

ผลของ Phenylalanine ต่อความงอกของเมล็ด และสารต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนทานตะวัน Effect of Phenylalanine on Seed Germination and Antioxidants of Sunflower Sprout

ภาณุมาศ ฤทธิชัย*, เยาวพา จิระเกียรติกุล และรัตนพร พระชัย

สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

Panumart Rithichai*, Yaowapha Jirakattikul and Rattanaporn Prachai

Department of Agricultural Technology, Faculty of Science and Technology,

Thammasat University, Rangsit Centre, Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 12120

บทคัดย่อ

phenylalanine (Phe) เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สารทุติยภูมิหลายชนิด มีบทบาทในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและการสร้างสารทุติยภูมิของพืช ดังนั้นการทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของ Phe ต่อความงอกของเมล็ด การเจริญเติบโต และสารต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนทานตะวัน (*Helianthus annuus* L.) จากการแช่เมล็ดทานตะวันในสารละลาย Phe ความเข้มข้น 0, 100, 200, 400, 600 และ 800 mg/L นาน 8 ชั่วโมง พบว่าเมล็ดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่การแช่เมล็ดในสารละลาย Phe ความเข้มข้น 400 mg/L เมล็ดงอกได้เร็วขึ้น โดยเมล็ดมีความงอกเมื่อนับครั้งแรกสูงสุดและระยะเวลาในการออกเฉลี่ยต่ำที่สุด การพ่นสารละลาย Phe ความเข้มข้น 100, 200 และ 400 mg/L เมื่อต้นอ่อนอายุ 4 วันหลังเพาะ เก็บเกี่ยวต้นอ่อนเมื่ออายุ 5 วันหลังเพาะ พบว่าการพ่นสารละลาย Phe ทุกความเข้มข้นส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นอ่อน โดยมีความสูงต้น น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งสูงกว่าการไม่พ่นสารอย่างมีนัยสำคัญ การพ่นสารละลาย Phe ความเข้มข้น 400 mg/L ส่งผลให้ต้นอ่อนทานตะวันมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุดและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ดีที่สุด ส่วนปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติทั้งที่พ่นและไม่พ่น Phe

คำสำคัญ : phenylalanine; ต้นอ่อนทานตะวัน; สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด; ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH

Abstract

Phenylalanine (Phe) is the precursor for the biosynthesis of various secondary metabolites, which has crucial roles in improving plant growth and secondary metabolite production. Therefore,

the objective of this research was to investigate the effect of Phe on seed germination, growth and antioxidants of sunflower (*Helianthus annuus* L.) sprouts. Soaking seeds in 0, 100, 200, 400, 600 and 800 mg/L Phe for 8 hours resulted in non-significantly different of seed germination percentage. However, sunflower seeds germinated earlier under 400 mg/L Phe, which showed the highest first count of germination and the lowest mean time to germination. Phe concentrations of 100, 200 and 400 mg/L were sprayed at 4 days after sowing and sprouts were harvested at 5 days after sowing. Results indicated that sprayed Phe treatments promoted the growth of sprout as shoot height, fresh and dry weight of these treatments exhibited significantly higher than those of non-sprayed treatment. The highest total phenolic content and the best DPPH radical scavenging capacity were obtained under 400 mg/L Phe. Total flavonoid content was not statically different among sprayed and non-sprayed Phe treatments.

Keywords: phenylalanine; sunflower sprout; total phenolic content; DPPH radical scavenging capacity

1. บทนำ

ปัจจุบันผู้บริโภคให้ความสำคัญกับโภชนาการอาหารและมีความต้องการอาหารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะการบริโภคผักซึ่งเป็นแหล่งของสารอาหารที่มีคุณค่าและมีประโยชน์ต่อร่างกาย โดยทั่วไปการเพาะเมล็ดให้งอกเป็นต้นอ่อนจะช่วยให้คุณค่าทางโภชนาการของเมล็ดให้สูงขึ้น [1,2] สำหรับต้นอ่อนทานตะวัน (*Helianthus annuus* L.) หรือทานตะวันงอก เป็นผักที่นิยมบริโภคในปัจจุบัน เนื่องจากใช้ระยะเวลาในการเพาะปลูกสั้น นำมาประกอบอาหารได้ง่าย มีสารอาหาร แร่ธาตุ วิตามิน และสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิด Cevallos-Casals และ Cisneros-Zevallos [1] รายงานว่าต้นอ่อนของพืชที่เพิ่งงอกเป็นแหล่งอาหารสำคัญที่ให้สารต้านอนุมูลอิสระโดยเฉพาะสารในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกที่นอกจากจะมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระแล้วยังมีสรรพคุณทางยาอีกด้วย สำหรับต้นอ่อนทานตะวันพบสารประกอบฟีนอลิกในรูปของสาร gallic acid, protocatechuic acid, caffeic acid,

p-coumaric acid, ferulic acid และ sinapic acid ส่วนสารฟลาโวนอยด์พบในรูปของสาร quercetin และ kaempferol [2] นอกจากนี้รายงานของ Pajak และคณะ [2] ยังพบว่าต้นอ่อนทานตะวันมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและ ฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงกว่าในต้นอ่อนบล็อคโคลีและถั่วเขียว อีกทั้งต้นอ่อนของพืชเหล่านี้ยังมีสารทุติยภูมิดังกล่าว รวมทั้งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS, DPPH และ FRAP สูงกว่าในเมล็ดอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นการศึกษาวិธีการเพิ่มการเจริญเติบโตและปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในต้นอ่อนทานตะวันด้วยการใช้สารที่เกี่ยวข้องกับวิถีชีวสังเคราะห์สารทุติยภูมิ จึงเป็นแนวทางหนึ่งในการพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตผักเพื่อเพิ่มคุณค่าทางอาหารและใช้เป็นอาหารเพื่อสุขภาพต่อไป

phenylalanine (Phe) เป็นกรดอะมิโนและเป็นสารตั้งต้นในวิถีฟีนิลโพรพานอยด์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิด ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แอนโทไซยานิน และน้ำมันหอมระเหย เป็นต้น [3-5] นอกจากนี้ Phe

ยังมีบทบาทในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช [3,4] จากการศึกษาของ El-Din และ El-Wahed [3] พบว่าคาโมมายล์ (*Matricaria chamomilla* L.) มีความสูงต้น จำนวนกิ่ง จำนวนดอก น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งต้น สารประกอบฟีนอลิก กรดอะมิโน และน้ำมันหอมระเหยสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อพ่นสารละลาย Phe ความเข้มข้น 150 mg/L หรือการพ่นสารละลาย Phe ความเข้มข้น 5 mM ส่งเสริมการสร้างสารฟลาโวนอยด์ในต้นอ่อนบักวีต (*Fagopyrum* sp.) แต่ที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้นจะมีการสร้างสารฟลาโวนอยด์ลดลง [5] ส่วนการพ่น Phe ความเข้มข้น 50, 100 และ 200 mg/L ให้กับ *Ammi visnaga* พบว่าต้นมีการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตสูงขึ้น รวมทั้งมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยสูงกว่าสิ่งทดลองควบคุม [4] โหระพา (*Ocimum basilicum*) เมื่อพ่นสารละลาย Phe ความเข้มข้น 100 mg/L ร่วมกับ nickel ความเข้มข้น 50 mg/L จะมีการเจริญเติบโตทั้งขนาดทรงพุ่ม น้ำหนักสดและแห้งของใบ รวมทั้งให้ผลผลิตน้ำมันหอมระเหยสูงที่สุด [6] ข้อมูลดังกล่าวข้างต้นจะเห็นได้ว่า Phe สามารถนำมาใช้ในการเพิ่มการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระของพืชหลายชนิด อย่างไรก็ตาม ไม่มีรายงานการใช้ Phe ในการเพาะต้นอ่อนทานตะวัน ดังนั้นในการทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของ Phe ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อความงอกของเมล็ด การเจริญเติบโต และสารต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนทานตะวัน

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 ผลของ Phe ต่อความงอกของเมล็ดทานตะวัน

วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ มี 6 ทรีตเมนต์ คือการแช่เมล็ดในสารละลาย Phe ความเข้มข้น 0, 100,

200, 400, 600 และ 800 mg/L

การเตรียมเมล็ด นำเมล็ดทานตะวันพันธุ์อาฟาเอลและจัมโบ้มาแช่ใน NaOCl ความเข้มข้น 1.5 % (v/v) นาน 3 นาที แล้วล้างน้ำไหลผ่าน 3 นาที จากนั้นนำเมล็ดมาแช่ในสารละลาย Phe ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เก็บที่อุณหภูมิ 25 °C นาน 8 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดนำเมล็ดมาล้างผ่านน้ำไหล 1 นาที แล้วนำไปศึกษาความงอกและความแข็งแรงของเมล็ด ดังนี้

2.1.1 ความงอก นำเมล็ดในทุกทรีตเมนต์มาเพาะแบบ BP (between paper) โดยเพาะ 50 เมล็ดต่อซ้ำ วางในตู้เพาะเมล็ด ที่อุณหภูมิ 25 °C ให้แสง 8 ชั่วโมง และมีมืด 16 ชั่วโมง บันทึกจำนวนต้นกล้าปกติเมื่ออายุ 4 และ 10 วันหลังเพาะเมล็ด และที่อายุ 10 วันหลังเพาะเมล็ด มีการประเมินต้นกล้าผิดปกติ เมล็ดไม่งอก ซึ่งประกอบด้วยเมล็ดแข็ง เมล็ดสด และเมล็ดตาย [7]

2.1.2 ความแข็งแรงของเมล็ด ศึกษาความงอกเมื่อนับครั้งแรก นำข้อมูลจำนวนต้นกล้าปกติที่อายุ 4 วันหลังเพาะเมล็ด จากการทดสอบความงอก มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความงอกเมื่อนับครั้งแรก ส่วนระยะเวลาเฉลี่ยในการงอก (mean time to germination, MTG) เตรียมเมล็ดและเพาะเช่นเดียวกับการทดสอบความงอก บันทึกจำนวนต้นกล้าปกติทุกวัน จนถึงอายุ 10 วันหลังเพาะเมล็ด แล้วนำมาคำนวณค่า MTG [8] โดยใช้สูตร $MTG = \sum T_i N_i / \sum N_i$ โดย T_i คือระยะเวลาหลังเพาะเมล็ด และ N_i คือ จำนวนต้นกล้าปกติที่งอกในแต่ละวันหลังเพาะเมล็ด

2.2 ผลของ Phe ต่อการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนทานตะวัน

ผลการทดลองในข้อ 2.1 เมล็ดทานตะวันมีความงอกและความแข็งแรงสูงสุด เมื่อแช่เมล็ดในสารละลาย Phe ความเข้มข้น 400 mg/L ดังนั้นในการทดลองนี้จึงแช่เมล็ดในสารละลาย Phe ความเข้มข้น

ดังกล่าวก่อนนำมาเมล็ดไปเพาะในกล่องขนาด 10x15x5 ซม. (กว้าง x ยาว x สูง) ที่บรรจุด้วยพีทมอส ในแต่ละกล่องเพาะ 100 เมล็ด จากนั้นนำไปวางในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 25 °C ให้แสง 8 ชั่วโมงและมีมืด 16 ชั่วโมงให้น้ำทุกวัน เมื่อต้นอ่อนอายุ 4 วันหลังเพาะ พ่นสารละลาย Phe ความเข้มข้น 0, 100, 200 และ 400 mg/L ปริมาตร 10 mL/กล่อง เก็บเกี่ยวต้นอ่อนเมื่ออายุ 5 วันหลังเพาะ วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 ทรีตเมนต์ 4 ซ้ำ บันทึกข้อมูลดังนี้

