บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วิธีการทดลอง

ศึกษาคุณภาพของผักกาดหัวที่ปลูกในดินเหนียว ดินร่วน และดินทรายที่ได้รับการปรับสภาพต่างกัน การดำเนินการแบ่งเป็น 2 ขั้นตอน ทั้งในห้องปฏิบัติการและภาคสนาม ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 การศึกษาผลของสารปรับปรุงดินต่อคุณสมบัติทางเคมีและทางชีวภาพของดิน โดยทำการทดลองในห้องปฏิบัติการ จัดปัจจัยที่ใช้ในการทดลองและวางแผนการทดลองแบบ 3x4 Factorial in Completely Randomized Design (Factorial in CRD) มี 4 ซ้ำ ปัจจัยที่หนึ่งคือ คุณลักษณะของดิน มี 3 ชนิด ได้แก่ ดินทราย ดินร่วน และดินเหนียว ปัจจัยที่สองคือ วิธีการปรับปรุงดิน มี 4 วิธีดังนี้ วิธีที่ 1 คือกรรมวิธีควบคุม (control) คือไม่มีการปรับปรุงดิน วิธีที่ 2 การปรับปรุงดินโดยปรับ pH ดินให้อยู่ในระดับ 6.3-6.5 และปรับระดับของอินทรียคาร์บอนในดินให้มีประมาณ 2.0% วิธีที่ 3 ปรับปรุงดินโดยใส่สารปรับปรุงดินที่มี Ferrous ferric chloride (FFC ace) เป็นองค์ประกอบ วิธีที่ 4 ปรับปรุงดินโดยการปรับ pH และระดับอินทรียวัตถุที่ระบุไว้ในวิธีที่ 2 ร่วมกับการใช้สารปรับปรุงดิน FFC ace

ในการปรับ pH ของดิน ใช้วิธีการที่เสนอแนะโดย Houba *et al.* (1988) สำหรับการปรับระดับของอินทรียคาร์บอนใช้วิธีการวิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในดินและในมูลวัว ด้วยวิธี Walkley black (Houba *et al.*,1988) หากดินที่ใช้ทดลองมีระดับอินทรียคาร์บอนต่ำกว่า 2.0% จะใส่มูลวัวลงไปเพื่อเพิ่มปริมาณอินทรียวัตถุให้อยู่ในระดับ 2.0% (ใส่ปูน $CaCO_3$ ในดินทรายและดินร่วนอัตรา 189.20 และ 154.54 กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับ และใส่มูลวัวในดินทราย ดินร่วน และดินเหนียวเป็นอัตรา 22.55 0.87 และ 12.33 ตัน/ไร่ ตามลำดับ)

ในกรรมวิธีที่มีการใส่สารปรับปรุงดินที่มี FFC ace เป็นองค์ประกอบ จะใส่ตามคำแนะนำของผลิตภัณฑ์ โดยผสมสารปรับปรุงดินที่มี FFC ace เป็นองค์ประกอบ ลงไปในดินในอัตรา 1% โดยปริมาตร คลุกเคล้าให้เข้ากัน เติมน้ำจนท่วมดิน บ่มดินเป็นเวลา 2 สัปดาห์ก่อนนำไปใช้เพาะปลูกพืช ในระหว่างการบ่มดินรักษาความชื้นให้อยู่ในระดับ 60-70%

สำหรับกรรมวิธีที่ 4 ซึ่งมีการใช้สารปรับปรุงดินที่มี FFC ace เป็นองค์ประกอบ ร่วมกับการใส่มูลวัว ใช้วิธีการใส่มูลวัวพร้อมกับสารปรับปรุงดินที่มี FFC ace เป็นองค์ประกอบ และใช้วิธีการบ่มดินเหมือนกับในกรรมวิธีที่ 3 อย่างเดียว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารปรับปรุงดิน FFC ace มีลักษณะเป็นเม็ดเล็กปนผงสีเทา ผลการทดสอบด้วย X-ray Diffraction (XRD) มีองค์ประกอบของแร่ควอทซ์ แอลไบต์ กลุ่มแร่แอมฟิโบล พวกแร่ฮอร์นเบลด และแร่ดินกลุ่มอิลไลต์ ธาตุที่เป็นองค์ประกอบของสาร FFC ace แสดงไว้ในตารางที่

ตาราง 1 ธาตุที่เป็นองค์ประกอบของสาร FFC ace

องค์ประกอบทางเคมี	
$\%SiO_2$	65.45
$\%Al_2O_3$	11.15
%Total Fe_2O_3	4.25
% Fe_2O_3	2.62
%FeO	0.96
%CaO	3.35
%MgO	1.13
$\%Na_2O$	1.05
$\%K_2O$	3.28
$\%P_2O_5$	0.88
%TiO	0.43
%Ba, Zr, Y, Sr, Rb, Mn และ Cl	< 0.01
$\%SO_3$ + Loss on Ignition (LOI)	8.99

มูลวัวมีปริมาณอินทรีย์คาร์บอน (Walkley black) 25.04% N ทั้งหมด 2.61% P ทั้งหมด 0.38% และ K ทั้งหมด 0.97%

ส่วนดินที่ใช้ทดลองมีลักษณะ ดังนี้

ดินทราย เป็นดินเนื้อหยาบ เนื้อดิน loamy sand ทรายปนร่วน มี %sand silt clay เป็น 79.9 15.1 และ 5.0 ตามลำดับ ดินเป็นชุดดินน้ำพอง (Nam Phong series: Ng) ซึ่งเป็นดินที่จัดจำแนกอยู่ในกลุ่มดินหลัก Regosols ตามการจำแนกดินประจำชาติ (ระบบเก่า) และจัดอยู่ในพวก sandy, siliceous, isohyperthermic, Ustoxic Quartzipsamments ตามระบบอนุกรมวิธานดิน (Soil Survey Staff, 1999 อ้างโดยนิวัติ และคณะ, 2547) จัดอยู่ใน order Alfisols เป็นดินที่มีการระบายน้ำดีถึงดีเกินไป มีความสามารถในการซึมน้ำผ่านและการไหลบ่าของน้ำบนผิวดินเร็ว มีความสามารถในการ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

อุ้มน้ำของดินต่ำ เป็นดินทรายบนร่วน มีสีพื้นเป็นสีน้ำตาลเข้มถึงน้ำตาลแดงจาง ปฏิกิริยาดินเป็นกรดแก่ถึงกรดเล็กน้อย (คณะเกษตรศาสตร์ , 2541 อ้างโดยนิวัติ และคณะ, 2547)

ดินร่วน เป็นดินเนื้อปานกลาง เนื้อดิน sandy clay loam ร่วนเหนียวปนทราย มี %sand silt clay เป็น 57.3 25.7 และ 17.0 ตามลำดับ ดินเป็นชุดดินห้างฉัตร (Hang Chat series: Hc) ซึ่งจัดอยู่ใน order Ultisols และจัดอยู่ในพวกดิน Fine-loamy, kaolinitic, isohyperthermic Typic Kandiustults เป็นดินที่มีการระบายน้ำดี ความสามารถในการซึมน้ำผ่านและการไหลบ่าของน้ำบนผิวดินปานกลางถึงเร็ว เป็นดินร่วนปนทราย ปฏิกิริยาดินเป็นกรดจัดถึงเป็นกลาง (ลักษณะและคุณสมบัติชุดดินภาคเหนือ ชุดดินห้างฉัตร, 2551)

ดินเหนียว เป็นดินเนื้อละเอียด เนื้อดิน Clay loam ร่วนเหนียว มี %sand silt clay เป็น 40.8 31.6 และ 27.6 ตามลำดับดินเป็นชุดดินหางดง (Hang Dong series: Hd) ซึ่งจัดอยู่ใน order Alfisols และ จัดอยู่ในพวก Fine, mixed, semiactive, isohyperthermic Typic Endoaqualfs เป็นดินที่มีการระบายน้ำเลว มีความสามารถในการซึมน้ำผ่านและการไหลบ่าของน้ำบนผิวดินช้า มีความสามารถในการอุ้มน้ำของดินสูง เป็นดินร่วนเหนียว สีเทาถึงสีเทาเข้ม มีจุดประสีน้ำตาลปนเหลืองหรือสีน้ำตาลแก่ ปฏิกิริยาดินเป็นกรดจัดถึงเป็นกรดเล็กน้อย (ลักษณะและคุณสมบัติชุดดินภาคเหนือ ชุดดินหางดง, 2551)

เมื่อบ่มดินที่ใช้ในกรรมวิธีที่ 3 และ 4 ครบ 2 สัปดาห์ นำดินทุกกรรมวิธีผึ่งให้แห้งในที่ร่มจนแห้งสนิท ตักดินที่แห้งสนิทในแต่ละกรรมวิธีใส่ถุงพลาสติก โดยใช้ดิน 1 กก./ถุง ต่อซ้ำ หลังจากนั้นนำไปปรับระดับความชื้นให้อยู่ในระดับ 30% ของดินที่สามารถอุ้มน้ำไว้ได้ทั้งหมด สำหรับใช้วิเคราะห์คุณสมบัติต่างๆของดินในแต่ละช่วงเวลาของการบ่มดิน ปิดปากถุงโดยใช้เครื่องมือปิดปากถุงด้วยความร้อน

หลังจากผสมสารเพื่อปรับค่า pH, อินทรียวัตถุ หรือสารปรับปรุงดินแล้ว จะทำการบ่มดินในห้องปฏิบัติการ ณ อุณหภูมิห้อง และปรับความชื้นของดินให้อยู่ในระดับ 30% ของปริมาณความชื้นที่ดินสามารถอุ้มไว้ได้เต็มที่ วิเคราะห์สมบัติทางเคมีและสมบัติทางชีวภาพของดินในแต่ละกรรมวิธีทุก 30 วันของระยะเวลาบ่ม โดยสมบัติทางเคมีที่วัดได้แก่ pH ค่าการนำไฟฟ้า ปริมาณไนโตรเจนที่เกิดจากกระบวนการ mineralization (mineralizable N) ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ได้ (available P) โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (exchangeable K) โซเดียมที่แลกเปลี่ยนได้ (exchangeable Na) แคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (exchangeable Ca) แมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (exchangeable Mg) และ ปริมาณประจุบวกที่แลกเปลี่ยนที่ได้ (Cation exchangeable capacity:CEC) สำหรับสมบัติทางชีวภาพที่วิเคราะห์ได้แก่ มวลชีวภาพของจุลินทรีย์ดิน ปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ที่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เป็นประโยชน์ได้ ได้แก่ แบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจน เช่น *Azospirilum sp., Azotobacter sp.*และ *Beijerinkia sp*. จุลินทรีย์ประเภทที่ต้องการออกซิเจนที่ย่อยสลายเซลลูโลส รวมทั้งแบคทีเรียและแอคติโนมัยซิส โดยวิธีการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของดินและการวิเคราะห์มวลชีวภาพของจุลินทรีย์ดิน ดังระบุไว้ในตาราง

ตาราง 2 วิธีวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของดิน

สมบัติของดิน	วิธีการ	เอกสารอ้างอิง
1. ความเป็นกรดด่าง (pH)	ดิน:น้ำ ในอัตราส่วน1:1 วัดด้วย pH meter	เนาวรัตน์, 2527
2. ค่าการนำไฟฟ้า (EC)	ดิน:น้ำ ในอัตราส่วน1:5 วัดด้วย EC meter	เนาวรัตน์, 2527
3. ปริมาณไนโตรเจนที่เป็นประโยชน์ได้ (mineralizable N)	Aerobic incubation	Nelson and Somners, 1996
4. ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ได้ (available P)	สกัดด้วยน้ำยา Bray II ทำการพัฒนาสี วัดด้วยเครื่อง spectrophotometer	Houba *et al*., 1988
5. ปริมาณโพแทสเซียม โซเดียม แคลเซียมและแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (exchangeable K, Na, Ca and Mg)	สกัดด้วยน้ำยา NH_4OAC pH 7วัดด้วยเครื่อง spectrophotometer	Helmke and Sparks, 1996

ตาราง 3 วิธีวิเคราะห์สมบัติทางชีวภาพของดิน

สมบัติของดิน	วิธีการ	อาหาร	เอกสารอ้างอิง
1. มวลชีวภาพในดิน (microbial biomass)	Chloroform fumigation -exraction	-	Nunan *et al*., 1998
2. จุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจนที่ย่อยสลายเซลลูโลส	dilution count	Carboxymethyl cellulose (CMC) agar	Hankin and Anagnostakis. 1977
3. Azospirillum	MPN count	Azospirillum medium	Krieg and Dobereiner, 1984
4. Azotobacter	dilution count	Azotobacter Agar	Ronald, 1993
5. Beijerinckia	dilution count	Beijerinckia medium	Ronald, 1993
6. แบคทีเรียทั้งหมดและแอคติโนมัยซิส	dilution count	Egg albumin agar	David and Schmidt, 1967

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ส่วนการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพของดินซึ่งได้แก่ ความหนาแน่นรวมของดิน ความหนาแน่นอนุภาค (จักรพงษ์, 2546) ความพรุนและสัดส่วนช่องว่าง ทำการวิเคราะห์ภายหลังการปลูกพืช

ขั้นตอนที่ 2 การศึกษาการเติบโตและคุณภาพของผลผลิตผักกาดหัว

ปลูกผักกาดหัวในเรือนทดลองโดยการปลูกพืชในกระถาง จัดกรรมวิธีการทดลองเป็นแบบ 3 x 4 Facterial in Completely Randomized Design ดังเช่นที่ใช้ในการทดลองในห้องปฏิบัติการ มี 4 ซ้ำ บันทึกข้อมูลการเติบโตและคุณภาพ ดังนี้

1. บันทึกข้อมูลการเติบโตของผักกาดหัว ด้านความสูงของส่วนเหนือดิน ความกว้างทรงพุ่ม จำนวนใบ และปริมาณคลอโรฟิลล์โดยใช้เครื่องวัด Chlorophyll meter

2. บันทึกข้อมูลด้านปริมาณผลผลิต ได้แก่ น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งของหัว และน้ำหนักสดน้ำหนักแห้งของส่วนเหนือดิน

3. บันทึกข้อมูลด้านคุณภาพผลผลิต ดังนี้

- ขนาดของหัว ด้านความยาวและเส้นผ่านศูนย์กลางที่จุดกว้างและยาวที่สุดของหัว
- ปริมาณ Total soluble solids หรือปริมาณน้ำตาลด้วยเครื่อง Hand refractometer
- ความแน่นเนื้อโดยใช้เครื่อง Firmness tester
- สีด้วยเครื่องวัดสี (Chroma meter) ตัวเครื่องรุ่น CR-100 บริษัท Minolta, ประเทศญี่ปุ่น ซึ่งวัดสีออกมาเป็นค่า L*, a* และ b* โดยมีรายละเอียดดังนี้ คือ

L* = The lightness factor (value)

ค่า L* แสดงค่าความสว่าง

- วัตถุมีสีขาวเมื่อมีค่าเท่ากับ 100
- วัตถุมีสีดำเมื่อมีค่าเท่ากับ 0

a*, b* = The Chromaticity coordinates (Hue, Chroma)

ค่า a* - มีค่าบวก หมายถึง วัตถุมีสีแดง
- มีค่าลบ หมายถึง วัตถุมีสีเขียว

ค่า b* - มีค่าบวก หมายถึง วัตถุมีสีเหลือง
- มีค่าลบ หมายถึง วัตถุมีสีน้ำเงิน

ทั้ง a* และ b* หากมีค่าเป็นศูนย์ หมายถึง วัตถุมีสีเทา

ค่า Chroma - มีค่าเข้าใกล้ 0 หมายถึง วัตถุมีสีซีดจาง (เทา)
- มีค่าเข้าใกล้ 60 หมายถึง วัตถุมีสีเข้ม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

คำนวณหาค่า Chroma และ Hue angle จากสมการ ดังนี้

Chroma = $(a^{*2}+b^{*2})^{1/2}$

Hue angle = arctangent (b*/a*) เมื่อ $a^* > 0$ และ $b^* \geq 0$

= arctangent (b*/a*) + 180° เมื่อ $a^* < 0$

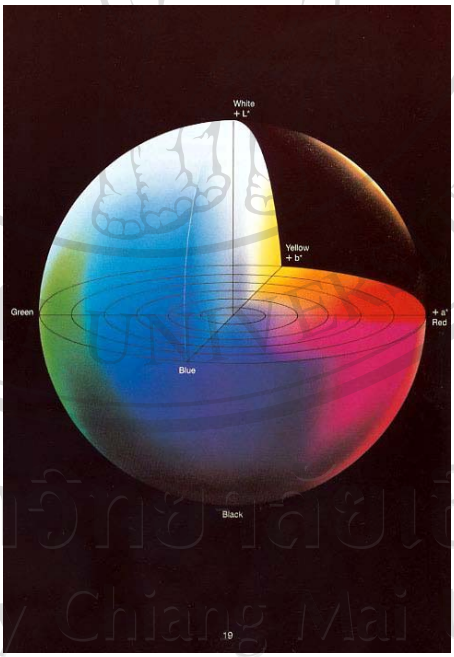
= arctangent (b*/a*) + 360° เมื่อ $a^* > 0$ และ $b^* < 0$

โดยที่ ค่า Chroma - มีค่าเข้าใกล้ 0 หมายถึง วัตถุมีสีซีดจาง (เทา)

- มีค่าเข้าใกล้ 60 หมายถึง วัตถุมีสีเข้ม

ค่า Hue angle แสดงช่วงสีของวัตถุมีค่าอยู่ระหว่าง 0-360 องศา คือ

0-45	องศา แสดงสีม่วงแดงถึงสีส้มแดง	180-225	องศา แสดงสีเขียวถึงสีน้ำเงิน
45-90	องศา แสดงสีส้มแดงถึงสีเหลือง	225-270	องศา แสดงสีน้ำเงินเขียวถึงน้ำเงิน
90-135	องศา แสดงสีเหลืองถึงเหลืองเขียว	270-315	องศา แสดงสีน้ำเงินถึงม่วง
135-180	องศา แสดงสีเหลืองเขียวถึงเขียว	315-360	องศา แสดงสีม่วงถึงม่วงแดง



ภาพ 2 แผนภาพของสีที่แสดงค่าเป็นค่า L*, Chroma และ Hue angle

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การบันทึกผลการทดลอง

วัดหัวผักกาด ค่าที่ได้แสดงเป็นค่า L*, a*, b* แล้วนำมาคำนวณหาค่า Chroma และ Hue angle จากสมการดังนี้ (McGuire, 1992)

$$\text{Chroma} = (a^* + b^*)^{1/2}$$

$$\text{Hue angle} = \text{arctangent}\ (b^*/a^*)$$

4. วิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุอาหารพืชหลักและการสะสมธาตุอาหารพืชในผลผลิตและส่วนเหนือดิน

สำหรับการเก็บข้อมูลด้านผลผลิตน้ำหนักแห้งของผักใช้วิธีการอบตัวอย่างพืช โดยใช้ตู้อบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จนตัวอย่างแห้งสนิท หลังจากชั่งน้ำหนักแห้งแล้วตัวอย่างที่ผ่านการอบแห้งจะนำไปบดโดยใช้เครื่องบดตัวอย่างพืช Willey Mill และร่อนผ่านตะแกรง เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุอาหารพืชต่อไป สำหรับการวิเคราะห์ธาตุอาหารพืชในตัวอย่างพืชใช้วิธีการย่อยตัวอย่างด้วยวิธี wet digestion โดยใช้กรดผสมที่ประกอบด้วย conc.sulfuric acid, selenium powder และ hydrogen peroxide ซึ่งดัดแปลงโดย Walinga *et al.* (1989) ย่อยตัวอย่างด้วย aluminum digestion block โดยเริ่มจากอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสและค่อยๆ เพิ่มอุณหภูมิจนถึง 350 องศาเซลเซียส หลังจากตัวอย่างพืชผ่านการย่อยสมบูรณ์แล้วจะได้สารละลายใส ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วปรับปริมาตรเป็น 50 มล. ด้วยน้ำกลั่นนำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์ N P K

ตาราง 4 วิธีการวิเคราะห์พืช

การวิเคราะห์	วิธีการหาความเข้มข้น	เอกสารอ้างอิง
total N*	พัฒนาสีด้วยวิธี Indophenols blue	Novozamasky *et al.,* 1974
total P*	พัฒนาสีด้วย ammonium vanado phospho molybdateด้วยเครื่อง spectrophotometer	Schouwenburg *et al.,* 1967
total K*	Flame photometer	Helmke and Sparke,1996
TNC	Somogyi method	Smith *et al.,*1964 และ Nelson, 1944

* หลังการย่อยตัวอย่างด้วยกรดผสม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

คำนวณปริมาณการสะสมธาตุอาหารพืชในผลผลิตโดยใช้สูตรการคำนวณดังนี้

การสะสมธาตุอาหารพืช NPK และ TNC = ความเข้มข้นของธาตุ(%)xผลผลิตน้ำหนักแห้ง(มล./ต้น)
(มก./ต้น) 100

3.2 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยการใช้ F-test และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของกรรมวิธี โดยวิธี Least Significant Differential (LSD)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved