ผลของการพรางแสงระหว่างการเพาะปลูกต่อปริมาณคลอโรฟิลล์และสาร 2-Acetyl-1-Pyrroline ของใบเตยหอม

Effects of Shading During Cultivation on Chlorophyll and 2-Acetyl-1-Pyrroline Contents of *Pandanus amaryllifolius* Roxb. Leaves

ภาวิณี อารีศรีสม[1*] นรินทร์ ท้าวแก่นจันทร์[1] รุ่งทิพย์ กาวารี[2] เทิดศักดิ์ โทณลักษณ์[1] และ กอบลาภ อารีศรีสม[1]

Pawinee Areesrisom[1*], Narin Toakaenchan[1], Rungtip Kawaree[2], Therdsak Thonnalak[1] and Koblap Areesrisom[1]

[1]สาขาวิชาวิทยาการสมุนไพร คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ. เชียงใหม่ 50290

[1]Medicinal Plant Science Program, Faculty of Agricultural Production, Maejo University, Chiang Mai 50290, Thailand

[2]สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ. เชียงใหม่ 50290

[2]Biotechnology Program, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai 50290, Thailand

**Corresponding author: Email: agrsmw@ku.ac.th*

(Received: 18 October 2017; Accepted: 16 March 2018)

Abstract: This research was to study the effect of shading net on chlorophyll and 2-acetyl-1-pyrroline (2AP) contents of pandan (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) leaves. The experiment was carried out based on randomized complete block design (RCBD) at four different levels of shading net (0, 50, 60 and 70%), with 3 replications and the leaves were harvested 6 months after planted. The results showed that there were significant differences in the chlorophyll and 2AP contents in leaves growing under different levels of shading net. The chlorophyll contents of pandan leaves cultivated under 50, 60 and 70% of shading net were higher than those exposed out of field. The chlorophyll contents were 0.56 ± 0.06, 0.89 ± 0.02, 0.77 ± 0.03 and 0.84 ± 0.12 mg/g fresh plant at shading net of 0, 50, 60 and 70%, respectively. The amount of 2AP of pandan leaves increased as shading net decreased. The 2AP content were 5.40 ± 0.01, 5.40 ± 0.02 and 5.60 ± 0.01 µg/ g fresh plant at shading net of 70, 60 and 50% , respectively. However, when planted without shading net the 2AP content was decreased to be 5.55 ± 0.01 µg/ g fresh plant.

Keywords: Aroma compound, shading net, *Pandanus amaryllifolius* Roxb., chlorophyll, 2-acetyl-1-pyrroline

Copyright @ Journal of Agriculture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University. All rights reserved.

บทคัดย่อ: งานวิจัยนี้ได้ศึกษาอิทธิพลของการพรางแสงต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ และสาร 2-acetyl-1-pyrroline (2AP) ของใบเตยหอม โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ ด้วยตาข่ายพรางแสงต่างกัน 4 ระดับ (0, 50, 60 และ 70%) ระดับละ 3 ซ้ำ และเก็บเกี่ยวใบเตยหอมหลังจากปลูก 6 เดือน จากผลทดลองพบว่าการพรางแสงที่ให้ในการปลูกมีผลต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ และสาร 2AP ในใบเตยหอมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเตยหอมที่ปลูกภายใต้ตาข่ายพรางแสง 50, 60 และ 70% จะมีปริมาณคลอโรฟิลล์สูงกว่าเมื่อปลูกแบบไม่พรางแสง โดยมีปริมาณของคลอโรฟิลล์เท่ากับ 0.56 ± 0.06, 0.89 ± 0.02, 0.77 ± 0.03 และ 0.84 ± 0.12 มิลลิกรัม/กรัมพืชสด ตามลำดับ ในขณะที่ปริมาณสาร 2AP ในใบเตยหอมจะเพิ่มขึ้นเมื่อปลูกในสภาวะที่การพรางแสงลดลง คือ การพรางแสงที่ระดับ 70, 60 และ 50% มีสาร 2AP เท่ากับ 5.40 ± 0.01, 5.40 ± 0.02 และ 5.60 ± 0.01 ไมโครกรัม/กรัมพืชสด ตามลำดับ อย่างไรก็ตามเมื่อปลูกโดยไม่มีการพรางแสง จะส่งผลให้ปริมาณสาร 2AP ลดลง โดยมีค่าเท่ากับ 5.55 ± 0.01 ไมโครกรัม/กรัมพืชสด

