บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

อุปกรณ์

1. วัสดุและอุปกรณ์

1.1 ดอกกุหลาบที่ใช้ในการทดลอง คือ ดอกกุหลาบพันธุ์แกรนด์กาล่า ดอกกุหลาบทั้งหมดนำมาจากสวนกุหลาบแม่โจ้ อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่

1.2 กรรไกรตัดกิ่ง

1.3 เครื่องกรองแบบ suction pump

1.4 ตู้เย็น

1.5 เครื่องวัดสี (chromameter) รุ่น CR-300 ของบริษัท Minolta

1.6 แผ่นเทียบสี ของบริษัท Minolta

1.7 กระดาษโครมาโตรกราฟี

1.8 กรรไกร

1.9 มีด

1.10 แผ่นพลาสติก

1.11 กระดาษกรอง Whatman No. 1

1.12 กระดาษกราฟ

1.13 แก้วพลาสติก

1.14 แผ่นให้ความร้อน (hot plate)

1.15 ไม้บรรทัด

1.16 เครื่องแก้ว

1.16.1 กรวยกรอง

1.16.2 ขวดปรับปริมาตร

1.16.3 บีกเกอร์

1.16.4 กระบอกตวง

1.16.5 แท่งแก้วสำหรับคน

1.16.6 ขวดรูปชมพู่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

1.16.7 หลอดทดลอง

1.17 spectrophotometer

2. การเตรียมสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพร

2.1 เตรียมสารสกัดหยาบกวาวเครือแดง

โดยใช้ผงป่นกวาวเครือแดง น้ำหนัก 200 กรัม กับตัวทำละลายสองชนิด คือ น้ำ และเอทธานอล 70 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ในอัตราส่วน 1 : 3 ในบีกเกอร์ ขนาด 500 มิลลิลิตร (มล) คนให้เข้ากันหมักทิ้งไว้ 1 คืน แล้วนำไปกลั่นแบบสุญญากาศ ได้สารสกัดหยาบจากกวาวเครือแดงเข้มข้น

2.2 เตรียมสารสกัดหยาบกระชายเหลือง

โดยใช้ผงป่นกระชายเหลืองน้ำหนัก 200 กรัม กับตัวทำละลายสองชนิด คือ น้ำ และ เอทธานอล 70 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ในอัตราส่วน 1 : 3 ในบีกเกอร์ ขนาด 500 มล คนให้เข้ากัน หมักทิ้งไว้ 1 คืน แล้วนำไปกลั่นแบบสุญญากาศได้สารสกัดหยาบจากกระชายเหลืองเข้มข้น

2.3 เตรียมสารสกัดหยาบรางจืด

โดยใช้ผงป่นรางจืดน้ำหนัก 200 กรัม กับตัวทำละลายสองชนิด คือ น้ำ และเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ในอัตราส่วน 1 : 3 ในบีกเกอร์ ขนาด 500 มล คนให้เข้ากันหมักทิ้งไว้ 1 คืน แล้วนำไปกลั่นแบบสุญญากาศได้สารสกัดหยาบจากรางจืดเข้มข้น

2.4 เตรียมสารสกัดหยาบพลูคาว

โดยใช้ผงป่นพลูคาวน้ำหนัก 200 กรัม กับตัวทำละลายสองชนิด คือ น้ำ และเอทธานอล 70 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ในอัตราส่วน 1 : 3 ในบีกเกอร์ ขนาด 500 มล คนให้เข้ากันหมักทิ้งไว้ 1 คืน แล้วนำไปกลั่นแบบสุญญากาศได้สารสกัดหยาบจากพลูคาวเข้มข้น

2.5 เตรียมสารสกัดหยาบบอระเพ็ด

โดยใช้ผงป่นบอระเพ็ดน้ำหนัก 200 กรัม กับตัวทำละลายสองชนิด คือ น้ำ และเอทธานอล 70 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ในอัตราส่วน 1 : 3 ในบีกเกอร์ ขนาด 500 มล คนให้เข้ากันหมักทิ้งไว้ 1 คืน แล้วนำไปกลั่นแบบสุญญากาศได้สารสกัดหยาบจากบอระเพ็ดเข้มข้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3. สารเคมีและวิธีการเตรียม

3.1 สารเคมีที่ใช้หาปริมาณแอนโธไซยานิน

3.1.1 กรดไฮโดรคลอลิก ความเข้มข้น 1.5 นอร์มัล เตรียมโดยใช้กรดไฮโดรคลอลิก ปริมาตร 62.63 มล เติมลงในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 500 มล

3.1.2 เอทาโนลิกไฮโดรคลอลิก (เอทธานอล : กรดไฮโดรคลอลิก)ใช้เอทธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ กรดไฮโดรคลอลิก 1.5 นอร์มัล ผสมกันในอัตราส่วน 85 : 15 แล้วเก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิต่ำ (10 องศาเซลเซียส)

3.2 สารเคมีที่ใช้ในการหาคลอโรฟิลล์

สารละลายอะซีโตนความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยใช้อะซิโตน 800 มล ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 1,000 มล แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มล โดยใช้น้ำกลั่น

3.3 สารละลายน้ำตาลซูโครส

สารละลายน้ำตาลซูโครส 5 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยใช้น้ำตาลทราย 50 กรัม ใส่ในขวดปรับปริมาตร 1,000 มล แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มล โดยใช้น้ำกลั่น

3.4 การเตรียมเอทิลแอลกอฮอล์

เอทิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ 736.84 มล ใส่ในขวดปรับปริมาตร 1,000 มล แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มล โดยใช้น้ำกลั่น

การทดลองที่ 1 การศึกษาวิธีการสกัดสารออกฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพร

พืชสมุนไพรที่ใช้ในการทดลองมี 5 ชนิด คือ กวาวเครือแดง กระชายเหลือง รางจืด พลูคาว และบอระเพ็ด มาสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ น้ำ และเอทิลแอลกอฮอล์ ในอัตราส่วน 1 : 3 คนให้เข้ากันหมักทิ้งไว้ 1 คืน นำไปกลั่นแบบสุญญากาศจะได้สารสกัดหยาบแล้วตรวจสอบโดยใช้วิธีโครมาโตรกราฟีแบบกระดาษ (paper chromatography) มีขั้นตอนดังนี้ (ภาพที่ 6)

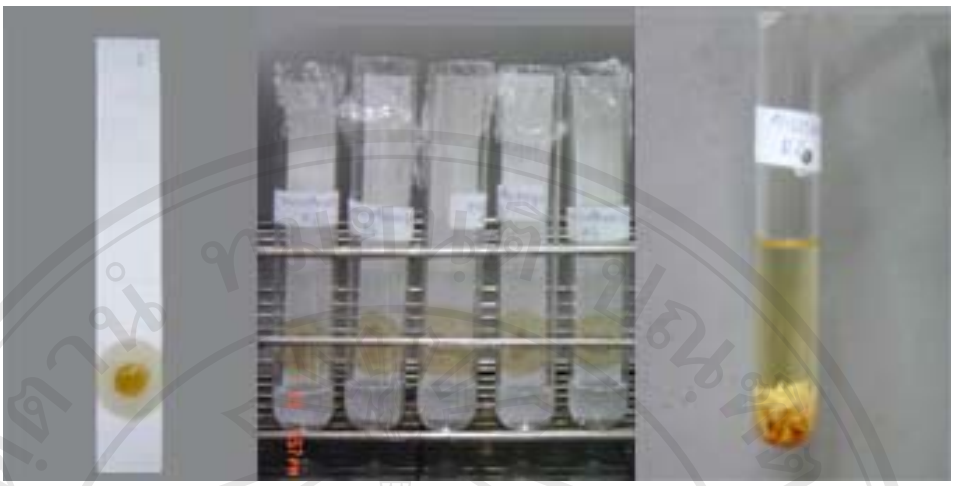
1. นำกระดาษโครมาโตรกราฟี มาตัดให้มีขนาดกว้าง 2 เซนติเมตร × ยาว 14 เซนติเมตร แล้วนำมาแบ่งเป็นช่อง ๆ ดังภาพ ให้มีขนาดช่องละ 2 × 2 เซนติเมตร แล้วนำสารสกัดที่ได้จากการเตรียมในข้างต้น นำมาหยดเป็นแถบๆ ละ 1 มล สารตัวพาที่ใช้ คือ เอทธิลอะซิเตต

2. ปล่อยให้สารวิ่งจนถึงเส้นที่กำหนด แล้วนำกระดาษมาตัดแบ่งเป็นแถบ แยกส่วนกันเป็น Rf ตั้งแต่ Rf0- Rf4 ดังภาพ

3. นำกระดาษที่ได้มาตัดให้มีขนาดเล็กที่สุด แล้วนำไปแช่ในตัวทำละลายที่ใช้สกัดสาร คือ น้ำ และเอทิลแอลกอฮอล์ ทิ้งไว้ 1 คืน ในอัตราส่วน สาร 1 แถบ ต่อ น้ำ หรือเอทิลแอลกอฮอล์ 1 มล

4. นำสารที่ได้ของพืชแต่ละชนิดไปทำการทดสอบประสิทธิภาพการยืดอายุการปักแจกันของดอกกุหลาบพันธุ์แกรนด์กาล่าในการทดลองที่ 1.1-1.5 ต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



ก ข ค

ภาพที่ 6 แสดงขั้นตอนการเตรียมสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรโดยวิธีโครมาโตรกราฟีแบบกระดาษ (ก = การหยดสารสกัดหยาบ ข = การเคลื่อนที่ของสารสกัดหยาบ และ ค = สารสกัดที่ได้)

การทดลองที่ 1.1 ศึกษาประสิทธิภาพสารออกฤทธิ์ที่ได้จากสารสกัดหยาบกวาวเครือแดง

ทดสอบศักยภาพของสารสกัดหยาบจากกวาวเครือแดง โดยมีกรรมวิธีเป็นการใช้สารสกัดหยาบจากกวาวเครือแดงร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 5.0 % เป็นสารละลายปักแจกัน เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมคือน้ำกลั่น ดอกกุหลาบที่ใช้ในการทดลอง คือ ดอกกุหลาบพันธุ์แกรนด์กาล่า โดยคัดเลือกดอกกุหลาบให้มีขนาดของดอก และระยะการพัฒนาของดอกสม่ำเสมอกัน แล้วทำการตัดก้านดอกกุหลาบให้มีความยาว 25 ซม และตัดโคนก้านดอกให้เฉียงเป็นมุมประมาณ 45 องศา วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) โดยมีปัจจัย คือ กวาวเครือแดง สกัดด้วยน้ำ มีทั้งหมด 5 เฟส คือ Rf0-Rf4 และกวาวเครือแดงสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ มีทั้งหมด 5 เฟส คือ Rf0-Rf4 มีทั้งหมด 11 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 5 ซ้ำๆ ละ 3 ดอกคือ

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)

กรรมวิธีที่ 2 กวาวเครือแดงสกัดด้วยน้ำ Rf0 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

กรรมวิธีที่ 3 กวาวเครือแดงสกัดด้วยน้ำ Rf1 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %

กรรมวิธีที่ 4 กวาวเครือแดงสกัดด้วยน้ำ Rf2 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %

กรรมวิธีที่ 5 กวาวเครือแดงสกัดด้วยน้ำ Rf3 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %

กรรมวิธีที่ 6 กวาวเครือแดงสกัดด้วยน้ำ Rf4 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %

กรรมวิธีที่ 7 กวาวเครือแดงสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ Rf0 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %

กรรมวิธีที่ 8 กวาวเครือแดงสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ Rf1 ความเข้มข้น5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %

กรรมวิธีที่ 9 กวาวเครือแดงสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ Rf2 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %

กรรมวิธีที่ 10 กวาวเครือแดงสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ Rf3 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %

กรรมวิธีที่ 11 กวาวเครือแดงสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ Rf4 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %

การบันทึกผลการทดลอง

1. อายุการปักแจกัน (ภาพภาคผนวกที่ 8-11)

บันทึกอายุการปักแจกันโดยนับวันที่เริ่มปักแจกันในกรรมวิธีต่าง ๆ จนถึงวันที่เกิดการโค้งงอของคอดอกและ/หรือการเหี่ยวของดอกมากกว่า 50 % มีหน่วยเป็นวัน

2. สีของใบและกลีบดอกกุหลาบ โดยใช้เครื่องวัดสี

สีของใบและกลีบดอกกุหลาบโดยใช้เครื่องวัดสีอัตโนมัติ โดยสุ่มตัวอย่างกลีบดอกกุหลาบ บันทึกค่าในระบบ CIELAB (L* , a* , b*) แล้วคำนวณหาค่า chroma และ hue angle จากสมการดังนี้

$$\text{chroma} = (a^* + b^*)^{1/2}$$

$$\text{hue angle} = \text{arctangent} \left(\frac{a^*}{b^*}\right)$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

หมายเหตุ :

ค่า L* เป็นค่าที่แสดงความมืดและความสว่างของสี มีค่าตั่งแต่ 0-100 ถ้าค่า L* มีค่าเข้าใกล้ 0 แสดงว่าวัตถุมีความสว่างน้อย หากมีค่าใกล้ 100 แสดงว่าวัตถุมีความสว่างมาก

ค่า a* เป็นค่าเป็นบวก แสดงว่าผลิตผลมีสีออกแดง ถ้าค่า a* มีค่าเป็นลบ แสดงว่าผลิตผลมีสีเขียว

ค่า b* เป็นค่าเป็นบวก แสดงว่าผลิตผลมีสีเหลือง ถ้าค่า b* มีค่าเป็นลบ แสดงว่าผลิตผลมีสีออกน้ำเงิน

ทั้งค่า a* และ b* หากมีค่าเป็น 0 แสดงว่าวัตถุมีสีเทา

3. การบานของดอก บันทึกการบานของดอกโดยการให้คะแนนดังนี้

0 = ดอกไม่บาน (0-25%)

1 = ดอกบานเล็กน้อย (26-50%)

3 = ดอกบานปานกลาง (51-75%)

5 = ดอกบานมาก (76-100%)

4. การโค้งงอของคอดอก บันทึกการโค้งงอของคอดอกโดยการให้คะแนนดังนี้

0 = คอดอกไม่เกิดการโค้งงอ (0-25%)

1 = คอดอกเกิดการโค้งงอเล็กน้อย (26-50%)

3 = คอดอกเกิดการโค้งงอปานกลาง (51-75%)

5 = คอดอกเกิดการโค้งงอมาก (76-100%)

5. การเหี่ยวของกลีบดอก บันทึกการเหี่ยวของกลีบดอก โดยการให้คะแนนดังนี้

0 = ดอกอยู่ในสภาพดีมาก (0-25%)

1 = ดอกเหี่ยวเล็กน้อย (26-50%)

3 = ดอกเหี่ยวปานกลาง (51-75%)

5 = ดอกเหี่ยวมาก (76-100%)

6. การเกิดสีน้ำเงินปนม่วงของกลีบดอก โดยการให้คะแนนดังนี้

0 = กลีบดอกไม่มีการเปลี่ยนสี (0-25%)

1 = กลีบดอกมีการเปลี่ยนสีเล็กน้อย (26-50%)

3 = กลีบดอกมีการเปลี่ยนสีปานกลาง (51-75%)

5 = กลีบดอกมีการเปลี่ยนสีมาก (76-100%)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 1.2 ศึกษาประสิทธิภาพสารออกฤทธิ์ที่ได้จากสารสกัดหยาบกระชายเหลือง

ทดสอบศักยภาพของสารสกัดหยาบจากกระชายเหลือง โดยมีกรรมวิธีเป็นการใช้สารสกัดหยาบจากกระชายเหลืองร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 5.0 % เป็นสารละลายปักแจกัน กรรมวิธีการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1 มีทั้งหมด 11 กรรมวิธี คือ

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)
กรรมวิธีที่ 2 กระชายเหลืองสกัดด้วยน้ำ Rf0 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %
กรรมวิธีที่ 3 กระชายเหลืองสกัดด้วยน้ำ Rf1 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %
กรรมวิธีที่ 4 กระชายเหลืองสกัดด้วยน้ำ Rf2 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %
กรรมวิธีที่ 5 กระชายเหลืองสกัดด้วยน้ำ Rf3 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %
กรรมวิธีที่ 6 กระชายเหลืองสกัดด้วยน้ำ Rf4 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %
กรรมวิธีที่ 7 กระชายเหลืองสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ Rf0 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %
กรรมวิธีที่ 8 กระชายเหลืองสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ Rf1 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %
กรรมวิธีที่ 9 กระชายเหลืองสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ Rf2 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %
กรรมวิธีที่ 10 กระชายเหลืองสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ Rf3 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %
กรรมวิธีที่ 11 กระชายเหลืองสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ Rf4 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %

การบันทึกผลการทดลอง

ทำการบันทึกข้อมูลเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 1.3 ศึกษาประสิทธิภาพสารออกฤทธิ์ที่ได้จากสารสกัดหยาบรางจืด

ทดสอบศักยภาพของสารสกัดหยาบจากรางจืด โดยมีกรรมวิธีเป็นการใช้สารสกัดหยาบจากรางจืดร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 5.0 % เป็นสารละลายปักแจกัน กรรมวิธีการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1 มีทั้งหมด 11 กรรมวิธี คือ

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)
กรรมวิธีที่ 2 รางจืดสกัดด้วยน้ำ Rf0 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %
กรรมวิธีที่ 3 รางจืดสกัดด้วยน้ำ Rf1 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %
กรรมวิธีที่ 4 รางจืดสกัดด้วยน้ำ Rf2 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %
กรรมวิธีที่ 5 รางจืดสกัดด้วยน้ำ Rf3 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %
กรรมวิธีที่ 6 รางจืดสกัดด้วยน้ำ Rf4 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %
กรรมวิธีที่ 7 รางจืดสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ Rf0 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %
กรรมวิธีที่ 8 รางจืดสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ Rf1 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %
กรรมวิธีที่ 9 รางจืดสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ Rf2 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %
กรรมวิธีที่ 10 รางจืดสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ Rf3 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %
กรรมวิธีที่ 11 รางจืดสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ Rf4 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %

การบันทึกผลการทดลอง

ทำการบันทึกข้อมูลเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 1.4 ศึกษาประสิทธิภาพสารออกฤทธิ์ที่ได้จากสารสกัดหยาบพลูคาว

ทดสอบศักยภาพของสารสกัดหยาบจากพลูคาว โดยมีกรรมวิธีเป็นการใช้สารสกัดหยาบจากพลูคาว ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 5.0 % เป็นสารละลายปักแจกัน กรรมวิธีการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1 มีทั้งหมด 11 กรรมวิธี คือ

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)

กรรมวิธีที่ 2 พลูคาวสกัดด้วยน้ำ Rf0 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %

กรรมวิธีที่ 3 พลูคาวสกัดด้วยน้ำ Rf1 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %

กรรมวิธีที่ 4 พลูคาวสกัดด้วยน้ำ Rf2 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %

กรรมวิธีที่ 5 พลูคาวสกัดด้วยน้ำ Rf3 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %

กรรมวิธีที่ 6 พลูคาวสกัดด้วยน้ำ Rf4 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %

กรรมวิธีที่ 7 พลูคาวสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ Rf0 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %

กรรมวิธีที่ 8 พลูคาวสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ Rf1 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %

กรรมวิธีที่ 9 พลูคาวสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ Rf2 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %

กรรมวิธีที่ 10 พลูคาวสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ Rf3 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %

กรรมวิธีที่ 11 พลูคาวสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ Rf4 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %

การบันทึกผลการทดลอง

ทำการบันทึกข้อมูลเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 1.5 ศึกษาประสิทธิภาพสารออกฤทธิ์ที่ได้จากสารสกัดหยาบบอระเพ็ด

ทดสอบศักยภาพของสารสกัดหยาบจากบอระเพ็ด โดยมีกรรมวิธีการใช้สารสกัดหยาบจากบอระเพ็ด ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 5.0 % เป็นสารละลายปักแจกัน กรรมวิธีการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1 มีทั้งหมด 11 กรรมวิธี คือ

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)

กรรมวิธีที่ 2 บอระเพ็ดสกัดด้วยน้ำ Rf0 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %

กรรมวิธีที่ 3 บอระเพ็ดสกัดด้วยน้ำ Rf1 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %

กรรมวิธีที่ 4 บอระเพ็ดสกัดด้วยน้ำ Rf2 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %

กรรมวิธีที่ 5 บอระเพ็ดสกัดด้วยน้ำ Rf3 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %

กรรมวิธีที่ 6 บอระเพ็ดสกัดด้วยน้ำ Rf4 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %

กรรมวิธีที่ 7 บอระเพ็ดสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ Rf0 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %

กรรมวิธีที่ 8 บอระเพ็ดสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ Rf1 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %

กรรมวิธีที่ 9 บอระเพ็ดสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ Rf2 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %

กรรมวิธีที่ 10 บอระเพ็ดสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ Rf3 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %

กรรมวิธีที่ 11 บอระเพ็ดสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ Rf4 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 .0 %

การบันทึกผลการทดลอง

ทำการบันทึกข้อมูลเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 2 การทดสอบศักยภาพของสารสกัดหยาบ

การทดลองเปรียบเทียบสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรในการยืดอายุการปักแจกันของดอกกุหลาบ โดยมุ่งเน้นที่จะทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบในด้านการเป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ในน้ำยาสูตรต่างๆ โดยเตรียมสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรซึ่งใช้ผงป่นจากพืชสมุนไพรกับตัวทำละลาย คือ น้ำ และเอทธิลแอลกอฮอล์ ในอัตราส่วน 1 : 3 คนให้เข้ากันหมักทิ้งไว้ 1 คืน นำไปกลั่นแบบสุญญากาศ นำสารสกัดที่ได้มาทำการทดลองต่อไป

การทดลองที่ 2.1 การทดสอบศักยภาพของสารสกัดหยาบจากกวาวเครือแดง

ทดสอบศักยภาพของสารสกัดหยาบจากกวาวเครือแดง ในแง่ของผลที่มีต่ออายุการปักแจกันของดอกกุหลาบสีแดงพันธุ์แกรนด์กาล่า วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) โดยมีกรรมวิธีเป็นการใช้สารสกัดหยาบจากกวาวเครือแดงโดยใช้ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 0.5, 1.0, 2.5, 5.0 และ 10.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5.0 % เป็นสารละลายปักแจกัน เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมคือ น้ำกลั่น โดยที่ในแต่ละกรรมวิธีมี 5 ซ้ำ มีทั้งหมด 11 กรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)
กรรมวิธีที่ 2 กวาวเครือแดงสกัดด้วยน้ำความเข้มข้น 0.5 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %
กรรมวิธีที่ 3 กวาวเครือแดงสกัดด้วยน้ำความเข้มข้น 1.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %
กรรมวิธีที่ 4 กวาวเครือแดงสกัดด้วยน้ำความเข้มข้น 2.5 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %
กรรมวิธีที่ 5 กวาวเครือแดงสกัดด้วยน้ำความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %
กรรมวิธีที่ 6 กวาวเครือแดงสกัดด้วยน้ำความเข้มข้น 10.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %
กรรมวิธีที่7 กวาวเครือแดงสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 0.5 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %
กรรมวิธีที่8 กวาวเครือแดงสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 1.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

กรรมวิธีที่ 9 กวาวเครือแดงสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 2.5 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่10 กวาวเครือแดงสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่ 11 กวาวเครือแดงสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 10.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

การบันทึกผลการทดลอง

ทำการบันทึกข้อมูลเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1

การทดลองที่ 2.2 การทดสอบศักยภาพของสารสกัดหยาบจากกระชายเหลือง

ทดสอบศักยภาพของสารสกัดหยาบจากกระชายเหลือง ในแง่ของผลที่มีต่ออายุการปักแจกันของดอกกุหลาบสีแดงพันธุ์แกรนด์กาล่า วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) โดยมีกรรมวิธีเป็นการใช้สารสกัดหยาบจากกระชายเหลืองโดยใช้ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 0.5, 1.0, 2.5, 5.0 และ 10.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5.0 % เป็นสารละลายปักแจกัน เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมคือน้ำกลั่น โดยที่ในแต่ละกรรมวิธีมี 5 ซ้ำ มีทั้งหมด 11 กรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)

กรรมวิธีที่2 กระชายเหลืองสกัดด้วยน้ำความเข้มข้น 0.5 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่3 กระชายเหลืองสกัดด้วยน้ำความเข้มข้น 1.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่4 กระชายเหลืองสกัดด้วยน้ำความเข้มข้น 2.5 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่5 กระชายเหลืองสกัดด้วยน้ำความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่6 กระชายเหลืองสกัดด้วยน้ำความเข้มข้น 10.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

กรรมวิธีที่ 7 กระชายเหลืองสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 0.5 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่8 กระชายเหลืองสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 1.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่9 กระชายเหลืองสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 2.5 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่10 กระชายเหลืองสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่ 11 กระชายเหลืองสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 10.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

การบันทึกผลการทดลอง

ทำการบันทึกข้อมูลเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1

การทดลองที่ 2.3 การทดสอบศักยภาพของสารสกัดหยาบจากรางจืด

ทดสอบศักยภาพของสารสกัดหยาบจากรางจืด ในแง่ของผลที่มีต่ออายุการปักแจกันของดอกกุหลาบสีแดงพันธุ์แกรนด์กาล่า วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) โดยมีกรรมวิธีเป็นการใช้สารสกัดหยาบจากรางจืด โดยใช้ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 0.5, 1.0, 2.5, 5.0 และ 10.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5.0 % เป็นสารละลายปักแจกัน เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม คือ น้ำกลั่น โดยที่ในแต่ละกรรมวิธีมี 5 ซ้ำ มีทั้งหมด 11 กรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)

กรรมวิธีที่ 2 รางจืดสกัดด้วยน้ำความเข้มข้น 0.5 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่ 3 รางจืดสกัดด้วยน้ำความเข้มข้น 1.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่ 4 รางจืดสกัดด้วยน้ำความเข้มข้น 2.5 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

กรรมวิธีที่ 5 รางจืดสกัดด้วยน้ำความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่ 6 รางจืดสกัดด้วยน้ำความเข้มข้น 10.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่ 7 รางจืดสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 0.5 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่ 8 รางจืดสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 1.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่ 9 รางจืดสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 2.5 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่ 10 รางจืดสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่ 11 รางจืดสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 10.0 %ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

การบันทึกผลการทดลอง

ทำการบันทึกข้อมูลเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1

การทดลองที่ 2.4 การทดสอบศักยภาพของสารสกัดหยาบจากพลูคาว

ทดสอบศักยภาพของสารสกัดหยาบจากพลูคาว ในแง่ของผลที่มีต่ออายุการปักแจกันของดอกกุหลาบสีแดงพันธุ์แกรนด์กาล่า วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) โดยมีกรรมวิธีเป็นการใช้สารสกัดหยาบจากพลูคาวโดยใช้ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 0.5, 1.0, 2.5, 5.0 และ 10.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5.0 % เป็นสารละลายปักแจกัน เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม คือ น้ำกลั่น โดยที่ในแต่ละกรรมวิธีมี 5 ซ้ำ มีทั้งหมด 11 กรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)

กรรมวิธีที่ 2 พลูคาวสกัดด้วยน้ำความเข้มข้น 0.5% ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

กรรมวิธีที่ 3 พลูคาวสกัดด้วยน้ำความเข้มข้น 1.0% ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่ 4 พลูคาวสกัดด้วยน้ำความเข้มข้น 2.5% ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่ 5 พลูคาวสกัดด้วยน้ำความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่ 6 พลูคาวสกัดด้วยน้ำความเข้มข้น 10.0% ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่7 พลูคาวสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 0.5% ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่8 พลูคาวสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 1.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่9 พลูคาวสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 2.5 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่10 พลูคาวสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่11 พลูคาวสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น10.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

การบันทึกผลการทดลอง

ทำการบันทึกข้อมูลเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1

การทดลองที่ 2.5 การทดสอบศักยภาพของสารสกัดหยาบจากบอระเพ็ด

ทดสอบศักยภาพของสารสกัดหยาบจากบอระเพ็ด ในแง่ของผลที่มีต่ออายุการปักแจกันของดอกกุหลาบสีแดงพันธุ์แกรนด์กาล่า วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) โดยมีกรรมวิธีเป็นการใช้สารสกัดหยาบจากบอระเพ็ดโดยใช้ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 0.5, 1.0, 2.5, 5.0 และ 10.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5.0 % เป็นสารละลายปักแจกัน เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม คือน้ำกลั่น โดยที่ในแต่ละกรรมวิธีมี 5 ซ้ำ มีทั้งหมด 11 กรรมวิธีดังนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)

