

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

1. วัสดุและอุปกรณ์

1.1 วัสดุพันธุ์พืช

ต้นกล้วยไม้ช้างกระ (*Rhynchosyilis gigantea*) อายุ 2 ปี 6 เดือน

1.2 วัสดุปลูก

วัสดุปลูก ได้แก่ สแฟกนัมมอส ไยมะพร้าว มะพร้าวสับ และ ก้อนโฟมหัก

1.3 เครื่องมือและอุปกรณ์

1.3.1 เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 4 ตำแหน่ง

1.3.2 ตู้อบ

1.3.3 ถังเก็บตัวอย่างพืช

1.3.4 ถังพลาสติกสีขาว

1.3.5 ไม้บรรทัด

1.3.6 ตลับเมตร

1.3.7 เวอร์เนียคาร์ลิปเปอร์

1.3.8 ป้ายชื่อพร้อมปากกาเคมี

1.3.9 ตู้เย็น

1.3.10 ตู้อบตัวอย่างพืช

1.3.11 ขวดพลาสติก ขนาด 50 มิลลิเมตร

1.3.12 เครื่องบดตัวอย่างพืช

1.3.13 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ของบริษัท HITACHI รุ่น U-2001

1.3.14 เครื่อง Atomic absorption spectrophotometer ของบริษัท PERKIN ELMER รุ่น 310

1.3.15 เตาย่อยพืช ของบริษัท TECHNE รุ่น DB-4

1.3.16 เครื่องแก้ว

1.3.16.1 หลอดทดลอง ขนาด 25 x 200 มิลลิเมตร

1.3.16.2 บีกเกอร์

1.3.16.3 กระจกตวง

1.3.16.4 กรวยกรอง

1.3.16.5 ขวดปรับปริมาตร

1.3.16.6 ปิเปต ไมโครปิเปต

1.3.16.7 หลอดหยดสาร

1.3.16.8 แท่งแก้วคน

1.3.16.9 ขวดสีชา

1.3.16.10 ซ้อนตักสาร

1.4 วัสดุสารเคมี

1.4.1 สารเคมีสำหรับการเตรียม ฮอร์โมน ไข่ไก่

1.4.1.1 สารละลายกรดจิบเบอเรลลิก (GA_3)

1.4.1.2 เอทานอล (C_2H_5OH)

1.5 สารเคมีสำหรับหารวิเคราะห์ไนโตรเจน ไข่ไก่

1.5.1 กรดซัลฟูริก (H_2SO_4)

1.5.2 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)

1.5.3 เอทิลีนไดอะมีนเตตระอะซีติกเอซิดไดโซเดียมซอลท์ (EDTA.2Na)

1.5.4 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

1.5.5 เอทานอล

1.5.6 เมทิลเรด (methyl red)

1.5.7 โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)

1.5.8 กรดเบนโซอิก (benzoic acid)

1.5.9 โซเดียมไนโตรพรัไซด์ (sodium nitropruide)

1.5.10 ฟีนอล (phenol)

1.5.11 ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4)

- 1.5.12 ไดโซเดียมฟอสเฟต (Na_2PO_4)
- 1.5.13 โซเดียมไฮเปอร์คลอไรท์ (NaClO)
- 1.5.14 แอมโมเนียมซัลเฟต ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$)

1.6 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ฟอสเฟต ได้แก่

- 1.6.1 กรดซัลฟูริก
- 1.6.2 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์
- 1.6.3 กรดไฮโดรคลอริก (HCl)
- 1.6.4 แอมโมเนียมโมลิบเดต ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$)
- 1.6.5 สแตนัสคลอไรด์ (SnCl_2)
- 1.6.6 โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)

1.7 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์โพแทสเซียม ได้แก่

- 1.7.1 กรดเปอร์คลอริกเข้มข้น (HClO_4)
- 1.7.2 กรดไนตริก (HNO_3)
- 1.7.3 กรดไฮโดรคลอริก
- 1.7.4 โพแทสเซียมคลอไรด์

1.8 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก แมงกานีส สังกะสี และทองแดง

- 1.8.1 กรดเปอร์คลอริก
- 1.8.2 กรดไนตริก
- 1.8.3 กรดไฮโดรคลอริก
- 1.8.4 แลนทานัมออกไซด์ (La_2O_3)
- 1.8.5 แคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3)
- 1.8.6 แมกนีเซียมคลอไรด์ (MgCl_2)
- 1.8.7 แมงกานีสซัลเฟต (MnSO_4)
- 1.8.8 ซิงค์ซัลเฟต (ZnSO_4)
- 1.8.9 คอปเปอร์ซัลเฟต (CuSO_4)

2. วิธีการทดลอง

ย้ายต้นกล้วยไม้ช้างกระ (*Rhynchostylis gigantea*) อายุ 2 ปี 6 เดือน ลงในกระถางขนาด 6 นิ้วโดยใช้สแฟกนัมมอส โยมะพร้าว มะพร้าวสับและ ก้อนโฟมหักชิ้น เป็นวัสดุปลูกแล้วปักต้น เพื่อให้ฟื้นตัวเป็นเวลา 1 เดือนจากนั้นเริ่มทำการทดลองโดย วางแผนการทดลองแบบ 2×2 Factorial in CRD มี 2 ปัจจัย คือ

1. สภาพแสง ได้แก่ สภาพวันปกติ และสภาพวันสั้น
2. GA_3 ได้แก่ 0 และ 3,000 ส่วนต่อล้าน

โดยแต่ละกรรมวิธีได้รับปัจจัยทั้ง 2 ตั้งแต่เริ่มทำการทดลองถึงเดือนกันยายน 50 จากนั้น ปลูกเลี้ยงต้นกล้วยไม้ต่อภายใต้โรงเรือนพรางแสงและบันทึกข้อมูลต่อจนถึงเดือนพฤษภาคม 51

ในการทดลองมี 4 กรรมวิธี แต่ละกรรมวิธีมี 3 ซ้ำ ซ้ำละ 13 ต้น โดยแต่ละกรรมวิธี ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 สภาพแสงปกติ ร่วมกับการใช้ GA_3 0 ส่วนต่อล้าน

กรรมวิธีที่ 2 สภาพแสงปกติ ร่วมกับการใช้ GA_3 3,000 ส่วนต่อล้าน

กรรมวิธีที่ 3 สภาพวันสั้น 10 ชั่วโมงต่อวันติดต่อกัน ร่วมกับการใช้ GA_3 0 ส่วนต่อล้าน

กรรมวิธีที่ 4 สภาพวันสั้น 10 ชั่วโมงต่อวันติดต่อกัน ร่วมกับการใช้ GA_3 3,000 ส่วนต่อล้าน

การให้ GA_3 ต้นละ 100 ไมโครลิตร (μ l) โดยการหยดตรงซอกคูใบล่างซึ่งเป็นจุดกำเนิดตา ดอกและให้สัมผัสกับตาดอก

การทดลองแบ่งออกเป็น 2 ช่วงการทดลองย่อย ตามระยะเวลาที่แตกต่างกันคือ

- 1.) การทดลองช่วงที่ 1 โดยได้รับสภาพความยาววันและ GA_3 (แต่ละเดือนให้ GA_3 จำนวน 12 ครั้ง ทุกวันที่ 10, 20 และ 30 ของเดือน) ตั้งแต่เดือนมิถุนายน ถึงเดือนกันยายน
- 2.) การทดลองช่วงที่ 2 โดยได้รับสภาพความยาววันและ GA_3 (แต่ละเดือนให้ GA_3 จำนวน 9 ครั้ง ทุกวันที่ 10, 20 และ 30 ของเดือน) ตั้งแต่เดือนกรกฎาคม ถึงเดือนกันยายน

3. บันทึกผลการทดลอง

3.1 การเจริญเติบโตของพืช ได้แก่

3.1.1 ความสูงลำต้น (เซนติเมตร) โดยวัดจากโคนต้นถึงข้อใบบนสุด

3.1.2 ความกว้างทรงพุ่ม (เซนติเมตร)

3.1.3 จำนวนใบต่อต้น (ใบ)

3.1.4 ความยาวใบ (เซนติเมตร) โดยทำการวัดความยาวตั้งแต่บริเวณข้อของกาบใบถึงปลายใบ

3.1.5 ความกว้างใบ (เซนติเมตร)

3.1.6 ความหนาใบ (เซนติเมตร)

3.1.7 น้ำหนักแห้งของใบ (กรัม)

3.2 การออกดอก คุณภาพการแทงดอกและช่อดอก ได้แก่

3.2.1 จำนวนวันตั้งแต่เริ่มทำการทดลองจนเห็นตาดอก (วัน)

3.2.2 จำนวนวันตั้งแต่เริ่มทำการทดลองจนดอกเริ่มบาน (วัน)

3.2.3 อายุการบานดอก (การบานดอกบนต้น)

3.2.4 เปอร์เซนต์การออกดอก (%)

3.2.5 จำนวนช่อดอกต่อต้น (ช่อดอก)

3.2.6 ความยาวช่อดอก (เซนติเมตร)

3.2.7 เส้นผ่าศูนย์กลางก้านช่อดอก

3.2.8 จำนวนดอกต่อช่อ (ดอก)

3.2.9 ขนาดดอก (กว้าง × ยาว)

3.2.10 ความยาวก้านดอก (เซนติเมตร)

3.3 ปริมาณธาตุอาหาร

สุ่มเก็บตัวอย่างใบและต้น กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ ในแต่ละซ้ำเก็บ 1 ต้น ทุก ๆ 4 สัปดาห์ เพื่อนำมาวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหาร ได้แก่ ไนโตรเจนและ ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก แมงกานีส สังกะสี และทองแดง

4. การวิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุอาหาร

4.1 การเตรียมตัวอย่างพืช

สุ่มเก็บตัวอย่างใบและต้น กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ ในแต่ละซ้ำเก็บ 1 ต้น ทุก ๆ 4 สัปดาห์ ล้างทำความสะอาดด้วยน้ำประปา 3 ครั้ง น้ำกลั่น 3 ครั้ง ชับให้แห้งจากนั้นชั่งน้ำหนักสด บันทึกน้ำหนักสด แล้วนำไปอบแห้งที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จนกระทั่งน้ำหนักแห้งไม่เปลี่ยนแปลงแล้วนำมาเก็บไว้ในตู้ดูดความชื้น (desiccator) ทิ้งไว้ให้เย็น จึงบันทึกน้ำหนักแห้งแล้วนำไปบดให้ละเอียด เก็บใส่ถุงกระดาษก่อนนำไปชั่งเพื่อย่อยตัวอย่างต่อไป

4.2 การย่อยตัวอย่างพืช

4.2.1 สำหรับการวิเคราะห์ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส คัดแปลงโดย Ohyama *et al.* (1986)

ซึ่งตัวอย่างพืชอบแห้งบดละเอียดเฉลี่ย 0.05 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 25×200 มิลลิเมตร เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 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 หลังจากนั้นนำสารละลายที่ได้ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 1 คืน วันต่อมานำมาปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร ด้วยขวดปรับปริมาตร แล้วจึงเทใส่ขวดพลาสติกเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อใช้วิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในขั้นตอนต่อไป

4.2.2 การย่อยตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก แมงกานีส สังกะสี และทองแดง

ย่อยตัวอย่างพืชโดยวิธี $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$ wet digestion (Mizukoshi *et al.*, 1994)

ซึ่งตัวอย่างพืชอบแห้งบดละเอียดเฉลี่ย 0.05 กรัม ในหลอดทดลองขนาด 25×200 มิลลิเมตร แล้วเติมกรดเปอร์คลอริก 0.4 มิลลิลิตร และกรดไนตริก 0.5 มิลลิลิตร ตามลำดับ ปั่นให้เข้ากัน ปิดหลอดด้วยพาราฟิล์ม ทิ้งไว้ 1 คืน นำไปย่อยที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เพื่อไล่วัสดุแข็งของ NO_2^- ออกจนกระทั่งหมดควันจึงค่อยๆเพิ่มอุณหภูมิมาที่ 210 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้จนตัวอย่างแห้งระวังอย่าให้ไหม้ เมื่อตัวอย่างแห้งแล้วปิดไฟตั้งทิ้งไว้ในตู้ดูดควันจนกระทั่งเย็นแล้วเติมกรดไฮโดรคลอริกเจือจาง (ประกอบด้วย กรดไฮโดรคลอริก ผสมน้ำอัตรา 1:4 มิลลิลิตร) หลอดละ 1 มิลลิลิตร นำมาตั้งไฟที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที เพื่อไล่วัสดุ Cl^- ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตรด้วยขวดปรับปริมาตร จากนั้นจึงเทใส่ขวดพลาสติกเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณโพแทสเซียม ด้วยเครื่อง Atomic absorption spectrophotometer ต่อไป

