

รายงานเรื่องเต็มผลการทดลองที่สิ้นสุด ปีงบประมาณ 2555

- 1. ชุดโครงการ** วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
- 2. โครงการวิจัย** การพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์พืชและปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
กิจกรรม การวิจัยและพัฒนาวิธีวิเคราะห์ เพื่อให้ได้วิธีใหม่ที่รวดเร็ว แม่นยำ ปลอดภัย และรักษาสีสิ่งแวดล้อม
กิจกรรมย่อย พัฒนาระบบวิเคราะห์หาคุณสมบัติเชิงเคมี และเชิงกายภาพของปัจจัยการผลิตโดยใช้เทคโนโลยีเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี
- 3. ชื่อการทดลอง** ศึกษาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์โดยเทคนิค NIRS
The Study of Organic Matter Content analysis method in Organic Fertilizer by Near Infrared Spectroscopy
- 4. คณะผู้ดำเนินงาน**

ชื่อหัวหน้าโครงการ	นางจิตติมา ยถาภูษานนท์	สำนักวิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
ชื่อหัวหน้าการทดลอง	นางจิตติมา ยถาภูษานนท์	สังกัด กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สปผ.
ชื่อผู้ร่วมงาน	นางสงกรานต์ มะลิสอน	สังกัด กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สปผ.

5. บทคัดย่อ

งานทดลองนี้มีวัตถุประสงค์ในการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์ ที่ให้ผลวิเคราะห์ที่รวดเร็ว ถูกต้องแม่นยำ ปลอดภัยจากสารเคมี และตัวอย่างไม่ถูกทำลาย โดยใช้เทคนิคคลื่นแสงอินฟราเรดย่านใกล้ Near Infrared Spectroscopy (NIRS) ทำการศึกษาเบื้องต้นเพื่อประเมินค่าปริมาณอินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์ ซึ่งใช้หลักการหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดซับแสงกับค่าที่วิเคราะห์ทางเคมีที่ได้จากห้องปฏิบัติการ ปุ๋ยอินทรีย์ จำนวน 199 ตัวอย่าง ถูกสแกนด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์คลื่นแสงอินฟราเรดย่านใกล้ โดยวัดสเปกตรัมในช่วงจำนวนคลื่นแสงต่อเซนติเมตร ตั้งแต่ $4000 - 12500 \text{ cm}^{-1}$ การวิเคราะห์ถดถอยกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วน Partial Least Square (PLS) regression ถูกนำมาใช้ในการคำนวณเพื่อสร้างสมการเทียบมาตรฐาน (Calibration)

ผลการวิเคราะห์ทางเคมีด้วยวิธีมาตรฐานของห้องปฏิบัติการพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย ที่ประยุกต์วิธีของ Walkley and Black พบว่าค่าการกระจายตัวของข้อมูล (Range, R) เท่ากับ 1.15-48.37% ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 26.96% และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation, SD) เท่ากับ 11.35 %

ผลการประเมินปริมาณอินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์ โดยใช้เทคนิค NIRS พบว่าได้สมการที่ใช้ในการทำนายผลระดับปริมาณอินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์ สมการที่ได้มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient, R) เท่ากับ 0.87 ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายปริมาณอินทรีย์วัตถุในกลุ่ม calibration set (Standard error of calibration, SEC) เท่ากับ 5.57 เปอร์เซ็นต์, ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนาย

ปริมาณอินทรีย์วัตถุในกลุ่ม validation set (Standard error of prediction, SEP) เท่ากับ 6.13 เปอร์เซ็นต์ สมการนี้มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) สูง และมีค่า SEC หรือ SEP ต่ำ ซึ่งต่ำกว่าค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการวิเคราะห์ทางเคมีในห้องปฏิบัติการหรือ SD (11.35) แสดงว่า สมการนี้สามารถใช้ประเมินค่าอินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ตำแหน่งความยาวคลื่นที่มีค่า Regression coefficient สูงอยู่ที่จำนวนคลื่นแสงต่อเซนติเมตร (Wavenumber) 7020 และ 5785 cm^{-1} ซึ่งสัมพันธ์กับอินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์

ผลการวิจัยที่ได้นำเทคนิค NIR Spectroscopy มาใช้ พบว่า สามารถใช้เทคนิค NIRS ประเมินหาปริมาณอินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ จำนวนคลื่นแสงที่เหมาะสมในการประเมินอยู่ในช่วง ตั้งแต่ 5000 – 10000 cm^{-1}

คำนำ

กรมวิชาการเกษตร มีบทบาทที่สำคัญในการกำกับดูแลผู้ผลิตปุ๋ยอินทรีย์เพื่อการค้า นำเข้า ส่งออก ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย(ฉบับที่ 2) พ.ศ.2550 กำหนดให้ผู้รับใบอนุญาตผลิตปุ๋ยอินทรีย์เพื่อการค้าต้องมีหลักฐานผลการวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์ทุกครั้งที่เกิดขึ้นก่อนออกจำหน่าย เพื่อเป็นการรักษาผลประโยชน์ของเกษตรกรให้ได้ใช้ปุ๋ยอินทรีย์ที่มีคุณภาพ สำหรับเกณฑ์การขึ้นทะเบียนปุ๋ยอินทรีย์นั้น สมบัติที่สำคัญประการหนึ่งคือ ปริมาณอินทรีย์วัตถุ กำหนดให้ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 20 ของน้ำหนัก ผู้ผลิต จึงต้องส่งตัวอย่างปุ๋ยมาวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการ ปัจจุบันวิธีวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์ ใช้วิธีมาตรฐาน ของห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี(คู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์, 2551) ที่ประยุกต์ใช้วิธีของ Walkley and Black. (1934) โดยใช้กรดซัลฟูริกเข้มข้น กรดโครมิก ทราบผลใช้เวลาประมาณ 16 ชั่วโมง การวิเคราะห์ทางเคมีในการหาปริมาณอินทรีย์วัตถุนี้เป็นวิธีการที่ยุ่งยาก ต้องใช้สารเคมีที่มีอันตรายต่อผู้ปฏิบัติงานและสิ่งแวดล้อม ใช้เวลานานในการวิเคราะห์ ผู้วิเคราะห์ต้องมีความชำนาญและมีทักษะทางด้านเคมี งานทดลองนี้มีวัตถุประสงค์ในการพัฒนาวิธีวิเคราะห์เพื่อลดขั้นตอนการวิเคราะห์ และลดการใช้สารเคมี โดยใช้เทคนิคคลื่นแสงอินฟราเรดย่านใกล้ Near Infrared Spectroscopy ซึ่งเป็นเทคโนโลยีหนึ่งที่ใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลายในต่างประเทศ เพื่อให้ได้ทางเลือกของวิธีวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์ ที่มีความรวดเร็ว ปลอดภัยจากสารเคมี โดยอยู่บนพื้นฐานของความถูกต้องแม่นยำ

ปัจจุบันได้มีการนำเทคนิค NIR Spectroscopy มาใช้อย่างมีประสิทธิภาพในการประเมินหาปริมาณคาร์บอน และธาตุอาหาร ในปุ๋ยคอก (J.B. Reeves et al., 2000, J.S.Van Kessel et al., 1999), soluble solids ในแคนตาลูป (Dull et al., 1989) ค่าองค์ประกอบทางเคมีของอาหารสัตว์บก (Boever et al., 1994) ปริมาณแป้ง ปริมาณโปรตีน ความชื้นเมล็ด ในธัญพืช เป็นต้น เทคนิค NIRS สามารถแสดงผลหลายพิกซ์ทางเคมีของสารอินทรีย์ได้อย่างแม่นยำ ทำนายสัดส่วนของอินทรีย์คาร์บอนในดิน และปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด การตรวจสอบกระบวนการย่อยสลายในดินและในเศษวัสดุอินทรีย์ นอกจากนี้มีรายงานการใช้ NIRS ในการสอบเทียบ (Calibrate) องค์ประกอบทางเคมีหลายชนิดในปุ๋ยหมัก ได้แก่ คาร์บอนทั้งหมด อินทรีย์คาร์บอน อัตราส่วน C:N ซัลเฟอร์ โพแทสเซียม และ pH (Malley et al., 2005).

เทคนิค NIRS ใช้หลักการหาความสัมพันธ์ การดูดซับแสงในช่วง Near Infrared ช่วงความยาวคลื่น (Wavelength) นาโนเมตร ตั้งแต่ 800-2500 nm หรือ ช่วงคลื่นแสง (Wave number region) ต่อเซนติเมตร ตั้งแต่ 4000-12500 cm^{-1} ของสารที่ต้องการประเมิน และค่าวิเคราะห์ทางเคมีของสารที่ต้องการประเมิน เพราะสารแต่ละชนิดเมื่อได้รับแสงจะมีคุณสมบัติในการดูดซับแสงได้ไม่เท่ากัน เมื่อตัวอย่างดูดซับแสง NIR จะทำให้โมเลกุลของสารเกิดการสั่นและดูดซับพลังงานที่แตกต่างกัน (เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้และการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม.2555) ทำให้ผลที่แสดงออกมาบอกถึงความแตกต่างได้ จึงนำค่าการดูดซับแสงมาวิเคราะห์ผล สามารถประเมินลักษณะที่ต้องการได้ ทั้งวิธีการนี้เป็นวิธีประเมินที่ใช้เวลาสั้นกว่าการวิเคราะห์ทางเคมีจากห้องปฏิบัติการ NIR เป็นเทคนิคที่สามารถทำนายค่าทางเคมีได้อย่างรวดเร็วทราบผลภายในเสี้ยววินาที ให้ผลวิเคราะห์ที่มีความถูกต้อง แม่นยำ ประหยัดเวลา ลดต้นทุนในการใช้สารเคมี และรักษาสภาพแวดล้อม

สำนักวิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร มีภารกิจหลัก คือ การให้บริการวิเคราะห์ปัจจัยการผลิตทางการเกษตรให้มีความถูกต้อง แม่นยำ และฉับไวในระดับสากล จึงมีการพัฒนางานวิจัย และพัฒนานวัตกรรมเพื่อเปลี่ยนแปลงจากระบบการวิเคราะห์ทางเคมีที่ใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายและเป็นจำนวนมากๆ เพื่อให้ได้วิธีที่ทันสมัย เป็นที่ยอมรับและทันต่อการเปลี่ยนแปลงของโลก โดยการพัฒนาวิธีวิเคราะห์เพื่อลดขั้นตอนการวิเคราะห์ และลดการใช้สารเคมี นับเป็นการประหยัดเวลา ลดต้นทุนในการใช้สารเคมีและรักษาสภาพแวดล้อมในระยะยาว ซึ่งจะตรงกับความต้องการของโลกในอนาคต ที่ต้องการรักษาสภาพสิ่งแวดล้อม เพราะการใช้สารเคมีน้อยลง

งานทดลองนี้มีวัตถุประสงค์ในการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์ โดยใช้เทคนิค NIR เพื่อให้ได้ทางเลือกของวิธีวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์ที่ให้ผลวิเคราะห์ที่รวดเร็ว ถูกต้อง แม่นยำ ปลอดภัย จากสารเคมี และตัวอย่างไม่ถูกทำลาย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องมือและวัสดุวิทยาศาสตร์
 - 1.1 เครื่องบดตัวอย่างปุ๋ย
 - 1.2 เครื่องแบ่งตัวอย่างปุ๋ยขนาดเล็ก (Riffle)
 - 1.3 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
 - 1.4 Burette, Erlenmeyer flask, Cylinder, Pipette, Beaker
 - 1.5 เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆที่จำเป็นใช้ในการปฏิบัติการวิเคราะห์
2. สารเคมี
 - 2.1 Ammonium ferrous sulfate ($\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), AR grade
 - 2.2 O- phenanthroline indicator ($\text{C}_{18}\text{H}_8\text{N}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$), AR grade
 - 2.3 Potassium dichromate ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), AR grade
 - 2.4 Sodium bicarbonate (NaHCO_3)

2.5 Sulfuric acid 98% (H₂SO₄), AR grade

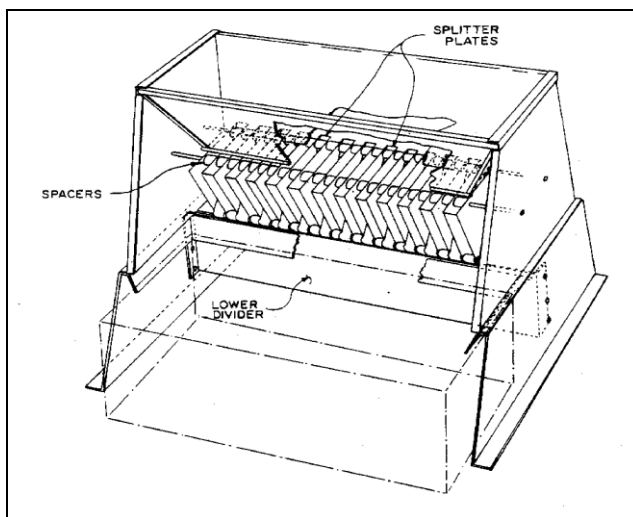
3. ตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ชนิดแห้ง
4. เครื่อง NIR spectrophotometer
5. อุปกรณ์การอัดตัวอย่าง และอุปกรณ์พร้อมคลิปสำหรับวางหัววัด

วิธีการ

ดำเนินการ 8 ขั้นตอนดังนี้

1. การเตรียมตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์เพื่อใช้ในงานทดลอง

เตรียมตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ (คู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์, 2551) ที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ ตั้งแต่ 1 – 50 เปอร์เซ็นต์ (มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ ต่ำ กลาง สูง ที่กระจายตัวและครอบคลุมค่าของตัวอย่างในอนาคต จำนวน 199 ตัวอย่าง โดยผึ่งตัวอย่างปุ๋ยให้แห้งในที่ร่ม เทตัวอย่างปุ๋ยใส่ถุงพลาสติก เขย่า และคลุกเคล้าให้เข้ากัน แล้วเทตัวอย่างทั้งหมดใส่เครื่องแบ่งตัวอย่างปุ๋ยขนาดเล็ก (Riffle) ซึ่งแบ่งได้ 4 ส่วน ส่วนละเท่าๆกัน นำตัวอย่าง 1 ส่วนไปบดด้วยเครื่องบด ร่อนตัวอย่างที่บดแล้วผ่านตะแกรงขนาด 20 เมช เทตัวอย่างใส่ถุงพลาสติกซิปลงใส่ภาชนะออกให้หมด ปิดถุงให้สนิท เพื่อป้องกันความชื้นจากภายนอก เขียนป้ายหมายเลขตัวอย่าง ทุกตัวอย่างมีการเตรียมให้มีสภาพใกล้เคียงกันให้มากที่สุด เป็นการลด Sample error ให้เหลือน้อยที่สุดตัวอย่างจะถูกเก็บรักษาในห้องที่มีอุณหภูมิเดียวกับเครื่องตรวจวัดคลื่นแสงอินฟราเรดย่านใกล้ (NIRs spectroscopy) ก่อนการตรวจวัดสเปคตรัม



ภาพที่ 1 เครื่องแบ่งตัวอย่างปุ๋ยขนาดเล็ก (Riffle)

2. วิเคราะห์ทางเคมีหาปริมาณอินทรีย์วัตถุด้วยวิธีมาตรฐานของห้องปฏิบัติการ (ประยุกต์ใช้วิธีของ Walkley and Black, 1934

2.1 การเตรียม Reagent

2.1.1 สารละลายมาตรฐาน Potassium dichromate (Oxidizing agent) ความเข้มข้น 1.0 N

ชั่ง Potassium dichromate ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสนาน 2 ชั่วโมง จำนวน 49.0247 กรัม ใส่ใน Beaker ขนาด 600 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร คนให้ละลาย หมดเทและล้างใส่ Volumetric flask ขนาด 1000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน

2.1.2 สารละลาย Ammonium ferrous sulfate (Reducing agent) ความเข้มข้น 0.5 N

ชั่ง Ammonium ferrous sulfate จำนวน 196.07 กรัม ใส่ใน Beaker ขนาด 1000 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 600 มิลลิลิตร คนให้ละลายหมด ถ่ายและล้างใส่ใน Volumetric flask ขนาด 1000 มิลลิลิตร เติมน้ำ 98 เปอร์เซ็นต์ H₂SO₄ 20 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

2.1.3 สารละลาย O-phenanthroline ammonium ferrous sulfate indicator

ชั่ง O-phenanthroline จำนวน 0.74 กรัม และ Ammonium ferrous sulfate จำนวน 0.35 กรัม ใส่ Beaker ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร คนจนละลายหมด

2. 2 การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

2.2.1 ชั่งตัวอย่างปุ๋ยจำนวน 0.1xxx กรัม ใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร

2.2.2 ปิเปตสารละลาย Potassium dichromate ปริมาณ 10 มิลลิลิตร เติมน้ำในตัวอย่างปุ๋ย

2.2.3 เติมน้ำ 98 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 10 มิลลิลิตร ลงไปในตัวอย่างปุ๋ย อย่างช้าๆ ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในตู้ดูดควัน 16 ชั่วโมง (ตั้งทิ้งค้างคืน)

2.2.4 เติมน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติมน้ำสารละลาย O-phenanthroline ammonium ferrous sulfate 0.5 มิลลิลิตร

2.3 วิธีไตเตรท

นำสารละลายตัวอย่างมาไตเตรท ด้วยสารละลาย Ammonium ferrous sulfate จนได้สารละลายสีเขียว และเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาลปนแดง แสดงว่าถึงจุดยุติ บันทึกผล

- หมายเหตุ ทำ Blank โดยไม่ใส่ตัวอย่างปุ๋ย เตรียมและวิเคราะห์เช่นเดียวกับตัวอย่างปุ๋ย

2.4 การคำนวณหาปริมาณอินทรีย์วัตถุของปุ๋ยอินทรีย์

$$\% \text{ อินทรีย์คาร์บอน(OC) } = \frac{0.3896 \times N \times B (C-D)}{\text{น้ำหนักตัวอย่างปุ๋ย(กรัม)} \times C}$$

B = ปริมาตรของ K₂Cr₂O₇ ที่เติมลงไปในตัวอย่าง และ Blank (มิลลิลิตร)

C = ปริมาตรของ Fe(NH₄)₂(SO₄)₂ ที่ Titrate พอดีกับ K₂Cr₂O₇ ใน Blank (มิลลิลิตร)

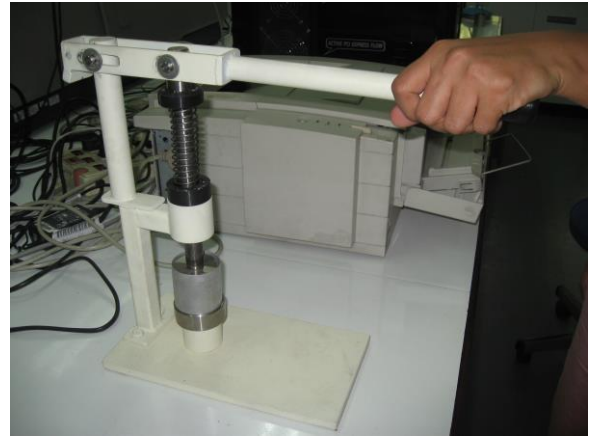
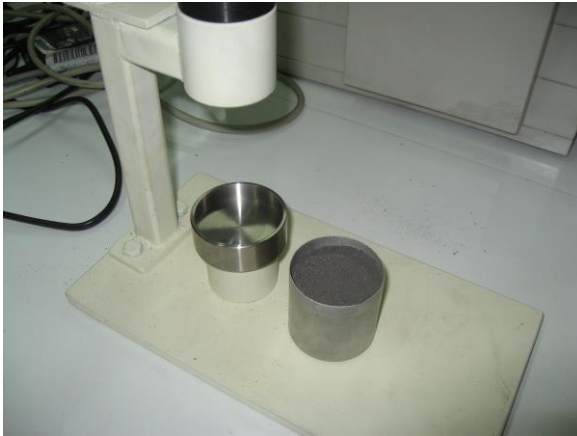
D = ปริมาตรของ Fe(NH₄)₂(SO₄)₂ ที่ Titrate พอดีกับ K₂Cr₂O₇ ในตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

N = ความเข้มข้นเป็น Normal ของสารละลายมาตรฐาน K₂Cr₂O₇

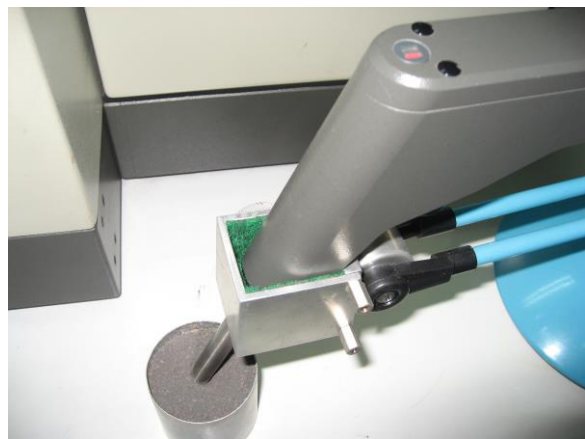
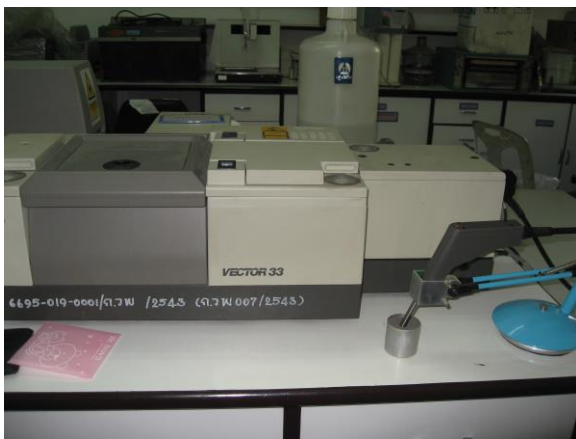
$$\% \text{ อินทรีย์วัตถุ (OM) } = \% \text{ OC} \times 1.7241 \text{ (Equivalent to soil)}$$

3. วัดสเปกตรัมของปุ๋ยอินทรีย์ ด้วยเครื่อง NIR Spectrometer รุ่น Vector 33 ผลิตโดย บริษัท Bruker Optics ประเทศเยอรมันนี้ พร้อมด้วยหัววัด Fiber Optic Probes ปุ๋ยอินทรีย์ถูกนำมาใช้ในการตรวจวัด NIR สเปกตรัมแบบวิธีสะท้อน (Reflectance) สร้างและปรับปรุงสมการโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป The Unscrambler (Camo, Oslo Norway) โดยตรวจวัดในช่วงคลื่นแสงต่อเซนติเมตร ตั้งแต่ 4000 – 12500 cm⁻¹ เพื่อเก็บสเปกตรัมโดย

scan ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ เพื่อให้ได้สเปกตรัมที่มีข้อมูลเกิดจากปุ๋ยอินทรีย์ที่วัดให้มากที่สุด และไม่มีข้อมูลการสะท้อนแสงที่ไม่เกี่ยวข้องกับค่าที่ต้องการวัด จึงต้องทำการอัดตัวอย่างให้แน่นเท่าๆกันด้วยอุปกรณ์สำหรับอัดตัวอย่าง และวัดที่ระดับความลึกเท่ากันทุกตัวอย่าง โดยใช้อุปกรณ์พร้อมคลิปสำหรับวางหัววัดให้อยู่ในตำแหน่งเดียวกันขณะวัด พร้อมทำความสะอาดเมื่อเปลี่ยนตัวอย่าง เพื่อลด Operation error ให้เหลือน้อยที่สุด พร้อมกรอกค่าวิเคราะห์ทางเคมี ลงในสเปกตรัมของแต่ละตัวอย่าง



ภาพที่ 2 อุปกรณ์สำหรับอัดตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์



ภาพที่ 3 เครื่อง NIR Spectrophotometer และอุปกรณ์พร้อมคลิปสำหรับวางหัววัด Fiber Optic Probes

4. การสร้างสมการเทียบมาตรฐาน (Calibration) เพื่อทำนายค่าทางเคมีที่ต้องการโดยสร้าง Calibration พร้อมกับเลือก Calibration ที่เหมาะสมไปใช้งานโดยใช้ความสัมพันธ์ระหว่างค่า Absorbance กับปริมาณสาร โดยหาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปร เพื่อหาสมการมาใช้ในการทำนายผล และตรวจสอบความแม่นยำของสมการเทียบมาตรฐาน (Validation) ทำการ Validate โดยใช้กลุ่มตัวอย่าง นอกกลุ่ม Calibration

5. พัฒนาสมการที่จะนำไปประเมินค่าอินทรีย์วัตถุในตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ โดยการปรับแต่งข้อมูลที่เลือกใช้วิธีการวิเคราะห์ถดถอยกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วน Partial Least Square (PLS) regression แก้ไข Slope/Bias ของสมการทำนาย
6. ทำการหาประสิทธิภาพของ Calibration ที่สร้างขึ้น โดยการหาแหล่ง Error ของการวิเคราะห์ หาค่าผิดพลาดจากการวิเคราะห์หาค่าอ้างอิง (Lab Error หรือ SEL) ของวิธีวิเคราะห์ทางเคมี ซึ่งค่า SEL นี้จะนำไปใช้ในการประเมินประสิทธิภาพของ Calibration ที่สร้างขึ้น
7. ทดสอบและปรับปรุงสมการทำนายด้วยกลุ่มตัวอย่างใหม่ แก้ไขปรับปรุงสมการ เพื่อให้ได้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้อง แม่นยำยิ่งขึ้น
8. สรุปและเขียนรายงาน

ระยะเวลาและสถานที่ดำเนินการ

ระยะเวลา เดือนตุลาคม 2553 - กันยายน 2555 ระยะเวลา 2 ปี

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

ตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์และการตรวจสอบค่าการกระจายของค่าวิเคราะห์ทางเคมี

ตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์จำนวน 199 ตัวอย่างที่ใช้ในงานทดลองนี้เป็นปุ๋ยอินทรีย์ที่เกษตรกร และผู้ผลิตปุ๋ยอินทรีย์ บริษัท ห้างร้านและสหกรณ์ ส่งมาขอรับบริการตรวจวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการ มีปริมาณอินทรีย์วัตถุตั้งแต่ 1 – 50 เปอร์เซ็นต์ เป็นปุ๋ยอินทรีย์ปั้นเม็ด ปุ๋ยอินทรีย์อัดเม็ด วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตได้แก่ มูลโค มูลไก่ มูลสุกร มูลค่างควา รำข้าว ฟางข้าว หญ้า ชานอ้อย แกลบ กากน้ำตาล และกากตะกอนโรงงานน้ำตาล

การตรวจสอบค่าการกระจายของค่าวิเคราะห์ทางเคมีด้วยวิธีมาตรฐานของกลุ่มตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ที่ใช้ในการสร้างสมการ Calibration และ Validation วัดการกระจายของข้อมูลโดยหาค่าพิสัย (Range) ที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุระหว่างค่าสูงสุด และค่าต่ำสุด ค่าเฉลี่ย (Average) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation : SD) ผลการวัดค่าการกระจายของข้อมูลแสดงในตารางที่ 1 พบว่า กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการ Calibration และ Validation มีค่าพิสัย 1.15-48.37 และ 1.13-48.25 เปอร์เซ็นต์ ค่าเฉลี่ย 26.96 และ 26.86 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 11.35 และ 11.19 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

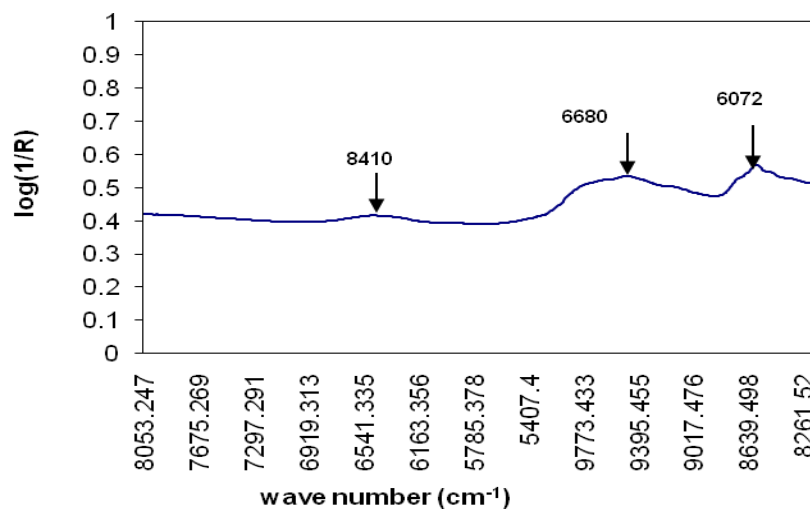
ตารางที่ 1 ตรวจสอบค่าการกระจายของค่าวิเคราะห์ทางเคมีด้วยวิธีมาตรฐานของปริมาณอินทรีย์วัตถุในกลุ่มตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ที่ใช้ในการสร้างสมการ Calibration และ Validation

สมการ	จำนวนตัวอย่าง	พิสัย	ค่าเฉลี่ย	SD	หน่วย
Calibration	100	1.15-48.37	26.96	11.35	%
Validation	99	1.13-48.25	26.86	11.19	%

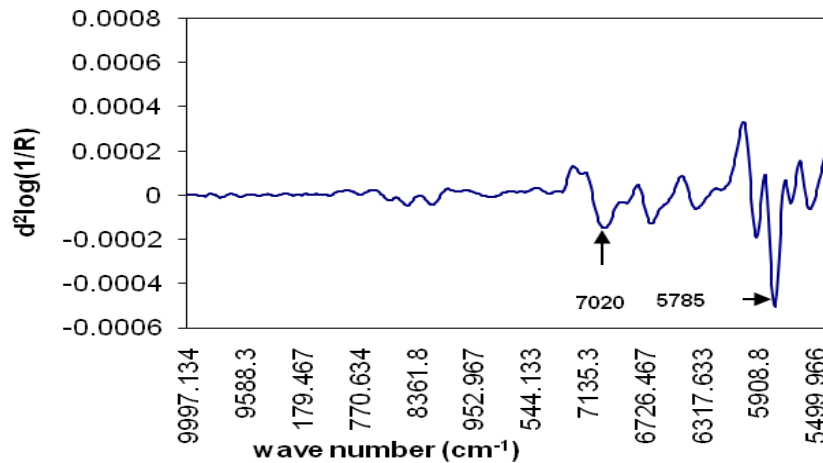
ผลการประเมินปริมาณอินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์ โดยใช้เทคนิค Near Infrared Spectroscopy

การตรวจวัดสเปกตรัมของปุ๋ยอินทรีย์

ตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุต่างกัน ถูกนำมาตรวจวัด NIR สเปกตรัม โดยตรวจวัดในช่วงคลื่นแสงต่อเซนติเมตร ตั้งแต่ 4000 – 12500 cm^{-1} พบว่า ค่าการดูดซับแสง ($\log(1/R)$) ของปุ๋ยอินทรีย์ แสดงให้เห็นเป็นสเปกตรัมเริ่มต้นของปุ๋ยอินทรีย์แบ่งตามปริมาณอินทรีย์วัตถุ (ภาพที่ 4) และในการวิเคราะห์มีการปรับแต่งสเปกตรัมโดยใช้วิธี Second derivative pre-treatment การทำ Second derivative spectra ของปุ๋ยอินทรีย์แสดงในภาพที่ 5 ผลการทดลองแสดงถึงช่วงการดูดซับคลื่นแสงที่สำคัญของอินทรีย์วัตถุ ได้แก่ ช่วงดูดซับแสงที่จำนวนคลื่นแสงต่อเซนติเมตร 7020 cm^{-1} และ 5785 cm^{-1} จากผลการทดลองสามารถอธิบายได้อย่างชัดเจนถึงช่วงการดูดซับแสงของอินทรีย์วัตถุซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Osborne et al. (1993) และ Williams (2007)



ภาพที่ 4 สเปกตรัมเริ่มต้นของปุ๋ยอินทรีย์แบ่งตามปริมาณอินทรีย์วัตถุต่างๆกัน ตรวจวัดในช่วงคลื่นแสงต่อเซนติเมตร ตั้งแต่ 10000- 5000 cm^{-1}



ภาพที่ 5 สเปกตรัมของการทำเดอริเวทีฟ ลำดับที่สอง (Second derivative spectra) ของปุ๋ยอินทรีย์แบ่งตามปริมาณอินทรีย์วัตถุต่างๆกัน ลูกศรชี้ช่วงการดูดซับแสงของอินทรีย์วัตถุ (7020 cm^{-1} และ 5785 cm^{-1})

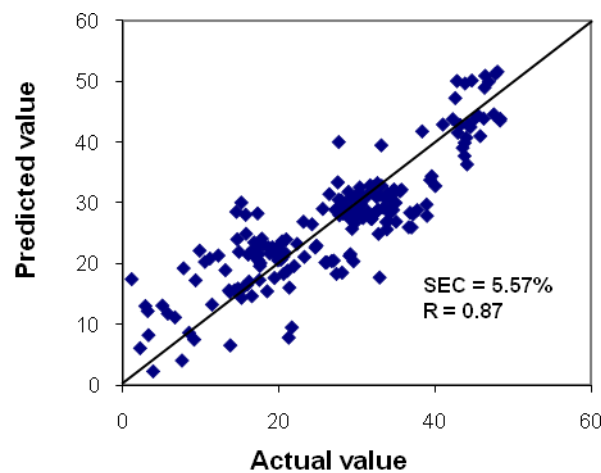
สมการประเมินปริมาณอินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์ (Calibration equation)

ผลการสร้างสมการถดถอยเพื่อทำนายปริมาณอินทรีย์วัตถุของตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ในกลุ่ม calibration set และกลุ่ม validation set แสดงในตารางที่ 2 ซึ่งพบว่าผลการปรับแต่งสเปกตรัมของทั้งสองวิธีให้ความแม่นยำของสมการใกล้เคียงกัน โดยสมการจาก original spectra ของปุ๋ยอินทรีย์ ที่ความยาวคลื่น 5000 – 10000 cm^{-1} จะมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) เท่ากับ 0.87, ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายปริมาณอินทรีย์วัตถุในกลุ่ม calibration set (SEC) เท่ากับ 5.57 เปอร์เซ็นต์ มีปัจจัย (F) ที่เกี่ยวข้อง 8 ปัจจัย ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายปริมาณอินทรีย์วัตถุในกลุ่ม validation set (SEP) เท่ากับ 6.13 เปอร์เซ็นต์ มีปัจจัย (F) ที่เกี่ยวข้อง 10 ปัจจัย จากสมการ จะเห็นว่า ช่วงคลื่นแสง 8800-5299 cm^{-1} เหมาะสมที่จะใช้ในการประเมินปริมาณอินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์ โดยมีค่า SEC และค่า SEP ต่ำกว่าค่า SD (11.35) จากการวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุในห้องปฏิบัติการ แสดงว่า สมการทำนายนี้สามารถใช้ประเมินค่าอินทรีย์วัตถุได้อย่างมีประสิทธิภาพ

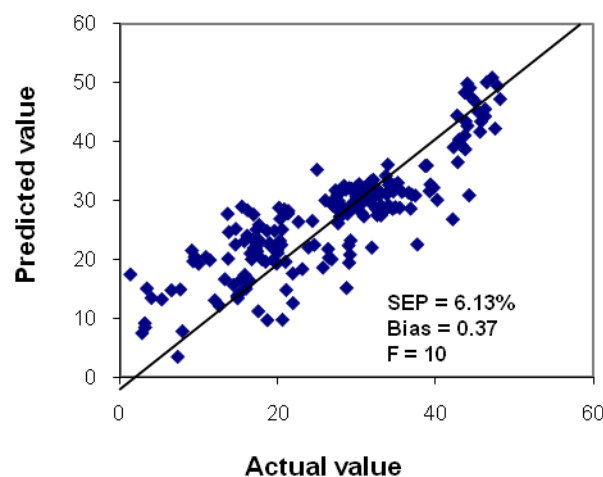
ตารางที่ 2 ผลการปรับแต่งสเปกตรัมในการสร้างสมการ Calibration ของปริมาณอินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์ ด้วยวิธี Partial least square regression (PLSR)

ช่วงคลื่นแสง (cm^{-1})	การปรับแต่งสเปกตรัม ด้วยเทคนิคทางคณิตศาสตร์	R	SEC	SEP	Bias	F
8800-5299	สเปกตรัมเริ่มต้น (Original)	0.87	5.57	5.74	0.40	8
8997-5299	สเปกตรัมเดอริเวทีฟลำดับที่สอง (Second derivative)	0.87	5.57	6.13	0.37	10

