

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1 วัสดุดิบและอุปกรณ์

- 3.1.1.1 ผักคะน้าไฮโดรโปนิกส์ ปลูกโดยฝ่ายเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย 35 หมู่ 3 ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี
- 3.1.1.2 เครื่อง UV-Vis Spectrophotometer (รุ่น UV-1601 SHIMADZU, Japan)
- 3.1.1.3 เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง (Pioneer)
- 3.1.1.4 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (MEMMERT)
- 3.1.1.5 อุปกรณ์เครื่องแก้วต่าง ๆ

3.1.2 สารเคมี

- 3.1.2.1 Potassiumnitrate (AR grade ยี่ห้อ BDH)
- 3.1.2.2 Brucine sulfate (AR grade ยี่ห้อ Ajax findchem)
- 3.1.2.3 Sulfanilic acid (AR grade ยี่ห้อ BDH)
- 3.1.2.4 Hydrochloric acid (AR grade ยี่ห้อ Merck)
- 3.1.2.5 Sulfuric acid (AR grade ยี่ห้อ Merck)
- 3.1.2.6 Sodium chloride (AR grade ยี่ห้อ Merck)

3.1.3 การวัดสเปกตรัม

- 3.1.3.1 เครื่อง Near infrared spectroscopy (NIRs) Q-Interline Quant FT-NIR
- 3.1.3.2 โปรแกรม Unscrambler® version 9.7 (Camo, Oslo, Norway)

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การทดลองเพื่อทำนายปริมาณไนเตรทในใบผักคะน้าไฮโดรโปนิคส์

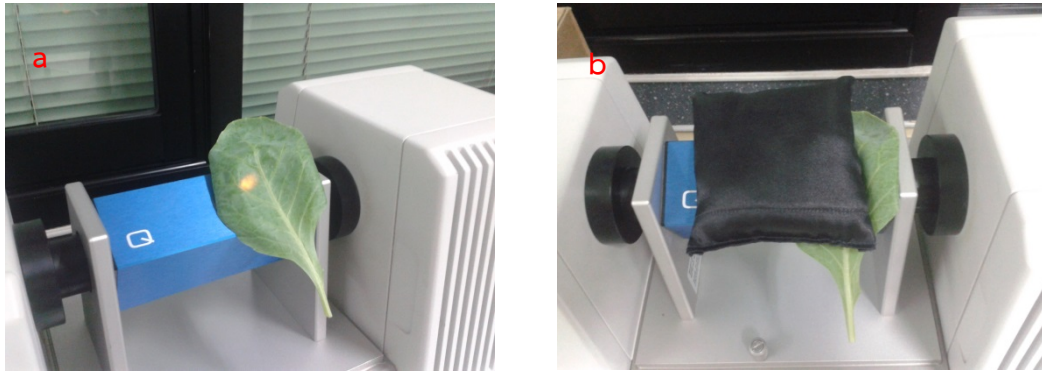
3.2.1.1 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง

เตรียมตัวอย่างโดยการซื้อผักคะน้าไฮโดรโปนิคส์ที่มีสายพันธุ์เดียวกัน มีขนาด รูปร่าง สี และน้ำหนักที่ใกล้เคียงกัน โดยคัดเลือกผักคะน้าไฮโดรโปนิคส์ที่อยู่ในช่วงที่สามารถเก็บเกี่ยวได้ ไม่แก่หรืออ่อนจนเกินไป ผักคะน้าไฮโดรโปนิคส์ที่เก็บเกี่ยวได้ให้ใส่ในภาชนะกล่องโฟม ทำการขนส่งโดยทางรถยนต์มายังห้องปฏิบัติการเคมี แผนกเครื่องมือวิเคราะห์ บริษัทไซแอนติฟิค โปรโมชัน จำกัด นำผักคะน้าไฮโดรโปนิคส์เก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 วัน ก่อนนำมาทดลอง

จากนั้นนำตัวอย่างทั้งหมดมาทำการปรับอุณหภูมิก่อนการวัดด้วยการเก็บไว้ในห้องปรับอากาศที่รักษาอุณหภูมิห้องที่ระดับ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง ก่อนทำการวัดด้วยเครื่อง FT-NIR spectrophotometer เพื่อป้องกันผลกระทบอันเนื่องมาจากอุณหภูมิระหว่างการวัด

3.2.1.2 การวัดด้วย FT-NIR spectrophotometer

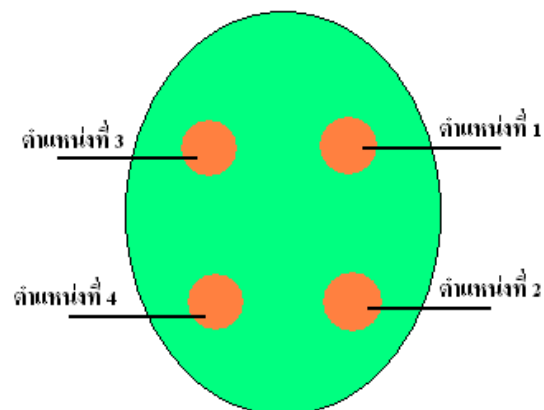
นำตัวอย่างผักคะน้าไฮโดรโปนิคส์แต่ละต้นมาทำการวัดการดูดกลืนพลังงานด้วยเครื่อง NIR Spectrophotometer (Q-Interline Quant FT-NIR) reflectance mode ในช่วงจำนวนคลื่นแสง $10000 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ (1000-2500 nm) โดยใช้การวัดแบบต่อเนื่อง (Moving) ที่ตำแหน่งใบของผักคะน้าทั้งหมด 4 ตำแหน่ง (ภาพที่ 3.1 และ 3.2) หลังจากนั้นตัดแยกส่วนลำต้น ใบและรากออกจากกันชั่งน้ำหนักสดส่วนใบ ส่วนลำต้นและรากทิ้งไป จากนั้นหั่นตัวอย่างให้ละเอียดแล้วคลุกเคล้าให้เข้ากันดีในถุงพลาสติก สุ่มตัวอย่างผักคะน้าประมาณ 30 กรัมเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ที่มีอยู่ (Shin-shou Chou และคณะ, 2003)



ภาพที่ 3.1 แสดงการวัดสเปกตรัมผักคะน้าไฮโดรโปนิคส์ด้วยเครื่อง NIR spectrophotometer

(a) การเลือกตำแหน่งก่อนทำการวัดสเปกตรัมผักคะน้าไฮโดรโปนิคส์

(b) ระหว่างการวัดสเปกตรัมผักคะน้าไฮโดรโปนิคส์



ภาพที่ 3.2 แสดงตำแหน่งการวัดสเปกตรัมผักคะน้าไฮโดรโปนิคส์ด้วยเครื่อง FT-NIR spectrophotometer

3.2.1.3 ขั้นตอนการวิเคราะห์

3.2.1.3.1 กำหนดตัวแปรตามและตัวแปรอิสระโดยให้ตัวแปรตาม คือ ปริมาณไนเตรท ส่วนตัวแปรอิสระ คือ ข้อมูลสเปกตรัม

3.2.1.3.2 แบ่งกลุ่มตัวอย่างออกเป็น 2 กลุ่มโดยกลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มสำหรับการสร้างสมการ (Calibration set) และกลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มสำหรับการทดสอบสมการ (Prediction set)

โดยแต่ละกลุ่มมีการกระจายตัวของข้อมูลเท่า ๆ กันโดยแบ่งเป็นกลุ่ม Calibration จำนวน 70 เปอร์เซ็นต์ และแบ่งเป็นกลุ่ม Prediction จำนวน 30 เปอร์เซ็นต์

3.2.1.3.3 นำข้อมูลสเปกตรัมเฉลี่ยที่ได้ของแต่ละตัวอย่างมาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยการทำ Pretreatment ข้อมูลสเปกตรัม ด้วยวิธีการต่าง ๆ และสร้างสมการในการทำนายโดยใช้ วิธี Partial least squares regression (PLSR) เลือกสมการที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด จากการพิจารณา ที่ ค่า R (Coefficient of correlation) ให้มีค่าสูงสุด, RMSECV ต้องมีค่าต่ำที่สุดและพิจารณาจาก Factor ที่มีค่าต่ำสุดด้วย

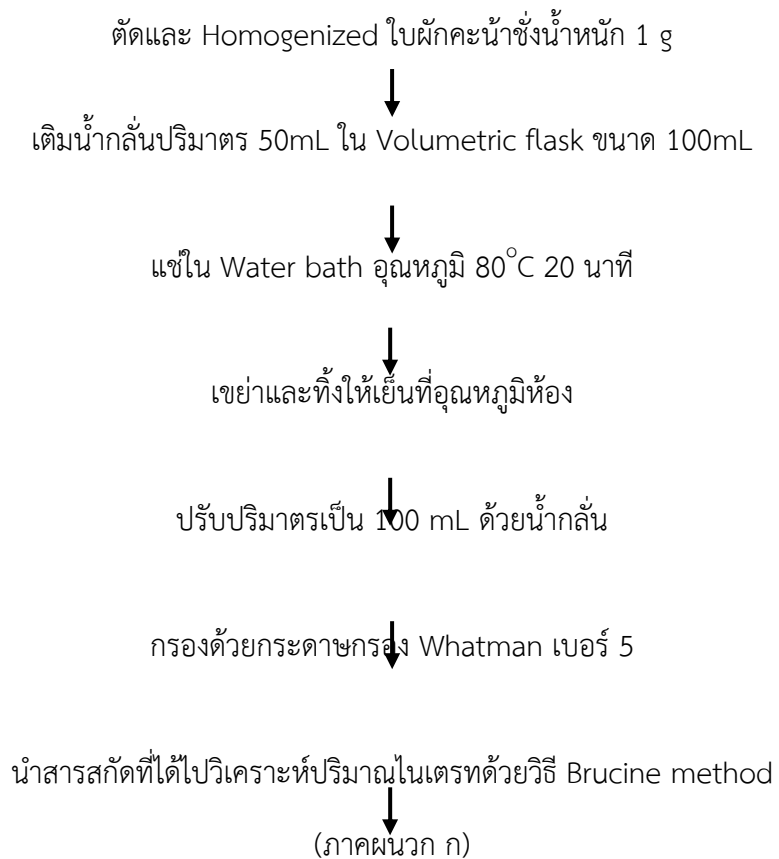
3.2.1.3.4 จากข้อมูลกลุ่ม Calibration เมื่อได้สมการ Calibration ให้ นำสมการที่ได้ไปใช้ในการทำนายคุณภาพของตัวอย่างในกลุ่ม Prediction set เพื่อดูความแม่นยำของสมการ โดยใช้โปรแกรม Unscrambler version 9.7

3.2.2 การหา Linearity ของสารมาตรฐานไนเตรท

3.2.3.1 เตรียมสารมาตรฐานไนเตรทความเข้มข้น 10, 20, 30, 40 และ 50 ppm โดยเตรียมจากสารมาตรฐานไนเตรทความเข้มข้น 1,000 ppm

3.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณไนเตรทในใบผักคะน้าไฮโดรโปนิคส์ด้วยเทคนิค Brucine method (AOAC,2000)

วิเคราะห์หาปริมาณไนเตรทในตัวอย่างใบผักคะน้าไฮโดรโปนิคส์ โดยสกัดสารละลายจากตัวอย่างด้วยวิธีของ Shin-shou Chou และคณะ (2003) ดังแสดงในภาพที่ 3.3 ดังนี้



ภาพที่ 3.3 ขั้นตอนการสกัดตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ไนเตรทและไนไตรท์ด้วยเทคนิค Brucine method (ดัดแปลงจาก Shin-shou Chou และคณะ, 2003)