บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองที่ 1 ผลของระดับไนโตรเจน และฟอสฟอรัส ต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ฟาแลนนอปซิสลูกผสม

1.1. วัสดุและอุปกรณ์ในการทดลอง

1.1.1 วัสดุพันธุ์พืช

ต้นกล้วยไม้ฟาแลนนอปซิสลูกผสม(*Phalaenopsis* White Dream x *Phal.* Cygnus) อายุ 5 เดือน

1.1.2 วัสดุปลูก

วัสดุปลูกได้แก่ สแฟกนัมมอส และ ก้อนโฟมหัก

1.1.3 เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์ธาตุอาหาร

1. เครื่องวัดค่าความนำไฟฟ้า (EC meter)
2. เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
3. เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 4 ตำแหน่ง
4. ตู้อบ
5. ถุงเก็บตัวอย่างพืช
6. ถุงพลาสติกสีขาว ขนาด 2 x 3 นิ้ว
7. ไม้บรรทัด
8. เครื่องบดตัวอย่างพืช
9. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ของบริษัท HITACHI รุ่น U-2001
10. เครื่อง Atomic absorption spectrophotometer ของบริษัท PERKIN ELMER รุ่น 3100
11. เตาย่อยพืช ของบริษัท TECHNE รุ่น DB-4
12. วัสดุเครื่องแก้ว ได้แก่ บิกเกอร์ ปิเปต หลอดทดลอง ขวดปรับปริมาตร แท่งแก้วคน กรวย กระบอกตวง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.1.4 สารเคมีสำหรับเตรียมสารละลายธาตุอาหาร ได้แก่

1.1.4.1 ธาตุอาหารหลัก

1. แอมโมเนียมไนเตรต ($NH_4 NO_3$)
2. แอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($NH_4H_2PO_4$)
3. โพแทสเซียมไนเตรต (KNO_3)
4. แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$)
5. แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)

1.1.4.2 ธาตุอาหารรอง

1. กรดบอริค (H_3BO_3)
2. แมงกานีสซัสเฟต ($MnSO_4.4H_2O$)
3. ซิงค์ซัลเฟต ($ZnSO_4.7H_2O$)
4. คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4.5H_2O$)
5. เหล็กคีเลต (FeEDTA)
6. กรดโมลิบดิก ($MoO_2.2 H_2O$)

1.1.5 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ธาตุอาหาร ได้แก่

1.1.5.1 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ไนโตรเจน

1. กรดซัลฟูริค (H_2SO_4)
2. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)
3. เอททิลีนไดอะมีนเตตระอะซีติกเอซิด ไดโซเดียมซอลท์ (EDTA.2Na)
4. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
5. เอทธานอล (C_2H_5OH)
6. เมธิลเรด (methyl red)
7. โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)
8. กรดเบนโซอิค (benzoic acid)
9. โซเดียมไนโตรพรัสไซด์ (sodium nitropruide)
10. ฟีนอล (phenol)
11. ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4)
12. ไตรโซเดียมฟอสเฟต (Na_2PO_4)
13. โซเดียมไฮเปอร์คลอไรท์ (NaClO)
14. แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.1.5.2 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ฟอสฟอรัส

1. กรดซัลฟูริค (H_2SO_4)

2. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)

3. กรดไฮโดรคลอริค (HCl)

4. แอมโมเนียมโมลิบเดต ($(NH_4)_6Mo_7O_{24}$)

5. สเทนัสคลอไรด์ ($SnCl_2$)

6. โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)

1.1.5.3 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์โพแทสเซียม

1. กรดเปอร์คลอริค ($HClO_4$)

2. กรดไนตริก (HNO_3)

3. กรดไฮโดรคลอริค (HCl)

4. โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl)

1.2 วิธีการทดลอง

ย้ายต้นกล้าฟาแลนนอปซิสลูกผสม (*Phalaenopsis* White Dream x *Phal.* Cygnus) อายุ 5 เดือน ลงในกระถางขนาด 5 นิ้วโดยใช้สแฟกนัมมอส และ ก้อนโฟมหักชิ้น เป็นวัสดุปลูก แล้วพักต้นเพื่อให้ฟื้นตัวเป็นเวลา 1 เดือน เมื่อครบกำหนดในวันที่ 1 มกราคม 2549 จึงเริ่มให้สารละลายธาตุอาหารที่ประกอบด้วยความเข้มข้นของไนโตรเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ร่วมกับ ฟอสฟอรัส 2 ระดับตามกรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ความเข้มข้นของไนโตรเจน 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ ฟอสฟอรัส 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 2 ความเข้มข้นของไนโตรเจน 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ ฟอสฟอรัส 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 3 ความเข้มข้นของไนโตรเจน 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ ฟอสฟอรัส 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 4 ความเข้มข้นของไนโตรเจน 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ ฟอสฟอรัส 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 5 ความเข้มข้นของไนโตรเจน 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ ฟอสฟอรัส 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

