ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์คุณสมบัติของพืชและดิน

การวิเคราะห์คุณสมบัติของพืช

ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (total-N) โดยวิธี Colorimetry method (Novozamsky *et al.*,1974)

1. การเตรียมสาร

   1. 10 M NaOH (ละลาย NaOH 200 g ในน้ำกลั่น 500 มล.)

   2. Salicylic acid 110 g ใน 10 M NaOH 105 มล. (เตรียมก่อนใช้งาน)

   3. Na_2HPO_4 buffer pH 12.3

   4. 4% (W/V) EDTA

   5. Sodium Hypochlorite 1 M ใน 0.1 M NaOH นำมาเจือจาง 20 มล. ในน้ำ 100 มล. (ก่อนใช้งาน)

   6. Nitroprusside 50 mg (0.050 g) ในน้ำ 100 มล. (เตรียมก่อนใช้งาน)

   Solution I: (2) 50 มล. + (6) 100 มล. + (4) 5 มล.

   Solution II: (3) 200 มล. + (6) 100 มล. + (5) 50 มล.

   7. สารละลายมาตรฐาน $(NH_4)_2SO_4$ ความเข้มข้น 2500 มล./ลิตร

   ละลาย $(NH_4)_2SO_4$ 11.793 g ในน้ำ 1 L (2500 มล./ลิตร)

2. วิธีการวิเคราะห์

   1. เจือจางสารละลายมาตรฐาน $(NH_4)_2SO_4$ ให้มีความเข้มข้น 1, 2.5 , 5.0 , 7.5 , 10.0 , 12.5 และ 15.0 มล./ลิตร ด้วยน้ำกลั่นในหลอดทดลอง

   2. ปิเปตสารละลาย extracts ลงในหลอดทดลอง 0.2 มล.

   3. เติมสารละลาย Solution I จำนวน 3 มล. และ Solution II จำนวน 5 มล. ตามลำดับ

   4. ผสมสารละลายให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในให้เกิดปฏิกิริยาอย่างสมบูรณ์นาน 2 ชม.

   5. อ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 *n*m

   6. เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้กับสารละลายมาตรฐานแล้วคำนวณปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด

   7. คำนวณหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในตัวอย่างจากสมการ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

$$\text{Total –N} \quad (\%) \quad = \quad \frac{C \times V \times 100}{10^6 \times W}$$

เมื่อ C : ความเข้มข้น N ในตัวอย่าง – ความเข้มข้น N ใน Blank เมื่อเปรียบเทียบกับ standard curve-glucose (ppm)

V : ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างทั้งหมดที่ได้จากการย่อย (มล.)

W : น้ำหนักตัวอย่างพืชที่ใช้วิเคราะห์ (กรัม)

ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด(total-P) (ศรีสม, 2544)

1. การเตรียมสารละลาย Mixed reagent

ละลาย ammonium vanadate 1.25 กรัม ในน้ำกลั่นอุ่นจำนวน 200 มล. เติมปริมาตร 158.42 มล. เขย่าให้เข้ากันจะได้เป็นสารละลาย ก สำหรับสารละลาย ข ได้จากการละลาย ammonium molybdate tetrahydrate จำนวน 25.00 กรัม ในน้ำกลั่นอุ่น 300 มล. หลังจากนั้นผสมสารละลาย ก และสารละลาย ข เข้าด้วยกันแล้วปรับปริมาตรเป็น 1,000 มล. โดยใช้ volumetric flask

2. การเตรียม standard-P 100 ppm.

ชั่ง potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4) อบที่อุณหภูมิ 105°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จำนวน 0.4390 กรัม ใส่ใน volumetric flask ขนาด 1,000 มล.แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

3. การเตรียม standard curve ให้มีความเข้มข้นของ P เป็น 0 4 8 12 16 และ 20 ppm.

ใช้ volumetric pipette ดูด standard-P 100 ppm. มาจำนวน 0 1 2 3 4 และ 5 มล. ตามลำดับ ใส่ใน volumetric flask ขนาด 25 มล. เติม mixed reagent ลงไปปริมาตร 5 มล. หลังจากนั้นเติม H_2SO_4 ความเข้มข้น 1.88 M จำนวน 5 มล. ปรับปริมาตรเป็น 25 มล. โดยน้ำกลั่น เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 20 นาที นำไปวัดความเข้มข้นของสีที่เกิดขึ้นเป็นค่าการดูดกลืนของแสง (absorbance) ที่ความยาวคลื่น 470 *n*m. ด้วยเครื่อง Spectrophotometer แล้วเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ ระหว่างค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกับค่าที่อ่านได้โดยใช้กราฟ

4. การหาปริมาณ P

ดูดสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการย่อย จำนวน 5 มล. ลงใน volumetric flask ขนาด 25 มล. เติม mixed reagent จำนวน 5 มล. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าตั้งทิ้งไว้ 20 นาที แล้วนำไปวัดความเข้มข้นของสีที่เกิดขึ้นเหมือนกับ standard curve ในข้อ 3 เทียบค่าความเข้มข้นของตัวอย่างกับ standard curve แล้วนำมาคำนวณหาปริมาณฟอสฟอรัสในตัวอย่างจากสมการ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

$$\text{Total-P(\%)} = \frac{C \times V_f \times V_d \times 100}{10^6 \times V_a \times W}$$

เมื่อ C : ความเข้มข้น P ในตัวอย่าง – ความเข้มข้น P ของ Blank เมื่อเปรียบเทียบกับ standard curve-P(ppm.)

V_f : ปริมาตรสุดท้ายที่นำมาวิเคราะห์ (มล.)

V_d : ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างทั้งหมดที่ได้จากการย่อย (มล.)

V_a : ปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ (มล.)

W : น้ำหนักตัวอย่างพืชที่ใช้วิเคราะห์ (กรัม)

ปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมด (total-K) (Helkme and Sparke, 1996)

1. การเตรียม standard-K 1,000 ppm.

ละลาย KCl บริสุทธิ์ (อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 105°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง) จำนวน 0.9533 กรัม ใน volumetric flask ขนาด 500 มล. แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

2. การเตรียม standard-K 100 ppm.

ดูด standard-K 1,000 ppm. จำนวน 10 มล. โดยใช้ volumetric pipette ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มล. แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

3. การเตรียม standard curve ให้มีความเข้มข้นของ K เป็น 0 1 2 3 4 และ 5 ppm.

ใช้ volumetric pipette ดูด standard-K 100 ppm. มาจำนวน 0 1 2 3 4 และ 5 มล. ใส่ใน volumetric ขนาด 100 มล.เติม H_2SO_4 ความเข้มข้น 1.88 M จำนวน 2 มล. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากันแล้วนำอ่านด้วยเครื่อง Flame photometer ที่ความยาวคลื่น 766.5 *n*m. ที่ slit width เท่ากับ 0.7 *n*m. และที่ energy อยู่ในช่วง 66-70

4. ดูดสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการย่อย จำนวน 1 มล. ลงใน volumetric flask ขนาด 100 มล. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น นำไปอ่านด้วยเครื่อง Flame photometer เหมือนกับ standard curve แล้วนำมาคำนวณหาปริมาณ K ดังสมการ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

$$\text{Total-K (\%)} = \frac{C \times V_f \times V_d \times 100}{10^6 \times V_a \times W}$$

เมื่อ C : ความเข้มข้น K ในตัวอย่าง- ความเข้มข้น K ใน Blank เมื่อเปรียบเทียบกับ standard curve-K(ppm.)

V_f : ปริมาตรสุดท้ายที่นำมาวิเคราะห์ (มล.)

V_d : ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างทั้งหมดที่ได้จากการย่อย (มล.)

V_a : ปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ (มล.)

W : น้ำหนักตัวอย่างพืชที่ใช้วิเคราะห์ (กรัม)

การวิเคราะห์ปริมาณ Carbohydrate

โดยการวิเคราะห์ในรูปของ Total nonstructural carbohydrate (TNC) ใช้วิธีการสกัดของ *Smith et al. (1964)* และหาปริมาณ TNC ซึ่งใช้วิธีปรับปรุงของ Somogyi method (Nelson, 1944)

1. การสกัด TNC จากตัวอย่างพืช ด้วย acid extraction ตามวิธีการของ *smith et al.* (1964)

1.1. การเตรียมสารสกัด TNC

1). 0.2 N H_2SO_4 (เตรียมจาก conc.H_2SO_4 5.55 มล. ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มล. ด้วยน้ำกลั่น)

2). 10 N NaOH (ละลาย NaOH 200 g ในน้ำกลั่น 500 มล.)

3). 1 N NaOH (เตรียมจาก 10 N NaOH 10 มล. ปรับปริมาตรเป็น 100 มล.ด้วยน้ำกลั่น)

4). 0.1 N NaOH (เตรียมจาก 1 N NaOH 10 มล. ปรับปริมาตรเป็น 100 มล.ด้วยน้ำกลั่น)

5). 0.01 N NaOH (เตรียมจาก 0.1 N NaOH 10 มล. ปรับปริมาตรเป็น 100 มล.ด้วยน้ำกลั่น)

1.2.การสกัดพืช

นำตัวอย่างพืช (sample) ที่บดละเอียดและอบแห้งสนิทดีแล้ว 0.0500 กรัม ใส่ Erlenmeyer flask ขนาด 125 มล. เติม 0.2 N H_2SO_4 50 มล. ปิดปาก flask ด้วยกรวยแก้วที่ปิดรูด้วยลูกแก้วเพื่อให้สารไหลกลับได้นำไปต้มในอ่างน้ำเดือด เป็นเวลา 60 นาที กรองสารละลายขณะร้อน ด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 42 จากนั้นทิ้งให้เย็นปรับ pH ให้เป็นกลางด้วย 10 N NaOH, 1 N NaOH, 0.1 N NaOH และ 0.01 N NaOH ปรับปริมาตรเป็น 100 มล.ใน volumetric flask ด้วยน้ำกลั่น เก็บสารละลายที่ได้ในขวดพลาสติกขนาด 100 มล. เพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป

2. การเตรียม reagent สำหรับการวิเคราะห์ TNC

2.1 Copper reagent A

ละลาย – anhydrous Na_2CO_3	25.0 กรัม
- Sodium Potassium tartrate	25.0 กรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- NaHCO3 20.0 กรัม

- anhydrous Na_2SO_4 200.0 กรัม

ลงในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร

2.2 Copper reagent B

ละลาย - Copper sulphate($CuSO_4 5H_2O$) 15.0 กรัม

- เติม Sulfuric acid (Conc. H_2SO_4) 1-2 หยด

ปรับปริมาตรด้วยน้ำเป็น 100 มล.

2.3 Mixed copper reagent

- Copper reagent A 25 มล.

- Copper reagent B 1 มล.

ผสมให้เข้ากัน(เตรียมแล้วต้องใช้ทันที)

2.4 Arsenomolybdate color reagent

2.4.1 ละลาย Ammonium Molybdate ($(NH_4)_6Mo_7O_{24}4H_2O$) 25 กรัม ในน้ำกลั่น 450 มล. เติม sulfuric acid (Conc. H_2SO_4) 21 มล. ทิ้งไว้ให้เย็น

2.4.2 ละลาย disodium hydrogen arsenate (Na_2HAsO_4 $7H_2O$) 3 กรัม ในน้ำกลั่น 25 มล.

นำสารละลายข้อ 2.4.1 ผสมในสารละลายข้อ 2.4.2 เขย่าให้เข้ากันเก็บไว้ในขวดสีชา วางไว้ที่อุณหภูมิ 37ºC เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง สารละลายที่ได้ต้องมีสีเหลือง

3. การวิเคราะห์ TNC

การวิเคราะห์ TNC โดยใช้ ใช้วิธีปรับปรุงของ Somogyi method (Nelson**,** 1944)

3.1. การเตรียมสารละลาย Standard glucose 0.25 มก./มล.

ละลาย D-glucose 0.0250 กรัมใน volumetric flask ขนาด 100 มล. แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จากนั้นเตรียมสารละลายมาตรฐานของ glucose เป็น 0 0.025 0.050 0.075 0.100 0.125 0.150 0.175 0.200 และ 0.225 มก./มล. โดยใช้ volumetric pipette ดูด standard glucose 0.25 มก./มล. มาจำนวน 0 1 2 3 4 5 6 7 8 และ 9 มล. ตามลำดับใส่ในหลอดปรับปริมาตรขนาด 10 มล. ปรับปริมาตรเป็น 10 มล. โดยน้ำกลั่น

3.2. การเตรียม standard curve ของ glucose

โดยดูดสารละลายมาตรฐานของ glucose ความเข้มข้น 0 0.025 0.050 0.075 0.100 0.125 0.150 0.175 0.200 0.225 และ 0.250 มก./มล. อย่างละ 1 มล.ลงในหลอดทดลอง เติม mixed copper reagent 1 มล. เขย่าให้เข้ากัน นำไปวางในอ่างน้ำเดือดเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำมาแช่ในน้ำเย็น เมื่อหลอดเย็นแล้วเติมน้ำยา arsenomolybdate color reagent ลงไปในหลอดละ 1 มล. เขย่าให้ตะกอน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Cu_2O ละลายจนหมด แล้วเติมน้ำกลั่นหลอดละ 7 มล. เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้จนกระทั่งทำปฏิกิริยาสมบูรณ์ นำไปวัดความเข้มข้นของสีที่เกิดขึ้นเป็นค่าการดูดกลืนของแสง (absorbance) ที่ความยาวคลื่น 540 *n*m. ด้วยเครื่อง Spectrophotometer แล้วเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ ระหว่างค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกับค่าที่อ่านได้โดยใช้กราฟ

3.3. การหาปริมาณ TNC

ดูดสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการย่อย จำนวน 1 มล. ลงหลอดทดลอง เติม mixed copper reagent 1 มล. เขย่าให้เข้ากัน นำไปวางในอ่างน้ำเดือดเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำมาแช่ในน้ำเย็น เมื่อหลอดเย็นแล้วเติมน้ำยา arsenomolybdate color reagent ลงไปในหลอดละ 1 มล. เขย่าให้ตะกอน Cu_2O ละลายจนหมด แล้วเติมน้ำกลั่นหลอดละ 7 มล. เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้จนกระทั่งทำปฏิกิริยาสมบูรณ์ นำไปวัดความเข้มข้นของสีที่เกิดขึ้นเหมือนกับ standard curve ในข้อ 3.2 เทียบค่าความเข้มข้นของตัวอย่างกับ standard curve แล้วนำมาคำนวณหาปริมาณ TNC ในตัวอย่างจากสมการ

วิธีการคำนวณ

$$\%\text{TNC} = \frac{C \times V_f \times V_d \times 100}{10^6 \times V_a \times W}$$

เมื่อ C : ความเข้มข้น glucose ในตัวอย่าง – ความเข้มข้น glucose ใน Blank เมื่อเปรียบเทียบกับ standard curve-glucose (ppm)

V_f : ปริมาตรสุดท้ายที่นำมาวิเคราะห์ (มล.)

V_d : ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างทั้งหมดที่ได้จากการย่อย (มล.)

V_a : ปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ (มล.)

W : น้ำหนักตัวอย่างพืชที่ใช้วิเคราะห์ (กรัม)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์สมบัติของดิน

pH ดิน (เนาวรัตน์, 2527)

ชั่งดินที่ผึ่งให้แห้งในที่ร่มและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มม. จำนวน 20 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 50 มล. เติมน้ำกลั่น 20 มล. ใช้อัตราส่วนของดินต่อน้ำเป็น 1:1 คนให้เข้ากันโดยคน 3 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 5 นาทีแล้วตั้งทิ้งไว้ 30 นาที จึงนำไปวัด pH โดยใช้ pH-meter

EC ดิน (พัชรี, 2549)

ชั่งดินที่ผึ่งให้แห้งในที่ร่มและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มม. จำนวน 10 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 มล. เติมน้ำกลั่น 50 มล. ใช้อัตราส่วนของดินต่อน้ำเป็น 1:5 ใช้แท่งแก้วคนให้เข้ากันเป็นระยะๆ ในช่วงเวลา 30 นาที แล้วตั้งทิ้งไว้ 30 นาที รินสารละลายส่วนบนใส่กล่องฟิล์ม นำไปวัดค่าการนำไฟฟ้า (EC) โดยใช้ conductivity meter

CEC ดิน (พัชรี, 2549)

1. เตรียมสารละลาย 1 N NH_4OAc pH 7

ชั่ง NH_4OAc 77 g ละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

2. เตรียมสารละลาย 10%acidified NaCl

ชั่ง NaCl 100 g ละลายในน้ำกลั่น เติม conc. HCl 0.5 มล. ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น

หา CEC ดิน

ชั่งดินที่ผึ่งให้แห้งในที่ร่มและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มม. จำนวน 5 กรัม ใส่ในกล่องฟิล์ม เติมสารละลาย 1 N NH_4OAc pH 7 ให้ท่วมตัวอย่างดินทิ้งไว้ข้ามคืน กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 ที่สวมบน volumetric flask ขนาด 250 มล. ถ่ายตัวอย่างดินลงบนกระดาษกรองให้หมด ชะตัวอย่างดินบนกระดาษกรองด้วย 1 N NH_4OAc pH 7 ครั้งละประมาณ 25 ml ให้ได้สารละลายที่ชะประมาณ 250 มล. โดยในแต่ละครั้งของการชะควรปล่อยให้ตัวอย่างดินที่ถูกชะเกือบแห้ง แต่อย่าให้แห้ง (สารละลายที่ได้จากการชะนี้นำไปหาปริมาณ K Na Ca และ Mg ที่แลกเปลี่ยนได้ในดินได้โดยปรับปริมาตรเป็น 250 มล.ด้วย 1 N NH_4OAc pH 7) ชะตัวอย่างดินด้วยเอทานอลอีก 5 ครั้ง ครั้งละประมาณ 25 มล. โดยแต่ละครั้งให้ตัวอย่างดินเกือบแห้งเช่นกัน จากนั้นนำตัวอย่างดินซึ่งอยู่บนกระดาษกรองและกรวยกรอง วางบน volumetric flask ขนาด 100 มล. แล้วชะด้วย 10%acidified NaCl ครั้งละประมาณ 25 มล. จนได้ปริมาตรเกือบ 100 มล. โดยแต่ละครั้งของการชะควรปล่อยให้ดินเกือบแห้งยกเว้นการชะครั้งสุดท้าย ปรับปริมาตรด้วย 10%acidified NaCl เก็บไว้ในขวดพลาสติกเพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ปริมาณอนินทรีย์ไนโตรเจนทั้งหมด (Inorganic-N)

อนินทรีย์ไนโตรเจนมีอยู่ในดิน 2 รูปคือ NH_4^+-N และ NO_3^--N

1. การสกัดอนินทรีย์ไนโตรเจนในดิน (Mulvaney, 1996)

1.1. เตรียมสารละลาย KCl 1 N

ชั่ง KCl จำนวน 74.56 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 1,000 มล. ละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรใน volumetric flask ขนาด 1,000 มล.ด้วยน้ำกลั่น

1.2. การสกัดดิน

ชั่งดินจำนวน 10 กรัมใส่ใน erlenmeyer flask ขนาด 250 มล. ใช้ volumetric pipette เติม KCl 1 N จำนวน 100 มล. ปิดจุกเขย่าเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 นำสารละลายที่ได้ไปทำการวิเคราะห์แอมโมเนียมและไนเตรตต่อไป

2. การวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนโดยวิธี Colorimetry method (Novozamsky *et al.*,1974)

2.1. การเตรียมสาร

1). 10 M NaOH (ละลาย NaOH 200 g ในน้ำกลั่น 500 มล.)

2). Salicylic acid 110 g ใน 10 M NaOH 105 มล. (เตรียมก่อนใช้งาน)

3). Na_2HPO_4 buffer pH 12.3

4). 4% (W/V) EDTA

5). Sodium Hypochlorite 1 M ใน 0.1 M NaOH นำมาเจือจาง 20 มล. ในน้ำ 100 มล. (ก่อนใช้งาน)

6). Nitroprusside 50 mg (0.050 g) ในน้ำ 100 มล. (เตรียมก่อนใช้งาน)

Solution I: (2) 50 มล. + (6) 100 มล. + (4) 5 มล.

Solution II: (3) 200 มล. + (6) 100 มล. + (5) 50 มล.

7). สารละลายมาตรฐาน $(NH_4)_2SO_4$ ความเข้มข้น 2500 มล./ลิตร ละลาย $(NH_4)_2SO_4$ 11.793 g ในน้ำ 1 L (2500 มล./ลิตร)

2.2. วิธีการวิเคราะห์

เจือจางสารละลายมาตรฐาน $(NH_4)_2SO_4$ ให้มีความเข้มข้น 1, 2.5 , 5.0 , 7.5 , 10.0 , 12.5 และ 15.0 มล./ลิตร ด้วยน้ำกลั่นในหลอดทดลอง ปิเปตสารละลายมาตรฐานและสารละลายดินลงในหลอดทดลอง 0.2 มล. เติมสารละลาย Solution I จำนวน 3 มล. และ Solution II จำนวน 5 มล. ตามลำดับ ผสมสารละลายให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในให้เกิดปฏิกิริยาอย่างสมบูรณ์นาน 2 ชม. อ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 *n*m เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้กับสารละลายมาตรฐานแล้วคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในตัวอย่างจากสมการ

$$NH_4^+ - N(ppm) = \frac{C \times V}{W}$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เมื่อ C : ความเข้มข้น N ในตัวอย่างเมื่อเปรียบเทียบกับ Std. Curve-N (ppm)

V : ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการสกัดดิน (มล.)

W : น้ำหนักดินแห้ง (กรัม)

3. การวิเคราะห์ไนเตรตไนโตรเจนโดยวิธี ไนเตรชันของซาลิไซลิกแอซิด (Diatloff and Rengel, 2001)

3.1. การเตรียมสาร

1). Tri solution

Sodium salicylate 1 g, Sodium chloride 0.2 g และ Ammonium sulfamate 0.1 g ละลายใน 0.01 M Sodium hydroxide 100 มล.

2). 40 %w/v Sodium hydroxide (ละลาย 40 g NaOH ในน้ำกลั่น 100 มล.)

3). 10 mM potassium nitrate (ละลาย 1.01 g KNO_3 ที่ผ่านการอบแห้งที่ 105ºC เป็นเวลา 6-12 ชั่วโมง ใน volumetric flask ขนาด 1,000 มล. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น) เตรียมสารละลายมาตรฐานให้อยู่ในช่วง 0-2 mM

3.2. วิธีการวิเคราะห์

ดูดสารละลายมาตรฐานหรือสารละลายดินที่สกัด 1 มล.ใส่ลงใน erlenmeyer flask ขนาด 50 มล. เติมสารละลาย TRI Solution 0.5 มล. เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นระเหยให้แห้งบน hot plate อุณหภูมิ 100-120ºC ประมาณ 5 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น เติม conc.H_2SO_4 1 มล. เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที จากนั้นเติมน้ำกลั่น 5 มล. เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้จนกระทั่งสารละลายเย็น เติม 40% NaOH 5 มล. เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้จนกระทั่งสารละลายเย็น นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 *n*m เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้กับสารละลายมาตรฐานแล้ว คำนวณหาปริมาณไนเตรตไนโตรเจนทั้งหมดในตัวอย่างจากสมการ

$$NO_3^- - N(ppm) = \frac{C \times V}{W}$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เมื่อ C : ความเข้มข้น N ในตัวอย่างเมื่อเปรียบเทียบกับ Std. Curve-N (ppm)

V_e : ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการสกัดดิน (มล.)

W : น้ำหนักดินแห้ง (กรัม)

ปริมาณฟอสฟอรัสที่สามารถเป็นประโยชน์ได้ (available-P) (Houba *et al*., 1988)

1. เตรียมสารละลาย Bray II

ชั่ง NH_4F จำนวน 1.11 กรัม ปรับปริมาตรด้วย HCl 0.1 N (เตรียมได้จาก conc.HCl 8.28 มล. นำมาปรับปริมาตรเป็น 1,000 มล.) จนได้ปริมาตรเป็น 1,000 มล. ด้วย volumetric flask ขนาด 1,000 มล.

2. เตรียมสารละลาย Reagent A

ชั่ง Ammonium molybdate จำนวน 12.00 กรัม เติมน้ำกลั่น 250 มล. นำไปอุ่นจนกระทั่งละลาย จะได้สารละลาย (a) สำหรับสารละลาย (b) เตรียมได้จากการชั่ง antimony potassium tartrate ($C_4H_4KO_7Sb$) จำนวน 0.2908 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มล. หลังจากนั้นผสมสารละลาย (a) และสารละลาย (b) เข้าด้วยกันใน volumetric flask ขนาด 2,000 มล. เติม H_2SO_4 5 N (เตรียมได้จาก conc.H_2SO_4 จำนวน 141 มล. หรือ 98% H_2SO_4 จำนวน 136.24 มล. แล้วปรับปริมาตรเป็น 1,000 มล.) จำนวน 1,000 มล. แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเสร็จแล้วเก็บไว้ในขวดสีน้ำตาลและนำไปแช่ไว้ในตู้เย็น

3. เตรียมสารละลาย Reagent B

ชั่ง Ascorbic acid จำนวน 1.056 กรัม เติมสารละลาย Reagent A. จำนวน 200 มล. ซึ่ง Reagent B. นี้จะมีอายุการใช้งานไม่เกิน 24 ชั่วโมง

4. เตรียมสารละลาย standard curve-P ที่มีความเข้มข้น 0 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 ppm.

ใช้ volumetric pipette ดูดสารละลาย standard-P 5 ppm. จำนวน 0 1 2 3 4 และ 5 มล. ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 25 มล. เติมสารละลาย Reagent B จำนวน 4 มล. และเติมสารละลาย Bray II จำนวน 5 มล. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 20 นาที นำไปอ่านค่าการการดูดกลืนแสง (% Absorbance) ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 882 *n*m บันทึกผล

5. หาปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ได้ในดิน

ชั่งดินที่ผึ่งให้แห้งในที่ร่มและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มม. จำนวน 2.5 กรัม ใส่ลงใน erlenmeyer flask ขนาด 125 มล. ใช้ volumetric pipette ขนาด 25 มล. ดูดสารละลาย Bray II เติมลงไปแล้วเขย่าด้วยมือเป็นเวลา 1 นาที หลังจากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 ดูดสารละลายที่กรองได้จำนวน 5 มล. ใส่ใน volumetric flask ขนาด 25 มล. เติมสารละลาย Reagent B. จำนวน 4 มล. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 20 นาที นำไปอ่านค่าการส่องผ่านของแสงเช่นเดียวกับ standard curve-P ในข้อที่ 4 นำค่าที่อ่านได้มาคำนวณหาปริมาณฟอสฟอรัสจากสมการ

$$P(ppm) = \frac{C \times V_f \times V_d}{V_a \times W}$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เมื่อ C : ความเข้มข้น P ในตัวอย่างเมื่อเปรียบเทียบกับ Std. Curve-P (ppm)

V_f : ปริมาตรสุดท้ายที่นำมาวิเคราะห์ (มล.)

V_e : ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการสกัดดิน (มล.)

V_a : ปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ (มล.)

W : น้ำหนักดินแห้ง (กรัม)

ปริมาณ K Na Ca และ Mg ที่สามารถแลกเปลี่ยนได้ (exchangeable-K) (พัชรี, 2547)

1. เตรียมสารละลาย Ammonium acetate (NH_4OAc) 1 N pH 7

ชั่ง NH_4OAc จำนวน 77.08 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ ขนาด 1,000 มล. เติมน้ำกลั่น 800 มล. แล้วนำไปวัด pH และปรับ pH ให้เป็น 7 โดยใช้ NH_3-solution หรือ acetic acid แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มล. ด้วยน้ำกลั่น

2. เตรียม standard curve ให้มีความเข้มข้นของ K เป็น 0 1 2 3 4 และ 5 ppm.

ใช้ volumetric pipette ดูด standard-K 100 ppm. มาจำนวน 0 1 2 3 4 และ 5 มล. ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มล. เติม NH_4OAc 1 N pH 7 จำนวน 20 มล. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปอ่านด้วยเครื่อง flame photometer

3. เตรียม standard curve ของ Na ที่มีความเข้มข้น 0 1 2 3 4 และ 5 ppm.

การดูดสารละลาย standard-Na 100 ppm. มาจำนวน 0 1 2 3 4 และ 5 มล. ตามลำดับใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 100 มล. เติม NH_4OAc ปริมาตร 5 มล. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปอ่านด้วยเครื่อง flame photometer

4. เตรียม standard curve ของ Ca ที่มีความเข้มข้น 0 1 2 3 4 และ 5 ppm.

การดูดสารละลาย standard-Ca 100 ppm. มาจำนวน 0 1 2 3 4 และ 5 มล. ตามลำดับใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 100 มล. เติม NH_4OAc ปริมาตร 5 มล. ปรับปริมาตรด้วย 0.2% Lanthanum chloride เขย่าแล้วนำไปอ่านด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 422.7 *n*m

5. เตรียม standard curve ของ Mg ที่มีความเข้มข้น 0 0.1 0.2 0.3 0.4 และ 0.5 ppm.

ดูดสารละลาย standard-Mg 100 ppm. มาจำนวน 0 1 2 3 4 และ 5 มล. ตามลำดับ ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มล. เติมน้ำยาสกัด NH_4OAc ปริมาตร 5 มล. ปรับปริมาตรด้วย 0.2% Lanthanum chloride เช่นเดียวกัน เขย่าแล้วนำไปอ่านด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 285.2 *n*m

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

6. หาปริมาณ K Na Ca และ Mg ที่สามารถแลกเปลี่ยนได้ในดิน

ชั่งดินที่ผึ่งให้แห้งในที่ร่มและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มม. จำนวน 4 กรัม ใส่ในหลอดเขย่าดิน เติมสารละลาย NH_4OAc 1 N pH 7 จำนวน 40 มล. เขย่าเป็นเวลา 30 นาที แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 หลังจากนั้นดูดสารละลายที่กรองได้จำนวน 5 มล. ใส่ใน volumetric flask ขนาด 25 มล. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น นำไปอ่านด้วยเครื่อง Flame photometer เช่นเดียวกับข้อ 2 บันทึกผล แล้วนำมาคำนวณหาปริมาณ K ที่สามารถแลกเปลี่ยนได้ดังสมการ

$$\text{K, Na, Ca, Mg (ppm)} = \frac{C \times V_f \times V_d}{V_a \times W}$$

เมื่อ C : ความเข้มข้น K, Na, Ca, Mg ในตัวอย่างเมื่อเปรียบเทียบกับ std.curve- K, Na, Ca, Mg (ppm.)

V_f : ปริมาตรสุดท้ายที่นำมาวิเคราะห์ (มล.)

V_d : ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการสกัดดิน (มล.)

V_a : ปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ (มล.)

W : น้ำหนักดินแห้ง (กรัม)

ความหนาแน่นรวม (bulk density) โดย Cold method (จักรพงษ์, 2546)

1. เลือกก้อนดินแห้งที่มีน้ำหนักประมาณ 30 กรัม ปัดฝุ่นหรืออนุภาคดินที่ไม่เกาะติดกับก้อนดินออก

2. ผูกก้อนดินด้วยเส้นด้ายเพื่อให้แขวนลอยในอากาศได้ แล้วชั่งน้ำหนัก (W)

3. หย่อนก้อนดินลงในพาราฟินที่อุ่นจนเหลวและมีอุณหภูมิประมาณ 59 ºC ไม่เกิน 1 นาที ยกก้อนดินขึ้น ตรวจสอบว่าพาราฟินเคลือบก้อนดินทั่วหรือไม่ แล้วชั่งน้ำหนักก้อนดินที่เคลือบด้วยพาราฟินอีกครั้ง (Wp)

4. ชั่งน้ำหนักก้อนดินที่เคลือบด้วยพาราฟินอย่างทั่วแล้วในน้ำ โดยให้ก้อนดินแขวนอยู่ (Ww) นำมาคำนวณ ดังสมการ

$$\rho b = \frac{W}{\frac{(Wp - Ww)}{\rho w} - \frac{(Wp - W)}{\rho p}}$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เมื่อ ρw **:** ความหนาแน่นของน้ำเท่ากับ 1 กรัม/ลบ.ซม.

ρp : ความหนาแน่นของพาราฟินเท่ากับ 0.9 กรัม/ลบ.ซม.

ความหนาแน่นอนุภาคของดิน (จักรพงษ์, 2546)

1. ชั่งน้ำหนักของ volumetric flask ขนาด 50 มล. (m_1)

2. นำตัวอย่างดินที่ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2.0 มม. และอบแห้งสนิท ใส่ใน volumetric flask ประมาณ 1 ใน 3 ของปริมาตรทั้งหมด นำไปชั่งน้ำหนัก (m_2)

3. เติมน้ำกลั่นที่ต้มไล่อากาศออกแล้วลงไป 1 ใน 3 ของขวด เขย่าให้เข้ากัน นำไปอุ่นบน hot plate เพื่อไล่อากาศ แล้วยกลงตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

4. เติมน้ำกลั่นที่ต้มไล่อากาศจนถึงขีดบอกปริมาตร นำไปชั่งน้ำหนักดิน + น้ำ + ขวดแก้ว (m_3)

5. เทดินและน้ำทิ้ง ล้างขวดให้สะอาด เติมน้ำกลั่นที่ต้มแล้วลงไปจนถึงขีดปรับปริมาตร นำไปชั่งหาน้ำหนักน้ำ + ขวดแก้ว (m_4) นำมาคำนวณดังสมการ

$$\rho s = \frac{(m2 - m1)}{(m4 - m1) - (m3 - m2)}$$

ความพรุนทั้งหมด (E) คำนวณจากสมการ

$$E = 1 - \frac{\rho b}{\rho s}$$

สัดส่วนของช่องว่าง (void ratio; e) คำนวณจากสมการ

$$e = \frac{E}{(100 - E)}$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

มวลชีวภาพของจุลินทรีย์ดิน (Nunan *et al.,* 1998)

1. เตรียมสารละลาย K_2SO_4 0.5 N

ชั่ง K_2SO_4 87.14 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มล.

2. หามวลชีวภาพของจุลินทรีย์โดยวิธี Chloroform Fumigation และ UV-absorption ที่ 280 *n*m

ชั่งตัวอย่างดิน 20 กรัม ด้วยช้อนตักสารที่ผ่านการจุ่ม alcohol แล้วเผาไฟ ใส่ลงในขวดแก้วขนาด 50 มล. โดยแยกดินออกเป็น 2 ชุด ชุดละ 3 ตัวอย่าง ชุดที่ 1 สำหรับรม Chloroform ชุดที่ 2 ไม่รม

Chloroform และชุดที่ 3 ใช้ในการหาความชื้นของดิน นำตัวอย่างดินชุดที่ 1 ใส่ลงในโถดูดความชื้นที่มีกระดาษทิชชูชื้นวางอยู่ด้านล่าง ใส่ Chloroform ปริมาตร 40 มล. ในบีกเกอร์แล้วนำไปวางไว้ในโถดูดความชื้น ปิดฝาโถดูดความชื้นใช้เครื่องดูดอากาศดูดอากาศในโถดูดความชื้นออกจนกระทั่งไอของ Chloroform มาเกาะตามผนังของโถดูดความชื้น รม Chloroform ไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมงในที่มืด สำหรับดินชุดที่ 2 นำไปบ่มไว้ในที่มืดเป็นเวลา 24 ชั่วโมงเช่นเดียวกัน เมื่อครบ 24 ชั่วโมงนำ Chloroform และกระดาษทิชชูออก ดูด Chloroform ที่เหลือในตัวอย่างดินออกโดยใช้เครื่องดูดอากาศดูดอากาศออก 8 ครั้งๆละ 3 นาที นำดินถ่ายใส่ขวดพลาสติกที่มีฝาปิด เติม K_2SO_4 0.5 N จำนวน 100 มล. เขย่าเป็นเวลา 30 นาที แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42 นำสารละลายที่กรองได้ไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงของ UV ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 280 *n*m ภายใน 1 ชั่วโมงหลังจากการกรอง นำค่าที่อ่านได้ไปคำนวณหาปริมาณชีวมวลคาร์บอนและชีวมวลไนโตรเจนดังสมการ

$$\text{Biomass C} = 21{,}747(E_{280})$$

$$\text{Biomass N} = 3{,}479(E_{280}) + 40$$

เมื่อ E_{280} : ค่าการดูดกลืนแสงต่อกรัมของดิน

Biomass C : มีหน่วยเป็น $\mu C.g^{-1}$ soil

Biomass N : มีหน่วยเป็น $\mu N.g^{-1}$ soil

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

1. จุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจนที่ย่อยสลายเซลลูโลส CMC medium (per liter)

Carboxymethyl cellulose (CMC) agar (Hankin medium)

(Hankin, L. and S.L. Anagnostakis, 1977)

$(NH_4)_2SO_4$	2	g			
KH_2PO_4	4	g			
$NaHPO_4.7H_2O$	11.32	g	or	Na_2HPO_4	6 g
Yeast extract	1	g			
Carboxymethyl cellulose(CMC)	5	g			
$MgSO_4.7H_2O$	0.20	g			

ละลาย CMC ในน้ำอุ่น คนตลอดเวลาจนละลายหมดก่อนเติมส่วนผสมอื่นๆ ปรับ pH เป็น 7.0 จากนั้นเติม Agar 15 กรัมแล้วต้มอาหารเลี้ยงเชื้อจนวุ้นละลายหมด นำอาหารไปนึ่งฆ่าเชื้อที่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

อุณหภูมิ 121 ºC ภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นเทอาหารลงในจานเพาะเชื้อประมาณ 15-20 มล.ต่อ 1 จาน ทิ้งไว้จนแข็งตัว ปิดฝาแล้วคว่ำจานเพาะเชื้อไว้ใช้ต่อไป

2. Azospirillum medium (per liter) (Krieg and Dobereiner, 1984)

Malic acid	5	g
KH_2PO_4	0.40	g
$MgSO_4.7H_2O$	0.20	g
K_2HPO_4	0.10	g
NaCl	0.10	g
$FeCl_3.6H_2O$	0.01	g
$CaCl_2.2H_2O$	0.02	g
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.002	g

ละลายสารทั้งหมดในน้ำกลั่น ปรับ pH เป็น6.8±0.2 ด้วย NaOH ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร เติม agar 1.75 g ต้มจนกระทั่งละลาย เติม Bromthymol blue (0.5% in EtOH เตรียมจากละลาย Bromthymol blue 0.5 g ใน ethanol 100 ml) 5ml ดูดใส่หลอดทดลอง หลอดละ 9 ml ปิดจุก แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 ºC ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

3. Azotobacter Agar, Modified II (per liter) (Ronald, 1993)

Sucrose	20	g
KH_2PO_4	0.15	g
$MgSO_4.7H_2O$	0.20	g
K_2HPO_4	0.05	g
$FeCl_3.6H_2O$	0.001	g
$CaCl_2.2H_2O$	0.02	g
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.003	g

ละลายสารทั้งหมดในน้ำกลั่น ปรับ pH เป็น6.2±0.2 with NaOH ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร เติม agar 15 g ต้มจนกระทั่งละลาย เทใส่ขวดปิดด้วยจุกสำลี นำอาหารไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 ºC ภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นเทอาหารลงในจานเพาะเชื้อประมาณ 15-20 มล.ต่อ 1 จาน ทิ้งไว้จนแข็งตัว ปิดฝาแล้วคว่ำจานเพาะเชื้อไว้ใช้ต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. Beijerinkia medium (per liter) (Ronald, 1993)

Glucose	20	g
KH_2PO_4	0.2	g
K_2HPO_4	0.08	g
$MgSO_4.7H_2O$	0.50	g
$FeCl_3.6H_2O$	0.025	g
$CaCl_2.2H_2O$	0.05	g
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.0005	g

ละลายสารทั้งหมดในน้ำกลั่น ปรับ pH เป็น6.9±0.2 with NaOH ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร เติม agar 15 g ต้มจนกระทั่งละลาย เทใส่ขวดปิดด้วยจุกสำลี นำอาหารไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 ºC ภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นเทอาหารลงในจานเพาะเชื้อ ประมาณ 15-20 มล.ต่อ 1 จาน ทิ้งไว้จนแข็งตัว ปิดฝาแล้วคว่ำจานเพาะเชื้อไว้ใช้ต่อไป

5. แบคทีเรียทั้งหมดและแอคติโนมัยซิส Egg albumin agar (David P. and E.L. Schmidt, 1967)

glucose	1	g
egg albumin	0.25	g
K_2HPO_4	0.5	g
$MgSO_4\ 7H_2O$	0.2	g
$Fe_2(SO_4)_3\ 9H_2O$	0.01	g
Agar	15	g

ละลาย egg albumin ใน NaOH 0.1 N จำนวน 10 มล. ที่อุ่น คนตลอดเวลาจนละลายหมด ก่อนเติมส่วนผสมอื่นๆ ปรับ pH เป็น 7.0 โดยใช้ HCl จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร เติม Agar15 g ต้มจนกระทั่งละลายหมด เทใส่ขวดปิดด้วยจุกสำลี นำอาหารไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 ºC ภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นเทอาหารลงในจานเพาะเชื้อ ประมาณ 15-20 มล.ต่อ 1 จาน ทิ้งไว้จนแข็งตัว ปิดฝาแล้วคว่ำจานเพาะเชื้อไว้ใช้ต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ข

ตารางภาคผนวก 1 ANOVA ของคุณสมบัติทางเคมีในช่วงระยะเวลาต่างๆ

SOV	df	คุณสมบัติทางเคมี			
		เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3
		pH			
ชนิดดิน	2	0.33640**	0.21710**	0.58341**	0.54852**
การปรับสภาพ	3	7.96104**	5.93229**	4.87681**	6.75785**
ชนิดดิน x การปรับสภาพ	6	3.08387**	2.13315**	2.05168**	2.58150**
error	33	0.0891	0.01649	0.02566	0.02003
		EC			
ชนิดดิน	2	0.26967**	0.41238**	0.37935**	0.41931**
การปรับสภาพ	3	0.39414**	0.46641**	0.68660**	0.75590**
ชนิดดิน x การปรับสภาพ	6	0.13381**	0.10961**	0.17372**	0.20961**
error	33	0.00080	0.00428	0.00850	0.00507
		NH_4^+-N			
ชนิดดิน	2	295.053**	195.309**	29.0179	21.6594**
การปรับสภาพ	3	13.093	11.175	17.1922	21.5118**
ชนิดดิน x การปรับสภาพ	6	50.757**	16.905	7.7952	6.0110**
error	33	9.97700	7.817	10.214	1.4648
		NO_3^- - N			
ชนิดดิน	2	84411.5**	146402**	150406**	124697**
การปรับสภาพ	3	6680.0**	10326**	21236**	35936**
ชนิดดิน x การปรับสภาพ	6	3369.0	3941*	8858**	21689**
error	33	1474.4	1314	1301	1492

หมายเหตุ ** P<0.01

* P<0.05

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางภาคผนวก 1 (ต่อ) ANOVA ของคุณสมบัติทางเคมีในช่วงระยะเวลาต่างๆ

SOV	df	คุณสมบัติทางเคมี		
		เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2
		Total Inorganic N		
ชนิดดิน	2	79924.6**	140629**	148316**
การปรับสภาพ	3	6730.0**	10399**	21115**
ชนิดดิน x การปรับสภาพ	6	2959.6	3800*	9075**
error	33	1469.5	1357	1260
		available P		
ชนิดดิน	2	5606530**	36224488**	4269516**
การปรับสภาพ	3	731525**	930605**	1108329**
ชนิดดิน x การปรับสภาพ	6	263800**	236947**	361703**
error	33	1492	4158	7618
		exchangeable K		
ชนิดดิน	2	607211**	2040717**	1193170**
การปรับสภาพ	3	1812601**	3098690**	1836492**
ชนิดดิน x การปรับสภาพ	6	493519**	1421846**	831821**
error	33	7399	38991	19373
		exchangeable Na		
ชนิดดิน	2	28708.3**	87943.2**	98080.4**
การปรับสภาพ	3	46706.8**	72278.5**	73441.7**
ชนิดดิน x การปรับสภาพ	6	9004**	22698.5**	27718.3**
error	33	90.9	1373.2	1530.5
		exchangeable Ca		
ชนิดดิน	2	7686082**	8164024**	8086058**
การปรับสภาพ	3	231626*	216293**	258665**
ชนิดดิน x การปรับสภาพ	6	58310	119806**	143054**
error	33	65907	12923	9960

หมายเหตุ ** P<0.01

* P<0.05

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางภาคผนวก 1 (ต่อ) ANOVA ของคุณสมบัติทางเคมีในช่วงระยะเวลาต่างๆ

SOV	df	คุณสมบัติทางเคมี			
		เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3
		exchangeable Mg			
ชนิดดิน	2	66752.1**	138539**	19628.5**	20711.9**
การปรับสภาพ	3	52380.9**	72038**	199031**	23789.4**
ชนิดดิน x การปรับสภาพ	6	7545.0**	20732**	6175.7**	6814.7**
error	33	1051.3	1004	245.2	153.4
		CEC			
ชนิดดิน	2	191.526**	211.627**	126.779**	300.727**
การปรับสภาพ	3	28.875**	31.816**	13.985	41.432**
ชนิดดิน x การปรับสภาพ	6	4.085	12.696**	17.846*	4.967
error	33	2.021	2.497	7.000	4.374

หมายเหตุ ** P<0.01

* P<0.05

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางภาคผนวก 2 ANOVA ของคุณสมบัติทางชีวภาพในช่วงระยะเวลาต่างๆ

SOV	df	คุณสมบัติทางชีวภาพ			
		เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3
			viable bacteria		
ชนิดดิน	2	0.03567	0.18976**	0.20989*	0.59531**
การปรับสภาพ	3	1.78397**	1.83571**	1.54917**	1.99204**
ชนิดดิน x การปรับสภาพ	6	2.09082**	0.36332**	0.20304**	0.30290**
error	33	0.0532	0.02054	0.05388	0.05741
			actinomycete		
ชนิดดิน	2	0.20611*	0.43089**	0.48119**	1.27025**
การปรับสภาพ	3	1.42610**	2.16634**	1.55703**	1.56989**
ชนิดดิน x การปรับสภาพ	6	1.97146**	0.53148**	0.38713**	0.38650**
error	33	0.05968	0.04115	0.03151	0.08008
			microbial biomass C		
ชนิดดิน	2	680750**	219139*	5964151**	248400**
การปรับสภาพ	3	1128386**	410765**	9497364**	559299**
ชนิดดิน x การปรับสภาพ	6	463912**	183113**	5760121**	122237**
error	33	41503	50821	67327	27866
			microbial biomass N		
ชนิดดิน	2	17422.5**	8868.9*	153554**	6995.1**
การปรับสภาพ	3	28877.7**	13092.9**	247647**	16023.2**
ชนิดดิน x การปรับสภาพ	6	11873.3**	7187.6**	151466**	3584.9**
error	33	1062.1	1780.3	2185	755.3

หมายเหตุ ** P<0.01

* P<0.05

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางภาคผนวก 2(ต่อ) ANOVA ของคุณสมบัติทางชีวภาพในช่วงระยะเวลาต่างๆ

SOV	df	คุณสมบัติทางชีวภาพ			
		เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3
			Azotobacter		
ชนิดดิน	2	0.75301*	5.64929**	0.21523*	3.71109**
การปรับสภาพ	3	2.84081**	2.70779**	2.30346**	1.09682**
ชนิดดิน x การปรับสภาพ	6	1.81100*	0.90022**	0.52580**	0.58720**
error	33	0.1549	0.02531	0.04306	0.08548
			Azospirillum		
ชนิดดิน	2	5.82047**	1.44094*	2.63401**	0.34908
การปรับสภาพ	3	1.71257*	1.57155**	0.87549	0.82864
ชนิดดิน x การปรับสภาพ	6	0.6214	1.40176**	1.95942**	0.63451
error	33	0.47985	0.28727	0.32526	0.43000
			aerobic cellulolytic microbes		
ชนิดดิน	2	0.66229**	0.37978**	1.74063**	0.16631*
การปรับสภาพ	3	3.21310**	3.27679**	2.53355**	3.41176**
ชนิดดิน x การปรับสภาพ	6	2.17028**	0.90904**	0.49408**	0.56442**
error	33	0.04099	0.029977	0.03362	0.04415
			Beijerinckia		
ชนิดดิน	2	2.29243	3.02352**	4.36308*	4.04606
การปรับสภาพ	3	3.25107	4.36977**	2.66597	0.55121
ชนิดดิน x การปรับสภาพ	6	1.96995	1.10531*	0.77956	1.15638
error	33	2.19769	0.34364	0.96696	1.68924

หมายเหตุ ** P<0.01

* P<0.05

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางภาคผนวก 3 ANOVA การเติบโตของผักกาดหัวในช่วงระยะเวลาต่างๆ

		การเติบโต			
SOV	**df**	**ความสูง**	**ความกว้างทรงพุ่ม**	**จำนวนใบ**	**SPAD Reading**
			สัปดาห์ที่ 3		
ชนิดดิน	2	25.6615	552.563**	18.8958**	-
การปรับสภาพ	3	51.0330**	252.519**	8.1319**	-
ชนิดดิน x การปรับสภาพ	6	19.1892	47.868	1.8403	-
error	33	10.4774	35.105	1.4501	-
			สัปดาห์ที่ 4		
ชนิดดิน	2	290.829**	1663.41**	61.8958**	1815.48**
การปรับสภาพ	3	24.507	328.07**	14.9653**	218.86**
ชนิดดิน x การปรับสภาพ	6	22.86	48.01	7.1736**	16.76
error	33	17.22	38.45	1.52590	46.41
			สัปดาห์ที่ 5		
ชนิดดิน	2	404.359**	1773.85**	60.8958**	531.096**
การปรับสภาพ	3	41.769	292.21**	29.8958**	119.709**
ชนิดดิน x การปรับสภาพ	6	10.415	82.64*	8.6458**	56.069*
error	33	18.216	28.82	2.1673	18.373
			สัปดาห์ที่ 6		
ชนิดดิน	2	124.797*	1038.22**	64.3125**	355.439**
การปรับสภาพ	3	67.63	633.02**	36.3889**	132.410**
ชนิดดิน x การปรับสภาพ	6	18.214	76.03	10.1181**	36.196
error	33	26.302	58.16	2.5253	26.461
			สัปดาห์ที่ 7		
ชนิดดิน	2	219.271**	572.193**	66.0833**	419.581**
การปรับสภาพ	3	45.743	357.519**	18.8026**	128.218
ชนิดดิน x การปรับสภาพ	6	40.660*	170.790**	25.8889**	121.547
error	33	16.097	46.514	1.9571	54.094

หมายเหตุ ** P<0.01

* P<0.05

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางภาคผนวก 4 ANOVA ของคุณสมบัติทางกายภาพภายหลังการปลูกพืช

SOV	df	ความหนาแน่นรวม	ความหนาแน่นอนุภาค	ความพรุนทั้งหมด	สัดส่วนช่องว่าง
ชนิดดิน	2	0.09245**	0.12637**	496.132**	0.27240**
การปรับสภาพ	3	0.02678	0.00376	28.433	0.01652
ชนิดดิน x การปรับสภาพ	6	0.0082	0.01203**	23.682	0.01183
error	33	0.01006	0.0026	20.736	0.00938

หมายเหตุ ** P<0.01

* P<0.05

ตารางภาคผนวก 5 ANOVA น้ำหนักของผักกาดหัว

		น้ำหนักหลังเก็บเกี่ยว			
SOV	df	น้ำหนักสดหัว	น้ำหนักแห้งหัว	น้ำหนักสดใบ	น้ำหนักแห้งใบ
ชนิดดิน	2	78764.2**	101.478**	10100.6**	126.633**
การปรับสภาพ	3	19525.8**	20.214**	2351.9**	21.055**
ชนิดดิน x การปรับสภาพ	6	14988.6**	13.995**	909.1**	11.348**
error	33	3323.5	2.974	175.9	2.457

หมายเหตุ ** P<0.01

* P<0.05

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางภาคผนวก 6 ANOVA คุณภาพของผักกาดหัว

SOV	df	คุณภาพผลผลิต						
		ความยาว	เส้นผ่านศูนย์กลาง	ความหวาน	ความแน่นเนื้อ	ค่า L ของสี	ค่า C ของสี	ค่า H ของสี
ชนิดดิน	2	162.673*	15.7915**	17.9729**	0.26361**	1696.20**	100.075**	3009.3**
การปรับสภาพ	3	135.505*	13.9513**	43.1289**	0.89226**	8129.35**	266.193**	917.17**
ชนิดดิน x การปรับสภาพ	6	115.135**	3.7834**	9.7104**	0.25221**	2178.17**	77.284**	236.44*
error	33	32.863	0.2116	0.2311	0.00036	4.73	2.656	12.1

หมายเหตุ ** P<0.01

* P<0.05

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางภาคผนวก 7 ANOVA ความเข้มข้นของธาตุอาหารหลัก การสะสมธาตุอาหารหลัก และ TNC ในผักกาดหัวหลังเก็บเกี่ยว

SOV	df	ความเข้มข้นของธาตุอาหาร						
		%N	N สะสม	%P	P สะสม ($x10^5$)	%K	K สะสม	TNC
					ผลผลิตผักกาดหัว			
ชนิดดิน	2	7.37121**	0.12979**	0.00013	2.317**	7.95516**	0.25905**	28.966
การปรับสภาพ	3	2.32379**	0.02049**	0.00329**	0.2892**	0.36814	0.02404*	429.015**
ชนิดดิน x การปรับสภาพ	6	1.24752**	0.00842*	0.00080**	0.2697**	0.41393	0.00987	157.623*
error	33	0.18751	0.003	0.0001	0.06197	0.17368	0.00587	62.2
					ใบผักกาดหัว			
ชนิดดิน	2	5.76865**	0.26881**	0.00150**	1.337**	40.6645**	0.60682**	7806.12**
การปรับสภาพ	3	4.27554**	0.05880**	0.00545**	0.5792**	0.8771	0.07181**	4176.89**
ชนิดดิน x การปรับสภาพ	6	1.65913**	0.02601**	0.00127**	0.2587**	1.8081*	0.04261**	625.57
error	33	0.16262	0.00286	0.00004	0.04267	0.6879	0.012	693.38

หมายเหตุ ** $P<0.01$

* $P<0.05$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวรัตติกาล ว่องวิกย์การ
วัน เดือน ปี เกิด	22 สิงหาคม 2527
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนต้นและตอนปลาย โรงเรียนวัฒโนทัยพายัพ จ.เชียงใหม่ ปีการศึกษา 2544
	สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต(เกษตรศาสตร์) สาขาปฐพีศาสตร์และอนุรักษศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2548

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved