

ใบรับรองปัญหาพิเศษปริญญาตรี
ภาควิชาพืชสวน

เรื่อง

การเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีของคะน้าที่ถูกชักนำด้วยสารโคลชิซิน
Changes in Vitamin C Content of Chinese kale Induced by Colchicine Treatment

โดย

นายศุภชาติ ธรรมนิตินิเวทย์
นางสาวอัจฉิมา เกษมเหตุยัสุข

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

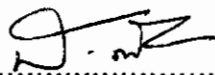


(อาจารย์มณฑินี ชีรารักษ์)

อาจารย์ที่ปรึกษา

(..... / ๒๕๖๖ / ๕๐)

ภาควิชารับรองแล้ว



(รศ.ดร.สมชาย กล้าหาญ)

หัวหน้าภาควิชาพืชสวน

(..... / ๒๕๖๖ / ๕๐)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการ..... ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี

เรื่อง

การเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีของคะน้าที่ถูกชักนำด้วยสาร โคลชิซิน

Changes in Vitamin C Content of Chinese kale Induced by Colchicine Treatment



๖๕๖๖
๑๙๘๑

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน..... 73559
วัน,เดือน,ปี..... 20 ก.ค. 2550

เสนอ

ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
กรุงเทพมหานคร

b. 11795529
i.....

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (พืชสวน)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้พุทธศักราช 2549 เท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อเรื่อง : การเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีของคะน้าที่ถูกชักนำด้วยสาร โคลชิซิน
โดย : นายศุภชาติ ธรรมนิติเวทย์ และ นางสาวอัจฉิมา เกษมเหตุทัยสุข
สาขาวิชา : พืชสวน
ภาควิชา : พืชสวน
คณะ : เทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
อาจารย์ที่ปรึกษา: อาจารย์มณฑินี ธีรารักษ์

บทคัดย่อ

ทำการแช่เมล็ดคะน้าจึนในสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2 และ 0.4 ppm เป็นเวลา 12 ชั่วโมง นำไปปลูกในโรงเรือน โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ซึ่งแต่ละทริทเมนต์มีจำนวน 5 ซ้ำ ๆ ละ 4 ต้น พบว่าคะน้าจึนที่ได้รับโคลชิซินความเข้มข้น 0.2 ppm มีปริมาณวิตามินซีสูงที่สุด 42.33 มิลลิกรัม/คะน้าจึน 100 กรัม ขณะที่ต้นควบคุมมีปริมาณวิตามินซี 24.91 มิลลิกรัม/คะน้าจึน 100 กรัม โดยต้นคะน้าจึนที่เป็นต้นควบคุม มีปริมาณวิตามินซีแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับคะน้าจึนที่ได้รับโคลชิซินเข้มข้น 0.2 ppm จากการวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่าง ความเข้มข้นของโคลชิซินกับปริมาณวิตามินซีในคะน้าจึนอยู่ในระดับสูง

Title : Changes in Vitamin C Content of Chinese kale Induced by Colchicine Treatment

By : Mr. Supachart Thammanitiveth and Miss Augjima Kasemharuthaisuk

Major : Horticulture

Department : Horticulture

Faculty : Agricultural Technology
King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Advisor : Miss Montinee Teerarak

Abstract

Chinese kale seeds were soaked in 0, 0.1, 0.2 and 0.4 ppm colchicine concentrations for 12 hours and were grown in a greenhouse. The Completely Randomized Design (CRD) was used in this experiment. Each treatment was replicated five times with four plants in each replicate. The results indicated that chinese kale treated with 0.2 ppm colchicine had the highest vitamin C content of 42.33 mg per 100 grams while in control it was about 24.91 mg per 100 grams. Significant difference in vitamin C content of the control and 0.2 ppm colchicine treated plants were found. Subsequent analyses of correlation coefficients between concentrations of colchicine and vitamin C content in chinese kale were highly.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีก็เพราะ อาจารย์มณฑินี ธีรารักษ์ อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ ในนามคณะผู้ทดลองจึงต้องขอกราบขอบพระคุณอาจารย์เป็นอย่างสูง ทั้งยังช่วยตรวจทานแก้ไข และให้คำแนะนำเพิ่มเติมในการเขียนปัญหาพิเศษฉบับนี้

ขอขอบคุณเพื่อน ๆ ทั้งในและนอกสาขาวิชาพืชสวน (พิเศษ) ทุกท่าน ที่เป็นทั้งกำลังใจและกำลังกายจนทำให้ปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วง ตลอดจน คุณพ่อ คุณแม่ และญาติพี่น้องทุกคนที่คอยสนับสนุนทั้งในด้านการเรียนและให้คำปรึกษาในการดำเนินชีวิต

ท้ายที่สุดประโยชน์อันเกิดจากปัญหาพิเศษฉบับนี้ขอบอบแด่ครูบาอาจารย์ ผู้มีพระคุณทุกท่านที่มีส่วนช่วยให้เกิดความสำเร็จ ทั้งที่เอ่ยนามและไม่เอ่ยนามทุกท่าน จึงขอขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้ นอกจากนี้ยังต้องขอขอบคุณเอกสารอ้างอิงทุกฉบับที่ใช้เป็นแหล่งให้ความรู้เพิ่มเติมและทำให้ปัญหาพิเศษปริญาตรีฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ศุภชาติ ธรรมนิติเวทย์
อัจฉิมา เกษมเหตุยสุข
พฤศจิกายน 2549

สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	i
สารบัญตารางผนวก	ii
สารบัญภาพ	iii
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	1
ตรวจสอบเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	10
ผลและวิจารณ์	13
สรุป	15
เอกสารอ้างอิง	16
ภาคผนวก	18



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ปริมาณวิตามินซีเฉลี่ยของผักคะน้าจีน (มิลลิกรัม/คะน้าจีน 100 กรัม)
ที่ได้รับสาร โคลชิซินในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

14



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตารางผนวก

หน้า

ตารางผนวกที่ 1 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของปริมาณวิตามินซีของ
ผักคะน้าจีน (มิลลิกรัม/คะน้าจีน 100 กรัม) ที่ได้รับสาร โคลชิซินในระดับ
ความเข้มข้นต่าง ๆ

19



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 ปฏิกริยาของ redox dye DCIP กับ ascorbic acid

8



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

คะน้าจีน (*Brassica oleracea* var. *alboglabra*) หรือที่เรียกสั้น ๆ ว่า “คะน้า” เป็นพืชที่ปลูกและเจริญเติบโตได้ง่ายในดินเกือบทุกประเภท คะน้าเป็นผักที่ได้รับความนิยมบริโภคในปัจจุบันเป็นอย่างมากไม่ใช้แค่เฉพาะในประเทศไทยเท่านั้น แต่หลายประเทศก็นิยมบริโภคคะน้าด้วย เช่น ประเทศจีน ไต้หวัน ฮองกง และมาเลเซีย ในฐานะที่สามารถนำมาใช้ประกอบอาหารได้สารพัดอย่าง อาหารไทยที่ใช้ผักคะน้าเป็นส่วนประกอบมักจะเป็นผัดผัก ใส่ในก๋วยเตี๋ยวผัด ก๋วยเตี๋ยวน้ำ ก๋วยเตี๋ยวแห้ง ใส่ส้มจับฉ่าย หรือนำมารับประทานเป็นผักสดเคียงแนมกับของทอด เช่น เนื้อ หมู หรือนำมาใช้ยำหรือทำเมี่ยงก็ได้

ผักใบเขียวเป็นแหล่งวิตามินที่สำคัญ รวมทั้งคะน้าจีน วิตามินซีหรือกรดแอสคอร์บิกจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระชนิดหนึ่งที่พบมากในผัก และเชื่อว่าจะช่วยให้ผู้บริโภคมียาวยืนยาว รวมทั้งป้องกันการเกิดมะเร็งได้ด้วย เพราะวิตามินซีจะไปช่วยกำจัดอนุมูลอิสระ (free radicals) ที่เป็นสาเหตุของความชราและโรคมะเร็ง (จริงแท้, 2549) การเพิ่มปริมาณวิตามินซีในพืชโดยเฉพาะผักใบเขียว เช่น คะน้า เป็นการช่วยเพิ่มคุณค่าทางอาหาร เพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งให้ผู้บริโภคได้รับสารอาหารที่จำเป็นและเพียงพอแก่ร่างกาย

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาปริมาณวิตามินซีในคะน้าจีนเมื่อได้รับสาร โคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ
2. หาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณวิตามินซีและ โคลชิซิน

ตรวจเอกสาร

1. ค่าน้ำจีน

1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ค่าน้ำจีน (chinese kale) มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Brassica oleracea* var. *alboglabra* (Bailey) Musil จัดอยู่ในวงศ์ Cruciferae (Mustard Family) (วิจิตร และคณะ, 2537) มีอายุการเจริญเติบโตเป็นพืชสองฤดู (biennial) แต่บริโภคนิยมเป็นพืชผักฤดูเดียว (annual) ใบเป็นใบเดี่ยว (simple leaf) มีการจัดเรียงตัวแบบสลับ (alternate) ไม่มีหูใบ (stipule) ช่อดอกเป็นแบบ raceme ดอกแขนงมีการเจริญเติบโตแบบ indeterminate แต่ดอกแขนงด้านล่างสั้นกว่าด้านบน (corymb) โดยช่อดอกประเภทนี้ดอกที่อยู่ด้านล่างจะบานก่อนดอกที่อยู่ด้านบน ซึ่งจัดเป็นดอกสมบูรณ์เพศ (perfect flower) หรือดอกกระเทย (hermaphrodite) ทรงดอกสมบูรณ์ (regular) มีกลีบเลี้ยง 4 กลีบ กลีบดอก 4 กลีบ เกสรตัวผู้ 6 อัน ยาว 4 อัน สั้น 2 อัน รังไข่เป็นแบบ superior เกสรตัวเมีย 1 อัน มี 2 คาเพล (carpel) และ 2 โกลคูด (locule) ผลมี 2 ลักษณะ คือ ลักษณะป้อม (short broad pod) เรียกว่า silicle และลักษณะยาว (elongated pod) เรียกว่า silique เมล็ดค่าน้ำจีนหนักประมาณ 1 – 5 มิลลิกรัม เฉลี่ยประมาณ 1 มิลลิกรัม เมื่อเมล็ดแก่มีสีเหลืองจนออกดำ แต่โดยทั่วไปแล้วมีการพัฒนาไปเป็นสีโอ๊ค (ochre) หรือสีน้ำตาล (ไฉน, 2542)

1.2 แหล่งกำเนิดและการพัฒนา

ค่าน้ำจีน (chinese kale) เป็นพืชผักที่พัฒนามาจากค่าน้ำฝรั่ง (kale) เช่นเดียวกับพืชผักในวงศ์กะหล่ำชนิดอื่น ๆ มีโครโมโซม 9 คู่ ($2n = 18$) เท่ากับกะหล่ำชนิดอื่น ๆ (ไฉน, 2542) มีแหล่งกำเนิดมาจาก Asia minor ถูกนำเข้ามาสู่อินเดียและจีนเป็นเวลานานจนได้รับความนิยมและคุ้นเคยกันในแถบนี้ ซึ่งในปัจจุบันมีความสำคัญมากทางเศรษฐกิจของหลายประเทศ อาทิ ไทย จีน ไต้หวัน ฮองกง มาเลเซีย สิงคโปร์ ฯลฯ โดยชาวจีนเรียกค่าน้ำว่า “ไก่หลันไซ้” (Kaai Laan Ts'oi) (เกษม, 2524)

1.3 พันธุ์

ค่าน้ำจีนเป็นพืชล้มลุก ลำต้นสูงประมาณ 30 เซนติเมตร มีข้อตามลำต้น ใบเป็นใบเดี่ยว โดยมีการจัดเรียงตัวแบบสลับ ใบมีลักษณะแบบ obovate ดอกเป็นแบบสมบูรณ์เพศ ช่อดอกเป็นแบบ raceme มีการจำแนกค่าน้ำจีนออกเป็น 7 สายพันธุ์ (เกษม, 2524) คือ

1. ไปฮวาไก่หลัน (Paak fa kaai laan) มีดอกสีขาว

2. หงฮวาไก่หลัน (Hong fa kaai laan) มีดอกสีแดง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ชูยอิปไก่อ่หลัน (Tsau ip kaai laan) มีลักษณะใบข่น
4. ไป่ฮวาไก่อ่หลัน (Paak fa kaai laan) มีดอกสีขาว ปล้องยาว (Improved) ใบน้อย
5. เอินอิปไป่ฮวา (Uen ip paak fa) มีดอกสีขาว ใบกลม อายุ 80 วันหลังจากหยอดเมล็ด
6. เอินอิวองฮวา (Uen ip wong fa) มีดอกสีเหลือง ใบกลม อายุ 40 – 45 วันหลังย้ายปลูก
7. ซิมอิปไป่ฮวา (Tsim ip paak fa) มีดอกสีขาว ปลายใบแหลม อายุ 70 – 80 วันหลังหยอดเมล็ด

ในจำนวนคะน้ำจิ้นทั้ง 7 สายพันธุ์ มีจำนวน 3 สายพันธุ์แรกนิยมปลูกในฮ่องกง และนอกจากนั้นนิยมปลูกในไต้หวัน สำหรับประเทศไทยเองนั้นนิยมปลูกคะน้ำจิ้นพันธุ์ดอกขาวทั้งสิ้น ปัจจุบันคะน้ำจิ้นพันธุ์ที่ปลูกในประเทศไทยมี 3 พันธุ์ (Cultivars) คือ

1. คะน้ำใบกลม มีลักษณะใบกว้างใหญ่ ปล้องสั้น ปลายใบมน และผิวใบเป็นคลื่นเล็กน้อย ได้แก่ พันธุ์ฝางเบอร์ 1 ของกรมวิชาการเกษตร
2. คะน้ำใบแหลม เป็นพันธุ์ที่มีลักษณะใบแคบกว่าชนิดแรก ปลายใบแหลม ข้อห่าง ผิวใบเรียบ เช่น พันธุ์ P.L. 20
3. คะน้ำยอด หรือคะน้ำก้าน เป็นพวกที่มีลักษณะคล้ายคะน้ำใบแหลม และบางครั้งทำให้เกิดสับสนกัน แต่ลักษณะสำคัญคือมีจำนวนใบต่อต้นน้อยกว่า และปล้องยาวกว่า เช่น พันธุ์แม่โจ้

