

### บทที่ 3

#### อุปกรณ์และวิธีการ

##### อุปกรณ์

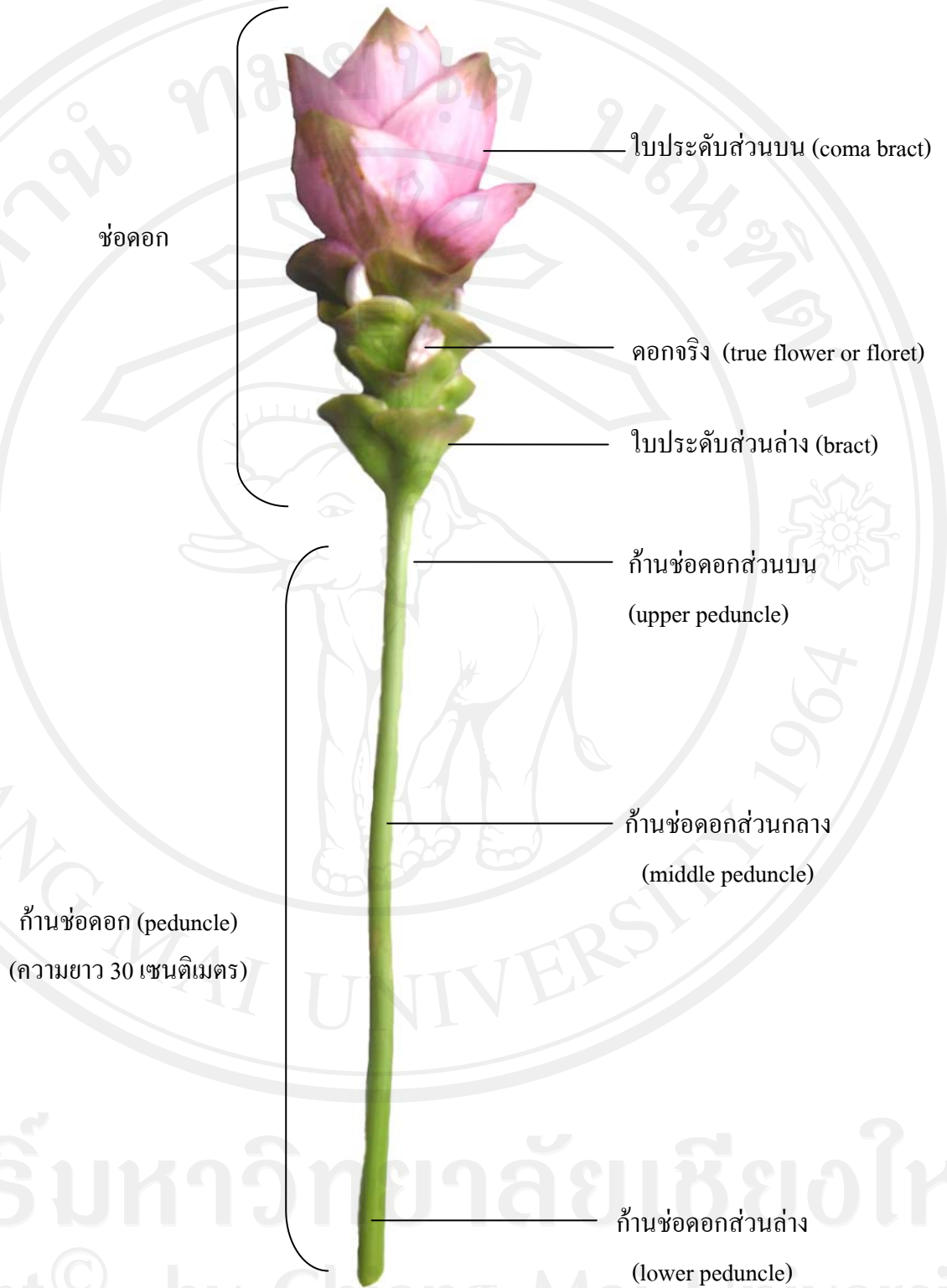
1. เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบทศนิยม 3 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Percisa รุ่น XT 920 M
2. เครื่องวัดสี ยี่ห้อ Hunter Lab รุ่น Miniscan XE Plus
3. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ยี่ห้อ Thermo Scientific รุ่น Genesys 20
4. เครื่องบันทึกข้อมูลอุณหภูมิ (temperature data logger) ยี่ห้อ Today รุ่น 8829
5. กล้องถ่ายรูปดิจิทัล ยี่ห้อ Casio รุ่น EXZ77SR
6. เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ (gas chromatograph)
7. เวอร์เนีย คาลิเปอร์ (vernier caliper) แบบดิจิทัล ยี่ห้อ Mitutoyo รุ่น Digimatic Caliper
8. เครื่องปิเปตอัตโนมัติ (auto pipette) ขนาด 10 มิลลิลิตร ยี่ห้อ NICHIRYO รุ่น Nichipet EX
9. เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-เบส (pH meter) ยี่ห้อ METTLER รุ่น TOLEDO 320
10. กล่องกระดาษลูกฟูก ขนาด 45x80x55 เซนติเมตร
11. เครื่องแก้ว
12. ถังพลาสติกพอลิเอทิลีน กว้าง 5 เซนติเมตร ยาว 8 เซนติเมตร
13. สำลี

##### สารเคมี

กรด 5-ซัลโฟซาลิซิลิก (5-sulfosalicylic acid; 5-SSA) ยี่ห้อ Fuka

##### พืชทดลอง

ดอกปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่สีชมพูจากสวนคุณกฤษณ์ชญา สวัสดิ์ ตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ ขนส่งมายังห้องปฏิบัติการสรีรวิทยาหลังการเก็บเกี่ยว ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ คัดแยกเอาดอกที่มีความสมบูรณ์ ไม่มีตำหนิจากโรคและแมลง แบ่งระยะของดอกตามที่ต้องการ นำมาตัดก้านดอกใต้น้ำสะอาดให้ปลายตัดเฉียงเป็นมุมประมาณ 45 องศา ให้ความยาวก้านช่อดอกจากใบประดับส่วนล่างที่มีสีเขียวใบล่างสุดจนถึงปลายก้านยาวประมาณ 30 เซนติเมตร (ภาพ 3.1)



ภาพ 3.1 ดอกปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่สีชมพูที่ใช้ในการทดลอง

### สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการวิจัยสรีรวิทยาและเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ และห้องปฏิบัติการ สถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวมหาวิทยาลัยเชียงใหม่

### ระยะเวลาทำการทดลอง

เดือนสิงหาคม พ.ศ. 2551 ถึงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2552

### การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของระยะการตัดดอก ระดับความเข้มข้นของสาร 5-SSA และระยะเวลาที่ใช้ในการพัสดิ่งด้วยสาร 5-SSA ต่ออายุการปักแจกันของดอกปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่สีชมพู

จากการศึกษาเบื้องต้นเพื่อคัดเลือกระยะการตัดดอกของดอกปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่สีชมพู ที่มีแนวโน้มที่ดีมาใช้ในการทดลองในงานวิจัยนี้ โดยตัดดอกปทุมมาที่ระยะต่างๆ 5 ระยะ (ภาพภาคผนวก 1) ดังนี้

- |           |  |
|-----------|--|
| ระยะที่ 0 | ใบประดับส่วนบนยังไม่บาน (stage 0)                      |
| ระยะที่ 1 | ดอกจริงยังไม่บาน (ใบประดับส่วนบนบานแล้ว) (stage 1)     |
| ระยะที่ 2 | ดอกจริงบานแล้ว 1 ดอก (ใบประดับส่วนบนบานแล้ว) (stage 2) |
| ระยะที่ 3 | ดอกจริงบานแล้ว 2 ดอก (ใบประดับส่วนบนบานแล้ว) (stage 3) |
| ระยะที่ 4 | ดอกจริงบานแล้ว 3 ดอก (ใบประดับส่วนบนบานแล้ว) (stage 4) |

นำดอกปทุมมาข้างต้น ระยะละ 10 ซ้ำ ไปปักในแจกันที่มีน้ำกลั่น เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นระหว่างการปักแจกันและอายุการปักแจกัน ผลการทดลองพบว่าดอกปทุมมา ระยะที่ 0 มีอายุการปักแจกันนานที่สุดคือ 12.6 วัน รองลงมาคือดอกระยะที่ 1 มีอายุการปักแจกันนาน 10.8 วัน ส่วนดอกระยะที่ 2, 3 และ 4 มีอายุการปักแจกันไม่แตกต่างกันคือ 7.6, 5.8 และ 6.1 วันตามลำดับ ถึงแม้ว่าดอกระยะที่ 0 จะเป็นดอกที่มีอายุการปักแจกันนานที่สุด แต่กลับพบปัญหา คือ ใบประดับส่วนบนซึ่งมีสีชมพูไม่มีการบานเพิ่มขึ้นจากที่เริ่มต้น (ตารางภาคผนวก 1) ดังนั้นจึงคัดเลือกดอกปทุมมาระยะที่ 1 และ 2 มาใช้ในการทดลองนี้ โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลองย่อย ดังนี้

**การทดลองที่ 1.1** ผลของระยะการตัดดอกและความเข้มข้นของสาร 5-SSA ที่ใช้ในการทำพัลซิ่ง โดยพัลซิ่งนาน 6 ชั่วโมง

วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD ปัจจัยที่ศึกษาได้แก่ ปัจจัยที่ 1 ระยะการตัดดอกมี 2 ระดับคือ ระยะที่ดอกจริงยังไม่บาน (stage 1) และระยะที่ดอกจริงบานแล้ว 1 ดอก (stage 2) ปัจจัยที่ 2 คือระดับความเข้มข้นของสาร 5-SSA ที่ใช้ในการทำพัลซิ่งมี 4 ระดับคือ 0, 125, 250 และ 500 ppm (มิลลิกรัมต่อลิตร) แบ่งการทดลองเป็น 8 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 10 ซ้ำ (ตาราง 3.1) วิเคราะห์สถิติโดยใช้โปรแกรม Statistical Package for Social Science (SPSS) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

**ตาราง 3.1** กรรมวิธีต่างๆ ที่ใช้ในการทดลองที่ 1.1

กรรมวิธี	ระยะของดอก	ความเข้มข้น ของสาร 5-SSA (ppm)	ชื่อย่อของกรรมวิธี
T1	ดอกจริงยังไม่บาน	0	Stage 1-0 ppm
T2	ดอกจริงยังไม่บาน	150	Stage 1-125 ppm
T3	ดอกจริงยังไม่บาน	250	Stage 1-250 ppm
T4	ดอกจริงยังไม่บาน	500	Stage 1-500 ppm
T5	ดอกจริงบานแล้ว1ดอก	0	Stage 2-0 ppm
T6	ดอกจริงบานแล้ว1ดอก	150	Stage 2-125 ppm
T7	ดอกจริงบานแล้ว1ดอก	250	Stage 2-250 ppm
T8	ดอกจริงบานแล้ว1ดอก	500	Stage 2-500ppm

นำดอกปทุมมาทั้งสองระยะมาทำพัลซิ่งโดยแช่ปลายก้านช่อดอกในสาร 5-SSA ที่ความเข้มข้นต่างๆ นาน 6 ชั่วโมงแล้วนำมาห่อหุ้มปลายก้านช่อดอกด้วยถุงพลาสติกบรรจุน้ำที่อิ่มตัวด้วยน้ำกลั่น (ภาพ 3.2) ก่อนบรรจุลงในกล่องกระดาษลูกฟูก นำไปเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิ  $20 \pm 2$  องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์  $70 \pm 2$  เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมงเพื่อจำลองการขนส่งไปยังปลายทาง สังเกตการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น



ภาพ 3.2 ก้านช่อดอกปทุมมาที่ห่อหุ้มส่วนปลายด้วยถุงพลาสติกบรรจุสำลีที่อ้อมตัวด้วยน้ำกลั่น

เมื่อครบกำหนดจึงนำดอกปทุมมาแต่ละช่อออกจากถุงพลาสติกแล้วนำไปปักในแจกันที่มีน้ำกลั่น วางไว้ที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์  $80 \pm 2$  เปอร์เซ็นต์ เพื่อศึกษาหาอายุการปักแจกันและการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ที่เกิดขึ้น ดังนี้

### 1. อายุการปักแจกัน

นับอายุปักแจกันเริ่มตั้งแต่วันที่นำออกมาจากห้องเย็นแล้วนำมาปักแจกันจนกระทั่งช่อดอกปทุมมาเสื่อมสภาพหรือหมดอายุการใช้งาน โดยมีเกณฑ์การพิจารณาดังนี้ (เรืองวิทย์, 2547)

- ใบประดับส่วนบนหรือกลีบประดับสีชมพู (coma bract) มีอาการแห้ง บริเวณปลายใบเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาล หรือสีผิวดำเกินไปจากเดิมกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ หรือแสดงอาการเหี่ยวมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์
- ใบประดับส่วนล่างหรือกลีบประดับสีเขียว (bract) มีอาการแห้ง หรือเปลี่ยนเป็นสีเหลืองถึงสีน้ำตาลเกิน 1 ใน 3 ของแต่ละใบจำนวน 3-5 ใบ
- ก้านช่อดอกลีบมากจนไม่สามารถรับน้ำหนักช่อดอก ทำให้ก้านช่อดอกหักหรือโค้งงอหรือก้านช่อดอกเปลี่ยนเป็นสีเหลือง

หมายเหตุ ช่อดอกที่แสดงอาการใดอาการหนึ่งหรือทั้ง 3 กรณี ถือว่าหมดอายุการปักแจกัน

(ภาพ 3.3)



ภาพ 3.3 ช่อดอกปทุมมาที่หมดอายุการปักแจกัน

**2. จำนวนดอกจริงที่บานเพิ่ม**

นับจำนวนดอกจริงที่บานเพิ่มในแต่ละวันจนกระทั่งดอกปทุมมาสิ้นอายุการปักแจกัน

**3. การลิบแบนของก้านช่อดอก**

วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของก้านช่อดอก เพื่อประเมินการลิบแบนของก้านช่อดอก ด้วยเวอร์เนียคาลิเปอร์ (vernier caliper) แบบดิจิตอล ยี่ห้อ Mitutoyo รุ่น Digimatic Caliper โดยวัดก้านช่อดอกส่วนบนบริเวณที่ติดกับใบประดับส่วนล่าง (ภาพ 3.4) ซึ่งเป็นบริเวณที่มีจำนวนปากใบ (stomata) มากกว่าส่วนอื่นของก้านช่อดอก (วรรณิสา, 2553) จึงทำให้บริเวณนี้เกิดการสูญเสียน้ำมากที่สุดและเกิดการลิบแบนบริเวณนี้เร็วกว่าส่วนอื่นๆ ของก้านช่อดอก



ภาพ 3.4 ตำแหน่งและการวัดการลึบแบนของก้านช่อดอกโดยใช้เวอร์เนีย คาลิเปอร์

#### 4. การเปลี่ยนแปลงสีของใบประดับส่วนบน (coma bract)

วัดสีของใบประดับส่วนบน ด้วยเครื่องวัดสี ยี่ห้อ Hunter Lab รุ่น Miniscan XE Plus โดยวัดที่บริเวณกลางใบประดับสีชมพูจำนวน 2 ใบตรงข้ามกัน และวัดที่บริเวณตำแหน่งเดิมซ้ำทุกครั้งที่ทำ การตรวจวัดผล ค่าที่ได้แสดงออกมาในรูปค่า  $L^*$ ,  $a^*$  และ  $b^*$  (ภาพ 3.5)

$L^*$  = The lightness factor (value)

ค่า  $L^*$  มีค่าเข้าใกล้ 0 หมายถึงวัตถุมีสีคล้ำ หากมีค่าเข้าใกล้ 100 หมายถึงวัตถุมีสีใส

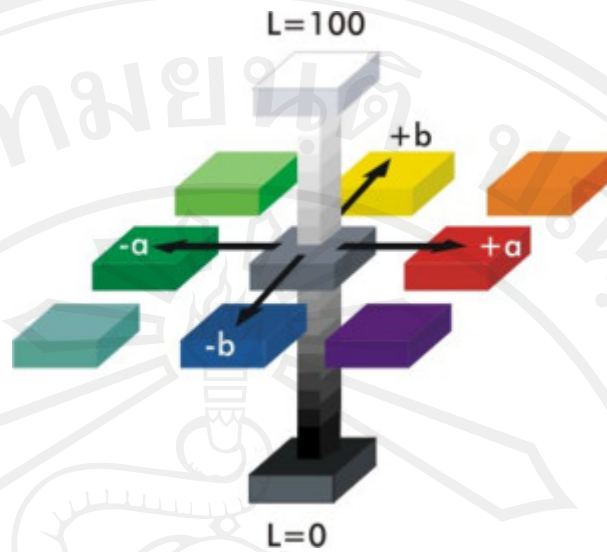
$a^*$ ,  $b^*$  = The chromaticity coordinates (hue, chroma)

ค่า  $a^*$  มีค่าเป็นบวกหมายถึงวัตถุมีสีแดง มีค่าติดลบหมายถึงวัตถุมีสีเขียว

ค่า  $b^*$  มีค่าเป็นบวกหมายถึงวัตถุมีสีเหลือง มีค่าติดลบหมายถึงวัตถุมีสีน้ำเงิน

ค่า  $a^*$  และค่า  $b^*$  มีค่าตั้งแต่ -60 ถึง +60

ทั้ง ค่า  $a^*$  และค่า  $b^*$  มีค่าเป็น 0 หมายถึงวัตถุเป็นสีขาว



ภาพ 3.5 แผนภูมิแสดงความหมายของค่าสีที่วัดได้จากเครื่องวัดสี

เนื่องจากใบประดับส่วนบนของดอกปทุมมามีสีชมพู ดังนั้นค่าที่วัดได้ในการทดลองนี้จึงแสดงเฉพาะในส่วนของค่า  $L^*$  และ  $a^*$

#### 5. อัตราการดูดน้ำและการคายน้ำ

อัตราการดูดน้ำคำนวณจากการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักขวดและน้ำในขวดที่เปลี่ยนแปลงไปเปรียบเทียบกับน้ำหนักในวันเริ่มต้น มีหน่วยเป็นมิลลิลิตร/ช่อดอก/วัน โดยมีสูตรการคำนวณ ดังนี้

$$\text{อัตราการดูดน้ำในวันที่ } n = \frac{\text{น้ำหนักรวมในวันเริ่มต้น} - \text{น้ำหนักรวมในวันที่ } n}{n}$$

อัตราการคายน้ำคำนวณได้จากการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักรวม (ช่อดอก, ขวดแก้ว และน้ำ) ที่เปลี่ยนแปลงไปเปรียบเทียบกับน้ำหนักในวันเริ่มต้น มีหน่วยเป็นมิลลิลิตร/ช่อดอก/วัน โดยมีสูตรการคำนวณดังนี้

$$\text{อัตราการคายในวันที่ } n = \frac{(\text{น้ำหนักรวม+น้ำวันเริ่มต้น}) - (\text{น้ำหนักรวม+น้ำวันที่ } n)}{n}$$



## 6. ปริมาณน้ำที่ถูกดูดใช้สะสม ปริมาณน้ำที่หายไปสะสม และส่วนต่างของปริมาณน้ำที่ถูกดูดใช้สะสมกับปริมาณน้ำที่หายไปสะสม

- ปริมาณน้ำที่ถูกดูดใช้สะสม คำนวณจากผลต่างของน้ำหนักรวม (ช่อดอก, ขวดแก้ว และน้ำ) ในวันเริ่มต้นเทียบกับน้ำหนักรวมในวันต่างๆ ที่ทำการทดลอง
- ปริมาณน้ำที่หายไปสะสมคำนวณจากผลต่างของน้ำหนักน้ำในขวด (ขวดแก้ว และน้ำ) ในวันเริ่มต้นเทียบกับน้ำหนักน้ำในขวดในวันต่างๆ ที่ทำการทดลอง
- ส่วนต่างของปริมาณน้ำที่ถูกดูดใช้สะสมกับปริมาณน้ำที่หายไปสะสม คำนวณได้จาก ผลต่างของปริมาณน้ำที่ถูกดูดใช้สะสมกับปริมาณน้ำที่หายไปสะสมในวันเดียวกัน

## 7. การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักสด

บันทึกน้ำหนักช่อดอกปทุมมาตั้งแต่เริ่มการทดลอง จนกระทั่งช่อดอกหมดอายุการปักแจกัน น้ำค้ำที่บันทึกมาคำนวณการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักสดของช่อดอกระหว่างปักแจกันเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยให้น้ำหนักเริ่มต้นเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์

$$\text{การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักสด (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักสดในวันที่ } n}{\text{น้ำหนักสดเริ่มต้น}} \times 100$$

**การทดลองที่ 1.2** ผลของระยะการตัดดอกและระดับความเข้มข้นของสาร 5-SSA ที่ใช้ในการทำพัลซิ่ง โดยพัลซิ่งนาน 12 ชั่วโมง

วางแผนการทดลองและบันทึกผลการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1 แต่เพิ่มระยะเวลาที่ใช้ในการพัลซิ่งจาก 6 ชั่วโมง เป็น 12 ชั่วโมง

**การทดลองที่ 1.3** ผลของระยะการตัดดอกและผลของการเพิ่มระดับความเข้มข้นของสาร 5-SSA ที่ใช้ในการทำพัลซิ่ง ต่ออายุการปักแจกันของดอกปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่สีชมพู

จากการทดลองที่ 1.1 และ 1.2 ได้ข้อสรุปว่าการพัลซิ่งดอกปทุมมาด้วยสาร 5-SSA ที่ความเข้มข้น 125, 250 และ 500 ppm นาน 12 ชั่วโมง ไม่สามารถยืดอายุการปักแจกันของดอกปทุมมา ให้นานกว่าชุดควบคุมที่ใช้ดอกระยะเดียวกันได้ ในขณะที่การพัลซิ่งที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันแต่ใช้เวลาในการพัลซิ่งนาน 6 ชั่วโมง มีผลให้ดอกทั้งสองระยะมีอายุปักแจกันนานกว่าชุดควบคุม ดังนั้นการทดลองที่ 1.3 นี้จึงทำการทดลองเพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมกับดอกปทุมมาระยะที่ 1 และ 2 ด้วยการเพิ่มความเข้มข้นของสาร 5-SSA ที่ใช้ในการพัลซิ่ง โดยระยะเวลาที่ใช้ในการพัลซิ่งคือ 6 ชั่วโมง

ทำการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1 วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD ปัจจัยที่ศึกษาได้แก่ ระยะการตัดดอกและระดับความเข้มข้นของสาร 5-SSA ในการทำพัลซิ่ง โดยเพิ่มความเข้มข้นของสาร 5-SSA เป็น 6 ระดับคือ 0, 500, 750, 1,000, 1,500 และ 2,000 ppm แบ่งการทดลองเป็น 12 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 10 ซ้ำ (ตาราง 3.2) วิเคราะห์สถิติด้วยโปรแกรม SPSS ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตาราง 3.2 กรรมวิธีต่างๆ ที่ใช้ในการทดลองที่ 1.3

กรรมวิธี	ระยะของดอก	ความเข้มข้นของสาร 5-SSA (ppm)	ชื่อย่อของกรรมวิธี
T1	ดอกจริงยังไม่บาน	0	Stage 1-0 ppm
T2	ดอกจริงยังไม่บาน	500	Stage 1-500 ppm
T3	ดอกจริงยังไม่บาน	750	Stage 1-750 ppm
T4	ดอกจริงยังไม่บาน	1000	Stage 1-1000 ppm
T5	ดอกจริงยังไม่บาน	1500	Stage 1-1500 ppm
T6	ดอกจริงยังไม่บาน	2000	Stage 1-2000 ppm
T7	ดอกจริงบานแล้ว1ดอก	0	Stage 2-0 ppm
T8	ดอกจริงบานแล้ว1ดอก	500	Stage 2-500 ppm
T9	ดอกจริงบานแล้ว1ดอก	750	Stage 2-750 ppm
T10	ดอกจริงบานแล้ว1ดอก	1000	Stage 2-1000 ppm
T11	ดอกจริงบานแล้ว1ดอก	1500	Stage 2-1500 ppm
T12	ดอกจริงบานแล้ว1ดอก	2000	Stage 2-2000 ppm

ทำการบันทึกผลการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1

## การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของน้ำยาปักแจกันต่ออายุการปักแจกันของดอกปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่ สีส้มพู่ที่ผ่านการพัลซิ่ง

**การทดลองที่ 2.1** ผลของน้ำยาปักแจกันต่ออายุการปักแจกันของดอกปทุมมาที่ผ่านการพัลซิ่งด้วย สาร 5-SSA ความเข้มข้น 1,000 ppm นาน 6 ชั่วโมง

จากผลการทดลองที่ 1 ได้ข้อสรุปว่า ระยะการตัดดอกปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่สีชมพูที่เหมาะสมคือระยะที่ดอกจริงยังไม่บาน (ระยะที่ 1) ส่วนความเข้มข้นของสาร 5-SSA ที่ใช้เป็นน้ำยาพัลซิ่งที่เหมาะสมคือ 1,000 ppm และระยะเวลาที่ใช้ในการพัลซิ่งที่เหมาะสมคือ 6 ชั่วโมง จึงนำมาใช้ทำการทดลองต่อเนื่องเพื่อหาสูตรน้ำยาปักแจกันที่เหมาะสม โดยนำดอกปทุมมาระยะที่ 1 มาทำการพัลซิ่งด้วยสาร 5-SSA ความเข้มข้น 1,000 ppm นาน 6 ชั่วโมง แล้วจึงนำมาทำการทดลองต่อโดยวางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD ปัจจัยที่ศึกษาได้แก่ ความเข้มข้นของสาร 5-SSA 5 ระดับ คือ 0, 50, 100, 250 และ 500 ppm กับการใช้น้ำตาลซูโครส 2 ระดับ คือ 0 และ 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นส่วนผสมในน้ำยาปักแจกัน รวมเป็น 10 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 10 ซ้ำ (ตาราง 3.3) วิเคราะห์สถิติด้วยโปรแกรม SPSS ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตาราง 3.3 กรรมวิธีต่างๆที่ใช้ในการทดลองที่ 2.1

กรรมวิธี	น้ำยาปักแจกัน		ชื่อย่อของกรรมวิธี
	5-SSA (ppm)	Sucrose (%)	
T1	0	0	Control
T2	0	2	2 % Su
T3	50	0	50 ppm
T4	50	2	50 ppm + 2 % Su
T5	100	0	100 ppm
T6	100	2	100 ppm + 2 % Su
T7	250	0	250 ppm
T8	250	2	250 ppm + 2 % Su
T9	500	0	500 ppm
T10	500	2	500 ppm + 2 % Su

บันทึกผลการทดลองดังต่อไปนี้

### 1. อายุการปักแจกัน

ทำการบันทึกอายุการปักแจกัน โดยใช้วิธีการบันทึกผลเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1

### 2. ปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำยาปักแจกัน

นำน้ำยาในแจกันจากแต่ละกรรมวิธีมา 5 มิลลิลิตร เพื่อนำไปวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ยี่ห้อ Thermo Scientific รุ่น Genesys 20 ที่ความยาวคลื่น 600, 650 และ 700 นาโนเมตร โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของน้ำในแจกันในวันแรกก่อนนำดอกปทุมมาปักแจกัน และวันสุดท้ายที่ดอกในแจกันหมดอายุการปักแจกัน ค่าที่วัดได้มีค่ามากแสดงว่าการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในน้ำยาปักแจกันมาก

### 3. ค่าความเป็นกรด-เบส หรือค่า pH ของน้ำยาปักแจกัน

วัดค่า pH ของน้ำยาปักแจกันของแต่ละกรรมวิธีด้วยเครื่องวัดความเป็นกรด-เบส หรือค่า pH (pH Meter) ยี่ห้อ METTLER รุ่น TOLEDO 320 โดยวัดในวันแรกก่อนนำดอกมาปักแจกัน และวันสุดท้ายที่ดอกในแจกันหมดอายุการปักแจกัน

**การทดลองที่ 2.2** อัตราการหายใจและอัตราการผลิตก๊าซเอทิลีนของดอกปทุมมาที่ผ่านการพัลซึ่งด้วยสาร 5-SSA ความเข้มข้น 1,000 ppm นาน 6 ชั่วโมง แล้วนำมาปักในน้ำยาปักแจกันสูตรต่างๆ

จากการทดลองที่ 2.1 พบว่าชุดการทดลองที่ปักในแจกันที่มีส่วนผสมของสาร 5-SSA ร่วมกับการใช้หรือไม่ใช้น้ำตาลซูโครส 2 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้ดอกปทุมมาระยะที่ 1 มีอายุการปักแจกันสั้นกว่าชุดควบคุมที่ปักในแจกันที่มีน้ำกลั่น การทดลองนี้จึงเลือกเฉพาะกรรมวิธีที่น่าสนใจมาศึกษาหาสาเหตุที่ทำให้ดอกปทุมมามีอายุการปักแจกันสั้นลง โดยทำการวัดอัตราการหายใจและอัตราการก๊าซผลิตเอทิลีน เปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ 1 และ 2 (T1 และ T2) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 6 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 10 ซ้ำ (ตาราง 3.4) วิเคราะห์สถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตาราง 3.4 กรรมวิธีต่างๆ ที่ใช้ในการทดลองที่ 2.2

กรรมวิธี	น้ำยา พัลซิง (5-SSA)	น้ำยาปักแจกัน		ชื่อย่อของกรรมวิธี
		5-SSA (ppm)	Sucrose (%)	
T1	Non-pulsing	0	0	Control
T2	Distilled water	0	0	DW
T3	1000 ppm	0	0	P1000-DW
T4	1000 ppm	50	0	P1000-50
T5	1000 ppm	50	2	P1000-50+2%
T6	1000 ppm	0	2	P1000-2%

บันทึกผลการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.1 แต่เพิ่มการวัดผลการทดลองดังต่อไปนี้

#### 1. อัตราการหายใจของช่อดอก

ทำการวัดการเปลี่ยนแปลงอัตราการหายใจ โดยนำช่อดอกปทุมมาใส่ใน respiration chamber เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดใช้เข็มฉีดยาคูดักก๊าซปริมาตร 25 มิลลิลิตร จำนวน 3 ชั่ว แล้วฉีดเข้าเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟ (gas chromatograph) ที่ใช้ thermal conductivity detector (TCD) จัดสถานะที่ใช้ในการวิเคราะห์ดังนี้

- Carrier gas ใช้ก๊าซฮีเลียม ที่มีอัตราการไหลของก๊าซ 50 มิลลิลิตร/นาที
- อุณหภูมิของ column oven 50°C, injector 80°C และ detector 100 °C
- กระแสไฟที่ใช้จ่ายเลี้ยง detector 150 mA

ค่าที่ได้จากเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟ คือปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ นำค่าที่ได้มาคำนวณหาอัตราการหายใจ มีหน่วยเป็น มิลลิกรัมคาร์บอนไดออกไซด์/กิโลกรัม/ชั่วโมง (mgCO<sub>2</sub>/kg.h) ได้จากสูตร

$$\text{Respiration rate} = \frac{(\% \text{CO}_2 \text{ ที่วัดได้จาก GC}) \times V(\text{ml}) \times A \times C}{100 \times W(\text{kg}) \times \text{เวลา (h)} \times B \times (C+D)}$$

V = ปริมาตรของอากาศภายในภาชนะ (มิลลิลิตร)

W = น้ำหนักของช่อดอกปทุมมา (กิโลกรัม)

A = น้ำหนักโมเลกุล CO<sub>2</sub> เท่ากับ 44

B = ปริมาตรของก๊าซที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐานเท่ากับ 22.4

C = อุณหภูมิมาตรฐานในหน่วยขององศาเคลวิน (°K) เท่ากับ 273 องศาเซลเซียส (°C)

D = อุณหภูมิในขณะที่ทำการวัด (°C)

## 2. อัตราการผลิตเอทิลีน

วัดอัตราการผลิตเอทิลีนด้วยเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟ ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น GA14B โดยใช้ flame ionization detector (FID) มีคอลัมน์เป็น Porapack N80/100 จัดสภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ ดังนี้

- Carrier gas ใช้ก๊าซไนโตรเจนเป็นตัวพา ซึ่งมีความเร็ว (flow rate) 70 มิลลิเมตรต่อนาที
- อุณหภูมิของคอลัมน์ (oven temperature) 55 องศาเซลเซียส อุณหภูมิจุดฉีด (injector temperature) 150 องศาเซลเซียส

นำช่อดอกปทุมมาใส่ใน respiration chamber เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดใช้เข็มฉีดยาดูดก๊าซปริมาตร 1 มิลลิลิตร จำนวน 3 ซ้ำ แล้วฉีดเข้าเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟเพื่อวัดหาปริมาณก๊าซเอทิลีน นำมาคำนวณหาอัตราการสร้างก๊าซเอทิลีนซึ่งมีหน่วยเป็น ไมโครลิตรของเอทิลีน/กิโลกรัม/ชั่วโมง ( $\mu\text{l C}_2\text{H}_4 / \text{kg.h}$ ) โดยใช้สูตร

$$\text{Ethylene production rate} = \frac{\text{free volume container (l)} \times \text{ppm ethylene measured}}{\text{sample weight (kg)} \times \text{sealed time (h)}}$$