

ภาคผนวก ก

1. สมบัติบางประการของดิน

1.1 pH ดิน (เนาวรัตน์, 2527)

ชั่งดินจำนวน 20 g ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 50 ml เติมน้ำกลั่น 20 ml ใช้อัตราส่วนของดินต่อน้ำเป็น 1 : 1 คนให้เข้ากันโดยคน 3 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 5 นาทีแล้วตั้งทิ้งไว้ 30 นาที จึงนำไปวัด pH โดยใช้ pH - meter

1.2 ปริมาณความชื้นในดิน (Soil moisture content) (คู่มือปฏิบัติการปฐพีศาสตร์เบื้องต้น)

ปริมาณความชื้นในดินหาได้โดยตรงจากการชั่งน้ำหนักของดินชื้น และดินแห้งที่ได้จากการอบตัวอย่างดินที่อุณหภูมิ 150 - 110 °C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง แล้วคำนวณปริมาณความชื้นที่หายไปจากการอบ แสดงหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของดินแห้งสนิท

$$P_w = \frac{M_w \times 100}{M_s}$$

เมื่อ P_w : เปอร์เซนต์ความชื้นโดยน้ำหนัก (%)

M_w : มวลของความชื้นในดิน (g)

M_s : มวลของดินแห้งสนิท (g)

1.3 อนินทรีย์ไนโตรเจน (Inorganic-N) (Muivaney, 1996)

อนินทรีย์ N จะมีอยู่ในดินด้วยกัน 2 รูปคือ $\text{NH}_4\text{-N}$ และ $\text{NO}_2 + \text{NO}_3\text{-N}$ ซึ่งมีขั้นตอนการวิเคราะห์หาดังต่อไปนี้

สารเคมี

- เตรียมสารละลาย KCl 2 N

ชั่ง KCl จำนวน 149.12 g ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 500 ml เติมน้ำกลั่น 300 ml ละลาย KCl ให้หมดใส่ volumetric flask ขนาด 1,000 ml แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

2. การเตรียม MgO

ชั่ง MgO (heavy powder) เเผาไล่ CO₂ โดยใช้เตาเผาที่อุณหภูมิ 600-700 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และเก็บไว้ในโถแก้วบรรจุ KOH เพื่อป้องกันการดูด CO₂ จากอากาศ

3. การเตรียมสารละลาย 2% Boric acid-indicator (2% H₂BO₃) เช่นเดียวกับวิธีการหา total N ในตัวอย่างพืช

4. หาปริมาณ Mineralizable-N ในรูปของ NH₄-N และ NO₂+NO₃-N ในตัวอย่างดิน

วิธีการ

ชั่งดินจำนวน 10 g ใส่ใน erlenmayer flask ขนาด 250 ml เติม KCl 2 N จำนวน 100 ml ปิดจุกเขย่าเป็นเวลา 30 นาที กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และนำสารละลายที่กรองได้ไปกลั่นหาอนินทรีย์-N โดยวิธี Magaesium oxide-Devada alloy แล้วนำมาคำนวณหาปริมาณ Inorganic-N

ดั่งสมการ

$$\text{NH}_4\text{-N} / \text{NO}_3\text{-N (ppm)} = \frac{(V_s - V_b) \times N \times 14 \times V_d \times 10^6}{1,000 \times V_a \times W}$$

เมื่อ V_s : ปริมาตร standard H₂SO₄ ที่ใช้ไตเตรตตัวอย่าง (ml)

V_b : ปริมาตร standard H₂SO₄ ที่ใช้ไตเตรต blank (ml)

V_a : ปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ (ml)

V_d : ปริมาตรสารละลายตัวอย่างทั้งหมดที่ได้จากการสกัด (ml)

N : ความเข้มข้นของ standard เท่ากับ 0.05 N

W : น้ำหนักดินแห้งเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับดินชื้น 10 g

1.4 ปริมาณ P ที่เป็นประโยชน์ได้ (Available - P) (Houba *et al*, 1988b)

สารเคมี

1. เตรียมสารละลาย Bray II

ชั่ง NH₄F จำนวน 1.11 g ปรับปริมาตรด้วย 0.1 N HCl (เตรียมได้จาก conc.HCl 8.28 ml นำมาปรับปริมาตรเป็น 1,000 ml) จนได้ปริมาตรเป็น 1,000 ml ด้วย volumetric flask ขนาด 1,000 ml

2. เตรียมสารละลาย Reagent A

ชั่ง Ammonium molybdate จำนวน 12.00 g เติมน้ำกลั่น 250 ml นำไปอุ่นจนกระทั่งละลาย จะได้สารละลาย (a) สำหรับสารละลาย (b) เตรียมได้จากการชั่ง antimony potassium tartrate ($\text{KSbO}_3 \cdot \text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6$) จำนวน 0.2908 g ละลายในน้ำกลั่น 100 ml หลังจากนั้นผสมสารละลาย (a) และ สารละลาย (b) เข้าด้วยกันใน volumetric flask ขนาด 2,000 ml เติม 5 N H_2SO_4 (เตรียมได้จาก conc. H_2SO_4 จำนวน 141 ml หรือ 98% H_2SO_4 จำนวน 136.24 ml แล้วปรับปริมาตรเป็น 1,000 ml) จำนวน 1,000 ml แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเสร็จแล้วเก็บไว้ในขวดสีน้ำตาลและนำไปแช่ไว้ในตู้เย็น

3. เตรียมสารละลาย Reagent B

ชั่ง Ascorbic acid จำนวน 1.056 g เติมสารละลาย Reagent A จำนวน 200 ml ซึ่ง Reagent B นี้จะมีอายุการใช้งานไม่เกิน 24 ชั่วโมง

4. เตรียมสารละลาย standard curve-P ที่มีความเข้มข้น 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 $\mu\text{g/ml}$

ใช้ volumetric pipette ดูดสารละลาย standard - P 100 $\mu\text{g/ml}$ จำนวน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ml ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 25 ml เติมสารละลาย Reagent B จำนวน 4 ml และเติมสารละลาย Bray II จำนวน 5 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำไปอ่านค่าการส่องผ่านของแสง (% Transmittance) ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 882 nm บันทึกผล

วิธีการ

ชั่งดิน 2.5 g ใส่ลงใน erlenmeyer flask ขนาด 125 ml ใช้ volumetric pipette ขนาด 25 ml ดูดสารละลาย Bray II เติมลงไปแล้วเขย่าด้วยมือเป็นเวลา 1 นาที หลังจากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 ดูดสารละลายที่กรองได้จำนวน 1 ml ใส่ใน volumetric flask ขนาด 50 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น แล้วดูดมาจำนวน 1 ml ใส่ใน volumetric flask ขนาด 25 ml เติมสารละลาย Reagent B. จำนวน 4 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 20 นาที นำไปอ่านค่าการส่องผ่านของแสงเช่นเดียวกับ standard curve - P ในข้อที่ 4 นำค่าที่อ่านได้มาคำนวณหาปริมาณฟอสฟอรัสจากสมการ

$$P(\%) = \frac{C \times V_f \times V_c \times 100}{10^6 \times V_a \times W}$$

- เมื่อ C : ความเข้มข้น P ในตัวอย่างเมื่อเปรียบเทียบกับ standard curve-P ($\mu\text{g/ml}$)
 V_f : ปริมาตรสุดท้ายที่นำมาวิเคราะห์เท่ากับ 25 ml
 V_e : ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการสกัดดินเท่ากับ 25 ml
 V_a : ปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ เท่ากับ 25 ml
W : น้ำหนักดินแห้งเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับดินขึ้น 2.5 g

1.5 ปริมาณ K ที่สามารถแลกเปลี่ยนได้ (Exchangeable - K) (Helkme และ Sparke, 1996)

สารเคมี

- เตรียมสารละลาย 1 N Ammonium acetate (NH_4OAc) pH 7
 ชั่ง NH_4OAc จำนวน 77.08 g ใส่ลงในบีกเกอร์ ขนาด 1,000 ml เติมน้ำกลั่น 800 ml แล้วนำไปวัด pH และปรับ pH ให้เป็น 7 โดยใช้ NH_3 - solution หรือ acetic acid แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 ml ด้วยน้ำกลั่น
- เตรียม standard curve ให้มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมเป็น 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 $\mu\text{g/ml}$
 ใช้ volumetric pipette ดูด standard - K 5 $\mu\text{g/ml}$ มาจำนวน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ml ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 ml เติม 1 N NH_4OAc pH 7 จำนวน 20 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปอ่านด้วยเครื่อง flame photometer

วิธีการ

ชั่งตัวอย่างดิน 4 g ใส่ในหลอดเขย่าดิน เติมสารละลาย 1 N NH_4OAc pH 7 จำนวน 40 ml เขย่าเป็นเวลา 30 นาที แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 หลังจากนั้นดูดสารละลายที่กรองได้จำนวน 5 ml ใส่ใน volumetric flask ขนาด 25 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น นำไปอ่านด้วยเครื่อง Flame photometer เช่นเดียวกับข้อ 2 บันทึกผลแล้วนำมาคำนวณหาปริมาณ K ที่สามารถแลกเปลี่ยนได้ดังสมการ

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

- เมื่อ C : ความเข้มข้น K ในตัวอย่างเมื่อเปรียบเทียบกับ standard curve - K($\mu\text{g/ml}$)
 V_f : ปริมาตรสุดท้ายที่นำมาวิเคราะห์เท่ากับ 25 ml
 V_d : ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างทั้งหมดที่ได้จากการย่อยเท่ากับ 40 ml
 V_a : ปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ เท่ากับ 5 ml
W : น้ำหนักดินแห้งเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับดินชั้น 4 g

1.6 ปริมาณ Ca และ Mg ที่สามารถแลกเปลี่ยนได้ (Exchangeable Ca and Mg) (Suarez, 1996)

สารเคมี

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

ดูดสารละลาย standard-Ca 100 ppm. มาจำนวน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ml ตามลำดับใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 ml เติม NH_4OAc ปริมาตร 5 ml ปรับปริมาตรด้วย 0.2% Lanthanum chloride เขย่าแล้วนำไปอ่านด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 422.7 nm

2. standard curve ของ Mg ที่มีความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ppm.

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

วิธีการ

ชั่งตัวอย่างดินจำนวน 4 g ใส่ใน centrifuge tube เติมน้ำยาสกัด NH_4OAc จำนวน 40 มล. นำไปเขย่าเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 แล้วดูดสารละลายที่กรองได้ด้วยจำนวน 2 ml ใส่ใน volumetric flask 25 ml. ปรับปริมาตรด้วย lanthanum chloride 0.2% เขย่าให้เข้ากันไปอ่านเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer Ca ที่ความยาวคลื่น 422.7 nm และ Mg ที่ความยาวคลื่น 285.2 nm บันทึกผลและนำมาคำนวณดังนี้

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

- เมื่อ C : ความเข้มข้น Ca/Mg ในตัวอย่างเมื่อเปรียบเทียบกับ std.curve-Ca/Mg(ppm)
 V_f : ปริมาตรสุดท้ายที่นำมาวิเคราะห์ (ml)
 V_e : ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการสกัดดิน (ml)
 V_a : ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ (ml)
 W : น้ำหนักดินแห้งดิน (g)

2. การวิเคราะห์หาสมบัติบางประการของพืช

2.1 การย่อยตัวอย่างพืช (สุพัตรา, 2545)

นำตัวอย่างพืชทั้งต้นหรือใบอบที่อุณหภูมิ 68 °C จนแห้งแล้วนำไปบดให้ละเอียด ซึ่งตัวอย่างพืชประมาณ 0.5000 g ใส่ในหลอดย่อยขนาดความจุ 112 ml เติมกรดย่อย 7 ml (กรดย่อยเตรียมจากการละลาย Na_2SO_4 100 g กับผง selenium 1 g ในกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) ปรับปริมาตรด้วยกรดซัลฟิวริกให้ครบ 1 L) แล้วทิ้งไว้ค้างคืนก่อนนำไปย่อยด้วย digestion block ให้ความร้อนแก่ตัวอย่างพืชจนถึงที่อุณหภูมิประมาณ 400 °C เมื่อเปลี่ยนเป็นสารละลายจึงปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วยน้ำกลั่นใน volumetric flask ขนาด 100 ml จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และนำสารละลายที่ได้ไปทำการวิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหารต่อไป

2.2 การหาไนโตรเจนทั้งหมด (total - N) (Bremner, 1996)

สารเคมี

1. การเตรียมสารละลาย 2% boric acid-indicator (2% H_3BO_3)

ซึ่ง H_3BO_3 จำนวน 20 g ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 1,000 ml เติมน้ำกลั่นจำนวน 200 ml นำไปอุ่นเพื่อให้ H_3BO_3 ละลายจนหมด จากนั้นเติมน้ำกลั่นอีก 600 ml ปล่อยให้เย็น เติม mixed indicator (methylred 0.0660 g และ bromcresol green 0.0990 g ละลายใน ethanol จำนวน 100 ml) จำนวน 20 ml ปรับ pH ของสารละลายให้เป็น 5.0 โดยใช้ 0.1 N NaOH หรือ 0.1 N HCL จะได้สีของสารละลายเป็นสีม่วงแดง ทดสอบว่าสีของสารละลายใช้ได้หรือไม่ โดยการนำสารละลาย boric acid-indicator จำนวน 10 ml ใส่ในกระบอกตวงแล้วเติมน้ำกลั่นลงไปจำนวน 10 ml สีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีม่วงแดงเป็นสีเขียวทันที แล้วปรับปริมาตรเป็น 1,000 ml (เนาวรัตน์, 2527)

2. การเตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 40 %

ละลาย NaOH 400 g ในน้ำกลั่น 1 L (ทำในตู้ดูดควัน)

3. สารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น (H_2SO_4 conc.) 0.05 N

ละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 1 N ปริมาตร 20 ml ในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้เป็น 1 L หากความเข้มข้นที่แน่นอนโดยมีขั้นตอนดังนี้

1. ชั่ง Na_2CO_3 0.0500 g (ชั่งอบ 105°C 2 ชั่วโมง)
2. ใส่น้ำกลั่น 20 ml เขย่าให้ละลาย
3. เติม mixed indicator (0.1% methyl red และ 0.15% bromocresol green อัตราส่วน 1:1 2 - 3 หยด)
4. ไตเตรตกับ H_2SO_4 ที่เตรียมจนสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีชมพู
5. ต้มบน hot plate ประมาณ 2 นาที จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีแดง (สีเขียว)
6. ไตเตรตต่อจนเปลี่ยนเป็นสีชมพู
7. คำนวณหาความเข้มข้นที่แน่นอน

$$\begin{aligned} \text{H}_2\text{SO}_4 &= \frac{\text{น้ำหนักของ Na}_2\text{CO}_3 \times 1000 \times 2}{105.99 \times \text{ปริมาตรของ H}_2\text{SO}_4} \\ &= \frac{18.8697 \times \text{น้ำหนักของ Na}_2\text{CO}_3}{\text{ปริมาตรของ H}_2\text{SO}_4} \end{aligned}$$

วิธีการ

การกลั่นหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Beremner, 1996) ใช้ volumetric pipette ขนาด 25 ml ตูดสารละลายที่ย่อยได้นำมาใส่ในหลอดกลั่นของเครื่องกลั่นไนโตรเจน เติม 40% NaOH 20 ml รองรับของเหลวที่ได้รับจากการกลั่น ประมาณ 75 ml นำ Erlenmeyer flask ขนาด 125 ml ที่มี boric acid-indicator บรรจุอยู่เป็นจำนวน 15 ml มารองรับใต้ condenser ของเครื่องกลั่นโดยให้ปลายของ Erlenmeyer flask ที่บรรจุสารละลายที่ได้ซึ่งมีสีเขียวใสมาไตเตรตกับ standard 0.05 N H_2SO_4 จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวใสเป็นสีม่วงแดง บันทึกปริมาตรของ H_2SO_4 ที่ใช้ในการไตเตรตและนำมาคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดจากสมการ

$$\text{Total - N(\%)} = \frac{(V_s - V_b) \times N \times 14 \times V_d \times 100}{1000 \times V_a \times W}$$

- เมื่อ V_s : ปริมาตร standard H_2SO_4 ที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง (ml)
 V_b : ปริมาตร standard H_2SO_4 ที่ใช้ไตเตรท blank (ml)
 N : ความเข้มข้นของ standard H_2SO_4 (0.05 N)
 V_a : ปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ (ml)
 V_d : ปริมาตรสารละลายตัวอย่างทั้งหมดที่ได้จากการย่อย (ml)
 W : น้ำหนักตัวอย่างพืชที่ใช้วิเคราะห์ (g)

2.3 การหาปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด (total - P) (ศรีสม, 2544)

สารเคมี

1. การเตรียมสารละลาย Mixed reagent

ละลาย ammonium vanadate 1.25 g ในน้ำกลั่นอุ่นจำนวน 200 ml เติม HNO_3 (s.p.= 1.42) ปริมาตร 158.42 ml เขย่าให้เข้ากันจะได้เป็นสารละลาย ก. สำหรับสารละลาย ข. ได้จากการละลาย ammonium molybdate tetra hydrate จำนวน 25.00 g ในน้ำกลั่นอุ่น 300 ml หลังจากนั้นผสมสารละลาย ก และสารละลาย ข เข้าด้วยกันแล้วปรับปริมาตรเป็น 1,000 ml โดยใช้ volumetric flask

2. การเตรียม standard-P 100 $\mu g/ml$

ซึ่ง potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4) อบที่อุณหภูมิ $105^\circ C$ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จำนวน 0.4390 g ใส่ใน volumetric flask ขนาด 1,000 ml แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

3. การเตรียม standard curve ให้มีความเข้มข้นของ P เป็น 0, 4, 8, 12, 16 และ 20 $\mu g/ml$

ใช้ volumetric pipette คูด standard - P 100 $\mu g/ml$ มาจำนวน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ml ตามลำดับใส่ใน volumetric flask ขนาด 25 ml เติม mixed reagent ลงไปปริมาตร 5 ml หลังจากนั้นเติม H_2SO_4 ความเข้มข้น 1.88 M จำนวน 2 ml ปรับปริมาตรเป็น 25 ml โดยน้ำกลั่น เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 20 นาที นำไปวัดความเข้มข้นของสีที่เกิดขึ้นเป็นค่าการส่องผ่านของแสง (absorbance) ที่ความยาวคลื่น 470 nm ด้วยเครื่อง Spectrophotometer แล้วเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ ระหว่างค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกับค่าที่อ่านได้โดยใช้กราฟ

วิธีการ

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

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

เมื่อ C : ความเข้มข้น P ในตัวอย่างเมื่อเปรียบเทียบกับ standard curve - P ($\mu\text{g/ml}$)

V_f : ปริมาตรสุดท้ายที่นำมาวิเคราะห์ (ml)

V_d : ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างทั้งหมดที่ได้จากการย่อย (ml)

V_a : ปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ (ml)

W : น้ำหนักตัวอย่างพืชที่ใช้วิเคราะห์ (g)

2.4 การหาปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมด (total-K) (Helkme และ Sparke, 1996)

สารเคมี

1. การเตรียม standard - K 1,000 $\mu\text{g/ml}$

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

2. การเตรียม standar - K 100 $\mu\text{g/ml}$

ดูด standard - K 1,000 $\mu\text{g/ml}$ จำนวน 10 ml โดยใช้ volumetric pipette ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 ml แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

3. การเตรียม standard curve ให้มีความเข้มข้นของ K เป็น 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 $\mu\text{g/ml}$

ใช้ volumetric pipette ดูด standar - K 100 $\mu\text{g/ml}$ มาจำนวน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ml ใส่ใน volumetric ขนาด 100 ml เติม H_2SO_4 ความเข้มข้น 1.88 M จำนวน 2 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากันแล้วนำอ่านด้วยเครื่อง Flame photometer ที่ความยาวคลื่น 766.5 nm ที่ slit width เท่ากับ 0.7 และที่ energy อยู่ในช่วง 66 - 70

วิธีการ

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

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

- เมื่อ C : ความเข้มข้น K ในตัวอย่างเมื่อเปรียบเทียบกับ standard curve - $K(\mu\text{g/ml})$
 V_f : ปริมาตรสุดท้ายที่นำมาวิเคราะห์ (ml)
 V_d : ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างทั้งหมดที่ได้จากการย่อย (ml)
 V_a : ปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ (ml)
 W : น้ำหนักตัวอย่างพืชที่ใช้วิเคราะห์ (g)

3. การวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนในสกุล *Azospirillum* (Krieg and Doberiner, 1984)

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ *Azospirillum*

สูตรอาหารมีดังนี้

KH_2PO_4	0.4	๕
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.2	๕
K_2HPO_4	0.1	๕
NaCl	0.1	๕
FeCl_3	0.01	๕
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.02	๕
$\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.002	๕
agar	1.75	๕

ปรับ pH ให้ได้ 6.8 ± 0.2 แล้วเติม Bromthymol blue 0.5% 5 ml

(ใช้ Bromthymol blue 0.5 g ละลายใน ethanol 100 ml) ปรับปริมาตรเป็น 1 L ใส่ผงวุ้นแล้วนำไปต้มให้วุ้นละลาย คูณใส่หลอดทดลองหลอดละ 9 ml ปิดจุกให้สนิทนำไปนิ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C ภายใต้ความดัน 15 lb/in^2 เป็นเวลา 20 นาที

การหาปริมาณเชื้อ Azospirillum

สารเคมี

NaOCl 2%

ใช้ NaOCl 10% จำนวน 200 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 L

วิธีการ

หนึ่งตัวอย่างรากข้าวได้มาจากรากของต้นข้าวที่สุ่มเก็บมาแปลงละ 3 ต้น แต่ละตัวอย่างจะมีรากข้าว 2 ชุด ชุดละ 10 g รากชุดแรกไม่ฆ่าเชื้อที่ผิวรากล้างด้วยน้ำที่ฆ่าเชื้อ ส่วนรากชุดที่สองฆ่าเชื้อที่ผิวรากด้วย NaOCl 2% โดยแช่รากให้ท่วมนานเป็นเวลา 20 นาที แล้วล้างด้วยน้ำที่ฆ่าเชื้อจนกระทั่ง NaOCl 2% ออกหมด จากนั้นใช้โกร่งที่ฆ่าเชื้อแล้วบดตัวอย่างรากชุดที่สองพอให้แตกไม่ต้องละเอียดมาก ใส่ตัวอย่างรากที่ได้จากชุดที่ 1 และ 2 ลงไปในขวดที่มีน้ำที่ฆ่าเชื้อแล้ว เขย่าเป็นเวลา 30 นาที เมื่อเวลาเขย่าครบแล้วนำตัวอย่างไปทำ dilution 10^{-1} - 10^{-6} และดูการละลายตัวอย่างที่ได้จากการทำ dilution 1 ml ใส่ในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Azospirillum ที่เตรียมไว้แล้ว dilution ละ 2 หลอด ทิ้งไว้ 7 วัน บันทึกผล

ภาคผนวก ข

ตารางภาคผนวกที่ 1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณความชื้น pH available P exchangeable K
Ca และ Mg ในระยะ แดกกอสูงสุด (MT)

Source	DF	MS					
		%mst	pH	avai. P	exch. K	exch. Ca	exch. Mg
ระบบ (A)	1	106.48	3.5643**	1230.2	660.08	6.3584E+04*	1776.3**
ข้าว (B)	3	2.1388	6.7294E-01	1386.2	223.17	4882.6	94.250
A x B	3	28.805	9.9689E-02	217.24	139.58	2236.4	12.722
ปุ๋ย+ ข้าว (C)	5	1.5002	1.1739E-01	97.571	407.93	1.0292E+04	76.950
A x C	5	4.3576	1.5616E-01	148.44	285.58	5308.8	36.433
A x B x C	30	3.8568	9.8594E-02	164.55	171.13	6940.5	69.303

* มีความแตกต่างกันที่ P 0.05

** มีความแตกต่างกันที่ P 0.01

ตารางภาคผนวกที่ 2 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณความชื้น pH และ avai. P และ exch. K
Ca และ Mg ในระยะออกดอก (FL)

Source	DF	MS					
		%mst	pH	Avai. P	exch. K	exch. Ca	exch. Mg
ระบบ (A)	1	2.3019E-01	1.6913**	136.69	341.33	8.1675E+04*	1376.0*
ข้าว (B)	3	8.2981	6.4957E-01*	1553.7*	51.694	3.3482E+04	161.91
A x B	3	10.032	4.2891E-02	89.076	34.056	5936.2	97.743
ปุ๋ย + ข้าว (C)	5	8.4740	1.0658E-01	532.47	31.833	4089.5	33.287
A x C	5	5.6241	3.2427E-02	149.74	21.583	3198.5	41.421
A x B x C	30	17.980	1.7362E-01	230.55	54.742	1.2736E+04	67.210

* มีความแตกต่างกันที่ P 0.05

** มีความแตกต่างกันที่ P 0.01

ตารางภาคผนวกที่ 3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณ $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ ในดินแบบต่างๆ ในระยะ
แตกกอสูงสุด (MT) และระยะออกดอก (FL)

Source	DF	MS							
		MT				FL			
		ดิน A	ดิน B	ดิน C	ดิน D	ดิน A	ดิน B	ดิน C	ดิน D
ระบบ (A)	1	28.072	778.74	588.20	4051.9*	7.8886	171.97	601.74	144.11
ข้าว (B)	3	782.67	129.12	199.10	438.92	41.120	73.018	57.860	101.58
A x B	3	145.15	382.41	89.610	303.85	89.859	429.46	117.43	197.80
ปุ๋ย + ข้าว (C)	5	116.41	1910.6*	91.412	313.95*	17.578	604.68	343.02*	88.120
A x C	5	282.16	935.86	94.299	113.25	55.008	348.56	120.22	61.571
A x B x C	30	178.42	724.87	130.08	119.69	50.141	455.59	91.854	77.421

* มีความแตกต่างกันที่ P 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 4 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณ $\text{NO}_2 + \text{NO}_3^- - \text{N}$ ในดินแบบต่างๆ
ในระยะแตกกอสูงสุด (MT) และระยะออกดอก (FL)

Source	DF	MS							
		MT				FL			
		ดิน A	ดิน B	ดิน C	ดิน D	ดิน A	ดิน B	ดิน C	ดิน D
ระบบ (A)	1	2.4530	60.784	3.6482	50.469	35.243	5.1463	6.5416	4.3712
ข้าว (B)	3	129.65	98.643	288.75	181.61	12.029	42.154	40.552	95.315
A x B	3	58.098	124.93	161.74	102.57	16.955	8.8916	39.255	15.763
ปุ๋ย + ข้าว (C)	5	8.5941	36.114	8.0026	5.0509	14.360	18.158	25.332	64.227
A x C	5	8.6716	26.008	38.266	29.732	12.633	20.789	22.352	47.348
A x B x C	30	9.2468	44.114	24.301	43.291	18.148	31.513	16.888	56.004

ตารางภาคผนวกที่ 5 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณ $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_2 + \text{NO}_3^- - \text{N}$ ในดินแบบ
ต่างๆ ในระยะแตกกอสูงสุด (MT) และระยะออกดอก (FL)

Source	DF	MS							
		MT				FL			
		ดิน A	ดิน B	ดิน C	ดิน D	ดิน A	ดิน B	ดิน C	ดิน D
ระบบ (A)	1	21.333	1240.3	487.69	3201.3*	234.08	408.33	165.02	330.75
ข้าว (B)	3	1329.5	361.28	401.91	748.17	44.944	50.139	40.021	38.972
A x B	3	345.17	407.61	121.63	195.72	133.81	424.39	164.91	288.31
ปุ๋ย + ข้าว (C)	5	123.05	1881.3	99.671	240.53	48.400	656.28	281.24	203.08
A x C	5	257.73	862.23	168.14	153.23	138.08	428.33	137.37	203.95
A x B x C	30	214.07	794.44	198.67	141.33	70.542	381.63	113.88	131.47

* มีความแตกต่างกันที่ P 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 6 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่า log ของปริมาณเชื้อ Azospirillum บริเวณ
ผิวน้ำและในรากข้าวที่ระยะแตกกอสูงสุด (MT) และระยะออกดอก (FL)

Source	DF	MS			
		MT		FL	
		ผิวน้ำ	ในราก	ผิวน้ำ	ในราก
ระบบ (A)	1	10.868	6.4867E-01	1.8802E-02	1.5987
ข้าว (B)	3	8.2024	2.0582E-01	3.5410E-03	1.0805E-01
A x B	3	11.568	2.1611E-01	3.4974E-02	2.1387E-01
ปุ๋ย + ข้าว (C)	5	3.9845E-01	4.9772E-01	2.8642E-02	1.9774
A x C	5	7.2937E-01	2.3415E-01	1.9212E-02	2.2844
A x B x C	30	6.2351E-01	4.9891E-01	2.2059E-02	1.6955

ตารางภาคผนวกที่ 7 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของ ความเข้มข้นของ N P และ K ในใบอ่อนที่คลี่
ในระยะแตกกอสูงสุด (MT)

Source	DF	MS		
		%N	%P	%K
ระบบ (A)	1	2.1548*	1.0641E-01*	3.2604**
ข้าว (B)	3	6.0785E-02	4.4722E-04	2.3237E-01*
A x B	3	8.4002E-02	5.6806E-03	1.3135E-02
ปุ๋ย + ข้าว (C)	5	2.4463E-01**	3.9683E-03**	7.9514E-02*
A x C	5	2.1535E-01**	2.3833E-04	2.7154E-02
A x B x C	30	5.0104E-02	9.1889E-04	2.3634E-02

* มีความแตกต่างกันที่ P 0.05

** มีความแตกต่างกันที่ P 0.01

ตารางภาคผนวกที่ 8 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของ ความเข้มข้นของ N P และ K ในใบอ่อนที่คลี่
ในระยะออกดอก (FL)

Source	DF	MS		
		%N	%P	%K
ระบบ (A)	1	1.7025*	4.4408E-02*	6.3075E-02
ข้าว (B)	3	1.5559E-01	3.8361E-03	2.1594E-02
A x B	3	8.1094E-02	1.3917E-03	1.9747E-02
ปุ๋ย + ข้าว (C)	5	1.5361E-01**	2.0125E-02**	2.1825E-02*
A x C	5	8.2543E-02	2.9203E-03	3.6130E-02**
A x B x C	30	3.5389E-02	1.7389E-03	6.9575E-03

* มีความแตกต่างกันที่ P 0.05

** มีความแตกต่างกันที่ P 0.01

ตารางภาคผนวกที่ 9 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของจำนวนหน่อ/กอ น้ำหนักแห้งส่วนเหนือดิน และน้ำหนักแห้งรากในระยะแตกกอสูงสุด (MT)

Source	DF	MS		
		จำนวนหน่อต่อกอ	น้ำหนักแห้งส่วนเหนือดิน	น้ำหนักแห้งราก
ระบบ (A)	1	6.0208	72.447	14.963*
ซ้ำ (B)	3	6.8750E-01	28.373	22.786*
A x B	3	6.8750E-01	36.111	1.2845
ปุ๋ย + ซ้ำว (C)	5	4.6375**	76.358**	6.5489
A x C	5	6.7083E-01	11.356	8.3676*
A x B x C	30	5.8750E-01	19.158	3.1330
Total	47			

* มีความแตกต่างกันที่ P 0.05

** มีความแตกต่างกันที่ P 0.01

ตารางภาคผนวกที่ 10 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของจำนวนหน่อ/กอ น้ำหนักแห้งส่วนเหนือดิน และน้ำหนักแห้งรากในระยะออกดอก (FL)

Source	DF	MS		
		จำนวนหน่อต่อกอ	น้ำหนักแห้งส่วนเหนือดิน	น้ำหนักแห้งราก
ระบบ (A)	1	7.5208	579.63	161.77
ซ้ำ (B)	3	4.6875	342.44	20.509
A x B	3	3.7431	340.80	23.386
ปุ๋ย + ซ้ำว (C)	5	9.7708**	1188.1**	82.439**
A x C	5	2.1708*	90.323	4.9366
A x B x C	30	8.1528E-01	129.73	16.838
Total	47			

* มีความแตกต่างกันที่ P 0.05

** มีความแตกต่างกันที่ P 0.01

ตารางภาคผนวกที่ 11 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของ การสะสม N P และ K ของส่วนเหนือดิน
ในระยะแตกกอสูงสุด (MT)

Source	DF	MS		
		N uptake	P uptake	K uptake
ระบบ (A)	1	1.0175E-03	1.0175E-05	1.1732E-01
ข้าว (B)	3	1.1576E-02	5.9206E-04	2.6753E-02
A x B	3	2.0089E-02	5.2021E-04	2.9695E-02
ปุ๋ย + ข้าว (C)	5	5.5563E-02**	3.5727E-04	7.6076E-02**
A x C	5	3.8784E-03	1.57662E-04	7.3525E-03
A x B x C	30	5.7002E-03	3.2510E-04	2.0226E-02
Total	47			

** มีความแตกต่างกันที่ P 0.01

ตารางภาคผนวกที่ 12 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของการสะสม N P และ K ของส่วนเหนือดิน
ในระยะออกดอก (FL)

Source	DF	MS		
		N uptake	P uptake	K uptake
ระบบ (A)	1	1.9200E-02	5.8730E-04	1.3685E-01
ข้าว (B)	3	1.4181E-02	2.1756E-02*	9.7273E-02
A x B	3	5.8094E-02	2.3058E-03	5.2536E-02
ปุ๋ย + ข้าว (C)	5	8.5693E-02**	5.0208E-03	2.1060E-01**
A x C	5	1.7445E-02	1.1308E-03	2.9676E-02
A x B x C	30	1.5483E-02	2.7142E-03	3.2620E-02
Total	47			

* มีความแตกต่างกันที่ P 0.05

** มีความแตกต่างกันที่ P 0.01

ตารางภาคผนวกที่ 13 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของการสะสม N P และK ของฟางข้าว
ในระยะเก็บเกี่ยว (H)

Source	DF	MS		
		N uptake	P uptake	K uptake
ระบบ (A)	1	2.2490E-02	9.0889E-04	1.4630E-03
ข้าว (B)	3	1.1286E-02	8.2521E-04	6.0061E-02
A x B	3	1.6354E-02	4.8433E-04	2.4334E-02
ปุ๋ย + ข้าว (C)	5	9.5116E-03	6.0112E-04	2.3180E-01**
A x C	5	1.4492E-02	6.2254E-04	1.3151E-01**
A x B x C	30	1.3354E-02	5.4876E-04	2.3151E-02
Total	47			

** มีความแตกต่างกันที่ P 0.01

ตารางภาคผนวกที่ 14 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของการสะสม N P และK ของรวงข้าว
ในระยะเก็บเกี่ยว(H)

Source	DF	MS		
		N uptake	P uptake	K uptake
ระบบ (A)	1	1.2065E-02	4.1419E-04	1.0270E-02
ข้าว (B)	3	4.3346E-03	1.4542E-03	1.0078E-02
A x B	3	5.1515E-03	6.0219E-04	3.4806E-03
ปุ๋ย + ข้าว (C)	5	1.0587E-02*	6.2712E-04	4.2352E-03
A x C	5	4.3535E-03	7.8387E-05	8.0592E-04
A x B x C	30	2.9180E-03	2.7537E-04	1.9365E-03
Total	47			

* มีความแตกต่างกันที่ P 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 15 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของผลผลิตและองค์ประกอบของผลผลิตข้าว

Source	DF	MS			
		ผลผลิต	น้ำหนักเมล็ดดี ต่อรวง	จำนวนเมล็ดดี ต่อรวง	ความยาวรวง
ระบบ (A)	1	4.2996E+4	2.1440E-01	17.521	3.2552
ข้าว (B)	3	8160.3	4.7053E-01	259.24	1.8697
A x B	3	1.5407E+04	6.190E-02	47.354	6.3188E-01
ปุ๋ย + ข้าว (C)	5	6.3172E+04**	3.7600E-01	2234.1**	5.9967**
A x C	5	1.5724E+04	1.4741E-01	249.87	4.8071E-01
A x B x C	30	9688.1	1.8884E-01	234.32	1.3103
Total	47				

** มีความแตกต่างกันที่ P 0.01

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ - สกุล

เพ็ญภา นาวิรัตน์

วัน เดือน ปี เกิด

7 พฤษภาคม พ.ศ. 2523

สำเร็จการศึกษา

ปีการศึกษา 2541 ระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนสวนนุญ
โศปถัมภ์ลำพูน

ปีการศึกษา 2545 วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

สาขาวิชา ปฐพีศาสตร์และอนุรักษศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved