บทปฏิบัติการที่ 2

เรื่อง การเตรียมอาหารสังเคราะห์ : สารละลายเข้มข้น

อาหารสังเคราะห์ที่นิยมใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีหลายสูตร (ตารางผนวกที่ 1) ซึ่งแต่ละสูตรนั้นมีส่วนประกอบของธาตุอาหารหลายชนิด ในการเตรียมอาหารสังเคราะห์จึงนิยมเตรียมสารต่างๆ ในรูปสารละลายเข้มข้น (stock solution) เพื่อความสะดวกในการปฏิบัติงาน และนอกจากนี้การเตรียมสารละลายเข้มข้นยังมีข้อดีหลายประการ ดังนี้

1. เตรียมสารชนิดเดียวกันสามารถใช้ได้หลายสูตรอาหาร
2. สารบางอย่างใช้น้อยมากในการชั่งแต่ละครั้งอาจเกิดความผิดพลาดได้ง่าย
3. สารบางชนิดเมื่อความเข้มข้นต่ำจะสลายตัวได้ง่าย
4. สารบางชนิดเมื่อรวมตัวกันจะตกตะกอนจึงต้องแยกกันละลาย

หน่วยความเข้มข้นของสาร

ในการเตรียมสารเคมีเพื่อใช้สำหรับอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีหน่วยความเข้มข้นของสารที่เกี่ยวข้องหลายชนิดที่จำเป็นต้องใช้ ดังต่อไปนี้

1. เปอร์เซ็นต์ปริมาตร (volume percentage) ใช้กับตัวถูกละลายที่เป็นของเหลว เช่น น้ำมะพร้าว 5 เปอร์เซ็นต์ คือน้ำมะพร้าว 5 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น 95 มิลลิลิตร

2. เปอร์เซ็นต์น้ำหนัก (weight percentage) ใช้กับตัวถูกละลายที่เป็นของแข็ง เช่น น้ำตาล 3 เปอร์เซ็นต์ คือ น้ำตาล 3 กรัม ในน้ำ 100 มิลลิลิตร

3. น้ำหนักต่อปริมาตร (weight per volume) เช่น กรัมต่อลิตร มิลลิกรัมต่อลิตร

4. นอร์มอล คือ ความเข้มข้นการแตกตัวของอนุมูลในปฏิกริยาของสาร 1 กรัมโมล

5. โมลาร์ หรือ โมลาริตี้ คือ ความเข้มข้นเป็นโมลต่อตัวทำละลาย 1 ลิตร หมายความว่า ในสารละลาย 1 ลิตร มีปริมาณเนื้อสารละลายอยู่ 1 กรัมโมล

ตัวอย่างการเตรียมสารละลายเป็นโมล

ต้องการเตรียม KNO_3 ความเข้มข้น 0.5 โมล

1 กรัมโมลของ KNO_3 = 39.0983 + 14.0067 + (15.9994 x 3)

= 101.1032 กรัม

$$\text{สูตร โมลาร์} = \frac{\text{น้ำหนักเนื้อสาร}}{\text{น้ำหนักโมเลกุล x ปริมาตร (ลิตร)}}$$

$$0.5 = \frac{\text{น้ำหนักเนื้อสาร}}{101.1032 \text{ กรัม x } 1.0 \text{ ลิตร}}$$

น้ำหนักเนื้อสาร = 50.5516 กรัม

จะต้องใช้สาร KNO_3 ปริมาณ 50.5516 กรัม แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร จะได้สารละลาย KNO_3 ที่มีความเข้มข้น 0.5 โมล

ตัวอย่างการเตรียมสารละลายเป็นนอร์มอล

ความเข้มข้นเป็นนอร์มอลขึ้นอยู่กับการแตกตัวของอนุมูลในปฏิกิริยา

$$\text{สูตร นอร์มอลิตี้ของกรด} = \frac{\text{น้ำหนักกรัมโมลของกรด}}{\text{จำนวนโมลของ } H^+}$$

ต้องการเตรียม HCl 1 นอร์มอล (N)

$$HCl \longrightarrow H^+ + Cl^-$$

HCl แตกตัวให้ H^+ 1 โมล

น้ำหนักกรัมโมลของ HCl = 1 + 35.453 = 36.453 กรัม

$$N = \frac{36.453}{1} = 36.453 \text{ กรัม}$$

จะต้องใช้ HCl ปริมาณ 36.453 กรัม ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ได้ความเข้มข้นของ HCl 1 นอร์มอล

$$\textbf{สูตร นอร์มอลิตี้ของด่าง} = \frac{\textbf{น้ำหนักกรัมโมลของด่าง}}{\textbf{จำนวลโมลของ } OH^-}$$

ต้องการเตรียม KOH ความเข้มข้น 1 นอร์มอล

$$KOH \longrightarrow K^+ + OH^-$$

KOH แตกตัวให้ OH^- 1 โมล

น้ำหนักกรัมโมลของ KOH = 55.10 + 1 = 56.10 กรัม

$$N = \frac{56.10}{1}$$

จะต้องใช้ KOH ปริมาณ 56.10 กรัม ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร จะได้ความเข้มข้นของ KOH 1 นอร์มอล