2.2.1 การเจริญเติบโตของต้นอ่อน บันทึกความสูงต้น น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง โดยอบที่อุณหภูมิ 50 °C นาน 72 ชั่วโมง

2.2.2 สารต้านอนุมูลอิสระ นำต้นอ่อนที่อบแห้งมาวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ โดยมีวิธีการ ดังนี้

(1) การเตรียมสารสกัดตัวอย่างต้นอ่อนทานตะวัน โดยตัดแปลงจากวิธีของ Chumsri และคณะ [9] นำต้นอ่อนที่อบแห้งมาเติมเอทานอล 95 % โดยใช้อัตราส่วน 1 : 10 โดยปริมาตร ทำการสกัดซ้ำอีกสองครั้งโดยใช้ตัวทำละลายและปริมาตรเท่าเดิม นำสารสกัดที่ได้มาทำให้แห้งด้วยวิธี vacuum dry เป็นเวลา 24 ชั่วโมงหรือจนกว่าจะแห้ง จากนั้นนำสารสกัดต้นอ่อนทานตะวันมาศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

(2) สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดวิเคราะห์ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric โดยตัดแปลงจากวิธีของ Folin และ Ciocalteu [10] นำสารสกัดต้นอ่อนทานตะวันละลายด้วยน้ำกลั่น ให้มีความเข้มข้น 1 mg/mL จากนั้นปิเปตสารละลายปริมาตร 20 μ L ลงใน 96 well-microplates เติมน้ำ Folin-Ciocalteu's reagent เจือจาง 10 เท่า ปริมาตร 100 μ L และเติมสารละลาย 7.5 % Na_2CO_3 ปริมาตร 80 μ L บ่มไว้ในที่มืด 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง นำไปวัด

ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm ด้วยเครื่อง microplate reader รุ่น PowerWave XS ยี่ห้อ Biotek คำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน gallic acid

(3) สารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด วิเคราะห์โดยดัดแปลงจากวิธีของ Zhu และคณะ [11] นำสารสกัดต้นอ่อนทานตะวันละลายด้วยน้ำกลั่น ให้มีความเข้มข้น 1 mg/mL ปิเปตสารละลายใส่หลอดทดลองปริมาตร 500 μ L เติมน้ำ 5 % NaNO_2 ปริมาตร 75 μ L ผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 6 นาที และเติม 10 % AlCl_3 ปริมาตร 150 μ L ผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 6 นาที เติมน้ำ 1 M NaOH ปริมาตร 500 μ L สุดท้ายเติมน้ำกลั่นปริมาตร 275 μ L บ่มไว้นาน 15 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นปิเปตสารละลายปริมาตร 200 μ L ลงใน 96 well-microplate นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 nm ด้วยเครื่อง microplate reader คำนวณปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน catechin

2.2.3ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH scavenging activity ดัดแปลงจากวิธีของ Yamasaki และคณะ [12] นำสารสกัดต้นอ่อนทานตะวันละลายด้วยน้ำกลั่น ให้มีความเข้มข้น 1 mg/mL จากนั้นเจือจางให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 200, 100, 20 และ 2 μ g/mL ปิเปตสารละลายแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 100 μ L ลงใน 96 well-microplate เติมน้ำ DPPH ปริมาตร 100 μ L บ่มไว้ในที่มืด 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 nm ด้วยเครื่อง microplate reader คำนวณหา % inhibition โดยใช้สูตร $\% \text{inhibition} = \frac{[\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_{\text{sample}}]}{\text{Abs}_{\text{control}}} \times 100$ เมื่อ $\text{Abs}_{\text{control}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ control และ $\text{Abs}_{\text{sample}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ sample รายงานผลเป็นค่า EC_{50} (ค่าความสามารถของสารสกัดที่ยับยั้ง

อนุโมล DPPH ที่ 50 %) โดยคำนวณได้จากการนำค่า % inhibition ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มากำหนดจุดในกราฟระหว่างแกน x คือ ค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานหรือสารสกัด และแกน y คือ % inhibition คำนวณค่าจากสมการลอการิทึมเปรียบเทียบค่าความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระระหว่างตัวอย่างกับสารละลายมาตรฐาน

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 ผลของ Phe ต่อความงอกของเมล็ดทานตะวัน

การแช่เมล็ดทานตะวันพันธุ์อาฟาเอลและจัมโบ้ในสารละลาย Phe ทุกความเข้มข้น พบว่าเมล็ดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยพันธุ์อาฟาเอลมีความงอก 68.00 ± 5.16 ถึง 80.50 ± 5.16 % และพันธุ์จัมโบ้มีความงอก 66.50 ± 5.74 ถึง 79.50 ± 1.00 % ส่วนความแข็งแรงของเมล็ด พบว่าการแช่เมล็ดพันธุ์อาฟาเอลและจัมโบ้ในสารละลาย

Phe ความเข้มข้น 400 mg/L เมล็ดมีความงอกเมื่อนับครั้งแรกสูงสุด คือ 74.50 ± 3.42 และ 65.00 ± 2.58 % ตามลำดับ อีกทั้งยังมีระยะเวลาเฉลี่ยในการงอกต่ำที่สุด คือ 3.40 ± 0.08 และ 3.21 ± 0.02 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 1) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการแช่เมล็ดทานตะวันในสารละลาย Phe ทุกความเข้มข้นไม่สามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์ความงอก แต่เมล็ดงอกได้เร็วขึ้นเมื่อแช่เมล็ดในสารละลาย Phe ความเข้มข้นที่เหมาะสม คือ 400 mg/L เนื่องจาก Phe มีบทบาทในการกระตุ้นการสร้างฮอร์โมนจิบเบอเรลลินในเมล็ด [3] ส่งผลให้การทำงานของเอนไซม์เพื่อย่อยสลายอาหารสะสมได้ดีจึงส่งเสริมให้เมล็ดงอกได้เร็วขึ้น [13] ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการแช่เมล็ดทานตะวันในสารกระตุ้นชีวภาพชนิดอื่น เช่น salicylic acid [14] ที่เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อแช่ในสารละลาย salicylic acid ความเข้มข้นต่าง ๆ แต่การแช่เมล็ดที่ความเข้มข้น 500 μ M เมล็ดมีความแข็งแรงมากขึ้นโดยต้นอ่อนเจริญเติบโตได้ดีขึ้น

Table 1 Effect of phenylalanine applications on germination, first count of germination and mean time to germination (MTG) of sunflower seeds cv. Arfael and Jumbo.

Phe conc. (mg/L)	Germination (%)		First count of germination (%)		MTG (days)	
	Arfael	Jumbo	Arfael	Jumbo	Arfael	Jumbo
0	68.00 ± 5.16	67.50 ± 5.74	43.50 ± 4.43^c	43.00 ± 3.46^c	4.22 ± 0.11^a	4.21 ± 0.14^a
100	72.75 ± 9.64	69.00 ± 4.76	55.00 ± 9.02^b	49.50 ± 4.43^{bc}	4.03 ± 0.08^b	4.21 ± 0.14^a
200	72.50 ± 9.71	66.50 ± 5.74	62.00 ± 8.33^b	50.50 ± 6.40^b	4.04 ± 0.15^b	4.00 ± 0.08^b
400	80.50 ± 4.43	79.50 ± 1.00	74.50 ± 3.42^a	65.00 ± 2.58^a	3.40 ± 0.08^d	3.21 ± 0.02^d
600	70.50 ± 5.74	72.50 ± 7.72	61.50 ± 7.72^b	63.00 ± 5.29^a	3.76 ± 0.12^c	3.54 ± 0.04^c
800	68.00 ± 2.83	69.00 ± 8.08	59.00 ± 6.22^b	53.50 ± 4.43^b	3.50 ± 0.09^c	3.58 ± 0.05^c
F-test	ns	ns	**	**	**	**

Means $\pm$ S.D. within each column followed by the same letters are not significantly different at $p < 0.05$ level by DMRT; ns = non-significantly different; ** = significantly different at $p < 0.01$

3.2 ผลของ Phe ต่อการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนทานตะวัน

3.2.1 การเจริญเติบโตของต้นอ่อน

ต้นอ่อนทานตะวันทั้งพันธุ์อาฟาเอลและจัมโบ้มีการเจริญเติบโตดีขึ้นเมื่อพ่นสารละลาย Phe ความเข้มข้น 100, 200 และ 400 mg/L โดยพันธุ์อาฟาเอลและจัมโบ้มีความสูงต้น 4.11 ± 0.19 ถึง 4.29 ± 0.22 ซม. และ 4.12 ± 0.19 ถึง 4.29 ± 0.22 ซม. ตามลำดับ น้ำหนักสด 227.02 ± 5.71 ถึง 228.52 ± 5.50 mg/ต้น และ 236.21 ± 2.36 ถึง 240.60 ± 1.16 mg/ต้น ตามลำดับ น้ำหนักแห้ง 43.56 ± 1.84 ถึง 44.05 ± 2.32 mg/ต้น และ 45.11 ± 2.30 ถึง 47.16 ± 1.45 mg/ต้น ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติแต่มีค่าดังกล่าวสูง

กว่าสิ่งทดลองควบคุมที่ไม่มีการพ่นสารอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 2) แสดงให้เห็นว่าการพ่นสารละลาย Phe ทุกความเข้มข้นสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นอ่อนทานตะวัน เนื่องจาก Phe เป็นกรดอะมิโนที่มีบทบาทในกระบวนการสังเคราะห์ฮอร์โมนออกซิน จิบเบอเรลลิน และไซโตไคนิน [4] ซึ่งช่วยเพิ่มการแบ่งเซลล์ การขยายขนาดของเซลล์ ส่งผลให้พืชมีการเจริญเติบโตดีขึ้น [15] ผลการทดลองนี้ให้ผลสอดคล้องกับคาโมมายล์ [3] *A. visnaga* [4] และโหระพา [6] ที่การพ่นสารละลาย Phe ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พืชเหล่านี้มีความสูง น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งต้นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่พ่น Phe

Table 2 Effect of Phenylalanine applications on shoot height, fresh weight and dry weight of sunflower sprout cv. Arfael and Jumbo.

Phe conc. (mg/L)	Shoot height (cm)		Fresh weight (mg/pl)		Dry weight (mg/pl)	
	Arfael	Jumbo	Arfael	Jumbo	Arfael	Jumbo
0	3.82 ± 0.16^b	3.80 ± 0.14^b	195.01 ± 5.18^b	184.98 ± 2.90^b	31.40 ± 1.23^b	24.26 ± 0.99^b
100	4.11 ± 0.19^{ab}	4.12 ± 0.19^a	227.02 ± 5.71^a	236.21 ± 2.36^a	43.56 ± 1.84^a	45.11 ± 2.30^a
200	4.18 ± 0.25^a	4.18 ± 0.25^a	227.55 ± 6.26^a	238.71 ± 5.87^a	43.76 ± 1.41^a	46.04 ± 0.68^a
400	4.29 ± 0.22^a	4.29 ± 0.22^a	228.52 ± 5.50^a	240.60 ± 1.16^a	44.05 ± 2.32^a	47.16 ± 1.45^a
F-test	*	*	**	**	**	**

Means $\pm$ S.D. within each column followed by the same letters are not significantly different at $p < 0.05$ level by DMRT; * significantly different at $p < 0.05$; ** significantly different at $p < 0.01$

3.2.2 สารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH

การพ่นสารละลาย Phe ความเข้มข้นต่าง ๆ ให้กับต้นอ่อนทานตะวัน พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 3) โดยการพ่นสารละลาย Phe ความเข้มข้น 400 mg/L ต้น

อ่อนทานตะวันทั้งพันธุ์อาฟาเอลและจัมโบ้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด 63.32 ± 1.33 และ 34.25 ± 1.57 mg GAE/g dry extract ตามลำดับ และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ดีที่สุด โดยมีค่า EC_{50} 12.50 ± 0.03 และ 13.25 ± 1.49 μ g/mL ตามลำดับ ส่วนปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด พบว่าการพ่นสารละลาย Phe ทุกความเข้มข้น ต้นอ่อนทานตะวันมี

ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 3) โดยพันธุ์อาฟาเอลและจัมโบ้มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 86.17 ± 6.68 ถึง 98.55 ± 7.01 mg CE/g dry extract และ 69.98 ± 16.38 ถึง 82.53 ± 17.04 mg CE/g dry extract ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการพ่นสารละลาย Phe ให้กับต้นอ่อนทานตะวันในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม คือ 400 mg/L สามารถส่งเสริมการสร้างสารประกอบฟีนอลิกและเพิ่มฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ผลการทดลองนี้ให้ผลสอดคล้องกับรายงานของ El-Din และ El-Wahed [3] ที่พบว่า การพ่นสารละลาย Phe ให้กับต้นคาโมมายล์ส่งผลให้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

กรดอะมิโน และน้ำมันหอมระเหยสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ การทดลองนี้พบว่า การสร้างสารฟลาโวนอยด์ในต้นอ่อนทานตะวันไม่ตอบสนองต่อ Phe ซึ่งสอดคล้องกับโหระพาเมื่อแช่เมล็ดในสารละลาย Phe ความเข้มข้น 0.05 และ 0.5 mM พบว่าใบโหระพามีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ไม่แตกต่างกับสิ่งทดลองควบคุมที่ไม่มีการแช่สาร [16] แต่การพ่นสารละลาย Phe ความเข้มข้น 5 mM ต้นอ่อนบักวีตมีการสร้างสารฟลาโวนอยด์เพิ่มขึ้น [5] ดังนั้นการตอบสนองต่อ Phe ในการกระตุ้นเพื่อสร้างและสะสมสารต้านอนุมูลอิสระจะกันต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดพืช วิธีการใช้ และความเข้มข้นของสาร

Table 3 Effect of phenylalanine applications on total phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC) and DPPH radical scavenging capacity (EC_{50}) of sunflower sprout cv. Arfael and Jumbo.

Phe conc. (mg/L)	TPC (mg GAE/g dry extract)		TFC (mg CE/g dry extract)		DPPH (EC_{50} : μ g/mL)	
	Arfael	Jumbo	Arfael	Jumbo	Arfael	Jumbo
0	55.35 ± 4.61^b	26.84 ± 3.70^b	86.17 ± 6.68	72.48 ± 14.27	19.01 ± 4.08^a	21.98 ± 1.03^a
100	55.58 ± 1.82^b	26.50 ± 2.39^b	86.56 ± 2.86	69.98 ± 16.38	17.70 ± 3.43^a	18.52 ± 5.11^a
200	56.54 ± 0.66^b	26.89 ± 5.93^b	84.17 ± 10.92	73.12 ± 9.13	15.51 ± 3.27^{ab}	18.40 ± 1.19^a
400	63.32 ± 1.33^a	34.25 ± 1.57^a	98.55 ± 7.01	82.53 ± 17.04	12.50 ± 0.03^b	13.25 ± 1.49^b
F-test	**	*	ns	ns	*	**

Means $\pm$ S.D. within each column followed by the same letters are not significantly different at $p < 0.05$ level by DMRT; ns = non-significantly different; * = significantly different at $p < 0.05$

4. สรุป

การแช่เมล็ดทานตะวันในสารละลาย Phe เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่เมล็ดงอกได้เร็วขึ้นเมื่อแช่เมล็ดในสารละลาย Phe ความเข้มข้น 400 mg/L การพ่นสารละลาย Phe ความเข้มข้น 100, 200 และ 400 mg/L ต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตดีกว่าการไม่พ่นสาร และการพ่นสาร

สารละลาย Phe ความเข้มข้น 400 mg/L ต้นอ่อนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุดและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ดีที่สุด

5. References

- [1] Cevallos- Casals, B. A and Cisneros-Zevallos, L., 2010, Impact of germination

- on phenolic content and antioxidant activity of 13 edible seed species, *Food Chem.* 119: 1485-1490.
- [2] Pająk, P., Socha, R., Gałkowska, D., Rożnowski, J. and Fortuna, T., 2014, Phenolic profile and antioxidant activity in selected seeds and sprouts, *Food Chem.* 143: 300-306.
- [3] El-Din, K.M.G. and El-Wahed, M.S.A.A., 2005, Effect of some amino acids on growth and essential oil content of chamomile plant, *Int. J. Agri. Biol.* 7: 376-380.
- [4] Talaat, I.M., Khattab, H.I. and Ahmed, A.M., 2014, Changes in growth, hormones levels and essential oil content of *Ammi visnaga* L. plants treated with some bioregulators, *Saudi J. Biol. Sci.* 21: 355-365.
- [5] Seo, J.M., Arasu, M.V., Kim, Y.B., Park, S.U., and Kim, S.J., 2015, Phenylalanine and LED lights enhance phenolic compound production in Tartary buckwheat sprouts, *Food Chem.* 177: 204-213.
- [6] Reham, M. S., Khattab M.E., Ahmed S.S. and Kandil, M. A. M., 2016, Influence of foliar spray with phenylalanine and nickel on growth, yield quality and chemical composition of genoveser basil plant, *Afr. J. Agric. Res.* 11: 1398-1410.
- [7] ISTA, 2008, International Rules for Seed Testing, Edition 2008, The International Seed Testing Association, Bassersdorf.
- [8] Geneve, R.L., 2005, Vigor Testing in Flower Seed, pp. 311-322, In McDonald, M.B. and Kwong, F.Y. (Eds.), *Flower Seeds Biology and Technology*, CABI, Wallingford.
- [9] Chumsri, P., Sirichote, A. and Itharat, A., 2008, Studies on the optimum conditions for the extraction and concentration of roselle (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) extract, *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 30: 133-139.
- [10] Folin, O. and Ciocalteu, V., 1927, On tyrosine and tryptophane determination in proteins, *J. Biol. Chem.* 27: 627-650.
- [11] Zhu, H., Wang, Y., Liu, Y., Xia, Y. and Tang, T., 2010, Analysis of flavonoids in *Portulaca oleracea* L. by UV-Vis spectrophotometry with comparative study on different extraction technologies, *Food Anal. Methods.* 3: 90-97.
- [12] Yamasaki, K., Hashimoto A., Kokusenya Y., Miyamoto T. and Sato T., 1994, Electrochemical method for estimating the antioxidative effects of methanol extracts of crude drugs, *Chem. Pharm. Bull.* 42: 1663-1665.
- [13] Copeland, L.O. and McDonald, M.B., 1995, *Principle of Seed Science and Technology*, Chamman and Hall, London. 409 p.
- [14] Treesum, S. and Junmatong, C., 2017, Effect of salicylic acid soaking on seed germination, growth and antioxidant capacity of sunflower seedlings, *Songklanakarin J. Pl. Sci.* 4: 36-40. (in Thai).

- [15] Hopkins, W.G. and Hüner, N.P.A., 2009, Introduction to Plant Physiology, 4th Ed., John Wiley and Sons, Hoboken, NJ., 503 p.
- [16] Koca, N. and Karaman, Ş. , 2015, The effects of plant growth regulators and L-phenylalanine on phenolic compounds of sweet basil, Food Chem. 166: 515-521.