1.4 สภาพแวดล้อม

คะน้ำจิ้นสามารถเจริญเติบโตได้ในดินแทบทุกชนิด โดยเฉพาะในดินร่วนปนทรายเจริญได้ดีที่สุด ค่า pH ที่เหมาะสมประมาณ 6.0 – 7.5 อุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 18 – 24 องศาเซลเซียส ที่อุณหภูมิเฉลี่ย 20 องศาเซลเซียสให้ผลผลิตมากที่สุด ความชื้นที่ต้องการประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ ถ้าขาดน้ำคะน้ำจิ้นจะชะงักการเจริญเติบโต มีเส้นใยมาก รสชาติไม่อร่อย ในการปลูกคะน้ำไม่ต้องผ่านการห่อหัวหรือออกดอกก่อนการเก็บเกี่ยว ซึ่งแตกต่างจากการปลูกผักกะหล่ำชนิดอื่น (ไฉน, 2542)

1.5 พันธุ์คะน้ำจิ้นที่ควรปลูก

คะน้ำจิ้นพันธุ์ที่ควรปลูกในประเทศไทย นอกจากพันธุ์ฝางเบอร์ 1 พันธุ์ P.L. 20 และพันธุ์แม่โจ้แล้ว ยังมีพันธุ์ที่ดีๆ อีกหลายพันธุ์ (ไฉน, 2542) เช่น

1. พันธุ์ F (F Strain) เป็นพันธุ์ลูกผสมอายุ 50 – 60 วันหลังหยอดเมล็ด เป็นคะน้ำยอด ใบค่อนข้างเรียบ ปลายใบแหลม สีเขียวเข้มและมีนวลมาก ลำต้นอวบยาว รสชาติกรอบอร่อย เส้นใยน้อย ทนฝน มีความสม่ำเสมอดี

2. พันธุ์ Green Lance เป็นพันธุ์ลูกผสมอายุ 45 – 60 วันหลังหยอดเมล็ด เป็นคะน้ำยอด ปลายใบแหลม ลำต้นอวบ ทนต่อความแห้งแล้งและอุณหภูมิสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่วางไว้สำหรับอาจารย์ใช้เพื่อการเรียนการสอนเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. พันธุ์คะน้ำใบ 16011 เป็นพันธุ์ที่ได้ผ่านการคัดเลือกและทดลองมาแล้วจากบริษัทเจียไต๋ เป็นพันธุ์ที่ทนทานต่อสภาพดินฟ้าอากาศของประเทศไทย

4. พันธุ์คะน้ำยอด 16021 เป็นพันธุ์ที่ได้ผ่านการคัดเลือกและทดลองมาแล้วจากบริษัทเจียไต๋ เป็นพันธุ์เก่าแก่ อายุประมาณ 30 – 35 วัน ลำต้นอวบ ก้านใบยาว ปลายใบแหลม ผิวใบเรียบทนทานต่อโรคและความร้อนชื้น

5. พันธุ์ R 07 เป็นพันธุ์ที่คัดเลือกและปรับปรุงให้ดีขึ้น โดยสถาบันเทคโนโลยีราชมงคล ได้นำไปทดสอบตามภาคต่าง ๆ ปรากฏว่าเจริญเติบโตได้ดีในทุกสภาพพื้นที่ เป็นคะน้ำยอดอายุ 55 วันหลังจากหยอดเมล็ด

1.6 การเก็บเกี่ยว

เมื่อคะน้ำอายุได้ 45 วัน เป็นระยะที่ตลาดต้องการมากที่สุด แต่ถ้าการเก็บเกี่ยวคะน้ำเงินในช่วงโตเต็มที่ 50 – 55 วัน จะได้น้ำหนักมากกว่า ใช้มีดที่คม ๆ ตัดต้นคะน้ำเงินบริเวณโคนต้น รวบรวมนำมาตัดแต่งเอาส่วนที่เป็นโรคหรือถูกแมลงทำลายออก แล้วบรรจุส่งตลาดต่อไป (โจน, 2542)

2. วิตามินซี

2.1 ความหมายและความสำคัญของวิตามิน

วิตามิน คือ กลุ่มของอินทรีย์สารที่มีอยู่ในอาหารและเป็นสิ่งสำคัญที่ร่างกายต้องการในปริมาณเพียงเล็กน้อย เพื่อใช้ควบคุมการทำงานของปฏิกิริยาในร่างกาย โดยทำให้เซลล์ต่าง ๆ เจริญและทำหน้าที่ได้เป็นปกติ วิตามินมีสูตร โครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกันและยังทำหน้าที่ต่างกัน วิตามินเป็นสารอาหารที่ไม่ให้พลังงานและไม่ได้เป็นส่วนประกอบของเนื้อเยื่อใด ๆ วิตามินส่วนใหญ่ไม่สามารถสังเคราะห์ได้ในร่างกายมนุษย์จึงจำเป็นต้องได้รับจากอาหาร หรืออาหารเสริมเท่านั้น แต่มีวิตามินเพียงไม่กี่ชนิดเท่านั้นที่ร่างกายหรือแบคทีเรียสังเคราะห์ขึ้นได้ในปริมาณจำกัด จึงไม่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย (สมทรง และณรงค์, 2543)

2.2 ประวัติการค้นพบ

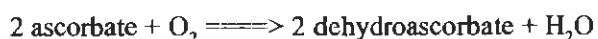
ประวัติการค้นพบวิตามินซีเริ่มต้นจากการค้นพบโรคลักปิดลักเปิด (scurvy) เป็นโรคที่เก่าแก่ที่ชาวอียิปต์ได้มีการบันทึกไว้ตั้งแต่เมื่อสมัย 1550 ปีก่อนคริสต์ศักราช ในปี ค.ศ. 1747 ดร. เจมส์ ลินด์ (Dr. James Lind) นายแพทย์ชาวอังกฤษ ได้ทดลองรักษาลูกเรือ 6 จาก 12 คนที่เป็นโรคลักปิดลักเปิด โดยพบว่าส้มและมะนาวสามารถรักษาโรคนี้นี้ได้ ในเวลาใกล้เคียงกัน Cook กับตันเรือ

เอกสารนี้ขึ้นมาจากสารที่ชื่อว่าวิตามินซีหรือที่รู้จักกันในชื่อกรดแอสคอร์บิก ซึ่งพบในผลไม้รสเปรี้ยวและผักใบเขียว การขาดวิตามินซีทำให้เกิดโรคลักปิดลักเปิดได้เช่นเดียวกัน ในปี ค.ศ. 1907 ไมวากรณ์ไคๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สังเคราะห์แสง (photosynthetic process) และยังช่วยในการเติบโต การเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปทำหน้าที่เฉพาะอย่าง (differentiation) และเมแทบอลิซึมของพืช เอนไซม์ monodehydroascorbate reductase (EC 1.6.5.4) และ dehydroascorbate reductase (EC 1.8.5.1) ช่วยทำให้กรดแอสคอร์บิกอยู่ในสภาพรีดิวซ์ (reduced form) ส่วน ascorbate peroxidase (EC 1.11.1.11) ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยา:



และเอนไซม์ ascorbate oxidase (EC 1.10.3.3) เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันดังสมการ:



ซึ่งเอนไซม์ทั้ง 4 ชนิดดังกล่าวเกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึมของกรดแอสคอร์บิกในพืช ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการทำงานในที่กล่าวมาข้างต้น ในทางตรงกันข้าม เอนไซม์ที่กำจัดเปอร์ออกไซด์ (peroxide-scavenging) คล้ายคลึงกับ ascorbate oxidase ที่มีผลต่อหน้าที่ป้องกันเซลล์จากความเสียหายอันเนื่องมาจากการถูกออกซิไดส์ (oxidative damage) โดยช่วยเซลล์นั้นยังมีชีวิตอยู่ (vital role) และทำหน้าที่เฉพาะสำหรับ ascorbate oxidase ที่มีทองแดงเป็นองค์ประกอบ (copper-containing)

กรดแอสคอร์บิก จัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระประเภทที่ทำงานร่วมกัน (synergistic antioxidants) เกิดปฏิกิริยากับ free oxygen และเคลื่อนย้าย free oxygen ในระบบปิด ascorbic acid และ ascorbyl palmitate บางครั้งทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำงานร่วมกันกับสารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิ (synergists with primary antioxidants) โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับ tocopherols (วิตามินอี) (Rajalakshmi and Narasimhan, 1996)

2.6 การเพิ่มปริมาณวิตามินซีในพืชบางชนิด

มะเขือเทศเป็นหนึ่งในแหล่งของวิตามินซี ในการปรับปรุงพันธุ์มะเขือเทศเพื่อเพิ่มปริมาณวิตามินซีให้มากขึ้น พบว่าไม่ประสบความสำเร็จมากนัก ถึงแม้ว่า Stevens และ Rick (1972) ได้แสดงข้อมูลปริมาณวิตามินซีในมะเขือเทศ พบว่าในปี 1972 ว่ามีปริมาณกรดแอสคอร์บิกมากกว่าปี 1952 อยู่ 25% (Mozafar, 1994)

Pospíšilová (1969) ได้ทำการผสมมะเขือเทศพันธุ์ป่า (*Lycopersicon pimpinellifolium*) กับพันธุ์ปลูก (*L. esculentum*) เพื่อพัฒนาให้มะเขือเทศมีปริมาณวิตามินซีเพิ่มสูงขึ้น พบว่าปริมาณกรดแอสคอร์บิกของผลพันธุ์ลูกผสมมีปริมาณอยู่ระหว่างพันธุ์พ่อแม่ (Mozafar, 1994)

นอกเหนือจากวิธีการปรับปรุงพันธุ์พืชข้างต้นแล้ว ยังมีรายงานการศึกษาวិธีการเพิ่มปริมาณวิตามินซี เช่น เมล็ดของ *Lupinus albus* L. var. Multolupa มีปริมาณวิตามินซีถึง 6.48 mg/100 g d.m. เมื่องอกในสภาพที่ได้น้ำอย่างต่อเนื่องกับต้นอ่อน และส่งผลให้ปริมาณวิตามินซีเพิ่มมากขึ้นตามจำนวนวันที่มีการให้น้ำ (Frias *et al.*, 2005) นอกจากการให้น้ำที่ต่อเนื่องจะมีผลต่อปริมาณวิตามินซีเพิ่มขึ้นแล้ว ในทางตรงกันข้ามความชื้นส่งผลให้ปริมาณวิตามินซีลดลง กล่าวคือ cowpeas ที่มีอายุ 4

วัน เมื่อเลี้ยงในสภาพปกติมีวิตามินซีปริมาณ 23.3 mg/100 g d.m. ถ้านำต้นกล้าที่มีอายุ 4 วันเลี้ยงในสภาพที่มีความดัน 300, 400 และ 500 MPa ส่งผลให้ปริมาณวิตามินซีลดลงเหลือ 21.0, 18.4 และ 16.7 mg/100 g d.m. ตามลำดับ ส่วนต้นกล้าที่งอกได้ 6 วัน มีวิตามินซีปริมาณ 25.2 mg/100 g d.m. ซึ่งมีค่ามากกว่าต้นกล้าที่งอกได้ 4 วัน และถ้านำต้นกล้าดังกล่าวมาปลูกในสภาพที่มีความดัน 300, 400 และ 500 MPa จะยังทำให้ปริมาณวิตามินซีลดลงเช่นเดียวกันลดเหลือ 22.9, 22.5 และ 14.9 mg/100 g d.m. ตามลำดับ (Doblado *et al.*, 2007)

2.7 การสูญเสียและการแปรเปลี่ยนสภาพ

การสูญเสียวิตามินซี (L-ascorbic acid) เกิดขึ้นเนื่องจากการถูกชะล้าง จากความร้อนเวลาประกอบอาหาร เช่น การหุงต้มทำให้วิตามินซีละลายออกมาในน้ำ การต้มผักทำให้สูญเสียวิตามินซีได้เนื่องจากการทำงานของเอนไซม์ ascorbic acid oxidase ในขั้นตอนแรกของการต้มเป็นการเพิ่มอุณหภูมิอย่างช้า ๆ ทำให้การทำงานของเอนไซม์ ascorbic acid oxidase จะดีขึ้นเป็นลำดับ จึงเกิดการสูญเสียวิตามินซี ที่ย่ำที่สุดเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นมากจนทำให้เอนไซม์ ascorbic acid oxidase เกิดความเสียหาย ดังนั้นการแก้ไขการสูญเสียวิตามินซีในระหว่างการต้มผักคือต้องมีการต้มน้ำให้เดือดเสียก่อนจึงใส่ผักลงไป และการลดการสูญเสียวิตามินซีในผักระหว่างการประกอบอาหารอีกวิธีหนึ่งก็คือ การนึ่งด้วยไอน้ำ (steaming) จะช่วยลดการสูญเสียให้น้อยลงถึงแม้จะมีการใช้เวลานานขึ้นก็ตาม ส่วนผักสดควรเก็บไว้ในที่เย็นหรือการแช่ในน้ำเย็นเพื่อไปลดการทำงานของเอนไซม์ ascorbic acid oxidase ให้ช้าลง ส่วนบริเวณผิวที่สัมผัสกับอากาศและออกซิเจนก็มีผลต่อการสูญเสียวิตามินซีเช่นกัน (นิธิยา และวิบูลย์, 2537; Lešková *et al.*, 2006)

ในการปรับปรุงพันธุ์ไม้ผล หรือผักเพื่อเพิ่มปริมาณวิตามินซีที่สูงขึ้นเป็นต้นทุนทางเศรษฐศาสตร์และผลตอบแทนของการดำเนินงาน โดยวิตามินของพืชเป็นส่วนที่สูญเสียก่อนการบริโภค บางทีนอกจากการปรับปรุงพันธุ์พืชผักให้มีปริมาณวิตามินซีเพิ่มขึ้น การคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีการสูญเสียวิตามินในอัตราที่ช้ากว่าในระหว่างกระบวนการแปรรูปอาหารและการเก็บรักษา (food processing and storage) ซึ่งถือว่าคุ้มค่า (Mozafar, 1994)

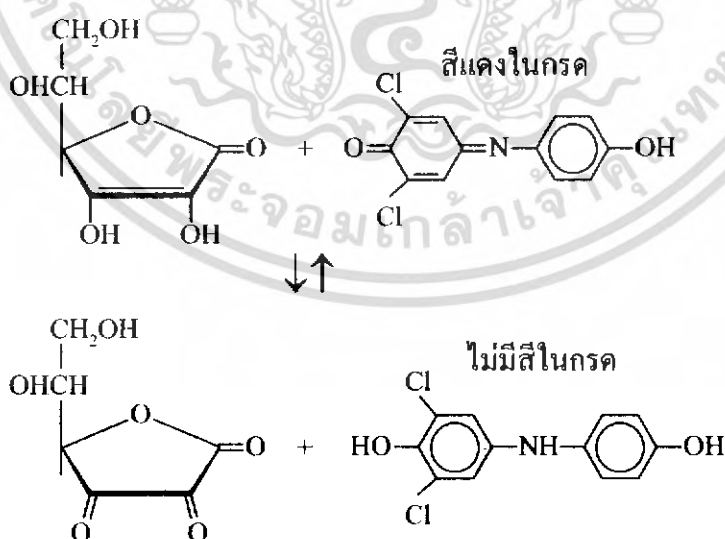
2.8 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี

การตรวจวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณ ascorbic acid โดยการไทเทรตกับไอโอดีน, 2,4-dinitrophenylhydrazine หรือไทเทรตกับ 2,6-dichlorophenolindophenol (DCIP) ในสารละลายกรด ในการทดลองส่วนมากใช้ DCIP เพราะมีความแม่นยำ รวดเร็ว และสะดวก ข้อสำคัญยังใช้วิเคราะห์วิตามินซีในตัวอย่างที่มาจากส่วนต่าง ๆ ของพืชได้หลายส่วน เช่น น้ำผลไม้กับเนื้อผลไม้ ผักดิบกับผักต้ม เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีโดยวิธีไทเทรตกับ DCIP เริ่มต้นจากการนำน้ำคั้นผักผลไม้ หรือเนื้อผลไม้ที่ต้องการตรวจวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีมาเจือจางใน metaphosphoric acid โดยที่ metaphosphoric acid มีคุณสมบัติยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ascorbic acid oxidase (สมทรง และณรงค์, 2543) ascorbic acid ในธรรมชาติส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปรีดิวซ์ (จริงแท้, 2549) ซึ่งจะใช้รีดิวซ์ indicator dye ก็คือ DCIP จากรูปออกซิไดส์ (สีแดงในกรด) ไปเป็นรูปรีดิวซ์ (ไม่มีสีในกรด) (ภาพที่ 1) โดย ascorbic acid จะทำหน้าที่เป็นตัวให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่ DCIP และจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปออกซิไดส์ เมื่อปฏิกิริยาดำเนินไปจนถึงจุดยุติ (end point) ascorbic acid ที่อยู่ในรูปรีดิวซ์จะถูกเปลี่ยนไปอยู่ในรูปออกซิไดส์ทั้งหมด ทำให้ DCIP ที่หยดลงในตัวอย่างทดสอบที่ละลายในกรดดังกล่าวปรากฏเป็นสีแดงอ่อน เนื่องจากไม่ได้ถูกเปลี่ยนเป็นรูปรีดิวซ์

การวิเคราะห์ตัวอย่างเพื่อตรวจหาปริมาณวิตามินซี ตัวอย่างที่นำไปวิเคราะห์จะมีสารประกอบอื่นเจือปน จึงทำให้ปริมาณ ascorbic acid ที่วิเคราะห์ได้มากกว่าความเป็นจริงที่เกิดขึ้น เนื่องจากสารประกอบอื่นที่เจือปนสามารถทำปฏิกิริยากับ DCIP ได้เช่นเดียวกับ ascorbic acid ดังนั้นเพื่อลดความผิดพลาด (error) โดยวิธีการทำลาย ascorbic acid โดยการเติมเอนไซม์ ascorbic acid oxidase ลงไปในสารละลายตัวอย่างที่ทดสอบ จากนั้นจึงจะทำการไทเทรตสารละลายดังกล่าวด้วย indicator dye ซึ่งก็คือ DCIP ด้วยหลักการเช่นเดียวกันกับที่กล่าวข้างต้นแต่จะต่างตรงที่สารที่ทำหน้าที่ให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่ DCIP คือสารประกอบอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ ascorbic acid เมื่อไทเทรตจนถึงจุดยุติแล้ว นำค่าที่คำนวณได้ไปหักออกจากสารละลายตัวอย่างที่ไม่มีการทำลาย ascorbic acid จะได้ค่าที่มีความถูกต้องมากขึ้น (Boyer, 1993)



ภาพที่ 1 ปฏิกิริยาของ redox dye DCIP กับ ascorbic acid

ที่มา : คัดแปลงจาก Boyer (1993)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. โคลชิซิน

โคลชิซิน (colchicine) เป็นสารทุติยภูมิประเภท alkaloid ที่สกัดได้จาก Mediterranean plant (*Colchicum autumnale*) ใช้ในการทำ pretreatment แก่เซลล์ จะช่วยทำให้เซลล์ที่มีการแบ่งตัวนั้นหยุดอยู่ในระยะเมทาเฟส (metaphase) ทั้งนี้โคลชิซินจะเป็นตัวไปอุดตามปลายท่อต่าง ๆ ของ microtubule ภายในเซลล์ ทำให้ microtubule ไม่สามารถต่อกันเป็นสายใยสปินเดิล (spindle fiber) ในการช่วยดึงโครโมโซมระยะเมทาเฟสได้ (อมรา, 2546; Sinha, 2004) ดังนั้นโคลชิซินจึงเป็นสารที่เพิ่มจำนวนโครโมโซมเป็น 2 เท่า ทำให้ได้พืชที่มีจำนวนโครโมโซมเป็น 4 ชุด (tetraploid plants) จากเดิมที่เป็น 2 ชุด (diploid plants) หรืออาจได้พืชที่มีจำนวนชุดโครโมโซมเป็นแบบผสม (mixoploid) ซึ่งเกิดจากการที่เนื้อเยื่อเจริญที่ประกอบด้วยเซลล์จำนวนมากแบ่งตัวแยกเป็นชั้นเกิดขึ้น (chimeras) ซึ่งมีทั้งเนื้อเยื่อที่มีจำนวนโครโมโซมเป็น 2 และ 4 ชุด (Koutoulis *et al.*, 2005)

นักวิทยาศาสตร์ได้เริ่มใช้สารโคลชิซิน เป็นเวลานานกว่า 30 ปีมาแล้วเพื่อทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนโครโมโซมเป็นหลายชุด (polyploid) ขึ้นในพืช ปกติสารชนิดนี้มีการใช้ในทางการแพทย์มานานแล้ว ส่วนการทดลองในพืชจะนำสารโคลชิซินไปละลายน้ำหรือกลีเซอริน จากนั้นนำมาทาตามส่วนต่าง ๆ ที่เจริญอย่างรวดเร็ว เช่น ต้นอ่อน ตาที่กำลังแตก เมล็ดที่กำลังงอก ถ้าหากนำเมล็ดหรือตาที่ได้รับสารนี้ไปขยายพันธุ์จะได้พืชที่เป็น polyploidy โดยกระบวนการดังกล่าวเป็นการกระตุ้นหรือชักนำให้เกิดพืชที่เป็น polyploid ขึ้น (ไพศาล, 2542)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดคะน้าจีน
2. สารโคลชิซิน (colchocine)
3. สารเคมีที่ใช้ทดสอบหาปริมาณวิตามินซี ได้แก่
 - 3.1 สารละลาย 4% metaphosphoric acid
 - 3.2 สารละลายมาตรฐาน ascorbic acid 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในสารละลาย 4% metaphosphoric acid

3.3 สารละลาย 2,6-dichlorophenolindophenol (DCIP) 25 มิลลิกรัม ในน้ำ 100 มิลลิลิตร

4. น้ำคั้นจากผักคะน้า

5. น้ำกลั่น

6. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ บิวเรต ขวดรูปชมพู่ ขวด กรวยแก้ว ปิเปต แท่งแก้วคนสาร

7. อุปกรณ์อื่นๆ ได้แก่ มีด ผ้าขาวบาง กระดาษกรอง ที่วางบิวเรต จุกยางสามทาง เครื่องปั่น เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง

วิธีการ

การเตรียมเมล็ด

1. เตรียมสาร โคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2 และ 0.4 ppm
2. แช่เมล็ดคะน้าจีนในสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2 และ 0.4 ppm เป็นเวลา 12 ชั่วโมง
3. นำเมล็ดคะน้าจีนที่แช่ในสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ล้างน้ำกลั่น 3 ครั้ง แล้วนำมาปลูกในโรงเรือน ทริทเมนต์ละ 20 ต้น จำนวน 5 ซ้ำ ๆ ละ 4 ต้น

การเตรียมสารเคมี

1. ชั่ง 2,6-dichlorophenolindophenol (DCIP) จำนวน 25 มิลลิกรัม ละลายในน้ำอุ่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ถ้ามีตะกอนกรองก่อนใช้
2. ชั่ง metaphosphoric acid จำนวน 4 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร
3. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน ascorbic acid โดยชั่ง ascorbic acid จำนวน 0.5 มิลลิกรัม ละลายในสารละลาย 4% metaphosphoric acid ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหา dye titer ของสารละลายมาตรฐาน ascorbic acid

1. เติมสารละลาย DCIP ลงในบิวเรต บันทึกปริมาตรเริ่มต้น
2. ปิเปตสารละลายมาตรฐาน ascorbic acid ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ที่มีสารละลาย 4% metaphosphoric acid ปริมาตร 5 มิลลิลิตร
3. ไทเทรตโดยหยดสารละลาย DCIP จากบิวเรตลงในขวดรูปชมพู่ที่เตรียมได้จาก ข้อ 2. พร้อมทั้งเขย่าสารตลอดเวลา จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อนนาน 10 - 15 วินาที บันทึกปริมาตรสุดท้าย
4. ทำซ้ำขั้นตอนตาม ข้อ 2. และ ข้อ 3. อีก 2 ครั้ง แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย
5. ปิเปตสารละลาย 4% metaphosphoric acid ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ที่มีน้ำกลั่นปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อทำเป็น blank
6. ไทเทรตโดยหยดสารละลาย DCIP จากบิวเรตลงในขวดรูปชมพู่ที่เตรียมได้จาก ข้อ 5. พร้อมทั้งเขย่าสารตลอดเวลา จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อนนาน 10 - 15 วินาที บันทึกปริมาตรสุดท้าย
7. ทำซ้ำขั้นตอนตาม ข้อ 5. และ ข้อ 6. อีก 2 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย
8. นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหา dye titer ตามสูตร

$$\text{dye titer} = \frac{\text{ascorbic acid (mg) ที่ใช้}}{\text{ปริมาตร (ml) ของ dye ที่ใช้ในสารละลายมาตรฐาน - ปริมาตร (ml) ของ dye ที่ใช้ใน blank}}$$

การหาปริมาณวิตามินซีของผักคะน้า

1. เติมสารละลาย DCIP ลงในบิวเรต บันทึกปริมาตรเริ่มต้น
2. ชั่งผักคะน้าจำนวน 10 กรัม ตัดให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ และบดให้ละเอียดในโถงพร้อมกับเติมสารละลาย 4% metaphosphoric acid จำนวน 25 มิลลิลิตร
3. เทของเหลวที่ได้กรองด้วยผ้าขาวบาง
4. บดกากที่เหลือจากการกรองอีกครั้งพร้อมกับเติมสารละลาย 4% metaphosphoric acid ปริมาตร 25 มิลลิลิตร นำมากรองด้วยผ้าขาวบาง และทำซ้ำอีกครั้ง
5. นำน้ำคั้นผักที่กรองได้มาปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยสารละลาย 4% metaphosphoric acid
6. กรองสารละลายที่ได้จาก ข้อ 5. ด้วยกระดาษกรอง
7. ปิเปตสารละลายที่ได้จาก ข้อ 6. ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. โทเทรตโดยหยดสารละลาย DCIP จากบิวเรตลงในขวครูปชมพู่ที่เตรียมได้ พร้อมทั้งเขย่าสารตลอดเวลา จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อนนาน 10 – 15 วินาที และบันทึกปริมาตรสุดท้าย

9. ทำซ้ำขั้นตอนตาม ข้อ 7. และ ข้อ 8. อีก 2 ครั้ง นำมาหาค่าเฉลี่ย

10. ปิเปตสารละลาย 4% metaphosphoric acid ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ในขวครูปชมพู่ที่มีน้ำปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อทำเป็น blank

11. โทเทรตโดยหยดสารละลาย DCIP จากบิวเรตลงในขวครูปชมพู่ที่เตรียมได้จาก ข้อ 10. พร้อมทั้งเขย่าสารตลอดเวลาจนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อนนาน 10 – 15 วินาที และบันทึกปริมาตรสุดท้าย

12. ทำซ้ำขั้นตอนตาม ข้อ 10. และ ข้อ 11. อีก 2 ครั้ง นำมาหาค่าเฉลี่ย

13. นำค่าเฉลี่ยของปริมาตร DCIP ที่ถูกนำมาใช้ในการโทเทรต มาคำนวณหาปริมาณวิตามินซีของผักคะน้าจีน (มิลลิกรัม/คะน้าจีน 100 กรัม) ตามสูตร

$$\text{ปริมาณวิตามินซีของผักคะน้าจีน} = \frac{\text{dye liter} \times \text{ปริมาตร (ml) ของสารสกัดที่ใช้หลังหักออกจาก blank} \times 100}{\text{ปริมาตร (ml) ของสารสกัดที่ใช้ในการโทเทรต}}$$

การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ทางสถิติ

ทำการทดลองโดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) แบ่งเป็น 4 ทรีทเมนต์ จำนวน 5 ซ้ำ ๆ ละ 4 ตัวอย่าง วิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธีการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยวิธีการด้วยวิธีการของ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) และหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณวิตามินซีในคะน้าจีนกับสาร โคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

เวลาและสถานที่

เวลา	เริ่มการทดลอง	เดือนเมษายน	2549
	สิ้นสุดการทดลอง	เดือนมิถุนายน	2549

สถานที่ แปลงทดลองปลูกพืชภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ห้องปฏิบัติการกลาง ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ผลและวิจารณ์

จากการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีของต้นคะน้าจีน ที่ทำการแช่เมล็ดในสารละลายโคลชิซินก่อนปลูกที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2 และ 0.4 ppm เป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่า ต้นคะน้าจีนที่เป็นต้นควบคุม และต้นคะน้าจีนที่ได้รับสารโคลชิซิน 0.1 ppm มีปริมาณวิตามินซีประมาณ 24.91 และ 23.37 มิลลิกรัม/คะน้าจีน 100 กรัม ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับต้นควบคุม ส่วนต้นคะน้าจีนที่ได้รับโคลชิซินความเข้มข้น 0.2 และ 0.4 ppm มีปริมาณวิตามินซีประมาณ 42.33 และ 39.60 มิลลิกรัม/คะน้าจีน 100 กรัม ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับต้นควบคุม (ตารางที่ 1 และตารางผนวกที่ 1) เมล็ดที่แช่สารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 0.2 ppm มีปริมาณวิตามินซีมากที่สุด จากผลการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีในคะน้าจีนมีสหสัมพันธ์เชิงบวกกับสารโคลชิซิน ตามระดับความเข้มข้นของ โคลชิซินที่เพิ่มขึ้น ซึ่งค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่คำนวณได้มีค่าเท่ากับ 0.768 โดยถือว่าความสัมพันธ์ดังกล่าวอยู่ในระดับสูง จากการให้สารโคลชิซินกับคะน้าจีน พบว่า สารโคลชิซินมีผลทำให้ปริมาณวิตามินซีมากกว่าต้นคะน้าที่ไม่ได้รับสารโคลชิซิน รวมทั้งยังมีปัจจัยภายนอกที่เป็นสภาพแวดล้อมภายในแปลงปลูกเข้ามาเกี่ยวข้องอีกด้วย โดยทั่วไปพืชจะสร้างปริมาณอาหารหรือน้ำตาลซึ่งเป็นสารที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตและการเจริญเติบโต โดยเป็นสารที่พบในพืชทุกชนิด (ลิลลี่ และคณะ, 2549) ภายใต้สภาพโรงเรือนทำให้ได้รับปริมาณความเข้มแสงน้อย ส่งผลให้อัตราการสังเคราะห์แสงลดต่ำลง (วีรัตน์, 2541) นั่นหมายถึงอาหารที่ลดน้อยลง ดังนั้นต้นคะน้าจึงต้องปรับตัวให้ใบมีความหนาลดลง คลอโรพลาสต์มีขนาดใหญ่ขึ้นจึงสามารถบรรจุปริมาณคลอโรฟิลล์ได้เพิ่มมากขึ้น (Boardman, 1977) ในสภาพที่ฝนตกหนักจะทำให้ปริมาณวิตามินซีลดลง ในทางตรงกันข้ามสภาพอากาศร้อนและแห้งปริมาณวิตามินซีจะเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่าจากสภาพฝนตกหนัก ปริมาณวิตามินซีที่เพิ่มขึ้น จะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระที่เพิ่มมากขึ้นจากกระบวนการสังเคราะห์แสง ส่งผลให้ปริมาณวิตามินซีลดลงจากเนื้อเยื่อ ซึ่งจะช่วยให้ต้นคะน้าจินทนทานต่อสภาพความแห้งแล้งนี้ได้ นอกจากนี้ศัตรูพืชที่เข้าทำลายพืชยังส่งผลให้ปริมาณวิตามินซีลดลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งวิตามินซี (Moser and Bendich, 1991; Mozafar, 1994) นอกจากนี้ปริมาณวิตามินซียังขึ้นอยู่กับความสูงของใบพืชที่นำมาใช้วิเคราะห์วิตามินซี โดยใบที่ใช้มีความแปรปรวนของวิตามินซีอยู่มากเมื่อเปรียบเทียบกับความสูงของลำต้นคะน้าจีนที่นำมาใช้ ซึ่งที่ความสูง 20 เซนติเมตร ปริมาณวิตามินซีที่วิเคราะห์ได้จะมีค่ามากที่สุด ยิ่งความสูงเพิ่มมากขึ้นปริมาณวิตามินซีในแผ่นใบยิ่งลดลง (Lisiewska *et al.*, 2006) นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนไม่มีผลต่อปริมาณวิตามินซีของกะหล่ำดอกกอลิเดียน แต่ถ้าใส่ปุ๋ยไนโตรเจนเพิ่มขึ้น ปริมาณวิตามินซีจะลดลง 7% ในกะหล่ำดอก ขณะที่กะหล่ำปลี (white cabbage) เป็นแหล่งที่มีปริมาณวิตามินซีน้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับผักในกลุ่ม Brassica ด้วยกัน (Podsedek, 2007)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการเรียนการสอนเท่านั้น ใบอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่วารณมีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับขั้นตอนการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีนั้น ตัวเลขที่ได้จากการวิเคราะห์นั้นอาจคลาดเคลื่อนได้ เนื่องจากผิวของคะน้ำเงินบริเวณที่มีบาดแผลจากการตัดต้นคะน้ำเงินจากแปลง การตัดใบเพื่อชั่งน้ำหนัก และการตัดให้ใบมีขนาดเล็กลงเพื่อง่ายต่อการปั่นนั้นจะยังเป็นการเพิ่มพื้นที่ในการสัมผัสกับออกซิเจนให้มากขึ้น ทำให้วิตามินซีถูกออกซิไดส์จึงตรวจพบได้น้อยกว่าความเป็นจริง (Lešková *et al.*, 2006) และช่วงก่อนการปั่นควรเติม metaphosphoric acid ลงไป (เดิมก่อนทำให้เซลล์แตก) เพื่อทำลายเอนไซม์ ascorbic acid oxidase ที่จะออกมาออกซิไดส์วิตามินซี (สมทรงและณรงค์, 2543)

ตารางที่ 1 ปริมาณวิตามินซีเฉลี่ยของผักคะน้ำเงิน (มิลลิกรัม/คะน้ำเงิน 100 กรัม) ที่ได้รับสารโคลชิซินในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ระดับความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซิน (ppm)	ปริมาณวิตามินซี (มิลลิกรัม/คะน้ำเงิน 100 กรัม)
0	24.90732 a ^V
0.1	23.36823 a
0.2	42.32929 b
0.4	39.59971 b

^V ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างไม่มีนัยสำคัญด้วยการวิเคราะห์ค่าความวิธิการของ Duncan (Duncan's New Multiple Range Test, DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($\alpha = 0.05$)

การวิเคราะห์ตัวอย่างเพื่อตรวจหาปริมาณวิตามินซีดังกล่าว อาจมีสารประกอบอื่นเจือปนจึงทำให้ปริมาณ ascorbic acid ที่วิเคราะห์ได้มากกว่าความเป็นจริง ดังนั้นเพื่อลดความผิดพลาด (error) ควรทำลาย ascorbic acid โดยการเติมเอนไซม์ ascorbic acid oxidase ลงไปในสารละลาย จากนั้นจึงทำการไทเทรตสารละลายที่ปราศจาก ascorbic acid ดังกล่าวด้วย DCIP ซึ่งสารที่ทำหน้าที่ให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่ DCIP คือ สารประกอบอื่นที่ไม่ใช่ ascorbic acid เมื่อไทเทรตจนถึงจุดยุติแล้ว นำค่าที่คำนวณได้ไปหักออกจากสารละลายตัวอย่างที่ไม่มีการทำลาย ascorbic acid จะได้ค่าที่มีความถูกต้องมากขึ้น (Boyer, 1993)

สรุป

การแช่เมล็ดในสารละลายโคลชิซิน 0.2 ppm เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ทำให้ต้นคะน้าจีนมีปริมาณวิตามินซีมากที่สุด เมื่อเทียบกับต้นที่ได้รับสารโคลชิซินที่ความเข้มข้นอื่น ๆ และต้นคะน้าจีนควบคุม รวมทั้งปริมาณวิตามินซีมีความสัมพันธ์ในเชิงบวกกับความเข้มข้นของโคลชิซินที่เพิ่มขึ้น



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- เกษม พิสิก. 2524. ผักกาดและผักกะหล่ำ. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 96 น.
- จริงแท้ ศิริพานิช. 2549. ชีววิทยาหลังการเก็บเกี่ยวและการวางของพืช. โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ, นครปฐม. 453 น.
- ไฉน ยอดเพชร. 2542. พืชผักในตระกูล crucifer. สำนักพิมพ์ริ้วเขียว, กรุงเทพฯ. 195 น.
- ธีรนุช วิชญานันต์. 2545. คู่มือชีวเคมีเบื้องต้น. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง, กรุงเทพฯ. 399 น.
- นิธิยา รัตนปนนท์ และ วิบูลย์ รัตนปนนท์. 2537. โภชนศาสตร์เบื้องต้น. โอเคียนสตรี, กรุงเทพฯ. 266 น.
- ไพศาล เหล่าสุวรรณ. 2542. พันธุศาสตร์. บริษัทโรงพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช จำกัด, กรุงเทพฯ. 342 น.
- ลิลลี่ กาวีตะ, มาลี ณ นคร, ศรีสม สุวรรณวงศ์ และ สุรียา ดันดีวิวัฒน์. 2549. สรีรวิทยาของพืช. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 261 น.
- วิจิตร วังใน, ธวัช ลวะเปารยะ, ไพรัช ชีระวุฒิชัย, ประภาพร ตั้งกิจโชติ, ยิงยง ไพสุขานดิวัฒนา และ ธัญญา เตชะสีลพิทักษ์. 2537. การจำแนกพืชสวน. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 96 น.
- วิรัตน์ ภูวิวัฒน์. 2541. อิทธิพลของความเข้มแสงระดับต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของคะน้าที่ปลูกในโรงเรือนตาข่าย. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 14 (2): 3-10.
- สิริพันธุ์ จุลกรังคะ. 2545. โภชนศาสตร์เบื้องต้น. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 290 น.
- สุนีย์ สหัสโพธิ์. 2543. ชีวเคมีทางโภชนาการ. โอ. เอส. พรินติ้ง เฮาส์, กรุงเทพฯ. 130 น.
- สมทรง เลขะกุล และ ณรงค์ บุญยะรัตเวช. 2543. ชีวเคมีของวิตามิน. สุภาวนิชาการพิมพ์, กรุงเทพฯ. 273 น.
- อมรา คัมภีรานนท์. 2546. พันธุศาสตร์ของเซลล์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 306 น.
- Boardman, N.K. 1977. Comparative Photosynthesis of Sun and Shade Plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 28: 355-377.
- Boyer, R.F. 1993. *Modern Experimental Biochemistry*. 2nd ed. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., Redwood City, California. 555 p.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Doblado, R., J. Frías and C. Vidal-Valverde. 2007. Changes in Vitamin C Content and Antioxidant Capacity of Raw and Germinated Cowpea (*Vigna sinensis* var. *carilla*) Seeds Induced by High Pressure Treatment. *Food Chemistry* 101: 918–923.
- Frias, J., M.L. Miranda, R. Doblado and C. Vidal-Valverde. 2005. Effect of Germination and Fermentation on the Antioxidant Vitamin Content and Antioxidant Capacity of *Lupinus albus* L. var. Multolupa. *Food Chemistry* 92: 211–220.
- Koutoulis, A., A.T. Roy, A. Price, L. Sherriff and G. Leggett. 2005. DNA Ploidy Level of Colchicine-Treated Hops (*Humulus lupulus* L.). *Scientia Horticulturae* 105: 263–268.
- Lešková, E., J. Kubíková, E. Kováčiková, M. Košická, J. Porubská and K. Holčíková. 2006. Vitamin Losses: Retention during Heat Treatment and Continual Changes Expressed by Mathematical Models. *Journal of Food Composition and Analysis* 19: 252–276.
- Lisiewska, Z., W. Kmiecik and A. Korus. 2006. Content of Vitamin C, Carotenoids, Chlorophylls and Polyphenols in Green Parts of Dill (*Anethum graveolens* L.) depending on Plant Height. *Journal of Food Composition and Analysis* 19: 134–140.
- Moser, U. and A. Bendich. 1991. Vitamin C, pp. 195–232. In L.J. Machlin (ed.). *Handbook of Vitamins*. 2nd ed. Marcel Dekker, New York. 595 p.
- Mozafar, A. 1994. *Plant Vitamins: Agronomic, Physiological, and Nutritional Aspects*. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida. 412 p.
- Podsędek, A. 2007. Natural Antioxidants and Antioxidant Capacity of Brassica Vegetables: A Review. *LWT* 40: 1–11.
- Rajalakshmi, D. and S. Narasimhan. 1996. Food antioxidants: sources and methods of evaluation, pp. 65–157. In D.L. Madhavi, S.S. Deshpande and D.K. Salunkhe (eds.). *Food Antioxidants: Technological, Toxicological, and Health Perspectives*. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Sinha, R.K. 2004. *Modern Plant Physiology*. Alpha Science International Ltd., Pangbourne, England. 620 p.

73559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 1 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของปริมาณวิตามินซีของผักคะน้าจีน (มิลลิกรัม/คะน้าจีน 100 กรัม) ที่ได้รับสารโคลชิซินในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

Sources of Variation	SS	df	MS	F cal	F crit
Treatment	1440.2420	3	480.08060	9.222558*	3.238872
Error	832.8806	16	52.05504		
Total	2273.1220	19			

ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($\alpha = 0.05$)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้