

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1: การประเมินศักยภาพของชนิดวัสดุพอกและความเข้มข้นของวัตถุประสานในการพอกเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวาน

1.1 การเตรียมวัสดุทดลอง

เมล็ดพันธุ์

เมล็ดพันธุ์ที่ใช้ในการทดลอง คือ เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวานลูกผสมพันธุ์ ชูการ์ 73 ผลิตโดยบริษัท ชินเจนทา ซีดส์ จำกัด ซึ่งเป็นเมล็ดพันธุ์ที่ยังมิได้มีการคลุกสารเคมีใดๆ เมล็ดพันธุ์ถูกบรรจุอยู่ในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ปิดสนิทและเก็บรักษาภายในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 15 °C จนกระทั่งทำการทดลองจึงนำเมล็ดพันธุ์ออกมาใช้

วัตถุประสาน

วัตถุประสานที่ใช้ในการทดลอง คือ non-ionic polyacrylamide (PAM) ซึ่งมีลักษณะเป็นผง มีสีขาว ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย ทำการเตรียมสารละลายโดยนำ PAM เติลงในน้ำกลั่นบริสุทธิ์ตามระดับความเข้มข้นที่ต้องการ (m/v) แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงบนเครื่อง Megnetic Stirrer จนกระทั่ง PAM ละลายหมด บรรจุสารละลายในขวดแก้วสีชาและเก็บไว้ในสภาพอุณหภูมิห้อง

วัสดุพอก

วัสดุที่นำมาใช้ในการทดลอง ประกอบด้วย เบนโทไนท์ เวอร์มิคูไลท์และเพอร์ไลท์ สำหรับเบนโทไนท์มีลักษณะเป็นผงละเอียดจึงสามารถนำไปใช้ได้ทันที ในขณะที่เวอร์มิคูไลท์และเพอร์ไลท์มีลักษณะเป็นก้อน จึงต้องทำการบดให้ละเอียดก่อนนำไปใช้

1.2 การพอกเมล็ดพันธุ์

ทำการทดสอบศักยภาพ ในการพอกของวัสดุพอกแต่ละชนิดโดยวางแผนการทดลองแบบ 3 x 3 Factorial in CRD จำนวน 3 ซ้ำ ปัจจัยแรก คือ ชนิดของวัสดุพอก จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ เบนโทไนท์ เวอร์มิคูไลท์และเพอร์ไลท์ ปัจจัยที่สอง คือ ความเข้มข้นของวัตถุประสาน จำนวน 3 ระดับ ได้แก่ 5%, 7% และ 9% (w/v) ในการพอกเมล็ดพันธุ์ใช้สัดส่วนของเมล็ดพันธุ์กับวัสดุพอกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับปริมาตรของวัสดุพอก โดยการพอกด้วยเบนโทไนท์ใช้สัดส่วนเมล็ดพันธุ์กับเบนโทไนท์เท่ากับ 1 : 2 ในขณะที่การพอกด้วยเวอร์มิคูไลท์และเพอร์ไลท์ ใช้สัดส่วนเมล็ดพันธุ์

กับวัสดุพอกเท่ากับ 1 : 1 ส่วนวัตถุประสานใช้ในปริมาณที่เท่ากันในทุกกรรมวิธี คือ 450 มิลลิลิตร ต่อเมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม ทำการพอกเมล็ดพันธุ์ด้วยเครื่อง Centricoater รุ่น CC10 Lab (Cimbria Heid, Australia) ตามอัตราส่วนที่กำหนด โดยใช้ความเร็วของถังพอก 450 รอบต่อนาที เมื่อเสร็จสิ้นกระบวนการพอกแล้ว นำเมล็ดพันธุ์ออกจากเครื่องพอกและคัดแยกวัสดุพอกที่ตกค้างอยู่ในเครื่องพอกออกจากเมล็ดพอกโดยใช้ตะแกรงร่อน แล้วนำเมล็ดพอกที่ได้ไปลดความชื้นด้วยตู้อบลมร้อน (hot-air oven) ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นทำการประเมินความสมบูรณ์ของการพอกด้วยสายตา โดยใช้เกณฑ์การให้คะแนนที่ดัดแปลงมาจาก Kang *et al.* (2007) ดังนี้

- หมายความว่า ไม่สมบูรณ์ คือ วัสดุพอกไม่เกาะติดกับเมล็ดพันธุ์ หรือหุ้มเมล็ดพันธุ์ได้ไม่สมบูรณ์
- + หมายความว่า ปานกลาง คือวัสดุพอกสามารถหุ้มเมล็ดพันธุ์ได้อย่างสมบูรณ์ แต่มีรอยแตกร้าวของวัสดุพอกจำนวนมากและสามารถมองเห็นได้ชัดเจน
- ++ หมายความว่า ดี คือวัสดุพอกสามารถหุ้มเมล็ดพันธุ์ได้อย่างสมบูรณ์ แต่อาจมีรอยแตกร้าวของวัสดุพอกบ้างเล็กน้อยซึ่งมองเห็นได้ไม่ชัดเจน
- +++ หมายความว่า ดีมาก คือวัสดุพอกสามารถปกคลุมเมล็ดพันธุ์ได้อย่างสมบูรณ์ โดยไม่มีรอยแตกร้าวของวัสดุพอก

กรรมวิธีที่เมล็ดพันธุ์มีความสมบูรณ์ของการพอกจะถูกนำไปใช้ในการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพและคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ต่อไป ส่วนกรรมวิธีที่เมล็ดพันธุ์ไม่มีความสมบูรณ์ของการพอกจะถูกคัดออก

การทดลองที่ 2: การศึกษาผลของลักษณะทางกายภาพของเมล็ดพอก ต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวานภายหลังการพอก

2.1 การตรวจสอบลักษณะทางกายภาพของเมล็ดพอก

2.1.1 การวัดน้ำหนักของเมล็ดพอก โดยทำการสุ่มตัวอย่างของเมล็ดพอกในแต่ละกรรมวิธีมาจำนวน 100 เมล็ด จำนวน 3 ซ้ำ ทำการชั่งน้ำหนักเพื่อหาค่าเฉลี่ยของน้ำหนัก 100 เมล็ดเปรียบเทียบกับน้ำหนักของเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้พอก แล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นจากการพอกเมล็ดพันธุ์

2.1.2 การวัดความหนาของการพอก (thickness) โดยสุ่มตัวอย่างของเมล็ดพอกในแต่ละกรรมวิธีมาจำนวน 20 เมล็ด แล้วแกะวัสดุพอกที่เคลือบอยู่บนผิวของเมล็ดพันธุ์ออกเพื่อวัด

ความหนาของวัสดุพอกด้วยไม้บรรทัดสเกลละเอียด (Vernier caliper) โดยทำการวัดความหนาของการพอกเมล็ดพันธุ์ละ 3 ตำแหน่ง แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ยความหนาของการพอก จากสมการ

$$\text{ความหนาของการพอก} = \frac{\text{ผลรวมความหนาของวัสดุพอกในแต่ละเมล็ด}}{\text{จำนวนตำแหน่งที่วัดความหนาในแต่ละเมล็ด}}$$

2.1.3 การวัดดัชนีความทนทานของเมล็ดพอก (pellet durability index: PDI) โดยทำการสุ่มตัวอย่างของเมล็ดพอกในแต่ละกรรมวิธี มาประมาณ 50 กรัม จำนวน 3 ซ้ำ แล้วนำไปใส่ในเครื่องเขย่าแบบตระแกรงร่อน (Orto Alresa, Spain) ที่แรงสั่นสะเทือนระดับ 5 เป็นระยะเวลา 5 นาที จากนั้นนำตัวอย่างออกมาร่อนด้วยตะแกรงอีกครั้งเพื่อคัดแยกวัสดุพอกที่แตกหักออก ชั่งน้ำหนักของเมล็ดพอกที่เหลือแล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณหาดัชนีความทนทานของเมล็ดพอกมีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ จากสมการดังนี้

$$\text{PDI (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักของเมล็ดพอกที่เหลือ}}{\text{น้ำหนักของตัวอย่างทั้งหมด}} \times 100$$

2.1.4 การวัดความแข็งเกร็งของวัสดุพอก (hardness) โดยทำการสุ่มตัวอย่างของเมล็ดพอกในแต่ละกรรมวิธีมาจำนวน 20 เมล็ด และวัดความทนทานต่อแรงบีบอัดของวัสดุพอกด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส (Texture Analyser รุ่น TA. Xtplus; Stable Micro Systems Ltd., England) โดยใช้หัววัดขนาด 3.8 มิลลิเมตร ใช้ระยะห่างระหว่างหัววัดกับตัวอย่างเท่ากับ 2.5 มิลลิเมตร และใช้ความเร็วในการบีบอัดเท่ากับ 2 มิลลิเมตรต่อวินาที ที่ทำการวัด ความทนทานต่อแรงบีบอัด ของตัวอย่างโดยบันทึกค่าของแรงที่ใช้ในการบีบอัดเมล็ดพอกจนวัสดุพอกแตก ออกจากนั้นนำค่าที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยของความแข็งเกร็งของวัสดุพอกที่เคลือบอยู่บนผิวของเมล็ดพันธุ์ มีหน่วยเป็นนิวตันต่อตารางเมตร (N/m²)

2.2 การตรวจสอบคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ภายหลังการพอก

หลังจากทำการตรวจสอบลักษณะทางกายภาพของเมล็ดพอกแล้ว นำเมล็ด พอก มาตรวจสอบคุณภาพของเมล็ดพันธุ์เบื้องต้น โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design จำนวน 3 ซ้ำ ประกอบด้วยกรรมวิธีในการทดลองทั้งหมด 7 กรรมวิธี ดังนี้

- กรรมวิธีที่ 1 เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวานที่ไม่ได้พอก
- กรรมวิธีที่ 2 เมล็ดพันธุ์ที่พอกด้วยเวอร์มิคูไลท์+PAM ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ (w/v)
- กรรมวิธีที่ 3 เมล็ดพันธุ์ที่พอกด้วยเวอร์มิคูไลท์+PAM ความเข้มข้น 7 เปอร์เซ็นต์ (w/v)
- กรรมวิธีที่ 4 เมล็ดพันธุ์ที่พอกด้วยเวอร์มิคูไลท์+PAM ความเข้มข้น 9 เปอร์เซ็นต์ (w/v)
- กรรมวิธีที่ 5 เมล็ดพันธุ์ที่พอกด้วยเบนโทไนท์ +PAM ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ (w/v)
- กรรมวิธีที่ 6 เมล็ดพันธุ์ที่พอกด้วยเบนโทไนท์+PAM ความเข้มข้น 7 เปอร์เซ็นต์ (w/v)
- กรรมวิธีที่ 7 เมล็ดพันธุ์ที่พอกด้วยเบนโทไนท์+PAM ความเข้มข้น 9 เปอร์เซ็นต์ (w/v)

การ ตรวจสอบคุณภาพของเมล็ดพันธุ์เบื้องต้นภายหลังการพอกมีรายละเอียด ดังต่อไปนี้

2.2.1 การทดสอบความชื้นของเมล็ดพันธุ์ (Seed moisture content)

ทำการตรวจสอบความชื้นของเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธีอบด้วยลมร้อน (Hot-air oven method) ตามกฎการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์สากล (ISTA, 2006) โดยสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดในแต่ละกรรมวิธีมาอบ แล้วนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง บันทึกน้ำหนักเมล็ดก่อนและหลังการอบ และคำนวณหาความชื้นของเมล็ดพันธุ์เป็นเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสด ดังสมการ

$$\text{Moisture content} = \frac{M_2 - M_3}{M_2 - M_1} \times 100$$

โดย M_1 คือ น้ำหนักของภาชนะอบและฝาปิด (กรัม)

M_2 คือ น้ำหนักของภาชนะอบ ฝาปิด และเมล็ดก่อนอบ (กรัม)

M_3 คือ น้ำหนักของภาชนะอบ ฝาปิด และเมล็ดหลังอบ (กรัม)

2.2.2 การทดสอบความงอกมาตรฐาน (Standard germination test)

ทำการ สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ในแต่ละกรรมวิธีมาเพาะบนกระดาษขึ้น (Between paper) แล้วนำไปใส่ไว้ในตู้เพาะ (Contherm Scientific Ltd., Australia) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์ ตรวจสอบความงอกครั้งแรกที่ 4 วันหลังเพาะ และตรวจนับครั้งสุดท้าย 7 วันหลังจากเพาะ โดยตรวจนับจำนวน ต้นกล้าปกติ ต้นกล้าผิดปกติและเมล็ดตาย แล้ว รายงานผลเป็นเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ (ISTA, 2006)

2.2.3 การทดสอบดัชนีการงอกของเมล็ดพันธุ์ (Germination index test)

สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดในแต่ละกรรมวิธีมาทำการทดสอบความงอก เช่นเดียวกับการทดสอบความงอกมาตรฐาน ทำการตรวจนับต้นกล้าที่งอกปกติทุกวันจนครบ กำหนด 7 วัน จึงนำผลการตรวจนับความงอกมาคำนวณหาค่าดัชนีการงอกของเมล็ดพันธุ์ จากสมการ

$$\text{ดัชนีการงอกของเมล็ด} = \text{ผลรวมของ} \left(\frac{\text{จำนวนต้นกล้าที่งอกปกติ}}{\text{จำนวนวันหลังเพาะ}} \right)$$

2.2.4 การวัดอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า (Seedling growth rate test)

สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดในแต่ละกรรมวิธีมาเพาะความงอกวิธีเดียวกันกับการทดสอบความงอกมาตรฐาน แต่ใช้กระดาษเพาะขนาด 35.5 x 63 เซนติเมตร และจัดเรียงเมล็ดพันธุ์บนกระดาษเพาะเป็นแนวตามความยาวของกระดาษจำนวน 2 แถวๆ ละ 5 เมล็ด ให้ระยะห่างระหว่างแถวประมาณ 13 เซนติเมตร โดยวางเมล็ดให้ส่วนของรากอ่อนอยู่ด้านล่างของกระดาษ นำม้วนกระดาษไปไว้ในตู้เพาะที่มีอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยไม่ต้องให้แสง ตรวจนับความงอกหลังจากเพาะ 7 วัน นำต้นกล้าที่ปกติมาตัดเอาเฉพาะยอดอ่อนและรากอ่อนบรรจุใส่ถุงกระดาษ นำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นชั่งน้ำหนักแห้งของยอดอ่อนและรากอ่อน แล้วคำนวณหาอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า จากสูตร

$$\text{อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า} = \frac{\text{น้ำหนักแห้งของยอดอ่อนและรากอ่อน}}{(\text{จำนวนต้นอ่อนปกติ} / 7 \text{ วัน})} \text{ (มิลลิกรัม/ต้น/7วัน)}$$

การทดลองที่ 3: การศึกษาผลของการพอกเมล็ดพันธุ์ต่อการเปลี่ยนแปลง คุณภาพของเมล็ดพันธุ์ ข้าวโพดหวานในระหว่างการเก็บรักษา

เมื่อทำการ ตรวจสอบคุณภาพ ของเมล็ดพันธุ์เบื้องต้น ภายหลังกการพอกแล้ว นำเมล็ดพันธุ์ บรรจุในถุงพลาสติกและปิดปากถุงให้สนิท แล้วนำไปเก็บในถังพลาสติกที่มีฝาปิดมิดชิดและเก็บ รักษาในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลาานาน 6 เดือน และทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ ของเมล็ดพอกในระหว่างการเก็บรักษา วางแผนการทดลองแบบ 2x3x4 Factorial in CRD จำนวน 3 ซ้ำ กรรมวิธีในการทดลองประกอบด้วยชนิดของวัสดุพอก จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ เวอร์มิคูไลท์และ เบนโทไนท์ ความเข้มข้นของวัตถุประสาน (PAM) จำนวน 3 ระดับ ได้แก่ 5%, 7% และ 9% (w/v) และระยะเวลาในการเก็บรักษา ได้แก่ 1, 2, 3 และ 6 เดือน โดยคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ที่ทำการ ตรวจสอบมีดังต่อไปนี้

1. การทดสอบความชื้นของเมล็ดพอก (Pelleted seed moisture content test)
2. การทดสอบความงอกมาตรฐาน (Standard germination test)
3. การวัดดัชนีการงอกของเมล็ดพันธุ์ (Germination index test)
4. การวัดอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า (Seedling growth rate test)

จากนั้นทำการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ (correlation) ระหว่างคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ กับชนิดของวัสดุพอก ความเข้มข้นของวัตถุประสานและอายุการเก็บรักษา

การทดลองที่ 4: การศึกษาสมบัติทางกายภาพของวัสดุพอก

2.1 การวิเคราะห์การกระจายอนุภาค (Particle size distribution)

ทำการวิเคราะห์การกระจายอนุภาคของวัสดุพอกด้วยวิธี hydrometer method (ถนนม, 2528) จากนั้นนำค่าต่างๆ ที่บันทึกได้มาเป็นเปอร์เซ็นต์ของอนุภาคขนาดเล็ก (<2 μm) อนุภาคขนาด กลาง (2-50 μm) และอนุภาคขนาดใหญ่ (>50 μm)

2.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการกักเก็บน้ำ (Water retention)

นำตัวอย่างวัสดุพอกที่ผสมกับวัตถุประสานในอัตราส่วนเดียวกันกับที่ใช้พอกเมล็ด ไป วิเคราะห์ความสามารถในการกักเก็บน้ำด้วยวิธี Pressure plate techniques (ถนนม, 2528) ที่ระดับ แรงดัน 30, 100, 300, 500 และ 1,000 kPa ตามลำดับ และสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ปริมาณน้ำในดินกับความเครียดหรือแรงดูดดึงน้ำซึ่งเรียกว่า กราฟแสดงอัตรลักษณะความชื้นในสสาร (soil moisture characteristic curves)

3. การวิเคราะห์ข้อมูล

ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ Statistix 8 (Analytical Software, USA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Least Significant Difference (LSD) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ส่วนการวิเคราะห์ความเป็นสหสัมพันธ์ของตัวแปรต่างๆ กระทำโดยการหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient)

4. ระยะเวลาในการทดลอง

เริ่มต้นทำการทดลองตั้งแต่เดือนมีนาคม พ.ศ. 2551 และสิ้นสุดการทดลองในเดือนกันยายน พ.ศ. 2551

5. สถานที่ทำการทดลอง

1. ห้องปฏิบัติการพอกเมล็ดพันธุ์ สถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
2. ห้องปฏิบัติการเมล็ดพันธุ์ ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
3. ห้องปฏิบัติการฟิสิกส์ดิน ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่