

### บทที่ 3

#### อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองที่ 1 ผลของไนโตรเจน และโพแทสเซียม ต่อการเจริญเติบโตของอณิโธก้าม

#### 1.1 การเตรียมวัสดุและอุปกรณ์

##### 1.1.1 วัสดุพันธุ์พืช

ต้นพันธุ์อณิโธก้าม (*Ornithogalum thyrsoides*) จำนวน 840 ต้น

##### 1.1.2 วัสดุปลูก

วัสดุปลูกได้แก่ ทราย ผสม ขุยมะพร้าว และถ่านแกลบ ในอัตราส่วน 1 : 1 : 1

##### 1.1.3 วัสดุเคมี

1.1.3.1 สารเคมีสำหรับการเตรียมสารละลายธาตุอาหาร มีดังนี้

ธาตุอาหารหลัก ได้แก่

แอมโมเนียมไนเตรท ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ )

แคลเซียมไนเตรท [ $(\text{CaNO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ]

แอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ )

โพแทสเซียมไนเตรท ( $\text{KNO}_3$ )

โพแทสเซียมคลอไรด์ ( $\text{KCl}$ )

แมกนีเซียมซัลเฟต ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )

แคลเซียมคลอไรด์ ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )

ธาตุอาหารรอง ได้แก่

กรดบอริก ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ )

แมงกานีสซัลเฟต ( $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ )

ซิงค์ซัลเฟต ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )

คอปเปอร์ซัลเฟต ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )

แอมโมเนียมโมลิบเดต [ $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{H}_2\text{O}$ ]

เหล็กกิลเลต (FeEDTA)

#### 1.1.3.2 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ไนโตรเจน มีดังนี้

โซเดียมอีดีทีเอ (EDTA.2Na)

โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

เอทานอล (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH)

เมธิล เรด (C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>)

โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)

กรดเบนโซอิก (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>COOH)

โซเดียมไนโตรพรัสไซด์ (Na<sub>2</sub>[Fe(CN)<sub>5</sub>NO].2H<sub>2</sub>O)

ฟีนอล (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>OH)

ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>)

ไตรโซเดียมฟอสเฟต (Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>)

โซเดียมไฮโปคลอไรต์ (NaClO)

แอมโมเนียมซัลเฟต ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)

#### 1.1.4 อุปกรณ์

1.1.4.1 กระบะปลูกขนาด 0.8×3 เมตร จำนวน 28 กระบะ

1.1.4.2 เครื่องวัดค่าความนำไฟฟ้า (EC meter)

1.1.4.3 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)

1.1.4.4 เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 4 ตำแหน่ง

1.1.4.5 ถังเก็บตัวอย่างพืช

1.1.4.6 ตู้อบ

1.1.4.7 เครื่องบดตัวอย่างพืชของบริษัท BECTHAI รุ่น MF-10

1.1.4.8 เครื่องปั่น (Vortex)

1.1.4.9 เตาย่อยตัวอย่างพืชของบริษัท TECHNE รุ่น DB-4

1.1.4.10 เครื่องแก้วที่ใช้ในการวิเคราะห์ทางเคมี เช่น บีกเกอร์, หลอดทดลอง  
ปิเปต, ขวดปรับปริมาตร, แท่งแก้วคน, กรวย, กระบอกตวง เป็นต้น

1.1.4.11 Atomic absorption spectrophotometer ของบริษัท PERKIN ELMER

รุ่น 3100

1.1.4.12 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ของบริษัท HITACHI รุ่น U-2001

1.1.4.13 เครื่องวัดคลอโรฟิลล์ (MINOLTA SPAD – 502)

1.1.4.14 เครื่องวัดความเข้มแสง (TAKEMURA MODEL DM- 28)

## 1.2 วิธีการทดลอง

นำต้นกล้าอ่อนนิกาลัมที่มีอายุ 3 เดือนที่ขยายพันธุ์จากการแยกชำหน่อข้างปลูกลงในกระบะที่ใช้ทรายผสมขุยมะพร้าวและขี้เถ้าแกลบ ในอัตราส่วน 1 : 1 : 1 เป็นวัสดุปลูกโดยมีพลาสติกปูรองพื้นกระบะ หลังจากปลูก 3 สัปดาห์เริ่มให้สารละลายธาตุอาหารที่ประกอบด้วย ไนโตรเจน 3 ระดับคือ 50 , 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร โปแทสเซียม 2 ระดับคือ 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และฟอสฟอรัส 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนธาตุอื่นๆพืชได้รับแมกนีเซียม 48, แคลเซียม 160, โบรอน 1.01, โมลิบดีนัม 0.02, คอปเปอร์ 0.04, แมงกานีส 1.01, สังกะสี 0.11 และเหล็ก 4.40 มิลลิกรัมต่อลิตรในปริมาณที่เท่ากัน ตามกรรมวิธีต่อไปนี้

กรรมวิธีที่	ธาตุอาหารหลัก (มิลลิกรัมต่อลิตร)		
	ไนโตรเจน	ฟอสฟอรัส	โปแทสเซียม
1	50	50	100
2	50	50	200
3	100	50	100
4	100	50	200
5	200	50	100
6	200	50	200
7	( ปัจจัยควบคุมไม่ได้รับธาตุอาหาร)		

วางแผนการทดลองแบบปัจจัยร่วมแบบสุ่ม (Factorial in CRD) จำนวน 2 ปัจจัย จำนวน  $(3 \times 2) + 1$  กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ชั่วโมง (แปลง) ต่อ กรรมวิธี ชั่วโมงละ 10 ต้น

โดยให้พืชได้รับสารละลายธาตุอาหารจำนวน 2 ครั้งต่อสัปดาห์ สลับกับการให้น้ำเริ่มให้ธาตุอาหารหลังจากปลูก 3 สัปดาห์

### 1.3 บันทึกผลการทดลอง

#### 1.3.1 วัดการเจริญเติบโต บันทึกผลดังนี้

- 1.3.1.1 ความสูงของต้น (ซม.) วัดจากโคนต้นถึงปลายใบที่สูงที่สุดโดยรวบใบขึ้นทุก 4 สัปดาห์
- 1.3.1.2 จำนวนใบต่อต้น ทุก 4 สัปดาห์
- 1.3.1.3 จำนวนหน่อข้างต่อต้น
- 1.3.1.4 จำนวนวันนับจากปลูกจนกระทั่งเริ่มแทงช่อดอก
- 1.3.1.5 จำนวนวันนับจากปลูกจนกระทั่งดอกบาน
- 1.3.1.6 ความยาวก้านช่อดอก (ซม.)
- 1.3.1.7 จำนวนดอกย่อยต่อช่อ
- 1.3.1.8 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอก (ซม.)
- 1.3.1.9 ความเข้มของสีใบ

#### 1.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณธาตุไนโตรเจน และโพแทสเซียม

##### การเตรียมตัวอย่างพืชสำหรับวิเคราะห์ธาตุอาหาร

สุ่มพืชในช่วงการเจริญเติบโตต่างกัน 4 ระยะ ได้แก่ เริ่มปลูก ก่อนออกดอก ดอกบาน และหลังดอกบาน จำนวน 4 ซ้ำต่อกรรมวิธี นำตัวอย่างที่สุ่มได้มาแยกเป็นส่วนของ ใบ ดอก หัว และราก ล้างทำความสะอาดด้วยน้ำประปา 2 ครั้ง ตามด้วยการล้าง น้ำกลั่นอีก 3 ครั้ง ซับน้ำให้แห้ง จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักสด บันทึกข้อมูลไว้ แล้วนำตัวอย่างไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จนกระทั่งน้ำหนักแห้งไม่เปลี่ยนแปลงจึงบันทึกน้ำหนักแห้ง จากนั้นนำพืชไปบดเป็นผงละเอียด เพื่อนำไปย่อยและวิเคราะห์ธาตุอาหารต่อไป

##### การย่อยตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ไนโตรเจน ดัดแปลงโดย Ohyama *et al.*, (1991)

ชั่งตัวอย่างพืชอบแห้งบดละเอียด 0.05 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลอง เดิมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 มิลลิลิตร เเทลงในหลอดที่ใส่ตัวอย่างไว้ ปิดหลอดด้วยพาราฟิล์มทิ้งไว้ 1 คืน

วันต่อมานำมาย่อยที่เตาย่อยตัวอย่างพืช ปรับอุณหภูมิที่ 180 °ซ นาน 10 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเติม H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> หลอดละ 0.3 มิลลิลิตร ปั่นให้เข้ากัน นำมาย่อยต่อโดยปรับอุณหภูมิเป็น 230 °ซ นาน 30 นาที หากสารละลายยังไม่ใสให้เติม H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> หลอดละ 0.2 มิลลิลิตร ทุก ๆ 30 นาที ทำซ้ำเดิมจนกระทั่งสารละลายใส หลังจากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 1 คืน วันต่อมานำมาปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร แล้วเก็บสารละลายที่ได้ไว้ในขวดพลาสติก เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องสำหรับวิเคราะห์ต่อไป

### 1.3.2.1 การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน (Indolphenol Method) (Ohyama *et al.*, 1991)

เตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์

1. เตรียมสารละลายที่ใช้ตรวจสอบปริมาณไนโตรเจนจำนวน 4 ชนิด ดังนี้

A reagent : ชั่ง EDTA.2Na 25 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับ pH ให้เป็น 10 จากนั้นเติมสารละลายเมธิล เรด 20 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร

B reagent : ชั่ง KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 136.09 กรัม และกรดเบนโซอิก 2.75 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร

C reagent : ชั่งโซเดียมไนโตรพลัสไซด์ 100 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่น จากนั้นเติมฟีนอล 10.25 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร เก็บไว้ในตู้เย็น สารละลายนี้มีอายุการใช้งาน 2 สัปดาห์

D reagent : ชั่ง NaOH 10 กรัม Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 7.06 กรัม และ Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O 31.8 กรัม ละลายในน้ำกลั่น จากนั้นเติมโซเดียมไฮโปคลอไรด์ 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร

2. เตรียม NaOH เข้มข้น 1 N เพื่อปรับความเป็นด่าง

3. เตรียม สารละลายมาตรฐานจาก (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน

4. คูณตัวอย่างที่ย่อยได้ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เติม A reagent 0.5 มิลลิลิตร และเติม B reagent 0.5 มิลลิลิตร ตามลำดับ นำมาไตรเตรท โดยหยด 1 N NaOH ลงไป เขย่าเล็กน้อยให้เปลี่ยนสี จากนั้นเติม C reagent 2.5 มิลลิลิตร และ D reagent 2.5 มิลลิลิตร ตามลำดับ ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 25 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่ 30 °ซ นาน 3 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ 625 นาโนเมตร บันทึกผล แล้วนำค่าที่อ่านได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานตามกฎของ Beer's- Lambert's Law จากนั้นนำค่าที่คำนวณได้มาคำนวณหาปริมาณไนโตรเจน (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) โดยใช้สูตรคำนวณ

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

- A (ppm) = ค่าความเข้มข้นของไนโตรเจนในสารละลายตัวอย่างพืชจากกราฟมาตรฐาน (มิลลิกรัมต่อลิตร)
- B = อัตราส่วนการเจือจางสารตัวอย่างในปฏิกิริยา Indolphanol  
=  $\frac{\text{ปริมาตรสุดท้ายในการวิเคราะห์ (25 มิลลิตร)}}{\text{ปริมาตรสารตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์}}$
- C = ปริมาตรสุดท้ายของการย่อยตัวอย่างพืช
- DW = น้ำหนักแห้งตัวอย่างที่ใช้ย่อย (กรัม)

#### การย่อยตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์โพแทสเซียม (Mizukoshi *et al.*, 1994)

ชั่งตัวอย่างพืชอบแห้งบดละเอียด 0.05 กรัม เติม  $\text{HClO}_4$  0.4 มิลลิตร และ  $\text{HNO}_3$  0.5 มิลลิตร ตามลำดับ ปั่นให้เข้ากัน ปิดหลอดด้วยพาราฟิล์ม ทิ้งไว้ 1 คืน จากนั้นนำมาย่อยที่  $100^\circ\text{C}$  เพื่อไล่ควันสีเหลืองของ  $\text{NO}_2^-$  ออกจนหมด จึงปรับเพิ่มอุณหภูมิเป็น  $210^\circ\text{C}$  ทิ้งไว้จนตัวอย่างแห้งระว่างอย่าให้ไหม้นำออกมาทิ้งไว้ให้เย็น แล้วเติมสารละลายเจือจางของไฮโดรคลอริก ( $\text{HCl}$  1 :  $\text{H}_2\text{O}$  4 มิลลิตร) หลอดละ 1 มิลลิตร ปั่นให้เข้ากัน จากนั้นนำมาตั้งบนเตาที่อุณหภูมิ  $100^\circ\text{C}$  นาน 5 นาที เพื่อไล่  $\text{Cl}^-$  ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำมาปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิตร เทใส่ขวดพลาสติกเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง สำหรับวิเคราะห์ต่อไป

#### 1.3.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณธาตุโพแทสเซียม

- เตรียมสารละลายมาตรฐานของโพแทสเซียม ปรับให้มีความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน
- เจือจางสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการย่อย โดยใช้สารตัวอย่าง ปริมาตร 0.5 มิลลิตร จากนั้นเจือจางด้วยน้ำกลั่นเป็น 25 มิลลิตร
- นำสารละลายดังกล่าวไปวัดปริมาณโพแทสเซียม ด้วยเครื่อง atomic absorption spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 766.5 นาโนเมตร บันทึกผล และนำค่าที่คำนวณได้มา

คำนวณหาปริมาณโพแทสเซียม (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) โดยใช้สูตรคำนวณเช่นเดียวกับการหาปริมาณไนโตรเจน

### 1.3.2.3 การวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Phenol-sulphuric method ของ Dubois *et al.* (1956)

#### การสกัดพืชเพื่อวิเคราะห์น้ำตาล

ซึ่งตัวอย่างสด 4 ก สกัดด้วย ethyl alcohol 80 % นำไปปั่นแยกส่วนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูงที่ 10000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที เทส่วนสารละลายใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ต้มตะกอนด้วย ethyl alcohol 80% 2 ครั้ง จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 50 มิลลิลิตร ด้วย 80 % ethyl alcohol สารสกัดส่วนนี้ใช้สำหรับวิเคราะห์น้ำตาล กากที่เหลือนำไปอบแห้งเพื่อใช้วิเคราะห์แป้ง

#### การวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Phenol-sulphuric method

เตรียมสารละลายมาตรฐานจากน้ำตาลเคคโตสที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.04 และ 0.08 กรัม/ 100 มิลลิลิตร เตรียมสารละลายฟีนอล 5 %

1. ดูดสารสกัดจากข้อ จำนวน 100 ไมโครล ใส่ในหลอดแก้ว เติมน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร
2. เติมน้ำฟีนอล 5% 1 มิลลิลิตร
3. เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 5 มิลลิลิตร
4. นำไปเขย่าทันทีด้วยเครื่องปั่น (vortex)
5. ตั้งทิ้งไว้ 10 นาทีแล้วเขย่าอีกครั้ง จากนั้นนำไปตั้งในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 10 นาทีเพื่อลดอุณหภูมิลง
6. นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ 485 นาโนเมตร
7. ในแต่ละตัวอย่างต้องทำ blank โดยการดูดสารละลายตัวอย่าง 100 ไมโครโมล (เท่ากับปริมาณตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง) จากนั้นเติมน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร แล้วทำตามตั้งแต่นั้นขึ้น ตอนที่ 6
8. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ของตัวอย่างมาลบด้วยค่าการดูดกลืนแสงของ blank ของแต่ละตัวอย่าง (ถ้าใกล้เคียง 0 มากสามารถตัดทิ้งได้) นำค่าที่ได้เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน แล้วแทนค่าลงในสูตรการหาความเข้มข้นของน้ำตาล

$$\text{ความเข้มข้นของน้ำตาล} = \frac{X \times D \times F}{FW} \text{ ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด}$$

- X = ค่าความเข้มข้นที่ได้จากการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน  
 D = ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์  
 F = ปริมาตรที่ใช้ในขั้นตอนการสกัดด้วย ethyl alcohol 80 % ( 50 มิลลิลิตร)  
 FW = น้ำหนักที่ใช้ในขั้นตอนการสกัดด้วย ethyl alcohol 80 % ( 4 กรัม)

### วิธีการวิเคราะห์แป้ง โดยวิธี Anthrone ของ JSPN (1990)

#### การสกัดพืชเพื่อวิเคราะห์แป้ง

ชั่งกากอบแห้งที่ได้จากข้อ 0.25 กรัม ใส่ลงในหลอดเซนติฟิวส์ขนาดใหญ่ เติมน้ำกลั่น 1.25 มล นำไปตั้งบนอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 100 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ยกลงมา เติมกรดเปอร์คลอริก 8.14 N ปริมาตร 1.62 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วคนให้ทั่ว นาน 5 นาที จากนั้นคน เป็นครั้งคราว นาน 15 นาที เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูงที่ 10000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที เทส่วนของเหลวลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ระวังอย่าให้ ตะกอนลงไป ตะกอนที่เหลือให้ทำซ้ำในขั้นตอนตั้งแต่เติมกรดเปอร์คลอริกอีกครั้ง นำสารสกัดที่ สกัดได้ไปปรับปริมาตรให้ได้ปริมาตรสุดท้าย 25 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง และเก็บในขวดพลาสติก

#### การวิเคราะห์แป้ง โดยวิธี Anthrone ของ JSPN (1990)

- เตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 0, 10 และ 20 มิลลิกรัม ต่อลิตร
- เจือจางสารสกัดในข้อ ปริมาตร 50 เท่า
- นำสารละลายที่เจือจางได้มา 2.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดเซนติฟิวส์ที่ตั้งไว้ใน กล่องน้ำแข็ง
- เติมสารละลาย anthrone 5 มิลลิลิตร
- ปั่นให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่น แล้วรีบนำลงไปในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 100 องศาเซลเซียส นาน 7.5 นาที
- นำไปแช่ในกล่องน้ำแข็งเพื่อลดอุณหภูมิ



7. นำออกมาตั้งไว้รอนกระทั่งอุณหภูมิใกล้เคียงอุณหภูมิห้อง แล้วนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ 630 นาโนเมตร
8. ค่าที่ได้นำไปเปรียบเทียบกับกราฟของสารละลายมาตรฐาน

การคำนวณ

ปริมาณแป้ง (มิลลิกรัมต่อลิตร) (X) = ความเข้มข้นของน้ำตาลที่ได้จากการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน x 0.9

$$\text{ปริมาณแป้งต่อน้ำหนักแห้ง} = \frac{X \times F \times d}{1000 \times D} \text{ มก./กรัม น้ำหนักแห้ง}$$

X = ปริมาณแป้ง(มิลลิกรัมต่อลิตร)

F = ปริมาตรที่ใช้ในขั้นตอน hydrolysis

d = จำนวนเท่าที่เจือจาง

D = น้ำหนักแห้งที่นำมาสกัด(กรัม)

การทดลองที่ 2. ผลของระยะเวลาที่ได้รับอุณหภูมิต่ำและความยาววันต่อการเจริญเติบโตของ ออโรโธกัลม

## 2.1 การเตรียมวัสดุและอุปกรณ์การทดลอง

### 2.1.1 วัสดุพันธุ์พืช

ต้นพันธุ์ออโรโธกัลม (*Ornithogalum thyrsoides*) จำนวน 480 ต้น

### 2.1.2 วัสดุปลูก วัสดุปลูกได้แก่ ทราย ผสมขุยมะพร้าวและถ่านกลบ

ในอัตราส่วน 1 : 1 : 1

### 2.1.3 วัสดุเคมี

สารเคมีสำหรับการเตรียมสารละลายธาตุอาหารและการวิเคราะห์ในโตรเจนใช้  
เหมือนกับการทดลองที่ 1

### 2.1.4 อุปกรณ์

- 2.1.4.1 กระจกขนาด 6 นิ้ว
- 2.1.4.2 ตู้ควบคุมความชื้นยาวนานขนาด 1.5×1.5×1.5 เมตร จำนวน 12 ตู้
- 2.1.4.3 เครื่องวัดค่าความนำไฟฟ้า (EC meter)
- 2.1.4.4 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
- 2.1.4.5 เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 2.1.4.6 เครื่องวัดคลอโรฟิลล์ (MINOLTA SPAD – 502) ถูงเก็บตัวอย่างพืช
- 2.1.4.7 ถูงเก็บตัวอย่างพืช
- 2.1.4.8 เครื่องวัดความเข้มแสง ( TAKEMURA MODEL DM- 28 )

### 2.2 วิธีการทดลอง

นำต้นกล้าอณิโรกลัมที่ได้รับอนุหภูมิต่ำ 9 องศาเซลเซียสเป็นเวลานานต่างกัน 4  
ระดับคือ 0 สัปดาห์, 2 สัปดาห์, 4 สัปดาห์และ 6 สัปดาห์ ปลูกรูปลูกที่ได้รับอนุหภูมิต่ำ ในกระถาง  
ขนาด 6 นิ้ว โดยใช้ทรายผสมขุยมะพร้าวและถ่านแกลบอัตราส่วน 1 : 1 : 1 เป็นวัสดุปลูก จากนั้น  
ให้พืชได้รับแสงธรรมชาติตั้งแต่วันที่ 8.00 น. ถึง 16.00 น. และเพิ่มแสงไฟด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์  
ขนาด 40 วัตต์ เพื่อให้พืชได้รับแสง 3 แบบ คือ แสงตามสภาพธรรมชาติ(ประมาณ 12 ชั่วโมง)  
สภาพวันสั้น(ได้รับแสงธรรมชาติ 8 ชั่วโมง) และสภาพวันยาว(ได้รับแสงธรรมชาติ 8 ชั่วโมง และ  
เพิ่มแสงไฟ 8 ชั่วโมง)ตามกรรมวิธีดังต่อไปนี้

- กรรมวิธีที่ 1 พืชได้รับอนุหภูมิต่ำนาน 0 สัปดาห์และสภาพธรรมชาติ
- กรรมวิธีที่ 2 พืชได้รับอนุหภูมิต่ำนาน 0 สัปดาห์และสภาพวันสั้น
- กรรมวิธีที่ 3 พืชได้รับอนุหภูมิต่ำนาน 0 สัปดาห์และสภาพวันยาว
- กรรมวิธีที่ 4 พืชได้รับอนุหภูมิต่ำนาน 2 สัปดาห์และสภาพวันธรรมชาติ
- กรรมวิธีที่ 5 พืชได้รับอนุหภูมิต่ำนาน 2 สัปดาห์และสภาพวันสั้น
- กรรมวิธีที่ 6 พืชได้รับอนุหภูมิต่ำนาน 2 สัปดาห์และสภาพวันยาว
- กรรมวิธีที่ 7 พืชได้รับอนุหภูมิต่ำนาน 4 สัปดาห์และสภาพวันธรรมชาติ
- กรรมวิธีที่ 8 พืชได้รับอนุหภูมิต่ำนาน 4 สัปดาห์และสภาพวันสั้น

กรรมวิธีที่ 9 พืชได้รับอุณหภูมิตำนานาน 4 สัปดาห์และสภาพวันยาว  
 กรรมวิธีที่ 10 พืชได้รับอุณหภูมิต่ำ 6 สัปดาห์และสภาพวันธรรมชาติ  
 กรรมวิธีที่ 11 พืชได้รับอุณหภูมิตำนานาน 6 สัปดาห์และสภาพวันสั้น  
 กรรมวิธีที่ 12 พืชได้รับอุณหภูมิตำนานาน 6 สัปดาห์และสภาพวันยาว  
 วางแผนการทดลองแบบปัจจัยร่วมแบบสุ่ม (Factorial in CRD) จำนวน 2 ปัจจัย  
 จำนวน  $4 \times 3$  กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ต้น

ให้พืชได้รับสารละลายธาตุอาหารที่มีความเข้มข้นของธาตุในโตรเจน 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ฟอสฟอรัส 50 มิลลิกรัมต่อลิตรและโพแทสเซียม 100 มิลลิกรัมต่อลิตรส่วนธาตุอื่นๆพืชได้รับในปริมาณที่เท่ากัน เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 ปริมาตรที่พืชได้รับต้นละ 50 มิลลิตรจำนวน 2 ครั้งต่อสัปดาห์ สลับกับการให้น้ำ

### 2.3 บันทึกผลการทดลอง

2.3.1 วัดการเจริญเติบโต โดยสุ่มพืชจำนวน 2 ต้นต่อซ้ำ จำนวน 4 ซ้ำต่อกรรมวิธี บันทึกการเจริญเติบโตเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

2.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหาร การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหาร ใช้วิธีเดียวกับการทดลองที่ 1

### การทดลองที่ 3. ผลของการพรางแสงต่อการเจริญเติบโตของ ออโนโธกัลัม

#### 3.1 การเตรียมวัสดุและอุปกรณ์การทดลอง

##### 3.1.1 วัสดุพันธุ์พืช

ต้นพันธุ์ออโนโธกัลัม จำนวน 150 ต้น

##### 3.1.2 วัสดุปลูก

วัสดุปลูกได้แก่ ทราย ผสมขุยมะพร้าวและถ่านแกลบ ในอัตราส่วน 1 : 1 : 1

##### 3.1.3 วัสดุเคมี

สารเคมีสำหรับการเตรียมสารละลายธาตุอาหารใช้เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

### 3.1.4 อุปกรณ์

- 3.1.4.1 กระจกขนาด 6 นิ้ว
- 3.1.4.2 ตู้ควบคุมความเข้มแสงขนาด  $1.5 \times 1.5 \times 1.5$  เมตร จำนวน 3 ตู้
- 3.1.4.3 เครื่องวัดค่าความนำไฟฟ้า (EC meter)
- 3.1.4.4 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
- 3.1.4.5 เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 3.1.4.6 เครื่องวัดคลอโรฟิลล์ (MINOLTA SPAD – 502) ถูงเก็บตัวอย่างพืช
- 3.1.4.7 ถูงเก็บตัวอย่างพืช
- 3.1.4.8 เครื่องวัดความเข้มแสง ( TAKEMURA MODEL DM- 28 )

### 3.2 วิธีการทดลอง

นำต้นกล้าอนิโซกลัมที่ได้จากการแยกหน่ออายุ 2 เดือนปลูกลงในกระถางขนาด 6 นิ้ว โดยใช้ทรายผสมขุยมะพร้าวและถ่านแกลบอัตราส่วน 1 : 1 : 1 เป็นวัสดุปลูก จากนั้นนำพืชมาให้ได้รับความเข้มแสงต่างกันโดยการพรางแสงด้วยตาข่ายขนาดต่างกันตามกรรมวิธีดังนี้

- กรรมวิธีที่ 1 ปลูกพืชโดยให้ได้รับแสงตามสภาพธรรมชาติ (กรรมวิธีควบคุม)
- กรรมวิธีที่ 2 ใช้ตาข่ายพรางแสง 50 เปอร์เซ็นต์
- กรรมวิธีที่ 3 ใช้ตาข่ายพรางแสง 70 เปอร์เซ็นต์

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomize Design CRD)

3 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ต้นให้พืชได้รับสารละลายธาตุอาหารเช่นเดียวกับการทดลองที่ 2

### 3.3 การบันทึกผลการทดลอง

3.3.1 วัดการเจริญเติบโต โดยสุ่มพืชจำนวน 10 ต้นต่อซ้ำ จำนวน 4 ซ้ำต่อกรรมวิธี บันทึกการเจริญเติบโตเช่นเดียวกับการทดลองที่ 2

3.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหาร การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหาร ใช้วิธีเดียวกับ  
การทดลองที่ 2



ภาพที่ 3 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ของบริษัท HITACHI รุ่น U-2001



ภาพที่ 4 เครื่อง Atomic absorption spectrophotometer ของบริษัท PERKIN ELMER รุ่น 3100



ภาพที่ 5 เครื่องวัดคลอโรฟิลล์ (MINOLTA SPAD – 502 )