แบบฟอร์มรายงานเรื่องเต็ม ผลการทดลองสิ้นสุดปีงบประมาณ 2557

1. ชื่อแผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาชาน้ำมัน

2. ชื่อโครงการวิจัย เทคโนโลยีการผลิตชาน้ำมัน

ชื่อกิจกรรม เทคโนโลยีการผลิตชาน้ำมัน

3. ชื่อการทดลอง การเจริญเติบโต การออกดอกติดผลและการพัฒนาของผลชาน้ำมันในภาคเหนือตอนบน

Growth Flowering Fruit Setting and Fruit Development of Oil Tea in the Northern Region

4. คณะผู้ดำเนินงาน นิพัฒน์ สุขวิบูลย์[1/] ศิริพร มะเจี่ยว[1/]

สมพล นิลเวศน์[2/] ทิวาพร ผดุง[3/]

5. บทคัดย่อ

ชาน้ำมัน (*Camellia oleifera* Abel) มีถิ่นกำเนิดและปลูกในสาธารณรัฐประชาชน ได้นำมาปลูกในประเทศไทยมากกว่า 4,000 ไร่ตั้งแต่ปี 2548 เป็นต้นมาการศึกษาพัฒนาการของใบการออกดอกติดผลและการพัฒนาของผลชาน้ำมันในภาคเหนือตอนบนเพื่อใช้แนะนำเกษตรกรและเป็นแนวทางวิจัยพัฒนาการปลูกชาน้ำมัน ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยเกษตรหลวง (โป่งน้อย) เชียงใหม่ อ. แม่วาง จ. เชียงใหม่ ระหว่าง ปี 2556-2557 โดยใช้ต้นชาน้ำมันพันธุ์อินทนนท์ C-O-E หูหนาน #1 และกวางสี #2 พันธุ์ละ 10 ต้นจากการศึกษาพบว่า ความกว้างและความยาวของใบเพิ่มขึ้นแบบ simple sigmoid curve ใช้เวลาเฉลี่ย 28.5 วันจนใบขยายใหญ่เต็มที่ การเปลี่ยนแปลงค่า Fv/Fmratioและ SPAD unit ของใบในรอบปีไม่แตกต่างกันและทิศทางการเปลี่ยนแปลงไม่แน่นอนจึงอาจสรุปได้ว่าปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบและความเครียดของพืชไม่ใช่ปัจจัยหลักควบคุมในการการออกดอกของชาน้ำมัน ปริมาณ TNC ในใบเริ่มลดลงจากเดือนมกราคมจนถึงพฤษภาคมแล้วเพิ่มขึ้นตามลำดับจนถึงเดือนตุลาคม ในขณะที่ปริมาณ TN ในใบมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณในรอบปีน้อยมาก ปริมาณ TNC ในใบจึงอาจเป็นปัจจัยหนึ่งในการควบคุมการออกดอกของชาน้ำมัน การติดผลค่อนข้างต่ำโดยพันธุ์ C-O-E หูหนาน#1 และกวางสี #2 ติดผลเฉลี่ย20.93 23.68 และ 22.00% ตามลำดับน้ำหนักเมล็ด น้ำหนักเปลือกและน้ำหนักผลแต่ละพันธุ์แตกต่างกันและการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักเป็นแบบ simple sigmoid curveซึ่งใช้เวลา 8-9 เดือนพัฒนาจนผลแก่เต็มที่ ผลพันธุ์ C-O-E หูหนาน#1 และกวางสี#2มีจำนวนเมล็ด4.80 3.87 และ 4.33 เมล็ด/ผล ตามลำดับ

6. คำนำ

ชาน้ำมัน (*Camellia oleifera*Abel) มีแหล่งกำเนิดในสาธารณรัฐประชาชนจีนและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ปลูกเป็นการค้าแถบมณฑลตอนใต้สาธารณรัฐประชาชนจีน เช่น หูหนาน กวางตุ้ง กวางสีและฟูเจียน ต้นเป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก ไม่ผลัดใบ มีใบเดี่ยวรีแกมรูปไข่ ปลายใบแหลมมน ขอบใบหยักเป็นฟันเลื่อย ออกดอกกลีบดอกสีขาวตามซอกใบ ผลทรงกลม เมื่อแก่เต็มที่จะแตกเป็นแฉก ในแต่ละแฉกมีเมล็ดอยู่ภายในซึ่งใช้สกัดเป็นน้ำมันได้ น้ำมันเมล็ดชามีสรรพคุณใกล้เคียงกับน้ำมันมะกอก จึงได้รับสมญานามว่า “น้ำมันมะกอกแห่งตะวันออก” คือ สามารถนำมาประกอบอาหารหรือใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางได้ นอกจากนี้ยังมีสรรพคุณทางยา คือ สร้างภูมิคุ้มกัน ลดความเสี่ยงโรคหัวใจ หลอดเลือด มะเร็งและเบาหวาน

เมื่อปี 2548 มูลนิธิชัยพัฒนาได้ร่วมกับโครงการพัฒนาดอยตุงสนับสนุนให้เกษตรกรปลูกชาน้ำมันในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งได้รับเมล็ดพันธุ์จากสาธารณรัฐประชาชนจีนมาเพาะและปลูกมากกว่า 4,000 ไร่ เช่น บริเวณโครงการพัฒนาดอยตุง บ้านปางมะหัน บ้านปูนะ อ. แม่ฟ้าหลวง จ. เชียงราย เพื่อผลิตและจำหน่ายผลผลิตให้โรงงานของศูนย์วิจัยและพัฒนาชาน้ำมัน ซึ่งตั้งอยู่ที่ อ. แม่สาย จ. เชียงราย ซึ่งตั้งขึ้นเพื่อวิจัยและผลิตน้ำมันจากชาน้ำมันและพืชน้ำมันอื่นได้ตลอดปีนอกจากนี้ยังร่วมกับสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1รับรองแหล่งผลิตตามระบบจัดการคุณภาพGAP พืช

การปลูกชาน้ำมันในปัจจุบันมักประสบปัญหาการเจริญเติบโตช้าและติดผลหรือผลผลิตต่ำ นอกจากนี้ยังทยอยออกดอกติดผลหลายรุ่น ทำให้เกษตรกรต่อการปฏิบัติดูแลรักษาและใช้แรงงานงานเก็บเกี่ยวผลผลิตสูง การศึกษาการเจริญเติบโตการออกดอกติดผลและการพัฒนาของผลชาน้ำมันที่ปลูกในภาคเหนือตอนบนจะทำให้ทราบข้อมูลปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการ

เจริญเติบโตและพัฒนาการของชาน้ำมันสำหรับให้คำแนะนำในการปฏิบัติดูแลรักษาแก่เกษตรกรผู้ปลูกชาน้ำมันอย่างถูกต้องเหมาะสม ตลอดจนใช้เป็นแนวทางสำหรับวางแผนงานวิจัยเพิ่มผลผลิตและคุณภาพชาน้ำมันต่อไป

[1/]สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 1 กรมวิชาการเกษตร

[2/]ศูนย์วิจัยพืชสวนตรัง สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร

[3/]สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

7. วิธีดำเนินการและอุปกรณ์

7.1 อุปกรณ์ที่ใช้ทดลอง

1. ต้นชาน้ำมันอายุ 8-10 ปี จำนวน 5 พันธุ์ คืออินทนนท์ ทนร้อน C-O-E หูหนาน #1 และกวางสี #2 พันธุ์ละ10 ต้น (ภาพที่ 1)

ก ข

ภาพที่ 1 ต้นชาน้ำมันพันธุ์หูหนาน #1 (ก) และพันธุ์ทนร้อน (ข)

2. ปุ๋ยคอกเช่น ขี้วัว และปุ๋ยเคมี เช่น สูตร46-0-00-60-0 และ0-0-60
3. สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช
   -สารฆ่าแมลง เช่น คาร์บาริลและไซเพอร์มิทริน
   -สารป้องกันกำจัดโรคพืช เช่น โปรครอราซ เมทาแลกซิลและคาร์เบนดาซิม
4. วัสดุ-อุปกรณ์อื่นๆ เช่น กรรไกรตัดแต่งกิ่งและถุงกระดาษสีน้ำตาล
5. สารเคมีและอุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณ Total nonstructural carbohydrate (TNC) และปริมาณ Total carbohydrate (TN) เช่น H_2SO_4, Nelson's reagent A, Nelson's reagent B, Arsenomolybdic acid reagent, hot air oven, water bath, fine grinder และ spectrophotometer
6. เครื่อง Plant Efficiency Analyzer (PEA; Hansitech, England) สำหรับวัดค่าประสิทธิภาพของคลอโรฟิลล์ในใบ (chlorophyll fluorescence, Fv/Fm ratio) (ภาพที่ 2ก)
7. เครื่องวัดความเขียวของใบ Chlorophyll meter (SPAD-502; Minolta Co. Ltd., Japan) สำหรับวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบ (leaf chlorophyll content) (ภาพที่ 2ข)

ก

ข

ภาพที่ 2 เครื่องเครื่อง Plant Efficiency analyzer (ก) และ Chlorophyll meter (ข)

7.2 วิธีดำเนินการ

แบบการทดลอง

ไม่มีการวางแผนการทดลอง

วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. ปฏิบัติดูแลรักษาต้นทดลอง
   - ใส่ปุ๋ยคอกอัตรา 5-10 กิโลกรัม/ต้น/ปี
   - ใส่ปุ๋ยเคมีที่มีสัดส่วนN: P: K =5:3:4 อัตรา 0.5-1.0 กิโลกรัม/ต้น/ปี
   - ให้น้ำด้วยระบบสปริงเกลอร์ทุกสัปดาห์ในช่วงฤดูแล้ง
   - ป้องกันกำจัดศัตรูพืช เช่น โรคราน้ำค้าง โรคแอนแทรคโนส หนอนคืบและด้วงกัดกินใบ

2. สุ่มหมายใบที่แตกใหม่รอบทรงพุ่มจำนวน 10 ใบต่อต้น จำนวน 5 ต้น วัดความกว้างและความยาวของใบที่เพิ่มขึ้นทุก 5 วัน จนใบมีขนาดคงที่ไม่เพิ่มขึ้น

3. วัดค่าประสิทธิภาพคลอโรฟิลล์ในใบ (Fv/Fm ratio) ซึ่งบ่งชี้สภาวะเครียดของต้นพืชที่อาจเกิดจากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น อุณหภูมิต่ำและขาดธาตุอาหารบางชนิด โดยสุ่มหมายใบที่แก่รอบทรงพุ่มจำนวน 10 ใบต่อต้น จำนวน 5 ต้น วัดค่า Fv/Fm ratio ที่ด้านบนของใบเดิมทุก 2 สัปดาห์ด้วยเครื่อง Plant Efficiency Analyzer โดยใช้ตัวหนีบจับที่ใบระหว่างขอบและเส้นกลางใบไม่ให้ได้รับแสงประมาณ 30 นาที (dark adaptation) ก่อนวัดค่า Fv/Fm ratio (ภาพที่ 3ก)

4. วัดค่าความเขียวของใบด้วยเครื่อง Chlorophyll meter โดยสุ่มหมายใบที่แก่รอบทรงพุ่มจำนวน 10 ใบต่อต้น จำนวน 5 ต้น วัดค่า SPAD ที่ด้านบนระหว่างขอบใบและเส้นกลางใบของใบเดิมทุก 7 วัน (ภาพที่ 3ข) อ่านค่าความเขียวของใบที่มีหน่วยเป็น SPAD unit

ก ข

ภาพที่ 3 การใช้ตัวหนีบก่อนวัดค่า Fv/Fm ratio (ก) และการวัดความเขียวของใบ (ข)

5. บันทึกปริมาณ TNC และ TN ในรอบปีของใบชาน้ำมัน 5 พันธุ์ โดยทุกเดือนสุ่มเก็บตัวอย่างใบที่แก่รอบทรงพุ่ม จำนวน 20 ใบต่อพันธุ์ บรรจุตัวอย่างใบในถุงกระดาษสีน้ำตาลและนำมายังห้องปฏิบัติการสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 1 ล้างทำความสะอาดใบด้วยน้ำกลั่น 1-2 ครั้ง บรรจุตัวอย่างใบในถุงกระดาษสีน้ำตาลและอบในตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 60°ซ นาน 2 วันหรือจนใบมีน้ำหนักแห้งคงที่ จากนั้นจึงบดตัวอย่างใบแห้งให้ละเอียดก่อนใส่ในซองกระดาษสีน้ำตาลที่ปิดสนิท เก็บรักษาตัวอย่างไว้ในโถแก้วดูดความชื้นที่อุณหภูมิห้องเพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

เมื่อต้องการวิเคราะห์จึงชั่งน้ำหนักตัวอย่างใบที่บดแล้ว โดยแบ่งตัวอย่างใบเป็นสองส่วน คือส่วนหนึ่งนำไปวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนรวม (Total nitrogen; TN) (ตามขั้นตอนภาคผนวกที่ 1) โดยกลั่นตามวิธีของจักรพงษ์และคณะ (2536) ที่ห้องปฏิบัติการสำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตการเกษตร อีกส่วนหนึ่งนำวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้าง (Total nonstructural carbohydrate; TNC) โดยการสกัดตามวิธีของ Smith (1969) แล้ววิเคราะห์ปริมาณ TNC ด้วยวิธี Nelson’s reducing procedure (Hodge and Hofriter, 1982) (ตามขั้นตอนภาคผนวกที่ 2) ที่ห้องปฏิบัติการสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 1

6. บันทึกการติดผลของชาน้ำมัน 3 พันธุ์ คือ C-O-E หูหนาน #1 และ กวางสี #2 โดยสุ่มผูกป้ายดอกที่ยังไม่บานรอบทรงพุ่ม พันธุ์ละ 5 ต้นและต้นละ 20 ดอก บันทึกการติดผลเมื่อเริ่มติดผลและคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การติดผล

7. บันทึกการพัฒนาการของผลชาน้ำมัน 3 พันธุ์ คือ C-O-E หูหนาน #1 และ กวางสี #2 โดยสุ่มผูกป้ายผลที่มีขนาด 0.5 ซม. รอบทรงพุ่ม พันธุ์ละ 5 ต้นและต้นละ 20 ผล เก็บตัวอย่างผลพันธุ์ละ 5 ผลต่อครั้งต่อเดือน นำตัวอย่างผลมาบันทึกขนาดผล น้ำหนักผล น้ำหนักเปลือกและน้ำหนักเมล็ด นำข้อมูล

8. บันทึกข้อมูลอุตุนิยมวิทยา ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์และปริมาณน้ำฝน

8. ระยะเวลาและสถานที่ดำเนินการ

เริ่มต้น ตุลาคม 2556 สิ้นสุด กันยายน 2557

ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ (โป่งน้อย) อ. แม่วาง จ. เชียงใหม่

สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1 อ. เมือง จ. เชียงใหม่

9. ผลการทดลองและวิจารณ์

9.1 ลักษณะพฤกษศาสตร์

1. ต้นสูงเต็มที่ประมาณ 4 เมตร ไม่ผลัดใบทรงพุ่มหลายแบบเช่น ปีรามิด ทรงกระบอกและทรงกลม

2. ใบเป็นใบเดี่ยว ใบอ่อนมีสีบรอนแดง ใบแก่มีสีเขียว รูปร่างรีหรือไข่ แผ่นใบหนาคล้ายแผ่นหนัง ด้านบนเป็นมัน ด้านใต้ใบมีขนอ่อนปกคลุม ขอบใบหยักแบบฟันเลื่อย ปลายใบแหลมหรือรูปไข่ การจัดเรียงใบเป็นแบบสลับ 1 ใบต่อ 1 ข้อ

3. ดอกเกิดที่ซอกใบ ดอกมีทั้งดอกเดี่ยวและดอกช่อ ก้านดอกสั้น กลีบเลี้ยงสีเขียว กลีบดอกสีขาว 4-8 กลีบ ปลายกลีบมนและหยักเว้า เป็นดอกสมบูรณ์เพศที่มีทั้งเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียอยู่ในดอกเดียวกัน เกสรตัวผู้มีสีเหลืองดอกเกสรตัวเมียเชื่อมติดกัน รังไข่มีขนปกคลุม กลีบดอกและเกสรตัวผู้ร่วงโรยหลังดอกบานหรือผสมเกสรแล้ว 1-2 วัน จากนั้นรังไข่เริ่มขยายขนาดขึ้น (ภาพที่ 4)

4. ผลค่อนข้างกลม ผลอ่อนมีขนปกคลุมเปลือกผลเรียบและหนาสีเขียวอมน้ำตาล ผลแบ่งเป็นช่อง 3-4 ช่อง เมื่อผลแก่เต็มที่เปลือกผลจะแตกเป็นแฉกและมีเมล็ดหลุดร่วงออกมา (ภาพที่ 5)

5. เมล็ดมี 1-2 เมล็ดอยู่ในแต่ละช่องผล เนื้อในเมล็ดสีขาว เปลือกหุ้มเมล็ดสีน้ำตาลดำ (ภาพที่ 6)

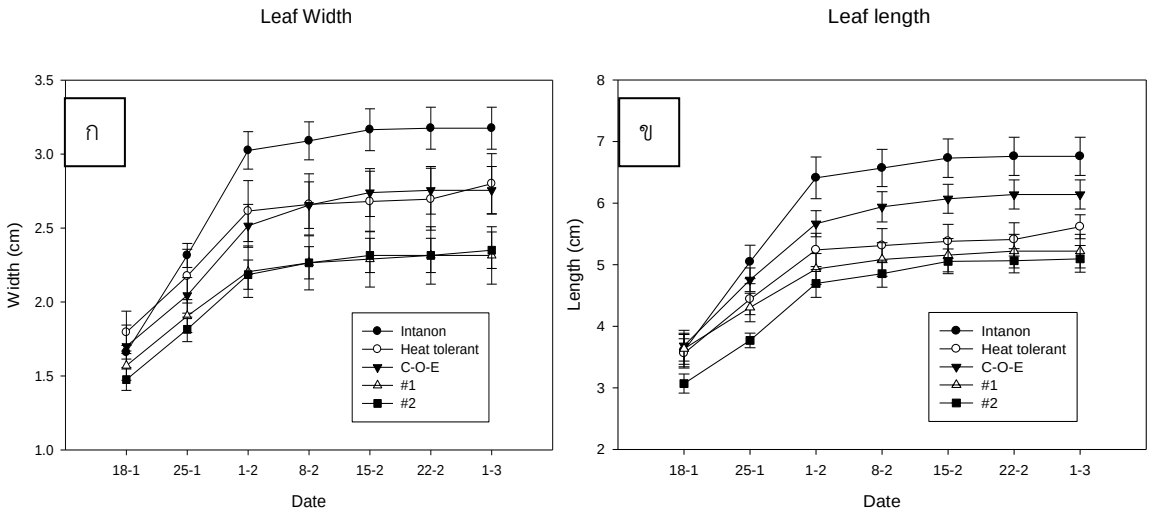
ภาพที่ 4 ช่อดอก (ก) และดอก (ข) ของชาน้ำมันในระยะพัฒนาการต่างๆ

ภาพที่ 5 ผลอ่อน (ก) ผลกำลังพัฒนา (ข) และผลแก่เต็มที่จนเปลือกผลแตก (ค)

ภาพที่ 6 เมล็ดอ่อน (ก) และเมล็ดแก่เต็มที่ของชาน้ำมัน (ข)

9.2 พัฒนาการของใบ

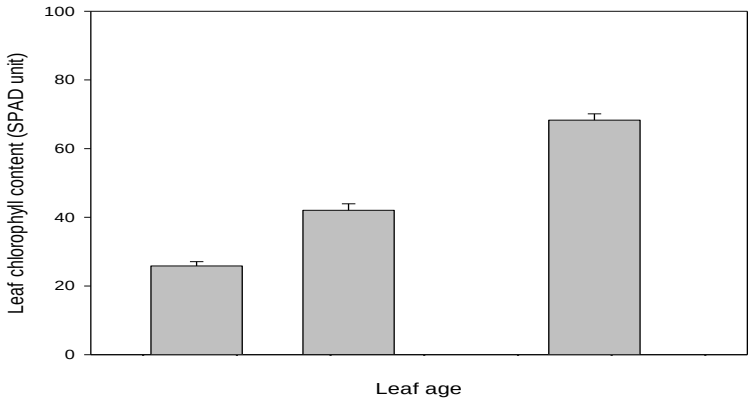
การเพิ่มขึ้นของขนาดใบชาน้ำมันทั้ง 5 พันธุ์มีรูปแบบ simple sigmoid curve ตามสมการ Y= a+b/{1+ex[-(x-c)/d]} โดยใช้เวลาเฉลี่ย 28.5 วันจนใบมีขนาดความกว้างและความยาวใบขยายเต็มที่ ใบชาน้ำมันพันธุ์อินทนนท์มีขนาดใหญ่สุดคือ กว้าง 3.2 เซนติเมตรและยาว 6.8 เซนติเมตร ตามลำดับ แต่ใบพันธุ์หูหนาน #1 และ กวางสี #2 มีขนาดไม่แตกต่างกันและเล็กที่สุด คือ กว้าง 2.3 เซนติเมตร และยาว 5.2 เซนติเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 ความกว้าง (ก) และความยาว (ข) (±SE) ของใบชาน้ำมัน ปี 2556

9.3 การเปลี่ยนแปลงค่าประสิทธิภาพของคลอโรฟิลล์ (Fv/Fm ratio) ในใบ

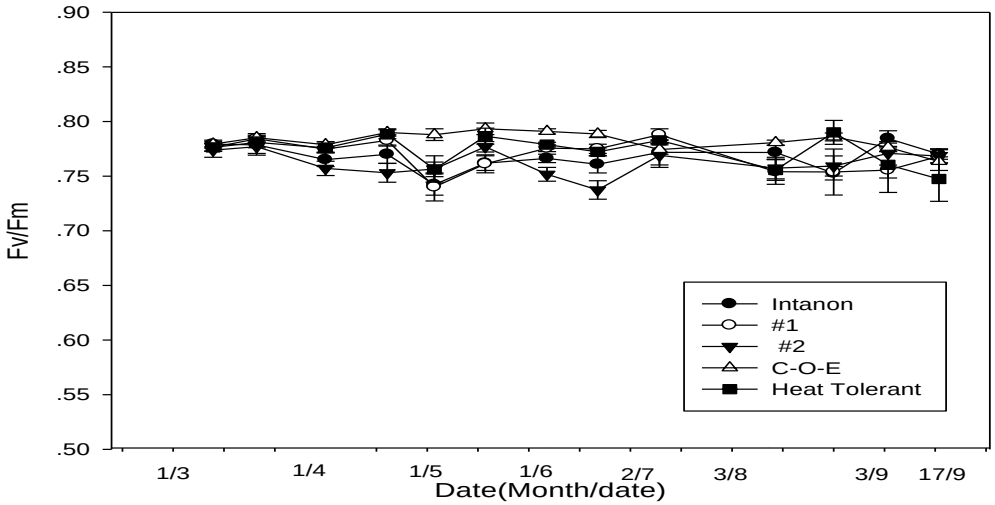
ค่าประสิทธิภาพของคลอโรฟิลล์ในใบ (Fv/Fm ratio) มีค่าสูงขึ้นตามอายุหรือความแก่ของใบ เช่น ค่า Fv/Fm ratio ของใบอ่อน ใบเพสลาดและใบแก่เต็มที่ชาน้ำมันพันธุ์อินทนนท์เท่ากับ 0.7394±0.006 0.7779±0.012 และ 0.8043±0.041 ตามลำดับ (ภาพที่8) ซึ่งถ้าค่า Fv/Fm ratio ของใบพืชที่แก่เต็มที่ค่ามากกว่า 0.700 ถือว่าพืชชนิดนั้นที่ไม่อยู่ในสภาพเครียดอันเนื่องจากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น อุณหภูมิต่ำหรือขาดธาตุอาหาร ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงกำหนดที่จะวัดค่า Fv/Fm ratio ของใบชาน้ำมันที่แก่เต็มที่



ใบอ่อน	ใบเพสลาด	ใบแก่

ภาพที่ 8 ค่า Fv/Fm ratio (±SE) ของใบอ่อน ใบเพสลาดและใบแก่ของชาน้ำมันอินทนนท์ ปี 2556

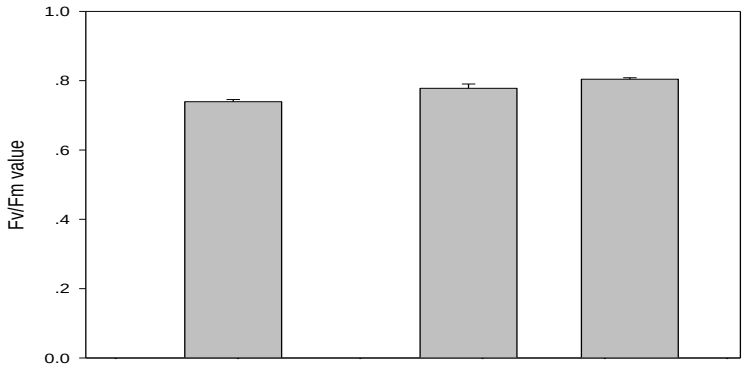
การวัดค่า Fv/Fm ratio ใบแก่เต็มที่ของชาน้ำมัน 5 พันธุ์พบว่า ค่า Fv/Fm ratio ของชาน้ำมันในแต่ละเดือนมีค่าต่างกัน ค่า Fv/Fm ratio ในละเดือนเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยและทิศทางเปลี่ยนแปลงไม่แน่นอน นอกจากนี้ค่า Fv/Fm ratio ของใบแก่เต็มที่ของชาน้ำมันทั้ง 5 พันธุ์มากกว่า 0.700 ซึ่งบ่งชี้ว่าต้นชาน้ำมันไม่อยู่ในสภาพเครียดเนื่องจากสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม แม้ในช่วงก่อนออกและกำลังออกดอกในช่วงเดือนสิงหาคม (ภาพที่ 9)



ภาพที่ 9 การเปลี่ยนแปลงค่า Fv/Fm ratio ของใบแก่ชาน้ำมัน 5 พันธุ์ ปี 2556

9.4 การเปลี่ยนแปลงปริมาณคลอโรฟิลล์ (Chlorophyll content) ในใบ

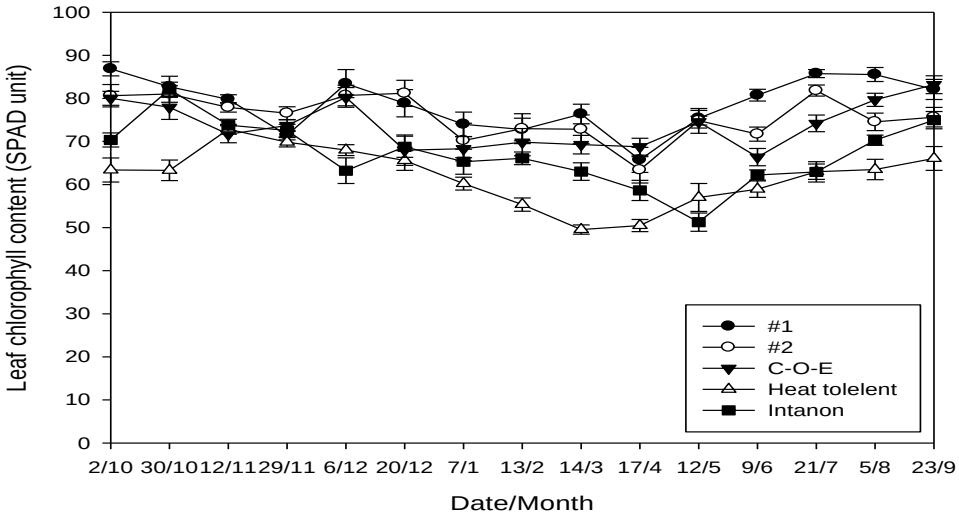
การวัดความเขียวของใบ (SPAD unit) ด้วยเครื่อง Chlorophyll meter พบว่า ค่า SPAD unit ของใบชาน้ำมันเพิ่มขึ้นตามอายุใบ เช่น ค่า SPAD unit ใบอ่อน ใบเพสลาดและใบแก่ของชาน้ำมันพันธุ์อินทนนท์ เท่ากับ 25.83±1.25 42.05±1.88 และ 68.30±1.82 ตามลำดับ (ภาพที่ 10) อย่างไรก็ตามการศึกษาของ Liang et al. (1988) พบว่า ใบชาน้ำมันอายุ 2 ปีเป็นใบที่มีปริมาณคลอโรฟิลล์และประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงสูงสุดแต่กลับลดลงเมื่อใบมีอายุ 3 ปีหรือมีอายุมากขึ้นจนใกล้หลุดร่วง ดังนั้นจึงกำหนดวัดค่าSPAD unit ของใบชาน้ำมันที่แก่ตลอดการศึกษาครั้งนี้



ใบอ่อน	ใบเพสลาด	ใบแก่

ภาพที่10 ค่า SPAD unit ใบอ่อน ใบเพสลาดและใบแก่ของชาน้ำมันพันธุ์อินทนนท์ ปี 2557

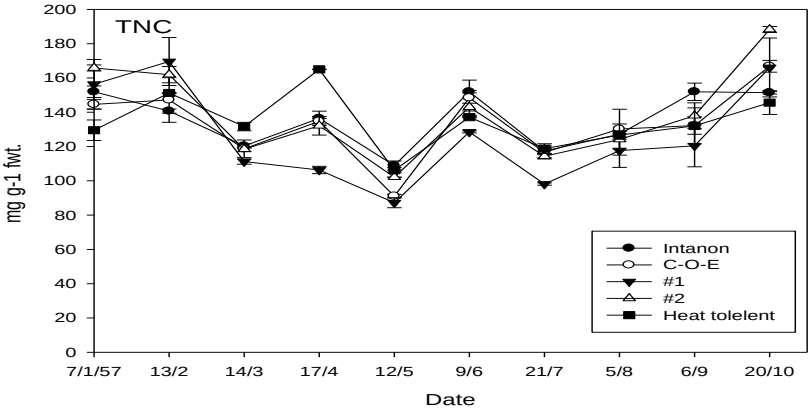
ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบพืชเป็นตัวบ่งชี้ถึงการพัฒนาของคลอโรพลาสต์ ประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสง ปริมาณไนโตรเจนหรือความสมบูรณ์ต้นพืช เครื่อง SPAD-502 meter ใช้วัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบโดยวัดเป็นค่า SPAD Unit หรือสัดส่วนของปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบ (Uddling et al., 2007) จากการวัดค่า SPAD unit ระหว่างเดือนตุลาคม 2556 ถึงกันยายน 2557 พบว่า ค่า SPAD Unit ของใบชาน้ำมันแต่ละพันธุ์แตกต่างกัน เช่น เดือนตุลาคม 2556 ค่า SPAD unit ของใบชาน้ำมันพันธุ์ หูหนาน #1 กวางสี #2 C-O-E ทนร้อนและอินทนนท์ เท่ากับ 86.86±1.62 80.62±2.58 80.02±1.62 6.39±2.79 และ 70.35±1.63 ตามลำดับ โดยค่า SPAD unit ของใบชาน้ำมันทุกพันธุ์ผันแปรในรอบปีและมีทิศทางเปลี่ยนแปลงไม่แน่นอน แต่มีแนวโน้มว่าลดลงเล็กน้อยจากเดือนตุลาคม 2556 จนถึงเดือนมีนาคม 2557 แล้วเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงเดือนกันยายน 2557 (ภาพที่11) จึงอาจสรุปได้ว่าการเปลี่ยนแปลงคลอโรฟิลล์ในใบอาจไม่ใช่ปัจจัยหลักที่ควบคุมการออกดอกของชาน้ำมันปี 2557 ในสภาพแวดล้อมที่ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่



ภาพที่ 11 การเปลี่ยนแปลงค่า SPAD unit ของใบชาน้ำมัน 5 พันธุ์ ปี 2557

9.5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณ total nonstructural carbohydrate (TNC) ของใบ

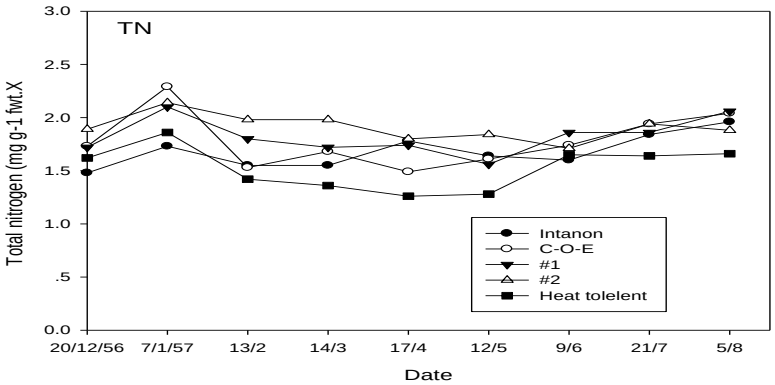
การเก็บตัวอย่างใบชาน้ำมันเพื่อวิเคราะห์ปริมาณ TNC ทุกเดือน พบว่า ปริมาณ TNC ในใบชาน้ำมันแต่ละพันธุ์แตกต่างกัน เช่น ในเดือนมกราคม 2557 ใบชาน้ำมันพันธุ์อินทนนท์ C-O-E หูหนาน #1 กวางสี #2 และทนร้อน มีปริมาณ TNC เฉลี่ย 151.95±3.35 144.60±2.74 156.30±14.48 165.84±1.78 และ 129.50±5.99 mg g^{-1}fwt ตามลำดับ อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณ TNC แต่ละพันธุ์ในรอบปีมีรูปแบบหรือแนวโน้มคล้ายคลึงกัน โดยปริมาณ TNC เฉลี่ยของเดือนมกราคมเท่ากับ 149.64 mg g^{-1}fwt แล้วลดลงเป็น 99.1 mg g^{-1}fwt ในเดือนพฤษภาคม แล้วมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอีกจนมีปริมาณ TNC เฉลี่ย 163.7 mg g^{-1}fwt ในเดือนตุลาคม 2557 (ภาพที่ 12) จึงเป็นไปได้ว่าปริมาณ TNC ในใบเป็นปัจจัยหนึ่งในการควบคุมการออกดอกของชาน้ำมันปี 2557 ในสภาพแวดล้อมศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่



ภาพที่ 12 การเปลี่ยนแปลงปริมาณ TNC ในใบชาน้ำมัน 5 พันธุ์ ปี 2557

9.6 การเปลี่ยนแปลงปริมาณ total nitrogen (TN) ของใบ

การเก็บตัวอย่างใบชาน้ำมันเพื่อวิเคราะห์ปริมาณ TNC ทุกเดือน พบว่า ปริมาณ TN ในใบชาน้ำมันแต่ละพันธุ์แตกต่างกัน เช่น ในเดือนธันวาคม 2556 ใบชาน้ำมันพันธุ์อินทนนท์ C-O-E หูหนาน #1 กวางสี #2 และทนร้อน มีปริมาณ TN เฉลี่ย 1.481.73 1.72 1.89 และ 1.62 mg g^{-1}fwt ตามลำดับ อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณ TNC แต่ละพันธุ์ในรอบปีมีน้อยมากและมีรูปแบบหรือแนวโน้มคล้ายคลึงกัน (ภาพที่ 13)



ภาพที่ 13 การเปลี่ยนแปลงปริมาณ TN ในใบชาน้ำมัน 5 พันธุ์ ปี 2557

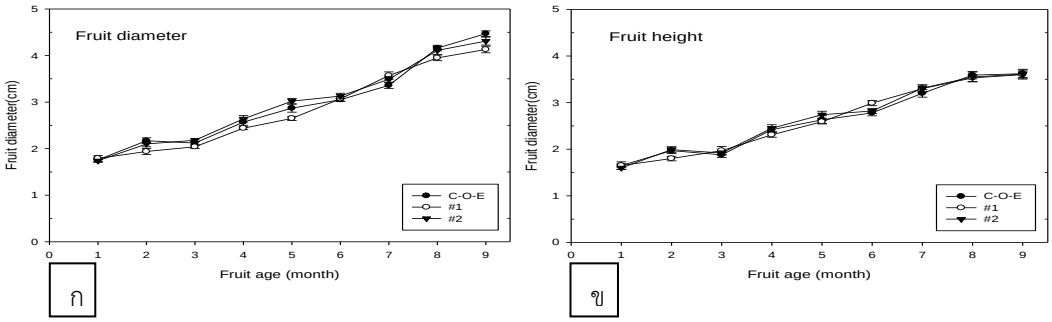
9.7 การออกดอกและติดผล

ในสภาพแวดล้อมที่ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงชียงใหม่ปี 2556/57 ชาน้ำมันพันธุ์หูหนาน #1 กวางสี #2 และ C-O-E ออกดอกและติดผล 2 ช่วง คือเดือนสิงหาคมและเดือนธันวาคม แต่ปริมาณการออกดอกเดือนธันวาคมมีมากกว่าเดือนสิงหาคม ในขณะที่ชาน้ำมันพันธุ์ทนร้อนไม่ออกดอกและพันธุ์อินทนนท์ออกดอกน้อยมาก ในการศึกษาครั้งนี้จึงบันทึกข้อมูลติดผลเพียง 3 พันธุ์คือ C-O-E หูหนาน #1 และกวางสี #2 ซึ่งติดผลเฉลี่ย 20.93 23.68 และ 22.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การศึกษาของ Song T. and Zeng F. (1991) รายงานว่า การติดผลของชาน้ำมันขึ้นกับจำนวนตาดอก โดยจำนวนผลมีความสัมพันธ์กับจำนวนตาดอกตามสมการพาราโบล่า Y=-0.0193X2+0.8687X-1.1039

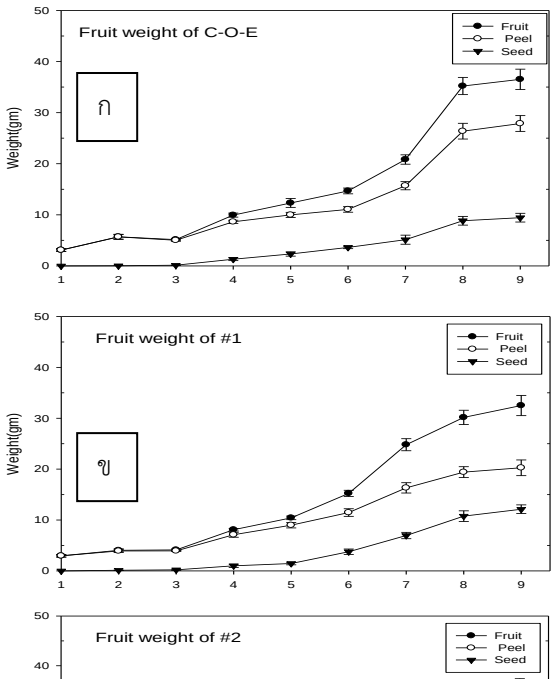
9.8 พัฒนาการของผล

เนื่องจากชาน้ำมันพันธุ์ทนร้อนและพันธุ์อินทนนท์ออกดอกและติดผลน้อยไม่เพียงพอต่อการเก็บตัวอย่าง การเพิ่มของความกว้างและความสูงของผลพันธุ์ C-O-E หูหนาน #1 และกวางสี #2 ใกล้เคียงและมีรูปแบบคล้ายคลึงกัน ผลอายุ 9 เดือนของพันธุ์ C-O-E หูหนาน #1 และกวางสี #2 มีความกว้างเฉลี่ย 4.47±0.06 4.13±0.07 และ 4.31±0.08 เซนติเมตร มีความสูงเฉลี่ย 3.62±0.073.60±0.07 และ 3.61±0.10 เซนติเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 14)

การเพิ่มขึ้นของน้ำหนักเมล็ด เปลือกและผลชาน้ำมันพันธุ์ C-O-E หูหนาน#1 และกวางสี #2 เป็นแบบ simple sigmoid curve (ภาพที่ 16) โดยหลังติดผล 9 เดือนผลชาน้ำมันพันธุ์ C-O-E มีน้ำหนักผล 36.51±1.99 กรัม น้ำหนักเปลือก 27.87±1.54 กรัมและน้ำหนักเมล็ด 9.44 ±0.85 กรัม ผลชาน้ำมันพันธุ์หูหนาน #1 มีน้ำหนักผล 32.51±1.99 กรัม น้ำหนักเปลือก 20.27±1.54 กรัมและน้ำหนักเมล็ด 12.12±0.85 กรัม ตามลำดับ ผลชาน้ำมันพันธุ์กวางสี #2 มีน้ำหนักผล 35.72±1.67 กรัม น้ำหนักเปลือก 23.45±1.35 กรัมและน้ำหนักเมล็ด 12.17±0.85 กรัม ตามลำดับ ผลชาน้ำมันแต่ละพันธุ์มีจำนวนเมล็ดในผลที่แตกต่างกัน โดยพันธุ์ C-O-E หูหนาน #1 และกวางสี #2 มีจำนวนเมล็ดในผลเฉลี่ย4.80±0.53 3.87±0.40



ภาพที่ 14 ความกว้าง (ก) และความสูง (ข) ของผลชาน้ำมันพันธุ์ C-O-E หูหนาน #1 และกวางสี #2



ค

ภาพที่ 15น้ำหนักผล เปลือกและเมล็ดชาน้ำมันพันธุ์ C-O-E (ก) หูหนาน #1 (ข) และกวางสี #2 (ค) **ปี 2557**

ภาพที่ 16 ผล เปลือกและเมล็ดชาน้ำมันพันธุ์หูหนาน #1 และกวางสี #2 อายุ 2 4 6 และ 8 เดือน

ภาพที่ 17 เปลือกผล เมล็ดและเปลือกหุ้มเมล็ดของชาน้ำมันอายุ 9 เดือน

9.9 สภาพภูมิอากาศ

ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ (โป่งน้อย) อ. แม่วาง จ. เชียงใหม่ ตั้งอยู่ที่เส้นรุ้ง (latitude) 18° 44' 47.062"N และเส้นแวง (longitude) 98° 55' 14.2"E อยู่สูงจากระดับน้ำทะเล 1,200 เมตร

9.9.1 ปริมาณน้ำฝน

ปริมาณน้ำฝนรวมทั้งปี 2556 และ 2557 เท่ากับ 2,369 และ 1,475 มิลลิเมตร ตามลำดับ ปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยรายเดือนเพิ่มขึ้นจากเดือนเมษายนจนถึงเดือนกันยายน โยเดือนกันยายน 2556 มีปริมาณน้ำฝนรายเดือนสูงสุด 468.5 มิลลิเมตร เดือนกรกฎาคม 2557 มีปริมาณน้ำฝนรายเดือนสูงสุด 276.9 มิลลิเมตร หลังจากนั้นปริมาณน้ำฝนจะลดน้อยลงตามลำดับ ในขณะที่เดือนธันวาคมถึงเดือนมีนาคมมีปริมาณน้ำฝนค่อนข้างน้อย

9.9.2 อุณหภูมิสูงสุดและต่ำสุด

เดือนเมษายนเป็นเดือนที่มีอุณหภูมิเฉลี่ยรายเดือนสูงสุด เช่น เมษายน 2556 เท่ากับ 31.5°ซ เดือนธันวาคมเป็นเดือนที่มีอุณหภูมิเฉลี่ยรายเดือนต่ำสุด8.0°ซ ปี 2557 เดือนพฤศจิกายนมีอุณหภูมิเฉลี่ยรายเดือนต่ำสุดคือ6.4°ซ

9.9.3 ความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ

ความชื้นสัมพัทธ์อากาศเฉลี่ยสูงสุดของปี 2556 และ 2557 คือเดือนกันยายน (93%) และตุลาคม (95%) ตามลำดับ เนื่องจากเป็นช่วงที่มีฝนตกชุก ระหว่างเดือนธันวาคมถึงเดือนเมษายนมีความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศต่ำ คือ 56-79%

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยรายเดือนของปริมาณน้ำฝน (มม.) อุณหภูมิ (°ซ) และความชื้นสัมพัทธ์ (%) ณ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ระหว่างตุลาคม 2555 ถึงกันยายน 2557

เดือน/ปี	น้ำฝน (มม.)	อุณหภูมิ (°ซ)		%ความชื้นสัมพัทธ์	เดือน	น้ำฝน (มม.)	อุณหภูมิ (°ซ)		%ความชื้นสัมพัทธ์
		สูงสุด	ต่ำสุด				สูงสุด	ต่ำสุด	

ม.ค.-56	6.5	24.0	10.4	75
ก.พ.	19	26.3	11.2	73
มี.ค.	83.8	30.6	11.0	63
เม.ย.	42	31.5	13.3	66
พ.ค.	186.1	29.9	12.4	81
มิ.ย.	241.1	29.3	11.2	90
ก.ค.	397.5	30.0	9.3	91
ส.ค.	247.5	18.9	11.7	89
ก.ย.	468.5	17.9	16.8	93
ต.ค.	420.3	16.2	13.0	92
พ.ย.	43.8	15.5	10.4	91
ธ.ค.	26.4	10.8	8.0	81

ม.ค.-57	0	NA	8.1	79
ก.พ.	0	NA	10.3	67
มี.ค.	0	NA	12.9	56
เม.ย.	108.6	NA	13.6	68
พ.ค.	220	NA	12.0	80
มิ.ย.	224.7	NA	11.2	90
ก.ค.	276.9	NA	10.7	91
ส.ค.	216.9	NA	9.7	93
ก.ย.	227.4	NA	9.5	94
ต.ค.	121.3	NA	7.8	95
พ.ย.	78.2	NA	6.4	93
ธ.ค.	1.8	NA	8.5	88

หมายเหตุ NA = ไม่มีการบันทึกเนื่องจากเครื่องมือชำรุด

10. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

10.1 ความกว้างและความยาวของใบเพิ่มขึ้นแบบ simple sigmoid curve ใช้เวลาเฉลี่ย 28.5 วัน

10.2 การเปลี่ยนแปลงค่า Fv/Fm ratio และ SPAD unit ของใบในรอบปีมีเล็กน้อยและมีทิศทางการเปลี่ยนแปลงไม่แน่นอน ดังนั้นปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบและความเครียดของพืชอาจไม่ใช่ปัจจัยหลักควบคุมการออกดอกของชาน้ำมัน

10.3 ปริมาณ TNC ในใบเริ่มลดลงจากมกราคมจนถึงพฤษภาคม แล้วเพิ่มขึ้นตามลำดับจนถึงตุลาคม ปริมาณ TN ในใบมีการเปลี่ยนแปลงในรอบปีน้อยมาก การเพิ่มขึ้นของ TNC ในใบอาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่ควบคุมการออกดอกของชาน้ำมัน

10.4 การติดผลของชาน้ำมันปี 2557 ค่อนข้างต่ำ ชาน้ำมันพันธุ์ C-O-E หูหนาน #1 และกวางสี #2 ติดผลเท่ากับ 20.93 23.68 และ 22.00% ตามลำดับ

10.5 น้ำหนักเมล็ด น้ำหนักเปลือกและน้ำหนักผลของชาน้ำมันแต่ละพันธุ์แตกต่างกัน แต่รูปแบบการเพิ่มขึ้นน้ำหนักเป็นแบบ simple sigmoid curve และใช้เวลา 8-9 เดือนพัฒนาจนผลแก่เต็มที่

10.6 ผลชาน้ำมันพันธุ์ C-O-E หูหนาน #1 และกวางสี #2 มีเมล็ด 4.80 3.87 และ 4.33 เมล็ดต่อผล ตามลำดับ

10.7 ในแปลงปลูกชาน้ำมันของศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ (โป่งน้อย) พบความแปรปรวนทางพันธุกรรมของต้นชาน้ำมันเนื่องจากต้นที่ปลูกได้จากการเพาะเมล็ด ดังนั้นหากมีการคัดเลือกสายต้นที่มีผลผลิตสูงและคุณภาพน้ำมันดี จะเป็นอีกแนวทางในการพัฒนาพันธุ์ชาน้ำมันที่เหมาะสมกับภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย

10.8 การวิจัยเพื่อจัดการแตกใบอ่อนหรือหาเทคโนโลยีควบคุมการออกดอกและติดผลให้พร้อมกัน เป็นอีกแนวทางในการทำให้สามารถเก็บเกี่ยวชาน้ำมันได้พร้อมกัน ซึ่งจะช่วยลดค่าแรงงานในการเก็บเกี่ยวและพัฒนาปลูกเชิงพาณิชย์ได้

11. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

11.1 มีข้อมูลการเจริญเติบโต การออกดอกติดผลและพัฒนาการของผลชาน้ำมันในสภาพแวดล้อมของภาคเหนือตอนบน เพื่อเกษตรกรสามารถใช้ประกอบการตัดสินใจเลือกปลูกและมีความรู้เบื้องต้นที่จะปลูกชาน้ำมันเชิงพาณิชย์

11.2 เกษตรกรผู้ปลูกชาน้ำมันสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการปฏิบัติดูแลรักษาให้สอดคล้องกับพัฒนาการพืช เช่น ให้น้ำและใส่ปุ๋ยอย่างถูกต้องเหมาะสมมากขึ้น

11.3 นักวิจัยยังอาจนำผลการศึกษาไปใช้เป็นแนวทางวิจัยและพัฒนาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตชาน้ำมันของเกษตรกรในภาคเหนือตอนบนต่อไป

12. คำขอบคุณ

ขอขอบคุณกลุ่มงานวิเคราะห์ฯสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1 และสำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตรที่ช่วยดำเนินการวิเคราะห์ปริมาณ TNC และ TN ในใบชาน้ำมัน

13. เอกสารอ้างอิง

จักรพงษ์ เจิมศิริ ปรีชา พากเพียร และพิชิต พงษ์สกุล. 2536. การวิเคราะห์ธาตุอาหารในพืช. คณะทำงานปรับปรุงมาตรฐานการวิเคราะห์ดิน พืช น้ำและปุ๋ยเคมี 2536. ISBN: 974-7621-78-9. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตร และสหกรณ์ กรุงเทพฯ. 40 หน้า.

ทัศนีย์ อัตตะนันทน์ จงรักษ์ จันทร์เจริญสุข และสุระเดช จินตกานนท์. 2537. คู่มือปฏิบัติการวิเคราะห์ดินและพืช. ภาคปฐพีวิทยา คณะเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ประไพ ชัยโรจน์. 2544. การวิเคราะห์ไนโตรเจนในพืช.กลุ่มวิจัยเคมีดิน. คู่มือการวิเคราะห์ดินและพืช.

สัณห์ ละอองศรี. 2551. การศึกษาปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบชาสด.วารสารวิทยาศาสตร์การเกษตร. 39(3): 178-181.

สรวงธิดา ลิปิมงคล. 2546. การวิเคราะห์ Nitrogen ในพืช.คู่มือวิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ดินและพืช.โครงการจัดตั้งเครือข่ายห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ดินและพืช.สำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย.

Hodge, J.E. and B.T. Hofriter. 1962. Determination of reducing sugars and carbohydrates. p 380-394. In: R.L.Whistler and M.L. Wolform (eds.) Methods in carbohydrate chemistry. Academic Press, New York.

Liang G., Yang C., Zhang J. and Yan X. 1988. On the leaf photosynthesis of *Camellia oleifera*. J. Zhejiang Forestry Sci. Technol. 8: 8-12.

Smith, D. 1969. Removing and analyzing total nonstructural carbohydrates from plant tissues. Univ. Wisconsin Res. Rep. No. 41. 7p.

Song, T. and Zeng, F. 1991. Alternate bearing of oil tea trees and the biological features. http//www. en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-JLYJ199101004.htm open date 12/1/2015.

Uddling J., Gelang-Alfredsson J., Piikki K., Pleijel, H. 2007. Evaluating the relationship between leaf chlorophyll concentration and SPAD-502 chlorophyll meter readings. Photosyn. Res. 91:37-41.

14. ภาคผนวก

14.1 ภาคผนวกที่ 1 การวิเคราะห์ปริมาณ TN ในพืช

การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์พืชจะใช้ Kjedahl method เมื่อย่อยสลายพืชด้วยกรด H_2SO_4โดยใช้ตัวเร่ง (catalyst)แล้ว สารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจนเปลี่ยนเป็น $(NH_4)_2SO_4$จากนั้นจึงวิเคราะห์ NH_4^+โดยว

1. การกลั่นแล้วไนเตรท

ละลาย NaOH จำนวน 400 gm. ในน้ำกลั่น ปริมาณ 600 mlตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 Ml. ละลาย H_3BO_3จำนวน 20 gm. ในน้ำร้อน ปริมาณ 700 ml. ทิ้งไว้ให้เย็นเตรียมmixed indicator solution โดยละลาย bromocresol green จำนวน 0.132 gm. และ methyl red จำนวน 0.066 gm. ด้วย ethanol ใน Volumetric flask

ขนาด 200 ml.เติม ethanol 200 ml., mixed indicator 20 ml. และ Boric acid 700 ml. ลงใน Volumetric flask ขนาด 1000 ml. เขย่าของผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน เติม 0.05 N NaOHลงไปทีละ 2-3 หยดให้ pH ประมาณ 5 ทดลองโดยนำสารละลายนี้ 1 ml. ผสมกับน้ำกลั่น 1 ml. จนสีของที่ทดสอบเปลี่ยนเป็นสีเขียวอ่อน (pale green) แล้วจึงปรับปริมาตรสารละลายมาตรฐาน H_2SO_4ความเข้มข้น 0.05 N

ใช้ Pipette สารละลายที่ได้จากการย่อยสลายตัวอย่างปริมาณ 10 ml. ใส่ลงไปในหลอดกลั่น (distillation tube) เติม 40%NaOHปริมาณ 10 ml. ทำการกลั่น ทำให้ไนโตรเจนซึ่งอยู่ในรูปของ $(NH_4)_2SO_4$จะถูกเปลี่ยนเป็น NH_3เก็บ NH_3 ที่กลั่นได้ ซึ่งจะออกมาในรูปของ NH_4OH ด้วย Boric acid indicator solution 5 ml. ใน Erlenmeyer flask ขนาด 50 ml. กลั่นจนกระทั่งได้สารละลายปริมาตร 20 ml.นำไปไทเทรตด้วย สารละลายมาตรฐาน H_2SO_4 0.05 N จนถึงจุดยุติ (end point) สีของสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วง บันทึกปริมาณกรดที่ใช้ไทเทรต แล้วคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนในพืช

$$\% N = \frac{(A - B) \times C \times (14/1000)^* \times T \times 100}{W \times D}$$

A = ปริมาณกรด H_2SO_4 ที่ใช้ไทเทรต (ml.)

B = ปริมาณกรด H_2SO_4 ที่ใช้ไทเทรต blank(ml.)

C = ปริมาnormality ของกรด

D = ปริมาณสารละลายตัวอย่างที่นำมากลั่น (ml.)

T = ปริมาณสารละลายตัวอย่างทั้งหมดที่ได้จากการย่อยสลาย (ml.)

W = น้ำหนักตัวอย่าง (gm.)

*= gm equivalent weight ของ nitrogen

14.2 ภาคผนวกที่ 2 การวิเคราะห์ปริมาณ TNC พืช

1. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

นำสารละลาย standard D-glucoseเข้มข้น 0-0.1 มก./มล.ปริมาตร 1 มล.ใส่ในหลอดทดลอง เติม Nelson's alkaline copper reagent จำนวน 1 มล. เขย่าให้เข้ากันปิดด้วยแผ่นอลูมิเนียมฟอยด์นำไปต้มใน water bath ที่อุณหภูมิ 100°ซ นาน 20 นาทีแล้วทำให้เย็นโดยนำไปแช่ในน้ำเย็นเติมArsenomolybdic acid reagent ปริมาตร 1 มล.เขย่าจนตะกอน Cu_2O ที่เกิดขึ้นละลายหมดแล้วปรับปริมาตรสารละลายเป็น 10มล. โดยเติมน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากันแล้ววางทิ้งไว้ที่

อุณหภูมิห้อง 30 นาที จากนั้นนำสารละลายไปอ่านค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรนำค่าที่ได้มาเขียนเป็นกราฟมาตรฐาน (standard curve) โดยใช้ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ glucose (แกน X) กับค่า absorbance (แกน Y)

2. การวิเคราะห์ตัวอย่างพืช

นำสารละลายตัวอย่างปริมาตร 1 มล. ใส่หลอดทดลองแล้วใส่สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์เช่นเดียวกับการเตรียมสารละลายมาตรฐาน นำสารละลายตัวอย่างไปอ่านค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร โดยเปรียบเทียบความเข้มข้นสารละลายตัวอย่างกับสารละลายมาตรฐาน D-glucose ซึ่งทราบความเข้มข้นแล้ว หน่วยเป็นมก.D-glucose ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

ปริมาณ TNC= <u>ความเข้มข้น D-glucose (มก.) xปริมาณสารละลายหลังปรับpHเป็นกลาง (50 มล.)</u>

น้ำหนักแห้งของตัวอย่าง (ก.)xปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่นำไปวิเคราะห์TNC(1 มล.)