ตัวอย่างการเปลี่ยนหน่วยสารละลาย

ต้องการเตรียมแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 50 % ปริมาตร 500 ml. จากแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 95% จะต้องทำอย่างไร

$$\textbf{สูตร } P_1V_1 = P_2V_2$$

P_1 = ความเข้มข้นของสารเริ่มต้น = 95%

P_2 = ความเข้มข้นที่ต้องการเตรียม = 50%

V_1 = ปริมาตรของสารเริ่มต้นที่จะต้องใช้

V_2 = ปริมาตรที่ต้องการเตรียม 500 ml

แทนค่า $95 \times V_1 = 50 \times 500$

$$V_1 = \frac{50 \times 500}{95} = 263.157 \text{ ml}$$

ต้องใช้แอลกอฮอล์ 95% ปริมาตร 263.157 มล. เติมน้ำอีก 236.843 มล. จะได้แอลกอฮอล์ความเข้มข้น 50 % ปริมาตร 500 ml

วัตถุประสงค์

1. เพื่อฝึกการคำนวณหน่วยปริมาตรแบบต่างๆ
2. เพื่อฝึกปฏิบัติการเตรียมสารละลายเข้มข้นสำหรับอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

อุปกรณ์

1. เครื่องแก้วชนิดต่างๆ ได้แก่ บีกเกอร์ กระบอกตวง ปิเปต ขวดสีชา ขวดชมพู่ กรวยแก้ว แท่งแก้วคนสาร
2. เครื่องกวนสารละลาย
3. ช้อนและภาชนะสำหรับชั่งสาร
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบหยาบ และแบบละเอียด
5. น้ำกลั่น
6. สารเคมีสูตร MS (1962)

วิธีการ

เตรียมสารละลายเข้มข้นสูตร MS

1. คำนวณและชั่งสารเคมีโดยแบ่งตามกลุ่ม (ตารางที่ 1)
2. ละลายสารเคมีแต่ละชนิดในน้ำกลั่น

3. รวมสารละลายของแต่ละกลุ่มเข้าด้วยกัน
4. ปรับปริมาตรสารละลายเข้มข้นแต่ละกลุ่มเป็น 500 ml
5. เก็บสารละลายเข้มข้นไว้ในตู้เย็น

เตรียมสารละลายเข้มข้นสารควบคุมการเจริญเติบโต

1. เตรียมสารละลายเข้มข้นของ NAA IBA 2,4-D และ BA ความเข้มข้น 100 mg/l
2. ละลายสารแต่ละชนิดในตัวทำละลาย (ตารางผนวกที่ 3)
3. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 500 ml
4. เก็บสารละลายไว้ในตู้เย็น

ตารางที่ 1 การแบ่งกลุ่มสารเคมี และการเตรียมสารละลายเข้มข้นสูตร MS (1962)

Stock	สารเคมี	ปริมาณ (mg/l)	ปริมาณ (mg/l)	ปริมาณ (mg/500ml)
			20X	**20X**
1	NH_4NO_3	1,650	.....	.....
	KNO_3	1,900	.....	.....
	$CaCl_2\ 2H_2O$	440	.....	.....
	$MgSO_4.7H_2O$	370	.....	.....
	KH_2PO_4	170	.....	.....
			100X	**100X**
2	H_3BO_3	6.2	.....	.....
	$MnSO_4.4H_2O$	22.3	.....	.....
	$ZnSO_4.7H_2O$	8.6	.....	.....
	KI	0.83	.....	.....
	$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25	.....	.....
	$CuSO_4.5H_2O$	0.025	.....	.....
	$CoCl_2.6H_2O$	0.025	.....	.....
			100X	**100X**
3	Na_2-EDTA	37.25	.....	.....
	$FeSO_4.7H_2O$	27.85	.....	.....
			100X	**100X**
4	Glycine	2.0	.....	.....
	Nicotinic acid	0.5	.....	.....
	Pyridoxine-HCl	0.5	.....	.....
	Thiamine-HCl	0.1	.....	.....
	Myo-inositol	100	.....	.....

คำถามท้ายบท

1. ต้องการเตรียม NH_4NO_3 เข้มข้น 100 mM จำนวน 1 ลิตร ต้องใช้ NH_4NO_3 บริสุทธิ์ จำนวนเท่าไร และดำเนินการอย่างไร ? (mw = 80.00)

.....

.....

.....

.....

.....

.....

2. ต้องการเตรียมอาหาร 500 ml ที่มี KNO_3 จำนวน 20 mM โดยที่มี stock solution เข้มข้น 400 mM จะต้องดูดสารจาก stock solution มาจำนวนเท่าไร ?

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

3. NAA มีความบริสุทธิ์ 95 % มีอัตราการละลายน้ำสูง ต้องการเตรียม stock solution ให้มีความเข้มข้น 50 mg/l จำนวน 10 ml จะต้องใช้ NAA ผงจำนวน เท่าไร และดำเนินการอย่างไร ?

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....