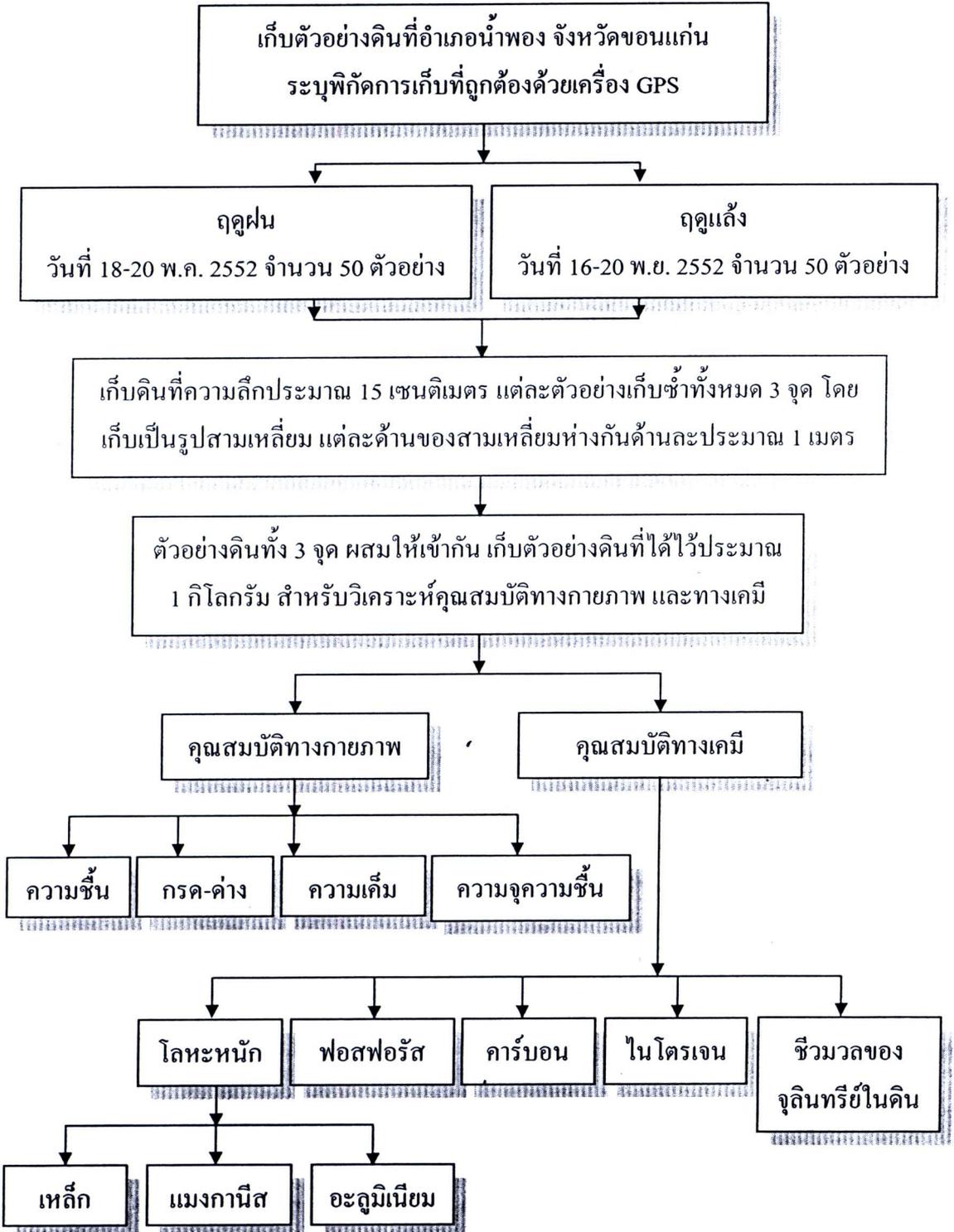


บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 แผนผังแสดงขั้นตอนการศึกษา



รูปที่ 2 แผนผังแสดงขั้นตอนในการศึกษา

3.2 อุปกรณ์และสารเคมี

3.2.1 เครื่องหาพิกัดบนพื้นโลก (Global Positioning System ; GPS)

เครื่อง GPS ที่ใช้ในการระบุเพื่อหาพิกัดในการเก็บตัวอย่างดินของการศึกษาครั้งนี้ยี่ห้อ GARMIN รุ่น eTrex Vista HCx มีการแสดงค่าพิกัด GPS บนแผนที่ประเทศไทยภายในเครื่อง (Thailand Street Map) มาตรฐาน 1:20000 ตัวเครื่องมีค่าความคลาดเคลื่อนในการหาพิกัดเท่ากับ ± 15 เมตร

3.2.2 Atomic Absorption Spectrophotometer

3.2.3 UV-Vis Spectrophotometer

3.2.4 Ammonia Nitrogen Distillation

3.2.5 Digital Burette

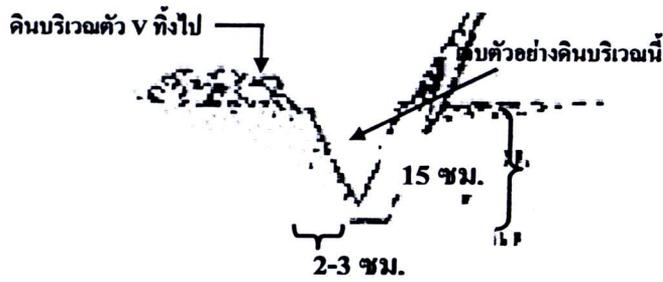
3.2.6 สารเคมีใช้เกรดวิเคราะห์ AR Grade

3.3 วิธีการทดลอง

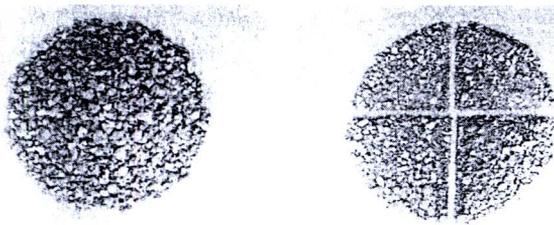
3.3.1 การสำรวจและเก็บข้อมูล

3.3.1.1 พื้นที่สำรวจและการเก็บตัวอย่างดิน

ตัวอย่างดินแต่ละตัวอย่าง ที่เก็บในอำเภอน้ำพอง จังหวัดขอนแก่น ระบุตำแหน่งการเก็บที่ถูกต้องด้วยเครื่องระบุพิกัดบนพื้นผิวโลก (Global Positioning System: GPS) ก่อนทำการขุดดินได้วางหลังกวาดเศษพืช หรือวัสดุที่อยู่บนผิวดินออกเสียก่อน จากนั้นใช้จอบขุดหลุมเป็นรูปตัว V ให้มีความลึกในแนวตั้งประมาณ 15 เซนติเมตร แล้วนำดินบริเวณตัว V ทิ้งไป จากนั้นใช้พลั่วมือสแตนเลสแซะเอาเฉพาะดินด้านใดด้านหนึ่งเป็นแผ่นหนาประมาณ 2 – 3 เซนติเมตรจากปากหลุมถึงก้นหลุม (ภาพที่5-4) ตัวอย่างดินแต่ละตัวอย่างทำการเก็บซ้ำทั้งหมด 3 จุด เก็บเป็นรูปสามเหลี่ยม แต่ละด้านของสามเหลี่ยมห่างกันด้านละประมาณ 1 เมตร ตัวอย่างดินที่เก็บแต่ละจุดมีปริมาณของเนื้อดินที่เท่ากัน จากนั้นนำตัวอย่างดินทั้ง 3 จุดจากสถานที่เดียวกัน มาเทรวมกันบนพลาสติกที่สะอาดแล้วผสมคลุกเคล้าตัวอย่างดินให้เป็น 1 ตัวอย่าง จากนั้นแบ่งดินเป็น 4 ส่วนเท่าๆกัน (ภาพที่5-5) ทำการเก็บตัวอย่างดินที่ได้จากการผสมแล้วมาประมาณ 1 กิโลกรัม ใส่ในถุงพลาสติกปิดปากถุงให้มิดชิด พร้อมติดป้ายบอกรายละเอียดชัดเจน เพื่อเก็บไว้ใช้ในการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ และทางเคมีต่อไป