กรรมวิธีที่ 6 ความเข้มข้นของไนโตรเจน 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับฟอสฟอรัส 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

ส่วนธาตุอาหารอื่นพืชได้รับเท่ากันในทุกกรรมวิธีคือ โพแทสเซียม 150 มิลลิกรัมต่อลิตร แคลเซียม 65.72 มิลลิกรัมต่อลิตร แมกนีเซียม 20.70 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีการให้ธาตุอาหารจุลภาคอย่างเพียงพอต่อความต้องการของพืช ให้สารละลายธาตุอาหารสัปดาห์ละ 2 ครั้ง ครั้งละ 100 มิลลิลิตรต่อต้น นาน 10 เดือน

วางแผนการทดลองแบบปัจจัยร่วมแบบสุ่มสมบูรณ์ (Factorial in CRD) จำนวน 3 x 2 กรรมวิธี จำนวน 10 ซ้ำ (กระถาง) ต่อกรรมวิธี

1.3 บันทึกผลการทดลอง

1.3.1 การเจริญเติบโตของพืช ได้แก่

1.3.1.1 ความสูงของต้น (เซนติเมตร)วัดจากโคนต้นถึงข้อของกาบใบบนสุด ทุกเดือน

1.3.1.2 จำนวนใบ (ใบต่อต้น) ทุกเดือน

1.3.1.3 ความกว้างใบ (เซนติเมตร)ทุกเดือน

1.3.1.4 ความยาวใบ (เซนติเมตร) ทุกเดือน

1.3.1.5 พื้นที่ใบ เมื่อสิ้นสุดการทดลองด้วยเครื่องวัดพื้นที่ใบ ของบริษัท LI-COR รุ่น LI-3100

1.3.1.6 น้ำหนักสดของใบ (กรัม) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

1.3.1.7 น้ำหนักแห้งของใบ (กรัม) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

1.3.2 คุณภาพดอก ได้แก่

1.3.2.1 เปอร์เซ็นต์การออกดอก

1.3.2.2 ความยาวก้านดอก (เซนติเมตร)

1.3.2.3 ความยาวช่อดอก (เซนติเมตร)

1.3.2.4 จำนวนดอกต่อช่อ

1.3.2.5 ขนาดดอก (กว้าง x ยาว)

1.3.3 การวิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุอาหาร

วิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในใบพืชโดยสุ่มเก็บตัวอย่างพืชจากการทดลองที่ 1 ซึ่งได้รับสารละลายธาตุอาหารต่างกัน โดยสุ่มพืชเมื่อสิ้นสุดการทดลอง จำนวน 3 ซ้ำต่อกรรมวิธี นำใบของพืชที่สุ่มได้มาล้างทำความสะอาดด้วย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

น้ำประปา 2 ครั้ง น้ำกลั่น 3 ครั้ง ซับให้แห้งจากนั้นชั่งน้ำหนักสด บันทึกข้อมูลไว้ แล้วนำตัวอย่างพืชไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน จนกระทั่งน้ำหนักแห้งไม่เปลี่ยนแปลง จึงทำการบันทึกน้ำหนักแห้ง นำไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดตัวอย่างพืช

1.3.3.1 การย่อยตัวอย่างพืช

1.3.3.1.1 สำหรับการวิเคราะห์ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส ดัดแปลงโดย Ohyama *et al*. (1986)

ชั่งตัวอย่างพืชอบแห้งบดละเอียดเฉลี่ย 0.05 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 25 x 200 มิลลิเมตร เติมกรดซัลฟูริคเข้มข้น 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดที่ใส่ตัวอย่าง ปิดหลอดด้วยพาราฟิล์มแล้วตั้งทิ้งไว้ 1 คืน วันต่อมานำมาย่อยที่เตาย่อยตัวอย่างพืชที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที จากนั้นนำหลอดออกวางทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.3 มิลลิลิตร ปั่นให้เข้ากันแล้วนำไปตั้งที่เตาย่อยที่อุณหภูมิ 230 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที สังเกตสีของสารละลายหากสารละลายยังไม่ใสให้เติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.2 มิลลิลิตร ทำซ้ำจนกระทั่งได้สารละลายใสจึงหยุด หลังจากนั้นนำสารละลายใสที่ได้ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วเติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 1 คืน วันต่อมานำมาปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร ด้วยขวดปรับปริมาตร แล้วจึงเทใส่ขวดพลาสติกเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อใช้วิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในขั้นตอนต่อไป

1.3.3.1.2 สำหรับการวิเคราะห์โพแทสเซียม

ย่อยตัวอย่างพืชโดยวิธี HNO_3-$HClO_4$ wet digestion (Mizukoshi *et al*., 1994)

ชั่งตัวอย่างพืชอบแห้งบดละเอียดเฉลี่ย 0.05 กรัม ในหลอดทดลองขนาด 25 x 200 มิลลิเมตร แล้วเติมกรดเปอร์คลอริค 0.4 มิลลิลิตร และกรดไนตริก 0.5 มิลลิลิตร ตามลำดับ ปั่นให้เข้ากัน ปิดหลอดด้วยพาราฟิล์ม ทิ้งไว้ 1 คืน นำไปย่อยที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เพื่อไล่ควันสีเหลืองของ NO_2^- ออกจนกระทั่งหมดควันจึงค่อยๆเพิ่มอุณหภูมิมาที่ 210 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้จนตัวอย่างแห้งระวังอย่าให้ไหม้ เมื่อตัวอย่างแห้งแล้วปิดไฟตั้งทิ้งไว้ในตู้ดูดควันจนกระทั่งเย็น แล้วเติมกรดไฮโดรคลอริคเจือจาง (ประกอบด้วย กรดไฮโดรคลอริค ผสมน้ำอัตรา 1:4 มิลลิลิตร) หลอดละ 1 มิลลิลิตร นำมาตั้งไฟที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที เพื่อไล่ Cl^- ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตรด้วยขวดปรับปริมาตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากนั้นจึงเทใส่ขวดพลาสติกเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณโพแทสเซียมด้วยเครื่อง Atomic absorption spectrophotometer ต่อไป

1.3.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหาร (Ohyama *et al*.. 1985; 1986)

1.3.3.2.1 การวิเคราะห์ปริมาณธาตุไนโตรเจน (Indolphenol Method)

1. เตรียมสารละลายเคมีที่ใช้ตรวจสอบปริมาณไนโตรเจน 4 ชนิด คือ

A reagent : ชั่งเอททิลีนไดอะมีนเตตระอะซีติกเอซิด ไดโซเดียมซอลท์ 25 กรัม ใส่บีกเกอร์ละลายในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้เป็น 10 โดยใช้ 10N โซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นตัวปรับ pH จากนั้นเติมสารละลายเมธิลเรด 20 มิลลิลิตร (เมธิลเรด 0.05 กรัม + 60% เอทานอล 20 มิลลิลิตร) คนให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 ลิตร

B reagent : ชั่งโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 136.09 กรัม ใส่บีกเกอร์ 500 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร จากนั้นชั่งกรดเบนโซอิก 2.75 กรัม ใส่บีกเกอร์ 500 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันจนละลายหมด จึงนำมารวมกัน แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร

C reagent : ชั่งโซเดียมไนโตรพลัสไซด์ 100 มิลลิกรัม เติมฟีนอล 10.25 มิลลิลิตร (นำฟีนอลไปอุ่นที่อุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส ได้ฟีนอลที่เป็นของเหลว) แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 ลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ใช้ได้นาน 2 สัปดาห์

D reagent : ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 กรัม ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 7.06 กรัม ไตรโซเดียมฟอสเฟต 31.8 กรัม ละลายในน้ำกลั่นจากนั้นเติมโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

2. เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 N เพื่อปรับความเป็นกรดเป็นด่าง

3. เตรียมสารละลายมาตรฐาน โดยชั่งแอมโมเนียมซัลเฟต 0.474 กรัม ปรับปริมาตร โดยกรดซัลฟูริค 0.5 N เป็น 1 ลิตร ปรับระดับความเข้มข้นดังนี้ 0 0.1 0.2 0.3 0.4 และ 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน

4. วิธีวิเคราะห์ ดูดตัวอย่างที่ได้จากการย่อยในข้อ 1.3.3.1.1 จำนวน 0.5 มิลลิลิตร เติม A reagent 0.5 มิลลิลิตร แล้วเติม B reagent 0.5 มิลลิลิตร ตามลำดับ นำมาไตเตรท โดยหยด โซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 N ลงไป เขย่าเล็กน้อยให้สีเปลี่ยน จากนั้นเติม C reagent 2.5 มิลลิลิตร และ D reagent 2.5 มิลลิลิตร ตามลำดับ ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

25 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร บันทึกผล แล้วนำค่าที่อ่านได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของไนโตรเจนที่ทำไว้ จากนั้นนำค่าที่คำนวณได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน (%) โดยใช้สูตรคำนวณดังนี้

$$\text{ปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่างพืช (\%)} = \frac{A \times B \times C}{1000 \times DW}$$

A มิลลิกรัมต่อลิตร = ค่าความเข้มข้นของไนโตรเจนในสารละลายตัวอย่างพืชจากกราฟมาตรฐาน (มิลลิกรัมต่อลิตร)

B = อัตราส่วนการเจือจางสารตัวอย่างในปฏิกิริยา Indolphenol

$$= \frac{\text{ปริมาตรสุดท้ายในการวิเคราะห์ (25 มิลลิลิตร)}}{\text{ปริมาตรสารตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์ (0.5 มิลลิลิตร)}}$$

C = ปริมาตรสุดท้ายของการย่อยตัวอย่างพืช

DW = น้ำหนักตัวอย่างอบแห้งที่ใช้สกัด (0.05 กรัม)

1.3.3.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณธาตุฟอสฟอรัสโดยวัดการดูดกลืนแสงของสารมีสี (colorimetry) ตามกรรมวิธีของ Ohyama *et al.* (1991) ซึ่งได้จากการทำปฏิกิริยาระหว่างฟอสเฟตและอนุมูลโมลิบเดตดังนี้

1. การเตรียมสารละลายสำหรับวิเคราะห์

A reagent : ชั่งแอมโมเนียโมลิบเดต 25 กรัม ผสมน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร ละลายให้เข้ากันจากนั้นนำมากรอง

B reagent : เตรียมกรดซัลฟูริก 250 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 1 คืน จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 500 มิลลิลิตร

C reagent : นำ A reagent มาผสมกับ B reagent โดยเท B reagent ลงใน บีกเกอร์ขนาด 1 ลิตร ค่อยๆเท A reagent ทีละน้อย ช้าๆ ทิ้งไว้ 1 คืน วันต่อมานำมาปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร เก็บไว้ในขวดสีชาตั้งไว้ในที่มืด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. เตรียมสเทนัสคลอไรด์ reagent โดยชั่งสเทนัสคลอไรด์ 0.25 กรัม เทลงในขวดสีชา ไปทำที่ตู้ดูดควัน โดยเติมไฮโดรคลอริค 5 มิลลิลิตร ละลายให้หมด จากนั้นเติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร

3. เตรียมสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัสจากโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ปรับให้มีความเข้มข้นตามลำดับ 0 0.1 0.2 0.3 0.4 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน

4. ดูดตัวอย่างจากข้อ 1.3.3.1.2 จำนวน 0.5 มิลลิลิตรลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อยเติม C reagent ขวดละ 1 มิลลิลิตร และเติม สเทนัสคลอไรด์ 0.2 มิลลิลิตร ตามลำดับ เติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร นำค่าที่อ่านได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของฟอสฟอรัส จากนั้นนำค่าที่คำนวณได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ฟอสฟอรัส (%) โดยใช้สูตรคำนวณเช่นเดียวกับการหาปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่างพืช

1.3.3.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณธาตุโพแทสเซียม

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานของโพแทสเซียม โดยปรับให้มีความเข้มข้นคือ 0 0.1 0.2 0.3 0.4 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน

2. ดูดตัวอย่างจากข้อ 1.3.3.1.2 จำนวน 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 25 มิลลิลิตร

3. นำสารละลายดังกล่าวไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Atomic absorption spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 766.5 นาโนเมตร บันทึกผล จากนั้นนำค่าที่คำนวณได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์โพแทสเซียม(%) โดยใช้สูตรคำนวณ เช่นเดียวกับการหาปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่างพืช

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 2 ปริมาณธาตุอาหารสะสมในต้นกล้วยไม้ฟาแลนนอปซิสลูกผสมในระยะการเจริญเติบโตต่างกัน

2.1 วัสดุอุปกรณ์

2.1.1 วัสดุพันธุ์พืช

ต้นกล้วยไม้ฟาแลนนอปซิสลูกผสม(*Phalaenopsis* White Dream x *Phal.* Cygnus) อายุ 5 เดือน

2.1.2 วัสดุปลูก

วัสดุปลูกได้แก่ สแฟกนัมมอส และ ก้อนโฟมหัก

2.1.3 เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์ธาตุอาหารเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

2.2 สารเคมีในการทดลอง

2.2.1 สารเคมีสำหรับเตรียมสารละลายธาตุอาหาร ได้แก่

2.2.1.1 ปุ๋ยทวินเฟอร์ตี้ สูตร 21-21-21 ($N:P_2O_5:K_2O$)

2.2.2 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ธาตุอาหาร โดยทำการวิเคราะห์ธาตุอาหาร ได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก แมงกานีส สังกะสี และทองแดง ในใบฟาแลนนอปซิสทุกเดือน จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง

2.2.2.1 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ไนโตรเจน

เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

2.2.2.2 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ฟอสฟอรัส

เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

2.2.2.3 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์โพแทสเซียม

เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

2.2.2.4 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก แมงกานีส สังกะสี และทองแดง

1. กรดเปอร์คลอริค ($HClO_4$)
2. กรดไนตริก (HNO_3)
3. กรดไฮโดรคลอริค (HCl)
4. แลนทานัมออกไซด์ (LaO_2)
5. แคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$)
6. แมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

7. สารละลายมาตรฐานของเหล็ก
8. แมงกานีสซัลเฟต ($MnSO_4$)
9. ซิงค์ซัลเฟต ($ZnSO_4$)
10. คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$)

2.3 วิธีการทดลอง

ย้ายต้นกล้าฟาแลนนอปซิสลูกผสม (*Phalaenopsis* White Dream x *Phal.* Cygnus) อายุ 5 เดือน ลงในกระถางขนาด 5 นิ้วโดยใช้สแฟกนัมมอส และ ก้อนโฟมหักชิ้น เป็นวัสดุปลูกเมื่อวันที่ 1 มีนาคม 2549 แล้วพักต้นเพื่อให้ฟื้นตัวเป็นเวลา 1 เดือน เมื่อครบกำหนดในวันที่ 1 เมษายน 2549 จึงเริ่มให้สารละลายธาตุอาหารที่เตรียมจากปุ๋ยทวินเฟอร์ติ้ สูตร 21-21-21 ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอัตราที่ต่างกันดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ไม่ให้ปุ๋ย (ให้น้ำประปาเพียงอย่างเดียว)

กรรมวิธีที่ 2 ให้ปุ๋ยทวินเฟอร์ติ้สูตร 21-21-21 ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตรทุก 2 วัน

กรรมวิธีที่ 3 ให้ปุ๋ยทวินเฟอร์ติ้สูตร 21-21-21 ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตรทุก 7 วัน

มีการให้ธาตุอาหารจุลภาคอย่างเพียงพอต่อความต้องการของพืช(ซึ่งมีอยู่ในปุ๋ยทวินเฟอร์ติ้อยู่แล้ว) โดยให้สารละลายธาตุอาหารครั้งละ 100 มิลลิลิตรต่อต้น

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) จำนวน 3 กรรมวิธี จำนวน 10 ซ้ำ ต่อกรรมวิธี

2.4 บันทึกผลการทดลอง

2.4.1 การเจริญเติบโตของพืช ได้แก่

2.4.1.1 ความสูงของต้น (เซนติเมตร) ทุกเดือน

2.4.1.2 จำนวนใบ (ต่อต้น) ทุกเดือน

2.4.1.3 ความกว้างใบ (เซนติเมตร)ทุกเดือน

2.4.1.4 ความยาวใบ (เซนติเมตร) ทุกเดือน

2.4.1.5 พื้นที่ใบ ทุกเดือน

2.4.1.6 น้ำหนักสดของใบ (กรัม) ทุกเดือน

2.4.1.7 น้ำหนักแห้งของใบ (กรัม) ทุกเดือน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.4.2 การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหาร

สุ่มเก็บตัวอย่างพืชจากการทดลองที่ 2 ซึ่งได้รับสารละลายธาตุอาหารต่างกันตามกรรมวิธีในข้อ 2.3 โดยสุ่มพืชทุกเดือน จำนวน 3 ซ้ำต่อกรรมวิธี นำใบมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำประปา 2 ครั้ง น้ำกลั่น 3 ครั้ง ซับให้แห้งจากนั้นชั่งน้ำหนักสด บันทึกข้อมูลไว้ แล้วนำตัวอย่างพืชไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน จนกระทั่งน้ำหนักแห้งไม่เปลี่ยนแปลง จึงทำการบันทึกน้ำหนักแห้ง นำไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดตัวอย่างพืช

2.4.2.1 การย่อยตัวอย่างพืช

เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

2.4.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหาร

2.4.2.2.1 วิเคราะห์ปริมาณธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม

เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

2.4.2.2.2 วิเคราะห์ปริมาณธาตุแคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก แมงกานีส ทองแดง และสังกะสี

1. เตรียม lanthanum oxide โดยชั่ง lanthanum oxide 2.01 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 500 มิลลิลิตร เติม HCl 37 % 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร

2. เตรียมสารละลายมาตรฐานของแคลเซียม จาก $CaCO_3$ จากนั้นปรับให้มีความเข้มข้นตามลำดับคือ 0 0.05 0.1 0.15 0.2 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน

3. เตรียมสารละลายมาตรฐานของแมกนีเซียมจาก $MgCl_2$ จากนั้นปรับให้มีความเข้มข้นตามลำดับคือ 0 0.05 0.1 0.15 0.2 และ0.25 มิลลิลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน

4. เจือจางสารละลายตัวอย่างจากข้อ 1.5.3.1.2 สำหรับวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียม โดยใช้สารตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางด้วยสารละลาย lanthanum oxide เป็น 25 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5. นำสารละลายดังกล่าวไปวัดปริมาณพลังงานแสงที่ถูกดูดกลืนโดยอะตอมของแคลเซียมและแมกนีเซียม ด้วยเครื่อง atomic absorption spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 442.7 นาโนเมตร และ 285.2 นาโนเมตร สำหรับวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียมและแมกนีเซียมตามลำดับ บันทึกผล และนำค่าที่คำนวณได้มาคำนวณหาปริมาณแคลเซียมและแมกนีเซียม (%) โดยใช้สูตรคำนวณ เช่นเดียวกับการหาปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่างพืช

2.4.2.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณธาตุเหล็ก แมงกานีส ทองแดง และสังกะสี

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานของเหล็ก จากนั้นปรับให้มีความเข้มข้นตามลำดับคือ 0 0.05 0.1 0.15 0.2 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน

2. เตรียมสารละลายมาตรฐานของแมงกานีส จาก $MnSO_4.4H_2O$ จากนั้นปรับให้มีความเข้มข้นตามลำดับคือ 0 0.05 0.1 0.15 0.2 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน

3. เตรียมสารละลายมาตรฐานของทองแดง จาก $CuSO_4.5H_2O$ จากนั้นปรับให้มีความเข้มข้นตามลำดับคือ 0 0.05 0.1 0.15 0.2 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน

4. เตรียมสารละลายมาตรฐานของสังกะสี จาก $ZnSO_4.7H_2O$ จากนั้นปรับให้มีความเข้มข้นตามลำดับคือ 0 0.05 0.1 0.15 0.2 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน

5. นำสารละลายตัวอย่างจากข้อ 1.5.3.1.2 ไปวัดปริมาณพลังงานแสงที่ถูกดูดกลืนโดยอะตอมของเหล็ก แมงกานีส ทองแดง และสังกะสี ด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 248.3 นาโนเมตร, 279.5 นาโนเมตร, 324.8 นาโนเมตรและ 213.9 นาโนเมตร สำหรับวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก แมงกานีส ทองแดง และสังกะสี ตามลำดับ บันทึกผล และนำค่าที่คำนวณได้มาคำนวณหาความเข้มข้นของเหล็ก แมงกานีส ทองแดง และสังกะสี (%) โดยใช้สูตรคำนวณ เช่นเดียวกับการหาปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่างพืช

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved