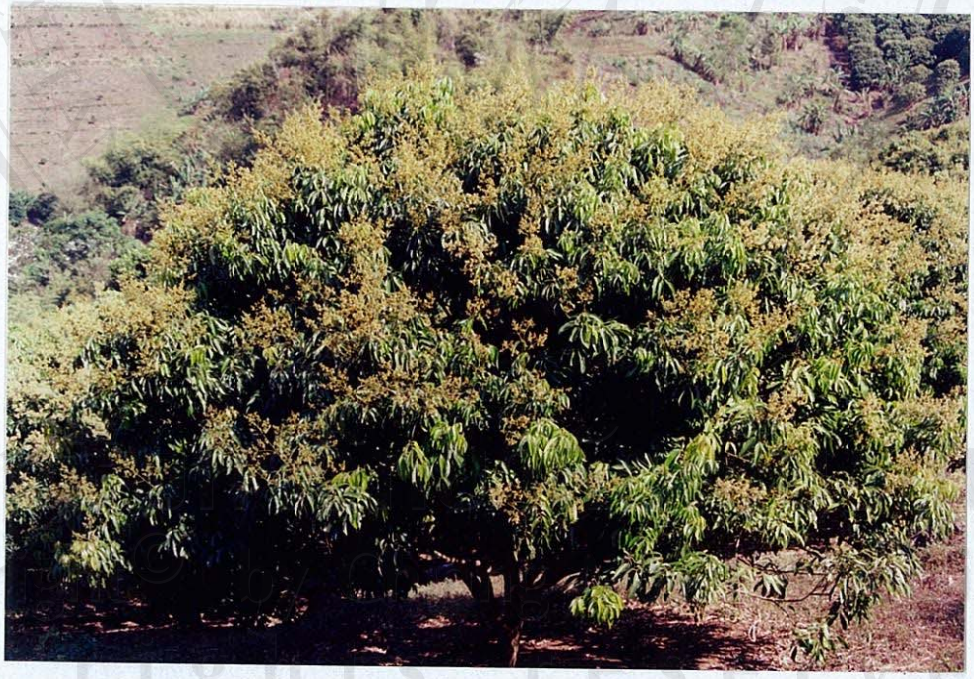
# บทที่ 3
# อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

## 1. พืชทดลอง

คัดเลือกต้นลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย อายุประมาณ 6 ปี มีทรงพุ่มกว้างประมาณ 4 เมตร จำนวน 16 ต้น ปลูกในพื้นที่ระดับความสูง 1,100 เมตร จากระดับน้ำทะเล ณ สวนเกษตรกร ของนายวิเชียร เลาเถ้า บ้านเลขที่ 11 หมู่ 7 ต.โป่งแยง อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่ ซึ่งมีสภาพของต้นลิ้นจี่ที่ใช้ในการทดลอง แสดงไว้ในภาพที่ 8



ภาพที่ 8 สภาพของต้นลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวยที่ใช้ในการทดลอง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

2.1 เครื่องชั่งอิเล็กทรอนิกส์ ทศนิยม 4 ตำแหน่ง

2.2 ตู้อบ

2.3 เครื่องบดตัวอย่างพืช ยี่ห้อ Tecator รุ่น Cyclotec No. 1093 พร้อมตะแกรงร่อนขนาด 0.5 มิลลิเมตร (35 เมช)

2.4 อุปกรณ์ไตเตรตและปิเปต (micro pipet ขนาด 0.1-1 มิลลิลิตร)

2.5 เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (digital refractometer)

2.6 เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer รุ่น CECIL, CE1011)

2.7 capillary tube

2.8 dropper แท่งแก้ว กรวยกรอง ปากคีบ

2.9 บีกเกอร์ ขนาด 10, 50, 100, 250, 500 และ 1000 มิลลิลิตร

2.10 erlenmeyer flask ขนาด 125, 250 และ 500 มิลลิลิตร

2.11 volumetric flask ขนาด 5, 25, 50, 100, และ 500 มิลลิลิตร

2.12 กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1

2.13 ตลับเทปวัดความยาว ไม้บรรทัด และเวอร์เนียแคลิเปอร์ (digital verneer caliper)

2.22 ป้ายพลาสติก กระติกน้ำแข็ง ถุงพลาสติก 5 x 7 นิ้ว ถุงกระดาษ

2.23 โถดูดความชื้น (desiccator)

2.24 pH meter

2.25 water bath

2.26 fume hood

2.27 magnetic stirrer และ Vortex Genie - 2

2.28 ขวดพลาสติกขนาด 120 ซีซี

2.29 ขวดสีชา ขนาด 500 ซีซี

3. วิธีการทดลอง

3.1 การวางแผนการทดลอง วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) มี 2 กรรมวิธี คือกรรมวิธีที่ 1 ไม่ตัดแต่งปลายช่อดอก และกรรมวิธีที่ 2 ตัดแต่งปลายช่อดอก จำนวน 8 ซ้ำ ๆ ละ 1 ต้น การตัดแต่งปลายช่อดอกทำโดยการตัดก้านช่อดอก (rachis) ออกประมาณ 1/3 ของความยาวช่อดอก โดยตัดเมื่อช่อดอกยืดยาวเต็มที่ หรือก่อนที่ดอกแรกบาน ซึ่งใช้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ระยะเวลาตั้งแต่แทงช่อถึงยืดยาวเต็มที่เป็นเวลา 1 เดือน จึงเริ่มตัดปลายช่อดอก (ขจรศักดิ์, 2543) ดังแสดงในภาพที่ 9

ภาพที่ 9 การตัดปลายช่อดอกลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย

**3.2 การบันทึกข้อมูล**

บันทึกการเจริญเติบโตของช่อดอก การติดผล คุณภาพผล และการเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้าง ที่เป็นผลมาจากการตัดปลายช่อดอก ดังนี้

**1. การเจริญเติบโตของช่อดอก เปอร์เซ็นต์การติดผล จำนวนผลต่อช่อ และการร่วงของผล**

ข้อมูลการเจริญเติบโตของช่อดอก เริ่มบันทึกตั้งแต่วันที่เริ่มตัดปลายช่อดอก ดังนี้

1.1 ความยาวของช่อดอกย่อย สุ่มวัดช่อดอกที่อยู่บริเวณโคนช่อ วัดตั้งแต่ส่วนโคนถึงปลายช่อดอกย่อย เริ่มบันทึกตั้งแต่วันที่เริ่มตัดและหลังตัดปลายช่อดอก สิ้นสุดเมื่อดอกแรกเริ่มบาน จำนวน 40 ก้านช่อดอกย่อย มีหน่วยเป็นเซนติเมตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.2 สัดส่วนเพศดอก สุ่มวัดช่อดอกทิศละ 2 ช่อ จำนวน 4 ทิศ (เหนือ ใต้ ตะวันออก และตะวันตก) รวม 8 ช่อต่อต้น ใช้ถุงรีเมย์คลุมช่อดอกที่สุ่มไว้ทุกช่อ บันทึกดอกเพศเมีย ดอกเพศผู้ และดอกสมบูรณ์เพศ การนับโดยใช้ปากคีบดึงดอกแต่ละเพศออก รวมทั้งดอกที่หล่นในถุงรีเมย์ด้วย นับทุก 3 วัน จนดอกบานหมดช่อ แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย

1.3 การติดผล ใช้ช่อดอกช่อเดียวกันกับการวัดความยาวช่อดอกย่อย ทิศละ 5 ช่อ จำนวน 4 ทิศ รวม 20 ช่อดอก โดยเริ่มนับเมื่อรังไข่ขยายขนาดและรังไข่เป็นสีเขียว ปลายเกสรเพศเมียเป็นสีน้ำตาลแห้ง นับจำนวนผลที่ติดอยู่บนช่อทุกสัปดาห์ คิดเป็นจำนวนผลต่อช่อของแต่ละสัปดาห์ หลังจากนั้นนำมาคำนวณหาผลที่หล่นไปของแต่ละสัปดาห์เป็นเปอร์เซ็นต์การร่วงของผลสะสม และนำมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การติดผลของแต่ละสัปดาห์โดยคำนวณจากปริมาณดอกทั้งหมด

**2. คุณภาพผลของลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย**

ใช้ช่อดอกช่อเดียวกันกับการวัดการเจริญเติบโต จำนวน 20 ช่อ นำผลผลิตทั้งหมดมาวัดคุณภาพผลเมื่อผลแก่ เริ่มเปลี่ยนสีจากสีเขียวเป็นสีชมพูอมแดง ในระยะที่เก็บเกี่ยวได้ ดังนี้

2.1 น้ำหนักของผล โดยการชั่ง มีหน่วยเป็นกรัม

2.2 น้ำหนักเมล็ด โดยการชั่ง มีหน่วยเป็นกรัม

2.3 น้ำหนักเนื้อ โดยการชั่ง มีหน่วยเป็นกรัม

2.4 น้ำหนักเปลือก โดยการชั่ง มีหน่วยเป็นกรัม

2.5 ขนาดของผล โดยการวัดความกว้าง ความยาว ความหนา ของผล มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร

2.6 ขนาดของเมล็ด โดยการวัดความกว้าง ความยาว ความหนา ของเมล็ด มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร

2.7 ความหนาของเปลือก โดยการวัดมีหน่วยเป็นมิลลิเมตร

2.8 ความหนาของเนื้อ โดยการวัดมีหน่วยเป็นมิลลิเมตร

2.9 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total soluble solids; TSS) ใช้น้ำคั้นจากผลที่สุ่มได้ นำไปวัดจากเครื่อง digital refractometer โดยการวัดมีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์บริกซ์

2.10 ปริมาณกรดที่ไตเตรตได้ (titratable acidity; TA) ใช้น้ำคั้นจากผลลิ้นจี่ที่สุ่มไว้จากข้อ 3.3.9 จำนวน 5 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายด่างมาตราฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น 0.1 N โดยมีฟีนอล์ฟทาลีน (phenolphthalein) เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีพิสัย pH ที่เปลี่ยน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สีอยู่ในช่วง 8.2 เป็นอินดิเคเตอร์ จำนวน 1-2 หยด ไตเตรตจนถึงจุดจุติ (end point) คือ เมื่อสารละลายมีสีชมพูอย่างน้อย 30 วินาที แล้วนำค่าที่อ่านได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ TA ในรูปของกรดซิตริก โดยใช้สูตร

$$\% \text{ Titratable acidity} = \frac{(\text{ml NaOH})\ (\text{N NaOH})\ (\text{meq. wt. acid})}{\text{ml sample}} \times 100$$

ml NaOH = ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไตเตรตกับน้ำคั้น (มิลลิลิตร)

N NaOH = ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ (N)

meg. wt. acid = 1 มิลลิกรัมสมมูลของน้ำหนักกรด

meg. wt. acid = 0.064

ml sample = ปริมาตรน้ำคั้นที่ใช้ในการไตเตรต (มิลลิลิตร)

**3. การเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้าง (total nonstructural carbohydrate; TNC) ในใบ และในช่อดอก ก่อนและหลังการตัดแต่งปลายช่อดอก**

**3.1 การเก็บตัวอย่างใบ และช่อดอกของลิ้นจี่**

การเก็บตัวอย่างใบ และช่อดอกเริ่มเก็บในเวลา 10.00 น. ของทุกวันที่ทำการเก็บตัวอย่าง โดยใช้ใบประกอบ (compound leaves) (ภาพที่ 10 ) ตำแหน่งที่ 1 หรือ 2 หรือคู่ที่ 1 ที่ติดกับส่วนโคนช่อดอกตามวิธีของ Sanyal and Mitra (1990) อ้างโดย วิทยา (2537) ส่วนช่อดอกเก็บทั้งช่อดอก (ภาพที่ 11) จากนั้นนำตัวอย่างใบและช่อดอกที่เก็บได้ล้างด้วยน้ำสะอาด ผึ่งให้แห้ง แล้วนำเข้าอบทันที ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส (ใช้เวลาอย่างน้อย 72 ชั่วโมง) จนตัวอย่างที่ได้แห้ง นำตัวอย่างพืชที่แห้งดีแล้วบดให้ละเอียด ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 0.5 มิลลิเมตร (35 เมช) เก็บตัวอย่างแห้งร่อนแล้วใส่ถุงกระดาษแล้วเก็บรักษาในโถดูดความชื้น (desiccator) รอการวิเคราะห์ต่อไป และก่อนการวิเคราะห์นำตัวอย่างพืชที่เตรียมไว้ไปอบอีกครั้งหนึ่งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-4 ชั่วโมง และทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นก่อน แล้วจึงนำมาชั่งเพื่อวิเคราะห์หา ปริมาณคาร์โบไฮเดรต โดยวิเคราะห์ในรูปของ total nonstructural carbohydrate (TNC) โดยใช้วิธีสกัดของ Smith *et al.* (1964) และหาปริมาณ TNC โดยใช้วิธี Nelson's reducing sugar procedure (Hodge and Hofreiter, 1962)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 10 ลักษณะใบลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวยที่เก็บไปวิเคราะห์

