ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน(N) ฟอสฟอรัส(P) โพแทสเซียม(K) แคลเซียม(Ca) แมกนีเซียม(Mg) เหล็ก(Fe) สังกะสี(Zn) และทองแดง(Cu)

1. การเตรียมตัวอย่างพืชสำหรับวิเคราะห์ธาตุอาหาร

สุ่มพืชระยะก่อนปลูก 8, 16 และ 24 สัปดาห์หลังปลูก จำนวน 4 ซ้ำต่อกรรมวิธี (3 หัวต่อซ้ำ) นำตัวอย่างที่สุ่มได้มาแยกส่วนต่าง ๆ ออกจากกัน ล้างทำความสะอาดด้วยน้ำประปา 3 ครั้ง น้ำกลั่น 3 ครั้ง ซับให้แห้งจากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักสด บันทึกน้ำหนักสด แล้วนำไปอบแห้งที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์ จนกระทั่งน้ำหนักแห้งไม่เปลี่ยนแปลง จึงนำมาชั่งน้ำหนักแห้ง บันทึกน้ำหนักแห้ง แล้วนำไปบดให้เป็นผงละเอียด เก็บใส่ถุงพลาสติกก่อนนำไปชั่งเพื่อใช้ย่อยและวิเคราะห์ธาตุอาหารต่อไป

2. การย่อยตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ไนโตรเจนและฟอสฟอรัส (ดัดแปลงโดย Ohyama *et al.*, 1985; 1986)

ชั่งตัวอย่างพืชอบแห้งที่บดละเอียดประมาณ 0.05 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น (H_2SO_4) 1 มิลลิลิตร ปิดหลอดด้วยพาราฟิล์มทิ้งไว้ 1 คืน วันต่อมานำมาย่อยที่เตาย่อยตัวอย่าง ปรับอุณหภูมิที่ 180 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที นำหลอดทดลองขึ้นมาพักทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) หลอดละ 0.3 มิลลิลิตร ปั่นให้เข้ากัน นำมาย่อยต่อโดยปรับอุณหภูมิ 230 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที หากสารละลายยังไม่ใสให้เติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) หลอดละ 0.2 มิลลิลิตร แล้วนำไปย่อยต่อที่อุณหภูมิ 230 องศาเซลเซียส 30 นาที ทำซ้ำเดิมจนกระทั่งสารละลายใส หลังจากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 1 คืน วันต่อมานำมาปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร เก็บสารละลายที่ได้ไว้ในขวดพลาสติกเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง สำหรับวิเคราะห์ต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนรวม (Indolphenol Method) (Ohyama *et al.*, 1985; 1986)

1. เตรียมสารละลายที่ใช้ตรวจสอบปริมาณไนโตรเจน จำนวน 4 ชนิด ดังนี้

A reagent : ชั่งโซเดียมดีเลต (EDTA.2Na) 25 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับ pH ให้เป็น 10 โดยใช้ 10 N โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เป็นตัวปรับ pH จากนั้นเติมสารละลายเมทิลเรด (methylred) 20 มิลลิลิตร (เมทิลเรด 0.05 กรัม + 60% เอทานอล 20 มิลลิลิตร) คนให้เข้ากันปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 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 จนละลายหมดนำมารวมกันแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 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 กรัม ละลายในน้ำกลั่น จากนั้นเติมโซเดียมไฮเปอร์คลอไรท์ (sodium hyperchlorite) 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร

2. เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 1 N (ชั่งโซเดียม ไฮดรอกไซด์ (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 โดยชั่ง แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) 0.471 กรัม ละลายด้วยกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) 0.5 N แล้วปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 1 ลิตร จนครบปริมาตร จะได้สารละลายมาตรฐานไนโตรเจนความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นนำสารละลายไปเจือจางตามความเข้มข้นที่ต้องการ โดยกรดซัลฟูริก 0.5 N เตรียมจากกรดซัลฟูริก 13.32 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

4. ดูดตัวอย่างที่ย่อยได้จากข้อ 2 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 ลงไป เขย่าเล็กน้อยให้สารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลือง จากนั้นเติม C reagent 2.5 มิลลิลิตร และ D reagent

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

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 x B x C) / (D x E x 10000)) x 10) x น้ำหนักแห้งในส่วนของพืชนั้น

สาร A = ค่าความเข้มข้นของไนโตรเจนจากกราฟมาตรฐาน (มิลลิกรัมต่อลิตร)

B = ปริมาตรสุดท้ายในปฏิกิริยา Indolphenol (25 มิลลิลิตร)

C = ปริมาตรสุดท้ายของการย่อยตัวอย่างพืช (50 มิลลิลิตร)

D = น้ำหนักแห้งของตัวอย่างที่ใช้ย่อย (กรัม)

E = ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์ (มิลลิลิตร)

4. การวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสโดยการวัดการดูดกลืนแสง (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 ลงในบีกเกอร์ขนาด 1 ลิตร ค่อย ๆ เท A reagent ทีละน้อย อย่างช้า ๆ 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

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

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 ได้สารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัสความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นนำสารละลายไปเจือจางตามความเข้มข้นที่ต้องการ

4. ดูดสารละลายตัวอย่างจากข้อ 2 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

5. การย่อยตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก สังกะสี และทองแดง (Mizukoshi *et al.*, 1994)

ชั่งตัวอย่างพืชอบแห้งที่บดละเอียดประมาณ 0.05 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมกรดเปอร์คลอริคเข้มข้น ($HClO_4$) 0.4 มิลลิลิตร และกรดไนตริก (HNO_3) 0.5 มิลลิลิตร ตามลำดับ ปั่นให้เข้ากัน ปิดหลอดด้วยพาราฟิล์ม ทิ้งไว้ 1 คืน จากนั้นนำมาย่อยที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เพื่อไล่ควันสีเหลืองของ NO_2^- ออกให้หมด จึงปรับเพิ่มอุณหภูมิเป็น 210 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้จนตัวอย่างแห้ง ระวังอย่าให้ไหม้ นำออกมาทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเติมสารละลายเจือจาง ($HCl:H_2O$ อัตราส่วน 1:4) หลอดละ 1 มิลลิลิตร ปั่นให้เข้ากัน จากนั้นนำมาตั้งบนเตาที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที เพื่อไล่ Cl^- ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำมาปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร เทใส่ขวดพลาสติกเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง สำหรับวิเคราะห์ต่อไป

6. การวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียม

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

2. เจือจางสารละลายตัวอย่างจากข้อ 5 โดยใช้สารตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางด้วยน้ำกลั่นเป็น 25 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

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

6. 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 5 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

7. การวิเคราะห์ปริมาณของเหล็ก สังกะสี และทองแดง

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานของเหล็ก จากนั้นเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 0, 0.5 1.0, 1.5, 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน

2. เตรียมสารละลายมาตรฐานของสังกะสีจาก $ZnSO_4.7H_2O$ จากนั้นเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน

3. เตรียมสารละลายมาตรฐานของทองแดงจาก $CuSO_4.5H_2O$ จากนั้นเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. นำสารละลายตัวอย่างจากข้อ 5 วัดความเข้มข้นของเหล็ก สังกะสี และทองแดง ด้วยเครื่อง Atomic absorption spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 248.3, 213.9 และ 324.8 นาโนเมตร สำหรับวิเคราะห์ความเข้มข้นของเหล็ก สังกะสี และทองแดง ตามลำดับ บันทึกผล และนำค่าที่คำนวณได้มาคำนวณหาปริมาณเหล็ก สังกะสี และทองแดง (มิลลิกรัมต่อส่วนของพืช) เช่นเดียวกับการหาปริมาณไนโตรเจน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้าง (TNC) และน้ำตาลรีดิวซ์ (RS)

1. การเตรียมตัวอย่างพืชสำหรับวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้าง (TNC) และน้ำตาลรีดิวซ์ (RS)

สุ่มพืชระยะก่อนปลูก 8, 16 และ 24 สัปดาห์หลังปลูก จำนวน 4 ซ้ำต่อกรรมวิธี (3 หัวต่อซ้ำ) นำตัวอย่างที่สุ่มได้มาแยกส่วนต่าง ๆ ออกจากกัน ล้างทำความสะอาดด้วยน้ำประปา 3 ครั้ง น้ำกลั่น 3 ครั้ง ซับให้แห้งจากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักสด บันทึกน้ำหนักสด แล้วนำไปอบแห้งที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์ จนกระทั่งน้ำหนักแห้งไม่เปลี่ยนแปลง จึงนำมาชั่งน้ำหนักแห้ง บันทึกน้ำหนักแห้ง แล้วนำไปบดให้เป็นผงละเอียด เก็บใส่ถุงพลาสติกก่อนนำไปชั่งเพื่อใช้สกัดและวิเคราะห์ต่อไป

2. การสกัดคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้าง (TNC) จากตัวอย่างพืช (Smith *et al.*, 1964)

ชั่งตัวอย่างพืชอบแห้งที่บดละเอียดประมาณ 0.2 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) 0.2 N 40 มิลลิลิตร ปิดหลอดด้วยแผ่นอะลูมิเนียม นำไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็น ปรับ pH ให้เป็นกลางด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มิลลิลิตร กรองด้วยกระดาษกรอง Whatmann ® เบอร์ 5 เทใส่ขวดพลาสติกเก็บไว้ สำหรับวิเคราะห์ต่อไป

3. การสกัดน้ำตาลรีดิวซ์ (RS) จากตัวอย่างพืช (Yemm, 1935)

ชั่งตัวอย่างพืชอบแห้งที่บดละเอียดประมาณ 0.2 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติม ethanol 85% 20 มิลลิลิตร ปิดหลอดด้วยแผ่นอะลูมิเนียม นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง เขย่าหลอดทดลองทุกครึ่งชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 50 มิลลิลิตร กรองด้วยกระดาษกรอง Whatmann ® เบอร์ 5 เทใส่ขวดพลาสติกเก็บไว้ สำหรับวิเคราะห์ต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้าง (TNC) และน้ำตาลรีดิวซ์ (RS)

โดยวิธี Nelson's reducing sugar procedure (A. O. A. C., 1990)

1. เตรียมสารละลาย Nelson's alkaline copper reagent

Nelson's reagent A : ชั่งแอนไฮดรัสโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 25 กรัม โซเดียมโพแทสเซียมทาเตต ($NaKC_4H_4O_6.4H_2O$) 25 กรัม โซเดียมไบคาร์บอเนต ($NaHCO_3$) 25 กรัม และแอนไฮดรัสโซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4) 200 กรัม ละลายในน้ำกลั่น คนให้เข้ากัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 ลิตร

Nelson's reagent B : ชั่งคอบเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$) 15 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น (H_2SO_4) 2 หยด คนให้เข้ากัน

ผสม Nelson's reagent A 20 มิลลิลิตร กับ Nelson's reagent B 0.8 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน

2. เตรียมสารละลาย arsenomolybolic acid reagent

ชั่งแอมโมเนียมโมลิบเดต ($(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_20$) 25 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 450 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น (H_2SO_4) 21 มิลลิลิตร และชั่งโซเดียมไฮโดรเจนอาซาเนต ($Na_2HAsO_4.7H_2O$) 3 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร นำสารละลายทั้งหมดมาผสมกันเก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิห้องนาน 2 วัน ก่อนนำมาใช้ได้ต้องมีสีเหลืองอ่อนเท่านั้น

3. เตรียมสารละลายมาตรฐานของดีกลูโคส (D - glucose) ความเข้มข้น 0, 0.02, 0.06, 0.08, 0.10, 0.12, 0.14, 0.16, 0.18 และ 0.20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน

4.ดูดสารละลายตัวอย่างจากข้อ 2 สำหรับวิเคราะห์ความเข้มข้นของคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้าง (TNC) และสารละลายตัวอย่างจากข้อ 3 สำหรับวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ (RS) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติม Nelson's alkaline copper reagent หลอดละ 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันปิดด้วยแผ่นอะลูมิเนียม แล้วนำไปวางในน้ำเดือดนาน 20 นาที จากนั้นนำออกมาทิ้งไว้ให้เย็น เติม arsenomolybolic acid reagent หลอดละ 1 มิลลิลิตร เขย่าจนตะกอนละลาย แล้วเติมน้ำกลั่นหลอดละ 7 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ที่ 540 นาโนเมตร นำค่าที่อ่านได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของดีกลูโคส (D - glucose) จากนั้นนำค่าที่คำนวณได้มาคำนวณหาความเข้มข้นของคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้าง (TNC) และน้ำตาลรีดิวซ์ (RS) (มิลลิกรัมดี-กลูโคสต่อส่วนของพืช) โดยใช้สูตรคำนวณดังนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้าง (TNC) และน้ำตาลรีดิวซ์ (RS) ในตัวอย่างพืช
(มิลลิกรัมดี-กลูโคสต่อส่วนของพืช) = ((A x B)/(C x D)) x น้ำหนักแห้งในส่วนนั้นของพืช

สาร A = ค่าความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐาน (มิลลิกรัมต่อลิตร)

B = ปริมาตรสุดท้ายของการสกัดตัวอย่างพืช (TNC = 100 มิลลิลิตร และRS = 50 มิลลิลิตร)

C = น้ำหนักแห้งของตัวอย่างที่ใช้สกัด (กรัม)

D = ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์ (มิลลิลิตร)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ค

ปริมาณธาตุอาหารสะสมในส่วนต่างๆของว่านสี่ทิศ ในระยะการเจริญเติบโตต่างกัน

ตารางภาคผนวกที่ 1 ปริมาณธาตุอาหารในกาบใบชั้นที่ 1 ในระยะการเจริญเติบโตต่างกัน

ระยะการเจริญเติบโต	ปริมาณธาตุอาหาร (มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้งรวม)									
	N[1/]	P[1/]	K[1/]	Ca[1/]	Mg[1/]	Fe[1/]	Zn[1/]	Cu[1/]	TNC[1/]	RS[1/]
ก่อนปลูก	255.00a	51.34a	470.81a	57.25a	21.93a	1.80a	0.65a	0.35a	676.08a	204.11a
8 สัปดาห์หลังปลูก	143.60b	36.27b	279.60b	52.70a	15.46b	1.29b	0.46b	ND	699.50a	238.93a
16 สัปดาห์หลังปลูก	59.62c	15.45c	100.51c	28.01b	5.61c	0.12c	0.14c	0.16b	359.81b	87.94b
24 สัปดาห์หลังปลูก	52.89c	36.71b	97.64c	16.49b	3.94c	0.12c	0.15c	0.21b	698.79a	98.52b
$LSD_{0.05}$	39.78	10.59	77.41	14.07	5.66	0.38	0.14	0.09	253.67	69.30

[1/] ตัวเลขที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P \leq 0.05$)

ND ระยะนี้มีความเข้มข้นของทองแดงน้อยมาก ไม่สามารถวัดได้

NS ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางภาคผนวกที่ 2 ปริมาณธาตุอาหารในกาบใบชั้นที่ 2 ในระยะการเจริญเติบโตต่างกัน

ระยะการเจริญเติบโต	ปริมาณธาตุอาหาร (มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้งรวม)									
	N[NS]	P[1/]	K[1/]	Ca[1/]	Mg[1/]	Fe[1/]	Zn[1/]	Cu[NS]	TNC[1/]	RS[1/]
ก่อนปลูก	89.60	49.27ab	202.84a	28.48ab	10.27a	1.18a	0.35a	ND	308.97b	47.84c
8 สัปดาห์หลังปลูก	84.59	47.86ab	181.49ab	34.93a	9.30a	0.70b	0.25ab	ND	488.85b	90.00ab
16 สัปดาห์หลังปลูก	83.18	36.76b	125.53c	22.01bc	5.83b	0.57b	0.21b	0.18	464.43b	107.91a
24 สัปดาห์หลังปลูก	79.22	61.80a	149.64bc	15.53c	5.17b	0.24c	0.20b	0.20	812.38a	60.46bc
$LSD_{0.05}$	-	16.93	43.20	9.23	2.20	0.24	0.11	-	235.97	32.11

[1/] ตัวเลขที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P \leq 0.05$)

ND ระยะนี้มีความเข้มข้นของทองแดงน้อยมาก ไม่สามารถวัดได้

NS ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางภาคผนวกที่ 3 ปริมาณธาตุอาหารในกาบใบชั้นที่ 3 ในระยะการเจริญเติบโตต่างกัน

ระยะการเจริญเติบโต	ปริมาณธาตุอาหาร (มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้งรวม)									
	N^{NS}	$P^{1/}$	K^{NS}	Ca^{NS}	Mg^{NS}	$Fe^{1/}$	Zn^{NS}	Cu^{NS}	$TNC^{1/}$	$RS^{1/}$
ก่อนปลูก	69.07	35.80ab	122.55	18.15	6.41	0.44ab	0.28	ND	196.10c	58.29bc
8 สัปดาห์หลังปลูก	45.16	30.74b	105.64	18.26	5.60	0.22b	0.16	ND	354.68bc	89.48ab
16 สัปดาห์หลังปลูก	62.86	26.64b	105.52	15.88	4.65	0.37ab	0.17	0.11	538.36ab	98.93a
24 สัปดาห์หลังปลูก	68.93	56.25a	148.82	15.00	4.19	0.50a	0.21	0.18	639.56a	37.55c
$LSD_{0.05}$	-	20.47	-	-	-	0.25	-	-	245.73	35.89

[1/] ตัวเลขที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P \leq 0.05$)

ND ระยะนี้มีความเข้มข้นของทองแดงน้อยมาก ไม่สามารถวัดได้

NS ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางภาคผนวกที่ 4 ปริมาณธาตุอาหารในกาบใบชั้นที่ 4 ในระยะการเจริญเติบโตต่างกัน

ระยะการเจริญเติบโต	ปริมาณธาตุอาหาร (มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้งรวม)									
	N^{NS}	$P^{1/}$	K^{NS}	Ca^{NS}	Mg^{NS}	Fe^{NS}	Zn^{NS}	Cu^{NS}	TNC^{NS}	$RS^{1/}$
ก่อนปลูก	24.11	5.02b	35.40	8.15	2.62	0.14	0.09	0.02	141.02	29.22b
8 สัปดาห์หลังปลูก	17.42	8.86b	31.07	5.51	1.99	0.10	0.07	ND	129.71	16.58b
16 สัปดาห์หลังปลูก	30.20	11.17b	52.64	7.26	2.91	0.15	0.10	0.03	252.98	63.25a
24 สัปดาห์หลังปลูก	28.88	21.15a	52.07	6.52	1.77	0.10	0.07	0.05	139.22	17.87b
$LSD_{0.05}$	-	7.73	-	-	-	-	-	-	-	26.10

[1/] ตัวเลขที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P \leq 0.05$)

ND ระยะนี้มีความเข้มข้นของทองแดงน้อยมาก ไม่สามารถวัดได้

NS ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางภาคผนวกที่ 5 ปริมาณธาตุอาหารในใบ ในระยะการเจริญเติบโตต่างกัน

ระยะการเจริญเติบโต	ปริมาณธาตุอาหาร (มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้งรวม)									
	N[1/]	P[NS]	K[1/]	Ca[1/]	Mg[NS]	Fe[NS]	Zn[1/]	Cu[NS]	TNC[1/]	RS[1/]
ก่อนปลูก	-[2/]	-[2/]	-[2/]	-[2/]	-[2/]	-[2/]	-[2/]	-[2/]	-[2/]	-[2/]
8 สัปดาห์หลังปลูก	-[2/]	-[2/]	-[2/]	-[2/]	-[2/]	-[2/]	-[2/]	-[2/]	-[2/]	-[2/]
16 สัปดาห์หลังปลูก	96.42a	20.26	194.86a	16.64b	8.13	0.49	0.24a	0.08	253.24a	160.48a
24 สัปดาห์หลังปลูก	64.35b	28.54	86.44b	25.80a	10.66	0.80	0.10b	0.11	79.23b	66.18b
$LSD_{0.05}$	26.63	-	53.79	5.81	-	-	0.07	-	72.99	33.10

[1/] ตัวเลขที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P \leq 0.05$)

[2/] ไม่ได้วิเคราะห์ธาตุอาหารเนื่องจากระยะนี้ยังไม่มีใบ

NS ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางภาคผนวกที่ 6 ปริมาณธาตุอาหารในช่อดอก ในระยะการเจริญเติบโตต่างกัน

ระยะการเจริญเติบโต	ปริมาณธาตุอาหาร (มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้งรวม)									
	N[1/]	P[1/]	K[1/]	Ca[1/]	Mg[1/]	Fe[1/]	Zn[1/]	Cu[1/]	TNC[1/]	RS[1/]
ก่อนปลูก	9.59b	2.10c	12.34bc	5.48b	1.51b	0.05c	0.05b	0.02b	38.14b	1.86b
8 สัปดาห์หลังปลูก	94.25a	47.63a	170.41a	15.26a	10.56a	0.59a	0.36a	0.10a	829.39a	229.92a
16 สัปดาห์หลังปลูก	8.98b	4.16b	18.05b	2.92c	0.84bc	0.11b	0.02c	0.01c	42.58b	6.81b
24 สัปดาห์หลังปลูก	3.60b	2.52c	5.63c	1.21c	0.44c	0.00c	0.01c	ND	10.89b	1.82b
$LSD_{0.05}$	10.77	0.68	10.64	1.75	0.79	0.06	0.01	0.01	37.35	45.19

[1/] ตัวเลขที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P \leq 0.05$)

ND ระยะนี้มีความเข้มข้นของทองแดงน้อยมาก ไม่สามารถวัดได้

NS ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางภาคผนวกที่ 7 ปริมาณธาตุอาหารในฐานหัว ในระยะการเจริญเติบโตต่างกัน

ระยะการเจริญเติบโต	ปริมาณธาตุอาหาร (มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้งรวม)									
	N[NS]	P[1/]	K[NS]	Ca[NS]	Mg[1/]	Fe[1/]	Zn[1/]	Cu[NS]	TNC[1/]	RS[1/]
ก่อนปลูก	119.58	44.18b	84.01	23.59	12.65a	2.89a	0.54a	ND	135.69c	21.46b
8 สัปดาห์หลังปลูก	120.75	54.96ab	91.62	25.24	10.13b	2.30b	0.51a	0.24	190.76bc	18.49b
16 สัปดาห์หลังปลูก	109.48	59.40ab	85.63	25.70	7.22c	0.91c	0.39b	0.26	194.28b	32.12a
24 สัปดาห์หลังปลูก	128.28	69.31a	77.05	21.09	7.59c	0.68c	0.34b	0.32	262.05a	36.33a
$LSD_{0.05}$	-	16.35	-	-	2.22	0.40	0.08	-	57.50	6.01

[1/] ตัวเลขที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P \leq 0.05$)

ND ระยะนี้มีความเข้มข้นของทองแดงน้อยมาก ไม่สามารถวัดได้

NS ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางภาคผนวกที่ 8 ปริมาณธาตุอาหารในราก ในระยะการเจริญเติบโตต่างกัน

ระยะการเจริญเติบโต	ปริมาณธาตุอาหาร (มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้งรวม)									
	N[1/]	P[1/]	K[1/]	Ca[1/]	Mg[1/]	Fe[1/]	Zn[1/]	Cu[1/]	TNC[1/]	RS[1/]
ก่อนปลูก	18.27b	2.43b	52.56ab	3.98ab	1.65a	5.01a	0.10a	ND	46.43b	13.58b
8 สัปดาห์หลังปลูก	8.53b	5.49b	25.99c	1.95c	0.72b	1.42b	0.04c	0.03b	49.72b	20.16b
16 สัปดาห์หลังปลูก	16.31b	4.58b	37.74bc	2.93bc	0.90b	1.83b	0.05bc	0.05b	89.08b	29.71ab
24 สัปดาห์หลังปลูก	39.74a	16.56a	65.67a	4.98a	1.81a	1.87b	0.09ab	0.11a	222.35a	49.39a
$LSD_{0.05}$	10.08	5.68	22.26	1.61	0.60	1.22	0.03	0.03	75.65	20.51

[1/] ตัวเลขที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P \leq 0.05$)

ND ระยะนี้มีความเข้มข้นของทองแดงน้อยมาก ไม่สามารถวัดได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นายวรายุทธ วงค์อิ่น
วัน เดือน ปีเกิด	30 มิถุนายน 2526
ประวัติการศึกษา	

มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนเม็งรายมหาราชวิทยาคม
ปีการศึกษา 2545
วท.บ. (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ปีการศึกษา 2548
วท.ม. (เกษตรศาสตร์) พืชสวน มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ปีการศึกษา 2552

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved