

การตรวจวัดปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยเคมี ด้วยระบบแบบไหลชนิดโพลีอินเจคชัน

ปิยวรรณ พันสี^{1*} จิรายุส ชุ่มเกตุ²

มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี ถ.นารายณ์มหาราช ต.ทะเลชุบศร อ.เมือง จ.ลพบุรี 15000

และ ดวงใจ นาคะปรีชา³

มหาวิทยาลัยมหิดล ถ.พระรามที่ 6 แขวงทุ่งพญาไท เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400

* Corresponding Author: pphansi@gmail.com

¹ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

² นักศึกษาปริญญาตรี สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

³ รองศาสตราจารย์ ภาควิชาเคมี และ ศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางเคมี คณะวิทยาศาสตร์

ข้อมูลบทความ

บทคัดย่อ

ประวัติบทความ :

รับเพื่อพิจารณา : 22 กันยายน 2563

แก้ไข : 31 มีนาคม 2564

ตอบรับ : 8 เมษายน 2564

คำสำคัญ :

ปุ๋ยเคมี / ฟอสฟอรัส / โพลีอินเจคชัน /

วานาโดไมลิตเตต /

สเปกโทรโฟโตมิเตอร์

วัตถุประสงค์ของวิจัยนี้คือการพัฒนาาระบบวิเคราะห์แบบไหลชนิดโพลีอินเจคชันสำหรับการตรวจวัดฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยเคมีด้วยวิธีวานาโดไมลิตเตต ทั้งนี้ ย่อยตัวอย่างปุ๋ยด้วยกรดให้อยู่ในรูปสารละลาย จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างฉีดเข้าไปในระบบแบบไหลชนิดโพลีอินเจคชัน โดยท่อนของสารตัวอย่างจะผสมกับกระแสรีเอเจนต์ เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนวานาโดไมลิตเตตฟอสเฟตซึ่งมีสีเหลือง ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ระบบนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ตรวจวัดปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่ขายในจังหวัดลพบุรี โดยผลการวิเคราะห์ที่ได้จากระบบวิเคราะห์แบบไหลชนิดโพลีอินเจคชันให้ผลสอดคล้องกันกับวิเคราะห์มาตรฐานเมื่อพิจารณาผลทางสถิติแบบ pair t-test ($t_{stat} < t_{crit}$ 2.45) นอกจากนี้ ระบบวิเคราะห์นี้ยังมีข้อดีหลายประการ คือ มีความไวในการวิเคราะห์สูง โดยมีขีดจำกัดของการตรวจวัดเท่ากับ 0.04 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร วิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็ว (23 ตัวอย่างต่อ 1 ชั่วโมง) ใช้รีเอเจนต์และตัวอย่างปริมาณน้อย และมีความเที่ยงตรงสูง (%RSD) เท่ากับ 1.77% ซึ่งคำนวณจากการฉีดสารละลายมาตรฐาน 5 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตรในระบบจำนวน 10 ครั้ง

Determination of Total Phosphorus Content in Chemical Fertilizer Samples Using Flow Injection Analysis System

Piyawan Phansi^{1*}, Jirayu Chumkate²

Thepsatri Rajabhat University, Naraimaharat Road, Muang, Lopburi 15000

and Duangjai Nacapricha³

Mahidol University, Rama VI Road, Phayathai, Ratchathewi, Bangkok 10400

* Corresponding Author: pphansi@gmail.com

¹ Assistant Professor, Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology.

² Undergraduate Student, Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology.

³ Associate Professor, Department of Chemistry and Center of Excellence for Innovation in Chemistry, Faculty of Science.

Article Info

Abstract

Article History:

Received: September 22, 2020

Revised: March 31, 2021

Accepted: April 8, 2021

Keywords:

Chemical Fertilizer /

Phosphorus / Flow Injection /

Vanadomolybdate /

Spectrophotometer

The aim of this work was to propose a flow injection analysis system for total phosphorus content determination in chemical fertilizers using the vanadomolybdate method. The fertilizer samples were digested in an acid solution and then injected into the flow-injection system. The sample zone was merged with the reagent, thus producing a yellow complex of vanadomolybdophosphate. The colour product was spectrophotometrically detected at 420 nm. The proposed system could be applied to determine the total phosphorus content in chemical fertilizer samples purchased in Lopburi province. Results obtained from the developed system agreed well with the standard method by using pair *t*-test ($t_{\text{stat}} 0.19 < t_{\text{crit}} 2.45$). Furthermore, there are many advantages of the developed system; the system is highly sensitive with a detection limit of 0.04 mg P/L, has high sample throughput of 23 samples per hour, requires low reagent and sample consumption, and exhibits high precision (%RSD=1.77) as calculated from the injection of a standard solution 5 mg P/L (n=10).

1. บทนำ

ฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืชและสัตว์ [1-2] สำหรับพืชฟอสฟอรัสช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของลำต้นพืช การแพร่กระจายของราก การออกดอก ออกผล และการสร้างเมล็ด นอกจากนี้ฟอสฟอรัสยังช่วยในกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนและสารอินทรีย์ที่สำคัญในพืช และเป็นองค์ประกอบของสารที่ทำหน้าที่ถ่ายทอดพลังงาน ในธรรมชาติจะพบฟอสฟอรัสในรูปสารประกอบสามชนิด ได้แก่ ออร์โทฟอสเฟต โพลีฟอสเฟตและสารประกอบอินทรีย์ โดยรูปของฟอสฟอรัสที่พืชสามารถนำไปใช้ได้คือ $H_2PO_4^-$ และฟอสฟอรัสในรูป HPO_4^{2-} [2-3] ดังนั้นการทำเกษตรกรรมจึงจำเป็นต้องมีดินที่มีแร่ธาตุฟอสฟอรัสสำหรับการเจริญเติบโตของพืชนั้น ๆ อย่างเพียงพอ ซึ่งในบริเวณพื้นที่เกษตรกรรมที่มีปริมาณฟอสฟอรัสต่ำจึงจำเป็นต้องมีการเติมปุ๋ย เพื่อเพิ่มธาตุอาหารให้กับพืช

