บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

3.1 พืชทดลอง

ต้นกาแฟอราบีก้าสายพันธุ์คาร์ติมอร์ แอล ซี 1662 ที่ปลูกด้วยการเพาะเมล็ด อายุ 5 ปี จำนวน 525 ต้น โดยกำหนดระยะปลูกดังนี้

1.1 ความหนาแน่น 400 ต้นต่อไร่ ระยะปลูก 2.00 ม. x 2.00 ม. จำนวน 100 ต้น

1.2 ความหนาแน่น 700 ต้นต่อไร่ ระยะปลูก 1.51 ม. x 1.51 ม. จำนวน 175 ต้น

1.3 ความหนาแน่น 1,000 ต้นต่อไร่ ระยะปลูก 1.26 ม. x 1.26 ม. จำนวน 250 ต้น

สายพันธุ์คาร์ติมอร์ (Catimor) เป็นสายพันธุ์ลูกผสมของสายพันธุ์คาทูร่า (Caturra) กับสายพันธุ์ไฮบริโดเดอ ติมอร์ (Hibrido de timor ; HDT) สำหรับคำว่า แอลซี 1662 บ่งบอกว่าสายพันธุ์ไฮบริโด เดอ ติมอร์ที่ใช้คือ HDT 832/1 โดยสายพันธุ์นี้มีต้นกำเนิดในประเทศบราซิล ทั้งยังพบว่ามีความสามารถในการให้ผลผลิตสูง ทั้งน้ำหนัก และขนาดของสารกาแฟ นอกจากนั้นยังมีลักษณะต้นค่อนข้างเตี้ยและมีความทนทานต่อโรคราสนิมในแปลงปลูก (อักษร และพัฒนพันธุ์, 2537)

3.2. สภาพการทดลอง

ต้นกาแฟอราบีก้าสายพันธุ์คาร์ติมอร์ แอล ซี 1662 ปลูกกลางแจ้งที่สถานีทดลองเกษตรที่สูงหนองหอย ต.โป่งแยง อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่ (ภาพที่ 1) ใช้ความหนาแน่นของต้นพืช (plant density) แตกต่างกันคือ 400, 700 และ 1,000 ต้นต่อไร่ พื้นที่ทำการทดลอง 1,200 ตารางเมตร สภาพแปลงปลูกที่ใช้ความหนาแน่น 400, 700 และ 1,000 ต้นต่อไร่ แสดงไว้ในภาพที่ 2, 3 และ 4 ตามลำดับ

ภาพที่ 1 สถานีทดลองเกษตรที่สูงหนองหอย อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่

ภาพที่ 2 สภาพแปลงปลูกกาแฟอราบิก้าสายพันธุ์เอสซี 1662 ที่ความหนาแน่น 400 ต้นต่อไร่

ภาพที่ 3 ลักษณะต้นกาแฟอราบิก้าสายพันธุ์ของซี 1662 ที่ความหนาแน่น 700 ต้นต่อไร่

ภาพที่ 4 ลักษณะต้นกาแฟอราบิก้าสายพันธุ์ของซี 1662 ที่ความหนาแน่น 1,000 ต้นต่อไร่

3.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

3.3.1 เครื่องวัดค่าศักย์ของน้ำในใบ (Pressure Bomb)

เป็นเครื่องมือที่ใช้วัดค่าศักย์ของน้ำภายในใบพืช (leaf water potential) ประกอบด้วยส่วนสำคัญ 2 ส่วน คือ กระบอกความดัน (pressure chamber) เป็นส่วนที่ทนแรงดันก๊าซได้ดี ในส่วนนี้จะมีหน้าปัทม์บอกระดับความดันภายในกระบอกมีหน่วยเป็น บาร์ (bar) และส่วนถังบรรจุก๊าซไนโตรเจน (ภาพที่ 5)

Scholander et al. (1965) ได้แนะนำวิธีนี้สำหรับวัดศักย์ของน้ำในพืชอย่างกว้างขวาง เพราะสะดวก รวดเร็ว และเชื่อถือได้ นอกจากนี้ไม่จำเป็นต้องมีการควบคุมอุณหภูมิขณะทำการวัด จึงใช้ได้ดีในสภาพแปลงทดลอง

วิธีการวัดทำได้โดยตัดใบพืชที่ต้องการวัดค่าศักย์ของน้ำในใบใส่ลงในกระบอกความดัน ให้ส่วนของก้านใบโผล่ออกทางช่องของฝาปิดสนิท ปล่อยก๊าซไนโตรเจนของถังเข้าไปในกระบอกความดันอย่างช้าๆ เมื่อแรงดันในกระบอกมีมากพอจะทำให้น้ำในใบพืช (sap) ไหลออกทางก้านใบจนสามารถมองเห็นได้ที่บริเวณรอยตัดของก้านใบบนช่องของฝาปิดกระบอกความดัน ปริมาณความดันของก๊าซไนโตรเจนที่จุดนี้ถือเป็นจุดของค่าศักย์ของน้ำในใบพืช โดยอ่านค่าความดันก๊าซในกระบอกความดันจากหน้าปัทม์บอกความดัน หลังจากทราบค่าความดันแล้ว จึงปิดวาล์วของถังก๊าซไนโตรเจน พร้อมทั้งระบายก๊าซที่ค้างอยู่ในกระบอกความดันออก และเริ่มต้นวัดใบใหม่ตามวิธีการข้างต้นต่อไป

Turner (1981) ได้แนะนำการใช้เครื่องมือด้วยความพิถีพิถันไว้ดังนี้

1. ป้องกันการสูญเสียน้ำจากใบพืชทางการคายน้ำ โดยคลุมใบพืชด้วยแผ่นพลาสติกบาง เพราะถ้ามีการสูญเสียน้ำในช่วง 10 ถึง 30 วินาที หลังจากตัดใบ สามารถทำให้ค่าศักย์ของน้ำลดลงไปประมาณ 0.2 - 0.7 Mpa สำหรับใบพืชซึ่งมีการคายน้ำเร็ว แต่ความคลาดเคลื่อนเหล่านี้ลดลงเมื่ออยู่ในสภาพที่ค่อนข้างมืดหรือปากใบปิด
2. ป้องกันการรั่วของก๊าซออกจากท่อความดัน มักจะพบในการใช้ท่อความดันที่เก่า
3. ควรมีการตัดใบหรือก้านใบเพียงครั้งเดียวเพื่อไม่ทำให้รอยตัดช้ำ
4. เพื่อลดความคลาดเคลื่อน ในการวัดไม่ควรใช้ก้านใบหรือใบที่ยาวเกินไป
5. การเพิ่มความดันในท่อความดันควรทำอย่างช้าๆ การใช้ความดันที่เร็วเกินไปทำให้ค่าที่ได้ต่ำกว่าค่าที่เป็นจริง เพื่อความถูกต้องอัตราความดันที่ใช้ควรควบคุมให้อยู่ระหว่าง 0.003-0.005 Mpa ต่อวินาที
6. ก๊าซจากท่อความดันสามารถผ่านช่องระหว่างเซลล์ในใบพืช และผ่านออกทางรอยตัดของใบหรือก้านใบ ทำให้เกิดฟองอากาศที่ระดับความดันที่ต่ำกว่าค่าที่เป็นจริง ดังนั้นการซับน้ำที่รอยตัดให้แห้งจะช่วยแก้ปัญหานี้ได้

ภาพที่ 5 เครื่องวัดค่าศักย์ของน้ำในใบ

3.3.2 เครื่องวัดค่าความต้านทานของปากใบ (Automatic Porometer)

เป็นเครื่องที่ใช้วัดค่าความต้านทานของปากใบ มีส่วนประกอบที่สำคัญอยู่ 2 ส่วน คือ ส่วนที่ใช้จับใบพืชและตัวเครื่อง (ภาพที่ 6) ก่อนที่จะนำเครื่องไปวัดกับใบพืชจะต้องมีการวัดค่านับ (count) จากแผ่นคาลิเบรชั่น (calibration plate) ก่อน บนแผ่นคาลิเบรชั่นประกอบด้วยช่องพรุนขนาดต่าง ๆ กัน จำนวน 6 ช่อง เรียงกระจายอยู่ ซึ่งช่องแต่ละขนาดจะมีค่าความต้านทานที่แตกต่างกัน ค่าความต้านทานของแผ่นคาลิเบรชั่นมีดังนี้คือ

ช่องที่	1	2	3	4	5	6
Resistance (s/cm)ที่ 20°ซ	22.50	10.90	6.50	2.90	1.30	0.40
Resistance (s/cm)ที่ 20°ซ	21.83	10.57	6.31	2.81	2.26	0.39
Resistance (s/cm)ที่ 20°ซ	21.15	10.25	6.11	2.73	2.22	0.38

จากนั้นหาสมการเส้นตรง $Y = a + bx$ ของกราฟคาลิเบรชั่น (calibration graph) ระหว่างค่าความต้านทานของช่องพรุนกับค่านับ

เมื่อทำการวัดค่านับจากใบพืช ซึ่งใช้หลักการตรวจวัดระยะเวลาที่ใช้สำหรับการระเหยของน้ำจากใบพืช ผ่านทางปากใบออกมายังอากาศแห้งในตัวจับใบ จนอากาศแห้งมีความชื้นถึงจุดที่กำหนด ระยะเวลาที่ใช้จะเป็นสัดส่วนผกผันกับขนาดของรูของปากใบบนใบพืช

ค่านับที่ได้จากการวัดบนใบกาแฟ สามารถแปรค่าออกมาเป็น ความต้านทานของปากใบ (stomatal resistance, r_s) ซึ่งใช้คำนวณค่าการเปิดปากใบ (stomatal conductance, g_s) โดยใช้สมการ

$$\text{Stomatal conductance} = \frac{1}{\text{stomatal resistance (cm/s)}}$$

ภาพที่ 6 เครื่องวัดค่าความต้านทานของปากใบ

3.3.3. เครื่องวัดพลังงานแสง (Photometer) (ภาพที่ 7)

ภาพที่ 7 เครื่องวัดพลังงานแสง

3.3.4 Assmann's psychrometer

ใช้วัดความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ (relative humidity) ประกอบด้วยเทอร์โมมิเตอร์ กระเปาะแห้ง และกระเปาะเปียก วิธีการคือ แขวน Assmann's psychrometer ในแนวระดับที่ความสูงประมาณ 65-75 เซนติเมตร จากพื้นดินไว้สักครู่ จากนั้นอ่านค่าอุณหภูมิของกระเปาะแห้งและกระเปาะเปียก แล้วนำผลต่างระหว่างอุณหภูมิของกระเปาะทั้งสองมาเปรียบเทียบกับตารางมาตรฐาน ก็จะทราบค่าความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ ในขณะนั้น มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ (%)

3.3.5 อุปกรณ์และเครื่องมือวัดความชื้นในดิน

ก. ตู้อบดิน (Soil oven)

ใช้อบดินเพื่อหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นของดิน โดยปรับใช้ที่อุณหภูมิ 80° ซ เวลานาน 24 ชั่วโมง

ข. เครื่องชั่งน้ำหนัก

ใช้ชั่งน้ำหนักสารเคมี รวมทั้งน้ำหนักดินที่ต้องการเปอร์เซ็นต์ความชื้น

ก. Soil auger และ Soil core

ใช้เจาะดินที่ระดับความลึกที่ต้องการ เพื่อนำไปหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นในดิน ในที่นี้ใช้เจาะดินถึงระดับความลึก 30 ซม. และ 60 ซม.

3.3.6 ตลับเทป

ใช้วัดความสูงและขนาดทรงพุ่มของต้นกาแฟ

3.3.7. เวอร์เนียคาลิเปอร์

ใช้วัดเส้นผ่าศูนย์กลางของลำต้นกาแฟ โดยวัดที่ตำแหน่งสูงจากระดับผิวดิน 10 ซม.

3.3.8 อุปกรณ์และเครื่องมือหาปริมาณคลอโรฟิลล์

ก. เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)

เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการหาปริมาณคลอโรฟิลล์ โดยวัดค่าดูดกลืนแสงของชั้นสารละลาย acetone ที่ความยาวคลื่น 660 และ 642. นาโนเมตร (nm.) ในขั้นตอนสุดท้ายของวิธีการหาปริมาณคลอโรฟิลล์โดยมี acetone เข้มข้น 85% เป็นตัวเปรียบเทียบ (blank)

ข. อุปกรณ์และเครื่องแก้วสำหรับหาปริมาณคลอโรฟิลล์

เป็นอุปกรณ์ที่ใช้ในการหาปริมาณคลอโรฟิลล์ ได้แก่ เครื่องแก้วที่ใช้ในห้องปฏิบัติการทั่วไป เช่น

1. หลอดทดลอง ขนาดเล็ก และขนาดกลาง
2. ปิเปต ขนาด 1 มล. และ 10 มล.
3. บิกเกอร์ ขนาด 100, และ 2,000 มล.
4. กระบอกตวง ขนาด 10,50 และ 100 มล.
5. หลอดแก้วขนาด 25 x 200 มม.
6. โกร่งกระเบื้องเคลือบ
7. ขวดปริมาตร 50 และ 250 มล.

ค. สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ สำหรับสกัดคลอโรฟิลล์ในใบกาแฟคือ acetone เข้มข้น 85%

3.4 วิธีการที่ใช้ในการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อก (RBD) โดยมีกาแฟอราบีก้าสายพันธุ์คาร์ติมอร์ ปลูกโดยใช้ความหนาแน่นต่างกัน 3 ระดับ คือ 400, 700 และ 1,000 ต้นต่อไร่ ทำการทดลอง 4 ซ้ำ ศึกษาข้อมูลทางด้านสรีรวิทยา การเจริญเติบโต และผลผลิต นำมาเปรียบเทียบหาความสัมพันธ์ เพื่อหาความหนาแน่นที่เหมาะสมในการปลูกกาแฟพันธุ์คาร์ติมอร์ต่อไป

3.5 การบันทึกข้อมูล

1. สภาพแวดล้อมของต้นกาแฟ

1.1 พลังงานแสง

ทำการวัดพลังงานแสงในแต่ละกรรมวิธีการทดลอง โดยวางส่วนรับแสงของเครื่องไว้ในแนวดิ่ง บริเวณกลางแปลงทดลองสูงจากพื้นดิน 65-75 เซนติเมตร ปรับเวลาในการรับแสงเป็น 1 วินาที ค่าที่ได้จะเป็นความเข้มแสงในขณะนั้น ทำการตรวจวัดจุดละ 5 ค่า เพื่อนำมาหาค่าเฉลี่ยในแต่ละครั้ง บันทึกข้อมูลพลังงานแสง 5 เวลา คือ 06.00, 09.00, 12.00, 15.00 และ 18.00 น.

1.2 ความชื้นสัมพัทธ์

วัดความชื้นสัมพัทธ์สูงจากระดับพื้นดินสูงจากพื้นดิน 65-75 เซนติเมตร ในระหว่างต้นของแต่ละกรรมวิธีการทดลอง ใช้ผลต่างของอุณหภูมิกระเปาะแห้ง และกระเปาะเปียกเปรียบเทียบกับค่าตารางมาตรฐาน ส่วนอุณหภูมิของอากาศใช้ระดับอุณหภูมิของกระเปาะแห้ง บันทึกข้อมูล 3 เดือนต่อครั้ง คือ ในเดือนสิงหาคม พฤศจิกายน และกุมภาพันธ์ โดยทำการบันทึกข้อมูลในเวลา 12.00 น.

1.3 ความชื้นของดิน

เป็นการศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของระดับความชื้นในแปลงปลูกกาแฟแต่ละหน่วยการทดลอง ทำการเก็บตัวอย่างดินในเวลา 12.00 น. โดยการใช้เครื่องเจาะดิน เจาะดินลงไปในบริเวณกลางแปลงทดลองในแต่ละกรรมวิธี ที่ระดับความลึก 30 และ 60 เซนติเมตร นำดินที่เจาะได้ใส่ถุงพลาสติกมัดปากถุงให้แน่น ชั่งน้ำหนักดินชื้นก่อนนำไปอบแห้งในตู้อบดินที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำดินที่แห้งสนิทชั่งอีกครั้งเพื่อนำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้นในดิน โดยใช้สูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักดินชื้น - น้ำหนักดินแห้งสนิท}}{\text{น้ำหนักดินแห้งสนิท}} \times 100$$

2. การเจริญเติบโตของต้นกาแฟ (บันทึกเดือนละครั้ง)

2.1 ความสูงของทรงพุ่ม

2.2 เส้นผ่าศูนย์กลางของทรงพุ่ม

2.3 เส้นผ่าศูนย์กลางของลำต้นสูงจากพื้นผิวดิน 10 ซม.

2.4 จำนวนกิ่งแขนง

3. ผลผลิตและองค์ประกอบของผลผลิต (บันทึกครั้งเดียวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง)

ผลผลิตกาแฟแยกเป็น 2 ประเภท ประเภทแรกคือ ผลสด ได้แก่ ผลแก่ของกาแฟที่เก็บจากต้น ยังไม่ผ่านขั้นตอนใด ๆ ทั้งสิ้น ผลผลิตอีกประเภทคือ สารกาแฟที่ได้จากการนำผลสดไปแช่น้ำ แล้ว ปอกเปลือกด้วยเครื่องปอกเปลือกกาแฟ (ภาพที่ 8) ทำความสะอาดและคัดแยกเมล็ด (ภาพที่ 9) หลังจากนั้นต้องตากเมล็ดจนแห้ง แล้วจึงบรรจุถุง แยกแต่ละกรรมวิธี เพื่อนำไปผ่านกระบวนการ ผลิตสารกาแฟต่อไป (ภาพที่ 10)

3.1 น้ำหนักรวมของผลผลิต (ผลสด) และสารกาแฟต่อต้น

3.2 น้ำหนักของผลสด 100 ผล

3.3 น้ำหนักสารกาแฟซึ่งได้จากผลสด 100 ผล

3.4 จำนวนกิ่งแขนงที่ให้ผลผลิต

3.5 จำนวนผลต่อข้อ

4. ผลทางสรีรวิทยา (บันทึก 2 เดือนต่อครั้ง)

ในการทดลองใช้ใบคู่ที่ 4 หรือ 5 จากปลายกิ่ง

4.1 ปริมาณคลอโรฟิลล์

ใช้วิธีการสกัดคลอโรฟิลล์ตามวิธีของ Whitham et al. (1971)

4.2 พื้นที่ใบและดัชนีพื้นที่ใบ

4.3 ค่าศักย์ของน้ำในใบ

4.4 ค่าความต้านทานของปากใบ

ทั้งนี้ในการบันทึกแต่ละครั้งจะทำการบันทึก

1. พลังงานแสง
2. ค่าศักย์ของน้ำในใบ
3. ค่าความต้านทานของปากใบ

โดยจะเก็บข้อมูลเวลา 06.00 น. 09.00 น. 12.00 น. 15.00 น. และ 18.00 น.

ภาพที่ 8 แสดงการใช้เครื่องปอกเปลือกกาแฟ

ภาพที่ 9 ขั้นตอนการทำความสะอาดและคัดแยกเมล็ดกาแฟ

ภาพที่ 10 ผลิตภัณฑ์ที่ตกค้างยกแต่ละกรรมวิธีเพื่อนำไปผ่านกระบวนการผลิตสารกาแฟ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University