



ปัญหาพิเศษ

ความสัมพันธ์ระหว่างการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบมันสำปะหลังด้วย
เครื่องวัดการดูดกลืนแสงและด้วยเครื่องวัดคลอโรฟิลล์

**The Relationship between chlorophyll content in cassava leaves measured
with spectrophotometer and chlorophyll meter**

นาย พีรพันธุ์ นวลกลาง

ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

DEPARTMENT OF AGRONOMY

FACULTY OF AGRICULTURE KASETSART UNIVERSITY



ใบรับรองปัญหาพิเศษ
คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

.....
วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วิทยาศาสตร์เกษตร)

ปริญญา

.....
วิทยาศาสตร์เกษตร

สาขา

.....
พืชไร่

ภาควิชา

เรื่อง ความสัมพันธ์ระหว่างการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบมันสำปะหลังด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงและด้วยเครื่องวัดคลอโรฟิลล์

The Relationship between chlorophyll content in cassava leaves measured with spectrophotometer and chlorophyll meter

นามผู้วิจัย นาย พิศนธ์ นวลกลาง

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษหลัก

(..... ผู้ช่วยศาสตราจารย์กิติ กงศิลป์, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษร่วม

(..... ผู้ช่วยศาสตราจารย์ปิยะ กิตติภาดากุล, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(..... ผู้ช่วยศาสตราจารย์ปิยะ กิตติภาดากุล, Ph.D.)

วันที่ 22 เดือน เมษายน พ.ศ. 2564

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ความสัมพันธ์ระหว่างการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบมันสำปะหลังด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงและ
ด้วยเครื่องวัดคลอโรฟิลล์

The Relationship between chlorophyll content in cassava leaves measured with spectrophotometer
and chlorophyll meter

โดย

นาย พีรพันธุ์ นวลกลาง

เสนอ

ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

DEPARTMENT OF AGRONOMY

FACULTY OF AGRICULTURE KASETSART UNIVERSITY

บทคัดย่อ

พืชรพี้นั นวกลาง 2563: ที่ทำวิจัย: ความสัมพันธ์ระหว่างการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบมัน
สำปะหลังด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงและด้วยเครื่องวัดคลอโรฟิลล์ ปัญหาพิเศษปริญญาตรี
สาขาวิทยาศาสตร์เกษตร ภาควิชาพืชไร่นา
อาจารย์ที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์กศิจิ คงศีล, Ph.D. 35หน้า

สำหรับการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบพืชมีความสำคัญอย่างมาก เป็นสารสำคัญในพืชที่ทำ
หน้าที่รับพลังงานแสงจากดวงอาทิตย์ เพื่อไปใช้ในการสร้างพลังงานในกระบวนการสังเคราะห์แสง
เพื่อสร้างสารอินทรีย์ เช่น น้ำตาล องค์ประกอบสำคัญของคลอโรฟิลล์จะประกอบด้วย ธาตุไนโตรเจน
(N) ดังนั้นถ้าในดินขาดธาตุไนโตรเจนจะทำให้พืชขาดคลอโรฟิลล์ด้วยการสังเคราะห์แสงของพืช
ลดลง พืชมีการเจริญเติบโตน้อย ลำต้นแคระแกรน ใบหงิกงอ หากขาดมากจะทำให้พืชหยุดการ
เจริญเติบโต และตายได้ ในปกติแล้วการวัดคลอโรฟิลล์ทำได้โดยใช้เครื่องวัดการดูดกลืนแสง
(spectrophotometer) จะทำการสกัดเนื้อเยื่อพืชก่อนวิธีการนี้ไม่เพียงแต่สร้างความเสียหายแก่ใบพืช
เท่านั้น แต่ยังใช้เวลาและค่าใช้จ่ายสูง ดังนั้นในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์
ระหว่างการวัดคลอโรฟิลล์ในใบมันสำปะหลังด้วยเครื่องคลอโรฟิลล์มิเตอร์ (chlorophyll meter) และ
ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง โดยการวิจัยในครั้งนี้จะศึกษาด้านมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่มีอายุ 5
เดือน เริ่มจากการใช้เครื่องคลอโรฟิลล์มิเตอร์วัดตั้งแต่ใบที่สมบูรณ์ตั้งแต่ใบแรกจนถึงใบสุดท้ายเก็บ
ข้อมูลทุก 2 สัปดาห์ เนื่องจากการใช้เครื่องคลอโรฟิลล์มิเตอร์ มีใช้การหาปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบ
โดยตรง แต่เป็นเพียงการหาความเขียวใบเท่านั้น จึงนำสมการ การหาคลอโรฟิลล์ a คลอโรฟิลล์ b ที่ได้
จากการใช้เครื่องวัดการดูดกลืนแสงในสัปดาห์ที่ 3 มาคำนวณหาสมการถดถอยอย่างง่ายโดยโปรแกรม
Microsoft excel และใช้เป็นตัวอ้างอิงกับการใช้เครื่อง คลอโรฟิลล์มิเตอร์ ที่ใช้วัดในแต่ละสัปดาห์ จาก
ผลการทดสอบพบว่าค่าสมการเส้นตรงค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) มีค่าเท่ากับ 0.5855 แสดงว่ามี
สหสัมพันธ์ไปในทางเดียวกันเรียกว่าสหสัมพันธ์เชิงบวก อีกทั้งยังใช้วัดค่าความเขียวใบของมัน
สำปะหลังพันธุ์ ระยอง 9 และ ห้วยบง 80 ในแปลงทดลอง ณ สถาบันพัฒนามันสำปะหลังห้วยบง ที่มี
ความเข้มข้นฮอร์โมนไซโตไคนิน ที่ความเข้มข้น 0,0.5,1,1.5 พบว่ามีความแตกต่างของความเขียวใบ

พืชรพี้นั นวกลาง

ลายมือชื่อนิสิต

กศิจิ คงศีล

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษหลัก

___/___/___

ABSTRACT

Peerapan nuanklang; 2020 The Relationship between chlorophyll content in cassava leaves measured with spectrophotometer and chlorophyll meter.

Special problem Major Agricultural science Department of Agronomy Special problem

Advisor: Pasajee Kongsil, Ph.D. 35 pages

The determination of the chlorophyll content in plant leaves is very important. It is an important substance in plants that receives light energy from the sun. To be used to generate energy in the photosynthesis process to generate organic matter such as sugar, the important constituents of chlorophyll contain the element nitrogen (N), so if the soil is deficient in nitrogen, plants will lack chlorophyll. to reduce the photosynthesis of plants. The plant has little growth. The stunted stems, kink leaves, if they are absent, will cause the plant to stop growing and die. Normally, chlorophyll measurement is performed using a chlorophyll meter. A spectrophotometer will first extract plant tissue. This method not only damages plant leaves but also leaves plants. But it is also time-consuming and costly. Therefore, in this research, the objective to study the relationship between chlorophyll measurement in cassava leaves with a chlorophyll meter and with a chlorophyll meter. This research will study the 5-month-old Rayong cassava plants, starting with the chlorophyll meter measuring from the complete leaf from the first leaf to the last leaf. The chlorophyll meter is not a direct determination of the chlorophyll in the leaf. But it was only the determination of green leaf cyanosis. Therefore, the equation for chlorophyll a chlorophyll b obtained by using the absorbance meter at week 3 was used to calculate the simple regression equation by Microsoft excel program and use it as a reference for using the machine. Chlorophyll meter That is used to measure each week from the test results, it was found that the linear equation, the correlation coefficient (R^2) was equal to 0.5855, showing that there was a correlation, in the same way, called a positive correlation. It was also used to measure the greenness of cassava varieties Rayong 9 and Huay Bong 80 in the experimental plots at Huay Bong Tapioca Development Institute. With a concentration of cytokinin hormones at the concentration of 0,0.5,1,1.5, there were differences in leaf greenness.

Peerapan nuanklang

Student's signature

Pasajee Kongsil

Special Problem Advisor's signature

___/___/___

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร. ภัศรี คงศีล อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษที่กรุณาให้โอกาสศึกษา ให้คำปรึกษา และแนวทางด้านการเรียน ด้านการทำงาน และ พิจารณาตรวจแก้ไขปัญหาพิเศษฉบับนี้จนสมบูรณ์ ขอกราบขอบคุณอาจารย์ภาควิชาพืชไร่นา ที่ได้ให้การอบรมสั่งสอนและความรู้อันเป็นประโยชน์ในการทำงานและการประกอบอาชีพในอนาคต

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร. ปิยะ กิตติภาดากุล อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมในปัญหาพิเศษที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำแนวทาง ด้านการทำงาน และพิจารณาแก้ไขปัญหาพิเศษฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณสถาบันพัฒนามันสำปะหลังห้วยบง ตำบลห้วยบง จังหวัดนครราชสีมา ที่ให้การสนับสนุนในการให้เปล่งวิจัยในการทำงาน รวมถึงให้ประสบการณ์ในการทำงานจริง

ขอขอบคุณ นางสาว สุกานดา เกดดี ที่คอยช่วยเหลือให้คำแนะนำในเรื่องการหาความสัมพันธ์ระหว่างการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบมันสำปะหลังด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงและด้วยเครื่องวัดคลอโรฟิลล์มาโดยตลอด

และสุดท้าย ขาพเจ้า ขอขอบพระคุณเพื่อนๆที่คอยสนับสนุนในการศึกษาค้นคว้ามาโดยตลอด ระยะเวลาที่ทำการศึกษาทดลอง

พรพนธ์

เมษายน 2564

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	15
อุปกรณ์	15
วิธีการ	16
สถานที่และระยะเวลาการทำวิจัย	19
ผลและวิจารณ์	20
สรุป	25
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	26
ภาคผนวก	28
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	32

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ตารางการวิเคราะห์หา สหสัมพันธ์ของ SPAD และ Chlorophyll	22
2 ตารางวิเคราะห์ ANOVA หลังฉีดพ่นฮอร์โมนไซโทไคนิน 1 เดือนโดย เปรียบเทียบระหว่างพันธุ์ระยอง9 กับพันธุ์ห้วยบง80 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	23
3 ตารางวิเคราะห์ ANOVA หลังฉีดพ่นฮอร์โมนไซโทไคนิน 2 เดือนโดย เปรียบเทียบระหว่างพันธุ์ระยอง9 กับพันธุ์ห้วยบง80 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	24
4 ตารางวิเคราะห์ ANOVA หลังฉีดพ่นฮอร์โมนไซโทไคนิน 3 เดือนโดย เปรียบเทียบระหว่างพันธุ์ระยอง9 กับพันธุ์ห้วยบง80 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	24
ตารางผนวกที่	หน้า
1 ตารางเปรียบเทียบ mean comparison หลังการฉีดฮอร์โมนไซโทไคนิน 1 เดือน	29
2 ตารางเปรียบเทียบ mean comparison หลังการฉีดฮอร์โมนไซโทไคนิน 2 เดือน	30
3 ตารางเปรียบเทียบ mean comparison หลังการฉีดฮอร์โมนไซโทไคนิน 3 เดือน	30

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 โครงสร้างคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บี	5
2 เครื่องคลอโรฟิลล์ มิเตอร์ รุ่น SPAD-502	8
3 รูปร่างของเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง แบบดิจิทัล ชนิดตั้งโต๊ะ	13
4 พันธุ์มันสำปะหลังที่ใช้ในการทดลอง (ก) พันธุ์ระยอง 72 (ข) พันธุ์ระยอง 9 (ค) พันธุ์ ห้วยบง 80	17
5 สาร (ก)N,N-dimethylformamide (DMF) ใช้ละลายความเขียวใบ (ข)ความเขียวใบที่ถูกละลาย โดยทิ้งไว้ 24 ชม.	17
6 ความสัมพันธ์ระหว่างความเขียวใบ (SPAD) ในแกน Y กับปริมาณคลอโรฟิลล์เอ(chl a) และคลอโรฟิลล์บี (chl b) ของใบมันสำปะหลังที่วัดโดยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง ในแกน X	20
7 ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบมันสำปะหลังแต่ละตำแหน่งใบนับจากยอดลงมาถึง ใบสุดท้ายในวันที่ 11 สิงหาคม พ.ศ. 2563	21
8 ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบมันสำปะหลังแต่ละตำแหน่งใบนับจากยอดลงมาถึง ใบสุดท้ายในวันที่ 25 สิงหาคม พ.ศ. 2563	21
9 ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบมันสำปะหลังแต่ละตำแหน่งใบนับจากยอดลงมาถึง ใบสุดท้ายในวันที่ 8 กันยายน พ.ศ. 2563	22

ความสัมพันธ์ระหว่างการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบมันสำปะหลังด้วยเครื่องวัดการ ดูดกลืนแสงและด้วยเครื่องวัดคลอโรฟิลล์

The Relationship between chlorophyll content in cassava leaves measured with spectrophotometer and chlorophyll meter

คำนำ

มันสำปะหลังเป็นพืชอาหารที่สำคัญของประเทศในเขตร้อน โดยเฉพาะในทวีปแอฟริกา อเมริกาใต้ และเอเชียบางประเทศ เช่น อินโดนีเซีย อินเดีย และฟิลิปปินส์ เนื่องจากเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่สำคัญของคนและสัตว์ ซึ่งเป็นพืชอาหารในอันดับที่ 5 ของโลก รองจากข้าวสาลี ข้าวโพด ข้าว และมันฝรั่ง (คณาจารย์ภาควิชาพืชไร่นา, 2547) สำหรับประเทศไทยมันสำปะหลังถือเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ เกษตรกรนิยมปลูกกันมาก เพราะทนแล้ง ปลูกง่าย ศัตรูพืชน้อย แหล่งปลูกมันสำปะหลังที่สำคัญอยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง และภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัด นครราชสีมา กำแพงเพชร ชัยภูมิ กาญจนบุรี อุบลราชธานี สระแก้ว นครสวรรค์ เลย อุดรธานี และลพบุรี (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2560) มันสำปะหลังที่ปลูกในประเทศไทย แบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ มันสำปะหลังชนิดหวาน (Sweet type) และมันสำปะหลังชนิดขม (Bitter type) สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ทุกส่วน ทั้งบริโภคเป็นอาหารโดยตรง และแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์จากมันสำปะหลัง ได้แก่ มันเส้น (Tapioca chips) มันอัดเม็ด (Tapioca pellets) และแป้งมันสำปะหลัง (Tapioca starch) สำหรับนำไปใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรมต่างๆ ประเทศไทยเป็นผู้ผลิตมันสำปะหลังที่สำคัญของโลก แต่ผลผลิตของมันสำปะหลังยังอยู่ในเกณฑ์ต่ำ 3.5 ตัน/ไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2557) ขณะที่การคัดเลือกพันธุ์มันสำปะหลังที่มีผลผลิตสูง จะต้องใช้เวลานาน มีค่าใช้จ่ายสูง และอาจไม่สามารถควบคุมปัจจัยแวดล้อมได้ ขณะที่การตรวจวัดค่าความเขียวใบหรือ SCMR ที่ใบสามารถทำได้รวดเร็ว และมีรายงานว่า ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบพืชมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับค่า SCMR ซึ่งชี้ให้เห็นว่ามีความเป็นไปได้ในการนำค่า SCMR มาอธิบายปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบพืชเพื่อย่นระยะเวลาในการทำงาน ประหยัดค่าใช้จ่าย ไม่ทำให้ทำให้ใบพืชเสียหาย และสามารถใช้ประมาณความต้องการไนโตรเจนจากการวัดคลอโรฟิลล์ในใบพืช ในการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบพืชเป็นอีกเรื่องที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างมากจากนักวิจัยและเกษตรกร เนื่องจากคลอโรฟิลล์มีความสำคัญต่อพืชอย่างมาก เป็นสารที่ทำให้พืชมีสีเขียว และ เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของผนังเซลล์ เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต การสะสมอาหารของเซลล์ และขบวนการสังเคราะห์แสง (Thomson and Troch, 1975) นอกจากนี้ปริมาณคลอโรฟิลล์ยังสามารถใช้ประเมิน

ความต้องการธาตุไนโตรเจน จากการวัดคลอโรฟิลล์ในใบพืช โดยความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ จะแปรผันตามระดับไนโตรเจนที่เพิ่มขึ้นทำให้ดัชนีชี้วัดต่างๆ ที่ใช้ประเมินปริมาณไนโตรเจนจากการวัดคลอโรฟิลล์ได้รับการยอมรับมากขึ้นซึ่งวิธีการที่สามารถทำให้สะดวกและรวดเร็ววิธีหนึ่ง คือการใช้เครื่องมือ chlorophyll meter (Minolta SPAD-502) เพื่อประเมินปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบพืชโดย Neilsen et al.(1995) ใช้ SPAD-502 วัดค่าความเขียวใบ ที่สัมพันธ์กับปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบมันสำปะหลังภายใต้การใส่สมการคำนวณคลอโรฟิลล์ a คลอโรฟิลล์ b ที่ได้จากเครื่องวัดการดูดกลืนแสง

ดังนั้นการทราบค่าความเขียวใบของมันสำปะหลังโดยใช้เครื่อง SPAD-502 สามารถนำไปเข้าสมการคำนวณเป็นปริมาณคลอโรฟิลล์ออกมา จึงน่าจะเป็นแนวทางหนึ่งที่จะนำมาประยุกต์ใช้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพ

วัตถุประสงค์

เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบมันสำปะหลังด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงและด้วยเครื่องวัดคลอโรฟิลล์

การตรวจเอกสาร

มันสำปะหลังเป็นพืชหัวชนิดหนึ่งชื่อวิทยาศาสตร์ *Manihot esculenta* Crantz อยู่ในตระกูล Euphorbiaceae ตระกูลเดียวกับยางพาราละหุ่งและสับปะรดมีทั้งหมดประมาณ 7,200 ชนิดมีถิ่นกำเนิดแถบที่ลุ่มเขตร้อน (Lowland topics) มีหลักฐานว่าปลูกในโคลัมเบียและเวเนซุเอลามานานกว่า 3,000-7,000 ปีมาแล้วสันนิษฐานว่ามันสำปะหลังมีแหล่งกำเนิด 4 แห่งด้วยกันคือแห่งแรกแถบประเทศกัวเตมาลา และเม็กซิโกแห่งที่สองมาจากทางทิศตะวันตกเฉียงใต้ของทวีปอเมริกาใต้ แห่งที่สามมาจากทางทิศตะวันออกของประเทศโบลิเวียและทางทิศตะวันตกเฉียงเหนือของประเทศอาร์เจนตินา และแห่งที่สี่มาจากทางทิศตะวันออกของประเทศบราซิลมันสำปะหลังแพร่กระจายจากอเมริกาใต้มายังประเทศทางทวีป แอฟริกาในราวคริสต์ศตวรรษที่ 16 เป็นพืชเมืองร้อนปลูกได้ดีในประเทศที่อยู่ระหว่างเส้นละติจูด 30 องศาเหนือและ 30 องศาใต้ที่มีปริมาณฝนมากกว่า 500 มิลลิเมตรต่อปีและมีอุณหภูมิเฉลี่ยมากกว่า 20 องศาเซลเซียส แต่มีบางพันธุ์ที่สามารถขึ้นได้ ในประเทศกึ่งร้อนที่มีอุณหภูมิเฉลี่ยต่อปี 16 องศาเซลเซียสแพร่เข้ามาในเมืองไทยโดยถูกนำเข้าจากประเทศมาเลเซียมาปลูกทางภาคใต้เมื่อปี ค.ศ. 1736 มันสำปะหลังเป็นพืชอาหารที่สำคัญเป็นอันดับ 5 ของโลกรองจากข้าวสาลีข้าวโพดข้าวและมันฝรั่งเป็นพืชอาหารที่สำคัญของประเทศในเขตร้อน โดยเฉพาะประเทศต่างๆในทวีป แอฟริกา และทวีปอเมริกาใต้ ในเอเชียประเทศอินโดนีเซีย และอินเดียมีการบริโภคมันสำปะหลังเป็นจำนวนมากปริมาณผลผลิตที่ได้ในแต่ละปี ร้อยละ 60 ใช้เป็นอาหารของมนุษย์ร้อยละ 27.5 ใช้ทำอาหารสัตว์และร้อยละ 12.5 ใช้ประโยชน์ในด้านอื่น ๆ (กรมวิชาการเกษตร,2551)

คลอโรฟิลล์

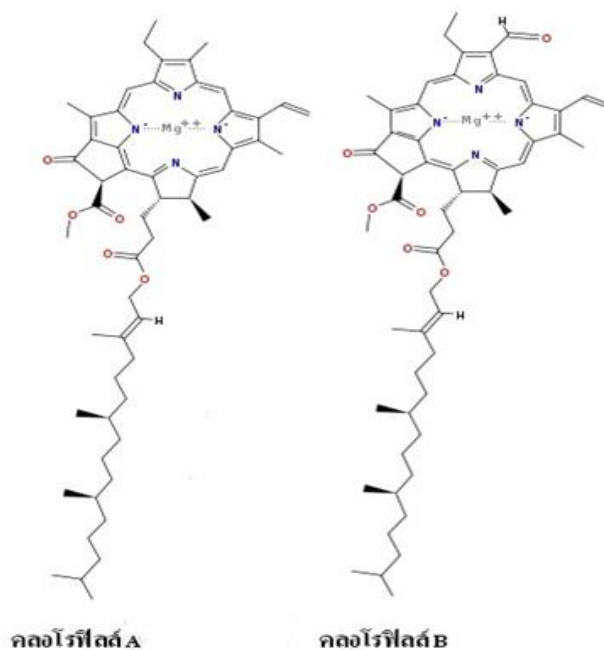
คลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่พบได้ทั่วไปในทุกส่วนที่เป็นสีเขียวของพืช มักพบมากในใบ และในส่วนอื่นๆ เช่น ลำต้น กิ่ง ดอก ผล และรากที่มีสีเขียว โดยเฉพาะในพืชตระกูลผักที่มีสีเขียวเกือบทุกส่วน นอกจากนั้น ยังพบได้ในสาหร่ายทุกชนิด และแบคทีเรียบางชนิด

คลอโรฟิลล์เป็นสารสำคัญในพืชที่ทำหน้าที่รับพลังงานแสงจากดวงอาทิตย์เพื่อไปใช้ในการสร้างพลังงานในกระบวนการสังเคราะห์แสงเพื่อสร้างสารอินทรีย์ เช่น น้ำตาล คลอโรฟิลล์เป็นสารที่ดูดกลืนแสงในช่วงแสงสีฟ้า และสีแดง และดูดกลืนแสงสีเหลือง และสีเขียวได้น้อย ดังนั้น เราจึง

มองเห็นใบพืชมีสีเขียวได้ เนื่องจากคลอโรฟิลล์ดูดกลืนแสงสีฟ้า และสีแดงไว้ ส่วนแสงสีเขียวจะสะท้อนออกมาทำให้ตามองเห็น องค์ประกอบสำคัญคลอโรฟิลล์จะประกอบด้วยธาตุไนโตรเจน (N) ดังนั้น ถ้าในดินขาดธาตุไนโตรเจนจะทำให้พืชขาดคลอโรฟิลล์ด้วย ทำให้การสังเคราะห์แสงของพืชลดลง พืชมีการเจริญเติบโตน้อย ลำต้นแคระแกรน ใบหยิกงอ หากขาดมากจะทำให้พืชหยุดการเจริญเติบโต และตายได้ นอกจากนี้ ยังพบธาตุอื่นที่มีความจำเป็นต่อการสร้างคลอโรฟิลล์ เช่น เหล็ก (Fe)

คลอโรฟิลล์ที่พบในธรรมชาติพบได้ในพืชหลายชนิด ทำให้คลอโรฟิลล์ที่พบมีความแตกต่างกัน แต่จะมีโครงสร้างที่เหมือนกัน คือ ประกอบด้วยวงแหวนไพโรล (Pyrrole ring) จำนวน 4 วง ส่วนที่ทำให้แตกต่างกัน คือ คลอโรฟิลล์ที่ต่างกันจะมีโซ่ข้าง (Side Chain) ที่แตกต่างกัน เช่น โครงสร้างโมเลกุลของคลอโรฟิลล์ เอ (Chlorophyll a) และคลอโรฟิลล์ บี (Chlorophyll b) จะแตกต่างกันที่ตำแหน่งวงแหวนไพโรล ตำแหน่งที่ 3 (Carbon C-3) นับจากตำแหน่งอะตอมไนโตรเจนล่างสุดเวียนขึ้นด้านบน (ภาพที่ 1) โดยโซ่ต่อด้านข้างคลอโรฟิลล์ เอ เป็นหมู่เมทิล ($-CH_3$) ส่วนโซ่ต่อด้านข้างของคลอโรฟิลล์ บี เป็นหมู่อัลดีไฮด์ ($-CHO$) ทำให้โมเลกุลของคลอโรฟิลล์ เอ มีขั้ว จึงละลายในสารละลายที่มีขั้ว เช่น น้ำ และเมทิลแอลกอฮอล์ ได้ดีกว่าคลอโรฟิลล์ บี มีหมู่อัลดีไฮด์ที่ไม่มีขั้ว จึงละลายได้ดีในสารที่ไม่มีขั้ว เช่น อีเทอร์ และคลอโรฟอร์ม เป็นต้น นอกจากนี้ ยังทำให้สีที่มองเห็นแตกต่างกัน คือ คลอโรฟิลล์ เอ จะมีสีเขียวเข้ม ส่วนคลอโรฟิลล์ บี จะมีสีเขียวอ่อน (ภาควิทยาการเกษตร, 2550. สรีรวิทยาของพืช.)

คลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีจะพบได้ในพืชที่มีสีเขียวมีอัตราส่วนคลอโรฟิลล์เอ: คลอโรฟิลล์ บี ที่ 3:1 ที่มา : ภาควิทยาการเกษตร, 2550.



ภาพที่ 1 โครงสร้างคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บี

สูตรโครงสร้างโมเลกุลของคลอโรฟิลล์จะแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนหัว ที่ประกอบด้วยวงแหวนไพโรล (Pyrrole ring) โดยมีไนโตรเจน และแมกนีเซียมเชื่อมเชื่อมพันธะเป็นองค์ประกอบอยู่ตรงกลาง และส่วนที่ 2 คือ ส่วนหางที่มีไฮโดรคาร์บอนสายยาว เรียกว่า ไฟทอล (Phytol) จากสูตรโมเลกุลของคลอโรฟิลล์ที่เหมือนกัน พบว่า ในองค์ประกอบของ โมเลกุลจะมีไนโตรเจนจำนวน 4 อะตอม จึงถือได้ว่าธาตุไนโตรเจนมีความสำคัญต่อการสร้างสารสีเขียวของคลอโรฟิลล์ สำหรับการเจริญเติบโตของพืชเป็นอย่างดี (ภาคภูมิ พระประเสริฐ, 2550. สรีรวิทยาของพืช.)

ชนิดของคลอโรฟิลล์

1. Chlorophyll a

- สูตร โมเลกุล : $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$
- หมู่ C3 : $-CH = CH_2$
- หมู่ C7 : $-CH_3$
- หมู่ C8 : $-CH_2CH_3$
- หมู่ C17 : $-CH_2CH_2COO-Phytol$

- พันธะ C17-C18 : เดี่ยว
- แหล่งที่พบ : พบได้ทั่วไป

2. Chlorophyll b

- สูตรโมเลกุล : $C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$
- หมู่ C3 : $-CH = CH_2$
- หมู่ C7 : $-CHO$
- หมู่ C8 : $-CH_2CH_3$
- หมู่ C17 : $-CH_2CH_2COO-Phytol$
- พันธะ C17-C18 : เดี่ยว
- แหล่งที่พบ : ส่วนใหญ่พบในพืช

3. Chlorophyll c1

- สูตรโมเลกุล :
- หมู่ C3 : $-CH = CH_2$
- หมู่ C7 : $-CH_3$
- หมู่ C8 : $-CH_2CH_3$
- หมู่ C17 : $-CH = CHCOOH$
- พันธะ C17-C18 : คู่
- แหล่งที่พบ : สาหร่ายหลายชนิด

4. Chlorophyll c2

- สูตรโมเลกุล :
- หมู่ C3 : $-CH = CH_2$
- หมู่ C7 : $-CH_3$
- หมู่ C8 : $-CH = CH_2$
- หมู่ C17 : $-CH = CHCOOH$
- พันธะ C17-C18 : คู่
- แหล่งที่พบ : สาหร่ายหลายชนิด

5. Chlorophyll d

- สูตรโมเลกุล :
- หมู่ C3 : -CHO
- หมู่ C7 : -CH₃
- หมู่ C8 : -CH₂CH₃
- หมู่ C17 : -CH₂CH₂COO-Phytol
- พันธะ C17-C18 : เดี่ยว
- แหล่งที่พบ : แบคทีเรียที่สังเคราะห์ด้วยแสงได้ (Cyanobacteria)

การสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ในพืช

การสังเคราะห์คลอโรฟิลล์เกิดขึ้นบริเวณคลอโรพลาสต์ (Chloroplast) ที่มีเยื่อหุ้ม 2 ชั้น ประกอบด้วย Matrix เรียกว่า สโตรมา (Stroma) มีโครงสร้างเป็นเยื่อหุ้ม 2 ชั้น ได้แก่ ชั้นไทราคอยด์ (Thylakoid) และชั้นกรานา (Grana) โดยมีสโตรมาไทราคอยด์ (Stromal thylakoid) เป็นส่วนเชื่อมต่อกัน นอกจากนี้ ยังประกอบด้วยโครงสร้างที่เป็นทรงกลมที่มีควิโนน (Quinone) จำนวนมาก และยังมีไรโบโซมดีเอ็นเอ และเมมเบรนที่ได้จากการสังเคราะห์แสง องค์ประกอบคลอโรพลาสต์ประกอบด้วยน้ำ 70–80% ส่วนที่เหลือจากน้ำทั้งหมดจะประกอบด้วยโปรตีน 60% ไขมัน 30–40% และสารสี 5–10% (วงษ์จันทร์ วงษ์แก้ว, 2535. หลักสรีรวิทยาของพืช.)

การวัดคลอโรฟิลล์ในใบพืช

1. การวัดแบบทำลายใบ

การวัดคลอโรฟิลล์แบบทำลายใบ เป็นการวัดที่ต้องตัดส่วนของใบพืชมาวิเคราะห์การดูดซับแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ในห้องปฏิบัติการ ด้วยการตัดใบพืชเป็นชิ้นเล็กๆ 1-2 เซนติเมตร แล้วเติมสาร Dimethyl formamide ประมาณ 7 มิลลิลิตร ปลอ่ยให้ใบพืชถูกย่อยที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส จนเนื้อเยื่อเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีขาว หลังจากนั้น นำมากรองเอาสารละลายเข้าเครื่องวิเคราะห์การดูดซับแสงเพื่อคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ (ภาควิชา พระประเสริฐ, 2550. สรีรวิทยาของพืช.)

2. การวัดแบบไม่ทำลายใบ

การวัดคลอโรฟิลล์แบบไม่ทำลายใบ เป็นวิธีที่นิยมในปัจจุบัน เนื่องจากสะดวก และประหยัดเวลา และค่าใช้จ่ายได้มาก การวัดจะใช้ปากคีบของเครื่อง คีบหนีบที่ใบพืช โดยให้ตำแหน่งหัววัดอยู่บริเวณส่วนกลางใบมากที่สุด และไม่ควรให้ตรงเส้นใบหรือก้านใบ เช่น การใช้เครื่องคลอโรฟิลล์มิเตอร์(ภาพที่2)

การสกัดคลอโรฟิลล์

คลอโรฟิลล์เป็นส่วนที่อยู่บริเวณลามัลลา ระหว่างเซลล์ออร์แกเนลล์ของพืชที่เรียกว่า คลอโรพลาสต์ (Chloroplasts) โดยสามารถสกัดคลอโรฟิลล์ เอ ได้ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้ว เช่น น้ำเอทานอล เมทานอล อะซิโตน เอทิลอะซิเตท และไพรีดิน เป็นต้น ส่วนคลอโรฟิลล์ บี สามารถสกัดได้ด้วยตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว เช่น อีเทอร์ และคีโตน (ภาควิทยาการพืช ประเสริฐ.2550 สรีรวิทยาของพืช.)



ภาพที่ 2 เครื่องคลอโรฟิลล์ มิเตอร์ รุ่น SPAD-502

ประโยชน์ของคลอโรฟิลล์

ปัจจุบัน คลอโรฟิลล์ที่สกัดได้จากส่วนสีเขียวของพืชกำลังเป็นที่นิยมนำมารับประทาน เพื่อเป็นอาหารเสริมสำหรับสุขภาพเป็นอย่างมาก

คลอโรฟิลล์ประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น

- เป็นสารอาหารประเภทให้พลังงานแก่ร่างกาย ประกอบด้วยโปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต
- ช่วยเพิ่มปริมาณเม็ดเลือดแดง ป้องกันโรคโลหิตจาง
- ช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน
- ช่วยป้องกันตับอักเสบ และเสริมการทำงานของตับ
- ช่วยป้องกันแผลอักเสบ และระงับเชื้อ
- ช่วยป้องกันโรคมะเร็งต่างๆ เช่น มะเร็งกระเพาะอาหาร มะเร็งลำไส้ เป็นต้น
- ช่วยให้มึนระบบขับถ่ายที่ดีขึ้น
- ช่วยควบคุมความเป็นกรดในกระเพาะอาหาร และส่งเสริมการย่อยอาหาร
- ช่วยรักษาสมดุลจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในระบบทางเดินอาหาร
- ป้องกันโรคท้องร่วง โรคติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร
- ช่วยในการดูดซึมน้ำ และแร่ธาตุในลำไส้
- ช่วยป้องกันโรคกรดไหลย้อน
- ช่วยลดกลิ่นตัวเหม็น
- ช่วยให้ผิวพรรณแลดูเปล่งปลั่งสดใส
- เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ทำให้แลดูอ่อนกว่าวัย

การรักษาสภาพคลอโรฟิลล์

1. การลวกหรือให้ความร้อน

การลวกผักหรือสมุนไพร เป็นการให้ความร้อนเพื่อให้เนื้อผักอ่อนนุ่ม แต่การลวกถือเป็นการ ให้ความร้อนที่มีน้ำเป็นตัวทำละลายทำให้คลอโรฟิลล์ละลายน้ำออกมาในรูปของสารละลาย โดย สารละลายคลอโรฟิลล์สีเขียวที่ให้ความร้อนจะเป็นการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ และการกำจัดคุณสมบัติของ เอนไซม์บางชนิดที่ย่อยสลายคลอโรฟิลล์ทำให้สารละลายคลอโรฟิลล์สามารถเก็บไว้ได้นานขึ้น

2. การเติมด่าง

น้ำลวกผักหรือสารละลายคลอโรฟิลล์มักมีสภาพเป็นกรดเล็กน้อย ดังนั้น การเติมสารที่เป็นด่างจะ ช่วยปรับสภาพความเป็นกรด-ด่างให้เป็นกลาง ซึ่งจะช่วยป้องกันการเกิดฟิโอฟิตินของคลอโรฟิลล์ ได้ เช่น การเติมแคลเซียมไฮดรอกไซด์ และแมกนีเซียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งจะช่วยรักษาสภาพของ สาร สกัดให้คงสีเขียวของคลอโรฟิลล์เหมือนเดิมในระหว่างการเก็บรักษา

3. การเติมเอนไซม์

เอนไซม์ที่ใช้สำหรับรักษาสภาพของคลอโรฟิลล์ คือ เอนไซม์คลอโรฟิลเลส เพื่อเปลี่ยนสภาพคลอโรฟิลล์เป็นคลอโรฟิลล์ไลด์ที่สามารถละลายในน้ำได้ดีมากกว่าคลอโรฟิลล์

4. การเติมแร่ธาตุ

การเติมแร่ธาตุบางชนิด เช่น สังกะสีไอออน (Zn^{2+}) และคอปเปอร์ไอออน (Cu^{2+}) ในรูปของเกลือคลอไรด์ และซัลเฟต สามารถรักษาสภาพของคลอโรฟิลล์หรือสารสกัดคลอโรฟิลล์ได้นานขึ้น

เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง

การหาปริมาณสารใดสารหนึ่งโดยวิธีการทางห้องปฏิบัติการมีอยู่หลายวิธีแต่วิธีที่นิยมใช้มากคือการวัดความเข้มของสี (colorimetry) หรือการวัดความเข้มของแสง โดยการเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน (standard solution) ที่ทราบค่า ในระยะแรก ๆ การเปรียบเทียบความเข้มของสีอาศัยสายตา (visual colorimetry) ซึ่งมีความถูกต้องและแม่นยำต่ำ ต่อมาได้มีการนำตัวไวแสง (photo sensor) มาใช้แทนการเปรียบเทียบด้วยสายตา จึงเรียกเครื่องมือที่ใช้ตัวไวแสงว่า “photoelectric colorimeter” หรือ “photometer” เนื่องจากสารหรือสีที่จะวัดมีความสามารถในการดูดกลืนแสง หรือปล่อยแสงที่มีช่วงความยาวคลื่น (spectrum) ที่แตกต่างกัน ดังนั้น เพื่อให้การวัดมีความจำเพาะ (specificity) และความไว (sensitivity) สูง จึงได้พัฒนาเครื่องมือที่สามารถวัดความเข้มของแสงช่วงความยาวคลื่นแคบ ๆ ได้อย่างต่อเนื่องตามต้องการและใช้ตัวไวแสงที่มีประสิทธิภาพสูงเครื่องมือดังกล่าวถูกเรียกว่า “สเปกโตรโฟโตมิเตอร์” (spectrophotometer) ซึ่งในปัจจุบันได้มีการพัฒนาไปมากมีทั้งแบบ อะนาล็อก แบบดิจิทัล รวมทั้งแบบดิจิทัลที่ทำงานโดยอัตโนมัติที่มีระบบ ไมโครโปรเซสเซอร์ควบคุมการทำงาน เครื่องวัดความเข้มของแสง (spectrophotometer) แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่คือ การวัดแสงที่ ปล่อยออกมา (emission light) การวัดแสงที่ถูกดูดกลืน (absorption light) และการวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence light) ที่ปล่อยออกมา เครื่องวัดการดูดกลืนแสง และเครื่องวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ มีองค์ประกอบที่คล้ายกัน แต่ตำแหน่งการวาง อุปกรณ์ต่างกัน กล่าวคือเครื่องวัดการดูดกลืนแสงมีหลอดไฟกำเนิดแสง (light source) ส่องแสงผ่านไปยังตัวแยกแสง (monochromator) ผ่านสารตัวอย่าง (sample) ผ่านตัวไวแสง (photo sensor) แล้วจึงอ่านค่าออกมา ส่วนเครื่องวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ หลอดไฟกำเนิดแสงจะส่อง แสงผ่านสารตัวอย่างเพื่อทำให้เกิด

แสงฟลูออเรสเซนซ์ แล้วให้แสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นส่องผ่าน ไปสู่ตัวแยกแสงและอุปกรณ์อื่นๆ ตามลำดับส่วนเครื่องวัดการเปล่งแสงโดยเปลวไฟมีอุปกรณ์ต่าง ๆ เหมือนกับเครื่องวัดการดูดกลืนแสง แต่ต่างกันตรงที่ไม่มีหลอดไฟกำเนิดแสง (ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์.2530.เครื่องมือวิทยาศาสตร์.227-228)

ธรรมชาติของแสง

แสงเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (electromagnetic wave) ที่มีความเร็วในการเดินทางสูงมาก กล่าวคือ มีความเร็วในสุญญากาศเท่ากับผลคูณของความยาวคลื่น (λ) และความถี่ (ν) แต่ความเร็วในการเดินทางจะเปลี่ยนไปเมื่อเดินทางผ่านตัวกลางอื่นๆ โดยมีความเร็วในการเดินทางเท่ากับ 2.9979×10^{-16} ซม./วินาที / n (n = ดรรชนีหักเหของตัวกลาง, refractive index) พลังงานของแสงมีค่าเท่ากับผลคูณของความถี่และค่าคงตัว (h , h = Planck's constant = 6.6×10^{-27} เอิร์ก-วินาที) ดังนั้นแสงที่มีความถี่มากจึงมีพลังงานสูงมีความร้อนมาก และมีอำนาจการทะลุทะลวงสูงซึ่งผู้ปฏิบัติงานต้องคำนึงถึงอันตรายดังกล่าวด้วยความเข้มของแสงนิยมนวัดในหน่วยกำลังเทียน (candle power) หรือลูเมน (lumen) ปริมาณแสงแปรผันโดยตรงกับความเข้ม (intensity) ของแสง ดังนั้นการวัดความเข้มของแสงจึงเป็นการวัดปริมาณแสงทางอ้อม

ความยาวคลื่นแสงนิยมนแทนด้วยอักษรกรีกคือ “ λ ” (แลมบ์ดา, lambda) แสงแต่ละช่วงความยาวคลื่นถูกกำหนดให้มีชื่อเรียกต่างกันตามข้อกำหนด “The Joint Committee on Nomenclature in Applied Spectroscopy”

แสงที่มองเห็น(visible light)เป็นแสงสีขาวที่เกิดจากการรวมกันของแสงสีต่างๆมีสีหลักอยู่ 7 สี คือสีม่วง สีคราม สีน้ำเงิน สีเขียว สีเหลือง สีแสด และสีแดง เมื่อแสงสีขาวตกกระทบวัตถุแล้วทำให้มองเห็นวัตถุเป็นสีใด แสดงว่าวัตถุดูดกลืนแสงสีอื่น ๆ หมด แต่สะท้อนแสงที่ตามองเห็นออกมา แต่ถ้าวัตถุนั้นๆ ดูดกลืนแสงทุกสีไว้ได้หมดจะมองเห็นวัตถุเป็นสีดำแสงอัลตราไวโอเลต (ultraviolet light) เป็นแสงที่มีคุณสมบัติทำให้อะตอมเกิดการส่งผ่าน (electronic transmission) เมื่อร่างกายถูกแสงนี้เป็นเวลานานอาจเกิดอันตราย ตัวอย่างเช่น ผิวหนังไหม้เกรียม เชื้อบรูคตาถูกทำลาย และอาจทำให้เกิดมะเร็งของผิวหนังได้เนื่องจากแสงอัลตราไวโอเลตทำให้ไทมีนเบส (thymine base) ในนิวคลีอิกของเซลล์รวมตัวกันทำให้ การอ่านรหัสบนยีนผิดไป เป็นผลให้เซลล์ควบคุมการเจริญเติบโตไม่ได้

แสงอินฟราเรด(infrared light) เป็นแสงที่มองไม่เห็นด้วยตาเปล่า สามารถทำให้โมเลกุลของวัตถุต่าง ๆ เกิดการสั่นสะเทือนอย่างรุนแรงจนเกิดความร้อนขึ้นมาก เนื่องจากวัตถุส่วนใหญ่ดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นในช่วง 3,000-100,000 นาโนเมตรได้ดี ดังนั้นจึงนิยมใช้รังสีอินฟราเรดในการทำให้วัตถุต่างๆแห้ง เพราะมีประสิทธิภาพในการทำให้แห้งสูงกว่าการใช้แบบความร้อนธรรมดา (ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์.2530.เครื่องมือวิทยาศาสตร์.229-230)

กฎของแสง

เมื่อแสงตกกระทบวัตถุอาจจะเกิดการดูดกลืนแสง การส่องผ่าน การกระจาย การสะท้อน กลับหรือการเปล่งแสงฟลูออเรสเซนซ์ แต่กฎของแสงที่นำมาใช้วัดค่าการดูดกลืนแสงถือว่ามีเฉพาะแสงที่ตกกระทบ แสงที่ดูดกลืน และแสงที่ส่องผ่าน โคนไม่คำนึงถึงผลกระทบของแสงรบกวน ดังนั้นเพื่อให้การวัดความเข้มของแสงเป็นไปตามกฎดังกล่าว การผลิตเครื่องวัดการดูดกลืนแสง และการใช้งานจึงต้องป้องกันการเกิดแสงรบกวนให้น้อยที่สุด (ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์.2530.เครื่องมือวิทยาศาสตร์.227-228)

การวัดค่าการดูดกลืนแสงเพื่อนำค่ามาคำนวณหาปริมาณสารนิยมวัดอยู่ 2 วิธีคือ

1. การวัดค่าการดูดกลืนแสงสมบูรณ์ (absolute absorbance) เป็นการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารเมื่อเทียบกับอากาศหรือน้ำกลั่น ในคิวเวทที่มีความกว้าง 1 เซนติเมตร หลังจากนั้นหารค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ด้วย E จะได้ค่าความเข้มข้นของสาร ($A-E_{ct}$)

การวิเคราะห์โดยวิธีนี้ถือว่าค่า E มีค่าคงที่แต่ในทางปฏิบัติค่า E มักจะแตกต่างกันไปจากที่กำหนดไว้เป็นค่ามาตรฐาน เพราะค่า E ขึ้นอยู่กับคุณภาพของเครื่องวัดการดูดกลืนแสงตัวอย่างเช่น ความถูกต้องของการวัดความเข้มของแสง (photometric accuracy) แสงรบกวนจากเครื่องมือ ฯลฯ.

นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับคุณภาพของคิวเวทท์ที่ใช้ด้วย เพื่อให้การวิเคราะห์หาปริมาณสารมีความถูกต้องมากที่สุดจึงควรหาค่า ϵ สำหรับเครื่องวัดการดูดกลืนแสงนั้นๆ โดยวัดจากสารมาตรฐานที่บริสุทธิ์ที่มีความเข้มข้นต่างๆ

2. การวัดค่าการดูดกลืนแสงสัมพัทธ์ (relative absorbance) เป็นการวัดค่าการดูดกลืนแสงเปรียบเทียบกันระหว่างสารละลายมาตรฐานที่ทราบค่า (standard solution) กับสารละลายที่ต้องการหาปริมาณ วิธีนี้นิยมใช้มากเนื่องจากลดความผิดพลาดจากความคลาดเคลื่อนของเครื่องวัดการดูดกลืนแสง คุณภาพคิวเวทท์ตลอดจนเทคนิคที่ใช้ได้เพราะใช้เทคนิคอุปกรณ์ และเครื่องมืออันเดียวกันการวัดค่าการดูดกลืนแสงอาจแบ่งตามปฏิกิริยาเคมีได้ 2 แบบคือ

2.1 แบบปฏิกิริยาสมดุล (equilibrium reaction) เป็นการวัดค่าการดูดกลืนแสงเมื่อปฏิกิริยาเคมีสมดุล หรือถึงจุดหยุดปฏิกิริยา สารละลายจะดูดกลืนแสงคงที่ที่จุดนี้ แต่ปฏิกิริยาส่วนใหญ่จะใช้เวลานานในการเกิดสมดุล

2.2 แบบปฏิกิริยาจลน์ (kinetic reaction) เป็นการวัดค่าการดูดกลืนแสงในขณะที่ปฏิกิริยายังไม่หยุดนิ่งค่าการดูดกลืนแสงมีการเปลี่ยนแปลงได้ในลักษณะที่เพิ่มขึ้นหรือลดลงคำนวณหาปริมาณสารได้จากค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงต่อหน่วยเวลาแต่เนื่องจากช่วงเวลามักจะเป็นช่วงเวลาสั้นๆเป็นวินาทีการวัดแบบนี้จึงควรใช้เครื่องวัดการดูดกลืนแสงที่มีระบบวัดค่าการดูดกลืนแสงต่อหน่วยเวลาแบบอัตโนมัติ

โดยทั่วไปจะวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นเดียว แต่ในระยะหลัง นิยมวัดหลายความยาวคลื่น (multi wavelength measurement) เพื่อลดการรบกวนจากสารอื่นๆที่ไม่ต้องการวัด ตัวอย่างเช่น ระบบการวัด 2 ความยาวคลื่น (bichromatic measurement system) ใช้ความยาวคลื่นอันแรกสำหรับวัดค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารที่ต้องการวิเคราะห์และใช้ความยาวคลื่น อันที่สองสำหรับวัดการดูดกลืนแสงของสารรบกวนที่ปนอยู่ในสารตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์หลังจากนั้นจึงนำค่าการดูดกลืนแสงของสารรบกวนมาลบออกจากค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างซึ่งจะทำให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงเฉพาะที่เกิดจากสารที่ต้องการวิเคราะห์ หรือในระบบการวัด 3 ความยาวคลื่น (trichromatic measurement system) จะเพิ่มความยาวคลื่นอันที่ 3 มาวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารรบกวนตัวที่ 2 หลังจากนั้นจึงหาค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงของความยาวคลื่นอันที่ 2 และอันที่ 3

ก่อนนำไปลบออกจากค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง ฯลฯ. (ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์.2530. เครื่องมือวิทยาศาสตร์.232-234)

องค์ประกอบและคุณสมบัติ

เครื่องวัดการดูดกลืนแสงโดยทั่วไปมีองค์ประกอบพื้นฐานที่เหมือนกันคือ ภาชนะจ่ายกระแสไฟฟ้า (power supply) หลอดไฟกำเนิดแสง (light source) ช่องแสงเข้า (entrance slit) ช่องแสงออก (exit slit) ตัวแยกแสง (monochromator) ช่องใส่สารตัวอย่าง (sample holder) ตัวไวแสง (photo sensor) ภาชนะขยายสัญญาณ (amplifier) และภาคแสดงผล (read out) การออกแบบและคุณภาพของแต่ละส่วน ตลอดจนการทำงานร่วมกันทั้งระบบจะก่อให้เกิดประสิทธิภาพโดยรวมที่แท้จริงของวัดค่าการดูดกลืนแสง (ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์.2530.เครื่องมือวิทยาศาสตร์.234-258)



ภาพที่ 3 รูปร่างของเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง แบบดิจิทัล ชนิดตั้งโต๊ะ

ข้อควรปฏิบัติในการใช้งาน

เพื่อให้การใช้เครื่องวัดการดูดกลืนแสงมีความผิดพลาดน้อยที่สุดควรปฏิบัติดังนี้

1. เลือกใช้วิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสม

2. เลือกสารตัวอย่างที่เหมาะสม (ไม่ปนหรือมีสีอื่น ๆ เจือปนมาก)
3. ปฏิบัติตามคำแนะนำในคู่มือการใช้งาน (operating manual) อย่างเคร่งครัด
4. ตั้งเครื่องมือในที่ที่มีฝุ่นน้อยความชื้นต่ำอุณหภูมิไม่สูง และควรตั้งห่างจากผนังเพื่อให้ความร้อนระบายออกได้ดี
5. ใช้เครื่องควบคุมโวลต์ (voltage stabilizer) ถ้าโวลต์ของกระแสไฟฟ้าที่จ่ายให้กับเครื่องมือมีค่าเปลี่ยนแปลงเกิน 10% (198-242 โวลต์)
- 6.อุ่นเครื่องให้พอเพียงก่อนการใช้งาน
7. ตรวจสอบความเสื่อมสภาพของหลอดไฟกำเนิดแสงเป็นระยะ ๆ พร้อมกับดูตำแหน่งที่ถูกต้องด้วย
8. ปิดหลอดไฟกำเนิดแสงเมื่อไม่ได้ใช้งาน
9. ปิดช่องแสงออกเมื่อไม่ได้วัดความเข้มของแสงเพื่อป้องกันการลา
10. ใช้ความกว้างของช่องแสงออกแคบ เพื่อสร้างแสงสีเดียวที่มีช่วงความยาวคลื่นแคบ
11. ควรอ่านค่าความเข้มของแสงในช่วง 15-80 %T เนื่องจากการตอบสนองของตัวไวแสงส่วนใหญ่เป็นเส้นตรง
12. ใช้คิวเวทท์ที่สะอาดและมีค่าความต่างของ %T ต่ำ
13. ในกรณีที่มีคิวเวทท์น้อยจำเป็นต้องใช้ร่วมกัน ควรวัดสารละลายที่มีความเข้มข้นน้อยก่อน สารละลายที่มีความเข้มข้นมากตามลำดับ
14. ตรวจสอบความไวของตัวไวแสงเป็นระยะๆ
15. ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลง 100 %T หรือ 0A เป็นระยะๆ ในขณะที่ใช้งานเครื่องมือ
16. มีการบำรุงรักษาเครื่องมือเป็นระยะและสม่ำเสมอ

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

การศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างการวัดคลอโรฟิลล์ในใบมันสำปะหลังด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงและด้วยเครื่องวัดคลอโรฟิลล์ มีอุปกรณ์ดังนี้

1. อุปกรณ์บันทึกข้อมูล

- 1.1. สมุดจดบันทึก
- 1.2. ปากกา
- 1.3. โปรแกรมเอกซ์เซล
- 1.4. โปรแกรมสตาร์ (star)

2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

- 2.1. หลอดแก้ว
- 2.2. คิวเวทแก้ว
- 2.3. เครื่องชั่งน้ำหนักใบ
- 2.4. สารไดเมทิลฟอร์มาไรม์ (DMF)
- 2.5. ฮอร์โมนไซโทไคนินความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 1.5

3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บข้อมูล

- 3.1. เครื่องวัดคลอโรฟิลล์มิเตอร์
- 3.2. เครื่องวัดการดูดกลืนแสง

4.การเตรียมต้นมันสำปะหลัง

การทดลองที่1จะเลือกใช้ต้นมันสำปะหลังพันธุ์ ระยอง72 อายุ 5เดือน ในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 30 เซนติเมตร ซึ่งเป็นต้นที่ได้จากการใส่ปุ๋ย สูตร 15-15-15 รดน้ำโดยใช้สายยางเฉลี่ย 2วันต่อ1ครั้ง ใช้จำนวนต้นมันสำปะหลังทั้งหมด 3 ต้นในการทดลองแรก ณ สถานที่โรงเรียน ภาควิชาพืชไร่นา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และการทดลองที่2ใช้ต้นมันสำปะหลังพันธุ์ ห้วยบง 80 และ ระยอง9 (ภาพที่4) แบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลองดังนี้

วิธีการ

การทดลองที่ 1 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบมันสำปะหลังด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงและด้วยเครื่องวัดคลอโรฟิลล์

ในการทดลองที่ 1 จะใช้ต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่มีอายุ 5 เดือน ที่ใช้ในการปลูกทดลองเพื่อวิจัยอยู่แล้วมาเก็บข้อมูล ณ สถานที่โรงเรียนภาควิชาพืชไร่นา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โดย 2 สัปดาห์แรกจะใช้เครื่องคลอโรฟิลล์มิเตอร์รุ่น SPAD-502 วัดความเขียวใบของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่ใช้ในการทดลอง เก็บข้อมูลตั้งแต่ใบที่คลี่ใบแรกจนถึงใบสุดท้าย ในสัปดาห์ที่จะใช้การสุ่มเจาะ ใบมันสำปะหลังที่สมบูรณ์ 21 ใบเพื่อนำใบมันสำปะหลังไปชั่งน้ำหนักใบ จากนั้นนำใบมันสำปะหลังที่ชั่งน้ำหนักแล้ว มาใส่หลอดทดลองและใส่สาร N,N-dimethylformamide (DMF) (ภาพที่ 5) ปิดฝาให้สนิทแล้วเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง เพื่อให้สารละลายความเขียวใบออกมาให้หมดและนำสารที่ละลายออกหมดแล้วไปใส่ในคิวเวทท์แก้ว เพื่อจะนำไปเข้าเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ด้วยเครื่อง spectrophotometer (ภาคผนวกที่ 2) โดยใช้ค่าดูดกลืนแสงที่ คลอโรฟิลล์ a 664 คลอโรฟิลล์ b 647 (Porra et al., 1989). พอได้ค่าดูดกลืนแสงมา ก็จะนำไปใช้คำนวณหาสมการการเส้นตรง เพื่อนำไปใช้หาความสัมพันธ์กับการวัดความเขียวใบโดยใช้เครื่องวัดคลอโรฟิลล์โดยใช้การคำนวณโดยโปรแกรม Microsoft excel (Data Analysis Tool) เพื่อทดสอบว่าค่าที่ได้จากการคำนวณ โดยเครื่องวัดคลอโรฟิลล์มิเตอร์ มีความสัมพันธ์กันและสามารถนำเครื่องคลอโรฟิลล์มิเตอร์ไปวัดความเขียวใบและนำไปเข้าสมการการคำนวณเพื่อหาปริมาณคลอโรฟิลล์

การทดลองที่ 2 ศึกษาความสัมพันธ์ของความเขียวใบกับปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบต่อฮอร์โมนไซโทไคนิน ที่ความเข้มข้น 0,0.5,1,1.5,2

ในการทดลองที่ 2 จะเป็นการเก็บข้อมูล ณ สถาบันพัฒนามันสำปะหลังหัวขบง พันธุ์มันสำปะหลังที่ใช้คือ พันธุ์ระยอง 9 และหัวขบง 80 โดยจะใช้เครื่องวัดคลอโรฟิลล์รุ่น SPAD-502 วัดใบมันสำปะหลังใบที่ 6 จากใบที่คลี่ใบแรกและคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์โดยใช้โปรแกรม Microsoft excel และ โปรแกรม star เพื่อดูว่าการใช้สารเร่งฮอร์โมนไซโทไคนิน ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน และ พันธุ์ที่ต่างกัน ว่ามีความเขียวใบหรือปริมาณคลอโรฟิลล์แตกต่างกันหรือไม่ (ภาคผนวกที่ 2)



(ก)

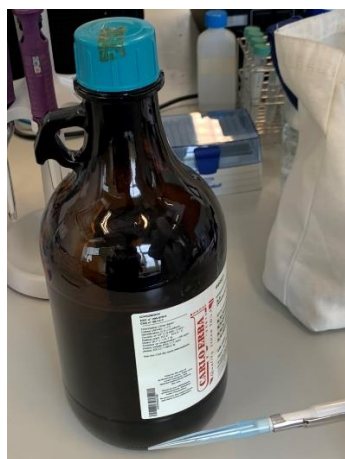


(ข)



(ค)

ภาพที่ 4 พันธุ์มันสำปะหลังที่ใช้ในการทดลอง (ก) พันธุ์ระยอง 72 (ข) พันธุ์ระยอง 9
(ค) พันธุ์ ห้วยบง 80



(ก)



(ข)

ภาพที่ 5 สาร (ก) N,N-dimethylformamide (DMF) ใช้ละลายความเขียวใบ (ข) ความเขียวใบที่ถูก
ละลาย โดยทิ้งไว้ 24 ชม.

การวิเคราะห์ข้อมูล

การหาความสัมพันธ์ในการทดลองที่1และ2 ใช้สมการ linear regression โดยใช้โปรแกรม

Microsoft excel (Data Analysis Tool) ซึ่งหาความสัมพันธ์ดังนี้

- 1.ค่าความเขียวใบกับปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และคลอโรฟิลล์ทั้งหมด
- 2.ปริมาณคลอโรฟิลล์ต่อการฉีดสารเร่งฮอร์โมนไซโทไคนิน
- 3.การวิเคราะห์ ANOVA ด้วยโปรแกรม STAR (IRRI) สำหรับการทดลองแบบ split-plot in RCBD

สถานที่และระยะเวลาการทําวิจัย

1. สถานที่การทําวิจัย

- 1.1 โรงเรือน ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- 1.2 สถาบันพัฒนามันสำปะหลัง อ.ห้วยบง ต.ด่านขุนทด จ.นครราชสีมา
- 1.3 อาคารวชิรานุสรณ์ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. ระยะเวลาการทําวิจัย

ณ สถานที่โรงเรือนภาควิชาพืชไร่นา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 11 สิงหาคม 2563 - 09 กันยายน 2563

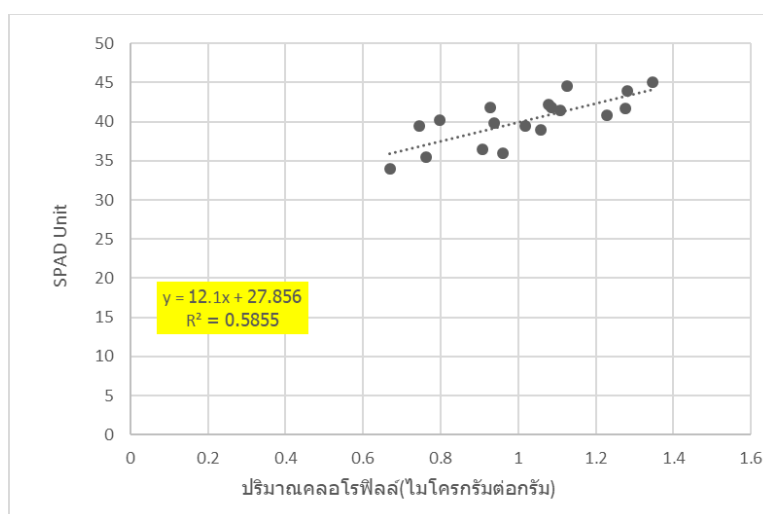
ณ สถาบันพัฒนามันสำปะหลังห้วยบง จังหวัด นครราชสีมา 20 กันยายน 2563 – 30 ธันวาคม 2563

ผลและวิจารณ์

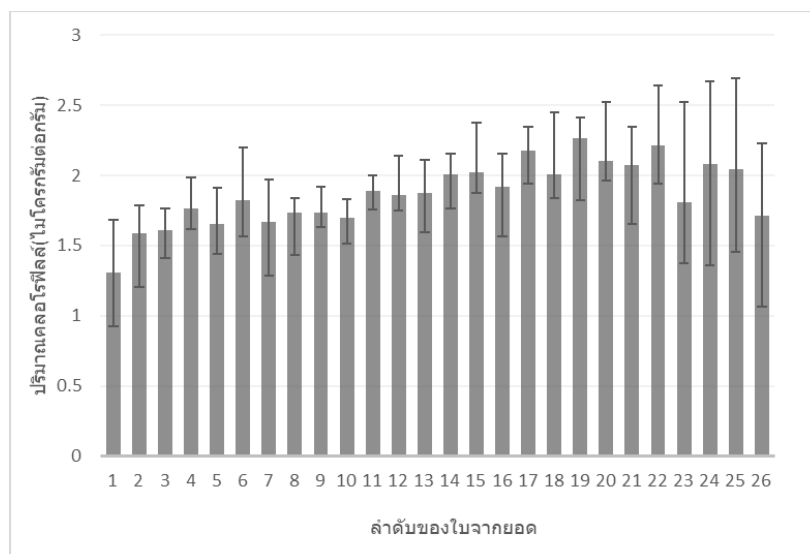
จากการวัดความเขียวใบของใบมันสำปะหลังโดยใช้เครื่องคลอโรฟิลล์มิเตอร์รุ่น SPAD-502 และใช้สมการ linear regression โปรแกรม Microsoft excel เพื่อแปลงค่าเป็นปริมาณคลอโรฟิลล์ และดูปริมาณคลอโรฟิลล์ต่อการใส่สารเร่งฮอร์โมนไซโตไคนิน ได้ผลการทดลองดังนี้

การทดลองที่ 1 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ใน ใบมันสำปะหลังด้วย เครื่องวัดการดูดกลืนแสงและด้วยเครื่องวัดคลอโรฟิลล์

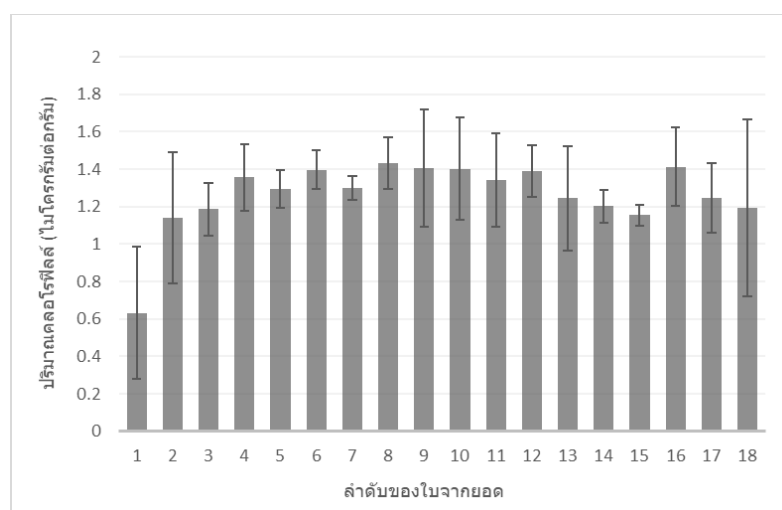
จากการวัดความเขียวใบของมันสำปะหลังพันธุ์ ระยอง 72 จำนวน 63 ใบ ด้วยเครื่อง คลอโรฟิลล์มิเตอร์รุ่น SPAD - 502 ความเขียวใบที่ 3 จากใบที่คลี่ไปแรกไปจะมีค่าความเขียวใบอยู่ ระหว่าง 38.3 – 43.7 SPAD unit จึงรู้ว่าถ้าต้องการคลอโรฟิลล์ใน ใบมันสำปะหลังควรวัดตั้งแต่ใบ ที่ 3 จากใบที่คลี่ใบแรกเป็นต้นไป และเมื่อหาความสัมพันธ์เชิงเส้น (regression) ระหว่างค่าความ เขียวใบกับอัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิของใบโดยใช้โปรแกรม Microsoft excel ได้ค่า $R^2 = 0.5855$ (ภาพที่ 5) พบว่าค่าความเขียวใบ (SPAD) สามารถอธิบายความแปรปรวนของอัตราการสังเคราะห์ แสงสุทธิของใบได้และใช้โปรแกรม star ค้นควหาสหสัมพันธ์ (ตารางที่1) ได้ค่า p-value น้อยกว่า 0.05 แสดงว่ามีสหสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญ



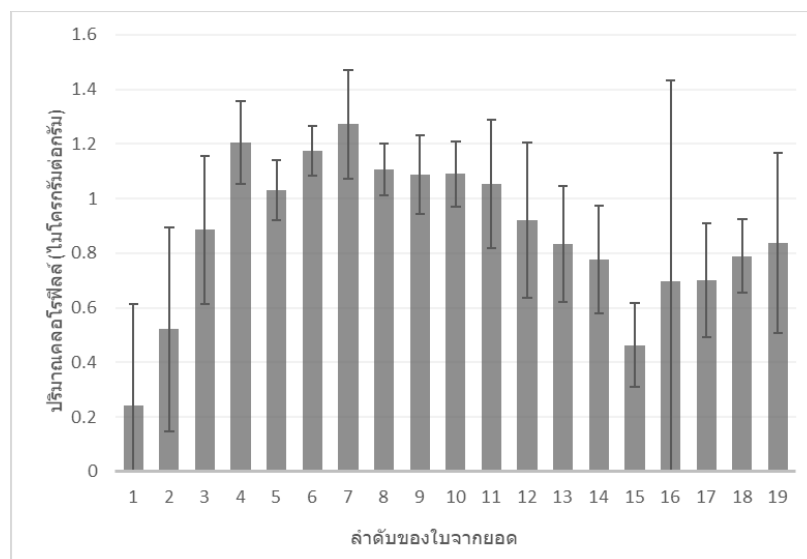
ภาพที่ 6 ความสัมพันธ์ระหว่างความเขียวใบ (SPAD) ในแกน Y กับปริมาณคลอโรฟิลล์เอ(chl a) และคลอโรฟิลล์บี (chl b) ของใบมันสำปะหลังที่วัดโดยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงในแกน X



ภาพที่ 7 ปริมาณคลอโรฟิลล์ใน ใบมันสำปะหลังแต่ละตำแหน่งใบนัยจากยอดลงมาถึงใบสุดท้ายในวันที่ 11 สิงหาคม พ.ศ. 2563 ในส่วนภาพที่ (7-9) ปริมาณคลอโรฟิลล์ใน ใบในลำดับที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันน้อย ยกเว้นในใบอ่อน (ลำดับต้นๆ) และ ใบแก่ (ลำดับท้ายๆ) ที่จะมีปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลงดังนั้นในการทดลองที่สอง เราจึงสามารถวัดที่ใบที่คลี่เต็มที่ เพื่อใช้เป็นตัวแทนของการวัดความเขียวใบของมันสำปะหลังต้นนั้นๆได้



ภาพที่ 8 ปริมาณคลอโรฟิลล์ใน ใบมันสำปะหลังแต่ละตำแหน่งใบนัยจากยอดลงมาถึงใบสุดท้ายในวันที่ 25 สิงหาคม พ.ศ. 2563



ภาพที่ 9 ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบมันสำปะหลังแต่ละตำแหน่งใบนัยจากยอดลงมาถึงใบสุดท้ายในวันที่ 8 กันยายน พ.ศ. 2563

ตารางที่ 1 ตารางการวิเคราะห์หา สหสัมพันธ์ของ SPAD และ Chlorophyll

		SPAD	Chlorophyll
SPAD	coef	1.0000	0.7652
	p-value		0.0002
	n	18	18
Chlorophyll	coef	0.7652	1.0000
	p-value	0.0002	
	n	18	18

หมายเหตุ*ได้ค่า p-value น้อยกว่า 0.05 แสดงว่ามีสหสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญ

การทดลองที่ 2 ศึกษาความสัมพันธ์ของความเขียวใบกับปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบต่อ

ฮอร์โมนไซโทไคนิน ที่ความเข้มข้น 0,0.5,1,1.5,2

จากการวัดความเขียวใบของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 9 และห้วยบง 80 ด้วยเครื่องคลอโรฟิลล์มิเตอร์รุ่น SPAD - 502 ความเขียวใบที่ 6 จากใบที่คลี่ใบแรก จำนวน 3 ซ้ำ จำนวน 200 ต้น ที่มีความเข้มข้นของฮอร์โมนไซโทไคนิน 0, 0.5, 1, 1.5, 2 และได้คำนวณปริมาณคลอโรฟิลล์โดยใช้โปรแกรม Microsoft excel และโปรแกรม star พบว่าค่าความเขียวใบ (SPAD 1) หลังการฉีดพ่นฮอร์โมนไซโทไคนินใน 1 เดือนแรกไม่มีอิทธิพลใดที่ส่งผลให้มีความแตกต่างของความเขียวใบที่ significant เลข (ตารางที่ 2) จากการเปรียบเทียบค่า mean จะเห็นได้ว่า ค่า mean ทั้งพันธุ์และฮอร์โมนไซโทไคนินไม่แตกต่างกัน (ตารางผนวกที่ 1) แต่ค่าความเขียวใบ (SPAD 2) ในการฉีดพ่นฮอร์โมนไซโทไคนินในเดือนที่ 2 พบว่าความเข้มข้นของไซโทไคนินเฉพาะ 0.5 , 1.0 HB80 และ 2.0, 1.0 R9 และพันธุ์ส่งผลต่อความเขียวใบเทียบจากค่า mean ใน (ตารางผนวกที่ 2) ที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 3) และในเดือนที่ 3 (SPAD 3) มีเฉพาะพันธุ์ที่มีอิทธิพลต่อความเขียวใบ (ตาราง 4) จากค่า mean ใน (ตารางผนวกที่ 3) จะเห็นได้ว่าค่า mean ไม่มีความแตกต่างกัน

ตารางที่ 2 ตารางวิเคราะห์ ANOVA หลังฉีดพ่นฮอร์โมนไซโทไคนิน 1 เดือนโดย

เปรียบเทียบระหว่างพันธุ์ระยอง 9 กับพันธุ์ห้วยบง 80 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

Source	DF	Seq(SS)	Adj(SS)	Adj(MS)	F	P
treatment	4	27.9	23.43	5.86	0.45	0.770
variety	1	27.6	30.58	30.58	2.36	0.126
rep	3	333.89	295.85	98.62	7.62	0.000
Treatment*rep	12	168.49	170.31	14.19	1.1	0.366
Treatment*variety	4	21.7	21.17	5.29	0.41	
Error	157	2031.24	2031.24	12.94		
Total	181	2610.38				

ตารางที่ 3 ตารางวิเคราะห์ ANOVA หลังฉีดพ่นฮอร์โมนไซโทไคนิน 2 เดือนโดย

เปรียบเทียบระหว่างพันธุ์ระยอง9 กับพันธุ์ห้วยบง80 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

Source	DF	Seq(SS)	Adj(SS)	Adj(MS)	F	P
treatment	4	190.99	222.04	55.51	3.6	0.008
variety	1	686.44	785.87	785.87	50.97	0.000
rep	3	1140.64	1093.44	364.48	23.64	0.000
Treatment*rep	12	551.97	544.59	45.38	2.94	0.001
Treatment*variety	4	88.8	88.8	22.2	1.44	0.223
Error	157	2420.62	2420.62	15.42		
Total	181	5079.47				

ตารางที่ 4 ตารางวิเคราะห์ ANOVA หลังฉีดพ่นฮอร์โมนไซโทไคนิน 2 เดือนโดย

เปรียบเทียบระหว่างพันธุ์ระยอง9 กับพันธุ์ห้วยบง80 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

Source	DF	Seq(SS)	Adj(SS)	Adj(MS)	F	P
treatment	4	35.31	17.26	4.32	2.08	0.890
variety	1	93.7	90.26	90.29	5.87	0.017
rep	3	361.46	313.21	104.4	6.79	0.000
Treatment*rep	12	222.93	237.62	19.8	1.29	0.231
Treatment*variety	4	51.19	51.19	12.82	0.83	0.507
Error	157	2414.79	2414.79	15.38		
Total	181	3179.38				

สรุป

สรุปได้เป็นประเด็นดังนี้

1. มีสหสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างการวัดความเจ็บปวดกับปริมาณคลอโรฟิลล์โดยสามารถใช้สมการเส้นตรงในการทำนายค่าปริมาณคลอโรฟิลล์จากค่าความเจ็บปวดได้

2. ในการทดลองหาอิทธิพลของ ความเข้มข้นฮอร์โมนไซโทไคนิน ต่อความเจ็บปวดพบว่าความเข้มข้นของฮอร์โมนไซโทไคนินส่งผลให้มีความแตกต่างของความเจ็บปวดในการวัดเมื่อพืชมีอายุ 2 เดือนหลังจากการฉีดพ่น แต่ที่ 1 และ 3 เดือนหลังการฉีดพ่นไม่ส่งผลต่อความเจ็บปวด ซึ่งการวัดความเจ็บปวดนี้สามารถใช้ในการประเมินปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบได้ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าความเข้มข้นของฮอร์โมนไซโทไคนินส่งผลต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ใน ใบมันสำปะหลัง ในระยะเวลา 2 เดือนหลังการฉีดพ่น

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร . 2551 . ข้อมูลพันธุ์มันสำปะหลัง . แหล่งที่มา

http://web.sut.ac.th/cassava/?name=lcas_source/cas_source/ 19 กันยายน 2563

ภาควิชาเคมี พระประเสริฐ, 2550. คลอโรฟิลล์และโครงสร้าง, การสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ในพืช, การสกัดคลอโรฟิลล์, ชนิดของคลอโรฟิลล์, การวัดคลอโรฟิลล์ในใบพืช, การรักษาสภาพคลอโรฟิลล์. แหล่งที่มา

<https://www.siamchemi.com/> 27 กันยายน 2563

รศ. ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์ 2557. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง, ธรรมชาติของแสง, กฎของแสง, การวัดค่าการดูดกลืนแสง, องค์ประกอบและคุณสมบัติของเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง, ข้อควรปฏิบัติในการใช้. แหล่งที่มา

<https://home.kku.ac.th/chuare/12/spectrophotometer.pdf> 25 กันยายน 2563

Porra, R. J., Thompson, W. A., & Kreidemann, P. E. (1989). Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta*,

Eade R. Color testing moves from lab to line. *Quality* 1995;34:36-40.

Ferris CD. Guide to medical laboratory instruments. Boston : Little Brown and Company, 1980.

Korzun WJ, Miller WG. Monitoring the stability of wavelength calibration of spectrophotometers. *Clin Chem* 1986 ; 162-5.

Lee LW, Schmidt LM. Elementary principle of laboratory instruments. 5th ed. Toronto : The C.V. Mosby company, 1983.

White JS. Spectrophotometer join color toolbox. *Graphic Arts Monthly* 1998;70:50-2.

Noltingk BE. Jones' instrument technology volume 2 : measurement of temperature and chemical composition. 4th ed. Butterworths : English Language Book Society, 1985.

Skoog DA, West DM. Principle of instrumental analysis. 2nd ed. Philadelphia : Saunders College, 1980.

Thomas HE. Handbook of automated electronic clinical analysis. Reston : Reston Publishing Company, 1979.

Chlorophyllin, a natural compound, maybe useful in future cancer treatment programmes (online). Available: <http://blog.bodykind.com/cancer/chlorophyllin-a-natural-compound-may-be-useful-in-future-cancer-treatment-programmes/> (Retrieved 8/12/2012)

Loh, F.C.W and J.C Grabosky. 2002. Using the SPAD 502 meter to assess chlorophyll and nitrogen Content of benenjamin fig and cottonwood leaves, *hort Technology*.12(4):682-684

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 ตารางเปรียบเทียบ mean comparison หลังการฉีดฮอร์โมนไซโทไคนิน 1 เดือน

treatment	cyto (0.5)	cyto (2.0)	cyto (1.5)	control	cyto (1.5)	cyto (1.0)	cyto (1.0)	cyto (2.0)	cyto (0.5)
variety	HB80	HB80	HB80	R9/HB80	R9	R9	HB80	R9	R9
N	20	19	20	20/18	18	13	17	17	20
Mean	47.94	47.69	46.99	48.64/46.95	46.92	46.68	46.164	46.63	46.52
Grouping	A	A	A	A	A	A	A	A	A

หมายเหตุ:จะเห็นได้ว่า ค่า mean ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ



ภาคผนวกที่ 1 การฉีดพ่นฮอร์โมนไซโทไคนินที่ความเข้มข้น 0,0.5,1,1.5,2 ณ สถาบันพัฒนามันสำปะหลังห้วยบง จังหวัด นครราชสีมา

ตารางผนวกที่ 2 ตารางเปรียบเทียบ mean comparison หลังการฉีดฮอร์โมนไซโทไคนิน 2 เดือน

treatment	cyto (0.5)	cyto (1.0)	control	cyto (2.0)	cyto (1.0)
N	40	38	38	36	30
Mean	45.34	44.23	43.59	42.69	42.12
Grouping	A	AB	AB	B	B
variety		HB80		R9	
N		96		86	
Mean		45.72		41.47	
Grouping		A		B	

หมายเหตุ:มีค่า mean เฉพาะความเข้มข้นที่ 0, 0.5, 1, 2 และพันธุ์ที่แตกต่างกันอย่างมีนัย

ตารางผนวกที่ 3 ตารางเปรียบเทียบ mean comparison หลังการฉีดฮอร์โมนไซโทไคนิน 3 เดือน

treatment	cyto -0.5	cyto -1.5	control	cyto -2	cyto -1
N	38	40	38	36	30
Mean	41.13	41.03	41.38	40.65	40.49
Grouping	A	A	A	A	A
variety		R9		HB80	
N		96		86	
Mean		41.66		40.22	
Grouping		A		B	



ภาพผนวกที่ 2 การใช้เครื่องวัดคลอโรฟิลล์รุ่น SPAD – 502 วัดใบมันสำปะหลังใบที่ 6 จากใบที่คลี่
ใบแรก ณ สถาบันพัฒนามันสำปะหลังห้วยบง จังหวัด นครราชสีมา



ภาพผนวกที่ 3 การนำคิวเวทท์แก้วเข้าเครื่องวัดการดูดกลืนแสง

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล	นาย พิรพันธุ์ นวลกลาง
วัน เดือน ปี เกิด	1 ตุลาคม 2541
สถานที่เกิด	จังหวัดสระแก้ว
ประวัติการศึกษา	วท.บ (วิทยาศาสตร์เกษตร) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-