ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

Azospirillum (Atlas, 1993)

DL- malic acid*	5.0	กรัม
NaOH*	4.7	กรัม
Yeast extract	0.10	กรัม
KH_2PO_4	0.10	กรัม
$MgSO_4.7H_2O$	0.20	กรัม
NaCl	0.10	กรัม
$FeCl_3.6H_2O$	0.01	กรัม
$CaCl_2.2H_2O$	0.02	กรัม
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.002	กรัม
Agar**	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

pH 6.2 ± 0.2

หมายเหตุ * ผสม DL- malic acid กับ NaOH ก่อนผสมกับสารอื่น

** Agar ใส่ในอาหารเฉพาะที่เป็นอาหารแข็งหลังปรับ pH

ฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งใช้ความดันไอ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 ˚C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

Beijerinckia (Atlas, 1993)

Glucose	10.0	กรัม
Yeast extract	0.50	กรัม
KH_2PO_4	0.45	กรัม
$MgSO_4.7H_2O$	0.20	กรัม
K_2HPO_4	0.05	กรัม
Agar*	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

pH 5.0 ± 0.2

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

หมายเหตุ * Agar ใส่ในอาหารเฉพาะที่เป็นอาหารแข็งหลังปรับ pH

ฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งใช้ความดันไอ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

IMA-2 (Inhibitory Mold Agar-2)

Glucose	5.0	กรัม
Soluble starch	5.0	กรัม
Beef extract	1.0	กรัม
Yeast extract	1.0	กรัม
NZ-case (enzyme hydrolyzed casein)	2.0	กรัม
NaCl	2.0	กรัม
$CaCO_3$	1.0	กรัม
Agar*	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งใช้ความดันไอ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

หมายเหตุ * Agar ใส่ในอาหารเฉพาะที่เป็นอาหารแข็ง

Nutrient Broth (NB medium)

Nutrient broth	8	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

pH 7.0 ± 0.2

ฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งใช้ความดันไอ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

การวิเคราะห์ Indole – 3 – Acetic Acid (IAA) (Gordon and Weber, 1951)

สารเคมี

1. salkovskii reagent (ใช้สำหรับพัฒนาสี)

   0.5 M $FeCl_3$ 1 มล.

   35% $HClO_4$ 50 มล.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. standard Indole – 3 – Acetic Acid

เตรียม standard IAA (MW = 175.19) ให้มีความเข้มข้น 10 mM ก่อน โดยใช้เป็น stock solution (ละลายใน 50% methanol) แล้วเจือจางสารละลาย IAA 10 mM ให้เป็น 1 mM ด้วย 50% แล้วใช้สารละลาย IAA ที่ความเข้มข้น 1 mM นี้ ทำการเตรียมชุด standard series ที่มีความเข้มข้น 0, 10, 20, 50, 100, 150 µM

No.	1 mM IAA (µM)	medium (µL)	ความเข้มข้น (µM/L)
1	0	1000	0
2	10	990	10
3	20	980	20
4	50	950	50
5	100	900	100
6	150	850	150

วิธีการ

1. เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่ต้องการทดสอบ แต่เติม Tryptophan ลงไป 0.2 g/L sterile เทใส่ erlenmeyer flask ขนาด 50 มล.

2. เขี่ยเชื้อที่แยกบริสุทธิ์แล้วใส่ลงไปในอาหารที่เตรียมไว้ นำไปเขย่าจนอาหารขุ่น

3. นำเชื้อในอาหารที่ขุ่นเต็มที่ มาสกัดด้วยเครื่อง centrifuge เพื่อแยกชั้นตะกอน ที่ความเร็ว 50,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที

4. นำสารละลายส่วนใสมาหา IAA โดยดูดสารละลายตัวอย่างมา 1 มล. ใส่หลอดทดลอง

5. เติม salkovskii reagent 2 มล. เขย่าให้เข้ากัน นำไป incubate ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 – 60 นาที

6. หลังการ incubate นำตัวอย่างทั้งหมดไปวัดค่าสีที่เกิดขึ้นด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ wavelength 530 nm.

การคำนวณการวัดการตรึงไนโตรเจนจากตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์

การคำนวณปริมาณ C_2H_4

$$C_2H_4 \text{ formation} = \frac{A \times 1000 \times V}{22.1 \times C \times B}$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เมื่อ A = sample C_2H_4 1 ml. peak hight (area)

B = standard C_2H_4 1 ml. peak hight (area)

V = ปริมาตรของบรรยากาศเหนือในภาชนะ

C = ปริมาตรของภาชนะที่ใช้เจือจางหาค่า ethylene มาตรฐาน

22.4 = ปริมาตรมาตรฐานของก๊าซ C_2H_4 ที่ NTP

อาหารที่ใช้ทดสอบการละลายของฟอสฟอรัส

Aluminum phosphate

Glucose	10	กรัม
$AlPO_4$	5.0	กรัม
$MgCl_2.6H_2O$	0.25	กรัม
$MgSO_4.7H_2O$	0.20	กรัม
KCl	0.10	กรัม
$(NH_4)SO_4$	0.10	กรัม
pH 4.5 ± 0.2		
Congo red	0.035	กรัม
Agar	15.0	กรัม

Czapek's solution

Sucrose	30	กรัม
$NaNO_3$	2.0	กรัม
Ca_3HPO_4	1.0	กรัม
KCl	1.4	กรัม
$MgSO_4.7H_2O$	0.50	กรัม
$FeSO_4.7H_2O$	0.01	กรัม
Congo red	0.035	กรัม
Agar	15.0	กรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์คุณสมบัติของปุ๋ยหมัก

ค่าปฏิกิริยาความเป็นกรด – ด่าง (pH) (กรมวิชาการเกษตร, 2541)

ชั่งตัวอย่างปุ๋ย 10 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 150 มล. เติมน้ำกลั่น 100 มล. (อัตราส่วนของปุ๋ยต่อน้ำ = 1:10) คนด้วยแท่งแก้ว ตั้งทิ้งไว้ประมาณครึ่งชั่วโมง นำไปวัดค่า pH โดยใช้ pH – meter

ค่าการนำไฟฟ้า (Electrical Conductivity: EC) (กรมวิชาการเกษตร, 2541)

ชั่งตัวอย่างประมาณ 5 กรัม ใส่ใน erlenmeyer flask ขนาด 125 มล. เติมน้ำกลั่น 50 มล. เขย่าด้วยเครื่องเขย่า (shaker) นาน 30 นาที นำสารละลายที่เขย่ามากรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 ลงในบีกเกอร์ 50 มล. นำไปวัดค่า EC ด้วยเครื่อง Conductivity meter

อินทรียวัตถุ (organic matter) (กรมวิชาการเกษตร, 2541)

1. เตรียมสารละลายมาตรฐาน $K_2Cr_2O_7$ (Oxidizing agent) 1 N

ชั่ง $K_2Cr_2O_7$ (ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 105 °C นาน 2 ชั่วโมง และปล่อยให้เย็นใน desiccator) 49.0247 กรัม ใส่ใน volumetric flask 1,000 มล. เติมน้ำกลั่นประมาณ 500 มล. เขย่าและปรับปริมาตรเป็น 1,000 มล. เขย่าให้เข้ากัน

2. เตรียมสารละลาย $FeSO_4$ (Reducing agent) 0.5 N

ชั่ง $FeSO_4.7H_2O$ จำนวน 139.0085 กรัม ใส่ใน volumetric flask 1,000 มล. เติมน้ำกลั่นประมาณ 500 มล. เขย่าให้ละลายจนหมดแล้วจึงเติม H_2SO_4 20 มล. ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มล. เขย่าให้เข้ากัน

3. เตรียม O – phenanthroline ferrous sulfate (indicator)

ละลาย O – phenanthroline 0.74 กรัม และ ferrous sulfate 0.35 กรัม ในน้ำกลั่น 50 มล.

4. หาปริมาณอินทรียวัตถุในปุ๋ยหมัก

ชั่งตัวอย่างปุ๋ยหมัก (ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 75 °C นาน 20 ชั่วโมง) ให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 0.1000 กรัม ใส่ใน erlenmeyer flask ขนาด 250 มล. เติม 1 N $K_2Cr_2O_7$ จำนวน 10 มล. เติม H_2SO_4 (conc.) 10 มล. ทิ้งไว้ข้ามคืน เติมน้ำกลั่นให้มีปริมาณ 100 มล. เติม O – phenanthroline ferrous sulfate (indicator) 10 หยด ไตเตรทด้วย $FeSO_4.7H_2O$ จนได้สารละลายสีเขียว และเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นน้ำตาลปนแดงถึงจุดยุติ ทำ blank โดยใช้ 1 N $K_2Cr_2O_7$ 10 มล. ซึ่งเป็นปริมาณเดียวกับที่เติมลงไปในตัวอย่างและทำวิธีเดียวกันกับตัวอย่าง

% อินทรียวัตถุ (OM) = % OC x 1.7241

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โดยหา % OC จาก

$$\% \text{ อินทรีย์คาร์บอน (OC)} = \frac{0.3896 \times N \times B\,(C - D)}{AC}$$

เมื่อ A = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

B = ปริมาตรของ $K_2Cr_2O_7$ ที่เติมลงไปในตัวอย่างและ blank (มล.)

C = ปริมาตรของ $FeSO_4.7H_2O$ ที่ไตเตรทพอดีกับ $K_2Cr_2O_7$ ใน blank (มล.)

D = ปริมาตรของ $FeSO_4.7H_2O$ ที่ไตเตรทพอดีกับ $K_2Cr_2O_7$ ในตัวอย่าง (มล.)

N = ความเข้มข้นเป็น normal ของสารละลายมาตรฐาน $K_2Cr_2O_7$

ไนโตรเจน (Total N) (กรมวิชาการเกษตร, 2541)

ชั่งปุ๋ยหมักประมาณ 0.2000 กรัม เติม Salicylic acid 0.5 กรัม และกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) 10 มล. ย่อยที่อุณหภูมิ 100 °C จนละลายหมด ยกลงไว้ให้เย็น 5 – 10 นาที เติม sodiumthiosulfate ($N_2S_2O_3.5H_2O$) 1 กรัม ย่อยต่ออีก 5 – 10 นาที (ทิ้งให้เย็น) เติม Catalyst mixture 0.5 กรัม ย่อยต่อ (โดยปรับอุณหภูมิขึ้นครั้งละ 20 – 30 °C เริ่มจาก 100 °C จนครบ 400 °C) จนใส ทิ้งไว้ให้เย็น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มล. ด้วยน้ำกลั่น นำไปกลั่นด้วยเครื่องกลั่นไนโตรเจน โดยใช้สารละลาย 25 มล. เติม NaOH 40% 40 มล. จุ่มปลายเครื่องกลั่นด้วย flask ขนาด 250 มล. ที่บรรจุ boric acid indicator solution 10 มล. กลั่นจนได้สารละลายใน flask รวม 100 มล. แล้วนำไปไตเตรทด้วยกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) เข้มข้น 0.02 N

$$\% \text{ Total N} = \frac{\text{ความเข้มข้น } H_2SO_4 \times \text{ปริมาตรของ } H_2SO_4 \text{ ที่ใช้ไตเตรท} \times v \times 1.4007 \times 100}{V \times W}$$

เมื่อ v = ปริมาตรที่นำไปใช้กลั่น

V = ปริมาตรที่ปรับเริ่มต้น (หลังจากย่อยจนใส)

W = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

ฟอสฟอรัส (Total P_2O_5) (กรมวิชาการเกษตร, 2541)

1. เตรียมกรดผสม HNO_3 (conc.) และ $HClO_4$ (conc.)

ผสม HNO_3 (conc.) และ $HClO_4$ (conc.) อัตรา 1:1 โดยปริมาตร ผสมให้กันแล้วนำไปบรรจุไว้ในขวดสีชา เก็บไว้ในที่มืด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. เตรียม Barton's solution หรือ Molybdovanadate reagent

ชั่ง Ammonium molybdate 40 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 500 มล. ละลายด้วยน้ำร้อน 300 มล. ทิ้งไว้ให้เย็น ชั่ง Ammonium metavanadate (NH_4VO_3) 2 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 500 มล. ละลายด้วยน้ำร้อน 300 มล. ทิ้งไว้ให้เย็น และเติมกรด $HClO_4$ 70% ลงไป 125 มล. ใช้แท่งแก้วคนให้เข้ากันและทิ้งไว้ให้เย็น ค่อย ๆ รินผสมสารละลาย Ammonium molybdate ที่เตรียมไว้ลงในสารละลาย Ammonium metavanadate ใน volumetric flask ขนาด 2,000 มล. ปรับปริมาตรเป็น 2 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายเป็นสีเหลืองอ่อน เก็บไว้ในขวดสีชา

3. เตรียม Standard solution 1,000 ppm P

โดยชั่ง KH_2PO_4 (ซึ่งผ่านการอบที่อุณหภูมิ 105 °C นาน 2 ชั่วโมง) จำนวน 4.3936 กรัม ใส่ใน volumetric flask ขนาด 1,000 มล. ละลายด้วยน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 1,000 มล.

4. เตรียม Standard solution 100 ppm P

โดยปิเปต Standard solution 1,000 ppm P จำนวน 10 มล. ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มล. และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

5. เตรียม Working standard 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ppmP

โดยปิเปต Standard solution 100 ppm P จำนวน 1, 2, 3, 4 และ 5 มล. ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มล. ไว้รอดำเนินการเช่นเดียวกับสารละลายตัวอย่าง

6. หาปริมาณ Total P_2O_5 ในปุ๋ยหมัก

ชั่งตัวอย่างปุ๋ยหมักที่ผ่านการบดและอบแล้วให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 0.5000 กรัม ใส่ erlenmeyer flask ขนาด 125 มล. เติมกรดผสม (HNO_3 : $HClO_4$ อัตรา 1:1) 20 มล. นำไปย่อยบน hot plate หรือ digestion block ที่อุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 220 °C ย่อยจนมีควันสีขาวเกิดขึ้นเหนือสารละลาย หรือสารละลายมีลักษณะสีใส ซึ่งจะใช้ระยะเวลาประมาณ 2 – 4 ชั่วโมง จากนั้นยกลงจากเตาทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำสารละลายที่ย่อยและเย็นแล้วถ่ายใส่ volumetric flask ขนาด 250 มล. ล้างตะกอนที่ติดอยู่ข้าง volumetric flask ออกให้หมด ปรับปริมาตรเป็น 250 มล. ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 2 มล. ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มล. เติม Molybdovanadate reagent (Barton's solution) ลงไป 10 มล. ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มล. ด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 30 นาที สำหรับ Working standard 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ppmP ที่เตรียมไว้ก็ดำเนินการ Develop สีเช่นเดียวกัน พร้อมกันกับสารละลายตัวอย่าง นำไปวัดความเข้มของสีด้วยเครื่อง UV-spectrophotometer ที่ 420 nm. อ่านค่า Absorbance (%A) นำค่าที่วัดได้จากสารละลายมาตรฐานไปเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของปริมาณฟอสฟอรัสและ %A (standard curve) อ่านค่าความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในตัวอย่างจาก standard cur

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

$$\%P = \frac{\text{ppm P จากกราฟ x } V_1 \text{ x} V_2 \text{ x } 100}{\text{Wt of sample (g) x } V_3 \text{ x } 10^6}$$

เมื่อ V_1 = First solution volume (ml)

V_2 = Final solution volume (ml)

V_3 = Aliquot take volume (ml)

$$\%\ P_2O_5 = \frac{\%P \text{ x } (2 \text{ x equivalent wt.of P}) + (5 \text{ x equivalent wt.of O})}{2 \text{ x equivalent wt.of P}}$$

โพแทสเซียม (Total K_2O) (กรมวิชาการเกษตร, 2541)

1. เตรียมสารละลาย Suppressor

ชั่ง $CaCO_3$ 12.5 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 200 มล. ใส่น้ำให้พอท่วม $CaCO_3$ เติมกรดเกลือเข้มข้น (conc. HCl) จำนวน 105 มล. ลงไปทีละน้อย นำไปต้มพอเดือด แล้วทิ้งไว้ให้เย็น ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นใน volumetric flask ขนาด 1,000 มล. เขย่าให้เข้ากัน

2. หาปริมาณโพแทสเซียม (Total K_2O)

ชั่งตัวอย่างปุ๋ยให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน 0.5000 กรัม ใส่ใน erlenmeyer flask ขนาด 250 มล. เติมกรดผสม (HNO_3 conc.และ $HClO_4$ conc. อัตราส่วน 1:1) จำนวน 20 มล. นำไปย่อยบนเตาระเหยความร้อนอุณหภูมิประมาณ 220 °C จนเกิดควันสีขาว ปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ถ่ายตัวอย่างใส่ volumetric flask ขนาด 250 มล. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 ปิเปตสารละลายตัวอย่างให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วงสารละลายมาตรฐานที่เตรียมไว้ (0 – 25 ppm) ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 100 มล. เติมสารละลาย Suppressor 10 มล. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน นำไปอ่านค่าด้วยเครื่อง Flame photometer เทียบกับสารละลายมาตรฐาน 0 – 25 ppm ที่เตรียมไว้ แล้วนำค่าที่วัดได้ไปคำนวณ

$$\%K_2O = 1.2046 \text{ x ppm K x dilution factor x } 100 \text{ x } 10^6$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แคลเซียม แมกนีเซียม (Total Ca, Mg) (กรมวิชาการเกษตร, 2541)

1. การเตรียมสารละลาย 5 % Lanthanum chloride

1.1 ละลาย Lanthanum oxide 58.65 กรัม ในน้ำกลั่นประมาณ 250 มล.

1.2 เติมกรด 37% HCl 250 มล. ทิ้งไว้ให้เย็น

1.3 ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นใน volumetric flask 1,000 มล.

2. การเตรียมสารละลาย 0.2 % Lanthanum chloride

2.1 ดูดสารละลาย 5 % Lanthanum chloride จำนวน 40 มล. โดยใช้ volumetric pipette ใส่ใน volumetric flask ขนาด 1,000 มล. แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

3. การเตรียมสารละลาย standard Ca ที่มีความเข้มข้น 1,000 ppm และสารละลาย standard Ca ที่มีความเข้มข้น 100 ppm

ชั่ง $CaCO_3$ จำนวน 2.5250 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มล. เติม conc.HCl จำนวน 5 มล. แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มล. ด้วยน้ำกลั่นใน volumetric flask จะได้ standard Ca 1,000 ppm สำหรับ standard Ca 100 ppm เตรียมได้จากการดูดสารละลาย standard Ca 1,000 ppm จำนวน 10 มล. ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มล. แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

4. การเตรียมสารละลาย standard Mg ที่มีความเข้มข้น 1,000 ppm และสารละลาย standard Mg ที่มีความเข้มข้น 100 ppm

ชั่ง $MgSO_4.7H_2O$ จำนวน 1.0271 กรัม ใน volumetric flask ขนาด 100 มล. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น สำหรับ standard Mg ที่มีความเข้มข้น 100 ppm เตรียมได้จากการดูดสารละลาย standard Mg 1,000 ppm จำนวน 10 มล. ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มล. แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

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

เตรียม standard curve ของ Ca ที่มีความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ppm จากการดูดสารละลาย standard Ca 100 ppm มาจำนวน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 มล. ตามลำดับ ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มล. เติม H_2SO_4 1.88 M จำนวน 2 มล. ปรับปริมาตรด้วย 0.2 % Lanthanum chloride สำหรับ standard curve ของ Mg ที่มีความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ppm เตรียมจากดูดสารละลาย standard Mg 100 ppm มาจำนวน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 มล. ตามลำดับ ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มล. เติม H_2SO_4 1.88 M จำนวน 5 มล. ปรับปริมาตรด้วย 0.2 % Lanthanum chloride เขย่าแล้วนำไปอ่านด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer
Ca ที่ความยาวคลื่น 422.7 nm. และ Mg ที่ความยาวคลื่น 285.2 nm.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

6. การหาปริมาณ Ca และ Mg

ดูดสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการย่อย K หรือ Mg มาจำนวน 1 มล. ใส่ใน volumetric flask ขนาด 50 มล. ปรับปริมาตรด้วย 0.2 % Lanthanum chloride เขย่าแล้วนำไปอ่านด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer เช่นเดียวกับ standard curve ในข้อที่ 5 แล้วนำมาคำนวณหาปริมาณ Ca และ Mg ดังสมการ

$$\text{Ca /Mg (ppm)} = \frac{C \times Vf \times Vd \times 100}{Va \times w}$$

เมื่อ C = ความเข้มข้น Ca /Mg ในตัวอย่างเมื่อเปรียบเทียบกับ standard curve

Vf = ปริมาตรสุดท้ายที่นำมาวิเคราะห์ (มล.)

Vd = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างทั้งหมดที่ได้จากการย่อย (มล.)

Va = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ (มล.)

W = น้ำหนักตัวอย่างปุ๋ยที่ใช้วิเคราะห์ (กรัม)

การวิเคราะห์คุณสมบัติของดิน

ค่าปฏิกิริยาความเป็นกรด – ด่างของดิน (pH ดิน) (Rhoades, 1982)

ชั่งดินจำนวน 20 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 50 มล. เติมน้ำกลั่น 20 มล. ใช้อัตราส่วนของดินต่อน้ำเป็น 1:1 คนให้เข้ากันโดยคน 3 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 5 นาที แล้วตั้งทิ้งไว้ 30 นาที จึงนำไปวัด pH โดยใช้ pH-meter

ค่าการนำไฟฟ้า (Electrical Conductivity: EC) ของดิน (เนาวรัตน์, 2527)

ชั่งตัวอย่างดินจำนวน 200 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 600 มล. แล้วเติมน้ำลงไปทีละน้อย และใช้ spatula คนดินตลอดเวลาเพื่อให้ดินมีความชื้นเสมอกัน เติมน้ำลงไปจนสังเกตได้ว่าถ้าใช้ spatula ปาดดินที่ชุ่มน้ำในบีกเกอร์นั้น ดินจะมีพื้นผิวเรียบและเป็นเงา และถ้าเอียงบีกเกอร์มาก ๆ ดินจะไหลเล็กน้อย แต่ถ้าใช้ spatula กดดินให้เป็นร่อง จะไม่มีน้ำไหลซึมออกมา ดินในสภาพนี้เรียกว่า “saturated paste” แบ่งตัวอย่างดินนี้ 25 กรัม ใส่ใน moisture can ที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว และชั่งหาน้ำหนักดินและ moisture can ที่แน่นอนอีกครั้งแล้วนำมาเข้าตู้อบ อบที่อุณหภูมิ 105 °C ประมาณ 48 ชั่วโมง จึงนำออกมาใส่ desiccator ให้เย็น นำไปชั่งหาน้ำหนักดินแห้งพร้อมทั้ง moisture can นำตัวเลขไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นของดินนี้ นำ saturated paste ที่เหลือใส่ลง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ใน bunchner funnel ที่มีกระดาษกรองและต่อ bunchner funnel เข้ากับ suction flask ซึ่งต่อกับ suction pump เรียบร้อยแล้ว เปิด suction pump เบา ๆ จนกระทั่ง saturation extract ประมาณ 25 มล. นำไปวัดค่า EC

อินทรียวัตถุในดิน (organic matter) (Nelson และ Somners, 1980)

ชั่งตัวอย่างดินที่ร่อนผ่านตะแกรง 0.5 มม. จำนวน 0.5 กรัม ใส่ erlenmeyer flask 250 มล. เติม $K_2Cr_2O_7$ 1 N จำนวน 10 มล. โดยใช้ volumetric pipette เขย่า flask เบา ๆ เพื่อให้น้ำยากับตัวอย่างดินผสมเข้ากัน ใส่ H_2SO_4 จำนวน 20 มล.(รินกรดใส่ทีละน้อยเพื่อป้องกันการกระเด็นของอนุภาคดิน ควรเติมกรดในตู้ควัน) ทิ้งไว้ให้เย็น เติมน้ำกลั่น 100 มล. หยด O – phenanthroline ferrous complex ประมาณ 5 – 6 หยด แล้วนำมาไตเตรททันทีกับ standard ferrous sulfate 0.5 N จนปริมาตร ferrous sulfate ที่ใช้ในแต่ละตัวอย่าง end point ของ suspension จะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นน้ำตาลแดง หาความเข้มข้นที่แท้จริงของ ferrous sulfate โดยการทำ blank คือการใช้ volumetric pipette 10 มล. ดูด $K_2Cr_2O_7$ 1 N จำนวน 10 มล. ใส่ erlenmeyer flask 250 มล. ใส่ H_2SO_4 จำนวน 20 มล. ทิ้งไว้ให้เย็น เติมน้ำกลั่น 100 มล. นำไปไตเตรทกับ ferrous sulfate โดยใช้ diphenylamine หรือ O – phenanthroline เป็น indicator เช่นเดียวกับตัวอย่าง จนปริมาตร ferrous sulfate ที่ใช้กับ blank end point ของ suspension จะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นน้ำตาลแดง แล้วนำมาคำนวณหาความเข้มข้นดังนี้

$$N1V1 = N2V2$$

เมื่อ N1 = ความเข้มข้นของ $K_2Cr_2O_7$ ที่ใช้

V1 = ปริมาตรของ $K_2Cr_2O_7$ ที่ใช้

N2 = ความเข้มข้นของ Fe_2SO_4 ที่ใช้

V2 = ปริมาตรของ Fe_2SO_4 ที่ใช้

$$\text{อินทรียวัตถุ (\%)} = \frac{[10 - (M \times 0.5)] \times 0.672}{W}$$

เมื่อ M = ปริมาตร Fe_2SO_4 ที่ไตเตรทได้ (มล.)

W = น้ำหนักดิน (กรัม)

ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน (total N) (Nelson และ Somners, 1980)

1. เตรียม Potassium sulfate – catalyst mixture

ชั่ง K_2SO_4 200 กรัม, $CuSO_4.5H_2O$ 20 กรัม และ Se 2 กรัม ผสมแล้วบดให้เข้ากัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. เตรียมสารละลาย Sodium hydroxide 10 M

ชั่ง NaOH 400 กรัม ละลายและปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มล. ด้วยน้ำกลั่นที่ต้มไล่ CO_2

3. สารละลาย Boric acid - indicator

ชั่ง H_3BO_3 20 กรัม ใส่ลงไปในน้ำกลั่น 900 มล. อุ่นให้ละลาย เทใส่ volumetric flask 1,000 มล. เติม mixed indicator (bromcresol green 0.099 กรัม และ methyl red 0.066 กรัม ใน ethanol 100 มล.) จำนวน 20 มล. ค่อย ๆ หยด NaOH 0.1 M จนกระทั่งสีของสารละลายเปลี่ยนไปเป็นสีม่วงแดง (pH จะประมาณ 5.0 ซึ่งสามารถทดสอบได้โดยรินสารละลายจำนวน 5 มล. ใส่ลงไปในกระบอกตวงขนาด 25 มล. แล้วใช้กระปุกน้ำกลั่นฉีดน้ำกลั่นลงไปอีก 5 มล. สีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีม่วงแดงเป็นสีเขียว เทสารละลายที่ทดสอบคืนลงใน volumetric flask) ปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มล. ด้วยน้ำกลั่น

4. Standard hydrochoric acid 0.01 M

วิธีการ

ชั่งดินที่บดและร่อนผ่านตะแกรง 100 mesh (0.14 มม.) 1.00 กรัม ใส่ลงไปใน Kjeldahl flask 100 มล. ใส่ K_2SO_4 catalyst 1.1 กรัม เติมกรด H_2SO_4 97 % จำนวน 3 มล. หลังจากนั้นวางลงบนเตาย่อย เปิดสวิตช์แล้วปรับอุณหภูมิให้ร้อนอ่อน ๆ จนกระทั่งฟองและการกระเด็นที่เกิดขึ้นใน flask มีน้อยมาก จึงปรับอุณหภูมิให้สูงขึ้นจนกระทั่งเห็นไอกรดกลั่นตัวอยู่แค่ประมาณ 1/3 ของคอ Kjeldahl flask และย่อยจนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนจากสีดำเป็นสีเขียวหรือฟ้าใส แล้วย่อยต่อไปอีก 5 ชั่วโมง จากนั้นทิ้งตัวอย่างให้เย็น แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปใน flask ประมาณ 20 มล. แกว่งให้เข้ากัน ถ่ายตัวอย่างใส่ขวดกลั่น ใช้น้ำประมาณ 9 มล. ล้าง flask แล้วถ่ายใส่ขวดกลั่นอีก 3 ครั้ง

ตวง Boric acid – indicator 5 มล. ใส่ใน erlenmeyer flask 125 มล. แล้วนำไปใส่ไว้ตรงปลายทางอออกของ condenser ของเครื่องกลั่น นำขวดกลั่นที่มีตัวอย่างติดตั้งเข้ากับเครื่องกลั่น เติม NaOH 10 M จำนวน 20 มล. แล้วเริ่มกลั่นจนกระทั่งสารละลายใน erlenmeyer flask ที่มี Boric acid – indicator เพิ่มขึ้นมาถึงประมาณ 50 มล. (สารละลายที่ได้จากการกลั่นไม่ควรจะมีอุณหภูมิสูงกว่า 25 °C) แล้วล้างปลายของ condenser ด้วยน้ำกลั่นเล็กน้อย นำ erlenmeyer flask ออกจากเครื่องกลั่น แล้วหยุดเครื่องกลั่น (ถ้าหยุดเครื่องกลั่นก่อนนำ erlenmeyer flask ออกจากเครื่องกลั่น สารละลายใน erlenmeyer flask จะถูกดูดกลับเข้าไปในเครื่องกลั่น) ไตเตรทสารละลายใน erlenmeyer flask ด้วย Standard HCl 0.01 M ที่บรรจุใน Microburette จนกระทั่งสีของสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วงแดง ทำ blank โดยดำเนินการทุกอย่างเหมือนตัวอย่างดินตั้งแต่เติมกรด เกลือ และ catalyst ย่อย กลั่นและไตเตรทเหมือนตัวอย่างดิน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

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 ($KSbO.C_4H_4O_6$) จำนวน 0.2908 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มล. จากนั้นผสมสารละลาย (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 138.89 มล. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นแล้วเก็บไว้ในขวดสีน้ำตาลและนำไปแช่ไว้ในตู้เย็น

3. เตรียมสารละลาย Reagent B

ชั่ง Ascorbic acid จำนวน 1.056 กรัม เติมสารละลาย Reagent A จำนวน 200 มล. ซึ่ง Reagent B นี้มีอายุการใช้งานไม่เกิน 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 100 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 นำไปอ่านค่าเปอร์เซ็นต์ Transmittance ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 882 nm. แล้วบันทึกผล

5. หาปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ได้ในดิน

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

$$P\ (\%) = \frac{C \times Vf \times Ve \times 100}{10^6 \times Va \times W}$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เมื่อ C = ความเข้มข้น P ในตัวอย่างเมื่อเปรียบเทียบกับ Std. curve P (ppm)

Vf = ปริมาตรสุดท้ายที่นำมาวิเคราะห์เท่ากับ 25 มล.

Ve = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการสกัดดินเท่ากับ 25 มล.

Va = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์เท่ากับ 25 มล.

W = น้ำหนักดินแห้งเท่ากับ 2.5 กรัม

ปริมาณโพแทสเซียมที่สามารถแลกเปลี่ยนได้ (exchangeable K) (Helmke และ Sparkes, 1996)

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

ชั่ง NH_4OAc จำนวน 77.08 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 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 5 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. หาปริมาณ K ที่สามารถแลกเปลี่ยนได้ (exchangeable K) ได้ในดิน

ชั่งตัวอย่างดิน 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. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปอ่านด้วยเครื่อง flame photometer เช่นเดียวกันกับข้อ 2 บันทึกผลแล้วนำมาคำนวณหาปริมาณ K ที่สามารถแลกเปลี่ยนได้ดังสมการ

$$K\ (ppm) = \frac{C \times Vf \times Vd}{Va \times W}$$

เมื่อ C = ความเข้มข้น K ในตัวอย่างเมื่อเปรียบเทียบกับ Std. curve K (ppm)

Vf = ปริมาตรสุดท้ายที่นำมาวิเคราะห์เท่ากับ 25 มล.

Vd = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างทั้งหมดที่ได้จากการย่อยเท่ากับ 40 มล.

Va = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์เท่ากับ 25 มล.

W = น้ำหนักดินแห้งเท่ากับ 4 กรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Exchangeable Ca และ Mg (Suarez, 1996)

1. 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 จำนวน 5 มล. ปรับปริมาตรด้วย 0.2% Lanthanum chloride เขย่าแล้วนำไปอ่านด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 422.7 nm.

2. 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. ตามลำดับใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 100 มล. เติม NH_4OAc จำนวน 5 มล. ปรับปริมาตรด้วย 0.2% Lanthanum chloride เขย่าแล้วนำไปอ่านด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 285.2 nm.

3. หาปริมาณ Ca และ Mg ที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน

ชั่งตัวอย่างดินจำนวน 4 กรัม ใส่ใน centrifuge tube เติมน้ำยาสกัด NH_4OAc จำนวน 40 มล. นำไปเขย่าเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 แล้วดูดสารละลายที่กรองได้จำนวน 2 มล. ใส่ใน volumetric flask 25 มล. ปรับปริมาตรด้วย Lanthanum chloride 0.2% เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปอ่านด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer Ca ที่ความยาวคลื่น 422.7 nm. และ Mg ที่ความยาวคลื่น 285.2 nm. บันทึกผลและนำมาคำนวณดังนี้

$$\text{Ca /Mg (ppm)} = \frac{C \times Vf \times Vd}{Va \times W}$$

เมื่อ C = ความเข้มข้น Ca /Mg ในตัวอย่างเมื่อเปรียบเทียบกับ Std.curve Ca /Mg (ppm)

Vf = ปริมาตรสุดท้ายที่นำมาวิเคราะห์เท่ากับ 25 มล.

Vd = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างทั้งหมดที่ได้จากการย่อยเท่ากับ 40 มล.

Va = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์เท่ากับ 25 มล.

W = น้ำหนักดินแห้งเท่ากับ 4 กรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์คุณสมบัติของพืช

การหาไนโตรเจนทั้งหมด (total N) (Bremner, 1965)

สารเคมี

1. เตรียมสารละลาย Boric acid indicator

1.1 Mixed indicator ละลาย bromcresol green 0.0990 กรัม และ methylred 0.0660กรัมใน ethanol จำนวน 100 ml.

1.2 Boric acid (H_3BO_3) ละลาย H_3BO_3 20 กรัม ในน้ำอุ่น 800 มล.

1.3 เติม Mixed indicator ในข้อ 1.1 ปริมาตร 20 มล. ลงใน Boric acid ในข้อ 1.2 ข้างต้น ปรับ pH ให้ได้ 5.0 โดยใช้ NaOH 0.1 N หรือ HCl 0.1 N จะได้สีของสารละลายเป็นสีม่วงแดง ทดสอบว่าสีของสารละลายใช้ได้หรือไม่ โดยการนำสารละลาย Boric acid indicator มาจำนวน 10 มล. ใส่ในกระบอกตวงแล้วเติมน้ำกลั่นลงไป 10 มล. สีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีม่วงแดงเป็นสีเขียวทันที แล้วปรับปริมาตรเป็น 1,000 มล.

2. เตรียมสารละลาย Sodium Hydroxide (NaOH) 40 %

ละลาย NaOH จำนวน 400 กรัม ปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มล.

3. สารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.05 นอร์มอล (H_2SO_4 0.05 N)

ละลายกรด H_2SO_4 เข้มข้น 1 N ปริมาตร 20 มล. ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มล. หาความเข้มข้นที่แน่นอน โดยมีขั้นตอนดังนี้

3.1 ชั่ง Na_2CO_3 0.0500 กรัม (อบ 105 °C 2 ชั่วโมง)

3.2 ใส่น้ำกลั่น 20 มล. เขย่าให้ละลาย

3.3 หยด methylred 2-3 หยด

3.4 ไตเตรทกับกรด H_2SO_4 ที่ต้องการทราบความเข้มข้นที่แน่นอนจนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีส้มแก่ บันทึกปริมาตรกรด H_2SO_4 ที่ใช้

3.5 คำนวณหาความเข้มข้นที่แน่นอนตามสูตร

H_2SO_4 (N) = น้ำหนักของ Na_2CO_3 x 1,000 x 2 / 105.99 x ปริมาตร H_2SO_4 ที่ใช้

วิธีการ

การกลั่นไนโตรเจนด้วยเครื่องกลั่นไนโตรเจน

1. ดูดตัวอย่างที่ย่อยได้ 25 มล. โดยใช้ volumetric pipette ใส่ลงในหลอดกลั่นเติม Sodium Hydroxide (NaOH) 40 % 20 มล.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. ตวงกรดบอริก (H_3BO_3) 15 มล. ใส่ใน erlenmeyer flask ขนาด 125 มล. เพื่อรองรับสารที่กลั่นได้

3. กลั่นจนสารละลายใน erlenmeyer flask มีปริมาตรประมาณ 75 มล.

4. ไตเตรทสารละลายที่ได้ด้วย H_2SO_4 0.05 N จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวใส เป็นสีม่วงแดง บันทึกปริมาตรของ H_2SO_4 ที่ใช้ในการไตเตรทและนำมาคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดจากสมการ

$$\text{Total N (\%)} = \frac{(Vs - Vb) \times N \times 14 \times Vd \times 100}{1000 \times Va \times w}$$

เมื่อ Vs = ปริมาตร standard H_2SO_4 ที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง (มล.)

Vb = ปริมาตร standard H_2SO_4 ที่ใช้ไตเตรท blank (มล.)

Va = ปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ (มล.)

Vd = ปริมาตรสารละลายตัวอย่างทั้งหมดที่ได้จากการย่อย (มล.)

W = น้ำหนักตัวอย่างพืชที่ใช้วิเคราะห์

ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด (total P) (ศรีสม, 2544)

สารเคมี

1. กรดย่อย ใช้กรดย่อยเดียวกับการย่อยเพื่อหาไนโตรเจน

2. สาร develop สี vanadate reagent (mixed reagent)

2.1 สารละลาย ammonium vanadate 1.25 กรัม ในน้ำกลั่นอุ่น 200 มล. เติม HNO_3 ลงไป 153.42 มล.

2.2 ละลาย Ammonium molybdate tetrahydrate 25 กรัม ในน้ำกลั่น

2.3 ละลายสารละลายจากข้อ 2.1 และ 2.2 เข้าด้วยกัน ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มล. เก็บไว้ในขวดสีชา และเก็บไว้ในตู้เย็นหากไม่ใช้ทันที

3. เตรียม Standard phosphorus 100 ppm

3.1 ชั่ง KH_2PO_4 0.4390 กรัม

3.2 เติม HNO_3 conc. 5 มล.

3.3 ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มล. ด้วยน้ำกลั่น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการ

1. ทำ standard set โดยให้มีความเข้มข้น 0, 4, 8, 12, 16 และ 20 ppm โดยใช้ volumetric pipette ดูด standard P 100 ppm มา 1, 2, 3, 4 และ 5 มล. เติม mixed reagent 5 มล. และกรดย่อยที่เจือจาง 7:100 มล. มา 5 มล. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 25 มล. นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 470 nm. แล้วเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกับค่าที่อ่านได้โดยใช้กราฟ (standard curve)

2. ดูดสารละลายตัวอย่างที่ย่อยได้มา 5 มล. เติม mixed reagent 5 มล. เติมน้ำกลั่นแล้วตั้งทิ้งไว้ 20 นาที ให้เกิดสี ถ้าไม่เกิดสีให้เติมตัวอย่างเพิ่มลงไปอีก นำไปวัดความเข้มข้นของสีที่เกิดขึ้นเหมือนกับข้อ 1 เทียบค่าความเข้มข้นของตัวอย่างกับ standard curve แล้วนำมาคำนวณหาปริมาณฟอสฟอรัสในตัวอย่าง จากสมการ

$$\text{Total P (\%)} = \frac{C \times Vf \times Vd \times 100}{10^6 \times Va \times w}$$

เมื่อ C = ความเข้มข้น P ในตัวอย่างเมื่อเปรียบเทียบกับ standard curve – P (ppm)

Vf = ปริมาตรสุดท้ายที่นำมาวิเคราะห์ (มล.)

Vd = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างทั้งหมดที่ได้จากการย่อย (มล.)

Va = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ (มล.)

W = น้ำหนักตัวอย่างพืชที่ใช้วิเคราะห์ (กรัม)

ปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมด (total K) (Kalra, 1998)

1. การเตรียม standard K 1,000 ppm

ละลาย KCl บริสุทธิ์ (อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง) จำนวน 1.9067 กรัม ในน้ำกลั่น เติมกรด HNO_3 12 มล. แล้วปรับปริมาตรใน volumetric flask ด้วยน้ำกลั่นเป็น 1000 มล.

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 flask ขนาด 100 มล. แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากันแล้วอ่านค่าด้วยเครื่อง Flame photometer เหมือนกับ standard curve แล้วนำมาคำนวณหาปริมาณ K

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. ดูดสารละลายตัวอย่างที่ย่อยได้มา 1 มล. ใส่ใน volumetric flask ขนาด 25 หรือ 50 มล. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น นำไปอ่านค่าด้วยเครื่อง Flame photometer และคำนวณหาปริมาณ K ดังสมการ

$$\text{Total K (\%)} = \frac{C \times Vf \times Vd \times 100}{Va \times w}$$

เมื่อ C = ความเข้มข้น K ในตัวอย่างเมื่อเปรียบเทียบกับ standard curve – K (ppm)

Vf = ปริมาตรสุดท้ายที่นำมาวิเคราะห์ (มล.)

Vd = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างทั้งหมดที่ได้จากการย่อย (มล.)

Va = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ (มล.)

W = น้ำหนักตัวอย่างพืชที่ใช้วิเคราะห์ (กรัม)

ปริมาณ Ca และ Mg (Walinga *et al*., 1989)

1. การเตรียมสารละลาย 5 % Lanthanum chloride

1.1 ละลาย Lanthanum oxide 58.65 กรัม ในน้ำกลั่นประมาณ 250 มล.

1.2 เติมกรด 37% HCl 250 มล. ทิ้งไว้ให้เย็น

1.3 ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นใน volumetric flask 1,000 มล.

2. การเตรียมสารละลาย 0.2 % Lanthanum chloride

2.1 ดูดสารละลาย 5 % Lanthanum chloride จำนวน 40 มล. โดยใช้ volumetric pipette ใส่ใน volumetric flask ขนาด 1,000 มล. แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

3. การเตรียมสารละลาย standard Ca ที่มีความเข้มข้น 1,000 ppm และสารละลาย standard Ca ที่มีความเข้มข้น 100 ppm

ชั่ง $CaCO_3$ จำนวน 2.5250 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มล. เติม conc.HCl จำนวน 5 มล. แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มล. ด้วยน้ำกลั่นใน volumetric flask จะได้ standard Ca 1,000 ppm สำหรับ standard Ca 100 ppm เตรียมได้จากการดูดสารละลาย standard Ca 1,000 ppm จำนวน 10 มล. ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มล. แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

4. การเตรียมสารละลาย standard Mg ที่มีความเข้มข้น 1,000 ppm และสารละลาย standard Mg ที่มีความเข้มข้น 100 ppm

ชั่ง $MgSO_4.7H_2O$ จำนวน 1.0271 กรัม ใน volumetric flask ขนาด 100 มล. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น สำหรับ standard Mg ที่มีความเข้มข้น 100 ppm เตรียมได้จากการดูดสารละลาย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

standard Mg 1,000 ppm จำนวน 10 มล. ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มล. แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

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

เตรียม standard curve ของ Ca ที่มีความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ppm จากการดูดสารละลาย standard Ca 100 ppm มาจำนวน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 มล. ตามลำดับ ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มล. เติม H_2SO_4 1.88 M จำนวน 2 มล. ปรับปริมาตรด้วย 0.2 % Lanthanum chloride สำหรับ standard curve ของ Mg ที่มีความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ppm เตรียมจากดูดสารละลาย standard Mg 100 ppm มาจำนวน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 มล. ตามลำดับ ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มล. เติม H_2SO_4 1.88 M จำนวน 5 มล. ปรับปริมาตรด้วย 0.2 % Lanthanum chloride เขย่าแล้วนำไปอ่านด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer
Ca ที่ความยาวคลื่น 422.7 nm. และ Mg ที่ความยาวคลื่น 285.2 nm.

6. การหาปริมาณ Ca และ Mg

ดูดสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการย่อยมาจำนวน 1 มล. ใส่ใน volumetric flask ขนาด 50 มล. ปรับปริมาตรด้วย 0.2 % Lanthanum chloride เขย่าแล้วนำไปอ่านด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer เช่นเดียวกับ standard curve ในข้อที่ 5 แล้วนำมาคำนวณหาปริมาณ Ca และ Mg ดังสมการ

$$\text{Ca /Mg (ppm)} = \frac{C \times Vf \times Vd}{Va \times w}$$

เมื่อ C = ความเข้มข้น Ca /Mg ในตัวอย่างเมื่อเปรียบเทียบกับ standard curve

Vf = ปริมาตรสุดท้ายที่นำมาวิเคราะห์ (มล.)

Vd = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างทั้งหมดที่ได้จากการย่อย (มล.)

Va = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ (มล.)

W = น้ำหนักตัวอย่างพืชที่ใช้วิเคราะห์ (กรัม)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล นางสาวพิกุลทอง สุอนงค์

วัน เดือน ปี เกิด 12 มีนาคม 2526

ประวัติการศึกษา สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนต้นและตอนปลายจากโรงเรียนวัฒโนทัยพายัพ จังหวัดเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2543

สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต(เกษตรศาสตร์) สาขาปฐพีศาสตร์ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2548

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved