



ใบรับรองปัญหาพิเศษปริญญาตรี
ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

เรื่อง

การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการสกัดคลอโรฟิลล์จากพืช
โดยใช้ DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

Comparative Study of Extraction Methods for Chlorophyll Determination
Using DMSO and DMF at 65°C

โดย

นางสาวจุฑารัตน์ กุศลศิริวินิชย์

ได้รับพิจารณาเห็นชอบจาก

(ผศ.ดร.วิรัตน์ ภูวิวัฒน์)

อาจารย์ที่ปรึกษา

ภาควิชารับรองแล้ว

(ผศ.ดร.สมชาย กล้าหาญ)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

วันที่ 18 เดือน 11 พ.ศ. 2561

14803

ร.พ.

๖๖๓๓

๒๕๖๑

๒๖.๒

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์อื่นใด
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการสกัดคลอโรฟิลจากพืช
โดยใช้ DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

Comparative Study of Extraction Methods for Chlorophyll Determination
Using DMSO and DMF at 65°C

โดย



T100020

นางสาวจุฑารัตน์ กุลศิริวินิชย์

ป.พ.

ค631ก

2538

พ.2

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผศ.ดร.วิรัตน์ ภูวิวัฒน์

เลขหมู่.....

เลขทะเบียน 100020

วันที่ 07 JUN 2009

เสนอ

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต(เกษตรศาสตร์)

พุทธศักราช 2538

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.วิรัตน์ ภูวิวัฒน์ อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ ช่วยแก้ไขปัญหาและอุปสรรคต่างๆ ตั้งแต่เริ่มแรกจนสำเร็จเรียบร้อยสมบูรณ์ รวมทั้งอาจารย์และเจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการภาควิชาปฐพีวิทยา ที่ให้ความกรุณาใช้อุปกรณ์จึงขอกราบขอบพระคุณมา ณ ที่นี้ด้วย

นอกจากนี้ข้าพเจ้าขอขอบคุณเพื่อนๆทุกท่านที่ให้คำแนะนำ ให้ความช่วยเหลือในการทำปัญหาพิเศษฉบับนี้ด้วยดีมาตลอด

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และทุกคนในครอบครัวที่เป็นกำลังใจให้ข้าพเจ้าตลอดมา

จุฬารัตน์ กุลศิริวินิชย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เรื่อง การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการสกัดคลอโรฟิลล์จากพืชโดยใช้
DMSO และ DMF ที่ 65 องศาเซลเซียส
Comparative Study of Extraction Methods for Chlorophyll
Determination Using DMSO and DMF at 65°C

โดย นางสาวจุฑารัตน์ กุลศิริวนิชย์

สาขา พืชสวน ภาควิชา เทคโนโลยีการผลิตพืช

คณะ เทคโนโลยีการเกษตร

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.วิรัตน์ ภูวิวัฒน์

บทคัดย่อ

การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการสกัดคลอโรฟิลล์จากใบพืชตัวอย่างจำนวน 8 ชนิดคือ แสงจันทร์ แคสเสด เฟื่องฟ้า สุพรรณนิการ์ ผักบุ้ง หล้าขน ตะไคร้ และหล้ามาเสเซีย วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design มี 2 วิธีการ 10 ซ้ำ โดยการนำเนื้อเยื่อพืชมาสกัดด้วย DMSO (Dimethyl sulfoxide) และ DMF (N,N-Dimethylformamid) ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส และวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์โดยวิธี Spectrophotometry จากนั้นคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ โดยวิธีของ Arnon (1949) สำหรับการสกัดคลอโรฟิลล์ด้วย DMSO และ สมการของ Moran (1982) สำหรับการสกัดคลอโรฟิลล์ด้วย DMF พบว่า ปริมาณคลอโรฟิลล์ที่สกัดได้ในแต่ละพืชตัวอย่างทั้ง 2 วิธีการไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดคลอโรฟิลล์ทั้ง 2 วิธีใกล้เคียงกัน

Abstract

Comparative study of extraction methods for chlorophyll determination was investigated. Eight sample plants namely Luttuce tree (*Pisonia grandis* R.Br.), African tulip tree (*Spathodea campanulata* Beauv.), Bougainvillea (*Bougainvillea glabra* "Sanderiana variegata"), Water spinach (*Ipomoea aquatica* Forsk.), Citronella (*Cymbopogon citratus* Stapf.), Mauritius grass (*Brachiaria mutica* (Forsk) Stapf.), Butter cup tree (*Cochlospermum regium* (Mart Schrant) Pilg.) and Capetgrass (*Axonopus compressus* (Swartz.) Beauv.) were used. Completely randomized design with 2 treatments and 10 replications was performed for each sample plant. The chlorophyll from the leaf tissues were extracted by DMSO (Dimethyl sulfoxide) and DMF (N,N-Dimethylformamid) at 65°C. Total chlorophyll content from both extraction methods were determined by spectrophotometric method. Calculation was performed by using Arnon's equation (1949) for DMSO extraction while Moran's equation (1982) was used for DMF extraction. No significant difference in total chlorophyll content between these two extraction methods was observed. Moreover, the extraction time period of these two methods was not different.

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
สารบัญตาราง	(ข)
สารบัญตารางภาคผนวก	(ค)
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	7
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	9
สรุปผลการทดลอง	11
เอกสารอ้างอิง	12



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ข)

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 แสดงปริมาณคลอโรฟิลในเนื้อเยื่อพืชและเวลาที่ใช้ในการสกัด โดยการใช้ DMSO และ DMF เป็นสารสกัด ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส จากพืชตัวอย่าง 8 ชนิด	10



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตารางภาคผนวก

ตารางที่	หน้า
1. ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด จากการสกัดใบแสงจันทร์ ด้วย DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส	14
2. วิเคราะห์ทางสถิติปริมาณคลอโรฟิลล์ จากการสกัดใบแสงจันทร์ ด้วย DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส	14
3. ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด จากการสกัดใบแคสเสด ด้วย DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส	15
4. วิเคราะห์ทางสถิติปริมาณคลอโรฟิลล์ จากการสกัดใบแคสเสด ด้วย DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส	15
5. ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด จากการสกัดใบเฟื่องฟ้า ด้วย DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส	16
6. วิเคราะห์ทางสถิติปริมาณคลอโรฟิลล์ จากการสกัดใบเฟื่องฟ้า ด้วย DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส	16
7. ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด จากการสกัดใบสุพรรณิการ์ ด้วย DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส	17
8. วิเคราะห์ทางสถิติปริมาณคลอโรฟิลล์ จากการสกัดใบสุพรรณิการ์ ด้วย DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส	17
9. ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด จากการสกัดใบผักบุ้ง ด้วย DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส	18
10. วิเคราะห์ทางสถิติปริมาณคลอโรฟิลล์ จากการสกัดใบผักบุ้ง ด้วย DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส	18
11. ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด จากการสกัดใบหญ้าขน ด้วย DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส	19
12. วิเคราะห์ทางสถิติปริมาณคลอโรฟิลล์ จากการสกัดใบหญ้าขน ด้วย DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส	19

ตารางที่	หน้า
13. ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด จากการสกัดใบตะไคร้ ด้วย DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส	20
14. วิเคราะห์ทางสถิติปริมาณคลอโรฟิลล์ จากการสกัดใบตะไคร้ ด้วย DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส	20
15. ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด จากการสกัดใบหญ้ามาเลเซีย ด้วย DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส	21
16. วิเคราะห์ทางสถิติปริมาณคลอโรฟิลล์ จากการสกัดใบหญ้ามาเลเซีย ด้วย DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส	21



คำนำ

ในพืชสีเขียวที่สังเคราะห์แสงได้จะประกอบไปด้วยรงควัตถุจำพวกคลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) ซึ่งอยู่ในคลอโรพลาสต์ (Chloroplast) คลอโรฟิลล์เป็นรงควัตถุที่มีความสำคัญในการสังเคราะห์แสง (Photosynthesis) ดังนั้นปริมาณความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ในเนื้อเยื่อพืชจึงสามารถเป็นตัวบ่งบอกถึงปริมาณการสังเคราะห์อาหารของพืช อัตราการเจริญเติบโตของพืช และคุณภาพหรือความเสียหายของพืชได้ ในการสกัดคลอโรฟิลล์จากพืชโดยทั่วไปนิยมใช้สารเคมีประเภทสารอินทรีย์เป็นสารสกัด เช่น Acetone, Methanol และ Diethyl ether เป็นต้น อย่างไรก็ตาม การใช้สารเหล่านี้เป็นสารสกัด จำเป็นต้องมีการนำเนื้อเยื่อพืชไปบดแล้วจึงนำไปปั่นแล้วกรองเพื่อแยกคลอโรฟิลล์ออกจากเนื้อเยื่อพืช ซึ่งการสกัดโดยวิธีดังกล่าวจะทำให้เซลล์แตกไม่สมบูรณ์ เกิดการสูญเสียคลอโรฟิลล์ เป็นผลทำให้การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์มีความผิดพลาดได้ง่าย อีกทั้งเป็นการสกัดที่ยุ่งยาก และใช้ระยะเวลาในการสกัดนาน Hiscox and Israelstam (1979) ได้พัฒนาวิธีการสกัดคลอโรฟิลล์โดยเปลี่ยนมาใช้ Dimethyl sulfoxide (DMSO) เป็นสารสกัด ซึ่งทำการสกัดที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส และ Moran and Porath (1980) ได้พัฒนาวิธีการสกัดคลอโรฟิลล์โดยใช้ N,N Dimethylformamid (DMF) เป็นสารสกัดโดยทำการสกัดที่อุณหภูมิห้อง การสกัดคลอโรฟิลล์โดยใช้สารเคมีทั้ง 2 ชนิดนี้ ทำให้วิธีการสกัดคลอโรฟิลล์ง่ายและรวดเร็วยิ่งขึ้น เนื่องจากในการสกัดไม่จำเป็นต้องมีการนำเนื้อเยื่อพืชไปบดหรือปั่น จึงไม่เป็นการทำลายเซลล์พืชให้เกิดความเสียหาย ทำให้คลอโรฟิลล์มีเสถียรภาพมากยิ่งขึ้น และสามารถเก็บรักษาสารละลายคลอโรฟิลล์ได้เป็นเวลานานหลายวันก่อนนำสารละลายมาวัดหาปริมาณคลอโรฟิลล์ โดยไม่มีการสูญเสียคลอโรฟิลล์

อย่างไรก็ตามการสกัดคลอโรฟิลล์โดยใช้สารเคมีทั้ง 2 ชนิดนี้มีข้อแตกต่างในด้านการปฏิบัติและวิเคราะห์ เพลินพิศ (2537) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการสกัดคลอโรฟิลล์จากพืชตัวอย่าง 8 ชนิด โดยการนำเนื้อเยื่อพืชมาสกัดด้วย DMSO ที่ 65 องศาเซลเซียส และ DMF ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์ที่สกัดได้ในแต่ละพืชตัวอย่างทั้ง 2 วิธีการไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่การสกัดคลอโรฟิลล์ด้วย DMSO ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส จะใช้ระยะเวลาสั้นกว่าการสกัดด้วย DMF ที่อุณหภูมิห้อง และจากการทดลองเปรียบเทียบการสกัดคลอโรฟิลล์จากพืชตัวอย่าง 2 ชนิด ด้วย DMF ที่อุณหภูมิห้อง, 30, 50 และ 70 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์ที่สกัดได้ในแต่ละพืชตัวอย่างทั้ง 4 วิธีการไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดคลอโรฟิลล์จะลดลงเมื่อระดับอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดเพิ่มสูงขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น มิอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตั้งนั้นการทดลองครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการสกัดคลอโรฟิลจากใบพืชโดยใช้ DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เพื่อเป็นแนวทางในการนำไปใช้ประโยชน์สำหรับการศึกษาและวิจัยต่อไป



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

คลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) เป็นรงควัตถุที่สำคัญชนิดหนึ่งซึ่งอยู่ในคลอโรพลาสต์ (Chloroplast) ของเซลล์พืช คลอโรฟิลล์มีบทบาทและหน้าที่สำคัญในการดูดซับพลังงานแสงอาทิตย์เพื่อนำไปใช้ในขบวนการสังเคราะห์แสง ซึ่งเป็นการผลิตอาหารของพืช โดยเปลี่ยนพลังงานแสงเป็นพลังงานเคมี (สมบุญ, 2535) ในพืชแต่ละชนิดจะมีปริมาณคลอโรฟิลล์แตกต่างกันไป (Sheeler and Bianchi, 1980) และแม้แต่พืชชนิดเดียวกันก็อาจมีปริมาณคลอโรฟิลล์แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆหลายปัจจัย คลอโรฟิลล์เป็นสารเคมีที่ไม่ละลายน้ำแต่ละสายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น อะซีโตน, ปีโตรเลียมอีเธอร์, ทูโลอิน และแอลกอฮอล์ เป็นต้น อย่างไรก็ตามคลอโรฟิลล์ก็สามารถละลายในตัวทำละลายเหล่านี้ได้แตกต่างกัน (สัมพันธ์, 2526)

การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์

การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์สามารถทำได้โดยการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์โดยตรง หรือวัดจากปริมาณอนุพันธ์คลอโรฟิลล์ เช่น Chlorophyllides, Pheophytins และ Pheophorbides ซึ่งอนุพันธ์ของคลอโรฟิลล์เหล่านี้เกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในของคลอโรฟิลล์ (White et al., 1963) เช่น การศึกษาวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ของ Vernon (1960) และ Wilson and Nutting (1963) โดยทำการวัดจากปริมาณของ Pheophytins ซึ่งเป็นอนุพันธ์ตัวหนึ่งของคลอโรฟิลล์ที่เกิดจากโครงสร้างของคลอโรฟิลล์มีการสูญเสียแมกนีเซียม

การสกัดคลอโรฟิลล์

วิธีการสกัดคลอโรฟิลล์ที่ดีควรให้มีการเปลี่ยนแปลงของคลอโรฟิลล์เพียงเล็กน้อย หรือไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงเลย คลอโรฟิลล์มีความไวต่อแสง ความร้อน และออกซิเจน ดังนั้นในการสกัดควรหลีกเลี่ยงสิ่งเหล่านี้ โดยทำการสกัดในที่มืดหรือในที่ที่มีแสงเพียงเล็กน้อย หลีกเลี่ยงความร้อน ขบวนการออกซิเดชัน (Oxidation) (Gross, 1987) และป้องกันปฏิกิริยาของเอนไซม์ (Enzyme) Chlorophyllase ซึ่งจะทำให้คลอโรฟิลล์เปลี่ยนกลับไปเป็น Pheophytins (Holden, 1961) ในบางครั้งก่อนทำการสกัดมีการนำเนื้อเยื่อพืชไปต้มในน้ำเดือดหรือนำไปจุ่มในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แต่การปฏิบัติเช่นนี้ควรหลีกเลี่ยง เพราะจะทำให้คลอโรฟิลล์เกิดการเปลี่ยนแปลง (Goodwin, 1976)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการสกัดคลอโรฟิลล์สามารถทำได้หลายวิธี และสารเคมีที่ใช้เป็นสารสกัดมีหลายชนิด ตัวอย่างเช่น Acetone, Alcohol, Methanol, Ethanol, Diethyl ether, Pyridine และ Acetone+Ethyl acetone เป็นต้น (Vernon and Seely, 1966) ซึ่งสารสกัดจะเป็นตัวทำละลายโครงสร้างของรงควัตถุที่เชื่อมต่อกันกับโปรตีน ในขั้นตอนการสกัดโดยทั่วไปจะนำเนื้อเยื่อพืชมาบดหรือปั่นในสารสกัดให้เป็นเนื้อเดียวกันก่อน จากนั้นทำการแยกสารละลายคลอโรฟิลล์ออกจากกากพืชที่เหลือ โดยการนำไปกรองหรือปั่น (Gross, 1991) ในการสกัดอาจมีการเติมสาร CaCO_3 , MgCO_3 , NaHCO_3 , Na_2CO_3 , Sodium chloride หรือ Dimethylaniline ลงไปขณะที่สกัดเล็กน้อย เพื่อให้คลอโรฟิลล์มีเสถียรภาพไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงกลับไปเป็น Pheophytin เมื่อสกัดเสร็จแล้วยังไม่นำไปวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ทันที ควรนำสารละลายที่สกัดได้เก็บในที่มืดและเย็น (Goodwin, 1976)

การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์

การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ทำได้ 2 วิธีคือ วิธี Spectrophotometry และ วิธี Spectrofluorometry

1. วิธี Spectrophotometry

เป็นการวัดปริมาณสีของคลอโรฟิลล์โดยอาศัยกฎของ Lambert Beer ซึ่งกล่าวถึงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเนื้อวัตถุและความหนาแน่นของสีวัตถุ ทำการวัดค่าการดูดซับแสงของสารละลายคลอโรฟิลล์ในช่วงคลื่นแสงซึ่งคลอโรฟิลล์มีค่าการดูดซับแสงสูงสุด ช่วงคลื่นแสงที่ทำกรวัดจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของสารเคมีและความเข้มข้นของสารที่ใช้ในการสกัด และสัมประสิทธิ์ของค่าการดูดซับแสงก็จะแตกต่างตามช่วงคลื่นที่ทำกรวัดด้วย ทำให้ได้สมการมากมายในการคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ ซึ่งสมการต่างๆที่ใช้คำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ขึ้นอยู่กับสารเคมีและความเข้มข้นของสารที่ใช้ในการสกัด

2. วิธี Spectrofluorometry

เป็นวิธีการวัดคลอโรฟิลล์อีกวิธีหนึ่ง แต่โดยทั่วไปไม่นิยมใช้กว้างขวางเหมือนกับวิธี Spectrophotometry วิธีการวัดคลอโรฟิลล์วิธีนี้ เป็นวิธีที่มีการตอบสนองอย่างรวดเร็ว (Sensitive) ซึ่งเหมาะสำหรับใช้กับงานเล็กๆ และใช้วัดอัตราของคลอโรฟิลล์ a:b เมื่อคลอโรฟิลล์ b มีปริมาณน้อยมากเมื่อเทียบกับปริมาณของคลอโรฟิลล์ a แต่วิธีการนี้ไม่สามารถวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในเนื้อเยื่อพืชที่มีน้อยมากๆ ได้ เช่น พืชที่เจริญเติบโตในที่มืด (Etiolate)

นอกจากนี้การวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์สามารถทำการวัดโดยไม่มีการทำลายเนื้อเยื่อพืช ซึ่งเป็นวิธีการที่ใช้สายตาสังเกตสีและนำไปเทียบกับแผ่นเทียบสี หรือใช้เครื่องมือวัดสีที่ประกอบขึ้นง่ายๆ โดยอาศัยหลักของปริมาณแสงที่สะท้อนออกจากวัตถุหรือปริมาณแสงที่สามารถส่องผ่านวัตถุได้ การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ด้วยวิธีนี้จะเป็นการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์เพียงคร่าวๆและไม่ต้องการความละเอียด ซึ่งจะเกิดความผิดพลาดได้มาก (Gross, 1991)

อย่างไรก็ตามการสกัดคลอโรฟิลล์จากเนื้อเยื่อพืชซึ่งวิธีการสกัดจำเป็นต้องมีการบดหรือปั่นและใช้สารสกัดที่มีขี้ว เช่น 80% Acetone ในการสกัดพืชชั้นสูง หรือ Methanol สำหรับสกัดแบคทีเรียและสาหร่าย จะทำให้เกิดการทำลายเซลล์ ทำให้เซลล์แตกและไม่สมบูรณ์ เกิดการสูญเสียคลอโรฟิลล์ได้ง่าย (Goodwin, 1988) Hiscox and Israelstam (1979) จึงได้พัฒนาวิธีการสกัดคลอโรฟิลล์โดยเปลี่ยนมาใช้ Dimethyl sulfoxide (DMSO) เป็นสารสกัดแทนการใช้สารสกัดเดิม เนื่องจากวิธีการสกัดคลอโรฟิลล์ที่มีการใช้ Methanol, Ethanol, Acetone, Pyridine และ Acetone+Ethyl acetate เป็นสารสกัด ต้องนำเนื้อเยื่อพืชไปบดหรือปั่นในสารสกัดเพื่อแยกสารละลายคลอโรฟิลล์ออกจากเนื้อเยื่อพืชซึ่งถ้าตัวอย่างที่นำมาสกัดมีขนาดใหญ่จะทำให้วิธีการสกัดยุ่งยากและเสียเวลานาน ยิ่งกว่านั้นพบว่าคลอโรฟิลล์ไม่มีเสถียรภาพจึงเกิดการสูญเสียคลอโรฟิลล์ได้ง่าย วิธีการสกัดคลอโรฟิลล์ที่มีการใช้สาร DMSO เป็นสารสกัด เป็นวิธีการสกัดที่ง่ายและรวดเร็ว คือนำเนื้อเยื่อพืชจุ่มลงในสาร DMSO และให้ความร้อนในการสกัดที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส คลอโรฟิลล์ที่ได้จะมีเสถียรภาพมากยิ่งขึ้น สามารถเก็บสารละลายคลอโรฟิลล์ได้นานถึง 5 วัน โดยไม่มีการสูญเสียคลอโรฟิลล์ โดยทำการเก็บภายใต้ความเย็นที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียสในที่มืด และวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์โดยวิธี Spectrophotometry จากนั้นคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ตามสมการของ Arnon (1949) เช่นเดียวกับการสกัดคลอโรฟิลล์ด้วย 80% Acetone ดังนี้

$$\begin{aligned} \text{ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด} &= 20.2D_{645} + 8.02D_{663} \\ \text{เมื่อ ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด} &\text{ มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด} \\ D_{645} \text{ และ } D_{663} &\text{ คือ ค่าการดูดซับแสงของสารละลายคลอโรฟิลล์} \\ &\text{ในช่วงคลื่นแสง 645 และ 663 นาโนเมตร} \\ &\text{ตามลำดับ} \end{aligned}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อมา Moran and Porath (1980) ได้รายงานการใช้ N,N Dimethylformamid (DMF) เป็นสารสกัดคลอโรฟิลล์ซึ่งมีประสิทธิภาพในการสกัดดีกว่า Acetone การใช้ DMF เป็นสารสกัดจะทำให้วิธีการสกัดง่ายและรวดเร็วยิ่งขึ้นคือ เพียงจุ่มเนื้อเยื่อพืชในสารสกัดและทำการสกัดที่อุณหภูมิห้อง DMF สามารถสกัดคลอโรฟิลล์ในพืชที่เจริญเติบโตในที่มืด ซึ่งมีปริมาณคลอโรฟิลล์ในเนื้อเยื่อพืชน้อยได้อย่างมีประสิทธิภาพ และ Moran (1982) ได้คำนวณหาสมการเพื่อใช้ในการคำนวณปริมาณคลอโรฟิลล์ซึ่งได้จากการใช้ DMF เป็นสารสกัด โดยได้สมการดังนี้

$$\begin{aligned} \text{ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด} &= 20.27D_{647} + 7.04D_{664} \\ \text{เมื่อ ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด} &\text{ มีหน่วยเป็น ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมน้ำหนักสด} \\ &\text{คือค่าการดูดซับแสงของสารละลายคลอโรฟิลล์} \\ &\text{ในช่วงคลื่นแสง 647 และ 664 นาโนเมตร} \\ &\text{ตามลำดับ} \end{aligned}$$

เพลินพิศ(2537) ได้ทำการทดลองเพื่อเปรียบเทียบวิธีสกัดคลอโรฟิลล์จากใบพืช โดยการนำเนื้อเยื่อพืชตัวอย่าง 8 ชนิดมาสกัดคลอโรฟิลล์โดยใช้ DMSO ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส และ DMF ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์ที่สกัดได้ในแต่ละพืชตัวอย่างทั้ง 2 วิธีการไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดคลอโรฟิลล์ด้วย DMSO ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส จะสั้นกว่าระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดด้วย DMF ที่อุณหภูมิห้อง และในการทดลองสกัดคลอโรฟิลล์จากพืชตัวอย่าง 2 ชนิดด้วย DMF ที่อุณหภูมิห้อง, 30, 50 และ 70 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์ที่สกัดได้ในแต่ละพืชตัวอย่างทั้ง 4 วิธีการไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดคลอโรฟิลล์จะลดลงเมื่ออุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดเพิ่มสูงขึ้น โดยการใช้ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จะใช้ระยะเวลาในการสกัดสั้นที่สุด สำหรับการเปรียบเทียบการสกัดคลอโรฟิลล์ด้วย DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส จากพืชตัวอย่าง 1 ชนิด พบว่าความสามารถและประสิทธิภาพในการสกัดคลอโรฟิลล์ของทั้ง 2 วิธีการไม่แตกต่างกัน เพราะปริมาณคลอโรฟิลล์ที่ได้จากทั้ง 2 วิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติและใช้เวลาในการสกัดเท่ากัน

อุปกรณ์และวิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design มี 2 วิธีการๆละ 10 ซ้ำ และทำการศึกษากับพืชตัวอย่างจำนวน 8 ชนิด คือ

แสงจันทร์	<i>Pisonia grandis</i> R.Br.
แคแสด	<i>Spathodea campanulata</i> Beauv.
เฟื่องฟ้า	<i>Bougainvillea glabra</i> "Sanderiana variegata"
ผักบุ้ง	<i>Ipomoea aquatica</i> Forsk.
ตะไคร้	<i>Cymbopogon citratus</i> Stapf.
หญ้าขน	<i>Brachiaria mutica</i> (Forsk) Stapf.
สุพรรณิการ์	<i>Cochlospermum regium</i> (Mart. Schrant) Pilg.
หญ้าม้าลาย	<i>Axonopus compressus</i> (Swartz.) Beauv.

นำไปพืชมาทำความสะอาด แล้วตัดเป็นชิ้นเล็กๆจำนวน 100 มิลลิกรัม โดยหลีกเลี่ยงการใช้บริเวณเส้นใบและขอบใบ นำเนื้อเยื่อพืชมาสกัดคลอโรฟิลล์ในหลอดทดลองโดยใช้ 7 มิลลิลิตร DMSO (Dimethyl sulfoxide) ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส และ 7 มิลลิลิตร DMF (N,N-dimethylformamid) ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ทำการสกัดจนกระทั่งเนื้อเยื่อพืชเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีขาว บันทึกเวลาที่ใช้ในการสกัด ทำการแยกส่วนของกากพืชออกจากสารละลาย ปรับปริมาตรของสารละลายให้เป็น 10 มิลลิลิตร โดยการเติมสารสกัด นำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ด้วยวิธี Spectrophotometry โดยใช้เครื่อง Spectronic 21 ของบริษัท Bausch and Lomb ซึ่งมีรายละเอียดในการวิเคราะห์ดังนี้

นำสารละลายคลอโรฟิลล์ที่สกัดได้โดยใช้ DMSO เป็นสารสกัด วัดค่าการดูดซับแสงในช่วงคลื่น 645 และ 663 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดจากสมการของ Arnon (1949) คือ

$$\text{ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด} = 20.2 D_{645} + 8.02 D_{663}$$

เมื่อ ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักสด

D_{645} และ D_{663}

คือ ค่าการดูดซับแสงของสารละลายคลอโรฟิลล์ที่ช่วงคลื่นแสง 645 และ 663 นาโนเมตร ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำสารละลายคลอโรฟิลล์ที่ได้จากการสกัดโดยใช้สาร DMF เป็นสารสกัด วัดค่าการดูดซับแสง ที่ช่วงคลื่น 647 และ 664 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดจากสมการของ Moran (1982) คือ

$$\text{ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด} = 20.27D_{647} + 7.04D_{664}$$

เมื่อ ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด มีหน่วยเป็นไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมของน้ำหนักสดหรือ มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักสด

D_{647} และ D_{664} คือ ค่าการดูดซับแสงของสารละลายคลอโรฟิลล์ที่ช่วงคลื่นแสง 647 และ 664 นาโนเมตร ตามลำดับ

เวลาและสถานที่

เวลา

เริ่มการทดลอง เดือนตุลาคม 2538

สิ้นสุดการทดลอง เดือนกุมภาพันธ์ 2539

สถานที่

ห้องปฏิบัติการพืชสวน ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า-

เจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองเปรียบเทียบวิธีสกัดคลอโรฟิลจากใบพืช โดยใช้ DMSO และ DMF เป็นสารสกัดที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ปรากฏผลว่า ปริมาณคลอโรฟิลทั้งหมดที่สกัดได้จากแต่ละพืชตัวอย่างทั้ง 8 ชนิด คือ แสงจันทร์ แคสเสด เฟื่องฟ้า ผักบุ้ง ตะไคร้ กล้วยขน สุพรรณิการ์ และหญ้ามาเลเซีย มีค่าใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 1) และเมื่อนำผลของแต่ละพืชตัวอย่างมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ปริมาณคลอโรฟิลที่ได้จากทั้ง 2 วิธีการไม่มีความแตกต่างกัน (ตารางภาคผนวกที่ 1-16) นอกจากนี้ยังพบว่าระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดทั้ง 2 วิธีการใกล้เคียงกันอีกด้วย

ผลการทดลองดังกล่าวข้างต้นสอดคล้องกับผลการทดลองของ เพลินพิศ (2537) ซึ่งได้ทำการทดลองเปรียบเทียบวิธีสกัดคลอโรฟิลจากใบแสงจันทร์ โดยใช้ DMSO และ DMF เป็นสารสกัด ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ซึ่งพบว่า วิธีการทั้ง 2 วิธี มีประสิทธิภาพในการสกัดคลอโรฟิลได้ใกล้เคียงกัน

X

14803

10

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณคลอโรฟิลในเนื้อเยื่อพืช และเวลาที่ใช้ในการสกัด โดยการใช้ DMSO และ DMF เป็นสารสกัด ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส จากพืชตัวอย่าง 8 ชนิด

พืชทดลอง	สกัดด้วย DMSO		สกัดด้วย DMF	
	ปริมาณคลอโรฟิล (มก./ก.น้ำหนักสด)	เวลา (ชม.)	ปริมาณคลอโรฟิล (มก./ก.น้ำหนักสด)	เวลา (ชม.)
	± SD		±SD	
แสงจันทร์	8.3310 ± 0.8935	1.40	9.1766 ± 1.1364	2.00
แคสเสด	14.1268 ± 1.2430	1.55	13.6325 ± 0.7852	1.55
เฟื่องฟ้า	16.5968 ± 0.8866	1.50	17.3333 ± 0.8136	2.10
ผักบุ้ง	14.6905 ± 1.6260	0.22	14.7300 ± 1.3960	0.35
ตะไคร้	18.5548 ± 1.4949	1.38	18.8284 ± 1.2362	1.38
หญ้านน	21.9505 ± 2.1547	2.05	22.5160 ± 2.5075	1.40
สุพรรณิการ์	33.2332 ± 2.5496	2.35	35.4286 ± 2.5361	2.00
หญ้ามามลเซีย	20.1642 ± 1.1124	2.00	21.8070 ± 1.3677	1.45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดและเทคโนโลยีการเกษตร
 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า
 เจ้าคุณเทพารักษ์

สรุปผลการทดลอง

จากการเปรียบเทียบวิธีการสกัดคลอโรฟิลจากใบพืชตัวอย่างจำนวน 8 ชนิดคือ แสงจันทร์ แคนแสด เฟื่องฟ้า ผักบุ้ง ตะไคร้ หญ้าขน สุพรรณิการ์ และหญ้าม้าลายโดยใช้ DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณคลอโรฟิลที่สกัดได้จากการสกัดทั้ง 2 วิธีการไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดใกล้เคียงกัน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- เพลินพิศ พงษ์ประยูร. 2537. การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการสกัดคลอโรฟิลล์จากพืช. ปัญหาพิเศษ
ปริญญาตรี. ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพมหานคร.
- สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2535. สรีรวิทยาของพืช. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร.
- สัมพันธ์ คัมภีรานนท์. 2526. หลักสรีรวิทยาของพืช. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร.
- Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chlorophyll polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant physiol.* 24:1-14.
- Goodwin, T.W. 1976. *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigment vol.2*. Academic press.
New York.
- Goodwin, T.W. 1988. *Plant Pigment*. Academic press. New York.
- Gross, J. 1987. *Pigment in Fruits*. Academic press. New York.
- Gross, J. 1991. *Pigment in Vegetables: chlorophyll and carotenoids*. Van Nostrand Reinhold.
New York.
- Hiscox, J.D. and G.F. Israelstam. 1979. A method for the extraction of chlorophyll from leaf
tissue without meceration. *Can. J. Bot.* 57:1332-1334.
- Holden, M. 1961. The breakdown of chlorophyll by chlorophyllase. *Biochem. J.* 78:359-364.
- Moran, R. and D. Porath. 1980. Chlorophyll determination in intact tissue using N,N-
Dimethylformamide. *Plant Physiol.* 65:478-479.
- Moran, R. 1982. Formulae for determination of chlorophyllous pigment extracted with N,N-
Dimethylformamide. *Plant Physiol.* 69:1376-1381
- Sheeler, P. and D.E. Bianchi. 1980. *Cell Biology: Structure, Biochemistry, and Function*. John
Wiley & Sons Inc. New York.
- Vernon, L.P. and G.R. Seely. 1966. *The Chlorophyll*. Academic press. New York.
- Vernon, L.P. 1960. Spectrophotometric determination of chlorophylls and pheophytins in plant
extracts. *Anal. Chem.* 32(9):1144-1150.

White, D.C., I.D. Jones, and E. Gibbes. 1963. Determination of chlorophylls, chlorophyllides, pheophytins, and pheophorbides in plant material. *J. Food Sci.* 28:431-436.

Wilson, J.R. and M.D. Nutting. 1963. Use of ion exchange resin for conversion, separation, and determination of chlorophylls as pheophytins. *Anal. Chem.* 35(2):144-146.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 ปริมาณคลอโรฟิลทั้งหมด จากการสกัดใบแสงจันทร์
ด้วย DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

ตัวอย่างที่	ปริมาณคลอโรฟิล	ปริมาณคลอโรฟิล
	จากการสกัดด้วย DMSO	จากการสกัดด้วย DMF
1	9.1444	10.6404
2	8.1182	9.1689
3	9.5738	10.6004
4	8.2555	8.0109
5	8.7099	9.2806
6	8.1556	9.6806
7	7.5663	8.8181
8	9.0331	8.0990
9	7.6816	7.2936
10	7.0720	10.1729
รวม	83.3104	91.7650
เฉลี่ย	8.3310	9.1765

ตารางภาคผนวกที่ 2 วิเคราะห์ทางสถิติปริมาณคลอโรฟิล จากการสกัดใบแสงจันทร์
ด้วย DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

SOURCE	df	SS	MS	F-ratio	F 0.05	F 0.01
Treatment	1	3.5617	3.5617	3.7393 ^{NS}	4.41	8.28
EX.Error	18	17.1451	0.9525			
Total	19	20.7068	1.0898			

Grand Mean = 8.7436 CV = 11.162

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

NS ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 3 ปริมาณคลอโรฟิลทั้งหมด จากการสกัดใบแคแสด
ด้วย DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

ตัวอย่างที่	ปริมาณคลอโรฟิล จากการสกัดด้วย DMSO	ปริมาณคลอโรฟิล จากการสกัดด้วย DMF
1	12.5622	13.2548
2	12.7226	13.1957
3	15.2208	13.3237
4	15.6664	12.8054
5	13.9346	13.3067
6	12.8028	13.7036
7	15.0634	14.8600
8	13.8960	14.9091
9	15.8268	12.7265
10	13.5722	14.2391
รวม	141.2678	136.3246
เฉลี่ย	14.1268	13.6325

ตารางภาคผนวกที่ 4 วิเคราะห์ทางสถิติปริมาณคลอโรฟิล จากการสกัดใบแคแสด
ด้วย DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

SOURCE	df	SS	MS	F-ratio	F 0.05	F 0.01
Treatment	1	1.2216	1.2216	1.0644 ^{NS}	4.41	8.28
EX.Error	18	19.4371	1.1477			
Total	19	20.6587	1.0873			

Grand Mean = 13.8797

CV = 7.7185

NS ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 5 ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด จากการสกัดใบเฟื่องฟ้า
ด้วย DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

ตัวอย่างที่	ปริมาณคลอโรฟิลล์	ปริมาณคลอโรฟิลล์
	จากการสกัดด้วย DMSO	จากการสกัดด้วย DMF
1	16.1952	17.0879
2	17.0728	17.5804
3	16.9070	17.7789
4	16.5130	17.4420
5	15.8624	16.8637
6	17.1100	15.4684
7	17.7730	17.9775
8	15.6248	16.6312
9	17.1160	17.5124
10	15.1376	18.1994
รวม	165.968	173.3333
เฉลี่ย	16.5968	17.3333

ตารางภาคผนวกที่ 6 วิเคราะห์ทางสถิติปริมาณคลอโรฟิลล์ จากการสกัดใบเฟื่องฟ้า
ด้วย DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

SOURCE	df	SS	MS	F-ratio	F 0.05	F 0.01
Treatment	1	2.7125	2.7125	3.1018 ^{NS}	4.41	8.28
EX.Error	18	13.0281	0.8745			
Total	19	15.7406	0.8285			

Grand Mean = 13.8796 CV = 6.7375

NS ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 7 ปริมาณคลอโรฟิลทั้งหมด จากการสกัดใบผักบุ้ง
ด้วย DMSO และ DMF ที่ 65 องศาเซลเซียส

ตัวอย่างที่	ปริมาณคลอโรฟิล	
	จากการสกัดด้วย DMSO	จากการสกัดด้วย DMF
1	12.9186	14.1988
2	14.6528	17.4289
3	14.2108	16.3732
4	16.6644	16.0377
5	15.8540	13.2727
6	16.5100	13.8359
7	11.7120	14.0240
8	14.5882	14.6576
9	13.6940	14.1624
10	16.1000	13.3088
รวม	146.9048	147.2700
เฉลี่ย	14.6905	14.7300

ตารางภาคผนวกที่ 8 วิเคราะห์ทางสถิติปริมาณคลอโรฟิล จากการสกัดใบผักบุ้ง
ด้วย DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

SOURCE	df	SS	MS	F-ratio	F 0.05	F 0.01
Treatment	1	0.0078	0.0078	0.0034 ^{NS}	4.41	8.28
EX.Error	18	41.5586	2.3092			
Total	19	46.5664	2.4509			

Grand Mean = 14.7103

CV = 10.3302

NS ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

100020

ตารางภาคผนวกที่ 9 ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด จากการสกัดใบตะไคร้
ด้วย DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

ตัวอย่างที่	ปริมาณคลอโรฟิลล์	ปริมาณคลอโรฟิลล์
	จากการสกัดด้วย DMSO	จากการสกัดด้วย DMF
1	17.7220	19.0078
2	19.0076	18.0307
3	18.9280	19.8441
4	18.9696	17.4056
5	19.5732	18.7966
6	18.3340	17.8899
7	18.6518	20.9195
8	19.9736	18.0137
9	19.6528	20.5760
10	14.7352	17.8001
รวม	185.5478	188.2840
เฉลี่ย	18.5548	18.8284

ตารางภาคผนวกที่ 10 วิเคราะห์ทางสถิติปริมาณคลอโรฟิลล์ จากการสกัดใบตะไคร้
ด้วย DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

SOURCE	df	SS	MS	F-ratio	F 0.05	F 0.01
Treatment	1	0.3744	0.3744	0.2524 ^{NS}	4.41	8.28
EX.Error	18	26.7012	1.4834			
Total	19	27.0756	1.4250			

Grand Mean = 18.8916 CV = 6.4470

NS ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 11 ปริมาณคลอโรฟิลทั้งหมด จากการสกัดใบหญ้าขน
ด้วย DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

ตัวอย่างที่	ปริมาณคลอโรฟิล	ปริมาณคลอโรฟิล
	จากการสกัดด้วย DMSO	จากการสกัดด้วย DMF
1	21.358	24.7878
2	25.1184	22.3214
3	19.344	20.5699
4	23.836	17.6702
5	20.954	25.8802
6	22.2432	21.8650
7	21.4352	20.5380
8	18.1320	22.4282
9	23.3720	24.8776
10	23.7124	24.2137
รวม	219.5050	225.1520
เฉลี่ย	21.9505	22.5152

ตารางภาคผนวกที่ 12 วิเคราะห์ทางสถิติปริมาณคลอโรฟิล จากการสกัดใบหญ้าขน
ด้วย DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

SOURCE	df	SS	MS	F-ratio	F 0.05	F 0.01
Treatment	1	1.5948	1.5948	0.2918 ^{NS}	4.41	8.28
EX.Error	18	98.3778	5.4654			
Total	19	99.9726	5.2617			

Grand Mean = 22.2329

CV = 10.5152

NS ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 13 ปริมาณคลอโรฟิลทั้งหมด จากการสกัดใบสุพรรณิการ์
ด้วย DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

ตัวอย่างที่	ปริมาณคลอโรฟิล	ปริมาณคลอโรฟิล
	จากการสกัดด้วย DMSO	จากการสกัดด้วย DMF
1	33.9704	34.3330
2	30.0386	36.8504
3	32.4732	38.8434
4	35.2536	33.7650
5	38.3548	33.9206
6	35.5744	38.4611
7	31.1900	37.6830
8	32.3544	35.8260
9	30.9108	30.8932
10	32.2120	33.7100
รวม	332.33224	354.28572
เฉลี่ย	33.2332	35.4286

ตารางภาคผนวกที่ 14 วิเคราะห์ทางสถิติปริมาณคลอโรฟิล จากการสกัดใบสุพรรณิการ์
ด้วย DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

SOURCE	df	SS	MS	F-ratio	F 0.05	F 0.01
Treatment	1	24.0980	24.0980	3.7886 ^{NS}	4.41	8.28
EX.Error	18	114.4920	6.3606			
Total	19	138.5900	7.2942			

Grand Mean = 34.33095

CV = 7.3462

NS ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 15 ปริมาณคลอโรฟิลทั้งหมด จากการสกัดใบหญ้ามาเลเซีย
ด้วย DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

ตัวอย่างที่	ปริมาณคลอโรฟิล จากการสกัดด้วย DMSO	ปริมาณคลอโรฟิล จากการสกัดด้วย DMF
1	20.1328	19.0923
2	18.5240	21.8262
3	21.0382	20.3284
4	18.8448	22.7948
5	19.2428	23.6056
6	19.8072	24.1178
7	20.6793	21.7194
8	21.3400	20.6313
9	20.0508	21.7024
10	21.9816	21.4208
รวม	201.6415	218.0697
เฉลี่ย	20.1642	21.8070

ตารางภาคผนวกที่ 16 วิเคราะห์ทางสถิติปริมาณคลอโรฟิล จากการสกัดใบหญ้ามาเลเซีย
ด้วย DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

SOURCE	df	SS	MS	F-ratio	F 0.05	F 0.01
Treatment	1	13.4935	13.4935	3.1141 ^{ns}	4.41	8.28
EX.Error	18	77.9950	4.3330			
Total	19	91.4885	4.8152			

Grand Mean = 21.4856

CV = 9.6883

NS ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้มีการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสาร

