บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

วิธีการวิจัย

1. เครื่องมือและอุปกรณ์

1.1 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV – Visible Spectroscopy)

1.2 เครื่องวัดความถ่วงจำเพาะ (Hydrometer)

1.3 เครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้า (Electrical Conductivity, EC)

1.4 เครื่องวัดความเป็นกรด – เบส (pH meter)

1.5 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

1.6 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง

1.7 ตู้อบความร้อน

1.8 เครื่องเขย่า (Shaker)

1.9 เตาอบควบคุมความร้อน

1.10 โถดูดความชื้น

1.11 ตะแกรงร่อนขนาด 2.0 และ 0.5 มิลลิเมตร

1.12 กระดาษกรองเบอร์ 42

1.13 กรวยกรอง

1.14 เบ้ากระเบื้องพร้อมฝา ทรงเตี้ย

1.15 ถุงเพาะชำชนิดเจาะรู ขนาด 3 x7 นิ้ว

2. สารเคมี

2.1 น้ำกลั่นปราศจากไอออน (DI water)

2.2 สารละลายมาตรฐานแอมโมเนียม

2.3 สารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส

2.4 โพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 2 นอร์มอล (2 N KCl)

2.5 แอมโมเนียมโมลิบเดต (Ammonium Molydate)

2.6 แอนตีโมนีโพแทสเซียมทาร์เทต (Antimony Potassium Tartrate)

2.7 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2.8 กรดแอสคอบิก (Ascobic acid ; $C_6H_8O_6$)

2.9 กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid; H_2SO_4)

2.10 สารละลายบัฟเฟอร์ pH 7.0 และ 4.0 (Buffer Solution pH 7.0 และ 4.0)

2.11 โซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนตความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ($NaHCO_3$ 0.05 M)

2.12 แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl)

2.13 โซเดียมไนโตรปรัสไซด์ (Sodium nitroprusside)

2.14 โซเดียมซาลิไซเลต (Sodium salicylate)

2.15 โซเดียมไฮโปคลอไรต์ (Sodium hypochlorite)

การทดลองที่ 1 การปลูกโกงกางใบใหญ่ร่วมกับมูลไก่อัดเม็ด และปุ๋ยฟอสเฟต (ดัดแปลงวิธีของ Garg, Bhatnagra, Kalla, & Narula, 2001; Ravikumar et al., 2004)

1. **การคัดเลือกฝักโกงกางใบใหญ่**

คัดเลือกฝักโกงกางที่มีคุณภาพดี ไม่มีรอยของการถูกแมลงศัตรูพืชหรือเชื้อโรคเข้าทำลาย นำฝักไปวัดความยาวและชั่งน้ำหนักสด บันทึกข้อมูล

ภาพที่ 10 ฝักโกงกางใบใหญ่ที่นำมาทดลอง (ภาพโดย ชุติมา กิติสาร)

2. **การปลูกโกงกางใบใหญ่**

2.1 เตรียมดินที่จะนำมาทำการทดลอง โดยไปขุดมาจากบริเวณป่าชายเลนของศูนย์ศึกษาพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบน จ.จันทบุรี โดยดินที่ใช้เป็นดินทราย

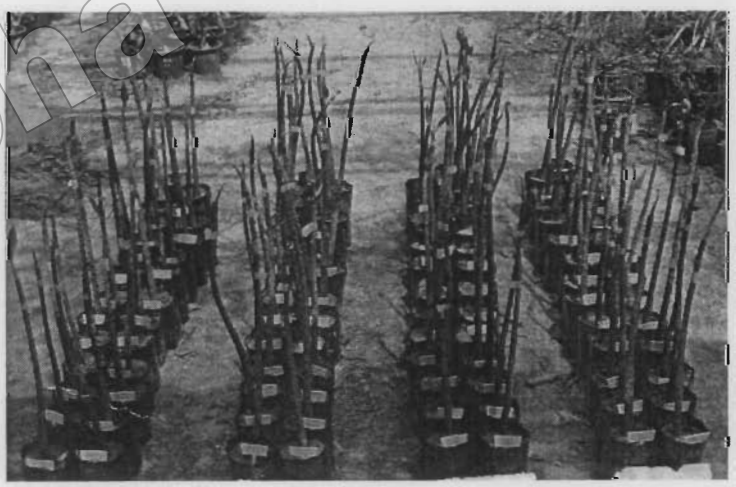
มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2.2 ปลูกโกงกางใบใหญ่ในถุงเพาะชำชนิดเจาะรู ขนาด 5 x7 นิ้ว โดยใส่ดินในถุงเพาะชำปริมาณ 5 กิโลกรัมต่อถุง ทำการทดลองละ 10 ต้น โดยเปรียบเทียบวิธีการทดลอง 8 วิธี ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ชุดการทดลอง

โกงกางใบใหญ่ที่รดด้วยน้ำจืด	โกงกางใบใหญ่ที่รดด้วยน้ำเค็ม
ชุด C1: ชุดควบคุม	ชุด C2: ชุดควบคุม
ชุด T1: ใส่มูลไก่อัดเม็ด 250 กิโลกรัมต่อไร่	ชุด T4: ใส่มูลไก่อัดเม็ด 250 กิโลกรัมต่อไร่
ชุด T2: ใส่ปุ๋ยฟอสเฟต 50 กิโลกรัมต่อไร่	ชุด T5: ใส่ปุ๋ยฟอสเฟต 50 กิโลกรัมต่อไร่
ชุด T3: ใส่มูลไก่อัดเม็ด 250 กิโลกรัมต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยฟอสเฟต 50 กิโลกรัมต่อไร่	ชุด T6: ใส่มูลไก่อัดเม็ด 250 กิโลกรัมต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยฟอสเฟต 50 กิโลกรัมต่อไร่

หมายเหตุ อัตราส่วนมูลไก่อัดเม็ด และปุ๋ยฟอสเฟตที่ใช้ในการทดลองมาจากฉลากของปุ๋ยที่ซื้อมา



ภาพที่ 11 ชุดการทดลอง (ภาพโดย ชุติมา กิติสาร)

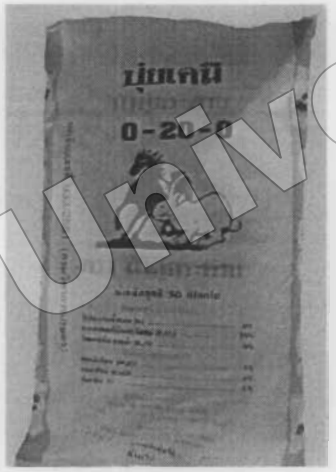
2.3 ทำการปลูกเป็นระยะเวลา 90 วัน

2.4 รดน้ำทุกวัน ถุงละ 100 มิลลิลิตรต่อดิน 1 กิโลกรัม โดยน้ำจืดเป็นน้ำที่มาจากน้ำประปา ส่วนน้ำเค็มนำมาจากน้ำทะเลที่แหลมเสด็จ จ.จันทบุรี ที่มีความเค็มประมาณ 32 พีพีที

2.5 การใส่มูลไก่อัดเม็ด และปุ๋ยฟอสเฟตจะใส่ในครั้งแรกที่ปลูก และทุก 30 วัน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาพที่ 12 มูลไก่อัดเม็ดที่ใช้ในการทดลอง (ภาพโดย ชุติมา กิติสาร)



ภาพที่ 13 ปุ๋ยฟอสเฟตที่ใช้ในการทดลอง (ภาพโดย ชุติมา กิติสาร)

2.6 ธาตุอาหารในมูลไก่อัดเม็ดประกอบด้วย

มูลไก่พันธุ์ไข่ 100% หมักยูเรีย (46-0-0) ระหว่างอัดเม็ดผสมแม่ปุ๋ย 21-0-0 (Ammonium sulfate) และแร่หินภูเขาไฟ (ซีโอไลท์)

2.7 ธาตุอาหารในปุ๋ยฟอสเฟตประกอบด้วย

ไนโตรเจน 0%

ฟอสฟอรัส 20%

โพแทสเซียม 0%

แมกนีเซียม 3%

แคลเซียม 5%

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

กำมะถัน 2%

การทดลองที่ 2 วัดการเจริญเติบโตของพืช

1. วัดความสูงของต้น (พิพัฒน์ พัฒนผลไพบูลย์ และชนิตา ปาลิยะวุฒิ, 2543) จะทำการวัดความสูงของพืชทุก 30 วัน โดยจะวัดสูงกว่าพื้นดินโคนต้น 1 เซนติเมตร ถึงระดับปลายยอด

2. น้ำหนักสดของผัก (ศรีสม สุวรรณวงศ์, 2547) ทำการวัดน้ำหนักสดของผักก่อนปลูกและเมื่อโกงกางใบใหญ่อายุครบ 90 วัน โดยทำการล้างดินออกจากรากให้สะอาด ทำการชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง

3. น้ำหนักแห้งของต้นและราก (ศรีสม สุวรรณวงศ์, 2547) จะทำการวัดน้ำหนักแห้งของพืชเมื่อปลูกครบ 90 วัน โดยนำไปอบที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 48 ชั่วโมง วางตัวอย่างในโถดูดความชื้น (Dessicator) เมื่อเย็นแล้วนำไปชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง

4. พื้นที่ใบ (ศรีสม สุวรรณวงศ์, 2547) ทำการวัดความยาวของใบจากโคนใบถึงปลายใบและวัดความกว้างของใบในส่วนที่กว้างที่สุด บันทึกค่าที่ได้และนำมาคำนวณหาพื้นที่ใบ

สูตรคำนวณหาพื้นที่ใบ

$$\text{พื้นที่ใบ (ตารางเซนติเมตร)} = c \times L \times w$$

เมื่อ c = ค่า correction factor คือ 0.667

L = ความยาวใบ (เซนติเมตร)

w = ความกว้างของใบ (เซนติเมตร)

5. การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ (Lichtenthaler, 1987)

วิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์โดยสกัดใบสดโกงกางด้วยอะซิโตน 80% เจาะใบด้วยที่เจาะกระดาษเป็นชิ้นเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.8 เซนติเมตร แช่ชิ้นส่วนใบ 5 ชิ้น ในอะซิโตน 80% ปริมาณ 5 มิลลิลิตร ที่บรรจุในหลอดทดลองปิดสนิท 24 ชั่วโมง วัดค่าดูดกลืน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

แสง (Absorbance) ที่ 663, 647 และ 470 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์จากสมการของ Lichtenthaler (1987) ดังนี้

$$\text{Chl } a \text{ (mg/g DW)} = 12.25A_{663} - 2.79A_{647}$$

$$\text{Chl } b \text{ (mg/g DW)} = 21.50A_{647} - 5.10A_{663}$$

$$\text{Total Chl (mg/g DW)} = 7.15A_{663} + 18.71A_{647}$$

$$\text{Carotenoids (mg/g DW)} = (1000A_{470} - 1.82C_a - 85.02C_b) / 198$$

เมื่อ A_{663} = ค่าที่วัดได้ของ absorbance ที่ความยาวคลื่น 663 นาโนเมตร

A_{647} = ค่าที่วัดได้ของ absorbance ที่ความยาวคลื่น 647 นาโนเมตร

A_{470} = ค่าที่วัดได้ของ absorbance ที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร

C_a = ค่าของ Chl *a*

C_b = ค่าของ Chl *b*

การทดลองที่ 3 การวิเคราะห์คุณสมบัติของดิน

เก็บตัวอย่างดินจากตัวอย่างจำนวน 3 ถุง (3 ซ้ำ) ของแต่ละชุดการทดลอง ก่อนปลูกต้นโกงกางใบใหญ่ และหลังจากปลูกตั้งแต่วันแรกที่ทำการปลูกต้นโกงกางใบใหญ่ และเก็บตัวอย่างดินทุก 2 สัปดาห์ จนครบ 90 วัน นำมาวิเคราะห์คุณสมบัติดิน ดังนี้

1. การวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียมโดยวิธี Colorimetric (ทัศนีย์ อัตตะนันทน์ และจงรักษ์ จันทร์เจริญสุข, 2542)

1.1 นำดิน 5 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 2 นอร์มอล ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่าสารละลาย (Shaker) เป็นเวลา 1ชั่วโมง จากนั้นนำไปกรองแล้วนำสารละลายที่ได้มาหาปริมาณแอมโมเนียม

1.2 นำสารละลายที่ได้จากการกรองในข้อ 1.1 มา 5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร เติมโซเดียมซาลิไซเลต และโซเดียมไฮโปคลอไรด์ปริมาตร 5 และ 3 มิลลิลิตร ตามลำดับ ปรับปริมาตรให้เป็น 25 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที

1.3 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร จากนั้นเปรียบเทียบกับค่ากราฟมาตรฐานแอมโมเนียม แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณแอมโมเนียม

การคำนวณหาปริมาณของแอมโมเนียมที่วิเคราะห์ได้เป็น mg/ kg ของดิน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

$$N\ (mg/kg) = \frac{Z \times Y \times \text{final vol. (ml)}}{\text{Aliquot used (ml)}}$$

โดยให้อัตราส่วนของสารละลาย : ดิน = Y

N (mg/ L) ที่อ่านได้จากกราฟมาตรฐาน= Z

2. การวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสในรูปที่มีประโยชน์ (Available phosphorus) ด้วยวิธีของ Bray II (ทัศนีย์ อัตตะนันทน์ และจงรักษ์ จันทร์เจริญสุข, 2542)

2.1 ชั่งดินตัวอย่าง 5 กรัม ที่ผ่านตะแกรงขนาด 0.5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร เติมสารละลาย Bray II ในอัตราส่วนของดินและน้ำยาสกัดเป็น 1 กรัม : 10 มิลลิลิตร

2.2 เขย่าดินด้วยมือกับน้ำยาสกัดเป็นเวลา 1 นาที แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42 เก็บไว้ในขวดรูปชมพู่ที่สะอาด ปิดจุกให้สนิท

2.3 นำสารละลายที่ได้จากข้อ 2.2 มา 5 มิลลิลิตร แล้วเติม Reagent B ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 10 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 882 นาโนเมตร จากนั้นเปรียบเทียบกับกราฟสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส

การคำนวณหาปริมาณของฟอสฟอรัสที่วิเคราะห์ได้เป็น mg/ kg ของดิน

$$P\ (mg/kg) = \frac{Z \times Y \times \text{final vol. (ml)}}{\text{Aliquot used (ml)}}$$

โดยให้อัตราส่วนของสารละลาย : ดิน = Y

P (mg/L) ที่อ่านได้จากกราฟมาตรฐาน= Z

3. การวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด – เบสของดิน ด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด – เบส (ทัศนีย์ อัตตะนันทน์ และจงรักษ์ จันทร์เจริญสุข, 2542)

3.1 ก่อนวัดค่าความเป็นกรด – เบส จำเป็นต้องสอบเทียบเครื่องวัดค่าความเป็นกรด –เบสด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.0 และ 4.0 ก่อน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

3.2 ชั่งดิน 10 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นที่ปราศจากไอออน 10 มิลลิลิตร เติมลงในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วคนดินและน้ำเข้ากันก่อนวัดประมาณ 30 นาที ในระหว่างที่วางทิ้งไว้ 30 นาที ควรคนดินเป็นครั้งคราว

4. การวัดปริมาณเกลือที่ละลายได้โดยการวัดค่าการนำไฟฟ้า (Electrical conductivity; EC) โดยการเตรียม 1:5 Extraction (ทัศนีย์ อัตตะนันทน์ และจงรักษ์ จันทร์เจริญสุข, 2542)

4.1 ชั่งดินที่ผ่านตะแกรงร่อนขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 มิลลิลิตร มา 10 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร

4.2 เติมน้ำกลั่นที่ปราศจากไอออน 50 มิลลิลิตร เขย่าเป็นเวลา 30 นาที ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที เพื่อให้ตกตะกอนแล้วนำน้ำใสที่ได้ไปวัดค่าการนำไฟฟ้า

5. การวิเคราะห์อินทรียวัตถุโดยวิธี Loss on ignition (ทัศนีย์ อัตตะนันทน์ และจงรักษ์ จันทร์เจริญสุข, 2542)

5.1 ชั่งดินที่ผ่านตะแกรงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร 10 กรัม ใส่ลงในเบ้ากระเบื้องพร้อมฝา อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำเบ้ากระเบื้องพร้อมฝาออกใส่ในโถดูดความชื้นทิ้งไว้จนเย็น นำเอาเบ้ากระเบื้องมาชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่งแล้วจดบันทึกไว้

5.3 นำดินไปอบอีกครั้งที่อุณหภูมิ 360 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อครบ 2 ชั่วโมง นำเอาเบ้ากระเบื้องมาชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่งแล้วจดบันทึกไว้

หมายเหตุ ชั่งน้ำหนักเบ้ากระเบื้องทุกใบที่ใช้เพื่อหักออกจากน้ำหนักที่ชั่งได้

การวิเคราะห์ปริมาณอินทรียวัตถุ (Organic matter; O.M.) โดยวิธี Loss on ignition

$$\%O.M. = \left(\frac{\text{น้ำหนักดินหลังอบที่อุณหภูมิ } 105^{\circ}\text{ C} - \text{น้ำหนักดินหลังอบที่อุณหภูมิ } 360^{\circ}\text{ C}}{\text{น้ำหนักดินหลังอบที่อุณหภูมิ } 105^{\circ}\text{ C}} \right) \text{ X } 1.15$$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

6. การวิเคราะห์เนื้อดินโดยใช้ Hydrometer (วิทยา ตรีโลเกศ, 2543)

6.1 นำดินแห้งซึ่งผ่านตะแกรงร่อนขนาด 200 มิลลิเมตรมา 20 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร แล้วเติม 30% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 5 มิลลิลิตร ปิดด้วยกระจกนาฬิกา แล้วนำไปอุ่นด้วยเครื่องทำความร้อนจนกระทั้งไม่มีฟองก๊าซเกิดขึ้น

6.2 เติมสารละลาย Calgon ลงไปในตัวอย่างดิน 20 มิลลิลิตร

6.3 เทตัวอย่างดินทั้งหมดลงในเครื่องปั่น แล้วเติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตร ทำการปั่นเป็นเวลาประมาณ 5 นาที

6.4 เทส่วนผสมของอนุภาคต่าง ๆ ลงในกระบอกตวงขนาด 1,000 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำลงไปปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

6.5 เติมสารละลาย Calgon 20 มิลลิลิตร ลงในกระบอกตวงขนาด 1,000 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำลงไปปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร เพื่อใช้เป็น Blank

6.6 เขย่าสารแขวนลอยดิน และ Blank โดยใช้ Plunger แล้วทิ้งไว้ให้ตกตะกอนเป็นเวลา 40 วินาที อนุภาคขนาด Sand จะตกตะกอนลงไปหมด จากนั้นใช้ Hydrometer วัดความหนาแน่นของอนุภาค Silt, Clay และ Calgon ในสารแขวนลอย 1,000 มิลลิลิตร ขณะเดียวกันวัดปริมาตรของ Calgon จาก Blank ด้วย จากนั้นวัดอุณหภูมิของสารแขวนลอย และ Blank

6.7 ทิ้งไว้ให้ตกตะกอนเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ซึ่งเป็นอนุภาคของ Sand และ Silt จะตกตะกอนจากนั้นใช้ Hydrometer วัดความหนาแน่นของอนุภาค Clay และ Calgon ในสารแขวนลอยนั้น ขณะเดียวกันวัดปริมาณของ Calgon จาก Blank ด้วยเสร็จแล้ววัดอุณหภูมิของสารแขวนลอยและ Blank และนำค่าที่ได้มาคำนวณหา %Sand , %Silt และ %Clay

การคำนวณคำนวณหา %Sand , %Silt และ %Clay

$$\%Sand = 100 - 100 / \text{น้ำหนักดิน} ((H_1 - C_1) + 0.36(T_1 - 20))$$

$$\%Clay = 100 / \text{น้ำหนักดิน} ((H_2 - C_2) + 0.36(T_2 - 20))$$

$$\%Silt = 100 - (\%Sand + \%Clay)$$

เมื่อ H_1 = ค่าที่อ่านได้จาก Hydrometer ของตัวอย่างดินที่เวลา 40 วินาที

H_2 = ค่าที่อ่านได้จาก Hydrometer ของตัวอย่างดินที่เวลา 2 ชั่วโมง

T_1 = ค่าอุณหภูมิที่อ่านได้จากดินตัวอย่างที่เวลา 40 วินาที

T_2 = ค่าอุณหภูมิที่อ่านได้จากดินตัวอย่างที่เวลา 2 ชั่วโมง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

$C_1 = a_1 - 0.5(T_1 - b_1)$

a_1 = ค่าที่อ่านได้จาก Hydrometer ของ Calgon ที่เวลา 40 วินาที

b_1 = ค่าอุณหภูมิที่อ่านได้จาก Calgon ที่เวลา 40 วินาที

$C_2 = a_2 - 0.5(T_2 - b_2)$

a_2 = ค่าที่อ่านได้จาก Hydrometer ของ Calgon ที่เวลา 2 ชั่วโมง

b_2 = ค่าอุณหภูมิที่อ่านได้จาก Calgon ที่เวลา 2 ชั่วโมง

7. ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในดิน (Karen, 2003; ภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศร, 2547)

7.1 นำตัวอย่างดินขนาด 1 กรัม มาเจือจางในน้ำกลั่นที่มีปริมาตร 9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตัวอย่างดินจะถูกเจือจางลง 10 เท่า คิดเป็นความเจือจาง 10^{-1}

7.2 จากนั้นใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดของเหลวจากข้อ 7.1 ออกไป 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันดี ดังนั้นดินตัวอย่างจะถูกทำให้เจือจางลงอีก 10 เท่า เป็น 1:100 หรือ 10^{-2}

7.3 จากนั้นใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดของเหลวจากข้อ 7.2 ออกไป 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันดี ดังนั้นดินตัวอย่างจะถูกทำให้เจือจางลงอีก 10 เท่า เป็น 1:1,000 หรือ 10^{-3}

7.4 จากนั้นใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดของเหลวจากข้อ 7.3 ออกไป 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันดี ดังนั้นดินตัวอย่างจะถูกทำให้เจือจางลงอีก 10 เท่า เป็น 1:10,000 หรือ 10^{-4}

7.5 จากนั้นใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดของเหลวจากข้อ 7.4 ออกไป 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันดี ดังนั้นดินตัวอย่างจะถูกทำให้เจือจางลงอีก 10 เท่า เป็น 1:100,000 หรือ 10^{-5}

7.6 ดูดน้ำจากหลอดแต่ละความเจือจางลงบนผิวอาหาร จานละ 0.1 มิลลิลิตร 3 จาน ต่อ 1 ความเจือจาง

7.7 ใช้แท่งแก้วรูปตัวแอลจุ่มแอลกอฮอล์ 95 % เผาไฟ เพื่อฆ่าเชื้อที่แท่งแก้ว เกลี่ยให้น้ำกระจายทั่วผิวหน้าอาหาร ทิ้งไว้สักครู่ ให้ผิวหน้าอาหารแห้ง

7.8 นำจานอาหารไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

7.9 นำจานอาหารที่มีเชื้อเจริญอยู่มานับจำนวนโคโลนี

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การคำนวณหาจำนวนแบคทีเรียกลุ่มทั้งหมดในดิน

จำนวนแบคทีเรีย (CFU/ g) = ค่าเฉลี่ยของจำนวนแบคทีเรีย × dilution factor × 10

การวิเคราะห์ทางสถิติ

โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely randomized block desing และวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ Analysis of variance (ANOVA) โดยใช้ One – way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ในกรณีที่ปฏิเสธสมมติฐานหลักจะทำการเปรียบเทียบเชิงซ้อน คือ Duncan's multiple range tests และรายงานผลโดยใช้ค่า ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University