

พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โพแทสเซียม โซเดียม แคลเซียม และแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน ด้วยเทคนิคอินดักทีฟพลาสมาสเปกโตรเมทรี

## Method Validation and Development of Exchangeable Potassium, Sodium, Calcium and Magnesium in Soil by Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer

สุภา โฟธิจันทร์	ญาณธิชา จิตต์สะอาด	สงกรานต์ มะลิสอน	จิตติรัตน์ ชูชาติ
	พจมาลย์ ภู่อสาร	กัญธรรมา คล้ายแก้ว	
<i>Supha Photichan</i>	<i>Yarnticha Jittsa-aad</i>	<i>Songkrant Malisorn</i>	<i>Jittirat Choochart</i>
	<i>Pojjamarn Poosarn</i>	<i>Kanthana Klaigaew</i>	

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 ที่มีความแม่นยำเที่ยงตรง 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 การพิสูจน์ความแม่นยำ (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 ความแม่นยำแม่นยำ น่าเชื่อถือ สอบกลับได้ ทำให้เกิดความเชื่อมั่นในผลการวิเคราะห์ และเป็นที่ยอมรับตามมาตรฐานสากล ประหยัดค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ไปได้ถึงร้อยละ 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<sub>4</sub>OAc จากนั้นนำไปวิเคราะห์ปริมาณด้วยเครื่อง Flame photometer สำหรับ K และ Na และ Atomic adsorption spectrophotometer สำหรับ Ca และ Mg (กรมวิชาการเกษตร, 2553) ซึ่งทำให้เสียเวลาในการวิเคราะห์เนื่องจากเครื่องไม่สามารถวัดได้ทั้ง 4 ธาตุในเวลาเดียวกัน ดังนั้น จึงควรปรับปรุง และพัฒนาวิธีวิเคราะห์ให้ทันสมัยความแม่นยำ รวดเร็ว ประหยัด จึงได้นำเครื่อง Inductively Coupled Plasma (ICP) มาใช้ โดยอาศัยหลักการที่ทำให้สารที่วิเคราะห์เปลี่ยนสถานะจากสถานะพื้นไปยังสถานะกระตุ้นด้วยกระบวนการที่เหมาะสม ทำให้อะตอมของสารนั้นสามารถเปล่งแสงออกมาในช่วงยูวี วิสิเบิล และมีลักษณะเฉพาะตัว (แมน และ อมร, 2534) และเนื่องจากเครื่องมือนี้สามารถวิเคราะห์ได้พร้อมกันหลายธาตุ ทำให้ประหยัด รวดเร็วในการวิเคราะห์ แต่ในการที่จะนำวิธีวิเคราะห์ดังกล่าวมาใช้ จำเป็นต้องมีการพัฒนาเทคนิควิธีการวิเคราะห์ เพื่อหาสภาวะที่ถูกต้องในการใช้เครื่องมือ เปรียบเทียบความสามารถระหว่างวิธีวิเคราะห์ใหม่กับวิธีวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการในปัจจุบัน และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ โดยพิสูจน์ความแม่นยำ (Trueness) ความเที่ยง (Precision) ช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง (Range, Linearity) ปริมาณต่ำสุดของสารที่สามารถตรวจวัด (Limit of detection ; LOD) และรายงานผลได้ (Limit of Quantitation ; LOQ) เพื่อให้มั่นใจในความแม่นยำ 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<sub>4</sub>OAc 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 คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นของกราฟสารละลายมาตรฐาน 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<sub>4</sub>OAc 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<sub>4</sub>OAc 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

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

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

- 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

$$\% \text{ Total recovery} = \frac{\text{ความเข้มข้นของ fortified sample} \times 100}{\text{ความเข้มของตัวอย่างเริ่ม} + \text{ความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมลงไป}}$$

- กรณีการวิเคราะห์ CRM/IRM

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

- 4.4.2 การคำนวณ Precision

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

โดยที่

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

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

#### 4.5 ตรวจสอบความคงทนของวิธีทดสอบโดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อยจากสภาวะปกติ

4.5.1 ศึกษาผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อม 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 <sub>1</sub>
2	+	+	-	+	-	-	-	Y <sub>2</sub>
3	+	-	+	-	+	-	-	Y <sub>3</sub>
4	+	-	-	-	-	+	+	Y <sub>4</sub>
5	-	+	+	-	-	+	-	Y <sub>5</sub>
6	-	+	-	-	+	-	+	Y <sub>6</sub>
7	-	-	+	+	-	-	+	Y <sub>7</sub>
8	-	-	-	+	+	+	-	Y <sub>8</sub>

4.5.2 คำนวณค่าผลกระทบของตัวแปร (E) ของแต่ละตัวแปร 7 ตัวแปร จาก 8 การทดลอง จากนั้นนำผลการทดสอบมาคำนวณผลกระทบของตัวแปร (E) และค่า S ของการเปลี่ยนแปลงสภาวะ

ต่างๆ คือ

$$E_A = (Y_1 + Y_2 + Y_3 + Y_4)/4 - (Y_5 + Y_6 + Y_7 + Y_8)/4$$

$$E_B = (Y_1 + Y_2 + Y_5 + Y_6)/4 - (Y_3 + Y_4 + Y_7 + Y_8)/4$$

$$E_C = (Y_1 + Y_3 + Y_5 + Y_7)/4 - (Y_2 + Y_4 + Y_6 + Y_8)/4$$

$$E_D = (Y_1 + Y_2 + Y_7 + Y_8)/4 - (Y_3 + Y_4 + Y_5 + Y_6)/4$$

$$E_E = (Y_1 + Y_3 + Y_6 + Y_8)/4 - (Y_2 + Y_4 + Y_5 + Y_7)/4$$

$$E_F = (Y_1 + Y_4 + Y_5 + Y_8)/4 - (Y_2 + Y_3 + Y_6 + Y_7)/4$$

$$E_G = (Y_1 + Y_4 + Y_6 + Y_7)/4 - (Y_2 + Y_3 + Y_5 + Y_8)/4$$

โดยใช้เกณฑ์การประเมิน ดังนี้

$|E| < S$  แสดงว่า ไม่มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมของการทดสอบ (David, 2009)

$$\text{โดย } S = \sqrt{\left(\frac{2}{7}\right) \times \Sigma(E^2)}$$

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 ชั่วโมง พบว่า ค่าเฉลี่ยของ K, Na, Ca และ Mg ที่สกัด 30 นาที สูงที่สุดและมี %recovery ผ่านเกณฑ์มาตรฐานทุกรายการวิเคราะห์ (Table 4) และเมื่อนำผลวิเคราะห์มาวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้สถิติ ANOVA พบว่า ผลวิเคราะห์ K และ Na มีค่าไม่แตกต่างกัน ( $F_{cal} < F_{crit}$ ) ส่วนผลวิเคราะห์ Ca และ Mg มีค่าใดค่าหนึ่งแตกต่างกัน ( $F_{cal} > F_{crit}$ ) (Table 5) จึงเลือกเวลา 30 นาทีในการสกัด K, Na, Ca และ Mg ในครั้งเดียว เนื่องจากเป็นเวลาที่ใช้ในการสกัด Ca และ Mg ในวิธีมาตรฐานและมี %recovery ผ่านเกณฑ์มาตรฐานทุกรายการวิเคราะห์ (95-105%)

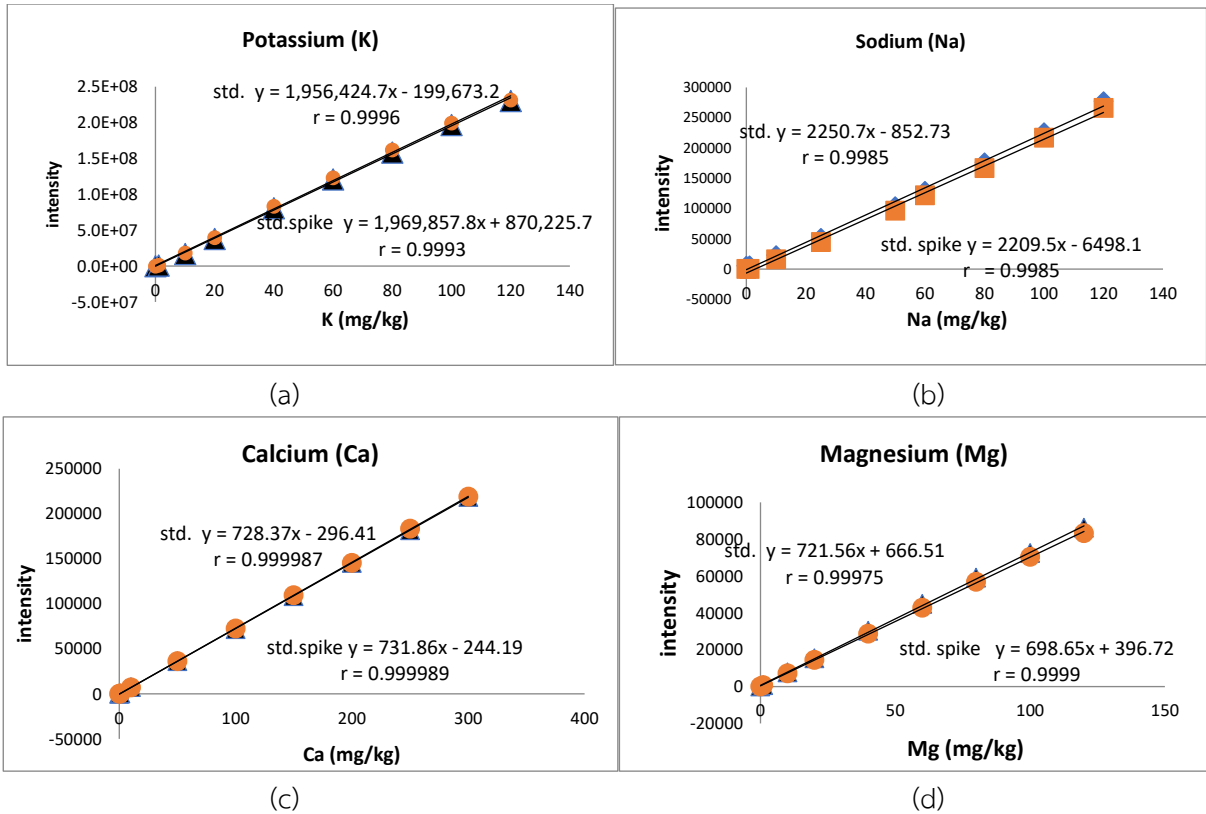
**Table 4** K, Na, Ca and Mg result of the internal reference material No. S-763 with different extraction time

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 จากการศึกษการรบกวนกันของ 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)



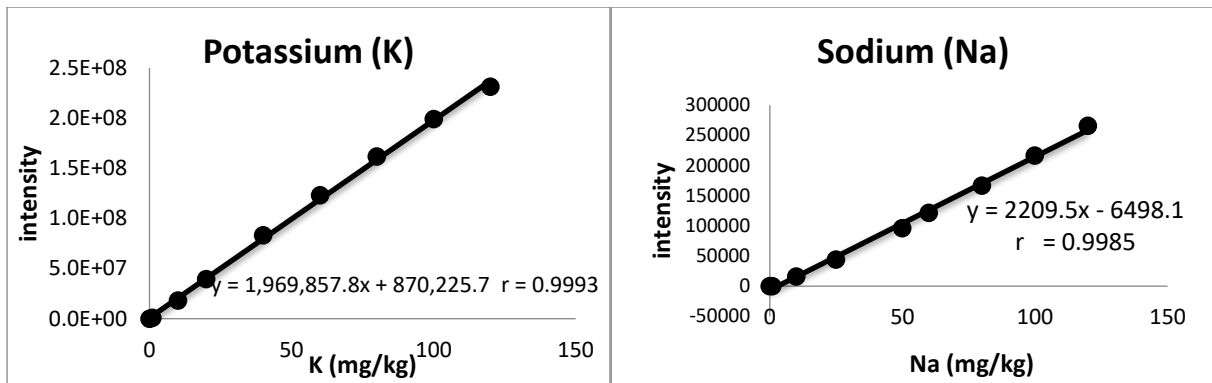
**Figure 1** Comparison between standard solution curves and curves of the standard solution added to the soil sample (a) K, (b) Na, (c) Ca, and (d) Mg

#### 4. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

##### 4.1 การศึกษาความเป็นเส้นตรง (linearity)

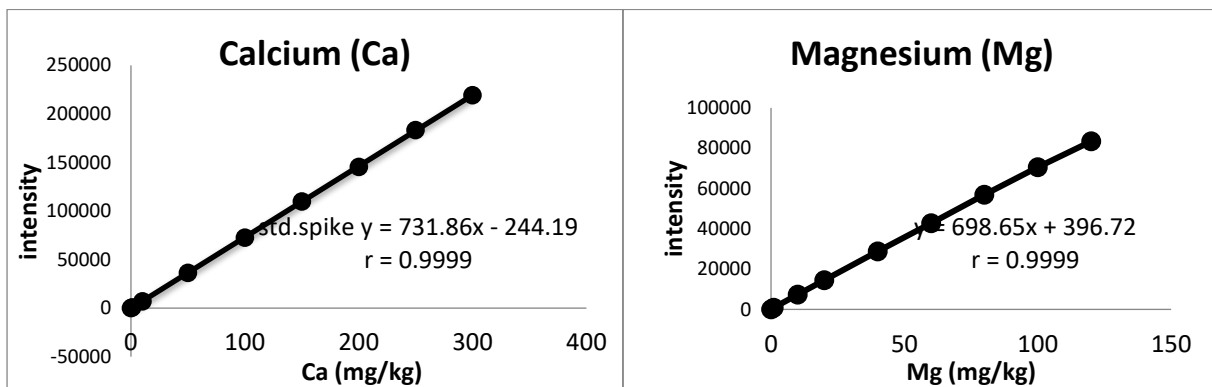
จากการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity) โดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานรายการวิเคราะห์ K, Na และ Mg ที่ช่วงความเข้มข้น 0, 1, 10, 20, 40, 60, 80, 100 และ 120 mg/L รายการวิเคราะห์ Ca ช่วงความเข้มข้น 0, 1, 10, 50, 100, 150, 200, 250 และ 300 mg/L ที่เติมตัวอย่างดินที่มีสารที่สนใจในปริมาณน้อย แล้วนำไปวัดด้วยเครื่อง 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





(a)

(b)



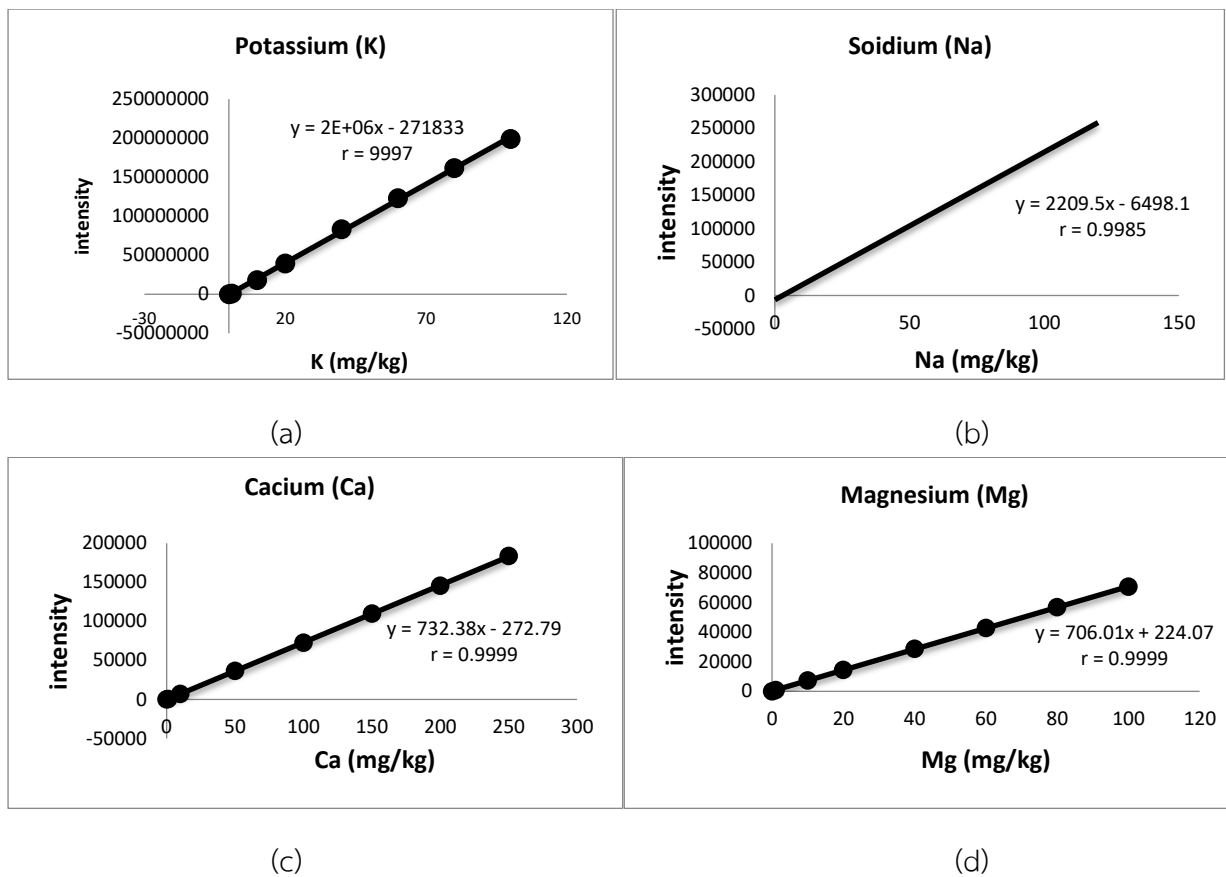
(c)

(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 และ Mg ตามลำดับ ดัง Table 4

#### 4.4 การพิสูจน์ความแม่นยำ (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ของวิธีวิเคราะห์

พิสูจน์ความแม่นยำ (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ความเข้มข้นต่ำ ปานกลาง และสูง ความเข้มข้นละ 7 ชั้น โดยวิเคราะห์ sample blank ที่เติมสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น ที่ระดับ LOQ และ 200 mg/kg สำหรับความเข้มข้นต่ำและปานกลาง ตามลำดับ ส่วนที่ความเข้มข้นสูงวิเคราะห์ตัวอย่างดินอ้างอิงภายในชุดดินบางเขน แล้วคำนวณความแม่นยำ (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 ความคงทนของวิธีทดสอบโดยการเปลี่ยนแปลงสถานะเพียงเล็กน้อยจากสถานะปกติ

ได้ผลการทดสอบการเปลี่ยนแปลงสถานะและสิ่งแวดล้อม 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) ปริมาณน้ำยาสกัด (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 <sub>A</sub>	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 <sub>B</sub>	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 <sub>C</sub>	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 <sub>D</sub>	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 <sub>E</sub>	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 <sub>F</sub>	-1.83	2.34	-5.71	3.55	30.26	16.96	-14.87	<b>-416.66</b>	<b>-445.56</b>	<b>-4.55</b>	<b>-74.00</b>	<b>-172.45</b>
E <sub>G</sub>	-0.70	2.57	-8.83	<b>8.69</b>	-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 สามารถประหยัดค่าใช้จ่ายไปได้ถึงร้อยละ 29.5 และประหยัดเวลาในการวิเคราะห์เนื่องจากสามารถวิเคราะห์ได้จำนวนตัวอย่างมากกว่าเครื่อง AAS และ Flame photometer ถึง 8 เท่า อีกทั้งมีความแม่นยำและความเที่ยง 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	
	ราคาเครื่องมือ	ความเสื่อมสภาพ/ปี	ราคาเครื่องมือ	ความเสื่อมสภาพ/ปี	ราคาเครื่องมือ	ความเสื่อมสภาพ/ปี
1. ด้านค่าใช้จ่าย/1ตัวอย่าง						
1.1 ค่าเสื่อมสภาพของเครื่องมือ						
- เครื่อง AAS	1,3690,00	35.25	-	-	-	-
- เครื่อง Flame	-	-	685,000	8.65	-	-
- เครื่อง ICP-OES	-	-	-	-	3,390,000	10.70
- เครื่องซัง 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. ด้านความแม่นยำ						
- % Recovery		✓				✓
- HorRat		✓				✓
4. ข้อดี		- เครื่องมือราคาไม่แพง				- วิเคราะห์ได้หลายธาตุในครั้งเดียว - ไม่ต้องเจือจางสารละลายเนื่องจากสารละลายมาตรฐานมีความเข้มข้นสูง
5. ข้อเสีย		- ต้องเจือจางสารละลายเนื่องจากสารละลายมาตรฐานมีความเข้มข้น				- เครื่องมือมีราคาแพง
		- วิเคราะห์ได้ทีละธาตุ				
หมายเหตุ	AAS หมายถึง เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer					
	ICP-OES หมายถึง เครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer					

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

เวลาการสกัด 30 นาทีที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์ 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 จากการพิสูจน์ความแม่นยำเที่ยงตรง โดยใช้ ตัวอย่างดินอ้างอิงภายใน พบว่ามี % Recovery และค่า HorRat ผ่านเกณฑ์ยอมรับทุกรายการทดสอบ การทดสอบความคงทนของวิธี โดยการเปลี่ยนแปลงสถานะทั้ง 7 ตัวแปร พบว่า การเปลี่ยนแปลง pH น้ำยาสกัดจาก 7.0 เป็น 6.8 มีผลทำให้ผลวิเคราะห์โพแทสเซียมมีค่าเพิ่มขึ้น การเปลี่ยนระยะเวลาการสกัดจาก 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 ความแม่นยำแม่นยำน่าเชื่อถือ สอบกลับได้ ทำให้เกิดความเชื่อมั่นในผลการวิเคราะห์ และเป็นที่ยอมรับตามมาตรฐานสากล ประหยัดค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ไปได้ถึงร้อยละ 29.5 และสามารถวิเคราะห์ได้จำนวนตัวอย่างเพิ่มขึ้นถึง 8 เท่า เมื่อเทียบกับเครื่อง AAS และ Flame photometer

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

เป็นข้อมูลเพื่อประกอบการขอการรับรองห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025: 2017 เป็นการยกระดับห้องปฏิบัติการให้ได้มาตรฐานสากล ผลวิเคราะห์มีความแม่นยำแม่นยำ น่าเชื่อถือ สามารถตรวจสอบย้อนกลับได้ สร้างความเชื่อมั่นและลดข้อโต้แย้งของผลการวิเคราะห์

## เอกสารอ้างอิง

- กรมวิชาการเกษตร. 2553. คู่มือวิธีวิเคราะห์ดินทางเคมีและฟิสิกส์. กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.
- ทิพวรรณ นิ่งน้อย. 2549. แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. กระทรวงสาธารณสุข. 124 หน้า.
- แมน อมรสิทธิ์ และ อมรเพชรสม. 2534. หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ Principles and Techniques of Instrumental Analysis. ชวนพิมพ์ กรุงเทพมหานคร. 866 หน้า.
- สถาบันมาตรฐานแห่งชาติ. 2564. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวัดทางเคมี. (ออนไลน์). แหล่งที่มา : [https://www.mwa.co.th/download/prd01/reference\\_ISO17025/Meth-validation-NIMT.pdf](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](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.