หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

อุปกรณ์ และวิธีดำเนินงาน

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ในสนาม

- สายวัด
- soil Thermometer
- Thermohygrometer
- พลั่วมือ
- ซ่อมมือ
- คราดมือ
- ถังพลาสติก
- ถุงพลาสติก
- ดินสอและกระดาษเลเบล
- กล้องถ่ายรูป
- ควอดแดรทขนาด 1 x 1 เมตร และขนาด 20 x 20 เซนติเมตร
- ขวด และแอลกอฮอล์ 70% สำหรับดองสัตว์

2. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ

2.1 อุปกรณ์การหาปริมาณสัตว์ในดิน และปัจจัยทางเคมีของดิน

- ตะแกรงร่อนดินขนาด 2 มิลลิเมตร
- เครื่องบดดิน
- ตู้อบดิน
- Tullgren's funnel
- ขวดสำหรับดองสัตว์
- แอลกอฮอล์ 70%
- Salt's filter funnel

- กระดาษกรอง
- ดินสอและกระดาษเลเบล
- กล้องจุลทรรศน์ 2 ตา
- ปากคีบ
- พู่กัน
- เครื่องชั่ง
- เครื่องนับจำนวน
- Beckman pH meter

2.2 อุปกรณ์การหาปริมาณอินทรียวัตถุในดินโดยวิธีของ Walkley และ Black

- Hot bath
- บิวเรต ขนาด 100 มิลลิลิตร
- เออเลนเมเยอร์ ฟลาส์ ขนาด 250 มิลลิลิตร
- ไปเปต ขนาด 10 มิลลิลิตร
- กระบอกตวง 100 มิลลิลิตร
- สารเคมี

2.3 อุปกรณ์การสกัด และวิเคราะห์หาปริมาณไดเมโธเอทตกค้างในดิน

- เครื่องปั่น (blender)
- กรวยแก้ว
- เออเลนเมเยอร์ฟลาส์ ขนาด 250 มิลลิลิตร
- กระดาษกรองเบอร์ 41
- สเปคโทรนิค 20
- water bath
- คลอโรฟอร์ม (chloroform) A.R. grade
- เมธานอล (methanol) A.R. grade
- สารเคมี

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเลี้ยงสัตว์ทดลอง

- จานเพาะเลี้ยงขนาดกลาง และขนาดเล็ก
- activated charcoal
- ปูนปลาสเตอร์
- ยีสต์ผงสำเร็จ
- ปุ๋ยคอก
- ลิตเตอร์ใบไม้ (leaf litter)
- ตู้ควบคุมอุณหภูมิ

วิธีดำเนินงาน

1. การกำหนดพื้นที่ และการเก็บตัวอย่าง (ภาพที่ 1)

เลือกพื้นที่ตอนกลางส่วน 15 ร่อง ประมาณ 5 ไร่ แต่ละร่องมีขนาด 4 x 20 เมตร เลือกตัวแทน 5 ร่องจาก 15 ร่องนี้ แต่ละร่องวาง ควอดแดรทขนาด 1 x 1 เมตร สำหรับหาสัตว์ในดินขนาดใหญ่ (macro soifauna) โดยวิธี hand sorting[1] ใช้เวลาในการหา 10 นาที เก็บและดองสัตว์ในดินขนาดใหญ่ที่หาได้ในแอลกอฮอล์ 70% และวาง ควอดแดรทขนาด 20 x 20 เซนติเมตร สำหรับหาสัตว์ในดินขนาดกลาง (mesosoifauna) โดยขุดดินในควอดแดรทลึก 15 เซนติเมตร แล้วนำดินมาทำการศึกษาในห้องปฏิบัติการต่อไป การสุ่มตัวอย่างสำหรับหาสัตว์ในดินขนาดใหญ่ ทำ 5 ครั้ง และสำหรับหาสัตว์ในดินขนาดกลาง 5 ครั้ง

2. ช่วงเวลาในการเก็บตัวอย่าง

แบ่งการเก็บตัวอย่างดินออกเป็น 3 ช่วง ตามฤดูกาลของปี คือ

- ช่วงฤดูร้อน ทำการเก็บตัวอย่างในเดือนมีนาคม และเมษายน 2526
- ช่วงฤดูฝน ทำการเก็บตัวอย่างในเดือนพฤษภาคม, สิงหาคม และตุลาคม 2525

---

[1] hand sorting หมายถึงการจับสัตว์ในดินโดยใช้พลั่ว หรือคราดมือคุ้ยดินไปเรื่อย ๆ ขณะสุ่มตัวอย่าง และใช้ปากคีบจับสัตว์ที่เห็นทุกตัวใส่ขวดแอลกอฮอล์

- ช่วงฤดูหนาว ทำการเก็บตัวอย่างในเดือนธันวาคม 2525 และ มกราคม 2526

ส่วนแปลงควบคุม (control plot) ใช้บริเวณรอบนอกของส่วนล้ม ซึ่งสารกำจัดแมลงกระจายไปไม่ถึง (ภาพที่ 1ก)

3. การเก็บรวบรวมข้อมูลทางกายภาพภาคสนาม

3.1 การวัดอุณหภูมิของดิน โดยใช้ Soil Thermometer ปักลงในดิน ลึกประมาณ 10-15 เซ็นติเมตร ทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที เพื่ออ่านอุณหภูมิขณะทำการเก็บตัวอย่างดิน

3.2 วัดความชื้นสัมพัทธ์ และอุณหภูมิที่ผิวดิน โดยใช้ Thermohygrometer วางไว้ที่ผิวดิน ทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที

3.3 ศึกษาสภาพเนื้อดิน โดยใช้วิธีเอาน้ำผสมดิน แล้วรีดเป็นแผ่นบาง ๆ

3.4 ศึกษาปริมาณน้ำในดิน โดยนำดินตัวอย่างจากบริเวณส่วนล้มมาชั่งน้ำหนักเป็นน้ำหนักสด แล้วนำดินไปอบที่อุณหภูมิ 105^{o}ซ 24 ชั่วโมง แล้วนำมาชั่งน้ำหนักเพื่อหาน้ำหนักแห้ง แล้วนำมาคำนวณหาปริมาณน้ำในดิน

$$\text{ปริมาณน้ำในดิน (\%)} = \frac{\text{นน.เปียก - นน.แห้ง}}{\text{นน.แห้ง}} \times 100$$

3.5 การวัด pH ของดิน โดยใช้ดินและน้ำในอัตราส่วน 1:1 คือ ดิน 10 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 25 มล. เติมน้ำกลั่น 10 มล. คนให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 30 นาที ขณะทิ้งไว้ คนบ้าง พอครบเวลาคนอีกครั้งหนึ่ง แล้ววัด pH โดยใช้ Beckman pH meter

4. การศึกษาสัตว์ในดินขนาดใหญ่

ทำการศึกษาโดยใช้วิธี hand sorting จากควอดแดรทขนาด 1 x 1 เมตร ใช้เวลาในการหา 10 นาที เก็บและดองสัตว์ที่ได้ในแอลกอฮอล์ 70% เพื่อนำไปหาน้ำหนักรวม

5. การศึกษาสัตว์ในดินขนาดกลาง

นำดินตัวอย่างครึ่งหนึ่งจากควอดแดรทขนาด 20 x 20 เซ็นติเมตร ไปล่กัดสัตว์ในดินออก โดยใช้ทูลเกรนฟันเนล (Tullgren's funnel) (ภาพที่ 2) ใช้เวลาในการล่กัด 5-7 วัน สัตว์ในดินที่ถูกล่กัดออกจะลงไปในขวดบรรจุแอลกอฮอล์ 70% ที่รองรับอยู่ที่ปลายกรวย แล้วนำสัตว์ในดินที่ดองไว้ในแอลกอฮอล์ 70% มาแยกชนิด และนับจำนวนโดยใช้ Salt's filter

008923

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 1 แสดงส่วนสัมที่ทำการทดลอง ต.บางมด เขตภาษีเจริญ

ก. แปลงควบคุม

ข. แปลงทดลอง

funnel, เครื่องนับจำนวน และกล้องจุลทรรศน์ 2 ตา (ภาพที่ 3)

6. การเตรียมดินเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณอินทรียวัตถุในดิน และปริมาณไดเมโธเอทตกค้างในดิน

นำดินตัวอย่างมาผึ่งลมในตะแกรงพลาสติกจนแห้งสนิท แล้วนำมาบดด้วยโกร่งบดดิน ร่อนดินที่บดแล้วด้วยตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร แบ่งดินที่ร่อนแล้วออกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรก ประมาณ 1 กรัม สำหรับนำไปหาปริมาณอินทรียวัตถุ และส่วนที่เหลือ ประมาณ 50 กรัม สำหรับนำไปหาปริมาณไดเมโธเอทที่ตกค้างในดิน

6.1 การวิเคราะห์หาปริมาณอินทรียวัตถุในดิน

ใช้วิธี wet oxidation ของ Walkley และ Black (Jackson, 1958) โดยมีขั้นตอนดังนี้

6.1.1 สารเคมีที่ใช้ และการเตรียม

- เตรียมสารละลายโปตัสเซียมไดโครเมท 1N โดยชั่ง $K_2Cr_2O_7$ ที่ผ่านการอบที่ 105^{o}ซ 24 ชั่วโมง 49.04 กรัม ละลายในน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 1 ลิตร
- เตรียมสารละลายเฟอรัสซัลเฟต 0.5N โดยใช้ $(NH_4)_2FeSO_4 \cdot 6H_2O$ 196.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วเติม H_2SO_4 เข้มข้น 15 มิลลิลิตร ลงไป ทำให้เย็น และปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร
- เตรียมอินดิเคเตอร์ โดยใช้ ไดฟีนิลเอมีน (diphenylamine) ละลายใน 95% ethyl alcohol จนถึงจุดที่สารละลายอิ่มตัว
- กรดซัลฟูริกเข้มข้น (H_2SO_4) 95-97%
- กรดฟอสฟอริก (H_3PO_4)
- โซเดียมฟลูออไรด์ (NaF)

6.1.2 วิธีหาปริมาณอินทรียวัตถุ

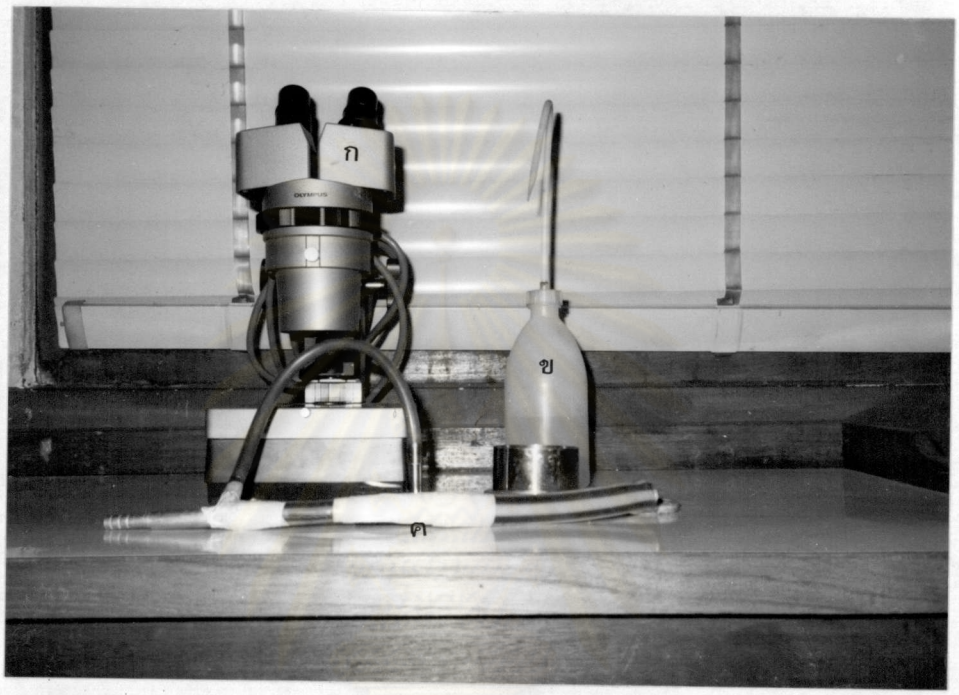
- ชั่งดินหนัก 0.5 กรัม ใส่ลงในเออเลนเมเยอร์ฟลาส์ ขนาด 250 มิลลิลิตร
- ใส่สารละลาย $K_2Cr_2O_7$ 1N 10 มิลลิลิตร ลงไปในขวด

ภาพที่ 2 แสดงเครื่องมือที่ใช้ล่กัดสัตว์ในดิน Tullgren's Funnel

ก.) คือกรวย และ

ข.) คือขวดใส่แอลกอฮอล์ 70% สำหรับดองสัตว์ที่หนีความแห้งลงมา

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 3 แสดงเครื่องมือที่ใช้ในการนับจำนวนสัตว์ในดิน

ก. กล้องจุลทรรศน์ 2 ตา

ข. ขวดแอลกอฮอล์ 70%

ค. Salt's fitter funnel

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- เติมกรด H_3PO_4 เข้มข้น 95-97% ลงไป 20 มิลลิลิตร เขย่าเบา ๆ แล้วนำไปอุ่นบน hot plate ($100^oซ$) นานประมาณ 10 นาที เอาลง และตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

- เติมน้ำกลั่นลงไป 100 มิลลิลิตร ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น

- เติมกรด H_3PO_4 10 มิลลิลิตร และ NaF 2 มิลลิกรัม

- หยดอินดิเคเตอร์ (diphenylamine) ลงไป 1-2 หยด สีของสารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินเข้มเกือบดำ

- ไตเตรทด้วย $(NH_4)_2FeSO_4$ จนถึงจุดที่สารละลายเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็นสีเขียวเข้ม จดปริมาตรของ $(NH_4)_2FeSO_4$ ที่ใช้ไว้

วิธีนี้จะต้องทำแบลงค์ไว้คำนวณหาความเข้มข้นที่แท้จริงของเฟอรัสซัลเฟต แล้วจึงคำนวณหาปริมาณไดโครเมทที่ถูกรีดิวส์

การคำนวณหาปริมาณอินทรียวัตถุ

สูตร $$\text{ปริมาณอินทรียวัตถุ (\%)} = \frac{0.617\ BN\ (C-D)}{AC}$$

B = $K_2Cr_2O_7$ ที่เข้าทำปฏิกิริยา (10 มิลลิลิตร)

N = ความเข้มข้นของ $K_2Cr_2O_7$ (1N)

C = ปริมาตรของ $(NH_4)_2FeSO_4$ ที่ไตเตรทกับแบลงค์

D = ปริมาตรของ $(NH_4)_2FeSO_4$ ที่ไตเตรทกับดินตัวอย่าง

A = น้ำหนักแห้งของดิน ได้จากน้ำหนักดิน - ความชื้นในดิน

6.2 <u>การสกัด และการวิเคราะห์หาปริมาณไดเมโธเอทตกค้างในดิน</u>

6.2.1 การสกัดไดเมโธเอทออกจากดิน ใช้วิธีของ Bache และ Lisk (1960) มีขั้นตอนดังนี้

สารละลายที่ใช้สกัด ใช้คลอโรฟอร์มผสมกับเมธานอลในอัตราส่วน 9:1 (พงษ์ศรี ใบอดุลย์ และคณะ, 2520)

วิธีสกัด

- ชั่งน้ำหนักดินตัวอย่างที่ผึ่งไว้จนแห้งสนิท บด และร่อนผ่านตะแกรงขนาดช่อง 2 มิลลิเมตร 50 กรัม ใส่ลงในเครื่องผสมอาหาร

- เติมสารละลายผสมของคลอโรฟอร์มและเมธานอลลงไปครั้งแรก 60 มิลลิลิตร ปั่นเป็นเวลา 2 นาที แล้วเติมสารละลายผสมลงไปอีก 40 มิลลิลิตร ปั่นต่อไปอีก 2 นาที

- กรองสารละลายดินด้วยกระดาษกรองเบอร์ 41

- เก็บสารละลายส่วนใสไว้สำหรับหาปริมาณไดเมโธเอทต่อไป

6.2.2 การวัดปริมาณไดเมโธเอทตกค้างในดิน

ใช้วิธี Colorimetric ของ Paul A Giang, Donald A. George et. al (1966) ดังนี้

ก. สารเคมี

- สารละลายคลอโรไดไนโตรเบนซีน (chlorodinitrobenzene Solution) เตรียมจากการตกผลึก 1-Chloro-2-, 4-dinitrobenzene โดยละลายใน 95% เอทธิล แอลกอฮอล์ปริมาณน้อย ๆ นำผลึกที่ได้ 2.0 กรัม มาละลายใน absolute ethyl alcohol 100 มิลลิลิตร เก็บสารละลายที่เตรียมไว้แล้วในตู้เย็น

- สารละลายเมธานอลิกโซเดียมไฮดรอกไซด์ (methanolic Sodium hydroxide solution) 0.5N เตรียมโดยการละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 กรัม ในเมธานอล 100 มิลลิลิตร

- สารละลายลาโนลิน ละลายลาโนลิน 0.5 กรัม ในคลอโรฟอร์ม 100 มิลลิลิตร

- สารละลายไดเมโธเอทมาตรฐาน เตรียมโดยการละลายไดเมโธเอท 96% อีคอนอมิกเกรด 100 มิลลิกรัม ในสารละลายผสมของคลอโรฟอร์มและเมธานอล 100 มิลลิลิตร ดังนั้น ในสารละลายมาตรฐาน 1 มิลลิลิตร จะมีไดเมโธเอทอยู่ 10 µg

- absolute ethyl alcohol

ข. วิธีวัด

- หยดสารละลายลาโนลินลงไปในสารละลายที่สกัดจากดินตัวอย่างละ 1-2 หยด เพื่อป้องกันการสูญหายของไดเมโธเอทในระหว่างการระเหย ทำการวิเคราะห์ครั้งละ 6 ตัวอย่าง

- ระเหยสารละลายนี้ใน water bath ที่ 70°ซ จนเหลือสารละลาย 0.5-1 มิลลิลิตร แล้วระเหยสารละลายที่เหลือด้วยการเป่าพัดลมให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

- เติมสารละลายเมธานอลิกโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงไปตัวอย่างละ 1 มิลลิลิตร อุ่นใน water bath ที่ 60°ซ เป็นเวลา 10 นาที

- ทำให้สารละลายที่เหลือเย็นลงอย่างรวดเร็ว โดยการแช่ในน้ำเย็นจัด แล้วเติมสารละลายคลอโรไดไนโตรเบนซีน 0.1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วเติม absolute ethyl alcohol ลงไป 5 มิลลิลิตร วัดค่า optical density (OD) ที่ความยาวคลื่น 505 µm ด้วยเครื่อง spectronic 20

- หาปริมาณไดเมโธเอทโดยการเปรียบเทียบจากกราฟมาตรฐาน (รูปที่ 2)

7. <u>การศึกษาผลกระทบของไดเมโธเอทต่อชีววิทยาบางประการของแมลงหางดีด (Spring tail) และตัวกะปิ (Wood lice)</u>

7.1 <u>การเตรียมวัสดุ และอุปกรณ์</u>

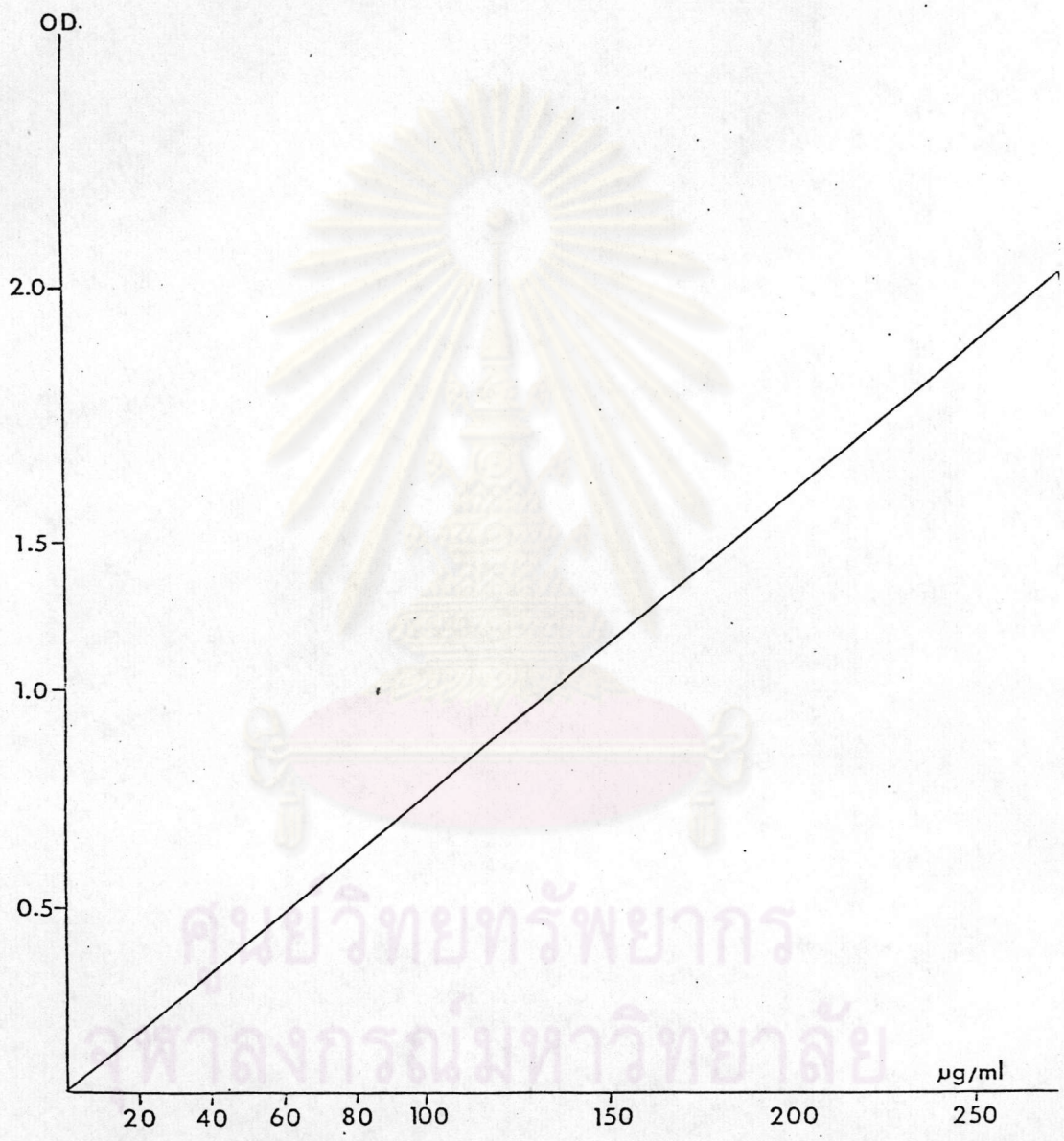
- จานเพาะเลี้ยงพลาสติก ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 เซ็นติเมตร และ 5 เซ็นติเมตร ลึก 1 เซ็นติเมตร เทลาดด้วยพลาสเตอร์ ออฟ ปารีส ที่ก้นจาน เพื่อใช้เป็น substrat และเก็บความชื้น ซึ่งเตรียมโดยการผสมปูนปลาสเตอร์กับผงถ่าน (activated charcoal) ในอัตราส่วน 9:1 เติมน้ำและคนให้เข้ากัน แล้วเทลงในภาชนะที่จะใช้เลี้ยงสัตว์ในดิน ให้มีความหนาประมาณ 1/3 ของจานเพาะเลี้ยง ทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที ผิวปูนปลาสเตอร์จะแห้ง ลูบที่ผิวให้เรียบ และล้างน้ำให้ฝุ่นที่ผิวออกหมด (วณี ยงอำพรทิพย์, 2525)

- แมลงหางดีด วงศ์ Neanuridae ซึ่งมีขนาดค่อนข้างใหญ่ และเคลื่อนที่ช้า (ภาพที่ 4)

- ตัวกะปิ (ภาพที่ 5)

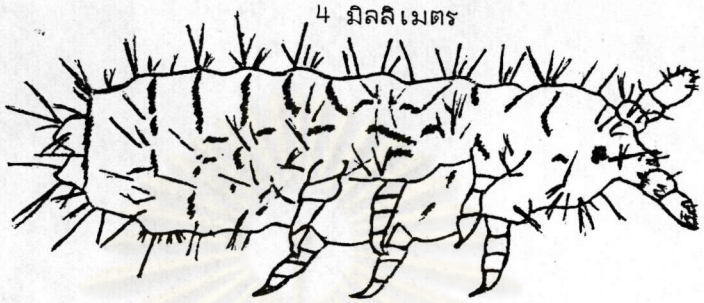
- ยีสต์ผง (instant yeast) จุ่มสารละลายไดเมโธเอท ซึ่งละลายใน 95% เอทธิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 0, 200, 400 600 และ 1,000 ppm. เตรียมโดยการ suspense ยีสต์ผงในสารละลายไดเมโธเอท เขย่าให้เข้ากัน กรองเอายีสต์ออก และผึ่งให้แห้ง

- ใบไม้แห้ง (leaf litter) นำมาตัดให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ รูปวงกลม

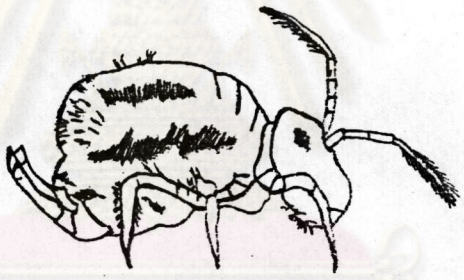


รูปที่ 2 กราฟมาตรฐานในการหาปริมาณไดเมโธเอท

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ก

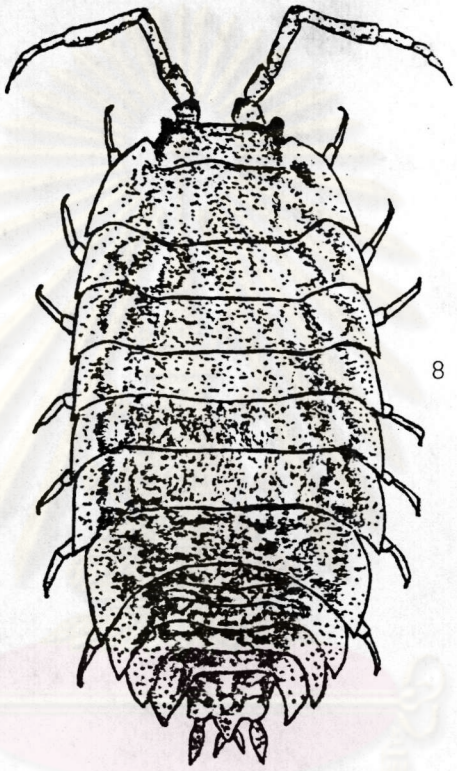


ข

1.5 มิลลิเมตร

ภาพวาดที่ 4 ภาพวาดแมลงหางดีด วงศ์ Neanuridae (ก) และวงศ์ Sminthuridae (ข)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



8 มิลลิเมตร

ภาพวาดที่ 5 ภาพวาดตัวกะปิ (wood lice, Isopoda)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ด้วยเครื่องเจาะกระดาษ แล้วนำมาชุบด้วยสารละลายไดเมโธเอท ความเข้มข้น 0, 200, 400, 600 และ 1,000 ppm.

- ปุ๋ยคอก (มูลวัว)

7.2 วิธีการทดลอง

7.2.1 การเลี้ยงแมลงหางดีด นำแมลงหางดีดใส่ในจานเพาะเลี้ยงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 เซ็นติเมตร ที่เตรียมไว้ ซึ่งมียีสต์ผงที่ชุบสารละลายไดเอโธเอท ความเข้มข้น 0, 200, 400, 600 และ 1,000 ppm. เป็นอาหารเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (28-30°ซ) ใช้แมลงหางดีด 4 ตัว ต่อจานเพาะเลี้ยง 1 อัน ทำ 10 ซ้ำ ทุกระดับความเข้มข้น

7.2.2 การเลี้ยงตัวกะปี เลี้ยงในจานเพาะเลี้ยงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 เซ็นติเมตร ที่เตรียมไว้ และให้อาหาร 3 ชนิด คือ

ก. ปุ๋ยคอกกับยีสต์ผง ที่ชุบสารละลายไดเมโธเอท ความเข้มข้น 0, 200, 400, 600 และ 1,000 ppm.

ข. ใบไม้แห้งกับยีสต์ผง ที่ชุบสารละลายไดเมโธเอท ความเข้มข้น 0, 200, 400, 600 และ 1,000 ppm.

ค. ใบไม้แห้ง ที่ชุบสารละลายไดเมโธเอท ความเข้มข้น 0, 200, 400, 600 และ 1,000 ppm.

ใช้ตัวกะปี 3 ตัว ต่อจานเพาะเลี้ยง 1 อัน ทำ 10 ซ้ำ ทุกระดับความเข้มข้น

8. การศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อชีววิทยาบางประการของแมลงหางดีด และตัวกะปี

ทำการเลี้ยงแมลงหางดีด และตัวกะปีที่ 15° และ 30°ซ ในตู้เพาะเลี้ยงที่ควบคุมอุณหภูมิได้ ใช้จานเพาะเลี้ยงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 และ 5 เซนติเมตร ให้ยีสต์ผงเป็นอาหารสำหรับแมลงหางดีด และใบไม้แห้งเป็นอาหารสำหรับตัวกะปี เลี้ยงแมลงหางดีด 4 ตัว ต่อจานเพาะเลี้ยง 1 อัน และตัวกะปี 2 ตัว ต่อจานเพาะเลี้ยง 1 อัน ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ทั้งตัวกะปีและแมลงหางดีด

9. การหาค่า LC_{50} ไดเมโธเอทที่ 24 ชั่วโมง ของแมลงหางดีดในวงศ์ Neanuridae และในวงศ์ Sminthuridae

9.1 วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

- แมลงหางดีด 2 ชนิด ในวงศ์ Neanuridae ซึ่งมีขนาดใหญ่ มีสีแดง และในวงศ์ Sminthuridae (ภาพที่ 4)
- ไดเมโธเอท ชนิด 30% อีซี ตราพระอาทิตย์
- น้ำกลั่น
- จานเพาะเลี้ยงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 เซ็นติเมตร
- กระดาษซับ
- ปิเปตขนาด 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร
- หลอดทดลอง ขนาด 10 มิลลิลิตร

9.2 วิธีดำเนินการทดลอง

นำแมลงหางดีดส่วนหนึ่งไปทดลอบหาช่วงความเข้มข้นของไดเมโธเอทที่มีผลต่อการตายของแมลงหางดีดก่อน โดยนำไปทดลอบกับไดเมโธเอทที่ระดับความเข้มข้นในช่วงกว้าง ๆ เพื่อหาช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสมของไดเมโธเอทที่จะนำมากำหนดชุดของความเข้มข้น (dilution series) ปรากฏว่าชุดความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับแมลงหางดีด วงศ์ Neanuridae มี 9 ระดับ ได้แก่ 0.00, 0.025, 0.050, 0.075, 0.100, 0.150, 0.200, 0.300 และ 0.350 ppm. และในแมลงหางดีดวงศ์ Sminthuridae มี 6 ระดับ ได้แก่ 0.00, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.10 ppm. รินไดเมโธเอทแต่ละระดับความเข้มข้นในจานเพาะเลี้ยงที่ปูกันจานด้วยกระดาษซับ แล้วเขี่ยแมลงหางดีดใส่ สำหรับวงศ์ Neanuridae ใช้ 10 ตัว และวงศ์ Sminthuridae ใช้ 20 ตัว ในแต่ละชุดของการทดลอง ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง แล้วจึงมาตรวจดูเปอร์เซ็นต์การตาย (% mortiality) ของแมลงหางดีดทุกระดับความเข้มข้น ทำ 3 ซ้ำทุกระดับความเข้มข้น