



2025 Vol. 18

May – August

ISSN: 2985-1521 (Online)

No.

2

Health Science, Science and Technology Reviews

Health Science, Science and Technology Reviews

วารสาร Health Science, Science and Technology Reviews เป็นสื่อกลางในการแลกเปลี่ยนและเผยแพร่องค์ความรู้ทางวิชาการ ทั้งทฤษฎี ปฏิบัติ และผลการศึกษาวិชาการที่ครอบคลุมหลากหลายสาขา ได้แก่

1. สาขาเกษตรศาสตร์และชีววิทยา
2. สาขาชีวเคมี ชีวพันธุศาสตร์ และอนุชีววิทยา
3. สาขาวิทยาศาสตร์สุขภาพ

บทความวิชาการที่เผยแพร่เป็นผลงานและการแสดงมุมมองของผู้เขียนและคณะผู้เขียนเท่านั้น ไม่อาจตีความหรืออ้างอิงว่าเป็นความเห็นอย่างเป็นทางการของมหาวิทยาลัยพะเยา

เจ้าของ

มหาวิทยาลัยพะเยา

ที่ปรึกษา

อธิการบดี มหาวิทยาลัยพะเยา

Prof. Dr. Jeffrey C. Miller

รองอธิการบดี ฝ่ายวิจัยและนวัตกรรม

Prof. Dr. Hirota Fujiki

ศ.นพ.วีระพล จันทร์ดีอิ่ง

Prof. Dr. Michael Burgett

ศ.ดร.สมนึก บุญเกิด

Prof. Dr. Young Joon Surh

ศ.ดร.อรัญญา มโนสร้อย

ผศ.ดร.วิบูลย์ วัฒนาธร

บรรณาธิการ

ศ.ดร.เสมอ ถาน้อย

รองบรรณาธิการ

รศ.ดร.มนัส ทิพย์วรรณ รศ.ดร.อัฉรารักษ์ ดวงใจ

กองบรรณาธิการ

ศ.เกียรติคุณ ดร.ไมตรี สุทนต์ (ข้าราชการบำนาญ) Prof. Dr. Lee Learn-Han (Sunway University)

ศ.ดร.เกตุ กรุดพันธ์ (มช.)

Prof. Dr. Ingrid Liu (TCU)

ศ.ดร.นพ.คม สุนทรธรรม (มช.)

Prof. Dr. Gavin Reynolds (SHU)

ศ.ดร.นพ.ฉัตรชัย เหมือนประสาธา (มม.)

รศ.ดร.ฉัตรมงคล สุวรรณภูมิ (มฟ.)

ศ.นพ.วชิร ฌาการ (มม.)

รศ.ดร.นิชาอุต๊ะห์ ระเด่นอาหมัด (ม.อ.)

ศ.ดร.นิสันต์ สัตยาชัย (ข้าราชการบำนาญ)

รศ.ดร.นิมิตร มรกต (มช.)

ศ.ดร.นิวัฒน์ มณีกาญจน์ (มช.)

รศ.ดร.ศักดิ์ดา จงแก้ววัฒนา (มช.)

ศ.ดร.ประเสริฐ โสภณ (มม.)

รศ.ดร.สมบุรณ์ อนันตลาโภชัย (ข้าราชการบำนาญ)

ศ.ดร.สายสมร ล้ายอง (มช.)

รศ.ดร.สิทธิชัย ปัญญาใส (มฟ.)

ศ.ดร.อานวย ถิฐาพันธ์ (มม.)

ผศ.ดร.เอกชัย ชูเกียรติโรจน์ (มฟล.)

เลขานุการ

น.ส.อัญชลี เทียมศิริ

ผู้ช่วยเลขานุการ

น.ส.รัชฎาภรณ์ แก้วสืบ

นางมนีกานต์ วังแสง

สำนักงานกองบรรณาธิการ

กองบริหารงานวิจัย มหาวิทยาลัยพะเยา

ตำบลแม่กา อำเภอเมือง จังหวัดพะเยา 56000

โทรศัพท์ 0 5446 6666 ต่อ 1048

E-mail : j.nu.phayao@gmail.com

ผู้ทรงคุณวุฒิทบทวนประจำฉบับ

รศ.ดร.ชัยรัตน์ เตชะภูมิพร (สจล.)

รศ.ดร.ธนเศรษฐ์ เสนาวงศ์ (มช.)

รศ.ดร.นนท์ทิพ ลัมเพียรชอบ (มน.)

รศ.ดร.พรสิริ พิจการ (มช.)

รศ.ดร.อรทัย เนียมสุวรรณ (ม.อ.)

รศ.ดร.อนุพันธ์ กงบังเกิด (มน.)

รศ.ดร.อินทิรา ลิขจันทร์พร (มทร.ธ.)

ผศ.ดร.ปิลันธนา ฐานพงษ์วรกุล (มช.)

ผศ.ดร.จุฬามาส คุ่มชัย (มช.)

ผศ.ดร.พจนีย์ แสงมณี (มรอ.)

ผศ.ดร.ภาวินี จันทร์วิจิตร (มฟ.)

ผศ.ดร.มยุรี กระจายกลาง (มน.)

ผศ.ดร.ไวพจน์ กันจู่ (มฟ.)

ผศ.ดร.สุพงษ์ ดำรงกิตติกุล (มก.กพส.)

ผศ.ดร.อภิชาติ ชิตบุรี (มทร.ล้านนา)

ผศ.ปณณภัสร์ ศิริธีราธิกุล (มฟ.)

ผศ.พรรณภัทร ปิยะนิรนาท (มบ.)

ผศ.สายจิต สุขหนู (มน.)

อ.ดร.พจนนททรัพย์ หล่าวเจริญ (มฟล.)

อ.ดร.พจ.ศิริพร พจน์พาณิชย์พงศ์ (วนม.)

บทความวิชาการทุกเรื่องได้ผ่านการประเมินจากผู้ทรงคุณวุฒิในสาขาวิชาที่เกี่ยวข้องจำนวนไม่น้อยกว่าสามท่าน

ความถี่ในการตีพิมพ์ ปีละ 3 ฉบับ

มกราคม - เมษายน

พฤษภาคม - สิงหาคม

กันยายน - ธันวาคม

สมาชิกวารสาร

1 ปี : 200 บาท

5 ปี : 800 บาท

สารบัญ	หน้า
บทบรรณาธิการ	1 - 2
เสมอ ถาน้อย	
บทความวิจัย	
Preliminary <i>in vitro</i> investigation of <i>Litsea petiolata</i> extracts for sustainable control of bacterial leaf blight in rice caused by <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	3 - 14
Jantaravipa Rattanaanan, Siriwan Soiklom, Chananya Chuaysrinule and Thanapoom Maneeboon	
Effect of biochar-amended soil substrates on the growth of chinese kale in an organic system	15 - 23
Chatprawee Dechjiraratthanasiri Kotchapan Khuansri Thanasit Wongsiriamnuay and Jiraporn Inthasan	
ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักด้วยสารสกัดเปลือกทับทิม	24 - 33
พงศ์นเรศ แจ้งพรมมา, ภัชรี พิมลรัมย์, รัชฎา ประภาสวัต และ กานต์ชนก สุขบท	
Effects of medium components on <i>in vitro</i> multiplication efficiency of Siam tulip	34 - 46
Nanthatchaphon Kaeothom, Nutchanan Duangkon and Sukalya Poothong	
ผลของการให้แคลเซียมแลคเตทและแคลเซียมคลอไรด์ก่อนการเก็บเกี่ยวต่อการเจริญเติบโต ผลผลิตและคุณภาพก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวของต้นอ่อนทานตะวัน	47 - 61
เปรมหทัย เชื้อนวัง, ยศวัฒน์ คำสมุทร, วิชุดา พิมพ์ตะยาน, บุญร่วม คิตคำ และ วาสนา พิทักษ์พล	
ประสิทธิผลการใช้สไลม์พอกเข้าเพื่อบรรเทาอาการปวดเข้าในผู้ป่วยโรคเข้าเสื่อมที่คลินิกแพทย์แผนไทย โรงพยาบาลพระอาจารย์มั่น ภูริทัตโต จังหวัดสกลนคร	62 - 72
นิสา อินทะเสย์, ภาณุชา พงศ์นราทร, จุฑาทิพย์ ศิริศิลป์, อนรรฆอร จิตต์เจริญธรรม และ เพ็ญศิริ จันทรแอ	
บทความปริทัศน์	
ศาสตร์ของทุยหนา : อดีตสู่ปัจจุบัน	73-86
ธีรา อารีย์, ถนอมวงศ์ กฤษณ์เพ็ชร และ เบญจ บัณฑิตกันภัย	
คำแนะนำสำหรับผู้พิมพ์	I - VII

Table of Contents	page
Editorial	1 - 2
Samur Thanoi	
Research Article	
Preliminary <i>in vitro</i> investigation of <i>Litsea petiolata</i> extracts for sustainable control of bacterial leaf blight in rice caused by <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	3 - 14
Jantaravipa Rattanaanan, Siriwan Soiklom, Chananya Chuaysrinule and Thanapoom Maneeboon	
Effect of biochar-amended soil substrates on the growth of chinese kale in an organic system	15 - 23
Chatprawee Dechjiraratthanasiri, Kotchapan Khuansri, Thanasit Wongsiriamnuay and Jiraporn Inthasan	
Antiproliferative activity of pomegranate peel extracts against colorectal cancer cells	24 - 33
Pongnared Jaengpromma, Phatcharee Pimalram, Ratsada Praphasawat and Kamchanok Sukhabot	
Effects of medium components on <i>in vitro</i> multiplication efficiency of Siam tulip	34 - 46
Nanthatchaphon Kaeothom, Nuchanan Duangkon and Sukalya Poothong	
Effects of preharvest applications of calcium lactate and calcium chloride on the growth, yield and postharvest quality of sunflower microgreens	47 - 61
Premhathai Khueanwang, Yodsawat Kamsamut, Wisuda Pimtayan, Bunruam Khitka and Wasna Pithakpol	
Effect of a slime knee poultice on knee pain relief in osteoarthritis patients attending the Thai Traditional Medicine Clinic at Phra Ajarn Mun Bhuridatto Hospital, Sakon Nakhon Province	62 - 72
Sunisa Intase, Panicha Pongnaratorn, Juthathip Sirisin, Anunkaorn Jitcharoentham and Pensiri Chan-ae	
Review Article	
The art and sciences of Tuina: From past to present	73 - 86
Teera Aree, Thananomwong Kritpet and Ben Pongkanpai	
Instruction for author	I - VII

บทบรรณาธิการ

วารสาร Health Science, Science and Technology Reviews ปีที่ 18 ฉบับที่ 2 (2568) ได้รวบรวมบทความจำนวน 7 บทความ ประกอบด้วยบทความวิจัย จำนวน 6 บทความ และบทความปริทัศน์ จำนวน 1 บทความ

บทความในฉบับนี้ได้รับการประเมินคุณภาพโดยผู้ทรงคุณวุฒิผู้เชี่ยวชาญในสาขาที่เกี่ยวข้อง ตามกระบวนการของวารสารอย่างครบถ้วนสมบูรณ์ จึงมั่นใจได้ว่าองค์ความรู้และข้อมูลจากผลงานวิจัยเหล่านี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์หรือต่อยอดทางวิชาการได้อย่างมีประสิทธิภาพ อีกทั้งยังมีส่วนช่วยในการสร้างองค์ความรู้ใหม่ต่อไป

ศาสตราจารย์ ดร.เสมอ ถาน้อย

บรรณาธิการ

Editorial

Health Science, Science and Technology Reviews, Vol. 18, No. 2 (2025), presents a total of 7 articles, comprising 6 research articles and 1 review article.

All articles in this issue have undergone rigorous quality assessment by experts in the relevant fields, in full accordance with the journal's review process. Therefore, it can be assured that the knowledge and findings presented in these works can be effectively applied, extended for further academic advancement, and contribute to the creation of new knowledge.

Professor Dr.Samur Thanoi

Editor

Research Article

Preliminary *in vitro* investigation of *Litsea petiolata* extracts for sustainable control of bacterial leaf blight in rice caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

Jantaravipa Rattanaanan¹, Siriwan Soiklom¹, Chananya Chuaysrinule¹ and Thanapoom Maneeboon^{1*}

¹ Scientific Equipment and Research Division, Kasetsart University Research and Development Institute (KURDI), Kasetsart University, Bangkok Province 10900, Thailand

* Correspondence author, E-mail: thanapoom.m@ku.th

Health Science, Science and Technology Reviews. 2025;18(2):3-14.

Received: 28 December 2024; Revised: 22 May 2025; Accepted: 14 August 2025

Abstract

Litsea petiolata, locally called Tham Mung, is widely distributed across tropical and subtropical regions of Asia, and North and South America. This plant is notable for its ecological significance and cultural relevance. Renowned for its rich secondary metabolites, especially phenolic compounds, *L. petiolata* has been studied for its medicinal and antimicrobial properties. This study investigates the phenolic content and antibacterial activity of ethanol and hexane extracts from the leaves and stems of *L. petiolata*, specifically targeting *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo), the bacterium responsible for bacterial leaf blight in rice. High-performance liquid chromatography identified key phenolic compounds, including vanillic acid in the leaves and 4-hydroxybenzoic acid in the stems. The antibacterial efficacy of these extracts was evaluated using clear zone assays, minimum inhibitory concentration, and minimum bactericidal concentration testing. The results indicated that the ethanol extract from the leaves exhibited the most potent antibacterial activity, significantly inhibiting the growth of Xoo. These findings suggest that *L. petiolata* holds considerable potential as a source of natural antibacterial agents, offering an environmentally sustainable alternative to chemical treatments for managing bacterial diseases of rice.

Keywords: *Litsea petiolata*, Bacterial leaf blight disease, Antibacterial activity, Plant extract, Biological control

Introduction

Litsea petiolata, known locally in Thailand as "Tham Mung," is a species of the Lauraceae family valued for its medicinal and culinary uses. In Southern Thailand, the young leaves are traditionally consumed as a vegetable, highlighting their role in both diet and culture [1]. Beyond its dietary role, *L. petiolata* is rich in secondary metabolites, including phenolic compounds known for their antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities [2].

Several species of the *Litsea* genus have demonstrated significant antimicrobial properties. For example, *L. cubeba* essential oils exhibit broad-spectrum antibacterial activity, particularly against Gram-positive pathogens, due to their high terpenoid and phenolic content [3]. Similarly, *L. glutinosa* extracts have been reported to effectively inhibit bacterial growth, with phenolics and flavonoids as major contributors to their bioactivity [4].

Bacterial leaf blight (BLB), caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo), is a devastating disease that affects rice crops worldwide, leading to significant yield losses [5]. The development of effective, sustainable management strategies for this pathogen is a critical priority for agriculture. Natural plant-derived compounds, such as phenolics, have emerged as promising eco-friendly alternatives to synthetic antimicrobial agents due to their bioactivity and lower environmental impact [6].

Despite its known bioactivity, the phenolic composition and antibacterial potential of *L. petiolata* against Xoo remain unexplored. This study uses solvents with varying polarities to examine the phenolic composition and antibacterial properties of *L. petiolata* extracts obtained from different plant parts (leaves and stems). By identifying key phenolic compounds and assessing their effects on Xoo we aim to establish *L. petiolata* as a natural antibacterial agent and contribute to sustainable agricultural disease management solutions.

Materials and methods

Plant material

Fresh leaves and stems of *L. petiolata* were collected from Na Bon District, Nakhon Si Thammarat Province, Thailand (latitude 8°15'58.9"N, longitude 99°32'19.5"E) (Figure 1). The plant materials were separated, thoroughly washed under running tap water, and dried in a hot air oven at a temperature not exceeding 50 °C. The dried materials were ground into a fine powder for further analysis.



Figure 1. *Litsea petiolata* used in this study.

Extraction of samples

Twenty grams of the powdered plant material were macerated in a stoppered 250 mL Erlenmeyer flask containing 100 mL of either absolute ethanol or hexane. The mixture was left at room temperature for 72 h with frequent agitation. The extract was filtered using Whatman No.1 filter paper, and the solvent was removed using a rotary evaporator. Residual solvent traces were eliminated by storing the extract in a vacuum desiccator. The dried extract was weighed to calculate the yield and stored for further experiments.

Determination of phenolic compounds

Preparation of standard solutions and samples

Standard powders of gallic acid, 4-hydroxybenzoic acid, catechin, vanillic acid, caffeic acid, syringic acid, *p*-coumaric acid, ferulic acid, rutin, and quercetin were procured from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). A mixed standard solution was prepared in methanol and diluted to achieve final concentrations ranging from 0.625–10 µg/mL. For the extracts, 20 mg of each dried residue was dissolved in methanol, filtered through a 0.45 µm nylon membrane, and analyzed in triplicate using HPLC. The results were expressed as milligrams per 100 g dry weight (mg/100 g DW).

Chromatographic conditions

HPLC analysis of phenolic compounds was conducted using a Shimadzu HPLC system (Kyoto, Japan) with quaternary pumps (10ATVP), an online degasser (DGU-14A), and a UV-Vis detector (SPD-10AV). Separation was achieved on an Inertsil ODS-3 C18 column (250 mm × 4.6 mm, 5 µm) coupled with a Supelguard™ C18 pre-column. The mobile phase consisted of acetonitrile (solvent A) and 0.5% (v/v) formic acid in water (solvent B). The gradient elution program was started with 5% solvent A (0–2 min), gradually

increased to 15% (2–10 min), held at 15% (10–15 min), then raised to 23% (15–20 min) and maintained (20–30 min). It increased to 60% (30–35 min), held (35–40 min), and returned to 5% (40–50 min) for re-equilibration. The flow rate was set to 1 mL/min, and detection was performed at 280 nm. The column temperature was maintained at 35 °C, and the injection volume was 20 µL.

Determination of antibacterial activity

Bacterial strain

Xoo was obtained from the Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom, Thailand. The culture was maintained on nutrient agar (NA) at 4 °C with periodic sub-culturing. A bacterial suspension was cultured on tryptone soy agar (TSA) at 37 °C for 24 h, standardized to McFarland No. 0.5 (1.5×10^8 CFU/mL) [7], and used as inoculum for all experiments.

Agar well diffusion assay

Mueller Hinton agar (MHA) plates were inoculated with the bacterial suspension. Wells (0.8 mm diameter) were prepared using a sterile cork borer. Each well was filled with 50 µL of plant extract dissolved in 10% (v/v) dimethyl sulfoxide (DMSO) at 100 mg/mL. A 10% (v/v) DMSO solution served as the negative control. Plates were incubated at 37 °C for 24 h, and the inhibition zones were measured in millimeters. The antimicrobial index was calculated using the formula:

$$\text{The antimicrobial index} = (D_b - D_a)/D_a$$

Where D_b is the inhibition zone diameter, and D_a is the well diameter without any antimicrobial agent.

Determination of minimum inhibitory concentration (MIC)

The MIC was determined via broth microdilution with resazurin as an indicator [8]. Serial two-fold dilutions of the extracts (0.05–100 mg/mL) were prepared in 96-well microtiter plates containing MHA. Each well received 100 µL of bacterial suspension. Plates were incubated at 37 °C for 24 h, followed by the addition of 30 µL of 0.01% (w/v) resazurin. The color changed from blue to pink indicated bacterial growth. The MIC is defined as the lowest concentration of the extract at which no color change occurs.

Determination of minimum bactericidal concentration (MBC)

From wells showing no growth during the MIC assay, 10 µL was streaked onto NA plates and incubated at 37 °C for 24 h. The MBC is defined as the lowest concentration of extract that yielded no bacterial colonies.

Statistical analysis

All analyses were conducted in triplicate, and the results are presented as the mean $\pm$ standard deviation. The one-way analysis of variance (ANOVA) was performed to assess statistical differences between the means, followed by Tukey's HSD post hoc test. The significance level of $p \leq 0.05$ was considered statistically significant. All statistical analyses were carried out using Minitab 22.1 software (Systat Software, Inc., Chicago, IL, USA).

Results and discussion

Extraction yield

The extraction yield varied depending on both the solvent and the plant part. Ethanol, a polar solvent, produced significantly higher yields than hexane. The highest yield ($10.41 \pm 0.82\%$) was obtained from the ethanolic leaf extract, followed by the stem extract ($2.19 \pm 0.50\%$). In contrast, hexane yielded $3.60 \pm 0.57\%$ from the leaf and $0.88 \pm 0.21\%$ from the stem. These results are consistent with previous studies indicating that solvent polarity substantially influences extraction efficiency [9]. Polar solvents such as ethanol generally extract a higher quantity of bioactive compounds than non-polar solvents like hexane, likely due to the predominance of hydrophilic phytochemicals containing electronegative functional groups that enhance solubility in polar solvent [10].

Phenolic composition of *L. petiolata* extracts

The phenolic content of *L. petiolata* extracts varied significantly depending on the plant part and the extraction solvent used (Table 1). The ethanolic extract of leaves exhibited notably higher concentrations of total phenolic compounds compared to hexane extracts. HPLC chromatograms highlighting distinct phenolic profiles for each extract are shown in Figure 2.

Table 1 Phenolic content (mg/100 g DW) in crude extracts of *L. petiolata*

Peak	Phenolic compound	Rt (min)	Leaf		Stem	
			Ethanol	Hexane	Ethanol	Hexane
1	Gallic acid	9.50	ND	ND	ND	ND
2	4-Hydroxybenzoic acid	18.69	ND	ND	15.52 ± 1.95	ND
3	Catechin	19.37	6.07 ± 0.76^a	0.04 ± 0.01^b	0.24 ± 0.05^b	ND
4	Vanillic acid	21.80	153.34 ± 26.20^a	0.10 ± 0.02^b	ND	ND
5	Caffeic acid	22.28	18.34 ± 2.85^a	0.02 ± 0.01^b	2.25 ± 0.39^b	ND
6	Syringic acid	23.18	16.76 ± 2.64^a	ND	2.03 ± 0.35^b	ND
7	<i>p</i> -Coumaric acid	27.52	ND	ND	ND	ND
8	Ferulic acid	31.07	ND	0.09 ± 0.02^a	ND	0.02 ± 0.01^b
9	Rutin	33.85	8.67 ± 1.80^a	ND	2.18 ± 0.26^b	ND
10	Quercetin	38.70	ND	3.85 ± 0.21^a	ND	0.65 ± 0.11^b

ND= Not detected

Data are the means of three replicates $\pm$ standard deviation. Different letters in the same row indicate significant differences (Turkey's test $p \leq 0.05$).

Among the quantified phenolic compounds, vanillic acid was the most abundant in the ethanolic extract of leaves (153.34 ± 26.20 mg/100 g DW), followed by caffeic acid and syringic acid. In contrast, the hexane extracts exhibited lower total phenolic content, consistent with their limited ability to dissolve polar molecules. Notably, hexane leaf extracts contained detectable levels of lipophilic phenolic compounds such

as quercetin (3.85 ± 0.21 mg/100 g DW) and small amounts (≤ 0.1 mg/100 g DW) of catechin, vanillic acid, caffeic acid, and ferulic acid.

Stem extracts also displayed distinct phenolic profiles. Ethanolic stem extracts were dominated by 4-hydroxybenzoic acid (15.52 ± 1.95 mg/100 g DW), while compounds like caffeic acid, syringic acid, and rutin were present in lower concentrations compared to the leaf extracts. For hexane stem extracts, quercetin was the main phenolic compound (0.65 ± 0.11 mg/100 g DW), with ferulic acid detected in trace amounts (< 0.1 mg/100 g DW). In the present study, certain compounds such as gallic acid, and *p*-coumaric acid were not detected in all extracts of *L. petiolata*, which highlights its unique phenolic composition.

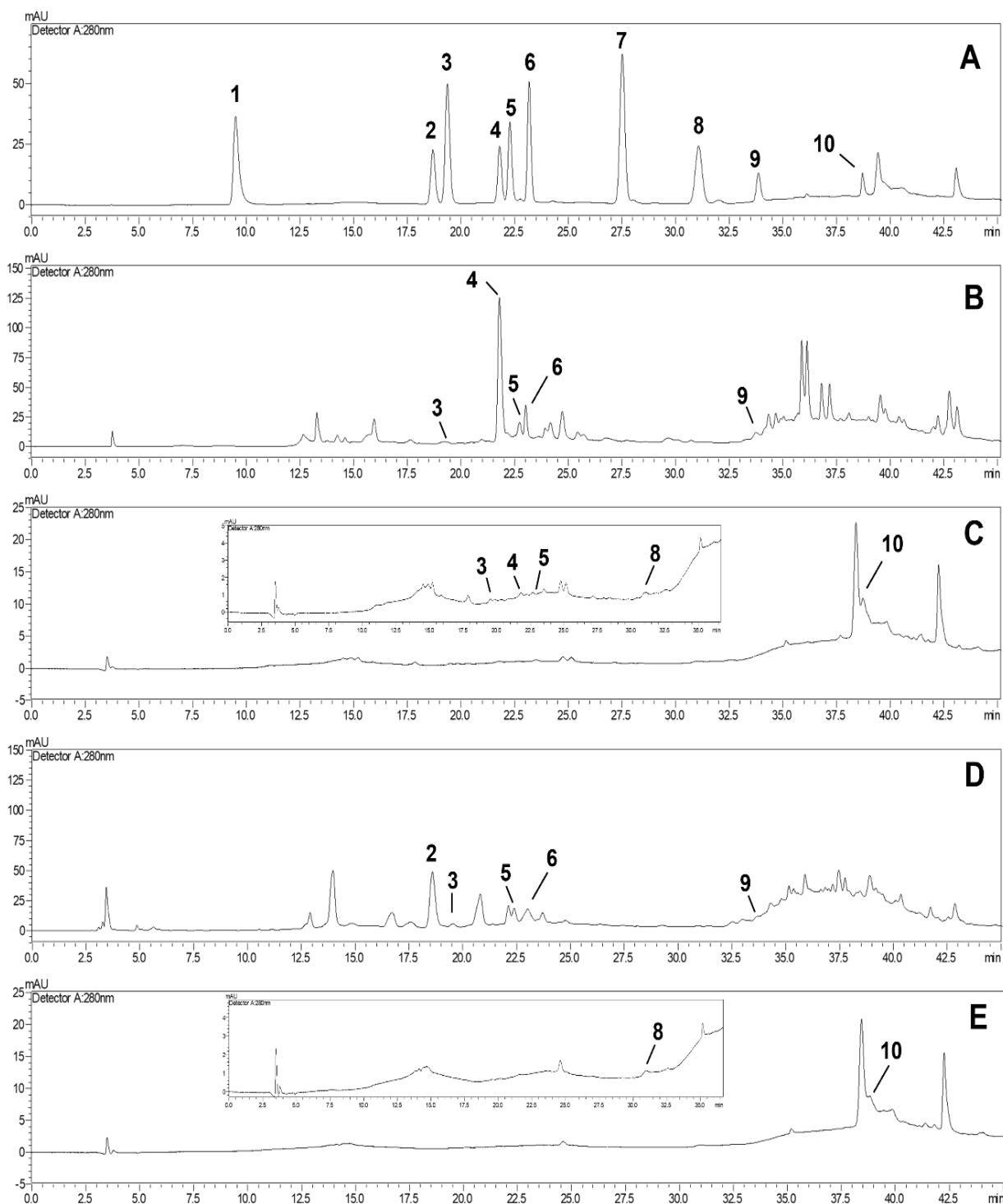


Figure 2. HPLC chromatogram of phenolic compounds detected at 280 nm in *L. petiolata* crude extracts. (A) Mixture of solvent standards (10 µg/mL each), (B) leaves extracted with ethanol, (C) leaves extracted with hexane, (D) stems extracted with ethanol, and (E) stems extracted with hexane. Peaks: (1) gallic acid, (2) 4-hydroxybenzoic acid, (3) catechin, (4) vanillic acid, (5) caffeic acid, (6) syringic acid, (7) *p*-coumaric acid, (8) ferulic acid, (9) rutin, and (10) quercetin.

This study differs from the findings reported by Sangsila et al. [11], who identified the main components in leaf extracts of *L. petiolata* collected from Chanthaburi Province (Eastern Thailand) as (+)-catechin hydrate (555–839 mg/100 g DW), followed by chlorogenic acid (105–169 mg/100 g DW), *p*-coumaric acid (64–105 mg/100 g DW), and gallic acid (29–51 mg/100 g DW). In contrast, this study found vanillic acid to be the major component in ethanolic leaf extracts of *L. petiolata* collected from Nakhon Si Thammarat Province (Southern Thailand). The observed differences in phenolic composition may be attributed to environmental factors, geographical variations, and the timing of sample collection, all of which significantly influence secondary metabolite production. For example, a study on green tea (*Camellia sinensis*) has demonstrated that the growing season highly influences its antioxidant properties and the levels of total phenolics and flavonoids [12].

Our findings align with previous research on other plant species. For instance, studies on bilberry (*Vaccinium myrtillus*) have also revealed that the leaves contain a richer profile of polyphenolic compounds compared to the stems. These compounds, which include flavonoids and phenolic acids, contribute to the plant's antioxidant properties, with the leaves showing the highest concentrations [13].

The difference in the content of phenolic compounds across different plant parts has been reported [14, 15]. Leaves, as the primary site of photosynthesis and secondary metabolite production, often accumulate higher concentrations of phenolic compounds [16]. For instance, phenolics like vanillic acid demonstrate potent antioxidant and antimicrobial properties, highlighting the superior bioactivity potential of ethanolic leaf extracts. These compounds are vital to plant defense, providing protection against UV radiation, herbivory, and microbial attacks [17]. Conversely, stem phenolics, such as 4-hydroxybenzoic acid, are integral to structural integrity. Their role in lignin biosynthesis strengthens the stem, providing resistance to mechanical stress and pathogens, further emphasizing the functional specialization of phenolic distribution in plants [18].

Our study confirms that the type of solvent significantly influences the solubility of phenolic compounds during the extraction process. Solvent polarity plays a critical role in enhancing phenolic solubility. The findings of this study align with the report by Wulandari et al. [19], which revealed that the highest total phenolic content was observed in ethanol extracts of the leaf, bark, and branch of *L. garciae*, ranging from 90–100 µg gallic acid equivalents/mg extract (µg GAE/mg). In contrast, extraction using hexane yielded a lower total phenolic content, ranging between 30–40 µg GAE/mg.

Antibacterial activity against *Xoo*

The antibacterial activity of *L. petiolata* extracts (100 mg crude extract/mL) was assessed using the agar well diffusion method, and the results revealed variation between extracts (Table 2). Ethanolic leaf extracts demonstrated the highest antibacterial activity, with a clear zone diameter of 22.45 ± 0.49 mm and an antimicrobial index of 36.42 ± 0.82 . This performance was significantly superior to that of the ethanolic stem extracts (19.75 ± 0.35 mm clear zone diameter), suggesting that the phenolic-rich leaf extracts are more effective in inhibiting the growth of *Xoo* (Figure 3). This is in agreement with the findings of Hai et al. [20], who demonstrated that 70% ethanol extracts from *Clerodendrum fragrans*, *Excoecaria cochinchinensis*, and *Caesalpinia sappan* L. exhibited significant antibacterial effects against *Xoo*, with inhibition zones of 28.50 mm, 21.00 mm, and 25.70 mm, respectively.

Table 2 Efficiency of crude extracts from *L. petiolata* in inhibiting the growth of *Xoo*.

Test	Leaf		Stem	
	Ethanol	Hexane	Ethanol	Hexane
Clear zone diameter (mm)	22.45 ± 0.49^a	14.38 ± 0.88^{bc}	19.75 ± 0.35^{ab}	11.50 ± 4.95^c
Antimicrobial index	36.42 ± 0.82^a	22.96 ± 1.48^{bc}	31.92 ± 0.59^{ab}	18.17 ± 8.25^c

* Extract concentration: 100 mg/mL

** Data are the means of three replicates $\pm$ standard deviation. Different letters in the same row indicate significant differences (Turkey's test $p \leq 0.05$).

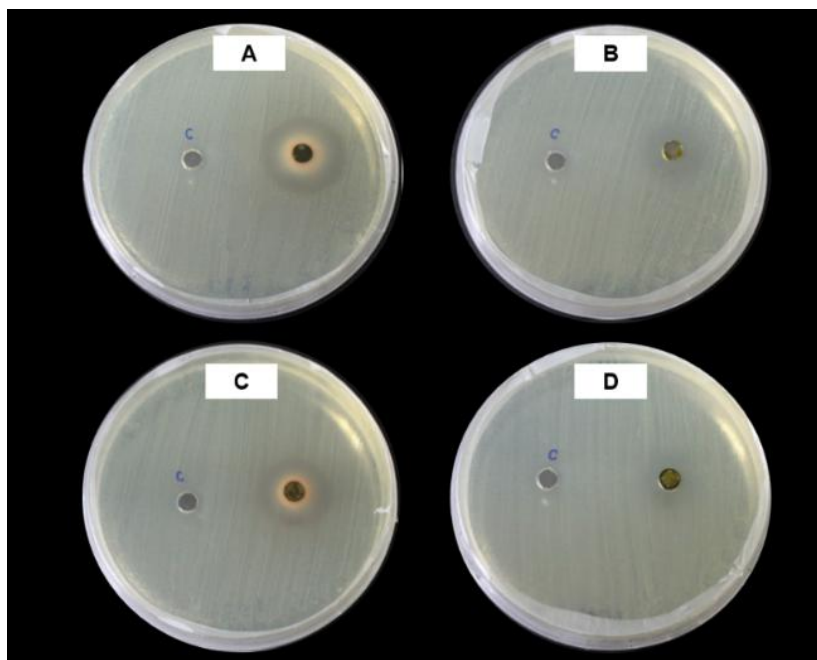


Figure 3. Antibacterial efficiency of crude extracts from *L. petiolata* against *Xoo*; crude extracts from leaves extracted with (A) ethanol and (B) hexane; crude extracts from stems extracted with (C) ethanol and (D) hexane.

In this study, hexane extracts exhibited measurable antibacterial activity despite their lower phenolic content. Hexane leaf extracts showed a clear zone diameter of 14.38 ± 0.88 mm, while the stem extracts demonstrated lower activity with a zone of 11.50 ± 4.95 mm. These findings suggest the presence of non-polar bioactive compounds, such as terpenoids and sterols, which are likely extracted by hexane and contribute to the observed antibacterial effects [21].

The MIC and MBC assays provided further insights into the potency of the extracts (Table 3). Ethanolic leaf extracts exhibited the lowest MIC (937.5 $\mu\text{g/mL}$) and MBC (1,250 $\mu\text{g/mL}$), underscoring their strong bacteriostatic and bactericidal effects. Ethanolic stem extracts required higher concentrations for similar effects, with an MIC of 2,500 $\mu\text{g/mL}$ and MBC of 3,750 $\mu\text{g/mL}$. Hexane extracts consistently exhibited weaker antibacterial activity, with the highest MIC (15,000 $\mu\text{g/mL}$) and MBC (20,000 $\mu\text{g/mL}$) observed for the stem-derived hexane extract.

Table 3 Average minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of crude extracts from *L. petiolata* against *Xoo*.

Test	Leaf		Stem	
	Ethanol	Hexane	Ethanol	Hexane
MIC ($\mu\text{g/mL}$)	937.5	2,500	2,500	15,000
MBC ($\mu\text{g/mL}$)	1,250	2,500	3,750	20,000

The phenolic composition of *L. petiolata* extracts, particularly those obtained using ethanol, was found to be rich in compounds such as vanillic acid, caffeic acid, syringic acid, and 4-hydroxybenzoic acid. This profile aligns with reports on other members of the *Litsea* genus, such as *L. cubeba* [22, 23] and *L. glutinosa* [24, 25], both of which have demonstrated strong antimicrobial activities linked to their phenolic content. However, *L. petiolata* stands out due to its distinct phenolic profile and higher concentration of specific compounds like vanillic acid, which might explain its notable antibacterial activity against *Xoo*.

Vanillic acid exerts its antibacterial effects by disrupting bacterial enzymatic systems, impairing the function of vital enzymes and interfering with the overall metabolic activity of the bacteria [26]. Similarly, 4-hydroxybenzoic acid damages bacterial cell membranes, compromising their integrity and leading to leakage of cellular contents, ultimately causing bacterial cell death [27]. The antibacterial mechanisms of other phenolic compounds, such as quercetin, syringic acid, and caffeic acid, typically involve their ability to disrupt bacterial cell structures and inhibit key metabolic processes, such as protein synthesis and DNA replication, thereby preventing bacterial growth and proliferation [28].

The findings from our study suggest that the presence of antibacterial activity in hexane extracts highlights the potential role of non-polar compounds in *L. petiolata*. These compounds may act synergistically with residual phenolic compounds to amplify the antimicrobial effect [29]. The ability of hexane extracts to inhibit bacterial growth suggests that *L. petiolata* contains a broad spectrum of bioactive compounds, both polar and non-polar, that contribute to its antibacterial potential [30]. Ethanolic extracts, being rich in polar

phenolics, demonstrated the strongest antibacterial effects, while hexane extracts provided insights into the contributions of non-polar bioactive compounds. The complementary nature of these extracts highlights the potential of *L. petiolata* as a natural antibacterial agent.

The study faces two primary limitations. Firstly, the scope of sample collection is constrained to a single geographical location and a specific season, potentially failing to represent the variability in phenolic profiles of *L. petiolata* across different regions and climates. Environmental factors, such as soil composition, temperature, and sunlight exposure, are known to influence phytochemical composition, and their variability is not captured in this study. Secondly, unidentified peaks in the HPLC chromatograms highlight challenges associated with the complexity and diversity of phytochemicals in plant extracts. The lack of available reference standards for many compounds restricts comprehensive characterization. To address this, the study recommends using advanced analytical methods, such as HPLC coupled with mass spectrometry (e.g., HPLC-MS or HPLC-MS/MS), to aid in structural elucidation and improve the identification of unknown compounds. This approach would enhance the reliability and scope of phytochemical profiling.

Conclusions

This study demonstrates the potential of *L. petiolata* extracts, particularly ethanolic extracts, as effective antibacterial agents against *Xoo*. The interplay of phenolic and non-phenolic compounds highlights the importance of solvent selection in maximizing bioactivity. The complementary activity of non-phenolic compounds in hexane extracts underscores the need for further research into the full spectrum of bioactive compounds in these extracts. Furthermore, to advance these promising *in vitro* results toward practical application, greenhouse trials are necessary to evaluate the efficacy of *L. petiolata* extracts against *Xoo* under conditions that more closely mimic natural environments. Such studies will help establish optimal application strategies, effective dosage ranges, and assess potential phytotoxicity on host plants. Overall, *L. petiolata* has the potential to serve as a valuable natural resource for the management of plant pathogenic bacteria, providing an environmentally friendly alternative to conventional synthetic antimicrobial agents.

Acknowledgments

This research was funded by the Kasetsart University Research and Development Institute (KURDI), Kasetsart University, Thailand. We thank Mr. Wuttisak Siripong for his assistance with plant collection and Assist. Prof. Dr. Sujin Patarapuwadol for providing the bacterial strain. We also acknowledge Dr. Udomlak Sukatta for supplying the phenolic compound standards. Finally, we extend our gratitude to Dr. Valerie Suwanseree for proofreading the manuscript.

References

- [1] Mahattanatawee K, Luanphaisarnnont T, Rouseff R. Comparison of aroma character impact volatiles of Thummong leaves (*Litsea petiolata* Hook. f.), Mangdana water beetle (*Lethocerus indicus*), and a commercial product as flavoring agents in Thai traditional cooking. *J Agric Food Chem*. 2018;66(10):2480-4.
- [2] Goh MP, Samsul RN, Mohaimin AW, Goh HP, Zaini NH, Kifli N, et al. The analgesic potential of *Litsea* species: A systematic review. *Molecules*. 2024;29(9):2079.
- [3] Wang L, Hu W, Deng J, Liu X, Zhou J, Li X. Antibacterial activity of *Litsea cubeba* essential oil and its mechanism against *Botrytis cinerea*. *RSC Adv*. 2019;9(50):28987-95.
- [4] Atiar RM, Anjum N, Khalid JRM, Saha S, Ibne DJ, Uddin M, et al. Pyrazoles containing organic extracts of *Litsea glutinosa* (Lour.) C. B. Rob enervate chemical-induced diarrhea in animal models evident in ligand-receptor interaction. *Arab J Chem*. 2023;16(8):104910.
- [5] Vishakha K, Das S, Das SK, Banerjee S, Ganguli A. Antibacterial, anti-biofilm, and anti-virulence potential of tea tree oil against leaf blight pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* instigates disease suppression. *Braz J Microbiol*. 2022;53(1):19-32.
- [6] Li S, Jiang S, Jia W, Guo T, Wang F, Li J, et al. Natural antimicrobials from plants: Recent advances and future prospects. *Food Chem*. 2024;432:137231.
- [7] Ben FL, Romeo FV, Foti P, Russo N, Randazzo CL, Caggia C, et al. Multi-functional potential of lactic acid bacteria strains and antimicrobial effects in minimally processed pomegranate (*Punica granatum* L. cv Jolly Red) arils. *Microorganisms*. 2022;10(10):1876.
- [8] Sarker SD, Nahar L, Kumarasamy Y. Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial screening of phytochemicals. *Methods*. 2007;42(4):321-4.
- [9] Tourabi M, Metouekel A, ghouizi AEL, Jeddi M, Nouioura G, Laaroussi H, et al. Efficacy of various extracting solvents on phytochemical composition, and biological properties of *Mentha longifolia* L. leaf extracts. *Scientific Reports*. 2023;13(1):18028.
- [10] Abbas A, Naqvi SAR, Rasool MH, Noureen A, Mubarik MS, Tareen RB. Phytochemical analysis, antioxidant and antimicrobial screening of *Seriphidium oliverianum* plant extracts. *Dose-Response*. 2021;19(1):15593258211004739.
- [11] Sangsila A, Chumroenphat T, Jorjong S. Effects of drying methods on active odorants, phytochemicals and antioxidant properties of *Litsea petiolata* Hook. f. leaves locally used as a substitute to male giant water bugs in pungent chili pastes. *Int J Agric Technol*. 2021;17(4):1577-90.
- [12] Paiva L, Lima E, Motta M, Marcone M, Baptista J. Influence of seasonal and yearly variation on phenolic profiles, caffeine, and antioxidant activities of green tea (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) from Azores. *App Sci*. 2021;11(16):7439.
- [13] Faleva AV, Ulyanovskii NV, Onuchina AA, Kosyakov DS. Polyphenolic antioxidants in bilberry stems and leaves: A non-targeted analysis by two-dimensional NMR spectroscopy and liquid chromatography–high-resolution mass spectrometry. *Antioxidants*. 2024;13(11):1409.
- [14] Ha TTP, Tran TBN, Tram TNN, Kha VH. Total phenolic, total flavonoid contents and antioxidant potential of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Vietnam. *AIMS Agric Food*. 2020;5(4):635-48.

- [15] Nakurte I, Berga M, Mežaka I. Phytochemical diversity comparison in leaves and roots of wild and micropropagated Latvian sea holly (*Eryngium maritimum* L.). *Molecules*. 2023;28(9):3924.
- [16] Isah T. Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. *Biol Res*. 2019;52(39).
- [17] Kuljarusnont S, Iwakami S, Iwashina T, Tungmunnithum D. Flavonoids and other phenolic compounds for physiological roles, plant species delimitation, and medical benefits: A promising view. *Molecules*. 2024;29(22):5351.
- [18] Mutuku JM, Cui S, Hori C, Takeda Y, Tobimatsu Y, Nakabayashi R, et al. The structural integrity of lignin is crucial for resistance against *Striga hermonthica* parasitism in rice. *Plant Physiol*. 2019;179(4):1796-809.
- [19] Wulandari I, Kusuma IW, Kuspradini H. Antioxidant and antibacterial activity of *Litsea garciae*. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*. 2018;144(1):012024.
- [20] Hai TN, Trang HD, Ha TNT. Herbal extracts in combination with nanosilver inhibit blight disease caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice. *VJAS*. 2018;1(4): 270-80.
- [21] Kurç AM, Orak HH, Gülen D, Caliskan H, Argon M, Sabudak T. Antimicrobial and antioxidant efficacy of the lipophilic extract of *Cirsium vulgare*. *Molecules*. 2023;28(20):7177.
- [22] Hu W, Li C, Dai J, Cui H, Lin L. Antibacterial activity and mechanism of *Litsea cubeba* essential oil against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Ind Crops Prod*. 2019;130:34-41.
- [23] Bai X, Chen T, Liu X, Liu Z, Ma R, Su R, et al. Antibacterial activity and possible mechanism of *Litsea cubeba* essential oil against *Shigella sonnei* and its application in lettuce. *Foodborne Pathog Dis*. 2023;20(4):138-48.
- [24] López-Romero JC, González-Ríos H, Peña-Ramos A, Velazquez C, Navarro M, Robles-Zepeda R, et al. Seasonal effect on the biological activities of *Litsea glaucescens* Kunth extracts. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2018;2018(1):2738489.
- [25] Kuspradini H, Wulandari I, Putri AS, Tiya SY, Kusuma IW. Phytochemical, antioxidant and antimicrobial properties of *Litsea angulata* extracts. *F1000Res*. 2018;22(7):1839.
- [26] Maisch NA, Bereswill S, Heimesaat MM. Antibacterial effects of vanilla ingredients provide novel treatment options for infections with multidrug-resistant bacteria – A recent literature review. *Eur J Microbiol Immunol*. 2022;12(3):53-62.
- [27] Yujia L, Shi C, Zhang G, Zhan H, Liu B, Li C, et al. Antimicrobial mechanism of 4-hydroxyphenylacetic acid on *Listeria monocytogenes* membrane and virulence. *Biochem Biophys Res Commun*. 2021;572:145-50.
- [28] Ecevit K, Barros AA, Silva JM, Reis RL. Preventing microbial infections with natural phenolic compounds. *Future Pharmacol*. 2022;2(4):460-98.
- [29] Kim Y, Zhao H, Avena-Bustillos RJ, Wang SC, Nitin N. Synergistic antimicrobial activities of aqueous extract derived from olive byproduct and their modes of action. *Chem Biol Technol Agric*. 2024;11(1):122.
- [30] Ramirez DA, Altamirano JC, Camargo AB. Multi-phytochemical determination of polar and non-polar garlic bioactive compounds in different food and nutraceutical preparations. *Food Chem*. 2021;337:127648.

Research Article

Effect of biochar-amended soil substrates on the growth of chinese kale in an organic system

Chatprawee Dechjiraratthanasiri¹, Kotchapan Khuansri², Thanasit Wongsiriamnuay³ and Jiraporn Inthasan^{2*}

¹ Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok Province 10900, Thailand

² Program in Soil Science, Faculty of Agricultural Production, Maejo University, Chiang Mai Province 50290, Thailand

³ Agricultural Engineering, Faculty of Engineering and Agro-Industry, Maejo University, Chiang Mai Province 50290, Thailand

* Corresponding author, E-mail: inthasan@mju.ac.th

Health Science, Science and Technology Reviews. 2025;18(2):15-23.

Received: 6 February 2025; Revised: 30 May 2025; Accepted: 18 August 2025

Abstract

Study of the effects of biochar-based growing media on the growth of kale. This study aimed to utilize agricultural waste for biochar production as an alternative to open burning, which is harmful to the environment. The experiment was designed using a completely randomized design (CRD) with 5 replications and 11 treatments. These treatments consisted of biochar produced from various types of agricultural waste, including 1) rice straw, 2) rice husk, 3) longan leaf, 4) longan peel, 5) longan branch, 6) jarul branch, 7) mango leaf, 8) corncob, 9) coffee husk, and 10) tobacco stem, which were mixed with commercially available growing media and cow manure in a ratio of 2:1:1 (growing media: biochar: cow manure). The study investigated the effects of different biochar types on the growth of chinese kale (*Brassica alboglabra*) in organic growing media. The results demonstrated significant improvements in growth parameters, including plant height, fresh and dry weight from substrate mixed with tobacco stems whereas the highest chlorophyll content was found in culture mixed with mango leaf biochar. The incorporation of biochar into the soil culture boosted its chemical and biological properties. Biochars derived from jarul branches, tobacco stems, and corncobs led to higher pH, electrical conductivity, organic carbon content, and amounts of water-soluble phosphorus and potassium compared to the control. Additionally, coffee husk biochar recorded the highest microbial population, reaching 10.7×10^5 CFU g⁻¹ soil at harvest time. These findings highlight the potential of various biochar as effective amendments for improving soil fertility and promoting plant growth in organic farming systems.

Keywords: Soil media, Biochar, Chinese kale, Organic system

Introduction

Agriculture in Thailand currently occupies 54.5% of the country's total land area. The northern region of Thailand cultivates many crops, including fruit trees, field crops, and vegetables. A substantial quantity of agricultural plant residues remains in the production system as by-products, termed biomass. Agricultural regions contain extensive dispersal of these residues. In 2017, approximately 296 tons of biomass were generated, of which 136 tons (46%) were utilized, waste materials 159 tons (54%) unutilized [14]. The unutilized biomass is frequently burned up, resulting in environmental concerns. Various strategies have been developed to maintain agricultural residues more effectively, focusing on maximizing their value and reuse in agricultural practices. In Northern Thailand, a region rich in cropping systems, residues are achieved from rice, longan, mango, coffee, tobacco and other crops. For instance, the approach involves converting biomass into compost or biochar. Biochar production is achieved through a thermal decomposition process known as pyrolysis system, which occurs under oxygen-free or low-oxygen conditions. This process results in the formation of a carbon-rich solid composition with a black appearance [11]. Moreover, biochar is characterized by its highly porous structure, low bulk density [23], high cation exchange capacity (CEC) [4,12], and alkaline pH levels [3]. Furthermore, biochar conduces to environmental sustainability by sequestering carbon and mitigating greenhouse gas emissions, particularly carbon dioxide, from agricultural systems [20]. Additionally, biochar attends to as a host for soil microorganisms, supporting microbial activity and biodiversity in the soil ecosystem [18]. Biochar's beneficial properties make it an effective soil amendment, elevating both soil fertility and plant growth conditions. This study aims to prospect the potential of utilizing various types of agricultural residues for biochar production, with a focus on its application as a component of soil media. The experiment investigates the physicochemical properties of biochar derived from different agricultural residues and evaluates its effects on plant growth, using chinese kale (*Brassica oleracea* var. *alboglabra*) as the model crop.

Materials and methods

This greenhouse experiment was conducted from July to October 2021 in Chiangmai, Thailand to examine the effects of different biochar types on chinese kale growth using a completely randomized design (CRD) with five replications. Ten biochar treatments were produced through pyrolysis system (300-400°C) from various dried agricultural residues including rice straw, rice husk, longan leaf, longan peel, longan branch, jarul branch, mango leaf, corncob, coffee husk, and tobacco stem comparing with commercial soil substrate. Hence, this biochar was mixed with commercial growing substare and cow manure (2:1:1 ratio by volume), and 20-day-old chinese kale seedlings were transplanted into 6-inch pots with daily watering of 200 mL water per pot. Growth parameters, including plant height, were recorded weekly until harvesting, chlorophyll content by using a SPAD-502 (Konnica Milnolta) at 45 days after transplanting. After harvesting, fresh weight and dry weight were collected data. Plant samples were dried in an oven at 70°C for 48 hours before weighing to determine the dry biomass.

The chemical properties of the growing media were analyzed both before and after the chinese kale harvest. The samples were ground using a mortar and sieved through 0.5 mm and 2.0 mm mesh sieves. The substrate samples analyses were conducted as following : 1) soil pH was measured using a 1:2.5 soil-to-water ratio [20], 2) electrical conductivity (EC) was determined using a 1:5 soil-to-water ratio [16], 3) soil organic carbon (SOC) was quantified using the Walkley and Black method [19], water-soluble phosphorus and potassium were extracted with distilled water and analyzed accordingly via atomic absorption spectrophotometer [8].

Biological properties of the soil substates were also checked by determining the total visible of microbial population. Soil substrate samples were analyzed using the pour-plate technique on potato dextrose agar (PDA). All samples were incubated at room temperature for 7 days, then microbial colonies were counted and recorded.

The collected data were evaluated to analysis of variance (ANOVA). Duncan's Multiple Range Test (DMRT) procedure was used to calculate Significant Difference between the treatments using the Statistix 10 software.

Results

Chemical properties of growing media before the experiment

The chemical properties of the 11 growing media treatments (one control and 10 biochar-mixed substrates) were analyzed prior to the experiment. The control (a commercial growing medium) and the biochar-mixed substrates (a mixture of biochar, growing medium and cow manure in a 2:1:1 ratio) showed pH values ranging from 8.0 to 9.6, indicating moderately to strongly alkaline conditions. Electrical conductivity (EC) values were high, ranging from 1.8 to 5.5 mS cm⁻¹. Soil organic carbon (SOC) content was also high, ranging from 15.0% to 20.0%. Additionally, the water-soluble phosphorus and potassium levels were detected in the ranges of 17.3 to 94.3 mg P kg⁻¹ and 1,692 to 6,994 mg K kg⁻¹, respectively (Table 1).

Table 1 Some chemical properties of planting media before harvesting chinese kale.

Treatment	pH	EC (mS cm ⁻¹)	SOC (%)	P	K
				(mg kg ⁻¹)	
Control	8.0	1.8	18.9	23.3	2,006
Rice straw	8.7	3.1	15.0	94.3	3,530
Jarul branch	8.5	2.2	18.9	34.2	2,090
Longan leaf	8.3	2.0	19.6	27.2	2,133
Longan peel	8.8	2.4	19.5	43.6	3,169
Mango leaf	8.6	2.1	19.6	20.1	1,692
Rice husk	8.4	3.3	19.8	17.3	3,523
Corn cob	8.7	2.9	20.0	91.9	3,299
Coffee husk	8.1	2.4	19.8	24.2	2,282
Longan branch	8.2	1.9	20.0	42.7	2,031
Tobacco stem	9.6	5.5	19.6	32.5	6,994

Growth and chlorophyll content in chinese kale

The measurement of chinese kale height over six weeks after transplanting into different planting materials revealed significant statistical differences among the 11 treatments. The kale grown in planting materials mixed with biochar from longan branches and tobacco stems showed the highest growth trends throughout the six weeks (Figure 1A). The growth rate at week 6, these treatments resulted in a 48.3% increase in height compared to the control treatment. However, no significant differences were observed when compared to chinese kale grown in planting materials mixed with biochar from rice straw, mango leaves, and rice husks. The chlorophyll content in chinese kale leaves showed that planting materials mixed with all types of biochar resulted in higher chlorophyll levels compared to the control (commercial soil). The highest chlorophyll content (51.8 SPAD values) was observed in planting materials mixed with mango leaf biochar. However, this was not significantly different from the materials mixed with biochar derived from tobacco stems, longan leaf, rice straw, jarul branch, corn cob, longan branch, and coffee husk (Figure 1B).

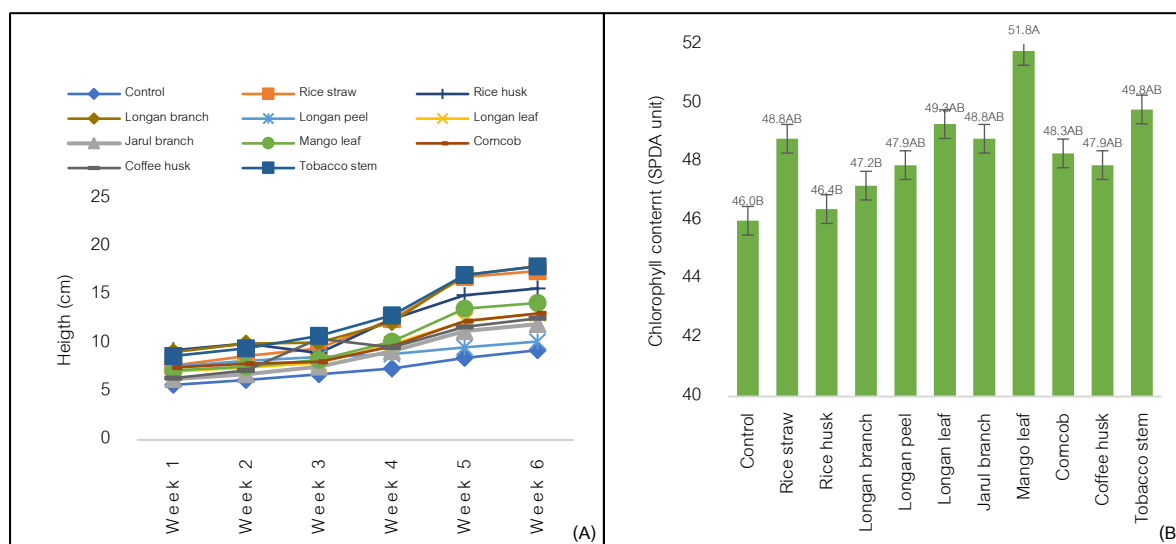


Figure 1: Height of chinese kale and chlorophyll content in chinese kale leaf samples.

Different letters indicate significant difference at $P < 0.05$ between treatments.

Fresh and dry weight of kale after harvesting

Planting materials mixed with all types of biochar resulted in higher fresh and dry weights of Chinese kale compared to the control treatment (without biochar). The highest fresh weight (26.2 g per plant) (Figure 2A) and dry weight (2.6 g per plant) (Figure 2B) were observed in plants grown with substrate materials containing tobacco stem biochar. However, these values were not significantly different from those observed in Chinese kale plants grown in substrate mixed with rice straw biochar. Specifically, the fresh weight of the plants cultivated in this biochar reached 21.9 grams per plant, while the dry weight was recorded at 2.5 grams per plant. These results indicate that incorporating rice straw biochar into the growing medium provided comparable benefits to plant growth as other treatments, as illustrated in Figure 2.

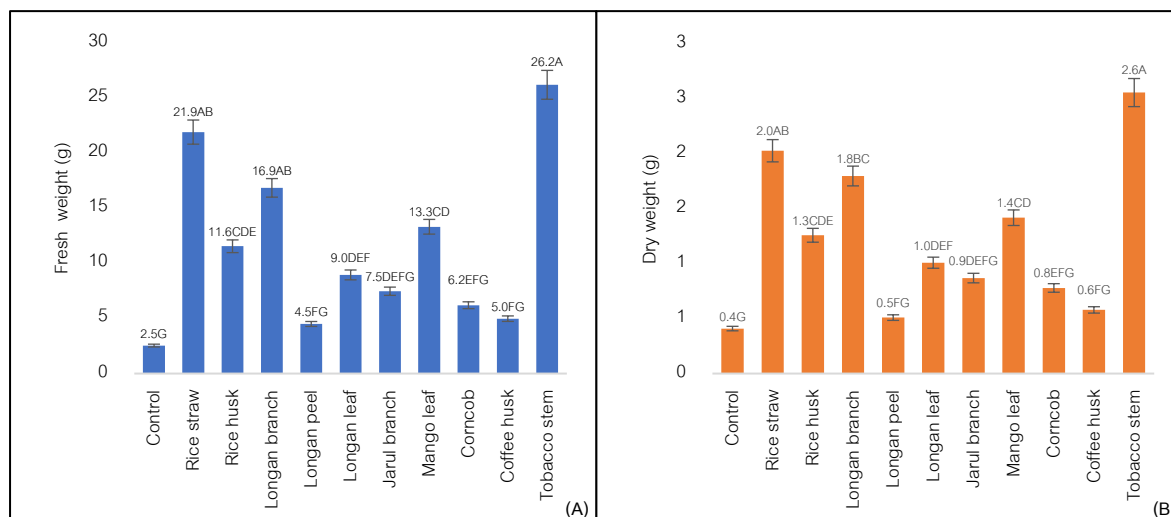


Figure 2: Fresh weight and dry weight of chinese kale after harvest.

Different letters indicate significant difference at $P < 0.05$ between treatments.

Chemical properties of planting materials after kale harvesting

The analysis of chemical properties of planting materials after kale harvesting showed that the pH (8.7) was observed in materials mixed with biochar from jarul branches. This was not significantly different from materials mixed with mango leaf, longan branch, and tobacco stem biochar ($P < 0.01$). The highest electrical conductivity (EC) value (0.5 mS cm^{-1}) was found in planting materials containing tobacco stem biochar, with no significant difference from those mixed with longan branch, corn cob, and coffee husk biochar. The control treatment showed the lowest EC value at 0.2 mS cm^{-1} .

The addition of biochar increased the organic carbon content of planting materials compared to the control. Corn cob biochar resulted in the highest organic carbon content (20.3%) ($P < 0.01$). In contrast, water-soluble phosphorus and potassium levels showed no significant differences among treatments with averaging values of $36.8 \text{ mg P kg}^{-1}$ and 314 mg K kg^{-1} , respectively (Table 2).

The incorporation of biochar into the soil substrate led to an increase in soil organic carbon content compared to the control treatment. Among the different biochar types, corn cob biochar contributed the highest soil organic carbon content, reaching 20.3% ($P < 0.01$). On the other hand, water-soluble phosphorus and potassium levels remained relatively stable across treatments, with no significant differences observed. The overall mean of phosphorus content was $36.8 \text{ mg P kg}^{-1}$, while potassium levels averaged 314 mg K kg^{-1} .

Table 2 Chemical properties of planting media after chinese kale harvest.

Treatment	pH	EC	SOC	P	K
		(mS cm ⁻¹)	(%)	(mg kg ⁻¹)	
Control	7.9 ^E	0.2 ^D	11.0 ^F	32.3	422
Rice straw	8.1 ^{CDE}	0.3 ^{BCD}	15.6 ^{BC}	24.7	402
Rice husk	8.0 ^{DE}	0.3 ^{BCD}	14.7 ^{BCD}	37.3	227
Longan branch	8.3 ^{BCD}	0.3 ^{CD}	13.6 ^{CDEF}	37.9	310
Longan peel	8.4 ^{AB}	0.4 ^{AB}	17.0 ^B	37.0	316
Longan leaf	8.4 ^{BC}	0.3 ^{CD}	11.3 ^{EF}	36.3	348
Jarul branch	8.7 ^A	0.3 ^{BCD}	13.8 ^{CDE}	30.9	310
Mango leaf	8.6 ^{AB}	0.3 ^{BCD}	12.7 ^{DEF}	40.5	328
Corn cob	8.4 ^{BC}	0.4 ^{AB}	20.3 ^A	65.2	283
Coffee husk	8.1 ^{CDE}	0.4 ^{AB}	15.7 ^{BC}	32.1	238
Tobacco stem	8.4 ^{AB}	0.5 ^A	16.1 ^{BC}	30.0	273
Grand Mean	8.3	0.3	14.7	36.8	314
CV (%)	2.2	21.8	10.6	55.5	34.3
F-test	**	**	**	ns	ns

Mean in the same column followed by different letters were significantly different by DMRT test at ** $P \leq 0.01$, ns = Not significant

Microbial populations in planting materials

Before the experiment, the highest microbial population was found in soil mixed with longan peel biochar (5.7×10^4 CFU g soil⁻¹), with no significant differences from those containing coffee husk and mango leaf biochar (5.6×10^4 and 5.5×10^4 CFU g⁻¹soil, respectively) ($P < 0.01$). After harvesting, the microbial populations in all treatments increased by up to 10 times compared to pre-experiment. The highest microbial population was found in treatment with coffee husk biochar (10.7×10^5 CFU g soil⁻¹), which was not significantly different from those with longan branch and tobacco stem biochar at 9.6×10^6 and 9.7×10^6 CFU g soil⁻¹, respectively ($P < 0.01$). In contrast, the control treatment showed slightly decreasing in microbial populations (Table 3).

Table 3 Total microbial count of planting media before and after chinese kale harvest.

Treatment	Microbial population count (CFU g Soil ⁻¹)	
	before planting	after harvested
Control	$1.6^B \times 10^4$	$0.9^D \times 10^5$
Rice straw	$1.3^B \times 10^4$	$1.4^D \times 10^5$
Jarul branch	$4.0^{AB} \times 10^4$	$4.5^{CD} \times 10^5$
Longan leaf	$2.7^{AB} \times 10^4$	$5.2^{CD} \times 10^5$
Longan peel	$5.7^A \times 10^4$	$7.0^{BC} \times 10^5$
Mango leaf	$5.5^A \times 10^4$	$7.9^{BC} \times 10^5$
Rice husk	$2.6^{AB} \times 10^4$	$6.5^{BC} \times 10^5$
Corn cob	$1.2^B \times 10^4$	$4.8^{CD} \times 10^5$

Treatment	Microbial population count (CFU g Soil ⁻¹)	
	before planting	after harvested
Coffee husk	5.6 ^A × 10 ⁴	10.7 ^A × 10 ⁵
Longan branch	1.1 ^C × 10 ⁴	9.6 ^{AB} × 10 ⁵
Tobacco stem	2.9 ^{AB} × 10 ⁴	9.7 ^{AB} × 10 ⁵
Grand Mean	3.1 × 10 ⁴	6.2 × 10 ⁵
CV (%)	19.09	17.19
F-test	**	**

Mean in the same column followed by different letters were significantly different by DMRT test at ** P ≤ 0.01.

Discussion

The study on the effects of various biochar growing media on chinese kale revealed that all biochar-mixed growing media resulted in better kale growth in terms of height, leaf chlorophyll content, fresh weight, and dry weight compared to the control. These findings align with [5], which indicated that biochar promotes plant growth due to its porous structure. This structure enhances water retention and increases nutrient exchange capacity, contributing to improved plant development, as also suggested by [7]. The soil substrate pH and EC values of biochar-mixed materials increased, consistent with [6], who reported higher pH and EC in biochar from corn cob and glass incorporated into soils in different ratios over 165 days of application. Similarly, [1] found that adding biochar at rates of 1.5%, 3.0%, and 5.0% increased soil electrical conductivity, with the 5.0% rate resulting in 60% higher conductivity than the control. The increase in pH is attributed to the high alkalinity of biochar produced through pyrolysis at high temperatures [21], while the EC increase results from salt accumulation in biochar [17]. The organic carbon content in the growing substrate declined compared to pre-experiment levels but remained higher than that of the control treatment. This trend is consistent with the findings of [10], which reported a decrease in organic carbon content after 182 days of soil incubation with goat manure and biochar derived from goat manure. The decrease in organic carbon is likely attributed to soil organism activities, as they use carbon as an energy source [9].

The water-soluble phosphorus levels in biochar-mixed growing substrate were higher than those in the control, ranging from 30.0 to 65.2 mg kg⁻¹. This finding similar to [2], which reported increased phosphorus levels in taro fields treated with biochar in 2017 and 2018. Similarly, water-soluble potassium levels after the Chinese kale harvest exceeded those in the control. This is consistent with [15], which found that potassium levels in biochar-enriched cultures increased after water leaching; hence, applied biochar could retain nutrients and reduce rate of leaching [11]. Moreover, microbial populations in biochar-mixed soils increased significantly, as supported by [13], who found higher microbial activity reflecting in the population of bacteria, fungi and actinomycete than in control treatment after applying biochar for six months. This can be attributed to the beneficial properties of biochar, which serves as a habitat for microbes due to its porous structure. [18].

Conclusion

This study found that biochar derived from agricultural residues significantly enhanced chinese kale growth and soil substrate properties. Biochar from rice straw, longan branches, and tobacco stems enhanced plant height, fresh weight, and dry weight, while mango leaf biochar notably increased leaf chlorophyll content. Biochar from jarul branches produced in the highest pH, tobacco stem biochar in the highest EC, and corncob biochar in the highest organic carbon content. Additionally, rice straw biochar supported the highest microbial population, highlighting its potential to enhance soil biological activity.

Reference

- [1] Abbas T, Rizwan M, Ali S, Zia-ur-Rehman M, Qayyum MF, Abbas F, et al. Effect of biochar on cadmium bioavailability and uptake in wheat (*Triticum aestivum* L.) grown in a soil with aged contamination. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2017;140:37-47.
- [2] Adekiya AO, Agbede TM, Olayanju A, Ejue WS, Adekanye TA, Adenusi TT, et al. Effect of Biochar on Soil Properties, Soil Loss, and Cocoyam Yield on a Tropical Sandy Loam Alfisol. *Sci. World J.* 2020;2:1-9.
- [3] Angmanee R, Chuangcham K, Homchan U. Properties of Corn Waste Biochar and Potential for Soil Improvement. *VRU Research and Development Journal Science and Technology.* 2017;12(1):53-63. (In Thai)
- [4] Batista EMCC, Shultz J, Matos TTS, Fornari MR, Ferreira TM, Szpoganicz B, et al. Effect of surface and porosity of biochar on water holding capacity aiming indirectly at preservation of the Amazon biome. *Sci. Rep.* 2018;8(1):1-8.
- [5] Chalatchaliao T, Chumsang C, Sangmanee P. Effect of biochar amendment of potting soil on growth and yield of three leaf vegetables grown in raised garden beds. *JEET.* 2022;9(1):46-55. (In Thai)
- [6] Chintala R, Mollinedo J, Schumacher, TE, Malo DD, Julson JL. Effect of biochar on chemical properties of acidic soil. *Arch. Agron. Soil Sci.* 2014;60(3):393-404.
- [7] Downie A, Crosky A, Munroe P. Physical Properties of Biochar. In: Lehmann J, Joseph S, editors. *Biochar for Environmental Management: Science and Technology*, 1st ed. London: Earthscan; 2009. p. 13-30.
- [8] Motsara MR, Roy RN, editors. *Guide to laboratory establishment for plant nutrient analysis*, 1st ed. Rome, Italy; 2008. 203 p.
- [9] Inthasan J, editors. *Soil Fertility*. 2nd ed. Chiang Mai: DesignPrint Media. 2020;321 p. (In Thai)
- [10] Kamolmanit B, Lawongsa P. Influence of goat manure biochar compost on soil organic carbon accumulation and aggregate formation. *KAJ.* 2021;49(5):1194-1204. (In Thai)
- [11] Lehmann J, Joseph S. Biochar for Environmental Management: An Introduction. In: Lehmann J, Joseph S, editors. *Biochar for Environmental Management: Science and Technology*, 1st ed. London: Earthscan; 2009. p. 1-9.
- [12] Liang B, Lehmann J, Solomon D, Kinyangi J, Grossman J, Nell BO, et al. Black carbon increases cation exchange capacity in soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 2006;70(5):1,719-1,730.

- [13] Mierzwa-Hersztek M, Gondek K, Klimkowicz-Pawlas A, Chmiel MJ, Dziedzic K, Taras H. Assessment of soil quality after biochar application based on enzymatic activity and microbial composition. *Int. Agrophys.* 2019;33(3):331-336.
- [14] Ministry of energy. Alternative Energy Development Plan 2018-2037. Retrieved 17 November 2024, from <https://www.erc.or.th/web-upload/200xf869baf82be74c18cc110e974eea8d5c/filecenter/PDF/AEDP%02018.pdf>.
- [15] Nemati MR, Simard F, Fortin JP, Beaudoin J. Potential Use of Biochar in Growing Media. *Vadose Zone J.* 2015;14(6):1-8.
- [16] Page AL, Miller RH, Keeney DR. *Methods of Soil Analysis Part 2.* 3th ed. Wisconsin. The American Society of Agronomy Inc. 1159 p.
- [17] Shah T, Khan S, Shah Z. Soil respiration, pH and EC as influenced by biochar. *Soil Environ.* 2017;36(1):77-83.
- [18] Thies, JE, Rillig MC. Characteristics of Biochar: Biological Properties. I In: Lehmann J, Joseph S, editors. *Biochar for Environmental Management: Science and Technology*, 1st ed. London: Earthscan; 2009. p. 85-102.
- [19] Walkley A, Black IA. Chromic acid titration method for determination of soil organic matter. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 1947;63:257.
- [20] Wayne ES, Editors. *Handbook on reference method for soil testing.* Athens: Council on soil testing and plant analysis, 1st ed. University of Georgia; 1980. 130 p.
- [21] Wijitkosum S, Sriburi T, editors. *Biochar and its application for sustainable agriculture*, 1st ed Bangkok: Chulalongkorn University Press, 2021. 122 p.
- [22] Yuan JH, Xu RK, Zhang H. The forms of alkalis in the biochar produced from crop residues at different temperatures. *Bioresour. Technol.* 2011;102(3):3488-3497.
- [23] Zhang W, Niu J, Morales VL, Chen X, Hay AG, Lehmann J, et al. Transport and retention of biochar particles in porous media: effect of pH, ionic strength, and particle size. *Ecohydrol.* 2010;3(4):497-508.

บทความวิจัย (Research Article)

ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักด้วยสารสกัดเปลือกทับทิม

พงษ์นเรศ แจ่งพรมมา¹, ภัชรี พิมาลรัมย์¹, รัชฎา ประภาสวัต² และ กานต์ชนก สุขบท^{1*}

Antiproliferative activity of pomegranate peel extracts against colorectal cancer cells

Pongnared Jaengpromma¹, Phatcharee Pimalram¹, Ratsada Praphasawat² and Karnchanok Sukhabot^{1*}¹ Department of Traditional Chinese Medicine, School of Public Health, University of Phayao, Phayao Province 56000, Thailand² Department of Pathology, School of Medicine, University of Phayao, Phayao Province 56000, Thailand

* Correspondence author, E-mail: karnchanok.su@up.ac.th

Health Science, Science and Technology Reviews. 2025;18(2):24-33.

Received: 7 April 2025; Revised: 8 July 2025; Accepted: 19 August 2025

บทคัดย่อ

เปลือกทับทิม (Pomegranate peel) มีฤทธิ์ทางชีวภาพหลากหลาย ได้แก่ ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบและต้านมะเร็ง และมีรายงานทางแพทย์แผนจีนนำมาใช้รักษาโรคมะเร็งได้ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความเป็นพิษและฤทธิ์ยับยั้งมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก ชนิด HCT116 ของสารสกัดเปลือกทับทิม 2 ชนิด คือ ตัวอย่างสารสกัดเปลือกทับทิมจากการสกัดด้วยเอทานอลหรือ PPE1 และสารสกัดเปลือกทับทิมสำเร็จรูปหรือ PPE2 การทดสอบเริ่มต้นจากการประเมินอัตราการรอดชีวิตต่อเซลล์ทดสอบด้วยวิธี Trypan blue exclusion พบว่า สารสกัดเปลือกทับทิมทั้ง PPE1 และ PPE2 มีความเป็นพิษต่อเซลล์ HCT116 โดยเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น (25-200 µg/ml) ทำให้อัตราการมีชีวิตรอดของเซลล์ลดลงและเมื่อบ่มสารสกัดที่ระยะเวลาเพิ่มขึ้น (24-48 ชั่วโมง) ทำให้มีอัตราการมีชีวิตรอดต่อเซลล์ HCT116 ลดลง จากการทดสอบพบว่า ที่ 24 ชั่วโมง มีเซลล์ตายร้อยละ 50 ที่ความเข้มข้นมากกว่า 200 µg/ml และพบว่าที่เวลา 48 ชั่วโมง สารสกัด PPE1 และสารสกัด PPE2 ที่ความเข้มข้น 200 µg/ml มีอัตราการรอดชีวิตประมาณ 50% ทดสอบการยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็ง ด้วยวิธี MTS และ Clonogenic assay พบว่า HCT116 ที่รับสารสกัดเปลือกทับทิมทั้งสองชนิดความเข้มข้น 25-75 µg/ml มีจำนวนเซลล์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับสารสกัด นอกจากนี้สารสกัดเปลือกทับทิมทำให้จำนวนกลุ่มเซลล์โคโลนีและขนาดเล็กลงอย่างชัดเจน แสดงให้เห็นว่า สารสกัดเปลือกทับทิมทำให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งและสามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักได้ สารสกัดเปลือกทับทิมมีศักยภาพที่เหมาะสมที่จะนำไปพัฒนาเป็นสารต้านมะเร็งจากธรรมชาติในอนาคต

คำสำคัญ: สารสกัดเปลือกทับทิม, ความเป็นพิษต่อเซลล์, เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่¹ สาขาวิชาการแพทย์แผนจีน คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา ตำบลแม่กา อำเภอเมือง จังหวัดพะเยา 56000 ประเทศไทย² ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา ตำบลแม่กา อำเภอเมือง จังหวัดพะเยา 56000 ประเทศไทย

Abstract

Pomegranate peel (*Punica granatum*) exhibits diverse biological activities including antioxidant anti-inflammatory and anti-cancer properties. In Traditional Chinese Medicine, pomegranate peel has been reported as a potential treatment for cancer. This study aimed to evaluate the cytotoxicity and anti-cancer effects of two pomegranate peel extracts (ethanolic extract; PPE1 and commercial extract; PPE2) on HCT116 colorectal cancer cell line. The cell viability was assessed using the trypan blue exclusion assay. The results demonstrated that both PPE1 and PPE2 exhibited cytotoxic effects against HCT116 cells at increasing concentrations (25-200 µg/ml) and times dependent manners (24-48 h). At 24 hours, there was 50% cell death at concentrations more than 200 µg/ml. Additionally, at 48 hours, both PPE1 and PPE2 extracts at 200 µg/ml exhibited approximately 50% cell viability. We evaluated cell-proliferation and self-renewal abilities using the MTS and clonogenic assays. The result revealed that treatment of HCT116 with PPE1 (25-100 µg/ml) caused a statistically significant reduction in cell number ($p<0.05$) compared to the untreated control group. Treatment with PPE2 also resulted in a decrease of the cell number ($p<0.05$). Interestingly, both PPE1 and PPE2 significantly decreased the number and size of cellular colonies. These findings demonstrate that pomegranate peel extracts exhibit cytotoxicity and effectively inhibit the proliferation of colorectal cancer cells (HCT116). Pomegranate peel extract has promising potential for future development as a natural anticancer agent.

Keywords: Pomegranate peel extract, Cytotoxicity, Colorectal cancer cells

บทนำ

โรคมะเร็งเป็นสาเหตุการเสียชีวิตของประชากรจำนวนมาก องค์การอนามัยโลกรายงานว่า มีผู้เสียชีวิตเกือบ 10 ล้านคน โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเสียชีวิตจากโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักพบเป็นสาเหตุการเสียชีวิตเป็นอันดับที่ 2 จากมะเร็งทั้งหมด[1] นอกจากนั้นมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก ยังมีอุบัติการณ์เกิดเป็น 1 ใน 3 ของมะเร็งที่พบในเพศชายและหญิง โรคมะเร็งเกิดจากเซลล์ปกติที่กลายพันธุ์ (Transformation) เซลล์มะเร็งสามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนได้เอง และสามารถแบ่งตัวไร้ขีดจำกัด[2,3] การรักษาโรคมะเร็งมีวิธีต่าง ๆ เช่น การผ่าตัด การฉายรังสีและการให้ยาเคมีบำบัด ซึ่งมีค่าใช้จ่ายสูง ใช้ระยะเวลาในการรักษาอย่างต่อเนื่องและทำให้เกิดอาการข้างเคียงเกิดขึ้นได้[4,5]

เปลือกทับทิม (*Punica granatum* Linn. (Pomegranate) peel) หรือเปลือกแห้งของทับทิม ซึ่งเป็นสมุนไพรจีนชนิดหนึ่งที่แพทย์แผนจีนนิยมใช้ในการรักษาโรคมะเร็ง มีรสเปรี้ยว ฝาด และมีฤทธิ์อุ่น มีสรรพคุณฝาดสมานลำไส้ ต้านอาการท้องเสีย ห้ามเลือด และฤทธิ์ต้านพยาธิ[6] ตามตำราไทย เปลือกทับทิมมีสรรพคุณแก้ท้องเสีย แก้บิด แก้แผลพุพองเน่าเปื่อย ฝาดสมาน สมานแผล ขับพยาธิ[7] ในเปลือกทับทิมประกอบไปด้วยสารพฤกษเคมี (Phytochemicals) หลากหลายชนิด มีรายงานวิจัยพบว่า สารสกัดเปลือกทับทิมมีสารกลุ่มแทนนิน ได้แก่ พุนิคาลาจิน (Punicalagin) กรดเอลลาจิก (Ellagic Acid) กรดแกลลิก (Gallic acid)[8,9] มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญและชักนำให้เกิดการตาย (apoptosis) ของเซลล์มะเร็งปากมดลูก เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว เซลล์มะเร็งตับ[10,11] นอกจากนี้ พุนิคาลาจิน (Punicalagin) ยังส่งเสริมให้เกิดกระบวนการกลืนกินตัวเองของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว[12] และยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่ (anti-angiogenesis) และการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งกระดูกชนิดปฐมภูมิ[13] เอลลาจิกแทนนิน (Ellagitannins) จากเปลือกทับทิมเพิ่มความเปราะบางต่อเซลล์ ช่วยในการชักนำการตายและหยุดเจริญในวัฏจักรเซลล์ (Cell cycle arrest) ของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ (HT-29) รวมถึงยับยั้ง nuclear factor kappa B (NF-κB) บรรเทาอาการเยื่อทางเดินอาหารอักเสบที่เกิดจากการได้รับ 5-Fluorouracil (5-FU) ในการรักษาโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ได้[14,15] นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบ สามารถลดระดับของ IL-1β และ IL-6 อีกทั้งยังเพิ่มระดับของ

Glutathione peroxidase, SOD, Catalase, และ IL-10[16] แม้ว่าสารสกัดจากเปลือกทับทิมประกอบด้วยสารพฤกษเคมีที่แสดงฤทธิ์ต้านมะเร็งชนิดต่าง ๆ แต่ข้อมูลการศึกษาฤทธิ์ต้านมะเร็งโดยเฉพาะเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักยังค่อนข้างจำกัด ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดเปลือกทับทิม พุ่งเป้าหมายที่การทำลายเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก ชนิด HCT116 ด้วยการทดสอบอัตราการรอดชีวิต โดยใช้กระบวนการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธี Trypan Blue Exclusion การทดสอบการยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งด้วยวิธี MTS assay และ Clonogenic assay ผลการวิจัยมีประโยชน์เพื่อเป็นทางเลือกในการนำสารสกัดเปลือกทับทิมจากยาสมุนไพรจีนมาใช้ในการป้องกันและรักษาโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก

วัสดุและวิธีการ

การวิจัยนี้เป็นวิจัยเชิงทดลอง (Experimental research) ในห้องปฏิบัติการ (Laboratory Research) ศึกษาเกี่ยวกับความเป็นพิษและการยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก ชนิด HCT116 ด้วยสารสกัดเปลือกทับทิม

1. การเตรียมสารสกัดเปลือกทับทิม

สารสกัดเอทานอลจากเปลือกทับทิม 2 ตัวอย่าง ได้แก่

1) สารสกัดเปลือกทับทิม 1 หรือ (Pomegranate peel extract 1 หรือ PPE1) เตรียมโดยนำเปลือกทับทิมแห้งผสมกับเอทานอล 60% ในอัตราส่วน 1:5 แล้วปั่นสารละลายด้วยเครื่องปั่นผสมสาร (Overhead Stirrers) ความเร็วรอบตั้งแต่ 300-500 รอบต่อนาที ทำการปั่นสาร 3 ชั่วโมง พัก 2 ชั่วโมง จนครบ 8 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้ตกตะกอนที่อุณหภูมิ 10-20 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมารองหยาบด้วยผ้าขาวบาง 1 รอบ แล้วพักไว้ที่อุณหภูมิ 10-20 องศาเซลเซียส ทำซ้ำทั้งหมด 3 รอบ จากนั้นนำสารละลายทั้งหมดมารองละเอียดด้วยเครื่องกรองสารละลายแบบสุญญากาศ (Filter glass vacuum) โดยใช้กระดาษกรอง WHATMAN Filter paper เบอร์ 1 ความละเอียดที่ 11 μm จากนั้นนำมาระเหยแอลกอฮอล์ออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator) แล้วทำให้เป็นผงแห้ง โดยใช้เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze Dryer Benchtop)[17] จากนั้นชั่งน้ำหนักส่วนสารสกัด PPE1 ที่ได้ นำไปเก็บที่อุณหภูมิ -25 องศาเซลเซียส โดยไม่ให้โดนแสง ร่อนนำไปทดสอบฤทธิ์ต่อไป

2) สารสกัดเปลือกทับทิมสำเร็จรูป (Pomegranate peel extract 2 หรือ PPE2) ซื้อจากบริษัท Sciayu Biotech Co.,Ltd., ประเทศจีน เป็นสารสกัดจากเอทานอล มีปริมาณสารสำคัญจากการวิเคราะห์ด้วย HPLC ได้แก่ Ellgalate acid (40%), polyphenols (10-70%) และ Punicalagins (30-40%)

การเตรียม PPE1 และ PPE2 ก่อนการทดสอบด้วยการละลายในเอทานอล เพื่อให้ได้ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางด้วยน้ำกลั่นและกรองด้วย membrane filter 0.22 μm แล้วเก็บที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส และป้องกันแสง

2. การเพาะเลี้ยงเซลล์

เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักชนิด HCT116 (ATCC, CCL247) ได้รับสนับสนุนจาก รศ.ดร.ประสิทธิ์ สุวรรณเลิศ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล โดยเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) ที่มี Fetal bovine serum 10 % และ 1% Streptomycin/Penicillin เพาะเลี้ยงเซลล์ในจานอาหาร บ่มในตู้บ่มอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ 5% ซึ่งระหว่างการเพาะเลี้ยงจะเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ทุก 48 ชั่วโมง

3. การประเมินอัตราการรอดชีวิตของเซลล์ HCT116 (Viability test) โดยวิธี Trypan Blue Exclusion Method

เตรียมเซลล์ HCT116 ที่ความหนาแน่น 6×10^4 cells/ml ใน 12-well plate และปล่อยให้เซลล์เกาะผิวหน้าภาชนะโดยบ่มในตู้เลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ 5% เป็นเวลาข้ามคืน 12-18 ชั่วโมง จากนั้นบ่มเซลล์ด้วยสารสกัดเปลือกทับทิม PPE1 และ PPE2 ที่ความเข้มข้น 25-200 $\mu\text{g/ml}$ เป็นระยะเวลา 24-48 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลา ให้เก็บเซลล์ด้วยการปั่นตกตะกอน ที่ความเร็ว 1500 rpm 5 นาที และล้างเซลล์ด้วย PBS 2 ครั้ง แล้วเจือจางเซลล์ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ต้องเติมซีรัม จากนั้นย้อมเซลล์ด้วย 0.4% trypan blue dye แล้วปิเปตสารละลายเซลล์ ลงบนอุปกรณ์นับเซลล์ (Hemocytometer) นับจำนวนเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (light microscope) ด้วยกำลังขยาย 40 เท่า และคำนวณหาอัตราการรอดชีวิต (%Viability) [18,19] โดยใช้สูตร

$$\% \text{ Viability} = (\text{จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตของกลุ่มที่ได้รับสารสกัด} \times 100) / \text{จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตของกลุ่มควบคุม}$$

4. การทดสอบฤทธิ์การมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ HCT116 โดย MTS assay

การทดสอบการยับยั้งการเพิ่มจำนวนด้วยวิธี [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium] (MTS) assay โดยใช้ Cell Titer 96 Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay (Promega, สหรัฐอเมริกา) เพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งชนิด HCT116 ให้มีความหนาแน่น 5×10^3 cells/well ในภาชนะ 96-well plate ในตู้เลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นบ่มเซลล์ด้วยสารสกัดเปลือกทับทิม PPE1 และ PPE2 โดยให้ความเข้มข้น 25-75 $\mu\text{g/ml}$ ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ 5% เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลา ให้เติมสารละลาย MTS ปริมาณ 20 μl ลงในแต่ละหลุม บ่มเป็นเวลา 2-3 ชั่วโมงในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ แล้วจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader [20,21]

5. การทดสอบการแบ่งตัวเพิ่มจำนวน (self-renewal) ด้วยวิธี Clonogenic assay

เพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งชนิด HCT116 ใน 6-well plate บ่มเซลล์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายใต้อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ 5% จากนั้นบ่มเซลล์ด้วยสารสกัดเปลือกทับทิม PPE1 และ PPE2 ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดให้ดูดสารละลายออก และเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ใหม่ (ที่ไม่มีสารสกัด) บ่มเซลล์ต่อเป็นเวลา 9-10 วัน และเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ใหม่ทุกๆ 2-3 วัน เพื่อการเจริญและแบ่งตัวของเซลล์เป็นกลุ่มโคลนี จากนั้นดูดอาหารเลี้ยงเซลล์เก่าออกและล้างด้วย PBS แล้วตรึงเซลล์ด้วย 70% methyl alcohol และย้อมเซลล์ด้วย 1% crystal violet นับจำนวนเซลล์โคลนี ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ด้วยกำลังขยาย 40 เท่า [22]

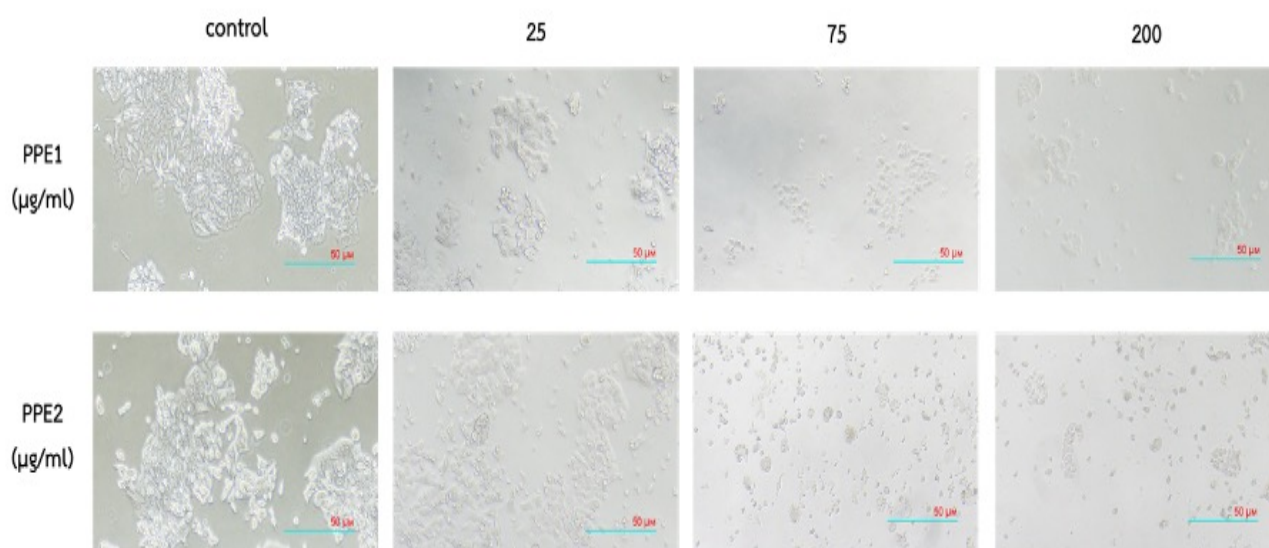
6. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ค่าที่ได้จากการทดสอบและทำการทดลองจำนวน 3 ครั้งในแต่ละการทดลอง แสดงในรูปแบบ ค่าเฉลี่ยและค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน ($\text{mean} \pm \text{SD}$) การวิเคราะห์หาความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) ด้วยโปรแกรม SPSS ver.23 ความแตกต่างค่าเฉลี่ยของกลุ่มทดสอบเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ใช้การทดสอบ Scheffé โดยระดับนัยสำคัญที่ใช้ในการระบุความแตกต่างที่ 0.05 ($p < 0.05$)

ผลการศึกษา

1. ผลของสารสกัดเปลือกทับทิม ต่อการมีชีวิตรอดต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ ชนิด HCT116

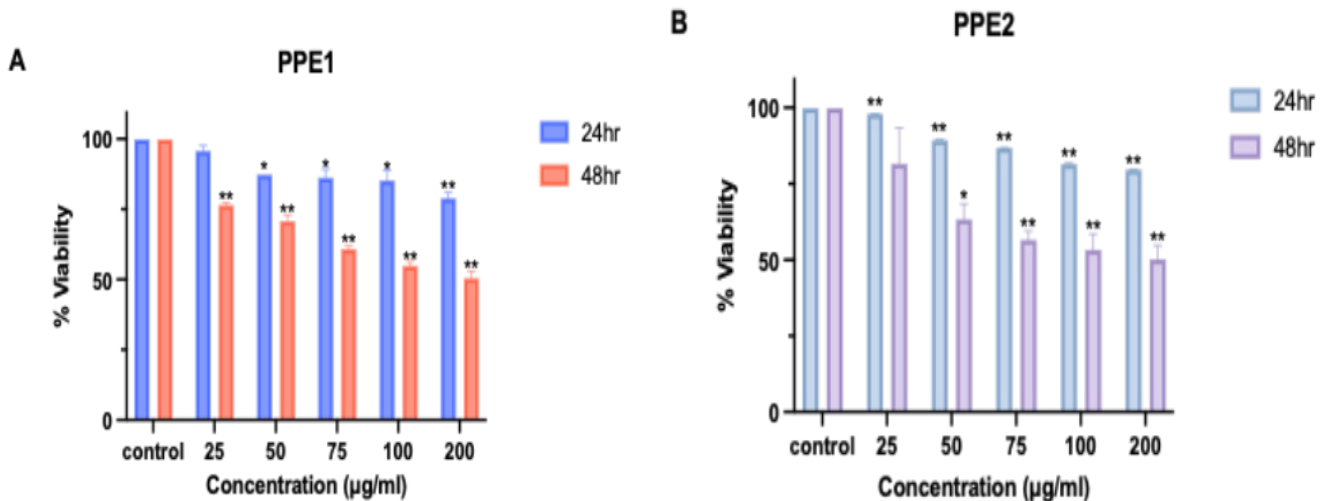
การทดสอบสารสกัดเปลือกทับทิมชนิด PPE1 และ PPE2 ต่อเซลล์ HCT116 ภายหลังจากบ่มเซลล์และนำไปศึกษาการเปลี่ยนแปลงภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดหัวกลับ พบว่าเซลล์ HCT116 ที่ได้รับสารสกัด PPE1 ที่ความเข้มข้น 25-200 $\mu\text{g/ml}$ มีการเปลี่ยนแปลงแตกต่างจากกลุ่มที่ไม่ได้รับสารสกัด โดยพบว่ามีปริมาณเซลล์ลดลงและมีลักษณะหดตัวเป็นวงกลมมากขึ้นภายหลังจากบ่มเป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ดังแสดงในรูปที่ 1 การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวสอดคล้องกับเซลล์ HCT116 ที่ได้รับสารสกัดเปลือกทับทิมชนิด PPE2



รูปที่ 1 การเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ ชนิด HCT116 ของกลุ่มที่ได้รับสารสกัดและไม่ได้รับสารสกัดเปลือกทับทิม PPE1 และ PPE2 ที่เวลา 24 ชั่วโมง (สเกลบาร์ = 50 μm)

จากนั้นทดสอบอัตราการรอดชีวิต พบว่าเซลล์ HCT116 มีอัตราการรอดชีวิตลดลง เมื่อได้รับสารสกัด PPE1 และ PPE2 โดยอัตราการรอดชีวิตลดลงตามลำดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นและระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น แสดงดังรูปที่ 2A และ 2B พบว่าเมื่อบ่มสกัด PPE1 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีอัตราการรอดชีวิตเท่ากับ 95.85%, 87.40%, 86.32%, 85.29% และ 78.97% ตามลำดับความเข้มข้นตั้งแต่ 25 $\mu\text{g/ml}$ ถึง 200 $\mu\text{g/ml}$ และสารสกัด PPE2 มีอัตราการรอดชีวิตเท่ากับ 98.04%, 89.41%, 86.87%, 81.58% และ 79.73% ที่ความเข้มข้นเท่ากัน จากนั้นเมื่อบ่มเซลล์เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง สารสกัดทั้งสองชนิดทำให้เซลล์มีอัตราการรอดชีวิตลดลง โดยมีค่าอัตราการรอดชีวิตเท่ากับ 76.62%, 70.84%, 60.86%, 54.94% และ 50.55% เมื่อบ่มด้วย PPE1 และเซลล์ HCT116 ที่บ่มด้วย PPE2 มีอัตราการรอดชีวิตเท่ากับ 81.63%, 63.41%, 56.60%, 53.30% และ 50.15% ตามลำดับความเข้มข้น

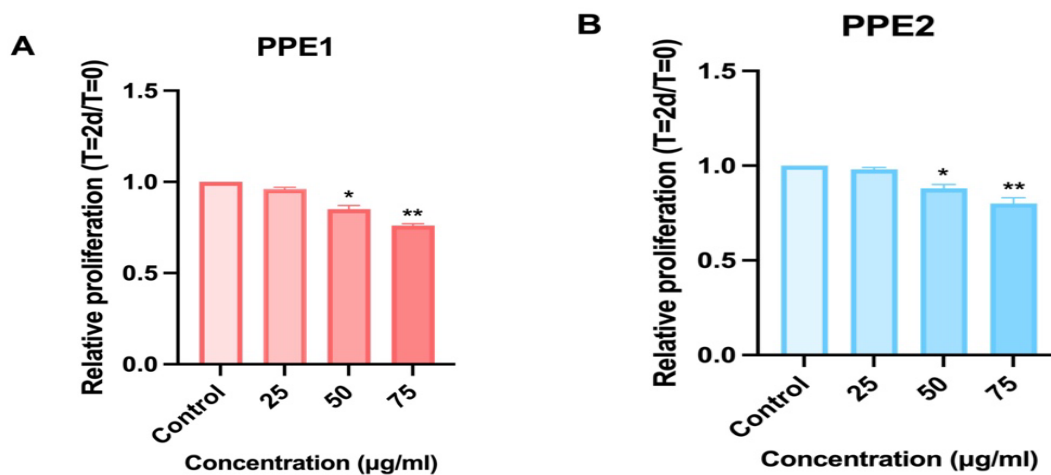
จากผลการทดสอบอัตราการรอดชีวิต พบว่า ที่ 24 ชั่วโมง ทำให้เซลล์ตายร้อยละ 50 ที่ความเข้มข้นมากกว่า 200 $\mu\text{g/ml}$ และพบว่าที่เวลา 48 ชั่วโมง สารสกัด PPE1 และสารสกัด PPE2 ที่ความเข้มข้น 200 $\mu\text{g/ml}$ มีอัตราการมีชีวิตรอด ประมาณ 50% จากนั้นผู้วิจัยเลือกความเข้มข้นของสารสกัดเปลือกทับทิมทั้งสองชนิดที่ความเป็นพิษต่ำ เพื่อทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งต่อไป



รูปที่ 2 การทดสอบการมีชีวิตรอดต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ ชนิด HCT116 ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง
(A) ทดสอบด้วยสารสกัด PPE1, (B) ทดสอบด้วยสารสกัด PPE2 (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม)

2. ผลการทดสอบความสามารถในการลดจำนวนเซลล์ HCT116 ด้วยสารสกัดเปลือกทับทิม

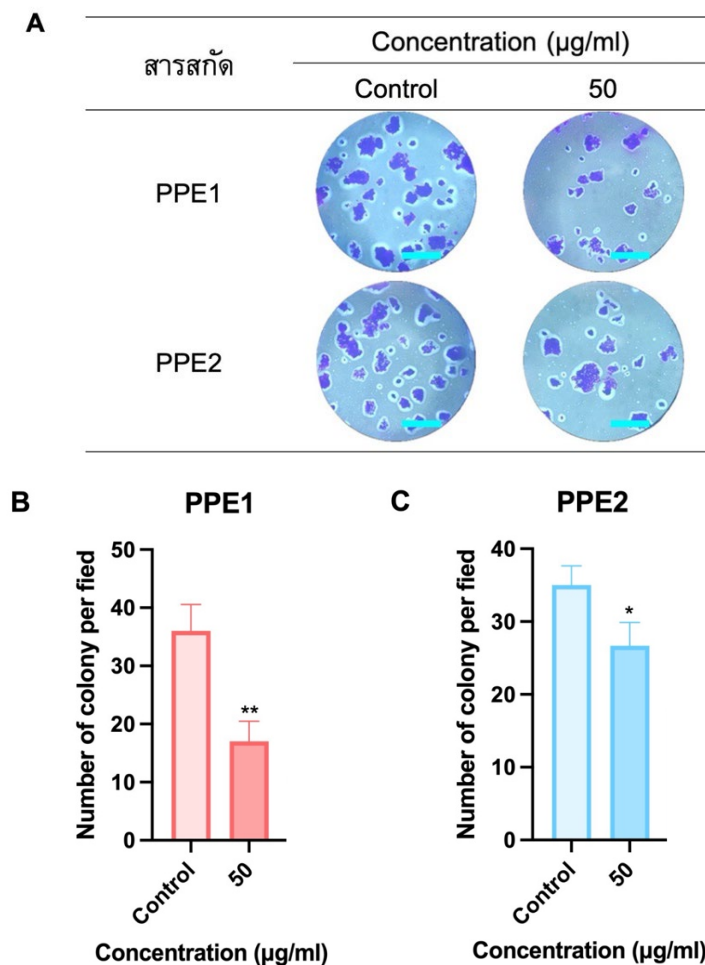
จากนั้นเลือกความเข้มข้นที่เซลล์มีอัตราการรอดชีวิตมากกว่าร้อยละ 50 เพื่อทดสอบความสามารถในการลดจำนวนเซลล์ HCT116 ด้วยสารสกัดเปลือกทับทิม ด้วยวิธี MTS assay พบว่าเซลล์ HCT116 กลุ่มที่ได้รับสารสกัด PPE1 ที่ความเข้มข้น 25-75 µg/ml สามารถลดจำนวนเซลล์ HCT116 ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$ และ $p < 0.01$) ขึ้นกับความเข้มข้นของสารสกัดที่ได้รับ และที่ความเข้มข้นเดียวกัน กลุ่มที่ได้รับสารสกัด PPE2 สามารถลดการเพิ่มจำนวนของเซลล์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$ และ $p < 0.01$) และขึ้นกับความเข้มข้นของสารสกัดที่ได้รับ แสดงดังรูปที่ 3 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดเอทานอลจากเปลือกทับทิม ทั้งชนิด PPE1 และ PPE2 มีประสิทธิภาพการลดจำนวนต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ ชนิด HCT116



รูปที่ 3 ผลการทดสอบการลดจำนวนเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ ชนิด HCT116 ด้วยสารสกัดเปลือกทับทิมที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 48 ชั่วโมง (A) ทดสอบด้วยสารสกัด PPE1, (B) ทดสอบด้วยสารสกัด PPE2 (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ)

3. ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ ชนิด HCT116 ของสารสกัดเปลือกทับทิม

การทดสอบการยับยั้งการเพิ่มจำนวนต่อเซลล์ HCT116 ของสารสกัดเปลือกทับทิม ด้วยวิธี clonogenic assay เป็นการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนจากเซลล์เดี่ยวที่เจริญไปเป็นกลุ่มเซลล์โคโลนี ผลการทดสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ต่อการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ พบว่า สารสกัดเปลือกทับทิม PPE1 และ PPE2 ทำให้กลุ่มเซลล์โคโลนีมีจำนวนลดลงและขนาดเล็กลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับสารสกัด ดังรูปที่ 4A และจากการนับจำนวนโคโลนี พบว่า ที่ความเข้มข้น 50 $\mu\text{g/ml}$ กลุ่มที่ได้รับสารสกัดเปลือกทับทิม PPE1 มีจำนวนโคโลนีเท่ากับ 17 ± 3.46 ในขณะที่กลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับสารสกัดมีจำนวนโคโลนีเท่ากับ 36 ± 4.17 โคโลนี ผลการทดสอบด้วยสารสกัด PPE2 สอดคล้องกับสารสกัด PPE1 ซึ่งพบว่าจำนวนโคโลนีลดลง เท่ากับ 26.67 ± 3.21 โคโลนี ในขณะที่กลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับสารสกัดมีจำนวนโคโลนีเท่ากับ 35 ± 2.64 โคโลนี แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากเปลือกทับทิมมีฤทธิ์ในการยับยั้งการแบ่งเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ ชนิด HCT116



รูปที่ 4 การทดสอบการยับยั้งการแบ่งเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ ชนิด HCT116 ของสารสกัดเปลือกทับทิม ที่เวลา 48 ชั่วโมง (A) แสดงขนาดและจำนวนโคโลนี, (B) แสดงจำนวนโคโลนีที่ความเข้มข้นต่างๆ ของสารสกัด PPE1, (C) แสดงจำนวนโคโลนีที่ความเข้มข้นต่างๆ ของสารสกัด PPE2 (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ) (สเกลบาร์= 50 μm)

วิจารณ์

ในการทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า สารสกัดเปลือกทับทิมมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก ชนิด HCT116 ซึ่งแสดงให้เห็นว่า จากการทดสอบ Trypan Blue Exclusion Method และ MTS assay ของสารสกัดเปลือกทับทิมทำให้มีความเป็นพิษต่อเซลล์และลดจำนวนเซลล์ลง จากการทดสอบ Clonogenic assay แสดงให้เห็นการยับยั้งการแบ่งเซลล์ HCT116 โดยแสดงให้เห็นผลการยับยั้งเซลล์ HCT116 สอดคล้องกันเมื่อทดสอบด้วยสารสกัดจากเปลือกทับทิมทั้ง 2 ชนิด ได้แก่ ตัวอย่างสารสกัดเปลือกทับทิมและสารสกัดเปลือกทับทิมสำเร็จรูป พบว่าตัวอย่างสารสกัดเปลือกทับทิม มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับสารสกัดเปลือกทับทิมสำเร็จรูป เมื่อเปรียบเทียบในความเข้มข้นเดียวกัน ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดสอบของ Amit B. Shirode และคณะ [23] พบว่า ผิวนอกของเปลือกทับทิม (Fruit skin) สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น 0-100 µg/ml และระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น 0-96 ชั่วโมงได้ รวมถึงแสดงให้เห็นกลไกที่เกี่ยวข้องของการยับยั้งเซลล์ด้วยการยับยั้งวัฏจักรเซลล์ ระยะ G2/M และการเหนี่ยวนำการเกิด apoptosis นอกจากนี้ การศึกษาของจิรายุส วรรณโกคา และ จิณณวัตร มานะเสถียร [24] พบว่า สารสกัดเปลือกทับทิมมีฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์ MCF-7 โดยการชักนำให้เกิดการแตกหักของ DNA และการเกิด apoptosis ได้ และการศึกษาของ Mostafa I Waly และคณะ [25] พบว่า สารสกัดจากเปลือกทับทิมสามารถยับยั้งการเกิดรอยโรคก่อนมะเร็งลำไส้ใหญ่ ผ่านกลไกการต้านอนุมูลอิสระ และลดความเครียดออกซิเดชันในหนูทดลอง

สารสกัดเปลือกทับทิมมีส่วนประกอบที่สำคัญ ได้แก่ Ellagic acid ซึ่งงานวิจัยก่อนหน้านี้แสดงให้เห็นว่า Ellagic acid มีบทบาทในการยับยั้งมะเร็ง ได้แก่ มะเร็งปากมดลูก โดยผ่านกระบวนการยับยั้งสัญญาณ AKT/mTOR ด้วยการกระตุ้นการแสดงออกยีน IGFBP7[26] นอกจากนี้การทดสอบกลไกระดับเซลล์ในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวและมะเร็งลำไส้ใหญ่ พบว่า Ellagic acid กระตุ้นการตายของเซลล์ (Apoptosis) และหยุดวัฏจักรของเซลล์ (Cell cycle arrest) ต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวได้[27] แสดงให้เห็นว่า Ellagic acid ที่มีมากในสารสกัดเปลือกทับทิมมีบทบาทในการยับยั้งมะเร็งได้ อย่างไรก็ตาม ควรมีการวิเคราะห์หาสาระสำคัญในสารสกัดเปลือกทับทิม เพื่อแสดงความสัมพันธ์ของปริมาณสาร ฤทธิ์ทางชีวภาพและศึกษากลไกการออกฤทธิ์ที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากทุนสนับสนุนงานมูลฐาน (Fundamental Fund) ประจำปีงบประมาณ 2566 เลขที่สัญญา FF66-RIM098

เอกสารอ้างอิง

- [1] World Health Organization. Cancer [Internet]. Geneva: World Health Organization; [cited 2025 Apr 4]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>.
- [2] Sawicki T, Ruskowska M, Danielewicz A, Niedzwiedz E, Arlukowicz T, Przybylowicz KE. A Review of Colorectal Cancer in Terms of Epidemiology, Risk Factors, Development, Symptoms and Diagnosis. *Cancers (Basel)*. 2021;13(9):2025.
- [3] Hanahan D. Hallmarks of cancer: new dimensions. *Cancer Discov*. 2022;12(1):31–46.
- [4] Esmeeta A, Adhikary S, Dharshna V, Swarnamughi P, Ummul Maqsummiya Z, Banerjee A, et al. Plant-derived bioactive compounds in colon cancer treatment: An updated review. *Biomed Pharmacother*. 2022;153:113384.

- [5] Engstrand J, Nilsson H, Strömberg C, Jonas E, Freedman J. Colorectal cancer liver metastases – a population-based study on incidence, management and survival. *BMC Cancer*. 2018;18(1):78.
- [6] Yang B, Zhong G. Traditional Chinese pharmacology. 3rd ed. Beijing: China Traditional Chinese Medicine Press; 2021. (In Chinese)
- [7] Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ubon Ratchathani University. Thai herbal database [Internet]. Ubon Ratchathani: UBU Herb Garden; [cited 2025 Apr 5]. Available from: <https://phar.ubu.ac.th/herb-DetailPhargarden/230>. (In Thai)
- [8] Mendes PM, Gomes Fontoura GM, Rodrigues LDS, Souza AS, Viana JPM, Fernandes Pereira AL, et al. Therapeutic Potential of *Punica granatum* and Isolated Compounds: Evidence-Based Advances to Treat Bacterial Infections. *Int J Microbiol*. 2023;2023:4026440.
- [9] Pengkumsri N, Kaewdoo K, Leeprechanon W, Sundaram Sivamaruthi B. Influence of Extraction Methods on Total Phenolic Content and Antioxidant Properties of Some of the Commonly Used Plants in Thailand. *Pak J Biol Sci*. 2019;22(3):117–26.
- [10] Teniente SL, Flores-Gallegos AC, Esparza-González SC, Campos-Múzquiz LG, Nery-Flores SD, Rodríguez-Herrera R. Anticancer Effect of Pomegranate Peel Polyphenols against Cervical Cancer. *Antioxidants (Basel)*. 2023;12(1):127.
- [11] Elbakry MMM, ElBakary NM, Hagag SA, Hemida EHA. Pomegranate Peel Extract Sensitizes Hepatocellular Carcinoma Cells to Ionizing Radiation, Induces Apoptosis and Inhibits MAPK, JAK/STAT3, β -Catenin/NOTCH, and SOCS3 Signaling. *Integr Cancer Ther*. 2023;22:15347354221151021.
- [12] Tamborlin L, Sumere BR, de Souza MC, Pestana NF, Aguiar AC, Eberlin MN, et al. Characterization of pomegranate peel extracts obtained using different solvents and their effects on cell cycle and apoptosis in leukemia cells. *Food Sci Nutr*. 2020;8(10):5483–96.
- [13] Huang T, Zhang X, Wang H. Punicalagin inhibited proliferation, invasion and angiogenesis of osteosarcoma through suppression of NF-KB signaling. *Mol Med Rep*. 2020;22(3):2386–94.
- [14] Subkorn P, Norkaew C, Deesrisak K, Tanyong D. Punicalagin, a pomegranate compound, induces apoptosis and autophagy in acute leukemia. *PeerJ*. 2021;9:e12303.
- [15] Sharma K, Kesharwani P, Prajapati SK, Jain A, Jain D, Mody N, et al. An Insight into Anticancer Bioactives from *Punica granatum* (Pomegranate). *Anticancer Agents Med Chem*. 2022;22(4):694–702.
- [16] Sayed S, Alotaibi SS, El-Shehawi AM, Hassan MM, Shukry M, Alkafafy M, et al. The Anti-Inflammatory, Anti-Apoptotic, and Antioxidant Effects of a Pomegranate-Peel Extract against Acrylamide-Induced Hepatotoxicity in Rats. *Life (Basel)*. 2022;12(2):224.
- [17] Huang D, Qiu H, Luo W, Xu G, Liang Q, Deng H. Research on separation, purification and antioxidation of polyphenols from pomegranate peel. *Bot Res*. 2018;7(5):514–22. (In Chinese)
- [18] Strober W. Trypan Blue Exclusion Test of Cell Viability. *Curr Protoc Immunol*. 2015;111:A3.B.1-A3.B.3.
- [19] Ratanabunyong S, Siriwaseree J, Wanaragthai P, Krobthong S, Yingchutrakul Y, Kuaprasert B, et al. Exploring the apoptotic effects of sericin on HCT116 cells through comprehensive nanostring transcriptomics and proteomics analysis. *Sci Rep*. 2024;14(1):2366.

- [20] Riss TL, Moravec RA, Niles AL, Duellman S, Benink HA, Worzella TJ, et al. Cell viability assays. In: Markossian S, Grossman A, Arkin M, Auld D, Austin C, Baell J, et al., editors. *Assay Guidance Manual*, 1st ed. Bethesda (MD): Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences; 2004. [Internet]. [cited 2025 Apr 5]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK144065>.
- [21] Ratsada P, Hijiya N, Hidano S, Tsukamoto Y, Nakada C, Uchida T, et al. DUSP4 is involved in the enhanced proliferation and survival of DUSP4-overexpressing cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2020;528(3):586–93.
- [22] Praphasawat R, Thakaew S, Rawangkan A, Thongboontho R, Sooksaen P, Laovittayangkoon S, et al. Anticancer and Antimutagenic Properties of *Pogonatherum paniceum* on Colorectal Cancer Cells. *World J Oncol*. 2023;14(4):266–76.
- [23] Shiode AB, Kovvuru P, Chittur SV, Henning SM, Heber D, Reliene R. Antiproliferative effects of pomegranate extract in MCF-7 breast cancer cells are associated with reduced DNA repair gene expression and induction of double strand breaks. *Mol Carcinog*. 2014;53(6):458–70.
- [24] Manasatian J, Woraratphoka J. Pomegranate peel water extract induces apoptosis in breast cancer cells. *Health Sci Tech Rev*. 2022;15(2):42–58. (In Thai)
- [25] Waly MI, Ali A, Guizani N, Al-Rawahi AS, Farooq SA, Rahman MS. Pomegranate (*Punica granatum*) peel extract efficacy as a dietary antioxidant against azoxymethane-induced colon cancer in rat. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2012;13(8):4051–5.
- [26] Guo H, Zhang D, Fu Q. Inhibition of Cervical Cancer by Promoting IGFBP7 Expression Using Ellagic Acid from Pomegranate Peel. *Med Sci Monit*. 2016;22:4881–6.
- [27] Ni X, Shang FS, Wang TF, Wu DJ, Chen DG, Zhuang B. Ellagic acid induces apoptosis and autophagy in colon cancer through the AMPK/mTOR pathway. *Tissue Cell*. 2023;81:102032.

Research Article

Effects of medium components on *in vitro* multiplication efficiency of Siam tulipNanthatchaphon Kaeothom¹, Nutchanan Duangkon¹ and Sukalya Poothong^{1*}¹ School of Agriculture and Natural Resources, University of Phayao, Phayao Province 56000, Thailand

* Correspondence author, E-mail: sukalya.po@up.ac.th

Health Science, Science and Technology Reviews. 2025;18(2):34-46.*Received: 30 March 2025; Revised: 16 July 2025; Accepted: 18 August 2025***Abstract**

Siam tulip (*Curcuma alismatifolia*) is a significant economic ornamental plant in Thailand. A commercial production of Siam tulip should mainly use disease-free rhizome to avoid disease accumulation, which could affect the export of Siam tulip's rhizomes. Therefore, the enhancing efficiency of tissue culture of Siam tulip for disease-free and quality-consistent in plant production is another approach to improve the quality of Siam tulip production for export capacity. This study aimed to evaluate the effects of cytokinins and nutrient concentrations in MS medium, by using shoots harvested from cv. Red Shadow and cv. Khao Yai as explant for the experiments. The results showed that the 4 mg/L of N6-benzylaminopurine (BAP) resulted in the highest shoot multiplication of cv. Khao Yai and 5 mg/L of BAP gave the highest shoot multiplication of cv. Red Shadow. While Kinetin resulted in the increasing of length of explants. Moreover, the reduction of nutrient concentration in MS medium to 0.5 times and the increase of sucrose concentration to 2 times or 6% provided the highest shoot multiplication. While reducing the nutrient concentration in MS medium to 0.25 times decreased the growth of both cv. Red Shadow and cv. Khao Yai.

Keywords: Cytokinins, Shoot multiplication, Concentration of medium**Introduction**

Curcuma alismatifolia, commonly known as Siam tulip or Phatumma, is a beautiful and valuable ornamental plant. The species belongs to the Zingiberaceae family due to its attractive colorful bracts [1]. It can be cultivated as a potted plant, used for decoration, or grown in the field for tourism, such as Phatumma fields. Siam tulip is a tropical perennial species native to countries in Southeast Asia such as Thailand, Cambodia or Laos. Thailand is one of the leaders for exporting flowers and rhizomes of *C. alismatifolia* to several countries, i.e. the United States, the Netherlands, New Zealand and Japan [1, 2]. Increasing the economic value of this plant in Thailand has started from the domestic market to the international market, resulting in higher income for the Siam tulip farmers [1, 2]. Typically, the underground part of Siam tulip consists of rhizomes and storage roots [2]. The conventional technique for rhizomes production is to grow rhizomes harvested from the previous season in soil, which can cause problems such as low-quality plant stocks or contamination with soil borne pathogens [2, 3]. Nowadays, several growers or farmers in Thailand cultivate Siam tulip for rhizome production using soil-less media to produce high quality and disease-free rhizomes [3]. The most critical disease found in Siam tulips is bacterial wilt, caused by

Ralstonia solanacearum [3]. Although farmers use many chemicals to control wilt disease, this approach fails to provide a sustainable solution for long-term cultivation. Besides, applying unnecessary or ineffective chemicals can cause soil pollution in fields. Using clean and aseptic rhizomes for crop production with integrated pest management is a solution for the contamination problems because healthy mother plants yield high quality of Siam tulip rhizomes for exporting [3, 4].

Micropropagation is an appropriate technique to produce healthy, disease free, uniform, and massive rhizomes in a short period of time [5, 6, 7]. This study focused on the efficient and repeatable micropropagation protocol for *C. alismatifolia*. The growth of plantlets in sterile conditions is influenced by several factors. One of them is the balance of cytokinins and auxins hormones, which affect the growth and morphological change of the shoots [8]. Typically, the application of cytokinins alone has been used for shoot multiplication in many plant species [8, 9, 10]. BAP and kinetin are effective compounds used as plant growth regulators for shoot regeneration [8, 9, 10]. Nevertheless, the adjustment of mineral salts was one of a crucial factor for improving the micropropagation in many plants, such as stevia and mockorange [11, 12, 13]. Moreover, sucrose is used as an energy source for plant tissue culture. Optimizing the sucrose supplement enhanced the *in vitro* growth of plants [14, 15, 16]. Therefore, the objective of this study was to investigate the types of cytokinins and optimize the concentration of BAP and kinetin for increasing shoot multiplication and *in vitro* growth of *C. alismatifolia* cv. Red Shadow and cv. Khao Yai.

Materials and Methods

Preparation

Clean culture plantlets derived from inflorescences of two Siam tulip cultivars: cv. Red Shadow and cv. Khao Yai. were proliferated in the plant tissue culture laboratory at the University of Phayao, Thailand (Fig. 1A). These plantlets were cultured on the Murashige and Skoog (MS) medium [17] with 2 mg/L N6-benzylaminopurine (BAP) in glass bottles. All cultures were maintained in a culture room at 25±1°C with a 16 h photoperiod and 40-50 µM/m²s irradiance provided by cool white, fluorescent bulbs (Zeberg LED T8, 22W, BKK, Thailand). Subcultures with four-week intervals were required to produce adequate plant materials. Before culturing in each experiment, plantlets were transferred to free-plant growth regulator medium.

The effects of cytokinins on *in vitro* growth and multiplication of Siam tulip cv. Red Shadow and cv. Khao Yai

For investigating the effects of cytokinins, BAP and Kinetin were tested at different concentrations (1, 2, 3, 4 and 5 mg/L). The experimental design was completely randomized with 11 treatments, and MS basal medium without cytokinins was a controlled treatment. Explants for the experiment were cut pseudostems about 3-5 cm shown in Fig. 1B. All cultured vessels were incubated in the culture room described above. In this experiment, plants were grown for 5 weeks. The length of new shoots, new shoots number, new roots number, and length of explants were recorded to evaluate the growth (Fig 1B).

The combinatory effects of concentration strength of MS basal medium and sucrose concentrations on the *in vitro* growth of Siam tulip cv. Red Shadow and cv. Khao Yai

Fifteen semi-solid media were designed using 0.25-, 0.5-, 1-, 1.5- and 2-time MS strength (xMS) with 3%, 6% and 9% sucrose. These combinations were used to investigate the effect of MS mineral strength and sucrose concentration on *in vitro* growth and micro-rhizome production. The experimental design was completely randomized with 5 replicates. New shoots number (shoots), length of new shoots (cm), new root length (cm) and length of explant shoots (cm) were evaluated after cultured for 6 weeks.

Statistics

The results were presented as mean $\pm$ standard error (SE). Analysis of variance (ANOVA), a collection of statistical models and their associated estimation procedures used to analyze the differences among means, was employed for this study. The mean values were compared using Duncan's Multiple Range test (DMRT) and analyzed by Statistical Package for Social Sciences (SPSS) version 28.0 software (IBM Corp.; Armonk, NY, USA).

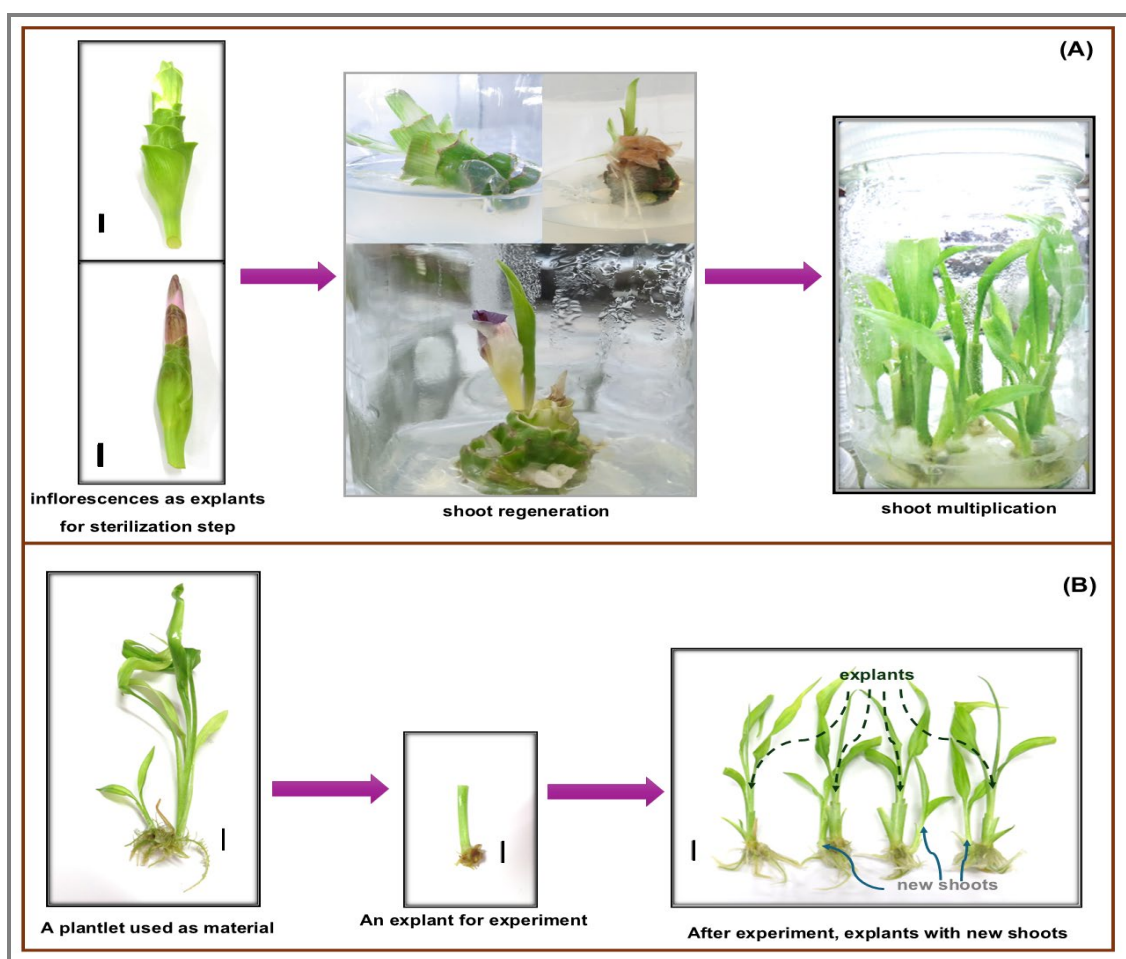


Fig 1 Scheme for (A) plantlets preparation from inflorescences of *C. alismatifolia* or Siam tulip cultivars (cv. Red Shadow and cv. Khao Yai) and (B) definition of plantlets, explants and new shoots.

Results

The effects of cytokinins on *in vitro* growth and multiplication of Siam tulip cv. Red Shadow and cv. Khao Yai

The effects of two types of cytokinins (BAP and Kn) were presented in Fig. 2 and 3. Typically, BAP was more effective in increasing the length of new shoots and new shoot number in both cultivars. Any concentrations of BAP exhibited a positive effect on the length of new shoots (Fig. 2A and 3A). For cv. Red Shadow, the effect of BAP on the length of new shoots derived from explants was significantly different. The highest concentration of BAP provided the highest new shoots number. However, explants grown on 5 mg/L BAP were not significantly different from explants grown on 2, 3 or 4 mg/L BAP (Fig. 2B). Moreover, for new roots number of cv. Red Shadow, explants grown on any BAP concentration were not significantly different compared to the control. However, explants grown on any of the Kn concentrations were significantly different compared to the control. They had lower new roots numbers in any concentrations of Kn (Fig. 2C). The length of explants in any Kn concentrations were not significantly different compared to control (MS without BAP or Kn). Nevertheless, explants grown on MS medium supplemented with any BAP concentration were less length of explant significantly from control, except the 0.1 mg/L of Kn (Fig. 2D).

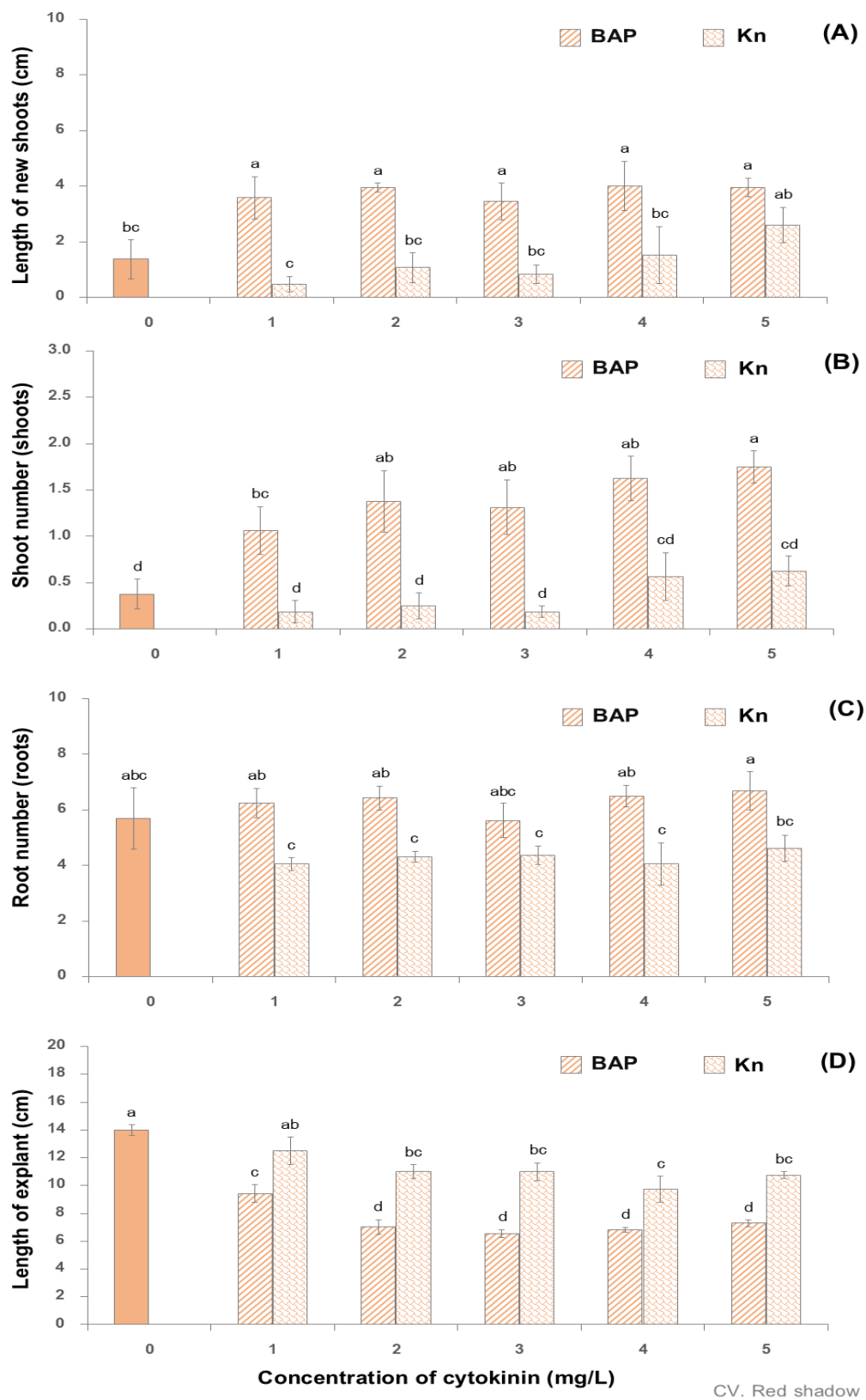


Fig 2 The effects of cytokinins on (A) length of new shoots, (B) new shoots number, (C) new roots number, and length of explant of *C. alismatifolia* cv. Red Shadow cultured for 5 weeks. Each bar graph represents the mean ($n = 12$) and error bar indicates $\pm$ SE. The same letter at each treatment indicates not significantly ($p > 0.05$).

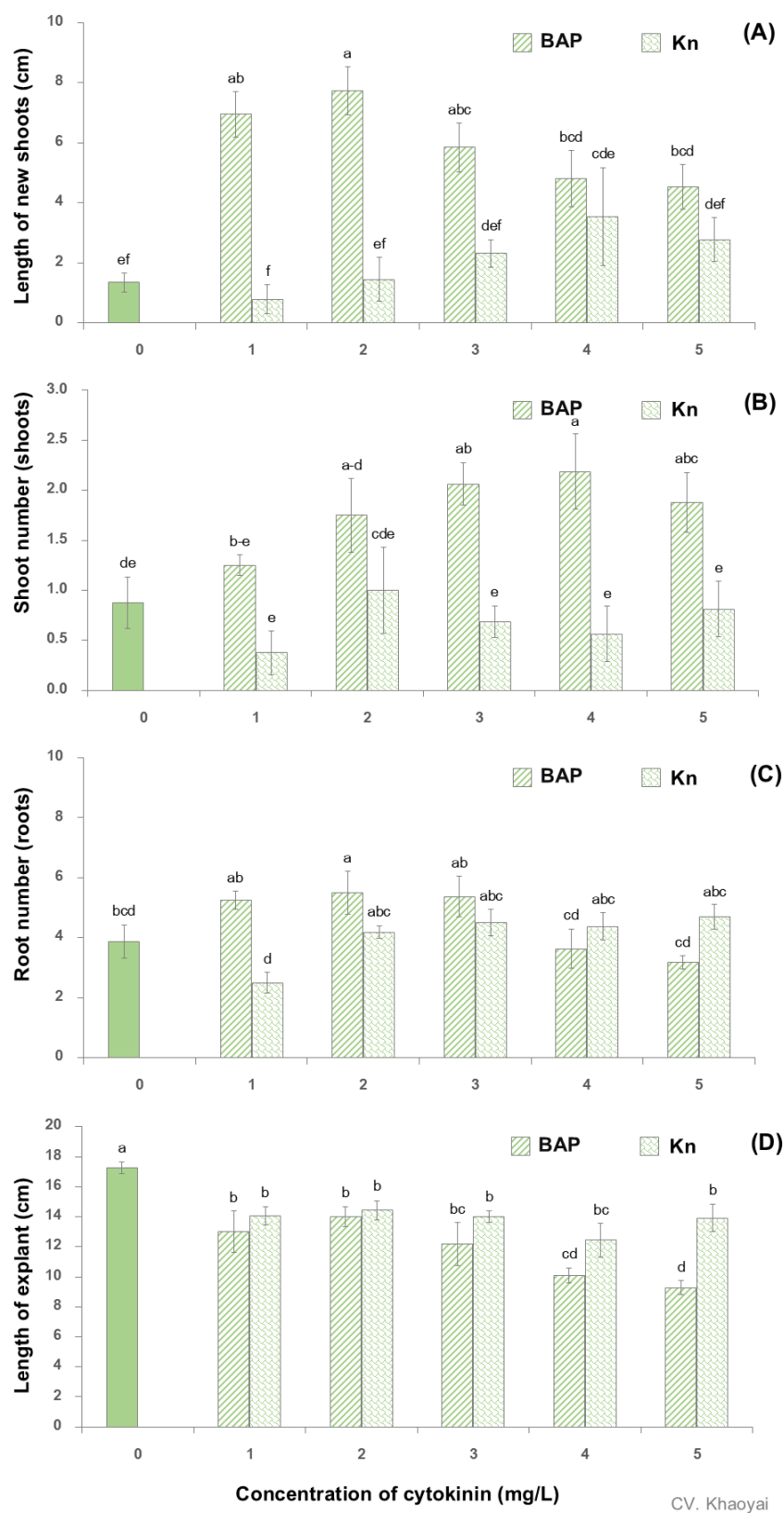


Fig 3 The effects of cytokinins on (A) length of new shoots, (B) new shoots number, (C) new roots number, and length of explant of *C. alismatifolia* cv. Khao Yai cultured for 5 weeks. Each bar graph represents the mean ($n = 12$) and error bar indicates $\pm$ SE. The same letter at each treatment indicates not significantly ($p > 0.05$).

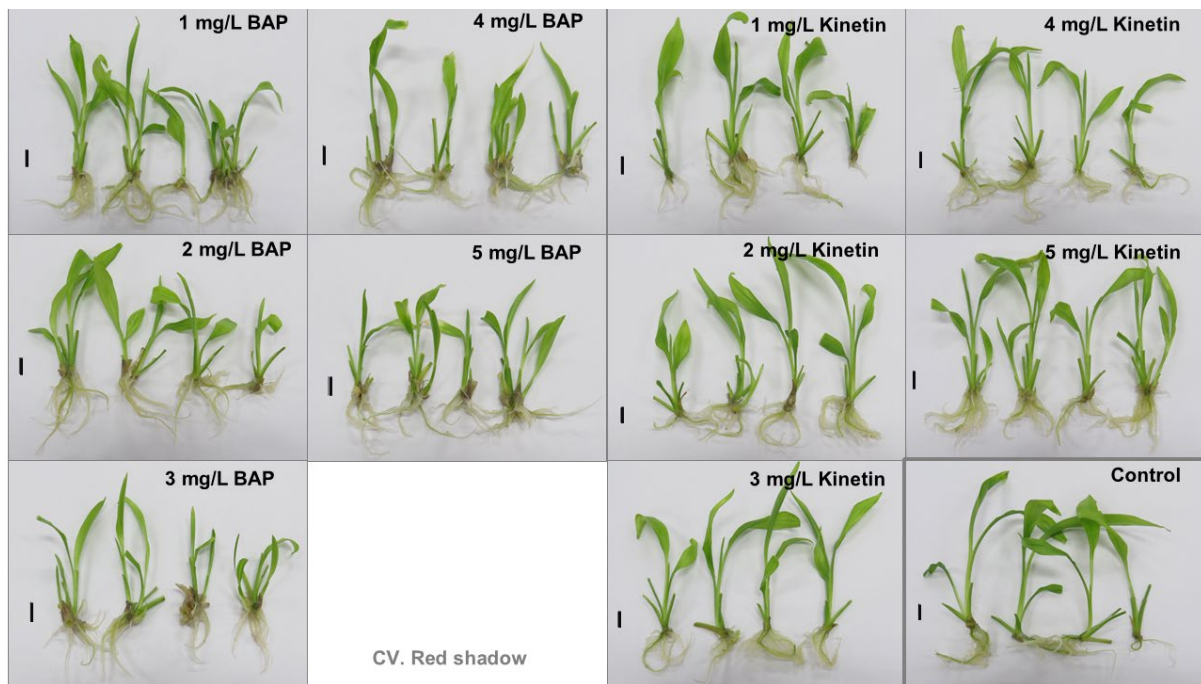


Fig 4 Growth appearance of *in vitro* shoots of *C. alismatifolia* cv. Red Shadow cultured on MS medium supplemented with various cytokinins for 6 weeks (bar = 1.0 cm).

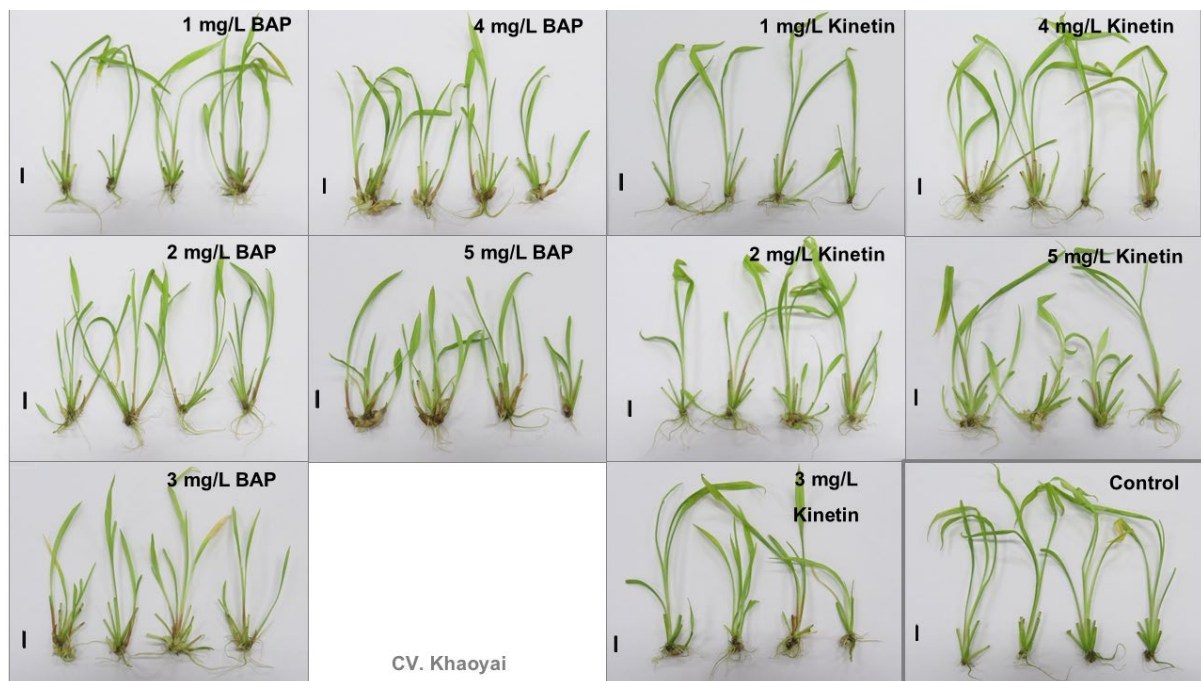


Fig. 5 Growth appearance of *in vitro* shoots of *C. alismatifolia* cv. Khao Yai cultured on MS medium supplemented with various cytokinins for 6 weeks (bar = 1.0 cm).

For cv. Khao Yai, the response of the new shoots number was the same trend as the response of the cv. Red Shadow. The length of new shoots of cv. Khao Yai, explants grown on any BAP concentrations had longer new shoots compared to explants grown on any Kn concentrations and control (Fig. 3A and B). Explants grown on 2 mg/L BAP had the highest length of new shoots, but it was not significantly different from explants grown on 1 or 3 mg/L BAP (Fig. 3A). For the new shoots number of cv. Khao Yai, the response of this cultivar was the same trend as cv. Red Shadow (Fig. 3B). For new roots number, explants grown on 2 mg/L BAP had the highest new roots number, but it was not significantly different from explants grown on 1 or 3 mg/L BAP including 2, 3, 4 or 5 mg/L Kn (Fig. 3C). For the length of explants, explants grown on control medium had the highest length compared to other treatments (Fig. 3D). The growth appearance of both cultivars had been shown in Fig. 4 and 5. Shoots multiplication could be observed in explants grown on the MS media supplemented with cytokinins (Fig. 4 and 5).

The combinatory effects of concentration strength of MS basal medium and sucrose concentrations on the *in vitro* growth of Siam tulip cv. Red Shadow and cv. Khao Yai

The study examined the effects of different sucrose concentrations (3, 6, and 9%) combined with five MS basal medium concentration strengths (0.25, 0.5, 1, 1.5, and 2x) on the shoots multiplication and growth of *C. alismatifolia* varieties cv. Red Shadow and cv. Khao Yai in Table 1 and 2. The highest new shoots number was observed at 0.5x MS + 6% sucrose for both varieties: cv. Red Shadow (2.42 shoots) and cv. Khao Yai (2.21 shoots). The longest new shoots were recorded at 1x MS + 9% sucrose for cv. Red Shadow (1.66 cm) and 1x MS + 6% sucrose for cv. Khao Yai (3.41 cm) (Table 1 and 2). Sucrose levels (6–9%) with 1x MS significantly promoted shoots elongation. Optimal shoots multiplication occurred at 0.5x MS + 6% sucrose. Optimal shoots elongation was promoted at 1x MS with 6–9% sucrose, particularly benefiting cv. Khao Yai. Excessively high MS concentrations (1.5x and 2x) negatively affected both new shoots number and length, likely due to excessive nutrients or osmotic stress. Higher MS concentrations (1.5x and 2x) resulted in shorter shoot lengths.

Table 1 The combinatory effect of MS strength (expressed as xMS) and sucrose concentration on shoots growth and development of Siam tulip after 6 weeks of culture (Trt = treatment).

Trt	MS (x)	Sucrose (%)	New shoots number (shoots)		Length of new shoots (cm)	
			cv. Red Shadow	cv. Khao Yai	cv. Red Shadow	cv. Khao Yai
1	0.25	3	0.21±0.1 ^f	0.67±0.3 ^{cd}	0.17±0.1 ^e	1.67±0.6 ^{cd}
2	0.25	6	1.08±0.1 ^{cd}	1.29±0.3 ^{a-d}	0.64±0.1 ^{cd}	1.88±0.4 ^{b-e}
3	0.25	9	0.88±0.2 ^{def}	0.96±0.2 ^{b-e}	0.32±0.1 ^e	1.44±0.6 ^{cd}
4	0.5	3	1.25±0.6 ^{b-e}	0.50±0.1 ^{de}	0.57±0.1 ^{de}	1.73±0.5 ^{cd}
5	0.5	6	2.42±0.1 ^a	1.50±0.3 ^{a-d}	0.88±0.1 ^{cd}	3.32±0.7 ^{ab}
6	0.5	9	1.92±0.3 ^{ab}	1.17±0.4 ^{b-e}	0.63±0.1 ^{cd}	2.01±0.4 ^{a-d}
7*	1	3	0.83±0.2 ^{def}	0.63±0.2 ^{cd}	1.13±0.2 ^{bc}	1.63±0.5 ^{cd}
8	1	6	1.75±0.4 ^{abc}	1.92±0.4 ^{ab}	1.13±0.2 ^{bc}	3.41±0.4 ^a
9	1	9	1.79±0.2 ^{abc}	1.75±0.3 ^{ab}	1.66±0.2 ^a	1.62±0.2 ^{cd}
10	1.5	3	0.13±0.1 ^f	0.17±0.1 ^e	0.22±0.1 ^e	0.40±0.2 ^e
11	1.5	6	1.54±0.2 ^{bcd}	2.21±0.6 ^a	1.16±0.2 ^{bc}	3.30±0.7 ^{ab}
12	1.5	9	1.92±0.2 ^{ab}	0.58±0.2 ^{cd}	1.42±0.2 ^{ab}	0.87±0.3 ^{de}
13	2	3	0.29±0.1 ^f	0.17±0.1 ^e	0.49±0.3 ^{de}	0.32±0.2 ^e
14	2	6	0.75±0.2 ^{ef}	1.58±0.5 ^{abc}	0.88±0.2 ^{cd}	2.78±0.6 ^{abc}
15	2	9	0.67±0.2 ^{ef}	0.67±0.3 ^{cd}	0.66±0.3 ^{cd}	0.85±0.3 ^{de}
F-test			Sig	Sig	Sig	Sig

Values (mean ± Standard Deviation: SE) in each column superscripted with different lowercase letters are significantly ($p < 0.05$) different; sig = significantly ($p < 0.05$) different, * = controlled treatment.

Table 2 The combinatory effect of MS strength (expressed as xMS) and sucrose concentration on root growth and development of Siam tulip after 6 weeks of culture (Trt = treatment)

Trt	MS (x)	Sucrose (%)	Length of explant shoots (cm)		New roots length (cm)	
			cv. Red Shadow	cv. Khao Yai	cv. Red Shadow	cv. Khao Yai
1	0.25	3	5.45±0.4 ^{ef}	3.17±0.6 ^d	3.75±0.2 ^{bc}	0.86±0.3 ^{c-f}
2	0.25	6	4.21±0.2 ^f	4.19±0.4 ^{bcd}	3.36±0.4 ^{bc}	1.15±0.2 ^{b-f}
3	0.25	9	6.50±1.6 ^{def}	3.45±0.1 ^d	1.08±0.3 ^{ef}	0.47±0.2 ^f
4	0.5	3	5.52±0.5 ^{ef}	5.83±0.3 ^{ab}	3.50±0.2 ^{bc}	1.45±0.1 ^{a-d}
5	0.5	6	6.56±0.5 ^{c-f}	4.44±0.3 ^{a-d}	4.46±0.4 ^b	1.89±0.4 ^{ab}
6	0.5	9	5.57±0.4 ^{ef}	3.43±0.2 ^d	2.13±0.5 ^{de}	0.53±0.1 ^{ef}
7*	1	3	12.16±0.3 ^a	6.31±0.4 ^a	4.38±0.3 ^b	1.99±0.4 ^a
8	1	6	9.04±1.0 ^{bc}	5.86±0.3 ^{ab}	4.29±0.8 ^b	1.59±0.3 ^{abc}
9	1	9	8.74±0.6 ^{bcd}	3.51±0.4 ^{cd}	5.96±0.3 ^a	0.65±0.1 ^{def}
10	1.5	3	11.74±1.1 ^a	5.57±0.3 ^{ab}	4.04±0.5 ^{bc}	1.26±0.1 ^{a-f}
11	1.5	6	10.17±0.7 ^{ab}	5.03±1.2 ^{a-d}	3.34±0.4 ^{bc}	1.26±0.3 ^{a-f}
12	1.5	9	8.27±0.7 ^{bcd}	3.83±1.0 ^{bcd}	2.94±0.3 ^{cd}	0.76±0.4 ^{def}
13	2	3	10.20±0.8 ^{ab}	4.05±0.9 ^{bcd}	3.33±0.2 ^{bc}	0.56±0.2 ^{ef}
14	2	6	7.71±1.2 ^{cd}	5.51±0.8 ^{abc}	2.06±0.2 ^{de}	1.32±0.3 ^{a-e}
15	2	9	6.97±0.3 ^{cd}	3.51±0.6 ^{cd}	0.38±0.2 ^f	0.56±0.2 ^{ef}
F-test			Sig	Sig	Sig	Sig

Values (mean ± Standard Deviation: SE) in each column superscripted with different lowercase letters are significantly ($p < 0.05$) different; sig = significantly ($p < 0.05$) different, * = controlled treatment.

Discussion

Cytokinins play a crucial role in shoots multiplication by promoting cell division and shoots formation in plant tissue culture [18]. This study looked at how two cytokinins, 6-benzylaminopurine (BAP) and Kinetin (Kn), affect the growth of shoots, their length, and the formation of new roots in two types of *C. alismatifolia*: cv. Red Shadow and cv. Khao Yai. BAP was shown to be more effective than Kn in increasing shoots proliferation and shoots elongation in both cultivars. The positive response of BAP across all tested concentrations aligns with previous findings that BAP is a strong promoter of axillary shoots formation in Zingiberaceae species [19, 20, 21]. In cv. Red Shadow, the highest new shoots number was observed at 5 mg/L BAP, but no significant difference was found between 2–5 mg/L BAP. This suggests that a BAP concentration of 2–3 mg/L may be the optimal concentration, as the higher concentrations may not significantly improve shoots proliferation. A similar trend was observed in cv. Khao Yai, where 2 mg/L BAP promoted the longest new shoots, consistent with findings in *Curcuma longa* [21]. Kn was generally less effective in stimulating shoots elongation and multiplication. This supports earlier studies showing that BAP is more efficient than Kn in promoting *in vitro* shoot proliferation in *Curcuma* species [20, 22]. The higher efficacy of cytokinins could be attributed to each plant species and its tissue compared to BAP. The most effective cytokinins for inducing shoots from nodal explants of cucumber were Kn, and the highest number of shoots (7.93 shoots/explant) and the longest shoots (3.61 cm) were obtained on MS medium supplemented with 1 mg/L Kn [23]. New roots development varied between cytokinins treatments. In cv. Red Shadow, BAP had no significant effect on new roots number compared to the control, while Kn significantly reduced new roots formation. Similar trends were observed in cv. Khao Yai, where 2 mg/L BAP promoted the highest new roots number, but it was not significantly different from other BAP or Kn treatments. These results align with previous studies in *Curcuma spp.*, where BAP at moderate concentrations (1–3 mg/L) promoted roots formation, but higher cytokinins levels suppressed rooting due to cytokinins-auxins interactions [24]. High cytokinins concentrations have been shown to reduce roots induction by inhibiting auxins transport, a key hormone in roots development [24]. Explant length was significantly influenced by cytokinins supplementation. In both cultivars, explants grown on BAP-containing medium were shorter than the control, indicating that BAP stimulates lateral shoots proliferation but inhibits internode elongation. This is consistent with findings in *Zingiber officinale*, where BAP promoted compact shoot clusters [21]. Interestingly, the combination of 4 mg/L BAP and 3 mg/L Kn resulted in the maximum number of shoots [21].

The present study examined the effects of Murashige and Skoog (MS) medium strength and sucrose concentration on the shoot multiplication, elongation, and roots development of *C. alismatifolia* (cv. Red Shadow and cv. Khao Yai). The findings highlighted the influence of nutrient concentration and carbohydrate availability on *in vitro* plant growth, supporting previous research on micropropagation of Zingiberaceae species. Shoots multiplication was significantly influenced by MS strength and sucrose concentration. The highest number of shoots was observed at 0.5x MS + 6% sucrose, particularly in cv. Red Shadow (2.42 shoots) and cv. Khao Yai (2.21 shoots). This is consistent with previous studies that suggest an optimal salt concentration promotes shoot growth and development in Zingiberaceae [25, 26]. The highest shoot elongation was recorded in 1x MS + 3% sucrose, with 12.16 cm in cv. Red Shadow and 6.31 cm in cv. Khao Yai. This suggests that a balanced nutrient supply with suitable cytokinins favors shoots elongation and roots

growth [27]. The highest percentage of proliferation of *Curcuma caesia* was found in full strength MS medium supplemented with 3 mg/L BAP and 0.5 mg/L NAA. Micropropagation of strawberry 'Pharachatan 80', by using the modified MS basal medium at half strength of KNO₃, higher Mesos, Minors (Zn, Cu, B, Mo, Cl, Mn) and Iron significantly improved growth of micro-shoots [28]. The best roots development was observed in 1x MS + 9% sucrose for cv. Red Shadow (5.96 cm) and 1x MS + 3% sucrose for cv. Khao Yai (1.99 cm). This confirms that sucrose plays a crucial role in root elongation, increased carbohydrate supplies enhanced roots length for *in vitro* ginger (*Zingiber officinale* Rosco) [29]. Roots growth of ginger was highly affected by increased sucrose due to treatment effects in which the maximum number and length of new roots were recorded from mediums adding 60 g/L (or 6%) sucrose supplemented with 3, 6, and 9 mg/L BAP [29]. Carbon sources have a direct bearing on the frequency and quality of roots, which ultimately determines *ex vitro* growth. The sugar types and concentrations, including their interactions, have significant effects on root thickness [30]. Sucrose in the culture medium results in the production of high levels of reducing sugars: glucose and fructose [31]. Those reducing sugars may accelerate cell division and consequently lead to an increase in the plant weight and growth at a suitable pH of the culture medium.

Conclusion

The results suggest that BAP is the preferred cytokinins for *in vitro* multiplication of *C. alismatifolia*, with optimal shoots proliferation occurring at 2–5 mg/L BAP. Kn was less effective in promoting shoots multiplication and caused a reduction in roots formation. The study confirms that optimal MS strength and sucrose concentration vary depending on the specific growth parameter being targeted. For shoots multiplication, 0.5x MS + 6% sucrose was the most effective, whereas shoots elongation was best achieved with 1x MS + 3% sucrose. Roots development benefits from 1x MS + 9% sucrose, though excessively high MS and sucrose levels negatively affect overall growth.

Acknowledgements

Funding for this study was from Asst. Prof. Sukalya Poothong. Moreover, all facilities were supported by the University of Phayao and School of Agricultural and Natural Resources.

References

- [1] Lekawatana S, Suwannamek B. Ornamental plants in Thailand. Proceeding of the I International Symposium on Tropical and Subtropical Ornamentals, 2016 Mar 7-9; Krabi, Thailand. Acta Hortic. 1167. 2016;1-16.
- [2] Ruamrungsri S. The physiology of *Curcuma alismatifolia* Gagnep. as a basis for the improvement of ornamental production. Eur. J. Hortic. Sci. 2015;80(6):316-321.
- [3] Boontiang K, Siritrakulsak T, Nontaswatsri C. A strategic approach to achieve healthy plant growth and decontaminated rhizome of *Curcuma alismatifolia* Gagenep. cultivation in modified substrate on raised-bed planting. J. Appl. Hortic. 2024;26(02):202-205.
- [4] Promsai S, Tragoolpua Y, Thongwai N. Biological control of bacterial wilt in Pathumma; *Curcuma alismatifolia*. Glob. J. Environ. Sci. Manag. 2023;9:127-144.

- [5] Toppoonyanont N, Chongsang S, Chujaan S, Somsueb S, Nuamjaroen P. Micropropagation Scheme of *Curcuma alismatifolia* Gagnep. In IX International Symposium on Flower Bulbs. Acta Hortic. 673. 2004;705-712.
- [6] Zhang S, Liu N, Sheng A, Ma G, Wu G. Direct and callus-mediated regeneration of *Curcuma soloensis* Valetton (Zingiberaceae) and *ex vitro* performance of regenerated plants. Sci. Hortic. 2011;130(4):899-905.
- [7] Van Tan P. Micropropagation of *Curcuma* sp., a threatened medicinal plant. Adv. Biosci. Biotechnol. 2016;7(10):418.
- [8] Yoosumran V, Saetiew K, Ruamrungsri S, Akarapisarn A, Teerarak M. Micropropagation of young inflorescence *Curcuma* hybrid *in vitro*. Int. J. Agric. Technol. 2022;18(3):1355-1366.
- [9] Hung C D, Trueman S J. Cytokinin concentrations for optimal micropropagation of *Corymbia torelliana* × *C. citriodora*. Aust. For. 2012;75(4):233-237.
- [10] Sarkar J, Banerjee N. Influence of different cytokinins on micropropagation of an important medicinal plant, *Solanum erianthum* D. Don, and assessment of the genetic fidelity of the regenerants. In Vitro Cell Dev. Biol-Plant. 2020;56:480-490.
- [11] Poothong S, Khen T, Chumphukam O. *In vitro* mineral nutrition for improving growth and multiplication of stevia. Agr. Nat. Resour. 2018;52(5):477-483.
- [12] Khajehyar R, Tripepi R, Price W J, Love S. Optimization of Selected Minerals and a Cytokinin for *In Vitro* Propagation of Little-Leaf Mockorange (*Philadelphus microphyllus* A. Gray) Using Response Surface Methodology (RSM). Plants. 2024;13(23):3446.
- [13] Poothong S, Reed B M. Modeling the effects of mineral nutrition for improving growth and development of micropropagated red raspberries. Sci. Hortic. 2014;165:132-141.
- [14] Ayoola-Oresanya I O, Sonibare M A, Gueye B, Abberton M T, Morlock G E. Elicitation of antioxidant metabolites in *Musa* species *in vitro* shoot culture using sucrose, temperature and jasmonic acid. Plant Cell Tissue Organ Cult. 2021;146:225-236.
- [15] Jo E A, Tewari R K, Hahn E J, Paek K Y. *In vitro* sucrose concentration affects growth and acclimatization of *Alocasia amazonica* plantlets. Plant Cell Tissue Organ Cult. 2009;96:307-315.
- [16] Al-Khalifah N S, Hadi S, Khan F. Influence of Sucrose Concentration on *in vitro* Growth of Five Rose (*Rosa hybrida* L.) Cultivars. Plant Tissue Cult. 2005;15(1):43-49.
- [17] Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 1962;15:473–497.
- [18] George E F, Hall M A, De Klerk G J, editors. Plant propagation by tissue culture, 3rd ed. Basingstoke: Springer Dordrecht; 2008.502 p.
- [19] Saensouk S, Sonthongphithak P, Chumroenphat T, Muangsang N, Souladeth P, Saensouk P. *In Vitro* Multiplication, Antioxidant Activity, and Phytochemical Profiling of Wild and *In Vitro*-Cultured Plants of *Kaempferia larsenii* Sirirugsa—A Rare Plant Species in Thailand. Hortic. 2025;11(3):281.

- [20] Noor Camellia N A, Nora'ini A, Izlamira R, Mirfat A H S, Ahmad Arif I, Yaseer S. The Impact of 6-Benzylaminopurine (BAP) on Plant Growth, Micro-Rhizome Induction and Phytochemical Content of Black Ginger (*Kaempferia Parviflora*) Using Two *In-Vitro* Culture System. J. adv. biol. 2025;28(2):526-36.
- [21] Bhattacharya M, Sen A. Rapid *in vitro* multiplication of disease-free *Zingiber officinale* Rosc. Indian J. Plant Physiol. 2006;11(4):379-384.
- [22] Ugochukwu S C, Bob S E, Ozioma O, Odii E B, Ijeoma I C, Olanike O. Shoot proliferation of *in vitro* turmeric (*Curcuma longa* L.) affected by different concentrations of benzylaminopurine (BAP). No. of surviving plantlets X 100No. replicates in a treatment. World J. Agric. Sci. 2013;9(3):227-230.
- [23] Abu-Romman S M, Al-Hadid K A, Arabiyyat A R. Kinetin is the most effective cytokinin on shoot multiplication from cucumber. J. Agric. Sci. 2015;7(10):159.
- [24] Zapata E V, Morales G S, Lauzardo A N H, Bonfil B M, Tapia G T, Sánchez A D J, et al. *In vitro* regeneration and acclimatization of plants of turmeric (*Curcuma longa* L.) in a hydroponic system. Biotecnol. apl. 2003;20(1):25-31.
- [25] Taghavi T, Rahemi A, Rafie R, Kering M K. Optimizing turmeric tissue culture, testing different media and a plant growth regulator matrix. Hort Tech. 2021;31(6):692-704.
- [26] Haida Z, Sinniah U R, Nakasha J J, Hakiman M. Shoot induction, multiplication, rooting and acclimatization of black turmeric (*Curcuma caesia* Roxb.): an important and endangered curcuma species. Hortic. 2022;8(8):740.
- [27] Zuraida A R. Improved *in vitro* propagation of *Curcuma caesia*, a valuable medicinal plant. J. Trop. Agric. and Fd. Sc. 2013;41(2):273 – 281.
- [28] Poothong S. Optimization of minerals and plant growth regulators for micropropagation of strawberry 'Pharachatana 80'. Health Sci. Tech. Rev. 2020;13(2):5-17.
- [29] Gezahegn G, Feyisa T, Rezene Y. Induction of micro-rhizomes for *in vitro* ginger (*Zingiber officinale* Rosco) disease-free planting materials regeneration. Biotechnol. Rep. 2024;41:e00820.
- [30] Al-Khateeb A. Influence of different carbon sources and concentrations on *in vitro* root formation of date palm, *Phoenix dactylifera* L. cv Khanezi. Zagazig. J Agricultural Res. 2002;28(3):597–608.
- [31] Gürel S, Gülsen Y. The effects of different sucrose, agar and pH levels on *in vitro* shoot production of almond (*Amygdalus communis* L.). Turkish J Bot. 1998;22:363–373.

บทความวิจัย (Research Article)

ผลของการให้แคลเซียมแลคเตทและแคลเซียมคลอไรด์ก่อนการเก็บเกี่ยวต่อการเจริญเติบโต ผลผลิตและคุณภาพก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวของต้นอ่อนทานตะวัน
เปรมหทัย เชื้อนวัง¹, ยศวัฒน์ คำสมุทร¹, วิชุดา พิมพิทยานัน¹, บุญร่วม คิตคำ¹ และ วาสนา พิทักษ์พล^{1*}

Effects of preharvest applications of calcium lactate and calcium chloride on the growth, yield and postharvest quality of sunflower microgreens

Premhathai Khueanwang¹, Yodsawat Kamsamut¹, Wisuda Pimtayan¹, Bunruam Khitka¹
and Wasna Pithakpol^{1*}

¹ Program in Agricultural Science, School of Agriculture and Natural Resources, University of Phayao,
Phayao Province 56000, Thailand

* Corresponding author, E-mail: pi.wasna24@gmail.com

Health Science, Science and Technology Reviews. 2025;18(2):47-61.

Received: 25 April 2025; Revised: 29 July 2025; Accepted: 19 August 2025

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลการพ่นสารละลายแคลเซียมก่อนการเก็บเกี่ยวต่อการเจริญเติบโต ผลผลิตและคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของต้นอ่อนทานตะวัน การทดลองจัดแบบ 2x5 แฟกทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ประกอบด้วย 2 ปัจจัย ได้แก่ 1) ชนิดของแคลเซียม 2 ชนิด (แคลเซียมแลคเตทและแคลเซียมคลอไรด์) และ 2) ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ (0, 0.04, 0.4, 0.8 และ 1.6%) โดยพ่นสารละลายในช่วงวันที่ 4-6 หลังเพาะเมล็ด และเก็บเกี่ยวในวันที่ 7 จากนั้นบรรจุในกล่องพลาสติกและเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 10±2°C ความชื้นสัมพัทธ์ 80±2%) เป็นเวลา 24 วัน ผลการศึกษาพบว่า ชนิดของสารแคลเซียมไม่มีผลต่อความสูง น้ำหนัก ความยาวราก และความยาวใบ แต่มีผลต่อความกว้างใบและผลผลิตมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามแคลเซียมแลคเตทให้ผลผลิต น้ำหนักสดสูงกว่าแคลเซียมคลอไรด์ ส่วนระดับความเข้มข้น 0.04 และ 0.4% ส่งผลให้ต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตและผลผลิตสูงกว่าระดับอื่นๆ ในด้านคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวพบว่า การพ่นแคลเซียมสามารถชะลอการสูญเสียน้ำหนักและรักษาคุณภาพได้ดี โดยแคลเซียมแลคเตทลดการสูญเสียน้ำหนักได้ดีกว่าแคลเซียมคลอไรด์ นอกจากนี้ความเข้มข้น 0.04 และ 0.4% ช่วยลดการสูญเสียน้ำหนัก ชะลอเปลี่ยนแปลงสีใบ ลดการเน่า และการช้ำของใบ ส่งผลให้คุณภาพโดยรวมดี เมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดของแคลเซียมกับระดับความเข้มข้นพบว่า สารละลายแคลเซียมแลคเตท ระดับความเข้มข้น 0.04 และ 0.4% มีผลผลิตสูงกว่าและช่วยลดการสูญเสียน้ำหนักได้ดีกว่ากรรมวิธีอื่นๆ รวมทั้งมีต้นทุนการผลิตต่ำและให้ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจที่ดีมีกำไรมากกว่ากรรมวิธีอื่นๆ

คำสำคัญ: แคลเซียมแลคเตท, แคลเซียมคลอไรด์, คุณภาพ, ผลผลิต, ต้นอ่อนทานตะวัน

¹ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา จังหวัดพะเยา 56000 ประเทศไทย

Abstract

The objective of this research was to study the effects of pre-harvest spraying of calcium on the growth, yield, and postharvest quality of sunflower microgreens. The experiment was designed using a Factorial in Completely Randomized Design with two factors: 1) Two types of calcium (calcium lactate and calcium chloride, CaCl_2) and 2) Five levels of calcium concentration (0, 0.04, 0.4, 0.8, and 1.6%). Calcium solutions were daily sprayed to sunflower microgreens during 4-6 days after seed sowing and microgreens were harvested at 7th days, packed in plastic tray and stored at low temperature ($10 \pm 2^\circ\text{C}$ $80 \pm 2\%\text{RH}$) for 24 days. Results indicated that type of calcium had no significant effect on plant height, shoot weight, root length, or leaf length. However, it significantly affected on yield that spraying with calcium lactate solution causes sunflower microgreens to have higher yield than CaCl_2 spraying. Regarding calcium concentration, the 0.04 and 0.4% resulted in higher yield than the other levels. As for the postharvest quality during 24 days at low temperature storage, calcium spraying has been shown to slow down weight loss and maintain quality. Sunflower microgreens sprayed with calcium lactate solution have a lower weight loss than CaCl_2 solution, and in addition, calcium solution at 0.40 and 0.04% reduce weight loss, slow down leaf color change, and reduces bruising and decay of leaves and has better overall quality than other treatments, When considering interaction between calcium type and concentration levels, it was found that calcium lactate at 0.04 and 0.4% had higher yield and lower weight loss than the other treatments, as well as the lower production costs and higher profit than the other treatments.

Keywords: Calcium lactate, Calcium chloride, Quality, Yield, Sunflower microgreen

บทนำ

ไมโครกรีนทานตะวันหรือต้นอ่อนทานตะวัน (Sunflower microgreens, *Helianthus annuus* L.) ได้จากการเพาะเมล็ดทานตะวันให้งอกและเก็บเกี่ยวต้นอ่อนที่มีอายุ 7-11 วันหลังเพาะเมล็ด โดยปัจจุบันกระแสการบริโภคต้นอ่อนเพื่อเป็นอาหารสุขภาพได้รับความนิยมและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเนื่องจากต้นอ่อนมีคุณค่าทางโภชนาการสูงเมื่อเปรียบเทียบกับผักใบเขียวที่โตเต็มที่ ต้นอ่อนทานตะวัน 100 กรัมประกอบด้วยโปรตีน 2 กรัม คาร์โบไฮเดรต 2.4 กรัม ไขมัน 4.7 กรัม โยอาหาร 1.2 กรัม และพลังงาน 53 กิโลแคลอรี รวมทั้งยังมีสารอาหารอื่น ๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น วิตามินเอ วิตามินบี 1 วิตามินบี 6 วิตามินอี วิตามินซี ธาตุเหล็ก และโฟเลต รวมทั้งกรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกาย ได้แก่ โอเมก้า 3 6 และ 9 และมีสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น สารประกอบฟีนอลิก และกรด GABA (gamma-aminobutyric acid) ซึ่งเป็นสารสื่อประสาทในระบบประสาทส่วนกลาง ช่วยรักษาความสมดุลในสมองและช่วยในการบำรุงเซลล์สมอง [1] นอกจากนั้นกระบวนการผลิตต้นอ่อนทานตะวันทำได้ง่าย ไม่ยุ่งยากและไม่ซับซ้อนแต่ให้ผลตอบแทนที่มีมูลค่าสูง โดยการเพาะใช้พื้นที่น้อย วัสดุปลูกหาได้ง่ายในพื้นที่ รวมทั้งใช้ระยะเวลาการเพาะปลูกที่สั้น สามารถเก็บเกี่ยวได้เร็วโดยอายุตั้งแต่เพาะจนถึงเก็บเกี่ยวไม่เกิน 11 วัน รวมทั้งได้ต้นอ่อนที่ปลอดภัยจากสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช [2]

ปัญหาหลังการเก็บเกี่ยวที่สำคัญของต้นอ่อนทานตะวันคือมีอายุการเก็บรักษาสั้นจากการสูญเสียน้ำหนักเหี่ยว เน่าเสียง่าย สูญเสียความสด เนื่องจากเก็บเกี่ยวต้นอ่อนในช่วงแรกของการเจริญเติบโตมีอัตราการหายใจสูง [3] ส่งผลให้ต้นอ่อนเกิดการเสื่อมสภาพอย่างรวดเร็วและมีอายุการวางจำหน่ายสั้นเมื่อเทียบกับผักใบเขียวที่โตเต็มที่ ซึ่งมีอายุประมาณ 3-5 วันที่อุณหภูมิห้อง โดยมีรายงานว่า การให้แคลเซียม (Ca) มีบทบาทที่สำคัญต่อการเจริญเติบโต การพัฒนา การรักษาคุณภาพ ช่วยชะลอการเสื่อมสภาพของใบและการสุก และยังมีอายุการเก็บรักษาผักและผลไม้ได้

โดยแคลเซียมเป็นองค์ประกอบหนึ่งของเพคตินในผนังเซลล์พืช ทำให้ผนังเซลล์พืชแข็งแรงและเพิ่มแรงดึงระหว่างเซลล์พืช คงความแน่นเนื้อ ความสดของผักและผลไม้ [4] รวมทั้งแคลเซียมมีผลต่อการชักนำการปิดปากใบ ซึ่งมีผลต่อการ สูญเสียน้ำและความชื้นในพืช โดยมีรายงานว่า การให้แคลเซียมกับผลิตผลโดยการฉีดพ่นทางใบก่อนการเก็บเกี่ยวเป็น วิธีการที่เพิ่มปริมาณแคลเซียมที่ได้ผลดีที่สุด [5] และมีความปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อมและสิ่งมีชีวิตจึงเหมาะสมสำหรับการนำไปใช้ทางการเกษตร [6] โดยแคลเซียมแลคเตทมีประโยชน์ในการรักษาเนื้อสัมผัส ช่วยปรับปรุงเนื้อสัมผัสใน ผลิตภัณท์สดและผลิตภัณท์แปรรูปเช่นเดียวกันแคลเซียมคลอไรด์แต่ไม่ทำให้เกิดรสขมและกลิ่นแปลกปลอมตกค้าง [7] รวมทั้งจำหน่ายในราคาถูก หาซื้อได้ง่ายและได้รับอนุญาตจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาให้ใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหารได้ [8] โดยมีรายงานว่า การพ่นแคลเซียมคลอไรด์ทางใบความเข้มข้น 20 มิลลิโมลลาร์ และแคลเซียมแลคเตท ความเข้มข้น 1.5% ให้กับผักกาดหอม สามารถเพิ่มการเจริญเติบโต ผลผลิตสด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณคลอโรฟิลล์ และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ [9] และ [10] ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาผลของการฉีดพ่นสารละลายแคลเซียมแลคเตท และสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ก่อนการเก็บเกี่ยว ต่อการ เจริญเติบโต ผลผลิตและคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของต้นอ่อนทานตะวัน

วัสดุและวิธีการ

การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลอง 2 × 5 Factorial in Completely Randomized Design ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยปัจจัยที่ 1 คือชนิดของแคลเซียม 2 ชนิด ได้แก่ แคลเซียมแลคเตท (Calcium lactate (Netherlands)[®]) และแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl₂ Food Grade) ปัจจัยที่ 2 คือ ระดับความเข้มข้นของแคลเซียม 5 ระดับ ได้แก่ 0, 0.04, 0.4, 0.8 และ 1.6%

การเพาะเมล็ดและเก็บเกี่ยวต้นอ่อน นำเมล็ดทานตะวัน (สายพันธุ์สายไทย[®]) มาแช่น้ำสะอาด เก็บไว้ใน อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 8 ชั่วโมง จากนั้นนำเมล็ดมาบ่มในที่มืดไม่มีแสงโดยการคลุมด้วยพลาสติกสีดำ เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง นำเมล็ดทานตะวัน (50 กรัม) มาหว่านกระจายให้สม่ำเสมอในวัสดุปลูก (ขุยมะพร้าวที่ผ่าน การแช่น้ำเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมงเพื่อกำจัดสารแทนนินออกให้หมด) ใช้ถาดเพาะขนาดกว้าง 22.50 เซนติเมตร ยาว 27.50 เซนติเมตร สูง 10.00 เซนติเมตร หลังจากนั้นทำการพ่นต้นอ่อนด้วยน้ำสะอาด (Deionized Water, pH=7) โดยในช่วงวันที่ 1-3 หลังเพาะเมล็ดทำการพ่นด้วยน้ำสะอาด 2 เวลา คือ ในช่วงเช้า และช่วงเย็น โดยแต่ละช่วงจะพ่นใน ปริมาตร 200 มิลลิลิตร จากนั้นในวันที่ 4-6 หลังเพาะเมล็ด นำต้นอ่อนทานตะวันมารับแสงและทำการพ่นสารละลาย แคลเซียมแลคเตท และสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ตามกรรมวิธีที่กำหนดและฉีดพ่นในปริมาณเดียวกัน และในวันที่ 7 หลังเพาะเมล็ด ทำการเก็บเกี่ยวต้นอ่อนโดยใช้มีดที่คมและผ่านการฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ ตัดโคนต้นเหนือดิน ประมาณ 1 เซนติเมตร ซึ่งเป็นส่วนไฮโปคอติล และใบเลี้ยง คัดแยกต้นที่ไม่สมบูรณ์ ต้นที่เป็นโรค และสิ่งปนเปื้อนออก

การเก็บรักษา นำต้นอ่อนที่มีคุณภาพดี สมบูรณ์ ไม่มีโรค ใบสีเขียว มาใช้ในการทดลอง โดยบรรจุต้นอ่อนใน กล่องพลาสติกโพลีไทรีน (บรรจุ 70 กรัมต่อกล่องพลาสติกโพลีไทรีน TC- 4HA กล่องใส ขนาด 16×11×4 เซนติเมตร มีฝาปิด ไม่เป็นไอน้ำ) แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10±2°C ความชื้นสัมพัทธ์ 80±2% เป็นระยะเวลา 24 วัน

การบันทึกผลการทดลอง

ประเมินการเจริญเติบโต ผลผลิต คุณภาพหลังการเก็บเกี่ยว (ระหว่างเก็บรักษา) และต้นทุนการผลิต

การเจริญเติบโตและผลผลิต ทำการเก็บเกี่ยวต้นอ่อนทานตะวันในวันที่ 7 หลังเพาะเมล็ด จากนั้นทำการ บันทึกผลการเจริญเติบโตได้แก่ 1) น้ำหนักต่อนต้นและผลผลิตต่อตะกร้า ด้วยเครื่องชั่งน้ำหนัก (Sartorius CP 3202 S) 2) ความสูงต้น ความยาวราก ความกว้างใบเลี้ยงและความยาวใบเลี้ยง โดยใช้ดิจิทัลเวอร์เนียร์คาลิเปอร์ 3) ค่าความ เขียวของใบ (Greenness value, SPAD unit) โดยวัดบริเวณกลางใบของใบเลี้ยงต้นอ่อนทานตะวัน ด้วยเครื่อง Chlorophyll meter (SPAD-502Plus, บริษัท Konica Minolta, ประเทศญี่ปุ่น)

คุณภาพหลังการเก็บเกี่ยว (ระหว่างการเก็บรักษา) นำต้นอ่อนทานตะวันไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $10 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ความชื้นสัมพัทธ์ $80 \pm 2\%$ เป็นระยะเวลา 24 วัน ทำการประเมินคุณภาพดังนี้

- 1) การสูญเสียน้ำหนัก (Weight loss %) ซึ่งต้นอ่อนทานตะวันด้วยเครื่องชั่งน้ำหนัก (Sartorius CP 3202 S) ทำการประเมินทุก 7 วัน จากนั้นนำมาคำนวณ % การสูญเสียน้ำหนัก โดยสมการ

$$\text{Weight loss (\%)} = \frac{(\text{Start weight} - \text{Last weight}) \times 100}{\text{Start weight}}$$

- 2) การเปลี่ยนแปลงคุณภาพ (Quality changed) โดยดัดแปลงตามการประเมินของ Poondet และ Nimchit [3] ทำการประเมินทุก 5 วัน ได้แก่

2.1) การเปลี่ยนแปลงสีใบ (Leaf color change) โดยใช้ค่าคะแนนการเปลี่ยนแปลงของสี 5 ระดับ คือ คะแนน 5 หมายถึง ใบต้นอ่อนทานตะวันมีสีเขียวมาก คะแนน 4 หมายถึง ใบต้นอ่อนทานตะวันมีสีเขียว คะแนน 3 หมายถึง ใบต้นอ่อนทานตะวันมีสีเหลืองเล็กน้อยร้อยละ 25 คะแนน 2 หมายถึง ใบต้นอ่อนทานตะวันมีสีเหลืองร้อยละ 50 และคะแนน 1 หมายถึง ใบต้นอ่อนทานตะวันมีสีเหลืองมากกว่าร้อยละ 50

2.2) ประเมินลักษณะที่ปรากฏ (Appearance quality) โดยใช้ค่าคะแนนการเปลี่ยนแปลงลักษณะภายนอกของต้นอ่อนทานตะวัน 5 ระดับ คือคะแนน 5 หมายถึง ต้นอ่อนทานตะวันมีลักษณะสดมาก ไม่เหี่ยว ไม่เน่า ไม่ช้ำ และไม่มี ความผิดปกติทางสรีรวิทยา คะแนน 4 หมายถึง ต้นอ่อนทานตะวันมีลักษณะสด ไม่เหี่ยว ไม่เน่า ไม่ช้ำ และไม่มี ความผิดปกติทางสรีรวิทยา คะแนน 3 หมายถึง ต้นอ่อนทานตะวันมีลักษณะเหี่ยวเล็กน้อย ไม่เน่า ไม่ช้ำ และไม่มี ความผิดปกติทางสรีรวิทยา คะแนน 2 หมายถึง ต้นอ่อนทานตะวันมีลักษณะเหี่ยว เริ่มเน่า เริ่มช้ำ และเริ่มมีความผิดปกติทาง สรีรวิทยา และคะแนน 1 หมายถึง ต้นอ่อนทานตะวันมีลักษณะเหี่ยว เน่า ช้ำ มีความผิดปกติทางสรีรวิทยา

2.3) คุณภาพโดยรวม (Overall quality) โดยใช้ค่าคะแนนการเปลี่ยนแปลงสีและลักษณะที่ปรากฏของต้นอ่อนทานตะวัน 5 ระดับ คือคะแนน 5 หมายถึง คุณภาพดีมาก คะแนน 4 หมายถึง คุณภาพดี คะแนน 3 หมายถึง คุณภาพยอมรับได้ คะแนน 2 หมายถึง คุณภาพไม่ค่อยดี และคะแนน 1 หมายถึง คุณภาพไม่ดี

3) ค่าความเขียวของใบ (Greenness value, SPAD unit) ประเมินค่าความเขียวของใบ โดยวัดบริเวณกลางใบของใบเลี้ยงต้นอ่อนทานตะวัน ด้วยเครื่อง Chlorophyll meter (SPAD-502Plus, บริษัท Konica Minolta, ประเทศญี่ปุ่น) โดยทำการประเมินทุก 7 วัน

4) ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด (Total chlorophyll) ทำการวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ของต้นอ่อนทานตะวันตามวิธีการของ Witham et al. [11] โดยทำการประเมินทุก 7 วัน

ต้นทุนการผลิต

ทำการวิเคราะห์สูตรทางการบัญชีโดยใช้สูตรวิเคราะห์ต้นทุนการผลิตต่อหน่วย [12] ต้นทุนทั้งหมดในการผลิตต้นอ่อนทานตะวัน คือ ค่าวัสดุเพาะ ค่าเมล็ดพันธุ์ และค่าสารละลาย สูตร กำไร (Profit) = รายได้ - ต้นทุนทั้งหมด

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of variances: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม R Version 4.2.3.

ผลการศึกษา

การเจริญเติบโตและผลผลิต

การพ่นแคลเซียม 2 ชนิด คือแคลเซียมแลคเตทและแคลเซียมคลอไรด์ ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ให้กับต้นอ่อนทานตะวันในวันที่ 3-6 หลังเพาะเมล็ด จากนั้นทำการเก็บเกี่ยวต้นอ่อน นำมาวัดการเจริญเติบโตพบว่า แคลเซียมทั้ง 2 ชนิดคือแคลเซียมแลคเตทและแคลเซียมคลอไรด์ ทำให้ต้นอ่อนทานตะวันมีความสูง น้ำหนัก ความยาวราก และความยาวใบ ใกล้เคียงกันและไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ชนิดของแคลเซียมมีผลต่อผลผลิต โดยที่การพ่นด้วยสารละลายแคลเซียมแลคเตท ทำให้ต้นอ่อนทานตะวันมีผลผลิตมากกว่าการพ่นสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยมีผลผลิต 105.46 กรัมต่อตะกร้า (1,701 กรัมต่อตารางเมตร) และ 94.40 กรัมต่อตะกร้า (1,523 กรัมต่อตารางเมตร) ตามลำดับ สำหรับระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมพบว่ามีการเจริญเติบโต (ความสูงต้น น้ำหนักต้น ความยาวราก ความกว้างใบ ความยาวใบ) และผลผลิตของต้นอ่อนทานตะวันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยที่สารละลายแคลเซียมที่ระดับความเข้มข้น 0.04% ทำให้ผลผลิตมากกว่าระดับความเข้มข้นอื่นๆ โดยมีผลผลิต 112.78 กรัมต่อตะกร้า หรือ 1,819 กรัมต่อตารางเมตร รองลงมาคือสารละลายแคลเซียม 0.4% ให้ผลผลิต 107.41 ต่อตะกร้าหรือ 1,732 กรัมต่อตารางเมตร) แต่การให้สารละลายแคลเซียมที่ระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้นตั้งแต่ 0.8% มีผลให้ต้นอ่อนทานตะวันมีการเจริญเติบโตและผลผลิตลดลง โดยที่แคลเซียมที่ระดับความเข้มข้น 1.6% พบว่าต้นอ่อนทานตะวันมีความสูงและผลผลิตน้อยที่สุด 10.97 เซนติเมตร และ 83.1 กรัมต่อตะกร้า หรือ 1,340 กรัมต่อตารางเมตร ตามลำดับ เมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดของแคลเซียมกับระดับความเข้มข้น พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสารละลายแคลเซียมแลคเตท ที่ระดับความเข้มข้น 0.8% ทำให้มีความสูงต้นสูงที่สุด 13.37 เซนติเมตร และสารละลายแคลเซียมแลคเตท ระดับความเข้มข้น 0.04 และ 0.4% ทำให้มีผลผลิตมากกว่ากรรมวิธีอื่นๆ โดยมีค่าเท่ากับ 116.04 กรัมต่อตะกร้า (1,871.61 กรัมต่อตารางเมตร) และ 113.20 กรัมต่อตะกร้า (1,825.81 กรัมต่อตารางเมตร ดังแสดงใน (Table 1)

คุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของต้นอ่อนทานตะวันในระหว่างการเก็บรักษา

การสูญเสียน้ำหนัก นำต้นอ่อนทานตะวันที่พ่นด้วยสารละลายแคลเซียมแลคเตทและสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน ไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $10 \pm 2^{\circ}\text{C}$ เป็นระยะเวลา 24 วันทำการประเมินการสูญเสียน้ำหนักแสดงใน Table 2 พบว่าต้นอ่อนทานตะวันที่พ่นด้วยสารละลายแคลเซียมทั้ง 2 ชนิด มีการสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้นตลอดอายุการเก็บรักษา และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยต้นอ่อนทานตะวันที่พ่นด้วยสารละลายแคลเซียมแลคเตท มีการสูญเสียน้ำหนักน้อยกว่าสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ โดยมีค่า 9.97 และ 11.95% ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมที่ใช้พ่นมีผลต่อการสูญเสียน้ำหนัก โดยสารละลายแคลเซียมที่ระดับความเข้มข้น 0.4% และ 0.04% มีการสูญเสียน้ำหนักน้อยกว่ากรรมวิธีอื่นๆ โดยมีค่า 9.98 และ 10.13% ตามลำดับ ขณะที่ชุดควบคุมที่พ่นด้วยน้ำมีการสูญเสียน้ำหนักมากที่สุด 11.77% เมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดของแคลเซียมกับระดับความเข้มข้น พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสารละลายแคลเซียมแลคเตทที่ระดับความเข้มข้น 0.04 และ 0.4% มีการสูญเสียน้ำหนักน้อยกว่ากรรมวิธีอื่น โดยมีค่าเท่ากับ 9.18 และ 9.12%

การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของต้นอ่อนทานตะวัน ทำการประเมินการเปลี่ยนแปลงสีใบ การเปลี่ยนแปลงลักษณะปรากฏและคุณภาพโดยรวมของต้นอ่อนทานตะวันที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ $10\pm 2^{\circ}\text{C}$ เป็นระยะเวลา 24 วัน แสดงใน Figure 1 และ Figure 2 พบว่าการพ่นสารละลายแคลเซียมมีแนวโน้มช่วยชะลอการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของต้นอ่อนทานตะวันระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำได้ โดยเฉพาะการพ่นด้วยสารละลายแคลเซียมแลคเตทและแคลเซียมคลอไรด์ ที่ระดับความเข้มข้น 0.4% ช่วยชะลอการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของต้นอ่อนได้ดีกว่ากรรมวิธีอื่นๆ โดยมีคะแนนสีใบ 3.63 คะแนน (ใบอ่อนมีการเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลืองเล็กน้อยร้อยละ 25) คะแนนลักษณะปรากฏ 3.88 คะแนนและ 3.75 คะแนนตามลำดับ (เหี่ยวเล็กน้อย ไม่เน่า ไม่ช้ำ ไม่มีความผิดปกติทางสรีรวิทยา) และคะแนนคุณภาพโดยรวม 3.75 คะแนนและ 3.63 คะแนนตามลำดับ (คุณภาพยอมรับได้) ในขณะที่ต้นอ่อนทานตะวันชุดควบคุมที่พ่นด้วยน้ำมีคะแนนคุณภาพต่ำสุด โดยมีคะแนนสีใบ 2.38 คะแนน (สีใบที่มีสีเหลืองมากกว่าร้อยละ 50) คะแนนลักษณะปรากฏ 2.63 คะแนน (เหี่ยว เน่า ช้ำ และมีความผิดปกติทางสรีรวิทยา) และคะแนนคุณภาพโดยรวม 2.63 คะแนน (ระดับไม่ค่อยดี) (Figure 2)

ค่าความเขียวใบ พบว่าชนิดของสารละลายแคลเซียมไม่มีผลต่อค่าความเขียวของใบ โดยเมื่อทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ $10\pm 2^{\circ}\text{C}$ เป็นระยะเวลา 24 วัน พบว่าไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการพ่นสารละลายแคลเซียมแลคเตทและสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ทำให้ต้นอ่อนทานตะวันมีค่าความเขียวของใบ เท่ากับ 49.23 และ 49.96 SPAD unit ตามลำดับ ในขณะที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมมีผลต่อค่าความเขียวของใบโดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยสารละลายแคลเซียมที่ระดับความเข้มข้น 0.4% ทำให้มีค่าความเขียวของใบเฉลี่ยมากที่สุด 50.50 SPAD unit ในขณะที่ต้นอ่อนทานตะวันที่พ่นด้วยน้ำ มีค่าความเขียวใบน้อยที่สุด 48.30 SPAD unit เมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดของแคลเซียมกับระดับความเข้มข้น พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 1.6 และ 0.8% มีค่าความเขียวของใบเฉลี่ยมากที่สุด 51.55 และ 51.02 SPAD unit (Table 3)

ปริมาณคลอโรฟิลล์ พบว่าชนิดของแคลเซียมที่ฉีดพ่นคือสารละลายแคลเซียมแลคเตทและสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดของต้นอ่อนทานตะวันที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ $10\pm 2^{\circ}\text{C}$ เป็นระยะเวลา 24 วัน โดยมีค่าปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดของใบเท่ากัน คือ 0.030 mg./g fw. ในขณะที่ความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมมีผลต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยที่การฉีดพ่นสารละลายแคลเซียมที่ระดับความเข้มข้น 0.04 และ 0.4% ทำให้มีปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดของใบเฉลี่ยมากที่สุด คือ 0.033 mg./g fw. ในขณะที่การฉีดพ่นสารละลายแคลเซียมที่ระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้นคือ 0.8 และ 1.6% ทำให้มีปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดเฉลี่ยน้อยกว่ากรรมวิธีอื่นๆ คือ 0.028 และ 0.026 mg./g fw. ตามลำดับ เมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดของสารละลายแคลเซียมกับระดับความเข้มข้น พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่สารละลายแคลเซียมแลคเตทและสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่ระดับความเข้มข้น 0.04 และ 0.4% มีปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดของใบเฉลี่ยมากที่สุดและมีค่าเท่ากัน คือ 0.033 mg./g fw. (Table 4)

Table 1 Effect of preharvest sprayed with calcium lactate and calcium chloride on growth and yield of sunflower micro greens.

Treatment	Stem		Root	Leaf		Yield	
	Height (cm)	Weight (g)	Length (mm)	Length (mm)	Width (mm)	(g/tray)	(g/m ²)
Calcium Type (A)							
Calcium lactate	11.91	0.85	6.92	16.52	10.59 ^b	105.46 ^a	1,701 ^a
CaCl ₂	11.60	0.80	6.80	17.50	11.82 ^a	94.40 ^b	1,523 ^b
F-test	ns	ns	ns	ns	*	*	*
Concentration (B)							
0%	10.99 ^b	0.84 ^a	6.53 ^b	16.86 ^{ab}	10.89 ^b	104.06 ^{ab}	1,678 ^b
0.04%	11.47 ^b	0.86 ^a	8.06 ^a	16.88 ^{ab}	11.16 ^{ab}	112.78 ^a	1,819 ^a
0.4%	12.44 ^a	0.89 ^a	7.56 ^{ab}	17.69 ^a	11.76 ^a	107.41 ^a	1,732 ^b
0.8%	12.94 ^a	0.85 ^a	5.92 ^c	16.86 ^b	10.96 ^{ab}	92.32 ^{bc}	1,489 ^c
1.6%	10.97 ^b	0.70 ^b	6.21 ^c	17.08 ^{ab}	11.25 ^{ab}	83.10 ^c	1,340 ^d
F-test	*	*	*	*	*	*	*
A x B							
Calcium lactate 0%	10.99 ^{de}	0.84 ^a	6.53 ^b	16.86 ^{ab}	10.89 ^d	104.06 ^{ab}	1,678.39 ^{ab}
Calcium lactate 0.04%	11.35 ^d	0.84 ^a	8.06 ^a	16.47 ^{ab}	10.68 ^{de}	116.04 ^a	1,871.61 ^a
Calcium lactate 0.4%	12.30 ^{bc}	0.91 ^a	7.38 ^{ab}	17.62 ^a	11.09 ^c	113.20 ^a	1,825.81 ^a
Calcium lactate 0.8%	13.37 ^a	0.89 ^a	6.04 ^{bc}	15.28 ^b	9.98 ^e	107.91 ^a	1,740.48 ^a
Calcium lactate 1.6%	11.55 ^{cd}	0.80 ^a	6.57 ^b	16.38 ^{ab}	10.30 ^e	86.11 ^{bc}	1,388.87 ^{bc}
CaCl ₂ 0%	10.99 ^{de}	0.84 ^a	6.53 ^b	16.86 ^{ab}	10.89 ^d	104.06 ^{ab}	1,678.39 ^{ab}
CaCl ₂ 0.04%	11.59 ^{cd}	0.87 ^a	8.07 ^a	17.29 ^a	11.63 ^b	109.52 ^a	1,766.45 ^a
CaCl ₂ 0.4%	12.55 ^{ab}	0.82 ^a	7.73 ^{ab}	17.77 ^a	12.42 ^a	101.62 ^b	1,639.19 ^b
CaCl ₂ 0.8%	12.50 ^b	0.82 ^a	5.80 ^c	17.83 ^a	11.94 ^b	76.74 ^c	1,237.90 ^c
CaCl ₂ 1.6%	10.39 ^e	0.60 ^b	5.85 ^c	17.78 ^a	12.20 ^{ab}	80.08 ^c	1,291.61 ^c
F-test	*	*	*	*	*	*	*
CV (%)	10.59	22.40	30.70	10.94	13.06	16.56	16.56

Remarks: Mean in the same column followed by different letters were different significantly by DMRT and

* = significant different at probability level 0.05, ns = none significant different.

Table 2 Effect of preharvest sprayed with calcium lactate and calcium chloride on weight loss of sunflower microgreens during storage at low temperature ($10\pm 2^{\circ}\text{C}$, $80\pm 2\%\text{RH}$) for 24 days.

Treatment	Day of storage			
	7	14	21	24
Calcium Type (A)				
Calcium lactate	2.57	5.14	8.42 ^b	9.97 ^b
CaCl ₂	2.43	5.53	9.14 ^a	11.95 ^a
F-test	ns	ns	*	*
Concentration (B)				
0%	2.49 ^{ab}	6.39 ^a	9.89 ^a	11.77 ^a
0.04%	2.73 ^a	5.04 ^{ab}	8.42 ^{ab}	10.13 ^b
0.4%	2.81 ^a	5.41 ^{ab}	8.37 ^b	9.98 ^c
0.8%	2.19 ^b	4.77 ^b	8.38 ^b	11.60 ^a
1.6%	2.26 ^b	5.07 ^{ab}	8.83 ^{ab}	11.33 ^{ab}
F-test	*	*	*	*
A x B				
Calcium lactate 0%	2.49a	6.39 ^a	9.89 ^a	11.77 ^{abc}
Calcium lactate 0.04%	2.86 ^a	4.93 ^{ab}	7.82 ^{ab}	9.18 ^c
Calcium lactate 0.4%	3.20 ^a	5.79 ^{ab}	8.46 ^{ab}	9.12 ^c
Calcium lactate 0.8%	1.77 ^a	4.04 ^b	7.36 ^b	9.59 ^{bc}
Calcium lactate 1.6%	2.52 ^a	4.58 ^{ab}	8.55 ^{ab}	10.20 ^{bc}
CaCl ₂ 0%	2.49 ^a	6.39 ^a	9.89 ^a	11.77 ^{abc}
CaCl ₂ 0.04%	2.61 ^a	5.16 ^{ab}	9.01 ^{ab}	11.08 ^{abc}
CaCl ₂ 0.4%	2.43 ^a	5.03 ^{ab}	8.23 ^{ab}	10.84 ^{abc}
CaCl ₂ 0.8%	2.61 ^a	5.50 ^{ab}	9.40 ^{ab}	13.62 ^a
CaCl ₂ 1.6%	2.01 ^a	5.56 ^{ab}	9.11 ^{ab}	12.45 ^{ab}
F-test	*	*	*	*
CV (%)	27.09	28.98	18.10	18.87

Remarks: Mean in the same column followed by different letters were different significantly by DMRT and

* = significant different at probability level 0.05, ns = none significant different.

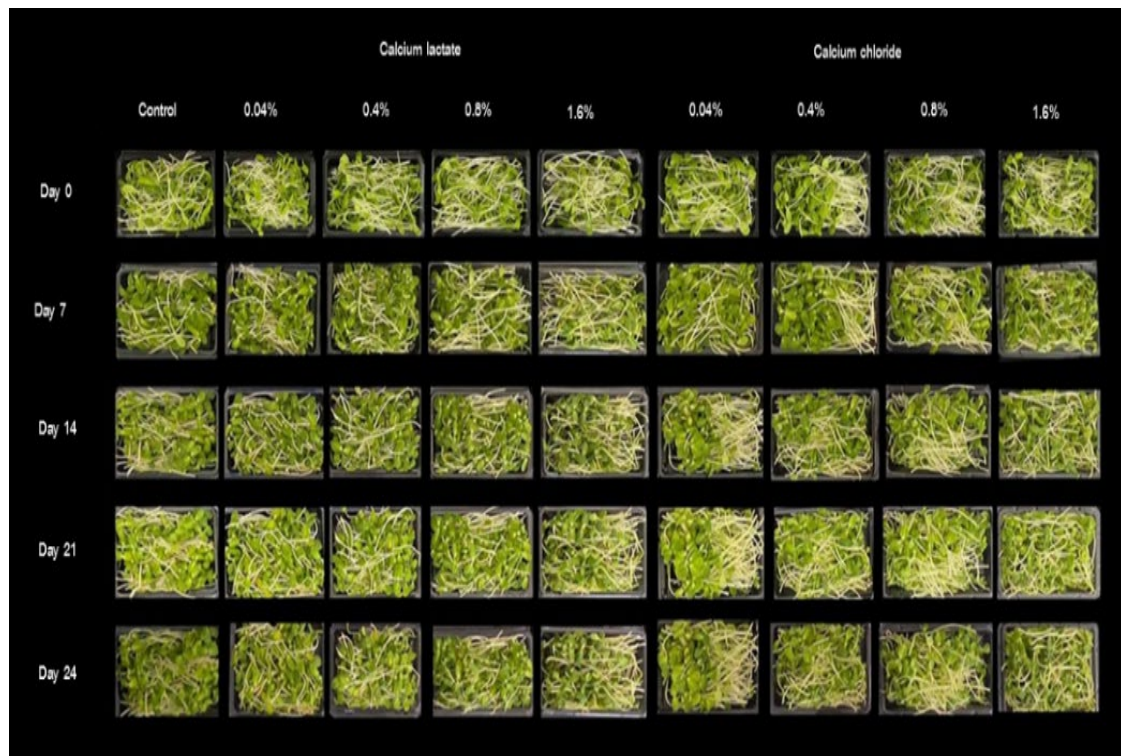
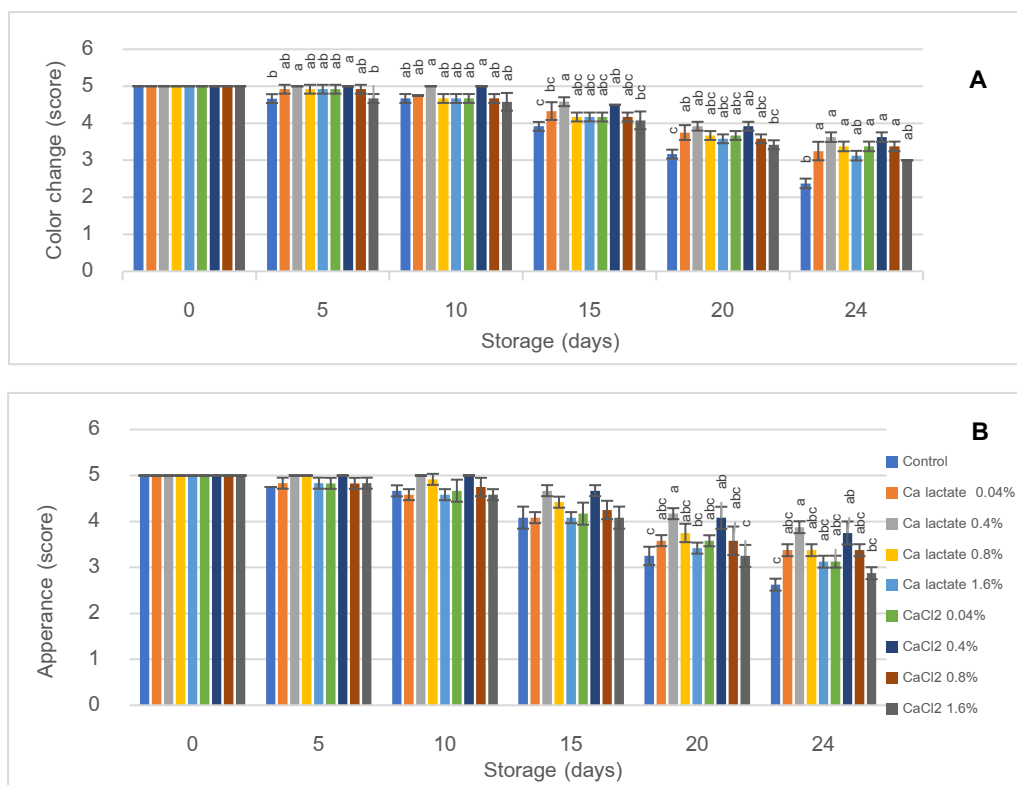


Figure 1 Sunflower microgreens that were preharvest sprayed with calcium lactate and calcium chloride then packed in plastic trays and stored at low temperature ($10\pm 2^{\circ}\text{C}$, $80\pm 2\%\text{RH}$) for 24 days.



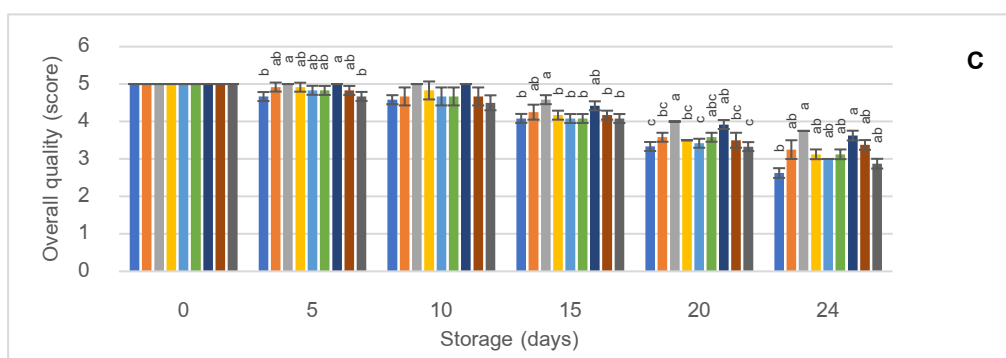


Figure 2 Quality as color change (A) appearance (B) and overall quality (C) of sunflower microgreens after preharvest sprayed with calcium lactate and calcium chloride then packed in plastic trays and stored at low temperature ($10\pm 2^{\circ}\text{C}$, $80\pm 2\%\text{RH}$) for 24 days.

Table 3 Greenness value (SPAD unit) of sunflower microgreens after preharvest sprayed with calcium lactate and calcium chloride then packed in plastic trays and stored at low temperature ($10\pm 2^{\circ}\text{C}$, $80\pm 2\%\text{RH}$) for 24 days.

Treatment	Day of storage				
	0	7	14	21	24
Calcium Type (A)					
Calcium lactate	46.56 ^a	52.17 ^b	52.95 ^a	50.01 ^a	49.23
CaCl ₂	50.00 ^b	53.34 ^a	52.05 ^a	48.49 ^b	49.96
F-test	*	*	ns	*	ns
Concentration (B)					
0%	43.67 ^c	46.44 ^c	55.93 ^a	52.30 ^a	48.30 ^b
0.04%	47.27 ^b	55.66 ^a	49.41 ^c	47.96 ^{bc}	49.40 ^{ab}
0.4%	49.56 ^a	52.68 ^b	49.81 ^c	50.88 ^a	50.50 ^a
0.8%	49.99 ^a	55.92 ^a	53.18 ^b	46.88 ^c	49.80 ^a
1.6%	50.89 ^a	53.11 ^b	54.18 ^b	49.24 ^b	49.94 ^a
F-test	*	*	*	*	*
A x B					
Calcium lactate 0%	43.68 ^d	46.44 ^e	55.93 ^a	52.30 ^a	48.30 ^c
Calcium lactate 0.04%	43.10 ^d	55.20 ^{bc}	49.09 ^c	48.58 ^{cd}	50.13 ^{ab}
Calcium lactate 0.4%	47.65 ^c	53.04 ^d	50.21 ^{bc}	51.78 ^{ab}	50.78 ^a
Calcium lactate 0.8%	46.70 ^c	51.00 ^d	57.38 ^a	48.88 ^{cd}	48.59 ^{bc}
Calcium lactate 1.6%	51.68 ^{ab}	55.20 ^{bc}	52.13 ^b	48.54 ^{cd}	48.34 ^c
CaCl ₂ 0%	43.68 ^d	46.44 ^e	55.93 ^a	52.30 ^a	48.30 ^c
CaCl ₂ 0.04%	51.45 ^{ab}	56.12 ^b	49.73 ^{bc}	47.34 ^d	48.68 ^{bc}
CaCl ₂ 0.4%	51.47 ^{ab}	52.32 ^d	49.41 ^c	49.98 ^{bc}	50.22 ^{ab}
CaCl ₂ 0.8%	53.28 ^a	60.83 ^a	48.98 ^c	44.89 ^e	51.02 ^a
CaCl ₂ 1.6%	50.09 ^b	51.02 ^d	56.23 ^a	49.93 ^{bc}	51.55 ^a
F-test	*	*	*	*	*
CV (%)	26.83	32.41	24.02	19.72	7.40

Remarks: Mean in the same column followed by different letters were different significantly by DMRT and

* = significant different at probability level 0.05, ns = none significant different.

Table 4 Total chlorophyll content (mg./g fw.) of sunflower microgreens after preharvest sprayed with calcium lactate and calcium chloride then packed in plastic trays and stored low temperature ($10\pm 2^{\circ}\text{C}$, $80\pm 2\%\text{RH}$) for 24 days.

Treatment	Day of storage				
	0	7	14	21	24
Calcium Type (A)					
Calcium lactate	0.028	0.028 ^b	0.040 ^a	0.037 ^a	0.030
CaCl ₂	0.031	0.032 ^a	0.040 ^a	0.035 ^b	0.030
f-test	ns	*	ns	*	ns
Concentration (B)					
0%	0.025	0.025 ^b	0.036 ^c	0.041 ^{ab}	0.029 ^b
0.04%	0.029	0.032 ^a	0.042 ^b	0.037 ^b	0.033 ^a
0.4%	0.032	0.036 ^a	0.054 ^a	0.043 ^a	0.033 ^a
0.8%	0.030	0.037 ^a	0.037 ^c	0.028 ^c	0.028 ^b
1.6%	0.031	0.020 ^c	0.030 ^d	0.031 ^c	0.026 ^b
F-test	ns	*	*	*	*
A x B					
Calcium lactate 0%	0.025 ^b	0.025 ^{de}	0.036 ^d	0.041 ^{abc}	0.029 ^{ab}
Calcium lactate 0.04%	0.030 ^{ab}	0.026 ^{de}	0.037 ^d	0.037 ^{bcd}	0.033 ^a
Calcium lactate 0.4%	0.027 ^{ab}	0.035 ^{bc}	0.050 ^b	0.043 ^{ab}	0.033 ^a
Calcium lactate 0.8%	0.028 ^{ab}	0.031 ^{cd}	0.043 ^c	0.031 ^{de}	0.028 ^{ab}
Calcium lactate 1.6%	0.029 ^{ab}	0.024 ^e	0.032 ^{de}	0.036 ^{cd}	0.026 ^b
CaCl ₂ 0%	0.025 ^b	0.025 ^{de}	0.036 ^d	0.041 ^{abc}	0.029 ^{ab}
CaCl ₂ 0.04%	0.028 ^{ab}	0.039 ^{ab}	0.047 ^{bc}	0.037 ^{bcd}	0.033 ^a
CaCl ₂ 0.4%	0.038 ^a	0.036 ^{abc}	0.058 ^a	0.044 ^a	0.033 ^a
CaCl ₂ 0.8%	0.031 ^{ab}	0.043 ^a	0.031 ^{de}	0.026 ^e	0.028 ^{ab}
CaCl ₂ 1.6%	0.033 ^{ab}	0.016 ^f	0.028 ^e	0.026 ^e	0.026 ^b
F-test	*	*	*	*	*
CV (%)	22.24	58.77	55.04	41.68	23.15

Remarks: Mean in the same column followed by different letters were different significantly by DMRT and

* = significant different at probability level 0.05, ns = none significant different.

การวิเคราะห์ต้นทุนและผลตอบแทนของการเพาะต้นอ่อนทานตะวัน

ต้นทุนในการผลิตหลักของการเพาะต้นอ่อนทานตะวัน ได้แก่ ค่าวัสดุเพาะ ค่าเมล็ดพันธุ์ และค่าสารละลายแคลเซียม พบว่าทุกกรรมวิธีมีค่าวัสดุเพาะและค่าเมล็ดพันธุ์เท่ากัน คือ 2 บาทและ 104.84 บาทต่อตารางเมตร ในขณะที่ต้นทุนที่แตกต่างกันคือชนิดของแคลเซียมและระดับความเข้มข้นของแคลเซียม โดยที่แคลเซียมคลอไรด์ (70.20 บาทต่อกิโลกรัม) มีราคาถูกกว่าแคลเซียมแลคเตท (522 บาทต่อกิโลกรัม) ดังนั้นการใช้สารละลายแคลเซียมที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้นทำให้มีต้นทุนในการผลิตเพิ่มขึ้น จากการทดลองพบว่า การพ่นด้วยสารละลายแคลเซียมแลคเตทที่ระดับความเข้มข้น 0.04% ส่งผลให้มีผลผลิตมากที่สุด 1,872 กรัมต่อตารางเมตร แต่มีต้นทุนการผลิตต่ำที่สุด 107.42 บาท ซึ่งทำให้มีรายได้และกำไรสูงสุด 374.32 บาท และ 266.90 บาทต่อตารางเมตร ตามลำดับ (ต้นอ่อนทานตะวัน มีราคาจำหน่าย 200 บาทต่อกิโลกรัม สืบจากแหล่งจำหน่าย 3 แหล่ง แม็คโคร ท็อปฟล่าซ่า และตลาดไทยคอนแทคเซ็นเตอร์) รองลงมาคือสารละลายแคลเซียมแลคเตท ความเข้มข้น 0.40% โดยมีผลผลิต ต้นทุน รายได้และกำไรสุทธิ เท่ากับ 1,826 กรัมต่อตารางเมตร 112.65 บาท 365.16 บาท และ 252.51 บาทต่อตารางเมตร ตามลำดับ (Table 5)

Table 5 Analysis of unit production costs of sunflower microgreens that were preharvest sprayed with calcium lactate and calcium chloride.

Treatment	Cost (Baht/m ²)				Yield (g/m ²)	Income (Baht/m ²)	Profit (Baht/m ²)
	Media	Seed	Calcium	Total			
Calcium lactate							
0%	2.00	104.84	0.00	106.84	1,678	335.68	228.84
0.04%	2.00	104.84	0.58	107.42	1,872	374.32	266.90
0.40%	2.00	104.84	5.81	112.65	1,826	365.16	252.51
0.80%	2.00	104.84	11.61	118.45	1,740	348.10	229.64
1.60%	2.00	104.84	23.23	130.07	1,389	277.77	147.71
CaCl ₂							
0%	2.00	104.84	0.00	106.84	1,678	335.68	228.84
0.04%	2.00	104.84	0.06	106.90	1,766	353.29	246.39
0.40%	2.00	104.84	0.65	107.49	1,639	327.81	220.32
0.80%	2.00	104.84	1.29	108.13	1,238	247.55	139.42
1.60%	2.00	104.84	2.58	109.42	1,292	258.32	148.90

วิจารณ์

ต้นอ่อนทานตะวันที่ได้รับการพ่นแคลเซียม 2 ชนิด คือแคลเซียมแลคเตทและแคลเซียมคลอไรด์ ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับได้แก่ 0, 0.04, 0.4, 0.8 และ 1.6% โดยทำการพ่นในระหว่างวันที่ 3-6 หลังเพาะเมล็ด จากนั้นทำการเก็บเกี่ยวต้นอ่อน นำมาวัดการเจริญเติบโตพบว่า แคลเซียมแลคเตทและแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ มีผลต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Suksamran et al. [5] ที่รายงานการพ่นแคลเซียมออกไซด์ที่ระดับความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ผักลิ้นห่าน มีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในด้านจำนวนใบ ความกว้างใบ ความยาวไหล จำนวนต้นไหล และน้ำหนักสดต้น เมื่อเปรียบเทียบกับผักลิ้นห่านที่ไม่พ่นแคลเซียมออกไซด์ รวมทั้งงานวิจัยของ Kou et al. [13] ที่รายงานว่า การพ่นแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ช่วยเพิ่มผลผลิต น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของไมโครกรีนบร็อคโคลี่ โดยช่วยเพิ่มมวลชีวภาพได้ 50 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับกรณีพ่นด้วยน้ำเปล่า ในขณะที่การพ่นแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 1 และ 20 มิลลิโมลาร์ ไม่มีผลต่อมวลชีวภาพ ดังนั้นการให้แคลเซียมกับต้นอ่อนทานตะวันต้องอยู่ในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมจึงจะสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตได้

คุณภาพหลังการเก็บเกี่ยว (ระหว่างการเก็บรักษา) โดยนำต้นอ่อนทานตะวันที่ได้รับการพ่นแคลเซียม 2 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ มาบรรจุในกล่องพลาสติกแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10±2°C ความชื้นสัมพัทธ์ 80±2% เป็นระยะเวลา 24 วัน พบว่าต้นอ่อนทานตะวันที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายแคลเซียมแลคเตท และแคลเซียมคลอไรด์ ทุกระดับความเข้มข้นช่วยชะลอการสูญเสียน้ำหนักได้ โดยเฉพาะที่ระดับความเข้มข้น 0.04 และ 0.4% มีการสูญเสียน้ำหนักน้อยกว่ากรรมวิธีอื่นๆ เนื่องจากสารละลายแคลเซียมสามารถเพิ่มความแข็งแรงของผนังเซลล์ ชะลอการอ่อนตัวของเนื้อเยื่อ และช่วยชะลอการสูญเสียน้ำออกจากเซลล์ได้ เช่นเดียวกับผลไม้ตัดแต่งเช่นผลโกลบอท, สตอเบอร์รี่ กีวี สาลี่ และเมล่อนตัดแต่ง [14, 15, 16, 17, 18] รวมทั้งสอดคล้องกับงานวิจัย Sresook et al. [19] ที่รายงานว่า แก้วมังกรสดตัดแต่งที่ผ่านการแช่สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ และแคลเซียมแลคเตทที่ระดับความเข้มข้น 0.75 และ 1.00% แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8±1°C มีการสูญเสียน้ำหนักน้อยกว่าและมีค่าความแน่นเนื้อสูงกว่าชุดการทดลองอื่นรวมถึง

การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของต้นอ่อนทานตะวัน โดยเฉพาะการฉีดพ่นด้วยสารละลายแคลเซียมแลคเตทและแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.40% ช่วยชะลอการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของต้นอ่อนได้ดีกว่ากรรมวิธีอื่นๆ คณะนักคุณภาพโดยรวมเป็นที่ยอมรับได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัย Nilprapruk et al. [20] ที่รายงานว่า การใช้แคลเซียมแลคเตทที่ระดับความเข้มข้น 1.5% สามารถชะลอการเกิดสีน้ำตาลและการเสื่อมสภาพของผักกาดหวานแปรรูปพร้อมบริโภค พบว่าผักกาดหวานแปรรูปพร้อมบริโภคที่มีการแช่สารละลายแคลเซียมแลคเตทใช้เวลา 10 นาที สามารถยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลเมื่อเปรียบเทียบกับผักกาดหวานแปรรูปพร้อมบริโภคที่ไม่มีการแช่สารละลายแคลเซียมแลคเตทค่าคะแนนการเกิดสีน้ำตาล (Browning index) ที่ต่ำมีความสัมพันธ์กับการลดลงของการสังเคราะห์สารประกอบฟีนอล และกิจกรรมของเอนไซม์ Phenylalanine ammonialyase (PAL), Polyphenol oxidase (PPO) และ Peroxidase (POD) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม สอดคล้องกับงานวิจัยของ Suksamran et al. [5] รายงานว่าผักลิ้นห่านที่ปลูกในวัสดุปลูกทรายทะเล : ขุยมะพร้าว: ปุ๋ยคอกมูลวัว อัตราส่วน 1 : 1 : 1 และพ่นแคลเซียมออกไซด์ที่ระดับความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร มีระดับความเขียวใบมากกว่าเล็กน้อยถึงปานกลาง เมื่อเปรียบเทียบกับผักลิ้นห่านที่ปลูกในวัสดุปลูกทรายทะเล และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับผักลิ้นห่านที่ไม่พ่นแคลเซียมออกไซด์ นอกจากนี้การฉีดพ่นสารละลายแคลเซียมแลคเตทและแคลเซียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 0.04 และ 0.4% ส่งผลให้ต้นอ่อนมีปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดของใบเฉลี่ยมากที่สุด ในขณะที่การฉีดพ่นสารละลายแคลเซียมที่ระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้นทำให้มีปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดเฉลี่ยน้อยกว่ากรรมวิธีอื่นๆ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Attallah และ Abdalla [9] ที่รายงานว่าผักกาดหอมสายพันธุ์โรเมนที่ได้รับการพ่นด้วยแคลเซียมคลอไรด์ทางใบที่ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) และปริมาณคลอโรฟิลล์สูงสุด

สรุปผลการวิจัย

การพ่นสารละลายแคลเซียมทั้ง 2 ชนิดคือแคลเซียมแลคเตทและแคลเซียมคลอไรด์ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ก่อนการเก็บเกี่ยว มีผลต่อการเจริญเติบโต ผลผลิต และคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของต้นอ่อนทานตะวัน โดยที่สารละลายแคลเซียมแลคเตททำให้ต้นอ่อนทานตะวันมีผลผลิตมากกว่าสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และสารละลายแคลเซียมที่ระดับความเข้มข้น 0.04% ทำให้ผลผลิตต้นอ่อนทานตะวันมีปริมาณมากที่สุด 1,871.61 กรัมต่อตารางเมตร เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมสูงขึ้นทำให้ผลผลิตของต้นอ่อนทานตะวันลดลง รวมทั้งพบว่าสารละลายแคลเซียมแลคเตท ที่ระดับความเข้มข้น 0.04% ช่วยลดการสูญเสียน้ำหนัก และช่วยรักษาคุณภาพโดยรวมของต้นอ่อนทานตะวันระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำได้เป็นระยะเวลา 24 วัน รวมทั้งมีต้นทุนการผลิตต่ำกว่าและมีกำไรมากกว่ากรรมวิธีอื่นๆ ดังนั้นการพ่นสารละลายแคลเซียมแลคเตทให้กับต้นอ่อนทานตะวันจึงเป็นแนวทางหนึ่งในการเพิ่มผลผลิต รักษาคุณภาพ ลดความสูญเสียหลังการเก็บเกี่ยว และช่วยรักษาความสดของต้นอ่อนทานตะวันในระหว่างการเก็บรักษา รวมทั้งช่วยยืดอายุการวางจำหน่ายได้นานขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณสาขาวิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา จังหวัดพะเยา ที่ให้การสนับสนุนและอนุเคราะห์สถานที่ในการทำวิจัย และเครื่องมือที่ใช้ในการทำวิจัยครั้งนี้จนสำเร็จลุล่วงไปด้วย

เอกสารอ้างอิง

- [1] Narasri W. Vegetable high in amino acids : sunflower sprouts. Journal of Food Research and Product Development. 2022;52(2):44-47. (In Thai)
- [2] Nunum T, Riansut W. Influence of seedling materials on sunflower sprout growth. Rajamangala University of Technology Krungthep Research Journal. 2020;14(2):168-180. (In Thai)
- [3] Poondee J, Nimchit S. Optimal storage pattern for extremely delicate produce: Case study of sunflower sprouts. Srinakharinwirot University Engineering Journal. 2021;16(3):75–83. (In Thai)
- [4] Wongs-Aree C. Using calcium for good fruit quality after harvest. Postharvest Newsletter. 2018;17(4): 5-7. (In Thai)
- [5] Suksamran C, Somnak P, Samakkit S. Effect of calcium oxide on growth and sensory quality of linham (*Launaea sarmentosa*). Thai Science and Technology Journal (TSTJ). 2021;29(1):148-156. (In Thai)
- [6] Wiriya-Alongkorni W. Effect of calcium chloride on physiological change in flowering phase to fruit set of longan trees. Journal of Agri. Research and Extension. 2022;41(2):1-13. (In Thai)
- [7] Thongsook T. Factors affecting textural changes and techniques for textural improvement of processed fruits and vegetables. Journal of Science and Technology Mahasarakham University 2553;29(4): 456-469. (In Thai)
- [8] Food and Drug Administration. Prescribing principles, conditions, methods of use, and proportions of food additives (No.3). [Internet]. 2023 [cited 2025 July 28]. Available from: <https://food.fda.moph.go.th/food-law/announ-moph-444>.
- [9] Attallah, Shreen Y, Reham M, Abdalla. Influence of foliar spray with calcium chloride on growth, yield and quality of lettuce (*Lactuca sativa* L.) Assiut J. Agric. Sci., 2021;52(4):116-128.
- [10] Khani A, Barzegar T, Nikbakht J. Ghahremani Z. Effect of foliar spray of calcium lactate on the growth, yield and biochemical attribute of lettuce (*Lactuca sativa* L.) under water deficit stress. Advances in Horticultural Science, 2020;34(1),11–24.
- [11] Witham FH, Blaydes DF, Devlin RM. Experiments in plant physiology. New York. Van Nostrand Reinhold Co. 1971;55-56 p.
- [12] Achavanuntakul S. Managerial accounting. 1sted. Bangkok : TPN press. 2016. 300 P. (in Thai)
- [13] Kou L, Yang T, Luo Y, Liu X, Huang L, Codlinge E. Pre-harvest calcium application increases biomass and delays senescence of broccoli microgreens. Postharvest Biology and Technology. 2014;87:70-78.
- [14] Mahajan B.V.C, Dhatt A.S. Studies on postharvest calcium chloride application on storage behavior and quality of Asian pear during cold storage. Intl. J. Food Agri. and Environment 2004;2(3-4):157-159.
- [15] Lara I, Garcia P, Vendrell M. Modifications in cell wall composition after cold storage of calcium-treated strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) fruit. Postharvest Biology and Technology. 2004;34(3):331-339.
- [16] Gersopoulos D, Pavlina D.D. Summer-pruning and preharvest calcium chloride sprays affect storability and low temperature breakdown incidence in kiwifruit. Postharvest Biology and Technology. 2005; 36:303-308.

- [17] Antunes D, Nunes S, Migue G, Dundlen S, Cavaco A. Sustainable postharvest handling of minimally processed melon fruits. In The 4th IASME/WSEAS International Conference on Energy, Environment, Ecosystems and Sustainable Development (EEESD'08) at Algarve, Portugal, June11-13, 2008;521-525.
- [18] Akhtar A, Abbas N.K, Hussain A. Effect of calcium chloride treatments on quality characteristics of loquat fruit during storage. Pak. J. Bot. 2010;42(1):181-188.
- [19] Sresook S, Saunphairoch S, Puengphian C, Sirichote A. Effects of calcium chloride and calcium lactate on quality changes of fresh-cut dragon fruit during storage. Agricultural Sci. J. 2016;47:3(Suppl.):193-196. (In Thai)
- [20] Nilprapruck P, Usaha T, Kaokaen T. Calcium lactate application for delay browning and deterioration of fresh-cut romaine lettuce. Rajamangala University of Technology Srivijaya Journal. 2023;15(2):292-306. (In Thai)

บทความวิจัย (Research Article)**ประสิทธิผลการใช้สไลม์พอกเข่าเพื่อบรรเทาอาการปวดเข่าในผู้ป่วยโรคเข่าเสื่อม
ที่คลินิกแพทย์แผนไทย โรงพยาบาลพระอาจารย์มั่น ภูริทัตโต จังหวัดสกลนคร**

สุนิสา อินทะเสย์¹, ปานิชา พงศ์นราทร², จุฑาทิพย์ ศิริศิลป์², อนรรฆอร จิตต์เจริญธรรม² และ
เพ็ญศิริ จันทร์แอ^{2*}

**Effect of a slime knee poultice on knee pain relief in osteoarthritis patients
attending the Thai Traditional Medicine Clinic at Phra Ajarn Mun Bhuridatto
Hospital, Sakon Nakhon Province**

Sunisa Intase¹, Panicha Pongnaratorn², Juthathip Sirisin², Anunkaorn Jitcharoentham² and
Pensiri Chan-ae^{2*}

¹ Phra Ajarn Mun Bhuridatto Hospital, Sakon Nakhon Province 47140, Thailand.

² Department of Thai Traditional Medicine, Rajamangala University of Technology Isan Sakonnakhon Campus,
Sakonnakhon Province 47160, Thailand.

* Corresponding author, E-mail: pigky1910@hotmail.com

Health Science, Science and Technology Reviews. 2025;18(2):62-72.

Received: 31 May 2025; Revised: 13 August 2025; Accepted: 21 August 2025

บทคัดย่อ

โรคข้อเข่าเสื่อมถือเป็นปัญหาสำคัญที่พบมากในวัยกลางคน และผู้สูงอายุ มักมีสาเหตุมาจากการเสื่อมของกระดูกอ่อนใต้ข้อเข่าทำให้เกิดความผิดปกติของโครงสร้างของข้อต่อ การบรรเทาอาการปวดในทางการแพทย์แผนไทยมีการใช้ยาพอกยาสมุนไพรแต่เนื่องด้วยมีขั้นตอนที่หลากหลาย และปัญหาประอบื้อนเสื้อผ้าผู้ป่วยผู้วิจัยได้นำตำรับยาพอกมาใช้ในรูปแบบสไลม์โดยมีวัตถุประสงค์การวิจัยเพื่อวัดประสิทธิผลก่อน และหลังการใช้สไลม์พอกเข่าของค่าเฉลี่ยคะแนนระดับความปวดข้อเข่าในผู้ป่วยโรคเข่าเสื่อมที่มารับคลินิกแพทย์แผนไทย โรงพยาบาลพระอาจารย์มั่น ภูริทัตโต กลุ่มตัวอย่าง ได้แก่ ผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อม จำนวน 44 ราย เครื่องมือที่ใช้ ได้แก่ แบบบันทึกผู้ป่วย แบบประเมินความปวดรูปแบบ VAS scale และแบบประเมิน Oxford Knee Score กลุ่มตัวอย่างที่ผ่านเกณฑ์คัดเข้าจะได้รับการพอกสไลม์บริเวณเข่า 15 นาที โดยทำการพอกเข่าวันละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 3 วัน วันเว้นวัน จันทร์ พุธ ศุกร์ โดยทำการพอกเข่าครั้งละ 15 นาที แล้วนำผลการทดลองมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS Statistics ver.27 สถิติที่ใช้ Paired Simple t-test

ผลการวิจัย พบว่า หลังการทดลองใช้สไลม์พอกเข่ากลุ่มทดลองมีค่าคะแนนเฉลี่ยของค่า Oxford Knee Score เท่ากับ 29.64 ± 4.46 คะแนน ซึ่งสูงกว่าก่อนการทดลอง เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของโรคเข่าเสื่อมก่อนและหลังการทดลอง พบว่า ค่าเฉลี่ยคะแนนหลังการทดลองเพิ่มสูงขึ้น ระดับความเจ็บปวดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$ และพบว่าประสิทธิผลหลังการใช้สไลม์พอกเข่ามีค่าเฉลี่ยระดับความเจ็บปวดลดลงต่ำกว่าก่อนการทดลอง

¹ โรงพยาบาลพระอาจารย์มั่น ภูริทัตโต จังหวัดสกลนคร 47140 ประเทศไทย

² สาขาแพทย์แผนไทย คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร จังหวัดสกลนคร 47160 ประเทศไทย

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$ โดยผลต่างของค่าเฉลี่ยระดับความเจ็บปวดของข้อเข่าข้างซ้าย ข้อเข่าข้างขวา และข้อเข่าทั้งสองข้าง เท่ากับ 1.86 คะแนน เท่ากับ 1.78 คะแนน และ เท่ากับ 1.93 คะแนน ตามลำดับ การพอกเข่าด้วยสไลม์สามารถนำไปใช้ร่วมกับการรักษา และเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของประชาชนในการดูแลสุขภาพของตนเองเบื้องต้น

คำสำคัญ: สไลม์พอกเข่า, โรคเข่าเสื่อม, โรงพยาบาลพระอาจารย์มั่น ภูริทัตโต

Abstract

Knee osteoarthritis was important problem in middle age and elderly people, which caused cartilage degeneration of knee, leading to structure of joint abnormalities. Pain relief in the field of Thai traditional medicine used herbal poultices, however the method had complex process and the problem of stained clothes. The researcher applied slime poultices. The objective of this research was to compare before and after average knee pain of the effectiveness of slime poultices in knee osteoarthritis patients to admitted in Thai traditional medicine clinic, Phra Ajarn Mun Bhuridatto Hospital. The sample consisted of 44 knee osteoarthritis patients. Research instruments include the data record of patients, the VAS scale assessment and Oxford Knee Score assessment. The samples were passed the inclusion criteria, who received slime poultices of knee 15 minutes. These methods are used 1 time/day for 3 days, every other day: Monday, Wednesday, Friday and received poultices of knee 15 minutes. The results of research were statistically analyzed with SPSS Statistics ver.27, using Paired Simple T-test.

The result was found that after experiments using slime poultices: the experiment group had average score of Knee Score represented 29.64 ± 4.46 score, which was higher than before experiment. The compare of average level of severity of Knee osteoarthritis before and after experiment was found that the average score after experiment was high level, pain score was decreased statistically significant at $p < 0.05$ and found that the effectiveness of slime poultices had average of pain score was decreased, when compared with before experiment statistically significant at $p < 0.05$. The different average pain scores of left knee joint, right knee joint and both sides were 1.86 scores, 1.78 scores, 1.93 scores, respectively. Slime poultice could apply with treatment and people have another option for basic health care of themselves.

Keywords: Slime knee poultice, Osteoarthritis, Phra Ajarn Mun Bhuridatto Hospital

บทนำ

ในปัจจุบันสังคมผู้สูงอายุถือเป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นพร้อมกันทั่วโลกในประเทศไทยพบผู้สูงอายุ ร้อยละ 15.8 ที่เข้าสู่สังคมผู้สูงอายุแล้ว [1] โดยเฉพาะทางด้านโครงสร้างของกล้ามเนื้อ และข้อต่อ ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญที่พบมากในวัยกลางคน และผู้สูงอายุ ได้แก่ โรคข้อเข่าเสื่อมมักมีสาเหตุมาจากการเสื่อมของกระดูกอ่อนใต้ข้อเข่าทำให้เกิดความผิดปกติของโครงสร้างของข้อต่อ เช่น การสึกหรอ การแตก การหลุดลอกของผิวกระดูกอ่อนใต้ข้อเข่า และการทำงานของข้อต่อที่ผิด ข้าง [2] ในปี 2564 ประเทศไทยพบสถิติผู้สูงอายุที่มีปัญหาโรคกระดูกและข้อมากกว่า 6 ล้านคน โดยข้อที่เสื่อมมากที่สุด คือ ข้อเข่า [3] จากสถิติผู้มารับบริการ ณ คลินิกแพทย์แผนไทย โรงพยาบาลพระอาจารย์มั่น ภูริทัตโต 3 ปีย้อนหลัง พบว่า ผู้ป่วยที่มีอาการปวดเข่าปีงบประมาณ 2564 จำนวน 358 ราย ปีงบประมาณ 2565 จำนวน 326 ราย และปีงบประมาณ 2566 จำนวน 567 ราย ซึ่งมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ในทางการแพทย์แผนไทยให้ความสำคัญกับโรคข้อเข่าเสื่อมหรือเปรียบได้กับโรคลมจับโปงแห้งเข่าโดยมีแนวทางการรักษาด้วยวิธีการนวดไทย

ราชสำนัก การประคบสมุนไพร และการใช้ยาพอกสมุนไพร [4] ซึ่งในปัจจุบันประชาชนหันมาให้ความสนใจนำเอาภูมิปัญญาดั้งเดิมสมุนไพรไทยที่มีในท้องถิ่นกลับมาใช้รักษา ฟันผุ และป้องกันเพื่อเป็นการนำเอาสมุนไพรในท้องถิ่นมาใช้ให้เกิดประโยชน์โดยสอดคล้องกับพื้นที่ที่มีการปลูกพืชสมุนไพรใช้ในครัวเรือน [5]

โรงพยาบาลพระอาจารย์มั่น ภูริทัตโต อำเภอบ้านม่วง จังหวัดสกลนคร เปิดให้บริการคลินิกแพทย์แผนไทยในการดูแล รักษา บรรเทาอาการปวดในผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อมที่เข้ารับบริการ โดยการใช้ยาพอกสมุนไพรที่มีส่วนผสมของเครื่องยาหลากหลายชนิดแต่เนื่องด้วยรูปแบบวิธีการใช้มีขั้นตอนที่หลากหลาย ยาพอกที่เปื้อนเสื้อผ้าผู้ป่วย และจากสถิติผู้มารับบริการที่มีอาการปวดเข่าที่เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องทำให้ผู้วิจัยตระหนักถึงปัญหาดังกล่าวจึงได้มีการพัฒนาสูตรตำรับยาสมุนไพรพอกเข่าเพื่อบรรเทาอาการปวดเข่าขึ้น โดยนำตำรับยาที่มีสรรพคุณแก้ลมในข้อเข่าจากข้อเข่าประกอบด้วย ไพล ขมิ้นชัน อย่างละ 200 กรัม ดีปลี ข้าวพูน สะค้าน เจตมูลเพลิงแดง เหง้าขิงแห้ง ดอกพิทูร ดอกสารภี เกสรบัวหลวง ดอกจันทร์ โกศสอ ดอกกานพลู ลูกกระวาน ดอกมะลิ ผิวมะกรูด อย่างละ 100 กรัม สกัดเป็นน้ำมันพอก จากนั้นนำน้ำมันพอกที่สกัดแล้ว 60 มิลลิลิตร แบ่งข้าวเจ้า 360 กรัม กาวน้ำ 300 มิลลิลิตร ครีมอาบน้ำ 100 มิลลิลิตร น้ำยาล้างตา 20 มิลลิลิตร เบบี้ออยล์ 10 มิลลิลิตร สัมผัสอาหารนำมาผสมกันแล้วปั้นเป็นก้อนใส่บรรจุภัณฑ์ ลักษณะสไลม์ที่ได้เวลานำไปใช้พอกเข่าให้กับผู้ป่วยจะไม่เปื้อนเสื้อผ้าผู้ป่วย ทำความสะอาดง่ายเหมาะกับผู้ที่เข้ารับบริการที่คลินิกแพทย์แผนไทยเป็นอย่างมาก ผู้วิจัยจึงนำสไลม์พอกเข่าดังกล่าวมาปรับปรุงและพัฒนาทั้งรูปแบบการผลิตบรรจุภัณฑ์เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์สไลม์สะดวกต่อการใช้งาน และเพื่อบรรเทาอาการปวดเข่าในผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อมที่สอดคล้องกับแผนพัฒนาระบบบริการสุขภาพสาขาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ผสมผสานส่งเสริมให้มีบริการคลินิกการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือกแบบครบวงจรเพื่อให้การรักษาโรคทั่วไปและเฉพาะโรค 4 โรค ได้แก่ โรคอัมพฤกษ์ อัมพาต โรคข้อเข่าเสื่อม โรคไมเกรน และโรคภูมิแพ้ทางเดินหายใจส่วนต้น อีกทั้งยังเป็นการศึกษาประสิทธิผลการใช้สไลม์พอกเข่าในการบรรเทาอาการปวดเข่าในผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อมที่ได้รับการวินิจฉัยโรคจากแพทย์แผนปัจจุบันว่าเป็นข้อเข่าเสื่อม ทั้งนี้ผู้วิจัยหวังว่าการวิจัยครั้งนี้จะเป็นอีกทางเลือกให้กับผู้ป่วยที่มาเข้ารับการรักษาโรคข้อเข่าเสื่อมเพื่อช่วยลดปริมาณการใช้ยา และช่วยบรรเทาอาการปวดของข้อเข่า ลดอัตราการรักษาโดยการผ่าตัดข้อเข่า อีกทั้งยังช่วยให้ผู้ป่วยที่มารับบริการสามารถใช้งานข้อเข่าได้อย่างมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิผลการใช้สไลม์พอกเข่าเพื่อบรรเทาอาการปวดเข่าในผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อม และเพื่อวัดประสิทธิผลก่อนและหลังการใช้สไลม์พอกเข่าของค่าเฉลี่ยคะแนนระดับความปวดข้อเข่าในผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อมที่มารับคลินิกแพทย์แผนไทย โรงพยาบาลพระอาจารย์มั่น ภูริทัตโต

วัสดุและวิธีการ

การวิจัยครั้งนี้ดำเนินการทดลองตามรูปแบบการวิจัยกึ่งทดลอง (Quasi experimental) แบบ One group pretest-posttest design โดยกลุ่มตัวอย่างต้องได้รับการตรวจคัดกรองและวินิจฉัยจากแพทย์แผนปัจจุบันว่าเป็นผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อมที่มารับการรักษาด้วยสไลม์ ณ คลินิกแพทย์แผนไทย โรงพยาบาลพระอาจารย์มั่น ภูริทัตโต โดยมีรายละเอียดดังนี้

ประชากรและตัวอย่าง

ประชากร คือ ผู้ที่มีอาการทางคลินิกพร้อมกับได้รับการฉายภาพรังสีประกอบการวินิจฉัยว่าเป็นโรคข้อเข่าเสื่อมจากแพทย์แผนปัจจุบันและใช้รหัสมาตรฐานการวินิจฉัยโรค (International Classification of Diseases, Tenth Revision, ICD-10) ที่ระบุในฐานข้อมูลเวชระเบียนอิเล็กทรอนิกส์ด้วยรหัส M179 ณ โรงพยาบาลพระอาจารย์มั่น ภูริทัตโต

กลุ่มตัวอย่าง คือ ผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อมที่ได้รับการวินิจฉัยโดยแพทย์แผนปัจจุบันจะถูกส่งตัวมายังคลินิกแพทย์แผนไทย โรงพยาบาลพระอาจารย์มั่น ภูริทัตโต จังหวัดสกลนคร จำนวน 39 คน คำนวณโดยใช้โปรแกรม G*Power version 3.1.9.4 โดยกำหนด Effect size $d_z = 0.42$ [6] Alpha = 0.05 และค่า Power = 0.8 ได้กลุ่มตัวอย่างทั้งหมด 39 คน และเพื่อป้องกันอัตราการสูญเสียกลุ่มตัวอย่างก่อนตัวออกก่อนจบโครงการ (Drop-out rate) จะคำนวณ

กลุ่มตัวอย่างเพิ่มขึ้น ร้อยละ 10 [7] จึงได้กลุ่มตัวอย่างทั้งสิ้น 44 คน และมีเกณฑ์การคัดเข้า เกณฑ์การคัดออก เกณฑ์การถอนตัว และเกณฑ์การยุติ ดังนี้

เกณฑ์การคัดเข้าของกลุ่มตัวอย่าง (Inclusion criteria)

- 1) ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคข้อเข่าเสื่อมตามเกณฑ์จากแพทย์แผนปัจจุบันระดับที่ 2
- 2) เป็นเพศชายและเพศหญิง
- 3) มีอายุ 50 ปีขึ้นไป

เกณฑ์การคัดออกของกลุ่มตัวอย่าง (Exclusion criteria)

- 1) ผู้ที่มีประวัติการแพ้สมุนไพรรหรือการแพ้เกสรดอกไม้ และหญิงตั้งครรภ์หรืออยู่ระหว่างการให้นมบุตร
- 2) มีภาวะข้อเข่าอักเสบเฉียบพลัน บวม แดง ร้อน มีแผลเปิดบริเวณข้อเข่าแผลเรื้อรัง และได้รับการวินิจฉัยว่ามีภาวะกระดูกแตก หัก หรือโรคกระดูกอื่น ๆ ที่ร้ายแรง
- 3) ได้รับการรักษาด้วยวิธีอื่นที่มีผลต่ออาการปวดเข่า เช่น ทานยาแก้ปวด ฉีดยา นวด ประคบ การฝังเข็ม กายภาพบำบัด เป็นต้น

เกณฑ์การถอนตัวของกลุ่มตัวอย่าง (Discontinuation criteria)

- 1) ผู้ป่วยที่มีอาการไม่พึงประสงค์จากการใช้สไลม์ฟอกเข่าหรือมีอาการปวดที่เพิ่มขึ้น

เกณฑ์การยุติของกลุ่มตัวอย่าง (Terminal criteria)

- 1) ไม่สามารถเก็บข้อมูลขณะทำการวิจัยได้จนครบตามที่กำหนด

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

- 1) แบบบันทึกผู้ป่วย ประกอบด้วย ข้อมูลทั่วไป ค่าดัชนีมวลกาย การรักษา
- 2) แบบประเมินระดับความปวดของข้อเข่ารูปแบบ VAS scale
- 3) แบบประเมินระดับความรุนแรงของโรคเข่าเสื่อมด้วย Oxford Knee Score

การตรวจสอบคุณภาพเครื่องมือ

- 1) ด้านแบบบันทึกผู้ป่วยผู้วิจัยนำแบบประเมินของงานวิจัยที่ปรับปรุงแก้ไขเรียบร้อยแล้วให้ผู้เชี่ยวชาญจำนวน 3 ท่าน เพื่อตรวจสอบความสอดคล้องระหว่างวัตถุประสงค์ของงานวิจัยกับแบบสอบถามและมาคำนวณหาดัชนีความสอดคล้อง (IOC) โดยใช้ดัชนีความสอดคล้อง (Index of item objective congruence)[8] ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.67-1.00 ถือว่ามีความสอดคล้องอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้
- 2) การประเมินคุณภาพสไลม์ฟอกเข่า [9] ผู้วิจัยใช้รูปแบบประเมินเกณฑ์ลักษณะแต่ละด้านของผลิตภัณฑ์ทั้ง 6 ด้าน โดยผู้เชี่ยวชาญจำนวน 3 ท่าน ซึ่งผลของการประเมิน คือ ทุกด้านมีคุณภาพอยู่ในระดับผ่าน

ข้อพิจารณาด้านจริยธรรม

การวิจัยนี้ผ่านจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี วิทยาเขตสกลนคร เมื่อวันที่ 11 มีนาคม 2568 รหัสโครงการ HEC-04-67-021

วิธีเก็บรวบรวมข้อมูล

การวิจัยนี้ดำเนินการเก็บรวบรวมข้อมูล ดังนี้

- 1) ดำเนินการสำรวจผู้ป่วยที่เป็นโรคข้อเข่าเสื่อมได้รับการวินิจฉัยโดยแพทย์แผนปัจจุบันจะถูกส่งตัวมายังคลินิกแพทย์แผนไทย โรงพยาบาลพระอาจารย์มั่น ภูริทัตโต และใช้รหัสมาตรฐานการวินิจฉัยโรค (ICD-10) รหัส M179
- 2) สอบถามความสมัครใจชี้แจงวัตถุประสงค์การวิจัย และชี้แจงให้ผู้ป่วยทราบว่ามีสิทธิถอนตัวออกจากโครงการวิจัย การวิจัยจะถูกเก็บรักษาไว้ ไม่เปิดเผยต่อสาธารณะเป็นรายบุคคล ผู้เข้าร่วมการวิจัยมีสิทธิถอนตัวออกจากโครงการวิจัยเมื่อใดก็ได้โดยไม่ต้องแจ้งให้ทราบล่วงหน้า และการไม่เข้าร่วมการวิจัยหรือถอนตัวออกจากโครงการวิจัยนี้จะไม่

ผลกระทบต่อการบริการ และการรักษาที่สมควรจะได้รับแต่ประการใด เมื่อผู้ป่วยยินยอมให้ความร่วมมือจึงดำเนินการขั้นตอนต่อไป

3) เก็บบันทึกข้อมูลผู้ป่วย และรายละเอียดการสั่งใช้สไลม์พอกเข้าในแต่ละครั้งจากฐานข้อมูลเวชระเบียนผู้ป่วยของโรงพยาบาลพระอาจารย์ม้น จูริทัตโต เก็บข้อมูลจากฐานข้อมูลเวชระเบียนผู้ที่ได้รับการวินิจฉัยโรคโดยแพทย์แผนปัจจุบันว่าเป็นโรคเข่าเสื่อม โดยใช้รหัสมาตรฐานการวินิจฉัยโรคที่ระบุด้วยรหัส M179 ณ โรงพยาบาลพระอาจารย์ม้น จูริทัตโต ตั้งแต่ 1 เมษายน 2568 - วันที่ 30 มิถุนายน 2568 ซึ่งได้มีการบันทึกข้อมูลที่จำเป็นในการสั่งใช้ยาในแต่ละครั้ง (Visit) โดยบันทึกรายการยา (Drug item) ข้อมูลลักษณะทางประชากร (ได้แก่ วันเดือนปีเกิด เพศ สิทธิการรักษา ที่อยู่) รายละเอียดการสั่งใช้ยา ได้แก่ วันที่จ่ายยา ขนาดใช้ต่อครั้ง ความถี่ในการใช้ต่อวัน และปริมาณทั้งหมดที่สั่งใช้

4) สัมภาษณ์ผู้ป่วยด้วยแบบบันทึกผู้ป่วย แบบประเมินวัดระดับความปวดของข้อเข่ารูปแบบ VAS scale และแบบประเมินระดับความรุนแรงของโรคเข่าเสื่อมด้วย Oxford Knee Score

5) ผู้วิจัยนำก้อนสไลม์น้ำหนัก 120 กรัม แล้วนำมาพอกบริเวณข้อเข่าให้ผู้ป่วยทิ้งไว้ 15 นาที โดยทำการพอกเข้าวันละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 3 วัน วันเว้นวัน จันทร์ พุธ ศุกร์ โดยทำการพอกเข้าครั้งละ 15 นาที โดยไม่ต้องล้างออก [10,11]

6) นำข้อมูลที่ได้นบันทึกลงในคอมพิวเตอร์เพื่อวิเคราะห์ และสรุปผล

7) วิเคราะห์ แปลผล และสรุปผลการวิจัย

การวิเคราะห์ข้อมูล

ในการวิจัยเพื่อทดสอบสมมติฐานในการวิจัยทำการวิเคราะห์ด้วยคอมพิวเตอร์โดยใช้โปรแกรมประมวลผลทางสถิติแบบสำเร็จรูป SPSS Statistics ver.27 ซึ่งสถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ ดังนี้

1) ข้อมูลทั่วไป ใช้สถิติพรรณนาในการแจกแจงความถี่เป็นค่าร้อยละ ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2) ผลของการประเมินผลคะแนนระดับความเจ็บปวดของข้อเข่าก่อนและหลังการทดลองด้วยสถิติ Paired Simple t-test

ผลการศึกษา

1) กลุ่มทดลองส่วนใหญ่เป็นเพศหญิง ร้อยละ 68.18 มีอายุส่วนใหญ่อยู่ในช่วง 50-60 ปี ร้อยละ 45.45 ส่วนใหญ่ของกลุ่มทดลองมีอาชีพเกษตรกร ร้อยละ 38.64 โรคประจำตัวกลุ่มทดลองไม่มีโรคประจำตัว ร้อยละ 100 ค่าดัชนีมวลกายของกลุ่มทดลองส่วนใหญ่มีค่าดัชนีมวลกายอยู่ที่ระดับ 23-24.90 น้ำหนักเกิน ร้อยละ 43.18 กลุ่มทดลองส่วนใหญ่เป็นโรคข้อเข่าเสื่อมข้างซ้าย ร้อยละ 47.73 รองลงมาคือ เป็นโรคข้อเข่าเสื่อมทั้งสองข้าง ร้อยละ 31.82 และ เป็นโรคข้อเข่าเสื่อมข้างขวา ร้อยละ 40.45 ตามลำดับ พฤติกรรมที่ก่อให้เกิดอาการปวดข้อเข่า พบว่าในกลุ่มทดลองส่วนใหญ่มีพฤติกรรมที่ก่อให้เกิดอาการปวดข้อเข่าจากอิริยาบถจากการทำงานร่วมกับความเสื่อมของร่างกาย ร้อยละ 63.64 ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 จำนวน ร้อยละ ลักษณะข้อมูลทั่วไปของกลุ่มตัวอย่าง

ข้อมูลทั่วไป	กลุ่มทดลอง (n=44)	
	จำนวน (คน)	ร้อยละ
1. เพศ		
ชาย	14	31.82
หญิง	30	68.18
2. อายุ		
50 – 60 ปี	20	45.45
61 – 69 ปี	24	54.55
3. อาชีพ		
เกษตรกร	17	38.64
ค้าขาย	10	22.73
รับจ้าง	8	18.18
แม่บ้าน	4	9.09
พนักงานรัฐวิสาหกิจ	3	6.82
รับราชการ	2	4.55
4. โรคประจำตัว		
ไม่มี	44	100
5. ค่าดัชนีมวลกาย		
18.5 - 22.90 ปกติสมส่วน	5	11.37
23 - 24.90 น้ำหนักเกิน	19	43.18
25 - 29.90 อ้วนระดับ 1	12	27.27
มากกว่า 30 อ้วนระดับ 2	8	18.18
6. ข้างที่เป็นโรคข้อเข่าเสื่อม		
ข้างซ้าย	21	47.73
ข้างขวา	9	20.45
ทั้งสองข้าง	14	31.82
7. พฤติกรรมที่ก่อให้เกิดอาการปวดข้อเข่า		
ความเสื่อมของร่างกาย	10	22.73
อิริยาบถจากการทำงาน	6	13.64
ความเสื่อมของร่างกายและอิริยาบถจากการทำงาน	28	63.64

2) การวัดประสิทธิผลก่อน และหลังการใช้สไลม์พอกเข้าของค่าเฉลี่ยคะแนนระดับความปวดข้อเข่า (ข้อเข่าซ้าย) มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

พบว่า ก่อนการทดลองมีค่าเฉลี่ยระดับความเจ็บปวดของข้อเข่าข้างซ้าย เท่ากับ 5.71 ± 1.01 คะแนน หลังการทดลองมีค่าเฉลี่ยระดับความเจ็บปวดของข้อเข่าข้างซ้าย เท่ากับ 3.86 ± 0.79 คะแนน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระดับความเจ็บปวดของข้อเข่าข้างซ้ายก่อนและหลังการทดลอง พบว่า ค่าเฉลี่ยระดับความเจ็บปวดหลังการทดลองมีค่าระดับความเจ็บปวดลดลงก่อนการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยค่าผลต่างของค่าเฉลี่ยระดับความเจ็บปวดของข้อเข่าข้างซ้าย เท่ากับ 1.86 คะแนน (95% CI : 2.22 ถึง 1.50) ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพก่อน และหลังการใช้สไลม์พอกเข้าของค่าเฉลี่ยคะแนนระดับความปวดข้อเข่า (ข้อเข่าซ้าย) n=21 คน

ระดับความปวด	n	$\bar{X}$	S.D.	Mean Difference	t	p-value
กลุ่มทดลอง						
ก่อนการทดลอง	21	5.71	1.01	1.86	10.73	p<0.05
หลังการทดลอง	21	3.86	0.79			

วัดผลด้วยสถิติ Paired Simple t-test โดยกำหนดค่านัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ P-value = 0.05

3) การวัดประสิทธิภาพก่อน และหลังการใช้สไลม์พอกเข้าของค่าเฉลี่ยคะแนนระดับความปวดข้อเข่า (ข้อเข่าขวา) มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

พบว่า ก่อนการทดลองมีค่าเฉลี่ยระดับความเจ็บปวดของข้อเข่าข้างขวา เท่ากับ 6.44 ± 0.88 คะแนน หลังการทดลองมีค่าเฉลี่ยระดับความเจ็บปวดของข้อเข่าข้างขวา เท่ากับ 4.67 ± 1.00 คะแนน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระดับความเจ็บปวดของข้อเข่าข้างขวาก่อนและหลังการทดลอง พบว่า ค่าเฉลี่ยระดับความเจ็บปวดหลังการทดลองมีค่าระดับความเจ็บปวดลดลงต่ำกว่าก่อนการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยค่าผลต่างของค่าเฉลี่ยระดับความเจ็บปวดของข้อเข่าข้างขวา เท่ากับ 1.78 คะแนน (95% CI : 2.12 ถึง 1.44) ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพก่อน และหลังการใช้สไลม์พอกเข้าของค่าเฉลี่ยคะแนนระดับความปวดข้อเข่า (ข้อเข่าขวา) n=9 คน

ระดับความปวด	n	$\bar{X}$	S.D.	Mean Difference	t	p-value
กลุ่มทดลอง						
ก่อนการทดลอง	9	6.44	0.88	1.78	12.09	p<0.05
หลังการทดลอง	9	4.67	1.00			

วัดผลด้วยสถิติ Paired Simple t-test โดยกำหนดค่านัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ P-value = 0.05

4) การวัดประสิทธิภาพก่อน และหลังการใช้สไลม์พอกเข้าของค่าเฉลี่ยคะแนนระดับความปวดข้อเข่า (ข้อเข่าสองข้าง) มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

พบว่า ก่อนการทดลองมีค่าเฉลี่ยระดับความเจ็บปวดของข้อเข่าทั้งสองข้าง เท่ากับ 5.50 ± 1.02 คะแนน หลังการทดลองมีค่าเฉลี่ยระดับความเจ็บปวดของข้อเข่าทั้งสองข้าง เท่ากับ 3.57 ± 1.09 คะแนน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระดับความเจ็บปวดของข้อเข่าทั้งสองข้างก่อนและหลังการทดลอง พบว่า ค่าเฉลี่ยระดับความเจ็บปวดหลังการทดลองมีค่าระดับความเจ็บปวดลดลงต่ำกว่าก่อนการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยค่าผลต่างของค่าเฉลี่ยระดับความเจ็บปวดของข้อเข่าทั้งสองข้าง เท่ากับ 1.93 คะแนน (95% CI : 2.28 ถึง 1.57) ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ประสิทธิภาพก่อน และหลังการใช้สไลม์พอกเข้าของค่าเฉลี่ยคะแนนระดับความปวดข้อเข่า (ข้อเข่าสองข้าง) n=14 คน

ระดับความปวด	n	$\bar{X}$	S.D.	Mean Difference	t	p-value
กลุ่มทดลอง						
ก่อนการทดลอง	14	5.50	1.02	1.93	11.72	p<0.05
หลังการทดลอง	14	3.57	1.09			

วัดผลด้วยสถิติ Paired Simple t-test โดยกำหนดค่านัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ P-value = 0.05

5) ข้อมูลระดับความรุนแรงของโรคเข่าเสื่อมก่อน และหลังการใช้สไลม์พอกเข้า มีรายละเอียดดังต่อไปนี้ พบว่า หลังการทดลองใช้สไลม์พอกเข้ากลุ่มทดลองมีค่าคะแนนเฉลี่ยของค่า Oxford Knee Score เท่ากับ 29.64 ± 4.46 คะแนน ซึ่งสูงกว่าก่อนการทดลองใช้สไลม์พอกเข้าที่มีค่าคะแนนเฉลี่ยของค่า Oxford Knee Score เท่ากับ 17.45 ± 3.19 คะแนน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของโรคเข่าเสื่อมก่อนและหลังการทดลอง พบว่า ค่าเฉลี่ยคะแนนหลังการทดลองเพิ่มสูงขึ้น ระดับความเจ็บปวดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ผลการประเมินระดับความรุนแรงของโรคเข่าเสื่อม (Oxford Knee Score) n=44 คน

ระดับความรุนแรงของโรคเข่าเสื่อม	$\bar{X}$	S.D.	t	p-value
กลุ่มทดลอง				
Oxford Knee Score (ก่อน)	17.45	3.19	15.92	p<0.05
Oxford Knee Score (หลัง)	29.64	4.46		

วัดผลด้วยสถิติ Paired Simple t-test โดยกำหนดค่านัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ P-value = 0.05

วิจารณ์

การศึกษาประสิทธิภาพการใช้สไลม์พอกเข้าเพื่อบรรเทาอาการปวดเข่าในผู้ป่วยโรคเข่าเสื่อมที่มาใช้บริการคลินิกแพทย์แผนไทย โรงพยาบาลพระอาจารย์มั่น ภูริทัตโต จังหวัดสกลนคร การศึกษานี้ พบว่า สไลม์พอกเข้าสามารถบรรเทาอาการปวดเข่าในผู้ป่วยโรคเข่าเสื่อม ซึ่งเป็นไปตามสมมติฐานหลักของงานวิจัยอีกทั้งจากกลุ่มทดลองพบเพศหญิงมากที่สุด และส่วนใหญ่ประกอบอาชีพเกษตรกรเป็นหลักทำให้ร่างกายเกิดการใช้งานที่หนักอยู่ตลอดเวลา ร่างกายเกิดการบาดเจ็บ อาจทำให้กระดูกข้อต่อเกิดการเปลี่ยนแปลง และส่งผลให้มีอาการปวดข้อเข่าตามมา [12][13] และในการวิจัยครั้งนี้ พบว่า เป็นเพศหญิง และมีอายุที่มากขึ้น เนื่องจากผู้หญิงที่มีอายุสูงขึ้น เมื่อเข้าสู่วัยทองย่อมทำให้ฮอร์โมนเอสโตรเจนลดลงจึงมักทำให้ร่างกายเกิดความเสื่อมได้ง่ายกว่าเพศชาย [13] ส่วนใหญ่มีค่าดัชนีมวลกายอยู่ที่ระดับ 23 - 24.90 น้ำหนักเกิน เนื่องจากน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นมักส่งผลให้ร่างกายหรือบริเวณข้อเข่าต้องรับน้ำหนักเพิ่มมากขึ้นประกอบกับความเสื่อมของทางร่างกายการสลายของมวลกระดูก อีกทั้งในผู้ที่มีภาวะน้ำหนักเกินมักพบเซลล์ไขมันที่มากเกินไปซึ่งมักมีผลต่อเซลล์กระดูกอ่อน และเซลล์กระดูก ส่งผลให้ข้อเข่ามีความเสื่อมที่เร็วขึ้นอันเป็นผลมาจากการเพิ่มแรงที่กระทำต่อข้อเข่าที่ต้องรับน้ำหนักของร่างกาย และถือเป็นหนึ่งในปัจจัยที่ทำให้เกิดโรคเข่าเสื่อมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 [14,15]

การใช้สไลม์พอกเข้าที่มีส่วนประกอบของสมุนไพรฤทธิ์ร้อน อาทิ ไพล ขมิ้นชัน ดีปลี และกระวานที่ผสมในเนื้อสไลม์นั้นมีลักษณะข้น ยืด ซึ่งสมุนไพรในตำรับมีสรรพคุณช่วยบรรเทาอาการปวด ลดการอักเสบ อีกทั้งตัวสไลม์ที่มีลักษณะเป็นก้อนยืดติดเกาะกับร่างกายได้ และสามารถลอกออกได้ง่ายโดยไม่ละเป็นอันจึงเหมาะสำหรับนำมาใช้พอกบริเวณข้อเข่าสอดคล้องกับงานวิจัยของ Bunpean et al, 2020 [9] พบว่าสไลม์ที่มีลักษณะเหนียว ยืด และมีส่วนประกอบของสมุนไพรฤทธิ์ร้อนที่คล้ายคลึงกันเมื่อนำมาใช้พอกเข้าในผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อมสามารถลดระดับความได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.001 และลักษณะของสไลม์ที่นำมาใช้พอกเข้ามีความสะดวกต่อการใช้งานเหมาะสม และบรรเทาอาการปวดได้โดยอยู่ในระดับความพึงพอใจมากที่สุด ($M=4.54$, $SD=.040$)

ผลการประเมินระดับคะแนนความปวดข้อเข่าก่อน และหลังการใช้สไลม์พอกเข้าในผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อมของคลินิกแพทย์แผนไทย โรงพยาบาลพระอาจารย์มั่น ภูริทัตโต ในผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อมที่มีอาการปวดเข่าข้างซ้าย ข้างขวา และทั้งสองข้างด้วยวิธีการรักษาด้วยการพอกสไลม์บริเวณรอบๆ ข้อเข่าครั้งละ 15 นาที เป็นเวลา 3 วัน แบบวันเว้นวันพบว่า ผู้ป่วยมีอาการปวดข้อเข่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ซึ่งจากการพอกเข้าด้วยสไลม์นั้น สามารถบรรเทาอาการปวดข้อเข่าได้ทั้งสองข้าง ทั้งนี้ในส่วนของการสไลม์พอกเข้านั้น มีส่วนประกอบของสมุนไพรที่สามารถบรรเทาอาการ และลดการอักเสบได้ อาทิ เหง้าขิงแห้ง ดีปลี ข่าพลู สอดคล้องกับการศึกษาของ Poonsuk et al, 2017 [16] พบว่าในตำรับยาพอกเข้าที่มีสมุนไพรฤทธิ์ร้อนสามารถลดระดับความปวดของเข่าดีขึ้นกว่าก่อนทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p\text{-value} < 0.001$ อีกทั้งสอดคล้องกับการศึกษาของ Bunpean et al, 2020 [9] พบว่าในการใช้สไลม์พอกเข้าจากส่วนประกอบของสมุนไพรที่คล้ายคลึงกันนั้นสามารถช่วยบรรเทาอาการปวดเข่า และลดระดับความรุนแรงของโรคข้อเข่าเสื่อมลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.001 นั้นเนื่องจากในสไลม์มีตัวยาสสำคัญที่มีผลต่ออาการปวด การไหลเวียนโลหิต และฤทธิ์ต้านการอักเสบ อาทิ ไพล [17] ขมิ้นชัน [18] และดีปลี [19] ซึ่งเป็นยาสมุนไพรที่มีรสร้อน และยังสอดคล้องกับการศึกษาของ Kensila U, Janthasri A., 2021 [20] พบว่าหลังการพอกสมุนไพรในผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อมนั้นมีค่าคะแนนเฉลี่ยระดับความปวดข้อเข่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p < .001$ ซึ่งยาพอกสมุนไพรสามารถลดอาการปวด ลดความฝืดของข้อเข่าในช่วงเวลาของการเปลี่ยนอิริยาบถได้นั้นสอดคล้องกับการศึกษาของ Poonsuk et al, 2017 [16] ผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อมที่ได้รับการพอกยาสมุนไพรมีค่าระดับความฝืดของข้อเข่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $p < 0.001$ ซึ่งอาการฝืดของข้อเข่าเป็นผลมาจากความปวด และการอักเสบบริเวณของข้อเข่า ส่งผลให้ผู้ป่วยมีการเคลื่อนไหวที่น้อยลงมีการเปลี่ยนแปลงน้ำไขข้อทำให้คุณสมบัติการหล่อลื่นในข้อลดลง ดังนั้นระดับความฝืดของข้อลดลงเป็นผลมาจากระดับความปวดของข้อเข่าที่ลดลง และส่งผลให้สามารถใช้งานได้ดีขึ้น

สไลม์พอกเข้าเมื่อนำมาใช้พอกบริเวณเข้าในผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อมล้วนประกอบไปด้วยสมุนไพรฤทธิ์ร้อนมีสรรพคุณบรรเทาอาการปวดตามหลักทฤษฎีทางการแพทย์แผนไทยนั้น ยาพอกฤทธิ์ร้อนจะช่วยกระตุ้นวาศะธาตุให้มีการขับเคลื่อนกระจายลมที่อันในบริเวณเข้ากระตุ้นเสมหะธาตุให้เกิดการไหลเวียนที่ดีขึ้นอาศัยลมเป็นตัวนำพาให้เกิดการเคลื่อนไหวลดความหนืดไปเลี้ยงส่วนต่างๆ ของเข้าได้ดี ส่งผลไปยังปลั๊กธาตุให้กลับมาทำงานได้ดีมากขึ้นซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Heebthong et al, 2024 [21] พบว่าส่วนประกอบในตำรับยาพอกมีความคล้ายคลึงกันโดยมีฤทธิ์ยาที่ช่วยปรับธาตุให้กลับมาทำงานได้ดียิ่งขึ้น

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

การศึกษาประสิทธิภาพการใช้สไลม์พอกเข่าเพื่อบรรเทาอาการปวดเข่าในผู้ป่วยโรคเข่าเสื่อมที่มารับบริการคลินิกแพทย์แผนไทย โรงพยาบาลพระอาจารย์มั่น ภูริทัตโต จังหวัดสกลนคร พบว่า มีผลต่อการบรรเทาอาการปวดข้อเข่าได้ในช่วงระยะเวลาการรักษาที่สั้นประมาณ 1 สัปดาห์ โดยวิธีการรักษาแบบวันเว้นวัน เป็นระยะเวลา 3 วัน

ข้อเสนอแนะ

การวิจัยครั้งนี้ เป็นการวิจัยกลุ่มเดี่ยววัดผลก่อน และหลัง ซึ่งยังขาดกลุ่มควบคุม เพื่อเปรียบเทียบผลการรักษาในครั้งนี้ ในอนาคตต่อไปควรศึกษาสองกลุ่ม

เอกสารอ้างอิง

- [1] Hanphakdeeniyom A. The Elderly Policy for the Development of ASEAN Countries. Buddhist ASEAN Studies Journal (BASJ). 2020; 5(1): 55-70. (in Thai)
- [2] Methabutr C. Development of the Management Model for Osteoarthritis among Elderly in Chumphuang District, Nakhon Ratchasima Province. Regional Health Promotion Center 9 Journal. 2022; 16(3): 969-985. (in Thai)
- [3] Health Data Center, Ministry of Public Health. Screening report for osteoarthritis in the elderly. [Internet]. [cited 2021 October 30]. from: <https://hdcservice.moph.go.th>.
- [4] Golden Jubilee Medical Center Faculty of Medicine Siriraj Hospital Mahidol University. Relieves osteoarthritis with herbal poultice. [Internet]. [cited 20 October 2024]. from <https://www.gj.mahidol.ac.th/main/ttm/oa>.
- [5] Anuthakoengkun A, Itharat A. Inhibitory effect on nitric oxide production and free radical scavenging activity of Thai medicinal plants in osteoarthritic knee treatment. Journal of the Medical Association of Thailand. 2014; 97(8), 116-24. (in Thai)
- [6] Akkharasut P, Limsuwan S, Wichitsa-nguan JK. Comparison of a Polyherbal Mixture Chappong-Haeng-Khao and Topical Capsaicin add on Treatment for Patients with Knee Osteoarthritis in Khaopanom hospital, Krabi Province. Journal of Health Science. 2020; 29(2): 270-280. (in Thai)
- [7] Boonprasert W, Nawsuwan K, Singweratham N. Effects of herbal poultice on Oxford knee score, pain score, and range of motion in patients with knee osteoarthritis at Sadao Hospital, Songkhla Province. The Journal of Faculty of Nursing Burapha University. 2023; 31(4): 13-23. (in Thai)
- [8] Pongkildarb P. Effective of Relieve Knee Pain used Thai Royal Massage Combined with Hot-Compressed Herbal Ball and Herbal Knee Poultice in Knee Pain Patients or Osteoarthritis, Si Prachan District, Suphanburi Province. The Journal of Boromarjonani College of Nursing, Suphanburi. 2022; 5(2): 32-46. (in Thai)
- [9] Bunpean A, Chantarapon P, Hongsamat P, Jaiyai K, Thatwisai K, Klongcherngsan C, Singhat J. Developing of Knee Mask Slime for Osteoarthritis Patients in Ratchaphiphat Hospital Bang Khae District Bangkok. Advanced Science Journal. 2020; 20(2): 101-118. (in Thai)

- [10] Chantira R, Sudjan C, Tangrungrachoen C, Thongpa Y, Nutchaya T, Panwai T, Tongcham N, Kliengkhum N, Chamnan N, Kumnerkoh J, Luabunjong C. The Effects of Thai Herbal Paste for Knee Pain in Elderly Osteoarthritis at SriwichaiSub-District Health Promoting Hospital, Phunphin District, Suratthani Province, Thailand. *Research Journals Rajamangala University of Technology Srivijaya*. 2021; 13(1): 165-173. (in Thai)
- [11] Yaemmoon S, Udompittayason J, Siramaneerat I. The effects of Apply Knee with Formulary to Knee Pain Patients in Ban Khok Hospital Amphoe Ban Khok Uttaradit. *The Journal of Boromarajonani College of Nursing Suphanburi*. 2018; 1(1): 16-27. (in Thai)
- [12] Blagojevic M., Jinks C., Jeffery A., and Jordan K. P. Risk factors for onset of osteoarthritis of the knee in older adults: a systematic review and meta analysis. *Osteoarthritis Research Society International*. 2557; 18(1): 24-33.
- [13] Nimit-arnun N. The Epidemiological Situation and Risk Assessment of Knee Osteoarthritis among Thai People. 2014; 15(3): 185-194. (in Thai)
- [14] ThaiHealth Official. The fatter you are, the more risk of osteoarthritis. [Internet]. [cited 20 October 2024]. from: <https://www.thaihealth.or.th/Content>.
- [15] Saraboon Y, Aree-Ue S, Jarupat Maruo S. Symptoms, Knowledge, and Perceived Illness Representation Related to Knee Osteoarthritis Among Elderly in a Community: A Pilot Study. *Journal of Boromarajonani College of Nursing, Bangkok*. 2014; 30(2): 12-24. (in Thai)
- [16] Poonsuk P, Songphasuk S, Jantha M, Nimpitakpong N, Jiratsatit K. Effectiveness of Herbal Poultice for Knee Pain Relief in Patients with Osteoarthritis of Knee. *Thammasat Medical Journal*. 2017; 18(1): 104-111. (in Thai)
- [17] Sukatta U, Rugthaworn P, Punjee P, Chidchenchey S, Keeratinjakal V. Chemical composition and physical properties of oil from Plai (*Zingiber cassumunar* Roxb.) obtained by hydro distillation and hexane extraction. *Kasetsart J (Nat Sci)*. 2009; 43(5): 212-217.
- [18] Sawasdee Chai C, Imiaem S. Review of Thai herbal research, traditional Thai medicine, and Thai herbs. *J Prapokklao Hosp Clin Med Educat Center*. 2016; 33(3): 265-270. (in Thai)
- [19] Triyasut V, Itharat A, Chakkavittumrong P, Kanokkangsadal P. Irritant reaction on skin of long pepper extract in healthy volunteers (clinical trial phase I). *Thammasat Medical Journal*. 2016; 16(4): 608-615. (in Thai)
- [20] Kensila U, Janthasri A. The Effects of Thai Herbal Paste on Knee Pain in Elderly with Osteoarthritis. *The Journal of Faculty of Nursing Burapha University*. 2021; 29(4): 13-21. (in Thai)
- [21] Heebthong S, Boonkhwang P, Pongnaratorn P, Sirisin J, Chan-ae P. Effectiveness of herbal poultices combined with behavior modification in Thai traditional medicine based on Kum-Pee-Wet-Seuk-Saa for reducing pain from Lom-Jub-Pong-Hang-Kao at Pak Chom Hospital, Loei Province. *Journal of Public Health and Health Sciences Research*. 2024; 6(3): 140-151. (in Thai)

บทความปริทัศน์ (Review Article)

ศาสตร์ของทฤษฎี : อดีตสู่ปัจจุบัน

ธีรา อารีย์¹, ถนอมวงศ์ กฤษณ์เพชร² และ เบญจ ป้องกันภัย²

The art and sciences of Tuina: From past to present

Teera Aree¹, Thananomwong Kritpet² and Ben Pongkanpai^{2*}¹ Huachiew Tradition Chinese Medicine Clinic, Bangkok Province 10100, Thailand² Area of Health Promotion, Faculty of Sports Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

* Correspondence author, E-mail: Ben.Po@chula.ac.th

Health Science, Science and Technology Reviews. 2025;18(2):73-86.

Received: 21 May 2025; Revised: 25 August 2025; Accepted: 29 August 2025

บทคัดย่อ

ปัจจุบันการแพทย์ทางเลือก (Alternative medicine) เป็นอีกศาสตร์ที่มีผู้ให้ความสนใจ และเป็นอีกทางเลือกในการเข้ารับการรักษา เป็นการรักษาแบบศาสตร์ภูมิปัญญาตะวันออกมีผู้ป่วยเป็นศูนย์กลาง และเป็นการรักษาแบบองค์รวม หนึ่งในศาสตร์ของแพทย์แผนจีนที่ใช้ในการรักษาโรคตั้งแต่สมัยโบราณคือศาสตร์ทฤษฎี ซึ่งได้รับการพัฒนาองค์ความรู้มาอย่างต่อเนื่อง นับเป็นเวลาหลายพันปีโดยมีหลักฐานปรากฏอยู่ในตำรา “หวงตี้เน่ยจิง” เป็นตำราการแพทย์แผนจีนเล่มแรก ที่รวมเล่มสมบูรณ์ในสมัยราชวงศ์ฉินและราชวงศ์ฮั่น มีการใช้นวดจีนทฤษฎีรักษาโรคทั้งทางด้านอายุรกรรม สูติรีเวช กุมารเวช กระดูกและข้อ เป็นต้น ในขณะเดียวกันก็มีการศึกษาวิจัยในการนำศาสตร์ทฤษฎีไปปรับใช้กับการแพทย์แขนงอื่นๆ รวมทั้งมีการเรียบเรียงตำราวิชาการทฤษฎีตามองค์ความรู้ใหม่ที่ได้มาจากการปฏิบัติบำบัดรักษาโรคต่างๆ ได้อย่างกว้างขวางขึ้น โดยมีข้อดีคือ มีปลอดภัยและไม่มีผลข้างเคียง ซึ่งในปัจจุบันศาสตร์ทฤษฎี จึงเป็นการรักษาทางเลือกที่นิยม เนื่องจากการรักษาที่มีประสิทธิภาพในการฟื้นฟูร่างกาย โดยช่วยปรับสมดุลระบบไหลเวียนเลือด ระบบประสาทและกล้ามเนื้อ ช่วยบรรเทาอาการปวด และส่งเสริมสุขภาพ และยังได้รับการยอมรับจากองค์การอนามัยโลกว่ามีประสิทธิผลในการดูแลรักษาโรคได้

บทความนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์องค์ความรู้ของทฤษฎี โดยครอบคลุม 5 ประเด็นสำคัญ ได้แก่ ประวัติและพัฒนาการของทฤษฎี หลักการและกระบวนการนวดทฤษฎี ทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับทฤษฎี การเตรียมตัวก่อนนวดทฤษฎี และหัตถบำบัดทฤษฎีพื้นฐาน ซึ่งสะท้อนให้เห็นทั้งมิติทางประวัติศาสตร์ หลักการเชิงทฤษฎี และการประยุกต์ใช้ในเชิงปฏิบัติทางคลินิกอย่างเป็นระบบ

คำสำคัญ: ทฤษฎี, การแพทย์แผนจีน, การนวดจีนทฤษฎี, ทฤษฎีรักษาโรค¹ คลินิกการประกอบโรคศิลปะสาขาการแพทย์แผนจีนหัวเฉียว จังหวัดกรุงเทพมหานคร 10100 ประเทศไทย² แผนกวิชาการส่งเสริมสุขภาพ คณะวิทยาศาสตร์การกีฬา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จังหวัดกรุงเทพมหานคร 10330 ประเทศไทย

Abstract

Recently, alternative medicine was interested in its sciences, one of alternative therapy using the concept of patient center, and it was also holistic care. Chinese Tuina Massage has been one of the sciences on traditional Chinese medicine since the ancient era. The explicit knowledge of Chinese Tuina Massage has been developed continually has been around for a very long time, as evidenced by the scriptures “Huangdi Neijing”, the first traditional Chinese medicine textbook completely edited in Qin and Han Dynasty. Chinese Tuina Massage has been used to heal the disease in Ayurveda, Obstetrics & Gynecology, Pediatrics, Orthopedics etc. Additionally, there were investigations to apply Tui Na massage used in other areas of medicine including textbook of Chinese Tuina Massage was edited as considering the new information generated by treating various illnesses. The advantages were safety and disappearing of any side effects. Currently, Tuina is a popular alternative treatment as it restores balance to the body. It helps regulate the circulatory, nervous and muscular systems, relieves pain and promotes general health. It is also recognized by the World Health Organization for its effectiveness in treating disease.

This article aims to provide a comprehensive analysis of the knowledge surrounding Tuina. Five key areas are covered: its history and development, underlying principles and practices, relevant theoretical frameworks, preparation for massage, and fundamental Tuina techniques. The discussion highlights the historical context, the theoretical foundations, and the systematic application of Tuina therapy in clinical practice.

Keywords: Tuina, Traditional Chinese medicine, Chinese Tuina massage, Tuina therapy

บทนำ

การแพทย์ทางเลือก (Alternative medicine) เป็นอีกศาสตร์ที่มีผู้ให้ความสนใจและยอมรับมากขึ้นในปัจจุบัน โดยเฉพาะการรักษาแบบศาสตร์ภูมิปัญญาตะวันออกที่มีประวัติศาสตร์มายาวนานนับพันปี โดยการรักษาผู้ป่วยเป็นศูนย์กลาง และเป็นการรักษาแบบองค์รวม ซึ่งวิวัฒนาการของศาสตร์การรักษาแบบภูมิปัญญาตะวันออกที่พบได้มากคือการแพทย์แผนจีน การแพทย์แผนไทย และการแพทย์ดั้งเดิมอินเดีย (อายุรเวท) ซึ่งก็มีวิธีการดูแลสุขภาพมากมายหลายวิธี ได้แก่ การนวด การใช้อาหารและสมุนไพร การออกกำลังกาย การอบยา และการฝังเข็ม[1] โดยศาสตร์การนวดในแต่ละประเทศมีจุดเด่นที่แตกต่างกันออกไป แต่การนวดทุกแบบต่างมีจุดมุ่งหมายเดียวกัน คือต้องการช่วยให้ผู้ป่วยหายจากอาการเจ็บป่วยให้สามารถดำรงชีวิตโดยปราศจากความทุกข์และความเจ็บปวด ศาสตร์การนวดมีประวัติศาสตร์สืบทอดองค์ความรู้สืบทอดกันมานับหลายพันปี

ประเทศจีนมีศาสตร์การนวดจีนทุยหนา (Chinese Tuina Massage) ซึ่งเป็นศาสตร์หนึ่งของการรักษาแบบแพทย์แผนจีนเป็นศาสตร์การแพทย์ที่พัฒนามาจากประสบการณ์การรักษาที่สะสมกันมานานเป็นระยะเวลาหลายพันปี ทุยหนา เป็นการบำบัดรักษาที่ใช้มือในการรักษาบริเวณที่มีอาการปวดโดยตรง หรือรักษาผ่านเส้นลมปราณเพื่อบรรเทาอาการปวดและการบาดเจ็บ[2] โดยการนวดทุยหนาจะมีหัตถบำบัดท่าทางที่หลากหลายกระทำลงในตำแหน่งบริเวณจุดเส้นลมปราณบนร่างกาย โดยใช้มือสร้างเทคนิคต่างๆ ให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ระบบสรีระและพลังงาน เพื่อกระตุ้นระบบการไหลเวียนเลือดและลมปราณ ฟันฟูและเสริมสร้างสมรรถนะของร่างกาย การนวดทุยหนา เป็นหัตถบำบัดที่สำคัญของศาสตร์การแพทย์แผนจีน โดยสามารถทำได้ทั้งแบบเดี่ยว หรือสามารถทำร่วมกับเทคนิคอื่นๆของการแพทย์แผนจีนเพื่อผลของการรักษาที่ดีกว่าในการบำบัดโรคบางชนิดเมื่อเทียบกับแพทย์ตะวันตก[3] การนวดทุยหนา เป็นการนวดด้วยมือ (Manual Massage) ซึ่งเป็นที่นิยมแพร่หลายมากที่สุดในการกายภาพบำบัด เพื่อการบำบัด

ถูกนำมาใช้ในการรักษาโรคและอาการบาดเจ็บต่างๆ มากมาย ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ประเภทหลัก ได้แก่ การนวดบำบัดแบบดั้งเดิม การระบายน้ำเหลือง และการนวดกดจุดสะท้อน โดยการนวดมีผลต่อกลไกการเปลี่ยนแปลงโดยตรงของกล้ามเนื้อ โดยช่วยเพิ่มระบบไหลเวียนเลือด เพิ่มการไหลเวียนของน้ำเหลืองและเลือดดำ กระตุ้นให้เกิดการขยายของหลอดเลือดแดงขนาดเล็กและเส้นเลือดฝอยในเนื้อเยื่อ เพิ่มอัตราการเผาผลาญในบริเวณที่ถูกนวด ช่วยกำจัดของเสียจากกระบวนการเผาผลาญ และลดอาการบวมและการสะสมของเสียบริเวณเนื้อเยื่อ[4]

แม้ศาสตร์การนวดทุยหน่าจะได้รับการใช้ในทางการแพทย์อย่างต่อเนื่อง และมีงานวิจัยจำนวนมากที่ศึกษาประสิทธิผลด้านการบำบัดอาการปวดและส่งเสริมสุขภาพ แต่ปัจจุบันยังขาดการทบทวนองค์ความรู้เชิงระบบที่เชื่อมโยงตั้งแต่รากฐานทางทฤษฎีไปจนถึงการปฏิบัติในบริบทร่วมสมัยอย่างครบถ้วน นอกจากนี้ยังขาดการวิเคราะห์เปรียบเทียบเทคนิคและรูปแบบหัตถบำบัดต่างๆ ของทุยหน่า เทคนิคที่เหมาะสม และวิธีการเตรียมตัวก่อนการนวด ผู้เขียนจึงดำเนินการศึกษางานวิจัยนี้เพื่อวิเคราะห์องค์ความรู้ด้านทุยหน่า ครอบคลุม 5 ประเด็นสำคัญ ได้แก่ ประวัติและพัฒนาการของทุยหน่า หลักการและกระบวนการนวดทุยหน่า ทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับทุยหน่า การเตรียมตัวก่อนนวดทุยหน่า และหัตถบำบัดทุยหน่าพื้นฐาน เพื่อรวบรวมประเด็นสำคัญ ประสิทธิภาพ และแนวทางการประยุกต์ใช้ในปัจจุบัน ตลอดจนเพิ่มเติมช่องว่างของความรู้ที่ยังไม่ถูกศึกษาในวรรณกรรมปัจจุบัน

ประวัติและการพัฒนาของการนวดทุยหน่า (History and Development)

ทุยหน่ามีกำเนิดมาตั้งแต่ครั้งจีนโบราณ ในสมัยราชวงศ์ฉิน-ฮั่น (ราว 2,200 ปี ก่อนคริสตกาล) มีตำราบันทึกเกี่ยวกับการบำบัดรักษาโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรง ด้วยการรักษานวดทุยหน่าและการออกกำลังกายแบบซิงกั ไว๋ ในตำราการแพทย์แผนจีนหวงตี้เน่ยจิง และหลักการเหล่านี้ถูกนำมาใช้ต่อเนื่องตั่งแต่นั้นมา ในปี ค.ศ. 518-907 สมัยราชวงศ์ถัง การนวดทุยหน่าได้รับการยอมรับมากขึ้นทางโรงเรียนแพทย์ของพระราชสำนักได้ดำเนินการบำบัดด้วยการนวดแบบทุยหนามารวมไว้ในหลักสูตร และมีการจัดตั้งแผนกและมีแพทย์เฉพาะทางขึ้น ซึ่งให้บริการเฉพาะแก่จักรพรรดิ ขุนนาง และเจ้าหน้าที่ราชการ ทุยหน่าได้รับการพัฒนาอย่างรวดเร็วในช่วงปี ค.ศ. 960–1368 และมีการเขียนหนังสือเล่มที่สองที่มีคำแนะนำ เทคนิค เครื่องมือ และการรักษาโดยการตึงร่างกายอย่างครบถ้วน ต่อมาช่วงปี ค.ศ. 1368–1911 ถือเป็นยุคสูงสุดของการพัฒนาทุยหน่า ปัจจุบันทุยหน่าเป็นศาสตร์ที่มีการประยุกต์ใช้อย่างกว้างขวางทั่วโลก โดยเฉพาะในประเทศจีนที่เกือบทุกครอบครัวต่างใช้เทคนิคนี้[5] ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1974 องค์การอนามัยโลก (WHO) ได้ยอมรับให้การแพทย์แผนจีนเป็นแขนงหนึ่งของวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่มีสถานะเท่าเทียมกันกับการแพทย์แบบตะวันตก[3] และในปี ค.ศ. 1956 มหาวิทยาลัยการแพทย์แผนจีนในประเทศจีน ได้มีการจัดตั้งคณะทุยหน่าและแผนกนวดทุยหน่าขึ้นเป็นครั้งแรก จวบจนปัจจุบันรัฐบาลจีนมีนโยบายสนับสนุนการแพทย์แผนจีน ทำให้ทุยหน่าได้รับการสนับสนุนและมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง ตลอดจนการนำศาสตร์ทุยหน่าไปประยุกต์กับศาสตร์การแพทย์แขนงอื่นๆ ทำให้สามารถรักษาโรคได้กว้างขวางมากขึ้น[6] เช่นการบาดเจ็บบริเวณกลางดุกสันหลัง ก็นำความรู้จากการตรวจเอกซเรย์ มาประยุกต์ใช้เพื่อให้ได้ผลการวินิจฉัยโรคที่ถูกต้องและแม่นยำ ในการรักษาโรคกระดูกสันหลังด้วยวิธีนวดทุยหน่า

หลักการและกระบวนการนวดทุยหนา (Principle and practices)

ทุยหนา เป็นการนวดตามศาสตร์การแพทย์แผนจีนโดยใช้หลักทฤษฎีการแพทย์แผนจีนในการทำหัตถบำบัด กัด คลึง ถู บีบ ดัด กลิ้ง ตีและอื่นๆ บนบริเวณที่ปวดเจ็บหรือจุดต่าง ๆ ของเส้นลมปราณบนร่างกายเพื่อใช้ในการรักษา หรือป้องกันโรค คำว่า “ทุย” หมายถึง “ผลึก” ส่วน “หนา” หมายถึง “หยาบ ดึง” ซึ่งทุยหนาจะใช้หัตถบำบัดสร้างเทคนิค ต่างๆ ให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ระบบสรีรวิทยาและพลังงานของร่างกาย ทุยหนามีเป้าหมายเพื่อฟื้นฟูการไหลเวียนของ พลังงานและการไหลเวียนเลือดในบริเวณที่ได้รับความกระทบกระเทือนด้วยการขัดสิ่งกีดขวางอุดตัน โดยการใช้ เทคนิคต่างๆ เพื่อลดหรือเพิ่มพลังงานที่มีอยู่ในบริเวณนั้นให้เกิดความสมดุล ทุยหนายังมีประสิทธิภาพในด้านสรีรวิทยา อื่นๆ ด้วย เช่น ระบบประสาท การไหลเวียนเลือด การหายใจ การย่อยอาหาร ระบบน้ำเหลือง ระบบกล้ามเนื้อและโครง กระดูก เป็นต้น[7] ทุยหนา แบ่งออกเป็น 3 ประเภทหลัก ได้แก่ 1) ทุยหนาแบบพื้นฐาน (Tuina) เป็นการช่วยเพิ่มการ ไหลเวียนของเลือด ช่วยส่งเสริมการทำงานของพลังงานภายใน (Qi) ที่เกี่ยวข้องกับบริเวณนั้นๆ ผ่านการปรับสมดุลของ จุดที่มีความผิดปกติในร่างกาย ลดอาการปวดขัดจัดการคั่งของเลือด และระงับอาการปวด 2) เทคนิคทุยหนา (Tuina Manipulation) เป็นรูปแบบที่ได้รับการพัฒนาให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น โดยรวมถึงเทคนิคต่างๆ เช่น การนวดคลึง, การกลิ้ง, การกัด, การดัด การผ่อนคลายบริเวณที่ได้รับผลกระทบหรือเจ็บป่วย สามารถปรับโครงสร้างของเส้นเอ็นและ กระดูกที่อยู่ติดจากตำแหน่งปกติให้เข้าสู่สภาพปกติได้ และ 3) การนวดจีนทุยหนา (Chinese Tuina Massage) เป็น การผสมผสานระหว่างการจัดการด้วยเทคนิคทุยหนาและการเคลื่อนไหวของข้อต่อ (Mobilization) เป็นการเคลื่อนไหวที่ ผู้ป่วยไม่ได้ออกกำลังกาย (Passive movement) สามารถทำให้ภาวะยึดติดของข้อต่อผ่อนคลายลง เป็นการเพิ่มพิสัยการ เคลื่อนไหวของข้อต่อ ปรับสมดุลการทำงานของอวัยวะภายใน เสริมความสามารถในการป้องกันโรค[8]

หากพิจารณาที่มาและความหมายของทุยหนา พบว่า ทุยหนา (Tuina) เป็นศัพท์ภาษาจีน (推拿, tuīná) หมายถึง การใช้มือผลึก และบีบ/จับ ซึ่งเป็นศาสตร์แพทย์แผนจีน (Traditional Chinese Medicine, TCM) ที่ใช้มือใน การกัด ดัน บีบ คลึง จับหรือดัดข้อต่อ เพื่อปรับสมดุลพลังงานในร่างกายและรักษาความผิดปกติทางกาย [9] และจาก การสำรวจบทความวิชาการและวิจัยในฐานข้อมูลของ PubMed Scopus WHO และ CNKI ใช้คำว่า Tuina เป็น มาตรฐานสากลทางวิชาการ

ทุยหนา สามารถกระตุ้นการไหลเวียนของชีและเลือด ทะลวงเส้นลมปราณ โดยคำว่า “ชี” หมายถึง สารพื้นฐานที่ประกอบขึ้นเป็นโครงสร้างของมนุษย์และก่อให้เกิดเป็นพลังขับเคลื่อนของชีวิต[10] ส่วน “เส้นลมปราณ” เป็นระบบที่เชื่อมโยงทั่วทั้งร่างกาย ทั้งอวัยวะภายในไปจนถึงผิวหนังภายนอก เป็นทางเดินของชีและเลือด หน้าที่ของเส้น ลมปราณคือ ไหลเวียนชีและเลือด บำรุงพลังหยินหยาง หล่อเลี้ยงเส้นเอ็นและกระดูก ทำให้การทำงานของระบบต่างๆ ในร่างกายทำงานได้อย่างปกติ เมื่อชีและเลือดทำงานไม่ประสานกัน จึงเป็นปัจจัยที่ก่อโรครายนอกทำให้เกิดเส้น ลมปราณอุดตัน เมื่อการไหลเวียนติดขัดจึงก่อให้เกิดอาการปวด หัตถบำบัดนวดทุยหนามีการกระตุ้นจุดฝังเข็มและเส้น ลมปราณต่างๆ ทำให้สามารถทะลวงเส้นลมปราณ กระตุ้นการไหลเวียนของชีและเลือด ขจัดความเย็นระงับอาการปวด บำรุงและจัดเส้นเอ็นให้เข้าที่ หล่อลื่นข้อต่อ เส้นเอ็น กระดูกและข้อต่อเป็นโครงสร้างที่ทำให้ร่างกายเกิดการเคลื่อนไหว ชีและเลือดที่ทำงานประสานกัน ความสมดุลของพลังหยิน (เย็น) และหยาง (ร้อน) มีส่วนสำคัญที่ทำให้เส้นเอ็นและ กระดูกแข็งแรง ข้อต่อเคลื่อนไหวสะดวก ทุยหนาสามารถบำรุงและจัดเส้นเอ็นให้เข้าที่ หล่อลื่นข้อต่อ ในทฤษฎี การแพทย์แผนจีน การเกิดโรคต่างๆ เกิดจากการที่เจ็งชี่อ่อนแอ (เจ็งชี่ จะช่วยให้อวัยวะทำงานเป็นปกติ ปกป้องและ ฟื้นฟูร่างกาย) ไม่สามารถต่อสู้กับปัจจัยก่อโรคได้ ปัจจัยก่อให้เกิดโรคจึงเข้าสู่ภายในร่างกายทำให้เกิดโรคต่างๆ การทำงานของอวัยวะภายในต่างๆ มีความสัมพันธ์โดยตรงกับเจ็งชี่ อวัยวะต้นและกลวงมีหน้าที่ในการสร้างชีและเลือด ดูดซึมและขจัดของเสีย เมื่อการทำงานของอวัยวะภายในเสียสมดุลหรืออ่อนแอ จะส่งผลให้เจ็งชี่อ่อนแอต่อการเกิด โรคต่างๆ [11] การทำหัตถบำบัดนวดทุยหนานวดจุดฝังเข็มและเส้นลมปราณสามารถปรับสมดุลการทำงานของอวัยวะ ภายใน กระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันได้

ทุยหนามีผลต่อการทำงานของระบบไหลเวียนเลือด โดยช่วยขยายหลอดเลือด ช่วยในการฟื้นฟูการทำงานของหลอดเลือด เพิ่มความยืดหยุ่นของผนังหลอดเลือด กระตุ้นการไหลเวียนเลือด และลดความหนืดของเลือด นอกจากนี้ทุยหนามีผลต่อระบบทางเดินอาหาร โดยการนวดบริเวณช่องท้องจะช่วยควบคุมการหดตัวของกล้ามเนื้อในระบบย่อยอาหาร ส่งผลให้มีการทำงานของระบบย่อยอาหารมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น และมีผลต่อระบบขับถ่าย ทุยหนาส่งเสริมการกระตุ้นการหดตัวของหูรูดและส่งเสริมการขับปัสสาวะ รวมถึงทุยหนามีผลกระทบต่อระบบต่อมไร้ท่อ โดยสามารถส่งเสริมการหลั่งอินซูลินในผู้ป่วยโรคเบาหวาน รวมทั้งสามารถช่วยปรับสมดุลของระบบฮอร์โมนและบรรเทาอาการของความผิดปกติทางประจำเดือน และทุยหนามีประโยชน์ต่อระบบกล้ามเนื้อและกระดูก โดยสามารถกระตุ้นการไหลเวียนของเลือดหลังการเคลื่อนไหวของกล้ามเนื้อ ช่วยฟื้นฟูบาดแผลจากการบาดเจ็บ และแก้ไขภาวะเส้นเอ็นยึดติด โดยผลของการเปลี่ยนแปลงทางด้านสรีรวิทยาเกิดจากทุยหนาเป็นการใช้แรงภายนอก ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการกระตุ้นเส้นลมปราณและเปลี่ยนแปลงและฟื้นฟูการทำงานของระบบต่างๆ ของร่างกายให้ดีขึ้นตามศาสตร์การแพทย์แผนจีน [3,12] อย่างไรก็ตามการทำหัตถบำบัดนวดทุยหนาให้ได้อย่างมีประสิทธิภาพขึ้นอยู่กับ ระยะเวลาที่เหมาะสมต่อตำแหน่งและอาการของโรค มีกำลังที่เพียงพอสามารถควบคุมแรงตามต้องการได้อย่างอิสระ มีน้ำหนักและความสม่ำเสมอต่อเนื่อง มีความนุ่มนวลไม่ออกแรงกระชากในการนวด จะสามารถทะลุลงชั้นกล้ามเนื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับทุยหนา

ทฤษฎีเส้นลมปราณ (Meridian)

ศาสตร์การแพทย์แผนจีนที่ใช้ทฤษฎีเส้นลมปราณ (Meridian) กล่าวถึงหน้าที่ทางสรีรวิทยา การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยา และความสัมพันธ์กับอวัยวะภายใน ระบบเส้นลมปราณเป็นระบบโครงข่ายที่ทำหน้าที่ขนส่งลมปราณและเลือดให้มีการไหลเวียนเชื่อมโยงขึ้นลง และเข้าออก ระหว่างอวัยวะภายในและเนื้อเยื่อต่างๆ ทั่วร่างกายโดยระบบเส้นลมปราณจะประกอบด้วยเส้นลมปราณหลัก 12 เส้น และเส้นลมปราณพิเศษ 8 เส้น และแขนงย่อยของเส้นลมปราณเหล่านี้ จะมีจุดฝังเข็มซึ่งจุดเหล่านี้จะมีคุณสมบัติที่ใช้เพื่อปรับความผิดปกติของเส้นลมปราณ และมีคุณสมบัติพิเศษที่จะช่วยในการรักษาโรคภัยไข้เจ็บต่างๆ ด้วย ตามหลักการทางแพทย์แผนจีนอาการปวดจะมีสาเหตุมาจากทั้งปัจจัยภายในและภายนอกในร่างกาย เรียกว่ากลุ่มอาการปี้เจิ้ง ซึ่งมีสาเหตุจาก ลม ความเย็น ความชื้น เลือดคั่ง ชีและเลือดพร่อง มากระทำต่อเส้นลมปราณ ทำให้เลือดไหลเวียนได้ช้าลง เกิดภาวะเลือดคั่งและชี่ติดขัด รบกวนการไหลเวียนของชี่และเลือดหรือไม่สามารถนำชี่และเลือดไปหล่อเลี้ยงบริเวณต่างๆ ของร่างกายได้จนเกิดอาการปวด ชีหรือลมปราณในความหมายของแพทย์แผนจีนหมายถึง พลังงานสารที่เล็กที่สุดในร่างกาย มีการเคลื่อนไหวขึ้นบนลงล่างตลอดเวลา ขับเคลื่อนและควบคุมการทำงานของร่างกาย เมื่อการเคลื่อนไหวของชี่สิ้นสุด ชีวิตสิ้นสุดด้วย ซึ่งทุยหนาสถาบันรักษาอาการปวดได้โดยการนวดเพื่อคลายจุดกดเจ็บ ในคัมภีร์แพทย์จีนโบราณ ชูเวิน จู๋ทงลุ่น ได้กล่าวไว้ว่า เมื่อความเย็นจากภายนอกเข้ามาระทบเส้นลมปราณ ชี และเลือดติดขัดมักทำให้เกิดอาการปวด เมื่อได้กดและคลึงบริเวณที่ปวดจนอุ่นอาการปวดจะเริ่มหายไป หมายความว่า ทุยหนาที่นวดไปตามเส้นลมปราณและจุดฝังเข็ม หรือบริเวณที่เกิดโรคนั้นๆ จะสามารถทะลุลงเส้นลมปราณ ปรับการไหลเวียนของชี่และเลือดให้ไหลเวียนได้ดีขึ้น เมื่อเลือดลมไหลเวียนดีอาการปวดจะทุเลาหรือหายไป ซึ่งสอดคล้องกับทฤษฎีกลไกปวดของเมลแซคและวอลล์[13] ในการส่งสัญญาณประสาทไปยังสมองส่วนกลางโดยผ่านการทำหัตถบำบัดต่างๆ

ทฤษฎีควบคุมประตูความปวด (Gate control theory)

ทฤษฎีควบคุมประตูความปวด (Gate control theory) เมลแซคและวอลล์[13] ได้อธิบายการเกิดความปวดโดยการถ่ายทอดสัญญาณต่าง ๆ ดังนี้ กลไกการลดปวดแบบเปิดประตู (Open gate) เป็นกลไกการลดปวดที่ผ่านสมองส่วนกลาง (Midbrain) โดยจะได้รับการกระตุ้นจาก เส้นใยประสาทเล็กซึ่งเป็นสื่อสัญญาณประสาทที่รับความรู้สึกการปวดต่าง ๆ เข้าสู่ไขสันหลัง จากนั้นไขสันหลังจะมีการกระจายสัญญาณไปยังสมอง สมองเป็นศูนย์บัญชาการทำให้รู้ว่าตำแหน่งนี้มีอาการปวด จากนั้นร่างกายจะหลั่งสารโอปิออยด์ (Opioids) เป็นสารลดปวดในร่างกาย (คล้ายสารฝิ่น) จากสมองส่วนทาลามัส (Thalamus) เพื่อยับยั้งอาการปวดบริเวณนั้น ซึ่งจะเป็นกลไกลดปวดโดยธรรมชาติ การทำให้เกิดการหลั่งโอปิออยด์ ในการลดความปวดจะต้องใช้เทคนิคการกระตุ้นแบบความถี่ต่ำและความหนักสูง (Low frequency high intensity stimulation) คือมีการกระตุ้นแรงๆ แต่มีความถี่น้อย ซึ่งเป็นวิธีที่จะกระตุ้นการหลั่งโอปิออยด์ของร่างกาย เป็นสารลดปวดในธรรมชาติ ทูยหนาสามารถประยุกต์ใช้การกระตุ้นโอปิออยด์ ได้จากการคลำเจาะจุดกดเกร็งตัวของกล้ามเนื้อจากนั้นก็ใช้ทำนวดทุยหนา เช่นท่ากด ท่าเค้น ท่าดีด ประมาณ 3-5 วินาทีแล้วปล่อยและทำซ้ำประมาณ 3-5 ครั้ง ก็จะเป็นการกระตุ้นโอปิออยด์ของร่างกายได้ กลไกลดปวดแบบ ปิดประตู (Closed gate) เป็นกลไกโดยจะผ่านเส้นใยประสาทขนาดใหญ่ ซึ่งสื่อสัญญาณประสาทจะรับสัญญาณโดยการสัมผัส การกด การลูบ แล้วจะส่งกระแสประสาทมายัง ไขสันหลังและถูกส่งกลับไป ซึ่งกระบวนการลดปวดนี้จะไม่ผ่านสมอง จะไม่มีการหลั่งโอปิออยด์ แต่จะใช้เทคนิคการกระตุ้นแบบความถี่สูง และมีน้ำหนักเบา (High frequency and low intensity stimulation) คือมีการกระตุ้นเบาๆ แต่มีความถี่มาก จะทำให้เกิดอาการชา ซึ่งสามารถทำให้ลดปวดได้ ทูยหนาสามารถประยุกต์โดยใช้ทำนวดทุยหนา เช่นท่าถู ท่าลูบ ซึ่งจะทำให้เกิดอาการชา พร้อมทั้งสามารถลดปวดได้เช่นเดียวกัน นอกจากนี้การถูน้นยังสามารถทำให้กล้ามเนื้อผ่อนคลายได้อีกด้วย จะเห็นได้ว่าทูยหนาสสามารถนำมาประยุกต์ใช้กับทฤษฎีควบคุมประตูความปวดทั้งแบบปิดประตู และเปิดประตู โดยทูยหนาจะช่วยลดการตึงตัวของกล้ามเนื้อ ลดอาการบาดเจ็บของกล้ามเนื้อที่มีการฉีกขาด ลดอาการบวม ลดการหดเกร็งเป็นก้อน และลดการบาดเจ็บของกล้ามเนื้อและเส้นเอ็นที่เกิดจากการใช้ซ้ำๆ

การเตรียมตัวก่อนการนวดทุยหนา

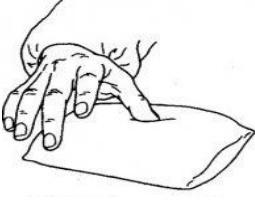
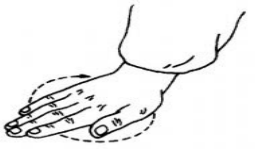
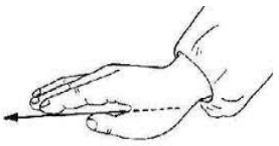
ในการเตรียมความพร้อมก่อนเข้ารับการนวดทุยหนา มีดังนี้ 1) ควรพักผ่อนให้เพียงพอ 2) ไม่เหนียวล้าหรืออ่อนเพลีย 3) ควรสวมใส่เสื้อผ้าที่หลวมเพื่อความสะดวกผ่อนคลายขณะทำการนวด 4) ควรรับประทานอาหารก่อนเข้ารับการนวดทุยหนาน้อยๆ 1 ชั่วโมง หรือหลังอาหาร 1 ชั่วโมง 5) หากมีโรคประจำตัว หรือรับประทานยาแผนปัจจุบันเป็นประจำ ควรแจ้งแพทย์ก่อนนวดทุยหนาทุกครั้ง และ 6) ผู้ที่ควรงดเว้นการนวดทุยหนา หรือผู้ที่เป็โรค ดังนี้ โรคเมเร็ง โรคผิวหนังบางชนิด หญิงตั้งครรภ์ วัณโรค และผู้ที่รับประทานยาละลายลิ่มเลือดบางชนิด [8]

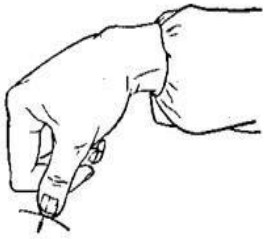
หลังการนวดทุยหนา ผู้รับบริการบางรายอาจพบอาการไม่พึงประสงค์ชั่วคราว เช่น อาการปวดตึงหรือแสบผิวเล็กน้อยซึ่งมักเกิดกับผู้ที่ไม่คุ้นเคยกับการนวด อาการดังกล่าวเกิดจากการบาดเจ็บของกล้ามเนื้อเล็กน้อยและจะค่อยๆ ดีขึ้น ผู้เข้ารับบริการควรดื่มน้ำมากๆ หรือหากมีอาการมากให้ใช้ยาแก้ปวด บางรายอาจรู้สึกหน้ามืด ใจสั่น เหงื่อออก คลื่นไส้ ซึ่งมักเกี่ยวข้องกับภาวะอ่อนเพลีย น้ำตาลในเลือดต่ำ หรือความกังวลก่อนเข้ารับการรักษา ควรมีการพักผ่อนที่เพียงพอหรือดื่มน้ำหวานจะสามารถช่วยให้อาการทุเลาได้ นอกจากนี้ อาจพบรอยฟกช้ำในผู้ที่ใช้ยาละลายลิ่มเลือดหรือมีภาวะโลหิตจาง ซึ่งสามารถหายได้เองตามธรรมชาติ ผู้ที่ร่างกายอ่อนแออาจมีไข้หรือรู้สึกอ่อนเพลีย ควรดื่มน้ำมากๆ หรือทานยาลดไข้เพื่อช่วยบรรเทาอาการ และผู้ที่นอนคว่ำเป็นเวลานานอาจมีอาการเวียนศีรษะเล็กน้อย ซึ่งจะค่อยๆ หายไปภายใน 10-15 นาที ทั้งหมดนี้เป็นอาการที่สามารถจัดการได้แล้วจะลดลงเมื่อร่างกายปรับตัวต่อการรักษาในครั้งถัดไป [7]

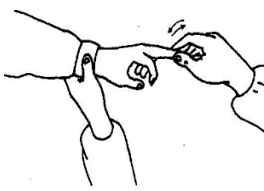
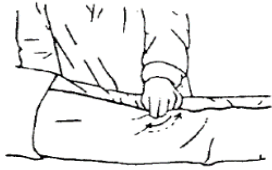
หัตถบำบัดทำนวดทุยหนาพื้นฐาน

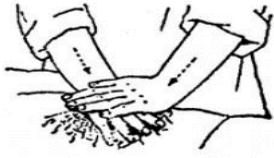
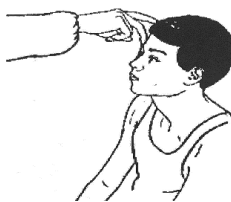
หัตถบำบัดทำนวดทุยหนาพื้นฐาน ประกอบด้วย 24 ท่า ซึ่งแต่ละหัตถบำบัดจะมีท่าทาง สรรพคุณ และวิธีนวดแตกต่างกัน โดยการเลือกท่าในการนวดให้เหมาะสมนั้นขึ้นอยู่กับตำแหน่งอวัยวะและโรคที่ต้องการรักษา ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ทำนวดทุยหนาพื้นฐาน 24 ท่า[14]

ลำดับ	ชื่อท่า	ตำแหน่งที่ นวด	สรรพคุณ	วิธีนวด	ภาพประกอบ
1.	ท่ากลิ้ง หรือ ท่ากุนฝ่า (滚法)	คอ ลำตัว รยางค์ แขนขา	คลาย กล้ามเนื้อ ระงับอาการ ปวด	ใช้หลังมือด้านนิ้วก้อย หรือป้อม กระดูกข้อต่อฝ่ามือกับนิ้วมือกลิ้ง หรือพลิกไป-กลับไล่ไปบนส่วน ที่นวด	
2.	ท่าดันปลาย นิ้ว หรือท่าอิ จือซานทุยฝ่า (一指禅 推法)	ศีรษะ คอ ช่วงอกและ ช่วงท้อง	ให้ความ อบอุ่น บำรุง และช่วยให้ เลือดและ ชีหมุนเวียน	ใช้นิ้วหัวแม่มือกดลงไป ตำแหน่งที่นวด ใช้ข้อต่อข้อมือ พลิกกลับ-ไปมา เพื่อให้แรงผ่าน ตามนิ้วหัวแม่มือลงไปตำแหน่ง ที่นวดรักษา	
3.	ท่านวดคลึง หรือท่าโหว ฝ่า (揉法)	ทุกส่วนของ ร่างกาย	คลาย กล้ามเนื้อ ระงับอาการ ปวด	โดยใช้เนื้อมือด้านหัวแม่มือ หรือนิ้วด้านฝ่ามือกดนวดและ บิดเป็นวงอย่างช้าๆ และนุ่มนวล ตรงจุดฝังเข็มหรือส่วนที่นวด	
4.	ท่าลูบ หรือ ท่าหมอฝ่า (摩法)	ทุกส่วนของ ร่างกาย	ให้ความอบอุ่น บำรุง และช่วย ให้เลือดและ ชีหมุนเวียน	ใช้ปลายนิ้วด้านฝ่ามือ หรือ ฝ่ามือ ลูบถูวนเป็นวงด้วย จังหวะสม่ำเสมอบนส่วนที่นวด	
5.	ท่าดัน หรือ ท่าทุยฝ่า (推法)	ทุกส่วนของ ร่างกาย	ให้ความ อบอุ่น บำรุง และช่วยให้ เลือดและ ชีหมุนเวียน	ใช้นิ้วมือ ฝ่ามือ หรือส่วนอื่นของ ร่างกายผู้นวด ออกแรงดันราบ ไปตามผิวหนังบนส่วนที่นวด ไปในทิศทางใดทิศทางหนึ่ง ได้แก่ ดันขึ้น ดันลง ดันไป ข้างหน้า ข้างหลัง ทางซ้าย ทางขวา อาจดันเป็นแนวตรง หรือแนวโค้งตามส่วนของ ร่างกายที่นวด การดันจะออก แรงดันไปทิศทางเดียวซ้ำๆ โดยตอนถอยกลับจะไม่ออกแรง	

ลำดับ	ชื่อท่า	ตำแหน่งที่ หนด	สรรพคุณ	วิธีหนด	ภาพประกอบ
6.	ท่าถู หรือ ท่าซาฝ่า (擦法)	ลำตัว รยางค์ แขนขา	ให้ความ อบอุ่น บำรุง และช่วยให้ เลือดและชี วมุนเวียน	ใช้นิ้วมือ หรือสันมือถู ออกแรงถู ราบไป-มาไปบนตำแหน่งที่หนด อย่างรวดเร็วเป็นแนวเส้นตรง เพื่อให้แรงถุนั้นเกิดความร้อน	
7.	ท่าบ้น หรือ ท่าซัวฝ่า. (搓法)	รยางค์ แขนขา	คลายเส้น หล่อลื่นข้อต่อ	ใช้ฝ่ามือประกบแขนหรือขาที่ หนด แล้วดันฝ่ามือไปกลับในทิศ ทางตรงข้ามกันซ้ำๆ อย่าง รวดเร็ว หรือใช้การบ้นไป-มา โดยนิ้วหัวแม่มือประกบกับนิ้วชี้	
8.	ท่าเช็ด หรือ ท่าโหมวฝ่า (抹法)	ใบหน้า ลำตัว	ให้ความ อบอุ่น บำรุง และ ช่วยให้เลือด และชี วมุนเวียน	ใช้ส่วนของลายนิ้วมือของ นิ้วหัวแม่มือข้างหนึ่งหรือทั้งสอง ข้าง วางบนตำแหน่งที่ต้องการ รักษา นวดบน-ล่าง หรือแนว ซ้าย-ขวาสลับกันไปมา และ เคลื่อนไหวยู่ในแนวเส้นตรง หรือแนวโค้ง	
9.	ท่ากด หรือ ท่าอันฝ่า (按法)	ทุกส่วนของ ร่างกาย	บำรุง และ ปรับ โครงสร้าง ร่างกาย	ใช้นิ้วหรือสันมือออกแรงไป บริเวณผิวภายนอก ค่อยๆ ออก แรงกดลงไป ท่ากด ออกแรง มากแต่จะรู้สึกสบาย มักใช้ท่านี้ ร่วมกับท่าโหวฝ่า(ท่าวดคลึง)	
10.	ท่าจิก หรือ ท่าเตียนฝ่า (点法)	ทุกส่วนของ ร่างกาย	ช่วยให้เลือด และชี วมุนเวียน ระงับอาการ ปวด	ใช้ปลายนิ้วหรือข้อต่อต่างๆ กดลงไปบนตำแหน่งที่จะรักษา เช่น ใช้ท่าปลายนิ้ว ท่าอนิ้ว และท่าข้อศอก นอกจากนี้ยัง สามารถใช้อุปกรณ์ช่วยในการ ทำหัตถบำบัด เช่นไม้กด ทำนี้ ออกแรงน้อยมีแรงกระตุ้น เวลา ทำหัตถบำบัดจะช่วยเบาแรงใน การหนด	

ลำดับ	ชื่อท่า	ตำแหน่งที่ หนด	สรรพคุณ	วิธีหนด	ภาพประกอบ
11.	ท่าหยิบ หรือ ท่าเนียฝ่า (捏法)	คอ ลำตัว รยางค์ แขนขา	คลาย กล้ามเนื้อ และเส้นเอ็น	ใช้นิ้วโป้งกับนิ้วมืออีก 4 นิ้ว บีบส่วนที่ต้องการนวดขึ้นม แล้วปล่อย	
12.	ท่าจับบีบ หรือท่าหนา ฝ่า (拿法)	คอ ลำตัว รยางค์ แขนขา	คลาย กล้ามเนื้อ ระงับอาการ ปวด	ใช้มือจับส่วนที่นวดต้งขึ้นแล้ว นวด และบีบไปพร้อมๆ กันโดย การจับจะใช้นิ้วหัวแม่มืออยู่ด้าน หนึ่ง และสี่นิ้วที่เหลืออยู่อีกด้าน หนึ่งออกแรงจับต้งและบีบไป พร้อมกัน	
13.	ท่าบิด หรือ ท่าเหียนฝ่า (捻法)	นิ้วมือ	ช่วยให้เลือด และชี หมุนเวียน คลายเส้นเอ็น	ใช้นิ้วโป้งและนิ้วชี้มือหนด บริเวณนิ้วมือผู้ป่วย โดยหยิบ คลึง บิดนิ้ว	
14.	ท่าตบ หรือ ท่าพายฝ่า (拍法)	ลำตัว รยางค์ แขนขา	กระตุ้นการ ไหลเวียนของ ลมปราณ	ใช้อุ้งมือตบลงบนส่วนที่ต้งการ นวด สามารถใช้มือเดียวหรือ 2 มือตบสลับกันได้	
15.	ท่าตี หรือ ท่าจีฝ่า (击法)	ลำตัว รยางค์ แขนขา	กระตุ้นการ ไหลเวียนของ ลมปราณ	ใช้หลังมือ ส้นมือหรือปลายนิ้วตี ลงบนส่วนที่ต้งการนวด	
16.	ท่าดีด หรือ ท่าปอฝ่า (拨法)	ทุกส่วนของ ร่างกาย	คลาย กล้ามเนื้อ ระงับอาการ ปวด	ใช้นิ้วหัวแม่มือและนิ้วชี้บีบจับ กล้ามเนื้อและเส้นเอ็นต้งขึ้น แล้วปล่อยมือให้กล้ามเนื้อหดตัว ต้งกลับหรือไ้ปลายนิ้วมือวาง ข้างกล้ามเนื้อแล้วดีดหรือกรีด ผ่านเร็วๆ ในแนวขวางลำ กล้ามเนื้อ	
17.	ท่าเขย่า หรือ ท่าไ้ฝ่า (抖法)	รยางค์ แขนขา	คลายเส้น หล่อลื่นข้อต่อ	จับที่ส่วนปลายของแขนขาที่มี ปัญหาด้วยมือเดียวหรือสองมือ แล้วเขย่าขึ้นและลงในระยะ เล็กน้อยอย่างต่อเนื่องคล้ายการ สะบัดผ้าหรือเชือก	

ลำดับ	ชื่อท่า	ตำแหน่งที่ หนด	สรรพคุณ	วิธีหนด	ภาพประกอบ
18.	ทำสั่น หรือ ทำเข้้นฝ่า (振法)	ทุกส่วนของ ร่างกาย	ให้ความ อบอุ่น บำรุง และช่วยให้ เลือดและชี หุม่นเวียน	ออกแรงสั่นผ่านนิ้วมือหรือฝ่ามือ ที่วางแนบอยู่กับส่วนที่หนด	
19.	ท่าเคาะ หรือ ท่าเค้วฝ่า (叩法)	ลำตัว รยางค์ แขนขา	ผ่อนคลาย เส้นเอ็น เพิ่ม การไหลเวียน เลือด	ใช้ส่วนของนิ้วก้อยหรือกำมือ หลวมๆ และใช้ส่วนที่ต่ำที่สุด ของกำปั้นเคาะที่บริเวณผิวหนัง นอกที่ต้องการหนด	
20.	ท่าตีด หรือ ท่าถ่านฝ่า (弹法)	ทุกส่วนของ ร่างกาย	ผ่อนคลาย เส้นเอ็น เพิ่ม การไหลเวียน เลือด ระบับ ปวด ชับลม และความ เย็น	ใช้นิ้วมือหนึ่งนิ้วกดนิ้วอีกหนึ่ง นิ้วจนเล็บเป็นสีม่วง และเริ่มตีด ออกสู่บริเวณที่ต้องการทำหัดถ บ่าบัต	
21.	ท่าหุม่น หรือ ท่าเหยาฝ่า (摇法)	ข้อต่อส่วน ต่าง ๆ ของ ร่างกาย	ผ่อนคลาย เส้นเอ็น ขยับ ข้อต่อ	ใช้แกนกลางของร่างกายเป็นจุด หุม่นเพื่อใช้ในการหุม่นของข้อ ต่อต่าง ๆ เช่น คอ เอว แขน ขา	
22.	ท่าแบก หรือ ท่าเป้ยฝ่า (背法)	หลัง	ขยับเส้นเอ็น เคลื่อนไหว ข้อต่อให้เข้าที่	ให้ผู้ทำหัดถบ่าบัตและผู้ป่วยหัน หลังชนกันและผู้ทำหัดถบ่าบัต ยกผู้ป่วยขึ้นให้เท่าเหนือพื้น ให้หลังส่วนเอวไต้ยิดเหยียด ไต้เขยาและแกว่งไปมา	
23.	ท่าจัดกระดูก หรือท่าปาน ฝ่า (扳法)	ข้อต่อส่วน ต่าง ๆ ของ ร่างกาย	จัดกระดูกให้ เข้าที่	ใช้มือข้างเดียวหรือสองข้างทำ การขยับข้อต่ออย่างรวดเร็วจน เกิดการหุม่น ทางหุบเข้าออก	
24.	ท่าดึงเหยียด หรือท่า เข้้นอันฝ่า (牵引法)	ข้อต่อส่วน ต่าง ๆ ของ ร่างกาย	ยิดกล้ามเนื้อ และข้อต่อ ช่วยให้เลือด และชี หุม่นเวียน	ให้ผู้ป่วยใช้มือหรือข้อต่อข้างใด ข้างหนึ่งอยู่นิ่งไว้ให้มั่นคง ส่วน มืออีกข้างให้ผู้ทำหัดถบ่าบัตดึง ยิดเหยียดกล้ามเนื้อและข้อต่อ	

เทคนิคการนวดและกลไกการออกฤทธิ์

จากตารางที่ 1 ทำนวดทุยหนาแต่ละท่าจะมีความจำเพาะต่อการนวดตามตำแหน่งบนร่างกายและความเหมาะสมของอวัยวะนั้น เช่น การนวดทุยหนารักษาโรคทางกระดูกและกล้ามเนื้อ จะเริ่มจากการใช้หัตถ์กด บำบัดที่มีน้ำหนักเบา เช่น ท่ากลิ้ง ทำนวดคลึง ทำส้น เพื่อเป็นการเตรียมความพร้อมของกล้ามเนื้อก่อนที่จะรับหัตถ์กด บำบัดที่มีน้ำหนักที่มากขึ้นในขั้นตอนต่อไปเพื่อป้องกันการบาดเจ็บซ้ำ ต่อมาจะเป็นการนวดทุยหนาระงับอาการปวดจะใช้หัตถ์กด บำบัดที่มีน้ำหนักที่มากขึ้น เช่น ท่ากด ท่าดีด ท่าจิก ท่าหีบ ท่าบิด ในการคลายกล้ามเนื้อที่เกร็งตัว เพื่อกระตุ้นการไหลเวียนของซีและเลือด ระงับอาการปวด หลังจากที่ผ่านมาการคลายกล้ามเนื้อและระงับอาการปวดจนกล้ามเนื้อมีความยืดหยุ่นมากขึ้น จากนั้นเป็นการเคลื่อนไหวข้อต่อ เพื่อเพิ่มพิสัยการเคลื่อนไหวของข้อต่อต่างๆ และปรับโครงสร้างให้เข้าที่ เช่นท่าหมุน ท่าเขย่า และสุดท้ายจะเป็นการผ่อนคลายกล้ามเนื้อหลังจากการรักษา จะใช้หัตถ์กด บำบัดที่ผ่อนคลาย เช่นท่านวดคลึง ท่าทุบ ท่าดี ด้วยน้ำหนักที่เบาเพื่อให้รู้สึกผ่อนคลายหลังจากการนวดทุยหนา เป็นการสิ้นสุดขั้นตอนการนวดทุยหนา [15]

ทุยหนาเป็นเทคนิคการบำบัดแบบไม่รุกราน (Noninvasive therapy) ซึ่งใช้แรงกดจากมือในการกระตุ้นเนื้อเยื่อแรงกระตุ้นนี้สามารถก่อให้เกิดผลทางสรีรวิทยา (Physiological effects) ภายในร่างกาย เช่น การส่งเสริมการเจริญเติบโตของเซลล์ (Tissue cell growth) การแบ่งตัวของเซลล์ (Differentiation) และการบำรุงรักษาเนื้อเยื่อ (Maintenance) กลไกการออกฤทธิ์ทางสรีรวิทยาของทุยหนาขึ้นอยู่กับแรงกด ความถี่ และระยะเวลาของการกระตุ้นเชิงกล ทุยหนาสามารถกระตุ้นตัวรับความรู้สึกบนผิวหนัง (Peripheral nerves) อย่างเหมาะสม ส่งผลให้เกิดความผ่อนคลายและความสบาย เช่น การคลายกล้ามเนื้อ การเพิ่มการไหลเวียนของเลือดและน้ำเหลือง การนวดยังช่วยนำออกซิเจนและสารอาหารไปยังเนื้อเยื่อ ลดการสะสมของเมตาบอไลต์ของกล้ามเนื้อ เช่น แลคเตท และลดอาการบวมหรือการอักเสบ ทำให้กล้ามเนื้อมีความยืดหยุ่นมากขึ้น [16,17,18] นอกจากนี้ ทุยหนายังมีผลต่อระบบประสาท (Neurovascular system) โดยสามารถยับยั้งระบบประสาทซิมพาเทติก (Sympathetic nervous system) และกระตุ้นระบบประสาทพาราซิมพาเทติก (Parasympathetic nervous system) ส่งผลให้เกิดฤทธิ์ผ่อนคลายและเสริมการฟื้นฟูเนื้อเยื่อ[19] อย่างไรก็ตาม การใช้แรงกดที่มากเกินไปหรือเป็นเวลานานอาจก่อให้เกิดความเสียหายต่อเนื้อเยื่อ เช่น รอยขีด การบวมของผิวหนัง หรือในบางกรณีอาจทำให้เกิดภาวะเป็นลม ขณะที่แรงกดที่น้อยเกินไปจะไม่ก่อให้เกิดผลทางการรักษาที่ต้องการ และอาจลดประสิทธิภาพของการบำบัด

การบูรณาการสู่ระบบสุขภาพสมัยใหม่

แพทย์แผนจีนจะวินิจฉัยกลุ่มอาการและแนวทางการรักษา โดยหลักในการรักษาจะทะลวงเส้นลมปราณ กระตุ้นการไหลเวียนของซีและเลือด และกระตุ้นการเคลื่อนไหวของข้อต่อ ทุยหนาใช้เวลาประมาณ 5-20 นาที เวลาที่ใช้ในการนวดขึ้นอยู่กับโรคและอาการของผู้ป่วย การจัดลักษณะท่าทางของผู้ถูกนวดขึ้นอยู่กับตำแหน่งอวัยวะของโรคที่เป็น เช่น มีอาการบริเวณคอ บ่า ไหล่ ผู้ถูกนวดจะถูกจัดอยู่ในท่านั่งในการนวดทุยหนา หรือมีอาการบริเวณหลัง เอว ขา เข่า ผู้ถูกนวดจะถูกจัดอยู่ในท่านอนในการนวดทุยหนา จากทำนวดทุยหนาพื้นฐาน 24 ท่า ได้นำไปวิเคราะห์และวิจัย เพื่อช่วยรักษาอาการปวดคอ บ่า ไหล่ หรือกลุ่มอาการออฟฟิศซินโดรม โดยมีงานวิจัย Aree T. [20] ได้วิเคราะห์ทำนวดทุยหนา 5 ท่าที่เหมาะสม คือ ท่ากลิ้งหรือท่าก้นฝ่า ท่าคลึงหรือท่าโหวงฝ่า ท่ากดตึงหรือท่าอั้นฝ่า ท่าจับบีบหรือท่าหนาฝ่า และท่าดบหรือท่าพายฝ่าบริเวณกล้ามเนื้อคอ บ่า ไหล่ ทั้งชายและหญิง เพื่อศึกษาผลฉับพลันของการนวดทุยหนาที่ใช้เวลานวด 10 นาที และ 20 นาที ในพนักงานสำนักงานที่มีอาการเจ็บปวดกล้ามเนื้อคอ บ่า ไหล่ พบว่า การนวดทุยหนา 20 นาที มีค่าเฉลี่ยความเจ็บปวด (NRS) ลดลงมากกว่าการนวด 10 นาทีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ค่าเฉลี่ยของการเคลื่อนไหวของคอ (AROA) และค่าเฉลี่ยระดับกันความรู้สึกเจ็บปวดด้วยแรงกดไม่แตกต่างกัน

การวิจัยในต่างประเทศที่ผ่านมา ในปี 2021 มีการวิจัยของ Chen M. [21] ได้ศึกษาผู้ป่วยโรคกระดูกคอเสื่อมประเภทกดทับหลอดเลือด จำนวน 34 ราย โดยกลุ่มควบคุมได้รับการรักษาด้วยการฝังเข็ม กลุ่มทดลองได้รับการรักษาด้วยการฝังเข็มและร่วมกับการนวดทุยหนา พบว่ากลุ่มทดลองที่ใช้การนวดทุยหนาร่วมมีประสิทธิภาพการรักษาดีกว่า

กลุ่ม ควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และ Kou ZW [22] ศึกษาผลของการฝังเข็มร่วมกับการนวดทุยหนาในผู้ป่วยโรคกระดูกคอเสื่อมในกลุ่มอาการไหลเวียนชี่และเลือดติดขัด โดยกลุ่มควบคุมใช้การฝังเข็มอย่างเดียว 30 นาที กลุ่มทดลองใช้การฝังเข็ม 30 นาที ร่วมกับการนวดทุยหนา 20 นาที ทำ 1 ครั้งต่อวัน เป็นระยะเวลา 10 วัน พบว่าทั้ง 2 กลุ่มมีอาการเจ็บปวดคอลดลง แต่กลุ่มทดลองมีอาการเจ็บปวดคอลดลงมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยเกี่ยวกับการรักษาโรคกระดูกคอเสื่อมชนิดกดทับเส้นประสาทแบบเฉียบพลัน Yu BP [23] โดยกลุ่มควบคุมได้รับการรักษาด้วยยาจีนร่วมกับการฝังเข็ม ส่วนกลุ่มทดลองได้รับการรักษาด้วยยาจีนร่วมกับการฝังเข็มและการนวดทุยหนา 15 นาทีใช้เวลาทดลอง วันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าการตรวจ CT-Scan และ X-ray มีการเพิ่มตัวของหมอนรองกระดูกสันหลังและกระดูกสันหลังส่วนคอในกลุ่มทดลองดีกว่ากลุ่มควบคุม และมีการลดอาการเจ็บปวดคอได้ดีกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและ Cheng et al. [24] ได้ศึกษาอาการปวดคอเรื้อรังด้วยการนวดทุยหนาร่วมกับการออกกำลังกายแบบอ์จินจิงในกลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการเจ็บปวดคอเรื้อรัง กลุ่มควบคุมใช้การนวดทุยหนา 30 นาที กลุ่มทดลองใช้การนวดทุยหนา 30 นาที ร่วมกับการออกกำลังกายแบบอ์จินจิง ใช้เวลาทดลอง 3 ครั้งต่อสัปดาห์ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าทั้งสองกลุ่มมีค่าคะแนนความเจ็บปวด (NRS) ค่าความพร้อมความสามารถของคอ (NDI) และการวัดองศาการเคลื่อนไหวของคอ (AROM) ดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ

จากการศึกษาของ Liu et al. [25] ที่ได้ศึกษาประสิทธิผลและความปลอดภัยของการนวดทุยหนา สำหรับภาวะข้อเท้าไม่มั่นคงเรื้อรัง ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ห่อภิมาณ (Meta-analysis) ที่รวบรวมงานวิจัยแบบการทดลองสุ่มมีกลุ่มควบคุม (RCTs) จำนวน 13 เรื่อง โดยมีผู้เข้าร่วมในกลุ่มที่ได้รับการนวดทุยหนาจำนวน 502 คน และกลุ่มควบคุมจำนวน 482 คน งานวิจัยส่วนใหญ่มีระยะเวลาศึกษาระหว่าง 1–4 สัปดาห์ ผลการวิจัยพบว่า การนวดทุยหนามีประสิทธิภาพในการรักษาภาวะข้อเท้าไม่มั่นคงเรื้อรัง โดยสามารถช่วยลดอาการปวด ฟันฟูสมรรถภาพการทำงาน และเพิ่มเสถียรภาพของข้อเท้าได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามงานวิจัยส่วนมากจะเป็นการศึกษาในระยะสั้นอนาคตควรศึกษาผลในระยะยาว อย่างไรก็ตาม งานวิจัยส่วนใหญ่ยังเป็นการศึกษาในระยะสั้น จึงควรมีการวิจัยเพิ่มเติมเพื่อประเมินผลลัพธ์ในระยะยาวต่อไป

การวิจัยเกี่ยวกับทุยหนามีมากขึ้นแต่ส่วนใหญ่เป็นการวิจัยที่เป็นผลฉับพลันหรือใช้ระยะเวลาสั้นรวมทั้งส่วนใหญ่เป็นการวิจัยในผู้ป่วยเกี่ยวกับการเจ็บปวดกล้ามเนื้อและโรคกระดูกทับเส้นประสาทหรือกระดูกคอเสื่อมในอนาคตควรมีการวิจัยที่เพิ่มระยะเวลานานขึ้นและมีการวิจัยทุยหนาในบุคคลทั่วไป หรือนักกีฬาเพื่อช่วยส่งเสริมสุขภาพหรือใช้ทุยหนาในการกีฬาจะช่วยขยายองค์ความรู้ของทุยหนาให้กว้างขวางและมีประโยชน์มากยิ่งขึ้น

สรุป

สรุปได้ว่า ทุยหนาเป็นศาสตร์การแพทย์จีนที่ปัจจุบันมีการยอมรับในระดับสากล เป็นศาสตร์ที่สามารถช่วยรักษาและฟื้นฟูร่างกายได้อย่างมีประสิทธิภาพทั้งในรูปแบบการรักษาเดี่ยวหรือรักษาร่วมกับการรักษาอื่นๆ ซึ่งเป็นทางเลือกให้กับผู้ป่วยในการเลือกรับการรักษาโรคต่างๆ ได้หลากหลาย ทุยหนาส่งผลดีต่อการเปลี่ยนแปลงของระบบต่างๆ ของร่างกาย ได้แก่ ระบบไหลเวียนเลือด ระบบประสาทและกล้ามเนื้อ ระบบต่อมไร้ท่อ และระบบทางเดินอาหาร นอกจากนี้ทุยหนายังมีข้อดีเกี่ยวกับการป้องกันโรคและเสริมสร้างสุขภาพ โดยเฉพาะในผู้ที่มีอาการเจ็บป่วยเรื้อรังหรือมีปัญหาด้านการเคลื่อนไหวของร่างกาย เช่น การบาดเจ็บจากการใช้กล้ามเนื้อ อาการปวดหลังหรือกล้ามเนื้อหดเกร็ง และทุยหนายังสามารถใช้ร่วมกับการรักษาแผนปัจจุบันเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการบำบัดรักษาโรคต่างๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ จากบทความนี้สะท้อนให้เห็นว่าทุยหนาเป็นศาสตร์ที่มีพัฒนาการต่อเนื่องจากรากฐานแพทย์จีนและสามารถปรับตัวเข้าสู่การแพทย์ร่วมสมัยได้อย่างมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตาม ยังจำเป็นต้องมีการวิจัยเพิ่มเติมเกี่ยวกับประสิทธิผลของทุยหนาในผู้ป่วยกลุ่มต่างๆ เช่น ผู้ใหญ่ ผู้สูงอายุ หรือผู้มีโรคประจำตัว เพื่อยืนยันผลทางคลินิกและกำหนดแนวทางการประยุกต์ใช้ที่เหมาะสมในบริบทสมัยใหม่

ดังนั้นการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับทุยหนา จึงมีความสำคัญอย่างมากในการช่วยส่งเสริมและพัฒนาทุยหนาในการรักษาโรคต่างๆ และเพื่อส่งเสริมสุขภาพ ทำให้ทุยหนาเกิดการยอมรับและแพร่หลายไปยังผู้ป่วยและนำไปใช้ในด้าน การแพทย์เพื่อส่งเสริมสุขภาพ และมีส่วนช่วยในการพัฒนาองค์ความรู้และมาตรฐานทุยหนาในการรักษาโรค ซึ่งจะเกิด ประโยชน์แก่ประชาชนและผู้ป่วยต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- [1] Buddharat U, Sen-Ngam K, Khamchan P. Using eastern wisdoms in nursing care for patients of registered nurse in the South of Thailand. *J Res Nurs Midwifery Health Sci*. 2015;35(2):1–20. (In Thai)
- [2] Bullock RR. *Essential traditional Chinese medicine*. London: Caxton Editions; 2002.
- [3] Ilić D, Đurović A, Brdareski Z, Vukomanović A, Pejović V, Grajić M. The position of the Chinese massage (Tuina) in clinical medicine. *Vojnosanit Pregl*. 2012;69(11):999–1004.
- [4] Mihajlovic V. *Physiotherapy Rijeka Crnojevi*. Obodsko slovo; 2002.
- [5] McCarthy M. Palpatory literacy, Chinese therapeutic bodywork (Tui Na) and the remediation of head, neck and shoulder pain. *J Bodyw Mov Ther*. 2003;7(4):262–77.
- [6] Hoisung N, Saiwadi S, Kruewan S. Study of differences between massage therapy for low back pain with traditional Chinese medicine and Thai traditional medicine. In: *The 6th National Academic Conference*; 30 Mar 2019; Nakhon Ratchasima, Thailand. Nakhon Ratchasima: Nakhon Ratchasima College; 2019.
- [7] Huachiew Traditional Chinese Medicine Clinic. Tuina massage therapy in Chinese medicine [Internet]. [cited 2024 Aug 11]. Available from: <https://www.huachiewtcm.com/content/6276/>. (In Thai)
- [8] Ding Q, Yan M, Zhou J, Yang L, Guo J, Wang J, et al. Clinical effects of innovative tuina manipulations on treating cervical spondylosis of vertebral artery type and changes in cerebral blood flow. *J Tradit Chin Med*. 2012;32(3):388–92.
- [9] World Health Organization. *WHO benchmark for practice of Tuina*. Geneva: World Health Organization.
- [10] Jueangprasert W, et al. *Chinese–Thai–English dictionary of traditional Chinese medicine terms*. Bangkok: Phumthong Publishing; 2021. (In Thai)
- [11] Wanarat L, et al. *Basic traditional Chinese medicine*. Nonthaburi: Department for Development of Thai Traditional and Alternative Medicine, Ministry of Public Health; 2008. (In Thai)
- [12] Beijing College of Traditional Chinese Medicine. *Essentials of Chinese acupuncture*. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers; 2002.
- [13] Melzack R, Wall PD. Gate control theory: on the evolution of pain concepts. *Forum*. 1996 Summer;128–38.
- [14] Xu Massage. *Ordinary higher education (Version 15)*. Beijing: China Press of Traditional Chinese Medicine Publishing Co.; 2008.
- [15] Yuan JT. *Tui Na textbook*. Beijing: China of Traditional Chinese Medicine Publishing Co., Ltd.; 2003.
- [16] Yuan Y, Ma H, Li S, Zou H, Tong X, Zhang G, et al. Optimization of Tuina rolling manipulation parameters to promote blood circulation using a circulatory orthogonal experiment. *J Phys Ther Sci*. 2024;36(5):294–302.

- [17] Xiao Y, Yang D, Huang CH, et al. Metrological analysis of Tuina on experimental animal models. *Chin J Basic Med Tradit Chin Med*. 2021;27:1160–4.
- [18] Kang SH, Kim IK, Choi EJ, So WY. Effects of the Tui-na and Thai massage techniques on vascular arterial compliance in middle-aged Korean men. *Iran J Public Health*. 2018;47(2):292.
- [19] Seifert G, Kanitz JL, Rihs C, et al.: Rhythmical massage improves autonomic nervous system function: a single-blind randomised controlled trial. *J Integr Med*, 2018, 16: 172–177.
- [20] Aree T, Kritpet T, Maphong R. The acute effects of different tuina time massage on work-related muscle pain from office syndrome in office workers. *J Sports Sci Health*. 2023;25(2):118–33. (In Thai)
- [21] Chen M. Analysis of the therapeutic effect of traditional Chinese massage combined with acupuncture and moxibustion in the treatment of cervical spondylopathy of vertebral artery type. *China Acad J Electron Publ House*. 2021;28(36):145–9.
- [22] Kou ZW. Clinical study on 90 cases of cervical spondylosis of Qi and blood stagnation type treated with acupuncture combined Tuina massage. *Stud Trace Elem Health*. 2022 [Internet]. [cited 2024 Aug 14]. Available from: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/52.1081.R.20220120.1739.072.html>.
- [23] Yu BP. Clinical study on tuina for acute cervical radiculopathy. *China Pract Med*. 2021;16(2):163–5.
- [24] Cheng ZJ, Zhang SP, Gu YJ, Chen ZY, Xie FF, Guan C, et al. Effectiveness of Tuina therapy combined with Yijinjing exercise in the treatment of nonspecific chronic neck pain: a randomized clinical trial. *JAMA Netw Open*. 2022;5(12):e2246538-e2246538.
- [25] Liu L, Huang J, Li T, Qiu M, Huang Y, Fan Z, et al. Efficacy and safety of Tuina (Chinese Therapeutic Massage) for chronic ankle instability: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *PLoS One*. 2025;20(6):e0321771.

Health Science, Science and Technology Reviews

Health Science, Science and Technology Reviews serves as a platform for the exchange and dissemination of academic knowledge, encompassing theoretical perspectives, practical applications, and scholarly research findings. The journal covers a broad range of disciplines, including:

- 1) Agricultural and Biological Sciences
- 2) Biochemistry, Genetics and Molecular Biology,
- 3) Health Professions

The academic articles published represent solely the work and perspectives of the author(s) and do not reflect the official views of the University of Phayao.

Ownership

University of Phayao

Advisory Board

President, University of Phayao	Prof. Dr. Jeffrey C. Miller
Vice President for Research and Innovation	Prof. Dr. Hirota Fujiki
Prof. Dr. Verapol Chandeying	Prof. Dr. Michael Burgett
Prof. Dr. Somnuk Boonkird	Prof. Dr. Young Joon Surh
Prof. Dr. Aranya Manosroi	Assoc. Prof. Dr. Wiboon Wattanatorn

Editor

Prof. Dr. Samur Thanoi

Associate Editors

Assoc. Prof. Dr. Manas Titayavan	Assoc. Prof. Dr. Achara Duangjai
----------------------------------	----------------------------------

Editorial Board

Emeritus Prof. Dr. Maitree Suttajit (Retire)	Professor. Dr. Lee Learn-Han (Sunway University)
Emeritus Prof. Dr. Prasert Sobhon (MU)	Professor. Dr. Ingrid Liu (TCU)
Prof. Dr. Kate Grudpan (CMU)	Professor. Dr. Gavin Reynolds (SHU)
Prof. Dr. Kom Sukuntasun (CMU)	Assoc. Prof. Dr. Chatmongkon Suwannapoom (UP)
Prof. Dr. Chatchai Muanprasat (MU)	Assoc. Prof. Dr. Nisaudah Radenahmad (PSU)
Prof. Dr. Wachira Kochakarn (MU)	Assoc. Prof. Dr. Nimit Morakote (CMU)
Prof. Dr. Nison Sattayasai (Retire)	Assoc. Prof. Dr. Sakda Jongkaewwattana (CMU)
Prof. Dr. Niwat Maneekarn (CMU)	Assoc. Prof. Dr. Somboon Anuntalabhochai (Retire)
Prof. Dr. Saisamorn Lumyong (CMU)	Assoc. Prof. Dr. Sitthichai Panyasai (UP)
Prof. Dr. Amnuay Thithapandha (MU)	Asst. Prof. Dr. Ekachai Chukeatirote (MFU)

Secretary

Ms. Anchalee Thiemkhiri

Assistant Secretary

Ms. Ratchadaporn Kaewsueb
Mrs. Maneekarn Wangsaeng

Editorial Office

Division of Research Administration, University of Phayao
Maeka Subdistrict, Muang District, Phayao Province 56000
Tel: +6654 466 666 Ext. 1048
E-mail : j.nu.phayao@gmail.com

Peer Reviewers of the Issue

Assoc. Prof. Dr. Chairat Techavuthiporn (KMUTL)
Assoc. Prof. Dr. Thanaset Senawong (KKU)
Assoc. Prof. Dr. Nanteetip Limpeanchob (NU)
Assoc. Prof. Dr. Pitchakarn Pornsiri (CMU)
Assoc. Prof. Dr. Oratai Neamsuvan (PSU)
Assoc. Prof. Dr. Anupan Kongbangkerd (NU)
Assoc. Prof. Dr. Intira Lichanporn (RMUTT)
Asst. Prof. Dr. Pilunthana Thapanapongworakul (CMU)
Asst. Prof. Dr. Jutamas Kumchai (CMU)
Asst. Prof. Dr. Podjane Sangmanee (URU)
Asst. Prof. Dr. Pawinee Chanwichit (UP)
Asst. Prof. Dr. Mayuree Krajayklang (NU)
Asst. Prof. Dr. Vaiphot Kanjoo (UP)
Asst. Prof. Dr. Surapong Dumrongkittikule (KU KPS)
Asst. Prof. Dr. Apichat Chidburee (RMUTL)
Asst. Prof. Poonyaphat Siriteerathitikul (UP)
Asst. Prof. Phannapat Piyaneeerant (BUU)
Asst. Prof. Saychit Suknoo (NU)
Dr. Nakornsub Lawcharoen (MFU)
Dr. Siripron Pojpanichphong (NMC)

**All academic articles undergo review
by a minimum of three experts
in the relevant field.**

Publication Frequency (Three issues per year)

January - April
May - August
September - December

Journal Subscription

1 Year Membership 200 Baht
2 Year Membership 800 Baht

Health Science, Science and Technology Reviews

Division of Research Administration, University of Phayao

Maeka Subdistrict, Muang District, Phayao Province 56000

Tel: +66 54 46 6666 Ext. 1048

E-mail : j.nu.phayao@gmail.com