กรรมวิธีที่ 2 บอระเพ็ดสกัดด้วยน้ำความเข้มข้น 0.5 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่ 3 บอระเพ็ดสกัดด้วยน้ำความเข้มข้น 1.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่4 บอระเพ็ดสกัดด้วยน้ำความเข้มข้น 2.5 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่5 บอระเพ็ดสกัดด้วยน้ำความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่ 6 บอระเพ็ดสกัดด้วยน้ำความเข้มข้น 10.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่ 7 บอระเพ็ดสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 0.5 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่ 8 บอระเพ็ดสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 1.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่ 9 บอระเพ็ดสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 2.5 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่10 บอระเพ็ดสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่11 บอระเพ็ดสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 10.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

การบันทึกผลการทดลอง

ทำการบันทึกข้อมูลเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 3 ผลของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรต่ออายุการปักแจกันของดอกกุหลาบ

การทดลองที่ 3.1 ผลของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 3 ชนิด ต่ออายุการปักแจกันของดอกกุหลาบ

นำพืชสมุนไพรที่ใช้ในการทดลองมี 3 ชนิด คือ กวาวเครือแดง กระชายเหลือง และ พลูคาว มาสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ น้ำ และเอธิลแอลกอฮอล์ แล้วนำไปตรวจสอบโดยใช้วิธีโครมาโตกราฟีแบบกระดาษ (paper chromatography) โดยใช้สารตัวพา คือ น้ำและเอทานอล

ดอกกุหลาบที่ใช้ในการทดลอง คือ ดอกกุหลาบพันธุ์แกรนด์กาล่า โดยคัดเลือกดอกกุหลาบให้มีขนาดของดอก และระยะการพัฒนาของดอกสม่ำเสมอกันแล้วทำการตัดก้านดอกกุหลาบให้มีความยาว 25 เซนติเมตร และตัดโคนก้านดอกให้เฉียงเป็นมุมประมาณ 45 องศา วางแผนการทดลองแบบ (completely randomized design) โดยทำกรรมวิธีละ 5 ซ้ำ ๆ ละ 2 ดอก การทดลองประกอบด้วย กวาวเครือแดงสกัดด้วยน้ำ กระชายเหลือง และพลูคาวสกัดด้วยแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 % ทั้งหมด 17 กรรมวิธี คือ

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)
กรรมวิธีที่ 2 กระชายเหลือง Rf0 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %
กรรมวิธีที่ 3 กระชายเหลือง Rf1 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %
กรรมวิธีที่ 4 กระชายเหลือง Rf2 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %
กรรมวิธีที่ 5 กระชายเหลือง Rf3 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %
กรรมวิธีที่ 6 กระชายเหลือง Rf4 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %
กรรมวิธีที่ 7 พลูคาว Rf0 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %
กรรมวิธีที่ 8 พลูคาว Rf1 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

กรรมวิธีที่ 9 พลูคาว Rf2 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่ 10 พลูคาว Rf3 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่ 11 พลูคาว Rf4 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่ 12 กวาวเครือแดง Rf0 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่ 13 กวาวเครือแดง Rf1 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่ 14 กวาวเครือแดง Rf2 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่ 15 กวาวเครือแดง Rf3 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่ 16 กวาวเครือแดง Rf4 ความเข้มข้น 5.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

กรรมวิธีที่ 17 สารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

การบันทึกผลการทดลอง

ทำการบันทึกข้อมูลเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1 และเก็บบันทึกความสดของใบ โดยการให้คะแนนดังนี้

0 = ใบไม่เหลือง และไม่เหี่ยว (0-25%)

1 = ใบเหลือง และเหี่ยวเล็กน้อย (26-50%)

3 = ใบเหลือง และเหี่ยวปานกลาง (51-75%)

5 = ใบเหลือง และเหี่ยวมาก (76-100%)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 3.2 ผลของสารสกัดหยาบจากกระชายเหลืองต่ออายุการปักแจกันของดอกกุหลาบ

คัดเลือกกรรมวิธีที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 3 ใช้ดอกกุหลาบพันธุ์แกรนด์กาล่า โดยคัดเลือกดอกกุหลาบให้มีขนาดของดอกและระยะการพัฒนาของดอกสม่ำเสมอกัน แล้วทำการตัดก้านดอกกุหลาบให้มีความยาว 25 ซม และตัดโคนก้านดอกให้เฉียงเป็นมุมประมาณ 45 องศา วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) โดยทำการทดลองกรรมวิธีละ 5 ซ้ำ ๆ ละ 5 ดอก ประกอบด้วย กระชายเหลือง (Rf2) สกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 และ 7.0 % ร่วมกับสารละลายน้ำตาล 5.0 % เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม คือ น้ำกลั่น มีทั้งหมด 7 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1	ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)
กรรมวิธีที่ 2	กระชายเหลืองสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 3.0 % + สารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %
กรรมวิธีที่ 3	กระชายเหลืองสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 4.0 % + สารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %
กรรมวิธีที่ 4	กระชายเหลืองสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 5.0 % + สารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %
กรรมวิธีที่ 5	กระชายเหลืองสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 6.0 % + สารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %
กรรมวิธีที่ 6	กระชายเหลืองสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 7.0 % + สารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %
กรรมวิธีที่ 7	สารละลายน้ำตาลซูโครส 5.0 %

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การบันทึกผลการทดลอง

ทำการบันทึกข้อมูลเช่นเดียวกับการทดลองที่ 3 และบันทึกอัตราการดูดน้ำ, ปริมาณแอนโธไซยานินของดอกกุหลาบ และปริมาณคลอโรฟิลล์ของใบกุหลาบ

1. บันทึกอัตราการดูดน้ำของดอกกุหลาบระหว่างปักแจกัน โดยวัดปริมาณน้ำที่ดอกกุหลาบดูดไปใช้ในแต่ละวันต่อดอก มีหน่วยเป็น มล/ดอก/วัน

2. การหาปริมาณแอนโธไซยานินของดอกกุหลาบ ตามวิธี Rangana (1977) อ้างโดย (เอกวิทย์, 2540; วรินธร, 2545) มีดังนี้

กลีบดอกกุหลาบ 0.5 กรัม หั่นให้ละเอียด

↓

เติม ethanolic HCl ปริมาตร 25 มล

เก็บที่อุณหภูมิ 4 °C 1 คืน

↓

กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman NO.1

แล้วปรับปริมาตรด้วย ethanolic HCl ให้ได้ปริมาตร 100 มล

↓

วัดค่าดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร

โดยใช้สารละลาย ethanolic HCl เป็น blank

↓

นำค่า OD ที่ได้ไปแทนค่าในสูตรหาปริมาณแอนโธไซยานินทั้งหมดมีหน่วยเป็น มิลลิกรัม/100 น้ำหนักสด

สูตรการคำนวณ คือ

$$\text{Total absorbance} = \frac{OD\ 535 \times V \times 100}{W}$$

$$\text{Total anthocyanin content} = \frac{\text{Total absorbance}}{98.2}$$

โดยที่ V คือ ปริมาตรของสารละลายที่นำมาหาปริมาณแอนโธไซยานิน

W คือ น้ำหนักของกลีบดอกกุหลาบที่นำมาหาปริมาณแอนโธไซยานิน

OD คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้จากเครื่องสเปคโตรนิค ตามความยาวคลื่นที่ กำหนด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3. การหาปริมาณคลอโรฟิลล์ของใบกุหลาบ ตามวิธีของ Whitham *et al.* (1971) อ้างโดย (วิภาดา, 2546; ชวลิต, 2540)

ใบกุหลาบหนัก 1 กรัม บดในโกร่งบด ขณะบดเติมอะซีโตน 80 เปอร์เซ็นต์ ลงไปเล็กน้อย เมื่อบดละเอียดให้กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman NO.1 ด้วยเครื่องกรองแบบ suction pump ล้างและปรับปริมาตรด้วยอะซีโตนให้ได้ปริมาตร 50 มลในกระบอกตวง นำสารละลายที่กรองแล้วไปวัดค่าดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 645 และ 663 นาโนเมตร บันทึกค่าที่ได้แล้วนำไปคำนวณตามสูตร มีหน่วยเป็นมิลลิกรัม/100 น้ำหนักสด

สูตรคำนวณ คือ

$$\text{Chlorophyll a} = (12.7(OD\ 663)-2.69(OD645) \times \frac{V}{1,000 \times W}$$

$$\text{Chlorophyll b} = (22.9(OD\ 645)-4.68\ (OD663) \times \frac{V}{1,000 \times W}$$

$$\text{Total chlorophyll} = (20.2(OD\ 645)-8.02(OD663) \times \frac{V}{1,000 \times W}$$

โดยที่ V คือ ปริมาตรของสารละลายที่นำมาหาปริมาณคลอโรฟิลล์

W คือ น้ำหนักของใบกุหลาบที่นำมาหาปริมาณคลอโรฟิลล์

OD คือ ค่าดูดกลืนแสงที่อ่านได้จากเครื่องสเปคโตรนิคตามความยาวคลื่นที่กำหนด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 4 การศึกษาลักษณะทางกายวิภาควิทยา

การทดลองนี้เป็นการศึกษาลักษณะทางกายวิภาควิทยาของเนื้อเยื่อกุหลาบที่ระบุไว้ในการทดลองที่ 2 เพื่อดูการอุดตันภายในท่อลำเลียงของกุหลาบ โดยศึกษาจากเนื้อเยื่อพืชบริเวณคอดอกกุหลาบที่ตัดตามขวางตามวิธีการศึกษาเนื้อเยื่อแบบ paraffin embedding ของ Johansen (1940) และ Sass (1966)

4.1 วัสดุและอุปกรณ์

4.1.1 พืชทดลอง

พืชทดลองคือ คอดอกกุหลาบพันธุ์แกรนด์กาล่า

4.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ในการศึกษาเนื้อเยื่อ

4.1.2.1 เครื่องตัดชิ้นส่วนพืชแบบล้อหมุน (rotary microtome)

4.1.2.2 กล้องจุลทรรศน์แบบ dissecting microscope และ stereo microscope พร้อมอุปกรณ์ถ่ายภาพ

4.1.2.3 ตู้อบที่ปรับอุณหภูมิเป็น 56 ซ

4.1.2.4 แผ่นให้ความร้อน (hot plate)

4.1.2.5 เครื่องอุ่นสไลด์ที่ปรับอุณหภูมิเป็น 40 ซ

4.1.2.6 แท่งไม้สี่เหลี่ยมขนาด 1.5 x 1.5 x 1.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร ที่ต้มให้อิ่มตัวในพาราฟิน

4.1.2.7 แผ่นสไลด์ (slide) และแผ่นปิดสไลด์ (cover slip)

4.1.2.8 อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ ขวดสำหรับใส่ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อพืช บีกเกอร์ และขวดย้อมสี

4.1.1.9 อุปกรณ์อื่นๆ ได้แก่ ตะเกียงแอลกอฮอล์ พู่กันขนอ่อน ปากคีบ และป้ายติดกาว

4.1.3 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมชิ้นส่วนพืชและสไลด์ถาวร

4.1.3.1 น้ำยารักษาสภาพเซลล์ (fixative) ได้แก่ FAA (formalin – acetic acid – alcohol) ซึ่งประกอบด้วยส่วนผสมดังนี้

95% ethyl alcohol	50	มล
glacial acetic acid	5	มล
formalin	10	มล
น้ำกลั่น	35	มล

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4.1.3.2 น้ำยาที่ใช้ดึงน้ำออกจากเซลล์ (dehydrating solution) ซึ่งประกอบด้วยส่วนผสมดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ส่วนผสมของสารเคมีในน้ำยาที่ใช้ดึงน้ำออกจากเซลล์

ปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำยาที่ใช้ดึงน้ำออกจากเซลล์ (%)	ethyl alcohol 95 % (มล)	ethyl alcohol 100 % (มล)	TBA (มล)	น้ำกลั่น (มล)
50	40	-	10	50
70	50	-	20	30
85	50	-	35	15
95	45	-	55	-
100	-	25	75	-

4.1.3.3 สารตัวกลางใช้ฝังเนื้อเยื่อ (embedding media) ได้แก่ paraplast

4.1.3.4 น้ำยายึดเนื้อเยื่อพืชให้ติดแผ่นสไลด์ (adhesive) เตรียมน้ำยาเข้มข้นจากส่วนผสมของ

ไข่ขาว 1 มล
น้ำกลั่น 49 มล

เมื่อจะใช้นำน้ำยาเข้มข้นมาเจือจาง โดยใช้น้ำยาเข้มข้น 1 มล มาเติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรรวมเป็น 50 มล

4.1.3.5 สีย้อมเนื้อเยื่อใช้สี Dalafield's hematoxylin เตรียมสีโดยใช้ส่วนผสมดังนี้

aluminium sulfate $[Al_2(SO_4)_3.16H_2O]$	400 มล
hematoxylin ($C_{16}H_{14}O_6$)	4 กรัม
95% ethyl alcohol	25 มล
methyl alcohol	100 มล
glycerol	100 มล

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4.1.3.6 น้ำยาทำให้เนื้อเยื่อสะอาด (clearing reagent) คือ xylene

4.1.3.7 สารตัวกลางสำหรับปิดแผ่นสไลด์ (mounting media) คือ Canada balsam

4.2 วิธีการ

4.2.1 เก็บตัวอย่างของคอดอกกุหลาบแช่ในน้ำยา FAA ที่บรรจุในขวดแก้ว แล้วนำขวดแก้วเหล่านั้นใส่ในเครื่องดูดอากาศเพื่อไล่ฟองอากาศออกจากเนื้อเยื่อ หลังจากนั้นปิดฝาขวดแล้วนำมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องนานอย่างน้อย 24 ชั่วโมงก่อนนำไปผ่านขั้นตอนต่อไป

4.2.2 นำเนื้อเยื่อมาผ่านขั้นตอนการดึงน้ำออกจากเซลล์ โดยให้เนื้อเยื่อผ่านน้ำยาดึงน้ำออกจากเซลล์ จากระดับความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ในน้ำยา 50% ไปจนถึงระดับ 100% แล้วจึงนำเนื้อเยื่อไปผ่าน TBA 100% ตามด้วยน้ำยาที่ประกอบด้วย TBA และพาราฟินเหลว อัตราส่วน 1:1 นานขั้นตอนละ 24 ชั่วโมง แล้วนำเนื้อเยื่อไปผ่านขั้นตอนของการแทรกพาราฟินเข้าไปในเนื้อเยื่อ (infiltration)

4.2.3 ถ่ายเนื้อเยื่อลงไปในขวดแก้วที่บรรจุ Paraplast ที่หลอมแล้วนำขวดแก้วไปเก็บไว้ในตู้อบที่อุณหภูมิ 56 ซ นานประมาณ 1 สัปดาห์ หรือมากกว่าเพื่อให้พาราฟินแทรกเข้าไปในเนื้อเยื่อได้เต็มที่

4.2.4 นำเนื้อเยื่อพืชมาฝังในพาราฟิน แล้วจัดตำแหน่งของเนื้อเยื่อให้อยู่ในตำแหน่งและระนาบที่ต้องการ

4.2.5 นำแท่งพาราฟินที่ได้ไปตัดแต่งให้เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า ให้ชิ้นส่วนพืชอยู่ตรงกลางแล้วนำมาติดกับแท่งไม้ จากนั้นนำไปตัดด้วยเครื่องตัดเนื้อเยื่อแบบล้อหมุนโดยตัดเนื้อเยื่อตามขวางให้หนา 15- 18 ไมครอน

4.2.6 นำแถบชิ้นส่วนพืช (paraffin ribbon) ติดลงบนแผ่นสไลด์ด้วยน้ำยายึดเนื้อเยื่อพืช วางแผ่นสไลด์บนเครื่องอุ่นสไลด์ จนแถบชิ้นส่วนแห้งและติดกับแผ่นสไลด์

4.2.7 นำแผ่นสไลด์ที่ละลายพาราฟินออกจากเนื้อเยื่อแล้วนำไปย้อมสี ปิดแผ่นสไลด์ด้วยแผ่นปิดสไลด์โดยใช้ Canada balsam ยึด

4.2.8 เมื่อแผ่นสไลด์แห้งสนิท นำแผ่นสไลด์ไปศึกษาเนื้อเยื่อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และบันทึกภาพ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

สถานที่ที่ใช้ในการดำเนินการวิจัยและรวบรวมข้อมูล

1. ห้องปฏิบัติการภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
2. ห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ระยะเวลาที่ใช้ในการดำเนินการวิจัย

เดือนเมษายน พ.ศ. 2546 – ตุลาคม พ.ศ. 2547

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved