

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการพิสูจน์เอกลักษณ์ และวิเคราะห์องค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี โดยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy, NIRS) ซึ่งเป็นวิธีการวัดแบบไม่ทำลายตัวอย่าง สามารถทำนายค่าทางเคมี และการวิเคราะห์จำแนกกลุ่ม ได้อย่างรวดเร็ว แม่นยำ ลดการใช้สารเคมี และมลภาวะที่เกิดจากห้องปฏิบัติการ โดยนำตัวอย่างปุ๋ยเคมีไปสแกนด้วยเทคนิค NIRS ที่ความยาวคลื่น 800 – 2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น 4000 – 12500 ต่อเซนติเมตร พบช่วงการดูดกลืนแสงที่สำคัญของแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ประมาณ 7184 cm^{-1} ไนเตรท-ไนโตรเจน ประมาณ 4768 cm^{-1} และยูเรีย-ไนโตรเจน ประมาณ $6536, 6820, 6904$ และ 8452 cm^{-1} สร้างสมการทำนายแบบจัดกลุ่ม (Cluster) พบว่าได้สมการทำนายสำหรับการจำแนกองค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี โดยการใช้การปรับแต่งสมการ (Pretreatments) แบบ 1st Savitzky - golay a points (dg1) และ Normalization to unit length (nle) ทวนสอบสมการทำนายสำหรับการจำแนกองค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี โดยเทคนิค NIRS ด้วยแม่ปุ๋ยเคมีและปุ๋ยเชิงประกอบ สูตร 20-0-0, 21-0-0, 12-60-0, 12-61-0, 13-0-46, 15-0-0 และ 46-0-0 พบว่าสมการทำนายแยกชนิดองค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี (แอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน) ได้ถูกต้องทุกตัวอย่าง สำหรับตัวอย่างปุ๋ยที่มีการผสมแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน สามารถทำนายแยกชนิดองค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมีได้ถูกต้อง 47% การวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน พบว่าค่าพิสัยอยู่ในช่วง 3.4 – 21.7, 7.4 – 16.4 และ 4.6 – 46.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สร้างสมการเทียบมาตรฐาน (Calibration) เพื่อใช้ทำนายค่าด้วยวิธี Partial least square (PLS) regression ปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธี Multiplicative scatter correction full (mf), 2nd Savitzky-golay 9 points (dg2) และ 2nd Savitzky-golay 9 points (dg2) ตามลำดับ พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient, R) เท่ากับ 0.98, 0.98 และ 0.99 ตามลำดับ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายกลุ่มตัวอย่าง Calibration (Standard error of calibration, SEC) เท่ากับ 0.86, 0.17 และ 1.08 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายกลุ่มตัวอย่าง Validation (Standard error of prediction, SEP) เท่ากับ 0.86, 0.43 และ 1.28 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทวนสอบความใช้ได้ของวิธีด้วยตัวอย่างปุ๋ยเคมี พิจารณาความถูกต้องโดยใช้ Paired t-test พบว่าค่า t_{ext} มีค่าน้อยกว่า t_{crit} ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ผลการวิเคราะห์ที่ได้ผ่านเกณฑ์การยอมรับ และ Recovery อยู่ในช่วง 84-120% พิจารณาความเที่ยงโดยใช้ %RSD พบว่ามีค่า %RSD เฉลี่ยน้อยกว่า 1.9 ผลการวิเคราะห์ผ่านเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (%RSD \leq 1.9) สามารถนำสมการมาใช้ประเมินค่าปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน ในปุ๋ยเคมี ได้อย่างรวดเร็ว ไม่ทำลายตัวอย่าง และมีความแม่นยำอยู่ในช่วง 84 – 120%

คำหลัก : สเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ แอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน ยูเรีย-ไนโตรเจน

คำนำ

ปัจจุบันผู้ประกอบการมีการผลิตปุ๋ยไนโตรเจนเชิงเดี่ยวแบบผสมคลุกเคล้าจำนวนมาก ด้วยวิธีทางกายภาพ เช่น ปุ๋ยยูเรียผสมกับปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟต การขึ้นทะเบียนตัวอย่างปุ๋ยจะต้องมีผลทดสอบขององค์ประกอบของไนโตรเจน ได้แก่ ยูเรีย-ไนโตรเจน แอมโมเนียม-ไนโตรเจน แต่เนื่องจากการใส่ปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟตในปริมาณมากจะเป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิต ทำให้ผู้ประกอบการบางรายนำปุ๋ยยูเรียมาลดสูตรด้วยการผสมกับสารตัวเติม หรือ นำปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟตในปริมาณน้อยผสมกับยูเรีย การทดสอบองค์ประกอบของไนโตรเจนจึงมีการผิดพลาดเกิดขึ้น เนื่องจากวิธีทดสอบแอมโมเนียม-ไนโตรเจนในปุ๋ยที่มีส่วนประกอบของยูเรีย-ไนโตรเจน และแอมโมเนียม-ไนโตรเจน จะให้ผลทดสอบแตกต่างจากค่าจริง เพราะการทดสอบแอมโมเนียม-ไนโตรเจนจะทำให้ยูเรียบางส่วนแตกตัวออกมาเป็นแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ผลทดสอบแอมโมเนียม-ไนโตรเจนจึงมีค่าสูงกว่าค่าจริง ถ้าตัวอย่างปุ๋ยมียูเรียปริมาณมากและแอมโมเนียม-ไนโตรเจนปริมาณน้อย ผลทดสอบจะมีความแตกต่างจากค่าจริงมากขึ้น เทคนิค NIRS สามารถแยกพิกขององค์ประกอบของไนโตรเจนได้เนื่องจากแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน มีพิกที่แตกต่างกัน ทำให้สามารถแยกกันอย่างชัดเจน ประกอบกับวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรียไนโตรเจนใน

ปุ๋ยเคมี มีหลายขั้นตอน ต้องใช้สารเคมี และเวลาในการวิเคราะห์ ดังนั้นการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ที่รวดเร็ว ลดการใช้สารเคมี และปลอดภัยต่อผู้วิเคราะห์ จึงเป็นที่ต้องการในการวิเคราะห์ดังกล่าว

เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy, NIRS) เป็นเทคนิคที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากเป็นเทคนิคการวัดแบบไม่ทำลายตัวอย่าง สามารถทำนายค่าทางเคมีได้อย่างรวดเร็ว และแม่นยำ ทราบผลภายใน 3-4 นาที มีการศึกษาเทคนิค NIRS เพื่อจำแนกข้าวหอมมะลิออกจากข้าวพันธุ์อื่นด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (อารีรัตน์ และคณะ, 2555) การวิเคราะห์แอมโมเนียในมูลสัตว์ปีกด้วยเทคนิค NIRS (Reeves *et al.*, 2002) การวิเคราะห์ธาตุอาหารที่มีรายการแอมโมเนียม-ไนโตรเจนของมูลสุกรด้วยเทคนิค NIRS (Yang *et al.*, 2006) การวิเคราะห์ไนเตรทในดินด้วยเทคนิค NIRS (Ehsani *et al.*, 1999) การตรวจพบและหาปริมาณของสารเติมแต่ง (ยูเรีย ไบยูเรต) ในอัลฟาฟา โดย NIRS ด้วยโพรบไฟเบอร์ออปติก (Gonzalez-Martin and Hernandez-Hierro, 2008) เทคนิค NIRS อาศัยหลักการวัดปริมาณแสงที่ถูกดูดกลืนของตัวอย่าง เมื่อรังสีอินฟราเรดย่านใกล้ที่มีความยาวคลื่นตั้งแต่ 800 – 2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น 4000 – 12500 ต่อเซนติเมตร เดินทางผ่านเข้าไปในตัวอย่างไม่ทำให้เกิดอันตรกิริยา (Interaction) กับอะตอม และโมเลกุลของตัวอย่างนั้น โมเลกุลดูดกลืนรังสีอินฟราเรดย่านใกล้เข้าไปจะมีผลต่อการสั่นของพันธะต่างๆ ในโมเลกุล ระดับการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดย่านใกล้ของตัวอย่างที่มีความยาวคลื่นต่างๆ จะปรากฏในสเปกตรัม NIR การหาความสัมพันธ์ระหว่างการดูดกลืนแต่ละความยาวคลื่นกับค่าทางเคมี โดยทั่วไปมักใช้การวิเคราะห์ถดถอย (Regression analysis) ซึ่งมีหลายวิธี เช่น การถดถอยเชิงเส้นพหุคูณ (Multiple linear regression, MLR) การถดถอยกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วน (Partial least square (PLS) regression) การถดถอยองค์ประกอบหลัก (Principle component regression, PCR) เป็นต้น โดยวิธีที่ได้รับความนิยมมากที่สุดขณะนี้ คือ PLS และ PCR เนื่องจากโปรแกรมจะวิเคราะห์การถดถอย เพื่อสร้างสมการแคลิเบรชันอย่างอัตโนมัติ รวดเร็ว ทำให้ผู้ใช้สะดวก และเพื่อให้สมการแคลิเบรชันมีความเสถียร และมีปัจจัย (Factors) ที่เหมาะสม ควรตรวจสอบช่วงความยาวคลื่นที่ดีที่สุดที่สอดคล้องกับการดูดกลืนขององค์ประกอบที่สนใจ ดังนั้นระหว่างการสร้างสมการแคลิเบรชันควรลองปรับช่วงความยาวคลื่นที่ใช้วิธีการปรับแต่งสเปกตรัม และเงื่อนไขการปรับแต่งในแต่ละวิธี เพื่อให้ได้สร้างสมการแคลิเบรชันที่มีความแม่นยำที่สุด เพื่อใช้ทำนายค่าคุณสมบัติทางเคมีหรือคุณสมบัติอื่นๆ ของตัวอย่าง ที่สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้อย่างรวดเร็วและแม่นยำ ประหยัดเวลา และลดต้นทุนในการใช้สารเคมี (สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร และอุตสาหกรรมเกษตร, 2555) งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นในการศึกษาองค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมีโดยเทคนิค NIRS เพื่อพิสูจน์เอกลักษณ์เบื้องต้นและวิเคราะห์เชิงปริมาณของแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน ยูเรีย-ไนโตรเจน ในตัวอย่างปุ๋ยเคมี โดยเทคนิค NIRS ที่มีความรวดเร็ว ประหยัดเวลา ลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตราย และปลอดภัยกับผู้วิเคราะห์

