

บทปฏิบัติการเรื่อง PHOTOSYNTHESIS

จุดประสงค์ เพื่อศึกษาวิธีการหาอัตราการเกิดขบวนการสังเคราะห์แสงของพืชโดยวิธีของ Winkler

บทนำ อัตราการสังเคราะห์แสงที่เกิดขึ้นในพืชอาจวัดได้จากปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่พืชใช้ไป หรือปริมาณออกซิเจนที่พืชคายออกมา การหาอัตราการสังเคราะห์แสงของ Winkler นี้เป็นวิธีการหาปริมาณแก๊สออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำ การหาอัตราการสังเคราะห์แสงโดยวิธีนี้จะใช้กับพืชที่มีชีวิตอยู่ใต้น้ำ เมื่อการสังเคราะห์แสงเกิดขึ้น แก๊สออกซิเจนที่พืชคายออกมาจะละลายอยู่ในน้ำ หลังจากนั้นเรานำน้ำไปวิเคราะห์หาปริมาณแก๊สออกซิเจนที่อยู่ในน้ำ เราก็จะทราบว่าแก๊สออกซิเจนที่พืชคายออกมามีปริมาณมากน้อยเท่าใด และถ้าเราจับเวลาที่พืชใช้ในการสังเคราะห์แสง เราก็จะหาอัตราการสังเคราะห์แสงของพืชได้ หน่วยของอัตราการสังเคราะห์แสงของพืชที่นิยมใช้กันคือ $Mg.O_2/gm. tissue/hr.$

- วัสดุและอุปกรณ์**
1. พืชที่เจริญเติบโตอยู่ใต้น้ำ
 2. ขวด BOD ขนาด 300 มิลลิลิตร 4 ใบ
 3. บิวเรตต์ขนาด 50 มิลลิลิตร 4 อัน
 4. สแตนดาร์ดและแคมป์ 4 ชุด
 5. แผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์
 6. แมกเนติกสเตอโร 4 เครื่อง
 7. ปิเปตต์ขนาด 5 มิลลิลิตร พร้อมลูกยางดูดลม 4 ชุด
 8. บีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร 5 ใบ
 9. บีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร 4 ใบ
 10. วอล्यूเมตริกฟลาสก์ ขนาด 1,000 มิลลิลิตร 1 ใบ

11. วอลูเมตริกพลาสติก ขนาด 50 มิลลิลิตร 1 ใบ
12. กระบอกตวงสาร ขนาด 100 มิลลิลิตร 1 ใบ
13. กระบอกตวงสารขนาด 10 มิลลิลิตร 1 ใบ
14. กรีส
15. เครื่องชั่งอย่างละเอียด
16. กระดาษกรองเบอร์ 1
17. เครื่องบดสาร
18. สารเคมีที่ใช้ในการทดลองมีดังนี้

KOH (pellet), KI, Starch,

(Conc)H₂SO₄, MnSO₄·4H₂O, NaHCO₃,

Na₂S₂O₃·5H₂O (Sodium thiosulfate)

วิธีทำ

1. เตรียมสารละลายแมงกานีสซัลเฟต โดยใช้ MnSO₄·4H₂O จำนวน 24 กรัม ละลายลงในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร หรือใช้ MnSO₄·2H₂O จำนวน 20 กรัม ละลายลงในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร แล้วกรองเอาตะกอนออก
2. เตรียม alkaline-iodide reagent โดยละลาย KI จำนวน 7.5 กรัม ลงในน้ำประมาณ 30 มิลลิลิตร แล้วละลาย KOH จำนวน 35 กรัม ลงในสารละลาย KI ที่เตรียมได้ นำสารละลายที่ได้ใส่ลงในวอลูเมตริกพลาสติก ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นลงไปจนกระทั่งสารละลายได้ปริมาตรเท่ากับ 50 มิลลิลิตร
3. เตรียมน้ำแป้ง โดยใช้มันฝรั่ง 5 กรัม บดกับน้ำในเครื่องบด แล้วเติมน้ำร้อนลงไป จนได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร คนน้ำแป้งแล้วตั้งทิ้งไว้ 1 วัน รินน้ำแป้งที่อยู่ข้างบนเอาไว้ใช้ในการทดลอง ความเข้มข้นของน้ำแป้งจะได้ประมาณ 0.1 ถึง 0.5%
4. เตรียมสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต โดยใช้ Na₂S₂O₃·5H₂O จำนวน 2.482 กรัม ใส่ลงในวอลูเมตริกพลาสติกขนาด 1,000 มิลลิลิตร เก็บสารละลายไว้ในขวดที่บดแสง และใส่ตู้เย็นไว้จนกระทั่งถึงเวลาใช้
5. เขียนป้ายติดข้างขวด BOD ขนาด 300 มิลลิลิตร ดังนี้

- ขวด BOD ไบที่ 1 เขียนว่า A
 ขวด BOD ไบที่ 2 เขียนว่า B
 ขวด BOD ไบที่ 3 เขียนว่า C
 ขวด BOD ไบที่ 4 เขียนว่า D
6. หุ้มขวด B ทั้งไบด้วยแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ เพื่อป้องกันมิให้แสงส่องผ่านเข้าไปในขวด
 7. นำสาหร่ายหางกระรอกหรือพืชที่เจริญเติบโตใต้น้ำใส่ลงในขวด B, C และ D ขวดละเท่า ๆ กัน
 8. เติมน้ำลงในขวด D ประมาณครึ่งขวด และหยดสารละลาย NaHCO_3 ลงไปในขวด 2-3 หยด
 9. เติมน้ำลงไปในขวด A, B, C และ D จนเต็มขวด แล้วนำจุกแก้วที่ grease แล้ว ปิดลงไปในปากขวดทั้ง 4 ไบ ให้แน่น และพยายามอย่าให้เกิดฟองอากาศขึ้นภายในขวด
 10. นำขวดทั้ง 4 ไบ ไปตั้งในที่ที่มีแสงที่มีความเข้มของแสงเท่ากัน เป็นเวลาประมาณ 1-2 ชั่วโมง ออกไปตั้งในที่ที่มีแสงแดดส่องถึงได้ บันทึกเวลาที่ใช้ในการทดลอง
 11. นำสารละลายในแต่ละขวดมาหาปริมาณแก๊สออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำ (ทำทั้ง 4 ขวดพร้อมกัน) ดังวิธีการดังต่อไปนี้:-
 - 11.1 เปิดจุกขวด แล้วเติมสารละลายแมงกานีสซัลเฟตที่เตรียมไว้ตามข้อ 1 ลงในขวดแต่ละไบ ขวดละ 2 มิลลิลิตร ปิดจุกขวดแล้วเขย่า (ควรเปิดและปิดขวดอย่างรวดเร็ว เพื่อมิให้ออกซิเจนในน้ำระเหยออก)
 - 11.2 เปิดจุกขวด แล้วเติม alkaline-iodide solution ที่เตรียมไว้ตามข้อ 2 ลงในขวดแต่ละไบ ขวดละ 2 มิลลิลิตร เวลาเติมสารละลายให้เติมได้ผิวน้ำขวด เพื่อป้องกันมิให้สารละลายติดกับจุกขวด แล้วปิดจุกขวดตามเดิม เขย่าขวดทั้ง 4 ไบ อย่างแรงประมาณ 1-2 นาที แล้วนำขวดมาเขย่าอีก 2-3 นาที แล้ววางขวดบนโต๊ะ ปล่อยให้ตะกอนตกอยู่ที่ก้นขวดประมาณ 5 นาที

- 11.3 เปิดจุกเติม (conc) H_2SO_4 ลงในขวดทั้งสี่ ขวดละ 1 มิลลิลิตร แล้วปิดจุกเขย่าทันที จนกระทั่งตะกอนละลายหมดไป
- 11.4 นำสารละลาย 100 มิลลิลิตร ออกจากขวดแต่ละใบไปใส่ลงใน บีกเกอร์ ขนาด 250 มิลลิลิตร ดังนี้
 สารละลายจากขวด A ใส่ลงในบีกเกอร์ A
 สารละลายจากขวด B ใส่ลงในบีกเกอร์ B
 สารละลายจากขวด C ใส่ลงในบีกเกอร์ C
 สารละลายจากขวด D ใส่ลงในบีกเกอร์ D
 แล้วนำสารละลายในบีกเกอร์ดีเตรทด้วยสารละลายโซเดียมไฮโอซัลเฟต ความเข้มข้น 0.01 Nทันที จนกระทั่งสารละลายในบีกเกอร์ เปลี่ยนสีเป็นสีเหลืองจางๆ เติมน้ำเบิ้ง (ที่เตรียมไว้ในข้อ 3) 10 มิลลิลิตร ไปในบีกเกอร์แล้วดีเตรทต่อจนกระทั่งสีน้ำเงินของสารละลายเริ่มหายไป บันทึกปริมาณสารละลายโซเดียมไฮโอซัลเฟตที่ใช้ดีเตรทสารละลายแต่ละชนิดลงในหัวข้อผลการทดลอง
12. นำพีชที่ใช้ในการทดลองของแต่ละขวดไปหาน้ำหนักสด บันทึกน้ำหนักลงในหัวข้อผลการทดลอง
13. หาปริมาตรของสารละลายที่เหลืออยู่ในแต่ละขวด (ที่ไม่ได้นำไปดีเตรท) บันทึกปริมาตรของสารละลายลงในหัวข้อผลการทดลอง

ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น

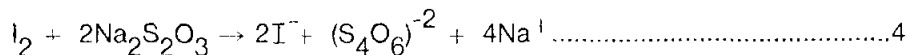
- แก๊สออกซิเจนที่เกิดขึ้นจากขบวนการสังเคราะห์แสงจะละลายอยู่ในน้ำ และจะออกซิไดซ์ Mn^{+2} (ซึ่งเกิดจากการแตกตัวของ $MnSO_4$) ให้เป็น Mn^{+4} ได้ $MnO(OH)_2$ ดังนี้

$$Mn^{+2} + 2(OH^-) \rightarrow Mn(OH)_2 \dots\dots\dots 1$$

$$Mn(OH)_2 + \frac{1}{2} O_2 \rightarrow MnO(OH)_2 \dots\dots\dots 2$$
- ในสภาพที่เป็นกรด I^- จะเปลี่ยนเป็น I_2 ดังสมการ

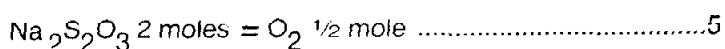
$$MnO(OH)_2 + 4H^+ + 2I^- \rightarrow Mn^{+2} + I_2 + 3H_2O \dots\dots\dots 3$$

3. ดิเตรท I_2 ด้วยสารละลาย $Na_2S_2O_3$ จนกระทั่ง I_2 เปลี่ยนเป็น I^- (ตรวจสอบด้วยน้ำแป้ง) ดังสมการดังนี้



ผลการทดลอง

1. เวลาที่ใช้การทดลอง.....ชั่วโมง..... นาที
 2. น้ำหนักพืชที่ใช้ทดลองในขวด **A** =กรัม
 3. น้ำหนักพืชที่ใช้ทดลองในขวด **B** = กรัม
 4. น้ำหนักพืชที่ใช้ทดลองในขวด **C** -- กรัม
 5. น้ำหนักพืชที่ใช้ทดลองในขวด **D** =กรัม
 6. ปริมาณโซเดียมไธโอซัลเฟตที่ใช้ดิเตรทสารละลาย จากขวด **A**
 100 มิลลิลิตร..... มิลลิลิตร
 7. ปริมาณโซเดียมไธโอซัลเฟตที่ใช้ดิเตรทสารละลาย จากขวด **B**
 100 มิลลิลิตร = มิลลิลิตร
 8. ปริมาณโซเดียมไธโอซัลเฟตที่ใช้ดิเตรทสารละลายจากขวด **C**
 100 มิลลิลิตร - มิลลิลิตร
 9. ปริมาณโซเดียมไธโอซัลเฟตที่ใช้ดิเตรทสารละลาย จากขวด **D**
 100 มิลลิลิตร -- มิลลิลิตร
- จากปฏิกิริยาในสมการที่ (1), (2), (3) และ (4) เราจะได้



ให้หาปริมาณแก๊สออกซิเจนที่เกิดขึ้นในขวดแต่ละใบ หรืออาจใช้สูตรสำเร็จหาปริมาณแก๊สออกซิเจนที่เกิดขึ้นในน้ำในขวดแต่ละใบดังนี้:-

$$\begin{aligned} \text{ปริมาณแก๊สออกซิเจนในน้ำ (mg/L)} &= \frac{V \times N \times 32000 \times 1000}{4000S} \\ &= \frac{8000 \times V \times N}{S} \end{aligned}$$

V = ปริมาตรโซเดียมไธโอซัลเฟตที่ใช้ดิเตรท (มล.)

$N =$ normality of sodium thiosulfate solution

$= 0.01 N$

$S =$ ปริมาตรของสารละลายที่ใช้ในการไตเตรทด้วย
โซโธซัลเฟต (มล.)

5. ปริมาณแก๊สออกซิเจนในสารละลายขวด A (mg.)

6. ปริมาณแก๊สออกซิเจนในสารละลายขวด B (mg.)

7. ปริมาณแก๊สออกซิเจนในสารละลายขวด C (mg.)

8. ปริมาณแก๊สออกซิเจนในสารละลายบริเวณ D (mg)

9. จากผลการทดลองและผลการคำนวณ ให้หา apparent (net) photosynthetic rate (mg. O₂/gm. tissue/hr.) และ total (gross) photosynthetic rate (mg. O₂/gm. tissue/hr.) ของ

(ก) ต้นพืชในขวด C และ (ข) ต้นพืชในขวด D