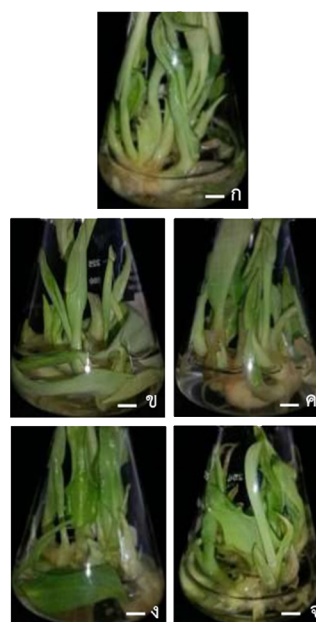
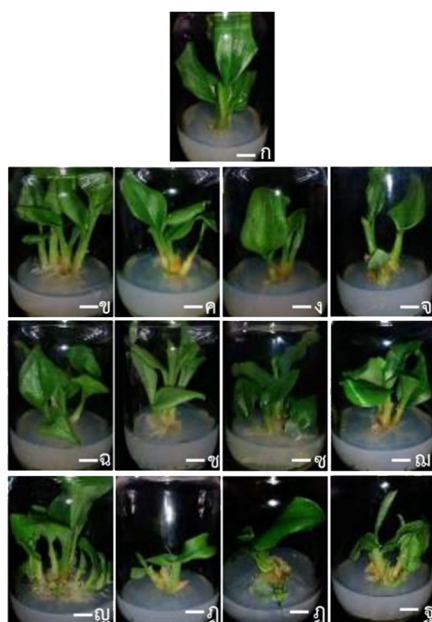
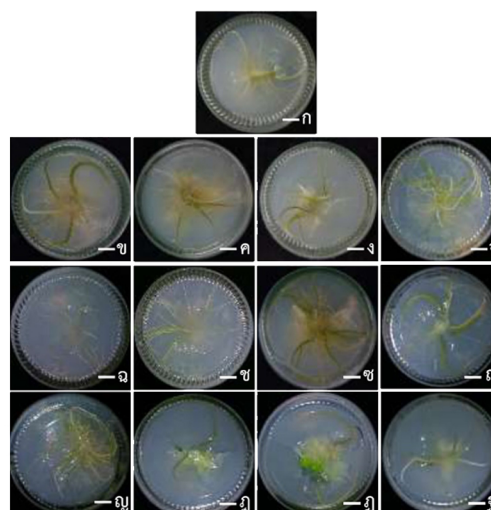
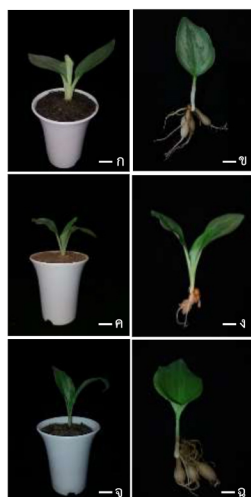




Koch Cha Sarn Journal of Science

Vol. 44 No. 1 (2022) : January - June



0 4455 8344



<https://science.srru.ac.th/kochasarn>

Faculty of Science and Technology, Surindra Rajabhat University,
186 Moo 1, Surin-Prasat Road, Nokmuang, Muang Surin, Surin,
Thailand, 32000



วารสารวิทยาศาสตร์ คชสาร

เจ้าของ

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์

<http://science.srru.ac.th/kochasarn>

สำนักงาน

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์

186 หมู่ 1 ถนนสุรินทร์-ปราสาท ตำบลนอกเมือง อำเภอเมือง จังหวัดสุรินทร์ 32000

โทรศัพท์/โทรสาร 0-4455-8344

บรรณาธิการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์.ดร.กชนิภา อุดมทวี

รองบรรณาธิการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์.ดร.ธงชัย เจือจันทร์

กองบรรณาธิการ

- | | |
|--|--|
| 1. ศาสตราจารย์ ดร.สายัณห์ ทัดศรี | มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน |
| 2. ศาสตราจารย์ ดร.ปรีชา ประเทพา | มหาวิทยาลัยมหาสารคาม |
| 3. ศาสตราจารย์ ดร.อลงกลด แทนอมทอง | มหาวิทยาลัยขอนแก่น |
| 4. รองศาสตราจารย์ ดร.ฉมาลีลา ยวอมรพิทักษ์ | มหาวิทยาลัยมหาสารคาม |
| 5. รองศาสตราจารย์ ดร.สำเนาวิ เสาวกุล | มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน
วิทยาเขตสุรินทร์ |
| 6. รองศาสตราจารย์ ดร.กฤติมา กษมาวุฒิ | มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน
วิทยาเขตสุรินทร์ |
| 7. รองศาสตราจารย์ ดร.กฤษณ์ ปิ่นทอง | มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์ |
| 8. รองศาสตราจารย์ ดร.สุรพล แสนสุข | มหาวิทยาลัยมหาสารคาม |
| 9. รองศาสตราจารย์ ดร.นิติพัฒน์ พัฒนฉัตรชัย | มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์ |
| 10. รองศาสตราจารย์ ดร.พัชรศักดิ์ อาลัย | มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม |
| 11. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปรียาภรณ์ อิศรานุวัฒน์ | มหาวิทยาลัยมหาสารคาม |
| 12. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประวรดา โกชนจันทร์ | มหาวิทยาลัยสวนดุสิต |
| 13. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อำนาจ วัฒนกรสิริ | มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์ |
| 14. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.น้องนุช สารภี | มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์ |
| 15. ผู้ช่วยศาสตราจารย์จิระเดช อินทเจริญสานต์ | มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์ |
| 16. อาจารย์ ดร.ยุพเยาว์ ไตรศรี | มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์ |



วารสารวิทยาศาสตร์ คชสาส์น
Koch Cha Sarn Journal of Science

ปีที่ 44 ฉบับที่ 1 : มกราคม – มิถุนายน 2565

Vol.44 No.1 January – June 2022

สำนักงานวารสาร

สำนักงานคณบดีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์

186 หมู่ 1 ถนนสุรินทร์-ปราสาท ต.นอกเมือง อ.เมือง จ.สุรินทร์ 32000

โทรศัพท์/โทรสาร 0-4455-8344 <http://science.srru.ac.th/kochasarn>

วัตถุประสงค์และขอบเขต

วารสารวิทยาศาสตร์ คชสาส์น (ISSN 1686-4522) เป็นวารสารของคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์ ที่มี Peer Review โดยผู้ทรงคุณวุฒิในสาขาที่เกี่ยวข้อง ในในกลุ่ม Life Science (Agricultural and Biological Sciences) จากการจัดโดยศูนย์ดัชนีการอ้างอิงวารสารไทย เพื่อเผยแพร่ บทความวิจัยหรือบทความปริทัศน์ ทั้งในรูปแบบภาษาไทยและภาษาอังกฤษ

วารสารวิทยาศาสตร์ คชสาส์น ยึดมั่นในจริยธรรมการตีพิมพ์ และมุ่งเน้นที่จะเผยแพร่บทความที่มีคุณค่าทางวิชาการเป็นสำคัญ ผู้นิพนธ์สามารถส่งบทความเพื่อเข้าสู่กระบวนการพิจารณาตีพิมพ์เผยแพร่ได้โดยไม่เสียค่าใช้จ่าย

กำหนดตีพิมพ์ปีละ 2 ฉบับ

ฉบับที่ 1 เดือนมกราคม - มิถุนายน

ฉบับที่ 2 เดือนกรกฎาคม - ธันวาคม

หมายเหตุ

บทความหรือข้อคิดเห็นใด ๆ ในวารสารนี้เป็นของผู้เขียน ซึ่งไม่จำเป็นต้องสอดคล้องกับทัศนะของกองบรรณาธิการ และมีใช้ความรับผิดชอบของคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์



ISSN 1686-4522

วารสารวิทยาศาสตร์ คชสาร

ปีที่ 44 ฉบับที่ 1 มกราคม – มิถุนายน 2565

Koch Cha Sarn Journal of Science

Vol.44 No.1 January – June 2022

สารบัญ (ต่อ)

ช่วงเวลาที่เหมาะสมสำหรับการให้ฮอร์โมนจูวีไนล์สังเคราะห์ไพริพอกซีเฟนในหนอนไหมบ้านสายพันธุ์ลูกผสม
เหลืองสระบุรี (J108 x นางลายสระบุรี)

The Optimal Timing for Applying Juvenile Hormone Analogue Pyriproxyfen to Hybrid Silkworm,
Bombyx mori L., Leung Saraburi Strain (J108 x Nanglai Saraburi)

คณิศรา แม็กนุสเซน อิดารัตน์ กองศรี จริยาภรณ์ วิศรีสิทธิ์ สุวัฒน์ พรหมมา.....62



ISSN 1686-4522

KOCH CHA SARN JOURNAL OF SCIENCE

Vol. 44 (1); January-June (2022), pp. 1-13

<https://science.srru.ac.th/kochasarn>

Research Article

In Vitro Propagation of *Kaempferia koratensis* Pichens., an Endemic Plant of Thailand

การขยายพันธุ์ในหลอดทดลองของเปราะโคราช (*Kaempferia koratensis* Pichens.) พืชถิ่นเดียวของประเทศไทย

สิทธิศักดิ์ สกลวรรณ^{1,3,4}, สุรพล แสนสุข^{2,3,4} และปิยะพร แสนสุข^{1,3,4*}

Saliwan, S.^{1,3,4}, Saensouk, S.^{2,3,4}, & Saensouk, P.^{1,3,4*}

¹ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ต.ขามเรียง อ.กันทรวิชัย จ.มหาสารคาม 44150

²สถาบันวิจัยยุววิทยเกษตร มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ต.ขามเรียง อ.กันทรวิชัย จ.มหาสารคาม 44150

³หน่วยวิจัยอนุกรมวิธานพืชและสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังและการประยุกต์ใช้ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม 44150

⁴ศูนย์วิจัยเฉพาะทางความหลากหลายพืชวงศ์ขิงและพืชที่มีต่อลำเลียงเพื่อการประยุกต์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ต.ขามเรียง อ.กันทรวิชัย จ.มหาสารคาม 44150

Article Info

Received 31 January 2022

Revised 8 March 2022

Accepted 22 April 2022

Abstract

This research studied a propagation protocol for *Kaempferia koratensis* Pichens. which is an endangered plant of Thailand using plant tissue culture technique. Microshoot (1 cm long) of *K. koratensis* was cultured on solid and liquid Murashige and Skoog (MS) supplemented with various concentrations of auxin, cytokinin and their combinations for eight weeks. The results showed that the highest number of shoots and roots were 4.0 shoots/explant and 8.60 roots/explant when the microshoot was cultured on solid MS medium added with 4 mg/l BA plus 0.2 mg/l NAA. In liquid MS medium, the best result for shoot multiplication was 6.0 shoots/explant achieved on MS medium supplemented with 1 mg/l Kinetin, 2 mg/l TDZ and 0.2 mg/l NAA. The *in vitro* derived plantlets of *K. koratensis* Pichens, were transplanted to a pot containing soil, sand and soil:sand (1:1) in a greenhouse. The survival rates were 100% when *K. koratensis* Pichens. was transplanted to all potting mixture.

Keywords: Plant tissue culture, *Kaempferia koratensis* Pichens., Transplantation, Endemic plant

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาวิธีการขยายพันธุ์เปราะโคราช (*Kaempferia koratensis* Pichens.) ซึ่งเป็นพืชถิ่นเดียวของประเทศไทยด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ต้นอ่อนเปราะโคราช (ขนาด 1 ซม.) มาเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งและอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมฮอร์โมนออกซิน ไซโทไคนิน และเติมฮอร์โมนร่วมกันที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบจำนวนยอดและจำนวนรากมากที่สุด 4.0 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และ 8.60 ราก/ชิ้นส่วนพืช เมื่อเพาะเลี้ยงต้นอ่อนในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 4.0 มก./ล. และ NAA 0.2 มก./ล. ในอาหารเหลวสูตร MS พบการเกิดยอดมากที่สุด 6.0 ยอด/ชิ้นส่วนพืช เมื่อเพาะเลี้ยงต้นอ่อนในอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin 1.0 มก./ล. TDZ 2.0 มก./ล. และ NAA 0.2 มก./ล. ต้นอ่อนเปราะโคราชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนำมาย้ายปลูกในกระถางที่มีดินร่วนดินทราย และดินร่วนผสมดินทราย (1:1) ภายในเรือนเพาะชำ พบอัตราการรอดชีวิตของต้นอ่อนเปราะโคราช 100% เมื่อย้ายปลูกในวัสดุทุกชนิด

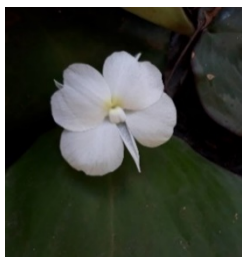
คำสำคัญ: การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช, เปราะโคราช, การย้ายปลูก, พืชถิ่นเดียว

1. บทนำ

พืชสกุลเปราะ (*Kaempferia* L.) เป็นไม้ล้มลุก มีเหง้า สูง 20-30 ซม. ใบเดี่ยว มี 2-4 ใบ ตั้งตรง รูปรีหรือแกมรูปหอก กว้าง 5-8 ซม. ยาว 15-25 ซม. บางชนิดปลายใบแหลม บางชนิดใบแผ่ราบตามพื้นดิน โคนใบสอบ ดอกออกเป็นช่อสั้นจากเหง้าใต้ดินก่อนแทงใบ มีกาบใบหุ้มช่อดอก 2-3 ใบ ดอกบานกว้าง 2.5-3 ซม. กลีบรองดอกเชื่อมกันเป็นหลอด ยาว 3-3.2 ซม. กลีบดอกเป็นหลอด ยาว 5-5.5 ซม. ปลายแผ่แยก 3 แฉก รูปขอบขนาน กลีบปากมีสีส้มต่าง ๆ ตามชนิด ยาว 4 ซม. กว้าง 2-3 ซม. แบ่งเป็น 2 พู รูปรี ปลายมน รอยเว้าระหว่างพูลึกมาก เกสรเพศผู้ที่เป็นหมันสีขาว ปลายมนกลม เกสรเพศผู้ที่สมบูรณ์ ก้านชูสั้น ปลายมี 3 พู รังไข่มีขนสั้น ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของพืชสกุลเปราะบางชนิดมีใบแหลมตั้งขึ้น บางชนิดมีใบแผ่แบนราบไปตามพื้นดิน

[1] ปัจจุบันในประเทศไทยมีรายงานพบพืชสกุลเปราะทั้งหมด 40 ชนิด

[2] เปราะโคราช (*Kaempferia koratensis* Pichens.) (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 เปราะโคราช (*Kaempferia koratensis*) (สเกล 1 ซม.)

เป็นพืชวงศ์ขิง สกุลเปราะ เป็นไม้ล้มลุก มีหลายเหง้า มี 2 ใบ แผ่แบนราบกับพื้นคล้ายใบมิติ ใบหนา สีเขียวเข้ม ผิวใบด้านล่างมีขน ใบ

ประดับเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า มีขน ปลายแหลม ขอบใบประดับแยกออกจากกัน หลอดกลีบเลี้ยงยาว 3.1-4.5 ซม. เกสรเพศผู้รูปไข่ สีขาวเป็นหมัน ลักษณะเกสรเพศผู้ของเปราะโคราช มี 6 อัน โดยแบ่งเป็น 1 อันยังสมบูรณ์สามารถสืบพันธุ์ได้ ส่วนอีก 5 อันเป็นหมัน เปลี่ยนแปลงเป็นส่วนที่คล้ายกลีบดอก กลีบปากปลายสีขาวมีสีเหลืองที่ฐาน กว้าง 2.2-2.7 ซม. ปลายแหลมโค้งมน อับเรณูรูปไข่ ยาว 8-12 มม. เกสรเพศเมียรูปกรวย รังไข่มีขนาด 4x2 มม. ออกดอกและติดผลในเดือนมิถุนายนจนถึงเดือนกันยายน [3] เนื่องจากใบของเปราะโคราชมีขนาดใหญ่ และมีกลิ่นหอม จึงมีการนำ ใบอ่อนมารับประทานเป็นผักสดหรือใช้เป็นเครื่องเคียงในอาหารพื้นบ้าน เช่น หมกหน่อไม้ หมกปลา เป็นต้น จากการรายงานของ Pichensoonthon [3] กล่าวว่าเปราะโคราชมีสถานภาพเป็นพืชถิ่นเดียว (endemic plant) ซึ่งสามารถพบได้แค่ที่เดียวในโลก นั้นหมายความว่าเปราะโคราชสามารถพบได้เฉพาะที่ประเทศไทย ในพื้นที่จังหวัดนครราชสีมาทำให้พืชชนิดนี้มีการกระจายพันธุ์ได้น้อยรวมทั้งพืชชนิดนี้ยังถูกรบกวนจากกิจกรรมต่าง ๆ ของมนุษย์ทำให้มีโอกาสที่จะสูญพันธุ์ได้ง่าย โดยทั่วไปเปราะโคราชสามารถขยายพันธุ์ได้เฉพาะฤดูฝนโดยการใช้เหง้าหรือเมล็ดเท่านั้น (ประมาณเดือนพฤษภาคม-สิงหาคม) หลังจากนั้นพืชชนิดนี้จะมีการพักการเจริญเติบโต หรือที่เรียกว่ามีการลงหัวทำให้การขยายพันธุ์พืชชนิดนี้ในแต่ละปีทำได้ไม่มาก ดังนั้นเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจึงถูกนำมาใช้ในการขยายพันธุ์พืชที่มีจำนวนน้อยรวมถึงเป็นการอนุรักษ์พันธุ์กรรมพืชถิ่นเดียวของไทยไม่ให้สูญพันธุ์ เนื่องจากเทคนิคนี้สามารถขยายพันธุ์พืชได้ตลอดทั้งปี โดยไม่มีข้อจำกัดเรื่องฤดูกาลในการขยายพันธุ์ ได้ต้นพืชปลอดเชื้อโรคจำนวนมาก รวมถึงพืชต้นใหม่ที่ได้อาจมีลักษณะพันธุ์กรรมเหมือนต้นแม่ มีรายงานการเพาะเลี้ยงพืชสกุล

เพราะในหลอดทดลองแล้วหลายชนิด เช่น *Kaempferia angustifolia* [4,5], *K. galanga* [6-11], *K. larsenii* [12], *K. marginata* [13], *K. pandurata* [14], *K. parviflora* [15-18] และ *K. rotunda* [19-20] แต่ยังไม่มียางานการเพาะเลี้ยงเพราะโคราชมาก่อน ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเป็นรายงานแรกที่ศึกษาวิธีการขยายพันธุ์เพราะโคราชในหลอดทดลอง ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการเพาะเลี้ยงพืชสกุลเพราะชนิดอื่น ๆ รวมทั้งเป็นข้อมูลที่น่าไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์หรือการวิจัยด้านอื่น ๆ ต่อไป

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาการเพาะเลี้ยงเพราะโคราชในอาหารแข็งและอาหารเหลว ที่เติมฮอร์โมนออกซินและไซโทไคนินที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน รวมถึงศึกษาการย้ายต้นอ่อนเพราะโคราชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกในเรือนชำ

2. วิธีการทดลอง

2.1 การฟอกฆ่าเชื้อ

เก็บตัวอย่างเพราะโคราชจากจังหวัดนครราชสีมา นำผลเพราะโคราชขนาดความกว้าง 1 ซม. ยาว 1.5 ซม. มาล้างด้วยน้ำประปาให้สะอาด จากนั้นนำผลเพราะโคราชไปฟอกฆ่าเชื้อภายในตู้ปลอดเชื้อโดยนำผลแช่ในเอทิลแอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา 1 นาที นำผลมาฟอกฆ่าเชื้อด้วย sodium hypochlorite ความเข้มข้น 15% และ 10% (ปริมาตร/ปริมาตร) เป็นเวลา 15 นาที และ 10 นาที ตามลำดับ เติม Tween 20 จำนวน 2 หยด เขย่าให้เข้ากัน แล้วย้ายชิ้นส่วนผลไปล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที เพื่อล้างสารฆ่าเชื้อออกให้หมด

2.2 การชักนำให้เกิดยอดที่ปลอดเชื้อ

ใช้มีดผ่าตัดฆ่าผลเพราะโคราชที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อตามแนวยาว นำเมล็ดขนาด 0.2 ซม. สีครีม มาเพาะเลี้ยงเพื่อชักนำให้เกิดยอดในอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) [21] ที่เติมฮอร์โมน Benzyladenine (BA) ความเข้มข้น 2 มก./ล. ร่วมกับ Naphthaleneacetic acid (NAA) ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. น้ำตาลซูโครส 30 ก. วัน 7 ก. ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.7-5.8 นำอาหารที่เตรียมไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที พืชทั้งหมดในการทดลองครั้งนี้นำไปเพาะเลี้ยงภายในห้องเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ได้รับความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ นาน 16 ชั่วโมง/วัน จากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์สีขาว

2.3 การเพิ่มจำนวนพืชที่ทดลอง

ต้นเพราะโคราชที่ได้จากขั้นตอนการชักนำให้เกิดยอดมีจำนวนน้อยจึงเพิ่มจำนวนต้นพืช โดยนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรเดิมที่ใช้ในการชักนำให้เกิดยอด โดยการตัดแยกต้นอ่อนเป็นต้นเดี่ยว ทำการเพิ่มจำนวนโดยนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารใหม่ เพาะเลี้ยงรอบละ 4 สัปดาห์ เพิ่มปริมาณ 3 รอบ เมื่อได้ต้นเพราะโคราชปริมาณมากพอนำพืชที่เพิ่มจำนวนได้ย้ายลงในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนเพื่อทำการปรับสภาพเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ จึงนำไปทำการทดลองในขั้นตอนต่อไป

2.4 การศึกษาผลของฮอร์โมน BA, BA ร่วมกับ NAA หรือ TDZ ที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดและรากในเพราะโคราชเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง

นำต้นอ่อนขนาดประมาณ 1 ซม. ที่ปลอดเชื้อในหลอดทดลองมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ที่ระดับความเข้มข้น 1, 2 และ 4 มก./ล. เพียงชนิดเดียว หรือฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 1, 2 และ 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 และ 0.2 มก./ล. หรือ Thidiazuron (TDZ) ความเข้มข้น 1 มก./ล. รวมทั้งหมด 13 หน่วยทดลอง ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด โดย 1 ขวด เพาะเลี้ยงต้นอ่อน 1 ชิ้น เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ภายในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ดำเนินการบันทึกผลการเจริญเติบโต เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย

2.5 การศึกษาผลร่วมระหว่างฮอร์โมนออกซินและไซโทไคนินที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดและรากในเพราะโคราชที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว

นำต้นอ่อนเพราะโคราชขนาดประมาณ 1 ซม. มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ที่ระดับความเข้มข้น 1 และ 2 มก./ล. และ 6-Furfuryl amino purine (Kinetin) ที่ระดับความเข้มข้น 1 และ 2 มก./ล. ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 2 มก./ล. และ NAA ความเข้มข้น 0.2 มก./ล. รวมเป็น 5 หน่วยทดลอง เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวโดยใช้ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มล. ที่มีอาหารเหลว 100 มล. โดย 1 ขวด เพาะเลี้ยงต้นอ่อน 3 ต้น เพาะเลี้ยง 5 ซ้ำ นำเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวไปวางบนเครื่องเขย่า (shaker) เขย่าด้วยความเร็ว 120 รอบต่อนาที เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ภายในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ดำเนินการบันทึกผลการเจริญเติบโต เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย

2.6 การศึกษาการย้ายต้นอ่อนเปราะโคราชออกปลูกในเรือนเพาะชำ

นำต้นเปราะโคราชที่เจริญเต็มที่ในหลอดทดลองขนาดประมาณ 7 ซม. ที่มีต้น ใบและรากสมบูรณ์แข็งแรงทำการย้ายไปเพาะเลี้ยงในอาหารใหม่สูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนเพื่อปรับสภาพพืช เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จากนั้นนำต้นพืชที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองมาปรับสภาพภายนอกห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ไม่มีการควบคุมปัจจัยภายนอกเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ นำพืชที่ปรับสภาพแล้วย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำในเดือนมิถุนายน-กรกฎาคม โดยพืชหนึ่งต้นปลูกในกระถางดำที่มีวัสดุปลูกเพียง 1 ต้น มีการควบคุมความชื้นและแสงให้กับต้นพืช ปลูกเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ในวัสดุปลูก 3 ชนิด ได้แก่ ดินร่วน ดินทราย และดินร่วนผสมดินทราย รดน้ำวันละ 1 ครั้ง ครั้งละ 100 มล. เวลาเช้า (9.00-10.00 น.) ดำเนินการบันทึกผลการเจริญเติบโต ร้อยละของการรอดชีวิต จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนใบเฉลี่ย ความกว้างใบเฉลี่ย ความยาวใบเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย ความยาวรากเฉลี่ย จำนวนรากสะสมอาหารเฉลี่ย และความยาวรากสะสมอาหารเฉลี่ย

2.7 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Complete Randomized Design, CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยตาราง ANOVA และวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 15

3. ผลการทดลอง

3.1 การชักนำให้เกิดยอดปลอดเชื้อ และการเพิ่มปริมาณพืชทดลอง

เมื่อเพาะเลี้ยงเมล็ดเปราะโคราชในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยง 1 สัปดาห์ เริ่มเกิดยอดเกิดขึ้น มีอัตราการเกิดยอดที่สูง มีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ไม่เกิน 5% ของเมล็ดที่เพาะเลี้ยงทั้งหมด เมื่อเพาะเลี้ยงผ่านไป 4 สัปดาห์ได้ต้นอ่อนที่มีลักษณะที่แข็งแรง ยอดมีขนาดใหญ่ สีเขียวเข้ม ใบมีขนาดใหญ่ บางเมล็ดมี 2 ยอด รากมีขนาดใหญ่ สีขาว แข็งแรง มีจำนวนมาก เนื่องจากเมล็ดเปราะโคราชที่นำมาเพาะเลี้ยงมีจำนวนน้อย จึงนำยอดเปราะโคราชมาเพิ่มจำนวนโดยนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิมโดยการย้ายเนื้อเยื่อทุก 4 สัปดาห์

ทำ 3 รอบ จนได้ต้นพืชจำนวนมากแล้วนำต้นอ่อนเปราะโคราชย้ายมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อล้างอิทธิพลของฮอร์โมน BA และ NAA ก่อนนำพืชไปทำการทดลอง

3.2 การศึกษาผลของฮอร์โมน BA, BA ร่วมกับ NAA หรือ TDZ ที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดและรากในเปราะโคราชเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง

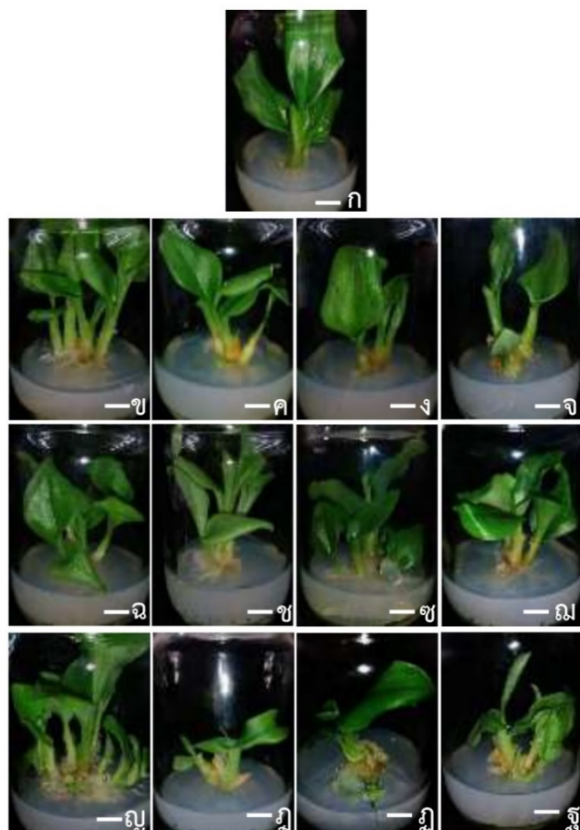
จากการนำต้นอ่อนเปราะโคราชขนาดประมาณ 1 ซม. มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. และ 0.2 มก./ล. หรือ TDZ ความเข้มข้น 1 มก./ล. เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่เติมฮอร์โมนไม่ค่อยเพิ่มจำนวนยอด มีจำนวนยอดเฉลี่ย 1.30 ยอด/ชิ้นส่วนพืช เพิ่มจำนวนยอดน้อยได้น้อยที่สุดจากการเพาะเลี้ยงทั้งหมด 13 หน่วยทดลอง ต้นโต สูง มีความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 4.28 ซม. จำนวนราก 4.50 ราก/ชิ้นส่วนพืช และความยาวราก 2.69 ซม. ต้นอ่อนเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.2 มก./ล. มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 4.00 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ความยาวยอด 3.79 ซม. และมีจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 8.60 ราก/ชิ้นส่วนพืช ความยาวราก 2.52 ซม. (ตารางที่ 1 และภาพที่ 2 และ 3) ลักษณะของลำต้นและใบมีขนาดเล็ก สีเขียวสดใบแผ่ออกรากมีสีเขียวขนาดเล็ก มีจำนวนมาก ต้นอ่อนเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.2 มก./ล. มีความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 4.28 ซม. เมื่อเพาะเลี้ยงต้นอ่อนเปราะโคราชในอาหารที่เติมฮอร์โมน BA ที่ระดับความเข้มข้น 1-4 มก./ล. ร่วมกับ TDZ 1 มก./ล. และ NAA 0.2 มก./ล. พบว่าต้นอ่อนที่เกิดขึ้นใหม่ในหลอดทดลองค่อนข้างมีความยาวยอดสั้น เกิดรากน้อยมาก (2.10-2.60 ราก) และรากมีขนาดสั้น (1.52-1.62 ซม.) เมื่อเปรียบเทียบกับหน่วยทดลองอื่น ๆ เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่าจำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ยและความยาวรากเฉลี่ย มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 1 ผลของฮอร์โมน BA, BA ร่วมกับ NAA หรือ TDZ ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการชักนำให้เกิดยอดและรากในเปราะโคราช เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ฮอร์โมนพืช (มก./ล.)	จำนวนยอด (ยอด/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวยอด (ซม.)	จำนวนราก (ราก/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวราก (ซม.)
MS (control)	1.30±0.15 ^c	4.82±0.27 ^a	4.50±0.90 ^{cde}	2.69±0.14 ^{bc}
BA				
1	3.10±0.23 ^{ab}	4.35±0.42 ^{ab}	6.30±1.26 ^{abc}	3.48±0.27 ^a
2	3.00±0.33 ^{ab}	3.78±0.13 ^{bcd}	5.30±1.06 ^{abc}	2.71±0.17 ^{bc}
4	2.90±0.17 ^{ab}	3.87±0.25 ^{bcd}	4.00±0.47 ^{cde}	2.63±0.18 ^{bc}
BA+NAA				
1+0.1	2.70±0.26 ^b	3.99±0.26 ^{abc}	5.35±0.38 ^{bc}	3.02±0.19 ^{ab}
2+0.1	3.20±0.36 ^{ab}	4.20±0.20 ^{ab}	4.80±0.65 ^{cd}	3.01±0.14 ^{ab}
4+0.1	3.30±0.26 ^{ab}	4.02±0.17 ^{abc}	6.10±0.85 ^{abc}	2.00±0.14 ^{de}
1+0.2	3.20±0.63 ^{ab}	4.11±0.30 ^{ab}	7.70±0.97 ^{ab}	2.78±0.24 ^{bc}
2+0.2	3.30±0.40 ^{ab}	3.20±0.24 ^{cde}	5.70±0.73 ^{bc}	2.23±0.17 ^{cd}
4+0.2	4.00±0.70 ^a	3.79±0.33 ^{bcd}	8.60±1.44 ^a	2.52±0.11 ^{bcd}
BA+TDZ+NAA				
1+1+0.2	2.50±0.37 ^b	2.31±0.11 ^f	2.10±0.31 ^e	1.52±0.16 ^e
2+1+0.2	2.30±0.33 ^{bc}	3.11±0.32 ^{de}	2.10±0.43 ^e	1.54±0.30 ^e
4+1+0.2	2.90±0.27 ^{ab}	2.83±0.24 ^{ef}	2.60±0.67 ^{de}	1.62±0.30 ^e

หมายเหตุ: - ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean±SE)

- อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

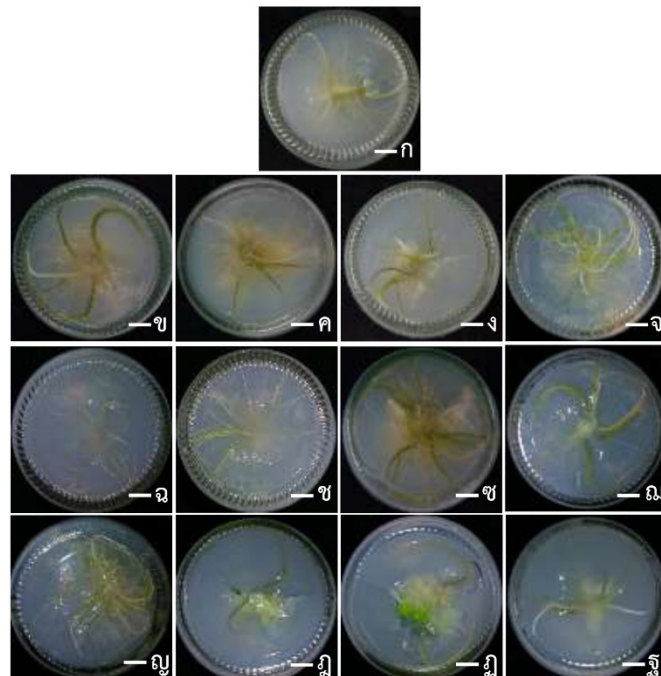


ภาพที่ 2 การเจริญของยอดเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA, BA ร่วมกับ NAA หรือ TDZ ความเข้มข้นแตกต่างกัน เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (สเกล 1 ซม.)

(ก) ไม่เติมฮอร์โมน, (ข) BA 1 มก./ล., (ค) BA 2 มก./ล., (ง) BA 4 มก./ล., (จ) BA 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.1 มก./ล., (ฉ) BA 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.1 มก./ล., (ช) BA 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.1 มก./ล., (ซ) BA 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.2 มก./ล., (ฅ) BA 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.2 มก./ล., (ญ) BA 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.2 มก./ล., (ฎ) BA 1 มก./ล. ร่วมกับ TDZ 1 มก./ล. และ NAA 0.2 มก./ล., (ฏ) BA 2 มก./ล. ร่วมกับ TDZ 1 มก./ล. และ NAA 0.2 มก./ล. และ (ฐ) BA 4 มก./ล. ร่วมกับ TDZ 1 มก./ล. และ NAA 0.2 มก./ล.

3.3 การศึกษาผลร่วมระหว่างฮอร์โมนออกซินและไซโทไคนินที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดและรากเปราะโคราชเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว

จากการนำต้นอ่อนเปราะโคราชนาขนาดประมาณ 1 ซม. มาเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพูนขนาด 250 มล. ในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA และ Kinetin ที่ระดับความเข้มข้น 1 และ 2 มก./ล. ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 2 มก./ล. และ NAA ความเข้มข้น 0.2 มก./ล. เพาะเลี้ยง

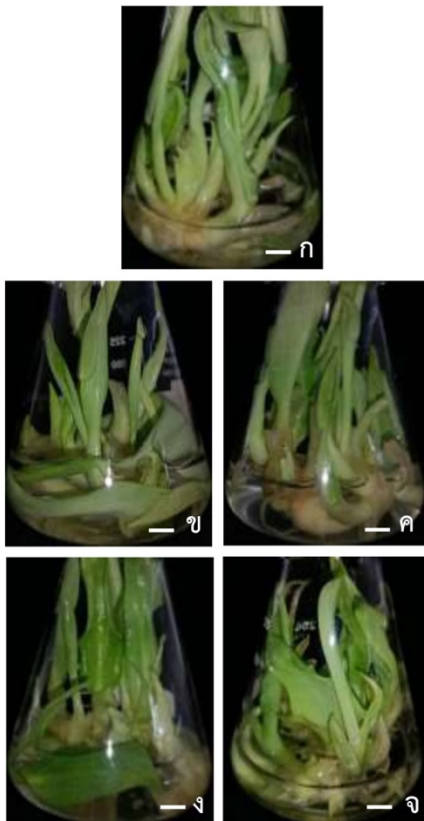


ภาพที่ 3 การเจริญของรากเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA, BA ร่วมกับ NAA หรือ TDZ ความเข้มข้นแตกต่างกัน เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (สเกล 1 ซม.)

(ก) ไม่เติมฮอร์โมน, (ข) BA 1 มก./ล., (ค) BA 2 มก./ล., (ง) BA 4 มก./ล., (จ) BA 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.1 มก./ล., (ฉ) BA 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.1 มก./ล., (ช) BA 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.1 มก./ล., (ซ) BA 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.2 มก./ล., (ฅ) BA 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.2 มก./ล., (ญ) BA 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.2 มก./ล., (ฎ) BA 1 มก./ล. ร่วมกับ TDZ 1 มก./ล. และ NAA 0.2 มก./ล., (ฏ) BA 2 มก./ล. ร่วมกับ TDZ 1 มก./ล. และ NAA 0.2 มก./ล. และ (ฐ) BA 4 มก./ล. ร่วมกับ TDZ 1 มก./ล. และ NAA 0.2 มก./ล.

บนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนมีจำนวนยอดเฉลี่ย 4.10 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ใบสีเขียวเข้มสด แข็งแรง ใบพอมยาวขนานกับความสูงของขวดรูปชมพู่ มีความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 9.08 ซม. จำนวนราก 6.87 ราก/ชิ้นส่วนพืช และความยาวราก 2.72 ซม. ในขณะที่ต้นอ่อนเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน Kinetin ความเข้มข้น 1 มก./ล. ร่วมกับ TDZ 2 มก./ล. และ NAA ความเข้มข้น 0.2 มก./ล. พบว่ามีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 6.00 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ความยาวยอด 5.27 ซม. จำนวนราก 2.87 ราก/ชิ้นส่วนพืช ความยาวราก 3.48 ซม. ลักษณะของลำต้นและใบมีขนาดค่อนข้างใหญ่ มียอดขนาดเล็กจำนวนมาก ลำต้นเทียมมีขนาดใหญ่ สีเขียวสด ต้นอ่อนที่

เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 1 มก./ล. ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 2 มก./ล. และ NAA ความเข้มข้น 0.2 มก./ล. มีจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 7.40 ราก/ชิ้นส่วนพืช ความยาวราก 2.85 ซม. ลักษณะของรากมีสีเขียวเข้ม มีขนาดใหญ่ ต้นอ่อนเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 2 มก./ล. ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 2 มก./ล. และ NAA ความเข้มข้น 0.2 มก./ล. มีความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 3.80 ซม. (ตารางที่ 2 และ ภาพที่ 4) เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่าจำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 4 ยอดเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่เติม BA และ Kinetin ร่วมกับ TDZ และ NAA เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (สเกล 1 ซม.)

(ก) ไม่เติมฮอร์โมน, (ข) BA 1 มก./ล. ร่วมกับ TDZ 2 มก./ล. และ NAA 0.2 มก./ล., (ค) BA 2 มก./ล. ร่วมกับ TDZ 2 มก./ล. และ NAA 0.2 มก./ล., (ง) Kinetin 1 มก./ล. ร่วมกับ TDZ 2 มก./ล. และ NAA 0.2 มก./ล. และ (จ) Kinetin 2 มก./ล. ร่วมกับ TDZ 2 มก./ล. และ NAA 0.2 มก./ล.

3.4 การศึกษาการย้ายต้นอ่อนเปราะโคราชออกปลูกในเรือนเพาะชำ

ต้นอ่อนเปราะโคราชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช อายุ 8 สัปดาห์ สูงประมาณ 8 ซม. ที่ปรับสภาพแล้วนำมาย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ในวัสดุปลูก 3 ชนิด คือ ดินร่วน ดินทราย และดินร่วนผสมดินทราย (1:1) พบว่าเมื่อเริ่มย้ายปลูกเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ต้นอ่อนมีการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี และเริ่มมีการกางใบในสัปดาห์ที่ 2 ต้นโต มีการขยายขนาด และเริ่มมียอดใหม่เกิดขึ้น ต้นอ่อนเปราะโคราชที่ย้ายปลูกในดินร่วน ดินทราย และดินร่วนผสมดินทราย มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 100% ต้นพืชที่ปลูกในดินร่วนผสมดินทรายมีการเกิดยอดมากที่สุด 1.70 ยอด/ต้น และมีจำนวนรากมากที่สุด 6.20 ราก/ชิ้นส่วนพืช ต้นอ่อนเปราะโคราชที่ย้ายปลูกในดินร่วนมีจำนวนใบและความกว้างของใบมากที่สุด 2.54 ใบ/ต้น และ 3.66 ซม. ตามลำดับ ต้นอ่อนเปราะโคราชที่ปลูกในดินทรายมีความยาวยอดมากที่สุด 9.10 ซม. และมีความยาวของใบมากที่สุด 7.18 ซม. (ตารางที่ 3 และภาพที่ 5) ต้นพืชที่ปลูกในดินร่วน พบว่ามีความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุด 3.32 ซม. นอกจากนี้ในการทดลองย้ายต้นอ่อนเปราะโคราชออกปลูกในครั้งนี้เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ต้นพืชมีการเกิดราก และพบมีการสร้างรากสะสมอาหารเมื่อย้ายปลูกในวัสดุปลูกทุกประเภท เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่าจำนวนยอด ความยาวใบ จำนวนราก ความยาวราก และความยาวรากสะสมอาหาร มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 2 ผลของฮอร์โมน BA, Kinetin ร่วมกับ TDZ และ NAA ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการชักนำให้เกิดยอดและรากของเปราะโคราชเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ฮอร์โมนพืช (มก./ล.)	จำนวนยอด (ยอด/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวยอด (ซม.)	จำนวนราก (ราก/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวราก (ซม.)
MS (control)	4.10±0.57 ^b	9.08±0.71 ^a	6.87±1.18 ^a	2.72±0.26 ^b
BA 1+TDZ 2+NAA 0.2	5.27±0.34 ^a	6.60±0.42 ^b	7.40±0.93 ^a	2.85±0.37 ^b
BA 2+TDZ 2+NAA 0.2	5.20±0.67 ^a	5.67±0.32 ^b	4.60±0.51 ^b	3.80±0.40 ^a
Kinetin 1+TDZ 2+NAA 0.2	6.00±0.72 ^a	5.27±0.40 ^b	2.87±0.38 ^{bc}	3.46±0.21 ^{ab}
Kinetin 2+TDZ 2+NAA 0.2	5.33±0.45 ^a	6.17±0.33 ^b	2.33±0.45 ^c	2.54±0.32 ^b

หมายเหตุ: - ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean±SE)

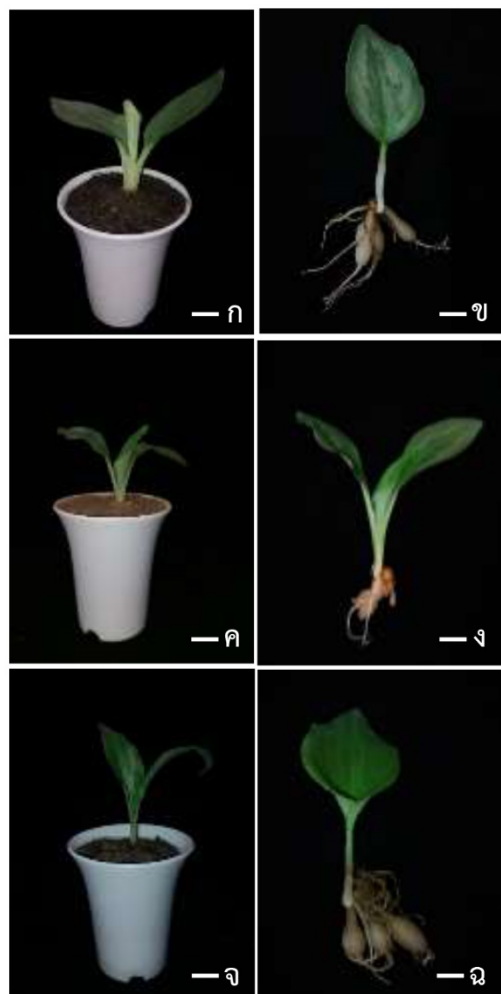
- อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

ตารางที่ 3 การย้ายต้นอ่อนเปราะโคราชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกในเรือนเพาะชำเป็นเวลา 8 สัปดาห์

วัสดุปลูก	เปอร์เซ็นต์ การรอด ชีวิต (%)	จำนวน ยอด(ซม.)	ความยาว ยอด (ซม.)	จำนวนใบ (ใบ/ต้น)	ความกว้างใบ (ซม.)	ความยาว ใบ (ซม.)	จำนวนราก (ราก/ต้น)	ความยาวราก (ซม.)	จำนวนราก สะสม อาหาร (ราก/ต้น)	ความยาวราก สะสมอาหาร (ซม.)
ดินร่วน	100	1.20±0.13 ^b	8.15±0.59 ^a	2.54±0.40 ^a	3.66±0.30 ^a	5.8±0.44 ^b	3.20±0.30 ^b	3.32±0.52 ^a	3.00±0.033 ^a	2.70±0.14 ^a
ดินทราย	100	1.10±0.32 ^b	9.10±1.02 ^a	2.50±0.17 ^a	3.03±0.24 ^a	7.18±0.50 ^a	4.10±0.45 ^b	2.13±0.52 ^b	2.60±0.50 ^a	1.45±0.32 ^b
ดินร่วน ผสมดิน ทราย	100	1.70±0.15 ^a	8.60±0.85 ^a	2.10±0.10 ^a	3.38±0.23 ^a	6.25±0.37 ^{ab}	6.20±0.33 ^a	2.31±0.30 ^{ab}	3.60±0.37 ^a	2.12±0.24 ^{ab}

หมายเหตุ: - ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean±SE)

- อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT



ภาพที่ 5 ต้นอ่อนเปราะโคราชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อย้ายปลูกในเรือนเพาะชำในดินร่วน ดินทราย และดินร่วนผสมดินทราย (สเกล 1 ซม.)

(ก)-(ข) ปลูกในดินร่วน, (ค)-(ง) ปลูกในดินทราย และ (จ)-(ฉ) ปลูกในดินร่วนผสมดินทราย

4. วิจัยรณผลการทดลอง

จากการศึกษาการนำต้นอ่อนเปราะโคราช มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA, BA ร่วมกับ NAA และ TDZ ความเข้มข้นแตกต่างกันเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.2 มก./ล. มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 4.00 ยอด/ชิ้นส่วนพืช แตกต่างจาก Mohanty *et al.* [22] เพาะเลี้ยง *Kaempferia galanga* บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 1 มก./

ล. ร่วมกับ IAA 0.5 มก./ล. พบอัตราการเกิดยอดสูงสุด 11.50 ยอด/ชิ้นส่วนพืช แตกต่างจากงานวิจัยของ Parida *et al.* [23] เพาะเลี้ยงตาเหง้า *K. galanga* บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 1 มก./ล. ร่วมกับ IAA 0.5 มก./ล. ชักนำให้เกิดยอดสูงสุด 10.10 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ลักษณะของลำต้นและใบมีขนาดเล็ก สีเขียวสดใบแผ่ออกเนื่องจากฮอร์โมน BA เป็นฮอร์โมนในกลุ่มไซโทไคนินจะป้องกันไม่ให้คลอโรฟิลล์ถูกทำลายได้ง่าย การสังเคราะห์คลอโรฟิลล์เพิ่มมากขึ้นส่งเสริมการสร้าง RNA และเอนไซม์ ต้นอ่อนจึงมีสีเขียวเข้ม [24,25] ต้นอ่อนเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมน มีความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 4.82 ซม. อาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.2 มก./ล. มีการชักนำให้เกิดรากเฉลี่ยสูงสุด 8.60 ราก/ชิ้นส่วนพืช แตกต่างจากจิราภรณ์ และคณะ [12] เพาะเลี้ยงเปราะราศี (*K. larsenii*) บนอาหารสูตร MS ที่เติม IAA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดรากเฉลี่ยสูงสุด 10.60 ราก/ชิ้นส่วนพืช และแตกต่างจาก Bhatt *et al.* [26] เพาะเลี้ยง *K. galanga* บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 5 มก./ล. และน้ำตาลซูโครส 30 ก. สามารถชักนำให้เกิดรากเฉลี่ยสูงสุด 31.30 ราก/ชิ้นส่วนพืช จากการทดลองในครั้งนี้จะเห็นว่าต้นอ่อนเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA ร่วมกับ NAA และ TDZ มีจำนวนรากและความยาวรากที่น้อย ต้นอ่อนที่ได้มีขนาดเล็กเมื่อเปรียบเทียบกับต้นอ่อนเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA เพียงชนิดเดียวหรืออาหารที่เติม BA ร่วมกับ NAA ที่ต้นอ่อนมีขนาดใหญ่ ใบขนาดใหญ่ สีเขียวสด จำนวนรากและความยาวรากมากกว่า มีรากแข็งแรงจำนวนมาก เนื่องจากฮอร์โมน TDZ เป็นฮอร์โมนในกลุ่มไซโทไคนินมีผลทำให้เกิดการแบ่งเซลล์ และชักนำให้เกิดต้นพิเศษ แต่จะยับยั้งการเกิดราก และความยาวยอด [27]

จากการศึกษาการนำต้นอ่อนเปราะโคราช มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA และ Kinetin ที่ระดับความเข้มข้น 1 และ 2 มก./ล. ร่วมกับ TDZ 2 มก./ล. และ NAA 0.2 มก./ล. เมื่อเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน Kinetin ความเข้มข้น 1 มก./ล. ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 2 มก./ล. และ NAA ความเข้มข้น 0.2 มก./ล. มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 6.00 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ซึ่งมีจำนวนยอดมากกว่าต้นอ่อนเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่เติมฮอร์โมนที่เกิดยอด 4.10 ยอด/ชิ้นส่วนพืช เนื่องจากฮอร์โมน Kinetin เป็นฮอร์โมนในกลุ่มไซโทไคนิน มีคุณสมบัติในการกระตุ้นการ

เจริญเติบโตของยอด การขยายขนาดของเซลล์ และกระตุ้นการแบ่งเซลล์ [28] แตกต่างจาก Rahman *et al.* [29] เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของ *K. galanga* บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมนกลุ่มออกซิน (NAA, IBA และ IAA) ร่วมกับฮอร์โมนกลุ่มไซโทไคนิน (BA และ Kinetin) พบว่าอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 1.0 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดสูงสุด 20.50 ยอด/ชิ้นส่วนพืช อาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตมีความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 9.08 ซม. เมื่อเปรียบเทียบกับต้นอ่อนเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 1 มก./ล. ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 2 มก./ล. และ NAA ความเข้มข้น 0.2 มก./ล. มีจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 7.40 ราก/ชิ้นส่วนพืช ลักษณะของรากมีสีเขียวเข้ม มีขนาดใหญ่ แตกต่างจาก Chairangini *et al.* [30] เพาะเลี้ยง *K. galanga* และ *K. rotunda* บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 2.69 ไมโครโมล ร่วมกับ BAP ความเข้มข้น 2.22 ไมโครโมล สามารถชักนำให้เกิดรากเฉลี่ยสูงสุด 9.00 ราก/ชิ้นส่วนพืช อาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin ความเข้มข้น 1 มก./ล. และ 2 มก./ล. ร่วมกับ TDZ 2 มก./ล. และ NAA 0.2 มก./ล. มีจำนวนรากเฉลี่ย 2.87 และ 2.33 ราก/ชิ้นส่วนพืช ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่ารากที่เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรอื่น ๆ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช ชิ้นส่วนพืช ชนิดของพืช สายพันธุ์พืช และระยะการพัฒนา ซึ่งในการทดลองนี้จะเห็นได้ว่าเมื่อเพาะเลี้ยงต้นอ่อนเปราะโคราชในอาหารเหลวที่มีการเติมฮอร์โมน Kinetin และ BA ร่วมกับ TDZ 2 มก./ล. และ NAA 0.2 มก./ล. ส่งเสริมการเจริญของยอดได้ แต่อาหารเพาะเลี้ยงที่ใช้ฮอร์โมน Kinetin ร่วมกับ TDZ 2 มก./ล. และ NAA 0.2 มก./ล. เกิดรากค่อนข้างน้อย นอกจากนี้ในการทดลองครั้งนี้ต้นอ่อนเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวมีการเพิ่มจำนวนยอดและมีความยาวของยอดมากกว่าต้นอ่อนเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง ทั้งนี้อาจเนื่องจากต้นอ่อนเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว ต้นอ่อนได้สัมผัสกับอาหารเท่าเทียมกัน ได้รับอากาศและแสงเท่ากัน ทำให้ต้นอ่อนดูดซับธาตุอาหารไปใช้ในการเจริญเติบโตได้ดีกว่าส่งผลให้ต้นอ่อนเพิ่มจำนวนต้น และมีความสูงของต้นมากกว่าที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง

จากการนำต้นอ่อนเปราะโคราชย้ายปลูกในวัสดุปลูกทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ดินร่วน ดินทราย และดินร่วนผสมดินทราย พบว่าต้นอ่อนเปราะโคราชที่ย้ายปลูกในเรือนเพาะชำในวัสดุปลูกทั้ง 3 ประเภท มีอัตราการรอดชีวิต 100% ต้นอ่อนเปราะโคราชที่ย้ายปลูกในดินร่วนผสมดิน

ทรายมีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 1.70 ยอด/ต้น ซึ่งมากกว่าเมื่อต้นอ่อนเปราะโคราชย้ายลงปลูกในดินร่วน และดินทราย ที่มีจำนวนยอดเฉลี่ย 1.20 และ 1.10 ยอด/ต้น ตามลำดับ ต้นอ่อนเปราะโคราชที่ย้ายปลูกในดินทรายมีความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 9.10 ซม. มากกว่าเมื่อเทียบกับการย้ายลงปลูกในวัสดุปลูกที่เป็นดินร่วน และดินร่วนผสมดินทรายที่มีความยาวยอดเฉลี่ยเท่ากับ 8.15 และ 8.60 ซม. ตามลำดับ และต้นอ่อนเปราะโคราชที่ย้ายปลูกในวัสดุที่เป็นดินร่วน พบว่ามีจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด 2.54 ใบ ใบมีความกว้างเฉลี่ยมากที่สุด 3.66 ซม. ใบมีสีเขียวเข้ม แผลออก ต้นอ่อนเปราะโคราชที่ย้ายปลูกในดินร่วนผสมดินทรายมีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 6.20 ราก/ต้น ซึ่งมากกว่าเปราะโคราชที่ปลูกในดินร่วน และดินทราย และต้นอ่อนเปราะโคราชที่ย้ายปลูกในดินร่วนผสมดินทรายมีจำนวนรากสะสมอาหารเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 3.60 ราก/ต้น แต่มีความยาวของรากสะสมอาหารน้อยกว่าต้นเปราะโคราชที่ปลูกในดินร่วนซึ่งมีความยาวของรากสะสมอาหารเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 2.70 ซม. แตกต่างจาก Chirangini *et al.* [30] ได้นำต้นอ่อน *K. galanga* ย้ายปลูกในทรายกับปุ๋ยคอก อัตราส่วน 1:1 ปลูกเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าต้นพืชที่ปลูกมีอัตราการรอดชีวิต 80-90% และเกิดยอด 4-5 ยอด/ต้น จากการทดลองในครั้งนี้นั้นต้นอ่อนเปราะโคราชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแล้วนำออกปลูกในเรือนเพาะชำในดินร่วน ดินทราย และดินร่วนผสมดินทราย พบว่ามีการเจริญเติบโตใกล้เคียงกัน ต้นอ่อนเปราะโคราชที่ปลูกในดินร่วนผสมดินทรายให้จำนวนยอด จำนวนราก และจำนวนรากสะสมอาหารมากกว่าต้นอ่อนเปราะโคราชที่ปลูกในดินร่วน และดินทราย

5. สรุปผลการทดลอง

ในการวิจัยครั้งนี้เป็นรายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเปราะโคราชเป็นครั้งแรก วิธีการทดลองที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำไปใช้เป็นแนวทางขยายพันธุ์ และอนุรักษ์พันธุกรรมเปราะโคราชที่เป็นพืชถิ่นเดียวของประเทศไทย รวมทั้งยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้เพื่อเป็นแนวทางในการส่งเสริมการนำต้นเปราะโคราชมาพัฒนาเป็นไม้ประดับชนิดใหม่ ซึ่งเป็นการเพิ่มมูลค่าพืช รวมทั้งเป็นแนวทางในการอนุรักษ์ต้นเปราะโคราชให้มีอยู่อย่างยั่งยืนต่อไป จากรายงานการวิจัยก่อนหน้านี้ยังไม่พบรายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเปราะโคราช ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาการเพาะเลี้ยงเปราะโคราชเป็นครั้งแรก เพื่อศึกษาผลของฮอร์โมนในกลุ่มออกซิน และไซโทไคนินต่อการเจริญเติบโตของต้นเปราะโคราชเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง และอาหารเหลว รวมทั้งศึกษาวัสดุปลูกที่เหมาะสมเมื่อย้ายต้นอ่อนเปราะ

โคราชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกในเรือนเพาะชำ ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ นอกจากจะขยายพันธุ์ต้นเปราะโคราชให้ได้จำนวนมาก ยังเป็นการอนุรักษ์พันธุ์กรรมพืชถิ่นเดียว นอกจากนี้ข้อมูลที่ได้ยังอาจเป็นข้อมูลพื้นฐานในการเพาะเลี้ยงพืชสกุลเปราะชนิดอื่น ๆ นำไปประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืช การศึกษาสรรพคุณทางยา ซึ่งเป็นการเพิ่มมูลค่า และการสร้างองค์ความรู้ใหม่จากต้นเปราะโคราช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเปราะโคราชในสภาพหลอดทดลองในครั้งนี้ สามารถขยายพันธุ์พืชในปริมาณมากในระยะเวลาสั้น โดยอาศัยสูตรอาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อพืชแต่ละชนิด สามารถเพิ่มจำนวนต้นพืชเป็นทวีคูณ ซึ่งแตกต่างจากการขยายพันธุ์ตามธรรมชาติที่สามารถเพิ่มจำนวนได้ในช่วงฤดูฝนเท่านั้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนการวิจัยสำหรับนิสิตระดับบัณฑิตศึกษา งบประมาณเงินรายได้ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2565 ที่ให้ทุนสนับสนุนการทำวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย และขอขอบคุณคุณปิยะ-มาศ ปานทอง ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Techaprasan, J., Klinbunga, S., Ngamriabsakul, C. & Jenjittikul, T. (2010). Genetic variation of *Kaempferia* (Zingiberaceae) in Thailand based on chloroplast DNA (*psba-trnh* and *peta-psbj*) sequences. *Genetics and Molecular Research*, 9(4), 1957-1973.
2. Nopporncharoenkul, N., Somnoo, T., Tanming, W. & Maknoi, C. (2021). *Kaempferia jenjittikuliae* (*Kaempferia* subg. *protanthium*: Zingiberaceae), a new, endangered species endemic to Thailand. *Edinburgh Journal of Botany*, 78(350), 1-13.
3. Picheansoonthon, C. (2011). Two new *Kaempferia* (Zingiberaceae) from Thailand. *Japanese Journal of Botany*, 86, 1-8.
4. Lestari, E. G. & Hutami, S. (2003). Perbanyakan cepat kunci pepet (*Kaempferia angustifolia* Rosc.) melalui kultur *in vitro*. *Journal of Biological Science*, 5(2), 102-105.
5. Haque, S. M. & Ghosh, B. (2018). Micropropagation of *Kaempferia angustifolia* Roscoe-an aromatic, essential oil yielding, underutilized medicinal plant of Zingiberaceae family. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 21(2), 147-153.
6. Vincent, K. A., Mathew, K. M. & Hariharan, M. (1992). Micropropagation of *Kaempferia galanga* L.-a medicinal plant. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 28(2), 229-230.
7. Shirin, F., Kumar, S. & Mishra, Y. (2000). *In vitro* plantlet production system for *Kaempferia galanga*, a rare Indian medicinal herb. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 63(3), 193-197.
8. Rahman, M. M., Amin, M. N., Ahamed, T., Ali, M. R. & Habib, A. (2004). Efficient plant regeneration through somatic embryogenesis from leaf base-derived callus of *Kaempferia galanga* L. *Asian Journal of Plant Sciences*, 3(6), 675-678.
9. Chithra, M., Martin, K. P., Sunandakumari, C. & Madhusoodanan, P. V. (2005). Protocol for rapid propagation, and to overcome delayed rhizome formation in field established *in vitro* derived plantlets of *Kaempferia galanga* L. *Scientia Horticulturae*, 104(1), 113-120.
10. Sahoo, S., Parida, R., Singh, S., Padhy, R. N. & Nayak, S. (2014). Evaluation of yield, quality and antioxidant activity of essential oil of *in vitro* propagated *Kaempferia galanga* Linn. *Journal of Acute Disease*, 3(2), 124-130.
11. Preetha, T. S., Hemanthakumar, A. S. & Krishnan, P. N. (2016). A comprehensive review of *Kaempferia galanga* L. (Zingiberaceae): a high sought medicinal plant in Tropical Asia. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 4(3), 270-276.

12. จิราภรณ์ ผุดผ่อง, สุรพล แสนสุข และปิยะพร แสนสุข. (2558). การขยายพันธุ์เปราะราศี (*Kaempferia larsenii* Sirirugsa) ในหลอดทดลองเพื่อการอนุรักษ์พืชหายากในประเทศไทย. *วารสารวิทยาศาสตร์ มข*, 43(4), 673–687.
13. Saensouk, P., Muangsang, N., Saensouk, S. & Sirinajun, P. (2016). *In vitro* propagation of *Kaempferia marginata* Carey ex Roscoe, a native plant species to Thailand. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 26(5), 1405–1410.
14. Wiyono, L., Edina, B. C., Rahmawanti, R. A., Azizah, N. N., Paramita, R. I., Purwaningsih, E. H. & Fadilah, F. (2020). Isolation, synthesis nanoparticle, and *In-vitro* test of pinostrobin from *Kaempferia pandurata* on MCF-7 and MDAMB-231 breast cancer cell. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 13(6), 2797-2801.
15. Prathanturug, S., Apichartbutra, T., Chuakul, W. & Saralamp, P. (2007). Mass propagation of *Kaempferia parviflora* Wall. ex Baker by *in vitro* regeneration. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 82(2), 179-183.
16. Zuraida, A., Izzati, K., Nazreena, O. & Omar, N. (2015). *In vitro* microrhizome formation in *Kaempferia parviflora*. *Annual Research & Review in Biology*, 5(5), 460–467.
17. Labrooy, C., Abdullah, T. L. & Stanslas, J. (2020). Influence of N6-benzyladenine and sucrose on *in vitro* direct regeneration and microrhizome induction of *Kaempferia parviflora* Wall. ex Baker, an important ethnomedicinal herb of Asia. *Tropical Life Sciences Research*, 31(1), 123.
18. Park, H. Y., Kim, K. S., Ak, G., Zengin, G., Cziaky, Z., Jeko, J. & Sivanesan, I. (2021). Establishment of a rapid micropropagation system for *Kaempferia parviflora* Wall. ex Baker: phytochemical analysis of leaf extracts and evaluation of biological activities. *Plants*, 10(4), 698.
19. Geetha, S. P., Manjula, C., John, C. Z., Minoo, D. & Babu, K. N. (1997). Micropropagation of *Kaempferia* spp. (*K. galanga* L. and *K. rotunda* L.) *Indian Institute of Spices Research*, 6(2), 129–135.
20. Sotthikul, C. & Potihongsa, S. (2017). Some factors affecting *in vitro* propagation of *Kaempferia rotunda*. *Acta Horticulturae*. 1315, 99-104.
21. Murashige, T. & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473–497.
22. Mohanty, S., Parida, R., Singh, S., Joshi, R. K., Subudhi, E. & Nayak, S. (2011). Biochemical and molecular profiling of micropropagated and conventionally grown *Kaempferia galanga*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 106(1), 39–46.
23. Parida, R., Mohanty, S., Kuanar, A. & Nayak, S. (2011). Rapid multiplication and *in vitro* production of leaf biomass in *Kaempferia galanga* through tissue culture. *Electronic Journal of Biotechnology*, 13(4), 4-8.
24. สัมพันธ์ คัมภีรานนท์. (2527). *ฮอร์โมนพืช*. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 136.
25. นพดล จรัสสัมฤทธิ์. (2537). *ฮอร์โมนพืชและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช*. พิมพ์ครั้งที่ 1. สหมิตรออฟเซต. หน้า 51.
26. Bhatt, A., Kean, O.B. & Keng, C.L. (2012). Sucrose, benzylaminopurine and photoperiod effects on *in vitro* culture of *Kaempferia galanga* Linn. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*. 146(4): 900-905.
27. Lu, C. (1993). The use of thidiazuron in tissue culture. *Developmental Biology*. 29: 92-96.
28. คำบุญ กาญจนภูมิ. (2542). *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช*. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. หน้า 29-30.
29. Rahman, M. M., Amin, M. N., Ahamed, T. & Ahmad, S. (2005). *In vitro* rapid propagation of black thorn (*Kaempferia galanga* L.): A rare medicinal and aromatic plant of Bangladesh. *Journal of Biological Sciences*, 5(3), 300–304.

30. Chairangini, P., Sinha, S.K. & Sharma, G.J. (2005). *In vitro* propagation and microrhizome induction in *Kaempferia galanga* L. and *K. rotunda* L. *Indian Journal of Biotechnology*, 4, 404-408.



Research Article

The Short-Term Effects of Exercise Program on Balance Strength Flexibility and Cardiovascular Endurance in Elderly

ผลระยะสั้นของโปรแกรมการออกกำลังกายต่อการทรงตัว ความแข็งแรง ความยืดหยุ่น และความทนทานของระบบหัวใจและหลอดเลือดในผู้สูงอายุ

วาริณี แสงประไพ^{1*}, สุภารัตน์ สุขโท¹, จินตนา จุลทัศน์¹, สุพรรณฉัตร หนูสวัสดิ์², พนิดา กุมพชาติ²

^{1*}สาขาวิทยาศาสตร์ความงามและสุขภาพ คณะแพทย์แผนไทยและแพทย์ทางเลือก มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี 2 ถ.ราชธานี อ.เมือง จ.อุบลราชธานี 34000

²สาขาการแพทย์แผนไทย คณะแพทย์แผนไทยและแพทย์ทางเลือก มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี 2 ถ.ราชธานี อ.เมือง จ.อุบลราชธานี 34000

Article Info

Received 30 January 2022

Revised 20 April 2022

Accepted 25 May 2022

Abstract

This quasi - experimental study aimed to examine the short-term effects of exercise programs on balance, strength, flexibility, and cardiovascular endurance, in the elderly. The 18 participants received the exercise program for 40 minutes per day, 3 days a week, for consecutive 4 weeks. All participants were assessed for physical fitness before and after the exercise programs period. The results of this study found on that the right side of the upper back flexibility test, the lower back flexibility test and the dynamic balance test after 4 weeks of exercise there were statistically significant improvement ($p < 0.05$). The results of this study indicate that the exercise program can improve flexibility, dynamic balance and enhance physical fitness in the elderly.

Keywords: Elderly, Balance, Strength, Flexibility, Endurance, Cardiovascular system

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้เป็นการวิจัยกึ่งทดลองซึ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลระยะสั้นของโปรแกรมการออกกำลังกายต่อการทรงตัว ความแข็งแรง ความยืดหยุ่น และความทนทานของระบบหัวใจและหลอดเลือดในผู้สูงอายุ อาสาสมัครเป็นผู้สูงอายุ 18 คน ได้เข้าร่วมโปรแกรมการออกกำลังกาย 40 นาที จำนวน 3 วันต่อสัปดาห์ เป็นระยะเวลาติดต่อกัน 4 สัปดาห์ และจะได้รับการประเมินสมรรถภาพร่างกาย ก่อนและหลังการออกกำลังกาย ผลการวิจัยพบว่า การทดสอบความยืดหยุ่นหลังส่วนบนข้างขวา การทดสอบความยืดหยุ่นหลังส่วนล่าง และการทดสอบการทรงตัวขณะเคลื่อนที่ มีผลการประเมินดีขึ้น หลังการออกกำลังกาย 4 สัปดาห์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แสดงให้เห็นว่าโปรแกรมการออกกำลังกายด้วยท่ารำประกอบเพลง สามารถเพิ่มความยืดหยุ่น การทรงตัวขณะเคลื่อนที่ และสร้างเสริมสมรรถภาพทางกายในผู้สูงอายุได้

คำสำคัญ: ผู้สูงอายุ การทรงตัว ความแข็งแรง ความยืดหยุ่น ความทนทาน ระบบหัวใจและหลอดเลือด

1. บทนำ

ผู้สูงอายุเป็นวัยที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นมาก ประชากรโลกกำลังเข้าสู่วัยผู้สูงอายุอย่างรวดเร็ว จำนวนผู้ที่มีอายุ 60 ปีขึ้นไปจะเพิ่มขึ้น จาก 900 ล้านคน เป็น 2 พันล้านคน ระหว่างปี 2015 ถึง 2050 ซึ่งเพิ่มขึ้นจาก 12% เป็น 22% ของประชากรโลกทั้งหมด [1] สำหรับในประเทศไทย ผู้สูงอายุคือบุคคลซึ่งมีอายุเกิน 60 ปีขึ้นไปและมีสัญชาติไทย ตามคำจำกัดความของพระราชบัญญัติผู้สูงอายุฉบับแก้ไข พ.ศ. 2553 [2] ประเทศไทยได้ก้าวเข้าสู่สังคมสูงวัยมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2548 ในขณะที่ปี พ.ศ. 2563 ประเทศไทยมีประชากรอายุ 60 ปีขึ้นไปจำนวนมากกว่า 12 ล้านคน หรือราว 18% และคาดการณ์ว่ามีการเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ประเทศไทยจะเข้าสู่สังคมผู้สูงอายุอย่างเต็มตัวในปี พ.ศ. 2565 - 2573 จะมีสัดส่วนประชากรสูงวัยเพิ่มขึ้นอยู่ที่ 26.9% ของประชากรทั้งประเทศ [3] โครงสร้างประชากรของประเทศไทย เคลื่อนเข้าสู่ภาวะประชากรผู้สูงอายุ (Ageing Population) จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการส่งเสริมและดูแลสุขภาพผู้สูงอายุ ในวัยผู้สูงอายุนั้นร่างกายจะสูญเสียความสามารถในการซ่อมแซมความเสียหายที่เกิดขึ้น ทำให้ร่างกายเริ่มเสื่อมถอยลงอย่างเห็นได้ชัดทั้งด้านร่างกาย จิตใจ อารมณ์ และสังคม การเคลื่อนไหวช้าลง ประสิทธิภาพการทำงานของสมอง และระบบประสาทอัตโนมัติลดลง ความว่องไวในการทำกิจกรรมต่าง ๆ ลดลง การเคลื่อนไหวทำงานไม่สัมพันธ์กัน [4] มีการลดลงของมวลกล้ามเนื้อ ความแข็งแรง พลังของกล้ามเนื้อ และมีปัญหาด้านการทรงตัว ขณะเคลื่อนไหวร่างกายอาจทำให้เกิดการหกล้มหรือได้รับบาดเจ็บได้ง่าย ส่งผลกระทบต่อการดำเนินชีวิตได้ [5] นอกจากนี้ ผู้สูงอายุมักมีปัญหาสุขภาพในระบบต่าง ๆ ของร่างกายที่เปลี่ยนแปลงไป เช่น การทำงานของปอดและหัวใจ เหนื่อยง่าย มวลกระดูกลดลง ปัญหาด้านความจำ หรือความเสื่อมถอยของระบบทางเดินอาหาร เป็นต้น อาจเนื่องจากการเคลื่อนไหวน้อยลง และขาดการออกกำลังกาย อีกทั้งการเปลี่ยนแปลงทางด้านจิตใจยังเป็นปัญหาสำคัญที่เกิดขึ้นกับผู้สูงอายุด้วย ดังนั้น หากผู้สูงอายุได้รับการส่งเสริมสุขภาพด้วยการออกกำลังกายย่อมทำให้มีสุขภาพที่ดีทั้งด้านร่างกายและจิตใจได้ [6] จากการศึกษาที่ผ่านมาได้มีรายงานถึงประโยชน์ของการออกกำลังกายในผู้สูงอายุหลายรูปแบบ ทำให้มีการทรงตัวดีขึ้น [7] กล้ามเนื้อมีความแข็งแรง [8] และร่างกายเกิดความยืดหยุ่น [9] รวมถึงประโยชน์ต่อระบบหัวใจและหลอดเลือด [10] เป็นต้น ซึ่งในปัจจุบันรูปแบบของการออกกำลังกายนั้นมีหลากหลาย มีการปรับประยุกต์เข้ากับกิจกรรมต่าง ๆ เช่น การรำมวย ไทชิ ยางยืด ตารางเก้าอี้ เพื่อให้เกิดความสนุกสนาน จากการศึกษาในอดีตถึงผลระยะสั้นของโปรแกรมการออกกำลังกายด้วยไทชิ เป็นการวิจัยกึ่งทดลองแบบกลุ่มเดียว พบว่าการออกกำลังกายด้วยไทชิ ในระยะเวลา 4 สัปดาห์ ทำให้ผู้สูงอายุมีความยืดหยุ่นและมีการทรงตัวขณะอยู่กับที่ดีขึ้น [11] และในการศึกษาโปรแกรมการออกกำลังกายแบบหลายองค์ประกอบ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ สามารถปรับปรุงสมรรถภาพทางกายของผู้สูงอายุในชุมชน ความแข็งแรงของกล้ามเนื้อ ความยืดหยุ่น การทรงตัวขณะเคลื่อนที่ และความคล่องตัวได้ [12] การออกกำลังกายแบบก้าวตามตารางของเขมภัก เจริญสุขศิริ และคณะปี 2561 ศึกษาผลก่อนและหลังการออกกำลังกายแบบก้าวตามตาราง ในกลุ่มตัวอย่างผู้สูงอายุ ระยะเวลา 2 ครั้ง/สัปดาห์ ทั้งหมด 4 สัปดาห์ พบว่าการทรงตัวขณะอยู่นิ่งและขณะเคลื่อนไหวเพิ่มขึ้น และลดปัญหาคุณภาพชีวิตด้านสุขภาพ ด้านการเคลื่อนไหวและการดูแลตนเอง ในขณะที่การฝึกการ

ทรงตัวมีผลทำให้การทรงตัวขณะเคลื่อนไหวเพิ่มขึ้น [13] และยังมีการศึกษาที่พบว่าการออกกำลังกายด้วยการเดินรำในผู้สูงอายุช่วยปรับการทรงตัวในผู้สูงอายุได้ [14] มีประสิทธิภาพในการลดความเสี่ยงของการหกล้ม และให้ผลดีต่อการทรงตัว การเดิน การเคลื่อนไหว ความแข็งแรงและสมรรถภาพทางกายของผู้สูงอายุได้ [15] นอกจากนี้ยังมีการวิจัยรายงานว่ากิจกรรมนันทนาการสามารถส่งเสริมสมรรถภาพทางกายและคุณภาพชีวิตของผู้สูงอายุได้ด้วย [16] จากที่มาและความสำคัญดังกล่าว และการวิเคราะห์บริบทชุมชนแบบมีส่วนร่วม ณ อำเภอนาเยี่ย จังหวัดอุบลราชธานี พบว่ามีข้อมูลที่น่าสนใจของการทำกิจกรรมกลุ่มผู้สูงอายุและชุมชนมีแผนพัฒนาด้านสุขภาพ (พินิดา กมฺพชาติ, 2564) [17] เป็นชุมชนที่มีชนบทธรรมเนียมประเพณี และวัฒนธรรมที่งดงาม คณะผู้วิจัยจึงได้มีการถ่ายทอดเรื่องราววิถีชีวิตของท้องถิ่นเป็นบทเพลงและทำรำประกอบเพลงของผู้สูงอายุ โดยคนในชุมชน ทำให้ผู้สูงอายุรู้สึกถึงการมีส่วนร่วมได้ ดังนั้น เพื่อเป็นการส่งเสริมสมรรถภาพร่างกายของผู้สูงอายุ ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาผลระยะสั้นของโปรแกรมการออกกำลังกายด้วยท่ารำประกอบเพลงท้องถิ่นต่อการทรงตัว ความแข็งแรง ความยืดหยุ่น และความทนทานของระบบหัวใจและหลอดเลือดในผู้สูงอายุ ตำบลนาเยี่ย อำเภอนาเยี่ย จังหวัดอุบลราชธานี

2. วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลระยะสั้นของการออกกำลังกายด้วยท่ารำประกอบเพลงต่อการทรงตัว ความแข็งแรง ความยืดหยุ่น และความทนทานของระบบหัวใจและหลอดเลือดในผู้สูงอายุ
2. เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่าง ผลของการออกกำลังกายด้วยท่ารำประกอบเพลงที่มีต่อการทรงตัว ความแข็งแรง ความยืดหยุ่น และความทนทานของระบบหัวใจและหลอดเลือดในผู้สูงอายุ

3. วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาวิจัยกึ่งทดลอง แบบกลุ่มเดียว ประชากรที่ใช้ในการวิจัย เป็นผู้สูงอายุที่มีอายุตั้งแต่ 60 ปีขึ้นไป อาศัยอยู่ในอำเภอนาเยี่ย จังหวัดอุบลราชธานี การวิจัยนี้ได้ผ่านการพิจารณาทางจริยธรรมจากคณะกรรมการจริยธรรมในมนุษย์มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี HE631022 และผู้วิจัยได้จัดทำเอกสารชี้แจงรายละเอียดและขั้นตอนในการวิจัย และให้กลุ่มตัวอย่างลงนามยินยอม โดยเป็นไปตามความสมัครใจ กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัยเป็นผู้สูงอายุที่มีอายุตั้งแต่ 60 ปีขึ้นไปอาศัยอยู่ใน อำเภอนาเยี่ย จังหวัดอุบลราชธานี จำนวน 25 คน โดยการเลือกแบบเจาะจง (purposive selection) โดยคำนวณขนาดตัวอย่างด้วยสูตร $(Z\alpha/2 + Z\beta)\sigma/\Delta)^2$ [18]

มีเกณฑ์คัดเข้าและเกณฑ์คัดออก ดังนี้

1. เกณฑ์การคัดเข้า (inclusion criteria)
 - 1.1 สามารถพูดคุยสื่อสารได้
 - 1.2 ไม่เป็นผู้พิการด้านการเคลื่อนไหวร่างกาย
 - 1.3 ไม่มีความผิดปกติทางจิตเวชศาสตร์
2. เกณฑ์การคัดออก (exclusion criteria)
 - 2.1 มีโรคประจำตัวที่เป็นอุปสรรคต่อการออกกำลังกาย เช่น โรคข้อเสื่อมที่เคลื่อนไหวไม่ได้ โรคความดันโลหิตสูงเกิน 160/90 mmHg หรือคำวินิจฉัยจากแพทย์ว่าห้ามออกกำลังกาย
 - 2.2 มีประวัติเจ็บป่วยด้วยโรคทางระบบประสาท

- 2.3 ไม่สามารถเข้าร่วมกิจกรรมการออกกำลังกายได้ติดต่อกัน 2 ครั้ง ภายใน 1 สัปดาห์
- 2.4 อยู่ระหว่างการเข้าร่วมโปรแกรมการออกกำลังกายอื่นใด เป็นเวลาอย่างน้อย 3 เดือน หรือโครงการอื่นใดที่มีผลต่อการเข้าร่วมโปรแกรม (โดยไม่รวมกิจกรรมที่ทำในชีวิตประจำวัน)

4. เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ ประกอบด้วย

1. แบบสอบถามข้อมูลทั่วไป จำนวน 11 ข้อ ได้แก่ เพศ อายุ น้ำหนัก ส่วนสูง ดัชนีมวลกาย โรคประจำตัว ความถี่ในการออกกำลังกาย ระยะเวลาในการออกกำลังกาย การสูบบุหรี่ การดื่มแอลกอฮอล์ ความดันโลหิต
2. การทดสอบสมรรถภาพทางกาย ได้แก่
 - 2.1. การทรงตัว
 - การทรงตัวขณะเคลื่อนไหว (Time Up and Go Test) จะจับเวลาที่ผู้ถูกทดสอบลุกจากเก้าอี้ เดินระยะทาง 3 เมตร และกลับมา นั่งบนเก้าอี้การแปลผลดังนี้ หากใช้เวลาทดสอบตั้งแต่ 20 วินาทีขึ้นไป แสดงว่ามีปัญหาการทรงตัวขณะเคลื่อนไหวมาก หากใช้เวลาทดสอบระหว่าง 10-19 วินาที หมายถึง มีปัญหาการทรงตัวขณะเคลื่อนไหวเล็กน้อยถึงปานกลาง แต่หากใช้เวลาทดสอบน้อยกว่า 10 วินาที หมายถึง มีการทรงตัวขณะเคลื่อนไหวปกติ [19]
 - ทดสอบการทรงตัวขณะอยู่กับที่ (Berg Balance Scale) โดยทำกิจกรรมในท่ายืนและท่านั่ง 14 กิจกรรม แต่ละกิจกรรมมีการให้คะแนน 0 ถึง 4 คะแนน ตามความสามารถของอาสาสมัคร ระดับการต้องการความช่วยเหลือ และระยะเวลาที่ใช้รวม 56 คะแนน [19]
 - 2.2 ความแข็งแรง
 - ทดสอบความแข็งแรงของกล้ามเนื้อขา โดยให้ทำการลุกนั่ง 5 ครั้ง (five times sit to stand test) ลุก-นั่งเก้าอี้ติดต่อกัน 5 ครั้ง และจะต้องเอามือยกดอกไว้ หากผู้ถูกประเมิน ใช้เวลามากกว่า 15 วินาที แสดงว่ามีความเสี่ยงในการหกล้ม [19]
 - 2.3 ความยืดหยุ่น
 - ทดสอบความยืดหยุ่นของร่างกายส่วนบน (back scratch test) ผู้รับการทดสอบเอามือไขว้ไว้ด้านหลัง และผู้รับการทดสอบต้องพยายามเอามือแตะกันให้ได้มากที่สุด และจะทำการวัดระยะระหว่างนิ้วกลางของมือทั้งสองข้างของผู้รับการทดสอบ โดยวัด 2 ครั้ง เลือกค่าที่ดีที่สุด หน่วยเป็นนิ้ว [7]
 - ทดสอบความยืดหยุ่นของร่างกายในท่านั่ง (sit and reach test) โดยนั่งเหยียดขาตรง และสอดเท้าเข้าใต้เครื่องมือวัด เท้าทั้งสองของผู้รับการทดสอบตั้งฉากกับพื้น และชิดกัน ฝ่าเท้าจรดแนบกับที่ยืนเท้า เหยียดแขนตรงขนานกับพื้นแล้วก้มตัวไปข้างหน้า จนผู้รับการทดสอบไม่สามารถก้มต่อไปได้ อ่านระยะจากจุด “0” ถึงปลายมือ บันทึกค่าเป็นเซนติเมตร ถ้าปลายนิ้วมือเลยปลายเท้า บันทึกค่าเป็นบวก ถ้าไม่ถึงให้ค่าเป็นลบ ใช้ค่าที่ดีที่สุดจากการทดสอบทั้งหมด 2 ครั้ง [19]
 - 2.4 ความทนทานของระบบหัวใจและหลอดเลือด
 - ทดสอบความทนทานของระบบหัวใจและหลอดเลือด โดยการเดิน 6 นาที (six-minute Walk test) บนทางราบ ระยะ

30 เมตร ตั้งนาฬิกาไว้ที่ 6 นาที บันทึกระยะทางที่เดินได้ โดยทดสอบ 2 ครั้ง และเลือกค่าที่ดีที่สุด [19]

5. การเก็บรวบรวมข้อมูล

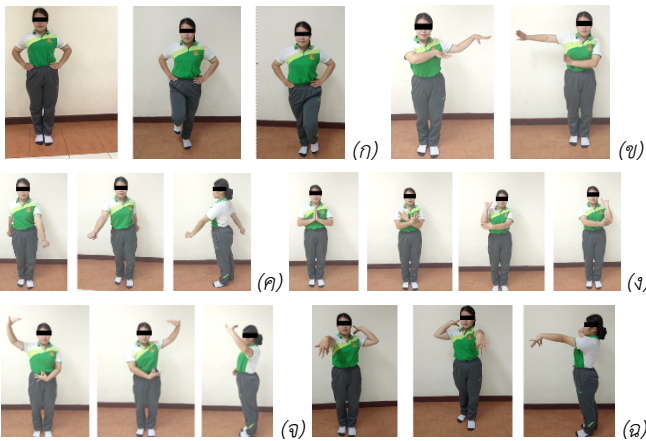
1. เตรียมฝึกซ้อมท่ารำในการออกกำลังกายประกอบเพลง โดยมีการกำหนดจังหวะดนตรีในการออกกำลังกายให้อยู่ในช่วงการออกกำลังกายในระดับปานกลาง โดยคณะผู้วิจัยมีการออกแบบท่า ทำการทดสอบท่าและประเมินความหนักในการออกกำลังกายประกอบเพลงให้เหมาะสมกับการออกกำลังกายแบบ aerobic exercise ก่อนนำไปใช้ทดสอบกับอาสาสมัคร
2. อาสาสมัครที่เข้าร่วมการศึกษาจะต้องผ่านการลงนามในใบยินยอมของอาสาสมัคร กรอกข้อมูลทั่วไปของอาสาสมัคร ได้รับการวัดและประเมินก่อนการเข้าร่วมโปรแกรม เป็นเวลา 30 นาที
3. อาสาสมัครจะได้รับการออกกำลังกายครั้งละ 40 นาที โดยออกกำลังกาย 30 นาที warm-up 5 นาที และ cool down 5 นาที ระยะเวลาการเก็บข้อมูล 4 สัปดาห์ ออกกำลังกายสัปดาห์ละ 3 วัน ประเมินผลก่อน-หลังออกกำลังกาย สัปดาห์ที่ 4 ใช้เวลา 20 นาที/ครั้ง ทำรำออกกำลังกายประกอบเพลง แสดงดังภาพที่ 1-5



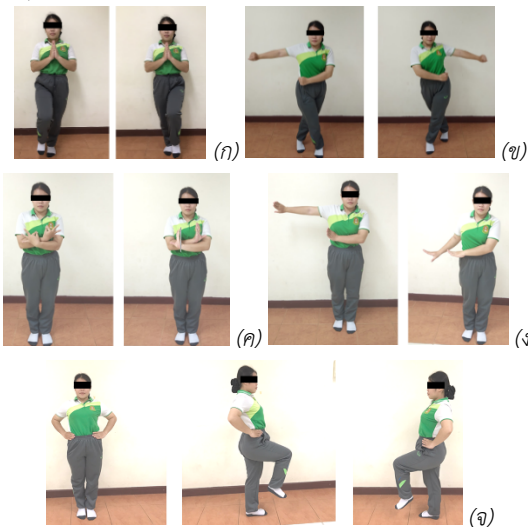
ภาพที่ 1 ท่ายืดกล้ามเนื้อคอ(ก) ท่าเทพพนม(ข) ท่ายืดกล้ามเนื้อ Hamstring(ค)



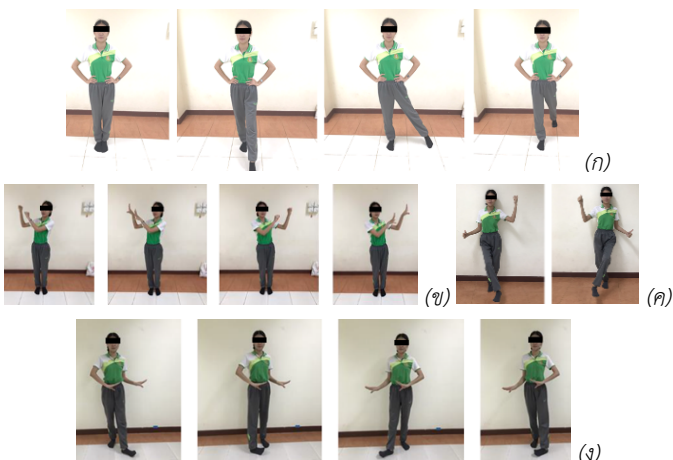
ภาพที่ 2 ท่ายืดกล้ามเนื้อ Adductor group(ก) ท่าแก้เกี้ยว(ข)



ภาพที่ 3 ทำท่าประกอบเพลง ท่าที่ 1 ท่าเท้าเอว ย่ำเท้า(ก) ท่าที่ 2 สะบัดมือ(ข)
ท่าที่ 3 ท่าแกว่งแขน(ค) ท่าที่ 4 ท่ายืนตบมือ(ง) ท่าที่ 5 ท่าตั้งวง(จ)
ท่าที่ 6 ท่าบุญบังไฟ(ฉ)



ภาพที่ 4 ทำท่าประกอบเพลง ท่าที่ 7 ท่าพนมมือ(ก) ท่าที่ 8 ท่ากระดกข้อมือ(ข)
ท่าที่ 9 ท่าเดินหน้า 4 ก้าว(ค) ท่าที่ 10 ท่ากวักมือขึ้นลง(ง)
ท่าที่ 11 ท่ามือเท้าเอวยกขา(จ)



ภาพที่ 5 ทำท่าประกอบเพลง ท่าที่ 12 ท่าเท้าเอว ก้าวขา (ก)
ท่าที่ 13 ท่าหุบบน-ล่าง(ข) ท่าที่ 14 ท่าเข็งกระดืบ(ค) ท่าที่ 15 ท่าหมุนเท้า
สะบัดมือ(ง)

6. การวิเคราะห์ข้อมูล

- สถิติเชิงพรรณนา หาค่าความถี่ และค่าร้อยละของข้อมูลทั่วไป
- สถิติเชิงอนุมาน ใช้สถิติ Paired-Samples T Test หาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน หาค่าการทรงตัว แข็งแรง ความยืดหยุ่น และความทนทานของระบบหัวใจและหลอดเลือดในผู้สูงอายุ
- ใช้สถิติ Wilcoxon signed rank test เปรียบเทียบค่าการทรงตัวขณะอยู่กับที่ เนื่องจากข้อมูลมีการแจกแจงแบบไม่ปกติ

7. ผลการวิจัย

งานวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาผลระยะสั้นของโปรแกรมการออกกำลังกายต่อการทรงตัว แข็งแรง ความยืดหยุ่น และความทนทานของระบบหัวใจและหลอดเลือดในผู้สูงอายุ ใช้เวลาออกกำลังกาย 40 นาที ในอาสาสมัครจำนวน 18 คน เนื่องจากมีอาสาสมัครไม่สามารถเข้าร่วมการออกกำลังกายได้ติดต่อกันมากกว่า 2 สัปดาห์ และมีเหตุสุดวิสัยที่ไม่สามารถเข้าร่วมการศึกษาต่อได้ จำนวน 7 คน

7.1 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

ตารางที่ 1 จำนวนและร้อยละ ข้อมูลทั่วไปของอาสาสมัคร (n=18)

ข้อมูลส่วนบุคคลทั่วไป	อาสาสมัคร 18 คน
อายุ (ปี) คน (%)	
60-64 ปี	6 (33.30)
65-70 ปี	7 (38.90)
75-80 ปี	5 (27.80)
น้ำหนัก (กก.) คน (%)	
45 – 55 กิโลกรัม	11 (61.10)
56 – 65 กิโลกรัม	4 (22.20)
66 – 75 กิโลกรัม	1 (5.60)
76 – 85 กิโลกรัม	2 (11.10)
ส่วนสูง (ซม.) คน (%)	
140 – 150 เซนติเมตร	7 (38.88)
151 – 160 เซนติเมตร	10 (55.56)
161 – 170 เซนติเมตร	1 (5.56)
เพศ คน (%)	
ชาย	2 (11.10)
หญิง	16 (88.90)
ดัชนีมวลกาย (กก./ม²)	
น้อยกว่า 18.50	10 (55.56)
ระหว่าง 18.50 – 22.90	7 (38.88)
ระหว่าง 25 – 29.90	1 (5.56)

ข้อมูลส่วนบุคคลทั่วไป	อาสาสมัคร 18 คน
โรคประจำตัว คน (%)	
เบาหวาน	4 (22.20)
ความดันโลหิตสูง/ต่ำ	5 (27.78)
ลมชัก	1 (5.56)
ไขมันในเลือด	3 (16.70)
ไทรอยด์	1 (5.56)
ไม่มีโรคประจำตัว	4 (22.20)
การสูบบุหรี่ คน (%)	
ไม่สูบ / เลิกแล้ว	18 (100)
การดื่มแอลกอฮอล์ คน (%)	
ไม่ดื่ม / เลิกแล้ว	14 (77.80)
ปัจจุบันดื่มแอลกอฮอล์	4 (22.20)
ความดันโลหิต (Mean±SD)	
แรงดันโลหิตขณะบีบตัว	130.11±17.33
แรงดันโลหิตขณะคลายตัว	76.94±12.18

จากตารางที่ 1 แสดงลักษณะข้อมูลทั่วไปของอาสาสมัครทั้งหมด พบว่า อาสาสมัครส่วนใหญ่มีอายุอยู่ในช่วง 65-70 ปี คิดเป็นร้อยละ 38.90 น้ำหนัก 45-55 กิโลกรัม คิดเป็นร้อยละ 61.10 ส่วนสูง 151-160 เซนติเมตร คิดเป็นร้อยละ 55.56 เพศหญิง คิดเป็นร้อยละ 88.90 ดัชนีมวลกายน้อยกว่า 18.50 คิดเป็นร้อยละ 55.56 โรคความดันโลหิตสูง/ต่ำ คิดเป็นร้อยละ 27.80 ส่วนใหญ่ไม่สูบบุหรี่ ร้อยละ 100 ไม่ดื่มแอลกอฮอล์ ร้อยละ 77.80 มีความดันโลหิตขณะบีบตัว ค่าเฉลี่ย 130.11±17.33 มิลลิเมตรปรอท ความดันโลหิตขณะคลายตัว ค่าเฉลี่ย 76.94±12.18 มิลลิเมตรปรอท

ตารางที่ 2 แสดงค่าตัวแปรด้านการทรงตัวขณะเคลื่อนไหว ความแข็งแรง ความยืดหยุ่น และความทนทาน ก่อนและหลังการออกกำลังกาย สัปดาห์ที่ 4 แสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวแปร	ระยะเวลาออกกำลังกาย 4 สัปดาห์			
	ก่อน	หลัง	ความแตกต่างของค่าเฉลี่ย (95% CI)	P - value
การทรงตัวขณะเคลื่อนไหว (วินาที)	11.73 ±2.36	9.91 ±1.29	1.82 (0.89 ถึง 2.75)	0.001*

ตัวแปร	ระยะเวลาออกกำลังกาย 4 สัปดาห์			
	ก่อน	หลัง	ความแตกต่างของค่าเฉลี่ย (95% CI)	P - value
ความแข็งแรงของกล้ามเนื้อขาด้วยการลุกนั่ง 5 ครั้ง (วินาที)	19.21 ±6.96	17.68 ±4.29	1.52 (-0.82 ถึง 3.88)	0.188
ทดสอบความยืดหยุ่นของร่างกายส่วนบนข้างขวา (นิ้ว)	9.33 ±4.17	6.39 ±4.65	2.94 (0.79 ถึง 5.09)	0.01*
ทดสอบความยืดหยุ่นของร่างกายส่วนบนข้างซ้าย (นิ้ว)	8.56 ±5.39	7.44 ±4.63	1.11 (-1.16 ถึง 3.38)	0.317
ทดสอบความยืดหยุ่นของร่างกายส่วนล่างในท่านั่ง (ชม.)	11.67 ±5.78	14.28 ±4.90	2.61 (0.78 ถึง 4.44)	0.001*
การเดิน 6 นาที (เมตร)	309.83 ±49.12	300.00 ±54.26	20.83 (-1.08 ถึง 42.75)	0.061

หมายเหตุ : *มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

CI: confidence interval

จากตารางพบว่า ผลการทดสอบการทรงตัวขณะเคลื่อนไหว ก่อนออกกำลังกายมีค่า 11.73±2.36 วินาที หลังออกกำลังกาย 4 สัปดาห์มีค่า 9.91±1.29 วินาที (95% CI อยู่ระหว่าง 0.89 ถึง 2.75) มีค่า p-value เท่ากับ 0.001 ผลการทดสอบความยืดหยุ่นของร่างกายส่วนบนข้างขวา ก่อนออกกำลังกายมีค่า 9.33±4.17 นิ้ว หลังออกกำลังกาย 4 สัปดาห์ มีค่า 6.39±4.65 นิ้ว (95% CI อยู่ระหว่าง 0.79 ถึง 5.09) มีค่า p-value เท่ากับ 0.01 และผลการทดสอบความยืดหยุ่นของร่างกายส่วนล่างในท่านั่ง ก่อนออกกำลังกายมีค่า 11.67±5.78 เซนติเมตร หลังออกกำลังกาย 4 สัปดาห์ มีค่า 14.28±4.90 เซนติเมตร (95% CI อยู่ระหว่าง 0.78 ถึง 4.44) มีค่า p-value เท่ากับ 0.001

ตารางที่ 3 แสดงค่าตัวแปรทดสอบการทรงตัวขณะอยู่กับที่ ก่อนและหลังการออกกำลังกาย สัปดาห์ที่ 4 แสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวแปร				Z	P
ทดสอบการทรงตัวขณะอยู่กับที่ (วินาที)	mean	median	SD		
ก่อน	52.78	54.00	3.96	-0.468	0.647
หลัง	53.11	54.00	3.20		

จากตารางที่ 3 แสดงค่าตัวแปรก่อนและหลังการออกกำลังกาย สัปดาห์ที่ 4 วิเคราะห์โดย Nonparametric test ใช้สถิติ Wilcoxon signed-rank test พบว่าการทดสอบการทรงตัวขณะอยู่กับที่ ก่อนการทดลองค่าเฉลี่ย เท่ากับ 52.78 ± 3.96 คะแนน หลังการทดลอง เท่ากับ 53.11 ± 3.20 คะแนน p-value เท่ากับ 0.647 ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

8. อภิปรายผลการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการศึกษามูลของการออกกำลังกายด้วยท่ารำ ประกอบเพลงต่อการทรงตัว ความแข็งแรง ความยืดหยุ่น และความทนทานของระบบหัวใจและหลอดเลือดในผู้สูงอายุจำนวน 18 คน พบว่า การทรงตัวขณะเคลื่อนไหว ความยืดหยุ่นของร่างกายส่วนบน ข้างขวา ความยืดหยุ่นของร่างกายส่วนล่างพบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

8.1 การทรงตัว

- การทรงตัวขณะเคลื่อนไหว

จากการเปรียบเทียบผลภายในกลุ่ม พบว่าภายหลังได้รับโปรแกรมการออกกำลังกาย การทรงตัวขณะเคลื่อนไหว มีค่าเฉลี่ยลดลง 1.82 วินาที อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.001$) ผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาการออกกำลังกาย เป็นการวิจัยกึ่งทดลอง แบบ one group pretest-posttest design พบว่าการทดสอบการทรงตัวด้วยวิธี Timed Up and Go test มีค่าดีขึ้นในสัปดาห์ที่ 4 ของการทดลอง ($p < 0.05$) และดีขึ้นตามลำดับจนสิ้นสุดโปรแกรม ภายหลังจากผู้สูงอายุได้รับการออกกำลังกายแบบผสมผสาน [20] และนอกจากนี้ในการศึกษาผลของการออกกำลังกายด้วยเพลงลีลาซังหะบีกินต่อสมรรถภาพการทรงตัวและการเดินในผู้สูงอายุไทยที่มีประวัติหกล้ม ระยะเวลาออกกำลังกาย 30 นาทีต่อครั้ง ความถี่ในการฝึก 2 ครั้งต่อสัปดาห์ รวมระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าค่า Timed Up and Go test หลังออกกำลังกายลดลง 2.11 วินาที อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) [21]

- การทดสอบการทรงตัวขณะอยู่กับที่

จากการเปรียบเทียบผลภายในกลุ่ม พบว่าภายหลังได้รับโปรแกรมการออกกำลังกาย การทดสอบการทรงตัวขณะอยู่กับที่ หลังการทดลอง เท่ากับ 53.11 ± 3.20 วินาที $p = 0.647$ ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งแตกต่างจากผลการศึกษาโปรแกรมการออกกำลังกายแบบ Progressive step marching exercise สามารถปรับปรุงความสามารถในการทรงตัวของผู้สูงอายุได้ในระยะเวลา 4 สัปดาห์ [22] โดยโปรแกรมสามารถเพิ่มประสิทธิภาพความสมดุลและความสามารถในการทำงานเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมได้ และไม่สอดคล้องกับการศึกษาผลของการออกกำลังกายแบบผสมผสาน การทดสอบการทรงตัวด้วยวิธี berg balance scale มีค่าดีขึ้น ในสัปดาห์ที่ 4 ($p < 0.05$) ของการทดลอง [20] สมฤทัย พุ่มสลด และคณะ (2554) ศึกษาผลของการออกกำลังกายด้วยยางยืดต่อความสามารถในการทรงตัวของผู้สูงอายุ พบว่า โปรแกรมการออกกำลังกายด้วยยางยืด เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ช่วยเพิ่มความสามารถในการทรงตัวในผู้สูงอายุได้ [23] จะเห็นได้ว่าหากผู้สูงอายุมีการยืนได้นานขึ้นจะลดความเสี่ยงในการล้ม และปรับความสมดุลในการทรงตัวได้ดีขึ้น

เช่นเดียวกับผลของการออกกำลังกายแบบใช้ยางยืด เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ในอาสาสมัคร ซึ่งพบว่าการทรงตัวดีขึ้นหลังจากออกกำลังกาย [24] การออกกำลังกาย 4 สัปดาห์สามารถพัฒนาการทรงตัวในผู้สูงอายุได้ [25] นอกจากนี้ในผลการศึกษาที่ใช้ระยะเวลาการฝึกนานขึ้น ดังการศึกษาผลของการออกกำลังกายด้วยเพลงลีลาซังด้วยตนเองที่บ้านต่อสมรรถภาพการทรงตัวและการเดินในผู้สูงอายุไทย รวมระยะเวลาฝึก 6 สัปดาห์ พบว่ามีค่าการทรงตัวขณะอยู่กับที่ เพิ่มขึ้น 2.60 คะแนน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) [21] ส่วนการออกกำลังกายแบบซิงก์อย่างต่อเนื่อง นาน 30 นาทีต่อครั้ง ความถี่ 3 ครั้งต่อสัปดาห์ เป็นระยะเวลาทั้งหมด 6 สัปดาห์ พบว่ามีค่าการทรงตัวขณะอยู่กับที่โดยใช้วิธี Berg balance scale ในการวัดการทรงตัวขณะอยู่กับที่ของร่างกาย พบว่ามีค่าก่อนและหลังออกกำลังกายแบบซิงก์ จาก 45.94 ± 4.85 เป็น 51.56 ± 4.08 คะแนน อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.000$) [26]

จากผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าการออกกำลังกาย 4 สัปดาห์ เพิ่มความสามารถในการทรงตัวขณะเคลื่อนไหว และมีแนวโน้มจะเพิ่มความสามารถในการทรงตัวขณะอยู่กับที่ เนื่องจากมีการฝึกการควบคุมการทรงตัวและผ่านการควบคุมสมดุลของร่างกาย โดยผู้สูงอายุเกิดการเรียนรู้ท่ารำประกอบเพลง ปรับแก้ไขท่าทำให้ถูกต้อง อาจจะเพิ่มความสามารถในการควบคุมการทรงตัวผ่านกลไกการควบคุมตนเอง ซึ่งจะส่งผลให้ลดโอกาสความผิดพลาดของการเคลื่อนไหวร่างกาย ควบคุมการทรงตัวของร่างกายดีขึ้น หากผู้สูงอายุได้รับการฝึกต่อเนื่องอาจมีผลทำให้เพิ่มความสามารถของการปรับตัวของระบบประสาท ผ่านขบวนการ neuroplastic reorganization นำไปสู่การปรับตัวที่ดีของระบบสั่งการได้ [27] เมื่ออายุมากขึ้น ความหนาแน่นของมวลกระดูกลดลง และขนาดกล้ามเนื้อเล็กลง ปริมาณกล้ามเนื้อลดลง ส่งผลโดยตรงต่อกล้ามเนื้อขาซึ่งใช้ในการเคลื่อนไหวทำให้เคลื่อนไหวช้าลง สูญเสียการทรงตัว และหากขาดการออกกำลังกายอย่างต่อเนื่อง จะส่งผลให้ผู้สูงอายุขาดความยืดหยุ่นของกล้ามเนื้อ กระดูกและข้อต่อไม่แข็งแรง ดังนั้น การส่งเสริมให้ผู้สูงอายุออกกำลังกายสม่ำเสมอมีผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของกล้ามเนื้อและข้อต่อ เพิ่มการทรงตัวในผู้สูงอายุได้ [5]

8.2 ความแข็งแรงของกล้ามเนื้อ

จากการเปรียบเทียบผลภายในกลุ่ม พบว่าภายหลังได้รับโปรแกรมการออกกำลังกาย ความแข็งแรงของกล้ามเนื้อขา มีค่าเฉลี่ยลดลง 1.52 นาที จาก 19.21 ± 6.96 เป็น 17.68 ± 4.29 นาที อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.188$) การศึกษาครั้งนี้ไม่สอดคล้องกับการศึกษาผลระยะสั้นของการฝึกออกกำลังกายด้วยโปรแกรมช่วยสอนออกกำลังกายกลองโคเนคในผู้สูงอายุ เมื่อเปรียบเทียบก่อน-หลังการออกกำลังกาย 4 สัปดาห์ มีค่าความแข็งแรงของกล้ามเนื้อ เพิ่มขึ้น 1.490 นาที มีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.301$) [27] และการศึกษาผลของการออกกำลังกายด้วยยางยืด พบว่า โปรแกรมการออกกำลังกายด้วยยางยืด เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ช่วยเพิ่มความสามารถในการเพิ่มความแข็งแรงของกล้ามเนื้อขาในผู้สูงอายุได้ [23] เช่นเดียวกับผลของโปรแกรมการออกกำลังกายแบบ Progressive step marching exercise พบว่าเมื่อประเมินด้วยวิธี five times sit to stand test แล้ว ผู้สูงอายุที่ได้รับโปรแกรมการออกกำลังกายมีความแข็งแรงของกล้ามเนื้ออย่างมีนัยสำคัญขึ้น ในระยะเวลา 4 สัปดาห์ [22] นอกจากนี้

การศึกษาผลของการออกกำลังกายด้วยตาราง 9 ช่อง ต่อการทรงตัว ในผู้สูงอายุเพศหญิง พบว่าเมื่อสิ้นสุดการศึกษา 4 สัปดาห์อาสาสมัครมีความแข็งแรงของกล้ามเนื้อขามากกว่ากลุ่มควบคุมที่ได้รับการออกกำลังกายเพื่อเพิ่มความสามารถในการทรงตัวแบบดั้งเดิม ($P=0.03$) [28] การศึกษาสมรรถภาพทางกายของผู้สูงอายุภายหลังออกกำลังกาย 4 สัปดาห์ พบว่ากลุ่มทดลองมีความแข็งแรงและความทนทานของกล้ามเนื้อขาและสะโพกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเนื่องจากโปรแกรมการออกกำลังกายมีผลต่อความแข็งแรงของกล้ามเนื้อ ขา และสะโพก ความอ่อนตัว และความเสียหายกล้ามเนื้อของผู้สูงอายุได้ เป็นการออกกำลังกายแบบแรงต้านทาน (Body weight training) สามารถช่วยป้องกันอุบัติเหตุของผู้สูงอายุและสร้างความแข็งแรงและความทนทานของกล้ามเนื้อขาและสะโพก [29] ส่วนระยะเวลาการฝึกที่นานขึ้น ดังในการศึกษาการฝึกความแข็งแรงของกล้ามเนื้อเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ ช่วยเพิ่มสมรรถภาพการทำงานของกล้ามเนื้อของผู้สูงอายุได้ เป็นผลจากการเพิ่มแรงเริ่มต้นอย่างรวดเร็ว จึงมีผลตอบสนองต่อการออกกำลังกายในระยะสั้น กลไกนี้เป็นการเปลี่ยนแปลงที่มีการเพิ่มขึ้นของหน่วยมอเตอร์ของกล้ามเนื้อ (motor units) และ การประสานงานของกล้ามเนื้อ (inter- and intramuscular coordination) [30]

สำหรับการวิจัยครั้งนี้ยังไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของความแข็งแรงของกล้ามเนื้อขา แต่พบว่ามีแนวโน้มที่ดีขึ้น อาจเนื่องจากโปรแกรมการออกกำลังกาย ทำท่าประกอบเพลง มีการทำซ้ำแต่ละท่า ก่อนที่จะเปลี่ยนท่าต่อไป ซึ่งเป็นการเพิ่มความทนทานของกล้ามเนื้อขา และเพิ่มความแข็งแรงของกล้ามเนื้อขา เช่น ทำยืดกล้ามเนื้อขาด้านหลังซึ่งมีการงอสะโพก (hip flexion) ซึ่งเป็นการทำงานของกล้ามเนื้อขา อาจจะสามารถเพิ่มมวลของกล้ามเนื้อได้ โดยการออกกำลังกาย 3 วัน/สัปดาห์ อย่างสม่ำเสมอและเป็นประจำ ดังนั้น หากศึกษาผลระยะยาวอาจจะพบการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจนขึ้น ส่วนในการออกกำลังกายด้วยวิธีอื่น เช่น การใช้ยางยืดนั้น จะเห็นได้ว่าเป็นการออกกำลังกายที่ใช้แรงจากยางยืด ซึ่งมีความต้านทาน (Resistance) เกิดขึ้นมากกว่า ช่วยเสริมสร้างความแข็งแรงและความอดทนของกล้ามเนื้อได้ดี ซึ่งเป็นการเน้นการออกกำลังกายประเภทเสริมสร้างความแข็งแรง จึงพบความแตกต่างภายหลังการศึกษา

8.3 ความยืดหยุ่น

- ความยืดหยุ่นของร่างกายส่วนบน

จากการเปรียบเทียบผลภายในกลุ่ม พบว่าภายหลังได้รับโปรแกรมการออกกำลังกาย ความยืดหยุ่นของร่างกายส่วนบนข้างขวามีค่าลดลง 2.94 นิ้ว จาก 9.33 ± 4.17 นิ้ว เป็น 6.39 ± 4.65 นิ้ว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p\text{-value} = 0.01$ ข้างซ้ายพบว่ามีค่าลดลง 1.11 นิ้ว จาก 8.56 ± 5.39 นิ้ว เป็น 7.44 ± 4.63 นิ้ว อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ $p\text{-value} = 0.317$ ซึ่งสอดคล้องบางส่วนกับการศึกษาผลการฝึกซิกก ไทจีและโยคะที่มีต่อการทรงตัวและสมรรถภาพทางกาย ในการออกกำลังกาย 60 นาทีต่อครั้ง 2 ครั้งต่อสัปดาห์ 4 สัปดาห์ พบว่าค่า Back scratch test มีค่าเฉลี่ยข้างขวา -6.64 เซนติเมตร จาก -6.69 ± 10.28 เป็น 0.05 ± 11.13 เซนติเมตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.003$) ค่าเฉลี่ยข้างซ้าย 1.75 เซนติเมตร จาก -6.69 ± 10.28 เป็น -4.94 ± 10.40 เซนติเมตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.217$) [31]

นอกจากนั้น ความยืดหยุ่นของร่างกายส่วนบน ซึ่งมีท่าประกอบเพลงที่ส่งเสริมความยืดหยุ่นของร่างกายส่วนบนได้ดี ท่าตั้งวง ท่าบุญบังไฟ เป็นต้น ความยืดหยุ่นของร่างกายส่วนบนเฉพาะข้างขวามีค่าที่ดีขึ้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) อาจจะมีสาเหตุจากความถนัดในการใช้แขน ซึ่งข้อมูลของอาสาสมัครส่วนใหญ่ถนัดใช้แขนข้างขวา แต่อย่างไรก็ตาม ความยืดหยุ่นของร่างกายส่วนบน ข้างซ้ายมีแนวโน้มที่ดีขึ้น ดังนั้น การศึกษาในอนาคตควรศึกษาผลระยะยาวของโปรแกรมการออกกำลังกายทำท่าประกอบเพลง

- ความยืดหยุ่นของร่างกายส่วนล่างในท่ายืน

จากการเปรียบเทียบผลภายในกลุ่ม พบว่าภายหลังได้รับโปรแกรมการออกกำลังกาย ความยืดหยุ่นของร่างกายในท่ายืนมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้น 2.61 เซนติเมตร จาก 11.67 ± 5.78 เป็น 14.28 ± 4.90 เซนติเมตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.001$) สอดคล้องกับการศึกษาประสิทธิภาพของโปรแกรมการออกกำลังกายแบบกลุ่มด้วยบอลต่อการทรงตัวและความยืดหยุ่นในผู้ป่วยจิตเวชสูงอายุ ที่เข้าร่วมโปรแกรมออกกำลังกายแบบกลุ่มด้วยบอล 3 ครั้ง/สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่ามีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้น 4.12 เซนติเมตร จาก -3.75 ± 7.72 เป็น 7.87 ± 2.00 เซนติเมตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P=0.001$) [32] และผลการศึกษาสอดคล้องกับผลการฝึกซิกก ไทจีและโยคะที่มีต่อการทรงตัวและสมรรถภาพทางกายในหญิงสูงอายุ ที่ออกกำลังกาย 60 นาที/ครั้ง 2 ครั้ง/สัปดาห์ 4 สัปดาห์ พบว่าค่า Sit and reach test มีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้น 1.5 เซนติเมตร จาก 14.81 ± 9.20 เป็น 16.31 ± 8.22 เซนติเมตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P=0.141$) [31] การศึกษาของชิตชนก ศรีราชและคณะ (2564) ศึกษาความอ่อนตัวด้วยโปรแกรมการฝึกยืดเหยียดกล้ามเนื้อในผู้สูงอายุ พบว่าภายหลังได้รับโปรแกรม 4 สัปดาห์มีความอ่อนตัวมากกว่าก่อนการทดลอง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.05$) นอกจากนี้เมื่อทดลองจนสิ้นสุดโปรแกรม พบว่าหลังการทดลอง 8 สัปดาห์ ระดับความอ่อนตัวมีค่าเพิ่มขึ้นกว่า 4 สัปดาห์ [33] ดังนั้น จึงอธิบายได้ว่าระยะเวลาการออกกำลังกายต่อเนื่อง ทำให้ความอ่อนตัวเพิ่มมากขึ้น เช่นเดียวกับการศึกษาผลของการออกกำลังกายด้วยมวยไทย 8 สัปดาห์ พบว่ามีค่าความยืดหยุ่นของร่างกายส่วนล่างเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.008$) [34]

สำหรับการศึกษานี้ที่พบความยืดหยุ่นของร่างกายส่วนล่างในท่ายืนที่ดีขึ้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) อาจเนื่องมาจากระหว่างการออกกำลังกายด้วยท่าประกอบเพลง ร่างกายมีการเคลื่อนไหว ส่วนของกล้ามเนื้อ เอ็น และข้อต่อต่าง ๆ เช่น ท่าแกว่ง แขนยกเท้าอยู่กับที่ เช่น กล้ามเนื้อ Vastus medialis และ Semitendinosus เมื่อกล้ามเนื้อเกิดการหดตัวและมีการเปลี่ยนแปลงความตึงตัวจะช่วยให้กล้ามเนื้อบริเวณข้อต่อต่าง ๆ มีความยืดหยุ่นมากขึ้น สามารถทำการเคลื่อนไหวทิศทางต่าง ๆ เช่น การหุบ การกาง หรือการเหยียดได้มากขึ้น โดยเฉพาะการออกกำลังกายแบบยืดเหยียดในช่วงอบอุ่นร่างกาย และคลายอุ่น จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการเคลื่อนไหว ทำให้มีความยืดหยุ่นมากขึ้น พิสัยการเคลื่อนไหวของข้อดีขึ้น [35]

8.4 ความทนทานของระบบหัวใจและหลอดเลือด

จากการเปรียบเทียบผลภายในกลุ่ม พบว่าภายหลังได้รับโปรแกรมการออกกำลังกาย ทดสอบความทนทานของระบบหัวใจและหลอดเลือดโดยการทดสอบการเดิน 6 นาที มีค่าเฉลี่ยลดลง 20.83 เมตร จาก 309.83 ± 49.12 เป็น 300.00 ± 54.26 เมตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.061$) ผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาโปรแกรมการออกกำลังกายแบบหลายองค์ประกอบ ด้วยการออกกำลังกายแบบทรงตัว การเสริมความแข็งแรง และการออกกำลังกายแบบยืดกล้ามเนื้อ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ สามารถปรับปรุงสมรรถภาพทางกายของผู้สูงอายุในชุมชนได้ ในด้านความแข็งแรงของร่างกายส่วนล่างและส่วนบน ความยืดหยุ่น การทรงตัวขณะเคลื่อนไหว ความคล่องตัว แต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงด้านความทนทาน และองค์ประกอบของร่างกาย [12] ซึ่งมีความแตกต่างกับการศึกษาที่ใช้ระยะเวลาสั้นขึ้น การออกกำลังกายแบบซิก เป็นระยะเวลาทั้งหมด 6 สัปดาห์ พบว่า มีค่าความทนทานของระบบหัวใจและหลอดเลือด เพิ่มขึ้น 18.51 เมตร จาก 319.00 ± 52.59 เป็น 337.50 ± 48.78 เมตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.001$) [36] การศึกษาการรำไทยในผู้สูงอายุต่อความคล่องตัวและอัตราการหกล้มในผู้สูงอายุ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ มีค่าความทนทานของระบบหัวใจและหลอดเลือด เพิ่มขึ้น 13.5 เมตร จาก 332.2 ± 48.8 เป็น 354.7 ± 46.6 เมตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.01$) [26]

ในการศึกษานี้ เป็นการศึกษาผลระยะสั้น 4 สัปดาห์ จึงยังไม่พบความแตกต่างด้านความทนทานของระบบหัวใจและหลอดเลือด แต่มีแนวโน้มดีขึ้น ซึ่งการออกกำลังกายที่พบการเปลี่ยนแปลงของความทนทานของหัวใจและหลอดเลือดได้ชัดเจนจะอยู่ในช่วง 12 สัปดาห์ [37] ในการศึกษา เป็นการออกกำลังกายที่มีระดับความหนักระดับปานกลาง เป็นระดับที่มีความเหมาะสมสำหรับผู้สูงอายุ [38] ทำให้ความสามารถในการใช้ออกซิเจนสูงสุดของร่างกายมีค่าเพิ่มขึ้นได้ จึงสามารถช่วยพัฒนาสมรรถภาพทางกาย ของผู้สูงอายุในด้านความทนทานของปอดและหัวใจได้ด้วย และหากเมื่อมีการออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมอและต่อเนื่องเป็นระยะเวลานานขึ้น อาจจะส่งผลให้ความสามารถในการทำหน้าที่ของร่างกายดีขึ้น ไม่อ่อนล้าง่าย

9. บทสรุป

ผลการศึกษา พบว่าภายหลังผู้สูงอายุได้รับโปรแกรมการออกกำลังกายทำรำประกอบเพลงท้องถิ่นเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ เพิ่มความสามารถในการทรงตัวขณะเคลื่อนไหว ความยืดหยุ่นของร่างกายส่วนบนข้างขวา ความยืดหยุ่นของร่างกายส่วนล่างในท่านั่ง และมีแนวโน้มจะเพิ่มความสามารถในการทรงตัวขณะอยู่กับที่ ความแข็งแรงของกล้ามเนื้อขา และความทนทานของระบบหัวใจและหลอดเลือด ดังนั้น จึงสามารถนำโปรแกรมการออกกำลังกายด้วยทำรำประกอบเพลงดังกล่าวไปใช้เป็นแนวทางในการส่งเสริมสุขภาพผู้สูงอายุในด้านความสามารถในการทรงตัวขณะเคลื่อนไหว ความยืดหยุ่นร่างกายได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณนางสาวสุกัญญา บุญศิริ นางสาวลัดดา ซาหา และนางสาวกนกวรรณ กะนะหาวงศ์ นักศึกษาหลักสูตรการแพทย์แผนไทย ผู้ช่วยดำเนินการวิจัย อาสาสมัครผู้เข้าร่วมงานวิจัย และโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลนาเยี่ย อำเภอนาเยี่ย จังหวัดอุบลราชธานี

ข้อเสนอแนะ

ในการศึกษาครั้งต่อไป ควรเลือกกลุ่มตัวอย่างที่มีความแตกต่างของความถี่ในการออกกำลังกายต่อสัปดาห์ และมีการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม ควรมีการขยายผลการศึกษาโปรแกรมการออกกำลังกายทำรำประกอบเพลง ไปยังผู้สูงอายุในพื้นที่อื่น ๆ หรือหากการดำเนินการภายใต้สถานการณ์โรคระบาดโควิด-19 อาจจะเป็นการจัดโปรแกรมลักษณะ telehealth เพื่อให้ผู้สูงอายุสามารถออกกำลังกายได้เองตามวิดีโอ และกำกับติดตามเพื่อรายงานผลต่อไป

ข้อจำกัดของการศึกษา

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการวิจัยกึ่งทดลอง แบบกลุ่มเดียววัดก่อน-หลังออกกำลังกาย 4 สัปดาห์ ผลการศึกษาจึงเป็นผลการประเมินผู้สูงอายุกลุ่มทดลองเพียงกลุ่มเดียว

เอกสารอ้างอิง

1. World Health Organization. Ageing and health [Internet]. [cited 2021 Dec 14]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/ageing-and-health>.
2. กระทรวงการพัฒนาสังคมและความมั่นคงของมนุษย์ สำนักส่งเสริมและพิทักษ์ผู้สูงอายุ. พระราชบัญญัติผู้สูงอายุ พ.ศ. 2546 (ออนไลน์). (สืบค้นเมื่อ 20 เมษายน 2564). จาก: <https://www.bangkokhealth.com/การดูแลสุขภาพผู้สูงอายุ>.
3. กรมสุขภาพจิต. ก้าวย่างของประเทศไทยสู่สังคมผู้สูงอายุอย่างสมบูรณ์แบบ (ออนไลน์). (สืบค้นเมื่อ 20 เมษายน 2564). จาก: <https://www.dmh.go.th/news-dmh/view.asp?id=30476>.
4. Morrow J. R.P., A.W. Jackson, J.G. Disch and D.P. Mood. Measurement and Evaluation in Human Performance. Illinois: Human Kinetics. 2000.
5. สถาบันเวชศาสตร์ผู้สูงอายุ. แนวทางการดูแลรักษากลุ่มอาการสูงอายุ. กรุงเทพฯ: อีส ออกลิส จำกัด. 2558.
6. Stanton R, Reaburn P. Exercise and the treatment of depression: A review of the exercise program variables. Journal of Science and Medicine in Sport [Internet]. [cited 2021 Nov 20]; 17(2): 177–82. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1440244013000583>
7. วีระยุทธ แก้วโมกข์. ผลการทำกายบริหารแบบมีเวทีต่อการทรงตัว ความยืดหยุ่น และความแข็งแรงของผู้สูงอายุ. วารสารบูรพาเวชสาร. 2560; 4(11): 31-38.
8. Cartee GD, Hepple RT, Bamman MM, Zierath JR. Exercise Promotes Healthy Aging of Skeletal Muscle Primary versus Secondary Aging: Setting the Stage. Cell Metabolism [Internet]. [cited 2021 Nov 10]; 23(6): 1034–47. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5045036/pdf/nihms814819.pdf>

9. ทิตติภา ศรีสมัย และคณะ. ผลของการออกกำลังกายด้วยรำมวยโบราณประยุกต์ต่อสมรรถภาพทางกายในผู้สูงอายุชาวไทย. วารสารเวชศาสตร์ร่วมสมัย. 2560; 61(6): 746-755.
10. นัตริทิพย์ เพ็ชรชลาสัย และสุวิทย์ อุดมพาณิชย์. ผลของโปรแกรมการออกกำลังกายด้วยยางยืดต่อสมรรถภาพทางกายในผู้สูงอายุไทย. วารสารวิจัยสาธารณสุขศาสตร์. 2562; 12(2): 52-61.
11. ทิวิมา มหาพรหม สุปรีดา มั่นคง ศุภร วงศ์ทัตญญ. ผลของการออกกำลังกายด้วยไทชิต่อท่าทางและการทรงตัวของผู้สูงอายุ. วารสารสภากาชาด. 2560; 32(3).
12. Kang S, Hwang S, Klein AB, Kim SH. Multicomponent exercise for physical fitness of community-dwelling elderly women. Journal of physical therapy science. 2015 Mar; 27(3): 911-5.
13. เขมภักดิ์ เจริญสุขศิริ, นุศราพร แซ่ลิ้ม, วรรณกร สาระพันธุ์ และธัญญาลักษณ์ พรหมสุข. ผลของการออกกำลังกายแบบก้าวตามตารางกับการฝึกการทรงตัวที่มีต่อการทรงตัวและคุณภาพชีวิตด้านสุขภาพในผู้สูงอายุไทย. วารสารวิจัยทางวิทยาศาสตร์สุขภาพ. 2561; 12(2): 98-107.
14. Rodrigues-Krause J, Krause M, Reischak-Oliveira A. Dancing for Healthy Aging: Functional and Metabolic Perspectives. Alternative therapies in health and medicine. 2019 Jan; 25(1): 44-63.
15. Fernández-Argüelles EL, Rodríguez-Mansilla J, Antunez LE, Garrido-Ardila EM, Muñoz RP. Effects of dancing on the risk of falling related factors of healthy older adults: a systematic review. Archives of gerontology and geriatrics. 2015; 60(1): 1-8.
16. ธา รุญเจริญ. ผลของโปรแกรมนันทนาการที่มีต่อคุณภาพชีวิตและสมรรถภาพทางกายของผู้สูงอายุภาคตะวันออกเฉียงเหนือประเทศไทย. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยธนบุรี. 2560; 11(24).
17. พนิดา กุมพชาติ และคณะ. การวิเคราะห์บริบทและการจัดทำแผนพัฒนาชุมชนแบบมีส่วนร่วมเพื่อยกระดับคุณภาพชีวิตของชุมชนบ้านนาเยีย ต.นาเยีย อ.นาเยีย จ.อุบลราชธานี วารสารมนุษยศาสตร์และสังคมศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี. 2564; 12(2).
18. Kaewkungwal, J., & Singhasivanon, P. (2011). Sample size in clinical research. [Internet]. [cited 2021 July 18].
19. ชัยพัฒน์ ศรีรักษา และคณะ. ผลของการรำเชิงอีสานต่อสมรรถภาพทางกายในผู้สูงอายุชาวไทย. วารสารเวชศาสตร์ร่วมสมัย. 2561; 62(2): 212-222.
20. อีรวิทย์ วีวรรณ. ผลของการออกกำลังกายแบบผสมผสานต่อการทรงตัว ในผู้สูงอายุ เขตบึงกุ่ม กรุงเทพมหานคร. วารสารสาธารณสุขศาสตร์. 2555; 42(2): 44-53.
21. ปภาวดี สุนทรธัย วิฑิตพร ภักดีพิบูลย์ นพวรรณ แสนเจริญสุทธิกุล และรุ่งทิพย์ สนิทนานนท์. ผลการฝึกออกกำลังกายด้วยเพลงลีลาจังหวะปักกิ่งต่อสมรรถภาพการทรงตัวและการเดินในผู้สูงอายุไทยที่มีประวัติหกล้ม. วารสารเวชศาสตร์ฟื้นฟู. 2559; 26(2): 61-66.
22. Sitthiracha P, Eungpinichpong W, Chatchawan U. Effect of Progressive Step Marching Exercise on Balance Ability in the Elderly: A Cluster Randomized Clinical Trial. Int. J. Environ. Res. Public Health. 2021, 18(3146). 1-15.
23. สมฤทัย พุ่มสลด และ ศศิมา พุกานนท์. ผลของการออกกำลังกายด้วยยางยืดต่อความสามารถในการทรงตัวของผู้สูงอายุ. การประชุมวิชาการแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ครั้งที่ 9. 2554.
24. Han K, Ricard MD, Fellingham GW. Effects of a 4-week exercise program on balance using elastic tubing as a perturbation force for individuals with a history of ankle sprains. J Orthop Sports Phys Ther. 2009 Apr; 39(4): 246-55.
25. Howe, T. E., Rochester, L., Neil, F., Skelton, A. D., & Ballinger, C. Exercise for improving balance in older people. Cochrane Database of Systematic Reviews, 2011(11), 1-295.
26. นงนุช พลบูรณ์, หทัยชนก หมากผิน และศิริพร กลางโคกกรวด. ผลของสมรรถภาพทางกายและคุณภาพชีวิตของผู้สูงอายุภายหลังการออกกำลังกายแบบซิงกิง. วารสารมหาวิทยาลัยคริสเตียน. 2555; 18(3): 390-397.
27. อรุณยา แก้วมาลัยทิพย์, ศรีณีย์ พิธิโยธธา, ไพศาล มณีสว่าง และปริญญ์ เลิศสินไทย. ผลระยะสั้นของการฝึกออกกำลังกายด้วยโปรแกรมช่วยสอนการออกกำลังกายด้วยกลิ้งไคเนติกในผู้สูงอายุที่มีปัญหาด้านการทรงตัว. เวชสารแพทย์ทหารบก. 2563; 73(2): 113-123.
28. น้อมจิตต์ นวลเนตร, ชนาดา อรศรี, ญัฐนรี ชัยพิพัฒน์. การเปรียบเทียบการออกกำลังกายด้วยตาราง 9 ช่อง กับการออกกำลังกาย เพื่อเพิ่มความสามารถในการทรงตัวแบบดั้งเดิมต่อการทรงตัวในผู้สูงอายุเพศหญิง. วารสารกายภาพบำบัด. 2559; 38(3): 93-102.
29. อุมพร นิมิตรกุล และคณะ. ผลของโปรแกรมการออกกำลังกาย“ผนังกันตัวบ๊วยแม่อยู่” ที่มีผลต่อความแข็งแรงของกล้ามเนื้อขาและสะโพก ความอ่อนตัวและความเสี่ยงหกล้มของผู้สูงอายุในตำบลหนองตอง อำเภอหางดง จังหวัดเชียงใหม่. วารสารการส่งเสริมสุขภาพและอนามัยสิ่งแวดล้อม. 2564; 44(2): 24-38.
30. Pinto RS, Correa CS, Radaelli R, Cadore EL, Brown LE, Bottaro M. Short-term strength training improves muscle quality and functional capacity of elderly women. Age. 2014; 36(1): 365-72.
31. ภูวนาล พิมพ์บุลย์, สาสี สุภาภรณ์ และประสิทธิ์ ปิปปทุม. ผลการฝึกซิงกิง ไทจีและโยคะที่มีต่อการทรงตัวและสมรรถภาพทางกายในหญิงสูงอายุ. วารสารมหาวิทยาลัย คริสเตียน. 2564; 27(1): 97-109.

32. สิริกุล โพธิมาศ, ธิติมา ณรงค์ศักดิ์ และเกศแก้ว โสภณวรกิจ.
ประสิทธิภาพของโปรแกรมออกกำลังกายแบบกลุ่มด้วยบอล
ต่อการทรงท่าและความยืดหยุ่นในผู้ป่วยจิตเวชสูงอายุ.
วารสารสถาบันจิตเวชศาสตร์สมเด็จพระยา. 2559; 10(1):
15-25.
33. ชิดชนก ศรีราช ขาญชลักษณ์ เยี่ยมมิตร. การพัฒนาความอ่อนตัว
ด้วยโปรแกรมการฝึกยืดเหยียดกล้ามเนื้อที่มีต่อคุณภาพชีวิต
ด้านร่างกายของผู้สูงอายุ จังหวัดจันทบุรี. วารสารชุมชนวิจัย.
2564; 15(3): 104-115.
34. เกวรีน สุขมี, สุรสา ไค้งประเสริฐ และรุจน์ เลาทกดี.
ผลของการออกกำลังกายด้วยมวยไทยที่มีต่อความสามารถใน
การทรงตัวและความอ่อนตัวในผู้สูงอายุไทย. วารสาร
วิทยาศาสตร์การกีฬาสุขภาพ. 2563; 21(3): 432-444.
35. Cristopoliski F, Barela J, A, Leite N, Fowler N, E, Rodacki
A, L, F: Stretching Exercise Program Improves Gait in
the Elderly. Gerontology. 2009; 55: 614-620.
36. Kaewjoho C, et al., Thai dance exercises bene-ted
functional mobility and fall rates among
community-dwelling older individuals. Hong Kong
Physiotherapy Journal. 2019; 40(1): 20-27.
37. Noradechanunt C, Worsley A, Groeller H. Thai Yoga
improves physical function and well-being in older
adults: A randomised controlled trial. J Sci Med
Sport. 2017 May; 20(5): 494-501.
38. American College of Sports Medicine. ACSM's health-
related physical fitness assessment manual (2nd
ed.). Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins. 2010.



ISSN 1686-4522

KOCH CHA SARN JOURNAL OF SCIENCE
Vol. 44 (1); January-June (2022), pp. 22-22
<https://science.srru.ac.th/kochasarn>

Research Article

Effect of chlorpyrifos mixture with cypermethrin (pesticide) on morphological changes and Acetylcholinesterase expression in Golden apple snail (*Pomacea canaliculata*)

ผลกระทบของคลอร์ไพริฟอสผสมไซเปอร์เมทริน (สารกำจัดแมลง) ต่อการเปลี่ยนแปลงสัณฐานวิทยาและการแสดงออกของอะซิติลโคลีนเอสเตอเรสในหอยเชอรี่ (*Pomacea canaliculata*)

ประจักษ์ บัวเขียว¹, อภิสิทธิ์ เดชฤทธิ์¹, เถลิงเกียรติ สมนึก¹, วิชชุดา ประสาทแก้ว², พวงเพชร พิมพ์จันทร์³, สุทธิติล ปิยะเดชสุนทร⁴, ชุตินา ฅนอมสิทธิ์^{1*}

¹ สาขาประมง คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ 145 หมู่ 15 ถ.สุรินทร์-ปราสาท ต.นอกเมือง อ.เมือง จ.สุรินทร์ 32000

² สาขาการจัดการสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏธนบุรี สมุทรปราการ 59/1 หมู่ที่ 14 ซ.เทศบาลบางปู 119 ถ.สุขุมวิท ต.บางปลา อ.บางพลี จ.สมุทรปราการ 10540

³ สาขาพืชศาสตร์ สิ่งทอ และการออกแบบ คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ 145 หมู่ 15 ถ.สุรินทร์-ปราสาท ต.นอกเมือง อ.เมือง จ.สุรินทร์ 32000

⁴ สาขาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ 145 หมู่ 15 ถ.สุรินทร์-ปราสาท ต.นอกเมือง อ.เมือง จ.สุรินทร์ 32000

*ชุตินา ฅนอมสิทธิ์ สาขาประมง คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ 145 หมู่ 15 ถ.สุรินทร์-ปราสาท ต.นอกเมือง อ.เมือง จ.สุรินทร์ 32000

Article Info

Received 06 March 2022

Revised 05 May 2022

Accepted 10 August 2022

Abstract

This study aimed to evaluate the effects of the chlorpyrifos mixture with cypermethrin insecticide on golden apple snails by assessing the cumulative mortality, behavior alteration, internal and external morphological appearance and expression of acetylcholinesterase in golden apple snail (*Pomacea canaliculata*). We found that the snail exposed to chlorpyrifos mixture with cypermethrin at concentrations 0, 5, 10, 15, 20, and 25 µg/L for 24, 48, 72 and 96 hrs showed an increase in cumulative mortality with exposure time while we did not find mortality in the control group (without exposure). The mortality firstly detected at 72 hrs. after exposure in all concentrations. The detectable behavior change occurred after exposure for 1 hr at a concentration of 10 µg/L. The behavior change detected was excretion and a little movement on the experimental tank. The external morphology was not changed in the color and shell appearance. The internal morphological changes firstly occurred in the exposure of 25 µg/L for 24 hrs. We found their tissue being decayed and acetylcholinesterase expression being decreased with an increase in exposure time and concentration after being evaluated by using the dot blot technique. Therefore, golden apple snails could be bio-indicator for chlorpyrifos mixture with cypermethrin insecticide in an aquatic environment.

Keywords Chlorpyrifos mixture with cypermethrin, Golden apple snail, Morphology, Acetylcholinesterase

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีเป้าหมายเพื่อศึกษาผลกระทบของสารกำจัดแมลงศัตรูพืชคลอร์ไพริฟอสผสมกับไซเปอร์เมทรินที่ส่งผลต่อหอยเชอรี่ (*Pomacea canaliculata*) โดยประเมินผลกระทบจากการตายสะสม การเปลี่ยนแปลงพฤติกรรม สันฐานวิทยาภายนอกและภายในและศึกษาการแสดงออกของอะซิทิลโคลีนเอสเตอเรสในหอยเชอรี่ จากการศึกษาพบว่าหอยเชอรี่เมื่อได้รับสัมผัสสารคลอร์ไพริฟอสผสมกับไซเปอร์เมทรินที่ระดับความเข้มข้น 0, 5, 10, 15, 20 และ 25 ไมโครลิตร/ลิตร เป็นเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมงพบว่า อัตราการตายสะสมเพิ่มตามระดับความเข้มข้นที่ได้รับสัมผัสโดยตลอดช่วงเวลาที่ศึกษาคือ 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง หอยเชอรี่ในชุดควบคุมจะไม่เกิดการตาย แต่การตายเกิดขึ้นครั้งแรกเมื่อหอยเชอรี่ได้รับสัมผัสสารทุกระดับความเข้มข้นเมื่อเวลาเข้าสู่ 72 ชั่วโมง ส่วนพฤติกรรมที่สามารถตรวจสอบได้จะเริ่มขึ้นเมื่อหอยเชอรี่ได้รับสัมผัสสารคลอร์ไพริฟอสผสมกับไซเปอร์เมทรินที่เวลา 1 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครลิตร/ลิตร การเปลี่ยนแปลงที่ตรวจสอบได้คือ หอยเชอรี่มีการขับถ่าย เคลื่อนตัวเล็กน้อย เกาะตามไหลทดลอง และการศึกษาลักษณะสันฐานวิทยาภายนอกพบว่าไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง โดยที่หอยเชอรี่มีสีและเปลือกที่ปกติ ส่วนการเปลี่ยนแปลงลักษณะสันฐานวิทยาในหอยเชอรี่มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นครั้งแรกที่ความเข้มข้น 25 ไมโครลิตร/ลิตร ที่เวลา 24 ชั่วโมง โดยมีเนื้อเยื่อเปื่อยยุ่ย และการแสดงออกของอะซิทิลโคลีนเอสเตอเรสในเนื้อเยื่อหอยเชอรี่มีแนวโน้มที่จะลดลงตามระยะเวลาและความเข้มข้นที่ได้รับสัมผัสสารเมื่อทดสอบโดยใช้เทคนิค dot blotting ดังนั้นหอยเชอรี่จึงมีแนวโน้มที่จะให้เป็นตัวชี้วัดการได้รับสัมผัสสารกำจัดแมลงศัตรูพืชคลอร์ไพริฟอสผสมกับไซเปอร์เมทรินที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำได้

คำสำคัญ: คลอร์ไพริฟอสผสมไซเปอร์เมทริน หอยเชอรี่ สันฐานวิทยา อะซิทิลโคลีนเอสเตอเรส

1. บทนำ

หอยเชอรี่ (Golden apple snail; *Pomacea canaliculata*) มีชื่อเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า หอยโข่งอเมริกาใต้ หรือเปาฮื้อน้ำจืด เป็นสัตว์ต่างถิ่นที่มีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกาใต้และเข้ามาในประเทศไทยผ่านเข้ามาจากประเทศญี่ปุ่นและประเทศฟิลิปปินส์ [1] ในปี พ.ศ. 2553 หอยเชอรี่ถูกจัดเป็นสัตว์ต่างถิ่นในลำดับที่ 11 ซึ่งสร้างความเสียหายให้กับสัตว์พื้นเมืองต่าง ๆ เนื่องจากมีอัตราการขยายพันธุ์รวดเร็ว เจริญเติบโต กินอาหารได้หลากหลายและมีความสามารถในการปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมได้ดีมาก ทำให้พบหอยเชอรี่ได้ตามสิ่งแวดล้อมทั่วไป [2] ปัจจุบันมีการนำหอยเชอรี่มาบริโภคเป็นอาหารหรือใช้เป็นอาหารสัตว์มากขึ้น เนื่องจากเนื้อหอยเชอรี่มีโปรตีนสูงถึง 54-65 เปอร์เซ็นต์ [3] จึงถือเป็นแหล่งโปรตีนที่น่าสนใจ อย่างไรก็ตามในการนำมาบริโภค ควรมีการศึกษาความเสี่ยงจากการได้รับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืช เนื่องจากหอยเชอรี่มีโอกาสได้รับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชทั้งผ่านการกินอาหาร เช่น การกรอกกินแพลงก์ตอน หรือกัดกินพืชต่าง ๆ รวมทั้งต้นข้าวในนาที่มีการใช้สารปราบศัตรูพืชฉีดพ่น และยังอาจได้รับสารกำจัดศัตรูพืชที่ละลายอยู่ในน้ำ หรือตะกอนพื้นท้องน้ำ ซึ่งหอยเชอรี่อาศัยอยู่บริเวณแหล่งน้ำนั้น ทำให้มีความเสี่ยงที่จะสัมผัสกับสารกำจัดศัตรูพืชเป็นเวลานานและเกิดการสะสมในร่างกาย จึงถือเป็นสัตว์น้ำที่มีโอกาสได้รับและสะสมสารพิษไว้ในร่างกายได้มาก [4]

ปัจจุบันมักพบปัญหาเกี่ยวกับการเกิดโรคและปัญหาการปนเปื้อนของสารพิษต่าง ๆ ในสิ่งแวดล้อม เช่น สารกำจัดแมลงศัตรูพืชชนิดต่าง ๆ และโลหะหนัก เช่น แคดเมียม และปรอท เป็นต้น ในประเทศไทยสารกำจัดแมลงศัตรูพืชถูกนำมาใช้เกือบทุกพื้นที่ที่มีการเพาะปลูก ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะเกิดการสะสมของสารในกลุ่มดังกล่าวไปยังสัตว์น้ำชนิดต่าง ๆ ทั้งกุ้ง ปู และปลา [5, 6] ยิ่งไปกว่านั้นสารกำจัดศัตรูพืชยังก่อให้เกิดการสะสมและเพิ่มจำนวนมากขึ้นตามลำดับห่วงโซ่อาหาร มนุษย์ซึ่งเป็นผู้บริโภคในลำดับขั้นสูงสุดก็อาจจะได้รับ

ผลกระทบเชิงลบต่อสุขภาพได้ โดยอาจมีผลต่อพฤติกรรมซึ่งเป็นการตอบสนองของระบบหรือสิ่งมีชีวิตต่อสิ่งเร้าหรือการรับเข้าทั้งหลาย ไม่ว่าจะเป็นภายในหรือภายนอก หลังจากสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ ได้รับสัมผัสกับสารเคมีที่เป็นพิษจะก่อให้เกิดผลกระทบต่อพฤติกรรมต่าง ๆ ซึ่งสามารถใช้ศึกษาถึงผลกระทบที่มีต่อสิ่งมีชีวิตในระดับที่ยังไม่ก่อให้เกิดการตายได้

คลอร์ไพริฟอสจัดเป็นสารกำจัดแมลงที่นิยมกันมากเป็นอันดับต้น ๆ ของประเทศไทยที่ถูกนำมาใช้ในการเกษตร เป็นสารปราบศัตรูพืชในกลุ่มออร์แกโนฟอสเฟต มีความเป็นพิษระดับปานกลาง แต่ยังคงมีความเป็นพิษค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับไซเปอร์เมทริน โดยไซเปอร์เมทรินเป็นสารปราบศัตรูพืชในกลุ่มไพรีทรอยด์ ซึ่งสารเคมีทั้งสองชนิดจัดอยู่ในกลุ่มสารเคมีที่มีกลไกออกฤทธิ์ที่ระบบประสาทและระบบกล้ามเนื้อของแมลงในทางสัมผัสและกลืน โดยการศึกษาในหอยทากน้ำจืด (*Melanoides tuberculatus*) พบว่าค่า LC_{50} ของไซเปอร์เมทรินที่ 96 ชั่วโมง เท่ากับ 3.81 มิลลิลิตรต่อลิตร [7] และการศึกษาในหอยหวาน (*Marcia Opima*) เท่ากับ 2.75 มิลลิลิตรต่อลิตร [8] อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ผสมกันสองกลุ่มจะทำให้เกิดความเป็นพิษต่อหอยเชอรี่มากกว่าสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่มีสารเคมีเพียงกลุ่มเดียว [9] ซึ่งปัจจุบันมีการนำคลอร์ไพริฟอสกับไซเปอร์เมทรินมาผสมกันและจำหน่ายในทางการค้าเพื่อประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงและไรศัตรูพืชได้อย่างกว้างขวาง ซึ่งหากเกษตรกรมีการใช้สารเคมีเหล่านี้ในปริมาณมากเกินไปจะส่งผลให้เกษตรกรและประชากรทั่วไปมีโอกาสสัมผัสกับสารกำจัดศัตรูพืชที่ปนเปื้อนในอาหารและแหล่งน้ำ เนื่องจากมีการตกค้างของสารเหล่านี้ในสิ่งแวดล้อม ก่อให้เกิดการสะสมในสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ ตามห่วงโซ่อาหารและอาจส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศได้

อะซิทิลโคลีนเอสเตอเรส (Acetylcholinesterase) เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนอะซิทิลโคลีน ซึ่งเป็นสารสื่อประสาทไปเป็นโคลีน

และอะซีเตทจะถูกยับยั้ง และทำให้เกิดการคั่งของอะซีทิลโคลีน ซึ่งการคั่งของสารดังกล่าวจะมีผลต่อระบบประสาทส่วนกลางและส่วนปลายที่มีผลต่อการทำงานของกล้ามเนื้อ [6] จากการศึกษาของซุติมา ถนอมสิทธิ์ และคณะ ได้มีการใช้ระดับของเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเตอเรสมาใช้เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพจากการรับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชเพื่อลดความเสี่ยงในการบริโภคหอยขมและหอยเชอรี่ ในช่วงฤดูฝนที่มีการทำนาเพื่อประเมินถึงการได้รับสัมผัสกับสารกำจัดศัตรูพืชซึ่งสามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการลดความเสี่ยงของผู้บริโภค [6]

อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาถึงผลของสารกำจัดศัตรูพืชที่มีภูมิการใช้ร่วมกันในการเกษตรต่อการเปลี่ยนแปลงสัณฐานวิทยาและการแสดงออกของอะซีทิลโคลีนเอสเตอเรสในหอยเชอรี่ ซึ่งปัจจุบันมีการนำคลอรีโฟสเฟสมกับไซเพอร์เมทรินเพื่อประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงและไรศัตรูพืช ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้จึงมีเป้าหมายเพื่อทำการศึกษาระดับความเป็นพิษของคลอรีโฟสเฟสมกับไซเพอร์เมทรินที่ส่งผลต่ออัตราการตายสะสมของหอยเชอรี่ ผลของคลอรีโฟสเฟสมกับไซเพอร์เมทรินต่อการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมและลักษณะสัณฐานวิทยา และตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของอะซีทิลโคลีนเอสเตอเรสซึ่งเป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพของการได้รับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชในแหล่งน้ำธรรมชาติ จากเนื้อเยื่อของหอยเชอรี่ที่ได้รับสัมผัสกับสารคลอรีโฟสเฟสมกับไซเพอร์เมทริน เพื่อใช้บ่งชี้การได้รับสัมผัสสารกำจัดแมลงศัตรูพืชและเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการประยุกต์ใช้กับสัตว์น้ำชนิดอื่น ๆ ต่อไป

2.วิธีดำเนินการวิจัย

การวางแผนการทดลอง

การวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ CRD โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ ใช้โหลแก้วทดลอง ขนาด 10 ลิตร จำนวน 18 โหล แบ่งออกเป็น 5 ชุดการทดลอง และชุดควบคุม 1 ชุดการทดลองใส่หอยเชอรี่โหลละ 10 ตัว เติมสารคลอรีโฟสเฟสมกับไซเพอร์เมทรินลงในแต่ละโหล ซึ่งระดับความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลองได้จากการศึกษาเบื้องต้นของคณะผู้วิจัยโดยเทียบกับอัตราส่วนสารคลอรีโฟสเฟสมกับไซเพอร์เมทรินที่แนะนำให้ใช้ในการกำจัดศัตรูพืช (ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/ลิตร) ซึ่งกำหนดความเข้มข้นให้อยู่ในระดับการได้รับสารพิษแบบกึ่งเฉียบพลันคือ 5, 10, 15, 20 และ 25 ไมโครกรัม/ลิตร เก็บตัวอย่างที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง

สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

สารเคมีทางการเกษตร (สารกำจัดศัตรูพืช) ที่นำมาใช้ในการศึกษาจะเป็นสารเคมีที่อยู่ในรูปแบบทางการค้าและอยู่ในรูปสารละลายคือคลอรีโฟสเฟสมกับไซเพอร์เมทริน (50%+5% W/V, EC) โดยอัตราการใช้สารที่ระบุคือ 2.5 มิลลิกรัมต่อน้ำ 1 ลิตร และระดับความเข้มข้นใช้ในการศึกษาคือ 0, 5, 10, 15, 20 และ 25 ไมโครกรัม/ลิตร

สัตว์ทดลอง

ในการศึกษานี้ใช้น้ำหอยเชอรี่ (*P. Canaliculata*) ขนาดโตเต็มวัยที่มีความยาวเฉลี่ย 4.6 ± 0.5 เซนติเมตร และน้ำหนักเฉลี่ย 24.11 ± 0.23 กรัม มาปรับสภาพในโหลแก้วทดลอง ขนาด 10 ลิตร เติมสาร

คลอรีโฟสเฟสมกับไซเพอร์เมทรินลงในโหลระดับความเข้มข้นใช้ในการศึกษาคือ 5, 10, 15, 20 และ 25 ไมโครกรัม/ลิตร เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ทำการเก็บตัวอย่างเป็นเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง

การศึกษาพฤติกรรมของหอยเชอรี่ที่ได้รับสัมผัสสารคลอรีโฟสเฟสมกับไซเพอร์เมทริน

ทำการศึกษาถึงพฤติกรรมของหอยเชอรี่เมื่อได้รับสัมผัสกับสารเคมี โดยดูจากการแสดงออกของพฤติกรรมต่าง ๆ ในหอยเชอรี่ชุดควบคุมเปรียบเทียบกับหอยเชอรี่ที่สัมผัสสารคลอรีโฟสเฟสมกับไซเพอร์เมทรินที่ระดับความเข้มข้น 5, 10, 15, 20 และ 25 ไมโครกรัม/ลิตร ที่เวลา 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง ส่วนสัณฐานวิทยาภายนอกของหอยเชอรี่เมื่อได้รับสัมผัสกับสารทำการศึกษากากสีและเปลือก และสัณฐานวิทยาภายในทำการศึกษากากเนื้อเยื่อของหอยเชอรี่เมื่อได้รับสัมผัสกับสารคลอรีโฟสเฟสมกับไซเพอร์เมทรินที่ระดับความเข้มข้นที่ 0 (ชุดควบคุม), 5, 10, 15, 20 และ 25 ไมโครกรัม/ลิตร ในเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง

การสกัดโปรตีนจากหอยเชอรี่

นำหอยเชอรี่ที่ได้รับสัมผัสกับสารคลอรีโฟสเฟสมกับไซเพอร์เมทริน และชุดควบคุม มาสกัดโปรตีนโดยดัดแปลงจากจากวิธีการของ Thanomsit et al. [6] โดยนำหอยเชอรี่มาล้างให้สะอาด หลังจากนั้นทำการแกะเปลือก และนำเฉพาะบริเวณส่วนเท้ามาบดให้ละเอียดและเติมน้ำสารละลายทริสไฮโดรคลอไรด์บัฟเฟอร์ที่มีความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ pH 7.2 ซึ่งมีสารละลาย Phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF) เป็นส่วนประกอบ โดยอัตราส่วนที่ใช้คือเนื้อเยื่อ 1 กรัมต่อฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 2.5 มิลลิกรัม หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความเร็ว 3,500 RPM เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำส่วนใสมาใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนเปรียบเทียบกับ Bovine serum albumin (BSA)

การวัดปริมาณโปรตีนจากหอยเชอรี่

นำโปรตีนมาตรฐาน BSA มาเจือจางแบบ Serial dilution ให้มีปริมาณโปรตีน 1, 0.5, 0.25, 0.0625 และ 0.03125 มิลลิกรัม ในปริมาณ 0.5 มิลลิกรัม จากนั้นนำตัวอย่างโปรตีนที่สกัดได้จากหอยเชอรี่มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:10 นำสารละลาย BSA และตัวอย่างโปรตีนจากหอยเชอรี่ตัวอย่างละ 10 ไมโครกรัม จำนวน 2 ซ้ำ เติมน้ำสารละลาย Dye reagent เจือจางที่ปริมาตร 200 ไมโครกรัม ทุกหลุม ผสมให้เข้ากัน ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร บันทึกค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย BSA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ นำมาสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณ BSA กับค่าการดูดกลืนแสง และนำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างมาเปรียบเทียบกับโปรตีนจากกราฟมาตรฐาน ตามวิธีการของ Thanomsit et al. [10] นำปริมาณโปรตีนที่ได้มาใช้ในการคำนวณความเข้มข้นของโปรตีนเพื่อศึกษารูปแบบของโปรตีนที่พบในหอยเชอรี่โดยใช้เทคนิคโซเดียมโดดีลซัลเฟต-เจลอิเล็กโทรโฟรีซิสหรือเทคนิคคอตทาลอทต่อไป

การศึกษาารูปแบบของโปรตีนที่พบในหอยเชอร์โดยใช้เทคนิคโซเดียมโดดีคริลซัลเฟต เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส

เตรียมส่วนผสมของสารละลายอะคริลามิด (Acrylamide) ให้ Separating gel มีความเข้มข้น 12.5% และเตรียมส่วนผสม Stacking gel 4% ตามวิธีการของ Thanomsit et al. [10] จากนั้นประกอบเจลลงในชุดอิเล็กโทรโฟรีซิส เติมน้ำเกลือ 2x buffer ให้ท่วมช่องเติมน้ำตัวอย่าง ตั้งหรือออกแล้วเติมน้ำตัวอย่างที่ผสมกับ 2x buffer และต้มในน้ำเดือด 5 นาทีแล้ว มาใส่ในช่องเติมน้ำตัวอย่างแต่ละช่องในปริมาณ 10 ไมโครลิตร (ปริมาณโปรตีนเท่ากับ 80 ไมโครกรัม) ต่ออุปกรณ์จ่ายไฟตั้งกระแสไฟฟ้าที่ 120 โวลต์ จนกระทั่งสังเกตเห็นสีของ Bromophenol blue เคลื่อนที่ลงไปถึงปลายสุดของแผ่นเจล จึงหยุดกระแสไฟฟ้า จากนั้นนำแผ่นเจลออกจากชุดเครื่องจักร ตัดส่วนที่เป็น Stacking gel ออก แล้วนำไปย้อมสี 0.1 % Coomassie brilliant blue R-250 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วล้างสีส่วนที่ไม่ต้องการออกด้วยสารละลาย Destaining solution I และ Destaining solution II จนกระทั่งเห็นแถบสีของโปรตีนชัดเจน

การศึกษาแสดงออกของอะซิติลโคลีนเอสเตอเรสด้วยเทคนิคดอทบลอต

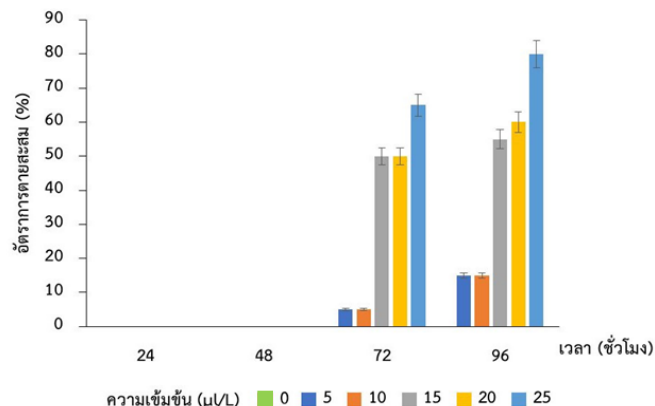
เตรียมตัวอย่างให้มีความเข้มข้นของโปรตีนเท่ากับ 40, 20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.312, 0.156 และ 0.078 ไมโครกรัม/ไมโครลิตร หยดตัวอย่าง 1 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษไนโตรเซลลูโลส ที่ไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมาแช่ใน 5% นมพร่องมันเนยใน PBS (Phosphate buffer saline) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วล้างออกด้วย PBS/0.59% Tween 20 ครั้งละ 5 นาที 3 ครั้ง จากนั้นบ่มในแอนติบอดีที่จำเพาะต่ออะซิติลโคลีนเอสเตอเรส (PAb-AChE ระดับการเจือจาง 1:200) นาน 12 ชั่วโมง แล้วล้างออกด้วย PBS/0.59% Tween 20 ครั้งละ 5 นาที 3 ครั้ง นำกระดาษไนโตรเซลลูโลสไปแช่ใน Secondary antibody (GAR-HRP) ที่ระดับการเจือจาง 1:1,000 เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วนำไปล้างโปรตีนส่วนเกินออกด้วยสารละลาย PBS/0.596Tween 20 ครั้งละ 5 นาที 3 ครั้ง และนำกระดาษไนโตรเซลลูโลสมาทำให้เกิดปฏิกิริยาในสารละลายสับสเตรท (0.03% 3, 3'-Diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB), 0.06% H₂O₂ และ 0.05% COCl₂ ใน 0.15 M PBS, pH = 7.4) และ บันทึกผลของจุดโปรตีนสีน้ำตาลเทาที่เกิดขึ้นบนกระดาษไนโตรเซลลูโลส [11]

3. ผลการทดลอง

ผลการศึกษาระดับความเป็นพิษของหอยเชอร์ที่ได้รับสัมผัสกับสารคลอรีไพรีฟอสผสมกับไซเพอร์เมทริน

เมื่อทำการศึกษาถึงอัตราการตายสะสมในหอยเชอร์ที่ได้รับสัมผัสกับสารคลอรีไพรีฟอสผสมกับไซเพอร์เมทรินที่ระดับความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม), 5, 10, 15, 20 และ 25 ไมโครลิตร/ลิตร เป็นเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง โดยหอยเชอร์ที่ตายสังเกตได้จากแผ่นฝาเปลือกที่เปิดและหอยเชอร์จะลอยตัวขึ้นสู่ผิวน้ำ พบว่าอัตราการตายสะสมของหอยเชอร์ที่ได้รับสัมผัสกับสารคลอรีไพรีฟอสผสมกับไซเพอร์เมทรินเพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นที่ได้รับสัมผัส โดยตลอดช่วงเวลาการศึกษาคือ 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง หอยเชอร์ในชุดควบคุมไม่เกิดการตาย แต่พบการตายครั้งแรกเมื่อหอยเชอร์ได้รับสัมผัสสารเมื่อเวลาเข้าสู่ 72 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้น 5, 10, 15, 20 และ 25

ไมโครลิตร/ลิตร มีอัตราการตายสะสมเท่ากับ 5±0.70%, 5±0.70%, 50±0.0%, 50±2.28%, และ 70±0.70% และที่เวลา 96 ชั่วโมงที่ระดับความเข้มข้น 5, 10, 15, 20 และ 25 ไมโครลิตร/ลิตร อัตราการตายสะสมเท่ากับ 15±0.70%, 15±0.70%, 55±0.70%, 60±1.41%, และ 80±1.41% ตามลำดับ (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 แสดงอัตราการตายสะสมของหอยเชอร์ที่ได้รับสัมผัสสารคลอรีไพรีฟอสผสมกับไซเพอร์เมทริน ที่ระดับความเข้มข้น 5, 10, 15, 20 และ 25 ไมโครลิตร/ลิตร เป็นเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง

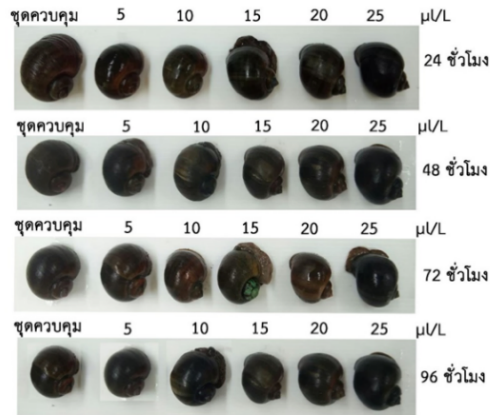
ผลศึกษาพฤติกรรมของหอยเชอร์เมื่อได้รับสัมผัสสารคลอรีไพรีฟอสผสมกับไซเพอร์เมทริน

การศึกษาพฤติกรรมของหอยเชอร์เมื่อได้รับสัมผัสสารคลอรีไพรีฟอสผสมกับไซเพอร์เมทรินจะประเมินจากหอยเชอร์ที่ได้รับสัมผัสสารเป็นเวลา 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้น 5, 10, 15, 20 และ 25 ไมโครลิตร/ลิตร เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยพฤติกรรมที่เปลี่ยนแปลงไปของหอยเชอร์จะเพิ่มมากขึ้นเมื่อได้รับสัมผัสกับสารเป็นเวลานานมากขึ้นและระดับความเข้มข้นของสารที่เพิ่มขึ้น ซึ่งการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมจะเกิดขึ้นครั้งแรกเมื่อหอยเชอร์ได้รับสัมผัสสารเป็นเวลา 1 ชั่วโมงที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครลิตร/ลิตร ซึ่งการเปลี่ยนแปลงที่สังเกตพบคือ หอยเชอร์มีการขับถ่าย และปล่อยสารเมือกมากกว่าในชุดควบคุม สังเกตได้จากความขุ่น เป็นฟองของน้ำและสิ่งขับถ่ายที่อยู่ในน้ำที่เลี้ยง และหอยเชอร์มีการเคลื่อนตัวเล็กน้อยโดยเกาะตามไหลทดลอง ส่วนการเปลี่ยนแปลงสูงสุดจะเกิดขึ้นเมื่อหอยเชอร์ได้รับสัมผัสกับสารที่ระดับความเข้มข้น 25 ไมโครลิตร/ลิตร เป็นเวลา 96 ชั่วโมง

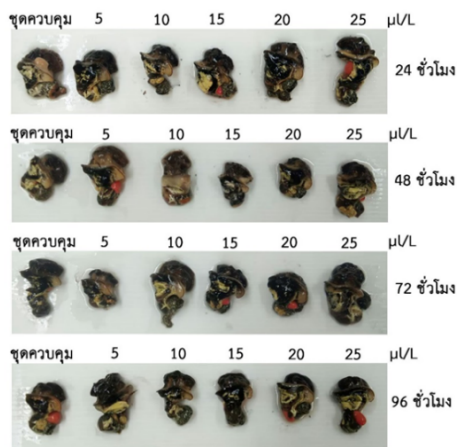
ผลศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอกและภายในของหอยเชอร์

เมื่อทำการศึกษาถึงลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอกของหอยเชอร์ที่ได้รับสัมผัสสารคลอรีไพรีฟอสผสมกับไซเพอร์เมทรินที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง และความเข้มข้นที่ศึกษาคือ 0, 5, 10, 15, 20, และ 25 ไมโครลิตร/ลิตร พบว่าหอยเชอร์ไม่มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอกโดยมีสีและเปลือกเป็นปกติคือสีน้ำตาลดำ ภาพที่ 2 แสดงให้เห็นถึงลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอกของหอยเชอร์เมื่อได้รับสัมผัสสารคลอรีไพรีฟอสผสมกับไซเพอร์เมทรินและเมื่อทำการศึกษาถึงลักษณะสัณฐานวิทยาภายในของหอยเชอร์ที่ได้รับสัมผัสสารคลอรีไพรีฟอสผสมกับไซเพอร์เมทรินที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง และความเข้มข้นที่ศึกษาคือ 0, 5, 10, 15, 20, และ

25 ไมโครลิตร/ลิตร พบว่าหอยเชอรี่มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยาภายในเกิดขึ้นครั้งแรกที่ความเข้มข้น 25 ไมโครลิตร/ลิตร ที่เวลา 24 ชั่วโมง โดยมีเนื้อเยื่อเปื่อยยุ่ย ดังภาพที่ 3 แสดงให้เห็นถึงลักษณะสัณฐานวิทยาภายในของหอยเชอรี่ของหอยเชอรี่เมื่อได้รับสัมผัสสารคลอรีไพรีฟอสผสมกับไซเพอร์เมทริน



ภาพที่ 2 ลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอกของหอยเชอรี่ที่ได้รับสัมผัสสารคลอรีไพรีฟอสผสมกับไซเพอร์เมทรินความเข้มข้นที่ศึกษา คือ 0 (ชุดควบคุม), 5, 10, 15, 20 และ 25 ไมโครลิตร/ลิตร ที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง

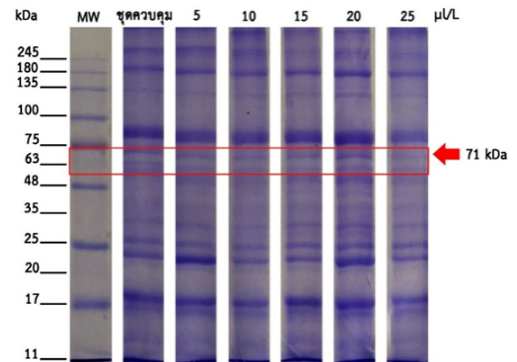


ภาพที่ 3 ลักษณะสัณฐานวิทยาภายในของหอยเชอรี่ที่ได้รับสัมผัสสารคลอรีไพรีฟอสผสมกับไซเพอร์เมทรินที่ระดับความเข้มข้นที่ศึกษา คือ 0 (ชุดควบคุม), 5, 10, 15, 20 และ 25 ไมโครลิตร/ลิตร ที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง

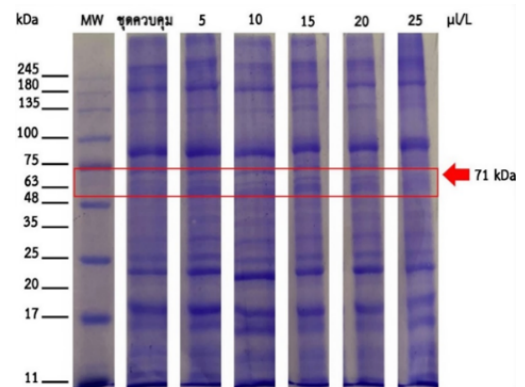
ผลการศึกษารูปแบบของโปรตีนที่พบในหอยเชอรี่โดยใช้เทคนิค โยเดียมไดดีคริลซัลเฟต เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส

10% SDS-PAGE ถูกนำมาใช้ในการศึกษาถึงรูปแบบของโปรตีนที่พบในเนื้อเยื่อของหอยเชอรี่ที่ได้รับสัมผัสกับสารคลอรีไพรีฟอสผสมกับไซเพอร์เมทรินที่ระดับความเข้มข้นและเวลาต่าง ๆ โดยรูปแบบของโปรตีนที่พบจะเปลี่ยนไปตามระดับความเข้มข้น และเวลาที่ทำการศึกษาในเนื้อเยื่อหอยเชอรี่ ที่ระดับความเข้มข้นที่ศึกษา คือ 0, 5, 10, 15, 20 และ 25 ไมโครลิตร/ลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อะซีทิลโคลีนเอสเตอเรสจะสามารถตรวจสอบได้โดยมีขนาดโมเลกุล 71 kDa

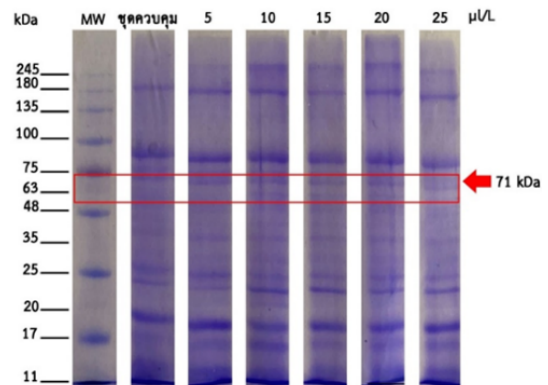
แต่เมื่อเวลาผ่านไปเป็น 48 ชั่วโมง จะมีแนวโน้มลดลง สุดท้ายที่เวลา 96 ชั่วโมง จะไม่พบการแสดงออกของอะซีทิลโคลีนเอสเตอเรส (แสดงดังภาพที่ 4, 5, 6 และ 7)



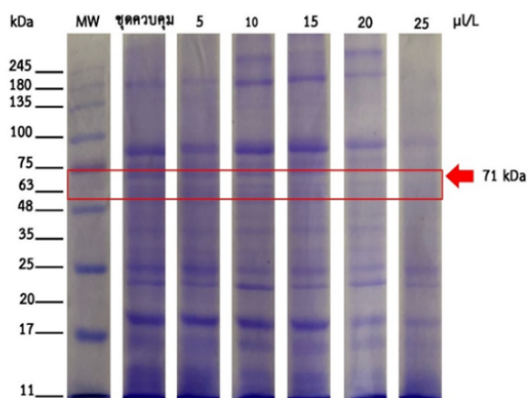
ภาพที่ 4 การใช้เทคนิค 10% SDS-PAGE ศึกษาถึงรูปแบบของโปรตีนจากเนื้อเยื่อหอยเชอรี่ที่ได้รับสัมผัสกับสารคลอรีไพรีฟอสผสมกับไซเพอร์เมทรินที่ระดับความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม), 5, 10, 15, 20 และ 25 ไมโครลิตร/ลิตร ที่เวลา 24 ชั่วโมง



ภาพที่ 5 การใช้เทคนิค 10% SDS-PAGE ศึกษาถึงรูปแบบของโปรตีนจากเนื้อเยื่อหอยเชอรี่ที่ได้รับ สัมผัสกับสารคลอรีไพรีฟอสผสมกับไซเพอร์เมทรินที่ระดับความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม), 5, 10, 15, 20 และ 25 ไมโครลิตร/ลิตร ที่เวลา 48 ชั่วโมง



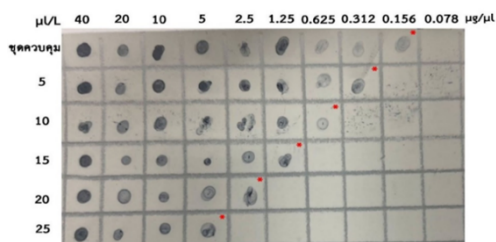
ภาพที่ 6 การใช้เทคนิค 10% SDS-PAGE ศึกษาถึงรูปแบบของโปรตีนจากเนื้อเยื่อหอยเชอรี่ที่ได้รับสัมผัสกับสารคลอรีไพรีฟอสผสมกับไซเพอร์เมทรินที่ระดับความเข้มข้น 0, 5, 10, 15, 20 และ 25 ไมโครลิตร/ลิตร ที่เวลา 72 ชั่วโมง



ภาพที่ 7 การใช้เทคนิค 10% SDS-PAGE ศึกษาถึงรูปแบบของโปรตีนจากเนื้อเยื่อหอยเชอร์รี่ที่ได้รับสัมผัสกับสารคลอร์ไพริฟอสผสมกับไซเพอร์เมทรินที่ระดับความเข้มข้น คือ 0 (ขูดควบคุม), 5, 10, 15, 20 และ 25 ไมโครลิตร/ลิตร ที่เวลา 96 ชั่วโมง

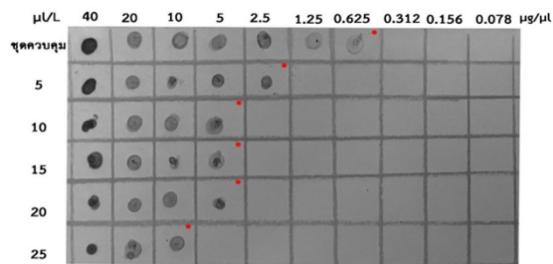
ผลการศึกษาการแสดงออกของอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสด้วยเทคนิคคอตบล็อต

ในเนื้อเยื่อของหอยเชอร์รี่ที่ได้รับสัมผัสกับสารคลอร์ไพริฟอสผสมกับไซเพอร์เมทรินที่ระดับความเข้มข้น คือ 0 (ขูดควบคุม), 5, 10, 15, 20 และ 25 ไมโครลิตร/ลิตร ที่เวลา 24 ชั่วโมง เมื่อศึกษาการแสดงออกของอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสด้วยเทคนิคคอตบล็อตหมีขีดจำกัดการตรวจสอบคือ 0.156, 0.312, 0.625, 0.125, 2.5 และ 5 ไมโครลิตร/ลิตร (ดังภาพที่ 8)



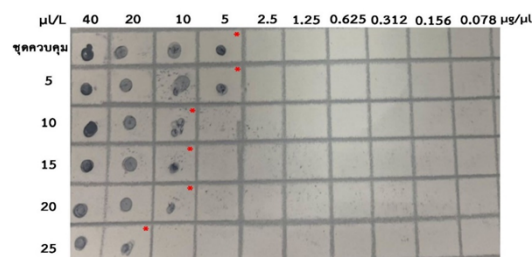
ภาพที่ 8 การตรวจสอบค่าของอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสด้วยเทคนิคคอตบล็อตในเนื้อเยื่อหอยเชอร์รี่ที่ได้รับสัมผัสสารความเข้มข้น 0 (ขูดควบคุม), 5, 10, 15, 20 และ 25 ไมโครลิตร/ลิตร ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ในเนื้อเยื่อของหอยเชอร์รี่ที่ได้รับสัมผัสกับสารคลอร์ไพริฟอสผสมกับไซเพอร์เมทรินที่ระดับความเข้มข้น คือ 0, 5, 10, 15, 20 และ 25 ไมโครลิตร/ลิตร ที่เวลา 48 ชั่วโมง เมื่อศึกษาการแสดงออกของอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสด้วยเทคนิคคอตบล็อตหมีขีดจำกัดการตรวจสอบคือ 0.625, 2.5, 5, 5, 5 และ 10 ไมโครกรัม/ไมโครลิตร (ดังภาพที่ 9)

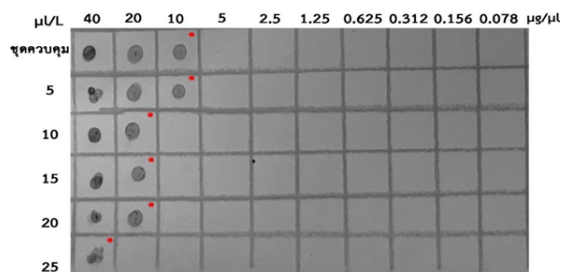


ภาพที่ 9 การตรวจสอบค่าของอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสด้วยเทคนิคคอตบล็อตในเนื้อเยื่อหอยเชอร์รี่ที่ได้รับสัมผัสสารความเข้มข้น 0 (ขูดควบคุม), 5, 10, 15, 20 และ 25 ไมโครลิตร/ลิตร ที่เวลา 48 ชั่วโมง

ในเนื้อเยื่อของหอยเชอร์รี่ที่ได้รับสัมผัสกับสารคลอร์ไพริฟอสผสมกับไซเพอร์เมทรินที่ระดับความเข้มข้น คือ 0 (ขูดควบคุม), 5, 10, 15, 20 และ 25 ไมโครลิตร/ลิตร ที่เวลา 72 ชั่วโมง เมื่อศึกษาการแสดงออกของอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสด้วยเทคนิคคอตบล็อตหมีขีดจำกัดการตรวจสอบคือ 5, 5, 10, 10, 10 และ 20 ไมโครกรัม/ไมโครลิตร (ดังภาพที่ 10)



ภาพที่ 10 การตรวจสอบค่าของอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสด้วยเทคนิคคอตบล็อต ในเนื้อเยื่อหอยเชอร์รี่ที่ได้รับสัมผัสสารความเข้มข้น 0 (ขูดควบคุม), 5, 10, 15, 20 และ 25 ไมโครลิตร/ลิตร ที่เวลา 72 ชั่วโมง ในเนื้อเยื่อของหอยเชอร์รี่ที่ได้รับสัมผัสกับสารคลอร์ไพริฟอสผสมกับไซเพอร์เมทรินที่ระดับความเข้มข้น คือ 0 (ขูดควบคุม), 5, 10, 15, 20 และ 25 ไมโครลิตร/ลิตร ที่เวลา 96 ชั่วโมง เมื่อศึกษาการแสดงออกของอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสด้วยเทคนิคคอตบล็อตหมีขีดจำกัดการตรวจสอบคือ 10, 10, 20, 20, 20 และ 40 ไมโครกรัม/ไมโครลิตร (ดังภาพที่ 11)



ภาพที่ 11 การตรวจสอบค่าของอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสด้วยเทคนิคคอตบล็อต ในเนื้อเยื่อหอยเชอร์รี่ที่ได้รับสัมผัสสารความเข้มข้น 0 (ขูดควบคุม), 5, 10, 15, 20 และ 25 ไมโครลิตร/ลิตร ที่เวลา 96 ชั่วโมง

4. อภิปรายผลการทดลอง

จากผลการศึกษาผลกระทบของคลอรีนฟอสเฟสกับไซเปอร์เมทริน (สารกำจัดแมลง) ต่อการเปลี่ยนแปลงสัณฐานวิทยาและการแสดงออกของอะซิติลโคลีนเอสเตอเรสในหอยเชอร์รี่ พบว่าอัตราการตายสะสมในหอยเชอร์รี่ที่ได้รับสัมผัสกับสารคลอรีนฟอสเฟสกับไซเปอร์เมทรินเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาและระดับความเข้มข้นที่ได้รับสัมผัส ซึ่งอัตราการตายพบครั้งแรกเมื่อเวลาเข้าสู่ 72 ชั่วโมง โดยที่ระดับความเข้มข้นสูงสุดคือ 25 ไมโครลิตร/ลิตร มีอัตราการตายเท่ากับ $70 \pm 0.70\%$ และที่เวลา 96 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้น 25 ไมโครลิตร/ลิตร มีอัตราการตายสะสมเท่ากับ $80 \pm 1.41\%$ ตามลำดับ ซึ่งความเป็นพิษและอัตราการตายสะสมของหอยเชอร์รี่จากการทดลองนี้ที่เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาและระดับความเข้มข้นนี้ให้ผลเช่นเดียวกับการศึกษาความเป็นพิษของแคดเมียมคลอไรด์ (CdCl_2) ต่อการตายของหอยเชอร์รี่ พบว่าความเป็นพิษและอัตราการตายของหอยเชอร์รี่จะเพิ่มตามระดับความเข้มข้นที่ได้รับสัมผัส [12] โดย Caguan และ Joshi [9] ได้รายงานว่าการศึกษากำจัดศัตรูพืชที่เป็นส่วนผสมของคลอรีนฟอสเฟสกับไซเปอร์เมทรินทำให้เกิดความเป็นพิษต่อหอยเชอร์รี่มากกว่าสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่มีสารเคมีเพียงกลุ่มเดียว และจากการศึกษาของคณะผู้วิจัยก่อนหน้านี้ซึ่งอยู่ในระหว่างตีพิมพ์พบว่าค่า LC_{50} ของคลอรีนฟอสเฟสในหอยเชอร์รี่ ที่เวลา 96 ชั่วโมง เท่ากับ 4.22 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนค่า LC_{50} ของไซเปอร์เมทริน ที่ 96 ชั่วโมง เท่ากับ 8.99 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่ง Walker et al. [13] อธิบายไว้ว่าปัจจัยที่ควบคุมระดับความเป็นพิษของสิ่งมีชีวิตคือ ระยะเวลา เส้นทางการได้รับสัมผัส และระดับความเข้มข้นของสาร และจากการศึกษาของ Thanomsit et al. [14] ที่ได้ทำการศึกษากำจัดศัตรูพืชและอัตราการตายสะสมของปลาไนเมื่อได้รับสัมผัสสารคลอรีนฟอสเฟสกับไซเปอร์เมทริน ซึ่งจากการศึกษาพบว่า การตายครั้งแรกเกิดขึ้นเมื่อปลาไนได้รับสัมผัสสารทุกระดับความเข้มข้นเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง และอัตราการตายสะสมจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาและระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาในหอยทากน้ำจืด (*Melanoides tuberculatus*) ซึ่งค่า LC_{50} ที่ 96 ชั่วโมงของการสัมผัสกับไซเปอร์เมทรินเท่ากับ 3.81 มิลลิกรัมต่อลิตร และในหอยหวาน (*Marcia Opima*) ซึ่งพบว่าค่า LC_{50} ของไซเปอร์เมทรินเท่ากับ 2.75 ppm [7,8] โดยอาจมาจากความแตกต่างของหอยแต่ละชนิด และรูปแบบต่าง ๆ ของไซเปอร์เมทรินที่ใช้

จากการศึกษาพฤติกรรมของหอยเชอร์รี่พบว่าหอยเชอร์รี่ในกลุ่มที่ได้รับสัมผัสสารคลอรีนฟอสเฟสกับไซเปอร์เมทรินมีพฤติกรรมที่เปลี่ยนแปลงไปจากกลุ่มควบคุมอย่างชัดเจน การเปลี่ยนแปลงที่ตรวจสอบได้คือ หอยเชอร์รี่มีการขับถ่ายของเสีย ปล่อยสารเมือก คาว ตัวหงายตัวอยู่กันโหลทดลองและเคลื่อนตัวเล็กน้อย ซึ่งการศึกษาในครั้งนี้ คล้ายคลึงกับการศึกษาของกอบกุล [15] ที่รายงานว่าพิษเฉียบพลันของสารสกัดจากใบสาบเสือผกากรองต่อหอยเชอร์รี่จะส่งผลให้การแสดงพฤติกรรมคล้าย ๆ กัน คือ ในช่วงแรกหอยจะปิดฝาเปลือกและปล่อยตัวให้ลอยสู่วิวัฒนาการจากนั้นจะค่อย ๆ เปิดฝาเปลือกแล้วยื่นส่วนเท้าออกมาและเคลื่อนที่ เมื่อเวลาผ่านไปจะเริ่มคลานขึ้นสู่วิวัฒนาการเพื่อหนีจากน้ำ จากนั้นเมื่อครบระยะเวลา 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง หอยเชอร์รี่บางตัวจะปิดฝาเปลือกแน่นสนิทลอยอยู่บนผิวน้ำ ในขณะที่บางตัวจะปิดฝาเปลือกจนแน่นสนิทแล้วจมอยู่ก้นภาชนะพร้อมทั้งปล่อยสารเมือกออกมาและตายในที่สุด

สัณฐานวิทยาเป็นการศึกษาโครงสร้างของสัตว์และวิวัฒนาการในการศึกษาครั้งนี้ได้นำวิธีการประเมินถึงสัณฐานวิทยาที่เปลี่ยนแปลงไปของหอยเชอร์รี่ที่ได้รับสัมผัสสารคลอรีนฟอสเฟสกับไซเปอร์เมทรินมาประยุกต์ใช้ในการตรวจสอบเพื่อให้ทราบถึงผลกระทบที่เกิดขึ้นอย่างแท้จริงโดยประเมินทั้งลักษณะภายนอกและภายในโดยเมื่อทำการศึกษาพบว่าลักษณะภายนอกของหอยเชอร์รี่ที่ตรวจสอบเมื่อได้รับสัมผัสสารคลอรีนฟอสเฟสกับไซเปอร์เมทรินพบว่าหอยเชอร์รี่มีลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอกที่ไม่เปลี่ยนแปลง คือ มีสีและเปลือกที่ปกติ ซึ่งการศึกษานี้แตกต่างกับการศึกษาของชุดิมา และคณะ [16] ที่รายงานว่าหอยเชอร์รี่หลังสัมผัสกับสารเคมีทางการเกษตร พบว่าการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของไซเปอร์เมทรินจำแนกได้ 5 กลุ่ม คือ ลักษณะไขผิดปกติ เปลือกไขผิดปกติและตัวอ่อนผิดปกติ และยังแตกต่างกับการศึกษาของน้ำทิพย์ และคณะ [12] ที่ทำการศึกษาสัณฐานวิทยาของไซเปอร์เมทรินหลังจากสัมผัสกับแคดเมียมคลอไรด์ พบว่าการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของไซเปอร์เมทรินและลักษณะของไซที่ปกติจะเพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นของแคดเมียมคลอไรด์ที่ไซได้รับการสัมผัส

เมื่อทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาภายในของหอยเชอร์รี่ โดยตรวจสอบจากเนื้อเยื่อ พบว่าเนื้อเยื่อของหอยเชอร์รี่ได้รับสัมผัสสารมีการเปลี่ยนแปลงไปจากกลุ่มควบคุมโดย พบว่า เนื้อเยื่อของหอยเชอร์รี่ได้รับสัมผัสสารมีลักษณะเนื้อเยื่อเยื่อ ซึ่งในการศึกษานี้เป็นไปในแนวเดียวกันกับการศึกษาของ ชุดิมา และคณะ [16] ที่รายงานว่าลักษณะสัณฐานวิทยาภายในของไซเปอร์เมทรินหลังสัมผัสกับสารเคมีทางการเกษตรคือ โกลโฟสเฟต ไซเปอร์เมทริน และเมทิลดีไฮด์ พบว่าเนื้อเยื่อของหอยเชอร์รี่เยื่อเยื่อ และเกิดการเชื่อมกันของเซลล์เนื้อเยื่อและการศึกษาครั้งนี้เป็นไปในแนวเดียวกันกับการศึกษาสัตว์น้ำชนิดอื่นที่พบว่าสารกำจัดแมลงศัตรูพืชส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงสัณฐานวิทยาภายใน ยกตัวอย่างเช่น ในการศึกษาของ ชุดิมา และคณะ [17] ที่ทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของปลาไนเมื่อได้รับสัมผัสกับคลอรีนฟอสเฟสซึ่งระดับความเข้มข้นและระยะเวลามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยการเปลี่ยนแปลงที่ตรวจสอบคือเนื้อเยื่อบริเวณเหงือกเปลี่ยนแปลงเป็นสีขาว เนื้อเยื่อถูกทำลายไปเหงือกขาด และ Hepatopancreas จะมีสีเข้มขึ้น แต่เมื่อได้รับสัมผัสที่ความเข้มข้นสูงสุด คือ 10 ppm Hepatopancreas จะเยื่อเยื่อ ซึ่งสาเหตุของการศึกษาในครั้งนี้แตกต่างกันอาจเนื่องมาจากชนิดของสัตว์ทดลอง และชนิดของสารที่นำมาทดลองแตกต่าง

การศึกษารูปแบบของโปรตีนที่พบในหอยเชอร์รี่ด้วยเทคนิคโฆเดียมโดดิคริลิลซัลเฟต เจลอิเล็กโตรโฟรีซิส โดยพิจารณาการแสดงออกของอะซิติลโคลีนเอสเตอเรส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนอะซิติลโคลีน (สารสื่อประสาท) ไปเป็นโคลีนและอะซีเตต เมื่อเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรสไม่สามารถทำหน้าที่ได้ จะทำให้เกิดการคั่งของอะซิติลโคลีน ซึ่งการคั่งของสารดังกล่าวจะมีผลกระทบต่อระบบประสาทส่วนกลางและส่วนปลายทำให้เกิดการกระตุกของกล้ามเนื้อ [6,10,13] ด้วยเหตุนี้จึงมีการตรวจประเมินการรับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชด้วยการตรวจวัดการทำงานของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรสโดยตรง ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพของการรับสัมผัส (Biomarker of exposure) จากการสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชได้ โดยหากได้รับ สารดังกล่าวเป็นเวลานานและมีปริมาณมากจะพบว่า

อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์จะถูกทำลายและที่สำคัญเนื้อเยื่อจะเกิดการเปลี่ยนแปลงด้วย ในการศึกษาค้นคว้าอะซีทิลโคลีนเอสเทอร์ในหอยเชอร์รี่จากเนื้อเยื่อทุกระดับความเข้มข้นที่ศึกษา ตั้งแต่เวลา 24 ชั่วโมง สามารถตรวจสอบอะซีทิลโคลีนเอสเทอร์ได้ โดยมีขนาดโมเลกุล 71 kDa แต่เมื่อเวลาผ่านไปเป็น 48 ชั่วโมง จะมีแนวโน้มลดลงสุดท้ายที่เวลา 96 ชั่วโมง จะไม่พบการแสดงออกของอะซีทิลโคลีนเอสเทอร์ ซึ่งเป็นไปในแนวเดียวกันกับการศึกษาของ ชูติมา และคณะ [6] ศึกษาถึงอะซีทิลโคลีนเอสเทอร์ในหอยขมและหอยเชอร์รี่ทุกขนาดคือขนาดเล็ก ขนาดกลาง และขนาดใหญ่ พบว่าการแสดงออกของอะซีทิลโคลีนเอสเทอร์สูงกว่าชุดควบคุม โดยอะซีทิลโคลีนเอสเทอร์มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 71 kDa และยังสามารถศึกษาของ ชูติมา และคณะ [15] ที่ศึกษาการแสดงออกของอะซีทิลโคลีนเอสเทอร์ในไขหอยเชอร์รี่และหอยเชอร์รี่ (*Pomaceu canaliculata*) พบว่าไขเป็นสีชมพูนั้นจะปรากฏแถบโปรตีน 2 isoform ที่มีขนาด 67 kDa และ 71 kDa ส่วนของหัวที่นำมาสกัดพบว่าอะซีทิลโคลีนเอสเทอร์มีขนาด 71 kDa และยังเป็นไปในแนวเดียวกันกับการศึกษาของ น้ำทิพย์ และคณะ [16] ที่รายงานไว้ว่า รูปแบบของโปรตีนที่พบในหอยเชอร์รี่ที่ได้รับสัมผัสแคดเมียมคลอไรด์ มีขนาดเท่ากับ 71 kDa และเมื่อหอยเชอร์รี่ได้รับสัมผัสสารนํ้าขึ้นการแสดงออกของอะซีทิลโคลีนเอสเทอร์มีแนวโน้มที่จะลดลง โดยการศึกษาผลของคลอรีนฟอสเฟตต่ออะซีทิลโคลีนเอสเทอร์ในปลาไนพบว่า การทำงานของเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์จะลดลงมากขึ้น เมื่อได้รับสัมผัสสารคลอรีนฟอสเฟตในระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้น โดยเมื่อได้รับสารกำจัดศัตรูพืชในระดับความเข้มข้นต่ำมาก สิ่งมีชีวิตจะสามารถปรับตัวและสร้างเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์ขึ้นมาทดแทนเพื่อให้ระดับการทำงานของเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์ที่ลดลงให้กลับเข้าสู่ระดับที่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ [17]

เทคนิคคอตบลดทเป็นเทคนิคทางแอนติบอดีแบบหนึ่ง โดยใช้หลักการของแอนติบอดีและแอนติเจนที่จำเพาะต่อกันทำปฏิกิริยาบนแผ่นเมมเบรน เมื่อเติมแอนติบอดีที่ติดฉลากด้วยเอนไซม์มาจับกับแอนติเจน หรือแอนติบอดี ที่จำเพาะต่อแอนติเจนที่สนใจ แล้วนำมาเติมสับสเตรทที่จำเพาะกับเอนไซม์นั้นก็จะสามารถตรวจสอบผลเชิงคุณภาพได้ด้วยการสังเกตจุดสีน้ำตาลเทาบนเมมเบรน โดยอาจเปรียบเทียบกับตัวควบคุมผลบวกและลบเพื่อเพิ่มความแม่นยำ ซึ่งเทคนิคนี้สามารถตรวจสอบตัวอย่างจำนวนมากได้ในเวลาอันรวดเร็ว มีความแม่นยำสูง สามารถวิเคราะห์ได้ในระดับนาโนกรัม ค่าใช้จ่ายน้อย และขั้นตอนไม่ยุ่งยาก จึงมีการนำไปประยุกต์ใช้กับการตรวจสอบทั้งในเชิงสิ่งแวดล้อม การเกษตร หรือทางการแพทย์อย่างกว้างขวาง ดังนั้นเทคนิคคอตบลดทจึงถือเป็นทางเลือกหนึ่งที่มีความน่าสนใจในการนำมาพัฒนาเพื่อตรวจสอบการปนเปื้อนสารรบกวนการทำงานของต่อมไร้ท่อในสิ่งแวดลอม Thanomsit et al. [18] เสนอแนะว่าเทคนิคคอตบลดทเป็นเทคนิคที่นำมาใช้ในการประเมินถึงการแสดงออกของอะซีทิลโคลีนเอสเทอร์ในสัตว์น้ำได้ เช่น ในปลาตุ๊กตาส้ม และปลาช่อน ซึ่งการแสดงออกของอะซีทิลโคลีนเอสเทอร์จะขึ้นอยู่กับปริมาณสารและระยะเวลาที่ได้รับสัมผัส [14]

ในการศึกษาค้นคว้าพบว่าหอยเชอร์รี่เมื่อสัมผัสกับสารคลอรีนฟอสเฟตกับไซเพอร์เมทรินพบว่าการแสดงออกของอะซีทิลโคลีนเอสเทอร์จะลดลงเมื่อหอยเชอร์รี่ได้รับสัมผัสสารเป็นเวลานานและที่ระดับความเข้มข้นสูงเมื่อทำการประเมินโดยใช้เทคนิคคอตบลดท การศึกษาในครั้งนี้เป็นไปในแนวเดียวกันกับการศึกษาของ น้ำทิพย์ และคณะ [16]

ที่รายงานไว้ว่าเมื่อทำการศึกษาค้นคว้าการแสดงออกของอะซีทิลโคลีนเอสเทอร์ด้วยเทคนิคคอตบลดทในหอยเชอร์รี่ที่ได้รับสัมผัสกับแคดเมียมคลอไรด์ พบว่าการแสดงออกของอะซีทิลโคลีนเอสเทอร์จะลดลงและมีขีดจำกัดของการตรวจสอบใกล้เคียงกัน

ในการศึกษาค้นคว้านี้สอดคล้องกับการศึกษาของ ชูติมา และคณะ [19] ที่รายงานไว้ว่าการแสดงออกของอะซีทิลโคลีนเอสเทอร์ในเหงือกและ Hepatopancreas ของปูนาที่ได้รับสัมผัสกับคลอรีนฟอสเฟตพบขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นของคลอรีนฟอสเฟตที่ได้รับสัมผัสเมื่อทำการทดสอบโดยใช้เทคนิคคอตบลดท โดยถ้ายังได้รับสัมผัสคลอรีนฟอสเฟตปริมาณสูงขีดจำกัดของการตรวจสอบก็จะต่ำมาก ยิ่งไปกว่านั้น Narra [20] รายงานไว้ว่าการแสดงออกของอะซีทิลโคลีนเอสเทอร์สามารถทำได้โดยใช้การตรวจประเมินกิจกรรมของเอนไซม์ในปู (*Barytelphusa guerini*) ที่ได้รับสัมผัสกับคลอรีนฟอสเฟต ซึ่งเทคนิคที่ใช้มีความแตกต่างกันในการศึกษาค้นคว้านี้ทำให้การศึกษาต่างกัน

5. สรุปผลการทดลอง

หอยเชอร์รี่เมื่อได้รับสัมผัสกับสารคลอรีนฟอสเฟตผสมกับไซเพอร์เมทรินซึ่งเป็นสารกำจัดแมลงศัตรูพืชจะก่อให้เกิดผลกระทบทั้งในเรื่องของการตายสะสม โดยเมื่อได้รับสารผสมกันจะทำให้เกิดความเป็นพิษต่อหอยเชอร์รี่มากกว่าสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่มีสารเคมีเพียงกลุ่มเดียวนอกจากนี้ยังมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรม การเปลี่ยนแปลงสัณฐานวิทยา และการแสดงออกของอะซีทิลโคลีนเอสเทอร์โดยการเปลี่ยนแปลงที่ตรวจสอบได้จะขึ้นอยู่กับระยะเวลาที่ได้รับสัมผัส อย่างไรก็ตามพบว่าการแสดงออกของอะซีทิลโคลีนเอสเทอร์จะลดลงเมื่อหอยเชอร์รี่ได้รับสัมผัสสารเป็นเวลานาน โดยอะซีทิลโคลีนเอสเทอร์ในหอยเชอร์รี่มีขนาด 71 kDa ดังนั้นหอยเชอร์รี่จึงมีแนวโน้มที่จะนำมาใช้เป็นตัวชี้วัดการได้รับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชได้หากมีการปนเปื้อนในแหล่งน้ำ และสามารถใช้เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพของการสัมผัสสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในแหล่งน้ำตามธรรมชาติได้ อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับสัตว์น้ำอื่น ๆ ที่ได้รับสัมผัสสารคลอรีนฟอสเฟตผสมกับไซเพอร์เมทริน และการศึกษาในสารเคมีทางการเกษตรชนิดอื่น ๆ เพิ่มเติม

6. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากสาขาวิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี วิทยาเขตสุรินทร์

เอกสารอ้างอิง

1. Chankao S. Study of biodiversity of golden apple snail in central part of Thailand by polymerase chain reaction. Master of Education degree. Chemistry. Faculty of Science. Srinakharinwirot University. Bangkok. 2004. 61 p.
2. Chalermchutipapha N. Alien species raids to destroy biodiversity. UPDATE. 2010. p. 51-61.
3. อรพินท์ จินตสถาพร, ประทักษ์ ตาบทิพย์วรรณ, สุนารี เย็นมาก. การใช้หอยเชอร์รี่ทดแทนปลาป่นในอาหารกุ้งก้ามกราม.

- การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; 2547. p.181-189.
4. Thanomsit C, Wattanakornsiri A, Nanthanawat P. Adverse Effects of Abamectin on Hematological Profile and Histological Alterations of Hybrid catfish (*Clarias microcephalus* x *C. gariepinus*). Burapha Science Journal. 2017; 22(2): 169-182.
5. Thanomsit C, Saowakoon K, Wattanakornsiri A, Nanuam J, Prasatkaew W, Nanthanawat P. Induction and purification of Acetylcholinesterase (AChE) from hybrid catfish after exposed to glyphosate for applying as antigen in antibody production. The 1st Rajamangala Sakon Nakhon Conference: RSKC 2018.
6. ชุตติมา ถนอมสิทธิ์, อรุณี มาประจวบ, วิชชุดา ประสาทแก้ว, หยาตเพชร โอเจริญ, อำนวย วัฒนกรศิริ, จักรพันธ์ นาน่วม, พอลิต นันทนาวัฒน์. การประยุกต์ใช้อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสเป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพการได้รับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชเพื่อลดความเสี่ยงในการบริโภคหอยขมและหอยเชอรี่. การประชุมวิชาการระดับชาติ นวัตกรรมและเทคโนโลยีวิชาการ 2017 “วิจัย องค์ความรู้ สู่การพัฒนา อย่างยั่งยืน” มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี, สุรินทร์. 2560. น.117-119.
7. Fakeye OD, Olatunji EO. A study of the acute toxicity of some selected heavy metal and pesticides on a fresh water snail (*Melanoides tuberculatus*). ChemTech Journal. 2016; 11: 28-43.
8. Mukadam M, Kulkarni A. Acute Toxicity of Synthetic Pyrethroid Cypermethrin on Protein Content in Estuarine Clam, Marcia Opima (Gmelin, 1791). Journal of Environmental & Analytical Toxicology. 2014; 4(2): 1-4. doi: 10.4172/2161-0525.1000209
9. Cagauan AG, Joshi RC. Golden apple snail *Pomacea* spp. in the Philippines. Review on levels of infestation, control methods, utilization and future research directions. Journal of Agriculture and Life Sciences. 2003; 37(2): 7-32.
10. Thanomsit C, Maprajub A, Saowakoon S, Prasatkaew W, Ocharore Y, Wattanakornsiri A, Nanthanawat P. Acetylcholinesterase (AChE): Potential Biomarker for Evaluating Pesticide Exposure on Egg and Tissue of Golden Apple Snail (*Pomacea canaliculata*) from Huai-Saneng Reservoir, Surin Province, Thailand. Thai Journal of Agricultural Science. 2018; 51(3): 104-117.
11. วิชชุดา ประสาทแก้ว, พอลิต นันทนาวัฒน์. การพัฒนาเทคนิคดอทบลอตเพื่อตรวจสอบไวเทิลโลเจนินสำหรับใช้เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพของสารบรรณการทำงานของต่อมไร้ท่อ. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา. 2561; 23(3): 1448-1457.
12. น้ำทิพย์ จันถาวร, ไชยวัฒน์ นวลขาว, ปราง กายจนสาร, ปวีณา สาสีทอง, จันทรพิมพ์ กังพานิช, พอลิต นันทนาวัฒน์, ชุตติมา ถนอมสิทธิ์. ผลกระทบของแคดเมียมคลอไรด์ ($CdCl_2$) ที่มีต่อการเพาะฟักของไขหอยเชอรี่. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา. 2564; 26(1): 488-509.
13. Walker CH, Hopkin SP, Sibly RM, Peakall DB. Principle of Ecotoxicology. 2006; Taylor & Francis: USA.
- 1 4. Thanomsit C, Nualkaw C, Prasatkaew W, Wattanakornsiri A, Nanuam J, Nanthanawat P, Kiatprasert P. Adverse effects of chlorpyrifos and cypermethrin mixture on physiological alterations and cholinesterase expression on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Thai Journal of Agriculture Science. 2020; 53(3): 134-148.
15. กอบกุล นงนุช. พิษเฉียบพลันของสารสกัดสาบเสือและต้นผักกรองต่อหอยเชอรี่. การประชุมวิชาการระดับชาติ นวัตกรรมและเทคโนโลยีวิชาการ 2017 “วิจัย องค์ความรู้ สู่การพัฒนา อย่างยั่งยืน” มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี, สุรินทร์. 2560. น. 814-816.
16. ชุตติมา ถนอมสิทธิ์, ถัดดาวรรณ บุญปก, ธนพงศ์ เปรียบเสนาดี, อำนวย วัฒนกรศิริ, หยาตเพชร โอเจริญ, จักรพันธ์ นาน่วม, วิชชุดา ประสาทแก้ว, พอลิต นันทนาวัฒน์. อัตราการเพาะฟัก ลักษณะสัณฐานวิทยาและการเปลี่ยนแปลงของไขหอยเชอรี่ (*Pomacea canaliculata*) หลังสัมผัสกับสารเคมีทางการเกษตร. วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง. 2562; 13(1): 24-40.
17. พิทยา นิตยาจิตร, ศักดิ์สิทธิ์ จันทรไทย, รักพงษ์ เพชรคำ. ผลของสารคลอรีไพรีฟอสต่อการทำงานของเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเทอเรสในสมอง พลาสมา และเม็ดเลือดแดงของปลานิล. วารสารวิจัย มช. 2552; 14(1): 55-67.
- 1 8. Thanomsit C, Saowakoon K, Wattanakornsiri A, Khongchareonporn N, Nanuam J, Prasatkaew W, Nanthanawat P. Acetylcholinesterase (AChE) Polyclonal Antibody from Hybrid catfish (*C. macrocephalus* x *C. gariepinus*): Specification, Sensitivity and Cross Reactivity. Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2020; 108837.
19. ชุตติมา ถนอมสิทธิ์, น้ำทิพย์ จันถาวร, ไชยวัฒน์ นวลขาว, จักรพันธ์ นาน่วม, หยาตเพชร โอเจริญ, อำนวย วัฒนกรศิริ, พอลิต นันทนาวัฒน์. ผลกระทบของสารกำจัดแมลงศัตรูพืช (คลอรีไพรีฟอส) ในปูนา (*Sayarmia* sp.). การประชุมวิชาการระดับชาติ ราชมงคลสุรินทร์ ครั้งที่ 11 “วิจัยและนวัตกรรมวิถี

ใหม่”. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขต
สุรินทร์, สุรินทร์. 2563.

20. Narra MR. Effects of chlorpyrifos insecticide, on
cholinesterase activity and its depuration in the crab
Barytelphusa guerini. International Journal of
Environmental Technology and Management. 2015;
18(1): 1-8.



ISSN 1686-4522

KOCH CHA SARN JOURNAL OF SCIENCE
Vol. 44 (1); January-June (2022), pp. 34-42
<https://science.srru.ac.th/kochasarn>

Review Article

Leaf protein: an alternative raw material for future food

โปรตีนจากใบพืช: วัตถุดิบทางเลือกเพื่ออาหารแห่งอนาคต

นักษิณี ปัญญาใหญ่^{1*}

^{1*}คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ ศูนย์แมริม ต.สะลวง อ.แมริม จ.เชียงใหม่ 50330

Article Info

Received 28 March 2022

Revised 17 May 2022

Accepted 26 September 2022

Abstract

Protein is an essential nutrient that the world is paying attention an alternative leaf protein. The protein has begun to be studied and commercialized for health benefits. This review article reports leafy plants are grown worldwide, such as moringa, alfalfa, cassava, kale, spinach, Chaya, mulberry, parsley, cowpea, and corkwood. The leaf protein is detailed in nutrition, food and pharmaceutical function. Currently, the demand for leaf protein has increased because it is classified as alternative raw material in functional foods for health. The development of extraction methods, removal of antinutrients, and food formulation will increase the potential for future food as a substitution protein source for humans.

Keywords: leaf protein, future food, nutrition

บทคัดย่อ

โปรตีนจัดเป็นสารอาหารสำคัญที่โลกกำลังให้ความสนใจโปรตีนทางเลือกจากใบพืช โปรตีนจากใบพืชเริ่มมีการศึกษาและนำไปใช้ประโยชน์ด้านสุขภาพและในทางการค้า บทความนี้สรุปเรื่องใบพืชให้โปรตีนที่มีการนำมาใช้ประโยชน์ เช่น มะรุม อัลฟัลฟา มันสำปะหลัง เคล ผักโขม ชะอม ใบหม่อน พาสลีย์ ใบถั่วพุ่ม และใบแค ได้นำมาวิเคราะห์คุณค่าโภชนาการ สมบัติทางเทคโนโลยีอาหารและยา ซึ่งปัจจุบันความต้องการโปรตีนจากใบพืชมีมากขึ้นเพราะจัดเป็นวัตถุดิบทางเลือกในอาหารฟังก์ชันเพื่อสุขภาพ การพัฒนาวิธีการสกัด การแยกสารต้านอนุมูลอิสระ โภชนาการ การนำไปผสมสูตรอาหารจะช่วยเพิ่มศักยภาพในการใช้เป็นแหล่งอาหารในอนาคตทดแทนโปรตีนจากแหล่งอื่น ๆ สำหรับมนุษย์ได้

คำสำคัญ: โปรตีนจากใบพืช, อาหารแห่งอนาคต, โภชนาการ

1. บทนำ

โปรตีนจัดเป็นสารอาหารที่จำเป็นสำหรับมนุษย์เพื่อใช้สร้างภูมิคุ้มกัน เสริมการเจริญเติบโต และซ่อมแซมเซลล์ [1] แต่ปัจจุบันปัญหาการขาดแคลนโปรตีนของมนุษย์ยังเป็นประเด็นที่ภาคการเกษตรและอาหารทั่วโลกให้ความสนใจเพราะการคาดการณ์ในปี ค.ศ. 2040 จำนวนประชากรที่มากถึง 9,000 ล้านคนจะเป็นอุปสรรคในการเข้าถึงแหล่งโปรตีนโดยเฉพาะผู้ยากไร้และเด็กเล็ก [2] นอกจากนี้ผลจากภาวะสงครามและโรคระบาด เช่น การปิดประเทศหรือเมืองใหญ่

ในช่วงโควิด การระบาดโรคสัตว์ จึงทำให้การขนส่งแหล่งโปรตีน เช่น เนื้อสัตว์ น้านม ไข่ ถั่วเหลือง เกิดภาวะชะงักในการนำเข้าแหล่งโปรตีน ความแห้งแล้งจากการเปลี่ยนแปลงภูมิอากาศโลกร้อนขึ้นส่งผลต่อปริมาณผลผลิตของแหล่งโปรตีน [3] เป็นต้น ปัจจัยเหล่านี้ส่งผลต่อการผลิตโปรตีนระยะยาวที่เสี่ยงต่อโปรตีนที่มีราคาแพงและปัญหาสุขภาพจากการขาดแคลนโปรตีนทำให้ไม่อาจบรรลุเป้าหมายการพัฒนาที่ยั่งยืนแห่งสหประชาชาติ (United Nations Sustainable Development Goals (SDGs)) เกี่ยวกับไม่มีความอดอยาก (zero

*Corresponding Author. Email: naksit_pan@cmru.ac.th

hunger) และสุขภาพดี ชีวีมีสุข (good health and well-being) รวมทั้ง การดำเนินการด้านภูมิอากาศ (climate action)

โปรตีนจากใบพืชเป็นโปรตีนสำรองเพื่อความมั่นคงทางอาหารในการจัดห่วงโซาอาหารในแอฟริกาและเอเชีย ซึ่งปัจจุบันโปรตีนจากใบพืชเริ่มเป็นที่นิยมในทั่วโลก โดยมีหลายเหตุผลสนับสนุนโปรตีนจากใบพืชสีเขียวเหล่านี้ [3] ดังนี้

- **หนึ่ง** ลดการผลิตโปรตีนจากเนื้อสัตว์ (animal protein) ที่เน้นการผลิตในระดับมหภาคของประเทศที่พัฒนาไปสู่การผลิตโปรตีนจากพืชแทน (plant-based protein)
- **สอง** การลดการปล่อยก๊าซทำให้โลกร้อน (greenhouse gas emission) ลงไปร้อยละ 14.5 ด้วยการลดการใช้ที่ดินและน้ำในการทำปศุสัตว์ขนาดใหญ่และการปลูกพืชเชิงเดี่ยว [4]
- **สาม** การลดความเสี่ยงจากโรคที่ไม่ติดต่อ เช่น มะเร็ง ความอ้วน ที่มีสาเหตุจากการบริโภคอาหารที่มีสารเคมีทางการเกษตร ฮอริโมน และไขมันสัตว์ พบว่า ประชากรโลกร้อยละ 65 กำลังประสบปัญหาสุขภาพสารพิษตกค้างเรื่องนี้ [4]
- **สี่** การปฏิบัติตามหลักสุขภาพสัตว์และศาสนาลดการเบียดเบียนสัตว์ของอิสลาม ฮินดู พุทธ ตอบสนองความต้องการผู้รับประทานมังสวิรัต กึ่งมังสวิรัต เจ เป็นต้น

ในบทความปริทัศน์เกี่ยวกับโปรตีนจากใบพืชเรื่องนี้จะนำเสนอเนื้อหาวิชาการเกี่ยวกับ คุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนจากใบพืช การสกัดโปรตีนจากใบพืช ชนิดโปรตีนจากใบพืช โปรตีนจากใบพืชต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม ศักยภาพผลิตภัณฑ์ที่มีโปรตีนจากใบพืชในตลาดโลก และแนวทางการเป็นไปได้ในการใช้ประโยชน์โปรตีนจากใบพืช ดังต่อไปนี้

2. คุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนจากใบพืช

ใบพืชที่พบในพื้นที่ต่าง ๆ ทั่วโลกในตารางที่ 1 อุดมด้วยโปรตีน เช่น ใบถั่วพุ่ม ใบอัลฟัลฟา ใบมะรุม ใบมันสำปะหลังมีโปรตีนสูงถึงร้อยละ 30 โดยน้ำหนักแห้ง นอกจากนี้ใบพืชเหล่านี้ยังอุดมด้วยเส้นใยอาหาร เช่น ใบอัลฟัลฟา ใบชาวยามีเส้นใยอาหารมากกว่าร้อยละ 20 โดยน้ำหนักแห้ง ส่วนแร่ธาตุใบถั่วพุ่มมีโพแทสเซียมมาก (1.34 กรัมต่อน้ำหนักใบแห้ง 100 กรัม) ใบมะรุมมีเหล็กมาก (51 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักใบแห้ง 100 กรัม)

คุณภาพโปรตีนจากใบพืชหากพิจารณาในประเด็นความต้องการโปรตีนของมนุษย์และความสามารถในการย่อยโปรตีนแล้วนำไปใช้ประโยชน์ กล่าวอ้างได้ด้วยค่า **Protein Digestibility-Corrected Amino Acid Score (PDCAAS)** [14] ยกตัวอย่างใบมะรุมมีค่า PDCAAS เท่ากับ 0.41 ในขณะที่โปรตีนจากถั่วเหลืองมีค่าเท่ากับ 1 ซึ่งหากมีการผสมโปรตีนจากใบมะรุมกับถั่วและงาจะช่วยเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการให้กับโปรตีนจากพืช

กรดอะมิโนที่พบในโปรตีนจากใบพืชเมื่อเปรียบเทียบกับความต้องการกรดอะมิโนของมนุษย์กำหนดโดยองค์การเกษตรและอาหารแห่งสหประชาชาติ และองค์การอนามัยโลก (FAO/WHO) โปรตีนจากใบพืชมีกรดอะมิโนหลายชนิดและมีปริมาณมากกว่าที่กำหนด เช่น ใบชายา ใบหม่อน อัลฟัลฟา มีกรดอะมิโนจำเป็น (ฮิสทีดีน ไอโซลิวซีน ลิวซีน ไลซีน ทรีโอนีน และวาเลีน) มากกว่าความต้องการของ

มาตรฐานสากลกำหนด อย่างไรก็ตาม โปรตีนพืชทั่วไปมีกรดอะมิโน 3 ชนิด ได้แก่ เมไทโอนีน ไลซีน และ ทรีปโตฟานปริมาณน้อย ทำให้คุณภาพของโปรตีนลดลง [15] ดังนั้น การนำโปรตีนจากใบพืชไปใช้ส่งเสริมการบริโภคในแอฟริกาและเอเชีย [16] ควรมีการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นและการเติมเมไทโอนีน ทรีปโตฟานบริสุทธิ์หรือผสมโปรตีนสกัดจากใบพืชกับเห็ด งา ถั่ว สาหร่าย จะช่วยให้โปรตีนจากพืชที่มีคุณค่ามากขึ้น ซึ่งคุณภาพของโปรตีนเหล่านี้ขึ้นกับชนิดพืช ความแก่อ่อน และกระบวนการแปรรูปก่อนนำไปบริโภค

ใบพืชที่มีโปรตีนบางชนิด เช่น ใบชายา ใบมะรุม และใบมันสำปะหลังมี **สารต้านคุณค่าทางโภชนาการ (antinutrient)** เช่น ไฮยาไนด์ (cyanide), ออกซาเลต (oxalate), ไฟเตต (phytate), แทนนิน (tannin), และ สารยับยั้งทริปซิน (trypsin inhibitors) ดังนั้น การใช้ความร้อนด้วย การลวก การนึ่ง การต้ม เป็นวิธีปฏิบัติทั่วไปในการลดสารต้านคุณค่าทางโภชนาการเหล่านี้ เช่น ใบชายามีปริมาณไฮยาไนด์ 2.35-4.45 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักใบแห้ง การต้มใบชายานาน 5 นาที ลดไฮยาไนด์ให้ปลอดภัยต่อการบริโภคได้ [20-22]

3. การสกัดโปรตีนจากใบพืช

การสกัดโปรตีนจากใบพืชเป็นเทคนิคในการเพิ่มระดับความเข้มข้นและความบริสุทธิ์ โดยการควบคุมปัจจัยในการสกัด ได้แก่ อุณหภูมิ ความเป็นกรด ความเป็นด่าง เวลา และชนิดของตัวทำละลาย เพื่อให้ได้โปรตีนที่ไม่คั่ง ไม่มีกลิ่น แต่มีการละลายและการย่อยที่ดี สมบัติของโปรตีนที่สำคัญคือหนึ่ง สมบัติการละลาย เช่น การเกิดอิมัลชัน การเกิดโฟม การเชื่อมประสานระหว่างน้ำและน้ำมัน สอง สมบัติเกี่ยวกับไฮโดรโคนามิก เช่น ความหนืด เจล และเนื้อสัมผัส สมบัติเหล่านี้เปลี่ยนแปลงได้จากการแปรรูป การเก็บรักษา และการบริโภค [23, 24]

โปรตีนสกัดจากอัลฟัลฟา ละลายในน้ำหรือสารละลายต่าง จากนั้นให้ความร้อนเพื่อสกัดโปรตีนที่อุณหภูมิ 50-55 องศาเซลเซียสก่อนการปั่นเหวี่ยงแยกโปรตีนออกมา [25] การแยกโปรตีนใบหม่อนออกมาโดยการละลายในน้ำ นำส่วนใสมาละลายต่อในสารละลายต่างที่ pH 7.49 จะได้อัลบูมิน (albumin) การสกัดตะกอนต่อด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ และ สกัดต่อด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ จะได้โกลบูลิน (globulin) ที่ pH 7.96 และกลูเทลิน (glutelin) ที่ pH 10.52 ตะกอนที่เหลือนำไปละลายต่อในสารละลายแอลกอฮอล์ร้อยละ 70 แล้วนำไประเหยเอาแอลกอฮอล์ออกไปจะได้โพรลามีน (prolamin) การทำโปรตีนให้บริสุทธิ์มากขึ้นโดยการทำไดอะไลซิส (dialysis) และทำแห้งแบบระเหิด (lyophilization) การเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราโซนิก (ultrasonication) ควบคู่กับการใช้ตัวทำละลายเพื่อให้เซลล์พืชแตกออกจะได้โปรตีนจากใบพืชที่นำไปศึกษาสมบัติหน้าที่ต่อไปได้ [26]

โปรตีนสกัดจากอัลฟัลฟาเข้มข้นมีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า 107 กิโลดาลตัน มีองค์ประกอบโปรตีนโมเลกุลเล็ก 12 กิโลดาลตัน และ 49 กิโลดาลตัน ที่เรียกชื่อว่า รูบิสโค (RuBisCo) หรือ Ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase

ตารางที่ 1 แหล่งโปรตีนจากใบพืชที่ปลูกทั่วโลก

แหล่งโปรตีนจากใบพืช	ภาพประกอบ	ถิ่นกำเนิดของพืช	จุดเด่นของใบพืช	เอกสารอ้างอิง
ใบอัลฟัลฟา (Alfalfa leaves) (<i>Medicago sativa</i> L.)		ยุโรปตะวันออก รัสเซีย อิหร่าน อิรัก ตุรกี อิตาลี ยูโกสลาเวีย	เดิมใช้เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารสัตว์ ปัจจุบันนำมา สกัดโปรตีนผสมในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารของมนุษย์ อุดมด้วยแคลเซียม	[5]
ใบชายา (Chaya leaves) (<i>Cnidoscolus aconitifolius</i> subsp. <i>Aconitifolius</i> Breckon)		เม็กซิโก กัวเตมาลา เปรู	จัดเป็นซูเปอร์ฟู้ด (super food) และสมุนไพร ยางของใบและก้านชายามีเอนไซม์ปาเปนช่วยย่อย โปรตีนกล้ามเนื้อสัตว์ได้ มีกรดไขมันและซาโปนิน	[6]
ใบถั่วพุ่ม (Cowpea leaves) (<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.)		แอฟริกา	ใบมีปริมาณโปรตีนมากกว่าส่วนนัท (nut) อุดมด้วย แคลเซียม โพแทสเซียม เหล็ก มีสารประกอบฟีนอลิก และ แคโรทีนอยด์	[7]
ใบเคล (Kale leaves) (<i>Brassica oleracea</i> L.)		ฝรั่งเศส บริเตนใหญ่ สเปน	พืชใบตระกูลบราสซิกาซิอี (family Brassicaceae) ใช้เป็นอาหารสัตว์ อาหารมนุษย์	[8]
ใบหม่อน (Mulberry leaves) (<i>Morus alba</i> L.)		จีนเหนือ จีนใต้	ใบเป็นอาหารให้หนอนไหมเพื่อสร้างเส้นใยทอผ้า มีโปรตีนส่วนย่อยที่ต้านอนุมูลอิสระ	[9]
ใบมะรุม (Moringa leaves) (<i>Moringa oleifera</i> Lam.)		อินเดีย ปากีสถาน	ใบใช้เป็นอาหาร ยา และเครื่องสำอางค์ อุดมด้วย แคลเซียม เหล็ก มีกรดไขมัน	[10]
ใบมันสำปะหลัง (Cassava leaves) (<i>Manihot esculenta</i> , Crantz)		บราซิล เอกวาดอร์ โคลัมเบีย เปรู	ใบใช้เป็นแหล่งโปรตีน แต่ยังไม่มีการบริโภค แพร่หลาย มีเหล็ก มีวิตามินซี	[11]
ใบสปีแนช (Spinach leaves) (<i>Spinacia oleracea</i> L.)		คาซัคสถาน เตอร์กเมนิสถาน อุซเบกิสถาน	ใบใช้เป็นอาหารสัตว์ ใบอุดมด้วยโพแทสเซียม มีเหล็ก มีวิตามินซี	[12]
ใบพาสลีย์ (Parsley leaves) (<i>Petroselinum crispum</i> (Mill.) Nym. ex A.W. Hill)		กรีก โมร็อกโก ยูโกสลาเวีย	ใบใช้เป็นยาแผนโบราณ มีเหล็ก มีสารประกอบฟีนอลิก และน้ำมันหอมระเหย	[13]

ตารางที่ 2 การเปรียบเทียบสัดส่วนกรดอะมิโนในใบพืชที่จัดเป็นแหล่งโปรตีน

กรดอะมิโน	ปริมาณ (กรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง)				
	<i>Moringa oleifera</i>	<i>Cnidioscolus aconitifolius</i>	<i>Morus alba</i>	<i>Medicago sativa</i> L.	FAO/WHO
กรดอะมิโนจำเป็น					
ฮิสทีดีน	0.72	2.60	3.56	1.51	1.9
ไอโซลิวซีน	1.18	4.25	4.74	3.23	2.8
ลิวซีน	1.96	8.74	6.89	6.42	6.6
ไลซีน	1.64	5.05	5.30	3.46	5.8
เมไทโอนีน	0.30	1.35	1.78	1.42	-
ฟีนิลอะลานีน	1.64	4.19	3.34	4.12	-
ทรีโอนีน	1.36	3.70	4.25	3.59	3.4
ทริปโตฟาน	0.49	-	-	-	1.1
วาเลีน	1.41	4.54	5.16	4.25	3.5
กรดอะมิโนไม่จำเป็น					
ไทโรซีน	2.65	3.33	11.42	2.35	-
อะลานีน	3.03	4.60	-	4.83	-
อาร์จินีน	1.78	5.17	4.52	3.94	-
แอสปารากีน	1.43	8.50	8.26	5.71	-
กรดกลูตามิก	2.53	13.50	-	7.49	-
ไกลซีน	1.53	4.10	5.94	3.43	-
โพรลีน	0.09	3.50	-	4.74	-
ซีรีน	1.09	3.36	4.20	3.54	-
ซิสเทอีน	0.01	1.19	-	0.53	-
อ้างอิง	[17]	[18]	[8]	[4]	[19]

การสกัดโปรตีนพืชจากใบชา ยา ใบมะรุ ม ใบสบิแนซ พบ รูบิสโค ที่มีมวลโมเลกุล 40-50 กิโลดาลตัน ซึ่งโปรตีนชนิดนี้จัดเป็นโปรตีนที่มีมากในโลก เป็นเอนไซม์เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ด้วยแสงและการจับคาร์บอนของใบพืช รูบิสโค นี้มีโครงสร้าง 4 แบบ ได้แก่ I, II, III, และ IV โดยแบบ I พบบนพืชร้อยละ 50 มีความสำคัญในด้านโภชนาการและการนำไปใช้เป็นส่วนผสมในอาหาร การศึกษาวิจัยในการสกัดรูบิสโคเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ยังมีความท้าทาย [24,27-29] นอกจากนี้โปรตีนอัลบัลบูมินมีการละลายน้ำต่ำสุดที่ pH 4.5 เพราะเป็นจุดไอโซอิเล็กทริก (isoelectric point) ส่วนโปรตีนจากใบหม่อนเรียงการละลายน้ำได้จากสูงสุดไปต่ำสุดดังนี้ อัลบูมิน โกลบูลิน กลูเทลิน และโพรลามีน มีการละลายร้อยละ 74.13, 63.15, 55.59, และ 43.37 ตามลำดับ กลูเทลินมีการดูดซับน้ำและน้ำมันได้สูงสุดเพราะมีความสมดุลระหว่างความเป็นไฮโดรโฟบิก (hydrophobic) และ ไฮโดรฟิลิก (hydrophilic) , การคลายตัว และโครงสร้างโปรตีน ในขณะที่โครงสร้างโพนของโปรตีนสกัดจากอัลบัลบูมินที่ pH 4.5 คงตัวเป็นเวลา 2 ชั่วโมง มากกว่าในสภาวะที่เป็นกลางและต่าง โปรตีนกลูเทลินสกัดจากใบหม่อนช่วยให้โพนคงตัวมากกว่าโปรตีนโพรลามีน ส่วนโปรตีนโพรลามีนให้อิมัลชันที่คงตัวมากกว่า [24,26]

4. ชนิดโปรตีนจากใบพืช

ชนิดโปรตีนจากพืชผ่านกระบวนการเพิ่มความเข้มข้นสูงขึ้นทำได้ 4 รูปแบบ (ภาพที่ 1) ได้แก่

- **หนึ่ง ผงใบพืชแห้ง (Leaf Powder, LP)** แปรรูปโดยการใช้ความร้อนด้วยวิธีการทำแห้ง เช่น พลังงานแสงอาทิตย์ ตู้อบลมร้อน ตู้อบสุญญากาศ ตู้อบไมโครเวฟ เป็นต้น แล้วจึงนำไปบดเพื่อลดปริมาณความชื้นทำให้ผลิตภัณฑ์เก็บรักษาได้นานขึ้น
- **สอง โปรตีนจากใบพืชเข้มข้น (Leaf Protein Concentrate, LPC)** มีความเข้มข้นร้อยละ 30-80 โดยการนำใบพืชมาสับ คั้นจนได้น้ำ จากนั้นทิ้งให้ตกตะกอนแล้วบดอัดจนเป็นก้อน ก่อนอบแห้ง [30] การศึกษาก่อนหน้านี้รายงานว่าโปรตีนเข้มข้นจากใบมันสำปะหลังให้ผลผลิตต่ำ มีแทนนินสูง และเส้นใยอาหารมาก แต่ปริมาณโซยาในดัดลดลง การเติมกรดอะมิโนเมไทโอนีน แอนติออกซิแดนท์ลงไปผสมกับก้อนโปรตีนเข้มข้นสกัดจากใบพืชจากนั้นนำไปทำให้เป็นเม็ด อบแห้งเพื่อให้เก็บรักษาได้ยาวนาน [31] ปัจจุบันมีเทคโนโลยีเมมเบรนกำจัดแรงคัตวูล สารต้านคุณค่าทางโภชนาการ ทำให้เพิ่มปริมาณโปรตีนในอัลบัลบูมิน รวมทั้ง แคลเซียม เหล็ก เช่นเดียวกับโปรตีนจากใบมันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการอัลตราฟิльтраชัน (ultrafiltration) ทำให้โปรตีนและกรดอะมิโน (ยกเว้นทริปโตฟาน) เพิ่มขึ้น [32] นอกจากนี้การใช้เทคโนโลยีความดันสูง (high pressure technology) ช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์ ลดการใช้วัตถุกันเสีย และเพิ่มอายุการเก็บรักษา [33]
- **สาม โปรตีนจากใบพืชไอโซเลต (Leaf Protein Isolate, LPI)** มีความเข้มข้นมากกว่าร้อยละ 99 โดยการแยกกลูเทลิน

หริบชิน สารยับยั้งโคโมหริบชินที่ pH 9 จากนั้นปรับ pH เป็น 4 เพื่อการตกตะกอนอัลบูมิน และโกลบูลิน แยกออกมาละลายในสารละลายที่เป็นกลาง ปั่นเหวี่ยง ส่วนที่เหลือให้น้ำไปทำแห้งแบบระเหิดจะได้โปรตีนไฮโดรไลเซต วิธีการนี้นำไปแยกโปรตีนไขมันสำหรับหลัง พบว่า ได้โปรตีนร้อยละ 40 โปรตีนนี้ย่อยด้วยเอนไซม์ในร่างกายมนุษย์ได้ร้อยละ 88 [34]

- **ลี โปรตีนจากใบพืชไฮโดรไลเซต (Leaf Protein Hydrolysate, LPH)** การใช้เอนไซม์เพื่อตัดสายพอลิเพปไทด์ให้สั้นลง มีมวลโมเลกุลเล็กลง สามารถละลายน้ำได้ เอนไซม์โปรติเอส (protease) เหล่านี้ เช่น อัลคาเลส (alcalase) โคโมหริบชิน (chymotrypsin) เพปซิน (pepsin) หริบชิน (trypsin) ปาเปน (papain) นิวเทรส (neutrase) และ ฟลาโวไซม์ (flavozyme) การศึกษาโปรตีนไฮโดรไลเซตจากใบหม่อนย่อยด้วยนิวเทรสได้ไฮโดรไลเซตมีความวอลุ่มโมเลกุลเท่ากับ 0.3-6.5 กิโลดาลตัน [26] ซึ่งมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ เช่นเดียวกับโปรตีนไฮโดรไลเซตที่สกัดจากอัลฟัลฟาและโปรตีนไฮโดรไลเซตที่สกัดจากใบมะเขือ (*Solanum macrocarpon* L.) มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), superoxide radical, ferrous ion, hydroxyl radicals, and enzyme inhibition agents [35,36]

5. โปรตีนจากใบพืชต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม

โปรตีนในใบพืชมีผลต่อสุขภาพ โปรตีนสกัดจากใบแค (*Sesbania grandiflora* (L.) Poir.) ซึ่งเป็นพืชที่ปลูกในอินเดีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ ไทย ลดการต้านออกซิเดชันของลิพิดในเนื้อเยื่อมากกว่าร้อยละ 80 ขึ้นกับความเข้มข้นของโปรตีน และโปรตีนจากใบแคช่วยต้านเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* และ *Staphylococcus aureus* ที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร [37] เช่นเดียวกับโปรตีนสกัดเข้มข้นจากใบผักโขม (*Amaranthus hypochondriacus* L.) สามารถย่อยในกระเพาะและลำไส้เล็กร้อยละ 90 ได้สัดส่วนของกรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับเด็กอายุ 6 เดือนถึง 3 ปี มากกว่าโปรตีนสกัดเข้มข้นจากอัลฟัลฟาและชานอวก นอกจากนี้โปรตีนสกัดจากผักโขมกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ดีต่อสุขภาพในลำไส้เล็ก เช่น *Lactobacillus* and *Bifidobacteria* [38] ส่วนใบมะรุมและใบอัญชันมีโปรตีนและธาตุเหล็กซึ่งใช้เป็นอาหารเสริมของเด็กเพื่อป้องกันโรคโลหิตจาง [39,40] ใบชายาใช้เสริมการสร้างน้ำนมแม่ เพราะกระตุ้นการสร้างฮอร์โมน โปรแลคติน (prolactin) ดังนั้นจึงแนะนำให้หญิงให้นมบุตรรับประทานชายาปรุ่สุก 2-3 ครั้งต่อวันในช่วงให้น้ำนมทารก [41]

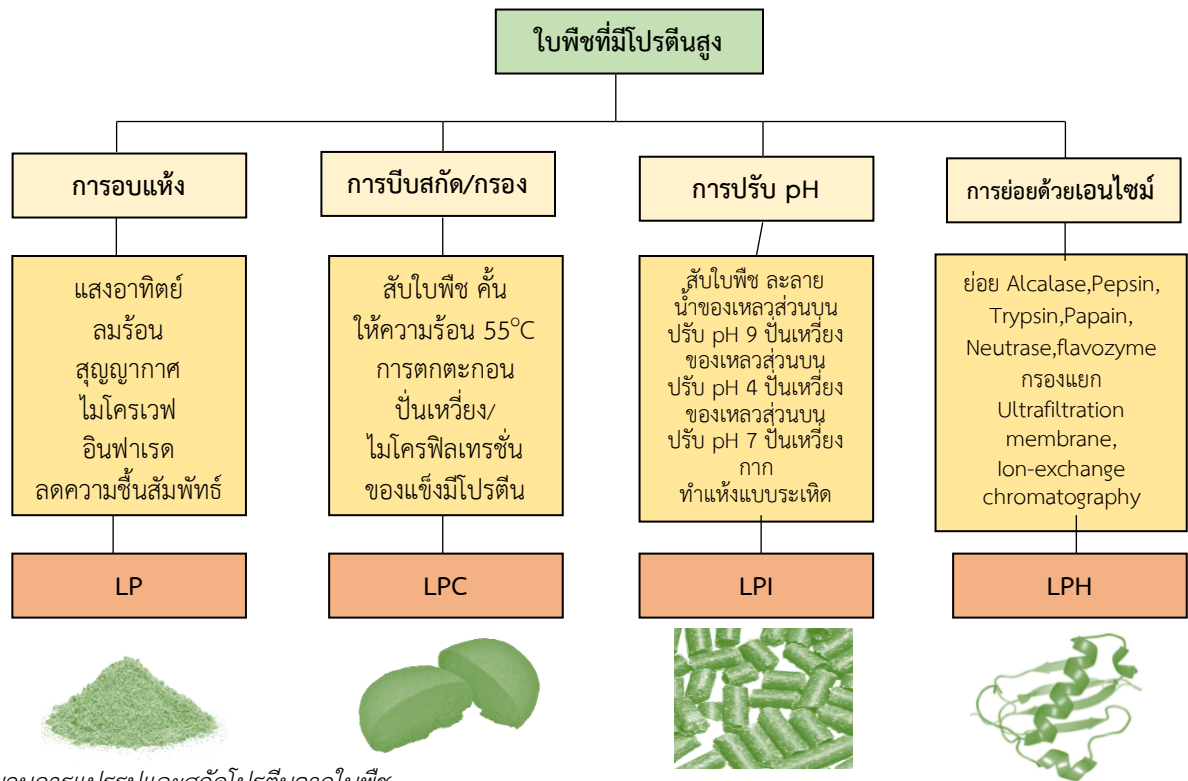
การปลูกพืชใบที่มีโปรตีนสูงเสริมแหล่งโปรตีนทั่วไป (ข้าวสาลี ถั่วเหลือง เนื้อสัตว์ อาหารทะเล น้านม) ทำให้แหล่งอาหารเพิ่มขึ้น เพราะกำลังการผลิตโปรตีนจากแหล่งเดิมได้ถึงขีดสุดในพื้นที่เกษตรและท้องทะเล กอปรกับการลดโลกร้อน การสูญเสียหน้าดิน 25 พันล้านตันในแต่ละปี เป็นปัจจัยหนึ่งที่มนุษย์ต้องกลับมาวางแผนการผลิตโปรตีนจากแหล่งใหม่ [42,43] ในระดับชุมชนมีการมีการส่งเสริมการปลูกพืชใบที่มีโปรตีนสูง เช่น ใบมะรุม ใบหม่อน เพื่อเป็นหลักประกันความมั่นคงทางอาหาร ลดการใช้สารเคมีทางการเกษตรและการลดการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ ส่วน

อุตสาหกรรมอาหาร การใช้ประโยชน์จากเศษใบพืช (ใบกะหล่ำ ใบบรอกโคลี ใบผักกาด และใบบัททูท) เพื่อนำมาสร้างมูลค่าเพิ่มเพื่อส่งเสริมการบริโภคเป็นอาหารกลางวันในโรงเรียน การบริโภคเพื่อสุขภาพ ขับเคลื่อนเศรษฐกิจ BCG ได้แก่ เศรษฐกิจชีวภาพ (Bioeconomy) ใช้ทรัพยากรอย่างคุ้มค่า เศรษฐกิจหมุนเวียน (Circular economy) ใช้ประโยชน์ทรัพยากรให้เต็มที่ ลดของเสีย และเศรษฐกิจสีเขียว (Green economy) โดยการบริหารจัดการห่วงโซ่การผลิตโปรตีนจากใบพืชที่มีรูปแบบที่ลดค่าใช้จ่ายในการขนส่งด้วยการบีบเอาน้ำใบพืชออกจากกากแล้วนำกากนั้นไปทำปุ๋ย ส่วนน้ำสกัดจากใบพืชให้แช่เย็นก่อนนำเข้าสู่โรงงาน นำไปสกัดให้เข้มข้น ไอโซเลต หรือ ไฮโดรไลเซตเพื่อเพิ่มความเข้มข้นโปรตีนและทำให้บริสุทธิ์นำไปใช้ตามวัตถุประสงค์ที่ต้องการต่อไป [44-45]

6.ศักยภาพผลิตภัณฑ์ที่มีโปรตีนจากใบพืชในตลาดโลก

การเติมวัตถุดิบใบพืชที่มีโปรตีนสูงลงในผลิตภัณฑ์อาหารเป็นเรื่องที่มีการศึกษากันมานานเพื่อป้องกันโปรตีนขาดแคลน โดยมีหลักที่ว่า การเสริมโปรตีนจากใบพืชควรอยู่ในรูปที่ร่างกายดูดซึมในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ได้ง่าย ผสมให้เข้ากับส่วนผสมอื่น ๆ ในตำรับอาหารได้ และโปรตีนที่ผสมลงไปไม่มีผลต่อการยอมรับทางประสาทสัมผัสตัวอย่างผลิตภัณฑ์โปรตีนจากใบพืชได้แก่

- **ขนมอบ** ผลิตภัณฑ์เช่น โด บิสกิต คุกกี้ ขนมปัง อาหารเข้าสำหรับเด็กและผู้ใหญ่ การเสริมผงมะรุมทำให้ปริมาณโปรตีนที่ให้ประโยชน์ได้ในหนู และเพิ่มร้อยละการย่อยโปรตีน แต่ปริมาณผงมะรุมที่มากกว่าร้อยละ 15 ทำให้ผลิตภัณฑ์มีรสขมและหนูไม่กิน ซึ่งผลการทดสอบนี้มีผลต่อการทดสอบการชิมโดยมนุษย์ที่ให้ความแนะนำการยอมรับลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณผงมะรุม [46]
- **เนย** การเพิ่มผงมะรุมไม่เกินร้อยละ 1 เพิ่มปริมาณโปรตีนกรดอะมิโนไทโรซีน ลิวซีน เส้นใยอาหาร แร่ธาตุและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ แต่การเพิ่มผงมะรุมมากกว่านี้ทำให้ผลิตภัณฑ์มีสีเขียวและไม่เป็นที่ยอมรับ [47-48]
- **ซูบ** การเสริมใบพืชเช่น สปีแนช มะรุม กับวัตถุดิบอื่น ๆ เช่น เห็ด แป้งถั่วทำให้ผลิตภัณฑ์ซูบผสมมีคุณค่าทางโภชนาการเพิ่มขึ้น โดยมีโปรตีนร้อยละ 16 เปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ทางการค้าที่มีโปรตีนร้อยละ 13 รวมทั้งมีเส้นใยอาหาร วิตามินดี โพแทสเซียม แมงกานีส สังกะสี เหล็ก การประเมินทางประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์ได้รับการยอมรับชอบมาก [49-51]
- **แอคทีฟเพปไทด์** การใช้เอนไซม์โปรติเอสย่อยใบสปีแนชจนได้เพปไทด์จากสปีแนชที่มีคุณสมบัติลดความเครียด ความกังวล และเพปไทด์ที่ได้นี้มีมวลโมเลกุลใกล้เคียงกับ รูบิสโค [52] เพปไทด์จากใบหม่อนต้านการแตกของเม็ดเลือดแดง [53-54] ปัจจุบันมีการนำเอนไซม์รูบิสโคไปผสมในแป้งโดสาลีพบว่าเกิดการสร้างพันธะโควาเลนต์ระหว่างการดูดซับน้ำของโด การผสม และสร้างร่างแหที่แข็งแรงกับกลูเตน [55] ซึ่งจะใช้ทดแทนการเสริมโปรตีนจากใบพืชในรูปแบบผงเพื่อแก้ไขปัญหาเรื่องสี กลิ่น ดังพบในขนมอบ ซูบและเนยได้



ภาพที่ 1 กระบวนการแปรรูปและสกัดโปรตีนจากใบพืช

ปัจจุบันกระแสดความต้องการผลิตภัณฑ์จากโปรตีนจากใบพืชมีมากขึ้นเพราะผู้บริโภคเห็นว่าโปรตีนนี้ปราศจากกลูเตน น้ำตาล ไขมัน อิ่มตัว โคเลสเตอรอล รวมทั้งมีพลังงานต่ำกว่า 80 กิโลแคลอรีต่อ 100 กรัม และการปลูกวัตถุดิบด้วยการเกษตรอินทรีย์รักษาสีและกลิ่นด้วย ซึ่งแรงขับนี้ทำให้ความต้องการผลิตภัณฑ์อาหารที่ใช้วัตถุดิบจากพืชเป็นส่วนประกอบหลักจะทำรายได้ 14.5 พันล้านเหรียญสหรัฐในปี ค.ศ. 2025 [4]

ยกตัวอย่าง ตลาดมะรุ่ยทั่วโลกทำได้ 7.9 พันล้านเหรียญสหรัฐมีแหล่งผลิตภัณฑ์จำหน่ายในรูปแบบอาหารเสริม เช่น ออสเตอเรเลีย นิวซีแลนด์ จีน และอินเดีย เพราะมะรุ่ยเป็นที่รู้จักกันว่าเป็น ต้นไม้เพื่อชีวิต (the tree for life) หรือ ต้นไม้แห่งวิตามิน (a vitamin tree) หรือ ต้นไม้แห่งปาฏิหาริย์ (the miracle plant) และ ต้นไม้มหัศจรรย์ (an amazing tree) การนำใบมะรุ่ยไปผสมกับอาหารและเครื่องดื่มในการทำชาสมุนไพร สมูทตี้ สลัด โปรตีนแท่ง โปรตีนน้ำนม ช็อกโกแลตโปรตีนสูง เป็นต้น ส่วนเคลจัดเป็นที่สุดแห่งอาหาร (super food) ในการใช้แปรรูปอาหารว่างที่มีเส้นใยสูง แร่ธาตุ วิตามิน แอนติออกซิแดนท์ เคลกรอบแปรรูปโดยการทำแห้งแบบระเหิดเป็นที่นิยมในตลาดอเมริกาเหนือทำรายได้ 122.43 พันล้านเหรียญในปี ค.ศ. 2019 [56,57]

ความต้องการโปรตีนจากใบพืชจึงเป็นประเด็นสำคัญในการศึกษาและวิจัย การพัฒนาเทคโนโลยีในการสกัดโปรตีน การทำให้บริสุทธิ์ การปรับปรุงกลิ่น รสชาติของโปรตีนสกัด การศึกษาโครงสร้างในการนำโปรตีนจากพืชไปใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรมอาหาร [58,59] รวมทั้งการให้ข้อมูลสาระที่เหมาะสมกับผู้บริโภคจะเป็นการเพิ่มการยอมรับโปรตีนจากใบพืชทั้งปริมาณและคุณภาพของโปรตีนที่เพียงพอ

กับความต้องการของมนุษย์ในอนาคต ปรับสัดส่วนและรักษาสภาพดูดซึมได้ง่ายตรงตามมาตรฐานที่โภชนาการกำหนด

7. แนวทางความเป็นไปได้ในการใช้ประโยชน์โปรตีนจากใบพืช

จากที่กล่าวมาทั้งหมดจะเห็นว่า โปรตีนจากใบพืชเป็นทางเลือกที่มีความท้าทายการนำไปใช้ประโยชน์มาก เพราะปัจจุบันการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ การเกิดโรคระบาดโควิด-19 และภาวะสงครามทำให้ทุกประเทศต่างจำกัดปริมาณการส่งออกอาหาร การค้นหาแหล่งโปรตีนสำรองสำหรับมนุษย์และสัตว์มากขึ้น ประเทศไทยเป็นป่าฝนร้อนชื้นสามารถปลูกพืชที่มีใบเป็นแหล่งโปรตีนได้หลายชนิด เช่น ใบชา ยา ใบถั่วพุ่ม ใบเคล ใบหม่อน ใบมะรุ่ย ใบมันสำปะหลัง และใบแคได้หลายชนิด ดังนั้นการวิจัยปริมาณโปรตีนและกรดอะมิโนในใบพืชเหล่านี้ การสกัดเพื่อนำโปรตีน เช่น รูบิสโค รวมทั้งแอคทิพเพปไทด์จากใบพืชใหม่ ๆ เพื่อนำไปใช้ส่งเสริมการปลูกเพื่อสร้างความมั่นคงอาหารในชุมชน สร้างรายได้ให้เกษตรกร และสร้างมูลค่าเพิ่มกับอุตสาหกรรมอาหาร นำไปใช้เป็นส่วนผสมวัตถุดิบในผลิตภัณฑ์อาหารฟังก์ชัน ผลิตภัณฑ์เพื่อการดูแลสุขภาพตรงกับความต้องการผู้บริโภคที่เน้นการมีสุขภาพที่ดี

8. สรุป

โปรตีนจากใบพืชเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญ ทั้งยังมีสารอาหารอื่น ๆ และแอนติออกซิแดนท์ แม้ว่าโปรตีนจากใบพืชยังไม่เป็นที่รู้จักแพร่หลายเปรียบเทียบกับโปรตีนถั่ว ธัญพืช แต่มีใบพืชที่มีโปรตีนสูง เช่น ใบอัลฟัลฟา ใบมะรุ่ย เคล มีจำหน่ายในแบบโปรตีนทางเลือกในขนมอบ เครื่องดื่ม น้ำนมและอาหารฟังก์ชันอื่น ๆ ซึ่งการศึกษาและวิจัยเกี่ยวกับโปรตีนจากใบพืชยังต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อส่งเสริม

การใช้โปรตีนพืชในการแก้ไขปัญหาทุพโภชนาการ บทความปริทัศน์เรื่องนี้ได้ให้มุมมองใหม่ ให้รายละเอียดเกี่ยวกับคุณค่าโภชนาการ สมบัติหน้าที่โปรตีนจากใบพืช ผลต่อสุขภาพ กระบวนการสกัดโปรตีนจากใบพืชบางชนิดซึ่งเป็นประเด็นที่นักวิจัยด้านชีววิทยา ชีวเคมี วิทยาศาสตร์การอาหาร โภชนาการ และสิ่งแวดล้อม ที่ท้าทายความสามารถนักวิทยาศาสตร์หลายสาขาวิชาโดยมีเป้าหมายเพิ่มคุณค่าโปรตีนจากใบพืชให้เป็นโปรตีนแห่งอนาคตเพื่อการบริโภค และรักษาสีสิ่งแวดล้อมทั่วโลก

เอกสารอ้างอิง

1. Forum for the Future. The Protein Challenge 2040: Shaping the future of food. [Internet]. [cited 2021 Oct 24]. Available from: <https://www.forumforthefuture.org/Handlers/Downloadashx?IDMF=026a4509-ecf6-400a-b176-7e33ad649813>
2. Tower, L. Global coalition set to transform the future of protein production. [Internet]. [cited 2021 Oct 10]. Available from: <https://www.thepoultrysite.com/news/2016/03/global-coalition-set-to-transform-the-future-of-protein-production>
3. Gakpo, J. O. FAO predicts global shortage of protein-rich foods. [Internet]. [cited 2021 Oct 10]. Available from: <https://allianceforscience.cornell.edu/blog/2020/07/fa-o-predicts-global-shortage-of-protein-rich-foods/>
4. Forum for the Future. Shaping the future protein. [Internet]. [cited 2021 Oct 31]. Available from: <https://www.forumforthefuture.org/Handlers/Downloadashx?IDMF=6985b5f7-ee65-4862-893e-53a6355984fb>
5. Apostol, L., Ioraga, S., Mosoiu, C., Racovita, R. C., Nioulae, O. M., and Vlasceanu, G. (2017). Alfalfa concentrate- a rich source of nutrients for use in food products. J. Int Sci Pub. 5.2017;1314-8591.
6. Ford, A. The green deer: Chaya as a potential source of product for the ancient maya. [Internet]. [cited 2021 Oct 24]. Available from: https://www.academia.edu/57898264/The_Green_Deer_Chaya_as_a_Potential_Source_of_Protein_for_the_Ancient_Maya
7. Owade, J. O., Abong, G., Okoth, M., and Mwangi, G. A review of the contribution of cowpea leaves to food and nutrition security in East Africa. Food Sci and Nutr. 2020;8(1):36-47.
8. Samec, D., Urlic, B., and Solopek-Sondi, B. (2019). Kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*) as a superfood: review of the scientific evidence behind the statement. Cri Rev in Food Sci Nutr. 2019;59(15):2411-2422.
9. Sarkhel, S. and Manvi, D. Processing of mulberry leave: a review. Int J Chem Stud. 2020;9(1):859-865.
10. Gopalakrishnan, L., Doriya, K. Kumar, D. S. *Moringa oleifera*: a review on nutritive importance and its medicinal application. Food Sci and Hum Wellness. 2016;5(2):49-56.
11. Latif, S. and Müller, J. Potential of cassava leaves in human nutrition: A review. Trends Food Sci Technol. 2015;44:147-158.
12. Ronghani, A., and Miri, S. M. Spinach: an important green leafy vegetable and medicinal herbs. [Internet]. [cited 2021 Oct 21]. Available from: The 2nd International Conference on Medicinal Plants, Organic Farming, Natural, and pharmaceutical ingredients. file:///C:/Users/ASUS/Downloads/SpinachAnimportantgreenleafyvegetableandmedicinalherb.pdf
13. Punoševac, M., Radović, J., Leković, A., Kundoković-Vasović, T. A review of botanical characteristics, chemical composition, pharmacological activity, and use of parsley. Arh Farm. 2021;71:177-196.
14. Hughes, G. J., Ryan, D. J., Mukherjee, P., and Schasteen, C. S. Protein Digestibility-Correct Amino Acid Scores (PDCAAS) for soy protein isolates and concentrate: criteria for evaluation. J Agric and Food Chem. 2011;59(23):12707-12712.
15. Le, D. T., Chu, H. D., and Le, N. Q. Improving nutritional quality of plant proteins through genetic engineering. Curr Genomics. 2016;17(3):220-229.
16. Mune, M. A. M., Neobe, E. C., Bassogog, C. B., and Minka, S. R. A comparison on the nutritional quality of proteins from *Moringa oleifera* leaves and seeds. Cogent Food Agric. 2016;2;1,1213618, DOI: 10.1080/23311932.2016.1213618
17. Moyo, B., Masika, P. J., Hugo, A., and Muchenje, V. Nutritional characterization of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. Afri J Biotech. 2011;10(60): 12925-12933.
18. Adanlawo, I. G., and Elekofehinti, O. O. Proximate analysis, mineral composition and amino acid composition of *Cnidoscolus aconitifolius* leaf. Adv Food and Energy Secur. 2012;2:17-21.
19. FAO/WHO. Protein quality evaluation. Rome: In Food and Agricultural Organization of the United Nations. 1991.
20. Babolola, J. O., and Alabi, O. O. Effect of processing methods on nutritional composition, phytochemicals, and anti-nutrient properties of Chaya leaf (*Cnidoscolus aconitifolius*). Afri J Food Sci. 2015;9(12): 560-565.
21. Sallau, A. B., Mada, S. B., Ibrahim, S., and Ibrahim, U. Effect of boiling, simmering, blanching on the antinutritional content of *Moringa oleifera* leaves. Int J Food Nutr and Saf. 2012;2(1):1-6.

22. Kuti, J. O. and Kuti, H.O. Proximate composition and mineral content of two edible species of *Cnidoscolus* (tree Spinach). *Plant Foods Hum Nutr.* 1999;53:275-283.
23. Tenorio, A. T., Boom, R. M., and Van der Goot, A. J. Understanding leaf membrane protein extraction to develop a food grade process. *Food Chem.* 2017;217: 234-243.
24. Lamsal, B. P., Koegel, R. G., and Gunasekaran, S. Some physicochemical and functional properties of alfalfa soluble leaf proteins. *LWT. Food Sci Technol.* 2007;40(9): 1520-1526.
25. Hojilla-Evangelista, M.P., Selling, G. W., Hatfield, R., and Digman, M. Extracting, composition, and functional properties of dried alfalfa (*Medicago sativa* L.) leaf protein. *J Sci of Food and Agri.* 2017;97(3):882-888.
26. Sun, C., Shan, Y., Tang, X., Han, D., Wu, X., Wu, H., and Hosseini-Zhad, M. Effects of enzymatic hydrolysis on physicochemical property and antioxidant activity of mulberry (*Morus atropurpurea* Roxb.) leaf protein. *Food Sci and Nutr.* 2021;9(10):5379-5390.
27. Rodrigues, M. M. R., Ojeda, J. C. M., Díaz, M. G., and Allende, D. K. B. Use of Chaya (*Cnidosclous chayamansa*) leaves for nutritional compounds production for human consumption. *J Mex Chem Soc.* 2021;65(1):118-128.
28. Di Stefano, E., Agyei, D., Njoku, E. N., and Udenigwe, C. C. Plant RuBisCo: an underutilized protein for food applications. *J Am Oil Chem Soc.* 2018;95(8): 1063-1074.
29. Zulkifli, Z. A. and Rahmat, Z. Protein antioxidant capacity from *Moringa Oleifera* fresh and commercial leaf. *Biosci Biotechnol Res Asia.* 2020;17(1):155-161.
30. Telek, L. Leaf protein extraction from tropical plants. *Plants: the potentials for extracting protein, medicines, and other useful chemicals- workshop proceeding.* 2008;78-110.
31. Zhang, W., Grimi, N., Jaffrin, M. Y., Ding, L., and Tang, B. A short review on the research progress in alfalfa leaf protein separation technology. *J Chem Technol Biotechnol.* 2017;92(12):2894-2900.
32. Ayole, H. H., Latif, S., Bruins, M., Müller, J. Partitioning of proteins and anti-nutrients in cassava (*Manihot esculenta*) leaf processing fractions after mechanical extraction and ultrafiltration. *Foods.* 2021;10(8):1714: <https://doi.org/10.3390/foods10081714>
33. Šarkhel, S. and Manvi, D. Processing of mulberry leave: a review. *Inter J Chem Stud.* 2020;9(1):859-865.
34. Og, D., and Zf, A. Protein isolation and proximate evaluation of sweet and bitter cassava leaves (*Manihot esculenta* Crantz). *J Natu Sci Res.* 2015;5(17): 108-112.
35. Xie, Z., Huang, J., Xu, X., and Jin, Antioxidant activity of peptides isolated from alfalfa leaf protein hydrolysate. *Food Chem.* 2008;111(2): 370-376.
36. Famuwagun, A. A., Alashi, A. M., Gbadomasi, S. O., Taiwo, K. A., Oyedele, D., Adebooye, O., and Aluko, R. E. Effect of protease type and peptide size on the in vitro antioxidant, antihypertensive, anti-diabetic activities of eggplant leaf protein hydrolysates. *Foods.* 2021;10(5): 1112. <https://doi.org/10.3390/foods10051112>
37. Zerena, A. S., Gopal, S., Vineeth, R. Antioxidant, antibacterial, and cytoprotective activity of agati leaf protein. *J Anal Methods Chem.* 2014; Article ID 989543, 8 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2014/989543>
38. Ramírez-Rodrigues, M. M., Metri-Ojeda, J. C., González-Ávila, M., Ruiz-Álvarez, B. E., and Baigts-Allende, D. K. Digestibility and bioaccessibility of leaf protein concentrates and their impact on children gut microbiota. *Waste Biomass Valorization.* 2021; <https://doi.org/10.1007/s12649-021-01521-y>
39. Shija, A. E., Rumisha, S. F., Oriya, N. M., Kilima, S. P., and Massaga, J. J. Effect of Moringa Oleifera leaf powder supplementation on reducing anemia in children two years in Kisarawe District, Tanzania. *Food Sci Nutri.* 7: 2019;2584-2594.
40. Vilakati, N., Tylor, J. R. N., MacIntyre, U., and Kwger, J. Effects of processing and addition of a cowpea leaf relish on the iron and zinc nutritive value of a ready-to-eat sorghum-cowpea porridge aimed at young children. *LWT.* 2016;78, 3337-3353.
41. Silawati, and Zamzam. The effect of Chaya leaf extract consumption on breast milk production. *Adv Soc Sci Edu Hum Res.* 2020;535:793-795. <https://www.forumforthefuture.org/Handlers/Download.ashx?IDMF=6985b5f7-ee65-4862-893e-53a6355984fb>
42. Sachan, S., Dutta, A., Suri, S., and Tilara, S., Leaf protein concentrates (LPC) for food fortification from unconventional plants of the Himalayas, India. *J Sci Res Rep.* 2018;20(2):1-11.
43. Contreras, M. D. M., Lama-Munoz, A., Guliérrez-Pérez, J. M., Espinola, F., Moya, M., Casho, E. Protein extraction from agri-food residues for integration in biofinery: potential technologies and current status. *Bioresour Tech.* 2019;280:459-477.
44. Lyer, A., Bestwick, C. S., Duncan, S. H., and Rusell, W. R. Invasive plants are a valuable alternate protein source and can contribute to meeting climate change targets.

- Frontier Sustainable Food System. [Internet]. [cited 2021 Oct 21]. Available from: DOI=10.3389/fsufs.2021.575056
45. Tenorio, A. T., Schreuders, F. K. g., Zisopoulous, F. K., Boom, and Van der Goot, A. J. Processing concepts for the use of green leaves as raw materials for food industry. *J Clean Prod.* 2017;164:736-748.
46. Oyerinka, A. T. and Oyeyinka, S. A. *Moringa oleifera* as a food fortification: Recent trends and prospects. *J Saudi Soc Agri Sci.* 2018;17:127-136.
47. El-Sayed, S. M. Use of spinach powder as functional ingredients in the manufacturer of UF-Soft cheese. *Heliyon.* 2020;6,e03278.
48. Hassen, F. A., Enab, A. K., Abdel-Gawaa, M. A., Bayoumi, H. M., Youssef, Y. B. Utilization of *Moringa oleifera* leaves powder in production of soft white cheese. *Inter J Dairy Sci.* 2010;12:137-142.
49. Salem, A. S., Salama, W. M., Hassanetn, A., Ghandour, H. E. Enhancement of nutritional and biological values of Lobmeh by adding dry leaves of *Moringa oleifera* as innovative dairy products. *World Appl Sci J.* 2013;22: 1594-1602.
50. Babayeju, A., Gbadebo, C., Gbalowu, M., Otunola, G., Nmom, I., Kayode, R., Toye, A., and Ojo, F. Comparison of organoleptic properties of egusi and efo riro soup blends produced with moringa and spinach leaves. *Food Sci and Qual Manag.* 2014;28:15-18.
51. Farzana, T., Mohajan, S., Saha, T., Hossain, N., Haque, Z. Functional and nutritional evaluation of healthy vegetable soup powder supplemented with soy flour, mushroom, and moringa leaf. *Food Sci Nutri.* 2017;5: 911-920.
52. Kinura, S., Uchida, T., Tokuyama, Y., Hosokawa, M., Nakato. J., Kurabayashi, A., Sato, M., Suzuki, H., Kanamoto, R., and Ohimata, K. Identification of rubisco anxiolytic-like peptides (rALPs) by comprehensive analysis of spinach green leaf protein digest. *Biochem and Biophys Res Commun.* 2018;505(4):1050-1056.
53. Avilés-Gaxiola, S., León-Félix, J., Jiméncz-Nevárez, Y. B., Angulo-Escalante, M. A., Ramos-Páyan, R., Colado-Velázquez III, J., and Heredia, J. B. Antioxidant and anti-inflammatory properties of novel peptides from *Moringa oleifera* Lam. Leaves. *S Afr J Bot.* 2021;141:466-473.
54. Sun, C. Tang, X., Ren, Y., Wang, E., Shi, L., Wu, X., and Wu, H. Novel antioxidant peptides purified from Mulberry (*Morus atropurpurea* Roxb.) leaf protein hydrolysates with hemolysis inhibition ability and cellular antioxidant activity. *J Agri Food Chem.* 2019;67(27):7650-7659.
55. Docrocq, M., Boire, A., Anton, M., Micard, V., Morel, M. Rubisco: A promoting plant protein to enrich wheat-based food without imparting dough viscoelasticity and protein polymerization. *Food Hydrocoll.* 2020;109: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106101>
56. Grand View Research. Kale chips Market size, share & trends analysis report by distribution channel (supermarket/hypermarkets, specialty stores, convenience stores), by region, and segment forecasts: 2019-2025. [Internet]. [cited 2021 Oct 11]. Available from: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/kale-chips-market>
57. NutraScienceLab. (2021). Plant protein market for 2021. [Internet]. [cited 2021 Oct 11]. Available from: <https://www.nutrasciencelabs.com/blog/plant-based-protein-market-trends-opportunities-and-challenges>
58. Paramita, V. D., Panyoyai, N., and Kasapis, S. Molecular functionality of plant proteins from low-to-high-solid systems with ligand and co-solute. *Inter J Mol Sci.* 2020;21: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/7/2550>
59. Panyoyai, N. Plant-based proteins: nutrition, structure, functionality, and applications in food industry. *Rajabhat Agri.* 2020;19(1),61-39.



Research Article

Antioxidant and antibacterial activity of *Litchi chinensis* Sonn. extracts

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากลิ้นจี่

ศิริทิพย์ พรหมแสนสา², ฉัตรลดา หงษ์วิสัย¹, ชนาวิทย์ ปาทา¹, วสุพล คมกล้า¹, ธนกฤต งามแสง¹, ขวัญชัย ศรีทาร์ตัน¹ และจริญญา ขุนทะวาด^{1*}

¹สาขาแพทย์แผนไทย คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร

Department of Thai Traditional Medicine, Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology Isan Sakon Nakhon Campus.

²สาขาวิชาการแพทย์แผนไทย คณะพยาบาลศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรธานี

Department of Thai Traditional Medicine, Faculty of Nursing, Udon Thani Rajabhat University

Article Info

Received 30 January 2022

Revised 10 April 2022

Accepted 30 May 2022

Abstract

The aims of this research were to compare the antioxidant activity, total phenolic content and antibacterial activity of different parts of the *Litchi chinensis* Sonn. which extracted by 50% and 95% ethanol on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. The analysis of antioxidants by DPPH assay found that the branches extracted by 95% ethanol showed the highest antioxidant activity with IC_{50} values of 0.003 mg/mL. The analysis of total phenolic content found that seed extracted with 50% ethanol had the highest total phenolic content with values of 118.42 mg GAE/mg extract. The antibacterial activity was tested by disc diffusion method. The result showed that leaves extracts had the best inhibition activity on *S. aureus* that have inhibition zone diameter of 12 ± 0.02 mm, minimal inhibitory concentration (MIC) of 62.5 mg/mL and minimal bactericidal concentration (MBC) of 125.0 mg/mL, respectively. This study shows the properties of different parts of the lychee to provide basic information for future utilization.

Keywords: Antioxidant activity, Total phenolic content, Antibacterial activity

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* ของสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของลิ้นจี่ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 50% และ 95% เอทานอล จากการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Assay พบว่า ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดพบในตัวอย่างกิ่งที่สกัดด้วย 95% เอทานอล มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.003 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมพบมากที่สุดในส่วนเมล็ดที่สกัดด้วย 50% เอทานอล ซึ่งมีค่าเท่ากับ 118.42 mg GAE/mg extract จากการทดสอบด้วยวิธี Disc diffusion method พบว่า ใบสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยขนาดของบริเวณโซนใสเท่ากับ 12 ± 0.02 มิลลิเมตร โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย เท่ากับ 62.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เท่ากับ 125.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นเกี่ยวกับคุณสมบัติของส่วนต่าง ๆ ของลิ้นจี่ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำไปใช้ประโยชน์ด้านต่าง ๆ ได้ในอนาคต

คำสำคัญ: ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, สารประกอบฟีนอลิกรวม, ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

1. บทนำ

ในปัจจุบันการดำเนินชีวิตของผู้คนส่วนใหญ่ต้องเผชิญกับความเครียดจากสิ่งเร้าต่าง ๆ ซึ่งความเครียดเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้มนุษย์เกิดความเจ็บป่วย และทำให้ร่างกายเกิดภาวะความไม่สมดุลของอนุมูลอิสระจนทำให้โรคร้ายเกิดขึ้น ซึ่งอนุมูลอิสระคือสารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวในอะตอมหรือโมเลกุล โดยธรรมชาติของร่างกายสิ่งมีชีวิตจะมีการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระขึ้นมา เพื่อทำหน้าที่ในการต้านหรือกำจัดอนุมูลอิสระออกจากร่างกาย ซึ่งในพืชผักและผลไม้มักจะมีวิตามินและเกลือแร่ที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) เช่น วิตามินซี วิตามินอี เบต้า-แคโรทีน สังกะสี และแมงกานีส เป็นต้น [1] ซึ่งสารเหล่านี้ช่วยลดปัจจัยความเสี่ยงต่อการเป็นโรคต่าง ๆ เช่น โรคมะเร็ง โรคหัวใจ โรคความจำเสื่อม โรคเบาหวาน และเกิดความชรา [2] นอกจากนี้ยังมีเชื้อแบคทีเรียหลายสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรคในมนุษย์ได้ เช่น *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* เป็นต้น แบคทีเรียเหล่านี้กระจายอยู่ทั่วไปตามสถานที่ต่าง ๆ โดยส่วนใหญ่การป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรียสามารถป้องกันได้โดยการทำความสะอาดผิวหนังโดยการล้างมือหรืออาบน้ำ ตลอดจนใช้ยาปฏิชีวนะเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย แต่การใช้ยาปฏิชีวนะอาจไม่เหมาะกับผู้ที่มีการแพ้ยา นอกจากนี้หากใช้ยาปฏิชีวนะมากเกินไปจะทำให้เกิดการดื้อยาของเชื้อโรคได้ ซึ่งในปัจจุบันจึงมีนักวิจัยหลายท่านได้ศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับสารออกฤทธิ์ต่าง ๆ ที่พบได้ในธรรมชาติ และมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ และยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ เช่น สมอไทย เปลือกทับทิม และใบกฤษณา เป็นต้น [3,4,5]

ลิ้นจี่ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Litchi chinensis* Sonn. มีแหล่งกำเนิดในภูมิภาคเขตร้อนแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ผลมีลักษณะทรงกลมรูปไข่ มีเปลือกหุ้มขรุขระ นอกจากลิ้นจี่จะเป็นผลไม้ที่มีรสชาติอร่อยและได้รับความนิยมกันอย่างกว้างขวางแล้ว ส่วนอื่น ๆ ของลิ้นจี่ยังอุดมไปด้วยคุณค่ามากมาย เช่น สารสกัดจากเมล็ดลิ้นจี่สามารถต้านเชื้อไวรัส และยับยั้ง Tyrosinase [6,7] เนื้อลิ้นจี่มีคุณสมบัติต้านการอักเสบ [8] เปลือกหุ้มผลลิ้นจี่อุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ อีกทั้งยังมีฤทธิ์ยับยั้งมะเร็งเต้านมและมะเร็งตับ และใบลิ้นจี่สามารถยับยั้ง

การอักเสบได้ [9,10] แต่ข้อมูลเกี่ยวกับฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของลิ้นจี่ยังมีน้อย ดังนั้นในการศึกษานี้คณะผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากเมล็ด ใบ และกิ่งลิ้นจี่ เพื่อหวังว่าข้อมูลที่ได้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งเป็นประโยชน์ในการนำส่วนเหลือทิ้งจากลิ้นจี่มาพัฒนาให้เกิดประโยชน์ และอาจพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติที่มีคุณค่าได้ในอนาคต

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากเมล็ด ใบ และกิ่งลิ้นจี่

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

- 1) สารละลายเอทานอล 95%
- 2) L-Ascorbic acid
- 3) DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)
- 4) Folin-ciocalteu reagent
- 5) Gallic acid
- 6) Sodium carbonate anhydrous
- 7) เครื่อง Rotary vacuum evaporator
- 8) เครื่อง Eliza reader
- 9) เครื่อง UV-Vis Spectrophotometer
- 10) สารสกัดหยาบจากเมล็ด ใบ และกิ่งของลิ้นจี่
- 11) เครื่องแก้ว

การเตรียมสารสกัดตัวอย่าง

นำเมล็ด ใบ และกิ่งลิ้นจี่มาล้างทำความสะอาด แล้วนำไปผึ่งให้แห้ง จากนั้นนำส่วนดังกล่าวมาสับให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำไปบดด้วย

เครื่องบดแบบหยาบ หลังจากนั้นชั่งสมุนไพรในแต่ละส่วนให้ได้ปริมาณ 500 กรัม ใส่ลงในขวดสีชาแล้วเติมเอทานอลที่ความเข้มข้น 50% และ 95% ลงไปในปริมาตร 2,500 มิลลิลิตร ปิดฝาให้สนิท และเก็บให้พ้นแสง ทำการเขย่าทุกวัน วันละ 2 ครั้ง แช่ทิ้งไว้ 7 วัน ทำการกรองแยกกากออกด้วยผ้าขาวบาง และกระดาดกรองเบอร์ 1 จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยแบบสุญญากาศ และคำนวณหาค่าร้อยละของสารสกัด (%Yield) เก็บสารสกัดที่ได้ใส่ในขวดสีชาและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการวิเคราะห์คุณสมบัติอื่น ๆ ต่อไป

การวิเคราะห์ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH Assay)

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เริ่มจากการเตรียมสาร DPPH ที่ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ แล้วเตรียมสารมาตรฐาน Ascorbic acid ความเข้มข้นในช่วง 0.01-0.10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และเตรียมสารสกัดเมล็ด ใบ และกิ่งลำไย ที่ความเข้มข้นในช่วง 1-1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ทำการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยเริ่มจากดูดสารละลาย DPPH 0.2 มิลลิโมลาร์ ใส่ลงในหลุมของ 96-Well microplates ปริมาตร 100 ไมโครลิตร จากนั้นนำสารสกัดที่เตรียมไว้ในแต่ละความเข้มข้นใส่ลงในแต่ละหลุม ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Elisa plate reader วิเคราะห์ผลและรายงานผลเป็นเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง (%inhibition) โดยคำนวณตามสมการ

$$\%inhibition = \frac{(OD.Control - OD.Test)}{(OD.Control - OD.Blank)} \times 100$$

OD.Control = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH + Absolute ethanol

OD.Test = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างและสารมาตรฐาน (Ascorbic acid)

OD.Blank = ค่าการดูดกลืนแสงของ Absolute ethanol

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Folin-Ciocalteu method)

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก โดยเริ่มจากเตรียมสารมาตรฐาน Folin-Ciocalteu reagent ในอัตราส่วน 1:10 หลังจากนั้นเตรียมสารละลายมาตรฐาน Gallic acid ที่ความเข้มข้นช่วง 2-100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และเตรียม Sodium carbonate anhydrous (Na_2CO_3) ที่ความเข้มข้น 7.5 % จากนั้นเตรียมสารสกัดเมล็ด ใบ และกิ่งลำไย ที่ความเข้มข้นเป็น 2.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร การทดสอบทำโดยนำ Gallic acid ที่เตรียมไว้ ดูดใส่ในหลอดทดลองที่มี Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร

เขย่าให้เข้ากัน แล้วทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติม Na_2CO_3 ที่เตรียมไว้ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร แล้วพักไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องอีกครั้งนาน 90 นาที นำสารที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในตัวอย่างอื่นต่อไป

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* ด้วยวิธี Disc diffusion method ของสารสกัดจากลำไย ด้วยวิธีการนำเชื้อแบคทีเรียใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้น นำเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดปรับค่าความขุ่นให้เท่ากับ McFarland No. 0.5 ใช้ไม้ปั่นสำลีปราศจากเชื้อ จุ่มแล้วป้ายลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อให้ทั่วผิวหน้าอาหาร ทิ้งไว้ให้แห้งเป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นทำการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดยการนำสารสกัดที่ต้องการทดสอบมาละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วหยดลงบนแผ่นดิสก์ปราศจากเชื้อ ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 5 นาที จากนั้นวางบนจานเพาะเชื้อที่เตรียมไว้แล้วกดลงเบา ๆ ในตำแหน่งที่กำหนดไว้ จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ทำการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง) เมื่อครบกำหนดเวลาจึงวัดขนาดของโซนใส (Inhibition zone) ที่เกิดขึ้นโดยการบันทึกหน่วยเป็นมิลลิเมตร

การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimal inhibitory concentration, MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (Minimal bactericidal concentration, MBC)

นำสารสกัดสมุนไพรที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ในวิธี Disc diffusion method มาทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ โดยการนำเชื้อมาปรับค่าความขุ่นให้ได้เท่ากับ McFarland No. 0.5 จากนั้นทำการเตรียมสารสกัดให้มีความเข้มข้นในช่วง 1.96-250 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ดูดสารสกัดแต่ละความเข้มข้นไว้ในหลอดทดลองตัวอย่างละ 100 ไมโครลิตร หลังจากนั้นนำเชื้อที่เตรียมไว้ใส่ในหลอดทดลองของสารสกัดปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อ

ครบกำหนดเวลาทำการอ่านผล โดยค่า MIC สังเกตได้จากหลอดสุดท้ายที่ไม่มีการเจริญของเชื้อแบคทีเรียหรืออาหารเลี้ยงเชื้อไม่ขึ้น จากนั้นนำไปหาค่า MBC โดยนำความเข้มข้นที่ได้จากค่า MIC เกลี่ยลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทำการแบ่งช่องสำหรับแต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 2 ไมโครลิตร แล้วนำไปปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ทำการทดสอบทั้งหมด 3 ซ้ำ) โดยค่า MBC สังเกตได้จากไม่พบการเจริญของเชื้อแบคทีเรียบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

ผลการศึกษาและอภิปรายผล

ผลการสกัดสารจากเมล็ด ใบ และกิ่งลิ้นจี่

จากการตรวจสอบลักษณะทางกายภาพของสารสกัดจากเมล็ด ใบ และกิ่งลิ้นจี่ ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 50% เอทานอล และ 95% เอทานอล ในอัตราส่วน 1:5 พบว่า ได้สารสกัดของเมล็ดและกิ่งที่มีลักษณะเหนียวข้นสีน้ำตาล และสารสกัดของใบมีลักษณะเหนียวข้นสีเขียว ซึ่งพบว่าการย่อยสลายของสารสกัด (%Yield) ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 50% เอทานอล และ 95% เอทานอล พบมากที่สุด คือ กิ่ง รองลงมาคือ ใบ และเมล็ด ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 1

จากการตรวจสอบลักษณะทางกายภาพของสารสกัดจากเมล็ด ใบ และกิ่งลิ้นจี่ ที่สกัดด้วย 50% และ 95% เอทานอล พบว่าการย่อยสลายของสารสกัด (%Yield) ที่สกัดด้วย 50% เอทานอล มีค่ามากกว่าสารสกัดที่สกัดด้วย 95% เอทานอล สอดคล้องกับการศึกษาใบกระพังโหมที่สกัดด้วย 50% มีค่า %Yield สูงกว่า 95% เอทานอล แม้ว่าการสกัดจะใช้ตัวทำละลายชนิดเดียวกัน แต่เนื่องจากตัวทำละลายนั้นมีความเข้มข้นที่ไม่เท่ากัน จึงทำให้ความสามารถในการละลายสารได้แตกต่างกัน

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัด

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเมล็ด ใบ และกิ่งลิ้นจี่ ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 50% เอทานอล และ 95% เอทานอล ในการวิเคราะห์โดยใช้สารมาตรฐาน Ascorbic acid เป็นตัวควบคุม (Control) ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.037 ± 0.00 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ผลการวิเคราะห์พบว่า ใบและกิ่งของสารสกัดลิ้นจี่ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารสกัดลิ้นจี่ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 50% เอทานอล แต่สารสกัดจากเมล็ดด้วยตัวทำละลาย 50% เอทานอล มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารสกัดลิ้นจี่ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล โดยสารที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดคือ กิ่ง รองลงมาคือใบและเมล็ด ซึ่งมีค่า IC_{50}

เท่ากับ 0.003 ± 0.00 , 0.030 ± 0.00 และ 0.066 ± 0.01 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ สารมาตรฐาน Ascorbic acid มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.037 ± 0.00 mg/mL จากการศึกษาพบว่าตัวอย่างที่ศึกษาที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่า Ascorbic acid ได้แก่ ใบและกิ่งที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล และเมล็ดที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 50% เอทานอล แสดงดังตารางที่ 2

ในการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดเมล็ด ใบ และกิ่งลิ้นจี่ พบว่าสารสกัดลิ้นจี่ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 50% เอทานอล มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงกว่าสารสกัดลิ้นจี่ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้งสองชนิดจะพบมากที่สุดใบในเมล็ด รองลงมาคือกิ่ง และใบ ตามลำดับ ซึ่งในสารสกัดลิ้นจี่ที่สกัดด้วย 50% เอทานอล มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 118.42 ± 1.56 , 52.62 ± 0.10 และ 23.26 ± 0.71 mg GAE/mg extract ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 3

จากการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากเมล็ด ใบ และกิ่งลิ้นจี่ พบว่าสารสกัดเมล็ดแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม โดยสารสกัดเมล็ดที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 50% เอทานอลจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมีแนวโน้มสูงกว่าเมล็ดที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล ในขณะที่สารสกัดใบและกิ่ง แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ไม่สอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม โดยในสารสกัดใบและกิ่งที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล จะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าแต่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่ต่ำกว่าสารที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 50% เอทานอล แสดงดังตารางที่ 2 และ 3

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเมล็ด ใบ และกิ่งลิ้นจี่ พบว่า ส่วนใหญ่สารสกัดลิ้นจี่ที่สกัดด้วย 95% เอทานอล มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารสกัดลิ้นจี่ที่สกัดด้วย 50% เอทานอล โดยมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดคือ กิ่ง รองลงมาคือ ใบ และเมล็ด ตามลำดับ สอดคล้องกับการศึกษาสารสกัดจากใบหม่อนที่สกัดด้วย 95% เอทานอล มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารสกัดใบหม่อนที่สกัดด้วย 50% เอทานอล [11] ทั้งนี้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกรวม พบว่าสารสกัดลิ้นจี่ที่สกัดด้วย 50% เอทานอล มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงกว่าสารสกัดลิ้นจี่ที่สกัดด้วย 95% เอทานอล ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดปอกะบิดที่สกัดด้วย 40% เอทานอล มีปริมาณสูงกว่าสารสกัดปอกะบิดที่สกัดด้วย 95% เอทานอล [12] และให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาสาร

สกัดใบสะระแหน่, ใบฝรั่ง และใบแก้ว ที่สกัดด้วย 50% เอทานอล ที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าสารสกัดใบสะระแหน่, ใบฝรั่ง และใบแก้ว ที่สกัดด้วยเอทานอล [13] โดยตัวทำละลาย 50% เอทานอล มีความเข้มข้นมากกว่า 95% เอทานอล จึงทำให้มีความสามารถละลายสารประกอบฟีนอลิกที่เป็นสารประเภทมีขั้วออกมาได้ดีกว่า [14] ในศึกษครั้งนี้เมื่อนำฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากเมล็ด ใบและกิ่งลำต้นจึงเปรียบเทียบกัน พบว่าเมล็ดแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ในขณะที่ใบและกิ่งแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูง แต่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมต่ำ ซึ่งผลการศึกษาในส่วนของการสกัดใบและกิ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการศึกษาสารสกัดจากใบและกิ่งมะรุมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงแต่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมต่ำ [15]

ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

จากผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ของสารสกัดจากเมล็ด ใบ และกิ่งลำต้นจึง พบว่าสารสกัดจากใบและกิ่งลำต้นซึ่งสกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี และเป็นส่วนที่หาได้ง่าย จึงนำมาทำการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* ผลการทดสอบพบว่า สารสกัดกิ่งลำต้นจึงไม่สามารถยับยั้งเชื้อทั้ง 3 ชนิดได้ ในขณะที่สารสกัดใบลำต้นจึงสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้เพียงชนิดเดียว โดยมีค่าเฉลี่ยขนาดของบริเวณโซนใส เท่ากับ 12 ± 0.02 มิลลิเมตร และไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *P. aeruginosa* ได้ แสดงดังตารางที่ 4

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* ของสารสกัดจากใบและกิ่งลำต้นจึง พบว่าใบสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ที่เป็นแบคทีเรียแกรมบวกได้เพียงชนิดเดียว และไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *P. aeruginosa* ที่เป็นแบคทีเรียแกรมลบได้ จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าใบลำต้นจึงมีสารแทนนินที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ [16] ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาสารสกัดผลมะเปรียงที่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *P. aeruginosa* ได้ [17] และยังมีการศึกษาสารสกัดหยาบจากผลบาร์บาโดสเซอร์รี่ที่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ สาย

พันธุ์ *E. coli* และ *P. aeruginosa* [18] ทั้งนี้ยังมีการศึกษาที่พบว่าแบคทีเรียแกรมลบมีความต้านทานต่อสารสกัดจากพืชได้มากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก เนื่องจากแบคทีเรียแกรมลบมีโครงสร้างของเนื้อเยื่อชั้นนอกเป็นตัวกั้นการซึมผ่านของสารสกัด ในขณะที่แบคทีเรียแกรมบวกไม่พบโครงสร้างนี้ จึงทำให้สารสกัดซึมผ่านเข้าสู่แบคทีเรียแกรมบวกได้ง่ายกว่าแบคทีเรียแกรมลบ [19] ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าสารสกัดจากใบลำต้นจึงสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้เพียงชนิดเดียว จึงนำมาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Minimal inhibitory concentration, MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (Minimal bactericidal concentration, MBC) โดยมีค่า MIC เท่ากับ 62.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และค่า MBC เท่ากับ 125.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 5 พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียดีกว่าสมุนไพรบางชนิด เช่น ผลมะเปรียง [17] ทั้งนี้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสมุนไพรแต่ละชนิดนั้นต่างกัน อาจขึ้นอยู่กับปริมาณสารสำคัญและองค์ประกอบหลักทางเคมีของสมุนไพรในแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน

สรุปผลการศึกษา

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* ของสารสกัดจากลำต้นจึง การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่าสารสกัดกิ่งที่สกัดด้วย 95% เอทานอล มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.003 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม พบว่าสารสกัดลำต้นจึงที่สกัดด้วย 50% เอทานอล มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงกว่าสารสกัดลำต้นจึงที่สกัดด้วย 95% เอทานอล โดยพบมากที่สุดคือเมล็ด มีค่าเท่ากับ 118.42 ± 1.79 mg GAE/ mg extract การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียพบว่า กิ่งไม่สามารถยับยั้งเชื้อทั้ง 3 ชนิดได้ ในขณะที่ใบสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้เพียงชนิดเดียว โดยมีค่าบริเวณโซนใสเท่ากับ 12 ± 0.02 มิลลิเมตร มีค่า MIC และค่า MBC เท่ากับ 62.5 และ 125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ผลการศึกษานี้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการเลือกใช้ส่วนต่าง ๆ ของลำต้นจึงมาใช้ให้เกิดประโยชน์ในด้านต่าง ๆ ได้ในอนาคต

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบปริมาณร้อยละสารสกัด (%Yield) ของสารสกัดหยาบจากเมล็ด ใบ และกิ่งลั่นजी *Litchi chinensis* Sonn. ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล

ส่วนของพืช/ตัวทำละลาย		น้ำหนัก(g)	น้ำหนักสาร(g)	% Yield
เมล็ด	50% เอทานอล	500	31.95	6.39
	95% เอทานอล	500	2125	4.25
ใบ	50% เอทานอล	500	35.30	7.06
	95% เอทานอล	500	31.95	6.39
กิ่ง	50% เอทานอล	500	38.00	7.61
	95% เอทานอล	500	36.25	7.25

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ของสารสกัดจากเมล็ด ใบ และกิ่งลั่นजी

ส่วนของสารสกัด	DPPH IC ₅₀ (mg/mL)	
	50% เอทานอล	95% เอทานอล
เมล็ด	0.022±0.00 ^{cde}	0.066±0.01 ^{abcdfg}
ใบ	0.528±0.02 ^{abdefg}	0.030±0.00 ^{cdeg}
กิ่ง	0.585±0.00 ^{abcefg}	0.003±0.00 ^{acdef}

Ascorbic acid มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.037±0.00 mg/mL^{cdeg}

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยที่อักษรแตกต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยที่

- a: เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน ascorbic acid เป็นตัวควบคุม
b: เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบเมล็ดลั่นजीที่สกัดด้วย 50% เอทานอล
c: เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบเมล็ดลั่นजीที่สกัดด้วย 95% เอทานอล
d: เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบบลั่นजीที่สกัดด้วย 50% เอทานอล
e: เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบบลั่นजीที่สกัดด้วย 95% เอทานอล
f: เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบกิ่งลั่นजीที่สกัดด้วย 50% เอทานอล
g: เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบกิ่งลั่นजीที่สกัดด้วย 95% เอทานอล

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากเมล็ด ใบ และกิ่งลั่นजी

ส่วนของสารสกัด	Total phenolic content (mg GAE/mg extract)	
	50% เอทานอล	95% เอทานอล
เมล็ด	118.42±1.56 ^{bcdef}	101.79±1.83 ^{abcef}
ใบ	23.26±0.71 ^{acdef}	4.38±0.11 ^{abcdf}
กิ่ง	52.62±0.10 ^{abdef}	11.32±0.42 ^{abcde}

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยที่อักษรแตกต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยที่

- a: เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบเมล็ดลั่นजीที่สกัดด้วย 50% เอทานอล
b: เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบเมล็ดลั่นजीที่สกัดด้วย 95% เอทานอล
c: เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบบลั่นजीที่สกัดด้วย 50% เอทานอล
d: เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบบลั่นजीที่สกัดด้วย 95% เอทานอล
e: เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบกิ่งลั่นजीที่สกัดด้วย 50% เอทานอล
f: เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบกิ่งลั่นजीที่สกัดด้วย 95% เอทานอล

ตารางที่ 4ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ที่ทดสอบด้วยวิธี Disc diffusion method ของสารสกัดจากใบและกิ่งลำไย

ส่วนของสารสกัด	ขนาดของบริเวณโซนใส (mm) (Mean±SD)		
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
ใบ	12.00±0.02*	NI	NI
กิ่ง	NI	NI	NI
Tetracycline	30.00±0.04	29.00±0.00	14.80±0.04
น้ำกลั่น	NI	NI	NI

หมายเหตุ : NI หมายถึง no inhibition zone

สัญลักษณ์ (*) คือมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) เมื่อเทียบกับ Tetracycline

ตารางที่ 5 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดใบลำไยต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus*

ส่วนของสารสกัด	<i>Staphylococcus aureus</i>	
	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)
ใบ	62.50	125.00

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสาขาแพทย์แผนไทย คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร ที่ให้การสนับสนุนในการใช้ห้องปฏิบัติการ อุปกรณ์ เครื่องมือ และสิ่งอำนวยความสะดวกในการศึกษาจนทำให้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. ศรีมน สุธิน. (2559). วิตามินกับอนุมูลอิสระ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ. 2(1), 80-92.
2. บุหรณ์ พันธุ์สุวรรณ. (2556). อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 22(3), 275-286.
3. Buachoon, N., Singsuk, N., Kanran, P. & Kaeoprasoet, P. (2018). Antioxidant activity of crude extract from *Terminalia chebulia*. *VRU Research and development journal science and technology*, 13(2), 98-107.
4. Duangkaew, J. & Petchlert, C. (2015). Antioxidant activity of Honey pomegranate and Emerald pomegranate In: *Proceedings The 7th National Science Research Conference 2015*: .30-31 March 2015. Naresuan University.
5. Pranakhon, R. (2016). Anti-oxidant activity of *Aquilaria sinensis* crude extracts. *Songklanakarin journal of plant science*, 3, 21-24.
6. Xu, X., Xie, H., Hao, J., Jiang, Y. & Wei, X. (2010). Eudesmane sesquiterpene glucosides from lychee seed and their cytotoxic activity. *Food chemistry*, (4), 1123-1126.
7. Prasad, K. N., Yang, B, Yang, S., Chen, Y., Zhao, M., Ashraf, M., & Jiang, Y. (2009). Identification of phenolic compounds and appraisal of antioxidant and antityrosinase activities from litchi (*Litchi sinensis* Sonn.) seeds. *Food chemistry*, 116(1), 1-7.
8. Bhoopat, L., Srichairatanakool, S., Kanjanapothi, D., Taesotikul, T., Thananchai, H. & Bhoopat, T. (2011). Hepatoprotective effects of lychee (*Litchi chinensis* Sonn.): a combination of antioxidant and anti-apoptotic activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 136(1), 55-66.

9. Wang, X., Yuan, S., Wang, J., Lin, P., Liu, G., Lu, Y., Zhang, J., Wang, W. & Wei, Y. (2006). Anticancer activity of litchi fruit pericarp extract against human breast cancer in vitro and in vivo. *Toxicology and applied pharmacology*, (2), 168-178.
10. Besra, S., Sharma, R., & Gomes A. (1996). Antiinflammatory effect of petroleum ether extract of leaves of *Litchi chinensis* Gaertn. (Sapindaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 54(1), 1-6.
11. นันทินิตย์ สุรพันธุ์. 2556. ผลของการใช้ผงบุงร่วม กับมอลโตเดกซ์ทรีนต่อคุณภาพของสารสกัดจากใบหม่อนโดยการอบแห้งแบบพ่นฝอย. ปริญญานิพนธ์การศึกษามหาบัณฑิต, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพมหานคร.
12. ขมพูนุช อุทัยรัตน์, เอกรัฐ ศรีสุข & กล่าวขวัญ ศรีสุข. (2560). ผลของสภาวะต่าง ๆ ของการอบแห้งและสารสกัดต่อปริมาณของสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลปอกะบิด. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา*. 22(1), 151-165.
13. ภาเกล้า ภูมิใหญ่ & ชญาณิศา สุพา. (2558). ตัวทำละลายที่มีผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากพืชสมุนไพร. *รายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการระดับชาติ สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร ครั้งที่ 2 (627 - 635)*, 22 ธันวาคม 2558
กำแพงเพชร: มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร.
14. ธนัชสันท์ พูนไพบูลย์พิพัฒน์. (2562). ผลของความเข้มข้นที่แตกต่างกันของเอทานอลต่อการสกัดสารสกัดหยาบและฤทธิ์ทางอัลลีโลพาธิของใบแก้ว. *วารสารเกษตรนเรศวร*. 16(1), 1-8.
15. Jantanu, S., Yuentrakul, P. & Jirapong, C. (2016). Inhibition of *Streptococcus pyogenes* by edible film containing *Moringa oleifera* Lam. extracts. *Huachiew Chalermprakiet Science and Technology Journal*, 2(2), 20-27.
16. Wafa, N., Sofiane, G. & Mouhamed, K. (2016). The antioxidant and antimicrobial activities of flavonoids and tannins extracted from *Phlomis bovei* De Noé. *European journal of experimental biology*, 6(3), 55-61.
17. อรอนงค์ สมทรัพย์, กรกนก พิบูลย์ผล, คอลิฟ ปะหยังหลี & จารุวรรณ แดงโรจน์. (2562). ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผลมะเปรียง. *วารสารมหาวิทยาลัยราชภัฏวราชนครินทร์*. 11(2), 156-167.
18. Supaphon, P. (2020). Antimicrobial, Antioxidant and anti-alpha-glucosidase activities of dietary spice and medicinal herb extracts. *Int J Food Microbiol*, 117(1), 112-119.
19. Shan, B., Cai, Y.Z., Brooks, J.D. & Corke, H. (2007). The *in vitro* antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *Int J Food Microbiol*, 117(1), 112-119.



Research Article

Development of Wound Dressing Hydrocolloid Patch of *Garcinia mangostana* Linn. Extracts

การพัฒนาแผ่นแปะปิดบาดแผลจากสารสกัดเปลือกมังคุด

อุดมพงษ์ เหลืองนฤตม^{1,2}, รัชฎาวรรณ อรรถนิมิตต์^{1*}, ปราณี ศรีราช¹, จตุพร ประทุมเทศ¹, กัญยิศา นาคเสน¹, รัตนา อินทเกตุ¹,

จิรัญญา พรหมเชียง¹

¹สาขาแพทย์แผนไทย คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏวชิรเวศน์ จังหวัดสกลนคร 47160

²โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลศรีอุบล อำเภอกุหลาบ จังหวัดเลย 42230

Article Info

Received 17 February 2022

Revised 5 April 2022

Accepted 17 May 2022

Abstract

Garcinia mangostana Linn. or mangosteen in Thai tradition medicine have been used to treatment of diarrhea and wound healing. For Thailand National list of essential medicine, they are replaced mangosteen peel solution for wound care. Therefore, this study aim to develop wound dressing from mangosteen peel 95% ethanol extraction (MPE) for evaluate active compounds compare to α -mangostin standard. For study the efficacy of antioxidant, antibacterial activities, and the development of wound dressing. The results of the study showed MPE had the same R_f values were 0.93, and quantitative of α -mangostin was found 0.013%, $R^2 = 0.999$. Free radical inhibition were showed, $IC_{50} = 35.56 \pm 2.24$ μ g/ml by DPPH assay and $IC_{50} = 12.94 \pm 1.05$ μ g/ml by ABTS assay. MPE was showed antibacterial activity on inhibition zone of *Staphylococcus aureus* and *S. epidermidis* were 6.00 ± 0.64 mm and 5.87 ± 0.34 mm, respectively, and contrarily could not inhibit *Pseudomonas aeruginosa*. Results of the MIC and MBC after treated with MPE were exhibited *S. aureus* and *S. epidermidis* 31.25, 62.5 mg/ml and 31.25, 62.5 mg/ml, respectively. The MPE on wound dressing patch development on 12 formulations with MPE 0.1, 0.25, and 0.5%. By all of 12 formulation, the 12th exhibited good physical appearance and high effective against bacteria and on drug release characterization. This study concluded that, the wound dressing from MPE had stabilization release on wound dressing patch and can be used to an alternative products used for wound care.

Keywords: Wound dressing path- Mangosteen peel extracts - Antibacterial activity

บทคัดย่อ

มังคุด ในทางการแพทย์แผนไทยใช้รักษาอาการท้องร่วง และรักษาบาดแผล ในบัญชียาหลักแห่งชาติ มีการบรรจุสมุนไพรรักษาแผล รูปแบบน้ำยาล้างแผล เพื่อใช้รักษาแผลสด การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อพัฒนาวัสดุปิดแผลจากสารสกัดเปลือกมังคุด โดยศึกษาสารสำคัญในเปลือกมังคุดเทียบกับสารมาตรฐาน อัลฟาแมงโกสติน ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และพัฒนาเป็นวัสดุปิดแผล ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดเปลือกมังคุด มีค่า R_f (0.93) ตรงกับสารมาตรฐาน และมีปริมาณอัลฟาแมงโกสติน เท่ากับ 0.013%, $R^2 = 0.999$ เมื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธีดีพีพีเอช พบว่าค่า $IC_{50} = 35.56 \pm 2.24 \mu\text{g/mL}$ และวิธีบีทีเอส พบว่าค่า $IC_{50} = 12.94 \pm 1.05 \mu\text{g/mL}$ มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *S. epidermidis* มีค่าโซนการยับยั้ง เท่ากับ 6.00 ± 0.64 และ 5.87 ± 0.34 มม. ตามลำดับ แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* เมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) ของเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* พบว่ามีค่า เท่ากับ 31.25, 62.5 มก./มล. และ 31.25, 62.5 มก./มล. ตามลำดับ การพัฒนาสารสกัดเปลือกมังคุดในแผ่นแปะปิดแผล 12 ตำรับ ที่มีสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.1, 0.25 และ 0.5% ผลการศึกษาพบว่าแผ่นแปะสูตร F12 ให้ผลที่ดีที่สุดในการประเมินลักษณะทางกายภาพ ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และการปลดปล่อยยา การศึกษานี้สรุปได้ว่าแผ่นแปะปิดบาดแผลจากสารสกัดเปลือกมังคุดมีความคงตัวในการปลดปล่อยสารสำคัญได้ดี ซึ่งสามารถเป็นผลิตภัณฑ์ทางเลือกในการรักษาบาดแผลได้

คำสำคัญ: แผ่นแปะปิดบาดแผล, สารสกัดเปลือกมังคุด, ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

1. บทนำ

บาดแผลเป็นหนึ่งในสาเหตุสำคัญที่เกิดจากการบาดเจ็บบริเวณผิวหนังของร่างกาย ส่งผลให้เกิดความรู้สึกรำคาญ ความทุกข์ทรมาน ความวิตกกังวล หรือแม้กระทั่งการเสียชีวิต [1] บาดแผลมีมากมายหลายชนิด และสามารถเกิดขึ้นได้จากหลายสาเหตุ โดยทั่วไปจะแบ่งลักษณะของบาดแผลออกเป็น 2 ประเภท คือ บาดแผลแบบเฉียบพลัน ที่มีลักษณะของแผลที่เกิดจากจากแรง หรือกลไกที่มาจากภายนอก เช่น แผลฉีกขาด แผลผ่าตัด แผลถลอก และแผลไฟไหม้ อีกประเภท คือ บาดแผลแบบเรื้อรัง ซึ่งอาจเกิดจากบาดแผลแบบเฉียบพลันที่ไม่ได้รับการรักษาที่ถูกต้อง หรือเป็นแผลที่ไม่สามารถหายได้ภายใน 3-6 สัปดาห์ เช่น แผลเบาหวาน แผลกดทับ และแผลจากหลอดเลือดดำเสื่อม เป็นต้น [2] ตามปกติเมื่อร่างกายเกิดบาดแผล จะมีกระบวนการรักษาบาดแผลเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ เพื่อช่วยซ่อมแซมและสมานแผลให้กลับมาสู่สภาวะปกติ [3] ความเร็วในการหายของแผลนั้นจะขึ้นอยู่กับขนาดของแผลและความรุนแรงที่เกิดขึ้น การรักษาโดยผู้เชี่ยวชาญจึงเป็นสิ่งจำเป็น เพราะหากให้การรักษาแบบผิดวิธีจะเป็นการเพิ่มความเสี่ยง และความรุนแรงให้กับบาดแผลที่เกิดขึ้น โดยเฉพาะผู้ที่มึบาดแผลเรื้อรัง และมีโรคประจำตัว

การรักษาบาดแผลนั้นมีทั้งการรักษาด้วยยาและสารเคมี ข้อเสียของการใช้สารเคมีบางชนิดในการรักษาบาดแผล อาจส่งผลให้เกิดการสะสมสารเคมีเกิดขึ้นในร่างกาย ปัจจุบันจึงมีการคิดค้นและพัฒนา

วิธีการรักษาบาดแผล โดยมุ่งเน้นแนวทางการรักษาใหม่ ๆ เช่น การนำสมุนไพรมารักษาแทนยาแผนปัจจุบัน เนื่องจากสมุนไพรมีประสิทธิภาพการรักษาที่ดี มีผลข้างเคียงน้อย มีความปลอดภัย และช่วยลดการสะสมที่เกิดจากการใช้สารเคมีได้ [4] ในประเทศไทยพบว่ามีสมุนไพรมากชนิดในทางการแพทย์แผนไทย ที่มีสรรพคุณและรายงานผลการรักษาต่อการรักษาบาดแผล มีการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์และใช้ทดแทนยาแผนปัจจุบันในสถานพยาบาลของรัฐ เช่น เกล็ดพังพอนตัวเมีย (*Clinacanthus nutans*) ว่านหางจระเข้ (*Aloe vera*) บัวบก (*Centella asiatica*) และเปลือกมังคุด (*Garcinia mangostana*) เป็นต้น

มังคุดเป็นผลไม้พื้นบ้านของไทย เมื่อมีรสเปรี้ยวอมหวาน เปลือกมีรสฝาด หมอพื้นบ้านจะใช้ส่วนเปลือกของมังคุด สำหรับรักษาอาการท้องร่วง แผลติดเชื้อ และไข้ [5] เปลือกมังคุดอุดมไปด้วยสารแซนโทน โดยพบ α -mangostin เป็นแซนโทนที่พบมากที่สุดเปลือกมังคุด [6] ประโยชน์และคุณสมบัติของ α -mangostin ในทางเภสัชวิทยามีอยู่ด้วยกันหลากหลาย เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ [7] ด้านการอักเสบ [8] ด้านแบคทีเรีย [9] ด้านมะเร็ง [10] รักษาแผล [11] ป้องกันโรคข้ออักเสบ [12] และช่วยลดรอยโรคผิวหนังที่เกิดจากโรคสะเก็ดเงิน เป็นต้น ในบัญชียาหลักแห่งชาติสมุนไพรมีการบรรจุสมุนไพรรักษาแผล เปลือกมังคุด รูปแบบน้ำยาล้างแผล มีสรรพคุณรักษาแผลสด และแผลเรื้อรัง ถึงแม้ว่าน้ำยาล้างแผลจะสามารถทำความสะอาด

บาดแผลได้ดี แต่ก็มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์เป็นส่วนใหญ่ จึงอาจก่อให้เกิดการระคายเคืองของเนื้อเยื่อบริเวณบาดแผลได้

ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะนำเปลือกมังคุดที่เป็นวัสดุทางธรรมชาติเหลือทิ้งมาพัฒนาเป็นวัสดุปิดบาดแผล (wound dressing) ที่สามารถใช้งานได้ง่าย มีความคงตัวของยาในการออกฤทธิ์ ช่วยเร่งกระบวนการรักษา และสามารถทำหน้าที่ปกป้องบาดแผลจากการติดเชื้อจากแบคทีเรีย อีกทั้งเปลือกมังคุดยังเป็นวัสดุเหลือทิ้งที่หาได้ง่าย มีข้อมูลสนับสนุนทางตำรายา และข้อมูลทางวิทยาศาสตร์พบว่า มีสรรพคุณและความปลอดภัยในการใช้รักษาบาดแผล อีกทั้งยังเป็นหนึ่งในผลไม้ส่งออกของไทย ที่สามารถสร้างรายได้ให้กับประเทศ

2. วิธีการศึกษา

การวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยและพัฒนา (Research and Development, R&D) ดำเนินการศึกษาระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ.2562 ถึงเดือนตุลาคม พ.ศ.2563 ณ สาขาการแพทย์แผนไทย คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏวชิรเวศน์ วิทยาเขตสกลนคร

2.1 การเตรียมสารสกัด

ผลมังคุดสด จากอำเภอรพท.ศรี จังหวัดนครศรีธรรมราช คัดแยกเอาเฉพาะส่วนเปลือก นำมาหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ และปั่นจนละเอียด จากนั้นหมักด้วยเอทานอล 95% ในอัตราส่วน 1:3 (เปลือกมังคุด:เอทานอล) ในขวดแก้วสีชาที่ปิดสนิท เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง ระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 60 °C คำนวณร้อยละผลผลิตที่ได้ เก็บไว้ในภาชนะที่ปิดสนิทในตู้เย็นอุณหภูมิ -20 °C

2.2 การทดสอบหาสารสำคัญเบื้องต้นด้วยรังควัตถุผิวบาง (Thin layer chromatography, TLC)

ใช้แผ่น Silica plate GF₂₅₄ โดย mobile phase คือ chloroform: ethyl acetate (85:15 v/v) [13] จากนั้นทำการ spot สารมาตรฐาน α -mangostin และ MPE ลงบนแผ่น silica plate จากนั้นจุดลงใน mobile phase และตรวจด้วยเครื่อง UV-VIS spectrophotometer, UV 366 nm แสดงผลเป็นค่า R_f

2.3 วิเคราะห์ปริมาณสาร α -mangostin จากสารสกัดเปลือกมังคุด โดยเทคนิค High performance liquid -Chromatography (HPLC)

สารมาตรฐาน α -mangostin (Sigma, Aldrich) เจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0.00625%, 0.0125%, 0.025%, 0.050% และ 0.1% จากนั้นเตรียม MPE ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผิดสารมาตรฐานและ MPE ในปริมาตร 10 ไมโครลิตร คอลัมน์ที่ใช้ คือ Shim-pack GIST C18 (4.6 x 250 mm, 5 μ m) (Cat no. 5020-01732) mobile phase คือ methanol : water (80:20) ดัดแปลงจาก Jujun et al. (2009) ควบคุมอัตราการไหลที่ 1.0 mL/min วิเคราะห์ผลที่ความยาวคลื่น 254nm นำค่าที่ได้มาสร้างกราฟสารมาตรฐาน และคำนวณหาความเข้มข้นของสารมาตรฐานและสารสกัด โดยใช้ Software real-time analysis (Shimadzu, Japan)

2.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

2.4.1 วิธี DPPH อ้างอิงจาก [14] เตรียม MPE ความเข้มข้น 1-80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 nm โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox และคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ

2.4.2 การทดสอบด้วย ABTS assay ใช้ตามวิธีของ [11] โดยเตรียมตัวอย่าง MPE ที่ความเข้มข้น 0.25-50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm ใช้สารมาตรฐาน Trolox คำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ

2.5 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

2.5.1 การทดสอบด้วยวิธี Agar disc diffusion method โดยดัดแปลงจากวิธีของ [15] แบคทีเรียที่ทดสอบ ได้แก่ *S. aureus* (ATCC 25923), *S. epidermidis* (ATCC 12228) และ *P. aeruginosa* (ATCC 27853) เพาะเลี้ยงลงใน nutrient agar ที่จากนั้นเติม MPE ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้ 0.1% dimethyl sulfoxide เป็น negative control และยาปฏิชีวนะ tetracycline เป็น positive control นำจานเพาะเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมงและบันทึกผลการทดลอง

2.5.2 การทดสอบด้วยวิธี Broth dilution test ดัดแปลงจาก Ambaye และคณะปี 1997

2.5.2.1 ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ Minimal inhibitory concentration (MIC) นำเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ *S. aureus* และ *S. epidermidis* ทดสอบกับ MPE ที่ความเข้มข้น เท่ากับ 0.97, 1.95, 3.90, 7.81, 15.625, 31.25, 62.5, 125, 250, 500, 1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใน 96 well plate บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นบันทึกผลการทดลอง

2.5.2.2 ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ Minimal bactericidal concentration (MBC) นำหลอดที่ไม่มี ความขุ่นจาก

การทดสอบหาข้างต้น ทำการ spread plate ลงบนอาหารเพาะเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกผลการทดลอง โดยพิจารณาความเข้มข้นของ MPE ที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ โดยสังเกตได้ว่าจะไม่พบการเจริญของแบคทีเรียบนจานอาหารเพาะเชื้อ

2.6 การเตรียมวัสดุปิดแผล

สูตรการเตรียมแผ่นแปะ (ตารางที่ 1) ทำการละลายส่วนผสมต่าง ๆ ในน้ำกลั่น ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง hotplate & stirrer เป็นเวลา 25 นาที จากนั้น เติม MPE (ละลายด้วยเอทานอล) ความเข้มข้น 0.1, 0.25 และ 0.5 กรัม และเทลงบนจานแม่แบบ จากนั้นนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิที่ 60 °C เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง²¹ โดยแผ่นแปะแต่ละสูตรจะมีอัตราส่วนพอลิเมอร์ ดังนี้ พอลิเมอร์สูตร 1 คือ pectin: NaCMC 1:1 ส่วน พอลิเมอร์สูตร 2 คือ pectin: NaCMC 1:2 ส่วน และพอลิเมอร์ สูตร 3 คือ pectin: NaCMC 2:1 ส่วน

2.7 การประเมินคุณสมบัติของแผ่นแปะ

2.7.1 ศึกษาลักษณะทางกายภาพ โดยศึกษาลักษณะทางกายภาพ จากลักษณะภายนอกของแผ่นแปะ เช่น ลักษณะของสี ความเรียบเนียน ความยืดหยุ่น และบันทึกผล

2.7.2 การทดสอบความพรุนของแผ่นแปะ ด้วยเครื่อง Scanning electron microscope (SEM, ZEISS, Germany) โดยศึกษาลักษณะ พื้นผิวของวัตถุ โดยวิเคราะห์ที่ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา

2.7.3 การวิเคราะห์ลักษณะเชิงกลของแผ่นแปะ โดยศึกษาความแข็งแรงและความยืดหยุ่นของแผ่นแปะ ด้วยเครื่อง Tensile strength โดยดัดแปลงจากวิธีของ Arora & Mukherjee ในปี 2002 โดยวิเคราะห์ที่สาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะทรัพยากรธรรมชาติและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร จากนั้นนำผลที่ได้ มาคำนวณ หาค่า Tensile strength และ Elongation at break

2.7.4 ทดสอบความสามารถในการบวมตัวของแผ่นแปะ ด้วยวิธี Swelling ratio โดยใช้วิธีของ [16] โดยทำการตัดแผ่นแปะ MPE ที่เตรียมในข้อ 6 ให้ได้ขนาด 2x2 เซนติเมตร นำไปอบให้แห้ง จากนั้นนำไปแช่ในสารละลายบัฟเฟอร์ฟอสเฟต (PBS, pH 7.4) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาชั่งน้ำหนักหลังการทดลอง และนำมาคำนวณ % Swelling ratio (SR%)

2.7.5 ทดสอบความคงตัวของแผ่นแปะ ด้วยวิธี freeze-thaw cycle ทำการเก็บแผ่นแปะ MPE ไว้ในตู้เย็น ที่อุณหภูมิ -20 °C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นนำแผ่นแปะไปเก็บอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ทำเช่นนี้ นับเป็น 1 รอบ ทำซ้ำ ทั้งหมด 3 รอบ และบันทึกผล [16]

2.8 การทดสอบประสิทธิภาพของแผ่นแปะ

2.8.1 ทดสอบการออกฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของแผ่นแปะ MPE ด้วยวิธี Agar disc diffusion method โดยทำการทดสอบ การออกฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียกับเชื้อ *S. aureus*, *S. epidermidis* โดยตัดแผ่นแปะ MPE ให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง เท่ากับ 6 มิลลิเมตร จากนั้นวางแผ่นลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ โดย กำหนดให้แผ่นแปะที่ไม่ผสม MPE เป็น negative control และ tetracycline เป็น positive control นำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่ อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.8.2 ศึกษาการปลดปล่อยสารสกัดเปลือกมังคุดจากวัสดุปิดแผล ด้วยวิธี Modified franz diffusion โดยวางแผ่นแปะ MPE ไว้บน membrane จากนั้นเก็บตัวอย่างของสารที่ปลดปล่อย ที่เวลา 0, 15, 30, 60, 90, 360, 720 และ 1,440 นาที ดูดเก็บสารปริมาตร 1 มิลลิตร ใส่ลงใน micro vial นำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

2.9 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การศึกษารังนี้ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวิเคราะห์สถิติพื้นฐาน ได้แก่ ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน วิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย ของการศึกษาด้วยสถิติ paired sample t-test และ One-Way ANOVA กำหนดระดับนัยสำคัญที่ $p < 0.0$

ตารางที่ 1 การเตรียมแผ่นแปะสูตรต่าง ๆ

Formulation	Polymer			Mangosteen pericarp extracts (%/w)								
				0.1			0.25			0.5		
	F01	F02	F03	F04	F05	F06	F07	F08	F09	F10	F11	F12
Pectin	1	1	2	1	1	2	1	1	2	1	1	2
NaCMC	1	2	1	1	2	1	1	2	1	1	2	1
Glycerol	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Ethanol95%	-	-	-	5	5	5	5	5	5	5	5	5
MPE	-	-	-	0.1	0.1	0.1	0.25	0.25	0.25	0.5	0.5	0.5
Distilled water	93	92	92	87.9	86.9	86.9	87.75	86.75	86.75	87.5	86.5	86.5

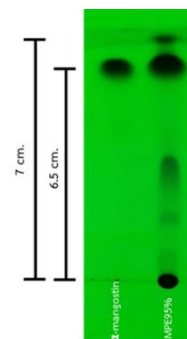
3. ผลการศึกษาและอภิปรายผล

3.1 ร้อยละผลผลิตของสมุนไพร

จากการสกัดเปลือกมังคุดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% (MPE) พบว่าสารสกัดที่ได้มีลักษณะเหนียวข้น มีสีม่วงเข้มอมดำแดง ร้อยละผลผลิต (%yield) มีค่าเท่ากับ 6.67

3.2 ผลการทดสอบหาสารสำคัญเบื้องต้นด้วยรังควัตถุผิวบาง (TLC) และวิเคราะห์ปริมาณสาร α -mangostin ด้วยเทคนิค HPLC

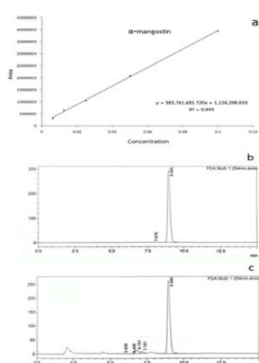
เมื่อทดสอบหาสารสำคัญเบื้องต้นของสารสกัดเปลือกมังคุด (MPE) เทียบกับกับสารมาตรฐาน α -mangostin พบว่า MPE มีค่า R_f เท่ากับ 0.93 ซึ่งตรงกับสารมาตรฐาน ดังแสดงในภาพที่ 1 และเมื่อวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญของสารมาตรฐาน α -mangostin พบว่า สารมาตรฐานมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient (R^2)) เท่ากับ 0.999 (ภาพที่ 2a) และพบว่า Retention time (RT) ของสารมาตรฐาน (2b) และสารสกัดเปลือกมังคุด (2c) ตรงกัน เท่ากับ 8.99 MPE มีปริมาณสาร α -mangostin เท่ากับ 0.013% (ภาพที่ 2)



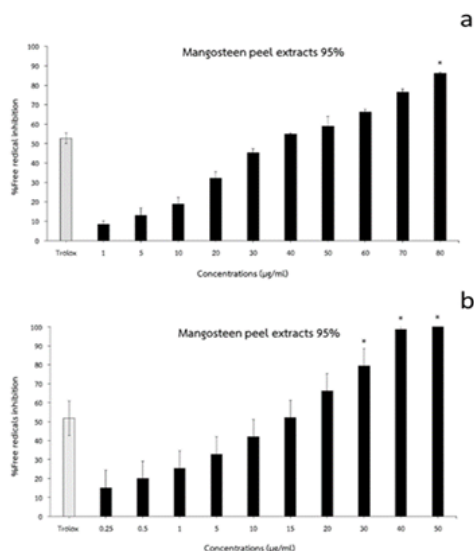
ภาพที่ 2 กราฟมาตรฐานของสาร (a) โครมาโทแกรมของ α -mangostin (b) และ MPE (c)

3.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH พบว่า MPE มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ มีค่า IC_{50} เท่ากับ 35.56 ± 2.24 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS พบว่ามีค่า IC_{50} เท่ากับ 12.94 ± 1.05 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (* $p < 0.05$ เปรียบเทียบ MPE กับ Trolox) ดังแสดงในภาพที่ 3



ภาพที่ 1 การทดสอบหาสารสำคัญเบื้องต้นด้วยวิธี ของสาร α -mangostin และสารสกัดเปลือกมังคุด



ภาพที่ 3 การยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกมังคุด DPPH assay (a) ABTS assay (b)

3.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

จากการทดสอบคุณสมบัติของ MPE ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*, *S. epidermidis* และ *P. aeruginosa* ด้วยวิธี agar disc diffusion พบว่า MPE สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* ได้มีค่า Inhibition zone เท่ากับ 6.00 ± 0.64 และ 5.87 ± 0.34 มิลลิเมตร ตามลำดับ และพบว่า MPE ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa* ได้ และการทดสอบ MPE ต่อความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (MIC) และความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (MBC) พบว่า MPE สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* มีค่า MIC ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสองเท่ากัน คือ 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ MBC เท่ากัน คือ 62.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 2

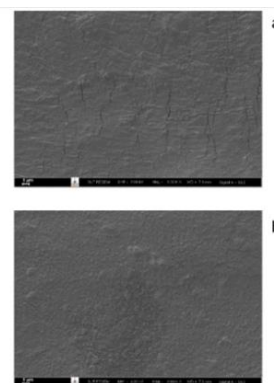
ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพของสารสกัดเปลือกมังคุด ต่อค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC)

3.5 ผลการประเมินลักษณะทางกายภาพของแผ่นแปะ

Bacteria species	Antibacterial activity		
	Clear zone (mm)	MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)
<i>S. aureus</i>	6.00 ± 0.64	31.25	31.25
<i>S. epidermidis</i>	5.87 ± 0.34	62.5	62.5
<i>P. aeruginosa</i>	0 ± 0.00	-	-

จากการเตรียมแผ่นแปะทั้งหมด 12 สูตร โดยแต่ละสูตรจะมีอัตราส่วนของพอลิเมอร์ และปริมาณ MPE ที่แตกต่างกัน โดยสูตรที่ไม่มีส่วนผสมของสารสกัดเปลือกมังคุด (Negative control) คือ พอลิเมอร์สูตร F01-F03 สูตรที่มี MPE คือ สูตร F04-F06 (MPE 0.1%) สูตร F07-F09 (MPE 0.25%) และ สูตร F10-F12 (MPE 0.5%) ผลการศึกษาพบว่าแผ่นแปะ สูตร F06, F09 และ F12 มีลักษณะทางกายภาพที่ดีที่สุด แผ่นแปะมีสีน้ำตาลเข้ม ผิวของแผ่นมีความเรียบ และมีความยืดหยุ่นสูงมากกว่าสูตรอื่น

เมื่อศึกษาพื้นผิวของแผ่นแปะสูตรต่าง ๆ โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope) พบว่าแผ่นแปะสูตร F01-F02 ลักษณะของแผ่นมีความเรียบ ไม่มีความพรุน ไม่มีพอง และไม่มียอยแตก แผ่นแปะสูตร F03 มีลักษณะผิวขรุขระไม่สม่ำเสมอ ไม่มีพอง และพบว่าแผ่นแปะที่มีส่วนผสมของ MPE สูตร F05, F08, F11 (พอลิเมอร์ สูตร 2 pectin: NaCMC 1:2 ส่วน) ให้ผลลัพธ์ที่ดีที่สุดของลักษณะพื้นผิวของแผ่นแปะ (ลักษณะผิวของแผ่นแปะที่ไม่ผสม MPE และผสม MPE แสดงในภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 ลักษณะพื้นผิวของแผ่นแปะที่ไม่ผสมและผสมสารสกัดเปลือกมังคุด (a, b) กำลังขยาย 3,000x

การทดสอบความต้านแรงดึง เพื่อทดสอบความแข็งแรง และความยืดหยุ่นของแผ่นแปะ ผลการศึกษาพบว่า แผ่นแปะที่มีค่าแรงเค้น (Tensile strength) มากที่สุดคือ แผ่นแปะสูตร F11 รองลงมาคือ แผ่นแปะสูตร F12 แผ่นแปะที่มี % ค่าการยืดตัว ณ จุดขาด (% Elongation of Break) มากที่สุด คือ แผ่นแปะสูตร F06 รองลงมาคือ F09 ตามลำดับ (ดังตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ค่าของแรงเค้นและค่าการยืดตัวของแผ่นแปะทั้ง 12 สูตร

สูตร	แรงเค้น (N/mm ²)	ค่าการยืดตัว ณ จุดขาด (%)
F01	0.020±0.00b ^c	27.30±2.70 ^{bc}
F02	0.002±0.00 ^a	24.98±12.42 ^{bc}
F03	0.003±0.00 ^a	28.20±6.16 ^{bc}
F04	0.012±0.00 ^{ab}	30.78±11.67 ^{bc}
F05	0.001±0.00 ^a	3.215±2.04 ^a
F06	0.037±0.01 ^d	85.24±10.35 ^f
F07	0.014±0.00 ^{ab}	48.92±6.61 ^d
F08	0.030±0.01 ^{cd}	4.14±0.32 ^a
F09	0.013±0.00 ^{ab}	66.77±18.83 ^e
F10	0.012±0.00 ^{ab}	16.26±5.38 ^{ab}
F11	0.068±0.01 ^f	32.66±4.93 ^{bcd}
F12	0.054±0.00 ^e	39.25±13.00 ^{cd}

หมายเหตุ: ตัวอักษร a, b, c, d, e, f ที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับพอลิเมอร์สูตรเดียวกัน

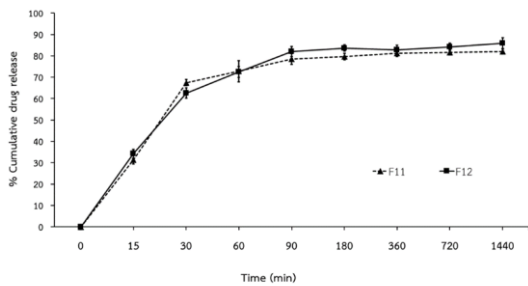
จากการทดสอบการบวมของแผ่นแปะ โดยคำนวณน้ำหนักของแผ่นแปะที่เพิ่มขึ้น โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เทียบกับน้ำหนักเริ่มต้น (% Swelling ratio) ผลการทดลองพบว่ากลุ่มแผ่นแปะสูตร 1 คือ F01, F04, F07 และ F10 (พอลิเมอร์ สูตร 1 pectin: NaCMC 1:1 ส่วน) มีค่าเฉลี่ยในการบวมของแผ่นแปะสูงกว่าแผ่นแปะสูตรตำรับพอลิเมอร์สูตร 2 และ 3 แต่พบว่าแผ่นแปะในกลุ่มพอลิเมอร์สูตร 1 หลังการทดสอบจนครบเวลา เกิดการละลายเป็นเจลเหลว ไม่สามารถอยู่ในรูปของแผ่นแปะได้ แตกต่างกับกลุ่มแผ่นแปะ ที่มีพอลิเมอร์สูตร 2 และสูตร 3 ที่ยังคงสภาพอยู่ในรูปแบบแผ่นแปะได้หลังการทดสอบจากการทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่ง และผลการทดลองพบว่าลักษณะทางกายภาพของแผ่นแปะทั้ง 12 สูตร ได้แก่ สี ความเรียบ และความยืดหยุ่นของแผ่นแปะไม่มีการเปลี่ยนแปลง และพบว่าน้ำหนักของแผ่นแปะทุกสูตร มีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักลดลงเล็กน้อย (ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p > 0.05$)

3.6 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของแผ่นแปะ MPE ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และความสามารถในการปลดปล่อยยา

เมื่อทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* ของแผ่นแปะสูตร ที่เติม MPE คือ แผ่นแปะสูตร F04-F12 ผลการศึกษาพบว่า แผ่นแปะที่ผสม MPE ทุกสูตร แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* ได้ โดยพบว่าแผ่นแปะที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

S. aureus ได้ดีที่สุด คือ แผ่นแปะสูตร F12 (MPE0.5%) มีค่า Inhibition zone เท่ากับ 8.57 ± 0.04 มิลลิเมตร รองลงมา คือ แผ่นแปะสูตร F10 (MPE0.5%) มีค่า Inhibition zone เท่ากับ 7.20 ± 0.43 มิลลิเมตร โดยแผ่นแปะที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* ได้ดีที่สุด คือ แผ่นแปะสูตร F10 (MPE0.5%) มีค่า Inhibition zone เท่ากับ 6.83 ± 0.11 มิลลิเมตร รองลงมาคือ แผ่นแปะสูตร F12 มีค่า Inhibition zone เท่ากับ 6.80 ± 0.27 มิลลิเมตร

จากการประเมินลักษณะทางกายภาพของแผ่นแปะ และศึกษาถึงประสิทธิภาพของแผ่นแปะ ทั้ง 12 สูตร จึงได้เลือกแผ่นแปะสูตร F11 และ F12 มาใช้ในการทดสอบการปลดปล่อยสารสำคัญของแผ่นแปะ เนื่องจากแผ่นแปะทั้ง 2 สูตร มีลักษณะทางกายภาพที่ดี มีความแข็งแรง มีความยืดหยุ่น มีความสามารถในการกักเก็บน้ำ มีความคงตัว และแสดงถึงประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับแผ่นแปะสูตรอื่น จากการศึกษาการปลดปล่อยยาของแผ่นแปะ พบว่า แผ่นแปะสูตร F11 มีการปลดปล่อยสารสำคัญ α -mangostin คงที่ในช่วงเวลาตั้งแต่ 60-1,440 นาที โดยแผ่นแปะสูตร F12 เริ่มมีการปลดปล่อยยาที่คงที่เริ่มตั้งแต่เวลา 90-1,440 นาที (24 ชั่วโมง) เมื่อสังเกตจากการระยะเวลาการปลดปล่อยตัวยาจนครบเวลาที่ศึกษา พบว่า แผ่นแปะสูตร F12 แสดงคุณสมบัติการปลดปล่อยยาที่มีความคงตัวที่ดีกว่าแผ่นแปะสูตร F11 เล็กน้อย (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 5 เปอร์เซ็นต์ปริมาณสาร α -mangostin ที่ปลดปล่อยจากแผ่นแปะสารสกัดเปลือกมังคุด

4. อภิปรายและสรุปผลการศึกษา

การวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยและพัฒนา (Research and Development หรือ R&D) จากผลการศึกษาสามารถอธิบายได้ว่า MPE มีลักษณะสีม่วงเข้ม อดดำแดง มีลักษณะเหนียวข้น และร้อยละผลผลิต (%yield) มีค่าเท่ากับ 6.67 เมื่อทดสอบหาสารสำคัญด้วยวิธี TLC ในสารสกัดเปลือกมังคุด พบว่าสารสกัด มีค่า R_f เท่ากับ 0.93 ซึ่งตรงกับสาร α -mangostin สอดคล้องกับการศึกษาของ [13] ได้ศึกษาการพัฒนาวิธี TLC และ HPTLC ในเปลือกมังคุดตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 5 ชนิด ผลการศึกษาพบว่าการเคลื่อนที่ของสารมาตรฐาน และสารสกัดเปลือกมังคุด ในสารสกัดทั้ง 5 ชนิด ค่า R_f เท่ากับ 0.55

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญของสารมาตรฐาน α -mangostin โดยใช้ mobile phase เมทานอล: น้ำ พบว่าสารมาตรฐานมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient (R^2)) เท่ากับ 0.999 และพบว่า retention time (RT) ของสาร α -mangostin และ MPE ตรงกัน คือ 8.99 นาที สอดคล้องกับการศึกษาของ Jujun et al. (2009) ได้ศึกษาการพัฒนาและตรวจสอบ ปริมาณสาร α -mangostin ในสารสกัดหยาบ ด้วยวิธี HPLC มี mobile phase คือ เมทานอล: น้ำ (90:10 v/v) ผลการศึกษา พบว่าสารมาตรฐาน α -mangostin มีค่า RT ที่เวลา 4.715 นาที สารสกัดหยาบเปลือกมังคุด มีค่า RT ที่เวลา 4.749 นาที

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสารสกัดเปลือกมังคุดโดยวิธี DPPH พบว่า MPE มีค่า IC_{50} เท่ากับ 35.56 ± 2.24 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งค่าที่ได้สูงกว่าการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกมังคุดชั้นน้ำและเมทานอล มีค่า $IC_{50} \sim 11-14$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร [17]

การศึกษาการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS พบว่า MPE มีค่า IC_{50} เท่ากับ 12.94 ± 1.05 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สอดคล้องกับ MPE แสดงออกถึงคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระทั้งนี้เนื่องจากในเปลือกมังคุด ประกอบด้วย α -mangostin เป็นสารในกลุ่มฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน ทำหน้าที่เป็นตัวขัดขวางหรือหยุดปฏิกิริยาต่อเนื่องของอนุมูลอิสระ โดยจะทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์ ถ่ายโอนอิเล็กตรอนจะออกมาจากโมเลกุลให้กับออกซิเจน ทำให้ออกซิเจนไม่สามารถเกิดปฏิกิริยา ส่งผลให้อนุมูลอิสระถูกขจัดออกไปได้ [18]

ฤทธิ์ของสารสกัดเปลือกมังคุด ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*, *S. epidermidis* และไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ได้ ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของ [9] ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียจากแซนโทนในผลมังคุด พบว่าที่ความเข้มข้น 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa* ได้ ซึ่งผลการศึกษาที่แตกต่างนี้ อาจเกิดจากแหล่งที่มาของเปลือกมังคุด วิธีการสกัด รวมถึงตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย แสดงผลลัพธ์ที่แตกต่างกันในการทดสอบ

ผลการศึกษา MPE ต่อยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในการศึกษาปัจจุบัน พบว่า *S. aureus* และ *S. epidermidis* มีค่า Inhibition zone เท่ากับ 6.00 ± 0.64 และ 5.87 ± 0.34 มิลลิเมตร ตามลำดับ สอดคล้องกับการศึกษาของ [19] พบว่าสารสกัดเปลือกมังคุดแบบผงที่ละลายด้วยน้ำ สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ได้ และพบว่าการใช้สารสกัดที่มีความเข้มข้นสูงขึ้น จะทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสูงขึ้นตาม

การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจะเห็นว่า MPE มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิดแกรมบวก คือ *S. aureus* และ *S. epidermidis* ได้ เนื่องจากเปลือกมังคุดประกอบไปด้วยสารแซนโทน α -mangostin ซึ่งมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และพบว่า MPE กลับไม่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิดแกรมลบ คือ *P. aeruginosa* ได้ เนื่องมาจาก ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบ จะมีเยื่อชั้นนอก (outer membrane) และ periplasmic space ซึ่งไม่พบในแบคทีเรียแกรมบวก สารไลโปพอลิแซ็กคาไรด์ (lipopolysaccharide) ที่เป็นองค์ประกอบของเยื่อชั้นนอก จะทำหน้าที่เป็นตัวกั้นการซึมผ่านของสาร ขณะที่แบคทีเรีย แกรมบวกไม่มีโครงสร้างเหล่านี้ สารสกัดจึงสามารถซึมผ่านเข้าเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกได้ง่ายกว่าแบคทีเรียแกรมลบ [20]

การประเมินลักษณะทางกายภาพของแผ่นแปะ พบว่า แผ่นแปะสูตร F06, F09 และ F12 มีลักษณะทางกายภาพที่ดีที่สุด ลักษณะ

ผิวของแผ่นแปะมีสีน้ำตาลเข้ม ผิวของแผ่นแปะมีความเรียบ มีความยืดหยุ่น ไม่ขาดง่าย และพบว่าในสูตรที่ใส่ MPE ความเข้มข้นที่มากขึ้น จะทำให้ความเข้มของสีแผ่นแปะเพิ่มขึ้นตาม และจากการศึกษาคุณลักษณะพื้นผิวของแผ่นแปะสูตรต่าง ๆ โดยใช้กล้อง SEM พบว่าแผ่นแปะในสูตร F05, F08, F11 ที่มีส่วนผสมของพอลิเมอร์ Pectin: NaCMC (1: 2 ส่วน) มีลักษณะของพื้นผิวแผ่นแปะดีที่สุด ในสูตรตำรับทั้ง 12 สูตร เมื่อทดสอบความต้านทานแรงดึง และความยืดหยุ่นของแผ่นแปะ ผลการศึกษาพบว่า แผ่นแปะที่มีค่า tensile strength มากที่สุดคือ แผ่นแปะสูตร F11 (MPE0.5% สูตร 2) แผ่นแปะที่มีค่า elongation at break มากที่สุด คือ แผ่นแปะสูตร F06 (MPE0.1% สูตร 3) จะช่วยให้แผ่นแปะไม่เกิดการฉีกขาดระหว่างการใช้งาน และทำให้แผ่นแปะสามารถติดบริเวณพื้นที่ผิวหนังในส่วนของการเชื่อมต่อตามร่างกายได้ [21]

การทดสอบการบวมตัวของแผ่นแปะ โดยคำนวณน้ำหนักของแผ่นแปะที่เพิ่มขึ้น โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เทียบกับน้ำหนักเริ่มแรก ผลการทดลองพบว่าแผ่นแปะ สูตร 1 (F01, F04, F07 และ F10) ที่มีพอลิเมอร์ pectin และ NaCMC ในอัตราส่วน 1: 1 ส่วน สามารถดูดซับปริมาณน้ำได้มากที่สุด แต่แผ่นแปะไม่สามารถคงสภาพ และเกิดการละลายเป็นเจลเหลว แผ่นแปะที่ดูดซับสารน้ำได้ดี บ่งบอกถึงความสามารถในการดูดซับสารคัดหลั่งจากบาดแผล และช่วยให้บาดแผลรักษาความชุ่มชื้นไว้ได้ ซึ่งตรงกับคุณสมบัติของแผ่นแปะบาดแผล ชนิดไฮโดรคอลลอยด์ ที่สามารถดูดซับสารคัดหลั่งได้ระดับน้อยถึงปานกลางของแผลได้ [22]

ลักษณะทางกายภาพของแผ่นแปะหลังจากทดสอบในสภาวะเร่งไม่มีการเปลี่ยนแปลง แต่มีการเปลี่ยนแปลงในส่วนของน้ำหนักของแผ่นแปะลดลงเล็กน้อย ($p > 0.05$) เมื่อนำแผ่นแปะสูตร F04-F12 สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermidis* ได้ และแผ่นแปะที่มีส่วนผสมของสารสกัดที่สูงขึ้น จะสามารถแสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้มากขึ้นตาม ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดสอบก่อนหน้านี้ ที่ใช้ MPE ทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ด้วยวิธี agar disc diffusion และพบว่า MPE แสดงถึงสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* ได้

เมื่อทดสอบการปลดปล่อยสารสำคัญจากแผ่นแปะเปลือกมังคุด โดยวิธี Modified franz diffusion ผลการศึกษาพบว่าแผ่นแปะสูตร F11 และ F12 มีคุณสมบัติในการการปลดปล่อยสารสำคัญ α -mangostin ได้ดี เริ่มมีการปลดปล่อยสารสำคัญคงที่ตั้งแต่เวลา 90- 1,440 นาที และพบว่าแผ่นแปะสูตร F12 แสดงคุณสมบัติการปลดปล่อยยาที่มีความคงตัวดีกว่าแผ่นแปะสูตร F11 เล็กน้อย ($p > 0.05$)

จากการศึกษาการพัฒนาแผ่นแปะปิดบาดแผล โดยใช้พอลิเมอร์หลักคือ pectin และ NaCMC ซึ่งพอลิเมอร์ทั้งสองเป็นพอลิเมอร์ชนิดไฮโดรคอลลอยด์ คือ มีสารประกอบพอลิเมอร์ที่ชอบน้ำ นิยมนำมาใช้เป็นสารก่อเจล และมีความสามารถในการควบคุมคุณภาพของยา และใช้กลีเซอรินเป็นพลาสติกไซเซอร์ (Plasticizer) ช่วยเพิ่มความยืดหยุ่นให้กับแผ่นแปะ ผลการศึกษาจะเห็นได้ว่า สูตรตำรับที่มีพอลิเมอร์ ในอัตรา 2: 1 ส่วน (พอลิเมอร์สูตร 2 และ 3) มีความแข็งแรง ทนทาน ความยืดหยุ่นที่มากกว่ากลุ่มแผ่นแปะสูตร 1 (อัตราส่วนของพอลิเมอร์ 1: 1 ส่วน) ยิ่งเมื่อนำแผ่นแปะไปทดสอบการบวมตัว (% Swelling) จะเห็นได้ว่า กลุ่มแผ่นแปะพอลิเมอร์สูตร 1 ขาดความคงตัวในการคงสภาพให้อยู่ในรูปของแผ่นแปะ และเกิดการละลายเป็นเจลเหลวในระหว่างการทดสอบ เมื่อเปรียบเทียบการทดสอบการปลดปล่อยตัวยา ของแผ่นแปะ สูตร F11 และ F12 จะพบว่า แผ่นแปะสูตร F12 มี pectin ในอัตราส่วนที่มากกว่า NaCMC ซึ่ง pectin เป็นพอลิเมอร์ที่มีคุณสมบัติช่วยเพิ่มความหนาแน่น และมีลักษณะของรูพรุน หลังการยืดขยาย ที่น้อยกว่า NaCMC ทำให้สารสำคัญถูกปลดปล่อยออกมาได้คงที่ ต่างกับสูตร F11 ที่มี NaCMC เป็นส่วนใหญ่ ลักษณะผิวเจลของพอลิเมอร์ชนิดนี้จะมีรูพรุนมากกว่า pectin ทำให้สารสำคัญถูกปลดปล่อยออกมาได้รวดเร็ว และปริมาณมากกว่าอีกสูตร ทำให้ขาดความคงที่ของการปลดปล่อยยาในระยะยาว [23] มีรายงานการใช้ pectin เป็นพอลิเมอร์ในการพัฒนาแผ่นเจลปิดแผลผสมวานิลาทางจระเข้ และขมิ้นชัน พบว่า pectin สามารถเข้ากันได้ดีกับสารสกัด มีการปลดปล่อยสารสำคัญของตัวยาที่ดี [24]

จากการศึกษานี้จะเห็นได้ว่าแผ่นแปะสาร MPE สามารถแสดงผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ที่ก่อให้เกิดโรคทางผิวหนัง โดยฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์มีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการลดการอักเสบของแผล นอกจากนี้สารสกัดเปลือกมังคุด ส่งผลต่อการทำงานของ epidermal growth factor (EGF) การแสดงออกของโปรตีน EGF จะช่วยเพิ่ม fibroblast และ keratinocyte และ EGF ยังควบคุมการแสดงออกของ keratin, epreregulin และ loricrin เมื่อร่างกายเกิดแผล จะมีการแพร่เข้ามาของเกล็ดเลือดมาปิดบาดแผล นอกจากนี้ยังกระตุ้นให้เกิดการแสดงออกของ ยีนหรือไซโตไคน์ต่างๆ เพิ่มขึ้นเช่น PDGF, VEGF, TGF- β รวมถึง epidermal growth factor (EGF)41 ซึ่งมีบทบาทสำคัญในกระบวนการหายของแผล เพราะสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโต การแบ่งเซลล์ โดยเฉพาะ collagen ได้ [25]

สรุปผลการศึกษา MPE มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ และยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคนผิวหนังได้ โดยสารสำคัญที่พบในเปลือกมังคุด คือ α -mangostin ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ส่งผลต่อการหายของแผล เพราะเมื่อร่างกายเกิดบาดแผล เม็ดเลือดขาวจะ

ปล่อยอนุมูลอิสระ ส่งผลให้เกิดการอักเสบที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย หากเกิดขึ้นที่บริเวณบาดแผลส่งผลให้แผลหายช้า สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจึงช่วยกำจัดอนุมูลอิสระออกจากแผล อีกทั้งสรรพคุณที่มีรสฝาดของเปลือกมังคุดทางการแพทย์แผนไทย คือ ช่วยสมานบาดแผล ดังนั้นการใช้ MPE และแผ่นแปะ MPE สามารถต้านแบคทีเรียก่อโรคแผล ผิ หนอง อาจทำให้การอักเสบลดลงและส่งผลให้แผลหายได้เร็วขึ้น

สารสกัดเปลือกมังคุด เป็นสมุนไพรในงานสาธารณสุขมูลฐานที่ควรส่งเสริมนำมาพัฒนาเป็นวัสดุปิดบาดแผลทางเลือก และในการศึกษาค้นคว้าพบว่าแผ่นแปะปิดบาดแผลสารสกัดเปลือกมังคุดที่พัฒนาขึ้น มีความแข็งแรง ความยืดหยุ่น รวมถึงมีความคงตัวทางกายภาพ แสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ผิวหนัง อีกทั้งยังแสดงการปลดปล่อยตัวยาสำคัญได้ดี โดยแผ่นแปะสมุนไพรสารสกัดเปลือกมังคุดที่ได้นี้สามารถที่จะนำไปใช้เป็นประโยชน์ ในพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติทางเลือก เพื่อใช้ในการรักษาบาดแผลแผล และในการศึกษาค้นคว้าต่อไปควรศึกษาด้านผลด้านการระคายเคือง ฤทธิ์การต้านการอักเสบในสัตว์ทดลอง และการพัฒนาบรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสมต่อไป

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ (พิเศษ) วินัย สยอวรรณ ที่ให้ข้อเสนอแนะด้านพอลิเมอร์ ขอขอบคุณอาจารย์ ดร. ญ. ฉัตรชนก นกุลกิจ ที่ให้ความช่วยเหลือในการเตรียมระบบเครื่อง HPLC ขอขอบคุณอาจารย์ ดร. นฤวัตร ภักดี ที่ให้ข้อเสนอแนะในการศึกษารวมถึงคณาจารย์สาขาวิชาการแพทย์แผนไทย ทุกท่าน ที่ให้คำปรึกษา ให้ความช่วยเหลือ ในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณนักศึกษาสาขาวิชาการแพทย์แผนไทยระดับปริญญาตรี (สมาชิ JB lab) เจ้าหน้าที่คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช วิทยาเขตสกลนคร ที่ให้ความช่วยเหลือจนด้านการติดต่อประสานงานต่าง ๆ รวมถึง มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช วิทยาเขตสกลนคร ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. Lindholm, C., & Searle, R. (2016). Wound management for the 21st century: combining effectiveness and efficiency. *Int Wound J*, 13 Suppl 2, 5-15.
2. Acello, B. (2013). *Chronic wounds: providing efficient and effective treatment*. Danvers, Massachusetts, United States: HCPro, Inc Press.
3. Tottoli, E. M., Dorati, R., Genta, I., Chiesa, E., Pisani, S., & Conti, B. (2020). Skin Wound Healing Process and

- New Emerging Technologies for Skin Wound Care and Regeneration. *Pharmaceutics*, 12(8).
4. Ekor, M. (2014) The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety. *Front Pharmacol*, 177(4), 1-10.
5. Aizat, W. M., Jamil, I. N., Ahmad-Hashim, F. H., & Noor, N. M. (2019). Recent updates on metabolite composition and medicinal benefits of mangosteen plant. *Peer J*, 7, e6324.
6. Espirito Santo, B., Santana, L. F., Kato Junior, W. H., de Araujo, F. O., Bogo, D., Freitas, K. C., . . . Bastos, P. (2020). Medicinal Potential of *Garcinia* Species and Their Compounds. *Molecules*, 25(19).
7. Suthammarak, W., Numpraphrut, P., Charoensakdi, R., Neungton, N., Tunrungruangtavee, V., Jaisupa, N., . . . Muangpaisan, W. (2016). Antioxidant-Enhancing Property of the Polar Fraction of Mangosteen Pericarp Extract and Evaluation of Its Safety in Humans. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 1293036.
8. Tatiya-Aphiradee, N., Chatuphonprasert, W., & Jarukamjorn, K. (2019). Anti-inflammatory effect of *Garcinia mangostana* Linn. pericarp extract in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-induced superficial skin infection in mice. *Biomed Pharmacother*, 111, 705-713.
9. Narasimhan, S., Maheshwaran, S., Abu-Yousef, I. A., Majdalawieh, A. F., Rethavathi, J., Das, P. E., & Poltronieri, P. (2017). Anti-Bacterial and Anti-Fungal Activity of Xanthones Obtained via Semi-Synthetic Modification of alpha-Mangostin from *Garcinia mangostana*. *Molecules*, 22(2).
10. Scolamiero, G., Pazzini, C., Bonafe, F., Guarnieri, C., & Muscari, C. (2018). Effects of alpha-Mangostin on Viability, Growth and Cohesion of Multicellular Spheroids Derived from Human Breast Cancer Cell Lines. *Int J Med Sci*, 15(1), 23-30.
11. Tachaprutinun, A., Meinke, M. C., Richter, H., Pan-In, P., Wanichwecharungruang, S., Knorr, F., . . . Patzelt, A. (2014). Comparison of the skin penetration of *Garcinia*

- mangostana* extract in particulate and non-particulate form. *Eur J Pharm Biopharm*, 86(2), 307-313.
12. Zuo, J., Yin, Q., Wang, Y. W., Li, Y., Lu, L. M., Xiao, Z. G., . . . Luan, J. J. (2018). Inhibition of NF-kappaB pathway in fibroblast-like synoviocytes by alpha-mangostin implicated in protective effects on joints in rats suffering from adjuvant-induced arthritis. *Int Immunopharmacol*, 56, 78-89.
13. Pothitirat, W., & Gritsanapan, W. (2008). Thin-layer chromatography-densitometric analysis of alpha-mangostin content in *Garcinia mangostana* fruit rind extracts. *J AOAC Int*, 91(5), 1145-1148.
14. Yang, H., Dong, Y., Du, H., Shi, H., Peng, Y., & Li, X. (2011). Antioxidant compounds from propolis collected in Anhui, China. *Molecules*, 16(4), 3444-3455.
15. Moller, O., & Holmgren, J. (1969). A paper disc technique for studying antibacterial synergism. *Acta Pathol Microbiol Scand*, 76(1), 141-145.
16. Jin, S. G., Kim, K. S., Kim, D. W., Kim, D. S., Seo, Y. G., Go, T. G., . . . Choi, H. G. (2016). Development of a novel sodium fusidate-loaded triple polymer hydrogel wound dressing: Mechanical properties and effects on wound repair. *Int J Pharm*, 497(1-2), 114-122.
17. Ngawhirunpat, T., Opanasopi, P., Sukma, M., Sittisombut, C., Kat, A., & Adachi, I. (2010). Antioxidant, free radical-scavenging activity and cytotoxicity of different solvent extracts and their phenolic constituents from the fruit hull of mangosteen (*Garcinia mangostana*). *Pharm Biol*, 48(1), 55-62.
18. Swallah, M. S., Sun, H., Affoh, R., Fu, H., & Yu, H. (2020). Antioxidant Potential Overviews of Secondary Metabolites (Polyphenols) in Fruits. *Int J Food Sci*, 2020, 9081686.
19. Meepagala, K. M., & Schrader, K. K. (2018). Antibacterial Activity of Constituents from Mangosteen *Garcinia mangostana* Fruit Pericarp against Several Channel Catfish Pathogens. *J Aquat Anim Health*, 30(3), 179-184.
20. Nouredine, T., El Hussein, Z., Nehme, A., & Abdel Massih, R. (2018). Antibacterial activity of *Ilex paraguariensis* (Yerba Mate) against Gram-positive and Gram-negative bacteria. *J Infect Dev Ctries*, 12(9), 712-719.
21. Siddique, K., Mirza, S., & Housden, P. (2011). Effectiveness of hydrocolloid dressing in postoperative hip and knee surgery: literature review and our experience. *J Perioper Pract*, 21(8), 275-
22. Hanna, J. R., & Giacomelli, J. A. (1997). A review of wound healing and wound dressing products. *J Foot Ankle Surg*, 36(1), 2-14.
23. Mohnen, D. (2008). Pectin structure and biosynthesis. *Curr Opin Plant Biol*, 11(3), 266-277.
24. Tummalapalli, M., Berthet, M., Verrier, B., Deopura, B. L., Alam, M. S., & Gupta, B. (2016). Composite wound dressings of pectin and gelatin with aloe vera and curcumin as bioactive agents. *Int J Biol Macromol*, 82, 104-113.
25. Choi, J. K., Jang, J. H., Jang, W. H., Kim, J., Bae, I. H., Bae, J., . . . Park, J. W. (2012). The effect of epidermal growth factor (EGF) conjugated with low-molecular-weight protamine (LMWP) on wound healing of the skin. *Biomaterials*, 33(33), 8579-8590.
26. Ambaye, A., Kohner, P. C., Wollan, P. C., Roberts, K. L., Roberts, G. D., & Cockerill, F. R., 3rd. (1997). Comparison of agar dilution, broth microdilution, disk diffusion, E-test, and BACTEC radiometric methods for antimicrobial susceptibility testing of clinical isolates of the *Nocardia asteroides* complex. *J Clin Microbiol*, 35(4), 847-852.
27. Arora, P., & Mukherjee, B. (2002). Design, development, physicochemical, and in vitro and in vivo evaluation of transdermal patches containing diclofenac diethylammonium salt. *J Pharm Sci*, 91(9), 2076-2089.
28. Chen, S., Han, K., Li, H., Cen, J., Yang, Y., Wu, H., & Wei, Q. (2017). Isogarcinol Extracted from *Garcinia mangostana* L. Ameliorates Imiquimod-Induced Psoriasis-like Skin Lesions in Mice. *J Agric Food Chem*, 65(4), 846-857.



ISSN 1686-4522

KOCH CHA SARN JOURNAL OF SCIENCE
Vol. 44 (1); January-June (2022), pp. 62-69
<https://science.srru.ac.th/kochasarn>

Research Article

The Optimal Timing for Applying Juvenile Hormone Analogue Pyriproxyfen to Hybrid Silkworm, *Bombyx mori* L., Leung Saraburi Strain (J108 x Nanglai Saraburi)

ช่วงเวลาที่เหมาะสมสำหรับการให้ฮอร์โมนจูวีไนล์สังเคราะห์ไพริพรอกซีเฟนในหนอนไหมบ้านสายพันธุ์ลูกผสมเหลืองสระบุรี (J108 x นางลายสระบุรี)

คณิศรา แม่กนุสเซน^{1*}, ธิดาร์ตน์ กองศรี¹, จริญญาภรณ์ วิศรีสิทธิ์² และ สุวัฒน์ พรหมมา²
Kanitsara Magnussen^{1*}, Thidarat Kongsri¹, Jariyaporn Wisrisit² & Suwat Promma²

¹ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ต.ขามเรียง อ.กันทรวิชัย จ.มหาสารคาม 44150

¹Department of Biology, Faculty of Science, Mahasarakham University, Maha Sarakham 44150, Thailand

ศูนย์ความเป็นเลิศทางนวัตกรรมไหม มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ต.ขามเรียง อ.กันทรวิชัย จ.มหาสารคาม 44150

²Center of Excellence for Silk Innovation, Mahasarakham University, Kantharawichai District, Maha Sarakham 44150, Thailand

Article Info

Received 20 September
2021

Revised 22 February 2022

Accepted 10 June 2022

Abstract

This research aimed to determine the optimal timing for applying Juvenile Hormone Analogue, Pyriproxyfen to increase silk yields in the hybrid silkworm, *Bombyx mori* L. Leung Saraburi Strain (J108 x Nanglai Saraburi). At a concentration level of 0.05 ppm, 50 µl, the pyriproxyfen solution was applied by utilizing a topical method on fifth instar silkworms in six different experimental groups divided into days: day 1, day 2, day 3, day 4, day 5 and day 6 of fifth instar larvae. The control group was topically applied with distilled water. Once spinning was complete, growth characteristics and silk yields data were collected from all groups and statistically analyzed. The results revealed that the percentage of normal cocoon and normal pupae in the day 5 and day 6 groups was significantly lower ($P < 0.05$) than in the control and other experimental groups. On the other hand, in the day 1, 2, 3, and 4 groups, percentage of normal cocoons and normal pupae were high but were not statistically different ($P > 0.05$) compared to the control group. In comparison, the silk yields characteristics, the cocoon weight, cocoon shell weight, silk filament weight and length of silk filament, in the day 3 and day 4 groups statistically significantly increased ($P < 0.05$) compared to the same characters of the day 1 and day 2 groups. The length of silk filament of the female cocoon on the day 3 and day 4 groups was 1099.65 and 1169.15 metres which were longer than in the day 1 and day 2 groups, 997.07 and 980.01 metres, respectively. In conclusion, the results indicated that

*Corresponding Author. Email: kanitsara.c@msu.ac.th

the silk yield was most significant in the day 3 and day 4 groups. Therefore, the third and the fourth day of the fifth instar are the optimal times for pyriproxyfen administration in the *Bombyx mori* L. Leung Saraburi Strain.

Keywords: Juvenile Hormone Analogue, Pyriproxyfen, Silkworm, Leung Saraburi Strain

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะหาช่วงเวลาที่เหมาะสมสำหรับการให้ฮอร์โมนจูวีโนลสังเคราะห์ไพริพ록ซีเฟนเพื่อเพิ่มผลผลิตไหมในหนอนไหมบ้านสายพันธุ์ลูกผสมเหลืองสระบุรี (J108 x นางลายสระบุรี) โดยทำการทดสอบการให้สารละลายไพริพ록ซีเฟนที่ความเข้มข้น 0.05 พีพีเอ็ม ปริมาตร 50 ไมโครลิตรต่อหนอนไหมด้วยวิธีการหยดในหนอนไหมที่มีช่วงอายุที่แตกต่างกัน 6 กลุ่มประกอบด้วย กลุ่มวันที่ 1 (หนอนไหมวัยหatching วันที่ 1) กลุ่มวันที่ 2 (หนอนไหมวัยหatching วันที่ 2), กลุ่มวันที่ 3 (หนอนไหมวัยหatching วันที่ 3) กลุ่มวันที่ 4 (หนอนไหมวัยหatching วันที่ 4) กลุ่มวันที่ 5 (หนอนไหมวัยหatching วันที่ 5) และ กลุ่มวันที่ 6 (หนอนไหมวัยหatching วันที่ 6) ในกลุ่มควบคุมหยดเฉพาะน้ำกลั่น จากนั้นหลังหนอนไหมสร้างรังทำการเก็บข้อมูลลักษณะการเจริญเติบโตและผลผลิตไหมของทุกกลุ่มและนำไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ จากผลการทดลองพบว่าเปอร์เซ็นต์รังดี เปอร์เซ็นต์ดักแด้สมบูรณ์ในหนอนไหมในกลุ่มวันที่ 5 และ 6 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองอื่น ส่วนในกลุ่มวันที่ 1-4 มีเปอร์เซ็นต์รังดีและเปอร์เซ็นต์ดักแด้สมบูรณ์อยู่ในเกณฑ์สูงและไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในการเปรียบเทียบผลผลิตไหมระหว่างกลุ่มวันที่ 1-4 พบว่ากลุ่มวันที่ 3 และ 4 มีน้ำหนักรัง น้ำหนักเปลือกรัง เปอร์เซ็นต์เปลือกรัง น้ำหนักเส้นใย และความยาวเส้นใยของรังเพศเมียเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มวันที่ 1 และ 2 โดยความยาวของเส้นใยของรังเพศเมียในกลุ่มวันที่ 3 และ 4 คือ 1099.65 และ 1169.15 เมตรซึ่งยาวกว่ากลุ่มวันที่ 1 และ 2 ที่มีความยาวเส้นใย 997.07 และ 980.01 เมตร ตามลำดับ จากผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นอย่างชัดเจนว่าผลผลิตไหมเพิ่มมากที่สุดในกลุ่มวันที่ 3 และ 4 ดังนั้นหนอนไหมวัยหatching วันที่ 3 และ 4 จึงเป็นช่วงเวลาที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการให้ฮอร์โมนจูวีโนลสังเคราะห์ไพริพ록ซีเฟนในหนอนไหมสายพันธุ์นี้

คำสำคัญ: ฮอร์โมนจูวีโนลสังเคราะห์, ไพริพ록ซีเฟน, หนอนไหม, สายพันธุ์เหลืองสระบุรี

1. บทนำ

ฮอร์โมนจูวีโนลสังเคราะห์ (Juvenile Hormone Analogues) เป็นสารเคมีที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นเพื่อเลียนแบบโครงสร้างหรือการทำงานของฮอร์โมนจูวีโนลของแมลง ในปัจจุบันฮอร์โมนจูวีโนลสังเคราะห์ถูกจัดอยู่ในกลุ่มของสารกำจัดแมลงประเภทสารควบคุมการเจริญเติบโตของแมลง (Insect Growth Regulator, IGR) ฮอร์โมนจูวีโนลสังเคราะห์นอกจากจะนำไปใช้ในการควบคุมและกำจัดแมลงแล้ว นักวิจัยยังพบว่าสามารถนำมาใช้เพื่อเพิ่มผลผลิตไหมในหนอนไหมบ้าน (Silkworm, *Bombyx mori* L.) [1-5] และในไหมป่า เช่นไหมมูก้า (*Antheraea assamensis* Helfer) [6] และไหมอีรี (*Samia cynthia ricini*) [7] เป็นต้น โดยพบว่าเมื่อให้ฮอร์โมนจูวีโนลสังเคราะห์ที่ความเข้มข้นต่ำ และในช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อหนอนไหม จะทำให้มีผลต่อการยืดระยะเวลาการกินอาหารของหนอนไหม และส่งผลต่อการเพิ่มน้ำหนักรังไหม น้ำหนักเปลือกรัง และเปอร์เซ็นต์เปลือกรัง เป็นต้น [1-8]

อายุและวัยของหนอนไหมเป็นปัจจัยหนึ่งที่นักวิจัยจะต้องคำนึงถึงเมื่อทำการทดสอบฮอร์โมนจูวีโนลสังเคราะห์กับหนอนไหม สมโพธิ อัครพันธุ์ และ วันชัย เจริญสุข (2526) รายงานว่าการพ่นจูวีโนลสังเคราะห์ในหนอนไหมวัยหatching วันที่ 2 และ 3 ของสายพันธุ์ลูกผสม K1 x K8 ส่งผลให้ผลผลิตรังไหม เช่นน้ำหนักรังไหมและน้ำหนักเปลือกรังสูงกว่าการ

พ่นฮอร์โมนในหนอนไหมวัยหatching วันที่ 1 และในหนอนไหมวัยหatching ที่เพิ่งลอกคราบ [9] Nair (2003) พบว่าการให้จูวีโนลสังเคราะห์บาคูลิโอล (Bukuchiol) 1.25 พีพีเอ็มกับหนอนไหมวัยหatching วันที่ 2 ของสายพันธุ์ลูกผสม KA x NB4D2 และ PM x NB4D2 ส่งผลต่อการเพิ่มน้ำหนักรังไหม น้ำหนักเปลือกรัง และความยาวของเส้นใยสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับการให้ฮอร์โมนในหนอนไหมวัยหatching วันที่ 1 3 และ 4 [10] Gangwar (2009) พบว่าการให้ 0.01 ไมโครลิตรของฮอร์โมนจูวีโนล R394 ต่อหนอนไหมวัยหatching วันที่ 2 และ 3 ของสายพันธุ์ลูกผสม KA x NB4D2 ส่งผลต่อการเพิ่มน้ำหนักรังไหม น้ำหนักเปลือกรัง และเปอร์เซ็นต์เปลือกรังมากที่สุด [4] Nair et al. (2012) พบว่าการให้ฮอร์โมนจูวีโนลสังเคราะห์ SB-515 ที่ความเข้มข้น 2.5 พีพีเอ็มกับหนอนไหมวัยหatching วันที่ 2 ของสายพันธุ์ลูกผสม CSR2 x CSR4 ให้ผลต่อการเพิ่มน้ำหนักรังไหมและน้ำหนักเปลือกรังมากที่สุด ในขณะที่เมื่อทดสอบความเข้มข้นเดียวกันในสายพันธุ์ลูกผสม CSR4 x CSR2 พบว่าการให้ฮอร์โมนในหนอนไหมวัยหatching วันที่ 3 ส่งผลต่อน้ำหนักรังไหมและน้ำหนักเปลือกรังมากที่สุด [5]

ไพริพ록ซีเฟน (Pyriproxyfen) เป็นหนึ่งในฮอร์โมนจูวีโนลสังเคราะห์ที่ถูกนำมาประยุกต์ใช้เพื่อเพิ่มผลผลิตไหม [11, 12] จากผลการศึกษาของคณะผู้วิจัยในปี 2015 พบว่าไพริพ록ซีเฟนที่ความเข้มข้น 0.05

พีพีเอ็ม เมื่อให้โดยวิธีการหยดลงบนหนอนไหมวัยหัววันที่ 3 (3 วันหลังการลอกคราบครั้งที่ 4) ส่งผลให้มีการเพิ่มลักษณะทางด้านเศรษฐกิจของหนอนไหมสายพันธุ์ลูกผสมเหลืองสระบุรี (J108 X นางลายสระบุรี) โดยพบว่าระยะเวลากินอาหารของหนอนไหมขยายออกไป 2-4 วัน ส่งผลให้น้ำหนักรังไหม น้ำหนักเปลือกรัง และความยาวของเส้นใยเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ให้ฮอร์โมน [13] อย่างไรก็ตามแม้จะทราบความเข้มข้นที่เหมาะสมของไพริพ록ซีเฟน ต่อหนอนไหมในสายพันธุ์นี้ แต่ยังไม่สามารถสรุปได้ว่าช่วงเวลาใดของหนอนไหมวัยห้าที่ เหมาะสมต่อการให้ไพริพ록ซีเฟนมากที่สุด เนื่องจากการทดลองข้างต้นมีการทดสอบในหนอนไหมวัยหัววันที่ 3 เท่านั้น

ดังนั้นเพื่อเป็นการเก็บข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับปัจจัยที่ช่วยเสริมประสิทธิภาพของการใช้ฮอร์โมนจูว์โนลสังเคราะห์ในหนอนไหมงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะหาช่วงเวลาที่เหมาะสมสำหรับการให้ฮอร์โมนจูว์โนลสังเคราะห์ไพริพ록ซีเฟนเพื่อเพิ่มผลผลิตไหมในหนอนไหมบ้านสายพันธุ์ลูกผสมเหลืองสระบุรี (J108 x นางลายสระบุรี) โดยจะทำการทดสอบการให้สารละลายไพริพ록ซีเฟนที่ความเข้มข้น 0.05 พีพีเอ็ม ปริมาตร 50 ไมโครลิตรต่อหนอนไหมวัยหัววันที่ 1-6 และศึกษาผลต่อลักษณะการเจริญเติบโตเช่น ระยะเวลาของหนอนไหมวัยห้า น้ำหนักของหนอนไหมโตเต็มที่ และผลผลิตไหม เช่น เปอร์เซ็นต์รังดี เปอร์เซ็นต์ดักแด้สมบูรณ์ น้ำหนักรังไหม น้ำหนักเปลือกรัง น้ำหนักดักแด้ เปอร์เซ็นต์เปลือกรัง น้ำหนักเส้นใย ความยาวของเส้นใย และขนาดเส้นใย โดยช่วงเวลาที่เหมาะสมที่สุดจะวัดจากผลผลิตไหมที่เพิ่มมากที่สุด

2. วัตถุประสงค์

2.1 เพื่อศึกษาผลของการให้สารละลายไพริพ록ซีเฟนที่ความเข้มข้น 0.05 พีพีเอ็ม ปริมาตร 50 ไมโครลิตรต่อหนอนไหมวัยหัววันที่ 1-6 ต่อลักษณะการเจริญเติบโตเช่น ระยะเวลาของหนอนไหมวัยห้า น้ำหนักของหนอนไหมโตเต็มที่ และผลผลิตไหม เช่น เปอร์เซ็นต์รังดี เปอร์เซ็นต์ดักแด้สมบูรณ์ น้ำหนักรังไหม น้ำหนักเปลือกรัง น้ำหนักดักแด้ เปอร์เซ็นต์เปลือกรัง น้ำหนักเส้นใย ความยาวของเส้นใย และขนาดเส้นใย

2.2 เพื่อหาช่วงเวลาที่เหมาะสมสำหรับการให้ฮอร์โมนจูว์โนลสังเคราะห์ไพริพ록ซีเฟนที่มีผลต่อการเพิ่มผลผลิตไหมมากที่สุด

3. อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง

ทำการทดลองระหว่างเดือนมกราคม ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2563 โดยนำไข่ของหนอนไหมบ้านสายพันธุ์ลูกผสมเหลืองสระบุรี (J108 X นางลายสระบุรี) ที่ปราศจากโรคมาฟักในห้องเลี้ยงไหมของศูนย์ความเป็นเลิศทางนวัตกรรมไหม มหาวิทยาลัยมหาสารคาม เลี้ยงหนอนไหมวัย 1 ถึงวัย 5 ด้วยใบหม่อนสด ให้ 3 ครั้งต่อวัน ที่เวลา 8:00, 13:00 และ 18:00 น. โดยการเลี้ยงไหมทุกระยะอยู่ภายใต้สภาวะของอุณหภูมิห้อง 26 ± 4 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 75 ± 5 เปอร์เซ็นต์ อัตราช่วงแสงมืดต่อสว่าง 12:12 หลังจากหนอนไหมลอกคราบครั้งที่ 4 ทำการสุ่มคัดเลือกหนอนไหมวัยห้าวันที่ 1-6 (ขนาดของหนอนไหมวัยห้าวันที่ 1-6 แสดงในภาพที่ 1) เพื่อนำไปใช้ตามกลุ่มทดลองที่ได้วางแผนไว้ ซึ่ง

การสุ่มคัดเลือกหนอนไหมแต่ละวันที่จะนำมาใช้ในการทดลองต้องมีขนาดใกล้เคียงกัน



ภาพที่ 1 รูปร่างและขนาดของหนอนไหมวัยห้า ก. วันที่ 1 ข. วันที่ 2 ค. วันที่ 3 ง. วันที่ 4 จ. วันที่ 5 ฉ. วันที่ 6

3.2 การเตรียมความเข้มข้นของฮอร์โมนสังเคราะห์

ทำการเตรียมไพริพ록ซีเฟนที่อยู่ในรูปสารละลาย 1.3 % w/v ให้ได้ระดับความเข้มข้น 0.05 พีพีเอ็ม โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย และเก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิห้อง 1 วันก่อนทำการทดสอบ

3.4 วิธีการทดสอบ

ทำการหยดไพริพ록ซีเฟน 0.05 พีพีเอ็ม ปริมาตร 50 ไมโครลิตร (μ l) ลงบนลำตัวของหนอนไหมแต่ละตัวในแต่ละกลุ่มทดลอง 6 กลุ่ม ประกอบด้วย กลุ่มวันที่ 1 (หนอนไหมวัยห้าวันที่ 1, TD1) กลุ่มวันที่ 2 (หนอนไหมวัยห้าวันที่ 2, TD2), กลุ่มวันที่ 3 (หนอนไหมวัยห้าวันที่ 3, TD3) กลุ่มวันที่ 4 (หนอนไหมวัยห้าวันที่ 4, TD4) กลุ่มวันที่ 5 (หนอนไหมวัยห้าวันที่ 5, TD5) และ กลุ่มวันที่ 6 (หนอนไหมวัยห้าวันที่ 6) แต่ละกลุ่มมีหน่วยทดลอง 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำประกอบด้วยหนอนไหมวัยห้าจำนวน 50 ตัว ส่วนกลุ่มควบคุม (Control) ทำการทดสอบเฉพาะน้ำกลั่น แต่ละกลุ่มมีหน่วยทดลอง 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำประกอบด้วยหนอนไหมวัยห้าจำนวน 50 ตัว รวมหนอนไหมที่ใช้ในการทดลองทั้งหมด 1,050 ตัว แต่ละหน่วยทดลองถูกเลี้ยงในภาดอลูมิเนียมขนาด 40 ซม. x 60 ซม. โดยก่อนการทดสอบผู้วิจัยได้ให้ใบหม่อนกับหนอนไหมแต่ละตัว ซึ่งเป็นเทคนิคที่ทำให้หนอนไหมนิ่งและเคลื่อนไหวน้อยลง หลังจากหยดฮอร์โมนประมาณ 10-15 นาที เลี้ยงหนอนไหมด้วยใบหม่อนสดตามเวลาปกติ

3.5 การเก็บข้อมูล

หลังจากการทดสอบไพริพ록ซีเฟน ทำการบันทึกข้อมูลลักษณะการเจริญเติบโตเช่น ระยะเวลาของหนอนไหมวัยห้า น้ำหนักของหนอนไหมโตเต็มที่ และผลผลิตไหม เช่น เปอร์เซ็นต์รังดี เปอร์เซ็นต์ดักแด้สมบูรณ์ น้ำหนักรังไหม น้ำหนักเปลือกรัง น้ำหนักดักแด้ เปอร์เซ็นต์เปลือกรัง น้ำหนักเส้นใย ความยาวของเส้นใย และขนาดเส้นใยจากรังของทั้งเพศเมียและเพศผู้ โดยวิธีการเก็บข้อมูลของลักษณะทางเศรษฐกิจทำการคัดแปลงจากสำเนางานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ [14]

3.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองในแต่ละกลุ่มทดลองทั้ง 3 ซ้ำ มาหาค่าเฉลี่ย และนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มที่ศึกษาโดยใช้วิธีของดันแคน (Duncan's New Multiple Range Test, DMRT) ภายใต้การคำนวณด้วยโปรแกรม IBM SPSS Version 20

3. ผลการทดลองและวิจารณ์

จากผลการศึกษาพบว่ากลุ่มวันที่ 1-4 มีเปอร์เซ็นต์รังด้้อยู่ในช่วง 89.33-92.00% เปอร์เซนต์ด้กัด้สมบูรณ์อยู่ในช่วง 87.33-90.33%

ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์รังด้เฉลี่ย 92.33 % และมีเปอร์เซนต์ด้กัด้สมบูรณ์เฉลี่ย 90.66 % (ตารางที่ 1) นอกจากนี้ยังพบว่าระยะเวลาการกินอาหารของหนอนไหมวัยหัดในกลุ่มวันที่ 1-4 มีการขยายระยะเวลาออกไป 1-3 วันเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งส่งผลให้น้ำหนักตัวและขนาดของหนอนไหมโตเต็มที่ (ตารางที่ 1, ภาพที่ 2) ลักษณะของรังไหมทั้งเพศเมีย (ตารางที่ 2, ภาพที่ 5) และเพศผู้ (ตารางที่ 3, ภาพที่ 5) เช่น น้ำหนักรังไหม ความยาวของเส้นใยเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ตัวอย่างขนาดของรังไหมและเส้นใยไหมของกลุ่มทดลองวันที่ 3 และกลุ่มควบคุมดังแสดงในภาพที่ 3 และ 6 ตามลำดับ)

ตารางที่ 1 ผลของไฟรพรอกซิเฟนต่อระยะเวลาของหนอนไหมวัยหัด น้ำหนักของหนอนไหม เปอร์เซนต์การสร้างรังและ เปอร์เซนต์ด้กัด้สมบูรณ์

หน่วยทดลอง	ระยะเวลาของหนอนไหมวัยหัด (วัน)	น้ำหนักของหนอนไหมโตเต็มที่ (กรัม)	รังด้ (เปอร์เซนต์)	ด้กัด้สมบูรณ์ (เปอร์เซนต์)
กลุ่มควบคุม	8.16 ^e	3.256±0.25 ^b	92.33±2.51 ^a	90.66±3.05 ^a
วันที่ 1	9.3 ^d	3.820±0.32 ^{ab}	90.66±1.52 ^a	89.00±1.00 ^a
วันที่ 2	10.50 ^c	4.137±0.23 ^a	90.33±1.52 ^a	89.66±0.57 ^a
วันที่ 3	11.16 ^b	4.333±0.25 ^a	92.00±2.00 ^a	90.33±1.52 ^a
วันที่ 4	11.33 ^b	4.199±0.36 ^a	89.33±2.08 ^a	87.33±2.08 ^a
วันที่ 5	13.00 ^a	3.985±0.57 ^a	71.33±3.51 ^b	66.66±2.88 ^b
วันที่ 6	9.3 ^d	3.817±0.49 ^{ab}	42.66±2.51 ^c	41.66±2.88 ^c
F-test	**	**	**	**
C.V.%	11.92	15.0	21.77	22.45

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยที่อักษรแตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ** มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

และจากการเปรียบเทียบผลผลิตไหมในกลุ่มวันที่ 1, 2, 3 และ 4 พบว่ารังไหมเพศเมียของกลุ่มวันที่ 3 และ 4 มีการขยายระยะเวลาการกินอาหารออกไปประมาณ 3 วัน ซึ่งส่งผลให้น้ำหนักรังไหมสด น้ำหนักเปลือกรัง เปอร์เซนต์เปลือกรัง น้ำหนักเส้นใย และความยาวของเส้นใยของทั้งเพศเมียและเพศผู้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะเปอร์เซนต์เปลือกรัง และความยาวของเส้นใยมีค่ามากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มทดลองวันที่ 1 และ 2 ส่วนในรังไหมเพศผู้พบว่าเปอร์เซนต์เปลือกรัง และความยาวของเส้นใยในทุกกลุ่มทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ส่วนในกลุ่มวันที่ 5 และ 6 พบว่ามีเปอร์เซนต์รังด้และเปอร์เซนต์ด้กัด้สมบูรณ์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองวันที่ 1-4 (ตารางที่ 1) และพบว่าหนอนไหมบางส่วนในกลุ่มวันที่ 5 สามารถชักใยและสร้างรังได้แต่ไม่สามารถเปลี่ยนไปเป็นด้กัด้สมบูรณ์ได้ ส่วนในกลุ่มวันที่ 6 หนอนไหมส่วนใหญ่สร้างรังบาง และด้กัด้ตายในรัง (ภาพที่ 4)

ผลจากการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าการให้ฮอร์โมนจูวีนอลในช่วงเวลาที่แตกต่างกันส่งผลให้ระยะเวลาการกินอาหารของหนอนแตกต่างกัน ซึ่งในการทดลองนี้การให้ไฟรพรอกซิเฟนกับหนอนไหมวัยหัดวันที่ 1-4 ยังคงทำให้หนอนไหมขยายระยะเวลาการกินอาหารออกไปได้ 1-4 วัน

และหนอนไหมยังสามารถชักใย สร้างรังและเปลี่ยนเป็นด้กัด้ได้ตามปกติ ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการรายงานของ Gangwar [4] Nair [10] และ Nagendraradhya and Kumar [15] ที่พบว่าการให้ฮอร์โมนจูวีนอลสังเคราะห์ที่ความเข้มข้นต่ำในหนอนไหมวัยหัดช่วงแรก (หนอนไหมวัย 1-4 หรือ 24-96 ชั่วโมงหลังการลอกคราบครั้งที่ 4) จะส่งผลให้ระยะเวลาการกินอาหารขยายออกไปเพียง 2-3 วัน ซึ่งหนอนไหมจะสามารถสร้างรังได้ตามปกติและได้รังไหมที่มีขนาดใหญ่และมีน้ำหนักมากขึ้น แต่หากมีการให้ฮอร์โมนในช่วงท้ายของหนอนไหมวัยหัดจะทำให้ระยะเวลาของหนอนเพิ่มขึ้นจนกลายเป็นหนอนไหมถาวร (permanent larvae) ที่ไม่สามารถเปลี่ยนเป็นด้กัด้ได้ และจะทำให้ผลผลิตไหมลดลง ในทางสรีรวิทยา Kamimura and Kiuchi (1998) รายงานว่าเมื่อให้ฮอร์โมนจูวีนอลสังเคราะห์จากภายนอก (exogenous JHAs) ในปริมาณน้อยในช่วงระยะแรกของหนอนไหมวัยหัด จะส่งผลให้ยังคงมีฮอร์โมนจูวีนอลในฮีโมลิฟ ซึ่งจะไปยับยั้งการสร้างฮอร์โมนเอ็กโดสเตอรอยด์ (ecdysteroid) หรือฮอร์โมนลอกคราบ (molting hormone) ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่จะชักนำให้หนอนไหมหยุดกินอาหาร และมีพฤติกรรมปั่นเส้นใย (spinning behavior) ดังนั้นทราบได้ที่ยังมีปริมาณของฮอร์โมนจูวีนอลในฮีโมลิฟจะส่งผลให้ฮอร์โมนเอ็กโดสเตอรอยด์ถูกยับยั้ง และทำให้หนอนไหมยังคงกินอาหารต่อไปซึ่งเป็น

ผลให้ระยะเวลาการกินอาหารของหนอนไหมวัยห้าเพิ่มขึ้น การให้ฮอร์โมนจูวีโนลส์สังเคราะห์ความเข้มข้นต่ำในช่วงเวลาที่เหมาะสมจะทำให้หนอนไหมที่มีระยะเวลาการกินอาหารเพิ่มขึ้นยังสามารถสร้างรังและเปลี่ยนไปเป็นดักแด้ได้ตามปกติ ส่วนการให้ฮอร์โมนจูวีโนลส์สังเคราะห์ในระยะเวลาหลังของหนอนไหมวัยห้าจะส่งผลต่อการกระตุ้นให้ต่อมอก (prothoracic glands) หลังฮอร์โมนลอกคราบมากขึ้น การเพิ่มของฮอร์โมนลอกคราบจะชักนำให้เกิดการลอกคราบพิเศษไปเป็นหนอนไหมวัยหก (sixth instar larva) ซึ่งหนอนไหมจะไม่สามารถเปลี่ยนไปเป็นดักแด้สมบูรณ์ได้ และหนอนไหมจะตายในที่สุด [16] ซึ่งผลจากการทดลองนี้พบพฤติกรรมการกินอาหาร การสร้างรังและการเปลี่ยนไปเป็นดักแด้ในกลุ่มวันที่ 1-4 และวันที่ 5 และ 6 น่าจะเป็นผล

มาจากการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาที่เกิดจากระดับฮอร์โมนจูวีโนลส์และฮอร์โมนเอ็กโดสเตอรอยด์ในโฮโมลิทที่มีแตกต่างกัน

ในการศึกษาด้านผลผลิตไหม Nair et al. (2008) รายงานว่าเปอร์เซ็นต์รังดีมีความสำคัญมากต่อต้นทุนการผลิต เพราะหากได้รังไหมที่มีน้ำหนักรังไหมเพิ่มขึ้น แต่มีเปอร์เซ็นต์รังดีต่ำย่อมส่งผลต่อผลผลิตทางปริมาณของไหม [2] ดังนั้นกลุ่มวันที่ 5 และ 6 จึงเป็นช่วงเวลาที่ไม่เหมาะต่อการให้ไพรรอกซิเฟน เนื่องจากมีเปอร์เซ็นต์รังดีและเปอร์เซ็นต์ดักแด้สมบูรณ์ต่ำซึ่งส่งผลให้ผลผลิตไหมโดยรวมลดลง ส่วนการให้ฮอร์โมนไพรรอกซิเฟนในหนอนไหมวัยห้าวันที่ 3 และ 4 น่าจะเป็นช่วงเวลาที่เหมาะสมที่สุดต่อการเพิ่มผลผลิตไหม

ตารางที่ 2 ผลของไพรรอกซิเฟนต่อน้ำหนักรังไหม น้ำหนักเปลือกรัง น้ำหนักดักแด้ เปอร์เซ็นต์เปลือกรังของเพศเมีย

หน่วยทดลอง	น้ำหนักรังไหม (กรัม)	น้ำหนักเปลือกรัง (เซนติกรัม)	น้ำหนักดักแด้ (กรัม)	เปอร์เซ็นต์เปลือกรัง (%)	น้ำหนักเส้นไหม (กรัม)	ความยาวของเส้นใย (เมตร)	ขนาดเส้นใย (ดีเนียร์)
กลุ่มควบคุม	2.116±0.04 ^d	34.47±0.71 ^c	1.762±0.04 ^c	16.28±0.13 ^b	0.277±0.04 ^c	824.16±65.97 ^c	2.89±0.35 ^b
วันที่ 1	2.427±0.07 ^{bc}	40.33±0.90 ^b	2.014±0.07 ^b	16.29±0.39 ^b	0.336±0.03 ^b	997.07±63.83 ^b	3.04±0.31 ^{ab}
วันที่ 2	2.535±0.02 ^{ab}	40.96±1.88 ^b	2.115±0.04 ^a	16.49±0.34 ^b	0.334±0.04 ^b	980.01±114.24 ^b	3.22±0.46 ^a
วันที่ 3	2.643±0.04 ^a	44.90±0.86 ^a	2.204±0.02 ^a	17.55±0.29 ^a	0.374±0.41 ^a	1099.65±124.31 ^a	3.10±0.24 ^a
วันที่ 4	2.664±0.06 ^a	44.96±0.76 ^a	2.203±0.06 ^a	17.28±0.06 ^a	0.360±0.05 ^a	1169.15±182.78 ^a	3.15±0.36 ^a
วันที่ 5	2.649±0.14 ^a	40.53±0.47 ^b	2.134±0.02 ^a	16.65±0.40 ^b	0.347±0.05 ^{ab}	1130.52±164.49 ^a	3.11±0.52 ^a
วันที่ 6	2.317±0.05 ^c	34.83±1.04 ^c	1.822±0.08 ^c	16.46±0.38 ^b	0.145±0.03 ^d	865.41±134.39 ^c	2.93±0.46 ^{ab}
F-test	**	**	**	**	**	**	**
% CV	8.71	10.38	8.99	3.23	23.80	17.47	16.49

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยที่อักษรแตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ** มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตารางที่ 3 ผลของไพรรอกซิเฟนต่อน้ำหนักรังไหม น้ำหนักเปลือกรัง น้ำหนักดักแด้ เปอร์เซ็นต์เปลือกรังของเพศผู้

หน่วยทดลอง	น้ำหนักรังไหม (กรัม)	น้ำหนักเปลือกรัง (เซนติกรัม)	น้ำหนักดักแด้ (กรัม)	เปอร์เซ็นต์เปลือกรัง (%)	น้ำหนักเส้นไหม (กรัม)	ความยาวของเส้นใย (เมตร)	ขนาดเส้นใย (ดีเนียร์)
กลุ่มควบคุม	1.675±0.06 ^d	30.90±2.20 ^d	1.349±0.04 ^d	18.44±1.07 ^a	0.250±0.03 ^c	760.90±98.28 ^b	3.019±0.32 ^a
วันที่ 1	1.869±0.10 ^c	36.90±2.82 ^{bcd}	1.498±0.07 ^c	19.71±0.55 ^a	0.324±0.04 ^b	959.56±134.94 ^a	3.053±0.30 ^a
วันที่ 2	2.083±0.04 ^b	40.26±1.10 ^{ab}	1.671±0.04 ^b	19.33±0.60 ^a	0.328±0.06 ^{bc}	951.09±135.36 ^a	3.099±0.25 ^a
วันที่ 3	2.257±0.15 ^a	42.00±2.59 ^a	1.829±0.13 ^a	18.62±0.70 ^a	0.343±0.05 ^a	1048.26±155.39 ^a	3.007±0.25 ^a
วันที่ 4	2.046±0.07 ^b	41.16±2.15 ^{ab}	1.829±0.05 ^a	18.83±1.48 ^a	0.346±0.03 ^a	1078.58±160.76 ^a	2.920±0.36 ^a
วันที่ 5	2.064±0.07 ^b	40.93±2.60 ^{ab}	1.650±0.09 ^b	18.86±0.30 ^a	0.298±0.04 ^b	1052.84±158.34 ^a	2.564±0.26 ^b
วันที่ 6	1.834±0.11 ^{cd}	33.46±2.87 ^c	1.346±0.02 ^d	18.38±1.00 ^a	0.261±0.04 ^c	787.08±133.13 ^b	2.142±0.76 ^c
F-test	**	**	**	ns	**	**	**
% CV	10.49	12.50	12.99	4.49	27.77	19.54	15.62

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยที่อักษรแตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ** มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)



ภาพที่ 2 เปรียบเทียบขนาดของหนอนไหมในกลุ่มควบคุม (Control) และหนอนไหมในกลุ่มทดลองวันที่ 3 (TD3)



ภาพที่ 3 เปรียบเทียบขนาดรังไหมเพศเมียในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองวันที่ 3



ภาพที่ 4 ลักษณะรังเสียในกลุ่มทดลองวันที่ 5 และ 6

เนื่องจากมีเปอร์เซ็นต์รังดี เปอร์เซ็นต์ดักแด้สมบูรณ์อยู่ในเกณฑ์สูง และมีผลผลิตไหมเช่น น้ำหนักรังไหม น้ำหนักเปลือกรัง และความยาวของเส้นใยของเพศเมียเพิ่มมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับการให้ฮอร์โมนไพรพรอกซิเฟนในหนอนไหมวัยห่าวันที่ 1 และ 2 โดยความยาวเส้นใยของรังไหมเพศเมียในกลุ่มวันที่ 3 และ 4 คือ 1099.65 และ 1169.15 เมตรซึ่งยาวกว่ากลุ่มวันที่ 1 และ 2 ที่มีความยาวเส้นใย 997.07 และ 980.01 เมตร ตามลำดับ ดังนั้นจากความยาวของเส้นใยจึงทำให้เห็นอย่างชัดเจนว่าการให้ฮอร์โมนไพรพรอกซิเฟนในหนอนไหมวัยห่าวันที่ 3 และ 4 ส่งผลต่อการเพิ่มผลผลิตไหมมากที่สุด ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Magnussen and Promma [13] ที่พบว่า น้ำหนักของรังไหม น้ำหนักเปลือกรัง และความยาวของเส้นใยของหนอนไหมสายพันธุ์ลูกผสมเหลืองสระบุรีเพิ่มขึ้นมากที่สุดเมื่อให้ฮอร์โมนไพรพรอกซิเฟนที่ความเข้มข้น 0.05 พีพีเอ็มในหนอนไหมวัยห่าวันที่ 3 แต่อย่างไรก็ตามในการทดลองนี้แสดงให้เห็นเพิ่มเติมว่าการให้ฮอร์โมนในหนอนไหมวัยห่าวันที่ 4 ให้ผลผลิตไหมเช่นเดียวกับการให้ฮอร์โมนในหนอนไหมวัยห่าวันที่ 3 ซึ่งแตกต่างจากการทดลองส่วนใหญ่ที่พบว่าหนอนไหมวัยห่าวันที่ 2 และ 3 เหมาะต่อการให้ฮอร์โมนสังเคราะห์ [4, 5, 9] ความแตกต่างที่เกิดขึ้นอาจเป็นผลมาจากประเภท ความเข้มข้น ปริมาตรของฮอร์โมนจูโนลสังเคราะห์ ช่วงเวลาในการทดสอบ และสายพันธุ์ไหม เป็นต้น [15, 17]

5. สรุปผลทดลอง

หนอนไหมวัยห่าวันที่ 3 และ 4 เป็นช่วงที่เหมาะสมที่สุดในการให้ฮอร์โมนไพรพรอกซิเฟน เนื่องจากช่วงเวลานี้ทำให้หนอนไหมขยายระยะเวลาการกินอาหารออกไปประมาณ 3 วันซึ่งมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์รังดี เปอร์เซ็นต์ดักแด้สมบูรณ์สูง และส่งผลต่อการเพิ่มน้ำหนักของรังไหม เปลือกรัง เปอร์เซ็นต์เปลือกรัง น้ำหนักเส้นใย และความยาวของเส้นใยมากที่สุด จากผลการทดลองดังกล่าว คณะผู้วิจัยจะนำไปทำการทดสอบด้วยวิธีการสเปรย์เพื่อจะเลือกเพียงช่วงเวลาเดียวที่เหมาะสมที่สุดที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในภาคเกษตรกร

6. กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณศูนย์ความเป็นเลิศทางนวัตกรรมไหม และห้องปฏิบัติการชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่และอุปกรณ์สำหรับการเลี้ยงไหม และขอขอบคุณบริษัทแทคซาโก (ประเทศไทย) ที่ให้ความอนุเคราะห์ฮอร์โมนจูโนลสังเคราะห์ที่ใช้ในการทดลองนี้



ภาพที่ 5 รังไหมเพศเมียและรังไหมเพศผู้ของกลุ่มควบคุม (Control) และกลุ่มทดลองวันที่ 1-6 (TD1-TD6)



ภาพที่ 6 ลักษณะเส้นใยไหม ก .เพศเมียกลุ่มควบคุมวันที่ 3 ข. เพศเมียกลุ่มทดลองวันที่ 3 ค. เพศผู้กลุ่มควบคุมวันที่ 3 ง. เพศผู้กลุ่มทดลองวันที่ 3

เอกสารอ้างอิง

1. Akai H, Kobayashi M. Induction of prolonged larval instar by the juvenile hormone in *Bombyx mori*. L. (Lepidoptera: Bombycidae). J Appl Entomol 1971; 6:1938-1939.
2. Nair KS, Kariappa BK, Kamble CK. Impact of individual and co-administrations of juvenile hormone analogue and phytoecdysteroid on the crop management and performance of silkworm, *Bombyx mori* L. J Biol Sci 2008;8:470-473.
3. Mamatha D, Cohly HPP, Raju HHA, Rajeswara MR. Studies on the quantitative and qualitative characters of cocoons and silk from methoprene and fenoxycarb treated *Bombyx mori* (L) larvae. Afr J Biotechnol 2006;5(5):1422-1426.
4. Gangwar SK. Juvenile hormone mimic R394 on silkworm (*Bombyx mori* L.) growth and development of silk gland. ARPN J Agric Biol Sci 2009;4(6):65-67.
5. Nair KS, Gopal N, Kumar SN. Improvement in cocoon yield influenced by a Juvenile Hormone Analogue, SB-515 in the Bivoltine Silkworm *Bombyx mori* (L). Hybrid, CSR2xCSR4 and CSR4xCSR2 its reciprocal combination. J Entomol 2012;9(1):50-56.
6. Neog K, Dutta P, Choudhury B, Singh BK. Field efficacy of methoprene a juvenile hormone analogue on growth, cocoon characters and fecundity of the muga silkworm *Antheraea assamensis* Helfer (Lepidoptera: Saturniidae). Int J Agric Po Res 2017;5(10):145-156.
7. Magadum VB, Magadum SB. Influence of "Manta" on Some Economical Characters of Eri Silkworm, *Samia cynthia ricini* Boisduval. J Seric Entomol Sci 1991;33(2): 93-96.
8. Trivedy K, Remadevi OK, Magadam SB, Datta, RK. Effect of juvenile hormone analogue, Labomin on the growth and economic characters of silkworm, *Bombyx mori* L. Indian J. Seric 1993;32(2):162-168.
9. สมโพธิ อัครพันธุ์, วันชัย เจริญสุข. การใช้จูวีโนลฮอโมนในการเพิ่มผลผลิตรังไหม. วารสารวิชาการเกษตร 2526;1:182-184.
10. Nair KS, Nair JS, Trivedy K, Vijayan VA. Influence of Bakuchiol, a JH analogue from Bemchi (*Psoralea corylifolia*) on Silk Production in Silkworm, *Bombyx mori* L. (Bombycidae: Lepidoptera). JASEM 2003;7(2):31-38.
11. Yeom JH, Hwang S, Kwon YJ. Effects of pyriproxyfen treatment on the insect growth rates. Entomol Res 2011; 46(6):291-292.
12. Saad MSI, Helaly WMM, El-Sheikh EA. Biological and physiological effects of pyriproxyfen insecticide and amino acid glycine on silkworm, *Bombyx mori* L. Bull Natl Res Cent 2019;43(1):1-8.
13. Magnussen K, Promma S. A Preliminary Study of Juvenile Hormone Analogue Pyriproxyfen on Growth and Economic Characters of Thai Hybrid Silkworm *Bombyx mori* L.(Nanglai x J108) by topical application. Int J Wild Silkmoth & Silk 2015;19:37-44.
14. สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติกระทรวงเกษตรและสหกรณ์. รังไหมพันธุ์ไทยสีเหลือง (Yellow Thai silkworm cocoon) [อินเทอร์เน็ต]. 2553 [เข้าถึงเมื่อ 15 มีนาคม 2563]. เข้าถึงได้จาก: https://www.acfs.go.th/standard/download/yellow_thai_silkworm_cocoon.pdf
15. Nagendraradhya BS, Kumar TSJ. Effect of topical administration of JH mimic and performance of qualitative and quantitative traits of CSR2 and MG408 biovoltine breeds of the silkworm, *Bombyx mori* L. Int. j sci environ Technol 2013;2(2):185-195.
16. Kamimura M., Kiuchi M. Effect of Juvenile Hormone Analog Fenoxycarb on 5th stadium larvae of the silkworm, *Bombyx mori*. L. Appl Entomol Zool 1998;33(2):333-338.
17. Miranda J, Bortoli SAD, Takahashi R. Development and silk production by silkworm larvae after topical application of methoprene. Sci. Agric 2002;53(3):585-588.



ศูนย์ดัชนีการอ้างอิงวารสารไทย
Thai-Journal Citation Index Centre



0 4455 8344



<https://science.srru.ac.th/kochasarn>

Faculty of Science and Technology, Surindra Rajabhat University,
186 Moo 1, Surin-Prasat Road, Nokmuang, Muang Surin, Surin,
Thailand, 32000