บทที่ 3

อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 อิทธิพลของจำนวนประชากรพืชต่อการเจริญเติบโต และผลผลิตของปอสา-กาแฟ

1. วัสดุ และอุปกรณ์

1.1 พืชทดลอง

1.1.1 ปอสาพันธุ์หนองคาย

1.1.2 กาแฟ อาราบิก้าสายพันธุ์คาติมอร์ (Catimor)

1.2 ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15

1.3 สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช เช่น เซฟวิน สเตร็ปโตมัยซิน

1.3.1 อุปกรณ์การเตรียมกล้าพันธุ์ปอสา และกาแฟ เช่น ถุงพลาสติก ดินผสม พลาสติกคลุมแปลง

1.4 ไม้เมตร ใช้วัดความสูงของต้น

1.5 สายวัด ใช้วัดระยะระหว่างต้น

1.6 เวอร์เนียคาลิเปอร์ ใช้วัดเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นของปอสา และกาแฟ ทำการวัดที่ตำแหน่งสูงจากผิวดินประมาณ 5 เซนติเมตร

1.7 เครื่องชั่งน้ำหนัก - ทศนิยม 2 ตำแหน่ง และทศนิยม 4 ตำแหน่ง

1.8 วัสดุ และเครื่องมือการหาปริมาณคลอโรฟิลล์

1.8.1 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) (Sp.500)

1.8.2 Acetone 80%

1.8.3 โกร่ง

1.8.4 กระดาษกรอง (Whatman เบอร์ 1)

1.8.5 กรวยกรอง

1.8.6 กระบอกตวง ขนาด 10 ลบ.ซม.

1.8.7 Pipette ขนาด 10 ลบ.ซม.

1.8.8 หลอดทดลองขนาด 20 ลบ.ซม. พร้อมจุก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

1.8.9 Test tube rack

1.8.10 เครื่องชั่ง

1.8.11 Cuvett (Light path 1 ซม.)

1.8.12 ใบปอสา

1.8.13 ใบกาแฟ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2. การวางแผนการทดลอง

ทำการศึกษาจำนวนต้นปอสาที่เหมาะสมในกรรมวิธีต่าง ๆ โดยใช้ปอสาพันธุ์หนองคายที่ระยะปลูก จำนวนต้นที่แตกต่างกัน 4 กรรมวิธี ปลูกร่วม กับกาแฟจำนวนต้นปอสาเดี่ยว 2 กรรมวิธี และกาแฟเดี่ยว 1 กรรมวิธี วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design จำนวน 3 ซ้ำ ทั้งหมด 7 กรรมวิธี
ดังนี้

กรรมวิธี 1 ความหนาแน่นของปอสา 400 ต้น/ไร่ ระยะปลูก 2×2 ม.(1) + กาแฟ 400 ต้น/ไร่
กรรมวิธี 2 ความหนาแน่นของปอสา 800 ต้น/ไร่ ระยะปลูก 2×2 ม.(2) + กาแฟ 400 ต้น/ไร่
กรรมวิธี 3 ความหนาแน่นของปอสา 1200 ต้น/ไร่ ระยะปลูก 1×1 ม.(1) + กาแฟ 400 ต้น/ไร่
กรรมวิธี 4 ความหนาแน่นของปอสา 800 ต้น/ไร่ ระยะปลูก 1×2 ม.(1) + กาแฟ 400 ต้น/ไร่
กรรมวิธี 5 ความหนาแน่นของปอสา 1600 ต้น/ไร่ ระยะปลูก 1×1 ม.(1)
กรรมวิธี 6 ความหนาแน่นของปอสา 400 ต้น/ไร่ ระยะปลูก 2×2 ม.(1)
กรรมวิธี 7 ความหนาแน่นของกาแฟ 400 ต้น/ไร่ ระยะปลูก 2×2 ม.(1)

หมายเหตุ ตัวเลขภายในวงเล็บ คือ จำนวนต้นต่อหลุม

ดำเนินการทดลองที่ ศูนย์วิจัยพืชไร่ อำเภอพร้าว จังหวัดเชียงใหม่ ระหว่างเดือนพฤษภาคม 2544 - พฤษภาคม 2546

3. วิธีการเตรียมแปลง และการปลูกพืชทดลอง

- ขนาดแปลงย่อย 8×10 เมตร เก็บเกี่ยวในพื้นที่ 4×6 เมตร
- ทำการปลูกกาแฟจากต้นกล้าที่เตรียมไว้ โดยใช้ระยะปลูก 2×2 เมตร 1 ต้นต่อหลุม โดยขุดหลุมปลูก 50×50×50 ซม. รองก้นหลุมด้วยหินฟอสเฟต 200 กรัม แล้วใส่ปุ๋ยหมักที่ก้นหลุมประมาณ 3 กก.ต่อหลุม ใช้ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 ใส่เมื่อกาแฟอายุ 1-8 เดือน การปลูกกาแฟฤดูฝนไม่จำเป็นต้องให้น้ำ แต่ในตอนฤดูแล้งให้น้ำสัปดาห์ละ 1 ครั้ง การไว้กิ่งของกาแฟ 3 กิ่งต่อต้น ป้องกันกำจัดศัตรูตามคำแนะนำ เช่น โรคราสนิม เพลี้ยหอย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

- ทำการปลูกปอสาจากต้นกล้าที่เตรียมไว้ตรงกลางแถวกาแฟ โดยให้มีระยะปลูกตามกรรมวิธี ทำการกำจัดวัชพืช 2-3 ครั้ง ใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 40 กิโลกรัมต่อไร่ หลังจากปลูกลงดินแล้ว ปอสาไม่ต้องใช้สารเคมีใด ๆ ป้องกันกำจัดศัตรู ทำการเก็บเกี่ยว ปอสาเมื่ออายุ 12 เดือน ส่วนกาแฟเก็บเกี่ยวผลเมื่อมีอายุประมาณ 3 ปี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 1 สภาพทั่วไปของแปลงทดลองศึกษาความหนาแน่นของต้นปอสาต่อหน่วยพื้นที่ ที่เหมาะสมสำหรับปลูกปอสากาแฟ ที่อายุปอสา 1 ปี ณ แปลงทดลองศูนย์วิจัยพืชไร่ อำเภอพร้าว จังหวัดเชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4. การบันทึกข้อมูล

4.1 การเจริญเติบโต และลักษณะทางการเกษตร

ทำการศึกษาทั้งในปอสา และกาแฟ

4.1.1 ความสูงของต้น

วัดความสูงของต้นปอสาตั้งแต่โคนต้นจนถึงปลายยอด โดยใช้ไม้เมตรวัด ทำการวัดเมื่อปอสามีอายุ 1 ปี

4.1.2 เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น

โดยใช้เครื่องเวอร์เนียแคลลิเปอร์ ทำการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางในตำแหน่งที่สูงจากพื้นดิน 5 เซนติเมตร

4.2 ผลผลิต

4.2.1 การศึกษาผลผลิตปอสา

4.2.1.1 ผลผลิตสด

ทำการชั่งน้ำหนักในส่วนของผลผลิตสดทั้งต้น ลำต้นสด กิ่งสด ใบสด เปลือกนอกสด เปลือกในสด แก่นสด

4.2.1.2 ผลผลิตแห้ง

ชั่งน้ำหนักในส่วนต่าง ๆ หลังทำการตากให้แห้งภายในโรงเรือนที่มีอากาศถ่ายเท และมีแสงแดดส่องผ่านเนื่องจากโรงเรือนมีหลังคาเป็นหลังคาใส โดยทำการตากแห้ง 15วัน ก่อนนำมาชั่งน้ำหนัก

4.2.2 การศึกษาผลผลิตกาแฟ

4.2.2.1 ผลสด

ทำการชั่งน้ำหนักในส่วนของผลกาแฟสด

4.2.2.2 ผลแห้ง

ทำการชั่งน้ำหนักในส่วนของผลกาแฟแห้ง

4.2.2.3 สารกาแฟ

ทำการชั่งน้ำหนักของสารกาแฟ โดยนำกาแฟไปสีเอากะลาออกก่อนแล้วจึงนำมาชั่งน้ำหนัก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4.3 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี และคลอโรฟิลล์รวมในใบ

ทำการศึกษาทั้งในใบปอสา และในกาแฟ ดังนี้

4.3.1 การเตรียมการทดลอง

ทำการเก็บใบโดยเก็บใบที่ 3-6 นับจากปลายกิ่งเข้ามา เก็บในแต่ละกรรมวิธี เลือกใบที่มีความสมบูรณ์ แต่ไม่ควรเก็บใบที่แก่เกินไป และไม่แข็งเพื่อที่จะได้สะดวกในการบด เลือกใบที่ปราศจากโรค และแมลง เพื่อนำมาสกัดหาปริมาณคลอโรฟิลล์ เมื่อได้ใบปอสา และกาแฟมาแล้ว นำเข้ากล่องเก็บความเย็นเพื่อให้ได้ใบที่มีความสด ไม่ช้ำระหว่างการเดินทาง นำใบเข้าห้องปฏิบัติการทันทีเพื่อทำการวิเคราะห์

4.3.2 ขั้นตอนการศึกษา และบันทึกข้อมูล

ทำการวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ จากใบปอสา และใบกาแฟ ตามกรรมวิธีการวิเคราะห์ของ Witham *et al.* (1971)

โดยในการคำนวณหาปริมาณ Chlorophyll นั้นต้องนำสารละลายรงควัตถุไปวัด Optical density ที่ความยาวช่วงคลื่น 645, 652 และ 663 nm. ตามลำดับด้วย Spectrophotometer โดยใช้ Acetone 80% เป็น Blank และใช้ Cuvett ที่มี Light path 1 ซม. นำค่า Optical density ที่วัดได้ไปคำนวณหาประมาณ Chlorophyll ตามสูตรของ Arnon

โดยการคำนวณหาประมาณ Chlorophylls ตามสูตรของ Arnon มีดังนี้

$$\text{Chlorophyll a (mg/gm tissue)} = [12.7D_{(663)} - 2.69D_{(645)}] \times \frac{V}{1000 \times W}$$

$$\text{Chlorophyll b (mg/gm tissue)} = [22.9D_{(645)} - 4.6D_{(663)}] \times \frac{V}{1000 \times W}$$

$$\text{Total chlorophyll (mg/gm tissue)} = [20.2D_{(645)} + 8.02D_{(663)}] \times \frac{V}{1000 \times W}$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4.4 การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในใบ

ทำการวิเคราะห์ธาตุไนโตรเจน และธาตุฟอสฟอรัส ในใบปอสา และใบกาแฟ

เก็บตัวอย่างของใบปอสา และใบกาแฟ โดยนับจากปลายเข้ามาใบที่ 3-6 ลักษณะใบที่เก็บเลือกใบที่มีความสมบูรณ์ ไม่มีโรค และแมลง ใบไม่แก่ หรืออ่อนจนเกินไป เก็บใส่กล่องเย็นเพื่อทำให้ได้ใบสดจนถึงห้องปฏิบัติการวิเคราะห์

4.4.1 การวิเคราะห์ธาตุไนโตรเจนในใบ

ทำการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่าง ซึ่งอยู่ในรูปของไนโตรเจนทั้งหมด (total N) ใช้วิธีวิเคราะห์ของเจลดาล (Kjeldahl method) ซึ่งนำมาปรับปรุงโดย Jackson (1967) เป็นวิธีที่ใช้กันแพร่หลาย และยังเป็นที่ยอมรับกันอยู่ว่าเป็นวิธีที่ดีที่สุด มีเปอร์เซ็นต์ recovery เกือบร้อยเปอร์เซ็นต์ (ประโสด, 2540 ; Kalra, 1998 ; Jones, 2001)

อุปกรณ์ และเครื่องมือ

1. หลอดย่อยตัวอย่าง ขนาด 75 ml
2. หลอดกลั่น ขนาด 250 ml
3. ปิเปต ขนาด 5, 10 ml
4. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 125 ml
5. กระดาษกรองเบอร์ 5
6. ขวดพลาสติก ขนาด 100 ml
7. บิวเร็ต ขนาด 25 ml
8. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
9. เครื่องย่อยตัวอย่าง
10. เครื่องกลั่นไนโตรเจน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

สารเคมี

1. กรด H_2SO_4 เข้มข้น (98%)
2. สารผสมเร่งปฏิกิริยา (catalyst mixture)

   ผสม K_2SO_4 : $CuSO_4$: Se ในอัตราส่วน 100 : 10 : 1
3. สารย่อยผสม(digestion mixture) : ผสม Na_2SO_4 250 g กับ selenium 2.5 g และ H_2SO_4 เข้มข้น 2,500 ml ในขวดชมพู่ ขนาด 5 L นำไปตั้งบน hot plate ซึ่งอยู่ใน hood ต้มจนกระทั่งได้สารละลายใส แล้วต้มต่อไปอีก 10 นาที จึงทิ้งไว้ให้เย็น แล้วเก็บไว้ในขวดแก้วสีชาที่มีฝาปิดทันที ที่เย็น
4. สารละลาย 40% NaOH : ใส่น้ำกลั่นประมาณ 1,500 ml ลงในบีกเกอร์ขนาด 2,000 ml นำไปวางบน hot plate ใส่แท่งแม่เหล็กลงไป พร้อมกับค่อยๆ เท NaOH 800 g จนละลายหมด ปรับปริมาณให้เป็น 2,000 ml
5. การผสมอินดิเคเตอร์ (Mixed indicator)

   ละลาย bromocresol green 0.099 g และ methyl red 0.066 g ใน 95% ethanol 100 ml
6. สารละลายกรดบอริคผสมอินดิเคเตอร์

   ชั่งกรดบอริค 40 g ละลายในบีกเกอร์ที่มีน้ำกลั่น 1,800 ml คนด้วยเครื่องคนแม่เหล็กจนละลายหมด นำไปเติมอินดิเคเตอร์ผสม 40 ml เทสารละลายผสมลงในขวดปริมาตร ขนาด 2,000 ml เขย่าให้เข้ากัน ปรับสีของสารละลายนี้ด้วย 0.1 M NaOH โดยการหยดลงไปทีละน้อยอย่างช้าๆ จนสารละลายกลายเป็นสีม่วงปนแดง (pH 4.8-50) ปรับปริมาตรเป็น 2 l ด้วยน้ำกลั่น
7. สารละลายกรด 0.01 M HCI

   ปิเปตกรด HCI เข้มข้น 0.83 ml ใส่ในขวดปริมาตรที่มีน้ำกลั่นประมาณ 900 ml เขย่าให้สารละลายผสมกัน ปรับปริมาตรเป็น 1 L ด้วยน้ำกลั่น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการ

การย่อยสลายตัวอย่างพืช

1. ชั่งตัวอย่างพืช จำนวน 0.2 g ใส่ในหลอดย่อยตัวอย่าง และใช้หลอดเปล่า 1 หลอด เป็น sample blank

2. เติม digestion mixture 5 ml เขย่าให้พืชและสารละลายผสมเข้ากัน

3. นำไปย่อยในเครื่องย่อยในตู้ควัน ค่อยๆ เพิ่มอุณหภูมิจาก 100-250-382^{O}C และย่อยต่อไปจนกระทั่งสีของสารละลายที่ย่อยใสหรือสีขาวขุ่น แล้วยกออกจากเครื่องย่อย ทิ้งไว้ให้เย็น จึงถ่ายลงในขวดปริมาตร 50 ml โดยใช้กระบอกฉีดล้าง 3-4 ครั้ง ด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 50 ml ด้วยน้ำกลั่น

การกลั่นและการไทเทรตตัวอย่างพืช

1. ปิเปตสารละลายกรดบอริคผสมอินดิเคเตอร์ (เตรียมไว้ก่อนหน้านี้ในข้อ 6 หน้าที่ 20) จำนวน 5 ml ลงในขวดชมพู่ ขนาด 125 ml นำไปวางรองรับสิ่งที่กลั่นได้ จากเครื่องกลั่นโดยให้ปลายก้าน condenser จุ่มอยู่ในสารละลายกรดบอริค

2. ปิเปตตัวอย่างที่ย่อยแล้วจากข้อ 3 จำนวน 10 ml ลงในหลอดกลั่น เติมสารละลาย 40% NaOH ลงไป 5 ml นำหลอดกลั่นใส่ในเครื่องกลั่น

3. เปิดเครื่องกลั่นให้ทำงาน และใช้กรดบอริคจากข้อ 4 จับแก๊สแอมโมเนียที่เกิดขึ้น ถ้ามีไนโตรเจน สารละลายกรดบอริค ในขวดชมพู่จะเปลี่ยนจากสีแดงม่วงเป็นสีเขียว กลั่นให้ได้สารละลายประมาณ 50 ml ฉีดน้ำกลั่นล้างปลาย condenser ดึงขวดชมพู่ออก ปิดเครื่องกลั่น

4. นำหลอดกลั่นออกจากเครื่องกลั่น และเตรียมกลั่นตัวอย่างต่อไป พร้อมกับสารละลายเปรียบเทียบ (blank) จนหมดตัวอย่างที่มี

5. เมื่อกลั่นตัวอย่างหมดแล้ว ให้ล้างเครื่องกลั่น ทำโดยใช้ขวดชมพู่ขนาด 250 ml รองรับให้ปลาย condenser จุ่มอยู่ในขวดชมพู่ที่มีน้ำกลั่นอยู่ประมาณ 30 ml แล้ว เติมน้ำกลั่นลงในหลอดกลั่น 200 ml แล้วนำไปใส่ในเครื่องกลั่น เปิดเครื่องกลั่น กลั่นให้ได้สารละลายประมาณ 200 ml ฉีดน้ำกลั่นล้างปลาย condenser ดึงขวดชมพู่ออก ปิดเครื่องกลั่น

6. นำสารละลายที่กลั่นได้ในขวดชมพู่ทั้งหมดมาไทเทรตด้วยสารละลาย 0.01 M HCl เมื่อถึงจุดสมดุลย์ (end point) สีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีเขียวกลับไปเป็นสีชมพูม่วง บันทึกสารละลายกรดที่ใช้ แล้วนำมาคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนในพืช ดังนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การคำนวณ

$$\%\ N\ \text{ในพืช} = \frac{(Vs-Vbl) \times M\ HCl \times 0.014 \times 50 \times 100}{W \times \text{ปริมาตรที่ใช้}}$$

เมื่อ Vs = ปริมาตรที่ใช้ไทเทรตของตัวอย่างพืช (ml)

Vbl = ปริมาตรที่ใช้ไทเทรตของ blank (ml)

M HCl = ความเข้มข้นของกรด HCl (M)

W = น้ำหนักของตัวอย่างพืช (g)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4.4.2 การวิเคราะห์ธาตุฟอสฟอรัสในใบ

ทำการวิเคราะห์ทั้งใน ใบปอสา และใบกาแฟ

วิธีการ

การย่อยสลายตัวอย่างพืชโดยใช้กรดผสมไนตริก และเปอร์คลอริก

การย่อยสลายตัวอย่างพืช โดยวิธีนี้ใช้ได้เกือบทุกธาตุ ยกเว้น ไนไตรเจน โบรอน โมลิบดินัมและคลอรีน โดย

1. ชั่งตัวอย่างพืชที่บดละเอียดและอบแห้งที่ 70 ^{o}C แล้ว ประมาณ 1,000 g (บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน)ลงในขวดชมพู่ขนาด 250 ml เติมกรดผสม HNO_3: $HCIO_4$ (อัตราส่วน 3:1)จำนวน 20 ml เขย่าสารละลายให้เข้ากัน แล้วทิ้งไว้ที่อุณภูมิห้องอย่างน้อย 1 ชั่วโมง หรือทิ้งค้างคืนในตู้ดูดควัน

2. นำไปตั้งบนเตาย่อยตัวอย่างที่อุณภูมิ 80 ^{o}C นาน 1 ชั่วโมง จะเกิดควันสีน้ำตาล อมแดงขึ้น และปรับอุณหภูมิเพิ่ม ให้อยู่ในช่วง 120-240-280^{o}C นาน 2 ชั่วโมง จนกระทั่งสารละลายตัวอย่างใส และเห็นควันสีขาวของ CIO_2 อยู่ ซึ่งไม่เป็นปัญหาต่อการวิเคราะห์แต่อย่างใด

3. ปรับปริมาตรให้เป็น 100 ml โดยเทใส่ขวดปริมาตร ขนาด 100 ml ใช้น้ำกลั่นหรือน้ำปราศจากไอออนล้างขวดชมพู่หลายๆ ครั้ง นำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 เก็บไว้ในขวดพลาสติก ขนาด 100 ml เก็บสารละลายที่ย่อยได้ไปวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก แมงกานีส ทองแดง และสังกะสี ในลำดับต่อไป

4. ควรทำ blank และ control sample พร้อมตัวอย่าง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การวัดปริมาตรฟอสฟอรัสในสารละลายตัวอย่าง

1. ปิเปตสารละลายที่ย่อยได้ 1-5 ml (การที่จะพิจารณาว่าควรจะใช้สารละลายที่ย่อยได้เท่าใดนั้นขึ้นอยู่กับปริมาณของฟอสฟอรัสที่มีอยู่ในตัวอย่างพืช ซึ่งจะต้องดูก่อน สมมุติว่า ถ้าสารละลายที่ย่อยได้ 5 ml และสีของน้ำยาเข้มข้นเกินไป ก็ต้องลดปริมาตรสารละลายที่ย่อยได้ให้น้อยลง) เทลงในขวดปริมาตร 25 ml แล้วเขย่า

2. เติมสารละลายวาเนโดโมลิบเดตลงไป 5 ml ปรับปริมาตรจนครบ 25 ml เขย่าสารละลายให้เข้ากัน

3. เตรียมสารละลายตัวเปรียบเทียบ (blank) และสารละลายมาตรฐานเหมือนกับ ข้อ 1-2

3.1 การเตรียมสารละลายตัวเปรียบเทียบ ถ้าตัวอย่างใช้ปริมาตรเท่าไร ก็ควรจะใช้สารละลายตัวเปรียบเทียบเท่ากัน

3.2 สารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส 0, 2, 4, 6, 8, 10 mg/l โดยดูดสารละลายฟอสฟอรัส 50 mg/l มา 0, 1, 2, 3, 4, 5 ml ใส่ลงในขวดปริมาตร ขนาด 25 ml 6 ใบ โดยเรียงตามความเข้มข้นของฟอสฟอรัส เติมสารละลายตาม ข้อ 2

4. วางทิ้งไว้นาน 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการ ดูดกลืนแสง (absorbance) ของสารละลายมาตรฐาน, ตัวเปรียบเทียบ และตัวอย่างพืชที่ช่วงคลื่น 420 นาโนเมตร (nm) บันทึกผลที่ได้ วัดโดยสเปกโทรโฟโทมิเตอร์ โดยเปิดอุ่นเครื่องสเปกโทรโฟโทมิเตอร์ ประมาณ 15 นาที ปรับให้เครื่องอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานตามลำดับความเข้มข้นแล้วจึงวัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง 0, 2, 4, 6, 8, 10 mg/l

5. คำนวณหาปริมาณฟอสฟอรัสในตัวอย่างพืช ดังนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การคำนวณ

$$\%P \text{ ในพืช} = \frac{(S-B) \times V \times d.f \times 100}{W \times 10^6}$$

S = ความเข้มข้น P ในสารละลายตัวอย่าง (mg/l)

B = ความเข้มข้น P ในสารละลาย blank (mg/l)

V = ปริมาตรของสารละลายทั้งหมดหลังย่อยในที่นี้คือ100 (ml)

d.f = อัตราส่วนการเจือจาง (dilution factor)

: ปริมาตรสุทธิของสารละลาย/ปริมาตรของสารละลายที่ใช้ (ml)

W = น้ำหนักตัวอย่าง (g)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 2 อิทธิพลของจำนวนประชากร พืชต่อคุณภาพของผลผลิตปอสา

1. วัสดุ และอุปกรณ์

1.1 พืชทดลอง

1.1.1 ปอสาพันธุ์หนองคาย เนื่องจากเป็นปอสาพันธุ์แนะนำของกรมวิชาการเกษตร

1.1.2 กาแฟพันธุ์อาราบิก้าสายพันธุ์คาติมอร์ (Catimor)

1.2 กล้องจุลทัศน์

1.3 State micrometer

1.4 Occular micrometer

1.5 เข็มเขี่ย

1.6 Forcep

1.7 Dropper

1.8 น้ำกลั่น

1.9 เครื่องปั่น

1.10 เตาถ่าน

1.11 บ่อแสตนเลตขนาด กว้าง 60 เซนติเมตร ยาว 2 เมตร

1.12 ตะแกรงช้อนกระดาษสา

1.13 เครื่องวัดการดูดซึมของน้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2. การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Factorial In Completely Randomized Design (CRD) โดยทำการทดลองทั้งหมด 7 กรรมวิธี และในแต่ละกรรมวิธีทดลอง 3 ซ้ำ

3. การศึกษา และบันทึกข้อมูล

ทำการศึกษาที่ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ห้องปฏิบัติการภาควิชาบรรจุภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยพืชไร่ แม่โจ้

3.1 คุณภาพเส้นใย

การศึกษาถึงเรื่องความกว้างความยาวของเส้นใย โดยมีขั้นตอนการศึกษา ดังนี้

3.1.1 การเตรียมตัวอย่าง

นำเปลือกในปอสาที่ได้ในแต่ละกรรมวิธีมาต้ม กับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักปอสา ต้มนาน 2 ชั่วโมง เมื่อครบ แล้วนำไปผ่านขบวนการฟอกขาว โดยใช้ผงคลอรีนโซเดียมไฮโปคลอไรท์ เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักปอสา แช่นาน 5 ชั่วโมง หลังจากผ่านขบวนการต้ม หรือฟอกต้องทำการล้างน้ำให้สะอาด นำเปลือกปอสาที่ผ่านขบวนการแล้ว ไปทำการตีเยื่อด้วยเครื่องปั่นนาน 3 นาที แล้วนำเยื่อที่ได้มาทำการวัดความกว้างและความยาวเส้นใย

3.1.2 การเตรียมสไลด์

- นำเยื่อที่ได้มาตัวอย่างละ 5 กรัม ใส่น้ำแล้วคนให้เยื่อกระจายตัวเพื่อง่ายต่อการตักเยื่อ
- หยดน้ำลงบนสไลด์ 2-3 หยด แล้วทำการตักเยื่อ โดยใช้เข็มเขี่ยที่มีการดัดปลายให้มีลักษณะโค้งงอ เขี่ยเยื่อขึ้นมาเล็กน้อย แล้วปิดด้วย cover glass แล้วทำการเคาะเพื่อให้เส้นใยที่จะทำการวัดกระจายตัวออก และเป็นการไล่อากาศ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3.1.3 การวัดเส้นใย

นำสไลด์ที่เตรียมแล้วไปวัดความกว้าง และความยาวเส้นใย ด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยใช้ Ocular micrometer

- ความยาวเส้นใย วัดที่กำลังขยายเลนส์ตา 10 เท่า และเลนส์วัตถุ 10 เท่า
- ความกว้างเส้นใย วัดที่กำลังขยายเลนส์ตา 10 เท่า และเลนส์วัตถุ 40 เท่า

3.1.4 การบันทึกข้อมูล

- การวัดความยาว และความกว้างเส้นใย ทำการวัด กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ตัวอย่าง

3.2 เปอร์เซ็นต์การดูดซึมน้ำของกระดาษสา

มีขั้นตอนการศึกษา ดังนี้

นำเปลือกในปอสามาทำการล้างน้ำ

↓

นำเปลือกในปอสามาต้ม

↓

ทำการล้างเปลือกปอสาด้วยน้ำให้สะอาด

↓

นำปอสาที่ต้มมาตีเยื่อด้วยเครื่อง

↓

ใช้ตะแกรงมาช้อนแตะ

↓

นำกระดาษมาตากแดดให้แห้ง

↓

ทำการลอกกระดาษมาตรวจสอบ เปอร์เซ็นต์การดูดซึมน้ำด้วยเครื่อง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการ

นำกระดาษสาเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 60 °C นาน 1 คืน

นำกระดาษสาที่แห้งมาชั่งน้ำหนักแห้ง

นำกระดาษสามาใส่เครื่องแล้วใส่น้ำนาน 10 วินาที

เทน้ำออกแล้วซับด้วยกระดาษซับน้ำ Whatman

นำกระดาษสาที่ซับน้ำแล้วมาชั่งน้ำหนัก

นำมาคำนวณเพื่อหาเปอร์เซ็นต์การดูดซึมน้ำ

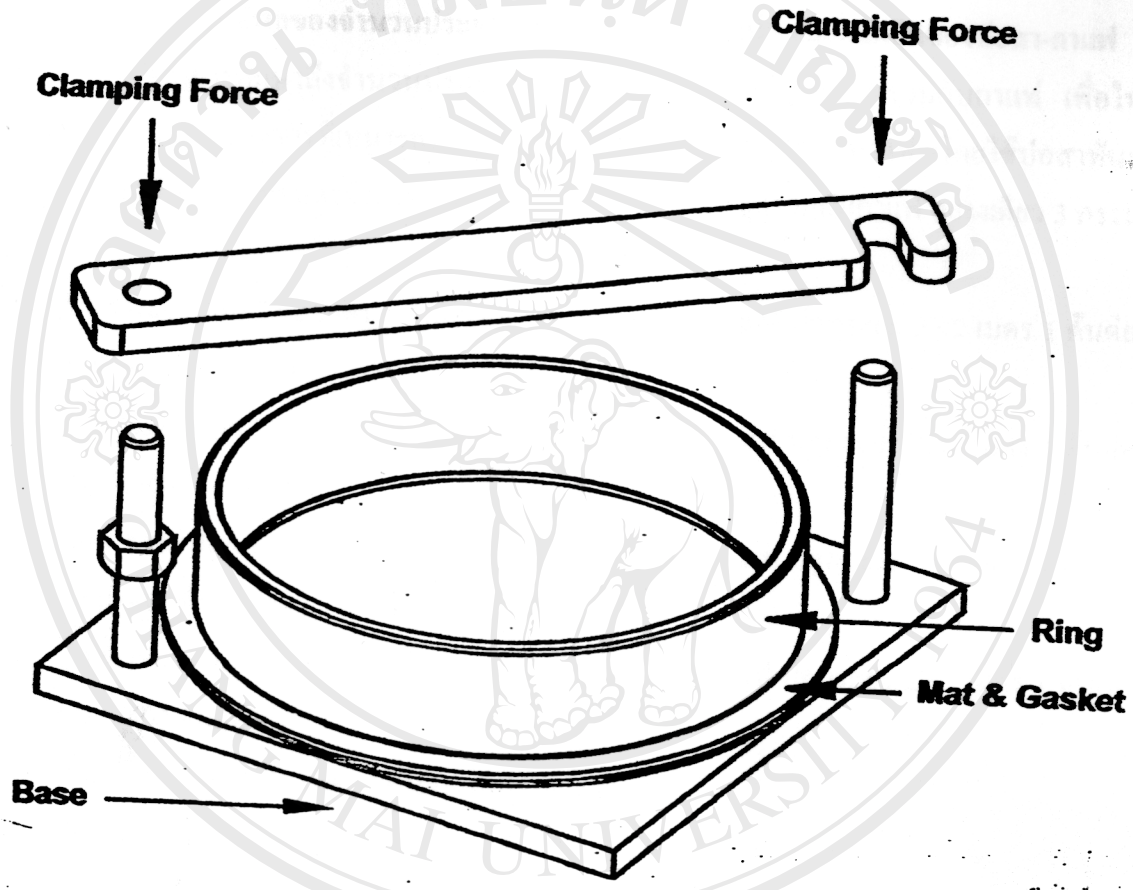
สูตรการคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์การดูดซึมน้ำ} = (\text{น้ำหนักสุดท้าย} - \text{น้ำหนักเริ่มต้น}) \times 100$$

การบันทึกข้อมูล

ทำการวัดข้อมูลโดยการชั่งน้ำหนัก และทำการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การดูดซึมน้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 2 เครื่องมือวัดเปอร์เซ็นต์การดูดซึมน้ำของกระดาษ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved