

การพัฒนาและทดสอบความถูกต้องของชุดทดสอบฟอสฟอรัสอินทรีย์ในน้ำยางพารา Development and Validation of Inorganic Phosphorus Test Kit in Rubber Latex

สุนันทา สะวะรัตน์^{1*} ขวัญตา ขวามี่¹ วชิร สี่ห่านานุรักษ์² จักรกฤษณ์ พูนภักดี¹ และจำเริญ อ่อนทอง¹

Sunanta Sawaraj^{1*}, Khwunta Khawmee¹, Vatcharee Seechamnanturakij²,

Chakkrit Poonpakdee¹ and Jumpen Onthong¹

¹สาขาวิชานวัตกรรมเกษตรและการจัดการ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90112

²ศูนย์ความเป็นเลิศทางสุขภาพและนวัตกรรมอาหาร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90112

¹Agricultural Innovation and Management Division, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hatyai, Songkhla 90112, Thailand

²Center of Excellence in Functional Foods and Gastronomy, Prince of Songkla University, Hatyai, Songkhla 90112, Thailand

*Corresponding author, e-mail: zinesci@hotmail.com

(Received: Dec 1, 2020; Revised: Jan 25, 2021; Accepted: Mar 10, 2021)

บทคัดย่อ

ฟอสฟอรัสอินทรีย์ในน้ำยางสามารถสะท้อนถึงความสามารถในการสร้างน้ำยางและสุขภาพของต้นยางพาราได้อย่างไรก็ตาม การวิเคราะห์ฟอสฟอรัสอินทรีย์ต้องทำในห้องปฏิบัติการซึ่งต้องใช้เครื่องมือวิเคราะห์ จึงสนใจพัฒนาชุดทดสอบฟอสฟอรัสอินทรีย์ในน้ำยางให้ใช้ได้ง่ายและมีความถูกต้อง โดยใช้เซรัมน้ำยางและสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัสในการทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมในการพัฒนาชุดทดสอบ จากนั้นทดสอบความถูกต้องโดยเปรียบเทียบกับวิธีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการจากการศึกษาพบว่า การทดสอบด้วยวิธีวานาโดมอลิบเดตเป็นวิธีที่เหมาะสม วิธีการใช้ชุดทดสอบทำได้โดยดูดเซรัมน้ำยาง 0.5 มิลลิลิตร เติมน้ำยาทำให้เกิดสี 3 มิลลิลิตร เขย่าแล้ววางทิ้งไว้ให้เกิดสีประมาณ 3 นาที แล้วนำมาประเมินระดับฟอสฟอรัสอินทรีย์ด้วยแผ่นเทียบสี การใช้ชุดทดสอบประเมินระดับฟอสฟอรัสอินทรีย์มีความสัมพันธ์สูงกับวิธีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ($r=0.898$) เมื่อนำชุดทดสอบไปใช้ในแปลงยางพาราพันธุ์ RRIM 600 ที่มีฟอสฟอรัสอินทรีย์ในน้ำยางอยู่ในระดับต่ำและปานกลางจำนวน 13 แปลง พบว่า ให้ค่าร้อยละความถูกต้องเฉลี่ยเท่ากับ 70 และ 62 ชุดทดสอบนี้สามารถใช้ประเมินระดับฟอสฟอรัสอินทรีย์ในน้ำยางที่มีความสะดวก รวดเร็ว ราคาถูก และสามารถนำผลการทดสอบเป็นแนวทางในการจัดการและประเมินศักยภาพผลผลิตยางพาราได้

คำสำคัญ : ชุดทดสอบ ฟอสฟอรัสอินทรีย์ น้ำยาง

Abstract

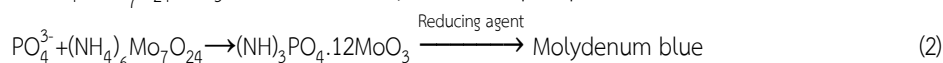
Inorganic phosphorus (Pi) in latex can reflect activity of latex synthesis and rubber tree health. However, Pi analysis is generally conducted in a laboratory that requires analytical instrument. The objective of this study was to develop latex Pi test kit that is easy to use with high accuracy. The latex serum and phosphorus standard solution were used for the determination of optimum conditions for the development of the test kit and then Pi level measured by test kit was compared with a laboratory method. The results showed that vanadomolybdate method was stable for color development. This method used 0.5 ml of sample, adding 3 ml of color reagent, shaking well, and after 3 minutes assessing the level of Pi with a color chart. Pi level measured by this test kit was highly correlated with laboratory methods ($r = 0.898$). Using this test kit to evaluate Pi level in rubber tree latex RRIM 600 in 13 rubber plantations that contain low and medium Pi level, it was found that the average accuracy percentage was 70 and 62. Therefore, the Pi test kit can be used to assess the levels of Pi in latex. It is convenient, quick and inexpensive. It can be used as a guideline for rubber tree management and rubber yield potential evaluation.

Keywords: Test kit, Inorganic phosphorus, Latex

บทนำ

ยางพารามีกระบวนการสร้างเนื้อยางโดยใช้ซูโครส (Sucrose: Suc) ที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงเป็นสารตั้งต้นในการผลิตน้ำยางผ่านกระบวนการไกลโคไลซิส (Glycolysis) ได้เป็นอะซีติลโคเอนไซม์เอ (Acetyl coenzyme A: acetyl CoA) ซึ่งจะถูกนำไปใช้ในการสร้างอนุภาคยาง (Rubber particle) กระบวนการดังกล่าวต้องอาศัยพลังงานอะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (Adenosine triphosphate: ATP) และนิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟต (Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate: NADP⁺) โดยที่ฟอสฟอรัสจะถูกปลดปล่อยออกมาในรูปฟอสฟอรัสอนินทรีย์ (Inorganic phosphorus: Pi) นอกจากนี้ฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบของสารที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการสร้างซูโครส แป้ง และโปรตีน และมีความสำคัญในการแบ่งเซลล์ในการเจริญเติบโตของราก และการพัฒนาเมล็ด (Nair, 2000, pp. 249-260) ดังนั้น Pi ในน้ำยางจึงสะท้อนถึงกระบวนการสร้างน้ำยางและการเจริญเติบโตของยางพาราได้ การทราบปริมาณ Pi ในน้ำยางจึงทำให้สามารถประเมินศักยภาพผลผลิตน้ำยางและประเมินความอุดมสมบูรณ์ของต้นยางพาราได้ซึ่งเปรียบเสมือนการตรวจสอบสุขภาพให้กับต้นยางพารา เพื่อเป็นแนวทางให้เกษตรกรในการจัดการสวนยางพาราให้เหมาะสมและเพิ่มผลผลิต