การปรับแต่งสเปกตรัมโดย การทำ Second derivative spectra ของปุ๋ยอินทรีย์ที่แสดงในภาพที่ 2 แสดงถึงช่วงการดูดซับคลื่นแสงที่สำคัญของอินทรีย์วัตถุ ได้แก่ ช่วงดูดซับแสงที่จำนวนคลื่นแสงต่อเซนติเมตร 7020 cm^{-1} และ 5785 cm^{-1} ซึ่งที่จำนวนคลื่นแสงนี้มีความสัมพันธ์สูงกับปริมาณอินทรีย์วัตถุ ดังนั้นการเลือกช่วงความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการสร้างสมการทำนายจะทำให้สามารถใช้ข้อมูลสเปกตรัมที่จำเป็นในการทำนายค่าปริมาณอินทรีย์วัตถุได้อย่างแม่นยำ ผลการทำนายปริมาณอินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์ โดยใช้สมการที่สร้างในตัวอย่างกลุ่ม calibration set และ validation set แสดงในภาพที่ 6 และภาพที่ 7 ตามลำดับ



ภาพที่ 6 สมการเทียบมาตรฐาน (Calibration) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาณอินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์ โดยเทคนิค NIRS และค่าวิเคราะห์ทางเคมีด้วยวิธีมาตรฐานของห้องปฏิบัติการ



ภาพที่ 7 ทดสอบความแม่นยำของสมการเทียบมาตรฐาน (Validation) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการประเมินจากสมการของปริมาณอินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์โดยเทคนิค NIRS และค่าวิเคราะห์ทางเคมีด้วยวิธีมาตรฐานของห้องปฏิบัติการ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การพัฒนากระบวนการตรวจสอบความแม่นยำถูกต้องสูงด้วยเทคนิค NIR สำหรับการวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์ ควรจะกำหนดให้วัดสเปกตรัมในช่วงจำนวนคลื่นแสงต่อเซนติเมตร ตั้งแต่ 5000 – 10000 cm^{-1} โดยจะต้องมีการปรับแต่งสเปกตรัมด้วย การทำ Second derivative และคำนวณด้วยวิธี PLS calibration สามารถใช้ในการประเมินหาปริมาณอินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และได้เทคนิคการวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์ ที่สามารถลดขั้นตอนการวิเคราะห์ และเป็นทางเลือกในการวิเคราะห์ อีกทั้งวิธีนี้เป็นวิธีประเมินที่ใช้เวลาสั้นกว่าการวิเคราะห์ทางเคมีในห้องปฏิบัติการ NIR เป็นเทคนิคที่สามารถทำนายค่าทางเคมีได้อย่างรวดเร็วทราบผลภายในเสี้ยววินาที ให้ผลวิเคราะห์ที่มีความถูกต้อง แม่นยำ ประหยัดเวลา ลดต้นทุนในการใช้สารเคมี และรักษาสิ่งแวดล้อมและสามารถพัฒนาผลงานวิจัยนี้ในการตรวจสอบคุณสมบัติอื่นๆ ของปุ๋ยอินทรีย์ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

คู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์.2551. กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

กรมวิชาการเกษตร ISBN 978-974-436-679-5

เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้และการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม.2555. สถาบันวิจัยและค้นคว้าและพัฒนา

ผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ISBN 978-616-278-009-7

กรุงเทพฯ.

ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง การขอขึ้นทะเบียน การออกไปสำคัญการขึ้นทะเบียน การขอแก้ไขรายการ

ทะเบียนและการแก้ไขรายการทะเบียนปุ๋ยชีวภาพ ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 พ.ศ. 2551. (27

มิถุนายน 2551). ราชกิจจานุเบกษา.เล่มที่ 125(ตอนพิเศษ 108 ง). หน้า 17-20.

Boever, J.L., B.G. Cottyn, J.M. Vanacker and Ch.V. Boucque. 1994. The use of nirs to predict the

Chemical composition and the energy value of compound feeds for cattle. Anim. Feed Sci.

Technol. 51:243-253.

Dull, G.G., G.S. Birth, D.A. Smittle and R.G. Leffler.1989. Near infrared analysis of soluble solids in intact cantaloupe. J. Food Sci. 54:393-39

J.B. Reeves, III and J.S. Van Kessel. Determination of ammonium-N moisture, total C and total N in dairy manures using a near infrared fibre-optic spectrometer. J.B. Reeves, III and J.S. Van Kessel, J.

Near Infrared Spectrosc. 8, 151-160 (2000)

J.S. Van Kessel, R.B. Thomson and J.B. Reeves, III, *J.Prod. Agri.c.* 28, in press (1999).

Malley D.F., Williams¹ P., J. McLaughlin and T. Atkinson. Rapid Analysis of Moisture, Organic Matter and Carbonate in Peat Cores from Northern Ontario by Near-infrared Spectroscopy. 50th Annual Manitoba Soil Science Society Meeting, 8-9 February 2005, Holiday Inn South, Winnipeg Manitoba

Osborne, B.G. T. Fearn and P.H. Hindle 1993. *Practical NIR Spectroscopy with Applications in Food and Beverage Analysis*. Longman Scientific and Technical, Harlow, UK

Walkley, A. and I.A. Black 1934. An Examination Digestion Method for Determining Soil Organic Matter and Propose Modification of the Chromic Acid Titration Method. *Soil Sci.* 37:29-37

Williams, P. 2007. in *Near Infrared Spectroscopy in Food Science and Technology*, Ed by Y. Ozaki, W. Fred McClure and A.A. Christy. Wiley Interscience, A John Wiley & Sons, Inc., USA. p. 165