คำสำคัญ: สารหอม ตาข่ายพรางแสง เตยหอม คลอโรฟิลล์ สาร 2-acetyl-1-pyrroline

คำนำ

เตยหอม เป็นพืชสมุนไพรกลิ่นหอมชนิดหนึ่งที่คนไทยรู้จักกันมาช้านาน มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Pandanus amaryllifolius* Roxb. จัดอยู่ในวงศ์ Pandanaceae เป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดแถบเอเชียอาคเนย์ ชอบแสงแดดรำไร แต่ก็ทนต่อแสงแดดจัดได้ เตยหอมเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ใบมีกลิ่นหอม แตกกอเป็นพุ่มขนาดเล็ก มีลำต้นสูงประมาณ 2-3 เมตร ชอบขึ้นในที่ใกล้น้ำ ขึ้นแฉะ และขยายพันธุ์โดยใช้หน่อเล็ก ๆ (วันดี, 2538; สมพร, 2551) สามารถเก็บเกี่ยวใบไปใช้ประโยชน์ได้หลังจากปลูก 6 เดือน (Nadaf and Zanan, 2012) เตยหอมมีสรรพคุณเป็นยาบำรุงหัวใจให้ชุ่มชื่น ช่วยลดการกระหายน้ำ รากใช้เป็นยาขับปัสสาวะ และรักษาโรคเบาหวาน (สุนทรี, 2536) ส่วนใหญ่นิยมนำเตยหอมมาใช้ในการประกอบอาหาร ทำขนมหวาน เนื่องจากเป็นพืชที่ให้คุณค่าในเรื่องของสารที่ให้สีและกลิ่นหอมที่ปลอดภัยไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ใบเตยหอมประกอบไปด้วยสารสีเขียว ที่เรียกว่าคลอโรฟิลล์ และมีองค์ประกอบทางเคมีหลายชนิด น้องนุชและคณะ (2545) รายงานว่าสารที่ให้กลิ่นหอมหลักในใบเตยหอม คือสาร 2-acetyl-1-pyrroline (2AP) ส่วน Laksanalamai and Ilangantileke (1993) สกัดสารหอมระเหยจากใบเตยสดและใบเตยแห้งโดยใช้วิธีการสกัดด้วยไอน้ำ แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS) พบว่ามีองค์ประกอบหลัก คือ สาร 2AP เช่นเดียวกับงานวิจัยของ นิศานันท์ และคณะ (2558) ที่ทำการสกัดเตยหอมด้วยน้ำ พบองค์ประกอบทางเคมีหลัก คือ 1-hexanol, 2-penten-1-ol และ 2(5H)-furanone โดยมี 2AP เป็นสารให้กลิ่นหลักที่สำคัญ ปัจจุบันมีการนำสาร 2AP จากเตยหอมไปประยุกต์ใช้ในด้านแต่งกลิ่นของอาหาร เพื่อเป็นการเพิ่มราคาและความหลากหลายให้กับผลผลิตทางการเกษตร เช่น รัตนา และคณะ (2560) ศึกษาการสกัดสาร 2AP จากใบเตยร่วมกับการกักเก็บสารหอม 2AP ด้วยแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการเกิดเจลาติไนเซชันแล้วภายใต้สภาวะหม้อนึ่งอัดไอ และนำแป้งข้าวเจ้าที่ได้มาเคลือบบนข้าวขาวพิจิตร เพื่อเพิ่มความหอมให้กับข้าวขาว ซึ่งถือเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับใบเตยและข้าวขาวที่มีปริมาณผลผลิตมากในประเทศไทย

ใบเตยหอมมี papillae เป็นตำแหน่งที่เก็บสะสมสาร 2AP ซึ่ง papillae เป็นต่อมที่สร้างมาจากเนื้อเยื่อชั้น epidermis ด้านหลังใบของเตยหอม ซึ่งพบว่ามีแพร่กระจายอยู่ทั่วไปตลอดทั้งใบ (Nadaf *et al*., 2006; Wakte *et al*., 2007) ปัจจุบันยังไม่ทราบข้อมูลเกี่ยวกับกลไกการสังเคราะห์สาร 2AP ในเตยหอม แต่มีรายงานการศึกษาในข้าวหอมว่า 2AP เกิดจากการขาดหายไปของ betaine aldehyde dehydrogenase2 gene ทำให้เกิดการสะสมของ Δ^1-pyrroline ซึ่งเป็นตัวที่ทำปฏิกิริยากับ methylglyoxal แล้วเกิดเป็นสาร 2AP ขึ้นมา (Nadaf *et al*., 2014) โดยคุณภาพและปริมาณของสารหอมในพืชขึ้นอยู่กับลักษณะทางพันธุกรรมร่วมกับสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ความชื้น ปริมาณน้ำ คุณภาพดินและแร่

ธาตุ ระยะเวลาที่พืชได้รับแสง และ ระยะการเจริญเติบโตของพืช เช่น อายุ และฤดูกาลเก็บเกี่ยว เป็นต้น

แสงเป็นปัจจัยสำคัญที่สุดปัจจัยหนึ่งในการควบคุมการเจริญเติบโตของพืช โดยมีคลอโรฟิลล์เป็นสารสีที่มีบทบาทสำคัญในการดูดซับพลังงานแสงสำหรับใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสง เพื่อสร้างสารอาหารให้กับพืช (Gross, 1991) ถ้าพืชได้รับแสงมากเกินไปจะทำให้ปากใบปิด เกิดการเร่งอัตราการหายใจหรือการทำลายคลอโรฟิลล์ของพืช แต่ถ้ารับแสงน้อยเกินไป จะส่งผลให้พืชมีอัตราการเจริญเติบโตที่ต่ำและให้ผลผลิตน้อย (Collard *et al*., 1977) พืชแต่ละชนิดต้องการแสงในการเจริญเติบโตแตกต่างกันไป ซึ่งพืชส่วนใหญ่ต้องการแสงความเข้มสูงในการเจริญเติบโต มีพืชเพียงไม่กี่ชนิดที่ต้องการความเข้มแสงต่ำในการเจริญเติบโต (Shahak, 2000) เช่น หญ้าปักกิ่งเมื่อปลูกโดยไม่พรางแสง จะมีความยาวลำต้น น้ำหนักต้นและใบแห้ง และน้ำหนักแห้งรวมมากที่สุด แต่มีปริมาณคลอโรฟิลล์ภายในใบน้อยที่สุด ขณะที่ปลูกในสภาพพรางแสง 80% มีการเจริญเติบโตทางลำต้นน้อยและให้ผลผลิตต่ำสุด แต่จะมีปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบมากที่สุด (สมยศ และคณะ, 2556) บัวบก ที่ปลูกในสภาพพรางแสงระดับ 80% มีคุณภาพด้านอัตราการเจริญเติบโตดี แต่การพรางแสงที่ 50% ให้คุณภาพด้านผลผลิต คือ น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และปริมาณสารสำคัญมากกว่าไม่พรางแสง (ประยงค์ และคณะ, 2558) และการพรางแสงทำให้บัวบกสายต้นนครศรีธรรมราช อุบลราชธานี และ ระยอง มีความยาวก้านใบ พื้นที่ใบ และปริมาณคลอโรฟิลล์เพิ่มมากขึ้น (จิรพันธ์, 2553) มีรายงานว่าการพรางแสงข้าวขาวดอกมะลิ 105 หลังจากที่ข้าวออกรวง ส่งผลให้มีการสร้างและสะสมสาร 2AP ในเมล็ดที่ระยะสุกแก่ทางสรีระ และคลอโรฟิลล์ในใบตั้งแต่ระยะเมล็ดน้ำนมจนถึงระยะสุกแก่ทางสรีระสูงกว่าในสภาพไม่พรางแสง อาจเป็นเพราะการพรางแสงทำให้สภาพแวดล้อมรอบทรงพุ่มของข้าวเปลี่ยนแปลงไป เช่น การได้รับแสงลดลง อุณหภูมิต่ำ และความชื้นสัมพัทธ์สูง มีผลทำให้กระบวนการทางสรีระมีประสิทธิภาพต่ำ รวมทั้งการระเหยของน้ำในเมล็ดข้าวลดลงกว่าในสภาพไม่บังแสง ทั้งนี้เนื่องจากสาร 2AP เป็นสารที่ระเหยง่ายและไม่ค่อยเสถียร ซึ่งอาจระเหยออกมาพร้อมกับการระเหยของน้ำในเมล็ด จึงทำให้ในสภาพไม่บังแสงมีปริมาณสาร 2AP ต่ำกว่าในสภาพบังแสง (สุทธกานต์, 2546)

เตยหอมเป็นพืชที่ชอบแสงแดดรำไร แต่สามารถทนต่อแสงแดดจัดได้ ซึ่งยังไม่มีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับสภาวะการปลูกในด้านของการพรางแสงที่มีผลต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ และสารหอมในใบเตยหอม ดังนั้นการวิจัยนี้จึงทำการปลูกเตยหอมภายใต้โรงเรือนที่คลุมด้วยตาข่ายพลาสติกพรางแสงสีดำที่ระดับแตกต่างกัน (50, 60 และ 70%) เปรียบเทียบกับสภาพที่ได้รับแสงอย่างเต็มที่ เพื่อหาสภาวะการพรางแสงที่เหมาะสมสำหรับการปลูกเตยหอมเพื่อให้ได้ปริมาณสารคลอโรฟิลล์ และสาร 2AP ในใบเตยหอมมากที่สุด ซึ่งคาดว่างานวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรผู้ผลิตอย่างมาก สามารถนำไปเป็นแนวทางปฏิบัติในการปลูกเตยหอมที่ได้คุณภาพ และมีปริมาณสารสำคัญในปริมาณสูง ถือเป็นการสร้างคุณค่าและมูลค่าให้กับเตยหอม สามารถนำไปต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ด้านอาหาร และเครื่องหอมเพื่อใช้ประโยชน์ต่อไปได้

อุปกรณ์และวิธีการ

การปลูกเตยหอม

ปลูกเตยหอมโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (randomized complete block design; RCBD) ทำการปลูกในโรงเรือนที่คลุมด้วยตาข่ายพรางแสงสีดำต่างกัน 4 ระดับ (0, 50, 60 และ 70%) ระดับละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 13 ต้น หลังจากนั้นเตรียมดินปลูกโดยใช้ดินผสมแกลบดิบและปุ๋ยคอก ในอัตราส่วน 3 : 1 : 1 ใส่กระถางพลาสติกติกสีดำ ขนาด 10 นิ้ว แล้วจึงนำต้นพันธุ์เตยหอมอายุ 2 เดือน จากจังหวัดเชียงใหม่ ปลูกลงไปในกระถางที่เตรียมไว้ ดูแลรักษาโดยให้น้ำและจัดการศัตรูพืชอย่างสม่ำเสมอ ให้ปุ๋ยหมักอินทรีย์แบบไม่พลิกกลับกองของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ทุก ๆ 15 วัน โดยทดลองปลูกเตยหอมระหว่างเดือน มกราคม ถึง มิถุนายน 2559 ณ แปลงทดลองปลูกสาขาวิชาวิทยาการสมุนไพร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ. เชียงใหม่

หลังปลูกครบ 6 เดือน จึงเก็บเกี่ยวใบเตยหอม โดยเก็บเฉพาะส่วนใบทั้งหมดมารวมกัน หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ

เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ และสาร 2AP ต่อไป

การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์

นำตัวอย่างใบเตยหอมที่เก็บเกี่ยวในแต่ละการทดลองมาหาปริมาณคลอโรฟิลล์ โดยดัดแปลงจากวิธีของ AOAC (1990) สุ่มตัวอย่างใบเตย ซ้ำละ 50 กรัม บด หั่นให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วชั่งตัวอย่างมา 3.00 กรัม (W) เติมแคลเซียมคาร์บอเนต 0.01 กรัม และ อะซีโตน 80% ประมาณ 2 มิลลิลิตร บดตัวอย่างใบเตยหอมจนละเอียด แล้วถ่ายตัวอย่างลงในหลอดทดลอง นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 4500 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที กรองสารละลายส่วนใสที่ได้ด้วยกระดาษกรอง ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร นำตะกอนที่เหลือไปบดซ้ำอีกครั้งโดยทำตามขั้นตอนข้างต้นจนสีเขียวของตะกอนตัวอย่างหมด รวบรวมสารละลายที่สกัดได้ลงในขวดปรับปริมาตร และปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร ด้วยอะซีโตน 80% ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่เตรียมได้มา 3 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปรับปริมาตร และปรับปริมาตรให้เป็น 25 มิลลิลิตร ด้วยอะซีโตน 80% นำไปวัดค่าดูดกลืนคลื่นแสงด้วยเครื่อง uv-visible spectrophotometer (910SUV-VIS) ที่ความยาวคลื่น 645 และ 663 นาโนเมตร ตามลำดับ นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณปริมาณคลอโรฟิลล์ ดังสูตร

$$\text{ปริมาณคลอโรฟิลล์ (มิลลิกรัม/กรัมพืชสด)} = \frac{(20.2A_{645} + 8.02A_{663}) \times V_3 \times V_1}{V_2 \times W \times 1000}$$

เมื่อ A_{645} = ค่าดูดกลืนคลื่นแสงที่ 645 นาโนเมตร

A_{663} = ค่าดูดกลืนคลื่นแสงที่ 663 นาโนเมตร

V_1 = ปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่ 50 มิลลิลิตร

V_2 = ปริมาตรสารตัวอย่างที่ปิเปต มา 3 มิลลิลิตร

V_3 = ปริมาตรสารตัวอย่างที่ทำการเจือจาง 25 มิลลิลิตร

W = น้ำหนักตัวอย่างใบเตยที่ชั่ง (กรัม)

การวิเคราะห์ปริมาณสาร 2AP

การเตรียมกราฟมาตรฐาน 2AP

เจือจางสารมาตรฐาน 2AP ที่ความเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัม/ลิตร ให้มีความเข้มข้น 100, 250, 500 และ 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร ด้วยไดคลอโรมีเทน และในแต่ละความเข้มข้นเติมสารละลาย 2,4,6-trimethylpyridine (TMP) ให้มีความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/ลิตร เท่ากันทุกๆ ความเข้มข้น นำสารละลายมาตรฐาน 2AP ที่เตรียมได้ไปฉีดวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS (GC ยี่ห้อ Agilent รุ่น 6890 plus; MS ยี่ห้อ Hewlett Packard รุ่น 5973)

การสกัดสาร 2AP จากตัวอย่างใบเตยหอม

สุ่มตัวอย่างใบเตยหอมที่ได้จากการเก็บเกี่ยวในแต่ละการทดลอง มาอย่างละ 1 กิโลกรัม จากนั้นนำใบเตยหอมไปลวกในน้ำอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วินาที ชั่งตัวอย่างใบเตยหอมที่เตรียมได้ ตัวอย่างละ 30 กรัม บดให้ละเอียดแล้วบรรจุลงในขวดแก้วขนาด 500 มิลลิลิตร เติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.0 ปริมาตร 60 มิลลิลิตร และโซเดียมคลอไรด์ 30 กรัม ปิดฝาขวดให้สนิท แล้วนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ จากนั้นเติมสารละลาย TMP ที่ความเข้มข้น 250 มิลลิกรัม/ลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร และไดคลอโรมีเทน ปริมาตร 60 มิลลิลิตร ลงไปในตัวอย่าง ปิดฝาให้สนิท นำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ปล่อยให้สารละลายเกิดการแยกชั้น แล้วจึงเก็บสารละลายในชั้นของตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน สกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง ด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน นำสารสกัดที่ได้มารวมกันแล้วระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ ให้เหลือปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร

นำสารสกัดตัวอย่างที่สกัดได้ไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS โดยฉีดตัวอย่างเข้าเครื่องปริมาตร 2 ไมโครลิตร โดยใช้สภาวะในการแยกสารดังนี้ ส่วนของคอลัมน์ที่ใช้คือ HP-5MS (ขนาด 30.0 เมตร x 250 ไมโครเมตร x 0.25 ไมโครเมตร) ตั้งอัตราการไหลของก๊าซฮีเลียม (UHP 99.999%) เข้าคอลัมน์เป็น 2.0 มิลลิลิตรต่อนาที ส่วนอุณหภูมิคอลัมน์ ตั้งโปรแกรมโดยใช้อุณหภูมิเริ่มต้น 35 องศาเซลเซียส คงที่ 3 นาที จากนั้นเพิ่ม

อัตราเร็ว 2 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึงอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และเพิ่มอัตราเร็ว 3 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึงอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส คงที่อีก 3 นาที ส่วนฉีดสารตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 155 องศาเซลเซียส ส่วนของ MS ตั้งอุณหภูมิของส่วนเชื่อมต่อ (transfer line) ไว้ที่ 280 องศาเซลเซียส ใช้ scan mode ช่วง Mass 29 ถึง 250 AMU (atomic mass unit)

การรายงานผลของปริมาณสาร 2AP จะรายงานผลออกมาใน 2 รูปแบบ คือ อัตราส่วนของพื้นที่ใต้กราฟสาร 2AP ต่อสารมาตรฐาน TMP (internal standard) โดยคำนวณได้ดังสูตร

$$\text{อัตราส่วน 2AP/TMP} = \frac{\text{พื้นที่ใต้กราฟของ 2AP}}{\text{พื้นที่ใต้กราฟของ TMP}}$$

และ การคำนวณหาปริมาณสาร 2AP ในตัวอย่างเทียบกับกราฟมาตรฐานของสาร 2AP

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลอง ไปวิเคราะห์ทางสถิติเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P < 0.05$)

ผลการทดลองและวิจารณ์

การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์

จากการทดสอบปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบเตยหอมที่เพาะปลูกในโรงเรือนที่มีการพรางแสงแตกต่างกัน 4 ระดับ ได้แก่ 0, 50, 60 และ 70% ผลที่ได้แสดงดังตารางที่ 1 ซึ่งจะเห็นได้ว่าเตยหอมที่ปลูกภายใต้การพรางแสง 50, 60 และ 70% มีปริมาณคลอโรฟิลล์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าเท่ากับ 0.89 ± 0.02, 0.77 ± 0.03 และ 0.84 ± 0.12 มิลลิกรัมต่อกรัมพืชสด ตามลำดับ และมีปริมาณมากกว่าเตยหอมที่ปลูกโดยไม่พรางแสง ซึ่งมีปริมาณสารคลอโรฟิลล์เท่ากับ 0.56 ± 0.06 มิลลิกรัมต่อกรัมพืชสด ทั้งนี้อาจเนื่องจากเตยหอมมีการเจริญเติบโตได้ดีในสภาพร่มรำไร การที่ได้รับแสงมากเกินไป ทำให้ไม่เหมาะกับการเจริญเติบโตและสังเคราะห์แสงเพื่อสร้างอาหาร ดังนั้นการได้รับแสงอย่างเต็มที่ จึงส่งผลให้การสร้างเซลล์และออร์แกเนลต่าง ๆ ภายในเซลล์ลดลงโดยเฉพาะอย่างยิ่งคลอโรฟิลล์ จึงส่งผลให้เตยหอมที่ปลูกโดยไม่พรางแสงมีปริมาณคลอโรฟิลล์ต่ำกว่าในสภาพพรางแสง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Brand (1997) ที่ได้ทำการศึกษาผลของการพรางแสง 40 และ 60% ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ของใบคาลเมีย (Kalmia; *Kalmia latifolia* L.) จำนวน 5 สายพันธุ์ เปรียบเทียบกับสภาพที่ได้รับความเข้มแสงเต็มที่ 100% พบว่าคาลเมียที่ปลูกภายใต้สภาพการพรางแสงมีปริมาณคลอโรฟิลล์มากกว่าคาลเมียที่ได้รับความเข้มแสง 100% และจากการศึกษาของ สมยศ และคณะ (2556) พบว่าการพรางแสงมีผลต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ภายในใบของหญ้าปักกิ่ง คือหญ้าปักกิ่งที่มีการพรางแสงมากสุดที่ 80% มีปริมาณของคลอโรฟิลล์ภายในใบมากที่สุด และคลอโรฟิลล์ภายในใบมีค่าลดลงเมื่อหญ้าปักกิ่งได้รับการพรางแสงน้อยลงคือที่ 60 และ 50% ตามลำดับ ส่วนหญ้าปักกิ่งที่ไม่มีการพรางแสงจะมีปริมาณคลอโรฟิลล์ภายในใบน้อยที่สุด

Table 1. Chlorophyll content in *Pandanus amaryllifolius* Roxb. leaves growing under various shading nets

Shading net (%)	Chlorophyll content (mg/g fresh plant)
0	0.56 ± 0.06[b]
50	0.89 ± 0.02[a]
60	0.77 ± 0.03[a]
70	0.84 ± 0.12[a]
F-test	*
CV (%)	18.98

Values are means of three replications ± standard error

* Indicate significant at $P<0.05$. Values in the same column with the different letters are significantly different at $P<0.05$

การวิเคราะห์ปริมาณสาร 2AP

เมื่อฉีดวิเคราะห์สารมาตรฐาน 2AP กับสารมาตรฐาน internal standard ด้วยเครื่อง GC-MS ผลที่ได้พบว่า สารมาตรฐาน 2AP มีค่า retention time เท่ากับ 11.71 นาที และ สารมาตรฐาน internal standard TMP มีค่า retention time เท่ากับ 15.60 นาที ดังแสดงในภาพที่ 1 เมื่อทำการแตกมวลแมสของ 2AP ในตัวอย่างสารสกัดใบเตยหอม จะมีมวลที่สำคัญ ได้แก่ 43, 68, 83 และ 111 m/z ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 2 (A) โดยมีมวลตรงกันกับข้อมูลของสาร 2AP ที่ได้จากฐานข้อมูล Wiley 275 ในภาพที่ 2 (B) และเมื่อนำสารสกัดที่ได้จากใบเตยหอมที่ปลูกภายใต้การพรางแสงแตกต่างกันไปฉีดวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS พบว่าสาร 2AP ที่พบในใบเตยหอมกับสารมาตรฐาน 2AP มีค่า retention time และ แมสสเปกตรัมตรงกัน ดังแสดงในภาพที่ 3

จากผลการฉีดวิเคราะห์สาร 2AP ในสารสกัดใบเตยหอมที่ได้ พบว่าการพรางแสงระหว่างการเพราะปลูกมีผลต่อปริมาณสาร 2AP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 2 โดยเตยหอมที่ปลูกภายใต้การพรางแสง 50% จะให้สาร 2AP ในปริมาณมากที่สุด มีค่าเท่ากับ

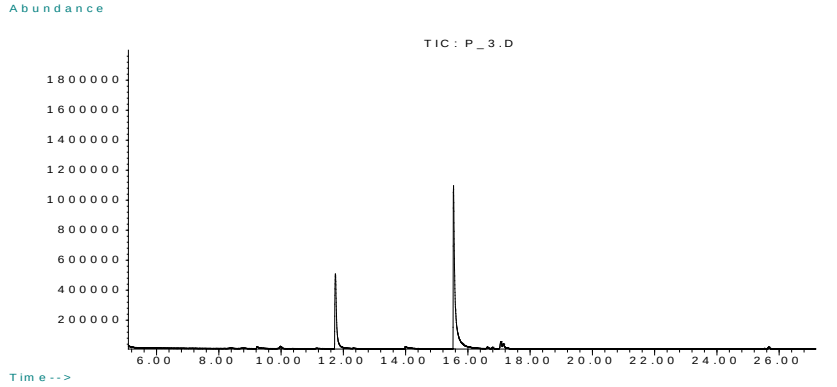

Figure 1. GC-MS chromatogram of standard 2AP and internal standard TMP

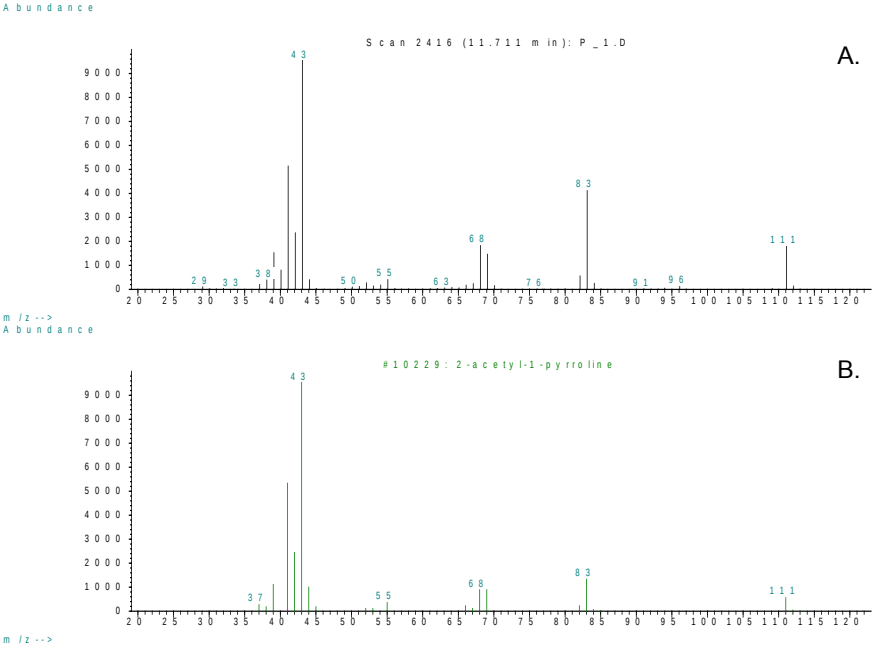

Figure 2. Mass spectrum of 2AP

(A. mass spectrum of 2AP in pandan leaves B. mass spectrum of 2AP from Wiley 275 library)

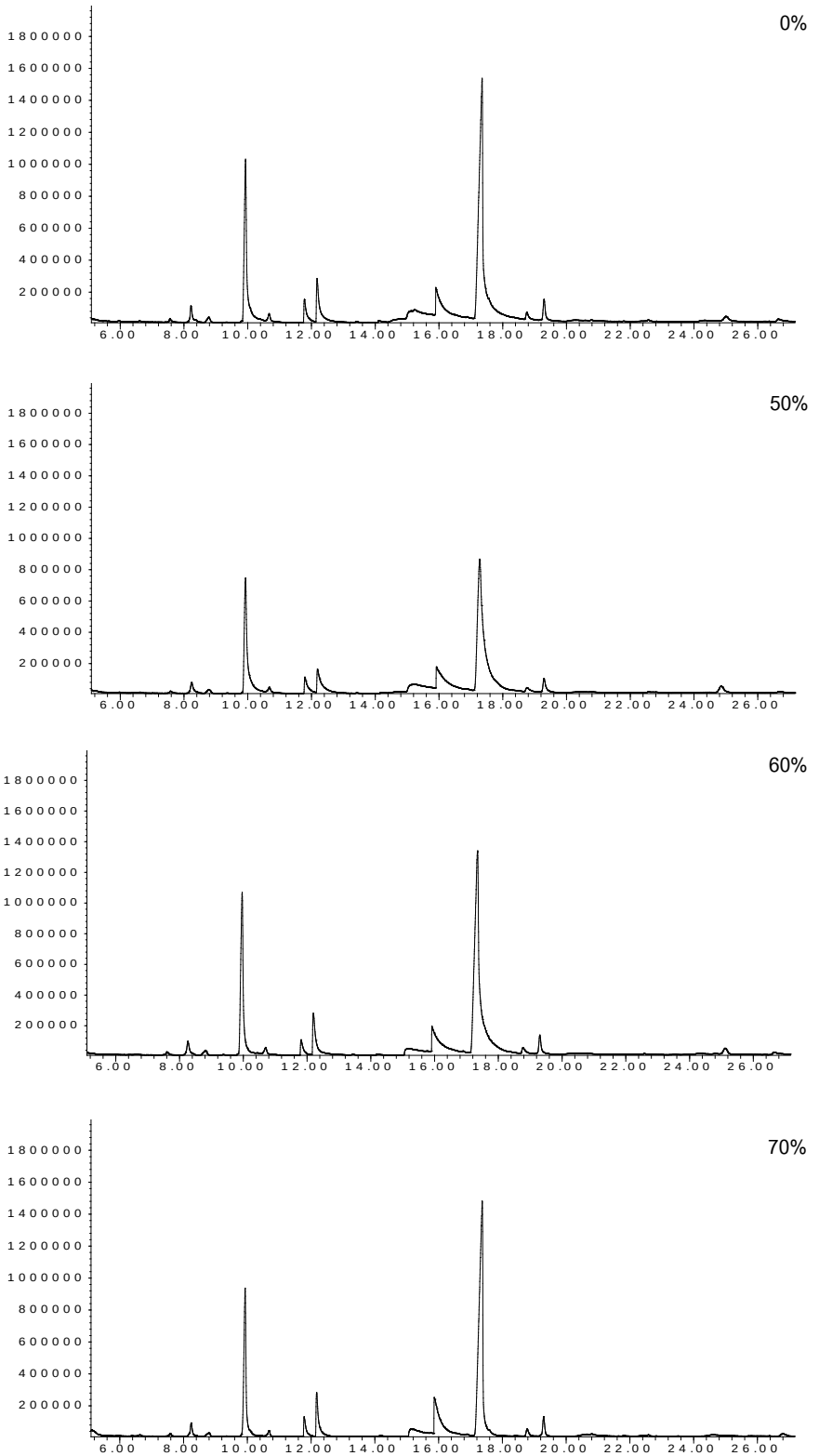

Figure 3. GC-MS chromatogram of extracts from pandan leaves growing under various shading net

Table 2. 2AP content in *Pandanus amaryllifolius* Roxb. leaves growing under various shading nets

Shading net (%)	2AP		TMP		Ratio peak area (2AP/TMP)	Amount of 2AP (µg/g fresh plant)
	RT (min)	Peak area	RT (min)	Peak area		
0	11.71	8974681 ± 15275	15.60	30143619 ± 5773	0.2977 ± 0.00045[b]	5.55 ± 0.01[b]
50	11.71	7735619 ± 1154	15.60	23849840 ± 5507	0.3243 ± 0.00012[a]	5.60 ± 0.01[a]
60	11.71	5858471 ± 10000	15.60	25122397 ± 11547	0.2332 ± 0.00041[c]	5.40 ± 0.02[c]
70	11.71	6458990 ± 5744	15.60	27888567 ± 5773	0.2316 ± 0.00023[d]	5.40 ± 0.01[c]
		F-test			*	*
		CV (%)			17.16	1.82

Values are means of three replications ± standard error

* Indicate significant at $P<0.05$. Values in the same column with the different letters are significantly different at $P<0.05$

5.60 ± 0.01 ไมโครกรัมต่อกรัมพืชสด และมีความสอดคล้องกันกับอัตราส่วนของปริมาณสาร 2AP ต่อสาร TMP ซึ่งเตยหอมที่ปลูกภายใต้การพรางแสง 50% มีอัตราส่วนของสารดังกล่าวมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับใบเตยหอมที่ปลูกภายใต้การพรางแสงระดับอื่น ๆ คือมีค่าเท่ากับ 0.3243 แต่เมื่อเพิ่มระดับของการพรางแสงขึ้นเป็น 60% และ 70% พบว่าสาร 2AP มีปริมาณลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องจาก betaine aldehyde dehydrogenase2 ซึ่งมีส่วนในการสร้างสาร 2AP มักจะพบในปริมาณมากในใบพืชที่มีความสมบูรณ์ (Chen *et al*., 2008) ซึ่งจากการศึกษาของผู้วิจัยพบว่าขนาดของลำต้นและใบของเตยหอมที่ปลูกภายใต้การพรางแสง 50% มีขนาดที่สมบูรณ์ที่สุดเมื่อเทียบกับสภาวะอื่น ๆ (ภาวิณี และคณะ, 2560) จึงส่งผลทำให้ปริมาณสาร 2AP มีค่าสูงที่สุดเมื่อเทียบกับเตยหอมที่ปลูกภายใต้การพรางแสงสภาวะอื่น ๆ ซึ่งพืชแต่ละชนิดมีความต้องการแสงในการสร้างสารหอมและสารสำคัญที่แตกต่างกันไป เช่น จากการศึกษาของ Mo *et al.* (2015) พบว่าการพรางแสงในทุก ๆ ระยะของการเจริญเติบโตของเมล็ดในข้าวสายพันธุ์ Yuxiangyouzhan และ Nongxiang 18 ส่งผลให้ปริมาณของสาร 2AP ในเมล็ดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และยังพบว่าการพรางแสงมีผลต่อปริมาณสารหอมอื่น ๆ อีก 10 ชนิด ในเมล็ดข้าวด้วย ดังนั้นในการปลูกพืชเพื่อให้ได้ผลผลิต หรือสารสำคัญในปริมาณสูงจึงควรพิจารณาถึงปัจจัยเรื่องแสงเข้ามาเกี่ยวของด้วย

สรุป

จากผลการทดลองนี้สามารถสรุปได้ว่าการพรางแสงที่ให้ในระหว่างการเพาะปลูกเตยหอมมีผลต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ และสาร 2AP ในใบเตยหอมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเตยหอมที่ปลูกภายใต้การพรางแสง 50-70% มีปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบมากที่สุด ส่วนปริมาณสาร 2AP มีมากสุดเมื่อทำการเพาะปลูกเตยหอมภายใต้การพรางแสง 50% ซึ่งผลที่ได้จากงานวิจัยนี้สามารถใช้เป็นแนวทางในการเพาะปลูกเตยหอมเพื่อให้มีสารสำคัญในปริมาณมาก และสามารถนำไปใช้ต่อยอดในการวิจัยต่อไปได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่องนี้สำเร็จลุล่วงได้ โดยได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตรมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ประจำปีงบประมาณ 2559 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสาขาวิชาวิทยาการสมุนไพร คณะผลิตกรรมเกษตรมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้ความอนุเคราะห์เรื่องสถานที่และอำนวยความสะดวกในด้านอุปกรณ์สารเคมี ตลอดการทดลอง จนทำให้งานทดลองสำเร็จอย่างสมบูรณ์

เอกสารอ้างอิง

จิรพันธ์ ศรีทองกุล. 2553. อิทธิพลความแก่ใบ ความเข้มแสง และอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารเอเชียติโคไซด์และคุณภาพบัวบก (*Centella asiatica* (L.) Urban.). วิทยานิพนธ์ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, กรุงเทพฯ. 99 หน้า.

น้องนุช เจริญกูล ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์ และ ดุษฎี อุตภาพ. 2545. การผลิตเจลปรับอากาศโดยใช้สารหอมที่สกัดได้จากใบเตยหอม. วารสารวิจัยและพัฒนา มจธ. 25(2): 185-201.

นิศานันท์ ตามกาล ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์ และ อรพิน เกิดชูชื่น. 2558. คุณสมบัติทางกายภาพและสารหอมระเหยของใบเตยหอม (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) สกัดด้วยน้ำ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 46(3)(พิเศษ): 145-148.

ประยงค์ ตันเล รภัสสา จันทาศรี เกรียงศักดิ์ ไพรวรรณ และ พนิดา อะริมัตทสึ. 2558. ผลของการพรางแสงต่อการเจริญเติบโตและปริมาณสารเอเชียติโคไซด์ของบัวบกสายพันธุ์สารคามก้านเขียว ในพื้นที่จังหวัดมหาสารคาม. วารสารเกษตรพระวรุณ 12(1): 9-16.

ภาวิณี อารีศรีสม นรินทร์ ท้าวแก่นจันทร์ เทิดศักดิ์ โทณลักษณ์ กอบลาภ อารีศรีสม และ รุ่งทิพย์ กาวารี. 2560. อิทธิพลของการพรางแสงต่อการเจริญเติบโตของเตยหอม. หน้า 8-16. *ใน*: รายงานการประชุมวิชาการประจำปี 2560. มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่.

รัตนา ม่วงรัตน์ จารุวรรณ จินดากุล และ วรณัฐ อินปันบุตร. 2560. การสกัดร่วมกับการกักเก็บสารหอม 2-Acetyl-1-Pyrroline จากใบเตยด้วยแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการเกิดเจลาติไนเซชันภายใต้สภาวะหม้อนึ่งอัดไอเพื่อใช้เคลือบข้าวขาวพิจิตร. วารสารเกษตร 33(2): 299-310.

วันดี กฤษณพันธุ์. 2538. สมุนไพรสารพัดประโยชน์. มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ. 164 หน้า.

สมพร ภูติยานันต์. 2551. สมุนไพรใกล้ตัว เล่ม 13. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 502 หน้า.

สมยศ เดชภิรัตนมงคล ธวัชชัย อุบลเกิด และ สมมารถ อยู่สุขยิ่งสถาพร. 2556. ผลของการพรางแสงที่มีต่อการเจริญเติบโต และผลผลิตของหญ้าปักกิ่ง. หน้า 409-416. *ใน*: เอกสารการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 51. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุทธกานต์ ใจกาวิล. 2546. ผลของการบังแสงและการจัดการน้ำต่อความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโพรลีนน้ำตาล คลอโรฟิลล์และสารหอม 2-อะเซติล-1-พิวโรลีนในข้าวขาวดอกมะลิ 105. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 99 หน้า.

สุนทรี สิงหบุตรา. 2536. สรรพคุณสมุนไพร 200 ชนิด. คุณ 39, กรุงเทพฯ. 260 หน้า.

AOAC. 1990. Official Methods of Analysis of AOAC. Association of Official Analytical Chemists, Arlington. 1289 p.

Brand, M.H. 1997. Shade influences plant growth, leaf color, and chlorophyll content of *Kalmia latifolia* L. cultivars. HortScience 32(2): 206-208.

Chen, S., Y. Yang, W. Shi, Q. Ji, F. He, Z. Zhang, Z. Cheng, X. Liu and M. Xua. 2008. Badh2, Encoding Betaine Aldehyde Dehydrogenase, Inhibits the Biosynthesis of 2-Acetyl-1-Pyrroline, a Major Component in Rice Fragrance. The Plant Cell 20: 1850-1861.

Collard, R.C., J.N. Joiner, C.A. Conover and D.B. McConnell. 1977. Influence of shade and fertilizer on light compensation point of *Ficus benjamina* L. Journal of the American Society for Horticultural Science 102(4): 447-449.

Gross, J. 1991. Pigments in Vegetables: Chlorophylls and Carotenoid. Van Nostrand Reinhold, New York. 351 p.

Laksanalamai, V. and S. Ilangantileke. 1993. Comparison of aroma compound (2-acetyl-1-pyrroline) in leaves from pandan (*Pandanus amaryllifolius)* and Thai fragrant rice (Khao Dawk Mali-105). Cereal Chemistry 70(4): 381-384.

Mo, Z., W. Li, S. Pan, T. L Fitzgerald, F. Xiao, Y. Tang, Y. Wang, M. Duan, H. Tian and X. Tang. 2015. Shading during the grain filling period increases 2-acetyl-1-pyrroline content in fragrant rice. Rice 8: 9.

Nadaf, A. and R. Zanan. 2012. Economical importance of Indian *Pandanus* species. pp. 127-137. *In*: A. Nadaf and R. Zanan (eds.). Indian Pandanaceae - An Overview. Springer, New Delhi.

Nadaf, A.B., K.V. Wakte and R.I. Zanan. 2014. 2-acetyl-1-pyrroline biosynthesis: from fragrance to a rare metabolic disease. Journal of Plant Science & Research 1(1): 1-7.

Nadaf, A.B., S. Krishnan and K.V. Wakte. 2006. Histochemical and biochemical analysis of major aroma compound (2-acetyl-1-pyrroline) in basmati and other scented rice (*Oryza sativa* L.). Current Science 91(11): 1533-1536.

Shahak, Y. 2000. Colored shade nets a new agro-technology current research in ornamental. (Online). Available: http://www.horticom.com/pd/imagenes/55/146/55146.pdf (February 4, 2017).

Wakte, K.V., A.B. Nadaf, S. Krishnan and R.J. Thengane. 2007. Studies on lower epidermal papillae, the site of storage of basmati rice aroma compounds in *Pandanus amaryllifolius* Roxb. Current Science 93(2): 238-242.