รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองสิ้นสุด ปี 2558

---

1. ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

2. โครงการวิจัย การพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์พืชและปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

กิจกรรม การวิจัยและพัฒนาวิธีวิเคราะห์ เพื่อให้ได้วิธีใหม่ที่รวดเร็ว แม่นยำ ปลอดภัย และรักษาสิ่งแวดล้อม

กิจกรรมย่อย การพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาคุณสมบัติเชิงเคมี และเชิงคุณภาพของปัจจัยการผลิต โดยใช้เทคโนโลยีเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี

3. ชื่อการทดลอง ศึกษาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมีโดยเทคนิค NIRS TheStudy of Total Nitrogen analysis method in Inorganic Fertilizer by Near Infrared Spectroscopy

4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง	นางสาวชฎาพร คงนาม	กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ.
ผู้ร่วมงาน	นางสาววรรณรัตน์ ชุติบุตร	กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ.
	นางทองจันทร์ พิมพ์เพชร	กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ.
	นางสงกรานต์ มะลิสอน	กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ.

5. บทคัดย่อ

การศึกษาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมีโดยเทคนิค NIRS เป็นวิธีการวัดแบบไม่ทำลายตัวอย่าง สามารถทำนายค่าทางเคมีได้อย่างรวดเร็ว แม่นยำ ลดการใช้สารเคมี และมลภาวะที่เกิดจากห้องปฏิบัติการ โดยเตรียมตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบบด และปั้นเม็ด จำนวน 837 และ 597 ตัวอย่าง ตามลำดับ วิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมีโดยวิธี Kjeldahl method ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานของห้องปฏิบัติการวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย พบว่าค่าพิสัยของตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบบด และปั้นเม็ด อยู่ในช่วง 2.7 – 46.9 และ 4.0 – 46.9 เปอร์เซ็นต์ ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 18.6 และ 21.4 เปอร์เซ็นต์ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation, SD) เท่ากับ 10.5 และ 11.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นำไปสแกนด้วยเทคนิค Near Infrared Spectroscopy (NIRS) ที่ความยาวคลื่น 800 – 2500 นาโนเมตร สร้างและปรับปรุงสมการเพื่อใช้ทำนายค่าด้วยวิธี Partial Least Square (PLS) regression ได้สมการที่ใช้ทำนายปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมีแบบบดที่เหมาะสม มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient, r) เท่ากับ 0.91 ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายกลุ่มตัวอย่าง Calibration (Standard error of Calibration,SEC) เท่ากับ 4.28 เปอร์เซ็นต์ และค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายกลุ่มตัวอย่าง Validation (Standard error of prediction, SEP) เท่ากับ 4.52 เปอร์เซ็นต์ ทดสอบสมการโดยการทำนายค่าทางเคมีของตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบบดที่ไม่ทราบค่า ประเมินความแม่นโดยใช้ Paired t-test พบว่าที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง มีผลการวิเคราะห์ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

ประเมินความเที่ยงโดยใช้ %RSD พบว่าทั้ง 3 ระดับความเข้มข้นมีผลการวิเคราะห์ไม่ผ่านเกณฑ์การยอมรับ ตรวจสอบความใช้ได้ของสมการด้วย Certified Reference Material (CRM) นำมาประเมินความแม่นโดยหาค่า Recovery และความเที่ยง โดยใช้ %RSD พบว่าที่ระดับความเข้มข้นกลางมี %Recovery อยู่ในช่วง 98–102 % และ%RSD≤1.3 ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ สามารถนำมาใช้ประเมินค่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ระดับความเข้มข้นกลางได้อย่างแม่นยำ และรวดเร็ว สำหรับที่ระดับความเข้มข้นสูง ผลการวิเคราะห์ไม่ผ่านเกณฑ์ยอมรับ สมการที่ใช้ในการทำนายปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมีแบบปั้นเม็ด มีค่า r เท่ากับ 0.97 ค่า SEC เท่ากับ 2.22 เปอร์เซ็นต์ และค่า SEP เท่ากับ 2.51 เปอร์เซ็นต์ ทดสอบสมการโดยการทำนายค่าทางเคมีของตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบปั้นเม็ดที่ไม่ทราบค่า ประเมินความแม่นโดยใช้ Paired t-test พบว่าทั้ง 3 ระดับความเข้มข้นมีผลการวิเคราะห์ไม่ผ่านเกณฑ์การยอมรับ แสดงว่าวิธีทำนายปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมีแบบปั้นเม็ด โดยที่ไม่ผ่านการเตรียมตัวอย่างยังไม่เหมาะสมที่จะนำวิธี NIRS มาใช้ในการทำนายค่า เพราะผลการวิเคราะห์ตัวอย่างปุ๋ยด้วย NIRS มีความแตกต่างจากค่าวิเคราะห์ทางเคมี จึงไม่ทำการตรวจสอบความใช้ได้ของสมการทำนายปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมีแบบปั้นเม็ด

Abstract

The study of total nitrogen analysis method in inorganic fertilizer by NIRS, is non-destructive technique, rapidly and accurately predictions. The grind inorganic fertilizer 837 samples and granular inorganic fertilizer 597 samples are determined the total nitrogen content by Kjeldahl method. The result of total nitrogen, the range were 2.7 - 46.9% and 4.0 – 46.9%, mean were 18.6% and 21.4% and standard deviation (SD) were 10.5% and 11.9%, respectively. The samples were scanned by NIRS in the region 800 – 2500 nm. NIRS-PLS technique showed the good calibration for predicting total nitrogen contents in grind inorganic fertilizer, the correlation coefficient (r) was 0.91, standard error of calibration (SEC) was 4.28% and standard error of prediction (SEP) was 4.52%. Test of the calibration model to predict for total nitrogen with blind grind samples. Accurate evaluation using paired t-test, the results of low, medium and high concentration passed the acceptance criteria. Evaluation of precision by RSD, the results of three concentration not passed the acceptance criteria. Validation of calibration model with CRM. Accurate and precise evaluation using recovery and precision, the results of only medium concentration passed the acceptance criteria. Therefore, calibration model can predict of total nitrogen contents in grind inorganic fertilizer at medium concentration. The calibration model for predicting total nitrogen contents in granular inorganic fertilizer, the correlation coefficient (r) was 0.97, SEC was 2.22% and SEP was 2.51%. Test of the calibration model with blind granular samples. Accurate evaluation using paired t-test, the results of three concentration not passed

the acceptance criteria. This model isn't suitable to be used for predicting total nitrogen contents in granular inorganic fertilizer.

6. คำนำ

ด้านการเกษตรไนโตรเจนเป็นธาตุที่น่าสนใจเนื่องจากสาเหตุ 4 ประการ คือ 1) เป็นธาตุอาหารที่มีบทบาทสำคัญต่อพืชในทุกระยะการเจริญเติบโต ตั้งแต่การงอกของเมล็ดจนผลิตออกดอกผล 2) เซลล์พืชดูดซึมได้ในรูปไนเทรตไอออน (NO_3^-) และแอมโมเนียมไอออน (NH_4^+) สำหรับยูเรียแม้ว่าเซลล์พืชจะดูดไปใช้ได้โดยตรง แต่สารนี้มีอยู่ในธรรมชาติน้อย พืชจะดูดซึมไปใช้มากเมื่อใส่ปุ๋ยยูเรียสังเคราะห์ สำหรับไนเทรตไอออนเป็นรูปที่ถูกชะละลายจากดินง่าย 3) จุลินทรีย์บางชนิดสามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ จุลินทรีย์สกุลไรโซเบียมตรึงไนโตรเจนที่มีอยู่ร่วมกับรากพืชตระกูลถั่ว แต่จุลินทรีย์บางชนิดตรึงไนโตรเจนได้เมื่ออยู่อย่างอิสระ จุลินทรีย์เหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการขับเคลื่อนวงจรไนโตรเจนอย่างมาก และ 4) เป็นธาตุซึ่งพื้นที่การเกษตรทั่วไปมักขาดแคลนความต้องการไนโตรเจนเพื่อการผลิตพืชจึงสูงกว่าปุ๋ยฟอสเฟต และโพแทช เมื่อรากพืชดูดไนโตรเจนรูปที่เป็นประโยชน์จากดินจะเคลื่อนย้ายในระบบท่อลำเลียงเปลี่ยนสภาพเป็นสารอินทรีย์ซึ่งเป็นองค์ประกอบของเซลล์ และมีบทบาทสำคัญในเมแทบอลิซึมของพืช (ยงยุทธ, 2558) ดังนั้นแนวโน้มในการผลิตปุ๋ยไนโตรเจนจึงสูงขึ้นทุกปี

ปัจจุบันได้มีการนำเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy ; NIRS) มาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบต่างๆ ในตัวอย่าง เนื่องจากเป็นเทคนิคการวัดแบบไม่ทำลายตัวอย่าง สามารถทำนายค่าทางเคมีได้อย่างรวดเร็ว และแม่นยำ มีการศึกษาเทคนิค NIR-PLS เพื่อพัฒนาการประเมินคุณภาพของไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ (Wang et al., 2014) พัฒนาระบบการวัดอินฟราเรดย่านใกล้สำหรับดินและปุ๋ยหมัก (Ootake Y, 2009) ศึกษาการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในใบผ้ายด้วยเทคนิค FT-NIR (Riley andCanaves, 2002)

เทคนิค NIRS อาศัยหลักการวัดปริมาณแสงที่ถูกดูดกลืนของตัวอย่าง เมื่อรังสีอินฟราเรดย่านใกล้ที่มีความยาวคลื่นตั้งแต่ 800 – 2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น 4000 – 12500 ต่อเซนติเมตร เดินทางผ่านเข้าไปในตัวอย่าง ทำให้เกิดอันตรกิริยา (interaction) กับอะตอม และโมเลกุลของตัวอย่างนั้น โมเลกุลดูดกลืนรังสีอินฟราเรดย่านใกล้เข้าไปจะมีผลต่อการสั่นของพันธะต่างๆ ในโมเลกุล ระดับการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดย่านใกล้ของตัวอย่างที่ความยาวคลื่นต่างๆ จะปรากฏในสเปกตรัม NIR หาความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลสเปกตรัมกับค่าทางเคมี จะได้สมการเทียบมาตรฐานหรือสมการแคลิเบรชั่น (Calibration equation) เพื่อใช้ทำนายค่าคุณสมบัติทางเคมีหรือคุณสมบัติอื่นๆ ของตัวอย่าง สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้อย่างรวดเร็วและแม่นยำ ประหยัดเวลา และลดต้นทุนในการใช้สารเคมี (เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้และการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม, 2555) งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นในการศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมีโดยเทคนิค NIRS เพื่อให้ได้วิธีวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมีที่มีความรวดเร็ว และปลอดภัยกับผู้วิเคราะห์ โดยอยู่บนพื้นฐานความแม่น และความเที่ยง

7. วิธีดำเนินการ

1. อุปกรณ์

1.1 เครื่องบดตัวอย่าง

1.2 เครื่องชั่งตัวอย่าง ทศนิยม 4 ตำแหน่ง

1.3 เครื่องย่อยและกลั่นไนโตรเจน

1.4 เครื่อง Near-Infrared (NIR)

1.5 เครื่องแก้ว และวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์

1.6 Ammonium dihydogen phosphate ($NH_4H_2PO_4$) ,AR grade

1.7 Boric acid, AR grade

1.8 Copper sulfate ($CuSO_4.5H_2O$), AR grade

1.9 Ethyl alcohol 90 % (C_2H_5OH), AR grade

1.10 Methylene blue, AR grade

1.11 Methyl red, AR grade

1.12 Potassium sulfate (K_2SO_4), AR grade

1.13 Salicylic acid [$C_6H_4(OH).COOH$], AR grade

1.14 Sulfuric acid 95-98% (H_2SO_4), AR grade

1.15 Standard hydrochloric Acid 1 N, AR grade

1.16 Sodium hydroxide, Commercial grade

1.17 Sodium thiosulfate ($Na_2S_2O_3.5H_2O$), AR grade

1.18 Zinc granular, AR grade

1.19 Urea 46.54 $\pm$ 0.08 % (CRM-BCR 179)

1.20 Calcium Ammonium Nitrate 26.019 $\pm$ 0.054 % Nitrogen (CRM-BCR 178)

1.21 ตัวอย่างปุ๋ยเคมี

2. วิธีการ

2.1 การเตรียมตัวอย่างปุ๋ยเคมี (คู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี, 2551)

2.1.1 ปุ๋ยเคมีแบบบด

เตรียมตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่ระดับความเข้มข้นไนโตรเจนทั้งหมดต่ำ (3 – 9 เปอร์เซ็นต์) กลาง (10 – 20 เปอร์เซ็นต์) และสูง (มากกว่า 20 เปอร์เซ็นต์) ให้มีความหลากหลาย และครอบคลุมค่าของตัวอย่างในอนาคต โดยนำตัวอย่างทั้งหมดเทใส่ถุงพลาสติก เขย่า และคลุกเคล้าให้เข้ากันดีเทตัวอย่างทั้งหมดใส่เครื่องแบ่งตัวอย่างปุ๋ยขนาดเล็ก (Riffle) และแบ่งออกเป็น 4 ส่วน ๆ ละ เท่า ๆ กัน นำตัวอย่างปุ๋ยส่วนที่ 1 ไปบดด้วยเครื่องบดตัวอย่างให้มีความละเอียดไม่น้อยกว่า 20 เมช เทตัวอย่างที่บดแล้วใส่ถุงพลาสติกซิบ ไล่อากาศออกให้หมด และปิดถุงให้สนิท เขียนป้ายบ่งชี้ตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดโดยวิธี Kjeldahl method และ NIRS

2.1.2 ปุ๋ยเคมีแบบปั้นเม็ด

จัดหาตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบปั้นเม็ดที่เป็นปุ๋ยเชิงผสมแบบเม็ดเนื้อเดียวกัน ซึ่งหมายถึงปุ๋ยเชิงผสมที่ได้จากการผลิตโดยนำวัตถุดิบแต่ละชนิดมาผสมให้เข้ากัน แล้วปั้นให้เป็นเม็ด (มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2548) เตรียมตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบปั้นเม็ดให้มีความหลากหลาย และครอบคลุมค่าของตัวอย่างในอนาคตที่ระดับความเข้มข้นไนโตรเจนทั้งหมดต่ำ (3 – 9 เปอร์เซ็นต์) กลาง (10 – 20 เปอร์เซ็นต์) และสูง (มากกว่า 20 เปอร์เซ็นต์) เทตัวอย่างทั้งหมดใส่เครื่องแบ่งตัวอย่างปุ๋ยขนาดเล็ก (Riffle) และแบ่งออกเป็น 4 ส่วน ๆ ละ เท่า ๆ กัน นำตัวอย่างปุ๋ยส่วนที่ 1 ไปบดด้วยเครื่องบดตัวอย่างให้มีความละเอียดไม่น้อยกว่า 20 เมช เทตัวอย่างที่บดแล้วใส่ถุงพลาสติกซิบเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดโดยวิธี Kjeldahl method นำตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบปั้นเม็ดส่วนที่ 2 เทใส่ถุงพลาสติกซิบเพื่อวิเคราะห์โดยวิธี NIRS

2.2 การวิเคราะห์ทางเคมีหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดด้วยวิธี Kjeldahl methodซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานของห้องปฏิบัติการวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย (คู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี, 2551)

2.2.1 การเตรียมสารเคมี

- สารละลายกรดไฮโดรคลอริกมาตรฐาน 0.2 นอร์มอล

นำสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก 1 นอร์มอล จำนวน 1000 มิลลิลิตร (1 Ampoule for 1000 ml) ใส่ลงใน Volumetric Flask ขนาด 5000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน

- การหาความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก 0.2 นอร์มอล (Standardization) ชั่งโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3 ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และทิ้งให้เย็นใน Desiccator) ให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 0.4xxx กรัม ใส่ลงใน Erlenmeyer Flask ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 350 มิลลิลิตร และเติม Mixed IndicatorSolution จำนวน 7-10 หยด จะได้สารละลายสีเขียวอ่อน นำไปไตเตรทกับสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่เตรียมไว้จนถึงจุดยุติ จะได้สารละลายสีม่วงแดง นำปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรทมาคำนวณหาความเข้มข้นที่แน่นอนของกรดไฮโดรคลอริก ตามสูตร

$$N(HCl) = \frac{\text{น้ำหนักของ } Na_2CO_3 \times 1{,}000 \times \text{Purity or Certified Value ของ } Na_2CO_3}{52.99 \times \text{ปริมาตร } HCl \text{ (ml)} \times 100}$$

กรัมสมมูลของ Na_2CO_3 = 52.99

1000 = Conversion factor จาก [มิลลิลิตร] เป็น [ลิตร]

100 = Conversion factor จาก [เปอร์เซ็นต์ของ Purity]

- Mixed Indicator Solution

ละลายเมทธิลเรด 0.20 กรัม ในเอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl Alcohol 90%) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ละลายเมทธิลินบลู 0.10 กรัม ในเอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl Alcohol 90%) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำสารละลายทั้งสองส่วนมาเทรวมกัน คนให้เข้ากัน

- สารละลายกรดบอริก 4 %

ชั่งกรดบอริกจำนวน 200 กรัม ใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 4000 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 3000 มิลลิลิตร นำไปต้มให้กรดบอริกละลายจนหมด ถ่ายใส่ลงใน Volumetric Flask ขนาด 5000 มิลลิลิตร เติมสารละลาย MixedIndicator Solution ปริมาณ 5 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 5000 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายกรดบอริกสีม่วงแดง

- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (50 % NaOH)

นำโซเดียมไฮดรอกไซด์ จำนวน 500 กรัม ใส่ลงใน Volumetric Flask ขนาด 1000 มิลลิลิตร ที่มีน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร โดยทำการละลายในตู้ระบายควันตั้งทิ้งไว้จนสารละลายเย็น ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

- Mixed catalyst

ผสม Copper sulfate และ Potassium sulfate ในอัตราส่วน 1 : 9 โดยน้ำหนัก

2.2.2 การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

- ชั่งตัวอย่างปุ๋ยให้ได้น้ำหนักระหว่าง 0.3xxx ถึง 0.4xxx กรัม ใส่ในกระดาษกรอง แล้วห่อกระดาษกรองเพื่อป้องกันปุ๋ยหก

- นำกระดาษกรองที่มีตัวอย่างปุ๋ยใส่ลงใน Kjeldahl Flask ขนาด 800 มิลลิลิตร

- เติม Salicylic acid ประมาณ 2 กรัม และ 95-98 % H_2SO_4 40 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที แล้วเติม Sodium thiosulfate ประมาณ 5 กรัม

- นำไปตั้งบนเตาสำหรับย่อยตัวอย่าง ทำการย่อยตัวอย่าง จนกระทั่งได้สารละลายสีน้ำตาล ปิดไฟและตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

- เติม Mixed catalyst ประมาณ 10 กรัม และทำการย่อยอีกครั้งจนได้สารละลายสีเขียวใส แล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

- เติมน้ำกลั่น 350 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย NaOH 100 มิลลิลิตร และ Zinc granular ประมาณ 5 กรัม

- นำ Kjeldahl Flask ต่อเข้ากับเครื่องกลั่น โดยให้ปลายหลอดแก้วเครื่องกลั่นต่อกับ Kjeldahl Flask และปลายสายยางอีกด้านหนึ่งจุ่มอยู่ใน 4% สารละลายกรดบอริก ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่บรรจุอยู่ใน Erlenmeyer Flask ขนาด 500 มิลลิลิตร ทำการกลั่นโดยใช้ไฟปานกลาง (ถ้าตัวอย่างมีไนโตรเจนสารละลายใน Erlenmeyer Flask จะเปลี่ยนจากสีม่วงแดงเป็นสีเขียว) กลั่นจนกระทั่งไนโตรเจนในสารละลายตัวอย่างปุ๋ยออกหมดหรือจนกระทั่งสารละลายใน Erlenmeyer Flask ที่รองรับมีปริมาตรประมาณ 350 มิลลิลิตร

- นำสารละลายที่ได้ไปไตเตรทกับสารละลายกรดไฮโดรคลอริกมาตรฐาน 0.2 นอร์มอล จนได้สารละลายสีม่วงแดง แสดงว่าถึงจุดยุติ บันทึกปริมาตรสารละลาย กรดไฮโดรคลอริก 0.2 นอร์มอลที่ไตเตรท

- ทำ Reagent Blank โดยไม่ใส่ตัวอย่างปุ๋ยทำการทดสอบเช่นเดียวกับตัวอย่าง

การคำนวณ

$$\% \text{ Nitrogen} = \frac{(\text{ml.HCl} - \text{ml. Blank}) \times \text{N.HCl} \times 14.0067 \times 100}{}$$

Weight of Sample x 1000

เมื่อ ml.HCl = ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริก 0.2 N ที่ใช้ในการไตเตรทตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

ml.Blank = ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริก 0.2 N ที่ใช้ในการไตเตรท Blank (มิลลิลิตร)

N.HCl = ความเข้มข้นที่แน่นอนของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไตเตรท (Normality)

Weight of Sample = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

Atomic Weight ของไนโตรเจน = 14.0067

1000 = Conversion factor จาก [ลิตร] เป็น [มิลลิลิตร]

100 = Conversion factor เป็น [เปอร์เซ็นต์]

2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดด้วยเทคนิค NIRS

2.3.1 ตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบบด

นำตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบบดที่ระดับความเข้มข้นไนโตรเจนทั้งหมดต่ำ กลาง และสูง ไปสแกนด้วยเครื่อง NIR ที่มีหัววัดใยแก้วนำแสง (Fiber Optic Probes) ที่ความยาวคลื่น 800 – 2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น 4000 – 12500 ต่อเซนติเมตร แบบวิธีสะท้อน (Reflectance) ได้สเปกตรัมของตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบบด

2.3.2 ตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบปั้นเม็ด

นำตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบปั้นเม็ดที่ระดับความเข้มข้นไนโตรเจนทั้งหมดต่ำ กลาง และสูง เทใส่ลงใน Petri dish นำไปสแกนด้วยเครื่อง NIR ที่ความยาวคลื่น 800 – 2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น 4000 – 12500 ต่อเซนติเมตร แบบวิธีสะท้อน (Reflectance) ได้สเปกตรัมของตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบปั้นเม็ด

2.3.3 วัสดุอ้างอิงรับรอง(Certified Reference Material ; CRM)

นำวัสดุอ้างอิงรับรองUrea และ Calcium Ammonium Nitrate ที่บดแล้ว นำมาวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 2.3.1

2.4 การสร้างสมการเทียบมาตรฐาน (Calibration) โดยหาความสัมพันธ์ระหว่างการดูดกลืนแสงกับค่าวิเคราะห์ทางเคมีของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด หาประสิทธิภาพของ Calibration ที่สร้างขึ้นโดยการหาแหล่ง error ของการวิเคราะห์ ค่าผิดพลาดจากการวิเคราะห์หาค่าอ้างอิง (Lab error หรือ SEL) ของวิธีวิเคราะห์ ซึ่งค่า SEL จะนำไปใช้ในการหาประสิทธิภาพของ Calibration ที่สร้างขึ้นเพื่อหาสมการที่เหมาะสมมาใช้ในการทำนายผล

2.5 ทดสอบและปรับปรุงสมการทำนายผลด้วยกลุ่มตัวอย่างปุ๋ยที่ไม่ทราบค่า (Blind sample) โดยมีค่าทางเคมีครอบคลุมที่ระดับความเข้มข้นไนโตรเจนทั้งหมดต่ำ กลาง และสูง นำไปวิเคราะห์ค่าทางเคมี และสแกนด้วยเครื่อง NIRS

2.5.1 ตรวจสอบความแม่น (Accuracy) โดยเปรียบเทียบค่าที่ทำนายได้ด้วยวิธี NIRS กับค่าวิเคราะห์ทางเคมีด้วยวิธี Kjeldahl method ประเมินด้วย Paired t-test จากสูตร

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

เมื่อ $\bar{d}$ = ค่าเฉลี่ยของความแตกต่าง

sd = ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของความแตกต่าง

n = จำนวนตัวอย่าง

2.5.2 ตรวจสอบความเที่ยง (Precision) ประเมินด้วย %RSD (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ : Relative Standard Deviation) จากสูตร

$$\%RSD = \frac{sd}{\bar{x}} x\,100$$

เมื่อ sd = ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของความแตกต่าง

$\bar{x}$ = ค่าเฉลี่ยของตัวอย่าง

2.6 ตรวจสอบความใช้ได้ของสมการด้วยวัสดุอ้างอิงรับรอง Urea และ Calcium Ammonium Nitrate (CAN)

2.6.1 ตรวจสอบความแม่นยำ (Accuracy) ด้วย %Recovery โดยเปรียบเทียบค่าที่ทำนายได้ด้วยวิธีNIRS กับค่าจริงของ CRM จากสูตร

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

2.6.2ตรวจสอบความเที่ยง (Precision) ประเมินด้วย %RSD เช่นเดียวกับข้อ 2.5.2

3. เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2555 – กันยายน 2558 ณ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กปผ.

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

ค่าวิเคราะห์ทางเคมีด้วยวิธี Kjeldahl method ของตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบบดและปั้นเม็ด

ตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบบด และปั้นเม็ด ที่ระดับความเข้มข้นไนโตรเจนทั้งหมดต่ำ กลาง และสูง จำนวน 837 และ 597 ตัวอย่าง ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี Kjeldahl method ของกลุ่มตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่ใช้ในการสร้าง Calibration พบว่าตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบบด และปั้นเม็ด มีค่าพิสัยอยู่ในช่วง 2.7 – 46.9 และ 4.0 – 46.9 เปอร์เซ็นต์ ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 18.6 และ 21.4 เปอร์เซ็นต์ ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 10.5 และ 11.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ค่าวิเคราะห์ทางเคมีของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบบด และปั้นเม็ด

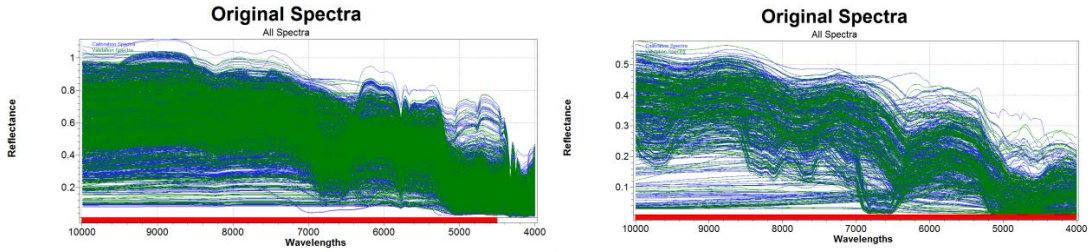
ตัวอย่างปุ๋ยเคมี	จำนวนตัวอย่าง	พิสัย (%)	ค่าเฉลี่ย (%)	SD (%)
แบบบด	837	2.7 – 46.9	18.6	10.5
แบบปั้นเม็ด	597	4.0 – 46.9	21.4	11.9

<u>สมการ Calibration ของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบบด และปั้นเม็ด</u>

จากการสร้าง Calibration ด้วยวิธี Partial Least Square (PLS) regression ของปุ๋ยเคมีแบบบด ปรับแต่งสเปกตรัมด้วยการทำ Frist Derivative และ Normalization by Maximal มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.95 ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายกลุ่มตัวอย่างCalibration (SEC) เท่ากับ 2.36 เปอร์เซ็นต์ และค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายกลุ่มตัวอย่าง Validation (SEP)เท่ากับ 2.39เปอร์เซ็นต์ สำหรับสมการ Calibration ของปุ๋ยเคมีแบบปั้นเม็ด ปรับแต่งสเปกตรัมด้วยการทำ Second Derivative มีค่า r เท่ากับ 0.93 ค่า SEC เท่ากับ 2.56 เปอร์เซ็นต์ และค่า SEPเท่ากับ 2.87 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2 ภาพที่ 1 และภาพที่ 2)

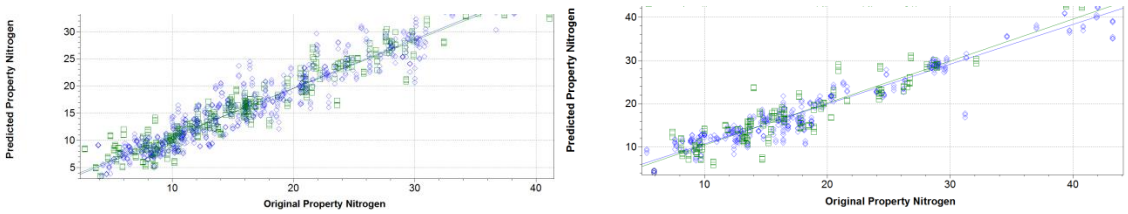
ตารางที่ 2 ค่าทางสถิติในการสร้าง Calibration ของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบบด และปั้นเม็ด

ตัวอย่างปุ๋ยเคมี	r	SEC (%)	SEP (%)	Bias (%)
แบบบด	0.95	2.36	2.39	0.05
แบบปั้นเม็ด	0.93	2.56	2.87	0.24



ตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบบด ตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบปั้นเม็ด

ภาพที่ 1 Original Spectra ของตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบบด และปั้นเม็ด



ตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบบด ตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบปั้นเม็ด

ภาพที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้จากวิธีทางเคมีกับวิธีทาง NIRS

ผลการทดสอบสมการ Calibration โดยการทำนายค่าทางเคมีของตัวอย่างปุ๋ยที่ไม่ทราบค่า (Blind sample)

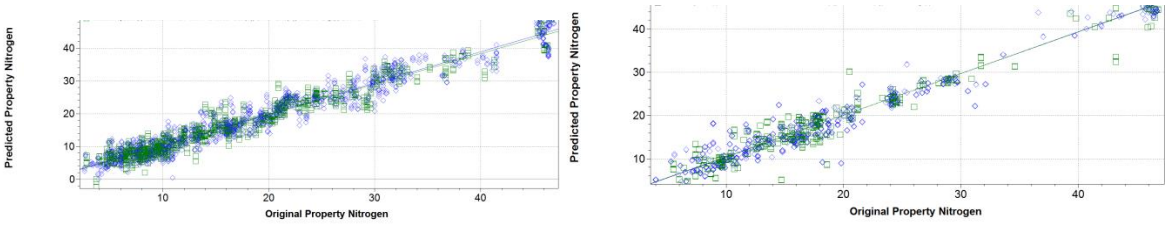
เมื่อนำตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบบดที่ไม่ทราบค่าที่ระดับความเข้มข้นไนโตรเจนทั้งหมดต่ำ กลาง และสูง มาทดสอบสมการ Calibration ประเมินความแม่นโดยเปรียบเทียบค่าที่ทำนายได้กับค่าวิเคราะห์ทางเคมีด้วย Paired t-test พบว่าที่ระดับความเข้มข้นต่ำ ค่า $t_{ext}>t_{crit}$ แสดงว่าผลการทดสอบมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเข้มข้นกลาง และสูง ค่า $_{text}<t_{crit}$ แสดงว่าผลการทดสอบไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เกณฑ์การยอมรับค่า $t_{ext}<t_{crit}$ สำหรับการทำนายค่าของตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบปั้นเม็ดที่ระดับความเข้มข้นไนโตรเจนทั้งหมดต่ำ กลาง และสูง ประเมินความแม่นด้วย Paired t-test พบว่าที่ระดับความเข้มข้นต่ำ และสูง ค่า $t_{ext}>t_{crit}$ แสดงว่าผลการทดสอบมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเข้มข้นกลาง ค่า $t_{ext}<t_{crit}$ แสดงว่าผลการทดสอบไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเข้มข้นไนโตรเจนทั้งหมดต่ำ และสูง ค่าที่ได้ไม่ผ่านเกณฑ์ เนื่องจากตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่นำมาสร้างสมการยังไม่ครอบคลุมการใช้งาน และปริมาณตัวอย่างอาจไม่เพียงพอต่อการสร้าง Calibration ดังนั้นได้มีการเตรียมตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบบด และปั้นเม็ดที่ระดับความเข้มข้นต่ำ และสูง จำนวน 100 ตัวอย่าง เพื่อนำมาปรับปรุงสมการ

การปรับปรุงสมการ Calibration

จากการปรับปรุงสมการพบว่าสมการCalibration ของปุ๋ยเคมีแบบบด ปรับแต่งสเปกตรัมด้วยการทำ Frist Derivative และ Standard Normal Variateมีค่า r เท่ากับ 0.91 ค่า SEC เท่ากับ 4.28 เปอร์เซ็นต์ และค่า SEP เท่ากับ 4.52 เปอร์เซ็นต์ สำหรับสมการ Calibration ของปุ๋ยเคมีแบบปั้นเม็ด ปรับแต่งสเปกตรัมด้วยการทำ Standard Normal Variate มีค่า r เท่ากับ 0.97 ค่า SEC เท่ากับ 2.22เปอร์เซ็นต์ และค่า SEP เท่ากับ 2.51เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3 และภาพที่ 3)

ตารางที่ 3 ค่าทางสถิติในปรับปรุงสมการ Calibration ของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบบดและปั้นเม็ด

ตัวอย่างปุ๋ยเคมี	r	SEC (%)	SEP (%)	Bias (%)
แบบบด	0.91	4.28	4.52	0.08
แบบปั้นเม็ด	0.97	2.22	2.51	-0.05



ตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบบด ตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบปั้นเม็ด

ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้จากวิธีทางเคมีกับวิธีทาง NIRS ที่ได้ทำการปรับปรุงสมการ Calibration

ทดสอบสมการ Calibration ที่ปรับปรุง โดยการทำนายค่าทางเคมีของตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบบดที่ไม่ทราบค่านำมาประเมินความแม่นด้วย Paired t-test พบว่าที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง ค่า $t_{ext}<t_{crit}$ แสดงว่าผลการทดสอบไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ประเมินความเที่ยงด้วย %RSD พบว่าที่ระดับความเข้มข้นต่ำ มีค่าเฉลี่ย %RSD เท่ากับ 4.3 เกณฑ์การยอมรับ %RSD≤ 1.9 แสดงว่าไม่ผ่านเกณฑ์ยอมรับ ที่ระดับความเข้มข้นกลาง และสูง มีค่าเฉลี่ย %RSD เท่ากับ 2.9 และ 3.0 ตามลำดับ เกณฑ์การยอมรับ %RSD≤ 1.3 (AOAC, 2012) แสดงว่าไม่ผ่านเกณฑ์ยอมรับ (ตารางที่ 4 และ 5) สำหรับการทำนายค่าทางเคมีของตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบปั้นเม็ด ประเมินความแม่นด้วย Paired t-test พบว่าที่ระดับความเข้มข้นต่ำ และสูง ค่า $t_{ext}>t_{crit}$แสดงว่าผลการทดสอบมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเข้มข้นกลาง ค่า $t_{ext}<t_{crit}$ แสดงว่าผลการทดสอบไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 4) จากข้อมูลแสดงว่าวิธีทำนายปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมีแบบปั้นเม็ด โดยที่ไม่ผ่านการเตรียมตัวอย่างยังไม่เหมาะสมที่จะนำวิธี NIRS มาใช้ในการทำนายค่า เพราะผลการวิเคราะห์ตัวอย่างปุ๋ยด้วย NIRS มีความแตกต่างจากค่าวิเคราะห์ทางเคมี จึงไม่ทำการตรวจสอบความใช้ได้ของสมการทำนายปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมีแบบปั้นเม็ด

ตารางที่ 4 ค่าทางสถิติของการประเมิน Accuracy ของตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบบด และปั้นเม็ดที่ไม่ทราบค่า

ระดับความเข้มข้น	Paired t-test			
	$t_{ext.}$ ก่อนปรับปรุงสมการ	$t_{ext.}$ หลังปรับปรุงสมการ	$t_{crit.}$	Result
- ปุ๋ยเคมีแบบบด				
ต่ำ (3 – 9 %)	3.18	1.95	2.00	ไม่แตกต่าง (non significant)
กลาง (10 – 20 %)	1.07	0.93	2.00	ไม่แตกต่าง (non significant)
สูง (มากกว่า 20 %)	0.52	1.90	2.00	ไม่แตกต่าง (non significant)
- ปุ๋ยเคมีแบบปั้นเม็ด				
ต่ำ (3 – 9 %)	4.97	2.82	2.00	แตกต่าง (significant)
กลาง (10 – 20 %)	0.22	0.32	2.00	ไม่แตกต่าง (non significant)

สูง (มากกว่า 20 %)	3.87	7.54	2.00	แตกต่าง (significant)

ตารางที่ 5ค่าทางสถิติของการประเมิน Precision ของตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบบดที่ไม่ทราบค่า

ระดับความเข้มข้น	Mean of %RSD	เกณฑ์ %RSD	Result
ต่ำ (3 – 9 %)	4.3	1.9	ไม่ผ่าน
กลาง (10 – 20 %)	2.9	1.3	ไม่ผ่าน
สูง (มากกว่า 20 %)	3.0	1.3	ไม่ผ่าน

ตรวจสอบความใช้ได้ของสมการทำนายปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมีแบบบดด้วย CRM

จากการนำ CRM มาสแกนด้วยเครื่อง NIR ประเมินความแม่นด้วย %Recovery พบว่าที่ความเข้มข้นกลาง (26.02 %) และสูง (46.54 %) มีค่า %Recovery เท่ากับ 101.17 และ 93.54 ตามลำดับ เกณฑ์การยอมรับ % Recovery อยู่ในช่วง 98 -102% (AOAC, 2012) แสดงว่าที่ความเข้มข้นกลางผ่านเกณฑ์ยอมรับ ประเมินความเที่ยงด้วย %RSD พบว่าที่ระดับความเข้มข้นกลาง และสูง มีค่าเฉลี่ย %RSD เท่ากับ 1.26 และ 0.98 ตามลำดับ เกณฑ์การยอมรับ %RSD≤1.3 แสดงว่าผ่านเกณฑ์ยอมรับ (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ประเมิน Accuracy และ Precision ของสมการที่ใช้ในการทำนายปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมีแบบบด ด้วย CRM

ระดับความเข้มข้น	ประเมินความแม่นยำ			ประเมินความเที่ยง		
	%Recovery	เกณฑ์ %Recovery	Result	Mean of %RSD	เกณฑ์ %RSD	Result
กลาง (26.02%)	101.17	98 – 102	ผ่าน	1.26	1.3	ผ่าน
สูง (46.54%)	93.54	98 – 102	ไม่ผ่าน	0.98	1.3	ผ่าน

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมีโดยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy ; NIRS) วิธีการวัดแบบ Reflectance โดยตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 800 – 2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น 4000 – 12500 ต่อเซนติเมตร คำนวณด้วยวิธี PLS regression พบว่าสมการที่ใช้ในการทำนายปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมีแบบบด สามารถนำมาใช้ประเมินค่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ระดับความเข้มข้นกลาง (10 – 20 %) ได้อย่างมีความแม่นยำ และรวดเร็ว ส่วนที่ระดับความเข้มข้นต่ำ และสูง ยังไม่ให้ผลที่ดีในการทำนายค่า ต้องมีการปรับปรุงและพัฒนาสมการที่ใช้ในการทำนาย โดยการเพิ่มจำนวนกลุ่มตัวอย่างให้มีความหลากหลาย ค่าทางเคมีในตัวอย่างควรมีค่าที่กระจายอย่างสม่ำเสมอตลอดช่วงของค่าทั้งหมด หรือมีความแปรปรวนครอบคลุมค่าของตัวอย่างในอนาคต หรือสร้างสมการ Calibration ของแต่ละความเข้มข้น เพื่อลดค่า SEC SEP และ SD จะทำให้ได้สมการ Calibration ที่เหมาะสม มีความถูกต้อง และแม่นยำ ในการใช้งานต่อไป

สำหรับสมการที่ใช้ในการทำนายปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยเคมีแบบปั้นเม็ด โดยที่ไม่ผ่านการเตรียมตัวอย่างด้วยการบดยังไม่เหมาะสมที่จะนำวิธี NIRS มาใช้ เพราะผลการวิเคราะห์ตัวอย่างปุ๋ยแบบปั้นเม็ดมีความแตกต่างจากค่าวิเคราะห์ทางเคมี อาจเนื่องมาจากตัวอย่างมีความเป็นเนื้อเดียวกันน้อย แสงที่ผ่านตัวอย่างเกิดการสะท้อนที่แตกต่างกัน ทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนในสเปกตรัมที่ได้

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ได้วิธีวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในตัวอย่างปุ๋ยเคมีแบบบด ที่ระดับความเข้มข้นไนโตรเจนทั้งหมดกลาง เพื่อเป็นทางเลือกในการวิเคราะห์ ซึ่งประหยัด และรวดเร็ว โดยไม่ทำลายตัวอย่างปุ๋ย ลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายและปลอดภัยกับผู้วิเคราะห์

2. สามารถพัฒนาผลงานวิจัยในการตรวจวิเคราะห์พารามิเตอร์อื่นๆ ของปุ๋ย

11. เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2551. คู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี. กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้และการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม.2555. สถาบันวิจัยและค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ยงยุทธ โอสถสภา. 2558. ธาตุอาหารพืช. ครั้งที่ 4. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2548. ปุ๋ย. มอก. 75 เล่ม 122-2548

Ootake Y., K. Takeda, K. Suzuki, T. Okazaki, K. Maezuka, T. Okura, S. Park and K. Sashida.1980.Development of Near-Infrared-Measurement-System for Soil and Compost Based on SIMCA Classification and X-Leverage Method.In 3rd Asian Near-Infrared Symposium, Kasetsart University and Asian Near-Infrared Consortium.May 14-18, 2012.Bangkok; Amari Watergate Hotel, Thailand.

Riley, R. and C. Loreto. 2002. FT-NIR Spectroscopic Analysis of Nitrogen in Cotton Leaves. Applied Spectroscopy. 56: 1484-1489

Wang, C., C. Huang, J. Qian, J. Xiao, H. Li, Y. Wen, X. He, W. Ran, Q. Shen and G. Yu. 2014. Rapid and Accurate Evaluation of the Quality of Commercial Organic Fertilizers Using Near Infrared Spectroscopy. Evaluation of Commercial Organic Fertilizers. 9(2): 1-7.