อุปกรณ์และวิธีการ

งานวิจัยประกอบด้วยการวิจัยย่อยดังนี้

1. หาวิธีการเพาะเมล็ด ผักพื้นบ้านเพื่อผลิตแบบไมโครกรีนในสภาพควบคุม

เลือกผักพื้นบ้านที่มีเมล็ดมาก ได้แก่ ผักโขม ผักกาดเขียว ผักขี้หูด ผักปลัง ถั่วแปบ ผักกะสัง แมงลัก โหระพาและกะเพรา มาทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการงอก และการเจริญเติบโต ของผักไมโครกรีน คือ อุณหภูมิ ความเข้มแสง ช่วงเวลาที่ได้รับแสง และธาตุอาหาร

ทำการวางแผนการทดลองแบบ RCD ในชนิดพันธุ์ผักพื้นบ้าน 9 ชนิดพันธุ์ ได้แก่ กะเพรา แมงลัก โหระพา ผักโขม ผักกาดเขียว ผักขี้หูด ผักปลัง โสน และถั่วแปบ แบ่งการทดลองย่อย เป็น 4 การทดลอง ดังนี้

1. การทดลองย่อยที่ 1 ทำการทดสอบ อุณหภูมิ 4 ระดับ (20,25,30,35 องศาเซลเซียส)

2. การทดลองย่อยที่ 2 ทำการทดสอบความเข้มแสง 4 ระดับ (0 1000 2000 3000 ลักซ์)

3.การทดลองย่อยที่ 3 การเปรียบเทียบวัสดุให้ความชื้น

4.การทดลองย่อยที่ 4 การให้ธาตุอาหารบำรุงต้น โดยใช้อาหารไฮโดรโปนิกส์สูตร Knop's solution ความเข้มข้นต่างกัน 5 ระดับ (0% 25% 50% 75% 100%)

2. การทดสอบในตู้เพาะเมล็ดสำหรับผลิตผักไมโครกรีนในสภาพควบคุม

ประดิษฐ์ตู้ควบคุมแสง อุณหภูมิ ความชื้น โดยให้มีระบบควบคุมอุณหภูมิ ตั้งแต่ 20 $^{\circ}$C ถึงระดับอุณหภูมิภายนอก ระบบควบคุมความชื้น ตั้งแต่ 80-100 % ระบบแสงสว่าง 1000 - 3000 LUX

3. หาเทคโนโลยีการผลิตผักพื้นบ้านแบบไมโครกรีน ในสภาพเปิด

ทดลองในผัก 9 ชนิด คือ ผักโขม ผักกาดเขียว ผักขี้หูด ผักปลัง ถั่วแปบ ผักกะสัง แมงลัก โหระพา และกะเพรา

4. เปรียบเทียบความเข้มข้นของธาตุอาหาร ในการผลิตผักแบบไมโครกรีน

โดยใช้สูตรอาหาร ไฮโดรโปนิกส์ (Knop's solution) เข้มข้นต่างกัน 5 ระดับ (0% 25% 50% 75% 100%) และมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำที่ใช้ให้ปุ๋ยทางราก วางแผนการทดลองแบบ RCBD 4 ซ้ำ

ข้อมูลที่ศึกษา

ในแต่ละการทดลอง ศึกษาข้อมูลต่อไปนี้

1. เปอร์เซ็นต์ความงอก
2. อัตราการงอก
3. ความยาว น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ขนาดของต้นกล้า
4. คุณค่าทางโภชนาการ และสารที่มีประโยชน์ (โปรตีน วิตามิน คลอโรฟิลล์ และ antioxidant)
5. ระยะการบริโภคที่เหมาะสม
6. ปริมาณจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ (*E.coli, Salmonella*)
7. การยอมรับของผู้บริโภค

5. การปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยว และการเก็บรักษาผักไมโครกรีน

6. การสร้างตู้ควบคุมอุณหภูมิ

วัสดุที่ใช้ในการจัดสร้าง

1. โครงตู้จัดสร้างจากวัสดุสังกะสีแผ่นเรียบขนาด 1 มิลลิเมตร
2. แสงสว่าง ใช้หลอดฟลูออเรสเซนต์ขนาด 36 วัตต์ จำนวน 6 หลอด
3. การควบคุมอุณหภูมิ ใช้ระบบปรับอากาศพร้อมเซ็นเซอร์ตรวจวัดอุณหภูมิ คอมเพรสเซอร์ขนาด 1 แรงม้า
4. ช่องสำหรับวางวัสดุปลูก เป็นเหล็กและอิคริค

วิธีการ

การจัดสร้างโครงตู้ควบคุมอุณหภูมิสำหรับปลูกพืชไมโครกรีน ทำโดยการขึ้นรูปแผ่นสังกะสีตามที่ออกแบบขนาด 65 X 65 X 140 เซ็นติเมตร ฉีดโฟมเข้าไปยังด้านในช่องว่างของแผ่นสังกะสีหนา 1 นิ้ว ติดตั้งระบบควบคุมอุณหภูมิ โดยใช้คอมเพรสเซอร์ขนาด 1 แรงม้า ติดตั้งด้านบนของตู้ เพื่อลดระยะของการเดินสายและระบบท่อทำความเย็น การวัดอุณหภูมิและการทำงานของคอมเพรสเซอร์จะเป็นไปอย่างอัตโนมัติ ภายในตู้ติดตั้งหลอดฟลูออเรสเซ็นต์ จำนวน 6 หลอด แบ่งเป็นด้านซ้ายและด้านขวาอย่างละ 3 หลอด เพื่อให้แสงสว่างภายในตู้ ประตูเป็นกระจกสองชั้นเพื่อสังเกตการเจริญเติบโตของพืช

การวิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร

การหาความชื้น (Moisture content)

อุปกรณ์

1.เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง

2.ภาชนะอลูมิเนียม (Moisture can) พร้อมฝาปิด

3.ตู้อบไฟฟ้าที่ควบคุมอุณหภูมิได้

4.โถดูดความชื้นที่มีสารดูดความชื้น

วิธีทำ

1. ชั่งตัวอย่างให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 2.0000 + 0.05 กรัม

2. ใส่ภาชนะอลูมิเนียมโดยเปิดฝาเล็กน้อย ซึ่งผ่านการอบนาน 30 นาทีและทราบน้ำหนักที่แน่นอน

3. อบให้แห้งในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 102 + 3 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 3 ชั่วโมง

4. จากนั้นนำภาชนะออกจากตู้อบไฟฟ้าพร้อมปิดฝาอลูมิเนียม

5. ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นประมาณ 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

6. ชั่งน้ำหนัก นำไปอบซ้ำอีกครั้ง ครั้งละ 30 นาที จนกระทั่งได้น้ำหนักที่คงที่

7. นำผลที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณความชื้น

วิธีคำนวณ

เปอร์เซ็นต์ความชื้น $= \frac{100(w1 - w2)}{w_1 - w}$

เมื่อ w = น้ำหนักของจานอลูมิเนียมพร้อมผาปิด (กรัม)

w_1 = น้ำหนักของจานอลูมิเนียมพร้อมฝาปิด และตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

w_2 = น้ำหนักของจานอลูมิเนียมพร้อมฝาปิด และตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

การหาปริมาณโปรตีน

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์การย่อย

2. อุปกรณ์การกลั่น

3. อุปกรณ์การไตเตรท

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริกเข้มข้น

2. สารละลาย NaOH 40%

3. สารละลายบอริก 4%

4. Catalyst (ตัวเร่งปฏิกิริยา) ประกอบด้วย K_2SO_4 และ $CuSO_4$ 2%

5. สารละลายอินดิเคเตอร์ เมธิลเรด

6. กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 N เตรียมโดยตวงสารละลาย conc.HCl มา 8.2 ml แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 l.

วิธีการ

1. เตรียมตัวอย่าง

1. ชั่งตัวอย่างมาประมาณ 0.5 – 1.0 กรัม อย่างละเอียดใส่ลงไปในหลอดย่อย

2. ใส่คะตะลิสต์ ประมาณ 10 กรัม

3. เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น ลงไปประมาณ 10 – 15 มิลลิลิตร แล้วเขย่าเบา

2. การย่อย

1. เปิดเครื่องย่อย แล้วตั้งหลอดย่อยในเครื่อง สวมเครื่องดักจับไอกรดลงบนส่วนของหลอดย่อย และเปิด power ของเครื่องดักจับไอกรด โดยทำการย่อยในตู้ดูดควัน

2. กดปุ่ม Start ที่เครื่องย่อย เมื่ออุณหภูมิได้ 420 องศาเซลเซียสแล้ว เครื่องจะทำการย่อยต่อไปอีก 1 ชั่วโมง จนตัวอย่างเป็นสารละลายสีเขียวใส (หากเมื่อครบ 1 ชั่วโมง แล้วยังไม่เป็นสีเขียวใสให้ทำการย่อยต่อ)

3. ยกหลอดย่อยออกมาตั้งพักไว้ให้เย็น

4. ปิด Power เครื่องย่อย แต่ยังคงเปิดเครื่องดักจับไอกรดเพื่อดักจับไอกรดที่ยังคงเหลืออยู่

3. การกลั่น

1. เปิด Power เครื่องหล่อเย็น แล้วปิดเครื่องกลั่นทำการล้างระบบด้วยการล้างน้ำกลั่น

2. เติมกรดบอริค 4% 25 มิลลิลิตร ใส่ลงไปในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร พร้อมหยดอินดิเคเตอร์ ซึ่งจะทำให้กลายเป็นสารละลายสีแดงออกชมพู

3. นำหลอดย่อยประกอบเข้ากับเครื่องกลั่น และวางไว้บริเวณ Plateform ให้แท่งแก้วจุ่มอยู่ใต้กรดบอริก

4. ปิด Safety door ลง เครื่องกลั่นจะทำการกลั่นเป็นเวลาประมาณ 4 นาที

5. เมื่อกลั่นเสร็จแล้ว เอาขวดรูปชมพู่และหลอดย่อยออกจากเครื่อง

6. นำสารละลายในขวดรูปชมพู่ไปไตเตรตกับสารละลายไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 N จนได้สารละลายเป็นสีชมพูอ่อน

การคำนวณ

1. เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน $= \dfrac{14x\ (v1 - v2)\ x\ \text{Normality of HCl (mol / l)}\ x100}{\text{Weight of sample (g)}\ x100}$

เมื่อ v1 = ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ไตเตรทตัวอย่าง

v2 = ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ไตเตรท blank

เปอร์เซ็นต์โปรตีน = เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน x conversion factor

เมื่อ Conversion factor = 6.25

การหาปริมาณไขมัน

<u>อุปกรณ์</u>

1. เครื่องวิเคราะห์ไขมัน Soxtherm
2. บีกเกอร์วิเคราะห์ไขมัน (Extraction cup)
3. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
4. ตู้อบเพื่อไล่ความชื้น
5. Thimble

<u>สารเคมี</u>

Petroleum ether

<u>วิธีทำ</u>

1. ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียดแล้วประมาณ 5 กรัม (W_1) จดน้ำหนักที่ชั่งได้ไว้อย่างละเอียด
2. นำตัวอย่างที่ชั่งได้ใส่ลงใน Thimble
3. นำปิโตรเลียมอีเธอร์ 150 มิลลิลิตร ใส่ลงในบีกเกอร์วิเคราะห์ไขมันที่ผ่านการอบและทราบน้ำหนักของบีกเกอร์ที่แน่นอนแล้ว (W_2)
4. นำ Thimble ที่มีตัวอย่างใส่ลงในบีกเกอร์วิเคราะห์ไขมัน แล้วนำต่อเข้ากับเครื่องวิเคราะห์ไขมัน
5. เครื่องจะทำการต้มตัวอย่างประมาณ 15 นาที จากนั้นจะชะไขมันตัวอย่าง 30 – 40 นาที และระเหยสารละลาย
6. นำบีกเกอร์วิเคราะห์ไขมันออกจากเครื่องวิเคราะห์ไขมัน นำไปอบที่ 100 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที
7. นำมาทิ้งให้เย็นใน desicator จากนั้นชั่งน้ำหนักถ้วย (W_3)

<u>การคำนวณ</u>

$$\% \text{ ไขมัน} = \frac{\text{น้ำหนักบีกเกอร์หลังสกัด} - \text{น้ำหนักบีกเกอร์เปล่า}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

การหาปริมาณเยื่อใยหรือ Crude fiber

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. ตู้อบลมร้อน
3. เตาเผาเถ้า
4. เครื่องวิเคราะห์หาปริมาณเยื่อใยแบบ Hot extraction และ Cold extraction
5. บีกเกอร์วิเคราะห์เยื่อใย (Crucible)
6. Hot plate
7. กาต้มสารเคมีหรือบีกเกอร์ขนาด 1000 มิลลิลิตร

สารเคมี

1. สารละลายกรดกำมะถันเจือจาง 1.25% เตรียมโดย ละลายกรดกำมะถันเข้มข้น 7.27ml. ในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

2. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจาง 1.25% เตรียมโดยละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 12.5 กรัม ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

3. n – Octanol
4. Celite 545 เป็นสารช่วยกรอง
5. Acetone

วิธีการ

เตรียมตัวอย่าง

1. ชั่งตัวอย่าง 1 กรัม (W_0) ใส่ลงใน Crucible ที่ผ่านการอบและชั่งน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว และชั่ง Celite 545 อีก 1 กรัม (น้ำหนักที่แน่นอน)

การวิเคราะห์

1. ตั้ง Crucible เข้ากับเครื่องวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใย

2. ย่อยด้วยกรดกำมะถัน 1.25% ประมาณ 150 มิลลิลิตร แล้วหยด n-Octanol 2 – 3 หยด เพื่อลด ฟอง และต้มให้เดือดแล้วปรับเข็มควบคุมความร้อนมาที่เบอร์ 3 จนกระทั่งเวลาครบ 30 นาที

3. กรองเอาสารละลายออก ล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่นร้อน 2 – 3 ครั้ง

4. ย่อยด้วยกรดโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.25% ประมาณ 150 มิลลิลิตร หยด n-Octanol 2-3 หยด ต้มให้เดือดแล้วปรับเข็มควบคุมความร้อนมาที่เบอร์ 3 จนกระทั่งเวลาครบ 30 นาที

5. กรองเอาสารละลายออก ล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่นร้อน 2-3 ครั้ง

6. นำ Crucible ต่อเข้ากับเครื่องวิเคราะห์หาปริมาณเยื่อใยแบบ Cold extraction

7. ล้างด้วย Acetone 3 ครั้งๆ ละ 25 มิลลิลิตร

8. นำไปอบแห้งที่ 130 องศาเซลเซียส ประมาณ 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นใน desicator ชั่งน้ำหนัก (W_1)

9. เผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส ประมาณ 3 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็น ชั่งน้ำหนัก (W_2)

<u>การวิเคราะห์</u>

$$\% \text{ ปริมาณเยื่อใย} = \frac{(w_1 - w_2) \times 100}{W_0}$$

หมายเหตุ ต้องหักน้ำหนักของ Celite 545 ออกด้วย

การหาปริมาณเถ้า

<u>อุปกรณ์</u>

1. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ
2. เตาเผาเถ้า
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้า
5. Hot plate

<u>วิธีการ</u>

1. ชั่งตัวอย่างประมาณ 2 กรัม ในถ้วยกระเบื้องเคลือบ ที่เผาและชั่งน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว

2. นำตัวอย่างไปเผาบน Hot plate หรือเปลวไฟจนหมดควัน (เพื่อเผาส่วนที่เป็นสารประกอบอินทรีย์ออกไป)

3. นำไปเผาต่อในเตาเผาเถ้า (Muffle furnace) ที่อุณหภูมิ 500 – 550 องศาเซลเซียส จนกระทั่งได้เถ้าสีขาวหรือสีเทาอ่อน

4. นำออกจากโถดูดความชื้น ปล่อยไว้ให้เย็น แล้วชั่งน้ำหนักเถ้าซ้ำนานครั้งละ 30 นาที จนกระทั่งได้น้ำหนักคงที่ (ต่างกันไม่เกิน 0.001 กรัม) (เพื่อเอาส่วนที่เป็นสารประกอบอินทรีย์ออกไป)

<u>การคำนวณหาปริมาณของเถ้า</u>

$$\text{ปริมาณเถ้า(\%)} = \frac{100x(w_2-w)}{w_1-w}$$

w คือ น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบเป็นกรัม

w_1 คือ น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบและตัวอย่างก่อนเผาเป็นกรัม

w_2 คือ น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบและตัวอย่างหลังเผาเป็นกรัม

การหาปริมาณคาร์โบไฮเดรท

ปริมาณคาร์โบไฮเดรทอาหารซึ่งส่วนใหญ่ประกอบด้วยสตาร์ชและน้ำตาล คำนวณจากค่า 100 หักด้วยค่าผลรวมที่ได้จากการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความชื้น ไขมัน โปรตีน เส้นใยหยาบและเถ้า ดังสมการข้างล่าง

คาร์โบไฮเดรต(%) = 100 – {ความชื้น(%)+ไขมัน(%)+โปรตีน(%)+เส้นใยหยาบ(%)+เถ้า(%)}

การวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซี

<u>วิธีการ</u>

<u>การเตรียมสารเคมี</u>

1. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน ascorbic acid โดยการชั่งกรด ascorbic อย่างละเอียด 50 มิลลิกรัม จดน้ำหนักที่ใช้ (X) ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น(เตรียมก่อนใช้ทันที)

2. การเตรียมสีย้อม

-ใส่น้ำกลั่น 50 มิลลิลิตรในบีกเกอร์ขนาด 150 มิลลิลิตร เติม Sodium bicarbonate 42 มิลลิกรัม คนให้ละลาย

- แล้วเติม 2,6 dichloindophenol 50 มิลลิกรัม
- ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 200 มิลลิลิตร
- กรองผ่านกระดาษกรองบรรจุ ในขวดปิดสนิท เก็บไว้ในตู้เย็น

3. การเตรียมสารละลาย metaphophoric acid – acetic acid

- เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วเติมกรด acetic acid เข้มข้น 20 มิลลิลิตร
- เติมกรด metaphophoric acid ลงไป 7.5 กรัม คนจนละลาย
- ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 250 มิลลิลิตร
- กรองผ่านกระดาษกรองบรรจุในขวดปิดให้สนิท เก็บไว้ในตู้เย็น

4. การเตรียมตัวอย่างน้ำผักไมโครกรีนโสนกินดอกโดยกรองน้ำผ่านกระดาษกรอง

<u>การวิเคราะห์</u>

<u>1. การ standardize สีย้อม</u>

- ปิเปตสารละลาย metaphophoric acid – acetic acid 5 ml. ลงใน Erlenmeyer flask
- เติมสารละลายมาตรฐาน ascorbic acid 2 ml.
- ใส่สีย้อมลงในบิวเรต จดปริมาตรเริ่มต้น

- Titrate สีย้อม กับสารละลายมาตรฐาน ascorbic acid จนกระทั่งเห็นสีชมพูอ่อนคงตัวมากกว่า 5 วินาที จดปริมาตรสีย้อมที่ใช้

- เตรียม blank โดยปิเปตสารละลาย metaphophoric acid – acetic acid 7 ml. ใส่น้ำกลั่นลงไปเท่ากับจำนวนสีย้อมที่ใช้ข้างต้น

- Titrate blank ด้วยวิธีเดียวกัน จดปริมาตรสีย้อมที่ใช้

2. การวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำผักไมโครกรีนโสนกินดอก

- ปิเปตสารละลาย metaphophoric acid – acetic acid 5 ml. และปิเปตน้ำผักไมโครกรีนโสนกินดอก 2 ml. ลงใน Erlenmeyer flask

- Titrate ตัวอย่างด้วยสีย้อม จนกระทั่งเห็นสีชมพูอ่อนคงตัวมากกว่า 5 วินาที จดปริมาตรสีย้อมที่ใช้ จดปริมาตรที่ใช้ A ml.

การคำนวณ

ปริมาตรกรดแอสคอบิกที่ใช้		X	mg
ในสารละลาย 50 ml. มีกรดแอสคอบิก		X	mg
ในสารละลาย 2 ml. มีกรดแอสคอบิก		(2X)/50	mg
ปริมาณเฉลี่ยสี่ย้อมที่ใช้ในการ standardize		Y	ml
ใช้สีย้อม Y ml เท่ากับมีกรด ascorbic		(2X)/50	mg
ถ้าตัวอย่างใช้สีย้อม A ml. เท่ากับมีกรด ascorbic		{(2X)A}/50Y	mg
ตัวอย่าง 2 ml. มีกรด ascorbic		{(2X)A}/50Y	mg
ตัวอย่าง 1 ml. มีกรด ascorbic		[{(2X)A}/50Y]/2	mg
	=	XA/50Y	mg
ดังนั้นตัวอย่างมีกรด ascorbic	=	XA/50Y	mg/ml

การวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์

ขั้นตอนการล้างผักก่อนนำไปตรวจเชื้อ

1. ถอนผักออกจากกระดาษเพาะ
2. ล้างน้ำสะอาด 1 น้ำโดยการล้างน้ำผ่าน
3. นำผักมาตัดราก
4. ล้างน้ำสะอาดอีก 1 น้ำโดยการล้างน้ำผ่าน
5. นำผักแบ่งเป็น 6 กลุ่ม

กลุ่มที่ 1 ล้างผักในน้ำก๊อก 2 นาที โดยใช้น้ำผ่าน แล้วนำไปตรวจเชื้อ
กลุ่มที่ 2 เตรียมผงฟู 1 ช้อนโต๊ะผสมกับน้ำอุ่น 20 ลิตร รอให้น้ำเย็นแล้วนำผักไปแช่ 15 นาที ล้างน้ำสะอาด 2 น้ำ แล้วนำไปตรวจเชื้อ
กลุ่มที่ 3 เตรียมเกลือป่น 1 ช้อนโต๊ะผสมกับน้ำ 4 ลิตร นำผักมาแช่นาน 15 นาที ล้างน้ำสะอาด 2 น้ำ แล้วนำไปตรวจเชื้อ
กลุ่มที่ 4 เตรียมคลอรีน ½ ช้อนชาผสมกับน้ำ 20 ลิตร แช่ผักนาน 15 นาที ล้างน้ำสะอาด 2
น้ำ แล้วนำไปตรวจเชื้อ
กลุ่มที่ 5 เตรียมด่างทับทิม 25 – 30 เกล็ดต่อน้ำ 4 ลิตร แช่ผักนาน 15 นาที ล้างน้ำสะอาด 2 น้ำแล้วนำไปตรวจเชื้อ
กลุ่มที่ 6 เตรียมน้ำส้ม 0.5% แช่ผัก 15 นาที ล้างน้ำสะอาด 2 น้ำ แล้วนำไปตรวจเชื้อ

การวิเคราะห์คลอโรฟิลล์ด้วยสารไดเมททิลฟอร์มาไมด์ (N,N – Dimethyl formamide: DMF)

วิธีการ

1. นำใบพืชตัวอย่างแต่ละชนิดมาทำความสะอาด ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ประมาณ 100 มิลลิกรัม (โดยหลีกเลี่ยงการใช้เนื้อเยื่อบริเวณเส้นใบและขอบใบ) แล้วใส่ในหลอดทดลอง (ในการวิเคราะห์ผักไมโครกรีนใช้ทั้งต้นไม่รวมราก)

2. เติมสาร DMF ปริมาณ 7 ml ลงในหลอดทดลอง แล้วทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (หรืออุณหภูมิที่ได้ทดสอบแล้ว)

3. รอจนกระทั่งเนื้อเยื่อพืชเปลี่ยนจากสีเขียว เป็นสีขาวใส

4. แยกส่วนของกากพืชออกจากสารละลาย โดยการกรองด้วยกระดาษกรอง

5. ปรับปริมาตรสารละลายที่กรองได้ด้วยสาร DMF ให้เป็น 10 ml

6. นำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ โดยวิธีวัดค่าการดูดซับแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ช่วงคลื่น 645 และ 663 นาโนเมตร

การคำนวณปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบพืช

1. เจือจางส่วนที่สกัดได้ด้วยสารเคมีอย่างใดอย่างหนึ่ง (ในกรณีที่อ่านค่า OD>1 ต้องเจือจางโดยใช้ supernatant:80% acetone = 1:9 ซึ่งได้ total = 10 ml.)

2. นำไปอ่านการดูดแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 645 และ 663 nm โดยใช้สารเคมีที่สกัดนั้น เป็น Blank

3. คำนวณเป็นค่า mg of chlorophyll/g fresh leaf weight. ตามสูตรดังนี้

mg chlorophyll a/g fresh leaf wt. = $[12.7 (D_{663}) – 2.69 (D_{645})] \times [v/1000 \times W)]$

mg chlorophyll b/g fresh leaf wt. = $[22.9 (D_{645}) – 4.68 (D_{663})] \times [v/1000 \times W)]$

mg chlorophyll /g fresh leaf wt. = [20.2 (D_{645}) – 8.02 (D_{663})] x [v/1000 x W)]

หรือ = 27.8 (D_{652})

โดยที่ D = OD ของคลอโรฟิลล์ในความยาวคลื่นนั้น

V = ปริมาตรสุดท้ายของสารเคมีที่ใช้สกัด (ml) และ W = น้ำหนักใบพืชที่ใช้

การตรวจคุณสมบัติ สารต้านอนุมูลอิสระ

สารเคมี

- 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH, Sigma, Aldrich, USA) (MW 394.32)
- Butylated hydroxyanisole (BHA, Sigma, Aldrich, USA)
- Trolox (6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid, 97%, Sigma, Aldrich, Germany) (MW 250.29)
- 95% Ethanol

การเตรียมสารละลาย

- 0.15 mM DPPH ใน 95% Ethanol, 100 ml: ชั่ง 0.0059 g ของ DPPH ในปริมาตร 100 ml, เติมเอทานอล 95% และละลายแล้วกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman
- 1.0 mg/ml BHA: น้ำหนัก 0.01 กรัม BHA ในขวดปริมาตร 10 ml, ละลายในเอทานอลเพียงเล็กน้อยและปรับน้ำ deionized 10 ml
- 8 mM Trolox, 25 ml: ชั่ง 0.0501g ของ Trolox ใน 25 ml 95% เอทานอล จากนั้นเตรียมสารละลายมาตรฐาน trolox ในช่วงความเข้มข้น 0.08, 0.06, 0.04, 0.02, 0.01, และ 0.005 mM

การคำนวณ

- 0.15 mM DPPH in 95% Ethanol, 100 ml:

  1000 ml $\longrightarrow$ 0.15×10^{-3} M

  100 ml $\longrightarrow$ $[0.15 \times 10^{-3} \times 100 \times 394.32]/ 1000$

  $\longrightarrow$ 0.0059 g

- 8 mM Trolox in 95% Ethanol, 25 ml:

  1000 ml $\longrightarrow$ 8×10^{-3} M

  100 ml $\longrightarrow$ $[8 \times 10^{-3} \times 25 \times 250.29]/ 1000$

  $\longrightarrow$ 0.0501 g

การสกัดตัวอย่าง

1. ชั่ง 0.5-1 กรัม ตัวอย่างแห้งในหลอดพลาสติก 50 ml มีฝาปิด
2. เพิ่ม 30 ml ของ 85% เอทานอลในแต่ละท่อ
3. เช็ค เครื่องเขย่าที่ 100 rpm ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

4. ตัวอย่างต้องเขย่าที่ 3,000 rpm เป็นเวลา 5 นาทีและเก็บไว้ที่ 5 ° C ถึงการวิเคราะห์

<u>วิธีการ</u>

Standard : Trolox 1 ml + DPPH solution 2 ml

Blank : Sample 1 ml + 95% Ethanol 2ml

Sample: Sample 1 ml + DPPH solution 2ml

Positive control: BHA 1 ml + DPPH solution 2ml

Negative control: DI 1 ml + DPPH solution 2ml

1. บรรจุตัวอย่าง 1 mlใส่ในหลอดทดลอง
2. เติม DPPH 2ml
3. แล้วนำไปเก็บในห้องมืดในอุณหภูมิห้อง 30 นาที
4. วัดแสง absorbance ที่ 517nm โดยเครื่อง spectrophotometer
5. บันทึก absorbance แล้วคำนวณ DPPH

การประดิษฐ์ตู้ควบคุมแสงและอุณหภูมิ

การประดิษฐ์ตู้ควบคุมแสงและอุณหภูมิ โดยกำหนดระบบการควบคุมอุณหภูมิตั้งแต่ 20 ^{o}C ถึงระดับอุณหภูมิภายนอก ระบบการควบคุมความชื้นอยู่ระหว่าง 80-100 % ระบบแสงสว่างตั้งแต่ 1000-3000 LUX

การออกแบบระบบของตู้ควบคุมเพื่อจัดสร้างสำหรับการทดลอง โดยเลือกวัสดุที่สามารถหาได้ง่ายและสามารถดัดแปลงได้เมื่อเกิดปัญหาในการทดลอง ขนาดของตู้ควบคุม 65 x 65 x 140 เซนติเมตร ประกอบด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ขนาด 36 วัตต์ จำนวน 6 หลอด ติดตามแนวตั้งด้านข้างภายในของตู้ควบคุม ชุดคอมเพรสเซอร์ติดตั้งด้านบนหลังตู้มีขนาด 1.5 แรงม้า ชุดควบคุมการทำงานติดตั้งด้านหน้าของตู้ด้านบนประตูปิดเปิด โดยประตูปิดเปิดจะเป็นกระจกทั้งบาน เพื่อการมองเข้าไปด้านในของตู้ที่สะดวก สังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงภายใน และเพิ่มความสว่างของแสงภายในตู้ด้วย วัสดุและโครงสร้างของตู้ควบคุมเป็นสังกะสีขนาดความหนา1.5 มิลลิเมตร ทั้งสองด้าน มีเสาเหล็กขนาด 6 หุน รองรับน้ำหนักทั้ง 4 มุม และต่อถึงกันเป็นโครงสร้างของตู้ควบคุม ภายในช่องว่างของตู้ควบคุมฉีดด้วยโฟมหนา 1.5 นิ้ว เพื่อเก็บความเย็น

<u>ลำดับขั้นการทดลอง</u>

1. ทำการทดลองในการตั้งค่าอุณหภูมิ การตัดต่อของอุณหภูมิ ช่วงระยะความแตกต่างของอุณหภูมิเมื่อระบบทำความเย็นเริ่มทำงาน
2. วัดค่าความชื้นภายในตู้ควบคุม
3. วัดความสว่างของแสงเมื่อทำการเปิดระบบแสงสว่างภายในตู้โดยใช้ผ้าดำปิดด้านหน้าตู้ที่เป็นกระจกเพื่อลดการเข้าของแสงจากภายนอก

สถานที่ทำการวิจัย

คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร สาขาพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ

ระยะเวลาทำการวิจัย

เริ่มเดือนตุลาคม พ.ศ. 2550 สิ้นสุดการวิจัยเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2553