ภาพที่ 11 ลักษณะช่อดอกลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวยที่เก็บไปวิเคราะห์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

**3.2 การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ไม่ใช่โครงสร้าง (total non-structural carbohydrate; TNC)**

3.2.1 การสกัด ตามวิธีการของ Smith *et al.* (1964) ดัดแปลงโดย วิทยา (2537) โดยชั่งตัวอย่างพืชที่อบแห้งสนิทและบดแล้ว 0.2 กรัม เติม 0.2 N $H_2SO_4$ 40 มิลลิลิตร ปิดปากภาชนะด้วยอลูมิเนียมฟอยด์ แล้วอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ใน Hot air oven หลังจากนั้นนำออกจากตู้อบตั้งทิ้งไว้ให้เย็น (เขย่าด้วยมือ) ปรับ pH ให้เป็นกลาง ด้วย 0.1, 1, 3, 5, 7 และ 10 N NaOH โดยใช้ magnetic stirrer แล้วปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น กรองด้วยกระดาษ Whatman No.42 ใส่ขวดพลาสติก 100 มิลลิลิตร (รอการวิเคราะห์)

3.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณ TNC โดยวิธีของ Nelson (Hodge and Hofreiter, 1962) ดูดสารละลายตัวอย่างที่สกัดได้มา 1 มิลลิลิตรใส่หลอดทดสอบ 10 มิลลิลิตร จากนั้นดูดสารละลาย ดี-กลูโคส เข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มา 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 และ 1.0 ใส่หลอดทดสอบ 10 มิลลิลิตร รวม 10 หลอด เติมน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะได้สารละลายกลูโคสมาตรฐาน 0.025, 0.05, 0.075, 0.1, 0.125, 0.150, 0.175, 0.2, 0.225 และ 0.250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เติม Nelson' s alkaline copper reagent หลอดละ 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วย mixer ปิดด้วยแผ่นอลูมิเนียมฟอยด์ นำไปแช่ใน water bath อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที จากนั้นทำให้เย็นโดยวางในน้ำเย็น แล้วเติมสารละลาย arsenomolybdic acid reagent 1 มิลลิลิตร เขย่าให้ตะกอนของ $Cu_2O$ ที่เกิดขึ้นให้ละลายจนหมด เติมน้ำกลั่น 7 มิลลิลิตร เขย่าด้วย mixer อีกครั้งหนึ่ง (จะได้ปริมาตร 10 มิลลิลิตร) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที นำสารละลายไปอ่านค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) จากเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร โดยใช้ค่า standard จากสารละลาย ดี-กลูโคส ซึ่งทราบความเข้มข้นแล้ว เป็นตัวเปรียบเทียบ ผลที่ได้แสดงเป็น มิลลิกรัม ดี-กลูโคส / กรัมน้ำหนักแห้ง

**3.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ**

วิเคราะห์สถิติด้วยโปรแกรม IRRISTAT VERSION 3/93 และ โปรแกรม Sirichai Statistics V.6.00 (2001) for Windows โดยวิเคราะห์ Analysis of Variance, Coefficient of Variation (C.V.); linear regression และ correlation

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

**สถานที่ที่ใช้ในการดำเนินการวิจัยและรวบรวมข้อมูล**

1. สวนลิ้นจี่ของเกษตรกร หมู่บ้านบวกจั่น อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่
2. ห้องปฏิบัติการภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
3. ห้องปฏิบัติการภาควิชาทรัพยากรดินและสิ่งแวดล้อม คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

**ระยะเวลาที่ใช้ในการดำเนินการวิจัย**

เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2545 - เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2546

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved