

## บทที่ 3

### อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การทดลองดำเนินการ ณ ภาควิชาจุลชีววิทยาและอนุรักษศาสตร์ และ สถานีวิจัยและศูนย์ฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ โดยมีขั้นตอนการทดลองดังต่อไปนี้

#### 3.1 การรวบรวมและคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์

##### 3.1.1 การเก็บตัวอย่างดิน

เก็บตัวอย่างดินจากพื้นที่ที่มีการสำรวจว่าเป็นแหล่งแพร่เฟลด์สปาร์จากข้อมูลแหล่งแร่ของกรมทรัพยากรธรณี โดยเลือกเก็บตัวอย่างดิน 3 พื้นที่ในจังหวัดเชียงใหม่บริเวณ ห้วยโป่งมะโฮง อ. แม่แจ่ม, ห้วยจุมป่า อ. ฮอด และ อ่างเก็บน้ำคันลาน อ.จอมทอง และอีกหนึ่งพื้นที่เป็นบริเวณที่ทำการเกษตรบริษัทจุลไหมไทย จ. เพชรบูรณ์ วิธีการเก็บตัวอย่างดินจะแบ่งพื้นที่ออกเป็นแปลงย่อยให้มีขนาดประมาณ 1 ไร่ เก็บ 2-3 จุดต่อพื้นที่ 1 ไร่ ความลึกของหลุมประมาณ 15 เซนติเมตร เก็บใส่ถุงพลาสติก แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง หากยังไม่นำมาแยกหาชนิดและปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในทันที แต่ไม่ควรเก็บไว้นานเกินไป จำนวนจุดตัวอย่างดินที่เก็บในแต่ละพื้นที่แตกต่างกันดังนี้ ห้วยโป่งมะโฮง อ. แม่แจ่ม มี 5 จุด ห้วยจุมป่า อ. ฮอด จำนวน 5 จุด อ่างเก็บน้ำคันลาน จำนวน 8 จุด และพื้นที่ทำการเกษตร บ.จุลไหมไทย จ. เพชรบูรณ์ จำนวน 8 จุด

##### 3.1.2 การหาชนิดและปริมาณเชื้อจุลินทรีย์

การแยกหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ ด้วยวิธี dilution plating technique ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ปรับปรุงขึ้นมาใหม่จาก silicate bacteria medium (Hebei Academy of Science, 1996) ที่ประกอบด้วย yeast extract 0.5 กรัม,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.5 กรัม, sucrose 5 กรัม,  $CaCO_3$  0.1 กรัม,  $Na_2HPO_4$  2 กรัม,  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  0.005 กรัม  $KH_2PO_4$  2 กรัม, Agar 15 กรัม ปรับ pH เป็น  $7.0 \pm 0.2$  และผสมสี Bromthymol blue 5 มิลลิเมตร (ใช้ Bromthymol blue 0.5 กรัม ละลายใน ethanol 50 มิลลิเมตร) เพื่อใช้เป็นดัชนีในการวัดความสามารถในการผลิตกรดของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งเมื่อผสมสี Bromthymol blue ลงในอาหารจะทำให้อาหารมีสีเขียวและจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเมื่อมีสภาพเป็นกรด ฉะนั้นหากจุลินทรีย์ชนิดใดสามารถทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลืองแสดงว่าจุลินทรีย์ชนิดนั้นสามารถผลิตกรดได้ เมื่อปรับ pH เรียบร้อยแล้วใส่ถุงลงไปในตู้เย็นแล้วปิด

ถูกนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาที เทอาหารลงในจานเพาะเชื้อประมาณ 15 มิลลิลิตร ต่อ 1 จาน ทิ้งไว้จนแข็งตัวจึงปิดฝาแล้ว คลัวจานเพาะเชื้อ

การทำ dilution โดยชั่งตัวอย่างดิน 10 กรัม ใส่ในขวดน้ำที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 95 มิลลิลิตร เขย่านาน 15 นาที ใช้ปิเปตที่ฆ่าเชื้อแล้วดูดสารละลายมา 1 มิลลิลิตรใส่ในหลอดน้ำ 9 มิลลิลิตร ที่ นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว เป็น dilution ที่ 2 ( $10^{-2}$ ) ทำเช่นเดียวกันจนถึง  $10^{-6}$  ดูดสารละลายจาก dilution ที่  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  และ  $10^{-4}$  มา dilution ละ 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหาร กลี๋ยให้ทั่วด้วยแท่งแก้วรูปตัว แอล รอให้ผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อแห้งจึงคว่ำจานเพาะเชื้อ ปิดพาราฟิลที่ขอบจานเพาะเชื้อให้ เรียบร้อย บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อ ทุกวัน เมื่อไม่มีการเพิ่มปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์แล้ว นับเชื้อและคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถ ทำให้อาหารเปลี่ยนสีจากสีเขียวเป็นสีเหลือง โดยใช้ loop และที่โคโลนิ้นั้นนำมา steak ลงบน อาหารเลี้ยงเชื้อ silicate bacteria medium ที่ไม่ผสมสี Bromthymol blue เพื่อคัดเลือกเชื้อบริสุทธิ์ พร้อมทั้งบันทึกลักษณะ และเก็บตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์ไว้ใน slant agar medium เพื่อใช้ในการ ทดลองขั้นตอนต่อไป นำตัวอย่างดินที่สุ่มเก็บไปวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีซึ่งวิธีการกล่าวไว้ใน ขั้นตอนที่ 3 ในการทดสอบผลการใช้แร่เฟลด์สปาร์และเชื้อจุลินทรีย์ต่อการเจริญเติบโตของอ้อย

### 3.2 ทดสอบประสิทธิภาพในการย่อยสลายโพแทสเซียมจากแร่เฟลด์สปาร์ของเชื้อจุลินทรีย์

นำตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์ที่รวบรวมได้จากขั้นตอนที่ 1 และเชื้อที่ได้มาจาก Institute of Microbiology, Hebei Academy of Science เลี้ยงในอาหาร liquid silicate bacteria medium ใน flask 500 มิลลิลิตร สังเกตการเจริญจากความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 2 วัน จากนั้นนำมานับหาปริมาณด้วย Hemacytometer slide ที่มีความลึก 1/10 มิลลิเมตร คำนวณหา ปริมาณเชื้อแต่ละตัวอย่างเชื้อโดยใช้สูตรการคำนวณข้างล่าง ได้ปริมาณเชื้อที่ใส่เริ่มต้นเท่ากับ  $10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ใส่ตัวอย่างเชื้อแต่ละตัวอย่างโดยใช้ autopipette ไปเปดลงในอาหารที่เตรียมใน flask 50 มิลลิลิตร ที่ใส่แร่เฟลด์สปาร์ลงไปแทน  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  เขย่าที่ 1250 รอบ/นาที ตรวจสอบความ สามารถในการย่อยสลายโพแทสเซียมจากแร่เฟลด์สปาร์ของเชื้อจุลินทรีย์ 10 ระยะ ดังนี้ ทุก 6, 12, 18, 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 ชั่วโมง โดยเก็บ flask ตัวอย่างออกมาเพื่อหาจำนวนประชากร โดยใช้วิธี dilution technique ด้วยเทคนิค drop plat ดูดสารละลายจาก dilution ปริมาตร 0.02 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นนำส่วนที่เหลือไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 นำ สารละลายที่กรองได้ไปวัด pH ด้วย pH meter และหาปริมาณโพแทสเซียมโดยใช้ flame photometer ที่ความยาวคลื่น 766.5 นาโนเมตร

การคำนวณปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่นับด้วย hemacytometer slide ดังนี้

$$\text{ปริมาณเซลล์} = \text{จำนวนเซลล์เฉลี่ยที่นับได้ต่อตาราง} \times \text{dilution factor}$$

$$\text{เมื่อ dilution factor} = \frac{1}{\text{volume}}$$

$$\begin{aligned} \text{volume} &= \frac{1}{0.005 \times 0.005 \times 0.01} \\ &= \frac{1}{2.5 \times 10^{-7}} \\ &= 4 \times 10^6 \end{aligned}$$

ดังนั้น ปริมาณเซลล์ = จำนวนเซลล์เฉลี่ยที่นับได้ต่อตาราง  $\times (4 \times 10^6)$

การคำนวณปริมาณเชื้อที่จะใส่ลงใน flask 50 มิลลิลิตรที่ใส่แร่เฟลด์สปาร์ลงไปแทน  $\text{KH}_2\text{PO}_4$

ตัวอย่าง ปริมาณเซลล์ที่นับได้ในตัวอย่างเชื้อที่ 1 เท่ากับ  $4.1 \times 10^6$

ปริมาณเซลล์ที่นับได้ในตัวอย่างเชื้อที่ 2 เท่ากับ  $2.2 \times 10^6$

ใช้สูตร

$$N_1V_1 = N_2V_2$$

$$1.2 \times 10^6 \times V_1(\text{ml}) = 4.1 \times 10^6 \times 1(\text{ml})$$

$$V_1(\text{ml}) = \frac{4.1 \times 10^6 \times 1(\text{ml})}{2.2 \times 10^6}$$

$$V_1(\text{ml}) = 1.86(\text{ml})$$

ดังนั้นปริมาณเชื้อตัวอย่างที่ 2 ที่ใส่ลงใน flask 50 มิลลิลิตรที่ใส่แร่เฟลด์สปาร์ลงไปแทน  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  เท่ากับ 1.86 มิลลิลิตร

### 3.3 ทดสอบผลการใช้แร่เฟลด์สปาร์และเชื้อจุลินทรีย์ต่อการเจริญเติบโตของอ้อย

ทำการทดลอง ณ สถานที่ทดลองและศูนย์ฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ จ. เชียงใหม่ ในโรงเรือนพลาสติก วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) มี 4 ซ้ำ พันธุ์อ้อยที่ใช้ทดลองคือ K84-69 เตรียมเพาะกล้าอ้อยจากท่อนพันธุ์ โดยตัดเฉพาะส่วนของข้อที่มีตาติดอยู่ ขนาดประมาณ 2 นิ้ว ฝังลงในตะกร้าทรายที่ล้างน้ำแล้วรองก้นตะกร้าด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์

เมื่ออายุ 48 วัน ย้ายปลูกลงในถุงดำขนาด 12 x12 นิ้ว บรรจุดินประมาณ 20 กิโลกรัม ใช้กล้าอ้อย 1 ต้น ต่อ 1 ถุง มีดำรับการทดลองดังนี้

ดำรับที่ 1 ใส่ปุ๋ยในโตรเจน+ฟอสฟอรัส+โพแทสเซียม

ดำรับที่ 2 ใส่ปุ๋ยในโตรเจน+ฟอสฟอรัส

ดำรับที่ 3 ใส่ปุ๋ยในโตรเจน+ฟอสฟอรัส+จุลินทรีย์ชนิดที่ 1 (เชื้อ *B. circulans* ของจีน)

ดำรับที่ 4 ใส่ปุ๋ยในโตรเจน+ฟอสฟอรัส+จุลินทรีย์ชนิดที่ 2 (เชื้อที่ 14)

ดำรับที่ 5 ใส่ปุ๋ยในโตรเจน+ฟอสฟอรัส+จุลินทรีย์ชนิดที่ 3 (เชื้อที่ 16)

ดำรับที่ 6 ใส่ปุ๋ยในโตรเจน+ฟอสฟอรัส+ จุลินทรีย์ชนิดที่ 1,2 และ 3

ดำรับที่ 7 ใส่ปุ๋ยในโตรเจน+ฟอสฟอรัส+แร่เฟลด์สปาร์

ดำรับที่ 8 ใส่ปุ๋ยในโตรเจน+ฟอสฟอรัส+แร่เฟลด์สปาร์+จุลินทรีย์ชนิดที่ 1

ดำรับที่ 9 ใส่ปุ๋ยในโตรเจน+ฟอสฟอรัส+แร่เฟลด์สปาร์+จุลินทรีย์ชนิดที่ 2

ดำรับที่ 10 ใส่ปุ๋ยในโตรเจน+ฟอสฟอรัส+แร่เฟลด์สปาร์+จุลินทรีย์ชนิดที่ 3

ดำรับที่ 11 ใส่ปุ๋ยในโตรเจน+ฟอสฟอรัส+แร่เฟลด์สปาร์+จุลินทรีย์ชนิดที่ 1,2 และ 3

ดำรับที่ 12 control

เชื้อจุลินทรีย์ที่ใส่เป็นเชื้อที่คัดเลือกได้ในขั้นตอนที่ 2 จำนวน 2 ตัวอย่างเชื้อ เป็นเชื้อที่มีความสามารถในการปลดปล่อยโพแทสเซียมออกมาได้มากที่สุดอันดับที่ 1 และ 2 (เป็นตัวอย่างเชื้อที่ 14 และ 16) และที่ได้จาก Institute of Microbiology, Hebei Academy of Science อีก 1 ตัวอย่าง ใส่เชื้อเริ่มต้น  $1 \times 10^6$  เซลล์ต่อดิน 1 กรัม ปุ๋ยที่ใช้ใส่ตามอัตราแนะนำ คือ ปุ๋ยในโตรเจนใช้ปุ๋ยยูเรีย 0.8 กรัม/ถุง ต่อถุง จากอัตราแนะนำ 12 กิโลกรัมต่อไร่ โดยแบ่งใส่ 2 ครั้งๆละ 0.4 กรัม ครั้งแรกใส่พร้อมปลูกเป็นปุ๋ยแต่งหน้า ครั้งที่สองใส่หลังจากใส่ครั้งแรกแล้วนาน 1 เดือน ปุ๋ยฟอสฟอรัส ใช้ปุ๋ยทรีปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต 0.8 กรัม  $P_2O_5$  ต่อถุง จากอัตราแนะนำ 12 กิโลกรัมต่อไร่ ใส่พร้อมปลูกครั้งแรกครั้งเดียว ปุ๋ยโพแทสเซียม ใช้ปุ๋ยโพแทสเซียมซัลเฟต 2 กรัม  $K_2O$  ต่อถุง จากอัตราแนะนำ 30 กิโลกรัมต่อไร่ ใส่พร้อมกับปลูกในครั้งแรกครั้งเดียวเช่นเดียวกันกับปุ๋ยฟอสฟอรัส แร่เฟลด์สปาร์ใส่ 67 กรัมต่อถุง คำนวณจากเปอร์เซ็นต์  $K_2O$  ในแร่เฟลด์สปาร์ 4.81 ต้องการให้โพแทสเซียมละลายออกมา 3 % ซึ่งเป็นเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการย่อยสลายโพแทสเซียมจากแร่เฟลด์สปาร์ของเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้ในขั้นตอนที่ 2 เริ่มเก็บข้อมูลเมื่ออายุ 3 เดือน และจากนั้นทำการเก็บทุกเดือน ไปจนครบ 6 เดือน

### การเก็บข้อมูล

เริ่มเก็บข้อมูลเมื่อปลูกอ้อยลงถ่วงแล้ว 3 เดือน เก็บข้อมูลทุกเดือนจนครบ 6 เดือน โดยเก็บข้อมูลทางด้านการเจริญเติบโต คุณภาพความหวาน ธาตุอาหารไนโตรเจน และสมบัติทางเคมีของดินปลูก ดังนี้

### การเจริญเติบโต

1. ความสูงของต้น (เซนติเมตร) วัดจากโคนลำต้นจนถึงกอใบ
2. เส้นผ่านศูนย์กลางของต้น (เซนติเมตร) วัดจากบริเวณกลางลำของลำหลัก
3. น้ำหนักสด (กรัม) ชั่งน้ำหนักหลังจากตัด
4. น้ำหนักแห้ง (กรัม) นำตัวอย่างอบที่อุณหภูมิ 68 องศาเซลเซียส จนกว่าจะแห้ง โดยพอน้ำอ้อยให้แห้งสนิทเพื่อให้การอบแห้งเร็วขึ้น

### คุณภาพความหวาน

คั้นน้ำอ้อยแล้วหาความหวานด้วย hand refractometer หน่วยวัดที่ได้เป็นองศาบริกซ์ ปริมาณธาตุอาหารในพืช (คัดแปลงจาก ศรีสม, 2544 และ Walinga *et al.*, 1989)

นำตัวอย่างทั้งต้นและใบอบที่อุณหภูมิ 68 องศาเซลเซียส จนแห้งแล้วนำไปบดให้ละเอียด นำตัวอย่างที่บดได้ไปหาปริมาณธาตุอาหารคือ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม มีวิธีการดังนี้

### การย่อยตัวอย่างพืช

ชั่งตัวอย่างพืชที่บดแล้ว 0.5000 กรัม ใส่ในหลอดย่อย เติมกรดย่อย 7 มิลลิลิตร โดยกรดย่อยเตรียมได้จาก ละลาย  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  100 กรัม กับผง selenium 1 กรัม ในกรดซัลฟิวริก ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) ปริมาตรด้วยกรดซัลฟิวริกให้ครบ 1 ลิตร เฝ้าน้ำที่อุณหภูมิ 400 องศาเซลเซียส จนได้สารละลายสีใส จึงปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

### การหาไนโตรเจน

#### สารเคมี

1. บอริกแอซิดอินดิเคเตอร์ (Boric acid indicator)
  - 1.1 อินดิเคเตอร์ผสม (Mixed indicator) ละลายบรอมครีซอลกรีน (Bromgresal green) 0.5 กรัม และเมทิลเรด (methyl red) 0.1 กรัม ใน เอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol) ความเข้มข้น 95% ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
  - 1.2 กรดบอริก ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ) ละลายกรดบอริก 40 กรัม ในน้ำร้อน 700 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น
  - 1.3 เดมอินดิเคเตอร์ผสม (ข้อ 1.1) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในข้อ 1.2

- 1.4 ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จนมีปริมาตร 1 ลิตร
2. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 40% ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 400 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร (ทำในตู้ดูดควัน)
  3. สารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น ( $H_2SO_4$  conc.) 0.05 นอร์มัล ละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 1 นอร์มัล ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร หาคความเข้มข้นที่แน่นอนโดยมีขั้นตอนต่อไปนี้
    - 3.1 ชั่ง  $Na_2CO_3$  0.0500 กรัม (ชั่งอบ 105 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง)
    - 3.2 ใส่น้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร เขย่าให้ละลาย
    - 3.3 หยด methyl red 2-3 หยด
    - 3.4 ไตเตรตกับ  $H_2SO_4$  ที่เตรียมจนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเป็นสีส้มแก่
    - 3.5 คัมบน hot plate ประมาณ 2 นาที จนสารละลายเปลี่ยนสีเดิม (สีเหลือง)
    - 3.6 ไตเตรตต่อจนเปลี่ยนเป็นสีชมพู
    - 3.7 คำนวณหาความเข้มข้นที่แน่นอนดังนี้
$$H_2SO_4 \text{ นอร์มัล} = \frac{\text{น้ำหนักของ } Na_2CO_3 \times 1000 \times 2}{105.99 \times \text{ปริมาตรของ } H_2SO_4}$$

$$= \frac{18.8697 \times \text{น้ำหนักของ } Na_2CO_3}{\text{ปริมาตรของ } H_2SO_4}$$

#### วิธีการ

กลั่นด้วยเครื่องกลั่นไนโตรเจน

1. ดูดตัวอย่าง 25 มิลลิลิตร ใส่น้ำกลั่น
2. ตวง กรดบอริก ( $H_3BO_3$ ) มา 15 มิลลิลิตร ใส่น้ำใน erlenmeyer flask 125 มิลลิลิตร เพื่อรับสารที่กลั่น
3. กลั่นจนสารละลายใน erlenmeyer flask 125 มิลลิลิตร มีปริมาตร 75 มิลลิลิตร
4. ไตเตรตสารละลายที่ได้ด้วย  $H_2SO_4$  0.05 นอร์มัล ให้ได้สารละลายสีเดียวกันกับกรดบอริก ( $H_3BO_3$ )
5. คำนวณหาปริมาณไนโตรเจน

## การคำนวณหา % N

จาก  $H_2SO_4$  เข้มข้น 0.05xx นอร์มัล

สารละลาย 1000 มิลลิลิตร มี ไนโตรเจน	0.05xx	นอร์มัล	
ปริมาตรของ $H_2SO_4$ ลบกับปริมาตรของ blank มีไนโตรเจน	$(ml-blank) \times 0.05xx \times 14$		gN
	1000		
ตัวอย่างที่ใช้ 50 มิลลิลิตร มีไนโตรเจน	$(ml-blank) \times 0.05xx \times 14$		gN
	1000		
สารละลายที่ปรับ 100 มิลลิลิตร มีไนโตรเจน	$(ml-blank) \times 0.05xx \times 14 \times 100$		gN
	1000 $\times$ 50		
ตัวอย่างพืช 0.5 กรัม มีไนโตรเจน	$(ml-blank) \times 0.05xx \times 14 \times 100$		gN
	1000 $\times$ 5 $\times$ 0		
ตัวอย่างพืช 100 กรัม มีไนโตรเจน	$(ml-blank) \times 0.05xx \times 14 \times 100 \times 100$		gN
	1000 $\times$ 50 $\times$ 0.5		

## การหาฟอสฟอรัส

## สารเคมี

1. กรดซ้อย ใช้กรดเดียวกันกับกรดซ้อยไนโตรเจน
2. สาร develop สี vanadate reagent (mixed reagent)
  - 2.1 ละลาย ammonium vanadar 1.25 กรัม ในน้ำกลั่นอุ่น 200 มิลลิลิตร เติม  $HNO_3$  ลงไป 153.42 มิลลิลิตร
  - 2.2 ละลาย ammonium molydate tetrahydrate 25 กรัม ในน้ำกลั่น
  - 2.3 ละลาย สารละลาย 2.1 และ 2.2 เข้าด้วยกัน ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร เก็บในตู้เย็นในขวดสีชา หากยังไม่ใช้ในทันที
3. เตรียม standard phosphorus 100 mgkg<sup>-1</sup>
  - 3.1 ชั่ง  $KH_2PO_4$  0.4390 กรัม
  - 3.2 เติม  $HNO_3$  conc. 5 มิลลิลิตร
  - 3.3 ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น

## วิธีการ

1. ทำ standard set โดยให้ความเข้มข้น 0, 4, 8, 12, 16, 20 mgkg<sup>-1</sup>P โดยใช้ volumetric pipette ดูด standard P 100 mgkg<sup>-1</sup> มา 0, 1, 2, 3, 4, 5 มิลลิลิตร เติม mixed reagent 5 มิลลิลิตร และ

กรดย่อยที่เจือจาง 7 ต่อ 100 มิลลิลิตร มา 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เป็น 25 มิลลิลิตร

2. คุศตัวอย่าง 5 มิลลิลิตรที่ย่อยและปรับปริมาตรเรียบร้อยแล้ว เติม mixed reagent 5 มิลลิลิตร
3. เติมน้ำกลั่นแล้วตั้งทิ้งไว้ให้เห็นสี ถ้าไม่เห็นสีให้เติมสารละลายตัวอย่างเพิ่มอีก
4. นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ช่วงความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร

#### วิธีการคำนวณ

นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เข้าสมการ Linear Regression จะได้ปริมาณฟอสฟอรัสในหน่วย  $\text{mgkg}^{-1}$  ให้คำนวณดังนี้

ถ้าปริมาณฟอสฟอรัสในสมการ Linear Regression ได้เท่ากับ 0.955 กรัม คุศสารละลายตัวอย่างมา 2 มิลลิลิตร (จากตัวอย่างที่ย่อยได้ปรับปริมาตรเป็น 7:100) ปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

สารละลาย  $10^6$  มิลลิลิตร มี ฟอสฟอรัส 0.955 กรัม

ถ้าสารละลาย 1 มิลลิลิตร มี ฟอสฟอรัส  $\frac{0.955 \times 1}{10^6}$  กรัม

สารละลาย 25 มิลลิลิตร มีฟอสฟอรัส  $\frac{0.955 \times 1}{10^6}$  กรัม ด้วย

คุศสารละลายที่ย่อยได้ 2 มิลลิลิตร มีฟอสฟอรัส  $\frac{0.955 \times 1 \times 25}{10^6}$  กรัม

ดังนั้นสารละลายที่ย่อยได้ 100 มิลลิลิตร มีฟอสฟอรัส  $\frac{0.955 \times 1 \times 25 \times 100}{10^6 \times 1 \times 2}$  กรัม

ตัวอย่างพืช 0.5 กรัม มีฟอสฟอรัส  $\frac{0.955 \times 1 \times 25 \times 100}{10^6 \times 1 \times 2}$  กรัม

ถ้าตัวอย่างพืช 100 กรัม มีฟอสฟอรัส  $\frac{0.955 \times 1 \times 25 \times 100 \times 100}{10^6 \times 1 \times 2 \times 0.5}$  กรัม

เท่ากับ

0.2388 กรัม

ถ้าน้ำหนักแห้งพืช 97.54 กรัม มีฟอสฟอรัส  $\frac{0.2388 \times 97.54}{100}$  กรัม

100

ดังนั้นแสดงว่าพืชคุศฟอสฟอรัสไปใช้ได้ 0.2329 กรัม



## การหาโพแทสเซียม

### วิธีการ

1. คุดสารละลายตัวอย่างที่ย่อยด้วยกรดย่อยเดียวกันกับการหาไนโตรเจนมา 1 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 25 มิลลิลิตร
2. นำไปอ่านค่าด้วยเครื่อง atomic absorption ที่ความยาวคลื่น 476.2 นาโนเมตร วิธีการคำนวณคำนวณเช่นเดียวกับฟอสฟอรัส

### สมบัติทางเคมีของดินปลูก (เนาวรัตน์, 2527)

#### การเตรียมตัวอย่างดินเพื่อการวิเคราะห์

ตัวอย่างดินที่สุ่มเก็บมาถ้ามีกรวดและเศษซากพืชที่ยังไม่ย่อยสลายให้คัดทิ้งไป ผึ่งลมให้แห้งที่อุณหภูมิห้องแล้วบดเบาๆด้วยโกร่ง (porcelain mortar) นำไปร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร จากนั้นสำรวจดูว่าในตะแกรงยังมีอนุภาคของดินอยู่หรือไม่ถ้ามีให้ทำการบดต่อ ที่อนุภาคที่มีขนาดใหญ่กว่า 2 มิลลิเมตร ที่ค้างในตะแกรง เก็บตัวอย่างที่ร่อนผ่านตะแกรงไว้ใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป

#### การหาฟอสฟอรัส

##### สารเคมี

1. 0.5 N HCl
2. 0.5 N NaOH
3. Extracting solution ( Bray II )

ละลาย  $\text{NH}_4\text{F}$  จำนวน 1.11 กรัม ปรับปริมาตรด้วย 0.1 N ของ HCl ให้ครบ 1 ลิตร

4. 0.1 N HCl

เตรียมได้จาก conc.HCl 8.28 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1000 มิลลิลิตร

5. Standard  $100 \text{ mg kg}^{-1} \text{ P}$

ละลาย potassium dihydrogen phosphate ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$  อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง) 0.4390 กรัม ในน้ำกลั่น 500 ปรับให้มีปริมาตร 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

6. Reagent A

คุดสารละลาย ammonium molybdate 12 กรัมในน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร ผสมกับ 5 N ของ  $\text{H}_2\text{SO}_4$  เขย่าให้เข้ากัน ปรับปริมาตรเป็น 2 ลิตร

7. Reagent B

ซึ่ง ascorbic acid 1.056 กรัม ใน 200 มิลลิลิตรของ Reagent A ซึ่งจะมีอายุการใช้งานไม่เกิน 24 ชั่วโมง

### วิธีการ

ชั่งตัวอย่างดิน 2.5 กรัม ใส่ใน erlenmeyer flask 125 มิลลิลิตร เติมน้ำยาสกัด Bray II 25 มิลลิลิตร เขย่าดินกับน้ำยาสกัด 1 นาที (เขย่าทันทีที่เติมน้ำยา) แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 คุณสารละลายที่กรองได้มา 1 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask 25 มิลลิลิตร เติม Reagent B ลงไป 4 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย รอจนกว่าจะเกิดสี หากไม่เกิดสีให้คุณสารละลายที่กรองได้ ใส่อีกจนกว่าจะเกิดสี เมื่อเกิดสีแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 25 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ปั่นทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที จึงวัดการเกิดสีที่ความยาวคลื่น 882 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer

การเตรียม standard set โดยให้มีความเข้มข้น 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 mgkg<sup>-1</sup> โดยใช้ volumetric pipette คุณ standard 100 mgkg<sup>-1</sup> มา 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตร ทุก flask ใส่ลงใน volumetric flask 25 มิลลิลิตร เติมน้ำยาสกัด Bray II 5 มิลลิลิตร ทุก flask แล้วดำเนินการเช่นเดียวกันกับตัวอย่าง (ควรทำ standard set ก่อนทำตัวอย่าง)

### การคำนวณ

นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เข้าสมการ Linear Regression จะได้ปริมาณฟอสฟอรัสในหน่วย mgkg<sup>-1</sup> ให้คำนวณดังนี้

ถ้าตัวอย่างดิน 2.5 กรัม ใช้น้ำยาสกัด 25 มิลลิลิตร คุณเอาสารละลายที่กรองได้ มา 5 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask 25 มิลลิลิตร แล้วทำให้เกิดสี เมื่อเทียบกับ standard set อ่านค่าได้ 0.2 mgkg<sup>-1</sup>

สารละลายตัวอย่าง 10 <sup>6</sup> มิลลิลิตร มีฟอสฟอรัส	0.2	กรัม
สารละลายตัวอย่าง 25 มิลลิลิตร มีฟอสฟอรัส	$\frac{0.2 \times 25}{10^6}$	กรัม
ดังนั้นสารละลายที่สกัดได้ 5 มิลลิลิตร มีฟอสฟอรัส	$\frac{0.2 \times 25}{10^6}$	กรัม
ดังนั้นสารละลายที่สกัดได้ 25 มิลลิลิตร มีฟอสฟอรัส	$\frac{0.2 \times 25}{10^6 \times 5}$	กรัม
ดังนั้นดิน 2.5 กรัม มีฟอสฟอรัส	$\frac{0.2 \times 25 \times 25}{10^6 \times 5}$	กรัม

เลขหมู่.....  
 สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ถ้ำดิน 10<sup>6</sup> กรัม มีฟอสฟอรัส

$$\frac{0.2 \times 25 \times 25 \times 10^6}{10^6 \times 5 \times 2.5} \text{ กรัม}$$

ดังนั้นดินนี้มีฟอสฟอรัส

$$10 \text{ mgkg}^{-1}$$

### การหาโพแทสเซียม

#### สารเคมี

1. ammonium acetate (NH<sub>4</sub>OAc) 1 N pH 7  
ชั่ง NH<sub>4</sub>OAc 77.08 กรัม/ลิตร ละลายน้ำกลั่น ปรับ pH ด้วย NH<sub>4</sub>OH ให้เป็น 7.0 แล้ว  
ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร
2. standard 1,000 mgkg<sup>-1</sup> K  
ละลาย KCl ที่บริสุทธิ์ (อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ประมาณ 2 ชั่วโมง )  
จำนวน 0.9533 กรัม ใน volumetric flask 500 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นประมาณ 400  
มิลลิลิตร หยด toluene ลงไป 3 หยด แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 500 มิลลิลิตร ด้วย  
น้ำกลั่น
3. standard 100 mgkg<sup>-1</sup> K  
จุด standard 1,000 mgkg<sup>-1</sup> K จำนวน 50 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask 500  
มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

#### วิธีการ

ชั่งตัวอย่างดินจำนวน 4 กรัม ใส่ใน centrifuge tube 50 มิลลิลิตร เติม NH<sub>4</sub>OAc จำนวน 40  
มิลลิลิตร (โดยใช้ volumetric pipette) ปิดฝา นำไปเขย่าเป็นเวลา 30 นาที กรองด้วยกระดาษกรอง  
เบอร์ 5 ดูดสารละลายที่กรองได้ 1 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask 25 มิลลิลิตร แล้วปรับ  
ปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปอ่านค่าด้วยเครื่อง Flame photometer

เตรียม standard set ให้มีความเข้มข้น 2, 4, 6, 8 และ 10 mgkg<sup>-1</sup> โดยใช้ volumetric pipette  
จุด standard 100 mgkg<sup>-1</sup> K จำนวน 2, 4, 6, 8 และ 10 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask 100  
มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน นำไปอ่านค่าด้วยเครื่อง flame photometer

#### การคำนวณ

เช่นเดียวกันกับการคำนวณฟอสฟอรัส

## การหาแคลเซียมและแมกนีเซียม

### สารเคมี

1. ammonium acetate ( $\text{NH}_4\text{OAc}$ ) 1 N pH 7.0  
ชั่ง  $\text{NH}_4\text{OAc}$  77.08 กรัม/ลิตร ละลายน้ำกลั่น ปรับ pH ด้วย  $\text{NH}_4\text{OH}$  ให้เป็น 7.0 แล้ว  
ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร
2. lanthanum chloride 5 %  
ชั่ง lanthanum chloride 58.65 กรัม ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 250 มิลลิลิตร เติมกรด  
เกลือเข้มข้น 37 % ลงไปจำนวน 250 มิลลิลิตร ทิ้งให้เย็น ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร  
ด้วยน้ำกลั่น
3. lanthanum chloride 0.2%  
ดูด lanthanum chloride 5% มาจำนวน 40 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask 1000  
มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น
4. standard Ca 1,000  $\text{mgkg}^{-1}$   
ละลาย  $\text{CaCO}_3$  จำนวน 2.525 กรัม ในน้ำกลั่นประมาณ 500 มล. เติม conc.HCl ลงไป  
5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตรโดยใช้น้ำกลั่น
5. standard 100  $\text{mgkg}^{-1}$   
ละลาย standard Ca 1,000 จำนวน 10 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask 100 มิลลิลิตร  
ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น
6. standard Mg 1,000  $\text{mgkg}^{-1}$   
ละลาย  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  จำนวน 10.2708 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1  
ลิตร ใน volumetric flask
7. standard Mg 100  $\text{mgkg}^{-1}$   
ดูด standard Mg 1,000  $\text{mgkg}^{-1}$  จำนวน 10 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask 100  
มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

### วิธีการ

ชั่งตัวอย่างดิน 4 กรัม ใส่ใน centrifuge tube เติมน้ำยาสกัด  $\text{NH}_4\text{OAc}$  1 N pH 7.0 ลงไป 40  
มิลลิลิตร ปิดจุก นำไปเขย่า 30 นาที กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 ดูดเอาน้ำใส่ที่ได้มา 1  
มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย lanthanum chloride 2 % เขย่าให้  
เข้ากัน นำไปอ่านค่าด้วยเครื่อง Atomic Absorption โดย Ca ใช้ ความยาวคลื่น 422.7 นาโนเมตร  
และ Mg ใช้ความยาวคลื่น 285.2 นาโนเมตร

การเตรียม standard set ของ Ca ให้มีความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 mgkg<sup>-1</sup> โดยการดูดจาก standard Ca 100 mgkg<sup>-1</sup> มาจำนวน 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรใส่ใน volumetric flask 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย lanthanum chloride 0.2 %

การเตรียม standard set ของ Mg ให้มีความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 mgkg<sup>-1</sup> โดยดูดจาก standard Mg 100 มิลลิลิตร จำนวน 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย lanthanum chloride 0.2 %

#### การคำนวณ

เช่นเดียวกันกับการคำนวณฟอสฟอรัส

การหาเหล็ก สังกะสี แมงกานีส และ ทองแดง

สารเคมี

#### 1. น้ำยาสกัด DTPA

ซึ่ง triethanolamine (TEA) 14.92 กรัม ละลายในน้ำกลั่นเล็กน้อย ซึ่ง diethylene triamine penlaacetic acid (DTPA) 1.967 กรัม และ calcium chloride 1.47 กรัม ปรับ pH ด้วย HCl ให้เป็น 7.0 ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น(ใช้ volumetric flask)

#### 2. standard Fe 100 mgkg<sup>-1</sup>

ละลาย (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>Fe(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> จำนวน 0.0702 กรัม ในน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร เขย่าให้ละลาย เติม conc.H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

#### 3. standard Zn 100 mgkg<sup>-1</sup>

ละลาย ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O จำนวน 0.0440 กรัม ในน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร เขย่าให้ละลาย เติม conc.HNO<sub>3</sub> จำนวน 1 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

#### 4. standard Mn 100 mgkg<sup>-1</sup>

ละลาย MnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O จำนวน 0.0308 กรัม ในน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร เขย่าให้ละลาย เติม conc.HNO<sub>3</sub> จำนวน 1 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

#### 5. standard Cu 100 mgkg<sup>-1</sup>

ละลาย CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O จำนวน 0.0387 กรัม ในน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร เขย่าให้ละลาย เติม conc.HNO<sub>3</sub> จำนวน 1 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

### วิธีการ

ชั่งตัวอย่างดิน 4 กรัม ใส่ในหลอด centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร ใส่น้ำยาสกัด DTPA 40 มิลลิลิตร ปิดฝา เขย่านาน 2 ชั่วโมง กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 ดูดเอาสารละลาย ส่วนใสมา 5 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน นำไปอ่านค่าด้วยเครื่อง atomic absorption โดย Fe ใช้ความยาวคลื่น 248.3 นาโนเมตร, Zn ใช้ความยาวคลื่น 213.9 นาโนเมตร, Mn ใช้ความยาวคลื่น 279.5 นาโนเมตร และ Cu ใช้ความยาวคลื่น 324.4 นาโนเมตร

การเตรียม standard set Fe, Zn, Mn และ Cu ให้มีความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 mgkg<sup>-1</sup> โดยดูจาก standard Fe, Zn, Mn และ Cu 100 mgkg<sup>-1</sup> จำนวน 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask 100 มิลลิลิตร เติม H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1.88 M ปริมาตร 12 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

### การคำนวณ

เช่นเดียวกันกับการคำนวณฟอสฟอรัส

### การหาอินทรีย์วัตถุในดิน

#### สารเคมี

1. standard 1 N potassium dichromate  
ละลาย K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> ที่อบ 105 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง จำนวน 49.04 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร
2. 0.5 N Ferrous sulphate  
ละลาย FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 140 กรัม ในน้ำกลั่นประมาณ 800 มิลลิลิตร แล้วเติมกรด H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> เข้มข้น 40 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร
3. o-phenanthroline ferrous complex  
ละลาย o-phenanthroline ferrous 0.74 กรัม และ ferrous sulphate 0.35 กรัม ในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร
4. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 98%

### วิธีการ

1. ชั่งดินขนาด 0.5 มิลลิเมตร มา 0.5 กรัม ใส่ใน erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. ใส่ 1 N potassium dichromate จำนวน 10 มิลลิลิตร เขย่าเบาๆ เพื่อให้น้ำยากับตัวอย่างดินผสมเข้ากันดี

3. ใส่  $\text{H}_2\text{SO}_4$  98% จำนวน 20 มิลลิลิตร (รินกรดใส่ทีละน้อยเพื่อป้องกันการกระเด็นของอนุภาคดิน และควรทำในตู้ดูดควัน) ทิ้งไว้ให้เย็น
4. เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็น
5. หยด o-phenanthroline ferrous complex ลงไปประมาณ 6 หยด แล้วนำมาไทเทรตกับ 0.5 N ferrous sulphate จนสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาลแดง จดจำนวน 0.5 N ferrous sulphate ไว้
6. หาคความเข้มข้นที่แท้จริงของ 0.5 N ferrous sulphate โดยใช้ volumetric pipette ดูด 1 N potassium dichromate จำนวน 10 มิลลิลิตร ใส่ใน erlenmeyer flask 25 มิลลิลิตร ใส่กรด  $\text{H}_2\text{SO}_4$  เข้มข้น 20 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็น นำไปไทเทรตกับ ferrous sulphate โดยใช้ o-phenanthroline ferrous complex เป็น indicator เช่นเดียวกับตัวอย่าง จดปริมาตร 0.5 N ferrous sulphate ไว้ แล้วนำมาคำนวณหาความเข้มข้นที่แน่นอนโดยใช้สูตร ดังนี้

$$N_1 V_1 = N_2 V_2$$

เมื่อ  $N_1$  = ความเข้มข้นของ  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  ที่ใช้

$V_1$  = ปริมาตรของ  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  ที่ใช้

$N_2$  = ความเข้มข้นของ  $\text{FeSO}_4$  ที่ใช้ไทเทรต

$V_2$  = ปริมาตรของ  $\text{FeSO}_4$  ที่ใช้

การคำนวณหาปริมาณอินทรีย์วัตถุ

$$\text{เปอร์เซ็นต์อินทรีย์วัตถุ} = \frac{(10 - (A \times 0.5)) \times 0.672}{S}$$

เมื่อ A = ปริมาตรของ  $\text{FeSO}_4$  ที่ไทเทรตได้ (มิลลิลิตร)

S = น้ำหนักของดินเท่ากับ 0.5 กรัม

การวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของดิน

วิธีการ

1. ชั่งดินขนาด 2 มิลลิเมตร มา 20 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ 50 มิลลิลิตร
2. เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร
3. ใช้แท่งแก้วคน 3 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 5 นาที รอจนครบ 30 นาที
4. นำไปวัดค่า pH ด้วย pH meter

### การหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์หลังการปลูกอ้อย

หาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ ด้วยวิธี dilution plating technique ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ silicate bacteria medium (Hebei Academy of Science, 1996)

การทำ dilution โดยชั่งตัวอย่างดิน 10 กรัม ใส่ในขวดน้ำที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 95 มิลลิลิตร เขย่านาน 15 นาที ใช้ปิเปตที่ฆ่าเชื้อแล้วดูดสารละลายมา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดน้ำ 9 มิลลิลิตร ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว เป็น dilution ที่  $10^{-2}$  ทำเช่นเดียวกันจนถึง  $10^{-6}$  ดูดสารละลายจาก dilution ที่  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  และ  $10^{-4}$  มา dilution ละ 1 มิลลิลิตร เทอาหารที่อุ่นแล้วลงไปเขย่าให้ทั่ว ทิ้งไว้ให้เย็นแข็ง แล้วจึงปิดฝาจานเพาะเชื้อ บ่มไว้อุณหภูมิห้องนาน 3 วัน จึงนำมานับปริมาณเชื้อที่สามารถเปลี่ยนสีของอาหารจากสีเขียวเป็นสีเหลืองได้

#### การดูแลรักษา

1. ให้น้ำ 2 ครั้ง เช้า-เย็น ในช่วงฤดูร้อน ส่วนในฤดูฝน ให้น้ำ 1 ครั้ง ต่อ 1-2 วัน
2. กำจัดวัชพืชบริเวณโรงเรือน