รูปที่ 3 การขุดดินและการเลือกเก็บตัวอย่างดินจากสถานที่ที่เก็บตัวอย่าง



รูปที่ 4 การผสมตัวอย่างดินและการแบ่งส่วนเพื่อเก็บตัวอย่างดิน

3.3.1.2 การคัดเลือกตัวอย่างดิน

จุดที่เก็บตัวอย่างดินคัดเลือกเฉพาะจุดที่พบตัวอย่างดินที่มีผลเป็นบวกสำหรับ *B. pseudomallei* ซึ่งมาจากงานวิจัยของไพรัตน์ โรยรส (2549) ในการศึกษาครั้งนี้ทำการเก็บตัวอย่างดินทั้งหมด 50 ตัวอย่าง บริเวณ อำเภอน้ำพอง จังหวัดขอนแก่น โดยเก็บทั้งหมด 2 ครั้ง ครั้งแรกเก็บตัวอย่างดิน 50 ตัวอย่าง ช่วงเดือนพฤษภาคม ระหว่างวันที่ 18-20 พฤษภาคม 2552 โดยเป็นตัวแทนของตัวอย่างดินในช่วงฤดู และทำการเก็บตัวอย่างดินอีกครั้งหนึ่งในช่วงเดือนพฤศจิกายน ระหว่างวันที่ 16-20 พฤศจิกายน 2552 เพื่อเป็นตัวแทนของดินในช่วงฤดูแล้ง

3.3.1.3 การเตรียมตัวอย่างดิน

นำตัวอย่างดินที่ได้จากการเก็บภาคสนาม มาผึ่งลมในที่ร่มทิ้งไว้ให้แห้ง จากนั้นนำตัวอย่างดินที่ผึ่งแห้งแล้วมาทำให้มีขนาดเล็กลงโดยการตำด้วยครกหิน แล้วนำตัวอย่างดินที่ได้มา ร้อนผ่านตะแกรงร่อนดินมาตรฐานขนาด 2 มิลลิเมตร ตัวอย่างดินที่ร้อนผ่านตะแกรงแล้วเก็บไว้ในถุงพลาสติกที่ปิดมิดชิดเพื่อป้องกันไม่ให้มีสิ่งอื่นเจือปนในตัวอย่างดิน พร้อมติดป้ายบอกรายละเอียดที่ถุงตัวอย่างชัดเจน

ตัวอย่างดินแห้งที่ได้จากการเตรียมตัวอย่างดิน ใช้สำหรับวิเคราะห์หาค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าความเค็ม ปริมาณฟอสฟอรัส ปริมาณคาร์บอน ปริมาณไนโตรเจน ปริมาณเหล็ก ปริมาณแมงกานีส และปริมาณอะลูมิเนียมในดิน ส่วนการวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น ความสามารถในการอุ้มน้ำ

ของดิน และปริมาณชีวมวลของจุลินทรีย์ในดิน ใช้ตัวอย่างดินที่ได้จากการเก็บภาคสนามที่ไม่ผ่านการทำให้แห้ง

3.3.1.4 การวิเคราะห์ปัจจัยทางกายภาพ และทางเคมีของดิน

3.3.1.4.1 ความเป็นกรด-ด่างในดิน

ชั่งตัวอย่างดินแห้ง 20 กรัม มาละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 20 มิลลิลิตร (อัตราส่วนดินต่อน้ำ = 1:1) คนนาน 1 ชั่วโมง เพื่อให้ตัวอย่างดินและน้ำเข้ากันจนเป็นสารละลายเนื้อเดียวกัน (suspension) เมื่อครบ 1 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ปล่อยให้สารละลายดินตกตะกอน และนำไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของดิน ด้วยเครื่องพีเอชมิเตอร์ วัดส่วนที่เป็นน้ำใสข้างบน บันทึกผลที่ได้จากการวัด

3.3.1.4.2 ปริมาณความชื้นในดิน

นำตัวอย่างดินที่ได้จากการเก็บภาคสนาม โดยไม่ผ่านการทำให้แห้ง จากนั้นชั่งตัวอย่างดิน 10 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร ที่ผ่านการอบและชั่งน้ำหนักแล้ว (ใช้เครื่องชั่งละเอียด ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) นำบีกเกอร์ที่มีตัวอย่างดินที่ต้องการหาความชื้นอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105-110 องศาเซลเซียส นานประมาณ 24 ชั่วโมง (อบจนน้ำหนักดินคงที่) เมื่อครบกำหนดนำตัวอย่างดินออกจากตู้อบ ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น นำมาชั่งน้ำหนักแห้ง บันทึกน้ำหนักที่ได้จากการชั่งเพื่อนำมาคำนวณหาปริมาณความชื้นในดิน

3.3.1.4.3 ความสามารถในการอุ้มน้ำของดิน

ตัวอย่างดินที่ไม่ผ่านการทำให้แห้งประมาณ 100 กรัม ใส่ลงในกรวยกรอง เทน้ำลงบนตัวอย่างดินแค่พอท่วมดิน ปล่อยให้ให้น้ำไหลระบายออกจากดินก่อนในครั้งแรกเพื่อไล่อากาศออกจากดิน เมื่อน้ำระบายหมดทำการเติมน้ำลงไปอีกครั้งแล้วชั่งน้ำเอาไว้ในตัวอย่างดิน แช่ตัวอย่างดินไว้ในน้ำ นานประมาณ 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดปล่อยน้ำที่แช่ดินไว้ระบายออกไปรอจนกระทั่งไม่มีน้ำไหลออกมา

ชั่งตัวอย่างดินเปียก 10 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร ที่ผ่านการอบและชั่งน้ำหนักแล้ว (ใช้เครื่องชั่งละเอียด ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) นำบีกเกอร์ที่มีดินเปียกไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105-110 องศาเซลเซียส นานประมาณ 24 ชั่วโมง (จนน้ำหนักดินคงที่) เมื่อครบกำหนดนำตัวอย่างดินออกจากตู้อบ ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น นำไปชั่งน้ำหนักแห้ง บันทึกน้ำหนักที่ได้จากการชั่งเพื่อนำมาคำนวณหาความสามารถในการอุ้มน้ำของดิน

3.3.1.4.4 ปริมาณความเค็มของดิน

ชั่งตัวอย่างดินแห้ง 10 กรัม ใส่ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นที่ผ่าน deionizer แล้ว 50 มิลลิลิตร (อัตราส่วนดินต่อน้ำ = 1:5) เขย่าด้วยเครื่องนาน 30 นาที เมื่อครบกำหนด นำ flask ตัวอย่างตั้งทิ้งไว้ให้ดินตกตะกอน นำสารละลายตัวอย่างดินที่ได้วัดค่าการนำไฟฟ้าด้วยเครื่อง EC-meter โดยวัดส่วนที่เป็นน้ำใสข้างบน บันทึกผลที่ได้จากการวัด



3.3.1.4.5 ปริมาณชีวมวลของจุลินทรีย์ในดิน

ชั่งตัวอย่างดินเปียกที่มีน้ำหนักเทียบเท่ากับน้ำหนักแห้ง 10 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ ขนาด 50 มิลลิลิตร นำบีกเกอร์ที่มีตัวอย่างดินวางใน desiccator ที่ไม่มีซิลิกาเจล ตัดกระดาษกรองออกเป็น แถบๆ ชุบน้ำให้ชุ่ม นำมาวางลงข้างๆ บีกเกอร์ตัวอย่างดินที่อยู่ภายใน desiccator เพื่อช่วยรักษาความชื้นของ ดิน จากนั้นนำบีกเกอร์ที่บรรจุคลอโรฟอร์มที่กำลังเดือดออกแล้ว 15 มิลลิลิตร และ anti-bumping granule ประมาณ 10 เม็ด มาวางไว้ใน desiccator ทา grease ที่ปากของ desiccator ให้ทั่วแล้วปิดฝาของ desiccator ต่อสายยางจาก water-jet pump เข้ากับ stopcock ของ desiccator เปิดน้ำให้แรงที่สุด เพื่อให้ คลอโรฟอร์มเดือดเต็มที่ จากนั้นปิด stopcock ของ desiccator แล้วปิดสวิทช์ water-jet pump ดึงสายยางที่ต่อ กับ desiccator ออก นำ desiccator เก็บไว้ในที่มืดเพื่อลดการสลายตัวของคลอโรฟอร์ม ที่อุณหภูมิ 25 องศา เซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง เพื่อให้การสลายตัวเกิดได้เต็มที่ เมื่อครบกำหนดนำบีกเกอร์คลอโรฟอร์มและ กระดาษกรองที่อยู่ใน desiccator ออกมาวางไว้ในตู้ดูดควัน ปิดฝา desiccator แล้วนำมากำจัดคลอโรฟอร์มที่ เหลือในตัวอย่างดินโดยใช้ water-jet pump ดูดออกจำนวน 3 ครั้งๆ ละ 3 นาที เมื่อเสร็จแต่ละครั้งปิด stopcock ของ desiccator ก่อนแล้วดึงสายยางออก เปิดให้อากาศเข้าไปใน desiccator ทำซ้ำเหมือนเดิมแต่ เปลี่ยนจาก water-jet pump เป็น high vacuum pump อีก 2 ครั้งๆ ละ 3 นาที เปิดฝา desiccator ออกโดย ตัวอย่างดินไม่มีกลิ่นของคลอโรฟอร์มเหลืออยู่ (ถ้ามีดูดซ้ำด้วย high vacuum pump)

นำตัวอย่างดินเปียกที่ผ่านการรมควันด้วยคลอโรฟอร์ม หรือตัวอย่างดินเปียก ที่ไม่ได้รมควันด้วยคลอโรฟอร์ม ที่มีน้ำหนักเทียบเท่ากับน้ำหนักแห้ง 10 กรัม ใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร เติม 0.5 M K_2SO_4 ที่ pH 6.8-7.0 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่างดิน ปิดฝา flask ให้แน่น นำไปเขย่าด้วยเครื่อง Orbital Shaker ที่ความเร็วรอบ 250 rpm นาน 30 นาที สารละลายที่ได้กรองด้วย กระดาษกรองเบอร์ 1

ปีเปตสารละลายตัวอย่างดินที่ได้มาปริมาตร 8 มิลลิลิตร ใส่ในขวดก้นกลม ขนาด 250 มิลลิลิตร ตามด้วยสารละลาย $K_2Cr_2O_7$ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และสารผสมของกรด $H_2SO_4-H_3PO_4$ เข้มข้น 15 มิลลิลิตร แก้วขวดก้นกลมเบาๆ ใส่ anti-bumping granule ประมาณ 10 เม็ด นำมาทำการ digest ด้วยวิธี reflux นานประมาณ 20 นาที ที่อุณหภูมิความร้อนปานกลาง เมื่อครบกำหนดปิดเครื่อง reflux รอให้ สารละลายอุณหภูมิตกลง ใช้น้ำกลั่นฉีดล้างภายใน Condenser เพื่อชะสารที่ตกค้างอยู่ภายในให้ลงสู่ขวดก้น กลม นำขวดก้นกลมออกมาวางทิ้งไว้จนอุณหภูมิของสารละลายลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้อง หยด phenylanthranillic indicator 4 หยด นำไปไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐาน Ferrous Ammonium Sulphate สี ของสารละลายเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเขียวใสที่จุดยุติ บันทึกปริมาตรของ Ferrous Ammonium Sulphate ที่ ใช้ไตเตรทในแต่ละตัวอย่าง เพื่อนำมาคำนวณหาปริมาณชีวมวลของจุลินทรีย์ในดินทำ blank ควบคู่ไปด้วย โดยใช้ 8 มิลลิลิตร ของ K_2SO_4 เป็นตัวเปรียบเทียบ

3.3.1.4.6 ปริมาณคาร์บอนในดิน

ชั่งตัวอย่างดินแห้ง 0.2 กรัม ใส่ Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร ปิเปิด 1 N $K_2Cr_2O_7$, 5 มิลลิลิตร ใส่ในตัวอย่างดิน แก้ว flask เบาๆ ให้ตัวอย่างดินและ $K_2Cr_2O_7$ ผสมเข้ากัน จากนั้นค่อยๆ เติม conc. H_2SO_4 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร (ทำในตู้ดูดควัน) ขณะเติมแก้ว flask เบาๆ เมื่อเติมกรดแล้วตั้ง flask ทิ้งไว้ให้เย็น เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร หยด O-phenanthroline ferrous complex indicator 3 หยด นำมาไตเตรทกับ 0.5 N $FeSO_4$ ไตเตรทจนกระทั่งสารละลายสีเขียวเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดงที่จุดยุติ บันทึกปริมาตรของ $FeSO_4$ ที่ใช้ไตเตรทในแต่ละตัวอย่าง เพื่อนำมาคำนวณหาปริมาณคาร์บอนในดิน

ทำ blank โดยปิเปิด 1N $K_2Cr_2O_7$, 5 มิลลิลิตร ใส่ Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร เติม conc. H_2SO_4 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แก้ว flask เบาๆ ให้สารละลายผสมเข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร หยด O-phenanthroline ferrous complex indicator 3 หยด นำมาไตเตรทกับ 0.5 N $FeSO_4$ บันทึกปริมาตร $FeSO_4$ ที่ใช้ไตเตรทกับ blank เพื่อนำมาคำนวณหาความเข้มข้นที่แน่นอนของ $FeSO_4$

3.3.1.4.7 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน

ชั่งตัวอย่างดินแห้ง 2 กรัม ใส่ใน Kjeldahl digestion flask เติม Catalyst mixture (ผสม K_2SO_4 , $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, Se ในอัตราส่วน 100:10:1) 1.1 กรัม และเติม conc. H_2SO_4 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่างดิน (ทำ blank โดยทำเช่นเดียวกับตัวอย่าง ต่างกันที่ Blank ไม่มีตัวอย่างดิน) นำเข้าเตาย่อยใช้อุณหภูมิในการย่อย 360 องศาเซลเซียส นานประมาณ 3-5 ชั่วโมง ตัวอย่างที่ได้จะเป็นสีขาวขุ่น และไม่มีควันของกรด H_2SO_4 ปิดเครื่อง ทิ้งตัวอย่างไว้ให้เย็น นำตัวอย่างออกจากเตาย่อย เติมน้ำกลั่นลงไปประมาณ 10 มิลลิลิตร เขย่าให้สารละลายผสมเข้ากัน นำไปปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ใน volumetric flask โดยใช้ น้ำกลั่นฉีดล้าง Kjeldahl digestion flask จนไม่มีตัวอย่างเหลืออยู่ (ล้างประมาณ 3 ครั้ง)

ปิเปิดสารละลายที่ได้จากการย่อยมาปริมาตร 20 มิลลิลิตร ใส่ใน Distillation flask เติม 40% NaOH 10 มิลลิลิตร ลงในสารละลาย สวม distillation flask เข้ากับเครื่องกลั่น โดยมี Erlenmeyer flask ขนาด 125 มิลลิลิตร ที่บรรจุ 2% H_3BO_3 indicator 10 มิลลิลิตร มารองรับได้ condenser ของเครื่องกลั่น โดยปลายของ condenser จุ่มอยู่ใน H_3BO_3 indicator เปิดเครื่องกลั่น และกลั่นจนปริมาตรของสารละลายใน Erlenmeyer flask เพิ่มถึงขีดบอกปริมาตรที่ 50 มิลลิลิตร ปิดเครื่อง นำสารละลายใน Erlenmeyer flask ที่ได้จากการกลั่นไตเตรทกับ Std. 0.005 N H_2SO_4 ไตเตรทจนกระทั่งสารละลายสีเขียวเปลี่ยนเป็นสีม่วงแดงที่จุดยุติ บันทึกปริมาตรของ Std. H_2SO_4 ที่ใช้ในการไตเตรท เพื่อนำมาคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน

3.3.1.4.8 ปริมาณฟอสฟอรัสที่สามารถใช้ประโยชน์ในดิน

ชั่งตัวอย่างดินแห้ง 5 กรัม ใส่ Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร ปิเปิดน้ำยาสกัด Bray II ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในตัวอย่างดิน ปิด flask ด้วยจุกยาง เขย่าด้วยมือ 60 วินาที แล้วกรองทันทีด้วยกระดาษกรอง No. 5 เก็บสารละลายตัวอย่างที่ได้ไว้ในขวดพลาสติก ปิด

สารละลายตัวอย่าง 5 มิลลิลิตร ใส่ volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร เติม 2% H_3BO_3 5 มิลลิลิตร เติม Murphy reagent 2 มิลลิลิตร เติม 2.5% Ascorbic acid solution 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 25 มิลลิลิตร ปิดจุกเขย่าให้สารละลายเข้ากัน จะได้สารละลายสีน้ำเงิน (แต่ถ้าความเข้มของสีสารละลายดินเกินสีของ standard set ก็ลดปริมาตรสารละลายตัวอย่างลง ถ้าความเข้มข้นของสีของสารละลายดินเจือจางมากให้เพิ่มปริมาตรสารละลายตัวอย่าง) จากนั้นตั้ง volumetric flask ทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที นำสารละลายที่ได้ไปอ่านค่าความเข้มข้นของฟอสฟอรัสด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ wave length 882 nm

3.3.1.4.9 ปริมาณเหล็กทั้งหมดในดิน

ชั่งตัวอย่างดินแห้งที่ผ่านตะแกรงร่อนดินมาตรฐานขนาด 2 มิลลิเมตรหนัก 0.1000 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร เติม conc. HNO_3 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร และเติม 60% $HClO_4$ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่างดิน นำบีกเกอร์ตั้งบนเตาที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส จนไม่มีน้ำหรือของเหลวเหลืออยู่ ตั้งบีกเกอร์ทิ้งไว้ให้เย็น เติม 6 M HCl 15 มิลลิลิตร และเติมน้ำ deionized water ลงไปเล็กน้อย นำบีกเกอร์ไปอุ่นต่ออีกประมาณ 5 นาที จนได้สารละลาย นำสารละลายที่ได้มาปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นที่ผ่าน deionizer แล้ว นำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กทั้งหมดด้วยวิธี Atomic Absorption Spectrophotometry

3.3.1.4.10 ปริมาณแมงกานีสทั้งหมดในดิน

ชั่งตัวอย่างดินแห้งที่ผ่านตะแกรงร่อนดินมาตรฐานขนาด 2 มิลลิเมตรหนัก 0.1000 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร เติม conc. HNO_3 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร และเติม 60% $HClO_4$ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่างดิน นำบีกเกอร์ตั้งบนเตาที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส จนไม่มีน้ำหรือของเหลวเหลืออยู่ ตั้งบีกเกอร์ทิ้งไว้ให้เย็น เติม 6 M HCl 15 มิลลิลิตร และเติมน้ำ deionized water ลงไปเล็กน้อย นำบีกเกอร์ไปอุ่นต่ออีกประมาณ 5 นาที จนได้สารละลาย นำสารละลายที่ได้มาปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นที่ผ่าน deionizer แล้ว นำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณแมงกานีสทั้งหมดด้วยวิธี Atomic Absorption Spectrophotometry

3.3.1.4.11 ปริมาณอะลูมิเนียมทั้งหมดในดิน

ชั่งตัวอย่างดินแห้งที่ผ่านตะแกรงร่อนดินมาตรฐานขนาด 2 มิลลิเมตรหนัก 0.1000 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร เติม conc. HNO_3 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่างดิน ปิดปากบีกเกอร์ด้วยกระดาษฟิวส์ นำบีกเกอร์ตั้งบนเตาค่อยๆ ให้ความร้อนเพื่อทำละลายอินทรีย์วัตถุในตัวอย่างดินให้หมดก่อน ยกบีกเกอร์ออกจากเตาทิ้งไว้ให้อุณหภูมิลดลง ค่อยๆ เติม 60% $HClO_4$ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แกว่งบีกเกอร์เบาๆ ให้สารละลายผสมเข้ากัน นำบีกเกอร์ตั้งต่อบนเตาและย่อยจนกระทั่งควันสีขาวที่เกิดขึ้นหมดไป ทำการย่อยต่อไปอีกประมาณ 15 นาที เพื่อ dehydrate silica เมื่อครบกำหนดยกบีกเกอร์ลงจากเตา ตั้งทิ้งไว้ให้สารละลายเย็น ทำให้สารละลายมีปริมาตรประมาณ 25 มิลลิลิตร ด้วยน้ำอุ่น warm

deionized water กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 41 ล้างกระดาษกรองด้วย 0.5 N HCl จนได้สารละลาย ประมาณ 60 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นที่ผ่าน deionizer แล้ว นำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณอะลูมิเนียมทั้งหมดด้วยวิธี Atomic Absorption Spectrophotometry

3.3.1.5 การวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติที่ใช้ในการวิจัย

สถิติที่ใช้วิเคราะห์เพื่อหาความสัมพันธ์ของปัจจัยต่างๆ ในดินที่มีผลต่อการพบเชื้อ *B. pseudomallei* ดำเนินการโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for Windows วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ Independent-Sample T-Test เมื่อ $P \leq 0.05$ เพื่อพิจารณาค่า Significant