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องบดตัวอย่าง
2. เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
3. เครื่อง Near-Infrared (NIR)
4. สารเคมี เครื่องแก้ว และวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์รายการทดสอบแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 วิธีทดสอบ 1.06.01 1.07.01 และ 1.08.01
5. ตัวอย่างปุ๋ยเคมี

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่างปุ๋ยเคมี (ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2559)

นำตัวอย่างปุ๋ยเคมีมาบดด้วยเครื่องบดตัวอย่างให้มีความละเอียดไม่น้อยกว่า 20 เมช เทตัวอย่างที่บดแล้วใส่ถุงพลาสติกซิปล็อคให้มิด และปิดถุงให้สนิท เขียนป้ายบ่งชี้ตัวอย่างเพื่อนำไปวิเคราะห์

2. การวิเคราะห์ค่าทางเคมี (ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2559)

2.1 วิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน โดยการกลั่นด้วยแมกนีเซียมออกไซด์ และใช้กรดบอริกดักจับแอมโมเนีย ไตเตรทสารละลายกรดบอริกที่มีแอมโมเนียละลายอยู่ด้วยสารละลายกรดเกลือมาตรฐาน ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 วิธีทดสอบ 1.06.01

2.2 วิเคราะห์หาปริมาณไนเตรท-ไนโตรเจน โดยรีดิวซ์ไนเตรทไนโตรเจนให้เป็นแอมโมเนียด้วย Devarda alloy แล้วกลั่นด้วยต่าง โดยใช้กรดบอริกดักจับแอมโมเนีย ไตเตรทสารละลายกรดบอริกที่มีแอมโมเนียละลายอยู่ด้วยสารละลายกรดเกลือมาตรฐาน ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 วิธีทดสอบ 1.07.01

2.3 วิเคราะห์หาปริมาณยูเรีย-ไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี โดยการย่อยตัวอย่างปุ๋ยด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น กรดซัลโฟลิก และโซเดียมไฮโอซัลเฟต โดยมีโพแทสเซียมซัลเฟต และคอปเปอร์ซัลเฟตเป็นสารเร่งปฏิกิริยา แล้วกลั่นด้วยต่าง โดยใช้กรดบอริกดักจับแอมโมเนีย ไตเตรทสารละลายกรดบอริกที่มีแอมโมเนียละลายอยู่ด้วยสารละลายกรดเกลือมาตรฐาน จากนั้นนำผลวิเคราะห์ที่ได้มาหักลบแอมโมเนียม-ไนโตรเจนและไนเตรท-ไนโตรเจน สำหรับปุ๋ยเคมีที่ไม่มีไนเตรทเป็นองค์ประกอบ ใช้กรดซัลฟูริกย่อยสลายยูเรีย แล้วกลั่นด้วยต่าง โดยใช้กรดบอริกดักจับแอมโมเนีย แล้วไตเตรทสารละลายกรดบอริกที่มีแอมโมเนียละลายอยู่ด้วยสารละลายกรดเกลือมาตรฐาน ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 วิธีทดสอบ 1.08.01

3. วัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Near-Infrared (NIR)

วัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่ทราบปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน โดยใช้เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy, NIRS) แบบวิธีสะท้อน (Reflectance) โดยเทตัวอย่างปุ๋ยเคมี ใส่ลงใน Petri dish ให้มีความหนาประมาณ 1 เซนติเมตร แล้วนำไปวัดด้วยเครื่อง NIRS โดยใช้แสงที่มีความยาวคลื่น (Wave length) 800-2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น (Wave number) 4000-12500 ต่อเซนติเมตร เพื่อเก็บสเปกตรัม

นำสเปกตรัม (Spectrum) ที่ได้มาปรับปรุง (Pretreatments) โดยวิธีทางคณิตศาสตร์ เพื่อหาความยาวคลื่นจำเพาะที่เป็นเอกลักษณ์ของแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน

4. สร้างและปรับปรุงสมการเทียบมาตรฐาน (Calibration) ของวิธีหาปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี โดยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy, NIRS)

หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น (Wave length) 800 – 2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น (Wave number) 4000-12500 ต่อเซนติเมตร และค่าทางเคมีของแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจนในตัวอย่างปุ๋ยเคมี โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป NIRCal ของเครื่อง NIR (Buchi NIRFlex N-500, Switzerland) และในงานวิจัยนี้เลือกใช้ PLS ซึ่งเป็นเทคนิคการวิเคราะห์หลายตัวแปร (Multivariate analysis) โดยการสร้างแพ็คเกจแบบสมการเชิงเส้นตรงจากข้อมูลของสเปกตรัมเริ่มต้น และนำแพ็คเกจที่ได้ไปใช้ในสมการถดถอยวัตถุประสงค์ของ PLS เพื่อต้องการลดจำนวนข้อมูลสเปกตรัมให้ได้เฉพาะข้อมูลสเปกตรัมที่มีความสำคัญกับการทำนายค่าทางเคมีที่สนใจเท่านั้น เพื่อให้สามารถประเมินค่าทางเคมีได้ถูกต้องมากขึ้น การประเมินผลความสามารถของสมการแคลิเบรชันสามารถอธิบายได้จากค่าสถิติสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient, R) ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แนวทางการอธิบายความสามารถของสมการแคลิเบรชันด้วยค่า R (William, 2001)

ค่า R	ความสามารถของสมการแคลิเบรชัน
± 0.5	ไม่ควรใช้ในการทำนาย (Not usable)
± 0.51 – 0.70	ความสัมพันธ์ไม่ดีพอ (Poor correlation)
± 0.71 – 0.80	การทำนายเพื่อการแบ่งระดับปริมาณอย่างหยาบ (Rough screening)
± 0.81 – 0.90	การทำนายเพื่อการแบ่งระดับปริมาณ หรือ ประมาณค่าเบื้องต้น (Screening)
± 0.91 – 0.95	การทำนายเพื่องานวิจัย (Research) และงานทั่วไป
± 0.96 – 0.98	การทำนายเพื่อการประกันคุณภาพ (Quality assurance)
± 0.99 ขึ้นไป	ทุกงาน (Any application)

5. สร้างสมการทำนายสำหรับการจำแนกองค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี โดยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy, NIRS)

นำสเปกตรัมของแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน ในตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่ความยาวคลื่น (Wave length) 800 – 2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น (Wave number) 4000-12500 ต่อเซนติเมตร มาสร้างสมการทำนายแบบจัดกลุ่ม (Cluster) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป NIRCal ของเครื่อง NIR (Buchi NIRFlex N-500, Switzerland) สมการทำนายองค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมีที่ต้องการ ต้องได้ค่า Cluster/Property เท่ากับ 1

6. ทวนสอบสมการเทียบมาตรฐาน (Calibration) ที่ใช้ในการทำนายปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจนในตัวอย่างปุ๋ยเคมี

ทวนสอบสมการ Calibration โดยใช้ตัวอย่างปุ๋ยเคมี โดยพิจารณาความถูกต้อง และความเที่ยง เพื่อให้ได้สมการทำนายผลที่มีความถูกต้อง และแม่นยำ

6.1 พิจารณาความถูกต้อง โดยใช้ Paired t-test และ %Recovery เปรียบเทียบค่าที่ทำนายได้ด้วยวิธี NIRS กับค่าวิเคราะห์ทางเคมี

การคำนวณ

$$t_{\text{ext}} = \frac{\bar{d}}{sd / \sqrt{n}}$$

$$\% \text{Recovery} = \frac{\text{ค่าที่ทำนายด้วยวิธี NIR} \times 100}{\text{ค่าวิเคราะห์ทางเคมี}}$$

เมื่อ \bar{d} = ค่าเฉลี่ยของความแตกต่าง

sd = ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของความแตกต่าง

n = จำนวนตัวอย่าง

6.2 พิจารณาความเที่ยง โดยใช้ %RSD (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ : Relative standard deviation)

การคำนวณ

$$\% \text{RSD} = \frac{sd}{x} \times 100$$

เมื่อ sd = ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

\bar{x} = ค่าเฉลี่ยของตัวอย่าง

7. ทวนสอบสมการทำนายสำหรับการจำแนกองค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี โดยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy, NIRS)

ทวนสอบสมการทำนายโดยใช้ตัวอย่างปุ๋ยเคมี โดยพิจารณาความถูกต้องของการจำแนกกลุ่มองค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี (แอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน)

ระยะเวลา เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2562 สิ้นสุด เดือนกันยายน 2564

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลการวิเคราะห์ทางเคมี

จากการวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน ในตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่ใช้ในการสร้างสมการ Calibration จำนวน 138, 81 และ 140 ตัวอย่าง ตามลำดับ พบว่ามีค่าพิสัยอยู่ในช่วง 3.4 – 21.7, 7.4 – 16.4 และ 4.6 – 46.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

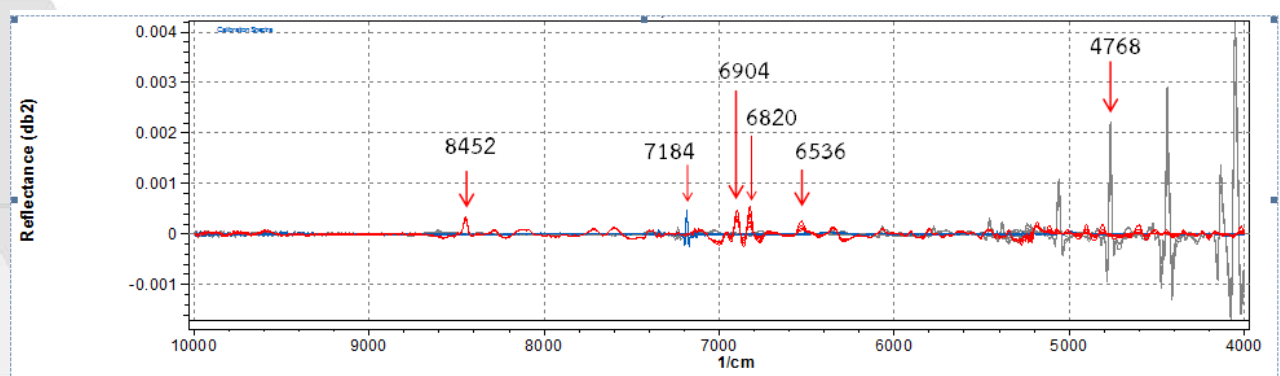
2. ผลการวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Near-Infrared (NIR)

จากการวัดตัวอย่างปุ๋ยเคมีเพื่อหาความยาวคลื่นจำเพาะที่เป็นเอกลักษณ์ของแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน โดยใช้เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy, NIRS) แบบวิธีสะท้อน (Reflectance) โดย Scan ที่ช่วงความยาวคลื่น (Wave length) 800-2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น (Wave number) 4000-12500 ต่อเซนติเมตร และทำการปรับแต่งสเปกตรัมของแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจนในตัวอย่างปุ๋ยเคมี ด้วยวิธี Second derivative แสดงในภาพที่ 1 พบช่วงการดูดกลืนแสงที่สำคัญของแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจนในตัวอย่างปุ๋ยเคมี ได้แก่

2.1 แอมโมเนียม-ไนโตรเจน พบช่วงการดูดกลืนแสงที่จำนวนคลื่นแสงต่อเซนติเมตรประมาณ 7184 cm^{-1} (Yang *et al.*, 2006) ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการสั่นของหมู่ R-O-H (ภาพที่ 1)

2.2 ไนเตรท-ไนโตรเจน พบช่วงการดูดกลืนแสงที่จำนวนคลื่นแสงต่อเซนติเมตรประมาณ 4768 cm^{-1} ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการสั่นของหมู่ O-H และ C-O (ภาพที่ 1)

2.3 ยูเรีย-ไนโตรเจน พบช่วงการดูดกลืนแสงที่จำนวนคลื่นแสงต่อเซนติเมตรประมาณ 6536, 6820, 6904 และ 8452 cm^{-1} (Gonzalez-Martin and Hernandez-Hierro, 2008) ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการสั่นของหมู่ RNH_2 , CONH_2 และ C-H (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 อนุพันธ์อันดับสอง (Second derivative) ของสเปกตรัมแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน ในตัวอย่างปุ๋ยเคมี

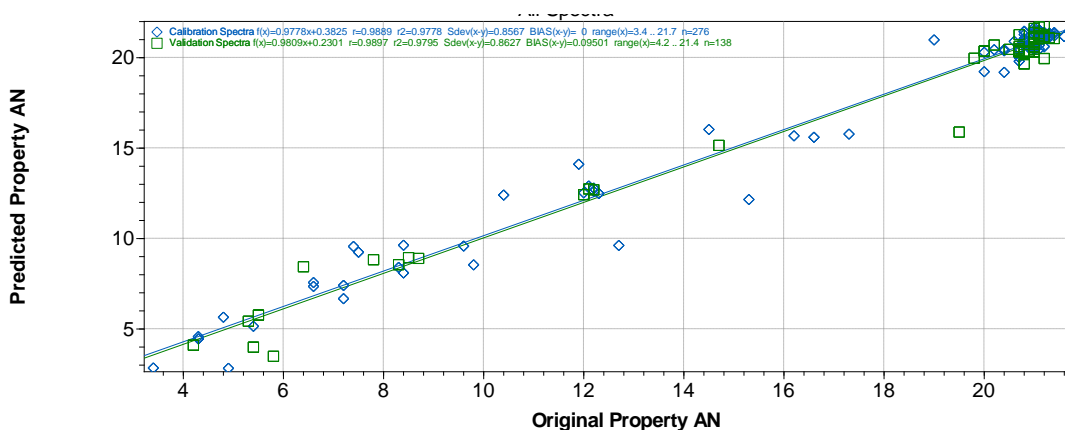
3. สมการเทียบมาตรฐาน (Calibration) ของปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน

นำค่าการดูดกลืนแสง และค่าทางเคมีของแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจนในตัวอย่างปุ๋ยเคมี มาสร้างสมการ Calibration โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป NIRCal ของเครื่อง NIR (Buchi NIRFlex N-500, Switzerland) ด้วยวิธี Partial least square (PLS) regression

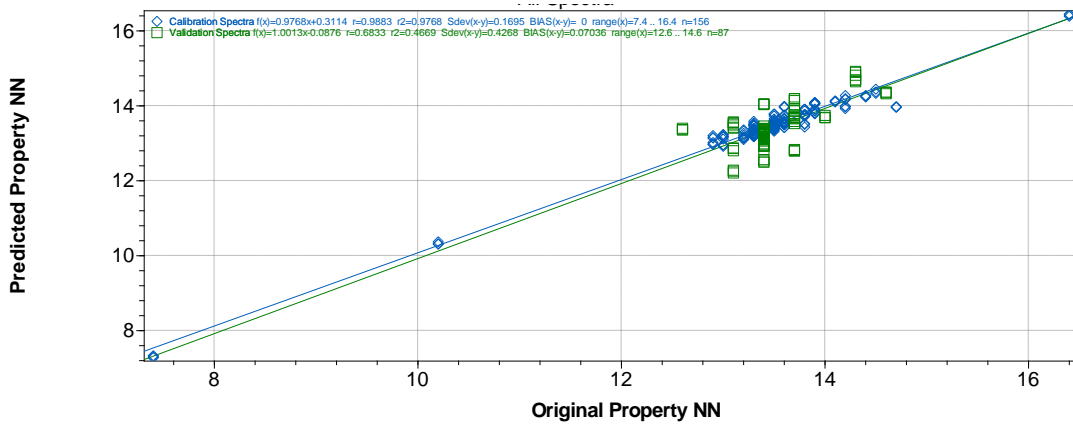
3.1. ได้สมการแอมโมเนียม-ไนโตรเจน โดยการใช้การปรับแต่งสมการ (Pretreatments) แบบ Multiplicative scatter correction full (mf) พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient, R) เท่ากับ 0.98 แสดงว่าสามารถทำนายเพื่อการประกันคุณภาพ (Quality assurance) ได้ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายกลุ่มตัวอย่าง Calibration (SEC) เท่ากับ 0.86 เปอร์เซ็นต์ และค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายกลุ่มตัวอย่าง Validation (SEP) เท่ากับ 0.86 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 2)

3.2. ได้สมการไนเตรท-ไนโตรเจน โดยการใช้การปรับแต่งสมการ (Pretreatments) แบบ 2nd Savitzky-golay 9 points (dg2) พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient, R) เท่ากับ 0.98 แสดงว่าสามารถทำนายเพื่อการประกันคุณภาพ (Quality assurance) ได้ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายกลุ่มตัวอย่าง Calibration (SEC) เท่ากับ 0.17 เปอร์เซ็นต์ และค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายกลุ่มตัวอย่าง Validation (SEP) เท่ากับ 0.43 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 3)

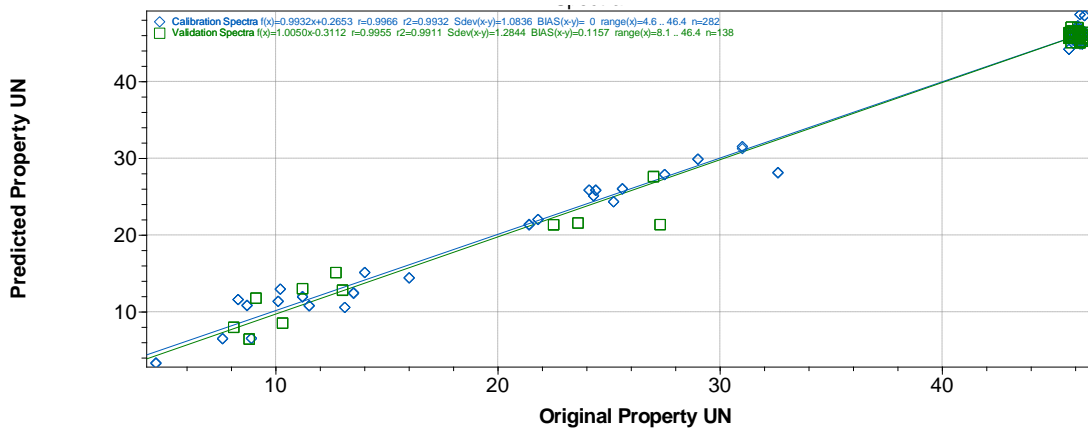
3.3. ได้สมการยูเรีย-ไนโตรเจน โดยการใช้การปรับแต่งสมการ (Pretreatments) แบบ 2nd Savitzky-golay 9 points (dg2) พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient, R) เท่ากับ 0.99 แสดงว่าสามารถทำนายทุกงาน (Any application) ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายกลุ่มตัวอย่าง Calibration (SEC) เท่ากับ 1.08 เปอร์เซ็นต์ และค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายกลุ่มตัวอย่าง Validation (SEP) เท่ากับ 1.28 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าที่วิเคราะห์ได้จากวิธีทางเคมี และค่าที่ทำนายได้ด้วย NIRS ของปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ในตัวอย่างปุ๋ยเคมี



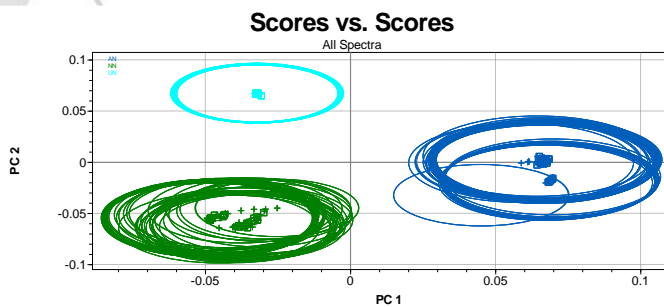
ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าที่วิเคราะห์ได้จากวิธีทางเคมี และค่าที่ทำนายได้ด้วย NIRS ของปริมาณไนโตรเจน-ไนโตรเจน ในตัวอย่างปุ๋ยเคมี



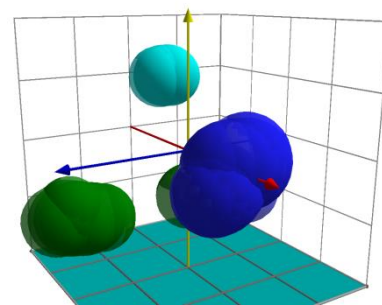
ภาพที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าที่วิเคราะห์ได้จากวิธีทางเคมี และค่าที่ทำนายได้ด้วย NIRS ของปริมาณยูเรีย-ไนโตรเจน ในตัวอย่างปุ๋ยเคมี

4. สมการทำนายสำหรับการจำแนกองค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี โดยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy, NIRS)

นำสเปกตรัมของแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจนในตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่มีความยาวคลื่น (Wave length) 800 – 2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น (Wave number) 4000-12500 ต่อเซนติเมตร มาสร้างสมการทำนายแบบจัดกลุ่ม (Cluster) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป NIRCal ของเครื่อง NIR (Buchi NIRFlex N-500, Switzerland) พบว่าได้สมการทำนายสำหรับการจำแนกองค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี โดยใช้การปรับแต่งสมการ (Pretreatments) แบบ 1st Savitzky - golay a points (dg1) และ Normalization to unit length (nle) สมการที่ได้แบ่งแยกองค์ประกอบของไนโตรเจนได้อย่างชัดเจน และค่า Cluster/Property เท่ากับ 1 (ภาพที่ 5)

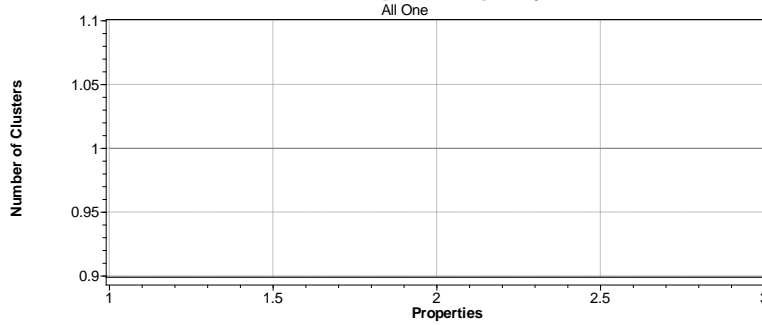


(a)



(b)

Clusters per Property



(c)

ภาพที่ 5 สมการทำนายจัดกลุ่มแบบ 2D (a) และ 3D (b) ของตัวอย่างแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี และ (c) ความสัมพันธ์ระหว่างสเปกตรัมแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน ในปุ๋ยเคมี กับการจัดกลุ่มตัวอย่าง ด้วย NIRS

5. ผลทวนสอบสมการเทียบมาตรฐาน (Calibration) ที่ใช้ในการทำนายปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี โดยเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy, NIRS)

เมื่อนำตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่มีปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน จำนวน 22, 20 และ 25 ตัวอย่าง ตามลำดับ มาทวนสอบสมการที่ใช้ทำนายปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน ในปุ๋ยเคมี พิจารณาความถูกต้องโดยเปรียบเทียบค่าที่ทำนายได้ (เทคนิค NIRS) กับค่าวิเคราะห์ทางเคมี ด้วย Paired t-test พบว่า มีค่า $t_{ext} < t_{crit}$ ทุกรายการทดสอบ แสดงว่าผลการวิเคราะห์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และ %Recovery อยู่ในช่วง 80-120% พิจารณาความเที่ยงด้วย %RSD พบว่า มีค่า %RSD เฉลี่ยน้อยกว่า 1.9 ทุกรายการทดสอบ แสดงว่าผลการวิเคราะห์ผ่านเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (AOAC, 2016) (ตารางที่ 2)

จากข้อมูลแสดงว่าสามารถนำสมการ Calibration มาใช้ประเมินค่าปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี ได้อย่างรวดเร็ว และไม่ทำลายตัวอย่าง ความถูกต้องของการประเมินค่าปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี อยู่ในช่วง 80-120% สำหรับสมการ Calibration ที่ดี ควรมีการปรับปรุงโดยการเพิ่มจำนวนกลุ่มตัวอย่างให้มีความหลากหลาย ค่าทางเคมีในตัวอย่างควรมีค่าที่กระจายอย่างสม่ำเสมอตลอดช่วงของค่าทั้งหมด หรือมีความแปรปรวนครอบคลุมค่าของตัวอย่างในอนาคต เพื่อให้ได้สมการ Calibration ที่เหมาะสม มีความถูกต้อง และแม่นยำ ตลอดการใช้งาน

ตารางที่ 2 ประเมิน Accuracy และ Precision ของสมการที่ใช้ในการทำนายปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน ในปุ๋ยเคมี

Parameter	Accuracy		Precision		
	Paired t-test		%Recovery	%RSD _{ext}	%RSD _r
	t_{ext}	t_{crit}			
Ammonium nitrogen (AN)	1.05	2.08	88 - 120	0.03	1.9
Nitrate nitrogen (NN)	-0.65	2.09	87 - 107	0.36	1.9
Urea nitrogen (UN)	-0.13	2.06	84 - 110	0.08	1.9

6. ทวนสอบสมการทำนายสำหรับการจำแนกองค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี โดยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy, NIRS)

นำตัวอย่างแม่ปุ๋ยเคมีและปุ๋ยเชิงประกอบที่มีแอมโมเนียม-ไนโตรเจน (สูตร 20-0-0, 21-0-0, 12-60-0, 12-61-0) ไนเตรท-ไนโตรเจน (สูตร 13-0-46, 15-0-0) และยูเรีย-ไนโตรเจน (สูตร 46-0-0) รายการทดสอบละ 20 ตัวอย่าง มาทวนสอบสมการสำหรับการจำแนกองค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี พบว่าสมการทำนายแยกชนิดองค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี (ยูเรีย-ไนโตรเจน แอมโมเนียม-ไนโตรเจน และไนเตรท-ไนโตรเจน) ได้ถูกต้องทุกตัวอย่าง คิดเป็น 100% และตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่มีการผสมแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน จำนวน 21 ตัวอย่าง สามารถทำนายแยกชนิดองค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมีได้ถูกต้อง 10 ตัวอย่าง จากตัวอย่างทั้งหมด 21 ตัวอย่าง คิดเป็น 47% อาจเนื่องมาจากฟิสิกของตัวอย่างที่แสดงยังไม่เด่นชัดทำให้การแยกฟิสิกขององค์ประกอบของไนโตรเจนคลาดเคลื่อนได้

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

การหาปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจนในตัวอย่างปุ๋ยเคมี โดยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy, NIRS) วิธีการวัดแบบ Reflectance สามารถนำสมการเทียบมาตรฐาน (Calibration) มาใช้ประเมินค่าปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจน ในปุ๋ยเคมี ได้อย่างรวดเร็ว ไม่ทำลายตัวอย่าง และมีความถูกต้องของการประเมินค่าปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี อยู่ในช่วง 84-120% และการวิเคราะห์เชิงคุณภาพสำหรับจำแนกองค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี สามารถใช้ตรวจประเมินเพื่อแยกชนิดขององค์ประกอบของไนโตรเจนในกลุ่มตัวอย่างแม่ปุ๋ยเคมีและปุ๋ยเชิงประกอบสูตร 20-0-0, 21-0-0, 12-60-0, 12-61-0, 13-0-46, 15-0-0 และ 46-0-0 ได้อย่างรวดเร็ว และแม่นยำ สำหรับตัวอย่างปุ๋ยผสมที่มีแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ยูเรีย-ไนโตรเจน และไนเตรท-ไนโตรเจน สามารถทำนายแยกชนิดองค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมีได้ถูกต้อง 47%

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ได้วิธีวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และยูเรีย-ไนโตรเจนในปุ๋ยเคมีด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ เพื่อเป็นทางเลือกในการวิเคราะห์ ที่รวดเร็ว ไม่ทำลายตัวอย่าง ลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายและปลอดภัยกับผู้วิเคราะห์
2. ได้วิธีวิเคราะห์เชิงคุณภาพเพื่อแยกชนิดขององค์ประกอบของไนโตรเจนของปุ๋ยเคมีในเบื้องต้น (Qualitative) ด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้

เอกสารอ้างอิง

- ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 (2560, 4 มกราคม).
ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 134 ตอนพิเศษ 2 ง. หน้า 24.
- สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตร และอุตสาหกรรมเกษตร. 2555. เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้และการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ
- อารีรัตน์ อิมศิลป์, ปิยรัตน์ สิริชัยกิจ และรจนา ประสิทธิ์. 2555. การจำแนกข้าวหอมมะลิออกจากข้าวพันธุ์อื่นด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้. วารสารวิจัยสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต. 5(2), 37-51
- AOAC. 2016. Official Methods of Analysis of AOAC International. 20th ed. AOAC International, Maryland, USA.
- Ehsani, M.R., S.K. Upadhyaya and D. A. Slaughter. 1999. NIR Technique for Rapid Determination of Soil Mineral Nitrogen. Precision Agriculture. 1: 217-234
- Gonzalez-Martin, I. and J.M. Hernandez-Hierro. 2002. Detection and quantification of additives (urea, biuret and poultry litter) in alfalfas by nir spectroscopy with fibre-optic probe. Talanta. 76: 1130-1135
- Reeves, J.B., J.S. Van Kessel and G.W. Malone. 2002. Quick Test for the Determination of Ammonia in Poultry Litter. Poultry Science. 81: 1301-1307
- Williams, P.C. 2001. Implementation of Near-Infrared Technology. In: Williams, P.C. and K. Norris., eds. Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries. 2nd ed. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, 145-169.
- Yang, Z., L.Han and X. Fan. 2006. Rapidly estimating nutrient contents of fattening pig manure from floor scrapings by near infrared reflectance spectroscopy. Near Infrared Spectrosc. 14: 261-268