

โดยใช้อัตราส่วนวัสดุเหลือใช้ต่อกากน้ำตาลเท่ากับ 1:1 อาจเปลี่ยนแปลงตาม ลักษณะวัสดุเหลือใช้ที่ใช้ และระยะเวลาที่ใช้ในการหมักขึ้นอยู่กับวัสดุเหลือใช้

6.3.2 องค์ประกอบและสมบัติของน้ำสกัดชีวภาพ

องค์ประกอบและสมบัติของน้ำสกัดชีวภาพ มีลักษณะสีน้ำตาล ได้จากสารละลาย เซลล์ วัสดุและกิจกรรมของจุลินทรีย์ในระหว่างกระบวนการหมัก ประกอบด้วย คาร์โบไฮเดรต กรดอะมิโน โปรตีน กรดฮิวมิก เอ็นไซม์ วิตามิน ฮอร์โมนและแร่ธาตุอาหาร

1.ธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองในน้ำสกัดชีวภาพ ได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และกำมะถัน มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช ในการสร้างกรดอะมิโน โปรตีน น้ำตาล แป้ง ผนังเซลล์ ส่วนต่างๆของพืช และเอ็นไซม์ในกระบวนการต่างๆของพืช (กอง เกษตรเคมี, 2545)

2.จุลธาตุในน้ำสกัดชีวภาพ ได้แก่ เหล็ก แมงกานีส ทองแดง สังกะสี และโบรอน ช่วย กระตุ้นการทำงานของเอ็นไซม์ ที่เกิดในกระบวนการต่างๆของพืช เช่น การสังเคราะห์แสงและ หายใจ

ตารางที่ 2 ปริมาณธาตุอาหารในตัวอย่างน้ำสกัดชีวภาพ

น้ำสกัดชีวภาพ	%N	%P	%K	%Ca	%Mg	%SO ₄ ²⁻	%Fe	%Mn	%Zn	%Cu
กวาดุ้ง	0.44	0.04	1.80	0.30	0.16	0.72	0.00351	0.00247	0.00148	ไม่พบ
ปลาป่น	2.06	0.20	2.12	0.62	0.18	0.98	0.01379	0.00039	0.00054	0.00001

ที่มา : นฤมลและเขวาวา, 2546

3.ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำสกัดชีวภาพทุกชนิดจะมีความเป็นกรดเป็นส่วนใหญ่ เนื่องจากในกระบวนการหมักวัสดุแต่ละชนิดจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการย่อยสลายจะสร้าง กรดอินทรีย์ในปริมาณมาก ได้แก่ กรดแลคติกและกรดอะซิติก(กรมพัฒนาที่ดิน, 2545)

4.ค่าการนำไฟฟ้าซึ่งเป็นตัวบ่งบอกระดับความเค็มของน้ำสกัดชีวภาพมีความแตกต่างกัน เนื่องจากชนิดและปริมาณวัสดุเหลือใช้ที่ใช้ในการหมักมีความแตกต่างกัน (กรมพัฒนาที่ดิน, 2545)

ตารางที่ 3 ความกรดและด่าง (pH) และค่านำไฟฟ้า (EC) ในตัวอย่างน้ำสกัดชีวภาพ

ชนิดน้ำสกัดชีวภาพ	ค่า pH			ค่า EC (dS m ⁻¹)		
	ต่ำสุด	สูงสุด	เฉลี่ย	ต่ำสุด	สูงสุด	เฉลี่ย
ปลา	4.0	4.7	4.4	20.30	27.00	21.60
ผัก	3.6	4.9	4.3	2.14	49.00	15.93
ผลไม้	3.4	3.9	3.6	1.42	16.82	3.78
หอยเชอร์รี่	4.3	4.9	4.7	17.35	45.00	29.18
พืชพื้นเมือง	3.6	4.1	3.8	1.73	2.85	2.19

ที่มา : กรมพัฒนาที่ดิน (2545)

5. กรดฮิวมิกในน้ำสกัดชีวภาพ จะมีองค์ประกอบของกรดฮิวมิกค่อนข้างแตกต่างกัน กรดฮิวมิกเกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการหมัก ในช่วงแรกของการหมักจะเกิดการย่อยสลายของสารอินทรีย์จากวัสดุอินทรีย์ กระบวนการแปรสภาพจะเกิดขึ้นได้รวดเร็ว หลังจากนั้นการย่อยสลายจะเกิดขึ้นช้าลงจนแปรสภาพเป็นสารฮิวมิก ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีโครงสร้างซับซ้อนมากและสลายตัวได้ยากมีขนาดโมเลกุลใหญ่ สารฮิวมิกจะมีสมบัติเป็นสารคอลลอยด์ประกอบด้วย ฮิวมิน (hummin) กรดฟุลวิก (fulvic acid) และกรดฮิวมิก (humoc acid) (กองเกษตรเคมี, 2545)

6. ฮอร์โมนในน้ำสกัดชีวภาพ แต่ละชนิด พบว่ามีความแตกต่างกันในชนิดของฮอร์โมนของวัสดุอินทรีย์แต่ละชนิด เนื่องจากวัสดุอินทรีย์จากพืชผัก ผลไม้ และสัตว์ในสภาพที่สดจะมีส่วนประกอบของฮอร์โมนในปริมาณสูงกว่าวัสดุอินทรีย์ที่มีอายุมากแล้ว ฮอร์โมนมีความสำคัญต่อการพัฒนาคุณภาพของสิ่งมีชีวิตทั้งพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ ฮอร์โมนที่สำคัญมี 3 ชนิด คือ Auxin , Giberellin และ Cytokinin

7. เอนไซม์ในน้ำสกัดชีวภาพ ที่พบคือ protease , phosphatase และ cellulase จะช่วยการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ในดิน เพื่อให้พืช และจุลินทรีย์ในดินนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

8. จุลินทรีย์ในน้ำสกัดชีวภาพ มีปริมาณที่แตกต่างกันไปตามแต่ละชนิดของน้ำสกัดชีวภาพ มีจุลินทรีย์บางชนิดที่เป็นประโยชน์ในน้ำสกัดชีวภาพสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในสภาพของสารละลายที่มีค่าความเป็นกรดสูง (pH 3-4) ได้แก่ แบคทีเรียในสกุล *Lactobacillus sp.* ใช้น้ำตาลเป็นแหล่งอาหารและพลังงาน ในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน ซึ่งเป็นกลุ่มแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก (Lactic acid bacteria) แบคทีเรียสกุล *Streptococcus sp.* จะใช้แอลกอฮอล์เป็นแหล่งอาหารและพลังงาน เปลี่ยนเป็นให้กรดอะซิติกในสภาพที่มีออกซิเจน จึงเป็นกลุ่มแบคทีเรียที่ผลิตกรดอะซิติก ส่วนแบคทีเรียสกุล *Bacillus sp.* เป็นแบคทีเรียที่แปรสภาพฟอสฟอรัส และแปรสภาพอินทรีย์ไนโตรเจนให้เป็นอนินทรีย์ไนโตรเจน ผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่เป็นแอมโมเนีย แบคทีเรียชนิดนี้สามารถผลิตเอนไซม์ extracellular หรือเรียกว่า proteolytic enzyme (protease) ทำหน้าที่ย่อย

โปรตีนให้เป็นกรดอะมิโน ส่วนราในสกุล *Aspergillus niger*, *Penicillium sp.* และ *Rhizopus sp.* เป็นจุลินทรีย์ที่แปรสภาพฟอสฟอรัส โดยเปลี่ยนสารประกอบอินทรีย์ฟอสฟอรัสและอนินทรีย์ฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปไม่เป็นที่ประโยชน์ให้ฟอสฟอรัสในรูปที่รูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืชและจุลินทรีย์สำหรับกลุ่มยีสต์ที่เกี่ยวข้องกับในกระบวนการหมัก สภาพที่ไม่มีอากาศ เช่น ยีสต์ในสกุล *Saccharomyces sp.* และ *Candida sp.* ยีสต์ใช้น้ำตาลเป็นแหล่งอาหาร โดยการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นเอทิลแอลกอฮอล์และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และยังมีผลิตภัณฑ์ชนิดอื่นออกมาในปริมาณเล็กน้อย เช่น glycerol, acetic acid, organic acids, amino acids purines, pyrimidines และ anyl alcohol นอกจากนี้ยีสต์จะผลิตฮอร์โมน และวิตามินในกระบวนการหมัก ซึ่งพืชและจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในดินนำไปใช้ได้ (กรมพัฒนาที่ดิน, 2545)

6.3.3 ประโยชน์ของน้ำสกัดชีวภาพ

1. เป็นปุ๋ยโดยตรง เนื่องจากน้ำสกัดชีวภาพประกอบด้วย ธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง และจุลธาตุ นอกจากนี้ยังมีเอ็นไซม์และฮอร์โมนต่างๆ ที่ได้จากจุลินทรีย์หรือจากการย่อยสลายของสารอินทรีย์ ส่วนจุลินทรีย์ในน้ำสกัดชีวภาพที่ใส่ลงไปในดิน จะย่อยสลายเศษอินทรีย์วัตถุในดินให้กลายเป็นสารอาหารสำหรับพืช ปรับโครงสร้างของดิน ช่วยให้ดินร่วนซุยขึ้น น้ำและอากาศจะผ่านสะดวก แต่เนื่องจากน้ำสกัดชีวภาพมีสารต่างๆ และจุลินทรีย์อยู่เป็นจำนวนมาก ทำให้มีความเข้มข้นมาก ดังนั้นเมื่อนำไปใช้เป็นปุ๋ยจำเป็นต้องทำให้เจือจางมากๆ (ชัยสิทธิ์และสุดประสงค์, 2543)

2. ป้องกันและกำจัดแมลง โดยการผสมน้ำสกัดชีวภาพในอัตราส่วนที่เจือจางฉีดพ่นไปยังพืชที่มีการระบาดของเพลี้ยแป้ง มีผลให้เพลี้ยแป้งจะตาย เนื่องจากการหมักในสภาพที่ไม่มีออกซิเจนจะได้แอลกอฮอล์ เมื่อแอลกอฮอล์รวมตัวกับออกซิเจนจะได้สารเอสเทอร์ จะมีกลิ่นหอมหรือกลิ่นเหม็นเฉพาะตัวซึ่งทำหน้าที่เป็นสารดึงดูดแมลงและสารไล่แมลง

3. ประโยชน์ในการกำจัดน้ำเสียและการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยใช้อัตราส่วนของน้ำสกัดชีวภาพ 1 ส่วน ต่อปริมาณน้ำในแหล่งน้ำ 1,000 ส่วน เนื่องจากน้ำสกัดชีวภาพประกอบด้วยเอ็นไซม์และจุลินทรีย์อยู่หลายชนิด สามารถนำไปใช้ย่อยสลายสารอินทรีย์ในแหล่งน้ำต่างๆ เช่น บ่อน้ำ สระน้ำ บ่อปลา และบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำอื่นๆ

4. ประโยชน์ในการเลี้ยงสัตว์ โดยการใช้ น้ำสกัดชีวภาพผสมน้ำดื่ม ในอัตราส่วน 1:1,000 ในสัตว์ปีก สุกร โค และกระบือ ทำให้สัตว์แข็งแรง มีความต้านทานโรคต่างๆ ได้ดี เนื่องจากเอ็นไซม์ร่วมกับจุลินทรีย์ในน้ำสกัดชีวภาพช่วยในการย่อยอาหารและกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกัน

5. เป็นหัวเชื้อผลิตปุ๋ยอินทรีย์ เนื่องจากน้ำสกัดชีวภาพมีเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราในชั้นสุดท้ายของการหมักในสภาพที่เป็นกรด เป็นหัวเชื้อสำหรับการปุ๋ยอินทรีย์

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ขั้นตอนการปลูกมะละกอ

1.1 แผนการทดลองที่ทำเป็นแบบ Completely Randomized Design (CRD) มี 7 สิ่งทดลองๆละ 4 ซ้ำๆละ 2 ต้น

1.2 วิธีการปลูกมะละกอ

1.2.1) นำเมล็ดมะละกอพันธุ์แขกดำศรีสะเกษ ที่เริ่มออกรากมาปลูกในวัสดุปลูก ซึ่งมีส่วนผสม ระหว่างขุยมะพร้าว ทราย ถ่านแกลบ อัตราส่วน 3 : 2 : 1 โดยปริมาตร ในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 นิ้ว กระถางละ 3 ต้น โดยระยะแรกทำการรดน้ำเปล่าจนกระทั่งมะละกอมีใบจริงคู่ที่ 2 เมื่อมีใบจริงคู่ที่ 2 รดสารละลายธาตุอาหารสูตร musk melon substrate (Belgium) ที่ความเข้มข้นครึ่งเท่าเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ หลังจากนั้นจึงรดด้วยสารละลายธาตุอาหารความเข้มข้นเต็มสูตร

1.2.2) เมื่อดันกล้ามะละกอได้อายุ 3 เดือน จึงย้ายปลูกลงในกระถางทดลองเส้นผ่านศูนย์กลาง 34 นิ้วที่ปูพลาสติก 2 ชั้น โดยใช้วัสดุปลูกผสม ระหว่าง ทราย : ถ่านแกลบ : ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 3:2:1 โดยปริมาตร โดยปลูกต้นกล้า 3 ต้น ต่อกระถาง

1.2.3) เมื่อดันมะละกอ ออกดอก (อายุได้ 3 เดือน) ให้เหลือเฉพาะต้นเพศเมียและต้นกระเทย จำนวน 1 ต้นต่อกระถาง ศึกษาผลของน้ำสกัดชีวภาพที่มีต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของมะละกอ โดยให้สารละลายต่างๆ ดังนี้

Treatment ที่ 1 สารละลายธาตุอาหาร

Treatment ที่ 2 สารละลายธาตุอาหารร่วมกับน้ำสกัดชีวภาพจากกวางตุ้ง อัตราส่วน 1: 250

Treatment ที่ 3 สารละลายธาตุอาหารร่วมกับน้ำสกัดชีวภาพจากกวางตุ้ง อัตราส่วน 1: 500

Treatment ที่ 4 สารละลายธาตุอาหารร่วมกับน้ำสกัดชีวภาพจากกวางตุ้ง อัตราส่วน 1: 1,000

Treatment ที่ 5 สารละลายธาตุอาหารร่วมกับน้ำสกัดชีวภาพจากปลาป่น อัตราส่วน 1: 250

Treatment ที่ 6 สารละลายธาตุอาหารร่วมกับน้ำสกัดชีวภาพจากปลาป่น อัตราส่วน 1: 500

Treatment ที่ 7 สารละลายธาตุอาหารร่วมกับน้ำสกัดชีวภาพจากปลาป่น อัตราส่วน 1: 1,000

โดยให้สารละลายธาตุอาหารในช่วงเช้าและน้ำสกัดชีวภาพความเข้มข้นต่างๆ ในช่วงเย็น ในปริมาณที่เท่ากันจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง การให้สารละลายธาตุอาหารและน้ำสกัดชีวภาพ ใช้วิธีการให้น้ำแบบระบบน้ำหยด

1.3 การเตรียมสารละลายธาตุอาหาร

ในการทำสารละลายธาตุอาหาร ทำโดยแยกเป็นสองถังๆละ 50 ลิตร ได้แก่สารละลาย A และสารละลาย B โดยแต่ละถังผสมธาตุอาหารต่างๆ กับการให้น้ำให้ได้ปริมาตร 50 ลิตร และนำ

สารละลาย A และ B อย่างละ 1.5 ลิตรมาผสมกันแล้วนำไปเจือจางกับน้ำให้ได้ 150 ลิตร เพื่อนำสารละลายไปยังต้นพืชโดยใช้ระบบการให้สารละลายแบบน้ำหยด โดยมีรายละเอียดของสารละลายธาตุอาหารดังนี้

สารละลาย A

$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	3.681 กิโลกรัม
KNO_3	1.475 กิโลกรัม
Fe-EDTA	23 กรัม

เติมน้ำให้ได้ 50 ลิตรเป็น stock solution A

สารละลาย B

KNO_3	1.475 กิโลกรัม
KH_2PO_4	0.893 กิโลกรัม
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.858 กิโลกรัม
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 22%	5.945 กรัม
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.635 กรัม
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	8.871 กรัม
H_3BO_3	6.353 กรัม
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.615 กรัม

เติมน้ำให้ได้ 50 ลิตรเป็น stock solution B

ค่า pH ของสารละลายมีค่าเท่ากับ 5.5-6.0, ค่า E_c ของสารละลายมีค่าเท่ากับ 2.2 mS/cm

การบันทึกผลการทดลอง โดยบันทึกผลในวันที่ย้ายปลูก และหลังจากปลูกทุกๆ 1 เดือนจนต้นมะละกอมีอายุ 7 เดือนหลังจากย้ายปลูก ดังนี้

- ความสูงของต้นมะละกอ วัดจากข้อที่ 3 ของโคนต้น จนถึงปลายยอด
- จำนวนใบโดยนับใบที่คลี่กางออกเต็มที่ และมีความอุดมสมบูรณ์ โดยใบต้องมีสีเขียวไม่เกิน 50% ของใบนั้นๆ
- ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของลำต้นมะละกอ โดยวัดที่ข้อที่ 3 จากโคนต้น
- จำนวนผลต่อต้น โดยนับผลที่มีความยาวมากกว่า 12 ซม. ขึ้นไป

2. การวิเคราะห์หาปริมาณ N,P,K ในใบมะละกอ

2.1 เครื่องมือ

วิเคราะห์ Nitrogen: Digestion Unit (Gerhardt Model KB20S, Königswinter, Germany), Distillation Unit (Gerhardt Model Vap12, Königswinter, Germany), pH-meter, (Orion 420 A, MA. U.S.A)

วิเคราะห์ phosphorus: pH-meter , (Orion420 A, MA. U.S.A), UV-VIS spectrometer , (Perkin Elmer Lambda 35 , U.S.A)

วิเคราะห์ potassium ion: Atomic Absorption Spectrophotometer VARIAN Spectra 800

2.2 สารเคมี

Boric acid (H_3BO_3) , Analytical grade 99.99% (Aldrich, Steinheim, Germany), Hydrochloric acid(HCl), Analytical grade 37% by wt (Merck, Darmstadt, Germany), Sulfuric acid (H_2SO_4), Analytical grade 95-97% by wt (Merck), Bromocresol green ($C_{11}H_{14}Br_4O_5S$), AR grade (AJAX, NSW, Australia), Devada's alloy, AR grade (Merck), Ethanol , commercial grade (Merck), Methyl red [$4-(CH_3)_2NC_6H_4N:NC_6H_4-2-COOH$], AR grade (Fluka, Switzerland), Sodium carbonate (Na_2CO_3), AR grade (Merck), Sodium hydroxide (NaOH), AR grade (Merck), Ammonium molybdate tetrahydrate ($(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$), Analytical grade Assay 99% (Fluka, Steinheim, Switzerland), Antimony potassium tartate ($SbC_4H_4O_7 \cdot K_0.05 H_2O$), Analytical grade 99% (Aldrich, Wilwaukee, USA), L-(+)-Ascorbic acid ($C_6H_8HO_6$), Analytical grade 99% (Aldrich), Standard Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4), Analytical grade >99% (Ferak Berlin, Germany), Nitric acid (HNO_3), Analytical grade 65% (Merck) Deionized water 18 M Ω -cm (D.I)

2.3 การหาปริมาณ Total Nitrogen ในสารตัวอย่าง

2.3.1 สารละลาย

Standard HCl เข้มข้นในช่วง 0.02 M ถึง 0.05 M เตรียมจากการ standardize HCl ด้วย Na_2CO_3 โดยใช้ methyl red เป็น indicator, Sodium hydroxide เข้มข้น 40%, boric acid-indicator solution เตรียมโดยละลาย boric acid 20 g ในน้ำประมาณ 700 mL อุณหภูมิห้องให้ร้อนเพื่อให้ละลายหมด หลังจากนั้นทิ้งสารละลายให้เย็นถึงอุณหภูมิห้อง แล้วเติม mix indicator 20 mL (เตรียมจากละลาย bromocresol green 0.165 g และ methyl red 0.0825 g ใน ethanol และปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ใน volumetric flask) pH มีค่าประมาณ 3.4 และสารละลายมีสีแดงอมส้ม จากนั้นปรับ pH ของสารละลายจนได้ 3.9 ด้วยสารละลาย NaOH โดยใช้ pH meter (สารละลายมีสีม่วงแดง) และปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ด้วยน้ำ

2.3.2 การหาปริมาณ Total Nitrogen

ชั่งสารตัวอย่าง 0.2-0.5 g ใส่ใน Digestion flask ตามด้วย K_2SO_4 5 g และ $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 0.5 g หลังจากนั้นเติม H_2SO_4 เข้มข้น 25 mL และให้ความร้อนกับ Digestion flask ใน Digestion Unit โดยเริ่มต้นจาก $150^\circ C$ ประมาณ 30 นาที แล้วค่อยๆเพิ่มอุณหภูมิขึ้นจนถึง $350^\circ C$ จนได้สารละลายใส ซึ่งใช้เวลาประมาณ 3 ชั่วโมง จากนั้นปล่อยให้สารละลายเย็นลงถึงอุณหภูมิห้อง แล้วจึงย้าย Digestion flask ไปวางใน Distillation Unit เติม 40% NaOH 80 mL ลงใน flask (ระบบปิด) บรรจุ Boric acid-indicator solution 50 mL ใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 mL และวางไว้ในตำแหน่งรองรับ distillate จากนั้นกลั่นสารตัวอย่างโดยให้ปลายหลอดที่ gas ammonia ไหลผ่านจุ่มอยู่ในสารละลายตลอดเวลาที่กลั่น ทำการกลั่นประมาณ 8 นาที หรือจนได้สารละลายใน Erlenmeyer flask ประมาณ 250 mL (distillate) ยก Erlenmeyer flask ออกจาก Distillation Unit และ titrate distillate ที่ได้ด้วยสารละลาย HCl จนสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นม่วงอมชมพู

2.4 การหาปริมาณ phosphorusในสารตัวอย่าง

2.4.1 สารละลาย

2.4.1.1 Standard phosphate

ละลาย KH_2PO_4 (AR grade) 0.1 g ด้วย Deionized water ปรับปริมาตรเป็น 100 mL ใน Volumetric flask (สารละลายมี KH_2PO_4 1000 ppm และใช้เป็น standard stock solution) และเตรียม working solution KH_2PO_4 5 ppm จาก standard stock solution

2.4.1.2 Sulfuric-Molybdate solution (reagent A)

ละลาย Ammonium molybdate tetrahydrate 6 g ด้วย Deionized water 250 mL และละลาย Antimony potassium tartate 0.1454 g ด้วย Deionized water 50 mL ผสม Ammonium molybdate solution และ Antimony potassium tartrate solution เข้าด้วยกันใน Beaker แล้วนำสารละลายไปแช่ในภาชนะที่บรรจุน้ำแข็ง ประมาณ 45 นาที รอจนสารละลายเย็นจัด จึงค่อยๆเติม H_2SO_4 เข้มข้นลงไปในสารละลายอย่างช้าๆจำนวน 70 mL และคนสารละลายตลอดเวลา จากนั้นเติม Deionized water จนได้ปริมาตรสารละลายประมาณ 490 mL และแช่สารละลายในน้ำแข็งต่อไปจนอุณหภูมิเย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง จากนั้นปรับปริมาตรสารละลายเป็น 500 mL ใน Volumetric flask ด้วย Deionized water (ควรเก็บสารละลายในที่มืด และอุณหภูมิต่ำ และเก็บไว้ได้ไม่เกิน 5 วัน)

2.4.1.3 Working solution (สารละลายที่ใช้ในการ form complex)

ละลาย ascorbic acid 1.5 g ใน Sulfuric-Molybdate solution 200 mL จะได้สารละลายสีเหลืองใสที่เรียกว่า working solution ซึ่งควรใช้ทันทีที่เก็บไว้ได้ไม่เกิน 24 ชั่วโมง

2.4.2 การ digest สารตัวอย่าง

ชั่งสารตัวอย่าง 0.1-0.5 g ใส่ลงใน TEFLON vial จากนั้นเติม HNO_3 เข้มข้น 2 mL และ HCl เข้มข้น 1 mL ตามลำดับ ให้ความร้อนกับสารตัวอย่างที่อุณหภูมิ 60°C โดยวางบน hot plate จนควันสีน้ำตาลแดงตกลงแล้วจึงปิดฝา vial ขณะ digest ให้เปิดฝาเป็นครั้งคราว เพื่อลดความดันและไอของกรดภายใน vial และให้ความร้อนไปจนกว่าจะได้สารละลายใส จากนั้นปล่อยให้สารละลายเย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง แล้วจึงเจือจางด้วย Deionized water จนได้ปริมาตร 25 mL ใน volumetric flask กรองสารละลายผ่าน $0.45\ \mu\text{m}$ disposable filter สารละลายที่ได้ (digested solution) ใช้สำหรับหาปริมาณ phosphorus ด้วยวิธี Spectrophotometry และหาปริมาณ metal ions ด้วยวิธี Atomic Absorption Spectrophotometry

2.4.3 การหาช่วงเวลาที่เหมาะกับการวัด absorbance ของ complex

ปิเปตสารตัวอย่าง 0.25-1 mL และ H_3BO_3 อิ่มตัว 3 หยด ลงใน volumetric flask ขนาด 25 mL เติม working solution ปริมาตรต่างกัน (2-8 mL) ลงไป จากนั้นปรับปริมาตรจนครบ 25 mL ด้วย Deionized water เขย่าสารละลายให้เข้ากัน วัดค่า Absorbance ของสารละลายที่ความยาวคลื่น 880 nm เพื่อศึกษา stability ของ complex ที่เกิดจากสารละลายที่มีความเข้มข้นของ working solution ต่างกัน ในช่วงเวลา 0-120 นาที

2.4.4 การหาปริมาณ phosphorus

ปิเปต Standard KH_2PO_4 solution 5 ppm ปริมาตร 0, 2.5, 4, 5 mL ลงใน volumetric flask ขนาด 25 mL (ในแต่ละขวดมี Standard KH_2PO_4 เข้มข้น 0, 0.5, 0.8, 1 ppm ตามลำดับ) เติมสารตัวอย่าง (digested solution) 1 mL (ยกเว้นปลาปนใช้เพียง 0.25 mL) และ H_3BO_3 อิ่มตัว 3 หยด ลงใน volumetric flask แต่ละขวด จากนั้นเติม working solution ปริมาตรที่เหมาะสม เขย่าให้เข้ากัน ปรับให้ถึงขีดปริมาตร 25 mL ด้วย Deionized water เขย่าให้เข้ากัน วัดค่า Absorbance ของสารละลายในช่วงเวลาที่เหมาะสม ที่ความยาวคลื่น 880 nm

2.5 การหาปริมาณ potassium ion ในสารตัวอย่างด้วย AAS

ถ้าต้องการศึกษา potassium ion ในสารตัวอย่าง ด้วย Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) จำเป็นต้องเปลี่ยนให้อยู่ในรูป ions ก่อน ดังนั้นจึงย่อยสลาย (digest) สารตัวอย่างด้วยกรด การ digest สารตัวอย่างเหมือนหัวข้อ 2.4.2 จากนั้นนำ digested solution ที่ได้ไปวัดหาปริมาณ potassium ions ด้วยเครื่อง AAS

3. การวิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรม SAS

การวิเคราะห์ผลการทดลองโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนตามแผนการทดลองแบบ CRD วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างกลุ่มโดยใช้ Duncans 's News Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้โปรแกรม Statistical Analysis System (SAS , 1996)

สถานที่และระยะเวลาในการทดลอง

ทำการทดลองที่พื้นที่ของภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ศูนย์รังสิต อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี ใช้ระยะเวลา 10 เดือน โดยเริ่มตั้งแต่ เมษายน พ.ศ.2547 ถึง กุมภาพันธ์ พ.ศ.2548

ผลการทดลอง

1. ปริมาณธาตุอาหารที่ต้นมะละกอได้รับ

ต้นมะละกอได้รับปริมาณธาตุอาหารต่างๆ ตามตารางที่ 4 ดังนี้

ตารางที่ 4 ปริมาณธาตุอาหาร(ppm)ที่ต้นมะละกอได้รับ

	control	ปริมาณธาตุอาหารที่ได้จาก น้ำสกัดชีวภาพ:สารละลายธาตุอาหาร 1:1					
		กวางตุ้ง 1/250	กวางตุ้ง 1/500	กวางตุ้ง 1/1,000	ปลาป่น 1/250	ปลาป่น 1/500	ปลาป่น 1/1,000
ธาตุอาหาร							
NO ₃ ⁻	1091.2	545.93	545.765	545.6825	545.74	545.67	545.635
NH ₄ ⁺	-	0.728	0.364	0.182	10.552	5.276	2.638
H ₂ PO ₄ ⁻	155.2	80.05	78.825	78.2125	89.85	83.725	80.6625
K ⁺	304.2	188.1814	170.1407	161.1204	194.4396	173.2698	162.6849
SO ₄ ²⁻	144	72.00144	72.00072	72.00036	72.00196	72.00098	72.00049
Ca ²⁺	236	123.951	120.9755	119.4878	130.4064	124.2032	121.1016
Mg ²⁺	31.2	18.7436	17.1718	16.3859	19.2234	17.4117	16.50585
Cu	0.03	0.015	0.015	0.015	0.0152	0.0151	0.01505
Zn	0.26	0.402	0.1436	0.1369	0.1408	0.1354	0.1327
Cl	-	0.00344	0.00344	0.00344	0.0096	0.0048	0.0024
Mn	0.55	0.3244	0.2997	0.28735	0.2828	0.2789	0.27695
Mo	0.05	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025
B	0.22	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11
Fe	0.56	0.3502	0.3151	0.29755	0.5558	0.4179	0.34895

2. ความสูงต้น

ความสูงของต้นมะละกอพบว่า 2 เดือนแรกหลังการย้ายปลูก แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการให้สารละลายธาตุอาหารให้ความสูงต้นเท่ากับ 90.35 เซนติเมตร ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับ ปลูกปน1:250 ปลูกปน1:1,000 ปลูกปน1:500 และ กวางตุ้ง1:250 โดยให้ความสูงของต้นเท่ากับ 89.59 87.60 86.51 และ 82.40 เซนติเมตร ตามลำดับ แต่ในช่วงเดือนที่ 3 ถึงเดือนที่ 7 หลังจากย้ายปลูก ความสูงของต้นมะละกอ ในแต่ละสิ่งทดลองไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยในเดือนที่ 7 ปลูกปน1:1,000 มีความสูงต้นมากที่สุดเท่ากับ 218.46 เซนติเมตร ส่วนสารละลายธาตุอาหารให้ความสูงต้นน้อยสุดเท่ากับ 192.98 เซนติเมตร(ตารางที่5)

ตารางที่ 5 ความสูงของต้นมะละกอที่รดสารละลายธาตุอาหารร่วมกับน้ำสกัดชีวภาพ ที่ระยะการเจริญเติบโตต่างๆ

สิ่งทดลอง	อายุ (เดือนหลังจากย้ายปลูก) (ชม.)							
	0	1 ^v	2 ^v	3	4	5	6	7
สารละลายธาตุอาหาร	58.79	90.35 ^a	126.66 ^b	141.23	154.43	168.33	177.29	192.98
กวางตุ้ง 1 : 250	49.98	82.40 ^{abc}	125.53 ^b	137.75	149.75	167.93	192.29	210.60
กวางตุ้ง 1 : 500	50.68	77.01 ^c	123.56 ^b	146.86	166.35	185.46	205.35	226.06
กวางตุ้ง 1 : 1,000	50.19	78.10 ^{bc}	144.45 ^a	144.45	150.20	170.45	187.23	208.73
ปลูกปน 1 : 250	57.41	89.59 ^a	139.69 ^a	139.68	154.61	167.50	188.00	212.08
ปลูกปน 1 : 500	52.53	86.51 ^{ab}	124.78 ^b	144.45	155.56	170.03	193.51	214.31
ปลูกปน 1 : 1,000	60.10	87.60 ^a	122.04 ^b	139.69	156.28	176.58	198.35	218.46
F-test	-	*	*	ns	ns	ns	ns	ns
C.V.(%)	-	9.92	9.91	10.00	10.70	9.81	10.68	10.04

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

^v ค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันจะแตกต่างกันตามวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3. เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น

เส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้นพบว่าในช่วงห้าเดือนแรกหลังจากย้ายปลูก แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยต้นมะละกอที่ได้รับสารละลายธาตุอาหาร มีเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นมากที่สุด ในเดือนที่ 5 มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 9.18 เซนติเมตร ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับ กวางตุ้ง1:500 ปลูกปน1:500 กวางตุ้ง1:250 และปลูกปน1:1,000 ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 8.86 8.54 8.42 และ8.34 ตามลำดับ แต่ช่วงเดือนที่ 6 และ 7 หลังย้ายปลูกพบว่า เส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้นในแต่ละสิ่งทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยในเดือนที่ 7 พบว่า ปลูกปน

1:1,000 มีเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นมากที่สุด เท่ากับ 10.68 เซนติเมตร ส่วน กวางตุ้ง 1:1,000 น้อยสุด เท่ากับ 9.24 เซนติเมตร ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 เส้นผ่านศูนย์กลางของต้นมะละกอที่รดสารละลายธาตุอาหารร่วมกับน้ำสกัดชีวภาพ ที่
ระยะเวลาเจริญเติบโตต่างๆ

สิ่งทดลอง	อายุ (เดือนหลังย้ายปลูก) (ชม.)							
	0	1 ^v	2 ^v	3 ^v	4 ^v	5 ^v	6	7
สารละลายธาตุอาหาร	1.75	4.38 ^a	7.15 ^a	8.02 ^a	8.69 ^a	9.18 ^a	10.11	10.27
กวางตุ้ง 1 : 250	1.42	3.81 ^b	6.85 ^{ab}	7.72 ^a	8.10 ^{ab}	8.42 ^{ab}	10.17	10.60
กวางตุ้ง 1 : 500	1.44	2.83 ^d	6.31 ^{abc}	7.88 ^a	8.36 ^{ab}	8.86 ^a	9.81	10.43
กวางตุ้ง 1 : 1,000	1.45	3.03 ^{cd}	5.74 ^c	6.29 ^b	6.80 ^c	7.53 ^c	8.80	9.24
ปลาดิน 1 : 250	1.62	3.47 ^{bc}	5.81 ^c	7.22 ^a	7.76 ^b	7.93 ^{bc}	9.43	9.72
ปลาดิน 1 : 500	1.44	3.34 ^{bc}	6.09 ^{bc}	7.62 ^a	8.18 ^{ab}	8.54 ^{ab}	10.00	10.50
ปลาดิน 1 : 1,000	1.62	3.55 ^{bc}	6.39 ^{abc}	7.40 ^a	7.90 ^{ab}	8.34 ^{abc}	10.13	10.68
F-test	-	*	*	*	*	*	ns	ns
C.V.(%)	-	13.90	14.90	10.21	8.96	9.46	10.24	10.15

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

^v ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันจะแตกต่างกันตามวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4. จำนวนใบ

จำนวนใบพบว่า ช่วงเดือนที่ 2 และเดือนที่ 7 หลังย้ายปลูก ต้นมะละกอในแต่ละสิ่งทดลอง มีจำนวนใบไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ในเดือนที่ 1 และ เดือนที่ 3 ถึงเดือนที่ 6 หลังจากย้ายปลูก ต้นมะละกอในแต่ละสิ่งทดลองมีจำนวนใบแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยในเดือนที่ 1 พบว่า สารละลายธาตุอาหารมีจำนวนใบเท่ากับ 17.63 ใบ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับ กวางตุ้ง 1:250 ปลาดิน 1:250 ปลาดิน 1:1,000 และปลาดิน 1:500 โดยมีจำนวนใบเท่ากับ 16.00 16.00 15.88 และ 15.52 ใบ ตามลำดับ

และในเดือนที่ 6 พบว่า สารละลายธาตุอาหารให้จำนวนใบเท่ากับ 25.00 ใบ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับ กวางตุ้ง1:500 ปลาดิน1:1,000 ปลาดิน1:500 กวางตุ้ง1:1,000 และ กวางตุ้ง 1:250 โดยมีจำนวนใบเท่ากับ 21.25 20.88 20.13 19.63 และ 19.63 ใบ ตามลำดับ โดยในเดือนที่ 7 พบว่าสารละลายธาตุอาหารให้จำนวนใบมากที่สุดเท่ากับ 24.38 ใบ และปลาดิน1:250 มีจำนวนใบ ต่ำสุดเท่ากับ 16.88 ใบ (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 จำนวนใบของมะละกอที่ร่อนน้ำสารละลายธาตุอาหารร่วมกับน้ำสกัดชีวภาพ ที่ระยะการเจริญเติบโตต่างๆ

สิ่งทดลอง	อายุ (เดือนหลังย้ายปลูก)(ใบ)							
	0	1 ^{''}	2	3 ^{''}	4 ^{''}	5 ^{''}	6 ^{''}	7
สารละลายธาตุอาหาร	13.13	17.63 ^a	19.88	17.63 ^{abc}	21.63 ^{ab}	21.63 ^a	25.00 ^a	24.38
กวางตุ้ง 1 : 250	12.13	16.00 ^a	16.75	13.88 ^c	15.88 ^c	16.25 ^d	19.63 ^{ab}	19.63
กวางตุ้ง 1 : 500	12.50	12.00 ^b	21.50	19.75 ^{ab}	22.00 ^{ab}	19.88 ^{abc}	21.25 ^{ab}	21.88
กวางตุ้ง 1 : 1,000	13.38	12.25 ^b	18.75	15.00 ^c	18.00 ^{bc}	17.38 ^{bcd}	19.63 ^{ab}	20.38
ปลາปั่น 1 : 250	12.13	16.00 ^a	14.75	16.13 ^c	16.75 ^c	16.75 ^{cd}	15.75 ^b	16.88
ปลາปั่น 1 : 500	11.75	15.52 ^a	16.13	15.13 ^c	18.50 ^{bc}	20.50 ^{ab}	20.13 ^{ab}	19.13
ปลາปั่น 1 : 1,000	13.13	15.88 ^a	20.38	20.88 ^a	23.38 ^a	21.25 ^a	20.88 ^{ab}	19.50
F-test	-	*	ns	*	*	*	*	ns
C.V.(%)	-	15.82	32.86	23.12	20.83	16.28	25.06	21.86

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

^{''} ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันจะแตกต่างกันความวิธ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

5. จำนวนผลเฉลี่ย

จำนวนผลเฉลี่ยของมะละกอในช่วงเดือนที่ 7 หลังจากย้ายปลูกมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 8) โดยต้นมะละกอที่ได้รับน้ำสกัดกวางตุ้ง 1: 250 ให้จำนวนผลสูงสุดเท่ากับ 10.13 ผล ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับ ปลาปั่น 1:1,000 สารละลายธาตุอาหาร ปลาปั่น 1:250 ปลาปั่น 1:500 ซึ่งมีจำนวนผลเท่ากับ 9.5 8.0 6.38 และ 6.13 ผล ตามลำดับ โดยที่กวางตุ้ง 1:1,000 และ กวางตุ้ง 1:500 ให้จำนวนผลต่ำ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับ น้ำสกัดกวางตุ้ง 1:250 และปลาปั่น 1:1,000 โดยมีจำนวนผลเท่ากับ 4.88 และ 4.13 ผล ตามลำดับ

ตารางที่ 8 จำนวนผลของมะละกอที่รดสารละลายธาตุอาหารร่วมกับน้ำสกัดชีวภาพที่อายุ 7 เดือน หลังย้ายปลูก

สิ่งทดลอง	จำนวนผล โดยเฉลี่ย(ผล)
สารละลายธาตุอาหาร	8.00 ^{ab}
กว้างตั้ง 1 : 250	10.13 ^a
กว้างตั้ง 1 : 500	4.13 ^b
กว้างตั้ง 1 : 1,000	4.88 ^b
ปลาป่น 1 : 250	6.38 ^{ab}
ปลาป่น 1 : 500	6.13 ^{ab}
ปลาป่น 1 : 1,000	9.5 ^a
F-test	*
C.V.(%)	35.85

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

^v ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันจะแตกต่างกันตามวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

6.ผลการวิเคราะห์ธาตุอาหาร N,P,K ในใบมะละกอ

จากการวิเคราะห์ธาตุอาหารหลักที่ได้จากใบมะละกอ พบว่า

ไนโตรเจน(%N) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่กว้างตั้ง 1:250 พบมากที่สุดเท่ากับ 5.32% รองลงมาได้แก่ ปลาป่น1:250 ปลาป่น1:1,000 สารละลาย ปลาป่น1:500 กว้างตั้ง1:1,000 และกว้างตั้ง 1:500 โดยมีปริมาณไนโตรเจนเท่ากับ 4.92% 4.86% 4.82% 4.56% 4.54% และ4.51% ตามลำดับ

ฟอสฟอรัส(%P) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ในปลาป่น 1:500 พบมากที่สุดเท่ากับ 0.31% รองลงมาได้แก่ ปลาป่น1:250 กว้างตั้ง1:250 กว้างตั้ง1:500 สารละลาย ปลาป่น1:1,000 และ กว้างตั้ง 1:1,000 โดยมีปริมาณฟอสฟอรัสเท่ากับ 0.29% 0.28% 0.27% 0.26% 0.25% และ 0.23% ตามลำดับ

โปแตสเซียม(%K) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ในกว้างตั้ง 1:250 พบมากที่สุดเท่ากับ 2.37% รองลงมาได้แก่ สารละลาย ปลาป่น1:250 กว้างตั้ง1:500 ปลาป่น1:500 ปลาป่น1:1,000 และ กว้างตั้ง 1:1,000 โดยมีปริมาณโปแตสเซียมเท่ากับ 2.32% 2.31% 2.27% 2.21% 2.12% และ 2.05% ตามลำดับ(ตารางที่ 9)