บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

1. วัสดุและอุปกรณ์

1.1 วัสดุพันธุ์พืช

หัวพันธุ์ในระยะพักตัวของปทุมมาพันธุ์ Chiangmai Pink (ภาพที่ 1) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 - 2.5 เซนติเมตร มีจำนวนตุ้มสะสมอาหาร 3 - 5 ตุ้มต่อหัว จำนวน 1,125 หัว

ภาพที่ 5 หัวพันธุ์ปทุมมาพันธุ์ Chiangmai Pink

1.2 วัสดุสารเคมี

1.2.1 สารเคมีสำหรับการเตรียมธาตุอาหาร ได้แก่

1.2.1.1 แม่ปุ๋ยสูตร 46-0-0

1.2.1.2 แม่ปุ๋ยสูตร 0-0-50

1.2.1.3 ปุ๋ยสูตร 0-52-34

1.2.1.4 ปุ๋ยสูตร 15-15-15

1.2.1.5 $MgSO_4$

1.2.1.6 $CaSO_4$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.2.2 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ไนโตรเจน ได้แก่

1.2.2.1 กรดซัลฟูริก (H_2SO_4)

1.2.2.2 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)

1.2.2.3 โซเดียมคีเลต (EDTA.2Na)

1.2.2.4 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

1.2.2.5 เอทานอล (C_2H_5OH)

1.2.2.6 เมทิลเรด (methyl red)

1.2.2.7 โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)

1.2.2.8 กรดเบนโซอิค (benzoic acid)

1.2.2.9 โซเดียมไนโตรพลัสไซด์ ($Na_2[Fe(CN)_5NO].2H_2O$)

1.2.2.10 ฟีนอล ($C_6H_6O_6$)

1.2.2.11 ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4)

1.2.2.12 ไตรโซเดียมฟอสเฟต (Na_3PO_4)

1.2.2.13 โซเดียมไฮเปอร์คลอไรท์ (NaClO)

1.2.2.14 แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$)

1.2.3 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ฟอสฟอรัส ได้แก่

1.2.3.1 กรดซัลฟูริก (H_2SO_4)

1.2.3.2 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)

1.2.3.3 กรดไฮโดรคลอริค (HCl)

1.2.3.4 แอมโมเนียมโมลิบเดต ($(NH_4)_6Mo_7O_{24}$)

1.2.3.5 สเทนัสคลอไรด์ ($SnCl_2$)

1.2.3.6 โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)

1.2.4 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์โพแทสเซียม ได้แก่

1.2.4.1 กรดเปอร์คลอริคเข้มข้น ($HClO_4$)

1.2.4.2 กรดไนตริก (HNO_3)

1.2.4.3 กรดไฮโดรคลอริค (HCl)

1.2.4.4 โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.2.5 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์แคลเซียม และแมกนีเซียม

1.2.5.1 กรดเปอร์คลอริค ($HClO_4$)

1.2.5.2 กรดไนตริก (HNO_3)

1.2.5.3 กรดไฮโดรคลอริค (HCl)

1.2.5.4 แลนทานัมออกไซด์ (LaO_2)

1.2.5.5 แคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$)

1.2.5.6 แมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2$)

1.2.5.7 สารละลายมาตรฐานของเหล็ก

1.2.5.8 แมงกานีสซัลเฟต ($MnSO_4$)

1.2.5.9 ซิงค์ซัลเฟต ($ZnSO_4$)

1.2.5.10 คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$)

1.3 อุปกรณ์

1.3.1 ไม้บรรทัด

1.3.2 เวอร์เนียร์คาร์ลิปเปอร์

1.3.3 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ของบริษัท HITACHI รุ่น U-2001

1.3.4 Atomic absorption spectrophotometer ของบริษัท PERKIN ELMER รุ่น 3100

1.3.5 เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 4 ตำแหน่ง

1.3.6 เครื่องบดตัวอย่างพืช

1.3.7 ถุงพลาสติกเก็บตัวอย่างพืช

1.3.8 ป้ายชื่อพร้อมปากกาเคมี

1.3.9 ตู้อบตัวอย่างพืช

1.3.10 เตาย่อยตัวอย่างพืชของบริษัท TECHNE รุ่น DB – 4

1.3.11 ขวดพลาสติก ขนาด 30 มิลลิลิตร

1.3.12 ขวดพลาสติก ขนาด 60 มิลลิลิตร

1.3.13 เครื่องแก้ว

1.3.13.1 หลอดทดลอง ขนาด 25 x 200 มิลลิลิตร

1.3.13.2 บีกเกอร์

1.3.13.3 กระบอกตวง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.3.13.4 กรวยกรอง

1.3.13.5 ขวดปรับปริมาตร

1.3.13.6 ปิเปตแก้ว

1.3.13.7 ไมโครปิเปต

1.3.13.8 หลอดหยดสาร

1.3.13.9 แท่งแก้วคนสาร

1.3.13.10 ช้อนตักสาร

2. วิธีการทดลอง

เตรียมหัวพันธุ์ปทุมมาพันธุ์ Chiangmai Pink ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 - 2.5 เซนติเมตร มีจำนวนตุ้มสะสมอาหาร 3 - 5 ตุ้มต่อหัว จำนวน 1,125 หัว แช่น้ำนาน 3 วัน เปลี่ยนน้ำทุกวันเพื่อกระตุ้นการงอกของตา ปลูกลงแปลงขนาด 1.5 x 5 เมตร ใช้ระยะปลูกระหว่างต้น 0.3 x 0.3 เมตร (75 ต้นต่อแปลง) รดน้ำทุกวัน เมื่อยอดแทงสูงประมาณ 3 เซนติเมตร จึงเริ่มให้ปุ๋ยที่มีระดับไนโตรเจนแตกต่างกัน 5 ระดับ โดยพืชได้รับปริมาณปุ๋ยรวมตลอดการทดลอง ตามกรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ให้ปุ๋ยที่มีระดับไนโตรเจน 37.5 กิโลกรัม/ไร่

กรรมวิธีที่ 2 ให้ปุ๋ยที่มีระดับไนโตรเจน 75.0 กิโลกรัม/ไร่

กรรมวิธีที่ 3 ให้ปุ๋ยที่มีระดับไนโตรเจน 150.0 กิโลกรัม/ไร่ (GAP)

กรรมวิธีที่ 4 ให้ปุ๋ยที่มีระดับไนโตรเจน 300.0 กิโลกรัม/ไร่

กรรมวิธีที่ 5 ให้ปุ๋ยที่มีระดับไนโตรเจน 600.0 กิโลกรัม/ไร่

ตลอดวงจรการเจริญเติบโตของพืช ได้รับธาตุอื่นๆ เท่ากันในทุกกรรมวิธี คือ ฟอสฟอรัส 150 กิโลกรัมต่อไร่ โพแทสเซียม 200 กิโลกรัมต่อไร่ แคลเซียม 5.4 กิโลกรัมต่อไร่ แมกนีเซียม 2.5 กิโลกรัมต่อไร่

วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design; RCBD) กรรมวิธีละ 3 บล็อก (แปลง)

วิธีการให้ปุ๋ย

การให้ปุ๋ยแก่ปทุมมา แบ่งให้ทุกๆ 15 วัน เป็นเวลา 12 ครั้ง (นาน 6 เดือน) โดยการหยอดปุ๋ยเป็นจุดๆ บริเวณรอบๆต้นปทุมมาแต่ละกอ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.1 การบันทึกผลการทดลอง

2.1.1 การบันทึกการเจริญเติบโต ได้แก่

2.1.1.1 บันทึกการเจริญเติบโตและการพัฒนาทุกๆ 15 วัน ได้แก่ ความสูงของต้น (เซนติเมตร) วัดจากโคนต้นถึงปลายใบที่สูงที่สุดโดยรวบใบขึ้น จำนวนใบต่อต้น จำนวนหน่อต่อกอ

2.1.1.2 บันทึกคุณภาพดอก เมื่อระยะดอกจริงดอกแรกบาน ได้แก่ ความยาวก้านดอก (เซนติเมตร) วัดจากโคนต้นจนถึงโคนกลีบประดับสีเขียว (green bract) ความยาวช่อดอก (เซนติเมตร) วัดจากโคนกลีบประดับล่างจนถึงปลายกลีบประดับสีชมพู (coma bract) ความกว้างช่อดอก จำนวนกลีบประดับสีเขียว และจำนวนกลีบประดับสีชมพู

2.1.1.3 บันทึกคุณภาพหัวพันธุ์ เมื่อระยะเก็บเกี่ยว ได้แก่ จำนวนหัวใหม่ต่อกอ จำนวนตุ้มรากใหม่ต่อกอ เส้นผ่าศูนย์กลางหัว เส้นผ่าศูนย์กลางตุ้มราก

2.1.1.4 พื้นที่ใบรวม วัดด้วยเครื่อง Leaf Area meter, ปริมาณคลอโรฟิลล์ วัดด้วยเครื่อง Chlorophyll Meter (Minolta SPAD-502) และบันทึกปริมาณการสะสมน้ำหนักแห้งในส่วนต่างๆ ของพืช

2.1.1.5 วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน (Indolphenol Method) (Ohyama *et al*., 1985; 1986) ฟอสฟอรัส (Ohyama *et al*., 1991) โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม (Mizukoshi *et al.,* 1994) ในส่วนต่างๆของพืช ในแต่ละระยะการเจริญเติบโต (ทุก 30 วัน) จนกระทั่งพักตัว

2.1.1.6 วิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในดิน (Thomas, 1982) ได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม (ก่อนปลูก และทุก 30 วัน)

2.1.1.7 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างระดับไนโตรเจนกับผลผลิตที่ได้ โดยวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์อย่างง่าย (simple correlation)

2.1.2 การเก็บตัวอย่างดินเพื่อวิเคราะห์ทางเคมี (พัชรี, 2549)

1. ใช้เสียมขุดดินเป็นรูปตัววี (V) ให้มีความลึกในแนวดิ่งประมาณ 15 - 30 เซนติเมตร เอาดินในหลุมออกให้หมด จากนั้นใช้เสียมวางลงขอบหลุมด้านในด้านหนึ่งที่หน้าตัดเรียบห่างจากขอบหลุมประมาณ 2 เซนติเมตร กดปลายเสียมโดยแรงเพื่อขุดดินที่ปลายหลุมด้านในด้านหนึ่งให้ดินติดเสียมขึ้นมา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. ใช้มีดที่สะอาดตัดหน้าดินบนเสียมออกเป็น 3 ส่วน โดยตัดส่วนด้านข้างทั้งสองทิ้ง เอาเฉพาะส่วนดินที่อยู่ตรงกลาง

3. เก็บตัวอย่างดินแบบซิกแซ็กเป็นจุดๆให้กระจายทั่วแปลง จำนวนจุดที่เก็บคือ 3 จุดต่อแปลง (9 จุดต่อกรรมวิธี) ให้ครบทุกจุดตามที่กำหนดไว้ในขอบเขตพื้นที่ รวมกันเป็น 1 ตัวอย่าง เพื่อเป็นตัวแทนความอุดมสมบูรณ์ของดินในกรรมวิธีนั้นๆ

2.1.3 การวิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุอาหารส่วนเหนือดินและส่วนใต้ดิน

2.1.3.1 **การเตรียมตัวอย่างพืช**

สุ่มพืชในแต่ละระยะที่ศึกษา (ทุก 30 วัน) จำนวน 3 บล็อกต่อกรรมวิธี (4 ต้นต่อบล็อก) นำมาแยกส่วนขององค์ประกอบพืช ได้แก่ หัว ตุ้มราก รากฝอย ใบ ช่อดอก หัวใหม่ ตุ้มรากใหม่ ล้างทำความสะอาดด้วยน้ำประปา 3 ครั้ง น้ำกลั่น 3 ครั้ง ซับให้แห้ง จากนั้นชั่งน้ำหนักสด แล้วนำไปอบแห้งที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จนกระทั่งน้ำหนักแห้งไม่เปลี่ยนแปลง แล้วนำมาชั่งเพื่อบันทึกน้ำหนักแห้ง (กรัม) จากนั้นนำไปบดให้ละเอียด เก็บใส่ถุงพลาสติก ก่อนนำไปชั่งเพื่อใช้ย่อยและวิเคราะห์ธาตุอาหารต่อไป

2.1.3.2 **การย่อยตัวอย่างพืชด้วยกรด (Wet Acid Digestion)** ดัดแปลงโดย Ohyama *et al*. (1991)

ก. การย่อยตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ไนโตรเจนและฟอสฟอรัส

ชั่งตัวอย่างพืชที่บดละเอียดประมาณ 0.05 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 25x200 มิลลิลิตร จากนั้นเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น (H_2SO_4) 1 มิลลิลิตร ปิดหลอดด้วยพาราฟิล์มทิ้งไว้ 1 คืน วันต่อมานำมาย่อยที่เตาย่อยตัวอย่าง ปรับอุณหภูมิที่ 180 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที นำหลอดทดลองขึ้นมาพักทิ้งไว้ให้เย็น แล้วเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) หลอดละ 0.3 มิลลิลิตร ปั่นให้เข้ากัน นำมาย่อยต่อโดยปรับอุณหภูมิเป็น 230 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที หากสารละลายยังไม่ใสให้เติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) หลอดละ 0.2 มิลลิลิตร แล้วนำไปย่อยต่อที่อุณหภูมิ 230 องศาเซลเซียส 30 นาที ทำซ้ำเติมจนกระทั่งสารละลายใส หลังจากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 1 คืน วันต่อมานำมาปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร เก็บสารละลายไว้ในขวดพลาสติก เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องสำหรับวิเคราะห์ต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ข. การย่อยตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม

(Mizukoshi *et al.,* 1994)

ชั่งตัวอย่างพืชอบแห้งที่บดละเอียดหนักประมาณ 0.05 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 25x200 มิลลิลิตร เติมกรดเปอร์คลอริคเข้มข้น ($HClO_4$) 0.4 มิลลิลิตร และกรดไนตริก (HNO_3) 0.5 มิลลิลิตร ตามลำดับ ปั่นให้เข้ากัน ปิดหลอดด้วยพาราฟิล์มทิ้งไว้ 1 คืน จากนั้นนำมาย่อยที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เพื่อไล่ควันสีเหลืองของ NO_2^- ออกหมด จึงปรับเพิ่มอุณหภูมิเป็น 210 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้จนตัวอย่างแห้ง ระวังอย่าให้ไหม้ นำออกมาทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเติมสารละลายเจือจาง (HCl : H_2O อัตรา 1 : 4) หลอดละ 1 มิลลิลิตร ปั่นให้เข้ากัน จากนั้นนำมาตั้งบนเตาที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที เพื่อไล่ Cl^- ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำมาปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร เทใส่ขวดพลาสติกเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง สำหรับวิเคราะห์ต่อไป

2.1.3.3 **การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหาร** (Ohyama *et al.,* 1985; 1986)

2.1.3.3.1 **การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนรวม (Indolphenol Method)**

1. เตรียมสารละลายที่ใช้ตรวจสอบปริมาณไนโตรเจน จำนวน 4 ชนิด ดังนี้

A reagent : ชั่งโซเดียมคีเลต (EDTA.2Na) 25 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับ pH ให้เป็น 10 โดยใช้ 10 N โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เป็นตัวปรับ pH จากนั้นเติมสารละลายเมธิลเรด (methylred) 20 มิลลิลิตร (เมธิลเรด 0.05 กรัม + 60% เอทธานอล 20 มิลลิลิตร) คนให้เข้ากัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 ลิตร

B reagent : ชั่งโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 136.09 กรัม ใส่บีกเกอร์ 500 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร จากนั้นชั่งกรดเบนโซอิค (benzoic acid) 2.75 กรัม ใส่บีกเกอร์ 500 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร นำไปปั่นโดยใช้ stirrer ปรับอุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส จนละลายหมด นำมารวมกัน แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร

C reagent : ชั่งโซเดียมไนโตรพลัสไซด์ (sodium nitroprusside) 0.1 กรัม ใส่ในขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) จากนั้นเติมฟีนอล (phenol) 10.25 มิลลิลิตร (นำฟีนอลไปอุ่นที่อุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส จะได้ฟีนอลที่เป็นของเหลว) แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 ลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ใช้ได้นาน 2 สัปดาห์

D reagent : ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 10 กรัม ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($Na_2HPO_4.7H_2O$) 7.06 กรัม และ ไตรโซเดียมฟอสเฟต ($Na_3PO_4.12H_2O$) 31.8

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

กรัม ละลายในน้ำกลั่น จากนั้นเติมโซเดียมไฮเปอร์คลอไรท์ (sodium hyperchlorite) 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร

2. เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 1 N (ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 40 กรัม ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร)

3. เตรียมสารละลายมาตรฐานจากแอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน โดยชั่งแอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) 0.471 กรัม ละลายด้วยกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) 0.5 N แล้วปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 1 ลิตร จนครบปริมาตรจะได้สารละลายมาตรฐานไนโตรเจนความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นนำสารละลายไปเจือจางตามความเข้มข้นที่ต้องการ โดยกรดซัลฟูริก 0.5 N เตรียมจากกรดซัลฟูริก 13.32 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

4. ดูดตัวอย่างที่ย่อยได้จากข้อ 2.1.2.2 (ก) ปริมาตร 0.3-0.5 มิลลิลิตร (ขึ้นกับส่วนของพืช) เติม A reagent 0.5 มิลลิลิตร และเติม B reagent 0.5 มิลลิลิตร ตามลำดับ สารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพู แล้วนำมาไตรเตรทโดยหยดโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 1 N ลงไปเขย่าเล็กน้อยให้สารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลือง จากนั้นเติม C reagent 2.5 มิลลิลิตร และ D reagent 2.5 มิลลิลิตร ตามลำดับ ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 25 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่ 30 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ที่ 625 นาโนเมตร บันทึกผล แล้วนำค่าที่อ่านได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน จากนั้นนำค่าที่คำนวณได้มาคำนวณหาปริมาณไนโตรเจน (มิลลิกรัมต่อส่วนของพืช) โดยใช้สูตรคำนวณดังนี้

ปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่างพืช (มิลลิกรัมต่อส่วนของพืช)

$$= (((A \times B \times C) / (D \times E \times 10000)) \times 10) \times \text{น้ำหนักแห้งในส่วนของพืชนั้น}$$

สาร A = ค่าความเข้มข้นของไนโตรเจนจากกราฟมาตรฐาน (มิลลิกรัมต่อลิตร)

B = ปริมาตรสุดท้ายในปฏิกิริยา Indolphenol (25 มิลลิลิตร)

C = ปริมาตรสุดท้ายของการย่อยตัวอย่างพืช (50 มิลลิลิตร)

D = น้ำหนักแห้งของตัวอย่างที่ใช้ย่อย (กรัม)

E = ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์ (มิลลิลิตร)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.1.3.3.2 **การวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสโดยการวัดการดูดกลืนแสงของสารที่มีสี (colorimetry)** (Ohyama *et al*., 1991) ซึ่งได้จากการทำปฏิกิริยาระหว่างฟอสเฟต และอนุมูลโมลิบเดต ดังนี้

1. เตรียมสารละลายที่ใช้ตรวจสอบปริมาณฟอสฟอรัสจำนวน 3 ชนิดดังนี้

A reagent : ชั่งแอมโมเนียมโมลิบเดต ($(NH_4)_6Mo_7O_{24}$) 25 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร จากนั้นนำมากรอง

B reagent : เตรียมกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) 250 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 1 คืน จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 500 มิลลิลิตร

C reagent : นำ A reagent มาผสม B reagent โดยเท B reagent ลงในบีกเกอร์ ขนาด 1 ลิตร ค่อยๆ เท A reagent ทีละน้อย อย่างช้าๆ ทิ้งไว้ 1 คืน วันต่อมานำมาปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร เก็บไว้ในขวดสีชาตั้งไว้ในที่มืด

2. เตรียมสารละลายสเทนัสคลอไรด์ ($SnCl_2.2H_2O$) โดยชั่งสเทนัสคลอไรด์ 0.25 กรัม เทลงในขวดสีชา (ควรเตรียมในตู้ควัน) เติมกรดไฮโดรคลอริก 5 มิลลิลิตร ละลายให้หมด จากนั้นเติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร ใช้ได้ 3 วัน

3. เตรียมสารละลายมาตรฐานของฟอสฟอรัส จากโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) ปรับให้มีความเข้มข้นตามลำดับคือ 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน โดยชั่งโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 0.716 กรัม ละลายด้วยกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) 4 N แล้วปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 1 ลิตร จนครบปริมาตร ได้สารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นนำสารละลายไปเจือจางตามความเข้มข้นที่ต้องการ

4. ดูดสารละลายตัวอย่างจากข้อ 2.1.2.2 (ก) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย เติม C reagent ขวดละ 1 มิลลิลิตร และเติมสเทนัสคลอไรด์ 0.2 มิลลิลิตร ตามลำดับ ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 25 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง(spectrophotometer) ที่ 660 นาโนเมตร นำค่าที่อ่านได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของฟอสฟอรัส จากนั้นนำค่าที่คำนวณได้มาคำนวณหาความเข้มข้นของฟอสฟอรัส (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) เช่นเดียวกับการหาความเข้มข้นของไนโตรเจน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.1.2.3.3 **การวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียม**

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานของโพแทสเซียมที่มีความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน

2. เจือจางสารละลายตัวอย่างจากข้อ 2.1.2.2 (ข) โดยใช้สารตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางด้วยน้ำกลั่นเป็น 25 มิลลิลิตร

3. นำสารละลายดังกล่าว ไปวัดความเข้มข้นของโพแทสเซียม ด้วยเครื่อง Atomic absorption spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 766.5 นาโนเมตร บันทึกผล และนำค่าที่คำนวณได้มาคำนวณหาปริมาณโพแทสเซียม (มิลลิกรัมต่อส่วนของพืช) เช่นเดียวกับการหาปริมาณไนโตรเจน

2.1.2.3.4 **การวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียม และแมกนีเซียม**

1. เตรียม lantanum oxide โดยชั่ง lantanum oxide 2.01 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 500 มิลลิลิตร จากนั้นเติม HCl 37 % 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร

2. เจือจางสารละลายตัวอย่างจากข้อ 2.1.2.2 (ข) โดยใช้สารตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางด้วยสารละลาย lantanum ให้เป็น 25 มิลลิลิตร

3. เตรียมสารละลายมาตรฐานของแคลเซียมจาก $CaCO_3$ จากนั้นปรับปริมาตรด้วยสารละลาย lanthanum ให้มีความเข้มข้น 0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน

4. เตรียมสารละลายมาตรฐานของแมกนีเซียมจาก $MgCl_2$ จากนั้นปรับปริมาตรด้วยสารละลาย lanthanum ให้มีความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน

5. นำสารละลายดังกล่าวไปวัดความเข้มข้นของแคลเซียม และแมกนีเซียม ด้วยเครื่อง Atomic absorption spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 422.7 และ 285.2 นาโนเมตร สำหรับวิเคราะห์ความเข้มข้นของแคลเซียม และแมกนีเซียม ตามลำดับ บันทึกผล และนำค่าที่คำนวณได้มาคำนวณหาปริมาณแคลเซียม และแมกนีเซียม (มิลลิกรัมต่อส่วนของพืช) เช่นเดียวกับการหาปริมาณของไนโตรเจน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. สถานที่ในการดำเนินการวิจัยและรวบรวมข้อมูล

1. ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
2. ห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
3. ศูนย์บริการการพัฒนาขยายพันธุ์ไม้ดอกไม้ผลบ้านไร่อันเนื่องมาจากพระราชดำริ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

4. ระยะเวลาดำเนินการ

ตั้งแต่เดือน พฤษภาคม 2552 ถึง พฤษภาคม 2554

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved