต่างๆ เป็นเวลา 10 วัน) คำนวณหาความเข้มข้นของกรดอะมิโนและประเมินความถูกต้องโดยพิจารณาค่า Recovery ต้องอยู่ในช่วง 80-110% และประเมินความเที่ยงโดยพิจารณาจากค่า HorRat ≤ 1.3

3.7 ทดสอบความคงทนของวิธี (Ruggedness)

ทำการทดสอบ Ruggedness ของวิธีวิเคราะห์กรดอะมิโนโดยปรับเปลี่ยนสภาวะที่มีผลกระทบต่อการวิเคราะห์กรดอะมิโน ได้แก่ ระยะเวลาในการ Incubate ตัวอย่าง ชนิดของตัวทำละลาย และชนิดของตัวกรองซึ่งมีวิธีการดังนี้

3.7.1 เตรียม Sample blank ที่มีการเติมสารละลายมาตรฐานกรดอะมิโน 5 ชนิด โดยเติมกรดอะมิโน Aspartic acid Glutamic acid และ Proline ที่ความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อลิตร Phenylalanine ที่ความเข้มข้น 3 ไมโครกรัมต่อลิตร และ Tryptophan ที่ความเข้มข้น 300 ไมโครกรัมต่อลิตร

3.7.2 นำสารละลายจากข้อ 3.7.1 ไปเตรียมอนุพันธ์ตามสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 2.3

3.7.3 ฉีดเข้าเครื่อง HPLC ตามสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 1.3 และ 2.2

3.7.4 คำนวณหาความเข้มข้น ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และเปรียบเทียบค่าทางสถิติโดยใช้ t-test

4. การวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนในตัวอย่าง

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุเคมีการเกษตรที่ส่งวิเคราะห์โดยส่วนใหญ่จะเป็นตัวอย่างสารสกัดอินทรีย์สารสกัดจากสาหร่าย และน้ำหมักชีวภาพที่หมักจากพืชหรือสัตว์ ที่มีองค์ประกอบหลากหลาย มีทั้งตัวอย่างที่เป็นสารละลายใสจนถึงตัวอย่างที่เป็นของเหลวข้นหนืด และสารสกัดจากสาหร่ายชนิดผง ดังนั้นจะต้องมีการเตรียมตัวอย่างให้เป็นสารละลายที่เหมาะสมก่อนฉีดเข้าเครื่อง HPLC เพื่อช่วยป้องกันการอุดตันของสิ่งสกปรกจากตัวอย่างในคอลัมน์และเพื่อเป็นการยืดระยะเวลาการใช้งานของคอลัมน์ด้วย โดยมีวิธีการเตรียมตัวอย่าง ดังนี้

4.1 ปิเปตตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ใน Microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

4.2 นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที

4.3 ปิเปตตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย 0.1 N HCl

4.4 เจือจางสารละลายให้อยู่ในช่วงกราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนแต่ละชนิด

4.5 นำมากรองผ่าน Syringe filter ชนิด PVDF ขนาด 0.45 ไมโครเมตร

4.6 นำสารละลายที่ได้ไปเตรียมอนุพันธ์และฉีดเข้าเครื่อง HPLC

4.7 คำนวณหาปริมาณของกรดอะมิโนแต่ละชนิด

**ระยะเวลา** เริ่มต้น ตุลาคม 2562 สิ้นสุด กันยายน 2564

**สถานที่ทำการทดลอง**

1. สถานที่สำรวจและเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์กรดอะมิโน จังหวัดราชบุรี ปทุมธานี นนทบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี สมุทรสงคราม และสมุทรสาคร
2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิเคราะห์วิจัยพืชวัตถุเคมีการเกษตรและนิวเคลียร์เทคนิคการเกษตร กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

## ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์กรดอะมิโน

1.1 ผลการศึกษาปรับอัตราส่วนการไหลของเฟสเคลื่อนที่ (Gradient profile) สำหรับการแยกกรดอะมิโน

จากผลการศึกษา Gradient profile ที่เหมาะสมในการแยกพีกของกรดอะมิโนผสม 5 ชนิดออกจากสารชนิดอื่นๆ ได้มีการปรับสภาวะเริ่มต้นโดยใช้ Solvent A เป็น Eluent A (Sodium acetate trihydrate+Triethylamine) และ Solvent B เป็น Acetonitrile ตามเวลาและอัตราส่วน ดังนี้ นาทีที่ 0-10 : (95:5-90:10) นาทีที่ 10-19 : (90:10-80:20) นาทีที่ 19-23 : (80:20-40:60) นาทีที่ 23-25 : (40:60- 95:5) นาทีที่ 25-30 : (95:5-95:5) และทำการฉีดสารมาตรฐานของกรดอะมิโนผสม 5 ชนิดตามสภาวะข้างต้นพบว่า สภาวะดังกล่าวสามารถทำให้พีกของกรดอะมิโนที่สนใจศึกษาแยกออกมาดังนี้กรดอะมิโน Aspartic acid Glutamic acid Proline Phenylalanine และ Tryptophan ตามลำดับ ซึ่งพีกของ Aspartic acid และ Glutamic acid แยกออกจากพีกอื่นได้ดี แต่พีกกรดอะมิโน Proline, Phenylalanine และ Tryptophan ยังไม่สามารถแยกออกจากพีกอื่นได้จึงทำการปรับอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่ในนาทีที่ 23 เพื่อให้พีกของ Proline Phenylalanine และ Tryptophan แยกออกจากพีกอื่นได้ดียิ่งขึ้นซึ่งทำให้ได้ค่าการแยก (Resolution, Rs) ดังแสดงในตารางที่ 1

Table 1 Resolution values of amino acids at various ratio of mobile phase

| Amino acids | Resolution values of amino acids as various ratio | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 40:60 | 50:50 | 55:45 | 65:35 | 70:30 |
| Aspartic acid | 5.9 | 6.1 | 6.2 | 6.1 | 6.0 |
| Glutamic acid | 5.1 | 5.1 | 5.1 | 5.1 | 5.0 |
| Proline | 1.6 | 1.6 | 1.6 | 2.5 | 2.4 |
| Phenylalanine | 1.8 | 1.4 | 1.3 | 1.2 | 2.2 |
| Tryptophan | 0.0 | 1.6 | 1.3 | 1.6 | 2.0 |

จากตารางที่ 1 จะเห็นได้ว่าสภาวะที่ใช้ทดสอบโดยปรับอัตราส่วนของ Eluent A ต่อ Acetonitrile เป็น 70:30 สามารถแยกกรดอะมิโน Aspartic acid Glutamic acid Proline Phenylalanine และ Tryptophan ออกจากพีกอื่นได้ดี มีค่า Retention time ที่เวลา 7.60 8.63 15.59 25.11 และ 25.34 ตามลำดับ และมีค่าการแยกมากกว่า 2 ซึ่งผ่านเกณฑ์กำหนด แต่เมื่อมีการฉีดสารจำนวนหลายๆ ซ้ำ พบว่ายังมีสารอื่นเกิดขึ้นจากการ Derivatize คงค้างอยู่ในคอลัมน์ที่ใช้วิเคราะห์ทำให้เกิดการสะสม ส่งผลรบกวนพีกที่สนใจทำให้ไม่สามารถคำนวณผลการวิเคราะห์ได้ ดังนั้นจึงต้องมีการปรับ Gradient profile เพื่อลดการสะสมของสารอื่นในคอลัมน์โดยเพิ่มการล้างคอลัมน์ด้วย Solvent เพื่อไล่สิ่งสกปรกออกจากคอลัมน์ก่อนมีการฉีดสารต่อไป ซึ่งได้ผลการปรับ Gradient profile แสดงดังตารางที่ 2

Table 2 Gradient profile for separate 5 type amino acids after adjust mobile phase ratio

| Time (min.) | Flow rate (ml/min.) | Solvent A (%) | Solvent B (%) | Curve |
|---|---|---|---|---|
| 0 | 1.0 | 95 | 5 | 6 |
| 10 | 1.0 | 90 | 10 | 6 |
| 19 | 1.0 | 80 | 20 | 6 |
| 23 | 1.0 | 70 | 30 | 6 |
| 25 | 1.0 | 95 | 5 | 6 |
| 26 | 1.0 | 95 | 5 | 6 |
| 27 | 1.0 | 30 | 70 | 6 |
| 30 | 1.0 | 30 | 70 | 6 |
| 31 | 1.0 | 95 | 5 | 2 |
| 35 | 1.0 | 95 | 5 | 6 |

จากตารางที่ 2 เป็น Gradient profile ที่มีการปรับอัตราส่วนเพื่อทำความสะอาดคอลัมน์เพิ่มขึ้น จึงทำให้ระยะเวลาการวิเคราะห์เพิ่มขึ้น และจากการทดสอบฉีดสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ หลายๆ ซ้ำ พบว่าพีกที่สนใจศึกษาสามารถแยกออกจากกันได้ดีขึ้น ไม่มีพีกอื่นๆ รบกวนพีกที่สนใจศึกษา ดังนั้นจึงได้นำสภาวะนี้ไปใช้ในการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายบัฟเฟอร์ในการวิเคราะห์กรดอะมิโนต่อไป

1.2 ผลการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายบัฟเฟอร์ในการวิเคราะห์กรดอะมิโน

จากการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายบัฟเฟอร์ในการวิเคราะห์กรดอะมิโนโดยปรับอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์ผสมระหว่าง Sodium acetate trihydrate กับ Triethylamine ซึ่งเป็นการเลี่ยงการใช้บัฟเฟอร์ที่มีความเข้มข้นสูง หรือมีความเป็นกรดอ่อนๆ หากใช้ไปนานๆ อาจจะเกิดการสะสมจากเกลือของบัฟเฟอร์ตามอุปกรณ์ข้อต่อของเครื่อง HPLC ทำให้เกิดการอุดตันของท่อและข้อต่อได้ จึงมีการปรับความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์ให้ลดลง ซึ่งผลการทดสอบได้พิจารณาจากค่าการแยกของกรดอะมิโน ดังแสดงในตารางที่ 3

Table 3 Resolution values for study of buffer concentration for 5 type amino acids analysis

| Amino acids | Resolution | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 50 mM sodium acetate trihydrate + 6 mM triethylamine | 70 mM sodium acetate trihydrate + 8.5 mM triethylamine | 100 mM sodium acetate trihydrate + 12 mM triethylamine | 140 mM sodium acetate trihydrate + 17 mM triethylamine |
| Aspartic acid | 5.6 | 5.5 | 5.7 | 5.6 |
| Glutamic acid | 4.6 | 4.6 | 4.8 | 4.8 |
| Proline | 1.6 | 1.8 | 2.0 | 2.2 |
| Phenylalanine | 3.9 | 3.1 | 3.8 | 3.5 |
| Tryptophan | 1.9 | 2.0 | 2.0 | 2.0 |

จากตารางที่ 3 แสดงค่าการแยกซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกว่าพีกของสารทั้งสองพีกที่อยู่ติดกันแยกออกจากกันได้มากน้อยเพียงใด โดยมีเกณฑ์การยอมรับค่า Resolution มากกว่า 2 จากผลการทดสอบพบว่าเมื่อใช้สารละลายบัฟเฟอร์ที่ความเข้มข้น 140 mM Sodium acetate trihydrate + 17 mM Triethylamine และที่ความเข้มข้น 100 mM Sodium acetate trihydrate + 12 mM Triethylamine เป็นสารละลาย Mobile phase ทำให้พีกของกรดอะมิโนทุกตัวแยกออกจากกันได้ดี แต่เมื่อลดความเข้มข้นเป็น 70 mM Sodium acetate trihydrate + 8.5 mM Triethylamine ทำให้การแยก Proline เกิดขึ้นไม่ดี ส่วนการใช้ความเข้มข้น 50 mM Sodium acetate trihydrate + 6 mM Triethylamine

ทำให้ทั้งกรดอะมิโน Proline และ Tryptophan มีค่า Resolution ที่ต่ำกว่า 2 ดังนั้นจึงพิจารณาเลือกใช้ความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์ที่ความเข้มข้น 100 mM Sodium acetate trihydrate + 12 mM Triethylamine ในการวิเคราะห์กรดอะมิโนทั้ง 5 ชนิด ซึ่งทำให้ค่า Resolution ของกรดอะมิโนทุกชนิดผ่านเกณฑ์ยอมรับ

1.3 ผลการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการเตรียมสารอนุพันธ์

จากการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการเตรียมสารอนุพันธ์ โดยนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 10 12 และ 15 นาที ตามลำดับ เพื่อเป็นการทดสอบระยะเวลาที่เหมาะสมในการเตรียมสารอนุพันธ์ ซึ่งจะทำให้ทราบถึงการทำปฏิกิริยาที่สมบูรณ์ของสารและทำให้ทราบว่ากรดอะมิโนจะมีการสลายตัวไปได้มากน้อยเพียงใด เมื่อใช้ระยะเวลาในการทำอนุพันธ์เพิ่มขึ้น ซึ่งพิจารณาจาก % Recovery ดังแสดงในตารางที่ 4

Table 4 The comparison of %recovery of amino acids at derivatize time

| Amino acids | %Recovery | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 8 min | 10 min | 12 min | 15 min |
| Aspartic acid | 98.71 | 100.24 | 92.66 | 84.79 |
| Glutamic acid | 98.77 | 100.42 | 95.00 | 87.75 |
| Proline | 99.33 | 100.33 | 94.06 | 93.45 |
| Phenylalanine | 98.64 | 100.42 | 96.96 | 95.20 |
| Tryptophan | 100.01 | 99.86 | 97.69 | 96.41 |

จากตารางที่ 4 แสดงให้เห็นว่าระยะเวลาในการเตรียมอนุพันธ์กรดอะมิโนนั้นมีความสำคัญมาก การเกิดอนุพันธ์ที่สมบูรณ์จะเกิดได้ในระยะเวลา 10 นาที (Waters,1996) หากใช้ระยะเวลาที่ต่ำกว่า การเกิดอนุพันธ์อาจจะยังไม่สมบูรณ์ จากการทดลองพบว่า Aspartic acid Glutamic acid Proline และ Phenylalanine เกิดอนุพันธ์ได้ 98-99% ในระยะเวลา 8 นาที และเกิดได้ 100% เมื่อใช้ระยะเวลา 10 นาที ส่วน Tryptophan เกิดอนุพันธ์สมบูรณ์ได้ตั้งแต่นาทีที่ 8-10 สามารถเกิดอนุพันธ์ได้มากถึง 99-100% และกรดอะมิโนทุกชนิดมีแนวโน้มของการเกิดอนุพันธ์ลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากระยะเวลาที่บ่มนานเกิดไป ความร้อนที่สะสมอาจทำให้สารที่เกิดอนุพันธ์นั้นสลายตัวไปได้ ดังนั้นการทดลองนี้จึงต้องใช้ความระมัดระวังเรื่องระยะเวลาในการเตรียมอนุพันธ์กรดอะมิโนให้มาก

1.4 ผลการศึกษาความคงสภาพของกรดอะมิโนหลังการทำอนุพันธ์

กรดอะมิโนที่ได้ Derivatize แล้วไม่สามารถเก็บไว้ได้เป็นระยะเวลานาน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสารที่นำมาใช้ในการก่ออนุพันธ์ สารก่ออนุพันธ์บางตัวอาจจะทำให้มีความคงสภาพได้มากกว่าสัปดาห์ แต่สารบางตัวอาจจะทำให้มีความคงสภาพได้เพียงไม่กี่นาที ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาความคงสภาพของกรดอะมิโนที่ทำ Derivatize แล้ว เพื่อให้ทราบถึงระยะเวลาที่สามารถวิเคราะห์หรือเก็บรักษากรดอะมิโนที่จะนำมาวิเคราะห์หาปริมาณได้โดยทำการวิเคราะห์กรดอะมิโนแต่ละชนิดภายหลังจากการทำ Derivatize และเก็บตัวอย่างในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาวิเคราะห์ต่อในวันที่ 2, 4 และ 6 ซึ่งผลวิเคราะห์ที่ได้คิดเป็น %Recovery ของกรดอะมิโนแต่ละชนิดดังแสดงในตารางที่ 5

Table 5 %Recovery and difference results of amino acids analysis at various time

| Amino acids | %Recovery | | | Difference of %Recovery | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 2 Days | 4 Days | 6 Days | D0-D2 | D0-D4 | D0-D6 |
| Aspartic acid | 99.51 | 97.32 | 96.69 | 0.49 | 2.68 | 3.31 |
| Glutamic acid | 99.46 | 98.93 | 97.01 | 0.54 | 1.07 | 2.99 |
| Proline | 99.20 | 97.87 | 94.98 | 0.80 | 2.13 | 5.02 |

| Amino acids | %Recovery | | | Difference of %Recovery | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 2 Days | 4 Days | 6 Days | D0-D2 | D0-D4 | D0-D6 |
| Phenylalanine | 99.31 | 98.88 | 98.84 | 0.69 | 1.12 | 1.16 |
| Tryptophan | 99.47 | 98.45 | 96.47 | 0.53 | 1.55 | 3.53 |

จากตารางที่ 5 แสดง %Recovery ของกรดอะมิโนผสม 5 ชนิดที่ทำการวิเคราะห์ในวันที่ 2 4 และ 6 เทียบกับปริมาณกรดอะมิโนเริ่มต้น พบว่าปริมาณกรดอะมิโนที่วิเคราะห์หลังจาก Derivatize แล้วระยะเวลา 2 4 และ 6 วัน มีแนวโน้มลดลงเรื่อยๆ แต่จะเห็นได้ว่ากรดอะมิโน Phenylalanine ค่อนข้างมีความเสถียร มีปริมาณลดลงเพียงเล็กน้อยต่างจากปริมาณของกรดอะมิโน Aspartic acid, Glutamic acid และ Tryptophan ที่ลดลงอย่างช้าๆ ตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น ส่วนปริมาณของกรดอะมิโน Proline มีแนวโน้มลดลงอย่างมากถึง 5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บไว้ระยะเวลา 6 วัน ทั้งนี้อาจเกิดจากการสลายตัวของกรดอะมิโนตามระยะเวลาที่เก็บไว้ ดังนั้นหลังจากการ Derivatize กรดอะมิโนทั้ง 5 ชนิดแล้วควรนำมาวิเคราะห์ทันที และสามารถเก็บสารไว้วิเคราะห์ครั้งต่อไปได้ภายในระยะเวลา 4 วัน ซึ่งปริมาณของกรดอะมิโนจะยังคงสภาพอยู่ได้ถึง 97.32-98.93%

2. ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์กรดอะมิโน

2.1 ผลของทดสอบความจำเพาะเจาะจง (Specificity)

ผลการทดสอบ Specificity ของกรดอะมิโนผสม 5 ชนิด โดยพิจารณาจากโครมาโทแกรมของสารละลายแบล็งค์ สารละลายมาตรฐานกรดอะมิโน และตัวอย่างสารสกัด 3 ลักษณะ ที่มีการ Spike สารละลายมาตรฐานกรดอะมิโน 5 ชนิด ซึ่งมีผลการทดสอบดังแสดงในภาพที่ 1

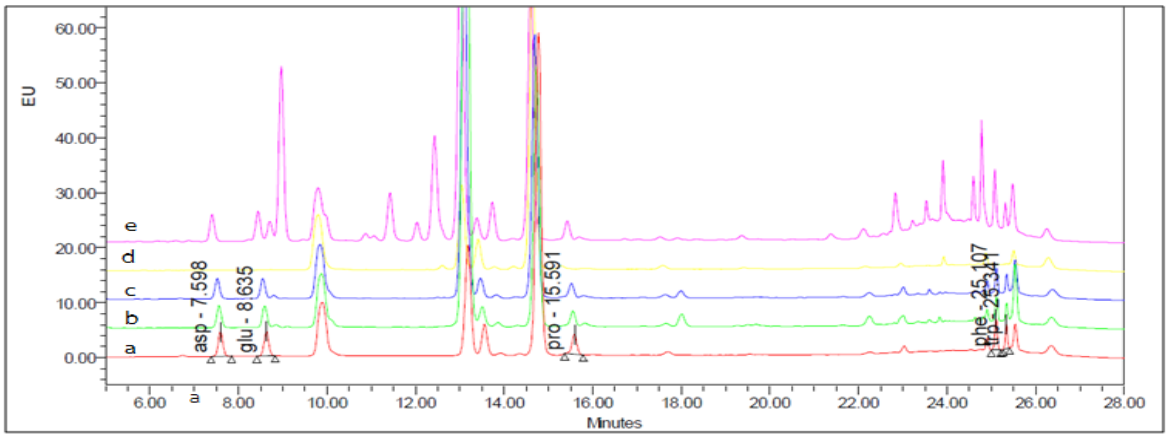



Figure 1 Chromatogram of a) Mix standard solution of 5 type amino acids b) Clear seaweed extract sample c) Seaweed extract powder sample d) Sample blank and e) Viscous seaweed extracts sample

จากภาพที่ 1 จะเห็นได้ว่าโครมาโทรแกรมของตัวอย่างเมื่อเปรียบเทียบกับโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานกรดอะมิโนผสม 5 ชนิดพบว่า ตัวอย่างสารสกัดจากสาหร่ายที่มีลักษณะใส และชนิดผง ไม่มีสารแปลกปลอมอื่นมารบกวนหรือซ้อนทับโครมาโทแกรมของกรดอะมิโนทั้ง 5 ชนิด ส่วนสารสกัดจากสาหร่ายที่มีลักษณะข้นหนืด พบว่ามีพีกอื่นมารบกวนพีกของกรดอะมิโน Glutamic acid และ Tryptophan ซึ่งพิจารณาจากค่าการแยกทั้ง 2 พีกมีค่าการแยกน้อยกว่า 2 ส่วนกรดอะมิโน Aspartic acid Proline และ Phenylalanine ไม่มีพีกของสารอื่นรบกวนหรือซ้อนทับ นั่นแสดงว่าวิธีนี้มีความจำเพาะเจาะจงสำหรับการวิเคราะห์กรดอะมิโนในสารสกัดจากสาหร่ายที่มีลักษณะใส และชนิดผง ส่วนในสารสกัดจากสาหร่ายที่มีลักษณะข้นหนืดจะมีความจำเพาะเจาะจงกับกรดอะมิโนบางตัวเท่านั้น

2.2 ผลการทดสอบ Matrix effect

จากการทดสอบ Matrix effect ของการวิเคราะห์กรดอะมิโนผสม 5 ชนิดในตัวอย่างสารสกัดจากสาหร่ายที่มีลักษณะใส ซึ่งผลจากการพล็อตกราฟสารมาตรฐาน 5 ระดับความเข้มข้น และพิจารณาความต่างสัมพัทธ์ (%RPD) ของ

ความชันของกราฟมาตรฐานกรดอะมิโนทั้ง 5 ชนิด พบว่า กรดอะมิโน Aspartic acid Glutamic acid Proline Phenylalanine และ Tryptophan มี %RPD เท่ากับ 9.64 9.62 4.25 6.18 และ 1.35 ตามลำดับ ซึ่ง %RPD อยู่ในเกณฑ์กำหนด (%RPD < 10 ) ตามมาตรฐาน NATA (2018) แสดงว่าการวิเคราะห์กรดอะมิโนในตัวอย่างที่เป็นสารสกัดจากสาหร่ายที่มีลักษณะใสไม่มี Matrix effect ซึ่งผลการทดสอบแสดงดังภาพที่ 2

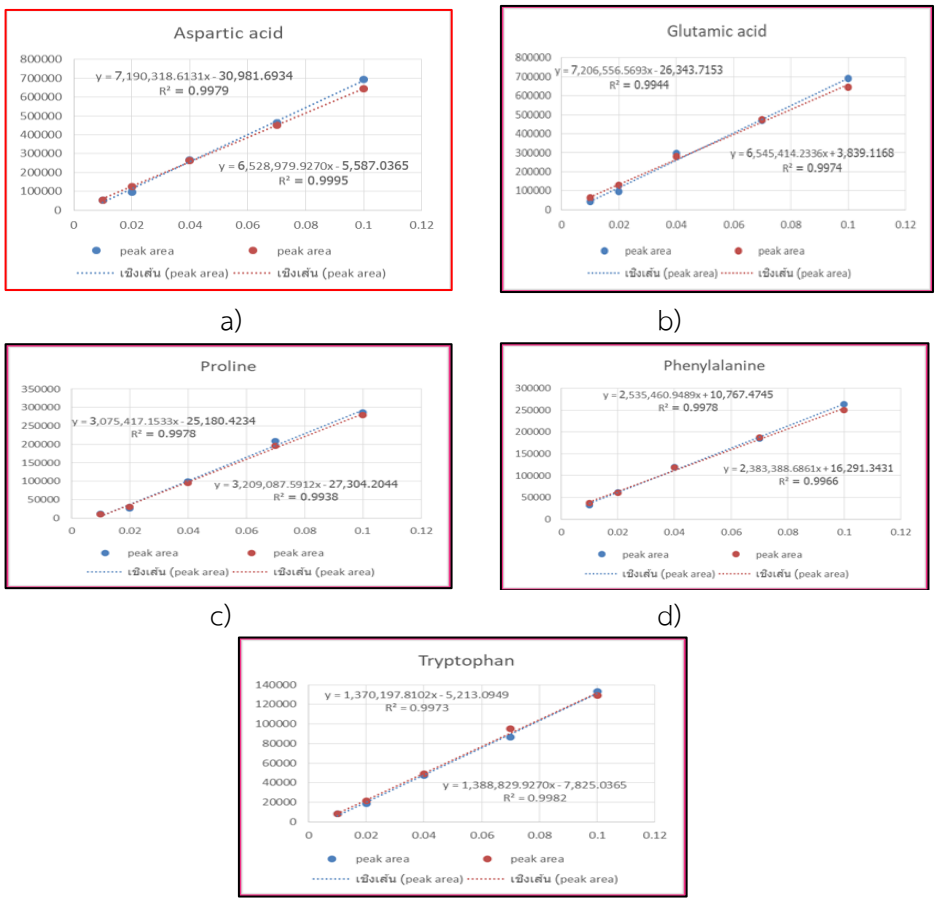



Figure 2 Results of the matrix effect for amino acid analysis of a) Aspartic acid b) Glutamic acid c) Proline d) Phenylalanine e) Tryptophan in clear seaweed extract sample

ในส่วนของการศึกษา Matrix effect ในสารสกัดจากสาหร่ายที่มีลักษณะข้นหนืด พบว่า กรดอะมิโน Aspartic acid Glutamic acid Proline Phenylalanine และ Tryptophan มี %RPD เท่ากับ 10.14 12.39 45.15 33.64 และ 0.36 ตามลำดับ ซึ่ง %RPD ของการวิเคราะห์กรดอะมิโน Aspartic acid Glutamic acid Proline Phenylalanine มีค่าเกินเกณฑ์กำหนด (%RPD < 10 ) แสดงว่าการวิเคราะห์กรดอะมิโนในตัวอย่างดังกล่าวมี Matrix effect มีเพียงกรดอะมิโน Tryptophan ที่ไม่มี Matrix effect

2.3 ขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ)

จากการหาค่าขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) โดยการเติมสารมาตรฐานกรดอะมิโน Aspartiic acid Glutamic acid Proline Phenylalanine และ Tryptophan ที่มีความเข้มข้นต่ำๆ ลงในตัวอย่างที่ไม่มีสารที่ต้องการทดสอบ (Sample blank) แล้วนำมาดำเนินการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ผลที่ได้นำมาคำนวณส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่า LOD และ LOQ พบว่ากรดอะมิโน 5 ชนิดมีค่า LOD เท่ากับ 0.78 0.68 0.69 0.05 และ 4.76 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และค่า LOQ จากการคำนวณมีค่าเท่ากับ 2.6 2.3 2.3 0.2 และ 15.9 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 6

Table 6 Limit of detection and limit of quantitation for 5 amino acids analysis

| Rep. | Concentration of amino acids (µg/L) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Aspartic acid | Glutamic acid | Proline | Phenylalanine | Tryptophan |
| 1 | 11.50 | 11.48 | 9.48 | 0.98 | 88.7 |
| 2 | 10.76 | 10.67 | 9.67 | 1.01 | 99.5 |
| 3 | 11.13 | 12.51 | 10.51 | 0.99 | 94.7 |
| 4 | 10.12 | 12.65 | 9.65 | 1.00 | 99.3 |
| 5 | 10.43 | 11.23 | 9.03 | 1.02 | 94.7 |
| 6 | 9.54 | 11.10 | 11.58 | 0.92 | 87.2 |
| 7 | 10.62 | 10.65 | 9.59 | 1.03 | 97.5 |
| 8 | 9.07 | 11.98 | 9.98 | 1.12 | 96.9 |
| 9 | 9.48 | 10.93 | 10.55 | 0.96 | 88.4 |
| 10 | 11.23 | 11.15 | 9.67 | 0.99 | 87.3 |
| mean | 10.39 | 11.44 | 9.97 | 1.00 | 93.42 |
| SD | 0.82 | 0.72 | 0.73 | 0.05 | 5.02 |
| $S'_0$ | 0.26 | 0.23 | 0.23 | 0.02 | 1.59 |
| LOD | 0.78 | 0.68 | 0.69 | 0.05 | 4.76 |
| Predict LOQ | 2.6 | 2.3 | 2.3 | 0.2 | 15.9 |

2.4 พิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ระดับ LOQ

จากค่า Predict LOQ ที่คำนวณได้ในตารางที่ 6 นำค่าที่ได้มาทำการพิสูจน์ความถูกต้องและความเที่ยงที่ระดับ LOQ โดยทำการ Spike สารมาตรฐานกรดอะมิโนความเข้มข้นที่ระดับ Predict LOQ ของกรดอะมิโนแต่ละตัวลงในสารละลายตัวอย่าง จากนั้นดำเนินการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC พบว่า ผลการวิเคราะห์กรดอะมิโน Aspartiic acid Glutamic acid Proline Phenylalanine และ Tryptophan มีค่า %Recovery เท่ากับ 78.73 77.17 70.44 78.37 และ 75.45 ตามลำดับ ซึ่งทั้งหมดมีค่าต่ำกว่าเกณฑ์การยอมรับ ที่ 80-110% ตามมาตรฐาน AOAC (2016) ของสารที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ทั้งนี้อาจเกิดขึ้นได้มีการเจือจางสารมาตรฐานหลายเท่า ส่งผลทำให้ผลการวิเคราะห์คลาดเคลื่อนได้สูง ดังนั้นจึงทำการทดสอบโดยการเติมสารมาตรฐานกรดอะมิโนที่ความเข้มข้นที่สูงขึ้น เพื่อพิสูจน์ความถูกต้องและความเที่ยงที่ระดับ LOQ โดยกรดอะมิโน Aspartic acid Glutamic acid และ Proline ทดสอบที่ความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อลิตร Phenylalanine ทดสอบที่ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อลิตร และ Tryptophan ทดสอบที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อลิตร พบว่า มี %Recovery เท่ากับ 103.65 100.90 96.29 94.94 และ 86.92 ตามลำดับ ค่าที่ได้อยู่ในช่วงเกณฑ์ยอมรับที่ 80-110 % มีค่า HorRat เท่ากับ 0.17 0.22 0.27 0.20 และ 0.32 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์ยอมรับค่า HorRat ≤ 1.3 ตามมาตรฐาน AOAC (2016) ผลการทดสอบที่ได้แสดงดังตารางผนวก 1

2.5 ช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity) และ ช่วงความเข้มข้นที่ใช้งาน (Range) ของวิธี

2.5.1 จากการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity) โดยทำการเตรียมสารมาตรฐานกรดอะมิโนผสม จำนวน 7 ความเข้มข้น ซึ่งกรดอะมิโน Aspartic acid Glutamic acid และ Proline เตรียมที่ความเข้มข้น 5 10 20 40 60 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อลิตร Phenylalanine เตรียมที่ความเข้มข้น 0.5 1 2 4 6 8 และ 10 ไมโครกรัมต่อลิตร และ Tryptophan เตรียมที่ความเข้มข้น 50 100 200 400 600 800 และ 1000 ไมโครกรัมต่อลิตร จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ผลที่ได้นำมาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของกรดอะมิโน (µg/L) ( แกน x ) กับพื้นที่ใต้พีก (Peak area) (แกน y) พบว่ามีค่า r เท่ากับ 0.99931 0.99950 0.99934 0.99973 0.99927 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 7 เมื่อพิจารณาค่า Correlation coefficient (r) ของกราฟความสัมพันธ์ มีค่า r > 0.995 ซึ่งทั้งหมดผ่านเกณฑ์การยอมรับ

Table 7 Linearity and correlation coefficient of 5 type amino acids analysis

| Amino acids | Concentration range (µg/L) | Correlation coefficient (r ) |
|---|---|---|
| Aspartic acid | 5-100 | 0.99931 |
| Glutamic acid | 5-100 | 0.99950 |
| Proline | 5-100 | 0.99934 |
| Phenylalanine | 0.5-10 | 0.99973 |
| Tryptophan | 50-1000 | 0.99927 |

2.5.2 จากการศึกษาช่วงความเข้มข้นที่ใช้งาน (Range) โดยทำการเตรียมสารมาตรฐานกรดอะมิโนรวมจำนวน 7 ความเข้มข้น ซึ่งกรดอะมิโน Aspartic acid Glutamic acid และ Proline เตรียมความเข้มข้น 5 10 20 30 40 50 และ 60 ไมโครกรัมต่อลิตร Phenylalanine เตรียมความเข้มข้น 0.5 1 2 3 4 5 และ 6 ไมโครกรัมต่อลิตร และ Tryptophan เตรียมความเข้มข้น 50 100 200 300 400 500 และ 600 ไมโครกรัมต่อลิตร จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ผลที่ได้นำมาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของกรดอะมิโน (mg/L) ( แกน x ) กับพื้นที่ใต้พีก (Peak area) (แกน y) พบว่า มีค่า r เท่ากับ 0.99960 0.99949 0.99926 0.99970 และ 0.99970 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 8 เมื่อพิจารณาค่า Correlation coefficient (r) ของกราฟความสัมพันธ์ มีค่า r > 0.995 ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ

Table 8 Range and correlation coefficient of 5 type amino acids analysis

| Amino acids | Concentration range (µg/L) | Correlation coefficient (r ) |
|---|---|---|
| Aspartic acid | 5-60 | 0.99960 |
| Glutamic acid | 5-60 | 0.99949 |
| Proline | 5-60 | 0.99926 |
| Phenylalanine | 0.5-6 | 0.99970 |
| Tryptophan | 50-600 | 0.99970 |

2.6 ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ของวิธี

2.6.1 ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ความเข้มข้นระดับต่ำ

จากการพิสูจน์ Trueness โดยการหาค่า %Recovery ในตัวอย่างสารสกัดจากสาหร่ายที่เติมสารละลายมาตรฐานแต่ละชนิดของกรดอะมิโนที่ความเข้มข้นระดับต่ำ จำนวน 10 ซ้ำ โดยกรดอะมิโน Aspartic acid Glutamic acid และ Proline ทดสอบที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร Phenylalanine ทดสอบที่ความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Tryptophan ทดสอบที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการทดสอบพบว่า Aspartic acid Glutamic acid Proline Phenylalanine และ Tryptophan มีค่า %Recovery เท่ากับ 103.24 103.20 99.59 94.34 และ 95.39 ตามลำดับ ซึ่งค่าที่ได้ทั้งหมดอยู่ในช่วงเกณฑ์ยอมรับที่ 80-110 % มีค่า HorRat เท่ากับ 0.31 0.43 0.57 0.40 และ 0.61 ตามลำดับ ผ่านเกณฑ์ยอมรับค่า HorRat ≤ 1.3 AOAC (2016) ซึ่งมีผลการทดสอบเพื่อพิสูจน์ความถูกต้องและความเที่ยงดังแสดงในตารางผนวก 2

2.6.2 ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ความเข้มข้นระดับกลาง

จากการพิสูจน์ Trueness โดยการหาค่า %Recovery ในตัวอย่างสารสกัดจากสาหร่ายที่เติมสารละลายมาตรฐานแต่ละชนิดของกรดอะมิโนที่ความเข้มข้นระดับกลาง จำนวน 10 ซ้ำ โดยกรดอะมิโน Aspartic acid, Glutamic acid และ Proline ทดสอบที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร Phenylalanine ทดสอบที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Tryptophan ทดสอบที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการทดสอบพบว่า มีค่า %Recovery เท่ากับ 96.40 102.82 101.79 98.68 และ 98.51 ตามลำดับ ค่าที่ได้อยู่ในช่วงเกณฑ์ยอมรับที่ 90-107% และมีค่า HorRat เท่ากับ 0.93 0.56 0.82 0.53 และ 0.51 ตามลำดับ ค่าที่ได้ผ่านเกณฑ์ยอมรับค่า HorRat ≤ 1.3 AOAC (2016) ซึ่งมีผลการทดสอบเพื่อพิสูจน์ความถูกต้องและความเที่ยงดังแสดงในตารางผนวก 3

2.6.3 ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ความเข้มข้นระดับสูง

จากการพิสูจน์ Trueness โดยการหาค่า %Recovery ในตัวอย่างสารสกัดจากสาหร่ายที่เติมสารละลายมาตรฐานแต่ละชนิดของกรดอะมิโนที่ความเข้มข้นระดับสูง จำนวน 10 ซ้ำ โดยกรดอะมิโน Aspartic acid Glutamic acid และ Proline ทดสอบที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร Phenylalanine ทดสอบที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Tryptophan ทดสอบที่ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการทดสอบพบว่ามีค่า %Recovery เท่ากับ 95.86 99.16 98.91 97.39 และ 103.55 ตามลำดับ ค่าที่ได้อยู่ในช่วงเกณฑ์ยอมรับที่ 95-105% และมีค่า HorRat เท่ากับ 0.30 0.60 0.57 0.65 และ 0.31 ตามลำดับ ค่าที่ได้ผ่านเกณฑ์ยอมรับค่า HorRat ≤1.3 AOAC (2016) ซึ่งมีผลการทดสอบเพื่อพิสูจน์ความถูกต้องและความเที่ยงดังแสดงในตารางผนวก 4

2.7 ความคงทนของวิธี (Ruggedness)

ทำการทดสอบความคงทนของวิธีวิเคราะห์กรดอะมิโนโดยทำการเปลี่ยนแปลงปัจจัยที่มีผลต่อการทดสอบดังนี้

2.7.1 การเปลี่ยนแปลงระยะเวลาในการ Incubate ตัวอย่าง

จากการเปลี่ยนแปลงสภาวะของการเตรียมตัวอย่างโดยมีการปรับระยะเวลาของการ Incubate ตัวอย่างจากวิธีการวิเคราะห์ในสภาวะปกติใช้เวลาในการ Incubate 10 นาที เปลี่ยนเป็น 11 นาที โดยทำการทดสอบจำนวน 7 ซ้ำ จากนั้นนำผลการทดสอบมาวิเคราะห์หาค่าทางสถิติ t-test พบว่าค่า $t_{stat}$ น้อยกว่า $t_{critical}$ ทุกค่า ดังแสดงในตารางที่ 9 แสดงว่าทั้งสองสภาวะให้ผลทดสอบไม่แตกต่างกัน ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงระยะเวลาในการ Incubate ตัวอย่างจึงไม่มีผลกับค่าวิเคราะห์กรดอะมิโน Aspartic acid Glutamic acid Proline Phenylalanine และ Tryptophan

Table 9 The comparison of incubation period for 5 amino acids analysis

| Amino acids | t-test | | comparison |
|---|---|---|---|
| | $t_{stat}$ | $t_{critical}$ | |
| Aspartic acid | 1.412 | 2.179 | ns |
| Glutamic acid | 1.752 | 2.179 | ns |
| Proline | 0.313 | 2.228 | ns |
| Phenylalanine | 1.805 | 2.179 | ns |
| Tryptophan | 1.310 | 2.179 | ns |

ns = non-significant at 5% level; *S = Significant at 5% level

2.7.2 การเปลี่ยนแปลงชนิดของตัวทำละลาย

จากการเปลี่ยนแปลงชนิดของตัวทำละลายในการเตรียมตัวอย่างกรดอะมิโน โดยเปลี่ยนแปลงตัวทำละลายตัวอย่างที่ใช้ในสภาวะปกติคือละลายด้วย 0.1 N HCl เป็นการละลายด้วย $H_2O$ โดยทำการทดสอบจำนวน 7 ซ้ำ จากนั้นนำผลการทดสอบที่ได้มาวิเคราะห์หาค่าทางสถิติ t-test พบว่าค่า $t_{stat}$ น้อยกว่า $t_{critical}$ ทุกค่า ดังแสดงในตารางที่ 10 แสดงว่าทั้งสองสภาวะให้ผลทดสอบไม่แตกต่างกัน ดังนั้นการวิเคราะห์กรดอะมิโน Aspartic acid Glutamic acid Proline Phenylalanine และ Tryptophan สามารถใช้สารละลาย 0.1 N HCl และ $H_2O$ เป็นตัวทำละลายในการเตรียมตัวอย่างกรดอะมิโนได้

Table 10 The comparison of solvent type for 5 amino acids analysis

| Amino acids | t-test | | comparison |
|---|---|---|---|
| | $T_{stat}$ | $T_{critical}$ | |
| Aspartic acid | 0.636 | 2.201 | ns |
| Glutamic acid | 1.229 | 2.201 | ns |
| Proline | 0.343 | 2.201 | ns |
| Phenylalanine | 0.385 | 2.262 | ns |
| Tryptophan | 0.988 | 2.201 | ns |

ns = non-significant at 5% level; *S = Significant at 5% level

2.7.3 การเปลี่ยนแปลงชนิดตัวกรองสารละลาย

จากการเปลี่ยนแปลงชนิดของตัวกรองสารละลายที่ใช้ในการเตรียมสารละลายตัวอย่างกรดอะมิโน ก่อนฉีดเข้าเครื่อง HPLC โดยเปลี่ยนแปลงตัวกรองสารละลายที่ใช้ในสภาวะปกติคือ กรองด้วยตัวกรองชนิด Polyvinylidene fluoride (PVDF) เป็นชนิด Polyethersulfone (PES) โดยทำการทดสอบจำนวน 7 ซ้ำ จากนั้นนำผลการทดสอบที่ได้นำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติ t-test พบว่าค่า $t_{stat}$ น้อยกว่า $t_{critical}$ ทุกค่า ดังแสดงในตารางที่ 11 แสดงว่าทั้งสองสภาวะให้ผลทดสอบไม่แตกต่างกัน ดังนั้นการวิเคราะห์กรดอะมิโน Aspartic acid Glutamic acid Proline Phenylalanine และ Tryptophan สามารถใช้ตัวกรองที่เป็นชนิด PVDF และ PES ในการกรองสารละลายเพื่อเตรียมตัวอย่างกรดอะมิโนได้

Table 11 The comparison of filter paper type for 5 amino acids analysis

| Amino acids | t-test | | comparison |
|---|---|---|---|
| | $t_{stat}$ | $t_{critical}$ | |
| Aspartic acid | 0.436 | 2.262 | ns |
| Glutamic acid | 0.079 | 2.201 | ns |
| Proline | 0.813 | 2.179 | ns |
| Phenylalanine | 1.432 | 2.179 | ns |
| Tryptophan | 0.302 | 2.201 | ns |

ns = non-significant at 5% level; *S = Significant at 5% level

3. ผลการหาปริมาณกรดอะมิโนในผลิตภัณฑ์กรดอะมิโน

ผลการศึกษาปริมาณกรดอะมิโน 5 ชนิดตัวอย่างผลิตภัณฑ์กรดอะมิโนที่ได้สุ่มเก็บจากร้านค้าเคมีเกษตร แบ่งเป็น 2 กลุ่มดังนี้

1) ตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารสกัดจากสาหร่ายที่ไม่ระบุความเข้มข้นที่มีลักษณะใส จำนวน 14 ตัวอย่าง พบว่ามีปริมาณกรดอะมิโน Aspartic acid Glutamic acid Proline Phenylalanine และ Tryptophan อยู่ในช่วง 0.39-135.50 1.07-326.33 1.11-91.25 0.09-4.34 และ 46.67-429.58 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

2) ตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารสกัดจากสาหร่ายที่มีลักษณะเป็นผง จำนวน 4 ตัวอย่าง พบว่ามีปริมาณกรดอะมิโน Aspartic acid Glutamic acid Proline และ Phenylalanine อยู่ในช่วง 4.25-24.70 0.98-11.13 0.18-6.20 และ 7.61-48.96 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนกรดอะมิโน Tryptophan มีปริมาณต่ำกว่าค่า LOQ

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์กรดอะมิโน Aspartic acid Glutamic acid Proline Phenylalanine และ Tryptophan สรุปได้ดังนี้

1. การวิเคราะห์กรดอะมิโนผสมทั้ง 5 ชนิดสามารถตรวจวัดโดยใช้เทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟี (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) ที่ติดตั้งตัวตรวจวัดชนิด Fluorescence โดยใช้ความยาวคลื่น (Wavelength) $\lambda$ex เท่ากับ 250 นาโนเมตร, $\lambda$em เท่ากับ 395 นาโนเมตร ใช้คอลัมน์ชนิด C18 ความยาว 150 มิลลิเมตร ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.6 มิลลิเมตร อนุภาค 5 ไมครอน เฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายบัฟเฟอร์ผสมระหว่าง Sodium acetate trihydrate+Triethylamine และ Acetonitrile โดยชะสารออกจากคอลัมน์แบบ Gradient อุณหภูมิของคอลัมน์ 35 องศาเซลเซียส ใช้เวลาในการวิเคราะห์ 35 นาที

2. จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมการแยกพีกของกรดอะมิโนให้ออกจากกัน โดยมีการปรับเฟสเคลื่อนที่แบบ Gradient ด้วย Acetonitrile และสารละลายบัฟเฟอร์ผสมระหว่าง Sodium acetate trihydrate ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ และ Triethylamine ความเข้มข้น 12 มิลลิโมลาร์ ซึ่งทำให้พีกแยกจากกันได้ดี มีค่าการแยกมากกว่า 2 ระยะเวลาของการเตรียมอนุพันธ์ที่เหมาะสมใช้เวลา 10 นาที ภายหลังจากการเตรียมอนุพันธ์กรดอะมิโนมีความคงสภาพได้นานถึง 4 วัน อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์กรดอะมิโนก็ยังมีข้อจำกัดในเรื่องของระยะเวลาในการทำอนุพันธ์ซึ่งจะไม่สามารถเก็บสารที่เปิดใช้แล้วไว้ได้นานและสารที่ใช้มีราคาสูงจึงต้องมีการวางแผนการทดสอบอย่างดี

3. จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์กรดอะมิโนพบว่า วิธีวิเคราะห์กรดอะมิโนมีความจำเพาะเจาะจงสำหรับตัวอย่างสารสกัดจากสาหร่ายที่มีลักษณะใสและแบบผงเท่านั้น จากการทดสอบผลของเมทริกซ์ในตัวอย่างสารสกัดจากสาหร่ายที่มีลักษณะสารละลายใสพบว่า มี %RPD อยู่ในช่วง 1.35-9.64 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์กำหนด (%RPD < 10 ) ตามมาตรฐาน NATA (2018) สำหรับการวิเคราะห์กรดอะมิโนในตัวอย่างสารสกัดจากสาหร่ายที่มีลักษณะขุ่นและข้นหนืด มี %RPD เกินเกณฑ์กำหนด ยกเว้นกรดอะมิโน Tryptophan ทั้งนี้อาจจะต้องวิเคราะห์โดยวิธีทำ Standard addition และจากการหาค่า LOD มีค่าอยู่ในช่วง 0.05-4.76 ไมโครกรัมต่อลิตร มีค่า LOQ อยู่ในช่วง 0.5-50 ไมโครกรัมต่อลิตร ซึ่งการพิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ระดับ LOQ มีค่าที่อยู่ในช่วงแกณฑ์ยอมรับทั้งสิ้น การศึกษาค่าความเป็นเส้นตรง (Linearity) และช่วงของการวัด (Working range) กรดอะมิโนโดยพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient, r) พบว่าทุกค่าผ่านเกณฑ์ยอมรับ มีค่า Correlation coefficient (r) ≥ 0.995 การพิสูจน์ความถูกต้องและความเที่ยงที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง โดยประเมินจาก %Recovery ของกรดอะมิโนทั้ง 5 ชนิด พบว่า ที่ความเข้มข้นระดับต่ำ กลาง และสูง มี %Recovery อยู่ในช่วง 94.34-103.55 และการพิสูจน์ความเที่ยง (Precision) ได้ค่า HorRat อยู่ในช่วง 0.30-0.93 ซึ่งเป็นไปตามเกณฑ์ยอมรับของ AOAC (2016) สำหรับการตรวจสอบ Ruggedness โดยมีการเปลี่ยนแปลงสภาวะที่มีผลต่อการทดสอบ และคำนวณเปรียบเทียบความเข้มข้นของกรดอะมิโนด้วยวิธีทางสถิติ t-test พบว่าทุกค่า มีค่า $t_{cal}$ น้อยกว่า $t_{critical}$ ทั้งสิ้น

4. วิธีวิเคราะห์กรดอะมิโนมีขอบข่ายการวิเคราะห์ Aspartic acid Glutamic acid และ Proline อยู่ในช่วง 0.005-500 มิลลิกรัมต่อลิตร Phenylalanine อยู่ในช่วง 0.0005-100 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Tryptophan อยู่ในช่วง 0.05-1000 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากการพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์กรดอะมิโนพบว่าคุณสมบัติเฉพาะของวิธีเป็นไปตามเกณฑ์การยอมรับ ดังนั้นจึงสามารถนำวิธีวิเคราะห์นี้ไปใช้ในการวิเคราะห์กรดอะมิโนดังกล่าวได้อย่างถูกต้อง แม่นยำและเป็นที่น่าเชื่อถือได้

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. สามารถนำมาวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโน Aspartic acid Glutamic acid Proline Phenylalanine และ Tryptophan ในผลิตภัณฑ์สารสกัดอินทรีย์และสารสกัดจากสาหร่ายที่มีจำหน่ายตามท้องตลาด เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการให้ความรู้และแนะนำเกษตรกรในการใช้ประโยชน์จากวัตถุเคมีการเกษตรได้
2. เป็นแนวทางในศึกษาวิธีการวิเคราะห์กรดอะมิโนชนิดอื่นๆ ในผลิตภัณฑ์สารสกัดอินทรีย์และสารสกัดจากสาหร่ายต่อไป

## เอกสารอ้างอิง


AOAC. 2016. Appendix F. Guidelines for standard method performance requirements.

Al-said, M.A. and A.M. Kamal. 2008. Effect of foliar spray with folic acid and some amino acids on flowering, yield and quality of sweet pepper. ***J. Agric. Sci. Mansoura Univ.*** 33(10): 7403-7412.

Awad, El-M.M., A.M. Abd El-Hameed and Z.S. Shall. 2007. Effect of glycine and nitrogen fertilizer rates on growth, yield and chemical composition of potato. ***J. Agric. Sci. Mansoura Univ.*** 32:8541-8551.

EURACHEM. 2014. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, The Fitness for Purpose of Analytical Methods.

Fang, Z., J. Ou, Y. Huang, Q. Li ,G. Xu, Zhungzhen and L. S. Yang. 2015. Determination of 21 free amino acids in fruit juices by HPLC using a modification of the 6-aminoquinolyl-*N*-hydroxysuccinimidyl carbamate (AQC) method. ***Food Anal Methods*** 8: 428-437.

Katarzyna, S., S. Ilona, R. Jolanta, K.Waldemar, B. Grazyna. 2017.Method validation of determination of amino acids in feed by UHPLC. ***Accred Qual Assur*** 22: 247-252.

NATA. 2018. General Accreditation Guidance-Validation and Verification of Quantitative and Qualitative Test Methods.

Rivier, L. and A. Crozier. 1987. Principles and practice of plant hormone analysis. Vol. II. London: academic press Inc. (London) Ltd.

Waters . 1996. Analyzing feed hydroolysate samples using the AccQ Tag method. Waters corporation U.S.A.

Appendix Table 1 Accuracy and precision at the LOQ level of 5 amino acids

| Rep. | Aspartic acid | | Glutamic acid | | Proline | | Phenylalanine | | Tryptophan | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Conc. (µg/L) | %Re | Conc. (µg/L | %Re | Conc. (µg/L) | %Re | Conc. (µg/L | %Re | Conc. (µg/L) | %Re |
| 1 | 5.59 | 107.62 | 5.50 | 99.62 | 5.48 | 98.15 | 0.57 | 102.58 | 52.24 | 90.85 |
| 2 | 5.61 | 108.10 | 5.74 | 105.22 | 5.46 | 97.66 | 0.50 | 85.88 | 51.82 | 89.82 |
| 3 | 5.63 | 108.59 | 5.70 | 104.28 | 5.57 | 100.36 | 0.49 | 83.49 | 48.52 | 81.77 |
| 4 | 5.59 | 107.62 | 4.81 | 83.52 | 5.38 | 95.70 | 0.50 | 85.88 | 48.88 | 82.65 |
| 5 | 5.08 | 95.20 | 5.57 | 101.25 | 4.78 | 80.98 | 0.54 | 95.42 | 47.82 | 80.06 |
| 6 | 5.39 | 102.75 | 5.48 | 99.15 | 5.22 | 91.77 | 0.56 | 100.19 | 53.24 | 93.29 |
| 7 | 5.06 | 94.71 | 5.87 | 108.25 | 5.49 | 98.40 | 0.58 | 104.96 | 56.70 | 89.46 |
| 8 | 5.47 | 104.69 | 5.67 | 103.58 | 5.78 | 105.52 | 0.59 | 107.35 | 49.87 | 85.07 |
| 9 | 5.29 | 100.31 | 5.58 | 101.48 | 4.99 | 86.13 | 0.52 | 90.65 | 49.47 | 84.09 |
| 10 | 5.55 | 106.89 | 5.63 | 102.65 | 5.89 | 108.22 | 0.53 | 93.03 | 52.77 | 92.14 |
| mean | 5.43 | 103.65 | 5.56 | 100.90 | 5.40 | 96.29 | 0.54 | 94.94 | 51.13 | 86.92 |
| SD | 0.216 | | 0.286 | | 0.336 | | 0.036 | | 2.729 | 4.730 |
| %RSD | 3.928 | | 5.154 | | 6.219 | | 6.662 | | 5.338 | 5.442 |
| HorRat | 0.17 | | 0.22 | | 0.27 | | 0.20 | | 0.32 | |

Appendix Table 2 Accuracy and precision at the low concentration level of 5 amino acids

| Rep. | Aspartic acid | | Glutamic acid | | Proline | | Phenylalanine | | Tryptophan | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Conc. (mg/L) | %Re | Conc. (mg/L) | %Re | Conc. (mg/L) | %Re | Conc. (mg/L) | %Re | Conc. (mg/L) | %Re |
| 1 | 0.525 | 102.47 | 0.494 | 98.08 | 0.461 | 91.52 | 0.046 | 84.827 | 5.066 | 98.28 |
| 2 | 0.535 | 104.30 | 0.518 | 102.78 | 0.490 | 97.40 | 0.049 | 90.793 | 5.041 | 97.81 |
| 3 | 0.535 | 104.32 | 0.527 | 104.57 | 0.483 | 95.89 | 0.050 | 93.403 | 5.128 | 99.50 |
| 4 | 0.515 | 100.50 | 0.484 | 95.96 | 0.441 | 87.65 | 0.048 | 89.488 | 4.726 | 91.69 |
| 5 | 0.515 | 100.46 | 0.529 | 104.97 | 0.507 | 100.70 | 0.053 | 98.623 | 4.998 | 96.98 |
| 6 | 0.501 | 97.71 | 0.547 | 108.58 | 0.513 | 101.95 | 0.052 | 96.572 | 4.897 | 95.01 |
| 7 | 0.562 | 109.57 | 0.480 | 95.14 | 0.514 | 102.01 | 0.051 | 95.640 | 4.707 | 91.32 |
| 8 | 0.512 | 99.83 | 0.531 | 105.42 | 0.538 | 106.89 | 0.051 | 94.521 | 4.408 | 85.53 |
| 9 | 0.546 | 106.55 | 0.537 | 106.55 | 0.549 | 109.04 | 0.058 | 108.131 | 5.267 | 102.19 |
| 10 | 0.547 | 106.74 | 0.554 | 109.93 | 0.518 | 102.88 | 0.049 | 91.352 | 4.927 | 95.59 |
| mean | 0.529 | 103.24 | 0.520 | 103.20 | 0.501 | 99.59 | 0.051 | 94.34 | 4.916 | 95.39 |
| SD | 0.019 | | 0.026 | | 0.033 | | 0.003 | | 0.247 | |
| %RSD | 3.590 | | 4.994 | | 6.629 | | 6.626 | | 5.033 | |
| HorRat | 0.31 | | 0.43 | | 0.57 | | 0.40 | | 0.61 | |

Appendix Table 3 Accuracy and precision at the medium concentration level of 5 amino acids

| Rep. | Aspartic acid | | Glutamic acid | | Proline | | Phenylalanine | | Tryptophan | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Conc. (mg/L) | %Re | Conc. (mg/L) | %Re | Conc. (mg/L) | %Re | Conc. (mg/L) | %Re | Conc. (mg/L) | %Re |
| 1 | 92.70 | 90.45 | 99.92 | 99.13 | 96.24 | 95.57 | 20.68 | 96.39 | 193.14 | 96.00 |
| 2 | 102.16 | 99.68 | 103.74 | 102.92 | 105.50 | 104.77 | 22.08 | 102.91 | 198.66 | 98.74 |
| 3 | 101.98 | 99.50 | 108.08 | 107.23 | 103.10 | 102.39 | 22.32 | 104.03 | 201.23 | 100.02 |
| 4 | 94.16 | 91.87 | 100.02 | 99.23 | 98.98 | 98.29 | 21.84 | 101.79 | 191.78 | 95.32 |
| 5 | 102.28 | 99.79 | 106.38 | 105.54 | 106.26 | 105.52 | 20.76 | 96.76 | 197.64 | 98.23 |
| 6 | 96.90 | 94.54 | 104.02 | 103.20 | 108.08 | 107.33 | 21.08 | 98.25 | 196.32 | 97.58 |
| 7 | 104.58 | 102.04 | 104.04 | 103.22 | 103.00 | 102.29 | 21.44 | 99.93 | 204.62 | 101.71 |
| 8 | 95.24 | 92.92 | 106.54 | 105.70 | 102.30 | 101.59 | 20.56 | 95.83 | 203.34 | 101.07 |
| 9 | 93.10 | 90.84 | 99.16 | 98.38 | 95.16 | 94.50 | 19.92 | 92.84 | 191.98 | 95.42 |
| 10 | 104.90 | 102.35 | 104.44 | 103.62 | 106.34 | 105.60 | 21.04 | 98.06 | 203.18 | 100.99 |
| mean | 98.80 | 96.40 | 103.63 | 102.82 | 102.49 | 101.79 | 21.17 | 98.68 | 198.18 | 98.51 |
| SD | 4.849 | | 3.048 | | 4.411 | | 0.748 | | 4.844 | |
| %RSD | 4.908 | | 2.941 | | 4.304 | | 3.535 | | 2.444 | |
| HorRat | 0.93 | | 0.56 | | 0.82 | | 0.53 | | 0.51 | |

Appendix Table 4 Accuracy and precision at the high concentration level of 5 amino acids

| Rep. | Aspartic acid | | Glutamic acid | | Proline | | Phenylalanine | | Tryptophan | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Conc. (mg/L) | %Re | Conc. (mg/L) | %Re | Conc. (mg/L) | %Re | Conc. (mg/L) | %Re | Conc. (mg/L) | %Re |
| 1 | 494.00 | 96.40 | 510.10 | 101.21 | 506.30 | 100.56 | 105.60 | 98.43 | 1029.12 | 102.30 |
| 2 | 485.10 | 94.66 | 506.70 | 100.54 | 493.70 | 98.06 | 102.20 | 95.26 | 1047.14 | 104.09 |
| 3 | 495.30 | 96.65 | 502.70 | 99.75 | 507.10 | 100.72 | 108.60 | 101.23 | 1036.94 | 103.08 |
| 4 | 484.20 | 94.49 | 510.90 | 101.37 | 489.40 | 97.20 | 99.60 | 92.84 | 1013.34 | 100.73 |
| 5 | 499.00 | 97.37 | 507.40 | 100.68 | 514.40 | 102.17 | 102.40 | 95.45 | 1039.36 | 103.32 |
| 6 | 484.70 | 94.58 | 488.60 | 96.95 | 491.80 | 97.68 | 104.80 | 97.69 | 1050.86 | 104.46 |
| 7 | 492.50 | 96.11 | 487.40 | 96.71 | 506.10 | 100.52 | 108.80 | 101.42 | 1053.86 | 104.76 |
| 8 | 489.50 | 95.52 | 512.50 | 101.69 | 488.60 | 97.04 | 103.20 | 96.20 | 1048.00 | 104.18 |
| 9 | 494.70 | 96.53 | 495.20 | 98.26 | 475.90 | 94.52 | 100.20 | 93.40 | 1043.80 | 104.76 |
| 10 | 493.60 | 96.32 | 475.90 | 94.43 | 506.60 | 100.62 | 109.40 | 101.98 | 1044.00 | 103.78 |
| mean | 491.26 | 95.86 | 499.74 | 99.16 | 497.99 | 98.91 | 104.48 | 97.39 | 1040.64 | 103.55 |
| SD | 5.126 | | 12.364 | | 11.869 | | 3.567 | | 11.973 | |
| %RSD | 1.043 | | 2.474 | | 2.383 | | 3.414 | | 1.151 | |
| HorRat | 0.30 | | 0.60 | | 0.57 | | 0.65 | | 0.31 | |

# การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ในผลิตภัณฑ์วัตถุเคมีการเกษตร

# Development and Validation Method for Analyzing Indole acetic acid (IAA) and Gibberellic acid ($GA_3$) in Chemical Agricultural Substances

*เพชรรัตน์ ศิริวิ* *สุพิศสา ทองเขียว* *สาธิดา โพธิ์น้อย*

*Phetcharat Siriwi* *Supissa Thongkheaw* *Sathida Phonoi*

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

## ABSTRACT

The analysis method for Indole acetic acid (IAA) and Gibberellic acid ($GA_3$) in chemical agricultural substances samples was developed and validated by high performance liquid chromatography (HPLC) technique. The sample preparation with ethyl acetate combined with solid phase extraction technique has been developed. The samples from extraction were detected by HPLC-PDA at wavelength of 206 nm. The separation was carried out on a Nucleosil $C_{18}$ reversed-phase column, using methanol/water containing 0.025% phosphoric acid (35:65, v/v) as the isocratic mobile phase at the flow rate of 1.0 mL/min., the Indole acetic acid (IAA) and Gibberellic acid ($GA_3$) were eluted at 9.74 and 6.80 min., respectively. Good linearities were found within the range of 0.005-5.0 mg/L for Indole acetic acid and 0.05-5.0 mg/L for Gibberellic acid ($GA_3$) with the correlation coefficients at 0.9998 and 0.9998, respectively. The limit of detections (LOD) were 0.001 mg/L for Indole acetic acid (IAA) and 0.005 mg/L for Gibberellic acid ($GA_3$), and the limit of quantitation were 0.005 mg/L and 0.05 mg/L for Indole acetic acid (IAA) and Gibberellic acid ($GA_3$), respectively. Trueness of three concentration level was in the range of 86.76-106.57 and 81.30-104.70 for Indole acetic acid (IAA) and Gibberellic acid ($GA_3$), respectively. The precision of the method was tested with HorRat value, the HorRat value of Indole acetic acid (IAA) and Gibberellic acid ($GA_3$) was in the range of 0.30-0.62 and 0.32-0.35 for Indole acetic acid (IAA) and Gibberellic acid ($GA_3$), respectively. Therefore, this method can be used for the determination of Indole acetic acid (IAA) and Gibberellic acid ($GA_3$) in chemical agricultural substances samples with the analytical scope in the concentration range of 0.013-5.00 and 0.125-5.00 mg/L, respectively, accurately and precisely.

**Keywords:** Indole acetic acid (IAA) Gibberellic acid ($GA_3$) Solid phase extraction Chemical agricultural substances

## บทคัดย่อ

การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุเคมีการเกษตร โดยใช้เทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ได้ทำการพัฒนาวิธีการสกัดตัวอย่างด้วย Ethyl acetate และนำมา Cleanup ด้วยเทคนิค Solid phase extraction และทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC-PDA โดยใช้ Column Nucleosil $C_{18}$ (5 µm, 4.6 mm x 150 mm) และใช้ Mobile phase เป็น 35:65 (Methanol:0.025% $H_3PO_4$ in Water) ที่อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที จากผลการทดลองพบว่าค่า Retention time ของสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ที่วิเคราะห์ได้มีค่าเท่ากับ 9.74 และ 6.80 นาที ตามลำดับ ค่าความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.005-5.0 และ 0.05-5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ค่า r เท่ากับ 0.9998 และ 0.9998 ตามลำดับ ได้ค่าขีดจำกัดในการตรวจพบ (LOD) ของสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) มีค่าเท่ากับ 0.001 และ 0.005 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และขีดจำกัดในการตรวจวัดเชิงปริมาณ (LOQ) มีค่าเท่ากับ 0.005 และ 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากการพิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ของวิธีที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง พบว่าสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ให้ %Recovery อยู่ในช่วง 86.76-106.57 และ 81.30-104.70 ตามลำดับ และจากการประเมินค่า HorRat ที่ได้จากการทดสอบความเที่ยง พบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 0.30-0.62 และ 0.32-0.35 ซึ่งอยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (2016) ดังนั้นวิธีนี้สามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์หาสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุเคมีการเกษตรที่มีขอบข่ายในการวิเคราะห์อยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.013-5.00 และ 0.125-5.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ



**คำหลัก :** กรดอินโดล-3-แอซีติก (ไอเอเอ) กรดจิบเบอเรลลิก (จีเอ 3) การสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง ผลิตภัณฑ์วัตถุเคมีการเกษตร


## คำนำ

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (Plant growth regulators; PGRs) จัดเป็นสารสังเคราะห์ที่มีคุณสมบัติคล้ายฮอร์โมนพืช (Plant hormones) โดยทั่วไปมักจะเรียกสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชว่า “ฮอร์โมน” ซึ่งบทบาทหน้าที่ของฮอร์โมนพืชจะเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของพืชทุกขั้นตอนตั้งแต่การงอก การพัฒนาของพืช การออกดอกติดผล การพัฒนาการของผล การสุก จนกระทั่งต้นตาย ฮอร์โมนพืชเป็นสารอินทรีย์ที่พืชสร้างขึ้นเองในปริมาณน้อยมาก โดยพืชจะสร้างสารดังกล่าวที่อวัยวะหรือเนื้อเยื่อส่วนหนึ่งแล้วเคลื่อนย้ายไปยังอีกส่วนหนึ่ง และมีผลต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาที่ข่อนข้างเฉพาะเจาะจงภายในพืช หรือเป็นสารที่พืชสร้างขึ้นโดยอวัยวะหรือเนื้อเยื่อนั้นและมีผลโดยตรงกับอวัยวะหรือเนื้อเยื่อนั้นๆ

Indole acetic acid (IAA) เป็นสารกลุ่มออกซิน (Auxins) ที่พืชสามารถสร้างขึ้นเองได้ มีสูตรโครงสร้างดังภาพที่ 1 สารกลุ่มนี้มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการขยายขนาดของเซลล์ การแบ่งตัวของเซลล์ในแคมเบียม การขยายขนาดของใบ การเกิดราก การขยายขนาดของผล ป้องกันการหลุดร่วงของใบ ดอก ผล ยับยั้งการแตกตาข้าง ส่วนของพืชที่มีการสร้างมากคือบริเวณปลายยอด ปลายราก ผลอ่อนและบริเวณที่มีปริมาณเนื้อเยื่อเจริญอยู่มาก (Meristematic tissue) ปริมาณ Indole acetic acid (IAA) ในเนื้อเยื่อพืชแต่ละชนิดจะมีมากน้อยแตกต่างกันไป ส่วนที่กำลังมีการเจริญเติบโตจะมีปริมาณ Indole acetic acid (IAA) มาก แต่ส่วนที่มี Indole acetic acid Oxidase สูงจะมีปริมาณของ Indole acetic acid (IAA) ต่ำ และพืชจะมีกลไกลในการรักษาระดับปริมาณ Indole acetic acid ภายในเนื้อเยื่อพืช โดยมีระบบการสร้างและการทำลายไปพร้อมๆกัน เนื้อเยื่อที่กำลังมีการเจริญเติบโตจะมีการสร้างมากกว่าการทำลาย ส่วนเนื้อเยื่อที่มีอายุมากจะมีการทำลายมากกว่าการสร้าง (ทวีศักดิ์, 2559)

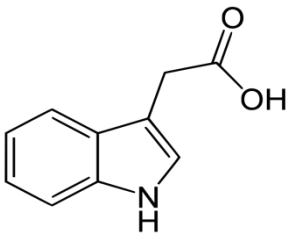



Figure 1. Chemical structure of indole acetic acid (IAA)

Gibberellic acid สารกลุ่มนี้มีทั้งที่พืชสร้างขึ้นเองและเชื้อราบางชนิดสร้างขึ้น มีสูตรโครงสร้างดังภาพที่ 2 เป็นสารที่เกี่ยวข้องกับการยืดตัวของเซลล์ (Cell elongation) ช่วยขยายขนาดของผล ทำลายการพักตัวของพืช กระตุ้นการงอกของเมล็ด กระตุ้นการเจริญของพืชทั้งต้นและผล กระตุ้นการออกดอกของพืชบางชนิดหรือยับยั้งการออกดอกของพืชบางชนิด ปรับเปลี่ยนเพศดอก ทำให้เกิดดอกเพศผู้ กระตุ้นให้เกิดผลแบบไม่มีเมล็ดในพืชบางชนิด แหล่งที่มีการสร้างจิบเบอเรลลินในพืชเช่น กิ่งที่มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว เมล็ดและผลที่กำลังพัฒนา บริเวณที่กำลังยืดตัวเช่น ปลายยอดและปลายราก ปัจจุบันมีสารประกอบประเภทนี้มากกว่า 80 ชนิด (ทวีศักดิ์, 2559) แต่ที่มีการนำมาใช้ทางการเกษตรมากที่สุดคือสาร Gibberellic acid ($GA_3$) ซึ่งพืชสามารถสร้างได้ปริมาณน้อยมาก โดยสาร Gibberellic acid ($GA_3$) ที่นำมาใช้ทางการเกษตรนั้นได้มาจากการเพาะเลี้ยงเชื้อราบางชนิดแล้วสกัดสารออกมา เนื่องจากปัจจุบันยังไม่สามารถสังเคราะห์สาร Gibberellic acid ($GA_3$) ได้ด้วยวิธีทางเคมี (พีรเดช, 2537)

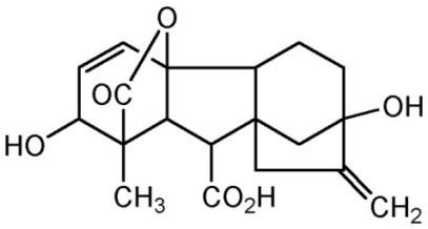



Figure 2. Chemical structure of gibberellic acid ($GA_3$)

ปัจจุบันเกษตรกรได้มีการใช้ผลิตภัณฑ์สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกันอย่างแพร่หลาย ทั้งที่มีและไม่มีการขึ้นทะเบียน หรือขอใบอนุญาต วางจำหน่ายในท้องตลาดเป็นจำนวนมาก และมีการอ้างถึงสรรพคุณกันมากมาย สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชจัดเป็นวัตถุอันตรายทางการเกษตรชนิดที่ 3 ตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตรายทางการเกษตร ซึ่งวัตถุประสงค์ของพระราชบัญญัติดังกล่าวเพื่อตรวจสอบ ควบคุม กำกับ ดูแล ผู้ประกอบกิจการให้ปฏิบัติตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย ทั้งนี้เพื่อป้องกันอันตรายที่จะเกิดกับบุคคล สัตว์ พืช ทรัพย์สิน และสิ่งแวดล้อม คุ้มครองเกษตรกร และควบคุมผู้ประกอบการ ซึ่งประโยชน์ที่เกษตรกรจะได้รับคือใช้วัตถุอันตรายที่มีคุณภาพ ลดความเสียหายที่เกิดจากการใช้ผิด ลดต้นทุนในการผลิต ผู้ประกอบการไม่กล้าละเมิดกฎหมาย และเกษตรกรถูกเอารัดเอาเปรียบในทางการค้าน้อยลง (ทวีศักดิ์, 2559)

ดังนั้นวิธีการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุเคมีการเกษตรจึงต้องเป็นวิธีที่ได้มาตรฐาน และสามารถตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ได้ ซึ่งปัจจุบันวิธีการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุเคมีการเกษตรที่มีใช้ในห้องปฏิบัติการเป็นวิธีที่มีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างที่ยุ่งยาก ใช้เวลานานในการวิเคราะห์ ใช้ปริมาณสารเคมีและตัวทำละลายอินทรีย์ที่เป็นพิษในปริมาณที่สูง ซึ่งอาจก่อให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อมเป็นพิษ ปัญหาสุขภาพของผู้ทำการทดลองเอง และมีค่าใช้จ่ายสูงในการกำจัดของเสียดังกล่าว นอกจากนี้วิธีการวิเคราะห์แบบเดิมยังคงมีปัญหาการถูกรบกวนของเมทริกซ์ที่มีอยู่ในตัวอย่าง เมื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารในระดับต่ำ ๆ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้มีการพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์

วัตถุเคมีการเกษตร ให้มีความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ สะดวกในการนำไปใช้กับเครื่องมือวิเคราะห์ เพื่อตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุเคมีการเกษตรได้อย่างมีประสิทธิภาพและเหมาะสม

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. เครื่อง High Performance Liquid Chromatograph (HPLC) ยี่ห้อ Water รุ่น Alliance e2695
2. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 5 ตำแหน่ง
3. เครื่องวัด pH-Meter
4. เครื่องปั่นเหวี่ยง
5. เครื่องระเหยสารสุญญากาศ (Rotary Evaporator)
6. เครื่อง Ultrasonic bath
7. ชุดกรองสารละลาย Mobile phase
8. ชุดสกัดสาร SPE-Cartridge
9. Nylon syringe filter ขนาด 0.45 ไมโครเมตร และ Nylon membrane filter ขนาด 0.22 ไมโครเมตร
10. Syringe ขนาด 5.0 มิลลิลิตร
11. Vial ขนาด 2.0 มิลลิลิตร
12. เครื่องแก้ว ได้แก่ ขวดวัดปริมาตรขนาด กรวยแยกสาร ปิเปต บีกเกอร์ กระบอกตวง ขวดก้นกลม
13. สารมาตรฐาน ได้แก่ Gibberellic acid ($GA_3$) ความบริสุทธิ์ 97.9% และ Indole acetic acid (IAA) ความบริสุทธิ์ 99.6%
14. สารเคมี ได้แก่ Methanol ชนิด HPLC grade และ Ortho-phosphoric acid Formic acid Ethyl acetate Hydrochloric acid Potassium hydroxide ชนิด AR grade
15. ตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุเคมีการเกษตร

### วิธีการ

1. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

เตรียมสารละลายมาตรฐานของสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) โดยเตรียม Stock standard ที่ความเข้มข้นประมาณ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร จากสารมาตรฐานของ Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) เพื่อนำไปเตรียม Intermediate standard (ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร) Working standard ที่ความเข้มข้นต่างๆ สำหรับทำเป็น Calibration curve และ Spike ลงในตัวอย่าง

2. หาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวิเคราะห์สาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ด้วยเทคนิค HPLC

2.1 สภาวะการทำงานของเครื่อง HPLC (ยี่ห้อ Water รุ่น Alliance e2695, 2998 PDA-Detector) ที่เริ่มใช้ในการวิเคราะห์สาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ดังนี้ (ดัดแปลงมาจากวิธี Tansupo *et al.* (2010))

| | | |
|---|---|---|
| Column | : | Nucleosil C18, 5 µm, 4.6 mm x 150 mm |
| Guard column: | | Nucleosil C18, 5 µm |
| Temperature | : | 30 °C |
| Detector | : | PDA $\lambda$ 208 nm |
| Mobile phase | : | 35:65 (Methanol:0.025% $H_3PO_4$ in Water), pH 2.83 |
| Flow rate | : | 0.8 ml/min. |

Injection volume: 10 µl

Run Time : 15 min.

2.2 หาสภาวะการทำงานของเครื่อง HPLC แบบ Isocratic elution จากสภาวะข้อ 2.1 ดังนี้

1) ปรับเปลี่ยนสภาวะอัตราส่วนของ Mobile phase ที่อัตราส่วน 3 อัตราส่วนดังนี้คือ อัตราส่วน 30:70 (Methanol:0.025% $H_3PO_4$ in Water) ที่ pH 2.76 อัตราส่วน 35:65 (Methanol:0.025% $H_3PO_4$ in Water) ที่ pH 2.83 และอัตราส่วน 40:60 (Methanol:0.025% $H_3PO_4$ in Water) ที่ pH 2.86

2) ปรับเปลี่ยนสภาวะอัตราการไหลของ Mobile phase ที่ 0.8 1.0 และ 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที

3) ปรับเปลี่ยนค่าความยาวคลื่นที่ใช้ในการตรวจวัดสารที่ความยาวคลื่นที่ 206 208 และ 280 นาโนเมตร

3. การเตรียมตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุเคมีการเกษตร

3.1 การสกัดตัวอย่างก่อนนำไป Clean-up ด้วย Cartridge (ดัดแปลงมาจากวิธีของ Tansupo *et al.* (2010))

การปิเปตสารละลายตัวอย่างปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอด Centrifuge ขนาด 50 มิลลิลิตร นำไป Centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที เทลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร นำสารละลายตัวอย่างปรับ pH ให้เป็น 2.5 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก และสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ นำมาสกัดด้วย Ethyl acetate ปริมาตร 20 มิลลิลิตร จำนวน 2 ครั้ง นำไประเหยให้แห้งด้วยเครื่อง Evaporator ที่อุณหภูมิ 40-42 °C นำมาละลายด้วยสารละลายกรดฟอร์มิกความเข้มข้น 1% แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 25 มิลลิลิตร แล้วนำไป Clean-up ด้วย Cartridge ต่อไป

3.2 การ Clean-up ตัวอย่างด้วย SPE-Cartridge มีขั้นตอนดังนี้

3.2.1 การหาชนิดของ SPE-Cartridge ที่เหมาะสมในการสกัดสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ทำการศึกษาชนิดของ SPE-Cartridge จำนวน 3 ชนิด คือ SSQAX Cartridge HR-XA Cartridge และ HLB Cartridge ชนิดละ 3 ซ้ำ โดยการเตรียมสารละลายมาตรฐาน Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ที่ความเข้มข้น 0.5 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ นำไปผ่านลงใน SPE-Cartridge แต่ละชนิด จากนั้นนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารด้วยเทคนิค HPLC

3.2.2 หาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดตัวอย่างด้วย SPE-Cartridge ที่ได้จากข้อ (3.2.1) โดยทำการทดลองที่สภาวะละ 3 ซ้ำ และเปรียบเทียบวิธีการสกัดตัวอย่างทั้งหมด 2 วิธี โดยวิธีที่ 1 เป็นสภาวะที่ได้จาก Tansupo *et al.* (2010) และวิธีที่ 2 เป็นสภาวะที่ได้จาก Cui *et al.* (2015)

3.2.3 หาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดตัวอย่างด้วย SPE-Cartridge ที่ได้จากข้อ (3.2.2) ดังนี้

1) หาความเข้มข้นของสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ที่ Cartridge ชนิด HR-XA สามารถจุได้ ที่ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ โดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานทั้ง 2 ชนิด ที่ความเข้มข้น 0.5 5.0 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ก่อนนำไปผ่านลงใน Cartridge ชนิด HR-XA และวิเคราะห์หาปริมาณสารด้วยเทคนิค HPLC

2) หาปริมาณสารตัวอย่างที่เหมาะสมที่ใช้ในการผ่านลงใน Cartridge ชนิด HR-XA ที่ปริมาตรละ 3 ซ้ำ โดยทำการศึกษาที่ปริมาตรสารตัวอย่างเท่ากับ 3.0 5.0 และ 7.0 มิลลิลิตร นำไปผ่านลงใน Cartridge ชนิด HR-XA และวิเคราะห์หาปริมาณสารด้วยเทคนิค HPLC

4. เปรียบเทียบวิธีเดิมที่มีในห้องปฏิบัติการและวิธีใหม่ที่ได้พัฒนาขึ้น

ทำการทดสอบการเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์เดิมที่มีในห้องปฏิบัติการและวิธีใหม่ที่ได้พัฒนาขึ้นโดยการทดสอบ Sample blank (ตัวอย่างที่มีสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ในระดับต่ำ ๆ หรือไม่มี) ที่เติมสารมาตรฐาน Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ที่ความเข้มข้น 0.10 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดำเนินการทดสอบตามวิธีทดสอบของแต่ละวิธีจำนวน 10 ซ้ำ นำผลการทดสอบแต่ละวิธีที่ได้มาคำนวณหาค่าทางสถิติ (t-test) โดยมีเกณฑ์การยอมรับ $t_{stat} < t_{crit}$ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

5. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ที่ได้พัฒนาขึ้น

5.1 หาความจำเพาะเจาะจงของวิธีวิเคราะห์ (Selectivity หรือ Specificity) ของวิธีวิทดสอบ

ทำการทดสอบโดยการเติมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มขัน 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในตัวอย่างที่มี Matrix ที่แตกต่างกันทั้งหมดจำนวน 3 ชนิดตัวอย่าง การเปรียบเทียบโครมาโทแกรมของ Matrix ที่อยู่ในแต่ละตัวอย่างเทียบกับสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มขัน 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวนตัวอย่างทั้ง 3 ชนิด ดังนี้

1) ตัวอย่างสารชีวอินทรีย์สกัดจากธรรมชาติพืชและสัตว์มีลักษณะเป็นสารละลายใส

2) ตัวอย่างสารสกัดสาหร่ายเข้มข้นจากธรรมชาติมีลักษณะเป็นสารละลายสีดำข้น เหนียวหนืด

3) ตัวอย่างสารสกัดสาหร่ายจากธรรมชาติผสมกับสารที่มีประโยชน์ต่อพืชเช่น กรดอะมิโน ฮิวมิก มีลักษณะเป็นสารละลายสีเขียว สีเหลือง สีน้ำตาล และสีดำ ข้น เหนียวหนืด

5.2 ศึกษาผลของ Matrix effect ของวิธีทดสอบ

ทำการทดสอบ Matrix calibration curve เปรียบเทียบกับ Standard calibration curve ของสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ที่ช่วงความเข้มข้น 0.05-0.75 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยแบ่งออกเป็น 2 ชุด ชุดแรกเตรียมในสารละลาย Mobile phase (35:65;Methanol:0.025% $H_3PO_4$ in Water) และชุดที่ 2 เตรียมใน Matrix ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุเคมีการเกษตร (Sample blank) ดำเนินการทดสอบตามวิธีทดสอบ นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมลงไป (แกน x) กับค่าพื้นที่ใต้พีกที่อ่านได้จากเครื่อง HPLC (แกน y) จากนั้นนำค่าความชันจากสมการเส้นตรงที่ได้จากทั้ง 2 ชุดการทดสอบมาเปรียบเทียบกัน โดยพิจารณาค่า %RPD ในการเปรียบเทียบ ซึ่งมีเกณฑ์การยอมรับ < 10% ตาม NATA (2018)

5.3 หาค่า Limit of Detection (LOD) และค่า Limit of Quantitation (LOQ)

ทำการทดสอบ Sample blank (ตัวอย่างที่มีสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ในระดับต่ำ ๆ หรือไม่มี) ที่มีการเติมสารละลายมาตรฐาน Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ที่ความเข้มข้นต่ำ ๆ ลงใน Sample blank ดำเนินการทดสอบตามวิธีทดสอบ 10 ซ้ำ บันทึกข้อมูลคำนวณหาค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) คำนวณค่า LOD และ LOQ ตามสูตร LOD = 3 $S'_0$ และ LOQ = 10 $S'_0$ ตามวิธีของ EURACHEM (2014)

5.4 การพิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ระดับ LOQ

โดยทำการทดสอบสารมาตรฐานที่ระดับ LOQ ดำเนินการทดสอบตามวิธีทดสอบสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ นำผลการวิเคราะห์มาคำนวณทางสถิติ ประเมินค่า Trueness โดยมีเกณฑ์การยอมรับ %Recovery อยู่ในช่วง 80-110 และประเมินค่า Precision ด้วยการหาค่า HorRat อยู่ในช่วง 0.3-1.3 ตามเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (2016)

5.5 หาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) และช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (Range)

โดยเตรียมสารมาตรฐาน Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) จำนวน 7 ระดับความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐานกับค่าพื้นที่ใต้พีกที่อ่านได้จากเครื่อง HPLC พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรงคำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient: r) ซึ่งมีเกณฑ์การยอมรับที่ค่า $r \geq 0.995$

5.6 พิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision)

ทำการทดสอบสารมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง ดำเนินการทดสอบตามวิธีทดสอบสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) โดยทำการทดสอบต่างวันเวลาแบบ Intermediate precision (ทำการทดสอบจำนวน 1 ชุดการทดสอบที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 10 วัน) นำผลการวิเคราะห์มาคำนวณทางสถิติ ประเมินค่า Trueness โดยมีเกณฑ์การยอมรับ %Recovery อยู่ในช่วง 80-110 และประเมินค่า Precision ด้วยการหาค่า HorRat อยู่ในช่วง 0.3-1.3 ตามเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (2016)

5.7 ทดสอบความคงทนของวิธี (Ruggedness)

ทำการทดสอบโดยการปรับเปลี่ยนสภาวะที่มีผลกระทบต่อการวิเคราะห์สาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) อย่างน้อย 3 สภาวะดังนี้ การทดสอบปริมาณตัวอย่างที่ใช้ในการสกัด การทดสอบค่า pH ที่ใช้ในการสกัด และการทดสอบปริมาณ Solvent ที่ใช้ในการสกัดตัวอย่าง

5.8 เก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุเคมีการเกษตร จังหวัดราชบุรี ปทุมธานี นนทบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี สมุทรสงคราม สมุทรสาคร

6. วิเคราะห์หาปริมาณสารตัวอย่าง Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ในตัวอย่างจริงของผลิตภัณฑ์วัตถุเคมีการเกษตรที่จำหน่ายในท้องตลาด

7. คำนวณผลการทดสอบ ประเมินผล และรวบรวมผลการทดสอบ

**ระยะเวลา** เริ่มต้น ตุลาคม 2562 สิ้นสุด กันยายน 2564

## สถานที่ทำการทดลอง

1. สถานที่สำรวจและเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุเคมีการเกษตร จังหวัดราชบุรี ปทุมธานี นนทบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี สมุทรสงคราม สมุทรสาคร

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิเคราะห์วิจัยพืชวัตถุเคมีการเกษตรและนิวเคลียร์เทคนิคการเกษตร กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

## ผลการทดลองและวิจารณ์

1. สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง HPLC ในการวิเคราะห์สาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$)

1.1 อัตราส่วนของ Mobile phase ที่เหมาะสมในการแยกสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$)

จากผลการทดสอบอัตราส่วนของ Mobile phase ที่ใช้ในการแยกสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ที่ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ของอัตราส่วน Methanol ต่อสารละลาย 0.025% $H_3PO_4$ ทั้ง 3 อัตราส่วน

Table 1. The results of mobile phase ratio for separation indole acetic acid (IAA) and gibberellic acid ($GA_3$) by high performance liquid chromatography (HPLC)

| Mobile phase Ratio | Retention time ($R_t$) Gibberellic acid ($GA_3$) (min.) | Retention time ($R_t$) Indole acetic acid (IAA) (min.) |
|---|---|---|
| 30:70 | 10.99 | 14.63 |
| 35:65 | 6.80 | 9.74 |
| 40:60 | 4.82 | 7.02 |

พบว่าอัตราส่วนของ Mobile phase ที่ใช้ในการแยกสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ที่เหมาะสมที่สุดคืออัตราส่วน 35:65 ที่อัตราส่วน 30:70 ใช้เวลาในการแยกสารทั้ง 2 ชนิดออกจากคอลัมน์นานเกินไป และที่อัตราส่วน 40:60 ใช้เวลาในการแยกสารทั้ง 2 ชนิดออกจากคอลัมน์เร็วเกินไปทำให้ Base line ในการวิเคราะห์สารไม่นิ่ง (ตารางที่ 1)

1.2 อัตราการไหลของ Mobile phase ที่เหมาะสมในการแยกสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$)

จากผลการทดสอบอัตราการไหลของ Mobile phase ที่ใช้ในการแยกสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ที่ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อัตราการไหลของ Mobile phase ที่แตกต่างกัน

Table 2. The results of mobile phase flow rate for separation indole acetic acid (IAA) and gibberellic acid ($GA_3$) by high performance liquid chromatography (HPLC)

| Flow rate of Mobile phase (mL/min.) | Retention time ($R_t$) Gibberellic acid ($GA_3$) (min.) | Retention time ($R_t$) Indole acetic acid (IAA) (min.) |
|---|---|---|
| 0.8 | 8.44 | 12.11 |
| 1.0 | 6.80 | 9.74 |
| 1.2 | 5.66 | 8.09 |

พบว่าอัตราการไหลของ Mobile phase ที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ให้ผลในการแยกสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ออกจากกันดีที่สุดและใช้เวลาในการวิเคราะห์ไม่นานเกินไป (ตารางที่ 2) ส่วนที่อัตราการไหลที่ 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ให้ผลในการแยกสารทั้ง 2 ชนิด ออกจากกันได้ดี แต่ใช้เวลาในการวิเคราะห์นานเกินไป และที่อัตราการไหลที่ 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที ให้ผลในการแยกสารออกจากกันดี และใช้เวลาในการวิเคราะห์สารน้อยกว่าทั้ง 2 อัตราการไหล แต่มีข้อเสียคือถ้าใช้อัตราการไหลของ Mobile phase สูงเกินไปจะทำให้แรงดัน (Pressure) ของระบบเครื่อง HPLC สูงเกินไปเสี่ยงต่อการชำรุดเสียหายของเครื่องมือวิเคราะห์ และเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์สารทั้ง 2 ชนิดไม่ได้แตกต่างจากอัตราการไหลของ Mobile phase ที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที มากเกินไป

1.3 ความยาวคลื่นที่เหมาะสมที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$)

ผลการทดสอบความยาวคลื่นที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ที่ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ความยาวคลื่นต่างๆ พบว่าที่ความยาวคลื่น 206 นาโนเมตร ให้ Sensitivity ในการตรวจวัดปริมาณสาร ทั้ง 2 ชนิดพร้อมกันค่อนข้างสูง ส่วนที่ความยาวคลื่น 208 นาโนเมตร ให้ Sensitivity ในการตรวจวัดปริมาณสาร Indole acetic acid (IAA) สูง แต่ให้ Sensitivity ในการตรวจวัดปริมาณสาร Gibberellic acid ($GA_3$) ปานกลาง และที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ให้ Sensitivity ในการตรวจวัดปริมาณสาร Indole acetic acid (IAA) สูง แต่ให้ Sensitivity ในการตรวจวัดปริมาณสาร Gibberellic acid ($GA_3$) ต่ำ

2. ผลการศึกษาวิธีการสกัดตัวอย่างในการวิเคราะห์สาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ในผลิตภัณฑ์วัตถุเคมีการเกษตร

2.1 ชนิดของ SPE-Cartridge ที่เหมาะสมในการสกัดสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$)

จากผลการศึกษาหาชนิดของ SPE-Cartridge ที่เหมาะสมสำหรับนำไปใช้ในการสกัดสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) จำนวน 3 ชนิด คือชนิด SSQAX HR-XA (Tansupo *et al.,* 2010) และ HLB Cartridge (Cui *et al.*, 2015) ผลการทดลองพบว่าค่า %Recovery ของสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ที่ผ่านการแยกด้วย Cartridge ชนิด SSQAX ได้ค่า %Recovery เท่ากับ 67.83 และ 101.26 ตามลำดับ ชนิด HR-XA ได้ค่า %Recovery เท่ากับ 81.86 และ 101.00 ตามลำดับ และชนิด HLB ให้ค่า %Recovery มีค่าเท่ากับ 99.73 และ 21.18 ตามลำดับ ซึ่งจากการพิจารณาค่า %Recovery ในการแยกสารทั้ง 2 ชนิด ด้วย Cartridge ชนิด HR-XA ให้ค่า %Recovery ดีที่สุด (ตารางที่ 3) และค่าที่ได้ยังอยู่ในเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (2016)

Table 3. The recovery of indole acetic acid (IAA) and gibberellic acid ($GA_3$) were eluted from SSQAX, HR-XA and HLB Cartridge

| Type of cartridge | %Recovery | |
|---|---|---|
| | Indole acetic acid (IAA) | Gibberellic acid ($GA_3$) |
| SSQAX Cartridge | 67.83 | 101.26 |
| HR-XA Cartridge | 81.86 | 101.00 |
| HLB Cartridge | 99.73 | 21.18 |

2.2 สภาวะที่เหมาะสมของ Cartridge ที่ใช้ในการสกัดสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$)

ทำการทดสอบสภาวะที่จะนำไปใช้ในการสกัดสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ด้วย HR-XA Cartridge จำนวน 2 สภาวะการทดลอง ผลการทดลองพบว่าวิธีที่ 2 ให้ค่า %Recovery ของสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ดีกว่าวิธีที่ 1 ซึ่งมีค่า %Recovery มีค่าเท่ากับ 99.49 และ 96.90 ตามลำดับ และยังมีขั้นตอนการดำเนินงานที่ง่ายและรวดเร็วกว่า (ตารางที่ 4)

Table 4. The recovery of indole acetic acid (IAA) and gibberellic acid ($GA_3$) were eluted from HR-XA Cartridge by two methods

| Test Method | %Recovery | |
|---|---|---|
| | Indole acetic acid (IAA) | Gibberellic acid ($GA_3$) |
| Method 1 | 101.22 | 94.18 |
| Method 2 | 99.49 | 96.90 |

2.3 ผลการศึกษาความเข้มข้นของสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$)ที่ HR-XA Cartridge สามารถจุได้

ทำการทดสอบความเข้มข้นของสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ที่ HR-XA Cartridge สามารถจุปริมาณความเข้มข้นของสารทั้ง 2 ชนิดไว้ใน Cartridge ได้ ผลที่ได้จากการทดลองแสดงดังตารางที่ 5

Table 5. The recovery of indole acetic acid (IAA) and gibberellic acid ($GA_3$) at different concentration were contained by HR-XA Cartridge

| Concentration of $GA_3$ and IAA (mg/l) | %Recovery | |
|---|---|---|
| | Indole acetic acid (IAA) | Gibberellic acid ($GA_3$) |
| 0.5 | 103.91 | 83.27 |
| 5.0 | 104.28 | 87.81 |
| 10 | 100.54 | 91.24 |
| 20 | 93.88 | 97.87 |

ผลการทดลองพบว่าค่า %Recovery ของทั้ง 4 ระดับความเข้มข้นที่ทำการทดสอบยังให้ค่า %Recovery อยู่ในเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (2016) ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร Cartridge ชนิด HR-XA สามารถจุปริมาณสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ไว้ใน Cartridge ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

2.4 ปริมาณสารตัวอย่างที่เหมาะสมที่ใช้ในการผ่านลงใน HR-XA Cartridge

ทำการทดสอบปริมาณของสารตัวอย่าง Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ที่ใช้ในการผ่านลงใน HR-XA Cartridge เพื่อให้เกิดความเหมาะสมกับความสามารถในการจุสารของ Cartridge ซึ่งจะทำให้การแยกสารมีประสิทธิภาพ ผลที่ได้จากการทดลองแสดงดังตารางที่ 6

Table 6. The recovery of indole acetic acid (IAA) and gibberellic acid ($GA_3$) in different sample volume were eluted by HR-XA Cartridge

| Sample volume (ml) | %Recovery | |
|---|---|---|
| | Indole acetic acid (IAA) | Gibberellic acid ($GA_3$) |
| 3.0 | 75.77 | 103.66 |
| 5.0 | 98.11 | 103.34 |
| 7.0 | 101.81 | 109.85 |

ผลการทดลองพบว่าปริมาณสารตัวอย่าง Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ที่ปริมาตร 3.0 มิลลิลิตร ได้ค่า %Recovery เท่ากับ 75.77 และ 103.66 ตามลำดับ ที่ปริมาตร 5.0 มิลลิลิตร ได้ค่า %Recovery เท่ากับ 98.11 และ 103.34 ตามลำดับ และที่ปริมาตร 7.0 มิลลิลิตร ได้ค่า %Recovery เท่ากับ 101.81 และ 109.85 ตามลำดับ จากการพิจารณาค่า %Recovery ของสารทั้ง 2 ชนิด ที่แต่ละปริมาตรแล้วพบว่าที่ปริมาณของสารตัวอย่างที่ 5.0 มิลลิลิตร ให้ค่า %Recovery ดีที่สุด และค่า %Recovery ยังอยู่ในเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (2016)

3. ผลการเปรียบเทียบวิธีเดิมที่มีในห้องปฏิบัติการ (Rivier *et al.*, 1987) และวิธีที่ได้พัฒนาขึ้นที่ดัดแปลงมาจากวิธีของ Tansupo *et al.* (2010) และ Cui *et al.* (2015)

จากผลการเปรียบเทียบวิธีเดิมที่มีในห้องปฏิบัติการและวิธีที่ได้พัฒนาขึ้น โดยพิจารณาจากค่าทางสถิติ (t-test) พบว่าค่า $t_{stat}$ ที่คำนวณได้จากการเปรียบเทียบวิธีเดิมที่มีในห้องปฏิบัติการและวิธีใหม่ที่ได้พัฒนาขึ้นของสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ให้ค่า $t_{stat} > t_{Critical}$ ทั้ง 2 สาร แสดงว่าทั้ง 2 วิธีให้ผลการทดสอบสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 7) โดยวิธีเดิมที่มีในห้องปฏิบัติการในการวิเคราะห์สาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ให้ค่า %Recovery อยู่ในช่วง 81.19-88.68 และ 81.74-89.32 ตามลำดับ และวิธีที่ได้พัฒนาขึ้นให้ค่า %Recovery อยู่ในช่วง 92.22-102.37 และ 91.48-99.07 ตามลำดับ จากการพิจาณาค่า %Recovery ของทั้ง 2 วิธี พบว่าทั้งสองวิธีมีค่า %Recovery อยู่ในเกณฑ์ยอมรับตาม AOAC (2016) แต่วิธีที่ได้พัฒนาขึ้นให้ค่า %Recovery ที่ดีกว่าวิธีเดิมที่มีในห้องปฏิบัติการ ดังนั้นวิธีที่ได้พัฒนาขึ้นจึงสามารถนำมาทดแทนวิธีเดิมที่มีในห้องปฏิบัติการในการสกัดสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$ ) ได้

Table 7. The comparison of analytical method for determination of indole acetic acid (IAA) and gibberellic acid ($GA_3$) by laboratory method and new method developed

| Type of plant hormone | t-test Value | | Comparison |
|---|---|---|---|
| | $t_{stat}$ | $t_{Critical}$ | |
| Indole acetic acid (IAA) | 9.87 | 2.11 | *S |
| Gibberellic acid ($GA_3$) | 5.68 | 2.10 | *S |

ns = non-significant at 5% level; *S = Significant at 5% level

4. ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ที่ได้พัฒนาขึ้น

4.1 หาความจำเพาะเจาะจง (Selectivity หรือ Specificity) ของวิธีทดสอบ

ทำการทดสอบโดยการเติมสารมาตรฐาน Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ที่ความเข้มข้น 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในตัวอย่างที่มี Matrix แตกต่างกันจำนวน 3 ชนิดตัวอย่างได้แก่ ตัวอย่างสารชีวอินทรีย์สกัดจากธรรมชาติพืชและสัตว์ ตัวอย่างสารสกัดสาหร่ายเข้มข้นจากธรรมชาติ และตัวอย่างสารสกัดสาหร่ายจากธรรมชาติผสมกับสารที่มีประโยชน์ต่อพืช ดำเนินการทดสอบตามวิธีทดสอบ จากนั้นนำโครมาโทแกรมที่ตรวจวัดได้จากเครื่อง HPLC-PDA มาเปรียบเทียบกับโครมาโทแกรมของสารมาตรฐาน Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ผลการทดลองที่ได้แสดงดังภาพที่ 3 จากการพิจารณาโครมาโทแกรมที่ได้ของตัวอย่างแต่ละ Matrix เทียบกับสารมาตรฐาน พบว่าโครมาโทแกรมของตัวอย่างสารชีวอินทรีย์สกัดจากธรรมชาติพืชและสัตว์มีความจำเพาะในการวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้มากที่สุด เนื่องจากพีกของสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ไม่ถูกรบกวนจากสารอื่นที่มีอยู่ใน Matrix ของตัวอย่างชนิดนี้ ส่วนตัวอย่างสารสกัดสาหร่ายเข้มข้นจากธรรมชาติและตัวอย่างสารสกัดสาหร่ายจากธรรมชาติผสมกับสารที่มีประโยชน์ต่อพืช พบว่าพีกของสาร Indole acetic acid (IAA) ไม่ถูกรบกวน แต่พีกของสาร Gibberellic acid ($GA_3$) ถูกรบกวนจากสารอื่นที่มีอยู่ใน Matrix ของตัวอย่างทั้ง 2 ชนิดนี้ ทำให้วิธีนี้ไม่สามารถแยกสารออกจากกันได้ภายใต้สภาวะการวิเคราะห์เดียวกัน ดังนั้นวิธีนี้จึงเหมาะสมกับการวิเคราะห์สาร Indole acetic acid

(IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ในตัวอย่างสารชีวอินทรีย์สกัดจากธรรมชาติพืชและสัตว์ที่มีลักษณะตัวอย่างเป็นสารละลายใส ไม่เหนียวหรือไม่ข้นหนืดเท่านั้น

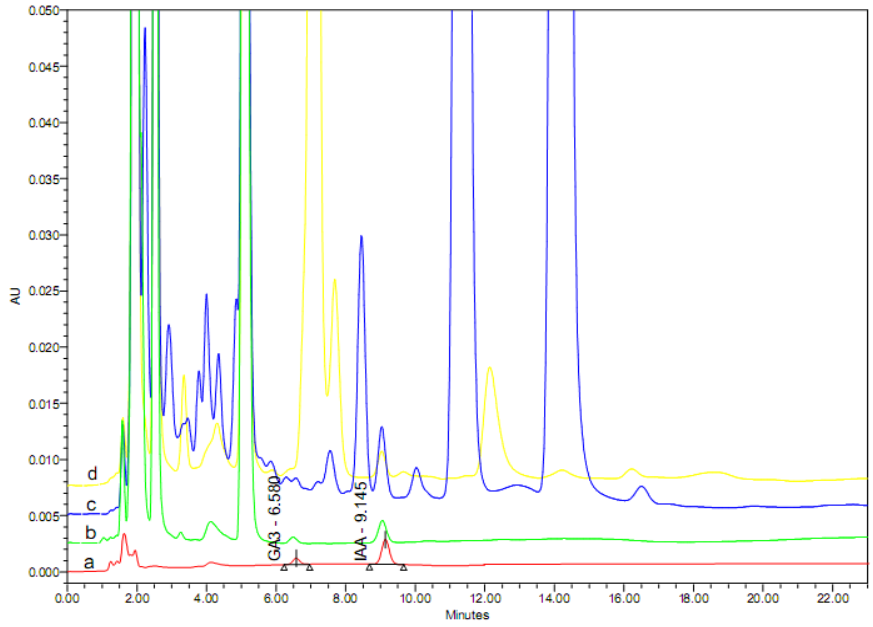



Figure 3. Chromatogram of a) Standard solution of indole acetic acid (IAA) and gibberellic acid ($GA_3$) b) Sample of bio-organic extracts from natural plants and animals c) Sample of concentrated seaweed extract from nature and d) Sample of natural algae extract mixed with substances that are beneficial to plants

4.2 ผลของการศึกษา Matrix effect ของวิธีทดสอบ

จากการทดสอบ Matrix effect ของการวิเคราะห์ของสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) พบว่ามีค่า %RPD เท่ากับ 7.78 และ 8.09 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ < 10% ตาม NATA (2018) ดังนั้นในการวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) สามารถเตรียม Calibration curve ในสารละลาย Mobile phase ได้ ซึ่งให้ผลการวิเคราะห์ไม่แตกต่างกัน ผลการทดลองที่ได้แสดงดังตารางที่ 8

Table 8. The comparison slope of the straight line equation from standard solution of indole acetic acid (IAA) and gibberellic acid ($GA_3$) and spike standard solution in sample blank

| Type of plant hormone | Equation | | Slope | | %RPD |
|---|---|---|---|---|---|
| | Solvent | Matrix | Solvent | Matrix | |
| IAA | Y=64620.47x-494.14 r=0.9999 | Y=59782.98x+752.89 r=0.9985 | 64620 | 59782 | 7.78 |
| $GA_3$ | Y=14140.50x-248.16 r= 0.9999 | Y=15333.44x-11.58 r= 0.9991 | 13536 | 14272 | 8.09 |

4.3 การหาค่า Limit of Detection (LOD) และ Limit of Quantitation (LOQ)

ทำการทดสอบ Sample blank ที่เติมสารมาตรฐาน Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ที่ความเข้มข้น 0.01 และ 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดำเนินการทดสอบตามวิธีทดสอบจำนวน 10 ซ้ำ บันทึกข้อมูล

คำนวณหาค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ผลที่ได้แสดงดังตารางที่ 9 จากผลการทดสอบพบว่าค่า Limit of Detection (LOD) ของสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) มีค่าเท่ากับ 0.001 และ 0.005 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และค่า Limit of Quantification (LOQ) ที่ได้จากการ Predicted LOQ พบว่า มีค่าเท่ากับ 0.005 และ 0.017 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

Table 9. The limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) for Indole acetic acid (IAA) and Gibberellic acid ($GA_3$)

| Number of repetitions | Indole acetic acid (IAA) (0.01 mg/L) | | Gibberellic acid ($GA_3$) (0.05 mg/L) | |
|---|---|---|---|---|
| | Sample blank | Concentration (mg/L) | Sample blank | Concentration (mg/L) |
| 1 | 0.00 | 0.0142 | 0.00 | 0.0580 |
| 2 | 0.00 | 0.0131 | 0.00 | 0.0485 |
| 3 | 0.00 | 0.0110 | 0.00 | 0.0470 |
| 4 | 0.00 | 0.0124 | 0.00 | 0.0446 |
| 5 | 0.00 | 0.0140 | 0.00 | 0.0480 |
| 6 | 0.00 | 0.0132 | 0.00 | 0.0560 |
| 7 | 0.00 | 0.0150 | 0.00 | 0.0480 |
| 8 | 0.00 | 0.0111 | 0.00 | 0.0570 |
| 9 | 0.00 | 0.0120 | 0.00 | 0.0460 |
| 10 | 0.00 | 0.0110 | 0.00 | 0.0570 |
| Mean | | 0.0129 | | 0.0503 |
| SD | | 0.0014 | | 0.0053 |
| $S'_0$ | | 0.0005 | | 0.0017 |
| LOD | | 0.001 | | 0.005 |
| LOQ | | 0.005 | | 0.017 |

หมายเหตุ $S'_0 = SD/\sqrt{n}$

4.4 การตรวจสอบค่า Linearity และ Range ของวิธีทดสอบ

4.4.1 ทดสอบ Linearity โดยการเตรียมสารมาตรฐานจำนวน 7 ระดับความเข้มข้นดังนี้ สาร Indole acetic acid (IAA) ที่ความเข้มข้น 0.005 0.05 0.10 0.50 1.0 2.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Gibberellic acid ($GA_3$) ที่ความเข้มข้น 0.05 0.10 0.30 0.50 1.0 2.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ดำเนินการทดสอบตามวิธีทดสอบ นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานกับพื้นที่ใต้พีก (Peak area) ที่อ่านค่าได้จากเครื่อง HPLC ผลการทดสอบแสดงดังภาพที่ 4 และภาพที่ 5 พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรงคำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient : r) โดยมีเกณฑ์การยอมรับ $r \geq 0.995$ จากการทดสอบพบว่าค่า Correlation Coefficient (r) ของสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) มีค่าเท่ากับ 0.9998 และ 0.9998 ตามลำดับ ซึ่งมีค่ามากกว่าเกณฑ์การยอมรับ AOAC (2016) ที่มีเกณฑ์การยอมรับค่า $r \geq 0.995$

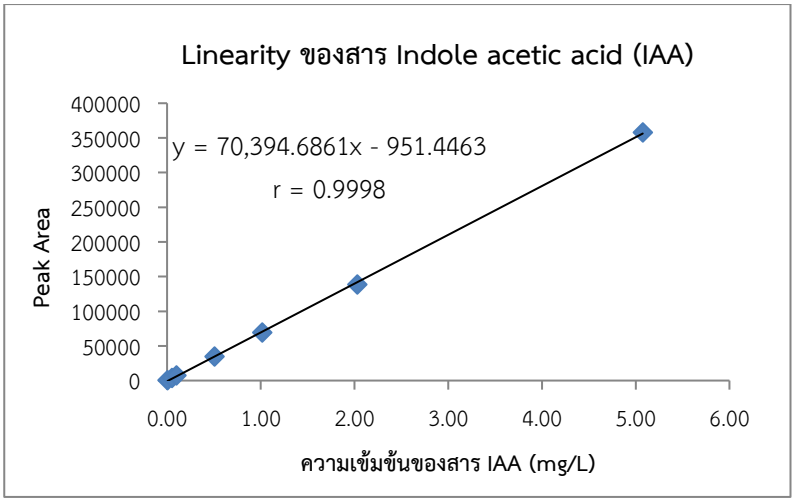



Figure 4. The graph shows the linearity of indole acetic acid (IAA) at a concentration of 0.005-5.00 mg/l

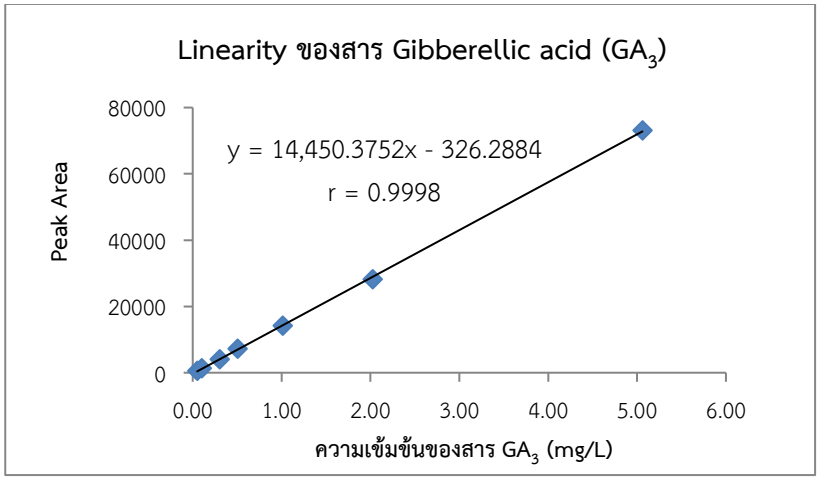



Figure 5. The graph shows the linearity of gibberellic acid ($GA_3$) at a concentration of 0.05-5.00 mg/l

4.4.2 ทดสอบ Range โดยการเตรียมสารมาตรฐานจำนวน 7 ระดับความเข้มข้นดังนี้ สาร Indole acetic acid (IAA) ที่ความเข้มข้น 0.005-1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Gibberellic acid ($GA_3$) ที่ความเข้มข้น 0.05-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ดำเนินการทดสอบตามวิธีทดสอบ นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานกับพื้นที่ใต้พีก (Peak area) ที่อ่านค่าได้จากเครื่อง HPLC ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 10 พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรงคำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient : r) โดยมีเกณฑ์การยอมรับ $r \geq 0.995$ จากการทดสอบพบว่าค่า r ของสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) มีค่าเท่ากับ 0.9995 และ 0.9991 ตามลำดับ ซึ่งมีค่ามากกว่าเกณฑ์การยอมรับ AOAC (2016) ที่มีเกณฑ์การยอมรับค่า $r \geq 0.995$

Table 10. The straight line equation and correlation coefficient (r) of working range standard from indole acetic acid (IAA) and gibberellic acid ($GA_3$)

| Type of plant hormone | Straight line equation | Correlation Coefficient (r) |
|---|---|---|
| Indole acetic acid (IAA) | y = 67,813.35x - 29.38 | 0.9995 |
| Gibberellic acid ($GA_3$) | y = 14,475.55x + 152.93 | 0.9991 |

4.5 พิสูจน์ความถูกต้องและความแม่นยำที่ระดับ LOQ ของสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$)

ทำการทดสอบ Sample blank โดยเติมสารมาตรฐาน Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ที่ความเข้มข้น 0.005 และ 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดำเนินการทดสอบตามวิธีทดสอบจำนวน 10 ซ้ำ คำนวณค่าเฉลี่ย %Recovery ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และค่า HorRat จากผลการทดสอบ พบว่าสาร Indole acetic acid (IAA) ที่ความเข้มข้น 0.005 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่า %Recovery อยู่ในช่วง 91.19-107.11 และมีค่า HorRat เท่ากับ 0.30 ส่วนสาร Gibberellic acid ($GA_3$) ที่ความเข้มข้น 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีค่า %Recovery อยู่ในช่วง 66.55-80.19 และค่า HorRat มีค่าเท่ากับ 0.30 จากผลการพิสูจน์ความถูกต้องและความแม่นยำที่ระดับ LOQ ของสาร Gibberellic acid ($GA_3$) พบว่าผลการทดสอบมีความแม่นยำ แต่ไม่มีความถูกต้อง เนื่องจากค่า %Recovery ที่ได้จากการทดสอบมีค่าอยู่ในช่วง 66.55-80.19 ซึ่งมีบางค่าไม่ผ่านเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (2016) จึงทำการทดสอบที่ความเข้มข้นที่สูงขึ้น คือ ที่ความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 11 จากผลการทดสอบพบว่า ที่ความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่า %Recovery อยู่ในช่วง 81.91-95.93 และค่า HorRat เท่ากับ 0.33 ซึ่งให้ผลการทดสอบที่มีทั้งความถูกต้องและความแม่นยำที่ระดับ LOQ

Table 11. Truenes and precision at the LOQ level of indole acetic acid (IAA) and gibberellic acid ($GA_3$)

| Number of repetitions | Indole acetic acid (IAA) (0.005 mg/L) | | Gibberellic acid ($GA_3$) (0.05 mg/L) | |
|---|---|---|---|---|
| | Concentration (mg/L) | %Recovery | Concentration (mg/L) | %Recovery |
| 1 | 0.00522 | 93.34 | 0.04460 | 90.65 |
| 2 | 0.00537 | 96.02 | 0.04120 | 83.74 |
| 3 | 0.00591 | 105.68 | 0.04270 | 86.79 |
| 4 | 0.00570 | 101.92 | 0.04460 | 90.65 |
| 5 | 0.00510 | 91.19 | 0.04500 | 91.46 |
| 6 | 0.00519 | 92.80 | 0.04540 | 92.28 |
| 7 | 0.00599 | 107.11 | 0.04660 | 94.72 |
| 8 | 0.00580 | 103.71 | 0.0472 | 95.93 |
| 9 | 0.00585 | 104.60 | 0.04030 | 81.91 |
| 10 | 0.00596 | 106.57 | 0.04100 | 83.33 |
| MEAN | 0.00561 | 100.29 | 0.04386 | 86.74 |
| SD | 0.00035 | | 0.00242 | |
| %RSD | 6.25 | | 5.52 | |
| HorRat | 0.30 | | 0.33 | |

4.6 การทดสอบความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision)

ทดสอบ Sample blank ที่เติมสารมาตรฐาน Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง โดยทำการทดสอบความถูกต้องและความเที่ยงที่ 3 ระดับความเข้มข้นดังนี้ สาร Indole acetic acid (IAA) ที่ความเข้มข้น 0.013 1.00 และ 5.00 มิลลิกรัมต่อลิตร และสาร Gibberellic acid ($GA_3$) ที่ความเข้มข้น 0.125 1.00 และ 5.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดำเนินการทดสอบตามวิธีทดสอบที่ความเข้มข้นต่างๆ ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ นำผลการทดสอบที่ได้มาคำนวณหาค่าเฉลี่ย, ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน, %Recovery และค่า HorRat ผลการทดสอบที่ได้แสดงดังตารางที่ 12 และตารางที่ 13 จากผลการทดสอบความถูกต้องและความเที่ยงของวิธีทดสอบสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ที่ระดับความเข้มข้นดังกล่าวให้ผลการทดสอบที่มีทั้งความถูกต้องและความเที่ยง เนื่องจากทุกระดับความเข้มข้นที่ทดสอบ

ให้ค่า %Recovery ของการทดสอบอยู่ในช่วง 80-110% ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (2016) และค่า HorRat ที่ได้มีค่าอยู่ในช่วง 0.3-1.3 ทุกระดับความเข้มข้นที่ทำการทดสอบ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (2016)

Table 12. Trueness and precision at the low, middle and high concentration level of indole acetic acid (IAA)

| Number of repetitions | IAA (0.013 mg/L) | | IAA (1.00 mg/L) | | IAA (5.00 mg/L) | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Conc. (mg/L) | % Recovery | Conc. (mg/L) | % Recovery | Conc. (mg/L) | % Recovery |
| 1 | 0.0131 | 93.34 | 1.02375 | 93.70 | 5.4288 | 99.37 |
| 2 | 0.0134 | 96.02 | 1.03650 | 94.86 | 5.3700 | 98.30 |
| 3 | 0.0148 | 105.68 | 0.96725 | 88.53 | 5.3175 | 97.34 |
| 4 | 0.0143 | 101.92 | 1.03925 | 95.12 | 4.8506 | 88.79 |
| 5 | 0.0128 | 91.19 | 1.03250 | 94.50 | 5.4013 | 98.87 |
| 6 | 0.0130 | 92.80 | 1.03325 | 94.57 | 4.9125 | 89.92 |
| 7 | 0.0132 | 94.59 | 0.96050 | 87.91 | 5.0425 | 92.30 |
| 8 | 0.0145 | 103.71 | 1.03875 | 95.07 | 4.8988 | 89.67 |
| 9 | 0.0146 | 104.60 | 0.97025 | 88.80 | 5.3163 | 97.31 |
| 10 | 0.0149 | 106.57 | 0.97150 | 88.92 | 4.7400 | 86.76 |
| Mean | 0.01385 | 99.04 | 1.00735 | 92.20 | 5.1278 | 93.86 |
| SD | 0.00084 | | 0.03479 | | 0.26433 | |
| %RSD | 6.06 | | 3.45 | | 5.15 | |
| HorRat | 0.30 | | 0.33 | | 0.62 | |

Table 13. Trueness and precision at the low, middle and high concentration level of gibberellic acid ($GA_3$)

| Number of repetitions | $GA_3$ (0.125 mg/L) | | $GA_3$ (1.00 mg/L) | | $GA_3$ (5.00 mg/L) | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Conc. (mg/L) | % Recovery | Conc. (mg/L) | % Recovery | Conc. (mg/L) | % Recovery |
| 1 | 0.11150 | 90.65 | 1.1455 | 99.26 | 5.9425 | 102.99 |
| 2 | 0.10300 | 83.74 | 1.1390 | 98.70 | 6.0563 | 104.96 |
| 3 | 0.10675 | 86.79 | 1.1555 | 100.13 | 5.8063 | 100.63 |
| 4 | 0.11150 | 90.65 | 1.1463 | 99.33 | 5.9450 | 103.03 |
| 5 | 0.10575 | 85.98 | 1.1815 | 102.38 | 5.6225 | 97.45 |
| 6 | 0.11350 | 92.28 | 1.1500 | 99.65 | 5.7338 | 99.37 |
| 7 | 0.11650 | 94.72 | 1.1253 | 97.51 | 5.8063 | 100.63 |
| 8 | 0.10675 | 86.79 | 1.2083 | 104.70 | 6.0113 | 104.18 |
| 9 | 0.10075 | 81.91 | 1.1373 | 98.55 | 5.5988 | 97.03 |
| 10 | 0.10000 | 81.30 | 1.0638 | 92.18 | 5.9125 | 102.47 |
| Mean | 0.10760 | 87.48 | 1.1452 | 99.24 | 5.8435 | 101.28 |
| SD | 0.0055 | | 0.0374 | | 0.1570 | |
| %RSD | 5.14 | | 3.26 | | 2.69 | |
| HorRat | 0.35 | | 0.32 | | 0.33 | |

4.7 ผลการศึกษา Ruggedness ของวิธีทดสอบ Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) โดยทำการทดสอบปัจจัยต่างๆ ในวิธีทดสอบดังนี้

4.7.1 ทดสอบปริมาณของตัวอย่างที่ใช้ในการสกัด

ทำการทดสอบ Sample blank ที่เติมสารมาตรฐาน Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ที่ความเข้มข้น 0.010 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดำเนินการทดสอบตามวิธีทดสอบ โดยมีการเปลี่ยนแปลงปริมาตรสารตัวอย่างที่ใช้จากสภาวะปกติปริมาตร 10 มิลลิลิตร เปลี่ยนแปลงสภาวะเป็นปริมาตร 20 มิลลิลิตร ทำการทดสอบจำนวน 10 ซ้ำ ผลการเปรียบเทียบการทดสอบแสดงดังตารางที่ 14 จากการเปรียบเทียบสภาวะการทดสอบปริมาณของตัวอย่างที่ใช้ในการสกัด Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ที่สภาวะดังกล่าว โดยนำค่าวิเคราะห์ที่ได้มาคำนวณค่าทางสถิติ (t-test) จากการพิจารณาค่าทางสถิติ (t-test) ที่คำนวณได้จากการทดสอบทั้ง 2 สภาวะ พบว่าสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ให้ค่า $t_{stat} < t_{Critical}$ แสดงว่าทั้ง 2 สภาวะให้ผลการทดสอบสารทั้ง 2 ชนิด ไม่แตกต่างกัน

Table 14. The comparison of sample volume for extraction of indole acetic acid (IAA) and gibberellic acid ($GA_3$)

| Type of plant hormone | t-test Value | | Comparison |
|---|---|---|---|
| | $t_{stat}$ | $t_{Critical}$ | |
| Indole acetic acid (IAA) | 1.375 | 2.101 | ns |
| Gibberellic acid ($GA_3$) | 0.492 | 2.101 | ns |

ns = non-significant at 5% level; *S = Significant at 5% level

4.7.2 ทดสอบค่า pH ที่ใช้ในการสกัดสารตัวอย่าง

ทำการทดสอบ Sample blank ที่เติมสารมาตรฐาน Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ที่ความเข้มข้น 0.010 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดำเนินการทดสอบตามวิธีทดสอบโดยมีการเปลี่ยนแปลงสภาวะค่า pH ที่ใช้ในการสกัดสารตัวอย่าง Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ที่สภาวะปกติ pH 2.5 และจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะที่ค่า pH 2.7 ทำการทดสอบจำนวน 10 ซ้ำ ผลการเปรียบเทียบการทดสอบแสดงดังตารางที่ 15 จากการเปรียบเทียบสภาวะของค่า pH ที่ใช้ในการสกัดสารตัวอย่าง Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ที่สภาวะดังกล่าว โดยนำค่าวิเคราะห์ที่ได้มาคำนวณค่าทางสถิติ (t-test) จากการพิจารณาค่าทางสถิติ (t-test) ที่คำนวณได้จากทั้ง 2 สภาวะ พบว่าสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ให้ค่า $t_{stat} < t_{Critical}$ แสดงว่าทั้ง 2 สภาวะให้ผลการทดสอบสารทั้ง 2 ชนิด ไม่แตกต่างกัน

Table 15. The comparison of pH value for extraction of indole acetic acid (IAA) and gibberellic acid ($GA_3$)

| Type of plant hormone | t-test Value | | Comparison |
|---|---|---|---|
| | $t_{stat}$ | $t_{Critical}$ | |
| Indole acetic acid (IAA) | 0.598 | 2.101 | ns |
| Gibberellic acid ($GA_3$) | 0.981 | 2.101 | ns |

ns = non-significant at 5% level; *S = Significant at 5% level

4.7.3 ทดสอบปริมาณของ Solvent ที่ใช้ในการสกัดตัวอย่าง

ทดสอบ Sample blank ที่เติมสารมาตรฐาน Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ที่ความเข้มข้น 0.010 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดำเนินการทดสอบตามวิธีทดสอบโดยมีการเปลี่ยนแปลงสภาวะการทดสอบปริมาณของ Solvent ที่ใช้ในการสกัด Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ที่สภาวะปกติปริมาตร 20 มิลลิลิตร และจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะปริมาตร 30 มิลลิลิตร ทำการทดสอบจำนวน 10 ซ้ำ ผลการ

เปรียบเทียบการทดสอบแสดงดังตารางที่ 16 จากการเปรียบเทียบสภาวะการทดสอบปริมาณของ Solvent ที่ใช้ในการสกัด Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ที่สภาวะดังกล่าว โดยนำค่าวิเคราะห์ที่ได้มาคำนวณค่าทางสถิติ (t-test) จากการพิจารณาค่าทางสถิติ (t-test) ที่คำนวณได้จากการทดสอบทั้ง 2 สภาวะ พบว่า Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ให้ค่า $t_{stat} < t_{Critical}$ แสดงว่าทั้ง 2 สภาวะให้ผลการทดสอบสารทั้ง 2 ชนิด ไม่แตกต่างกัน

Table 16. The comparison of solvent volume for extraction of indole acetic acid (IAA) and gibberellic acid ($GA_3$)

| Type of plant hormone | t-test Value | | Comparison |
|---|---|---|---|
| | $t_{stat}$ | $t_{Critical}$ | |
| Indole acetic acid (IAA) | 0.575 | 2.101 | ns |
| Gibberellic acid ($GA_3$) | 0.196 | 2.101 | ns |

ns = non-significant at 5% level; *S = Significant at 5% level

5. การหาปริมาณสารตัวอย่าง Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุเคมีการเกษตร

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารตัวอย่าง Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุเคมีการเกษตร ซึ่งเป็นตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารชีวอินทรีย์สกัดจากธรรมชาติพืชและสัตว์ที่มีลักษณะเป็นสารละลายใส ไม่เหนียว และไม่ข้นหนืด ทั้งหมดจำนวน 20 ตัวอย่าง จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารตัวอย่าง Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) พบว่ามีปริมาณสาร Indole acetic acid (IAA) อยู่ในช่วง 0.005-5.26 มิลลิกรัมต่อลิตร และสาร Gibberellic acid ($GA_3$) อยู่ในช่วง 0.05-5.40 มิลลิกรัมต่อลิตร และจากการทดสอบหาค่า %Recovery พบว่าสาร Indole acetic acid (IAA) อยู่ในช่วง 82.62-103.01 และ Gibberellic acid ($GA_3$) อยู่ในช่วง 90.00-98.84 ซึ่งค่า %Recovery ที่ได้ของสารทั้ง 2 ชนิด อยู่ในเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (2016)

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

จากการพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุเคมีการเกษตร โดยใช้เทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ได้สภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารทั้ง 2 ชนิด ออกจากกันและมีความจำเพาะเจาะจง (Selectivity) ในการตรวจวิเคราะห์สารทั้ง 2 ชนิด สำหรับวิธีการเตรียมตัวอย่างได้ประยุกต์ใช้วิธีการสกัดสารด้วย Ethyl acetate (Tansupo *et al.*, 2010) ร่วมกับการ Clean-up ตัวอย่างด้วยเทคนิค Solid phase extraction ซึ่งมีการใช้ Cartridge ชนิด XR-HA (Cui *et al.*, 2015) ในการสกัดสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) จากผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ พบว่าได้ค่าความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.005-5.0 และ 0.05-5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่า r เท่ากับ 0.9998 และ 0.9998 ตามลำดับ ได้ค่าขีดจำกัดในการตรวจวัด (LOD) ของสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) มีค่าเท่ากับ 0.001 และ 0.005 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และขีดจำกัดในการตรวจวัดเชิงปริมาณ (LOQ) มีค่าเท่ากับ 0.005 และ 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากการพิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ของวิธีทดสอบที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง พบว่าสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ให้ค่า %Recovery อยู่ในช่วง 86.76-106.57 และ 81.30-104.70 ตามลำดับ และจากการประเมินค่า HorRat ที่ได้จากการทดสอบความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ พบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 0.30-0.62 และ 0.32-0.35 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับ AOAC (2016) ดังนั้นวิธีนี้สามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์หาสาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุเคมีการเกษตรที่มีขอบข่ายในการวิเคราะห์อยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.013-5.00 และ 0.125-5.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ และมีความน่าเชื่อถือ

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิเคราะห์วิจัยพืชวัตถุเคมีการเกษตรและนิวเคลียร์เทคนิคการเกษตร สามารถนำวิธีที่ได้นี้ไปใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจวิเคราะห์สาร Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid ($GA_3$) ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุเคมีการเกษตร

2. เพิ่มประสิทธิภาพและศักยภาพให้กับห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชให้มากยิ่งขึ้น และสามารถถ่ายทอดวิธีการวิเคราะห์ดังกล่าวให้แก่เจ้าหน้าที่ของสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1-8 และหน่วยงานอื่นๆ ที่สนใจได้

3. สามารถนำวิธีการวิเคราะห์ที่ได้พัฒนาขึ้นนี้ ไปขยายขอบข่ายในการขอรับรองห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 ได้

## เอกสารอ้างอิง


ทวีศักดิ์ แสงอุดม. 2559. ***สารควบคุมการเจริญเติบโตพืชและแนวทางการใช้กับไม้ผล***. สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 88 หน้า.

พีรเดช ทองอำไพ. 2537. ***ฮอร์โมนและสารสังเคราะห์ แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศ***. วิชัยการพิมพ์ กรุงเทพฯ.

AOAC. 2016. Appendix F: Guidelines for Standard Method performance Requirements.

Cui, K., Y. Lin, X. Zhou, S. Li, H. Lui, F. Zeng, F. Zhu, G. Ouyang and Z. Zeng. 2015. Comparision of sample pretreatment methods for the determination of multiple phytohormones in plant samples by liquid chromatography-electrospry ionization-tandam mass spectrometry. ***Microchemical Journal*** 121:25-31.

EURACHEM. 2014. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, The Fitness for Purpose of Analytical Methods.

NATA. General Accreditation Guidance-Validation and verification of Quantitative and Qualitative Test Methods, 2018.

Rivier, L. and A. Crozier. 1987. ***Principles and Practice of Plant Hormone Analysis.*** Vol. II. London: Academic Press INC.

Tansupo, P., P. Suwannasom, D. L. Luthria, S. Chanthai and C. Ruangviriyachai. 2010. Optimised separation procedures for the simultaneous assay of three plant hormone in liquid biofertilizer. ***Phytochem Anal***. 21 (2):157-162.

# ศึกษาหาปริมาณฮอร์โมน indole acetic acid (IAA) gibberellic acid ($GA_3$) และ ธาตุอาหารในกล้วยน้ำว้า

# Study the quantity of Plant hormone Indole acetic acid (IAA) Gibberellic acid ($GA_3$) and Nutrients in Namwa Bananas

*สาธิดา โพธิ์น้อย สุพิศสา ทองเขียว สุภานันทน์ จันทร์ประอบ เพชรรัตน์ ศิริวิ*
*สุวลักษมิ์ ไชยทอง ตวงพร ธีระพิทยาพงศ์*
*Sathida Phonoy Supissa Thongkheaw Supanun Junpra-ob Phetcharat Siriwi*
*Suwaluck Chaitong Tuangporn Teerapitthayapong*

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

## ABSTRACT

This research aims to study the quantity of 2 plant hormones, Indole acetic acid (IAA), gibberellic acid ($GA_3$) and the amount of plant nutrients nitrogen, phosphorus, potassium, calcium and Magnesium in 3 Namwa bananas, namely Mali Ong 50, Pak Chong, Sukhothai, were sampled from Office of Agricultural Research and Development Region2 (Sukhothai). Raw fruit, young fruit pulp, artificial stalks and leaves were carried out for nutrient analysis according to the laboratory method. Plant hormone content analysis after sample preparation was extracted by liquid liquid extraction method and then analyzed by HPLC from the results of the study on the nutrient content of the 3 Namwa bananas were not different., the Sukhothai banana cultivar samples were used for analysis of plant nutrients and plant hormones content. It was found that the nutrient content of the nitrogen and phosphorus in banana flower and the leaves was higher than other elements. Banana flower were 2.47 and 0.43 percent dry weight and the leaves content of nitrogen and phosphorus were 2.62 and 0.33 percent dry weight. Plant hormones IAA was found in all parts of the banana, with the highest concentration of 4.07 mg/kg in the leaves. $GA_3$ was found in all parts of the Namwa banana samples and the highest in banana flower. The amount of 1.42 mg/kg was followed by the leaves with 1.32 mg/kg. When analyzing the relationship between nutrient content and plant hormone content, it was found that nitrogen, iron, sulfur and copper content showed a high positive correlation. More than other trace elements from this study, it can be seen that every part of the banana can be used as a raw material in natural plant products.

**Keywords :** Indole acetic acid (IAA), Gibberellic acid ($GA_3$), Nutrients, Namwa Bananas

## บทคัดย่อ

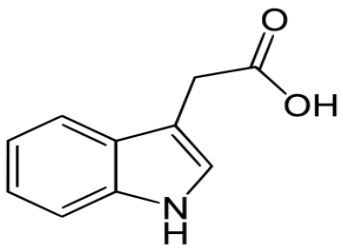
งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณของฮอร์โมนพืชจำนวน 2 ชนิด คือ indole acetic acid (IAA) gibberellic acid (GA3) และปริมาณธาตุอาหารพืช ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โปแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม ในกล้วยน้ำว้า 3 สายพันธุ์ คือ พันธุ์มะลิอ่อง พันธุ์ปากช่อง50 พันธุ์สุโขทัย1 ที่เก็บตัวอย่างจากศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสุโขทัย (สวพ.2) โดยทำการศึกษาในส่วนต่างๆของกล้วยน้ำว้า ได้แก่ เปลือกผลอ่อน เปลือกผลแก่ เปลือกผลสุก เนื้อผลดิบ เนื้อผลอ่อน ลำต้นเทียม ปลี และใบ ดำเนินการวิเคราะห์ธาตุอาหารพืชตามวิธีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ส่วนการ

วิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนพืชหลังจากเตรียมตัวอย่าง นำมาสกัดด้วยวิธี liquid liquid extraction แล้วจึงวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC จากผลการศึกษาปริมาณธาตุอาหารพืชในกล้วยน้ำว้า 3 สายพันธุ์ ไม่แตกต่างกัน จึงดำเนินการต่อโดยใช้ตัวอย่างกล้วยพันธุ์สุโขทัย1 มาวิเคราะห์ธาตุอาหารพืชและปริมาณฮอร์โมน พบว่าซึ่งพบว่า ในปลีและใบ มีปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส สูงกว่าส่วนอื่น โดยในปลีมีปริมาณ ไนโตรเจน และ ฟอสฟอรัส เท่ากับ 2.47 และ 0.43 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง และใบ มีปริมาณไนโตรเจน และฟอสฟอรัส เท่ากับ 2.62 และ 0.33 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง ส่วนปริมาณฮอร์โมนพืช IAA พบในทุกส่วนของกล้วยน้ำว้า โดยตรวจพบในใบสูงที่สุดมีปริมาณ 4.07 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตรวจพบปริมาณ $GA_3$ ในทุกส่วนของตัวอย่างกล้วยน้ำว้า และพบมากที่สุดในส่วนของปลีปริมาณ 1.42 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม รองลงมาคือใบมีปริมาณ 1.32 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณธาตุอาหารและปริมาณฮอร์โมนพืชทั้งสองชนิด พบว่าปริมาณธาตุไนโตรเจน เหล็ก ซัลเฟอร์ และคอปเปอร์ จะให้ค่าความสัมพันธ์เชิงบวกสูงกว่าธาตุอื่น จากการศึกษาในครั้งนี้จะเห็นได้ว่า ทุกส่วนของกล้วยสามารถนำมาใช้ประโยชน์เป็นวัตถุดิบในผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากพืชได้

**คำหลัก :** indole acetic acid (IAA) gibberellic acid ($GA_3$) ธาตุอาหาร กล้วยน้ำว้า

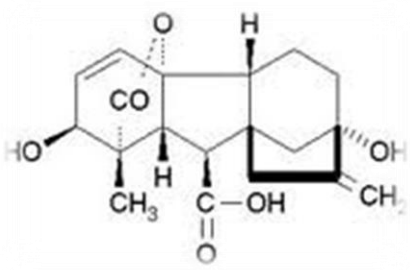
## คำนำ

ด้วยกระแสการผลิตพืชปลอดภัยต่อผู้ผลิต ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม พร้อมการลดต้นทุนการผลิต เพิ่มคุณภาพผลผลิตพืช จึงมีการสนับสนุนให้มีการผลิตและใช้ผลิตภัณฑ์จากวัตถุดิบที่ได้จากธรรมชาติมากขึ้น ทั้งจากหน่วยงานของรัฐและผู้ประกอบการ โดยเฉพาะผู้ประกอบการมีทั้งผลิตขึ้นเองภายในประเทศและยังมีการนำเข้าจากต่างประเทศ โดยผลิตภัณฑ์ต่างๆเหล่านี้ จะมีการอ้างถึงสรรพคุณเพื่อนำไปใช้ทางการเกษตรอย่างมากมาย มีสารสกัดที่ได้จากวัตถุดิบตามธรรมชาติไม่เป็นพิษกับผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ยังมีการอ้างถึงสรรคุณทางด้านการควบคุมการเจริญเติบโตของพืช มีการลงโฆษณาทางสื่อต่างๆทุกทางเท่าที่ทำได้ ด้วยเหตุนี้จึงทำให้ผลิตภัณฑ์มีราคาสูง และเข้าถึงเกษตรกรได้ง่าย ทำให้เกษตรกรหลงเชื่อและนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายโดยไม่สามารถควบคุมได้ วัตถุดิบทางธรรมชาติที่นำมาผลิตมีทั้งจากพืชและสัตว์ อาทิเช่น ผัก ผลไม้ วัชพืช สาหร่าย ปลา กุ้ง ฯลฯ ในพืชหลายชนิดที่มีฮอร์โมนพืชหรือสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช แต่จะมีปริมาณมากน้อยเพียงใด ขึ้นอยู่กับชนิดของพืชและชนิดของฮอร์โมนพืช เนื่องจากฮอร์โมนพืชบางชนิดเป็นสารธรรมชาติที่มีอยู่ในพืช ได้แก่ สารอินโดล-3-อะซิติก (indole-3-acetic : IAA) เป็นฮอร์โมนพืชในกลุ่มออกซิน มีคุณสมบัติ ควบคุมการขยายขนาดของเซลล์ การยืดตัวของเซลล์ กระตุ้นการเกิดราก แหล่งการสร้างออกซินจะอยู่ในเนื้อเยื่อเจริญ เช่น ตายอด ยอดอ่อน อินโดล-3-อะซิติก (indole-3-acetic : IAA) เป็นฮอร์โมนธรรมชาติที่สร้างจากกรดอะมิโนทริปโตเฟน (สุนันทา, 2546) มีโครงสร้างดังภาพที่ 1




**ภาพที่ 1** โครงสร้างของสารอินโดล-3-อะซิติก แอซิด

สารจิบเบอเรลลิค แอซิค (gibberellic acid : $GA_3$) เป็นสารที่อยู่ในกลุ่มจิบเบอเรลลิน มีคุณสมบัติ ช่วยกระตุ้นการยืดตัวของเซลล์ในช่วงระหว่างข้อ ช่วยให้พืชยืดตัวสูงขึ้น เป็นสารที่ถูกสังเคราะห์จากเมวาโลนิก (mevalonic acid) (สุนันทา, 2546) มีโครงสร้างดังภาพที่ 2




**ภาพที่ 2** โครงสร้างของสารจิบเบอเรลลิก แอซิด

ปัจจุบันมีการผลิตฮอร์โมนพืชจากวัตถุดิบธรรมชาติมากมายหลายชนิด แต่ในผลิตภัณฑ์ดังกล่าวอาจไม่มีการขึ้นทะเบียนเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช และยังไม่มีเกณฑ์มาตรฐานในผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติหรือผลิตจากวัตถุดิบที่เป็นธรรมชาติว่าต้องมีมากน้อยเพียงใด จึงเป็นผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติ ที่ไม่ต้องขึ้นทะเบียน หรือต้องขึ้นทะเบียนตาม พ.ร.บ. วัตถุอันตราย กล้วยเป็นหนึ่งในวัตถุดิบที่สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรสำหรับพืช เนื่องจากกล้วยน้ำว้าหาได้ง่ายและราคาไม่แพง ทุกส่วนของกล้วยสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการทำผลิตภัณฑ์ฮอร์โมนธรรมชาติที่ได้จากพืช เช่น ใบกล้วย เปลือกกล้วย ผลกล้วยดิบ ผลกล้วยสุกและปลีของกล้วย โดยเฉพาะกล้วยน้ำว้า จากการศึกษาเรื่องฮอร์โมนพืชและธาตุอาหารพืชในน้ำหมักชีวภาพของสุนันทา (2546) เกี่ยวกับวัสดุหลักโดยมีกล้วยเป็นหนึ่งในวัสดุหลัก พบว่า ทุกสูตรที่ใช้กล้วยเป็นวัสดุหลักจะตรวจพบ ฮอร์โมนพืช IAA มีปริมาณน้อยกว่า 0.1 ถึง 1.28 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับ $GA_3$ จะตรวจพบร้อยละ 62.5 มีปริมาณ 1.03 ถึง 133.94 มิลลิกรัมต่อลิตร ฮอร์โมนพืช อินโดล-3-อะซิติก (indole-3-acetic : IAA) และ จิบเบอเรลลิค แอซิค (gibberellic acid : $GA_3$) ซึ่งมีปฏิสัมพันธ์ร่วมกับปริมาณ endogenous IAA และ gibberellic acid ภายในต้นพืช ส่งผลให้เซลล์พืชยืดยาวและช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซับธาตุอาหารจากดินของพืช (Bhuj *et al*., 1998) ดังนั้นการทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาถึงปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตของฮอร์โมนพืช IAA และ $GA_3$ ในส่วนต่างๆ ของกล้วย และวิเคราะห์ธาตุอาหารพืชในส่วนของกล้วยที่ทำการทดสอบเพื่อดูความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฮอร์โมนและปริมาณธาตุอาหาร เพื่อเป็นแนวทางในการจัดทำเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรสำหรับพืช ตามท้องตลาดเพื่อสะดวกในการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์เพื่อให้เกษตรกรได้นำไปใช้และเกิดประโยชน์อย่างแท้จริง อีกทั้งนำข้อมูลมาปรับปรุง แก้ไข กฎระเบียบ ข้อบังคับที่ทันสมัยสำหรับควบคุมปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. เครื่องมือ ได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 5 ตำแหน่ง และ 3 ตำแหน่ง เครื่อง high performance liquid chromatograph (HPLC), เครื่องอัลตร้าโซนิค, เครื่องบดตัวอย่างพืช, อุปกรณ์การกรองสารละลาย, เครื่องระเหยสุญญากาศ, ปิเปตแบบปริมาตรขนาดต่างๆ และขวดปริมาตรขนาดต่างๆ

2. สารเคมี ได้แก่ ethyl acetate, Hydrochloric acid, methanol, Hexane, 5- potassium dihydrogenphosphate, สารมาตรฐาน indole acetic acid (IAA) 99.0%,, สารมาตรฐาน gibberellic acid ($GA_3$) 98.8% และไนโตรเจนเหลว

### วิธีการ

ขั้นตอนที่ 1 การเตรียมตัวอย่างกล้วยน้ำว้า

1.1 การเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ ปริมาณธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรองและและธาตุอาหารเสริมในตัวอย่างกล้าย (AOAC, 2016) นำตัวอย่างกล้วยน้ำว้าที่ได้จากที่เก็บตัวอย่างจากสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่2 จังหวัดสุโขทัย ล้างทำความสะอาดตัวอย่าง แยกส่วน เนื้อ เปลือก ใบ และปลี หั่นเป็นชิ้นเล็ก แบ่งออกเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 ชั่งน้ำหนักแล้วนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ ไม่เกิน 70 องศาเซลเซียส นำมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดตัวอย่างพืชก่อนดำเนินการวิเคราะห์

1.2 การเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ฮอร์โมนพืช IAA และ $GA_3$ ด้วยเทคนิค HPLC โดยนำตัวอย่างสดที่หั่นแล้ว (ส่วนที่2) มาบดด้วยด้วยเครื่องบดตัวอย่างที่มีไนโตรเจนเหลวให้ละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20±5 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันการสลายตัวของสาร IAA และ $GA_3$ ในตัวอย่าง ก่อนดำเนินการวิเคราะห์ขั้นตอนต่อไป

1.3 ลักษณะตัวอย่างกล้วยน้ำว้าที่เตรียมเพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารพืช (a) ฮอร์โมนพืช IAA และ $GA_3$ (b) (ภาพที่ 3)



(a) ตัวอย่างแห้งบดละเอียด



(b) ตัวอย่างสดก่อนบด

**ภาพที่ 3** ลักษณะตัวอย่างกล้วยน้ำว้าที่เตรียมเพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารพืชและฮอร์โมนพืช

ขั้นตอนที่ 2 การสกัด (liquid liquid extraction) และวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนพืช IAA และ $GA_3$ ด้วยเครื่อง HPLC

2.1 นำตัวอย่างสดชั่ง 100 กรัม ลงในบีกเกอร์ ขนาด 600 มิลลิลิตร เติม methanol ที่เย็น 200 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องเขย่า เป็นเวลา 15 ชั่วโมง แล้วกรองเอาเมทานอลไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ ที่ควบคุมอุณหภูมิไม่เกิน 40 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันการสลายตัวของฮอร์โมนพืช IAA

2.2 นำตัวอย่างที่ระเหย methanol ออกแล้ว เติมด้วย 0.5 M phosphate buffer 100 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้ได้ 8.0 ด้วย 1% phosphoric acid และ 1% potassium hydroxide

2.3 สกัดด้วย hexane 2 ครั้ง ครั้งละ 80 มิลลิลิตร และ 70 มิลลิลิตร เพื่อกำจัดสาร nonpolar ทิ้งส่วนของ hexane นำสารละลาย ปรับ pH ให้ได้ 2.7

2.4 สกัดด้วย ethyl acetate 3 ครั้ง ครั้งละ 50 50 และ 40 มิลลิลิตร ตามลำดับ รวมส่วนที่เป็น ethyl acetate แล้วนำไประเหย ethyl acetate ออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ ที่อุณหภูมิไม่เกิน 40 องศาเซลเซียส

2.5 ละลายสารที่ได้ด้วย methanol ปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร ก่อนนำไปเจือจางด้วยสารละลาย mobile phase จากนั้นกรองตัวอย่างผ่านตัวกรอง PTFE ขนาด 0.2 ไมโครเมตร ลงใน vial ขนาด 2 มิลลิลิตร แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณฮอร์โมนพืช IAA และ $GA_3$ ด้วยเครื่อง HPLC ตามสภาวะของเครื่องมือ (ตารางที่ 1)

**ตารางที่ 1** สภาวะของเครื่อง HPLC สำหรับการวิเคราะห์ฮอร์โมนพืช IAA และ $GA_3$ ในตัวอย่างกล้วยน้ำว้า

| HPLC parameter | condition | |
|---|---|---|
| | IAA | $GA_3$ |
| Mobile phase | 45% MeOH in 0.02 Ammonium acetate pH 3.5 | 35% MeOH pH 2.7 |
| column | µBondapak C18 10µm 3.9 x 300 mm | µBondapak C18 10µm 3.9 x 300 mm |
| detector | Fluorescence ex 280 nm em 350 nm | PDA 206 nm |
| Flow rate | 1.0 ml/min | 1.2 ml/min |
| Run time | 12 min | 12 min |
| Inject volume | 10 µl | 10µl |

ขั้นตอนที่ 3 การวิเคราะห์ฮอร์โมนพืช IAA และ $GA_3$ ในตัวอย่างกล้วย

3.1 เตรียมสารละลายมาตรฐาน IAA จากสารมาตรฐานเข้มข้น 99.0% และ $GA_3$ จากสารมาตรฐานเข้มข้น 98.8% โดยเตรียมให้มีความเข้มข้นความเข้มข้น 1 2 3 4 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

3.2 ชั่งสาร IAA 0.01265 กรัม ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย methanol จะได้สารละลายมาตรฐานเข้มข้น 500.94 มิลลิกรัมต่อลิตร

3.3 ปิเปตสารละลายจากข้อ 3.2 มา 5 มิลลิลิตร ใส่ขวดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย methanol จะได้สารละลายมาตรฐานเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

3.4 ปิเปตสารละลายจากข้อ 3.3 มา 4 มิลลิลิตร ใส่ขวดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย methanol จะได้สารละลายมาตรฐานเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

3.5 ปิเปตสารละลายจากข้อ3.4 มา 1 2 3 4 และ5 มิลลิลิตร ใส่ขวดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย mobile phase จะได้สารละลายมาตรฐานเข้มข้น 1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

3.6 กรองด้วย PTFE ใส่ vial ขนาด 2 มิลลิลิตร เพื่อฉีดเข้าเครื่อง HPLC

3.7 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน $GA_3$ โดยชั่งสาร $GA_3$ 0.01302 กรัม ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย methanol จะได้สารละลายมาตรฐานเข้มข้น 514.55 มิลลิกรัมต่อลิตร และทำตามขั้นตอนที่2-6 เช่นเดียวกับการเตรียมสารละลายมาตรฐาน IAA

3.8 สร้างกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน (แกน x) กับ peak area (แกน y) ซึ่งมีค่า correlation ของ linear regression (r) ไม่น้อยกว่า 0.995

3.9 คำนวณหาปริมาณฮอร์โมนพืช IAA และ $GA_3$ จากกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง ด้วยการนำพื้นที่ใต้ peak ของสารที่ตรวจวิเคราะห์ไปอ่านค่าความเข้มข้นจากกราฟ

ขั้นตอนที่ 4 สร้างสมการเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ ฮอร์โมนพืช IAA $GA_3$ และธาตุอาหารพืชในส่วนต่างๆ ของกล้วย

**ระยะเวลา** เริ่มต้น ตุลาคม 2562 - สิ้นสุด กันยายน 2564

**สถานที่ดำเนินการทดลอง**

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิเคราะห์วิจัยพืช วัตถุเคมีการเกษตรและนิวเคลียร์เทคนิคการเกษตร กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

## ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ปริมาณธาตุอาหารพืชในตัวอย่างกล้วย

1.1 ปริมาณธาตุอาหารพืช ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโปแทสเซียม (AOAC, 2016) ในส่วนต่างๆ ของกล้วยน้ำว้า 3 พันธุ์ คือ มะลิอ่อง ปากช่อง50 และ สุโขทัย1 จากการวิเคราะห์พบว่า ปลีและใบ มีปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส สูงกว่าส่วนอื่น โดยในปลีมีปริมาณ ไนโตรเจน และ ฟอสฟอรัส เท่ากับ 2.47 และ 0.43 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง และใบ มีปริมาณไนโตรเจน และฟอสฟอรัส เท่ากับ 2.62 และ 0.33 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง รองลงมาคือ เปลือกผลแก่ เปลือกผลอ่อน ส่วนเปลือกผลแก่จะพบปริมาณ โพแทสเซียม มากที่สุดเท่ากับ 6.33 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง รองลงมาคือ เปลือกอ่อน ปลี และใบ มีเท่ากับ 6.07 4.71 และ 3.82 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งตามลำดับ (ตารางที่ 1)

**ตารางที่ 1** ผลการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารพืช ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโปแทสเซียม ในส่วนต่างๆของกล้วยน้ำว้า

| กล้วยน้ำว้าส่วนต่างๆ | ปริมาณธาตุอาหารพืช (% น้ำหนักแห้งเฉลี่ย) | | |
|---|---|---|---|
| | N | P | K |
| เปลือกผลอ่อน | 1.09 | 0.26 | 6.07 |
| เปลือกผลแก่ | 1.40 | 0.34 | 6.33 |
| เนื้อผลอ่อน | 0.39 | 0.09 | 1.00 |
| เนื้อผลแก่ | 0.44 | 0.08 | 1.09 |
| ปลี | 2.74 | 0.43 | 4.71 |
| ใบ | 2.62 | 0.33 | 3.82 |

**หมายเหตุ** ผลการวิเคราะห์เป็นค่าเฉลี่ยจากกล้วยน้ำว้า 3 สายพันธุ์

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารพืชในส่วนต่างๆของกล้วยน้ำว้า พบว่า ปลีมีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโปแทสเซียม เฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 2.74 0.43 และ 4.71 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ รองลงมาคือใบ มีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโปแทสเซียม เฉลี่ยเท่ากับ 2.62 0.33 และ 3.82 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ (ตารางที่ 1) เมื่อนำมาคำนวณค่าความแตกต่างด้วยสถิติ ANOVA พบว่า ไนโตรเจนฟอสฟอรัส และโปแทสเซียม มีค่า F ที่ได้จากการทดลอง ($F_{cal}$) เท่ากับ 0.41 0.28 และ 0.07 ตามลำดับ ซึ่งค่าที่ได้น้อยกว่าค่าที่อ่านได้จากตาราง $F_{crit}$ 4.10 ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า พันธุ์ของกล้วยน้ำว้าไม่มีผลต่อปริมาณธาตุอาหารชนิดเดียวกัน

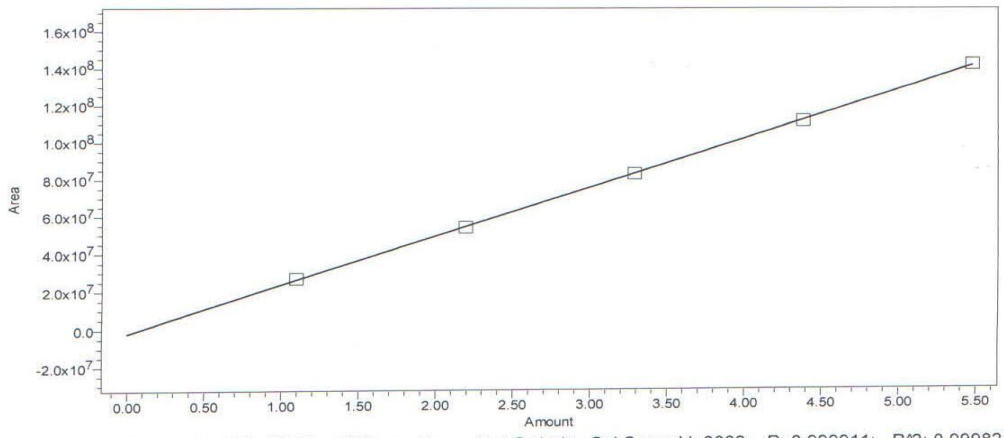
1.2 ปริมาณธาตุอาหารรอง Ca Mg S และธาตุอาหารเสริม Fe Mn Zn Cu B (AOAC, 2016) จากผลการวิเคราะห์ พบว่า มีปริมาณอาหารรองจะมีในปลีและใบมากกว่าส่วนอื่น โดยในปลี มี Ca Mg S เท่ากับ 0.46 0.46 และ 0.22 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในใบ เท่ากับ 0.36 0.37 และ 0.20 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ สำหรับธาตุอาหารเสริม จะพบมากในส่วนของปลีและใบของกล้วยเช่นเดียวกัน ในปลี เท่ากับ 42 77 52 8 และ 22 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในใบ เท่ากับ 90 108 20 7 และ 12 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ตารางที่2)

**ตารางที่ 2** ผลการวิเคราะห์ธาตุอาหารรองและธาตุอาหารเสริมในตัวอย่างกล้วยน้ำว้าสุโขทัย1

| ส่วนของกล้วยน้ำว้า | ปริมาณธาตุอาหารรอง (%น้ำหนักแห้ง) | | | ปริมาณธาตุอาหารเสริม (มิลลิกรัมต่อลิตร) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ca | Mg | S | Fe | Mn | Zn | Cu | B |
| เปลือกผลอ่อน | 0.25 | 0.49 | 0.06 | 30 | 71 | 47 | 2 | 19 |
| เปลือกผลแก่ | 0.27 | 0.40 | 0.06 | 42 | 87 | 65 | 3 | 24 |
| เนื้อผลอ่อน | 0.01 | 0.12 | 0.02 | 18 | 12 | 8 | 3 | 2 |
| เนื้อผลแก่ | 0.02 | 0.11 | 0.02 | 21 | 12 | 6 | 2 | 3 |
| ปลี | 0.46 | 0.46 | 0.22 | 42 | 77 | 52 | 8 | 22 |
| ใบ | 0.36 | 0.37 | 0.20 | 90 | 108 | 20 | 7 | 12 |

2. ปริมาณฮอร์โมนพืช IAA และ $GA_3$ ในส่วนต่างๆของกล้วยน้ำว้า

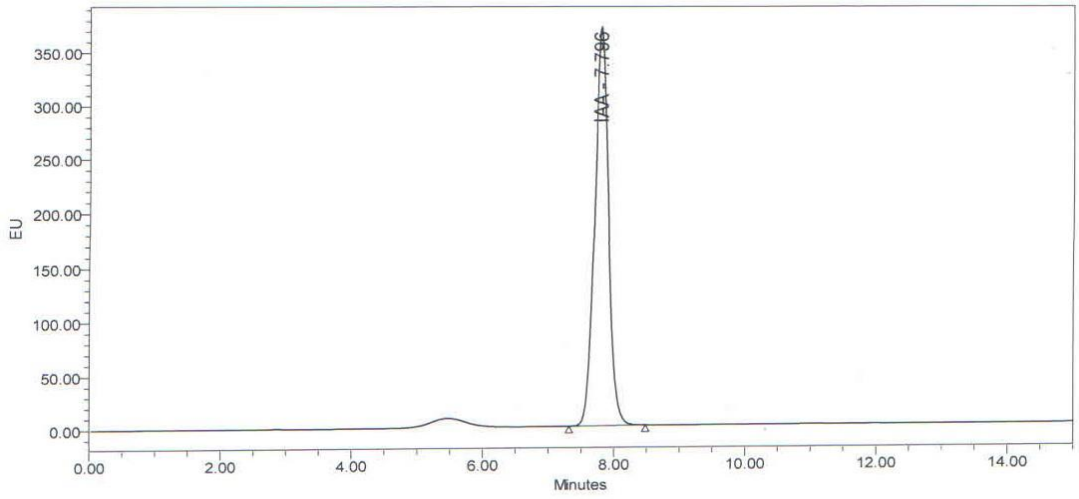
2.1 ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน IAA จำนวน 5 ระดับความเข้มข้น (แกน x) กับ peak area (แกน y) พิจารณาผลจากการวิเคราะห์ correlation coefficient (r) ต้องมีค่ามากกว่า หรือเท่ากับ 0.995 ทั้งนี้ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของสารละลายมาตรฐาน IAA เท่ากับ 0.99991 (ภาพที่ 4) และมีลักษณะ โครมาโทรแกรมของสารมาตรฐาน ที่ระดับความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร แสดงดังภาพที่5




**Peak: IAA**

| | Sample Name | Result Id | Peak Name | Level | X Value | Response | Calc. Value | % Deviation | Manual | Ignore |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | IAA_1ppm | 2080 | IAA | | 1.096 | 27391788.985 | 1.118 | 2.06 | No | No |
| 2 | IAA_2ppm | 2083 | IAA | | 2.191 | 55065521.789 | 2.175 | -0.72 | No | No |
| 3 | IAA_3ppm | 2084 | IAA | | 3.287 | 83914055.643 | 3.277 | -0.29 | No | No |
| 4 | IAA_4ppm | 2085 | IAA | | 4.382 | 112209989.850 | 4.358 | -0.55 | No | No |
| 5 | IAA_5ppm | 2086 | IAA | | 5.478 | 142220814.368 | 5.505 | 0.49 | No | No |

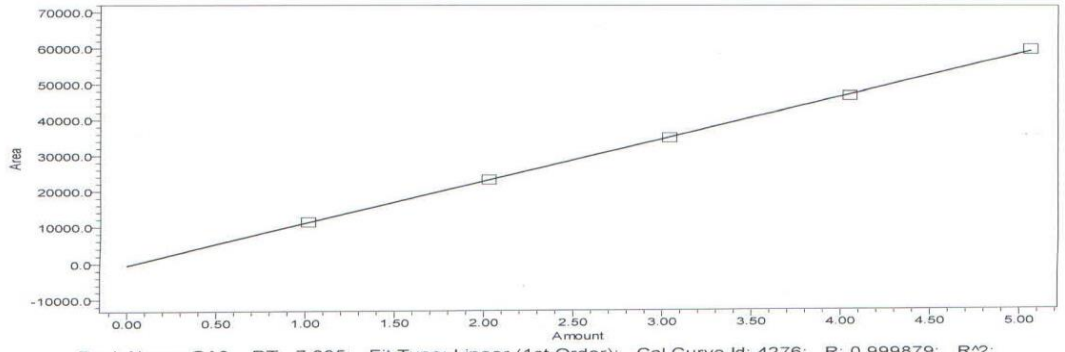
**ภาพที่ 4** calibration curve ของฮอร์โมนพืช IAA ความเข้มข้นตั้งแต่ 1.0 ถึง 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร




| | Peak Name | RT | Area | % Area | Height | Amount | Units |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | IAA | 7.796 | 54994167 | 100.00 | 3729996 | 2.173 | ppm |

**ภาพที่ 5** โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน IAA ระดับความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

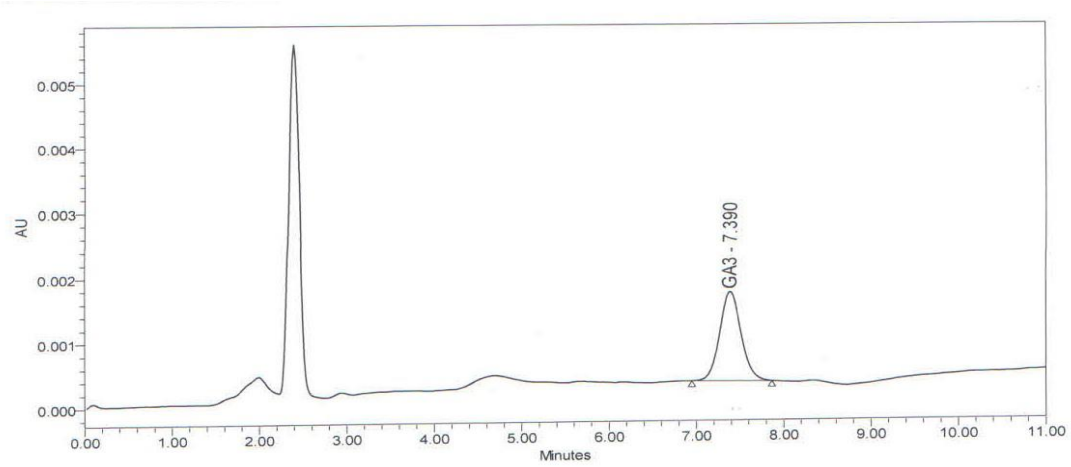
2.2 ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน $GA_3$จำนวน 5 ระดับความเข้มข้น (แกน x) กับ peak area (แกน y) พิจารณาผลจากการวิเคราะห์ correlation coefficient (r) ต้องมีค่ามากกว่า หรือเท่ากับ 0.995 ทั้งนี้ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของสารละลายมาตรฐาน $GA_3$ เท่ากับ 0.99988 (ภาพที่ 6) และมีลักษณะ โครมาโทรแกรมของสารมาตรฐาน ที่ระดับความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร แสดงดังภาพที่7




**Peak: GA3**

| | Sample Name | Result Id | Peak Name | Level | X Value | Response | Calc. Value | % Deviation | Manual | Ignore |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | GA3_1ppm | 4277 | GA3 | | 1.012 | 11580.702 | 1.022 | 0.92 | No | No |
| 2 | GA3_2ppm | 4278 | GA3 | | 2.025 | 23496.899 | 2.033 | 0.41 | No | No |
| 3 | GA3_3ppm | 4279 | GA3 | | 3.037 | 35162.901 | 3.023 | -0.45 | No | No |
| 4 | GA3_4ppm | 4274 | GA3 | | 4.049 | 46846.000 | 4.015 | -0.85 | No | No |
| 5 | GA3_5ppm | 4280 | GA3 | | 5.061 | 59541.001 | 5.092 | 0.61 | No | No |

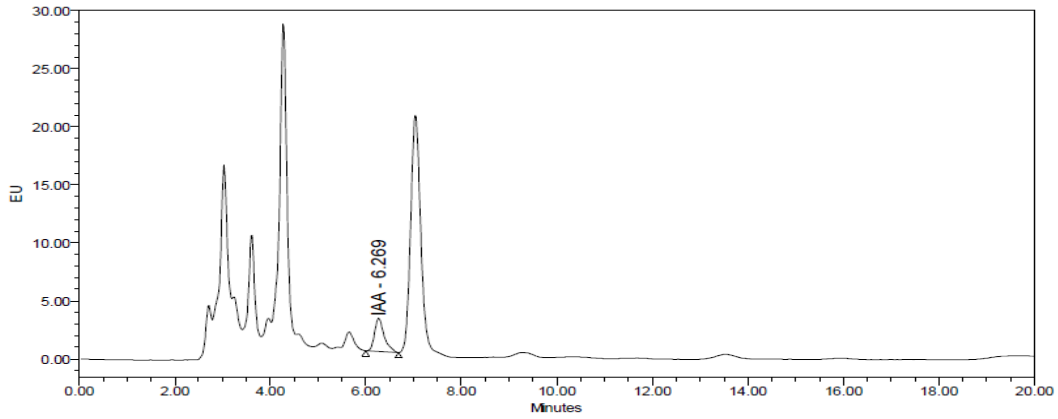
**ภาพที่ 6** calibration curve ของฮอร์โมนพืช $GA_3$ ความเข้มข้นตั้งแต่ 1.0 ถึง 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร



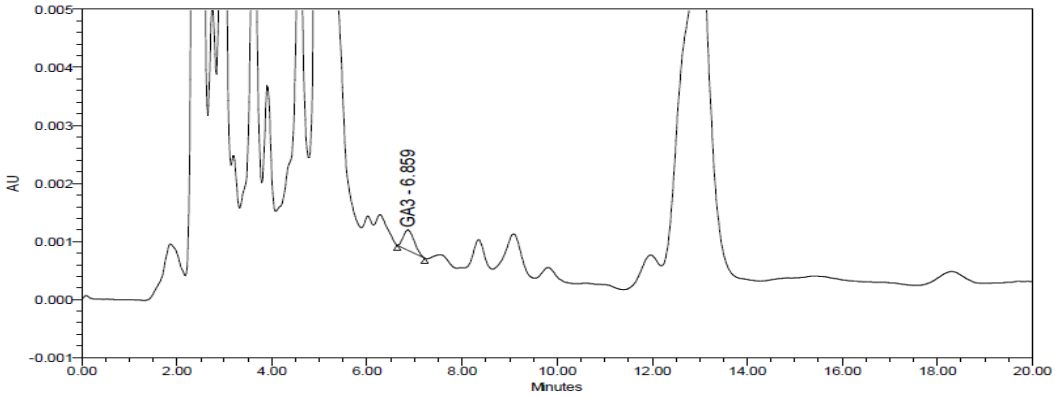

| | Peak Name | RT | Area | % Area | Height | Amount |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | GA3 | 7.390 | 23521 | 100.00 | 1385 | 2.035 |

**ภาพที่ 7** โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน $GA_3$ ระดับความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.3 ลักษณะโครมาโทรแกรมของ IAA และ $GA_3$ ในส่วนต่างๆของกล้วยน้ำว้า ที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยแยกการวิเคราะห์ เนื่องจากสภาวะของการวิเคราะห์ที่แตกต่างกัน คำนวณเทียบกับสารละลายมาตรฐาน การวิเคราะห์ IAA ได้ลักษณะของโครมาโทรแกรม(ภาพที่ 8) การวิเคราะห์ $GA_3$ ได้ลักษณะของโครมาโทรแกรม (ภาพที่ 9)




**ภาพที่ 8** ลักษณะโครมาโทแกรมของ IAA ในตัวอย่างกล้วยน้ำว้าที่สกัดได้จากวิธี liquid liquid extraction




**ภาพที่ 9** ลักษณะโครมาโทแกรมของ $GA_3$ ในตัวอย่างกล้วยน้ำว้าที่สกัดได้จากวิธี liquid liquid extraction

2.4 การวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมน IAA และ $GA_3$ ในตัวอย่างกล้วยน้ำว้าส่วนต่างๆ ได้แก่ เปลือกผลอ่อน เปลือกผลแก่ เนื้อผลอ่อน เนื้อผลแก่ ปลี และใบ จากผลการวิเคราะห์ ตรวจพบปริมาณ IAA ในทุกส่วนของกล้วยน้ำว้า โดยตรวจพบในใบสูงที่สุดมีปริมาณ 4.07 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจาก สาร IAA เป็นฮอร์โมนพืชชนิดที่เคลื่อนที่จากปลายยอดลงมายังลำต้น และจะอยู่ในส่วนของเนื้อเยื่อที่กำลังเจริญ จึงทำให้มีการตรวจพบในส่วนของใบมากที่สุด ผลการวิเคราะห์ปริมาณ $GA_3$ ตรวจพบปริมาณ $GA_3$ ในทุกส่วนของตัวอย่างกล้วยน้ำว้า และพบมากที่สุดในส่วนของปลีปริมาณ 1.42 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม รองลงมาคือใบมีปริมาณ 1.32 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ตารางที่ 3) เนื่องจากฮอร์โมนพืชทั้งสองชนิดคือสารอินทรีย์ ที่พืชสร้างขึ้นเองและมักจะเคลื่อนย้ายจากเนื้อเยื่อที่เป็นแหล่งสร้างไปมีผลควบคุมการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสรีรวิทยาของเนื้อเยื่อบริเวนอื่นๆของพืช (สัมฤทธิ์, 2549) จึงทำให้พบปริมาณฮอร์โมนในส่วนต่างๆของพืชแตกต่างกัน

**ตารางที่ 3** ผลวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนพืชในส่วนต่างๆของกล้วยน้ำว้าด้วยเครื่อง HPLC

| ส่วนของพืช | ปริมาณฮอร์โมนพืชที่ตรวจพบ (มิลลิกรัม/กิโลกรัม) | |
|---|---|---|
| | IAA | $GA_3$ |
| เปลือกผลอ่อน | <0.01 | 0.16 |
| เปลือกผลแก่ | 0.01 | 0.28 |
| เนื้อผลอ่อน | 0.13 | 0.10 |
| เนื้อผลแก่ | 0.04 | 0.37 |
| ปลี | 0.15 | 1.42 |
| ใบ | 4.07 | 1.32 |

2.5 การหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณธาตุอาหารพืชในเปลือกผลอ่อน เปลือกผลแก่ เนื้อผลอ่อน เนื้อผลแก่ ปลี และใบ ของกล้วยน้ำว้า กับ ปริมาณฮอร์โมนพืช IAA และ $GA_3$

จากผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ เป็นการหาความสัมพันธ์แบบสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) ซึ่งค่า r มีค่าอยู่ระหว่าง -1 ถึง 1 ถ้าค่า r ใกล้ 1 แสดงว่า ตัวแปรสองตัวมีความสัมพันธ์กันมาก และมีทิศทางเดียวกัน ถ้า r มีค่าใกล้ -1 แสดงว่า ตัวแปรสองตัวมีความสัมพันธ์กันมากแต่ในทิศทางตรงกันข้าม ซึ่งในการวิเคราะห์นี้ให้ตัวแปรตามเป็นฮอร์โมนพืช และตัวแปรอิสระเป็นธาตุอาหารพืช จากการวิเคราะห์สมการ พบว่า ปริมาณธาตุอาหาร ไนโตรเจน ซันเฟอร์ เหล็ก แมงกานีส และคอปเปอร์ มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณฮอร์โมนพืช IAA มีค่า r เท่ากับ 0.553 0.560 0.918 0.609 และ 0.516 ตามลำดับ แต่ฟอสฟอรัส โปแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม และโบรอน มีความสัมพันธ์กันในทางลบ มีค่า r เท่ากับ0.271 0.095 0.383 0.267 0.218 และ 0.036 ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

**ตารางที่ 4** สมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณธาตุอาหารที่วิเคราะห์ได้กับปริมาณฮอร์โมนพืช IAA

| **รายการธาตุอาหารพืช** | **สมการแสดงความสัมพันธ์** | **$R^2$** | **r** |
|---|---|---|---|
| N กับ IAA | y = 0.8684x - 0.4382 | 0.305 | 0.553 |
| P กับ IAA | y = 3.0428x + 0.1071 | 0.074 | 0.271 |
| K กับ IAA | y = 0.073x + 0.6325 | 0.009 | 0.095 |
| Ca กับ IAA | y = 3.3802x + 0.1228 | 0.147 | 0.383 |
| Mg กับ IAA | y = 2.8901x + 0.0361 | 0.071 | 0.267 |
| S กับ IAA | y = 10.16x - 0.1767 | 0.314 | 0.560 |
| Fe กับ IAA | y = 0.0569x - 1.5426 | 0.843 | 0.918 |
| Mn กับ IAA | y = 0.0244x - 0.5654 | 0.371 | 0.609 |
| Zn กับ IAA | y = -0.0146x + 1.3195 | 0.048 | 0.218 |
| Cu กับ IAA | y = 0.3408x - 0.6875 | 0.266 | 0.516 |
| B กับ IAA | y = -0.0063x + 0.9598 | 0.001 | 0.036 |

ฮอร์โมนพืช $GA_3$ มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณ ธาตุอาหาร ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส แคลเซียม ซัลเฟอร์ เหล็ก แมงกานีส และคอปเปอร์ มีค่า r เท่ากับ 0.912 0.683 0.773 0.965 0.722 0.584 และ 0.962 ตามลำดับ และมีความสัมพันธ์เชิงลบ กับ โปแทสเซียม แมกนีเซียม ซิงค์ และโบรอน มีค่า r เท่ากับ 0.139 0.395 0.114 และ0.289 ตามลำดับ (ตารางที่5)

**ตารางที่ 5** สมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณธาตุอาหารที่วิเคราะห์ได้กับปริมาณฮอร์โมนพืช $GA_3$

| รายการธาตุอาหารพืช | สมการแสดงความสัมพันธ์ | $R^2$ | r |
|---|---|---|---|
| N กับ $GA_3$ | y = 0.5344x - 0.1648 | 0.8474 | 0.921 |
| P กับ $GA_3$ | y = 2.8698x - 0.1235 | 0.4665 | 0.683 |
| K กับ $GA_3$ | y = 0.0353x + 0.4728 | 0.0192 | 0.139 |
| Ca กับ $GA_3$ | y = 2.5504x + 0.026 | 0.5972 | 0.773 |
| Mg กับ $GA_3$ | y = 1.404x + 0.152 | 0.1557 | 0.395 |
| S กับ $GA_3$ | y = 6.4306x - 0.0133 | 0.9321 | 0.965 |
| Fe กับ $GA_3$ | y = 0.0164x - 0.0575 | 0.5214 | 0.722 |
| Mn กับ $GA_3$ | y = 0.0087x + 0.076 | 0.3405 | 0.584 |
| Zn กับ $GA_3$ | y = 0.0027x + 0.5176 | 0.0131 | 0.114 |
| Cu กับ $GA_3$ | y = 0.2179x - 0.2998 | 0.9247 | 0.962 |
| B กับ $GA_3$ | y = 0.0181x + 0.3613 | 0.0835 | 0.289 |

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารพืชในตัวอย่างกล้วยน้ำว้า พบว่าพันธุ์ไม่มีผลต่อปริมาณธาตุอาหาร แต่เมื่อแยกส่วนวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารจะแตกต่างกัน ปลีกล้วยเป็นส่วนที่พบปริมาณธาตุอาหารทุกชนิดมากที่สุด รองลงมาคือใบ และเมื่อวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมน ในใบจะมีปริมาณฮอร์โมน IAA สูงที่สุด และปลีจะมีปริมาณ $GA_3$ สูงที่สุด เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณธาตุอาหารและปริมาณฮอร์โมนพืชทั้งสองชนิด ปริมาณธาตุไนโตรเจน เหล็ก ซัลเฟอร์ และคอปเปอร์ จะให้ค่าความสัมพันธ์เชิงบวกสูงกว่าธาตุอื่น ซึ่งอาจพอสรุปเบื้องต้นได้ว่าเมื่อมีปริมาณธาตุอาหารดังกล่าวสูงจะตรวจพบปริมาณ ฮอร์โมนพืช IAA และ $GA_3$ สูงด้วย ทั้งนี้ในการวิเคราะห์ฮอร์โมนพืชยังมีข้อจำกัด ในเรื่องของวิธีการเก็บตัวอย่างที่ถูกต้องด้วยเนื่องจาก ฮอร์โมนพืช IAA เป็นสารที่มีความไวต่อแสงและความร้อน ทำให้สารสลายตัวได้ง่าย และอาจตรวจไม่พบหากเก็บไม่ถูกวิธี ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาวิจัยในพืชอื่นๆต่อไปเพื่อเป็นแนวทางในการใช้ประโยชน์วัตถุดิบจากธรรมชาติมาทำผลิตภัณฑ์ต่อไป

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ห้องปฏิบัติการสามารถนำวิธีไปใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมน IAA และ $GA_3$ ในตัวอย่างพืชได้
2. นำไปพิจารณาเป็นวัตถุดิบในผลิตภัณฑ์ฮอร์โมนธรรมชาติจากพืช อีกทั้งนำข้อมูลมาปรับปรุง แก้ไข กฎระเบียบข้อบังคับที่ทันสมัย สำหรับควบคุมปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
3. นำไปศึกษาปริมาณฮอร์โมนในพืชชนิดอื่นๆหรือต่อยอดเพื่อพัฒนาวิธีการให้สะดวก รวดเร็วและลดปริมาณสารเคมีที่ใช้ต่อไป

# เอกสารอ้างอิง

สัมฤทธิ์ เศรษฐวงศ์. 2549. ฮอร์โมนและการใช้ฮอร์โมนกับไม้ผล. อักษรสยามการพิมพ์ กรุงเทพมหานคร. 144 หน้า.

สุนันทา ชมพูนิช. 2546. ฮอร์โมนพืชและธาตุอาหารพืชในน้ำหมักชีวภาพ. กองเกษตรเคมี กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

Association of Official Analytical Chemises (AOAC). 2016. Official Methods of Analysis.17th ed Association. E.U.A.

Bhuj, B.D., Chaturvedi, O.P. and Diwedi, S.K. 1998. Effect of GA3 and IAA on the vegetative growth, flowering and rhizome production in Belamcanda chinensis (L.) DC. Ann. Agril. Res. 19: 356-358.

# การศึกษาและพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยธาตุอาหารรอง และธาตุอาหารเสริมในรูปที่ในละลายน้ำได้ ผ่านโปรแกรมการทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการ

# Study and Develop on Method Analysis of Secondary Nutrient Elements and Trace Elements in Water Soluble Fertilizer via Proficiency Testing Program

*จรีรัตน์ กุศลวิริยะวงศ์ สงกรานต์ มะลิสอน ญาณธิชา จิตต์สะอาด สุภา โพธิจันทร์*
*พจมาลย์ ภู่สาร จิตติรัตน์ ชูชาติ กัญฐณา คล้ายแก้ว กอรีอะ บิลหลี วรรณรัตน์ ชุติบุตร*
*Charirat Kusonwiriyawong Songkrant Malisorn Yarnthicha Jittsa-add Supha Photichan*
*Pojjamarn Poosarn Jittirat Choochat Kanthana Klaigaew Koreeah Binlee Wannarut Chutibut*

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

## ABSTRACT

According to, Notification of Department of Agriculture Re: Criteria, procedures and conditions on the exemption from registration of fertilizer under the fertilizer act B.E. 2518 amended by fertilizer act (No.2) B.E. 2550 B.E. 2564, the new formal secondary elements or trace elements contained in the chemical fertilizer must declared in water soluble form. Therefore, proficiency testing program was established to develop analysis methods and improve the performance of laboratories. The program was conducted from October, 2020 to September, 2021. The 4 kg. of granulated fertilizers were homogenously pulverized and passed through a 40-mesh sieve and then stored in the plastic bottle approximately 30 g per bottle. 2 fertilizer samples were prepared to ensure that samples were adequately homogeneous and stable over a period of scheme. The analysis method for the extraction of water soluble forms of calcium, magnesium, sulfur, iron, zinc, manganese, boron and molybdenum was specified for participants. Then, the water extract was acidified and quantified. The performance of the participated laboratories was evaluated and expressed as z score. This study revealed that 58.6%, 72.4, 92.0, 82.8, 76.9, 88.5, 71.4, 83.3 and 80.0 of acceptable results (z score $\leq$ 2.0) reported in analysis of water soluble of calcium, magnesium, sulfur, iron, manganese, zinc, copper, boron and molybdenum, respectively. Laboratories whose unacceptable results (z score $\geq$ 3.0) shall review the results and investigate method and analytical techniques. The sample preparation technique should be aware due to the matrix of acidification. The standard and sample must be prepared and stored in the same acid. Due to the instrument limitation, laboratories shall validate the analytical measurement range of instrument. Proficiency testing program has become a critical tool to control and evaluate performance and also as a valuable process for continuous enhancement of the potential of laboratory. Reliable test results reduce losses from using non-conforming standard of fertilizers. Eventually, proficiency testing program has benefits for further establishing the target relative standard deviation of the analysis method in Thailand.

**Keywords:** Proficiency testing programs, Water Soluble fertilizer, Secondary Elements, Trace Elements

## บทคัดย่อ

กรมวิชาการเกษตร ได้ออกประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง หลักเกณฑ์ วิธีการและเงื่อนไขเกี่ยวกับปุ๋ยที่ได้รับการยกเว้นไม่ต้องขึ้นทะเบียนตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 พ.ศ. 2564 ซึ่งกำหนดรับแจ้งปุ๋ยเคมีธาตุอาหารรองในรูปที่ละลายน้ำ ประกอบด้วย แคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถัน และธาตุอาหารเสริมในรูปที่ละลายน้ำ ประกอบด้วย เหล็ก แมงกานีส สังกะสี ทองแดง โบรอน และโมลิบดินัม ดังนั้น กลุ่มวิจัยเกษตรเคมีในฐานะหน่วยให้บริการวิเคราะห์ ตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย จึงได้จัดโปรแกรมการทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ยธาตุอาหารรอง และธาตุอาหารเสริมในรูปที่ละลายน้ำ เพื่อศึกษาวิธีวิเคราะห์ และพัฒนาห้องปฏิบัติการให้มีความพร้อม ดำเนินการตั้งแต่ตุลาคม 2563 ถึงกันยายน 2564 ทำการเตรียมตัวอย่างทดสอบโดยนำตัวอย่างปุ๋ยเคมีปั้นเม็ด 4 กิโลกรัม บดให้ละเอียด ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 40 เมช บรรจุใส่ขวดๆ ละประมาณ 30 กรัม โดยตัวอย่างปุ๋ยที่เตรียมขึ้น ต้องผ่านการพิสูจน์ทางสถิติว่ามีความเป็นเนื้อเดียวกัน และความเสถียรเพียงพอที่ใช้ตัวอย่างปุ๋ยทดสอบในโปรแกรมทดสอบความชำนาญ กำหนดวิธีทดสอบใช้วิธีสกัดแคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน เหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง โบรอน และโมลิบดินัมที่ละลายน้ำได้ในตัวอย่างปุ๋ยเคมีโดยการเขย่า เพื่อให้อยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้ หลังจากนั้นให้ปรับสารละลายตัวอย่างที่ได้ให้มีสภาวะเป็นกรด(Acidification) แล้วนำไปหาปริมาณด้วยเครื่องมือวิเคราะห์ต่างๆ การประเมินความชำนาญห้องปฏิบัติการโดยนำผลการทดสอบที่ผู้เข้าร่วมโปรแกรมส่งกลับมาภายในกำหนดเวลามาประเมิน โดยใช้คะแนนมาตรฐาน (z score) พบว่า ผู้เข้าร่วมโปรแกรมมีผลการทดสอบเป็นที่ยอมรับ ($z\ score \leq 2.0$) ร้อยละ 58.6 ในรายการทดสอบแคลเซียมที่ละลายน้ำ ร้อยละ 72.4 ในรายการทดสอบแมกนีเซียมที่ละลายน้ำ ร้อยละ 92.0 ในรายการทดสอบกำมะถันที่ละลายน้ำ ร้อยละ 82.8 ในรายการทดสอบเหล็กที่ละลายน้ำ ร้อยละ 76.9 ในรายการทดสอบแมงกานีสที่ละลายน้ำ ร้อยละ 88.5 ในรายการทดสอบสังกะสีที่ละลายน้ำ ร้อยละ 71.4 ในรายการทดสอบทองแดงที่ละลายน้ำ ร้อยละ 83.3 ในรายการทดสอบโบรอนที่ละลายน้ำ ร้อยละ 80.0 ของผู้เข้าร่วมโปรแกรมทั้งหมดที่ทดสอบโมลิบดินัมที่ละลายน้ำ ตามลำดับ ซึ่งผู้เข้าร่วมโปรแกรมที่มีผลการทดสอบไม่เป็นที่ยอมรับ ($z\ score \geq 3.0$) ควรตรวจสอบเทคนิคการเตรียมตัวอย่างให้มีลักษณะเนื้อสารใกล้เคียงกับสารละลายมาตรฐาน วิธีการวิเคราะห์ที่ใช้ให้เหมาะสม เนื่องจากเครื่องมือแต่ละชนิดมีข้อจำกัดในการวิเคราะห์ ดังนั้น จึงควรตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบก่อนนำมาใช้งาน ซึ่งการจัดโปรแกรมทดสอบความชำนาญ ทำให้ห้องปฏิบัติต่างๆ พัฒนาศักยภาพ และยกระดับความสามารถของห้องปฏิบัติการของประเทศไทยให้มีมาตรฐานเดียวกัน ส่งผลให้เกษตรกรได้ใช้ปุ๋ยที่มีคุณภาพเป็นไปตามที่กฎหมายกำหนด สร้างความเป็นธรรมให้กับเกษตรกร และผู้ประกอบการในการในการบังคับใช้กฎหมายของกรมวิชาการเกษตร ทั้งยังสามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในกำหนดส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ที่เหมาะสมของวิธีทดสอบของประเทศไทยต่อไป



**คำหลัก** : โปรแกรมการทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการ ปุ๋ยในรูปละลายน้ำ ธาตุอาหารรอง ธาตุอาหารเสริม


## คำนำ

กรมวิชาการเกษตร ได้ออกประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง หลักเกณฑ์ วิธีการและเงื่อนไขเกี่ยวกับปุ๋ยที่ได้รับการยกเว้นไม่ต้องขึ้นทะเบียนตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 พ.ศ. 2564 ซึ่งกำหนดรับแจ้งปุ๋ยเคมีธาตุอาหารรองในรูปที่ละลายน้ำ ประกอบด้วย แคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถัน และธาตุอาหารเสริมในรูปที่ละลายน้ำ ประกอบด้วย เหล็ก แมงกานีส สังกะสี ทองแดง โบรอน และโมลิบดินัม ซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของการวิเคราะห์ธาตุอาหารรอง และธาตุเสริมที่มีมาตั้งแต่ในอดีต ดังนั้น เพื่อเป็นการเตรียมความพร้อมของห้องปฏิบัติการที่ให้บริการวิเคราะห์ รวมไปถึงห้องปฏิบัติการที่ได้รับการกำหนดจากกรมวิชาการเกษตร ตามประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง การกำหนดห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ย ตามมาตรา 36 (11) และมาตรา 36/2 (10) แห่งพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 พ.ศ. 2554 ในการให้บริการวิเคราะห์ปุ๋ยขึ้นทะเบียน กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี ในฐานะหน่วยงานให้บริการ และตรวจสอบรับรองห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ย จึงได้พัฒนาและจัดโปรแกรมการทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ย

ธาตุอาหารรอง และธาตุอาหารเสริมในรูปที่ละลายน้ำ โดยโปรแกรมการทดสอบความชำนาญระหว่างห้องปฏิบัติการถูกนำมาเป็นเครื่องมือใช้ในการควบคุมคุณภาพผลวิเคราะห์จากภายนอก เป็นเปรียบเทียบความสามารถ หรือสมรรถนะระหว่างห้องปฏิบัติการ โดยการใช้ตัวอย่างที่มีสมบัติเหมือนกัน และทำการวิเคราะห์ภายในช่วงเวลาเดียวกัน โดยการจัดโปรแกรมต้องออกแบบ และดำเนินขั้นตอนให้เป็นไปตามมาตรฐาน ISO/IEC 17043:2010 และนำหลักสถิติที่เหมาะสมตามมาตรฐาน ISO 13528 มาใช้ในการประเมินตัวอย่างทดสอบว่ามีคุณสมบัติเหมาะสม และเพียงพอที่จะนำไปใช้เป็นตัวอย่างทดสอบ และมีการประเมินความชำนาญของผู้เข้าร่วมโปรแกรม ทำให้ผู้เข้าร่วมโปรแกรมทดสอบความชำนาญทราบถึงศักยภาพของตนเองว่าอยู่ในระดับใด หากผู้เข้าร่วมโปแกรมได้รับผลการประเมิน หรือผลวิเคราะห์อยู่ในระดับเป็นที่น่าสงสัย หรือไม่เป็นที่น่าพอใจ สามารถย้อนกลับไปตรวจสอบเทคนิคการวิเคราะห์ หรือขั้นตอนการปฏิบัติงานของตนเองได้ เพื่อยกระดับให้ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ยให้มีมาตรฐานเดียวกันทั้งประเทศ

มาตรฐานวิธีทดสอบธาตุอาหารรอง และธาตุอาหารเสริมในรูปที่ละลายน้ำมีกำหนดไว้อย่างแพร่หลาย เช่น สหภาพยุโรป (EN, 2003; EN 16962, 2018; EN 16963, 2018) ญี่ปุ่น (Famic, 2019) และมาตรฐานวิธีวิเคราะห์ เช่น AOAC (2016) มีหลักการคือ การสกัดแคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน เหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง โบรอน และโมลิบดินัมที่ละลายน้ำได้ในตัวอย่างปุ๋ยเคมีโดยการเขย่า เพื่อให้อยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้หลังจากนั้นให้ปรับสารละลายตัวอย่างที่ได้ให้มีสภาวะเป็นกรด (Acidification) แล้วนำไปหาปริมาณด้วยเครื่องมือวิเคราะห์ต่างๆ เนื่องจากในแต่ละห้องปฏิบัติการจะมีความชำนาญ หรือเลือกใช้วิธีวิเคราะห์ที่แตกต่างกัน อาจทำให้ผลวิเคราะห์ที่ได้ไม่ถูกต้อง ซึ่งส่งผลกระทบให้ผู้ขอรับบริการวิเคราะห์ เช่น เกษตรกรและผู้ประกอบการสูญเสียโอกาสทางเศรษฐกิจในการนำผลวิเคราะห์ปุ๋ยไปใช้ในการขึ้นทะเบียน หรือใช้ประโยชน์ ซึ่งการจัดโปรแกรมการทดสอบความชำนาญช่วยสร้างความเชื่อมั่นให้กับห้องปฏิบัติการต่างๆ ที่เข้าร่วมโปรแกรมฯ ว่าผลการทดสอบที่ได้มีความถูกต้อง แม่นยำ และเป็นที่น่าเชื่อถือ สร้างความเป็นธรรม และลดข้อโต้แย้งที่เกิดขึ้นระหว่างผู้ประกอบกับเกษตรกร นอกจากนี้ สามารถนำมาใช้ เพื่อการประเมินวิธีทดสอบ และหาข้อมูลเบื้องต้นในการในกำหนดส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ที่เหมาะสมของวิธีทดสอบของประเทศไทยต่อไป

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์ และเครื่องมือ

1. ตัวอย่างปุ๋ยเคมี
2. เครื่องบดตัวอย่างและตะแกรงร่อนขนาด 40 เมช
3. เครื่องเขย่า
4. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
5. เครื่องอินดักทีฟลี คัปเปิลพลาสมา - ออปติคอล อิมิสชัน สเปกโทรมิเตอร์ (Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometer : ICP-OES)
6. เครื่องแก้วสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหารรองและธาตุอาหารเสริมที่ละลายน้ำได้ เช่น Pipette,Volumetric flask และ Breaker เป็นต้น

### สารเคมี

1. กรดไนตริคเข้มข้น (68-72 %$HNO_3$, AR grade)
2. สารละลายมาตรฐานแคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน เหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง โบรอน และโมลิบดินัม

## วิธีการ

**1. การเตรียมตัวอย่างปุ๋ยทดสอบ**

จัดหาปุ๋ยเคมีที่ใช้เป็นเป็นตัวอย่างทดสอบสำหรับใช้ในโปรแกรม ทั้งหมดจำนวน 2 ตัวอย่าง สำหรับการทดสอบแคลเซียมที่ละลายน้ำ แมกนีเซียมที่ละลายน้ำ และกำมะถันที่ละลายน้ำ จำนวน 1 ตัวอย่าง และสำหรับการทดสอบเหล็กที่ละลายน้ำ แมงกานีสที่ละลายน้ำ สังกะสีที่ละลายน้ำ ทองแดงที่ละลายน้ำ โบรอนที่ละลายน้ำ และโมลิบดินัมที่ละลายน้ำ จำนวน 1 ตัวอย่าง ตามลำดับโดยใช้ตัวอย่างปุ๋ยเคมีปั้นเม็ดประมาณ 4 กิโลกรัม โดยแต่ละตัวอย่างถูกนำมาจัดเตรียมโดยการผสมคลุกเคล้าให้เข้ากัน บดให้ละเอียด ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 40 เมช คลุกเคล้าให้เข้ากันอีกครั้ง แบ่งตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่ได้ใส่ขวดบรรจุตัวอย่าง กำหนดหมายเลขของตัวอย่างปุ๋ยเคมีแต่ละขวด เก็บในตู้ควบคุมตัวอย่าง ปลอดภัยจากสิ่งรบกวนและแสงแดดแล้วนำตัวอย่างปุ๋ยทดสอบไปทดสอบ และประเมินทางสถิติ ดังนี้

1.1 การพิสูจน์ความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity testing)

สุ่มตัวอย่างปุ๋ยทดสอบที่เตรียมไว้ จำนวน 10 ขวดแบ่งตัวอย่างแต่ละขวดออกเป็น 2 ส่วน ทำการทดสอบตัวอย่างในรายการทดสอบแคลเซียมที่ละลายน้ำ แมกนีเซียมที่ละลายน้ำ กำมะถันที่ละลายน้ำ เหล็กที่ละลายน้ำ แมงกานีสที่ละลายน้ำ สังกะสีที่ละลายน้ำ ทองแดงที่ละลายน้ำ โบรอนที่ละลายน้ำ และโมลิบดินัมที่ละลายน้ำ และนำผลการทดสอบที่ได้มาประเมินทางสถิติเพื่อพิสูจน์ความเป็นเนื้อเดียวกัน (ISO 13528, 2015) ดังสมการ

$$s_s = \max[0, \sqrt{s_x^2 - (s_w^2/2)}] \quad (1)$$

โดยที่ $S_s$ คือ Between-sample standard deviation

$S_x$ คือ Standard deviation of sample averages

$S_w$ คือ Within-sample standard deviation

ทำการเปรียบเทียบส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานระหว่างตัวอย่าง (ss) กับส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการประเมินโปรแกรมฯ ($\sigma$pt)

โดยที่ $S_s \leq 0.3\sigma$pt

1.2 การพิสูจน์ความเสถียร (Stability testing)

สุ่มตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่เป็นชุดเดียวกับที่ส่งให้ผู้เข้าร่วมโปรแกรม จำนวน 3 ขวด แบ่งตัวอย่างแต่ละขวดออกเป็น 2 ส่วนทดสอบแคลเซียมที่ละลายน้ำ แมกนีเซียมที่ละลายน้ำ กำมะถันที่ละลายน้ำ เหล็กที่ละลายน้ำ แมงกานีสที่ละลายน้ำ สังกะสีที่ละลายน้ำ ทองแดงที่ละลายน้ำ โบรอนที่ละลายน้ำ และโมลิบดินัมที่ละลายน้ำโดยใช้วิธีวิเคราะห์เดียวกับการพิสูจน์ความเป็นเนื้อเดียวกัน ทำการพิสูจน์ความเสถียรของตัวอย่างทดสอบในวันที่ปิดรับรายงานผลการทดสอบ และประเมินผลทางสถิติ (ISO 13528, 2015) ดังสมการ

$$(|\bar{y}_1 - \bar{y}_2| \leq 0.3\sigma_{pt}) \quad (2)$$

โดยที่ $\bar{y}_1$ คือค่าเฉลี่ยที่ได้จากการพิสูจน์ความเป็นเนื้อเดียวกัน

$\bar{y}_2$ คือ ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการทดสอบความเสถียร

1.3 การหาค่ากำหนดของตัวอย่างทดสอบ

ค่ากำหนดของตัวอย่างปุ๋ยทดสอบ (Assigned value ;$x_{pt}$) ได้จาก 2 รูปแบบ (ISO 13528, 2015) ดังนี้

1.3.1 ค่ายอมรับจากกลุ่ม (Consensus values) โดยใช้สถิติโรบัสต์ (Robust analysis) ตามวิธี Algorithm A ดังสมการ

$$x^* = \sum_{i=1}^{p} x_i^*/p \quad (3)$$

1.3.2 ค่าจากห้องปฏิบัติการเดียว (Single laboratory result)

1.4 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการประเมินโปรแกรมการทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการ ($\sigma_{pt}$) ได้จาก 4 รูปแบบ(ISO 13528, 2015) ดังนี้

1.4.1 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานโรบัสต์ (s*) โดยวิธี Algorithm Aดังสมการ

$$s^* = 1.134\sqrt{\sum_{i=1}^{p}(x_i^* - x^*)^2/(p-1)} \quad (4)$$

1.4.2 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากสมการ Predicted standard deviation

$$\sigma_R = 0.22c \quad \text{when} \quad c < 1.2 \times 10^{-7} \quad (5)$$
$$= 0.02c^{0.8495} \quad \text{when} \quad 1.2 \times 10^{-7} \le c \le 0.138$$
$$= 0.01c^{0.5} \quad \text{when} \quad c > 0.138$$

โดยที่ c คือ mass fraction

1.4.3 ค่าพิสัยระหว่างควอไทล์ (normalized InterQuartile Range; nIQR)

$$nIQR(x) = 0.7413(Q_3(x) - Q_1(x))) \quad (6)$$

1.4.4 ข้อคิดเห็นของผู้เชี่ยวชาญและที่ปรึกษา (Expert judgment)

1.5 การหาค่าความไม่แน่นอนมาตรฐานของค่ากำหนด ($u(x_{pt})$)ดังสมการ

$$u(x_{pt}) = 1.25 \times \frac{s^*}{\sqrt{p}} \quad (7)$$

โดยที่ $u(x_{pt})$ =ค่าความไม่แน่นอนมาตรฐานของค่ากำหนด
$s^*$ =ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานโรบัสต์
p =จำนวนผลการทดสอบ

ทำการพิจารณาค่าความไม่แน่นอนมาตรฐานของค่ากำหนดของตัวอย่างปุ๋ยทดสอบ

โดยที่ $u(x_{pt}) \le 0.3\sigma pt$

**2. การจัดโปรแกรมการทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการ**

การจัดโปรแกรมเป็นไปตามมาตรฐาน ISO/IEC 17043: 2010 ประกอบด้วย การประชาสัมพันธ์เปิดรับสมัครห้องปฏิบัติการที่ร่วมโปรแกรม โดยมีระยะเวลา ขั้นตอน และแผนการดำเนินกิจกรรมที่ชัดเจน และจัดส่งใบสมัครให้กับห้องปฏิบัติการต่างๆ ทั้งภาคราชการ มหาวิทยาลัย และภาคเอกชน หลังจากถึงระยะเวลาปิดรับสมัคร กำหนดหมายเลขรหัสผู้เข้าร่วมกิจกรรมโดยใช้ตารางเลขสุ่ม ทั้งนี้ ข้อมูลของผู้เข้าร่วมโปรแกรม หมายเลขรหัสของผู้เข้าร่วมโปรแกรมรวมทั้งผลการประเมินความชำนาญ จะถูกเก็บรักษาเป็นความลับ ซึ่งมีรายละเอียดขั้นตอนต่างๆ ดังนี้

2.1 การกำหนดวิธีทดสอบ

การเตรียมตัวอย่างก่อนการทดสอบ ให้ดำเนินการตามวิธีสกัดแคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน เหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง โบรอน และโมลิบดินัมที่ละลายน้ำได้ในปุ๋ยเคมี (EN 16962, 2018) และนำมาหาปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน เหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง โบรอน และโมลิบดินัมที่ละลายน้ำได้ในปุ๋ยเคมีด้วย Inductively coupled plasma emission spectroscopic method (EN 16963, 2018)

2.2 การส่งตัวอย่างให้ผู้เข้าร่วมโปรแกรม

จัดส่งตัวอย่างทดสอบ จำนวน 2 ตัวอย่าง เพื่อทดสอบหาปริมาณแคลเซียมที่ละลายน้ำ แมกนีเซียมที่ละลายน้ำ และกำมะถันที่ละลายน้ำ จำนวน 1 ขวด และทดสอบหาปริมาณเหล็กที่ละลายน้ำ แมงกานีสที่ละลายน้ำ สังกะสีที่ละลายน้ำ ทองแดงที่ละลายน้ำ โบรอนที่ละลายน้ำ และโมลิบดินัมที่ละลายน้ำ จำนวน 1 ขวดน้ำหนักตัวอย่างประมาณ 27 กรัมต่อขวด เป็นตัวอย่างปุ๋ยทดสอบบรรจุในขวดปิดฝา ฉลากระบุรหัสโปรแกรม รหัสผู้เข้าร่วมโปรแกรม (Participant ID)รายการทดสอบ เดือนและปีที่ส่งตัวอย่างไว้อย่างชัดเจน ซึ่งบรรจุในกล่องพัสดุ และเอกสารที่เกี่ยวข้อง

ประกอบด้วย ข้อแนะนำสำหรับผู้เข้าร่วมโปรแกรม แบบรายงานผลการทดสอบ แบบบันทึกการรับตัวอย่าง รายละเอียดที่ใช้ในการทดสอบ และแบบข้อตกลงร่วม

2.3 การรายงานผลการทดสอบ

ผู้เข้าร่วมโปรแกรมรายงานผลการทดสอบแคลเซียมที่ละลายน้ำ แมกนีเซียมที่ละลายน้ำ กำมะถันที่ละลายน้ำ เหล็กที่ละลายน้ำ แมงกานีสที่ละลายน้ำ สังกะสีที่ละลายน้ำ ทองแดงที่ละลายน้ำ โบรอนที่ละลายน้ำ และโมลิบดินัมที่ละลายน้ำในหน่วยร้อยละ (%W/W) เป็นทศนิยม 2 ตำแหน่ง และรายงานค่าความไม่แน่นอนที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % (กรณีที่สามารถคำนวณค่าได้) บันทึกสภาพโดยทั่วไปของตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่ได้รับ และวิธีที่ใช้ในการทดสอบ ซึ่งเป็นวิธีที่แต่ละห้องปฏิบัติการใช้ทดสอบ โดยส่งผลการทดสอบกลับมายังกลุ่มวิจัยเกษตรเคมี ภายในระยะเวลาที่กำหนด

2.4 การประเมินผลความชำนาญของผู้เข้าร่วมโปรแกรม

ความชำนาญของห้องปฏิบัติการ พิจารณาได้จาก คะแนนมาตรฐาน (z score) ดังสมการ

$$z = \frac{(x_i - x_{pt})}{\sigma_{pt}} \qquad (8)$$

โดยเกณฑ์การประเมินค่า z score กำหนดให้

| | | |
|---|---|---|
| $\|z\| \leq 2.0$ | แสดงว่า | ผลการวิเคราะห์เป็นที่ยอมรับ (Acceptable result) |
| $2.0 < \|z\| < 3.0$ | แสดงว่า | ผลการวิเคราะห์อยู่ในเกณฑ์ที่ต้องเฝ้าระวัง (Warning result) |
| $\|z\| \geq 3.0$ | แสดงว่า | ผลการวิเคราะห์ไม่เป็นที่ยอมรับ (Unacceptable result) |

**ระยะเวลา** : ตุลาคม 2563 – กันยายน 2564

**สถานที่ทำการทดลอง** : กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำ
กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

## ผลการทดลองและวิจารณ์

**1. ตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบ**

ทำการแบ่งตัวอย่างปุ๋ยเคมีใส่ขวดบรรจุตัวอย่าง โดยตัวอย่างปุ๋ยเคมีรายการทดสอบทดสอบแคลเซียมที่ละลายน้ำ แมกนีเซียมที่ละลายน้ำ และกำมะถันที่ละลายน้ำ ได้จำนวนทั้งสิ้น 187 ขวด และตัวอย่างปุ๋ยเคมีรายการทดสอบเหล็กที่ละลายน้ำ แมงกานีสที่ละลายน้ำ สังกะสีที่ละลายน้ำ ทองแดงที่ละลายน้ำ โบรอนที่ละลายน้ำ และโมลิบดินัมที่ละลายน้ำ ได้จำนวนทั้งสิ้น162 ขวด

1.1 ความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างปุ๋ยเคมี

จากการประเมินทางสถิติ ตัวอย่างปุ๋ยเคมี พบว่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานระหว่างตัวอย่าง (Ss) ของการวิเคราะห์หาปริมาณทดสอบแคลเซียมที่ละลายน้ำ แมกนีเซียมที่ละลายน้ำ และกำมะถันที่ละลายน้ำ(ตาราง 1) และรายการทดสอบเหล็กที่ละลายน้ำ แมงกานีสที่ละลายน้ำ สังกะสีที่ละลายน้ำ ทองแดงที่ละลายน้ำ โบรอนที่ละลายน้ำ และโมลิบดินัมที่ละลายน้ำ (ตาราง 2) มีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.3 เท่าของค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการประเมินกิจกรรมฯ ($\leq 0.3\sigma_{pt}$) ในทุกรายการทดสอบสามารถสรุปได้ว่า ตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่จัดเตรียมขึ้น มีความเป็นเนื้อเดียวกัน (Adequate) เหมาะสมที่จะใช้เป็นตัวอย่างทดสอบในโปรแกรมการทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการ

1.2 ความเสถียรของตัวอย่างปุ๋ยเคมี

จากการประเมินความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยที่ได้จากการพิสูจน์ความเสถียรของตัวอย่าง กับค่าเฉลี่ยที่ได้จากการพิสูจน์ความเป็นเนื้อเดียวกัน พบว่า มีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.3 เท่า ของค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการประเมินกิจกรรมฯ ($\leq 0.3\sigma pt$) ในรายการทดสอบแคลเซียมที่ละลายน้ำ แมกนีเซียมที่ละลายน้ำ และกำมะถันที่ละลายน้ำ (ตาราง 1) และรายการทดสอบเหล็กที่ละลายน้ำ แมงกานีสที่ละลายน้ำ สังกะสีที่ละลายน้ำ ทองแดงที่ละลายน้ำ โบรอนที่

ละลายน้ำ และโมลิบดินัมที่ละลายน้ำ (ตาราง 2) สรุปได้ว่า ตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์มีความเสถียรเพียงพอเหมาะสมที่จะเป็นตัวอย่างทดสอบในโปรแกรมการทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการปุ๋ยอินทรีย์ (ตาราง 2)

**ตาราง 1** การพิสูจน์ความเป็นเนื้อเดียวกัน และความเสถียรของตัวอย่างปุ๋ยรายการทดสอบแคลเซียมที่ละลายน้ำแมกนีเซียมที่ละลายน้ำ และกำมะถันที่ละลายน้ำ

| รายการทดสอบ | แคลเซียมที่ละลายน้ำ | แมกนีเซียมที่ละลายน้ำ | กำมะถันที่ละลายน้ำ |
|---|---|---|---|
| Mean ($\tilde{y}_1$) | 4.03 | 6.56 | 8.60 |
| Mean ($\tilde{y}_2$) | 4.04 | 6.42 | 8.73 |
| $s_s$ | 0.01 | 0.04 | 0.00 |
| $\lvert\tilde{y}_1 - \tilde{y}_2\rvert$ | 0.01 | 0.14 | 0.13 |
| $\sigma_{pt}$ | 0.13 | 0.50 | 0.61 |
| $0.3\sigma_{pt}$ | 0.04 | 0.15 | 0.18 |
| ความเป็นเนื้อเดียวกัน ($s_s \le 0.3\sigma_{pt}$) | ADEQUATE | ADEQUATE | ADEQUATE |
| ความเสถียร ($\lvert \tilde{y}_1 - \tilde{y}_2 \rvert \le 0.3\sigma_{pt}$) | ADEQUATE | ADEQUATE | ADEQUATE |

**ตาราง 2** การพิสูจน์ความเป็นเนื้อเดียวกัน และความเสถียรของตัวอย่างปุ๋ยในรายการทดสอบเหล็กที่ละลายน้ำได้แมงกานีสที่ละลายน้ำ สังกะสีที่ละลายน้ำได้ ทองแดงที่ละลายน้ำ โบรอนที่ละลายน้ำ และโมลิบดิมนัมที่ละลายน้ำ

| รายการทดสอบ | เหล็กที่ละลายน้ำ | แมงกานีสที่ละลายน้ำ | สังกะสีที่ละลายน้ำ | ทองแดงที่ละลายน้ำ | โบรอนที่ละลายน้ำ | โมลิบดินัมที่ละลายน้ำ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Mean ($\tilde{y}_1$) | 1.81 | 6.49 | 3.63 | 3.04 | 2.72 | 0.38 |
| Mean ($\tilde{y}_2$) | 1.87 | 6.44 | 3.49 | 3.01 | 2.82 | 0.42 |
| $s_s$ | 0.02 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.01 |
| $\lvert\tilde{y}_1 - \tilde{y}_2\rvert$ | 0.06 | 0.05 | 0.14 | 0.03 | 0.10 | 0.04 |
| $\sigma_{pt}$ | 0.47 | 0.29 | 0.47 | 0.34 | 0.35 | 0.12 |
| $0.3\sigma_{pt}$ | 0.14 | 0.09 | 0.14 | 0.10 | 0.11 | 0.04 |
| ความเป็นเนื้อเดียวกัน ($s_s \le 0.3\sigma_{pt}$) | ADEQUATE | ADEQUATE | ADEQUATE | ADEQUATE | ADEQUATE | ADEQUATE |
| ความเสถียร ($\lvert \tilde{y}_1 - \tilde{y}_2 \rvert \le 0.3\sigma_{pt}$) | ADEQUATE | ADEQUATE | ADEQUATE | ADEQUATE | ADEQUATE | ADEQUATE |

1.3 ค่ากำหนดของตัวอย่างปุ๋ยเคมี

ค่ากำหนดของตัวอย่างปุ๋ยรายการทดสอบแคลเซียมที่ละลายน้ำ แมกนีเซียมที่ละลายน้ำ เหล็กที่ละลายน้ำ ทองแดงที่ละลายน้ำ และโมลิบดินัมที่ละลายน้ำได้จากค่าห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย (Result from one laboratory) ในขณะที่รายการทดสอบกำมะถันที่ละลายน้ำแมงกานีสที่ละลายน้ำ สังกะสีที่ละลายน้ำ และโบรอนที่ละลายน้ำ ได้จากค่าเฉลี่ยโรบัสต์ (Robust average, x*) คำนวณจากผลการทดสอบของผู้เข้าร่วมโปรแกรม โดยไม่นำผลการทดสอบที่มีลักษณะผิดปกติ (Obvious blunder) มาร่วมคำนวณ ซึ่งจัดเป็นค่ายอมรับจากกลุ่ม (Consensus values) โดยวิธี Algorithm Aสามารถตรวจสอบย้อนกลับได้ไปยังกลุ่มของผู้เข้าร่วมโปรแกรม (ตาราง 3)

1.4 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการประเมินโปรแกรมการทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการ

การพิจารณาส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการประเมินโปรแกรมการทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการจะพิจารณาจากค่าที่น้อยที่สุด หรือมีค่าเหมาะสมกับลักษณะตัวอย่าง และปริมาณธาตุอาหารของตัวอย่างทดสอบ เพื่อใช้ในการประเมินความชำนาญของผู้เข้าร่วมโปรแกรม เพื่อเป็นการพัฒนาคุณภาพของห้องปฏิบัติการที่ให้บริการวิเคราะห์ปุ๋ยในประเทศไทยให้เป็นมาตรฐานเดียวกันโดยรายการทดสอบแคลเซียมที่ละลายน้ำ ใช้ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากสมการ Predicted Standard Deviation (ISO 13528, 2015)รายการทดสอบแมกนีเซียมที่ละลายน้ำ แมงกานีสที่ละลายน้ำ

และทองแดงที่ละลายน้ำได้จากการนำผลการทดสอบของผู้เข้าร่วมโปรแกรม มาคำนวณค่าพิสัยระหว่างควอไทล์ (normalized InterQuartile Range; nIQR)(ISO 13528, 2015) และรายการทดสอบกำมะถันที่ละลายน้ำ เหล็กที่ละลายน้ำ สังกะสีที่ละลายน้ำ และโบรอนที่ละลายน้ำ ได้จากการนำผลการทดสอบของผู้เข้าร่วมโปรแกรมมาคำนวณส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานโรบัสต์ (s*) โดยไม่นำผลการทดสอบที่มีลักษณะผิดปกติ (Obvious blunder) มาร่วมคำนวณ โดยวิธี Algorithm A (ISO 13528, 2015) และรายการทดสอบโมลิบดินัมที่ละลายน้ำได้ เลือกใช้ค่าจากส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเป้าหมายที่ได้จากข้อคิดเห็นของผู้เชี่ยวชาญ (Target standard deviation by perception from expert judgment) ดังแสดงในตาราง 3

**ตาราง 3** ค่ากำหนดและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการประเมินโปรแกรมการทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการและค่าความไม่แน่นอนมาตรฐานของค่ากำหนดของตัวอย่างปุ๋ย (ธาตุอาหารรอง ธาตุอาหารเสริมในรูปที่ละลายน้ำได้)

| รายการทดสอบ | ค่ากำหนด ($x_{pt}$) | ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการประเมินโปรแกรมฯ ($\sigma_{pt}$) | ค่าความไม่แน่นอนมาตรฐานของค่ากำหนด ($u_x$) |
|---|---|---|---|
| | ----------%---------- | | |
| แคลเซียมที่ละลายน้ำ | 4.03 | 0.13 | 0.03 |
| แมกนีเซียมที่ละลายน้ำ | 6.56 | 0.50 | 0.12 |
| กำมะถันที่ละลายน้ำ | 8.38 | 0.61 | 0.15 |
| เหล็กที่ละลายน้ำ | 1.81 | 0.47 | 0.11 |
| แมงกานีสที่ละลายน้ำ | 6.21 | 0.29 | 0.07 |
| สังกะสีที่ละลายน้ำ | 3.43 | 0.47 | 0.12 |
| ทองแดงที่ละลายน้ำ | 3.04 | 0.34 | 0.08 |
| โบรอนที่ละลายน้ำ | 2.62 | 0.35 | 0.09 |
| โมลิบดินัมที่ละลายน้ำ | 0.38 | 0.12 | 0.03 |

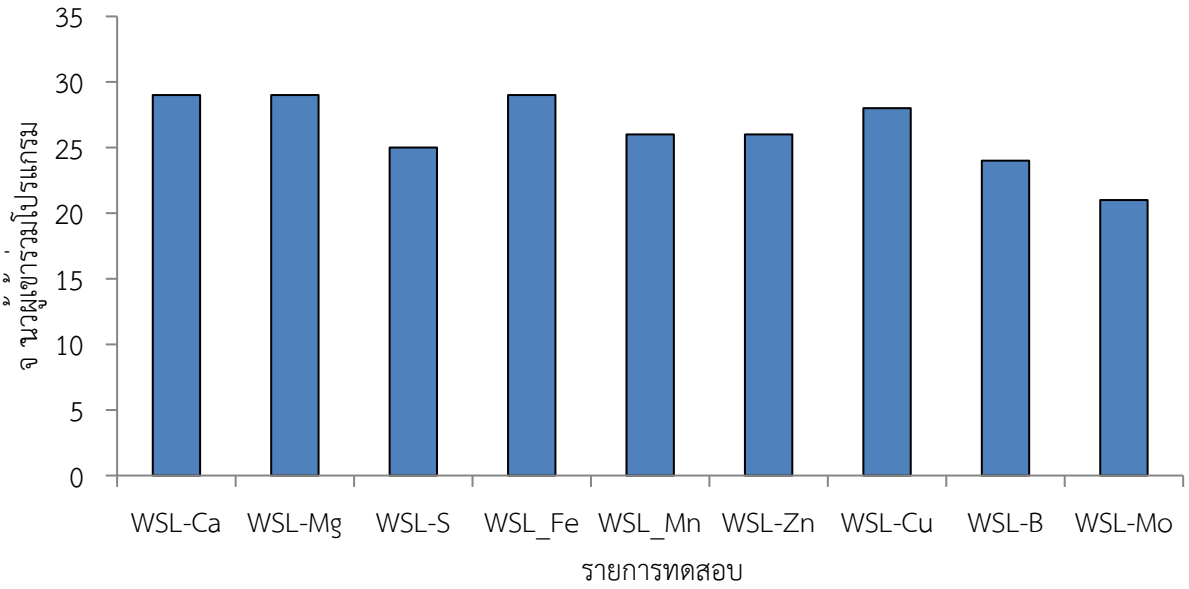
1.5 ค่าความไม่แน่นอนมาตรฐานของค่ากำหนด

ค่าความไม่แน่นอนมาตรฐานของค่ากำหนดที่ได้มาจากค่าเฉลี่ยโรบัสต์ (Robust average, x*) สามารถตรวจสอบย้อนกลับได้ไปยังกลุ่มของผู้เข้าร่วมโปรแกรม สำหรับค่าความไม่แน่นอนมาตรฐานของค่ากำหนดของตัวอย่างปุ๋ยทดสอบที่เหมาะสม คือ น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.3 เท่าของค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการประเมินโปรแกรมฯ ($\leq 0.3\sigma_{pt}$) ผลการประเมิน พบว่า ค่ากำหนดเหมาะสมที่จะใช้ในการประเมินความชำนาญห้องปฏิบัติการ (ตาราง 3) ในทุกรายการทดสอบ

**2. การจัดโปรแกรมการทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการ**

2.1 จำนวนผู้เข้าร่วมโปรแกรม

การดำเนินการจัดโปรแกรมการทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการปุ๋ยเคมี (ธาตุอาหารรอง ธาตุอาหารเสริมในรูปที่ละลายน้ำได้) มีผู้เข้าร่วมโปรแกรมทั้งจากภาคราชการ มหาวิทยาลัย และภาคเอกชน จำนวน 33 ราย และส่งผลการทดสอบกลับมายังกลุ่มวิจัยเกษตรเคมี ภายในเวลากำหนด คิดเป็นร้อยละ 87.9 ในรายการทดสอบแคลเซียมที่ละลายแมกนีเซียมที่ละลายน้ำ และเหล็กที่ละลายน้ำร้อยละ 75.8 ในรายการทดสอบกำมะถันที่ละลายน้ำ ร้อยละ 87.9 ในรายการทดสอบเหล็กที่ละลายน้ำร้อยละ 78.8 ในรายการทดสอบแมงกานีสที่ละลายน้ำ และสังกะสีที่ละลายน้ำ ร้อยละ 84.8 ในรายการทดสอบทองแดงที่ละลายน้ำร้อยละ 72.7 ในรายการทดสอบโบรอนที่ละลายน้ำ และร้อยละ 63.6 ในรายการทดสอบโมลิบดินัมที่ละลายน้ำ ตามลำดับ (ภาพ 1)




ภาพ 1 จำนวนผู้เข้าร่วมโปรแกรมที่ส่งผลการทดสอบภายในเวลาที่กำหนด โดยแยกตามรายการทดสอบ

2.2 วิธีทดสอบ

การทดสอบใช้วิธีสกัดแคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน เหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง โบรอน และโมลิบดินัมที่ละลายน้ำได้ในตัวอย่างปุ๋ยเคมีโดยการเขย่า เพื่อให้อยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้หลังจากนั้นให้ปรับสารละลายตัวอย่างที่ได้ให้มีสภาวะเป็นกรด (Acidification) แล้วนำไปหาปริมาณแคลเซียมที่ละลายน้ำ แมกนีเซียมที่ละลายน้ำ กำมะถันที่ละลายน้ำ เหล็กที่ละลายน้ำ แมงกานีสที่ละลายน้ำ สังกะสีที่ละลายน้ำ ทองแดงที่ละลายน้ำ โบรอนที่ละลายน้ำ และโมลิบดินัมที่ละลายน้ำ

จากการรวมรวมข้อมูลรายละเอียดการทดสอบธาตุอาหารรอง และธาตุอาหารเสริมที่ละลายน้ำได้ พบว่าผู้เข้าร่วมโปรแกรมเลือกใช้วิธีการทดสอบที่แตกต่างกัน เช่น การเลือกใช้กรดไนตริค หรือกรดไฮโดรคลอริกในการปรับสภาวะของสารละลายให้อยู่ในรูปของกรด หรือการเลือกใช้เครื่องมือวิเคราะห์ที่แตกต่างกัน เช่น Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometer (ICP-OES), Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) หรือ Microwave Plasma Atomic Emission Spectrophotometer (MP-AES) เป็นต้น ซึ่งจากการประเมินการกระจายของข้อมูลผลการทดสอบทั้งหมดโดยวิธี Kernel density plot พบว่า แต่ละรายการทดสอบมีข้อมูลการกระจายแบบปกติ แสดงว่าวิธีและเครื่องมือที่ใช้ทดสอบของผู้เข้าร่วมโปรแกรม ไม่มีผลต่อการประเมินทางสถิติ สามารถนำชุดผลการทดสอบมาประเมินผลทางสถิติร่วมกันได้ (ภาพ 2)

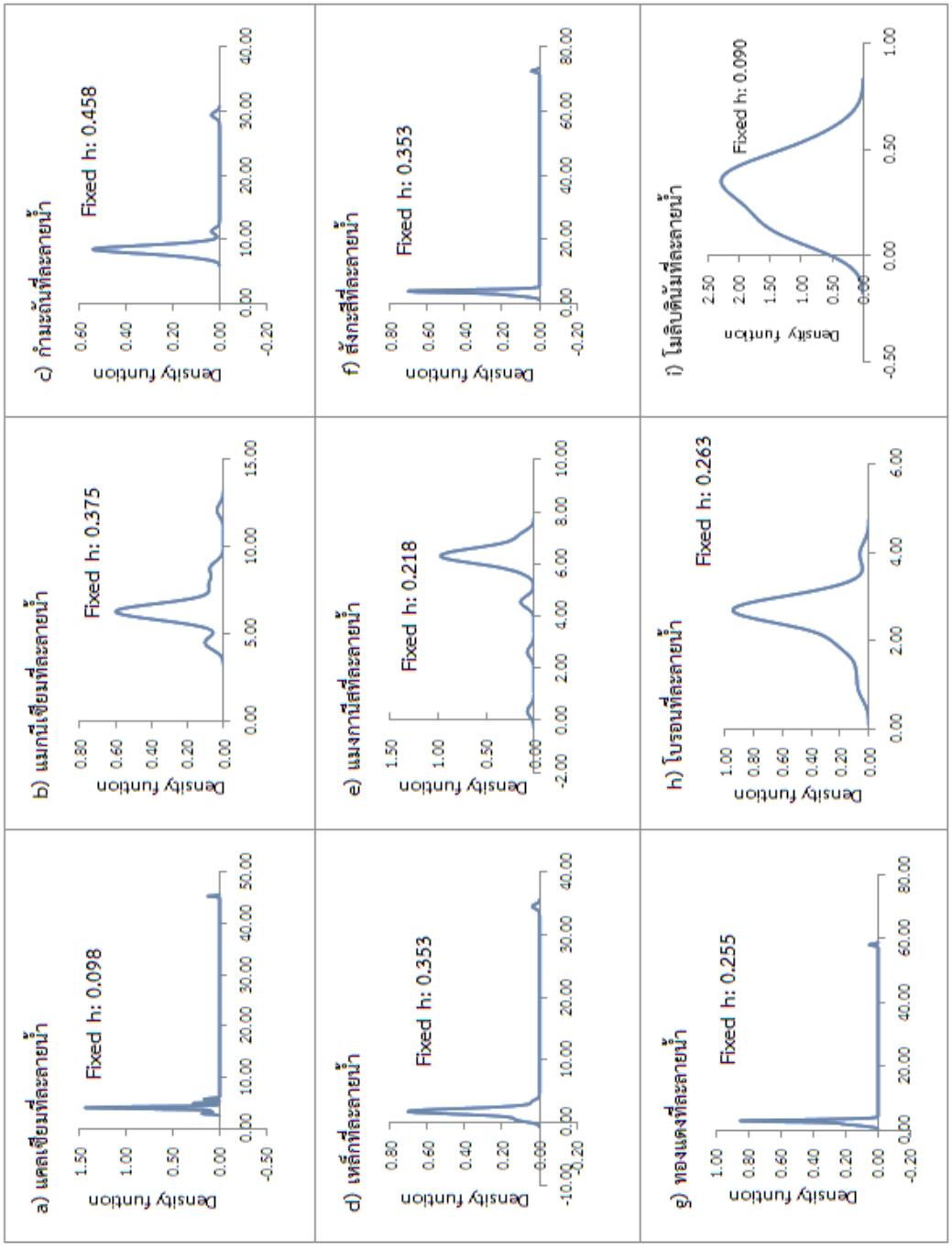
2.3 การประเมินผลความชำนาญของผู้เข้าร่วมโปรแกรม

ผู้เข้าร่วมโปรแกรมที่มีผลวิเคราะห์อยู่ในเกณฑ์ที่ต้องเฝ้าระวัง (Warning result) ควรดำเนินการทบทวนตรวจสอบผลการวิเคราะห์ สำหรับผู้เข้าร่วมโปรแกรมที่มีผลการวิเคราะห์ไม่เป็นที่ยอมรับ (Unacceptable result) ต้องดำเนินการตรวจสอบหาสาเหตุและปฏิบัติการแก้ไข ซึ่งปัจจัยที่อาจส่งผลกระทบต่อการทดสอบในรายการวิเคราะห์ต่างๆ มีดังนี้

**แคลเซียมที่ละลายน้ำ**

ผู้เข้าร่วมโปรแกรมมีผลการประเมินความชำนาญของการทดสอบเป็นที่ยอมรับ ($z$ score $\leq 2$ ) คิดเป็นร้อยละ 58.6 ของผู้เข้าร่วมโปรแกรมทั้งหมดที่ทดสอบแคลเซียมที่ละลายน้ำ (ภาพ 3a) และผู้เข้าร่วมโปรแกรมที่มีผลการประเมินฯ ไม่เป็นที่ยอมรับ จำนวน 9 ราย (คิดเป็นร้อยละ 31.0) โดยเกิดจากการเลือกใช้วิธีทดสอบที่ไม่เหมาะสม จำนวน 1 รายเลือกใช้วิธีทดสอบจากประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่องกำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี (2559)

ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ในรูปของแคลเซียมทั้งหมด หรือแคลเซียมออกไซด์ และมีจำนวน 8 ราย จากจำนวน 9 รายที่ได้รับผลการประเมินไม่เป็นยอมรับ เลือกใช้เครื่อง AAS ในการทดสอบ (คิดเป็นร้อยละ 88.9)




ภาพ 2 แผนภูมิแสดงการกระจายของข้อมูลรายการทดสอบ a) แคลเซียมที่ละลายน้ำb) แมกนีเซียมที่ละลายน้ำc) ก้ามะถันที่ละลายน้ำ d) เหล็กที่ละลายน้ำได้ e) แมงกานีสที่ละลายน้ำ f) สังกะสีที่ละลายน้ำได้ g) ทองแดงที่ละลายน้ำ h) โบรอนที่ละลายน้ำ i) โมลิบดินัมที่ละลายน้ำ

**แมกนีเซียมที่ละลายน้ำ**

ผู้เข้าร่วมโปรแกรมมีผลการประเมินความชำนาญของการทดสอบเป็นที่ยอมรับ (z score ≤ 2) คิดเป็นร้อยละ 72.4 ของผู้เข้าร่วมโปรแกรมทั้งหมดที่ทดสอบแมกนีเซียมที่ละลายน้ำ (ภาพ 3b) และผู้เข้าร่วมโปรแกรมที่มีผลการประเมินฯ ไม่เป็นที่ยอมรับ จำนวน 6 ราย (คิดเป็นร้อยละ 20.7) โดยเกิดจากการเลือกใช้วิธีทดสอบที่ไม่เหมาะสม จำนวน 1 รายเลือกใช้วิธีทดสอบจากประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่องกำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี (2559) ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ในรูปของแมกนีเซียมทั้งหมด หรือแมกนีเซียมออกไซด์ และมีจำนวน 5 ราย จากจำนวน 6 รายที่ได้รับผลการประเมินไม่เป็นยอมรับ เลือกใช้เครื่อง AAS ในการทดสอบ (คิดเป็นร้อยละ 83.3)

**กำมะถันที่ละลายน้ำได้**

ผู้เข้าร่วมโปรแกรมมีผลการประเมินความชำนาญของการทดสอบเป็นที่ยอมรับ (z score ≤ 2) คิดเป็นร้อยละ 92.0 ของผู้เข้าร่วมโปรแกรมทั้งหมดที่ทดสอบกำมะถันที่ละลายน้ำ (ภาพ 3c) และผู้เข้าร่วมโปรแกรมที่มีผลการประเมินฯ ไม่เป็นที่ยอมรับ จำนวน 2 ราย (คิดเป็นร้อยละ 8.0) โดยทั้ง 2 ราย เลือกใช้เครื่อง UV-Visible Spectrophotometer ในการทดสอบ

**เหล็กที่ละลายน้ำ**

ผู้เข้าร่วมโปรแกรมมีผลการประเมินความชำนาญของการทดสอบเป็นที่ยอมรับ (z score ≤ 2) คิดเป็นร้อยละ 82.8 ของผู้เข้าร่วมโปรแกรมทั้งหมดที่ทดสอบเหล็กที่ละลายน้ำ (ภาพ 3d) และผู้เข้าร่วมโปรแกรมที่มีผลการประเมินฯ ไม่เป็นที่ยอมรับ จำนวน 4 ราย (คิดเป็นร้อยละ 13.8) มีจำนวน 3 ราย จากจำนวน 4 รายที่ได้รับผลการประเมินไม่เป็นยอมรับ เลือกใช้เครื่อง AAS ในการทดสอบ (คิดเป็นร้อยละ 75.0)

**แมงกานีสที่ละลายน้ำ**

ผู้เข้าร่วมโปรแกรมมีผลการประเมินความชำนาญของการทดสอบเป็นที่ยอมรับ (z score ≤ 2) คิดเป็นร้อยละ 76.9 ของผู้เข้าร่วมโปรแกรมทั้งหมดที่ทดสอบแมงกานีสที่ละลายน้ำ (ภาพ 3e) และผู้เข้าร่วมโปรแกรมที่มีผลการประเมินฯ ไม่เป็นที่ยอมรับ จำนวน 5 ราย (คิดเป็นร้อยละ 19.2) มีจำนวน 4 ราย จากจำนวน 5 รายที่ได้รับผลการประเมินไม่เป็นยอมรับ เลือกใช้เครื่อง ICP-OES ในการทดสอบ (คิดเป็นร้อยละ 80.0)

**สังกะสีที่ละลายน้ำ**

ผู้เข้าร่วมโปรแกรมมีผลการประเมินความชำนาญของการทดสอบเป็นที่ยอมรับ (z score ≤ 2) คิดเป็นร้อยละ 88.5 ของผู้เข้าร่วมโปรแกรมทั้งหมดที่ทดสอบสังกะสีที่ละลายน้ำ (ภาพ 3f) และผู้เข้าร่วมโปรแกรมที่มีผลการประเมินฯ ไม่เป็นที่ยอมรับ จำนวน 2 ราย (คิดเป็นร้อยละ 19.2) โดยทั้ง 2 ราย เลือกใช้เครื่อง ICP-OES ในการทดสอบ

**ทองแดงที่ละลายน้ำ**

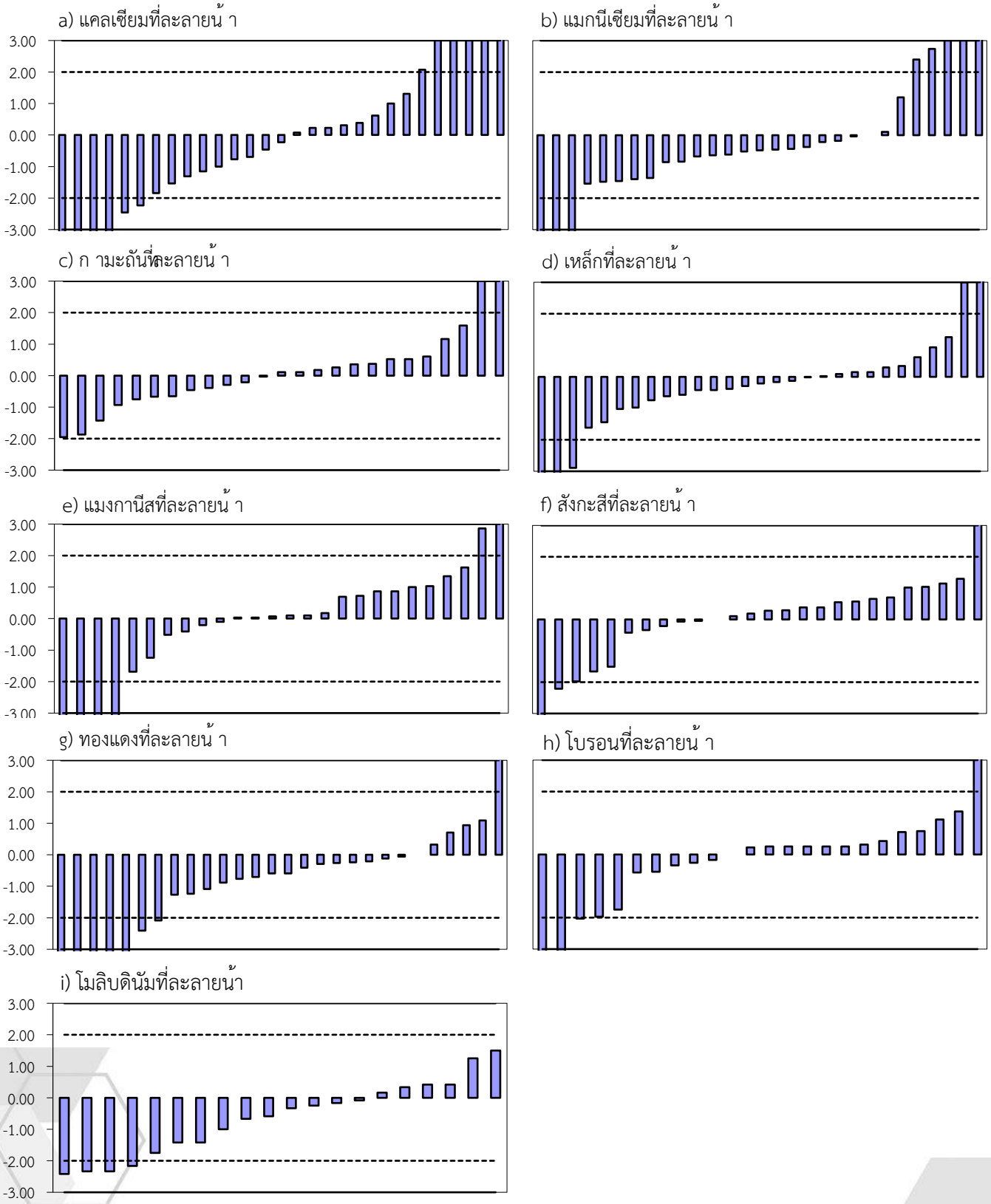
ผู้เข้าร่วมโปรแกรมมีผลการประเมินความชำนาญของการทดสอบเป็นที่ยอมรับ (z score ≤ 2) คิดเป็นร้อยละ 71.4 ของผู้เข้าร่วมโปรแกรมทั้งหมดที่ทดสอบทองแดงที่ละลายน้ำ (ภาพ 3g) และผู้เข้าร่วมโปรแกรมที่มีผลการประเมินฯ ไม่เป็นที่ยอมรับ จำนวน 6 ราย (คิดเป็นร้อยละ 21.4) โดยมีจำนวน 3 ราย เลือกใช้เครื่อง ICP-OES ในการทดสอบ (คิดเป็นร้อยละ 50.0) และจำนวน 3 ราย เลือกใช้เครื่อง AAS ในการทดสอบ (คิดเป็นร้อยละ 50.0)

**โบรอนที่ละลายน้ำ**

ผู้เข้าร่วมโปรแกรมมีผลการประเมินความชำนาญของการทดสอบเป็นที่ยอมรับ (z score ≤ 2) คิดเป็นร้อยละ 83.3 ของผู้เข้าร่วมโปรแกรมทั้งหมดที่ทดสอบโบรอนที่ละลายน้ำ (ภาพ 3h) และผู้เข้าร่วมโปรแกรมที่มีผลการประเมินฯ ไม่เป็นที่ยอมรับ จำนวน 3 ราย (คิดเป็นร้อยละ 12.5) มีจำนวน 2 ราย จากจำนวน 3 รายที่ได้รับผลการประเมินไม่เป็นยอมรับ เลือกใช้เครื่อง UV-Visible Spectrophotometer ในการทดสอบ (คิดเป็นร้อยละ 66.7)

**โมลิบดินัมที่ละลายน้ำ**

ผู้เข้าร่วมโปรแกรมมีผลการประเมินความชำนาญของการทดสอบเป็นที่ยอมรับ (z score ≤ 2) คิดเป็นร้อยละ 80.0 ของผู้เข้าร่วมโปรแกรมทั้งหมดที่ทดสอบโบรอนที่ละลายน้ำ (ภาพ 3i) และไม่พบผู้เข้าร่วมโปรแกรมที่มีผลการประเมินฯ ไม่เป็นที่ยอมรับ




ภาพ 3 ผลการประเมินความชำนาญของผู้เข้าร่วมโปรแกรมโดยใช้ค่า z scoreในรายการทดสอบ a) แคลเซียมที่ละลายน้ำ b) แมกนีเซียมที่ละลายน้ำ c) กำมะถันที่ละลายน้ำ d) เหลือกที่ละลายน้ำได้ e) แมงกานีสที่ละลายน้ำ f) สังกะสีที่ละลายน้ำได้ g) ทองแดงที่ละลายน้ำ h) โบรอนที่ละลายน้ำ i) โมลิบดิมนัมที่ละลายน้ำ

นอกจากนี้ ผู้เข้าร่วมโปรแกรมควรคำนึงถึงขั้นตอนการวิเคราะห์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเตรียมตัวอย่าง เนื่องจากต้องปรับสารละลายตัวอย่างที่ได้ให้มีสภาวะเป็นกรด (Acidification) ด้วยกรดไฮโดรคลอริค หรือกรดไนตริค ดังนั้นควรเตรียมสารละลายมาตรฐานด้วยกรดชนิดเดียวกัน เพื่อให้สารละลายมาตรฐานกับสารละลายตัวอย่างมี Matrix เดียวกัน และการเลือกใช้วิธีทดสอบให้เหมาะสมกับเครื่องมือ เนื่องจากขีดจำกัดของเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) จะมีช่วงความเป็นเส้นตรงที่ระดับความเข้มข้นต่ำกว่าเครื่อง Inductively Coupled-Optical Emission Spectrometer (ICP-OES) ดังนั้น ควรตรวจสอบคู่มือการใช้งานของเครื่องมือ และเลือกใช้ช่วงความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานให้เหมาะสมกับเครื่องมือที่ใช้งาน ควรมีการตรวจสอบความเป็นเส้นตรงของวิธี หรือของเครื่องมือก่อนทำการทดสอบ และข้อเสนอแนะทางเคมี เช่น การเตรียมสารละลายมาตรฐานควรพิจารณาช่วงความเป็นเส้นตรง ($r \geq 0.999$) โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานอย่างน้อย 6 - 10 จุด และหากสารละลายตัวอย่างมีความเข้มข้นมากเกินช่วงความเป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐาน ควรเจือจางสารละลายตัวอย่างให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วงกลางของช่วงความเป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐาน และหากต้องมีการเจือจางสารละลายตัวอย่างก่อนนำไปวัดด้วยเครื่องมือวัด ไม่ควรเจือจางหลายครั้งเกินไป หรือใช้ปริมาตรของตัวอย่างน้อยเกินไป ควรเลือกใช้ปิเปตขนาดที่เหมาะสม แต่ไม่ควรเลือกใช้ปิเปตที่มีขนาด1 หรือ 2 มิลลิลิตร เนื่องจากมีความคลาดเคลื่อนมากกว่าปิเปตที่มีขนาด 5 หรือ 10 มิลลิลิตร เพื่อให้ค่าที่อ่านได้มีความถูกต้อง น่าเชื่อถือ และควรตรวจสอบสูตรที่ใช้ในการคำนวณหาความเข้มข้น หรือทวนสอบการคำนวณก่อนการรายงาน เพราะอาจทำให้รายงานผลการทดสอบผิดพลาดได้ และตรวจสอบการถ่ายโอนข้อมูลก่อนการรายงานผล และห้องปฏิบัติการควรตรวจสอบเครื่องมือก่อนการใช้งาน และควรมีระบบควบคุมคุณภาพภายในของห้องปฏิบัติการ เช่น การใช้ Calibration verification standard (CVS) และ Continuous calibration standard (CCS) ในการตรวจสอบความถูกต้องของกราฟสารละลายมาตรฐาน หรือการใช้ตัวอย่าง Internal quality control (IQC) เพื่อเป็นการเฝ้าระวังกระบวนการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

โปรแกรมการทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ยธาตุอาหารรอง และธาตุอาหารเสริมในรูปที่ละลายน้ำ ซึ่งเป็นะบบประกันคุณภาพภายนอกตามมาตรฐานสากล ถูกมาประยุกต์ใช้เพื่อศึกษาวิธีวิเคราะห์ และพัฒนาห้องปฏิบัติการเพื่อรองรับการออกประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง หลักเกณฑ์ วิธีการและเงื่อนไขเกี่ยวกับปุ๋ยที่ได้รับการยกเว้นไม่ต้องขึ้นทะเบียนตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 พ.ศ. 2564 ซึ่งกำหนดรับแจ้งปุ๋ยเคมีธาตุอาหารองในรูปที่ละลายน้ำ ประกอบด้วย แคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถัน และธาตุอาหารเสริมในรูปที่ละลายน้ำ ประกอบด้วย เหล็ก แมงกานีส สังกะสี ทองแดง โบรอน และโมลิบดินัม โดยการเตรียมตัวอย่างปุ๋ยทดสอบที่มีผ่านการพิสูจน์ความเป็นเนื้อเดียวกัน โดย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานระหว่างตัวอย่าง (Ss) น้อยกว่า 0.3 เท่าของค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการประเมินโปรแกรมฯ ($\leq 0.3\sigma_{pt}$) ในทุกรายการทดสอบ และมีความเสถียรเพียงพอที่สามารถใช้เป็นตัวอย่างทดสอบในโปรแกรมได้ โดยความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยที่ได้จากการพิสูจน์ความเสถียรของตัวอย่าง กับค่าเฉลี่ยที่ได้จากการพิสูจน์ความเป็นเนื้อเดียวกัน พบว่า มีค่าน้อยกว่า 0.3 เท่าของค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการประเมินโปรแกรมฯ ($\leq 0.3\sigma pt$) ในทุกรายการทดสอบ

ค่ากำหนดของตัวอย่างปุ๋ยรายการทดสอบแคลเซียมที่ละลายน้ำ แมกนีเซียมที่ละลายน้ำ เหล็กที่ละลายน้ำ ทองแดงที่ละลายน้ำ และโมลิบดินัมที่ละลายน้ำได้จากค่าห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย (Result from one laboratory) ในขณะที่รายการทดสอบกำมะถันที่ละลายน้ำแมงกานีสที่ละลายน้ำ สังกะสีที่ละลายน้ำ และโบรอนที่ละลายน้ำ ได้จากค่าเฉลี่ยโรบัสต์ ($x^*$) คำนวณจากผลการทดสอบของผู้เข้าร่วมโปรแกรม โดยไม่นำผลการทดสอบที่มีลักษณะผิดปกติ (Obvious blunder) มาร่วมคำนวณ ซึ่งจัดเป็นค่ายอมรับจากกลุ่ม (Consensus values) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการประเมินโปรแกรมการทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการ ในรายการทดสอบแคลเซียมที่ละลายน้ำใช้ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากสมการ Predicted Standard Deviation รายการทดสอบแมกนีเซียมที่ละลายน้ำ

แมงกานีสที่ละลายน้ำ และทองแดงที่ละลายน้ำได้จากการนำผลการทดสอบของผู้เข้าร่วมโปรแกรม มาคำนวณค่าพิสัยระหว่างควอไทล์ (normalized InterQuartile Range; nIQR) และรายการทดสอบกำมะถันที่ละลายน้ำ เหล็กที่ละลายน้ำ สังกะสีที่ละลายน้ำ และโบรอนที่ละลายน้ำ ได้จากการนำผลการทดสอบของผู้เข้าร่วมโปรแกรมมาคำนวณส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานโรบัสต์ (s*) โดยไม่นำผลการทดสอบที่มีลักษณะผิดปกติ มาร่วมคำนวณ และรายการทดสอบโมลิบดินัมที่ละลายน้ำได้ เลือกใช้ค่าจากส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเป้าหมายที่ได้จากข้อคิดเห็นของผู้เชี่ยวชาญ (Target standard deviation by perception from expert judgment) ทั้งนี้ การเลือกใช้ค่ากำหนด และส่วนส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการประเมินโปรแกรมฯ ในแต่ละรายการทดสอบ จะเลือกตามความเข้มข้นของธาตุอาหาร ลักษณะของตัวอย่างปุ๋ยที่นำมาใช้และต้องสอดคล้องกับเกณฑ์มาตรฐานของวิธีวิเคราะห์ มีผู้สนใจเข้าร่วมโปรแกรมทั้งจากภาคราชการ มหาวิทยาลัย และภาคเอกชน จำนวน 33 ราย และส่งผลการทดสอบกลับมายังกลุ่มวิจัยเกษตรเคมี ภายในเวลากำหนด คิดเป็นร้อยละ 87.9 ในรายการทดสอบแคลเซียมที่ละลายแมกนีเซียมที่ละลายน้ำ และเหล็กที่ละลายน้ำร้อยละ 75.8 ในรายการทดสอบกำมะถันที่ละลายน้ำ ร้อยละ 87.9ในรายการทดสอบเหล็กที่ละลายน้ำร้อยละ 78.8 ในรายการทดสอบแมงกานีสที่ละลายน้ำ และสังกะสีที่ละลายน้ำ ร้อยละ 84.8 ในรายการทดสอบทองแดงที่ละลายน้ำร้อยละ 72.7 ในรายการทดสอบโบรอนที่ละลายน้ำ และร้อยละ 63.6 ในรายการทดสอบโมลิบดินัมที่ละลายน้ำ ตามลำดับ จากข้อมูลวิธีทดสอบที่ใช้ในการทดสอบ พบว่า แต่ละรายการทดสอบมีข้อมูลการกระจายแบบปกติ แสดงว่า วิธีและเครื่องมือที่ใช้ทดสอบของผู้เข้าร่วมโปรแกรม ไม่มีผลต่อการประเมินทางสถิติ สามารถนำชุดผลการทดสอบมาประเมินผลทางสถิติร่วมกันได้ ผลการประเมินความชำนาญ พบว่า ผู้เข้าร่วมโปรแกรมที่มีผลการทดสอบเป็นที่ยอมรับ (z score $\leq$ 2.0) ร้อยละ 58.6 ในรายการทดสอบแคลเซียมที่ละลายน้ำ ร้อยละ 72.4 ในรายการทดสอบแมกนีเซียมที่ละลายน้ำ ร้อยละ 92.0 ในรายการทดสอบกำมะถันที่ละลายน้ำ ร้อยละ 82.8 ในรายการทดสอบเหล็กที่ละลายน้ำ ร้อยละ 76.9 ในรายการทดสอบแมงกานีสที่ละลายน้ำ ร้อยละ 88.5 ในรายการทดสอบสังกะสีที่ละลายน้ำ ร้อยละ 71.4 ในรายการทดสอบทองแดงที่ละลายน้ำ ร้อยละ 83.3 ในรายการทดสอบโบรอนที่ละลายน้ำ ร้อยละ 80.0 ของผู้เข้าร่วมโปรแกรมทั้งหมดที่ทดสอบโมลิบดินัมที่ละลายน้ำ ตามลำดับ ซึ่งผู้เข้าร่วมโปรแกรมที่มีผลการทดสอบไม่เป็นที่ยอมรับ (z score $\geq$ 3.0) ควรตรวจสอบเทคนิควิธีการวิเคราะห์ที่ใช้ให้เหมาะสมเนื่องจากเครื่องมือแต่ละชนิดมีข้อจำกัดในการวิเคราะห์ ซึ่งการจัดโปรแกรมทดสอบความชำนาญ ทำให้ห้องปฏิบัติต่างๆ พัฒนาศักยภาพ และยกระดับความสามารถของห้องปฏิบัติการของประเทศไทยให้มีมาตรฐานเดียวกัน ส่งผลให้เกษตรกรได้ใช้ปุ๋ยที่มีคุณภาพเป็นไปตามที่กฎหมายกำหนด สร้างความเป็นธรรมให้กับเกษตรกร และผู้ประกอบการในการในการบังคับใช้กฎหมายของกรมวิชาการเกษตร ทั้งยังสามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในกำหนดส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ที่เหมาะสมของวิธีทดสอบของประเทศไทยต่อไป

## การนำผลงานไปใช้ประโยชน์

1. ผู้ขอรับบริการ หรือเกษตรกรมีความมั่นใจในผลวิเคราะห์ที่ได้ว่าเป็นมาตรฐานเดียวกัน ทั้งภาคราชการ มหาวิทยาลัย และเอกชน ซึ่งถือเป็นการเพิ่มทางเลือก ในการให้บริการวิเคราะห์ปุ๋ยให้กับผู้ขอรับบริการ หรือเกษตรกร

2. เกษตรกรได้ใช้ปุ๋ยที่มีคุณภาพเป็นไปที่กฎหมายกำหนดผู้ประกอบการ หรือบริษัทเอกชน เกิดความเชื่อมั่นด้านการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ย ลดข้อโต้แย้งในการบังคับใช้กฎหมายของกรมวิชาการเกษตร ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550

3. ห้องปฏิบัติการวิเคราะปุ๋ยเข้าร่วมกิจกรรมทดสอบความชำนาญ ได้ทราบถึงสมรรถนะของห้องปฏิบัติการ และของตนเอง สามารถนำผลการประเมินที่ได้ไปใช้ในการปรับปรุงกระบวนการในการวิเคราะห์ วิธีวิเคราะห์ เครื่องมือ รวมถึงบุคลากรที่ทำการวิเคราะห์เพื่อเป็นการเพิ่มศักยภาพห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ยในประเทศไทย และยกระดับมาตรฐานห้องปฏิบัติการให้มีความน่าเชื่อถือ

4. ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ยภาคเอกชน มีความพร้อม และสามารถนำผลการประเมินสมรรถนะมาใช้ในการยื่นขอรับการกำหนดเป็นห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ยตามประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง การกำหนดห้องปฏิบัติการ

วิเคราะห์ปุ๋ย ตามมาตรา 36 (11) และมาตรา 36/2 (10) แห่งพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 พ.ศ. 2554

5. กรมวิชาการเกษตร ได้ข้อมูลเบื้องต้นในการกำหนดวิธีทดสอบธาตุอาหารรอง และธาตุอาหารเสริมในรูปที่ละลายน้ำ ในการกำหนดเป็นวิธีมาตรฐาน และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ที่เหมาะสมของวิธีทดสอบของประเทศไทยต่อไป

## เอกสารอ้างอิง


ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง กำหนดห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ย ตามมาตรา 36 (11) และมาตรา 36/2 (10) แห่งพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 พ.ศ. 2554. (2554, 14 ตุลาคม). ราชกิจจานุเบกษา. เล่มที่ 128 ตอนพิเศษ 122ง, หน้า 12-17.

ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง หลักเกณฑ์ วิธีการและเงื่อนไขเกี่ยวกับปุ๋ยที่ได้รับการยกเว้นไม่ต้องขึ้นทะเบียนตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 พ.ศ. 2564. (2564, 4 ตุลาคม). ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 138 ตอนพิเศษ 243ง, หน้า 9-14.

AOAC. 2016 . Official Methods of Analysis of AOAC International. 20th ed. AOAC International, Maryland, USA.

EN 16962. 2018. Fertilizers-Extraction of water soluble micro-nutrients in fertilizers and removal of organic compounds from fertilizer extracts. European committee for standardization. CEN-CENELEC Management Centre, Brussels, Belgium.

EN 16963. 2018. Fertilizers-Determination of boron, cobalt, copper, iron, manganese, molybdenum and zinc using ICP-AES. European committee for standardization. CEN-CENELEC Management Centre, Brussels, Belgium.

EN. 2003. Regulation (EC) No 2003/2003 of the European Parliament and of the Council of 13 October 2003 relating to fertilizers, Official Journal of the European Union 304, 21/11/2003, Pp. 1-194.

FAMIC. 2019. Testing method for fertilizer. Food and Agricultural Materials Inspection Center. Saimata, Japan.

ISO 13528. 2015. Statistical Methods for Use in Proficiency Testing by Interlaboratory Comparisons. ISO, Geneva, Switzerland.

ISO/IEC 17043. 2010. Conformity Assessment – General Requirements for Proficiency Testing. ISO, Geneva, Switzerland.



# ศูนย์วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตรขอนแก่น

# การจัดการสารละลายธาตุอาหารต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของมะเขือเทศเชอรี่ พริกขี้หนูผลใหญ่ พริกหยวก แตงโมไร้เมล็ด และแตงกวาญี่ปุ่น ในระบบโรงเรือน

# Nutrient solution management on growth and yield of Cherry tomato, Chili pepper, Hot pepper, Watermelon, and Japanese Cucumber in greenhouse system

*อรัญญ์ ขันติยวิชย์ รัติกาล ยุทธศิลป์[1] ศิลดา ประนาโส[1] ณัฏฐ์ชยธร ขัตติยะพุฒิเมธ[1]*
*ปภัสสร สีลารักษ์[1] อุบล หินเธาว์[1] จริยาภรณ์ ทิพโชติ*
*Aran Khuntiyawit Rattikan Yutthasin[1] Silada PranaSo[1] Natchayathon Khanttiyaphutthimet[1]*
*Papatsorn Seelarak[1] Ubon Hinthao[1] Jariyaporn Tipchote*

ศูนย์วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตรขอนแก่น กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

## ABSTRACT

The purpose to study effects of nutrient concentration on growth and yields of fruit vegetables in greenhouse. Experimenting with planting 5 kinds of Fruit vegetables, cherry tomato, Chili pepper, Hot pepper, Watermelon and Japanese Cucumber. The period of trial operation is October 2018 to September 2020. The results showed that the concentration of nutrient solution significantly affected the height, fresh weight, dry weight and the yield of all vegetables. For the concentrated nutrient solution rates for growing the best yield, it was found that Cherry tomato used 3 ml of concentrated nutrient solution of AB fertilizer ratios 1:1, 1.2:1, 1.6:1 and 2.4:1 was used during the time after transplanting Cherry tomato, Week 2-3, 4-6, 7-9 and week 10-12, respectively, the yield was between 333.88 - 390.52 grams per plant. Chili pepper used 6 ml of concentrated nutrient solution of AB fertilizer ratios 1:1, 1.2:1, 1.6:1 and 2.4:1 was used during the time after transplanting Chili pepper, Week 2-4, 5-7, 8-9 and week 10-11, respectively, the yield was 745.1 grams per plant. Hot pepper used 6 ml of concentrated nutrient solution of AB fertilizer ratios 1:1, 1.2:1, 1.6:1 and 2.4:1 was used during the time after transplanting Chili pepper, Week 2-4, 5-7, 8-9 and week 10-11, respectively, the yield was 190.98 grams per plant. Watermelon used 4 ml of concentrated nutrient solution of AB fertilizer ratios 1:1, 1.2:1, 1.6:1 and 2.4:1 was used during the time after transplanting Watermelon, Week 2, 3-4, 5 and week 6-7, respectively, the yield was between 1.138 – 1.296 Kilograms per plant.

Finally, the Japanese cucumber used 5 ml of concentrated nutrient solution of AB fertilizer ratios 1:1, 1.2:1, 1.6:1 and 2.4:1 was used during the time after transplanting Japanese cucumber, Week 2-3, 4-5, 6-7 and week 8, respectively, the yield was between 896.80 - 1014.98 grams per plant.

**Keyword :** Nutrients solution Fruit vegetables Greenhouse the Upper Northeast

---

[1] สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 3 (Office of Agricultural Research and Development Region 3 )

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการจัดการความเข้มข้นของสารละลายธาตุอาหารต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของผักกินผลที่ปลูกในโรงเรือน ทดลองปลูกผักกินผล 5 ชนิด ได้แก่ มะเขือเทศเชอรี่ พริกขี้หนูผลใหญ่ พริกหยวก แตงโมไร้เมล็ด และแตงกวาญี่ปุ่น ดำเนินงานระหว่างตุลาคม 2561– มีนาคม 2563 ผลการทดลอง พบว่า ระดับความเข้มข้นของสารละลายธาตุอาหารมีผลต่อความสูง น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และผลผลิตของผักกินผลทุกชนิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับอัตราสารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้นที่ปลูกผักกินผลแต่ละชนิดแล้วได้ผลผลิตดีที่สุดนั้น พบว่า มะเขือเทศเชอรี่ ใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 3 มิลลิลิตรของอัตราส่วนสารละลายเอบี 1:1 1.2:1 1.6:1 และ 2.4:1 ของช่วงเวลาหลังย้ายปลูกมะเขือเทศเชอรี่ ในสัปดาห์ที่ 2-3 4-6 7-9 และสัปดาห์ที่ 10-12 ตามลำดับ ผลผลิตอยู่ระหว่าง 333.88 - 390.52 กรัมต่อต้น ส่วนพริกขี้หนูผลใหญ่ ใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 6 มิลลิลิตรของอัตราส่วนสารละลายเอบี 1:1 1.2:1 1.6:1 และ 2.4:1 ของช่วงเวลาหลังย้ายปลูกพริกขี้หนูผลใหญ่ ในสัปดาห์ที่ 2-4 5-7 8-9 และสัปดาห์ที่ 10-11 ตามลำดับ ผลผลิต 745.1 กรัมต่อต้น เช่นเดียวกับพริกหยวกใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 6 มิลลิลิตรของอัตราส่วนสารละลายเอบี 1:1 1.2:1 1.6:1 และ 2.4:1 ของช่วงเวลาหลังย้ายปลูกพริกหยวกในสัปดาห์ที่ 2-4 5-7 8-9 และสัปดาห์ที่ 10-11 ตามลำดับ ผลผลิต 190.98 กรัมต่อต้น สำหรับแตงโมไร้เมล็ดใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 4 มิลลิลิตรของอัตราส่วนสารละลายเอบี 1:1 1.2:1 1.6:1 และ 2.4:1 ของช่วงเวลาหลังย้ายปลูกแตงโมไร้เมล็ด ในสัปดาห์ที่ 2 3-4 5 และสัปดาห์ที่ 6-7 ตามลำดับ ผลผลิตอยู่ระหว่าง 1.138 - 1.296 กก./ต้น สุดท้ายแตงกวาญี่ปุ่น ใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 5 มิลลิเมตรของอัตราส่วนสารละลายเอบี 1:1 1.2:1 1.6:1 และ 2.4:1 ของช่วงเวลาหลังย้ายปลูกแตงกวาญี่ปุ่น ในสัปดาห์ที่ 2-3 4-5 6-7 และสัปดาห์ที่ 8 ตามลำดับ ผลผลิตอยู่ระหว่าง 896.80 – 1014.98 กรัมต่อต้น



**คำสำคัญ :** สารละลายธาตุอาหาร ผักกินผล โรงเรือน ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน


## คำนำ

การปลูกผักเป็นการค้าในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน มีแหล่งปลูกที่สำคัญ เช่น จังหวัดขอนแก่น นครพนม ชัยภูมิ เลย และ มุกดาหาร ชนิดของผักกินผลที่สำคัญหรือมีราคาสูง ได้แก่ มะเขือเทศเชอรี่ พริกขี้หนูผลใหญ่ พริกหยวก แตงโม และแตงกวาญี่ปุ่น เป็นต้น ปัจจุบันเกษตรของภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนส่วนใหญ่มีการผลิตผักกลางแจ้ง สามารถผลิตได้ในฤดูหนาวช่วงเดือนพฤศจิกายน - กุมภาพันธ์ และปลูกผักหลายชนิดหมุนเวียนตลอดทั้งปี ปัญหาที่พบส่วนใหญ่ คือ โรคและแมลงระบาด ผักที่ผลิตไม่ได้คุณภาพตามมาตรฐาน และมีการตรวจพบสารพิษตกค้างในผลผลิตพืชผัก ไม่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค ดังนั้น การผลิตพืชผักภายใต้สภาพโรงเรือนจึงเป็นทางเลือกใหม่ที่จำเป็นและมีความเหมาะสมกับสภาพเงื่อนไขปัญหาที่พบในปัจจุบัน

การผลิตผักในโรงเรือนให้ประสบผลสำเร็จนั้นต้องประกอบด้วย การผลิตผักได้อย่างต่อเนื่องตลอดทั้งปี เพิ่มรอบการผลิตได้มากขึ้น อายุเก็บเกี่ยวสั้น มีคุณภาพ และผลผลิตสูง (ดิเรก, 2548) สำหรับการผลิตผักให้มีคุณภาพสูงนั้น ยังไม่สามารถทำได้มากนัก เนื่องจากขาดองค์ความรู้เรื่องการจัดการธาตุอาหารพืช และส่วนหนึ่งในประเทศไทยยังมีข้อมูลวิจัยมารองรับน้อย ตัวอย่าง งานวิจัยจากต่างประเทศที่รองรับการศึกษาการใช้ปุ๋ย เช่น งานวิจัยของHaifa (2017) ได้ศึกษาการดูดใช้ธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองในการปลูกมะเขือเทศตลอดช่วงฤดูปลูก นำมาสู่การแปลผลและอ้างอิงในการคำนวณการให้ปุ๋ยทางระบบน้ำของมะเขือเทศได้ เช่นเดียวกันกับ Hoagland and Arnon (1950) ได้มีการศึกษาการตรวจสอบธาตุอาหารจากต้นมะเขือเทศ 1 ต้นที่ปลูกโดยใช้สารละลายธาตุอาหารพืช 18 ลิตรและมีการเปลี่ยนแปลงสารละลายทุกสัปดาห์ ทำให้ได้สูตรสารละลายธาตุอาหารที่ใช้ปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน แนวทางการวิจัยเช่นนี้ทำให้เกิดพัฒนาต่อยอด เช่น สูตรสารละลายอาหารที่ใช้ในการปลูกพืชในเชิงธุรกิจในโรงเรือน (Lorenz and Maynard, 1988) เป็นต้น ซึ่งหลักการสากลที่สำคัญในการวิจัยเรื่องนี้ ก็คือ การหาธาตุอาหารและความเข้มข้นของสารละลายธาตุอาหาร ควรมีปริมาณเท่าใด และส่งผลต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของผักอย่างไรเพียงพอและเหมาะสมสำหรับพืชผักที่ปลูกหรือไม่ ดังนั้น งานวิจัยนี้เป็นเพียงส่วนหนึ่งของโครงการศึกษาการทดสอบ

และพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตพืชในระบบโรงเรือนพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของธาตุอาหารต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของผักกินผลที่ปลูกในโรงเรือน ข้อมูลวิจัยที่ได้นี้ จะใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาการผลิตผักให้มีคุณภาพสูง ในอนาคตต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

### อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ผักกินผล ได้แก่ มะเขือเทศเชอรี่ พริกขี้หนูผลใหญ่ พริกหยวก แตงโมไร้เมล็ด และแตงกวาญี่ปุ่น
2. สารละลายธาตุอาหาร
3. สารเคมีป้องกันและกำจัดศัตรูพืช
4. ภาชนะปลูกผัก ได้แก่ กระถางพลาสติกสีดำขนาด 15 นิ้ว และถุงปลูกสีขาวขนาด 10 นิ้ว ไม่เจาะรู
5. ทรายหยาบ
6. กระบอกตวง
7. ถังน้ำพลาสติกสีดำขนาด 100 ลิตร
8. อุปกรณ์ควบคุมการให้น้ำและหัวพ่นหมอก
9. อุปกรณ์ที่ใช้ในการบันทึกข้อมูล เช่น ไม้บรรทัด เวอร์เนียคาลิปเปอร์ สมุดบันทึก ฯลฯ

### วิธีการ

การศึกษาการใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้นทางระบบน้ำในการปลูกผักกินผล ได้แก่ มะเขือเทศเชอรี่ พริกขี้หนูผลใหญ่ พริกหยวก แตงโมไร้เมล็ด และแตงกวาญี่ปุ่น ดำเนินการปลูกผักในโรงเรือน ปลูกทดลองในภาชนะปลูกพืช แยกปลูกเป็นรอบตามชนิดพืช แต่ละพืชวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) มี 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี โดยให้กรรมวิธีเป็นระดับความเข้มข้นของสารละลายธาตุอาหาร ได้แก่ 1) ใช้น้ำเปล่า 2) ใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้นอย่างละ 3 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตรต่อต้นต่อสัปดาห์ 3) ใช้สารละลายธาตุอาหารเข้มข้นอย่างละ 4 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตรต่อต้นต่อสัปดาห์ 4) ใช้สารละลายธาตุอาหารเข้มข้นอย่างละ 5 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตรต่อต้นต่อสัปดาห์ และสุดท้าย 5) ใช้สารละลายธาตุอาหารเข้มข้นอย่างละ 6 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตรต่อต้นต่อสัปดาห์

1. จัดเตรียมเครื่องมือ อุปกรณ์ เมล็ดพันธุ์พืชที่ปลูก ถาดเพาะกล้า และวัสดุเพาะกล้า สารละลายธาตุอาหารปุ๋ยเคมี ภาชนะปลูกพืช ได้แก่ กระถางพลาสติกสีดำขนาด 15 นิ้ว หรือ ถุงปลูกสีขาว ขนาด10 นิ้ว ไม่เจาะรู และทรายละเอียดที่ใช้เป็นวัสดุปลูกและอื่นๆ เพื่อใช้สำหรับการทดลองแต่ละกรรมวิธี ใช้ภาชนะปลูกพืช จำนวน 8 กระถางต่อกรรมวิธี มีทั้งหมด 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำ

2. จัดเตรียมวัสดุเพาะกล้า เพาะกล้า และย้ายลงถาดเพาะกล้า

3. จัดเตรียมสารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 1: 200 เท่า สำหรับการทดลองนี้ แยกเก็บเป็น 2 ส่วน คือ สารละลาย A และ B เพราะเมื่อผสมกันในความเข้มข้นที่สูง อาจทำให้เกิดการตกตะกอนได้ สารละลาย A ประกอบด้วย แคลเซียมไนเตรท เหล็กเหลืองคีเลต เหล็กแดงคีเลต และเหล็กม่วงคีเลต ส่วนสารละลาย B ประกอบด้วย โมโนโพแทสเซียมฟอสเฟต โพแทสเซียมไนเตรท แมกนีเซียมซัลเฟต และจุลธาตุเสริมต่างๆ ดัดแปลงและอ้างอิงจากสูตรสารละลายของ Hoagland and Arnon (1950) ตัวอย่างข้อมูลสารละลายธาตุอาหารที่เป็นองค์ประกอบของสารละลายเอบี 10 ลิตร เจือจาง 1: 200 ที่ใช้ในการทดลอง คือ สารละลาย A ประกอบด้วย แคลเซียมไนเตรท 1,950 กรัม เหล็กเหลืองคีเลต 25 กรัม เหล็กแดงคีเลต 25 กรัม และเหล็กม่วงคีเลต 50 กรัม ส่วน สารละลาย B ประกอบด้วย โมโนโพแทสเซียมฟอสเฟต 325 กรัม โพแทสเซียมไนเตรท 900 กรัม แมกนีเซียมซัลเฟต 550 กรัม และนิคสเปรย์ (Nicspray) ประกอบด้วย Cu-ETDA 5 กรัม Fe-ETDA 4.74 กรัม Mg-ETDA 11.85 กรัม

Mn-ETDA 6.32 กรัม Zn-ETDA 5.27 กรัม B โบรอน 5.27 กรัม และ Mo โมลิบดินัม 0.06 กรัม เป็นต้น เมื่อเจือจาง 1 : 200 จะพบว่า มี ไนโตรเจนในรูปไนเตรท 4.882 มิลลิกรัม ฟอสฟอรัส 0.763 มิลลิกรัม โพแทสเซียม 4.405 มิลลิกรัม แคลเซียม 4.117 มิลลิกรัม แมกนีเซียม 1.364 มิลลิกรัม กำมะถัน 1.796 มิลลิกรัม โบรอน 0.008 มิลลิกรัม สังกะสี 0.008 มิลลิกรัม ทองแดง 0.007 มิลลิกรัม โมลิบดีนัม 0.0001 มิลลิกรัม เหล็ก 0.087 มิลลิกรัม และแมงกานีส 0.009 มิลลิกรัม

4. การใช้สารละลายธาตุอาหารในผักกินผล เป็นดังนี้ คือ มะเขือเทศเชอรี่จากเพาะกล้าจนถึงเก็บเกี่ยวใช้เวลา 120 วัน ใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้นอัตรา 1:1 1:1.2 1:1.6 และ 1:2.4 ตามกรรมวิธี จำนวน 2 3 3 และ 3 ครั้ง ตามลำดับ รวมใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้นทั้งหมด 11 ครั้ง พริกขี้หนูผลใหญ่จากเพาะกล้าจนถึงเก็บเกี่ยวใช้เวลา 90 วัน ใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้นอัตรา 1:1 1:1.2 1:1.6 และ 1:2.4 ตามกรรมวิธี จำนวน 3 3 2 และ 2 ครั้ง ตามลำดับ รวมใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้นทั้งหมด 10 ครั้ง พริกหยวกใช้เวลาจากเพาะกล้าจนถึงเก็บเกี่ยวใช้เวลา 90 วัน ใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้นอัตรา 1:1 1:1.2 1:1.6 และ 1:2.4 ตามกรรมวิธี จำนวน 3 3 2 และ 2 ครั้ง ตามลำดับ รวมใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้นทั้งหมด 10 ครั้ง แตงโมไร้เมล็ดใช้เวลาจากเพาะกล้าจนถึงเก็บเกี่ยวใช้เวลา 60 วัน ใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้นอัตรา 1:1 1:1.2 1:1.6 และ 1:2.4 ตามกรรมวิธี จำนวน 1 2 1 และ 2 ครั้ง ตามลำดับ รวมใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้นทั้งหมด 6 ครั้ง และสุดท้ายแตงกวาญี่ปุ่นใช้เวลาจากเพาะกล้าจนถึงเก็บเกี่ยวใช้เวลา 70 วัน ใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้นอัตรา 1:1 1:1.2 1:1.6 และ 1:2.4 ตามกรรมวิธี จำนวน 2 2 2 และ 1 ครั้ง ตามลำดับ รวมใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้นทั้งหมด 7 ครั้ง

5. การวัดการเจริญเติบโตและผลผลิต ได้แก่ ความสูง น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และผลผลิต ตามลำดับ โดยที่หลังย้ายปลูกประมาณ 1 สัปดาห์ ก็เริ่มเก็บข้อมูลความสูง โดยวัดความสูงประมาณสัปดาห์ละ 1 ครั้งตลอดช่วงการเจริญเติบโต และได้ทำการเก็บตัวอย่างผัก โดยแต่ละกรรมวิธี เก็บตัวอย่าง 1 กระถาง จำนวน 4 ซ้ำ ตามช่วงการเจริญเติบโตของพืชนั้น ได้แก่ ระยะเริ่มต้น (Initial stage) ระยะเจริญเติบโต (Development stage) ระยะกลาง (Mid-season stage) และระยะสุดทายหรือช่วงเก็บเกี่ยว (Late stage) เพื่อหาน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของผักกินผลแต่ละชนิด ส่วนผลผลิตนั้น มะเขือเทศเชอรี่เมื่อเริ่มสุก ได้ทยอยเก็บผลผลิตประมาณ 5 สัปดาห์ ส่วน พริกขี้หนูผลใหญ่เมื่อสุกมีการเปลี่ยนสีผลจากสีเขียวเป็นสีแดงได้ 90 เปอร์เซ็นต์ก็เก็บผลผลิต ส่วนพริกหยวกนั้นเมื่อเริ่มผลเริ่มเปลี่ยนสีเขียวเป็นสีแดงก็เก็บผลผลิตทั้งหมด สำหรับแตงโมเริ่มเก็บผลผลิตเมื่อถึงกำหนดวันเก็บเกี่ยว

6. ดูแลรักษากำจัดวัชพืชและศัตรูพืชตามหลักการจัดการที่ดีที่เหมาะสม

**การบันทึกข้อมูล**

1. บันทึกความสูงตามช่วงการเจริญเติบของผักกินผลแต่ละชนิด
2. บันทึกน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งตามช่วงการเจริญเติบของผักกินผลแต่ละชนิด
3. บันทึกผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยวของผักกินผลแต่ละชนิด

## ระยะเวลาดำเนินการ

เริ่มต้น ตุลาคม 2561 - สิ้นสุด กันยายน 2563

## สถานที่ทำการทดลอง

โรงเรือน ศูนย์วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตรขอนแก่น อำเภอเมืองขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น

โรงเรือน สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 3 อำเภอเมืองขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น

## ผลการศึกษาและวิจารณ์

**1. ผลของปุ๋ยต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของมะเขือเทศเชอรี่**

**1.1. ความสูง** พบว่า ต้นมะเขือเทศหลังย้ายปลูก 10 และ 17 วัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติมีความสูงอยู่ที่ 19.3 และ 21.0 เซนติเมตร ตามลำดับ แต่หลังจากใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้นในสัปดาห์ที่ 3-12 (อายุ 24-86 วัน) พบว่า ต้นมะเขือเทศในกรรมวิธีที่ใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้นในทุกระดับมีความสูงมากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 3 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร ต่อสัปดาห์ มีความสูงมากที่สุด คือ 148.05 เซนติเมตร แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 1)

**1.2. น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง** พบว่า กรรมวิธีที่ใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้นในทุกระดับมีความสูงมากกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ มีค่าเฉลี่ย 194.8 และ 46.8 กรัมต่อต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

**1.3. ผลผลิต** พบว่า ทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกัน มีค่าเฉลี่ย 357.51 กรัมต่อต้น (ตารางที่ 11)

**2. ผลของปุ๋ยต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของพริกขี้หนูผลใหญ่**

**2.1. ความสูง** พบว่า ต้นพริกขี้หนูผลใหญ่หลังย้ายปลูก 10 และ 17 วัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ มีความสูงอยู่ที่ 20.9 และ 24.5 เซนติเมตร ตามลำดับ แต่หลังจากใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้นในสัปดาห์ที่ 2-5 (อายุ 24-45 วัน) พบว่า การศึกษาการเจริญเติบโตทางด้านความสูง ในภาพรวมพริกขี้หนูผลใหญ่ตอบสนองต่อการใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น โดยพริกเริ่มมีความสูงมากกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหลังจากใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้นในสัปดาห์ที่ 3 ต้นพริกในกรรมวิธีที่ใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้นในทุกระดับมีความสูงมากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 3 4 5 และ 6 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร ต่อสัปดาห์ ไม่แตกต่างกัน ความสูงของพริกขี้หนูผลใหญ่หลังย้ายปลูก 45 วัน อยู่ระหว่าง 57.77 – 62.59 เซนติเมตร (ตารางที่ 3)

**2.2. น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง** พบว่า กรรมวิธีที่ใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้นในทุกระดับมีความสูงมากกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ มีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง 116.97 และ 28.74 กรัมต่อต้น (ตารางที่ 4)

**2.3. ผลผลิต** พบว่า กรรมวิธีที่ใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 6 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร ต่อสัปดาห์ มีน้ำหนักผลมากที่สุด 745.1 กรัมต่อต้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 11)

**3. ผลของปุ๋ยต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของพริกหยวก**

**3.1. ความสูง** พบว่า ต้นพริกหยวกหลังย้ายปลูก 20 และ 30 วัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ มีความสูงอยู่ที่ 26.24 และ 29.98 ซม. ตามลำดับ แต่หลังจากย้ายปลูกได้ 40 วัน ขึ้นไปนั้น พบว่า ต้นพริกในกรรมวิธีที่ใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้นในทุกระดับมีความสูงมากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 3 4 5 และ 6 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร ต่อสัปดาห์ ไม่แตกต่างกัน ความสูงของพริกหยวกหลังย้ายปลูก 90 วัน อยู่ระหว่าง 110.38 – 118.65 เซนติเมตร (ตารางที่ 5)

**3.2. น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง** พบว่า กรรมวิธีที่ใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้นในทุกระดับมีความสูงมากกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และกรรมวิธีที่ใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 6 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร ต่อสัปดาห์ มีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งมากที่สุด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น (ตารางที่ 6)

**3.3. ผลผลิต** พบว่า กรรมวิธีที่ใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 6 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร ต่อสัปดาห์ มีน้ำหนักผลมากที่สุด 190.98 กรัมต่อต้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 11)

**4. ผลของปุ๋ยต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของแตงโมไร้เมล็ด**

**4.1. ความสูง** พบว่า ต้นแตงโมไร้เมล็ดหลังย้ายปลูก 7 14 21 28 35 และ 63 วัน ในกรรมวิธีที่ใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้นในทุกระดับมีความสูงมากกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 6 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร ต่อสัปดาห์ มีความสูงมากที่สุด ตลอดช่วงการเจริญเติบโตมีความสูง 7.8 18.8 62.6 138.0 184.5 และ 340.7 เซนติเมตร ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 7)

**4.2. น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง** พบว่า กรรมวิธีที่ใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้นในทุกระดับมีความสูงมากกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และกรรมวิธีที่ใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 6 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร ต่อสัปดาห์ มีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งมากที่สุด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น (ตารางที่ 8)

**4.3. ผลผลิต** พบว่า กรรมวิธีที่ใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 4 5 และ 6 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร ต่อสัปดาห์ มีน้ำหนักผลมากที่สุด 1.138 1.208 และ 1.296 กิโลกรัมต่อต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 11)

**5. ผลของปุ๋ยต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของแตงกวาญี่ปุ่น**

**5.1. ความสูง** พบว่า ต้นแตงกวาญี่ปุ่นหลังย้ายปลูก 10 20 30 40 50 60 และ 70 วัน ในกรรมวิธีที่ใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้นในทุกระดับมีความสูงมากกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 6 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร ต่อสัปดาห์ มีความสูงมากที่สุด ตลอดช่วงการเจริญเติบโต มีความสูง 17.18 26.78 99.15 128.88 177.75 190.25 และ 208.95 เซนติเมตร ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 9)

**5.2. น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง** พบว่า กรรมวิธีที่ใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้นในทุกระดับมีความสูงมากกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และกรรมวิธีที่ใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 5 และ 6 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร ต่อสัปดาห์ มีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งมากที่สุด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น (ตารางที่ 10)

**5.3. ผลผลิต** พบว่า กรรมวิธีที่ใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 5 และ 6 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร ต่อสัปดาห์ มีน้ำหนักผลมากที่สุด 896.80 และ 1,014.98 กรัมต่อต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 11)

## สรุปผลการทดลอง

การศึกษาผลของธาตุอาหารต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของผักกินผล จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ มะเขือเทศเชอรี่ พริกขี้หนูผลใหญ่ พริกหยวก แตงโมไร้เมล็ด และแตงกวาญี่ปุ่น สรุปผลการทดลองได้ดังนี้

**1. มะเขือเทศเชอรี่** มีการใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 3 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร ต่อสัปดาห์ มีความสูงมากที่สุด ส่วนผลของน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และผลผลิต การใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้นทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกัน มีน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และผลผลิต 194.8 46.8 และ 357.51 กรัมต่อต้น ตามลำดับ ดังนั้น การเลือกใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 3 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตรของอัตราส่วนสารละลายเอบี 1:1 ในสัปดาห์ที่ 2–3 การเลือกใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 3 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตรของอัตราส่วนสารละลายเอบี 1.2 : 1 ในสัปดาห์ 4-6 การเลือกใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 3 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตรของอัตราส่วนสารละลายเอบี 1.6 : 1 ในสัปดาห์ที่ 7-9 และสุดท้ายการเลือกใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 3 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตรของอัตราส่วนสารละลายเอบี 2.4 : 1 ในสัปดาห์ 10-12หลังย้ายปลูก ตามลำดับนั้น จึงเป็นวิธีการเลือกใช้ที่เหมาะสมที่สุด

**2. พริกขี้หนูผลใหญ่** มีการใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 3 4 5 และ 6 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร ต่อสัปดาห์ ไม่แตกต่างกัน ทั้งใน ความสูงที่มีค่าเฉลี่ย 52.9 เซนติเมตร และน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง มีค่าเฉลี่ย 116.97 และ 28.74 กรัมต่อต้น แต่อย่างไรก็ตามผลผลิตนั้นกลับพบว่า การใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 6 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร ต่อสัปดาห์ มีน้ำหนักผลมากที่สุด 745.1 กรัมต่อต้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้น การเลือกใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 6 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร ของอัตราส่วนสารละลายเอบี 1:1 ในสัปดาห์ที่ 2–4 การเลือกใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 6 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตรของอัตราส่วนสารละลายเอบี 1.2 : 1 ในสัปดาห์ 5-7 การเลือกใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 6 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตรของอัตราส่วนสารละลายเอบี 1.6 : 1 ในสัปดาห์ที่ 8-9 และสุดท้ายการเลือกใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 6 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตรของอัตราส่วนสารละลายเอบี 2.4 : 1 ในสัปดาห์ 10-11 หลังย้ายปลูก ตามลำดับนั้น จึงเป็นวิธีการเลือกใช้ที่เหมาะสมที่สุด

**3. พริกหยวก** แม้ว่ามีการใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 3 4 5 และ 6 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร ต่อสัปดาห์ จะทำให้ความสูงไม่แตกต่างกันก็ตาม ความสูงของพริกหยวกหลังย้ายปลูก 90 วัน อยู่ระหว่าง 110.38 – 118.65 เซนติเมตร

แต่อย่างไรก็ตาม การใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 6 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร ต่อสัปดาห์ ก็ทำให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และผลผลิตมากที่สุด ดังนั้น การเลือกใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 6 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร ของอัตราส่วนสารละลายเอบี 1:1 ในสัปดาห์ที่ 2–4 การเลือกใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 6 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตรของอัตราส่วนสารละลายเอบี 1.2 : 1 ในสัปดาห์ 5-7 การเลือกใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 6 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตรของอัตราส่วนสารละลายเอบี 1.6 : 1 ในสัปดาห์ที่ 8-9 และสุดท้ายการเลือกใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 6 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตรของอัตราส่วนสารละลายเอบี 2.4 : 1 ในสัปดาห์ 10-11 หลังย้ายปลูก ตามลำดับนั้น จึงเป็นวิธีการเลือกใช้ที่เหมาะสมที่สุด

**4. แตงโมไร้เมล็ด** มีการใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 6 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร ต่อสัปดาห์ ทำให้ทั้งความสูง น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งมากที่สุด แต่อย่างไรก็ตาม ผลผลิตนั้น การใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 4 5 และ 6 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร ต่อสัปดาห์ มีน้ำหนักผลมากไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้น การเลือกใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 4 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร ของอัตราส่วนสารละลายเอบี 1:1 ในสัปดาห์ที่ 2 การเลือกใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 4 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตรของอัตราส่วนสารละลายเอบี 1.2 : 1 ในสัปดาห์ 3-4 การเลือกใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 4 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตรของอัตราส่วนสารละลายเอบี 1.6 : 1 ในสัปดาห์ที่ 5 และสุดท้ายการเลือกใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 4 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตรของอัตราส่วนสารละลายเอบี 2.4 : 1 ในสัปดาห์ 6-7 หลังย้ายปลูก ตามลำดับนั้น จึงเป็นวิธีการเลือกใช้ที่เหมาะสมที่สุด

**5. แตงกวาญี่ปุ่น** มีการใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 6 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร ต่อสัปดาห์ มี ความสูงมากที่สุด แต่อย่างไรก็ตาม การใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 5 และ 6 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร ต่อสัปดาห์ มีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง และผลผลิตมากที่สุด ดังนั้น การเลือกใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 5 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร ของอัตราส่วนสารละลายเอบี 1:1 ในสัปดาห์ที่ 2-3 การเลือกใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 5 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตรของอัตราส่วนสารละลายเอบี 1.2 : 1 ในสัปดาห์ 4-5 การเลือกใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 5 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตรของอัตราส่วนสารละลายเอบี 1.6 : 1 ในสัปดาห์ที่ 6-7 และสุดท้ายการเลือกใช้สารละลายธาตุอาหารแบบเข้มข้น 5 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตรของอัตราส่วนสารละลายเอบี 2.4 : 1 ในสัปดาห์ 8 หลังย้ายปลูก ตามลำดับนั้น จึงเป็นวิธีการเลือกใช้ที่เหมาะสมที่สุด

## การนำไปใช้ประโยชน์

สามารถนำข้อมูลผลงานวิจัยไปพัฒนาต่อในเรื่องการปรับใช้ธาตุอาหารพืชในระบบน้ำต่อการปลูกพืชในระบบโรงเรือน ให้สามารถจัดการเรื่องธาตุอาหารและเลือกความเข้มข้นให้เหมาะสมกับพืชผักกินผล ได้แก่ มะเขือเทศเชอรี่ พริกขี้หนูผลใหญ่ พริกหยวก แตงโมไร้เมล็ด และแตงกวาญี่ปุ่น ที่ปลูกหมุนเวียนในระบบโรงเรือน เพื่อเพิ่มผลผลิต ลดต้นการใช้ปุ๋ยได้

## เอกสารอ้างอิง


ดิเรก ทองอร่าม. 2548. เอกสารการสอนวิชาการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินเพื่อการค้า หน่วยที่ 1-7. ธรรมรักษ์การพิมพ์, ราชบุรี. 476น.

Haifa. 2017. Nutritional recommendations for tomato. สืบค้นจาก: http://www.haifa-group.com/files/Guides/tomato/Tomato.pdf [ก.ค. 2560]

Hoagland, D. R. and D. I. Arnon. 1950. “The Water Culture Method for Growing Plants Without Soil.” Circular 347. Agricultural Experiment Station University of California, Berkley. CA.

Lorenz, O. A. and D. N. Maynard. 1988. *Knott’s Handbook for Vegetable Grower*. 3rd edition. New York: John Wiley & Sons.

## ภาคผนวก

**ตารางที่ 1** ความสูง (ซม.) ของต้นมะเขือเทศเชอรี่หลังย้ายปลูก 10 17 24 31 55 69 และ 86 วัน ในโรงเรือน

| กรรมวิธี | อัตราส่วนปุ๋ยสูตรเอบี | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 : 1 | | 1.2 : 1 | | 1.6 : 1 | 2.4 : 1 | |
| | 10 วัน | 17 วัน | 24 วัน | 31 วัน | 55 วัน | 69 วัน | 86 วัน |
| ชุดควบคุม (น้ำ) | 18.48a | 19.15a | 19.83b | 19.65b | 19.95b | 34.50c | 36.40c |
| สารละลายเอบี 3 มล. | 19.58a | 22.13a | 23.98a | 35.13a | 96.20a | 135.30a | 148.05a |
| สารละลายเอบี 4 มล. | 19.73a | 21.35a | 25.13a | 37.53a | 95.08a | 125.80ab | 132.25b |
| สารละลายเอบี 5 มล. | 19.00a | 21.05a | 22.73a | 33.65a | 95.05a | 120.90b | 129.35b |
| สารละลายเอบี 6 มล. | 19.80a | 21.43a | 24.35a | 35.40a | 96.60a | 124.75b | 130.55b |
| ค่าเฉลี่ย | 19.3 | 21.0 | 23.2 | 32.3 | 49.4 | 108.3 | 115.3 |
| CV (%) | 8.8 | 11.5 | 6.9 | 9.1 | 6.4 | 5.7 | 7.6 |

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ DMRT ที่ $P < 0.05$

**ตารางที่ 2** น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ของต้นมะเขือเทศเชอรี่หลังย้ายปลูก 10 30 50 70 และ 90 วัน ในโรงเรือน

| กรรมวิธี | น้ำหนักสด (กรัมต่อต้น) | | | | | น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อต้น) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 10 วัน | 30 วัน | 50 วัน | 70 วัน | 90 วัน | 10 วัน | 30 วัน | 50 วัน | 70 วัน | 90 วัน |
| ชุดควบคุม (น้ำ) | 1.43c | 1.55b | 1.65c | 2.75b | 5.15b | 0.38c | 0.35d | 0.50b | 0.68b | 2.30b |
| สารละลายเอบี 3 มล. | 2.98b | 18.40a | 70.82a | 85.75a | 228.85a | 0.75b | 4.53c | 15.48a | 21.80a | 55.15a |
| สารละลายเอบี 4 มล. | 4.30a | 20.45a | 71.13a | 88.20a | 247.38a | 1.40a | 5.65b | 13.80a | 22.00a | 59.40a |
| สารละลายเอบี 5 มล. | 4.33a | 19.90a | 61.13b | 88.7a | 245.25a | 1.30a | 6.30ab | 14.88a | 24.33a | 58.08a |
| สารละลายเอบี 6 มล. | 4.48a | 21.08a | 61.80b | 88.80a | 247.30a | 1.28a | 6.93a | 14.65a | 24.38a | 59.08a |
| ค่าเฉลี่ย | 3.5 | 16.3 | 53.3 | 70.9 | 194.8 | 1.0 | 4.8 | 11.9 | 18.6 | 46.8 |
| CV (%) | 12.0 | 13.0 | 9.4 | 6.5 | 7.7 | 19.0 | 13.0 | 19.2 | 22.6 | 12.7 |

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ DMRT ที่ $P < 0.05$

หมายเหตุ : น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งที่ อายุ 10 วันหลังย้ายปลูกนั้น ชุดสารละลายเอบี 0 3 4 5 และ 6 มิลลิลิตร หรือ 0 60 80 100 และ120 เปอร์เซ็นต์ของอัตราส่วนสารละลายเอบี 1:1 อายุ 30 วันหลังย้ายปลูกนั้น ชุดสารละลายเอบี 0 3 4 5 และ 6 มิลลิลิตร หรือ 0 60 80 100 และ120 เปอร์เซ็นต์ของอัตราส่วนสารละลายเอบี 1.2:1 อายุ 50 วันหลังย้ายปลูกนั้น ชุดสารละลายเอบี 0 3 4 5 และ 6 มิลลิลิตร หรือ 0 60 80 100 และ120 เปอร์เซ็นต์ของอัตราส่วนสารละลายเอบี 1.6:1 อายุ 70 และ 90 วันนั้น เป็นชุดสารละลายเอบี 0 3 4 5 และ 6 มิลลิลิตร หรือ 0 60 80 100 และ120 เปอร์เซ็นต์ของอัตราส่วนสารละลายเอบี 2.4:1 ตามลำดับ

**ตารางที่ 3** ความสูง (ซม.) ของต้นพริกขี้หนูผลใหญ่หลังย้ายปลูก 10 17 24 31 38 และ 45 วัน ในโรงเรือน

| กรรมวิธี | อัตราส่วนปุ๋ยสูตรเอบี | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 : 1 | | | 1.2 : 1 | | |
| | 10 วัน | 17 วัน | 24 วัน | 31 วัน | 38 วัน | 45 วัน |
| ชุดควบคุม (น้ำ) | 21.07a | 21.66a | 22.18b | 22.89c | 23.55c | 24.13b |
| สารละลายเอบี 3 มล. | 20.64a | 24.02a | 32.43a | 40.82ab | 50.64ab | 57.77a |
| สารละลายเอบี 4 มล. | 21.06a | 26.22a | 34.82a | 44.55ab | 54.22ab | 61.61a |
| สารละลายเอบี 5 มล. | 20.68a | 24.97a | 32.86a | 42.93ab | 51.86ab | 58.61a |
| สารละลายเอบี 6 มล. | 20.85a | 25.40a | 34.23a | 45.25a | 55.66a | 62.59a |
| ค่าเฉลี่ย | 20.9 | 24.5 | 31.3 | 39.3 | 47.2 | 52.9 |
| CV (%) | 8.55 | 9.26 | 7.73 | 6.71 | 5.63 | 5.89 |

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ DMRT ที่ $P < 0.05$

**ตารางที่ 4** น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ของต้นพริกขี้หนูผลใหญ่หลังปลูก 10 30 60 และ 90 วัน ในโรงเรือน

| กรรมวิธี | น้ำหนักสด (กรัมต่อต้น) | | | | น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อต้น) | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 10 วัน | 30 วัน | 60 วัน | 90 วัน | 10 วัน | 30 วัน | 60 วัน | 90 วัน |
| ชุดควบคุม (น้ำ) | 3.38b | 4.45b | 4.32c | 5.20b | 0.58c | 0.80b | 0.83b | 1.03b |
| สารละลายเอบี 3 มล. | 12.95a | 38.83a | 55.95ab | 144.08a | 2.00b | 6.03a | 11.15a | 33.97a |
| สารละลายเอบี 4 มล. | 13.15a | 39.40a | 54.25b | 133.48a | 2.13ab | 6.30a | 11.38a | 33.33a |
| สารละลายเอบี 5 มล. | 13.80a | 37.68a | 54.18b | 139.28a | 2.58a | 6.90a | 11.40a | 35.28a |
| สารละลายเอบี 6 มล. | 14.88a | 40.13a | 60.65a | 162.78a | 2.58a | 6.93a | 12.60a | 40.13a |
| ค่าเฉลี่ย | 11.63 | 32.10 | 45.87 | 116.97 | 1.96 | 5.38 | 9.47 | 28.74 |
| CV (%) | 24.3 | 29.6 | 7.9 | 20.7 | 15.1 | 23.5 | 10.8 | 21.1 |

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ DMRT ที่ P < 0.05

หมายเหตุ : น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งที่ อายุ 10 วันหลังปลูกนั้น ชุดสารละลายเอบี 0 3 4 5 และ 6 มิลลิลิตร หรือ 0 60 80 100 และ120 เปอร์เซ็นต์ของอัตราส่วนสารละลายเอบี 0:0 อายุ 30 วันหลังย้ายปลูกนั้น ชุดสารละลายเอบี 0 3 4 5 และ 6 มิลลิลิตร หรือ 0 60 80 100 และ120 เปอร์เซ็นต์ของอัตราส่วนสารละลายเอบี 1:1 อายุ 60 วันหลังย้ายปลูกนั้น ชุดสารละลายเอบี 0 3 4 5 และ 6 มิลลิลิตร หรือ 0 60 80 100 และ120 เปอร์เซ็นต์ของอัตราส่วนสารละลายเอบี 1.6:1 และอายุ 90 วันนั้น เป็นชุดสารละลายเอบี 0 3 4 5 และ 6 มิลลิลิตร หรือ 0 60 80 100 และ120 เปอร์เซ็นต์ของอัตราส่วนสารละลายเอบี 2.4:1 ตามลำดับ

**ตารางที่ 5** ความสูง(ซม.) ของต้นพริกหยวกหลังย้ายปลูก 20 30 40 50 60 70 และ 80 วัน ในโรงเรือน

| กรรมวิธี | อัตราส่วนปุ๋ยสูตรเอบี | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 : 1 | 1.2 : 1 | | 1.6 : 1 | | 2.4 : 1 | |
| | 20 วัน | 30 วัน | 40 วัน | 50 วัน | 60 วัน | 70 วัน | 80 วัน |
| ชุดควบคุม (น้ำ) | 25.88a | 29.20a | 35.85b | 38.83b | 40.75c | 48.03b | 58.03b |
| สารละลายเอบี 3 มล. | 26.30a | 30.33a | 48.55a | 58.43a | 70.40b | 94.78a | 110.38a |
| สารละลายเอบี 4 มล. | 26.63a | 30.02a | 48.95a | 60.98a | 73.35ab | 96.45a | 110.48a |
| สารละลายเอบี 5 มล. | 25.65a | 29.88a | 50.78a | 63.78a | 78.72a | 108.55a | 121.23a |
| สารละลายเอบี 6 มล. | 26.73a | 30.45a | 50.33a | 62.23a | 75.03ab | 104.35a | 118.65a |
| ค่าเฉลี่ย | 26.24 | 29.98 | 46.89 | 56.85 | 67.65 | 90.43 | 90.43 |
| CV (%) | 4.6 | 4.3 | 6.3 | 7.6 | 7.3 | 12.9 | 12.6 |

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ DMRT ที่ P < 0.05

**ตารางที่ 6** น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ของต้นพริกหยวกหลังปลูก 10 30 60 และ 80 วัน ในโรงเรือน

| กรรมวิธี | น้ำหนักสด (กรัมต่อต้น) | | | | น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อต้น) | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 10 วัน | 30 วัน | 60 วัน | 80 วัน | 10 วัน | 30 วัน | 60 วัน | 80 วัน |
| ชุดควบคุม (น้ำ) | 2.93b | 7.48c | 8.48c | 29.18d | 0.65a | 2.03b | 2.78b | 5.70c |
| สารละลายเอบี 3 มล. | 3.45ab | 114.35ab | 101.35b | 209.65c | 0.71a | 51.00a | 48.25a | 27.50b |
| สารละลายเอบี 4 มล. | 3.30b | 102.80b | 102.80b | 288.98b | 0.59a | 42.30a | 41.55a | 34.35ab |
| สารละลายเอบี 5 มล. | 4.25a | 105.10ab | 115.10b | 321.10b | 0.58a | 44.05a | 45.55a | 34.88ab |
| สารละลายเอบี 6 มล. | 3.20b | 134.60a | 137.85a | 380.20a | 0.54a | 47.45a | 50.20a | 41.63a |
| ค่าเฉลี่ย | 3.43 | 92.87 | 93.12 | 245.82 | 0.61 | 37.37 | 37.66 | 28.81 |
| CV (%) | 15.7 | 20.2 | 14.1 | 10.0 | 19.0 | 17.4 | 16.9 | 22.1 |

คาเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ DMRT ที่ P < 0.05

หมายเหตุ : น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งที่ อายุ 10 วันหลังปลูกนั้น ชุดสารละลายเอบี 0 3 4 5 และ 6 มิลลิลิตร หรือ 0 60 80 100 และ120 เปอร์เซ็นต์ของอัตราส่วนสารละลายเอบี 0:0 อายุ 30 วันหลังย้ายปลูกนั้น ชุดสารละลายเอบี 0 3 4 5 และ 6 มิลลิลิตร หรือ 0 60 80 100 และ120 เปอร์เซ็นต์ของอัตราส่วนสารละลายเอบี 1:1 อายุ 60 วันหลังย้ายปลูกนั้น ชุดสารละลายเอบี 0 3 4 5 และ 6 มิลลิลิตร หรือ 0 60 80 100 และ120 เปอร์เซ็นต์ของอัตราส่วนสารละลายเอบี 1.6:1 และอายุ 80 วันนั้น เป็นชุดสารละลายเอบี 0 3 4 5 และ 6 มิลลิลิตร หรือ 0 60 80 100 และ120 เปอร์เซ็นต์ของอัตราส่วนสารละลายเอบี 2.4:1 ตามลำดับ

**ตารางที่ 7** ความสูง (ซม.) ของต้นแตงโมไร้เมล็ดหลังย้ายปลูก 7 14 21 28 35 และ 50 วัน ในโรงเรือน

| กรรมวิธี | อัตราส่วนปุ๋ยสูตรเอบี | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 : 1 | | 1.2 : 1 | | 1.6 : 1 | 2.4 : 1 |
| | 7 วัน | 14 วัน | 21 วัน | 28 วัน | 35 วัน | 50 วัน |
| ชุดควบคุม (น้ำ) | 5.3c | 6.0c | 6.1d | 6.1d | 6.1d | 6.1e |
| สารละลายเอบี 3 มล. | 7.1ab | 15.9ab | 45.8c | 112.2c | 147.3c | 225.3d |
| สารละลายเอบี 4 มล. | 6.4bc | 13.8b | 51.4bc | 121.0b | 161.0bc | 288.4c |
| สารละลายเอบี 5 มล. | 6.0bc | 14.8ab | 55.6ab | 127.2b | 168.3b | 303.2b |
| สารละลายเอบี 6 มล. | 7.8a | 18.8a | 62.6a | 138.0a | 184.5a | 340.7a |
| ค่าเฉลี่ย | 6.5 | 13.8 | 44.3 | 100.9 | 133.5 | 232.7 |
| CV (%) | 11.6 | 19.0 | 11.1 | 5.3 | 6.8 | 1.6 |

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ DMRT ที่ $P < 0.05$

**ตารางที่ 8** น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ของต้นแตงโมไร้เมล็ดหลังปลูก 10 30 และ 45 วัน ในโรงเรือน

| กรรมวิธี | น้ำหนักสด (กรัมต่อต้น) | | | น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อต้น) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 10 วัน | 30 วัน | 45 วัน | 10 วัน | 30 วัน | 45 วัน |
| ชุดควบคุม (น้ำ) | 3.39a | 4.38e | 5.03c | 1.28ab | 1.68e | 1.03d |
| สารละลายเอบี 3 มล. | 3.39a | 95.58d | 918.82b | 1.18ab | 16.18d | 71.75c |
| สารละลายเอบี 4 มล. | 3.44a | 157.45a | 1373.85a | 1.03b | 24.90a | 104.03b |
| สารละลายเอบี 5 มล. | 3.48a | 112.95c | 1377.50a | 1.43a | 18.90c | 87.82bc |
| สารละลายเอบี 6 มล. | 3.53a | 129.28b | 1489.58a | 1.43a | 22.13b | 122.15a |
| ค่าเฉลี่ย | 3.45 | 99.91 | 1032.96 | 1.27 | 16.75 | 77.36 |
| CV (%) | 2.9 | 5.9 | 9.3 | 14.9 | 5.8 | 14.7 |

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ DMRT ที่ $P < 0.05$

หมายเหตุ : น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งที่ อายุ 10 วันหลังปลูกนั้น ชุดสารละลายเอบี 0 3 4 5 และ 6 มิลลิลิตร หรือ 0 60 80 100 และ120 เปอร์เซ็นต์ของอัตราส่วนสารละลายเอบี 0:0 อายุ 30 วันหลังย้ายปลูกนั้น ชุดสารละลายเอบี 0 3 4 5 และ 6 มิลลิลิตร หรือ 0 60 80 100 และ120 เปอร์เซ็นต์ของอัตราส่วนสารละลายเอบี 1.2:1 และอายุ 45 วันนั้น เป็นชุดสารละลายเอบี 0 3 4 5 และ 6 มิลลิลิตร หรือ 0 60 80 100 และ120 เปอร์เซ็นต์ของอัตราส่วนสารละลายเอบี 1.6:1 ตามลำดับ

**ตารางที่ 9** ความสูง (ซม.) ของต้นแตงกวาญี่ปุ่นหลังปลูก 10 20 30 40 50 60 และ 70 วัน ในโรงเรือน

| กรรมวิธี | อัตราส่วนปุ๋ยสูตรเอบี | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 : 0 | 1 : 1 | | 1.2 : 1 | 1.6 : 1 | 2.4 : 1 | |
| | 10 วัน | 20 วัน | 30 วัน | 40 วัน | 50 วัน | 60 วัน | 70 วัน |
| ชุดควบคุม (น้ำ) | 16.90a | 18.63c | 20.70e | 22.28e | 24.00e | 25.65e | 25.65e |
| สารละลายเอบี 3 มล. | 17.53a | 25.58ab | 68.50d | 88.18d | 131.63d | 143.40d | 164.93d |
| สารละลายเอบี 4 มล. | 17.25a | 26.10ab | 79.00c | 102.95c | 153.80c | 169.70c | 184.08c |
| สารละลายเอบี 5 มล. | 16.23a | 24.35b | 89.33b | 115.00b | 165.93b | 179.80b | 196.18b |
| สารละลายเอบี 6 มล. | 17.18a | 26.78a | 99.15a | 128.88a | 177.75a | 190.25a | 208.95a |
| ค่าเฉลี่ย | 17.02 | 24.29 | 71.33 | 91.46 | 130.62 | 141.76 | 155.96 |
| CV (%) | 5.1 | 5.0 | 3.3 | 2.2 | 2.4 | 3.5 | 4.1 |

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ DMRT ที่ $P < 0.05$

**ตารางที่ 10** น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ของต้นแตงกวาญี่ปุ่นหลังปลูก 10 30 และ 70 วัน ในโรงเรือน

| กรรมวิธี | น้ำหนักสด (กรัมต่อต้น) | | | น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อต้น) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 10 วัน | 30 วัน | 70 วัน | 10 วัน | 30 วัน | 70 วัน |
| ชุดควบคุม (น้ำ) | 5.19a | 21.81b | 45.13c | 1.04a | 3.70c | 7.65c |
| ปุ๋ยเอบี 3 มล. | 5.33a | 62.23a | 697.10b | 1.07a | 15.55b | 49.50b |
| ปุ๋ยเอบี 4 มล. | 5.35a | 63.55a | 795.90b | 1.07a | 19.43a | 48.72b |
| ปุ๋ยเอบี 5 มล. | 5.28a | 65.47a | 1086.78a | 1.06a | 19.98a | 65.33a |
| ปุ๋ยเอบี 6 มล. | 5.43a | 66.22a | 1115.60a | 1.09a | 20.23a | 65.20a |
| ค่าเฉลี่ย | 5.31 | 55.85 | 748.11 | 1.06 | 15.78 | 47.29 |
| CV (%) | 12.0 | 5.2 | 10.5 | 12.3 | 5.1 | 14.9 |

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ DMRT ที่ P < 0.05

หมายเหตุ : น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งที่ อายุ 10 วันหลังปลูกนั้น ชุดปุ๋ยเอบี 0 3 4 5 และ 6 มิลลิลิตร หรือ 0 60 80 100 และ120 เปอร์เซ็นต์ของอัตราส่วนปุ๋ยเอบี 0:0 อายุ 30 วันหลังย้ายปลูกนั้น ชุดปุ๋ยเอบี 0 3 4 5 และ 6 มิลลิลิตร หรือ 0 60 80 100 และ120 เปอร์เซ็นต์ของอัตราส่วนปุ๋ยเอบี 1:1 และอายุ 70 วันนั้น เป็นชุดปุ๋ยเอบี 0 3 4 5 และ 6 มิลลิลิตร หรือ 0 60 80 100 และ120 เปอร์เซ็นต์ของอัตราส่วนปุ๋ยเอบี 2.4:1 ตามลำดับ

**ตารางที่ 11** ผลผลิตผักกินผลได้แก่ มะเขือเทศเชอรี่ พริกขี้หนูผลใหญ่ พริกหยวก แตงโมไร้เมล็ด และแตงกวาญี่ปุ่น ในโรงเรือน

| กรรมวิธี | ผลผลิต | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | มะเขือเทศเชอรี่ (กรัม ผล/ต้น) | พริกขี้หนูผลใหญ่ (กรัม ผล/ต้น) | พริกหยวก (กรัม ผล/ต้น) | แตงโมไร้เมล็ด (กิโลกรัม ผล/ต้น) | แตงกวาญี่ปุ่น (กรัม ผล/ต้น) |
| ชุดควบคุม (น้ำ) | - | - | - | - | - |
| ปุ๋ยเอบี 3 มล. | 368.31a | 511.7b | 82.15d | 0.776b | 572.08c |
| ปุ๋ยเอบี 4 มล. | 333.88a | 348.7c | 115.05c | 1.138a | 709.66b |
| ปุ๋ยเอบี 5 มล. | 390.52a | 406.8bc | 159.43b | 1.208a | 896.80a |
| ปุ๋ยเอบี 6 มล. | 337.33a | 745.1a | 190.98a | 1.296a | 1014.98a |
| ค่าเฉลี่ย | 357.51 | 503.1 | 136.90 | 1.104 | 798.38 |
| CV (%) | 10.1 | 17.9 | 7.3 | 8.6 | 10.2 |

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ DMRT ที่ P < 0.05

-ไม่มีผลผลิต

# พัฒนาเครือข่ายผู้มีส่วนได้ส่วนเสียผ่านกระบวนการเรียนรู้การผลิตมัน สำปะหลังจังหวัดขอนแก่น

# Developing Stakeholders Network for Cassava Production in Khon Kaen Province through Learning Process

*สรรเสริญ เสียงใส* *อรัญญ์ ขันติยวิชย์*
*Sansoen Siangsai* *Aran Kantiyawit*

ศูนย์วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตรขอนแก่น กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

---

## ABSTRACT

Developing Stakeholders Network for Cassava Production in Khon Kaen Province through Learning Process. It is the implementation of tests to enhance the cassava yield of communities in Khon Kaen province. Expanded to farmers on a converted basis in each group of product levels in the community. It is designated as a prototype plot for other farmers. In 2020, six farmers were selected for the test (master farmers). Soil samples have been analyzed using the Soil Test Kit of the Department of Agriculture. It was found that the soil pH is between 4.0-5.5, the amount of an eagle object (OM, %) 1 % phosphorus content is 10-30 mg per kg. Neutral amount of potassium exchanged. The fertilizer rate converted by the farmers is as follows: 16-8-8 kg N-$P_2O_5$-$K_2O$ per rai in conjunction with PGPR-3 bio-fertilizer. 1 case and 16-4-8 kg N-$P_2O_5$-$K_2O$ per rai together with PGPR-3 bio-fertilizer 5 cases. It found that prototype farmers were able to produce cassava by means of testing at a yield of 4,279-7,106 kg per rai, while farmers' methods produced 3,867-5,647 kilograms per rai from the average yield, the test method yield was above the farmer method output average of 1,305 kg per rai, but the use of PGPR-3 bio-fertilizers in conjunction with chemical fertilizers based on soil analysis costs had higher average production costs than farmers' methods. However, the average income can be increased to farmers by 2,739 baht or 28.6% (fresh tapioca head price). 2.10 baht/kg). As for the transfer of cassava production technology, farmers participating in technology transfer have the highest level of pre-training knowledge and understanding 85% have the most-most pre-training knowledge and understanding 100 percent benefited by farmers from training. Knowledge transfer is clear. Creating an atmosphere in training and allowing participants to express their opinions. Extreme-Most Level. In 2021, five prototype farmers were selected to analyze soil samples using Soil Test Kit of the Department of Agriculture found that the soil pH is between 4.0-5.5, the amount of eagle object (OM,%) 1 % phosphorus content is 10-30 mg per kg. Neutral amount of potassium exchanged. Fertilizer rates used by prototype farmers include 16-8-8 kg N-$P_2O_5$-$K_2O$ per rai, 3 cases and 16-4-8 kg N-$P_2O_5$-$K_2O$ per rai. It found that prototype farmers were able to produce cassava by means of testing yields of 1,956-6,267 kg per rai. The farmers can also profit from cassava production. 6,784 baht per rai (fresh tapioca head price) 2.50 baht/kg) and BCR 3.45. As for the transfer of cassava production technology, it was found that the field of applying knowledge was not used. Farmers can apply their acquired knowledge to develop effective cassava production level 4.51

**Keywords :** Cassava, Learning process, Developing Stakeholder Networks

## บทคัดย่อ

พัฒนาเครือข่ายผู้มีส่วนได้ส่วนเสียผ่านกระบวนการเรียนรู้การผลิตมันสำปะหลังจังหวัดขอนแก่น เป็นการนำผลทดสอบยกระดับผลผลิตมันสำปะหลังของชุมชนในพื้นที่จังหวัดขอนแก่น นำไปขยายผลให้แก่เกษตรกรเป็นรายแปลงในแต่ละกลุ่มของระดับผลผลิตในชุมชน โดยกำหนดให้เป็นแปลงต้นแบบให้แก่เกษตรกรรายอื่นๆ ปี 2563 ได้คัดเลือกเกษตรกรเข้าร่วมการทดสอบ (เกษตรกรต้นแบบ) จำนวน 6 ราย ได้นำตัวอย่างดินไปวิเคราะห์โดยใช้ soil test kit ของกรมวิชาการเกษตร พบว่า pH ของดินอยู่ระหว่าง 4.0-5.5 ปริมาณอินทรียวัตถุ (OM,%) 1 % ปริมาณฟอสฟอรัส 10-30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้เป็นกลาง ใส่อัตราปุ๋ยที่เกษตรกรแปลงต้นแบบดังนี้ 16-8-8 กิโลกรัม N-$P_2O_5$-$K_2O$ ต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-ทรี จำนวน 1 ราย และ 16-4-8 กิโลกรัม N-$P_2O_5$-$K_2O$ ต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-ทรี จำนวน 5 ราย พบว่า เกษตรกรต้นแบบสามารถผลิตมันสำปะหลังโดยวิธีการทดสอบได้ผลผลิต 4,279-7,106 กิโลกรัมต่อไร่ ส่วนวิธีการของเกษตรกรได้ผลผลิต 3,867-5,647 กิโลกรัมต่อไร่ จากค่าเฉลี่ยผลผลิตวิธีการทดสอบให้ผลผลิตสูงกว่าค่าเฉลี่ยผลผลิตวิธีการเกษตรกร 1,305 กิโลกรัมต่อไร่ แต่การใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-ทรีร่วมกับการใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดินมีต้นทุนการผลิตเฉลี่ยสูงกว่าวิธีของเกษตรกร จำนวน 142 บาท แต่สามารถเพิ่มรายได้เฉลี่ยให้แก่เกษตรกร 2,739 บาท หรือคิดเป็นร้อยละ 28.6 (ราคาหัวมันสำปะหลังสด กิโลกรัมละ 2.10 บาท) ส่วนการถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตมันสำปะหลัง พบว่า เกษตรกรที่เข้าร่วมการถ่ายทอดเทคโนโลยี มีความรู้ ความเข้าใจ ก่อนการฝึกอบรม ระดับมาก-มากที่สุด ร้อยละ 85 มีความรู้ ความเข้าใจ ก่อนการฝึกอบรม ระดับมาก-มากที่สุด ร้อยละ 100 ได้ประโยชน์ที่เกษตรกรได้รับจากการฝึกอบรมการถ่ายทอดความรู้มีความชัดเจน การสร้างบรรยากาศในการฝึกอบรมและ เปิดโอกาสให้ผู้เข้าร่วมการฝึกอบรมแสดงความคิดเห็น ระดับมาก-มากที่สุด ร้อยละ 100 ส่วนปี 2564 ได้คัดเลือกเกษตรกรแปลงต้นแบบจำนวน 5 ราย ได้นำตัวอย่างดินไปวิเคราะห์โดยใช้ Soil Test Kit ของกรมวิชาการเกษตรพบว่า pH ของดินอยู่ระหว่าง 4.0-5.5 ปริมาณอินทรียวัตถุ (OM,%) 1 % ปริมาณฟอสฟอรัส 10-30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้เป็นกลาง อัตราปุ๋ยที่เกษตรกรแปลงต้นแบบใช้ ได้แก่ 16-8-8 กิโลกรัม N-$P_2O_5$-$K_2O$ ต่อไร่ จำนวน 3 ราย และ 16-4-8 กิโลกรัม N-$P_2O_5$-$K_2O$ ต่อไร่ จำนวน 2 ราย (Table 11) โดยเกษตรกรได้นำปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-ทรีร่วมกับการใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดินแล้ว พบว่า เกษตรกรต้นแบบสามารถผลิตมันสำปะหลังโดยวิธีการทดสอบได้ผลผลิต 1,956-6,267 กิโลกรัมต่อไร่ จากการสุ่มผลผลิตพบว่าผลผลิตมันสำปะหลังของเกษตรกรต้นแบบต่ำมาก เนื่องจากในเดือนกันยายน 2564 มีปริมาณฝนตกค่อนข้างสูงมาก คือ 238.4 มิลลิเมตร ทำให้หัวมันสำปะหลังของเกษตรกรเกิดอาการเน่าเป็นจำนวนมาก แต่ต้นทุนเฉลี่ยการผลิตมันสำปะหลังต่ำ จำนวน 2,771 บาทต่อไร่ ทำให้เกษตรกรยังสามารถได้กำไรจากการผลิตมันสำปะหลัง จำนวน 6,784 บาทต่อไร่ (ราคาหัวมันสำปะหลังสด กิโลกรัมละ 2.50 บาท) และมีค่า BCR เท่ากับ 3.45 ส่วนการถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตมันสำปะหลัง พบว่า ด้านการนำความรู้ไปใช้ เกษตรกรสามารถนำความรู้ที่ได้รับไปประยุกต์ใช้ในการพัฒนาการผลิตมันสำปะหลังที่มีประสิทธิภาพได้ ระดับ 4.51



**คำหลัก** : มันสำปะหลัง กระบวนการเรียนรู้ การพัฒนาเครือข่ายผู้มีส่วนได้ส่วนเสีย


## คำนำ

มันสำปะหลังเป็นพืชอาหารเศรษฐกิจที่สำคัญพืชหนึ่งของประเทศไทย ซึ่งเป็นแหล่งผลิตคาร์โบไฮเดรตปริมาณสูง ได้มีการนำมันสำปะหลังไปใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ เป็นจำนวนมาก ปัจจุบันยังมีการนำมันสำปะหลังไปผลิตเอทานอล เพื่อนำไปใช้ในอุตสาหกรรมผลิตน้ำมันแก๊สโซฮอลล์ และลดการนำเข้าน้ำมันจากต่างประเทศ ช่วยให้ราคาน้ำมันภายในประเทศลดลง ปี 2553 มีโรงงานเปิดดำเนินการ จำนวน 5 โรงงาน มีกำลังการผลิตวันละ 780,000 ลิตรต่อวัน ใช้วัตถุดิบในการผลิตประมาณ 1.4 ล้านตันต่อปี มันสำปะหลังเป็นพืชที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีในดินแทบทุกพื้นที่และยังสามารถทนแล้งได้ดี ปี 2564 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกมันสำปะหลัง ประมาณ 10.9 ล้านไร่ ผลผลิตทั้งหมด ประมาณ 35.1 ล้านตัน ผลผลิตเฉลี่ย 3.3 ตันต่อไร่ พื้นที่ที่ปลูกมากที่สุด คือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน มีพื้นที่ปลูก 6.08 ล้านไร่ ได้ผลผลิต 19.8 ล้านตัน ให้ผลผลิตเฉลี่ย 3.46 ตันต่อไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2564) จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่ปลูกมันสำปะหลังมาก ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา ชัยภูมิ อุบลราชธานี อุดรธานี เลย กาฬสินธุ์ ขอนแก่นและบุรีรัมย์ โดยจังหวัด

ขอนแก่นมีพื้นที่ปลูก ประมาณ 2.68 แสนไร่ ผลผลิตทั้งหมด ประมาณ 8.76 แสนตัน ผลผลิตเฉลี่ย 3.3 ตันต่อไร่ อำเภอที่มีการปลูกมันสำปะหลังมากกว่า 20,000 ไร่ ได้แก่ อำเภอบ้านไผ่ มัญจาคีรี เขาสวนกวาง และ เมืองขอนแก่น

การวิเคราะห์ช่องว่างของผลผลิต (Yield gap analysis) คือความแตกต่างระหว่างผลผลิตสูงสุดตามศักยภาพ กับผลผลิตที่ได้จริงจากแปลงของเกษตรกร (Actual yield) ได้ ปัจจัยที่มีผลต่อผลผลิตมันสำปะหลัง มีหลากหลายปัจจัย ได้แก่ 1) ปัจจัยสภาพแวดล้อม ต้องยอมรับว่าสภาพอากาศในปัจจุบันมีความแปรปรวนค่อนข้างสูง ปริมาณน้ำฝนไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของมันสำปะหลังหรือการเกิดสภาพที่ฝนทิ้งช่วงเป็นระยะเวลาที่ยาวนาน อุณหภูมิอากาศสูงหรือต่ำเกินไป เนื่องจากปรากฏการณ์เอลนีโญหรือลานีญา เมื่อเกิดเอลนีโญขนาดรุนแรงขึ้นเมื่อใด ปริมาณฝนของประเทศไทยมักมีค่าต่ำกว่าปกติ และอุณหภูมิของอากาศจะสูงกว่าปกติ เช่น เอลนีโญขนาดรุนแรง ปี พ.ศ. 2540 - 2541 ประเทศไทยประสบกับสภาวะความแห้งแล้ง มีอุณหภูมิสูงกว่าปกติทั่วประเทศ ส่วนผลกระทบจากลานีญาจะตรงข้ามกับเอลนีโญ เช่น ลานีญาที่เกิดขึ้นปี พ.ศ. 2542 - 2543 ประเทศไทยมีฝนชุกกว่าปกติ และอุณหภูมิในฤดูหนาวลดลงทำลายสถิติหลายจังหวัดในเดือนธันวาคม 2542 นอกจากนี้ความอุดมสมบูรณ์ของดินต่ำเนื่องจากการขาดความเอาใจในการบำรุงดูแลรักษาและการจัดการดินอย่างเหมาะสม ทำให้ดินเกิดการเสื่อมโทรมมากขึ้นทุกปี 2) ปัจจัยเกษตรกรเริ่มตั้งแต่เกษตรกรขาดการบำรุงดินก่อนปลูกหรือปรับ pH ดินให้เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของมันสำปะหลัง ไม่มีการไถเพื่อทำลายชั้นดินดาน การเตรียมดินที่ไม่เหมาะสม มีเศษซากพืชเดิมหรือวัชพืชที่มีชีวิตอยู่ในพื้นที่เตรียมแปลงปลูก เกษตรกรที่ปลูกมันสำปะหลังในช่วงปลายฝนใช้ท่อนพันธุ์ขนาดสั้นเกินไปและไม่มีการแช่ท่อนพันธุ์ด้วยสารกำจัดเพลี้ยแป้ง ทำให้มันสำปะหลังมีอัตราความงอกต่ำและเกิดปัญหาเพลี้ยแป้งในช่วงฤดูแล้ง การใส่ปุ๋ยเคมีที่มีอัตราส่วนไม่ตรงกับความต้องการของพืช ขาดการดูแลแปลงมันสำปะหลังทำให้เกิดปัญหาเกี่ยวกับวัชพืช เกษตรกรเก็บเกี่ยวมันสำปะหลังอายุสั้นเกินไป (6 – 8 เดือน) การขาดเครื่องเก็บเกี่ยวทำให้ต้องจ้างแรงงานจำนวนมากในการเก็บเกี่ยวทำให้การเก็บเกี่ยวล่าช้า และมีต้นทุนการผลิตสูงเนื่องจากต้องใช้แรงงานและปัจจัยการผลิตสูงขึ้น ชุมพล และคณะ (2551) พบว่า มันสำปะหลังมีการตอบสนองต่อการใส่ปุ๋ยอย่างชัดเจน การปลูกมันสำปะหลังเพื่อให้ได้ผลผลิต 4-8 ตันต่อไร่ ควรมีการใช้ปุ๋ยเคมีอย่างครบถ้วนของ N-P-K อัตรา 16-8-16 กิโลกรัมต่อไร่ ร่วมกับการใช้ปุ๋ยอินทรีย์อัตรา 2 ตันต่อไร่ ปรีชา (2551) พบว่า ส่วนการใช้ปุ๋ย ตามค่าวิเคราะห์ดินที่คำนวณจากความต้องการปุ๋ยในแปลงเกษตรกร ในปี 2555 พบว่าให้ผลผลิตเฉลี่ยไร่ละ 3.98 ตัน สูงกว่าการใส่ปุ๋ยของเกษตรกรที่ใช้ปุ๋ยสูตร 16-7-18 อัตรา 25 กิโลกรัมต่อไร่ ให้ผลผลิตไร่ละ 3.57 ตัน (สูงกว่า 11 เปอร์เซ็นต์) คิดเป็นได้เงินเพิ่มขึ้นไร่ละ 1,025 บาท คุ้มค่าการลงทุนที่เพิ่มขึ้นไร่ละ 300 บาท เกษตรกรมีต้นทุนการผลิตสูงในปี 2554 แต่ค่อนข้างต่ำในปี 2555 (ไร่ละ 4,530 และ 3,580 บาท) จึงทำให้มีต้นทุนต่อหน่วยการผลิตต่ำรวมทั้งมีกำไรจากการผลิตมันสำปะหลังดีใกล้เคียงกัน เนื่องมาจากราคาที่สูงกว่า (กิโลกรัมละ 1.70 และ 2.50 บาท) 3) ปัจจัยพันธุ์มันสำปะหลัง การขาดแคลนมันสำปะหลังพันธุ์ดีและสะอาดปราศจากเพลี้ยแป้ง ซึ่งสามารถติดไปกับท่อนพันธุ์มันสำปะหลังได้ จากการเดินทางไปในพื้นที่ปลูกมันสำปะหลัง พบเกษตรกรไม่นิยมทำแปลงพันธุ์มันสำปะหลัง เมื่อเกษตรกรได้ท่อนพันธุ์มันสำปะหลังพันธุ์ต่างๆมาแล้ว จะตัดท่อนพันธุ์รวมกันแล้วจึงนำไปปลูก ซึ่งทำให้ไม่สามารถคัดแยกท่อนพันธุ์มันสำปะหลังได้ เกษตรกรรายอื่นๆที่ต้องการซื้อท่อนพันธุ์มันสำปะหลังไปปลูกจึงไม่มีความเชื่อมั่นว่าจะได้ท่อนพันธุ์ตรงกับความต้องการของตนเอง นอกจากนี้เกษตรกรมีการจัดการด้านพันธุ์ไม่เหมาะสม เนื่องจากเกษตรกรมีการเก็บเกี่ยวมันสำปะหลังเร็วเกินไป ทำให้ท่อนพันธุ์มีขนาดสั้นและอายุน้อยเกินไปในการนำปลูกในฤดูกาลต่อไป การใช้พันธุ์ร่วมกับการจัดการที่เหมาะสมสำหรับพื้นที่ พบว่าการปลูกมันสำปะหลังพันธุ์ใหม่ ได้แก่ ระยอง 5 ระยอง 90 และเกษตรศาสตร์ 50 โดยปฏิบัติตามคำแนะนำในการปลูกที่ถูกต้องและเหมาะสมสามารถเพิ่มผลผลิตมันสำปะหลังจาก 2.46 ตันต่อไร่ ในพันธุ์พื้นเมืองเป็น 4.58 ตันต่อไร่ ได้ในสภาพไร่เกษตรกร (บุญช่วยและคณะ, 2552)

ดังนั้นการศึกษาวิเคราะห์ศักยภาพผลผลิตและการผลิตมันสำปะหลังของเกษตรกรที่เหมาะสมตามสภาพภูมินิเวศน์ทั้งใช้พันธุ์มันสำปะหลังที่มีศักยภาพสูง เหมาะสมกับพื้นที่ สภาพแวดล้อมที่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วและรุนแรงขึ้น และการบริหารจัดการดูแลรักษาการผลิตมันสำปะหลัง ล้วนมีผลต่อผลผลิตสำปะหลังให้เพิ่มขึ้นหรือลดลง และหากเกษตรกรสามารถรู้ถึงปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อผลผลิตและจะสามารถช่วยเพิ่มรายได้ให้กับเกษตรกรผู้การปลูกมันสำปะหลังได้อย่างแน่นอน

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

อุปกรณ์ในการวิเคราะห์พื้นที่ สำรวจข้อมูลเกษตรกรและสุ่มเก็บเกี่ยวผลผลิตมันสำปะหลัง ได้แก่ จอบ เสียม ถุงพลาสติก ปากกาเคมี กระดาษบันทึก แบบสัมภาษณ์เกษตรกร

อุปกรณ์ในการจัดฝึกอบรม/เสวนา ได้แก่ เครื่องเสียง ไมโครโฟน ปากกาเคมี กระดานไวท์บอร์ด สมุดบันทึก ปากกาลูกลื่น กระดาษแบบสอบถาม เครื่องพิมพ์ และอื่นๆ

อุปกรณ์ในการจัดแปลงทดสอบ ได้แก่ ท่อนพันธุ์มันสำปะหลัง ปูนโดโลไมท์ ปุ๋ยเคมี เชือกฟาง ถุงตาข่ายเก็บผลผลิตมันสำปะหลัง เครื่องงัดหัวมันสำปะหลัง

อุปกรณ์เก็บเก็บตัวอย่างดินก่อนและหลังปลูกมันสำปะหลัง จอบ เสียม ตู้อบลมร้อน สายวัด ตลับเมตร ไม้วัดเวอร์เนียคาลิปเปอร์ กระดาษชาร์ต กล้องถ่ายรูป และอื่นๆ

### วิธีการ

**ขั้นตอนและวิธีในการวิจัย ดำเนินการตามขั้นตอนต่อไปนี้**

1. ประชุมหารือกับกลุ่มเกษตรกร หน่วยงานภาครัฐและเอกชน ที่สนใจเข้าร่วมโครงการ เพื่อร่วมวางแผนการดำเนินงาน ตั้งแต่คัดเลือกผู้เข้ารับการอบรม จัดกิจกรรมอบรม จัดทำแปลงเรียนรู้และการติดตามประเมินผล
2. จัดเตรียมเอกสาร สถานที่ และวัสดุอุปกรณ์ สำหรับการถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตมันสำปะหลัง
3. ดำเนินการถ่ายทอดเทคโนโลยี โดยการจัดทำแปลงเรียนรู้เทคโนโลยีการผลิตมันสำปะหลังเพื่อการสาธิตและฝึกปฏิบัติจำนวน 5 ราย พื้นที่ 5 ไร่ ได้แก่

- เทคโนโลยีการเตรียมดินสาธิตการเตรียมดินที่ถูกต้องตามลักษณะเนื้อดินเปรียบเทียบกับวิธีการเตรียมดินของเกษตรกร
- เทคโนโลยีด้านพันธุ์และการปลูกที่เหมาะสมปลูกเปรียบเทียบพันธุ์มันสำปะหลังที่เหมาะสมกับพื้นที่โดยใช้วิธีการปลูกตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร
- เทคโนโลยีการให้น้ำ สาธิตการให้น้ำมันสำปะหลังโดยใช้ระบบน้ำหยด เพื่อให้มีการใช้น้ำอย่างมีประสิทธิภาพ
- เทคโนโลยีการใส่ปุ๋ย สาธิตการใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน เปรียบเทียบกับการใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินที่เป็นการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ร่วมกับปุ๋ยเคมี
- เทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช ได้แก่ การจัดการวัชพืชเพลี้ยแป้งและไรแดง รวมทั้งศัตรูพืชชนิดอื่น ๆ ที่พบในพื้นที่
- เทคโนโลยีการใช้เครื่องจักรกลการเกษตรสาธิตการใช้เครื่องจักรกลการเกษตรในการผลิตมันสำปะหลังตั้งแต่การเตรียมดิน การปลูก การกำจัดวัชพืช การเก็บเกี่ยว (เครื่องขุดมันสำปะหลัง) การหั่นย่อยเหง้ามันและการผลิตมันเส้นสะอาด

4. สรุปบทเรียนร่วมกับเกษตรกร ภาครัฐ และภาคเอกชน เพื่อให้เกิดการแลกเปลี่ยนเรียนรู้ร่วมกันพร้อมสรุปผลการดำเนินงานและการประเมินความพึงพอใจ

โดยผู้เข้ารับการฝึกอบรมได้ตอบหลังจากได้รับการฝึกอบรมเสร็จสิ้นแล้ว ซึ่งได้แบ่งการสอบถามออกเป็น 3 ส่วน คือ

1. ทดสอบก่อนได้รับการฝึกอบรม (แบบ Pre-test) ใช้แบบทดสอบโดยให้ผู้เข้ารับการฝึกอบรมเติมข้อความหรือความหมายลงในช่องว่าง โดยให้คะแนนเต็ม 10 คะแนน (10 ข้อ)
2. ทดสอบหลังได้รับการฝึกอบรมเสร็จสิ้นแล้ว (แบบ Post - test) โดยใช้แบบทดสอบชุดเดียวกันกับแบบทดสอบก่อนได้รับการฝึกอบรม (แบบ Pre - test) และให้คะแนนเต็ม 10 คะแนน (10 ข้อ) เช่นเดียวกัน
3. เมื่อได้รับการฝึกอบรม เสร็จสิ้นแล้ว (After- Course Session) ใช้แบบสอบถาม (Questionnaire) เพื่อประเมินผลเมื่อได้รับการฝึกถบรมครบหมดทุกวิชาในหลักสูตร โดยให้ผู้เข้ารับการฝึกอบรมตอบแบบสอบถามแบแสดงทัศนคติ, ความคิดเห็น, ความต้องการและข้อเสนอแนะจากผู้เข้ารับการฝึกอบรมอย่างอิสระเต็มที่ โดยใช้คำถามแบบเปิด (Open-ended

Question) เพื่อจะได้ข้อมูลพื้นฐานและภาพรวมของการขัดการเรื่อง หลักสูตร เนื้อหาวิชา การให้บริการ ตลอดจนประโยชน์ที่ผู้เข้ารับการฝึกอบรมจะได้รับจากการฝึกอบรม โดยแบบสอบถามแบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ

3.1 ข้อมูลทั่วไปของผู้เข้ารับการฝึกอบรม

3.2 ระดับความพึงพอใจ/ความรู้ความเข้าใจ/การนำไปใช้ประโยชน์

3.3 การยอมรับเทคโนโลยี

โดยมีระดับคะแนน 5 ระดับ ดังนี้

| | |
|---|---|
| 0.00-1.00 | น้อยที่สุด |
| 1.01-2.00 | น้อย |
| 2.01-3.00 | ปานกลาง |
| 3.01-4.00 | มาก |
| 4.01-5.00 | มากที่สุด |

**การบันทึกข้อมูลแปลงเกษตรกรต้นแบบ**

1. ข้อมูลแปลงมันสำปะหลังของเกษตรกร เช่น สมบัติของดิน พันธุ์ แหล่งพันธุ์ ระยะปลูก อายุ การเจริญเติบโต ข้อมูลผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิต เป็นต้น
2. การดูแลรักษา เช่น การให้ปุ๋ย การให้น้ำ การกำจัดวัชพืช โรคและแมลงศัตรูและการป้องกันกำจัด เป็นต้น
3. ค่าใช้จ่าย รายได้ และผลตอบแทน
4. สภาพภูมิอากาศ เช่น อุณหภูมิ ปริมาณน้ำฝน การกระจายตัวของฝนตลอดทั้งปี เป็นต้น

**การบันทึกข้อมูลการจัดฝึกอบรมเกษตรกร**

1. คะแนนทดสอบก่อนและหลังการฝึกอบรม
2. ข้อมูลทั่วไปของผู้เข้าร่วมการฝึกอบรม
3. คะแนนความพึงพอใจหลังการฝึกอบรม

**ระยะเวลา** เริ่มต้น ตุลาคม 2563 สิ้นสุด กันยายน 2564

**สถานที่ทำการทดลอง** พื้นที่แปลงเกษตรกร อำเภอมัญจาคีรี จังหวัดขอนแก่น

## ผลการทดลองและวิจารณ์

ปี 2563/64 ได้คัดเลือกเกษตรกรเข้าร่วมการทดสอบ (เกษตรกรต้นแบบ) จำนวน 6 ราย โดยมีเกษตรกรบ้านนางาม 2 ราย และบ้านหนองสองห้อง 4 ราย (Table 1) ได้นำตัวอย่างดินไปวิเคราะห์โดยใช้ soil test kit ของกรมวิชาการเกษตรพบว่า pH ของดินอยู่ระหว่าง 4.0-5.5 ปริมาณอินทรียวัตถุ (OM,%) 1 % ปริมาณฟอสฟอรัส 10-30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้เป็นกลาง (Table 3) เมื่อเปรียบเทียบกับTable 2 (ใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน) พบว่าอัตราปุ๋ยที่เกษตรกรแปลงต้นแบบใช้ ได้แก่ 16-8-8 กิโลกรัม $N$-$P_2O_5$-$K_2O$ ต่อไร่ จำนวน 1 ราย และ 16-4-8 กิโลกรัม $N$-$P_2O_5$-$K_2O$ ต่อไร่ จำนวน 5 ราย (Table 4) พบว่า เกษตรกรเริ่มปลูกมันสำปะหลัง ในเดือน มีนาคม-เมษายน ได้นำปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-ทรีร่วมกับการใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดิน ไปให้เกษตรกรต้นแบบในเดือนพฤษภาคม เกษตรกรจะใส่ปุ๋ยหลังจากที่ฝนตกและดินมีความชื้นเพียงพอ ในระหว่างเดือนพฤษภาคม-มิถุนายน ต้นมันสำปะหลังของเกษตรกร 6 ราย เมื่ออายุ 3 เดือน มีความสูงเฉลี่ย กรรมวิธีทดสอบ 85 เซนติเมตร ส่วนกรรมวิธีเกษตรกร 82 เซนติเมตร และที่อายุ 6 เดือน มีความสูงเฉลี่ย กรรมวิธีทดสอบ 176 เซนติเมตร ส่วนกรรมวิธีเกษตรกร 157 เซนติเมตร ซึ่งมีความสูงแตกต่างกับ 19 เซนติเมตร (Table 5) โดยแปลงต้นแบบได้สุ่มเก็บเกี่ยวผลผลิตในระหว่างเดือนธันวาคม 2563 ได้ 3 ราย คือ นางคำไมย์ ป้องบุญจันทร์ นายอุดม กาญหาญ และ นายอรรถพล เขี่ยงถุ่ง มี 1 ราย ไม่สามารถสุ่มเก็บเกี่ยวผลผลิตมันสำปะหลังได้ เนื่องจากหัวมันสำปะหลังเน่า คือ นายประยุทธ พิลาดา ส่วนอีก 2 ราย สุ่มเก็บเกี่ยวผลผลิตในเดือน มกราคม 2564 เมื่อสุ่มผลผลิตแล้วพบว่าเกษตรกรต้นแบบสามารถผลิตมันสำปะหลังโดยวิธีการทดสอบได้ผลผลิต 4,279-7,106 กิโลกรัมต่อไร่ ส่วนวิธีการของเกษตรกรได้ผลผลิต 3,867-5,647 กิโลกรัมต่อไร่

จากค่าเฉลี่ยผลผลิตวิธีการทดสอบให้ผลผลิตสูงกว่าค่าเฉลี่ยผลผลิตวิธีการเกษตรกร 1,305 กิโลกรัมต่อไร่ ค่าเฉลี่ยปริมาณแป้งในหัวมันสำปะหลังสดสูงกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธีการทดสอบสูงกว่าวิธีการเกษตรกร 1.8 เปอร์เซ็นต์ (Table 6) ปี 2562-63 มีปริมาณน้ำฝนค่อนข้างต่ำ 778-908 มิลลิเมตรต่อปี (Table 15) ทำให้ผลผลิตมันสำปะหลังค่อนข้างต่ำ

ส่วนต้นทุนการผลิตพบว่า การใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-ทรีร่วมกับการใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดินมีต้นทุนการผลิตเฉลี่ยสูงกว่าวิธีของเกษตรกร จำนวน 142 บาท แต่สามารถเพิ่มรายได้เฉลี่ยให้แก่เกษตรกร 2,739 บาท หรือ คิดเป็นร้อยละ 28.6 (ราคาหัวมันสำปะหลังสด กิโลกรัมละ 2.10 บาท) และเมื่อคำนวณค่า BCR พบว่า วิธีทดสอบมีค่า BCR สูงกว่าวิธีเกษตรกร 0.47 (Table 7)

**Table 1** List of farmers, addresses and plot positions of farmers to participate in the development of a network of stakeholders through Khon Kaen Cassava Production Learning Process Manja kiri, Khon Kaen, 2020.

| ลำดับ | ชื่อ-สกุล | เลขที่ | หมู่ที่ | ตำบล | อำเภอ | จังหวัด | ตำแหน่งแปลง | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | X | Y |
| 1 | นายประยุทธ พิลาดา | 32 | 14 | นางงาม | มัญจาคีรี | ขอนแก่น | 48Q 226989 | 1797561 |
| 2 | นางวิลาวัลย์ ป้องขวาพล | 32 | 14 | นางงาม | มัญจาคีรี | ขอนแก่น | 48Q 226646 | 1797699 |
| 3 | นางคำไมย์ ป้องบุญจันทร์ | 35 | 1 | นางงาม | มัญจาคีรี | ขอนแก่น | 48Q 225588 | 1797959 |
| 4 | นายสุวิตร สยามล | 34 | 14 | นางงาม | มัญจาคีรี | ขอนแก่น | 48Q 226895 | 1799668 |
| 5 | นายอุดม กาญหาญ | - | 5 | นางงาม | มัญจาคีรี | ขอนแก่น | 48Q 223660 | 1791532 |
| 6 | นายอรรถพล เขี่ยงถุ่ง | 73 | 5 | นางงาม | มัญจาคีรี | ขอนแก่น | 48Q 221768 | 1791109 |

**Table 2** The use of chemical fertilizers based on soil analysis values for cassava.

| เนื้อดิน | ปริมาณธาตุอาหาร | | | คำแนะนำการใช้ปุ๋ย(กก./ไร่) | |
|---|---|---|---|---|---|
| | ตัวชี้วัด | ระดับ | ค่าวิเคราะห์ | ปุ๋ยอัตราสูง[1] | ปุ๋ยอัตราต่ำ[2] |
| ดินทรายถึงดินร่วนปนทราย | อินทรียวัตถุ(%) | ต่ำ | < 0.60 | ปุ๋ย N =16 | ปุ๋ย N =8 |
| | | ปานกลาง | 0.60-2.0 | ปุ๋ย N =8 | ปุ๋ย N =4 |
| | | สูง | > 2.0 | ปุ๋ย N =4 | ปุ๋ย N =2 |
| | ฟอสฟอรัส (มก./กก.) | ต่ำ | < 5 | ปุ๋ย $P_2O_5$ =16 | ปุ๋ย $P_2O_5$ =8 |
| | | ปานกลาง | 5-30 | ปุ๋ย $P_2O_5$ = 8 | ปุ๋ย $P_2O_5$ = 4 |
| | | สูง | > 30 | ปุ๋ย $P_2O_5$ = 4 | ปุ๋ย $P_2O_5$ = 2 |
| | โพแทสเซียม (มก./กก.) | ต่ำ | < 30 | ปุ๋ย $K_2O$ = 16 | ปุ๋ย $K_2O$ = 8 |
| | | ปานกลาง | 30-90 | ปุ๋ย $K_2O$ = 8 | ปุ๋ย $K_2O$ = 4 |
| | | สูง | >90 | ปุ๋ย $K_2O$ = 4 | ปุ๋ย $K_2O$ = 2 |
| ดินร่วนถึงดินเหนียว | อินทรียวัตถุ(%) | มีมากเกิน | > 1.2 | ใช้วัสดุอินทรีย์ปรับปรุงดินอัตรา 1-2 ตัน/ไร่ | ใช้วัสดุอินทรีย์ปรับปรุงดินอัตรา 0.5-1 ตัน/ไร่ |
| | ฟอสฟอรัส (มก./กก.) | ต่ำ | < 5 | | |
| | โพแทสเซียม (มก./กก. | สูง | >90 | | |

ที่มา : กอบเกียรติและคณะ, 2554.

**Table 3** List of farmers and soil properties of farmers to participate in the development of stakeholder networks through Khon Kaen Cassava Production Learning Process Manja kiri, Khon Kaen, 2020.

| ลำดับที่ | ชื่อ - นามสกุล | ผลวิเคราะห์ดิน | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | pH | OM (%) | Avail.P (mg/kg) | Exch.K (mg/kg) |
| 1 | นายประยุทธ พิลาดา | 5.0 | 1.0 | 10 | กลาง |
| 2 | นางวิลาวัลย์ ป้องขวาพล | 5.5 | 1.0 | 30 | กลาง |
| 3 | นางคำไมย์ ป้องบุญจันทร์ | 5.0 | 1.0 | 30 | กลาง |
| 4 | นายสุวิตร สยามล | 4.5 | 1.0 | 30 | กลาง |
| 5 | นายอุดม กาญหาญ | 4.5 | 1.0 | 30 | กลาง |
| 6 | นายอรรถพล เขี่ยงถุ่ง | 4.0 | 1.0 | 30 | กลาง |

**หมายเหตุ** วิเคราะห์ดินด้วย Soil Test Kit ของกรมวิชาการเกษตร

**Table 4** List of Farmers Chemical Fertilizer Rates of Test Plots Developing Stakeholder Networks Through Khon Kaen Cassava Production Learning Process Manja kiri, Khon Kaen, 2020.

| ลำดับ | ชื่อ-สกุล | วิธีทดสอบ (กก./ไร่) | | | วิธีเกษตรกร (กก./ไร่) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | N | $P_2O_5$ | $K_2O$ | N | $P_2O_5$ | $K_2O$ |
| 1 | นายประยุทธ พิลาดา | 16 | 8 | 8 | 4.8 | 2.4 | 2.4 |
| 2 | นางวิลาวัลย์ ป้องขวาพล | 16 | 4 | 8 | 4.8 | 2.4 | 2.4 |
| 3 | นางคำไมย์ ป้องบุญจันทร์ | 16 | 4 | 8 | 6.2 | 5.0 | 5.0 |
| 4 | นายสุวิตร สยามล | 16 | 4 | 8 | 4.0 | 2.0 | 2.0 |
| 5 | นายอุดม กาญหาญ | 16 | 4 | 8 | 7.5 | 7.5 | 7.5 |
| 6 | นายอรรถพล เขี่ยงถุ่ง | 16 | 4 | 8 | 8.0 | 8.0 | 4.0 |

**Table 5** Average Height (cm) of cassava trees of test plots Develop stakeholder networks Through the process of learning to produce cassava in Khon Kaen province. Manja kiri, Khon Kaen, 2020.

| ลำดับ | ชื่อ-สกุล | วิธีทดสอบ ความสูง (ซม.) | | วิธีเกษตรกร ความสูง (ซม.) | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 3 เดือน | 6 เดือน | 3 เดือน | 6 เดือน |
| 1 | นายประยุทธ พิลาดา | 95 | 190 | 87 | 174 |
| 2 | นางวิลาวัลย์ ป้องขวาพล | 69 | 171 | 65 | 149 |
| 3 | นางคำไมย์ ป้องบุญจันทร์ | 93 | 187 | 91 | 170 |
| 4 | นายสุวิตร สยามล | 75 | 156 | 72 | 154 |
| 5 | นายอุดม กาญหาญ | 82 | 150 | 80 | 127 |
| 6 | นายอรรถพล เขี่ยงถุ่ง | 98 | 202 | 97 | 167 |
| | เฉลี่ย | 85 | 176 | 82 | 157 |

**Table 6** Average Height (cm) yield (kg per rai) and starch content (percentage) of cassava of the test plot develop a network of stakeholders through the cassava production learning process in Khon Kaen province. Manja kiri, Khon Kaen, 2020.

| ลำดับ | ชื่อ-สกุล | วิธีทดสอบ | | | วิธีเกษตรกร | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ความสูง (ซม.) | ผลผลิต (กก./ไร่) | ปริมาณแป้ง (%) | ความสูง (ซม.) | ผลผลิต (กก./ไร่) | ปริมาณแป้ง (%) |
| 1 | นายประยุทธ พิลาดา | MS | MS | MS | MS | MS | MS |
| 2 | นางวิลาวัลย์ ป้องขวาพล | 188 | 7,106 | 31.3 | 156 | 5,647 | 31.7 |
| 3 | นางคำไมย์ ป้องบุญจันทร์ | 238 | 6,187 | 26.3 | 207 | 3,947 | 24.0 |
| 4 | นายสุวิตร สยามล | 175 | 6,024 | 26.6 | 160 | 4,894 | 24.8 |
| 5 | นายอุดม กาญหาญ | 176 | 5,714 | 23.6 | 150 | 4,432 | 21.6 |
| 6 | นายอรรถพล เขี่ยงถุ่ง | 201 | 4,279 | 26.4 | 167 | 3,867 | 23.1 |
| | เฉลี่ย | 196 | 5,862 | 26.8 | 168 | 4,557 | 25.0 |

**หมายเหตุ** MS ไม่สามารถสุ่มเก็บเกี่ยวผลผลิตมันสำปะหลังได้ เนื่องจากหัวมันสำปะหลังเน่า

**Table 7** Cost (Baht) Revenue (Baht) and BCR value of stakeholder network development test plots Through the process of learning to produce cassava in Khon Kaen province. Manja kiri, Khon Kaen, 2020.

| ลำดับ | ชื่อ-สกุล | วิธีทดสอบ | | | วิธีเกษตรกร | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ต้นทุน (บาท) | รายได้ (บาท) | ค่า BCR | ต้นทุน (บาท) | รายได้ (บาท) | ค่า BCR |
| 1 | นายประยุทธ พิลาดา | MS | MS | MS | MS | MS | MS |
| 2 | นางวิลาวัลย์ ป้องขวาพล | 4,530 | 14,923 | 3.29 | 4,320 | 11,859 | 2.75 |
| 3 | นางคำไมย์ ป้องบุญจุนทร์ | 3,191 | 12,993 | 4.07 | 3,370 | 8,289 | 2.46 |
| 4 | นายสุวิตร สยามล | 1,505 | 12,650 | 8.41 | 1,204 | 10,277 | 8.54 |
| 5 | นายอุดม กาญหาญ | 1,391 | 11,999 | 8.63 | 1,085 | 9,307 | 8.58 |
| 6 | นายอรรถพล เขี่ยงถุ่ง | 2,131 | 8,986 | 4.22 | 2,060 | 8,121 | 3.94 |
| | เฉลี่ย | 2,550 | 12,310 | 5.72 | 2,408 | 9,571 | 5.25 |

หมายเหตุ ราคาหัวมันสำปะหลังสด เฉลี่ย กิโลกรัมละ 2.10 บาท

ปี 2563 ได้จัดประชุมหารือกับกลุ่มเกษตรกร ที่สนใจเข้าร่วมโครงการฯ เพื่อร่วมวางแผนการดำเนินงาน คัดเลือกผู้เข้ารับการอบรม ได้ให้ความรู้เบื้องต้นแก่เกษตรบางส่วน แล้วในเดือนตุลาคม 2562 โดยจะจัดฝึกอบรมเกษตรกร ณ อบต.นางาม อ.มัญจาคีรี จ.ขอนแก่น มีเกษตรกรเป้าหมายเข้าร่วมการฝึกอบรม จำนวน 30 ราย เกษตรกรจาก 3 หมู่บ้าน ได้แก่ บ้านโนนงาม บ้านนางาม และบ้านหนองสองห้อง ส่วนแปลงเรียนรู้เทคโนโลยีการผลิตมันสำปะหลังเพื่อการสาธิตและฝึกปฏิบัติจำนวน 5 ราย พื้นที่ 5 ไร่ จะคัดเลือกเกษตรกร ที่ บ้านหนองสองห้อง จำนวน 3 ราย และบ้านนางาม จำนวน 2 ราย โดยจะคัดเลือกเกษตรกรหลังจากจัดฝึกอบรมเกษตรกรแล้ว ซึ่งได้เตรียมการจัดการฝึกอบรมทุกอย่างพร้อมแล้ว ตามกำหนดการจะต้องจัดการฝึกอบรมเกษตรกรภายในเดือนมีนาคม 2563 แต่เนื่องจากมีการระบาดของโรค COVID-19 .ประเทศไทยและจังหวัดขอนแก่น หากจะจัดการฝึกอบรมอาจจะทำให้เจ้าหน้าที่และเกษตรกรมีความเสี่ยงติด COVID-19 จึงต้องเลื่อนการฝึกอบรมเกษตรกรออกไป จนกว่าการแพร่ระบาดของโรค COVID-19 จะสิ้นสุดลง

เมื่อสถานการณ์การระบาดของโรคโรค COVID-19 ลดลง จึงได้ดำเนินการจัดการฝึกอบรม หลักสูตร การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตมันสำปะหลัง ภายใต้โครงการพัฒนาเครือข่ายผู้มีส่วนได้ส่วนเสียผ่านกระบวนการเรียนรู้การผลิตมันสำปะหลังจังหวัดขอนแก่น จำนวน 1 ครั้ง ผู้เข้าร่วมงาน 30 คน จำนวนผู้จัดอบรมและวิทยากร 5 คน รวมทั้งสิ้น 35 คน ในวันที่ 30 มิถุนายน 2563 ณ อบต.นางาม อ.มัญจาคีรี จ.ขอนแก่น มีวัตถุประสงค์ ดังนี้ 1. เพื่อเสริมสร้างทักษะให้แก่เกษตรกรเกี่ยวกับการจัดการดินจนถึงการเก็บเกี่ยว ในการผลิตมันสำปะหลังอย่างถูกวิธี และมีประสิทธิภาพ และ 2. เพื่อลดต้นทุน เพิ่มผลผลิตทั้งคุณภาพและปริมาณ สามารถเพิ่มรายได้ ให้แก่เกษตรกรผู้ผลิตมันสำปะหลัง โดยวิทยากร เป็นนักวิชาการเกษตรจากศูนย์วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตรขอนแก่น

**วิธีดำเนินการ**

1) ทดสอบความรู้ของเกษตรกรเบื้องต้นโดยใช้แบบทดสอบ

2) บรรยายภาคทฤษฎี โดยใช้เอกสารการฝึกอบรมและวิธีปฏิบัติจริงในหัวข้อสำคัญ เช่น พันธุ์และการเขตกรรมของมันสำปะหลัง การป้องกันกำจัดโรคและแมลงศัตรูของมันสำปะหลัง เครื่องจักรกลการเกษตรในการผลิตมันสำปะหลังและการเก็บตัวอย่างดินและวิเคราะห์ดิน คุณสมบัติและการเลือกใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินในมันสำปะหลัง

3) ทดสอบความรู้ของเกษตรกรหลังจากฝึกอบรมโดยใช้แบบทดสอบ

คะแนนทดสอบความรู้ก่อน-หลัง และความพึงพอใจของเกษตรกรที่เข้ารับการฝึกอบรม อยู่ระหว่างการรวบรวมและวิเคราะห์ผล จะรวบรวมรายงานภายในไตรมาส 4

**การประเมินผลก่อน-หลังการฝึกอบรม และความพึงพอใจ**

**1. ผลการประเมินความรู้ผู้เข้ารับการถ่ายทอดความรู้**

- คะแนนทดสอบก่อนและหลังการฝึกอบรม

| | |
|---|---|
| คะแนนก่อนการฝึกอบรม | เฉลี่ย 8.6 คะแนน |
| คะแนนหลังการฝึกอบรม | เฉลี่ย 9.2 คะแนน |

(ตารางผนวกที่ 1)

หลังจากเกษตรกรเข้าร่วมการฝึกอบรมแล้ว สามารถทำคะแนนหลังการฝึกอบรมมากกว่าก่อนการฝึกอบรม ร้อยละ 100

**2. ผลการประเมินการยอมรับเทคโนโลยีและความพึงพอใจของผู้เข้ารับการถ่ายทอดความรู้**

**ส่วนที่ 1** ข้อมูลทั่วไปผู้เข้าร่วมกิจกรรม

- มีเกษตรกรเข้าร่วมการฝึกอบรม 30 ราย
  - เพศหญิง ร้อยละ 83
  - เพศชาย ร้อยละ 17
- อายุ
  - 41-50 ปี ร้อยละ 56
  - อายุ 50 ปี ขึ้นไป ร้อยละ 44
- การศึกษา
  - ระดับประถมศึกษา ร้อยละ 60
  - มัธยมศึกษาตอนปลายหรือเทียบเท่า ร้อยละ 24
- เป็นเกษตรกรและทำไร่ ร้อยละ 100

**ส่วนที่ 2** ประโยชน์ที่ได้รับจากการเข้าร่วมโครงการ (ความคิดเห็นจากเกษตรกร)

- สามารถนำความรู้ที่ได้รับไปใช้ในการปลูกมันสำปะหลัง
- ได้ความรู้เรื่องปุ๋ยดีมาก และเรื่องแมลงศัตรูมันสำปะหลัง
- สามารถนำไปใช้ประโยชน์ และต่อยอดการทำเกษตร
- ให้ความรู้เกี่ยวกับพันธุ์มันสำปะหลัง และการดูแลมันสำปะหลัง

- ข้อมูลในการใช้ปุ๋ยและสารเคมี
- ได้รับประโยชน์ที่มองข้าม

**ส่วนที่ 3** ความพึงพอใจและการยอมรับเทคโนโลยีจากกรมวิชาการเกษตร

**-** เกษตรกรที่เข้าร่วมการถ่ายทอดเทคโนโลยี มีความรู้ ความเข้าใจ ก่อนการฝึกอบรม

ระดับมาก-มากที่สุด ร้อยละ 85 และ

- มีความรู้ ความเข้าใจ ก่อนการฝึกอบรม

ระดับมาก-มากที่สุด ร้อยละ 100

- ประโยชน์ที่เกษตรกรได้รับจากการฝึกอบรม การถ่ายทอดความรู้มีความชัดเจน การสร้างบรรยากาศในการฝึกอบรมและ เปิดโอกาสให้ผู้เข้าร่วมการฝึกอบรมแสดงความคิดเห็น

ระดับมาก-มากที่สุด ร้อยละ 100

- ความครบถ้วนของเนื้อหาในการฝึกอบรม

ระดับมาก-มากที่สุด ร้อยละ 95

**ส่วนที่ 4** ความคิดเห็นและข้อเสนอแนะ

- มีการนำเสนอดี วิทยากรถ่ายทอดความรู้ได้เข้าใจง่าย
- อยากให้ทำการอบรมบ่อยๆ

ข้อเสนอแนะ

- อบรมเกี่ยวกับการลดต้นทุนการผลิต
- หัวข้ออะไรก็ได้ที่จะเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกร

ในปี 2564 ได้จัดประชุมหารือกับกลุ่มเกษตรกรและเจ้าหน้าที่กรมส่งเสริมการเกษตร ที่รับผิดชอบ อ.มัญจาคีรี จ.ขอนแก่น ที่สนใจเข้าร่วมโครงการฯ เพื่อร่วมวางแผนการดำเนินงาน คัดเลือกผู้เข้ารับการอบรม/วันนัดพบเกษตรกร (Field Day) ได้ให้ความรู้เบื้องต้นแก่เกษตรบางส่วน แล้วในเดือนธันวาคม 2563 โดยจะจัดฝึกอบรมเกษตรกร/วันนัดพบเกษตรกร (Field Day) ณ อบต.นางาม/แปลงมันสำปะหลังของเกษตรกร ต.นางาม อ.มัญจาคีรี จ.ขอนแก่น มีเกษตรกรเป้าหมายเข้าร่วมการฝึกอบรม จำนวน 100 ราย เกษตรกรจาก 3 หมู่บ้าน ได้แก่ บ้านโนนงาม บ้านนางาม และบ้านหนองสองห้อง ของ ต.นางาม อ.มัญจาคีรี จ.ขอนแก่นแต่เนื่องจากสถานการณ์โควิด 2019 ในปีนี้จึงยังไม่สามารถจัดงานดังกล่าวได้

ได้คัดเลือกเกษตรกรแปลงต้นแบบจำนวน 5 ราย โดยมีเกษตรกรบ้านหนองสองห้อง 5 ราย (Table 8) พบว่าเกษตรกรเริ่มปลูกมันสำปะหลัง ในเดือน กุมภาพันธ์-เมษายน 2564 ได้นำตัวอย่างดินไปวิเคราะห์โดยใช้ Soil Test Kit ของกรมวิชาการเกษตรพบว่า pH ของดินอยู่ระหว่าง 4.0-5.5 ปริมาณอินทรียวัตถุ (OM,%) 1 % ปริมาณฟอสฟอรัส 10-30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้เป็นกลาง (Table 10) เมื่อเปรียบเทียบกับTable 2 (ใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน) พบว่าอัตราปุ๋ยที่เกษตรกรแปลงต้นแบบใช้ ได้แก่ 16-8-8 กิโลกรัม N-$P_2O_5$-$K_2O$ ต่อไร่ จำนวน 3 ราย และ 16-4-8 กิโลกรัม N-$P_2O_5$-$K_2O$ ต่อไร่ จำนวน 2 ราย (Table 11) โดยเกษตรกรได้นำปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-ทรีร่วมกับการใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดินแล้ว จำนวน 5 ราย โดยเกษตรกรต้นแบบทั้ง 5 ราย ที่มันสำปะหลังอายุครบ 6 เดือน โดยมีความสูงเฉลี่ย 164 เซนติเมตร (Table 12) ได้สุ่มเก็บเกี่ยวผลผลิตในเดือน ธันวาคม 2564 เมื่อสุ่มผลผลิตแล้วพบว่าเกษตรกรต้นแบบสามารถผลิตมันสำปะหลังโดยวิธีการทดสอบได้ผลผลิต 1,956-6,267 กิโลกรัมต่อไร่ ค่าเฉลี่ยปริมาณแป้งในหัวมันสำปะหลังสด 29.9 เปอร์เซ็นต์ (Table 13) จากการสุ่มผลผลิตพบว่าผลผลิตมันสำปะหลังของเกษตรกรต้นแบบต่ำมาก เนื่องจากในเดือนกันยายน 2564 มีปริมาณฝนตกค่อนข้างสูงมาก คือ 238.4 มิลลิเมตร (Table 15) ทำให้หัวมันสำปะหลังของเกษตรกรเกิดอาการเน่าเป็นจำนวนมาก

ส่วนต้นทุนการผลิตพบว่า การใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-ทรีร่วมกับการใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดินมีต้นทุนการผลิต จำนวน 1,905-4,025 บาท และมีค่า BCR 2.00-8.22 (Table 7)

**Table 8** List of Prototype Farmers, Plantations, Addresses and Coordinates of Cassava Plots, Manjakhiri District, Khon Kaen Province, 2021.

| รายชื่อเกษตรกร | พื้นที่ปลูกมันสำปะหลังทั้งหมด(ไร่) | ที่อยู่ | พิกัดแปลง | |
|---|---|---|---|---|
| นางรุ่งฤดี ชำนาญ | 4 | 330 ม.14 ต.นางาม อ.มัญจาคีรี จ.ขอนแก่น | 48Q 225671 | 1798105 |
| นายเทพไทย แก้วดงศรี | 4 | 139 ม.14 ต.นางาม อ.มัญจาคีรี จ.ขอนแก่น | 48Q 227024 | 1797675 |
| นางกมลรัตน์ แสงสุข | 3 | 176 ม.14 ต.นางาม อ.มัญจาคีรี จ.ขอนแก่น | 48Q 227065 | 1797622 |
| นางมาลี คำชู | 9 | 247 ม.14 ต.นางาม อ.มัญจาคีรี จ.ขอนแก่น | 48Q 225730 | 1797220 |
| นางมณีรัตน์ ศรีโชติ | 9 | 280 ม.1 ต.นางาม อ.มัญจาคีรี จ.ขอนแก่น | 48Q 224470 | 1796730 |

**Table 9** List of Prototype Farmers, Varieties, Planting Periods, Planting Dates and Technologies Used by Cassava Plot Prototype, Manjakhiri District, Khon Kaen Province, 2021.

| รายชื่อเกษตรกร | พันธุ์ | ระยะปลูก (ซม.) | วันปลูก | เทคโนโลยีที่ใช้ |
|---|---|---|---|---|
| นางรุ่งฤดี ชำนาญ | เกษตรยักษ์ | 80x120 | 15 ก.พ.64 | ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดินร่วมกับปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-3 |
| นายเทพไทย แก้วดงศรี | 89 | 80x120 | 20 ก.พ.64 | ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดินร่วมกับปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-3 |
| นางกมลรัตน์ แสงสุข | เกษตรยักษ์ | 80x120 | 30 เม.ย.64 | ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดินร่วมกับปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-3 |
| นางมาลี คำชู | เกษตรยักษ์ | 60x100 | 7 เม.ย.64 | ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดินร่วมกับปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-3 |
| นางมณีรัตน์ ศรีโชติ | เกษตรยักษ์ | 60x100 | 3 เม.ย.64 | ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดินร่วมกับปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-3 |

**Table 10** List of Farmers and Soil Properties of Farmer Plots Participating in The Development of Stakeholder Networks Through the process of learning to produce cassava in Khon Kaen province. Manjakhiri, Khon Kaen, 2021.

| ลำดับที่ | รายชื่อเกษตรกร | ผลวิเคราะห์ดิน | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | pH | OM (%) | Avail.P (mg/kg) | Exch.K (mg/kg) |
| 1 | นางรุ่งฤดี ชำนาญ | 5.0 | 1.0 | 10 | กลาง |
| 2 | นายเทพไทย แกวดงศรี | 5.5 | 1.0 | 30 | กลาง |
| 3 | นางกมลรัตน์ แสงสุข | 5.5 | 1.0 | 30 | กลาง |
| 4 | นางมาลี คำชู | 4.5 | 1.0 | 10 | กลาง |
| 5 | นางมณีรัตน์ ศรีโชติ | 4.5 | 1.0 | 10 | กลาง |

**หมายเหตุ** วิเคราะห์ดินด้วย Soil Test Kit ของกรมวิชาการเกษตร

**Table 11** List of Farmers Chemical Fertilizer Rates of Prototype Plots in The Development of Stakeholder Networks Through Cassava Production Learning Process, Manja kiri District, Khon Kaen Province, 2021.

| ลำดับที่ | รายชื่อเกษตรกร | อัตราปุ๋ย (กก./ไร่) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | N | $P_2O_5$ | $K_2O$ |
| 1 | นางรุ่งฤดี ชำนาญ | 16 | 8 | 8 |
| 2 | นายเทพไทย แกวดงศรี | 16 | 4 | 8 |
| 3 | นางกมลรัตน์ แสงสุข | 16 | 4 | 8 |
| 4 | นางมาลี คำชู | 16 | 8 | 8 |
| 5 | นางมณีรัตน์ ศรีโชติ | 16 | 8 | 8 |

**Table 12** List of Prototype Farmers Height (cm), Age 3 and 6 Months of Cassava Plot Prototype, Manjakhiri District, Khon Kaen Province, 2021.

| รายชื่อเกษตรกร | ความสูง 3 เดือน (ซม.) | ความสูง 6 เดือน (ซม.) |
|---|---|---|
| นางรุ่งฤดี ชำนาญ | 94 | 175 |
| นายเทพไทย แก้งดงศรี | 84 | 164 |
| นางกมลรัตน์ แสงสุข | 76 | 172 |
| นางมาลี คำชู | 81 | 147 |
| นางมณีรัตน์ ศรีโชติ | 72 | 163 |
| เฉลี่ย | 81 | 164 |

**Table 13** Average Height (cm) yield (kg per rai) and starch content (percentage) of cassava of the test plot develop a network of stakeholders through the cassava production learning process in Khon Kaen province. Manjakhiri, Khon Kaen, 2021.

| ลำดับ | ชื่อ-สกุล | วิธีทดสอบ | | | วิธีเกษตรกร | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ความสูง (ซม.) | ผลผลิต (กก./ไร่) | ปริมาณแป้ง (%) | ความสูง (ซม.) | ผลผลิต (กก./ไร่) | ปริมาณแป้ง (%) |
| 1 | นางรุ่งฤดี ชำนาญ | 197 | 6,267 | 29.3 | 200 | 1,689 | 27.2 |
| 2 | นายเทพไทย แก้วดงศรี | 183 | 3,733 | 25.9 | 171 | 3,378 | 23.1 |
| 3 | นางกมลรัตน์ แสงสุข | 232 | 4,356 | 29.5 | 198 | 3,733 | 27.8 |
| 4 | นางมาลี คำชู | 163 | 2,800 | 32.5 | 144 | 1,556 | 31.0 |
| 5 | นางมณีรัตน์ ศรีโชติ | 198 | 1,956 | 32.2 | 155 | 1,822 | 28.5 |
| | เฉลี่ย | 195 | 3,822 | 29.9 | 174 | 2,436 | 27.5 |

หมายเหตุ ผลผลิตมันสำปะหลังของเกษตรกรต่ำเนื่องจากเกิดโรคหัวมันเน่า

**Table 14** Cost (Baht) Revenue (Baht) and BCR value of stakeholder network development test plots Through the process of learning to produce cassava in Khon Kaen province. Manjakhiri, Khon Kaen, 2021.

| ลำดับ | ชื่อ-สกุล | วิธีทดสอบ | | | วิธีเกษตรกร | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ต้นทุน (บาท) | รายได้ (บาท) | ค่า BCR | ต้นทุน (บาท) | รายได้ (บาท) | ค่า BCR |
| 1 | นางรุ่งฤดี ชำนาญ | 1,905 | 15,668 | 8.22 | 1,425 | 4,223 | 2.96 |
| 2 | นายเทพไทย แก้วดงศรี | 4,025 | 9,333 | 2.32 | 3,585 | 8,445 | 2.36 |
| 3 | นางกมลรัตน์ แสงสุข | 2,940 | 10,890 | 3.70 | 2,720 | 9,333 | 3.43 |
| 4 | นางมาลี คำชู | 2,540 | 7,000 | 2.76 | 2,070 | 3,890 | 1.88 |
| 5 | นางมณีรัตน์ ศรีโชติ | 2,445 | 4,890 | 2.00 | 2,135 | 4,555 | 2.13 |
| | เฉลี่ย | 2,771 | 9,555 | 3.45 | 2,387 | 6,090 | 2.55 |

หมายเหตุ ราคาหัวมันสำปะหลังสด เฉลี่ย กิโลกรัมละ 2.50 บาท

ปี 2564 ได้จัดงานวันถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตมันสำปะหลังให้แก่เกษตรกร ณ ต.นางาม อ.มัญจาคีรี จ.ขอนแก่น มีเกษตรกรเป้าหมายเข้าร่วมการฝึกอบรม จำนวน 100 ราย เกษตรกรจาก 2 หมู่บ้าน ได้แก่ บ้านนางาม และบ้านหนองสองห้อง ซึ่งได้เตรียมการจัดการฝึกอบรมทุกอย่างพร้อมแล้ว ตามกำหนดการจะต้องจัดการฝึกอบรมเกษตรกรภายในเดือนมีนาคม 2564 แต่เนื่องจากมีการระบาดของโรค COVID-19 .ประเทศไทยและจังหวัดขอนแก่น หากจะจัดการฝึกอบรมอาจจะทำให้เจ้าหน้าที่และเกษตรกรมีความเสี่ยงติด COVID-19 จึงต้องเลื่อนการฝึกอบรมเกษตรกรออกไป และสามารถดำเนินการจัดการฝึกอบรมและถ่ายทอดเทคโนโลยี หลักสูตร การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตมันสำปะหลัง ภายใต้กิจกรรมพัฒนาเครือข่ายผู้มีส่วนได้ส่วนเสียผ่านกระบวนการเรียนรู้การผลิตมันสำปะหลังจังหวัดขอนแก่น จำนวน 5 ครั้งๆละ 20 คน มีเกษตรกรร่วมงานจำนวน 100 คน จำนวนผู้จัดอบรมและวิทยากร 8 คน ในระหว่างวันที่ 23-27 สิงหาคม 2564 โดยในวันที่ 23-25 สิงหาคม 2564 จัดงานวันถ่ายทอดฯ ณ วัดบ้านหนองสองห้อง ต.นางาม อ.มัญจาคีรี จ.ขอนแก่น ในวันที่ 26-27 สิงหาคม 2564 จัดงานวันถ่ายทอดฯ ณ ห้องประชุม อบต.นางาม อ.มัญจาคีรี จ.ขอนแก่น มีวัตถุประสงค์ ดังนี้ 1. เพื่อเสริมสร้างทักษะให้แก่เกษตรกรเกี่ยวกับการจัดการดินจนถึงการเก็บเกี่ยว ในการผลิตมันสำปะหลังอย่างถูกวิธี และมีประสิทธิภาพ และ 2. เพื่อลดต้นทุน เพิ่มผลผลิตทั้งคุณภาพและปริมาณ สามารถเพิ่มรายได้ ให้แก่เกษตรกรผู้ผลิตมันสำปะหลัง โดยวิทยากร เป็นนักวิชาการเกษตรจากศูนย์วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตรขอนแก่น

**วิธีดำเนินการ**

1) ทดสอบความรู้ของเกษตรกรเบื้องต้นโดยใช้แบบทดสอบ

2) ภาคบรรยาย โดยใช้เอกสารการฝึกอบรมและวิธีปฏิบัติจริงในหัวข้อสำคัญ เช่น พันธุ์และการเขตกรรมของมันสำปะหลัง การป้องกันกำจัดโรคและแมลงศัตรูของมันสำปะหลัง เครื่องจักรกลการเกษตรในการผลิตมันสำปะหลังและการเก็บตัวอย่างดินและวิเคราะห์ดิน คุณสมบัติและการเลือกใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินในมันสำปะหลัง

3) ภาคสาธิต สาธิตลักษณะพันธุ์มันสำปะหลัง สาธิตการแช่ท่อนพันธุ์ สาธิตการใช้ปุ๋ยชีวภาพ และสาธิตการผสมปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดิน

4) ทดสอบความรู้ของเกษตรกรหลังจากฝึกอบรมโดยใช้แบบทดสอบ

คะแนนทดสอบความรู้ก่อน-หลัง และความพึงพอใจของเกษตรกรที่เข้ารับการฝึกอบรม อยู่ระหว่างการรวบรวมและวิเคราะห์ผล

**การประเมินผลก่อน-หลังการฝึกอบรม และความพึงพอใจ**

**1. ผลการประเมินความรู้ผู้เข้ารับการถ่ายทอดความรู้**

- คะแนนทดสอบก่อนและหลังการฝึกอบรม

คะแนนก่อนการฝึกอบรม เฉลี่ย 6.5 คะแนน

คะแนนหลังการฝึกอบรม เฉลี่ย 9.6 คะแนน

(ตารางผนวกที่ 2)

หลังจากเกษตรกรเข้าร่วมการฝึกอบรมแล้ว สามารถทำคะแนนหลังการฝึกอบรมมากกว่าก่อนการฝึกอบรม ร้อยละ 100

**2. ผลการประเมินการยอมรับเทคโนโลยีและความพึงพอใจของผู้เข้ารับการถ่ายทอดความรู้**

**ส่วนที่ 1** ข้อมูลทั่วไปผู้เข้าร่วมกิจกรรม มีเกษตรกรเข้าร่วมการฝึกอบรม 100 ราย

- เพศ
  - เพศหญิง ร้อยละ 50
  - เพศชาย ร้อยละ 50
- อายุ
  - 21-30 ปี ร้อยละ 1.0
  - 31-40 ปี ร้อยละ 4.1
  - 41-50 ปี ร้อยละ 21.7
  - 50-60 ปี ร้อยละ 37.1
  - 60 ขึ้นไป ร้อยละ 36.1
- ระดับการศึกษา
  - ระดับประถมศึกษา ร้อยละ 54
  - มัธยมศึกษาตอนปลายหรือเทียบเท่า ร้อยละ 28
- เป็นเกษตรกรและทำไร่ ร้อยละ 100

**ส่วนที่ 2** ระดับความพึงพอใจ/ความรู้ความเข้าใจ/การนำไปใช้ประโยชน์

พบว่า ด้านวิทยากร เกษตรกรมีความพึงพอใจมากที่สุดคือ เอกสารประกอบการบรรยายเหมาะสม ระดับ 4.43 รองลงมาคือ วิทยากรมีความเชี่ยวชาญในองค์ความรู้ที่อบรม ระดับ 4.31 ด้านเนื้อหาในการอบรม เกษตรกรมีความพึงพอใจมากที่สุดคือ เนื้อหามีประโยชน์กับการประกอบอาชีพของท่าน ระดับ 4.36 รองลงมาคือ เนื้อหาตรงกับความต้องการของท่าน ระดับ 4.30 ด้านความรู้ความเข้าใจ ก่อนการฝึกอบรมเกษตรกรความรู้ความเข้าใจ ระดับ 3.39 หลังการฝึกอบรมเกษตรกรความรู้ความเข้าใจ ระดับ 4.38 ด้านการบริหารจัดการฝึกอบรม เกษตรกรมีความพึงพอใจ มากที่สุดคือ ความพร้อมของสื่อ/อุปกรณ์/เอกสารการอบรม ระดับ 4.45 รองลงมาคือ ความเหมาะสมของการบริการอาหาร /เครื่องดื่ม ระดับ 4.42 และด้านการนำความรู้ไปใช้ เกษตรกรสามารถนำความรู้ที่ได้รับไปประยุกต์ใช้ในการพัฒนาการผลิตมันสำปะหลังที่มีประสิทธิภาพได้ ระดับ 4.51 (Table 14)

**Table 14** Satisfaction/Cognition/Adoption and SD Values of Participating Farmers transfer technology to develop a network of stakeholders through the cassava production learning process in Khon Kaen Province Manjakhiri, Khon Kaen, 2021.

| รายการ | ระดับความพึงพอใจ/ความรู้ความเข้าใจ/การนำไปใช้ | SD |
|---|---|---|
| **ด้านวิทยากร** | | |
| 1.วิทยากรมีความเชี่ยวชาญในองค์ความรู้ที่อบรม | 4.31 | 0.82 |
| 2.วิทยากรมีกระบวนการถ่ายทอดองค์ความรู้ที่ดี | 4.29 | 0.97 |
| 3.วิทยากรสามารถตอบคำถามได้ตรงประเด็น | 4.27 | 0.94 |
| 4.เอกสารประกอบการบรรยายเหมาะสม | 4.43 | 0.66 |
| **ด้านเนื้อหาในการอบรม** | | |
| 1.เนื้อหาตรงกับความต้องการของท่าน | 4.30 | 0.81 |
| 2.เนื้อหามีความสอดคล้องกับทรัพยากรและสภาพพื้นที่ | 4.14 | 0.95 |
| 3.เนื้อหาสอดคล้องกับวิถีชีวิตของท่าน | 4.29 | 0.79 |
| 4.เนื้อหามีประโยชน์กับการประกอบอาชีพของท่าน | 4.36 | 0.87 |

| | | |
|---|---|---|
| **ด้านความรู้ความเข้าใจ** | | |
| 1. ความรู้ความเข้าใจในเรื่องนี้ก่อนการอบรม | 3.93 | 1.00 |
| 2. ความรู้ความเข้าใจในเรื่องนี้หลังการอบรม | 4.38 | 0.67 |
| 3. สามารถบอกประโยชน์ที่ได้รับในการรวมอบรม | 4.31 | 0.78 |
| 4. สามารถอธิบายรายละเอียดได้ | 4.27 | 0.84 |
| **ด้านการบริหารจัดการฝึกอบรม** | | |
| 1.ความพร้อมของสื่อ /อุปกรณ์/เอกสารการอบรม | 4.45 | 0.68 |
| 2.ความเหมาะสมของระยะเวลาการอบรม | 4.39 | 0.60 |
| 3 ความเหมาะสมของสถานที่จัดการอบรม | 4.40 | 0.63 |
| 4 ความเหมาะสมของการบริการอาหาร /เครื่องดื่ม | 4.42 | 0.63 |
| **ด้านการนำความรู้ไปใช้** | | |
| 1. สามารถนำความรู้ที่ได้รับไปประยุกต์ใช้ในการพัฒนาการผลิตมันสำปะหลังที่มีประสิทธิภาพได้ | 4.51 | 0.61 |
| 2. สามารถนำความรู้ไปเผยแพร่/ถ่ายทอดแก่ เกษตรกรหรือผู้สนใจในชุมชนได้ | 4.41 | 0.62 |

**ส่วนที่ 3** การยอมรับเทคโนโลยี

พบว่า เกษตรกรที่เข้าร่วมการถ่ายทอดเทคโนโลยี ให้การยอมรับมากที่สุด คือ การใส่ปุ๋ยอย่างมีประสิทธิภาพ ถูกสูตร ถูกเวลา ถูกวิธี และ ถูกปริมาณ ระดับ 4.40 รองลงมา คือ การใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินในการผลิตมันสำปะหลัง ระดับ 4.29 (Table 15)

**Table 15** Acceptance Levels and SD Values of Farmers Participating in Network Development Technology Transfer Equity through the tapioca production learning process in Khon Kaen Province Manjakhiri, Khon Kaen, 2021.

| รายการ | ระดับการยอมรับ | SD |
|---|---|---|
| 1.การใส่ปุ๋ยอย่างมีประสิทธิภาพ ถูกสูตร ถูกเวลา ถูกวิธี และ ถูกปริมาณ | 4.40 | 0.66 |
| 2.การใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินในการผลิตมันสำปะหลัง | 4.29 | 0.68 |
| 3.การใช้ปุ๋ยชีวภาพ พีจีพีอาร์ ทรี สำหรับมันสำปะหลัง | 4.18 | 0.90 |
| 4.การใช้สารควบคุมวัชพืชก่อนงอกในการกำจัดวัชพืชในแปลงมันสำปะหลัง | 4.07 | 0.79 |
| 5.การแช่ท่อนพันธุ์ด้วยสารป้องกันกำจัดแมลงก่อนปลูก | 4.28 | 0.88 |
| 6.การจัดทำแปลงผลิตท่อนพันธุ์สะอาด | 4.19 | 0.81 |
| 7.การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตมันสำปะหลังด้วยระบบอินทรีย์ | 4.20 | 0.90 |
| 8.การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตมันสำปะหลังด้วยระบบเกษตรดีที่เหมาะสม | 4.26 | 0.77 |

**Table 15** Rainfall (mm) of Manjakhiri, Khon Kaen 2019-2020.

| ปี | ม.ค. | ก.พ. | มี.ค. | เม.ย. | พ.ค. | มิ.ย. | ก.ค. | ส.ค. | ก.ย. | ต.ค. | พ.ย. | ธ.ค. | รวม |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2562 | 0.0 | 9.2 | 44.1 | 65.7 | 111.7 | 45.9 | 48.4 | 300.5 | 129.3 | 9.2 | 14.0 | 0.0 | **778.0** |
| จำนวนวันฝนตก | 0 | 1 | 3 | 3 | 7 | 5 | 6 | 11 | 8 | 3 | 1 | 0 | **48.0** |
| 2563 | 0.0 | 0.0 | 19.3 | 50.6 | 144.6 | 160.1 | 126.5 | 246.2 | 154.3 | 70.7 | 8.6 | 0.0 | **980.9** |
| จำนวนวันฝนตก | 0 | 0 | 4 | 5 | 8 | 11 | 7 | 14 | 10 | 12 | 1 | 0 | **72.0** |
| 2564 | 0 | 25.1 | 36 | 188.9 | 124.6 | 56.8 | 93.2 | 53.7 | 238.4 | 64.5 | 0 | 0 | **881.2** |
| จำนวนวันฝนตก | 0 | 2 | 5 | 9 | 9 | 11 | 13 | 7 | 21 | 8 | 0 | 0 | **85.0** |

ที่มา : ศูนย์อุตุนิยมวิทยาภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการที่ขยายผลให้เกษตรกรทดสอบการใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดินร่วมกับปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-3 ในปี 2563 และ 2564 คัดเลือกเกษตรกรปีละ จำนวน 5 ราย พื้นที่ตำบลนางาม อำเภอมัญจาคีรี จังหวัดขอนแก่น เพื่อเป็นแปลงต้นแบบให้แก่เกษตรกรโดยทั่วไป พบว่า ในปี 2563 มันสำปะหลังที่ใช้วิธีการใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดิน (วิธีทดสอบ) ให้ผลผลิตสูงกว่าการใส่ปุ๋ยเคมีตามสูตรและอัตราเกษตรกร (วิธีเกษตรกร) ร้อยละ 28.6 ผลผลิตเฉลี่ยของวิธีทดสอบมากกว่าวิธีของเกษตรกร 1,305 กิโลกรัมต่อไร่ รายได้ของวิธีทดสอบสูงกว่าวิธีเกษตรกร 2,740 บาทต่อไร่ ส่วนในปี 2564 แปลงต้นแบบการผลิตมันสำปะหลังที่ใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-ทรีร่วมกับการใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดิน ให้ผลผลิตเฉลี่ย 3,822 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งผลผลิตค่อนข้างต่ำ เนื่องจากในเดือนกันยายน 2564 มีปริมาณฝนตกค่อนข้างสูงมาก คือ 238.4 มิลลิเมตร (Table 15) ทำให้หัวมันสำปะหลังของเกษตรกรเกิดอาการเน่าเป็นจำนวนมาก แต่ต้นทุนเฉลี่ยการผลิตมันสำปะหลังต่ำ จำนวน 2,771 บาทต่อไร่ ทำให้เกษตรกรยังสามารถได้กำไรจากการผลิตมันสำปะหลัง จำนวน 6,784 บาทต่อไร่ (ราคาหัวมันสำปะหลังสด กิโลกรัมละ 2.50 บาท) และมีค่า BCR เท่ากับ 3.45

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ได้ถ่ายเทคโนโลยีให้แก่เกษตรกร จำนวน 2 ครั้ง ในปี 2563 มีเกษตรกรเข้าร่วม จำนวน 30 ราย และ ปี 2564 จำนวน 100 ราย จากแบบสอบถามเกษตรกรได้ทำหลังการฝึกอบรม พบว่าเกษตรกรสามารถนำข้อมูลผลงานวิจัยแนะนำเกษตรกรผู้ผลิตมันสำปะหลังภายในและภายนอก ตำบลนางาม อำเภอมัญจาคีรี จังหวัดขอนแก่นได้ โดยการถ่ายทอดความรู้และข้อมูลผลการดำเนินงานของเกษตรกรที่ร่วมโครงการฯและกลุ่มเกษตรกรผู้ผลิตมันสำปะหลังเกษตรกรที่เข้าร่วมการถ่ายทอดเทคโนโลยี ให้การยอมรับมากที่สุด คือ การใส่ปุ๋ยอย่างมีประสิทธิภาพ ถูกสูตร ถูกเวลา ถูกวิธี และ ถูกปริมาณ รองลงมา คือ การใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินในการผลิตมันสำปะหลัง (Table 15) หากเกษตรกรผู้ผลิตมันสำปะหลังโดยทั่วไปสามารถ ใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดินร่วมกับปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-3 จะสามารถลดต้นทุนต่อหน่วย เพิ่มปริมาณ และคุณภาพ ของผลผลิตมันสำปะหลังได้จริงอย่างแน่นอน

## เอกสารอ้างอิง


กอบเกียรติ ไพศาลเจริญ วลัยพร ศะศิประภา นาวี จิระชีวี ก้อนทอง พัวประโคน โสภิตา สมคิด นาฏญา โสภา รังษี เจริญสถาพร เบญจมาศ คำสืบ นรีลักษณ์ วรรณสาย และอนุชิต ฉ่ำสิงห์. 2554. ดิน น้ำและการจัดการปลูกมันสำปะหลัง. สถาบันวิจัยพืชไร่. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพ. 48 หน้า

ชุมพล นาควิโรจน์ สันติ ธีราภรณ์ ดิสสพันธุ์ ธรรมาภิรมย์ ฉัตรชนก นพพรพรร กอบเกียรติ ไพศาลเจริญ และ วัลลีย์ อมรพล. 2551. การปรับปรุงดินด้วยวัสดุอินทรีย์ ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยเคมีเพื่อเพิ่มผลผลิตและคุณภาพผลผลิตมันสำปะหลังระยะยาวในดิน 3 ชุด. ใน การประชุมวิชาการประจำปี 2551 กรมวิชาการเกษตร วันที่ 16-18 มิถุนายน 2551 ณ โรงแรมมิราเคิล แกรนด์ คอนเวนชั่น กรุงเทพมหานคร. หน้า 92-93.

บุญช่วย สงฆนาม ปรีชา แสงโสดา สำนอง นวลอ่อน กิติพร เจริญสุข อมฤต วงษ์ศิริ และ จันทร์สว่าง ศรีหาตา. 2552. การทดสอบเทคโนโลยีเพื่อเพิ่มผลผลิตมันสำปะหลังในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน. ใน รายงานการประชุมวิชาการระบบเกษตรแห่งชาติ ครั้งที่ 5 เรื่อง พลังงานทดแทนและความมั่นคงทางอาหารเพื่อมนุษยชาติ วันที่ 2-4 กรกฎาคม 2552 ณ โรงแรมอุบลอินเตอร์เนชั่นแนล จ.อุบลราชธานี . กรมวิชาการเกษตร. หน้า 52-62.

ปรีชา แสงโสดา บุญช่วย สงฆนาม และ ก้อนทอง พวงประโคน. (2551). การทดสอบและพัฒนาเทคโนโลยีการเพิ่มผลผลิตมันสำปะหลังโดยเกษตรกรมีส่วนร่วมจังหวัดเลย. ในรายงานการสัมมนาทางวิชาการ งานวิจัยก้าวหน้าพัฒนาสู่พื้นที่ครั้งที่ 1 วันที่ 28-29 กรกฎาคม 2551 ณ ห้องประชุมช้างน้อย เขื่อนสิรินธร อำเภอสิรินธร จังหวัดอุบลราชธานี . กลุ่มวิชาการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4. กรมวิชาการเกษตร. หน้า 25-39

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2564. “รายงานมันสำปะหลังโรงงาน : เนื้อที่เพาะปลูก เนื้อที่เก็บเกี่ยว ผลผลิต และผลผลิตต่ำไร่ ระดับประเทศ ภาค จังหวัดและอำเภอ ปี 2564” (ระบบออนไลน์) แหล่งที่มา https://www.oae.go.th/assets/portals/1/files/%E0%B8%A1%E0%B8%B1%E0%B8%99%E0%B8%AA%E0%B8%B3%E0%B8%9B%E0%B8%B0%E0%B8%AB%E0%B8%A5%E0%B8%B1%E0%B8%87%E0%B8%9B%E0%B8%B5%2064%20%E0%B8%A3%E0%B8%B2%E0%B8%A2%E0%B9%80%E0%B8%AD%E0%B8%B3%E0%B9%80%E0%B8%A0%E0%B8%AD.pdf (13 มิถุนายน 2565)

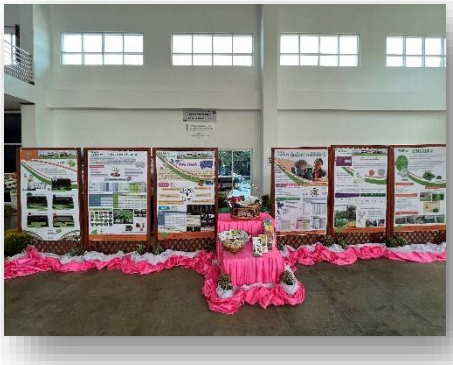
**นิทรรศการหมุนเวียนเพื่อแสดงผลงานวิจัย**
**และผลงานตามนโยบายของ กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร**

# “การจัดการปัจจัยการผลิตเพื่อความมั่งคงด้านอาหาร”

**เมื่อวันที่ 1 – 31 กรกฎาคม 2565**
**ณ บริเวณชั้นล่าง สำนักงานอธิบดีกรมวิชาการเกษตร**
**อาคารฝึกอบรมด้านมาตรฐานการผลิตพืช**

https://qr.page/g/11rX87AS0DB

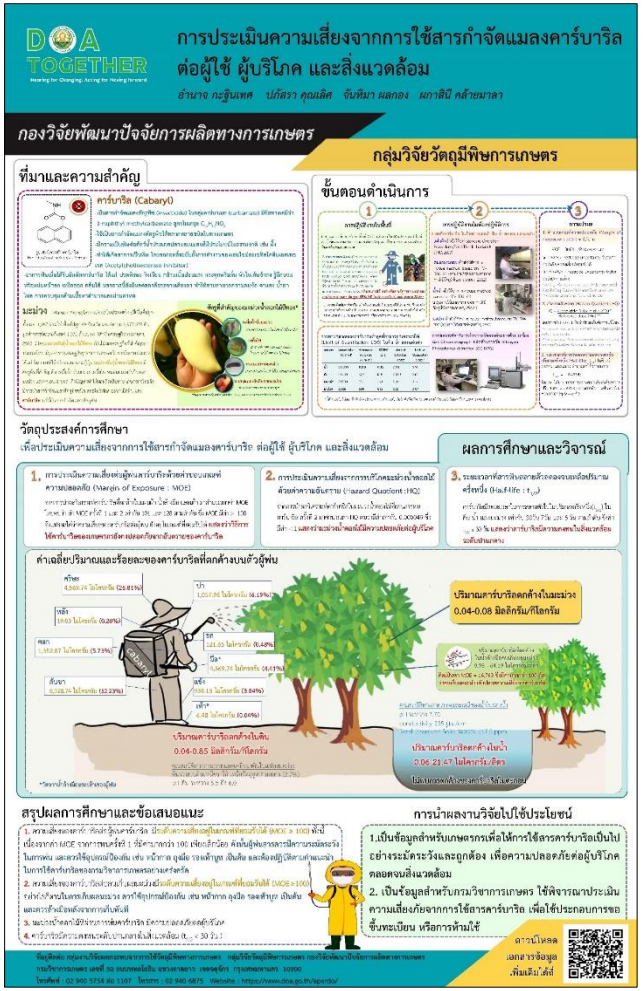




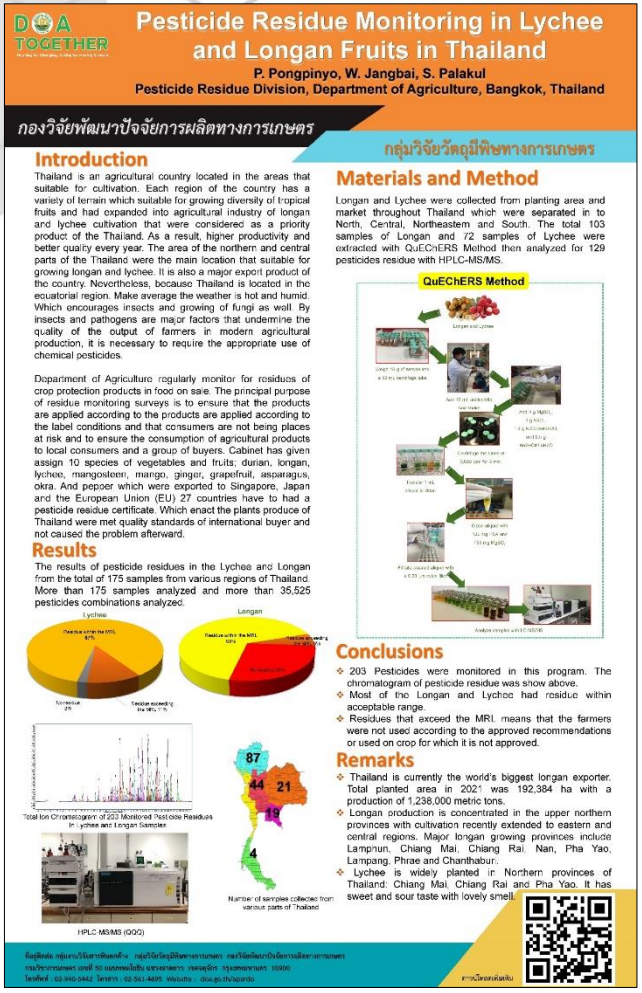
1. การส่งตัวอย่างทดสอบวัตถุมีพิษการเกษตรผ่านระบบสารสนเทศ



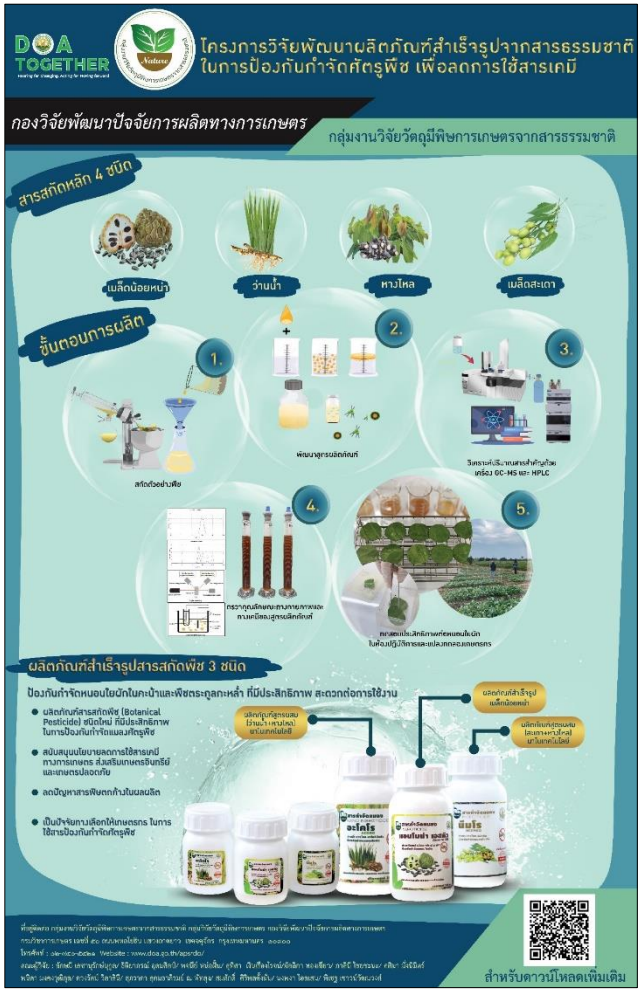

2. การประเมินความเสี่ยงจากการใช้สารกำจัดแมลงคาร์บาริล ต่อผู้ใช้ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม



3. Pesticide Residue Monitoring in Lychee and Longan Fruits in Thailand




4. โครงการวิจัยพัฒนาผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากสารธรรมชาติในการกำจัดศัตรูพืช เพื่อลดการใช้สารเคมี



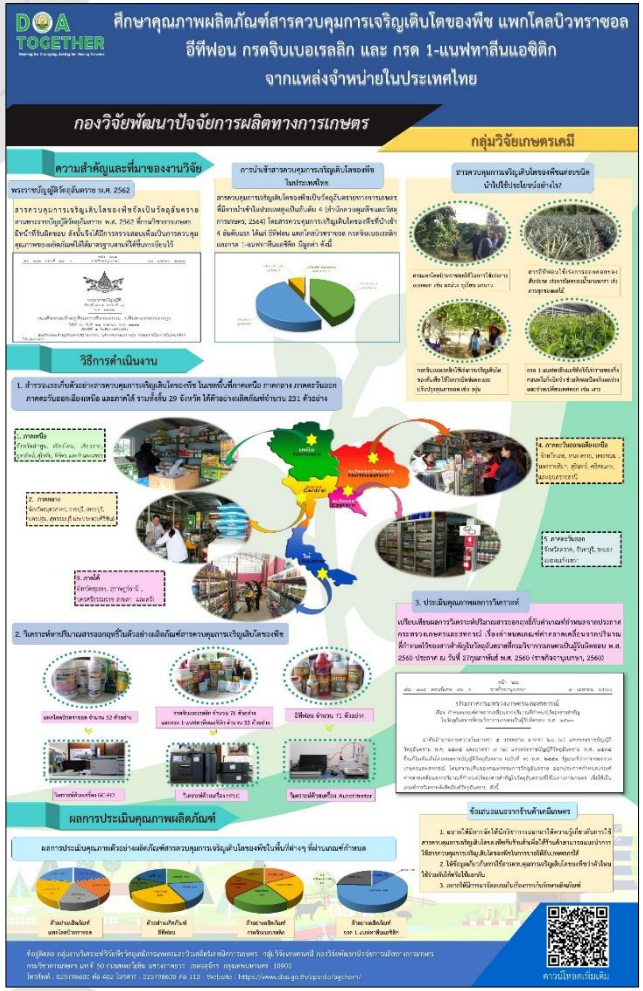
5. DOA-soil test kits ชุดตรวจสอบปัจจัยการผลิต ฝ่าวิกฤตราคาแพง ชุดตรวจสอบความเป็นกรด – ด่าง และธาตุอาหารหลัก (pH, OM, P, K) ชุดตรวจสอบธาตุอาหารรองและเหล็ก (Ca, Mg, S, Fe)



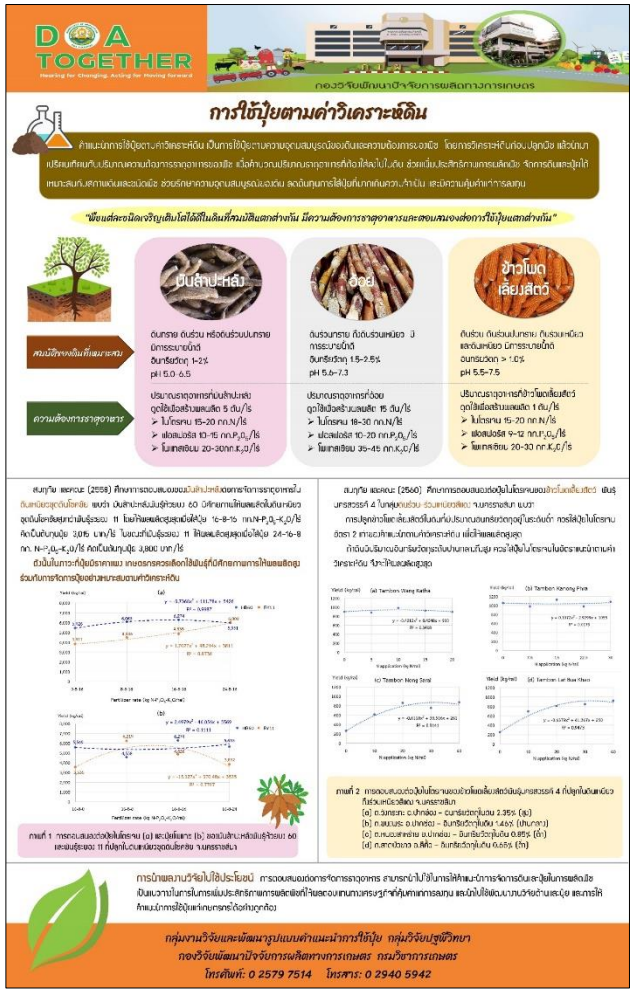

6. DOA-water test kits ชุดตรวจสอบคุณภาพน้ำทางการเกษตร คาร์บอเนต ไบคาร์บอเนต คลอไรด์ ไนเตรท และฟอสเฟต ($CO_3^{2-}$, $HCO_3^-$, $Cl^-$, $NO_3^-$, $PO_4^{3-}$)



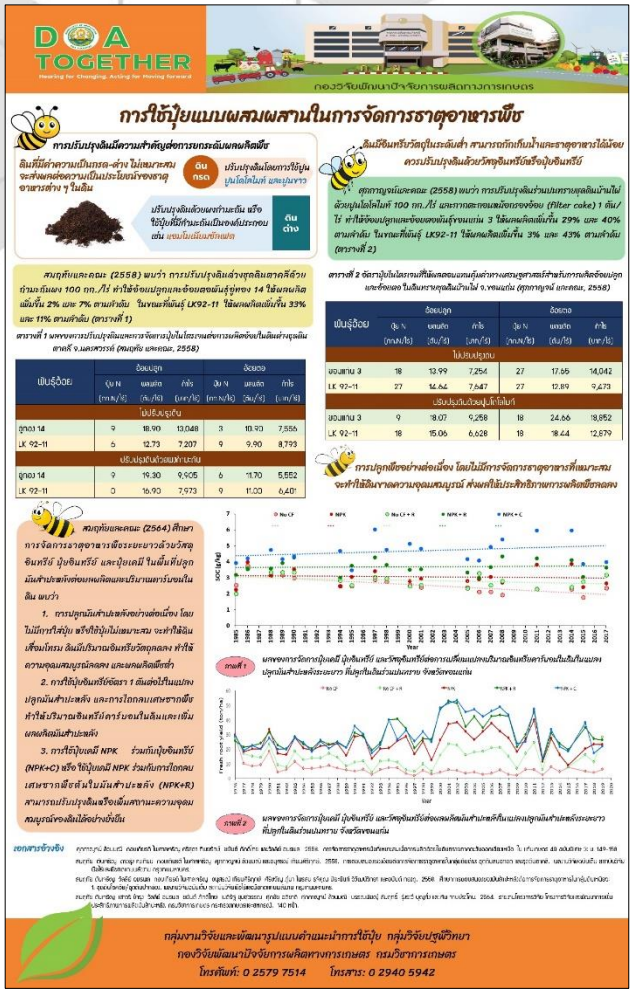
## 7. ศึกษาคุณภาพผลิตภัณฑ์สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช แพกโคลบิวทราซอล อีทีฟอน กรดจิบเบอเรลลิก และ กรด 1-แนฟทาลีนแอซิติก จากแหล่งจำหน่ายในประเทศไทย



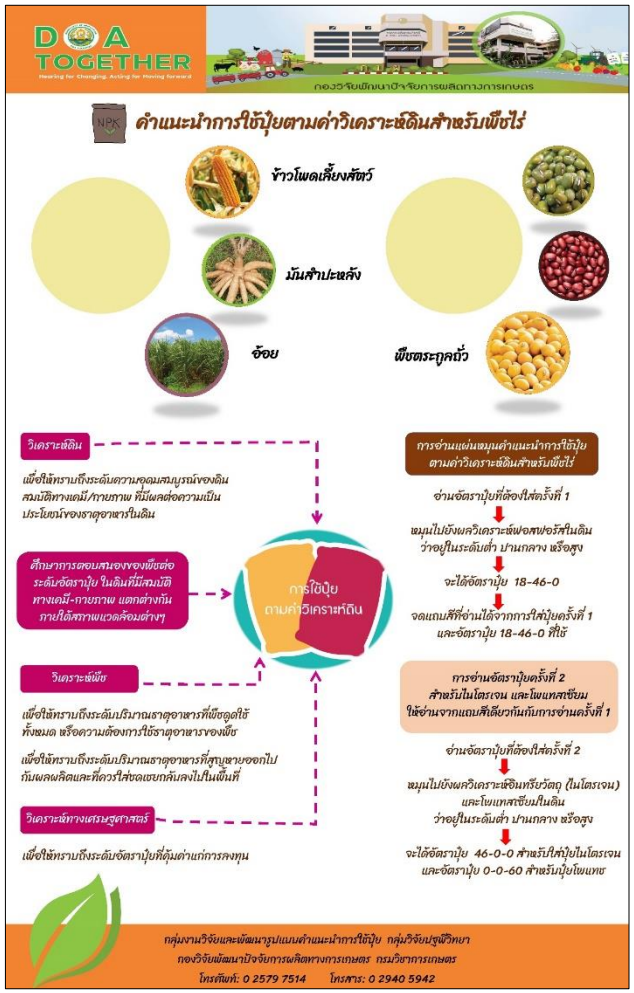

## 8.การใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน



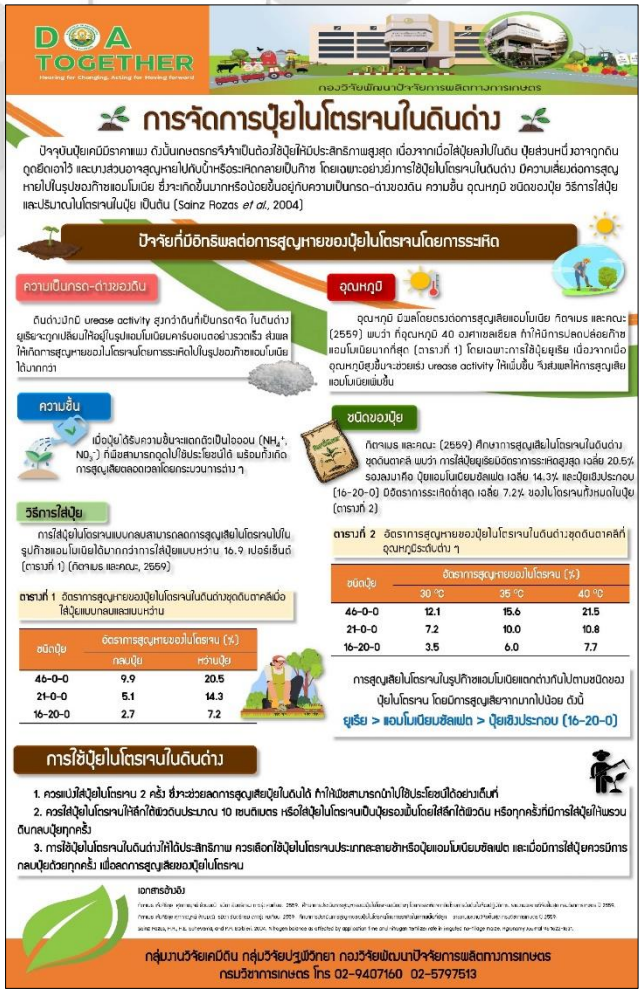
## 9. การใช้ปุ๋ยแบบผสมผสานในการจัดการธาตุอาหารพืช



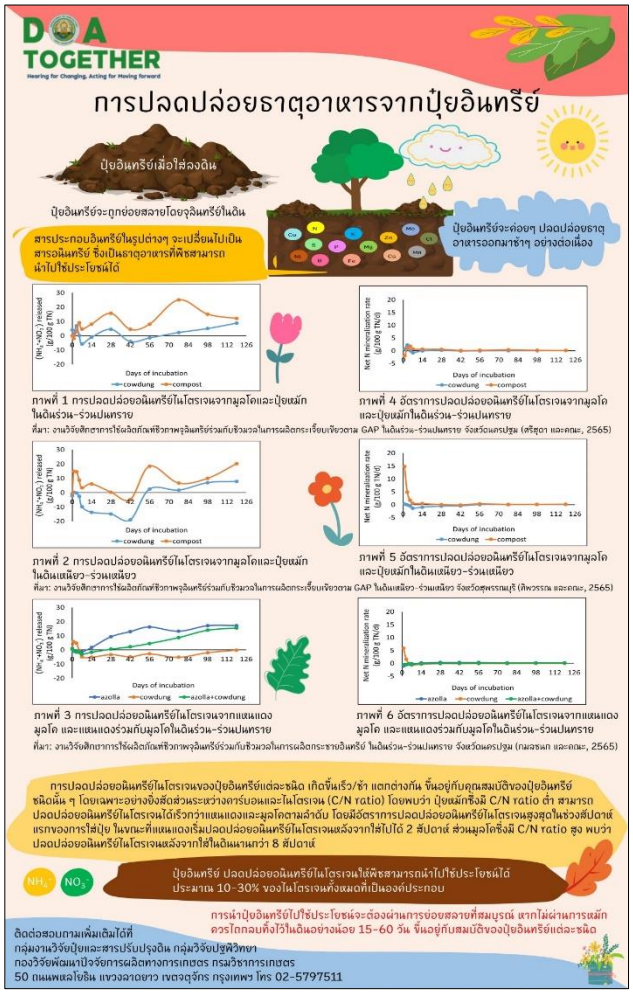

## 10. คำแนะนำการใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินสำหรับพืชไร่



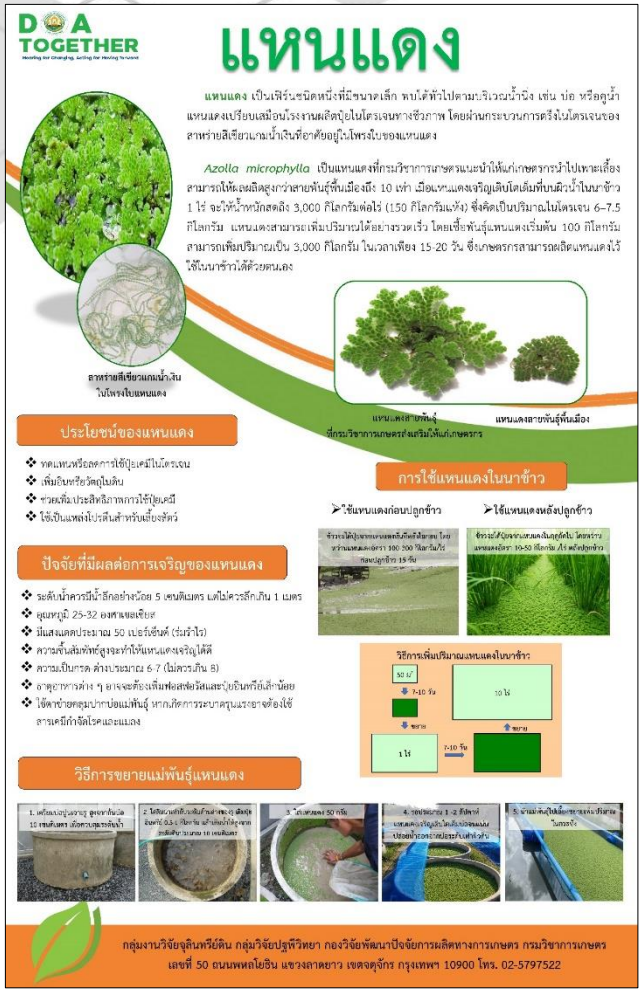
## 11. การจัดการปุ๋ยไนโตรเจนในดินด่าง




## 12. การปลดปล่อยธาตุอาหารจากปุ๋ยอินทรีย์



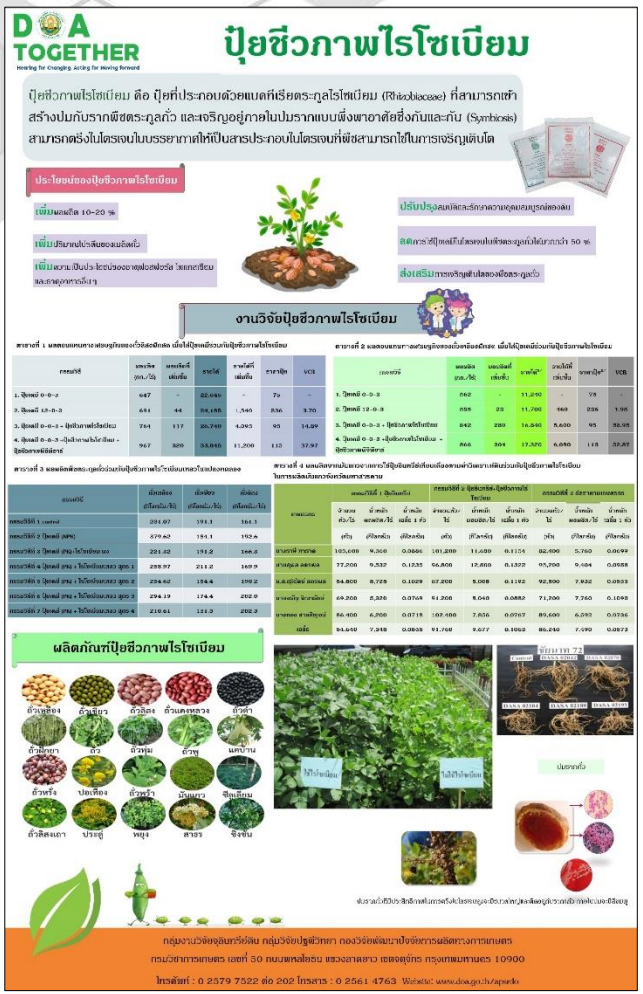
## 13. แหนแดง



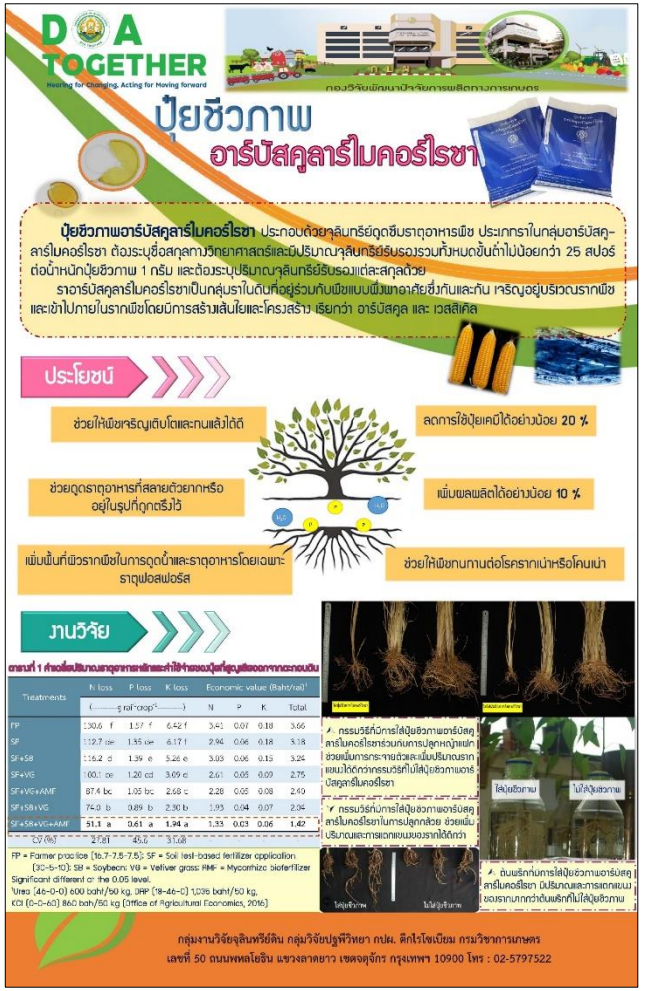

## 14. ปุ๋ยชีวภาพ



## 15. ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม




## 16. ปุ๋ยชีวภาพอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา



## 17. ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์



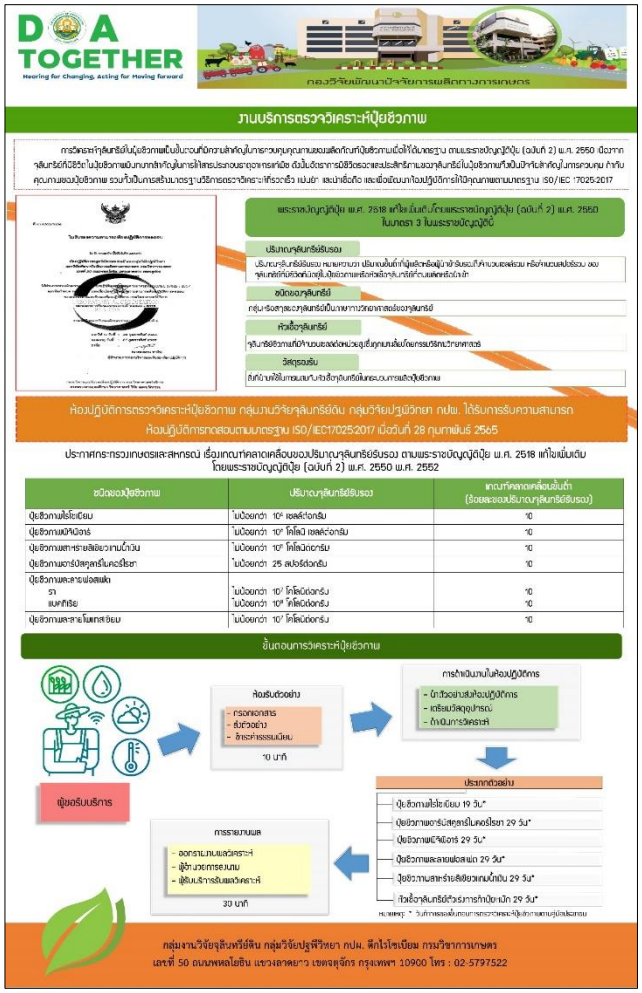

## 18. ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต



## 19. หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ทำปุ๋ยหมัก




## 20. งานบริการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยชีวภาพ



## 21. กระบวนการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยชีวภาพ




## 22. เทคนิคการใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-ทู ร่วมกับปุ๋ยหมักผลิตแบบเติมอากาศ ในระบบการผลิตข้าวอินทรีย์ กรณีศึกษา แปลงเกษตรกรต้นแบบ ศพก. อำเภอเวียงเก่า จังหวัดขอนแก่น



23. เทคนิคการใช้ปุ๋ยอย่างมีประสิทธิภาพในการผลิตมันสำปะหลังในดินร่วนปนทราย




24. เคล็ดลับการปลูกอ้อยข้ามแล้งเพื่อให้ได้ผลผลิตสูงในเขตภาคอีสาน



# บันทึกข้อความ

# บันทึกข้อความ

# บันทึกข้อความ

# บันทึกข้อความ

# บันทึกข้อความ

# บันทึกข้อความ

# บันทึกข้อความ







# เล่ม 2

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

เลขที่ 50 ถนนพหลโยธิน ลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900