4.3 การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหาร (Ohyama *et al.*, 1985; 1991)

4.3.1 การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนรวม (Indolphenol Method)

4.3.1.1 เตรียมสารละลายที่ใช้ตรวจสอบปริมาณไนโตรเจน จำนวน 4 ชนิด ดังนี้

A reagent : ชั่งโซเดียมเกลือ 25 กรัม ใส่บีกเกอร์ ละลายในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้เป็น 10 โดยใช้ 10 N โซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นตัวปรับ pH จากนั้นเติมสารละลายเมธิลเรด 20 มิลลิลิตร (เมธิลเรด 0.05 กรัม + 60% เอทานอล 20 มิลลิลิตร) คนให้เข้ากัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 ลิตร

B reagent : ชั่งโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 136.09 กรัม ใส่บีกเกอร์ 500 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร นำไปผสมให้เข้ากันโดยใช้แท่งเหล็กคน ปรับอุณหภูมิ 30-40 องศา จนละลายหมด นำมารวมกัน แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร

C reagent : ชั่งโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ 0.1 กรัม ใส่ขวดปรับปริมาตร จากนั้นเติมฟีนอล 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 และ ไตรโซเดียมฟอสเฟต 3.18 กรัม ละลายในน้ำกลั่น จากนั้นเติมโซเดียมไฮเปอร์คลอไรท์ 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร

4.3.1.2 เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 N โดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 40 กรัม แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร

4.3.1.3 เตรียมสารละลายมาตรฐานจากแอมโมเนียมซัลเฟต ระดับความเข้มข้น 0.01 0.2 0.3 0.4 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน โดยชั่ง แอมโมเนียมซัลเฟต 0.471 กรัม ละลายด้วยกรดซัลฟูริก 0.5 N แล้วปรับปริมาตร ได้สารละลายมาตรฐานไฮโดรเจนความเข้มข้นที่ต้องการ โดยกรดซัลฟูริก 0.5 N เตรียมจาก กรดซัลฟูริก 13.32 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

4.3.1.4 คูณตัวอย่างที่หย่อได้จาก ปริมาตร 0.3-0.5 มิลลิลิตร (ขึ้นกับส่วนของพืช) เติม A reagent 0.5 มิลลิลิตร และเติม B reagent 0.5 มิลลิลิตร ตามลำดับ สารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพู แล้วนำไปไตเตรทโดยหยดการโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 N ลงไป เขย่าเล็กน้อยจน

กระทั่งเปลี่ยนสีเหลือง จากนั้นเติม C reagent 2.5 มิลลิลิตร และ D reagent 2.5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่ 30 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 625 นาโนเมตร บันทึกผล แล้วนำค่าที่อ่านได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานตามกฎของ Beer's- Lambert's Law จากนั้นนำค่าที่คำนวณได้มาคำนวณหาปริมาณไนโตรเจน (เปอร์เซ็นต์) โดยใช้สูตรคำนวณ ดังนี้

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

สาร A มิลลิกรัมต่อลิตร = ค่าความเข้มข้นของไนโตรเจนในสารละลายตัวอย่างพืชจากกราฟมาตรฐาน (ส่วนต่อล้าน)

B = อัตราส่วนการเจือจางสารตัวอย่างในปฏิกิริยา Indolphanol
= ปริมาตรสุดท้ายในการวิเคราะห์ (25 มิลลิลิตร)

ปริมาณสารตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์

C = ปริมาตรสุดท้ายของการย่ตัวอย่างพืชใน (50 มิลลิลิตร)

DW = น้ำหนักแห้งของตัวอย่างที่ใช้อยู่ (กรัม)

4.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสโดยการวัดการดูดกลืนแสงของสารที่สี (colorimetry) (Ohyama *et. Al.*, 1991)

4.3.2.1 เตรียมสารวิเคราะห์ ดังนี้

A reagent : ชั่งแอมโมเนียม โมลิบเดต 25 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร จากนั้นนำมากรอง

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

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

4.3.2.2. เตรียมสารละลายสแตนดาร์ด โดยชั่ง สแตนดาร์ด 0.25 กรัม เทลงในขวดสีชา (ควรเตรียมในตู้เย็น) เติมกรดไฮโดรคลอริก 5 มิลลิลิตร ละลายให้หมด จากนั้นเติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร ใช้ได้ 3 วัน

4.3.2.3. เตรียมสารละลายมาตรฐานของฟอสฟอรัส จากโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ปรับให้มีความเข้มข้นตามลำดับ คือ 0 0.2 0.4 0.6 0.8 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน โดยชั่งโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.716 กรัม ละลายด้วยกรดซัลฟูริก 4 N แล้วปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตร ขนาด 1 ลิตร จนครบปริมาตร จะได้สารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัสความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นนำสารละลายไปเจือจางตามความเข้มข้นที่ต้องการ

4.3.2.4. คูณสารละลายตัวอย่างจาก ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร ลงไปในขวดปรับปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย เติม C reagent ขวดละ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติมสแตนดาร์ด 0.2 มิลลิลิตร ตามลำดับ ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 25 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร นำค่าที่อ่านได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของฟอสฟอรัส จากนั้นนำค่าที่คำนวณได้มาคำนวณหาปริมาณฟอสฟอรัส (เปอร์เซ็นต์) เช่นเดียวกับการหาปริมาณไนโตรเจน

4.3.3 วิเคราะห์ปริมาณธาตุแคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก แมงกานีส ทองแดง และสังกะสี

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

4.3.3.2 เตรียมสารละลายมาตรฐานของแคลเซียม จาก CaCO_3 จากนั้นปรับให้มีความเข้มข้นตามลำดับคือ 0, 0.05, 0.10, 0.15, 0.20 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน

4.3.3.3 เตรียมสารละลายมาตรฐานของแมกนีเซียมจาก MgCl_2 จากนั้นปรับให้มีความเข้มข้นตามลำดับคือ 0, 0.05, 0.10, 0.15, 0.20 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน

4.3.3.4 เจือจางสารละลายตัวอย่าง สำหรับวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียม โดยใช้สารตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางด้วยสารละลาย lanthanum oxide เป็น 25 มิลลิลิตร

4.3.3.5 นำสารละลายดังกล่าวไปวัดปริมาณพลังงานแสงที่ถูกดูดกลืนโดยอะตอมของแคลเซียมและแมกนีเซียม ด้วยเครื่อง atomic absorption spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น

442.7 นาโนเมตร และ 285.2 นาโนเมตร สำหรับวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียมและแมกนีเซียมตามลำดับ บันทึกลง และนำค่าที่คำนวณได้มาคำนวณหาปริมาณแคลเซียมและแมกนีเซียม (%) โดยใช้สูตรคำนวณ เช่นเดียวกับการหาปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่างพืช

4.3.4 การวิเคราะห์ปริมาณธาตุเหล็ก แมงกานีส ทองแดง และสังกะสี

4.3.4.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานของเหล็ก จากนั้นปรับให้มีความเข้มข้นตามลำดับคือ 0, 0.05, 0.10, 0.15, 0.20 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน

4.3.4.2 เตรียมสารละลายมาตรฐานของแมงกานีส จาก $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ จากนั้นปรับให้มีความเข้มข้นตามลำดับคือ 0, 0.05, 0.10, 0.15, 0.20 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน

4.3.4.3 เตรียมสารละลายมาตรฐานของทองแดง จาก $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ จากนั้นปรับให้มีความเข้มข้นตามลำดับคือ 0, 0.05, 0.10, 0.15, 0.20 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน

4.3.4.4 เตรียมสารละลายมาตรฐานของสังกะสี จาก $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ จากนั้นปรับให้มีความเข้มข้นตามลำดับคือ 0, 0.05, 0.10, 0.15, 0.20 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน

4.3.4.5 นำสารละลายตัวอย่างไปวัดปริมาณพลังงานแสงที่ถูกดูดกลืนโดยอะตอมของเหล็ก แมงกานีส ทองแดง และสังกะสี ด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 248.3, 279.5, 324.8 และ 213.9 นาโนเมตร สำหรับวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก แมงกานีส ทองแดง และสังกะสีตามลำดับ บันทึกลง และนำค่าที่คำนวณได้มาคำนวณหาความเข้มข้นของเหล็ก แมงกานีส ทองแดง และสังกะสี โดยใช้สูตรคำนวณ เช่นเดียวกับการหาปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่างพืช