ภาคผนวก ก

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 1 ผลการทดสอบความแตกต่างของ pH ของดินชุดควบคุม บ่อกุ้งอายุ 3 ปี และบ่อกุ้งอายุ 5 ปี

แหล่งความแปรปรวน	df	Sum of Square	Mean Square	F - value	Sig
ระหว่างกลุ่ม	2	26.272	13.136	38.832	.000
ภายในกลุ่ม	16	5.412	.338		
รวม	18	31.684			

ตารางผนวกที่ 2 การเปรียบเทียบความแตกต่างของ pH เป็นรายคู่ (แสดงในกรณีที่มีความแตกต่างอย่างมี นัยสำคัญ)

pH	Mean	ดินชุดควบคุม	บ่ออายุ 3 ปี	บ่ออายุ 5ปี
ดินชุดควบคุม	4.00	-	2.97*	2.98*
บ่ออายุ 3 ปี	6.79	-	-	0.19
บ่ออายุ 5ปี	6.98	-	-	-

ตารางผนวกที่ 3 การทดสอบความแตกต่างของ EC ของดินชุดควบคุม บ่อกุ้งอายุ 3 ปี และบ่อกุ้งอายุ 5 ปี

แหล่งความแปรปรวน	df	Sum of Square	Mean Square	F - value	Sig
ระหว่างกลุ่ม	2	1.313	.657	1.029	.380
ภายในกลุ่ม	16	10.208	.638		
รวม	18	11.521			

ตารางผนวกที่ 4 การทดสอบความแตกต่างของ OM ของดินชุดควบคุม บ่อกุ้งอายุ 3 ปี และบ่อกุ้งอายุ 5 ปี

แหล่งความแปรปรวน	df	Sum of Square	Mean Square	F - value	Sig
ระหว่างกลุ่ม	2	107.835	53.918	1.632	.23
ภายในกลุ่ม	16	528.480	33.030		
รวม	18	636.315			

ตารางผนวกที่ 5 การทดสอบความแตกต่างของ TKN ของดินชุดควบคุม บ่อกุ้งอายุ 3 ปี และบ่อกุ้งอายุ 5 ปี

แหล่งความแปรปรวน	df	Sum of Square	Mean Square	F - value	Sig
ระหว่างกลุ่ม	2	.104	.052	2.306	.13
ภายในกลุ่ม	16	.362	.023		
รวม	18	.466			

ตารางผนวกที่ 6 การทดสอบความแตกต่างของ C/N ratio ของดินชุดควบคุม บ่อกุ้งอายุ 3 ปี และบ่อกุ้ง อายุ 5 ปี

แหล่งความแปรปรวน	df	Sum of Square	Mean Square	F - value	Sig
ระหว่างกลุ่ม	2	55.052	27.526	.479	.628
ภายในกลุ่ม	16	919.054	57.441		
รวม	18	974.105			

ตารางผนวกที่ 7 การทดสอบความแตกต่างของ ammonium ของดินชุดควบคุม บ่อกุ้งอายุ 3 ปี และบ่อ กุ้งอายุ 5 ปี

แหล่งความแปรปรวน	df	Sum of Square	Mean Square	F - value	Sig
ระหว่างกลุ่ม	2	313.260	156.630	13.369	.00
ภายในกลุ่ม	16	187.459	11.716		
รวม	18	500.719			

ตารางผนวกที่ 8 การเปรียบเทียบความแตกต่างของ ammonium เป็นรายคู่ (แสดงในกรณีที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ)

Ammonium	Mean	ดินชุดควบคุม	บ่ออายุ 3 ปี	บ่ออายุ 5ปี
ดินชุดควบคุม	.0475	-	.00	.048*
บ่ออายุ 3 ปี	10.7554	-	-	.045*
บ่ออายุ 5ปี	5.8833	-	-	-

ตารางผนวกที่ 9 การทดสอบความแตกต่างของ nitrite ของดินชุดควบคุม บ่อกุ้งอายุ 3 ปี และบ่อกุ้งอายุ 5 ปี

แหล่งความแปรปรวน	df	Sum of Square	Mean Square	F - value	Sig
ระหว่างกลุ่ม	2	309.282	154.641	.70	.52
ภายในกลุ่ม	16	3581.790	223.862		
รวม	18				

ตารางผนวกที่ 10 การทดสอบความแตกต่างของ nitrate ของดินชุดควบคุม บ่อกุ้งอายุ 3 ปี และบ่อกุ้ง อายุ 5 ปี

แหล่งความแปรปรวน	df	Sum of Square	Mean Square	F - value	Sig
ระหว่างกลุ่ม	2	2285.287	1142.644	.46	.64
ภายในกลุ่ม	16	39617.093	2476.068		
รวม	18				

ตารางผนวกที่ 11 ผลการทดสอบความแตกต่างของปริมาณ TBC ในดินชั้นบน (0 – 5 เซนติเมตร) และ ดินชั้นล่าง (> 5 – 10 เซนติเมตร) ของดินแต่ละกลุ่ม

กลุ่ม	ชั้นดิน	จำนวน	SD	p value
ดินชุดควบคุม	บน	4	1063378	.95
	ล่าง	4	847905	
บ่ออายุ 3 ปี	บน	8	941251	.56
	ล่าง	8	2864292	
บ่ออายุ 5 ปี	บน	7	1188855	.25
	ล่าง	7	4586809	

ตารางผนวกที่ 12 ผลการทดสอบความแตกต่างของปริมาณ ammonifiers ในดินชั้นบน (0 – 5 เซนติเมตร) และดินชั้นล่าง (> 5 – 10 เซนติเมตร) ของดินแต่ละกลุ่ม

กลุ่ม	ชั้นดิน	จำนวน	SD	p value
ดินชุดควบคุม	บน	4	691604	.38
	ล่าง	4	6133	
บ่ออายุ 3 ปี	บน	8	230447	.44
	ล่าง	8	54525	
บ่ออายุ 5 ปี	บน	7	240276	.80
	ล่าง	7	228516	

ตารางผนวกที่ 13 ผลการทดสอบความแตกต่างของปริมาณ AOB ในดินชั้นบน (0 – 5 เซนติเมตร) และ ดินชั้นล่าง (> 5 – 10 เซนติเมตร) ของดินแต่ละกลุ่ม

กลุ่ม	ชั้นดิน	จำนวน	SD	p value
ดินชุดควบคุม	บน	4	28.28	.63
	ล่าง	4	51.96	
บ่ออายุ 3 ปี	บน	8	91.98	.47
	ล่าง	8	80.30	
บ่ออายุ 5 ปี	บน	7	54.68	.25
	ล่าง	7	6.82	

ตารางผนวกที่ 14 ผลการทดสอบความแตกต่างของปริมาณ NOB ในดินชั้นบน (0 – 5 เซนติเมตร) และ ดินชั้นล่าง (> 5 – 10 เซนติเมตร) ของดินแต่ละกลุ่ม

กลุ่ม	ชั้นดิน	จำนวน	SD	p value
ดินชุดควบคุม	บน	4	-	-
	ล่าง	4	-	
บ่ออายุ 3 ปี	บน	8	0.134	.17
	ล่าง	8	0.0	
บ่ออายุ 5 ปี	บน	7	0.142	.17
	ล่าง	7	0.0	

ตารางผนวกที่ 15 ผลการทดสอบความแตกต่างของปริมาณ denitrifiers ในดินชั้นบน (0 – 5 เซนติเมตร) และดินชั้นล่าง (> 5 – 10 เซนติเมตร) ของดินแต่ละกลุ่ม

กลุ่ม	ชั้นดิน	จำนวน	SD	p value
ดินชุดควบคุม	บน	4	15.0	.75
	ล่าง	4	25.0	
บ่ออายุ 3 ปี	บน	8	235.06	.54
	ล่าง	8	94.91	
บ่ออายุ 5 ปี	บน	7	255.72	.71
	ล่าง	7	473.22	

ตารางผนวกที่ 16 ผลการทดสอบความแตกต่างของปริมาณ azotobacteraceae ในดินชั้นบน (0 – 5 เซนติเมตร) และดินชั้นล่าง (> 5 – 10 เซนติเมตร) ของดินแต่ละกลุ่ม

กลุ่ม	ชั้นดิน	จำนวน	SD	p value
ดินชุดควบคุม	บน	4	19139.63	.38
	ล่าง	4	282491.11	
บ่ออายุ 3 ปี	บน	8	440518.85	.49
	ล่าง	8	942543.82	
บ่ออายุ 5 ปี	บน	7	193630.46	.25
	ล่าง	7	959959.33	

ภาคผนวก ข

ระดับความเป็นกรด-ด่างของดิน

ระดับ	ค่าของ pH
ปฏิกิริยาเป็นกรดจัดมาก	4.5
ปฏิกิริยาเป็นกรด	4.5 – 5.0
ปฏิกิริยาเป็นกรดแก่	5.1 – 5.5
ปฏิกิริยาเป็นกรดปานกลาง	5.6 – 6.0
ปฏิกิริยาเป็นกรดเล็กน้อย	6.0 – 6.5
ปฏิกิริยาเป็นกลาง	6.6 – 7.3
ปฏิกิริยาเป็นด่างอย่างอ่อน	7.4 – 7.8
ปฏิกิริยาเป็นด่างปานกลาง	7.9 – 8.4
ปฏิกิริยาเป็นด่างแก่	8.5 – 9.0
ปฏิกิริยาเป็นด่างแก่มาก	9.0

ที่มา : กรมพัฒนาที่ดิน, 2536

ภาคผนวก ค

วิธีการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

การวิเคราะห์สมบัติทางเคมี-กายภาพ

1. ความเป็นกรด-ด่าง (pH) (Thomas, 1996)

การเตรียมสารเคมี

สารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) 1 โมลาร์ : ละลาย KCl 74.56 กรัม ลงในน้ำ deionized และปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

วิธีการ

ชั่งตัวอย่างตะกอนดินประมาณ 10 กรัม เติมสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ 1 โมลาร์ 50 มิลลิลิตร กวนให้เนื้อตะกอนดินผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ทิ้งไว้ประมาณ 20 – 30 นาที จึงใช้ pH meter วัดค่า pH ในส่วนที่เป็นน้ำใส (supernatant)

2. การนำไฟฟ้า (electrical conductivity)

ชั่งตะกอนดิน 5.0 กรัม ใส่ในหลอดเหวี่ยงพลาสติก เติมน้ำ deionized ลงไป 25 มิลลิลิตร ปิดฝาและเขย่าด้วยมือ ทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นำไปวัดค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายโดยใช้เครื่อง conductivity meter โดยจุ่มอิเล็กโทรดลงในสารละลายใส

3. ความชื้นในดิน (Moisture content)

ชั่ง moisture can พร้อมฝา (ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 1 ชม.) บันทึกน้ำหนักไว้ ชั่งดินประมาณ 10-20 กรัม ใส่ใน moisture can บันทึกน้ำหนักไว้ แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 คืน โดยเปิดฝา moisture can ไว้เล็กน้อย นำออกจากตู้อบใส่ในโถดูดความชื้น (desicator) ให้อุณหภูมิลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้อง แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก

<u>การคำนวณ</u>

$$\% \text{ Moisture Content} = \frac{\text{(น้ำหนักดินเปียก – น้ำหนักดินแห้ง)}}{\text{น้ำหนักดินแห้ง}} \times 100$$

4. แอมโมเนียม (NH_4-N)

ก่อนทำการวิเคราะห์จะต้องนำน้ำตัวอย่างมาละลายโดยทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง จนน้ำแข็งละลายหมด

การเตรียมสารเคมี

1. สารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมซัลเฟต : $(NH_4)_2SO_4$

- อบแอมโมเนียมซัลเฟตที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น
- ชั่งแอมโมเนียมซัลเฟตที่อบแล้ว 0.6607 กรัม ละลายด้วยน้ำ deionized ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร
- เติมคลอโรฟอร์ม 0.2 มิลลิลิตร เพื่อรักษาสภาพ สารละลายนี้จะมีอายุการใช้งาน 6 เดือน เมื่อเก็บในตู้เย็น

2. สารละลายฟีนอล

- ชั่งฟีนอล 10 กรัม ละลายใน 95% เอทธิลแอลกอฮอล์ 100 มิลลิลิตร ใส่ในขวดสีชา เก็บในตู้เย็น มีอายุการใช้งาน 2 สัปดาห์

3. สารละลายออกซิไดซ์ซิ่ง

- ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 1.6 กรัม ละลายในน้ำกลั่น เติมกรดไดคลอโรไอโซไซยานูริค (Dichloroisocyanuric acid sodium salt) 0.2 กรัม (1)
- ชั่งไตรโซเดียมซิเตรท ($C_6H_5Na_3O_7.2H_2O$) 20 กรัม ละลายในน้ำกลั่น (2)
- นำ (1) และ (2) มาผสมกัน ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ใส่ในขวดสีชา เก็บในตู้เย็น มีอายุการใช้งาน 2 สัปดาห์

4. สารละลายโซเดียมไนโตรพลัสไซด์

ชั่งโซเดียมไนโตรพลัสไซด์ 0.5 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ใส่ในขวดสีชา เก็บในตู้เย็น มีอายุการใช้งาน 2 สัปดาห์

วิธีการวิเคราะห์

1. ดูดน้ำตัวอย่าง ใส่หลอดทดลอง หลอดละ 10 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลายฟีนอล 0.4 มิลลิลิตร เขย่า
3. เติมสารละลายออกซิไดซ์ซิ่ง 1.0 มิลลิลิตร
4. เติมสารละลายโซเดียมไนโตรพลัสไซด์ 0.4 มิลลิลิตร ปิดฝา เขย่า
5. นำไปอุ่นในอ่างน้ำร้อน อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที
6. นำขึ้นมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็น
7. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร

โดยใช้น้ำ deionized เป็น reference solution ค่าที่ได้ทำการหักค่าการดูดกลืนแสงของความขุ่นของน้ำ deionized นำไปเทียบกับกราฟมาตรฐานที่เตรียมจากแอมโมเนียมซัลเฟต $(NH_4)_2SO_4$

น้ำทะเล ควรมีค่า ABS = 0.1069

$(NH_4)SO_4$ working standard = 0.9445

สัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสงของ $(NH_4)SO_4$ working standard ที่ความเข้มข้น 50 µg at NL^{-1} ควรมีค่าใกล้เคียง 1.8×10^4

$$\frac{ABS_{50\mu g} - ABS_{0\mu g}}{Conc_{ws}} = \frac{0.9445 - 0.069}{50 \times 10^{-6}}$$

<u>การคำนวณ</u>

หาปริมาณแอมโมเนียมในสารละลายตัวอย่างแต่ละหลอด ที่นำไปวัดค่า ABS โดยวิธีการดังนี้

1) หาสมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอมโมเนียม (Y) และ ABS (X) ของสารละลายมาตรฐานทั้งสมการเส้นตรงและสมการควอร์ดาทิก (Quardatic) ซึ่งเป็นสมการโปลีโนเมียล (Polynomial) ยกกำลังสอง แล้วเลือกใช้สมการที่มีค่าสัมประสิทธ์ของตัวกำหนด (coefficient of determination หรือ R-square : R^2) ที่สูงกว่า เพื่อทำนายปริมาณแอมโมเนียม

2) นำค่า ABS ของตัวอย่างไปแทนค่าในสมการที่เลือกจากข้อ 2 ก็จะทราบแอมโมเนียมในแต่ละหลอดในสารละลายตัวอย่างที่วัด

3) คำนวณปริมาณแอมโมเนียมในสารที่สกัดได้และคำนวณความเข้มข้นของแอมโมเนียมในดินในหน่วยมิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง (mg/kg dry weight) ซึ่งสมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอมโมเนียม (Y)และ ABS (X) ที่ได้ คือ

$$\mathbf{Y = 0.8935X} \qquad (\text{ค่า } R^2 = 0.9805)$$

เมื่อ **Y** คือ ปริมาณแอมโมเนียม(mg/L)

X คือ ค่า ABS ของตัวอย่าง

วิธีคำนวณความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจนในดินในหน่วยมิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (mg/kg)

เมื่อได้ค่าความเข้มข้นของ NH_4-N มาแล้ว สมมติแทนค่า เป็น **C** (หน่วยเป็น mg/L)
หมายถึง ในน้ำตัวอย่าง 1,000 มิลลิลิตร มี NH_4-N **C** มิลลิกรัม
ถ้าน้ำตัวอย่าง 200 มิลลิลิตร มี NH_4-N เท่ากับ $\mathbf{C} \times \frac{200}{1000}$ มิลลิกรัม

ซึ่งน้ำตัวอย่าง 200 มิลลิลิตร ได้มาจากการสกัดตะกอนดิน **W** กรัม
นั่นคือ ตัวอย่างตะกอนดินที่นำมาสกัด **W** กรัม มี NH_4-N เท่ากับ $\mathbf{C} \times \frac{200}{1000}$ mg/L
แต่ต้องคิดเทียบแอมโมเนียมต่อน้ำหนักแห้งของตะกอนดิน
ซึ่งตะกอนดินเปียก 100 กรัม มีน้ำหนักแห้งเท่ากับ (100-**D**) กรัม
(เมื่อ **D** คือ เปอร์เซ็นต์ ความชื้นของดิน)
ถ้าตะกอนดินเปียกหนัก **W** กรัม มีน้ำหนักแห้งเท่ากับ $\frac{(100-\mathbf{D}) \times \mathbf{W}}{100}$ กรัม
ดังนั้น ตะกอนดินแห้งหนัก $\frac{(100-\mathbf{D}) \times \mathbf{W}}{100}$ กรัม มี NH_4-N เท่ากับ $\mathbf{C} \times \frac{200}{1000}$ mg/L
ถ้าตะกอนดินแห้ง หนัก 1,000 กรัม มี NH_4-N เท่ากับ $\frac{\mathbf{C} \times 200 \times 100}{(100 - \mathbf{D}) \times \mathbf{W}}$ mg/kg dry weight

5. ไนไตรท์ โดยวิธี Diazotization (Bendscheneider & Robinson, 1952)

การเตรียมสารเคมี

สารละลายมาตรฐานโซเดียมไนไตรท์ (Sodium nitrite : $NaNO_2$)

อบโซเดียมไนไตรท์ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งโซเดียมไนไตรท์ที่อบแล้ว 0.345 กรัม ละลายในน้ำ deionized ปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตรเติมคลอโรฟอร์ม (chloroform) 0.2 มิลลิลิตร เพื่อรักษาสภาพ ใส่ในขวดสีชา เก็บไว้ในตู้เย็น มีอายุการใช้งาน 2 เดือน

สารละลายซัลฟานิลาไมด์ (Sulfanilamide solution)

ชั่งซัลฟาไนลาไมด์ 2.0 กรัม ละลายในน้ำ deionized เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (Conc. HCl) 20 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 200 มิลลิลิตร ใส่ในขวดสีชา เก็บไว้ในตู้เย็น มีอายุการใช้งาน 6 เดือน

สารละลายเอ็นอีดี [N-(1Nephthyl) ethylene diamine dihydrogenchloride]

ชั่ง [N-(1Nephthyl) ethylene diamine dihydrogenchloride (NED)] 0.2 กรัม ละลายในน้ำ deionized ปรับปริมาตรให้ได้ 200 มิลลิลิตร ใส่ในขวดสีชา เก็บไว้ในตู้เย็น มีอายุการใช้งาน 1 เดือน (ถ้าสารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลให้เตรียมใหม่)

วิธีเตรียม Working standard solution และ Blank

การวิเคราะห์หาไนไตรท์ ดูดน้ำตัวอย่างที่ผ่านการกรองแล้ว 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดแก้ว เติมสารละลายซัลฟาไนลาไมด์ 0.2 มิลลิลิตร เขย่า ตั้งทิ้งไว้ 2-8 นาที เติมสารละลายเอ็นอีดี 0.2 มิลลิลิตร ปิดฝา เขย่า ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที ถึง 2 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 543 นาโนเมตร

<u>การคำนวณ</u> ทำนองเดียวกับกรณีของการวิเคราะห์แอมโมเนียไนโตรเจนในดินโดยวิธีวัดค่าการดูดกลืนแสง ซึ่งสมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนไตรท์ไนโตรเจน (Y) และ Abs (X) ที่ได้ คือ

$$\mathbf{Y = 3.2443X} \qquad (\text{ค่า } R^2 = 0.9994)$$

เมื่อ **Y** คือ ปริมาณไนไตรท์ไนโตรเจน (mg/L)

X คือ ค่า Abs ของตัวอย่าง

6. ไนเตรท วิเคราะห์ไนเตรทโดยนำตัวอย่างน้ำผ่าน Cadmium Reduction Column แล้ววิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในรูปของไนไตรท์โดยใช้วิธี Diazotization

<u>การคำนวณ</u> ทำนองเดียวกับกรณีของการวิเคราะห์แอมโมเนียไนโตรเจนและไนไตรท์ไนโตรเจนในดินโดยวิธีวัดค่าการดูดกลืนแสง ซึ่งสมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนเตรทไนโตรเจน (Y) และ Abs (X) ที่ได้คือ

$$\mathbf{Y = 2.7491X} \qquad (\text{ค่า } R^2 = 0.9979)$$

เมื่อ **Y** คือ ปริมาณไนเตรทไนโตรเจน (mg/L)

X คือ ค่า Abs ของตัวอย่าง

7. การเตรียมตัวอย่างตะกอนดินก่อนการวิเคราะห์อินทรียวัตถุและอินทรีย์คาร์บอน

นำตัวอย่างตะกอนดินมาผึ่งลมหรืออบในตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนแห้ง บดตัวอย่างตะกอนดินด้วยโกร่งบดดิน ร่อนดินผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิลิตร เก็บส่วนที่ผ่านตะแกรง (ขนาดเล็กกว่า 2 มิลลิลิตร) ไว้ในภาชนะมีฝาปิด พร้อมทั้งปิดป้ายหมายเลข

8. การวิเคราะห์อินทรียวัตถุและอินทรีย์คาร์บอน

การเตรียมสารเคมี

$K_2Cr_2O_7$ 1.0 N เตรียมโดย ละลาย $K_2Cr_2O_7$ 49.07 กรัม (ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 3 ชม.) ในน้ำ deionized แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

conc. H_2SO_4

$Fe(NH_4)_2(SO_4)_2.6H_2O$ 0.5 N เตรียมโดยละลาย $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2.6H_2O$ 196.07 กรัม ในน้ำ deionized เติม conc. H_2SO_4 15 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

1, 10-phenanthroline ferrous sulfate indicator (ferrion) เตรียมโดยละลาย 1, 10-phenanthroline 1.485 กรัม และ $FeSO_4.7H_2O$ 0.695 กรัม ในน้ำ deionized 100 มิลลิลิตร

วิธีการวิเคราะห์

ชั่งดิน 0.5 – 2 กรัม ใส่ใน erlenmayer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมสารละลาย 1.0 N $K_2Cr_2O_7$ 10 มิลลิลิตร โดยใช้ปิเปต เขย่าให้เข้ากัน เติม conc. H_2SO_4 15 มิลลิลิตร เขย่า วางทิ้งไว้ 30 นาที จากนั้นเติมน้ำกลั่นประมาณ 75 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันอีกครั้ง หยด indicator (ferrion) ลงไป 3 – 4 หยด นำไปไตเตรทด้วยสารละลาย Fe_2^+ จนกระทั่งสีของสารแขวนลอย ค่อยๆ เปลี่ยนเป็นสีเขียวและเขียวเข้ม ค่อยๆ ไตเตรตสารละลาย Fe_2^+ ลงไปทีละหยด จนสารแขวนลอยเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดงและทำ Blank ด้วย

<u>การคำนวณ</u>

หาความเข้มข้นที่แท้จริงของสารละลาย Fe^{+2}

$N_1V_1 = N_2V_2$

$N_1 = 1.0 \times 10 / V_1$

โดยที่ N_1 = ความเข้มข้นของสารละลาย Fe_2^+ (1 นอร์มัล)

V_1 = ปริมาตรของสารละลายFe_2^+ที่ใช้ไตเตรทBlank (มิลลิลิตร)

N_2 = ความเข้มข้นของสารละลาย $K_2Cr_2O_7$ (1 นอร์มัล)

V_2 = ปริมาตรของสารละลาย $K_2Cr_2O_7$(10 มิลลิลิตร)

% Organic Carbon = $\{(N_2 \times V_2) - (N_1 \times V_1)\}$ x 0.399 x mcf / soil wt

= $\{(1.0 \times 10) - (N_1 \times V_1)\}$ x 0.399 x mcf / soil wt

% Organic Matter = $\{(1.0 \times 10) - (N_1 \times V_1)\}$ x 0.6717 x mcf / soil wt

= % Organic Carbon x 1.724

9. การวิเคราะห์ Total Kjeldahl Nitrogen

การเตรียมสารเคมี

กรดย่อย เตรียมโดยละลาย salicylic acid 2.5% ใน conc. H_2SO_4 (98%)

Kjeldahl Catalyst tablets-selenium

1 tablet : 1 g Na_2SO_4 + 1.0 mg Se or 1.5 g K_2SO_4 + 0.0075 g Se

Mix indicator เตรียมโดย ละลาย methyl red 0.066 กรัม และ bromocresol green 0.099 กรัม ใน ETOH ปรับสีเป็นสีเขียวเข้ม (pH ประมาณ 4.2) ด้วย 0.1 N NaOH จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตรด้วย ETOH

สารละลาย H_3BO_3- indicator เตรียมโดย ละลาย H_3BO_3 80 กรัม ในน้ำ Deionized ประมาณ 1,800 มิลลิลิตร ให้ความร้อนบน hot plate จนละลายหมด แล้วเติม Mix indicator จนได้สารละลายสีชมพู ปรับปริมาตรเป็น 2 ลิตร

NaOH 40% เตรียมโดย ละลาย NaOH (commercial grade) 2 กิโลกรัมในน้ำ deionized 5 ลิตร (เตรียมในตู้ควันโดยใช้น้ำหล่อ)

Sodium thiosulphate ($Na_2S_2O_3.5H_2O$)

น้ำมันก๊าด

สารละลายมาตรฐาน 0.05 N H_2SO_4 เตรียมโดย ปิเปต conc. H_2SO_4 1.36 มิลลิลิตรใส่ใน volumetric flask ขนาด 1,000 มิลลิลิตร(ซึ่งมีน้ำอยู่ประมาณ 800 มิลลิลิตร) ปรับปริมาตรด้วยน้ำ deionized

วิธีการวิเคราะห์

ชั่งดิน 1 กรัม ใส่ใน kjeldahl tube ขนาด 100 มิลลิลิตร ใส่ลูกแก้ว (glass bead) ลงใน tube ประมาณ 5-6 เม็ด ใส่ catalyst 1 เม็ด แล้วเติมกรดย่อย 5 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่อง mixer ให้เข้ากันดี วางทิ้งไว้ 15 นาที เติม $Na_2S_2O_3.5H_2O$ ประมาณ 0.5 กรัม (ช้อนตักสารขนาดเล็ก) เขย่าด้วย mixer แล้ววางทิ้งไว้อย่างน้อย 2 ชม. หยดน้ำมันก๊าด 2-3 หยด แล้วทำการย่อยจนสารละลายใสและดินเป็นสีขาว หลังจากย่อยเสร็จ ปล่อยให้ tube เย็นลงเท่าอุณหภูมิห้อง แล้วใช้น้ำ deionized ฉีดล้างข้าง tube ประมาณ 15 มิลลิลิตร เขย่าด้วย mixer กลั่นสารละลายตัวอย่าง โดยใส่ tube เข้ากับเครื่องกลั่น ตวงสารละลาย H_3BO_3- indicator 25 มิลลิลิตร ใส่ใน erlenmayer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปวางใต้

ก้านคอนเดนเซอร์โดยให้ก้านคอนเดนเซอร์จุ่มลงในสารละลาย เพื่อรองรับ NH_3 ที่ได้จากการกลั่น เติม NaOH ลงใน tube ประมาณ 50 มิลลิลิตร ทำการกลั่นประมาณ 5 นาที ให้ได้สารละลายใน erlenmayer flask ประมาณ 150 มิลลิลิตรและสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีเขียว ไตเตรทสารละลายที่รับได้ใน erlenmayer flask ด้วย 0.05 N H_2SO_4 จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพู บันทึกปริมาตรของกรดที่ใช้ในการไตเตรท และทำ blank

<u>การคำนวณ</u>

$$\% N = (a - b) \times N\ H_2SO_4 \times 1.4 / \text{soil wt.} \times mcf$$

โดยที่ a = ปริมาตร H_2SO_4 ที่ใช้ไตเตรทสารละลายตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

b = ปริมาตร H_2SO_4 ที่ใช้ไตเตรท blank (มิลลิลิตร)

การวิเคราะห์แบคทีเรียในวัฏจักรไนโตรเจน

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและน้ำยาทดสอบ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ

Nitrite-formation medium

$(NH_4)_2SO_4$	2.0	กรัม
K_2HPO_4	1.0	กรัม
$MgSO_4$	0.5	กรัม
$FeSO_4$	0.4	กรัม
$CaCO_3$	5.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดด้วยความร้อน บรรจุหลอดทดสอบ ฆ่าเชื้อโดย autoclave 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

Nitrate-formation medium

$NaNO_2$	1.0	กรัม
K_2HPO_4	1.0	กรัม
$MgSO_4$	0.3	กรัม
Na_2CO_3	1.0	กรัม
NaCl	1.0	กรัม
FeSO4	0.4	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดด้วยความร้อน บรรจุหลอดทดสอบ ฆ่าเชื้อโดย autoclave 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

Nitrate broth

Beef extract	3.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
KNO_3	1.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดด้วยความร้อน บรรจุหลอดทดสอบซึ่งมี Durham tube ฆ่าเชื้อโดย autoclave 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. น้ำยาทดสอบ

Nessler' s reagent

- ละลาย KI 3.5 กรัม ในน้ำกลั่น 15 มิลลิลิตร เป็นสารละลาย ก.

- ละลาย $HgCl_2$ 1.7 กรัม ในน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร เป็นสารละลาย ข.

- ละลาย NaOH 12 กรัม ในน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตรเป็นสารละลาย ค.

- ค่อยๆ เติมสารละลาย ข. ลงในสารละลาย ก. พร้อมทั้งเขย่าไปด้วย จนกระทั่งเกิดตะกอนสีแดงอย่างถาวร (สารละลาย ข. ยังคงเหลืออยู่) จากนั้นเติมสารละลาย ค. ลงไป แล้วเจือจางให้สารละลายทั้งหมดมีปริมาตร 100 มิลลิลิตร ค่อยๆ เติมสารละลาย ข. ที่เหลือลงไปจนเกิดตะกอนขุ่นขึ้นเล็กน้อย วางทิ้งไว้ให้ใส รินเอาส่วนใสมาบรรจุขวดปิดจุกยาง

Sulfanilic acid 1%

Sulfanilic acid	0.8	กรัม
Acetic acid 5 N	100.0	มิลลิลิตร

ละลาย sulfanilic acid ใน acetic acid ผสมให้เข้ากันดี

□ - Naphthylamine

□- Naphthylamine	5.0	กรัม
Sulfuric acid conc.	8.0	มล.
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

เติมกรดซัลฟูริกลงในน้ำกลั่น ผสมให้เข้ากันดี เติม ∝– naphthylamine ลงไป เขย่าให้เข้ากัน

Diphenylamine reagent

Diphenylamine	0.7	กรัม
Sulfuric acid conc.	60.0	มล.
HCl	11.3	มล.
น้ำกลั่น	29.0	มิลลิลิตร

ละลาย diphenylamine ลงใน Sulfuric acid จากนั้นค่อยๆ เทลงในน้ำกลั่น ทิ้งไว้ให้เย็น เติม HCl ลงไปช้าๆ ทิ้งไว้ข้ามคืนก่อนใช้

ภาคผนวก ง

ตาราง MPN

Quantitative determination of microorganisms

Table for analyzing results of quantitative count of bacteria by dilution method (MPN)

Numerical Characteristic	Probable Number in Presence of Parallel Test Tubes		
	3	4	5
000	0.0	0.0	0.0
001	0.3	0.2	0.2
002	—	0.5	0.4
003	—	0.7	—
010	0.3	0.2	0.2
011	0.6	0.5	0.4
012	—	0.7	0.6
013	—	0.9	—
020	0.6	0.5	0.4
021	—	0.7	0.6
022	—	0.9	—
030	—	0.7	0.6
031	—	0.9	—
040	—	0.9	—
041	—	1.2	—
100	0.4	0.3	0.2
101	0.7	0.5	0.4
102	1.1	0.8	0.6
103	—	1.0	0.8
110	0.7	0.5	0.4
111	1.1	0.8	0.6
112	—	1.1	0.8
113	—	1.3	—
120	1.1	0.8	0.6
121	1.5	1.1	0.8
122	—	1.3	1.0
123	—	1.6	—
130	1.6	1.1	0.8
131	—	1.4	1.0
132	—	1.6	—
140	—	1.4	1.1
141	—	1.7	—
200	0.9	0.6	0.5
201	1.4	0.9	0.7
202	2.0	1.2	0.9
203	—	1.6	1.2
210	1.5	0.9	0.7
211	2.0	1.3	0.9
212	3.0	1.6	1.2
213	—	2.0	—
220	2.0	1.3	0.9
221	3.0	1.6	1.2
222	3.5	2.0	1.4
223	4.0	—	—
230	3.0	1.7	1.2
231	3.5	2.0	1.4
232	4.0	—	—
240	—	2.0	1.4
241	—	3.0	—
300	2.5	1.1	0.8
301	4.0	1.6	1.1
302	6.5	2.0	1.4
303	—	2.5	—
310	4.5	1.6	1.1
311	7.5	2.0	1.4
312	11.5	3.0	1.7
313	16.0	3.5	2.0
320	9.5	2.0	1.4
321	15.0	3.0	1.7
322	20.0	3.5	2.0
323	30.0	—	—
330	25.0	3.0	1.7
331	45.0	3.5	2.0
332	110.0	4.0	—
333	140.0	5.0	—
340	—	3.5	2.0
341	—	4.5	2.5
350	—	—	2.5
400	—	2.5	1.3
401	—	3.5	1.7
402	—	5.0	2.0
403	—	7.0	2.5
410	—	3.5	1.7
411	—	5.5	2.0
412	—	8.0	2.5
413	—	11.0	—
414	—	14.0	—
420	—	6.0	2.0
421	—	9.5	2.5
422	—	13.0	3.0
423	—	17.0	—
424	—	20.0	—
430	—	11.5	2.5
431	—	16.5	3.0
432	—	20.0	4.0
433	—	30.0	—
434	—	35.0	—
440	—	25.0	3.5
441	—	40.0	4.0
442	—	70.0	—
443	—	140.0	—
444	—	160.0	—
450	—	—	4.0
451	—	—	5.0
500	—	—	2.5
501	—	—	3.0
502	—	—	4.0
503	—	—	6.0
504	—	—	7.5
510	—	—	3.5
511	—	—	4.5
512	—	—	6.0
513	—	—	8.5
520	—	—	5.0
521	—	—	7.0
522	—	—	9.5
523	—	—	12.0
524	—	—	15.0
525	—	—	17.5
530	—	—	8.0
531	—	—	11.0
532	—	—	14.0
533	—	—	17.5
534	—	—	20.0
535	—	—	25.0
540	—	—	13.0
541	—	—	17.0
542	—	—	25.0
543	—	—	30.0
544	—	—	35.0
545	—	—	45.0
550	—	—	25.0
551	—	—	35.0
552	—	—	60.0
553	—	—	90.0
554	—	—	100.0
555	—	—	180.0

หมายเหตุ ค่าที่อ่านได้มีหน่วยเป็น MPN/ml

ที่มา Ritra R. Colwell and Michsel S. Zambruski.1973. **Method in aquatic microbiology.**

ภาคผนวก จ

แบบสัมภาษณ์รายละเอียดการจัดการบ่อกุ้ง

ชื่อ..... สกุล.....

บ้านเลขที่ .....หมู่ที่ .....ตำบล.....

อำเภอ.....จังหวัด.....

วัน เวลา ที่สัมภาษณ์ .....

1. ท่านเลี้ยงกุ้งมานาน .....7.....ปี

2. ท่านมีบ่อเลี้ยงกุ้งจำนวน.....20.....บ่อ เป็นพื้นที่.....30..... ไร่

3. ความหนาแน่นของกุ้งที่เลี้ยง .....250,000.....ตัวต่อบ่อ (บ่อขนาด 3 ไร่).....

4. ปริมาณกุ้งที่จับได้เพื่อจะขาย . .....ประมาณ.....2,500.....กก. ต่อบ่อ.....

5. ระยะเวลาการเลี้ยงกุ้ง .....ประมาณ.....3 - 4..... เดือนต่อรุ่น.....

6. การเลี้ยงกุ้งเป็นแบบ ..... ระบบปิด.....

7. การใช้ยา สารเคมี ปูน จุลินทรีย์ สมุนไพร

....ปูนขาวศิลาทอง (CaO).....โดโลไมต์...($CaCO_3$)...ปูนยิปซัม ($CaSO_4$).....

.....สีน้ำเทียม.. (สีน้ำวิทยาศาสตร์)...กากชา....ดีเกลือ..($MgSO_4$).....

.....จุลินทรีย์ไดเจส 1...(บาซิลลัส)..... .....

.....ซีโอไลต์ ...ฟอร์มาลิน.... คลอรีน... มะขามเปียก...ยาปฏิชีวนะ (ออกซีเตตร้า ซัยคลิน, ซัลฟานิลาไมด์, นอร์ฟร็อกซาซิน).....

8. การจัดการเลนก้นบ่อ

.....ฉีดเลน (ฤดูฝน).....ลอกเลน (ฤดูแล้ง).....

9. การให้อาหาร

....10 วันแรก .... ให้ครั้งละ 1 กก./บ่อ จำนวน.2...ครั้ง/วัน.....

.....10 – 25 วัน ...ให้ครั้งละ 2 ...กก./บ่อ ...จำนวน 3....ครั้ง/วัน (เพิ่มตามพฤติกรรมกุ้ง).....

...25 – 80 วัน.....(ให้เช็คยอ)..... ให้..... 4 .....ครั้ง/วัน

10. การให้ออกซิเจน

.....ใช้เครื่องยนต์ขนาด ...75....แรงม้า...จำนวน... 4 .... ตัว ในแต่ละบ่อ.....

ตากบ่อให้แห้ง ประมาณ 10 วัน

ใส่ปูนขาว (ถุงละ 10 กิโลกรัม 20 ถุง/ไร่)

ตากไว้ประมาณ 3 วัน

เอาน้ำเข้า (น้ำจากทะเลสาบสงขลา)

ใส่จุลินทรีย์ (ถุงละ 0.5 กิโลกรัม 1 ถุง/บ่อ)

เปิดใบพัดตอนกลางวัน (ปิดกลางคืน) 2 วัน

ใส่รำที่หมักไว้ 1 กระสอบ (30 กิโลกรัม) ปล่อยไว้ 1 คืน

รุ่งเช้าจึงปล่อยกุ้งลงบ่อ

วิธีการเตรียมบ่อเพื่อการเพาะเลี้ยงกุ้ง

ภาคผนวก ฉ

ภาพประกอบลักษณะทั่วไปของบ่อเลี้ยงกุ้งที่ทำการศึกษา

ภาพประกอบภาคผนวก 1 ตำแหน่งที่ตั้งของบ่อกุ้งติดกับทะเลสาบสงขลาตอนล่าง

ภาพประกอบภาคผนวก 2 การขุดเลนอัดขอบบ่อในฤดูแล้ง

ภาพประกอบภาคผนวก 3 ลักษณะตะกอนดินก้นบ่อเลี้ยงกุ้งหลังจากปล่อยน้ำและทำการจับกุ้งแล้ว