วิธีการวิเคราะห์ Pi ในน้ำยางที่ใช้ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ด้วยวิธีวานาโดมอลิบเดต (Vanadomolybdate method) โดยนำแอมโมเนียมเมทาวานาเดต (Ammonium metavanadate) ทำปฏิกิริยากับโมลิบเดต (Molybdate) ภายใต้สภาวะสารละลายเป็นกรด โดยทั่วไปใช้กรดไนตริก 0.5 โมลาร์ หากความเข้มข้นของกรดไม่เพียงพอสารละลายที่ได้จะมีสีส้มเหลือง แต่ถ้ามากกว่า 1.6 โมลาร์ การเกิดสีจะช้า เมื่อสารทำปฏิกิริยากันได้เป็นแอมโมเนียมวานาโดมอลิบเดตรีเอเจนต์ (Ammonium vanadomolybdate reagent) จากนั้นแอมโมเนียมวานาโดมอลิบเดตรีเอเจนต์จะทำปฏิกิริยากับฟอสเฟต โดยการแทนที่ออกซิเจนของฟอสเฟตโดยอนุมูลออกไซด์ของโมลิบดินัมและวานาเดียม เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีเหลืองของกรดเฮเทอโรโพลิ (Heteropoly acid) หรือกรดโมลิบโดวานาโดฟอสฟอริก (สมการที่ 1) สีที่เกิดขึ้นมีความเสถียรมากและไม่เกิดการรบกวนจากไอออนต่าง ๆ และใช้เวลาเกิดสี 10 นาที วิธีนี้เหมาะสำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มี Pi สูง เช่น พืช ปุ๋ย เป็นต้น (Mahabir & Verna, 2012, pp. 135-140; Kitson & Mellon, 1994, pp. 379-383)



นอกจากนี้การวิเคราะห์ Pi ยังสามารถวิเคราะห์ด้วยวิธีโมลิบดินัมบลู (Molybdenum blue method) วิธีนี้ฟอสเฟตไอออนจะทำปฏิกิริยากับแอมโมเนียมโมลิบเดต ((NH₄)₆Mo₇O₂₄) เกิดเป็นสารประกอบแอมโมเนียมฟอสโม่ลิบเดต ((NH₄)₃PO₄ · 12MoO₃) จากนั้นจะถูกรีดิวซ์เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน (Molybdenum blue) (สมการที่ 2) โดยตัวรีดิวซ์ที่นิยมใช้ คือ กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) เพราะสามารถเกิดสีน้ำเงินคงตัวได้นาน ซึ่งการเกิดสีจะสมบูรณ์หลังปล่อยให้เกิดปฏิกิริยา 30 นาที สีน้ำเงินที่เกิดขึ้นจะอยู่ได้นาน 24 ชั่วโมง (Murphy & Riley, 1962, pp. 31-36) นอกจากนี้ยังมีการใช้สแตนนัสคลอไรด์ (Stannous chloride) เป็นตัวรีดิวซ์ แต่จะต้องวิเคราะห์ภายใน 5-10 นาที หลังทำให้เกิดสี (Amma, 1989, p. 17) นอกจากนั้นยังมีรายงานว่า มีการใช้เฟอร์รัสซัลเฟต (Ferrous sulfate) เป็นตัวรีดิวซ์สามารถเกิดสีอย่างสมบูรณ์ภายใน 1 นาที สีคงที่ได้นานอย่างน้อย 2 ชั่วโมง วิธีโมลิบดินัมบลูนี้เหมาะสำหรับตัวอย่างที่มีฟอสฟอรัสต่ำซึ่งเป็นวิธีทั่วไปที่ใช้วิเคราะห์ฟอสฟอรัสในดินและน้ำ (Onthong & Poonpakdee, 2017, pp. 67-72; Taussky & Shorr, 1953, pp. 675-685) โดยทั้งสองวิธีใช้หลักการวัดความเข้มของสี (Colorimetric method) โดยทำให้เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสี แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Visible spectrophotometer) ซึ่งเครื่องมือดังกล่าวมีราคาแพง ขนาดใหญ่ และต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญในการวิเคราะห์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในขณะนี้ยังไม่มีห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ Pi ในน้ำยาง การวิเคราะห์ Pi โดยวิธีการทำให้เกิดสีนั้นระดับความเข้มสีที่เกิดขึ้นขึ้นอยู่กับระดับ Pi ดังนั้นจึงอาจจะนำมาประยุกต์ในการประเมินระดับ Pi ให้ง่าย โดยไม่ต้องใช้เครื่องมือที่ซับซ้อนและสามารถนำไปใช้ในภาคสนามได้ โดยการทำแผ่นเทียบสี เนื่องจากความเข้มของสีที่เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยาโดยตรงกับ Pi ซึ่งสามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

พัฒนาชุดทดสอบ Pi ในน้ำยางให้ใช้งานได้ง่าย มีความถูกต้องและแม่นยำ เพื่อเป็นแนวทางในการประเมินศักยภาพผลผลิตน้ำยางและประเมินความอุดมสมบูรณ์ของต้นยางพาราเพื่อเป็นแนวทางให้เกษตรกรสามารถจัดการสวนยางพาราได้อย่างเหมาะสมและเพิ่มผลผลิต

วิธีดำเนินการวิจัย

1. เปรียบเทียบการเกิดสีของ Pi ระหว่างวิธีวานาโดมิลิเบตและวิธีโมลิบดีนัมบลู

ศึกษาการเกิดสีของ Pi ด้วยวิธีวานาโดมิลิเบตและวิธีโมลิบดีนัมบลู โดยนำน้ำยางพันธุ์ RRIM 600 จากการสุ่มเก็บตัวอย่างแปลงละ 10 ต้น ต้นละ 10 หยด ใช้เหล็กลายแหลมเจาะบริเวณกึ่งกลางใต้รอยกรีด 5 เซนติเมตร มาตกตะกอนด้วยสารละลายกรดผสมที่ซีเอ (2.5% w/v TCA และ 0.1% w/v EDTA) อัตราส่วน 1 ต่อ 9 (v/v) คนให้ยางจับตัวเป็นก้อน วางทิ้งไว้ 10 นาที แล้วกรองสารละลายส่วนใส (เซรัมน้ำยาง) ด้วยกระดาษกรองวัดแมนเบอร์ 1 และใช้ตัวอย่างจากสารละลายมาตรฐาน Pi เป็นสารละลายตัวอย่างที่ครอบคลุมระดับต่ำ (< 13 มิลลิโมลาร์) ปานกลาง (13-29 มิลลิโมลาร์) และระดับสูง (> 29 มิลลิโมลาร์) ตามค่าอ้างอิงการวิเคราะห์น้ำยาง (Latex diagnosis reference) สำหรับยางพาราพันธุ์ RRIM 600 (Atisakul & Onthong, 2013, pp. 13-20; Chantuma *et al.*, 2003, p. 427)

การวิเคราะห์ Pi ด้วยวิธีวานาโดมิลิเบตทำได้โดยปิเปตต์เซรัมน้ำยางและสารละลายมาตรฐาน Pi ความเข้มข้น 0.5, 2.0 และ 4.0 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 0.50 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง จำนวน 3 ข้าง เติมสารผสมสำหรับทำปฏิกิริยา (1.25% w/v NH_4VO_3 + 25% w/v $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot\text{H}_2\text{O}$) ที่เจือจางด้วยน้ำปราศจากไอออน 4 เท่า ปริมาตร 3.0 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน วางทิ้งไว้ให้เกิดสีเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร (Onthong *et al.*, 2013, pp. 23-24) คำนวณหาความเข้มข้นของ Pi ที่ได้จากกราฟมาตรฐาน Pi ช่วงความเข้มข้น 0.1-2.5 มิลลิโมลาร์

การวิเคราะห์ Pi ด้วยวิธีโมลิบดีนัมบลูโดยปิเปตต์เซรัมน้ำยางและสารละลายมาตรฐาน Pi ความเข้มข้น 0.5, 2.0 และ 4.0 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1.0 และ 0.1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง จำนวน 3 ข้าง เติมสารผสมสำหรับทำปฏิกิริยา (3% v/v $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ + 0.1% w/v $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8\cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$) และสารละลายกรดแอสคอร์บิก (0.5% w/v) ลงไปอย่างละ 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำที่ปราศจากไอออน 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน วางทิ้งไว้ให้เกิดสีเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ 820 นาโนเมตร เทียบและคำนวณหาความเข้มข้นของ Pi ที่ได้จากกราฟมาตรฐาน Pi ช่วงความเข้มข้น 0.05-0.2 มิลลิโมลาร์ (Onthong & Poonpakdee, 2017, pp. 67-72)

2. ศึกษาปริมาณตัวอย่างและเวลาที่ใช้ในการเกิดสีของ Pi

ปิเปตต์เซรัมน้ำยางและสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัสปริมาตร 0.5 และ 1.0 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง จำนวน 3 ข้าง เติมน้ำยาทำให้เกิดสี จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ เมื่อได้ปริมาณตัวอย่างที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาแล้วจากนั้นหาเวลาที่เหมาะสมในการเกิดสีของ Pi โดยปิเปตต์เซรัมน้ำยางและสารละลายมาตรฐาน Pi ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร จำนวน 3 ข้าง วางทิ้งไว้ให้เกิดสีที่เวลาแตกต่างกันและวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

3. การทำแผ่นเทียบสีมาตรฐาน Pi ในน้ำยาง

แผ่นเทียบสีมาตรฐานที่ใช้ในการประเมิน Pi ในน้ำยางแบ่งเป็น 3 ระดับ ตามค่าอ้างอิงของ Chantuma *et al.* (2003, p. 427) คือ ระดับต่ำ (< 13 มิลลิโมลาร์) ระดับปานกลาง (13-29 มิลลิโมลาร์) และระดับสูง (> 29 มิลลิโมลาร์) โดยใช้สารละลายมาตรฐาน Pi ความเข้มข้น 0.1-5.0 มิลลิโมลาร์ ทำปฏิกิริยาตามวิธีชุดทดสอบ แล้วเลือกความเข้มข้นในระดับต่ำ ปานกลาง สูง ที่เห็นความแตกต่างของสีชัดเจนเพื่อนำมาวัดค่าสีด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Color spectrophotometer) ในระบบ $L^*a^*b^*$ ซึ่งเป็นระบบการบรรยายสีแบบสามมิติ โดยแกน L^* คือ ความสว่าง (Lightness) มีค่าตั้งแต่ 0-100 (0 คือ สีดำ และ 100 คือ สีขาว) แกน a^* คือ แกนสีเขียว ($-a^*$) จนถึงสีแดง ($+a^*$) และแกน b^* คือ แกนสีน้ำเงิน ($-b^*$) จนถึงสีเหลือง ($+b^*$) (HunterLab, 1996, p. 1) จากนั้นนำค่าสีมาสร้างแผ่นเทียบสีในโปรแกรม Adobe Photoshop

4. การสร้างชุดทดสอบ Pi ในน้ำยาง

ชุดทดสอบประกอบด้วย หลอดหยดขนาด 1 และ 3 มิลลิลิตร ขวดทดสอบตัวอย่างขนาด 8 มิลลิลิตร และน้ำยา P1 วิธีการทดสอบทำได้โดย นำหลอดหยดขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดเซรัมน้ำยาง 0.5 มิลลิลิตร เติมน้ำยา P1 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน วางทิ้งไว้ 3 นาที จากนั้นเปรียบเทียบสีที่เกิดขึ้นกับแผ่นเทียบสีมาตรฐาน (ภาพที่ 1) เพื่อประเมินระดับ Pi ในน้ำยาง



ภาพที่ 1 อุปกรณ์และแผ่นเทียบสีมาตรฐานชุดทดสอบฟอสฟอรัสอินทรีย์ในน้ำยาง

5. ทดสอบความถูกต้องชุดทดสอบ Pi ในน้ำยาง

ทดสอบความถูกต้อง โดยใช้สารละลายมาตรฐาน Pi จำนวน 24 ตัวอย่าง ครอบคลุมระดับต่ำถึงสูง (0.5-55 มิลลิโมลาร์) กับผู้ทดสอบ 5 คน ทดสอบด้วยชุดทดสอบแล้วอ่านค่าด้วยการเทียบสีกับแผ่นเทียบสีมาตรฐาน โดยกำหนดให้ความเข้มข้น Pi ระดับต่ำ (ระดับ 1) ปานกลาง (ระดับ 2) และสูง (ระดับ 3) จากนั้นนำมาประเมินร้อยละความถูกต้องและหาความสัมพันธ์ด้วยวิธีสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบสเปียร์แมน (Spearman rank correlation coefficient) ระหว่างระดับที่อ่านได้จากแผ่นเทียบสีกับค่าที่ได้จากห้องปฏิบัติการ

จากนั้นนำชุดทดสอบ Pi ในน้ำยางไปทดสอบจริงในภาคสนามในแปลงยางพาราพันธุ์ RRIM 600 จำนวน 13 แปลง ทดสอบหา Pi ในน้ำยางด้วยชุดทดสอบแล้วอ่านค่าด้วยการเทียบสีกับแผ่นเทียบสีมาตรฐานโดยผู้ทดสอบจำนวน 13 คน นำค่าที่อ่านได้มาเปรียบเทียบกับวิธีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเพื่อนำมาประเมินร้อยละความถูกต้อง

ผลการวิจัย

1. การเกิดสีของ Pi ระหว่างวิธีวานาโดมิลิเบตและวิธีโมลิบดีนัมบลู

ตัวอย่าง Pi ความเข้มข้น 5, 20, 40 มิลลิโมลาร์ และเซรัมน้ำยางที่วิเคราะห์ด้วยวิธีวานาโดมิลิเบตมีการดูดกลืนแสงในช่วงที่เหมาะสมทำให้ Pi ที่ได้มีค่าเท่ากับ 4.99, 20.15, 40.21 และ 12.16 มิลลิโมลาร์ ซึ่งใกล้เคียงกับค่าจริง ส่วนวิธีโมลิบดีนัมบลูมีการดูดกลืนแสงสูงมาก ทำให้ความเข้มข้นที่ได้คลาดเคลื่อนจากค่าจริงไปมากโดยเฉพาะเมื่อใช้ปริมาตรตัวอย่าง 1.0 มิลลิลิตร (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นฟอสฟอรัสอินทรีย์ด้วยวิธีวานาโดมิลิเบตและโมลิบดีนัมบลู (mean±SE)

Samples	Vanadomolybdate		Molybdenum blue			
			Volume sample 1.0 mL		Volume sample 0.1 mL	
	Absorbance value	Pi (mM)	Absorbance value	Pi (mM)	Absorbance value	Pi (mM)
Pi 5 mM	0.156±0.001	4.99±0.02	1.507±0.012	4.37±0.03	0.184±0.001	5.04±0.03
Pi 20 mM	0.635±0.001	20.15±0.02	6.660±0.021	17.85±0.05	0.771±0.004	20.35±0.12
Pi 40 mM	1.267±0.009	40.21±0.27	14.020±0.125	37.96±0.33	1.313±0.013	35.43±0.34
Latex serum	0.382±0.006	12.16±0.19	3.343±0.020	8.96±0.05	0.392±0.009	10.45±0.23

2. ปริมาตรของสารตัวอย่างและเวลาที่เหมาะสมในการเกิดสีโดยวิธีวานาโดโมลิบเดต

การวิเคราะห์ Pi โดยวิธีวานาโดโมลิบเดต พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาตรตัวอย่างเพิ่มขึ้น แต่เมื่อใช้ปริมาตรตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตร พบว่า ที่ความเข้มข้น Pi สูง ค่าที่ได้ใกล้เคียงกับค่าจริงมากกว่าการใช้ปริมาตรตัวอย่าง 1.0 มิลลิลิตร (ตารางที่ 2) และสามารถแยกความแตกต่างของสีเหลืองที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ได้ดีกว่า

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นฟอสฟอรัสอินทรีย์ที่ปริมาตรตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตร และ 1.0 มิลลิลิตร (Mean±SE)

Samples	Volume sample 0.5 mL		Volume sample 1.0 mL	
	Absorbance value	Pi (mM)	Absorbance value	Pi (mM)
Pi 5 mM	0.151±0.003	4.70±0.08	0.264±0.003	4.89±0.05
Pi 20 mM	0.633±0.002	20.18±0.05	1.153±0.009	20.81±0.16
Pi 40 mM	1.261±0.008	40.34±0.26	2.351±0.011	42.24±0.20
Latex serum	0.395±0.003	12.59±0.13	0.738±0.002	13.35±0.02

การเกิดสีของสารละลาย Pi เมื่อวางทิ้งไว้ให้เกิดสีเป็นเวลา 3 และ 5 นาที มีค่าใกล้เคียงกับวิธีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ (10 นาที) แต่เมื่อวางทิ้งไว้ให้เกิดสีเป็นเวลา 30 นาที ค่าการดูดกลืนแสงมีแนวโน้มลดลง (ตารางที่ 3)

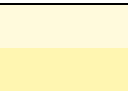
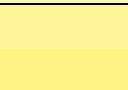
ตารางที่ 3 ผลของเวลาการเกิดสีต่อการดูดกลืนแสงฟอสฟอรัสอินทรีย์ (Mean±SE)

Time (min)	Absorbance value			
	Pi 5 mM	Pi 20 mM	Pi 40 mM	Latex serum
1	0.149±0.0003	0.616±0.0003	1.203±0.0009	0.498±0.0009
2	0.145±0.0003	0.613±0.0006	1.227±0.0003	0.490±0.0003
3	0.157±0.0003	0.638±0.0003	1.264±0.0003	0.515±0.0003
5	0.155±0.0003	0.635±0.0006	1.259±0.0009	0.512±0.0010
10	0.155±0.0003	0.635±0.0007	1.256±0.0003	0.511±0.0012
30	0.150±0.00017	0.619±0.0009	1.231±0.0006	0.513±0.0007

4. ผลการวัดค่าสีเพื่อสร้างแผ่นเทียบสีมาตรฐาน Pi ในน้ำยาง

การวัดค่าสีเพื่อใช้ในการสร้างแผ่นเทียบสีมาตรฐาน จากการนำสารละลายมาตรฐาน Pi ไปวัดด้วยเครื่องคลเลอร์สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยค่าสีมีหน่วยเป็น $L^*a^*b^*$ ผลการวัดค่าสีพบว่า แกน L^* และ a^* มีค่าลดลงเมื่อระดับ Pi สูงขึ้น แต่ค่าของแกน b^* เพิ่มขึ้นตามระดับ Pi และความเข้มสีเพิ่มขึ้นตามระดับ Pi (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ค่าสีของฟอสฟอรัสอินทรีย์ที่ระดับต่าง ๆ สำหรับการทำแผ่นเทียบสี

Pi Level	L*a*b* value			Color
	L*	a*	b*	
Low	98.00	-3.45	15.42	
	96.36	-7.60	34.80	
Medium	95.30	-9.16	46.19	
	94.72	-10.60	55.90	
High	93.61	-11.71	70.36	
	92.70	-11.38	77.62	

5. การทดสอบความถูกต้องชุดทดสอบ Pi ในน้ำยาง

การประเมินระดับ Pi ด้วยชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นจากตัวอย่างสารละลายมาตรฐาน Pi ตัวอย่างที่ระดับ Pi ต่ำ ปานกลาง และสูง มีร้อยละความถูกต้องเท่ากับ 95, 75 และ 88 ตามลำดับ มีค่าร้อยละความถูกต้องของแต่ละบุคคลอยู่ในช่วง 71-96 และพบความสัมพันธ์ระหว่างค่าที่ประเมินจากแผ่นเทียบสีกับค่าที่ได้จากห้องปฏิบัติการมีค่าเท่ากับ 0.898 ดังนั้นการประเมินระดับ Pi โดยใช้ชุดทดสอบมีความสัมพันธ์กับค่าที่ได้จากวิธีอ้างอิงที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ (ตารางที่ 5)

ผลของ Pi ในเซรัมน้ำยางจากการนำชุดทดสอบไปใช้จริงในภาคสนามในสวนยางพารา 13 แปลง พบว่า ระดับ Pi จากการทดสอบด้วยวิธีมาตรฐานในห้องปฏิบัติการอยู่ในระดับต่ำ (4-8 มิลลิโมลาร์) และปานกลาง (13-21 มิลลิโมลาร์) ผลการประเมินระดับ Pi จากการใช้ชุดทดสอบ พบว่า ที่ Pi ระดับต่ำและปานกลางมีค่าร้อยละความถูกต้องเทียบกับค่าที่ได้จากห้องปฏิบัติการโดยเฉลี่ยเท่ากับ 70 และ 62 (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 5 ร้อยละความถูกต้องและสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบสเปียร์แมนของ Pi ระหว่างวิธีมาตรฐานในห้องปฏิบัติการกับชุดทดสอบ (n=24)

Pi value by reference method		Pi level obtained by test kits from 5 testers					Accuracy percentage (%)	
(mM)	Level	1	2	3	4	5		
0.5	Low	L	L	L	L	L	100	95
2		L	L	L	L	L	100	
3		L	L	L	L	L	100	
5		L	L	L	L	L	100	
7		L	L	L	L	L	100	
8		L	L	L	L	L	100	
10		L	L	L	L	M	80	
11		L	L	L	L	M	80	
13	Medium	M	L	L	L	M	40	75
15		L	M	M	L	M	60	
17		M	M	M	L	M	80	
20		M	M	M	M	M	100	
22		M	M	M	L	M	80	
25		M	M	M	M	H	80	
27		M	M	M	M	M	100	
29		M	M	H	M	H	60	
30	High	M	H	H	M	H	60	88
33		H	H	H	M	H	80	
36		M	H	H	M	H	60	
40		H	H	H	H	H	100	
45		H	H	H	H	H	100	
47		H	H	H	H	H	100	
50		H	H	H	H	H	100	
55		H	H	H	H	H	100	
Accuracy percentage (%)		88	96	92	71	83	86	
Correlation coefficient		0.915**	0.971**	0.943**	0.840**	0.894**	0.898**	

Remark: ** = significant at $P \leq 0.01$, L = Low, M = Medium, H = High

ตารางที่ 6 ร้อยละความถูกต้องของชุดทดสอบ Pi จากการใช้ในภาคสนามเทียบกับวิธีมาตรฐานในห้องปฏิบัติการ (n=13)

Samples	Pi values by reference		Inorganic phosphorus levels obtained by test kit from 13 testers													
	mM	Level	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	Mean
1	4	Low	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	
2	5		L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	
3	6		L	L	L	L	M	L	M	M	M	M	L	M	L	
4	7		L	L	L	L	L	L	M	M	M	L	L	L	L	
5	7	Low	L	L	L	M	M	L	M	L	M	M	L	M	L	
6	7		L	L	M	M	L	L	M	L	M	M	L	L	L	
7	8		M	L	M	M	M	L	M	L	M	M	L	L	L	
Accuracy percentage (%)			86	100	71	57	57	100	29	71	29	43	100	71	100	70
8	13	Medium	L	L	L	L	M	L	L	L	L	M	L	L	L	
9	13		L	L	M	L	M	L	M	M	M	M	L	M	M	
10	15		L	L	M	L	M	L	M	M	M	M	L	M	M	
11	18		M	M	M	L	M	M	M	M	M	M	M	M	M	
12	19		M	M	M	M	M	M	H	H	M	M	M	M	M	
13	21		M	M	H	M	M	M	H	H	M	H	M	H	H	
Accuracy percentage (%)			50	50	67	33	100	50	50	50	83	83	50	67	67	62

Remark: L = Low, M = Medium, H = High

อภิปรายผลการวิจัย

1. สภาพที่เหมาะสมในการพัฒนาชุดทดสอบ Pi ในน้ำยาง

ในการพัฒนาชุดทดสอบ Pi ได้ใช้ตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของ Pi 5-40 มิลลิโมลาร์ เป็นช่วงที่ครอบคลุม Pi ในน้ำยาง (Nualkaew & Onthong, 2019, pp. 86-96) การวิเคราะห์ฟอสฟอรัสด้วยวิธีโมลิบดีนัมบลูโดยใช้ปริมาตรตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร มีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 1.507-14.020 ซึ่งมีค่าสูงกว่าช่วงเหมาะสม (0.1-1.0) (Strobel & Heineman, 1989, p. 553) เมื่อลดปริมาตรตัวอย่างเป็น 0.1 มิลลิลิตร ค่าการดูดกลืนแสงลดลง (0.184-1.313) และที่ตัวอย่าง Pi 5 และ 20 มิลลิโมลาร์ มีค่าความเข้มข้นใกล้เคียงสารละลายมาตรฐาน Pi (5.04 และ 20.35 มิลลิโมลาร์) แต่ที่ Pi 40 มิลลิโมลาร์ ค่าวิเคราะห์เท่ากับ 35.43 มิลลิโมลาร์ เนื่องจากตัวอย่างมีความเข้มข้นสูงต้องมีการเจือจางและปริมาตรตัวอย่างที่ใช้เพียง 0.1 มิลลิลิตร ค่าวิเคราะห์จึงมีโอกาสเกิดความคลาดเคลื่อนสูง เมื่อพิจารณาความเข้มข้นของ Pi ที่วิเคราะห์ได้ พบว่า วิธีวานาโดโมลิเบตมีค่าวิเคราะห์ใกล้เคียงสารละลายมาตรฐาน Pi ที่ใช้เป็นตัวอย่างมากกว่าวิธีโมลิบดีนัมบลู (ตารางที่ 1) เนื่องจากวิธีวานาโดโมลิเบตให้เสถียรภาพการเกิดสีดีกว่าวิธี โมลิบดีนัมบลู และเป็นวิธีที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ฟอสฟอรัสในพืช ปุ๋ย อาหารสัตว์ และน้ำที่มีปริมาณฟอสฟอรัสสูง ดังนั้นวิธีวานาโดโมลิเบตจึงเหมาะสมเพื่อใช้ในการพัฒนาชุดทดสอบ Pi ในน้ำยาง เนื่องจากในน้ำยางมี Pi ปริมาณค่อนข้างสูง (Lacote *et al.*, 2019, p. 8) และใช้ปริมาตรตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตร เนื่องจากค่าวิเคราะห์ใกล้เคียงสารละลายมาตรฐาน Pi ที่ใช้เป็นตัวอย่างมากกว่าที่ปริมาตรตัวอย่าง 1.0 มิลลิลิตร สารละลายตัวอย่างที่เกิดขึ้นให้สีที่เห็นความแตกต่างมากกว่าและมีค่าการดูดกลืนแสงที่เหมาะสม (ตารางที่ 2)

เมื่อนำตัวอย่างมาทำให้เกิดสี พบว่า เมื่อวางทิ้งไว้ให้เกิดสี 3 นาที มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดและมีค่าใกล้เคียงกับที่เวลา 10 นาที ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ส่วนในการวิเคราะห์ฟอสฟอรัสในพืชและปุ๋ยอินทรีย์ด้วยวิธีวานาโดโมลิเบตใช้เวลาในการเกิดสี 30 นาที อย่างไรก็ตามการทำให้สารละลายเกิดสีโดยวางทิ้งไว้นาน 3 นาที ก็เพียงพอต่อการเกิดสีของสารละลาย (ตารางที่ 3)

2. การทดสอบความถูกต้องของชุดทดสอบ Pi ในน้ำยาง

เมื่อนำชุดทดสอบมาทดสอบความถูกต้องด้วยสารละลายมาตรฐาน Pi ที่ระดับต่ำ ปานกลาง และสูง พบว่า ร้อยละความถูกต้องของตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้นต่ำ ปานกลาง และสูงมีค่าเท่ากับ 95, 75 และ 88 และผลการประเมิน Pi ด้วยชุดทดสอบมีความสัมพันธ์สูงเมื่อเทียบกับผลที่ได้จากวิธีมาตรฐานที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ($r=0.898$) ร้อยละความถูกต้องของผลการทดสอบของผู้ทดสอบแต่ละคนอยู่ในช่วง 71-96 มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างผลการทดสอบของแต่ละบุคคลอยู่ในช่วง 0.840-0.971 แสดงถึงผลการประเมิน Pi ด้วยชุดทดสอบของแต่ละบุคคลมีความสัมพันธ์สูง ดังนั้นผลที่ได้มีความถูกต้องสูงเมื่อเทียบกับวิธีมาตรฐานที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ (ตารางที่ 5)

เมื่อนำชุดทดสอบไปใช้ในภาคสนามในแปลงยางพาราพันธุ์ RRIM 600 พบว่า ระดับ Pi ในเข็มน้ำยางพาราจากการทดสอบในห้องปฏิบัติการอยู่ในระดับต่ำ (4-8 มิลลิโมลาร์) และปานกลาง (13-21 มิลลิโมลาร์) ผลการประเมินระดับ Pi จากการใช้ชุดทดสอบในภาคสนาม พบว่า ที่ระดับต่ำมีร้อยละความถูกต้องอยู่ในช่วง 29-100 และที่ระดับปานกลางมีค่าร้อยละความถูกต้องอยู่ในช่วง 33-100 จะเห็นว่าร้อยละความถูกต้องมีช่วงกว้าง แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการแยกสีของแต่ละบุคคลมีความแตกต่างกัน ค่าเฉลี่ยร้อยละความถูกต้อง Pi ระดับต่ำและปานกลางมีค่าเท่ากับ 70 และ 62 เนื่องจาก Pi ส่วนใหญ่ (ตัวอย่างน้ำยางที่ 4-9) มีค่าใกล้เคียงกับค่าที่ใช้แบ่งระดับ (7-13 มิลลิโมลาร์) ซึ่งมีการศึกษาเกี่ยวกับของ Pi ในยางพาราจังหวัดสงขลาที่ปลูกในที่ลุ่มและที่ดอน พบว่า มีค่าเท่ากับ 11.35 และ 9.08 มิลลิโมลาร์ (Nualkaew & Onthong, 2019, pp. 89-96) จากผลการใช้ชุดทดสอบจะเห็นว่า ค่า Pi ที่ใกล้เคียงค่าที่ใช้แบ่งระดับจะมีโอกาสผิดพลาด ทั้งนี้ด้วยจำนวนตัวอย่างในการทดสอบที่มีเพียง 13 ตัวอย่าง จึงส่งผลต่อค่าร้อยละความถูกต้องค่อนข้างมาก อย่างไรก็ตามมีการศึกษาองค์ประกอบชีวเคมีในน้ำยางพันธุ์ RRIM 600 พบว่า ค่าเฉลี่ย Pi ในระบบกริดที่แตกต่างกันอยู่ในช่วง 17.96-24.04 มิลลิโมลาร์ (Chantuma *et al.*, 2011, p. 420) ซึ่ง Pi อยู่ในระดับปานกลางและมีค่าไม่ใกล้เคียงกับค่าที่ใช้แบ่งระดับ (13 และ 29 มิลลิโมลาร์) ดังนั้นชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นจึงมีความเหมาะสมในการนำไปใช้ในการหา Pi ในน้ำยาง

3. การใช้ประโยชน์ชุดทดสอบฟอสฟอรัสในน้ำยาง

ชุดทดสอบ Pi ในน้ำยางสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการประเมินศักยภาพการให้ผลผลิตของยางพารา เนื่องจากมีการศึกษางานองค์ประกอบทางชีวเคมีในน้ำยางต่อระบบกริดและผลผลิตยางพารา พบว่า ยางพาราที่ให้ผลผลิตสูงมีค่า Pi อยู่ในระดับค่อนข้างสูงแสดงถึงมีกระบวนการเมแทบอลิซึมในการสร้างน้ำยางสูง ยางพาราที่ให้ผลผลิตต่ำมีค่า Pi ต่ำแสดงถึงเห็นถึงศักยภาพการให้ผลผลิตยังไม่เต็มที่ เมื่อมีการใช้สารเร่งน้ำยางหรือเพิ่มความถี่ในการกริด พบว่า ให้ผลผลิตสูงขึ้นและมีค่า Pi สูงขึ้น (Lacote *et al.*, 2010, pp. 94-98; Nair, 2000, pp. 249-257) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า การใช้ระบบกริดที่แตกต่างกันส่งผลต่อผลผลิตและ Pi ในน้ำยาง โดยพบว่า การใช้ระบบกริดความถี่ต่ำร่วมกับสารเร่งน้ำยางให้ผลผลิตสูงและมี Pi สูงกว่าระบบกริดความถี่สูงซึ่งเป็นระบบที่เกษตรกรส่วนใหญ่นิยมใช้ (S/3 d1 2d/3: กริด 1 ใน 3 ของลำต้น กริด 2 วัน เว้น 1 วัน) (Lacote *et al.*, 2019, pp. 5-6) และมีการศึกษาความถี่ในการใช้สารเร่งน้ำยางที่แตกต่างกัน พบว่า ความถี่ในการใช้สารเร่งน้ำยางที่ให้ผลผลิตสูงจะมี Pi สูงเช่นกัน (Lacote *et al.*, 2010, pp. 94-98) นอกจากนี้ยางพาราเปิดกริดที่มีการใส่ปุ๋ยมีปริมาณ Pi ในน้ำยางสูงกว่ายางพาราที่ไม่มีการใส่ปุ๋ย เนื่องจากปุ๋ยช่วยให้กระบวนการสังเคราะห์น้ำยางเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ (Srisombut & Onthong, 2016, p. 26) ซึ่งสอดคล้องกับผลศึกษาการใส่ปุ๋ยตามค่าทดสอบดินในยางพาราก่อนเปิดกริดส่งผลให้การเจริญเติบโตและ Pi สูงกว่าการใส่ปุ๋ยสูตร 20-8-20 (Boonmanee, 2012, pp. 65-68) อย่างไรก็ตามหากในน้ำยางมีค่า Pi สูง แต่ Suc ต่ำ แสดงถึงมีการกริดอย่างหักโหมหรือใช้สารเร่งน้ำยางมากเกินไปจะส่งผลให้ผลผลิตลดลงและเกิดอาการเปลือกยางแห้งได้ (Chantuma *et al.*, 2011, pp. 416-422) จะเห็นว่า การทราบสถานะ Pi ในน้ำยางสามารถนำมาประเมินการให้ผลผลิต ความเหมาะสมในการใช้ระบบกริดและการใช้ปุ๋ยยางพาราได้ ดังนั้นควรนำชุดทดสอบ Pi ใช้ประเมินสถานะเพื่อเป็นแนวทางในการจัดการสวนยางพารา ซึ่งชุดทดสอบนี้มีขั้นตอนทดสอบง่าย รวดเร็ว และมีความถูกต้องค่อนข้างสูง แต่อาจมีข้อจำกัดส่งผลให้การทดสอบคลาดเคลื่อนได้หากในน้ำยางที่มีระดับ Pi ใกล้เคียงเกณฑ์แบ่งระดับ

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

ชุดทดสอบ Pi ที่พัฒนาขึ้นมีขั้นตอนทดสอบที่ง่ายและรวดเร็ว โดยดูดตัวอย่างเข็มน้ำยาง 0.5 มิลลิลิตร เติมน้ำยาทำให้เกิดสี 3 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน วางทิ้งไว้ประมาณ 3 นาที จากนั้นประเมินระดับ Pi ด้วยการเทียบสีที่เกิดขึ้นของสารละลายกับแผ่นเทียบสีมาตรฐาน การทดสอบใช้เวลาน้อยกว่าวิธีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ และมีราคาถูก ผลการทดสอบจากชุดทดสอบเปรียบเทียบกับ



วิธีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการมีความสัมพันธ์สูงและมีค่าร้อยละความถูกต้องค่อนข้างสูง แต่ยังมีข้อจำกัดในตัวอย่างที่มี Pi ใกล้เคียงการแบ่งระดับ ซึ่งอาจส่งผลให้ผลการทดสอบคลาดเคลื่อนได้

เอกสารอ้างอิง

- Amma, K. M. (1989). *Plant and Soil Analysis* (1st ed). Kerala : Pro Sanctity Printers.
- Atisakkul, W. & Onthong, J. (2013). Effect of Collected Positions of Fresh Latex on Nutrient and Biochemical Compositions of Rubber Latex. *Khon Kaen Agriculture Journal*, 41(2), 13-20. (in Thai)
- Boonmanee, S. (2012). *Comparison of Fertilizer Application Based on Soil Testing and 20-8-20 Mixed Fertilizer in Immature Rubber Trees*. Master's Thesis. Prince of Songkla University. (in Thai)
- Chantuma, P., Chantuma, A. & Somnak, S. (2003). *Variation of Latex Metabolite on Tapping and Yield of Rubber*. Bangkok: Department of Agriculture. (in Thai)
- Chantuma, P., Lacote, R., Leconte, A. & Gohet, E. (2011). An Innovative Tapping System, the Double Cut Alternative, to Improve the Yield of *Hevea Brasiliensis* in Thai Rubber Plantation. *Field Crops Research*, 121(3), 416-422.
- HunterLab. (1996). CIE L*a*b* Color Scale. *Application Note*, 8(7), 1-4.
- Kison, R. E. & Mellon, M. G. (1994). Colorimetric Determination of Phosphorus as Molybdivanadophosphoric Acid. *Industrial & Engineering Chemistry Analytical Edition*, 16(6), 379-383.
- Lacote, R., Gabla, O., Obouayeba, S., Eschbach, J. M., Rivano, F., Dian, K., et al. (2010). Long-term Effect of Ethylene Stimulation on the Yield Rubber Trees is Linked to Latex Cell Biochemistry. *Field Drops Research*, 115(1), 94-98.
- Lacote, R., Sainoi, T., Sdoodee, S., Rawiwan, C., Rongthong, P., Kasemsap, P., et al. (2019). Performance of Different Latex Harvesting Systems to Increase the Labor Productivity of Rubber Plantation in Thailand. *International Rubber Conference*, September 30–October 1, 2019. Nay Pyi Taw: International Rubber Research and Research and Development Board.
- Mahabir, V. & Verma, V. (2012). Application of Atomic Absorption Spectroscopy in Food Science: (A Study on Cucurbita Maxima). *3rd International Conference on Biotechnology and Food Science*, April 7-8, 2012. Bangkok: Elsevier Procedia.
- Murphy, J. & Riley, J. P. (1962). A Modified Single Solution Method for the Determination of Phosphate in Natural Waters. *Analytical Chimica Acta*, 27, 31-36.
- Nair, N. U. (2000). Biochemistry and Physiology of Latex Production. In George, P. J & Jacop, C. K. (Eds.), *Natural Rubber Agronomy and Crop Processing* (pp. 249-260). Kerala: Anaswara Printing and Publishing Company.
- Nuakaw, H. & Onthong, J. (2019). Nutrients and Biochemical Components in Rubber Latex Serum of Rubber Trees Grown in Lowland and Upland Soils in Songkhla Province. *Songklanakarin Journal of Plant Science*, 6(2), 89-96. (in Thai)
- Onthong, J., Poonpakdee, C., Srisombut, N. & Atisakkul, W. (2013). *Nutrient and Biochemical in Latex Analysis*. Songkhla: Prince of Songkla University. (in Thai)
- Onthong, J. & Poonpakdee, C. (2017). *Plant and Soil Analysis*. Songkhla: Prince of Songkla University. (in Thai)
- Srisombut, N. & Onthong, J. (2016). Plant Nutrients and Biochemical Composition in Rubber Latex Collected from Different Positions of Fertilized and Non-Fertilized Plots. *Songklanakarin Journal of Plant Science*, 3(3), 22-29. (in Thai)
- Strobel, H. A. & Heineman, W. R. (1989). *Chemical Instrumentation: A Systematic Approach*. United States of America: John Wiley & Sons, Inc.
- Taussky, H. H. & Shorr, E. (1953). A Microcolorimetric Method for the Determination of Inorganic Phosphorus. *Journal of Biological Chemistry*, 202(2), 675-685.