บทที่ 3

วิธีการทดลอง

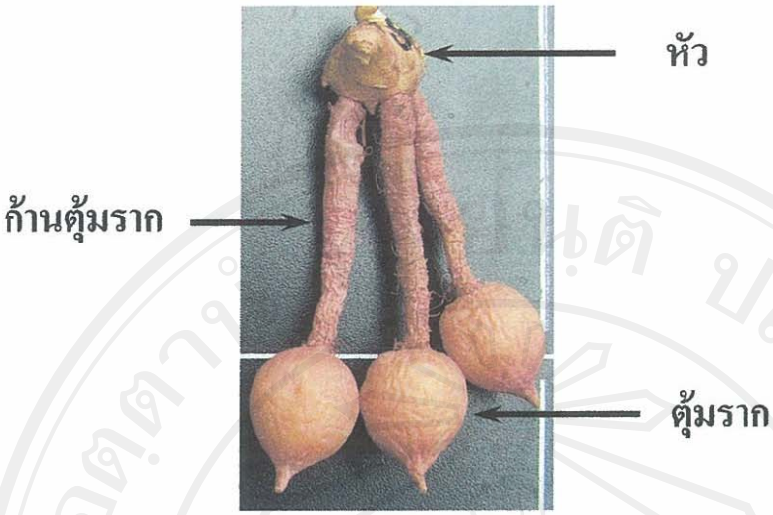
อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบทศนิยม 3 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น PG503-5
2. ดิจิตอลบิวเรต (digital burette) ยี่ห้อ Brand
3. เครื่องกวนสารเคมีด้วยแท่งแม่เหล็กและให้ความร้อน
4. เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง (refrigerated high speed centrifuge) ยี่ห้อ HERMLE Z 232K
5. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ยี่ห้อ Julabo รุ่น Eco Temp TW20
6. สเปคโตรไฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ยี่ห้อ Thermo spectronic
7. ตู้อบตัวอย่าง ยี่ห้อ Binder
8. เครื่องบดตัวอย่าง (sample mill) ยี่ห้อ Perten รุ่น 3303
9. เครื่องผสมตัวอย่าง (rotamixer) ของ Hooke&Tucker, Ltd.
10. กล้องถ่ายรูป ยี่ห้อ Sony
11. ห้องเย็นควบคุมอุณหภูมิ
12. เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ (gas chromatography) ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น GC-9A
13. เครื่องแก้วและสารเคมี

พืชทดลอง

หัวปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่สีชมพู จากสวนอุบลรัตน์ อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 2.5 เซนติเมตร และมีจำนวนตุ้มราก 3 ตุ้ม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 3 ส่วนต่างๆ ของหัวพันธุ์ปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่สีชมพู

สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ระยะเวลาทำการทดลอง

ตั้งแต่เดือนมีนาคม 2548 ถึงเดือนตุลาคม 2549

วิธีการวิจัยและบันทึกผลการทดลอง

ศึกษาหาชนิดและความเข้มข้นของสารเคลือบผิวที่เหมาะสมในการเคลือบผิวหัวพันธุ์ปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่สีชมพู โดยแบ่งเป็น 2 การทดลองดังนี้

การทดลองที่ 1 ศึกษาหาความเข้มข้นของอิมัลชันน้ำมันเมล็ดทานตะวันที่เหมาะสมในการเคลือบหัวพันธุ์ปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่สีชมพู

โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) แบ่งเป็น 5 กรรมวิธี จำนวน 5 ซ้ำต่อกรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (ไม่เคลือบผิว, control)

กรรมวิธีที่ 2 เคลือบผิวด้วยอิมัลชันของน้ำมันเมล็ดทานตะวันความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (sunflower seed oil 10 %)

กรรมวิธีที่ 3 เคลือบผิวด้วยอิมัลชันของน้ำมันเมล็ดทานตะวันความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ (sunflower seed oil 20 %)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

กรรมวิธีที่ 4 เคลือบผิวด้วยอิมัลชันของน้ำมันเมล็ดทานตะวันความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ (sunflower seed oil 30 %)

กรรมวิธีที่ 5 เคลือบผิวด้วยอิมัลชันของน้ำมันเมล็ดทานตะวันความเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์ (sunflower seed oil 40 %)

นำหัวปทุมมาที่ผ่านกรรมวิธีต่างๆ ของแต่ละการทดลองไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 88 เปอร์เซ็นต์ ทยอยสุ่มออกมาตรวจวัดผลการทดลอง ดังนี้

1. คุณภาพของหัวพันธุ์

1.1 การสูญเสียน้ำหนัก ทำโดยการชั่งน้ำหนักเมื่อเริ่มต้นและน้ำหนักในวันที่วัดผล แล้วนำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของหัวพันธุ์ จากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก} = \frac{\text{น้ำหนักเริ่มต้น} - \text{น้ำหนัก ณ วันที่ทำการตรวจผล}}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น}} \times 100$$

1.2 ลักษณะปรากฏภายนอก

1.2.1 พิจารณาการเน่าของหัวพันธุ์ โดยนับจำนวนหัวพันธุ์ที่เกิดเชื้อราหรือเกิดการเน่าเสียหรือมีเส้นใยของเชื้อราปรากฏและประเมินสภาพภายนอกของหัวพันธุ์ในระหว่างการเก็บรักษา

1.2.2 พิจารณาการเหี่ยวของหัวพันธุ์ โดยดูจากสภาพภายนอกของหัวพันธุ์

2. องค์ประกอบทางเคมีของหัวพันธุ์

1.1 ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ วิเคราะห์ตามวิธีการของ Nelson's reducing sugar (Hodge and Hofreiter, 1962) นำหัวพันธุ์ปทุมมาที่แยกส่วนหัว ก้านตุ้มราก และตุ้มราก ออกจากกัน หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนแห้งสนิท นำไปบดให้ละเอียด ชั่งน้ำหนักโดยแยกแต่ละส่วน ส่วนละ 50 มิลลิกรัม ลงในหลอดทดลองขนาด 25×150 มิลลิลิตร เติม ethanol 80 เปอร์เซ็นต์ หลอดละ 20 มิลลิลิตร ปิดปากหลอดทดลองด้วยลูกแก้ว แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง โดยเขย่าทุกๆ 30 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาที่สมบูรณ์ ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ดูดสารละลายที่เจือจางหลอดละ 1 มิลลิลิตร (ทำ blank ควบคู่ไปด้วยโดยใช้น้ำกลั่นแทนสารละลาย) เติม alkaric copper reagent ลงไปหลอดละ 1 มิลลิลิตร นำไปต้มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (98 องศาเซลเซียส) 15 นาที แล้วทิ้งไว้ให้เย็นโดยแช่ในน้ำไหล เติม arsenomolybdic reagent ลงไปหลอดละ 1 มิลลิลิตร เขย่าให้ตะกอนละลาย เติมน้ำกลั่นหลอดละ 7 มิลลิลิตร เขย่าให้สารเข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

อุณหภูมิห้อง 30 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสง (absorbance) ด้วยเครื่องสเปคโตรไฟโต-มิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

1.2 ความเข้มข้นของแป้ง วิเคราะห์ตามวิธีของ tritimetric ของ AOAC (2000)

1.2.1 ชั่งหัวพันธุ์ปทุมมาที่อบแห้งแล้วแยกแต่ละส่วน โดยส่วนหัว และก้านตุ้มรากใช้ 100 มิลลิกรัม ตุ้มรากใช้ 50 มิลลิกรัม ใส่ในหลอดทดลองขนาด 25 × 150 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปต้มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (98 องศาเซลเซียส) นาน 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นโดยแช่หลอดในน้ำไหล เติม $HClO_4$ 60 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 5 มิลลิลิตร อย่างรวดเร็วพร้อมทั้งเขย่าหลอด ทำการเขย่าหลอดเป็นช่วงๆจนครบ 30 นาที รีบเทสารละลายทั้งหมดใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ที่มีน้ำอยู่ เติมสารละลาย uranyl acetate 5 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 3 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำสารละลายบางส่วนไปปั่นเหวี่ยง ที่ 10,000 rpm นาน 15 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำสารละลายส่วนใส 10 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองที่มี celite 100 มิลลิกรัม เติมสารละลาย NaCl 20 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 5 มิลลิลิตร และ I_2-KI จำนวน 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่มืดเป็นเวลา 1 คืน

1.2.2 นำสารละลายที่ตั้งทิ้งไว้ 1 คืน ไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 rpm นาน 15 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วค่อยๆ รินสารละลายส่วนใสทิ้งไป ล้างตะกอนด้วย alc. NaCl 5 มิลลิลิตร เขย่าให้ตะกอนแขวนลอย นำไปปั่นเหวี่ยง ที่ 10,000 rpm นาน 15 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วค่อยๆ รินสารละลายส่วนใสทิ้งไป เติมน้ำยา alc. NaOH 2 มิลลิลิตร (เพื่อให้ตะกอนอัดตัวกัน) เขย่าหลอดเบาๆ จนตะกอนไม่เป็นสีน้ำเงิน ล้างตะกอนด้วย alc. NaCl 5 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 rpm นาน 15 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วค่อยๆ รินสารละลายส่วนใสทิ้งไป ล้างตะกอนด้วย alc. NaCl 5 มิลลิลิตร เขย่าให้ตะกอนแขวนลอยนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 rpm นาน 15 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วค่อยๆ รินสารละลายส่วนใสทิ้งไป จากนั้นถ่ายตะกอนทั้งหมดใส่หลอดขนาด 25×150 มิลลิลิตร เติม HCl 0.7 N จำนวน 2 มิลลิลิตร ปิดปากหลอดด้วยลูกแก้ว นำไปต้มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (98 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง 30 นาที

1.2.3 นำไปแช่ในน้ำให้เย็นแล้วเทสารละลายทั้งหมดลงไปใน volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร เติม phenol red 0.04 เปอร์เซ็นต์ 1 หยด แล้วปรับให้เป็นกลางด้วย NaOH 1 N (สารจะเปลี่ยนสีเป็นสีบานเย็น) เติมสารละลาย oxalic acid 0.1 N ทีละน้อยจนสี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จางหายไป ปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น นำสารละลายจำนวน 5 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง แล้วเติมสารละลาย Somogyi phosphate sugar reagent จำนวน 5 มิลลิลิตร ปิดปากหลอดด้วยลูกแก้ว นำไปต้มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (99.9 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 15 นาที พร้อมด้วย blank (น้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร + Somogyi reagent 5 มิลลิลิตร) และกลูโคส (ใช้ในการหา glucose factor of reagent, G โดยนำสารละลายกลูโคสมาตรฐาน 5 มิลลิลิตร + Somogyi reagent 5 มิลลิลิตร) จากนั้นทำให้เย็น เติม KI 2.5 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 1 มิลลิลิตร ลงข้างหลอดไม่ให้ข้างในกระเทือน แล้วเติม H_2SO_4 1.5 N จำนวน 3 มิลลิลิตร อย่างรวดเร็ว พร้อมเขย่าให้เข้ากัน นำไปไทเทรตด้วย sodium thiosulfate มาตรฐาน 0.005 N เมื่อใกล้ถึง end point (สีเหลืองจาง) เติม starch indicator 1-2 หยดแล้ว titrate ต่อจนถึงจุดยุติ (end point) จะได้สารละลายสีเขียวจางๆ

1.2.4 ทำการคำนวณหาปริมาณแป้งจากสูตรดังนี้

$$\text{ปริมาณแป้ง (กรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง)} = \left[50 (\text{ml blank} - \text{ml sample}) \times \frac{0.9}{\text{mg sample}} \right] \times \frac{N}{0.005} \times G \times 100$$

50 = dilution factor

0.9 = factor glucose to starch

N = ความเข้มข้นของน้ำยา $Na_2S_2O_3$ มาตรฐาน หน่วยเป็น normal

G = มิลลิกรัมกลูโคสที่ทำปฏิกิริยาพอดีกับ $Na_2S_2O_3$ 0.005 N 1 มิลลิลิตร (Pucher *et al.*, 1947)

ต้องหาค่า N ของน้ำยา $Na_2S_2O_3$ ทุกครั้ง โดยเติมน้ำยา KI 2.5 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 1 มิลลิลิตร และ H_2SO_4 1.5 N จำนวน 3 มิลลิลิตร ลงในน้ำยา Somogyi phosphate sugar reagent จำนวน 5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 5 นาทีไทเทรตด้วยน้ำยา $Na_2S_2O_3$ 0.005 N เติม starch indicator เมื่อใกล้จุดยุติ

$$\text{ความเข้มข้นของ } Na_2S_2O_3 \text{ (N)} = \frac{0.01 \times 5}{\text{ml } Na_2S_2O_3 \text{ ที่ใช้ในการไทเทรต}}$$

ค่า G คือ glucose factor of reagent คำนวณได้จากจำนวนมิลลิกรัมของกลูโคส ที่ทำปฏิกิริยาพอดีกับสารละลาย $Na_2S_2O_3$ 0.005 N ในการเตรียมกลูโคสมาตรฐานทำโดยการ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชั่งกลูโคสมาตรฐาน จำนวน 150 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1000 มิลลิลิตร ค่า G หาได้จากสูตร

$$\text{mg glucose equivalent (G)} = \frac{0.75}{\text{ml blank} - \text{ml glucose solution}}$$

(ค่าที่คำนวณได้ควรอยู่ในช่วง 0.05-1 มิลลิกรัมกลูโคสในปริมาตรตัวอย่าง 5 มิลลิลิตร)

3. ลักษณะการเจริญเติบโตของปทุมมา

การทดลองนี้ทำการศึกษาถึงผลกระทบต่อการเจริญเติบโตโดยจะนำหัวพันธุ์ที่เก็บรักษาไว้เป็นระยะต่างๆ มาปลูก ซึ่งในการทดลองนี้จะเริ่มทยอยนำหัวพันธุ์หลังเก็บรักษาออกมาปลูกตั้งแต่เดือนเมษายน พ.ศ. 2548 ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2549 (ตาราง 1)

ตาราง 1 ระยะเวลาที่เก็บรักษาหัวพันธุ์และเดือนที่นำหัวพันธุ์ปทุมมาที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียสไปปลูก

ระยะเวลาที่เก็บรักษา (เดือน)	เดือนที่นำหัวพันธุ์ไปปลูก
1	เมษายน
2	พฤษภาคม
3	มิถุนายน
4	กรกฎาคม
5	สิงหาคม
6	กันยายน
7	ตุลาคม
8	พฤศจิกายน
9	ธันวาคม
10	มกราคม
11	กุมภาพันธ์
12	มีนาคม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.1 การงอกของหัวพันธุ์ที่เก็บรักษาไว้ที่ระยะเวลาต่างๆ นำหัวพันธุ์ปทุมมาออกไปปลูกในถุงดำขนาด 12 × 12 นิ้ว ที่มีดินปลูกซึ่งประกอบด้วยส่วนผสมของดิน : ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1 : 1 แล้วรดน้ำทุกวัน ตรวจนับจำนวนหัวพันธุ์ที่งอกโผล่พ้นดินแล้ว โดยต้นปทุมมามีความสูงประมาณ 1 นิ้ว นำค่าที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การงอก ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การงอก} = \frac{\text{จำนวนหัวพันธุ์ที่งอก}}{\text{จำนวนหัวพันธุ์ทั้งหมด}} \times 100$$

3.2 ระยะเวลาที่ใช้ในการงอก นับจำนวนวันตั้งแต่นำหัวพันธุ์ลงปลูกจนกระทั่งต้นมีความสูงโดยเฉลี่ยเท่ากับ 1 นิ้ว

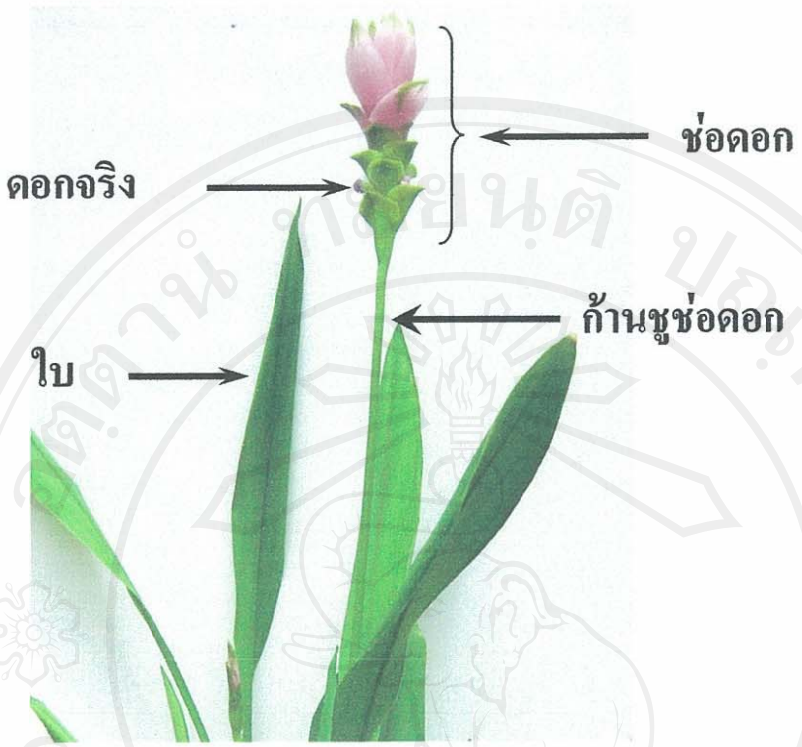
3.3 ระยะเวลาที่ดอกจริงดอกแรกในแต่ละช่อดอกบาน โดยนับวันหลังจากทำการปลูกจนกระทั่งดอกจริงดอกแรกบาน นำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่าเฉลี่ย

3.4 จำนวนดอกจริง นับจำนวนดอกจริงที่เกิดขึ้นในแต่ละช่อดอก แล้วนำมาคำนวณเช่นเดียวกับจำนวนใบ

3.5 จำนวนใบ นับจำนวนใบต่อต้นที่เกิดขึ้นหลังจากต้นปทุมมาที่ปลูกไว้ออกดอกหรือไม่มีใบใหม่เกิดขึ้นอีก นำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่าเฉลี่ย

3.6 ความสูงของต้นปทุมมา โดยทำการวัดความสูงของต้นจากระดับผิวดินจนถึงส่วนปลายของใบที่ยาวที่สุด ทำการวัดเมื่อต้นปทุมมามีความสูงไม่เปลี่ยนแปลงแล้ว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 4 ส่วนต่างๆ ของต้นปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่สีชมพู

การทดลองที่ 2 ศึกษาความเข้มข้นของเชลแลคและไคโตซานที่เหมาะสมในการเคลือบหัวพันธุ์ปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่สีชมพู

โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) แบ่งเป็น 8 กรรมวิธี จำนวน 5 ซ้ำต่อกรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธี ที่ 1 ชุดควบคุม (ไม่เคลือบผิว, control)

กรรมวิธี ที่ 2 เคลือบผิวด้วยเชลแลคความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (shellac 2 %)

กรรมวิธี ที่ 3 เคลือบผิวด้วยเชลแลคความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ (shellac 4 %)

กรรมวิธี ที่ 4 เคลือบผิวด้วยเชลแลคความเข้มข้น 6 เปอร์เซ็นต์ (shellac 6 %)

กรรมวิธี ที่ 5 เคลือบผิวด้วยไคโตซานความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ (chitosan 0.5 %)

กรรมวิธี ที่ 6 เคลือบผิวด้วยไคโตซานความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (chitosan 1 %)

กรรมวิธี ที่ 7 เคลือบผิวด้วยไคโตซานความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (chitosan 1.5 %)

กรรมวิธี ที่ 8 เคลือบผิวด้วยไคโตซานความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (chitosan 2 %)

นำหัวปทุมมาที่ผ่านกรรมวิธีต่างๆของแต่ละการทดลองไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 88 เปอร์เซ็นต์ ระหว่างเก็บรักษาจะนำหัวพันธุ์ออกมาตรวจวัดผล

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองทุกเดือน เป็นเวลา 1 ปี โดยการตรวจวัดผลทำเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 และตรวจวัดข้อมูลเพิ่มเติมดังนี้

1. ลักษณะการเจริญเติบโตของปทุมมา

1.1 จำนวนของหัวพันธุ์ที่เกิดขึ้นใหม่ นับจำนวนหัวพันธุ์ที่เกิดขึ้นใหม่ แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่าเฉลี่ยของจำนวนหัวพันธุ์ที่เกิดขึ้นใหม่ ต่อหัวพันธุ์เดิม 1 หัวพันธุ์

1.2 การเจริญของยอดใหม่ พิจารณาจากการเจริญของตาข้างบริเวณส่วนหัวพันธุ์โดยนับจำนวนหัวพันธุ์ที่มีหน่อสีขาวเกิดขึ้น และมีความยาวของหน่อตั้งแต่ 0.5 เซนติเมตรขึ้นไป แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของหัวพันธุ์การเจริญของตาข้าง

$$\text{เปอร์เซ็นต์หัวพันธุ์ที่มีการเจริญของตาข้าง} = \frac{\text{จำนวนหัวพันธุ์ที่มีหน่อสีขาวเกิดขึ้น} \times 100}{\text{จำนวนหัวพันธุ์ทั้งหมด}}$$

ภาพ 5 การเจริญของตาข้างในหัวพันธุ์ปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่สีชมพู

2. ผลกระทบต่ออัตราการหายใจ

2.1 อัตราการหายใจ ในรูปของปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่อยู่ภายในกล่องพลาสติกที่มีฝาปิด ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น GC-9A โดยใช้ระบบ Thermal conductivity detector (TCD) มีคอลัมน์เป็น Porapak R 80/100 mesh ยาว 1.5 เมตร มีก๊าซ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ฮีเลียมเป็นตัวพา (carrier gas) ซึ่งมีความเร็ว 50 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิของคอลัมน์หรืออุณหภูมิตู้ (oven temperature) เท่ากับ 50 องศาเซลเซียส อุณหภูมิจุดฉีด (injector port) เท่ากับ 80 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของจุดวิเคราะห์ (detector) เท่ากับ 100 องศาเซลเซียส โดยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟต่อพ่วงกับเครื่องบันทึกผลยี่ห้อ Shimadzu รุ่น C-R3A อ่านปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ โดยค่าที่ได้มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์

การวัดอัตราการหายใจในแต่ละกรรมวิธีจะใช้หัวพันธุ์ปทุมมา 9 หัว บรรจุลงในกล่องพลาสติกกล่องละ 3 หัว ปิดฝาให้แน่นเป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดใช้เข็มฉีดยาดูดก๊าซจากภายในกล่องปริมาตร 1 มิลลิลิตรแล้วฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ เพื่อวัดหาปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ได้นำไปคำนวณหาอัตราการหายใจซึ่งได้จากสูตร

$$\text{อัตราการหายใจ (มก. } CO_2\text{/กก.ชม.)} = \frac{(\%CO_2\text{ที่วัดได้จาก GC- } 0.003) \times V\text{ (มล.)} \times A}{100 \times W\text{(กก.)} \times \text{เวลา (ชม.)}} \times \frac{C}{B} \times \frac{E}{(C+D)\ F}$$

V = ปริมาตรของอากาศภายในภาชนะ (มล.)

W = น้ำหนักของหัวพันธุ์ปทุมมา (กก.)

A = น้ำหนักโมเลกุล CO_2 เท่ากับ 44

B = ปริมาตรของก๊าซที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐานเท่ากับ 22.4

C = อุณหภูมิมาตรฐานในหน่วยของเคลวิน (K) เท่ากับ 273°C

D = อุณหภูมิในขณะทำการวัด

E = ความดันบรรยากาศที่เชียงใหม่ เท่ากับ 740 มม. ปรอท

F = ความดันบรรยากาศที่ระดับน้ำทะเล เท่ากับ 760 มม. ปรอท

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved