ตารางภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 ผลของสารพาโคลบิวทราโซลต่อเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นลองกองระยะเวลา 8 เดือน หลังให้สาร

การทดลอง	เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น (มม.)							
ควบคุม	0.37	0.60	1.01	1.27	1.54	1.98	2.4	2.95 b
750 ppm	0.5	0.90	1.54	1.91	2.42	2.90	3.40	4.04 b
1,000 ppm	0.60	1.1	1.73	2.2	2.81	3.51	4.21	5.04 ab
1,500 ppm	0.89	1.55	2.5	3.2	4.0	5.15	6.08	7.19 a
F-test	-	-	-	-	-	-	-	*
C.V. (%)	-	-	-	-	-	-	-	27.35

หมายเหตุ ค่าอักษรที่แตกต่างกันในสดมภ์มีความแตกต่างทางสถิติ

* แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

ตารางผนวกที่ 2 ผลของสารพาโคลบิวทราโซลต่อความยาวปล้องของยอดลองกองหลังให้สาร 20 และ 28 สัปดาห์

ทรีตเมนต์	ความยาวปล้อง (ซม.)							
	20 สัปดาห์/ของตำแหน่งใบ				28 สัปดาห์/ของตำแหน่งใบ			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
ควบคุม	5.4	6.3	7.8	6.5 a	5.4	6.6	8.1	6.7 a
750 ppm	0.5	0.6	0.9	0.6 b	2.1	2.0	2.5	2.2 b
1,000 ppm	0.5	0.6	0.8	0.6 b	1.6	1.9	2.3	1.9 b
1,500 ppm	0.3	0.5	0.6	0.5 b	1.9	1.0	1.4	1.1 c
เฉลี่ย	1.6 a	2.0 a	2.5 a		2.5 c	2.8 b	3.5 a	
F-test	*	*	*		*	*	*	
C.V. (%) =	46.24				C.V. (%)	= 8.6		

หมายเหตุ ค่าอักษรที่แตกต่างกันในสดมภ์มีความแตกต่างทางสถิติ, ค่าอักษรที่แตกต่างกันในแถวมีความแตกต่างทางสถิติ

* แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

ตารางผนวกที่ 3 ผลของสารพาโคลบิวทราโซลต่อความยาวใบประกอบของยอดลองกองหลังให้สาร 20 และ 28 สัปดาห์

ทรีตเมนต์	ความยาวใบประกอบ (ซม.)									
	20 สัปดาห์/ตำแหน่งของใบ					28 สัปดาห์/ตำแหน่งของใบ				
	1	2	3	4	ค่าเฉลี่ย	1	2	3	4	ค่าเฉลี่ย
ชุดควบคุม	25.8	29.8	31.2	34.1	30.2 a	25.0	31.3	35.0	31.0	30.5 a
750 ppm	10.9	11.8	12.8	13.7	12.3 b	27.0	28.6	22.0	16.0	23.4 b
1,000 ppm	12.5	12.7	15.4	16.2	14.2 b	23.0	26.0	20.0	15.0	21.5 b
1,500 ppm	10.1	12.2	12.4	13.6	12.2 b	23.0	23.0	16.0	11.0	18.2 b
ค่าเฉลี่ย	14.9 c	16.6bc	18.0ab	19.4 a	68.9	25.0 b	27.2 a	23.2 b	18.2 c	83.6
F-test	*	*	*	*		*	*	*	*	
C.V. (%)	= 12.44					C.V. (%)	= 10.43			

หมายเหตุ ค่าอักษรที่แตกต่างกันในสดมภ์มีความแตกต่างทางสถิติ, ค่าอักษรที่แตกต่างกันในแถวมีความแตกต่างทางสถิติ

* แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

ตารางผนวกที่ 4 ผลของสารพาโคลบิวทราโซลต่อขนาดพื้นที่ใบใหม่ของยอดลองกองหลังให้สาร 20 และ 28 สัปดาห์

ทรีตเมนต์	พื้นที่ใบใหม่ (ซม.)^2									
	20 สัปดาห์/ตำแหน่งของใบ					28 สัปดาห์/ตำแหน่งของใบ				
	1	2	3	4	ค่าเฉลี่ย	1	2	3	4	ค่าเฉลี่ย
ชุดควบคุม	354	482	542	671	513 a	331	549	540	535	489 a
750 ppm	109	118	131	138	124 b	385	437	264	162	312 b
1,000 ppm	115	122	140	153	133 b	329	358	224	152	266 bc
1,500 ppm	107	122	124	135	122 b	286	283	165	110	221 c
ค่าเฉลี่ย	171 c	211 b	236 ab	274 a		333 ab	407 a	298 ab	240 b	
F-test	*	*	*	*		*	*	*	*	
C.V. (%)	= 21.26					C.V. (%)	= 21.82			

หมายเหตุ ค่าอักษรที่แตกต่างกันในสดมภ์มีความแตกต่างทางสถิติ, ค่าอักษรที่แตกต่างกันในแถวมีความแตกต่างทางสถิติ

* แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

ตารางผนวกที่ 5 ผลของสารพาโคลบิวทราโซลต่อการเจริญเติบโตของรากลองกองในระยะเวลา 8 เดือน หลังให้สาร

ทรีตเมนต์	ความยาวราก (ซม.)			
ควบคุม	30.35	43.33	86.46	125.43 a
750 ppm	4.3	4.5	27.89	42.83 b
1,000 ppm	2	3.5	28.65	51.61 b
1,500 ppm	1.83	2.2	20.68	49.63 b
F-test	*	*	*	*
C.V.(%)	17.56	18.53	20.67	23.5

หมายเหตุ ค่าอักษรที่แตกต่างกันในสดมภ์มีความแตกต่างทางสถิติ

* แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

ภาคผนวกวิเคราะห์ธาตุอาหาร

การเตรียมตัวอย่างพืชก่อนวิเคราะห์

1. การปฏิบัติต่อตัวอย่างก่อนและขณะนำส่งห้องปฏิบัติการ

   1.1 เก็บตัวอย่างในถุงกระดาษเปิด ซึ่งเขียนข้อมูลไว้เรียบร้อยแล้วและรีบเก็บในตู้อุณหภูมิ 5 ^{0}Cเพื่อลดกิจกรรมของเอนไซม์ และช่วยไม่ให้น้ำหนักสูญเสียไปจากการหายใจ ห้ามเก็บตัวอย่างในถุงพลาสติก เก็บที่อุณหภูมิห้อง หรือเก็บในรถที่ปิด หรือสถานที่อับอากาศ

   1.2 ถ้ามีดินหรือฝุ่นละอองติดอยู่ที่ใบให้ล้างด้วยน้ำปราศจากไอออน หรือใช้กระดาษชำระเช็ดทำความสะอาด ไม่ควรล้างใบพืชที่แห้งหรือตายแล้วเพราะธาตุอาหารอาจหลุดออกไปได้ง่าย

   1.3 ทำให้ตัวอย่างแห้งที่อุณหภูมิ 65 ^{0}C ในตู้อบ ถ้าตัวอย่างน้อยอาจใช้ microwave เวลา 10 -20 นาที ห้ามทำให้แห้งโดยการผึ่งแดดหรือลมที่อุณหภูมิน้อยกว่า 40 ^{0}C

2. การทำตัวอย่างให้แห้ง

   2.1 *Initial drying cycle* เป็นการทำลายเอ็นไซม์ในตัวอย่างพืชอย่างรวดเร็ว ช่วยในการลดการสูญเสียน้ำหนักแห้งจากการหายใจ การเปลี่ยนแปลงทางด้านซี วเคมี และกำจัดน้ำจากเนื้อเยื่อพืช ถ้าขั้นตอนนี้ทำล่าช้า น้ำหนักแห้งของพืชจะลดลงอย่างรวดเร็ว โปรตีนจะสลายเป็นสารประกอบไนโตรเจนโมเลกุลเล็ก การทำให้แห้งต้องใช้อุณหภูมิที่เพียงพอเพื่อทำลายเอนไซม์ที่เป็นองค์ประกอบของพืช ซึ่งเอนไซม์เหล่านี้จะสูญเสียกิจกรรมถ้าให้ความร้อนสูงเกินกว่า 60 ^{0}C ในตอนนี้ทำได้โดยอบตัวอย่างพืชจนกระทั่งน้ำหนักแห้งไม่เปลี่ยนแปลง โดยทั่วไปจะอบที่อุณหภูมิ 65 -80 ^{0}C ในตู้อบที่มีหมุนเวียนอากาศ ถ้าอุณหภูมิสูงเกินกว่า 80 ^{0}C อาจทำให้เกิดการสูญเสียของสารที่ระเหยได้และยังมีผลต่อน้ำหนักแห้งด้วย ถ้าอากาศไม่ถ่ายเทขณะอบตัวอย่างอาจทำให้เกิดการไหม้ได้ (charring) อย่างไรก็ตามเพื่อความสะดวกในการปฏิบัติจึงแนะนำให้อบตัวอย่างที่อุณหภูมิ 70^{0}C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

   2.2 *Final dry cycle* เป็นการอบตัวอย่างพืชที่บดแล้วก่อนทำการวิเคราะห์ เนื่องจากขณะเก็บตัวอย่างเพื่อรอการวิเคราะห์ตัวอย่าง พืชอาจดูดความชื้นจากบรรยากาศ โดยทั่วไปในขั้นตอนนี้จะอบตัวอย่างในตู้อบที่อุณหภูมิ 70^{0}C เป็นเวลา 12 ชั่งโมง และผลการวิเคราะห์จะรายบนฐานของน้ำหนักแห้งจากการอบ (Oven-dry basis)

3. การบดตัวอย่างและการเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์

เป็นการทำตัวอย่างมีขนาดเล็กเพื่อให้ส่วนต่างๆ ในตัวอย่างพืชมีโอกาสเป็นตัวแทนในการวิเคราะห์ให้มากที่สุด การทำให้ชิ้นส่วนของตัวอย่างมีขนาดเล็กมากๆ ยิ่งมีความจำเป็นโดยเฉพาะกรณีที่ใช้ตัวอย่างพืชในปริมาณน้อยๆ ในการวิเคราะห์ โดยทั่วไปแนะนำให้บดตัวอย่างให้มีขนาดเล็กกว่า 1 มิลลิเมตร อุปกรณ์ที่ใช้บดตัวอย่าง ต้องเป็น stenless steel เพื่อลดการปนเปื้อนสำหรับตัวอย่างที่วิเคราะห์ สำหรับโคลบอล (Co) ไม่แนะนำให้ใช้เครื่องบด ควรบดตัวอย่างที่เก็บมาให้หมด แล้วสุ่มมาในปริมาณที่เพียงพอสำหรับวิเคราะห์ โดยเก็บในขวดแก้วหรือขวดพลาสติก ซึ่งสามารถทนความร้อนเพื่ออบตัวอย่างก่อนวิเคราะห์ได้ เขียนรายละเอียดตัวอย่างข้างขวดให้ชัดเจน ตัวอย่างพืชที่รอการวิเคราะห์สามารถเก็บได้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 2-3 เดือน กรณีที่ต้องการเก็บตัวอย่างเป็นเวลานานๆ ควรเก็บในที่มืดที่อุณหภูมิ 4 ^{o}C

การวิเคราะห์ตัวอย่างพืชทางเคมีในห้องปฏิบัติการ

การย่อยตัวอย่างโดยวิธี Kjeldahl

สารเคมี

1. กรดย่อย (Digestion acid) ซึ่งประกอบด้วย 25% salicylic acid ($C_7H_6O_3$) ใน H_2SO_4(conc)
2. Catalyst tablet ซึ่งใน catalyst 1กรัม ประกอบด้วย 1% selenium
3. Sodium thiosulfate ($Na_2S_2O_3.5H_2O$)
4. น้ำมันก๊าด

วิธีการ

ชั่งตัวอย่างพืชที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 70 ^{o}C เป็นเวลา 12 ชั่งโมง ปริมาณ 200-300 มิลลิกรัม ใส่ในหลอดทดลอง ย่อย (Kjeldahl digestion tube) ใส่ Catalyst tablet 1 เม็ดต่อหนึ่งหลอดเติม glass beat ขนาด 2 มิลลิเมตร 3-4 เม็ด เติมกรดย่อย ปริมาตร 5 มิลลิลิตร โดยพยายามล้างให้เศษพืชที่ติดอยู่ข้างหลอดลงไปให้หมด เขย่าให้เข้ากันด้วย vertex mixer วางทิ้งไว้ 20 นาที เติม Sodium thiosulfate ประมาณ 0.5 กรัม เพื่อเปลี่ยนไนโตรเจน ที่อยู่ในรูปไนเตรตเป็นแอมโมเนียเขย่าให้เข้ากัน วางทิ้งไว้ 1 คืน หรืออย่างน้อย 2 ชั่วโมง เติมน้ำมันก๊าด 2-3 หยดนำไปย่อยใน บลอคย่อยค่อยๆเพิ่มความร้อนจนอุณหภูมิ 350^{o}C การย่อยสิ้นสุดเมื่อสารละลายที่ได้ใส วางทิ้งไว้จนเย็น สารละลายที่ได้สามารถนำไปวิเคราะห์ N,P และ K กรณีวิเคราะห์เฉพาะ N ไม่จำเป็นต้องปรับปริมาตร ส่วนที่ต้องการวิเคราะห์ N และ P ด้วย จะต้องปรับปริมาตรด้วยน้ำที่ปราศจากไอออนเป็น 100 หรือ 75 มิลลิลิตร และควรใช้ปริมาณตัวอย่างเพิ่มขึ้นอาจเป็น 0.5 - 1 กรัม ทำ Blank โดยไม่ใส่ตัวอย่างพืช และควรมีตัวอย่างพืชที่เราทราบความเข้มข้นของธาตุที่วิเคราะห์เพื่อเป็นตัวทดสอบ (reference sample)

การวิเคราะห์ไนโตรเจน

โดยวิธี Kjeldahl

การเตรียมสารเคมี

1. **กรดย่อย** : 25% salicylic acid ($C_7H_6O_3$) ใน H_2SO_4 (conc)

2. **สารละลาย** 40 % NaOH (w/v) : ละลาย NaOH (commercail grade) ปริมาณ 400 กรัม ใน น้ำที่ปราศจากไอออน ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร ควรเตรียมในตู้ดูดควัน

3. Mixed indicater : metyl red 0.066 กรัม และ bromocresol green 0.099 กรัมใน 95 % ethanol ประมาณ 80 มิลลิลิตร ปรับสีอินดิเคเตอร์ผสมนี้ ให้เป็นสีเขียว (pH ประมาณ 4.2) ด้วย 0.1 M NaOH ปรับปริมาตรด้วย 95% ethanol

4. สารละลาย 4% H_3BO_3 (w/v) : ละลาย H_3BO_3 ปริมาณ 80 กรัม ในน้ำที่ปราศจากไอออน ประมาณ 1,800 มิลลิลิตร อาจให้ความร้อนขณะที่ละลายเพื่อให้การละลายเร็วขึ้น เติม mixed indicater 2.5 มิลลิลิตร จะได้สารละลายสีแดงอมม่วง ปรับปริมาตรด้วยน้ำที่ปราศจากไอออนเป็น 2,000 มิลลิลิตร

5. สารละลายมาตรฐาน Na_2CO_3 0.05N : ละลาย Na_2CO_3 ซึ่งผ่านการอบที่อุณหภูมิ 105 ^{0}C เป็น เวลา 3 ชั่วโมง ปริมาณ 5.2994 กรัม ใส่ใน volumetric flask ขนาด 1,000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย น้ำที่ปราศจากไอออน

6. สารละลายกรด H_2SO_4 5 N : ใส่น้ำที่ปราศจากไอออนลงใน volumetric ขนาด 100 มิลลิลิตร ไป เปต H_2SO_4 เข้มข้น (98%, AR grade) ลงไป 13.59 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำ

7. สารละลายมาตรฐานกรด H_2SO_4 ; เจือจางสารละลายกรด H_2SO_4 ในข้อ 6 . ใน volumetric flask ขนาด 1,000 มิลลิลิตร โดยใช้สารละลายกรด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำที่ปราศจาก ไอออน จะได้สารละลาบกรด H_2SO_4 ความเข้มข้นประมาณ 0.05 N ทำการ standardize ด้วย สาร ละลายมาตรฐาน Na_2CO_3 โดยไปเปตสารละลายมาตรฐาน Na_2CO_3 5 มิลลิลิตร ใส่ใน erlemeyer flask ขนาด 125 มิลลิลิตร หยด methyl red 2-3 หยด ไตเตรทด้วย สารละลายกรด H_2SO_4 0.05 N เมื่อถึงจุดยุติ (end point) สารละลายจะเปลี่ยนสีจากสีเหลืองเป็นสีชมพูอมส้ม นำสารละลายใน volumetric flask ไปวางบน hot plate เพื่อไล่ CO_2 ถ้าสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลืองให้ไตเตรทต่อ บันทึกปริมาตรของกรดทั้งหมดที่ใช้ คำนวณความเข้มข้นที่แน่นอนของกรด H_2SO_4 โดยใช้สูตร $N_1V_1 = N_2V_2$ เมื่อ N_1 และ V_1 = ความเข้มข้น และปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน Na_2CO_3 ส่วน N_2 และ V_2 = ความเข้มข้น และปริมาตรของสารละลายกรด H_2SO_4

วิธีการ

1. ย่อยตัวอย่างด้วยกรดผสม โดยใช้ตัวอย่างพืช 0.2 กรัม กรดย่อย 5 มิลลิลิตร และเตรียม blank โดยย่อยกรดพร้อมๆ กับตัวอย่างพืช โดยไม่ใส่ตัวอย่าง

2. กลั่นและไตเตรทหาปริมาณ NH^{4+} - N

2.1 ตวงสารละลาย 4 % H_3BO_3 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ใส่ใน erlenmeryer ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปวางใต้ก้าน condenser จุ่มอยู่ใต้สารละลาย

2.2 กรณีใช้สารละลายที่ได้จากการย่อยทั้งหมดหาไนโตรเจน ให้เติมน้ำที่ปราศจากไอออนลงไปประมาณ 20 มิลลิลิตร

2.3 เติมสารละลาย 40 % NaOH ลงไปในหลอดกลั่นประมาณ 75 มิลลิลิตร เปิดเครื่องกลั่น ถ้ามีไนโตรเจน สารละลาย H_3BO_3 ใน erlenmeryer flask ออกจากก้าน condenser ปิดเครื่องกลั่น

2.4 นำสารละลายที่ได้ใน erlenmeryer flask จากข้อ 2.3 มาไตเตรทด้วย สารละลายมาตรฐาน กรด H_2SO_4 บันทึกปริมาตรสารละลายกรดที่ใช้

การคำนวณ

เมื่อไนเตรทถึงจุดยุติ มิลลิกรัมสมมูลของกรด เท่ากับมิลลิกรัมสมมูลของไนโตรเจนในสารละลาย H_3BO_3

ไนโตรเจน ในสารละลาย	= N X V	มิลลิกรัมสมมูลย์
ไนโตรเจน 1 มิลลิกรัมสมมูลย์	= 14	มิลลิกรัม
ไนโตรเจน N X V มิลลิกรัมสมมูลย์	= 14 X N X V	มิลลิกรัม
ตัวอย่างพืชหนัก W มิลลิกรัม มีไนโตรเจน	14 X N X V	มิลลิกรัม
ตัวอย่างพืชหนัก 100 มิลลิกรัม มีไนโตรเจน	14 X N X V X 100/W	มิลลิกรัม

สูตรที่ใช้คำนวณ

% ไนโตรเจน = 14 X N X V X 100/W

N = ความเข้มข้นเป็นนอร์มอลของสารละลายมาตรฐาน กรด H_2SO_4

V = ปริมาตรสารละลายมาตรฐานกรด H_2SO_4 ที่ใช้ในการไตเตรทตัวอย่างเมื่อลบออกจากปริมาตรกรดที่ใช้ในการไตเตรท blank แล้ว

W = น้ำหนักตัวอย่างพืชที่นำมาวิเคราะห์ (มิลลิกรัม)

การวิเคราะห์ปริมาตรคาร์โบไฮเดรต (Total Nonstructural Carbohydrate)
โดยวิธี Clegg Anthorone Method

การเตรียมสารเคมี

1. เตรียมกรดเปอร์คลอริก 52 % จากกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น (sp.gr. 1.70) ปริมาตร 270 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร หลังจากนั้นรอให้สารเย็นก่อนนำไปใช้
2. เตรียมกรดซัลฟุริก จากกรดซัลฟุริกเข้มข้น ปริมาตร 760 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น 330 มิลลิลิตร หลังจากนั้นรอให้สารเย็นก่อนนำไปใช้
3. เตรียมตัวทำปฏิกิริยา โดยใช้กรดซัลฟุริกที่เตรียมไว้ นำไปเตรียม anthrone 0.1% ซึ่งต้องเตรียมสารละลายใหม่ทุกครั้งที่ใช้ทำการทดลอง
4. เตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐาน จากกลูโคส 100 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่น 100มิลลิลิตร
5. เตรียมสารละลายกลูโคสเจือจางมาตรฐาน จากสารละลายกลูโคสมาตรฐานข้อ 4. ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร (1 มิลลิลิตร = 0.1 มิลลิกรัมกลูโคส)

การเตรียมสารละลายตัวอย่างพืช

1. นำตัวอย่างแห้งบดละเอียด 1.0 กรัม ในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร
2. เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วค้นจนกระทั่งเป็นเนื้อเดียวกัน
3. เติมกรดกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 52 % ปริมาตร 13 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วให้เป็นเนื้อเดียว อย่างน้อย 20 นาที
4. หลังจากนั้นปรับปริมาตรสารละลายตัวอย่างเป็น 100 มิลลิลิตร
5. นำสารละลายตัวอย่างกรองด้วยกระดาษกรอง ในขวดปรับปริมาตร 250 มิลลิลิตร
6. ล้างขวดปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น หลังจากนั้นเทสารละลายลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
7. ปรับปริมาตรสารละลายตัวอย่างจนมีปริมาตร 250 มิลลิลิตร

ขั้นตอนการทดสอบ

1. นำสารละลายตัวอย่างมาเจือจาง โดยใช้ปริมาณสารละลาย 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 100 มิลลิลิตร
2. ดูดสารละลายตัวอย่างเจือจางปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง
3. เตรียม blank โดยใช้น้ำกลั่นปริมาตร 1 มิลลิลิตร และสารละลายกลูโคสเจือจาง ปริมาตร 1 มิลลิลิตร อย่างละ 2 หลอด
4. เติมสารละลาย anthrone reagent ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ทุกหลอด ปิดฝาแล้วเขย่าให้สารละลายรวมกันเป็นสีใส
5. นำสารละลายที่ได้ไปต้มในน้ำเดือดนาน 12 นาที จากนั้นทำให้เย็นอย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิห้อง (25 ^{0}C)
6. นำสารละลายที่ได้จากข้อ 6 วัดการดูดซับแสง (absorption) ที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร

การคำนวณ

ปริมาณคาร์โบไฮเดรต = (25 x b) / (a x W)

a = ค่าดูดกลืนแสงของกลูโคสเจือจาง

b = ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่างพืช

W = น้ำหนักตัวอย่างพืช