

ภาคผนวก ก
ผลวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี
และผลการตรวจวัดอุณหภูมิในระหว่างการหมักทำปุ๋ย

ตารางที่ 13 องค์ประกอบทางเคมีของผักตบชวาในระหว่างการศึกษการย่อยสลายตามธรรมชาติ

สัปดาห์ ที่	ระยะเวลา (วัน)	% C	% N	% P	% K	C / N	% moisture
1	0	39.47 ±1.32	1.30 ±0.08	0.88 ±0.06	6.75	30.37	90.00 ±0.94
2	7	38.70 ±1.00	1.47 ±0.03	0.88 ±0.04	5.37	26.34	89.76 ±1.07
3	14	37.86 ±1.21	1.54 ±0.09	0.81 ±0.04	5.00	24.70	88.72 ±2.03
4	21	37.73 ±1.47	1.62 ±0.02	0.77 ±0.02	5.11	23.29	-
5	28	33.83 ±1.42	1.63 ±0.02	0.79 ±0.01	5.17	20.76	62.47 ±1.03
6	35	31.03 ±0.66	1.52 ±0.05	0.76 ±0.03	5.17	20.39	59.90 ±0.98

หมายเหตุ : - ไม่มีข้อมูล

ตารางที่ 15 ผลวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของผักคตบขวาในระหว่างการหมักทำปุ๋ย

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ชุดการทดลอง ¹	% C	% N	% P	% K ²	C/N	% moisture
0	UN	41.25 ±0.65	1.31 ±0.05	0.86 ±0.02	6.58	31.49	66.23 ±1.54
	UNA1	41.58 ±0.83	1.23 ±0.05	0.87 ±0.03	6.12	33.80	66.76 ±2.20
	UNA2	41.13 ±0.69	1.26 ±0.04	0.87 ±0.02	6.42	32.64	63.25 ±2.09
	UNA3	41.17 ±0.52	1.28 ±0.02	0.85 ±0.02	6.38	32.16	64.65 ±1.33
	IN	40.88 ±0.45	1.26 ±0.07	0.83 ±0.01	6.55	32.44	65.23 ±1.63
	INA1	40.71 ±0.83	1.29 ±0.07	0.84 ±0.01	6.41	31.56	64.83 ±0.44
	INA2	40.04 ±0.55	1.24 ±0.05	0.83 ±0.00	6.27	32.29	64.09 ±1.68
	INA3	40.26 ±1.27	1.31 ±0.04	0.85 ±0.01	6.14	30.73	63.62 ±1.06
	7	UN	40.90 ±0.33	1.46 ±0.03	0.85 ±0.02	-	28.01
UNA1		40.42 ±0.64	1.56 ±0.02	0.87 ±0.02	-	25.91	66.91 ±1.72
UNA2		40.73 ±1.09	1.54 ±0.09	0.86 ±0.02	-	26.45	66.08 ±1.45
UNA3		40.21 ±0.59	1.57 ±0.09	0.86 ±0.01	-	25.61	65.57 ±1.82
IN		39.97 ±0.45	1.56 ±0.02	0.87 ±0.02	-	25.62	68.76 ±0.83
INA1		40.02 ±0.15	1.54 ±0.15	0.85 ±0.01	-	25.99	66.97 ±0.70
INA2		39.74 ±0.52	1.58 ±0.02	0.83 ±0.01	-	25.15	64.39 ±2.25
INA3		39.41 ±0.74	1.60 ±0.04	0.85 ±0.01	-	24.63	65.01 ±2.00
14		UN	37.33 ±0.45	1.51 ±0.06	0.83 ±0.01	-	24.72
	UNA1	38.13 ±1.63	1.59 ±0.06	0.82 ±0.01	-	23.98	62.28 ±1.07
	UNA2	35.11 ±1.11	1.60 ±0.02	0.82 ±0.01	-	21.94	59.71 ±1.77
	UNA3	37.93 ±1.23	1.62 ±0.02	0.81 ±0.00	-	23.41	61.24 ±0.88
	IN	37.04 ±0.95	1.60 ±0.02	0.81 ±0.00	-	23.15	63.35 ±0.92
	INA1	38.23 ±0.72	1.61 ±0.03	0.82 ±0.01	-	23.75	62.00 ±0.77
	INA2	37.69 ±1.74	1.58 ±0.02	0.82 ±0.01	-	23.85	63.33 ±1.19
	INA3	37.81 ±0.87	1.58 ±0.03	0.80 ±0.01	-	23.93	61.62 ±1.21
	21	UN	36.52 ±0.75	1.62 ±0.02	0.77 ±0.03	-	22.54
UNA1		35.08 ±1.78	1.68 ±0.03	0.79 ±0.00	-	20.88	61.59 ±1.08
UNA2		34.54 ±0.75	1.64 ±0.04	0.79 ±0.02	-	21.06	60.88 ±0.54
UNA3		34.66 ±1.75	1.66 ±0.03	0.78 ±0.01	-	20.88	59.12 ±1.28