ปุ๋ยหมายถึง สารอินทรีย์ อินทรีย์สังเคราะห์ อนินทรีย์ หรือจุลินทรีย์ เมื่อใส่ลงไปในดินแล้วทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพหรือชีวภาพในดิน เพื่อบำรุงการเจริญเติบโตแก่พืชและเพิ่มผลผลิตเพิ่มผลผลิตให้สูงขึ้น [3-4] ซึ่งปุ๋ยสามารถแบ่งได้เป็นสองประเภทวิธีการได้มาของปุ๋ย ได้แก่ ปุ๋ยที่ได้จากธรรมชาติหรือปุ๋ยอินทรีย์ เช่น ปุ๋ยคอก ปุ๋ยหมัก ปุ๋ยพืชสด และปุ๋ยชีวภาพ เป็นต้น และปุ๋ยที่ได้จากการสังเคราะห์ เช่น ปุ๋ยเคมี ซึ่งปุ๋ยเคมีเป็นที่นิยมเนื่องจากมีความสะดวกในการใช้งาน และมีปริมาณแร่ธาตุที่แน่นอน โดยปกติปุ๋ยเคมีประกอบด้วยธาตุอาหารหลักของพืชได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม และอาจมีส่วนประกอบของธาตุอาหารรอง เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน เป็นต้น เนื่องจากปัจจุบันปุ๋ยมีราคาแพง แต่เกษตรกรก็ยังคงมีความจำเป็นในการใช้ปุ๋ย และมีผู้ผลิตปุ๋ยหรือผู้จำหน่ายปุ๋ยบางรายจำหน่ายปุ๋ยที่ไม่ได้มาตรฐาน [5] ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการวิเคราะห์คุณภาพของปุ๋ยเพื่อให้ได้มาตรฐานตามพระราชบัญญัติปุ๋ย ซึ่งปุ๋ยเคมีที่ผลิตขึ้นต้องมีปริมาณธาตุอาหารรับรอง ธาตุใดธาตุหนึ่งไม่ต่ำกว่าร้อยละ 10 ตามที่ขึ้นทะเบียนไว้หรือที่ระบุไว้ในฉลาก [4]

การหาปริมาณฟอสฟอรัสในปุ๋ยจะหาในรูปฟอสฟอรัสทั้งหมด (Total phosphorus, P_2O_5) [6-7] ซึ่งเป็นค่าที่ระบุบนฉลากปุ๋ย ปฏิบัติการที่นิยมใช้คือวานาโดมิลิเดต โดยจะนำสารตัวอย่างปุ๋ยมาทำการย่อยให้อยู่ในรูปสารละลายฟอสเฟต แล้วนำมาทำ

ปฏิกิริยากับรีเอเจนต์วานาโดมิลิเดต จนเกิดเป็นสารเชิงซ้อนวานาโดมิลิโดฟอสเฟตซึ่งมีสีเหลือง วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานฟอสเฟต จากนั้นคำนวณหาปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในตัวอย่าง [1, 6]

ระบบแบบไหลชนิดโฟลอินเจกชัน (Flow injection analysis, FIA) ที่นิยมใช้ในปัจจุบันนำเสนอเป็นครั้งแรกโดย Ruzicka และ Hansen เมื่อปี ค.ศ. 1975 ระบบประกอบด้วยท่อขนาดเล็ก ป้อนระบบฉีดสารตัวอย่าง และเครื่องตรวจวัดสัญญาณ ซึ่งระบบแบบไหลชนิดโฟลอินเจกชันนี้มีข้อดีหลายประการ ได้แก่ เป็นระบบอัตโนมัติ มีความแม่นยำในการวิเคราะห์สูง ลดการใช้ปริมาณสารเคมี สามารถวิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็วเนื่องจากไม่ต้องรอให้สารทำปฏิกิริยาจนถึงจุดสมดุล [1-2, 8-11]

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงประยุกต์ระบบการไหลชนิดโฟลอินเจกชันอย่างง่ายสำหรับวัดปริมาณฟอสฟอรัสในตัวอย่างปุ๋ยเคมีด้วยวิธีวานาโดมิลิเดต โดยใช้สเปกโตรโฟโตมิเตอร์เป็นเครื่องตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารที่มีความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร ซึ่งระบบโฟลอินเจกชันนี้นำไปประยุกต์ในการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่มีจำหน่ายในจังหวัดลพบุรี ซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีการใช้ปุ๋ยเคมีในการทำเกษตรกรรมพืชเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น ข้าว อ้อย มันสำปะหลัง พักทอง และทานตะวัน เป็นต้น

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์

การทดลองนี้ใช้สารเคมีเกรดสำหรับวิเคราะห์ (AR grade) และน้ำปราศจากไอออน (Sartorius, arium® advance EDI, ประเทศเยอรมัน) ในการเตรียมสารมาตรฐานและรีเอเจนต์ทั้งหมด สารละลายวานาโดมิลิเดตเตรียมโดยซิงแอมโมเนียมโมลิบเดต ($(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$, Ajax Finechem, ประเทศออสเตรเลีย) จำนวน 6.250 กรัม และแอมโมเนียมเมตาวานาเดต (NH_4VO_3 , Ajax Finechem, ประเทศออสเตรเลีย) จำนวน 0.475 กรัม ละลายในกรดไฮโดรคลอริก (HCl, Lab Scan, ประเทศไอร์แลนด์) 3.25 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยกรดไฮโดรคลอริก 3.25 มิลลิลิตร จนครบ 250 มิลลิลิตร [6] สารละลายมาตรฐานฟอสเฟตเข้มข้น 100 มิลลิกรัมฟอสฟอรัส

ต่อลิตร เตรียมโดยชั่งโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4 , Ajax Finechem, ประเทศออสเตรเลีย) หนัก 0.4392 กรัม (หลังอบที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง) ละลายในน้ำปราศจากไอออนและปรับปริมาตรในขวดวัดปริมาตรจนได้สารละลาย 1,000 มิลลิลิตร และสารละลายฟอสเฟตเข้มข้นเริ่มต้น 100 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร จะถูกนำมาเจือจางเพื่อใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐาน

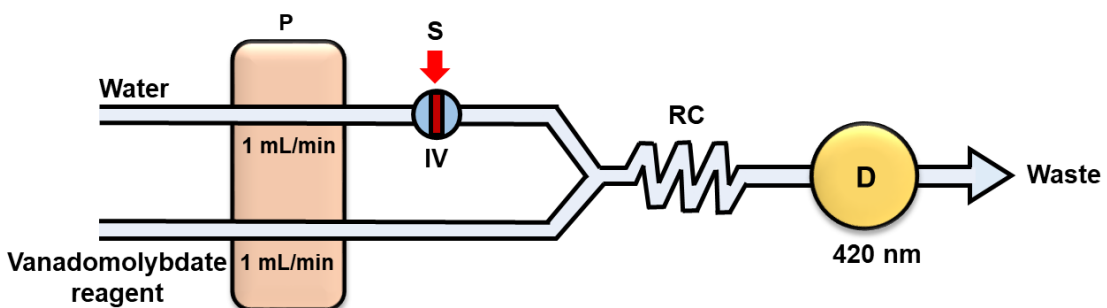
2.2 การเตรียมตัวอย่าง

ตัวอย่างปูดึงจากร้านจำหน่ายปุ๋ยสำหรับปุ๋ยเม็ดเตรียมโดยชั่งตัวอย่างปุ๋ย 0.3 กรัม บันทึกน้ำหนักที่แน่นอนของแต่ละตัวอย่าง จากนั้นเติมกรดผสมระหว่างไนตริก (70% HNO_3 , Lab Scan, ประเทศไอร์แลนด์) และกรดเปอร์คลอริก (70% HClO_4 , Kemaus, ประเทศออสเตรเลีย) อัตราส่วน 1:1 ปริมาณ 20 มิลลิลิตร แล้วนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที หรือจนสารละลายมีสีใส หากมีตะกอนนำตัวอย่างมากรองตะกอนออกด้วยกระดาษกรอง (Whatman เบอร์ 1) ก่อนปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนครบ 50 มิลลิลิตร [6] ส่วนปุ๋ยเคมีชนิดน้ำเตรียมโดยเจือจางปุ๋ยน้ำด้วยน้ำปราศจากไอออนให้มีความเข้มข้นที่อยู่ในช่วงของกราฟมาตรฐาน โดยไม่ต้องผ่านการย่อยด้วยกรด

2.3 เครื่องมือ และการทำงานของระบบ

โฟลอินเจกชัน

ระบบโฟลอินเจกชันนี้มีปั๊มแบบแบบลูกกลิ้ง (Leab



รูปที่ 1 ระบบโฟลอินเจกชันสำหรับการวิเคราะห์ฟอสเฟตในปุ๋ยประกอบด้วยปั๊ม (P) ท่อปั๊มแบบไทกอน น้ำสารละลายวานาโดมิลิเบดรีเอเจนต์ วาล์วฉีดสารละลาย (IV) ท่อช่วยผสม (RC) สารตัวอย่างหรือสารมาตรฐาน (S) และเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (D)

fluid, BT101 S, ประเทศจีน) โดยระบบใช้ท่อปั๊มแบบไทกอน (Tygon Tube) เส้นผ่านศูนย์กลาง 1.02 มิลลิเมตร โดยปั๊มต่อกับวาล์วแบบ 6 ช่อง (Upchurch, model V-450, ประเทศสหรัฐอเมริกา) ใช้วาล์วกำหนดปริมาตรตัวอย่างขนาด 500 ไมโครลิตร ระบบเชื่อมด้วยท่อ FTFE (เส้นผ่านศูนย์กลาง 1.0 มิลลิเมตร) ซึ่งต่อกับท่อผสมสารพันซดเป็นเกลียว (Reaction coil) (เส้นผ่านศูนย์กลาง 1.0 มิลลิเมตร ยาว 100 เซนติเมตร) เพื่อช่วยผสมสารตัวอย่างกับสารรีเอเจนต์ และใช้โฟลทิวเซลล์ชนิดควอตซ์ (Quartz Flow Cell, Thermo Fisher Scientific, Model 268-857400, สหรัฐอเมริกา) ที่มีทางผ่านของแสง 10 มิลลิเมตร ปริมาตร 160 ไมโครลิตร ดังแสดงในรูปที่ 1 เมื่อสารละลายตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐานจะถูกฉีดเข้าสู่ระบบจะขับเคลื่อนไปด้วยสารตัวพา (Carrier) ซึ่งคือน้ำ เพื่อทำปฏิกิริยากับสารละลายวานาโดมิลิเบดรีเอเจนต์ที่ถูกขับเคลื่อนด้วยปั๊มตัวเดียวกัน ด้วยอัตราการไหลคงที่ 1 มิลลิลิตรต่อนาที เกิดผลิตภัณฑ์เป็นสารประกอบเชิงซ้อนเหลืองและด้วยวัดค่าการดูดกลืนของสารผลิตภัณฑ์เกิดขึ้นด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ Thermo Scientific, Evolution 201 UV-Visible Spectrophotometer, ประเทศสหรัฐอเมริกา) ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร

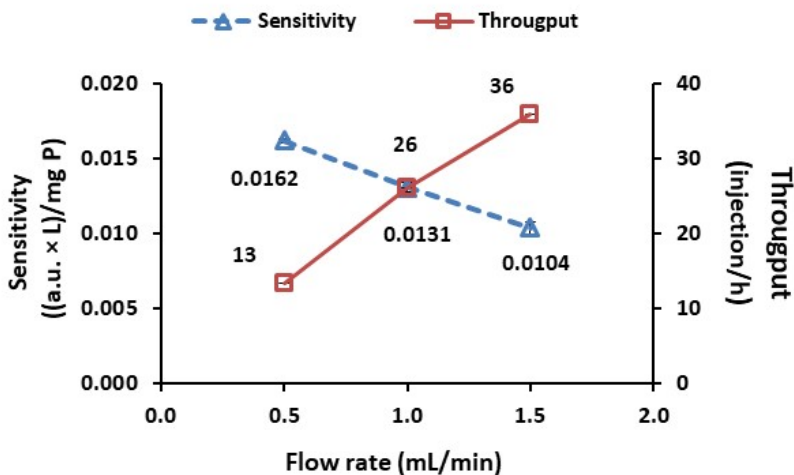
3. ผลการทดลองและอภิปรายผล

3.1 ผลของอัตราการไหลของกระแสตัวพา

อัตราการไหลของตัวพาในระบบการวิเคราะห์แบบ โพลอินเจคชันจะส่งผลต่อการเกิดปฏิกิริยาของสารและความรวดเร็วในการวิเคราะห์สาร ซึ่งในระบบการวิเคราะห์ฟอสฟอรัส ในปุ๋ยนี้ใช้น้ำทำหน้าที่เป็นตัวพา จากการทดลองศึกษาอัตราการไหลของกระแสตัวพา 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที โดยให้อัตราการไหลของวานาโดโมลิบเดตรีเอเจนต์คงที่คือ 1 มิลลิลิตรต่อนาที ซึ่งในขั้นตอนการศึกษาผลของอัตราการไหลของกระแสตัวพานี้จะแยกปั๊มของกระแสตัวพาจากปั๊มของรีเอเจนต์ ใช้ปริมาตรตัวอย่าง 300 ไมโครลิตร และใช้ท่อผสมสารยาว 100 เซนติเมตร โดยฉีดสารละลายมาตรฐานฟอสเฟต 2-7 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร

จากผลการทดลองพบว่าเมื่อเพิ่มความไวของกระแสตัวพา ถึงแม้จะทำให้การวิเคราะห์ต่อการฉีดหนึ่งตัวอย่างเร็วขึ้น แต่ค่า

ดูตกเส้นแสงของผลิตภัณฑ์สีเหลืองลดลง เนื่องจากสารมีระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาตกลงและเกิดการเจือจางของท่อน โชนสารตัวอย่างในกระแสตัวพา และเมื่อนำค่าการดูตกเส้นแสงของสารละลายมาตรฐานมาพล็อตกราฟมาตรฐาน และสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการไหลของสารละลายตัวพากับค่าความไว (Sensitivity) และค่าจำนวนตัวอย่างต่อชั่วโมงในการวิเคราะห์ (Sample throughput) เพื่อพิจารณาทั้งผลของค่าความไวในการวิเคราะห์และค่าจำนวนตัวอย่างต่อชั่วโมงในการวิเคราะห์ พบว่ากราฟตัดกันที่อัตราการไหลของตัวพา 1 มิลลิลิตรต่อนาที (ดังแสดงในรูปที่ 2) ดังนั้นในการทดลองนี้ จึงเลือกใช้ความไวของกระแสตัวพา 1 มิลลิลิตรต่อนาที ตลอดการทดลองเพื่อให้มีค่าความไวในการวิเคราะห์อย่างเพียงพอ และยังมีค่าจำนวนตัวอย่างต่อชั่วโมงในการวิเคราะห์สูง



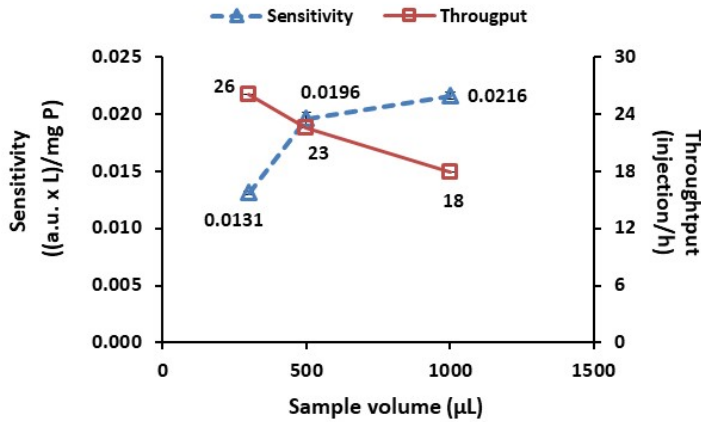
รูปที่ 2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการไหลของสารละลายตัวพากับค่าความไว และค่าจำนวนตัวอย่างต่อชั่วโมง

3.2 ผลของปริมาตรของสารตัวอย่าง

ในการทดลองนี้ทำการศึกษาผลของปริมาตรตัวอย่าง ที่กำหนดปริมาตรที่แน่นอนโดยลูป (Injection loop) ขนาด 300, 500 และ 1000 ไมโครลิตร โดยอัตราการไหลของสารละลายตัวพาและสารละลายวานาโดโมลิบเดตรีเอเจนต์เท่ากับ 1 มิลลิลิตรต่อนาที ความยาวท่อผสมสาร 100 เซนติเมตร

(ดังรูปที่ 1) ผลการทดลองพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาตรของสารตัวอย่างค่าการดูตกเส้นแสงของผลิตภัณฑ์มีค่าสูงขึ้น และเมื่อพล็อตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความไวที่ได้จากการฉีดสารละลายมาตรฐานฟอสเฟต 2-7 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร และค่าจำนวนตัวอย่างต่อชั่วโมงในการวิเคราะห์ ได้กราฟดังแสดงในรูปที่ 3 จะเห็นได้ว่าเมื่อเพิ่มปริมาตรของสารตัวอย่าง

จะทำให้ค่าความไวในการวิเคราะห์เพิ่มขึ้น แต่จำนวนตัวอย่างต่อชั่วโมงลดลง ดังนั้นปริมาตรตัวอย่างที่เหมาะสมคือ ขนาด 500 ไมโครลิตร เนื่องจากมีจำนวนครั้งที่ฉีดสารตัวอย่างได้ต่อชั่วโมงมากกว่าปริมาตรตัวอย่างขนาด 1,000 ไมโครลิตร และ มีค่าความไวที่ได้ใกล้เคียงกัน

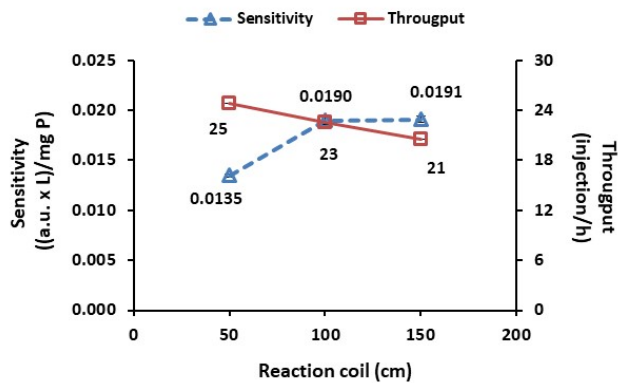


รูปที่ 3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรของสารตัวอย่างกับค่าความไว และค่าจำนวนตัวอย่างต่อชั่วโมงในการวิเคราะห์

3.3 ผลของความยาวท่อผสมสาร

ในการทดลองนี้ศึกษาผลของความยาวท่อผสมสารที่มีความยาว 50, 100 และ 150 เซนติเมตร โดยระบบใช้อัตราการไหลของสารละลายตัวพาและสารละลายวานาโดไมลิตเตดรีเอเจนต์เท่ากับ 1 มิลลิลิตรต่อนาที ปริมาตรตัวอย่าง 500 ไมโครลิตร โดยฉีดสารละลายมาตรฐานฟอสเฟต 2-7 มิลลิกรัม ฟอสฟอรัสต่อลิตร ลงในระบบ ผลการทดลองพบว่าเมื่อท่อผสมสารมีความยาวเพิ่มขึ้นค่าดูดกลืนแสงของสารจะเพิ่มขึ้น

เนื่องจากสารที่ต้องการวิเคราะห์ (Analyte) มีเวลาในการเกิดปฏิกิริยากันมากขึ้น แต่ค่าความไวในการวิเคราะห์จากการใช้ท่อผสมสารยาว 100 เซนติเมตร และ 150 เซนติเมตรไม่ต่างกันมาก ในขณะที่ค่าจำนวนตัวอย่างต่อชั่วโมงในการวิเคราะห์ลดลง เมื่อเพิ่มความยาวของท่อผสมสาร (รูปที่ 4) ดังนั้นในการทดลองนี้จึงเลือกความยาวท่อผสมสาร 100 เซนติเมตร เพื่อให้ได้ระบบที่มีความไวในการวิเคราะห์สูงและใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อย

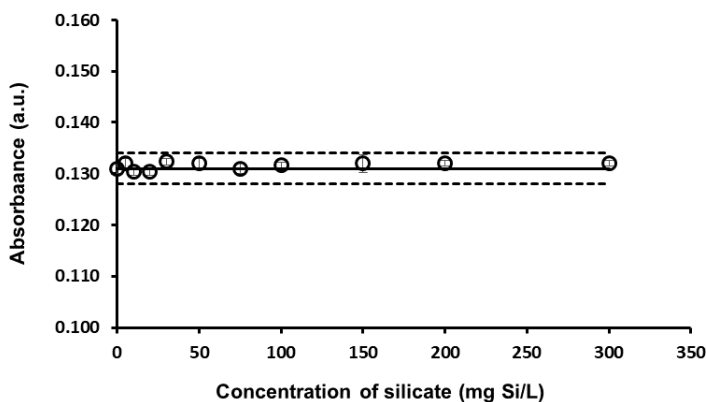


รูปที่ 4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความยาวของท่อผสมสารกับค่าความไว และค่าจำนวนตัวอย่างต่อชั่วโมงในการวิเคราะห์

3.4 ผลของตัวรบกวน

เนื่องจากซิลิเกตมักจะเป็นตัวรบกวนในการวิเคราะห์ฟอสฟอรัส [12-16] ดังนั้นในการทดลองนี้จึงศึกษาการรบกวนของซิลิเกตในระบบการวิเคราะห์นี้โดยเตรียมตัวรบกวนที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน ผสมกับสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร แล้วฉีดลงในระบบ (รูปที่ 1) ในการทดลองนี้ ศึกษาความเข้มข้นของซิลิเกต 5 - 300

มิลลิกรัมซิลิเกตต่อลิตร (mg Si/L) ผลการทดลองพบว่าระบบสามารถทนซิลิเกตได้มากกว่า 300 มิลลิกรัมซิลิเกตต่อลิตร (รูปที่ 5) ซึ่งในตัวอย่างปุ๋ยไม่ระบุปริมาณของซิลิเกตไว้ที่ฉลากปุ๋ย นอกจากนี้หากตัวอย่างมีปริมาณซิลิเกตมากสามารถลดการรบกวนของซิลิเกตได้โดยเติมกรดทาร์ทาริก (Tartaric acid) ในสารละลายรีเอเจนต์เพื่อป้องกันการเกิดโมลลิโดซิลิเกต (Molybdosilicate) [1]



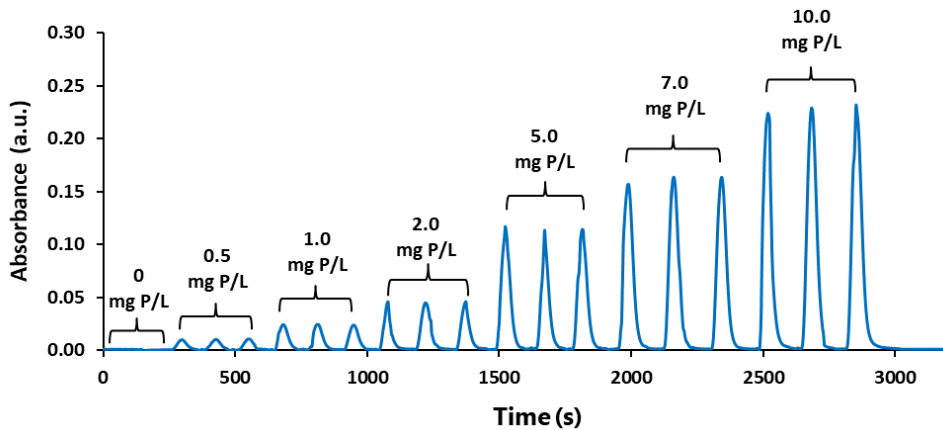
รูปที่ 5 กราฟแสดงผลของการศึกษาความสามารถของระบบวิเคราะห์ที่ทนต่อการรบกวนของซิลิเกต โดยใช้ความเข้มข้นของฟอสฟอรัส 5 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร

3.5 ประสิทธิภาพของระบบโฟลอินเจกชัน

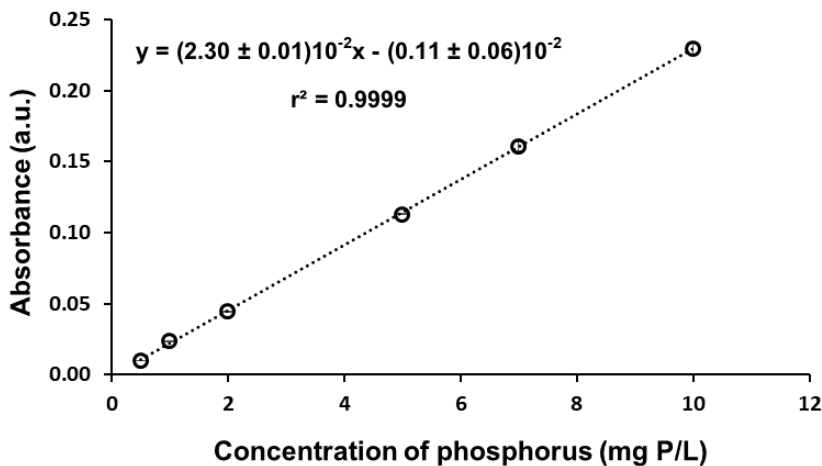
จากการฉีดสารละลายมาตรฐานลงในระบบโฟลอินเจกชันที่สภาวะที่เหมาะสม (Optimal conditions) ได้แก่ อัตราการไหลของสารละลายตัวพาและสารละลายวานาโดมอลิเบตรีเอเจนต์เท่ากับ 1 มิลลิเมตรต่อนาที ปริมาตรตัวอย่าง 500 ไมโครลิตร ความยาวผสมสาร 100 เซนติเมตร ได้ช่วงการใช้งานของกราฟมาตรฐานในช่วง 0.06 - 10.0 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร โดยลักษณะของพีคสัญญาณ (Flow profile) และผลการเส้นตรง ดังแสดงในรูปที่ 6 และ 7 ตามลำดับ

จากการฉีดสารละลายมาตรฐานลงในระบบโฟลอินเจกชันที่สภาวะที่เหมาะสม ได้ช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน

ในช่วง 0.5 - 10.0 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร จากสมการเส้นตรง (รูปที่ 7) คำนวณค่าขีดจำกัดของการตรวจวัด หรือค่า LOD ได้เท่ากับ 0.04 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร (3SD ของ แบลงค์/ความชันของกราฟมาตรฐาน) และจากการศึกษาค่าความเที่ยงตรง (Precision) จากการฉีดสารละลายมาตรฐาน 5 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร ในระบบจำนวน 10 ครั้ง ได้ค่าความเที่ยง หรือ %RSD เท่ากับ 1.77% โดยระบบมีความเร็วในการวิเคราะห์ตัวอย่าง 23 ตัวอย่างต่อ 1 ชั่วโมง



รูปที่ 6 ภาพสัญญาณแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับเวลาที่ได้จากการฉีดสารมาตรฐาน ฟอสฟอรัสในระบบโพลินเจคชัน ที่สภาวะที่เหมาะสม



รูปที่ 7 กราฟมาตรฐานฟอสเฟตแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารมาตรฐานฟอสฟอรัส

3.6 การวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำและการตรวจสอบการใช้ได้ของวิธี

จากระบบการไหลแบบโพลินเจคชันนี้ใช้ในการหาปริมาณฟอสฟอรัสในตัวอย่างปุ๋ยเคมีในเขตอำเภอเมือง จังหวัดลพบุรี โดยมีตัวอย่างชนิดเม็ด และชนิดน้ำทั้งหมด 8 ตัวอย่าง ซึ่งตัวอย่างหมายเลข 1-7 เป็นปุ๋ยเม็ด และตัวอย่างหมายเลข 8 เป็นปุ๋ยน้ำ แล้วนำผลที่ได้จากการทดลองโดยระบบโพลินเจคชันมาเปรียบเทียบกับผลการวิเคราะห์ฟอสเฟตด้วยวิธีวิเคราะห์แบบมาตรฐาน (Standard method) ซึ่งใช้ปฏิกิริยานาไดรีเอเจนต์

และวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่มีความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร [6, 17] ผลการทดลองที่ได้เปรียบเทียบโดยใช้สถิติแบบ paired *t*-test พบว่าผลการทดลองที่วิเคราะห์ได้จากทั้งสองวิธีไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยค่า $t_{\text{stat}} 0.19 < t_{\text{crit}} 2.45$ นอกจากนี้ ผลการศึกษาค่าร้อยละการได้กลับคืน (% Recovery) ที่ได้จากการการเติมสารละลายมาตรฐาน 1.0 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตรลงไปในแต่ละตัวอย่างแล้วนำไปวิเคราะห์และคำนวณ พบว่ามีค่าร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วง 96 - 103 % (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ปริมาณฟอสเฟตในตัวอย่างที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยระบบโพลีเอินเจคชั่นเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน

ตัวอย่างปุ๋ย	สูตรปุ๋ย	เจือจางจาก ขวด (เท่า)	ระบบการไหลแบบโพลีเอินเจคชั่น				วิธีมาตรฐาน (ร้อยละของ $P_2O_5 \pm SD$ (% P_2O_5))
			สามารถฐานที่เติม (มิลลิกรัมฟอสฟอรัส ต่อลิตร)	ฟอสเฟต $\pm SD$ (มิลลิกรัม ฟอสฟอรัสต่อ ลิตร)	ร้อยละการ กลับคืน (%)	ร้อยละของ $P_2O_5 \pm SD$ (% P_2O_5)	
ตัวอย่างที่ 1	13-13-21	100	0	3.33 \pm 0.04	98	12.46 \pm 0.27	12.81 \pm 0.34
			1	4.31 \pm 0.03			
ตัวอย่างที่ 2	15-15-15	100	0	2.19 \pm 0.04	101	15.14 \pm 0.25	15.02 \pm 0.15
			1	3.20 \pm 0.03			
ตัวอย่างที่ 3	16-16-16	100	0	2.19 \pm 0.03	97	15.95 \pm 0.31	16.06 \pm 0.32
			1	3.17 \pm 0.04			
ตัวอย่างที่ 4	8-24-24	100	0	3.22 \pm 0.02	96	24.06 \pm 0.16	23.96 \pm 0.23
			1	4.18 \pm 0.02			
ตัวอย่างที่ 5	9-23-20	100	0	3.08 \pm 0.04	103	22.71 \pm 0.27	23.03 \pm 0.42
			1	4.11 \pm 0.03			
ตัวอย่างที่ 6	15-30-15	100	0	4.95 \pm 0.04	100	30.35 \pm 0.24	30.49 \pm 0.27
			1	5.95 \pm 0.04			
ตัวอย่างที่ 7	25-7-7	100	0	1.90 \pm 0.05	96	6.89 \pm 0.26	6.85 \pm 0.345
			1	2.86 \pm 0.04			
ตัวอย่างที่ 8	10-18-4	150,423	0	0.54 \pm 0.05	98	18.47 \pm 0.58	18.25 \pm 0.55
(ปุ๋ยน้ำ)			1	1.52 \pm 0.02			

เมื่อเปรียบเทียบระบบแบบโฟลอินเจกชันอย่างง่ายในงานนี้กับงานวิจัยอื่นๆ ที่วิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสโดยใช้วิธีวานาโดมิลิบเดตพบว่า ระบบนี้สามารถวิเคราะห์ฟอสฟอรัสได้เช่นเดียวกันกับวิธีการวิเคราะห์แบบอื่นๆ ซึ่งโฟลอินเจกชันนี้ใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยกว่าแบบดั้งเดิม (Batch method) เนื่องจากแบบดั้งเดิมนั้นต้องรอให้สารทำปฏิกิริยากันจนสมบูรณ์จึงใช้เวลาอย่างน้อย 30 นาที ก่อนที่จะนำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ [6] และการวิเคราะห์แบบโฟลอินเจกชันใช้ปริมาตรสารในการวิเคราะห์ต่อตัวอย่างน้อยกว่า และเมื่อเปรียบเทียบระบบแบบโฟลอินเจกชันซึ่งใช้สเปกโตรโฟโตมิเตอร์เป็นเครื่องตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงกับระบบโฟลอินเจกชันที่ใช้เซลล์แบบท่อยาว (Liquid waveguide capillary cell หรือ LWCC) เชื่อมต่อกับตัวตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสง (Charge coupled device หรือ CCD-array) ซึ่งนำเสนอโดย M.S.A.C. Neves และคณะ พบว่าระบบ LWCC-CCD มีค่าความไว (Sensitivity) ในการวิเคราะห์ดีกว่า (LOD=17 $\mu\text{g P/L}$) เนื่องจาก LWCC ช่วยเพิ่มความยาวของเซลล์ใส่สารอย่าง (Flow cell pathlength) จึงทำให้ค่าการดูดกลืนแสงของสารสูงขึ้นตามกฎของเบียร์ (Beer's law) จึงเหมาะกับการวิเคราะห์ฟอสเฟตในตัวอย่างน้ำ หรือตัวอย่างที่มีปริมาณฟอสเฟตน้อยมาก [1] แต่การวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตในตัวอย่างปุ๋ยซึ่งมีปริมาณฟอสเฟตมากไม่จำเป็นต้องใช้อุปกรณ์เสริม เช่น LWCC ซึ่งมีราคาแพง

4. สรุปผลการทดลอง

ระบบการวิเคราะห์แบบไหลอย่างง่ายสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสด้วยวิธีวานาโดมิลิบเดต สามารถนำไปประยุกต์ในการวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสในตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่จำหน่ายในท้องตลาดได้ ผลที่ได้จากการทดลองสอดคล้องกันกับการวิเคราะห์แบบวิธีมาตรฐานทางสถิติแบบ pair *t*-test ระบบเป็นระบบอัตโนมัติที่มีความไวและความเที่ยงตรงในการวิเคราะห์สูง ใช้รีเอเจนต์และตัวอย่างปริมาณน้อย และวิเคราะห์ได้ถึง 23 ตัวอย่างต่อ 1 ชั่วโมง จึงเป็นระบบวิเคราะห์ที่เหมาะสมในการนำไปใช้ในการวิเคราะห์เพื่อควบคุมคุณภาพปุ๋ยที่มีตัวอย่างจำนวนมาก

5. กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ศูนย์วิทยาศาสตร์ และมหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และเครื่องมือในการทำวิจัย

6. เอกสารอ้างอิง

1. Neves, M.S.A.C., Souto, M.R.S., Tóth, I.V., Drummond, M.C. and Rangel, A.O.S.S., 2008, "Spectrophotometric Flow System Using Vanadomolybdophosphate Detection Chemistry and a Liquid Waveguide Capillary Cell for the Determination of Phosphate with Improved Sensitivity in Surface and Ground Water Samples," *Talanta*, 77 (2), pp. 527-532.
2. Estela, J.M. and Cerdà, V., 2005, "Flow Analysis Techniques for Phosphorus: An Overview," *Talanta*, 66 (2 SPEC. ISS.), pp. 307-331.
3. Kathong, S. and Ruangviriyachai, C., 2014, "Determination of Nitrogen, Phosphorus and Potassium in Liquid Organic Fertilizer," *KKU Research Journal (GS)*, 14 (4), pp. 57-68. (In Thai)
4. Fertilizer Act (Version 2), 2007, In the Government Gazette, Volume 125, Section 7A, 11 January 2008, pp. 1-28. (In Thai)
5. Thai Rath, 2016, Fertilizer and Illegal Chemical Fertilizer [Online], Available: <https://www.thairath.co.th/content/561021>. [27 July 2018] (In Thai)
6. Department of Agriculture, 2008, Manual for Fertilizer Analysis, Agricultural Chemical Research Group Office of Agricultural Production Development Research Ministry of Agriculture and Cooperatives. (In Thai)
7. Namkorn, R., Silapanuntakul, S., Vatanasomboon, P. and Prechthai, T., 2005, "Co-Compost Production from Sewage Sludge Mixed with Vegetable Wastes and Scum," *Journal of Community Development and Quality of Life*, 3 (1), pp. 95-103.
8. Auflitsch, S., Peat, D.M.W., McKelrie, I.D. and

- Worsfold, P.J., 1997, "Determination of Dissolved Reactive Phosphorus in Estuarine Waters Using a Reversed Flow Injection Manifold," *Analyst*, 122 (12), pp. 1477-1480.
9. Hanrahan, G., Gledhill, M., Fletcher, P.J. and Worsfold, P.J., 2001, "High Temporal Resolution Field Monitoring of Phosphate in the River Frome Using Flow Injection with Diode Array Detection," *Analytica Chimica Acta*, 440 (1), pp. 55-62.
10. Yaqoob, M., Nabi, A. and Worsfold, P.J., 2004, "Determination of Nanomolar Concentrations of Phosphate in Freshwaters Using Flow Injection with Luminol Chemiluminescence Detection," *Analytica Chimica Acta*, 510 (2), pp. 213-218.
11. Lira, L.F.B., Dos Santos, D.C.M.B., Guida, M.A.B., Stragevitch, L., Korn, M.D.G.A., Pimentel, M.F. and Paim, A.P.S., 2011, "Determination of Phosphorus in Biodiesel Using FIA with Spectrophotometric Detection," *Fuel*, 90 (11), pp. 3254-3258.
12. Más, F., Estela, J.M. and Cerdá, V., 1991, "Simultaneous Spectrophotometric Determination of Silicate and Phosphate by Flow Injection Analysis," *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 43 (2-3), pp. 71-78.
13. Mas-Torres, F., Muñoz, A., Estela, J.M. and Cerdá, V., 2000, "Simultaneous Spectrophotometric Determination of Phosphate and Silicate by a Stopped flow Sequential Injection Method," *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 77 (3), pp. 185-202.
14. Muñoz, A., Mas Torres, F., Estela, J.M. and Cerdá, V., 1997, "Evaluation of Spectrophotometric Methods for Determination of Orthophosphates by Sequential Injection Analysis," *Analytica Chimica Acta*, 350 (1-2), pp. 21-29.
15. Mas-Torres, F., Muñoz, A., Estela, J.M. and Cerdá, V., 1997, "Simultaneous Determination of Phosphate and Silicate in Waste Water by Sequential Injection Analysis," *Analyst*, 122 (10), pp. 1033-1038.
16. Galhardo, C.X. and Masini, J.C., 2000, "Spectrophotometric Determination of Phosphate and Silicate by Sequential Injection using Molybdenum Blue Chemistry," *Analytica Chimica Acta*, 417 (2), pp. 191-200.
17. Hoffman, W.M., 1964, "AOAC Methods for the Determination of Phosphorus in Fertilizers," *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists*, 47 (3), pp. 420-428.

