

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

1. วัสดุอุปกรณ์

1.1 วัสดุพันธุ์พืช ได้แก่ เมล็ดมะเขือเทศพันธุ์ ทับทิมแดง T2021 และ พันธุ์เอ็กซ์ตรา 390

1.2 วัสดุเพาะต้นกล้า ได้แก่ ทราย และขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1 : 1

1.3 วัสดุปลูก ได้แก่ เปลือกมะพร้าวสับ

1.4 อุปกรณ์ ได้แก่

1.4.1 ถาดเพาะต้นกล้าขนาด 104 หลุม

1.4.2 ปิ๋วคูดสารละลายธาตุอาหาร

1.4.3 ถังขนาด 10 ลิตร (เก็บสารละลายเข้มข้น)

1.4.4 ถังขนาด 100 ลิตร (เก็บสารละลายธาตุอาหาร)

1.4.5 เชือกผ้า

1.4.6 เครื่องวัดค่าความนำไฟฟ้า (EC meter)

1.4.7 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)

1.4.8 เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 4 ตำแหน่ง

1.4.9 ถังกระดาษเก็บตัวอย่างพืช

1.4.10 ตู้อบ

1.4.11 เครื่องบดตัวอย่างพืช

1.4.12 เตาหยอตัวอย่างพืชของบริษัท TECHNE รุ่น DB-4

1.4.13 เครื่องแก้วที่ใช้ในการทดลองทางเคมี เช่น บีกเกอร์ หลอดทดลอง ปิ๊ปต

ขวดปรับปริมาตร แท่งแก้วคนสาร เป็นต้น

- 1.4.14 Atomic absorption spectrophotometer ของบริษัท PERKIN ELMER รุ่น 3100
- 1.4.15 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ของบริษัท HITACHI รุ่น U-200

1.5 วัสดุเคมี

1.5.1 สารเคมีสำหรับเตรียมสารละลายธาตุอาหาร ได้แก่ แอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$), แมกนีเซียมซัลเฟต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), โพแทสเซียมไนเตรด (KNO_3), แคลเซียมไนเตรด (CaNO_3), แอมโมเนียมโมลิบเดต ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{H}_2\text{O}$), คอปเปอร์ซัลเฟต ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), ซิงค์ซัลเฟต ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), แมงกานีสคลอไรด์ ($\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), กรดบอริก (H_3BO_3), เหล็กอีดีตา (FeEDTA), แอมโมเนียมไนเตรด (NH_4NO_3)

1.5.2 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์โพแทสเซียม ได้แก่ กรดเปอร์คลอริกเข้มข้น (HClO_4), กรดไนตริก (HNO_3), กรดไฮโดรคลอริก (HCl), โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl)

1.5.3 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์แคลเซียม และแมกนีเซียม ได้แก่, กรดเปอร์คลอริกเข้มข้น (HClO_4), กรดไนตริก (HNO_3), กรดไฮโดรคลอริก (HCl), แลนทานัมออกไซด์ (La_2O_3), แคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3), แมกนีเซียมคลอไรด์ (MgCl_2)

1.5.4 สารเคมีกำจัดศัตรูพืช ได้แก่ คาร์โบซัลเฟน และ อะบาเม็กติน

2. วิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบแฟกทอเรียลสุ่มสมบูรณ์ในบล็อก (Factorial in Randomized Complete Block Design) จำนวน 4×2 กรรมวิธีๆละ 5 บล็อก (ซ้ำ) กรรมวิธีละ 2 ต้น

การเตรียมต้นกล้า

เพาะเมล็ดมะเขือเทศลงในถาดหลุมขนาด 104 หลุม โดยใช้วัสดุเพาะที่ประกอบด้วยทรายและขุยมะพร้าวอัตราส่วน 1 : 1 รดน้ำให้ชุ่ม นำเมล็ดลงปลูกหลุมละหนึ่งเมล็ด เก็บไว้ในโรงเรือนที่มีการพรางแสง 50% ประมาณ 1 สัปดาห์ ต้นกล้าเริ่มงอกและมีใบเลี้ยง 2 ใบ เริ่มให้สารละลายสูตร CMU#2 ที่มีค่าความนำไฟฟ้า (Electrical conductivity : EC) 1.00 มิลลิซีเมนส์ต่อเซนติเมตร รดต้นกล้านานประมาณ 1 เดือน

การปลูกและดูแล

เตรียมวัสดุปลูกโดยนำเปลือกมะพร้าวสับมาใส่ในถุงปลูกสีขาว แฉ่น้ำทิ้งไว้สองวัน แล้วจึงเจาะก้นถุงเพื่อระบายน้ำออก นำต้นกล้ามะเขือเทศทั้งสองพันธุ์ลงปลูก ได้แก่

1. พันธุ์ทับทิมแดง T2021
2. พันธุ์เอ็กซ์ตรา 390

จากนั้นให้สารละลายธาตุอาหาร โดยระบบน้ำแบบหยดนานเป็นระยะเวลา 9 สัปดาห์ โดยสารละลายธาตุอาหารที่มีความเข้มข้นของแคลเซียมแตกต่างกัน 4 ระดับ ได้แก่

1. แคลเซียม 0 มิลลิกรัมต่อลิตร
2. แคลเซียม 182 มิลลิกรัมต่อลิตร (สูตรสารละลายมูลนิธิโครงการหลวงเป็นชุดควบคุม)
3. แคลเซียม 274 มิลลิกรัมต่อลิตร
4. แคลเซียม 368 มิลลิกรัมต่อลิตร

โดยทุกกรรมวิธีทดลองพืชได้รับธาตุอาหารที่มีความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร) ดังนี้ ไนโตรเจน 105.5 - 150 ฟอสฟอรัส 55 โพแทสเซียม 266 - 270 แมกนีเซียม 55 - 60 โบรอน 0.35 แมงกานีส 0.37 สังกะสี 0.34 คอปเปอร์ 0.25 โมลิบดีนัม 0.15 เหล็ก 1.096 คลอรีน 62 - 80 และกำมะถัน 192 - 220

ใช้สารเคมีกำจัดแมลง ได้แก่ คาร์โบซัลเฟน และอะบาแมกติน

2.1 การบันทึกผลการทดลอง

2.1.1 บันทึกการเจริญเติบโต

บันทึกผลการเจริญเติบโตทุกสัปดาห์ ได้แก่

- 2.1.1.1 ความสูงของลำต้นโดยวัดจากโคนต้นถึงจุดสูงสุด (เซนติเมตร)
- 2.1.1.2 ความยาวของกิ่งแขนงแรกโดยวัดจากโคนกิ่งที่ติดกับลำต้นหลักถึงปลายสุดของกิ่งแขนง (เซนติเมตร)

2.1.2 บันทึกข้อมูลหลังการย้ายปลูก 9 สัปดาห์

- 2.1.2.1 น้ำหนักผลสดต่อต้น (กรัม)
- 2.1.2.2 น้ำหนักผลแห้งต่อต้น (กรัม)
- 2.1.2.3 น้ำหนักใบสดต่อต้น (กรัม)

2.1.2.4 น้ำหนักใบแห้งต่อต้น (กรัม)

2.1.2.5 พื้นที่ใบรวมต่อต้น

2.1.2.6 จำนวนช่อดอกต่อต้น

2.1.2.7 จำนวนผลต่อต้น

2.1.2.8 วัดปริมาณคลอโรฟิลล์โดยเครื่อง SPAD-502 MINOLTA

Chlorophyll meter โดยวัดที่ตำแหน่งใบจริงลำดับที่ 7 ปลายใบ
ประกอบลำดับสุดท้าย

2.1.2.9 เปอร์เซ็นต์การแสดงผลการกินผลเน่า (Blossom - end rot) ต่อจำนวน
ผลทั้งต้น

2.2 การวิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุอาหาร

วิเคราะห์หาปริมาณ โปแทสเซียม แคลเซียม และ แมกนีเซียม ในผล ใบ และ ลำต้น หลัง
การย้ายปลูก 9 สัปดาห์

2.2.1 การเตรียมตัวอย่างพืช

สุ่มต้นมะเขือเทศหลังการย้ายปลูก 9 สัปดาห์ ตัดแยกส่วนต่างๆ คือ ผล ใบ และ ลำต้น ล้าง
ทำความสะอาดด้วยน้ำประปา 3 ครั้ง ก่อนที่จะล้างด้วยน้ำกลั่นอีก 2 ครั้ง จากนั้นซับให้แห้ง แล้ว
นำไปชั่งน้ำหนักสด จากนั้นจึงนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ประมาณ 7 วัน จนน้ำหนัก
แห้งคงที่ แล้วจึงนำมาชั่งน้ำหนักแห้ง นำมาบดด้วยเครื่องบดตัวอย่างพืชให้ละเอียด เก็บใน
ถุงพลาสติกที่ปิดปากถุงอย่างสนิทเพื่อนำไปย่อยต่อไป

2.2.2 การย่อยตัวอย่างพืชด้วยกรด (Wet Acid Digestion) ดัดแปลงจาก (Mizukoshi

et al., 1994)

การย่อยตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์โปแทสเซียม แคลเซียม และ แมกนีเซียม

ชั่งตัวอย่างพืชอบแห้งบดละเอียดหนักประมาณ 0.05 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลองขนาด
25×200 มิลลิลิตร เติมกรดเปอร์คลอริก (HClO₄) 0.4 มิลลิลิตร และกรดไนตริก (HNO₃) 0.5 มิลลิลิตร
ตามลำดับ ปั่นให้เข้ากัน ปิดหลอดด้วยพาราฟิล์มทิ้งไว้ 1 คืน จากนั้นนำมาย่อยที่อุณหภูมิ 100
องศาเซลเซียส เพื่อไล่ควันสีเหลืองของ NO₂ ออกให้หมด จึงปรับเพิ่มอุณหภูมิเป็น 210 องศาเซลเซียส
ทิ้งไว้จนตัวอย่างแห้ง ระวังอย่าให้ไหม้ นำออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเติมสารละลายเจือจาง (HCl : H₂O
อัตรา 1:4) หลอดละ 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำมาตั้งบนเตาที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส

นาน 5 นาที เพื่อไล่ Cl^- ที่ไว้ให้เย็นแล้วนำมาปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร เทใส่ขวดพลาสติกเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง สำหรับวิเคราะห์ต่อไป

2.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียม

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานของโพแทสเซียมปรับให้มีความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน โดยใช้สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียม 1000 มิลลิกรัมของบริษัท Merck ลงในขวดปรับปริมาตร ขนาด 1 ลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ จะได้สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นนำสารละลายไปเจือจางตามความเข้มข้นที่ต้องการต่อไป

2. เจือจางสารละลายตัวอย่างจากข้อ 2.2.2 โดยใช้สารตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางด้วยน้ำกลั่นเป็น 25 มิลลิลิตร

3. นำสารละลายดังกล่าวไปวัดปริมาณโพแทสเซียม ด้วยเครื่อง Atomic absorption spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 766.5 นาโนเมตร บันทึกผล และนำค่าที่คำนวณได้มาคำนวณหาโพแทสเซียม โดยใช้สูตรคำนวณดังนี้

ความเข้มข้นของโพแทสเซียมในตัวอย่างพืช (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)

$$= \frac{A \times B \times C}{1000 \times DW}$$

A = ค่าความเข้มข้นของโพแทสเซียมในสารละลายตัวอย่างพืชจากกราฟมาตรฐาน (มิลลิกรัมต่อลิตร)

B = อัตราส่วนการเจือจางสารตัวอย่างเมื่อนำไปวิเคราะห์

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

C = ปริมาตรสุดท้ายของการย่อยตัวอย่างพืชในข้อ 2.2.2 (50 มิลลิลิตร)

DW = น้ำหนักแห้ง ของตัวอย่างที่ใช้ย่อย (กรัม)

2.2.4 วิเคราะห์ปริมาณธาตุแคลเซียมและแมกนีเซียม

1. เตรียมแลนทานัมออกไซด์ โดยชั่งแลนทานัมออกไซด์ 2.01 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 500 มิลลิลิตร เติมกรดไฮโดรคลอริก 37 % 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร
2. เตรียมสารละลายมาตรฐานของแคลเซียมจากแคลเซียมคาร์บอเนต จากนั้นปรับให้มีความเข้มข้นตามลำดับคือ 0, 0.05, 0.10, 0.15, 0.20 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน
3. เตรียมสารละลายมาตรฐานของแมกนีเซียม จากแมกนีเซียมคลอไรด์ จากนั้นปรับให้มีความเข้มข้นตามลำดับคือ 0, 0.05, 0.10, 0.15, 0.20 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน
4. เจือจางสารละลายตัวอย่างจากข้อ 2.2.2 สำหรับวิเคราะห์ปริมาณธาตุแคลเซียมและแมกนีเซียมโดยใช้สารตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางด้วยสารละลายในข้อ 2.2.4 (1.) เป็น 25 มิลลิลิตร
5. นำสารละลายดังกล่าวไปวัดปริมาณพลังงานแสงที่ถูกดูดกลืนโดยอะตอมของแคลเซียมและแมกนีเซียม ด้วยเครื่อง Atomic absorption spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 442.7 นาโนเมตร และ 285.2 นาโนเมตร ตามลำดับ บันทึกผล และนำค่าที่คำนวณได้มาคำนวณหาความเข้มข้นของแคลเซียมและแมกนีเซียม โดยใช้สูตรคำนวณ เช่นเดียวกับการคำนวณหาความเข้มข้นของโพแทสเซียม