ตารางที่ 15 ผลวิเคราะห์ทางเคมีของผักตบชวาในระหว่างการหมักทำปุ๋ย (ต่อ)

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ชุดการทดลอง ¹	% C	% N	% P	% K ²	C/N	% moisture
21	IN	34.90 ±2.42	1.65 ±0.04	0.79 ±0.00	-	21.15	59.81 ±1.66
	INA1	34.72 ±1.54	1.66 ±0.04	0.79 ±0.00	-	20.92	61.14 ±0.69
	INA2	34.88 ±1.16	1.65 ±0.04	0.78 ±0.01	-	21.14	61.23 ±0.86
	INA3	34.37 ±1.48	1.65 ±0.02	0.78 ±0.00	-	20.83	60.39 ±0.33
28	UN	31.77 ±2.04	1.60 ±0.07	0.77 ±0.03	5.32	19.86	59.08 ±0.49
	UNA1	30.64 ±0.65	1.67 ±0.04	0.79 ±0.00	5.46	18.35	59.22 ±1.06
	UNA2	31.86 ±1.89	1.64 ±0.03	0.79 ±0.02	5.71	19.43	60.48 ±1.40
	UNA3	30.50 ±0.67	1.66 ±0.02	0.78 ±0.02	5.29	18.37	59.63 ±0.83
	IN	30.78 ±1.25	1.65 ±0.04	0.79 ±0.00	5.33	18.65	59.80 ±0.57
	INA1	30.68 ±1.27	1.64 ±0.06	0.79 ±0.00	5.44	18.71	58.76 ±1.26
	INA2	29.82 ±0.15	1.63 ±0.03	0.78 ±0.01	5.12	18.29	58.52 ±0.79
	INA3	30.10 ±1.11	1.64 ±0.04	0.78 ±0.00	5.93	18.35	57.60 ±1.27

หมายเหตุ ¹รายละเอียดของชุดการทดลอง

- UN คือ ตัวอย่างผักตบชวา 100 กิโลกรัม
- UNA1 คือ ตัวอย่างผักตบชวา 100 กิโลกรัม เติมอากาศอัตราการไหล 7.2 L/min
- UNA2 คือ ตัวอย่างผักตบชวา 100 กิโลกรัม เติมอากาศอัตราการไหล 14.4 L/min
- UNA3 คือ ตัวอย่างผักตบชวา 100 กิโลกรัม เติมอากาศอัตราการไหล 21.6 L/min
- IN คือ ตัวอย่างผักตบชวา 100 กิโลกรัม และเติมหัวเชื้อ 1×10^8 สปอร์ต่อกิโลกรัม
- INA1 คือ ตัวอย่างผักตบชวา 100 กิโลกรัม เติมหัวเชื้อ 1×10^8 สปอร์ต่อกิโลกรัม และเติมอากาศอัตราการไหล 7.2 L/min
- INA2 คือ ตัวอย่างผักตบชวา 100 กิโลกรัม เติมหัวเชื้อ 1×10^8 สปอร์ต่อกิโลกรัม และเติมอากาศอัตราการไหล 14.4 L/min
- INA3 คือ ตัวอย่างผักตบชวา 100 กิโลกรัม เติมหัวเชื้อ 1×10^8 สปอร์ต่อกิโลกรัม และเติมอากาศอัตราการไหล 21.6 L/min

²โพแตสเซียม (K) วิเคราะห์โดยห้องปฏิบัติการภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก ข
ผลวิเคราะห์ทางสถิติ.

ตารางที่ 16 ผลวิเคราะห์ LSD ของปริมาณคาร์บอน ไนโตรเจน และ C/N ratio ของผักตบชวาในระหว่าง
การย่อยสลายตามธรรมชาติ

วันที่ (ของการหมัก)	วันที่	คาร์บอน		ไนโตรเจน		C/N ratio	
		Std. error	Significant	Std. error	Significant	Std. error	Significant
0	7	0.5712	0.184	0.046	0.004	0.984	0.002
	14	0.5712	0.007	0.046	0.000	0.984	0.000
	21	0.5712	0.004	0.046	0.000	0.984	0.000
	28	0.5712	0.000	0.046	0.000	0.984	0.000
	35	0.5712	0.000	0.046	0.000	0.984	0.000
7	0	0.5712	0.184	0.046	0.004	0.984	0.002
	14	0.5712	0.146	0.046	0.173	0.984	0.121
	21	0.5712	0.096	0.046	0.007	0.984	0.009
	28	0.5712	0.000	0.046	0.005	0.984	0.000
	35	0.5712	0.000	0.046	0.270	0.984	0.000
14	0	0.5712	0.007	0.046	0.000	0.984	0.000
	7	0.5712	0.146	0.046	0.173	0.984	0.121
	21	0.5712	0.825	0.046	0.096	0.984	0.178
	28	0.5712	0.000	0.046	0.066	0.984	0.002
	35	0.5712	0.000	0.046	0.777	0.984	0.001
21	0	0.5712	0.004	0.046	0.000	0.984	0.000
	7	0.5712	0.096	0.046	0.007	0.984	0.009
	14	0.5712	0.825	0.046	0.096	0.984	0.178
	21	0.5712	0.000	0.046	0.832	0.984	0.024
	35	0.5712	0.000	0.046	0.058	0.984	0.012
28	0	0.5712	0.000	0.046	0.000	0.984	0.000
	7	0.5712	0.000	0.046	0.005	0.984	0.000
	14	0.5712	0.000	0.046	0.066	0.984	0.002
	21	0.5712	0.000	0.046	0.832	0.984	0.024
	35	0.5712	0.000	0.046	0.039	0.984	0.716
35	0	0.5712	0.000	0.046	0.000	0.984	0.000
	7	0.5712	0.000	0.046	0.270	0.984	0.000
	14	0.5712	0.000	0.046	0.777	0.984	0.001
	21	0.5712	0.000	0.046	0.058	0.984	0.012
	28	0.5712	0.000	0.046	0.039	0.984	0.716

ตารางที่ 17 ผลวิเคราะห์ LSD ของปริมาณฟอสฟอรัสและความชื้นตัวอย่างผักคตบขาระหว่าง
การย่อยสลายตามธรรมชาติ

วันที่ (ของการหมัก)	วันที่	ฟอสฟอรัส		ความชื้น	
		Std. error	Significant	Std. error	Significant
0	7	0.018	1.000	0.706	0.733
	14	0.018	0.004	0.706	0.096
	21	0.018	0.000	0.706	0.000
	28	0.018	0.000	0.706	0.000
	35	0.018	0.000	0.706	0.000
7	0	0.018	1.000	0.706	0.733
	14	0.018	0.004	0.706	0.170
	21	0.018	0.000	0.706	0.000
	28	0.018	0.000	0.706	0.000
	35	0.018	0.000	0.706	0.000
14	0	0.018	0.004	0.706	0.096
	7	0.018	0.004	0.706	0.170
	21	0.018	0.021	0.706	0.000
	28	0.018	0.156	0.706	0.000
	35	0.018	0.015	0.706	0.000
21	0	0.018	0.000	0.706	0.000
	7	0.018	0.000	0.706	0.000
	14	0.018	0.021	0.706	0.000
	21	0.018	0.279	0.706	0.000
	35	0.018	0.853	0.706	0.000
28	0	0.018	0.000	0.706	0.000
	7	0.018	0.000	0.706	0.000
	14	0.018	0.156	0.706	0.000
	21	0.018	0.279	0.706	0.000
	35	0.018	0.211	0.706	0.003
35	0	0.018	0.000	0.706	0.000
	7	0.018	0.000	0.706	0.000
	14	0.018	0.015	0.706	0.000
	21	0.018	0.853	0.706	0.000
	28	0.018	0.0211	0.706	0.003

ตารางที่ 18 ผลวิเคราะห์ LSD ของปริมาณคาร์บอน ไนโตรเจนและค่า C/N ratio ในระหว่าง
การหมักปุ๋ยจากผักตบชวา

วันที่ (ของการหมัก)	วันที่	คาร์บอน		ไนโตรเจน		C/N ratio	
		Std. error	Significant	Std. error	Significant	Std. error	Significant
0	7	0.334	0.038	0.014	0.000	0.339	0.000
	14	0.334	0.000	0.014	0.000	0.339	0.000
	21	0.334	0.000	0.014	0.000	0.339	0.000
	28	0.334	0.000	0.014	0.000	0.339	0.000
7	0	0.334	0.038	0.014	0.000	0.339	0.000
	14	0.334	0.000	0.014	0.012	0.339	0.000
	21	0.334	0.000	0.014	0.000	0.339	0.000
	28	0.334	0.000	0.014	0.000	0.339	0.000
14	0	0.334	0.000	0.014	0.000	0.339	0.000
	7	0.334	0.000	0.014	0.012	0.339	0.000
	21	0.334	0.000	0.014	0.000	0.339	0.000
	28	0.334	0.000	0.014	0.000	0.339	0.000
21	0	0.334	0.000	0.014	0.000	0.339	0.000
	7	0.334	0.000	0.014	0.000	0.339	0.000
	14	0.334	0.000	0.014	0.000	0.339	0.000
	28	0.334	0.000	0.014	0.526	0.339	0.000
28	0	0.334	0.000	0.014	0.000	0.339	0.000
	7	0.334	0.000	0.014	0.000	0.339	0.000
	14	0.334	0.000	0.014	0.000	0.339	0.000
	21	0.334	0.000	0.014	0.526	0.339	0.000

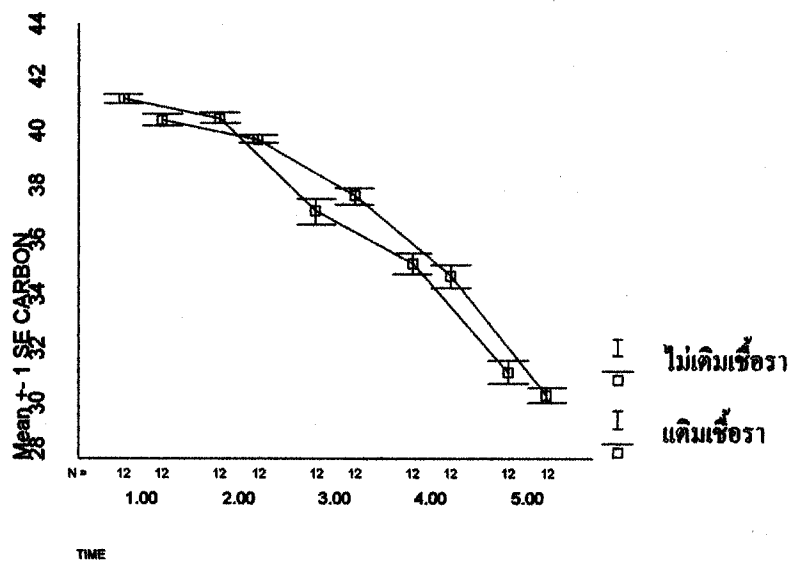
ตารางที่ 19 ผลวิเคราะห์ LSD ของปริมาณฟอสฟอรัสและความชื้นในระหว่างการหมักปุ๋ย
จากผักคตบขวา

วันที่ (ของการหมัก)	วันที่	ฟอสฟอรัส		ความชื้น	
		Std. error	Significant	Std. error	Significant
0	7	0.005	0.409	0.464	0.000
	14	0.005	0.000	0.464	0.000
	21	0.005	0.000	0.464	0.000
	28	0.005	0.000	0.464	0.000
7	0	0.005	0.409	0.464	0.000
	14	0.005	0.000	0.464	0.000
	21	0.005	0.000	0.464	0.000
	28	0.005	0.000	0.464	0.000
14	0	0.005	0.000	0.464	0.000
	7	0.005	0.000	0.464	0.000
	21	0.005	0.000	0.464	0.020
	28	0.005	0.000	0.464	0.000
21	0	0.005	0.000	0.464	0.000
	7	0.005	0.000	0.464	0.000
	14	0.005	0.000	0.464	0.020
	28	0.005	1.000	0.464	0.000
28	0	0.005	0.000	0.464	0.000
	7	0.005	0.000	0.464	0.000
	14	0.005	0.000	0.464	0.000
	21	0.005	1.000	0.464	0.000

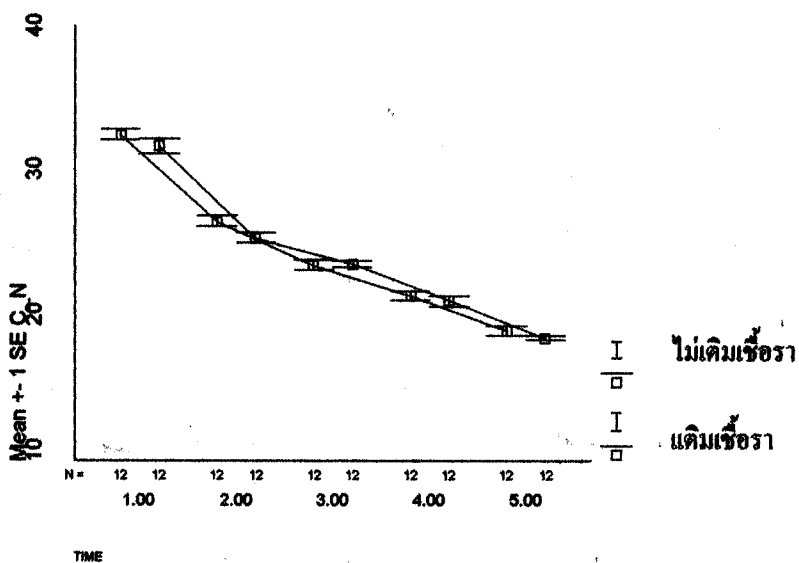
ตารางที่ 20 ผลวิเคราะห์ 3-way ANOVA ในการทำปุ๋ยหมักจากผักตบชวา

source	Dependent variable											
	C/N ratio		C		N		moisture		P		Glucosamine	
	F	Sig.	F	Sig.	F	Sig.	F	Sig.	F	Sig.	F	Sig.
Time	551.495	0.000	322.200	0.000	8.221	0.000	124.696	0.000	118.236	0.000	177.12	0.000
Micro	7.129	0.009	5.183	0.025	0.552	0.460	1.493	0.225	6.773	0.011	25.443	0.000
Air	3.515	0.019	1.939	0.130	0.568	0.638	10.887	0.000	1.234	0.303	34.181	0.000
Time & Micro	1.141	0.343	1.694	0.160	0.708	0.589	2.708	0.056	2.240	0.072	41.519	0.000
Time & Air	0.971	0.483	0.962	0.492	0.824	0.626	1.726	0.076	0.371	0.970	10.730	0.000
Micro & Air	0.813	0.490	0.418	0.741	0.604	0.614	0.566	0.639	2.289	0.085	14.917	0.000
Time &Micro &Air	1.872	0.050	0.905	0.546	0.893	0.557	1.952	0.040	1.102	0.370	9.802	0.000

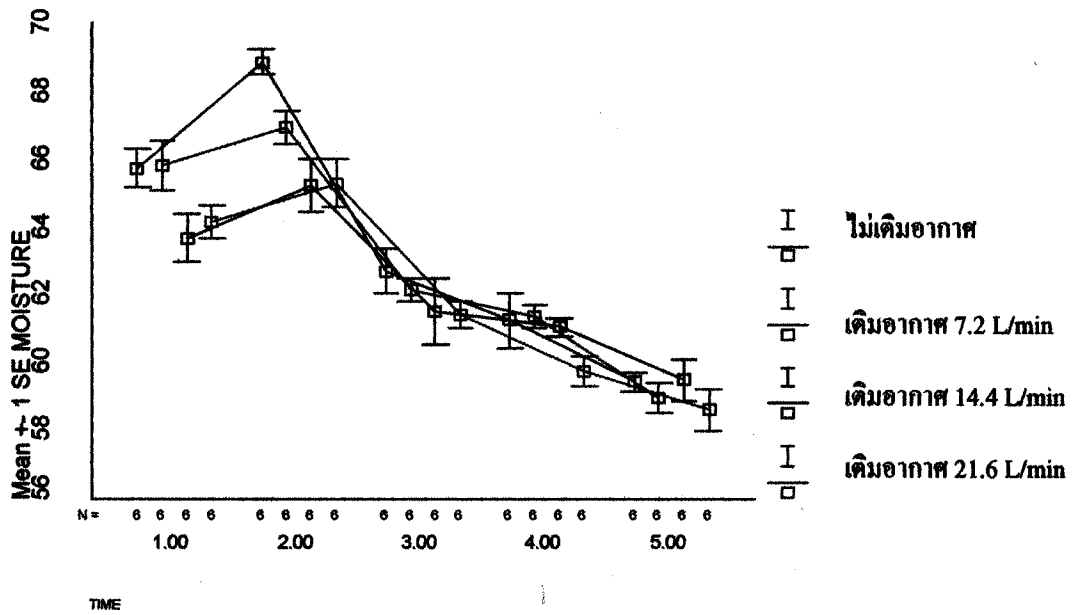
The mean difference is significant at the .05 level.



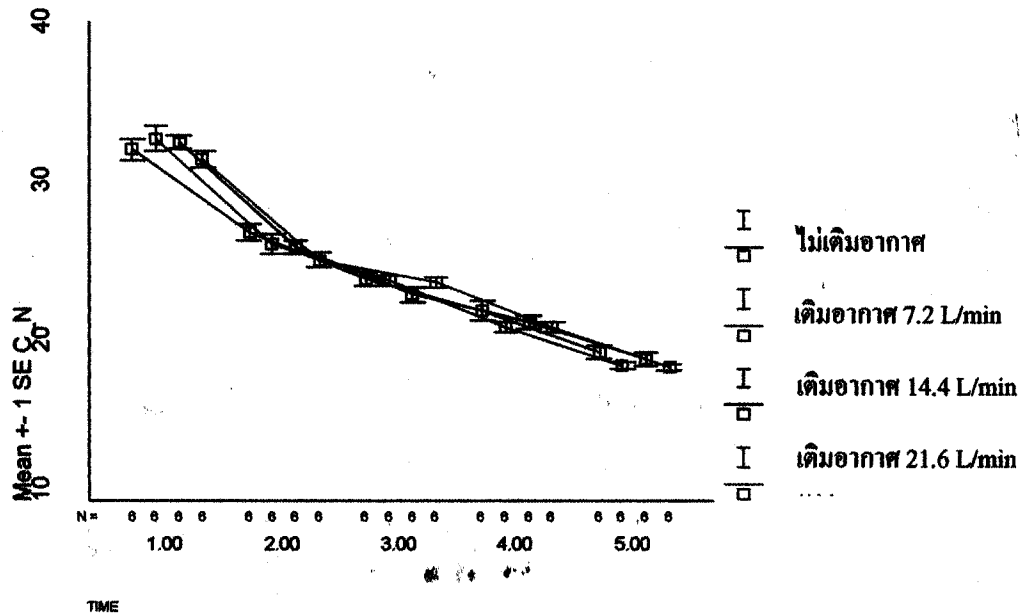
ภาพที่ 25 แสดงอิทธิพลของการเติมหัวเชื้อรา *Aspergillus* sp. SK5 ต่อการเปลี่ยนแปลง ปริมาณคาร์บอนของผักตบชวาระหว่างการหมักปุ๋ย



ภาพที่ 26 แสดงอิทธิพลของการเติมหัวเชื้อรา *Aspergillus* sp. SK5 ต่อการเปลี่ยนแปลง ค่า C/N ratio ของผักตบชวาระหว่างการหมักปุ๋ย



ภาพที่ 27 แสดงอิทธิพลของการเติมอากาศต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความชื้นของผักตบชวา ระหว่างการหมักปุ๋ย



ภาพที่ 28 แสดงอิทธิพลของการเติมอากาศต่อการเปลี่ยนแปลงค่า C/N ratio ของผักตบชวา ระหว่างการหมักปุ๋ย

ภาคผนวก ง
วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

PDA (Potato dextrose agar) มีวิธีเตรียมดังนี้

1. ชั่งน้ำหนัก	มันฝรั่ง	200	กรัม
	D-glucose	20	กรัม
	Agar	15	กรัม

2. นำส่วนผสมทั้งหมดมาละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มจนละลายเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว (psi) อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

Cellulose azure medium มีวิธีเตรียมดังนี้

1. ชั่งน้ำหนัก	Cellulose azure	1	กรัม
	KCl	0.1	กรัม
	MnSO ₄ ·H ₂ O	20	มิลลิกรัม
	Agar	1.2	กรัม

2. นำส่วนผสมทั้งหมด ยกเว้น Cellulose azure ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มจนละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ใส่ใน screw-cap tube หลอดละ 2.5 มิลลิลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งที่ความดัน 10 ปอนด์/ตารางนิ้ว (psi) อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วปล่อยให้แข็งตัวที่อุณหภูมิห้อง

3. ละลาย Cellulose azure ในน้ำกลั่น 33 มิลลิลิตร

4. เตรียมส่วนผสมในข้อ 2 อีกครั้ง แล้วดูมา 67 มิลลิลิตร

5. นำส่วนผสมในข้อ 3 และข้อ 4 ไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งที่ความดัน 10 ปอนด์/ตารางนิ้ว (psi) อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วผสมเข้ากันขณะร้อน

6. ใส่น้ำในหลอดที่เตรียมแล้วในข้อ 2 หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร

CMC agar มีวิธีเตรียมดังนี้

1. เตรียม Basal medium โดยชั่งน้ำหนัก

KH_2PO_4	2.0	กรัม
$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	1.4	กรัม
Urea	0.3	กรัม
$\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.3	กรัม
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.3	กรัม
Proteose peptone	0.25	กรัม
Yeast extract	0.1	กรัม
Trace element	1	มิลลิลิตร เตรียมได้จากการผสม

$\text{FeSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 5 กรัม $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.4 กรัม $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 4.56 กรัม และ CoCl_2 2 กรัม ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร

2. ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มจนละลายเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วเติม Carboxy methylcellulose 7.5 กรัม ในขณะที่ร้อน

3. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว (psi) อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

4. เทใส่จานเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

วิธีเตรียมสารเคมีสำหรับวิเคราะห์ฟอสฟอรัส

Antimony potassiumtrtrate solution

 $K(SbO)C_4H_4O_6 \cdot \frac{1}{2} H_2O$ น้ำหนัก 1.3715 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่

อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

Ammonium molybdate solution

 $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ น้ำหนัก 20 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เก็บไว้ขวดพลาสติกที่

อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

Ascorbic acid 0.1 M

Ascorbic acid น้ำหนัก 1.76 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

Combined reagent

ผสม 5N H_2SO_4 100 มิลลิลิตร Antimony potassiumtrtrate solution 10 มิลลิลิตร

Ammonium molybdate solution 30 มิลลิลิตร และ Ascorbic acid 0.1 M 60 มิลลิลิตร

วิธีเตรียมสารเคมีสำหรับวิเคราะห์กลูโคซามีน

4% Acetylacetone reagent เตรียมได้โดย

ละลาย Na_2CO_3 7.95 กรัม ใน Acetone 2 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 50 มิลลิลิตร (ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้)

Ehrlich reagent เตรียมได้โดย

ละลาย para-dimethylaminobenzaldehyde 2.67 กรัม ในส่วนผสมของ conc. HCl 50 มิลลิลิตร และ Ethanol 95% ปริมาตร 50 มิลลิลิตร (สามารถเก็บไว้ในตู้เย็นได้นาน 2-3 วัน)

วิธีการเตรียมกราฟมาตรฐานกลูโคซามีน

1. เตรียม Blank และสารละลายมาตรฐานกลูโคซามีน ที่มีความเข้มข้นในช่วง 10-60 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร
2. เติม 4% Acetylacetone reagent ปริมาตร 1 มิลลิลิตร
3. นำไปต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส โดยการต้มผ่านน้ำ เป็นเวลา 30 นาที
4. ตั้งทิ้งให้เย็นในน้ำที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 5 นาที
5. ตั้งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 2 ชั่วโมง
6. เติม Absolute Ethanol 5 มิลลิลิตร ในทุกๆ หลอดแล้วเขย่าให้ผสมกัน
7. เติม Ehrlich reagent 1 มิลลิลิตร ในทุกๆ หลอดแล้วเขย่าให้ผสมกัน แล้วตั้งทิ้งไว้ 5-25 นาที
8. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร
9. สร้างกราฟมาตรฐานกลูโคซามีน

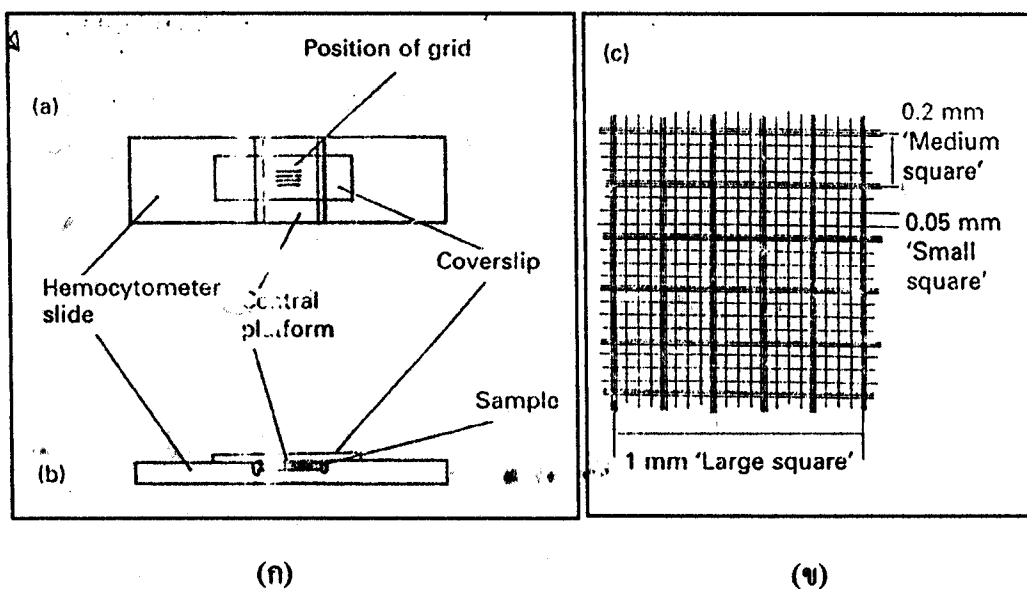
ภาคผนวก จ
วิธีการเตรียมหัวเชื้อรา

วิธีการเตรียมหัวเชื้อรา

1. การนับจำนวนสปอร์ของราโดย hemacytometer
 - 1.1 เตรียม spore suspension โดยใช้ 1% tween 80 ที่ปราศจากเชื้อ
 - 1.2 วาง cover slip ลงบน counting chamber ให้อยู่ตรงกลางพอดี ดังภาพที่ 30
 - 1.3 ใช้ pasteur pipette ดูด spore suspension ที่เตรียมไว้ใส่ลงใน chamber จนเต็มพอดี แล้วตั้งทิ้งไว้เพื่อให้ spore suspension กระจายจนทั่ว counting chamber
 - 1.4 นับจำนวนสปอร์ทั้งหมดที่อยู่ในช่องเล็กๆ (คิดเป็นพื้นที่ 0.05 มิลลิเมตร) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ หากสปอร์อยู่ทับเส้นขอบให้เลือกนับแค่สปอร์ที่อยู่ทับเส้นทางซ้ายและเส้นบนของช่อง หรือเลือกนับแค่สปอร์ที่ทับอยู่บนเส้นทางขวาและเส้นล่างของช่อง อย่างใดอย่างหนึ่ง
 - 1.5 บันทึกจำนวนที่นับได้ทั้งหมด 50 ช่อง เพื่อนำไปคำนวณปริมาณ
2. การคำนวณเป็นสปอร์ต่อมิลลิลิตร

$$\text{จำนวนสปอร์ต่อมิลลิลิตร} = N \times 4 \times 10^6$$

เมื่อ N คือ ค่าเฉลี่ยของจำนวนสปอร์ที่นับได้



ภาพที่ 30 ลักษณะของ hemacytometer (ก) และ counting chamber (ข)