ISBN 0125-0369

# วารสาร วิทยาศาสตร์เกษตร
# Agricultural Science Journal

ปีที่ 52 ฉบับที่ 1 (พิเศษ) พฤษภาคม-สิงหาคม 2564
Vol. 52 No. 1 (Suppl.) May-August 2021

## การประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยพืชเขตร้อนและกึ่งร้อน ครั้งที่ 13 วันที่ 13 พฤษภาคม 2564 ณ มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย กรุงเทพมหานคร (ออนไลน์)

จัดโดย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย
ร่วมกับ
ศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชเขตร้อนและกึ่งร้อน
คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

วารสาร ISBN 0125-0369

วิทยาศาสตร์เกษตร

Agricultural Science Journal

ปีที่ 52 ฉบับที่ 1 (พิเศษ) พฤษภาคม-สิงหาคม 2564 Vol. 52 No. 1 (Suppl.) May-August 2021

## สารบัญ


| หน้า | ชื่อเรื่อง และผู้เขียน |
|---|---|
| 1-4 | ผลของวิธีการให้ความร้อนต่อการลดปริมาณจุลินทรีย์ในใบตำลึง<br>จุฑาทิพย์ โพธิ์อุบล กนกวรรณ พุ่มนิล และ พริมา พิริยางกูร |
| 5-8 | การบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศต่อคุณภาพเมล็ดในพริกแห้งพันธุ์ 'หัวเรือ' ระหว่างการเก็บรักษา<br>วิศณีย์ โพธิ์หล้า เฉลิมชัย วงษ์อารี วาริช ศรีละออง และ ทรงศิลป์ พจน์ชนะชัย |
| 9-12 | ความหลากหลายทางชีวภาพและการใช้ประโยชน์ของพืชวงศ์บานไม่รู้โรยและวงศ์ทานตะวันในกลุ่มชาติพันธุ์ม้ง บนพื้นที่สูงภูทับเบิก ตำบลวังบาล อำเภอหล่มเก่า จังหวัดเพชรบูรณ์<br>ธีรภัทร เหลืองศุภบูลย์ วิภาวี ชั้นโรจน์ อภิญญา วงศ์เปี้ย และ ขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์ |
| 13-16 | การประยุกต์ใช้การวัดค่าสีมะเขือเทศด้วยสมาร์ทโฟนและกล้องดิจิทัล<br>เหมือนหมาย อภินทนาพงศ์ วิชชุดา สังข์แก้ว และ เสาวนีย์ เอี้ยวสกุลรัตน์ |
| 17-20 | ผลของรังสีแกมมาต่อคุณภาพทางจุลชีววิทยาและสมบัติทางเคมีของผงสมุนไพรฟ้าทะลายโจร<br>เขมรุจิ เข็มทอง วชิราภรณ์ ผิวล่อง สุรศักดิ์ สัจจบุตร จารุรัตน์ เอี่ยมศิริ และ ศิริลักษณ์ ชูแก้ว |
| 21-24 | ประสิทธิภาพของนาโนซิงค์ออกไซด์ร่วมกับน้ำตาลต่อการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำยาปักแจกันและปรับปรุงคุณภาพดอกกล้วยไม้สกุลแวนด้าพันธุ์สันทรายบูลหลังการเก็บเกี่ยว<br>วิรัญญา แพ่งพนม จุฑามาศ พร้อมบุญ ผ่องเพ็ญ จิตอารีย์รัตน์ และ มัณฑนา บัวหนอง |
| 25-28 | การศึกษาความเป็นไปได้ของสารเคลือบไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานินในการตรวจสอบการเกิดสภาวะที่ไม่ใช้ออกซิเจนในแบบจำลองภาชนะบรรจุผลิตผลสด<br>จุฑาทิพย์ โพธิ์อุบล กฤษญา เนตรประไพ และ พริมา พิริยางกูร |
| 29-32 | การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและชีวเคมีของฟิล์มไคโตซานผสมกรดแกลลิก สำหรับบรรจุภัณฑ์ผลิตผลสด<br>พริมา พิริยางกูร ชลิตา แสงทอง และ จุฑาทิพย์ โพธิ์อุบล |
| 33-36 | อิทธิพลของปุ๋ยพืชสดบางชนิดต่อการเจริญเติบโต ผลผลิตของผักคะน้า และการสะสมธาตุไนโตรเจนที่ปลูกในสภาพดินลูกรัง<br>จิรายุทธ เทียมสม และ วิมลนันทน์ กันเกตุ |
| 37-40 | การอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมเจตมูลเพลิงแดงในสภาพปลอดเชื้อ<br>สุกัลยา ศิริฟองนุกูล |

| หน้า | ชื่อเรื่อง และผู้เขียน |
|---|---|
| 41-44 | การอนุรักษ์พืชสกุล *Kaempferia* ด้วยเทคนิคการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ<br>สุกัลยา ศิริฟองนุกูล |
| 45-48 | การศึกษาอิทธิพลของสภาวะที่ใช้ในการชงชาโมโรเฮยะ ต่อลักษณะทางเคมีกายภาพ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ<br>ธนาพร มั่นจอง สุภัทร์ ไชยกุล และ ชญาภรณ์ ศรัณพฤฒิ |
| 49-52 | ผลของการใช้สารให้ความหวานแทนน้ำตาลในเครื่องดื่มผงข้าวกล้องโฮลอินวัน สำหรับกลุ่มผู้บริโภคอ้วน เบาหวาน น้ำตาลสูง<br>กันติยา สุวรกุล สุภัทร์ ไชยกุล และ Carol Hutchinson |
| 53-56 | แผ่นฉนวนหลังคาดาดฟ้าปลูกได้จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร<br>ขวัญรัตน์ อัสสานนท์ สรีวัลย์ จึงเจริญนิรธร และ มณฑล ฐานุตตมวงศ์ |
| 57-60 | องค์ประกอบกลิ่นและกลิ่นสำคัญในสับปะรด (*Ananas comosus* [L.] Merr.) พันธุ์ตราดสีทอง<br>กมลชนก ปัญโญ สมโภชน์ น้อยจินดา กิตติ โพธิปัทมะ สุริยา ฤธาทิพย์ และ เฉลิมชัย วงษ์อารี |
| 61-64 | การใช้ประโยชน์ผงกากข้าวโพดหวานเพื่อทดแทนแป้งสาลีในบราวนี่<br>บงกชมาศ โสภา เสาวนีย์ ฝัดศิริ และ ศุภรา จันทร์คืน |
| 65-68 | ผลของสารสกัดจากใบชาในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคขั้วหวีเน่าของกล้วยหอม<br>Zaryab Raza กัลยา ศรีพงษ์ อภิรดี อุทัยรัตนกิจ ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์ พนิดา บุญฤทธิ์ธงไชย และ ผ่องเพ็ญ จิตอารีย์รัตน์ |
| 69-72 | สารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมะแป่ม<br>สุนันท์ นวลเพ็ง กษมา ชารีโคตร และ จริยา นิวงศา |
| 73-76 | ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากใบมะหาด<br>จาตุรงค์ จงจีน และ ศศิธร ธงชัย |
| 77-80 | ผลของสารสกัดจากผักไชยาต่อโรคแอนแทรคโนส (*Colletotrichum* spp.) ในพริก<br>จาตุรงค์ จงจีน และ ศศิธร ธงชัย |
| 81-84 | การประยุกต์ใช้รังสีเอกซ์ในมะม่วงเขียวเสวยเพื่อการส่งออก<br>สุรศักดิ์ สัจจบุตร เขมรุจิ เข็มทอง จารุรัตน์ เอี่ยมศิริ ทศพล แทนนรินทร์ นงค์นุช แจ้งสว่าง วชิราภรณ์ ผิวล่อง วณิช ลิ่มโอภาสมณี วรารัตน์ คำหวาน ศิริลักษณ์ ชูแก้ว และ ฐิติมา คงรัตน์อาภรณ์ |
| 85-88 | ผลของเกลืออนินทรีย์ร่วมกับการควบคุมปริมาณน้ำอิสระต่ออัตราการเจริญของ เชื้อรา *Aspergillus flavus* ที่คัดแยกได้จากพริกไทยดำ (*Piper nigrum* L.)<br>สุพรรณิการ์ สมใจเพ็ง และ ณัฐนันท์ เนียมโสต |

# สารบัญ


| หน้า | ชื่อเรื่อง และผู้เขียน |
|---|---|
| 89-92 | ผลของปุ๋ยอัดเม็ดมูลจิ้งหรีดสูตรต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอม<br>ปรัชวนี พิบำรุง และ ฐิติรัตน์ แซ่วื้อ |
| 93-96 | ผลของระบบไฮโดรโปนิกส์ต่อการเจริญเติบโตและปริมาณไนเตรทในผักกาดหอม<br>ปรัชวนี พิบำรุง และ กชกร ประคองสุข |
| 97-100 | ผลของชนิดพันธุ์มะพร้าวทะเลทรายต่อการงอกของเมล็ดและการพัฒนาในสภาพปลอดเชื้อ<br>ยุพาภรณ์ วิริยะนานนท์ และ กุลจิรา พรรณปัญญา |
| 101-104 | ประสิทธิภาพสารเคมีอนุภาคนาโน CuO และ ZnO ในการยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อรา *Pyricularia oryzae* สาเหตุโรคไหม้ของข้าว<br>ณัฐฏพุฒ โพธิ์วรสุนทร และ ปัฐวิภา สงกุมาร |
| 105-108 | การใช้ $GA_3$ และ CPPU เพื่อเพิ่มขนาดของผลองุ่นรับประทานสดพันธุ์ White Malaga<br>สุวรรณา วันคำ เกรียงศักดิ์ ไทยพงษ์  ธีร์ หะวานนท์ และภาสันต์ ศารทูลทัต |
| 109-112 | การหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการปรับสภาพชานอ้อยด้วยไมโครเวฟร่วมกับกรดซัลฟูริกโดยวิธีพื้นผิวตอบสนอง<br>อรณิชา รูจีพันธ์ จุฑามาศ ยิ้มแย้ม สุชีรา เหล่าเจริญ และ ปริญญพันธุ์ เพชรจรัส |
| 113-116 | การขยายพันธุ์ต้นนางแย้ม (*Clerodendrum chinense* (Osbeck) Mabb.) โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ<br>ธนิดา ยงยืน และพัชรี สินุนาวา |
| 117-120 | การพัฒนาผลิตภัณฑ์กัมมี่เยลลี่มะม่วงหาวมะนาวโห่<br>มัชฌิมา แสนวัง และ กษมา ชารีโคตร |
| 121-124 | การจำแนกหอมแดงจากแหล่งปลูกต่างๆ ของประเทศไทย<br>จันทนา โชคพาชื่น รัชนี ศิริยาน เสาวนี เขตสกุล และ จิรภา ออสติน |
| 125-128 | การจำแนกกระเทียมจากแหล่งปลูกต่างๆ ของประเทศไทย<br>จันทนา โชคพาชื่น รัชนี ศิริยาน เสาวนี เขตสกุล และ จิรภา ออสติน |
| 129-132 | การยับยั้งเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromea* สาเหตุโรคผลเน่าของมังคุดด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์<br>นฤมล ปิยะเสถียรรัตน์ ผ่องเพ็ญ จิตอารีย์รัตน์ วาริช ศรีละออง อภิรดี อุทัยรัตนกิจ<br>กัลยา ศรีพงษ์ และ ธนะชัย พันธ์เกษมสุข |
| 133-136 | การลดคาร์บอนไดออกไซด์ในแก็สชีวภาพ โดยใช้ Sodalime แบบหนึ่งขั้นตอน และ 2 ขั้นตอน<br>วารุณี ลิ่มมั่น และ รัตนชัย ไพรินทร์ |
| 137-140 | การผลิตไบโอดีเซลในประเทศไทย<br>วารุณี ลิ่มมั่น และ รัตนชัย ไพรินทร์ |
| 141-144 | องค์ประกอบเรซิ่น ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียของเบียร์ และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดฮอปส์<br>กริษฐา เดชวัน กิรติกานต์ มุ่งกลาง ภาณุพงศ์ สุ่มหิรัญ และ มงคล เพ็ญสายใจ |
| 145-148 | การผลิตเม็ดบีดส์น้ำสับปะรดผสมโปรไบโอติกด้วยเทคนิครีเวิร์สสเฟียริฟิเคชั่น<br>กิตติ เมืองตุ้ม |

# สารบัญ


| หน้า | ชื่อเรื่อง และผู้เขียน |
|---|---|
| 149-152 | การใช้สารให้ความหวานในผลิตภัณฑ์พุดดิ้งเพื่อสุขภาพ<br>วิชชุดา สังข์แก้ว ภัชรี สิทธิกิจโยธิน และ สุวโรจน์ อัครพรพิทักษ์ |
| 157-160 | การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพด<br>เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ ภัททิรา ศาตร์วงษ์ และ พฤทธิชาติ ปุญวัฒโท |
| 161-164 | ผลของการใช้น้ำตาลไอโซมอลทูโลสในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเสริมพลังงาน ต่อลักษณะทางเคมีกายภาพ ประสาทสัมผัส และการปลดปล่อยน้ำตาลด้วยการจำลองการย่อยในหลอดทดลอง<br>พิมพ์รวี กุสสลานุภาพ สุภัทร์ ไชยกุล และ อลิสา นานา |
| 165-168 | ผลของสารเพิ่มความคงตัวต่อคุณภาพของไอศกรีมเชอร์เบทมะม่วงมหาชนก<br>ดาริกา มากคงดี พัชรพร พรมระเริง และ ศรัญญา วอขวา |
| 169-172 | แตงโมแผ่น : วิธีใหม่ในการเตรียมแตงโมแผ่นโดยปราศจากการใช้วัตถุเจือปนอาหาร<br>ดาริกา คงชมแพ่ง ธนัชชา เทียมเดช นิพร เดชสุข และ พรรณจิรา วงศ์สวัสดิ์ |
| 173-176 | ผลของการใช้มิวซิเลจจากเม็ดแมงลักในการทดแทนไข่แดงบางส่วนต่อลักษณะทางด้านประสาทสัมผัส องค์ประกอบทางกายภาพและเคมีของชิฟฟ่อนเค้ก<br>ศริสา ทวีแสง วารินทร์ รังวัสสา และ สุภาวดี บุดทะสี |
| 177-180 | ฤทธิ์การต้านเชื้อราที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของขนมปังของสารสกัดจากเปลือกสับปะรด<br>นิรมล ปัญญ์บุศยกุล เพ็ญทิชา สุขทรัพย์ และ อิษยา ยอดยิ่ง |
| 181-184 | ผลของสารแคลเซียมโบรอนก่อนการเก็บเกี่ยวร่วมกับกรดซาลิไซลิคหลังการเก็บเกี่ยวต่อการลดอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย<br>ไชยภร เก็บเงิน ปรียานุช แสงประยุร อภิรดี อุทัยรัตนกิจ เฉลิมชัย วงษ์อารีย์ ผ่องเพ็ญ จิตอารีย์รัตน์ สุกัญญา เอี่ยมลออ รัตนา รุ่งศิริสกุล และ พนิดา บุญฤทธิ์ธงไชย |
| 185-188 | ผลของจิบเบอเรลลิกแอซิดต่อการงอกของเมล็ดมะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์<br>เยาวรัตน์ วงศ์ศรีสกุลแก้ว กนกพร แตงสุข ชลธิชา ขนายงาม และ นิยม บัวบาน |
| 189-192 | การพ่นแคลเซียม แมกนีเซียม และสังกะสี ทางใบต่อผลผลิตและการเกิดโรคใบไหม้ในข้าว (*Oryza sativa* L.)<br>เฉลิมชัย แพะคำ จตุพล คนเสงี่ยม ปิยะนันท์ ประสิงห์ และ วิพรพรรณ์ เนื่องเม็ก |
| 193-196 | การแยกและคัดเลือกเชื้อราไตรโคเดอร์มา สปีชีส์ จากดินสำหรับยับยั้งเชื้อรา *Phytophthora colocasiae*<br>เพชรพิกุล ขำอ่อน และ กมลวรรณ สนใจยิ่ง |
| 197-200 | การอนุรักษ์ดองดึงโดยวิธีการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ<br>สุพินญา บุญมานพ |
| 201-204 | การออกแบบบรรจุภัณฑ์อาหารสำหรับผู้สูงอายุ<br>รัชนีวรรณ กุลจันทร์ สุภาวดี ธีรธรรมากร ภัทรพร เรียงภิรมย์ พรธีรา รัตนรัตน์ และ พิพัฒน์ เนียมเปรม |
| 205-208 | การศึกษาเบื้องต้นของสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำคั้นผลส้มซ่าที่ปลูกแบบไร้สารพิษในพื้นที่ ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี<br>วัฒนา อัจฉริยะโพธา สินีนาถ สุขทนารักษ์ และ เบญจางค์ อัจฉริยะโพธา |

# สารบัญ


| หน้า | ชื่อเรื่อง และผู้เขียน |
|---|---|
| 209-212 | ประสิทธิภาพการใช้สารโซเดียมคลอไรท์ที่มีฤทธิ์เป็นกรดต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของไมโครกรีน<br>ปุณิกา แสงสุข ปรียานุช แสงประยูร มธุรส ขุมทองวัฒนา ไชยพร เก็บเงิน<br>มัณฑนา บัวหนอง และ พนิดา บุญฤทธิ์ธงไชย |
| 213-216 | ผลของกระบวนการออกซิเดชั่นขั้นสูง ($H_2O_2$/UV-C) ร่วมกับฟองก๊าซขนาดไมโครนาโนต่อการกระตุ้นการสร้างสารพฤกษเคมี และสารต้านอนุมูลอิสระในไมโครกรีนไควาเระ<br>สุวนันท์ ยอดสาร พรพรรณ เล็กขำ อารีลักษณ์ แก้วเล็ก Surisa Phornvillay จิราพร อ่อนศรีทอง<br>วาริช ศรีละออง และ ณัฐชัย พงษ์ประเสริฐ |
| 217-220 | การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของกาแฟอราบิกาและโรบัสตาในจังหวัดสงขลา<br>ชุติกาญจน์ แสนเสนาะ วันดี อินทร์เจริญ เสาวภา ด้วงปาน และระวี เจียรวิภา |
| 221-224 | ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชที่มีผลต่อคุณภาพผลน้อยหน่าลูกผสมพันธุ์‘ฝ้ายเขียวเกษตร 2’<br>โยทะกา รมยาสัย เจนจิรา ชุมภูคำ ชินวัฒน์ ยัพวัฒนพันธ์ และ อารยา อาจเจริญ เทียนหอม |
| 225-228 | ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแก้วสารพัดนึก (*Alocasia sanderiana* W. Bull.)<br>วัลยา มงคลสวัสดิ์ ทัศนัย ปัญจันทร์สิงห์ มานิต นรบัติ พลอยทิพย์ เวียงสมุทร และ สุกัญญา ทองเพ็ญ |
| 229-232 | การคัดแยกจุลินทรีย์ย่อยสลายฟอสเฟตจากดินแปลงนาข้าวอินทรีย์ในจังหวัดสุรินทร์<br>อรลัดา เจือจันทร์ นิอร งามฮุย และ อุไรลักษณ์ พงษ์เกษ |
| 233-236 | ความแตกต่างกันของเทอร์พีนในมะม่วงน้ำดอกไม้ 3 พันธุ์ปลูก<br>ธมกร ตันสกุล สมโภชน์ น้อยจินดา กิตติ โพธิปัทมะ สุริยา ฤธาทิพย์ และ เฉลิมชัย วงษ์อารี |
| 237-240 | การใช้ethanol vapor releasing pad เพื่อควบคุมเชื้อจุลินทรีย์และคุณภาพของทุเรียนตัดแต่งพร้อมบริโภค<br>กัลยา ศรีพงษ์ ทันวลี ศรีนนท์ อภิรดี อุทัยรัตนกิจ และ ผ่องเพ็ญ จิตอารีย์รัตน์ |
| 241-244 | ผลของการใช้แป้งมันเทศสีส้มและแป้งข้าวฟ่างต่อลักษณะคุณภาพของเส้นพาสต้าปราศจากกลูเตน<br>ญาดา ทับทิม ภัทรภรณ์ อุตมะโน นาถสุดา ขจรพงษ์ศรี และ ดวงใจ มาลัย |
| 245-248 | การผลิตโยเกิร์ตข้าวดำ<br>ปุญญิศา วัฒนะชัย สุรีรัตน์ ราศีดี และ หยาดรุ้ง สุวรรณรัตน์ |
| 249-252 | ผลของ *Lactobacillus casei* (TISTR 1463) และ *Lactobacillus acidophilus* (TISTR 1336) ต่อปริมาณวิตามินซีฟีนอลิก และสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำชาเขียว<br>พริมา พิริยางกูร อชิรญา แก่นจันทร์ และ จุฑาทิพย์ โพธิ์อุบล |
| 253-256 | ผลของอุณหภูมิและอายุการเก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสรีรวิทยาและคุณภาพของผลโกโก้<br>นัฐริษา ลิ่มจำเริญ อดิเรก รักคง สุภาณี ชนะวีรวรรณ และ ระวี เจียรวิภา |
| 257-260 | ระยะปลูกที่เหมาะสมสำหรับการผลิตงาอินทรีย์ในชุดดินสันทราย<br>เนตรนภา อินสลุด พีรพันธ์ ทองเปลว และ ปริญญา มรดกพนา |
| 261-264 | ผลการกระตุ้นการงอกเมล็ดแคคตัส (*Gymnocalycium* sp.) ด้วยแสง light emission diode และฮอร์โมนจิบเบอเรลลิน<br>พงศกร นิตย์มี ณรงค์ศักดิ์ กุลกรินีธรรม จักรกฤษณ์ ศรีแสง เตชิตา ปิ่นสันเทียะ ภัทรา ประทับกอง<br>เรวัตร จินดาเจี่ย พงษ์ศักดิ์ แก้วศรี และ สุรสิทธิ์ วงษ์สัจจานันท์ |
| 265-268 | ศึกษาเปรียบเทียบการเติบโตและผลผลิตของพริกขี้หนูหัวเรือ<br>สุดใจ ล้อเจริญ จีรภา ออสติน จันทนา โชคพาชื่น และ รัชนี ศิริยาน |

# สารบัญ


| หน้า | ชื่อเรื่อง และผู้เขียน |
|---|---|
| 269-272 | เปรียบเทียบการเติบโตและผลผลิตของพริกช่อในศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษและไร่เกษตรกร<br>สุดใจ ล้อเจริญ จีรภา ออสติน จันทนา โชคพาชื่น และ รัชนี ศิริยาน |
| 273-276 | การวิเคราะห์การท่องเที่ยวโดยชุมชนบ้านถ้ำเสือ: การประยุกต์ปรัชญาของเศรษฐกิจพอเพียง<br>สาวิตรี รังสิภัทร์ |
| 277-280 | องค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยของพืชสกุลขมิ้นที่เก็บรวบรวมจากพื้นที่สูงภูทับเบิก<br>อภิญญา วงศ์เปี้ย ชลลดา สามพันพวง ธีรภัทร เหลืองศุภบูลย์ กัญญาภรณ์ พิพิธแสงจันทร์<br>วินัย สมประสงค์ และ สมชาย บุญประดับ |
| 281-284 | ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจากตับอ่อนและเอนไซม์คอเลสเตอรอลเอสเทอเรส<br>ของสารสกัดกากน้ำตาล<br>สุภาภรณ์ เลขวัต และ อุบลวรรณา ศรีมงคลลักษณ์ |
| 285-288 | ผลของการสกัดด้วยเอนไซม์ต่อคุณภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสทจากรำข้าว<br>เรวดี มีสัตย์ วีรยุทธ พรหมจันทร์ สดศรี เนียมเปรม และ กุศล เอี่ยมทรัพย์ |
| 293-296 | ผลของอุณหภูมิอบแห้งต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ<br>และการอยู่รอดของเชื้อโพรไบโอติกในโยเกิร์ตผงจากถั่วลูกไก่หลังการทำแห้งแบบพ่นฝอย<br>อุบลวรรณา ศรีมงคลลักษณ์ นภสร นิ่มกลิ่น และ สุภาภรณ์ เลขวัต |
| 297-300 | การศึกษาการอบแห้งโฟมสาหร่ายผักกาดทะเลด้วยอากาศร้อนและอากาศร้อนร่วมกับการแผ่รังสีอินฟราเรดไกล<br>รติยา ธุวพาณิชยานันท์ ดลฤดี ใจสุทธิ์ อนุสรณ์ เชื้อสามารถ และ จันทนา ไพรบูรณ์ |
| 301-304 | ประเมินพันธุ์ข้าวโพดหวานสีม่วงแดงที่เหมาะกับการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ไอศกรีมและชาจากไหม<br>ชฎามาศ จิตต์เลขา บงกชมาศ โสภา เสาวนีย์ ฝัดศิริ และ ชูศักดิ์ จอมพุก |
| 305-308 | ชนิดและอัตราส่วนของถ่านชีวภาพจากเปลือกเสาวรสและเปลือกมะขามต่อการเจริญเติบโต และผลผลิต<br>ของผักกาดขาวปลี ที่ปลูกในพื้นที่ตำบลหนองแม่นา อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์<br>เกศศิรินทร์ แสงมณี และ อิสระ ตั้งสุวรรณ์ |
| 309-312 | การคัดเลือกพันธุ์มะเขือเทศต้านทานโรคเหี่ยวเขียว<br>รัชนี ศิริยาน เสาวนี เขตสกุล จีรภา ออสติน วีรยุทธ ดัดตนรัมย์ รุ่งนภา ทองเครือ<br>และ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล |
| 313-316 | การตรวจสอบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ทุเรียนฟรีซดราย<br>ชาลินี พินผึ้ง เบญจวรรณ ธรรมธนารักษ์ และ สาวิตรี วทัญญูไพศาล |
| 317-320 | ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยจากพืชวงศ์กะเพราบางชนิดต่อเชื้อสเตร็ปโตคอคคัสมิวแทนส์<br>เพลินพิศ ยะสินธ์ เยี่ยมศิริ มณีพิสมัย และ เพชรรัตน์ ไกรวพันธุ์ |
| 321-324 | ผลของคาราจีแนนต่อคุณภาพพุดดิ้งธัญชาติ<br>ธนวรรณ เพ็งชัย และ ศยามน ปริยาจารย์ |

## สารบัญ


| หน้า | ชื่อเรื่อง และผู้เขียน |
|---|---|
| 325-328 | การวิเคราะห์ปริมาณไซยาไนด์ในมันสำปะหลังแผ่นด้วยเทคนิคสเปกโตรสโคปีโดยใช้ปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบสีม่วงไดแอนไอออนของโอไนโตรฟีนิลไฮดรอกซีลามีน<br>นงนุช สังข์อยุทธ์ ชนากานต์ นาคเวช สวามินี ไชยสวัสดิ์ กนกพร ไตรวิทยากร และ รุ่งทิวา วงศกรทรัพย์ |
| 329-332 | การพัฒนาผลิตภัณฑ์เส้นบะหมี่อบแห้งเสริมผงจิ้งหรีด<br>อรลัดา เจือจันทร์ กัญญามาศ สายยศ และ อภิญญา การะเกต |
| 333-336 | ประสิทธิภาพของสารสกัดจากรังไหมต่อการลดการเกิดสีน้ำตาลของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ตัดแต่งพร้อมบริโภค<br>ชลิดา ฉิมวารี สุริยัณห์ สุภาพวานิช เฉลิมชัย วงษ์อารี ชัยรัตน์ เตชวุฒิพร รชา เทพษร และ พนิดา บุญฤทธิ์ธงไชย |
| 337-340 | ผลของสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่สกัดด้วยเอทานอลและเอทิลอะซิเตรตต่อการยับยั้งเชื้อราโรงเก็บในเมล็ดพันธุ์ทานตะวัน<br>นิภาดา ราญมีชัย และ ทรงศิลป์ พจน์ชนะชัย |
| 341-344 | อิทธิพลของฤดูและความเข้มข้นของน้ำตาลต่อการติดเมล็ดและพัฒนาฝักของข้าวโพดหวานฮอกไกโด<br>กฤษณา บุญศิริ พัชราภรณ์ สมศรี สุทธิพงศ์ ร่มรื่น และ กาญจนา เหลืองสุวาลัย |
| 345-348 | การชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนข้อพลูคาวในสภาพหลอดทดลองเพื่อการผลิตพืชสมุนไพรอย่างมีคุณภาพ<br>วรารัตน์ ศรีประพัฒน์ ประกาย อ่อนวิมล ภุมรินทร์ วณิชชนานันท์ และ สุพินญา บุญมานพ |
| 349-352 | พรีไบโอติกจากแป้ง 6 ชนิดที่เหมาะสมสำหรับจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่มีความสัมพันธ์กับโรคลำไส้แปรปรวน<br>ศศิวิมล พลเยี่ยม สุภัจรี เรืองสมวงษ์ และ สุภาภรณ์ เลขวัต |
| 353-356 | ผลของบรรจุภัณฑ์ขายปลีกต่อคุณภาพ และการประเมินอายุการวางจำหน่ายของกล้วยหอมทอง [*Musa* (AAA group, ‘Gros Mitchel’ sub.)]<br>วิสะนี เหนือเมฆิน รัชนีวรรณ กุลจันทร์ พรธีรา รัตนรัตน์ และ ภัทรพร เรียงภิรมย์ |
| 357-360 | อิทธิพลของการอบแห้งที่มีต่อสมบัติและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของแผ่นฟิล์มขิงละลายในช่องปาก<br>ศิรดา สังสินชัย ธีร์ธวัช เพชรพรประภาส นนท์กฤช ฮุนศรีนพรัตน์ กิตติธัช ศิริเวชพงศ์กุล และ ชลิดา เนียมนุ้ย |
| 361-364 | การพัฒนาแผ่นฟิล์มขิงละลายในช่องปาก<br>ศิรดา สังสินชัย ธีรพัฒน์ เติมธีรพรพิมล ธีรานุช ศรีศรัณยา ภัทรา วัฒนพันธุ์ และ ชลิดา เนียมนุ้ย |
| 365-368 | การสกัดพอลิแซคคาไรด์จากว่านหางจระเข้ด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคที่มีของเหลวไอออนิกเป็นองค์ประกอบ และตรวจวัดปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวในพอลิแซคคาไรด์ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง<br>มณีรัตน์ มีพลอย รัตนศิริ จิวานนท์ และ เสาวลักษณ์ เรืองศรี |
| 369-372 | ผลของการปรับสภาพที่สภาวะต่างๆ ต่อการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของกากยีสต์<br>ณัฐหทัย สุทธิวงษ์ และ ปิยดา สุขดี |

## สารบัญ


| หน้า | ชื่อเรื่อง และผู้เขียน |
|---|---|
| 373-376 | ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเปลือกมันฝรั่งที่หมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Rhizopus oryzae* ต่อฤทธิ์ต้านการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase<br>ณัฐหทัย สุทธิวงษ์ ปิยดา สุขดี เพ็ญนภา ชลปฐมพิกุลเลิศ และวสวัตติ์ ดำรงค์ธวัชชัย |
| 377-380 | พิษเฉียบพลันของสารสกัดใบมะรุมต่อปลานิลแดง<br>จิราพร กุลคำ  สมิง จำปาศรี  กิตติมา วานิชกูล และ วราภรณ์ ใจเย็น |
| 381-384 | ผลของกากน้ำตาล และคาร์บอกซีเมลทิลเซลลูโลสที่ผลิตจากอุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาลต่อการผลิตคุกี้เพื่อสุขภาพ<br>วราภรณ์ ศรเดช และ สุภาภรณ์ เลขวัต |
| 385-388 | การศึกษาระยะเวลาในการให้น้ำที่เหมาะสมสำหรับการปลูกข้าวไรซ์เบอรี่ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและผลผลิต<br>เรวัตร จินดาเจี่ย จักรกฤษณ์ ศรีแสง พงษ์ศักดิ์ แก้วศรี จรรยา มุ่งงาม บัณฑิตา เพ็ญสุริยะ และ น้ำฝน ชาชัย |
| 389-392 | ผลของการประยุกต์ใช้ปุ๋ยหมักจากมูลโคนมต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวไรซ์เบอรี่<br>จรรยา มุ่งงาม สุรสิทธิ์ วงษ์สัจจานันท์ พงศกร นิตย์มี เตชิตา ปิ่นสันเทียะ ภัทรา ประทับกอง และ เรวัตร จินดาเจี่ย |
| 393-396 | ปริมาณไขอ้อยที่ได้จากวัสดุเหลือทิ้งในกระบวนการผลิตน้ำตาล<br>ณัฐหทัย สุทธิวงษ์ เพ็ญนภา ชลปฐมพิกุลเลิศ และ ปิยดา สุขดี |
| 397-400 | ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากใบไชยา<br>ศศิธร ธงชัย และ จาตุรงค์ จงจีน |
| 401-404 | ผลของสารเคลือบผิวคาร์บอกซิลเมทิลเซลลูโลสจากใบข้าวโพด ต่อคุณภาพของพริกสดระหว่างการเก็บรักษา<br>นิตยา ภูงาม อรอุมา นิลดา วชิราภรณ์ เสาแก้ว ณัฎวลิณคล เศรษฐปราโมทย์ อาทิตยา ดวงสุพรรณ และ วีรเวทย์ อุทโธ |
| 405-408 | การศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระในมะม่วงหาวมะนาวโห่เพื่อพัฒนาเป็นเครื่องดื่มสุขภาพ<br>ชัชฎาพร องอาจ และ แสงอรุณ สมิงไพร |
| 409-412 | สภาวะที่เหมาะสมในการพาสเจอร์ไรส์พิวเร่เยื่อหุ้มเมล็ดและเนื้อฟักข้าวต่อปริมาณไลโคปีน และเบต้าแคโรทีน<br>ณัฎวลิณคล เศรษฐปราโมทย์ นิตยา ภูงาม และ ชณิชา จินาการ |

# ผลของวิธีการให้ความร้อนต่อการลดปริมาณจุลินทรีย์ในใบตำลึง
# Effect of Heating Method on the Reduction of Microorganisms in Ivy Gourd Leaves

จุฑาทิพย์ โพธิ์อุบล[1] กนกวรรณ พุ่มนิล[2] และ พริมา พิริยางกูร[2]
Poubol, J.[1], Phumnil, K.[2] and Phiriyangkul, P[2]

## Abstract

This research was studied on the effect of 3 heating methods at different times on the reduction of microorganisms in ivy gourd leaves. Ivy gourd leaves were washed with tap water and allowed to drain the water. They were treated with hot water at 100°C, steaming at 100°C and microwave at 425 watts for 1, 2, 3 and 4 min, and compared with untreated ivy gourd leaves as the control. Total bacteria, coliforms, yeasts and molds were enumerated in treated ivy gourd leaves varying different heating methods. The results showed that all heating methods could reduce total bacteria, coliforms, yeasts and molds in ivy gourd leaves. The longer duration of heating was correlated with lower microorganisms count. Steaming at 100°C for 4 min was the best treatment to reduce yeasts and molds in ivy gourd leaves.

**Keywords:** Ivy gourd, heating method, microorganism, microwave

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ ศึกษาผลของวิธีการให้ความร้อน 3 วิธี ที่ระยะเวลาต่าง ๆ กันต่อการลดปริมาณจุลินทรีย์ในใบตำลึง โดยนำใบตำลึงมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำประปาและผึ่งให้สะเด็ดน้ำ จากนั้นนำมาให้ความร้อนด้วยวิธีการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส การนึ่งด้วยไอน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส และการใช้ไมโครเวฟที่กำลังไฟฟ้า 425 วัตต์ เป็นเวลา 1 2 3 และ 4 นาที เปรียบเทียบกับใบตำลึงที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน (ชุดควบคุม) ตรวจวัดปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด โคลิฟอร์ม ยีสต์และราในใบตำลึงที่ผ่านการให้ความร้อนด้วยวิธีการต่าง ๆ ผลการทดลองพบว่าการให้ความร้อนในทุกวิธีการทดลองสามารถช่วยลดปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด โคลิฟอร์ม ยีสต์และราในใบตำลึงได้ โดยปริมาณจุลินทรีย์ลดลงมากขึ้นเมื่อระยะเวลาในการให้ความร้อนนานขึ้น การให้ความร้อนโดยการนึ่งด้วยไอน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 4 นาที ช่วยลดปริมาณยีสต์และราในใบตำลึงได้ดีที่สุด

**คำสำคัญ:** ตำลึง ความร้อน จุลินทรีย์ ไมโครเวฟ

## คำนำ

ปัจจุบันผู้บริโภคได้ให้ความสำคัญและใส่ใจต่อสุขภาพกันมากยิ่งขึ้น โดยจะเห็นได้จากความนิยมในการบริโภคผักและผลไม้ที่เพิ่มมากขึ้น ซึ่งผู้บริโภคสามารถหาซื้อได้ง่ายทั้งในตลาดสดและในซุปเปอร์มาร์เก็ต แต่อย่างไรก็ตามการบริโภคผักและผลไม้อาจก่อให้เกิดการเจ็บป่วยอันเนื่องมาจากการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค ตำลึงเป็นผักพื้นบ้านชนิดหนึ่งที่พบได้ทั่วไปตามป่าข้างทางและริมรั้วบ้าน มีคุณค่าทางโภชนาการโดยประกอบด้วยแคโรทีนอยด์ คลอโรฟิลล์ สารประกอบฟีนอล และวิตามินซี เป็นต้น อีกทั้งยังมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (พริมา และคณะ, 2557, 2561) ผู้บริโภคนิยมนำใบตำลึงมาประกอบเป็นอาหารชนิดต่าง ๆ เช่น ใบตำลึงต้มหรือลวกสำหรับจิ้มกับน้ำพริก แกงจืดหมูสับใบตำลึง ผัดใบตำลึงน้ำมันหอย และใบตำลึงชุบแป้งทอด เป็นต้น ซึ่งวิธีการต่าง ๆ ในการให้ความร้อนเพื่อประกอบอาหาร สามารถลดหรือกำจัดจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในใบตำลึงได้แตกต่างกัน Xiao และคณะ (2017) รายงานว่าการให้ความร้อนโดยวิธีการลวกด้วยน้ำร้อนและการใช้ไมโครเวฟสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ polyphenoloxidase (PPO) peroxidase (POD) และช่วยกำจัดสารเคมีตกค้างในผักและผลไม้ได้ นอกจากนี้ยังช่วยลดจำนวนจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในผักและผลไม้ เช่น ช่วยลดจำนวน *Salmonella* typhimurium ใน jalapeno peppers ใบผักชี (De La

---

[1] สาขาวิชาจุลชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140
Division of Microbiology, Department of Science, Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140
[2] สาขาวิชาชีวเคมี ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140
Division of Biochemistry, Department of Science, Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140

Vega-Miranda และคณะ, 2012) และแครอท (Dipersio และคณะ, 2007) และช่วยลดจำนวนยีสต์และราในแครอท (Jabbar และคณะ, 2014) งานวิจัยนี้สนใจศึกษาผลของวิธีการและระยะเวลาในการให้ความร้อนโดยการลวกในน้ำร้อน การนึ่งด้วยไอน้ำร้อน และการใช้ไมโครเวฟต่อการลดปริมาณจุลินทรีย์ในใบตำลึง

## อุปกรณ์และวิธีการ

### 1. การเตรียมใบตำลึงและการให้ความร้อน

งานวิจัยนี้ใช้ตำลึงที่มียอดอวบจากจังหวัดสุพรรณบุรี โดยเลือกใบตำลึงที่มีลักษณะสมบูรณ์ ในตำแหน่งระยะจากปลายยอดไม่เกิน 35 เซนติเมตร (พริมา และคณะ, 2557) เลือกใบที่มีขนาดใกล้เคียงกัน ผิวใบเรียบ ใบมีสีเขียวอ่อนไม่เหลือง ไม่ขาดหรือแหว่ง จากนั้นนำใบตำลึงที่ได้ไปล้างในตะกร้าล้างผักโดยการเปิดน้ำประปาให้ไหลผ่านเบา ๆ นาน 2 นาที จากนั้นหยิบใบตำลึงออกจากตะกร้าแล้วทิ้งให้สะเด็ดน้ำ นำไปล้างต่ออีกครั้งด้วยวิธีเดิมและผึ่งใบตำลึงให้สะเด็ดน้ำ แล้วนำไปผ่านความร้อนด้วยวิธีการต่าง ๆ (พริมา และคณะ, 2561) ดังนี้ 1) การลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส 2) การนึ่งด้วยไอน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส และ 3) การให้ความร้อนโดยใช้ไมโครเวฟ (ยี่ห้อ Sharp รุ่น R-3A88, ประเทศไทย) ที่กำลังไฟฟ้า 425 วัตต์ ซึ่งในแต่ละวิธีการให้ความร้อนจะใช้เวลานาน 1 2 3 และ 4 นาที เปรียบเทียบกับใบตำลึงในชุดควบคุมที่ไม่ได้ผ่านการให้ความร้อน (0 นาที) ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ

### 2. การตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ในใบตำลึง และการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของใบตำลึง

ตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ในใบตำลึงที่ผ่านการให้ความร้อนด้วยวิธีการและระยะเวลาต่าง ๆ กัน ได้แก่ แบคทีเรียทั้งหมด (total bacteria) โคลิฟอร์ม (coliforms) ยีสต์และรา (yeasts and molds) โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA), Eosin Methylene Blue Agar (EMB) และ Potato Dextrose Agar (PDA) ตามลำดับ รายงานผลเป็นค่า Log CFU/g (จุฑาทิพย์ และคณะ, 2556) และตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของใบตำลึงภายหลังจากที่ผ่านการให้ความร้อนด้วย digital thermometer (Fisher scientific, Germany) ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดย Duncan’s New multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

### 1. การเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ในใบตำลึงที่ผ่านการให้ความร้อนด้วยวิธีการต่าง ๆ

ใบตำลึงในชุดควบคุมซึ่งไม่ได้ผ่านการให้ความร้อน (0 นาที) มีจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด โคลิฟอร์ม ยีสต์และรา เท่ากับ 7.09 6.07 และ 5.91 Log CFU/g ตามลำดับ เมื่อผ่านการให้ความร้อนด้วยวิธีการต่าง ๆ พบว่าใบตำลึงมีจำนวนจุลินทรีย์ลดลงและมีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาในการให้ความร้อนนานขึ้น (Figure 1) การลวกใบตำลึงในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 1 2 3 และ 4 นาที มีผลทำให้จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดลดลงจาก 7.09 Log CFU/g เหลือ 7.05 6.92 6.85 และ 6.70 Log CFU/g ตามลำดับ ลดจำนวนโคลิฟอร์มจาก 6.07 Log CFU/g เหลือ 6.07 5.84 5.74 และ 5.60 Log CFU/g ตามลำดับ และลดจำนวนยีสต์และราจาก 5.91 Log CFU/g เหลือ 5.63 5.63 5.63 และ 5.50 Log CFU/g ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามระยะเวลาที่ใช้ในการลวกใบตำลึงไม่มีผลทำให้จำนวนจุลินทรีย์ลดลงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สำหรับการนึ่งใบตำลึงด้วยไอน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 1 2 3 และ 4 นาที พบว่ามีผลทำให้จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดลดลงจาก 7.09 Log CFU/g เหลือ 7.32 7.20 6.99 และ 6.98 Log CFU/g ตามลำดับ จำนวนโคลิฟอร์มลดลงจาก 6.07 Log CFU/g เหลือ 6.37 6.07 5.89 และ 6.05 Log CFU/g ตามลำดับ และจำนวนยีสต์และราลดลงจาก 5.91 Log CFU/g เหลือ 5.59 5.71 5.20 และ 4.81 Log CFU/g ตามลำดับ ซึ่งการนึ่งใบตำลึงด้วยไอน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 4 นาที ช่วยลดจำนวนยีสต์และราได้ดีที่สุด โดยลดปริมาณยีสต์และราลงได้ประมาณ 1 Log CFU/g (Figure 1C) ส่วนการให้ความร้อนกับใบตำลึงโดยใช้ไมโครเวฟที่กำลังไฟฟ้า 425 วัตต์ นาน 1 2 3 และ 4 นาที มีผลทำให้จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดลดลงจาก 7.09 Log CFU/g เหลือ 7.09 7.02 6.84 และ 6.62 Log CFU/g ตามลำดับ ลดจำนวนโคลิฟอร์มจาก 6.07 Log CFU/g เหลือ 5.19 5.63 5.83 และ 5.83 Log CFU/g ตามลำดับ และลดจำนวนยีสต์และราจาก 5.91 Log CFU/g เหลือ 5.90 5.86 5.76 และ 5.71 Log CFU/g ตามลำดับ ซึ่งการใช้ไมโครเวฟนาน 1 นาที ช่วยลดจำนวนโคลิฟอร์มได้ดีที่สุด เนื่องจากการใช้ไมโครเวฟทำให้เกิดความร้อนอย่างรวดเร็วจึงสามารถทำลายและลดปริมาณโคลิฟอร์มลงได้เกือบ 1 Log CFU/g (Figure 1B) ซึ่งแตกต่างจากใบตำลึงในชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่แตกต่างจากใบตำลึงที่ผ่านการใช้ไมโครเวฟเป็นเวลานาน 2-4 นาที

การให้ความร้อนด้วยวิธีการต่าง ๆ นาน 4 นาที สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้ดี เนื่องจากเป็นระยะเวลาที่ทำให้เซลล์ของจุลินทรีย์บนใบตำลึงถูกทำลายได้ดียิ่งขึ้นเมื่ออยู่ในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมดังกล่าวเป็นระยะเวลานาน โดยพบว่าการนึ่งด้วยไอ

น้ำร้อนช่วยลดปริมาณยีสต์และราในใบตำลึงได้ดีที่สุด แต่อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพในการกำจัดจุลินทรีย์แตกต่างกันไปตามวิธีการ ระยะเวลา และชนิดของผักและผลไม้ มีรายงานว่าการลวกกะหล่ำปลีโดยใช้ไอน้ำ (steam blanching) นาน 2 นาที ช่วยลดการปนเปื้อนของ *Salmonella* จาก 6.4 Log CFU/g เหลือ 3.6 Log CFU/g (Phungamngoen และคณะ, 2013) ในขณะที่การลวก jalapeno peppers และใบผักชี โดยใช้ไมโครเวฟ (microwave blanching) ช่วยลดจำนวน *Salmonella* typhimurium ได้ประมาณ 4-5 log CFU/g (De La Vega-Miranda และคณะ, 2012)

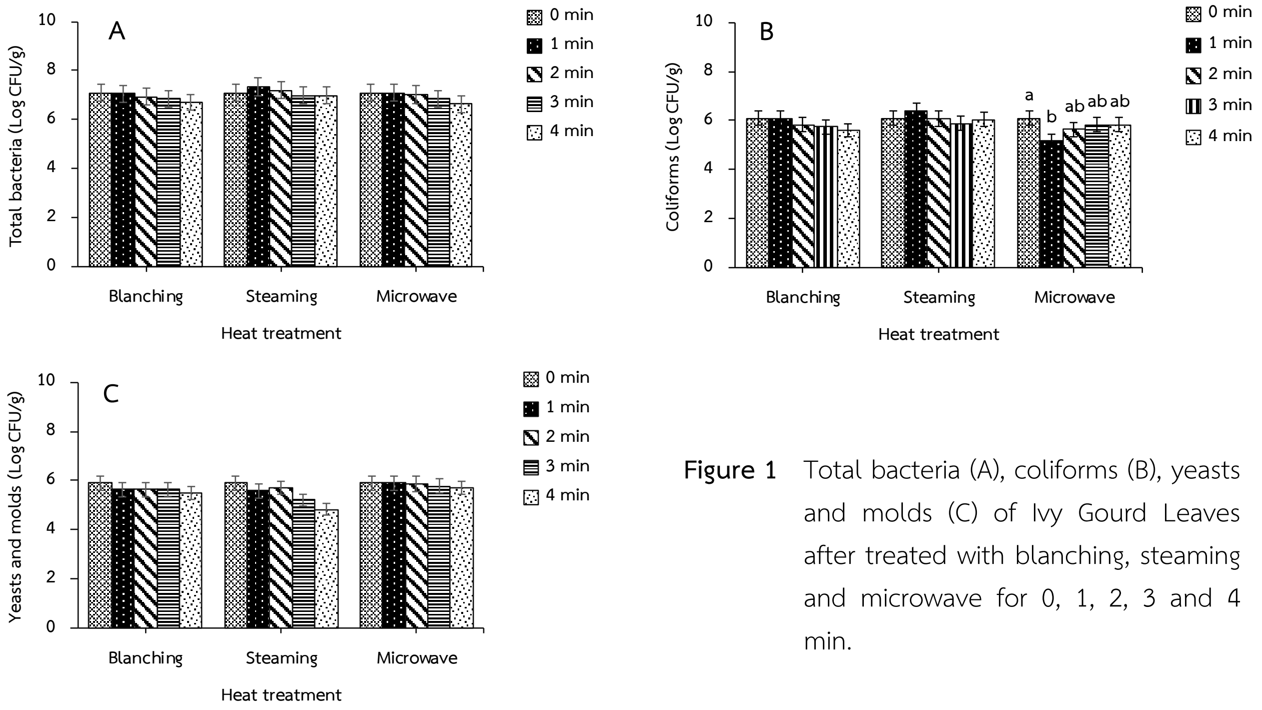



**Figure 1** Total bacteria (A), coliforms (B), yeasts and molds (C) of Ivy Gourd Leaves after treated with blanching, steaming and microwave for 0, 1, 2, 3 and 4 min.

**2. การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของใบตำลึงที่ผ่านการให้ความร้อนด้วยวิธีการต่าง ๆ**

จากการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในใบตำลึงภายหลังจากที่ผ่านการให้ความร้อนด้วยวิธีการต่าง ๆ พบว่าใบตำลึงที่ผ่านการลวก การนึ่ง และการใช้ไมโครเวฟ เป็นเวลานาน 1-4 นาที มีอุณหภูมิลดลงอย่างรวดเร็วจาก 100 องศาเซลเซียส เหลือประมาณ 60-90 องศาเซลเซียส ภายใน 1 นาทีหลังจากที่เสร็จสิ้นกระบวนการให้ความร้อน และอุณหภูมิของใบตำลึงจะลดลงจนถึงอุณหภูมิห้อง (25±2 องศาเซลเซียส) ภายในเวลา 28-35 นาทีหลังจากเสร็จสิ้นกระบวนการให้ความร้อน (Figure 2) จากการทดลองพบว่าวิธีการนึ่งมีการลดลงของอุณหภูมิในใบตำลึงเร็วที่สุด รองลงมาคือ วิธีการใช้ไมโครเวฟ และวิธีการลวก ตามลำดับ และระยะเวลาในการลดลงของอุณหภูมิในใบตำลึงจะสั้นลงเมื่อระยะเวลาในการให้ความร้อนด้วยวิธีการต่าง ๆ สั้นลง ที่เป็นเช่นนี้เนื่องมาจากการนึ่งเป็นการให้ความร้อนโดยใช้ไอน้ำร้อน จึงทำให้การถ่ายเทของความร้อนและการแทรกซึมของไอน้ำกับใบตำลึงและสภาพบรรยากาศรอบ ๆ ใบตำลึงเกิดขึ้นได้เร็วกว่าการให้ความร้อนโดยการใช้ไมโครเวฟ ซึ่งเป็นความร้อนที่เกิดจากการสั่นสะเทือนของๆ เหลวภายในเซลล์ ในขณะที่การลวกใบตำลึงในน้ำร้อนเป็นการใช้น้ำเป็นตัวกลางในการถ่ายเทความร้อน เมื่อเปรียบเทียบกับการลดจำนวนจุลินทรีย์ที่พบว่าการนึ่งโดยการใช้ไอน้ำร้อนนาน 4 นาที ช่วยลดจำนวนยีสต์และราในใบตำลึงได้ดีที่สุด (Figure 1C) อาจเนื่องจากไอน้ำสามารถแทรกซึมเข้าสู่ใบตำลึงและเซลล์ของยีสต์และราได้ดีเซลล์ของแบคทีเรียและโคลิฟอร์มเช่นเดียวกับการลดลงของความร้อนที่เกิดขึ้นได้เร็วกว่าวิธีการให้ความร้อนแบบอื่น ๆ

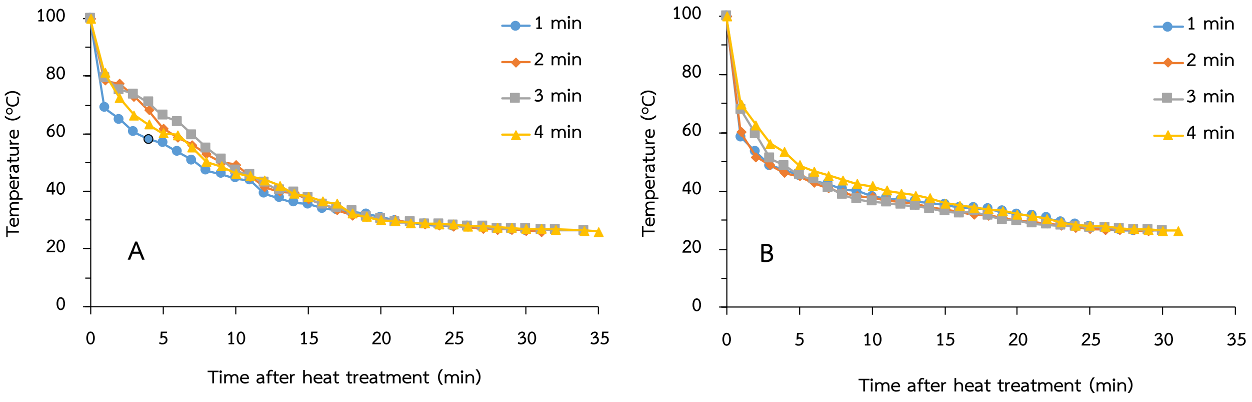
## สรุปผล

วิธีการให้ความร้อนด้วยการลวก การนึ่ง และการใช้ไมโครเวฟ นาน 4 นาที ช่วยลดจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด โคลิฟอร์ม ยีสต์และราในใบตำลึงได้ดี โดยการนึ่งใบตำลึงด้วยไอน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 4 นาที สามารถช่วยลดปริมาณยีสต์และราในใบตำลึงได้ดีที่สุด

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณหลักสูตรวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขต

กำแพงแสน และขอขอบคุณหน่วยวิจัยคุณภาพและความปลอดภัยของอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



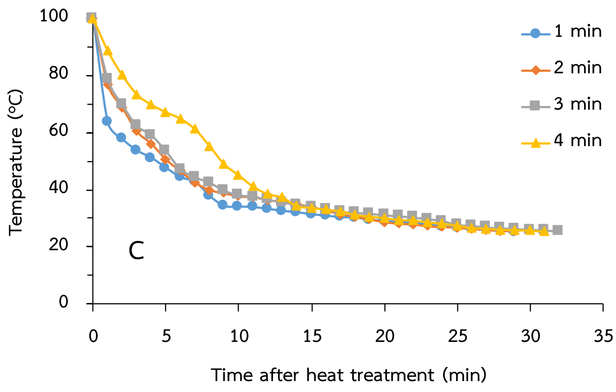




**Figure 2** Temperature changes of Ivy Gourd Leaves after treated with blanching (A), steaming (B) and microwave (C) for 0, 1, 2, 3 and 4 min.

## เอกสารอ้างอิง

จุฑาทิพย์ โพธิ์อุบล บุญจิรา เกียวสัมพันธ์ และพริมา พิริยางกูร, 2556, ผลของการใช้สารเคลือบกรดฟูมาริกต่อการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในบร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภค, วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 44(3): 314-317.

พริมา พิริยางกูร กนกวรรณ พุ่มนิล และจุฑาทิพย์ โพธิ์อุบล, 2557, ผลของวิธีการปรุงต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ คลอโรฟิลล์และคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของใบตำลึง, วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 45(2) (พิเศษ): 653-656.

พริมา พิริยางกูร กนกวรรณ พุ่มนิล และจุฑาทิพย์ โพธิ์อุบล, 2561, ผลของวิธีการปรุงต่อปริมาณฟีนอลิก วิตามินซี และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในใบตำลึง, วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 49(2)(พิเศษ): 553-556.

De La Vega-Miranda, B., Santiesteban-Lopez, N.A., Lopez-Malo, A. and Sosa-Morales M.E., 2012, Inactivation of *Salmonella typhimurium* in Fresh Vegetables Using Water-assisted Microwave Heating, Food Control, 26: 19-22.

Dipersio, P.A., Kendall, P.A., Yoon, Y., and Sofos, J.N., 2007, Influence of Modified Blanching Treatments on Inactivation of *Salmonella* During Drying and Storage of Carrot Slices, Food Microbiology, 24: 500-507.

Jabbar, S., Abid, M., Hu, B., Wu, T., Hashim, M.M. and Lei, S., 2014, Quality of Carrot Juice as Influenced by Blanching and Sonication Treatments, LWT–Food Science and Technology, 55: 16-21.

Phungamngoen, C., Chiewchan, C. and Devahastin, S., 2013, Effects of Various Pretreatments and Drying Mthods on *Salmonella* Resistance and Physical Properties of Cabbage, Journal of Food Engineering, 115: 237-244.

Xiao, H.W., Pan, Z., Deng, L.Z., El-Mashad, H.M., Yang, X.H., Mujumdar, A.S., Gao, Z.J. and Zhang, Q., 2017, Recent Developments and Trends in Thermal Blanching – A Comprehensive Review, Information Processing in Agriculture, 4(2): 101-127.

# การบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศต่อคุณภาพเมล็ดในพริกแห้งพันธุ์ ‘หัวเรือ’ ระหว่างการเก็บรักษา
# Modified Atmosphere Packaging on Seed Quality in Dried Chili ‘Hua Rue’ during Storage

วิศณีย์ โพธิ์หล้า[1] เฉลิมชัย วงษ์อารี[1,2] วาริช ศรีละออง[1,2] และ ทรงศิลป์ พจน์ชนะชัย[1,2]
Pola, W.[1], Wong-Aree, C.[1,2], Srilaong, V.[1,2] and Photchanachai, S.[1,2]

## Abstract

This research was conducted to investigate the effect of modified atmosphere packaging (MAP) on the seed quality of dried chili during storage. The treatments were the following: (a) 100% $CO_2$, (b) 100% $N_2$, (c) vacuum, and (d) normal air (control). Samples were divided into two groups: (1) kept in cold condition (0 ± 2 °C) and (2) stored at ambient condition (28 ± 2 °C). The germination was declined throughout the storage period, particularly at ambient condition. Vacuum-packed samples stored at cold condition tended to delay the losses of seed quality during the 3$^{rd}$ and 6$^{th}$ month, followed by the 100% $CO_2$ and 100% $N_2$. In contrast to the stored in the control, wherein it had high percentage of germination after 3 months but declined after the 6$^{th}$ month. Thus, the cold condition and the reduction of oxygen is recommended to prolong seed quality of dried chili during storage.

**Keywords:** Dried chili, Germination, MAP, Seed

## บทคัดย่อ

จากการศึกษาการดัดแปลงบรรยากาศในบรรจุภัณฑ์ต่อคุณภาพเมล็ดในพริกแห้งในระหว่างการเก็บรักษา โดยมีชุดการทดลองดังนี้ (1) $CO_2$ 100% (2) $N_2$ 100% (3) vacuum และ (4) อากาศปกติ (ชุดควบคุม) และแบ่งตัวอย่างเป็น 2 ชุด ชุดแรกเก็บในห้องเย็น (0 ± 2 °C) และชุดที่สองเก็บในห้องปกติ (28 ± 2 °C) นาน 3 และ 6 เดือน พบว่า เมล็ดมีความงอกลดลงตามอายุการเก็บรักษาที่นานขึ้น อย่างไรก็ตาม การเก็บที่ 3 เดือน ด้วยการบรรจุแบบ vacuum ในสภาวะห้องเย็น มีแนวโน้มช่วยชะลอการสูญเสียความงอกของเมล็ดได้สูงเท่ากับชุดควบคุม (อากาศปกติ) แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการบรรจุใน $CO_2$ 100% และภายหลัง 6 เดือน เมล็ดที่เก็บในห้องเย็นและบรรจุแบบ vacuum ยังคงความงอกสูงที่สุด ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการบรรจุใน $CO_2$ 100% และ $N_2$ 100% แต่สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญกับชุดควบคุม ดังนั้น วิธีการเก็บรักษาด้วยการลดปริมาณออกซิเจนในห้องเย็น อาจเป็นอีกหนึ่งวิธีที่ช่วยยืดอายุของเมล็ดในพริกแห้งระหว่างการเก็บรักษาได้

**คำสำคัญ:** การดัดแปลงสภาพอากาศ ความงอก พริกแห้ง เมล็ด

## คำนำ

การผลิตเมล็ดพันธุ์พริกโดยทั่วไป ได้จากผลพริกสดที่สุกแก่และนำเข้าสู่ขบวนการผลิตให้ได้เมล็ดพันธุ์ต่อไป แต่การนำเมล็ดออกจากเนื้อผลซึ่งเป็นส่วนห่อหุ้มออก จะมีโอกาสที่เมล็ดจะเสื่อมสภาพเร็วขึ้น โดยเฉพาะการเก็บรักษาในสภาวะที่ไม่เหมาะสมเป็นเวลานาน ดังนั้น การเก็บรักษาเมล็ดในลักษณะของพริกแห้ง อาจช่วยรักษาคุณภาพของเมล็ดได้ดีกว่าและทำให้เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกได้ยาวนานขึ้น เพราะมีส่วนห่อหุ้มที่ช่วยป้องกันความเสียหายได้ดีกว่าการเก็บรักษาในลักษณะของเมล็ด เช่น ป้องกันความชื้นอากาศ และ/หรือ การเข้าทำลายจุลินทรีย์ เป็นต้น อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีงานวิจัยการเก็บรักษาคุณภาพเมล็ดพันธุ์พริกในผลพริกแห้งอย่างจริงจัง มีรายงานว่า การเก็บรักษาถั่วลิสงในลักษณะเป็นฝัก (pod) ช่วยยืดอายุให้เมล็ดคงความงอกได้ดีและนานกว่าการเก็บรักษาด้วยเมล็ด (kernel) (Sujatha และคณะ, 2018) นอกจากนี้ สิ่งสำคัญที่ช่วยยืดอายุเมล็ดได้ คือ สภาวะการเก็บรักษา ซึ่งมีหลายปัจจัยเกี่ยวข้องกับการงอกของเมล็ดในระหว่างการเก็บรักษา เช่น ความชื้น อุณหภูมิ ออกซิเจน ลักษณะทางพันธุกรรม อายุของเมล็ดองค์ประกอบทางเคมีในเมล็ด และการพักตัว เป็นต้น ดังนั้น จึงจำเป็นต้องคำนึงถึงและให้ความสำคัญกับปัจจัยเหล่านี้ในระหว่างการเก็บ

[1] หลักสูตรเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี กรุงเทพมหานคร 10140
[2] ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม กรุงเทพมหานคร 10400

รักษาทั้งในรูปแบบเมล็ดพันธุ์และเมล็ดที่ยังอยู่ในผลพริกแห้ง สำหรับเทคนิคหนึ่งที่ได้รับความนิยมในงานด้านเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คือ การรักษาอุณหภูมิให้เหมาะสม และการปรับสภาพบรรยากาศภายในบรรจุภัณฑ์ (modified atmosphere packaging; MAP) ด้วยการปรับอัตราส่วนของก๊าซออกซิเจน ($O_2$) คาร์บอนไดออกไซด์ ($CO_2$) และไนโตรเจน ($N_2$) หรือกล่าวอีกนัยหนึ่ง คือ เป็นการลดปริมาณ $O_2$ ในบรรจุภัณฑ์ให้พืชแต่ละชนิดมีการหายใจในอัตราที่ลดลง โดยความเหมาะสมของปริมาณก๊าซที่จะไม่ก่อให้เกิดความเสียหายขึ้นอยู่กับชนิดและลักษณะของผลผลิต ในผักและผลไม้สดมีระดับก๊าซที่แนะนำ เช่น $O_2$ 3 – 5% : $CO_2$ 3 – 5% : $N_2$ 85 – 95% ตามลำดับ (Soltani และคณะ, 2015) สำหรับผลผลิตแห้ง เช่น $N_2$ 100% หรือ $CO_2$ 100% (Parry, 1993) เป็นต้น ซึ่งจะช่วยยืดอายุทั้งในระหว่างการวางจำหน่ายและการเก็บรักษาได้ในระยะยาว (Gorris และ Peppelenbos, 2007) ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเก็บรักษาพริกแห้งพันธุ์ ‘หัวเรือ’ ด้วยการปรับสภาพอากาศภายในบรรจุภัณฑ์ และการควบคุมอุณหภูมิต่อคุณภาพของเมล็ดในระหว่างการเก็บรักษา

## อุปกรณ์และวิธีการ

นำพริกสุกสีแดงพันธุ์ ‘หัวเรือ’ มาอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (LH-120 DN, Lee-Hwa Industry CO., ประเทศเกาหลี) ที่อุณหภูมิ 45 °C (ประมาณ 38 ± 1 ชั่วโมง) จนกระทั่งพริกแห้งมีความชื้นประมาณ 10 ± 1% จากนั้นบรรจุพริกแห้งจำนวน 100 กรัมต่อถุง จำนวน 4 ซ้ำ ในถุงพลาสติก (โพลีเอทิลีน) ที่มีขนาด 200×300 มิลลิเมตร หนา 117 ไมโครเมตร และปรับสภาพอากาศภายในถุง ดังนี้ (1) $CO_2$ 100% (2) $N_2$ 100% (3) Vacuum และ (4) อากาศปกติ (ชุดควบคุม) จากนั้นแบ่งตัวอย่างการบรรจุออกเป็น 2 ชุด โดยชุดแรกเก็บรักษาในห้องเย็น (0 ± 2 °C และความชื้นสัมพัทธ์ 60 ± 2%) และชุดที่สองเก็บในห้องปกติ (28 ± 2 °C และความชื้นสัมพัทธ์ 70 ± 5%) เป็นเวลา 3 และ 6 เดือน จากนั้นสุ่มพริกแห้งและแกะเมล็ด เพื่อทดสอบความงอกตามวิธีมาตฐานของ ISTA (2007) และการทดสอบความมีชีวิตของเมล็ด (Tetrazolium test; TZ) (Sawma และ Mohler, 2002) โดยการทดลองได้วางแผนเป็นแบบ complete randomized design (CRD) นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีตเมนต์ด้วยวิธี Tukey’s significant difference test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

## ผลการทดลอง

จากการศึกษาคุณภาพของเมล็ดที่เก็บรักษาในลักษณะของพริกแห้ง โดยเมล็ดมีความงอกเริ่มต้นเท่ากับ 72.0% และหลังจากการเก็บรักษาพริกแห้งนาน 3 และ 6 เดือน พบว่า เมล็ดมีความงอกลดลงตามอายุการเก็บรักษาที่นานขึ้น (Table 1) เมื่อพิจารณาการดัดแปลงบรรยากาศในบรรจุภัณฑ์ (MAP) ของพริกแห้ง พบว่า มีผลต่อการงอกของเมล็ดในระหว่างการเก็บรักษาแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับระยะเวลาและอุณหภูมิที่เก็บรักษา โดยการบรรจุใน Vacuum + 0 °C (T3) เป็นเวลา 3 เดือน มีแนวโน้มช่วยชะลอการสูญเสียความงอกของเมล็ดได้สูงเท่ากับ Normal air + 0 °C (T4) โดยเมล็ดมีความงอก 68.0% แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการบรรจุใน $CO_2$ 100% + 0 °C (T1) ที่มีความงอกเท่ากับ 63.25% ตรงข้ามกับการเก็บรักษาใน $N_2$ 100% + 0 °C (T2) และ $N_2$ 100% + 28 °C (T6) ที่มีแนวโน้มให้เปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำที่สุด สำหรับจำนวนต้นกล้าผิดปกติ (Abnormal seedling) และเมล็ดไม่งอก (Ungerminated seed) ที่ 3 เดือน มีแนวโน้มพบมากที่สุดในกลุ่มพริกแห้งที่เก็บรักษาในห้องปกติ โดยจำนวนต้นกล้าผิดปกติ พบมากที่สุดใน $CO_2$ 100% + 28 °C (T5) แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการเก็บใน $N_2$ 100% + 0 °C (T2), $N_2$ 100% + 28 °C (T6) และ Normal air + 28 °C (T8) ในขณะที่ การบรรจุใน $N_2$ 100% + 28 °C (T6) มีเมล็ดที่ไม่งอกเป็นจำนวนมากที่สุด

ภายหลังการเก็บรักษานาน 6 เดือน พบว่า ความงอกของเมล็ดที่เก็บใน Vacuum + 0 °C (T3) ยังคงมีแนวโน้มสูงกว่าทรีตเมนต์อื่น ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับการบรรจุใน Normal air + 0 °C (4) และกลุ่มพริกแห้งที่เก็บที่ 28 °C (T5 – T8) แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการเก็บใน $CO_2$ 100% + 0 °C (T1) และ $N_2$ 100% + 0 °C (T2) สำหรับต้นกล้าผิดปกติ พบว่า มีจำนวนเพิ่มขึ้นในกลุ่มพริกแห้งที่เก็บในห้องเย็น ซึ่งพบมากที่สุดใน $CO_2$ 100% + 0 °C (T1) และ Normal air + 0 °C (T4) ในขณะที่ ลดลงในกลุ่มที่เก็บในห้องปกติ ซึ่งสอดคล้องกับเมล็ดไม่งอกที่มีจำนวนเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะเมื่อเก็บใน $CO_2$ 100% + 28 °C (T5), $N_2$ 100% + 28 °C (T6) และ Normal air + 28 °C (T8) และจำนวนเมล็ดตายมากที่สุดใน $N_2$ 100% + 28 °C (T6) และ Vacuum + 28 °C (T7) ตามลำดับ

**Table 1** Germination of seed in dried chili 'Hua Rue' after packed in the plastic film bags with different modified atmosphere packaging (MAP) and stored under cold (0 ± 2 °C) and ambient (28 ± 2 °C) conditions for 3 and 6 months.

| Treatments | Germination (%) | Abnormal seedling | Ungerminated seed | Dead seed |
|---|---|---|---|---|
| **Initial value (Day 0)** | 72.00 | 12.25 | 6.25 | 6.00 |
| **3 Months** | | | | |
| **T1: 0 °C + 100% $CO_2$** | 63.25 $^{ab}$ | 29.00 $^{bc}$ | 7.25 $^{d}$ | 2.00 |
| **T2: 0 °C + 100% $N_2$** | 55.00 $^{cd}$ | 31.75 $^{ab}$ | 12.25 $^{b}$ | 2.00 |
| **T3: 0 °C + Vacuum** | 68.00 $^{a}$ | 23.25 $^{cd}$ | 8.50 $^{cd}$ | 1.00 |
| **T4: 0 °C + Normal air** | 68.00 $^{a}$ | 21.50 $^{d}$ | 9.50 $^{bcd}$ | 2.00 |
| **T5: 28 °C + 100% $CO_2$** | 51.75 $^{de}$ | 35.25 $^{a}$ | 12.25 $^{b}$ | 1.00 |
| **T6: 28 °C + 100% $N_2$** | 47.75 $^{e}$ | 32.00 $^{ab}$ | 19.00 $^{a}$ | 1.30 |
| **T7: 28 °C + Vacuum** | 60.00 $^{bc}$ | 27.25 $^{bcd}$ | 12.00 $^{bc}$ | 1.00 |
| **T8: 28 °C + Normal air** | 57.80 $^{bcd}$ | 30.00 $^{ab}$ | 12.00 $^{bc}$ | 1.00 |
| **F-test** | **<.0001** | **<.0001** | **<.0001** | **ns** |
| **C.V. (%)** | **5.19** | **8.64** | **13.44** | **20.08** |
| **6 Months** | | | | |
| **T1: 0 °C + 100% $CO_2$** | 58.25 $^{ab}$ | 37.00 $^{a}$ | 4.00 $^{c}$ | 1.50 $^{d}$ |
| **T2: 0 °C + 100% $N_2$** | 54.75 $^{ab}$ | 32.00 $^{ab}$ | 12.25 $^{c}$ | 2.30 $^{d}$ |
| **T3: 0 °C + Vacuum** | 59.75 $^{a}$ | 30.00 $^{b}$ | 9.50 $^{c}$ | 1.50 $^{d}$ |
| **T4: 0 °C + Normal air** | 49.75 $^{b}$ | 37.75 $^{a}$ | 11.50 $^{c}$ | 2.00 $^{d}$ |
| **T5: 28 °C + 100% $CO_2$** | 32.00 $^{c}$ | 4.25 $^{d}$ | 57.50 $^{a}$ | 6.25 $^{b}$ |
| **T6: 28 °C + 100% $N_2$** | 22.50 $^{d}$ | 4.25 $^{d}$ | 63.50 $^{a}$ | 9.75 $^{a}$ |
| **T7: 28 °C + Vacuum** | 36.25 $^{c}$ | 14.25 $^{c}$ | 40.75 $^{b}$ | 7.50 $^{a}$ |
| **T8: 28 °C + Normal air** | 31.00 $^{cd}$ | 8.75 $^{cd}$ | 55.75 $^{a}$ | 3.00 $^{c}$ |
| **F-test** | **<.0001** | **<.0001** | **<.0001** | **<.0001** |
| **C.V. (%)** | **9.40** | **12.50** | **14.48** | **25.22** |

Means followed by the different letters within the *column (a-c)* per parameter are significantly different according to Tukey's significant difference test ($p \leq 0.05$).

## วิจารณ์ผล

จากผลการทดลองในช่วง 3 เดือนแรกของการเก็บรักษา การบรรจุใน Vacuum ในสภาวะห้องเย็น (T3) มีความงอกสูงเท่ากับการบรรจุในอากาศปกติ (T4) อาจเนื่องมาจากเมล็ดยังคงมีความแข็งแรง ทำให้สามารถงอกได้ในสภาวะที่มีอากาศปกติได้ ซึ่งการเก็บรักษาพริกแห้งในห้องเย็น เมล็ดยังคงมีความงอกสูงกว่ากลุ่มที่เก็บในห้องปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เพราะที่อุณภูมิต่ำทำให้ส่วนที่มีชีวิตของพืชมีอัตราการหายใจและกิจกรรมเมตาบอลิซึมต่างๆ ต่ำกว่าที่อุณภูมิปกติ จึงช่วยยืดอายุของเมล็ด เช่นเดียวกับการรายงานในเมล็ดพืชหลายชนิด เช่น พริก (Doijode, 1996) ถั่วแขก (Khalequzzaman และคณะ, 2012) และฝ้าย (Meena และคณะ, 2017) เป็นต้น อย่างไรก็ตาม เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลานานขึ้น (ที่ 6 เดือน) พบว่า การบรรจุพริกแห้งในถุงที่มีอาการปกติ เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกลดลงแม้จะเก็บที่ห้องเย็นก็ตาม แต่การปรับสภาพบรรยากาศในถุงบรรจุพริกแห้งก่อนการเก็บรักษา สามารถชะลอการลดลงของเปอร์เซ็นต์การงอกในเมล็ดพริกได้ โดยเฉพาะในสภาวะสุญญากาศ (Vacuum) ที่มีแนวโน้มให้ผลดีที่สุด (Table 1) เช่นเดียวกับการรายงานการเก็บรักษาถั่วลิสง (Sujatha และคณะ, 2018) ถั่วชิคพี (Chickpea) (Patel และคณะ, 2018) และเมล็ดฝ้าย (Cotton) (Meena และคณะ, 2017) เป็นต้น ในสภาพสุญญากาศที่ช่วยชะลอการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดได้ดีกว่าการเก็บรักษาแบบปิดผนึกธรรมดา ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการลดปริมาณ $O_2$ ช่วยชะลอการหายใจและกิจกรรมเมตาบอลิซึมต่างๆ ให้น้อยลงได้ ( Meena และคณะ, 2017) ในทำนองเดียวกับการบรรจุใน $CO_2$ 100% และ $N_2$ 100% ซึ่งเป็นการปรับสภาพบรรยากาศเพื่อแทนที่ $O_2$ ภายในบรรจุภัณฑ์

จากผลการทดลอง ความงอกของเมล็ดที่อยู่ภายในพริกแห้งลดลงเมื่อเก็บรักษาพริกแห้งเป็นเวลานานขึ้น โดยแบ่งออกเป็นสองกลุ่ม คือ มีต้นกล้าผิดปกติและเมล็ดตายเพิ่มขึ้น และในกลุ่มต้นกล้าผิดปกติลดลง แต่มีเมล็ดไม่งอกในกลุ่ม Ungerminated seed เพิ่มขึ้น ซึ่งในกลุ่มแรกสัณนิษฐานว่าเมล็ดอาจเกิดการเสื่อมสภาพตามธรรมชาติ ส่วนในกลุ่มที่สอง อาจเป็นไปได้ว่าเมล็ดอาจยังมีชีวิตแต่เกิดการพักตัวในระหว่างการเก็บรักษา ดังนั้น จึงได้มีการพิสูจน์ข้อสันนิษฐานนี้ โดยนำเมล็ดในพริกแห้งมาทดสอบความมีชีวิตด้วยวิธี Tetrazolium พบว่า เมล็ดยังมีชีวิต (ไม่แสดงข้อมูล) แสดงว่า มีเมล็ดพักตัวในระหว่างการเก็บรักษาในช่วง 6 เดือนแรก

## สรุป

วิธีการเก็บรักษาในห้องเย็นและการลดปริมาณออกซิเจนในบรรจุภัณฑ์ โดยเฉพาะการ Vacuum ช่วยชะลอการสูญเสียความงอกของเมล็ดในพริกแห้งได้ดีที่สุด รองลงมาคือ $CO_2$ 100% และ $N_2$ 100% ตามลำดับ ดังนั้น วิธีการดังกล่าวอาจเป็นอีกหนึ่งเทคนิคที่ควรนำมาศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้ได้สภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการช่วยยืดอายุของเมล็ดพริกในระหว่างการเก็บรักษาได้

## คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณ โครงการปริญญาเอกกาญจนาภิเษก (คปก.) และหน่วยบริหารและจัดการทุนด้านการพัฒนากำลังคน และทุนด้านการพัฒนาสถาบันอุดมศึกษา การวิจัย และการสร้างนวัตกรรม (บพค.) ที่เป็นผู้ให้ทุนเพื่อสนุบสนุนการทำวิจัยนี้ และ United Graduate School of Agricultural Science (UGSAS), Gifu University ที่สนับสนุนเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์

## เอกสารอ้างอิง

Doijode, S.D., 1996, Effect of Packaging and Fruit Storage on Seed Viability, Vigour and Longevity in Chilli (*Capsicum annuumL.*), Vegetable Science, 23: 36-41.

Gorris, L.G.M. and Peppelenbos, H.W., 2007, Modified-Atmosphere Packaging of Produce; Handbook of Food Preservation, Taylor & Francis Group, LLC, London, New York, 1068 p.

ISTA, 2007, International Rules for Seed Testing Edition, The International Seed Testing Association (ISTA), Switzerland.

Khalequzzaman, K.M., Rashid, M.M., Hasan, M.A. and Reza, M.M.A., 2012, Effect of Storage Containers and Storage Periods on the Seed Quality of French Bean (*Phaseolus vulgaris*), Bangladesh Journal of Agricultural Research, 37(2): 195-205.

Meena, M.K., Chetti, M.B. and Nawalagatti, C.M., 2017, Influence of Vacuum Packaging and Storage Conditions on the Seed Quality of Cotton (*Gossypium* spp.), International journal of pure and applied bioscience, 5(1): 789-797.

Parry, R.T., 1993, Principles and Applications of Modified Atmosphere Packaging of Food, ed. by R.T. Parry, pp. 1-18, Glasgow, UK, Blackie.

Patel, J.V., Antala, D.K. and Dalsaniya, A.N., 2018, Influence of Different Packaging Materials on the Seed Quality Parameters of Chickpea, International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 7(12): 2458-2467.

Sawma, J.T. and Mohler, C.L., 2002, Evaluating Seed Viability by an Unimbibed Seed Crush Test in Comparison with the Tetrazolium Test. Weed Technology, 16: 781-786.

Soltani, M., Alimardani, R., Mobli, H., Mohtasebi, S.S., 2015, Modified Atmosphere Packaging: A Progressive Technology for Shelf-Life Extension of Fruits and Vegetables, Journal of Applied Packaging Research, 7: 33-59.

Sujatha, M., Uppar, D.S., Biradarpatil, N.K., Mummigatti, U.V. and Olekar, N.S., 2018, Studies on Germination and Seedling Vigour of Summer Groundnut Seeds Stored Under Ambient Storage Condition, International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, Special Issue-6: 1417-1421.

# ความหลากหลายทางชีวภาพและการใช้ประโยชน์ของพืชวงศ์บานไม่รู้โรยและวงศ์ทานตะวันในกลุ่มชาติพันธุ์ม้ง บนพื้นที่สูงภูทับเบิก ตำบลวังบาล อำเภอหล่มเก่า จังหวัดเพชรบูรณ์

# Biodiversity and Utilization of Amaranthaceae and Asteraceae in the Hmong Ethnic Group at Phu Thap Berk, Wang Ban Sub-district, Lom Kao District, Phetchabun Province

ธีรภัทร เหลืองศุภบูลย์[1] วิภาวี ชั้นโรจน์[1] อภิญญา วงศ์เปี้ย[1] และ ขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์[1]
Luangsuphabool, T.[1], Chanroj, V.[1], Wongpia, A.[1] and Wongwathanarat, K.[1]

## Abstract

The ethnobotany study of Amaranthaceae and Asteraceae in the Hmong ethnic group at Phu-Thap-Berk, Wang-Ban sub-district, Lom-Kao district, Phetchabun provinces, was investigated to estimate the biodiversity and to solve the confusion between local name and scientific name for species identification and utilization. Phylogenetic analyses were implemented by DNA barcoding loci based on *ITS*, *rbc*L, *mat*K and *trn*H-*psb*A, and morphological characters. DNA barcode of *ITS* and *trn*H-*psb*A regions correlated with the morphological characters that were suitable for identification in these plant families, excepted genus *Gynura*. The utilization plants were identified as 9 species in 6 genera, which comprised 3 species of Amaranthaceae and 6 species of Asteraceae as follows; Kaw-Os-Yha-Tshuaj (*Althenanthera* cf. *bettzickiana*), *A. brasiliana*, Ka-Liab (*Iresine herbstii*), and Ko-Taw-Os (*Artimisia lactiflora*), Tshuan-Ge (*Chrysanthemum indicum*), Jo-Yhu-Liab (*G. bicolor*), Tshuaj-Rhog (*G. divaricata* subsp. *formosana*), Tshuad-Jor (*Gynura* cf. *divaricata*), Ntiv-Me (*Eupatorium fortunei*), respectively. Asteraceae was highly used by the Hmong people at Phu-Thap-Berk in terms of food and medicinal plants.

**Keywords:** Ethnobotany, Hill tribe, Identification, DNA barcodes

## บทคัดย่อ

การศึกษาพฤกษศาสตร์พื้นบ้านของพืชวงศ์บานไม่รู้โรยและวงศ์ทานตะวันในกลุ่มชาติพันธุ์ม้งภูทับเบิก ต.วังบาล อ.หล่มเก่า จ.เพชรบูรณ์ เพื่อประเมินความหลากหลายทางชีวภาพและแก้ปัญหาความสับสนระหว่างชื่อท้องถิ่นและชื่อวิทยาศาสตร์เพื่อจัดจำแนกชนิดสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างถูกต้อง ด้วยการสร้างแผนภูมิวิวัฒนาการเชิงโมเลกุลของดีเอ็นบาร์โค้ดที่ตำแหน่ง *ITS*, *rbc*L, *mat*K และ *trn*H-*psb*A ร่วมกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่าดีเอ็นบาร์โค้ดที่ตำแหน่ง *ITS* และ *trn*H-*psb*A ให้ผลสอดคล้องกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาจึงเหมาะสมสำหรับใช้จัดจำแนกพืชในวงศ์เหล่านี้ ยกเว้นพืชสกุล *Gynura* โดยพบว่าสามารถระบุชนิดพืชที่มีการนำมาใช้ประโยชน์ได้ 9 ชนิด ใน 6 สกุล ประกอบด้วยพืชวงศ์บานไม่รู้โรย 3 ชนิด และวงศ์ทานตะวัน 6 ชนิด ได้แก่ เก่าอ๊อหย่าฉั่ว (*Althenanthera* cf. *bettzickiana*) บานไม่รู้โรยฝรั่ง (*A. brasiliana*) ก้าเลี้ยะ (*Iresine herbstii*) และ เก๊อวเต๊อะออ (*Artimisia lactiflora*) ฉ่วนจี้ (*Chrysanthemum indicum*) จอยู่เลี้ยะ (*G. bicolor*) ฉั่วร่อก (*G. divaricata* subsp. *formosana*) ฉวดจ้อ (*Gynura* cf. *divaricata*) ตี๋เม (*Eupatorium fortunei*) ตามลำดับ ซึ่งพืชวงศ์ทานตะวันเป็นวงศ์ที่ถูกนำมาใช้มากในกลุ่มชาวม้งภูทับเบิกทั้งในรูปแบบของพืชอาหารและพืชสมุนไพร

**คำสำคัญ:** พฤกษศาสตร์พื้นบ้าน ชาวเขา การจัดจำแนก ดีเอ็นเอบาร์โค้ด

## คำนำ

การใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพของพืชในประเทศไทยมีความแตกต่างกันไปในแต่ละท้องถิ่นและกลุ่มชาติพันธุ์ ผ่านการถ่ายทอดองค์ความรู้จากรุ่นสู่รุ่นตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน โดยมีความเกี่ยวข้องกับวิถีชีวิต ความเชื่อ ศาสนา และวัฒนธรรม มากำหนดการใช้ประโยชน์ทั้งเป็นพืชอาหาร พืชสมุนไพร และพืชใช้ในพิธีกรรม ความเจริญของสังคมสมัยใหม่ได้เข้ามามีอิทธิพลต่อวิธีการดำเนินชีวิต ส่งผลให้องค์ความรู้ท้องถิ่นที่ไม่ได้รวบรวมไว้เป็นลายลักษณ์อักษรสูญหายไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งองค์ความรู้ของกลุ่มชาติพันธุ์ต่างๆ ยังขาดการรวบรวมและศึกษาอย่างจริงจัง โดยกลุ่มชาติพันธุ์ม้งเป็นกลุ่มชาติพันธุ์ที่จำนวนประชากร

[1] สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร 85 หมู่ 1 ถ.รังสิต-นครนายก ต.รังสิต อ.ธัญบุรี จ.ปทุมธานี 12110
[1] Biotechnology Research and Development Office, Department of Agriculture, 85 M.1 Rangsit-Nakorn Nayok Rd., Rangsit, Thanyaburi, Pathum Thani 12110

มากในประเทศไทย ส่วนใหญ่กระจายกันตั้งถิ่นฐานอยู่บริเวณภูเขาและที่ราบเชิงเขาในเขตพื้นที่ภาคเหนือ (Perve, 2006) มีการใช้ประโยชน์จากพืชที่หลากหลายทั้งเป็นอาหารและยาสมุนไพร ซึ่งพืชวงศ์บานไม่รู้โรยและวงศ์ทานตะวันเป็นวงศ์พืชที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูงในประเทศไทยและมีรายงานการนำมาใช้ประโยชน์ในกลุ่มชาติพันธุ์อื่นๆ ที่แตกต่างกันไป (สุธีระ และคณะ, 2561; มะลิวัลย์ และ อังคณา, 2562) สำหรับในกลุ่มชาติพันธุ์ม้งนั้นยังมีการศึกษาค่อนข้างน้อยประกอบกับการที่ชาวม้งมีเฉพาะภาษาพูดแต่ไม่มีภาษาเขียนเป็นของตนเอง (Lee และ Tapp, 2010) ดังนั้นภูมิปัญญาพื้นบ้านจึงสืบทอดกันปากต่อปาก ทำให้เสี่ยงต่อการสูญหายขององค์ความรู้เหล่านี้ อีกทั้งการเรียกชื่อพืชในภาษาม้งก่อให้เกิดความสับสนต่อการนำพืชมาใช้ประโยชน์ในอนาคต ดังนั้นการศึกษาพฤกษศาสตร์พื้นบ้านของกลุ่มชาติพันธุ์ม้งบริเวณภูทับเบิก ต.วังบาล อ.หล่มเก่า จ.เพชรบูรณ์ จึงเป็นข้อมูลที่สำคัญที่จะช่วยให้รักษาภูมิปัญญาท้องถิ่นไม่ให้สูญหายไปกับความเจริญและวิถีสังคมเมืองที่กำลังเข้ามาสู่ภูทับเบิกและยังช่วยให้สามารถระบุชนิดพืชด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยารวมกับวิธีอณูชีววิทยาเพื่อการใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพของพืชได้อย่างถูกต้อง

## อุปกรณ์และวิธีการ

เก็บรวบรวมตัวอย่างพืชในวงศ์บานไม่รู้โรยและวงศ์ทานตะวันที่มีการนำมาใช้ประโยชน์ในกลุ่มชาติพันธุ์ม้งบริเวณภูทับเบิกและบึกทึกรูปแบบการนำไปใช้ประโยชน์ จากนั้นนำมาจัดจำแนกชนิดพันธุ์ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและวิธีศึกษาด้วยวิธีอณูชีววิทยาโดยใช้ดีเอ็นบาร์โค้ด 4 ตำแหน่ง ได้แก่ *ITS*, *rbc*L, *mat*K และ *trn*H-*psb*A และเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ที่จำเพาะโดยใช้วิธีพีซีอาร์ และนำลำดับนิวคลีโอไทด์มาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการด้วยการสร้างแผนภูมิวิวัฒนาการเชิงโมเลกุลร่วมกับข้อมูลลำดับนิวคลีโอท์ที่ได้จากฐานข้อมูล GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov) โดยใช้ *Cymbopogon citratus* เป็น outgroup จากนั้นนำชุดข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอบาร์โค้ดแต่ละตำแหน่งมาทำ DNA sequence alignment ด้วย ClustalW ปรับเรียงใหม่ด้วยโปรแกรม MEGA 7 และสร้างแผนภูมิวิวัฒนาการเชิงโมเลกุลจากด้วยวิธี Maximum likelihood (ML) โดยใช้ substitution model (GTR+G) และทดสอบความเชื่อมั่นด้วยค่า Bootstrap จำนวน 1,000 ซ้ำ (Kumar, 2016)

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การสำรวจความหลากหลายทางชีวภาพและเก็บตัวอย่างพืชในวงศ์บานไม่รู้โรยและวงศ์ทานตะวันที่ใช้ประโยชน์ในกลุ่มชาติพันธุ์ม้งในเขตพื้นที่สูงภูทับเบิก ซึ่งส่วนใหญ่จะถูกเรียกชื่อเป็นภาษาม้งจึงยากที่จะระบุชนิดได้ (Table 1) และเพื่อการจัดจำแนกชนิดได้อย่างถูกต้องตัวอย่างดังกล่าวจึงได้นำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาร่วมกับวิธีอณูชีววิทยาและวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการด้วยการสร้างแผนภูมิวิวัฒนาการเชิงโมเลกุล โดยใช้ดีเอ็นบาร์โค้ด 4 ตำแหน่ง พบว่าดีเอ็นบาร์โค้ดที่ตำแหน่ง *ITS* และ *trn*H-*psb*A เป็นตำแหน่งที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการจัดจำแนกพืชวงศ์บานไม่รู้โรยและวงศ์ทานตะวัน โดยสามารถจัดจำแนกพืชได้จำนวน 5 ชนิด ใน 4 สกุล ได้แก่ *Althenanthera* cf. *bettzickiana A. brasiliana Artimisia lactiflora Chrysanthemum indicum* และ *Eupatorium fortunei* ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องไปกับลักษณะสัณฐานวิทยาของและลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากฐานข้อมูล GenBank ของพืชแต่ละชนิด และยังพบว่าเอ็นบาร์โค้ดที่ตำแหน่ง *ITS* และ *trn*H-*psb*A ไม่สามารถจัดจำแนกพืชในสกุล *Iresine* และ *Gynura* (Figure 1) ในขณะที่ตำแหน่ง *mat*K เป็นตำแหน่งเดียวที่สามารถจัดจำแนกพืชในสกุล *Iresine* (*Iresine herbstii*) ออกจากพืชชนิดอื่นในสกุลได้ โดยไม่สามารถจัดจำแนกพืชในสกุล *Gynura* ได้ นอกจากนี้ยังพบว่าสามารถจัดจำแนกพืชในสกุล *Althenanthera* และ *Eupatorium* ได้อีกด้วยส่วนตำแหน่ง *rbcL* นั้น พบว่าสามารถจัดจำแนกได้เพียงสกุล *Eupatorium* เท่านั้น ซึ่งดีเอ็นเอบาร์โค้ดทุกตำแหน่งไม่สามารถใช้จำแนกชนิดของพืชในสกุล *Gynura* ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาก่อนหน้านี้ที่พบว่าตำแหน่ง *ITS* และ *trn*H-*psb*A เป็นตำแหน่งที่มีประสิทธิภาพสูงในการนำมาใช้ในการจัดจำแนกในระดับสกุลและระดับชนิดของพืชในวงศ์บานไม่รู้โรยและวงศ์ทานตะวัน (Gao และคณะ, 2010) จากการศึกษายังพบว่าตำแหน่ง *mat*K เป็นตำแหน่งที่เหมาะสมสำหรับจัดจำแนกชนิดพืชในสกุล *Iresine* ในขณะที่ดีเอ็นเอบาร์โค้ดทั้ง 4 ตำแหน่งไม่สามารถจัดจำแนกพืชในสกุล *Gynura* ได้ ซึ่งชี้ให้เห็นว่าดีเอ็นเอบาร์โค้ดมีความเหมาะสมในการนำมาใช้จัดจำแนกพืชได้แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับสกุลและชนิด ไม่ควรเลือกใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดชนิดใดชนิดหนึ่งเพียงชนิดเดียวในการจัดจำแนก การเลือกใช้ตำแหน่งดีเอ็นบาร์โค้ดที่หลากหลายและเหมาะสมจะช่วยให้สามารถยืนยันความถูกต้องในการจัดจำแนกได้มากยิ่งขึ้น

จากการศึกษาพฤกศาสตร์พื้นบ้านที่ชาวม้งนำมาใช้ประโยชน์ พบว่าสามารถยืนยันการจัดจำแนกได้ทั้งหมด 9 ชนิด ใน 6 สกุล โดยเป็นพืชในวงศ์บานไม่รู้โรย 3 ชนิด ซึ่งพืชส่วนใหญ่ถูกนำมาใช้เป็นพืชสมุนไพรและเป็นทั้งพืชสมุนไพรและพืชอาหาร (Table 1 และ Figure 2) โดยยังพบว่ามีการนำมาใช้ร่วมกันในสูตรต้มไก่สมุนไพรม้งเพื่อใช้เป็นยาบำรุงกำลัง ซึ่งเป็นสูตรเฉพาะของกลุ่มชาติพันธุ์ม้งภูทับเบิก ซึ่งความหลากหลายทางชีวภาพของพืชวงศ์บานไม่รู้โรยและวงศ์ทานตะวันในกลุ่มชาติพันธุ์ม้งภูทับเบิกเมื่อเปรียบเทียบความหลากหลายและรูปแบบการใช้ประโยชน์กับกลุ่มชาติพันธุ์ม้งบริเวณภาคเหนือ พบว่ามีหลากหลายที่แตกต่าง

กันมีทั้งชนิดพันธุ์ที่เหมือนและแตกต่างจากชาวม้งภูทับเบิก โดยกลุ่มชาติพันธุ์ม้ง อ.นาน้อย จ.น่าน มีจำนวนความหลากหลายของพืชทั้ง 2 วงศ์ เพียง 3 ชนิด (ปาริฉัตร และคณะ, 2556) ซึ่งมีการใช้ประโยชน์เหมือนกันเพียง 2 ชนิด คือ *Althenanthera* sp. และ *Artimisia lactiflora* ทั้งเป็นพืชอาหารและพืชสมุนไพร ในขณะที่กลุ่มชาติพันธุ์ม้ง อ.สันติสุข จ.น่าน มีการนำพืชวงศ์บานไม่รู้โรยและวงศ์ทานตะวันมาใช้ประโยชน์มากกว่าชุมชนชาวม้งในบริเวณอื่น โดยพบถึง 21 ชนิด (วงศ์บานไม่รู้โรย จำนวน 6 ชนิด และวงศ์ทานตะวัน จำนวน 15 ชนิด) (อัญชลี และคณะ, 2555) และยังพบว่ามีพืชทั้งหมดจำนวน 6 ชนิด ที่มีการนำมาใช้ประโยชน์เป็นพืชสมุนไพร เหมือนกัน ได้แก่ *I. herbstii A. lactiflora C. indicum G. bicolor G.* cf. *divaricate* และ *E. fortunei* จากการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่ากลุ่มชาติพันธุ์ม้งมีการปรับวิถีชีวิตและภูมิปัญญาให้สอดคล้องกับความหลากหลายทางชีวภาพของพืชในแต่ละท้องถิ่นที่แตกต่างกันไป โดยยังคงองค์ความรู้ของชนิดพันธุ์พืชที่เหมือนกันจะมีการนำมาใช้ประโยชน์ไปในทิศทางเดียวกัน

## สรุปผล

จากการศึกษาพฤกศาสตร์พื้นบ้านของกลุ่มชาติพันธุ์ม้งบริเวณพื้นที่สูงภูทับเบิก จ.เพชรบูรณ์ พบว่าพืชวงศ์บานไม่รู้โรยและวงศ์ทานตะวันถูกนำใช้ประโยชน์ จำนวน 9 ชนิด โดยพืชวงศ์ทานตะวันถูกนำมาใช้ประโยชน์มากกว่าพืชวงศ์บานไม่รู้โรย ดีเอ็นบาร์โค้ดที่ตำแหน่ง *ITS* และ *trn*H-*psb*A เป็นตำแหน่งที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการจัดจำแนกพืชในสกุล *Althenanthera Artimisia Chrysanthemum* และ *Eupatorium* ในขณะที่ตำแหน่ง *mat*K เป็นเพียงตำแหน่งเดียวที่สามารถจัดจำแนกพืชในสกุล *Iresine* และตำแหน่งดีเอ็นบาร์โค้ดทุกตำแหน่งในการศึกษาครั้งนี้ไม่สามารถใช้ในการจัดจำแนกชนิดพืชในสกุล *Gynura*

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณนางสาวชลลดา สามพันพวง นักวิชาการเกษตรชำนาญการ กรมวิชาการเกษตร ที่ช่วยให้คำแนะนำในการจัดจำแนกพืชตามหลักอนุกรมวิธานและขอขอบคุณเงินทุนสนับสนุนการวิจัยของโครงการพัฒนาระบบการผลิตพืชอย่างยั่งยืนบนพื้นที่สูงเขาหัวโล้นภูทับเบิก (ทับเบิกโมเดล) จากเงินรายได้จากการดำเนินงานวิจัยด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

## เอกสารอ้างอิง

ปาริฉัตร น้อยธนะ สวาท สายปาระ และกมลวรรณ คุ้มพุฒ, 2556, พฤกษศาสตร์พื้นบ้านของชาวเขาเผ่าม้ง อำเภอนาน้อย จังหวัดน่าน, วารสารนเรศวรพะเยา, 6(3): 213-219.

มะลิวัลย์ บริคุต และอังคณา อินตา, 2562, พฤกษศาสตร์พื้นบ้านของลัวะ ในบ้านน้ำแพะ อำเภอบ่อเกลือ จังหวัดน่าน, วารสารวิทยาศาสตร์ มข., 47(2): 273-295.

สุธีระ เหิมฮึก วิชญ์ภาส สังพาลี จุฑามาศ อาจนาเสียว นัยนา โปธาวงค์ และเกรียงศักดิ์ ศรีเงินยวง, 2561, การใช้ประโยชน์พรรณพืชของชาวไทลื้อในป่าชุมชนบ้านทาป่าเปา อำเภอแม่ทา จังหวัดลำพูน, วารสารวนศาสตร์, 37(1): 111-120.

อัญชลี น่วมมี กนกวรรณ เสรีภาพ สร้อยนภา ญาณวัฒน์ และต่อศักดิ์ สีลานันท์, 2555, พฤกษศาสตร์พื้นบ้านของชาวม้ง บ้านปางช้าง ตำบลพงษ์ อำเภอสันติสุข จังหวัดน่าน, วารสารพฤกษศาสตร์ไทย, 4(2): 177-211.

Gao, T., Yao, H., Song, J., Zhu, Y., Liu, C. and Chen, S., 2010, Evaluating the Feasibility of Using Candidate DNA Barcodes in Discriminating Species of the Large Asteraceae Family, BMC Evolutionary Biology, 10: 324.

Kumar. S., Stecher, G. and Tamura, K., 2016, MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets, Molecular Biology and Evolution, 33(7): 1870-1874.

Lee, G.Y. and Tapp, N, 2010, Culture and Customs of the Hmong, Greenwood, Santa Barbara, CA, 241 p.

Perve, E., 2006, The Hill Tribes Living in Thailand, Alligator Service, Chiang Mai, 58 p.

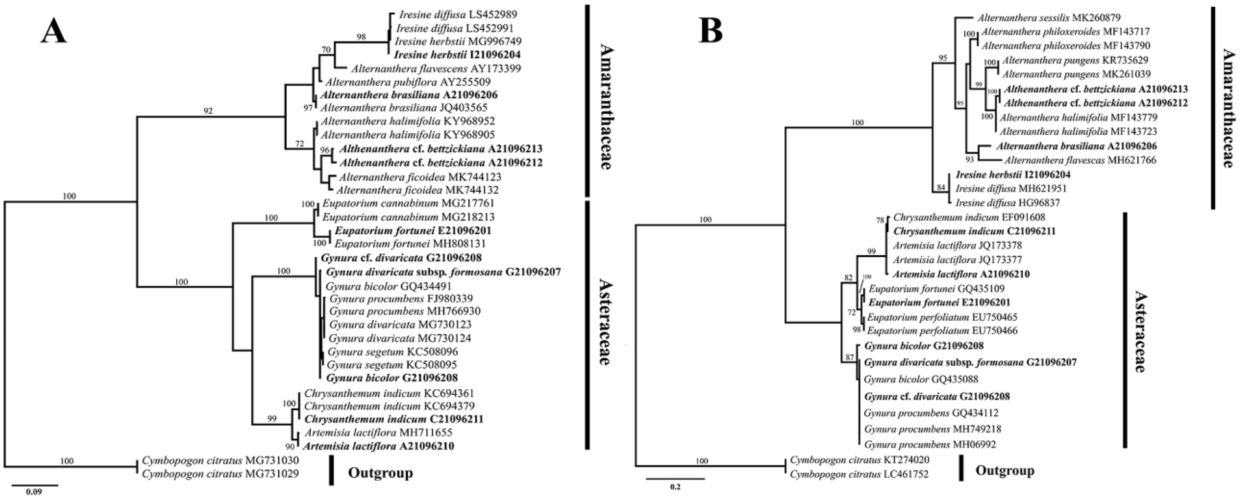



**Figure 1** Molecular phygeny of Amaranthaceae and Asteraceae in the Hmong Ethnic Group at Phu Thap Berk constructed by DNA barcoding at ITS (A) and trnH-psbA (B) region.

**Figure 2** Diversity of Amaranthaceae and Asteraceae in the Hmong Ethnic Group at Phu Thap Berk A) *Althenanthera* cf. *bettzickiana*, B) *A. brasiliana*, C) *Iresine herbstii*, D) *Artimisia lactiflora*, E) *Chrysanthemum indicum*, F) *Gynura bicolor*, G) *G. divaricata* subsp. *Formosana*, H) *G.* cf. *divaricata* and I) *Eupatorium fortune*.

**Table 1** Utilization of Amaranthaceae and Asteraceae in the Hmong Ethnic Group at Phu Thap Berk.

| Family | Scientific Name | Thai Language | Hmong Language | Utilization |
|---|---|---|---|---|
| Amaranthaceae | *Althenanthera* cf. *bettzickiana* | ผักเป็ดแดง | เก่าอ๊อหย่าฌั่ว | food/herb |
| | *A. brasiliana* | บานไม่รู้โรยฝรั่ง | - | herb |
| | *Iresine herbstii* | ผักแผ่วแดง | ก้าเลี๊ยะ | herb |
| Asteraceae | *Artimisia lactiflora* | จิงจูฉ่าย | เก๊อวเต๊อะออ | food/herb |
| | *Chrysanthemum indicum* | เบญจมาศสวน | ฌ่วนจี้ | herb |
| | *Gynura bicolor* | ว่านท้องใบม่วง | จอยู่เลี๊ยะ | herb |
| | *G. divaricata* subsp. *formosana* | ผักสองหน้า | ฌั่วร่อก | herb |
| | *G.* cf. *divaricata* | จักรนารายณ์ | ฌวดจ้อ | herb |
| | *Eupatorium fortunei* | สันพร้าหอม | ตี๋เม | herb |

# การประยุกต์ใช้การวัดค่าสีมะเขือเทศด้วยสมาร์ทโฟนและกล้องดิจิทัล
# Application of Tomato Color Measurement with Smartphone and Digital Camera

**เหมือนหมาย อภินทนาพงศ์[1] วิชชุดา สังข์แก้ว[1] และ เสาวนีย์ เอี้ยวสกุลรัตน์[1]**
**Apintanapong, M.[1], Sangkaeo, W.[1] and Ieowsakulrat, S.[1]**

## Abstract

The objective of this research is to evaluate the possibility of the application of smartphone and digital camera for color measurement of tomato with different maturity stages under ambient and controlled light environments. Relationship of color values obtained from these devices and HunterLab colorimeter were evaluated by using linear regression and calibration equations. Results revealed that the regression coefficients ($R^2$) obtained from color measurement (L*, a*, b*) with a digital camera under controlled light was higher than other devices. It was also found that smartphone and digital camera could be applied to differentiate the maturity stages of tomato by a* and color index values. After calibration, in color measurement of tomato with three different maturity stages under controlled light, the color index obtained from digital camera was not different with HunterLab colorimeter in all maturity stages ($P$>0.05).
**Keywords:** Color measurement, Tomato, Smartphone, Digital camera

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการนำสมาร์ทโฟนและกล้องดิจิทัลมาใช้วัดค่าสีมะเขือเทศที่มีระดับความสุกแตกต่างกันในสภาพแสงปกติและควบคุมแสง โดยทำการวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้นและหาสมการปรับเทียบเปรียบเทียบกับเครื่องวัดสีมาตรฐาน (HunterLab colorimeter) จากผลการทดลอง พบว่า ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ($R^2$) ของการวัดค่าสี L* a* และ b* ด้วยกล้องดิจิทัลในสภาพควบคุมแสงมีค่าสูงกว่าอุปกรณ์อื่น เมื่อทำการวัดค่าสีมะเขือเทศที่มีระดับความสุกต่างกัน 3 ระดับ พบว่า อุปกรณ์ทุกชนิดสามารถแยกความแตกต่างของระดับความสุกของมะเขือเทศจากค่าสี a* และดัชนีสีได้ โดยทำได้ใกล้เคียงเครื่องวัดสีมาตรฐานมากขึ้นเมื่อทำการปรับเทียบแล้ว และการแยกความแตกต่างของระดับความสุกด้วยกล้องดิจิทัลในสภาพควบคุมแสงมีความใกล้เคียงกับเครื่องวัดสีมาตรฐานมากที่สุด โดยค่าดัชนีสีในมะเขือเทศทุกระดับความสุกที่วัดด้วยเครื่องวัดสีมาตรฐานและกล้องดิจิทัลในสภาพควบคุมแสงให้ผลไม่แตกต่างกัน ($P$>0.05)
**คำสำคัญ:** การวัดค่าสี มะเขือเทศ สมาร์ทโฟน กล้องดิจิทัล

## คำนำ

ในการซื้อผลิตภัณฑ์อาหารของผู้บริโภค สีเป็นสิ่งที่ผู้บริโภคใช้เป็นปัจจัยหนึ่งในการชี้วัดคุณภาพเพื่อการตัดสินใจซื้อผลิตภัณฑ์อาหารที่จะนำไปบริโภค (León และคณะ, 2006) สีจึงเป็นสมบัติทางกายภาพที่ถูกใช้ในการควบคุมคุณภาพในอุตสาหกรรมอาหาร นอกจากนี้สีของอาหารยังมีความสัมพันธ์กับคุณภาพอาหารในด้านอื่น ๆ ได้แก่ สมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและทางประสาทสัมผัส (Mendoza และคณะ, 2006) การควบคุมคุณภาพสีของอาหารมักใช้เครื่องมือมาตรฐานที่มีความแม่นยำและถูกต้อง เช่น Minolta chroma meter, HunterLab colorimeter และ Dr. Lange colorimeters เป็นต้น (León และคณะ, 2006) สำหรับธุรกิจอาหารขนาดเล็ก เครื่องมือเหล่านี้อาจจะมีราคาแพงเกินไปที่จะจัดซื้อไว้ใช้ในการควบคุมคุณภาพด้านสี แต่การใช้การตรวจพินิจด้วยสายตา ก็มักทำให้เกิดความคลาดเคลื่อน ปัจจุบันอุปกรณ์ประเภทกล้องดิจิทัลและสมาร์ทโฟนมีราคาถูกลงอย่างมาก ขณะเดียวกันคุณภาพกล้องดิจิทัลและกล้องที่ติดมากับสมาร์ทโฟนก็มีคุณภาพสูงมากขึ้นเช่นกัน อีกทั้งยังมีเครื่องมือ คือ โปรแกรมหรือแอปพลิเคชันที่มีประสิทธิภาพในการประมวลผลได้รวดเร็วและแม่นยำมากขึ้น (Miettinen และคณะ, 2013)

Yam และ Papadakis (2004) ใช้วิธีการอย่างง่ายในการวัดและวิเคราะห์ค่าสีผิวของผลิตภัณฑ์อาหารด้วยการผสมผสานการใช้กล้องดิจิทัล คอมพิวเตอร์และโปรแกรมกราฟิก พบว่าวิธีการดังกล่าวมีประโยชน์และมีราคาต่ำกว่าการใช้เครื่องมือมาตรฐาน จากรายงานการวิจัยต่าง ๆ ที่ผ่านมา มีการศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้ภาพถ่ายดิจิทัลจากกล้องดิจิทัลและสมาร์ทโฟนในการวัด

[1] คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย 126/1 ถนนวิภาวดีรังสิต ดินแดง กรุงเทพมหานคร
[1] School of Science and Technology, University of the Thai Chamber of Commerce, 126/1 Vibhavadee-rangsit Rd., Dindaeng, Bangkok

และวิเคราะห์ค่าสีในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรและอาหาร (Lv และคณะ, 2009; Zhang และคณะ, 2014; Lazaro และคณะ, 2019) นอกจากนี้ในด้านความปลอดภัยในอาหาร ยังมีการนำสมาร์ทโฟนมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์แทนการวิเคราะห์ทางเคมีตามปกติโดย Smartphone-based assays มีศักยภาพสูงในการนำมาวิเคราะห์แบบ on-site testing และการวิเคราะห์ผลทำได้รวดเร็วและมีต้นทุนต่ำ (Nelis และคณะ, 2020)

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการนำสมาร์ทโฟนและกล้องดิจิทัลมาใช้วัดค่าสีมะเขือเทศที่มีระดับความสุกแตกต่างกันในสภาพแสงปกติและควบคุมแสง โดยใช้ค่าสี L*, a*, b* ที่แปลงจากระบบสี RGB และค่า color index มาวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้นและหาสมการปรับเทียบ จากการเปรียบเทียบกับเครื่องวัดสีมาตรฐาน (HunterLab colorimeter)

## อุปกรณ์และวิธีการ

การวัดค่าสีมะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum* Mill.) ขนาดน้ำหนักลูกละ 30-50 กรัม มีระดับความสุก 3 ระดับ ด้วยสมาร์ทโฟน (Huawei รุ่น P8) และกล้องดิจิทัล (DSLR Canon รุ่น kiss X3 (EOS)) ใช้การวัดที่ผิวของผล ระดับความสุกละ 3 ผล วัด 3 ตำแหน่งต่อผล ตำแหน่งละ 3 ซ้ำ ในสภาพแวดล้อม 2 แบบ คือ สภาพแสงปกติ (วัดในห้องปฏิบัติการ โดยให้วัตถุในการถ่ายภาพเอียงทำมุม 45 องศา กับหลอดไฟนีออนบริเวณเพดาน ความเข้มแสง 405 ลักซ์) และสภาพควบคุมแสง (ทำโดยใช้กล่องควบคุมแสง แหล่งกำเนิดแสงใช้หลอดไฟ LED (แบบสั้น T8 9W DL LEKISE) ความเข้มแสง 3,400 ลักซ์) เปรียบเทียบกับการวัดด้วยเครื่องมือมาตรฐานคือ เครื่องวัดสี HunterLab Colorimeter รุ่น MiniScan EZ โดยในการถ่ายภาพด้วยสมาร์ทโฟน ตั้งห่างจากวัตถุที่ถ่าย 12 เซนติเมตร และใช้การโฟกัสโดยแตะสัมผัสที่จุดโฟกัสโดยไม่ใช้แฟลช การถ่ายภาพด้วยกล้องดิจิทัล ตั้งห่างจากวัตถุที่ถ่าย 22 เซนติเมตร และตั้งค่าการถ่ายภาพด้วยความไวแสง ISO200 ค่ารูรับแสง F = 5.6 การชดเชยแสง = 0 โหมดคำนวณปริมาณแสงที่ใช้ AV โฟกัสแบบ MF โดยไม่ใช้แฟลช

**การวัดค่าสีมะเขือเทศที่มีระดับความสุก 3 ระดับ (mature green, pink และ red)**

1. ใช้เครื่องวัดสี HunterLab Colorimeter รุ่น MiniScan EZ วัดค่าสีโดยทำ 3 ซ้ำ บันทึกค่าสี L*, a*, b*
2. ใช้สมาร์ทโฟน Huawei รุ่น P8 ด้วยกล้องหลัง ใช้แอปพลิเคชัน RGB Color picker วัดค่าสีโดยทำ 3 ซ้ำ บันทึกค่าสี RGB จากนั้นนำค่ามาคำนวณเป็นค่าสี L*, a* และ b* (Boronkay, 2017)
3. ใช้กล้องดิจิทัล DSLR Canon รุ่น kiss X3 (EOS) ถ่ายภาพเป็นไฟล์ JPEG ขนาด 4752 X 3168 pixels ทำ 3 ซ้ำ จากนั้นนำภาพถ่ายที่ได้ไปวิเคราะห์ค่าสีด้วยโปรแกรม ImageJ บันทึกค่า RGB จากนั้นนำค่ามาคำนวณเป็นค่าสี L* a* และ b*

**การวิเคราะห์การถดถอยและปรับเทียบค่าสี**

นำค่าสี L*, a* และ b* ที่แปลงจาก RGB (Boronkay, 2017) และค่าดัชนีสี (color index) สำหรับมะเขือเทศ (2000 x a*/[L*x (a*2+b*2)$^{0.5}$]; López Camelo et al., 1995) จากการวัดโดยเครื่องวัดสี HunterLab Colorimeter รุ่น MiniScan EZ สมาร์ทโฟน และกล้องดิจิทัลมาทำการวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้น (Linear Regression) จากนั้นหาสมการที่ใช้ในการปรับเทียบ และ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ($R^2$) โดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel 2010

**การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ**

นำค่าสีและ color index ที่ได้จากการเปรียบเทียบระหว่างสมาร์ทโฟนและกล้องดิจิทัล กับค่ามาตรฐานจาก HunterLab Colorimeter มาวิเคราะห์หาความแปรปรวน (Analysis of Variance - ANOVA) แบบ One way ANOVA และวิเคราะห์หาค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan’s New Multiple’s Range test (DMRT) ที่ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \le 0.05$) โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS version 27

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลอง พบว่า ค่าสี L* (ความสว่าง) ที่วัดด้วยสมาร์ทโฟนและกล้องดิจิทัลให้ค่า L* ที่สูงมากกว่าเครื่องวัดสีมาตรฐานค่อนข้างมาก เมื่อนำมาวัดสีของมะเขือเทศที่มีระดับความสุกแตกต่างกัน พบว่าค่าสี a* (สีแดง) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในขณะที่ค่า L* มีแนวโน้มลดลง ในทุกอุปกรณ์เมื่อระดับความสุกมากขึ้น ($P \le 0.05$) โดยค่าสัมประสิทธ์สหสัมพันธ์ ($R^2$) จากการวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้นเปรียบเทียบกับเครื่องวัดสีมาตรฐาน มีค่ามากกว่า 0.80 ขึ้นไป ในขณะที่ค่า b* (สีเหลือง) ไม่แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นในทุกอุปกรณ์ที่ระดับความสุกต่าง ๆ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างอุปกรณ์ พบว่า การวัดค่าสี L*, a* และ b* ด้วยกล้องดิจิทัลในสภาพควบคุมแสง เมื่อวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้นให้ค่า $R^2$ สูงกว่าอุปกรณ์อื่น (ไม่แสดงข้อมูล)

จาก Figure 1 (a)-(h) เมื่อทำการวัดค่าสีมะเขือเทศที่มีระดับความสุกต่างกัน 3 ระดับ พบว่า อุปกรณ์ทุกชนิดสามารถแยกความแตกต่างของระดับความสุกของมะเขือเทศจากค่าสี a* และดัชนีสีได้ ยกเว้นมะเขือเทศที่มีระดับความสุก mature green

และ pink เมื่อใช้สมาร์ทโฟนวัดในสภาพควบคุมแสงจะให้ค่าดัชนีสีไม่แตกต่างกันทั้งก่อนและหลังการปรับเทียบ เมื่อทำการปรับเทียบแล้ว พบว่าทุกอุปกรณ์วัดค่าสีต่าง ๆ ได้ใกล้เคียงเครื่องวัดสีมาตรฐานมากขึ้น และการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ พบว่ามีความเป็นไปได้ในการใช้สมาร์ทโฟนและกล้องดิจิทัลในการแยกความแตกต่างของระดับความสุกของมะเขือเทศได้ โดยเฉพาะการใช้กล้องดิจิทัลในสภาพควบคุมแสงมีความใกล้เคียงกับเครื่องวัดสีมาตรฐานมากที่สุด โดยค่าดัชนีสีในมะเขือเทศทุกระดับความสุกที่วัดด้วยเครื่องวัดสีมาตรฐานและกล้องดิจิทัลในสภาพควบคุมแสงให้ผลไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$)

การประยุกต์ใช้การวัดสีจากการใช้ภาพถ่ายดิจิทัลจึงมีความเป็นไปได้และสามารถนำมาใช้เพื่อการวัดที่สะดวกและรวดเร็ว เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Zhang และคณะ (2014) ซึ่งใช้ค่าสี RGB มาหาความสัมพันธ์กับเกรดของเนื้อหมูที่วัดโดยการวัดทางประสาทสัมผัสมาตรฐาน พบว่า การคำนวณค่าเกรดของเนื้อหมูแช่เย็นระหว่างการเก็บรักษามีความแม่นยำ และ งานวิจัยของ Subhashree และคณะ (2017) ซึ่งประยุกต์ใช้ภาพถ่ายจากกล้องดิจิทัล และศึกษาผลของการเกิดสีน้ำตาลต่อการเปลี่ยนแปลงของสีโดยการใช้ image analysis พบว่าแอปเปิ้ลสายพันธุ์ Honey Crisp และ Granny Smith เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นสีน้ำตาลในช่วง 120 นาที โดยการบันทึกด้วยเทคนิคดังกล่าว

## สรุปผล

จากผลการทดลอง พบว่า มีความเป็นไปได้ในการใช้สมาร์ทโฟนและกล้องดิจิทัลในการแยกความแตกต่างของระดับความสุกของมะเขือเทศได้ โดยเฉพาะการใช้กล้องดิจิทัลในสภาพควบคุมแสงมีความใกล้เคียงกับเครื่องวัดสีมาตรฐานมากที่สุด โดยเมื่อใช้ค่าดัชนีสีในมะเขือเทศในสภาพควบคุมแสงให้ผลไม่แตกต่างกัน

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณนางสาวทยาวีร์ ปินตา และ นางสาวมาริษา แก้วเพ็ชร ผู้ช่วยวิจัยซึ่งดำเนินการเก็บข้อมูลจากการทดลอง

## เอกสารอ้างอิง

Boronkay, G., 2017, Color Conversion Centre 4.0c [Online], Available: http://ccc.orgfree.com/ [January 20, 2017].

Lazaro, A., Boada, M., Villarino, R., and Girbau, D., 2019, Color Measurement and Analysis of Fruit with a Battery-Less NFC Sensor, Sensor, 19: 1-21.

León, K., Mery, D., Pedreschi, F., and León, J., 2006, Color Measurement in L*a*b* Units from RGB Digital Images, Food Research International, 39: 1084–1091.

Lopez Camelo, A. F., Gomez, P. A., and Cacace, J. E., 1995, Modelo Para Describir Los Cambios De Color En Tomate (cv. Tommy) Durante La Poscosecha, In CONGRESO ARGENTINO DE HORTICULTURA, 18, 1995, Termas De Río Hondo, Argentina. Resúmenes, ASAHO, p. 212.

Lv, B. Li, B., Chen, S., Chen, J., and Zhu, B., 2009, Comparison of Color Techniques to Measure the Color of Parboiled Rice, Journal of Cereal Science, 50: 262–265.

Mendoza, F., Dejmek, P., and Aguilera, J.M., 2006, Calibrated Color Measurements of Agricultural Foods Using Image Analysis, Postharvest Biology and Technology, 41: 285–295.

Miettinen, J., Martinkauppi, B., and Suopajärvi, P., 2013, 3DS-Colorimeter Based on a Mobile Phone Camera for Industrial Applications, Proceedings of SPIE-Sensors, Cameras, and Systems for Industrial and Scientific Applications XIV, 86590M, (19 February 2013). https://doi.org/10.1117/12.2004036.

Nelis, J. L. D., Tsagkaris, A. S., Dillon M. J., Hajslova, J., and Elliott, C. T., 2020, Smartphone-based Optical Assays in the Food Safety Field, Trends in Analytical Chemistry, 129: 1-13. https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.115934

Subhashree, S. N., Sunoj, S., Xue, J., and Bora, G.C., 2017, Quantification of Browning in Apples Using Colour and Textural Features by Image Analysis, Food Quality and Safety, 00: 1–6. doi:10.1093/fqsafe/fyx021

Yam, K.L. and Papadakis, S.E., 2004, A Simple Digital Imaging Method for Measuring and Analyzing Color of Food Surfaces, Journal of Food Engineering, 61: 137–142.

Zhang, Y., Wang, W., Zhang, H., and Zhang, J., 2014, Meat Sensory Color Grade: Mathematical Simulation and Its Application in Quality Analysis of Chilled Pork, Journal of Food Processing and Preservation, 38: 1957–1964.

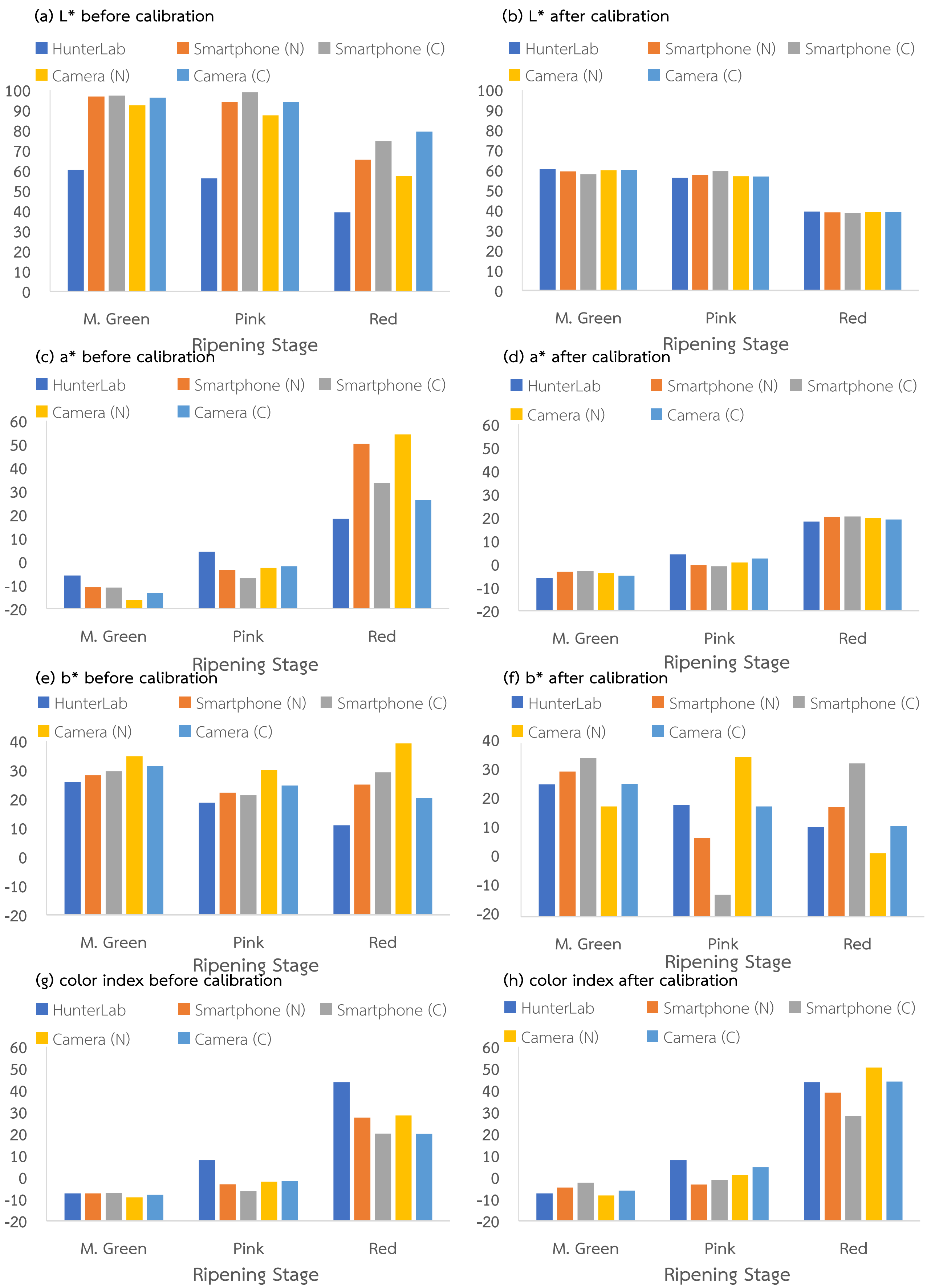



**Figure 1 (a)-(h)** L*, a*, b* and color index from tomato color measurement using Hunterlab colorimeter (HunterLab), smartphone (N = normal light, C = controlled light) and digital camera (N = normal light, C = controlled light) before and after calibration.

# ผลของรังสีแกมมาต่อคุณภาพทางจุลชีววิทยาและสมบัติทางเคมีของผงสมุนไพรฟ้าทะลายโจร
# Effect of Gamma Irradiation on Chemical Properties and Microbiological Quality of King of Bitter (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Wall. Ex Nees) Powder

เขมรุจิ เข็มทอง[1] วชิราภรณ์ ผิวล่อง[1] สุรศักดิ์ สัจจบุตร[1] จารุรัตน์ เอี่ยมศิริ[1] และ ศิริลักษณ์ ชูแก้ว[1]
Khemthong, K.[1], Pewlong, W.[1], Sajjabut, S.[1], Eamsiri, J.[1] and Chookaew, S.[1]

## Abstract

*Andrographis paniculata* is an important of medicinal herbs, being used for the medicinal reputation for treating various ailments. This study evaluated the effect of gamma irradiation with 5, 10, 15 and 20 kGy on microbiological load quality and chemical properties of *A. paniculata* powder. The irradiated and non-irradiated samples were determined for their microbial load, antioxidant activities and andrographolide content. Results showed that the initial microbial load in samples was exceeded the permissible limits. At radiation dose of 5 kGy, the microbial qualities reduced to the standard level. In addition, total phenolic contents and andrographolide contents were not changed when radiation doses were increased. Whereas, gamma irradiated samples above 10 kGy could significantly enhance their antioxidant activities as FRAP value ($p<0.05$).

**Keywords:** *Andrographis paniculata*, Gamma irradiation, Microbiological quality, Chemical properties

## บทคัดย่อ

ฟ้าทะลายโจรเป็นพืชสมุนไพรที่ได้รับการยอมรับและได้ถูกบรรจุอยู่ในบัญชียาหลักแห่งชาติ ในรูปแบบยาเดี่ยว งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อคุณภาพทางจุลชีววิทยาและทางเคมีในผงสมุนไพรฟ้าทะลายโจร โดยนำผงสมุนไพรฟ้าทะลายโจรมาฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณรังสี 5, 10, 15 และ 20 กิโลเกรย์ วิเคราะห์ปริมาณคุณภาพทางจุลินทรีย์ ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารแอนโดรกราโฟไลด์เปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ฉายรังสี พบว่าปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างที่ไม่ฉายรังสีมีค่าสูงเกินมาตรฐานยาสมุนไพรไทย การฉายรังสีปริมาณ 5 กิโลเกรย์ สามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดให้ต่ำกว่าค่ามาตรฐานได้ เมื่อฉายรังสีที่ปริมาณรังสีสูงขึ้นไม่พบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารแอนโดรกราโฟไลด์ แต่พบว่าตัวอย่างที่ฉายรังสีปริมาณ 10 กิโลเกรย์ขึ้นไป มีค่าความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

**คำสำคัญ:** ฟ้าทะลายโจร รังสีแกมมา คุณภาพทางชีววิทยา สมบัติทางเคมี

## คำนำ

ฟ้าทะลายโจร (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Wall. Ex Nees) ได้รับความสนใจ และถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายจากสรรพคุณช่วยเสริมภูมิคุ้มกันร่างกายและรักษาโรค และได้ถูกบรรจุในบัญชียาหลักแห่งชาติของกระทรวงสาธารณสุข จัดอยู่ในกลุ่มยาเย็น มีรสขม ส่วนที่นิยมนำมาใช้ ได้แก่ ใบ และลำต้นเหนือดิน เนื่องจากประกอบด้วยสารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ บรรเทาอาการท้องเสียชนิดที่ไม่ได้เกิดจากการติดเชื้อ บรรเทาอาการเจ็บคอ อาการของโรคไข้หวัด (Malinee และคณะ, 2012; Sirikarin และคณะ, 2018) โดยเฉพาะสารแอนโดรกราโฟไลด์ (andrographolide) ที่มีรายงานวิจัยว่าช่วยลดการรวมตัวของเกล็ดเลือด และฤทธิ์ต้านมะเร็ง เป็นต้น (PubChem, 2021)

อย่างไรก็ตาม ผลิตภัณฑ์สมุนไพรมักพบปัญหาปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคจากธรรมชาติ และกระบวนการผลิตที่ไม่เหมาะสม ซึ่งประเทศไทยใช้ประโยชน์จากรังสีแกมมาในด้านการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในระดับอุตสาหกรรม เพื่อยืดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์อาหาร, กำจัดแมลง และฆ่าเชื้ออุปกรณ์การแพทย์ เป็นต้น ปริมาณรังสีที่กำหนดไว้เพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์

[1] สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน) 9/9 ต.ทรายมูล อ.องครักษ์ จ.นครนายก 26120
[1] Thailand Institute of Nuclear Technology (Public Organization), 9/9 moo 7, Saimoon, Ongkharuk, Nakhon Nayok 26120, Thailand

ในอาหาร ไม่เกิน 10 กิโลเกรย์ (kGy) การฉายรังสีแกมมามีประสิทธิภาพสูงในการลดปริมาณจุลินทรีย์ เกิดความร้อนต่ำ และไม่ตกค้างในผลิตภัณฑ์ (เชาวลิต, 2556; FAO, IAEA, WHO, 1981)

การเกิดพลังงานไอออไน-เซชัน (ionization) จากการฉายรังสีแกมมาทำให้เกิดอนุมูลอิสระ (Hydroxyl radical; HO•) ที่สามารถไปรบกวน DNA จุลินทรีย์ ส่งผลให้เกิดการยับยั้งการเติบโตของเซลล์ (Diehl, 1995) ปริมาณรังสีที่เหมาะสมสามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ได้ โดยปริมาณที่ใช้จะแตกต่างกันตามชนิดของตัวอย่างและปริมาณเชื้อเริ่มต้น เช่น ผงขมิ้นชันฉายรังสีแกมมาปริมาณ 8 kGy (สุรศักดิ์ และคณะ, 2555) และการฉายรังสีแกมมาในผงอบเชย 5 kGy เป็นปริมาณที่เหมาะสมสำหรับลดเชื้อจุลินทรีย์ให้ต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐาน (จารุรัตน์ และคณะ, 2556) และเพื่อตอบสนองต่อแผนแม่บทแห่งชาติ ว่าด้วยการพัฒนาสมุนไพรไทย ฉบับที่ 1 พ.ศ. 2560-2564 ที่มุ่งหวังว่าประเทศไทยสามารถส่งออกวัตถุดิบสมุนไพรที่มีคุณภาพและผลิตภัณฑ์สมุนไพรชั้นนำของภูมิภาคอาเซียน (กรมการแพทย์แผนไทยและแพทย์ทางเลือก, 2560) งานทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อคุณภาพทางจุลชีววิทยาและสมบัติทางเคมีของผงสมุนไพรฟ้าทะลายโจร เพื่อเป็นองค์ความรู้ให้กับผู้ที่สนใจในเทคโนโลยีการฉายรังสีเพื่อใช้ปรับปรุงคุณภาพของสมุนไพรไทย

## อุปกรณ์และวิธีการ

นำตัวอย่างผงฟ้าทะลายโจรที่ซื้อจากผู้ผลิตมาแบ่งบรรจุในถุงอลูมิเนียมฟอยด์ปิดสนิท ไปฉายรังสีแกมมา (เครื่อง Gamma chamber 5000, BRIT จากประเทศอินเดีย) ณ สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน) ที่ปริมาณรังสี 5, 10, 15 และ 20 kGy มาทดสอบและเปรียบเทียบผลกับตัวอย่างที่ไม่ฉายรังสี โดยนำตัวอย่างมาสกัดด้วยตัวทำละลาย 60% เอทานอลกับน้ำ ใช้อัตราส่วนตัวอย่างต่อสารละลาย เท่ากับ 100 มิลลิกรัม : 10 มิลลิลิตร แล้วนำเข้า ultrasonic bath เป็นเวลา 60 นาที จากนั้นกรองเอาส่วนใสมาทดสอบสมบัติทางเคมี ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (radical scavenging activity) ด้วย วิธี DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging activity assay เทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) (Khattak และคณะ, 2008), ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolics) ด้วยวิธี Folin-Ciocalteau’s reagent method เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (gallic acid) (Velioglu และคณะ, 1998) ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (ferric ion reducing antioxidant power assay: FRAP) เทียบกับสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4$) (Langley-Evans, 2000) ปริมาณสารแอนโดรกราโฟไลด์ (andrographolide) ด้วยเทคนิค HPLC โดยใช้คอลัมน์ SunFire C18 ขนาด 4.6 x 150 มิลลิเมตร เฟสเคลื่อนที่คือ 55% เมทานอล : น้ำ (55:45) อัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ที่ความยาวคลื่น 229 นาโนเมตร โดยใช้ photodiode-array detector (PDA) detector สารมาตรฐาน คือ andrographolide (Sigma 90281-5 MG) (อรัญญา และคณะ, 2548) และตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา ได้แก่ ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (BAM online chapter3, 2001), ปริมาณยีสต์และราทั้งหมด (BAM online chapter18, 2001), และเชื้อจุลลินทรีย์ก่อโรคอาหารเป็นพิษ และอุจจาระร่วง ได้แก่ *Bacillus cereus* (ISO 7932, 2004) การวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติใช้วิธี Duncan's new Multiple Range Test

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาผลของรังสีแกมมาที่ปริมาณรังสี 5, 10, 15 และ 20 kGy ต่อคุณภาพทางจุลชีววิทยาและสมบัติทางเคมี ผลการศึกษาดังแสดงใน Table 1 โดยพบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) ปริมาณสาร andrographolide ในตัวอย่างผงฟ้าทะลายโจร ที่ไม่ฉายและฉายรังสีแกมมาปริมาณรังสีต่าง ๆ มีค่าไม่แตกต่างกัน อาจเนื่องมาจากการฉายรังสีเป็นกระบวนการ cold process จึงไม่ส่งผลต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และสารประกอบอินทรีย์ที่ระเหยได้ง่าย ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Tummanichanont และคณะ (2018) ที่พบว่าเมื่ออุณภูมิสูงขึ้นมีผลทำให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด, กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และสาร andrographolide ในฟ้าทะลายโจรมีค่าลดลง และการทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์เฟอรร์ริก (FRAP value) มีค่าไม่แตกต่างกันในตัวอย่างที่ไม่ฉายรังสีและที่ฉายรังสีแกมมา 5 kGy แต่พบว่าปริมาณรังสีตั้งแต่ 10 kGy ค่า FRAP value เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p$<0.05) การรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออน ($Fe^{3+}$) เป็นการวัดความสามารถของการให้อิเล็กตรอนของสารต้านอนุมูลอิสระที่ให้อยู่ในรูปเฟอร์รัสไอออน ($Fe^{2+}$) ที่มีเสถียรภาพ โดยรังสีแกมมาเป็นรังสีก่อไอออนที่อาจเหนี่ยวนำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของค่า FRAP value ได้ในตัวอย่างบางชนิดได้ (Janiak และคณะ, 2016) สารแทนนินอาจถูกทำลายโครงสร้างจากการฉายรังสีและเกิดการเปลี่ยนโครงสร้างของโมเลกุล (Variyar และคณะ, 1998; Topuz และ Ozdemir, 2004) อาจมีผลทำให้สารสำคัญมีความสามารถในการละลายสูงขึ้น ค่าการทดสอบจึงเพิ่มขึ้นได้

Table 2 แสดงผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด พบว่าตัวอย่างผงฟ้าทะลายโจรมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (total bacterial count) ในตัวอย่างเริ่มต้นก่อนการฉายรังสีมีค่าเกินมาตรฐาน โดยตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย (Thai Herbal Pharmacopoeia, 2009) กำหนดให้มีค่า $\leq 2.0 \times 10^{5}$ cfu/g (จิตรา และคณะ, 2557) เมื่อผ่านการฉายรังสีแกมมาปริมาณ 5 kGy มีค่าลดลง 2 log cycle ทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดลดต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐาน ส่วนปริมาณยีสต์และราทั้งหมด (total yeast and mold) และจุลินทรีย์ก่อโรค *Bacillus cereus* มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นก่อนฉายรังสีไม่เกินค่ามาตรฐาน และเมื่อฉายรังสีแกมมาพบว่าปริมาณเชื้อปนเปื้อนมีค่าลดลงตามปริมาณรังสีที่เพิ่มขึ้น จากการไปรบกวน DNA และยับยั้งเจริญเติบโตของของเชื้อจุลินทรีย์ (เติมเอกสารอ้างอิง) (Diehl, 1995)

## สรุปผล

ผงสมุนไพรฟ้าทะลายโจรเป็นยาสมุนไพรที่นิยมใช้เพื่อเสริมภูมิคุ้มกันและบรรเทาอาการของโรคระบบทางเดินหายใจ การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์สูงเกินเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ไม่มีคุณภาพ รังสีแกมมาจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่มีประโยชน์ในการปรับปรุงคุณภาพทางจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ การฉายรังสีแกมมาปริมาณ 5 kGy เป็นปริมาณรังสีที่เหมาะสมและเพียงพอในการควบคุมปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดให้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน และไม่ส่งผลต่อปริมาณสารแอนโดรกราโฟไลด์และสมบัติทางเคมีอื่นๆ ในผงสมุนไพรฟ้าทะลายโจร

## เอกสารอ้างอิง


กรมการแพทย์แผนไทยและแพทย์ทางเลือก, 2560, แผนแม่บทแห่งชาติ ว่าด้วยการพัฒนาสมุนไพรไทย ฉบับที่ 1 พ.ศ. 2560-2564, [สืบค้น], https://www.dtam.moph.go.th/images/download/dl0021/MasterPlan-Thaiherb.pdf [6/ March /21].

จารุรัตน์ เอี่ยมศิริ วชิราภรณ์ ผิวล่อง สุรศักดิ์ สัจจบุตร และศิริลักษณ์ สิงห์เพชร, 2556, ผลของการฉายรังสีแกมมา และลำอิเล็กตรอนต่อคุณภาพทางจุลชีววิทยาของผงอบเชย, วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 44(2) (พิเศษ): 229-232.

จิตรา ชัยวัฒน์ จิรานุช แจ่มทวีกุล สันติพงศ์ วงศ์เพ็ญทักษ์ และปรัชญาพร อินทองแก้ว, 2557, ความปลอดภัยของยาจากสมุนไพร ในบัญชียาหลักแห่งชาติ, วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 56(3): 123 – 134.

เชาวลิต มณฑล, 2556, การฉายรังสีแกมมา : กระบวนการทำไร้เชื้อสำหรับผลิตภัณฑ์สมุนไพร, ไทยไภษัชยนิพนธ์, 8 (1): 41-54

สุรศักดิ์ สัจจบุตร, วชิราภรณ์ ผิวล่อง, สุชาดา เสกสรรวิริยะ, สุชาดา พงษ์พัฒน์ และจารุรัตน์ เอี่ยมศิริ, 2555, ผลของรังสีแกมมาและลาอิเล็กตรอนต่อการเปลี่ยนแปลงของสี ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารเคอร์คูมินในขมิ้นชันผง วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 43(2) (พิเศษ): 109-112

อรัญญา ศรีบุศราคัม, พนิดา ใหญ่ธรรมสาร, กฤติกา ไชยนอก และนันทวัน บุณยะประภัศรา, 2548, ข้อสังเกตในการวิเคราะห์ lactone และ andrographolide. วารสารสมุนไพร, 12: 31-38.

Bacteriological Analytical Manual Online, 2001, Chapter 3: Aerobic Plate Count, USFDA. 10 pp. [Online], https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-3-aerobic-plate-count.

Bacteriological Analytical Manual Online, 2001, Chapter18 Yeast, Mold and Mycotoxins. USFDA [Online], https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-18-yeasts-molds-and-mycotoxins.

Diehl, J.F., 1995, Safety of Irradiated Foods. 2 nd Ed. Marcel Dekker, Inc., New York, 454 p.

Kurokawa, M., Kumeda, C.A., Yamamura, J., Kamiyama, T. and Shiraki, K., 1998, Antipyretic Activity of Cinnamyl Derivatives and Related Compounds in Influenza Virus-infected Mice, European Journal of Pharmacology, 348(1): 45-51.

FAO, IAEA, WHO, 1981, The Wholesomeness of Irradiated Food, WHO Technical Report Series No. 659, Geneva.

Haina, B. Zhenyu, W. Jie, C and Chilin, C., 2014, Synergistic Radiation Protective Effect of Purified *Auricularia auricular-judae* Polysaccharide (AAP IV) with Grape Seed Procyanidins, Molecules, 19 :20675-20694.

ISO 7932:2004, Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs-Horizontal Method for the Enumeration of Presumptive *Bacillus cereus*-Colony-count Technique at 30°C, [Online], https://cdn.standards.iteh.ai/samples/76664/24cf4583cbb948f194dee34812fec5ff/ISO-7932-2004-Amd-1-2020.pdf [March 1, 2021].

Janiak, M.A., Slavova-Kazakova, A., Karamać, M., Kancheva, V., Terzieva, A., Ivanova, M., Tsrunchev, T. and Amarowicz, R., 2016, Effects of Gamma-Irradiation on the Antioxidant Potential of Traditional Bulgarian Teas, Natural Product Communications, 12 (2), 181-184.

Khattak, K.F., Simpson, T. and Ihasnullah, J., 2008, Effect of Gamma Irradiation on the Extraction Yield, Total Phenolic Content and Free Radical-Scavenging Activity of *Nigella sativa* seed, Food Chemistry, 110 (4): 967-972.

Langley-Evans, S.C., 2000, Antioxidant Potential of Green and Black Tea Determined Using the Ferric- Reducing Power (FRAP) Assay, International Journal of Food Sciences and Nutrition, 51: 181-188.

Wongnawa, M., Soontaro, P., Riditid, W., Wongpoowarak, P., and Ruengkittisakul, S., 2012, The Effects of *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees on the Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Midazolam in Healthy Volunteers, Songklanakarin Journal of Science and Technology, 34 (5), 533-539.

PubChem, 2021, PubChem Compound Summary for CID 5318517, Andrographolide., National Center for Biotechnology Information [Online], https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Andrographolide [March 6, 2021].

Sirikarin, T.., Palo, T., Chotewuttakorn, S., Chandranipapongse, W., Limsuvan, S. and Akarasereenont, P., 2018, The Effects of *Andrographis paniculata* on Platelet Activity in Healthy Thai Volunteers., Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume 2018, Article ID 2458281, 9 pages.

Topuz, A. and Ozdemir, F., 2004, Influences of Gamma Irradiation and Storage on the Capsaicinoids of Sun-dried and Dehydrated Paprika, Food Chemistry, 86:509-515.

Variyar, P.S., Bandyopadhyay, C. and Thomas, P., 1998, Effect of Gamma Irradiation on the Phenolic Acid of Some Indian Spices, International Journal of Food Science and Technology, 33:533-537.

Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L., and Oomah, B.D., 1998, Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 4113-4117.

**Table 1**. Effects of gamma irradiation on total phenolics content, DPPH, FRAP value and andrographolide content of *Andrographis paniculata*. powder.

| Dose (kGy) | total phenolic (mgGAE/g) | DPPH (mgAAE/g) | FRAP value (µmol $FeSO_4$/g) | Andrographolide content (mg/g of sample) |
|---|---|---|---|---|
| 0 | 20.85±1.69[a] | 15.91±0.94[a] | 213.26±2.58[a] | 4.73±0.05[a] |
| 5 | 21.65±2.19[a] | 16.08±0.13[a] | 216.21±1.17[a] | 4.77±0.15[a] |
| 10 | 21.33±1.15[a] | 18.37±1.98[a] | 231.19±6.52[b] | 4.67±0.11[a] |
| 15 | 21.27±1.61[a] | 16.11±0.43[a] | 227.66±5.01[b] | 4.63±0.15[a] |
| 20 | 21.12±0.93[a] | 16.60±1.04[a] | 229.13±6.22[b] | 4.57±0.23[a] |

Values are expressed as mean ± SD of triplicate measurements.

Different letter in the same column indicate significant differences at $p < 0.05$.

**Table 2** Microbiological quality of *Andrographis paniculata* powder that irradiated by gamma radiation.

| Dose (kGy) | Total Bacterial Count (CFU/g) | Total Yeast and Mold (CFU/g) | *Bacillus cereus* (CFU/g) |
|---|---|---|---|
| 0 | $5.2 \times 10^5$ | $3.4 \times 10^3$ | $2.6 \times 10^2$ |
| 5 | $2.5 \times 10^3$ | <10 | <10 |
| 10 | <10 | <10 | <10 |
| 15 | <10 | <10 | <10 |
| 20 | <10 | <10 | <10 |

# ประสิทธิภาพของนาโนซิงค์ออกไซด์ร่วมกับน้ำตาลต่อการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำยาปักแจกันและปรับปรุงคุณภาพดอกกล้วยไม้สกุลแวนด้าพันธุ์สันทรายบูลหลังการเก็บเกี่ยว

# Efficacy of Nano Zinc Oxide Combined with Sugar on Reducing Microbial Load in Vase Solution and Improving the Quality of 'Sansai Blue' Vanda orchid after Harvest

วิรัญญา แพ่งพนม[1,2], จุฑามาศ พร้อมบุญ[1,2], ผ่องเพ็ญ จิตอารีย์รัตน์[1,2] และ มัณฑนา บัวหนอง[1,2]
Pangpanom, W.[1,2], Promboon, J.[1,2], Jitareerat, P.[1,2] and Buanong M.[1,2]

**Abstract**

Efficacy of nano Zinc oxide (ZnO) on microbial load in vase solution of 'Sansai Blue' *Vanda* orchid was investigated in total plate count agar contained with 0.01 and 0.05% nano-ZnO, compared to sterile water, and 0.5% HCl + 95% EtoH (HCl + EtOH) as the solvent of nano-ZnO. The result showed that 0.05% nano-ZnO completely inhibited the microbial growth. The effect of nano-ZnO on the quality of harvested orchid was investigated by holding inflorescences in distilled water (control), 2% sucrose, and 0.05% nano-ZnO + 2% sucrose at 21±2 °C. Treatment of nano-ZnO + sucrose significantly delayed respiration rate and maintained anthocyanin content in petals better than sucrose alone ($p \leq 0.01$), no microbial load was not detectable within 8 days, and the vase life was the longest (9.6 days). Moreover, microbial load was found in control and sucrose treatment, which their vase life was 9.3 and 7.3 days, respectively.

**Keywords:** Vanda, nano Zinc Oxide, sucrose, quality

**บทคัดย่อ**

การศึกษาประสิทธิภาพของนาโนซิงค์ออกไซด์ (nano-ZnO) ต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำยาปักแจกันของดอกกล้วยไม้แวนด้าพันธุ์สันทรายบูล ทำการทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ Total plate count agar ที่ผสม nano-ZnO เข้มข้น 0.01 และ 0.05% เปรียบเทียบกับน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ และกรดไฮโดรคลอลิค 0.5 % ในเอทานอล 95 % (HCl + EtOH, ใช้เป็นตัวทำละลาย nano-ZnO) พบว่า nano-ZnO 0.05% ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้สมบูรณ์ การศึกษาผลของ nano ZnO ร่วมกับน้ำตาลต่อคุณภาพของดอกกล้วยไม้ โดยปักช่อดอกในน้ำกลั่น (ชุดควบคุม), ซูโครส 2% และ nano-ZnO 0.05% + ซูโครส 2% วางไว้ที่ 21±2 องศาเซลเซียส พบว่า nano-ZnO + ซูโครส ชะลออัตราการหายใจและคงปริมาณแอนโทไซยานินในกลีบดอกได้ดีกว่ากล้วยไม้ที่ปักในซูโครส ($p \leq 0.01$) และไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำยาปักแจกันนาน 8 วัน ตลอดจนมีอายุการปักแจกันนานที่สุด (9.6 วัน) ส่วนชุดควบคุมและชุดที่ปักในซูโครส พบเชื้อจุลินทรีย์เจริญในน้ำปักแจกันเพิ่มขึ้นระหว่างปักแจกัน และมีอายุการปักแจกันเท่ากับ 9.3 และ 7.3 วัน ตามลำดับ

**คำสำคัญ:** กล้วยไม้สกุลแวนด้า นาโนซิงค์ออกไซด์ น้ำตาลซูโครส คุณภาพ

## คำนำ

การอุดตันของท่อลำเลียงน้ำมีสาเหตุจากฟองอากาศหรือเชื้อจุลินทรีย์นั้น มีผลไปขัดขวางการลำเลียงน้ำ จนทำให้ดอกไม้เกิดสภาวะขาดน้ำและเหี่ยว (Van Meeteren และคณะ, 2001; Henriette และ Clerkx, 2001) โดยเซลล์ของกลีบดอกสูญเสียความเต่งเนื่องจากการดูดน้ำและการคายน้ำไม่สมดุลกัน ดังนั้น การเติมสารส่งเสริมคุณภาพในน้ำปักแจกันจึงสามารถยืดอายุการใช้งานของดอกไม้ได้ สารส่งเสริมคุณภาพมีองค์ประกอบสำคัญ 2 อย่าง คือ สารฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ และน้ำตาลซึ่งใช้เป็นแหล่งพลังงานให้แก่ดอกไม้ โดยน้ำตาลที่นิยมใช้มากที่สุดเพราะหาง่ายและราคาไม่แพง คือ ซูโครส สามารถใช้เป็นสารตั้งต้นของการหายใจ และกระตุ้นให้ดอกบานได้ (Pun และ Ichimura, 2003) สังกะสี (ซิงค์) เป็นธาตุอาหารรองของพืช หากอยู่ในรูป zinc oxide (ZnO) จะมีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ และ ZnO ที่อยู่ในรูปอนุภาคระดับนาโน (nano-ZnO) จะมีคุณสมบัติยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีขึ้น

---

[1] สาขาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (บางขุนเทียน) 49 ซอยเทียนทะเล 25 ถนนบางขุนเทียนชายทะเล แขวงท่าข้าม เขตบางขุนเทียน กรุงเทพมหานคร 10150

[1] Division of Postharvest Technology, School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi (Bangkhuntien), 49 Tientalay 25, Thakam, Bangkhuntien, Bangkok 10150, Thailand

[2] ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กรุงเทพมหานคร 10400

[2] Postharvest Technology Innovation Center, Office of the Higher Education Commission, Bangkok 10400, Thailand

Priyanka and Arun (2013) พบว่า nano-ZnO มีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่า ZnO การใช้ nano-ZnO ยังช่วยลดการเกิดโรคแคงเกอร์ของมะนาว (ชีวะ และคณะ, 2560) และโรคราแป้งของมะม่วงได้ (สุปราณี, 2558) ในสตรอเบอร์รี่ พบว่า nano-ZnO ช่วยลดการสูญเสียน้ำหนัก, รักษาความแน่นเนื้อ, คงปริมาณแอนโทไซยานิน, วิตามินซี, ปริมาณฟีนอล, กิจกรรมสารต้านอนุมูลอิสระ และลดจำนวนจุลินทรีย์ได้ (Ommol และคณะ, 2016) งานวิจัยนี้ จึงมุ่งศึกษาประสิทธิภาพของนาโนซิงค์ออกไซด์ร่วมกับสารละลายซูโครสเพื่อลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำยาปักแจกันและปรับปรุงคุณภาพดอกกล้วยไม้สกุลแวนด้าพันธุ์สันทรายบูลหลังการเก็บเกี่ยว

## อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียม nano-ZnO - ละลาย nano-ZnO ด้วยกรดไฮโดรคลอลิค เข้มข้น 0.5 % ในเอทานอล เข้มข้น 95 % จากนั้นปรับค่า pH เท่ากับ 6 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ และเติมน้ำกลั่นเพื่อปรับปริมาตรให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ

การทดสอบประสิทธิภาพของ nano-ZnO ต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในสภาพ *in vitro* – นำเชื้อแบคทีเรีย (ที่แยกจากน้ำปักแจกันกล้วยไม้) ที่ความเข้มข้น $10^8$ CFU $mL^{-1}$ (OD. = 0.1) มาเกลี่ยลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ที่ผสม nano-ZnO เข้มข้น 0 (ชุดควบคุม), 0.01 และ 0.05% และบ่มที่ 37°C นาน 24 ชั่วโมง บันทึกผลโดยนับจำนวนโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์บนหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ และรายงานผลเป็น log CFU $mL^{-1}$

การทดสอบประสิทธิภาพของ nano-ZnO ต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในสภาพ *in vivo* – นำช่อดอกกล้วยไม้ ที่มีดอกบาน 5-8 ดอก และดอกตูม 2-4 ดอก จากฟาร์มกล้วยไม้สำเนาออร์คิด จ.กาญจนบุรี มาปักแช่ในน้ำกลั่น (ชุดควบคุม), ซูโครส 2% และ nano-ZnO 0.05% + ซูโครส 2% และวางไว้ที่อุณหภูมิ 21±2°C ความชื้นสัมพัทธ์ 60-70 % ภายใต้แสงฟลูออเรสเซ้นต์ นาน 12 ชั่วโมงต่อวัน วางแผนการทดลองแบบ completely in randomized design แต่ละวิธีการทดลองมี 6-8 ช่อดอก (ซ้ำ) และวิเคราะห์ค่าทางสถิติ (analysis of variance, ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษา พบว่า nano-ZnO มีประสิทธิภาพลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ โดยเฉพาะที่ความเข้มข้น 0.05% ไม่พบเชื้อจุลินทรีย์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ส่วนที่ความเข้มข้น 0.01% พบเชื้อ 4.34 log CFU $mL^{-1}$ ในขณะที่ชุดควบคุม (SDW) และ HCl + EtOH มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์สูงที่สุด เท่ากับ 7.98 และ 7.70 CFU $mL^{-1}$ ตามลำดับ (Table 1) ทั้งนี้เนื่องจาก nano-ZnO มีคุณสมบัติในการต้านเชื้อรา (Snoop และคณะ, 2012) และเชื้อแบคทีเรียบางชนิด (Wahab และคณะ, 2012) ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อยังขึ้นอยู่กับขนาดอนุภาค nano-ZnO ที่มีขนาดน้อยกว่า 12 นาโนเมตร จะมีผลยับยั้งแบคทีเรียได้ดีกว่าอนุภาคขนาด 25 นาโนเมตร ขึ้นไป โดยอนุภาคขนาดเล็กกว่าเมื่อเกิด Photocatalytic จะทำให้เกิดอิเล็กตรอนเพิ่มขึ้นได้มากกว่าอนุภาคขนาดใหญ่ ซึ่งอิเล็กตรอนที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนได้ Superoxide radical anion และทำปฏิกิริยาต่อไปกับไฮโดรเจนไอออนได้ Hydrogen superoxide และเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องระหว่าง Hydrogen superoxide กับไฮโดรเจนไอออนและอิเล็กตรอนได้ Hydrogen peroxide ซึ่งเป็นพิษต่อเซลล์แบคทีเรีย (Prasanna และ Vijayaraghavan, 2015) He และคณะ (2011) รายงานว่า nano-ZnO ที่ 3 mM·$L^{-1}$ สามารถยับยั้งเชื้อรา *P. expansum* ในผลแอปเปิ้ลได้ และ nano-ZnO ที่มีขนาดอนุภาค 6 นาโนเมตร ช่วยยับยั้งเชื้อรา *A. Alternata* ในส้มแมนดาริน (Sardella และคณะ, 2017) จากการศึกษา เมื่อนำ nano-ZnO 0.05% มาใช้ร่วมกับซูโครส 2 % (nano-ZnO + Su) เพื่อเป็นน้ำยาปักแจกันโดยเปรียบเทียบกับน้ำกลั่น (DW, ชุดควบคุม) และซูโครส (Su) เพียงอย่างเดียว พบว่า ดอกกล้วยไม้ที่ปักแช่ใน DW และ nano-ZnO + Su และ Su มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักสดและการดูดน้ำลดลงตลอดระยะเวลาการปักแจกันและไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Figures 1A, 1B) แต่การปักแช่ดอกกล้วยไม้ใน Su มีอัตราการหายใจสูงกว่าชุดการทดลองอื่น ๆ ในช่วง 4 วันแรกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Figure 1C) อาจจะเนื่องมาจากดอกไม้ใช้น้ำตาลในกระบวนการหายใจและได้พลังงาน (ATP) ซึ่งจะถูกนำไปใช้ในกระบวนการต่างๆ (Halevy and Mayak, 1979) นอกจากนั้น กล้วยไม้ที่ปักแช่ในน้ำยาปักแจกันที่มีซูโครสเป็นองค์ประกอบมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในกลีบดอกมากกว่ากล้วยไม้ที่ปักใน DW (Figure 1D) และการเติม nano-ZnO ทำให้ค่า pH ของน้ำปักแจกันลดลงประมาณ 2.29 ซึ่งสภาพที่เป็นกรดมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยเฉพาะที่ pH 3 หรือต่ำกว่า (Ketsa และ Narkbua, 2001) ในขณะที่ดอกกล้วยไม้ที่ปักแช่ใน DW และ Su มีค่า pH ในน้ำยาปักแจกัน เท่ากับ 6.31 และ 5.05 ตามลำดับ pH ยังมีผลต่อความคงตัวของสารสีแอนโทไซยานิน ในสภาวะ pH ต่ำ จะทำให้สารแอนโทไซยานินมีความคงตัวมากกว่าที่ pH สูง (รัตนา และคณะ, 2557) จากการศึกษา nano-ZnO + Su และ DW สามารถคงปริมาณแอนโทไซยานินในกลีบดอกได้ ในขณะที่ดอกกล้วยไม้ที่ปักแช่ใน Su มีปริมาณแอนโทไซยานินลดลงอย่างช้า ๆ ตลอดระยะเวลาการปักแจกัน (Figure 1E) ทั้งนี้การให้น้ำตาลจากภายนอกต่อความเสถียรของแอนโทไซยานินนั้นขึ้นอยู่กับโครงสร้าง, ความเข้มข้น และชนิดของน้ำตาล เช่น ซูโครส 20% สามารถเพิ่ม

ความเสถียรตัวของแอนโทไซยานินในสตรอเบอรี่แช่แข็งได้ (Wrolstad และคณะ, 1990) ในขณะที่ซูโครส 86 g $L^{-1}$ ส่งผลให้มีการสลายตัวของแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้นในเครื่องดื่มที่ผสมกระหล่ำปลีสีแดง, blackcurrant และ elderberry (Dyrby และคณะ, 2001) การปักแช่ดอกกล้วยไม้ในสารละลาย Su ยังพบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำปักแจกันเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการปักแจกัน (Figure 1F) เนื่องจากน้ำตาลเป็นแหล่งอาหารของจุลินทรีย์ ทำให้จุลินทรีย์ในน้ำยาปักแจกันเจริญอย่างรวดเร็วและมีผลไปอุดตันท่อลำเลียงน้ำของดอกไม้ (สายชล, 2539) ดอกกล้วยไม้ที่ปักแช่ใน nano-ZnO + Su มีอายุปักแจกันนานที่สุด เท่ากับ 9.6 วัน รองลงมา คือ DW (ชุดควบคุม) เท่ากับ 9.3 วัน และในสารละลาย Su มีอายุปักแจกันสั้นที่สุดเท่ากับ 7.33 วัน (Figure 1G) เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Deepshikha และคณะ (2018) ที่รายงานว่า nano-ZnO มีผลลดจำนวนประชากรของจุลินทรีย์ในน้ำปักแจกันดอกเยอบีร่า ลดการอุดตันของท่อลำเลียงน้ำ และเพิ่มอัตราการดูดน้ำ จึงสามารถชะลอการเสื่อมสภาพของดอกเยอบีร่าได้

## สรุปผล

nano-ZnO ความเข้มข้น 0.05% สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำปักแจกันดอกกล้วยไม้สกุลแวนด้าพันธุ์ ‘สันทรายบูล’ ได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อได้สมบูรณ์ และเมื่อนำมาใช้เป็นน้ำยาปักแจกันโดย พบว่า nano-ZnO 0.05% + น้ำตาลซูโครส 2% สามารถลดการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำปักแจกัน และรักษาคุณภาพของดอกกล้วยไม้ได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้น้ำกลั่นและน้ำตาลซูโครสเพียงอย่างเดียว

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ The United Graduate School of Agricultural Science (UGSAS), Gifu University, Japan ที่สนับสนุนเครื่องมือวิทยาศาตร์ในการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง, 2559, นาโนซิงค์ออกไซด์ลดโรคแคงเกอร์ในมะนาว, http://www.nano.kmitl.ac.th/index.php. [เข้าถึงเมื่อ 30 สิงหาคม 2559]

รัตนา ม่วงรัตน์, กรวิกา สกุลไกรพีระ, ธัญญารัตน์ บุระคา และลีลาวดี ชมนาน, 2557, ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารแอนโธไซยานินจากข้าวโพดสีม่วง, วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 22 (3): 367-380.

สายชล เกตุษา, 2531, เทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวของดอกไม้, ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, 291 หน้า.

Dyrby, M., Westergaard, N. and Stapelfeldt, H., 2001, Light and Heat Sensitivity of Red Cabbage Extract in Soft Drink Model Systems, Food Chemistry, 72: 431-437.

He, L., Liu, Y., Mustapha, A. and Lin, M., 2011, Antifungal Activity of Zinc Oxide Nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*, Microbiology Research, 166: 207-215.

Henriette, M.C. and Clerkx, A.C.M., 2001, Anatomy of Cut Rose Xylem Observed by Scanning Electron Microscope, Acta Horticulturae, 547: 329-339.

Ketsa, S. and Narkbua, N., 2001, Effect of Aminooxyacetic Acid and Sucrose on Vase Life of Cut Roses, Acta Horticulturae, 943: 227-234.

Prasanna, V.L. and Vijayaraghavan, R., 2015, Insight into the Mechanism of Antibacterial Activity of ZnO: Surface Defects Mediated Reactive Oxygen Species even in the Dark, Langmuir, 31: 9155-9162.

Priyanka, S. and Arun, N., 2013, Antimicrobial and Antifungal Potential of Zinc Oxide Nanoparticles in Comparison to Conventional Zinc Oxide Particles, Journal of Chemical Pharmaceutical Research, 5: 457-463.

Pun, U.K. and Ichimura, K., 2003, Role of Sugars in Senescence and Biosynthesis of Ethylene in Cut Flowers, Japan Agricultural Research Quartery, 4: 219-224.

Raghupathi, K.R., Koodali, R.T. and Manna, A.C., 2011, Size-dependent Bacterial Growth Inhibition and Mechanism of Antibacterial Activity of Zinc Oxide Nanoparticles, Langmuir, 27: 4020-4028.

Rattanawisalanon, C., Ketsa S. and van Doorn, W.G., 2003, Effect of Aminooxyacetic Acid and Sugars on the Vase Life of Dendrobium Flowers, Postharvest Biology and Technology, 29: 93-100.

Sanoop, P.K., Mahesh, K.V., Nampoothiri, K.M., Mangalaraja, R.V. and Ananthakumar, S., 2012, Multifunctional ZnO-biopolymer Nanocomposite Coatings for Health-care Polymer Forms and Fabrics, Journal of Applied Polimer Science, 126: 232-243.

Sardella, D., Gatt, R. and Valdramidis, V.P., 2017, Physiological Effects and Mode of Action of ZnO Nanoparticles against Post-harvest Fungal Contaminants, Food Research International, 101: 274-279.

Van Meeteren, U., Van Iberen, W., Nijsse, J. and Keijzer, K., 2001, Processes and Xylem Antimicrobial Properties Involved in Dehydration Dynamics of Cut Flowers, Acta Horticulturae, 543: 207-211.

Wahab, R., Mishra, A., Yun, S.-I., Hwang, I.H., Mussarat, J., Al-Khedhairy, A.A., Kim, Y.-S. and Shin, H.S., 2012, Fabrication, Growth Mechanism and Antibacterial Activity of ZnO Micro-spheres Prepared via Solution Process, Biomass and Bioenergy, 39: 227-236.

Wrolstad, R.E., Skrede, G., Lea, P. and Enersen, G., 1990, Influence of Sugar on Anthocyanin Pigment Stability in Frozen Strawberries, Journal of Food Science, 55: 1064-1065.

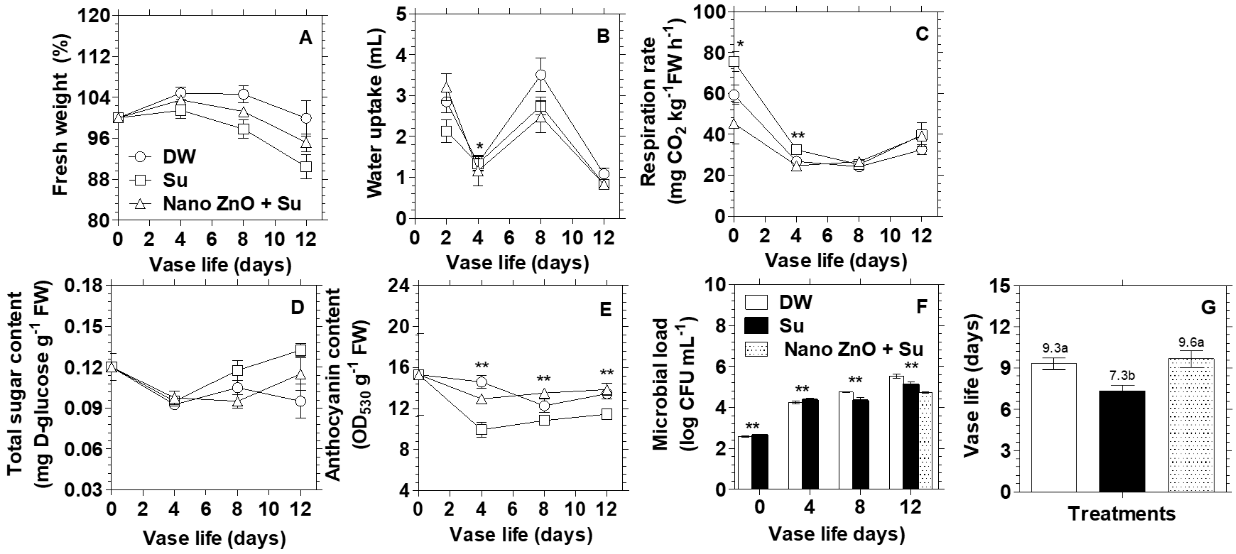



**Figure 1** Fresh weight (A), water uptake (B), respiration rate (C), total sugar content (D), anthocyanin content (E), microbial load (F) and vase life (G) of Vanda orchid ‘Sansai Blue’ holding in distilled water (DW, control), 2% sucrose and 0.05% nano-ZnO + 2% sucrose in an observation room (21 ± 2 °C, 60-70% RH, under cool-white fluorescence lights for 12 hours) throughout experimental period. The asterisks represent significant differences at $p \leq 0.05$ (*) and $p \leq 0.01$ (**) by Duncan’s Multiple Range Test (DMRT).

**Table 1** Microbial load on total plate count *in vitro*. The treatments included sterile distilled water (control), 0.01%, 0.05% nano-ZnO and 0.05% HCl + 95%EtOH incubated at 37 °C for 24 hours.

| Treatments | Microbial load [1/] (Log CFU ml$^{-1}$) |
|---|---|
| SDW (control) | 7.98[a] |
| HCl + EtOH | 7.70 |
| 0.01% Nano-ZnO | 4.34 |
| 0.05% Nano-ZnO | 0.00 |
| **F-test.** | ** |
| **C.V. (%)** | **1.85** |

[1/] = The results represent means of 4 replicates. Means within the same column with different letters are significantly different by Duncan’s Multiple Range Test (DMRT). Asterisks represent significant differences at $p \leq 0.01$ (**).

# การศึกษาความเป็นไปได้ของสารเคลือบไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานินในการตรวจสอบการเกิดสภาวะที่ไม่ใช้ออกซิเจนในแบบจำลองภาชนะบรรจุผลิตผลสด

# Feasibility Study of Coating Solution of Chitosan Mixed with AMP and Anthocyanin for Investigation of Anaerobic Conditions in Fresh Produce Container Model

**จุฑาทิพย์ โพธิ์อุบล[1] กฤษญา เนตรประไพ[1] และ พริมา พิริยางกูร[2]**
**Poubol, J.[1], Netpraphai, K.[1] and Phiriyangkul, P[2]**

## Abstract

The properties of chitosan mixed with $CO_2$ adsorbent (aminomethyl propanol; AMP) and anthocyanin for investigation of anaerobic condition in fresh produce container models were studied. Filter papers were coated with a mixture solution of 0.5% chitosan, 10% AMP and 0, 0.5, 1.0, 1.5 and 2% anthocyanin. They were dried at 60$^{\circ}$C for 1 hour and kept in desiccator for 24 hours. $CO_2$ adsorption and discoloration of filter papers packed in airtight plastic box with 5% $CO_2$ atmosphere and stored at 37$^{\circ}$C were tested. The results showed that filter paper became more light blue as anthocyanin concentrations were increased. Filter paper thickness was in the range of 174-203 µm. Filter paper coated with chitosan mixed with AMP and 1% anthocyanin was the best $CO_2$ absorption, which the filter paper color was changed from light blue to green-blue. This filter paper can be placed in the fresh produce container to be used as an index to investigate the anaerobic respiration conditions of fresh produce in the container.

**Keywords:** chitosan, AMP, anthocyanin, $CO_2$

## บทคัดย่อ

ศึกษาคุณสมบัติของไคโตซานผสมสารดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (อะมิโนเมทิลโพรพานอล; เอเอ็มพี) และแอนโทไซยานินเพื่อการตรวจสอบการเกิดสภาวะที่ไม่ใช้ออกซิเจนในแบบจำลองภาชนะบรรจุผลิตผลสด โดยเคลือบสารละลายผสมไคโตซานร้อยละ 0.5 เอเอ็มพีร้อยละ 10 และแอนโทไซยานินร้อยละ 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2 บนกระดาษกรอง นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง เก็บในโถดูดความชื้นนาน 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาทดสอบการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และการเปลี่ยนสีของกระดาษกรองที่บรรจุในกล่องพลาสติกสุญญากาศในสภาวะที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ผลพบว่ากระดาษกรองมีสีฟ้าอ่อนที่เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของแอนโทไซยานิน โดยมีความหนาอยู่ในช่วง 174-203 ไมครอน กระดาษกรองที่เคลือบด้วยไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานินร้อยละ 1.0 ดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้ดีที่สุดและมีการเปลี่ยนสีจากสีฟ้าอ่อนเป็นสีฟ้าอมเขียว ซึ่งแผ่นกระดาษกรองนี้สามารถนำไปบรรจุลงในภาชนะบรรจุผลิตผลสดเพื่อใช้เป็นดัชนีในการตรวจสอบการเกิดสภาวะการหายใจแบบที่ไม่ใช้ออกซิเจนของผลิตผลสดในภาชนะบรรจุได้

**คำสำคัญ:** ไคโตซาน เอเอ็มพี แอนโทไซยานิน คาร์บอนไดออกไซด์

## คำนำ

ไคโตซานเป็นอะมิโนโพลีแซคคาไรด์ที่ไม่เป็นพิษ สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ จึงมีการนำมาประยุกต์ใช้กันอย่างแพร่หลายทั้งในด้านการเกษตร อาหารและยา รวมไปถึงอาหารเสริม (Duan และคณะ, 2019) นอกจากนี้ไคโตซานยังมีคุณสมบัติในการขึ้นรูปเป็นฟิล์มและมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ดังนั้นจึงนิยมนำมาใช้ในการเคลือบผิวผักและผลไม้สดซึ่งพบว่าสามารถช่วยยืดอายุการเก็บรักษาได้ (Romanazzi และคณะ, 2017) เอเอ็มพี (2-amino 2-methyl 1-propanol) เป็นสารที่อยู่ในกลุ่มของ alkanolamine (Xiao และคณะ, 2000) มีคุณสมบัติในการช่วยจับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Sartori และ Savage, 1983) ซึ่งสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในบรรจุภัณฑ์ผักและผลไม้สดได้ ส่วนแอนโทไซยานินเป็นรงควัตถุให้

[1] สาขาวิชาจุลชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140
[1] Division of Microbiology, Department of Science, Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140
[2] สาขาวิชาชีวเคมี ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140
[2] Division of Biochemistry, Department of Science, Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140

สีที่พบในธรรมชาติ มีคุณสมบัติในการเปลี่ยนแปลงสีได้ตามค่าความเป็นกรด-ด่าง และตามชนิดของสารระเหยที่เกิดขึ้นในระหว่างที่มีการเสื่อมสภาพของอาหาร ดังนั้นจึงมีการนำไปประยุกต์ใช้เป็นดัชนีในการตรวจวัดการเน่าเสียของอาหาร (Abolghasemia และคณะ, 2016; Saliu และ Pergola, 2018; Vo และคณะ, 2019) งานวิจัยนี้ศึกษาคุณสมบัติของกระดาษกรองที่เคลือบด้วยไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานิน เพื่อใช้ตรวจสอบการเกิดสภาวะการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจนในแบบจำลองภาชนะบรรจุผลิตผลสด

## อุปกรณ์และวิธีการ

### 1. การเตรียมสารเคลือบไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานิน

งานวิจัยนี้เตรียมสารเคลือบโดยใช้ไคโตซานชนิด low molecular weight (Sigma-Aldrich, USA) ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ผสมกับ AMP (PanReac Applichem, Germany) ความเข้มข้นร้อยละ 10 (จุฑาทิพย์ และคณะ, 2562) และแอนโทไซยานินจากดอกอัญชัน (AP Operations Co., Ltd, Thailand) ความเข้มข้นร้อยละ 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2 จากนั้นเติม glycerol ความเข้มข้นร้อยละ 5 เพื่อช่วยในการขึ้นรูปฟิล์ม แล้วเคลือบลงบนกระดาษกรอง (Whatman No.2 Ø90 mm.) โดยใช้สารละลาย 500 ไมโครลิตร นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และเก็บในโถดูดความชื้นนาน 24 ชั่วโมง ทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพและการเปลี่ยนแปลงของสารเคลือบไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานินในการตรวจสอบการเกิดสภาวะที่ไม่ใช้ออกซิเจนในแบบจำลองภาชนะบรรจุผลิตผลสด โดยเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 5 (Air balance) ลงในกล่องพลาสติกสุญญากาศปริมาตร 2,000 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุกระดาษกรองที่เคลือบด้วยไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานินความเข้มข้นต่าง ๆ ขนาด 2x2 ตารางเซนติเมตร จำนวน 1 แผ่น เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 ชั่วโมง

### 2. การศึกษาลักษณะทางกายภาพและการเปลี่ยนแปลงของสารเคลือบไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานิน

ศึกษาลักษณะทางกายภาพของกระดาษกรองที่เคลือบด้วยไคโตซานผสมเอเอ็มพี และแอนโทไซยานินความเข้มข้นต่าง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ compound microscope กำลังขยาย 100x (CX31RBSFA, Olympus Corporation, Japan) วัดความหนาโดยใช้ Hand-held micrometer (IP65 coolant proof, 0-25 mm, Mitutoyo, Japan) วัดค่าสีด้วยเครื่องวัดสี (NR200, Shenzhen 3NH Technology Co., Ltd, China) และวัดความเข้มข้นของ $O_2$ และ $CO_2$ ภายในภาชนะบรรจุด้วยเครื่องวัดก๊าซ (DP-28 MAP, Nanosens Sp. z.o.o., Poland) วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ วิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติโดย Duncan's New multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

### 1. ลักษณะทางกายภาพของสารเคลือบไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานินบนกระดาษกรอง

กระดาษกรองในชุดควบคุมซึ่งไม่ได้ผสมแอนโทไซยานินมีสีขาวครีม ในขณะที่กระดาษกรองชุดที่ผสมแอนโทไซยานินความเข้มข้นร้อยละ 0 (ชุดควบคุม) 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มีสีฟ้าอ่อนที่เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของแอนโทไซยานิน (Figure 1) สอดคล้องกับค่าสี L* a* และค่า b* ที่ลดลง (Table 1) โดยกระดาษกรองมีความสว่างลดลง มีสีเขียวและสีน้ำเงินที่เพิ่มมากขึ้นตามลำดับ กระดาษกรองในทุกชุดการทดลองมีลักษณะโครงสร้างเป็นเส้นใยยาวหนาและใสเช่นเดียวกัน (Figure 1 lower) โดยกระดาษกรองที่ยังไม่ได้ผ่านการเคลือบมีความหนาเท่ากับ 149 ไมโครเมตร (ไม่แสดงข้อมูล) ซึ่งใกล้เคียงกับกระดาษกรองที่ผ่านการเคลือบด้วยไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานินที่มีความหนาอยู่ในช่วง 149-151 ไมโครเมตร (Table 1) แต่เมื่อผ่านการอบแห้งพบว่ากระดาษกรองมีความหนาเพิ่มมากขึ้นโดยมีค่าอยู่ในช่วง 174-203 ไมโครเมตร โดยกระดาษกรองที่เคลือบด้วยไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานินความเข้มข้นร้อยละ 2 มีความหนามากที่สุด คือ 203 ไมโครเมตร รองลงมาคือกระดาษกรองที่เคลือบด้วยไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานินความเข้มข้นร้อยละ 1.5 1.0 และ 0.5 ตามลำดับ โดยมีความหนาเท่ากับ 194 188 และ 174 ไมโครเมตร ตามลำดับ อาจเนื่องมาจากไคโตซานเป็นโพลิเมอร์ธรรมชาติที่มีคุณสมบัติในการเข้ากันได้ทางชีวภาพและยึดเกาะกับพื้นผิวได้ดี (Duan และคณะ, 2019) อีกทั้งแอนโทไซยานินยังสามารถละลายน้ำได้ (Vo และคณะ, 2019) ดังนั้นเมื่อผสมรวมกันแล้วเคลือบลงบนกระดาษกรองจึงมีผลทำให้ยึดเกาะกับโครงสร้างของกระดาษกรองได้ดี และทำให้กระดาษกรองมีค่าความหนาเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของแอนโทไซยานินที่สูงขึ้น

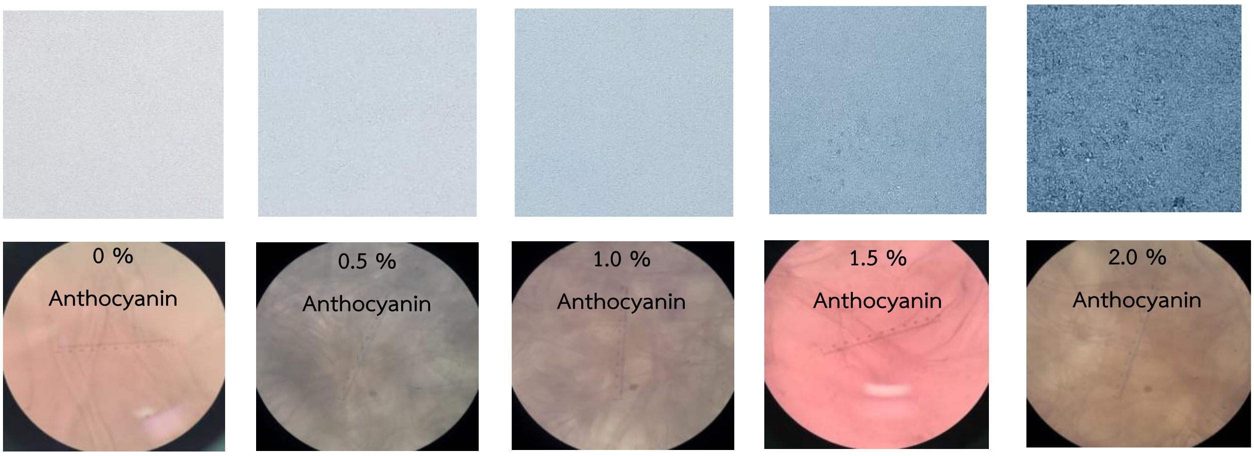



**Figure 1** Appearance (upper) and characteristic under 100x magnifying power microscope (lower) of filter paper coated with chitosan mixed with AMP and 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 anthocyanin.

**Table 1** Thickness and color values of filter paper coated with chitosan mixed with AMP and 0, 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 % anthocyanin before and after dried at 60$^{o}$C for 1 hour.

| Treatments | Thickness (µm) | | Color values | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Before drying | After drying | L* | a* | b* | Chroma | Hue |
| 0% Anthocyanin (control) | 149 | 192$^{b}$ | 30.31$^{a}$ | 2.10$^{c}$ | 5.14$^{a}$ | 5.57$^{a}$ | 67.95$^{a}$ |
| 0.5% Anthocyanin | 150 | 174$^{c}$ | 25.48$^{b}$ | 3.04$^{a}$ | 4.71$^{ab}$ | 4.73$^{b}$ | 57.49$^{b}$ |
| 1.0% Anthocyanin | 150 | 188$^{b}$ | 24.74$^{b}$ | 2.60$^{ab}$ | 3.71$^{bc}$ | 4.53$^{b}$ | 54.99$^{b}$ |
| 1.5% Anthocyanin | 149 | 194$^{b}$ | 23.54$^{bc}$ | 2.64$^{ab}$ | 2.47$^{c}$ | 3.62$^{c}$ | 46.19$^{c}$ |
| 2.0% Anthocyanin | 151 | 203$^{a}$ | 22.55$^{c}$ | 2.49$^{b}$ | 1.67$^{d}$ | 3.00$^{d}$ | 33.58$^{d}$ |

**2. การเปลี่ยนแปลงของกระดาษกรองที่เคลือบด้วยไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานินในแบบจำลองภาชนะบรรจุผลิตผลสด**

Saliu และ Pergola (2018) รายงานว่าการใช้แอนโทไซยานินจากกะหล่ำม่วงผสมกับกรดอะมิโน (L-lysine) และโพลีเปปไทด์ (ε-poly-l-lysine, EPL) ที่เคลือบบน poly-ethylene terephthalate สามารถนำมาใช้ตรวจสอบการเน่าเสียของอาหารได้เนื่องจากมีการเปลี่ยนสีจากสีฟ้าเป็นสีม่วงภายในเวลา 5 นาที เมื่อมีความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ภายในภาชนะบรรจุร้อยละ 2.5 จากการทดลองนี้พบว่ากระดาษกรองที่เคลือบด้วยไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานินในทุกชุดการทดลอง สามารถดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในแบบจำลองภาชนะบรรจุผลิตผลสดได้ โดยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มีความเข้มข้นลดลงจากร้อยละ 5 เหลือร้อยละ 0 ภายในเวลา 22-26 ชั่วโมงของการเก็บรักษา (Figure 2A) ในขณะที่ก๊าซออกซิเจนมีความเข้มข้นเท่ากับร้อยละ 19.8 และคงที่ตลอดการเก็บรักษา (ไม่แสดงข้อมูล) โดยกระดาษกรองที่เคลือบด้วยไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานินร้อยละ 0.5 และ 1.0 สามารถดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ภายในบรรจุภัณฑ์ได้หมดในระยะเวลาที่สั้นที่สุด คือ 22 ชั่วโมงของการเก็บรักษา โดยกระดาษกรองที่เคลือบด้วยไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานินร้อยละ 1.0 มีการเปลี่ยนสีจากสีฟ้าอ่อนเป็นสีฟ้าอมเขียวที่ชัดเจนกว่ากระดาษกรองที่เคลือบด้วยไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานินร้อยละ 0.5 (Figure 2B) ดังนั้นจึงสามารถนำกระดาษกรองที่เคลือบด้วยไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานินความเข้มข้นร้อยละ 1.0 ไปใช้ในการตรวจสอบการเกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ภายในบรรจุภัณฑ์ผลิตผลสดได้ และสามารถช่วยดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่อาจก่อให้เกิดสภาวะที่ไม่ใช้ออกซิเจนของผลิตผลสดภายในบรรจุภัณฑ์ได้อีกด้วย

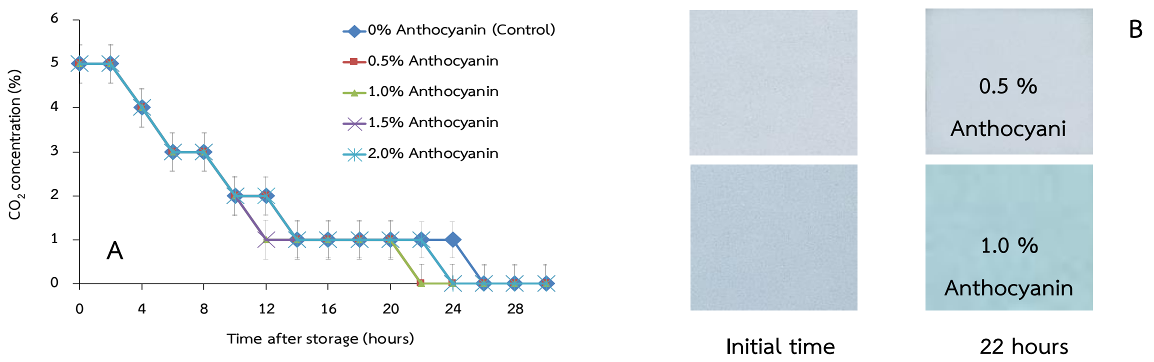



**Figure 2** Changes of $CO_2$ concentration in fresh produce container model filled with filter paper coated with chitosan mixed with AMP and anthocyanin stored at 37°C for 30 hours under 5% $CO_2$ (air balance) (A) and appearance of 0.5 and 1.0% anthocyanin filter paper after 22 hours of storage (B).

## สรุปผล

กระดาษกรองที่เคลือบด้วยไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานินความเข้มข้นร้อยละ 1.0 สามารถนำไปใช้ในการตรวจสอบการเกิดสภาวะการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจนในแบบจำลองภาชนะบรรจุผลิตผลสดได้

## คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากโครงการวิจัยมุ่งเป้า วิทยาเขตกำแพงแสน ประจำปีงบประมาณ 2562 และได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยบางส่วนจากโครงการจัดตั้งภาควิชาจุลชีววิทยา คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประจำปีงบประมาณ 2563 ขอขอบคุณหน่วยวิจัยคุณภาพและความปลอดภัยของอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

## เอกสารอ้างอิง

จุฑาทิพย์ โพธิ์อุบล พิมพ์วิภา ศรีธิ และพริมา พิริยางกูร, 2562, การใช้ไคโตซานร่วมกับสารดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการตรวจคุณภาพของมะเขือเทศราชินีตัดแต่งที่ปนเปื้อนเชื้อ *Escherichia coli*, วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 50(2): 121-124.

Abolghasemia, M.M., Sobhia, M. and Piryaei, M., 2016, Preparation of a Novel Green Optical pH Sensor Based on Immobilization of Red Grape Extract on Bioorganic Agarose Membrane, Sensors Actuators B: Chemical, 224: 391-395.

Duan, C., Meng, X., Meng, J., Khan, M.I.H., Dai, L., Khan, A., An, X., Zhang, J., Huq, T. and Ni, Y., 2019, Chitosan as a Preservative for Fruits and Vegetables: A Review on Chemistry and Antimicrobial Properties, Journal of Bioresources and Bioproducts, 4(1): 11-21.

Romanazzi, G., Feliziani, E., Baños, S.B., 2017, Shelf Life Extension of Fresh Fruit and Vegetables by Chitosan Treatment, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 57(3): 579–601.

Saliu, F. and Pergola, R.D., 2018, Carbon Dioxide Colorimetric Indicators for Food Packaging Application: Applicability of Anthocyanin and Poly-lysine Mixtures, Sensors and Actuators B: Chemical, 258: 1117-1124.

Sartori, G. and Savage, D.W., 1983, Sterically Hindered Amines for Carbon Dioxide Removal from Gases, Industrial and Engineering Chemistry Fundamentals, 22(2): 239-249.

Vo, T.V., Dang, T.H. and Chen, B.H. 2019, Synthesis of Intelligent pH Indicative Films from Chitosan/Poly(Vinyl Alcohol)/Anthocyanin Extracted from Red Cabbage, Polymers, 11: 1088-1099.

Xiao, J., Li, C.W. and Li, M.H., 2000, Kinetics of Absorption of Carbon Dioxide into Aqueous Solutions of 2-Amino-2-Methyl-1-Propanol + Monoethanolamine, Chemical Engineering Science, 55: 161-175.

# การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและชีวเคมีของฟิล์มไคโตซานผสมกรดแกลลิก สำหรับบรรจุภัณฑ์ผลิตผลสด
# Physical and Biochemical Properties of Chitosan Film Combined with Gallic Acid for Fresh Produce Packaging

**พริมา พิริยางกูร[1] ชลิตา แสงทอง[1] และ จุฑาทิพย์ โพธิ์อุบล[2]**
**Phiriyangkul, P.[1], Sangthong, C.[1] and Poubol, J.[2]**

## Abstract

This study aimed to develop the edible film for fresh produce. A 1% chitosan was incorporated with 1% glycerol and 0, 0.5, 1 and 1.5% (w/v) gallic acid. They were dried at 50°C for 72 hours. Physical and biochemical properties of chitosan film mixed with gallic acid were determined. The study showed that the values of thickness, water vapor permeability, water solubility, phenolic contents and antioxidant increased while that of transparency and moisture content were decreased as the concentrations of gallic acid increased. The values of tensile strength (TS) and elongation at break (EB) were in the range of 5.823-8.057 MPa and 0.192-0.436%, respectively. This film could be used for fresh produce packaging.

**Keywords:** chitosan film, gallic acid, physical properties, antioxidant

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาฟิล์มที่บริโภคได้สำหรับผลิตผลสด โดยผสมไคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 1 ร่วมกับกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 1 และกรดแกลลิกความเข้มข้นร้อยละ 0, 0.5, 1 และ 1.5 (w/v) ตามลำดับ โดยอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นศึกษาสมบัติทางกายภาพและชีวเคมีของแผ่นฟิล์มไคโตซานผสมกรดแกลลิก จากการศึกษาพบว่าแผ่นฟิล์มที่เตรียมได้มีค่าความหนา ค่าการซึมผ่านของไอน้ำ ค่าการละลายน้ำ ปริมาณสารฟีนอล และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของกรดแกลลิกที่เพิ่มขึ้น ในขณะที่แผ่นฟิล์มมีค่าความโปร่งใส และค่าความชื้นลดลงตามความเข้มข้นของกรดแกลลิกที่เพิ่มขึ้น โดยฟิล์มมีค่าความต้านทานแรงดึงอยู่ในช่วง 5.823-8.057 เมกะปาสคาล และมีค่าความยืดหยุ่นอยู่ในช่วงร้อยละ 0.192-0.436 ซึ่งฟิล์มที่ผลิตได้สามารถนำมาประยุกต์ใช้สำหรับบรรจุภัณฑ์ของผลิตผลสด

**คำสำคัญ:** ฟิล์มไคโตซาน กรดแกลลิก คุณสมบัติทางกายภาพ สารต้านอนุมูลอิสระ

## คำนำ

กรดแกลลิกเป็นสารทุติยภูมิ จัดเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่พบได้ในธรรมชาติ เช่น บลูเบอร์รี่ แอปเปิ้ล องุ่น และชา ซึ่งสามารถดูดซับออกซิเจน เป็นพลาสติไซเซอร์เมื่อรวมตัวกับไบโอพอลิเมอร์ มีสมบัติต้านอนุมูลอิสระ (Limpisophon และ Schleining, 2017; Zarandona และคณะ, 2020) ต้านจุลชีพ (Zarandona และคณะ, 2020) เช่น *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. (Poubol และ Phiriyangkul, 2019) สารประกอบฟีนอลิกมีผลต่อคุณสมบัติทางกลของฟิล์มไคโตซาน เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของพันธะไฮโดรเจน แรงดึงดูดทางไฟฟ้า (electrostatic) พันธะแบบไม่มีขั้ว (hydrophobic forces) และ/หรือปฏิกิริยาทางเคมี (Wang และคณะ, 2019) ไคโตซานนิยมนำมาใช้เป็นแอคทีฟฟิล์ม (active film) เนื่องจากเป็นสารชีวภาพที่ย่อยสลายได้ (biodegradable) สร้างใหม่ทดแทนได้ (renewable) (Muxika และคณะ, 2017) มีสมบัติต้านจุลชีพ และต้านอนุมูลอิสระ (Wrona และคณะ, 2015) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนา ศึกษาสมบัติ

[1] สาขาวิชาชีวเคมี ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140
[1] Division of Biochemistry, Department of Science, Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University, Kam Phaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140
[2] สาขาวิชาจุลชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140
[2] Division of Microbiology, Department of Science, Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University, Kam Phaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140

ทางกายภาพ และชีวเคมีของแผ่นฟิล์มไคโตซานผสมกรดแกลลิกสำหรับบรรจุภัณฑ์ผลิตผลสด

## อุปกรณ์และวิธีการ

**1. การเตรียมฟลมไคโตซาน-กรดแกลลิก**

ละลายไคโตซาน (low molecular weight, Sigma-Aldrich) ความเขมขนรอยละ 1 ลงในสารละลายกรดแอซีติก ความเขมขนรอยละ 1 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เปนเวลา 30 นาที แลวเติมกลีเซอรอลความเขมขนรอยละ 1 จากนั้นนำสารละลายไคโตซานที่ไดผสมกับกรดแกลลิกที่ความเขมขนรอยละ 0 (ชุดควบคุม), 0.5, 1.0 และ 1.5 แลวเทสารละลายไคโตซาน-กรดแกลลิก ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ นำไปอบในตูอบลมรอน ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เก็บในโถดูดความชื้นนาน 24 ชั่วโมง

**2. การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ และชีวเคมีของฟิล์มไคโตซานผสมกรดแกลลิก**

วิเคราะห์ความหนา การซึมผ่านไอน้ำ การละลายน้ำ ความโปร่งแสง ความชื้น ค่าความต้านทานแรงดึง (tensile strength: TS) และค่าความยืดหยุ่น (elongation at break: EB) ของฟิล์มไคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 1 ผสมกรดแกลลิก วิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลโดยวิธี Folin-Ciocalteu (Singleton และคณะ, 1999) แล้วเทียบกับกราฟมาตรฐานแกลลิคแอซิด และวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ferric reducing antioxidant power (FRAP) (Benzie และ Strain, 1996) แล้วเทียบกับกราฟมาตรฐานของวิตามินซี วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของผลการทดลอง จำนวน 3 ซ้ำ โดยใช้โปรแกรม SPSS 16.0 ที่ระดับความเชื่อมั่น $p \leq 0.05$

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**1. การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของฟิล์มไคโตซานผสมกรดแกลลิก**

จากการทดลอง พบว่าเมื่อระดับความเข้มข้นของกรดแกลลิกเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ความหนา การซึมผ่านของไอน้ำ และการละลายน้ำของแผ่นฟิล์มไคโตซานร้อยละ 1 มีค่ามากขึ้น ($p \leq 0.05$) โดยจะมีความหนา 0.224-0.390 มิลลิเมตร ค่าการซึมผ่านไอน้ำ 0.099-0.286 กรัมต่อตารางเมตร. วินาที. ปาสคาล และมีค่าการละลายน้ำ 0.780-2.308 (Figure 1A, 1B) อาจเนื่องจากปริมาณกรดแกลลิกที่เพิ่มขึ้น ทำให้โมเลกุลระหว่างไคโตซานกับกรดแกลลิกจับกันเป็นผลึก ขัดขวางการวางตัวขนานกัน การจัดเรียงตัวของโมเลกุลไม่เป็นระเบียบและมีช่องว่างระหว่างโมเลกุลมากขึ้น ทำให้โมเลกุลน้ำเคลื่อนที่ผ่านโครงสร้างของฟิล์มได้ง่าย ส่งผลให้ความหนาและความสามารถในการซึมผ่านไอน้ำของฟิล์มเพิ่มขึ้น โครงสร้างของกรดแกลลิกซึ่งหมู่ $-COOH^-$ และ $-OH^-$ ซึ่งเป็นโมเลกุลที่ชอบน้ำ ทำให้ฟิล์มมีการละลายน้ำเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณกรดแกลลิกเพิ่มขึ้น (Sun และคณะ, 2014) ความโปร่งใสและความชื้นของแผ่นฟิล์มมีค่าลดลง โดยมีค่าร้อยละ 15.397-24.157 และ 1.147-2.527 ตามลำดับ เมื่อเพิ่มปริมาณกรดแกลลิก (Figure 1B, 1C) เนื่องจากฟิล์มมีความหนามากขึ้น ทำให้ความสามารถในการส่องผ่านของแสงลดลงความโปร่งใสลดลง ผลการทดสอบสมบัติการทนแรงดึง และความยืดหยุ่น ของแผ่นฟิล์มไคโตซานมีค่าความต้านทานแรงดึงสูงสุด เท่ากับ 8.057 เมกะปาสคาล และมีค่าความยืดหยุ่นสูงสุดของแผ่นฟิล์มร้อยละ 0.436 ($p \leq 0.05$) (Table 1) ซึ่งสอดคล้องกับผลของ Sun และคณะ (2014) ที่พบว่าเมื่อผสมกรดแกลลิกปริมาณน้อยในฟิล์มไคโตซาน ทำให้สมบัติการทนแรงดึงจะเพิ่มขึ้น แต่ถ้าปริมาณกรดแกลลิกมากจะลดสมบัติการทนแรงดึงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่ $-NH_3^+$ ของสายไคโตซานและหมู่ $-OH^-$ ของกรดแกลลิก โดยมีผลช่วยให้การเกิด crosslink ดีขึ้น ส่งผลให้การเคลื่อนที่ของโมเลกุลและพื้นที่ว่างในเมทริกซ์ของฟิล์มลดลง (Rezaee และคณะ, 2018)

**2. การศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมีของฟิล์มไคโตซานผสมกรดแกลลิก**

จากการทดลองพบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณกรดแกลลิกในฟิล์มไคโตซาน ปริมาณฟีนอลิก และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจะเพิ่มขึ้น ($p \leq 0.05$) (Table 1) เนื่องจากกรดแกลลิกเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Zarandona และคณะ (2020)

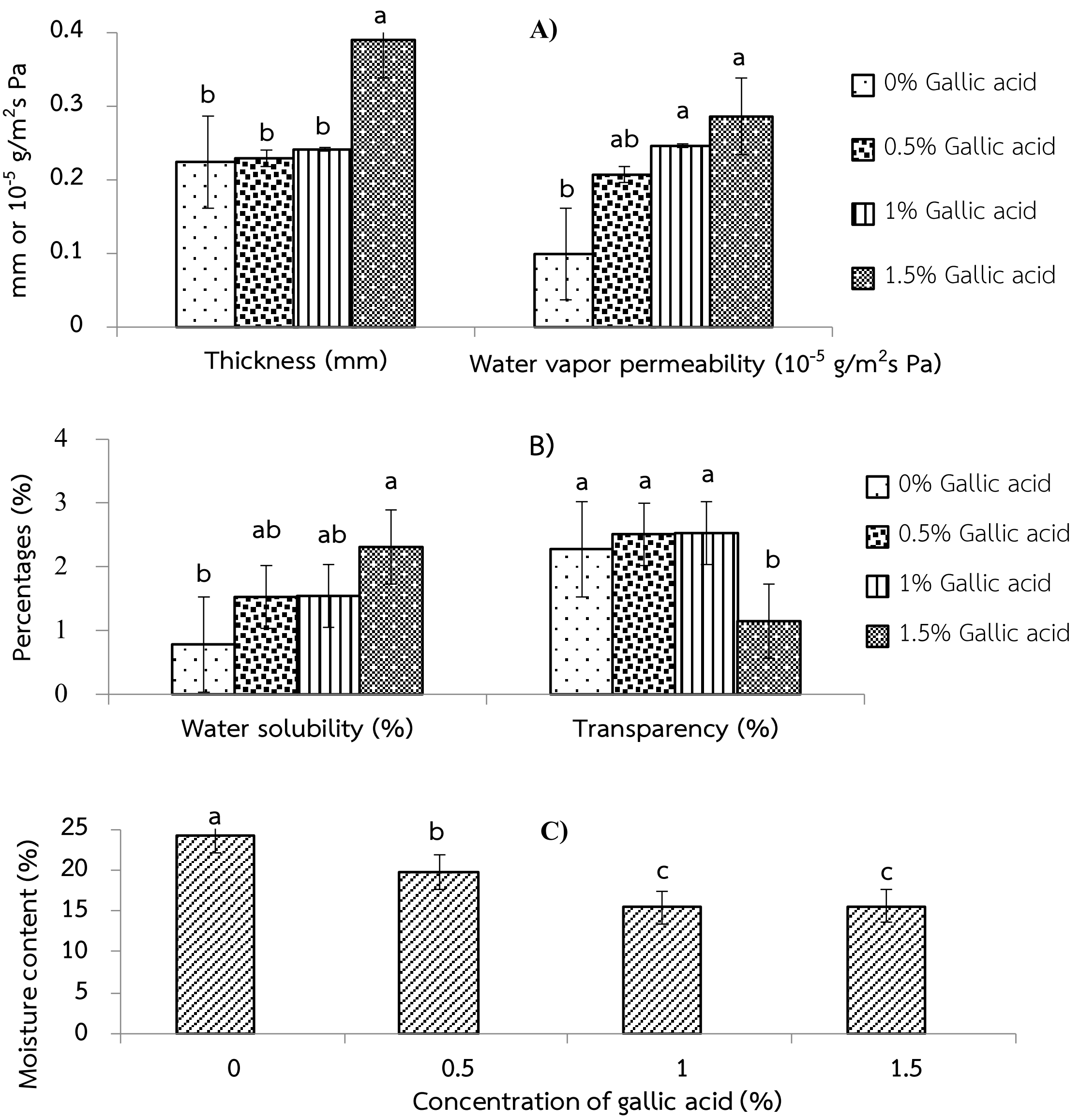



**Figure 1** Physical properties of the chitosan (1%) films combined with glycerol (1%) and gallic acid (0, 0.5, 1 and 1.5%); (A) thickness and water vapor permeability, (B) water solubility and transparency and (C) moisture content.

## สรุปผล

จากการศึกษาฟิล์มไคโตซานผสมกรดแกลลิกพบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณกรดแกลลิก ความหนา การซึมผ่านของไอน้ำ การละลายน้ำ ปริมาณฟีนอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระจะเพิ่มขึ้น ในขณะที่ความโปร่งใสและความชื้นลดลง สมบัติการทนแรงดึงและความยืดหยุ่นจะเพิ่มขึ้นเมื่อเมื่อผสมกรดแกลลิกปริมาณเพียงเล็กน้อย แต่หากปริมาณกรดแกลลิกมากเกินไปจะทำให้ค่าการทนแรงดึงและความยืดหยุ่นลดลง ทั้งนี้ฟิล์มไคโตซานผสมกรดแกลลิกที่พัฒนาขึ้น มีสมบัติทางกายภาพและชีวเคมีที่น่าสนใจต่อการนำไปประยุกต์ใช้เป็นบรรจุภัณฑ์สำหรับผลสดต่อไป

## คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากหลักสูตรวิทยาศาสตร์ชีวภาพ สาขาวิชาชีวเคมี โครงการจัดตั้งภาควิชาจุลชีววิทยา กองทุนพัฒนานิสิต คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

**Table 1** Tensile strength (TS), elongation at break (EB), total phenolic (TPC) and antioxidant content of the chitosan (1%) films combined with glycerol (1%) and gallic acid (0, 0.5, 1 and 1.5%)

| Gallic acid (%) | Chitosan (1%) films with glycerol (1%) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | TS (MPa) | EB (%) | TPC (mg GAE/ml) | Antioxidant (mg Vitamin C/ml) |
| 0 | ND | ND | 0.001±0.001[d] | 0.005±0.001[c] |
| 0.5 | 8.057±0.420[a] | 0.192±0.019[c] | 0.018±0.003[c] | 1.921±0.292[b] |
| 1 | 7.819±0.419[a] | 0.436±0.009[a] | 0.152±0.003[b] | 2.220±0.155[b] |
| 1.5 | 5.823±1.031[b] | 0.304±0.035[b] | 0.186±0.010[a] | 4.912±0.189[a] |

Values are expressed as mean ± SD (n=3). Different upper-case letters in the same column indicate significantly different ($p$ < 0.05). ND: Not determined.

## เอกสารอ้างอิง

ศุภศิลป์ มณีรัตน์ และธรรมนูญ โปรดปราน, 2553, การพัฒนาฟิล์มและสารเคลือบจากเอ็กโซพอลิแซคคาไรด์ของ *Weissella confuse* NH02 ที่ผสมสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เพื่อยืดอายุการเก็บเนื้อหมูแช่เย็น, รายงานวิจัย คณะอุตสาหกรรมการเกษตร, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, 142 หน้า

Benzie, I.F.F. and Stain, J.J., 1996, The Ferric reducing ability of plasma (FRAP) as measure of antioxidant power: The FRAP Assay, Analytical Biochemistry, 239: 70–76.

Poubol, J. and Phiriyangkul, P., 2019, Inhibition of *Escherichia coli* and *Salmonella* sp. using Chitosan-Gallic Acid Films, Agricultural Science Journal, 50(3)(Suppl.): 264-267.

Singleton, V. L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R.M., 1999, Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates by Means of Folin-Ciocalteu Reagent, Methods in Enzymology, 299: 152–178.

Limpisophon, K. and Schleining, G., 2017, Use of Gallic Acid to Enhance the Antioxidant and Mechanical Properties of Active Fish Gelatin Film, Journal of Food Science, 82: 80–89.

Mehdizadeh, T., H. Tajik, S. M. R. Rohani and A. R. Oromiehie, 2012, Antibacterial, Antioxidant and Optical Properties of Edible Starch-Chitosan Composite Film Containing *Thymus kotschyanus* Essential Oil, Veterinary Research Forum, 3(3): 167-173.

Muxika, A., Etxabide, A., Uranga, J., Guerrero, P., de la Caba, K., 2017, Chitosan as a Bioactive Polymer: Processing, Properties and Applications, International Journal of Biological Macromolecules, 105:1358-1368

Rezaee, M., Askari, G., Emam Djomeh, Z., Salami, M., 2018, Effect of Organic Additives on Physiochemical Properties and Antioxidant Release from Chitosan-Gelatin Composite Films to Fatty Food Simulant, International Journal of Biological Macromolecules, 114(15): 844-850.

Sun, X., Wang, Z., Kadouh, H., Zhou, K., 2014, The Antimicrobial, Mechanical, Physical and Structural Properties of Chitosan-Gallic Acid Films, LWT - Food Science and Technology, 57(1): 83-89.

Wang, H., Yong, H., Gao, L., Li, L., Jin, M., Liu, J., 2019, Preparation and Characterization of Antioxidant and pH-Sensitive Films Based on Chitosan and Black Soybean Seed Coat Extract, Food Hydrocolloids, 89: 56-66.

Wrona, M., Bentayeb, K., and C. Nerín, 2015, A Novel Active Packaging for Extending the Shelf-Life of Fresh Mushrooms (*Agaricus bisporus*), Food Control, 54: 200-207.

# อิทธิพลของปุ๋ยพืชสดบางชนิดต่อการเจริญเติบโต ผลผลิตของผักคะน้า และการสะสมธาตุไนโตรเจนที่ปลูกในสภาพดินลูกรัง

# Influence of Some Green Manure on Growth and Yield of Chinese Kale and Nitrogen Accumulation Grown under Skeletal Soil Condition

จิรายุทธ เทียมสม[1] และ วิมลนันทน์ กันเกตุ[1]
Tiamsom, J.[1], and Kanket, W.[1]

## Abstract

Study on influence of sunn-hemp, sword-bean and *Azolla* spp. on soil nitrogen content, growth and yield of Chinese kale under skeletal soil condition. The experiment was arranged as completely-randomized-design with 4 replications and 4 treatments as following: T1 control (no green manure), T2 sunn-hemp incorporation, T3 sword-bean incorporation and T4 *Azolla* spp. incorporation at two tons per rai. Soil samples were collected before planting and after harvesting. Soil pH, total nitrogen content, growth and yield of kale were measured. Result indicated that T4 *Azolla* spp. gave the highest on growth and yield (3,410 kilograms per rai). Suitable on soil pH and increased nitrogen accumulation were found on T4. When costing in economics, it was found that using *Azolla* spp. can generate the highest net profit. Results also indicated that using *Azolla* spp. as green manure could increase soil productivity. It is an alternative for farmer to further improve soil properties.

**Keywords:** green manure, *Azolla* spp., nitrogen

## บทคัดย่อ

การศึกษาอิทธิพลของปุ๋ยพืชสดจากปอเทือง ถั่วพร้า และแหนแดง ต่อปริมาณไนโตรเจนในดิน การเจริญเติบโตและผลผลิตของคะน้าในสภาพดินลูกรัง วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 4 ซ้ำ 4 ตำรับการทดลอง ประกอบด้วย T1 ไม่ใส่ปุ๋ยพืชสด (Control) T2 ไถกลบปอเทือง T3 ไถกลบถั่วพร้า และ T4 ไถกลบแหนแดง อัตรา 2 ตันต่อไร่ เก็บตัวอย่างดินก่อน และหลังการเก็บเกี่ยว เพื่อวิเคราะห์ความเป็นกรดด่าง และปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน วัดการเจริญเติบโตและผลผลิตของคะน้า จากผลการทดลองพบว่า T4 การไถกลบแหนแดงทำให้คะน้ามีการเจริญเติบโต และผลผลิตสูงสุด (3,410 กิโลกรัมต่อไร่) อีกทั้งส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของดินดีขึ้น ดินมีการสะสมไนโตรเจนเพิ่มขึ้น และเมื่อคิดต้นทุนในเชิงเศรษฐศาสตร์ พบว่าการใช้แหนแดงสามารถทำกำไรสุทธิได้สูงที่สุด จึงสามารถสรุปได้ว่าการใช้แหนแดงเป็นปุ๋ยพืชสด ส่งผลให้ความสามารถในการผลิตพืชของดินสูงขึ้นและเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของเกษตรกรในการปรับปรุงสมบัติของดินลูกรังต่อไป

**คำสำคัญ:** ปุ๋ยพืชสด แหนแดง ไนโตรเจน

## คำนำ

ไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารหลักที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช และมักเป็นธาตุที่มีการสะสมและมีความเป็นประโยชน์ต่ำในดินที่ขาดความอุดมสมบูรณ์ ปริมาณเนื้อดินน้อย มีเศษหินปน ความหนาแน่นรวมสูง ปริมาณการเก็บกักและสะสมธาตุอาหารต่ำ อย่างดินลูกรัง ทั้งนี้แนวทางในการเพิ่มปริมาณไนโตรเจนในดินมีหลายแนวทางที่นิยมทำ เช่นการใส่ปุ๋ยเคมี การใส่ปุ๋ยหมัก การใส่ปุ๋ยคอก รวมทั้งการไถกลบพืชปุ๋ยสดที่สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ ในบริบทของดินลูกรังนั้น การปลูกพืชตระกูลถั่ว เช่น ปอเทือง ถั่วพร้า เป็นปุ๋ยพืชสดนับว่าเป็นการเพิ่มปริมาณไนโตรเจนที่สะดวก และเหมาะสมกับปัจจัยสภาพแวดล้อมในการผลิตพืช เนื่องจากเป็นพืชรากสั้น ระบบรากมีปมซึ่งมีแบคทีเรียไรโซเบียมที่สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศในรูปที่พืชสามารถดูดใช้ได้ และนอกจากพืชตระกูลถั่วดังกล่าวแล้ว แหนแดงก็นับว่าเป็นแหล่งไนโตรเจนที่มีคุณภาพสูงอีกแหล่งหนึ่ง เนื่องจากมีโพรงใบซึ่งเป็นที่อาศัยสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ชื่อ *Anabaena azolla* อาศัยอยู่แบบให้ประโยชน์ร่วมกันกับแหนแดง มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนจากอากาศให้แหนแดงใช้ในรูปของแอมโมเนียได้สูง (กรมพัฒนาที่ดิน, 2541; สำนักงานการวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5, 2563) เมื่อไถกลบลงดินก็สามารถให้ธาตุไนโตรเจนกับพืชที่ปลูกได้เช่นเดียวกับพืชตระกูลถั่ว จึงได้ทำการศึกษาการจัดการดิน

[1] คณะทรัพยากรธรรมชาติและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร อ.เมือง จ. สกลนคร 47000
[1] Faculty of Natural Resources and Agro-Industry, Kasetsart University, Chalermphrakiat Sakon Nakhon Province Campus, Sakon Nakhon 47000

ลูกรังโดยใช้ปุ๋ยพืชสดจากปอเทือง ถั่วพร้า และแหนแดง ที่มีศักยภาพสูงในการเพิ่มปริมาณไนโตรเจนให้กับดิน รวมทั้งส่งเสริมการเจริญเติบโต และผลผลิตของพืชได้

## อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการทดลองบนพื้นที่ดินลูกรัง ชุดดินโพนพิสัย ในจังหวัดสกลนคร ระหว่างเดือนกันยายน พ.ศ. 2562 ถึง เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2563 วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 4 ซ้ำ 4 ตำรับการทดลอง ประกอบด้วย T1 ไม่ใส่ปุ๋ยพืชสด (Control) T2 ไถกลบปอเทือง T3 ไถกลบถั่วพร้า และ T4 ไถกลบแหนแดง อัตรา 2 ตันต่อไร่ เตรียมแปลงทดลองขนาด 1.5x3 เมตร จำนวน 16 แปลง หว่านเมล็ดปอเทืองและถั่วพร้า ในแปลงตามตำรับการทดลอง ดูแลให้น้ำจนกว่าจะถึงระยะออกดอก ไถกลบพืชปุ๋ยสดในอัตรา อัตรา 2 ตันต่อไร่ ส่วนแหนแดงนำไปขยายในบ่อน้ำในพื้นที่ที่เตรียมไว้ และนำมาไถกลบลงแปลงพร้อมกัน ปล่อยให้ซากพืชสลายตัวประมาณ 20 วัน ก่อนปลูกคะน้าแปลงละ 40 ต้น ให้น้ำและกำจัดวัชพืชทุกวัน บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตและผลผลิตทุกสัปดาห์ เก็บตัวอย่างดินก่อนปลูก หลังไถกลบ 20 วัน และหลังเก็บเกี่ยวมาวิเคราะห์ความเป็นกรดด่างและปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด นำข้อมูลทั้งหมดวิเคราะห์ความแปรปรวนตามแผนการทดลองและเปรียบเทียบความ แตกต่างทางสถิติโดยใช้ Least Significant Difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่นทางสถิติ 95%

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**1. ความเป็นกรด-ด่าง**

จากการศึกษาสมบัติเคมีบางประการของดินก่อนปลูก หลังไถกลบ 20 วัน และหลังเก็บเกี่ยว (Table 1) พบว่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของดินก่อนการไถกลบปุ๋ยพืชสดมีค่า 5.25 ซึ่งมีความเป็นกรดค่อนข้างมาก ดินหลังทำการไถกลบและหลังการเก็บเกี่ยว ค่า pH และเพิ่มขึ้นในทุกตำรับการทดลองที่มีการใส่ปุ๋ยพืชสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่การไถกลบแหนแดง มีค่า pH สูงสุดที่ 5.78

**2. ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด**

ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของดินก่อนปลูก หลังการไถกลบ 20 วัน และหลังเก็บเกี่ยว (Table 1) พบว่าหลังการไถกลบ 20 วัน ดินมีการสะสมไนโตรเจนเพิ่มมากขึ้นจากการสลายตัวของปุ๋ยพืชสด สอดคล้องกับงานวิจัยของศุภสิทธิ์ และคณะ (2557) พบว่าการไถกลบปุ๋ยพืชสดในอัตราที่เหมาะสม ส่งผลทำให้ดินมีปริมาณไนโตรเจนสูงขึ้น โดยที่การไถกลบแหนแดงมีการสะสมไนโตรเจนมากที่สุด (0.96 กรัม/กิโลกรัม) แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับการไถกลบถั่วพร้า (0.91 กรัม/กิโลกรัม) จากผลการวิเคราะห์ดินหลังการเก็บเกี่ยว พบว่ามีเพียงตำรับการทดลองที่ไถกลบแหนแดงเท่านั้นที่มีปริมาณไนโตรเจนสะสมเพิ่มขึ้น เนื่องจากแหนแดงมีการปลดปล่อยไนโตรเจนแบบเพิ่มขึ้นทีละน้อยตลอดระยะเวลาที่มีการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ เหมาะกับการเจริญเติบโตของผักกินใบที่มีการเจริญเติบโตสอดคล้องกับการปลดปล่อยแบบนี้ (ศิริลักษณ์ และคณะ, 2563) และจากรายงานวิจัยของ Subedi และ Shrestha, (2015) พบว่าแหนแดงส่งผลให้ดินมีสมบัติทั้งทางกายภาพและทางเคมีดีขึ้น เช่นความสามารถในการเก็บกักน้ำ ปริมาณการสะสมไนโตรเจน ปริมาณอินทรียวัตถุ และปริมาณธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์ ทำให้ดินมีความอุดมสมบูรณ์ และทำให้พืชปลูกเจริญเติบโตและให้ผลผลิตสูงขึ้น

**3. การเจริญเติบโตและผลผลิตของคะน้า**

**การเจริญเติบโต**

จาก Table 2 พบว่าผลการไถกลบพืชปุ๋ยสดส่งผลให้ต้นคะน้ามีความสูงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยตำรับการทดลองที่มีการไถกลบแหนแดงมีความสูง 19.47 เซนติเมตร แต่ไม่มีความแตกต่างกับการไถกลบถั่วพร้าที่มีความสูง 19.17 เซนติเมตร ขนาดเส้นผ่านรอบวงต้นคะน้าซึ่งวัดส่วนกึ่งกลางลำต้น พบว่าปุ๋ยพืชสดทั้ง 3 ชนิดส่งผลต่อการเจริญเติบโตทางด้านเส้นรอบวงของลำต้นคะน้า (7.75-10.54 เซนติเมตร) และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และการไถกลบแหนแดงเป็นปุ๋ยพืชสดมีขนาดเส้นรอบวงมากที่สุด การเจริญเติบโตด้านความกว้างและความยาวใบของคะน้า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่การไถกลบแหนแดงส่งผลให้คะน้ามีความกว้างและความยาวใบมากกว่าตำรับการทดลองอื่น (21.28 และ 42.16 เซนติเมตร ตามลำดับ) เนื่องจากในแหนแดงมีปริมาณมีไนโตรเจนอยู่ประมาณ 4-5 เปอร์เซ็นต์ (Setiawati และคณะ, 2017) จึงส่งผลให้ดินมีปริมาณธาตุไนโตรเจนสูงกว่าตำรับการทดลองอื่นจึงส่งเสริมการเจริญเติบโตของคะน้า ทำให้มีความสูง ขนาดความกว้างของใบ ความยาวของใบ และเส้นรอบวงมากที่สุด และจากการทดลองพบว่าจำนวนใบของคะน้าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยมีค่าเฉลี่ยที่ 5.55-7.00 ใบ แต่การไถกลบปุ๋ยพืชสดทั้ง 3 ชนิดมีแนวโน้มทำให้จำนวนใบมากกว่าตำรับควบคุม

**ผลผลิต**

จากผลการทดลองใน Table 2 พบว่าผลจากการไถกลบปุ๋ยพืชสดทั้ง 3 ชนิด ส่งผลให้คะน้ามีผลผลิตอยู่ระหว่าง 2,140-3,410 กิโลกรัม/ไร่ และมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้พบว่าตำรับการทดลองที่มีไถกลบใส่แหนแดง ทำให้น้ำหนักสดของผลผลิตคะน้ามากที่สุดที่ 3,410 กิโลกรัม/ไร่ รองลงคือการไถกลบถั่วพร้า ที่ 2,688 กิโลกรัม/ไร่ การไถกลบปอเทืองที่ 2,140 กิโลกรัม/ไร่ ส่วนตำรับควบคุมที่มีผลผลิตต่ำที่สุดที่ 752.40 กิโลกรัม/ไร่ สอดคล้องกับรายงานของ Barus และ Azmi, (2018) และภานุมาศ และ ภาษิตา (2561) ที่พบว่าการใส่ปุ๋ยแหนแดงส่งผลให้พืชมีการเจริญเติบโต และให้ผลผลิตสูงกว่าการใช้ปุ๋ยชนิดอื่นๆ

**Table 1** pH and total nitrogen accumulation of soils before planting, 20 days after incorporation and after harvest

| Treatment | pH | | | Total Nitrogen (g kg$^{-1}$) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | before planting | 20 days after incorporation | after harvest | before planting | 20 days after incorporation | after harvest |
| Control | 5.25 | 5.29$^{c}$ | 5.27$^{c}$ | 0.76 | 0.80$^{b}$ | 0.68$^{b}$ |
| Sunn-hemp | 5.25 | 5.53$^{b}$ | 5.51$^{b}$ | 0.76 | 0.83$^{b}$ | 0.63$^{b}$ |
| Sword-bean | 5.25 | 5.61$^{b}$ | 5.63$^{b}$ | 0.76 | 0.91$^{a}$ | 0.72$^{b}$ |
| *Azolla spp.* | 5.25 | 5.85$^{a}$ | 5.78$^{a}$ | 0.76 | 0.96$^{a}$ | 1.09$^{a}$ |
| F-test | | * | * | | * | * |
| C.V.(%) | | 1.25 | 1.15 | | 13.53 | 13.61 |

In the same column, mean followed by a common letter are not significantly different at the 5 % level by LSD

**Table 2** Growth and yield of Chinese kale under skeletal soil condition

| Treatment | Height (cm) | Girth Circumference (cm) | Leaf number | Leaf width (cm) | Leaf length (cm) | Yield (kg/rai) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Control | 9.75$^{c}$ | 3.74$^{d}$ | 5.55 | 9.82$^{d}$ | 13.93$^{d}$ | 752.40$^{c}$ |
| Sunn-hemp | 16.54$^{b}$ | 7.75$^{c}$ | 7.00 | 16.53$^{c}$ | 18.52$^{c}$ | 2,140.00$^{b}$ |
| Sword-bean | 19.17$^{a}$ | 9.02$^{b}$ | 7.00 | 21.18$^{a}$ | 39.33$^{b}$ | 2,688.00$^{b}$ |
| *Azolla spp.* | 19.47$^{a}$ | 10.54$^{a}$ | 7.00 | 21.28$^{a}$ | 42.16$^{a}$ | 3,410.00$^{a}$ |
| F-test | * | * | ns | * | * | * |
| C.V.(%) | 2.57 | 1.13 | 13.07 | 1.28 | 1.86 | 20.90 |

In the same column, mean followed by a common letter are not significantly different at the 5 % level by LSD

## สรุปผล

จากผลการศึกษาอิทธิพลของปุ๋ยพืชสดจากปอเทือง ถั่วพร้า และแหนแดง ต่อปริมาณไนโตรเจนในดิน การเจริญเติบโตและผลผลิตของคะน้าภายใต้สภาพดินลูกรัง สามารถสรุปได้ว่าการไถกลบแหนแดงในอัตรา 2 ตัน/ไร่ ทำให้คะน้ามีการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตสูงที่สุด ส่งผลต่อปริมาณการสะสมธาตุไนโตรเจนในดิน และยังทำให้ดินมีความเป็นกรด-ด่างเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช และเมื่อคิดต้นทุนในเชิงเศรษฐศาสตร์ พบว่าการใช้แหนแดงสามารถทำกำไรสุทธิได้สูงที่สุด จึงสามารถสรุปได้ว่าการใช้แหนแดงเป็นปุ๋ยพืชสด ส่งผลให้ความสามารถในการผลิตพืชของดินสูงขึ้น และเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของเกษตรกรในการปรับปรุงสมบัติของดินลูกรังที่มีศักยภาพในการให้ผลผลิตพืชต่ำอย่างยั่งยืนต่อไป

**เอกสารอ้างอิง**


กรมพัฒนาที่ดิน, 2541, พืชตระกูลถั่วเพื่อการปรับปรุงดิน, กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพ ฯ, 109 หน้า.

ภานุมาศ มูลสาร และ ภาษิตา ทุ่นศิริ, 2561, การเจริญเติบโตของคะน้าฮ่องกงในดินผสมแหนแดง, รายงานสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการระดับชาติ (Proceedings) ราชภัฏเลยวิชาการ ประจำปี 2561, การบูรณาการภูมิปัญญาสู่นวัตกรรมและการพัฒนาอย่างยั่งยืน, จังหวัดเลย.

ศิริลักษณ์ แก้วสุรลิขิต พัชรินทร์ นามวงษ์ ประไพ ทองระอา นิศารัตน์ ทวีนุต และกานดา ฉัตรไชยศิริ, 2563, การปลดปล่อยธาตุอาหารและการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีในดินที่ใส่แหนแดง, วารสารวิชาการเกษตร, 38(2): 139-149.

ศุภสิทธิ์ สิทธาพานิช พรทิพย์ ศรีมงคล วิมลนันทน์ กันเกตุ และนุชนภางค์ สุวรรณเทน, 2557, อิทธิพลของปุ๋ยพืชสดต่อผลผลิตและการดูดใช้ธาตุไนโตรเจนของข้าวที่ปลูกในดินลูกรัง, วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 45(2) (ฉบับพิเศษ): 613-616.

สำนักงานการวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5, 2563, การจัดการความรู้: เทคโนโลยีการใช้ปุ๋ยชีวภาพเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตพืชในเขตภาคกลางและภาคตะวันตก, กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ, 56 หน้า.

Barus, W. A., Utami, S., and Azmi, E. P., 2018, Effect of *Azolla Bocachi* and Liquid Organic Fertilizer of Goat Manure on the Growth and Production of Chinese Kale (*Brassica oleracea* L.), Indonesian Journal of Agricultural Research, 1(1): 78-86.

Setiawati, M.R., Damayani, M., Herdiyantoro, D., Suryatmana, P., Anggraini, D. and Khumairah, F.H., 2017, The Application Dosage of *Azolla pinnatain* Fresh and Powder Form as Organic Fertilizer on Soil Chemical Properties, Growth and Yield of Rice Plant, The 1$^{st}$ International Conference and Exhibition on Powder Technology Indonesia (ICePTi) 2017, AIP Conference Proceedings 1927, 030017- 1–030017-5.

Subedi, P. and Shrestha, J., 2015, Improving Soil Fertility through *Azolla* Application in Low Land Rice: A Review, Azarian Journal of Agriculture, 2(2): 35-39.

# อิทธิพลของปุ๋ยพืชสดบางชนิดต่อการเจริญเติบโต ผลผลิตของผักคะน้า และการสะสมธาตุไนโตรเจนที่ปลูกในสภาพดินลูกรัง
# Influence of Some Green Manure on Growth and Yield of Chinese Kale and Nitrogen Accumulation Grown under Skeletal Soil Condition

**จิรายุทธ เทียมสม[1] และ วิมลนันทน์ กันเกตุ[1]**
**Tiamsom, J.[1], and Kanket, W.[1]**

## Abstract

Study on influence of sunn-hemp, sword-bean and *Azolla* spp. on soil nitrogen content, growth and yield of Chinese kale under skeletal soil condition. The experiment was arranged as completely-randomized-design with 4 replications and 4 treatments as following: T1 control (no green manure), T2 sunn-hemp incorporation, T3 sword-bean incorporation and T4 *Azolla* spp. incorporation at two tons per rai. Soil samples were collected before planting and after harvesting. Soil pH, total nitrogen content, growth and yield of kale were measured. Result indicated that T4 *Azolla* spp. gave the highest on growth and yield (3,410 kilograms per rai). Suitable on soil pH and increased nitrogen accumulation were found on T4. When costing in economics, it was found that using *Azolla* spp. can generate the highest net profit. Results also indicated that using *Azolla* spp. as green manure could increase soil productivity. It is an alternative for farmer to further improve soil properties.

**Keywords:** green manure, *Azolla* spp., nitrogen

## บทคัดย่อ

การศึกษาอิทธิพลของปุ๋ยพืชสดจากปอเทือง ถั่วพร้า และแหนแดง ต่อปริมาณไนโตรเจนในดิน การเจริญเติบโตและผลผลิตของคะน้าในภาพดินลูกรัง วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 4 ซ้ำ 4 ตำรับการทดลอง ประกอบด้วย T1 ไม่ใส่ปุ๋ยพืชสด (Control) T2 ไถกลบปอเทือง T3 ไถกลบถั่วพร้า และ T4 ไถกลบแหนแดง อัตรา 2 ตันต่อไร่ เก็บตัวอย่างดินก่อน และหลังการเก็บเกี่ยว เพื่อวิเคราะห์ความเป็นกรดด่าง และปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน วัดการเจริญเติบโตและผลผลิตของคะน้า จากผลการทดลองพบว่า T4 การไถกลบแหนแดงทำให้คะน้ามีการเจริญเติบโต และผลผลิตสูงสุด (3,410 กิโลกรัมต่อไร่) อีกทั้งส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของดินดีขึ้น ดินมีการสะสมไนโตรเจนเพิ่มขึ้น และเมื่อคิดต้นทุนในเชิงเศรษฐศาสตร์ พบว่าการใช้แหนแดงสามารถทำกำไรสุทธิได้สูงที่สุด จึงสามารถสรุปได้ว่าการใช้แหนแดงเป็นปุ๋ยพืชสด ส่งผลให้ความสามารถในการผลิตพืชของดินสูงขึ้นและเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของเกษตรกรในการปรับปรุงสมบัติของดินลูกรังต่อไป

**คำสำคัญ:** ปุ๋ยพืชสด แหนแดง ไนโตรเจน

## คำนำ

ไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารหลักที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช และมักเป็นธาตุที่มีการสะสมและมีความเป็นประโยชน์ต่ำในดินที่ขาดความอุดมสมบูรณ์ ปริมาณเนื้อดินน้อย มีเศษหินปน ความหนาแน่นรวมสูง ปริมาณการเก็บกักและสะสมธาตุอาหารต่ำ อย่างดินลูกรัง ทั้งนี้แนวทางในการเพิ่มปริมาณไนโตรเจนในดินมีหลายแนวทางที่นิยมทำ เช่นการใส่ปุ๋ยเคมี การใส่ปุ๋ยหมัก การใส่ปุ๋ยคอก รวมทั้งการไถกลบพืชปุ๋ยสดที่สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ ในบริบทของดินลูกรังนั้น การปลูกพืชตระกูลถั่ว เช่น ปอเทือง ถั่วพร้า เป็นปุ๋ยพืชสดนับว่าเป็นการเพิ่มปริมาณไนโตรเจนที่สะดวก และเหมาะสมกับปัจจัยสภาพแวดล้อมในการผลิตพืชเนื่องจากเป็นพืชรากสั้น ระบบรากมีปมซึ่งมีแบคทีเรียไรโซเบียมที่สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศในรูปที่พืชสามารถดูดใช้ได้ และนอกจากพืชตระกูลถั่วดังกล่าวแล้ว แหนแดงก็นับว่าเป็นแหล่งไนโตรเจนที่มีคุณภาพสูงอีกแหล่งหนึ่ง เนื่องจากมีโพรงใบซึ่งเป็นที่อาศัยสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ชื่อ *Anabaena azolla* อาศัยอยู่แบบให้ประโยชน์ร่วมกันกับแหนแดง มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนจากอากาศให้แหนแดงใช้ในรูปของแอมโมเนียได้สูง (กรมพัฒนาที่ดิน, 2541; สำนักงานการวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5, 2563) เมื่อไถกลบลงดินก็สามารถให้ธาตุไนโตรเจนกับพืชที่ปลูกได้เช่นเดียวกับพืชตระกูลถั่ว จึงได้ทำการศึกษาการจัดการดิน

[1] คณะทรัพยากรธรรมชาติและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร อ.เมือง จ. สกลนคร 47000
[1] Faculty of Natural Resources and Agro-Industry, Kasetsart University, Chalermphrakiat Sakon Nakhon Province Campus, Sakon Nakhon 47000

ลูกรังโดยใช้ปุ๋ยพืชสดจากปอเทือง ถั่วพร้า และแหนแดง ที่มีศักยภาพสูงในการเพิ่มปริมาณไนโตรเจนให้กับดิน รวมทั้งส่งเสริมการเจริญเติบโต และผลผลิตของพืชได้

## อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการทดลองบนพื้นที่ดินลูกรัง ชุดดินโพนพิสัย ในจังหวัดสกลนคร ระหว่างเดือนกันยายน พ.ศ. 2562 ถึง เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2563 วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 4 ซ้ำ 4 ตำรับการทดลอง ประกอบด้วย T1 ไม่ใส่ปุ๋ยพืชสด (Control) T2 ไถกลบปอเทือง T3 ไถกลบถั่วพร้า และ T4 ไถกลบแหนแดง อัตรา 2 ตันต่อไร่ เตรียมแปลงทดลองขนาด 1.5x3 เมตร จำนวน 16 แปลง หว่านเมล็ดปอเทืองและถั่วพร้า ในแปลงตามตำรับการทดลอง ดูแลให้น้ำจนกว่าจะถึงระยะออกดอก ไถกลบพืชปุ๋ยสดในอัตรา อัตรา 2 ตันต่อไร่ ส่วนแหนแดงนำไปขยายในบ่อน้ำในพื้นที่ที่เตรียมไว้ และนำมาไถกลบลงแปลงพร้อมกัน ปล่อยให้ซากพืชสลายตัวประมาณ 20 วัน ก่อนปลูกคะน้าแปลงละ 40 ต้น ให้น้ำและกำจัดวัชพืชทุกวัน บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตและผลผลิตทุกสัปดาห์ เก็บตัวอย่างดินก่อนปลูก หลังไถกลบ 20 วัน และหลังเก็บเกี่ยวมาวิเคราะห์ความเป็นกรดด่างและปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด นำข้อมูลทั้งหมดวิเคราะห์ความแปรปรวนตามแผนการทดลองและเปรียบเทียบความ แตกต่างทางสถิติโดยใช้ Least Significant Difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่นทางสถิติ 95%

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

### 1. ความเป็นกรด-ด่าง

จากการศึกษาสมบัติเคมีบางประการของดินก่อนปลูก หลังไถกลบ 20 วัน และหลังเก็บเกี่ยว (Table 1) พบว่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของดินก่อนการไถกลบปุ๋ยพืชสดมีค่า 5.25 ซึ่งมีความเป็นกรดค่อนข้างมาก ดินหลังทำการไถกลบและหลังการเก็บเกี่ยว ค่า pH และเพิ่มขึ้นในทุกตำรับการทดลองที่มีการใส่ปุ๋ยพืชสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่การไถกลบแหนแดง มีค่า pH สูงสุดที่ 5.78

### 2. ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด

ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของดินก่อนปลูก หลังการไถกลบ 20 วัน และหลังเก็บเกี่ยว (Table 1) พบว่าหลังการไถกลบ 20 วัน ดินมีการสะสมไนโตรเจนเพิ่มมากขึ้นจากการสลายตัวของปุ๋ยพืชสด สอดคล้องกับงานวิจัยของศุภสิทธิ์ และคณะ (2557) พบว่าการไถกลบปุ๋ยพืชสดในอัตราที่เหมาะสม ส่งผลทำให้ดินมีปริมาณไนโตรเจนสูงขึ้น โดยที่การไถกลบแหนแดงมีการสะสมไนโตรเจนมากที่สุด (0.96 กรัม/กิโลกรัม) แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับการไถกลบถั่วพร้า (0.91 กรัม/กิโลกรัม) จากผลการวิเคราะห์ดินหลังการเก็บเกี่ยว พบว่ามีเพียงตำรับการทดลองที่ไถกลบแหนแดงเท่านั้นที่มีปริมาณไนโตรเจนสะสมเพิ่มขึ้น เนื่องจากแหนแดงมีการปลดปล่อยไนโตรเจนแบบเพิ่มขึ้นทีละน้อยตลอดระยะเวลาที่มีการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ เหมาะกับการเจริญเติบโตของผักกินใบที่มีการเจริญเติบโตสอดคล้องกับการปลดปล่อยแบบนี้ (ศิริลักษณ์ และคณะ, 2563) และจากรายงานวิจัยของ Subedi และ Shrestha, (2015) พบว่าแหนแดงส่งผลให้ดินมีสมบัติทั้งทางกายภาพและทางเคมีดีขึ้น เช่นความสามารถในการเก็บกักน้ำ ปริมาณการสะสมไนโตรเจน ปริมาณอินทรียวัตถุ และปริมาณธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์ ทำให้ดินมีความอุดมสมบูรณ์ และทำให้พืชปลูกเจริญเติบโตและให้ผลผลิตสูงขึ้น

### 3. การเจริญเติบโตและผลผลิตของคะน้า

#### การเจริญเติบโต

จาก Table 2 พบว่าผลการไถกลบพืชปุ๋ยสดส่งผลให้ต้นคะน้ามีความสูงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยตำรับการทดลองที่มีการไถกลบแหนแดงมีความสูง 19.47 เซนติเมตร แต่ไม่มีความแตกต่างกับการไถกลบถั่วพร้าที่มีความสูง 19.17 เซนติเมตร ขนาดเส้นผ่านรอบวงต้นคะน้าซึ่งวัดส่วนกึ่งกลางลำต้น พบว่าปุ๋ยพืชสดทั้ง 3 ชนิดส่งผลต่อการเจริญเติบโตทางด้านเส้นรอบวงของลำต้นคะน้า (7.75-10.54 เซนติเมตร) และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และการไถกลบแหนแดงเป็นปุ๋ยพืชสดมีขนาดเส้นรอบวงมากที่สุด การเจริญเติบโตด้านความกว้างและความยาวใบของคะน้า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่การไถกลบแหนแดงส่งผลให้คะน้ามีความกว้างและความยาวใบมากกว่าตำรับการทดลองอื่น (21.28 และ 42.16 เซนติเมตร ตามลำดับ) เนื่องจากในแหนแดงมีปริมาณมีไนโตรเจนอยู่ประมาณ 4-5 เปอร์เซ็นต์ (Setiawati และคณะ, 2017) จึงส่งผลให้ดินมีปริมาณธาตุไนโตรเจนสูงกว่าตำรับการทดลองอื่นจึงส่งเสริมการเจริญเติบโตของคะน้า ทำให้มีความสูง ขนาดความกว้างของใบ ความยาวของใบ และเส้นรอบวงมากที่สุด และจากการทดลองพบว่าจำนวนใบของคะน้าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยมีค่าเฉลี่ยที่ 5.55-7.00 ใบ แต่การไถกลบปุ๋ยพืชสดทั้ง 3 ชนิดมีแนวโน้มทำให้จำนวนใบมากกว่าตำรับควบคุม

**ผลผลิต**

จากผลการทดลองใน Table 2 พบว่าผลจากการไถกลบปุ๋ยพืชสดทั้ง 3 ชนิด ส่งผลให้คะน้ามีผลผลิตอยู่ระหว่าง 2,140-3,410 กิโลกรัม/ไร่ และมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้พบว่าตำรับการทดลองที่มีไถกลบใส่แหนแดง ทำให้น้ำหนักสดของผลผลิตคะน้ามากที่สุดที่ 3,410 กิโลกรัม/ไร่ รองลงคือการไถกลบถั่วพร้า ที่ 2,688 กิโลกรัม/ไร่ การไถกลบปอเทืองที่ 2,140 กิโลกรัม/ไร่ ส่วนตำรับควบคุมที่มีผลผลิตต่ำที่สุดที่ 752.40 กิโลกรัม/ไร่ สอดคล้องกับรายงานของ Barus และ Azmi, (2018) และภานุมาศ และ ภาษิตา (2561) ที่พบว่าการใส่ปุ๋ยแหนแดงส่งผลให้พืชมีการเจริญเติบโต และให้ผลผลิตสูงกว่าการใช้ปุ๋ยชนิดอื่นๆ

**Table 1** pH and total nitrogen accumulation of soils before planting, 20 days after incorporation and after harvest

| Treatment | pH | | | Total Nitrogen (g kg$^{-1}$) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | before planting | 20 days after incorporation | after harvest | before planting | 20 days after incorporation | after harvest |
| Control | 5.25 | 5.29$^{c}$ | 5.27$^{c}$ | 0.76 | 0.80$^{b}$ | 0.68$^{b}$ |
| Sunn-hemp | 5.25 | 5.53$^{b}$ | 5.51$^{b}$ | 0.76 | 0.83$^{b}$ | 0.63$^{b}$ |
| Sword-bean | 5.25 | 5.61$^{b}$ | 5.63$^{b}$ | 0.76 | 0.91$^{a}$ | 0.72$^{b}$ |
| *Azolla spp.* | 5.25 | 5.85$^{a}$ | 5.78$^{a}$ | 0.76 | 0.96$^{a}$ | 1.09$^{a}$ |
| F-test | | * | * | | * | * |
| C.V.(%) | | 1.25 | 1.15 | | 13.53 | 13.61 |

In the same column, mean followed by a common letter are not significantly different at the 5 % level by LSD

**Table 2** Growth and yield of Chinese kale under skeletal soil condition

| Treatment | Height (cm) | Girth Circumference (cm) | Leaf number | Leaf width (cm) | Leaf length (cm) | Yield (kg/rai) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Control | 9.75$^{c}$ | 3.74$^{d}$ | 5.55 | 9.82$^{d}$ | 13.93$^{d}$ | 752.40$^{c}$ |
| Sunn-hemp | 16.54$^{b}$ | 7.75$^{c}$ | 7.00 | 16.53$^{c}$ | 18.52$^{c}$ | 2,140.00$^{b}$ |
| Sword-bean | 19.17$^{a}$ | 9.02$^{b}$ | 7.00 | 21.18$^{a}$ | 39.33$^{b}$ | 2,688.00$^{b}$ |
| *Azolla spp.* | 19.47$^{a}$ | 10.54$^{a}$ | 7.00 | 21.28$^{a}$ | 42.16$^{a}$ | 3,410.00$^{a}$ |
| F-test | * | * | ns | * | * | * |
| C.V.(%) | 2.57 | 1.13 | 13.07 | 1.28 | 1.86 | 20.90 |

In the same column, mean followed by a common letter are not significantly different at the 5 % level by LSD

## สรุปผล

จากผลการศึกษาอิทธิพลของปุ๋ยพืชสดจากปอเทือง ถั่วพร้า และแหนแดง ต่อปริมาณไนโตรเจนในดิน การเจริญเติบโตและผลผลิตของคะน้าภายใต้สภาพดินลูกรัง สามารถสรุปได้ว่าการไถกลบแหนแดงในอัตรา 2 ตัน/ไร่ ทำให้คะน้ามีการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตสูงที่สุด ส่งผลต่อปริมาณการสะสมธาตุไนโตรเจนในดิน และยังทำให้ดินมีความเป็นกรด-ด่างเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช และเมื่อคิดต้นทุนในเชิงเศรษฐศาสตร์ พบว่าการใช้แหนแดงสามารถทำกำไรสุทธิได้สูงที่สุด จึงสามารถสรุปได้ว่าการใช้แหนแดงเป็นปุ๋ยพืชสด ส่งผลให้ความสามารถในการผลิตพืชของดินสูงขึ้น และเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของเกษตรกรในการปรับปรุงสมบัติของดินลูกรังที่มีศักยภาพในการให้ผลผลิตพืชต่ำอย่างยั่งยืนต่อไป

**เอกสารอ้างอิง**


กรมพัฒนาที่ดิน, 2541, พืชตระกูลถั่วเพื่อการปรับปรุงดิน, กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพ ฯ, 109 หน้า.

ภานุมาศ มูลสาร และ ภาษิตา ทุ่นศิริ, 2561, การเจริญเติบโตของคะน้าฮ่องกงในดินผสมแหนแดง, รายงานสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการระดับชาติ (Proceedings) ราชภัฏเลยวิชาการ ประจำปี 2561, การบูรณาการภูมิปัญญาสู่นวัตกรรมและการพัฒนาอย่างยั่งยืน, จังหวัดเลย.

ศิริลักษณ์ แก้วสุรลิขิต พัชรินทร์ นามวงษ์ ประไพ ทองระอา นิศารัตน์ ทวีนุต และกานดา ฉัตรไชยศิริ, 2563, การปลดปล่อยธาตุอาหารและการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีในดินที่ใส่แหนแดง, วารสารวิชาการเกษตร, 38(2): 139-149.

ศุภสิทธิ์ สิทธาพานิช พรทิพย์ ศรีมงคล วิมลนันทน์ กันเกตุ และนุชนภางค์ สุวรรณเทน, 2557, อิทธิพลของปุ๋ยพืชสดต่อผลผลิตและการดูดใช้ธาตุไนโตรเจนของข้าวที่ปลูกในดินลูกรัง, วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 45(2) (ฉบับพิเศษ): 613-616.

สำนักงานการวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5, 2563, การจัดการความรู้: เทคโนโลยีการใช้ปุ๋ยชีวภาพเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตพืชในเขตภาคกลางและภาคตะวันตก, กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ, 56 หน้า.

Barus, W. A., Utami, S., and Azmi, E. P., 2018, Effect of *Azolla Bocachi* and Liquid Organic Fertilizer of Goat Manure on the Growth and Production of Chinese Kale (*Brassica oleracea* L.), Indonesian Journal of Agricultural Research, 1(1): 78-86.

Setiawati, M.R., Damayani, M., Herdiyantoro, D., Suryatmana, P., Anggraini, D. and Khumairah, F.H., 2017, The Application Dosage of *Azolla pinnatain* Fresh and Powder Form as Organic Fertilizer on Soil Chemical Properties, Growth and Yield of Rice Plant, The 1$^{st}$ International Conference and Exhibition on Powder Technology Indonesia (ICePTi) 2017, AIP Conference Proceedings 1927, 030017- 1–030017-5.

Subedi, P. and Shrestha, J., 2015, Improving Soil Fertility through *Azolla* Application in Low Land Rice: A Review, Azarian Journal of Agriculture, 2(2): 35-39.

# การอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมเจตมูลเพลิงแดงในสภาพปลอดเชื้อ
# *In vitro* Conservation of Chettamuun Phloeng Daeng (*Plumbago indica* L.)

**สุกัลยา ศิริฟองนุกูล**[1]
**Sirifongnukul, S.**[1]

## Abstract

*In vitro* conservation of Chettamuun Phloeng Daeng (*Plumbago indica* L.) was explored for multiple shoot inductions, root regeneration, and slow growth technique. For shoot multiplication, the highest number of shoots occurred on MS medium containing 2 mg/L BA with an average of 18.01 shoots per node. Shoots rooted on half-MS medium showed 100% of rooting rate. The average length of induced roots was 2.24 cm. The slow growth technique was examined by culturing the shoot explants on MS medium supplemented with 2% or 3% sucrose and was found to extend the average storage period to 10 months.

**Keywords:** Red Plumbago, *Plumbago indica* L., *In vitro* conservation, Minimal growth

## บทคัดย่อ

การศึกษาการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืชเจตมูลเพลิงแดง (*Plumbago indica* L.) ในสภาพปลอดเชื้อ โดยทดสอบอาหารเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากและเกิดราก และการชะลอการเจริญเติบโตในขวดเพาะเลี้ยง พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BA 2.0 มก./ล. สามารถชักนำต้นเจตมูลเพลิงแดงให้เกิดยอดจำนวนมากที่สุดเฉลี่ย 18.01 ยอดต่อตา และอาหารสูตร half-MS ชักนำให้เกิดรากได้ดีโดยมีอัตราการเกิดราก 100% และรากมีความยาวเฉลี่ย 2.24 ซม. เมื่อทดสอบสูตรอาหารเพื่อชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า สามารถยืดอายุการเพาะเลี้ยงได้นานที่สุดเฉลี่ย 10 เดือน บนอาหารสูตร MS ที่เติม Sucrose 2% หรือ 3%

**คำสำคัญ:** เจตมูลเพลิงแดง การอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืชในสภาพปลอดเชื้อ การชะลอการเจริญเติบโต

## คำนำ

เจตมูลเพลิงแดง (*Plumbago indica* L.) เป็นพืชสมุนไพรอยู่ในวงศ์ PLUMBAGINACEAE พบกระจายพันธุ์อยู่ทั่วไปในประเทศเขตร้อน มีการนำรากมาใช้เป็นยาโดยมีสรรพคุณรักษาโรคทางโลหิตในสตรี กระตุ้นการทำงานของลำไส้และกระเพาะอาหาร ช่วยระงับอาการปวดฟัน ทาแก้กลากเกลื้อน (วิทย์, 2542) ในรากของเจตมูลเพลิงแดงมีสารออกฤทธิ์ในกลุ่ม naphthoquinone ชื่อ plumbagin มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิด (Didry และคณะ, 1994; Nakornchai และคณะ, 1995) ต้านมะเร็ง (Parimala และ Sachdanandam, 1993) และยับยั้งการลอกคราบของหนอนผีเสื้อได้ (Kubo *et al*., 1983) การนำรากมาใช้จะต้องมีขนาดเหมาะสมและมีคุณภาพดีใช้เวลาในการปลูกหลายปีทำให้มีผู้นิยมขุดเก็บรากออกมาจากป่ากันมาก อาจทำให้เกิดการสูญพันธุ์ได้ จึงสมควรหาทางอนุรักษ์พืชชนิดนี้ไว้ไม่ให้สูญพันธุ์

เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นวิธีการอนุรักษ์และขยายพันธุ์พืชที่มีศักยภาพสูงวิธีหนึ่ง การทดสอบสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากหรือการชักนำให้เกิดรากเพื่อการนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติ โดยเติมสารในกลุ่มไซโตไคนิน (cytokinin) หรือออกซิน (auxin) ในอาหารเพาะเลี้ยงเป็นขั้นตอนที่สำคัญ (รังสฤษดิ์, 2540) สารในกลุ่มไซโตไคนินนิยมใช้ BA หรือ KN เป็นส่วนใหญ่ ส่วน TDZ ซึ่งเป็น cytokinin-like compound ก็มีรายงานว่าให้ผลที่ดีในการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากได้ดีในไม้ยืนต้น (Huetteman และ Preece, 1993). มีรายงานการเพาะเลี้ยงเอมบริโอ และชิ้นส่วนตาข้างของเจตมูลเพลิงขาว (*P. zeylanica* L.) โดยเปรียบเทียบระหว่างสูตรอาหาร 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ใช้อาหารสูตร MS เป็นพื้นฐานกับสูตรที่ใช้ธาตุอาหารหลัก NPK ร่วมกับน้ำสกัดจาก *Citrus sinensis* โดยอาหารทั้งสองกลุ่มจะเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ร่วมกับ BAP พบว่าการใช้ MS เป็นอาหารพื้นฐานนั้นสามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากกว่า (Gbadamosi และ Egunyomi, 2010) และ สุภาภรณ์ (2546) ได้ศึกษาการขยายพันธุ์เจตมูลเพลิงแดงโดยใช้ตายอดและตาข้างมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1-4 มก./ล. พบว่า อาหารสูตรที่เติม BA 3 มก./ล. ให้จำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด โดยลักษณะของยอดที่เกิดมีขนาดเล็กเกาะกันแน่นเป็นกระจุก ยอดเหล่านี้เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS+BA 1 มก./ล. พบว่า สามารถชักนำให้มีลักษณะสมบูรณ์ได้ จากนั้นจึงนำไปชักนำให้

1 สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ (บางเขน) กรมวิชาการเกษตร ถ.พหลโยธิน ลาดยาว จตุจักร 10900
1 Biotechnology Research and Development Office (Bangkhaen), 50 Phaholyothin Rd., Ladyao, Chatuchack, Bangkok, 10900

เกิดรากก่อนนำออกปลูกอาหารสูตร MS และ half-MS สำหรับการศึกษาสูตรอาหารชะลอการเจริญเติบโตเพื่อควบคุมให้พืชเจริญช้าลงและสามารถเก็บรักษาพืชในหลอดทดลองได้นานมากขึ้นอันจะช่วยลดขนาดพื้นที่ในการเก็บรักษาและลดจำนวนครั้งในการเปลี่ยนถ่ายอาหารได้ มีรายงานว่าการเก็บรักษาพันธุ์เจตมูลเพลิงแดงโดยเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารสูตร MS ร่วมกับ sucrose 30 ก./ล. เปรียบเทียบระหว่างสูตรอาหารที่เติม mannitol ความเข้มข้น 0, 20, 40 และ 60 ก./ล. และเติมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต (BA 0.5 มก./ล. + IAA 0.16 มก./ล.) หรือไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เก็บรักษาไว้ที่ความเข้มแสง 50 μmol/$m^2$/s ระยะเวลาให้แสง 12 ชั่วโมง/วัน อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยไม่เปลี่ยนอาหาร พบว่า mannitol สามารถชะลอการเจริญเติบโตของต้นอ่อนที่เจริญจากตาของข้อได้ โดยต้นเจตมูลเพลิงแดงสามารถเก็บรักษาได้ถึง 8 เดือน และยังคงมีลักษณะสมบูรณ์แข็งแรง (รมณีย์ และ ศาลักษณ์, 2547) ดังนั้นการทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสูตรอาหารเพื่อเพิ่มจำนวนยอดอย่างรวดเร็ว ชักนำให้เกิดราก และเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมต้นเจตมูลเพลิงแดงในสภาพปลอดเชื้อ

## อุปกรณ์และวิธีการ

1.) การชักนำให้เกิดยอด ตัดชิ้นส่วนตาข้างจากชิ้นพืชในสภาพปลอดเชื้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหารทดลอง 10 สูตร คือ MS+sucrose 3% ที่เติม BA (6-benzyladenine) หรือ KN (Kinetin) หรือ TDZ (Thidiazuron) ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0 mg/l ต่อชนิด และ MS+sucrose 3% ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (control) เพาะเลี้ยงในสภาพที่ให้แสง 16 ช.ม./วัน อุณหภูมิ 25±2 ซํ เป็นเวลา 2 เดือน วางแผนแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 10 ซ้ำๆละ 1 ขวดๆละ 2 ชิ้น บันทึกผลจำนวนยอด ความสูงของทรงพุ่ม และการเกิดราก

2.) การชักนำให้เกิดราก นำยอดที่ได้จากข้อ 1. ยาว 2 ซม. เพาะเลี้ยงบนอาหาร 6 สูตร ได้แก่ สูตร MS เป็นสูตรควบคุม (Control) สูตร ½ MS ที่เติม NAA หรือ IAA ที่ความเข้มข้น 0.25 mg/l หรือ 0.50 mg/l (½ MS คือสูตรที่ลดธาตุอาหารลง ½ ของสูตร MS ปกติ) ทุกสูตรเติม sucrose 3% เลี้ยงในสภาพที่ให้แสง 16 ช.ม./วัน อุณหภูมิ 25±2 ซํ เป็นเวลา 2 เดือน วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 10 ซ้ำๆละ 1 ขวดๆ ละ 2 ชิ้น บันทึกผลร้อยละการเกิดราก จำนวนราก (ที่สามารถนับได้) และความยาวราก

3.) การชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ นำยอดที่ได้จากข้อ 1. ยาว 2 ซ.ม. เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาลสองชนิดคือ sucrose และ mannitol วางแผนการทดลองแบบ 2x4 factorial in CRD มี 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยที่ 1) ปริมาณ sucrose 2 ระดับ ได้แก่ 2% และ 3% และปัจจัยที่ 2) ปริมาณ mannitol 4 ระดับ ได้แก่ 0% 1% 2% และ 4% คิดเป็น 8 ทรีทเมนต์คอมบิเนชั่น ทรีทเมนต์ละ 10 ซ้ำๆ ละ 2 ขวดๆ ละ 1 ชิ้น โดยไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต บันทึกผลการทดลองที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 2, 4, 6, 8 และ 10 เดือน โดยไม่เปลี่ยนอาหาร บันทึกข้อมูล ระยะเวลาความมีชีวิต จำนวนยอด และการเกิดราก

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

<u>การชักนำให้เกิดยอด</u>

จากการทดลอง พบว่า ทุกสูตรสามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากกว่าสูตรควบคุม (TS10) อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เนื่องจากเป็นสารในกลุ่มไซโตไคนินที่กระตุ้นการเกิดยอดหรือสร้างตาข้าง (รังสฤษดิ์, 2540) การเติมหรือไม่เติมสารจึงให้ผลแตกต่างอย่างชัดเจน โดยสูตร TS3 ชักนำให้เกิดยอดได้มากที่สุด (18.01 ยอดต่อชิ้น) รองลงมาคือ TS7 (17.14 ยอดต่อชิ้น) (Table 1) สอดคล้องกับรายงานของ Sivanesan และ Jeong (2009) ที่เพาะเลี้ยงเจตมูลเพลิงขาว และรายงานของสุภาภรณ์ (2546) ที่เพาะเลี้ยงเจตมูลเพลิงแดง พบว่าเมื่อนำชิ้นส่วน shoot tip และ node เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA หรือ KN สามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากกว่าสูตร MS ที่ไม่เติมสารและสามารถพัฒนาไปเป็นยอดได้จำนวนมาก อย่างไรก็ตาม ลักษณะยอดที่เกิดขึ้นบนสูตรที่เติม BA และ KN มีลักษณะเป็นยอดสมบูรณ์ ในขณะที่ยอดที่เกิดบนสูตรที่เติม TDZ นั้น มีขนาดเล็ก ใบเรียวแหลม และเกิดแคลลัสเป็นปมเกาะกันหนาแน่น อาจเนื่องจาก TDZ มีความเข้มข้นสูงเกินไปจึงทำให้กระตุ้นการเกิดแคลลัสและโซมาติกเอมบริโอมากกว่า (Huetteman และ Preece, 1993) เมื่อดูลักษณะความสูงทรงพุ่ม พบว่า เจตมูลเพลิงแดงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA และ KN (TS1-TS6) ให้ความสูงของทรงพุ่มแตกต่างจากสูตรที่เติม TDZ (TS4-TS5) อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (Table 1) อนึ่ง สูตรที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต และสูตรที่เติม BA KN ที่ความเข้มข้นไม่สูงมากสามารถทำให้เจตมูลเพลิงแดงออกรากได้ (Table 1)

<u>การชักนำให้เกิดราก</u>

จากการทดลอง พบว่า ทุกสูตรสามารถชักนำให้เจตมูลเพลิงแดงเกิดรากในสภาพปลอดเชื้อได้ โดยสูตรอาหารที่ชักนำให้เจตมูลเพลิงแดงเกิดรากได้ดีที่สุด คือ สูตร TR2 และ TR6 เกิดรากได้ 100% สูตรที่ใช้ NAA มีอัตราการเกิดรากน้อยกว่า IAA (Table 2) รากที่เกิดบนอาหารสูตร MS half-MS และ half-MS ที่เติม IAA นั้น มีลักษณะเป็นเส้นยาวและแข็งแรง มีรากแขนงพอสมควรทำให้มีแนวโน้มในการนำออกปลูกทำได้ง่าย ส่วนสูตรที่เติม NAA นั้น นอกจากยอดที่เจริญเติบโตช้าและเกิดรากน้อย รากที่ปรากฏก็เป็นรากขนอ่อนสั้นๆ เกาะเป็นกระจุก ฉ่ำน้ำ และเกิดแคลลัส สอดคล้องกับงานวิจัยของ สุภาภรณ์ (2546) และ

รศนา และสุภวรรณ (2543) ซึ่งเพาะเลี้ยงยอดเจตมูลเพลิงแดงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA พบว่า มักเกิด callus สีเทา มีลักษณะฉ่ำน้ำ เกิดรากจำนวนน้อย ขนาดสั้น

การชะลอการเจริญเติบโต

จากการทดลอง พบว่า สูตร T1 และ T5 เป็นสูตรที่เพาะเลี้ยงเจตมูลเพลิงแดงได้เป็นเวลานานที่สุดโดยไม่ต้องเปลี่ยนอาหาร (10 เดือน) รองลงมาคือสูตร T2 (7.7 เดือน) (Table 3) เมื่อความเข้มข้นของ sucrose และ mannitol เพิ่มสูงขึ้นส่งผลให้อาหารมีแรงดันออสโมซิสสูงขึ้นด้วยทำให้เจตมูลเพลิงแดงมีการเจริญเติบโตลดลงจนถึงกับหยุดชะงักและอยู่ได้นานเพียง 2-4 เดือนเท่านั้น ต่างจากรายงานของ รมณีย์และศาลักษณ์ (2547) ซึ่งสามารถเพาะเลี้ยงต้นเจตมูลเพลิงแดงในอาหารสูตร MS+3%sucrose+2%manitol ได้นาน 8-14 เดือน อาจเนื่องจากความแตกต่างของการให้แสงในระหว่างเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 ชม.ต่อวัน ในขณะที่การทดลองนี้ให้แสง 16 ชม.ต่อวัน แสดงว่าแสงมีผลต่อการเจริญเติบโตบนอาหารที่เพิ่มแรงดันออสโมซิสอย่างมีนัยสำคัญ

## สรุปผล

1. สูตรที่ชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก คืออาหารสูตร MS ที่เติม BA 2.0 มก./ล.
2. สูตรที่ชักนำให้เกิดรากที่สมบูรณ์และเหมาะแก่การย้ายออกปลูกในธรรมชาติได้ คือ อาหารสูตร MS และ half-MS
3. สูตรที่อนุรักษ์ต้นเจตมูลเพลิงแดงในสภาพปลอดเชื้อได้นาน 7-10 เดือน ได้แก่ อาหารสูตร MS+sucrose 2-3%

## เอกสารอ้างอิง


รมณีย์ เจริญทรัพย์ และศาลักษณ์ พรรณศิริ, 2547, การเก็บรักษาพันธุ์เจตมูลเพลิงแดงในสภาพปลอดเชื้อ: ผลของ mannitol ต่อการเจริญของเนื้อเยื่อที่เก็บรักษา, การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42: สาขาพืช สาขาส่งเสริมและนิเทศศาสตร์เกษตร, หน้า 553-559.

รศนา ชุมแสง และสุภวรรณ สุขสว่าง, 2543, การคัดเลือกต้นเจตมูลเพลิงแดงที่มีการสร้างสารในปริมาณสูงและการขยายพันธุ์, โครงงานนักศึกษา, คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ, 2540, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช หลักการและเทคนิค, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 219 หน้า.

วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม, 2542, พจนานุกรมสมุนไพรไทย, อักษรพิทยา, กรุงเทพฯ, 233 หน้า.

สุภาภรณ์ ธาตรีโรจน์, 2546, การขยายพันธุ์เจตมูลเพลิงแดงโดยการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากในสภาพปลอดเชื้อ, ปัญหาพิเศษปริญญาโท, ภาควิชาพืชสวน, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 28 หน้า.

Didry, N., Dubrevil, L. and Pinkas, M., 1994, Activity of Anthroquinonic and Naphthoquinonic Compounds on Oral Bacteria, Pharmazie, 49: 681-683.

Gbadamosi, I.T. and Egunyomi, A., 2010, Micropropagation of *Plumbago zeylanica* L. (Plumbaginaceae) in Ibadan, Southwestern, Nigeria, Journal of Medicinal Plants Research, 4(4): 293-297.

Huetteman, A. and Preece, E. J., 1993, Thidiazuron: A Potent Cytokinin for Woody Plant Tissue Culture, Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 33: 105-119.

Kubo, I., Uchida M., and Klocke J. A., 1983, An Insect Ecdysis Inhibitor from The African Medicinal Plant, *Plumbago capensis* (Plumbaginaceae), Agriculturaland Biological Chemistry, 47: 911-913.

Mok, M.C., Mok, D.W.S., Armstrong, D.J., Shudo, K., Isogai, Y. and Okamoto, T., 1982, Cytokinin Activity of N-phenyl-N′-1, 2, 3-thiadiazol-5-ylurea (thidiazuron), Phytochemistry, 21:1509–1511

Nakornchai, S., Anantavara, S. and Yodsnaha, S., 1995, Synergism Between Tetracycline and Naphthoquinone Antimalarial Drug Against Chloroquine Resistant *Plumbago falciparum,* Mahidol University Annual Research Abstracts, 23: 296-297.

Nasiruddin, M. and Rafiul Islam, A.K.M., 2018, *In Vitro* Slow-Growth Conservation for Two Genotypes of *Solanum tuberosum L.* Bangladesh Journal of Botany, 47(3): 369-380.

Parimala, R. and Sachdanandam, P. 1993. Effect of Plumbagin on Some Glucose Metabolizing Enzymes Studied in Rats in Experimental Hepatoma, Molecular and Cellular Biochemistry, 125: 59-63.

Sivanesan, I. and Jeong, B. R., 2009, Micropropagation of *Plumbago zeylanica* L., African Journal of Biotechnology, 8(16): 3761-3768.

**Table 1** Average number of shoots, average of shoot length and percentage of rooting were recorded after 90 days

| Treatment | | Average number of shoots | average of shoot length (cm.) | Percentage of rooting |
|---|---|---|---|---|
| TS1 | MS + BA 0.50 mg/l | 3.43c | 2.99ab | 14.3 |
| TS2 | MS + BA 1.00 mg/l | 6.50c | 3.67a | 14.3 |
| TS3 | MS + BA 2.00 mg/l | 18.01a | 2.39bc | 0.0 |
| TS4 | MS + KN 0.50 mg/l | 1.71c | 3.06ab | 28.6 |
| TS5 | MS + KN 1.00 mg/l | 1.14c | 3.41ab | 100.0 |
| TS6 | MS + KN 2.00 mg/l | 1.57c | 3.37ab | 57.1 |
| TS7 | MS + TDZ 0.50 mg/l | 17.14a | 0.51d | 0.0 |
| TS8 | MS + TDZ 1.00 mg/l | 15.67ab | 0.52d | 0.0 |
| TS9 | MS + TDZ 2.00 mg/l | 7.40bc | 0.36d | 0.0 |
| TS10 | MS (control) | 1.00d | 1.49cd | 14.3 |
| F-value | | ** | ** | |

Mean values marked with the same letter vertically showed no statistical difference at the 5% level DMRT.

**Table 2** Percentage of rooting were cultured on experimental medium after 60 days.

| Treatment | | Percentage of Rooting | Average number of roots (countable) | Average of root length (cm.) |
|---|---|---|---|---|
| TR1 | MS (control) | 87.5 | 4.38 | 2.11 |
| TR2 | 1/2MS | 100.0 | 5.00 | 2.24 |
| TR3 | 1/2MS+NAA 0.25 mg/l | 75.0 | n/a[1] | n/a[1] |
| TR4 | 1/2MS+NAA 0.50 mg/l | 62.5 | n/a[1] | n/a[1] |
| TR5 | 1/2MS+IAA 0.25 mg/l | 87.5 | 6.25 | 2.96 |
| TR6 | 1/2MS+IAA 0.50 mg/l | 100.0 | 8.16 | 2.32 |

n/a[1] = **no data**

**Table 3** Survival of Chettamuun Phloeng Daeng (*Plumbago indica* L.) under *in vitro* in different treatment.

| Treatment | | Average duration* (months) | Average number of shoots** | Percentage of rooting |
|---|---|---|---|---|
| T1 | MS+2%sucrose+0%manitol | 10.0a | 1.1 | 100 |
| T2 | MS+2%sucrose+1%manitol | 7.7a | 1.0 | 90 |
| T3 | MS+2%sucrose+2%manitol | 4.4b | 0.7 | 0 |
| T4 | MS+2%sucrose+4%manitol | 2.4b | 0.8 | 20 |
| T5 | MS+3%sucrose+0%manitol | 10.0a | 1.0 | 100 |
| T6 | MS+3%sucrose+1%manitol | 4.4b | 1.0 | 40 |
| T7 | MS+3%sucrose+2%manitol | 4.1b | 1.1 | 10 |
| T8 | MS+3%sucrose+4%manitol | 3.2b | 0.9 | 10 |

* Mean values marked with the same letter vertically showed no statistical difference at the 5% level DMRT.

** The average number of shoots was recorded in the last month for each treatment.

# การอนุรักษ์พืชสกุล *Kaempferia* ด้วยเทคนิคการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ
# *In vitro* Conservation of *Kaempferia* sp. via Slow Growth Technique.

**สุกัลยา ศิริฟองนุกูล**[1]
**Sirifongnukul, S.**[1]

## Abstract

A study on an appropriate medium for *in vitro* conservation of 2 species of *Kaempferia* L. (Wan-Kra-Chaea-Chan: *K. marginat*a Carey ex Roscoe and Wan-Thipya-Nate: *K. rotunda* L.) via slow growth technique was carried out. Shoot tips were cultured on 12 treatments with different medium concentrations of MS or half-MS medium supplemented with sucrose 3-9% w/v and mannitol 0-2% w/v. The results showed that Wan-Kra-Chaea-Chan was found to extend the storage period to 10.69 months on MS supplemented sucrose 3%w/v and mannitol 2% w/v while Wan-Thipya-Nate was found to extend the storage period to 9 months on MS containing sucrose 3% w/v. The survival shoots were transferred to recover medium. The plantlets were regenerated under normal growth conditions which its survival rate of the plantlets in the greenhouse was higher than 80%.

**Keywords:** *Kaempferia* sp., Plant Conservation, *In vitro*, Slow growth

## บทคัดย่อ

การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชสมุนไพรสกุล *Kaempferia* L. 2 ชนิด ได้แก่ ว่านกระแจะจันทร์ (*K. marginata* Carey ex Rosceo) และว่านทิพยเนตร (*K. rotunda* L.) ด้วยเทคนิคการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ โดยเพาะเลี้ยงปลายยอดบนอาหารทดลองจำนวน 12 สูตร ประกอบด้วยสูตร MS หรือ half-MS ที่เติม sucrose 3% หรือ 9% ร่วมกับ mannitol 0-2% พบว่า ในว่านกระแจะจันทร์ อาหารสูตรที่สามารถยืดอายุการเก็บรักษาในสภาพปลอดเชื้อได้นานสูงสุดเป็นเวลาเฉลี่ย 10.69 เดือน โดยไม่ต้องเปลี่ยนถ่ายอาหาร ได้แก่ สูตร MS ที่เติม sucrose 3% และ mannitol 2% และในว่านทิพยเนตร สูตรอาหาร MS ที่เติม sucrose 3% สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นานที่สุดเป็นเวลาเฉลี่ย 9 เดือน เมื่อย้ายพืชสกุล *Kaempferia* ทั้ง 2 ชนิด ที่รอดชีวิตไปเพาะเลี้ยงบนอาหารฟื้นฟูสภาพ พบว่า สามารถฟื้นตัวและเจริญเติบโตต่อไปได้ดี เมื่อนำออกปลูกในโรงเรือนมีอัตราการรอดชีวิตสูงกว่าร้อยละ 80

**คำสำคัญ:** พืชสกุล *Kaempferia* การอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืช การชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ

## คำนำ

พืชสกุล *Kaempferia* sp. เป็นพืชในวงศ์ ZINGIBERACEAE หรือพืชวงศ์ขิง ซึ่งมีน้ำมันหอมระเหยสะสมอยู่มากในส่วนของหัวหรือเหง้าและเป็นส่วนขยายพันธุ์หลัก มีความสำคัญทางด้านเศรษฐกิจทั้งด้านการนำมาใช้เป็นเครื่องเทศ และพืชสมุนไพรที่เป็นส่วนประกอบในยารักษาโรคที่สำคัญหลายขนาน ปัจจุบันมีกระแสตื่นตัวเกี่ยวกับการใช้ประโยชน์จากพืชสมุนไพรกันมากขึ้น เช่น การใช้รักษาโรค การใช้เพื่อความงาม สุวคนธบำบัด และอาหารเพื่อสุขภาพ (คมสัน, 2549; วุฒิ, 2552) รวมทั้งนำมาใช้ป้องกันกำจัดศัตรูพืชและโรคพืชในการทำเกษตรกรรม (ต. ชาตรี, 2553) เมื่อมีการนำไปใช้ประโยชน์มากขึ้น ทำให้พืชเหล่านี้อยู่ในสภาวะเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ จึงควรเก็บอนุรักษ์เชื้อพันธุ์ไว้เพื่อไม่ให้สูญพันธุ์ไป การเก็บรักษาเชื้อพันธุ์พืชในหลอดทดลองด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในสภาพปลอดเชื้อจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถช่วยลดขนาดพื้นที่การเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมได้มากขึ้น การทดลองนี้เลือกใช้เทคนิคการเก็บรักษาในระยะปานกลาง (Medium term storage) ซึ่งเป็นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชโดยการชะลอหรือการลดการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อในหลอดทดลองให้เจริญช้าลง (Slow growth, Minimal growth) (Shibli และคณะ, 2006) ซึ่งจะช่วยลดปริมาณงานหรือจำนวนครั้งของการเปลี่ยนถ่ายอาหารสังเคราะห์ในการเพาะเลี้ยงได้ มีรายงานการศึกษาเพื่อเก็บรักษาขิง (*Zingiber officinale* Rosc. Cv. Rio de Janeiro) ในหลอดทดลอง พบว่า โดยร้อยละ 50 ของเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงสามารถรอดชีวิตอยู่ได้ถึง 14 เดือนบนอาหาร CM (MS+9% sucrose+0.8% agar+0.1 mgl-1 NAA+1 mgl-1 BA) ภายใต้แสงสว่าง 16 และ

[1] สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ (บางเขน) 50 ถ.พหลโยธิน ลาดยาว จตุจักร กรุงเทพฯ 10900
[1] Biotechnology Research and Development Office, 50 Phaholyothin Rd., Ladyao, Chatuchack, Bangkok, 10900

24 ช.ม./วัน และสามารถเก็บรักษาได้อย่างน้อย 12 เดือน โดยไม่ต้องเปลี่ยนอาหาร (Tyagi *et al*., 2006) ในส่วน *Glycyrrhiza glaba* ก็มีรายงานการเปรียบเทียบการใช้ osmotic agents 3 ชนิด ได้แก่ sucrose sorbitol และ mannitol เพื่อช่วยยืดอายุการเก็บรักษาในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า mannitol 2% ให้ผลดีที่สุด โดยไม่ต้องเปลี่ยนอาหารได้นาน 12 เดือน (Srivastava และคณะ, 2013) การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเทคนิคและวิธีการที่เหมาะสมในการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชสกุล *Kaempferia* โดยการชะลอการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อในหลอดทดลอง

## อุปกรณ์และวิธีการ

(1) การเตรียมและเพิ่มจำนวนต้นในสภาพปลอดเชื้อสำหรับการทดลอง

เก็บเหง้าพืชสกุล *Kaempferia* spp. 2 ชนิด คือ กระแจะจันทร์ และว่านทิพยเนตร ซึ่งมียอดอ่อนยาว 2-3 ซม. ล้างผ่านน้ำไหล ลอกกาบใบหรือใบชั้นนอกออก ล้างด้วยน้ำยาทำความสะอาด จุ่มลงในแอลกอฮอล์ 70% 10 วินาที นำไปแช่ในสารละลายคลอรอกซ์ 10% ที่เติม tween20 2-3 หยด เขย่า 15 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติม BA 2 มก./ล. ให้แสง เป็นเวลา 16 ช.ม./วัน อุณหภูมิ 25±2 ซ ํ เพิ่มปริมาณยอดโดยการตัดส่วนของยอดที่เกิดใหม่ย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตรเดิมทุกๆ 4 สัปดาห์

(2) การเก็บรักษาพืชวงศ์ขิงในหลอดทดลองระยะปานกลางในสภาพชะลอการเจริญเติบโต

ตัดยอดติดเหง้าให้มีความยาวประมาณ 1.5-2 ซม. เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS full-strength (full-MS) และ MS half-strength (half-MS) ที่เติม sucrose 3% หรือ 9% ร่วมกับการเติม mannitol 0% 1% หรือ 2% (Table 1) โดยทุกสูตรจะเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 2 มก./ล. วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD)มีทั้งสิ้น 12 ทรีทเมนต์ๆละ 12 ซ้ำๆละ 1 ขวด เพาะเลี้ยงโดยไม่เปลี่ยนถ่ายอาหารใหม่จนกว่าจะพบว่ายอดเปลี่ยนเป็นสีเหลืองทั้งยอดและมีจำนวนเกินกว่า 50% ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมดในทรีทเมนต์นั้นๆ บันทึกระยะเวลา (เดือน) อัตราการรอดชีวิต จำนวนยอดที่เกิดขึ้นใหม่ อัตราการเกิดราก

(3) นำยอดที่รอดชีวิตมาฟื้นฟูภายหลังการเก็บรักษาบนอาหารสังเคราะห์สูตร full-MS ที่เติม BA 2 มก./ล. หรือ TDZ 1 มก./ล. หรือ kinetin 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 05 ม.ก./ล. (Table 2) บันทึกเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต จำนวนยอดที่เกิดขึ้นต่อชิ้นและให้คะแนนการเกิดราก

(4) นำพืชที่ผ่านการฟื้นฟูสภาพมาปรับสภาพ ก่อนนำออกปลูกในโรงเรือน บันทึกเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตที่อายุ 60 วัน

## ผลการทดลอง

เมื่อเพาะเลี้ยงว่านกระแจะจันทร์ (*Kaempferia marginata* Carey ex Roscoe) และว่านทิพยเนตร (*Kaempferia rotunda* L.) บนอาหารทดลองสูตรชะลอการเจริญเติบโตทั้ง 12 ทรีทเมนท์ (Table 1) พบว่า สูตรที่สามารถชะลอการเจริญเติบโตในว่านกระแจะจันทร์ได้ดีที่สุด คือ สูตร Z2 สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็นเวลาเฉลี่ย 10.69 เดือน ส่วนสูตรที่สามารถชะลอการเจริญเติบโตในว่านทิพยเนตรได้ดีที่สุดคืออาหารสูตร Z1 สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็นเวลาเฉลี่ย 9.00 เดือน

ภายหลังได้นำยอดที่รอดชีวิตเกินร้อยละ 50 ย้ายมาเพาะเลี้ยงเพื่อฟื้นฟูสภาพบนอาหารทดลอง 6 ทรีทเมนท์ (Table 2) เป็นเวลา 60 วัน พบว่า มีอัตราการรอดชีวิตร้อยละ 90 บนอาหารสูตร T2 และ T4 โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ย 3.7 และ 4.3 ยอด ตามลำดับ ในทุกทรีทเมนท์สามารถเกิดรากได้ แต่บนอาหารสูตร T3 และอาหารสูตร T6 นั้น เกิดรากได้น้อยกว่าอาหารสูตรอื่น (Table 3) เมื่อทดลองปรับสภาพแล้วย้ายออกปลูกในถุงดำที่ใส่วัสดุปลูกในโรงเรือน พบว่า ว่านกระแจะจันทร์สามารถรอดชีวิตได้คิดเป็น 83.33% และว่านทิพยเนตรสามารถรอดชีวิตได้ 88.89%

## วิจารณ์ผล

การชะลอการเจริญเติบโตพืชในสภาพปลอดเชื้อเป็นการควบคุมอย่างเฉพาะเจาะจงโดยใช้ผลจากการเพิ่มแรงดันออสโมซิสในอาหารเพาะเลี้ยงด้วยการเติมสารต่างๆ เช่น sugar alcohols (เช่น mannitol, sorbitol) หรือ sucrose อย่างไรก็ดี ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันนั้น มีผลต่อการเจริญเติบโตแตกต่างกันไปในพืชแต่ละชนิด (Goncalves และ Romano, 2007) จากการเพาะเลี้ยงว่านกระแจะจันทร์ และว่านทิพยเนตร ในอาหารทดลองเพื่อชะลอการเจริญเติบโตทั้ง 12 ทรีทเมนต์ พบว่า ปัจจัยที่ส่งผลอย่างเห็นได้ชัดคือระดับของ sucrose โดยระดับ sucrose 3% ให้ผลในการชะลอการเจริญเติบโตได้ดีกว่าที่ระดับ sucrose 9% (Figure 1) ใกล้เคียงกับระดับความเข้มข้นของ sucrose เพื่อการลดการเจริญเติบโตของ ขิง ไพล และขมิ้นอ้อยในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งอยู่ในช่วง 40-60 ก./ล. (4%-6%) (สนธิชัย, 2548) แต่ต่างจากการทดลองของ Tyagi และคณะ (2006) ซึ่งรายงานว่า

*Zingiber officinale* Rosc. Cv. Rio de Janeiro สามารถรอดชีวิตอยู่ได้ถึง 12-14 เดือนบนอาหาร CM ซึ่งมี sucrose สูงถึง 9% โดยไม่ต้องเปลี่ยนอาหาร ระดับความเข้มข้นของ sucrose และ mannitol ที่สูงขึ้น นอกจากจะส่งผลให้พืชมีการเจริญเติบโตลดลงแล้ว ยังส่งผลให้พืชสกุล *Kaempferia* แสดงจำนวนยอดที่มีแนวโน้มลดลงด้วย (Figure 2) เนื่องจากการใช้ mannitol ที่มีความเข้มข้นสูงขึ้น ร่วมกับ sucrose ที่ระดับความเข้มข้นสูงก็จะยิ่งส่งผลให้การแพร่ของน้ำเข้าสู่เซลล์พืชเป็นไปได้ยากทำให้ประสิทธิภาพของการเกิดออสโมซิสในเซลล์ลดลง พืชจึงอยู่ในภาวะขาดน้ำ ทำให้เซลล์เข้าสู่สภาวะเสื่อมถอย กลายเป็นสีเหลืองและสีน้ำตาล และตายในที่สุด (Guicherd และคณะ, 1997) อย่างไรก็ตาม ชนิดของพืชก็มีส่วนในการตอบสนองต่อระดับแรงดันออสโมติกที่แตกต่างกันด้วย

## สรุปผล

1. สูตรอาหารที่เหมาะสมในการชะลอการเจริญเติบโตในว่านกระแจะจันทร์ คือสูตร full-MS+sucrose 3%+mannitol 1%
2. สูตรอาหารที่เหมาะสมในการชะลอการเจริญเติบโตในว่านทิพยเนตร คือ สูตร full-MS +sucrose 3%
3. ว่านกระแจะจันทร์ และว่านทิพยเนตร ฟื้นตัวและเจริญเติบโตได้บนอาหารสูตรฟื้นฟูสภาพทุกสูตร สามารถเกิดยอดและรากใหม่ได้ดีบนอาหารสูตร full-MS ที่เติม BA 2 มก./ล. หรือ Kinetin 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล. หรือไม่เติม NAA ก็ได้ผลเช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตาม สูตรที่ เติม TDZ 1 มก./ล. เกิดรากได้น้อยกว่าสูตรอื่น
4. เมื่อนำว่านกระแจะจันทร์ และว่านทิพยเนตร ที่ผ่านการปรับสภาพแล้วปลูกในโรงเรือนสามารถรอดชีวิต และเจริญเติบโตต่อไปได้เป็นปกติ

## เอกสารอ้างอิง

คมสัน หุตะแพทย์, 2549, การสกัดน้ำมันหอมระเหย, ออฟเซ็ทครีเอชั่น, กรุงเทพฯ, 108 น.

ต. ชาตรี, 2553, สมุนไพรเพื่อการเกษตร, พิมพ์ครั้งที่ 5, นีออนบุ๊ค มีเดีย, กรุงเทพฯ, 110 น.

วุฒิ วุฒิธรรมเวช, 2552, ย่อเภสัชกรรมไทยและสรรพคุณสมุนไพร, พิมพ์ครั้งที่ 3, ศิลป์สยามบรรจุภัณฑ์และการพิมพ์, กรุงเทพฯ, 223 น.

สนธิชัย จันทร์เปรม, 2548, การเก็บรักษาพืชวงศ์ขิงบางชนิดโดยการลดการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ, *ใน* รายงานการประชุมวิชาการทรัพยากรไทย: สรรพสิ่งล้วนพันเกี่ยว, วันที่ 20-22 ตุลาคม 2548, ณ ศูนย์อนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ คลองไผ่, นครราชสีมา, หน้า 384-389.

Gocalves, S. and Romano, A., 2007, *In Vitro* Minimum Growth for Conservation of *Drosophyllum lusitanicum*, Biologia Plantarum, 51: 795-798.

Guicherd, P., Peltier, J.P., Gout E. and Bligny R., 1997, Osmotic Adjustment in *Fraxinus excelsior* L.: Malate and Mannitol Accumulation in Leaves Under Drought Condition, Trees, 11: 155-161.

Murashige, T. and Skoog, F., 1962, A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures, Physiologia Plantarum, 15: 473-497.

Shibli, R.A., Shatnawi M.A., Subaih W.S. and Ajlouni M.M., 2006, *In Vitro* Conservation and Cryopreservation of Plant Genetic Resources: A Review, World Journal of Agricultural Sciences, 2(4): 372-382.

Srivastava, M., Purshottam, D.K., Srivastava, A.K. and Misra, P., 2013, *In Vitro* Conservation of *Glycyrrhiza glabra* by Slow Growth Culture, International Journal of Bio Technology and Research, 3:49-58.

Tyagi, R.K., Agrawal, A. and Yusuf, A.., 2006, Conservation of Zingiber Germplasm Through *In Vitro* Rhizome Formation, Scientia Horticulturae, 108: 210-219.

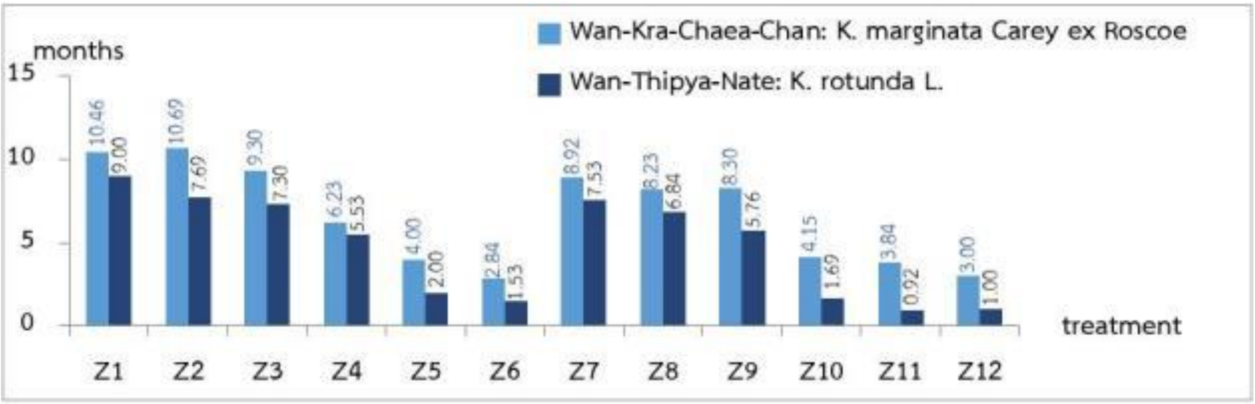



**Figure 1** Average storage period of 2 species of *Kaempferia* on slow growth medium.

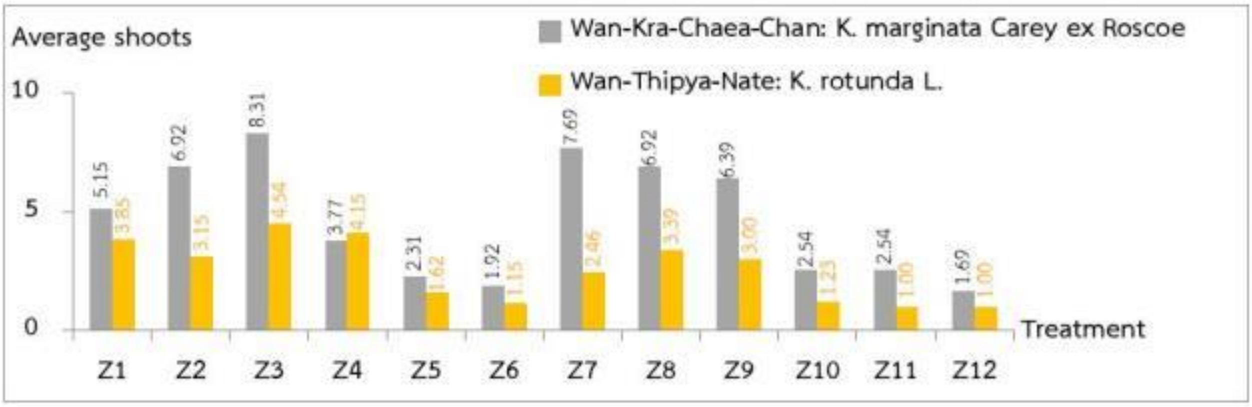



**Figure 2** Average shoots of 2 species of *Kaempferia* on slow growth medium.

**Table 1** Experimental treatment medium to slow down the growth.

| | MS full-strength | | MS half-strength | |
|---|---|---|---|---|
| | Sucrose 3% | Sucrose 9% | Sucrose 3% | Sucrose 9% |
| mannitol 0% | Z1 | Z4 | Z7 | Z10 |
| mannitol 1% | Z2 | Z5 | Z8 | Z11 |
| mannitol 2% | Z3 | Z6 | Z9 | Z12 |

**Table 2** Experimental treatment medium to recover the growth.

| | Full-MS | |
|---|---|---|
| | NAA 0 mg/l | NAA 0.5 mg/l |
| Kinetin 2 mg/l | T1 | T4 |
| BA 2 mg/l | T2 | T5 |
| TDZ 1 mg/l | T3 | T6 |

**Table 3** Survival percentage, average number of shoot and root score after transfer to recover medium for 60 days

| *Kaempferia* | % survival | | | | | | Average number of shoots | | | | | | Average score of roots | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 |
| Wan-Kra-Chaea-Chan | 60 | 80 | 80 | 80 | 80 | 60 | 2.7 | 4.2 | 4.7 | 4.5 | 5.3 | 3.1 | 1.2 | 2.1 | 2.1 | 1.8 | 2.3 | 1.2 |
| Wan-Thipya-Nate | 70 | 100 | 80 | 100 | 70 | 100 | 2.4 | 3.2 | 3.1 | 4.0 | 2.7 | 4.1 | 1.7 | 2.0 | 1.1 | 2.0 | 2.2 | 1.4 |
| Average | 65 | 90 | 80 | 90 | 75 | 80 | 2.6 | 3.7 | 3.9 | 4.3 | 4.0 | 3.6 | 1.5 | 2.1 | 1.6 | 1.9 | 2.3 | 1.3 |

# การศึกษาอิทธิพลของสภาวะที่ใช้ในการชงชาโมโรเฮยะ ต่อลักษณะทางเคมีกายภาพ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

# Effect of Brewing Conditions on Physicochemical Properties, Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity of Moroheiya (*Corchorus olitorius* L.) Tea

ธนาพร มั่นจอง[1] สุภัทร์ ไชยกุล[1] และ ชญาภรณ์ ศรัณพฤฒิ[2]
Manjong, T.[1] Chaiyakul, S.[1] and Saranpuetti, C.[2]

## Abstract

This research aimed to study the effect of brewing conditions on physicochemical, bioactive compounds, and antioxidant capacity of Moroheiya tea. The experimental design was a factorial in CRD. The result showed the interaction between temperature (70, 80, 90 °C) and brewing time (10, 15, 20 minutes) on TTC and FRAP. In conclusion, there is an interaction between temperature and brewing time of Moroheiya tea on antioxidant properties but physicochemical properties. Above all else, finding out the best optimal brewing conditions of moroheiya tea to obtain the highest health benefits is brewing condition at 87 °C, 16 minutes.
**Keywords:** moroheiya tea, brewing conditions, antioxidant capacity, bioactive compounds.

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอิทธิพลของสภาวะที่ใช้ในการชงชาโมโรเฮยะ ต่อลักษณะทางเคมีกายภาพ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยวางแผนการทดลองแฟคทอเรียลแบบสุ่มสมบูรณ์ จากการศึกษาการใช้อุณหภูมิที่ระดับ 70 80 และ 90 องศาเซลเซียส ร่วมกับ ระยะเวลาในการชงที่ระดับ 10 15 และ 20 นาที พบว่าการใช้อุณหภูมิและเวลาร่วมกันในช่วงดังกล่าว มีปฏิสัมพันธ์ต่อปริมาณ แทนนินทั้งหมด และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ จากการศึกษานี้สามารถสรุปได้ว่าการใช้อุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ในการชงชาโมโรเฮยะในช่วงที่ศึกษามีปฏิสัมพันธ์ต่อปริมาณของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ แต่ไม่มีปฏิสัมพันธ์ต่อลักษณะทางเคมีกายภาพ งานวิจัยนี้ทำให้ทราบถึงสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมชาโมโรเฮยะ ซึ่งทำให้ผู้บริโภคได้รับประโยชน์ในแง่ของสุขภาพสูงที่สุด จากการดื่มชาโมโรเฮยะที่เตรียมโดยใช้อุณหภูมิ 87 องศาเซลเซียส ร่วมกับระยะเวลาในการชง 16 นาที
**คำสำคัญ:** ชาโมโรเฮยะ สภาวะที่ใช้ชงชา ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

## คำนำ

โมโรเฮยะ หรือ ปอกระเจาฝักยาว เป็นพืชผักที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ส่วนใบของโมโรเฮยะ อุดมไปด้วยสารอาหารต่างๆ เช่น ธาตุเหล็ก แคลเซียม เบต้าแคโรทีน วิตามินซี รวมถึงสารสำคัญที่อยู่ในกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ Corchoionosides, Corchoroside, Strophanthidin และสารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ สารเหล่านี้มีคุณสมบัติในการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด ต้านการอักเสบ ต้านการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค รวมทั้งช่วยเสริมสร้างภูมิคุมกัน (Kumari และคณะ, 2018) ด้วยเหตุนี้ใบโมโรเฮยะจึงเป็นที่นิยมบริโภคโดยเฉพาะในแถบทวีปเอเชีย โดยนำใบมาปรุงประกอบอาหาร เช่น ซุป สตูว์ บะหมี่ผัก และอีกทั้งยังนำมารับประทานในรูปแบบชาสมุนไพร (Loumerem และ Alercia, 2016 ) โดยเมื่อเปรียบเทียบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพกับใบชา (*Camellia sinensis* L.) ประเภทต่างๆ พบว่าใบโมโรเฮยะมีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่า ชาเขียว ชาดำ ชาอู่หลง และชาขาว ซึ่งมีค่าดังนี้ 244.18, 193.75, 116.06, 108.91, 86.28 mgGAE/g DW ตามลำดับ (Zhao และคณะ 2019, Yan และคณะ, 2013) โดยในขั้นตอนการชงชาสมุนไพร ปัจจัยที่จะส่งผลต่อคุณภาพของน้ำชาสมุนไพร ได้แก่ อุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ชง อัตราส่วนระหว่างน้ำกับใบชา และขนาดอนุภาคของใบชาหรือสมุนไพรนั้นๆ (Liu และคณะ, 2018) ซึ่งส่งผลต่อคุณภาพของน้ำชาสมุนไพร ทั้งในด้านเคมี กายภาพ ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ รวมถึงการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัส ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอิทธิพลของสภาวะที่ใช้ในการชงชาโมโรเฮยะ ต่อลักษณะทางเคมีกายภาพ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

[1] ภาควิชาโภชนวิทยา คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล เลขที่ 420/1 ถนน ราชวิถี แขวง ทุ่งพญาไท เขตราชเทวี กรุงเทพมหานคร 10400
Department of Nutrition, Faculty of Public Health, Mahidol University, 420/1 Ratchawithi RD., Ratchathewi District, Bangkok 10400. Thailand
[2] ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล เลขที่ 420/1 ถนน ราชวิถี แขวง ทุ่งพญาไท เขตราชเทวี กรุงเทพมหานคร 10400
Department of Microbiology, Faculty of Public Health, Mahidol University, 420/1 Ratchawithi RD., Ratchathewi District, Bangkok 10400. Thailand

## อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมตัวอย่างโดยนำใบชาโมโรเฮยะจากฟาร์ม ที่ปลูกในจังหวัดขอนแก่น ที่ผ่านการกรรมวิธีการทำชาแบบคั่วมาชงชาที่อัตราส่วนน้ำ 200 มิลลิลิตรต่อใบโมโรเฮยะแห้ง 1 กรัม โดยใช้น้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 70 80 และ 90 องศาเซลเซียส แช่เป็นเวลานาน 10 15 และ 20 นาที รวมจำนวน 9 ทรีตเมนท์ โดยมีทรีตเมนท์ละ 3 ซ้ำ น้ำชาที่ได้นำมาวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยใช้เครื่อง pH meter ค่าปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ด้วยเครื่อง Digital refractometer ค่าสีในระบบ CIE (L*, a*, b*) ด้วยเครื่องวัดสี ยี่ห้อ Hunter lab และนำมาวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธีของ Singleton และ Rossi (Pinelo และคณะ, 2010) ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดด้วยวิธี Aluminium chloride (Fawole และ Opara, 2016) ปริมาณสารแทนนินทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ร่วมกับการใช้ Polyvinylpolypyrrolidone (Mphahlele และคณะ, 2014) ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ(FRAP) ด้วยวิธีของ Benzie และ Strain ( Wang และคณะ, 2019) และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของ DPPH (Wang และคณะ, 2019) วางแผนการทดลองแฟคทอเรียลแบบสุ่มสมบูรณ์ วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance: ANOVA) ทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's Multiple Range ทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรโดยใช้สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Pearson's Correlation Coefficient) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และวิเคราะห์สภาวะที่เหมาะสมในการชงชาโมโรเฮยะด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง (response surface methodology)

โครงการวิจัยนี้ ได้ผ่านการพิจารณาของคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล เอกสารรับรองเลขที่ COA. No. MUPH 2020-023

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาอิทธิพลของสภาวะที่ใช้ในการชงชาโมโรเฮยะ ต่อลักษณะทางเคมีกายภาพ พบว่า การใช้อุณหภูมิร่วมกับเวลาในช่วงที่ศึกษา ไม่มีปฏิสัมพันธ์ต่อค่า pH ค่าสี (L*, a*, b*) และค่าปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $p>0.05$ แต่เมื่อพิจารณาที่ปัจจัยหลักพบว่า ทั้ง อุณหภูมิ และ เวลา ส่งผลต่อค่าความสว่าง (L* ) และค่าความเป็นสีแดง-เขียว (a*) (Table 1) โดยเมื่อ อุณหภูมิ และ เวลาเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้ ค่า L* ลดลงนั่นหมายถึงความสว่างของน้ำชาโมโรเฮยะลดลง และค่า a* เพิ่มขึ้นหรือมีความเป็นสีแดงมากขึ้น Table 2 ทั้งนี้เนื่องจากการใช้อุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้น หรือ ระยะเวลาที่นานขึ้นจะส่งผลให้น้ำสามารถเข้าไปทำละลายสารประกอบเชิงซ้อนที่ให้สีน้ำตาลอย่าง เมลานิน ได้มากขึ้น ซึ่งเป็นสารที่เกิดจากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลโดยใช้เอนไซม์ โดยมีสารประกอบฟีนอลิกที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากผนังเซลล์หลังจากที่ผนังเซลล์ถูกทำลายจากกระบวนการเตรียมใบชาโมโรเฮยะในขั้นตอนต่างๆ เป็นสารตั้งต้นของการเกิดปฏิกิริยา ร่วมกับการเกิดสีน้ำตาลจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด ในขณะที่ชงชาโมโรเฮยะด้วยระดับความร้อนที่สูงขึ้น (Liu และคณะ, 2020, Lu และคณะ, 2021)

การศึกษาอิทธิพลของสภาวะที่ใช้ในการชงชาโมโรเฮยะ ต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ พบว่าการใช้อุณหภูมิร่วมกับเวลา ในช่วงที่ศึกษา มีปฏิสัมพันธ์ต่อค่าปริมาณแทนนินทั้งหมด และค่า FRAP ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $p<0.05$ โดยการใช้อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ร่วมกับระยะเวลา 20 นาทีส่งผลให้น้ำชาโมโรเฮยะมีค่าปริมาณแทนนินทั้งหมด และค่า FRAPสูงที่สุด คือ 4.44±0.35 mg GAE/100 ml และ 18.93±1.14 mmol Fe(II)/l ตามลำดับ (Table 1) และเมื่อพิจารณาที่ปัจจัยหลักพบว่า ทั้ง อุณหภูมิ และ เวลา ส่งผลต่อปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (18.95–32.54 mg GAE/100 ml) และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (12.59-23.54 mg CE/100ml) (Table 1) โดยเมื่อ อุณหภูมิ และ เวลาเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้ปริมาณสารสำคัญทั้งสองชนิดเพิ่มมากขึ้น Table 2เนื่องจากอุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้นทำให้ความร้อนสามารถเข้าไปทำลายผนังเซลล์ของใบชาโมโรเฮยะได้มากขึ้น และ ระยะเวลาที่นานขึ้นจะส่งผลให้น้ำสามารถเข้าไปทำละลายสารฟีนอลิกทั้งหมด รวมถึงสารฟลาโวนอยด์ที่ถูกปลดปล่อยออกมาได้มากขึ้นหลังจากที่ผนังเซลล์ถูกทำลายตั้งแต่กระบวนการเตรียมใบชาโมโรเฮยะ (Le-Gall และคณะ, 2015) ซึ่งให้ผลมีแนวโน้มเช่นเดียวกับการศึกษาของ Perez-Burillo ที่ศึกษาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการชงชาขาว และชาดำ (Perez-Burillo และคณะ, 2018) สำหรับค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (29.51-38.84 %) มีแนวโน้มตรงข้ามกับค่าของปริมาณฟีนอลิก และปฟลาโวนอยด์ทั้งหมด โดยมีค่าลดลง เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น (Table 2) เนื่องจากธรรมชาติของใบโมโรเฮยะมีปริมาณธาตุเหล็กอยู่ในปริมาณที่สูงถึง 7.7 มิลลิกรัมต่อใบโมโรเฮยะแห้ง 100 กรัม (Shitanda และ Wanjala, 2006) ซึ่งไอออนของธาตุเหล็กจะยิ่งถูกปลดปล่อยออกมามากขึ้นเมื่ออยู่ในสภาวะที่อุณหภูมิสูงขึ้น และสภาวะที่ค่า pH เป็นกลางอย่างในน้ำชาโมโรเฮยะที่มีค่า pH อยู่ที่ 6.64-6.77 รวมทั้งไอออนของโลหะชนิดอื่นอย่างเช่น ไอออนของทองแดง ที่สามารถพบได้ในใบโมโรเฮยะ ก็จะถูกปลดปล่อยออกมามากขึ้นด้วย จึงทำให้เกิดกลไกการป้องกันการเกิดออกซิเดชั่นของสารประกอบฟีนอลิกในกลุ่ม Catechol อย่างเช่น catechin และกลุ่ม Galloyl อย่าง gallic acid และ hydrolysable tannin

โดยการจับกันของสารประกอบฟีนอลิกกับไอออนของโลหะ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มของฟลาโวนอยด์ และแทนนิน (Pazas และ Medina, 2014) จึงทำให้จำนวนของสารที่สามารถให้ไฮโดรเจนอะตอมกับอนุมูลอิสระของ DPPH ลดลง (Kejik และคณะ, 2021) จึงเป็นเหตุผลให้ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ลดลง จะเห็นได้ว่านอกจากปริมาณไอออนของโลหะจะมีผลต่อค่า DPPH แล้ว ชนิดของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่อยู่ในกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก ยังมีผลต่อการวิเคราะห์ค่าความสามารถในการต้านอนุมูล-อิสระด้วยวิธี DPPH อีกด้วย และจากผลการทำนายสภาวะที่เหมาะสม พบว่าการชงชาโมโรเฮยะโดยใช้อุณหภูมิ 87 องศาเซลเซียส ร่วมกับระยะเวลาในการชง 16 นาที ส่งผลให้น้ำชาโมโรเฮยะมีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด แต่มีปริมาณสารแทนนินทั้งหมดน้อยที่สุด (Figure 1)

## สรุปผล

การศึกษาพบอิทธิพลร่วมของการใช้อุณหภูมิ (70, 80, 90 องศาเซลเซียส) และเวลา (10, 15, 20 นาที) ในการชงชาโมโรเฮยะต่อปริมาณแทนนินทั้งหมด และค่าFRAP และพบว่าอุณหภูมิ หรือเวลาที่ใช้ในการชงชา มีผลต่อค่า L* ค่า (a* ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของ DPPH และสภาวะที่เหมาะสมในการชงชาโมโรเฮยะคือ อุณหภูมิ 87 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการชง 16 นาที จากผลการศึกษาทำให้ทราบถึงอิทธิพลของอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการชงชาโมโรเฮยะที่มีต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำชาโมโรเฮยะ เพื่อประกอบการพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำชา โมโรเฮยะพร้อมดื่มบรรจุขวดในงานวิจัยต่อจากนี้

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ภาควิชาโภชนวิทยา คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ในการสนับสนุนบุคคลากรผู้เชี่ยวชาญห้องปฏิบัติการและสถานที่ทำวิจัย โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) ภายใต้สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) รวมถึงและบริษัทอิชิตัน จำกัด (มหาชน) ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัย

## เอกสารอ้างอิง

Fawole, O.A. and Opara, U.L., 2016, Stability of Total Phenolic Concentration and Antioxidant Capacity of Extracts from Pomegranate Co-products Subjected to in Vitro Digestion. BMC Complementary and Alternative Medicine, 16 (356): 1-10.

Kejik, Z., Kaplanek, R., Bobula, P., Matkowski, A. and Filipensky, P., 2021, Iron Complexes of Flavonoids Antioxidant Capacity and Beyond, International Journal of Molecular Sciences, 22: 1-20.

Kumari, N., Choudhary, S.C., Sharma, H.K., Singh, B.K. and Kumar, A.A., 2018, Health-promoting Properties of Corchorus leaves: A review, Journal of Herbal Medicine, 15: 1-10.

Le-Gall, H., Philippe, F., Domon, J.M., Gillet, F., Pelloux, J. and Rayon, C., 2015, Cell Wall Metabolism In Response to Abiotic Stress, Plants, 4: 112-166.

Liu, Y., Luo, L., Liao, C., Chen, L., Wang, J. and Zeng, L., 2018, Effects of Brewing Conditions on the Phytochemical Composition, Sensory Qualities and Antioxidant Activity of Green Tea Infusion: A Study Using Response Surface Methodology, Food Chemistry, 269: 24-34.

Liu, X., Bourullec, C.L. and Renard, C.M.G.C., 2020, Interactions between Cell Wall Polysaccharides and Polyphenols: Effect of Molecular Internal, Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 19:3574-3617.

Loumerem, M. and Alercia, A., 2016, Descriptors for Jute (*Corchorus olitorius* L.), Genetic Resources and Crop Evolution 63: 1103-1111.

Lu, Y., Xu, Y., Song, M.T., Qian, L.L., Liu, X.L. and Gao, R.Y., 2021, Promotion Effect of Flavonoids on Browning Induced by Enzymatic Oxidaton of Tyrosinase; Structure-activity Relationship, RSC Advances, 11: 13769-13779.

Mphahlele, R.R., Stander, M.A., Fawole, O.A. and Opara, U.L., 2014, Effect of Fruit Maturity and Growing Location on the Postharvestcontents of Flavonoids, Phenolic Acids, Vitamin C and Antioxidant Activity of Pomegranate Juice (cv. Wonderful), Scientia Horticulturae, 179: 36-45.

Pazas, M. and Medina, I., 2014, Oxidants Occuring in Food Systems, In: Bartose, G., editor, Food Oxidants and Antioxidants Chemical, Biological and Functional Properties, 1 st ed, New York: CRC Press Taylor and Francis Group, p.21-44.

Perez-Burillo, S., Gimenez, R., Rufian-Henares, J.A. and Pastoriza, S., 2018, Effect of Brewing Time and Temperature on Antioxidant Capacity and Phenols of White tea: Relationship with Sensory Properties, Food Chemistry, 248: 111-118.

Pinelo, M., Zeuner, B., and Meyer, A.S., 2010, Juice Clarification by Protease and Pectinase Treatments Indicates New Roles of Pectin and Protein in Cherry Juice Turbidity, Food and Bioproducts Processing, 88: 259-265.

Shitanda, D. and Wanjala, N.V., 2006, Effect of Different Drying Methods on the Quality of Jute (*Corchorus olitorius* L.), Drying Technology, 24: 96-98.

Wang, J., Ye, J., Vanga, S.V. and Raghavan, V., 2019, Influence of High-intensity Ultrasound on Bioactive Compounds of Strawberry Juice: Profiles of Ascorbic Acid, Phenolics, Antioxidant Activity and Microstructure, Food Control, 96: 128-136.

Yan, Y.Y., Wang, Y.W., Chen, S.L., Zhuang, S.R. and Wang, C.K., 2013, Anti-inflammatory Effects of Phenolic Crude Extracts from Five Fractions of *Corchorus Olitorius* L., Food Chemistry, 138: 1008-1014.

Zhao, C.N., Tang, G.Y., Cao, S.Y., Xu, X.Y., Gan, R.Y. abd Liu, Q., 2019, Phenolic Profiles and Antioxidant Activities of 30 Tea Infusions from Green, Black, Oolong, White, Yellow and Dark Teas, Antioxidants, 8: 1-14.

**Table 1** Effect of the independent variables on physicochemical properties, bioactive compounds and antioxidant capacity of moroheiya tea.

| Factor | F value | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | pH | L* | a* | b* | TSS | TPC | TFC | TTC | FRAP | DPPH |
| **T** | 2.37 | 8.32** | 75.30*** | 1.35 | 1.93 | 187.92*** | 56.72*** | 289.32*** | 402.38*** | 21.91*** |
| **BT** | 0.22 | 4.40* | 25.77*** | 2.36 | 1.03 | 56.85*** | 5.11* | 26.69*** | 27.59*** | 3.58* |
| **T*BT** | 0.18 | 0.86 | 2.13 | 2.3 | 0.12 | 0.66 | 0.21 | 10.04*** | 10.57*** | 1.5 |
| **Error** | 0.14 | 0.14 | 0.03 | 0.07 | 0.01 | 2.03 | 6.47 | 0.05 | 0.61 | 8.74 |

*, **, *** Correlation is significant at the 0.05, 0.01, and 0.001 level (2-tailed) respectively. T; Temperature, BT; brewing time

**Table 2** Pearson's correlation coefficient within main effect and different variables tested.

| | T | BT | pH | L* | a* | b* | TSS | TPC | TFC | TTC | FRAP | DPPH |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| T | 1 | 0 | -.303* | -.544** | .810** | -0.25 | 0.265 | .831** | .795** | .885** | .917** | -.624** |
| BT | 0 | 1 | 0.091 | -.421* | .468* | -0.223 | 0.2 | .460** | 0.235 | .273* | 0.24 | 0.134 |
| pH | -.303* | 0.091 | 1 | 0.212 | -.502** | 0.245 | .574** | -0.158 | -0.186 | -0.219 | -0.235 | 0.204 |
| L* | -.544** | -.421* | 0.212 | 1 | -.747** | .470* | -0.322 | -.620** | -.466* | -.611** | -.581** | 0.254 |
| a* | .810** | .468* | -.502** | -.747** | 1 | -0.307 | .617** | .865** | .747** | .841** | .822** | -.462* |
| b* | -0.25 | -0.223 | 0.245 | .470* | -0.307 | 1 | -0.178 | -.393* | -0.234 | -0.353 | -0.375 | 0.364 |
| TSS | 0.265 | 0.2 | .574** | -0.322 | .617** | -0.178 | 1 | .391** | .316* | .272* | .296* | -0.14 |
| TPC | .831** | .460** | -0.158 | -.620** | .865** | -.393* | .391** | 1 | .756** | .883** | .894** | -.440** |
| TFC | .795** | 0.235 | -0.186 | -.466* | .747** | -0.234 | .316* | .756** | 1 | .832** | .850** | -.596** |
| TTC | .885** | .273* | -0.219 | -.611** | .841** | -0.353 | .272* | .883** | .832** | 1 | .982** | -.611** |
| FRAP | .917** | 0.24 | -0.235 | -.581** | .822** | -0.375 | .296* | .894** | .850** | .982** | 1 | -.606** |
| DPPH | -.624** | 0.134 | 0.204 | 0.254 | -.462* | 0.364 | -0.14 | -.440** | -.596** | -.611** | -.606** | 1 |

*, **, Correlation is significant at the 0.05, and 0.01 level (2-tailed) respectively.

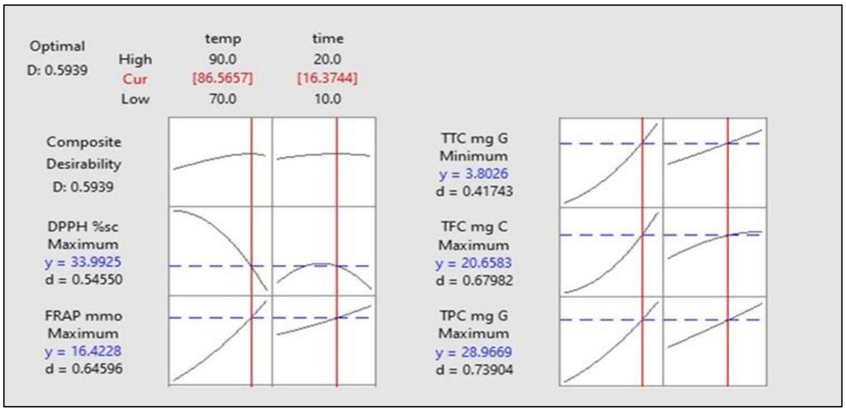



**Figure 1** Response optimization of brewing condition on bioactive compounds and antioxidant capacity of moroheiya tea.

# ผลของการใช้สารให้ความหวานแทนน้ำตาลในเครื่องดื่มผงข้าวกล้องโฮลอินวัน สำหรับกลุ่มผู้บริโภคอ้วน เบาหวาน น้ำตาลสูง

# Effects of Sweetener on Whole Grain Whole-In-One Beverage Powders for Obese, Prediabetic and Diabetic Consumers

กันติยา สุวรกุล[1] สุภัทร์ ไชยกุล[1] และ Carol Hutchinson[1]
Suworrakun, K.[1], Chaiyakul, S.[1], and Hutchinson, C.[1]

**Abstract**

The objective of this study was to investigate the effects of sweeteners (stevia, sucralose, and isomaltulose) on physicochemical properties and sensory characteristics of whole grain whole-in-one beverage powders. Results showed that the replacement of sucrose with combinations of sweeteners for whole grain whole-in-one beverage powder significantly affected the L*, total soluble solids, and viscosity ($p<0.05$). Sucrose had the highest solubility and viscosity, whereas L* was lower than the sweetener formula. Sensory evaluation showed that the overall acceptability was not significantly different ($p<0.05$) when sucrose was replaced with combinations of sweeteners, except for the 100% sucralose substitution formula, which consumers found acceptable in term of its sweetness, viscosity, body, and after taste of the sweetener formula.

**Keywords:** Whole grain beverage, Stevia, Sucralose, Isomaltulose

**บทคัดย่อ**

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้สารให้ความหวาน (สตีเวีย ซูคราโลส และไอโซมอลทูโลส) แทนน้ำตาลในเครื่องดื่มผงข้าวกล้องโฮลอินวัน ผลการศึกษาพบว่า การใช้สารให้ความหวานแทนน้ำตาลมีผลต่อความสว่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ และความหนืดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ซูโครสมีความสามารถในการละลายและความหนืดสูงที่สุด ในขณะที่ความสว่างต่ำกว่าสูตรที่ทดแทนด้วยสารให้ความหวาน ผลการประเมินทางประสาทสัมผัส พบว่าการใช้สารให้ความหวานแทนน้ำตาลได้รับการยอมรับจากผู้ทดสอบ ยกเว้นการทดแทนด้วยซูคราโลส ร้อยละ 100 แสดงให้เห็นว่าผู้บริโภคยอมรับในความหวาน ความหนืด ความมีเนื้อ และรสชาติภายหลังการกลืนของการใช้สารให้ความหวานแทนน้ำตาล

**คำสำคัญ:** เครื่องดื่มธัญพืช สตีเวีย ซูคราโลส ไอโซมอลทูโลส

## คำนำ

เครื่องดื่มผงข้าวกล้องโฮลอินวัน ผลิตจำหน่ายทางการค้า ได้รับความนิยมในกลุ่มผู้ที่รักสุขภาพ ผู้สูงอายุ และผู้ป่วยพักฟื้น ประกอบด้วย โปรตีนสกัดจากพืช มีอะมิโนจำเป็นครบถ้วนและโปรตีนสูง และข้าวกล้องสีน้ำตาล ม่วง และแดง และข้าวกล้องงอก เป็นแหล่งของคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อน ใยอาหาร สารฟลาโวนอยด์ แอนโทไซยานิน และโปรไซยานิดิน จากข้าวสี มีส่วนป้องกันภาวะแทรกซ้อนของโรคหัวใจและหลอดเลือด ลดการอักเสบ และความผิดปกติของการเผาผลาญ (Li และคณะ, 2018) แต่พบว่ามีข้อจำกัดสำหรับผู้ป่วยเบาหวาน คือมีซูโครสสูงถึงร้อยละ 15 มีค่าดัชนีน้ำตาล (glycemic index) 58-65 อยู่ในช่วงที่สูง (Wolever, 2006) ส่งผลต่อระดับน้ำตาลในเลือดหลังรับประทานได้ (Ito และคณะ, 2005; Wolever, 2006) การใช้สารให้ความหวานแทนน้ำตาลซูโครสเพื่อลดปริมาณน้ำตาลแเป็นแนวทางหนึ่งในการปรับปรุงสูตรเพื่อตอบสนองต่อผู้บริโภคที่ควบคุมระดับน้ำตาลและพลังงานที่ได้รับ

น้ำตาลไอโซมอลทูโลสเป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ ให้พลังงานเท่ากับซูโครส แต่มีค่าดัชนีน้ำตาลต่ำ มีความหวาน 0.5 เท่าของซูโครส (Chaiyakul, 2020) การใช้ทดแทนซูโครสทั้งหมดมีข้อจำกัด เนื่องจากต้องใช้มากกว่าซูโครสถึง 2 เท่า การใช้ร่วมกับสารให้ความหวานชนิดอื่นได้แก่ ซูคราโลส และสตีเวีย ในปริมาณที่เหมาะสม จะช่วยเพิ่มมวล คงเนื้อสัมผัสและความหนืดของผลิตภัณฑ์ (Chattopadhyay และคณะ, 2014; Sawale และคณะ, 2017; Ahmad และคณะ, 2020) งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผล

[1] ภาควิชาโภชนวิทยา คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล 420/1 ถนนราชวิถี เขตราชเทวี กรุงเทพมหานคร 10400
[1] Department of Nutrition, Faculty of Public Health, Mahidol University, 420/1 Ratchawithi Rd., Ratchathewi District, Bangkok 10400

ของการใช้ สตีเวีย ซูคราโลส และไอโซมอลทูโลส แทนซูโครสในเครื่องดื่มผงข้าวกล้องโฮลอินวัน ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะทางเคมีกายภาพ และคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์

## อุปกรณ์และวิธีการ

เครื่องดื่มผงข้าวกล้องโฮลอินวัน ประกอบด้วย ข้าวสี (น้ำตาล ม่วง และแดง) ข้าวกล้องงอก และรำข้าวที่สกัดไขมันออกแล้ว (บริษัท เมดิฟูดส์ (ประเทศไทย) จำกัด) และส่วนผสมอื่นตามที่กำหนดในสูตรปกติ ยกเว้นน้ำตาลซูโครส เตรียมตัวอย่างโดยนำส่วนผสมผงทั้งหมดมาผสมกับน้ำตาลตามสัดส่วนที่กำหนด (Table 1) โดยแปรชนิดและปริมาณการใช้ ตามการคำนวณระดับความหวานของน้ำตาล 3 ชนิด ได้แก่ สตีเวีย (ความหวาน 300 เท่าของซูโครส) ซูคราโลส (ความหวาน 600 เท่าของซูโครส) และไอโซมอลทูโลส (ความหวาน 0.5 เท่าของซูโครส) คำนวณเทียบเท่าความหวานของซูโครส 15 กรัม ค่าที่คำนวณได้ถูกนำมาพิจารณาตามข้อกำหนดในการใช้วัตถุเจือปนอาหารตามมาตรฐานทั่วไปสำหรับวัตถุเจือปนอาหารของโคเด็กซ์ (General Standard for Food Additives; GSFA) ปริมาณสูงสุดต่อวันที่สามารถบริโภคได้อย่างปลอดภัย (Acceptable Daily Intake; ADI) ปริมาณสูงสุดที่อนุญาตให้ใช้ได้ตามชนิดของผลิตภัณฑ์ และประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่องวัตถุเจือปนอาหาร ฉบับที่ 281 ผลิตภัณฑ์ที่เตรียมได้ตามแผนการทดลองนำมา ประเมินผลโดยการ วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเครื่อง pH meter ค่าความหนืด ด้วยเครื่อง Brookfield rheometer รุ่น LVDV3T, vane spindle (V71) ที่ความเร็วรอบ 70 รอบต่อนาที ค่าสีในระบบ CIE (L*, a* และ b*) ด้วยเครื่อง Hunter Lab รุ่น ColorflexEZ spectrophotometer ปริมาณของแข็งที่ละลายได้โดย digital Brix refractometers และประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านความหวาน ความหนืด ความมีเนื้อ (body) รสชาติภายหลังการกลืน (after taste) และการยอมรับโดยรวมด้วยวิธี scoring test 5-point scale ตามระดับความเข้ม โครงการวิจัยได้ผ่านการรับรองจริยธรรมงานวิจัยในมนุษย์จากคณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล (COA. No. MUPH 2018-133) การวิเคราะห์ทางเคมีกายภาพวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design)** ทดลอง 3 ซ้ำ และการประเมินทางประสาทสัมผัสวางแผนการทดลองแบบบล็อกสุ่มสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design) ข้อมูลที่ได้นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of variance: ANOVA) ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS 18 (SPSS Inc., Thailand) ทดสอบความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan’s New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของเครื่องดื่มที่มีการใช้ซูคราโลส/สตีเวีย/ไอโซมอลทูโลส ทดแทนซูโครส พบว่าผลิตภัณฑ์มีสีอ่อนลง โดย ค่าความสว่าง (L*) ของสูตรที่มีสัดส่วนความหวานของซูคราโลส/สตีเวียเท่ากับ 80/20 มีค่าความสว่างสูงที่สุด ขณะที่สูตรซูโครสร้อยละ 100 มีค่าความสว่างต่ำที่สุด ($p<0.05$) แต่มีค่าสีแดง (a*) และสีเหลือง (b*) แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) สูตรที่มีสัดส่วนความหวานของซูคราโลส/สตีเวีย/ไอโซมอลทูโลสเท่ากับ 36.67/36.67/26.66 มีค่าสีเหลือง (b*) ต่ำสุด เนื่องจากสีของซูโครสตามธรรมชาติมีสีออกน้ำตาลเข้มกว่าสารให้ความหวานชนิดอื่น ข้อสังเกตจากผลที่ได้นี้พบว่าการแปรสัดส่วนของซูคราโลส/สตีเวีย/ไอโซมอลทูโลส ส่งผลกระทบต่อค่าความสว่างและสีของผลิตภัณฑ์เพียงเล็กน้อย ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ของเครื่องดื่มที่ใช้ซูโครสร้อยละ 100 มีค่าสูงที่สุด แตกต่างจากสูตรที่ใช้สารให้ความหวานแทนน้ำตาล ($p>0.05$) การใช้ไอโซมอลทูโลสในสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น สูตรที่ใช้ซูคราโลสและสตีเวียชนิดเดียวหรือการใช้ซูคราโลสร่วมกับสตีเวีย พบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้มีค่าต่ำสุด ($p<0.05$) เนื่องจากโครงสร้างของไอโซมอลทูโลสเป็นไอโซเมอร์ของซูโครส ที่กลูโคสและฟรักโทสเชื่อมกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก (1-6) แทนพันธะ (1-2) ของซูโครส จึงให้ลักษณะใกล้เคียงกับซูโครส ช่วยเพิ่มปริมาณของแข็งให้กับผลิตภัณฑ์ (Chaiyakul, 2020; Mittal และ Bajwa, 2012) ผลการวัดค่ากรด-ด่างของเครื่องดื่มอยู่ในช่วง 6.41-6.46 การใช้ซูคราโลส/สตีเวีย/ไอโซมอลทูโลสมีผลให้ค่ากรด-ด่างลดลงมากกว่าการใช้ซูโครสและสารให้ความหวานเพียงชนิดเดียว ($p<0.05$) ความหนืดของเครื่องดื่มสูตรที่ใช้ซูโครสร้อยละ 100 มีความหนืดสูงที่สุด ($p<0.05$) ขณะที่การใช้ซูคราโลส/สตีเวีย/ไอโซมอลทูโลสในสัดส่วนที่แตกต่างกัน ไม่มีผลต่อค่าความหนืดของผลิตภัณฑ์ ($p>0.05$) เนื่องจากการแทนที่ซูโครสด้วยสารให้ความหวานแทนน้ำตาลที่มีความหวานมากกว่าซูโครสหลายเท่า ทำให้สูญเสียมวลของอาหารซึ่งสัมพันธ์กับการลดปริมาณซูโครส (Mittal และ Bajwa, 2012)

การประเมินทางประสาทสัมผัสของเครื่องดื่ม พบว่าผู้ทดสอบรับรู้รสหวาน ความหนืด ความมีเนื้อของผลิตภัณฑ์ที่ใช้สารให้ความหวานได้เทียบเท่ากับสูตรที่ใช้ซูโครส สูตรที่ใช้ซูคราโลส/สตีเวีย/ไอโซมอลทูโลส เท่ากับ 36.67/36.67/26.66 ผู้ทดสอบให้คะแนนความหวานสูงสุด ความมีเนื้อต่ำสุด และการรับรู้รสชาติภายหลังการกลืนอยู่ในระดับต่ำ ส่งผลให้คะแนนการยอมรับโดยรวมอยู่ในระดับสูง ($3.42 \pm 1.08$) ใกล้เคียงกับสูตรที่ใช้ซูคราโลส/ไอโซมอลทูโลส เท่ากับ 60/40 ที่พบว่ามีคะแนนความหนืดอยู่ในระดับต่ำสุด ($1.92 \pm 0.79$) จะเห็นได้ว่านอกเหนือจากความหวานและรสชาติภายหลังการกลืนที่เป็นผลกระทบโดยตรงจากสารให้

ความหวานที่เลือกใช้แล้ว ความหนืดและความมีเนื้อของผลิตภัณฑ์ยังมีอิทธิพลต่อคะแนนการยอมรับโดยรวมของผลิตภัณฑ์ด้วย ทั้งนี้ข้อคิดเห็นเพิ่มเติมของผู้ทดสอบให้ข้อมูลว่าสูตรที่ใช้สารให้ความหวานทดแทนน้ำตาลซูโครส ช่วยลดความหนืดของผลิตภัณฑ์และบริโภคได้ง่ายขึ้น

## สรุปผล

ชนิดและปริมาณของการใช้สารให้ความหวาน (สตีเวีย ซูคราโลส และไอโซมอลทูโลส) แทนน้ำตาลซูโครสในเครื่องดื่มผงข้าวกล้องโฮลอินวัน มีผลต่อค่าความสว่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ และความหนืดของผลิตภัณฑ์ การใช้น้ำตาลไอโซมอลทูโลสเพิ่มขึ้นมีผลให้ปริมาณของแข็งและค่าความหนืดเพิ่มขึ้น ผลทางด้านเคมีกายภาพสอดคล้องกับผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยผู้ทดสอบ สูตรที่ใช้สัดส่วนของซูคราโลส/ไอโซมอลทูโลส (60/40) มีคะแนนการยอมรับโดยรวมสูงที่สุด อย่างไรก็ตามผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแสดงให้เห็นว่าสามารถใช้ซูคราโลส/สตีเวีย/ไอโซมอลทูโลส ร่วมกันทั้ง 3 ชนิด เพื่อทดแทนน้ำตาลซูโครส โดยไม่มีผลกระทบต่อคะแนนความชอบโดยรวมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) การใช้สารให้ความหวานแทนน้ำตาลอาจเป็นทางเลือกของการบริโภคเครื่องดื่มธัญพืช สำหรับผู้บริโภคอ้วน เบาหวาน น้ำตาลสูง และผู้ที่คำนึงถึงความมีสุขภาวะที่ดี

## คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากโครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) ภายใต้สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) และสำนักงานวิจัยแห่งชาติ (วช.) ร่วมกับบริษัท เมดิฟูดส์ (ประเทศไทย) จำกัด และขอขอบคุณภาควิชาโภชนวิทยา คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล สำหรับการสนับสนุนเจ้าหน้าที่สถานที่และเครื่องมือในการดำเนินงานวิจัย

**Table 1** Ratio of sweetness of whole grain whole-in-one beverage.

| Formula | Ratio of sweetness (%) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Sucrose | Sucralose | Stevia | Isomaltulose |
| 1 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 0 | 100 | 0 | 0 |
| 3 | 0 | 0 | 100 | 0 |
| 4 | 0 | 60 | 0 | 40 |
| 5 | 0 | 80 | 20 | 0 |
| 6 | 0 | 43.33 | 36.67 | 20 |
| 7 | 0 | 36.67 | 36.67 | 26.66 |
| 8 | 0 | 30.33 | 36.67 | 33 |

**Table 2** Physicochemical properties of whole grain whole-in-one beverage containing different sweeteners

| Formula | L* | a* | b* | Total soluble solid | pH | Viscosity (cP) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | $40.07 \pm 0.60^{d}$ | $3.56 \pm 0.09$ | $7.43 \pm 0.15^{ab}$ | $3.87 \pm 0.06^{a}$ | $6.45 \pm 0.00^{a}$ | $31.17 \pm 0.82^{a}$ |
| 2 | $41.43 \pm 0.08^{b}$ | $3.49 \pm 0.11$ | $7.92 \pm 0.24^{a}$ | $1.87 \pm 0.06^{e}$ | $6.45 \pm 0.00^{a}$ | $28.94 \pm 1.18^{b}$ |
| 3 | $41.18 \pm 0.02^{bc}$ | $3.53 \pm 0.09$ | $7.86 \pm 0.17^{ab}$ | $1.80 \pm 0.00^{e}$ | $6.46 \pm 0.02^{a}$ | $28.09 \pm 0.71^{b}$ |
| 4 | $40.94 \pm 0.16^{bc}$ | $3.57 \pm 0.10$ | $7.87 \pm 0.22^{ab}$ | $3.13 \pm 0.06^{b}$ | $6.44 \pm 0.01^{ab}$ | $29.17 \pm 0.27^{b}$ |
| 5 | $42.06 \pm 0.20^{a}$ | $3.40 \pm 0.12$ | $8.02 \pm 0.29^{a}$ | $1.53 \pm 0.16^{f}$ | $6.43 \pm 0.00^{bc}$ | $28.52 \pm 1.70^{b}$ |
| 6 | $40.68 \pm 0.08^{c}$ | $3.59 \pm 0.17$ | $7.50 \pm 0.39^{ab}$ | $2.50 \pm 0.00^{d}$ | $6.41 \pm 0.01^{d}$ | $29.03 \pm 0.43^{b}$ |
| 7 | $40.68 \pm 0.26^{c}$ | $3.41 \pm 0.17$ | $7.24 \pm 0.48^{b}$ | $2.77 \pm 0.06^{c}$ | $6.42 \pm 0.00^{cd}$ | $29.20 \pm 0.74^{b}$ |
| 8 | $40.64 \pm 0.41^{c}$ | $3.56 \pm 0.20$ | $7.39 \pm 0.51^{ab}$ | $2.83 \pm 0.06^{c}$ | $6.42 \pm 0.00^{cd}$ | $28.63 \pm 0.92^{b}$ |

Data presented are samples means with different letters (± standard deviation) in the same column are significantly ($p<0.05$).

**Table 3** Sensory evaluation of whole grain whole-in-one beverage containing different sweeteners

| Formula | Sensory characteristics | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Sweet | Viscosity | Body | After taste | Overall acceptance |
| 1 | 2.41 ± 0.90[ab] | 2.42 ± 0.79[ab] | 2.67 ± 1.07[ab] | 2.25 ± 0.87[b] | 3.25 ± 0.87[a] |
| 2 | 2.33 ± 0.65[b] | 2.50 ± 0.90[a] | 2.75 ± 1.06[a] | 2.58 ± 1.08[ab] | 2.50 ± 0.80[b] |
| 3 | 2.75 ± 0.97[ab] | 2.00 ± 0.74[ab] | 2.17 ± 0.94[ab] | 2.58 ± 1.16[ab] | 3.08 ± 1.08[ab] |
| 4 | 2.67 ± 0.78[ab] | 1.92 ± 0.79[b] | 2.25 ± 1.06[ab] | 2.92 ± 0.90[ab] | 3.58 ± 0.67[a] |
| 5 | 2.75 ± 0.62[b] | 2.00 ± 0.74[ab] | 2.25 ± 0.97[ab] | 2.42 ± 0.90[ab] | 3.00 ± 0.60[ab] |
| 6 | 2.57 ± 0.62[ab] | 2.08 ± 0.90[ab] | 2.33 ± 1.15[ab] | 3.00 ± 1.28[a] | 3.25 ± 0.75[a] |
| 7 | 3.08 ± 1.00[a] | 2.08 ± 0.67[ab] | 2.08 ± 0.79[b] | 2.83 ± 1.03[ab] | 3.42 ± 1.08[a] |
| 8 | 2.75 ± 0.97[ab] | 2.11 ± 0.81[b] | 2.25 ± 0.97[ab] | 2.42 ± 0.90[ab] | 3.17 ± 1.03[a] |

Data presented are samples means with different letters (± standard deviation) in the same column are significantly ($p<0.05$).

## เอกสารอ้างอิง

Ahmad, J., Khan, I., Blundell, R., Azzopardi, J., and Mahomoodally, M. F., 2020, *Stevia rebaudiana* Bertoni.: An Updated Review of Its Health Benefits, Industrial Applications and Safety, Trends in Food Science and Technology, 100: 177-189.

Chaiyakul, S., 2020, Sugar: Health Risks and Policy Actions for Healthier Consumption, Journal of Nutrition Association of Thailand, 55(1): 95-110.

Chattopadhyay, S., Raychaudhuri, U., and Chakraborty, R., 2014, Artificial Sweeteners - A Review, Journal of Food Science and Technology, 51(4): 611-621.

Ito, Y., Mizukuchi, A., Kise, M., Aoto, H., Yamamoto, S., Yoshihara, R., and Yokoyama, J., 2005, Postprandial Blood Glucose and Insulin Responses to Pre-germinated Brown Rice in Healthy Subjects, Journal of Medical Investigation, 52(3-4): 159-164.

Li, W., Chen, S., Zhou, G., Li, H., Zhong, L., and Liu, S., 2018, Potential Rrole of Cyanidin 3-Glucoside (C3G) in Diabetic Cardiomyopathy in Diabetic Rats: An in Vivo Approach, Saudi Journal of Biological Sciences, 25(3): 500-506.

Mittal, S., and Bajwa, U., 2012, Effect of Fat and Sugar Substitution on the Quality Characteristics of Low Calorie Milk Drinks, Journal of Food Science and Technology, 49(6): 704-712.

Sawale, P. D., Shendurse, A. M., Mohan, M. S., and Patil, G. R., 2017, Isomaltulose (Palatinose) – An Emerging Carbohydrate, Food Bioscience, 18: 46-52.

Wolever, T.M., 2006, The Gycaemic Index: A Physiological Classification of Dietary Carbohydrate, CAB International, Oxford, 227 p.

# แผ่นฉนวนหลังคาดาดฟ้าปลูกได้จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร
# Growth able Flat Slab Roof Insulation from Agricultural Waste

ขวัญรัตน์ อัสสานนท์[1] สรีวัลย์ จึงเจริญนิรธร[2] และ มณฑล ฐานุตตมวงศ์[2]
Assanont, K.[1], Juengjarernnirathorn, S.[2] and Thanuttamavong, M.[2]

## Abstract

Flat slab roof insulation from natural materials has been proposed as protection tool for building thermal insulation and environmentally friendly. Waste material from Thai agricultural product as rice straw is disposal by burning which cause air pollution problem. Reducing the impact and value adding to agricultural waste material, using rice straw to produce flat slab roof insulation which is strong lightweight, retain moisture and plant growth able ability to create green roof. This study focuses on non-heat energy producing method and testing physical properties. Result is concluded that the proper product mixture between rice straw:pine bark:ashes:glue was 3:1:1:1 by weight. The product size was 30 x 40 x 7.62 cm with 0.3 kg/unit and 2.5 kg/m$^2$. Water absorption was 253.59% and flexural strength value was 0.06 kg/cm$^2$. By those result of the study lead to prototype that agriculturist can produce by themselves and environmentally friendly.

**Keywords:** green roof, rice straw, insulation

## บทคัดย่อ

ฉนวนหลังคาดาดฟ้าที่ผลิตจากวัสดุจากธรรมชาติถูกใช้เป็นเครื่องมือเพื่อป้องกันความร้อนและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม เศษวัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตรจำนวนมากถูกกำจัดทิ้งโดยวิธีการเผาก่อให้เกิดมลพิษทางอากาศ เพื่อลดผลกระทบและสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับวัสดุเหลือทิ้ง ฟางข้าวจึงถูกทำมาผลิตเป็นแผ่นฉนวนดาดฟ้าที่มีน้ำหนักเบาทนทาน และกักเก็บความชื้นได้ดี อีกทั้งยังมีคุณสมบัติเหมาะสมกับการใช้ปลูกพืชเพื่อสร้างหลังคาเขียว การศึกษานี้จึงมุ่งเน้นไปที่กระบวนการผลิตแบบไม่ใช้พลังงานความร้อนและทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของฉนวนดาดฟ้าปลูกได้ ผลงานวิจัยสรุปได้ว่า ส่วนผสมที่เหมาะสมสำหรับการผลิตแผ่นฉนวนดาดฟ้าปลูกได้ คือ ฟางข้าว:เปลือกสน:ขี้เถ้า:กาว โดยมีอัตราส่วนผสมเป็น 3:1:1:1 โดยน้ำหนัก และผลิตภัณฑ์มีขนาด 30x40x7.62 เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ย 0.5 กิโลกรัมต่อชิ้น และ 4.2 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ค่าการดูดซึมน้ำที่ 253.59% และค่าการรับแรงดัดที่ 0.06 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร โดยผลการศึกษานำไปสู่ต้นแบบผลิตภัณฑ์ที่เกษตรกรสามารถผลิตเองได้และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

**คำสำคัญ:** หลังคาเขียว ฟางข้าว ฉนวน

## คำนำ**

การเพิ่มขึ้นของจำนวนประชากรโลกในปัจจุบันการพัฒนาเศรษฐกิจประเทศ การกลายเป็นเมืองอย่างรวดเร็ว ส่งผลกระทบต่อสมดุลทางพลังงานและสภาพภูมิอากาศของโลกอย่างรุนแรงทำให้เกิดปรากฏการณ์เกาะร้อน (urban heat Island) หรือปรากฏการณ์โดมความร้อนเมือง การทำสวนบนหลังคาจึงอาจช่วยเป็นฉนวนป้องกันความร้อนจากแสงแดดได้ดีมากกว่าการไม่มีสวนบนหลังคา (ศุภกิจ, 2558) สวนสนามหญ้าหลังคาได้รับการยอมรับว่าเป็นตัวเลือกที่สามารถระบายความร้อนและลดการใช้พลังงาน นักวิจัยหลายท่านได้พยายามที่จะปรับปรุงประสิทธิภาพของหลังคาสีเขียวและเทคโนโยลีต่างๆ ที่จะช่วยลดรังสีจากแสงอาทิตย์ทำให้อุณหภูมิภายในของอาคารลดลง (Terini และDimitris, 1998) รังสีแสงอาทิตย์ทั้งหมดบนหลังคาที่มีสวนอยู่ด้านบนถูกสะท้อนออกไป 27% ถูกดูดซึมโดยพืชและดิน 60% และถูกถ่ายโอนเข้าไปในอาคาร 13% ซึ่งการใช้หลังคาเขียวที่ใช้วัสดุปลูกธรรมชาติเป็นวัสดุปลูกทดแทนดินนั้นมีประสิทธิภาพที่ดีกว่าวัสดุปลูกที่เป็นดินในด้านของการลดความร้อน (พุทธิพันธ์, 2552)

เนื่องด้วยประเทศไทยเป็นประเทศที่มีการประกอบอาชีพเกษตรกรรมมากถึง 7,942,582 ครัวเรือน (กลุ่มทะเบียนเกษตรกร ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กรมส่งเสริมการเกษตร, 2559) ปัจจุบันมีการใช้ฟางข้าวเพื่อการผลิตเชื้อเพลิง

[1] ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900
Department of Environmental Engineering, Faculty of Engineering, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand.
[2] วิทยาลัยบูรณาการศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900
School of Integrated Science, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand.

ชีวภาพกระดาษปุ๋ยและอาหารสัตว์หลังจากการเก็บเกี่ยวฟางข้าวส่วนใหญ่จะถูกเผารวมอยู่ในดินหรือใช้คลุมผิวดินสำหรับพืช (Hanafi และคณะ, 2012) ซึ่งยังคงเหลือประมาณเศษวัสดุอีกมากที่ไม่ถูกแปรรูปหรือนำไปใช้ประโยชน์ ผู้วิจัยเล็งเห็นประโยชน์จากเศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเช่น ฟางข้าว, ใยมะพร้าว, เปลือกสนและขี้เถ้า ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นฉนวนและมีความแข็งแรงสามารถกักเก็บความชื้นได้ดี (โรสลีนา, 2559) ย่อยสลายได้ตามธรรมชาติน้ำหนักเบา มีแร่ธาตุทนทานและมีลักษณะทางกายภาพที่เหมาะสมแก่การนำมาศึกษาวิจัยเพื่อผลิตเป็นแผ่นหลังคาปลูกได้ที่ใช้ติดตั้งบนดาดฟ้าของอาคาร

**อุปกรณ์และวิธีการ****

แผ่นหลังคาแบบ Extensive Green Roof ที่มุ่งเน้นใช้ประโยชน์ทางด้านสิ่งแวดล้อมและลดความร้อนที่แพร่สู่ในอาคารนั้นเป็นหลังคาเขียวที่ถูกออกแบบให้มีความลึกดินหรือความหนา 3 นิ้ว ซึ่งเมื่อประกอบติดตั้งบนหลังคาจะมีน้ำหนักกดทับอยู่ที่ประมาณ 300-1000 $Kg/m^2$ (กนกวลี, 2558) ผู้วิจัยมุ่งเน้นกระบวนการผลิตแบบไม่ใช้พลังงานความร้อนโดยทดลองผสมส่วนผสมทั้งหมด 6 สูตรประกอบด้วยสูตรที่มีฟางข้าวเป็นส่วนประกอบหลัก ได้แก่สูตร R1 (ฟางข้าว: เปลือกสน: ขี้เถ้า: กาว), R2 (ฟางข้าว: เปลือกสน: พีทมอส: กาว), R3 (ฟางข้าว: พีทมอส: ขี้เถ้า: กาว) และสูตรที่มีเส้นใยมะพร้าวเป็นส่วนประกอบหลัก ได้แก่สูตร C1 (เส้นใยมะพร้าว: เปลือกสน: พีทมอส: กาว), C2 (เส้นใยมะพร้าว: เปลือกสน: ขี้เถ้า: กาว), C3 (เส้นใยมะพร้าว: ขี้เถ้า: พีทมอส: กาว) อัตราส่วนผสมเป็น 3:1:1:1 โดยน้ำหนัก ดังตารางที่ 1 และรูป (**Figure 1-6**) วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ได้แก่ เพลทเหล็กขนาด 30x40x7.62 เซนติเมตร, เครื่องชั่งน้ำหนัก, ฟางข้าว, พีทมอส, ขี้เถ้า, เปลือกสน, เส้นใยมะพร้าว, กะละมังผสมและกาว (ลาเท็กซ์) นำส่วนผสมแต่ละสูตรมาผสมโดยการเทส่วนผสมตามสัดส่วนของแต่ละสูตรนำมาคลุกเคล้าให้เข้ากันและนำลงไปอัดในเพลทเหล็กและนำไปตากแดดเป็นเวลา 60 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างทั้ง 6 สูตรมาทดสอบเปรียบเทียบคุณสมบัติทางกายภาพ โดยทำการทดสอบแรงดัด (flexural Strength) แบบ (Center-Point Loading) ตามมาตรฐาน ASTM C293 และทดสอบการดูดซับน้ำ (water absorption) ตามมาตรฐาน ASTM C128 เพื่อวิเคราะห์หาสูตรที่มีคุณสมบัติทางกายภาพเบื้องต้นที่เหมาะสมที่สุดในการนำมาผลิตเป็นแผ่นหลังคาปลูกได้

**Figure 1** Physical properties of C1.

**Figure 2** Physical properties of C2.

**Figure 3** Physical properties of C3

**Figure 4** Physical properties of R1.

**Figure 5** Physical properties of R2.

**Figure 6** Physical properties of R3.

**ผลการทดลอง*****

การวิเคราะห์หาสูตรที่มีคุณสมบัติทางกายภาพเบื้องต้นที่เหมาะสมในการนำมาผลิตเป็นแผ่นฉนวนหลังคาดาดฟ้าปลูกได้ สูตรที่มีค่า% Water Absorption สูงที่สุดคือสูตร R1 และต่ำที่สุดคือสูตร C2 ในส่วนของผลการทดสอบ Flexural Strength สูตรที่มีค่าสูงที่สุดคือ สูตร C3 และสูตรที่มีค่าต่ำที่สุดคือสูตร R1

**Table 1** Appearance of (C) coconut and (R) rice straw.

| Type C | Ratio | No. | Average | |
|---|---|---|---|---|
| | | | % Water Absorption | Flexural Strength (kg/cm2) |
| C1 | coconut fiber: pine bark: peat moss: glue 3:1:1:1 | 1 | 187.33 | 0.07 |
| | | 2 | | |
| | | 3 | | |
| C2 | coconut fiber: pine bark:ash: glue 3:1:1:1 | 1 | 184.03 | 0.11 |
| | | 2 | | |
| | | 3 | | |
| C3 | coconut fiber: peat moss: ash: glue 3:1:1:1 | 1 | 208.89 | 0.13 |
| | | 2 | | |
| | | 3 | | |
| R1 | Rice Straw : pine bark :ash: glue 3:1:1:1 | 1 | 253.59 | 0.063 |
| | | 2 | | |
| | | 3 | | |
| R2 | Rice Straw : pine bark: peat moss: glue 3:1:1:1 | 1 | 225.43 | 0.064 |
| | | 2 | | |
| | | 3 | | |
| R3 | Rice Straw: peat moss: ash: glue 3:1:1:1 | 1 | 222.43 | 0.050 |
| | | 2 | | |
| | | 3 | | |

## วิจารณ์ผล**

งานวิจัยนี้ศึกษาลักษณะทางกายภาพของแผ่นหลังคาปลูกได้ที่มุ่งเน้นกระบวนการผลิตแบบไม่ใช้พลังงานความร้อนโดยมีฟางข้าวและเส้นใยมะพร้าวเป็นวัตถุดิบหลัก หลังจากการทดสอบพบค่าเฉลี่ยความสามารถในการดูดซับน้ำของฟางข้าว (R1, R2, R3) อยู่ในช่วง 222.43 - 253.59% และเส้นใยมะพร้าว (C1, C2, C3) อยู่ในช่วง 184.03 - 208.89% ซึ่งสอดคล้องกับ (ฉันท์ทิพย์ และ มนทิพย์, 2552) ที่รายงานว่ายิ่งมีปริมาณของเส้นใยมะพร้าวและฟางข้าวที่อยู่ในแผ่นอัดมากส่งผลให้การดูดซับน้ำเพิ่มขึ้น โดยเส้นใยมะพร้าวมีโครงสร้างลักษณะที่เป็น Hydrophilic ของเซลลูโลสจึงดูดซับน้ำได้น้อยกว่าฟางข้าว ในส่วนของผลการทดสอบการรับแรงดัดของฟางข้าว (R1, R2, R3) อยู่ในช่วง 0.05-0.064 kg/cm$^2$ และเส้นใยมะพร้าว (C1, C2, C3) อยู่ในช่วง 0.07 - 0.13 kg/cm$^2$ ซึ่งผลการทดสอบอยู่ในเกณฑ์ที่ต่ำเมื่อเทียบกับแผ่นไม้อัดชนิดอัดราบ มอก.876-2547 (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม, 2547) ที่มีวัสดุลิกโนเซลลูโลสเป็นส่วนประกอบ สาเหตุอาจเนื่องมาจากขั้นตอนในกระบวนการขึ้นรูปแบบไม่ใช้พลังงานความร้อนของแผ่นฉนวนหลังคาดาดฟ้าปลูกได้ที่มีการจัดเรียงตัวของเส้นใยและวัสดุปลูกไม่สม่ำเสมอส่งผลให้ค่าความสามารถในการรับแรงดัดมีค่าต่ำ ผลการทดสอบดังแสดง (Table 1)

## สรุปผล**

จากผลการทดสอบการดูดซับน้ำและการรับแรงดัดของแผ่นหลังคาปลูกได้ทั้ง 6 สูตรดัง (Table 1) พบว่า สูตร R1 มีค่าร้อยละการดูดซับน้ำมากที่สุดเท่ากับ 253.59% และ R2 = 225.43%, R3 = 222.43% , C3 = 208.89% , C1 = 187.33% , C2 = 184.03% ตามลำดับ ในการทดสอบการรับแรงดัดพบว่าเส้นใยมะพร้าวมีค่าสูงกว่าฟางข้าวโดยสูตร C3 = 0.13 kg/cm$^2$ มีค่ามากที่สุดและสูตร C2 = 0.11 kg/cm$^2$ , C1 = 0.07 kg/cm$^2$ , R2 = 0.064 kg/cm$^2$ , R1 = 0.063 kg/cm$^2$ , R3 = 0.05 kg/cm$^2$ ตามลำดับ เมื่อทำการเปรียบเทียบคุณสมบัติทางกายภาพเบื้องต้นพบว่าสูตรที่มีฟางข้าวเป็นส่วนประกอบหลักมีความสามารถในการดูดซับน้ำได้ดีที่สุดและมีธาตุอาหารที่จำเป็นในการเจริญเติบโตของพืชเช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม (อินแปง, 2553) ในส่วนของค่าความสามารถในการรับแรงดัดของฟางข้าวและเส้นใยมะพร้าวมีค่าไม่แตกต่างกันมาก สาเหตุอาจเนื่องมาจากขั้นตอนในกระบวนการขึ้นรูปแบบไม่ใช้พลังงานความร้อนของแผ่นฉนวนหลังคาดาดฟ้าปลูกได้ที่มีการจัดเรียงตัวของเส้นใยและวัสดุปลูกลงแผ่นเพลทไม่สม่ำเสมอกัน จึงสรุปได้ว่าแผ่นฉนวนหลังคาดาดฟ้าปลูกได้จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีคุณสมบัติทาง

กายภาพเบื้องต้นเหมาะสำหรับการนำไปสู่ต้นแบบผลิตภัณฑ์ที่เกษตรกรสามารถผลิตเองมาผลิตคือ สูตร R1 ซึ่งประกอบไปด้วยฟางข้าว:เปลือกสน:ขี้เถ้า:กาว ในอัตราส่วน 3:1:1:1 ซึ่งจะถูกนำไปทดสอบการลดความร้อนแพร่ผ่านอาคารต่อไป

**เอกสารอ้างอิง****

กนกวลี สุธีธร, 2558, หลังคาเขียวทางเลือกเพื่อการจัดการน้ำฝน, ภาควิชาภูมิสถาปัตยกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร, หน้า 128-129.

กลุ่มทะเบียนเกษตรกร ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กรมส่งเสริมการเกษตร, 2559

ฉันท์ทิพย์ คำนวณทิพย์ และ มนทิพย์ ล้อสุรียนต์, 2552, แผ่นอัดจากใยมะพร้าว ชานอ้อย ฟางข้าว และแกลบ, ภาควิชาวิศวกรรมวัสดุและโลหการ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคงธัญบุรี, 76 หน้า.

พุทธิพันธ์ เจริญเวศยางกูร, 2552, ประสิทธิภาพเชิงความร้อนของหลังคาเขียวที่ใช้วัสดุธรรมชาติเป็นวัสดุทดแทนดิน, สถาปัตยกรรมศาตร์มหาบันฑิต มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, 154 หน้า.

ศุภกิจ ยิ้มสรวล, 2558, แนวทางการใช้สวนหลังคาเพื่อลดการถ่ายเทความร้อนผ่านทางหลังคาดาดฟ้าอาคาร, ภาควิชาสถาปัตยกรรม คณะสถาปัตยกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร, 13 หน้า.

โรสลีนา จาราแว, 2559, การพัฒนาฉนวนกันความร้อนจากพืชในเขตท้องถิ่น มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา , 74 หน้า.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม, 2547, มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม แผ่นชิ้นไม้อัดชนิดอัดราบ มอก.876-2547.

อินแปง ดวงวงสา, 2553, การจัดการฟางข้าวเพื่ออนุรักษณ์ธาตุ N, P, และ K ในดินนาของประเทศลาว, วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, หน้า 7.

Hanafi, E., Khadrawy, H, Ahmed, W., and Zaabal, M, 2012, Some Observations on Rice Straw with Emphasis on Updates of Its Management, World Applied Science Journal, pp. 16.

Terini E, and Dimitris A., 1998, The Contribution of a Planted Roof to Thermal Protection of Building in Greece, Energy Buildings, (27): 29-36.

# องค์ประกอบกลิ่นและกลิ่นสำคัญในสับปะรด (*Ananas comosus* [L.] Merr.) พันธุ์ตราดสีทอง
# Aroma Profile and Its Odor Descriptive in Pineapple (*Ananas comosus* [L.] Merr.) cv. Trad Srithong

กมลชนก ปัญโญ[1] สมโภชน์ น้อยจินดา[1] กิตติ โพธิปัทมะ[1] สุริยา ฤธาทิพย์[1] และ เฉลิมชัย วงษ์อารี[2]
Panyo, K.[1], Noichinda, S.[1], Bodhipadma, K.[1], Rutatip, S.[1] and Wongs-Aree, C.[2]

## Abstract

Eaten-fresh pineapple 'Trad Srithong', belongs to Queen Group, has specific characters, sweet crispy texture and fragrance. This research aims to identified the aroma profile of Trad Srithong by head space GC-MS. The 16 aromatic compounds were found which they could be classified as 12 aliphatic esters, 3 terpenes and 1 hydrocarbon. Three major volatile compounds were methyl 2-methylbutanoate (fruity, apple-like aroma), ethyl 2-methylbutanoate (fruity aroma) and ethyl hexanoate (fruity, pineapple-like, banana-like aroma), which their high potent odor-active (OVA) were 242.12, 11.87 and 1.85, respectively.

**Keywords:** aroma profile, GC-MS, pineapple, Trad Srithong

## บทคัดย่อ

สับปะรดพันธุ์ตราดสีทองเป็นสับปะรดจัดอยู่ในกลุ่มควีนที่นำมารับประทานสดมีกลิ่นหอมและหวานกรอบ งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาองค์ประกอบของกลิ่นของสับประรดสายพันธุ์ตราดสีทอง โดยเทคนิคเฮดสเปซแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโทรเมททรี (HS/GC-MS) ผลการศึกษาพบองค์ประกอบสารระเหยให้กลิ่นจำนวน 16 ชนิด ได้แก่ aliphatic ester 12 ชนิด, terpene 3 ชนิด และ hydrocarbon 1 ชนิด นอกจากนี้ยังพบสารหลัก 3 ชนิด คือ methyl 2-methylbutanoate ให้กลิ่นผลไม้ (fruity) และกลิ่นคล้ายแอปเปิ้ล (apple-like), ethyl 2-methylbutanoate ให้กลิ่นผลไม้ (fruity) และ ethyl hexanoate ให้กลิ่นผลไม้ (fruity), กลิ่นสับปะรด (pineapple-like) และกลิ่นคล้ายกล้วย (banana-like) ซึ่งมีค่าในการให้กลิ่น (OVA) เท่ากับ 242.12, 11.87 และ 1.85 ตามลำดับ

**คำสำคัญ:** องค์ประกอบของกลิ่น, GC-MS, สับปะรด, ตราดสีทอง

## คำนำ

สับปะรดมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Ananas comosus* L. Merr อยู่ในวงศ์ Bromeliaceae เป็นพืชที่ทนต่อสภาพแวดล้อมแห้งแล้งได้ดี สับปะรดสายพันธุ์ตราดสีทองเป็นสับปะรดที่ขึ้นชื่อของจังหวัดตราดมีจุดเด่นในเรื่องของผลขนาดใหญ่ รสชาติหวานมากอมเปรี้ยวเล็กน้อย เนื้อกรอบจนถึงแกน สีเหลืองเข้ม และมีกลิ่นหอมเป็นเอกลักษณ์แตกต่างจากสายพันธุ์อื่น (เทคโนโลยีชาวบ้าน, 2558) กลิ่นหอมที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัวนั้นเป็นกลิ่นฟรุตตี้ของเอสเทอร์ ทางอุตสาหกรรมอาหาร และเครื่องดื่มมีการนำสับปะรดมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์มากมาย ซึ่งกลิ่นหอมของสับปะรดส่วนใหญ่เกิดขึ้นในระยะผลแก่ (maturity) โดยเฉพาะเมื่อผลสุกงอม (over-ripe) จะมีกลิ่นหอมฉุนของเอสเทอร์ในสับปะรด ซึ่งเกิดจากองค์ประกอบสารระเหยรวมกันมากกว่า 200 ชนิด และสามารถระบุได้ว่าอยู่ในกลุ่ม esters, lactones, aldehydes, ketones, alcohols, carbonyl acids, hydrocarbons, phenol และ sulphur compounds (Hassan และ Othman, 2011) ในกระบวนการเกิดกลิ่นหอมในสับปะรดนั้นยังขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น แหล่งพื้นมี่ปลูกตามหลักภูมิศาสตร์ และภูมิอากาศในพื้นที่ปลูกนั้น ๆ สายพันธุ์ ระยะการเจริญเติบโตจนถึงผลสุก และกระบวนการหลังการเก็บเกี่ยว (Lasekan และ Hussein, 2018) ซึ่งสารหอมระเหยที่ส่งผลต่อการเกิดกลิ่นหอมในสับปะรดมีอยู่หลายชนิด แต่พบว่าสารสำคัญชนิดหนึ่งที่พบมากที่สุด คือ 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone หรือที่รู้จักโดยทั่วไปในชื่อทางการค้าว่า Furaneol หรือ DMHF และยังพบ 2-methylbutanoates และ hexanoate ที่ให้กลิ่นผลไม้ (fruity) ในสับปะรดผลสดอีกด้วย (Calderon และคณะ, 2010) มีงานวิจัยที่ทำการศึกษาวิเคราะห์กลิ่นหอมในสับปะรดมากมาย ซึ่งการบ่งชี้ถึงกลิ่นเฉพาะของสับปะรดนั้นได้มาจากการคำนวณหาค่า odor activity value (OAV) โดยใช้ค่าความเข้มข้น และค่า odor threshold ของสารชนิดนั้น ๆ (Yong Zheng และคณะ, 2012) เพื่อเป็นการหากลิ่นสำคัญของสับปะรด แต่อย่างไรก็ตามข้อมูลในงานวิจัยที่

[1] สาขาวิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ บางซื่อ กรุงเทพฯ 10800
[1] Division of Agro-Industrial Technology, Faculty of Applied Science, King Mongkut's University of Technology North Bangkok, Bangkok 10800, Thailand
[2] สาขาวิชาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี บางขุนเทียน กรุงเทพฯ 10150
[2] Division of Postharvest Technology, School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangkhuntien, Bangkok 10150, Thailand

เกี่ยวข้องกับองค์ประกอบสารหอมระเหยให้กลิ่นเฉพาะในสับปะรดสายพันธุ์ตราดสีทองยังไม่มีรายงาน ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีวัตถุประสงค์ในการวิจัยในครั้งนี้เพื่อศึกษาวิเคราะห์องค์ประกอบสารหอมระเหยที่ให้กลิ่นฉพาะของสับปะรดสายพันธุ์ตราดสีทอง โดยใช้เทคนิคเฮดสเปซแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโทรเมททรี (HS/GC-MS)

## อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมตัวอย่างโดยการนำตัวอย่างผลสับปะรดตราดสีทองสดระยะสุก (เปลือกมีสีเหลืองทั่วทั้งผล) ทิ้งให้สุกงอมที่อุณหภูมิห้อง ปอกเปลือก แล้วหั่นเป็นชิ้นเล็กขนาด 0.5 x 0.5 เซนติเมตร จำนวน 5 กรัม ใส่ขวดไวอัลสำหรับฉีด GC (Agilent vials) ขนาด 20 มิลลิลิตร แล้วปิดด้วยฝาครอบอลูมิเนียมแบบเปิดด้านบน (Agilent Cap & Septa Certification) และเตรียม conc. thiophene เป็น external standard เนื่องจากเป็นสารประกอบเฮเทอร์โรไซคลิก (heterocyclic compounds) ที่มีสารประกอบกลุ่มซัลเฟอร์ (sulfur-containing) เป็นองค์ประกอบ (Biehl, 2011) และมีรายงานพบว่าสับปะรดมีสารประกอบระเหยในกลุ่มซัลเฟอร์อยู่ด้วย ได้แก่ methyl 3-(methylthio)-propionate และ ethyl 3-(methylthio)- propionate เป็นต้น (Cannon และ Ho, 2018) จากข้อมูลนี้จึงได้เลือกสาร thiophene เป็น external standard โดยเตรียมที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร ปริมาณ 20 ไมโครลิตร ใส่ในขวดไวอัล (Agilent vials) ขนาด 20 มิลลิลิตร แล้วปิดด้วยฝาครอบอลูมิเนียมแบบเปิดด้านบน (Agilent Cap & Septa Certification)

การวิเคราะห์องค์ประกอบสารระเหยของสับปะรดโดยเทคนิคเฮดสเปซ-แก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโทรเมททรี โดยดัดแปลงจาก Gonzalez-Mas และคณะ (2011) เริ่มต้นนำตัวอย่างเข้าเครื่องเฮดสเปซ (Agilent 7697A Headspace Sampler) โดยตั้งค่า oven-HS อุณหภูมิเริ่มต้นที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 10 นาที เพื่อเปลี่ยนสถานะของตัวอย่างให้อยู่ในรูปของสารระเหย จากนั้นทิ้งให้สารระเหยอยู่ใน sample loop เป็นระยะเวลา 0.5 นาที ร่วมกับการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส แล้วเพิ่มอุณหภูมิเป็น 70 องศาเซลเซียส สารระเหยผ่าน transfer line ไปยังเครื่อง GC-MS (Agilent 5977) เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบสารระเหยของตัวอย่าง ทำการตั้งค่าสภาวะของเครื่อง GC-MS โดยใช้โหมด split less กำหนดอุณหภูมิที่ 220 องศาเซลเซียส ใช้คอลัมน์ HP-5MS 5% Phenyl Methyl Silox (30 m length, 250 μm i.d., 0.25 μm thickness film) แก๊สตัวพา คือฮีเลียม ความดัน 9.1473 psi และกำหนดอัตราการไหลผ่านคอลัมน์ของ Septum Purge Flow อยู่ที่ 3 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิของคอลัมน์เริ่มต้นที่ 40 องศาเซลเซียส แล้วเพิ่มสูงขึ้นจนถึง 250 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที เมื่อองค์ประกอบสารระเหยถูกแยกออกมาจากคอลัมน์แล้วนั้น จะถูกส่งผ่านเข้าสู่ MS (Mass spectrometry) เพื่อทำการตรวจวัดองค์ประกอบสารระเหย ซึ่งทำงานภายใต้สภาวะสุญญากาศ (vacuum) จากนั้นสารระเหยจะเจอกับ ion source เพื่อไอออไนซ์โมเลกุลของสารให้กลายเป็นไอออน โดยตั้งอุณหภูมิของแหล่งไอออนที่ 230 องศาเซลเซียสในระบบ electron impact ionization (EI) เพื่อยิงโมเลกุลของสารด้วยอิเล็กตรอนพลังงานสูงที่ 70 eV และระบบ scan mode ในช่วงมวลตั้งแต่ 35-220 m/z จากนั้นนำข้อมูลมาแปลผลเทียบกับ library ของ NIST 2007

การหาค่า odor activity values (OAV) โดยสารระเหยที่มีค่า OAV สูง (OAV ≥ 1) สามารถบ่งชี้ได้ว่าสารนั้นเป็นสารสำคัญที่ทำให้เกิดกลิ่นที่เป็นเอกลักษณ์ของตัวอย่างที่เราสนใจ (Yong Zheng และคณะ, 2012)

สูตรคำนวณค่า OAV = Relative content (ng.thiophene/g.fruit weight)/Odor threshold (ng./g.)

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบสารระเหยในสับปะรดตราดสีทองโดยเทคนิคเฮดสเปซ-แก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโทรเมททรี ซึ่งผลการลองผ่านการคัดเลือกจากการแปลผลเทียบกับ library ของ NIST 2007 โดยต้องมีค่าเปอร์เซ็นต์ Matching มากกว่า 60 พบสารระเหยจำนวน 16 ชนิด ได้แก่ aliphatic ester 12 ชนิด, terpene 3 ชนิด และ hydrocarbon 1 ชนิด (Table 1) และเมื่อนำมาคำนวณหาค่า OAV โดยใช้ค่าความเข้มข้นของสารระเหยจากค่า Relative content และค่า Odor threshold ของสารนั้นๆ ถ้าผลลัพธ์มีค่ามากกว่า หรือเท่ากับ 1 สามารถบ่งชี้แนวโน้มสารระเหยที่ให้กลิ่นสำคัญในสับปะรดสายพันธุ์ตราดสีทอง จาก Table 1 พบสารระเหยที่มีค่า OAV มากกว่า 1 ได้แก่ methyl 2-methylbutanoate ค่า OAV เท่ากับ 242.12 , ethyl 2-methylbutanoate ค่า OAV เท่ากับ 11.87, ethyl hexanoate ค่า OAV เท่ากับ 1.85 ซึ่งทั้ง 3 ชนิดนี้เป็นสารระเหยประเภท ester ที่เป็นส่วนประกอบหลักของกลิ่นหอมในสับปะรด (Calderon และคณะ, 2010) โดย methyl 2-methylbutanoate พบว่าเป็นองค์ประกอบสารระเหยในสับปะรดหลากหลายสายพันธุ์ และมีการนำสารระเหยชนิดนี้ไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่มมากมาย (Elss และคณะ, 2004) ซึ่งให้กลิ่นผลไม้ (fruity) และกลิ่นคล้ายแอปเปิ้ล (apple-like) (Calderon และคณะ, 2010) ในส่วนของ ethyl 2-methylbutanoate พบว่าเป็นองค์ประกอบสารระเหยที่สำคัญในสับปะรดที่ให้กลิ่นผลไม้ (fruity) (Tokitomo และคณะ, 2005) และพบว่า ethyl hexanoate เป็นส่วนหนึ่งขององค์ประกอบหลักที่ให้กลิ่นในสับปะรดสายพันธุ์

ภูแล ซึ่งอยู่ในกลุ่มควีนเช่นเดียวกันกับสายพันธุ์ตราดสีทอง (Thu และคณะ, 2017) โดยสารระเหยชนิดนี้ให้กลิ่นผลไม้ (fruity) กลิ่นคล้ายสับปะรด (pineapple-like) และกลิ่นคล้ายกล้วย (banana-like) (Calderon และคณะ, 2010)

## สรุปผล

การศึกษาวิเคราะห์องค์ประกอบสารหอมระเหยที่ให้กลิ่นเฉพาะของสับปะรดสายพันธุ์ตราดสีทอง โดยใช้เทคนิคเฮดสเปซแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโทรเมททรี (HS/GC-MS) พบองค์ประกอบสารระเหยจำนวน 16 ชนิด ได้แก่ aliphatic ester 12 ชนิด, terpene 3 ชนิด และ hydrocarbon 1 ชนิด เมื่อผ่านการวิเคราะห์ค่า OAV ที่สามารถบ่งชี้สารระเหยที่ให้กลิ่นสำคัญ ได้แก่ methyl 2-methylbutanoate (OAV=242.12) ให้กลิ่นผลไม้ (fruity) และกลิ่นคล้ายแอปเปิ้ล (apple-like), ethyl 2-methylbutanoate (OAV=11.87) ให้กลิ่นผลไม้ (fruity) และ ethyl hexanoate (OAV=1.85) ให้กลิ่นผลไม้ (fruity), กลิ่นคล้ายสับปะรด (pineapple-like) และกลิ่นคล้ายกล้วย (banana-like)

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ และคอมพิวเตอร์สมรรถนะสูง (SICC) และภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร อาหาร และสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ สำหรับการอนุญาตให้ใช้สถานที่ในการทำการวิจัยและทดลอง

## เอกสารอ้างอิง

เทคโนโลยีชาวบ้าน, 2558, สับปะรดสุดยอดผลไม้ไทย ปลูกง่าย กำไรงาม, สำนักพิมพ์มติชน, กรุงเทพฯ, 272 หน้า

Belisario-Sánchez, Y. Y., Taboada-Rodriguez, A., Marin-Iniesta, F., Iguaz-Gainza, A. and Lopez-Gomez, A., 2012, Aroma Recovery in Wine Dealcoholization by SCC Distillation, Food Bioprocess Technol, 5: 2529–2539.

Biehl, E. R., 2011, Progress in Heterocyclic Chemistry, Elsevier Ltd., Oxford, 674 p.

Calderon, M. M., Rojas-Grau, M. A. and Belloso, M. O., 2010, Aroma Profile and Volatiles Odor Activity Along Gold Cultivar Pineapple Flesh, Journal of Food Science, 75: 506-512.

Calderon, M. M., Rojas-Grau, M. A. and Belloso, M. O., 2010, Handbbook of fruit and vegetable flavors, John Wiley & Sons Inc., United States of America, 1117 p.

Cannon, R. J. and Ho, C.-T., 2018, Volatile sulfur compounds in tropical fruits, Journal of Food and Drug Analysis, 26(2): 445-468.

Elss, S., Preston, C., Hertzig, C., Heckel, F., Richling, E. and Schreier, P., 2005, Aroma Profiles of Pineapple Fruit (*Ananas comosus* [L.] Merr.) and Pineapple Products, LWT-Food Science and Technology, 38(3): 263-274.

Gonzalez-Mass, M. C., Rambla, J. L., Alamar, M. C., Gutierrez, A. and Granell, A., 2011, Comparative Analysis of the Volatile Fraction of Fruit Juice from Different Citrus Species, Plus One, 6(7): 1-11.

Hassan A. and Othman Z., 2011, Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits, Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.), Woodhead Publishing Limited, UK, 194-217.

Lasekan, O. and Hussein, F. K., 2018, Classification of Different Pineapple Varieties Grown in Malaysia Based on Volatile Fingerprinting and Sensory Analysis, Chemistry Central Journal, 12(140): 1-12.

Leffingwell, J. C. and Leffingwell, D., 1991, GRAS Flavor Chemicals-Detection Thresholds, Perfumer & Flavorist, 16: 1-19.

Thu, L. S., Huynh Lam Minh Tam, Tongdeesoontorn, W. and Suthiluk, P., 2017, Quality Changes and Volatile Compounds in Fresh-Cut 'Phulae' Pineapple during Cold Storage, Current Applied Science and Technology, 17(2): 162-171.

Tokitomo, Y., Steinhaus, M., Buttner, A. and Schieberle, P., 2005, Odor-Active Constituents in Fresh Pineapple (*Ananas comosus* [L.] Merr.) by Quantitative and Sensory Evaluation, Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 69(7): 1323-1330.

Van Gemert, L. J., 2011, Odour Thresholds, Compilations of Odour, Threshold Values in Air Water and Other Media, Oliemans Punter & Partners, Utrecht, 485 p.

Yong Zheng, L., Ming Sun, G., Ge Liu, Y., Ling Lv, L., Xiu Yang, W., Feng Zhao, W. and Bin Wei, C., 2012, Aroma Volatile Compounds from Two Fresh Pineapple Varieties in China, International Journal of Molecular Sciences, 13(12): 7383-7392.

**Table 1** Volatiles compounds of pineapple (*Ananas comosus* [L.] Merr.) cv. Trad Srithong.

| Peak No. | RT (min) | Compounds | Odor threshold[a] | Relative content[b] | OAV[c] | Odor description | Classification |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 3.501 | methyl 2-methylpropanoate | 7[(3)] | 1.33 | 0.19 | fruity, sweet[(1)] | ester |
| 2 | 3.926 | methyl butanoate | 60-76[(4)] | 5.27 | 0.07-0.09 | apple, sweet, toast[(1)] | ester |
| 3 | 4.793 | methyl 2-methylbutanoate | 0.25[(4)] | 60.53 | 242.12 | fruity, apple-like[(1)] | ester |
| 4 | 6.323 | ethyl 2-methylbutanoate | 0.15[(1)] | 1.78 | 11.87 | pineapple, fruity[(1)] | ester |
| 5 | 7.01 | 2-methybutyl acetate | 5[(3)] | 0.16 | 0.032 | pineapple[(1)], fruity, banana-like[(2)] | ester |
| 6 | 7.892 | methyl 5-hexenoate | 194[(1)] | 0.02 | 0.00001 | - | ester |
| 7 | 8.222 | methyl hexanoate | 70-84[(3)] | 19.91 | 0.24-0.28 | pineapple[(1)], ethereal aroma[(2)] | ester |
| 8 | 10.117 | Myrcene | - | 0.01 | - | woody, citrus, tropical fruit* | terpene |
| 9 | 10.372 | ethyl hexanoate | 1[(1)] | 1.85 | 1.85 | fruity, pineapple, banana[(1)] | ester |
| 10 | 11.106 | methyl heptanoate | 4[(3)] | 0.98 | 0.25 | fruity, orris, sweet, green* | ester |
| 11 | 11.501 | (E)- β-ocimene | 34[(4)] | 0.48 | 0.014 | herb* | terpene |
| 12 | 11.794 | β-ocimene | 34[(4)] | 0.61 | 0.018 | green* | terpene |
| 13 | 13.804 | methyl (Z)-3-octenoate | - | 0.13 | - | - | ester |
| 14 | 14.054 | methyl octanoate | 200[(3)] | 8.30 | 0.042 | fruity, winy, orange[(1)] | ester |
| 15 | 16.159 | ethyl octanoate | 5[(2)] | 0.08 | 0.016 | fruity, banana, peach, sweet[(2)] | ester |
| 16 | 21.034 | α-copaene | - | 0.03 | - | woody* | hydrocarbon |

[a] (ng/g), [b] (ng.thiophene/g.fruit weight), [c] (Odor activity value)

(1) Calderon และคณะ, 2010 (2) Belisario-Sánchez และคณะ, 2012 (3) Leffingwell and Leffingwell, 1991 (4) Van Germert, 2011 (*)อื่นๆ

# การใช้ประโยชน์ผงกากข้าวโพดหวานเพื่อทดแทนแป้งสาลีในบราวนี่
# Utilization of Dried Sweet Corn Cake Powder for Wheat Flour Replacement in Brownies

บงกชมาศ โสภา[1] เสาวนีย์ ฝัดศิริ[1] และ ศุภรา จันทร์คืน[1]
Sopa, B.[1], Fudsiri, S.[1] and Jankuen, S.[1]

## Abstract

The production of brownies from dried sweet corn cake powder (DSCP) as main ingredients was conducted by varying DSCP at 25, 50, 75, and 100% (flour basis). It was found that the addition of DSCP resulted in the decreasing value of lightness (L*) while the increase of redness (a*) and yellowness (b*) were observed ($p \leq 0.05$). The results from sensory evaluation showed that the sample containing 100% DSCP had no difference of overall linking score comparable to the control ($p > 0.05$). The 100% DSCP brownie contained higher protein ash and Vitamin A (beta-carotene) than the control ($p \leq 0.05$). The chemical compositions of brownie with 100% DSCP consisting of moisture, protein, total fat, ash, total carbohydrate, and total dietary fiber at 15.28, 6.75, 23.82, 2.10, 52.05, and 4.62 %, respectively. Vitamin A (beta-carotene) was 89.76 μg/100g sample.

**Keywords:** brownies, dried sweet corn cake powder

## บทคัดย่อ

การผลิตบราวนี่จากผงกากข้าวโพดหวาน โดยแปรปริมาณผงกากข้าวโพดหวาน 5 ระดับ คือ ร้อยละ 0 25 50 75 และ 100 (โดยน้ำหนักแป้ง) พบว่าการเติมผงกากข้าวโพดหวานลงในบราวนี่ทำให้ค่าความสว่าง (L*) ลดลง ขณะที่ค่าความเป็นสีแดง (a*) และค่าความเป็นสีเหลือง (b*) เพิ่มขึ้น ($p \leq 0.05$) จากการทดสอบทางประสาทพบว่าตัวอย่างที่เติมผงกากข้าวโพดร้อยละ 100 ได้รับคะแนนความชอบโดยรวมไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุม ($p > 0.05$) บราวนี่ที่เติมผงกากข้าวโพดหวานทดแทนแป้งสาลีที่ระดับร้อยละ 100 มีปริมาณโปรตีน เถ้า และวิตามินเอ (เบต้าแคโรทีน) สูงกว่าตัวอย่างควบคุม ($p \leq 0.05$) โดยมีปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า คาร์โบไฮเดรต และใยอาหาร ร้อยละ 15.28 6.75 23.82 2.10 52.05 และ 4.62 ตามลำดับ มีปริมาณวิตามินเอ (เบต้าแคโรทีน) 89.76 ไมโครกรัม/100 กรัม

**คำสำคัญ:** บราวนี่ ผงกากข้าวโพดหวาน

## คำนำ

บราวนี่เป็นผลิตภัณฑ์ขนมอบที่มีการบริโภคอย่างแพร่หลายจากผู้บริโภคทุกวัยทั้งในประเทศและต่างประเทศเนื่องจากมีรสชาติอร่อย ลักษณะที่เด่นชัดของบราวนี่จะเป็นขนมอบที่มีเนื้อสัมผัสแน่น มีสีน้ำตาลเข้มซึ่งเกิดจากผงโกโก้ที่ใส่ลงไปในส่วนผสม (ไชยสิทธิ์ และคณะ, 2560) ส่วนประกอบที่สำคัญในการผลิตบราวนี่ คือ แป้งสาลี ซึ่งมีโปรตีนกลูเตนิน (Glutenin) และไกลอะดิน (Gliadin) ช่วยให้บราวนี่ฟูและนิ่ม ซึ่งวัตถุดิบดังกล่าวต้องนำเข้าจากต่างประเทศและมีราคาแพง (ณนนท์ และคณะ, 2554) ปัจจุบันได้มีการนำกากข้าวโพดมาประยุกต์ใช้สำหรับการผลิตอาหาร เช่น การทดแทนการใช้แป้งสาลีในผลิตภัณฑ์ขนมอบ การเสริมกากข้าวโพดในน้ำพริกเผา และการเสริมเยื่อใยจากกากข้าวโพดลงในกุนเชียง เป็นต้น

ผลิตภัณฑ์น้ำนมข้าวโพดหวานของศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างถือได้ว่าเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้รับความนิยมในทุกเพศทุกวัย เนื่องจากมีกลิ่นหอมที่เป็นเอกลักษณ์และรสชาติที่ถูกปาก โดยหลังจากการแปรรูปน้ำนมข้าวโพดหวาน กากข้าวโพดหวานที่เหลือจากกระบวนการผลิตจะถูกจำหน่ายเป็นอาหารสัตว์ประมาณ 900 - 1,000 กก./วัน ซึ่งกากข้าวโพดดังกล่าวยังมีคุณค่าทางอาหารที่มีประโยชน์ เมื่อนำกากข้าวโพดสดไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี พบว่ามีใยอาหาร คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน เถ้า และความชื้น เท่ากับ 13.33 5.06 3.35 2.98 0.27 และ 75.01 กรัม/100 กรัม (น้ำหนักเปียก) ตามลำดับ (ปรียานุช, 2557) ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีแนวคิดนำกากข้าวโพดที่เหลือทิ้งจากการผลิตน้ำนมข้าวโพดมาใช้ประโยชน์โดยการทดแทนแป้งสาลีในบราวนี่เพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับวัตถุดิบที่เหลือจากกระบวนการผลิตและเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพให้กับผู้บริโภค

[1] ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 298 ม.1 ต.กลางดง อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา
[1] National Corn and Sorghum Research Center, Kasetsart University,298 M.1 Klang Dong, Pak Chong, Nakhon Ratchasima 30320

## อุปกรณ์และวิธีการ

**1. การเตรียมกากข้าวโพดหวาน**

นำกากข้าวโพดสด (ข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2) ที่เหลือจากการผลิตน้ำนมข้าวโพดอบในตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ที่อุณหภูมิ 70 $^{o}$C นาน 8 ชม. นำไปบดให้ละเอียดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 40 mesh (ศุภรินธร์, 2553) จะได้ผงกากข้าวโพดหวานอบแห้ง (dried sweet corn cake powder, DSCP) จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักก่อนอบและหลังอบ คำนวณร้อยละของผลผลิต (% yield) วัดค่าสี L* a* b* (Colorimeter รุ่น NR200) รวมถึงวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า คาร์โบไฮเดรต และใยอาหาร (AOAC, 2016) และปริมาณวิตามินเอ (เบต้าแคโรทีน) (Munzuroglu และคณะ, 2003) ผงกากข้าวโพดหวานอบแห้งที่ได้จะถูกเก็บไว้ในถุงพลาสติกชนิดพอลีเอทิลีน (PE) ผนึกปากถุงด้วยความร้อนเพื่อป้องกันความชื้นและการลดกลิ่นหืน

**2. การใช้กากข้าวโพดหวานเพื่อทดแทนแป้งสาลีในบราวนี่**

เตรียมผงกากข้าวโพดหวานเพื่อทดแทนแป้งสาลีในบราวนี่ 5 ระดับ คือ ร้อยละ 0 (ตัวอย่างควบคุม) 25 50 75 และ 100 (โดยน้ำหนักแป้ง) ซึ่งส่วนผสมประกอบด้วย แป้งสาลีอเนกประสงค์ 70 กรัม เนยจืด 145 กรัม น้ำตาลทราย 250 กรัม ไข่ไก่ 120 กรัม ผงโกโก้ 65 กรัม เกลือ 2 กรัม และกลิ่นวนิลลา 3.2 กรัม (ดัดแปลงจาก Prissana, 2005) ผลิตบราวนี่โดยนำส่วนผสมแป้งสาลีผงโกโก้ผสมรวมกันและร่อนด้วยตะแกรงร่อนแป้ง พักไว้ ตีเนยให้ขึ้นฟูผสมกับน้ำตาล ไข่ไก่และวนิลลาในชามสเตนเลส นำแป้งผสมใส่ในเนยที่ผสมและตีจนขึ้นฟู เทส่วนผสมบราวนี่ลงในพิมพ์สเตนเลสขนาด 8 x 8 นิ้ว เคาะพิมพ์เบาๆ เพื่อไล่อากาศ จากนั้นอบที่อุณหภูมิ 180 $^{o}$ซ นาน 25 นาที นำถาดขนมมาพักให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ตัดบราวนี่เป็นชิ้นขนาด 3 x 3 cm

วิเคราะห์คุณภาพของบราวนี่ที่เติมผงกากข้าวโพดหวานทดแทนแป้งสาลี ได้แก่ วัดค่าสี L* a* b* (Colorimeter รุ่น NR200) ค่า water activity (AOAC, 2016) และวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยใช้ผู้ทดสอบชิม 60 คน เพื่อทดสอบความชอบทางด้านการยอมรับโดยรวม สี ลักษณะปรากฏ รสชาติ และเนื้อสัมผัส โดยใช้ 9 Point Hedonic Scale และนำตัวอย่างที่ผ่านการคัดเลือกโดยดูจากค่าคะแนนการยอมรับโดยรวมที่ไม่แตกต่างกับตัวอย่างควบคุม ($p>0.05$) ไปวิเคราะห์วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า คาร์โบไฮเดรต และใยอาหาร (AOAC, 2016) และปริมาณวิตามินเอ (เบต้าแคโรทีน) (Munzuroglu และคณะ, 2003) เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) สำหรับตรวจสอบค่าทางกายภาพและเคมี และวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) สำหรับการตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส วิเคราะห์ความแปรปรวนและทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan’s Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

กากข้าวโพดหวานที่เหลือจากการผลิตน้ำนมข้าวโพดหลังการอบแห้งและบดให้ละเอียดมีร้อยละของผลผลิต (% yield) เท่ากับ 18.16 เมื่อนำไปวิเคราะห์ค่าทางเคมีพบว่ามีองค์ประกอบทางเคมีแสดงดัง Table 1 ซึ่งผลที่ได้ใกล้เคียงกับ ศุภรินธร์ (2553) รายงานผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของผงกากข้าวโพดหวานพบว่ามี ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า คาร์โบไฮเดรต และใยอาหาร ร้อยละ 4.61 0.18 13.96 1.41 และ 27.41 ตามลำดับ นอกจากนั้นแล้วในผงกากข้าวโพดหวานยังมีปริมาณวิตามินเอ (เบต้าแคโรทีน) 271.87 $\mu$g/100g และค่าสี L* 50.14 a* 8.56 และ b* 28.57 (Figure 1c) เมื่อเติมผงกากข้าวโพดหวานเพื่อทดแทนแป้งสาลีใน บราวนี่ 5 ระดับ คือ ร้อยละ 0 (สูตรควบคุม) 25 50 75 และ 100 (โดยน้ำหนักแป้ง) (Figure 2) พบว่าการเติมผงกากข้าวโพดหวานลงในบราวนี่ทำให้ค่าความสว่าง (L*) ลดลง ขณะที่ค่าความเป็นสีแดง (a*) และค่าความเป็นสีเหลือง (b*) เพิ่มขึ้น ($p\leq0.05$) เนื่องจากในกากข้าวโพดหวานมีสารสีกลุ่มแคโรทีนอยด์ โดยเฉพาะสารเบต้าแคโรทีนซึ่งเป็นสารสี เหลือง ส้มหรือแดงที่เป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งสารเคโรทีนอยด์นั้นสามารถพบได้ทั่วไปในผลไม้และผักที่มีสีเหลือง ส้มและแดง Scott และ Eldridge (2005) พบว่าในข้าวโพดฝักสดพันธุ์ White Shoepeg (WS) และ Golden Whole Kernel (GWK) มีปริมาณสารเบต้าแคโรทีน 0.82 และ 15.69 $\mu$g/100g ตามลำดับ ส่วนค่า water activity ของผงกากข้าวโพดไม่พบความแตกต่าง ($p>0.05$) ดัง Table 2

ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส (Table 3) พบว่าบราวนี่ที่เติมผงกากข้าวโพดหวานทดแทนแป้งสาลีที่ระดับร้อยละ 100 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ของค่าคะแนนความชอบในทุกๆ ด้าน ได้แก่ ความชอบโดยรวม สี ลักษณะปรากฏ รสชาติและเนื้อสัมผัสเมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีการเติมผงกากข้าวโพดหวาน ควบคุม จากการทดลองสังเกตได้ว่าปริมาณผงกากข้าวโพดหวานที่เพิ่มขึ้นส่งผลการยอมรับด้านสีของผู้ทดสอบชิม ดังนั้นจึงเลือกบราวนี่ที่เติมผงกาก

ข้าวโพดหวานทดแทนแป้งสาลีที่ระดับร้อยละ 100 ไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม พบว่ามีปริมาณโปรตีน เถ้า และวิตามินเอ (เบต้าแคโรทีน) สูงกว่าตัวอย่างควบคุม ($p \leq 0.05$) โดยมีปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า คาร์โบไฮเดรต และใยอาหาร ร้อยละ 15.28 6.75 23.82 2.10 52.05 และ 4.62 ตามลำดับ ปริมาณวิตามินเอ (เบต้าแคโรทีน) 89.76 ไมโครกรัม/100 กรัม (Table 4) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Lao และคณะ (2019) พบว่าเมื่อเติมผงกากข้าวโพดหวาน (ข้าวโพดพันธุ์ YT28) เพื่อทดแทนแป้งสาลีในเค้กทำให้เค้กมีปริมาณปริมาณเบต้าแคโรทีนเพิ่มขึ้นจาก 2.35 ไมโครกรัม/100 กรัม (ผงกากข้าวโพดหวานร้อยละ 0) เป็น 4.59 ไมโครกรัม/100 กรัม (ผงกากข้าวโพดหวานร้อยละ 100)

## สรุปผล

การเติมผงกากข้าวโพดหวานเพื่อทดแทนแป้งสาลีในบราวนี่ส่งผลให้ค่าความสว่าง (L*) ลดลง ขณะที่ค่าความเป็นสีแดง (a*) และค่าความเป็นสีเหลือง (b*) เพิ่มขึ้น นอกจากนั้นแล้วตัวอย่างที่เติมผงกากข้าวโพดหวานที่ระดับร้อยละ 100 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ของค่าคะแนนความชอบในทุกๆ ด้าน ได้แก่ ความชอบโดยรวม สี ลักษณะปรากฏ รสชาติและเนื้อสัมผัสเมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีการเติมผงกากข้าวโพดหวาน นอกจากนั้นบราวนี่สูตรดังกล่าวยังมีปริมาณโปรตีน เถ้า และวิตามินเอ (เบต้าแคโรทีน) สูงกว่าตัวอย่างควบคุม ($p \leq 0.05$) ดังนั้นสามารถใช้ผงกากข้าวโพดหวานทดแทนแป้งสาลีในการทำบราวนี่ได้สูงถึงร้อยละ 100 โดยน้ำหนักแป้ง

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณโครงการส่งเสริมการวิจัยของศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประจำปีงบประมาณ 2563 ที่สนับสนุนทุนสำหรับการวิจัยครั้งนี้

**Figure 1** Sweet corn residue (a) sweet corn cake, (b) dried sweet corn cake, (c) dried sweet corn cake powder

**Figure 2** Appearance of brownies added dried sweet corn cake powder.

**Table 1** Chemical compositions of dried sweet corn cake powder.

| Moisture (%) | Protein (%) | Total fat (%) | Ash (%) | Total carbohydrate (%) | Total Dietary Fiber (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| 2.76±0.87 | 16.67±0.31 | 9.10±0.79 | 2.56±0.16 | 68.91±0.12 | 23.60±0.44 |

**Table 2** Color value (L*, a*, b*) and water activity of brownies added dried sweet corn cake powder.

| % DSCP | L* | a* | b* | Water activity$^{ns}$ |
|---|---|---|---|---|
| control | 36.80±0.56$^{a}$ | 1.35±0.25$^{b}$ | 1.35±0.17$^{c}$ | 0.760±0.02 |
| 25%, w/w | 35.54±0.08$^{b}$ | 1.48±0.09$^{ab}$ | 1.59±0.11$^{bc}$ | 0.784±0.00 |
| 50%, w/w | 35.62±0.01$^{b}$ | 1.64±0.21$^{ab}$ | 1.97±0.37$^{ab}$ | 0.750±0.03 |
| 75%, w/w | 34.68±0.05$^{c}$ | 1.67±0.11$^{ab}$ | 2.12±0.04$^{a}$ | 0.749±0.01 |
| 100%, w/w | 34.70±0.34$^{c}$ | 1.80±0.00$^{a}$ | 2.32±0.02$^{a}$ | 0.781±0.00 |

$^{a, b, c}$ … within columns represent significant difference (p≤0.05). ns mean statically non significance.

**Table 3** Sensory evaluation of brownies added dried sweet corn cake powder.

| % DSCP | Overall (ns) | Color | Appearance$^{ns}$ | Taste$^{ns}$ | Texture$^{ns}$ |
|---|---|---|---|---|---|
| control | 7.33±1.08 | 7.17±1.29$^{b}$ | 7.13±1.14 | 7.32±1.08 | 7.32±1.23 |
| 25%, w/w | 7.07±1.43 | 7.15±1.23$^{b}$ | 7.08±1.00 | 6.93±1.53 | 7.00±1.33 |
| 50%, w/w | 7.27±1.25 | 7.53±0.85$^{a}$ | 7.42±0.98 | 7.25±1.42 | 7.23±1.18 |
| 75%, w/w | 7.27±1.10 | 7.27±1.53$^{ab}$ | 7.22±1.21 | 7.10±1.37 | 7.18±1.26 |
| 100%, w/w | 7.15±1.07 | 7.38±1.24$^{ab}$ | 7.22±1.25 | 6.90±1.47 | 7.18±1.32 |

$^{a, b, c}$ … within columns represent significant difference (p≤0.05). ns mean statically non significance.

**Table 4** Chemical compositions of brownies added dried sweet corn cake powder.

| % DSCP | Moisture$^{ns}$ (%) | Protein (%) | Total fat$^{ns}$ (%) | Ash (%) | Total carbohydrate$^{ns}$ (%) | Total Dietary fiber$^{ns}$ (%) | Vitamin A (beta-carotene) (μg/100g) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0 (control) | 15.28±0.58 | 6.75±0.00$^{b}$ | 23.82±0.03 | 2.10±0.03$^{b}$ | 52.05±0.05 | 4.62±0.62 | 89.76±1.57$^{b}$ |
| 100 | 13.05±0.67 | 7.31±0.05$^{a}$ | 24.81±1.97 | 2.34±0.02$^{a}$ | 52.51±1.37 | 6.75±0.57 | 121.55±0.24$^{a}$ |

$^{a, b, c}$ … within columns represent significant difference (p≤0.05). ns mean statically non significance.

## เอกสารอ้างอิง

ไชยสิทธิ์ พันธุ์ฟูจินดา เลอลักษณ์ เสถียรรัตน์ และอรวัลภ์ อุปถัมภานนท์, 2560, การพัฒนาผลิตภัณฑ์บราวนี่โดยใช้แป้งข้าวเหนียวดำทดแทนแป้งสาลี, วารสารมทร.อีสาน ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 10(1): 107-119.

ณนนท์ แดงสังวาลย์ น้องนุช ศิริวงศ์ และศิริพร เรียบร้อย, 2554, การใช้แป้งกล้วยน้ำว้าทดแทนแป้งสาลีในบราวนี่, การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49, กรุงเทพฯ, หน้า 66-73.

ปรียานุช บุญราศรี, 2557, การศึกษาการสกัดและสมบัติของเซอีนจากกากที่เหลือจากการผลิตนมข้าวโพด, วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, 81 หน้า

ศุภรินทธร์ มหาสวัสดิ์, 2553, ผลของการเติมผงกากข้าวโพดต่อสมบัติทางกายภาพของวอฟเฟิล, การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48, กรุงเทพฯ, หน้า 147-154.

AOAC, 2016, Official Methods of the Analysis of AOAC International, 20th ed., Maryland, U.S.A.

Lao, Y.X., Yu, Y.Y., Li, G.K., Chen, S.Y., Li, W., Xing, X.P., Wang, X.M., Hu, J.G. and Guo, X.B., 2019, Effect of Sweet Corn Residue on Micronutrient Fortification in Baked Cakes, Foods, 8: 1-13.

Munzuroglua, O., Karatasb, F. and Geckil H., 2003, The Vitamin and Selenium Contents of Apricot Fruit of Different Varieties Cultivated in Different Geographical Regions, Food Chemistry, 83 (2): 205–212.

Prissana, B., 2005, 10 BEST BROWNIES, 2nd ed, Bangkok, Wayladee Publisher.

Scott, C.E. and Eldridge, A.L., 2005, Comparison of Carotenoid Content in Fresh, Frozen and Canned Corn, Journal of Food Composition and Analysis, 18: 551–559.

# ผลของสารสกัดจากใบชาในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคขั้วหวีเน่าของกล้วยหอม
# Effect of Tea Extract on the Inhibition of Banana Crown Rot Pathogens

**Zaryab Raza[1] กัลยา ศรีพงษ์[1] อภิรดี อุทัยรัตนกิจ[1, 2] ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์[1] พนิดา บุญฤทธิ์ธงไชย[1, 2] และ ผ่องเพ็ญ จิตอารีย์รัตน์[1, 2, *]**
**Raza, Z.[1], Sripong, K[1], Uthairatanakij, U.[1, 2], Laohakuljit, N.[1], Boonyaritthongchai, P.[1, 2] and Jitareerat, P.[1, 2, *]**

## Abstract

A common postharvest disease of Cavendish banana is crown rot caused by three major fungal pathogens including *Colletotrichum musae*, *Fusarium* sp. and *Lasiodiplodia theobromae*. The objective of this study was to investigate the effect of black tea (BT) extract at 0 (control), 1, 5, 10, 20, 50 mg/ml on mycelium growth and spore germination of these pathogens. The result showed that BT extract could inhibit the mycelium growth of those fungi. The inhibitory degree increased as the increase of BT concentration. The maximum inhibition was 50 mg/ml which their inhibitory percentages on mycelium were 51.18%, 41.42% and 26.44% in *Fusarium* sp., *C. musae*, and *L. theobromea* respectively. In addition, BT extract at 50 mg/ml inhibited the spore germination of *Fusarium* sp. and *C. musae* by 26.4 and 8.32-fold of the control. This result implies that BT extract may be a new approach as the alternative treatment for controlling crown rot disease in banana.

**Keywords:** banana, crown rot, postharvest disease, spore germination

## บทคัดย่อ

โรคหลังการเก็บเกี่ยวของกล้วยหอมที่พบเสมอคือ ขั้วหวีเน่า มีสาเหตุจากเชื้อรา 3 ชนิด ได้แก่ *Colletotrichum musae*, *Fusarium* sp. และ *Lasiodiplodia theobromae* งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารสกัดใบชาดำที่ 0 (ชุดควบคุม), 1, 5, 10, 20, 50 mg/ml ต่อการเจริญเส้นใยและการงอกของสปอร์เชื้อราเหล่านี้ พบว่าสารสกัดใบชาดำสามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยของราทั้งสามนี้ได้ โดยระดับการยับยั้งเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัด โดยที่ความเข้มข้น 50 mg/ml สามารถยับยั้งเส้นใยได้สูงสุด ซึ่งสามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อ *Fusarium* sp., *C. musae* และ *L. theobromea* ได้ 51.18%, 41.42% และ 26.44% ตามลำดับ ขณะที่ที่ความเข้มข้น 50 mg/ml สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ *Fusarium* sp. และ *C. musae* ลงได้ 26.4 และ 8.32 เท่าของสปอร์ชุดควบคุม งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดใบชาดำเป็นวิธีที่สามารถใช้ควบคุมโรคขั้วหวีเน่าของกล้วยได้

**คำสำคัญ:** กล้วย ขั้วหวีเน่า โรคหลังการเก็บเกี่ยว การงอกของสปอร์

## Introduction

Bananas belonging to the family *Musaceae,* popular globally not only for their nutritional value but also for their economic importance. These are grown in over 130 countries across the world in an area of 10.1 million ha producing 121.85 million tones (FAO, 2009; Sidhu and Zafar, 2018). In Thailand, bananas have been increasingly important not only for domestic consumption but also for overseas exports. Crown rot is considered to be the main postharvest disease of export banana (Lassois and de Bellaire, 2014). Predominantly fungal agents of crown

[1] คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี 49 ซ.เทียนทะเล 25 ถ. บางขุนเทียน-ชายทะเล แขวงท่าข้าม กทม.10150
[1] School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi, 49 Thian Thale 25, Bangkhun-thien rd., Thakam, Bangkok, 10150 Thailand
[2] ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม กรุงเทพมหานคร 10400
[2] Postharvest Technology Innovation Center, Ministry of Higher Education, Science, Research and Innovation, Bangkok 10400, Thailand

rot disease are *C. musae*, *L. theobromae,* and *Fusarium* spp. (Kamel et al., 2016). Fungicides are often applied but it has an adverse effect on the environment and human health. Plant extract can be an alternative method to control fungal pathogens. Previously, tea polyphenol (TP) extract has been applied to test its inhibitory effects on three species of plant pathogenic fungi, *Bipolaris maydis*, *C. musae*, and *F. oxysporum* (Yang and Zhang, 2019). *In vivo* test, TP exhibited an inhibitory effect against stem-end rot (a postharvest disease caused by *Diplodia natalensis*) in citrus fruit at concentrations of 0.1%, 0.5%, and 1.0%. Further, the inhibitory activity of TP was confirmed again to against gray mold disease of grapefruits caused by *Botrytis cinerea.* Previous study demonstrated that TP extract at 0.1% could inhibit the spore germination of *B. cinerea* significantly, and mycelium growth was significantly inhibit. (Liu et al., 2010). Thus, this preliminary research aimed to study the efficiency of black tea extract on mycelium growth and spore germination of *C. musae*, *L. theobromae,* and *Fusarium* sp. which are the causal agents of banana crown rot.

## Materials and methods

**Preparation of black tea (BT) extract:** BT extract was prepared as the method of Bansode (2016). Ten gram of dry black tea was ground using a pastel and motor, and 200 ml of distilled water was added, then boiled at 60°C for 1 h. Afterward, the sample was cooled down at room temperature, separation of the liquid and solid form was done by using Whatman no 1 paper that was equipped with a suction pump filtration for three times. Subsequently, tea extract takes from the chamber to the rotary evaporator equipped with the water bath at 60 °C. BT crude extract was kept at -20°C for this study.

**Effect of BT extract on mycelium growth and spore germination of crown rot pathogens:** *C. musae*, *L. theobromae,* and *Fusarium* sp. were isolated from the crown of banana using tissue transplanting method. For mycelium growth test, the mycelial disc (∅ 0.5 cm) of 5-7 days-old culture of each fungus were placed at the center of potato dextrose agar (PDA) plate, that PDA was contained with BT extract at different concentrations; 0 (control), 1, 5, 10, 20 and 50 mg/ml. The petri dish was incubated at 26±2°C) for 3-10 days depending on the type of pathogen. The diameter of mycelium growth on the surface of the PDA was measured every day by the ruler until the observed growth in the control reached the edge of the Petri plates. The percentage of mycelial inhibition was calculated as the following formulation: [(dc-dt) dc x100] (Lim et al., 2002), where dc = mean colony diameter of control samples, and dt = mean colony diameter of treated samples. For spore germination test, 0.1 ml of spore suspension at $10^3$ spores/ml of each pathogen was spread on the surface of PDA contained with BT extract at 0 (control), 1, 5, 10, 20 and 50 mg/ml. The PDA plates were incubated at 26±2°C for 1 day. The numbers of the fungal colony on PDA were counted. Each treatment was consisted of four replications. The data was analyzed by Statistical Analysis System (SAS) software. The mean difference was determined using Duncan's multiple tests at $P<0.05$.

## Results and Discussion

The antifungal effect of BT extract on the mycelial growth of crown rot pathogens is shown in Figure 1. The inhibitory effect of BT extract against *Fusarium* sp., *C. musae* and *L. theobromae* at concentration of 50 mg/ml was significantly higher than other treatments. Besides, 50 mg/ml BT extract gave better result in inhibiting the growth of *Fusarium* sp. than *C. musae* and *L. theobromae.* The inhibitory effect of BT extract on spore germination is showed in Figure 2. The spore germination rate of *C. musae* and *Fusarium* sp was significantly lower in the BT treatment than that of control. But at the maximum concentration (50 mg/ml) could not inhibit the spore germination of both *Fusarium* sp. and *C. musae* completely. Similar research reported that BT at 0.5%

and 1.0% significantly inhibited spore germination and mycelium growth of *Diplodia natalensis,* cause of stem-end rot in citrus fruit respectively (Liu et al., 2010). Previous studies also showed that tea polyphenol (TP) (5-10 mg/ml) could inhibit the mycelial growth and spore germination of *B. maydis*, *C. musae,* and *F. oxysporum* (Wang et al., 2008), *Pyricularia oryzae*, which causes rice blast disease (Wang et al., 2011) and *Phytophthora cryptogea*, *Pestalotiopsis apiculatus*, *Colletotrichum Horii*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *C. fructicola*, *Rhizoctorzia solani*, *L. theobromae*, and *F. oxysporum* (Zou et al., 2017). This research concluded that phenolic and catechins in tea are the key compounds to against the fungi. TP treatment changed the membrane permeability of fungi which can be indirectly detected by measuring the electrolyte leakage. This would disrupt fungal growth or even cell death (Shadmani et al., 2015). However, the present result shows that 50 mg/ml BT extract showed the highest inhibitory effect on mycelium growth and spore germination of crown rot pathogens. Therefore, BT extract may have the good promising to control crown rot disease of banana.

## Summary

Concerning environmental protection, finding ‘friendly antifungal agents’ from plants is an appropriate approach to achieve plant protection without polluting the environment. Our findings suggest that BT extract is high effective against crown rot fungi of bananas. BT extract at 50 mg/ml significantly inhibited the mycelium growth of *Fusarium* sp., *C. musae* and *L. theobromae and* the spore germination of *C. musae* and *Fusarium* sp. when compared with the control. Thus, BT extract is a possible alternative to chemical treatment. For future, the application of BT extract *in vivo* test should be studied.

## Acknowledgements

The authors thank to the KMUTT International Scholarship Program (KISP) for the first author and the United Graduated School of Agricultural Science (UGSAS), Gifu University for supporting research equipment.

## References

FAO, 2009, Food and Agriculture Statistical Databases (FAOSTAT), In: http://faostatfao.org

Bansode, P., 2016, Spectrophotometric Determination of Total Phenolic Content of Some Commonly Consumed Teas in Imdia, Bionano Frontier, 7(1): 78-80.

Kamel, M.A.M., Cortesi, P. and Saracchi, M. 2016. Etiological Agents of Crown Rot of Organic Bananas in Dominican Republic, Postharvest Biology and Technology, 120 : 112-120.

Lassois, L. and de Lapeyre and Bellaire, L. de L., 2014, Crown Rot Disease of Bananas. *In* Ed. By Silvia Bautista-Banos. Postharvest Decay: Control Strategies. Amsterdam, Elsevier, pp. 102-130.

Liu, H.M., Guo, J. H., Liu, P., Cheng, Y. J., Wang, B. Q., Long, C. A. and Deng, B. X., 2010, Inhibitory Activity of Tea Polyphenol and *Candida ernobii* Against *Diplodia natalensis* Infections, Journal of Applied Microbiology, 108(3): 1066-1072.

Lim, J.Y., Lim, T.H., and Cha, B.J., 2002, Isolation and Identification of *Colletorichum musae* from Imported Bananas, The Plant Pathology Journal, 18(3): 161–164.

Sidhu, J.S. and Zafar, T.A., 2018, Bioactive Compounds in Banana Fruits and Their Health Benefits, Food Quality and Safety, 2(4): 183–188.

Shadmani, N., Ahmad, S. H., Saari, N., Ding, P., and Tajidin, N.E., 2015, Chilling Injury Incidence and Antioxidant Enzyme Activities of *Carica papaya* L. “Frangi” as Influenced by Postharvest Hot Water Treatment and Storage Temperature, Postharvest Biology and Technology, 99: 114–119.

Wang, J., Qiu Y., Chen, H., Lu H., Lin, X. and Ma, L., 2008, Inhibitive Action of Tea-polyphenol on Some Plant Pathogenic Fungi, Natural Product Research, 20: 690 – 694.

Wang, J. Qiu Y., Fu J., Han J. and Feng W., 2011,. Inhibitive Effect of Tea-polyphenols on *Pyricularia oryzae* and Its Mechanism, Natural Product Research Dev., 23: 918 – 922.

Yang, Y. and Zhang, T., 2019, Antimicrobial Activities of Tea Polyphenol on Phytopathogens: A Review, Molecules, 24(4):816-240

Zou, D., Liao W., Huang H. and Jiang X., 2017, The Inhibition Effect of Tea Polyphenol on 8 Kinds of Plant Pathogenic Fungi. Guangxi Forest Science, 46:412–415.

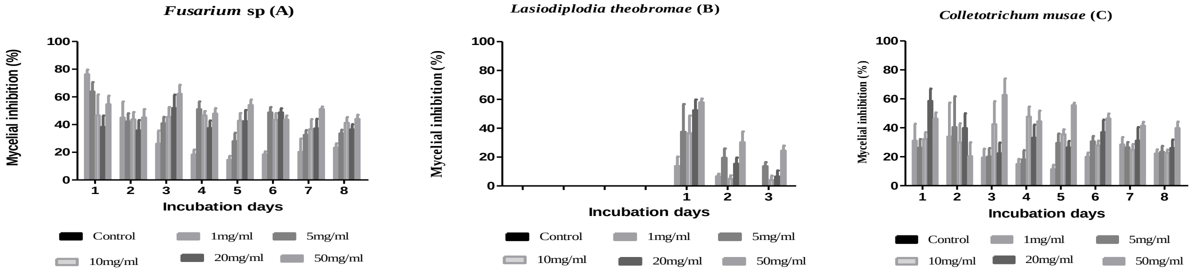



**Figure 1** Effect of black tea (BT) extract at 0 (control), 1, 5, 10, 20 and 50 mg/ml on mycelium growth of *Fusarium* sp. (A), *L. theobromae* (B), and *C. musae* (C) during incubated at 26±2°C for 3 or 8 days. Bars represent the standard errors of the means between treatments.

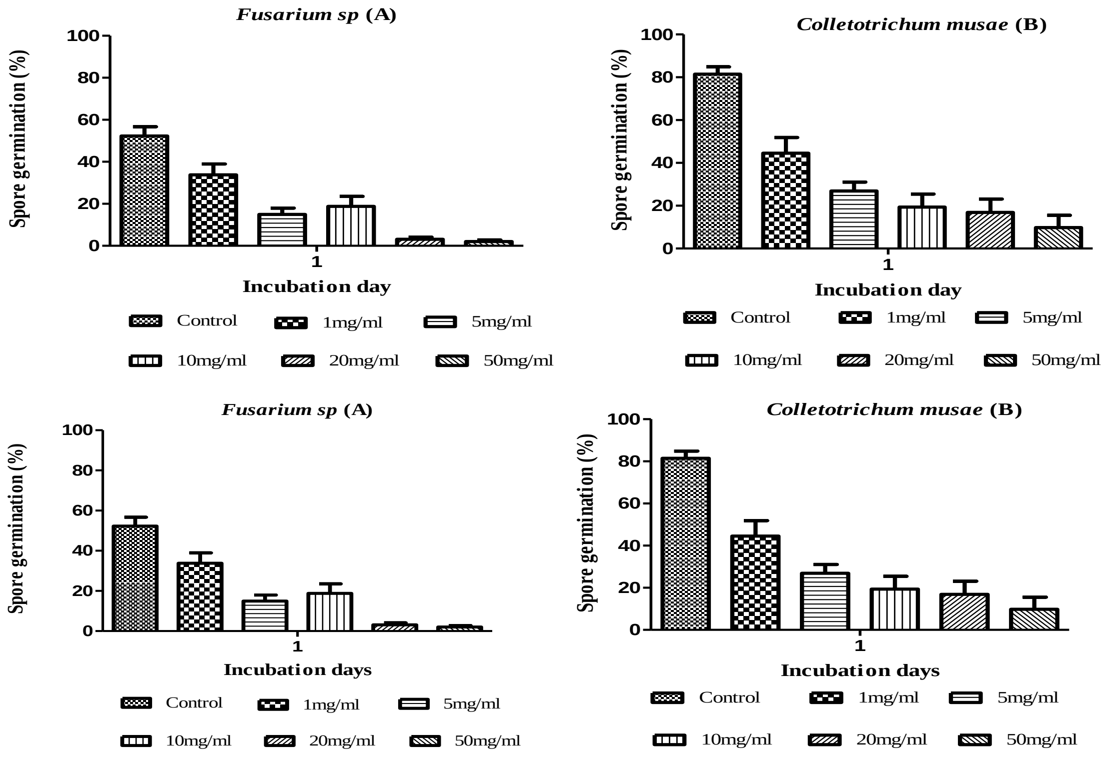



**Figure 2** Effect of black tea (BT) extract at 0 (control), 1, 5, 10, 20 and 50 mg/ml on spore germination of *Fusarium* sp. (A) and *C. musae* (B) during incubated at 26±2°C for 1 day. Bars represent the standard errors of the means between treatments.

# สารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมะแป่ม
# Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of *Earcinia Gragilis Pierre* Extracts

**สุนันท์ นวลเพ็ง[1] กษมา ชารีโคตร[2] และ จริยา นิวงศา[3]**
**Nuanpeng, S.[1], Chareekhot, K.[2] and Niwongsa, J.[3]**

## Abstract

This research aimed to study the ethanolic extraction of *Earcinia Gragilis Pierre*, a plant found in Bueng Khong Long District, Bueng Kan Province. The ethanol was varied from 0, 50, 75 and 100% (v/v) and analyzed phenolic compounds, antioxidant activity and anthocyanin content. The results of the study showed that ethanol extraction at a concentration of 75% (v/v) gave the maximum phenolic compound content of 794.20±9.90 μgGAE/g. Maximum antioxidant activity was 266.99±6.01 μgGAE/g. The total anthocyanin content was 52.05±0.01 μg equivalent cyanidin–3–glucoside per gram.
**Keywords:** ethanol extraction, antioxidant, Phenolic compound, *Earcinia Gragilis Pierre*

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการสกัดมะแป่มด้วยเอทานอล ซึ่งเป็นพืชที่พบในได้พื้นที่อำเภอบึงโขลงหลง จังหวัดบึงกาฬ โดยการสกัดด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 0, 50, 75 และ 100% (v/v) และทำการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารแอนโทไซยานิน ผลการศึกษาพบว่า การสกัดมะแป่มด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 75% (v/v) ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุดเท่ากับ 794.20±9.90 μg GAE/g ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด เท่ากับ 266.99±6.01 μg GAE/g และพบว่ามีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด เท่ากับ 52.05±0.01 ไมโครกรัมสมมูล cyanidin–3–glucoside ต่อกรัม
**คำสำคัญ:** การสกัดด้วยเอทานอล สารต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิก มะแป่ม

## คำนำ

มะแป่ม (*Earcinia gragilis* Pierre) เป็นไม้ยืนต้น อยู่ในวงศ์ Guttiferae มีความสูง 3-5 เมตร ใบเป็นใบเดี่ยว ผลมีสีแดงคล้ายมังคุด พบในจังหวัดบึงกาฬ โดยเฉพาะในเขตรักษาเขตห้ามล่าสัตว์ป่าบึงโขงหลง ผลมะแป่มมีลักษณะคล้ายกับมังคุด ซึ่งมีรายงานพบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดมีสารต้านอนุมูลอิสระ และสารประกอบฟีนอลิกสูง โดยเฉพาะแทนนิน ฟาโวนอยด์ และแซนโทรน ในรูปของ Þ-mangostin (Yu และคณะ, 2007) นอกจากนี้หลายงานวิจัย พบว่าสารประกอบฟีนอลิกสามารถยับยั้งการเจริญติบโตของเชื้อโรคได้ ทำให้ในปัจจุบันมีการใช้ประโยชน์จากสารสกัดจากเปลือกมังคุดในด้านต่างๆ เช่น เครื่องสำอาง ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ยาสมุนไพร เป็นต้น (Pothitirat และคณะ, 2009) Kittipat และคณะ (2008) พบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุด สามารถยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus* spp. ซึ่งทำให้เมล็ดเน่าในถั่วเขียวได้

วิธีการสกัดเป็นกระบวนการที่สำคัญเพื่อใช้ในการสกัดของสารประกอบฟีนอลิกจากวัสดุจากพืช เนื่องจากความซับซ้อนของสารประกอบฟีนอลิกและเชื่อมกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ ของพืช (Naczk และ Shahidi, 2006; Contini, 2008) มีหลายปัจจัยสามารถมีผลต่อประสิทธิภาพการสกัดรวมถึงวิธีการสกัดชนิดของตัวทำละลายและความเข้มข้นขนาดอนุภาค ระยะเวลาในการสกัด อุณหภูมิ อัตราส่วนตัวทำละลายต่อของแข็ง และ pH ในการสกัด (Chirinos และคณะ, 2007) Pothitirat และคณะ (2009) ศึกษาการสกัดเปลือกมังคุด พบว่าการสกัดด้วยเอทานอลที่ความเข้นข้น 50% (v/v) ได้สารประกอบฟีนอลิก และแทนนินสูงที่สุด งานวิจัยของ Do และคณะ (2014) พบว่าการสกัดผักแขยงโดยใช้เมทานอล เอทานอล และน้ำ พบว่าการสกัดด้วยเอทา

[1] สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี ศูนย์สามพร้าว 234 หมู่ 12 ตำบลสามพร้าว อำเภอเมือง จังหวัดอุดรธานี 41000
Program in Biotechnology, Faculty of Technology, Udon Thani Rajabhat University Sam Phrao Center, 234 Moo 12, Sam Phrao Sub district, Muang District, Udon Thani Province 41000
[2] สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี ศูนย์สามพร้าว 234 หมู่ 12 ตำบลสามพร้าว อำเภอเมือง จังหวัดอุดรธานี 41000
Program in food Science and technology, Faculty of Technology, Udon Thani Rajabhat University Sam Phrao Center, 234 Moo 12, Sam Phrao Sub district, Muang District, Udon Thani Province 41000
[3] สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี ศูนย์สามพร้าว 234 หมู่ 12 ตำบลสามพร้าว อำเภอเมือง จังหวัดอุดรธานี 41000
Program in Biotechnology, Faculty of Technology, Udon Thani Rajabhat University Sam Phrao Center, 234 Moo 12, Sam Phrao Sub district, Muang District, Udon Thani Province 41000

นอล 100% (v/v) ให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดสูงที่สุด ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงศึกษาการสกัดผลมะแป่มด้วยเอทานอล โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการสกัดมะแป่มด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้นต่างๆ และวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิก รวมถึงสารประกอบอื่นๆ

## อุปกรณ์และวิธีการ

**การเตรียมตัวอย่างมะแป่ม**

ชั่งมะแป่ม 200 กรัม แช่ในเอทานอลที่ความเข้มข้น 0, 50, 75 และ 100% (v/v) ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นกรองเอาส่วนใสไปทำการวิเคราะห์

**การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก**

ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดวิเคราะห์โดยวิธี Folin Ciocalteu method (Singleton and Rossi, 1965) โดยปิเปตสารละลายของสารสกัด 0.1 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 1.9 มิลลิลิตร เติมสารละลาย Folin – Ciocalteu Reagent 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (7.5% w/v) 1.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer และการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกด้วยเครื่อง HPLC ตามวิธีของ Butsat และ Siriamornpun, 2010

**วิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี DPPH**

วิธี DPPH (1, 1-diphenyl-2picrylhydrazyl radical scavenging assay) (Brand- Williams และคณะ, 1995) ผสมสารละลายตัวอย่างที่เจือจางแล้ว 100 µl กับสารละลายดีพีพีเอช 2,900 µl ใน หลอดทดลอง ตั้งทิ้งไว้ที่มืดเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm โดยใช้แกลลิกเป็นสารมาตรฐาน

**การวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานิน**

วิเคราะห์โดยใช้วิธี pH differential (Giusti and Wrolstad, 2001) โดยใช้เครื่องสเปคโตรโฟโตรมิเตอร์ รุ่น UV1800 บริษัท Shimadzu วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 และ 700 นาโนเมตร ปริมาณแอนโธไซยานินคำนวณในรูปของไซยานิดิน -3- กลูโคไซด์ต่อน้ำหนักสดกรัม และค่า extinction coefficient เท่ากับ 26,900 $Lcm^{-1}mol^{-1}$ และมวลโมเลกุลมีค่าเท่ากับ 449.2 $gmol^{-1}$

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการศึกษาการสกัดผลมะแป่มด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 0, 50, 75 และ 100% (v/v) ผลการศึกษาพบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอทานอลในการสกัด ปริมาณสารประกอบฟีนอลลิก สารต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารแอนโทไซยานิน มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น และการสกัดด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 75% (v/v) ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลลิก สารต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุดเท่ากับ 764.20±10.47 µg GAE/g (Figure 1) 267.00±1.20 µg GAE/g (Figure 2) และ 52.05±0.12 µg GAE/g (Figure 2) ตามลำดับ ในขณะที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 100% (v/v) พบว่าปริมาณสารต่างๆ มีค่าลดลง ทั้งนี้เนื่องจากน้ำที่ผสมลงไปในตัวทำละลายเพื่อปรับความเข้มข้นของตัวทำละลายนั้นจะไปช่วยเพิ่มความแข็งแรงของพันธะไฮโดรเจนที่หมู่ไฮดรอกซิล ทำให้ความเป็นขั้วของตัวทำละลายสูงมากขึ้นส่งผลให้สารแอนโธไซยานินซึ่งเป็นสารที่มีขั้วละลายออกมาอยู่ในตัวทำละลายได้ดีขึ้นและดีกว่าการใช้ตัวทำละลายบริสุทธิ์หรือตัวทำละลายความเข้มข้นสูง (Tiwari และคณะ, 2011, Bimakr และคณะ, 2011) นอกจากนี้งานวิจัยของ Kusmayadi และคณะ (2018) พบว่าการสกัดเปลือกมังคุดด้วย เอทานอล เมทานอล และอะซิโตน ให้ปริมาณแซนโทรนทั้งหมดสูงกว่าการสกัดด้วยน้ำ แสดงให้เห็นว่าสภาพความมีขั้วปานกลาง มีประสิทธิภาพในการสกัดเปลือกมังคุดได้ดี ซึ่ง Metivier และคณะ (1980) รายงานผลการศึกษาการสกัดแอนโธไซยานินจากกากองุ่นหลังการผลิตไวน์ พบว่าการสกัดด้วยเอทานอล มีประสิทธิภาพสูงกว่าน้ำ เอทานอลสามารถสกัดสารแอนโธไซยานินได้สูงกว่า เมื่อพิจารณาจากค่าคงที่ไดอิเล็กตริค (dielectric constant) ซึ่งเป็นค่าที่วัดความมีขั้วของตัวทำละลาย โดยค่าคงที่ไดอิเล็กตริคของน้ำ และเอทานอล เท่ากับ 80 และ 24 ตามลำดับ ทำให้สามารถทำลายผนังเซลล์ของพืชซึ่งส่วนใหญ่แล้วจะไม่มีขั้ว เมื่อผนังเซลล์แตกออกทำให้สารจำพวกฟีนอลลิกรวมถึงแอนโธไซยานินที่อยู่ภายในผนังเซลล์สามารถออกมาจากเซลล์ (Lapornik และคณะ, 2005) และงานวิจัยของ Plainsirichai และคณะ (2015) พบว่าการศึกษาการสกัดเปลือกมังคุดด้วยเมทานอล และเอทานอล ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก 27,138 และ 19,392 mgGAE/100 gDW ตามลำดับ ในขณะที่การสกัดด้วยน้ำให้ปริมาณต่ำเพียง 7,504 mgGAE/100 gDW

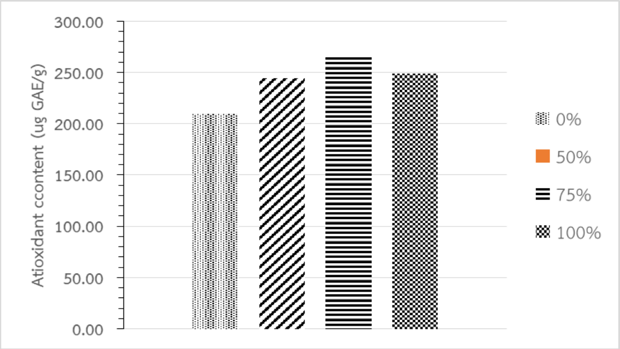



**Figure 1.** Phenolic content of *Earcinia Gragilis Pierre* extract

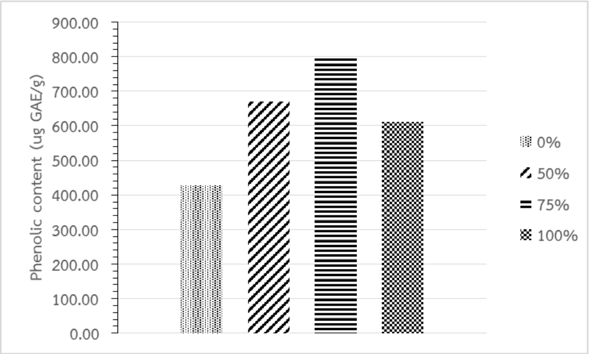



**Figure 2** Antioxidant content of *Earcinia Gragilis* Pierre extract

**Table 1** Total phenolics, antioxidant content and anthocyanin content of *Earcinia Gragilis Pierre.*

| ethanolic extraction | Phenolic content (µg GAE/g) | Antioxidant content (µg GAE/g) | Anthocyanin content (µg GAE/g) |
|---|---|---|---|
| 0: 100 (v/v) | 428.20±7.07[c] | 209.97±3.47[d] | 23.38±0.10[c] |
| 50 : 50 (v/v) | 669.20±8.49[b] | 244.77±6.93[b] | 24.87±0.11[c] |
| 75 : 25 (v/v) | 794.20±9.90[a] | 266.99±6.01[a] | 52.05±0.12[a] |
| 100 : 0 (v/v) | 611.20±14.14[b] | 249.35±5.08[c] | 43.15±0.10[b] |

**ผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกชนิดต่างๆ**

วิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกด้วยเครื่อง HPLC จะเห็นได้ว่าในแต่ละความเข้มข้นของสารสกัดจากมะแป่มมีปริมาณของกรดคลอโรจินิก (chlorogenic acid) มากที่สุด และรองลงมามีปริมาณของกรดเฟอรูลิก (ferulic acid) (Figure 4)

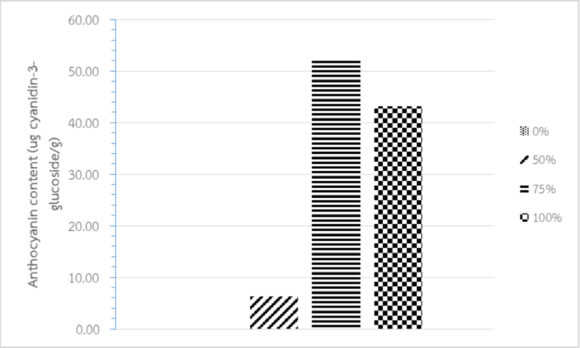



**Figure 3** Anthocyanins content of *Earcinia Gragilis Pierre* extract

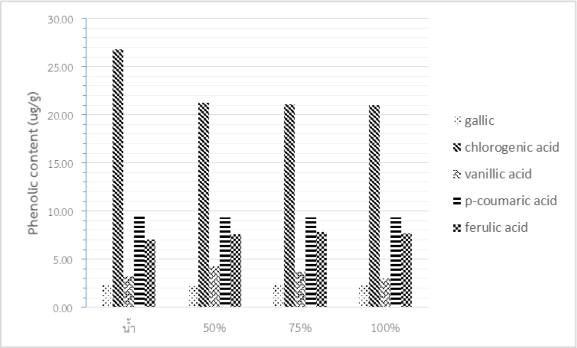



**Figure 4** Phenolic content of *Earcinia Gragilis Pierre* extract

## สรุป

จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของเอทานอลที่เหมาะสมในการสกัดผลมะแป่ม คือ เอทานอล 75% (v/v) ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุดเท่ากับ 794.20±9.90 µg GAE/g ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด เท่ากับ 266.99±6.01 µg GAE/g และพบว่ามีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด เท่ากับ 52.05±0.01 µg cyanidin–3–glucoside/g

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ศูนย์เครื่องมือกลางมหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่ให้ความอนุเคราะห์การเครื่องมือวิเคราะห์ในการทำงานวิจัยในครั้งนี้ และขอบคุณคุณกานดาภร ไชยปากดี ที่ให้ความอนุเคราะห์ผลมะแป่ม ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง


Bimakr, M., Rahman, R.A., Taip, F.S., Ganjloo, A., Salleh, L.M., Selamat, J., Hamid, A. and Zaidul, I.S.M., 2011, Comparison of Different Extraction Methods for the Extraction of Major Bioactive Flavonoid Compounds from Spearmint (*Mentha spicata* L.) Leaves, Food and Bioproducts Processing, 89: 67-72.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. 1995, Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity, LWT-Food Science and Technology, 28: 25-30.

Butsat, S. and Siriamornpun, S., 2010, Antioxidant Capacities and Phenolic Compounds of the Husk, Bran and Endosperm of Thai Rice, Food Chemistry, 119: 606–613.

Chirinos, R., Rogez, H., Campos, D., Pedreschi, R. and Larondellec, Y., 2007, Optimization of Extraction Conditions of Antioxidant Phenolic Compounds from Mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón) Ttubers, Separation and Purification Technology, 55(2): 217-225.

Contini, M., Baccelloni, S., Massantini, R. and Anelli, G., 2008, Extraction of Natural Antioxidants from Hazelnut (*Corylus avellana* L.) Shell and Skin Wastes by Long Maceration at Room Temperature, Food Chemistry, 110 (3): 659-669.

Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S. and Ju, Y. H., 2014, Effect of Extraction Solvent on Total Phenol Content, Total Flavonoid Content, and Antioxidant Activity of *Limnophila aromatic*, Journal of Food and Drug Analysis, 22: 296-302.

Giusti, M.M. and Wrolstad, R.E., 2001, Characterization and Measurement of Aanthocyanins by UV-Visible Spectroscopy: Current Protocols in Food Analytical Chemistry, John Wiley and Sons, Inc., Hoboken, F1.2.1-F1.2.13.

Kittipat, S., Rangjaroen, C., and Nachapong, M., 2008, Efficiency of Mangosteen's Peel Crude Extract for Aromatizing *Aspergillus* spp., $34^{th}$ Congress on Science and Technology of Thailand, Queen Sirikit National Convention Center, Bangkok.

Kusmayadi, A., Adriani, L., Abun, A., Muchtaridi, M., and Tanuwiri, U.H., 2018, The Effect of Solvents and Extraction Time on Total Xanthone and Antioxidant Yields of Mangosteen Peel (*Garcinia mangostana* L.) Extract, Drug Invention Today, 10(12): 2572-2576.

Lapornik, B., Prošek, M. and Golc Wondra, A., 2005, Comparison of Extracts Prepared from Plant By-Products Using Different Solvents and Extraction Time, Journal of Food Engineering, 71: 214-222.

Metivier, R.P., Francis, F.J. and Clydesdale, F.M., 1980, Solvent Extraction of Anthocyanins from Wine Pomace, Journal of Food Science, 45: 1099-1100.

Naczk, M. and Shahidi, F., 2006, Phenolics in Cereals, Fruits and Vegetables: Occurrence, Extraction and Analysis, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 41 (5): 1523-1542.

Plainsirichai, M., Prasomthong, N., Bussaman, P. and Wongsawas, M., 2015, Methanol, Ethanol, and Acetone Result in Non Different Concentration of Total Phenolic Content in Mangosteen (*Gacinia mangostana* L.) Peel, Journal of Agricultural Science, 7(2): 131-134.

Pothitirat, W., Chomnawang, M. T., Supabphol, R., and Gritsanapan, W., 2009, Comparison of Bbioactive Compounds Content, Free Radical Scavenging and Anti-Acne Inducing Bacteria Activities of Extracts from the Mangosteen Fruit Rind at Two Stages of Maturity, Fitoterapia, 80: 442-447.

Singleton, V.L., and Rossi, J.R., 1965, Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents, American Journal of Enology and Viticulture, 16: 144-157.

Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G. and Kaur, H., 2011, Phytochemical Screening and Extraction: A Review, International Journal of Pharmaceutical Sciences, 1: 98-106.

Yu L., Zhao M., Yang B., Qiangzhong Z. and Jiang Y., 2007, Phenolics from Hull of *Garcinia mangostana* Fruit and Their Antioxidant Activities, Food Chemistry, 104: 176–181.

# ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากใบมะหาด

# Antibacterial Activity of Crude Extract from *Artocarpus lakooch*a Roxb. ex Buch.-Ham. Leaves.

**จาตุรงค์ จงจีน และ ศศิธร ธงชัย**[1]
Jongjeen, J. and Thongchai S.[1]

## Abstract

Effect of crude extracts from leaves of *Artocarpus lakoocha* inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* was monitored using maceration extract with 95% ethanol at ratio of 1:5 (w/v), 37$^{O}$C. Results showed that the crude extract from fresh leaves at 400 mg/ml could inhibit the growth of *B. subtilis* and *E. coli* which the maximum inhibition area was 23±8.15 mm and 18.5±7.90 mm, respectively, but not in *S. aureus*. Extracts from dried leaves at 400 mg/ml were able to inhibit *E. coli* and *B. subtilis* which the maximum inhibition area was 19.00±12.63 and 16.5±6.99 mm, respectively. Crude extracts from *A. lakoocha* fresh and dried leaves could exhibit the lowest inhibitory concentration (MIC) at 12.5 mg/ml. which resulted in statistically significant differences (P≤0.05). Results of this study show that crude extract from leaves of *A. lakoocha* could be a potential natural extract for bacteria inhition.

**Keywords:** Bacteria, Crude extract, *Artocarpus lakoocha* leaves

## บทคัดย่อ

การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากใบมะหาดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Bacillus subtilis* โดยนำตัวอย่างใบสดและแห้งมาสกัด ด้วยเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:5 (w/v) อุณหภูมิ 37$^{O}$C พบว่าสารสกัดจากใบมะหาดสดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* ได้ดีที่สุด ที่ความเข้มข้น 400 mg/ml (บริเวณยับยั้ง 23±8.15 มิลลิเมตร) รองลงมาคือ *E. coli* (บริเวณยับยั้ง 18.5±7.90 มิลลิเมตร) แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ ส่วนสารสกัดจากใบแห้งสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ดีที่สุด ที่ความเข้มข้น 400 mg/ml (บริเวณยับยั้ง 19.00±12.63 มิลลิเมตร) รองมาคือ *B. subtilis* (บริเวณยับยั้ง 16.5±6.99 มิลลิเมตร) แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ นอกจากนี้สารสกัดหยาบจากใบมะหาดสดและแห้งให้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้ง (MIC) 12.5 mg/ml. ซึ่งผลที่ได้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05) และจากผลการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบจากใบมะหาดซึ่งเป็นสารสกัดจากธรรมชาติสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้

**คำสำคัญ :** แบคทีเรีย สารสกัดหยาบ ใบมะหาด

## คำนำ**

ปัจจุบันโรคภัยไข้เจ็บที่พบมักจะเกิดขึ้นจากปัจจัยหลายอย่าง ทั้งจากความเป็นอยู่ของมนุษย์และสภาพแวดล้อมที่เป็นสาเหตุ วิวัฒนาการของเชื้อโรคที่มีการกลายพันธุ์โดยเกิดจากการดื้อยาของเชื้อโรคทำให้มีโรคชนิดใหม่เกิดขึ้นมีทั้งจากภายนอกและภายใน สำหรับโรคภายนอกที่พบบ่อยคือ แผล ฝี หนอง แผลเรื้อรังและแผลพุพอง ซึ่งมีสาเหตุจากการติดเชื้อที่สามารถก่อให้เกิดการอักเสบตามมา เชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค คือ เชื้อกลุ่ม *Staphylococus* sp. *Streptococus* sp. และ *Pseudomonas* sp. และยาที่ใช้ในการรักษาส่วนมากจัดเป็นกลุ่มยาปฏิชีวนะ (สุจิตรา และคณะ, 2539) ปัจจุบันทั่วโลกให้ความสนใจกับพืชสมุนไพรเป็นอย่างมากทั้งด้านอุตสาหกรรมอาหาร ยาและเครื่องสำอาง สารสกัดจากพืชสมุนไพรเป็นสารจากธรรมชาติที่มีคุณสมบัติต้านการเกิดมะเร็ง บรรเทาอาการอักเสบ ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลชีพ ที่สำคัญไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพและอนามัยของผู้บริโภค มะหาดจัดเป็นไม้ยืนต้นขนาดใหญ่ที่มีสรรพคุณในการต้านจุลินทรีย์และช่วยขับพยาธิได้ โดยการใช้ส่วนต่างๆ มาแปรรูปหรือสกัดสารที่มีอยู่ภายใน ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากมะหาดที่มีอยู่ในท้องถิ่นในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 3 ชนิด คือ *Staphylococcus aureus* สายพันธุ์ดื้อยา (MRSA) *Escherichia coli* และ *Bacillus subtilis* ซึ่งเป็นสารสกัดที่ได้จากธรรมชาติ เพื่อนำไปใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นด้านเภสัชกรรมในอนาคต

[1]สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี อ.เมือง จ.อุบลราชธานี 34000
[1]Department of Biology, Faculty of Science, Ubon Ratchathani Rajabhat University, Ubon Ratchathani 34000, Thailand

## อุปกรณ์และวิธีการ**

**ตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบ**

เก็บตัวอย่างใบมะหาดจากพื้นที่ปกปักพันธุ์กรรมพืชภายในศูนย์การเรียนรู้วิทยาเขตเขื่องใน มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี ตำบลก่อเอ้ อำเภอเขื่องใน จังหวัดอุบลราชธานี นำมาล้างทำความสะอาด หั่นให้มีขนาดเล็ก ทำการสกัดแบบสดและแบบแห้ง โดยการสกัดแบบแห้งให้นำไปอบที่ 45°C จากนั้นนำมาสกัดด้วยวิธีแช่ยุ่ย (Maceration technique) โดยใช้เอทานอลความเข้มข้น 95% เป็นตัวทำละลาย อัตราส่วน 1:5 (w/v) เป็นเวลานาน 7 วัน เมื่อครบกำหนดนำมากรองแล้วระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง rotary evaporator จนได้สารสกัดหยาบ (Crude extract) เก็บในขวดสีชาอุณหภูมิ 4°C เพื่อนำไปทดสอบต่อไป

**การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งของสารสกัดด้วยวิธี Agar disc diffusion**

เตรียมสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 100 200 และ 400 mg/ml โดยละลายสารสกัดหยาบด้วย DMSO 0.1% เตรียมเชื้อทดสอบ บนอาหาร Mueller Hinton agar (MHA) บ่มที่อุณหภูมิ 37°C 24 ชั่วโมง ทำการย้ายเชื้อทดสอบลงในอาหาร Mueller Hinton broth (MHB) นำไปเขย่าในตู้บ่มเชื้อ (Incubator shaker) 24 ชั่วโมง เพื่อให้เชื้อแบคทีเรียทดสอบเข้าสู่ระยะ Log phase นำมาเตรียมเชื้อที่มีความขุ่นเท่ากับ 0.5 McFarland standard ซึ่งมีความเข้มข้นแบคทีเรียประมาณ $1.5 \times 10^8$CFU/ml จากนั้นทำการ Swab เชื้อลงบนอาหาร MHA จากนั้นหยดสารสกัดแบบสดและแบบแห้งลงในแผ่น disc ในแต่ละความเข้มข้นคือ 100 200 และ 400 mg/ml หลุมละ 100 µl ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ สำหรับชุดควบคุมจะเลือกใช้ยาปฏิชีวนะ Tetracycline ความเข้มข้น 250 µg/ml และ DMSO เข้มข้นที่ 100% นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดทำการอ่านผลโดยวัดขนาดบริเวณใสที่เกิดขึ้นรอบหลุม (Inhibition zone) (อ้างจาก วารีรัตน์, 2557)

**การหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ Minimal inhibitory concentration (MIC) และการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ Minimal bactericidal concatenation (MBC) และวิธี Drop plate**

นำสารสกัดมาทดสอบหาค่า MIC ด้วยวิธี Broth microdilution (โดยให้ความเข้มข้นเริ่มต้น 400 200 100 50 25 12.5 6.5 mg/ml) โดยทำการเติมเชื้อทดสอบจากหลอดที่ 3 ถึงหลอดที่ 9 หลอดละ 10 µl จากนั้นเติมสารสกัดหยาบจากใบมะหาดจากหลอดที่ 2 ถึงหลอดที่ 9 หลอดละ 10 µl โดยหลอดที่ 1 เติมอาหารเปล่า 90 µl เติมอาหารเหลว MHB จากหลอดที่ 1 ถึงหลอดที่ 9 ทำการเจือจางแบบสองเท่า (Two-fold dilution) ในหลอดจากหลอด ที่ 3 ไปจนถึงหลอดที่ 9 แล้วดูดทิ้ง 10 µl นำไปบ่มที่ตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยหลอดที่ 1 เป็นอาหาร MHB อย่างเดียว หลุมที่ 2 เป็นอาหาร MHB และเชื้อทดสอบในการแปลผลการทดสอบหลุมที่ไม่มีการเจริญของเชื้อแบคทีเรียจะมีลักษณะใสความเข้มข้นของหลุมนี้ถือว่าเป็นค่า MIC (mg/ml) และทำการทดสอบหาค่า MBC) ด้วยวิธี Drop plate บนอาหาร MHA ขนาด 10 µl ทิ้งให้แห้งบนผิวหน้าอาหาร นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง การแปลผลค่า MBC คือหลุมที่ไม่มีรอยเชื้อเจริญบนผิวหน้าอาหาร แสดงว่าสารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ (อ้างจาก วารีรัตน์, 2557)

## ผลการวิจัย**

**ลักษณะของสารสกัดหยาบจากใบมะหาด (*Artocarpus lakoocha* Roxb. ex Buch.-Ham.) พบว่า**ใบมะหาดสดและแห้งที่สกัดด้วยวิธี maceration ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% มีลักษณะหนืดเหนียว กึ่งแข็ง สีเขียวเข้ม และมีปริมาณสารร้อยละผลผลิตที่ได้ (% Yield) เท่ากับ 12.5 และ 11.4 ตามลำดับ**ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *S. aureus* สายพันธุ์ดื้อยา (MRSA) *E. coli* และ *B. subtilis* ของสารสกัดหยาบใบมะหาดแบบสดและแบบแห้ง ด้วยวิธีทดสอบ Agar disc diffusion**

พบว่าสารสกัดหยาบใบมะหาดแบบสดที่ระดับความเข้มข้น 400 mg /ml สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ได้ดีที่สุด โดยมี inhibition zone เท่ากับ 23.00±8.15 mm รองลงมาคือ *E. coli* ให้ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดสดที่ 100 mg/ml. โดยมี inhibition zoneg เท่ากับ 18.50±7.91 mm) โดยสารสกัดสดจากใบมะหาดไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* สายพันธุ์ดื้อยา (MRSA) ส่วนสารสกัดแห้งที่ระดับความเข้มข้น 400 mg /ml ให้ผลยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ดีที่สุด (บริเวณการยับยั้งเฉลี่ยเท่ากับ 19±12.635 mm) รองลงมาคือ *B. subtilis* (บริเวณการยับยั้งเฉลี่ยเท่ากับ 16.5±6.998 mm) แต่สารสกัดแห้งไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* สายพันธุ์ดื้อยา (MRSA) ได้ดัง Table 1 นอกจากนี้ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากใบมะหาดแบบสดและแบบแห้งที่นำมาทำการศึกษามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้น ซึ่งระดับความเข้มข้นที่ให้ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียคือ 400 mg/ml

**Table 1 inhibition zone of antibacterial activity**

| crude extracts | concentration | Inhibition zone (mm) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | *S. aureus* (MRSA) | *E. coli* | *B. subtilis* |
| fresh leaf extract | 100 | NZ | 15±6.53 | 11.5±7.43 |
| | 200 | NZ | 18±7.70 | 19±7.56 |
| | 400 | NZ | 18.5±7.90 | 23±8.15 |
| | DMSO 100% | NZ | NZ | NZ |
| | Tetracycline 250 mg/ml | 26±1.41 | 25±0.35 | 17.5±0.70 |
| dry leaf extract | 100 | NZ | 17±9.49 | 15.5±8.38 |
| | 200 | NZ | 18±10.70 | 16±7.49 |
| | 400 | NZ | 19±12.63 | 16.5±6.99 |
| | DMSO 100% | NZ | NZ | NZ |
| | Tetracycline 250 mg/ml | 25±1.41 | 30±1.41 | 18.5±0.70 |

NZ = no inhibition zone

เมื่อนำสารสกัดจากใบมะหาดสดและแห้ง มาทดสอบค่า MIC ด้วยวิธี Broth microdilution โดยทำการเจือจางสารสกัดหยาบลงทีละสองเท่า (Serial two fold dilution) จากระดับความเข้มข้น 400 200 100 50 25 12.5 และ 6.25 mg/ml สังเกตุความขุ่นของเชื้อ พบว่าความเข้มข้นที่ต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญอยู่ที่ 12.5 mg/ml และเมื่อทำการทดสอบค่า MBC ด้วยวิธี Drop plate บนอาหาร MHA พบว่าสารสกัดหยาบใบมะหาดสดและแห้งไม่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้

## วิจารณ์ผล

การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากใบมะหาดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบทั้ง 3 ชนิด พบว่าสารสกัดจากใบสดและใบแห้งมีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อที่แตกต่างกัน ซึ่งการศึกษาครั้งนี้ยังไม่มีการทำให้สารบริสุทธิ์ โดยคาดว่ามีกลุ่มของสารสำคัญในใบมะหาดที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อทดสอบอยู่หลายชนิด ดังนั้นงานวิจัยนี้เป็นการรายงานเบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากใบมะหาดต่อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ โดยพบว่าสารสกัดจากใบสดที่สกัดโดยเอทานอล 95% ความเข้มข้นเริ่มต้นที่ 200 mg/ml สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* ได้ดีกว่ายาปฏิชีวนะ Tetracycline 250 mg/ml ซึ่งใช้เป็นตัวควบคุมเชิงบวกของการศึกษานี้ และสอดคล้องกับการศึกษาของ คคนางค์ รัตนานิคม (2562) ซึ่งได้ศึกษาสารสกัดจากมะหาด โดยใช้ตัวทำลาลายต่างชนิดกัน และพบว่าสารสกัดจากมะหาดที่ใช้เอทานอล 95% เป็นตัวทำละลายมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียนในการทดสอบได้ดีกว่ายาปฏิชีวนะ amoxicillin ซึ่งเป็นกลุ่มยาปฏิชีวนะที่ใช้ต้านแบคทีเรียแกรมบวกเช่นกัน และสอดคล้องกับการศึกษาของมณฑล วิสุทธ (2560) ที่ทำการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของพืชท้องถิ่นที่พบในจังหวัดนครราชสีมาพบว่า สารสกัดใบมะหาด สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 โดยมีบริเวณยับยั้ง 8.12± 0.37 mm. อย่างไรก็ตามในการศึกษาสารสกัดจากใบมะหาดยังต้องมีการศึกษาให้ครบคลุมถึงทุกส่วนของมะหาด รวมทั้งการใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ต่อไป

## สรุป**

ร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบใบมะหาดสดและใบมะหาดแห้งใน โดยทำการสกัดในอัตราส่วน 1:5 ได้ปริมาตรร้อยละผลผลิตที่ได้ (% Yield) เท่ากับ 12.50 และ 11.40 ตามลำดับ ส่วนสารสกัดใบมะหาดสดที่ระดับความเข้มข้น 400 mg/ml สามารถยับยั้งการเจริญของ *B. subtilis* ได้โดยมีบริเวณยับยั้งที่ 23.00±8.15 mm และสารสกัดจากใบมะหาดแห้งที่ความเข้มข้น 400 mg/ml สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้โดยมีบริเวณยับยั้งที่ 19.00±12.64 mm โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ที่ระดับความเข้มข้น 12.5 mg/ml

## กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) ในความดูแลของมหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี ที่ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณผู้ร่วมวิจัยและผู้ช่วยวิจัยทุกท่าน ที่ได้อำนวยความสะดวกในการจัดหาอุปกรณ์ต่างๆ และดำเนินงานด้วยดีมาโดยตลอด

## เอกสารอ้างอิง**

คคนางค์ รัตนานิคม นิคม ศรีกะชาและยุภาพร ขันนาเลา, 2562, ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์ของสารสกัดมะหาด, วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก, ปีที่ 17 ฉบับที่ 1 มกราคม-เมษายน 2562, หน้าที่ 54-62.

วารีรัตน์ หนูหีต, 2557, การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ปนเปื้อนบนผิวสัมผัสโดยใช้สารสกัดจากพืชตระกูลขิง, วิทยานิพนธ์การศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

สุจิตรา วีรวรรณ อมรศรี ชุณหรัศมี และศรีศุภลักษณ์ สิงคาลวณิช, 2539, โรคผิวหนังเด็ก. กรุงเทพฯ, โฮลิสติก พับลิชชิ่ง

Jorgensen, J.H., Turnidge, J.D. and Washington, J.A., 1999 Antibacterial Susceptibility Test: Dilution and Disk Diffusion Methods, Manual, 7th ed. of Clinical Microbiology, Washing DC: America Society Micro Biology, 42-1526

# ผลของสารสกัดจากผักไชยาต่อโรคแอนแทรคโนส (*Colletotrichum* spp.) ในพริก
# Inhibitory Effect of *Cnidoscolus chayamansa* (McVaugh.) Extract on Anthracnose (*Colletotrichum* spp.) in Chilli

**จาตุรงค์ จงจีน[1] และ ศศิธร ธงชัย[1]**
**Jongjeen, J.[1] and Thongchai S.[1]**

## Abstract

Effect of *Cnidoscolus chayamansa* McVaugh crude extract against growth of *Colletotrichum* spp (*C. capsici* and *C. gloeosporioides*) causing anthracnose disease in chilli was studiedy. The *C. chayamansa* leaves were extracted by maceration technique using 95% ethanol with a ratio of 1:5 (w/v), at room temperature. Five concentrations of the extract at 20,000 40,000 60,000 80,000 และ 100,000 ppm were tested for their efficacy by Poisoned Food Technique. The cultures were incubated at room temperature for 7 days, and then diameter of mycelial colony was measured. The extract at 100,000 ppm and 60,000 ppm showed the highest inhibitory effect on the mycelial growth of *C. capsici* (88.81%) and *C. gloeosporioides* (100%), respectively as compared with the control.
**Keywords :** *Cnidoscolus chayamansa* McVaugh. leaves, Crude extracts, Anthracnose

## บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากใบไชยาในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. (*C. capsici* และ *C. gloeosporioides*) สาเหตุโรคแอนแทรคโนสในพริก ซึ่งการสกัดใบไชยาใช้วิธีการแช่ด้วยเอทานอลเข้มข้น 95% ในอัตราส่วน 1:5 (w/v) ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำสารสกัดความเข้มข้น 5 ระดับ (20,000 40,000 60,000 80,000 และ 100,000 ppm) มาทดสอบประสิทธิภาพด้วยวิธี Poisoned Food Technique บ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิห้องนาน 7 วัน แล้ววัดเส้นผ่านศูนยกลางโคโลนีเส้นใยเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบว่า สารสกัดความเข้มข้น 100,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. capsici* ได้ดีที่สุด (88.81 เปอร์เซ็นต์) ในขณะที่เชื้อรา *C. gloeosporioides* ใช้ความเข้มข้นเพียง 60,000 ppm ยับยั้งได้ 100 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับชุดควบคุม
**คำสำคัญ** : ใบไชยา สารสกัดหยาบ โรคแอนแทรคโนส

## คำนำ**

พริกเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่ง สามารถปลูกและเจริญเติบโตได้ดีทั่วทุกภาคของประเทศไทย อีกทั้งยังสามารถปลูกได้ตลอดทั้งปี แหล่งปลูกพริกที่สำคัญอยู่ในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พริกถูกนำมาใช้ประโยชน์ทั้งในรูปผลสด พริกแห้ง รวมถึงผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น ซอสพริก พริกแห้ง พริกป่น พริกดอง สีผสมอาหาร นอกจากนั้นยังนำสารสกัดจากพริกไปใช้ในเวชภัณฑ์ได้อีก การปลูกพริกประสบปัญหาเรื่องศัตรูหลายชนิดนอกจากแมลงยังพบว่าโรคก็เป็นสาเหตุที่สำคัญที่ทำให้เกิดความเสียหายต่อปริมาณและคุณภาพของผลผลิต โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคแอนแทรคโนสของพริก หรือที่ชาวบ้านเรียกว่า "โรคกุ้งแห้ง" (เมืองทอง, 2532) ซึ่งก่อความเสียหายแก่เกษตรกรอย่างมากและมีรายงานว่าเกิดจากเชื้อราสาเหตุของโรค 2 ชนิด ได้แก่ *Colletotrichum capsici* และ *Colletotrichum gloeosporioides* โดยเชื้อราเหล่านี้สามารถเข้าทำลายผลพริกได้ทั้งผลสีเขียวและผลสุกสีแดง โดยปกติมักแสดงอาการรุนแรงกับผลที่มีสีแดง ทำให้เกษตรกรมีความจำเป็นต้องใช้สารเคมีปกป้องผลิตผลจากการเข้าทำลายของโรคและแมลงศัตรูพืช เพื่อเพิ่มผลผลิตให้มากขึ้น ผักไชยาหรือคะน้าเม็กซิโก เป็นไม้พุ่มอายุหลายปีที่มีลำต้นอวบน้ำ เปลือกสีน้ำตาลและมีน้ำยางสีขาวและนิยมนำมารับประทาน โดยผักไชยานั้นมีฤทธิ์ต้านจุลชีพ ต้านการอักเสบ ต้านอนุมูลอิสระและลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ โดยมีสารสำคัญในกลุ่ม flavonoids และ phenolic acid (Kuti และ Konoru, 2004) การใช้สารเคมีอย่างไม่ถูกต้องหรือขาดการระมัดระวัง มีโอกาสทำให้เกิดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อมและมีผลสะท้อนกลับไปสู่การ สูญเสียสภาพความสมดุลทางระบบนิเวศวิทยา จากปัญหาดังกล่าวผู้วิจัยจึงได้มีแนวคิดในการประยุกต์ใช้พืชสมุนไพรที่สนใจ คือ ผักไชยามาสกัดและ

[1]สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชัฏอุบลราชธานี อ.เมือง จ.อุบลราชธานี 34000
[1]Department of Biology, Faculty of Science, Ubon Ratchathani Rajabhat University, Ubon Ratchathani 34000, Thailand

ทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสในพริก เพื่อใช้เป็นแนวทางในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่ทำเกิดโรคแอนแทรคโนสในพริกต่อไปในอนาคต

## อุปกรณ์และวิธีการ**

**การเตรียมตัวอย่างสารจากพืช**

เก็บตัวอย่างใบไชยาจากพื้นที่บ้านสุขสำราญ อำเภอสิรินธร จังหวัดอุบลราชธานี ล้างแล้วผึ่งให้แห้ง สกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์ 95% ในอัตราส่วน 1:5 ด้วยวิธี Maceration ที่อุณหภูมิห้อง เวลา 7 วัน กรองเอาสารละลายสกัดนำไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง rotary evaporator จนกระทั่งได้สารสกัดที่มีลักษณะข้นหนืด ทำการคักแยกเชื้อราจากพริกด้วยวิธี Tissue transplanting บนอาหารสังเคราะห์ PDA จนได้เชื้อราบริสุทธิ์แล้วนำไปทดสอบรอยโรคและประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบไชยาในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริกในขั้นต่อไป

**การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบไชยาในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก**

ทำทดสอบด้วยวิธี Poisoned food technique โดยการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมสารสกัดจากพืช คือ ใบไชยาให้ได้อาหารผสมสารสกัดที่ความเข้มข้น 20,000 40,000 60,0000 80,000 100,000 ppm. ตามลำดับ เทอาหารที่ผสมสารสกัดแต่ละความเข้มข้นลงในจานเลี้ยง แล้วตัดชิ้นส่วนชื้อราที่ได้เตรียมไว้ แล้วนำไปวางไว้กึ่งกลางบนอาหาร PDA ที่ผสมกับสารสกัดจากพืชที่มีความเข้มข้นต่างๆ ทำการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เปรียบเทียบการเจริญของเส้นใยเชื้อรากับชุดควบคุม โดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (ดัดแปลงจาก Pundir, 2010)

## ผลการทดลอง**

**การแยกและการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Colletotrichum* spp.**

เชื้อราที่แยกได้จากตัวอย่างพริกมี 2 ชนิด คือ *C. capsici* และ *C. gloeosprioides* โดยลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *C. capsici* พบว่าเส้นใยเจริญฟูหนาแน่นบนผิวอาหาร เส้นใยมีสีขาวครีม สปอร์มีรูปร่างคล้ายพระจันทร์เสี้ยว ปลายเรียวแหลม ใสไม่มีสี ส่วนลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosprioides* ที่แยกได้ พบว่าเส้นใยเจริญฟูแต่ไม่หนาแน่น เส้นใยมีลักษณะหยาบสีขาวปนเทา สปอร์มีลักษณะคล้ายทรงกระบอก หัวท้ายมน ใสไม่มีสี ดัง Figure 1

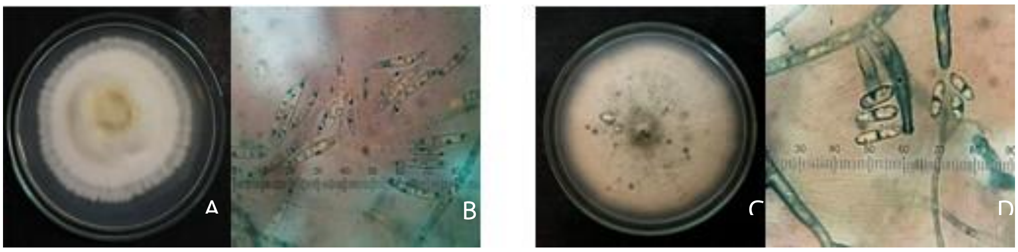



**Figure 1** *Colletotrichum capsici* (A = Colony on PDA, B = Size of spores)
*Colletotrichum gloeosprioides* (C = Colony on PDA, D = Size of spores)

**การเกิดโรคในผลพริก**

การเพาะเชื้อเพื่อทดสอบความสามารถในการก่อโรค พบว่า เชื้อราทั้งสองชนิดสามารถทำให้เกิดโรคบนผลพริกได้ โดยมีลักษณะอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อรา *C. capsici* ก่อให้เกิดแผลสีน้ำตาลเข้มถึงดำ รูปร่างแผลค่อนข้างรี เรียงซ้อนกันเป็นชั้นๆ ส่วนเชื้อรา *C. gloeosprioides* ก่อให้เกิดแผลสีน้ำตาลถึงเข้มเรียงซ้อนกัน ผิวของผลพริกจะเกิดรอยบุ๋มเล็กน้อย ต่อมาแผลจะค่อยๆ ขยายออก รูปร่างแผลค่อนข้างกลม ดัง Figure 2

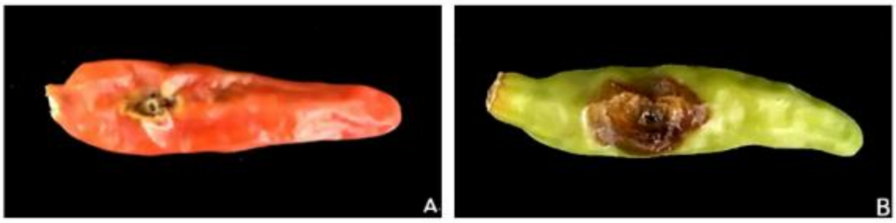



Figure 2 Anthracnose in Chilli (A : *C. capsici* B : *C. gloeosprioides*)

**ผลของประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบไชยาในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก**

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบไชยาในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. capsici* พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 100,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. capsici* ได้ดีที่สุด (ภาพที่ 3) โดยมีเปอร์เซ็นต์ ในการยับยั้งที่ 88.81 เปอร์เซ็นต์ ส่วนผลการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบไชยาในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* พบว่าที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุด 80,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ดีที่สุด (ภาพที่ 4) โดยมีเปอร์เซ็นต์ในการยับยั้งที่ 100 เปอร์เซ็นต์ **ดังตารางที่ 1**

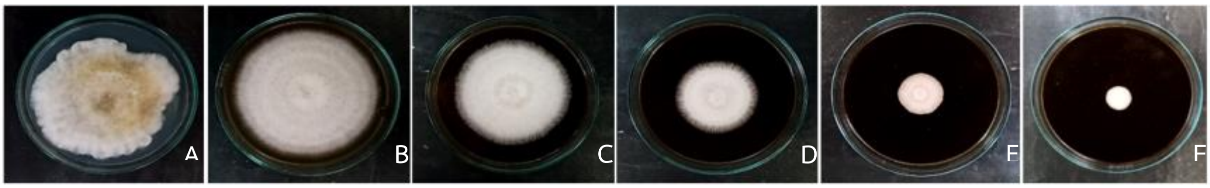



**Figure 3** Growth of colony *C. capsici* **on** Potato dextrose agar, 7 days.
A = Control B = 20,000 ppm C = 40,000 ppm
D = 60,0000 ppm E = 80,000 ppm F = 100,000 ppm

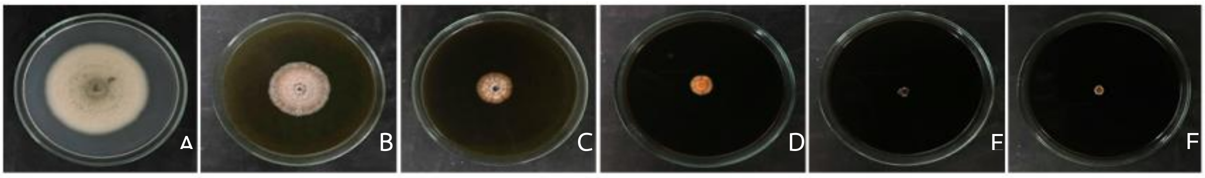



**Figure 4** Growth of colony *C. gloeosporioides* **on** Potato dextrose agar, 7 days.
A = Control B = 20,000 ppm C = 40,000 ppm
D = 60,0000 ppm E = 80,000 ppm F = 100,000 ppm.

## วิจารณ์ผลการทดลอง***

โรคแอนแทรกโนสเกิดจากเชื้อราในจีนัส Colletotrichum สามารถเข้าทำลายเซลล์พืชได้โดยตรงไม่ต้องผ่านช่องเปิดธรรมชาติหรือบาดแผลตั้งแต่ระยะดอก ผลอ่อน โดยยังไม่แสดงอาการของโรค จัดเป็นการเข้าทำลายแบบแฝงและจะแสดงอาการชัดเจนเมื่อผลผลผลิตแก่หรือสุก ในการคัดแยกเชื้อราก่อโรคแอนแทรคโนสจากผลพริกด้วยวิธี Tissue transplanting แยกเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนส 2 ชนิดคือ *C. capsici* และ *C. gloeosporioides* ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ รัตติยา และคณะ (2553) ศึกษาความผันแปรทางสัญฐานวิทยาของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก พบเชื้อราสาเหตุหลักของโรคกุ้งแห้ง มี 3 ชนิด คือ *C. capsici*, *C. gloeosporioides* และ *C. acutatum* อาการของโรคแอนแทรคโนสเริ่มจากจุดแผลแห้งเล็กๆ สีน้ำตาลแล้วสีจะค่อยๆ เข้มขึ้นขยายออกเป็นวงกลมหรือวงรีซ้อนกันเป็นชั้นๆ อาการของโรคจะเห็นชัดเจนในระยะที่ผลเริ่มสุกและมีความชื้นสูง จากการศึกษาลักษณะการเกิดโรคในผลพริก พบว่าเชื้อทั้งสองชนิดจะมีลักษณะของโรคแตกต่างกัน โดยรูปร่างของแผลที่เกิดจากเชื้อรา *C. capsici* มีลักษณะรูปร่างรีเรียงซ้อนกันเป็นชั้นๆ ส่วน *C. gloeosporioides* มีรูปร่างแผลค่อนข้าง กลมรี เนื้อเยื่อยุบตัวลงเรียงเป็นวงซ้อนกัน ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ ภวิกา (2559) ได้ศึกษาความสามารถในการทำให้เกิดโรค พบว่าเชื้อรา *C. gloeosporioides* สามารถทำให้เกิดแผลบนผลพริกได้ โดยเริ่มแสดงอาการเป็นจุดฉ่ำน้ำรอบๆ บาดแผล เนื้อเยื่อของแผลยุบตัวลงเป็นวงเรียงซ้อนกัน ผักไชยาเป็นพืชที่พบได้ทั่วไปและยังนำมาประกอบอาหารได้หลายแบบและเป็นพืชที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ในการทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าผักไชยาเป็นพืชอีกชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพในการนำมาใช้ควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกได้ค่อนข้างดี แต่ยังมีการศึกษาข้อมูลงานวิจัยยังไม่แพร่หลายมากนัก ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของผักไชยาในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่สามารถก่อโรคในพืชเศรษฐกิจให้มากขึ้น

## สรุป

สามารถแยกเชื้อราที่บริสุทธิ์ได้ 2 ชนิด คือ *C. capsici* และ *C. gloeosporioides* โดยเชื้อราทั้ง 2 ชนิดสามารถทำให้เกิดโรคบนผลพริกได้ โดยมีความแตกต่างกันของรูปร่างแผลที่เกิดจากเชื้อต่างชนิดกัน เมื่อนำไปทดสอบกับสารสกัดหยาบจากใบไชยา พบว่าสารสกัดจากใบไชยาที่ระดับความเข้มข้น 100,000 ppm สามารถยับยั้ง การเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. capsici* ได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ที่ 88.81 เปอร์เซ็นต์ และที่ระดับความเข้มข้น 60,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ที่ 100 เปอร์เซ็นต์

## กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี ที่ให้ความอนุเคราะห์ทุนสนับสนุนงานวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณผู้ร่วมวิจัยและผู้ช่วยวิจัยและผู้มีส่วนร่วมทุกท่าน ที่ได้อำนวยความสะดวกในการจัดหาอุปกรณ์ต่างๆ และดำเนินงานด้วยดีมาโดยตลอด

## เอกสารอ้างอิง**

เมืองทอง ทวนทวีและสุรีรัตน์ ปัญญาโตนะ ทวนทวี, 2532, สวนผัก 12 ผักบ้านเรา, กลุ่มหนังสือเกษตร : สยามคอมฟิวกราฟิด

รัตติยา พงศ์พิสุทธาและคณะ, 2553, ความผันแปรทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสในพริก, วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 41(ฉบับพิเศษ 1), 318-321

ภวิกา บุณยพิพัฒน์, 2559, ประสิทธิผลการใช้สารสกัดหยาบสมุนไพรต่อการยับยั้งโรคกุ้งแห้งของพริก (*Colletotrichum gloeosporioides*) ในสภาพควบคุม, วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ปีที่ 3 ฉบับพิเศษ (III): M09, 103-111

Kuti JO., Konuru HB., 2010 Antioxidant capacity and phenolic content in leaf extracts of tree spinach (*Cnidoscolus* spp.), Agric Food Chem, 52(1): 117-21 p.

Pundir R.K., Jain P. and Sharma C., 2010, Antimicrobial Activity of Ethanolic Extracts of *Syzygium aromaticum* and *Allium sativum* Against Food Associated Bacteria and Fungi, Ethnobotanical Leaflets 14, 344-60

Agricultural Sci. J. 52(1)(Suppl.): 81-84 (2021) ว. วิทย์. กษ. 52(1)(พิเศษ): 81-84 (2564)

# การประยุกต์ใช้รังสีเอกซ์ในมะม่วงเขียวเสวยเพื่อการส่งออก
# The Application of X-ray Irradiation on 'Khieo Sawoey' Mangoes for Export

**สุรศักดิ์ สัจจบุตร[1][1] เขมรุจิ เข็มทอง[1] จารุรัตน์ เอี่ยมศิริ[1] ทศพล แทนนรินทร์[1] นงค์นุช แจ้งสว่าง[1] วชิราภรณ์ ผิวล่อง[1] วณิช ลิ่มโอภาสมณี[1] วรารัตน์ คำหวาน[1] ศิริลักษณ์ ชูแก้ว[1] และฐิติมา คงรัตน์อาภรณ์[1]**

**Sajjabut, S.[1], Khemthong, K.[1], Eamsiri J.[1], Tannarin, T.[1], Jangsawang, N.[2], Pewlong, W.[1], Limohpasmanee, W.[1], Khamvarn, V.[1], Chookaew, S.[1] and Kongratarpon, T.[1]**

## Abstract

Irradiation treatment is efficient method used for fruit insect infestation that is accepted by quarantine in many countries. The objective of this study was to determine the effect of X-ray generated by electron accelerator on the quality of 'Khieo Sawoey' mangoes. Fruits were packed in active bags and irradiated with X-ray at 50 kw for 30 min. After irradiation, all samples were kept at 13-15 $^{\circ}$c and 90-95 % relative humidity and were investigated the physical and chemical qualities, sensory evaluation every week for 4 weeks. It was found that minimum and maximum absorbed dose were 447 and 601 Gy. All treatments were no significant difference in the physical qualities, chemical qualities and sensory evaluation between irradiated and non-irradiated fruits. The quality of irradiated fruits was accepted, although fruits treated with maximum dose showed slightly black stain of peel after storage for 4 weeks.

**Keywords:** X ray irradiation, Khieo Sawoey mango.

## บทคัดย่อ

การฉายรังสีเป็นวิธีที่ประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงศัตรูพืชที่ติดไปกับผลไม้ได้รับการยอมรับทางกักกันพืชในหลายประเทศ การทดลองนี้เพื่อศึกษาผลของรังสีเอกซ์จากเครื่องเร่งอนุภาคอิเล็กตรอนต่อคุณภาพของมะม่วงเขียวเสวย โดยนำมะม่วงที่บรรจุในถุงแอคทีฟ (MAP Bags) มาฉายรังสีเอกซ์ที่กำลัง 50 kW นาน 30 นาที เมื่อฉายรังสีแล้วพบว่ามะม่วงได้รับปริมาณรังสีต่ำสุดที่ 447 Gy และสูงสุดที่ 601 Gy จากนั้นนำมะม่วงมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13-15 $^{\circ}$C ความชื้นสัมพัทธ์ 90-95 % และวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ เคมีและประสาทสัมผัสทุกสัปดาห์ นาน 4 สัปดาห์ เปรียบเทียบกับมะม่วงที่ไม่ได้ฉายรังสี ผลการทดสอบพบว่า มะม่วงฉายรังสีมีคุณสมบัติทางกายภาพ เคมี และประสาทสัมผัสไม่แตกต่างกับมะม่วงไม่ฉายรังสีและคะแนนประสาทสัมผัสอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ถึงแม้ว่าที่ระยะการเก็บรักษา 4 สัปดาห์ สีเปลือกมะม่วงที่ได้รับรังสีปริมาณสูงมีรอยเปื้อนสีดำบางๆเกิดขึ้น

**คำสำคัญ:** การฉายรังสีเอกซ์, มะม่วงเขียวเสวย

## คำนำ*

มะม่วงพันธุ์เขียวเสวยเป็นที่นิยมบริโภคมากขึ้นแถบตลาดอาเซียน เช่น ประเทศเวียดนาม ด้วยแนวโน้มผลผลิตมะม่วงเขียวเสวยที่มีมากขึ้นและต่อเนื่องตลอดทั้งปี จึงนับเป็นโอกาสที่ดีในการขยายตลาดส่งออกมะม่วงดิบไปยังประเทศอื่นๆ เช่น ออสเตรเลีย และอเมริกา เพื่อรองรับความต้องการของผู้บริโภคที่ชื่นชอบผลไม้ไทย การส่งผลไม้สดเข้าสู่ตลาดอเมริกา ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ จำเป็นต้องผ่านการฉายรังสีเพื่อกำจัดแมลงศัตรูพืชกักกันพืช โดยกำหนดให้ใช้ปริมาณรังสีต่ำสุดที่ 400 Gy จากการศึกษาผลของการฉายรังสีแกมมา รังสีเอกซ์ และลำอิเล็กตรอนต่อคุณภาพของอาหาร และผลไม้ชนิดต่าง ๆ พบว่า การฉายรังสีมีผลต่อคุณภาพและการเปลี่ยนแปลงภายในของผลิตผล โดยผลของรังสีที่มีต่อคุณภาพของผลผลิตขึ้นอยู่กับชนิดของผลผลิต ปริมาณรังสีที่ได้รับ และชนิดของรังสี (Shellie และ Mangan, 1994) ผลการศึกษาการฉายรังสีแกมมาต่อคุณภาพของผลดิบมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ที่ปริมาณรังสี 400 และ 700 Gy พบว่า มะม่วงฉายรังสีมีสีเปลือกเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเร็วกว่าชุดควบคุม ความแน่นเนื้อลดลงตามปริมาณรังสีที่เพิ่มขึ้น และมีอัตราการหายใจ ปริมาณ Lipid peroxidation และเอนไซม์ LOX เพิ่มขึ้นในช่วง 7 วันแรก หลังจากนั้นลดลงจนถึงวันที่ 14 (อภิรดี และคณะ, 2556) Broisler และคณะ (2009) รายงานว่า มะม่วงสายพันธุ์

[1] สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน) 9/9 ม. 7 ต.ทรายมูล อ.องครักษ์ จ.นครนายก 26120
[1] Thailand Institute of Nuclear Technology (Public Organization) 9/9 Moo 7, Saimoon, Ongkharak, Nakhon Nayok 26120 Thailand

Tommy, Kent, Honey Gold, Shelly และ Princess ที่ผ่านการฉายรังสีที่ปริมาณ 400 800 และ 1,000 Gy มีผลทำให้เปลือกของมะม่วงฉายรังสีมีรอยช้ำเป็นจุดๆ ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่นโดยพบมากขึ้นตามปริมาณรังสีที่สูงขึ้น ปัจจุบันสถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติมีเทคโนโลยีด้านเครื่องเร่งอนุภาคฯ ให้รังสีเอกซ์ที่มีค่าพลังงานต่ำกว่า 5 Mev ที่กำลัง 50 kw เพื่อรองรับบริการฉายรังสีผลไม้ในอนาคต ดังนั้นการวิจัยเพื่อศึกษาคุณภาพผลไม้ภายหลังฉายรังสีเอกซ์จึงเป็นประโยชน์ในด้านการให้ข้อมูลเพื่อสนับสนุนผู้ประกอบการที่สนใจใช้บริการและยังช่วยส่งเสริมการส่งออกผลไม้ไทยอีกทางหนึ่งด้วย

## อุปกรณ์และวิธีการ*

คัดเลือกมะม่วงพันธุ์เขียวเสวยเกรดส่งออกจากสวนในจังหวัดฉะเชิงเทรามาทำความสะอาดผิวด้วยน้ำผสมคลอรีน 200 ppm หลังจากนั้นนำไปจุ่มในสารละลายโปรคลอราซ 500 ppm เพื่อกำจัดเชื้อราบนผิวมะม่วง ผึ่งลมให้แห้งแล้วนำมาบรรจุถุงแอคทีฟ (MAP Bags (M2)) ขนาด 7x10 นิ้ว (บริษัททานตะวันอุตสาหกรรม จำกัด) 1 ผลต่อถุงแล้ว) บรรจุมะม่วงลงกล่องกระดาษลูกฟูกติดตาข่ายขนาด 35x50x10 cm นำตัวอย่างไปฉายรังสีเอกซ์ที่ศูนย์ฉายรังสี คลองห้า ทำการฉายรังสีมะม่วงเขียวเสวยด้วยรังสีเอกซ์ที่ระดับพลังงาน 2 Mev จากเครื่องเร่งอนุภาคอิเล็กตรอนที่กำลัง 50 kw (บริษัท Mevex Corporation ประเทศแคนาดา) ภายหลังฉายรังสีนำตัวอย่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13-15 $^{\circ}$C ความชื้นสัมพัทธ์ 90-95 % ทำการทดสอบคุณภาพด้านต่าง ๆ ได้แก่ ลักษณะปรากฏภายนอก, การเปลี่ยนแปลงของสีเปลือกและเนื้อด้วยเครื่อง Minolta colorimeter (CR-300) ในระบบ Hunter $L^* a^* b^*$, ความแน่นเนื้อของมะม่วงด้วย Effegi Penetrometer, ค่า pH ด้วย pH meter, ปริมาณกรดทั้งหมด (total acidity), ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (total soluble solid), ปริมาณและชนิดของน้ำตาลวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC (maltose, sucrose, glucose, fructose และ total sugar) วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design ทำ 4ซ้ำต่อชุดทดลอง วิ เคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยวิธิ Duncan's multiple range test และทดสอบคุณภาพด้านประสาทสัมผัสทดสอบโดยการชิม ผู้ทดสอบให้คะแนนแบบ 9-point-hedonic scale มีจำนวนผู้ทดสอบอย่างน้อย 12 คน

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง*

ผลการทดลอง พบว่า มะม่วงที่ได้รับรังสีปริมาณต่ำ (450-500 Gy) และสูง (550-600 Gy) ไม่ปรากฏเลนติเซลสีดำเช่นเดียวกับมะม่วงไม่ฉายรังสี ตลอดระยะการเก็บ 4 สัปดาห์ ส่วนสีเปลือกมะม่วงที่ได้รับรังสีปริมาณต่ำและสูง ที่เก็บไว้นาน 0 1 2 และ 3 สัปดาห์ ไม่เกิดลักษณะรอยเปื้อนดำเช่นเดียวกับมะม่วงไม่ฉายรังสีแต่มีลักษณะรอยเปื้อนดำบาง ๆ เมื่อเก็บไว้นาน 4 สัปดาห์ มะม่วงฉายรังสีมีสีของเปลือกไม่แตกต่างกับมะม่วงไม่ฉายรังสี ที่อายุการเก็บ 0-3 สัปดาห์ ค่าความสว่าง (L) ของสีเปลือกมะม่วงอยู่ในช่วง 38.16 - 41.54, ค่า a อยู่ในช่วง (-10.76) – (-9.16) และค่า b อยู่ในช่วง 10.21 - 12.88 ในขณะที่มะม่วงฉายรังสีที่เก็บรักษานาน 4 สัปดาห์ มีค่า a สูงกว่า และค่า b ต่ำกว่ามะม่วงไม่ฉายรังสีอย่างมีนัยสำคัญ (Figure 1 A) เช่นเดียวกับสีของเนื้อมะม่วงฉายรังสีไม่แตกต่างกับมะม่วงไม่ฉายรังสีที่เก็บรักษานาน 1-2 สัปดาห์ โดยมีค่าความสว่าง (L) ของสีเปลือกมะม่วงอยู่ในช่วง 76.51 - 84.82, ค่า a อยู่ในช่วง (-6.40) – (-4.10) และค่า b อยู่ในช่วง 15.23 - 28.64 แต่ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 3 และ 4 สัปดาห์ เนื้อมะม่วงไม่ฉายรังสีเปลี่ยนเป็นสีเหลืองมากกว่ามะม่วงฉายรังสี (ค่า b มะม่วงฉายรังสีมีค่าน้อยกว่าที่ไม่ผ่านการฉายรังสี) (Figure 1 B) แสดงว่ามะม่วงฉายรังสีมีการสุกช้ากว่ามะม่วงไม่ฉายรังสี ซึ่งสอดคล้องกับผลทดลองของอภิรดี และคณะ (2556) เมื่อฉายรังสีมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ที่ปริมาณ 400 และ 700 Gy ไม่ทำให้เกิดรอยเปื้อนสีดำที่เปลือกและเลนติเซลสีดำในเนื้อมะม่วง แต่สีเปลือกมะม่วงเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเร็วขึ้น

ผลการทดลอง พบว่า ค่าความแน่นเนื้อของมะม่วงฉายรังสีและไม่ฉายรังสีมีแนวโน้มลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษา ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 2 สัปดาห์ มะม่วงที่ได้รับรังสีปริมาณต่ำและสูง มีค่าความแน่นเนื้อ 4.96 และ 5.48 kg/cm$^3$ ต่ำกว่ามะม่วงไม่ฉายรังสีที่มีค่าความแน่นเนื้อ 6.77 kg/cm$^3$ อย่างมีนัยสำคัญ ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 3 สัปดาห์ มะม่วงฉายรังสีมีค่าความแน่นเนื้อ 5.69 และ 5.23 kg/cm$^3$ สูงกว่ามะม่วงไม่ฉายรังสีที่มีค่าความแน่นเนื้อ 3.00 kg/cm$^3$ อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 4 สัปดาห์ ค่าความแน่นเนื้อมะม่วงฉายรังสีและไม่ฉายรังสีไม่แตกต่างกัน (Figure 2A) แสดงว่ามะม่วงฉายรังสีมีความแน่นเนื้อลดลงเร็วกว่ามะม่วงไม่ฉายรังสีในสัปดาห์ที่ 1-2 แต่อัตราการเปลี่ยนแปลงช้ากว่ามะม่วงไม่ฉายรังสีในสัปดาห์ที่ 3 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของอภิรดี และคณะ (2556) ในการทดลองฉายรังสีแกมมากับมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ พบว่า ผลมะม่วงมีความแน่นเนื้อลดลงตามระยะเวลาการเก็บและที่ระยะเวลาการเก็บ 14 วัน มะม่วงฉายรังสีที่ปริมาณ 400 และ 700 Gy มีความแน่นเนื้อมากกว่ามะม่วงไม่ฉายรังสี ในขณะที่ ผ่องเพ็ญ และอภิรดี (2554) รายงานว่า การฉายรังสีแกมมามีแนวโน้มชะลอการสุกของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 โดยมะม่วงที่ฉายรังสีมีการเปลี่ยนแปลงสีเปลือก สีเนื้อ การอ่อนนุ่ม และการสูญเสียน้ำหนักน้อยกว่ามะม่วงที่ไม่ฉายรังสี

จาก Figure 2B พบว่า ค่า pH ของมะม่วงฉายรังสีและไม่ฉายรังสีมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะการเก็บรักษา และไม่แตกต่างกัน ค่า pH ของมะม่วงเริ่มต้น (0 สัปดาห์) อยู่ในช่วง 3.32 - 3.40 และเพิ่มขึ้นเป็น 4.20 - 4.26 ในสัปดาห์ที่ 4 ของการเก็บรักษา ส่วนปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของมะม่วงฉายรังสีมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นและไม่ความแตกต่างทางสถิติกับมะม่วงไม่ฉายรังสี โดยค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของมะม่วงเริ่มต้น (0 สัปดาห์) เท่ากับ 10.0 $^{\circ}$Brix และเพิ่มสูงขึ้นประมาณ 15.9 - 16 $^{\circ}$Brix ในสัปดาห์ที่ 4 ของการเก็บรักษา และพบว่าค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของมะม่วงยังสัมพันธ์กับปริมาณน้ำตาลที่เพิ่มขึ้น (Figure 3) ในมะม่วงเขียวเสวยมีน้ำตาล 3 ชนิด คือ Fructose, Glucose และ Sucrose โดยมีปริมาณ Sucrose มากที่สุด และปริมาณน้ำตาลทั้งสามชนิดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษาและไม่แตกต่างกันระหว่างมะม่วงฉายรังสีและไม่ฉายรังสี (Figure 3B) โดยที่ระยะการเก็บรักษา 1 สัปดาห์ ปริมาณ Fructose และ Glucose น้อยกว่า 10 g/100 g และ Sucrose อยู่ในช่วง 1.01 - 1.32 g/100 g แต่ระยะการเก็บ 4 สัปดาห์ Fructose อยู่ในช่วง 2.18 - 2.41 g/100g Glucose อยู่ในช่วง 1.55 - 1.73 g/100g และ Sucrose อยู่ในช่วง 7.28 - 7.91 g/100g

การทดสอบคุณภาพด้านประสาทสัมผัส โดยผู้ทดสอบให้คะแนนตามความชอบ พบว่ามะม่วงฉายรังสีและมะม่วงไม่ฉายรังสีมีคะแนนสีเปลือกไม่แตกต่างกันในระหว่างการเก็บรักษา 1-3 สัปดาห์ คืออยู่ในช่วง 6.9 - 7.8 เมื่อระยะการเก็บรักษานานขึ้นในสัปดาห์ที่ 4 คะแนนสีเปลือกมะม่วงที่ได้รับรังสีปริมาณสูงเท่ากับ 6.1 น้อยกว่ามะม่วงไม่ฉายรังสีที่เท่ากับ 7.1 อย่างมีนัยสำคัญ แต่คะแนนเฉลี่ยยังอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ทั้งนี้เนื่องจากมะม่วงที่ได้รับรังสีปริมาณสูงมีสีเปลือกไม่สม่ำเสมอ คะแนนเฉลี่ยความสดของผลมะม่วงฉายรังสีไม่แตกต่างจากมะม่วงไม่ฉายรังสีตลอดระยะเวลาการเก็บ 4 สัปดาห์ คะแนนอยู่ในช่วง 6.7 - 7.8 ส่วนคะแนนเฉลี่ยลักษณะภายนอกรวมของมะม่วงฉายรังสีไม่แตกต่างกับมะม่วงไม่ฉายรังสี ที่ระยะการเก็บ 0-2 สัปดาห์ คะแนนอยู่ในช่วง 7.0 - 7.8 แต่ที่ระยะการเก็บ 3 และ 4 สัปดาห์ คะแนนของมะม่วงที่ได้รับรังสีระดับสูง เท่ากับ 7 และ 6.3 ซึ่งน้อยกว่ามะม่วงไม่ฉายรังสี ซึ่งเท่ากับ 7.8 และ 7.2 อย่างมีนัยสำคัญ คะแนนเฉลี่ย สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัสและคุณภาพโดยรวมของมะม่วงฉายไม่แตกต่างจากมะม่วงที่ไม่ฉายรังสีตลอดระยะการเก็บ 4 สัปดาห์ คะแนนสีเนื้ออยู่ในช่วง 6.7 - 7.7 คะแนนกลิ่นอยู่ในช่วง 6.4 - 7.3 คะแนนรสชาติอยู่ในช่วง 5.9 - 7.7 คะแนนเนื้อสัมผัสอยู่ในช่วง 6.1 - 7.8 และคะแนนคุณภาพโดยรวมอยู่ในช่วง 6.0 - 7.7 (Figure 3) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Broisler และคณะ (2009) พบว่าเมื่อฉายรังสีมะม่วงพันธุ์ Tommy Atkins ที่ปริมาณ 500 และ 750 Gy ไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัส พุฒิพงษ์ และคณะ (2562) รายงานว่ามะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองที่ไม่ฉายรังสีและฉายรังสี 200 Gy เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคเมื่อเก็บรักษานานไม่เกิน 14 วัน มะม่วงฉายรังสี 300 และ 400 Gy เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค เมื่อเก็บรักษาไว้ไม่เกิน 7 วัน หากเก็บนานขึ้นเนื้อมะม่วงมีลักษณะคล้ายเจล เนื้อนิ่ม และรสชาติจืด ผู้บริโภคไม่ยอมรับ

## สรุปผล

การใช้ภาชนะบรรจุดัดแปลงสภาวะบรรยากาศร่วมกับการฉายรังสีเอกซ์มะม่วงเขียวเสวยที่ระดับพลังงาน 2 Mev จากเครื่องเร่งอนุภาคอิเล็กตรอนที่กำลัง 50 kw นาน 30 นาที พบว่ามะม่วงได้รับรังสีต่ำสุด 447 Gy และสูงสุด 601 Gy และการ. เก็บที่อุณหภูมิ 13-15$^{\circ}$C ความชื้นสัมพัทธ์ 90-95% นาน 1-4 สัปดาห์ พบว่ามะม่วงฉายรังสีมีคุณสมบัติทางกายภาพ เคมี และประสาทสัมผัสไม่แตกต่างกับมะม่วงไม่ฉายรังสีและคะแนนเฉลี่ยการทดสอบทางประสาทสัมผัสอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ ถึงแม้ว่าระยะการเก็บรักษา 4 สัปดาห์ สีเปลือกมะม่วงที่ได้รับรังสีปริมาณสูงมีรอยเปื้อนสีดำบางๆเกิดขึ้น

## เอกสารอ้างอิง

พุฒิพงษ์ เพ็งฤกษ์ พงษ์ศักดิ์ จิณฤทธิ์ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ ศิรกานต์ ศรีธัญรัตน์ และสุกัญญา อินทร์สวัสดิ์, 2562, ผลของการฉายรังสีแกมมาในปริมาณต่างๆต่อคุณภาพมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองเพื่อการส่งออก, การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติครั้งที่ 18 ระหว่างวันที่ 5-7 พ.ย. 2562, นนทบุรี, 7 หน้า.

ผ่องเพ็ญ จิตอารีย์รัตน์ และอภิรดี อุทัยรัตนกิจ, 2554, ผลของรังสีแกมมาที่ปริมาณสูงต่อคุณภาพของผลมะมวงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4, วารสารวิทยาศาสตร์การเกษตร, 42 (1) (พิเศษ): 251-254.

อภิรดี อุทัยรัตนกิจ ผ่องเพ็ญ จิตอารีย์รัตน์ และจารุวัฒน์ บุญรอด, 2556, ผลของปริมาณรังสีแกมมาต่อคุณภาพของผลดิบมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์, เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 51 (สาขาพืช), หน้า 300-305.

Broisler, P.O., Sabato, S.F. and Cruz, P.R., 2009, Study of Influence on Harvesting Point in Brazilian Tommy Atkins Mangoes Submitted to Gamma Radiation, Radiation Physics and Chemistry, 78(7):571-573.

Shellie, K.C and Mangan R., 1994, Disinfestation: Effect of Non-chemical Treatments on Market Quality of Fruit, Proceeding of an International Conference, Chiang Mai, Thailand, 19-23 July 1994, pp. 304-310.

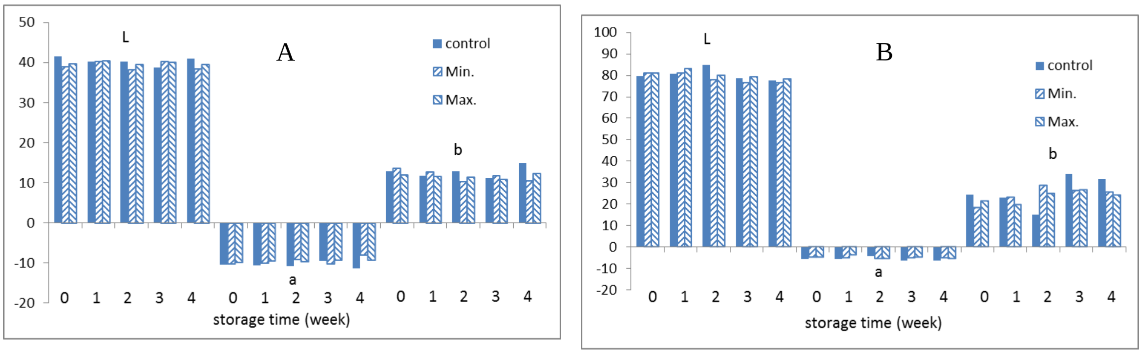



**Figure 1** Peel (A) and pulp color (B) of 'Khieo Sawoey' mangoes irradiated with X-ray were stored at 13-15 °C for 4 weeks.

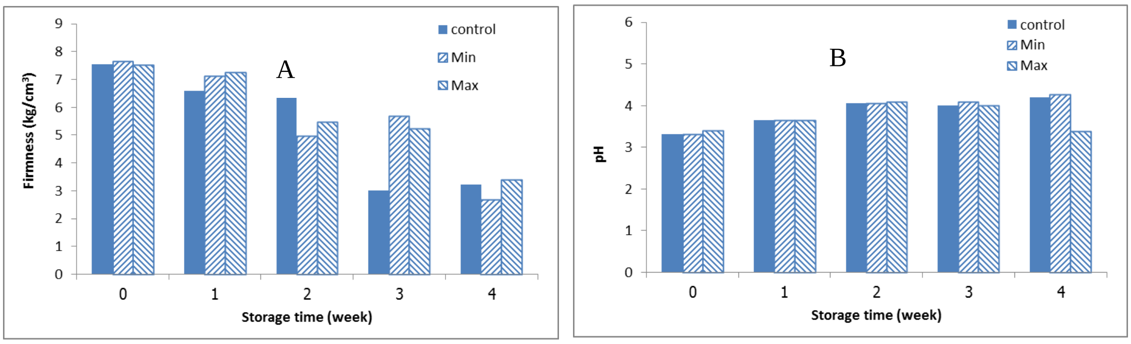



**Figure 2** Firmness (A) and pH (B) of 'Khieo Sawoey' mangoes irradiated with X-ray were stored at 13-15 °C for 4 weeks.

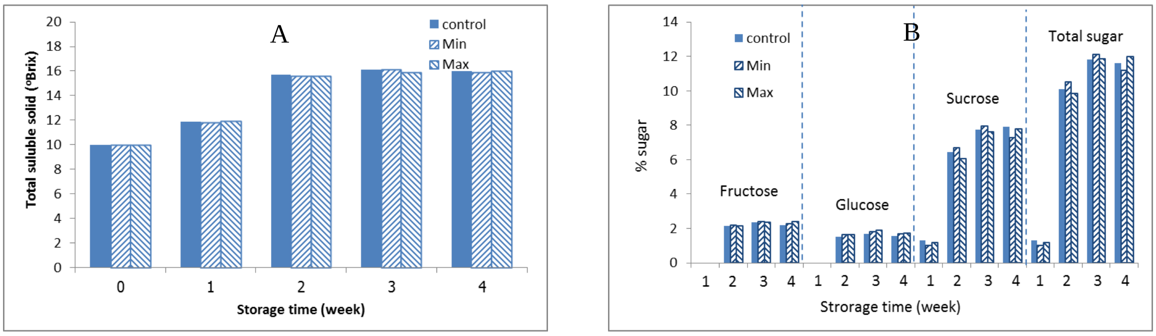



**Figure 3** Total soluble solid (A) and total sugar (B) of 'Khieo Sawoey' mangoes irradiated with X-ray were stored at 13-15 °C for 4 weeks

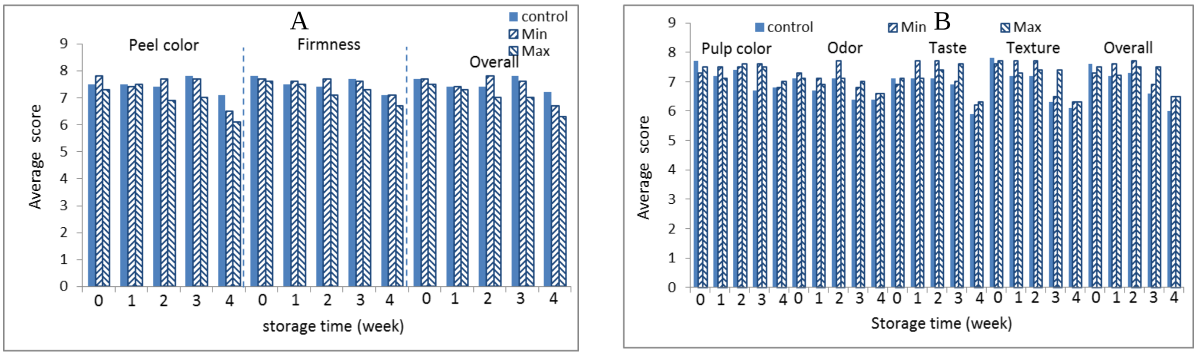



**Figure 4** Sensory evaluation (A-external and B-internal) of 'Khieo Sawoey' mangoes irradiated with X-ray were stored at 13-15 °C for 4 weeks.

# ผลของเกลืออนินทรีย์ร่วมกับการควบคุมปริมาณน้ำอิสระต่ออัตราการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ที่คัดแยกได้จากพริกไทยดำ (*Piper nigrum* L.)

# Effects of Inorganic Salts and Water Activity on Growth Rate of *Aspergillus flavus* Isolated from Black Pepper (*Piper nigrum* L.)

**สุพรรณิการ์ สมใจเพ็ง[1*] และ ณัฐนันท์ เนียมโสต[1]**
**Somjaipeng, S.[1*] and Niamsot, N.[1]**

## Abstract***

This study examined the combined effects of inorganic salts (chloride salts and sulphate salts) and water activity ($a_w$) on mycelial growth of *Aspergillus flavus* isolated from black pepper. In vitro treatment trials were performed by supplementing cultured medium (Potato dextrose agar) with studied inorganic salts at different concentrations (0, 0.5, 1.0 and 2.0% w/v). The $a_w$ of media was modified by adding increasing amounts of glycerol to obtain the following $a_w$ treatment levels of 0.90 and 0.95. Statistical analysis indicated thatinorganic salts,$a_w$ and their interactions significantly affected mycelial growth rate (P<0.05). Overall, *A. flavus* exhibited sensitive responses to calcium chloride treatments under more freely available water conditions (>0.95$a_w$) at 0.5-2% w/v. The strong antifungal activity was obtained reducing the mycelial growth by 50%. While supplementing the media with sulphate salts significant efficacy was obtained at 0.95$a_w$ with >0.5% w/v. According to $ED_{50}$ values, calcium chloride displayed the highest inhibition effect on the mycelial growth rate of *A. flavus* by 50% at doses 0.1023% w/v ($ED_{50}$) under >0.95$a_w$ conditions. While showed low antifungal activity reducing the mycelial growth by 50% ($ED_{50}$>2% w/v) under lowered $a_w$ (0·95-0.90$a_w$).

**Keywords:** *Aspergillus*, pepper, inorganic salts, water activity

## บทคัดย่อ***

งานวิจัยนี้ศึกษาผลของสารประกอบเกลืออนินทรีย์ (กลุ่มคลอไรด์และกลุ่มซัลเฟต) ร่วมกับ water activity ($a_w$) ต่อการยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อรา *Aspergillus flavus* (ที่แยกได้จากเมล็ดพริกไทย) ทำโดยเลี้ยงเชื้อราในอาหาร Potato Dextrose Agar ที่ผสมเกลืออินทรีย์ความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม), 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0% ร่วมกับการปรับให้อาหารมีค่า $a_w$ 0.90 และ 0.95 ด้วยกลีเซอรอล ผลการทดลองพบว่า เกลืออนินทรีย์ $a_w$ และอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยทั้งสอง มีผลต่ออัตราการเจริญของเชื้อรา (P<0.05) และพบว่าเชื้อรา *A. flavus* มีความไวต่อเกลือแคลเซียมคลอไรด์มากที่สุดที่ปริมาณน้ำอิสระมาก ($a_w$ >0.95) โดยที่ระดับความเข้มข้นของเกลือแคลเซียมคลอไรด์ 0.5-2% w/v สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้มากกว่า 50% เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้เกลือกลุ่มซัลเฟตสามารถควบคุมอัตราการเจริญของเชื้อราได้ดีที่ 0.95$a_w$ ที่ระดับความเข้มข้นมากกว่า 0.5% w/v จากการวิเคราะห์ค่า $ED_{50}$ พบว่าการใช้เกลือแคลเซียมคลอไรด์มีค่า $ED_{50}$ เท่ากับ 0.1023% w/v เมื่อทำการทดลองภายใต้สภาวะที่มีปริมาณน้ำอิสระมาก >0.95$a_w$ แต่มประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา *A. flavus* ลดลง ($ED_{50}$ มากกว่า 2% w/v) ทที่สภาวะ 0.95-0.90$a_w$

**คำสำคัญ:** *Aspergillus* พริกไทย เกลืออนินทรีย์ ปริมาณน้ำอิสระ

## คำนำ**

เชื้อราเป็นจุลินทรีย์ที่มักปนเปื้อนในพืชอาหารทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวในพริกไทยและผลิตภัณฑ์พริกไทย มีรายงานการพบเชื้อราหลายสกุล ได้แก่ *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. และ *Fusarium* sp. (Garcia และคณะ., 2018; Sabokbar และคณะ, 2018) จากความสามารถของเชื้อราที่เจริญได้ในช่วงอุณหภูมิและ aw กว้าง สามารถสร้างสปอร์เป็นจำนวนมาก ส่งผลให้เกิดความเสียหายทั้งทางด้านคุณภาพของผลิตภัณฑ์และสุขภาพของผู้บริโภคได้ เนื่องจากเชื้อราบางสปีชีส์สามารถสร้างสารไมโคทอกซินที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค การใช้สารเคมีในการกำจัดตามวิธีแบบดั้งเดิมอาจส่งผลกระทบต่อผู้บริโภคเรื่องสารเคมีตกค้างได้ การลดการใช้สารเคมีอันตรายทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การใช้ความร้อน การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ การใช้สารประกอบที่ได้จากธรรมชาติ รวมทั้งการใช้วัตถุเจือปนอาหาร เป็นต้น (Feng และคณะ, 2013; Irshad และคณะ, 2014)

[1] สาขาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และศิลปศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี อ.ท่าใหม่ จ.จันทบุรี 22170
[1] Division of Agricultural Technology, Faculty of Science and Arts, Burapha University, Chanthaburi Campus, Chanthaburi 22170

สารประกอบเกลืออนินทรีย์กลุ่มคลอไรด์ (แคลเซียมคลอไรด์ โพแทสเซียมคลอไรด์ และโซเดียมคลอไรด์) และกลุ่มซัลเฟต (แอมโมเนียมซัลเฟต โซเดียมซัลเฟต และโซเดียมไทโอซัลเฟต) จัดเป็นวัตถุเจือปนอาหารในกลุ่ม Generally Recognized as Safe หรือ GRAS สามารถเติมลงในอาหารได้อย่างปลอดภัย และให้ใช้เท่าที่จำเป็นมีการควบคุมปริมาณการใช้ตามข้อกำหนดของ Codex (FAO, 2019) สารประกอบเกลือคลอไรด์และเกลือซัลเฟตสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคหลายชนิด เช่น เกลือแคลเซียมคลอไรด์มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญของเชื้อรา *Botrytis cinerea (*Boumaaza และคณะ, 2015), *Fusarium oxysporum* (Turkkan, 2013), และ *Collectotrichum* sp. (Bigges และคณะ, 1999; Awang และคณะ, 2011) เป็นต้น ถึงแม้ว่าจะมีงานวิจัยเกี่ยวกับการใช้เกลืออนินทรีย์ในการควบคุมการเจริญของเชื้อรา แต่ข้อมูลเกี่ยวกับการศึกษาถึงผลของอิทธิพลร่วมระหว่างการใช้สารประกอบกลุ่มเกลือคลอไรด์และเกลือซัลเฟต และ $a_w$ ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราที่คัดแยกได้จากพริกไทยดำมีน้อย ดังนั้นจึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจที่งานวิจัยนี้จะทำให้เกิดความเข้าใจถึงผลของอิทธิพลร่วมดังกล่าว เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำไปประยุกต์ใช้เพื่อการควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อราในผลิตภัณฑ์พริกไทยต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ**

เชื้อรา *A. flavus* (แยกได้จากผลิตภัณฑ์พริกไทยที่วางจำหน่ายใน อ.ท่าใหม่ และ อ. เมือง จ.จันทบุรี) ที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน มาใช้ในการทดลองนี้ โดยนำ cork borer ($\varnothing$ 5 มม.) ที่ฆ่าเชื้อแล้ว เจาะที่ปลายเส้นใยของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA จากนั้นนำ mycelial disc ที่ได้วางลงบนผิวหน้าอาหาร PDA ที่มีการปรับค่า $a_w$ มีค่า $a_w$ เท่ากับ 0.90 และ 0.95 ด้วย glycerol และตรวจสอบค่า $a_w$ ด้วยเครื่อง $a_w$ meter (Aqulab, Decagon device Inc., USA) และมีการเติมเกลืออนินทรีย์ทดสอบกลุ่มเกลือคลอไรด์ (แคลเซียมคลอไรด์ โพแทสเซียมคลอไรด์ และโซเดียมคลอไรด์) และกลุ่มเกลือซัลเฟต (แอมโมเนียมซัลเฟต โซเดียมซัลเฟต และโซเดียมไทโอซัลเฟต) ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 2% (w/v) แต่ละกรรมวิธีทำ 3 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส บันทึกผลการทดลอง ได้แก่ 1) อัตราการเจริญของเส้นใย ทำโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดโคโลนีของเชื้อราใน 2 ทิศทางทุกวัน และนำมาคำนวณได้จากสมการถดถอยเชิงเส้น 2) ค่า Effective dose 50 ($ED_{50}$) ของเกลืออินทรีย์ ด้วยการวิเคราะห์การถดถอยแบบไม่เป็นเส้นตรง โดยใช้โปรแกรม GraphPad Prism 8.0 (GraphPad software Inc., USA)

## ผลการทดลอง

จากการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าการใช้เกลืออนินทรีย์ทั้ง 6 ชนิด ที่ความเข้มข้นต่างๆ และการปรับค่า Aw มีผลต่ออัตราการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *A. flavus* อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ผลการทดลองโดยรวมพบว่าภายใต้สภาวะที่มีปริมาณน้ำอิสระมาก (0.99$a_w$) ในการใช้เกลือกลุ่มคลอไรด์และเกลือกลุ่มซัลเฟตให้ผลการทดลองที่คล้ายคลึงกัน ที่ระดับความเข้มข้นทดสอบ (0-2% w/v) ไม่สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อราได้ (ภาพที่ 1) ยกเว้นการใช้เกลือแคลเซียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นมากกว่า 0.5% w/v มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญของเชื้อรา อัตราการเจริญของเส้นใยลดลงประมาณ 5 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ผลการควบคุมอัตราการเจริญของเชื้อราที่ระดับ $a_w$ ต่ำ (<0.95$a_w$) พบว่าอัตราการเจริญของเชื้อราขึ้นกับค่า $a_w$ มากกว่าความเข้มข้นเกลือที่ใช้ นอกจากนี้ที่ 0.95 $a_w$ การใช้เกลือกลุ่มซัลเฟตที่ความเข้มข้น 0.5-2% w/v มีผลต่ออัตราการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* มากขึ้น

สำหรับค่า $ED_{50}$ พบว่าค่า $ED_{50}$ ของเกลืออนินทรีย์ขึ้นกับ $a_w$ ที่สภาวะไม่มีการปรับค่า $a_w$ ($\sim$0.98$a_w$) เกลือแคลเซียมคลอไรด์มีผลยับยั้งการเจริญของรา 50% ดีกว่าการใช้เกลือชนิดอื่น มีค่า $ED_{50}$ $\sim$ 0.10% (w/v) ในขณะที่ประสิทธิภาพของการใช้เกลือกลุ่มซัลเฟตในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเพิ่มมากขึ้น ที่ระดับ $a_w$ ต่ำ (0.95 $a_w$) โดยมีค่า $ED_{50}$ เท่ากับ 0.69% และ 0.0.73% (w/v) เมื่อใช้เกลือโซเดียมซัลเฟตและเกลือโซเดียมไทโอซัลเฟตตามลำดับ (Table 1)

## วิจารณ์ผล**

จากการศึกษาการใช้เกลืออนินทรีย์ทั้งสองกลุ่ม พบว่าเกลือแคลเซียมคลอไรด์มีผลต่อการเจริญของเชื้อรามากที่สุด ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา อาจเนื่องจากการสะสมแคลเซียมอิออนภายในเซลล์ที่เพิ่มมากขึ้น ส่งผลรบกวนการทำงานของเซลล์เกิดการยับยั้งการเจริญของเส้นใยในที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากภายในเซลล์ที่สภาวะปกติมีระดับความเข้มข้นของโซเดียมอิออนในระดับความเข้มข้นต่ำกว่าไมโครโมลาร์เพื่อให้เซลล์ทำงานได้ตามปกติ (Rasmussen และคณะ, 1990; Tian และคณะ, 2002) แต่อย่างไรก็ตามการตอบสนองของเชื้อราต่อเกลือแคลเซียมคลอไรด์ให้ผลที่แตกต่างกันถึงแม้จะเป็นเชื้อราในสกุลเดียวกัน ตัวอย่างเช่น การใช้เกลือแคลเซียมคลอไรด์ ในการควบคุมการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus niger* ที่คัดแยกได้จากพริก ส้ม และแอปเปิ้ล ที่มีรายงานระดับความเข้มข้น ที่มีผลลดการเจริญของเส้นใยที่แตกต่างกันตั้งแต่ 0.92 – 80 mg/ml (Ratnayake และ

คณะ, 2009; Le และคณะ, 2018) เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาในครั้งนี้ที่ใช้เกลือแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 5-20 mg/ml หรือ 0.5 - 2% (w/v) สามารถลดอัตราการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* ได้ โดยที่ระดับความเข้มข้นประมาณ 1 mg/ml สามารถลดอัตราการเจริญของเส้นใยได้ 50% ($ED_{50}$ ~ 0.10% (w/v)) จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการ การตอบสนองของเชื้อราต่อเกลือเคลเซียมคลอไรด์ขึ้นกับชนิดของสาย พันธุ์เชื้อรา (strain dependent) ซึ่งอาจอธิบายได้โดยสิ่งแวดล้อม แหล่งที่อยู่และการปรับตัวของเชื้อราต่อสภาวะความเครียดต่างๆ ที่มีความแตกต่างกัน แต่อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญของเชื้อราของเกลืออนินทรีย์ยังพบว่าต้องมีปริมาณความเข้มข้นที่เหมาะสมถึงจะแสดงกิจกรรมการยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ Le และคณะ, 2018) เมื่อศึกษาถึงผลของอิทธิพลร่วมระหว่างเกลืออนนินทรีย์และ $a_w$ พบว่ากิจกรรมในการยับยั้งการเจริญต่อเชื้อรา *A. flavus* เพิ่มมากขึ้นอย่างเห็นได้ชัดโดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้เกลือกลุ่มซัลเฟต (>0.5% w/v) ที่ 0.95 $a_w$ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้เพิ่มมากขึ้น ภายใต้สภาวะเครียดเนื่องจากน้ำเชื้อราได้รับผลกระทบจากความดันออสโมติกที่เพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการส่งผ่านสารข้ามเยื่อหุ้มเซลล์ (Ramos และคณะ, 1999) เมื่อรวมกับกิจกรรมการยับยั้งการเจริญของเกลืออนินทรีย์ สามารถก่อให้เกิดการเสริมผลกระทบมากกว่าการใช้เกลือเพียงอย่างเดียว

## สรุปผล**

การศึกษาในครั้งนี้ทำให้ได้ข้อมูลที่มีประโยชน์เกี่ยวกับการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* ที่คัดแยกได้จากผลิตภัณฑ์พริกไทยต่อการตอบสนองต่อสารกลุ่มปลอดภัยเกลืออนินทรีย์ และ $a_w$ จากสารเคมีทดสอบทั้งหมด 6 ชนิดพบว่าเกลือแคลเซียมคลอไรด์เป็นสารเคมีที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญที่ภายใต้สภาวะ $a_w$ ที่ทำการทดลอง ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำสารกลุ่มปลอดภัยมาใช้ในการลดการปนเปื้อนของเชื้อราที่อาจเกิดขึ้นทั้งก่อนและหลังการเก็บ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค แต่อย่างไรก็ตามยังต้องมีการศึกษาเพื่อเติมเกี่ยวกับประสิทธิภาพของสารกลุ่มปลอดภัยในการควบคุมเชื้อราในผลพริกไทยเพื่อเพิ่มความเข้าใจต่อการตอบสนองของเชื้อราภายใต้สภาวะชีวภาพที่มีความแตกต่างจากการทดลองในห้องปฏิบัติการ

## เอกสารอ้างอิง


Awang, Y., Ghani, M. A. A., Sijam, K. and Mohamad, R. B., 2011, Effect of Calcium Chloride on Anthracnose Disease and Postharvest Quality of Red-flesh Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*), African Journal of Microbiology Research, 5(29): 5250-5259.

Bigges, A. R., 1999, Effects of Calcium Salts on Apples Bitter Rot Caused by Two *Collectotrichum* spp., Plant Disease, 83(11): 1001-1005.

Boumaaza, B., Benkhelifa, M. and Belkhoudja, M., 2015, Effects of Two Salts Compounds on Mycelial Growth, Sporulation, and Spore Germination of Six Isolates of Botrytis cinerea in the Western North of Algeria, International Journal of Microbiology, 2015: 1-8.

FAO, 2019, Salt-affected soils [Online], Available: http://www.fao.org/soils-portal/soil-management/management-of-soils/salt-affected -soils/more-information-on-salt-affected-soils/en/ [November 10, 2019].

Feng, W., Zheng, X. and Chen, J., 2013, Combined Inhibitory Effect Against Postharvest Storage Rots and Their Effects on Postharvest Quality Parameters in Cherry Tomatoes by Cassia Oil and Calcium chloride, Journal of Food Protection, 76: 1873-1878.

Garcia, M. V., Parussolo, G., Moro, C. B., Bernardi, A. O. and Copetti, M. V., 2018, Fungi in Spices and Mycotoxigenic Potential of Some Aspergilli Isolated, Food Microbiology, 73: 93-98.

Irshad, G., Haider, Z., Ikram, Z., Iqbal, A., Hyder, S. and Inamulhaq, M., 2014, Chemical Control of Fungal Diseases of Stored *Solanum lycopersicum* Fruit by Potassium Bicarbonate and Calcium Chloride, Pakistan Journal of Phytopathology, 26: 281-283.

Le, TT., Vo, T. K., Nguyen, T. M. L., Trieu, P. L., Ngo, V. T. and Nguyen, H. H., 2018. Efficacy of $CaCl_2$ Against Some Important Postharvest Fungi on Orange, Chilli and Cavendish Banana fruits, Journal of Vietnamese Environment, 10(2): 120-128.

Ramos, A.J., Magan, N. and Sanchis, V., 1999, Osmotic and Matric Potential Effects on Growth, Sclerotia and Portioning of Polyols and Sugars in Colonies and Spores of *Aspergillus ochraceus,* Mycological Research, 103(2): 141-147.

Rasmussen, H. and Rasmussen, J. E., Calcium as Intracellular Messenger: from Simplicity to Complexity, Current Topics

in cellular Regulation, 31: 1-109.

Ratnayake, R. M. R. N. K., Sumithra, H. J., Fernando, M. D. and Palipane, K. B., 2009, Effect of GRAS Compounds on Aspergillus Rot of Wood-apple *(Feronia limonia*), Phytoparasitica, 37: 431-436.

Sabokbar, A., Motevalibashi, M. and Talebi, S., 2018, Molecular Identification of Aflatoxin B1 *Aspergillus flavus* in Red, Black and White Pepper Using PCR Method, International Journal of Molecular Microbiology, 8(2): 1016-1022.

Tian, S. P., Fan, Q., Xu, Y. and Jiang, A. L., 2002, Effects of Calcium on Biocontrol Activity of Yeast Antagonists Against the Postharvest Fungal Pathogen *Rhizopus stolonifera*, Plant Pathology, 51(3): 352-358.

Turkkan, M., 2013, Antifungal Effect of Various Salts against *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*, the Causal Agent of Fusarium Basal Rot of Onion, Journal of Agricultural Sciences, 19: 178-187.

**Table 1** The ED50 concentrations % (w/v) of inorganic salts required for control of mycelial growth rate of A. flavus on PDA at 25°C.

| Chemicals | Types | $ED_{50}$ (un-modified ) | $ED_{50}$ (0.95 $a_w$) | $ED_{50}$ (0.90 $a_w$) |
|---|---|---|---|---|
| Chloride salts | Calcium chloride | ~ 0.1023 | ~ 2.409 | Not converged |
| | Potassium chloride | >2 | >2 | Not converged |
| | Sodium chloride | ~ 0.5363 | >2 | Not converged |
| Sulphate salts | Ammonium sulphate | >2 | Not converged | Not converged |
| | Sodium sulphate | >2 | ~ 0.6938 | Not converged |
| | Sodium thiosulphate | ~ 1.508 | ~ 0.7318 | Not converged |

Not converged refers to the model does not fit the data.

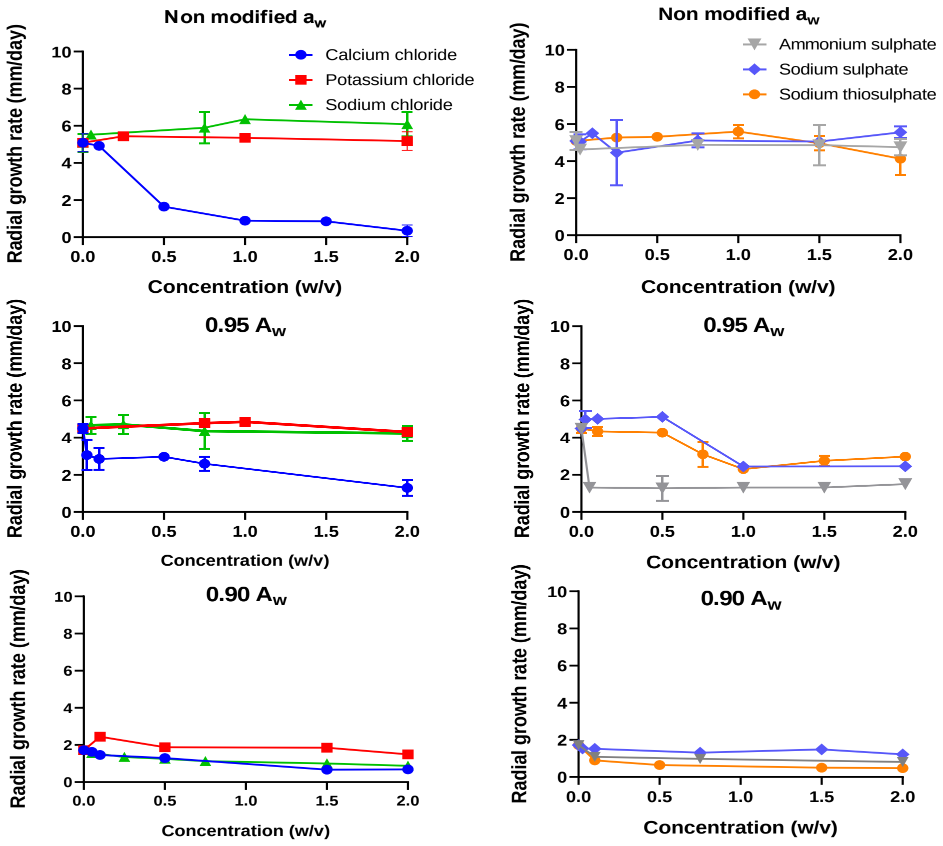



**Figure 1** Effect of inorganic salts and $a_w$ on radial growth rate of *A. flavus* on PDA.

# ผลของปุ๋ยอัดเม็ดมูลจิ้งหรีดสูตรต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอม
# Effect of Different Formulas of Cricket Frass Pellets as Fertilizer on Growth of Lettuce

ปรัชวนี พิบำรุง[1] และ ฐิติรัตน์ แซ่วื้อ[1]
Pibumrung, P.[1] and Saewue, T.[1]

## Abstract

The effects of cricket frass pellets as fertilizer on growth and weight of Green cos lettuce was studied. The Completely Randomized Design experiment consisted of six treatments and five replications. Results showed that Green cos lettuce applied with crickets frass and rice bran pellets (2:1 by weight) had the highest plant height, number of leaves, leaf width,fresh weight and dry weight per plant were 20.43 cm, 9.5 leaves, 6.62 cm, 61.84 g and 2.98 g, respectively. Those results were not statistically significant difference from the Green cos lettuce applied with crickets frass and bone meal pellets (3:1 by weight) which had plant height, number of leaves, leaf width,fresh weight and dry weight per plant were 20.10 cm, 9.0 leaves, 6.29 cm, 50.66 g and 2.67 g, respectively. However, those two treatments were statistically significant difference from the Green cos lettuce without cricket frass pellets ($p \leq 0.01$).

**Keywords:** Cricket frass, Pellet fertilizer, Lettuce, Growth

## บทคัดย่อ

การศึกษาผลการใช้ปุ๋ยอัดเม็ดมูลจิ้งหรีดต่อการเจริญเติบโต และน้ำหนักผักกาดหอมกรีนคอส วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design ประกอบด้วย 6 กรรมวิธี จำนวน 5 ซ้ำ ผลการทดลองพบว่า ผักกาดหอมกรีนคอสที่ใส่ปุ๋ยอัดเม็ดมูลจิ้งหรีดผสมรำละเอียด (2:1 โดยน้ำหนัก) มีความสูงต้น จำนวนใบ ความกว้างใบ น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งต่อต้นสูงสุดเท่ากับ 20.43 เซนติเมตร 9.5 ใบ 6.62 เซนติเมตร 61.84 กรัม และ 2.98 กรัม ตามลำดับ ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับผักกาดหอมกรีนคอสที่ใส่ปุ๋ยอัดเม็ดมูลจิ้งหรีดผสมกระดูกป่น (3:1 โดยน้ำหนัก) ที่มีความสูงต้น จำนวนใบ ความกว้างใบ น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งต่อต้น เท่ากับ 20.10 เซนติเมตร 9.0 ใบ 6.29 เซนติเมตร 50.66 กรัม และ 2.67 กรัม ตามลำดับ แต่ทั้ง 2 กรรมวิธีแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ยอัดเม็ดมูลจิ้งหรีด ($p \leq 0.01$)

**คำสำคัญ:** มูลจิ้งหรีด ปุ๋ยอัดเม็ด ผักกาดหอม การเจริญเติบโต

## คำนำ

จิ้งหรีดเป็นแหล่งอาหารโปรตีนทางเลือกที่ได้รับการยอมรับอย่างแพร่หลายทั้งในประเทศและต่างประเทศ (หยาดรุ้ง และ ปนัดดา, 2563) มีการพัฒนามาตรฐานการปฏิบัติการเกษตรที่ดี (GAP) สำหรับฟาร์มจิ้งหรีด (มกษ. 8202-2560) (มกอช., 2560) เพื่อพัฒนาผลผลิตที่มีคุณภาพสำหรับการบริโภค ถึงแม้การขยายขนาดการเพาะเลี้ยงจิ้งหรีดเชิงพาณิชย์มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมโดยรวมต่ำ แต่จำเป็นต้องมีการจัดการของเสียจากฟาร์มที่เหมาะสมเช่นกัน ดังการศึกษาฟาร์มเพาะเลี้ยงจิ้งหรีดในจังหวัดมหาสารคาม พบว่า ฟาร์มมีของเหลือทิ้งจากมูล สิ่งขับถ่าย เศษอาหาร และคราบของจิ้งหรีดทั้งหมดรวมเป็นปุ๋ยชีวภาพ คิดเป็นสัดส่วนประมาณ 38-62% ของมวลรวมอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง ปุ๋ยชีวภาพที่ได้ยังคงมีธาตุไนโตรเจน 2.27-2.58% ฟอสฟอรัส 1.55-2.02% และโพแทสเซียม 1.78-2.26% และอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนระหว่าง 14:1-17:1 (Hallolan, 2017) ซึ่งมีสมบัติให้ธาตุอาหารพืชและใช้เป็นสารทดแทนปุ๋ยได้ มีงานวิจัยในต่างประเทศ พบว่าการใช้มูลจิ้งหรีดอัตรา 505.93 และ 612.65 กิโลกรัมต่อไร่ ให้ผลผลิตข้าวโพดหวาน 1.34 และ 1.61 ตันต่อไร่ เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ใส่ปุ๋ย ข้าวโพดหวานให้ผลผลิต 1.03 ตันต่อไร่ (Darby และคณะ, 2018) และมีงานวิจัยในประเทศไทย พบว่า การใช้ปุ๋ยคอกมูลจิ้งหรีดอัตรา 2.5 ตันต่อไร่ ให้ความสูงและผลผลิตผักบุ้งจีน คะน้า และผักชีสูงกว่าการใช้ปุ๋ยคอกมูลโค และปุ๋ยหมักขยะอินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (เรณู, 2556) จะเห็นได้ว่า มูลจิ้งหรีดมีแนวโน้มเป็นปุ๋ยคอกที่ให้ธาตุอาหารสูงกว่ามูลสัตว์จากฟาร์มปศุสัตว์ทั่วไป การวิจัยครั้งนี้ มี

[1] สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา อำเภอพระนครศรีอยุธยา จังหวัดพระนครศรีอยุธยา 13000
[1] Department of Plant Production Technology, Faculty of Science and Technology, Phranakhon Si Ayutthaya Rajabhat University, Phranakhon Si Ayutthaya, 13000

วัตถุประสงค์เพื่อพัฒนามูลจิ้งหรีดเป็นปุ๋ยอินทรีย์ในรูปที่เหมาะสมต่อการใช้ประโยชน์ของพืช นอกจากเป็นการนำมูลจิ้งหรีดซึ่งเป็นของเสียเหลือทิ้งในฟาร์มมาหมุนเวียนใช้ประโยชน์ใหม่แล้ว ยังสามารถสร้างมูลค่าเพิ่มในรูปปุ๋ยอินทรีย์อัดเม็ดเชิงพาณิชย์ต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

การทำปุ๋ยหมักอัดเม็ดมูลจิ้งหรีด มีส่วนผสมหลักคือ มูลจิ้งหรีด และรำละเอียด หรือกระดูกป่น (ความชื้น $\leq$ 30%) ใช้มูลจิ้งหรีดที่รวบรวมจากฟาร์มเพาะเลี้ยงจิ้งหรีดในจังหวัดอ่างทอง และเลี้ยงจิ้งหรีดหลายชนิดในฟาร์มเดียวกัน มูลที่ได้จึงเป็นมูลรวมของจิ้งหรีดบ้าน หรือแมงสะดิ้ง (*Acheta domesticus* L.) จิ้งหรีดทองดำ (*Gryllus bimaculatus* De Geer) และจิ้งโกร่ง (*Brachytrupes portentosus* Licht) ผลวิเคราะห์สมบัติทางเคมีมูลจิ้งหรีด และวัตถุดิบที่ใช้แสดงใน Table 1 จากนั้นนำมูลจิ้งหรีด และส่วนผสมตั้งกองทำปุ๋ยหมักประกอบด้วย 5 สูตร ได้แก่ สูตรที่ 1 มูลจิ้งหรีด (F1) สูตรที่ 2 มูลจิ้งหรีดผสมรำละเอียด (อัตราส่วน 2:1 โดยน้ำหนัก) (F2) สูตรที่ 3 มูลจิ้งหรีดผสมรำละเอียด (อัตราส่วน 3:1 โดยน้ำหนัก) (F3) สูตรที่ 4 มูลจิ้งหรีดผสมกระดูกป่น (อัตราส่วน 2:1 โดยน้ำหนัก) (F4) และ สูตรที่ 5 มูลจิ้งหรีดผสมกระดูกป่น (อัตราส่วน 3:1 โดยน้ำหนัก) (F5) ทุกสูตรใช้สารพด. 1 และเชื้อราไตรโคเดอร์มาสดช่วยในการย่อยสลาย รดน้ำและกลับกองทุกสัปดาห์ ครบ 60 วัน นำปุ๋ยหมักแห้งแต่ละสูตรผสมน้ำหมักชีวภาพผลไม้ ขึ้นรูปเป็นปุ๋ยหมักอัดเม็ด ผึ่งลมให้แห้ง นำปุ๋ยหมักอัดเม็ดทุกสูตรวิเคราะห์สมบัติทางเคมี ได้แก่ ความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) การนำไฟฟ้า (conductivity meter) ปริมาณอินทรียวัตถุ (Walkey และ Black, 1934) สัดส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio) (ปริมาณคาร์บอนทั้งหมดโดยเทคนิค dry combustion ปริมาณไนโตรเจนโดยวิธี Kjedahl method) ปริมาณฟอสฟอรัสด้วยวิธี Spectrophotometric molybdovanadophosphate method ปริมาณโพแทสเซียมด้วยวิธี Flame photometric method และทดสอบการย่อยสลายสมบูรณ์ด้วยการทดสอบดัชนีการงอก (GI) (กรมพัฒนาที่ดิน, 2553)

การทดสอบผลการใช้มูลจิ้งหรีดอัดเม็ดกับผักกาดหอมกรีนคอส วางแผนการทดลองเป็น 6 กรรมวิธีๆ ละ 5 ซ้ำ ได้แก่ T1) ปุ๋ยอัดเม็ดมูลจิ้งหรีด T2) ปุ๋ยอัดเม็ดมูลจิ้งหรีดผสมรำละเอียด (อัตราส่วน 2:1) T3) ปุ๋ยอัดเม็ดมูลจิ้งหรีดผสมรำละเอียด (อัตราส่วน 3:1) T4) ปุ๋ยอัดเม็ดมูลจิ้งหรีดผสมกระดูกป่น (อัตราส่วน 2:1) T5) ปุ๋ยอัดเม็ดมูลจิ้งหรีดผสมกระดูกป่น (อัตราส่วน 3:1) และ T6) ไม่ใส่ปุ๋ย โดยทำการทดลองในกระถางปลูกขนาด 6 นิ้ว ใส่ปุ๋ยตามกรรมวิธี อัตราปุ๋ย 100 กรัมต่อดินปลูก 10 กิโลกรัม ผสมปุ๋ยลงในดินทิ้งไว้ 1 สัปดาห์ จึงทำการย้ายต้นกล้าผักกาดหอมกรีนคอสอายุ 2 สัปดาห์ลงปลูก รดน้ำทุกวัน พ่นน้ำหมักจุลินทรีย์หน่อกล้วยและน้ำหมักสารสะเดาสัปดาห์ละครั้ง บันทึกผลการเจริญเติบโต ดังนี้ ความสูงต้น จำนวนใบ ความกว้างใบ น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวน และความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

### สมบัติของปุ๋ยหมักอัดเม็ดมูลจิ้งหรีด

การวิเคราะห์สมบัติของปุ๋ยหมักอัดเม็ดมูลจิ้งหรีด (Table 2) พบว่าปุ๋ยหมักมูลจิ้งหรีดอัดเม็ดทุกสูตร มีค่าความเป็นกรด-ด่างเป็นกลางถึงด่างเล็กน้อย (7.14-7.68) ถึงแม้ว่าอินทรียสารตั้งต้นจะมีความเป็นกรด-ด่างแตกต่างกัน แต่ปุ๋ยทุกสูตรมีค่าความเป็นกรด-ด่างที่ไม่แตกต่างกันมากนัก เนื่องจากสารที่ได้ระหว่างการหมักมีความจุบัฟเฟอร์ตามธรรมชาติสูง (ยงยุทธ และคณะ, 2554) สำหรับค่าการนำไฟฟ้าของปุ๋ยทุกสูตรอยู่ในระดับไม่เกินเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์กรมวิชาการเกษตร (ไม่เกิน 6 เดซิซีเมนต์/เมตร) แต่สูตรที่มีส่วนผสมของกระดูกป่นมีแนวโน้มให้ค่าการนำไฟฟ้าสูงกว่าทุกสูตรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามค่าการนำไฟฟ้าที่สูงขึ้นยังอยู่ในระดับที่ปลอดภัยต่อพืช เนื่องจากไม่ใช่ผลจากปริมาณเกลือโซเดียมในปุ๋ยหมัก เพราะหลังการย่อยสลายสมบูรณ์กระดูกป่นช่วยเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสในปุ๋ยแล้ว ยังให้ปริมาณแคลเซียม และแมกนีเซียมที่สูงขึ้น ส่งผลให้การละลายเกลือโซเดียมลดลง (Oyeyiola และ Omueti, 2019) ด้านปริมาณธาตุอาหารหลัก พบว่า ปุ๋ยอัดเม็ดสูตรมูลจิ้งหรีด และสูตรมูลจิ้งหรีดผสมรำละเอียดอัตราส่วน 2:1 และ 3:1 มีปริมาณไนโตรเจนสูงกว่าสูตรมูลจิ้งหรีดผสมกระดูกป่นอัตราส่วน 2:1 และ 3:1 ในขณะที่ปุ๋ยอัดเม็ดสูตรมูลจิ้งหรีดผสมกระดูกป่นอัตราส่วน 2:1 และ 3:1 มีปริมาณฟอสฟอรัสสูงกว่าปุ๋ยอัดเม็ดทุกสูตรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ปุ๋ยอัดเม็ดทุกสูตรมีปริมาณโพแทสเซียมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบสมบัติของปุ๋ยหมักกับวัตถุดิบก่อนการหมัก พบว่าปุ๋ยอัดเม็ดทุกสูตรมีปริมาณฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมสูงขึ้น สอดคล้องกับสมบัติของรำละเอียด และกระดูกป่นที่มีปริมาณฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมสูงกว่ามูลจิ้งหรีด ในขณะที่ปริมาณไนโตรเจนของปุ๋ยทุกสูตรมีปริมาณต่ำกว่าวัตถุดิบตั้งต้น ทั้งนี้แสดงว่าในกระบวนการหมักปุ๋ยมีการสูญเสียไนโตรเจนจากกลไกการระเหยของแอมโมเนีย และออกไซด์ของไนโตรเจนรวมทั้งการสูญเสียไนโตรเจนที่ละลายน้ำได้โดยการชะละลาย (Yang และคณะ, 2019) อย่างไรก็ตามปุ๋ยหมักอัดเม็ดมูลจิ้งหรีดทุกสูตรมีปริมาณโซเดียมต่ำกว่า 1% มีค่าดัชนีการงอกของเมล็ดสูงกว่า 85% และมีสมบัติตามเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของกรม

วิชาการเกษตร (2548) และมาตรฐานปัจจัยการผลิตทางการเกษตรของกรมพัฒนาที่ดิน (2556) สามารถใช้เป็นปุ๋ยอินทรีย์สำหรับผลิตพืชทั่วไป หรือพัฒนาเป็นปุ๋ยอินทรีย์เชิงพาณิชย์ได้

ด้านการเจริญเติบโตของผักกาดหอมกรีนคอสในระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ผักกรีนคอสที่ใส่ปุ๋ยอัดเม็ดมูลจิ้งหรีดผสมรำละเอียด (2:1 โดยน้ำหนัก) มีความสูงต้น จำนวนใบ ความกว้างใบ น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งต่อต้นสูงสุด เท่ากับ 20.43 เซนติเมตร 9.5 ใบ 6.62 เซนติเมตร 61.84 กรัม และ 2.98 กรัม ตามลำดับ และไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับผักกรีนคอสที่ใส่ปุ๋ยอัดเม็ดมูลจิ้งหรีดผสมกระดูกป่น (3:1 โดยน้ำหนัก) ที่มีความสูงต้น จำนวนใบ ความกว้างใบ น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งต่อต้น เท่ากับ 20.10 เซนติเมตร 9.0 ใบ 6.29 เซนติเมตร 50.66 กรัม และ 2.67 กรัม ตามลำดับ แต่ทั้ง 2 กรรมวิธีแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ยอัดเม็ดมูลจิ้งหรีด (Figure 1-4) โดยสามารถเพิ่มน้ำหนักสดผักกรีนคอสได้สูงกว่าการไม่ใส่ปุ๋ย 86.11และ 83.05% ตามลำดับ อย่างไรก็ตามการใส่ปุ๋ยอัดเม็ดมูลจิ้งหรีดทุกสูตร ยกเว้นสูตรมูลจิ้งหรีดผสมกระดูกป่น (อัตราส่วน 2:1 โดยน้ำหนัก) มีอิทธิพลต่อความสูงต้น จำนวนใบ ความกว้างใบ น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของผักกรีนคอสสูงกว่าการไม่ใส่ปุ๋ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่การใส่ปุ๋ยสูตรมูลจิ้งหรีดผสมกระดูกป่น (อัตราส่วน 2:1 โดยน้ำหนัก) ถึงแม้จะส่งผลให้ผักกรีนคอสมีน้ำหนักสดสูงกว่าการไม่ใส่ปุ๋ย แต่ความสูงต้น และจำนวนใบไม่แตกต่างกับการไม่ใส่ปุ๋ยนั้น อาจเนื่องจากปุ๋ยมีปริมาณไนโตรเจนต่ำ และปริมาณฟอสฟอรัสสูงกว่าปุ๋ยอัดเม็ดทุกสูตร ดังนั้นปริมาณไนโตรเจนน่าจะเป็นธาตุที่จำกัด เนื่องจากไนโตรเจนเป็นธาตุหลักที่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโต และคุณภาพของผักกินใบ โดยเฉพาะผักกาดหอมที่มีอัตราการใช้ฟอสฟอรัสต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับธาตุไนโตรเจน (ยงยุทธ และคณะ, 2554) เมื่อพิจารณาแล้วจะเห็นว่า การใส่ปุ๋ยอัดเม็ดสูตรมูลจิ้งหรีดเพียงอย่างเดียว สามารถให้ธาตุอาหารเพียงพอต่อการเจริญเติบโตของผักกรีนคอสได้ แต่อาจต้องเพิ่มอัตราการใส่ปุ๋ยที่สูงขึ้น เพราะการเจริญเติบโต และผลผลิตของผักกาดหอมขึ้นอยู่กับระดับไนโตรเจนที่เพิ่มขึ้น (อรประภา, 2558) อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาอัตราการใส่ปุ๋ยที่เหมาะสม เนื่องจากมูลจิ้งหรีดมีธาตุอาหารสูงกว่ามูลสัตว์โดยทั่วไป เมื่อใส่ลงไปในดินจะช่วยเพิ่มความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารพืช และลดความเป็นพิษของธาตุที่ไม่ต้องการในดินได้ แต่การใช้มูลจิ้งหรีดในอัตราที่สูงเกินไปอาจลดการเจริญเติบโตของพืช เนื่องจากค่าความเข้มข้นของธาตุอาหารต่างๆ ส่งผลต่อค่าความเค็ม และความไม่สมดุลของธาตุอาหารในดิน (Butnan และ Duangpukdee, 2021) ดังนั้นการใช้รำละเอียด และกระดูกป่นเป็นส่วนผสมในปุ๋ยมูลจิ้งหรีดเพื่อเพิ่มธาตุอาหารพืช จึงควรคำนึงถึงอัตราส่วนผสมที่ใช้ และสูตรปุ๋ยที่เหมาะสมกับชนิดพืชด้วยเช่นกัน

## สรุปผล

ปุ๋ยอัดเม็ดสูตรมูลจิ้งหรีด สูตรมูลจิ้งหรีดผสมรำละเอียด และสูตรมูลจิ้งหรีดผสมกระดูกป่นมีสมบัติ และปริมาณธาตุอาหารตามเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ (กรมวิชาการเกษตร, 2548) และมาตรฐานปุ๋ยหมัก (กรมพัฒนาที่ดิน, 2556) โดยปุ๋ยอัดเม็ดสูตรมูลจิ้งหรีดผสมกระดูกป่น (อัตราส่วน 2:1 โดยน้ำหนัก) มีปริมาณธาตุอาหารหลักรวมสูงสุดเท่ากับ 10.31% มีสมบัติตามเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์คุณภาพสูง (มาตรฐานกำหนดไม่น้อยกว่าร้อยละ 9) สำหรับการผลิตผักกาดหอมกรีนคอส การใส่ปุ๋ยสูตรมูลจิ้งหรีดผสมรำละเอียด (อัตราส่วน 2:1 โดยน้ำหนัก) ส่งผลให้ความสูงต้น จำนวนใบ ความกว้างใบ น้ำหนักสดและแห้งต่อต้นสูงสุดไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใส่ปุ๋ยสูตรมูลจิ้งหรีดผสมกระดูกป่น (อัตราส่วน 3:1 โดยน้ำหนัก)

## เอกสารอ้างอิง**

กรมพัฒนาที่ดิน, 2553, คู่มือการปฏิบัติงานกระบวนการวิเคราะห์พืช ปุ๋ย และสิ่งปรับปรุงดิน, กรมพัฒนาที่ดิน, กรุงเทพฯ.

กรมพัฒนาที่ดิน, 2556, ระเบียบกรมพัฒนาที่ดินว่าด้วยกฎหมายการใช้เครื่องหมายรับรองมาตรฐานปัจจัยการผลิตทางการเกษตร พ.ศ. 2556, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

กรมวิชาการเกษตร, 2548, ประกาศมาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์กรมวิชาการเกษตร พ.ศ.2548, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

ยงยุทธ โอสถสภา, อรรถศิษฐ์ วงศ์มณีโรจน์ และ ชวลิต ฮงประยูร, 2554, ปุ๋ยเพื่อการเกษตรยั่งยืน, พิมพ์ครั้งที่ 2, สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เรณู ตรีโลเกศ, 2556, ผลของการใช้ปุ๋ยสูตรที่ดีต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของพืชผักบางชนิด, วารสารเกษตรพระวรุณ, 10(1): 19-28.

หยาดรุ้ง มะวงศ์ไว และปนัดดา อุตรนคร, 2563, ต้นทุนและผลตอบแทนการเพาะเลี้ยงจิ้งหรีดเชิงพาณิชย์ของเกษตรกรรายย่อย, วารสารบริหารธุรกิจ เศรษฐศาสตร์และการสื่อสาร, 15(2): 113-124.

อรประภา อนุกูลประเสริฐ, 2558, ผลของการใช้ปุ๋ยอินทรีย์คุณภาพสูงต่อการให้ผลผลิตและคุณภาพของผักกาดหอม, วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 4(1): 81-94.

Butnan, S. and Duangpukdee, J., 2021, Cricket frass: The high-quality organic fertilizer for vegetable growth

Improvement, แก่นเกษตร, 1: 883-887.

Darby, H., Gupta, A., Cummings, E., Ruhl, L. and Ziegler, S., 2018, Cricket frass as a potential nitrogen fertility source, University of Vermont, Burlington.

Halloran, A., Hanboonsong, Y., Roos, N. and Bruun, S, 2017, Life cycle assessment of cricket farming in northeastern Thailand, J. Clean. Prod., 156: 83-94.

Oyeyiola, Y.B. and Omueti, J.A.I., 2019 Nutrient quality and phytotoxicity assessment of phospho- Compost prepared under two bone meal fortification methods, Malaysian Journal of Soil Science, 23: 119-134.

Yang, X., E. Liu, X. Zhu, H. Wang, H. Liu, X. Liu and W. Dong. 2019. Impact of composting methods on nitrogen retention and losses during dairy manure composting. Int. J. Environ. Res. Public Health16, 3324; doi:10.3390/ijerph16183324.

**Table 1** Chemical properties of raw materials for compost

| Sample | pH (1:2) | EC (1:10) | OM (%) | C/N ratio | N (%) | P (%) | K (%) | Ca (%) | S (%) | Mg (mg/kg) | Fe (mg/kg) | Mn (mg/kg) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| CF | 6.95c | 9.74c | 60.36a | 6.25c | 5.18a | 1.23c | 1.10 | 1.61c | 0.72b | 2,578.09b | 763.85c | 182.69c |
| RB | 7.40b | 7.09b | 40.25b | 9.58a | 2.56b | 4.61b | 1.14 | 6.83b | 0.66b | 2,390.32b | 924.11b | 481.37b |
| PB | 8.63a | 10.25a | 31.81c | 7.49b | 2.85c | 14.72a | 1.05 | 25.54a | 1.85a | 3,632.47a | 1,632.72a | 804.52a |
| F-test | ** | ** | ** | ** | ** | ** | ns | ** | ** | ** | ** | ** |
| CV% | 2.01 | 1.75 | 3.89 | 2.48 | 5.93 | 1.77 | 2.34 | 5.65 | 2.16 | 9.35 | 10.42 | 6.68 |

Remark; CF = cricket frass, RB = Rice barn, PB = Powdered bone, pH = ความเป็นกรด-ด่าง, EC = การนำไฟฟ้า, OM = ปริมาณอินทรียวัตถุ, ns = not significantly, ** = significantly different at p≤0.01

**Table 2** Chemical properties of compost pellets from cricket frass

| Fertilizer Pellets | pH (1:1) | EC (1:2) | OM (%) | C:N ratio | Total N (%) | $P_2O_5$ (%) | $K_2O$ (%) | Na (%) | GI (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **F1** | 7.17 c | 1.62 b | 28.78 | 7.75 ab | 2.15 ab | 3.16 c | 1.28 | 0.08 c | 94.93 a |
| **F2** | 7.25 bc | 0.73 c | 26.40 | 6.27 b | 2.45 a | 3.64 b | 1.35 | 0.18 b | 87.21 b |
| **F3** | 7.14 c | 0.85 c | 27.36 | 7.00 ab | 2.27 ab | 3.39 bc | 1.31 | 0.13 b | 88.44 b |
| **F4** | 7.68 a | 2.34 a | 26.53 | 7.84 ab | 1.98 b | 6.87 a | 1.46 | 0.37 a | 85.06 b |
| **F5** | 7.51 ab | 2.09 a | 27.95 | 8.05 a | 2.02 b | 5.15 ab | 1.40 | 0.32 a | 85.85 b |
| **F-test** | ** | ** | ns | * | ** | ** | ns | ** | ** |
| **CV%** | 2.44 | 12.30 | 11.23 | 11.90 | 7.74 | 8.21 | 9.68 | 18.60 | 3.40 |

Remark; Total N = ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด, $P_2O_5$ = ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์, $K_2O$ = โพแทสเซียมที่ละลายน้ำได้, ns = not significantly, * and ** = significantly different at p≤0.05 and p≤0.01, respectively

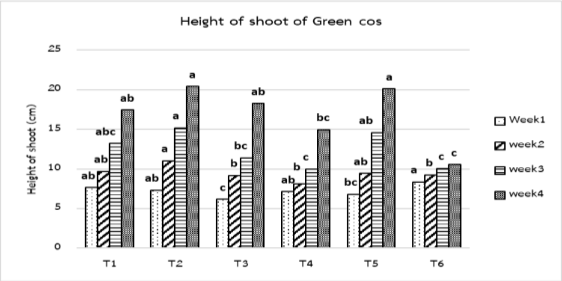



**Figure 1** Height of shoot of Green cos

**Figure 2** Number of leaves of Green cos

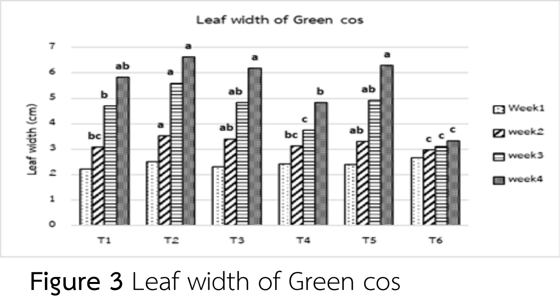



**Figure 3** Leaf width of Green cos

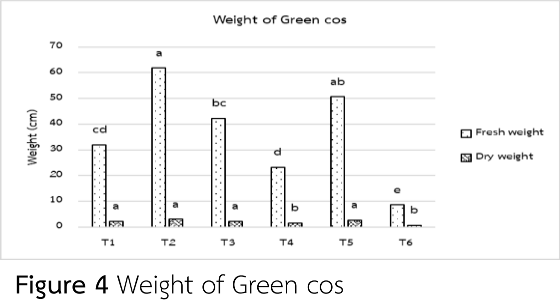



**Figure 4** Weight of Green cos

# ผลของระบบไฮโดรโปนิกส์ต่อการเจริญเติบโตและปริมาณไนเตรทในผักกาดหอม
# Effect of Hydroponics System on Growth and Nitrate Content of Lettuce

**ปรัชวนี พิบำรุง[1] และ กชกร ประคองสุข[1]**
**Pibumrung, P.[1] and Prakhongsuk, K.[1]**

## Abstract

Growth, weight and nitrate content of three varieties of lettuce in Dynamic Root Floating Technique (DRFT) hydroponic system were investigated. The experiment was 2x2 Factorial in Completely Randomized Design with ten replications and two factors: water system (12 and 24 h/day water circulating system) and lighting (solar and LED lighting). Results showed that the highest fresh weight of Green oak, Red oak and Green cos (156.60, 131.23 and 155.28 g, respectively) and lowest nitrate content (1,929.51, 1,781.38 and 2,078.38 mg/kg, respectively) were found in the sample treated with 24 h/day-water circulating and solar. The Green oak, Red oak and Green cos grown in the 12 h/day-water circulating and under LED lighting had lowest fresh weight (89.70, 76.56 and 78.45 g, respectively) and nitrate content (2,187.90, 1,959.72 and 2,293.16 mg/kg, respectively), which both treatments were significantly different.

**Keywords:** Hydroponics, Lettuce, Nitrate, LED

## บทคัดย่อ

การศึกษาการเจริญเติบโต น้ำหนัก และปริมาณไนเตรทในผักกาดหอม 3 พันธุ์ที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์แบบ Dynamic Root Floating Technique (DRFT) วางแผนการทดลองแบบ 2x2 Factorial in Completely Randomized Design จำนวน 10 ซ้ำ ประกอบด้วย 2 ปัจจัย ได้แก่ ระบบน้ำ (น้ำหมุนเวียน 12 และ 24 ชั่วโมงต่อวัน) และการให้แสง (แสงอาทิตย์ และแสงแอลอีดี) พบว่า ผักกาดหอมกรีนโอ๊ค เรดโอ๊ค และกรีนคอสในระบบน้ำหมุนเวียน 24 ชั่วโมงต่อวันร่วมกับการให้แสงอาทิตย์มีน้ำหนักสดสูงสุด (156.60, 131.23 และ 155.28 กรัม ตามลำดับ) และมีปริมาณไนเตรทต่ำสุด (1,929.51, 1,781.38 และ 2,078.38 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ) ส่วนผักกาดหอมกรีนโอ๊ค เรดโอ๊ค และกรีนคอสในระบบน้ำหมุนเวียน 12 ชั่วโมงต่อวันร่วมกับการให้แสงแอลอีดีมีน้ำหนักสดต่ำสุด (89.70, 76.56 และ 78.45 กรัม ตามลำดับ) และมีปริมาณไนเตรทสูงสุด (2,187.90, 1,959.72 และ 2,293.16 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ) ซึ่งทั้ง 2 ทรีตเม้นต์ทำให้ลักษณะดังกล่าวข้างต้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

**คำสำคัญ:** ไฮโดรโปนิกส์ ผักกาดหอม ไนเตรท แสงแอลอีดี

## คำนำ

การผลิตผักในระบบไฮโดรโปนิกส์ เป็นระบบการผลิตที่ตลาดมีความต้องการสูงขึ้นต่อเนื่อง เพราะสามารถควบคุมปริมาณ คุณภาพ และสารพิษตกค้างในระบบได้ ช่วยแก้ปัญหาการขาดแคลนผักตามฤดูกาล รวมทั้งหมุนเวียนการผลิตได้ในพื้นที่จำกัด โดยเฉพาะเทคโนโลยีการผลิตพืชในอาคารที่สามารถควบคุมปัจจัยสภาพแวดล้อมได้ มีการนำแสงเทียมจาก light-emitting diodes (LEDs) มาประยุกต์ใช้ร่วมกับการผลิตพืช ซึ่งสามารถควบคุมความเข้ม และพลังงานแสงให้สอดคล้องกับความต้องการของพืช นอกจากนี้หลอดไฟแอลอีดีให้พลังงานแสงสูงแต่ปลดปล่อยความร้อนต่ำ ตลอดจนมีอายุการใช้งานที่ยาวนานกว่าหลอดไฟทั่วไปถึง 100 เท่า (Yeh และ Chung, 2009) อย่างไรก็ตามการปลูกผักในระบบไฮโดรโปนิกส์มีการใช้ปุ๋ยเคมีเป็นหลัก จึงมีข้อกังวลเกี่ยวกับปริมาณไนเตรทที่สะสมในผักเกินมาตรฐาน ซึ่งอาจส่งผลต่อสุขภาพของผู้บริโภคโดยเฉพาะผักเป็นพืชอายุสั้น หากได้รับปุ๋ยไนโตรเจนในรูปของไนเตรทปริมาณมากเกินความต้องการ มีแนวโน้มเกิดการสะสมไนเตรทที่ใบสูงกว่าส่วนอื่น (Santamaria, 2006) และการบริโภคผักที่มีสารไนเตรทในปริมาณมาก อาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภคได้ (Petpiamsiri และคณะ, 2018) อย่างไรก็ตาม การสะสมปริมาณไนเตรทในพืชนั้นขึ้นอยู่กับระบบการผลิต และระยะการเก็บเกี่ยวของพืชด้วย (Yosoff และคณะ,

[1] สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา อำเภอพระนครศรีอยุธยา จังหวัดพระนครศรีอยุธยา 13000
[1] Department of Plant Production Technology, Faculty of Science and Technology, Phranakhon Si Ayutthaya Rajabhat University, Phranakhon Si Ayutthaya, 13000

2015) ดังนั้น การศึกษาวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและปริมาณไนเตรทในผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ในระบบการหมุนเวียนน้ำ 12 และ 24 ชั่วโมงต่อวัน ร่วมกับการให้แสงอาทิตย์ และแสงแอลอีดี (LED) เพื่อให้ได้ข้อมูลทางวิชาการที่เป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาการผลิตผักในระบบไฮโดรโปนิกส์ต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการเพาะกล้าผักกาดหอมกรีนโอ๊ค เรดโอ๊ค และกรีนคอสในฟองน้ำ และย้ายปลูกลงในระบบไฮโดรโปนิกส์แบบ Dynamic Root Floating Technique (DRFT) วางแผนการทดลองแบบ 2x2 Factorial in Completely Randomized Design จำนวน 10 ซ้ำ ประกอบด้วย 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยด้านระบบน้ำ ได้แก่ 1) ระบบน้ำหมุนเวียน 12 ชั่วโมงต่อวัน (ตั้งเวลาการปิดเครื่องเติมอากาศระหว่างเวลา 18.00 น. – 06.00 น. ของวันใหม่) และ 2) ระบบน้ำหมุนเวียน 24 ชั่วโมงต่อวัน (เปิดเครื่องเติมอากาศตลอดเวลา) และปัจจัยด้านแสง ได้แก่ 1) แสงอาทิตย์ และ 2) แสงแอลอีดี) การทดลองที่ให้แสงอาทิตย์ทำการทดสอบในโรงเรือนปลูกพืช ได้รับแสงเฉลี่ย ตั้งแต่เวลา 07.25-17.46 นาที (1,430 – 7,680 lux ที่ระยะห่างจากผัก 20 เซนติเมตร) อุณหภูมิภายในโรงเรือนเฉลี่ยเท่ากับ 34.5 องศาเซลเซียส อุณหภูมิภายนอกโรงเรือนเฉลี่ยเท่ากับ 28.5 องศาเซลเซียส และการทดลองที่ให้แสงแอลอีดีทำการทดสอบในอาคารปลูกพืช ได้รับแสงแอลอีดี ตั้งแต่เวลา 06.00-20.00 น. ใช้อัตราส่วนแสงสีแดง:สีน้ำเงิน:แสงสีขาวเท่ากับ 3:2:1 (1,527 – 1,545 lux ที่ระยะห่างจากผัก 20 เซนติเมตร) อุณหภูมิภายในอาคารเฉลี่ยเท่ากับ 29.5 องศาเซลเซียส อุณหภูมิภายนอกอาคารเฉลี่ยเท่ากับ 34.9 องศาเซลเซียส ปรับสารละลายให้มีค่า pH ระหว่าง 5-6 ค่า EC 0.5–2.5 mS/cm. ตามระยะการเจริญเติบโตของผัก บันทึกข้อมูลความสูงต้น จำนวนใบ และความกว้างของใบ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งผักหลังการเก็บเกี่ยว (กรัม) และวิเคราะห์ปริมาณไนเตรทในผักกาดหอมตามวิธี association of official analytical chemists (AOAC, 2000) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 nm ด้วยเครื่อง Spectrophotometer นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวน และความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan’s New Multiple Range Test (DMRT)

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การเจริญเติบโต และน้ำหนักของผักกาดหอมทั้งสามพันธุ์ในระบบไฮโดรโปนิกส์เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ปัจจัยด้านระบบน้ำ และระบบแสงมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.01$) ต่อการเจริญเติบโตและน้ำหนักของผักกาดหอม โดยอิทธิพลด้านระบบน้ำ และระบบแสงมีผลต่อความสูงต้น ความกว้างทรงพุ่ม น้ำหนักสดและแห้งของผักกรีนโอ๊ค เรดโอ๊ค และกรีนคอส แต่ทั้งระบบน้ำและแสงไม่มีผลต่อจำนวนใบของผักกาดหอมทั้ง 3 พันธุ์ (Figure 1-6) ในขณะที่การทดลองของ Sreejariya และคณะ (2016) พบว่า การลดเวลาหมุนเวียนน้ำเพียง 12 ชั่วโมงต่อวัน เปรียบเทียบกับการหมุนเวียนน้ำตลอด 24 ชั่วโมง ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอมในระบบอควาโปนิกส์ เพราะปริมาณธาตุอาหารในน้ำเป็นปัจจัยหลักต่อการเจริญเติบโตของผักมากกว่าอัตราการหมุนเวียนน้ำ สอดคล้องกับการศึกษาของ Shete และคณะ (2013) รายงานว่า การหมุนเวียนน้ำในระบบอควาโปนิกส์ช่วยให้ผักโขมดูดใช้ธาตุอาหารได้มากขึ้น โดยระบบที่มีการหมุนเวียนน้ำตลอด 24 ชั่วโมง มีปริมาณแอมโมเนีย และไนเตรทในน้ำลดลงต่ำสุด และลดลงรองลงไปในระบบที่มีการหมุนเวียนน้ำ 12, 8 และ 4 ชั่วโมงต่อวัน ตามลำดับ และการเจริญเติบโตของผักโขมไม่แตกต่างกันทางสถิติ ผลที่แตกต่างจากการศึกษาในครั้งนี้ เนื่องจากในระบบอควาโปนิกส์นั้นปริมาณธาตุอาหารที่ควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ขึ้นอยู่กับการให้อาหาร การเผาผลาญอาหารของปลา และกิจกรรมของจุลินทรีย์เป็นหลัก (Liang และ Chien, 2013) การหมุนเวียนน้ำ 12-13 ชั่วโมงต่อวัน จึงยังสามารถรักษาความคุ้มค่าทางเศรษฐกิจของผลผลิตได้ อย่างไรก็ตามในระบบไฮโดรโปนิกส์ทั่วไปการสร้างผลผลิตพืช ซสามารถใช้การจัดการค่าการนำไฟฟ้าของสารละลาย แก้ไขปัญหา และเพิ่มการดูดใช้ธาตุอาหารได้ (Sublet และคณะ, 2018) นอกจากนี้ต้องพิจารณาด้านอุณหภูมิของสารละลายธาตุอาหาร ซึ่งเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่ออุณหภูมิของราก การดูดใช้ธาตุอาหาร และพัฒนาการของพืช (Calatayud และคณะ, 2008) การผลิตผักกาดหอมในระบบไฮโดรโปนิกส์ จึงต้องพิจารณาปัจจัยหลายด้าน ได้แก่ อัตราการไหลของน้ำ ฤดูกาล ระยะเวลา และการบังแสง เป็นต้น (Makhadmeh และคณะ, 2017) ดังนั้นการลดเวลาการหมุนเวียนระบบน้ำ จึงควรนำไปพิจารณาผลที่สอดคล้องกันของการลดต้นทุนการผลิตกับผลผลิตผักในระบบไฮโดรโปนิกส์ในสภาพแวดล้อมที่ต่างกันไป ด้านการศึกษาอิทธิพลของระบบแสงในการศึกษาครั้งนี้ พบว่า ผักกาดหอมทั้ง 3 พันธุ์ที่ปลูกโดยใช้แสงอาทิตย์มีอัตราการเจริญเติบโต และน้ำหนักสูงกว่าผักกาดหอมที่ปลูกโดยใช้แสงแอลอีดี ในขณะที่ Promratrak (2017) รายงานว่า ผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์โดยใช้แสงแอลอีดีสีแดง และน้ำเงิน มีการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตได้สูงกว่าการใช้แสงอาทิตย์ เพราะแสงสีแดง และสีน้ำเงินเป็นแหล่งพลังงานที่พืชใช้ในการดูดซับคาร์บอนไดออกไซด์ในกระบวนการสังเคราะห์แสง ซึ่งผลการศึกษาที่แตกต่างนี้ อาจเนื่องจากระบบไฮโดรโปนิกส์ที่ให้แสงแอลอีดีในอาคารทดลองนั้น ถึงแม้ผักจะได้รับแสงยาวนานขึ้น (14 ชั่วโมงต่อวัน) แต่ความเข้มแสงที่ได้รับ (1,527-1,545 lux) ต่ำกว่าผักที่

ได้รับแสงอาทิตย์ (1,430-7,860 lux) ในโรงเรือนทดลอง (เฉลี่ย 10 ชั่วโมงต่อวัน) เพราะผักที่ได้รับความเข้มแสงสูงขึ้น จะมีขบวนการสังเคราะห์แสงเพิ่มขึ้นจนถึงระดับอิ่มตัวด้วยแสง (light saturation point) แล้วระดับการสังเคราะห์แสงจะไม่เปลี่ยนแปลง (พิชญ์สินี และธรรมศักดิ์, 2560) ความเข้มแสง และระยะเวลาในการรับแสงมีผลต่อการเจริญเติบโตของผักอย่างมีนัยสำคัญ การผลิตผักกาดหอมโดยใช้แสงแอลอีดี จึงควรศึกษาระดับความเข้มแสงที่สมดุลต่อการเจริญเติบโต และการสังเคราะห์แสงของผักกาดหอมด้วย (Kang และคณะ, 2013) นอกจากนั้นสัดส่วนระหว่างการใช้แสง LED สีแดงต่อสีน้ำเงิน ยังส่งผลต่อการเจริญเติบโตด้านจำนวนใบ และพื้นที่ใบ โดยอัตราส่วนของแสงสีน้ำเงินที่เพิ่มขึ้น ส่งผลต่อการเจริญเติบโตทางสรีรวิทยา และสัณฐานวิทยา แต่ไม่มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับการสังเคราะห์แสง และน้ำหนักแห้งของผักกาดหอม (Wang และคณะ, 2016) อย่างไรก็ตาม การผลิตผักกาดหอมในอาคารมีหลายปัจจัยที่ต้องควบคุมให้สมดุลทั้งปริมาณน้ำ ธาตุอาหาร และพลังงาน ซึ่งในด้านพลังงานนั้นเกี่ยวข้องกับความเข้ม และคุณภาพของแสงเป็นสำคัญ การเปลี่ยนแปลงระดับความเข้ม คุณภาพ และชนิดของแสงที่เหมาะสม จะส่งผลต่อประสิทธิภาพการเพิ่มผลผลิตทั้งหมด (Loconsole และคณะ, 2019)

ด้านปริมาณการสะสมไนเตรท พบว่า ปัจจัยด้านระบบน้ำ และระบบแสงมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.01$) ต่อปริมาณไนเตรทของกรีนโอ๊ค เรดโอ๊ค และกรีนคอส ปัจจัยด้านการหมุนเวียนน้ำและการให้แสงมีอิทธิพลต่อปริมาณไนเตรทสะสมของกรีนโอ๊ค เรดโอ๊ค และกรีนคอสแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยในระบบน้ำหมุนเวียน 12 ชั่วโมงต่อวัน และให้แสงแอลอีดี ผักทั้ง 3 พันธุ์มีปริมาณไนเตรทสะสมสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เห็นได้ว่า ความเข้มของแสงเป็นปัจจัยสำคัญต่อปริมาณการสะสมไนเตรทในผัก (Liang และ Chien, 2013) และการจำกัดความเข้มของแสงมีผลต่อการเจริญเติบโต และการดูดสารอาหารของพืช (Santamaria, 2006) เนื่องจากการสะสมไนเตรทในพืชนั้นมีอิทธิพลจากปุ๋ย และแสงโดยตรง ด้วยแสงเป็นปัจจัยหลักในการดูดใช้ไนเตรท และการสะสมไนเตรทในเนื้อเยื่อพืช (Lillo, 2004) แต่อายุของผักมีผลต่อการสะสมไนเตรทมากกว่าชนิด และส่วนผสมของแสงแอลอีดี (Wojciechowska และคณะ, 2016)

## สรุปผล

ผักกรีนโอ๊ค เรดโอ๊ค และกรีนคอสที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ โดยใช้ระบบน้ำหมุนเวียน 24 ชั่วโมงต่อวัน ร่วมกับการให้แสงอาทิตย์มีน้ำหนักสดสูงสุด และมีปริมาณไนเตรทต่ำสุด ในขณะที่ผักกรีนโอ๊ค เรดโอ๊ค และกรีนคอสที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ระบบน้ำหมุนเวียน 12 ชั่วโมงต่อวัน ร่วมกับการให้แสงแอลอีดีมีน้ำหนักสดต่ำสุด แต่มีปริมาณไนเตรทสูงสุด

## เอกสารอ้างอิง*


พิชญ์สินี เพชรไทย และธรรมศักดิ์ ทองเกตุ, 2560, ผลของความเข้มแสงและระยะเวลารับแสงต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพของผักกาดหอม, วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์, 4(3): 54-59.

AOAC., 2000, Official Method of the analysis 32nd ed., Association of official analytical chemists.

Calatayud, A., Gorbe, E., Roca, D. and Martínez, P.F., 2008, Effect of two nutrient solution temperatures on nitrate uptake, nitrate reductase activity, $NH4^+$ concentration and chlorophyll a fluorescence in rose plants, Environmental and Experimental Botany, 64: 65-74.

Kang, J.H., Sugumaran, K., Atulba, S.L.S., et al., 2013, Light intensity and photoperiod influence the growth and development hydroponically grown leaf lettuce in a closed-type plant factory system, Horticulture, Environment, and Biotechnology, 54(6): 501-509.

Liang, J. and Chien, Y., 2013, Effects of feeding frequency and photoperiod on water quality and crop production in a tilapia-water spinach raft aquaponic system, International Biodeterioration and Biodegradation, 85: 693-700.

Lillo, C., 2004, Light regulation of nitrate uptake, assimilation and metabolism, In: Amancio, S. and Stulen, I. (eds), Nitrogen acquisition and assimilation in higher plants, Plant encophysiology, Vol 3: 149-184, Springer, Dordrecht, doi.org/10.1007/978-1-4020-2728-4_6.

Loconsole, D., Cocetta, G., Santoro, P. and Ferrante, A., 2019. Optimization of LED lighting and quality evaluation of Romaine Lettuce grown in an innovative indoor cultivation system, Sustainability, 11: 1-16.

Makhadmeh, I.M., Al-Tawaha, A., Edaroyati, P. et al., 2017, Effects of different growth media and planting densities on growth of lettuce grown in a closed soilless system, Research on Crops, 18(2): 294-298.

Petpiamsiri, C., Siritientong, T., Kangsadalampai, K. and Tongyonk, L., 2018, The nitrate content in some green leafy vegetables with different cultivation methods in Thailand, วารสารสาธารณสุขศาสตร์, 48(3): 385-396.

Promratrak, L., 2017, The effect of using LED lighting in the growth of crops hydroponics, International Journal of Smart Grid and Clean Energy, 6(2): 133-140.

Santamaria, P., 2006, Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and EC regulation, Journal of the Science of Food and Agriculture, 86(10): 10-17.

Shete, A.P., Verma, A.K., Tandel, R.S., et al., 2013, Optimization of water circulation period for the culture of goldfish with spinach in aquaponic system, Journal of Agricultural Science, 5(4): 26-30.

Sreejariya, P., Raynaud Th., Dabbadie L., Yakupitiyage A., 2016, Effect of water recirculation duration and shading on lettuce (*Lactuca sativa*) growth and leaf nitrate content in a commercial aquaponic system, Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 16: 311-319.

Sublet, W., Barickman, T. and Sams, C., 2018, The effect of environment and nutrients on hydroponic lettuce yield, quality, and phytonutrients, Horticulturae, 4(48): 1-15.

Wang, J., Lu, W., Tong, Y. and Yang, Q., 2016, Leaf morphology, photosynthetic performance, chlorophyll fluorescence, stomatal development of lettuce (*Lactuca sativa* L.) exposed to different ratios of red light to blue light, Frontiers in Plant Science, 7: 1-10.

Wojciechowska, R., Kotton, A., Grochowska, O. D., and Knop, E., 2016, Nitrate content in (*Valerianella locusta* L.) plants is affected by supplemental LED lighting, Scientia Horticalturae, 211: 179-186.

Yeh, N. and Chung, J-P., 2009, Hight-brightness LEDs-energy efficient lighting sources and their potential in indoor plant cultivation, Renewable and Sustainable Energy, 13(8): 2175-2180.

Yosoff, S.F., Tengku, M., Mohamed, M., et al., 2015, Production system and harvesting stage influence on nitrate content and quality of butter head lettuce. Bragantia Campinas, 74(3): 332-330.

**Table 1** Effect of water circulating and lighting on weight and nitrate content of lettuce

| Water Circulating | Lighting | Red oak | | | Green oak | | | Green cos | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | fresh weight (g) | dry weight (g) | Nitrate content (mg/kg) | fresh weight (g) | dry weight (g) | Nitrate content (mg/kg) | fresh weight (g) | dry weight (g) | Nitrate content (mg/kg) |
| 24 hrs/day | Solar | 156.60a | 8.24a | 1,929.51c | 131.23a | 6.05a | 1,781.38c | 155.28a | 7.76a | 2,078.38c |
| | LED | 127.92b | 7.08b | 2058.14b | 111.19b | 5.47a | 1,863.92b | 123.95b | 6.18b | 2,130.55b |
| 12 hrs/day | Solar | 134.55b | 6.73b | 1,974.73b | 114.74b | 5.62a | 1,825.20b | 126.40b | 6.63b | 2,159.17b |
| | LED | 89.70c | 4.71c | 2,187.90a | 76.56c | 3.77b | 1,959.72a | 78.45c | 3.92c | 2,293.16a |
| F-test | | ** | ** | ** | ** | ** | ** | ** | ** | ** |
| CV% | | 10.52 | 6.35 | 9.79 | 8.71 | 7.40 | 8.14 | 7.26 | 6.04 | 11.85 |

Remark; ** : significantly different at p≤0.01

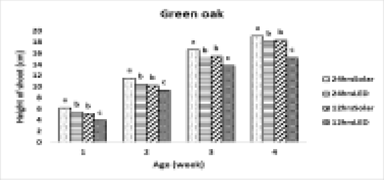



**Figure 1** Height of shoot of Green oak

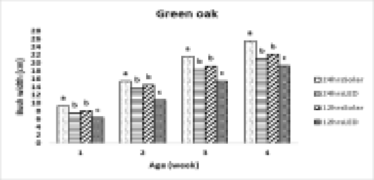



**Figure 2** Bush width of Green oak

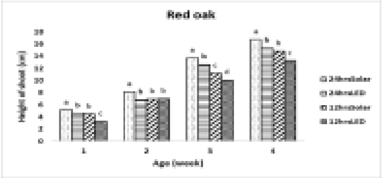



**Figure 3** Height of shoot of Red oak

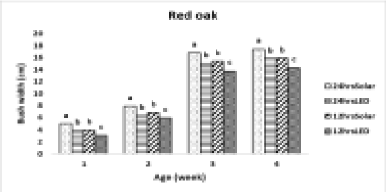



**Figure 4** Bush width of Red oak

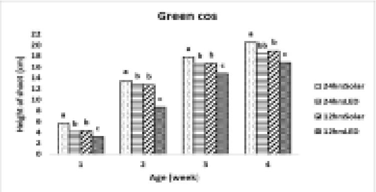



**Figure 5** Height of shoot of Green cos

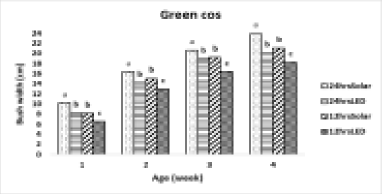



**Figure 6** Bush width of Green cos

# ผลของชนิดพันธุ์มะพร้าวทะเลทรายต่อการงอกของเมล็ดและการพัฒนาในสภาพปลอดเชื้อ
# Effect of Dorstenia Species on Seed Germination and Development in Sterile Conditions

**ยุพาภรณ์ วิริยะนานนท์[1] และ กุลจิรา พรรณปัญญา[1]**
**Wiriyananont, Y.[1] and Phanpunya, K.[1]**


## Abstract

In natural condition, some *Dorstenia* seeds have low germination rate or embryo dies due to unsuitable environment. Therefore, the aim of this study was to investigate germination rate and plant morphological characteristics of *Dorstenia* seeds (7 species) on modified MS medium for 36 weeks (subculture every 4-week intervals). Results showed that *Dorstenia lavrain* gave the highest germination rate of 70%. The explants of *D. foetida* Schweinf (circular leaf shape) and *D. lavrain* were developed into compact calluses while complete plantlets were obtained from *D. foetida*. When the stems of these species were cut and cultured on MS medium with 3 mg/l BA under low lighting condition. The explant gave 66.67% of shoots induction. These shoots and leaves were light green. In case of explants cultured under lighting condition, the stem gave 45% shoot formation. Stem and leaves were dark green and they were stronger than shoots derived from low lighting condition.

**Keywords:** Dorstenia, seed germination, sterile condition, morphology


## บทคัดย่อ

ในสภาพธรรมชาติ เมล็ดมะพร้าวทะเลทรายบางสายพันธุ์ มีอัตราการงอกต่ำ หรือตายเนื่องจากสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม ดังนั้น งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาการงอกและการพัฒนาของเมล็ดมะพร้าวทะเลทราย จำนวน 7 สายพันธุ์ ในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 36 สัปดาห์ (เปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 4 สัปดาห์) ผลการศึกษาพบว่า สายพันธุ์ *Dorstenia lavrain* เมล็ดมีการพัฒนาสูงสุด 70% เมื่อพิจารณาการพัฒนาของชิ้นส่วนพืช พบว่า สายพันธุ์ที่เมล็ดพัฒนาเป็นแคลลัส ได้แก่ *D. foetida* Schweinf (ใบกลม) และ *D. lavrain* สายพันธุ์ที่สามารถพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ คือ *D. foetida* ซึ่งเมื่อตัดลำต้นของสายพันธุ์นี้มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับ BA เข้มข้น 3 mg/l ในที่พรางแสง พบว่าชิ้นส่วนพืชเกิดยอดรวมได้ 66.67% ยอดรวมมีสีเขียวอ่อน ส่วนในที่ให้แสง ชิ้นส่วนพืชให้การเกิดยอดรวม 45% ลักษณะยอดรวมที่เกิดขึ้น ใบและลำต้นมีสีเขียวเข้ม และลักษณะแข็งแรงกว่าในที่พรางแสง

**คำสำคัญ:** มะพร้าวทะเลทราย อัตราการงอก สภาพปลอดเชื้อ ลักษณะทางสัณฐาน

## คำนำ

มะพร้าวทะเลทราย (*Dorstenia*) จัดอยู่ในวงศ์ Moraceae มีจำนวนพันธุ์ที่ค่อนข้างหลากหลาย เป็นไม้ต้นขนาดเล็กถึงขนาดใหญ่ หลายชนิดลำต้นมีทั้งที่เป็นโขดและไม่มีโขด ผิวขรุขระ สีเทา อวบน้ำ ใบมีหลายรูปทรง เช่น ใบกลมเรียบ ใบแคบเรียบ หรือหยิกเป็นคลื่น ส่วนใหญ่มีสีเขียวหรือสีเขียวอมเทา ช่อดอกออกที่ซอกใบใกล้ปลายยอดรูปร่างคล้ายโล่ ขอบจัก สีเขียว บางชนิดมีก้านช่อดอกยาวชูสูงขึ้นเหนือลำต้น ส่วนใหญ่สมบูรณ์เพศ บางชนิดเป็นดอกแยกเพศ เมล็ดเล็กฝังอยู่ในฐานรองช่อดอก เมื่อแก่เปลี่ยนเป็นสีขาวและดีดตัวไปไกล (ภวพล และคณะ, 2560) โดยการทั่วไปมะพร้าวทะเลทราย นิยมขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ด แต่บางสายพันธุ์ เมล็ดค่อนข้างงอกยากในสภาพธรรมชาติ อีกทั้งเมื่อสภาพอากาศไม่เหมาะสม ส่งผลให้เกิดการตายของต้นพืชจำนวนมาก ดังนั้น การนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเข้ามาช่วยในการขยายพันธุ์ อาจเป็นแนวทางหนึ่งที่จะช่วยเพิ่มอัตราการงอกของเมล็ดพันธุ์มะพร้าวทะเลทรายได้ สำหรับพืชในตระกูลเดียวกันนี้ ได้มีผู้ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจำนวนพอสมควร เช่น ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงแก้วมังกร (ยงศักดิ์ และ อัญชลี, 2558) แคคตัสหนามดำและลูกผสม (วิมลวรรณ และคณะ, 2561) ศึกษาผลของสูตรอาหารและน้ำตาลซูโครสต่อการเพิ่มปริมาณกระบองเพชรสายพันธุ์ตอบลู (สุภาวดี และ วริยา, 2562) ฮาโวเทีย (วศิน และคณะ, 2561) เป็นต้น จากการศึกษาเบื้องต้นของผู้วิจัยพบว่า เมล็ดพันธุ์มะพร้าวทะเลทรายบางชนิดนั้นค่อนข้างงอกยากในสภาพธรรมชาติ หรืองอกแล้ว ลำต้นมักไม่แข็งแรงและตาย ดังนั้น ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะนำเมล็ดพันธุ์มะพร้าว

[1] สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา อำเภอพระนครศรีอยุธยา จังหวัดพระนครศรีอยุธยา 13000
[1] Program in Agriculture, Faculty of Science and Technology, Phranakhon Si Ayutthaya Rajabhat University, Phra Nakhon Si Ayutthaya, 13000

ทะเลทรายสายพันธุ์ที่สนใจ มาทดลองเพาะในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการการงอกของต้นพืช และต้นพืชที่ได้อาจเกิดลักษณะใหม่ ๆ สามารถเพิ่มคุณค่าทางเศรษฐกิจ อีกทั้งยังเป็นการอนุรักษ์สายพันธุ์พืชไว้ในหลอดทดลองเพื่อใช้ประโยชน์ในอนาคตต่อไปได้

## อุปกรณ์และวิธีการ

**การเตรียมชิ้นส่วนพืช**

ในการวิจัยครั้งนี้ ใช้เมล็ดของต้นมะพร้าวทะเลทรายจำนวน 7 สายพันธุ์ ได้แก่ *Dorstenia foetida Schweinf.* (ใบยาว) *D. foetida Schweinf.* (ใบกลม) *D. foetida D. foetida (variegated) D. lancifolia D. lavrain* และ *D. horwoodii* ตัวอย่างละ 15 เมล็ดต่อพันธุ์ มาผ่านกระบวนการฟอกฆ่าเชื้อ ขั้นตอนแรกล้างเมล็ดด้วยน้ำประปาไหลผ่านเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นหยด povidone-iodine เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักโดยปริมาตร 60 ไมโครลิตร เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นจุ่มแช่ในแอลกอฮอล์เข้มข้น 70% เป็นเวลา 1 นาที แล้วจุ่มแช่ในสารละลาย Clorox เข้มข้น 20% เป็นเวลา 20 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ซับด้วยกระดาษทิชชู (นึ่งฆ่าเชื้อ) ให้แห้ง แล้วนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เตรียมไว้

**ศึกษาชนิดพันธุ์ของมะพร้าวทะเลทรายต่อการงอกและการพัฒนาของชิ้นส่วนพืช**

นำเมล็ดพันธุ์มะพร้าวทะเลทรายที่ผ่านกระบวนการฟอกฆ่าเชื้อ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับการเติมน้ำตาลซูโครส 3% ผงถ่าน 0.2% และผงวุ้น 0.75% เพาะเลี้ยงในที่มีแสง ให้แสงเป็นเวลา 14 ชั่วโมงต่อวันที่อุณหภูมิ 25 - 27 °C หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (เปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 4 สัปดาห์) บันทึกเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด และการพัฒนาของชิ้นส่วนพืช โดยใช้แผนการทดลองแบบ CRD ( Completely Randomized Design ) เปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ( Duncan's New Multiple's Range test ) ทำ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ชิ้นส่วน

**ศึกษาผลของสภาวะการเพาะเลี้ยงต่อการเกิดยอดรวมของมะพร้าวทะเลทรายสายพันธุ์ *D. foetida***

ตัดแยกลำต้นของมะพร้าวทะเลทรายสายพันธุ์ *D. foetida* ให้ได้ขนาด 0.5 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 3 mg/l ร่วมกับการเติมน้ำตาลซูโครส 3% และผงวุ้น 0.75% หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดรวม และลักษณะทางสัณฐานของชิ้นส่วนพืช

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

หลังจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดพันธุ์มะพร้าวทะเลทรายสายพันธุ์ต่าง ๆ พบว่า บางพันธุ์เมล็ดเริ่มงอกหลังจากเพาะเลี้ยงนาน 8 สัปดาห์ คือ *D. foetida* Schweinf (ใบกลม) *D. lavrain* และ *D. horwoodii* และเมื่อเพาะเลี้ยงนาน 36 สัปดาห์พบว่า *D. lavrain* มีการงอกสูงสุด 70% ในขณะที่ *D. foetida* Schweinf (ใบยาว) *D. foetida* (variegated) และ *D. lancifolia* ยังไม่มีการพัฒนาของเมล็ดพันธุ์ (Table 1) ซึ่งแต่ละสายพันธุ์ ชิ้นส่วนพืชมีการพัฒนาที่แตกต่างกัน (Figure 1) โดยสายพันธุ์ *D. foetida* สามารถพัฒนาเป็นต้นได้สมบูรณ์ที่สุด ถึงแม้ว่าจะมีเปอร์เซ็นต์การงอกเพียง 20% ในขณะที่สายพันธุ์ *D. lavrain* ชิ้นส่วนพืชพัฒนาเป็นแคลลัส และสามารถเพิ่มปริมาณแคลลัสได้ดีบนอาหารสูตรเดิม แต่ยังไม่พบการพัฒนาเป็นตายอด สายพันธุ์ *D. horwoodii* สามารถพัฒนาให้จำนวนยอดรวมได้ดีกว่าสายพันธุ์ *D. foetida* แต่เมื่อตัดแยกยอดเหล่านั้นมาเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตรเดิม กลับพบว่า ไม่สามารถพัฒนาต่อได้ และชิ้นส่วนพืชตายในที่สุด ดังนั้น ในการศึกษาต่อไป จึงได้นำลำต้นในสภาพปลอดเชื้อของสายพันธุ์ *D. foetida* มาศึกษาการสร้างจำนวนยอดรวม โดยการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงเติม BA เข้มข้น 3 mg/l เพาะเลี้ยงในที่พรางแสงหรือ ในที่มีแสง หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนพืชที่เพาะเลี้ยงภายใต้การพรางแสงให้เปอร์เซ็นต์การสร้างยอดรวม 66.7% สูงกว่าในที่มีแสงซึ่งมีการสร้างยอดรวม 45% แต่เมื่อสังเกตลักษณะของยอดรวม พบว่า ยอดรวมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในที่มีแสง มีลักษณะที่สมบูรณ์ มีสีเขียว (Figure 2) และสามารถพัฒนาต่อได้ เมื่อย้ายเลี้ยงลงบนอาหารสูตรเดิม

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมของพืช ดังเช่น ชนิดพันธุ์ของต้นพืชที่นำมาเพาะเลี้ยง เป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญ ซึ่งส่งผลต่อความสำเร็จของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สอดคล้องกับการรายงาน การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวในสภาพปลอดเชื้อ โดย จตุพร และคณะ (2561) ซึ่งทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าว 2 สายพันธุ์ ได้แก่ ข้าวพันธุ์เล้าแตก และข้าวพันธุ์เหนียวแดง จากผลการศึกษา พบว่า ข้าวพันธุ์เล้าแตกมีเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นมากกว่าข้าวพันธุ์เหนียวแดง แต่รายงานการวิจัย ในพืชบางชนิด เช่น การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเบญจมาศจำนวน 10 สายพันธุ์ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเก็บรักษาพันธุกรรมพืชไว้ในสภาพปลอดเชื้อ เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชทั้ง 10 สายพันธุ์ ในอาหารสูตรเดียวกัน พบว่า จำนวนยอดรวมของทั้ง 10 สายพันธุ์ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (จักรกฤษณ์ และคณะ, 2562) เห็นได้ว่า ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมของพืช ดังเช่น ชนิดพันธุ์ของต้นพืชที่นำมาเพาะเลี้ยง เป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญ ซึ่งส่งผลต่อความสำเร็จของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชต่อไป

โดยธรรมชาติของมะพร้าวทะเลทรายบางสายพันธุ์นั้นค่อนข้างงอกยาก และเลี้ยงยาก หากสภาพอากาศไม่เหมาะสม ทั้งนี้ เมื่อนำเมล็ดพันธุ์มาเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ เมล็ดยังคงใช้เวลาการงอกที่ค่อนข้างยาวนานเช่นกัน แต่ข้อดีของการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ คือ สามารถควบคุมสภาวะการเพาะเลี้ยงได้ ทำให้โอกาสในการรอดชีวิตของต้นพืชนั้น มีมากกว่าการเพาะเลี้ยงในสภาพธรรมชาติ และยังสามารถใช้ลำต้นที่งอกในสภาพปลอดเชื้อนั้น มาขยายพันธุ์ต่อ โดยการเพาะเลี้ยงลำต้น หรือปลายยอด บนสูตรอาหารชักนำยอดรวม ก็จะสามารถเพิ่มจำนวนต้นพันธุ์ที่ปลอดโรคได้ ซึ่งในสภาพธรรมชาติ การเพาะลำต้นหรือปลายยอดมะพร้าวทะเลทรายนั้นทำได้ค่อนข้างยาก อย่างไรก็ตามยังคงมีบางสายพันธุ์ ได้แก่ *D. lavrain* ที่เมล็ดให้การพัฒนาเป็นแคลลัสเพียงอย่างเดียว ทั้งนี้ อาจต้องมีการเปลี่ยนสูตรอาหาร หรือสารควบคุมการเจริญเติบโต เพื่อชักนำให้แคลลัสนั้น สามารถพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ต่อไป

## สรุปผล

จากการศึกษานี้ สายพันธุ์มะพร้าวทะเลทรายที่สามารถพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ดีคือสายพันธุ์ *D. foetida* และสามารถเพิ่มจำนวนยอดรวมได้เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำยอดรวม ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบให้แสง ในส่วนของสายพันธุ์อื่น ๆ ที่มีการพัฒนาเป็นแคลลัส คือ *D. foetida Schweinf* (ใบกลม) และ *D. lavrain* ยังคงย้ายเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณไว้ในหลอดทดลอง ไว้เพื่อศึกษาและเก็บรักษาเชื้อพันธุ์ต่อไป

## คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณ มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา ที่สนับสนุนทุนสำหรับการทำวิจัยในครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

จตุพร หงส์ทองคำ อภิญญา สีลาโส รัชนีกร ทองเฟื่อง และ รชยา พรมวงศ์, 2561, ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการขยายพันธุ์ ข้าวพันธุ์เล้าแตกและข้าวพันธุ์เหนียวแดงในสภาพปลอดเชื้อ, วารสารวิชาการ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์, 10(12):25-34.

จักรกฤษณ์ ศรีแสง ปานกมล จรลี กัลยาภรณ์ เอื้อเฟื้อ และ กมลทิพย์ สิติระบุตร, 2562, ระดับความเข้มข้นของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสำหรับการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมเบญจมาศ, วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 50(1):1-9.

ภวพล ศุภนันทนานนท์ ชนินทร์ โถรัตน์ และพิชญะ วัชจิตพันธ์, 2560, ไม้อวบน้ำ ชุด ไม้ดอกไม้ประประดับ ลำดับที่ 53, กรุงเทพฯ: บ้านและสวน อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิบซิ่ง, 658 หน้า.

ยงศักดิ์ ขจรผดุงกิตติ และ อัญชลี จาละ, 2558, ศึกษาอิทธิพลของ BA, IAA, 2,4-D และ Kinetin ต่อการขยายพันธุ์ต้นแก้วมังกรจากไฮโปรคอทิลและใบจริงในสภาพปลอดเชื้อ, Thai Journal of Science and Technology, 4(2):147-154.

วิมลวรรณ ชอบสะอาด พัชรียา บุญกอแก้ว และกนกวรรณ ถนอมจิตร, 2561, ศึกษาอิทธิพลของ NAA ต่อการเกิดรากของลำต้นตัดชำแคคตัสหนามดำและลูกผสม, วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 49(พิเศษ):310-313.

วศิน ทองวิสิฐสมบัติพัชรียา บุญกอแก้ว และเฌอมาลย์ วงศ์ชาวจันท์, 2561, ศึกษาผลของตำแหน่งใบ และสูตรอาหารต่อการขยายพันธุ์ฮาโวเทียในสภาพปลอดเชื้อ, วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 49(2)(พิเศษ)373-376.

สุภาวดี รวมสูตร และ วริยา นวลนุช, 2562,ศึกษาผลของสูตรอาหารและน้ำตาลซูโครสต่อการเพิ่มปริมาณกระบองเพชรสายพันธุ์ตอบลู (*Myrtillocactus geometrizans*), วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์, 6(1):30–37.

**Table 1** Percentage of seed germination and development of explants after culture on modified MS medium for 36 weeks

| Variety | Germination (%) | Explant development |
|---|---|---|
| *D. foetida* Schweinf (long leaf shape) | 0 | not developed |
| *D. foetida* Schweinf (circular leaf shape) | 60 | shoots and white compact calluses. |
| *D. foetida* | 20 | complete plantlets. |
| *D. foetida* (variegated) | 0 | not developed |
| *D. lancifolia* | 0 | not developed |
| *D. lavrain* | 70 | white compact calluses. |
| *D. horwoodii* | 60 | compact multiple shoots. |
| C.V. (%) | 7.80 | |
| F -test | 6.304* | |

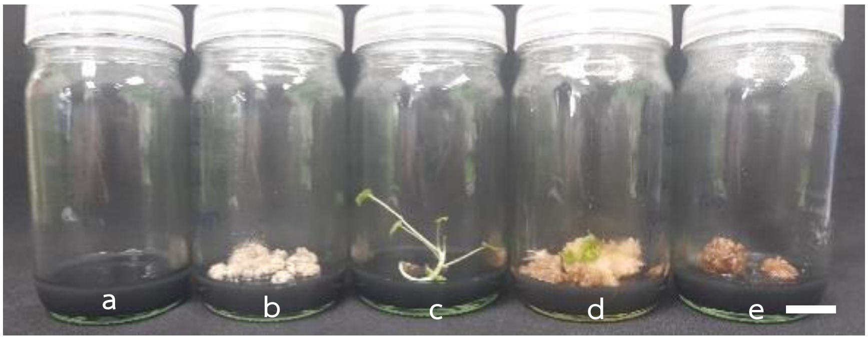



**Figure 1** Development of *Dorstenia* seeds on modified MS medium for 36 weeks. (a) : *D. foetida Schweinf* (long leaf shape) ; (b) : *D. lavrain* ; (c) : *D. foetida* ; (d) : *D. horwoodii* and (e) : browning compact callus of *D. lavrain.* (Remark 1 bar = 0.5 cm)

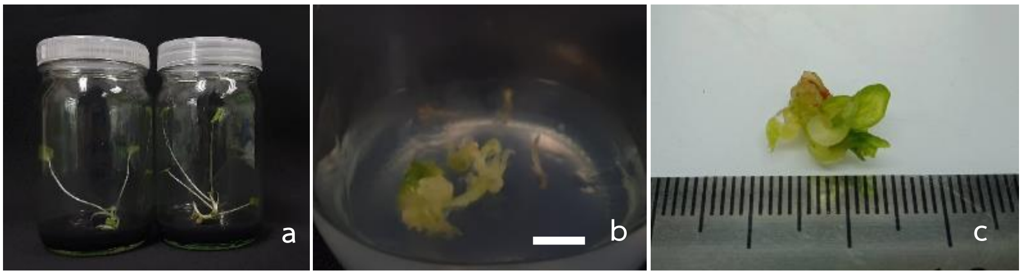



**Figure 2** Shoots formation of *D. foetida* cultured on modified MS medium with 3 mg/l BA. (a) : Shoots formation on modified MS medium ; (b) : multiple shoots after culturing for 4 weeks, and (c) : vigorous shoot after cultured for 8 weeks. (remark 1 bar = 0.5 cm)

# ประสิทธิภาพสารเคมีอนุภาคนาโน CuO และ ZnO ในการยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อรา *Pyricularia oryzae* สาเหตุโรคไหม้ของข้าว

# Efficacy of CuO and ZnO Nanoparticles on Growth Inhibition of *Pyricularia oryzae* Causing Rice Blast Disease

ณัฐฏพุฒ โพธิ์วรสุนทร[1] และ ปัฐวิภา สงกุมาร[2]
Phowarasoontorn, N.[1] and Songkumarn, P.[2]

**Abstract**

CuO and ZnO in nanoparticle and bulk forms were evaluated for the fungal growth inhibitory effect against two isolates of *Pyricularia oryzae* (M.001 and M.002) with poisoned food technique at the concentrations of 500, 1,000 and 1,500 ppm. It was found that CuO and ZnO at < 50 nm particle size showed better fungal growth inhibition effect than the bulk form of the two chemicals at all concentration levels tested. In addition, CuO nanoparticle was more effective in inhibiting growth of the two fungal isolates compared to ZnO nanoparticle. Indeed, CuO nanoparticle at the lowest concentration (500 ppm) showed 84.89% and 97.38% of the fungal growth inhibition against the two isolates, respectively and no significant difference was observed between the CuO nanoparticle treatment and the fungicide treatment. This research demonstrates the potential of CuO and ZnO nanoparticles for rice blast disease control.

**Keywords:** rice blast, nanoparticle, copper oxide, zinc oxide

**บทคัดย่อ**

การประเมินประสิทธิภาพสารเคมี CuO และ ZnO รูปแบบอนุภาคนาโนและเกรดพาณิชย์ไม่ระบุขนาดอนุภาค (bulk) ในการยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อราก่อโรคไหม้จำนวน 2 ไอโซเลท (M.001 และ M.002) โดยวิธี poisoned food ความเข้มข้น 500 1,000 และ 1,500 ppm พบว่า สารเคมี CuO และ ZnO ขนาดอนุภาคน้อยกว่า 50 นาโนเมตร สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราทั้ง 2 ไอโซเลทได้สูงกว่ารูปแบบสารเคมีเกรดพาณิชย์ไม่ระบุขนาด เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้นเดียวกัน พบว่าอนุภาคนาโน CuO สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราทั้ง 2 ไอโซเลทได้ดีกว่าอนุภาคนาโน ZnO โดยที่ความเข้มข้นต่ำสุด (500 ppm) นั้น อนุภาคนาโน CuO มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อราทั้ง 2 ไอโซเลทเท่ากับ 84.89 และ 97.38 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชุดทดสอบที่เติมสารป้องกันกำจัดเชื้อรา งานวิจัยนี้พบว่าสารเคมีอนุภาคนาโน CuO และ ZnO มีศักยภาพในการควบคุมโรคไหม้ของข้าว

**คำสำคัญ:** โรคไหม้ของข้าว อนุภาคนาโน คอปเปอร์ออกไซด์ ซิงค์ออกไซด์

## คำนำ

ข้าวเป็นธัญพืชหลักที่มีความสำคัญทั้งในด้านการบริโภคภายในประเทศและยังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศอีกด้วย โรคไหม้ของข้าวมีสาเหตุจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae* จัดเป็นโรคสำคัญในข้าวสามารถสร้างผลกระทบเชิงปริมาณต่อผลผลิตข้าวในทุก ๆ ปี โดยบางปีอาจสูงถึง 18% ของผลผลิตข้าวทั้งหมด (Soanes และคณะ, 2012) การควบคุมโรคไหม้ของข้าวให้ได้ผลรวดเร็วมักใช้วิธีการพ่นสารป้องกันกำจัดเชื้อรา ซึ่งสารเคมีดังกล่าวส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้ใช้และผู้บริโภครวมไปถึงสิ่งแวดล้อมหากมีการใช้ที่ไม่เหมาะสม การลดปริมาณการใช้สารเคมีโดยใช้สารเคมีที่มีประสิทธิภาพสูงในปริมาณจำกัดหรือใช้สารเคมีปลอดภัยทดแทนจึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกเพื่อแก้ไขปัญหาดังกล่าว ปัจจุบันสารเคมีในรูปแบบอนุภาคนาโนถูกนำมาประยุกต์ใช้เพื่อการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืช เช่น อนุภาคนาโนเงิน (Ag) ทองแดง (Cu) และสังกะสี (Zn) เป็นต้น (Elmer และคณะ, 2018) โดยคุณสมบัติที่มีขนาดเล็กทำให้สามารถเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสกับจุลินทรีย์ ส่งผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพของสารเคมีในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่สัมผัสกับสารอนุภาคนาโนนั้น ๆ (Elmer และคณะ, 2018) งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินประสิทธิภาพของสารเคมี CuO และ ZnO ในรูปแบบสารเคมีเกรดพาณิชย์ไม่ระบุขนาดอนุภาค (bulk) และรูปแบบอนุภาคนาโนใน

[1] คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานครฯ 10900
Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Ladyao, Chatuchak, Bangkok 10900
[2] ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานครฯ 10900
Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Ladyao, Chatuchak, Bangkok 10900

การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราก่อโรคไหม้ของข้าวเพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาการใช้เป็นสารเคมีทางเลือกสำหรับการควบคุมโรคไหม้ของข้าวต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

เชื้อรา *P. oryzae* ไอโซเลท M.001 และ M.002 ซึ่งแยกจากใบข้าวที่แสดงอาการโรคไหม้และได้รับการพิสูจน์โรคตามหลักการ Koch's postulate ถูกนำมาใช้ในงานวิจัยนี้ ทำการประเมินประสิทธิภาพสารเคมีในการยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อราโดยวิธี poisoned food โดยเลี้ยงเชื้อราบนอาหาร half PDA (Potato dextrose agar) ที่มีส่วนผสมของสารเคมีได้แก่ สารเคมี CuO และ ZnO เกรดพาณิชย์ไม่ระบุขนาดอนุภาค (bulk) และอนุภาคนาโนของสารเคมี CuO และ ZnO (<50nm) จากบริษัท Sigma-Aldrich (USA) ที่ความเข้มข้น 500 1,000 และ 1,500 ppm วางชิ้นวุ้นของเชื้อราขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตรที่กึ่งกลางจานขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร คว่ำด้านที่มีเชื้อราลงบนผิวหน้าอาหาร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน บันทึกเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี (ไม่รวมเส้นผ่านศูนย์กลางของชิ้นวุ้น) เปรียบเทียบกับการเจริญของเชื้อราบนอาหาร half PDA ผสมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ โดยในการทดลองนี้อาหารผสมสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราริชการ์ด (Imidazoles + Triazole) จากบริษัท ADAMA Agriculture Espana S.A. (Spain) ซึ่งแนะนำให้ใช้สำหรับการควบคุมเชื้อราก่อโรคในข้าวที่ความเข้มข้น 100 ppm เพื่อใช้เปรียบเทียบศักยภาพการควบคุม วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 2 ซ้ำ ๆ ละ 3 จาน คำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราในแต่ละความเข้มข้นโดยใช้สูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโต} = (A-B)/A \times 100$$

โดย A = ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราบนอาหารผสมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ
B = ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราบนอาหารผสมสารเคมี

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดสอบประสิทธิภาพสารเคมี CuO และ ZnO ในการยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อรา *P. oryzae* พบว่า สารเคมีทั้งสองชนิดทั้งในรูปแบบเกรดพาณิชย์ไม่ระบุขนาด (bulk) และในรูปแบบอนุภาคนาโน (<50 nm) และทุกความเข้มข้นที่ทำการทดสอบสามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยของ *P. oryzae* ไอโซเลท M.001 และ M.002 ทั้งนี้เนื่องจากสารประกอบทองแดงถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายเพื่อการป้องกันกำจัดโรคพืช (Borkow และ Gabbay, 2005) โดยมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคพืชได้ (Kasana และคณะ, 2016) ส่วนสารประกอบสังกะสี เช่น ZnO สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการงอกของสปอร์และการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้หลายชนิด (He และคณะ, 2011; Elamawi และคณะ, 2016) เมื่อพิจารณารูปแบบของสารเคมีพบว่า อนุภาคนาโน CuO และ ZnO (<50nm) สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราทั้ง 2 ไอโซเลทได้ดีกว่าสารเคมีในรูปแบบไม่ระบุอนุภาค (bulk) โดยเมื่อพิจารณาจากความเข้มข้นต่ำสุด (500 ppm) พบว่าอนุภาคนาโน CuO สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราไอโซเลท M.001 และ M.002 ได้สูงกว่าสารเคมีรูปแบบไม่ระบุอนุภาค (bulk) 2.64 เท่า และ 3.09 เท่า ตามลำดับ ในขณะที่อนุภาคนาโน ZnO สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราไอโซเลท M.001 และ M.002 ได้สูงกว่าสารเคมีรูปแบบไม่อนุภาค (bulk) 0.88 เท่า และ 0.65 เท่า ตามลำดับ (Fig.1) ทั้งนี้ประสิทธิภาพที่เพิ่มขึ้นในการยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อราของสารเคมีในรูปแบบอนุภาคนาโนเมื่อเปรียบเทียบกับรูปแบบ bulk นั้น อาจเนื่องมาจากพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างสารเคมีอนุภาคนาโนกับจุลินทรีย์เพิ่มมากขึ้น (Elmer และคณะ, 2018) จึงส่งผลให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีกว่า อนึ่งเมื่อพิจารณาถึงชนิดของสารเคมีพบว่า สารเคมีอนุภาคนาโน CuO มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. oryzae* ของทั้ง 2 ไอโซเลทได้ดีกว่าสารเคมีอนุภาคนาโน ZnO โดยที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุด (500 ppm) นั้นอนุภาคนาโน CuO มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราทั้ง 2 ไอโซเลท โดยเฉลี่ยเท่ากับ 84.89 และ 97.38 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยผลดังกล่าวไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชุดทดสอบที่มีการเติมสารป้องกันกำจัดเชื้อราริชการ์ด (100 ppm) ในขณะที่อนุภาคนาโน ZnO สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อราของทั้ง 2 ไอโซเลท โดยเฉลี่ยเท่ากับ 59.72 และ 54.18 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Fig.1) อย่างไรก็ตามสารเคมีแต่ละชนิดแสดงประสิทธิภาพแตกต่างกันในการควบคุมเชื้อราก่อโรคพืชแต่ละสปีชีส์ ดังเช่น Manjunatha และคณะ, (2018) รายงานว่าสารเคมี CuO มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Alternaria alternata* ในเมล็ดข้าวได้ดีกว่าสารเคมี ZnO ในขณะที่งานวิจัยของ Choudhary และคณะ, (2018) รายงานว่า

เชื้อราก่อโรคในมะม่วง เช่น *Lasiodiplodia* มีความไวต่ออนุภาคนาโน ZnO มากกว่า CuO เป็นต้น งานวิจัยนี้พบว่า CuO ในรูปแบบอนุภาคนาโนมีศักยภาพที่จะนำไปใช้ทดแทนสารเคมี CuO ในรูปแบบที่ใช้ทั่วไป ซึ่งจะช่วยลดปริมาณการใช้สารเคมีดังกล่าวในพื้นที่เพาะปลูกส่งผลให้ลดปริมาณสารตกค้างในแหล่งปลูกได้ อนึ่งในงานวิจัยนี้ถึงแม้จะพบว่า ZnO มีประสิทธิภาพต่ำกว่า CuO แต่อย่างไรก็ตามสารเคมี ZnO ยังคงมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคไหม้ อีกทั้งสารเคมี ZnO ได้รับการขึ้นทะเบียนโดยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา โดยจัดให้อยู่ในรายชื่อสารเคมีที่ได้รับการยอมรับโดยทั่วไปว่าปลอดภัย (GRAS) ต่อมนุษย์และสัตว์ (Yusof และคณะ, 2019) ดังนั้นสารเคมี ZnO จึงมีศักยภาพในการนำไปใช้เป็นสารเคมีทางเลือกเพื่อการป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่อไป

## สรุปผล

งานวิจัยนี้พบว่า CuO และ ZnO มีประสิทธิภาพ ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราก่อโรคไหม้ โดยสารเคมี CuO และ ZnO ในรูปแบบอนุภาคนาโน (<50 nm) มีประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสูงกว่าสารเคมีในรูปแบบเกรดพาณิชย์ไม่ระบุอนุภาค (bulk) และสารเคมีอนุภาคนาโน CuO มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสูงกว่าสารเคมีอนุภาคนาโน ZnO

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการศัตรูพืชและสัตว์ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่สนับสนุนงบประมาณส่วนหนึ่งเพื่อการวิจัย

## เอกสารอ้างอิง*

Borkow, G. and Gabbay, J., 2005, Copper as a Biocidal Tool, Current Medicinal Chemistry, 12(18): 2163-2175.

Choudhary, M.A., Manan, R., Mirza, M.A., Khan, H.R., Qayyum, S., Ahmed, Z., 2018, Biogenic Synthesis of Copper Oxide and Zinc Oxide Nanoparticles and Their Application as Antifungal Agents, SSRG International Journal of Material Science and Engineering (IJMSE), 4(1): 1-6.

Elamawi, R.M., Bassiouni, S.M., Elkhoby, W.M., Zayed, B.A., 2016, Effect of Zinc Oxide Nanoparticles on Brown Spot Disease and Rice Productivity under Saline Soil, Journal of Plant Protection and Pathology, 7(3): 171-181.

Elmer, W., Ma, C., White, J., 2018, Nanoparticles for Plant Disease Management, Current Opinion in Environmental Science & Health, 6: 66-70.

He, L., Liu, Y., Mustapha, A., Lin, M., 2011, Antifungal Activity Zinc Oxide Nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*, Microbiology Research, 166(3): 207-215.

Kasana, R.C., Panwar, N.R., Kaul, R.K. and Kumar, P., 2016, Copper Nanoparticles in Agriculture: Biological Synthesis and Antimicrobial Activity, In: Ranjan, S., Dasgupta, N., Lichtfouse, E. (eds) Nanoscience in Food and Agriculture 3. Sustainable Agriculture Reviews, vol.23. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-48009-1_5

Manjunatha, N., Prajapati, M., Dunna, V., Maity, A., Wasnik, V., Gupta, C., Parmar, S., 2018, Effect of Cupric Oxide and Zinc Oxide Nanoparticles on Seed Mycoflora and Seed Quality of Fodder Crops, Journal of Environmental Biology, 39: 973-979.

Soanes, D.M., Chakrabarti, A., Paszkiewicz, K.H., Dawe, A.L., Talbot, N.J., 2012, Genome-wide Transcriptional Profiling of Appressorium Development by the Rice Blast Fungus *Magnaporthe oryzae*, PLoS Pathogens, 8(2): e1002514. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002514.

Yusof, H.M., Mohamad, R., Zaidan, U., Rahman, N.A., 2019, Microbial Synthesis of Zinc Oxide Nanoparticles and Their Potential Application as an Antimicrobial Agent and a Feed Supplement in Animal Industry: a Review, Journal of Animal Science and Biotechnology, 10(1): 57. doi:10.1186/s40104-019-0368-z

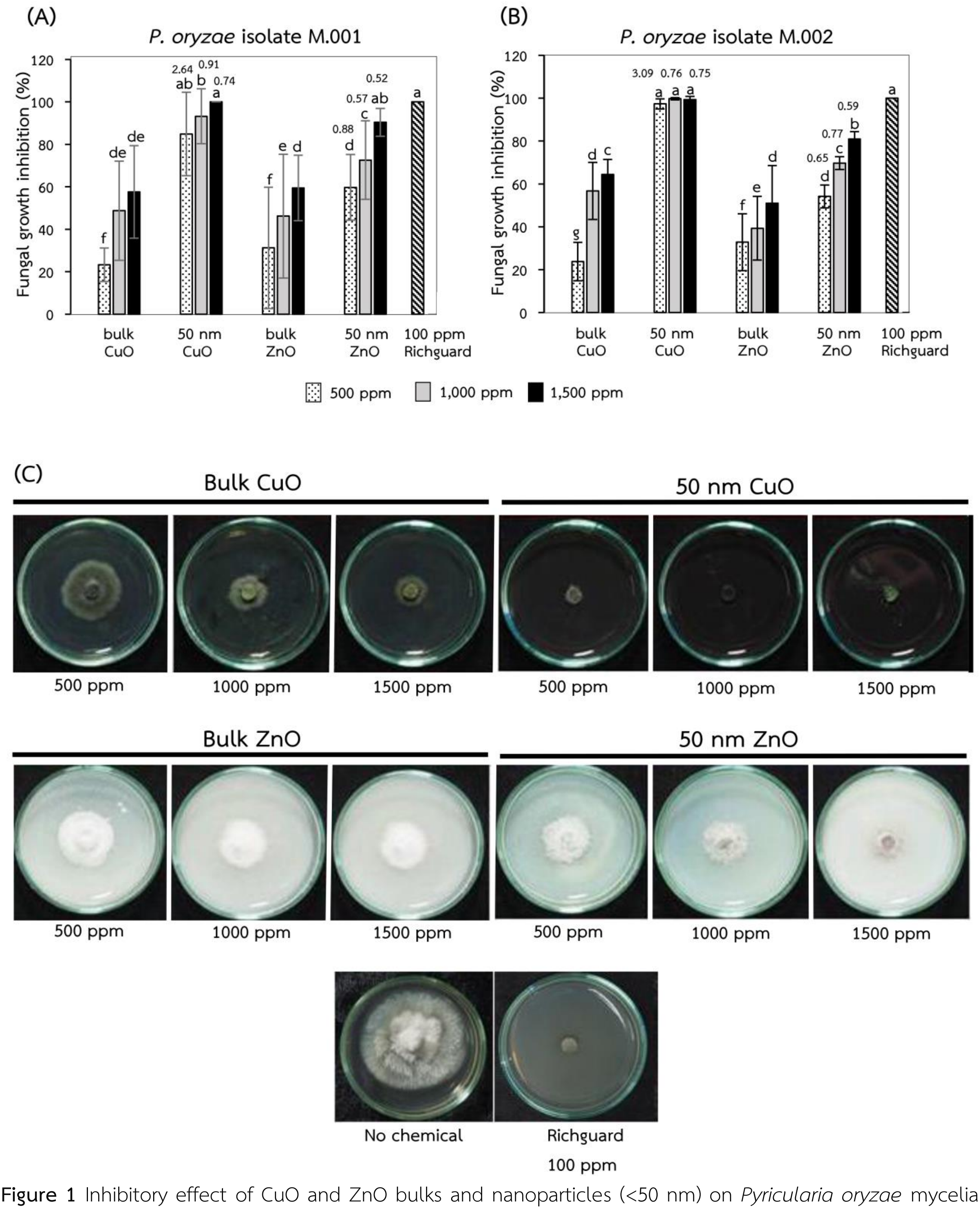



**Figure 1** Inhibitory effect of CuO and ZnO bulks and nanoparticles (<50 nm) on *Pyricularia oryzae* mycelial growth. (A) Mean ± standard derivative values of percentage fungal growth of the isolate M.001 and (B) M.002 on half potato dextrose agar amended CuO and ZnO in bulk and nano forms. Same letters are not significantly different as indicated by Duncan's new multiple-range test at $P<0.05$. Numbers above bars indicates fold increase between a value from nanoparticle treatment and a value from bulk treatment. (C) *P. oryzae* isolate M.001 at 7 days after inoculation on unamended (no chemical) and amended half potato dextrose agar (CuO and ZnO bulks and nanoparticles at the concentration of 500, 1,000 and 1,500 ppm and Richguard at the concentration of 100 ppm).

# การใช้ $GA_3$ และ CPPU เพื่อเพิ่มขนาดของผลองุ่นรับประทานสดพันธุ์ White Malaga
# Use of $GA_3$ and CPPU on Berry Enlargement of 'White Malaga' Table Grape

สุวรรณา วันคำ[1] เกรียงศักดิ์ ไทยพงษ์[2] ธีร์ หะวานนท์[2] และภาสันต์ ศารทูลทัต[2]
Wankam. S.[1], Thaipong. K.[2] Havananda, T.[2] and Saradhuldhat, P.[2]

## Abstract

'White Malaga' grape, a popular table grape, often encounters with small fruit size while the markets demand for the large fruit. This research determined how $GA_3$ and CPPU increase the fruit size. The experiment in CRD was conducted by spraying the inflorescences at 2 weeks after blooming with $GA_3$ at 25, 50, 100 mg/L or CPPU at 2.5, 5.0, 7.5 mg/L, or 5.0 mg/L CPPU combined with $GA_3$ at 25, 50, 100 mg/L. At harvest, the fruit sprayed with 5.0 mg/L CPPU + $GA_3$ 50 mg/L was significantly larger size with 1.83 cm in fruit width, 3.36 cm in fruit length, 7.58 g in fruit weight and 380 g in bunch weight. This treated fruit was 20.11% soluble solids (TSS) and 0.90% acidic content (TA). The results suggested that spraying of CPPU 5.0 mg/L + $GA_3$ 50 mg/L at two weeks after flowering can increase the fruit size in 'White Malaga' grape
Keywords: gibberellic acid, forchlorfenuron, fruit development

## บทคัดย่อ

องุ่นพันธุ์ไวท์มาละกาซึ่งเป็นพันธุ์ที่นิยมรับประทานผลสดมักพบปัญหาผลมีขนาดเล็กและเบียดแน่น ในขณะที่ผลขนาดใหญ่เป็นที่ต้องการของตลาดและมีราคาสูง งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาวิธีการเพิ่มขนาดผลองุ่นด้วยการใช้ $GA_3$ และ CPPU โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD เลือกช่อดอกองุ่นอายุสองสัปดาห์หลังดอกบาน พ่นด้วย $GA_3$ เข้มข้น 25, 50, 100 mg/L หรือ CPPU เข้มข้น 2.5, 5.0, 7.5 mg/L หรือ CPPU เข้มข้น 5.0 mg/L ร่วมกับ $GA_3$ เข้มข้น 25, 50, 100 mg/L บันทึกขนาดและคุณภาพผลหลังเก็บเกี่ยว พบว่าการให้ CPPU 5.0 mg/L ร่วมกับ $GA_3$ 50 mg/L ทำให้ผลองุ่นมีขนาดใหญ่ขึ้นแตกต่างอย่างชัดเจน มีขนาดความกว้างผล 1.83 เซนติเมตร ความยาวผล 3.36 เซนติเมตร น้ำหนักผล 7.58 กรัม น้ำหนักช่อ 380 กรัม มีของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) 20.11% และปริมาณกรด (TA) 0.90% จากผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าการฉีดพ่น CPPU 5.0 mg/L ร่วมกับ $GA_3$ 50 mg/L หลังดอกบานสองสัปดาห์ สามารถช่วยเพิ่มขนาดของผลองุ่นพันธุ์ไวท์มาละกาได้อย่างชัดเจน
คำสำคัญ: จิบเบอเรลลิค ฟอร์คลอเฟนูรอน การพัฒนาผล

## บทนำ

องุ่นพันธุ์ไวท์มาละกาเป็นพันธุ์ที่นิยมรับประทานผลสดและปลูกกันมากที่สุดในประเทศไทย (กุหลาบ, 2559) เนื่องจากสามารถปลูกง่ายและมีการเจริญเติบโตในเขตร้อนได้ดี สายพันธุ์ที่มีลักษณะผลยาวรีเป็นที่ต้องการของตลาดมากกว่าลักษณะผลกลม เนื่องจากมีรสหวาน เนื้อกรอบ ผลมีสีเหลืองทองสดใส เปลือกหนาและเหนียว มี 1-3 เมล็ด แต่อย่างไรก็ตามองุ่นพันธุ์นี้มักให้ผลที่มีขนาดค่อนข้างเล็กและเบียดกันแน่น เกษตรกรมักใช้วิธีตัดซอยผลในช่อออกเพื่อให้มีช่องว่างให้ผลขยายได้มากขึ้นซึ่งต้องใช้แรงงานในการตัดซอยผลและเสียเวลามาก

ปัจจุบันการผลิตองุ่นหลายๆ พันธุ์ทั้งในและต่างประเทศ มีการนำสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชหลายอย่างเข้ามาใช้ในการผลิต ได้แก่ Gibberellic acid ($GA_3$) และ Forchlorfenuron (CPPU; 1-(2-chloro-4-pyridyl)-3-phenylurea) ซึ่งจัดเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชในกลุ่มจิบเบอเรลลินและไซโตไคนินตามลำดับ มีคุณสมบัติกระตุ้นการแบ่งเซลล์ เพิ่มจำนวนเซลล์ ขยายขนาดของเซลล์ ชักนำให้เปลี่ยนเพศดอก และเพิ่มขนาดในผลไม้หลายชนิด เช่น องุ่น กีวี่ฟรุ๊ต แก้วมังกร ชมพู่ แอปเปิ้ล โดยสารกลุ่มนี้ช่วยส่งเสริมการเคลื่อนย้ายสารคาร์โบไฮเดรต กรดอะมิโน และสารอินทรีย์ต่างๆ จากบริเวณที่ได้รับสารมายังบริเวณ

[1] ไร่มอนซูน วัลเล่ย์ วินยาร์ด หนองพลับ หัวหิน ประจวบคีรีขันธ์ 77110
[1] Monsoon Valley Vineyard, Nong Plub, Hua Hin, Prachuap Khiri Khan 77110
[2] ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน นครปฐม 73140
[2] Department of Horticulture, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Nakon Pathom 73140

ที่ไม่ได้รับสาร ซึ่งประสิทธิภาพของการใช้สารขึ้นกับชนิดสาร พันธุ์พืช และช่วงอายุที่ได้รับสารของพืชที่เหมาะสม (Abu-Zahra, 2010)

สำหรับองุ่นพันธุ์ไวท์มาละกาแม้ว่ามีการใช้สารเหล่านี้ในการผลิตอยู่บ้างตามการลองผิดลองถูกของเกษตรกรแต่ยังไม่มีรายงานการวิจัยการใช้อย่างเหมาะสม งานวิจัยนี้เพื่อให้ทราบผลการตอบสนองต่อชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชที่ชัดเจน สามารถนำไปใช้ในการผลิตองุ่นพันธุ์นี้หรือพันธุ์อื่นให้มีคุณภาพต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการทดลองที่สวนองุ่นพันธุ์ไวท์มาละกาใน อ.บางแพ จ.ราชบุรี (พิกัด 13.694355 N, 100.005246 E) ที่ปลูกในระบบค้างแนวนอน วางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) 10 ทรีทเมนต์ๆ ละ 8 ช่อผล โดยคัดเลือกช่อดอกที่ได้จากการยืดช่อด้วย $GA_3$ หลังจากการตัดแต่งก่อนหน้าสองสัปดาห์ และมีผลขนาด 3-5 มิลลิเมตร ใกล้เคียงกัน 80 ช่อผล พ่นช่อผลด้วย $GA_3$ เข้มข้น 25, 50 และ 100 mg/L CPPU เข้มข้น 2.5, 5.0, 7.5 mg/L และ CPPU เข้มข้น 5.0 mg/L ร่วมกับ $GA_3$ เข้มข้น 25, 50, 100 mg/L และไม่ใช้สาร (Control) หลังพ่นสารหนึ่งสัปดาห์ตัดซอยผลองุ่นให้เหลือ 50 ผลต่อช่อ ติดตามการเจริญเติบโตของผลองุ่นตั้งแต่สัปดาห์ที่ 11-15 หลังตัดแต่งกิ่ง (Week After Pruning, WAP) บันทึกข้อมูลทางกายภาพและและคุณภาพผลที่ระยะเก็บเกี่ยว

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการพ่นสาร $GA_3$ หรือ/และ CPPU ซึ่งเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชกลุ่มจิบเบอเรลลินและไซโตไคนินกับช่อผลองุ่นพันธุ์ไวท์มาละกาที่อายุสองสัปดาห์หลังดอกบานพบว่าผลองุ่นที่ได้รับสารทั้งสองชนิดมีการเติบโตด้านน้ำหนักผลมากกว่าผลที่ไม่ได้รับสารตั้งแต่สัปดาห์ที่ 12 เป็นต้นไปอย่างเด่นชัด (Fig 1) ผลที่ได้รับสารมีการเติบโตแบบ Double sigmoid curve ในช่วงแรกน้ำหนักผลเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ตามด้วยเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงสัปดาห์ที่ 12-13 ซึ่งเป็นระยะที่เปลือกผลใกล้เปลี่ยนสี และเพิ่มขึ้นอีกครั้งจนถึงระยะเก็บเกี่ยว การใช้สารร่วมกันระหว่าง CPPU 5 mg/L + $GA_3$ 50 mg/L ทำให้การเติบโตในระยะที่สองเพิ่มขึ้นมากกว่าการให้สารเพียงอย่างเดียวอย่างชัดเจน

ในระยะเก็บเกี่ยวจะเห็นได้ว่าผลที่ได้รับ CPPU 5 mg/L + $GA_3$ 50 mg/L มีน้ำหนักเป็นสองเท่าของผลที่ไม่ได้รับสาร (Table 1) สอดคล้องกับขนาดความกว้างและความยาวผลที่มากกว่าด้วย และการใช้ $GA_3$ หรือ CPPU เพียงอย่างเดียวช่วยเพิ่มขนาดผลได้มากกว่าการไม่ใช้สารเลย แต่การใช้ร่วมกันช่วยส่งเสริมให้ผลมีขนาดใหญ่มากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ นันทนา (2549) และ Ben-Arie และคณะ, (1997) ที่ทดลองให้ $GA_3$ เข้มข้น 25 mg/L ร่วมกับ CPPU เข้มข้น 5-10 mg/L กับองุ่นพันธุ์ Zeiny พบว่าสามารถเพิ่มขนาดของผลได้มากกว่าการใช้เพียงสารเดียว ทั้งนี้อาจเนื่องจากสาร $GA_3$ ช่วยกระตุ้นการยืดตัวของเซลล์ และสาร CPPU มีส่วนช่วยในการแบ่งตัวของเซลล์ การใช้สารร่วมกันจึงสามารถช่วยเพิ่มขนาดผลได้มากยิ่งขึ้นเมื่อใช้ในสัดส่วนที่เหมาะสม ส่งผลให้ช่อผลที่ได้รับ CPPU 5 mg/L + $GA_3$ 50 mg/L มีน้ำหนักมากที่สุดถึง 380 กรัม ในขณะที่ช่อผลได้รับสารเพียงอย่างเดียวมีน้ำหนักช่อเฉลี่ยประมาณ 294 กรัม (Table 1)

การใช้สาร $GA_3$ และ CPPU มีผลต่อรูปทรงผลองุ่น จากผลการวิจัยเห็นได้ว่าสัดส่วนขนาดความกว้าง/ความยาวผล ของผลที่ได้รับ $GA_3$ และ CPPU มีค่ามากกว่าผลที่ไม่ได้รับสาร (Table 1) แสดงให้เห็นว่าสารทั้งสองช่วยทำให้ความกว้างผลเพิ่มขึ้น รูปทรงผลจึงมีลักษณะกลมเล็กน้อย คุณภาพผลหลังเก็บเกี่ยว พบว่าผลที่ได้รับ $GA_3$ และ CPPU มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) และกรดที่ไทเตรทได้ (TA) สูงกว่าผลที่ไม่ได้รับสาร (ชุดควบคุม) อย่างมีนัยสำคัญ (Table 1) สอดคล้องกับผลการทดลองพ่น CPPU เข้มข้น 5 และ 10 mg/L กับองุ่นพันธุ์ Perlette และ Italia พบว่าทำให้ TA เพิ่มสูงขึ้นกว่าผลที่ไม่ได้รับสาร (Ezzahouani, 2000) อาจแสดงว่ามีการเคลื่อนย้ายและสะสมสารอาหารในผลที่ได้รับสารเพิ่มมากขึ้นทั้งน้ำตาลและกรดในสัดส่วนที่ใกล้เคียงกันจึงทำให้ค่า TSS/TA ไม่แตกต่างกันทางสถิติ สุรศักดิ์ และคณะ (2553) ได้รายงานว่าองุ่นที่ได้รับ CPPU และ $GA_3$ มีขนาดผลใหญ่ขึ้นและต้องใช้ระยะเวลาในการสะสมน้ำตาลเพิ่มขึ้นเล็กน้อยด้วย

จากผลการวิจัยพบว่าการใช้สารความเข้มข้นที่เหมาะสมเพียงอย่างเดียว ได้แก่ $GA_3$ 50 mg/L หรือ CPPU 5 mg/L สามารถช่วยเพิ่มขนาดผลองุ่นได้ประมาณ 50-60% แต่การใช้ร่วมกันช่วยเพิ่มขนาดผลได้ถึง 100% ผลองุ่นที่ได้ยังคงมีรสชาติและคุณภาพดีกว่า ผลจากการวิจัยนี้เกษตรกรผู้ผลิตองุ่นพันธุ์ไวท์มาละกาสามารถนำไปประยุกต์ใช้ให้เหมาะสมกับระบบการผลิตที่ทำอยู่ได้ และ

อาจนำไปต่อยอดกับการผลิตไม้ผลชนิดอื่นๆ ต่อไป

## สรุป

การใช้สาร $GA_3$ และ CPPU เพื่อเพิ่มขนาดผลพันธุ์ไวท์มาละกา พบว่าการพ่นช่อผลด้วย CPPU เข้มข้น 5 mg/Lร่วมกับ $GA_3$ เข้มข้น 50 mg/L ที่อายุสองสัปดาห์หลังดอกบาน สามารถทำให้ผลองุ่นพัฒนาเพิ่มขนาดได้ดีที่สุดถึงหนึ่งเท่าและมีคุณภาพผลดีกว่าการไม่ใช้หรือใช้สารเพียงอย่างเดียวอย่างชัดเจน

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณกิ่งมณี รุ่งเรือง เจ้าของสวนองุ่น ต.ดอนใหญ่ อ.บางแพ จ.ราชบุรี ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ทำการทดลองนี้

## เอกสารอ้างอิง

กุหลาบ หมายสุขกลาง, 2559, ระบบสารสนเทศการผลิตทางด้านเกษตร Online กรมส่งเสริมการเกษตร, กรมส่งเสริมการเกษตร, แหล่งที่มา: http://production.doae.go.th/

นันทนา อังกินันทน์, 2549, ฮอร์โมนพืช, โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

สุรศักดิ์ นิลนนท์ รัฐพล ฉัตรบรรยงค์ และฉัตรชัย เหล่าบรรเทา, 2553, การใช้ $GA_3$ และ CPPU เพื่อเพิ่มขนาดของผลองุ่นรับประทานผลสดพันธุ์ Perlette, ภาคพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Abu-Zahra, T.R., 2010, Berry Size of Thompson Seedless as Influenced by the Application of Gibberellic Acid and Cane Girdling, Pakistan Journal of Botany, 42(3): 1755-1760.

Ben-Arie, R., Sarig, P., Cohen-Ahdut, Y., Zutkhi, Y., Sonego, L., Kapulonov, T. and Lisker, N., 1997, CPPU and $GA_3$ Effects on Pre- and Post-Harvest Quality of Seedless and Seeded Grapes, In J. L. Guardiola., Ed. Proceeding. VIII$^{th}$ Symposium Plant Bioregulators, ISHS Acta Horticulturae, 463: 349-356.

Ezzahouani, A., 2000, Effects of Forchlorfenuron (CPPU) and Girdling on Table Grape Cultivars Perlette and Italia, Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin, France. 34: 57-60

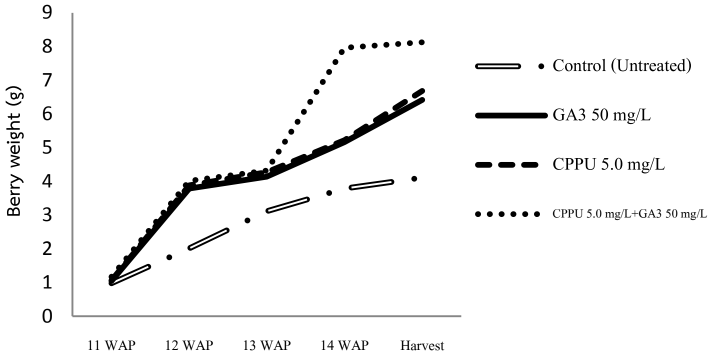



**Figure 1** Changes in fruit weight during berry development of 'White Malaga' grape treated with $GA_3$ or/and CPPU.

**Table 1** Berry physical properties and qualities at harvest of 'White Malaga' grape treated with $GA_3$ (G) or/and CPPU (C)at two weeks after berry thinning, Treatments presented in concentration units of mg/L.

| Treatments | Physical properties | | | | | Chemical qualities | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Berry width (cm) | Berry length (cm) | Width/ Length | Berry weight (g) | Bunch Weight (g) | TSS (%) | TA (%) | TSS/TA |
| Control (Untreated) | 1.46 B | 2.35 B | 0.62 A | 3.65 B | 183.22 C | 18.13 B | 0.71 B | 25.18 |
| G 25 | 1.65 AB | 2.82 AB | 0.58 B | 5.05 AB | 253.55 AB | 19.11 A | 0.77 A | 24.81 |
| G 50 | 1.73 AB | 3.12 AB | 0.55 B | 5.92 AB | 296.44 AB | 19.00 A | 0.81 A | 23.45 |
| G 100 | 1.66 AB | 2.91 AB | 0.57 B | 5.02 AB | 251.55 AB | 19.00 A | 0.81 A | 23.45 |
| C 2.5 | 1.61 AB | 2.75 AB | 0.58 B | 4.99 AB | 249.77 AB | 18.77 A | 0.79 A | 23.75 |
| C 5.0 | 1.66 AB | 3.11 AB | 0.53 B | 5.58 AB | 279.66 AB | 19.11 A | 0.78 A | 24.50 |
| C 7.5 | 1.62 AB | 2.85 AB | 0.56 B | 4.75 AB | 237.88 AB | 18.88 A | 0.78 A | 24.20 |
| C 5.0 + G 25 | 1.67 AB | 3.04 AB | 0.54 B | 4.88 AB | 244.22 AB | 19.00 A | 0.82 A | 23.17 |
| C 5.0 + G 50 | 1.83 A | 3.36 A | 0.54 B | 7.58 A | 379.55 A | 20.11 A | 0.90 A | 22.34 |
| C 5.0 +G 100 | 1.60 AB | 3.10 AB | 0.51 B | 5.67 AB | 281.88 AB | 19.11 A | 0.92 A | 20.77 |
| F-test | * | * | * | * | * | * | * | ns |
| C.V. (%) | 0.21 | 0.55 | 0.06 | 2.24 | 2.23 | 0.17 | 0.55 | 2.94 |

*,** Means in the same column with different letters are significantly different (p ≤0.05, 0.01)

ns Means in the same column are not significantly different (p > 0.05)

# การหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการปรับสภาพชานอ้อยด้วยไมโครเวฟร่วมกับกรดซัลฟูริกโดยวิธีพื้นผิวตอบสนอง
# Optimization of Sugarcane Bagasse Pretreatment by Microwave-Assisted Sulfuric Acid uUsing Response Surface Methodology

**อรณิชา รูจีพันธ์[1] จุฑามาศ ยิ้มแย้ม[1] สุชีรา เหล่าเจริญ[1*] และ ปริญญพันธุ์ เพชรจรัส[1]**
**Rujeepan, O.[1], yYimyam, J.[1], Laocharoen S.[1*] and Petcharat, P.[1]**

## Abstract

This study investigated the pretreatment of sugarcane bagasses (SCB) by microwave-assisted sulfuric acid to obtain the hydrolysate with the highest sugar content. In the first part, the effect of SCB sizes on the efficiency of pretreatment was studied. Two sizes of SCB were used for pretreating with 0.2 M $H_2SO_4$ and then heating by microwaving for 5 minutes. The 40 mesh of SCB yielded 13.56±0.99 g of total-sugars per litter, greater than that of 0.5 cm of SCB. Secondly , the optimum condition for pretreatment of SCB was studied using response surface methodology (RSM) with central composite design (CCD). Two independent factors i.e., $H_2SO_4$ concentration and reaction time, were optimized using total-sugar concentration as the response. The results show that the optimum pretreatment condition of SCB was 0.4 M $H_2SO_4$ and 12.10 min of reaction time, resulting in 18.92 g/L of total-sugars obtained.

**Keywords:** Microwave-sulfuric acid pretreatment, Response surface methodology, Sugarcane bagasse

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการเตรียมชานอ้อยด้วยวิธีไมโครเวฟร่วมกับกรดซัลฟูริก เพื่อให้ได้ไฮโดรไลเสตที่มีปริมาณน้ำตาลสูงที่สุด โดยส่วนแรกศึกษาผลของขนาดของชานอ้อยต่อการปรับสภาพ โดยชานอ้อยที่นำมาใช้มี 2 ขนาด ปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริก 0.2 โมลาร์ ให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟเป็นเวลา 5 นาที พบว่าชานอ้อยขนาด 40 mesh ให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 13.56±0.99 กรัมต่อลิตร ซึ่งมากกว่าเมื่อใช้ชานอ้อยขนาด 0.5 เซนติเมตร และส่วนที่ 2 เป็นการหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการปรับสภาพชานอ้อยโดยอาศัยหลักการพื้นผิวตอบสนองและออกแบบการทดลองแบบส่วนผสมกลาง ให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเป็นค่าตอบสนอง และปัจจัยที่ศึกษามี 2 ปัจจัย คือความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก ($X_1$) และเวลาที่ให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ ($X_2$) ผลการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก 0.40 โมลาร์ และเวลาในการให้ความร้อนที่ 12.10 นาที เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพชานอ้อย โดยในสภาวะที่เหมาะสมนี้ให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเท่ากับ 18.92 กรัมต่อลิตร

**คำสำคัญ:** การปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกร่วมกับไมโครเวฟ วิธีพื้นผิวตอบสนอง ชานอ้อย

## คำนำ

ชานอ้อยเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากทั้งภาคการเกษตรและอุตสาหกรรม โดยเฉพาะอุตสาหกรรมผลิตน้ำตาลและการผลิตเอทานอลจากอ้อย ปี พ.ศ. 2560 มีการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาล น้ำอ้อยและมันสำปะหลังรวม 1461 ล้านลิตร (สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาล, 2560) ซึ่งในการนำอ้อยมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลนั้น พบว่าอ้อย 1 ตัน ทำให้เกิดชานอ้อยถึง 140 กิโลกรัม ส่วนการผลิตน้ำตาล อ้อย 1 ตัน ผลิตน้ำตาลได้ 110 kg แต่เกิดชานอ้อยสูงถึง 290 kg ดังนั้นในปัจจุบันจึงมีการนำชานอ้อยเหลือทิ้งเหล่านี้มาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอล อย่างไรก็ตามชานอ้อยถือเป็นวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส ที่ประกอบด้วยลิกนิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ก่อนนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลจึงจำเป็นต้องผ่านกระบวนการปรับสภาพก่อน เพื่อแยกลิกนินออกและย่อยสลายเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลโมโนเมอร์ที่จุลินทรีย์จะสามารถนำไปใช้ได้

การปรับสภาพ (Pretreatment) ในปัจจุบันมีหลากหลายวิธี เช่นการปรับสภาพทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ แต่ก็สามารถนำแต่ละวิธีมาใช้ร่วมกันได้เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพต่อการย่อยได้ดียิ่งขึ้น โดยเฉพาะวิธีการปรับสภาพด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับกรด ซึ่งเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูง ใช้เวลาในการทำปฏิกิริยาน้อยและได้ปริมาณน้ำตาลค่อนข้างสูง คลื่นไมโครเวฟจะทำให้สารไดอีเล็กตริกถูกเหนี่ยวนำและหมุนขั้ว โดยการหมุนขั้วของโมเลกุลกลับไปมาทำให้เกิดความร้อนขึ้น เกิดการชนกันของโมเลกุล

[1] สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี, 41000
[1] Division of Biotechnology, Faculty of Technology, U-don Thani Rajabhat University, 41000
*Corresponding author: nung-paw@hotmail.com, Sucheeralao05@gmail.com

ในวงกว้าง ซึ่งจะช่วยเร่งกระบวนการทางชีวภาพ เคมี และกายภาพของสารไดอีเล็กตริกอย่างเช่นวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส (Amin และคณะ, 2017) ส่วนกรดจะไปทำลายแรงแวนเดอร์วาลล์ พันธะไฮโดรเจนและโควาเลนต์ที่ยึดส่วนประกอบชีวมวลเข้าด้วยกันไว้ให้แยกออกจากกัน ทำให้เกิดการย่อยสลายของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลที่สามารถนำไปใช้ในการหมักได้ นอกจากนั้นขนาดของวัสดุชีวมวลยังส่งผลต่อประสิทธิภาพการปรับสภาพอย่างมีนัยสำคัญ (Liu และคณะ, 2013)

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะนำชานอ้อยมาผ่านกระบวนการปรับสภาพด้วยวิธีไมโครเวฟร่วมกับกรดซัลฟูริก โดยการหาขนาดของชานอ้อยที่เหมาะสม จากนั้นจึงหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการปรับสภาพชานอ้อย คือความเข้มข้นของกรดซัลฟูริกและเวลาที่ให้ความร้อนโดยไมโครเวฟ ซึ่งจะใช้วิธีพื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology ; RSM) RSM ด้วยการออกแบบการทดลองแบบส่วนประสมกลาง (Central Composite Design; CCD) เพื่อหาสภาวะที่ให้ค่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมดสูงสุด

## อุปกรณ์และวิธีการ

นำชานอ้อยมาอบให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง จากนั้นตัดให้เป็นชิ้นขนาดประมาณ 0.5 เซนติเมตร และอีกส่วนนำมาบดโดยเครื่องปั่น และร่อนผ่านตะแกรงขนาด 40 mesh จะได้ชานอ้อยขนาด 0.5 เซนติเมตร และ 40 mesh จากนั้นนำชานอ้อยทั้ง 2 ขนาดปริมาณ 5 กรัม เติมลงในขวดบลูบล็อทแก้ว เติมกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.2 M 100 มิลลิลิตรลงไป นำไปให้ความร้อนด้วยเครื่องไมโครเวฟที่มีกำลังไฟฟ้า 800 kw 5 นาที จากนั้นกรองผ่านผ้าขาวบาง แล้วนำไฮโดรไลเสตที่ได้มาปั่นเหวี่ยงที่ 5000 rpm 15 นาที (Khamtib, และคณะ, 2011) ก่อนที่จะนำไฮโดรไลเสตที่ได้นี้ไปวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธี Phenol sulfuric acid โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ

ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการปรับสภาพชานอ้อย โดยออกแบบการทดลองด้วยวิธีทางสถิติซึ่งใช้หลักการ RSM และออกแบบการทดลองแบบ CCD เพื่อหาค่าที่เหมาะสมที่สุดของปัจจัยเพื่อให้ได้ค่าตอบสนองที่ดีที่สุด โดยกำหนดให้ค่าตอบสนอง (Response) เป็นค่าความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดของไฮโดรไลเสต ซึ่งการออกแบบจะใช้โปรแกรม Design Expert โดยปัจจัยที่ศึกษามี 2 ปัจจัยด้วยกันคือ ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก ($X_1$) และเวลาที่ให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ ($X_2$) ซึ่งระดับของปัจจัยที่ใช้ในการทดลองมี 3 ระดับ คือ ระดับต่ำ (-1) ระดับกลาง (0) และระดับสูง (+1) และยังมีระดับ $-\alpha$ $+\alpha$ ที่ได้จากโมเดล (Table 1)

นำชานอ้อยขนาดที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองในขั้นตอนที่แล้ว มาทำการปรับสภาพเช่นเดียวกับในขั้นตอนการเปรียบเทียบขนาดชานอ้อย แต่แปรผันความเข้มข้นของกรดซัลฟูริกและเวลาที่ให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ ดังแสดงใน Table 1 และตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่พัฒนาขึ้น โดยทำการทดลองซ้ำที่สภาวะที่เหมาะสม (Optimum) สภาวะต่ำสุด สภาวะสูงสุด และสภาวะกึ่งกลาง ของแต่ละปัจจัย เพื่อเปรียบเทียบผลที่ได้จากการคาดคะเนของโมเดล

**Table 1** Central composite experiment design with two independent variables and results of total sugars.

| Run | Code | | Actual | | Total sugar (g/L) | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | $H_2SO_4$ Conc. ($X_1$) M | Reaction time ($X_2$) min | $H_2SO_4$ Conc. ($X_1$) M | Reaction time ($X_2$) min | Observed | Predicted |
| 1 | 0 | 0 | 0.30 | 9.50 | 18.27 | 18.30 |
| 2 | -1 | +1 | 0.10 | 15.00 | 15.06 | 15.03 |
| 3 | 0 | 0 | 0.30 | 9.50 | 17.97 | 18.30 |
| 4 | 0 | 0 | 0.30 | 9.50 | 18.51 | 18.30 |
| 5 | 0 | 0 | 0.30 | 9.50 | 18.70 | 18.30 |
| 6 | $+\alpha$ | 0 | 0.58 | 9.50 | 16.56 | 17.34 |
| 7 | 0 | $-\alpha$ | 0.30 | 1.72 | 14.59 | 14.80 |
| 8 | +1 | +1 | 0.50 | 15.00 | 18.94 | 18.24 |
| 9 | +1 | -1 | 0.50 | 4.00 | 16.80 | 16.22 |
| 10 | $-\alpha$ | 0 | 0.02 | 9.50 | 13.03 | 12.86 |
| 11 | 0 | $+\alpha$ | 0.30 | 17.28 | 17.19 | 17.59 |
| 12 | -1 | -1 | 0.10 | 4.00 | 13.01 | 13.10 |
| 13 | 0 | 0 | 0.30 | 9.50 | 18.04 | 18.30 |

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาเปรียบเทียบขนาดของชานอ้อย 40 mesh และ 0.5 เซนติเมตร (Figure 1) ต่อประสิทธิภาพการปรับสภาพชานอ้อย พบว่าเมื่อใช้ชานอ้อยขนาด 40 mesh ไฮโดรไลเสตที่ได้มีค่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมดสูงสุดที่ 13.56±0.99 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่ามากกว่าการใช้ชานอ้อยขนาด 0.5 เซนติเมตร (9.18±0.82 กรัมต่อลิตร) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าขนาดของชานอ้อยส่งผลต่อประสิทธิภาพการปรับสภาพด้วยไมโครเวฟร่วมกับกรดซัลฟูริก เนื่องจากวัสดุชีวมวลที่มีขนาดใหญ่เกินไปอาจส่งผลกระทบต่อกระบวนการถ่ายเทมวลและความร้อนระหว่างกระบวนการปรับสภาพที่ใช้สารเคมีและความร้อน ทำให้พื้นผิววัสดุภายนอกเกิดการไหม้ในขณะที่อนุภาคถายในเกิดการปรับสภาพที่ไม่สมบูรณ์ (Liu และคณะ, 2013)

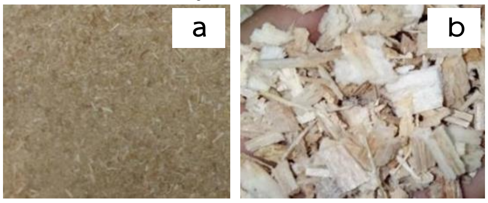



**Figure 1** Sugarcane bagasse (a) 40 mesh (b) 0.5 cm

การศึกษาผลของปัจจัย $X_1$ และ $X_2$ ต่อผลตอบสนอง ผลการทดลองทั้ง 13 สภาวะแสดงใน Table 1 และสามารถนำมาสร้างสมการโพลิโนเมียลกำลังสองได้ดังสมการที่ 1 และวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (ANOVA) ซึ่งเป็นการตรวจสอบแหล่งผันแปรของแบบจำลองดังแสดงใน Table 2 โดยจะเห็นว่า $R^2$ มีค่าเท่ากับ 0.9610 หมายความว่าตัวแปรอิสระทั้ง 2 ตัวแปร ($X_1$, $X_2$) สามารถอธิบายความผันแปรหรือการเปลี่ยนแปลงของตัวแปรตาม (ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด) ได้ร้อยละ 96.10 นอกจากนั้นเมื่อวิเคราะห์การถดถอยของแบบจำลอง พบว่าแบบจำลองมีค่านัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า P-value < 0.0001 (P<0.05) และค่า Lack of fit ของแบบจำลองไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P= 0.0605) แสดงให้เห็นว่าแบบจำลองมีความเหมาะสมกับข้อมูลการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและสามารถนำมาทำนายหาค่าผลตอบได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม

$$Y_{Total\ Sugar} = 18.30 + 1.58X_1 + 0.98X_2 + 0.022X_1X_2 - 1.6X_1^2 - 1.05X_2^2 \quad (1)$$

จาก Table 2 พบว่าในเทอมเส้นตรงของ $X_1$ และ $X_2$ มีค่า P-Value <0.0001 และ P-Value=0.0013 ตามลำดับ แสดงว่าปัจจัย $X_1$ และ $X_2$ มีผลต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในการปรับสภาพชานอ้อยอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนเทอมของอันตรกิริยา ($X_1X_2$) มีค่า P-value เท่ากับ 0.9361 (P>0.05) แสดงว่า $X_1$ และ $X_2$ ไม่มีอันตรกิริยาต่อกัน และเทอมยกกำลังสองของความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก $(X_1)^2$ และเวลาที่ให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ $(X_2)^2$ มีค่า P-Value เท่ากับ 0.0001 และ 0.0014 (P<0.05) ตามลำดับ แสดงว่ามีส่วนโค้งเกิดขึ้นที่ผิวตอบสนอง ดังนั้นจึงสามารถใช้การจำลองกำลังสองทำนายปริมาณน้ำตาลทั้งหมดจากการเตรียมชานอ้อยในสภาวะนี้ได้ และเมื่อนำสมการที่ 1 มาสร้างกราฟพื้นผิวผลตอบปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและกราฟโครงร่างดังแสดงใน Figure 2 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการปรับสภาพชานอ้อยด้วยไมโครเวฟร่วมกับกรดซัลฟูริกที่ได้จากการทำนายของโมเดลคือ ที่ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก 0.40 M และ เวลาในการให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟที่ 12.10 นาที ซึ่งจะมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในไฮโดรไลเสตมากที่สุดเท่ากับ 18.92 g/L โดยให้ค่าความพึงพอใจโดยรวมของผลตอบ (Desirability: D) เท่ากับ 0.997 ซึ่งมีค่าใกล้เคียง 1 มาก แสดงได้ว่าผลตอบนี้ได้รับความพึงพอใจอย่างสมบูรณ์

**Table 2** Analysis of variance (ANOVA) for the model regression representing Ps.

| Source | Sum of squares | df | Mean of square | F-Value | P-value (Prob>F) |
|---|---|---|---|---|---|
| Model | 50.59 | 5 | 10.12 | 34.47 | <0.0001 |
| $X_1$-Acid conc. | 20.04 | 1 | 20.04 | 68.27 | <0.0001 |
| $X_2$-Time | 7.74 | 1 | 7.74 | 26.35 | 0.0013 |
| $X_1X_2$ | 2.025E-003 | 1 | 2.025E-003 | 6.898E-003 | 0.9361 |
| $X_1^2$ | 17.79 | 1 | 17.79 | 60.59 | 0.0001 |
| $X_2^2$ | 7.69 | 1 | 7.69 | 26.20 | 0.0014 |
| Residual | 2.05 | 7 | 0.29 | - | - |
| Lack of Fit | 1.67 | 3 | 0.56 | 5.85 | 0.0605 |
| Pure Error | 0.38 | 4 | 0.095 | - | - |
| Cor Total | 52.65 | 12 | - | - | - |

Coefficient of determination ($R^2$) = 0.9610 Adjusted determination coefficient ($R^2$) = 0.9331

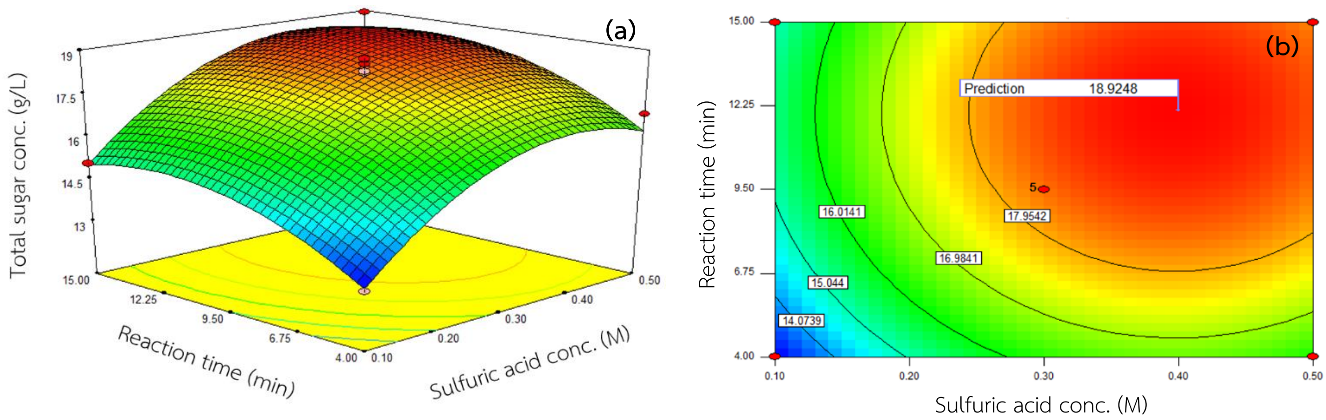



**Figure 2** Response surface plot showing the effects of sulfuric acid concentration and reaction time on total sugar production (a) and contour plot on total sugar production (b).

เมื่อยืนยันผลแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ทั้ง 4 สภาวะ พบว่าที่สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากโมเดล ให้ค่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 20.58 g/L ซึ่งต่างจากการคาดคะเน (18.92 g/L) จากสมการทางคณิตศาสตร์เพียง 8.77% และ สภาวะต่ำสุด สภาวะสูงสุด และสภาวะกึ่งกลางมีค่าต่างจากที่คาดคะเนเท่ากับ 6.64% 11.13% และ 3.01% ตามลำดับ อย่างไรก็ตามจากการศึกษาการปรับสภาพวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลสจากงานวิจัยอื่น ๆ จะให้ค่าปริมาณน้ำตาลสูงสุดตางกันไปตั้งแต 11-36 g/L (Fangkum และ Reungsang, 2011; Thungklin และคณะ, 2018) ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของวัสดุ วิธีการและสภาวะในการปรับสภาพ เป็นต้น

## สรุปผล

ขนาดของชานอ้อยที่เหมาะสมต่อการปรับสภาพด้วยไมโครเวฟร่วมกับกรดซัลฟูริกคือ 40 mesh สภาวะที่เหมาะสมต่อการปรับสภาพด้วยการออกแบบการทดลองทางสถิติคือ กรดซัลฟูริกที่ 0.40 M และเวลาในการให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟที่ 12.10 นาที โดยที่สภาวะที่เหมาะสมนี้จะให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเท่ากับ 20.58 g/L ซึ่ง ให้ค่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมดต่างจากการคาดคะเนจากสมการทางคณิตศาสตร์เพียง 8.77% แสดงให้เห็นว่าการคาดคะเนโดยสมการทางคณิตศาสตร์ที่ได้จากการทดลองนี้สามารถทำนายค่าผลตอบได้เป็นอย่างดี ซึ่งมีศักยภาพและความเป็นไปได้ที่จะนำไปใช้ในการขยายขนาดในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

## คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณคณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี สำหรับการสนับสนุนทุนวิจัยในครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาล, 2560, รายงานประจำปี 2560.

Amin, F. R., Khalid, H., Zhang, H., Rahman, S., Zhang, R., Liu, G. and Chen, C., 2017, Pretreatment Methods of Lignocellulosic Biomass for Anaerobic Digestion, AMB Express, 7(1). doi:10.1186/s13568-017-0375-4.

Fangkum, A. and Reungsang, A., 2011, Biohydrogen Production from Sugarcane Bagasse Hydrolysate by Elephant Dung: Effects of Initial pH and Substrate Concentration, International Journal of Hydrogen Energy, 36(14): 8687-8696.

Khamtib, S. and Reungsang, A., 2014, Co-digestion of Oil Palm Trunk Hydrolysate with Slaughterhouse Wastewater for Thermophilic Bio Hydrogen Production by *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticm* KKU19, International Journal of Hydrogen Energy, 39(13): 6872–6880.

Liu, Z.H., Qin, L., Pang, F., Jin, M.J., Li, B.Z., Kang, Y., Dale, B.E. and Yuan, Y.J., 2013, Effects of Biomass Particle Size on Steam Explosion Pretreatment Performance for Improving the Enzyme Digestibility of Corn Stover, Industrial Crops and Products, 44: 176-184.

Thungklin, P., Sittijunda, S., Alissara Reungsang, 2018, Sequential Fermentation of Hydrogen and Methane from Steam-exploded Sugarcane Bagasse Hydrolysate, International Journal of Hydrogen Energy, 43: 9924-9934.

# การขยายพันธุ์ต้นนางแย้ม (*Clerodendrum chinense* (Osbeck) Mabb.) โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
# Micropropagation of *Clerodendrum chinense* (Osbeck) Mabb. by Tissue Culture

**ธนิดา ยงยืน[1] และพัชรี สินุนาวา[1]**
**Yongyuen, T.[1] and Sinthunawa, P.[1]**

## Abstract

Effect of plant growth regulators in MS medium on shoot proliferation and root induction of *Clerodendrum chinense* (Osbeck) Mabb. was investigated. The sterilized shoots were cultured on MS medium supplemented with BA and kinetin at 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 mg/l and their combinations. The highest number of shoots (6.66 shoots) were found on MS medium supplemented with 2.0 mg/l BA. Rooting was induced on ½ MS, MS supplemented with NAA, IBA concentration 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 mg/l. Shoots were rooted on all media. The induced root was the greatest with those on MS medium supplemented with 1.0 mg/l NAA (7.16 roots). Plantlets were acclimatized in the pot. Their survival rate was 90 %.

**Keywords:** *Clerodendrum chinense* (Osbeck) Mabb, shoot proliferation, root induction

## บทคัดย่อ

การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตในอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog) ต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นนางแย้ม (*Clerodendrum chinense* (osbeck) Mabb.) โดยนำชิ้นส่วนของปลายยอดมาชักนำให้เกิดยอดในอาหารสูตร MS ที่มี BA ($N_6$ Benzyl adenine), kinetin หรือ BA ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า อาหารสูตร MS ผสมกับ BA เข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำการเกิดยอด (6.66 ยอด) ได้ดีที่สุด เมื่อนำยอดอ่อนมาชักนำให้การเกิดรากด้วยอาหารสูตร MS ที่มี NAA (Naphthaleneacetic acid) และ IBA (Indolebutyric acid) ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า อาหารสูตร MS ที่มี NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดราก (7.16 ราก) ได้ดีที่สุด และเมื่อนำต้นอ่อนมาปลูกในกระถางในดิน พบว่า ต้นนางแย้มมีอัตรารอดชีวิต 90 เปอร์เซ็นต์

**คำสำคัญ**: ต้นนางแย้ม การชักนำยอด การชักนำราก

## คำนำ

นางแย้ม มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Clerodendrum chinense* (Osbeck) Mabb. จัดอยู่ในวงศ์ Verbenaceae เป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก สูงประมาณ 1 เมตร ใบเดี่ยวออกตรงกันข้าม ขอบใบหยักเป็นฟันห่าง ใบใหญ่สีเขียวเข้ม ดอกออกเป็นช่อตามปลายกิ่ง ช่อใหญ่มีดอกย่อยจำนวนมากเรียงอัดกันแน่น กลีบเลี้ยงสีม่วงแดง กลีบดอกสีขาวซ้อนหลายชั้นคล้ายดอกมะลิซ้อน มีกลิ่นหอมมาก ดอกบานอยู่หลายวัน ดอกมีเกสรตัวผู้ 4 ก้าน ส่วนเกสรตัวเมียมี 1 ก้าน เมื่อผลแก่จะแตกออกเป็น 4 ก้าน มีถิ่นกำเนิดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ จีน และ อินเดีย ในประเทศไทยพบกระจายแทบทุกภาคของประเทศ นอกจากนี้ยังพบว่า บางสายพันธุ์ที่อยู่ในสกุลเดียว เช่น *Clerodendrum tricholomum*, *C. bungei*, *C. colebrookianum*, *C. inerme*, *C. phlomidis*. *C. petasites*, *C. grayi*, *C. indicum*, *C. serratum*, *C. cambellii*, *C. calamitosum* และ *C. crytophllum* สามารถผลิตสารในกลุ่มฟีโนลิก สารฟลาโวนอยด์ เทอร์ปีน สเตอรอยด์และน้ำมัน (shrivastava และ Patel, 2007) ในธรรมชาตินางแย้มติดเมล็ดได้น้อยและการเพาะเมล็ดใช้เวลานานในการงอก ส่วนต้นที่ได้จากการตอนกิ่งหรือปักชำ จะมีการเจริญเติบโตช้า การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นวิธีที่สามารถขยายพันธุ์ได้จำนวนมากในระยะเวลาสั้น (ธนิดา, 2561) ดังนั้นจึงเป็นวิธีการที่ดีที่สุดในการเพิ่มจำนวนต้นอ่อนนางแย้มเพื่ออนุรักษ์สายพันธุ์ของพืชสมุนไพรชนิดนี้

## วิธีดำเนินการวิจัย

นำชิ้นส่วนยอดของนางแย้มทมาฟอกฆ่าเชื้อเชื้อด้วยโซเดียมไฮโพคลอไรท์ที่ความเข้มข้น 20 % เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง แล้วมาชักนำยอดในอาหารดัดแปลงสูตรMS ที่มี kinetin 0.5, 1.0, 1.5, และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารดัดแปลงสูตร MS ที่มี BA 0.5, 1.0, 1.5, และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารสูตร MS ที่มี BA ร่วมกับ

[1] คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา พระนครศรีอยุธยา 13000
[1] Faculty of Science and Technology, Pranakhon Si Ayutthaya Rajabhat University, Pranakhon Si Ayutthaya 13000

kinetin ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร รวม 12 สูตร ทำการทดลอง 4 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ขวด จากนั้นจึงนำไปชักนำรากโดยแยกยอดที่ชักนำได้มาเพาะเลี้ยงในอาหารดัดแปลงสูตร MS อาหารดัดแปลงสูตร half MS อาหารดัดแปลงสูตร MS ที่มี NAA 0.5, 1.0, 1.5 และ2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารดัดแปลงสูตร MS ที่มี IBA 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร รวม 12 สูตร ทำการทดลอง 4 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ขวด นำไปเพาะเลี้ยงในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ ภายใต้อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง ประมาณ 2,000 ลักซ์ เมื่อได้ต้นที่สมบูรณ์แล้วจึงนำไปอนุบาลและลงปลูกในกระถางเพื่อศึกษาอัตราการรอดชีวิต

บันทึกผลโดยนับจำนวนยอดรวมต่อต้น เปรียบเทียบที่ระดับต่าง ๆ และนับจำนวนรากต่อต้น โดยใช้แผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) และเปรียบเทียบความแตกต่างโดยวิธี DMRT (Duncan′s multiple Rang Test)

## ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

1. การชักนำยอด

จากการนำชิ้นส่วนของต้นนางแย้มที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาเพิ่มจำนวนยอดในอาหารสูตร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ทุกระดับความเข้มข้นของ BA สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ โดย BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้มากที่สุด คือ 6.66 ยอด รองลงมาคือ สูตรอาหาร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ 4.16 ยอด ส่วนสูตรอาหาร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถชักนำให้เกิดยอดได้ 3.33 และ 3.50 ยอด ตามลำดับ (Table 1) ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับรายงานของ Nataraj และคณะ (2015) ได้พบว่า สูตรอาหาร MS เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดในการชักนำยอด และจากการทดลองของ Upadhyay และ Koche (2015) ได้ศึกษาเปรียบเทียบสูตรอาหารที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์ของตรีชวา (*Clerodendrum serratum* L.) โดยใช้สูตรอาหาร MS, SH, WPM และB5 พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำต้นอ่อน คือสูตรอาหาร MS นอกจากนี้ยังได้เปรียบเทียบชนิดของไซโทไคนินในการชักนำยอด ได้แก่ BAP, KIN และ TDZ พบว่า BAP ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำยอดได้ดีที่สุด และการทดลองของ Goyal และคณะ (2010) ได้ชักนำต้นพัดโบก (*Clerodendrum incisum* L.) จากชิ้นส่วนของข้อในสูตรอาหาร MS ที่มี BA หรือ ไคเนทิน เพียงชนิดเดียวในการชักนำยอด พบว่า สูตรอาหาร MS ที่มี BA เข้มข้น 5 ไมโครโมล เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดในการเหนี่ยวนำให้เกิดยอด นอกจากนี้ Vijay และคณะ (2016) พบว่า สูตรอาหาร MS ที่มี BA เข้มข้น 6.66 ไมโครโมล สามารถชักนำยอดได้ดีที่สุด และจากการทดลองของ เยาวพา และ ขวัญจิตต์ (2552) ได้พบว่าสูตรอาหาร MS ที่มี BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเพิ่มจำนวนยอดได้ดีที่สุดเช่นเดียวกัน จากผลการทดลองพบว่า สูตรอาหารที่มีไซโทไคนินชนิดเดียว สามารถชักนำยอดได้ดีกว่าสูตรอาหารที่มีไซโทไคนินหลายชนิดร่วมกัน อาจเนื่องมาจากไซโทไคนินเกี่ยวข้องกับการแบ่งเซลล์ของพืช กระตุ้นการแตกตาข้างจึงสามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดี (ธนิดา, 2561)

2. การชักนำราก

เมื่อแยกยอดที่ชักนำได้มาเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร half MS สูตรอาหาร MS และสูตรอาหาร MS ที่มี NAA 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สูตรอาหาร MS ที่มี IAA 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ทุกสูตรอาหารสามารถชักนำให้เกิดรากของต้นนางแย้มได้ทุกสูตร ซึ่งสูตรอาหาร MS ที่มี NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้มากที่สุด คือ 7.16 ราก (Table 2) สอดคล้องกับการทดลองของ Vidya และคณะ (2012) ทำการขยายพันธุ์ต้นตรีชวา (*Clerodendrum serratum* L.) พบว่า สูตรอาหารที่มี NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำรากได้ดีที่สุดและรากที่ชักนำได้มีความยาวและสมบูรณ์มากกว่าสูตรอื่น ๆ หลังจากเพาะเลี้ยงเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแล้วจึงนำไปอนุบาลและลงปลูกในกระถาง พบว่า ต้นอ่อนมีชีวิตรอด 90 เปอร์เซ็นต์ และต้นที่ได้มีลักษณะสมบูรณ์

## สรุปผลการทดลอง

สูตรอาหารที่เหมะสมในการชักนำยอด คือ สูตรอาหาร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยสามารถชักนำยอดได้ 6.66 ยอดและสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำราก คือ สูตรอาหาร MS ที่มี NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยสามารถชักนำรากได้ 7.16 ราก

## กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่ให้ทุนสนับสนุนและขอขอบพระคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยาที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย

## เอกสารอ้างอิง


ธนิดา ยงยืน, 2561, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช, พิมพ์ครั้งที่ 2, บริษัท โอ. เอส. พรินติ้ง เฮ้าส์ จำกัด, กรุงเทพ, 174 หน้า.

เยาวพา จิระเกียรติกุล และ ขวัญจิตต์ บุญหา, 2552, การเพิ่มจำนวนต้นและชักนำให้เกิดรากในสภาพปลอดเชื้อของต้นสร้อยสายเพชร (*Clerodendrum wallichii*), วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 17(3) : 61-67.

Goyal, S., Shahzad, A., Anis, M. and Khan, S., 2010, Multiple Shoot Regeneration in *Clerodendrum incisum* L. – An Ornamental Woody Shrub, Pakistan Journal of Botany, 42(2): 873-878.

Nataraj, M., Kher, M.M. and Teixeira da Silva, J.A., 2015, Micropropagation of Clerodendrum L. species: A Review, Rendiconti Lincei SCIENZE FISICHE E NATURALI, 27(2) : 169-179.

Shrivastava, N. and Patal, T., 2007, Clerodendrum and Healthcare : An Overview-Part II Phytochemistry and Biotechnology, Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology, 1(2) : 209-233.

Upadhyay, S. and Koche, V., 2015, Comparison of Different Medium and Establishment of An Efficient Micropropagation Technique of *Clerodendrum Serratum* L.: An Endangered Medicinal Plant, IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology (IOSR-JESTFT), 1(2) : 27-35.

Vijay, R., Shukla, J. and Saxena, R., 2016, *In Vitro* Effect of Various Plant Growth Promoters on *Clerodendrum serratum*, International Journal of Pure Applied Bioscience, 4 (6) : 186-192.

Vidya, S.M., Krishna, V., Manjunatha, B.K. and Pradeepa, M.R., 2012, Micropropagation of *Clerodendrum serratum* L. Through Direct and Indirect Organogenesis, Plant Tissue Culture and Biotechnolgy, 22(2) : 179-185.


Table 1 Shoot multiplication cultured on MS supplemented with BA, Kinetin and their combination after 6 weeks

| Medium | Shoots/explant |
|---|---|
| MS + BA 0.5 mg/l | 3.33[b1] |
| MS + BA 1.0 mg/l | 3.50[b] |
| MS + BA 1.5 mg/l | 4.16[b] |
| MS + BA 2.0 mg/l | 6.66[a] |
| MS + kinetin 0.5 mg/l | 2.00[c] |
| MS + kinetin 1.0 mg/l | 2.30[c] |
| MS + kinetin 1.5 mg/l | 3.60[b] |
| MS + kinetin 2.0 mg/l | 2.60[c] |
| MS + kinetin 0.5 mg/l + BA 0.5 mg/l | 1.50[d] |
| MS + kinetin 1.0 mg/l + BA 1.0 mg/l | 1.82[c] |
| MS + kinetin 1.5 mg/l + BA 1.5 mg/l | 1.33[d] |
| MS + kinetin 2.0 mg/l + BA 2.0 mg/l | 1.00[d] |
| F-test | * |
| CV.(%) | 1.65 |

*significant difference at $P \leq 0.05$

[1]means followed by the same letter within column are not significant difference by DMRT

Table 2 Root induction cultured on ½ MS, MS, MS supplemented with NAA and IBA after 6 weeks

| Medium | Roots/shoot |
|---|---|
| ½ MS | 4.00[b1] |
| MS | 4.50[b] |
| MS + NAA 0.5 mg/l | 5.00[b] |
| MS + NAA 1.0 mg/l | 7.16[a] |
| MS + NAA 1.5 mg/l | 3.80[b] |
| MS + NAA 2.0 mg/l | 3.00[c] |
| MS + IBA 0.5 mg/l | 4.00[b] |
| MS + IBA 1.0 mg/l | 3.85[b] |
| MS + IBA 1.5 mg/l | 3.35[c] |
| MS + IBA 2.0 mg/l | 2.83[c] |
| F-test | * |
| CV. (%) | 1.61 |

*significant difference at $P \leq 0.05$

[1]means followed by the same letter within column are not significant difference by DMRT

# การขยายพันธุ์ต้นนางแย้ม (*Clerodendrum chinense* (Osbeck) Mabb.) โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
# Micropropagation of *Clerodendrum chinense* (Osbeck) Mabb. by Tissue Culture

**ธนิดา ยงยืน[1] และพัชรี สินุนาวา[1]**
**Yongyuen, T.[1] and Sinthunawa, P.[1]**

## Abstract

Effect of plant growth regulators in MS medium on shoot proliferation and root induction of *Clerodendrum chinense* (Osbeck) Mabb. was investigated. The sterilized shoots were cultured on MS medium supplemented with BA and kinetin at 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 mg/l and their combinations. The highest number of shoots (6.66 shoots) were found on MS medium supplemented with 2.0 mg/l BA. Rooting was induced on ½ MS, MS supplemented with NAA, IBA concentration 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 mg/l. Shoots were rooted on all media. The induced root was the greatest with those on MS medium supplemented with 1.0 mg/l NAA (7.16 roots). Plantlets were acclimatized in the pot. Their survival rate was 90 %.

**Keywords:** *Clerodendrum chinense* (Osbeck) Mabb, shoot proliferation, root induction

## บทคัดย่อ

การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตในอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog) ต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นนางแย้ม (*Clerodendrum chinense* (osbeck) Mabb.) โดยนำชิ้นส่วนของปลายยอดมาชักนำให้เกิดยอดในอาหารสูตร MS ที่มี BA ($N_6$ Benzyl adenine), kinetin หรือ BA ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า อาหารสูตร MS ผสมกับ BA เข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำการเกิดยอด (6.66 ยอด) ได้ดีที่สุด เมื่อนำยอดอ่อนมาชักนำให้การเกิดรากด้วยอาหารสูตร MS ที่มี NAA (Naphthaleneacetic acid) และ IBA (Indolebutyric acid) ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า อาหารสูตร MS ที่มี NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดราก (7.16 ราก) ได้ดีที่สุด และเมื่อนำต้นอ่อนมาปลูกในกระถางในดิน พบว่า ต้นนางแย้มมีอัตรารอดชีวิต 90 เปอร์เซ็นต์

**คำสำคัญ**: ต้นนางแย้ม การชักนำยอด การชักนำราก

## คำนำ

นางแย้ม มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Clerodendrum chinense* (Osbeck) Mabb. จัดอยู่ในวงศ์ Verbenaceae เป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก สูงประมาณ 1 เมตร ใบเดี่ยวออกตรงกันข้าม ขอบใบหยักเป็นฟันห่าง ใบใหญ่สีเขียวเข้ม ดอกออกเป็นช่อตามปลายกิ่ง ช่อใหญ่มีดอกย่อยจำนวนมากเรียงอัดกันแน่น กลีบเลี้ยงสีม่วงแดง กลีบดอกสีขาวซ้อนหลายชั้นคล้ายดอกมะลิซ้อน มีกลิ่นหอมมาก ดอกบานอยู่หลายวัน ดอกมีเกสรตัวผู้ 4 ก้าน ส่วนเกสรตัวเมียมี 1 ก้าน เมื่อผลแก่จะแตกออกเป็น 4 ก้าน มีถิ่นกำเนิดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ จีน และ อินเดีย ในประเทศไทยพบกระจายแทบทุกภาคของประเทศ นอกจากนี้ยังพบว่า บางสายพันธุ์ที่อยู่ในสกุลเดียว เช่น *Clerodendrum tricholomum*, *C. bungei*, *C. colebrookianum*, *C. inerme*, *C. phlomidis*. *C. petasites*, *C. grayi*, *C. indicum*, *C. serratum*, *C. cambellii*, *C. calamitosum* และ *C. crytophllum* สามารถผลิตสารในกลุ่มฟีโนลิก สารฟลาโวนอยด์ เทอร์ปีน สเตอรอยด์และน้ำมัน (shrivastava และ Patel, 2007) ในธรรมชาตินางแย้มติดเมล็ดได้น้อยและการเพาะเมล็ดใช้เวลานานในการงอก ส่วนต้นที่ได้จากการตอนกิ่งหรือปักชำ จะมีการเจริญเติบโตช้า การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นวิธีที่สามารถขยายพันธุ์ได้จำนวนมากในระยะเวลาสั้น (ธนิดา, 2561) ดังนั้นจึงเป็นวิธีการที่ดีที่สุดในการเพิ่มจำนวนต้นอ่อนนางแย้มเพื่ออนุรักษ์สายพันธุ์ของพืชสมุนไพรชนิดนี้

## วิธีดำเนินการวิจัย

นำชิ้นส่วนยอดของนางแย้มทมาฟอกฆ่าเชื้อเชื้อด้วยโซเดียมไฮโพคลอไรท์ที่ความเข้มข้น 20 % เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง แล้วมาชักนำยอดในอาหารดัดแปลงสูตรMS ที่มี kinetin 0.5, 1.0, 1.5, และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารดัดแปลงสูตร MS ที่มี BA 0.5, 1.0, 1.5, และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารสูตร MS ที่มี BA ร่วมกับ

[1] คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา พระนครศรีอยุธยา 13000
[1] Faculty of Science and Technology, Pranakhon Si Ayutthaya Rajabhat University, Pranakhon Si Ayutthaya 13000

kinetin ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร รวม 12 สูตร ทำการทดลอง 4 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ขวด จากนั้นจึงนำไปชักนำรากโดยแยกยอดที่ชักนำได้มาเพาะเลี้ยงในอาหารดัดแปลงสูตร MS อาหารดัดแปลงสูตร half MS อาหารดัดแปลงสูตร MS ที่มี NAA 0.5, 1.0, 1.5 และ2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารดัดแปลงสูตร MS ที่มี IBA 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร รวม 12 สูตร ทำการทดลอง 4 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ขวด นำไปเพาะเลี้ยงในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ ภายใต้อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง ประมาณ 2,000 ลักซ์ เมื่อได้ต้นที่สมบูรณ์แล้วจึงนำไปอนุบาลและลงปลูกในกระถางเพื่อศึกษาอัตราการรอดชีวิต

บันทึกผลโดยนับจำนวนยอดรวมต่อต้น เปรียบเทียบที่ระดับต่าง ๆ และนับจำนวนรากต่อต้น โดยใช้แผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) และเปรียบเทียบความแตกต่างโดยวิธี DMRT (Duncan ′s multiple Rang Test)

## ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

1. การชักนำยอด

จากการนำชิ้นส่วนของต้นนางแย้มที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาเพิ่มจำนวนยอดในอาหารสูตร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ทุกระดับความเข้มข้นของ BA สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ โดย BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้มากที่สุด คือ 6.66 ยอด รองลงมาคือ สูตรอาหาร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ 4.16 ยอด ส่วนสูตรอาหาร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถชักนำให้เกิดยอดได้ 3.33 และ 3.50 ยอด ตามลำดับ (Table 1) ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับรายงานของ Nataraj และคณะ (2015) ได้พบว่า สูตรอาหาร MS เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดในการชักนำยอด และจากการทดลองของ Upadhyay และ Koche (2015) ได้ศึกษาเปรียบเทียบสูตรอาหารที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์ของตรีชวา (*Clerodendrum serratum* L.) โดยใช้สูตรอาหาร MS, SH, WPM และB5 พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำต้นอ่อน คือสูตรอาหาร MS นอกจากนี้ยังได้เปรียบเทียบชนิดของไซโทไคนินในการชักนำยอด ได้แก่ BAP, KIN และ TDZ พบว่า BAP ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำยอดได้ดีที่สุด และการทดลองของ Goyal และคณะ (2010) ได้ชักนำต้นพัดโบก (*Clerodendrum incisum* L.) จากชิ้นส่วนของข้อในสูตรอาหาร MS ที่มี BA หรือ ไคเนทิน เพียงชนิดเดียวในการชักนำยอด พบว่า สูตรอาหาร MS ที่มี BA เข้มข้น 5 ไมโครโมล เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดในการเหนี่ยวนำให้เกิดยอด นอกจากนี้ Vijay และคณะ (2016) พบว่า สูตรอาหาร MS ที่มี BA เข้มข้น 6.66 ไมโครโมล สามารถชักนำยอดได้ดีที่สุด และจากการทดลองของ เยาวพา และ ขวัญจิตต์ (2552) ได้พบว่าสูตรอาหาร MS ที่มี BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเพิ่มจำนวนยอดได้ดีที่สุดเช่นเดียวกัน จากผลการทดลองพบว่า สูตรอาหารที่มีไซโทไคนินชนิดเดียว สามารถชักนำยอดได้ดีกว่าสูตรอาหารที่มีไซโทไคนินหลายชนิดร่วมกัน อาจเนื่องมาจากไซโทไคนินเกี่ยวข้องกับการแบ่งเซลล์ของพืช กระตุ้นการแตกตาข้างจึงสามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดี (ธนิดา, 2561)

2. การชักนำราก

เมื่อแยกยอดที่ชักนำได้มาเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร half MS สูตรอาหาร MS และสูตรอาหาร MS ที่มี NAA 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สูตรอาหาร MS ที่มี IAA 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ทุกสูตรอาหารสามารถชักนำให้เกิดรากของต้นนางแย้มได้ทุกสูตร ซึ่งสูตรอาหาร MS ที่มี NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้มากที่สุด คือ 7.16 ราก (Table 2) สอดคล้องกับการทดลองของ Vidya และคณะ (2012) ทำการขยายพันธุ์ต้นตรีชวา (*Clerodendrum serratum* L.) พบว่า สูตรอาหารที่มี NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำรากได้ดีที่สุดและรากที่ชักนำได้มีความยาวและสมบูรณ์มากกว่าสูตรอื่น ๆ หลังจากเพาะเลี้ยงเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแล้วจึงนำไปอนุบาลและลงปลูกในกระถาง พบว่า ต้นอ่อนมีชีวิตรอด 90 เปอร์เซ็นต์ และต้นที่ได้มีลักษณะสมบูรณ์

## สรุปผลการทดลอง

สูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำยอด คือ สูตรอาหาร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยสามารถชักนำยอดได้ 6.66 ยอดและสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำราก คือ สูตรอาหาร MS ที่มี NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยสามารถชักนำรากได้ 7.16 ราก

## กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่ให้ทุนสนับสนุนและขอขอบพระคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยาที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย

## เอกสารอ้างอิง


ธนิดา ยงยืน, 2561, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช, พิมพ์ครั้งที่ 2, บริษัท โอ. เอส. พรินติ้ง เฮ้าส์ จำกัด, กรุงเทพ, 174 หน้า.

เยาวพา จิระเกียรติกุล และ ขวัญจิตต์ บุญหา, 2552, การเพิ่มจำนวนต้นและชักนำให้เกิดรากในสภาพปลอดเชื้อของต้นสร้อยสายเพชร (*Clerodendrum wallichii*), วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 17(3) : 61-67.

Goyal, S., Shahzad, A., Anis, M. and Khan, S., 2010, Multiple Shoot Regeneration in *Clerodendrum incisum* L. – An Ornamental Woody Shrub, Pakistan Journal of Botany, 42(2): 873-878.

Nataraj, M., Kher, M.M. and Teixeira da Silva, J.A., 2015, Micropropagation of Clerodendrum L. species: A Review, Rendiconti Lincei SCIENZE FISICHE E NATURALI, 27(2) : 169-179.

Shrivastava, N. and Patal, T., 2007, Clerodendrum and Healthcare : An Overview-Part II Phytochemistry and Biotechnology, Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology, 1(2) : 209-233.

Upadhyay, S. and Koche, V., 2015, Comparison of Different Medium and Establishment of An Efficient Micropropagation Technique of *Clerodendrum Serratum* L.: An Endangered Medicinal Plant, IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology (IOSR-JESTFT), 1(2) : 27-35.

Vijay, R., Shukla, J. and Saxena, R., 2016, *In Vitro* Effect of Various Plant Growth Promoters on *Clerodendrum serratum*, International Journal of Pure Applied Bioscience, 4 (6) : 186-192.

Vidya, S.M., Krishna, V., Manjunatha, B.K. and Pradeepa, M.R., 2012, Micropropagation of *Clerodendrum serratum* L. Through Direct and Indirect Organogenesis, Plant Tissue Culture and Biotechnolgy, 22(2) : 179-185.


Table 1 Shoot multiplication cultured on MS supplemented with BA, Kinetin and their combination after 6 weeks

| Medium | Shoots/explant |
|---|---|
| MS + BA 0.5 mg/l | 3.33[b1] |
| MS + BA 1.0 mg/l | 3.50[b] |
| MS + BA 1.5 mg/l | 4.16[b] |
| MS + BA 2.0 mg/l | 6.66[a] |
| MS + kinetin 0.5 mg/l | 2.00[c] |
| MS + kinetin 1.0 mg/l | 2.30[c] |
| MS + kinetin 1.5 mg/l | 3.60[b] |
| MS + kinetin 2.0 mg/l | 2.60[c] |
| MS + kinetin 0.5 mg/l + BA 0.5 mg/l | 1.50[d] |
| MS + kinetin 1.0 mg/l + BA 1.0 mg/l | 1.82[c] |
| MS + kinetin 1.5 mg/l + BA 1.5 mg/l | 1.33[d] |
| MS + kinetin 2.0 mg/l + BA 2.0 mg/l | 1.00[d] |
| F-test | * |
| CV.(%) | 1.65 |

*significant difference at P≤0.05

[1]means followed by the same letter within column are not significant difference by DMRT

Table 2 Root induction cultured on ½ MS, MS, MS supplemented with NAA and IBA after 6 weeks

| Medium | Roots/shoot |
|---|---|
| ½ MS | 4.00[b1] |
| MS | 4.50[b] |
| MS + NAA 0.5 mg/l | 5.00[b] |
| MS + NAA 1.0 mg/l | 7.16[a] |
| MS + NAA 1.5 mg/l | 3.80[b] |
| MS + NAA 2.0 mg/l | 3.00[c] |
| MS + IBA 0.5 mg/l | 4.00[b] |
| MS + IBA 1.0 mg/l | 3.85[b] |
| MS + IBA 1.5 mg/l | 3.35[c] |
| MS + IBA 2.0 mg/l | 2.83[c] |
| F-test | * |
| CV. (%) | 1.61 |

*significant difference at P≤0.05

[1]means followed by the same letter within column are not significant difference by DMRT

# การพัฒนาผลิตภัณฑ์กัมมี่เยลลี่มะม่วงหาวมะนาวโห่
# Product Development of Gummy Jelly from Karanda (*Carissa carandas* L.)

**มัชฌิมา แสนวัง[1] และ กษมา ชารีโคตร[1*]**
**Matchima Sanwang and Kasama Chareekhot**

## Abstract

This research aimed to study effect of karanda juice concentration and honey for sucrose replacement on karanda gummy jelly. Karanda juice concentration was varied at 25, 50, 75 and 100%. It was found that L*, a*, b* values and pH of gummy jelly increased significantly ($p \le 0.05$) with an increase of the amount of karanda juice. The most accepted formulation by panelists was gummy jelly with 75% of karanda juice. Moreover, gummy jelly were prepared at various ratios of sugar to honey of 40:40, 50:30, 60:20 and 70:10 for flavor improvement which ratio of sugar to honey at 70:10 was the most accepted formulation. The chemical composition of gummy jelly from karanda showed that moisture, ash, fat and crude fiber were at 64.27, 0.01, 0.02 and 0.06, respectively. Phenolic content was 0.90 g GAE / 100 g FW and total antioxidant capacity was 87.39%.
**Keywords:** Gummy Jelly, *Carissa carandas* L., Honey

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นของน้ำมะม่วงหาวมะนาวโห่ และน้ำผึ้งทดแทนน้ำตาลทรายต่อผลิตภัณฑ์กัมมี่เยลลี่ ซึ่งความเข้มข้นของน้ำม่ะม่วงหาวมะนาวโห่ คือ 25, 50, 75 และ 100% ผลการศึกษาพบว่า การเพิ่มขึ้นของปริมาณน้ำมะม่วงหาวมะนาวโห่ ทำให้ค่าความสว่าง (L*) ค่าสีแดง (a*) ค่าสีเหลือง (b*) และค่า pH เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \le 0.05$) และกัมมี่เยลลี่มะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ความเข้มข้น 75% เป็นสูตรที่ผู้ทดสอบให้การยอมรับมากที่สุด เมื่อนำมาแปรปริมาณน้ำตาลต่อน้ำผึ้ง โดยใช้สัดส่วน 40:40, 50:30, 60:20 และ 70:10 เพื่อปรับปรุงรสชาติ พบว่า สูตรที่มีสัดส่วนน้ำตาลต่อน้ำผึ้ง 70:10 กรัม ผู้ทดสอบให้การยอมรับมากที่สุด เมื่อนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกัมมี่เยลลี่มะม่วงหาวมะนาวโห่ พบว่า มีปริมาณความชื้น เถ้า ไขมัน และเส้นใย เท่ากับ 64.27, 0.01, 0.02 และ 0.06 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังตรวจพบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 0.90 g GAE/100 g FW และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 87.39%
**คำสำคัญ:** กัมมี่เยลลี่ มะม่วงหาวมะนาวโห่ น้ำผึ้ง

## คำนำ*

มะม่วงหาวมะนาวโห่เป็นพืชที่นิยมในทวีปเอเชียและในท้องถิ่นต่างๆ ส่วนใหญ่นิยมนำมาใช้เป็นยารักษาโรคต่างๆ มะม่วงหาวมะนาวโห่มีองค์ประกอบทางพฤกษเคมีมากมายหลายชนิด เช่น สารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ สารแอนโทไซยานิน กรด น้ำตาล และวิตามินซี เป็นต้น จัดเป็นแหล่งสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ อีกทั้งยังมีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยในผลสุกให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากกว่าผลดิบ (สกุลกานต์, 2559) ผลจากสรรพคุณที่มีจึงทำให้ปัจจุบันผู้บริโภคเริ่มรู้จักและมีความต้องการผลมะม่วงหาวมะนาวโห่มากขึ้น มะม่วงหาวมะนาวโห่เป็นพืชที่มีศักยภาพและเป็นผลไม้เพื่อสุขภาพ สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้มากมาย นำมาใช้สำหรับการแต่งสีและรสในการปรุงอาหาร นำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อสุขภาพ และปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์มากมายที่นำมะม่วงหาวมะนาวโห่มาใช้เป็นส่วนประกอบหลัก โดยเฉพาะอย่างยิ่งผลิตภัณฑ์ขนมหวานโดยให้รสชาติที่เปรี้ยว เมื่อรับประทานจะรู้สึกสดชื่น ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการนำมะม่วงหาวมะนาวโห่มาเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์กัมมี่เยลลี่ เพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการให้แก่ผลิตภัณฑ์ขนมหวาน โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณความเข้มข้นของน้ำมะม่วงหาวมะนาวโห่ต่อการผลิตกัมมี่เยลลี่ และศึกษาอัตราส่วนน้ำตาลต่อน้ำผึ้งต่อการผลิตภัณฑ์กัมมี่เยลลี่เพื่อเพิ่มกลิ่นรสที่ดี จากนั้นนำมาวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ ทางเคมี และทางประสาทสัมผัส

[1] สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี 64 ถ.ทหาร ต.หมากแข้ง อ.เมือง จ. อุดรธานี 41000
[1] Science and Food Technology Program, Faculty of Technology, Udon Thani Rajabhat University, 64 Tahan Rd. T.makaeng Muang, Udon Thani 41000, Thailand.

## อุปกรณ์และวิธีการ

นำมะม่วงหาวมะนาวโห่ล้างทำความสะอาด ใช้ลูกห่ามและลูกสุกในอัตราส่วน 1:1 ปั่นผสมแยกกาก นำน้ำไปต้มพาสเจอไรซ์ โดยต้มที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 7 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น นำมาทำกัมมี่เยลลี่ตามกระบวนการผลิตโดยแบ่งเป็น 2 การทดลอง การทดลองที่ 1 หาปริมาณความเข้มข้นของน้ำมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่เหมาะสม โดยแปรปริมาณความเข้มข้นของน้ำมะม่วงหาวมะนาวโห่ 4 สูตร ได้แก่ 25 50 75 และ 100 % เมื่อทราบความเข้มข้นที่เหมาะสม นำมาทำการทดลองที่ 2 โดยศึกษาอัตราส่วนของน้ำตาลต่อน้ำผึ้งที่เหมาะสมเพื่อเพิ่มกลิ่นและรสชาติให้กับกัมมี่เยลลี่ โดยมีอัตราส่วน 4 สูตร คือ น้ำตาลและน้ำผึ้งอยู่ที่ 40:40, 50:30, 60:20 และ 70:10 กรัม

**ขั้นตอนการผลิตกัมมี่เยลลี่น้ำมะม่วงหาวมะนาวโห่**

เตรียมน้ำมะม่วงหาวมะนาวโห่ ผสม เจลาติน น้ำตาล กรดซิตริก และ เกลือ (สำหรับการทดลองที่ 1) และ ผสม เจลาติน น้ำตาล, น้ำผึ้ง (สำหรับการทดลองที่ 2) นำส่วนผสมที่ได้มาต้มที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสประมาณ 7 นาที พักทิ้งไว้ให้เย็นประมาณ 5 นาที ขึ้นรูปโดยเทใส่พิมพ์ซิลิโคน นำไปไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 10 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง จะได้ผลิตภัณฑ์กัมมี่เยลลี่น้ำมะม่วงหาวมะนาวโห่

**การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมีและทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กัมมี่เยลลี่**

การวิเคราะห์ทางด้านประสาทสัมผัสโดยการให้ผู้ทดสอบกึ่งฝึกฝน จำนวน 20 คน ทดสอบคุณลักษณะด้านต่างๆ ได้แก่ สี รสชาติ กลิ่น เนื้อสัมผัสและความชอบโดยรวม ใช้การทดสอบแบบ 9-Point hedonic scale

การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านกายภาพ ได้แก่ การวิเคราะห์เนื้อสัมผัส โดยใช้เครื่อง Texture Analyzer ยี่ห้อ Brookfield รุ่น CT3 และการวิเคราะห์ค่าสี โดยเครื่องวัดสี ยี่ห้อ Hunter Lab รุ่น color Flex (CX1463) ) การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมี ได้แก่ การวิเคราะห์หาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด โดยเครื่อง handheld refractometer ยี่ห้อ ATAGO การวิเคราะห์หาปริมาณกรด-ด่าง โดยใช้เครื่อง pH Meter ยี่ห้อ Sartorius การวิเคราะห์หาปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ (Titratable Acidity, คำนวณเป็น % กรดซิตริก) การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ความชื้น เถ้า เส้นใย ไขมัน และปริมาณฟีนอลิก (A.O.A.C, 2000) และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) ในการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและเคมี และวางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (randomized complete block design, RCBD) ในการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยวิเคราะห์ 3 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่าง ของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ SPSS

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาปริมาณความเข้มข้นของน้ำมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ใช้ในการทำผลิตภัณฑ์กัมมี่เยลลี่ ที่แปรปริมาณความเข้มข้นของน้ำมะม่วงหาวมะนาวโห่ 25 50 75 และ 100 % พบว่าการวิเคราะห์ทางด้านประสาทสัมผัส โดยพบว่า การทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นและรสชาติไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) เนื่องจากมะม่วงหาวมะนาวโห่มีรสชาติค่อนข้างเปรี้ยวนำและไม่มีกลิ่น จึงทำให้ผู้ทดสอบชิมไม่เห็นความแตกต่าง แต่การทดสอบชิมทางด้านสีและเนื้อสัมผัส พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P\leq 0.05$) โดยมีความชอบลดลงตามปริมาณน้ำมะม่วงหาวมะนาวโห่ แต่อย่างไรก็ตาม การทดสอบความชอบโดยรวมผู้ทดสอบชิมให้ความชอบกัมมี่เยลลี่ที่มีปริมาณความเข้มข้นน้ำมะม่วงหาวมะนาวโห่ 75% มากที่สุด ให้ความชอบโดยรวมที่ระดับคะแนน 7.25 จากนั้นนำไปประเมินคุณภาพทางด้านกายภาพ โดยการวัดค่าเนื้อสัมผัส พบว่าแต่ละตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยค่าการแตกตัวออกของอาหารกึ่งแข็ง (gumminess) มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 401.83–1,042.47 กรัม ส่วนค่าแรงที่ใช้ในการเคี้ยว (chewiness) มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 53.96-136.96 มิลลิจูน ค่า gumminess และค่า chewiness มีค่าเพิ่มสูงขึ้นตามปริมาณความเข้มข้นของน้ำมะม่วงหาวมะนาวโห่ อาจเนื่องจากการเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของน้ำมะม่วงหาวมะนาวโห่ทำให้สัดส่วนของสารก่อเจลในส่วนผสมเหมาะสมต่อการเกิดเจลเพิ่มมากขึ้น และเกิดการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างของส่วนผสมทำให้สายโมเลกุลที่เข้าใกล้กันยากมีโอกาสเกิด cross link ได้มากขึ้น (Poppe, 1997) ส่วนการประเมินคุณภาพทางด้านเคมี พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) มีค่าเฉลี่ย 3.46–4.01 โดยสูตรที่มีความเข้มข้นของน้ำมะม่วงหาวมะนาวโห่ 75% มีค่า pH สูงที่สุด และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ($^{o}$Brix) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 60.9 จึงเลือกสูตรที่มีความเข้มข้นที่ 75% มาศึกษาต่อในการทดลองที่ 2

จากการนำสูตรจากการทดลองที่ 1 มาศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของน้ำตาลและน้ำผึ้งในการแปรรูปผลิตภัณฑ์กัมมี่เยลลี่น้ำมะม่วงหาวมะนาวโห่ พบว่า การวิเคราะห์ทางด้านประสาทสัมผัสในด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมของ

ผลิตภัณฑ์กัมมี่เยลลี่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่ด้านความชอบโดยรวมซึ่งในสูตรที่ 4 ที่มีปริมาณน้ำตาลและน้ำผึ้งที่ 70:10 กรัม ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบมากที่สุด เท่ากับ 7.55 เมื่อนำไปประเมินคุณคุณภาพทางด้านกายภาพโดยการวัดเนื้อสัมผัส พบว่า ค่า gumminess มีความแตกต่างกันทางนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 269.97–649.25 กรัม และค่า chewiness มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 29.49–80.11 มิลลิจูน ซึ่งอัตราส่วนน้ำตาลต่อน้ำผึ้งนั้นมีผลต่อเนื้อสัมผัส เมื่อเพิ่มปริมาณน้ำตาลและลดน้ำผึ้ง ทำให้ค่า gumminess และค่า chewiness ลดลงตามลำดับ อาจเนื่องจากการลดปริมาณซูโครสทำให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ลดลง จึงส่งผลต่อโครงสร้างและเนื้อสัมผัสของกัมมี่เยลลี่ โดยซูโครสช่วยสร้างพันธะไฮโดรเจนภายในเจลทำให้เกิดโครงสร้างสามมิติ มีผลทำให้โครงสร้างของเจลแข็งแรง (Tau และ Gunasekaran, 2016) ส่วนค่าสี L* มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 4.07–5.46 a* เฉลี่ยอยู่ในช่วง 1.33–1.93 และ b* เฉลี่ยอยู่ในช่วง 0.18–0.44 ซึ่งค่าทั้งหมดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) เนื่องจากน้ำมะม่วงหาวมะนาวโห่มีสีม่วงเข้มระดับความเข้มข้นที่ใช้จึงให้สีที่ใกล้เคียงกัน โดยส่วนประกอบหลักของกัมมี่เยลลี่ คือ น้ำมะม่วงหาวมะนาวโห่มีโทนสีม่วงเข้ม จากสารแอนโทไซยานินที่เป็นกลุ่มของรงควัตถุในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่ให้สีม่วงแดง (สุภาพร และ ศิรประภา, 2560) จากที่กล่าวมาข้างต้นจึงทำให้ผู้ทดสอบเลือกสูตรที่ 4 ที่มีปริมาณน้ำตาลและน้ำผึ้งที่ 70:10 กรัม เป็นสูตรที่เหมาะสม เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางด้านเคมี ค่ากรด-ด่าง มีค่าเฉลี่ย 3.69–3.89 ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ มีค่าเฉลี่ย 56.00–69.00 $^{\circ}$Brix และปริมาณกรดซิตริกมีค่าเฉลี่ย 0.45–0.88 % โดยค่าเฉลี่ยปริมาณกรดซิตริกในแต่ละสูตรไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้ในน้ำมะม่วงหาวมะนาวโห่มีกรดอินทรีย์หลักคือ กรดซิตริก กรดมาลิก และกรดมาร์มาริก โดยพบกรดซิตริกในปริมาณมากกว่ากรดอื่นๆ (สกุลกานต์ และคณะ, 2556) ส่วนปริมาณฟีนอลิกที่พบในผลิตภัณฑ์กัมมี่เยลลี่มะม่วงหาวมะนาวโห่มีปริมาณ 0.90 g GAE/100g FW ซึ่งมีค่าลดต่ำลงจากผลสด เนื่องจากมีการเจือจางโดยใช้ความเข้มข้นของน้ำมะม่วงหาวมะนาวโห่อยู่ที่ 75% และ วชิระ และ ปิยะพร (2560) พบว่าการใช้ความร้อน มีผลทำให้สารประกอบฟีนอลิกลดลง โดยความร้อนอาจทำให้สารประกอบฟีนอลิกเกิดการออกซิเดชันและสลายตัวไป และพบว่าผลิตภัณฑ์ที่ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ความชื้น ปริมาณเถ้า ปริมาณเส้นใย และปริมาณไขมันเท่ากับ 87.39 64.72 0.01 0.06 และ 0.02% ตามลำดับ

## สรุปผล

การพัฒนาผลิตภัณฑ์กัมมี่เยลลี่จากน้ำมะม่วงหาวมะนาวโห่ พบว่าน้ำมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ใช้อัตราส่วนระหว่างน้ำตาลต่อน้ำผึ้งมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดสูง และความเข้มข้นของน้ำมะม่วงหาวมะนาวโห่ 75% เป็นปริมาณที่เหมาะสมในการผลิตกัมมี่เยลลี่ และสามารถใช้น้ำผึ้งมาเป็นส่วนผสมร่วมกับน้ำตาลเพื่อเพิ่มกลิ่นรสให้กับกัมมี่เยลลี่ โดยผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบโดยรวม ในระดับคะแนนชอบปานกลาง จึงได้สูตรที่เหมาะสมในการผลิตกัมมี่เยลลี่มะม่วงหาวมะนาวโห่ อย่างไรก็ตาม การผลิตกัมมี่เยลลี่จากน้ำมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่มีสารต้านอนุมูลอิสระสูงและให้สีธรรมชาติ ถือว่าเป็นจุดเด่นของผลิตภัณฑ์นี้ ซึ่งเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของผู้บริโภควัยเด็กที่มักรับประทานผลไม้น้อย ผู้บริโภคที่รักสุขภาพ และยังเป็นแนวทางการเพิ่มมูลค่าให้กับมะม่วงหาวมะนาวโห่อีกด้วย

## คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี ที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์และเครื่องมือในการวิจัย

## เอกสารอ้างอิง

สกุลกานต์ สิมลา,2559, มะนาวโห่: พืชในวรรณคดีไทยที่มากมายด้วยประโยชน์, วารสารแก่นเกษตร, 44(3): 557-566.

สกุลกานต์ สิมลา, สุรศักดิ์ บุญแต่ง และพัชรี สิริตระกูลศักดิ์, 2556, การประเมินปริมาณสารพฤกษเคมีบางประการและ กิจกรรม ของสาร ต้านอนุมูลอิสระใน *Carissa carandas* L., วารสารแก่นเกษตร, 41(1): 602-606.

สุภาพร ฟักเงิน และ ศิรประภา มีรอด, 2560, การสกัดแยกหาปริมาณแอนโทไซยานินจากลูกมะม่วงหาวมะนาวโห่, ปัญหาพิเศษปริญญาตรี, สาขาวิชาเคมี, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร.

วชิระ จิระรัตนรังษี และปิยะพร บุตรพรหม, 2560, ผลของกระบวนการแปรรูปที่แตกต่างกันต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ปริมาณแอนโธไซยานิน ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และการยอมรับจากผู้บริโภคของผลิตภัณฑ์ชาใบข้าวก่ำ, วารสารมหาวิทยาลัย-ศรีนครินทรวิโรฒ, 9: 91–103.

A.O.A.C., 2000, Official of Method Analysis of Association of Official Analytical Chemists International, 16$^{th}$ ed, The Association of Official Analytical Chemists International Gaiersburg.

Poppe, J. , 1997, Gelatin, pp. 144- 159, In Imeson, A. (Ed.), Thickening and Gelling Agents for Food, 2nd Ed., An Imprint of Chapman and Hall, London.

Tau, T. and Gunasekaran, S., 2016, Thermorheological Evaluation of Gelatin of Gelatin with Sugar Substitutes, LWT Food Science And Technology, 69: 570-578.

**Figure 1** Raw and mature Karanda fruit (*Carissa carandas* L.)

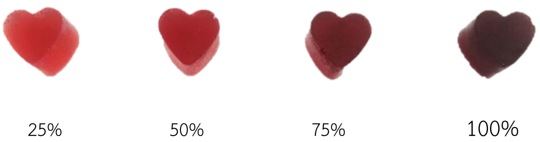



**Figure 2** Appearance of karanda gummy jelly using different concentration of karanda juice

**Table 1** Physical and chemical analysis, sensory evaluation of gummy jelly using different concentration of karanda juice and ratio of sugar to honey.

| | Concentration of karanda juice (%) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 25 | 50 | 75 | 100 |
| L* [ns] | 7.67 ± 0.84 | 6.98 ± 0.62 | 7.66 ± 0.56 | 6.46 ± 0.74 |
| a* | 6.16 ± 0.36[a] | 4.93 ± 0.29[b] | 3.57 ± 0.44[c] | 0.96 ± 0.15[d] |
| b* | 1.43 ± 0.60[a] | -0.20 ± 0.34[b] | -1.07 ± 0.51[c] | -1.61 ± 0.23[c] |
| Gumminess (g) | 401.83 ± 22.18[d] | 515.93 ± 15.41[c] | 809.43 ± 21.26[b] | 1,042.47 ± 8.29[a] |
| Chewiness (mJ) | 53.96 ± 0.68[c] | 56.56 ± 3.22[c] | 85.09 ± 4.13[b] | 136.96 ± 3.02[a] |
| Total acidity (%) | 0.36 ± 0.01[d] | 0.55 ± 0.01[c] | 0.92 ± 0.02[b] | 1.35 ± 0.03[a] |
| TSS (°Brix) | 52.60 ± 0.40[d] | 57.73 ± 0.24[c] | 60.90 ± 0.21[b] | 64.50 ± 0.75[a] |
| Overall preference [ns] | 7.00 ± 0.36 | 7.00 ± 0.23 | 7.25 ± 0.22 | 6.70 ± 0.29 |
| | Ratio of sugar to honey in karanda gummy jelly (g) | | | |
| | 40:40 | 50:30 | 60:20 | 70:10 |
| L* [ns] | 4.71 ± 0.84 | 4.07 ± 0.11 | 4.61 ± 0.28 | 5.46 ± 0.45 |
| a* [ns] | 1.93 ± 0.16 | 1.50 ± 0.78 | 1.86 ± 0.39 | 1.33 ± 0.14 |
| b* [ns] | 0.44 ± 0.23 | -0.18 ± 0.39 | -0.23 ± 0.16 | -0.56 ± 1.10 |
| Gumminess (g) | 649.25 ± 59.85 [a] | 350.70 ± 38.72 [a] | 377.27 ± 36.85 [a] | 269.97 [a] ± 20.88 |
| Chewiness (mJ) | 42.46 ± 9.43[c] | 24.49 ± 3.78[c] | 80.11 ± 14.27[a] | 58.91 ± 8.89[b] |
| Tritratable acidity (%) [ns] | 0.68 ± 0.02 | 0.62 ± 0.06 | 0.74 ± 0.06 | 0.66 ± 0.01 |
| TSS (°Brix) | 56.00 ± 0.58[c] | 64.33 ± 1.20[b] | 66.67 ± 0.88 [ab] | 69.00 ± 0.56 [a] |
| Overall preference | 6.75±0.28[b] | 7.10±0.26[ab] | 6.75±0.30[b] | 7.45±0.21[a] |

**Table 2** Phenolic compounds and total antioxidant capacity of Karanda gummy jelly.

| Treatment | Phenolic compounds (g GAE/100g Fw) | Total antioxidant capacity [ns] (%) |
|---|---|---|
| Fresh karanda juice | 118.23 ± 0.46[a] | 81.58 ± 0.95 |
| Gummy jelly (70:10 ratio of sugar to honey) | 0.90 ± 0.12[b] | 87.39 ± 1.83 |

**Table 3** Chemical compositions of Karanda gummy jelly.

| Sugar : Honey ratio In Gummy jelly | Chemical compositions (%) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Moisture content | Ash | Fiber | Lipid |
| 70:10 | 64.72 | 0.01 | 0.06 | 0.02 |

# การจำแนกหอมแดงจากแหล่งปลูกต่างๆ ของประเทศไทย
# Classification of Shallot (*Allium ascalonicum* Linn.) from Various Cultivation Areas of Thailand

**จันทนา โชคพาชื่น[1] รัชนี ศิริยาน[1] เสาวนี เขตสกุล[1] และ จิรภา ออสติน[2]**
**Chaokpachuen, Ch.[1], Siriyan, R.[1], Ketsakul, S.[1] and Austin, J.[2]**

## Abstract

The diversity of shallots cultivated in the north, the north-east, and the west of Thailand collected at the 'Si Sa Ket' Horticultural Research Center between 2012 and 2013 was studied. Twenty-three shallot samples from those collections were grown, and the agronomic characteristics were investigated according to the descriptor list for allium plant (IPGRI) for future breeding proposes. The results showed that shallots from the northern and northeastern areas were not prominently classified by the agronomic characteristics. All samples were classified into 2 groups. The first group was categorized by round bulb shape, the outer spathe shading red-violet to orange. The second was by broad elliptic shape bulb and purple-red of the outer spathe. Nevertheless, different agrological zones could affect differences in the physical characteristics of growing plants, although using the same variety. The agronomic characteristics alone could not classify precisely. Thus, DNA fingerprints may be additionally used for better classification.

**Keywords:** shallot, diversity, identify shallot

## บทคัดย่อ

การศึกษาความหลากหลายของหอมแดงจากแหล่งปลูกภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคตะวันตกของประเทศไทยที่รวบรวมไว้ ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ ระหว่างปี พ.ศ. 2555-2556 โดยทำการคัดเลือกตัวแทน จำนวน 23 ตัวอย่าง นำมาปลูกทดสอบเพื่อบันทึกลักษณะสัณฐานวิทยาตามระบบของ International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI) ของหอมแดง เพื่อการปรับปรุงพันธุ์ในอนาคต พบว่า ลักษณะสันฐานวิทยาที่ปรากฏยังไม่สามารถจำแนกความแตกต่างของหอมแดงจากแหล่งปลูกภาคเหนือและตะวันออกเฉียงเหนือได้อย่างชัดเจนได้ โดยสามารถแบ่งหอมแดงออก 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มีลักษณะหัวค่อนข้างกลม สีเปลือกแดงม่วง ถึงสีส้มอ่อน ส่วนกลุ่มที่ 2 เป็นทรงไข่กว้างและหัวค่อนข้างกลม เปลือกสีม่วงแดง อย่างไรก็ตามหอมแดงตัวอย่างเดียวกันที่ปลูกในระบบนิเวศทางการเกษตรและการจัดการในสภาพพื้นที่ต่างกัน จะแสดงลักษณะทางกายภาพที่ต่างกัน จึงเป็นการยากที่จะใช้ลักษณะสันฐานวิทยาระบุแหล่งที่มาของหอมแดงอย่างแน่ชัดได้ ดังนั้นควรมีการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของหอมแดงเพื่อเป็นข้อมูลเพิ่มเติมในการจำแนกต่อไป

**คำสำคัญ:** หอมแดง ความหลากหลาย จำแนกหอมแดง

## คำนำ

หอมแดง (*Allium ascalonicum* auct. hort.) เป็นพืชในวงศ์พลับพลึง (Amaryllidaceae) และอยู่ในสกุล Allium พืชในสกุลนี้มีมากกว่า 50 ชนิด แต่ที่นิยมนำมาบริโภค ได้แก่ หอมใหญ่ (onion) หอมแขก (red onion) หอมแดง (shallot) กระเทียม (garlic) กระเทียมต้น (leek) และกุ่ยฉ่าย (chive) โดยหอมแดงเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ปลูกมากในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือของไทย ซึ่งพันธุ์หอมแดงนิยมเรียกตามแหล่งปลูก เช่น หอมแดงลำพูน หอมแดงลับแล หอมแดงศรีสะเกษ โดยหอมแดงจังหวัดศรีสะเกษ มีชื่อเสียงเป็นที่รู้จักของผู้บริโภคเนื่องจากหัวหอมแดงจะมีกลิ่นฉุน สีสวย เป็นมันเงา ปัจจุบันมีการเคลื่อนย้ายหัวพันธุ์ระหว่างแหล่งปลูกภาคเหนือและตะวันออกเฉียงเหนือสลับกันไปมา จึงทำให้มีความไม่มั่นใจในคุณลักษณะของหอมแดงที่จำหน่ายในท้องตลาดว่ามาจากแหล่งปลูกที่แท้จริงหรือไม่ เนื่องจากหอมแดงเป็นพืชที่สามารถปรับตัวและเจริญเติบโตได้ดีในสภาพที่มีอุณหภูมิสูง เติบโตได้ในทุกสภาพดิน แต่ในดินเหนียวการพัฒนาการหัวจะชะงักและการแก่ของหัวจะล่าช้าออกไป และการเจริญเติบโตของต้นหอมแดงจะตอบสนองค่อนข้าง

[1] ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ ตำบลหนองไผ่ อำเภอเมือง จังหวัดศรีสะเกษ 33000
[1] SiSaKet Horticultural Research Center, Nong Phi, Muang SiSaKet,SiSaKet 33000
[2].ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพังงา เลขที่ 52 หมู่ที่ 1 ต.บางม่วง อ.ตะกั่วป่า จ.พังงา 82110
[2] Phang Nga Agricultural Research and Development Center, No.52 Bang Moung, Takua Pa, Phang Nga 82110

ไวต่อการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด – ด่างในดิน (Hridaya, 2007) การจำแนกความแตกต่างของหอมแดงจากลักษณะภายนอกเพียงอย่างเดียวนั้นนับว่าเป็นวิธีที่สะดวก แต่อาจจะยุ่งยากได้ถ้าลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่คล้ายคลึงกันมาก จึงทำการศึกษาหาวิธีการพิสูจน์เอกลักษณ์ของหอมแดงจากแหล่งปลูกต่างๆ โดยจะทำการศึกษาคุณภาพโดยเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพ ตามระบบของ International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI) ของหอมแดง รวมทั้งคุณภาพผลผลิต เพื่อเป็นแนวทางในการตรวจสอบหอมแดงจากแหล่งปลูกต่างๆ

## อุปกรณ์และวิธีการ

1. หอมแดง จำนวน 23 ตัวอย่าง จากแหล่งปลูก จังหวัดศรีสะเกษ (SSK) นครราชสีมา (NRM) เชียงราย (CHR) อุตรดิตถ์ (UTD) ลำพูน (LMP) และ สุโขทัย (SUK) จำนวน 5 กิโลกรัมต่อแหล่ง

2. วัสดุการเกษตร ปุ๋ยคอก ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 และ 9-24-24 สารเคมีกำจัดวัชพืช โรคและแมลงศัตรูพืช เช่น อ๊อกซีฟลูออร์เฟน อะบาเมคติน โปรคลอราจ และชีวภัณฑ์ เช่น ไตรโครเดอมา บาซิลัส ทูริเยงซิส

3. สายยางให้น้ำ หัวบัวรดน้ำ ถังพ่นยาขนาด 20 ลิตร

4. แบบบันทึกลักษณะตามระบบ IPGRI ของพืชสกุล Allium ไม้บรรทัด เวอร์เนีย แผ่นเทียบสี (RHS color chart)

ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ ปี 2555-2556 ระยะเวลา 2 ปี โดยเลือกตัวแทนหอมแดงที่รวบรวมมาจากแหล่งต่างๆ (ตั้งแต่ธันวาคม 2554 – มีนาคม 2555) จำนวน 23 ตัวอย่างๆ ละ 5 กิโลกรัม พร้อมบันทึกข้อมูลเกษตรกรผู้ปลูก วิธีการปลูก ดูแลรักษา อายุการเก็บเกี่ยวของหอมแดงแต่ละตัวอย่าง นำมาเก็บรักษาในโรงเรือนมุงหลังคาและมีอากาศถ่ายเท ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมาปลูกเดือนตุลาคม 2555 เตรียมแปลงปลูก โดยไถตากดิน 1-2 สัปห์ดา ใส่ปูนขาวปรับปรุงค่าความเป็นกรด 200 กิโลกรัมต่อไร่ และใส่ปุ๋ยคอก 1 ตันต่อไร่ จากนั้นไถปั่นดินให้ละเอียด ขึ้นแปลงขนาด 1.5x8 เมตร แปลงสูง 50 เซนติเมตร ระยะปลูกระหว่างต้นและระหว่างแถวปลูก 15x15 เซนติเมตร ดูแลรักษาตามคำแนะนำการเกษตรดีที่เหมาะสมของการปลูกหอมแดง (GAP) ของกรมวิชาการเกษตร บันทึกลักษณะทางลักษณะสัณฐานวิทยาตามแบบบันทึก IPGRI เช่น การเจริญเติบโตทางลำต้นและใบ ที่อายุ 45 วัน วัดโดยใช้ไม้บรรทัด และเวอร์เนีย เมื่ออายุการเก็บเกี่ยว 85 วัน วัดขนาดและคุณภาพหอมแดง เช่น ความกว้าง ความยาวของหัวหอมแดง วัดด้วยเวอร์เนียร รูปทรง (ตามแบบบันทึก) และ สีเปลือกชั้นนอก สีเนื้อ วัดโดยใช้แผ่นเทียบสี (RHS color chart) เป็นต้น และบันทึกการเข้าทำลายของโรคและแมลงระหว่างดำเนินการทดลอง

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการบันทึกลักษณะตามระบบของ International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI) ของหอมแดงที่ปลูก ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ ในเดือนตุลาคม 2555 พบว่า หอมแดงทุกตัวอย่าง มีการเจริญเติบโตทางลำต้นใกล้เคียงกัน โดยพันธุ์จากแหล่งปลูกศรีสะเกษที่มีความสูงต้น เมื่ออายุ 45 วัน หลังปลูก แตกต่างกันมากที่สุด คือ ตัวอย่าง sh55010 มีความสูง 50.5 เซนติเมตร และ sh54001 มีความสูงพียง 30.8 เซนติเมตร ความยาวใบก็มีแนวโน้มเป็นไปทิศทางเดียวกับความสูงต้นและความกว้างของใบมีขนาดใกล้เคียงกัน คือ 0.50-0.86 เซนติเมตร โดยหอมแดงจากอุตรดิตถ์ส่วนใหญ่จะมีการเจริญเติบโตน้อยกว่าพันธุ์จากแหล่งอื่น และมีอัตราการตายมากกว่า (Table 1) ภายหลังการเก็บเกี่ยว 85 วัน หลังปลูก พบว่า ทุกตัวอย่างมีขนาดหัวใกล้เคียงกัน คือ มีความสูงของหัว 2.56-3.29 เซนติเมตร และความกว้าง 1.63-2.46 เซนติเมตร รูปทรงส่วนใหญ่เป็นทรงไข่กว้าง (Broad elliptic) ยกเว้น ตัวอย่าง SH55011 ที่มีรูปทรงยาวเหมือนกระสวย (Spindle) สีเปลือกและเนื้อ เป็นสีม่วง ถึงม่วงแดง ยกเว้นตัวอย่าง sh55012 sh55013 และ sh55015 มีเปลือกมสีน้ำตาลอมส้ม เนื้อมีสีเหลืองซีด ซึ่งคล้ายกับพันธุ์หอมขาวที่พบมากทางภาคเหนือ หอมแดงทุกตัวอย่างมีรูปทรง 2 แบบ คือ ทรงไข่กว้าง (Broad elliptic ) และ ทรงกลม (Globe) (**Figure1**) โดยสีเปลือกหอมแดงจากแหล่งปลูกจังหวัดศรีสะเกษจะมีสีเปลือกม่วงแดงและมีสีเข้มกว่าหอมแดงจากแหล่งอื่น เช่น sh55012 sh55013 และ sh55015 เป็นต้น (Table 1)

เนื่องจากหอมแดงมีการตอบสนองต่อสภาพแวดล้อมและสภาพความสมบูรณ์ของพื้นที่เพาะปลูกเป็นอย่างมาก ไวต่อการเปลี่ยนแปลงของความเป็นกรด – ด่างในดิน และตอบสนองต่อช่วงแสง จุดวิกฤตของแสงที่กระทบต่อการเติบโตและการให้ผลผลิตของหอมแดงอยู่ในช่วงตั้งแต่ 11-16 ชั่วโมง สอดคล้องกับ รัชชนก (2542) และ Abbey and Fordham (1998) พบว่า ในช่วงอากาศหนาวเย็นหอมแดงมีอัตราการสะสมน้ำหนักแห้งต่อวันเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว การเจริญเติบโตของลำต้นหอมแดง และการสร้างหัวมีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณน้ำในใบเมื่อปลูกที่ความยาวช่วงแสง 12 ชั่วโมงต่อวัน นอกจากนี้ปริมาณน้ำที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 350–600 มิลลิเมตร แต่สามารถอยู่ได้ถึงระดับน้ำฝน 2,800 มิลลิเมตร ในสภาพอากาศแห้งแล้งที่ยาวนานจะทำให้ใบของหอมเหี่ยว ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตหอมแดงอย่างมาก (Hridaya, 2007) หากอุณหภูมิสูง น้ำในใบไม่เพียงพอจะทำให้ใบเหลือง ฟุบลง ไม่สามารถสร้างอาหารไปบำรุงหัวได้ ทำให้ผลผลิตหัวหอมแดงไม่สมบูรณ์ ขนาดเล็ก หรือไม่มีหัว และหอมแดงพันธุ์

ศรีสะเกษมีการสะสมน้ำหนักแห้งสูงสุดที่อายุ 40 วัน หลังดอกบาน การสร้างหัวมีความสัมพันธ์กับความยาวใบและจะเพิ่มขึ้นตามความยาวของช่วงแสง (Okporie และ Ekpe, 2008) นิเวศวิทยาทางการเกษตร เช่น สภาพอากาศ ความชื้น อุณหภูมิและการจัดการในพื้นที่ปลูกหอมแดงที่แตกต่างกัน แม้จะใช้หอมแดงพันธุ์เดียวกันปลูกก็แสดงลักษณะที่แตกต่างกัน ทำให้การจำแนกหอมแดงจากแหล่งปลูกต่างๆทำได้ยาก และไม่สามารถจำแนกออกจากกันได้อย่างแน่ชัด รัชนี และคณะ (2556) ได้ทำการจำแนกหอมแดงด้วยเครื่องหมายโมเลกุล โดยสุ่มตัวแทนแหล่งที่มาของพันธุ์ 10 ตัวอย่าง จาก 23 ตัวอย่าง ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะ และนำหอมแดงจากตลาดค้าส่งในจังหวัดศรีสะเกษ จำนวน 2 ตัวอย่าง คือ หอมแดงจังหวัดเชียงใหม่ (SH550024) และหอมแดงอิโดนีเซีย (SH55025) รวมเป็น 12 ตัวอย่าง นำมาวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมายโมเลกุล ชนิด Microsatellite สามารถแบ่งหอมแดงได้ 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยหอมแดง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ sh54006 และ sh55015 มีแหล่งที่มาจากลำพูนและศรีสะเกษ ตามลำดับ ส่วนสาย พันธุ์ sh55025 เป็นหอมแดงจากประเทศอินโดนีเซีย จึงมีค่าความใกล้ชิดทางพันธุกรรมน้อยกับสายพันธุ์อื่นๆ ภายในกลุ่ม กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยหอมแดง 8 สายพันธุ์ ได้แก่ sh54009 และ sh55018 จากลำพูน sh55010 sh55013 และ sh55014 จากศรีสะเกษ sh55020 sh55023 และ sh55024 จากอุตรดิตถ์ สุโขทัย และเชียงใหม่ตามลำดับ โดยในกลุ่มนี้เป็นสายพันธุ์ที่มาจากแหล่งเพาะปลูกในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงหนือ ซึ่งมีความหลากหลายทางพันธุกรรมค่อนข้างมาก และกลุ่มที่ 3 ประกอบด้วยหอมแดงเพียง 1 สายพันธุ์ คือ sh55011 ซึ่งเป็นสายพันธุ์จากนครราชสีมา

## สรุปผล

การจำแนกหัวหอมแดงโดยดูลักษณะทางกายภาพเพียงอย่างเดียว ไม่สามารถระบุแหล่งที่มาของพันธุ์หอมแดงได้ เนื่องจากหอมแดงมีการเคลื่อนย้ายหัวพันธุ์จากแหล่งปลูกภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ไปยังภาคเหนือ วนกันเป็นวัฏจักร หัวพันธุ์จึงขาดความหลากหลาย นอกจากนี้ปัจจัยที่แสดงออกของลักษณะทางกายภาพหอมแดง มีความเกี่ยวพันธุ์กับสภาพนิเวศน์วิทยาของพื้นที่ปลูก รวมถึงสภาพอากาศ ดังนั้นการขึ้นทะเบียนแหล่งผลิตจึงเป็นแนวทางในการจำกัดจำนวนผลผลิตแต่ละแหล่งให้ชัดเจน เพื่อป้องกันการสวมสิทธิ์หรือลักลอบนำผลผลิตจากแหล่งอื่น มาจำหน่ายในประเทศ โดยเฉพาะในตลาดหอมแดงจังหวัดศรีสะเกษ

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นางสาวจันทิมา ไตรบัญญัติ นักวิชาการชำนาญการ และเจ้าหน้าที่สถานีพัฒนาที่ดิน จังหวัดศรีสะกษ ที่สนับสนุนข้อมูลชุดดินของพื้นที่ปลูกหอมแดง จังหวัดศรีสะเกษ

## เอกสารอ้างอิง

รัชนก สมพร. 2542. ปัจจัยที่มีผลต่อการออกดอก ผลผลิตและคุณภาพเมล็ดพันธุ์หอมแดง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

รัชนี ศิริยาน ศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล จันทนา โชคพาชื่น เสาวนี เขตสกุล อรรถพล รุกขพันธ์ และ จิรภา ออสติน.2559. การจำแนกสายพันธุ์หอมแดงและกระเทียมด้วยเครื่องหมายโมเลกุล. ว.พืชศาสตร์สงขลานครินทร์, 3 (ฉบับพิเศษ): 1-11

Abbey, L. and Fordham, R., 1998, Abiotic Stress Affects Shallot Growth Performance, Crop Research-HISAR, 16: 66-69.

Hridaya, S., 2007, A Plant Monograph on Onion (*Allium cepa* L.), Roll No. 11: 2004 Pokhara University, Nepal.

International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI); European Cooperative Programme for Crop Genetic Resources Networks (ECPGR); Asian Vegetable Research and Development Center (AVRDC). (2001). Descriptors for Allium (*Allium* spp.), Retrieved from: http://www.bioversityinternational.org/nc/publications/publication/issue/allium.html (September 18, 2010).

Okporie E.O. and Ekpe, I.I., 2008, Effect of Photoperiod on the Growth and Bulbing of Tropical Onion (*Allium cepa* L.) Varieties, World Journal of Agricultural Sciences, 4(1): 36-39, Nigeria

**Table 1** Vegetative growth of shallot at 45 days after planting and bulb quality after harvesting (85 days) from 23 sample at the SiSaKet horticultural research center in 2012.

| Sample | source of sample | plant High (cm.) | Pseudo steam | | Leaves | | Bulb | | Type of bulb | Bulb color | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Length (cm.) | Width (cm.) | Length (cm.) | Width (cm.) | Length (cm.) | Width (cm.) | | peel | fresh |
| sh 54001 | UTD | 30.8 | 3.25 | 2.45 | 27.6 | 0.50 | 3.05 | 1.99 | Globe | R 51 B | R-P 61 B |
| sh 54002 | UTD | 42.0 | 3.95 | 3.73 | 38.1 | 0.70 | 3.26 | 1.93 | Broad elliptic | R-P 60 A | R-P 60 D |
| sh 54003 | UTD | 46.7 | 3.85 | 3.48 | 42.8 | 0.76 | 3.28 | 1.99 | Broad elliptic | R-P 61 B | P 76 B |
| sh 54004 | UTD | 37.1 | 3.65 | 3.24 | 33.4 | 0.56 | 3.10 | 1.97 | Broad elliptic | R-P 60 A | R-P 60 D |
| sh 54005 | UTD | 46.2 | 2.98 | 3.31 | 43.2 | 0.78 | 3.20 | 1.97 | Broad elliptic | R-P 60 C | R-P 64 A |
| sh 54006 | LMP | 41.7 | 3.07 | 3.29 | 38.6 | 0.62 | 2.98 | 1.90 | Broad elliptic | R-P 63 A | R-P 14 B |
| sh 54007 | UTD | 34.7 | 2.29 | 3.25 | 32.4 | 0.50 | 2.56 | 1.54 | Globe | R 51 C | P 75 A |
| sh 54008 | CHR | 37.4 | 4.15 | 3.80 | 33.3 | 0.60 | 3.10 | 1.84 | Broad elliptic | R 51 C | R-P 65 B |
| sh 55009 | UTD | 41.6 | 3.45 | 3.95 | 38.1 | 0.61 | 2.94 | 1.64 | Globe | R-P 59 A | P 76 D |
| sh 55010 | SSK | 50.5 | 3.95 | 2.74 | 46.6 | 0.86 | 3.11 | 1.82 | Globe | R-P 59 A | P 76 D |
| sh 55011 | NRM | 47.1 | 4.35 | 3.18 | 42.7 | 0.69 | 2.90 | 1.78 | Spindle | R-P 59 A | P 76 D |
| sh 55012 | SSK | 46.5 | 3.70 | 2.99 | 42.8 | 0.77 | 2.85 | 1.75 | Broad elliptic | G-R 180 B | Y-W 158 C |
| sh 55013 | SSK | 46.7 | 3.40 | 3.12 | 43.3 | 0.79 | 3.19 | 2.26 | Globe | G-O 166 C | O-W 159 C |
| sh 55014 | SSK | 45.6 | 3.45 | 3.20 | 42.2 | 0.78 | 3.29 | 2.46 | Broad elliptic | R-P 60 C | P 76 D |
| sh 55015 | SSK | 41.5 | 3.33 | 2.81 | 38.2 | 0.63 | 2.93 | 1.76 | Broad elliptic | G-R 182 A | P 76 D |
| sh 55018 | LMP | 43.4 | 3.10 | 2.86 | 40.3 | 0.79 | 2.71 | 1.63 | Broad elliptic | O-P 184 C | R-P 69 C |
| sh 55022 | UTD | 45.0 | 4.75 | 2.66 | 40.3 | 0.57 | 2.62 | 1.63 | Globe | G-P 185 B | R-P 69 D |
| sh 55023 | SUK | 45.6 | 3.75 | 2.92 | 41.8 | 0.59 | 2.97 | 1.73 | Broad elliptic | G-P 181 B | R-P 69 C |

* source of UTD and SSK for sample sh 55016, sh 55017, sh 55019, sh 55020 and sh 55021 are died on field

**Figure 1** Characteristic of shallots plant and bulb after harvesting at the SiSaKet Horticultural Research Center in 2012

# การจำแนกกระเทียมจากแหล่งปลูกต่างๆ ของประเทศไทย
# Classification of Garlic (*Allium sativum* Linn.) in Various Cultivation Areas of Thailand

**จันทนา โชคพาชื่น[1] รัชนี ศิริยาน[1] เสาวนี เขตสกุล[1] และ จิริภา ออสติน[2]**
**Chaokpachuen, Ch.[1], Siriyan, R.[1], Ketsakul, S.[1] and Austin, J.[2]**

## Abstract

The diversity of garlic cultivated in the north and the north-east of Thailand collected at the 'Si Sa Ket; Horticultural Research Center between 2012-2013 was studied. Eighteen garlic samples were grown and the agronomic characteristics were investigated according to the descriptor list for allium plant (IPGRI) for future breeding proposes. The plant samples were classified into three by bulb size and bulb shape. Garlics derived from the north, garlics from the northeast, and big garlics with oval shape and big cloves from aboard were characteristically sorted. Nonlocal garlics well grow and develop in the north where conduct cold weather for 90 days consecutively to allow clove separating. The cultivation in the northeast without continuous cold could fail due to undeveloped bulbs. As a result, continuous cold weather is crucial for bulb development which makes different characteristics of garlics.
**Keywords:** garlic, diversity, Identify garlic

## บทคัดย่อ

การศึกษาความหลากหลายของกระเทียมจากแหล่งปลูกภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ของประเทศไทย ที่รวบรวมไว้ ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ ระหว่างปี 2555-2556 โดยคัดเลือกตัวแทนจำนวน 18 ตัวอย่าง ทำการปลูกและบันทึกลักษณะตามระบบของ International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI) ของกระเทียม สำหรับการปรับปรุงพันธุ์ในอนาคต สามารถจำแนกตามขนาดและรูปทรงของหัวกระเทียม ได้ 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 กระเทียมภาคเหนือ กลุ่มที่ 2 กระเทียมภาคตะวันออกฉียงเหนือ และ กลุ่ม 3 กระเทียมต่างประเทศที่มีหัวใหญ่และกลีบใหญ่ ทรงรีแคบ โดยกระเทียมต่างประเทศจะสามารถปลูกและเจริญเติบโต ให้ผลผลิตได้ในพื้นที่ภาคเหนือ ที่มีสภาพอากาศเย็นต่อเนื่องตั้งแต่ 90 วัน ขึ้นไป จึงจะทำให้กระเทียมมีการแบ่งกลีบ การนำมาปลูกในภาคตะวันออกเฉียงเหนือหากความหนาวเย็นไม่ต่อเนื่องจะทำให้กระเทียมไม่พัฒนาหัวและไม่แบ่งกลีบ ทำให้มีลักษณะเหมือนกระเทียมโทน ทั้งนี้ปัจจัยสำคัญในการปลูกกระเทียม คือ อุณหภูมิต่ำในช่วงการพัฒนาหัว จึงทำให้การแสดงออกทางสัณฐานวิทยาของกระเทียมแตกต่างกัน
**คำสำคัญ:** กระเทียม ความหลากหลาย จำแนกกระเทียม

## คำนำ

ประเทศไทยมีพื้นที่เพาะปลูกกระเทียมในปี 2554 จำนวน 76,809 ไร่ มีเนื้อที่เก็บเกี่ยว 74,680 ไร่ ผลผลิตที่เก็บเกี่ยว 75,589 ตัน และมีการนำเข้า 2,093.85 ตัน สามารถส่งออกกระเทียมสดหรือแช่เย็น 128.36 ตัน มูลค่า 16,771,976 บาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2554) ปัญหาที่สำคัญของการผลิตกระเทียมเพื่อการค้าและการส่งออก คือ ต้นทุนการผลิตที่สูงกว่าคู่แข่งอย่างจีนและกระเทียมจากประเทศเพื่อบ้าน จึงมีการลักลอบนำกระเทียมเข้ามาในประเทศไทย เพื่อนำมาจำหน่ายในราคาแพง แต่ไม่มีคุณภาพ โดยเฉพาะการแอบอ้างว่าเป็นกระเทียมของจังหวัดศรีสะเกษ ที่มีชื่อเสียงในเรื่องคุณภาพ และลักษณะเด่นกว่าที่อื่น คือ หัวแน่น กลิ่นฉุน รสจัด เก็บไว้ได้นาน ไม่เน่าเสียหาย มีสีขาวแกมม่วง ปลูกมากในเขตอำเภอยางชุมน้อย กันทรลักษ์ กันทรารมย์ วังหิน และราษีไศล จึงทำให้เป็นที่ต้องการของตลาด เมื่อนำกระเทียมจากแหล่งอื่นมาสวมรอยจำหน่ายเป็นกระเทียมศรีสะเกษ จึงทำให้เกิดปัญหาผลผลิตในพื้นที่ราคาตกต่ำ และอาจส่งผลให้ผู้บริโภคไม่มั่นใจในคุณภาพของกระเทียมศรีสะเกษ เพื่อป้องกันปัญหาการลักลอบแอบอ้างแหล่งที่มาของผลผลิตกระเทียม จึงดำเนินการพิสูจน์เอกลักษณ์ของกระเทียมโดยจำแนกความแตกต่างจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา ตามระบบของ International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI) ของ

[1] ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ ตำบลหนองไผ่ อำเภอเมือง จังหวัดศรีสะเกษ 33000
SiSaKet Horticultural Research Center, Nong Phi, Muang SiSaKet,SiSaKet 33000
[2].ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพังงา เลขที่ 52 หมู่ที่ 1 ต.บางม่วง อ.ตะกั่วป่า จ.พังงา 82110
[2] Phang Nga Agricultural Research and Development Center, No.52 Bang Moung, Takua Pa, Phang Nga 82110

กระเทียม ซึ่งเป็นวิธีที่สะดวก จึงทำการศึกษาหาวิธีการพิสูจน์เอกลักษณ์ของกระเทียมจากแหล่งปลูกต่างๆ พร้อมทำการศึกษาคุณภาพโดยเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพ รวมทั้งคุณภาพผลผลิต เพื่อเป็นแนวทางในการตรวจสอบที่มาของกระเทียมจากแหล่งปลูกต่างๆ

## อุปกรณ์และวิธีการ

1. ตัวอย่างกระเทียม จำนวน 18 ตัวอย่าง จากแหล่งปลูก จังหวัดศรีสะเกษ (SSK) ลำพูน (LMP) เชียงราย (CHR) ลำปาง (LPA) แม่ฮ่องสอน (MHS) และ พะเยา (PAY) จำนวน 5 กิโลกรัมต่อแหล่ง

2. วัสดุการเกษตร ปุ๋ยคอก ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 และ 9-24-24 สารเคมีกำจัดวัชพืช โรคและแมลงศัตรูพืช เช่น อ๊อกซีฟลูออร์เฟน อะบาเมคติน โปรคลอราจ และชีวภัณฑ์ เช่น ไตรโครเดอมา บาซิลัส ทูริเยงซิส

3. สายยางให้น้ำ หัวบัวรดน้ำ ถังพ่นยาขนาด 20 ลิตร

4. แบบบันทึกลักษณะตามระบบ IPGRI ของพืชสกุล Allium ไม้บรรทัด เวอร์เนีย แผ่นเทียบสี (RHS color chart)

ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ ปี 2555-2556 ระยะเวลา 2 ปี เริ่มรวบรวมตัวอย่างในฤดูกาลเก็บเกี่ยวกระเทียม (ธันวาคม 2554 -มีนาคม ปี 2555) คัดเลือกตัวแทน จำนวน 18 ตัวอย่างๆ ละ 5 กิโลกรัม พร้อมบันทึกข้อมูลเกษตรกรผู้ปลูก วิธีการปลูก ดูแลรักษา อายุการเก็บเกี่ยว ของกระเทียมแต่ละตัวอย่าง จากนั้นนำตัวอย่างเก็บรักษาในโรงเรือนมุงหลังคาที่อากาศถ่ายเทในอุณหภูมิห้อง เพื่อรอปลูกในเดือนตุลาคม 2555 ทำการเตรียมแปลงปลูก โดยไถตากดิน 1-2 สัปดาห์ ใส่ปูนขาวปรับปรุงค่าความเป็นกรด 200 กิโลกรัมต่อไร่ และใส่ปุ๋ยคอก 1 ตัน ต่อไร่ จากนั้นไถปั่นดินให้ละเอียด แยกกลีบกระเทียมออก ทำการปลูกแต่ละตัวอย่างบนแปลงขนาด 1.5x8 เมตร ความสูงแปลง 50 เซนติเมตร ระยะปลูกระหว่าต้นและระหว่างแถว 15x15 เซนติเมตร ดูแลรักษาตามคำแนะนำการเกษตรดีที่เหมาะสมของการปลูกกระเทียม (GAP) ของกรมวิชาการเกษตร บันทึกลักษณะทางลักษณะสัณฐานวิทยาตามแบบบันทึก IPGRI เช่น การเจริญเติบโตทางลำต้นและใบ เมื่ออายุ 60 วัน โดยใช้ไม้บรรทัด และเวอร์เนีย บันทึกอายุการเก็บเกี่ยวของแต่ละตัวอย่าง วัดคุณภาพหัวกระเทียม เช่น ความกว้าง ความยาวของหัวกระเทียม วัดด้วยเวอร์เนียรรูปทรง (ตามแบบบันทึก) และ สีเปลือกชั้นนอก สีเนื้อ วัดโดยใช้แผ่นเทียบสี (RHS color chart) เป็นต้น และบันทึกการเข้าทำลายของโรคและแมลงที่เข้าทำลายระหว่างดำเนินการทดลอง

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการปลูกกระเทียม จำนวน 18 ตัวอย่าง พร้อมบันทึกลักษณะตามระบบของ International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI) พบว่า จำแนกลักษณะของขนาดลำต้น ใบและขนาดหัวกระเทียม ออกเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ลำต้นสูง 52.3 เซนติเมตร ความกว้างใบมากที่สุด 1.60 เซนติเมตร ความยาวและเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นเทียมคือ 4.27 และ 0.29 เซนติเมตร ตามลำดับ ความยาวและเส้นรอบวงของหัวอยู่ที่ 3.43 และ 3.32 เซนติเมตร ตามลำดับ ทรงผลค่อนข้างกลม การแบ่งกลีบน้อย กลีบมีขนาดใหญ่ จนถึงไม่แบ่งกลีบ (**Figure 1**) เปลือกชั้นนอกมีสีขาวถึงสีครีม (W155A,G-P72B) เปลือกหุ้มกลีบมีสีขาวหรือสีน้ำตาลอ่อน (G-Y160C) ลักษณะขนาดหัวกระเทียมมีความแตกต่างอย่างเด่นชัด ละมีอายุการเก็บเกี่ยวนาน 120 วัน ตัวอย่างกระเทียมกลุ่มนี้ คือ GA55011 (**Table 1**)

กลุ่มที่ 2. ความสูงลำต้นมากที่สุด คือ 51.8-59.3 เซนติเมตร ความกว้างใบ 1.13-1.26 เซนติเมตร ลำต้นเทียมสูง 5.05-7.00 เซนติเมตร คอใบตั้งไม่ซ้อนกันเป็นกาบ ขนาดหัวกระเทียมและกลีบมีทั้งขนาดเล็กถึงปานกลาง โดยความยาวและเส้นรอบวงของหัวอยู่ที่ 2.34-2.39 เซนติเมตร และ 2.86-2.99 เซนติเมตร ตามลำดับ (**Figure 1**) เปลือกหุ้มหัวกระเทียมมีสีขาว สีครีม (W155A, G-P72B) และสีขาวปนม่วงแดงถึงม่วงเข้ม (R-P69D,V84B) เช่น ตัวอย่าง GA55009 เปลือกหุ้มกลีบมีสีขาวหรือสีน้ำตาลอ่อน (G-Y160C) ลักษณะหัวกระเทียมมีทั้งทรงรีแคบ เช่น GA55002 GA55004 GA55005 GA55006 และ GA55007 เป็นต้น ทรงหัวกระเทียมค่อนข้างกลม เช่น GA55001 และ GA55003 โดยกระเทียมจากแหล่งปลูกศรีสะเกษจะมีทรงหัวกระเทียมทั้ง 2 ลักษณะ เกิดจากสภาพนิเวศน์ของพื้นที่และการจัดการแปลงปลูก อายุเก็บเกี่ยวกระเทียมกลุ่มนี้จะสั้น คือ 80-90 วัน (**Table 1**)

กลุ่มที่ 3. มีความสูงต้นน้อยกว่า 50 เซนติเมตร ความยาวลำต้นเทียม 3.62-5.25 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นเทียม 0.29-0.35 เซนติเมตร ความยาวใบ 36.6 เซนติเมตร ความกว้างใบ 1.34 เซนติเมตร คอใบมีทั้งซ้อนกันเป็นกาบและยืดยาวขนาดหัวและกลีบกระเทียมปานกลาง โดยความยาวและเส้นรอบวงของหัวอยู่ที่ 2.48-2.53 และ 2.57-2.85 เซนติเมตร ตามลำดับ (**Figure 1**) สีเปลือกหัวกระเทียมมีสีขาว (W155A) เช่น ตัวอย่าง Sh55010 เปลือกมีสีม่วง (V-B 95B) และ Sh55016 มีเปลือกหุ้มกลีบมีสีน้ำตาลอ่อน (G-Y160 C) เนื่องจากเป็นกระเทียมจากแหล่งปลูกทางเหนือ มีอายุการเก็บเกี่ยวนาน 85-115 วัน (**Table 1**)

เนื่องจากกระเทียมแต่ละแหล่งมีอายุการเก็บเกี่ยวต่างกัน ตั้งแต่ 85-120 วัน ในการพัฒนาหัวจนมีการแบ่งกลีบชัดเจน จำเป็นต้องการความเย็นหรืออุณหภูมิต่ำเป็นระยะเวลานานต่อเนื่องอย่างน้อย 90 วัน ในการแบ่งกลีบของหัวกระเทียม ดังนั้นฤดูปลูกและเก็บเกี่ยวกระเทียมของประเทศไทยจึงอยู่ในช่วงเดือน ตุลาคม - มีนาคม โดยกระเทียมที่ปลูกในภาคเหนือจะมีอายุการเก็บเกี่ยวนานกว่า เนื่องจากสภาพอากาศเอื้ออำนวย จึงทำให้การพัฒนาของลำต้นและหัวกระเทียมยาวนานขึ้น ขนาดกระเทียมหัวใหญ่กว่า และให้ผลผลิตต่อพื้นที่มากกว่าพื้นที่ปลูกในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ทำให้สามารถแยกความแตกต่างของกระเทียมทั้ง 2 แหล่งได้ นอกจากนี้เกษตรกรจะเก็บหัวพันธุ์กระเทียมไว้ใช้เอง เพราะว่าหัวพันธุ์กระเทียมมีราคาแพง จึงมีความหลากหลายของพันธุ์มากกว่าหอมแดง จากการจำแนกกระเทียมโดยการตรวจสอบดีเอ็นเอ ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล ชนิด Microsatellite สามารถจัดกลุ่มของกระเทียมได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยกระเทียมจากศรีสะเกษ และอีก 1 สายพันธุ์เป็นกระเทียมจีน กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยกระเทียมจากลำพูน พะเยา เชียงราย และลำปาง ซึ่งเป็นสายพันธุ์จากแหล่งปลูกในภาคเหนือทั้งหมด (รัชนีและคณะ, 2559)

## สรุปผล

การจำแนกหัวกระเทียมที่ปลูกในประเทศไทย จากขนาดหัว รูปทรง และสีเปลือก สามารถบ่งชี้ถึงแหล่งปลูกทั้ง 2 แหล่งได้ โดยเฉพาะกระเทียมต่างประเทศ แต่ทั้งนี้การขึ้นทะเบียนแหล่งผลิตจะเป็นอีกวิธีการหนึ่ง ในการป้องกันการลักลอบนำเข้ากระเทียมจากประเทศเพื่อบ้าน และจากแหล่งปลูกอื่นๆ มาสวมสิทธิ์การค้าของกระเทียมในประเทศ รวมถึงในจังหวัดศรีสะเกษได้

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นางสาวจันทิมา ไตรบัญญัติ นักวิชาการชำนาญการ และเจ้าหน้าที่สถานีพัฒนาที่ดิน จังหวัดศรีสะกษ ที่สนับสนุนข้อมูลชุดดินของพื้นที่ปลูกกระเทียม จังหวัดศรีสะเกษ

## เอกสารอ้างอิง

รัชนี ศิริยาน ศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล จันทนา โชคพาชื่น เสาวนี เขตสกุล อรรถพล รุกขพันธ์ และ จิรภา ออสติน, 2559, การจำแนกสายพันธุ์หอมแดงและกระเทียมด้วยเครื่องหมายโมเลกุล, วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์, 3 (ฉบับพิเศษ): 1-11.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2554, กระเทียม. [6 กรกฎาคม 2554]. http://impexp.oae.go.th/service/report_product01.php?S_YEAR=2554&i_type=2&PRODUCT_ID=1273&wf_search=&WF_SEARCH=Y#4472.

International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI); European Cooperative Programme for Crop Genetic Resources Networks (ECPGR); Asian Vegetable Research and Development Center (AVRDC)., 2001, Descriptors for Allium (Allium spp.) [Online], Available: http://www.bioversityinternational.org/nc/publications/publication/issue/allium.html [March 2, 2015].

**Table 1** Vegetative growth of garlic at 60 days after planting, harvesting date, bulb size and bulb component quality after harvesting from 18 samples at the SiSaKet horticultural research center in 2012.

| Sample | source of sample | Harvesting date | Plan High (cm.) | Pseudo steam | | Leaves | | Bulb | | Type of bulb | Bulb color | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Length (cm.) | Width (cm.) | Length (cm.) | Width (cm.) | Length (cm.) | width (cm.) | | peel | fresh |
| GA55001 | SSK | 81 | 59.3 | 7.00 | 0.46 | 52.3 | 1.13 | 2.34 | 2.39 | Circular | W 155A | G-Y 160C |
| GA55002 | SSK | - | 58.8 | 6.35 | 0.38 | 52.4 | 1.19 | 2.42 | 2.67 | Narrow elliptic | W 155B | G-Y 160C |
| GA55003 | - | - | - | - | - | - | - | 2.49 | 2.55 | Circular | W 155D | G-Y 160C |
| GA55004 | SSK | 80 | 58.8 | 6.05 | 0.53 | 52.7 | 1.26 | 2.70 | 2.76 | Narrow elliptic | W 155D | G-Y 160C |
| GA55005 | SSK | - | 56.5 | 6.05 | 0.4 | 50.4 | 1.19 | 2.48 | 2.62 | Narrow elliptic | W 155D | G-Y 160C |
| GA55006 | SSK | 86 | 57.9 | 5.70 | 0.48 | 52.2 | 1.13 | 2.41 | 2.52 | Narrow elliptic | W 155D | G-Y 160C |
| GA55007 | SSK | - | 57.6 | 5.60 | 0.44 | 51.95 | 1.23 | 2.40 | 2.66 | Narrow elliptic | W 155A | G-Y 160C |
| GA55008 | SSK | 90 | 51.8 | 5.40 | 0.58 | 46.35 | 1.15 | 2.86 | 2.99 | Narrow elliptic | W 155A | G-Y 160C |
| GA55009 | SSK | 80 | 59.2 | 5.05 | 0.3 | 54.15 | 1.23 | 2.58 | 2.83 | Narrow elliptic | R-P 69D | G-Y 160C |
| GA55010 | LAM | 85 | 40.3 | 3.62 | 0.34 | 36.64 | 1.13 | 2.48 | 2.57 | Circular | W 155A | G-Y 160C |
| GA55011 | CHR | 120 | 52.3 | 4.27 | 0.29 | 48.03 | 1.60 | 3.43 | 3.32 | Broad elliptic | V-B 95B | G-Y 160C |
| GA55012 | LPA | 93 | 52.3 | 4.42 | 0.26 | 47.86 | 1.34 | 3.14 | 3.74 | Narrow elliptic | V-B 95B | G-Y 160C |
| GA55013 | MHS | 120 | 43.4 | 4.41 | 0.34 | 39.00 | 1.34 | 2.56 | 2.73 | Narrow elliptic | W 155A | G-P 72B |
| GA55014 | MHS | 120 | 46.8 | 4.54 | 0.22 | 42.30 | 1.39 | 2.59 | 2.79 | Broad elliptic | V-B 95B | G-Y 160C |
| GA55015 | - | - | 48.8 | 4.17 | 0.39 | 44.58 | 1.58 | 2.67 | 3.3 | Narrow elliptic | V-B 95B | G-Y 160C |
| GA55016 | PAYOU | 95 | 48.3 | 4.27 | 0.29 | 44.06 | 1.53 | 2.53 | 2.75 | Narrow elliptic | V-B 95B | G-Y 160C |
| GA55017 | PAYOU | 115 | 49.6 | 4.69 | 0.34 | 44.95 | 1.72 | 2.36 | 2.42 | Narrow elliptic | W 155A | G-Y 160C |
| GA55018 | PAYOU | 95 | 47.0 | 5.25 | 0.35 | 41.79 | 0.86 | 2.44 | 2.78 | Narrow elliptic | W 155D | G-Y 160C |

**Figure 1** Characteristic of Garlic in 3 group at the SiSaKet Horticultural Research Center in 2012.

# การยับยั้งเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromea* สาเหตุโรคผลเน่าของมังคุดด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์
# Inhibition of *Lasiodiplodia theobromae*, A Causal Agent of Fruit Rot in Mangosteen by Hydrogen Peroxide

**นฤมล ปิยะเสถียรรัตน์[1] ผ่องเพ็ญ จิตอารีย์รัตน์[1,2]* วาริช ศรีละออง[1,2] อภิรดี อุทัยรัตนกิจ[1, 2] กัลยา ศรีพงษ์[1] และ ธนะชัย พันธ์เกษมสุข[3]**

**Piyasathianrat, N.[1], Jitareerat, P.[1,2], Srilaong, V.[1,2], Uthairatanakij, U.[1,2], Sripong, K[1] and Pankasemsuk, T.[3]**

## Abstract

Fruit rot caused by *Lasiodiplodia theobromae* is the major problem of harvested mangosteen fruit. This research aimed to study the effect of hydrogen peroxide ($H_2O_2$) on the mycelium growth and spore germination of this fungal pathogen. Fungal mycelium and spores were treated with $H_2O_2$ at 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 and 0.5 % for 5, 10 and 20 min. The results revealed that inhibitory effects of $H_2O_2$ increased according to its concentration and period time. Treatment with $H_2O_2$ at 0.5% for 5-20 min showed the completely inhibitory effects on mycelium and spore germination *in vitro*. The Preliminary test showed that $H_2O_2$ treatment did not affect the appearance of mangosteen fruit. Thus, $H_2O_2$ may have the potential to apply on mangosteen for controlling fruit rot disease in further study.

**Keywords**: fruit rot disease, mangosteen, *L. theobromea*, hydrogen peroxide

## บทคัดย่อ

โรคผลเน่าจากเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* เป็นปัญหาสำคัญของมังคุดหลังการเก็บเกี่ยว งานนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($H_2O_2$) ต่อการเจริญเส้นใยและการงอกสปอร์เชื้อรา โดยทำการจุ่มเส้นใยหรือสปอร์เชื้อราใน $H_2O_2$ เข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 % นาน 5, 10 และ 20 นาที พบว่า ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราของ $H_2O_2$ เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นและระยะเวลาในการจุ่ม และที่ความเข้มข้น 0.5 % นาน 5-20 นาที สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยและการงอกของสปอร์ได้สมบูรณ์ และจากการทดสอบเบื้องต้นพบว่า $H_2O_2$ ที่ความเข้มข้น 0.5 % ไม่มีผลเสียต่อลักษณะปรากฏของมังคุด ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะใช้ $H_2O_2$ เพื่อนำไปใช้การควบคุมโรคผลเน่าของมังคุดในการศึกษาต่อไป

**คำสำคัญ:** โรคผลเน่า มังคุด *Lasiodiplodia theobromae* ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

## คำนำ

เชื้อสาเหตุโรคพืช เป็นสาเหตุหนึ่งที่มีผลโดยตรงต่อคุณภาพของมังคุด โดยเฉพาะเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดโรคผลเน่า และเกิดการเปลี่ยนแปลงสารประกอบต่างๆ ในเปลือก ทำให้เกิดอาการผลแข็ง เนื่องจาก pericarp ถูกทำลาย และกลายเป็นปัญหาสำคัญของมังคุดภายหลังการเก็บเกี่ยว (Bunsiri และคณะ, 2003) การใช้สารเคมีกำจัดเชื้อราทำให้ผู้บริโภคเกิดความกังวลถึงอันตรายจากสารเคมีที่ตกค้าง ดังนั้นการค้นหาวิธีที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อมจึงเป็นเรื่องสำคัญ ปัจจุบันมีการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($H_2O_2$) เพื่อยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทั้งในด้านการแพทย์และอุตสาหกรรมอาหาร (Linley และคณะ, 2013) โดยมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย และรา ได้ (ศศิลภัส และคณะ, 2557) $H_2O_2$ มีผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์และโมเลกุลโปรตีนภายในเซลล์ ทำให้เซลล์เกิดความเสียหาย นอกจากนี้ $H_2O_2$ สามารถสลายตัวได้เป็นออกซิเจนกับน้ำได้อย่างรวดเร็ว จึงไม่เหลือสารเคมีตกค้างในอาหารและสิ่งแวดล้อม (Aguirre และคณะ, 2006) มีรายงานว่าไอของ $H_2O_2$ สามารถยับยั้งโรคผลเน่าขององุ่น และไม่มีผลต่อสีและปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (Forney และคณะ, 1991) ซึ่งจากคุณสมบัติของ $H_2O_2$ ที่

[1] คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี 49 ซ.เทียนทะเล 25 ถ. บางขุนเทียน-ชายทะเล แขวงท่าข้าม กทม.10150

[1] School of Bioresource and Technology, King Mongkut's University of Technology Thoburi, 49 Thian Thale 25, Bangkhun-thien rd., Thakam, Bangkok, 10150 Thailand

[2] ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม กรุงเทพมหานคร 10400

[2] Postharvest Technology Innovation Center, Ministry of Higher Education, Science, Research and Innovation, Bangkok 10400, Thailand

[3] คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 239 ถนนห้วยแก้ว ต.สุเทพ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200

[3] Faculty of Agriculture, Chiang Mai University 239, Huay Kaew Road, Muang District, Chiang Mai, 50200 Thailand

*corresponding author : pongphen.jit@kmutt.ac.th

กล่าวมา งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาผลของ $H_2O_2$ ต่อการเจริญเส้นใยและการงอกสปอร์เชื้อรา *L. theobromae* สาเหตุโรคผลเน่าของมังคุด

## อุปกรณ์และวิธีการ

การทดสอบผลของ $H_2O_2$ ต่อการเจริญเส้นใยเชื้อรา *L. theobromae* ที่แยกได้จากผลมังคุด ทำโดยใช้ cork borer (∅ 0.5 ซม.) ตัดเส้นใยเชื้อราที่เลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) มาแช่ในสารละลาย $H_2O_2$ เข้มข้น 0 (ชุดควบคุม), 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 % นาน 5, 10 และ 20 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนด นำมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose broth (PDB) ปริมาตร 100 ml บ่มบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 100 rpm ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน จากนั้นกรองเส้นใยด้วยกระดาษกรองและนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ ชั่งน้ำหนักเส้นใยและรายงานผลเป็น มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร การทดสอบผลของ $H_2O_2$ ต่อการงอกของสปอร์ ทำโดยเติมสปอร์แขวนลอยของเชื้อราที่ $10^2$ ลงในสารละลาย $H_2O_2$ จนได้ความเข้มข้นสุดท้ายของ $H_2O_2$ เท่ากับ 0 (ชุดควบคุม), 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 % บ่ม นาน 5, 10 และ 20 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนด ทำการดูดสปอร์แขวนลอยมาเกลี่ยลงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 4 วัน จากนั้นนับจำนวนโคโลนีของเชื้อราบนหน้าอาหาร และคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เปรียบเทียบกับสปอร์ในชุดควบคุม การทดสอบ $H_2O_2$ ต่อลักษณะปรากฏของมังคุด ทำโดยจุ่มมังคุดลงในสารละลาย $H_2O_2$ เข้มข้น 0 (ชุดควบคุม) และ 0.5 % นาน 20 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนด นำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน จากนั้นดูลักษณะปรากฏของมังคุดโดยเปรียบเทียบกับมังคุดชุดควบคุม วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design แต่ละทรีตเมนท์มี 4 ซ้ำ

## ผลการทดลอง

1. ผลของ $H_2O_2$ ต่อการเจริญของเส้นใย *L. theobromae*

$H_2O_2$ มีผลทำให้การเจริญเส้นใยเชื้อราลดลง โดยพบว่าน้ำหนักแห้งของเส้นใยเชื้อราที่แช่ใน $H_2O_2$ ลดลงตามความเข้มข้นของ $H_2O_2$ ที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และ พบว่าการแช่เส้นใยใน $H_2O_2$ ที่ความเข้มข้น 0.5 % นาน 5-20 นาที มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย คือ สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยได้อย่างสมบูรณ์ (ยับยั้งได้ 100 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งระยะเวลาในการแช่เส้นใยที่แตกต่างกัน ไม่ส่งผลต่อการลดลงของปริมาณเส้นใยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

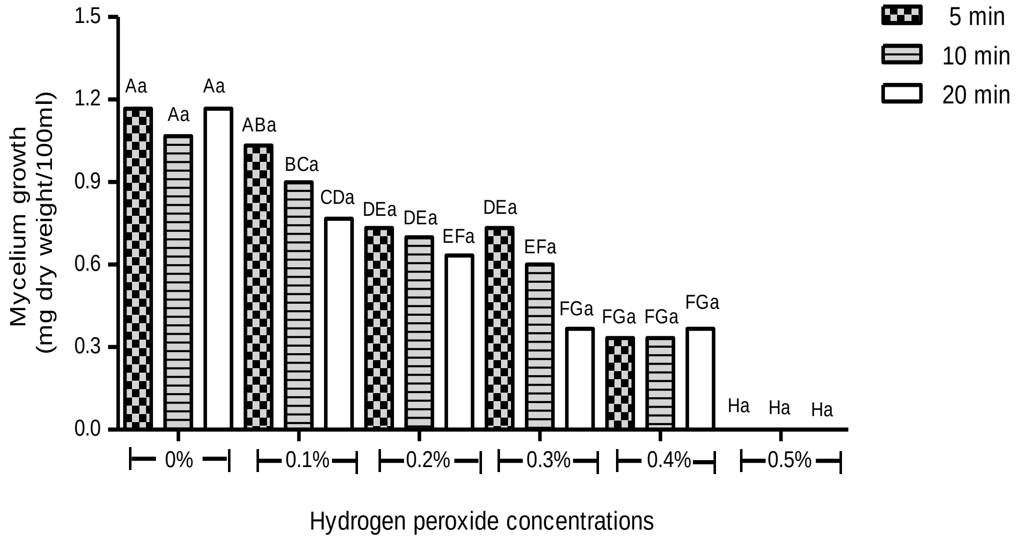



**Figure 1** Dry weight of *Lasiodiplodia theobromae* mycelium treated with $H_2O_2$ at 0 (control), 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 and 0.5% for 5, 10, and 20 min, then cultured in PDB, and incubated at 30 °C under shaker at 100 rpm for 7 days. Capital letters correspond to comparison between the treatments and small letters correspond to comparison between the treated times .

2. ผลของ $H_2O_2$ ต่อการงอกของสปอร์ *L. theobromae*

เปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เชื้อรา พิจารณาจากจำนวนโคโลนีของเชื้อราที่เจริญบนหน้าอาหาร PDA โดยเปรียบเทียบจำนวนโคโลนีของสปอร์ที่ได้รับ $H_2O_2$ กับจำนวนโคโลนีของเชื้อราที่ไม่ได้รับ $H_2O_2$ โดยกำหนดให้จำนวนโคโลนีของสปอร์เชื้อราที่ไม่ได้รับ $H_2O_2$ (ชุดควบคุม) เท่ากับ 100 % พบว่า สปอร์ของเชื้อราที่ได้รับ $H_2O_2$ เข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3, และ 0.4 % มีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ลดลงตามความเข้มข้นของ $H_2O_2$ ที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Figure 2) และที่ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ไม่พบการงอกของสปอร์ (0 เปอร์เซ็นต์) นอกจากนี้ พบว่า ระยะเวลาที่เชื้อราได้รับ $H_2O_2$ มีผลต่อการงอกของสปอร์ คือ เปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ลดลงตามระยะเวลาที่สปอร์สัมผัสกับ $H_2O_2$ นานมากขึ้น ยกเว้น การใช้ $H_2O_2$ ที่ความเข้มต่ำ (0.1%) และที่ความเข้มข้นสูง (0.4% – 0.5%) พบว่าระยะเวลาที่สปอร์สัมผัสกับ $H_2O_2$ ไม่ผลต่อเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์

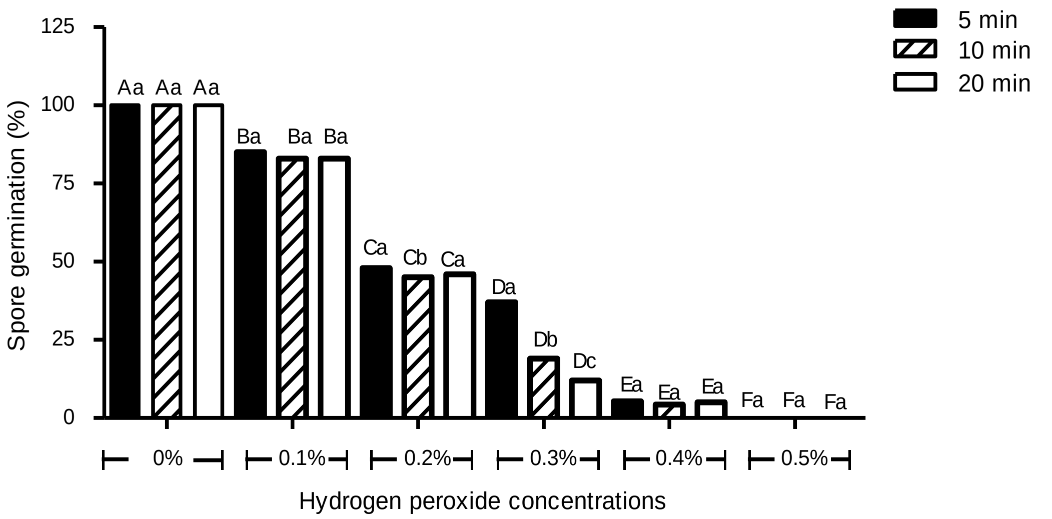



**Figure 2** Percentage of spore germination of *Lasiodiplodia theobromae* when it was treated with $H_2O_2$ at 0 (control), 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 and 0.5% for 5, 10, and 20 min, then cultured in PDA and incubated at room temperature for 4 days. Capital letters correspond to comparison between the treatments and small letters correspond to comparison between the treated time period.

3. ผลของ $H_2O_2$ ต่อลักษณะปรากฏของมังคุด

จากการทดสอบเบื้องต้นพบว่า $H_2O_2$ ที่ความเข้มข้น 0.5 % ไม่มีผลเสียต่อลักษณะปรากฏของมังคุดเมื่อเปรียบเทียบกับมังคุดชุดควบคุม (ไม่ได้รับ $H_2O_2$) ทั้งในด้าน สีเปลือก สีกลีบเลี้ยง และสีเนื้อ เมื่อเก็บรักษานาน 7 วัน (Figure 3)

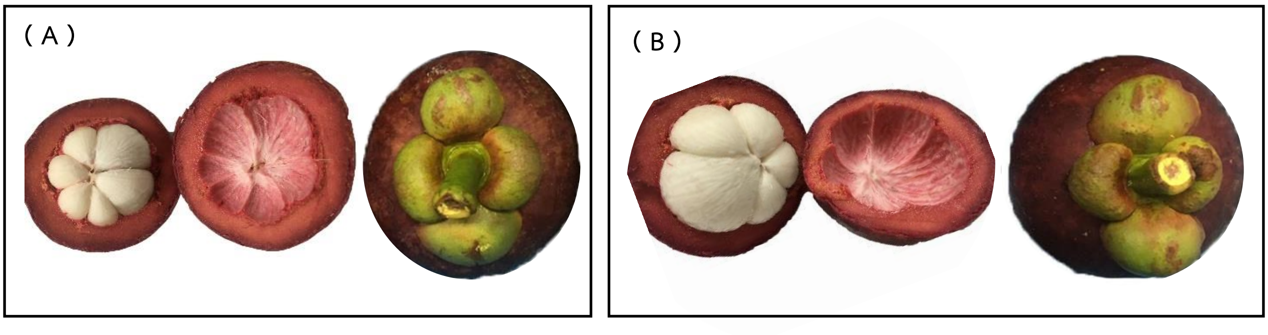



**Figure 3** Appearance of mangosteen dipped in $H_2O_2$ solution at 0 (control) (A) and 0.5% (B) for 20 min and then stored at 13 $^{o}$C for 7 days.

## วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองเมื่อจุ่มเส้นใยหรือสปอร์เชื้อราใน $H_2O_2$ เข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 % นาน 5, 10 และ 20 นาที พบว่า ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราของ $H_2O_2$ เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นและระยะเวลา ซึ่งที่ความเข้มข้น 0.5% นาน 5-20 นาที ให้ผลดีที่สุด เนื่องจากไม่พบการเจริญของเส้นใยและสปอร์เชื้อรา สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sapers และ Simmons (1998) พบว่า การล้างเห็ดด้วย 0.5% $H_2O_2$ ทำให้จุลินทรีย์ลดลงประมาณ 2 เท่า และมีการเน่าเสียลดลง นอกจากนี้งานวิจัยของ Fallik และคณะ (1994) พบว่าการใช้ 0.5% Sanosil-25 (มีส่วนประกอบของ $H_2O_2$ เป็นหลัก) สามารถยับยั้งเชื้อรา *Botrytis cinerea* และ *Alternaria alternata* ที่เป็นสาเหตุโรคพืชของมะเขือยาวและพริกแดงหวานในระหว่างการเก็บรักษาได้ ทั้งนี้เนื่องจาก $H_2O_2$ สามารถแตกตัวได้ ไฮดรอกซิล เรดิคอล (Hydroxyl radical, -OH) ได้โดยไม่ต้องอาศัยตัวเร่งปฏิกิริยา (Catalyst ) ซึ่ง -OH จัดเป็นสารในกลุ่ม reactive oxygen species (ROS) (อาณัติ, 2562) โดย ROS มีผลทำให้ผนังเซลล์เสียหาย เกิดการรั่วไหลของส่วนประกอบภายในเซลล์ อีกทั้งสามารถออกซิไดซ์โปรตีน เอนไซม์ และกรดนิวคลีอิก มีผลทำให้เซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ตาย (Aguirre และคณะ, 2006) และจากการทดสอบเบื้องต้นพบว่า $H_2O_2$ ที่ความเข้มข้น 0.5 % นาน 20 นาที ไม่ส่งผลเสียต่อลักษณะปรากฏของมังคุด (สีเปลือก สีกลีบเลี้ยง และสีเนื้อ) ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะใช้ $H_2O_2$ เพื่อการควบคุมโรคผลเน่าของมังคุดในการศึกษาต่อไป

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว และ UGSAS, Gifu University, Japan ที่อนุเคราะห์เครื่องมือและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ในการทำงานวิจัยครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

อาณัติ ดีพัฒนา, 2562, การพัฒนานวัตกรรมโถปัสสาวะชายปลอดเชื้อโรค ปราศจากกลิ่น ไม่ทำให้เกิดการกระจายคราบปัสสาวะและเกิดภาระในบ่อบำบัดน้ำเสียสำหรับโรงงานอาหาร สถานพยาบาลและสถานพักฟื้นผู้สูงอายุ, รายงานโครงการวิจัยประจาปี 2562, คณะวิศวกรรมศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา, หน้า 74.

ศศิลภัส เพชรชู เฉลิมชัย ชัยกิตติภรณ์ วิชัย พฤกษ์ธาราธิกุล พิพัฒน์ ลักษมีจรัลกุล วชิระ สิงหะคเชนทร์ และ ธีระ กลลดาเกรียงไกรคเชนทร์, 2557, การศึกษาประสิทธิผลไอไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์หลังจากการอบฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในอากาศของห้องผ่าตัด, การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา ครั้งที่ 12, มหาวิทยาลัยขอนแก่น, หน้า 1399-1470.

Aguirre, J., Hansberg, W. and Navarro, R., 2006, Fungal Responses to Reactive Oxygen Species, Medical Mycology, 44(1): 101–107.

Bunsiri, A., Ketsa, S. and Paull, R.E., 2003, Phenolic Metabolism and Lignin Synthesis in Damaged Pericarp of Mangosteen Fruit After Impact, Postharvest Biology and Technology, 29(1): 61-71.

Fallik, E., Aharoni, Y., Grinberg, S., Copel, A. and Klein, J.D., 1994, Postharvest Hydrogen Peroxide Treatment Inhibits Decay in Eggplant and Sweet Red Pepper, Crop Protection, 13(6): 451–454.

Forney, C.F., Rij, R.E., Denis, R. and Smilaniek, J.L., 1991, Vapor Phase Hydrogen Peroxide Inhibits Postharvest Decay of Table Grapes, HortScience 26: 1512-1514.

Linley, E., Denyer, S.P., McDonnell, G., Simons, C. and Maillard, J.Y., 2012, Use of Hydrogen Peroxide as a Biocide: New Consideration of Its Mechanisms of Biocidal Action, Antimicrobe Chemother, 67: 1589–1596.

Sapers, G.M. and Simmons, G.F., 1998, Hydrogen Peroxide Disinfection of Minimally Processed Fruits and Vegetables, Food Science and Technology, 52(2): 48–52.

# การลดคาร์บอนไดออกไซด์ในแก็สชีวภาพ โดยใช้ Sodalime แบบหนึ่งขั้นตอน และ 2 ขั้นตอน
# The Reduction of $CO_2$ from Biogas Using Sodalime by One-step and Two-step

วารุณี ลิ่มมั่น[1] รัตนชัย ไพรินทร์[2]
Limmun W.[1] and Pairintra R.[2]


## Abstract

Biogas can be used as a fuel in an internal combustion engine if $CH_4$ yield>85%. The objective of this research was to increase $CH_4$ yield in cow dung fermented biogas using sodalime to absorb $CO_2$. The main parameters were the weight of sodalime (2 or 4 g) and $CO_2$ reduction conditions (one or two steps). The results showed that the composition of $CH_4$ from cow dung was 65%. A glass tube containing 2 gram of sodalime increased $CH_4$ up to 86.3% and 80.9% while at 4 gram of sodalime increased $CH_4$ up to 90.9% and 80.1% for one step and two steps respectively. $CO_2$ in the biogas reacted with sodalime resulting in Calcium Carbonate, water and heat. The more content of sodalime was better rediced in $CO_2$. The pressure gradient in the two-step system was higher than one step, therefore the reduction of $CO_2$ was lower. Conseqyently, it can conclude that $CH_4$ yield from one-step reduction is high enough as a fuel for internal combustion engine.


**Keywords**: Cow Dung, Methane Yield, Sodalime, Internal Combustion Engine


## บทคัดย่อ

ปริมาณ $CH_4$ ในแก็สชีวภาพหากมี> 85% จะสามารถนำไปใช้สำหรับเครื่องยนต์สันดาปภายในได้ วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือการเพิ่ม $CH_4$ ในแก๊สชีวภาพจากมูลโคหมักโดยใช้โซดาไลม์ดูดซับ $CO_2$ Parameter ที่สำคัญคือ น้ำหนักโซดาไลม์ ซึ่งใช้ที่ 2, 4 กรัมบรรจุในหลอดแก้วเพื่อลด $CO_2$ แบบขั้นตอนเดียว และสองขั้นตอน ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่ามูลโค สามารถผลิต Biogas ที่มี $CH_4$ 65% เมื่อใช้ โซดาไลม์ ที่น้ำหนัก 2 กรัม แบบหนึ่งและสองขั้นตอนได้ $CH_4$ ที่ 86.3% และ 80.9% ส่วน โซดาไลม์ ที่น้ำหนัก 4 กรัมแบบหนึ่งและสองขั้นตอนได้ $CH_4$ ที่ 90.9% และ 80.1% $CO_2$ ใน Biogas ซึ่งมีฤทธ์เป็นกรดจะทำปฏิกิริยากับโซดาไลม์ ซึ่งเป็นด่างได้ Calcium Carbonate น้ำ และความร้อน การเพิ่มปริมาณโซดาไลม์สามารถลด $CO_2$ ได้มากขึ้น แต่ความแตกต่างระหว่างความดันตกคร่อมต่อความยาวแบบสองขั้นตอนมีมากกว่าหนึ่งขั้นตอน จึงทำให้การลด $CO_2$ ได้น้อยกว่า อย่างไรก็ตามปริมาณ $CH_4$ ที่ได้จากการลดแบบขั้นตอนเดียวก็ที่สูงพอที่จะนำไปใช้เป็นเชื้อเพลิงในรถยนต์ได้


**คำสำคัญ**: มูลโค ปริมาณมีเทน โซดาไลม์ เครื่องยนต์สันดาปภายใน

## บทนำ

ชีวมวลเช่นเศษมันสำปะหลัง หรือชานอ้อยสามารถนำไปเปลี่ยนแปลงเป็นพลังงานได้โดยใช้กระบวนการทาง Thermal Conversion เช่นการเผาไหม้โดยตรง การนำไปเป็นเปลี่ยนเป็น Producer Gas โดยใช้กระวนการ Gasification (Partial Combustion) หรือเปลี่ยนเป็นถ่านโดยใช้กระบวนการ Pyrolysis หรือการเปลี่ยนแปลงแบบ Biological Conversion สามารถนำไปเป็นวัตถุดิบที่ใช้ในหมักเพื่อผลิตเอทานอล หรือนำไปหมักแบบไร้อากาศเพื่อให้เกิดเป็น Biogas เชื้อเพลิงที่อยู่ในรูปของแก็สจะเป็น เชื้อเพลิงที่มีประสิทธิภาพในการเผาไหม้ดีที่สุด เกิดมลพิษจากการเผาไหม้น้อยที่สุดเมื่อเทียบกับเชื้อเพลิงที่เป็นของเหลว (เช่นไบโอดีเซล) และของแข็ง (เช่นการเผาเศษชานอ้อย) Biogas เกิดจากการหมักแบบไร้

[1] ภาควิชาวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ 17/1 หมู่ 6 ต.ชุมโค อ.ปะทิว จ. ชุมพร 86160
[1] Department of Engineering, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang Prince of Chumphon Campus, 17/1 Moo6 Chumko Amphor Pathio Chumporn 86160
[2] คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (บางขุนเทียน) 49 ซ. เทียนทะเล 25 ถ. บางขุนเทียน-ชายทะเล แขวงท่าข้าม เขต บางขุนเทียน กรุงเทพ 10150
[2] School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi, 49 Soi Thian Thale 25, Bang Khun Thian Chai Thale Road, Tha Kham, Bang Khun Thian Bangkok 10150

อากาศ (Anaerobic digestion) จุลินทรีย์และสารอินทรีย์ที่หมักร่วมกันที่อุณหภูมิบรรยากาศปรกติจะทำให้เกิด $CH_4$, $CO_2$ และตะกอน โดยทั่วไป Biogas จะประกอบไปด้วย $CH_4$ 60% และ $CO_2$ 40% หาก $CH_4$< 55% Biogas จะมีค่าความร้อน (Heating Value) ต่ำ ไม่สามารถจุดติดไฟได้อย่างต่อเนื่อง เพื่อเพิ่มค่าความร้อนของ Biogas ให้สูงขึ้นจึงจำเป็นต้องขจัด $CO_2$ ที่มีอยู่ใน Biogas ออก ซึ่งมีวิธีการอยู่หลายอย่างเช่นการใช้ Membrane การลดอุณหภูมิของ Biogas ลงเพื่อให้ $CO_2$ มีความหนาแน่นสูงขึ้นและแยกออกจาก $CH_4$ หรือการใช้ด่างที่อยู่ในรูปของสารละลายเช่น KOH (aq), NaOH (aq) เพื่อดูดซับ $CO_2$ โซดาไลม์เป็นสารเคมีที่ประกอบไปด้วย CaO (ประมาณ 75%), $H_2O$ (ประมาณ 20%), NaOH (ประมาณ 3%) KOH (ประมาณ 1%) ถูกใช้เป็นสารเคมีที่มีลักษณะเป็นเมล็ดสีขาวใช้ในการดูดซับ $CO_2$ และความชื้นที่มีอยู่ในลมหายใจของผู้ที่เข้ารับการผ่าตัด และยังใช้ในการดูดซับ $CO_2$ จากลมหายใจของลูกเรือดำน้ำ ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือการเพิ่มความเข้มข้นของ $CH_4$ ให้สูงขึ้น โดยใช้โซดาไลม์ดูดซับ $CO_2$ หลังจากนั้นจะเปรียบเทียบกับวิธีการดูดซับ $CO_2$ กับกระบวนการอื่นๆ

## วิธีการทดลอง

วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลองคือมูลโค เพราะเป็นวัตถุดิบที่มีค่า C/N Ratio อยู่ที่ 24 เป็นวัตถุดิบที่ดีที่สุดในการหมัก โดย C/N Ratio ที่เหมาะสมคือช่วง 20-30 เพราะเกิด Biogas ได้เร็วและง่ายกว่าวัตถุดิบชนิดอื่นๆ เช่นมูลสุกร (18) มูลช้าง (41) หรือฟางข้าว (70) การหมักเป็นแบบ Batch ในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยจะผสมมูลโคและน้ำในอัตรา 1:1 กล่าวคือมูลโค 2 กก. น้ำ 2 กก. ปริมาตรในถังหมักประมาณ 4.5 ลิตร หมักในสภาวะไร้อากาศ ที่อุณหภูมิห้องปรกติ ก่อนทำการทดลอง Check การไหลของแก็สทั้งระบบก่อนเพื่อป้องกันการอุกตันของเศษมูลโคในถังหมักที่อาจเข้าไปในสายส่งแก็ส ทำให้ถังหมักเกิดการระเบิดเพราะแรงดันภายในถังหมักที่สูงเกินไป ถังหมักจะมีการปรับ pH เริ่มต้นให้เป็น 10 โดยใช้ด่าง NaOH หรือ KOH หรือใช้ CaO ก็ได้ แต่ในการทดลองนี้จะใช้ NaOH เปรียบเทียบกับถังที่ไม่มีการปรับ pH การปรับ pH ทำเพื่อเป็นการป้องกันการหมักล้มเหลวเพราะหากค่า pH ของถังหมักตกลงต่ำกว่า 6 ภายในถังหมักจะเกิด $CO_2$ เป็นแก็สหลัก ไม่สามารถนำแก็สที่ได้ไปเป็นเชื้อเพลิงได้ (จุดไฟไม่ติด) การเก็บ Biogas โดยใช้หลักการแทนที่น้ำในถังเก็บ Biogas ขนาด 0.75 ลิตร ทำการหมักเป็นระยะเวลา 90 วัน เมื่อปริมาณ CH4> 60% หรือ Biogas สามารถจุดติดไฟแล้วจะทำการลด $CO_2$ โดยใช้โซดาไลม์จำนวน 2 และ 4 กรัม บรรจุลงในหลอดแก้วให้ Biogas ไหลผ่านเพื่อดูดซับ $CO_2$ แบบหนึ่งขั้นตอน และสองขั้นตอน ทำการตรวจวัดค่า pH ของถังหมักตลอดการหมัก, ปริมาณ $CH_4$ และ $CO_2$ ด้วยเครื่อง Gas Chromatography (GC) และวัดปริมาณของ Biogas ที่เกิดขึ้นโดยวิธีการแทนที่น้ำ แล้วนำไปเปรียบเทียบกับการลด $CO_2$ ด้วยวิธีการแบบอื่นๆ เช่นการลดโดยการใช้ KOH (aq), การใช้ CaO, และ Activated Carbon

## ผลและการวิเคราะห์ผล

ถังหมักที่ไม่มีการปรับ pH มีค่า pH เริ่มต้นที่ 7.45 ภายหลังจากนั้น 15 วัน ค่า pH ของทั้งสองถังหมักจะเข้าสู่ภาวะคงที่ ประมาณ 7.55 สำหรับที่มีการปรับ pH เริ่มต้นเป็น 10 และ 7.8 สำหรับถังที่ไม่มีการปรับ ถังหมักที่มีการปรับ pH เริ่มต้นจะให้ปริมาณ Biogas ได้เร็วกว่าและมากกว่าใช้ช่วงแรกเพราะระบบเข้าสู่สภาวะสมดุลย์ได้ดีกว่า การปรับ pH ช่วยเพิ่มการเข้าถึงของพื้นผิวของจุลินทรีย์ อีกทั้งสารละลายด่างจะทำให้ปริมาณของเซลลูโรสเพิ่มขึ้น ในขณะที่ปริมาณเฮมิเซลลูโดสและลิกนิน ลดน้อยลง ทำให้จุลินทรีย์สามารถย่อยสลายและผลิต Biogas ได้ดียิ่งขึ้น Biogas ในถังที่มีการปรับ pH สามารถจุดติดไฟแบบไม่ต่อเนื่องได้ตั้งแต่วันที่ 10 เป็นต้นไป โดยในช่วงแรกเปลวไฟจะมีสีส้ม ปริมาณ $CH_4$ จะค่อยๆเพิ่มขึ้น ภายหลังจากการหมักผ่านไปได้ 40 วัน ปริมาณ $CH_4$ จะสูงสุดอยู่ที่ 72.14% Biogas สามารถจุดติดไฟได้ต่อเนื่องเป็นอย่างดี เปลวไฟมีสีน้ำเงิน แสดงให้เห็นว่ามีค่าความร้อนสูง (ที่ $CH_4$=60% ค่า Heating Value ของ Biogas จะมีค่าประมาณ 21 $MJ/m^3$) ค่า pH ต่ำสุดคือ 6.87 (ค่า pH ไม่ควรต่ำกว่า 6) โดยมีปริมาณ Biogas สูงสุดอยู่ที่ 500 $cm^3$/วัน ปริมาตรต่ำสุดอยู่ที่ 381 $cm^3$/วัน และในถังที่ไม่มีการปรับค่า pH ช่วงแรกการจุดติดไฟจะไม่เป็นไปอย่างต่อเนื่องเปลวไฟมีสีส้ม ปริมาณ biogas สูงสุดอยู่ที่ 496 $cm^3$/วัน ต่ำสุดอยู่ที่ 429 $cm^3$/วัน แต่ค่าเฉลี่ยของปริมาณ Biogas ที่เกิดขึ้นจากถังที่มีการปรับค่า pH จะน้อยกว่าถังที่ไม่มีการปรับ โดยถังที่ไม่มีการปรับ pH มีค่า pH ต่ำสุดที่ 6.67 ได้ปริมาณ $CH_4$ สูงสุดที่ 65.72 % แต่สามารถผลิต Biogas ได้นานกว่า เพราะจุลินทรีย์สามารถค่อยๆย่อยสลายสารอินทรีย์ได้อย่างช้าๆ โดยอุณหภูมิเฉลี่ยในการทดลองทั้งหมดอยู่ที่ 33.5 C จากนั้นจึงนำ biogas จากทั้งหมักที่มีการปรับค่า pH ไปทำการลด $CO_2$ ในขั้นตอนต่อไป ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการลด $CO_2$ แบบขั้นตอนเดียวโดยใช้โซดาไลม์ที่ 2, 4 กรัม สามารถทำให้สัดส่วนของ $CH_4$ เพิ่มเป็น 86.28%, 90.68 % หรือเพิ่มขึ้นราว 14, 18% ตามลำดับ $CO_2$ ซึ่งเป็นกรดคาร์บอนิก (Carbonic Acid) จะทำปฏิกิริยากับโซดาไลม์ซึ่งเป็นด่าง เกิดเป็น Calcium Carbonate และน้ำดังแสดงในสมการที่ (1) และ (2)

Sodalime + Biogas → $Na_2CO_3 + H_2O + CH_4$ + Heat (Fast)....................(1)
Sodalime + Biogas → $CaCO_3 + 2NaOH + CH_4$ (Slow)............................(2)

การลด $CO_2$ แบบสองขั้นตอนทำโดยนำหลอดแก้วที่บรรจุโซดาไลม์มาต่อแบบอนุกรมเข้ากันเหมือนกันทั้ง 2 และ 4 กรัม แต่ผลการทดลองกลับทำให้ลดปริมาณ $CO_2$ ได้น้อยลง กล่าวคือได้ปริมาณ $CH_4$ ที่ 80.88% ปริมาณ $CH_4$ เพิ่มขึ้นราว 8% เมื่อใช้โซดาไลม์ 2 กรัม และได้ $CH_4$ ที่ 79.42% $CH_4$ เพิ่มขึ้นราว 7% สีของโซดาไลม์จะเป็นสีขาว ภายหลังการดูดซับ $CO_2$ แล้วจะเปลี่ยนเป็นสีม่วง Table 1 แสดงการลดปริมาณ CO2 โดยโซดาไลม์ ซึ่งเป็นกระบวนการแบบ Heterogeneous ระหว่าง Biogas ซึ่งอยู่ในสถานะ Gas Phase และโซดาไลม์ซึ่งอยู่ในสถานะที่เป็น Solid Phase ส่วนสาเหตุหลักที่ทำให้ลด $CO_2$ ได้น้อยลงเนื่องมาจาก ความดันในถังหมักคงที่ เส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดแก้วที่ใช้คงที่ แต่ความยาวของหลอดแก้วในการลด $CO_2$ แบบ 2 ขั้นตอนสูงกว่า จึงทำให้การสูญเสียความดันตกคร่อมต่อความยาว (Pressure Gradient) ของการลดแบบ 2 ขั้นตอนมีมากกว่าแบบขั้นตอนเดียว ดังนั้นหากต้องการการลดปริมาณ $CO_2$ ให้ได้ดียิ่งขึ้นจำเป็นที่จะต้องเพิ่มความดันในถังหมักให้สูงขึ้นอย่างน้อยควรเป็น 2 เท่าของถังที่ใช้หมักและดูดซับ $CO_2$ แบบขั้นตอนเดียว หรือเปลี่ยนขนาดหลอดแก้วที่บรรจุโซดาไลม์ให้มีเส้นผ่าศูนย์กลางที่ใหญ่ขึ้นเมื่อใช้ปริมาณโซดาไลม์ในการดูดซับที่มากขึ้น แต่หากพิจารณาทางด้านพลังงานแล้ว ปริมาณ $CH_4$ จากการลดแบบขั้นตอนเดียวก็สูงพอที่จะนำไปใช้เป็นมีเทนอัด Compressed bio-methane เพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิงในรถยนต์ได้

Table 1 The Composition of $CH_4$ after $CO_2$ reducing using sodalime by one and two step

| Sodalime (gram) | $CH_4$ (%) | |
|---|---|---|
| | $CO_2$ Reducing 1 step | $CO_2$ Reducing 2 steps |
| 2 | 86.28 (14% up) | 79.45 (7% up) |
| 4 | 90.86 (18% up) | 80.88 (8% up) |

ธนัชพร ธานี (2559), และศิวรินทร์ ธิวรรณ์ (2561) ได้ใช้ CaO และ Activated Carbon ละลายในน้ำ และได้ใช้ KOH (aq) ซึ่งอยู่ในรูปของสารละลายลด $CO_2$ กระบวนการลด $CO_2$ เป็นแบบ Heterogeneous เช่นกันแต่สารที่อยู่ใน Gas Phase (Biogas) และ Liquid Phase (KOH) วัตถุดิบที่ใช้ในการหมักเป็นมูลวัว มีระยะเวลาในการหมักเท่าๆกัน การเปรียบเทียบการลด $CO_2$ แสดงเปรียบเทียบดังใน Table 2

Table 2 Comparison of $CH_{4}$ content after $CO_2$ reduction

| $CO_2$ Reduction Method | $CH_4$ Before Reduction $CO_2$ (%) | $CH_4$ After Reduction $CO_2$ (%) | Increase (%) |
|---|---|---|---|
| Sodalime (Gas + Solid Phase) | 72 | 90 | 18 |
| KOH (Gas + Liquid Phase) | 64 | 93 | 29 |
| CaO (Gas + Solid Phase) | 64 | 86 | 22 |
| Activated Carbon (Gas + Solid Phase) | 64 | 85 | 21 |

ในการนำไปประยุกต์ใช้สำหรับเกษตรนั้น สามารถใช้ขี้เถ้าจากฟางข้าว, แกลบ หรือขี้เถ้าจากการเผาชีวมวลทั่วไปแทนโซดาไลม์ในการลด $CO_2$ ได้ การนำไปประยุกต์ใช้งานทั้งระบบผลิต Biogas แบบนี้คือใช้การหมักเป็นแบบ Batch ซึ่งสามารถขยาย Scale ไปเป็นถังหมัก Biogas 200 ลิตร หรือปรับเป็นแบบ Semi-batch โดยเพิ่มจำนวนถังหมักให้มากขึ้น ใช้มูลโคที่ถ่ายออกจากคอกเป็นวัตถุดิบ เดินท่อส่ง Biogas ใต้ดินเพื่อให้ดินลดอุณหภูมิของ Biogas ให้ต่ำลงโดยเฉพาะเวลากลางคืน ซึ่งช่วยเพิ่มความหนาแน่นของ Biogas ให้มากขึ้น ปล่อยให้ Biogas ไหลผ่านขี้เถ้าที่ได้จากการเผาชีวมวล ซึ่งจะช่วยดูดซับ $CO_2$ และความชื้นที่มีอยู่ใน Biogas และเมื่อเดินท่อตรงในแนวดิ่งจากใต้ดินขึ้นมา $CH_4$ ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลที่ 16 และ $CO_2$ ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลที่ 44 จะแยกกันเนื่องจาก $CH_4$ ที่อยู่ด้านบนของท่อเบากว่า $CO_2$ ประมาณ 2.75 เท่า CH4 สามารถใช้แบบ Direct use คือใช้ในการหุงต้ม ใช้เป็นเชื้อเพลิงในการกกลูกเป็ด, ไก่ หรือลูกหมูที่เกิดใหม่ ใช้ในการอบแห้งแผ่น

ยางพารา และใช้แบบ In-direct use คือใช้ในเครื่องยนต์สันดาปภายใน หรือใช้เป็นเชื้อเพลิงในการขับ Generator เพื่อผลิตกระแสไฟฟ้า $CO_2$ อาจจะถูกนำไปใช้ในโรงเรือนปลูกพืชในช่วงเวลากลางวันเพราะพืชต้องการ $CO_2$ ในการสังเคราะห์แสง เมื่อไม่มี Biogas เกิดขึ้นอีกต่อไปแล้วเศษที่เหลือจากการหมักสามารถนำไปใช้เป็นหัวเชื้อสำหรับกระบวนการหมักในครั้งต่อไปได้ หรือนำไปผสมน้ำในอัตราส่วน 1:10 ใช้เป็น Bio-fertilizer ลดต้นไม้พืชสวนครัว โดยมีข้อดีคือไม่มีกลิ่น มีค่า pH เป็นกลางๆ เหมาะสมสำหรับพืช ไม่มีเศษวัชพืชหลงเหลืออยู่ ทำให้เป็นระบบผลิตที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม หรือ Zero Waste ดังแสดงแนวคิดใน Figure 1

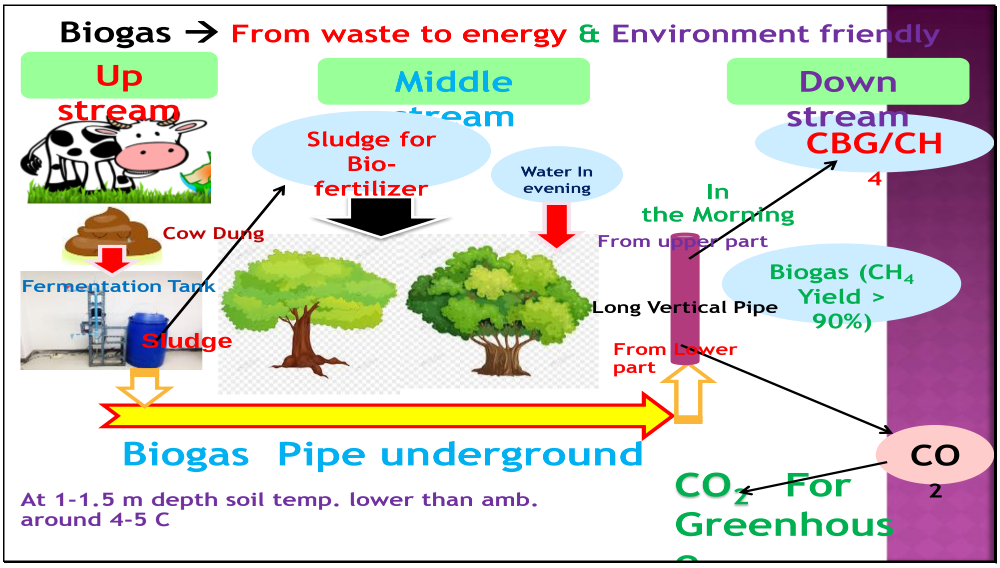



Figure 1 The concept of biogas production as a fuel, zero waste

## สรุปผลการทดลอง

การใช้โซดาไลม์ลด $CO_2$ แบบขั้นตอนเดียว สามารถเพิ่มปริมาณสัดส่วนของ $CH_4$ ใน Biogas จาก 72.14% ให้เป็น 91.20% หรือเพิ่มขึ้นราว 18% สำหรับเกษตรกรโดยทั่วไปสามารถใช้ขี้เถ้าจากชีวมวล เช่นแกลบ ฟางข้าวดูดซับ $CO_2$ แทนโซดาไลม์ได้ Biogas ที่มี $CH_4$> 90% สามารถนำไปใช้อัดเป็น Compressed Bio-methane เพื่อใช้ในยานพาหนะต่อไปได้

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถาบันพัฒนาและฝึกอบรมโรงงานต้นแบบ วิทยาเขตบางขุนเทียนที่เอื้อเฟื้อสถานที่และเครื่อง GC ในการตรวจวัด Biogas และคุณศิริมาส ขันธวงศ์

## เอกสารอ้างอิง

ธนัชพร ธานี รัตนชัย ไพรินทร์, 2559, การลด $CO_2$ ใน Biogas ที่ได้จากการหมักมูลนกกระทา โดยใช้ KOH (aq) และ NaOH (aq), การประชุมวิชาการและเสนอผลงาน CRDC 10.

ชัยยุทธ ไชยงาม รัตนชัย ไพรินทร์ และณัฏฐ์ กาศยปนันทน์, 2561, การศึกษาผลการผลิตแก๊สชีวภาพจากการหมักผสมระหว่างมูลโคหมักร่วมกับเปลือกหัวหอม โดยใช้ถังหมักกลิ้งในแนวตั้ง, การประชุมสัมมนาวิชาการ รูปแบบพลังงานทดแทนสู่ชุมชนแห่งประเทศไทยครั้งที่ 11 มหาวิทยาลัยราชภัฏชัยภูมิ, หน้าที่ 200-207

ศิวรินทร์ ธิวรรณ์, รัตนชัย ไพรินทร์ และณัฏฐ์ กาศยปนันทน์, 2561, การปรับปรุงคุณภาพแก๊สชีวภาพจากมูลโคโดยการลดแก๊ส $CO_2$" การประชุมวิชาการเครือข่ายพลังงานแห่งประเทศไทยครั้งที่ 14 หน้าที่ 676-682.

ธวัลรัตน์ ผโลทัยสิทธิ์, 2562, การแก๊สชีวภาพจากมูลแพะในสภาวะเมโซฟิลิก, วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

# การผลิตไบโอดีเซลในประเทศไทย
# Biodiesel Production in Thailand

**วารุณี ลิ่มมั่น[1] รัตนชัย ไพรินทร์[2]**
Limmun W.[1] and Pairintra R.[2]

## Abstract

Due to the low content of saturated fatty acid in plant oils compared to animal tallows, they are usually used as raw materials for biodiesel production, but it takes time for extracting. The waste fish oil can give an oil yield upto 85%. For all of fresh biomass, it can be used as a raw material, because their free fatty acid (FFA) <1% which can produce biodiesel by transesterification process. Methanol is the most common alcohol, at the molar ratio of 1:9, at 50-55 C while the reaction time is 45-60 min. The suitable catalyst for the homogeneous process is NaOH, while CaO is suitable for the heterogeneous process. Using microwave, biodiesel can be produced within 60 sec. An excessed alcohol in glycerin can re-use by distillation which makes the quality of glycerin purer. The heating value of biodiesel is 10-15% lower than diesel, emission gas is also lower, except NOx is higher.
**Keywords**: Biodiesel, Free fatty acid, Transesterification, Diesel

## บทคัดย่อ

การผลิตไบโอดีเซลน้ำมันพืชมักจะถูกใช้เป็นวัตถุดิบเพราะมีกรดไขมันอิ่มตัวที่น้อยกว่าไขสัตว์ แต่การสกัดจะใช้เวลานาน ไขมันปลาที่เหลือทิ้งสามารถสกัดน้ำมันโดยใช้เวลาที่สั้น ได้ yield สูงถึง 85% น้ำมันที่ได้จากพืชและสัตว์ทุกชนิดที่ใหม่จะมีค่ากรดไขมันอิสระ <1% ซึ่งสามารถใช้ปฏิกิริยา Transesterification ในการผลิตไบโอดีเซลได้ แอลกอฮอล์ที่เหมาะสมคือเมทานอล แม้นจะเป็นพิษ แต่จะทำปฏิกิริยาได้เร็ว ส่วน Molar ratio ที่เหมาะอยู่ที่ 1:9 ตัวเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการแบบ Homogeneous ที่เหมาะสมคือ NaOH ส่วนในกระบวนการ Heterogeneous คือ CaO อุณหภูมิที่เหมาะสมคือที่ 50-55 C โดยใช้เวลาราว 45-60 นาที การใช้ความร้อนจากไมโครเวฟ สามารถผลิตไบโอดีเซลได้ภายในเวลา 60 วินาที แอลกอฮอล์ส่วนเกินที่อยู่ในกลีเซอรีนสามารถกลั่นและนำกลับมาใช้ใหม่ได้ ทำให้กลีเซลรีนมีความบริสุทธิ์ขึ้น ตัวเร่งปฏิกิริยาแบบ Heterogeneous สามารถนำกลับมาใช้ซ้ำได้ ค่าความร้อนของไบโอดีเซลจะต่ำกว่าน้ำมันดีเซล 10-15% Emission gas ก็ต่ำกว่า ยกเว้น $NO_x$ จะสูงกว่า
**คำสำคัญ**: ไบโอดีเซล กรดไขมันอิสระ ปฏิกิริยา Transesterification น้ำมันดีเซล

## คำนำ

อุปสรรคสำคัญในการนำน้ำมันพืชหรือน้ำมันสัตว์ที่ไม่เป็นไข (wax) ที่อุณหภูมิห้องมาใช้เป็นเชื้อเพลิงคือความหนืดน้ำมันพืชโดยทั่วไปเช่นน้ำมันปาล์มจะมีความหนืดประมาณ 39.6 $mm^2/s$ เมื่อเทียบกับน้ำมันดีเซล (2-8 $mm^2/s$) แล้วคิดเป็น 10-15 เท่า หากต้องการนำไปใช้โดยตรงในเครื่องยนต์ดีเซลจะต้องนำน้ำมันพืชเหล่านั้นไปให้ความร้อนเพื่อลดความหนืดลง ดังนั้นการนำน้ำมันพืชหรือนำมันสัตว์เหล่าไปผลิตเป็นไบโอดีเซลจึงเป็นวิธีการที่เหมาะสมในการนำไปใช้เป็นเชื้อเพลิง โดยไม่จำเป็นต้องปรับแต่งเครื่องยนต์แต่อย่างใด ไบโอดีเซลจึงเป็นพลังงานทางเลือกที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม กระบวนการผลิตไบโอดีเซลมีหลายวิธีเช่น การผสมโดยตรง (Direct blending), Micro-emulsions, การย่อยสลายด้วยความร้อน (Pyrolysis), การใช้เอ็นไซม์, การใช้กระบวนการ Transesterification, กระบวนการ Esterification วัตถุประสงค์ของบทความนี้คือการ

[1] ภาควิชาวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ 17/1 หมู่ 6 ต.ชุมโค อ.ปะทิว จ. ชุมพร 86160
[1] Department of Engineering, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang Prince of Chumphon Campus, 17/1 Moo6 Chumko Amphor Pathio Chumporn 86160
[2] คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (บางขุนเทียน) 49 ซ. เทียนทะเล 25 ถ. บางขุนเทียน-ชายทะเล แขวงท่าข้าม เขตบางขุนเทียน กรุงเทพ 10150
[2] School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi, 49 Soi Thian Thale 25, Bang Khun Thian Chai Thale Road, Tha Kham, Bang Khun Thian Bangkok 10150

นำเสนอการเลือกใช้ วัตถุดิบ, กระบวนการผลิตที่ใช้เพื่อให้ได้ไบโอดีเซลที่มีค่า Yield สูงสุด ตลอดจนการนำ by product โดยเฉพาะกลีเซอรีนไปใช้ประโยชน์

**<u>กระบวนการผลิตไบโอดีเซล:</u>** Transesterification เป็นกระบวนการที่นิยมใช้มากที่สุดเพราะปลอดภัย และรวดเร็วกว่าการใช้กระบวนการแบบ Esterification การผลิตไบโอดีเซลโดยกระบวนการ Transesterification แสดงดังสมการที่ (1) ข้อเสียของกระบวนการ Transesterification คือวัตถุดิบจำเป็นที่จะต้องมีค่า Acid Value หรือค่า Free Fatty Acid (FFA) ต่ำกว่า 1% (w/w) หากมีค่ามากกว่านั้นจะทำให้เกิดเป็นสบู่ขัดขวางการทำปฏิกิริยา ทำให้ได้ biodiesel Yield ต่ำลง อีกทั้งวัตถุดิบจะต้องมี water contain ต่ำกว่า 0.5% การขจัดน้ำโดยการให้ความร้อนสามารถทำได้ โดยให้ความความร้อนที่ไม่สูงเกินไป และใช้เวลาไม่นานเกินไป หากใช้ความร้อนสูงและเวลานานจะทำให้เกิดปฏิกิริยา Oxidation ขึ้น ทำให้ค่า FFA สูงขึ้น ได้หรืออาจจะใช้ Sodium sulfate anhydrous ดูดน้ำออกก็ได้ กระบวนการอิมัลซิฟิเคชั่น (Emulsification) ควรใช้ toluene ผสมกับน้ำมันก่อนหลังจากนั้นจึงผสมตัว Emulsifier เช่น Acetonitrile ลงไป การให้ความร้อนที่ 40 C และการกวนผสมที่ 300 rpm จะทำให้ได้ไบโอดีเซลที่มีคุณภาพดีขึ้น การใช้เอนไซม์ไลเปซ และกระบวนการ Supercritical Alcohol Transesterification เป็นกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ไม่มีของเสียออกจากกระบวนการก็จริง แต่มีต้นทุนในการผลิตสูงมาก โดย Critical Point ของ Methanol อยู่ที่ 240°C, ความดัน 7.95 MPa และของ Ethanol อยู่ที่ 243°C, ที่ความดดัน 6.38 MPa สภาวะในการผลิตโดยทั่วไปจะใช้อุณหภูมิที่ 295-350°C Pressure 10-50 MPa

1 Mole (Triglyceride) + 3 Mole of Alcohol $\leftrightarrow$ 3 Mole of (Mono Alkyl) Esters + 1 Mole of Glycerin .........(1)

**<u>วัตถุดิบ:</u>** การสกัดน้ำมันจากวัตถุดิบมีหลายวิธี สำหรับพืชสามารถสกัดโดยการหีบ ซึ่งปริมาณน้ำมันจะได้น้อยกว่าการสกัดด้วยกระบวนการทางเคมีราว 10-15% แต่มีข้อดีกว่าคือสามารถทำได้ง่ายและรวดเร็วกว่า การนำเมล็ดพืชไปให้ความร้อนที่ 70-80 C ก่อนการหีบประมาณ 20-30 นาทีจะช่วยทำให้ได้ปริมาณน้ำมันพืชเพิ่มมากขึ้น ในกระบวนการทางเคมี Solvent extraction ส่วนมากจะใช้ Hexane, Petroleum Ether ในการสกัด แม้นว่าจะได้ปริมาณน้ำมันที่มากขึ้นแต่ใช้เวลานานในการสกัดและต้องทำในห้องปฏิบัติการ Table 1 แสดงปริมาณน้ำมันที่มีอยู่ในวัตถุดิบแต่ละชนิด

**Table 1 Oil Content in Each Raw Materials**

| Raw Materials | Oil Content % (w/w) | Raw Materials | Oil Content % (w/w) |
|---|---|---|---|
| Waste sea bass Oil | 85 | Para Rubber seed | 40-50 |
| Goat Tallow | 82 | Palm Oil | 42 |
| Chicken, Cow, Pig Tallow | 70-72 | Jatropha seeds | 35-40 |
| Crocodile Oil | 62 | Cotton seed | 17-25 |

การสกัดโดยการใช้ความร้อน หรือการเจียวเป็นกรรมวิธีที่ง่ายเหมาะสมสำหรับไขสัตว์ การหั่นไขให้เป็นชิ้นเล็กๆจะทำให้ได้ปริมาณน้ำมันเพิ่มมากขึ้นช่วยลดระยะเวลาและพลังงานที่ใช้ลง ข้อเสียของไขสัตว์คือเมื่อน้ำมันเย็นตัวลงจะกลายเป็นไข (Wax) ที่อุณหภูมิห้องเนื่องจากไขสัตว์ส่วนมากมีปริมาณกรดไขมันที่อิ่มตัว (Saturated fatty acid) มากกว่ากรดไขมันไม่อิ่มตัว ยกเว้นเศษไขมันปลา น้ำมันจากเมล็ดพืชอื่นๆ เช่นน้ำมันจากเมล็ดเงาะก็เป็นไขที่อุณหภูมิห้อง สำหรับวัตถุดิบที่เป็นไขจำเป็นต้องใช้ Co-solvent เช่น Hexane หรือ Toluene ในอัตราส่วน 1:1 (V/V) เข้าช่วยก่อนนำไปผลิตเป็นไบโอดีเซล สำหรับ CO-solvent อื่นๆยกตัวอย่างเช่น Dichloromethane, Ethyl Ether, Tetrahydrofuran, Diethyl ether เป็นต้น

**<u>ปริมาณกรดไขมันอิสระ (Free fatty acid):</u>** กรดไขมันอิสระจากวัตถุดิบที่สดใหม่ไม่ว่าจะเป็นน้ำมันที่สกัดมาจากไขสัตว์ หรือน้ำมันจากพืช จะมีค่า FFA <1% (w/w) ซึ่งสามารถใช้กระบวนการ Tranesterification ในผลิตได้เลยแต่หากทิ้งไว้นานจะเกิดปฏิกิริยา Oxidation ทำให้ค่า FFA เพิ่มขึ้น โดยเฉพาะเมล็ดพืชเมื่อหลุดร่วงจากต้นเอนไซม์จะเริ่มทำงานทำให้เกิดการเน่าเสีย นอกจากนั้นแสงยังสามารถทำให้ FFA เพิ่มขึ้นได้ ในน้ำมันเมล็ดยางพารา ปริมาณ FFA เพิ่มขึ้นจาก 0.87 เป็น 2.82% ภายในระยะเวลา 75 วัน แม้นเก็บในขวดสีชา การ Titertion เพื่อหาปริมาณ FFA ส่วนมากนิยมใช้ KOH หรือ NaOH ข้อดีของไขสัตว์คือสามารถเก็บรักษาได้นานกว่าพืช เนื่องจากปฏิกิริยา Oxidation สามารถเกิดขึ้นได้เฉพาะบริเวณผิวหน้าของไขเท่านั้น วัตถุดิบที่มีค่า FFA>1% จำเป็นต้องใช้กรดลดค่า FFA ให้ต่ำลง โดยควรลดให้ FFA <1% โดยใช้กระบวนการ

Esterification แล้วใช้กระบวนการ Tranestrification ต่อไป ความสัมพันธ์ระหว่างค่า Acid Value และ FFA แสดงดังสมการที่ (2) - (4)

Palm Oil: Acid Value = 2.19 x %FFA (the formula is C16:0 ,Palmitic Acid)..................................................(2)

Coconut Oil and Palm Kernel Oil: Acid Value = 2.81 x %FFA (the formula is C12:0, Lauric Acid)...........(3)

Others Oil: Acid Value = 1.99 x %FFA (the formula is C18:1,Oleic Acid) .....................................................(4)

**Water contain:** วัตถุดิบโดยทั่วไปจะมีปริมาณน้ำน้อยมาก ยกเว้นวัตถุดิบที่เป็นน้ำมันพืชใช้แล้ว หากมีปริมาณน้ำที่มากกว่า 0.5% (w/w) น้ำจะยับยั้งปฏิกิริยาและทำให้เกิดสบู่ขึ้น ทำให้ได้ Yield ของไบโอดีเซลน้อยลง

**Molar Ratio:** สำหรับกระบวนการ transesterification อัตราส่วนทางทฤษฎีอยู่ที่น้ำมันต่อแอลกอฮอล์ ที่ 1:3 แต่เนื่องจากเป็นปฏิกิริยาแบบ Reversible ดังที่แสดงในสมการที่ (1) เพื่อให้ปฏิกิริยาไปด้านขวามือมากขึ้นจึงต้องใช้ที่อัตราส่วน 1:6 หรือ 1:9 ขึ้นไป หรือจะลดอัตราส่วนลงแต่ทำแบบ two step transesterification ก็ได้ แต่จะใช้เวลาที่นานขึ้น ในกรณีกระบวนการ Esterification อัตราส่วนจะสูงกว่านี้ แต่ข้อดีคือไม่มีปัญหาเรื่อง กรดไขมันอิสระและปริมาณน้ำที่มีอยู่ในวัตถุดิบ

**Catalyst:** ตัวเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการแบบ Homogeneous นิยมใช้ NaOH หรือ KOH โดย NaOH มีราคาที่ถูกกว่า แต่คุณภาพของกลีเซอรีนจะด้อยกว่า โดยทั่วไปจะใช้ที่ราว 0.75-1.5 % (w/w) ปริมาณตัวเร่งปฏิกิริยาส่วนเกินที่เหลืออยู่ในกลีเซอรีนสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้แต่การ recycle ยุ่งยากและมีค่าใช้จ่ายสูงจึงไม่นิยมนำมา recycle ในกระบวนการแบบ Heterogeneous นิยมใช้ CaO, SrO ซึ่งสามารถ Recycle นำกลับมาใช้ใหม่ได้ แต่ biodiesel yield ที่ได้จะน้อยลง โดยทั่วไปสามารถ recycle ได้ <5ครั้ง ไม่ค่อยมีความคุณค่าเชิงพลังงานและเชิงพานิชย์ CaO ในธรรมชาติที่เหมาะสมที่จะนำไปใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาคือ CaO ที่ได้จากการเผาเปลือกไข่ เปลือกไข่จระเข้ เปลือกหอย เปลือกปู และกระดูกสัตว์ เช่น กระดูกไก่ เปลือกไข่ไก่เป็นวัตถุดิบในธรรมชาติที่ดีที่สุดในการนำไปเผาเพื่อใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เพราะเปลือกไขสามารถบดให้เป็นผงได้ง่าย สีของ CaO ภายหลังการเผาสามารถบอกถึงความแรงของเบสได้ โดยยิ่งขาวความแรงของเบสยิ่งสูงขึ้น แต่สำหรับก้างปลาไม่เหมาะสมเพราะมีฟอสเฟสเป็นองค์ประกอบค่อยยับยั้งปฏิกิริยา transesterification จากตารางธาตุ BaO อาจจะมีความแรงของเบสที่ดีกว่า CaO, SrO แต่มีความเป็นพิษสูงมากจึงไม่นิยมนำมาใช้

**Alcohol:** ที่เหมาะสมคือเมทนานอล แม้นจะมีความเป็นพิษแต่เป็นแอลกอฮอล์สายสั้นจึงสามารถทำปฏิกิริยาได้เร็วกว่าแอลกอฮอล์ชนิดอื่นๆ อีกทั้งยังมีราคาถูก ส่วนข้อดีของเอทานอลคือมีความเป็นพิษน้อยกว่าผลิตมาจากชีวมวล ช่วยเพิ่มค่าความร้อนและค่า Cetane number ให้สูงขึ้น มีค่า Cloud point และ Pour point มีค่าต่ำกว่า และกลีเซอรีนที่ได้จะมีคุณภาพที่ดีกว่า การ Recycle ของแอลกอฮอล์ทั้งสองชนิดสามารถทำได้ง่ายโดยการกลั่นลำดับส่วนที่อุณหภูมิปรกติ

**Reaction Time:** ในกระบวนการแบบ Homogeneous จะใช้เวลาราว 45-60 นาที ในกระบวนการแบบ Heterogeneous จะใช้เวลาราว 150-180 นาที โดยใช้ Hot Plate แต่หากเปลี่ยนแหล่งความร้อนเป็นการใช้ Microwave ในการให้ความร้อนจะสามารถผลิต Biodiesel ได้ภายในระยะเวลา 60 วินาที และสามารถผลิตไบโอดีเซลแบบต่อเนื่องได้อีกด้วย

**Reaction Temperature:** แม้นว่าการใช้อุณหภูมิสูงจะทำให้เกิดปฏิกิริยาที่ดีกว่า แต่หากเกินจุดเดือดของแอลกอฮอล์จะทำให้แอลกอฮอล์ระเหยกลายเป็นไอ ดังนั้นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาเมื่อใช้เมทานอลคือ 50-55 C (จุดเดือดของเมทานอลอยู่ที่ 64.5 C) และสำหรับเอทานอลคือ 60-65 C (จุดเดือดของเอทานอลอยู่ที่ 78.4 C) การใช้อุณหภูมิที่ต่ำลงจะทำให้ต้องเพื่อเวลาในการทำปฏิกิริยาให้นานขึ้น

**Glycerin:** ความบริสุทธิ์ของกลีเซอรีนที่ได้ซึ่งเป็น Byproduct จะอยู่ที่ 30-40% ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์โดยตรงได้ กลีเซอรีนมีความเป็นพิษสูง (High Toxic) ไม่ควรนำไปใช้แม้นแต่ใช้ในการล้างพื้น แต่ในกลีเซอรีนจะมีแอลกอฮอล์ส่วนเกินที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาอยู่ สามารถนำไปกลั่น และนำแอลกอฮอล์นั้นกลับมาใช้ในกระบวนการผลิตไบโอดีเซลได้ใหม่ เป็นการลดต้นทุนได้ด้วย อีกทั้งยังช่วยเพิ่มความบริสุทธิ์ของกลีเซอรีนให้สูงขึ้นอีกด้วย

**Engine Test:** เนื่องจากไบโอดีเซลเป็นเชื้อเพลิงที่มี $O_2$ เป็นส่วนประกอบจึงทำให้ค่าความร้อนจะต่ำกว่านั้นมันดีเซล (43,000 kJ/liters) ประมาณ 10-15% ค่า Fuel consumption และ ค่า Specific fuel consumption ของไบโอดีเซลจะสูงกว่า $O_2$ ที่มีอยู่ในไบโอดีเซลจะช่วยทำให้ CO และ Light hydrocarbon จาก Emission gas ต่ำกว่า 30% แต่ $O_2$ ส่วนเกินที่อยู่ในไบโอดีเซลจะทำให้เกิดการเผาไหม้ที่อุณหภูมิสูงส่งผลให้ NOx ใน Emission gas สูงกว่าน้ำมันดีเซล ไบโอดีเซลยังมีข้อดีอีกคือช่วยหล่อลื่นรักษาเครื่องยนต์

**Upgrade Biodiesel Quality:** สามารถทำได้โดยยกตัวอย่างเช่นผสมไบโอดีเซลที่ได้จากน้ำมันมะพร้าว และได้จากเมล็ดสบู่ดำในอัตราส่วน 50:50 จะช่วยเพิ่มค่า Oxidation Stability จาก 3.7 ชม.เป็น 7.3 ชม.หรือผสม Anti-oxidation Additive เช่น BHA (Butylated hydroxyanisole), BHT (Butylated hydroxytouene), Kerobit TP26 จะสามารถเก็บรักษาไบโอดีเซลได้นานขึ้นเป็น 10 สัปดาห์

**Cost:** กว่า 60% ของต้นทุนในการผลิตไบโอดีเซลจะเป็นค่าใช้จ่ายสำหรับวัตถุดิบ หากสามารถหาแหล่งวัตถุดิบที่ราคาถูก จะทำให้ไบโอดีเซลสามารถแข่งขันกับน้ำมันดีเซลได้ หากคำนวณจากสมการของกรมธุรกิจพลังงาน B100=0.97cpo (ราคาน้ำมันปาล์มดิบ) + 0.15 MtOH (ราคาของเมทานอล) + 3.32(น้ำมันดีเซลหากมีราคา) > 36 บาท/ลิตร การผลิตไบโอดีเซลเชิงชุมชนจะสามารถแข่งขันได้

**Further Problem:** คือการลดต้นทุนในการผลิต การทำกลีเซอรีนที่เป็น by product ที่ได้ให้มีความบริสุทธ์ขึ้นเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างกว้างขวางต่อไป เช่นนำไปใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางเป็นต้น

## สรุป

ไบโอดีเซลเป็นเชื้อเพลิงที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ช่วยรักษาการสึกหรอของเครื่องยนต์ แม้นจะมีค่าความร้อนที่ต่ำกว่าดีเซลอยู่ก็ตาม สำหรับวัตถุดิบที่เหมาะสมที่นำไปใช้ผลิตเป็นไบโอดีเซลซึ่งเป็นวัตถุดิบที่บริโภคได้คือเศษไขมันปลา สำหรับวัตถุดิบที่บริโภคไม่ได้ที่เหมาะสมคือเมล็ดยางพารา โดยใช้กระบวนการแบบ Transesterification ซึ่งมีเงื่อนไขและสภาวะที่เหมาะสมคือ Catalyst: NaOH, ส่วน Alcohol ที่ใช้คือ Methanol เวลาในการทำปฏิกิริยาคือ 45-60 นาที อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาคือ 55-60 C โดยมี Molar Ratio อยู่ที่ 1:6 ถึง 1:9 ซึ่งจะได้ Biodiesel Yield ที่ > 96.5% และมีคุณสมบัติด้านเชื้อเพลิงที่ผ่านมาตรฐานชุมชน และมาตรฐานเชิงพานิชย์

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการไขมัน (Lipid) KMUTT ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และเครื่อง HPLC ในการทำงานวิจัย

## เอกสารอ้างอิง

Fangrui Ma and Milford a Hanna (1998) Biodiesel Production : a review, Bioresource Technology Volume 70 Issue 1 p.1-15

พจนา บางแสง และ รัตนชัย ไพรินทร์, 2015; การผลิตไบโอดีเซลจากไขจระเข้ โดยใช้แคลเซียมออกไซด์จากเปลือกไข่จระเข้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา, การประชุมวิชาการ ระดับชาติ วิทยาลัยเทคโนโลยีภาคใต้วิจัยครั้งที่ 5, วารสารเทคโนโลยีภาคใต้, ฉบับที่ 7.

อธิยา คงเซ็ง และ รัตนชัย ไพรินทร์, 2015, การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันเมล็ดยางพาราที่มีกรดไขมันอิสระสูงโดยปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ริฟิเคชั่น, การประชุมวิชาการ ระดับชาติ วิทยาลัยเทคโนโลยีภาคใต้วิจัยครั้งที่ 5, วารสารเทคโนโลยีภาคใต้, ฉบับที่ 7.

4) ชิดชนก กุลพร, และ รัตนชัย ไพรินทร์, 2015, การผลิตไบโอดีเซลด้วยปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ริฟิเคชั่นจากไขปลาโดยใช้สคอนเทียมออกไซดีบนตัวรองรับซิลิกาเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา, การประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฎเพชรบูรณ์ครั้งที่ 2, งานวิจัยเพื่อพัฒนาท้องถิ่น.

# องค์ประกอบเรซิ่น ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียของเบียร์ และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดฮอปส์
# Composition of Hops Resin Extracts and Their Anti Beer Spoilage Microorganisms and Antioxidant Activities

กริษฐา เดชวัน[1] , กิรติกานต์ มุ่งกลาง[1] ภาณุพงศ์ สุ่มหิรัญ[1] และ มงคล เพ็ญสายใจ[1]
Dechwan, K.[1], Mungklang, K.[1], Sumhirun, P.[1] and Phensaijai, M.[1]

## Abstract

Composition analysis of three hops; Cascade, Centennial and Saaz, resin extracts by High-Performance Liquid Chromatography (HPLC), results showed that percentage of the most total $\alpha$ acid and total $\beta$ acid of Saaz were 11.02 and 5.73 respectively, followed by Cascade and Centennial were 10.50, 5.10 and 10.20, 3.59 respectively. Cascade was the most effective antimicrobial against *Lactobacillus brevis* TISTR 855 *Pediococcus damnosus* WLP661 *Staphylococcus aureus* TISTR 746 and *Escherichia coli* TISTR 074. The minimum inhibition concentration (MIC) of Cascade was 3.125-6.25 mg/ml while Saaz and Centennial were 6.25 – 12.5 mg/ml. All three hops extracts had no antimicrobial impact on *Brettanomyces lambicus* WLP 653. Antioxidant activity by DPPH radical scavenging method of Saaz was the most efficient scavenger, with an $IC_{50}$ value of 0.5893 mg/ml, while $IC_{50}$ of Cascade and Centennial hops extracts were 0.6412 and 0.6482 mg/ml respectively.

**Keywords:** Hops resin, Beer spoilage, Antimicrobial activity, Antioxidant activity

## บทคัดย่อ

การวิเคราะห์องค์ประกอบเรซิ่นของสารสกัดฮอปส์ 3 สายพันธุ์ได้แก่ Cascade Centennial และSaaz ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) พบว่า สายพันธุ์ Saaz มีค่ากรดแอลฟารวมและกรดบีตารวมมากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 11.02 และ5.73 ตามลำดับ รองลงมาคือสายพันธุ์ Cascade คิดเป็นร้อยละ 10.50 และ5.10 ตามลำดับ ขณะที่สายพันธุ์ Centennial มีค่าน้อยที่สุด คิดเป็นร้อยละ 10.20 และ3.59 ตามลำดับ ฮอปส์สายพันธุ์ Cascade มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *Lactobacillus brevis* TISTR 855 *Pediococcus damnosus* WLP661 *Staphylococcus aureus* TISTR 746 และ *Escherichia coli* TISTR 074 สูงสุด มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ (MIC) เท่ากับ 3.125 - 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือสายพันธุ์ Saaz และCentennial มีค่า MIC เท่ากับ 6.25 - 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ขณะที่ฮอปส์ทั้ง 3 สายพันธุ์ไม่สามารถยับยั้ง *Brettanomyces lambicus* WLP 653 และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging พบว่าสายพันธุ์ Saaz มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด มีค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 0.5893 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ขณะที่สายพันธุ์ Cascade และCentennial มีประสิทธิภาพรองลงมา มีค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 0.6412 และ0.6482 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

**คำสำคัญ:** เรซิ่นของฮอปส์ การเน่าเสียของเบียร์ ฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

## คำนำ***

ฮอปส์ (*Humulus lupulus)* เป็นพืชที่นิยมนำไปใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตเบียร์ โดยช่อดอกของฮอปส์เพศเมียมีต่อม Lupulin ที่มีสารประกอบต่าง ๆ เช่น resin bitter acid (กรดขม) น้ำมันหอมระเหย และฟลาโวนอยด์ โดยที่สารประกอบเหล่านี้มีบทบาทสำคัญในกระบวนการผลิตเบียร์ สารประกอบช่วยในการเก็บรักษาและให้สารให้ความขม (Karabin และคณะ, 2015) ซึ่ง bitter acid resin bitter acid (กรดขม) โดยทั่วไปจำแนกเป็น กรดแอลฟาและกรดบีตา ที่สำคัญที่สุดคือ humulone และ lupulone ตามลำดับ (Zanoli และ Zavatti, 2008) โดยกรดแอลฟาหรือฮิวมูโลนเป็นสารประกอบที่ในระหว่างการต้มเบียร์ (น้ำมอลต์) ฮิวมูโลนจะถูกไอโซเมอไรซ์ได้เป็นกรดไอโซแอลฟาหรือไอโซฮิวมูโลน ซึ่งมีหน้าที่ทำให้เบียร์มีรสขม (Keukeleire, 2020) และกรดบีตาหรือลิวพูโลนมีหน้าที่สำหรับให้กลิ่นของเบียร์ (Ortega-Heras และคณะ, 2003) และนอกจากรสขมของฮอปส์จะมีผลต่อรสสัมผัสและกลิ่นของเบียร์แล้วยังมีประสิทธิภาพในการป้องกันการเน่าเสียของเบียร์ได้ เนื่องจากพบว่าสารสำคัญในฮอปส์มีความสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ (Natarajan และคณะ, 2008) และยังมีรายงานว่าฮอปส์มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระอีก

[1] [1]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520
[1] Department of biology, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang Bangkok

ด้วย (Abram และคณะ, 2015)

วัตถุดิบหลักในการผลิตเบียร์ประกอบด้วย มอลต์ ฮอปส์ ยีสต์และน้ำ ส่วนใหญ่เบียร์จะต้องเก็บในอุณหภูมิต่ำ ถ้าเก็บในสภาวะที่ไม่เหมาะสมจะส่งผลต่อคุณภาพของเบียร์หรือเกิดปัญหาการเน่าเสียทางจุลินทรีย์ได้ โดยจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียของเบียร์ เช่น แบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Staphylococcus aureus, Lactobacillus brevis* และ*Pediococcus damnosus* ยีสต์ ได้แก่ *Brettanomyces lambicus* รวมไปถึงแบคทีเรียแกรมลบในกลุ่มของ Enterobacteriaceae ได้แก่ *Escherichia coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สามารถปนเปื้อนในเบียร์และก่อให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหารสำหรับผู้บริโภคได้

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงศึกษาองค์ประกอบสารสกัดฮอปส์ ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียของเบียร์ และประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดฮอปส์ ในฮอปส์ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ Cascade Centennial และSaaz ที่ได้รับความอนุเคราะห์จาก Chiang Rai Hop Yard

## อุปกรณ์และวิธีการ**

นำดอกฮอปส์แห้ง 3 สายพันธุ์ คือ Cascade, Centennial และSaaz ได้รับความอนุเคราะห์จาก Chiang Rai Hop Yard โดยใช้ดอกแห้งปริมาณ 100 กรัม (Zeković และคณะ, 2006) สกัดสารประกอบเรซิ่น ด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction) โดยการนำตัวอย่างฮอปส์ ปริมาณ 10 ± 0.001 กรัม ผสมกับสารละลาย diethyl ether–methanol-HCl 0.1 M (100 : 20 : 40 v / v / v) เขย่าเป็นเวลา 40 นาที และตั้งทิ้งไว้จนแยกเป็นสองส่วน คือ ส่วนใส (Supernatant) และส่วนตะกอน นำส่วนใสไปเจือจาง 10 เท่า ด้วย methanol นำไปตรวจหาสารประกอบเรซิ่นด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography ; HPLC); C18 column (SHIMADZU รุ่น LC-20AD) Forteschi และคณะ, 2018) ในส่วนที่ 2 จะนำไประเหยที่เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Heidolph รุ่น Hei-VAP Gold 3 Rotary Evaporator) เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัด ฮอปส์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum Inhibition Concentration : MIC) ดัดแปลงจากสุภาวดี และคณะ, (2562) เมื่อทดสอบในด้านการยับยั้งเบื้องต้นแล้ว นำสารสกัดที่ใช้ในการศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ความเข้มข้น 25, 12.5 , 6.25 และ3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาทดสอบอย่างละเอียดมากขึ้นโดยใช้วิธี macro broth dilution โดยปิเปตอาหาร NB ลงยังหลอดทดลอง ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ปิเปตสารสกัดฮอปส์ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 4 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลายเชื้อปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงยังหลอดทดลองที่มีอาหาร NB อยู่ ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสาร (vortex mixer) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ตรวจผลโดยการดูความขุ่น การวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดฮอปส์ที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรีย (Minimum Bactericidal Concentration : MBC) ดัดแปลงจาก สุภาวดี และคณะ (2562) นำความเข้มข้นของสารสกัดฮอปส์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจากการทดสอบ MIC ที่ไม่พบความขุ่นมาใช้ในการทดสอบ โดยการ streak plate ลงอาหารเลี้ยงเชื้อ ลงอาหารเลี้ยงเชื้อ ตรวจผลโดยดูการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้วิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ดัดแปลงจากวิธีของ Pinela และคณะ (2012) โดยนำสารสกัดฮอปส์มาทำการเจือจางในระดับความเข้มข้น 0.125, 0.250, 0.500 และ1.000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยเมทานอลจากนั้นปิเปตสารสกัด (หรือสารมาตรฐาน) แต่ละความเข้มข้นปริมาตร 30 ไมโครลิตร ลงเพลทขนาด 96 หลุม และเติมสาร DPPH ปริมาตร 270 ไมโครลิตร นำไปบ่มในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที ซึ่งสารละลายนี้มีสีม่วง จึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรด้วยเครื่อง microplate Reader โดยใช้สาร ascorbic acid (Vitamin C) เป็นสารละลายมาตรฐาน และใช้สารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นแบลงค์ โดยทำการทดสอบวิธีเดียวกับสารสกัดฮอปส

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง***

**Table 1 :** Species of hops and the percentage of compounds

| Spicies | Percentage of compounds | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | co-α | n+ad-α | co-β | n+ad-β | Total α acid | Total β acid |
| Cascade | 3.99 | 6.51 | 1.89 | 3.21 | 10.50% | 5.10% |
| Centennial | 3.74 | 6.46 | 1.76 | 1.83 | 10.20% | 3.59% |
| Saaz | 3.99 | 6.51 | 1.89 | 3.21 | 10.50% | 5.10% |

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบเรซิ่นของสารสกัดฮอปส์ทั้ง 3 สายพันธุ์ได้แก่ Cascade Centennial และSaaz จาก Chiang Rai hop Yard โดยเรซิ่นหรือสารให้ความขมนี้ แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มแรกคือ กรดแอลฟาประกอบด้วย co-α และ n+ad-α กลุ่มที่ 2 คือ กรดบีตา ประกอบด้วย co-β และ n-ad-β พบว่าฮอปส์สายพันธุ์ Saaz มีร้อยละของ co-α, n+ad-α,

co-β และn+ad-β มากที่สุด ที่ร้อยละ 4.18, 6.84, 2.08 และ 3.65 ตามลำดับ มีค่าร้อยละของ กรดแอลฟาและกรดบีตา เท่ากับ 11.02 และ 5.73 รองลงมาคือ ฮอปส์สายพันธุ์ Cascade มีร้อยละของ co-α, n+ad-α, co-β และn+ad-β เท่ากับ 3.99, 6.51, 1.89 และ 3.21 ตามลำดับ และมีค่าร้อยละของกรดแอลฟาและกรดบีตา เท่ากับ 10.50 และ 5.10 และ ฮอปส์สายพันธุ์ Centennial มีร้อยละของ co-α, n+ad-α, co-β และn+ad-β น้อยที่สุด ที่ร้อยละ 3.74, 6.46, 1.76 และ 1.83 ตามลำดับ มีค่าร้อยละของกรดแอลฟาและกรดบีตา เท่ากับ 10.20 และ 3.59 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Forteschi และคณะ, (2019) ที่ศึกษาเกี่ยวกับการประเมินคุณภาพของ ฮอปส์สายพันธุ์ Cascade ที่เจริญในเมือง โดมุสโนวาส จังหวัด ซาร์ดิเนีย ประเทศอิตาลี ที่เก็บเกี่ยวในปี 2015 พบว่ามีร้อยละของ กรดแอลฟาและกรดบีตา เท่ากับ 9.05 และ 5.26 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับ ฮอปส์จากจังหวัดเชียงราย ตอนเหนือของประเทศไทย จากการวิเคราะห์หาความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสารสกัดฮอส์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ *Lactobacillus brevis TISTR 855 Pediococcus damnosus WLP661 Staphylococcus aureus TISTR 746 Escherichia coli TISTR 074* และ*Brettanomyces lambicus* ผลปรากฏว่าค่า MIC ของสารสกัดฮอปส์สายพันธุ์ Cascade มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *L. brevis* TISTR 855 *P. damnosus* WLP661 *S. aureus* TISTR 746 และ*E. coli* TISTR 074 สูงสุด โดยมีค่า MIC เท่ากับ 3.125 - 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือสายพันธุ์ Saaz และCentennial มีค่า MIC เท่ากับ 6.25 - 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ฮอปส์ทั้ง 3 สายพันธุ์ไม่สามารถยับยั้ง *B. lambicus* WLP 653 ได้ การวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดที่สามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ ผลปรากฏว่าค่า MBC พบว่าสารสกัดฮอปส์สายพันธุ์ Cascade มีประสิทธิภาพในการทำลาย *L. brevis* TISTR 855 *P. damnosus* WLP661 *S. aureus* TISTR 746 และ*E. coli* TISTR 074 สูงสุด โดยมีค่า MBC เท่ากับ 6.25 - 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือสายพันธุ์ Saaz และCentennial มีค่า MBC เท่ากับ 12.5 - 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ฮอปส์ทั้ง 3 สายพันธุ์ไม่สามารถทำลาย *B. lambicus* WLP 653 ได้ เมื่อพิจารณาค่า MIC และMBC ของสารสกัดฮอปส์ทั้ง 3 สายพันธุ์ พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งหรือทำลายแบคทีเรียแกรมบวกได้มากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Nionelli และคณะ (2018) และ Abram และคณะ (2015) ที่ทำการศึกษาสารสกัดฮอปส์ทางด้านฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ พบว่าสารสกัดฮอปส์ส่วนใหญ่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก แต่ไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบหรือได้เพียงบางชนิด เช่น *E. coli* O157: H7 ผลการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH scavenging activity พบว่า สารสกัดฮอปส์สายพันธุ์ Saaz มีประสิทธิภาพในการดักจับอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด มีค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 0.5893 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่สารสกัดฮอปส์สายพันธุ์ Cascade และCentennial มีประสิทธิภาพในการดักจับอนุมูลอิสระรองลงมา โดยมีค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 0.6412 และ0.6482 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งค่า $IC_{50}$ ของสารสกัดฮอปส์ทั้งสามชนิด สอดคล้องกับงานวิจัยของ Alonso-Esteban และคณะ (2019) ที่ทำการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดฮอปส์ด้วยวิธี DPPH พบว่าที่ความเข้มข้นของสารสกัดฮอปส์ 2.5 - 0.039 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 0.5050 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

## สรุปผล

การวิเคราะห์องค์ประกอบเรซิ่น การทดสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์และการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่าฮอปส์ทั้ง 3 สายพันธุ์มีประสิทธิภาพในการดักจับอนุมูลอิสระ และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียของเบียร์ได้บางชนิด โดยสายพันธุ์ Saaz มีร้อยละของสารประกอบเรซิ่นและมีประสิทธิภาพในการดักจับอนุมูลอิสระมากที่สุด และสายพันธุ์ Cascade มีประสิทธิภาพในการยับยั้งและทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียของเบียร์มากที่สุด

## คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ Chiang Rai Hop Yard ที่สนับสนุนดอกฮอปส์ในการทำการวิจัย และขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในการสนับสนุนการทำวิจัยในครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง***

สุภาวดี พาหนะ อติมา วงศ์สาโรจน์ และอันภิณัฐชา สุขเทพ, 2562,การศึกษาสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากสารสกัดหยาบเอทานอลของกระถิน,ปริญญานิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

Abram, V., Čeh B., Vidmar M., Hercezi, M., Lazić N., Bucik, V., Možina, S.S., Košir I. J., Kač, M., Demšar L. and Ulrih, N. P., 2015, A comparison of antioxidant and antimicrobial activity between hop leaves and hop cones, Industrial Crops and Products, 64 : 124–134.

Alonso-Esteban,J. I., Pinela, J., Barros, L., Ćirić, A., Soković, M., Calhelha, R. C., Torija-Isasa, E., Sánchez-Mata, M.D. C. and Ferreira, I. C.F.R., 2019, Phenolic composition and antioxidant, antimicrobial and cytotoxic properties of hop (*Humulus lupulus* L.) Seed, Ind Crops and Products. 134 : 154-159.

Keukeleire, D.D., 2000, Fundamentals of beer and hop chemistry, *Química Nova*, 23(1) : 108–112.

Forteschi, M., Porcu, M. C., Fanari, M., Zinellu, M., Secchi, N., Buiatti, S., Passaghe, P., Bertoli, S. and Pretti, L. 2018, Quality assessment of Cascade Hop (*Humulus lupulus* L.) grown in Sardinia, European Food Research and Technology, 245 : 863-871.

Karabĺn M., Hudcová, T., Jelĺnek, L., and Dostálek P., 2015, Biotransformations and biological activities of hop flavonoids, Biotechnology Advances, 33 : 1063–1090.

Komaitis, M and Proestos, C., 2009, Beer in Health and Disease Prevention, Athens : Elsevier Inc.

Natarajan, P. Katta, S. Andrei, I., Ambati, V.B.R., Leonida, M., Haas, G.J., 2008, Positive antibacterial co-action between hop (*Humulus lupulus*) constituents and selected antibiotics, Phytomedicine, 15 : 194–201.

Ortega-Heras, M., González-Sanjosé, M.L. and Caballero, B., 2003, BEERS | Wort Production,. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition), Academic Press : 429–434.

Pinela, J., Barros, L., Dueñas, M., Carvalho, M.A., Santos-Buelga, C. and Ferreira, C.F.R. I., 2012, Antioxidant activity, ascorbic acid, phenolic compounds and sugars of wild and commercial *Tuberaria lignosa* samples: Effects of drying and oral preparation methods, Food Chemistry 135 : 1028-1035.

Zanoli, P. and Zavatti, M., 2008, Pharmacognostic and pharmacological profile of *Humulus lupulus* L, Journal of Ethnopharmacology,116 : 383–396.

Zeković, Z., Pfaf - Šovljansky, I. and Grujić, O., 2006, Supercritical fluid extraction of hops, Journal of the Serbian Chemical Society, 72 : 81-87.

# การผลิตเม็ดบีดส์น้ำสับปะรดผสมโปรไบโอติกด้วยเทคนิครีเวิร์สสเฟียริฟิเคชั่น
# Production of Pineapple Juice Beads Containing Probiotics by Reverse Spherification Technique

กิตติ เมืองตุ้ม[1]
Mueangtoom, K.[1]

## Abstract

The study aims to find the optimum conditions for pineapple juice containing probiotic (Lactofit®, CA) beads by reverse spherification, which calcium-lactate concentration (0.5 and 1.0g/100g) and gelation time (5 and 10 mins) were evaluated. Results showed that the optimum condition was 0.5g/100g of calcium-lactate solution and 10 mins gelation time. The average diameter of beads was ranged at 4.70–5.17 mm. However, effect of gelling temperature (10 and 25°C) by alginate solutions were also studied. Utilization of sodium alginate solution at 10°C rendered the bead with greater physical properties of the lowest in bead swelling ($p \leq 0.05$) than other treatments. At the optimum condition, the probiotic survival rates in beads during storage at 10℃ for four weeks were tested. Results of stability test of probiotic showed the survival rate was 97.62% ($6.65 \times 10^6$ CFU per bead) and probiotic cell were not found in pineapple juice.

**Keywords:** Pineapple juice, Probiotic, Reverse spherification

## บทคัดย่อ

การผลิตน้ำสับปะรดผสมกับโปรไบโอติกเป็นการเพิ่มคุณค่าต่อผู้บริโภค งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำเม็ดบีดส์สับปะรดผสมโปรไบโอติกส์ (Lactofit®, CA) ด้วยเทคนิครีเวิร์สสเฟียริฟิเคชั่น โดยการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำเม็ดบีดส์ ที่สารละลายแคลเซียมแลคเตทเข้มข้น 0.5 และ 1.0 กรัม/100 มิลลิลิตร เวลา 5 และ 10 นาที พบว่าสภาวะที่เหมาะสม คือ ความเข้มข้น 0.5 กรัม/100 มิลลิลิตร เวลา 10 นาที ทำให้เม็ดบีดส์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 4.70-5.17 มิลลิเมตร และในการศึกษาอุณหภูมิในการแช่สารละลายโซเดียมแอลจิเนตที่เหมาะสม พบว่า ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ทำให้เม็ดบีดส์มีลักษณะทางกายภาพดีที่สุด ($p \leq 0.05$) และ และเมื่อนำเม็ดบีดส์ไปแช่ในน้ำสับปะรด ตั้งไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส 1 เดือน พบว่ามีอัตราการอดชีวิตของโปรไบโอติก 97.62 เปอร์เซ็นต์ ($6.65 \times 10^7$ CFU ต่อเม็ดบีดส์) และไม่มีโปรไบโอติกหลุดออกมาในน้ำสับปะรดตลอดการเก็บรักษา

**คำสำคัญ:** น้ำสับปะรด โปรไบโอติก รีเวิร์สสเฟียริฟิเคชั่น

## คำนำ

จังหวัดอุตรดิตถ์ มีการปลูกผลไม้เป็นจำนวนมาก เนื่องจากเป็นพื้นที่เขา เหมาะสำหรับการทำสวนผลไม้ โดยเฉพาะลองกอง อำเภอลับแล และสับปะรด อำเภอน้ำปาด ที่มีการอัตราการล้นตลาด ราคาตกต่ำอย่างต่อเนื่อง ทำให้มีผู้ประกอบการในจังหวัดอุตรดิตถ์ไม่น้อยกว่า 20 ราย มีแนวคิดในการผลิตเครื่องดื่มน้ำผลไม้ แต่ไม่สามารถสร้างมูลค่าได้ เนื่องจากผู้บริโภคมองว่าบริโภคเครื่องดื่มน้ำผลไม้จากแหล่งใด ก็ได้รับสรรพคุณจากผลไม้เหมือนกัน และผลไม้บางชนิดที่มีผลต่อการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในระบบทางเดินอาหาร ทำให้ผู้บริโภคได้รับสรรพคุณของเครื่องดื่มไม่เต็มประสิทธิภาพ และเปลี่ยนไปบริโภคอาหารเสริมอื่นแทน ดังนั้นวิธีการแก้ปัญหา คือ การเพิ่มสรรพคุณให้กับเครื่องดื่มน้ำผลไม้ โดยการส่งเสริมกิจกรรมทางจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร เพื่อให้ร่างกายได้รับสารสำคัญจากผลไม้ได้ง่าย และเป็นรูปแบบใหม่ที่สร้างมุมมองใหม่ให้ผู้บริโภค ในการพัฒนาต้นแบบการเติมจุลินทรีย์โปรไบโอติคซึ่งสวนใหญอยูในกลุมแบคทีเรียกรดแลคติค เช่น *Lactobacillus* spp. และ *Streptococcus* spp. ด้วยวิธีรีเวิร์สสเฟียริฟิเคชัน (reverse spherification) (Pawar และ Edgar, 2012) โดยการเติมจุลินทรีย์โปรไบโอติคด้วยวิธีนี้ทำให้จุลินทรีย์สามารถรอดชีวิตและสร้างกิจกรรมต่าง ๆ ในระบบทางเดินอาหารได้ มีผลไปยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษของแบคทีเรียที่ก่อโรค (กานต์ และรุ่งนภา, 2558)

ในการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำเม็ดบีดส์สับปะรดผสมโปรไบโอติกส์ (Lactofit®, CA) ด้วยเทคนิครีเวิร์สสเฟียริฟิเคชั่น และการศึกษาการอยู่รอดของจุลินทรีย์ในเม็ดบีดส์ ในน้ำสับปะรดพลาสเจอไรซ์ ที่มีรูปแบบ

[1] หลักสูตรชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์ (ลำรางทุ่งกะโล่) อำเภอเมือง จังหวัดอุตรดิตถ์ ประเทศไทย 53000
[1] Biology Department, Faculty of Sciences and Technology, Uttaradit Rajabhat University (Tung Ka Lo) Mueang, Uttaradit, Thailand. 53000

การผลิตไม่ยาก สามารถสร้างมูลค่าเพิ่มสินค้าเกษตรที่สำคัญในเชิงเศรษฐกิจจังหวัดอุตรดิตถ์ โดยใช้ผลไม้อัตลักษณ์ ได้แก่ น้ำสับปะรด ในการพัฒนาเป็นเครื่องดื่มผสม เม็ดบีดส์จุลินทรีย์โปรไบโอติค สำหรับเป็นทางเลือกใหม่สำหรับผูบริโภค และการเพิ่มมูลค่าให้ผลไม้ท้องถิ่นต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

**1. การเตรียมเม็ดบีดส์โดยวิธี reverse spherification**

1.1 การเตรียมสารละลายภายใน ดัดแปลงมาจาก Sultana และคณะ (2000) โดยการเตรียมความเข้มข้นของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ (Lactofit®, CA) ที่ความเข้มข้น 7 x$10^7$ CFU ต่อน้ำสับปะรด 1 มิลลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที เติมแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก นำสารละลายที่ได้แช่ตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา1 ชั่วโมง ก่อนนำไปหยดในสารละลายโซเดียมอัลจิเนต

1.2 การเตรียมส่วนห่อหุ้ม นำโซเดียมอัลจิเนตความเข้มข้นร้อยละ 0.25, 0.5 และ 0.75 (w/v) นำไปตีปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกัน 5 นาที นำสารละลายโซเดียมอัลจิเนตไปแช่ตู้เย็นที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

**2. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการขึ้นรูปเม็ดบีดส์**

นำไซริงค์ดูดสารละลายจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์จากข้อ 1.1 นำมาหยดใส่ในสารละลายโซเดียมอัลจิเนตจากข้อ 1.2 ที่ความเข้มข้นต่างๆ ทีละหยดและกวนส่วนผสมที่ 120 rpm เป็นเวลา 5 นาที จะเกิดเม็ดบีดส์ จากนั้นกรองเม็ดบีดส์ด้วยตระแกรงและล้างด้วยน้ำสะอาด 3 ครั้งทำ Reverse Spherification โดยแช่แคลเซียมเลคแตทที่ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 กรัม/100 มิลลิลิตร เวลา 5 และ 10 นาที เม็ดบีดส์จุลินทรีย์โปรไบโอติกที่ได้จากทุกทรีทเมนต์ นำมาทำการวิเคราะห์ลักษณะของเม็ดบีดส์และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อหาสภาวะที่ดีที่สุดในการวิเคราะห์อัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ต่อไป

**3. การวิเคราะห์จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตในเม็ดบีดส์โปรไบโอติก**

3.1 การนับจำนวนแบคทีเรียแลกติกที่ไม่ผ่านการห่อหุ้มเซลล์นำแบคทีเรียแลกติกมาทำการเจือจางแบบ serial ten-fold (dilution ด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.35 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อปริมาตรโดยแบคทีเรียที่ผ่านกรดพีเอช 2.0 เป็นเวลา 3 ชั่วโมงให้เจือจางจนได้ระดับความเข้มข้น $10^2$ ถึง $10^4$ และแบคทีเรียที่ไม่ผ่านกรดให้เจือจางจนได้ระดับความเข้มข้น $10^6$ ถึง $10^8$ นับจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตโดยเทคนิคการ pour plate ด้วยอาหาร NIRS agar หลอมเหลวเที่มีการเติม bromocresol purple 0.004 เปอร์เซ็นต์ รอจนอาหารแข็งตัวแล้วนำจานเพาะเชื่อไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง (นับจำนวนโคโลนีที่เปลี่ยนสีอาหาร MRS agar จากสีม่วงเป็นสีเหลือง) รายงานผลเป็น log CFU ต่อมิลลิลิตร (Annan และคณะ, 2008)

3.2 การนับจำนวนแบคทีเรียแลกติกที่ผ่านการห่อหุ้มเซลล์ซึ่งเม็ดเจล 1 กรัมเพิ่มสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 3.0 ปริมาตร 9 มิลลิลิตรนาไปเขย่าบนเครื่อง Vortex ที่ระดับความเร็วสูงสุดเป็นเวลา 10 นาทีจนกระทั่งมีการละลายของเม็ดเจลทั้งหมดแล้วเจือจาง Suspension ของเซลล์ที่ได้แบบ serial ten-fold dilution ด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.85 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อปริมาตรเจือจางจนได้ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม นับจำนวนเซลล์ในเม็ดเจลโดยเทคนิคการ pour plate ด้วยอาหาร MRS agar หลอมเหลวที่มีการเติม bromocresol purple 0.004 เปอร์เซ็นต์ รอจนอาหารแข็งตัวแล้วนำจานเพาะเชื่อไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง (นับจำนวนโคโลนีที่เปลี่ยนสีอาหาร MRS agar จากสีม่วงเป็นสีเหลือง) รายงานผลเป็น log CFU ต่อมิลลิลิตร (Annan และคณะ, 2008)

**4. การพัฒนาน้ำสับปะรด ที่ผสมเม็ดบีดส์จุลินทรีย์โปรไบโอติก**

คั้นน้ำสับปะรดห้วยมุ่น นำมาใส่ขวดแก้วปริมาตร 250 มิลลิลิตร เติมเม็ดบีดส์จุลินทรีย์โปรไบโอติก ในอัตราส่วน เม็ดบีดส์ต่อน้ำสับปะรด 10 : 90, 20:80 และ 30:70 (w/v) ตามลำดับ นำน้ำสับปะรดผสมเม็ดบีดส์จุลินทรีย์โปรไบโอติก พลาสเจอไรซ์ที่อุณหภูมิ 70 องศาสเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำมาใส่น้ำแข็งทันที แล้วนำผลิตภัณฑ์เก็บที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เพื่อทำการตรวจวิเคราะห์จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตในเม็ดบีดส์ และในน้ำสับปะรดระหว่างการเก็บรักษาทุก 7 วันเป็นเวลา 1 เดือน ตามวิธีข้อ 3

**5. การวิเคราะห์ทางสถิติ**

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยผลการวิจัยจากการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายทุกขั้นตอนที่ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ด้วยการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธี Duncan's new multiple range test และวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วย analysis of variance (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง**

**1. ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการขึ้นรูปเม็ดบีดส์**

1.1 ความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนตที่เหมาะสมสำหรับการขึ้นรูปเม็ดบีดส์ ทำโดยการเตรียมเม็ดบีดส์จุลินทรีย์โปรไบโอติก ใช้ความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนตร้อยละ 0.25, 0.50 และ 0.75 วัดคุณลักษณะทางกายภาพ ได้แก่ ขนาด ผิวด้านนอกของเม็ดบีดส์ พบว่าเม็ดบีดส์จุลินทรีย์โปรไบโอติกทุกความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนตมีขนาด 5 มิลลิเมตร ผิวเม็ดบีดส์ที่ความเข้มข้นโซเดียมอัลจิเนตร้อยละ 0.75 และ0.50 มีลักษณะผิวเรียบ ตึง และไม่เหี่ยว โดยที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.75 จะเปลือกแข็งและหนากว่า 0.50 ในขณะที่เม็ดบีดส์ที่ความเข้มข้นโซเดียมอัลจิเนตร้อยละ 0.25 มีลักษณะผิวย่น แต่ไม่ตึง และเหี่ยว

1.2 ความเข้มข้นของแคลเซียมแลกเตทที่เหมาะสมสำหรับการขึ้นรูปเม็ดบีดส์ในขั้นตอนการ Reverse Spherification พบว่าสภาวะที่เหมาะสม คือ ความเข้มข้น 0.5 กรัม/100 มิลลิลิตร เวลา 10 นาที ทำให้เม็ดบีดส์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 4.70-5.17 มิลลิเมตร โดยที่การแช่ที่ 5 นาที ทำให้เม็ดบีดส์มีผนังบางและแตกง่ายกว่าการแช่ที่ 10 นาที โดยให้ผลในลักษณะเดียวกันกับการใช้แคลเซียมแลกเตทที่ความเข้มข้น 1.0 กรัม/100 มิลลิลิตร แต่ที่ความเข้มข้น 1.0 กรัม/100 มิลลิลิตร จะทำให้เม็ดบีดส์มีขนาดใหญ่ ผนังหนา และเหนียว ซึ่งไม่น่ารับประทาน โดยทั่วไปขนาดของเม็ดบีดส์ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ไม่ว่าจะเป็นขนาดของหัวเข็มที่ใช้ในการหยด และความหนืดของสารละลาย (Wichchukit และคณะ, 2013) หรือสภาวะที่มีประจุบวกของสารละลายที่ใช้แช่ เช่น การแช่ในสารละลายแคลเซียมและการแช่ในสารละลายที่มี pH ต่ำ ซึ่งขนาดของเม็ดบีดส์ขึ้นอยู่กับความหนาของผิวเม็ดบีดส์ (Messaoud และคณะ, 2015)

**2. ผลการศึกษาจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตในเม็ดบีดส์โปรไบโอติก**

เม็ดบีดส์จุลินทรีย์โปรไบโอติกที่ขึ้นรูปด้วย โซเดียมอัลจิเนต ร้อยละ 0.5 และความเข้มข้นแคลเซียมแลกเตทที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 แช่ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส นำมาใช้ในการศึกษาจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต เปรียบเทียบกับจุลินทรีย์อิสระที่อยู่ในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ พบว่า เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง จำนวนเซลล์ที่อยู่ในเม็ดบีดส์มีจำนวนมากกว่า จุลินทรีย์อิสระ อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งสรุปได้ว่ากระบวนการ Reverse Spherification เป็นรูปแบบการตรึงเซลล์วิธีหนึ่งที่สามารถรักษาอัตราการอยู่รอดของเซลล์ได้นานขึ้น ซึ่งเกิดจากในเม็ดบีดส์มีสารอาหารสำหรับการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์ได้ โดยน้ำสับปะรดที่ใช้ร่วมกับการผลิตเม็ดบีดส์มีสารอาหารที่จำกัดแต่ก็สามารถทำให้เชื้อจุลินทรีย์ดำรงชีวิตได้มากกว่า 48 ชั่วโมง (Ding และ Shah, 2008) ในขณะที่การตรึงเซลล์โปรไบโอติก เป็นจุลินทรีย์ผสมซึ่งหลายชนิดมีผลในการผลิตเอนไซม์ในการใช้สารอาหารและทำให้สารอาหารมีจำนวนมากขึ้นเพื่อประโยชน์ต่อจุลินทรีย์กรดแลกติกอื่นๆในเม็ดบีดส์อีกด้วย (กานต์ และรุ่งนภา, 2558)

**3. ผลของการพัฒนาน้ำสับปะรด ที่ผสมเม็ดบีดส์จุลินทรีย์โปรไบโอติก**

3.1 ลักษณะทางกายภาพ พบว่า เมื่อเก็บน้ำสับปะรดผสมเม็ดบีดส์ ในตู้เย็น 10 องศาเซลเซียส พบว่าตลอดระยะเวลา 7 วัน ไม่มีการเปลี่ยนแปลง ทั้งสี กลิ่น และความขุ่นของน้ำสับปะรด เนื่องจากผลิตภัณฑ์ผ่านกระบวนการพาสเจอไรเซชั่นแล้ว และเก็บที่อุณหภูมิเย็น

3.2 อัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์โปรไบโอติก พบว่า มีอัตราการรอดชีวิตลดลงในเม็ดบีดส์ ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 3 ของการเก็บ แต่ไม่มีผลแสดงการเจริญของเชื้อในน้ำสับปะรด ซึ่งแสดงว่าเชื้อไม่หลุดออกจากเม็ดบีดส์ ตลอดระยะเวลาการเก็บ โดยอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์เมื่อเก็บที่เวลา 7 วัน ยังคงมีอัตราการรอดชีวิตที่ร้อยละ 100 ในขณะที่มีการเก็บผลิตภัณฑ์ 1 เดือน พบว่ามีอัตราการอดชีวิตของโปรไบโอติกที่ 97.62 เปอร์เซ็นต์ ($6.65 \times 10^{7}$ CFU ต่อเม็ดบีดส์) ซึ่งอยู่ในระดับที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย (กานต์ และรุ่งนภา, 2558)

## สรุปผล

การทำเม็ดบีดส์สับปะรดผสมโปรไบโอติกส์ (Lactofit®, CA) ด้วยเทคนิครีเวิร์สสเฟียริฟิเคชั่น โดยการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำเม็ดบีดส์ ที่สารละลายแคลเซียมแลคเตทเข้มข้น 0.5 กรัม/100 มิลลิลิตร เวลา 10 นาที ทำให้เม็ดบีดส์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 4.70-5.17 มิลลิเมตร และในการศึกษาอุณหภูมิในการแช่สารละลายโซเดียมแอลจิเนตที่เหมาะสม พบว่า ที่

อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ทำให้เม็ดบีดส์มีลักษณะทางกายภาพดีที่สุด ($p \leq 0.05$) และ และเมื่อนำเม็ดบีดส์ไปแช่ในน้ำสับปะรดตั้งไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส 1 เดือน พบว่ามีอัตราการอดชีวิตของโปรไบโอติก 97.62 เปอร์เซ็นต์ ($6.65 \times 10^7$ CFU ต่อเม็ดบีดส์) และไม่มีโปรไบโอติกหลุดออกมาในน้ำสับปะรดตลอดการเก็บรักษา ซึ่งอยู่ในระดับที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย

## คำขอบคุณ

นักวิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) และสำนักงานวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่สนับสนุนงบประมาณในการดำเนินงานวิจัยประจำปี 2564 และขอขอบคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย

## เอกสารอ้างอิง**

กานต์ แย้มพงษ์ และรุ่งนภา สนุ่นดี, 2558, การประยุกต์ใช้การตรึงเซลล์โพรไบโอติกด้วยเทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชั่นในผลิตภัณฑ์น้ำเสาวรส, รายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการ, การประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ครั้งที่ 2 “งานวิจัยเพื่อพัฒนาท้องถิ่น”วันที่ 14 กุมภาพันธ์ 2558, มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์, หน้า 94-102.

Annan, N. T., Borza, A. D. and Hansen, L. T., 2008, Encapsulation in alginate coated gelatin microspheres improves survival of the probiotic *Bifidobacterium adolescentis* 15703T during exposure to simulated gastro intestinal conditions, Food Res. Int., 41: 184-193.

Ding, W. K. and Shah, N. P., 2008, Survival of Free and Microencapsulated Probiotic Bacteria in Orange and Apple Juices, International Food Research Journal, 15(2): 219 -232.

Messaoud, G.B., Sánchez-González, L., Jacquot, A., Probst, L. and Desobry, S., 2015, Alginate/sodium caseinate aqueouscore capsules: A pH-responsive matrix, J. Colloid and Interf. Sci., 440: 1-8.

Pawar, S.N. and Edgar, K.J., 2012, Alginate derivatization: A review of chemistry properties and applications, J. Biomat., 33: 3279-3305.

Sultana, K, Godward, G., Reynolds, N., Arumugaswamy, R., Peiris, P. and Kailasapathy, K., 2000, Encapsulation of probiotic bacteria with alginate-starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt, Int. J. Food Mierobiol., 62: 47-55.

Wichchukit, S., Oztop, M.H., McCarthy, M.J. and McCarthy, K.L., 2013, Whey protein/ alginate beads as carriers of a bioactive component, J. Food Hydrocoll., 33: 66-73.

# การใช้สารให้ความหวานในผลิตภัณฑ์พุดดิ้งเพื่อสุขภาพ
# The Use of Sweetener in Healthy Pudding Products

**วิชชุดา สังข์แก้ว[1] ภัชรี สิทธิกิจโยธิน[1] และสุวโรจน์ อัครพรพิทักษ์[1]**
**Sangkaeo, W.[1], Sittikityothin, P.[1] and Akrawutpornpat, S.[1]**

## Abstract

The objective of this research was to study types of sweetener in pudding products. The sweetener such as 4.5% sucrose, 0.01% sucralose, 0.02% sucralose mixed with acesulfame potassium (1:1) and 3.0% Lou Han Kuo extract. Results showed that the products with sucralose and sucralose mixed with acesulfame potassium and Lou Han Kuo extract had no significant in color including cutting force, firmness and sensory scores of color and texture. Pudding with sucralose showed the highest overall acceptability score and it was chosen for chemical composition analysis, which its products has composed of 84.45% moisture, 5.15% protein, 2.02% fat, 7.56% carbohydrate, 0.38% ash and 84.60 Kcal/100g. The products were kept in the glass bottles with lids at 4±2°C and they were not contaminated of detected total aerobic plate count, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* for 7 days.

**Keywords:** pudding, sweetener, sucralose, acesulfame potassium, Lou Han Kuo extract

## บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาการใช้สารทดแทนความหวานในผลิตภัณฑ์พุดดิ้ง สารให้ความหวานที่ใช้ ได้แก่ น้ำตาลซูโครสร้อยละ 4.5 ซูคราโลสร้อยละ 0.01 ซูคราโลสผสมอะซีซัลเฟม-โพแทสเซียม ในอัตราส่วน 1:1 ร้อยละ 0.02 และสารสกัดหล่อฮั่งก๊วยร้อยละ 3.0 ผลการทดลองพบว่าพุดดิ้งสูตรที่ใช้ซูคราโลสสูตรที่ใช้ซูคราโลสผสมกับอะซีซัลเฟม-โพแทสเซียม และสูตรที่ใช้หล่อฮั่งก๊วย มีค่า cutting force, Firmness และคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านสี และเนื้อสัมผัสไม่แตกต่างกัน โดยพบว่าสูตรที่ใช้ซูคราโลส มีคะแนนการยอมรับโดยรวมสูงที่สุด ดังนั้นจึงเลือกพุดดิ้งสูตรที่ใช้ซูคราโลส ไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี พบว่ามีความชื้นร้อยละ 84.45 โปรตีนร้อยละ 5.15 ไขมันร้อยละ 2.02 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 7.56 เถ้าร้อยละ 0.38 และมีค่าพลังงานเท่ากับ 84.60 กิโลแคลอรีต่อ 100 กรัม เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์ในขวดแก้วมีฝาปิด เก็บที่ 4±2 องศาเซลเซียส 7 วัน ตรวจไม่พบจุลินทรีย์ทั้งหมด *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli.*

**คำสำคัญ:** พุดดิ้ง สารให้ความหวาน ซูคราโลส อะซีซัลเฟม-โพแทสเซียม สารสกัดหล่อฮั่งก๊วย

## คำนำ

พุดดิ้งเป็นขนมหวานที่มีลักษณะคล้ายสังขยา (custard) มีส่วนผสมของ นม น้ำตาล น้ำมันพืชหรือเนยอาจเติมส่วนประกอบอื่นเพื่อปรุงแต่งกลิ่นรส เช่น วานิลลา (ประกอบ, 2555) ปัจจุบันผู้บริโภคสนใจการบริโภคอาหารเพื่อสุขภาพกันมากขึ้น อาหารประเภทขนมหวานซึ่งมีส่วนผสมของน้ำตาลซึ่งจะให้รสหวานและมีพลังงานสูง แต่ส่งผลให้เกิดโรคต่างๆ เช่นโรคอ้วน โรคเบาหวาน ดังนั้นการนำสารให้ความหวานชนิดต่างๆ มาทดแทนน้ำตาลในสูตรขนมหวานอาจเป็นทางเลือกให้ผู้บริโภคมากขึ้น โดยสารให้ความหวานที่นำมาใช้ทดแทนน้ำตาลมีทั้งชนิดที่มาจากการสังเคราะห์และชนิดที่มาจากธรรมชาติ ซูคราโลส (sucralose) และ อะซีซัลเฟม-โพแทสเซียม (acesulfame potassium) เป็นสารให้ความหวานที่มาจากการสังเคราะห์ ปัจจุบันมีการนำมาใช้ทดแทนน้ำตาลซูโครส โดยซูคราโลสมีความหวาน 600 เท่าของซูโครส และอะซีซัลเฟม-โพแทสเซียม มีความหวานเป็น 200 เท่าของซูโครส (พิมพ์เพ็ญและนิธิยา, 2563) ทั้งซูคราโลสและอะซีซัลเฟม-โพแทสเซียม เป็นสารให้ความหวานที่ไม่ให้พลังงาน จึงสามารถใช้ทดแทนน้ำตาลเพื่อควบคุมพลังงานที่จะได้รับโดยไม่มีผลต่อระดับน้ำตาลในเลือด แต่การใช้สารให้ความหวานกลุ่มนี้ต้องใช้ในระดับที่สามารถรับประทานได้อย่างปลอดภัยโดยไม่เกิดอันตรายต่อร่างกาย ( วรรณคล, 2551) สารสกัดจากผลหล่อฮั่งก๊วย (Luo Han Kuo extract) เป็นสารให้ความหวานที่มาจากธรรมชาติ มีสารเฉพาะที่เรียกว่า Mogrosides ซึ่งเป็นสาร triterpene glucoside มีความหวานมากกว่าซูโครส 250 เท่า (พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา, 2563) สาร Mogrosides ในหล่อฮั่งก๊วยช่วยเร่งปฏิกิริยาการเผาผลาญไขมันในร่างกายโดยไม่มีผลกระทบต่อระดับการผลิตอินซูลิน (วิกิพีเดีย, 2563) หล่อฮั่งก๊วย จึงจัดเป็นสมุนไพรที่ให้

[1]คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย 126/1 ถนนวิภาวดีรังสิต ดินแดง กรุงเทพฯ 10400
[1]School of Science and Technology , University of the Thai Chamber of Commerce, 126/1 Vibhavadee-rangsit Road, Dindaeng, Bangkok 10400

ความหวานที่น่าสนใจที่จะนำมาใช้ทดแทนน้ำตาล เพื่อผลิตอาหารเพื่อสุขภาพ มีการศึกษาการใช้ซูคราโลสเป็นสารให้ความหวานในผลิตภัณฑ์วาฟเฟิลเสริมผงซังข้าวโพด (ยงยุทธ์ และคณะ, 2563) การใช้สารสกัดจากผลหล่ออั่งก๊วยแทนน้ำตาลมะพร้าวในผลิตภัณฑ์วุ้นน้ำนมข้าวยาคู (นิศารัตน์ และปรัศนีย์, 2556) พบว่าผลการวิจัยทั้ง 3 งานวิจัย ผลิตภัณฑ์ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคระดับปานกลางถึงดี ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการใช้สารให้ความหวานชนิดต่างๆ ในสูตรพุดดิ้งเพื่อสุขภาพ ศึกษาองค์ประกอบทางเคมี การทดสอบทางกายภาพ การยอมรับทางประสาทสัมผัสและศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์

## อุปกรณ์และวิธีการ

งานวิจัยนี้ใช้สูตรพุดดิ้งที่พัฒนามาจากสูตรทำเต้าฮวยนมสดผสมวุ้นน้ำมะพร้าว (เสาวนีย์, 2556) ศึกษาการใช้สารให้ความหวานในผลิตภัณฑ์พุดดิ้ง สารให้ความหวานที่เลือกมาศึกษาคือ น้ำตาลซูโครส ซูคราโลส สารสกัดจากผลหล่อฮั่งก๊วย และซูคราโลสผสมอะซีซัลเฟม-โพแทสเซียม จากการศึกษาเบื้องต้นโดยมีการใช้สารให้ความหวานทั้ง 4 ชนิดในพุดดิ้ง นำผลที่ได้มากำหนดสูตรพุดดิ้งทั้งหมด 4 สูตร คือสูตรที่ 1 ใช้ซูโครส ร้อยละ 4.5 สูตรที่ 2 ใช้ซูคราโลส ร้อยละ 0.01 สูตรที่ 3 ใช้ซูคราโลสและอะซีซัลเฟม-โพแทสเซียม อัตราส่วน 1:1 ร้อยละ 0.02 และสูตรที่ 4 ใช้สารสกัดหล่อฮั่งก๊วย ร้อยละ 3.0 โดยน้ำหนักสูตร ซึ่งมีส่วนผสมดังแสดงใน Table 1 หลังจากแช่พุดดิ้งในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง พุดดิ้งเซ็ตตัวแล้ว นำมาประเมินเนื้อสัมผัสโดยวัดค่า Cutting force และค่า Firmness โดยใช้เครื่อง Texturometer LLOYD Instrument Model รุ่น LR.X ประเมินค่าสีโดยใช้เครื่อง Hunter Lab Mini Scan EZ Hand-Held Spectrophotometer นำผลมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม IBM SPSS version 27 วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan’s New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญร้อยละ 95 โดยทดลอง 2 ซ้ำประเมินผลทางประสาทสัมผัส โดยวิธี 9-point hedonic scale ในด้าน สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม ใช้ผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝน จำนวน 30 คน นำผลมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม IBM SPSS version 27 วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ DMRT นำพุดดิ้งสูตรที่ได้รับการยอมรับทางประสาทสัมผัสสูงที่สุด ไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ซึ่งประกอบด้วย ความชื้น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เถ้าและค่าพลังงาน ตามวิธีของ AOAC (2020) และศึกษาอายุการเก็บรักษาโดยนำผลิตภัณฑ์พุดดิ้งมาบรรจุในขวดแก้ว พร้อมฝาปิด ไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่างมาตรวจปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ในวันที่ 1 5 และ 7

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการประเมินทางกายภาพโดยการวัดค่าสีของพุดดิ้ง ทั้ง 4 สูตร แสดงใน Table 2 พบว่า พุดดิ้งสูตรที่ใช้ซูคราโลสและสูตรที่ใช้ซูคราโลสผสมกับอะซีซัลเฟม-โพแทสเซียม มีค่าความสว่างสูงกว่าสูตรที่ใช้ซูโครสและสูตรที่ใช้สารสกัดหล่ออั่งก๊วยอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารสกัดหล่อฮั่งก๊วยมีลักษณะเป็นผงละเอียดสีน้ำตาลอ่อน มีสีที่เข้มกกว่าใช้ซูคราโลสและสูตรที่ใช้ซูคราโลสผสมกับอะซีซัลเฟม-โพแทสเซียมซึ่งมีสีขาว ประกอบกับจากการทดลองเบื้องต้นพบว่าปริมาณหล่อฮั้งก๊วยที่ใช้เพื่อให้ผู้บริโภคยอมรับต้องใช้ในปริมาณที่สูงกว่า จึงส่งผลให้พุดดิ้งสูตรที่ใช้หล่อฮั่งก๊วยมีความสว่างต่ำสำหรับสูตรอื่น สำหรับสูตรที่ใช้ซูโครสอาจเนื่องมาจากความร้อนระหว่างการอุ่นส่วนผสมส่งผลให้ซูโครสเกิดปฏิกิริยาคาราเมลจึงส่งผลให้พุดดิ้งมีค่าความสว่างต่ำเช่นกัน ในด้านเนื้อสัมผัสพบว่าสูตรที่ใช้ซูโครส มีค่า cutting force และค่า Firmness สูงกว่าสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเกิดปฏิกิริยาคาราเมลทำให้เนื้อสัมผัสของพุดดิ้งมีความแน่นมากขึ้นจึงส่งผลต่อค่า cutting force และค่า Firmness ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่าพุดดิ้งสูตรที่ใช้ซูคราโลสสูตรที่ใช้ซูคราโลสผสมกับอะซีซัลเฟม-โพแทสเซียม และสูตรที่ใช้หล่อฮั่งก๊วย มีค่า cutting force, Firmness และคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านสี และเนื้อสัมผัสไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) ทั้งนี้พบว่าการใช้สารให้ความหวานชนิดจากธรรมชาติและชนิดสังเคราะห์ให้ผลการทดลองด้านประสาทสัมผัสบางด้านที่ไม่แตกต่างกัน การเลือกใช้สารสกัดจากหล่อฮั่งก๊วยจึงเป็นทางเลือกที่น่าสนใจในการนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์พุดดิ้งหรือขนมหวาน จากการทดลองสูตรที่ใช้ซูคราโลสมีคะแนนการยอมรับโดยรวมสูงกว่าสูตรอื่น ดังนั้นจึงเลือกพุดดิ้งสูตรที่ใช้ซูคราโลสไปวิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร พบว่าผลิตภัณฑ์มีความชื้นร้อยละ 84.45 โปรตีนร้อยละ 5.15 ไขมันร้อยละ 2.02 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 7.56 เถ้าร้อยละ 0.38 และมีค่าพลังงานเท่ากับ 84.60 กิโลแคลอรีต่อ 100 กรัมตัวอย่าง เมื่อนำผลิตภัณฑ์ไปศึกษาอายุการเก็บโดยบรรจุในขวดแก้วมีฝาปิด เก็บที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน พบว่าตรวจไม่พบปริมาณของจุลินทรีย์ทั้งหมด *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ตลอดอายุการเก็บรักษา (ไม่ได้แสดงตาราง)

**สรุปผลการทดลอง**

การศึกษาการใช้สารให้ความหวาน 4 ชนิดในผลิตภัณฑ์พุดดิ้ง พบว่าพุดดิ้งที่ใช้สารให้ความหวานทั้ง 3 ชนิดทดแทนน้ำตาล มีค่า Cutting Force และ Firmness คะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้าน สี ลักษณะเนื้อสัมผัส ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นจากการทดลองจึงสรุปได้ว่าสารสกัดจากหล่อฮั่งก๊วยซึ่งเป็นสารให้ความหวานจากธรรมชาติเป็นทางเลือกหนึ่งสำหรับการนำมาใช้ทดแทนน้ำตาลในสูตรพุดดิ้งได้ ซึ่งจะส่งผลดีต่อผู้บริโภคเนื่องจากเป็นสารให้ความหวานจากธรรมชาติ

**Table 1** Recipes of healthy pudding with the usage of sweeteners.

| Formulas | Ingredients (g) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Free Fat Milk | Egg | Gelatin | Vanilla | Sweetener | Total |
| Formula 1 (Sucrose 4.5%) | 64.28 | 29.26 | 1.25 | 0.71 | 4.50 | 100 |
| Formula 2 (Sucralose 0.01%) | 68.77 | 29.26 | 1.25 | 0.71 | 0.01 | 100 |
| Formula 3 (Sucralose : Ace-K 0.02%) | 68.76 | 29.26 | 1.25 | 0.71 | 0.02 | 100 |
| Formula 4 (Monk fruit extract 3.0%) | 65.07 | 29.26 | 1.25 | 0.71 | 3.00 | 100 |

**Table 2** Texture and color of healthy pudding with the usage of sweeteners.

| Formula | L* | a* | b* | Cutting Force (N) | Firmness (N/mm) |
|---|---|---|---|---|---|
| Formula 1 (Sucrose 4.5%) | $62.48^{b}\pm0.32$ | $2.50^{c}\pm0.23$ | $20.11^{b}\pm0.27$ | $47.07^{a}\pm9.38$ | $12.08^{a}\pm1.20$ |
| Formula 2 (Sucralose 0.01%) | $65.28^{a}\pm0.18$ | $3.41^{a}\pm0.13$ | $20.69^{a}\pm0.23$ | $26.18^{b}\pm1.61$ | $6.99^{b}\pm0.76$ |
| Formula 3(Sucralose : Ace-K 0.02%) | $65.58^{a}\pm1.17$ | $3.29^{ab}\pm0.22$ | $19.35^{c}\pm0.25$ | $24.51^{b}\pm12.61$ | $8.72^{b}\pm4.57$ |
| Formula 4 (Monk fruit extract 3.0%) | $63.34^{b}\pm0.18$ | $2.99^{b}\pm0.05$ | $19.23^{c}\pm0.36$ | $29.67^{b}\pm16.48$ | $5.95^{b}\pm1.14$ |

Means of the same column with different superscripts indicate significant difference ($P \leq 0.05$).

**Table 3** Sensory evaluation of healthy pudding with the usage of sweeteners.

| Formula | $Color^{ns}$ | Odor | Taste | Texture | Overall accepability |
|---|---|---|---|---|---|
| **Formula 1 (Sucrose 4.5%)** | $6.05\pm1.32$ | $5.10^{ab}\pm1.55$ | $5.75^{a}\pm2.12$ | $6.45^{a}\pm1.99$ | $6.05^{a}\pm1.84$ |
| **Formula 2 (Sucralose 0.01%)** | $6.15\pm1.46$ | $5.70^{a}\pm1.69$ | $6.45^{a}\pm2.01$ | $6.25^{ab}\pm2.02$ | $6.40^{a}\pm1.64$ |
| **Formula 3(Sucralose : Ace-K 0.02%)** | $5.75\pm1.37$ | $5.35^{ab}\pm1.35$ | $5.40^{ab}\pm2.11$ | $6.35^{ab}\pm1.84$ | $5.70^{ab}\pm1.78$ |
| **Formula 4 (Monk fruit extract 3.0%)** | $5.85\pm1.50$ | $4.95^{b}\pm1.36$ | $4.50^{b}\pm2.09$ | $5.45^{b}\pm1.43$ | $4.85^{b}\pm1.76$ |

Means of the same column with different superscripts indicate significant difference ($P \leq 0.05$).
ns = not significantly differences ($P>0.05$)

**Table 4** Chemical composition of healthy pudding with sucralose.

| **Chemical composition (%)** | |
|---|---|
| Moisture | 84.45 |
| Protein | 5.15 |
| Fat | 2.02 |
| Carbohydrate | 7.56 |
| Ash | 0.38 |
| Calories (Kcal/100g) | 84.60 |

## เอกสารอ้างอิง

นิศารัตน์ สุขเอมและปรัศนีย์ ทับใบแย้ม, 2556, การใช้หล่อฮั๊งก๊วยแทนน้ำตาลมะพร้าวในผลิตภัณฑ์วุ้นน้ำนมข้าวยาคู, รายงานการวิจัย คณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร กรุงเทพฯ, 68 หน้า.

ประกอบ คุปรัตน์, 2555, มารู้จักขนมพุดดิ้ง (pudding) [สืบค้น], htpp://pracob.blogspot.com/2012/04/pudding.html [4 ธันวาคม 2563].

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์, 2563, ซูคราโลส [สืบค้น], http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1548/sucralose [4 ธันวาคม 2563].

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์, 2563, อะซีซัลเฟม-โพแทสเซียม [สืบค้น], http://www.foodnetworksolution.com/http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/4361/acesulfame-potassium [4 ธันวาคม 2563].

วรรณคล เชื้อมงคล, 2551, สารให้ความหวาน : การใช้และความปลอดภัย, วารสารไทยเภสัชศาสตร์และวิทยาศาสตร์สุขภาพ [สืบค้น], http://ejournals.swu.ac.th/index.php/pharm/index. [4 ธันวาคม 2563].

วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี, 2563, หล่อฮั่งก๊วย [สืบค้น], https://th.wikipedia.org/wiki/หล่อฮังก๊วย. [4 ธันวาคม 2563].

ยงยุทธ์ ลีสง่า กมลวรรณ รองเดช มาลีณา ยีดา และสุรีย์พร กังสนันท์, 2563, การใช้ซูคราโลสเป็นสารให้ความหวานในผลิตภัณฑ์วาฟเฟิลเสริมผงซังข้าวโพด, การประชุมวิชาการระดับชาติ ด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเครือข่ายสถาบันอุดมศึกษาภาคใต้ ครั้งที่ 5, 163-174.

เสาวนีย์ เอี้ยวสกุลรัตน์, 2556, การผลิตเต้าฮวยนมสดผสมวุ้นน้ำมะพร้าวเพื่อสุขภาพและการยอมรับของผู้บริโภค, วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 44(2) (ฉบับพิเศษ) : 429-432.

# การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพด
# Efficacy of *Metarhizium anisopliae* to Control Fall Armyworm (*Spodoptera frugiperda* JE Smith) in Corn

**เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์[1] ภัททิรา ศาตร์วงษ์[1] และพฤทธิชาติ ปุญวัฒโท[1]**
**Popoonsak, S.[1], Sartwong, P.[1] and Punyawattoe, P.[1]**

## Abstract

The Efficacy of three isolates of *Metarhizium anisopliae* to control fall armyworm was tested. The research was conducted during November 2019-February 2020. The objective was to isolate the *M. anisopliae* and evaluate its efficacy against fall armyworm in corn. CRD design was applied with 4 treatments and 4 replicates for laboratory test. Three tested isolates of *M. anisopliae* were DOA M8, DOA M146 and DOA M152. The results indicated that DOA M8 showed the highest infection percentage (65.91%) on the larvae. Two isolated fields were performed to evaluate DOA M8 efficacy (600 g/10 L of water) and 4 times application compared with untreated control. Infestation percentage of fall armyworm was compared using Pair t-test. It was found the infestation percentage of the sample sprayed with DOA M8 was statistically lower compared with the control sample in those 2 fields.

**Keywords:** *Metarhizium anisopliae*, fall armyworm, corn

## บทคัดย่อ

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* 3 สายพันธุ์ ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพด ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2562 ถึง กุมภาพันธ์ 2563 มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพและนำมาทดสอบในสภาพไร่ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพด ผลการศึกษาในห้องปฏิบัติการที่วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ 4 กรรมวิธี โดยใช้เชื้อรา *M. anisopliae* จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ DOA M8, DOA M146 และ DOA M152 พบว่า สายพันธุ์ DOA M8 มีเปอร์เซ็นต์ในการก่อโรคในหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดสูงสุดเฉลี่ย 65.91 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำมาทดสอบในสภาพไร่ จำนวน 2 แปลงทดลอง เพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความเสียหายของข้าวโพดระหว่างการพ่นด้วยสายพันธุ์ DOA M8 อัตรา 600 กรัม ต่อน้ำ 10 ลิตร จำนวน 4 ครั้ง เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร โดยค่าเฉลี่ยของประชากร 2 กลุ่มสัมพันธ์กัน (Pair t-test) พบว่า เปอร์เซ็นต์ความเสียหายของแปลงที่พ่นด้วยสายพันธุ์ DOA M8 น้อยกว่าแปลงที่ไม่พ่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้ง 2 แปลงทดลอง

**คำสำคัญ:** เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด ข้าวโพด

## คำนำ

หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด (fall armyworm; *Spodoptera frugiperda* JE Smith) เป็นศัตรูสำคัญของข้าวโพดในทุกระยะการเจริญเติบโต พบการระบาดในพื้นที่เขตร้อนและกึ่งเขตร้อนของทวีปอเมริกา โดยในกรณีที่ระบาดรุนแรงจะทำให้ผลผลิตเสียหายมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ (Prasanna และคณะ, 2018) ในปี พ.ศ. 2561 ประเทศไทยได้รับการแจ้งเตือนจาก FAO ว่าหนอนชนิดนี้ได้เข้ามาระบาดในทวีปเอเชีย และมีโอกาสเข้ามาระบาดในประเทศไทย และพบการระบาดครั้งแรกเมื่อวันที่ 14 ธันวาคม 2561 ในจังหวัดกาญจนบุรี และตาก (FAO, 2019) และกระจายอย่างรวดเร็วในทุกภาคของประเทศไทย ในปี พ.ศ. 2562 มีรายงานการระบาดมากกว่า 3 แสนไร่ (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2562) เพื่อป้องกันความเสียหายที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วและรุนแรง การใช้สารเคมีจึงเป็นวิธีการที่เกษตรกรส่วนใหญ่เลือกใช้ในการป้องกันกำจัด อย่างไรก็ตามวิธีการดังกล่าวก่อให้เกิดผลกระทบตามมามากมายทั้งต่อผู้ปฏิบัติงาน ผู้บริโภคและการตกค้างในสิ่งแวดล้อม จากการศึกษาและเก็บตัวอย่างเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม (*Metarhizium anisopliae*) พบว่ามีเชื้อราเขียว 3 สายพันธุ์ที่มีความเป็นไปได้ในการนำมาประยุกต์ใช้ในการป้องกันกำจัด

[1] กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร 50 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
[1] Entomology and Zoology Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture, 50 Phaholyothin Road, Ladyao, Chatuchak, Bangkok, 10900

หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด (เสาวนิตย์ และคณะ, 2553) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพเพื่อใช้เป็นคำแนะนำอย่างเป็นทางการให้กับเกษตรกร เจ้าหน้าที่ผู้เกี่ยวข้องทั้งภาครัฐและเอกชน เพื่อนำมาใช้ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดอย่างยั่งยืนต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

**ขั้นตอนที่ 1 การทดสอบในห้องปฏิบัติการ**

คัดเลือกเชื้อรา 3 สายพันธุ์ ได้แก่ DOA M8, DOA M146 และ DOA M152 ปรับความเข้มข้นสปอร์ทุกสายพันธุ์ให้เท่ากันที่ $1.0 \times 10^8$ โคนิเดีย/มิลลิลิตร วางแผนการทดลอง แบบ CRD 4 ซ้ำ 4 กรรมวิธี ได้แก่ กรรมวิธีที่ 1 พ่นด้วยสายพันธุ์ DOA M8 กรรมวิธีที่ 2 พ่นด้วยสายพันธุ์ DOA M146 กรรมวิธีที่ 3 พ่นด้วยสายพันธุ์ DOA M152 และกรรมวิธีที่ 4 กรรมวิธีควบคุม พ่นด้วยน้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อ ทำการพ่นสารแขวนลอยสปอร์ตามกรรมวิธีลงบนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด จากนั้นย้ายหนอนที่ผ่านการพ่นเชื้อแล้ว แยกใส่ถ้วยพลาสติกที่มีอาหารเทียมถ้วยละ 1 ตัว ใช้หนอนจำนวน 40 ตัว/กรรมวิธี (ทั้งหมด 160 ตัว/การทดลอง) บันทึกการติดเชื้อของหนอนทุก 24 ชั่วโมง (เสาวนิตย์ และคณะ, 2553; เสาวนิตย์ และคณะ, 2554)

**ขั้นตอนที่ 2 การทดสอบในสภาพไร่**

เลือกสายพันธุ์ที่มีการก่อให้เกิดโรคสูงสุดจำนวน 1 สายพันธุ์ มาทำการศึกษาประสิทธิภาพในสภาพไร่ จำนวน 2 แปลงทดสอบ โดยเลือกแปลงปลูกข้าวโพดหวานที่มีการระบาดสม่ำเสมอและมีพื้นที่อย่างน้อย 3 ไร่ ในแต่ละแปลงทดสอบจะแบ่งย่อยเป็น 2 แปลง ๆ ละ 1 ไร่ แบ่งเป็นกรรมวิธีที่ 1 พ่นเชื้อสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้จากขั้นตอนที่ 1 อัตรา 600 กรัม ต่อน้ำ 10 ลิตร ด้วยเครื่องพ่นสารแบบเครื่องยนต์สะพายหลังทุก 4 วัน ติดต่อกัน 4 ครั้ง และกรรมวิธีที่ 2 แปลงที่ไม่พ่นเชื้อรา จำนวน 1 แปลง ก่อนและหลังการพ่นเชื้อราทำการสุ่มตรวจนับจากข้าวโพดจำนวน 150 ต้น/แปลง (10 จุด ๆ ละ 15 ต้น) ให้คะแนนระดับการทำลายอ้างอิงจาก Davis scale (Davis และ Williams, 1992) จากนั้นนำระดับการทำลายที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การทำลาย โดยใช้สูตรของ Townsend-Heuberger (1943) นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยใช้สถิติทดสอบค่าเฉลี่ยของประชากร 2 กลุ่มสัมพันธ์กัน (Pair t-test)

## ผลการทดลอง

**การทดสอบในห้องปฏิบัติการ**

สายพันธุ์ DOA M8 มีประสิทธิภาพในการก่อให้เกิดโรคสูงสุดเฉลี่ย 65.91 เปอร์เซ็นต์ สำหรับสายพันธุ์ DOA M146 และ DOA M152 พบการก่อให้เกิดโรคต่ำมากเฉลี่ย 3.03 และ 7.94 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (**Table 1**) ดังนั้นจึงเลือกสายพันธุ์ DOA M8 มาทำการศึกษาประสิทธิภาพต่อในสภาพไร่

**การทดสอบในสภาพไร่**

**แปลงที่ 1 แปลงข้าวโพด อ. เมือง จ. กาญจนบุรี**

ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความเสียหายของใบข้าวโพดก่อนพ่นสารและหลังพ่นสารครั้งที่ 1 ในแปลงพ่นเชื้อราและแปลงไม่พ่นเชื้อรา ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในแต่ละกรรมวิธี โดยพบความเสียหายก่อนพ่นสารอยู่ระหว่าง 17.38±2.28 - 22.37±2.32 เปอร์เซ็นต์ และหลังพ่นสารครั้งที่ 1 อยู่ระหว่าง 14.67±2.25 - 15.63±2.30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่หลังจากการพ่นสารครั้งที่ 2-4 พบค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความเสียหายจากการพ่นด้วยสายพันธุ์ DOA M8 น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร โดยหลังพ่นครั้งที่ 2-4 การพ่นด้วยสายพันธุ์ DOA M8 พบความเสียหายอยู่ระหว่าง 12.15±2.12 – 19.18±2.62 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรรมวิธีไม่พ่นสารพบความเสียหายอยู่ระหว่าง 21.33±2.52 – 27.18±2.24 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (**Table 2**)

**แปลงที่ 2 แปลงข้าวโพด อ. ท่ามะกา จ. กาญจนบุรี**

ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความเสียหายของใบข้าวโพดก่อนพ่นสารไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในแต่ละกรรมวิธี โดยพบความเสียหายก่อนพ่นสารอยู่ระหว่าง 51.18±2.40 - 51.55±2.66 เปอร์เซ็นต์ แต่หลังจากการพ่นสารครั้งที่ 1-4 พบค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความเสียหายจากการพ่นด้วยสายพันธุ์ DOA M8 น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร โดยหลังพ่นครั้งที่ 1-4 การพ่นด้วยสายพันธุ์ DOA M8 พบความเสียหายอยู่ระหว่าง 26.22±2.94 – 57.40±3.32 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรรมวิธีไม่พ่นสารพบความเสียหายอยู่ระหว่าง 41.92±3.93 – 64.81±2.88 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (**Table 3**)

จากผลการทดลองในห้องปฏิบัติการ พบว่าเปอร์เซ็นต์การก่อให้เกิดโรคอยู่ระหว่าง 3.03-65.91 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Romero-Arenas และคณะ (2014) ที่ทดสอบเชื้อราเขียวสายพันธุ์ต่าง ๆ ในเม็กซิโกในหลายระดับความเข้มข้นพบเปอร์เซ็นต์การก่อให้เกิดโรคสูงสุดในหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดที่ 72.50 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับ Ramanujam

และคณะ (2020) ที่ทำการทดสอบในประเทศอินเดียและพบการก่อให้เกิดโรคสูงสุดจาก *M. anisopliae* สายพันธุ์ ICAR-NBAIR Ma-35 ที่ 67.8 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้เมื่อนำมาทดสอบในสภาพไร่ พบว่าการพ่น *M. anisopliae* สามารถช่วยลดความเสียหายได้มากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับการทดสอบของ Ramanujam และคณะ (2020) ที่พบว่าการพ่น *M. anisopliae* สายพันธุ์ ICAR-NBAIR Ma-35 อัตรา 5 กรัม/ลิตร (1 × $10^8$ cfu/g) จำนวน 3 ครั้ง สามารถลดความเสียหายจากการเข้าทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้มากกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับก่อนพ่นสาร อย่างไรก็ตามเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดควรมีการศึกษาเรื่องเทคนิคการพ่นที่เหมาะสม รวมถึงการพัฒนาสูตรเพื่อให้ทนต่อสภาพแวดล้อมต่อไป

## สรุปผล

เชื้อรา *M. anisopliae* สายพันธุ์ DOA M8 มีประสิทธิภาพในการก่อโรคในหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดสูงสุดเฉลี่ย 65.91 เปอร์เซ็นต์ ในห้องปฏิบัติการ และเมื่อนำมาทดสอบในสภาพไร่ที่อัตรา 600 กรัม ต่อน้ำ 10 ลิตร พ่นจำนวน 4 ครั้ง พบว่าช่วยลดเปอร์เซ็นต์ความเสียหายของข้าวโพดจากการเข้าทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้ จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการป้องกันกำจัด โดยอาจสลับกับสารเคมีหรือสารชีวภัณฑ์ชนิดอื่น ๆ

## คำขอบคุณ

ผู้วิจัยขอขอบคุณกรมวิชาการเกษตรในการสนับสนุนทุนการวิจัยภายใต้โครงการวิจัยและพัฒนาวิธีการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดแบบบูรณาการ

## เอกสารอ้างอิง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2562, หนอนกระทู้, สืบค้น 6 เมษายน 2563, จาก https://www.moac.go.th/news-preview-411391791563

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ เกรียงไกร จำเริญมา และสาทิพย์ มาลี, 2553, การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae*. หน้า 842-853, ใน: รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553 เล่ม 2 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, เอกสารวิชาการลำดับที่ 1/2554 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ อิศเรส เทียนทัด วิไลวรรณ เวชยันต์ และยุทธนา แสงโชติ, 2554, ศึกษาอัตราการใช้เชื้อราเขียว *M. anisopliae* (Metsch) Sorokin ในการควบคุมหนอนด้วงแรดมะพร้าว, หน้า 2104-2113, ใน: รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2554 เล่ม 4, สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เอกสารวิชาการ ลำดับที่ 1/2555 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

Davis, F.M. and Williams, W.P., 1992, Visual Rating Scales for Screening Whorl-stage Corn for Resistance to Fall Armyworm, Mississippi Agricultural and Forestry Experiment Station, Technical Bulletin 186, Mississippi State University, MS39762, USA.

FAO, 2019, First detection of Fall Armyworm on the Border of Thailand, Available source: https://www.ippc.int/en/countries/thailand/pestreports/2018/12/first-detection-of-fall-armyworm-on-the-border-of-thailand/, January 25, 2019.

Prasanna, B., Huesing, J., Eddy, R., and Peschke, V., 2018, Fall Armyworm in Africa: A Guide for Integrated Pest Management, CDMX: CIMMYT.

Ramanujam, B., Poornesha, B., and Shylesha, A.N., 2020, Effect of Entomopathogenic Fungi Against Invasive Pest, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) in Maize, Egyptian Journal of Biological Pest Control, 30: 100.

Romero-Arenas, O., Rivera, A., Aragon, A., Parraguirre, C., Cabrera, E. and Lopez, F., 2014, Mortality Evaluation of Armyworm (*Spodoptera frugiperda* J. E. Smith) by using *Metarhizium anisopliae In Vitro*, Journal of Pure and Applied Microbiology, 8: 59-67.

Townsend, G.R. and Heuberger, J.W, 1943, Methods for Estimating Losses Caused by Diseases in Fungicide Experiments, The Plant Disease Reporter, 27: 340-343.

**Table 1** The efficacy of *Metarhizium anisopliae* on fall armyworm larvae in laboratory condition.

| Treatment | Number of tested larvae | No. of Infected larvae (1st test) | % Infected larvae | No. of Infected larvae (2nd test) | % Infected larvae | Average (%) of Infected larvae |
|---|---|---|---|---|---|---|
| T1 = DOA M8 | 40 | 11 | 37.93 | 34 | 91.89 | 65.91 |
| T2 = DOA M146 | 40 | 0 | 0 | 2 | 6.06 | 3.03 |
| T3 = DOA M152 | 40 | 2 | 10 | 2 | 5.88 | 7.94 |
| T4 = Untreated control | 40 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

**Table 2** Mean number of infested corn (Mean±SEM) and statistical analysis (1st trial).

| Treatment | Mean number of infested corn | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Before application | After 1st application | After 2nd application | After 3rd application | After 4th application |
| T1 = DOA M8 | 17.38±2.28[1/] | 14.67±2.25 | 12.15±2.12 | 16.00±2.27 | 19.18±2.62 |
| T2 = Untreated control | 22.37±2.32 | 15.63±2.30 | 21.33±2.52 | 24.74±2.72 | 27.18±2.14 |
| *p* value | 0.07 | 0.37 | 0.002** | 0.007** | 0.007** |

[1/] Values in the same column followed no symbol are not significantly different at the 0.05 level, according to Student’s t-test. *$p$ < 0.05; **$p$ < 0.01

**Table 3** Mean number of infested corn (Mean±SEM) and statistical analysis (2nd trial).

| Treatment | Mean number of infested corn | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Before application | After 1st application | After 2nd application | After 3rd application | After 4th application |
| T1 = DOA M8 | 51.55±2.66 | 57.40±3.32 | 55.11±3.63 | 50.00±3.91 | 26.22±2.94 |
| T2 = Untreated control | 51.18±2.40 | 64.81±2.88 | 62.88±3.29 | 61.48±3.54 | 41.92±3.93 |
| *p* value | 0.45 | 0.04* | 0.04* | 0.01* | 0.001** |

[1/] Values in the same column followed no symbol are not significantly different at the 0.05 level, according to Student’s t-test. *$p$ < 0.05; **$p$ < 0.01

# ผลของการใช้น้ำตาลไอโซมอลทูโลสในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเสริมพลังงาน ต่อลักษณะทางเคมีกายภาพ ประสาทสัมผัส และการปลดปล่อยน้ำตาลด้วยการจำลองการย่อยในหลอดทดลอง

# Effect of Isomaltulose in Energy Drink Products on Physicochemical and Sensory Characteristic and Sugar Releasing by *In Vitro* Digestion

**พิมพ์รวี กุสสลานุภาพ[1] สุภัทร์ ไชยกุล[1] และอลิสา นานา[2]**
**Kusslanupap, P.[1], Chaiyakul, S.[1] and Nana, A.[2]**

## Abstract

This research aims to study the effect of blending isomaltulose with glucose and fructose in energy drink on sugar releasing pattern by *in vitro* digestion. The sugar ratio (isomaltulose/fructose/glucose) in energy drink which contain 40-55% isomaltulose, 5-20% fructose, and 40-50% glucose did not show the significant different between formula on physicochemical properties and sensory evaluation, and also similar dialyzable glucose ratio pattern, starting from 0 min to 30 min at its peak. Afterward, it tended to decrease and continued stable release level from 60-120 min. The HPLC-RI result showed that isomaltulose was still available until 120 min after *in vitro* digestion. This can imply that mixing isomaltulose with glucose and fructose might prolong energy release to the body.

**Keywords:** Isomaltulose, Energy products, *In vitro* digestion, Prolong energy

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้น้ำตาลไอโซมอลทูโลสผสมกับกลูโคสและฟรักโทสในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเสริมพลังงาน ต่อรูปแบบการปลดปล่อยน้ำตาลจากการจำลองการย่อยในหลอดทดลอง การใช้อัตราส่วนน้ำตาล (ไอโซมอลทูโลส/ฟรักโทส/กลูโคส) ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม ที่มีช่วงน้ำตาลไอโซมอลทูโลสร้อยละ 40-55 ฟรักโทสร้อยละ 5-20 กลูโคสร้อยละ 40-50 ในสูตร พบว่าลักษณะทางเคมีกายภาพและประสาทสัมผัสมีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ รวมทั้งผล dialyzable glucose ratio มีผลไปในทางเดียวกัน คือ เริ่มปลดปล่อยน้ำตาลตั้งแต่นาทีที่ 0 และสูงสุดที่นาทีที่ 30 หลังจากนั้นค่อยๆปลดปล่อยน้ำตาลลดลงแต่ยังคงปลดปล่อยอย่างคงที่และต่อเนื่องตั้งแต่นาทีที่ 60-120 ผลจาก HPLC-RI พบว่าหลังจากจำลองการย่อยในหลอดทดลอง ไอโซมอลทูโลสยังคงเหลืออยู่จนถึงนาทีที่ 120 สรุปได้ว่าการผสมไอโซมอลทูโลสกับกลูโคสและฟรักโทสอาจสามารถยืดพลังงานให้ร่างกายได้

**คำสำคัญ:** ไอโซมอลทูโลส ผลิตภัณฑ์เสริมพลังงาน การย่อยในหลอดทดลอง การยืดพลังงาน

## คำนำ

น้ำตาลไอโซมอลทูโลส เป็นน้ำตาลรีดิวซิ่งท ผลิตได้จากน้ำตาลอ้อยด้วยวิธี enzymatic rearrangement น้ำตาลไอโซมอลทูโลสเป็นไอโซเมอร์ของน้ำตาลซูโครส โครงสร้างโมเลกุลเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลโมเลกุลคู่ ที่น้ำตาลกลูโคสและฟรักโทสเชื่อมกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก (1-6) แทนพันธะ (1-2) ของน้ำตาลซูโครส ส่งผลให้ไอโซมอลทูโลสมีพันธะที่มีความเสถียรสูง มีค่าดัชนีน้ำตาลต่ำ (low Glycemic Index) เนื่องจากถูกย่อยและดูดซึมได้ช้า แต่ย่อยได้สมบูรณ์ในลำไส้เล็กด้วยเอนไซม์ไอโซมอลเทส (isomaltase) (Chaiyakul, 2020) ไอโซมอลทูโลสจึงนิยมนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารสำหรับผู้ป่วยเบาหวาน นักกีฬา และอาหารเพื่อสุขภาพ สำหรับผู้ที่เป็นนักกีฬา ออกกำลังกาย หรือ เคลื่อนไหวร่างกายเป็นเวลานานกว่า 30 นาที ร่างกายจะมีกลไกการใช้พลังงานจากน้ำตาลในเลือดและกรดไขมันอิสระเป็นหลัก ขณะเดียวกันกรดแลคติกจะถูกสร้างขึ้นเนื่องจากการสลายของไกลโคเจนในกล้ามเนื้อเพื่อสร้างเป็นพลังงานขณะเคลื่อนไหวร่างกาย ส่งผลให้ร่างกายเกิดความเมื่อยล้าเมื่อเวลาผ่านไปนานกว่า 30 นาที (MacLaren และ Morton, 2012) ทางเลือกหนึ่งที่จะช่วยชะลอความเมื่อยล้าและเพิ่มความคงทนให้แก่ร่างกายได้ คือการคงระดับน้ำตาลในเลือดไว้ให้ได้มากที่สุดในช่วงต้นของการออกกำลังกายเพื่อชะลอการสลายไกลโคเจนในกล้ามเนื้อ (MacLaren และ

1
[1] คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล 420/1 ถนน ราชวิถี แขวง ทุ่งพญาไท เขตราชเทวี กรุงเทพมหานคร 10400
Faculty of Public Health, Mahidol University 420/1 Ratchawithi RD., Ratchathewi District, Bangkok 10400
2
[2] วิทยาลัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการกีฬา มหาวิทยาลัยมหิดล 999 ถนน พุทธมณฑลสาย 4 ตำบล ศาลายา อำเภอพุทธมณฑล นครปฐม 73170
College of Sports Science and Technology, Mahidol University 999 Phuttamonthon 4 Rd, Salaya, Phuttamonthon, Nakhonpathom 73170

Morton, 2012) อัตราการนำคาร์โบไฮเดรตไปใช้เป็นพลังงานให้แก่ร่างกายของน้ำตาลแต่ละชนิดมีค่าแตกต่างกัน โดยร่างกายสามารถนำไอโซมอลทูโลสไปใช้เป็นพลังงาน 0.5 กรัมต่อนาที (Fleddermann และคณะ, 2016) กลูโคส 1 กรัมต่อนาที และฟรักโทส 0.5 กรัมต่อนาที (Wargenmarkers และคณะ, 1994, Jeukendrup และ Jentjens, 2000, Gonzalez และคณะ 2017) โดยกลูโคสและฟรักโทสเป็นคาร์โบไฮเดรตที่ร่างกายสามารถดูดซึมได้ทันทีผ่านช่องทางการดูดซึมจำเพาะในลำไส้ GLUT-1 และ GLUT-5 ตามลำดับ (Litwack, 2018) ด้วยเหตุนี้การมีปริมาณสัดส่วนของน้ำตาลไอโซมอลทูโลส/ฟรักโทส/กลูโคสที่เหมาะสมจะสามารถออกแบบการปลดปล่อยระดับน้ำตาลในเลือดได้ตามความต้องการใช้พลังงานเฉพาะบุคคล งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้น้ำตาลไอโซมอลทูโลสผสมกับกลูโคสและฟรักโทสในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเสริมพลังงาน ต่อรูปแบบการปลดปล่อยน้ำตาลจากการจำลองการย่อยของมนุษย์ ที่มีผลความสัมพันธ์ระหว่างผลการศึกษาการย่อยในหลอดทดลองและการศึกษาในมนุษย์มีค่าความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอยู่ในระดับสูง (Spearman's rho = 0.736) (Argyri และคณะ, 2009)

## อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมเครื่องดื่มเสริมพลังงานทำตามสูตรทางการค้า โดยเติมปริมาณน้ำตาลในสูตรคงเดิม แต่แปรสัดส่วนของน้ำตาลไอโซมอลทูโลส กลูโคส และฟรักโทส โดยใช้ mixture design เพื่อกำหนดสัดส่วนของน้ำตาลที่ศึกษา (Table 1) นำส่วนผสมน้ำตาลเติมลงในน้ำอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เติมโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมซิเตรท และกรดมาลิก คนจนละลาย คงไว้ 15 นาที บรรจุร้อนใส่ขวดแก้วปิดฝา เก็บไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส ได้ประมาณ 7 วัน ทำ 3 ซ้ำการทดลอง นำตัวอย่างที่ได้มาประเมินผลดังนี้ การวิเคราะห์ทางเคมีกายภาพ โดยนำตัวอย่างตีผสมให้เข้ากันด้วย Ultra-Turrax T-50 Homogenizer (IKA) ก่อนนำไปวิเคราะห์ทางเคมีกายภาพ ได้แก่ วิเคราะห์ pH ด้วย pH meter วิเคราะห์ความเป็นกรดด้วยการไตเตรท วิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายในน้ำด้วย refractometer ATAGO PAL-1 และวิเคราะห์ความหนืดด้วย Brookfield viscometer (UL Adapter)

การประเมินผลทางประสาทสัมผัสผ่านการรับรองจริยธรรมงานวิจัยในมนุษย์จากคณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล (COA. No. MUPH 2019-135) งานวิจัยนี้คัดกลุ่มตัวอย่าง 30 คน มีอายุระหว่าง 18-64 ปี ผู้ทดสอบแต่ละคนได้รับตัวอย่างทดสอบ 4 ตัวอย่าง โดยทำแบบสอบถาม ให้คะแนนความเข้มของความหวาน ความเปรี้ยว ความเค็ม กลิ่นรส ด้วย 5-point scoring และทดสอบความชอบโดยรวมด้วยวิธี 5-point hedonic scale (1= ความเข้มน้อยที่สุด และ 5=ความเข้มที่สูงสุด)

ประเมินการปลดปล่อยน้ำตาลของเครื่องดื่มเสริมพลังงาน ที่ผ่านการจำลองการย่อยในลำไส้มนุษย์ ดำเนินการย่อยตามด้วยวิธีการของ Argyri และคณะ (2016) แล้วตรวจหา total reducing sugar ในตัวอย่างด้วย dinitro salicylic acid (DNS) method ประยุกต์ใช้ 96-well plate โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 562 นาโนเมตร ค่าที่ได้จะเป็นค่า dialyzable total reducing sugar จากนั้นคำนวณหา Dialyzable glucose ratio (DGR) จากสูตร ดังนี้

$$\text{DGR}=\frac{\text{dialyzable reducing sugar 120 min after the initiation of the second phase of the in vitro digestion of sample}}{\text{dialyzable glucose 120 min after the initiation of the second phase of the in vitro digestion of reference food}}$$

การตรวจชนิดน้ำตาลในตัวอย่างหลังจากการย่อยด้วย HPLC Refractometer index โดยใช้ Asahipak nh2p-50 4e Shodex™ column อ่านผลที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส โดยใช้ Mobile phase เป็น Acetonitrile (80%) ด้วยอัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที

ข้อมูลที่ได้นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of variance: ANOVA) โดยวิธี General linear model for CRD ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS 18 (SPSS Inc., Thailand) ทดสอบความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลิตภัณฑ์ทุกสูตรมีค่าทางเคมีกายภาพอยู่ในช่วงเดียวกับสูตรทางการค้ามีค่า pH อยู่ในช่วง 2.99-3.01 ความเป็นกรดร้อยละ 0.54-0.57 ของแข็งที่ละลายได้ 25.48-25.90 องศาบริกซ์ และค่าความหนืด 3.33-3.59 เซนติพอยซ์ โดยการปรับเปลี่ยนสัดส่วนชนิดน้ำตาล ไม่มีผลต่อค่าทางเคมีกายภาพของผลิตภัณฑ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (Table 1)

ผลการประเมินทางประสาทสัมผัสของเครื่องดื่ม พบว่ามีค่าความหวานแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดย

สูตร B D และ A มีค่าความหวานสูงสุด เนื่องจากมีปริมาณฟรักโทสและกลูโคสในสัดส่วนที่สูงกว่าสูตรอื่น ฟรักโทสมีค่าความหวานสัมพัทธ์ 1.2-1.8 ซึ่งให้ระดับความหวานที่มากกว่าน้ำตาลซูโครสที่มีค่าความหวานสัมพัทธ์ 1.0 กลูโคส 0.7 และไอโซมอลทูโลส 0.4 (Helstad, 2019, Tiefenbacher, 2017) อย่างไรก็ตามคะแนนของการยอมรับโดยรวมของทุกตัวอย่างมีค่ามากกว่า 3.0 คือผลิตภัณฑ์เป็นที่ยอมรับได้

ผลการจำลองการย่อยตัวอย่างในหลอดทดลอง พบค่า DGR ในนาทีที่ 60 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดมีค่าแตกต่างกัน ($p<0.05$) เมื่อนำค่าที่ได้มา plot กราฟจะสังเกตพบว่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ปลดปล่อยผ่าน dialysis membrane มีแนวโน้มสูงขึ้นจนถึงนาทีที่ 30 จากนั้นระดับน้ำตาลค่อยๆ ลดลง แล้วคงไว้ที่ระดับหนึ่งอย่างต่อเนื่องจนถึงนาทีที่ 120 (Figure 1) ซึ่งให้ผลไปในทางเดียวกับผลการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC (Figure 2) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากผลของการย่อยน้ำตาลไอโซมอลทูโลสด้วยเอนไซม์ทำให้มีระดับของน้ำตาลกลูโคสและฟรักโทสเพิ่มขึ้น ในช่วงวินาทีที่ 30-120 นาที สูตร C มีระดับของน้ำตาลกลูโคสสูงกว่าสูตรอื่น ๆ อย่างเห็นได้ชัด อย่างไรก็ตามผลจากการวิเคราะห์พบว่ามีปริมาณน้ำตาลไอโซมอลทูโลสในส่วนที่ไม่ถูกย่อยปลดปล่อยออกมาด้วยบางส่วน อาจเป็นผลมาจากขนาดอนุภาคของ dialysis membrane ซึ่งมีผลต่อการแพร่ผ่านของสารละลาย

## สรุปผล

การใช้น้ำตาลไอโซมอลทูโลสร้อยละ 40-55 กลูโคสร้อยละ 40-50 และฟรักโทสร้อยละ 5-20 ร่วมกันในสัดส่วนที่กำหนดไม่มีผลต่อลักษณะทางเคมีกายภาพของผลิตภัณฑ์ แต่มีผลต่อการรับรู้รสหวาน สูตรที่มีการใช้สัดส่วนของน้ำตาลไอโซมอลทูโลสสูงสุด (ร้อยละ 55) มีค่าความหวานน้อยกว่าสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ผลจากการจำลองการย่อยในลำไส้มนุษย์ แสดงให้เห็นว่าการใช้น้ำตาลไอโซมอลทูโลสมีผลในการช่วยคงระดับน้ำตาลกลูโคสและฟรักโทสในเลือดได้อย่างน้อย 120 นาที อย่างไรก็ตามควรศึกษาทดลองในมนุษย์ เพื่อยืนยันผลดังกล่าว

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณทุนวิจัยจากโครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) ภายใต้สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) และสำนักงานวิจัยแห่งชาติ (วช.) ร่วมกับบริษัทน้ำตาลราชบุรี และขอขอบคุณภาควิชาโภชนวิทยา คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล สำหรับการสนับสนุนเจ้าหน้าที่ สถานที่และเครื่องมือในการดำเนินงานวิจัย

## เอกสารอ้างอิง

Argyri, K., Birba, A., Miller, DD., Komaitis, M. and Kapsokefalou, M., 2009, Predicting Relative Concentrations of Bioavailable Iron in Foods using *In Vitro* Digestion, Food Chemistry, 113(2): 602-607.

Argyri K, Birba A, Miller, DD, Komaitis, M, and Kapsokefalou, M., 2016, The Potential of an *In Vitro* Digestion Method for Predicting Glycemic Response of Foods and Meals, Nutrients, 8(4): 209.

Chaiyakul S., 2020, Sugar: Health Risks and Policy Actions for Healthier Consumption, Journal Nutrition Association, Thailand, 55(1): 95-110.

Fleddermann, M., Rauh-Pfeiffer, A., Demmelmair, H., Holdt, L., Teupser, D., and Koletzko, B.,, 2016, Effects of a Follow-on Formula Containing Isomaltulose (Palatinose™) on Metabolic Response, Acceptance, Tolerance, and Safety in Infants: A Randomized-controlled Trial, Public Library of Science, 11(3): e0151614.

Gonzalez, J.T., Fuchs, C.J., Betts, J.A. and Van L.J., 2017, Glucose Plus Fructose Ingestion for Post-exercise Recovery Greater than the Sum of Its Parts?, Nutrients, 9(4): 344.

Helstad S, 2019, Chapter 20 - Corn Sweeteners, Corn (Third Edition), Chemistry and Technology, Woodhead Publishing and AACC International Press, pp. 551-591.

Jeukendrup, A.E. and Jentjens R., 2000, Oxidation of Carbohydrate Feedings during Exercise, Sport Medicine, 29(6): 407-422.

Litwack, G., 2018, Chapter 6 - Insulin and Sugars glucose transport, Human Biochemistry, 131-160 p.

MacLaren, D. and Morton, J., 2012, Chapter 2 - Fundamentals of Sport and Exercise Biochemistry: Carbohydrate Biochemistry of Sport and Exercise Metabolism, John Wiley & Sons, Inc., pp. 87-107.
MacLaren, D. and Morton, J., 2012, Chapter 1 - Energy Source for Muscular Activity, Biochemistry of Sport and Exercise metabolism, John Wiley & Sons, Inc., pp. 3-10.
Tiefenbacher KF, 2017, Chapter 3 - Technology of Main Ingredients—Sweeteners and Lipids, Wafer and Waffle Processing and Manufacturing, Academic Press, pp. 123-225.
Wagenmakers, A.J., Brouns, F., Saris, W.H., and Halliday, D., 1993, Oxidation Rates of Orally Ingested Carbohydrates during Prolonged Exercise in Men, Journal of Applied Physiology, 75(6): 2774-2780.

**Table 1 Physicochemical and Sensory Characteristic of energy drink**

| Formula (I/F/G) * | pH | Acidity (%) | Total soluble solid (°brix) | Viscosity (cP)** | Sweetness | Salty | Flavor | Sour | Overall acceptance |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Drink A (40/10/50) | 3.00±0.01 | 0.56±0.01 | 25.80±0.10 | 3.53±0.06 | 3.90±0.88[a] | 1.90±0.92 | 2.80±0.92 | 2.13±1.11 | 3.23±0.77 |
| Drink B (40/20/40) | 2.99±0.00 | 0.56±0.01 | 25.80±0.10 | 3.40±0.07 | 4.07±0.69[a] | 1.72±0.78 | 2.73±0.98 | 2.17±1.34 | 3.26±0.91 |
| Drink C (55/5/40) | 3.00±0.01 | 0.56±0.01 | 25.63±0.15 | 3.40±0.07 | 3.33±1.06[b] | 1.83±0.91 | 2.63±1.03 | 2.27±1.23 | 3.03±1.00 |
| Drink D (45/5/50) | 3.00±0.01 | 0.55±0.01 | 25.80±0.10 | 3.49±0.08 | 3.66±0.71[ab] | 1.90±0.88 | 2.67±1.03 | 2.33±1.32 | 3.33±0.96 |

Data presented are averages ± standard deviation from physicochemical analysis with triplications analyses and sensory evaluation with five replicates analyses, Different superscript letters in the same column are significantly different ($p<0.05$), *I/F/G = Isomaltulose/Fructose/Glucose, **Viscosity (150 rpm, 25°C, Torque >80%)

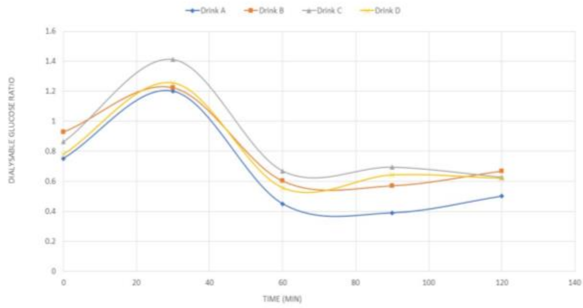



**Figure 1 Dialyzable glucose ratio of energy drink after in vitro digestion (0-120 min)**

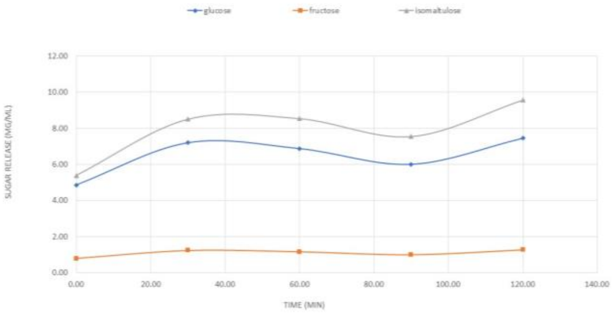



**Figure 2 Profile of sugar release in drink C at different time after *in vitro* digestion detected by HPLC-RI detector**

# ผลของสารเพิ่มความคงตัวต่อคุณภาพของไอศกรีมเชอร์เบทมะม่วงมหาชนก
# Effect of Stabilizing Agent on Quality of Mahachanok Mango Sherbet Ice Cream

ดาริกา มากคงดี[1] พัชรพร พรมระเริง[2] และ ศรัญญา วอขวา[3]
Makkongdee D[1], promrareang P[2] and Workhwa, S.[3]

## Abstract

The objective of this research was to study the effect of stabilizer (carrageenan) concentration on physical, chemical properties as well as sensory evaluation of Mahachanok mango sherbet ice cream. The concentration of stabilizer was varied at 0, 0.3, 0.6 and 0.9%. The results revealed that the ice cream made with 0.9% stabilizer gave the highest total acceptance score with suitable viscosity, melting rate, and overrun at 1825.33 cP, 9.87%, and 17.44 g/min, respectively. From color measurement, the ice cream had L* of 54.89, a* of 14.24, and b* of 43.46. It was found that fiber content, phenolic compounds, and radical scavenging activity determined from Mahachanok mango sherbet ice cream were 0.08%, 27.79 (mg GAE / 100 FW), and 2.61%, respectively. The Mahachanok mango sherbet ice cream was preserved for at least 14 days.

**Keywords:** melting, Overrun, Sherbet Ice Cream

## บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาผลของปริมาณสารเพิ่มความคงตัว (คาราจีแนน) ต่อคุณภาพทางกายภาพ เคมี และลักษณะทางประสาทสัมผัสของไอศกรีมเชอร์เบทมะม่วงมหาชนก สารเพิ่มความคงตัวที่ใช้ร้อยละ 0 0.3 0.6 และ 0.9 พบว่าสารเพิ่มความคงตัวที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.9 เป็นปริมาณที่ผู้ทดสอบชิมให้คะแนนการยอมรับโดยรวมสูงที่สุด รวมทั้งให้ความหนืดที่พอเหมาะ อัตราการขึ้นฟู และอัตราการละลาย เท่ากับ 1825.33 เซนติพอยส์ 9.87 เปอร์เซ็นต์ และ 17.44 กรัม/นาที ตามลำดับ และ ค่าความสว่าง (L*) เท่ากับ 54.89 ค่าสีแดง (a*) เท่ากับ 14.24 และค่าสีเหลือง (b*) เท่ากับ 43.46 การวิเคราะห์ปริมาณเส้นใย สารประกอบฟีนอลิก และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในไอศกรีมเชอร์เบทมะม่วงมหาชนก พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.08 % 27.79 (mg GAE/100 FW) และ 2.61 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และพบว่าไอศกรีมเชอร์เบทมะม่วงมหาชนกสามารถเก็บรักษาไว้ได้อย่างน้อยเป็นเวลา 14 วัน

**คำสำคัญ:** การละลาย การขึ้นฟู ไอศกรีมเชอร์เบท

## คำนำ

มะม่วงมหาชนก (*Mangiferaindica* L.) มีลักษณะโดดเด่น คือผลอวบใหญ่เมล็ดเล็กเนื้อแน่น ผิวเหลืองอมแดงออกส้ม รสหวาน และกลิ่นหอม เกิดจากการผสมข้ามพันธุ์ตามธรรมชาติระหว่างมะม่วงพันธุ์ซันเซท กับมะม่วงหนังกลางวัน (อุดร และคณะ, 2558) จัดเป็นผลไม้ที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยเฉพาะคาร์โบไฮเดรต เส้นใย วิตามิน วิตามินเอที่อยู่ในรูปเบต้าแคโรทีน และแร่ธาตุต่างๆ เช่น แคลเซียม และโพแทสเซียม มีประโยชน์ต่อสุขภาพ เป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระ จึงเกิดแนวคิดที่จะพัฒนาผลิตภัณฑ์ไอศกรีมมะม่วงเชอร์เบทมหาชนก ซึ่งทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีรสชาติ กลิ่นรสที่มีลักษณะเป็นเอกลักษณ์เฉพาะ

เชอร์เบทเป็นผลิตภัณฑ์ไอศกรีมชนิดหนึ่ง ต่างจากไอศกรีมทั่วไป คือเชอร์เบทมีปริมาณไขมันต่ำ มีรสเปรี้ยวที่ได้จากผลไม้หรือได้จากการเติมกรดผลไม้ มีรสหวานจากการเติมน้ำตาล หรือสารให้ความหวาน ซึ่งปริมาณการใช้มีมากกว่าในไอศกรีมทั่วไป มีลักษณะเนื้อสัมผัสของการเป็นผลึกน้ำแข็งหยาบกว่าไอศกรีมทั่วไป ทำให้รู้สึกเย็นขณะรับประทาน ช่วยดับกระหายและทำให้รู้สึกสดชื่น เหมาะกับประเทศในเขตร้อนอย่างประเทศไทยเป็นอย่างยิ่ง (ฐิติวรฎา, 2552) และเพื่อเน้นให้เป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพมากขึ้นจึงใช้วัตถุดิบจากผลผลิตทางการเกษตรที่มีประโยชน์เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ไอศกรีมเชอร์เบท ซึ่งปี 2019 เกิดโรคระบาดไวรัสโคโรนา (COVID-19) ทำให้ผลผลิตทางการเกษตรที่สำคัญของจังหวัดอุดรธานี ได้แก่ มะม่วงมหาชนก มะม่วงน้ำดอกไม้สีทอง ไม่สามารถส่งออกและขายได้ราคา เกิดภาวะมะม่วงล้นตลาดและราคาตกต่ำ

ดังนั้นจุดประสงค์งานวิจัยเพื่อศึกษาปริมาณสารเพิ่มความคงตัวต่อคุณภาพของไอศกรีมเชอร์เบทมะม่วงมหาชนก โดยนำผลผลิตทางการเกษตรมาแปรรูป เพื่อให้เกิดความหลากหลายให้แก่ผลิตภัณฑ์ และเพิ่มมูลค่าให้แก่สินค้าเกษตร อีกทั้งเป็นการส่งเสริมให้เกิดการสร้างรายได้ให้แก่เกษตรกรในช่วงวิกฤตภาวะมะม่วงราคาต่ำ และเกิดการล้นตลาดเกิดขึ้น สามารถพัฒนาเป็น

ธุรกิจขนาดเล็กในครอบครัว และเพิ่มทางเลือกให้ผู้บริโภคในการรับประทานมะม่วงมหาชนกที่หลากหลายมากยิ่งขึ้น

## อุปกรณ์และวิธีการ

**1. ศึกษาสูตรและปริมาณสารเพิ่มความคงตัวต่อคุณภาพของไอศกรีมเชอร์เบทมะม่วงมหาชนก**

นำมะม่วงมหาชนกที่ซื้อจากสวนของเกษตรกรในพื้นที่จังหวัดอุดรธานี ล้างทำความสะอาด เช็ดให้แห้ง และปอกเปลือก หั่นเป็นชิ้นและปั่นเนื้อมะม่วงให้ละเอียด ชั่งเนื้อมะม่วงที่ปั่น และส่วนผสม เพื่อทำการผลิตไอศกรีมเชอร์เบท โดยแปรปริมาณคาราจีแนนเป็น 4 ระดับ คือ 0 0.3 0.6 และ 0.9% ดังแสดงใน Table 1

**Table 1** The ingredient of of Mahachanok Mango Sherbet Ice Cream in each formulation

| Ingredient (%) | Formulations | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| pulp | 55.24 | 55.24 | 55.24 | 55.24 |
| fresh milk | 8.28 | 8.28 | 8.28 | 8.28 |
| sugar | 8.28 | 8.28 | 8.28 | 8.28 |
| water | 27.62 | 27.62 | 27.62 | 27.62 |
| salk | 0.13 | 0.13 | 0.13 | 0.13 |
| citric acid | 0.41 | 0.41 | 0.41 | 0.41 |
| carrageenan | 0 | 0.3 | 0.6 | 0.9 |

**ที่มา**: ดัดแปลงจาก วรภัทร์ และคณะ (2562)

**2. การทำไอศกรีมมะม่วงมหาชนกเชอร์เบท**

ศึกษาการผลิตไอศกรีมเชอร์เบมหาชนก โดยดัดแปลงสูตรจาก วรภัทร์ และคณะ (2562) โดยชั่งส่วนผสมตามสูตร ได้แก่ เนื้อมะม่วง นม น้ำตาล น้ำ กรดซิตริค และสารเพิ่มความคงตัว โดยแปรปริมาณสารเพิ่มความคงตัว (คาราจีแนน) เป็น 3 ระดับ คือ 0, 0.3, 0.6 และ 0.9 % ตามลำดับ โดยนำน้ำไปให้ความร้อนและนำน้ำตาล เกลือและกรดซิตริกไปละลายให้เข้ากัน แล้วพักให้เย็น 2-4 นาที นำมะม่วงมหาชนกมาปั่น 1 นาที เติมน้ำที่มีส่วนผสมของ น้ำตาล เกลือ กรดซิตริก และเติมนมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 85 °C เป็นเวลา 20 วินาทีนำมากรองด้วยตะแกรงกรอง จากนั้นนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นไอศกรีมเป็นเวลา 25 นาที บรรจุใส่กล่องพลาสติกเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18°C ถึง -20°C และนำผลิตภัณฑ์ไอศกรีมไปวิเคราะห์คุณภาพทางกายและวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

**3. การวิเคราะห์คุณภาพและการวางแผนการทดลอง**

นำไอศกรีมเชอร์เบทมะม่วงมหาชนกมาวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและเคมี ได้แก่ การวัดค่าการละลายของไอศกรีม (Melting rate) การวัดอัตราการขึ้นฟู การวัดค่าความหนืดด้วยเครื่อง Brookfield Viscometer และ นำไอศกรีมที่คุณภาพดีและได้รับคะแนนความชอบมากที่สุดมาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟินอลิก วิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี DPPH และวิเคราะห์ปริมาณเส้นใย (AOAC, 1995) โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) และวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ One-way analysis of variance และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan’s Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาปริมาณสารเพิ่มความคงตัวที่มีผลต่อคุณภาพทางกายภาพ และเคมีของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมเชอร์เบทมะม่วงมหาชนก นาที ซึ่งแสดงใน Figure 1 พบว่าอัตราการละลายของไอศกรีมมะม่วงมะหาชนกเริ่มละลายในช่วง 10 นาทีแรกและละลายได้มากที่สุดในระยะเวลา 40 นาที และสิ้นสุดลงในช่วงเวลา 50 นาที ซึ่งผลที่ได้ พบว่าอัตราการละลายของทุกสูตรมีความแตกต่างกัน เนื่องจากมีการเติมสารให้ความคงตัว ซึ่งมีคุณสมบัติสามารถทำให้ลดอัตราการละลายของไอศกรีม และอัตราการละลายของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมมะม่วงมหาชนกที่มีการเพิ่มสารให้ความคงตัวมีอัตราการละลายมากที่สุดคือช่วงระยะเวลา 40 นาที และสูตรที่มีอัตราการละลายมากที่สุดคือ 0% เท่ากับ 23.89 กรัม/นาที ส่วนสูตรที่มีอัตราการละลายที่ช้าที่สุดคือสูตร 0.9% เท่ากับ 17.44 กรัม/นาที อาจเนื่องจากสารให้ความคงตัวในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมเชอร์มากที่สุดซึ่งส่งผลให้มีความหนืดเพิ่มขึ้น และมีความสามารถในการเกาะเกี่ยวโมเลกุลของน้ำไว้ภายในโครงสร้างตาข่ายในสภาพที่แน่นหนากว่า ส่งผลทำให้ไอศกรีมละลายช้าลง (ปิยนุสร์ และ วชิรพันธ์, 2548)

ผลการวิเคราะห์หาค่าอัตราการขึ้นฟู (โอเวอร์รัน) ของไอศกรีมมะม่วงมหาชนก พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทาง

สถิติ ($p \leq 0.05$) อัตราการขึ้นฟูสูงสุดพบในสูตรที่มีปริมาณสารให้ความคงตัว 0.9% มีค่าอัตราการขึ้นฟูเท่ากับร้อยละ 9.87 รองลงมาคือ สูตรที่มีปริมาณสารให้ความคงตัว 0.6%, 0.3% และ 0% เท่ากับร้อยละ 7.44 6.15 และ 5.39 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าการเพิ่มปริมาณสารให้ความคงตัวทำให้ค่าอัตราการขึ้นฟูหรือโอเวอร์รันเพิ่มขึ้น เนื่องจากสารให้ความคงตัวมีหน้าที่ทำให้ส่วนผสมต่างๆ ละลายเป็นเนื้อเดียวกันและค่าความหนืดมีผลต่อค่าอัตราการขึ้นฟูหรือโอเวอร์รัน เนื่องจากค่าความหนืดที่มีค่าสูงสุดจะไปขัดขวางการตีของใบพัดในขณะที่ตีอากาศเอาไปในเนื้อของไอศกรีม จึงมีผลให้อากาศเข้าไปในไอศกรีมน้อยลง ซึ่งสอดคล้องกับค่าการละลาย และนำผลิตภัณฑ์ไอศกรีมมะม่วงมหาชนกไปวิเคราะห์ค่าความหนืดด้วยเครื่องวัด Brookfield viscometer สูตรที่มีปริมาณสารให้ความคงตัว 0.9% มีความหนืดสูงสุดที่ 1825 cP ลองลงมาคือสูตรที่มีปริมาณสารให้ความคงตัวที่ 0.6 0.3 และ0.% มีค่าความหนืดเท่ากับ 1570 cP, 953 cP และ 842 cP ตามลำดับ จากผลการทดสอบพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณสารให้ความคงตัวมากขึ้นทำให้ส่วนผสมต่างๆ รวมตัวกันเป็นเนื้อเดียวกันมากยิ่งขึ้นจึงส่งผลให้มีความหนืดเพิ่มมากขึ้น (จันทิมา, 2558)

ผลการวิเคราะห์การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolics) ในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมมะม่วงมหาชนกและเนื้อของมะม่วงมหาชนกพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในเนื้อมะม่วงมหาชนกมี ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุดคือ 33.35 (g GAE/100 FW) รองลงมาคือผลิตภัณฑ์ไอศกรีมมะม่วงมหาชนกสูตร 0.9 % และ 0 % ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกคือ 27.79 และ 26.69 (g GAE/100 FW) เพราะในกระบวนผลิตมีขั้นตอนในการปั่นให้เนื้อมะม่วงละเอียดและต้องนำมากรองเพื่อนำเส้นใยออก จึงมีผลต่อการทำให้ปริมาณฟีนอลิก ลดลง (เฉลิม, 2556) และการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (% radical scavenging activity) ในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมมะม่วงมหาชนกและเนื้อของมะม่วงมหาชนก พบว่าเนื้อของมะม่วงมหาชนกมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด เท่ากับ 4.34% เมื่อเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ไอศกรีมมะม่วงมหาชนกพบว่าสารต้านอนุมูลอิสระลดลงคือ 2.61 และ 2.52 % ในสูตร 0.9 และ 0 % ตามลำดับ เนื่องจากฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในผักผลไม้โดยทั่วไปจะลดลงในระหว่างกระบวนการให้ความร้อนและการเก็บรักษา เนื่องจากความไม่คงตัวข องสารต้านอนุมูลอิสระ (กฤษณ์, 2561)

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณเส้นใยผลิตภัณฑ์ไอศกรีมมะม่วงมหาชนกที่มีการเพิ่มสารให้ความคงตัว โดยทำการเลือกสูตรที่มีผู้ทดสอบชิมยอมรับมากที่สุดคือสูตรที่มีการเติมสารให้ความคงตัว 0.9% และทำการเปรียบเทียบกับสูตรควบคุม (0%) พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) เนื่องจากในกระบวนการผลิตมีการกรองเอาเส้นใยของเนื้อมะม่วงออก เนื้อสัมผัสและลักษณะปรากฏจึงไม่มีความแตกต่างกัน

## สรุปผลการทดลอง

การศึกษาปริมาณสารเพิ่มความคงตัวต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์ไอศกรีมเชอร์เบทมะม่วงมหาชนก ทั้ง 4 สูตร โดยวิเคราะห์คุณภาพทางกายและทางเคมี ร่วมกับคุณภาพลักษณะทางประสาทสัมผัส พบว่าสูตรที่มีปริมาณสารเพิ่มความคงตัว ที่ระดับร้อยละ 0.9 ผู้ทดสอบชิมให้คะแนนความชอบมากที่สุด ผลการวิเคราะห์ค่าโอเวอร์รันค่าที่ได้เท่ากับ 9.87% ผลการวิเคราะห์ค่าความหนืดค่าที่ได้เท่ากับ 1825.33 (cP) ค่าอัตราการละลายค่าที่ได้เท่ากับ สูตรที่มีอัตราการละลายมากที่สุดคือ 0% เท่ากับ 23.89 ส่วนสูตรที่มีอัตราการละลายที่ต่ำที่สุดคือสูตร 0.9% เท่ากับ 17.44 กรัม/40 นาที ปริมาณเส้นใยในสูตรที่เติมสารเพิ่มความคงตัว ที่ระดับ 0 และ 0.3% มีค่าเท่ากับ 0.07 และ 0.08% ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกค่าที่ได้เท่ากับ 27.79 และ 26.69 (g GAE/100 FW) ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระค่าที่ได้เท่ากับ 4.25 และ 4.82 % และเมื่อนำผลิตภัณฑ์ไอศกรัมเชอร์เบทมะม่วงมหาชนกไปวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าสามารถเก็บรักษาไว้ได้อย่างน้อยเป็นเวลา 14 วัน

## คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ สถาบันวิจัยแลพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัยในครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

กฤษณ์ สงวนพวก, 2561, กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณเบต้าแคโรทีน ไลโคพีน และฟลาโวนอยด์ของมะม่วงรับประทานดิบสายพันธุ์พื้นบ้านในประเทศไทยหลังการเก็บเกี่ยว, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ.

จันทิมา ภูงามเงิน, 2558, ผลของสารเพิ่มความคงตัวบางชนิดต่อคุณภาพของไอศกรีมน้ำนมข้าวโพด, คณะอุตสาหกรรมเกษตร, หาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ:

เฉลิม เรืองวิริยะชัย, 2556, การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในเครื่องดื่มน้ำผลไม้, ภาควิชาเคมี,

มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
ฐิติวรฎา ใยสำลี, 2552, การพัฒนาผลิตภัณฑ์เชอร์เบทมะเกี๋ยง, สาขาเทคโนโลยีทางอาหาร มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
ปิยนุสร์ น้อยด้วง และวชิรพันธ์ จันทร์พงษ์, 2548, การใช้มิวซิเลจแห้งจากเมล็ดแมงลักเป็นสารให้ความคงตัวในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมกล้วยหอม, วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม, 2(1): 18-27.
ปิยวรรณ ศุภวิทิตพัฒนา, 2553, การผลิตไอศกรีมโยเกิร์ตจากกะทิ, มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม:พิษณุโลก
วรภัทร์ สงวนไชยไผวงศ์, เปรมกมล พรหมอินทร์, ศศิธร จุฑารัตน, และ สุทธิจิต ศรีวัชรกุล, 2019, ไอศกรีมเสริมสารสกัดมะขามป้อมและกิจกรรมการต้านทานอนุมูลอิสระ, ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร.
อุดร จิตรจักร สิทธิโชค พรรค์พิทักษ์ และ อรรควุธ แก้วสีขาว, 2558, ระบบฐานข้อมูลสารสนเทศภูมิศาสตร์ ผู้ปลูกมะม่วงมหาชนก อันเนื่องมาจากโครงการในพระราชดำริในเขตพื้นที่จังหวัดกาฬสินธุ์ และจังหวัดมหาสารคาม เพื่อต่อยอดเชิงณิชย์, รายงานการวิจัย, มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม.
AOAC, 1995, Official Methods of Analysis, (16th ed.), Washington, DC: AOAC International.

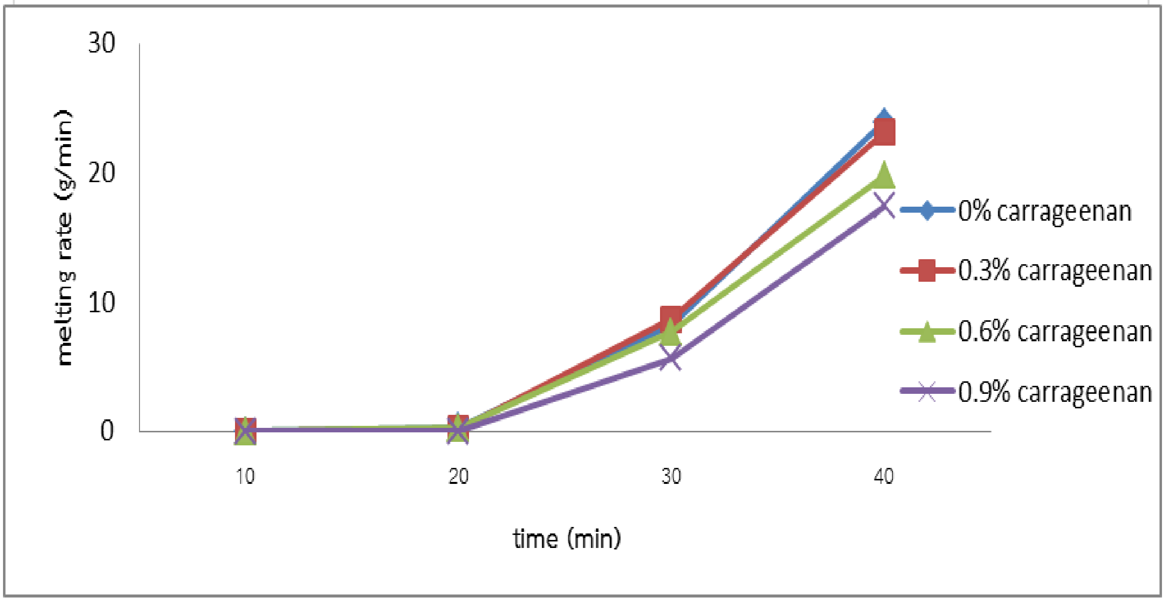



**Figure 1** Effect of stabilizer concentration on melting rate of ice cream

**Table 2** Effect of stabilizer concentration on overrun and viscosity

| stabilizer (%) | Overrun (%) | Viscosity (cP) |
|---|---|---|
| 0 | 5.39 ± 1.34[c] | 842.86 ± 23.60[b] |
| 0.3 | 6.15 ± 1.21[b] | 953.86 ± 128.39[b] |
| 0.6 | 7.44 ± 0.89[ab] | 1570.66 ± 267.09[a] |
| 0.9 | 9.87 ± 3.50[a] | 1825.33 ± 40.0[a] |

... With a row, means not followed by the same letter are significantly different ($P \leq 0.05$). NS means statically non significance.. ...............

**Table 3** Effect of stabilizer concentration on phenolic compounds, % radical scavenging, and fiber content

| stabilizer (%) | Phenolic compounds (g GAE/100 FW) | Radical scavenging (%) | Fiber[NS] (%) |
|---|---|---|---|
| Mango pulp | 33.35 ± 1.92[a] | 4.34 ± 0.90[a] | ND |
| 0 | 26.69 ± 0.83[b] | 2.52 ± 0.25[b] | 0.07±0.01 |
| 0.9 | 27.79 ± 0.72[b] | 2.61 ± 0.32[b] | 0.08±0.08 |

...With a row, means not followed by the same letter are significantly different ($P \leq 0.05$). NS means statically non significance. ND = not determined. .........

# แตงโมแผ่น : วิธีใหม่ในการเตรียมแตงโมแผ่นโดยปราศจากการใช้วัตถุเจือปนอาหาร
# Water Melon Leather: Novel Preparation Method without Using Food Additives

ดาริกา คงชมแพ่ง[1] ธนัชชา เทียมเดช[1] นิพร เดชสุข[1] และ พรรณจิรา วงศ์สวัสดิ์[1]
Kongchompeang, D.[1], Tiamdej, T.[1], Dejsuk, N.[1] and Vongsawasdi, P.[1]

## Abstract

Water melon is a hydrating fruit. The fruit leather preparation involves not only fruit puree but also other ingredients such as pectin, sugar and glucose syrup. The mixture is concentrated and dried. This research aims at investigating fruit leather preparation without addition of food additives. Water melon flesh was kept at 4±1 and -14±1 $^{\circ}$C for 24 and 48 h. The fruit was thawed and water was separated before drying at 70$^{\circ}$C. The results showed that water melon leather stored at -14±1 $^{\circ}$C for 48 h demonstrated the highest drip loss of 53.16±2.60%. After drying, the product could be formed and rolled up. Aforementioned sample had $a_w$ of 0.543±0.001. Its color was 48.23±0.11, 25.65±0.27 and 12.22±0.12 for lightness (L*), redness (a*) and yellowness (b*), respectively. Sensorial results showed that the fruit leather was firm but flexible and extensible. It had strong fruit flavor with sweet taste.
**Keywords:** water melon, leather, freezing, drip loss

## บทคัดย่อ

แตงโมเป็นผลไม้ที่มีน้ำสูง การทำเป็นผลไม้แผ่นจะต้องเติมส่วนผสม เช่น เพคติน น้ำตาล และกลูโคสซีรัป ก่อนนำไปทำให้เข้มข้นและทำแห้ง งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษากระบวนการเตรียมแตงโมแผ่นโดยไม่ใช้วัตถุเจือปนอาหาร ซึ่งทำโดยนำแตงโมไปลดอุณหภูมิที่ 4±1 และ -14±1 $^{\circ}$C เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาละลาย แยกน้ำออก และทำแห้งที่อุณหภูมิ 70 $^{\circ}$C ผลการทดลองพบว่าตัวอย่างที่เตรียมจากแตงโมที่ผ่านการลดอุณหภูมิที่ -14±1 $^{\circ}$C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง มีค่าร้อยละการสูญเสียน้ำในระหว่างการละลาย (%drip loss) สูงที่สุดคือ 53.16±2.60% ภายหลังการอบแห้งพบว่าผลิตภัณฑ์สามารถขึ้นรูปและม้วนได้ มีค่า $a_w$ เท่ากับ 0.543±0.001 เมื่อนำมาวัดค่าสีพบว่ามีค่าความสว่าง (L*) ค่าความเป็นสีแดง (a*) และค่าความเป็นสีเหลือง (b*) เท่ากับ 48.23±0.11. 25.65±0.27 และ 12.22±0.12 ตามลำดับ ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่าตัวอย่างมีเนื้อแน่น แต่ยืดหยุ่นและสามารถยืดได้ มีกลิ่นของแตงโมชัดเจน และมีรสหวาน
**คำสำคัญ:** แตงโม ผลไม้แผ่น การแช่แข็ง การสูญเสียน้ำจากการละลาย

## คำนำ

แตงโมเป็นผลไม้ที่มีน้ำสูง มีรสหวาน และมีคุณค่าทางโภชนาการ แต่แตงโมมีอายุการเก็บสั้นแม้จะเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำ โดยเก็บไว้ได้เพียง 3 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ 15$^{\circ}$C การยืดอายุการเก็บสามารถทำโดยนำมาทำผลไม้แผ่น (fruit leather) กล่าวคือนำผลไม้ตีป่นหรือน้ำผลไม้เข้มข้นมาเติมวัตถุเจือปนอาหาร เช่น เพคติน น้ำตาล กลูโคสซีรัป และสี [Diamante, Bai และ Busch, 2014] จากนั้นทำให้เข้มข้นก่อนทำแห้ง [Gujral และ Brar, 2003] แต่ในปัจจุบันผู้บริโภคมีแนวโน้มที่จะลดการบริโภคอาหารที่มีการเติมวัตถุเจือปนอาหาร แต่การไม่เติมจะมีผลต่อการขึ้นรูปผลิตภัณฑ์ ดังนั้นจึงต้องหาวิธีการแปรรูปวิธีใหม่ที่ทำให้ไม่จำเป็นต้องใช้วัตถุเจือปนอาหาร ในขณะที่ยังได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณลักษณะไม่ต่างจากเดิม จากขั้นตอนการแปรรูปพบว่ามีขั้นตอนการทำให้เข้มข้นซึ่งเป็นการลดหรือแยกน้ำออกจากอาหารโดยใช้ความร้อน ซึ่งมีผลกระทบต่อการขึ้นรูป สีและคุณค่าทางอาหาร การเปลี่ยนวิธีการจากการใช้ความร้อนเป็นการใช้อุณหภูมิต่ำอาจช่วยลดผลกระทบดังกล่าวได้ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาผลของสภาวะการเก็บแตงโมสดที่อุณหภูมิต่ำต่อความสามารถในการขึ้นรูปของแตงโมแผ่น โดยผลที่ได้จะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์แตงโมแผ่นที่ดีต่อสุขภาพ และมีลักษณะปรากฏที่ดี

[1] ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี เขตทุ่งครุ กรุงเทพ 10140
[1] Department of Microbiology, Faculty of Science, King Mongkut's University of Technology Thonburi, Thoonkru, Bangkok 10140

## อุปกรณ์และวิธีการ

**แตงโม**

ใช้แตงโมสายพันธุ์กินรีจากตลาดบางประกอก จังหวัดกรุงเทพ นำมาทำความสะอาด แยกเนื้อแตงโมสีแดงออกจากเปลือกและเมล็ด

**การเตรียมแตงโมแผ่นแบบดั้งเดิม**

นำเนื้อแตงโมสีแดง 1 กิโลกรัม มาปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นอเนกประสงค์ (Philips รุ่น HR2118/02, Indonesia) ที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที นาน 2 นาที จากนั้นนำมากวนโดยใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60°C นาน 90 นาที เทใส่ถาดอะลูมิเนียมขนาด 9x9 นิ้ว เกลี่ยผิวหน้าให้เรียบโดยให้มีความหนา 1/8 นิ้ว นำมาอบในตู้อบแห้งแบบถาด (Robot, รุ่น 353, Thailand) ที่อุณหภูมิ 70 °C นาน 4 ชั่วโมง ลอกแผ่นตัวอย่างออกจากถาดและม้วนขึ้นรูป นำตัวอย่างมาวิเคราะห์ค่า water activity (aw) และค่าสี

**ศึกษาผลของการลดอุณหภูมิต่อคุณภาพแตงโมแผ่น**

นำเนื้อแตงโมสีแดง 1 กิโลกรัม มาเก็บที่อุณหภูมิที่ 4±1 °C (อุณหภูมิตู้เย็น) และ -14±1 °C (อุณหภูมิแช่แข็ง) เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง จากนั้นนำออกมาตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (31±2 °C) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง แยกส่วนที่เป็นของเหลวมาวัดค่า % Drip loss ส่วนเนื้อแตงโมสีแดงนำมาปั่นที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที นาน 2 นาที นำมาเทลงถาดอะลูมิเนียมขนาด 9x9 นิ้ว เกลี่ยผิวหน้าให้เรียบและให้มีความหนา 1/8 นิ้ว นำมาอบในตู้อบแห้งแบบถาดที่อุณหภูมิ 70 °C นาน 4 ชั่วโมง จากนั้นนำมาขึ้นรูปโดยการม้วน นัวอย่างมาวิเคราะห์ค่า water activity (aw) และค่าสี สำหรับตัวอย่างที่สามารถขึ้นรูปได้จะนำมาวิเคราะห์ค่าเนื้อสัมผัส ปริมาณไลโคปีน และทดสอบทางประสาทสัมผัส

**การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ**

นำตัวอย่างแตงโมแผ่นมาวิเคราะห์ค่า Water activity (aw) โดยเครื่อง Water activity meter (AQUALAB, 4TE, USA) วิเคราะห์ค่าสีในระบบ L*, a* และ b* โดยเครื่อง Color meter (Hunter Lab, USA) วิเคราะห์เนื้อสัมผัส โดยใช้เครื่อง Texture analyser (Stable Micro Systems, Model TA-XT2i, UK) ติดตั้ง load cell ขนาด 25 kg. วัดค่าความแน่นเนื้อของตัวอย่างขนาด 2x5 $cm^2$ โดยใช้หัวทดสอบแบบ HDP/BS ตั้งความเร็วของหัวทดสอบขณะวัด 2.0 mm/s

**การวิเคราะห์ทางเคมี**

วิเคราะห์หาปริมาณไลโคปีนตามวิธีของ Davis, Fish และ Perkins (2003)

**การทดสอบทางประสาทสัมผัส**

เตรียมตัวอย่างแตงโมแผ่นขนาด 1.5x1.5 cm เพื่อทดสอบการยอมรับด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม โดยกำหนดค่าคะแนน 1-5 (1 คะแนน หมายถึง ชอบน้อยที่สุด และ 5 คะแนน หมายถึง ชอบมากที่สุด) ในการทดสอบใช้ผู้ทดสอบจำนวน 30 คน

**การวิเคราะห์ข้อมูล**

รายงานผลเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน นำผลมาวิเคราะห์ความแปรปรวนระดับความเชื่อมั่น 95% ถ้าพบนัยสำคัญ จะนำมาเปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้ Duncan’s multiple range test (DMRT) ด้วยโปรแกรม SPSS Software (Version 23; SPSS Inc., Chicago, IL, USA)

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การเก็บรักษาเนื้อแตงโมที่อุณหภูมิต่ำมักจะมีของเหลวแยกตัวออกมา ดังนั้นการทดลองนี้จึงได้ทดลองเก็บเนื้อแตงโมที่อุณหภูมิ 4±1 °C และ -14±1 °C ซึ่งเป็นตัวแทนของสภาวะแช่เย็นและแช่แข็งตามลำดับ จากนั้นจึงนำมาทำแตงโมแผ่นและนำมาตรวจคุณภาพเปรียบเทียบกับแตงโมแผ่นที่เตรียมโดยวิธีดั้งเดิมที่ไม่เติมวัตถุเจือปนอาหาร จาก Table 1 พบว่าแตงโมแผ่นที่ผลิตโดยวิธีดั้งเดิม และแตงโมแผ่นที่เตรียมจากแตงโมที่เก็บที่ 4±1 °C เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมงมีลักษณะเป็นแผ่นบาง ผิวหน้าไม่แห้ง และไม่สามารถขึ้นรูปเนื่องจากไม่สามารถลอกออกจากแผ่นฟอยล์ที่รองอยู่ได้ ทั้งนี้เนื่องจากตัวอย่างที่เตรียมโดยวิธีดั้งเดิมไม่ได้ใส่วัตถุเจือปนที่ช่วยในการขึ้นรูปตัวอย่าง ในขณะที่การเตรียมโดยใช้แตงโมที่ผ่านการเก็บที่อุณหภูมิ 4±1 °C ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ทำให้เกิดการสะท้านหนาว (แตงโมเกิดอาการสะท้านหนาวที่อุณหภูมิต่ำกว่า 7 °C) ทำให้แตงโมมีเนื้อฉ่ำน้ำ และมีน้ำแยกตัวออกมาเล็กน้อย ทั้งนี้ปริมาณน้ำจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บด้วย โดยพบว่าแตงโมมีค่าร้อยละการสูญเสียน้ำในระหว่างการละลาย (% drip loss) เพิ่มขึ้นจาก 5.41 ±0.94 เป็น 13.77±3.34 เมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มจาก 24 ชั่วโมงเป็น 48 ชั่วโมง และเนื่องจากมีการแยกน้ำออกจากเนื้อแตงโมในขั้นตอนการละลายแล้ว ดังนั้นจึงไม่จำเป็นต้องนำตัวอย่างไปกวนเพื่อระเหยน้ำบางส่วนออกดังเช่นวิธีดั้งเดิม อย่างไรก็ตามปริมาณน้ำที่สูญเสียไปอาจยังไม่มากพอ จึงทำให้ตัวอย่างยังมีความชื้นประกอบกับแตงโมมีปริมาณน้ำตาลสูง

จึงส่งผลให้การอบแห้งทำได้ไม่สมบูรณ์ ส่วนแตงโมแผ่นที่เตรียมจากแตงโมที่เก็บที่ -14±1 °C เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง สามารถขึ้นรูปและลอกออกจากแผ่นฟอยล์ได้ แต่ผิวหน้าของตัวอย่างที่เก็บเป็นเวลา 24 ชั่วโมงยังมีลักษณะเหนียว ชื้น และเกิดรอยแยกที่ผิวเล็กน้อยขณะม้วน โดยทั้งสองตัวอย่างมีค่าร้อยละการสูญเสียน้ำในระหว่างการละลายสูงกว่าตัวอย่างอื่น คือมีค่าเท่ากับ 45.48±2.94 และ 53.16±2.60 ตามลำดับ กรณีนี้อธิบายได้ว่าแตงโมที่ผ่านการลดอุณหภูมิที่ -14±1 °C ซึ่งเป็นการแช่เยือกแข็งอย่างช้า จะทำให้น้ำในแตงโมกลายเป็นน้ำแข็ง (แตงโมมีจุดเยือกแข็งอยู่ระหว่าง –1.6 ถึง –2.0 °C) ผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้นจะทำให้เนื้อเยื่อเกิดความเสียหาย เมื่อนำมาละลาย น้ำในเซลล์จะถูกแยกออกมา ยิ่งเก็บเป็นเวลานานขนาดผลึกน้ำแข็งจะมีขนาดโตขึ้นและทำให้เนื้อเยื่อเสียหายมากขึ้นด้วย โดยหลังการละลายเนื้อแตงโมจะแยกออกจากส่วนของเหลวได้ดี ไม่ฉ่ำน้ำเหมือนกรณีที่เก็บที่อุณหภูมิ 4±1 °C ดังนั้นการอบแห้งจึงเกิดได้สมบูรณ์กว่า ส่งผลให้ตัวอย่างสามารถม้วนขึ้นรูปได้

จาก Table 2 พบว่าสภาวะการเตรียมมีผลต่อค่า aw อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) และมีค่าสอดคล้องกับค่าร้อยละการสูญเสียน้ำ โดยตัวอย่างที่เตรียมโดยวิธีดั้งเดิมและที่เก็บที่อุณหภูมิ 4±1 °C มีค่า aw อยู่ในช่วง 0.78-0.83 ซึ่งเป็นช่วงที่ยีสต์และราเจริญได้ ในขณะที่แตงโมแผ่นที่ได้จากแตงโมที่เก็บที่อุณหภูมิ -14±1 °C มีค่า aw อยู่ในช่วง 0.54-0.56 ซึ่งเป็นช่วงที่จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญได้ ส่วนผลการวัดค่าสีของตัวอย่างภายหลังการอบแห้งพบว่าแตงโมแผ่นที่เตรียมด้วยวิธีแบบดั้งเดิมมีค่า L*, a* และ b ต่ำกว่าตัวอย่างอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งอธิบายได้ว่าตัวอย่างนี้ได้รับความร้อนในระหว่างการกวน นอกเหนือจากในช่วงของการอบแห้ง ดังนั้นจึงได้รับผลกระทบจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดมากกว่าตัวอย่างอื่น ๆ ที่มีค่าสีใกล้เคียงกันคืออยู่ในช่วง 41.67-48.23, 22.41-27.89 และ 9.17-16.67 สำหรับค่า L*, a* และ b ตามลำดับ จากผลที่ได้จะเห็นว่าการเตรียมโดยการนำแตงโมไปเก็บที่อุณหภูมิต่ำนอกจากจะช่วยลดขั้นตอนการการระเหยน้ำแล้วยังช่วยรักษาสีของผลิตภัณฑ์สุดท้ายได้ดี การเตรียมโดยการลดอุณหภูมิมีข้อดีอีกประการหนึ่งคือของเหลวหรือน้ำแตงโมที่แยกออกมาสามารถนำมาทำเป็นเครื่องดื่มต่อได้ ซึ่งพบว่ามีสีแดงมีรสชาติหวานเช่นเดียวกับเนื้อแตงโม จากผลที่กล่าวมาทั้งหมดจะเห็นว่าตัวอย่างที่มีลักษณะดีที่สุดคือตัวอย่างที่เตรียมจากแตงโมที่ผ่านการเก็บรักษาที่ –14±1 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยเป็นตัวอย่างที่สามารถขึ้นรูปโดยการม้วนได้โดยไม่มีรอยแตก เมื่อนำตัวอย่างนี้มาวิเคราะห์ค่าเนื้อสัมผัสและปริมาณปริมาณไลโคปีนซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระพบว่ามีค่าเท่ากับ 2180.28±129.21 กรัม และ 3.96±0.12 มิลลิกรัม/100 กรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ ผลการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสพบว่าตัวอย่างนี้ มีผิวขรุขระเล็กน้อย มีสีแดงสด มีกลิ่นหอมของแตงโมชัดเจน มีรสหวาน และมีเนื้อสัมผัสเหนียวกำลังพอดี (Table 3)

## สรุปผล

การเตรียมแตงโมเพื่อใช้ในการผลิตแตงโมแผ่นโดยไม่ใช้วัตถุเจือปนอาหาร สามารถทำโดยเก็บเนื้อแตงโมที่อุณหภูมิ -14±1 °C เพื่อให้เกิดผลึกน้ำแข็ง โดยการเก็บเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จะช่วยแยกน้ำจากเนื้อแตงโมดีที่สุด และให้เนื้อสัมผัสของแตงโมแผ่นภายหลังการอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 °C นาน 4 ชั่วโมงที่มีคุณภาพดีที่สุด

## เอกสารอ้างอิง

Davis, A.R., Fish, W.W., Perkins ‾ Veazie, P., 2006, A Rapid Hexane-free Method for Analyzing Lycopene Content in Watermelon, Journal of Food Science, 68(1): 328-332.

Diamante, L.M., Bai, X. and Busch, J., 2014, Fruit Leathers: Method of Preparation and Effect of Different Conditions on Qualities, International Journal of Food Science, 3:1-12.

Gujral, S. and Brar, S., 2003, Effect of Hydrocolloids on the Dehydration Kinetics, Color, and Texture of Mango Leather, Journal of Food Properties, 6:269-279.

**Table 1 Effect of preparation methods on % drip loss and appearance of water melon leather**

| Preparation Method | % Drip loss | Appearance of the leather | | Forming |
|---|---|---|---|---|
| | | Before Drying | After Drying | |
| Conventional | - | | | Sticking to the foil |
| Stored at 4°C for 24 h | 5.41$^{d}$ ±0.94 | | | Sticking to the foil |
| Stored at 4°C for 48 h | 13.77$^{c}$±3.34 | | | Sticking to the foil |
| Stored at -14°C for 24 h | 45.48$^{b}$±2.94 | | | Rollable with some fissure |
| Stored at -14°C for 48 h | 53.16$^{a}$±2.60 | | | Rollable |

**Table 2 aw and color of water melon leather prepared by conventional method and novel methods**

| Preparation methods | $a_w$ | Color* | | |
|---|---|---|---|---|
| | | *L** | *a** | *b** |
| Conventional | 0.78$^{b}$±0.01 | 33.44$^{d}$±0.06 | 16.37$^{e}$±0.01 | 6.17$^{e}$±0.05 |
| Stored at 4°C for 24 h | 0.83$^{a}$±0.03 | 41.67$^{c}$±0.29 | 36.40$^{a}$±0.15 | 16.67$^{a}$±0.36 |
| Stored at 4°C for 48 h | 0.80$^{b}$±0.04 | 44.47$^{b}$±0.04 | 27.89$^{b}$±0.72 | 11.11$^{c}$±0.43 |
| Stored at -14°C for 24 h | 0.56$^{c}$±0.01 | 44.46$^{b}$±0.36 | 22.41$^{d}$±0.53 | 9.17$^{d}$±0.48 |
| Stored at -14°C for 48 h | 0.54$^{c}$±0.00 | 48.23$^{a}$±0.11 | 25.65$^{c}$±0.27 | 12.22$^{b}$±0.12 |

**Table 3 Sensorial assessment of water melon leather prepared by stored water melon at -14°C for 48 h**

| Appearance* | Color* | Flavor* | Taste* | Texture* | Acceptability** |
|---|---|---|---|---|---|
| 4.80±0.63 | 5.00±0.00 | 4.20±0.79 | 4.50±0.85 | 4.00±1.05 | 3.33±0.80 |

*scoring test **hedonic test

# ผลของการใช้มิวซิเลจจากเม็ดแมงลักในการทดแทนไข่แดงบางส่วนต่อลักษณะทางด้านประสาทสัมผัส องค์ประกอบทางกายภาพและเคมีของชิฟฟ่อนเค้ก

# Effect of Mucilage from Basil seed Partial Replaced Yolk on Sensory, Physical and Chemical Characteristics of Chiffon Cake

ศริสา ทวีแสง[1] วารินทร์ รังวัสสา[1] และ สุภาวดี บุดทะสี[1]
Thaweesang, S.[1], Rungvussa, V.[1] and Budthasi, S.[1]

## Abstract

Appropriate content of mucilage from basil seed was studied for partial yolk replacement in chiffon cake by varying 0%, 60% and 80% of the mucilage to egg yolk, respectively. Sensory acceptance, color and texture profile analysis were measure. Found that the chiffon cake was used the yolk substituted mucilage, 60% and 80%, had sensory acceptance scores, including the color values (L * a * and b *), hardness, springiness and chewiness were different from control treatment chiffon cake (0% mucilage) ($p \leq 0.05$). For chemical composition analysis the result showed that 80% mucilage was used as substitute for yolk in chiffon cake has fat content lower than control chiffon cake ($p \leq 0.05$).

**Keywords:** Mucilage, Basil seed, Chiffon cake, Low fat

## บทคัดย่อ

การศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของมิวซิเลจจากเม็ดแมงลักเพื่อใช้ทดแทนไข่แดงบางส่วนในการแปรรูปผลิตภัณฑ์ชิฟฟ่อนเค้ก โดยแปรปริมาณ มิวซิเลจต่อไข่แดงในปริมาณ 0% 60% และ80% ตามลำดับ จากนั้นนำไปศึกษาการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัส วัดสี และวัดเนื้อสัมผัส พบว่าชิฟฟ่อนเค้กที่ใช้ มิวซิเลจทดแทนไข่แดงในปริมาณ 60% และ 80% มีคะแนนการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัส ค่าสี (L* a* และ b*) ค่าความแข็ง ค่าความยืดหยุ่น และค่าการทนเคี้ยว แตกต่างจากชิฟฟ่อนเค้กทรีตเม้นต์ควบคุม (มิวซิเลจ 0%) อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และเมื่อนำชิฟฟ่อนเค้กทรีตเม้นต์ควบคุมและทรีตเม้นต์ที่ใช้มิวซิเลจทดแทนไข่แดงในปริมาณ 80% ไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี พบว่า ชิฟฟ่อนเค้กที่ใช้มิวซิเลจทดแทนไข่แดงในปริมาณ 80% มีปริมาณไขมัน ต่ำกว่าชิฟฟ่อนเค้กทรีตเม้นต์ควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

**คำสำคัญ:** มิวซิเลจ เม็ดแมงลัก ชิฟฟ่อนเค้ก ไขมันต่ำ

## คำนำ

มิวซิเลจ (Mucilage) เป็นโพลีแซคคาไรด์ ที่จัดอยู่ในกลุ่มไฮโดรคอลลอยด์ มีโครงสร้างเป็นเฮเทอโรโพลีแซคคาไรด์ ซึ่งเป็นโพลิเมอร์ของน้ำตาลกรดในกลุ่มกาแลคทูโรนิคและกลูคูโรนิค เช่น กาแลคโตส ไซโลส แรมโนส อะราบิโนส ฟิวโคส และกรดกลูโคนิก เป็นต้น มิวซิเลจสามารถพบได้ในส่วนต่างๆ ของพืช ได้แก่ ส่วนของผนังเซลล์ของเมล็ดบางชนิด เช่น เม็ดแมงลัก เมล็ดป่าน เป็นต้น (ปิยนุสร์, 2555) สำหรับ แมงลัก (*Ocimum citriodourum*) จะพบมิวซิเลจในส่วนของเยื่อหุ้มเมล็ด (seed-coat) ซึ่งเมื่อนำส่วนที่เป็นเมล็ดไปแช่น้ำ เมือกที่หุ้มอยู่ด้านนอกของเมล็ดจะพองออก โดยมีลักษณะสีขาว คล้ายวุ้น และค่อนข้างโปร่งแสง ซึ่งเกิดจากน้ำเข้าไปแทรก ตัวจนทำให้เส้นใยพองตัว (อมรรัตน์และสุธีรา, 2561) นอกจากนี้ยังพบว่า มิวซิเลจเป็นแหล่งของใยอาหารชนิดที่ละลายน้ำได้ซึ่งมีบทบาท สำคัญต่อสุขภาพโดยมีช่วยลดระดับคอเลสเตอรอล และมีผลต่อระดับน้ำตาลในเลือด ช่วยในการควบคุมน้ำหนักตัว และบรรเทาความผิดปกติที่เกิดขึ้นในระบบทางเดินอาหาร (ปิยนุสร์, 2555) ในอุตสาหกรรมอาหาร มีการใช้มิวซิเลจจากเม็ดแมงลักมาใช้ เป็นสารช่วยเพิ่มความคงตัวในผลิตภัณฑ์ไอศรีม (ปิยนุสร์และวันชัย, 2547) และน้ำจิ้ม (ปิยนุสร์และเนตรนภา, 2549) หรือใช้เป็นสารเพิ่มความข้นหนืดและความคงตัวของอิมัลชันในผลิตภัณฑ์ประเภทซอสพริก มายองเนส (ละอองดาว และกุลยา, 2545) นอกจากนี้ยังพบว่า มิวซิเลจที่ได้จากเมล็ดเจียสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการทดแทนไขมันในผลิตภัณฑ์อาหารต่าง ๆ เช่น มายองเนส (Fernandesa และ Selas-Mellado, 2018) ใช้เพื่อทดแทนหรือเพื่อลดปริมาณไขมันในผลิตภัณฑ์ขนมอบ เช่น ขนมปังและเค้ก (Fernandes และ Selas-Mellado, 2017; Peris และคณะ, 2019) สำหรับชิฟฟ่อนเค้ก เป็นเค้กที่มีลักษณะรวมของเค้กเนยและเค้กไข่ คือมีโครงสร้างละเอียดของเค้กไข่ แต่มีเนื้อเค้กมันเงาคล้ายเค้กเนย เป็นเค้กที่ใช้น้ำมันพืชเป็น

[1] สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี 234 หมู่ 12 ต.สามพร้าว อ.เมือง จังหวัดอุดรธานี ประเทศไทย 41000
[1] Department of Food science and Technology, Faculty of Technology, Udon Thani Rajabhat University, 234 moo 12 Sam Phrao district Mueang Udon Thani, Thailand 41000

ไขมันแทนเนย ซึ่งวิธีทำชิพฟ่อนเค้กจะต้องแยกไข่ขาวและไข่แดง ใส่น้ำตาลและส่วนผสมอื่นๆ และตีผสมแยกกันอย่างละถ้วยก่อนจะนำมาผสมรวมกันอีกครั้งเทลงพิมพ์แล้วเข้าอบ ซึ่งในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อใช้มิวซิเลจที่ได้จากเม็ดแมงลักนำมาทดแทนไข่แดงที่ทำหน้าที่เป็นอิมัลซิไฟเออร์ และเป็นการลดปริมาณไขมันอาจพบในจากไข่แดง และศึกษาถึงผลของการใช้มิวซิเลจจากเม็ดแมงลักในการทดแทนไข่แดงบางส่วนต่อลักษณะทางด้านประสาทสัมผัส องค์ประกอบทางกายภาพและเคมีของ ชิฟฟ่อนเค้ก

## อุปกรณ์และวิธีการ

1.การเตรียมมิวซิเลจจากเม็ดแมงลัก (ดัดแปลงจาก อภิญญา, 2562)

นำเม็ดแมงลักแห้งมาร่อนผ่านตระแกรงเพื่อกำจัดฝุ่นผงออกจากเมล็ด จากนั้นแล้วไปแช่น้ำที่อุณหภูมิ 70 °C โดยใช้อัตราส่วนของน้ำ 700 มล. ต่อเม็ดแมงลัก 100 กรัม เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำเม็ดแมงลักที่พองออกไปปั่นเพื่อแยกเมือกออกจากเมล็ด โดยใช้เครื่อนปั่นน้ำผลไม้ที่ความเร็วต่ำ เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นใช้ผ้าขาวบางกรองเมล็ดออกเพื่อให้ได้เฉพาะส่วนที่เป็นเมือก หรือ มิวซิเลจ และมิวซิเลจที่ได้ไปตีผสมกับน้ำมันรำข้าวที่ใช้เป็นส่วนผสมในการแปรรูปชิฟฟ่อนเค้ก เพื่อให้เนื้อมิวซิเลจไม่จับตัวกันเป็นก้อนเพื่อให้ง่ายต่อการผสมเป็นเนื้อเดียวกันในกระบวนการแปรรูปเค้ก

2. ขั้นตอนการแปรรูปผลิตภัณฑ์ชิพฟ่อนเค้ก โดยใช้มิวซิเลจจากเม็ดแมงลักทดแทนไข่แดงบางส่วน (ดัดแปลงจาก พล, 2562)

ปริมาณมิวซิเลจจากเม็ดแมงลักที่ใช้ทดแทนไข่แดง ในการศึกษานี้มีสามระดับคือ ทรีตเม้นต์ควบคุมใช้มิวซิเลจ (M) 0% ไข่แดง (Y) 100% (ใช้ มิวซิเลจ 0 กรัม ไข่แดง 41 กรัม) ทรีตเม้นต์ทดลองใช้ มิวซิเลจ(M) 60% ไข่แดง(Y) 40% และใช้มิวซิเลจ(M) 80% ไข่แดง(Y) 20% ปริมาณส่วนผสมอื่นๆ ใช้เท่ากันทุกทรีตเม้นต์และ มีวิธีการแปรรูปโดย การเตรียมส่วนผสมส่วนที่หนึ่งด้วยการร่อนแป้งสาลี (80 กรัม) เบคกิ้งโซดา (0.5กรัม) และเกลือป่น (0.25กรัม) เข้าด้วยกันแล้วพักไว้ นำส่วนผสมที่ร่อนแล้วผสมเข้ากับ นมข้นจืด (25กรัม) น้ำ (50กรัม) น้ำตาล (50กรัม) วนิลา (1กรัม) และไข่แดง/ หรือ ไข่แดงผสมมิวซิเลจ ตามอัตราส่วนที่ใช้ทดแทนข้างต้น โดยจะนำมิวซิเลจผสมกับน้ำมันรำข้าว (60กรัม) ก่อนเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการจับตัวกันเป็นก้อน สำหรับการเตรียมส่วนผสมส่วนที่สอง นำไข่ขาว (88 กรัม) ตีเข้ากับน้ำตาล (50กรัม) และครีมออฟทาร์ทาร์ (0.6กรัม) เป็นเวลาประมาณ 2 นาที จนกว่าไข่ขาวตั้งยอด จากนั้นนำส่วนผสมส่วนที่หนึ่งและส่วนที่สองมาผสมด้วยการตะล่อมเบาๆให้เข้ากันด้วยพายยางและคนอย่างต่อเนื่องจนเป็นเนื้อเดียวกัน หลังจากนั้นเทใส่พิมพ์ นำเข้าเตาอบโดยใช้ไฟบนที่อุณหภูมิ 150 °C ไฟล่างที่อุณหภูมิ 180°C เป็นเวลา 55-60 นาที เมื่อเค้กสุกดีแล้ว นำเค้กออกจากพิมพ์วางคว่ำบนตะแกรงแล้วพักทิ้งไว้ ประมาณ 20 นาที หลังจากเค้กเย็นตัวดีแล้วตัดเป็นชิ้น หนา 1 เซนติเมตร นำไปบรรจุในถุง PP และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5°C จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ปวัดสี โดยเครื่อง Hunter Lab (Color Flex CX 1463) การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำอิสระ (Novasina รุ่น Lab Touch) วิเคราะห์เนื้อสัมผัสโดยเครื่อง Texture Analyzer (Brookfield CT3) ทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยใช้แบบทดสอบ 9-point Hedonic scale และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีสำหรับทรีตเม้นต์ที่เหมาะสมที่สุด

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การใช้มิวซิเลจเพื่อ ทดแทนไข่แดง ในการแปรรูปผลิตภัณฑ์ชิฟฟ่อนเค้ก และนำไปวิเคราะห์ค่าสี (Table 1) พบว่า ค่าสี L* a* และ b* ของผลิตภัณฑ์ทั้งสามทรีตเม้นต์ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยพบว่าชิฟฟ่อนทรีตเม้นต์ควบคุม (M0%Y100%) มีค่า L* และ b* สูงที่สุด ส่วนทรีตเม้นต์ที่ใช้มิวซิเลจทดแทนไขแดง ค่า L* และ b* มีแนวโน้มลดลง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ อภิญญา (2562) และ อมรรัตน์และสุธีรา (2561) ซึ่งพบว่าการใช้กัมหรือมิวซิเลจจากเม็ดแมงลักในผลิตภัณฑ์ขนมอบจะส่งผลต่อค่าสี L* a* และ b* ของผลิตภัณฑ์เนื่องจากมิวซิเลจจากเม็ดแมงลักมีสีน้ำตาลอ่อน ๆ สำหรับค่า $a_w$ ของชิฟฟ่อนเค้กทั้งสามทรีตเม้นต์ (Table 1) มีค่าอยู่ในช่วง 0.98- 0.99 ($p \geq 0.05$) ซึ่งถือว่าเป็นช่วงที่เหมาะสำหรับการเจริญเติบโตของเชื้อรา แม้ว่าผลิตภัณฑ์ชิฟฟ่อนเค้กจะผ่านการอบสุกเพื่อทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมากับวัตถุดิบทั้งหมด แต่อาจจะเกิดการปนเปื้อนจากอากาศหรือบรรจุภัณฑ์ในการบรรจุ ดังนั้นปริมาณน้ำอิสระที่มีค่อนข้างสูงในผลิตภัณฑ์อาจส่งผลต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ที่อาจจะเกิดการเสื่อมเสียจากเชื้อราได้ (อัมพร, 2542)

การวิเคราะห์ด้านเนื้อสัมผัสของชิฟฟ่อนเค้ก (Table 2) พบว่า การใช้มิวซิเลจทดแทนไข่แดง ส่งผลให้ชิฟฟ่อนมีค่าความแข็ง (Hardness) และค่าการทนต่อการเคี้ยว (Chewiness) สูงขึ้น ($p \leq 0.05$) เนื่องจากการใช้มิวซิเลจ จัดอยู่ในกลุ่มไฮโดรคอนลอยด์ เป็นสารที่มีคุณสมบัติช่วยเพิ่มความข้นหนืดและเพิ่มความคงตัวของอิมัลชัน (ปิยนุสร์, 2555) เมื่อนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์ขนมอบจึงเป็นการเพิ่มปริมาณของแข็งในผลิตภัณฑ์ ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับค่าความแข็งที่สูงขึ้นของผลิตภัณฑ์มัฟฟินที่ใช้กัมจากเม็ดแมงลักและกัวกัมในปริมาณที่สูงขึ้น (อภิญญา, 2562) เช่นเดียวกับความแข็งของผลิตภัณฑ์ชิฟฟ่อนเมื่อมีการเติมเนื้อฟักข้าวและเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวในผลิตภัณฑ์ (สุพิชญ์, 2562) และสอดคล้องกับค่าการทนเคี้ยว (Chewiness) มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นเมื่อใช้มิวซิเลจในปริมาณที่สูงขึ้น ซึ่งค่าการทนเคี้ยว คือ แรงที่ใช้การเคี้ยวหรือบดตัวอย่างกระทั่งเสียรูป โดยเป็นตัวอย่างที่มีลักษณะผสมของ Hardness, Cohesiveness และ Springiness (ธัญญาภรณ์, 2549) ซึ่งในขณะที่ค่าความยืดหยุ่น (Springiness) หรือ

อัตราการคืนรูปของวัสดุหลังจากถูกกด เมื่อใช้มิวซิเลจทดแทนไข่แดงจะส่งผลให้ค่าความยืดหยุ่นของชิฟฟ่อนเค้กลดลง โดยพบว่าทรีตเม้นต์ควบคุมมีค่าความหยืดหยุ่นสูงที่สุด ($p \leq 0.05$) ซึ่งจากลักษณะของเนื้อเค้ก (Figure 1) ทรีตเม้นต์ควบคุมมีขนาดและการกระจายตัวของฟองอากาศอย่างสม่ำเสมอกว่าทรีตเม้นต์ทดลอง การใช้มิวซิเลจในชิฟฟ่อนเค้กมีผลต่อลักษณะเนื้อเค้กอย่างชัดเจน ซึ่งมิวซิเลจมีลักษณะเป็นเมือกลื่นอาจไปขัดขวางการกักเก็บอากาศในระหว่างการตีส่วนผสม หรือทำให้เกิดการกระจายตัวของฟองอากาศได้น้อยส่งผลทำให้มีโพรงอากาศขนาดใหญ่ เนื้อเค้กที่ได้มีความขึ้นฟูน้อยกว่าทรีตเม้นต์ควบคุม และส่งผลต่อค่าความยืดหยุ่นของผลิตภัณฑ์

การทดสอบการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัส (Table 3) โดยใช้ผู้ทดสอบกึ่งฝึกฝนจำนวน 30 คนในการทดสอบ พบว่าคะแนนของคุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสที่ทำการทดสอบ ยกเว้นด้านกลิ่นของชิพฟ่อนเค้กที่ใช้มิวซิเลจทดแทนไข่แดง มีคะแนนการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสมีแนวโน้มลดลง เมื่อเปรียบเทียบเทียบกับทรีตเม้นต์ควบคุม ($p \leq 0.05$) ซึ่งเป็นผลมาจากลักษณะทางกายภาพของชิฟฟ่อนเค้ก โดยเฉพาะในด้านเนื้อสัมผัสที่พบว่าการใช้มิวซิเลจส่งผลต่อความนุ่มฟูของเนื้อเค้ก (Figure 1) จึงทำให้มีคะแนนการยอมรับทางด้านประสามสัมผัสลดลง โดยผลการทดสอบยังสอดคล้องกับผลที่ได้จากการทดสอบเนื้อสัมผัสด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางด้านกายภาพและประสาทสัมผัส พบว่าการที่ใช้ มิวซิเลจ (M) 60% ไข่แดง (Y) 40% และใช้มิวซิเลจ (M) 80% ไข่แดง (Y) 20% มีคุณลักษณะทางด้านกายภาพและประสาทสัมผัสใกล้เคียงกัน แต่แตกต่างจากทรีตเม้นต์ควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ดังนั้นในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี จึงเลือกทรีตเม้นท์ทดลองที่ใช้มิวซิเลจในระดับสูง คือ M80%Y20% เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีเปรียบเทียบกับทรีตเม้นต์ควบคุม (M0% Y100%) (Table 4) จากผลการทดลองพบว่า ค่าความชื้น ปริมาณเถ้าและปริมาณเส้นใยของชิฟฟ่อนเค้กทั้งสองทรีตเม้นต์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่การใช้มิวซิวเลจเพื่อทดแทนไข่แดงนั้นทำให้ผลิตภัณฑ์ชิฟฟ่อนเค้กปริมาณความชื้น เถ้า และเส้นใย เพิ่มมากขึ้น ($p \geq 0.05$) ซึ่งมิวซิเลจเป็นแหล่งของใยอาหารชนิดที่ละลายน้ำได้และมีคุณสมบัติที่ดีต่อสุขภาพ (ปิยนุสร์, 2555) นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้มิวซิเลจเพื่อทดแทนไข่แดงเป็นบางส่วนส่งผลต่อปริมาณไขมันในผลิตภัณฑ์ชิฟฟ่อนเค้ก โดยพบว่าทรีตเม้นต์ที่ใช้มิวซิเลจเพื่อทดแทนไข่แดง (M80%Y20%) มีปริมาณไขมันเท่ากับ 20.85% ซึ่งมีปริมาณที่ต่ำกว่าทรีตเม้นควบคุมที่มีปริมาณไขมันเท่ากับ 25.42% ($p \leq 0.05$) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Fenandes และ Salas-Mellado (2017) ซึ่งได้ใช้มิวซิเลจจากเมล็ดเจีย เพื่อลดปริมาณไขมันในผลิตภัณฑ์ขนมปังและเค้ก โดยพบเมื่อเพิ่มปริมาณมิวซิเลจจากเมล็ดเจียในปริมาณมากขึ้นทำให้ปริมาณไขมันในผลิตภัณฑ์เค้กและขนมปังมีแนวโน้มลดลง และมีปริมาณต่ำกว่าทรีตเม้นต์ควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

## สรุปผลการทดลอง

การใช้มิวซิเลจเพื่อทดแทนไข่แดงเป็นบางส่วนในผลิตภัณฑ์ชิฟฟ่อนเค้ก สามารถใช้ระดับสูงสุด คือ 80% โดยชิฟฟ่อนเค้กที่ใช้ มิวซิเลจทดแทนไข่แดง 80% มีปริมาณไขมันในน้อยกว่าชิฟฟ่อนเค้กทรีตเม้นต์ควบคุม และมีปริมาณเส้นใยเพิ่มมากขึ้น การประยุกต์ใช้มิวซิเลจจากเมล็ดพืชกับ ผลิตภัณฑ์ขนมอบ ที่มีผลต่อการลดปริมาณไขมัน และการเพิ่มปริมาณเส้นใย สามารถนำไปเป็นแนวทางในการพัฒนาขนมอบเพื่อสุขภาพได้

## เอกสารอ้างอิง


ธัญญาภรณ์ ศิริเลิศ, 2549, การประเมินลักษณะเนื้อสัมผัสในอาหาร, วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม, 3(1): 6-13.

ปิยนุสร์ น้อยด้วง และเนตรนภา วิเลปะนะ, 2549, การใช้ผงเมือกจากเมล็ดแมงลักเป็นสารให้ความคงตัวในผลิตภัณฑ์น้ำจิ้มไก่, วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม, 3(1): 22-29.

ปิยนุสร์ น้อยด้วง และวันชัย ศรีโสม, 2547, การใช้มิวซิเลจแห้งจากเมล็ดแมงลักเป็นสารให้ ความคงตัวในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมช็อกโกแลต ในการประชุมวิชาการอุตสาหกรรมเกษตร ครั้ง ที่ 6 (ThaiFex & HalFex, 2004), หน้า 29-30, 28-29 พฤษภาคม 2547, ศูนย์แสดงสินค้าและการประชุมอิมแพ็ค เมืองทองธานี, กรุงเทพฯ.

ปิยนุสร์ น้อยดวง, 2555, กัมและมิวซิเลจจากพืช, วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม, 7(1): 1-10.

พล ตัณฑสเถียร, 2562, ชิฟฟ่อนเค้ก, สืบค้นจาก https://www.pholfoodmafia.com/recipe/, วันที่สืบค้น 10 มิ.ย. 2562.

ละอองดาว ว่องเอกลักษณ์และกุลยา ลิ้มรุ่งเรืองรัตน์, 2545, การใช้มิวซิเลจแห้งจากเมล็ดแมงลักเป็นสารให้ความคงตัวในผลิตภัณฑ์ซอสพริกและมายองเนส, วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา, 7(1): 17-24.

สุพิชญ์ แก้วเนตร, 2562, การศึกษาคุณลักษณะของชิฟฟ่อนเค้กที่เติมฟักข้าว, วารสารวิชาการสถาบันการอาชีวศึกษาเกษตร, 3(1): 18-27.

อภิญญา เจริญกุล, 2562, ผลของกัมจากเมล็ดแมงลักต่อคุณภาพของมัฟฟินแป้งข้าวกล้อง, วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 50(2)(พิเศษ): 81-84.

อมรรัตน์ เจริญ และสุธีรา วัฒนกุล, 2561, ผลของการใช้กัมจากเมล็ดแมงลักต่อคุณภาพของแบตเตอร์และคุณภาพของเค้กแป้งข้าวขาวดอกมะลิ 105, วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 26(6): 993-1004.

อัมพร พุ่มฉัตร, 2542, จุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่, วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ, 47(150) : 24-24.

Fernandes, S.S. and Salas-Mellado, L.M., 2017, Addition of Chia Seed Mucilage for Reduction of Fat Content in Bread and Cakes, Food Chemistry, 227: 237-244.

Fernandesa S.S. and Salas-Mellado, M.d. L.M., 2018, Effect of Oil Replacement in Mayonnaise by Chai (*Salvia hispanica L*) Mucilage, Integrative Food Nutrition Metabolism, 5(3): 1-4, doi:10.15761/IFNM.1000218.

Peris M., Rubio-Arraez S., Castello M.L., and Ortola M. D., 2019, From the Laboratory to the Kitchen: New Alternatives to Healthier Bakery Products, Foods, 8(660), doi:10.3390/food8120660.

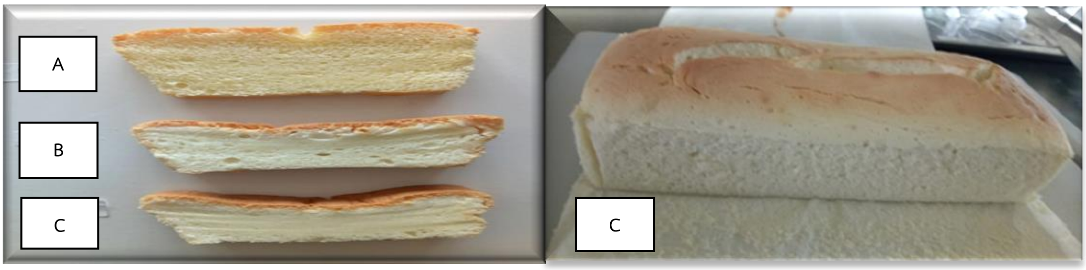



**Figure 1** Chiffon Cake produced from using Mucilage from Basil seed Partial Replaced Yolk. A: M0%Y100% (control), B: M60%Y40%, C: M80%Y20%, Where M was the mucilage and Y was the yolk.

**Table 1** Color and water activity of Chiffon Cake produced from using Mucilage from Basil seed Partial Replaced Yolk

| Treatment** | L* | a* | b* | $a_w$ ns |
|---|---|---|---|---|
| M0%Y100% (control) | 69.87±2.01[a] | 3.48±1.05[b] | 30.80±1.67[a] | 0.98±0.02 |
| M60%Y40% | 62.37±2.52[c] | 5.52±1.84[a] | 26.77±2.01[b] | 0.99±0.08 |
| M80%Y20% | 64.23±1.01[b] | 3.22±1.06[b] | 23.17±0.75[c] | 0.99±0.08 |

a-c Means in the same column followed by different superscripts were significantly different (p≤0.05)
ns Means in the same column were not significantly different (p≥0.05), ** M was the mucilage and Y was the yolk.

**Table 2** Texture analysis of Chiffon Cake produced from using Mucilage from Basil seed Partial Replaced Yolk

| Treatment** | Hardness (N) | Chewiness (mJ) | Springiness (mm) |
|---|---|---|---|
| M0%Y100% (control) | 1275.56±420.19[b] | 98.93±16.95[c] | 17.25±0.54[a] |
| M60%Y40% | 1864.39±243.51[a] | 167.75±13.54[a] | 15.96±0.97[b] |
| M80%Y20% | 1892.17±202.07[a] | 130.82±22.73[b] | 15.16±0.45[c] |

a-c Means in the same column followed by different superscripts were significantly different (p≤0.05)
** M was the mucilage and Y was the yolk.

**Table 3** Sensory evaluation of Chiffon Cake produced from using Mucilage from Basil seed Partial Replaced Yolk

| Treatment** | Appearance | Color | Odor ns | Flavor | Taste | Texture | Overall acceptability |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| M0%Y100% | 7.13±1.10[a] | 7.50±0.97[a] | 6.97±1.16 | 7.23±1.04[a] | 7.30±0.87[a] | 7.53±1.07[a] | 7.87±1.04[a] |
| M60%Y40% | 5.93±1.18[b] | 6.10±1.35[b] | 6.67±1.21 | 6.67±1.42[b] | 6.81±1.13[b] | 6.70±1.23[b] | 6.87±1.19[b] |
| M80%Y20% | 6.73±1.22[a] | 6.67±1.54[b] | 6.70±1.51 | 6.67±1.15[b] | 7.00±1.11[b] | 6.70±1.31[b] | 6.84±0.95[b] |

a-c Means in the same column followed by different superscripts were significantly different (p≤0.05)
ns Means in the same column were not significantly different (p≥0.05), ** M was the mucilage and Y was the yolk.

**Table 4** Chemical composition of Chiffon Cake produced from using Mucilage from Basil seed Partial Replaced Yolk

| Treatment** | Moisture content ns (%) | Ash ns (%) | Fat (%) | Fiber ns (%) |
|---|---|---|---|---|
| M0%Y100% (control) | 29.03±1.64 | 0.65±0.55 | 25.42±0.19[a] | 0.07±0.10 |
| M80%Y20% | 31.18±0.26 | 0.99±0.12 | 20.85±0.12[b] | 0.13±0.08 |

a-c Means in the same column followed by different superscripts were significantly different (p≤0.05)
ns Means in the same column were not significantly different (p≥0.05)
** M was the mucilage and Y was the yolk.

# ฤทธิ์การต้านเชื้อราที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของขนมปังของสารสกัดจากเปลือกสับปะรด
# Antimicrobial Activity of Pineapple Peel Extract Against Bread Spoilage Fungi

**นิรมล ปัญญ์บุศยกุล[1] เพ็ญทิชา สุขทรัพย์[1]และ อิษยา ยอดยิ่ง[1]**
**Punbusayakul, N.[1], Suksab, P.[1] and Yodying, I.[1]**

## Abstract

This work investigated antimicrobial activity of pineapple peel extract against bread spoilage fungi. Pineapple-peel was dried (70 °C), ground (100 mesh) and macerated in distilled water at the pineapple-peel-to-water ratio of 1:10 and shaken at 120 rpm for 4 hrs. The mixture was filtered and the filtrate was subjected for rotary evaporator under reduced pressure to get a pineapple-peel crude extract (PPE). The PP was diluted to the concentration of 0.0039–1.0000 g/mL with distilled water. The *in vitro* antifungal activity of the PPE against *Aspergillus* sp. mycelium growth and spore germination was evaluated by poisoned food bioassay and spore germination test methods, respectively. The mycelium growth and spore germination inhibition increased with the increasing pineapple-peel-crude-extract concentration (9.71 – 33.46 % and 1.93 – 68.91 %, respectively). These results indicate that the PPE is a potential natural antimicrobial agent that could be applied for bread spoilage fungi inhibition.

**Keywords:** *Aspergillus* sp., Spore germination, Mycelium growth, poisoned food bioassay

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารสกัดจากเปลือกสับปะรด โดยอบเปลือกสับปะรด (70 องศาเซลเซียส) บด (100 เมซ) และผสมผงเปลือกสับปะรดกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:10 และเขย่าที่ 120 rpm 4 ชั่วโมง จึงกรอง และระเหยด้วยเครื่องระเหยแบบแบบลดความดันได้สารสกัดหยาบ (PPE) จึงเจือจางให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน (0.0039 – 1.0000 g/mL) และศึกษาฤทธิ์ต้านการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Aspergillus* sp. ด้วยวิธี poisoned food bioassay และฤทธิ์ต้านการงอกของสปอร์เชื้อรา จากการทดลองพบว่าเมื่อความเข้มข้นสารสกัดหยาบเพิ่มขึ้น ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเส้นใย และการงอกของสปอร์เชื้อราเพิ่มขึ้น (9.71 – 33.46 % และ 1.93 – 68.91 % ตามลำดับ) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบเป็นสารต้านจุลินทรีย์ธรรมชาติที่มีศักยภาพสำหรับใช้ต้านเชื้อราขนมปังได้

**คำสำคัญ:** *Aspergillus* sp. การเจริญของเส้นใยรา การงอกของสปอร์รา

## คำนำ

ขนมปังเป็นผลิตภัณฑ์ขนมอบประเภทหนึ่งที่เป็นที่นิยมรับประทาน โดยเฉพาะสังคมที่มีวิถีชีวิตเร่งรีบในปัจจุบัน อย่างไรก็ตามขนมปังมีอายุการเก็บรักษาสั้น ทั้งนี้การเสื่อมเสียของขนมปังส่วนใหญ่มีสาเหตุมาจากการงอกของสปอร์ราที่ปนเปื้อนมาจากสิ่งแวดล้อมในขั้นตอนหลังการอบ เช่น *Aspergillus* sp. *Penicillium* sp. และ *Rhizopus* sp. (Ravimannan, Sevvel และ Saarutharshan, 2016) ดังนั้นผู้ผลิตจึงนิยมใส่สารต้านจุลินทรีย์สังเคราะห์ลงในขนมปัง เช่น กรดโพรพิโอนิก เพื่อลดการเสื่อมเสียเนื่องจากสาเหตุดังกล่าว แต่สามารถเติมสารต้านจุลินทรีย์ดังกล่าวได้ในปริมาณเท่าที่กฎหมายกำหนดเท่านั้น และความกังวลในอันตรายของสารดังกล่าว ที่สามารถติดไฟได้ มีฤทธิ์กัดกร่อน ทำให้ผิวหนังไหม้อย่างรุนแรงและทำลายดวงตาของผู้ปฏิบัติงาน รวมทั้งสามารถยืดอายุการเก็บรักษาของขนมปังได้ไม่เกิน 7 วัน ประกอบกับในปัจจุบันผู้บริโภคมีความวิตกกังวลในเรื่องสุขภาพ สารต้านจุลินทรีย์จากธรรมชาติจึงได้รับความนิยมเพิ่มขึ้น พืชเป็นแหล่งของสารต้านจุลินทรีย์ทางธรรมชาติที่นิยม เนื่องจากสามารถหาได้ง่าย โดยมีรายงานว่าสารสกัดจากพืชหลายชนิดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของขนมปังได้ เช่น น้ำมันหอมระเหยจากพืชชนิดต่าง ๆ เช่น มะนาว มะกรูด ตะไคร้ สะระแหน่ และขิง แต่ยังคงต้องใช้ในปริมาณสูงอยู่ (0.05-1.0 กรัมต่อมิลลิลิตร) (Garcia และ Copetti, 2019; จาตุรงค์ จงจีน, 2555) จึงมีแนวโน้มที่ผู้ผลิตจะหันมาใช้สารจากธรรมชาติมากขึ้น

[1] ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี 20131
[1] Department of Food Science, Faculty of Science, Burapha University, Chonburi 20131 Thailand

ประเทศไทยมีผลผลิตสับปะรดประมาณปีละ 1.80–2.00 ล้านตัน และเป็นประเทศผู้ส่งออกสับปะรดกระป๋องเป็นอันดับหนึ่งของโลก (กรมวิชาการเกษตร, 2560) ทำให้มีเปลือกสับปะรด จากกระบวนการแปรรูปสับปะรดประมาณ 330 พันตันต่อปี (41 % ของสับปะรดทั้งผล) (Asaolu และคณะ, 2016) อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าเปลือกสับปะรดเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์สำคัญทางชีวภาพหลายชนิด เช่น ฟลาโวนอยด์ แทนนิน แคโรทีนอยด์ ไลโคพีน และ ฟีนอล (Kalaiselvi และคณะ, 2012) โดยมีกรดแกลลิกเป็นสารประกอบฟีนอลหลักที่พบในเปลือกสับปะรด ซึ่งมีรายงานว่าเป็นสารประกอบที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้ (Li และคณะ, 2014) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าเอนไซม์ไคทิเนส เอ (chitinase A) ในเปลือกสับปะรด สามารถทำลายผนังเซลล์ของเชื้อราซึ่งประกอบด้วยไคติน (chitin) ได้ (Taira และคณะ, 2005)

อย่างไรก็ตามปัจจุบันยังไม่มีการใช้สารสกัดจากเปลือกสับปะรด ในการต้านเชื้อราที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของขนมปัง งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อราของสารสกัดจากเปลือกสับปะรดในหลอดทดลอง (*in vitro*) เพื่อให้เป็นทางเลือกหนึ่งในการป้องกันการเสื่อมเสียของขนมปัง และเพื่อหาความเป็นไปได้ในการใช้สารสกัดจากเปลือกสับปะรดดังกล่าวเป็นสารต้านเชื้อราขนมปังในอุตสาหกรรมอาหารได้

## อุปกรณ์และวิธีการ

**การเตรียมสารสกัดจากเปลือกสับปะรด** โดยวิธีของ วรรณวิสา และคณะ (2560) โดยนำเปลือกสับปะรดมาล้าง และหั่นให้เป็นแผ่นบาง ๆ จากนั้นอบเปลือกสับปะรด ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จนมีความชื้นไม่เกินร้อยละ 13 จึงบดเป็นผง (100 เมช) ผสมผงเปลือกสับปะรดกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:10 และเขย่าที่ 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จึงกรอง และระเหยแบบลดความดันจนได้สารสกัดหยาบ (PPE) จากนั้นจึงนำ PPE มาเตรียมเป็น stock solution ที่มีความเข้มข้นเป็น 1.0000 กรัมต่อมิลลิลิตร และจึงเจือจาง PPE ที่ได้ด้วยน้ำกลั่นครั้งละ 1 เท่า ได้เป็นความเข้มข้น 1.0000 0.5000 0.2500 0.1250 0.0625 0.0312 0.0156 0.0078 และ 0.0039 กรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

**การศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อราของสารสกัดจากเปลือกสับปะรด**

**เตรียมเชื้อรา** *Aspergillus* sp. ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา โดยถ่ายเชื้อราลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ปลอดเชื้อ และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 - 7 วัน เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

**ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา** ด้วยวิธี poisoned food bioassay โดยดัดแปลงวิธีของ (Tripathi และคณะ, 2008) โดยผสม PPE ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน หรือน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) 2.5 มิลลิลิตร และอาหาร PDA เหลวที่มีอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส 12.5 มิลลิลิตร เทลงในจานเลี้ยงเชื้อ รอจนแข็งตัว จึงถ่ายเส้นใยเชื้อราอายุ 5 วัน โดยใช้ Cork borer (เส้นผ่านศูนย์กลาง 5.0 มิลลิเมตร) เจาะบริเวณขอบของโคโลนี ไปวางบนกึ่งกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา และคำนวณหาค่าร้อยละการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา (growth inhibition : GI) โดย $GI = (R1-R2)/R1 \times 100$ โดย R1 = ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราทดสอบในชุดควบคุม และ R2 = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราทดสอบในอาหารผสมสารสกัดในแต่ละความเข้มข้น

**ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา** ด้วยวิธี spore germination test โดยดัดแปลงวิธีของ (Gemeda และคณะ, 2014) โดยเทน้ำกลั่นปลอดเชื้อที่มี Tween 80 (0.1 % โดยปริมาตร) 5 – 10 มิลลิลิตร ลงบนโคโลนีเชื้อราที่มีอายุ 5 - 7 วัน และใช้เข็มเขี่ยเชื้อปลายงอขูดโคโลนีออกจากผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นปิเปตสารละลายแขวนลอยของสปอร์เชื้อราไปปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 2000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที และถ่ายส่วนใสไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่สภาวะเดียวกัน นับจำนวนสปอร์เชื้อราภายใต้กลองจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 40 เท่า และปรับจำนวนสปอร์ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ $1 \times 10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร ถ่ายสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี PPE ปริมาณต่าง ๆ กัน หรือน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) 1 มิลลิลิตร และ PDB 4 มิลลิลิตรในหลอดทดลอง บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงนับจำนวนการงอกของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 40 เท่า และคำนวณหาค่าร้อยละการยับยั้งการงอกของสปอร์ (spore germination inhibition : SI) เทียบกับชุดควบคุม

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลอง พบว่า PPE มีฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อราเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของ PPE เพิ่มขึ้น โดยมีค่าร้อยละการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อราอยู่ระหว่าง 9.71 - 33.46 ทั้งนี้เนื่องมาจากสารสกัดจากเปลือกสับปะรดมีสารออกฤทธิ์สำคัญได้แก่ ไคทีเนส เอ ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สามารถทำลายผนังเซลล์ของเชื้อรา ทำให้ผนังเซลล์ของเชื้อราได้รับความเสียหายและเกิดการรั่วไหลของสารภายในเซลล์ ส่งผลให้เชื้อราตายได้ (Taira และคณะ, 2005) หรืออาจเกิดจากฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารประกอบฟีนอล เช่น กรดแกลลิก ในเปลือกสับปะรด ที่เข้าไปรบกวนการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์ หรือไปทำลายสมบัติความเป็นเยื่อเลือกผ่านของผนังเซลล์ จึงทำให้สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อราได้ (Carvalho และคณะ, 2018) นอกจากนี้จากผลการศึกษาค่าพีเอชของ PPE พบว่ามีค่าพีเอชประมาณ 4.2 ทำให้ไม่เหมาะสำหรับการเจริญของ *Aspergillus sp.* ที่สามารถเจริญได้ดีที่สภาวะที่มีค่าพีเอชระหว่าง 5.0 - 6.5 (Passamani และคณะ, 2014) นอกจากนี้ยังพบว่า PPE สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อราได้ โดยเมื่อ PPE มากขึ้น จำนวนสปอร์ที่งอกจะมีจำนวนน้อยลง โดยมีค่าร้อยละการยับยั้งการงอกของสปอร์อยู่ระหว่าง 1.93 - 68.91 จากตารางที่ 1 จะเห็นได้ว่า PPE มีฤทธิ์การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราได้ดีกว่าการยับยั้งการเจริญของเส้นใย สอดคล้องกับงานวิจัยของ (สุนิดา, ทวีรัตน์, วาริช, เฉลิมชัย และทรงศิลป์, 2560) ที่พบว่าสารสกัดจากกระเทียม หอมแดง และพริกแห้งสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราได้ดีกว่าการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อราทดสอบบนอาหารแข็ง PDA ทำให้อาจมีเส้นใยราบางส่วนที่ไม่สัมผัสกับอาหารทีมี PPE และยังคงสามารถเจริญต่อไปได้ ในขณะที่การทดสอบการงอกของสปอร์ทำการทดสอบในอาหารเหลว PDB ซึ่งสปอร์สัมผัสกับสารสกัดโดยตรง นอกจากนี้สภาวะการทดสอบในอาหารเหลวยังเป็นสภาวะที่มีออกซิเจนอยู่น้อยจึงส่งผลทำให้สปอร์งอกได้ช้า

## สรุปผล

จากการทดลองสามารถสรุปได้ว่า สารสกัดจากเปลือกสับปะรดมีฤทธิ์การต้านการเจริญของเส้นใยเชื้อรา และการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Aspergillus* sp. ในหลอดทดลอง (*in vitro*) โดยสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราได้ดีกว่าการเจริญของเส้นใยเชื้อรา จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากเปลือกสับปะรดเป็นสารต้านจุลินทรีย์จากธรรมชาติที่มีศักยภาพสำหรับใช้เป็นสารต้านเชื้อราที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของขนมปัง

## คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณโรงงานอาหารสยาม จำกัด (มหาชน) จังหวัดชลบุรี ที่สนับสนุนวัตถุดิบเปลือกสับปะรด ขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพาที่สนับสนุนงบประมาณ ขอบคุณอาจารย์ ดร. ภรณี ศรีปรีชาศักดิ์ และภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ จุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพาที่อนุเคราะห์ เชื้อจุลินทรีย์ และเครื่องมือที่ใช้ในการทำวิจัยครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร, 2560, ยุทธศาสตร์สับปะรดปี 2560-2569 [สืบค้น], http://www.doa.go.th/main/.

วรรณวิสา สุดมี เกศมณี สามารถ และนิรมล ปัญญ์บุศยกุล, 2560, ผลของอุณหภูมิในการอบแห้งและชนิดของตัวทำละลายในการสกัดต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกสับปะรด, รายงานสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการ “วิทยาศาสตร์วิจัย” ครั้งที่ 9, คณะวิทาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี, (หน้า BI372-BI378).

จาตุรงค์ จงจีน, 2555, ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรในการยับยั้งเชื้อราที่เป็นสาเหตุการเน่าเสียในขนมปัง, วารสารวิทยาศาสตร์เกษตรม 43(2)พิเศษ: 145-148

สุนิดา เมืองโคตร ทวีรัตน์ วิจิตรสุนทรกุล วาริช ศรีละออง เฉลิมชัย วงษ์อารี และทรงศิลป์ พจน์ชนะชัย, 2560, ผลของอุณหภูมิการคั่วกระเทียม หอมแดง และพริกแห้งต่อฤทธิ์ในการต้านเชื้อรา *Aspergillus niger*, วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 19(3): 88-100.

Asaolu, O., Rachael, T., and Oyeniyi, 2016, Assessment of Feeding Value of Vegetable-Carried Pineapple Fruit Wastes to Red Sokoto Goats in Ogbomoso, Oyo State of Nigeria, African Journal of Biotechnology, 15(31): 1648-1660.

Carvalho, R.S., Carollo, C.A., de Magalhães, J.C., Palumbo, J.M.C., Boaretto, A.G., Nunes Sá, I.C., and Ferreira, J.M.S., 2018, Antibacterial and Antifungal Activities of Phenolic Compound-Enriched Ethyl Acetate Fraction

from *Cochlospermum regium* (Mart. Et. Schr.) Pilger Roots: Mechanisms of Action and Synergism With Tannin and Gallic Acid, South African Journal of Botany, 114: 181-187.

Garcia, M., and Copetti, M., 2019, Alternative Methods for Mold Spoilage Control in Bread and Bakery Products, International Food Research Journal, 26(3): 737-749.

Gemeda, N., Woldeamanuel, Y., Asrat, D., and Debella, A., 2014, Effect of Essential Oils on *Aspergillus* Spore Germination, Growth and Mycotoxin Production: A Potential Source of Botanical Food Preservative, Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 4(Suppl 1): S373-S381.

Kalaiselvi, M., Gomathi, D., and Uma, C., 2012, Occurrence of Bioactive Compounds in *Ananus comosus* (L.): A Quality Standardization by HPTLC, Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2(Suppl 3): S1341-S1346.

Li, T., Shen, P., Liu, W., Liu, C., Liang, R., Yan, N., and Chen, J., 2014, Major Polyphenolics in Pineapple Peels and Their Antioxidant Interactions, International Journal of Food Properties, 17(8): 1805-1817.

Passamani, F.R., Hernandes, T., Lopes, N.A., Bastos, S.C., Santiago, W.D., Cardoso, M., and Batista, L.R., 2014, Effect of Temperature, Water Activity, And pH on Growth and Production of Ochratoxin A by *Aspergillus niger* and *Aspergillus carbonarius* from Brazilian Grapes, Journal of Food Protection, 77(11): 1947-1952.

Ravimannan, N., Sevvel, P., and Saarutharshan, E.., 2016, Study on Fungi Associated with Spoilage of Bread, International journal of advanced research in biological sciences, 3(4): 165-167.

Taira, T., Toma, N., Ichi, M., Takeuchi, M., and Ishihara, M., 2005, Tissue Distribution, Synthesis Stage, and Ethylene Induction of Pineapple (*Ananas comosus*) Chitinases, Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 69(4): 852-854.

Tripathi, P., Dubey, N.K., and Shukla, A.K., 2008, Use of Some Essential Oils as Post-Harvest Botanical Fungicides in the Management of Grey Mould of Grapes Caused by *Botrytis cinerea*, World Journal of Microbiology and Biotechnology, 24(1): 39-46.

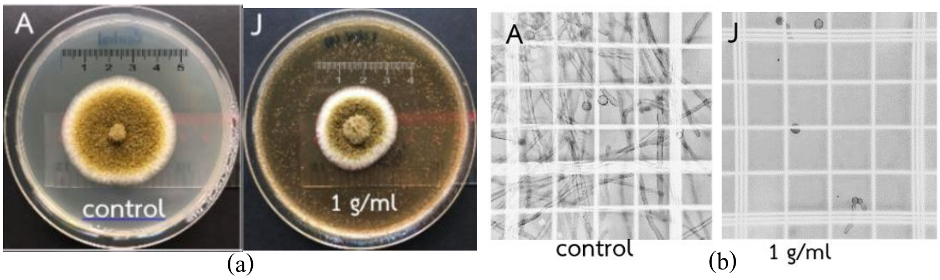



**Figure 1** Mycelium growth (a) and spore germination (b) in media without PPE (A) and with PPE (J).

**Table 1** Mycelium growth (GI) and spore germination (SI) inhibition of the PPE against the *Aspergillus* sp.

| PPE (g/mL) | GI (%)* | SI (%)* |
|---|---|---|
| Control | 0.00 ± 0.00 G | 0.00 ± 0.00G |
| 0.0039 | 9.71 ± 1.19 F | 1.93 ± 1.67FG |
| 0.0078 | 19.06 ± 1.48 DE | 6.81± 1.75EF |
| 0.0156 | 17.25 ± 1.76 E | 7.76 ± 1.63E |
| 0.0313 | 20.49 ± 2.10 D | 25.27 ± 2.09D |
| 0.0625 | 24.45 ± 1.61 C | 32.04 ± 2.99C |
| 0.1250 | 29.49 ± 1.68 B | 57.28 ± 1.48B |
| 0.2500 | 30.21 ± 1.19 B | 58.26 ± 0.97B |
| 0.5000 | 31.65 ± 1.49 AB | 61.15 ± 2.09B |
| 1.0000 | 33.46 ± 1.24 A | 68.91 ± 2.18A |

*Means within each column with the same superscription are not significantly different (P<0.05).

# ผลของสารแคลเซียมโบรอนก่อนการเก็บเกี่ยวร่วมกับกรดซาลิไซลิคหลังการเก็บเกี่ยวต่อการลดอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย

# Effect of Preharvest Treatment by Calcium Boron Incorporated with Postharvest Treatment by Salicylic Acid on Alleviating Internal Browning of Pineapple cv. 'Pattavia'

ไชยภร เก็บเงิน[1] ปรียานุช แสงประยุร[1,2] อภิรดี อุทัยรัตนกิจ[1] เฉลิมชัย วงษ์อารีย์[1,2] ผ่องเพ็ญ จิตอารีย์รัตน์[1]
สุกัญญา เอี่ยมลออ[4] รัตนา รุ่งศิริสกุล[3] และ พนิดา บุญฤทธิ์ธงไชย[1,2]
Kebngoen, C.[1], Sangprayoon, P.[1,2], Uthairatanakij, A.[3], Wongs-Aree, C.[1,2], Jitareerat, P.[4],
Aiamla-or, S.[4], Rungsirisakun, R.[3] and Boonyaritthongchai, P.[1,2]

## Abstract

This study was to investigate the effectiveness of preharvest treatment by 1.5 g/plant of calcium chloride and 0.4% boron (CaB) incorporated with postharvest treatment by 5 mM salicylic acid (SA) on reducing internal browning in pineapple cv. Pattavia compared with non-treated pineapple (control). All fruit were kept at 13±1 °C for 5, 10 and 15 days, and then transferred to keep at 25°C for 2 days. Non-treated pineapple revealed internal browning at core adjacent flesh at 5+2 day of storage. Chemical treated fruit showed the internal browning at 10+2 day. This treatment showed the higher value of the lightness (L*) at the flesh adjacent the core area and lower Hue angle value when compared with the control. Furthermore, chemical treated pineapple showed significantly lower of browning index, browning score, and PPO activity than that of the control throughout storage period.

**Keywords:** Pineapple cv. Pattavia, Calcium boron, Salicylic acid, Internal browning

## บทคัดย่อ

จากการศึกษาการให้สารแคลเซียมคลอไรด์ 1.5 กรัม/ต้น โบรอนร้อยละ 0.4 ก่อนการเก็บเกี่ยวร่วมกับการใช้กรดซาลิไซลิก 5 มิลลิโมลาร์ หลังการเก็บเกี่ยวต่อการลดอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย โดยเปรียบเทียบกับสับปะรดที่ไม่ได้ให้สารเคมี (ชุดควบคุม) ผลสับปะรดทั้งหมดเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13±1 องศาเซลเซียส นาน 5, 10 และ 15 วัน และย้ายมาวางที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน พบว่าสับปะรดชุดควบคุมเกิดอาการไส้สีน้ำตาลในวันที่ 5+2 ของการเก็บรักษา สับปะรดที่ได้รับสารเคมีพบอาการไส้สีน้ำตาลในวันที่ 10+2 ของการเก็บรักษา โดยเนื้อเยื่อบริเวณติดแกนมีค่าความสว่าง (L*) สูง และมีการเปลี่ยนแปลงค่า Hue angle น้อยเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ตลอดจนมีค่าดัชนีการเกิดสีน้ำตาล คะแนนการเกิดสีน้ำตาล กิจกรรมเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส ต่ำกว่าสับปะรดชุดควบคุมอย่างมีความแตกต่างทางสถิติ

**คำสำคัญ** สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย แคลเซียมโบรอน กรดซาลิไซลิก ไส้สีน้ำตาล

## คำนำ**

สับปะรด (*Ananas comosus* L.) เป็นผลไม้เศรษฐกิจที่มีความสำคัญอีกชนิดหนึ่งของประเทศไทย สับปะรดเป็นผลไม้ในเขตร้อน ประเภท non-climacteric (Paull และ Lobo, 2012) ในประเทศไทยนิยมปลูกสับปะรด 2 กลุ่ม ได้แก่ ปัตตาเวีย และควีน โดยสับปะรดกลุ่มปัตตาเวียนิยมนำไปแปรรูปมากกว่ารับประทานสด (Paull และ Lobo, 2012) เนื่องสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียมีปัญหาในด้านการขนส่งคือการเกิดอาการสะท้านหนาว (chilling injury; CI) (Abdullan *et al*., 1986) โดยลักษณะ

[1]สาขาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (บางขุนเทียน) 49 ซอยเทียนทะเล 25 ถนนบางขุนเทียนชายทะเล แขวงท่าข้าม เขตบางขุนเทียน กรุงเทพมหานคร 10150
[1]Division of Postharvest Technology, School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi (Bangkhuntien), 49 Tientalay 25, Thakam, Bangkhuntien, Bangkok 10150, Thailand
[2]ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม กรุงเทพมหานคร 10400
[2]Postharvest Technology Innovation Center, Ministry of Higher Education, Science, Research and Innovation, Bangkok 10400, Thailand [3]ศูนย์บริการทางการศึกษา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (ราชบุรี) 209 หมู่1 ต. รางบัว อ. จอมบึง จ. ราชบุรี 70150
[3]King Mongkut's University of Technology Thonburi Learning Park (Ratchaburi), 209 Moo 1, Rangbua, Chombung, Ratchaburi, 70150, Thailand
[4]สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร สาขาเทคโนโลยีการผลิตพืช มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
[4]Institute of Agricultural, Crop Production Technology, Suranaree University of Technology

อาการ CI ที่พบมากในสับปะรดคือ อาการไส้สีน้ำตาล (internal browning) บริเวณเนื้อติดแกน โดยมักเกิดอาการเมื่อเก็บรักษาสับปะรดที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10-13 องศาเซลเซียส (Youryon และคณะ, 2018) สาเหตุเกิดจากฟอสโฟลิปิดบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์รวมถึงเยื่อหุ้มออร์กาเนล เกิดการเปลี่ยนสภาพจากลักษณะอ่อนตัว (liquid crystalline phase) ไปเป็นลักษณะแข็งตัว (solid gel phase) ทำให้เกิดการรั่วไหลของสารต่างๆ ส่งผลให้สูญเสียการควบคุมการผ่านเข้าออกของสารต่างๆ (Vamos-Vigyazo, 1981) จากงานวิจัยก่อนหน้านี้คณะนักวิจัยพบว่าการใช้สารแคลเซียมโบรอนก่อนการเก็บเกี่ยว และการใช้สารกรดซาลิไซลิคหลังการเก็บเกี่ยว มีแนวโน้มในการลดอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดได้ โดยทำงานวิจัยแยกกันในส่วนการให้สารแคลเซียมโบรอนก่อนการเก็บเกี่ยวและการให้สารกรดซาลิไซลิคหลังการเก็บเกี่ยว ดังนั้นงานวิจัยนี้จะศึกษาถึงผลของการให้สารแคลเซียมโบรอนก่อนการเก็บเกี่ยวร่วมกับการจุ่มสารละลายกรดซาลิไซลิคหลังการเก็บเกี่ยว ต่อการชะลอการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ

## อุปกรณ์และวิธีการ*

การทดลองทำที่สวนสับปะรด GAP อำเภอบ้านบึง จังหวัดชลบุรี ในระหว่างเดือน มิถุนายน-กันยายน 2563 โดยทำการฉีดพ่นสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียด้วยสารแคลเซียมคลอไรด์ 1.5 กรัม/ต้น โบรอนร้อยละ 0.4.ในระยะผลอ่อน ทุก 2 สัปดาห์ จากนั้นทำการเก็บเกี่ยวผลสับปะรดช่วงระยะที่สีตาของเปลือกผลปรากฏสีเหลืองจำนวน 2 แถว (ระยะสุกแก่ ร้อยละ 25) และขนส่งไปยังโรงคัดบรรจุ อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม และคัดเลือกสับปะรดที่มีน้ำหนักประมาณ 1-1.5 กิโลกรัม โดยปราศจากตำหนิและแมลง และนำมาจุ่มในกรดซาลิไซลิค ที่ความเข้มข้น 5 mM นาน 1 ชั่วโมง สำหรับชุดควบคุมคือ สับปะรดที่ไม่พ่นสารแคลเซียมโบรอนและไม่จุ่มสารละลายกรดซาลิไซลิค จากนั้นผึ่งให้แห้ง และบรรจุในกล่องกระดาษ 6 ผลต่อกล่อง และขนส่งมายังมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรีโดยรถบรรทุกห้องเย็น เก็บรักษาในห้องอุณหภูมิ 13±1 องศาเซลเซียส นาน 5 10 และ 15 วัน และนำออกมาไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน และทำการสุ่มตัวอย่างเพื่อบันทึกผลการทดลองทุก 5 วัน ดังนี้ อาการไส้เกิดไส้สีน้ำตาลของสับปะรด การให้คะแนนการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลของสับปะรด ดัชนีการเกิดสีน้ำตาล การเปลี่ยนแปลงค่าความสว่าง( L*) กิจกรรมเอนไซม์ PPO และปริมาณสารประกอบฟีนอล

## ผลการทดลอง**

1.อาการไส้สีน้ำตาลของสับปะรด

Figure 1 พบว่าสับปะรดชุดควบคุมในวันที่ 5+2 ของการเก็บรักษา ปรากฏอาการไส้สีน้ำตาลเพียงเล็กน้อยและเกิดอาการไส้สีน้ำตาลชัดมากขึ้นในวันที่ 10+2 และพบอาการไส้สีน้ำตาลมากที่สุดในวันที่ 15+2 ส่วนสับปะรดที่มีการพ่นแคลเซียมโบรอนก่อนการเก็บเกี่ยวและจุ่มในสารละลาย SA ที่ความเข้มข้น 5 mM นาน 1 ชั่วโมง เริ่มเกิดอาการไส้สีน้ำตาลในวันที่ 10+2 และเกิดสีน้ำตาลมากขึ้นในวันที่ 15+2 แสดงให้เห็นว่า สับปะรดที่ผ่านการพ่นสารและจุ่มสารสามารถชะลอการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลได้ นาน 10 วัน

2.คะแนนการเกิดอาการไส้สีน้ำตาล

Figure 2 พบว่าสับปะรดทั้งสองชุดทดลองมีคะแนนการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา และพบว่าในวันที่ 15+2 ของการเก็บรักษาทั้งสองชุดการทดลองมีค่าคะแนนการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลมากที่สุด และมีคะแนนการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\geq0.01$) ในวันที่ 5+2 และ 10+2 โดยคะแนนการเกิดอาการไส้น้ำตาลในชุดควบคุมมีค่าสูงกว่าสับปะรดที่พ่นสารแคลเซียมโบรอนและจุ่มในสารละลายกรดซาลิไซลิค แสดงให้เห็นว่าการใช้สารแคลเซียมโบรอนก่อนการเก็บเกี่ยวร่วมกับการจุ่มสารกรดซาลิไซลิคหลังการเก็บเกี่ยวสามารถชะลอการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลได้

3.ดัชนีการเกิดสีน้ำตาล กิจกรรมเอนไซม์ PPO ปริมาณสารประกอบฟีนอล และค่าความสว่าง (L*)

Figure 3 พบว่าสับปะรดทั้งสองชุดการทดลองมีค่าดัชนีการเกิดสีน้ำตาล กิจกรรมเอนไซม์ PPO และปริมาณสารประกอบฟีนอลเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ในขณะที่ค่าความสว่าง (L*) มีแนวโน้มลดลง และพบว่าสับปะรดที่พ่นสารแคลเซียมโบรอนก่อนการเก็บเกี่ยวร่วมกับจุ่มสารกรดซาลิไซลิค สามารถชะลอการเพิ่มขึ้นของค่าดัชนีการเกิดสีน้ำตาล กิจกรรมเอนไซม์ PPO และปริมาณสารประกอบฟีนอลได้ดีกว่าชุดควบคุม และมีค่าความสว่างมากกว่ากว่าชุดควบคุม

## วิจารณ์ผล

ผลสับปะรดเกิด CI โดยเกิดสีน้ำตาลอย่างชัดเจนตรงเนื้อติดแกน (Morris, 1982; Paull and Rohrbach, 1985) ซึ่งการเกิด CI เกิดจากการเสื่อมสภาพบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้สูญเสียคุณสมบัติในการควบคุมการผ่านเข้าออกของสารต่างๆ อนุมูลอิสระและสารละลายต่าง ๆ จึงสามารถแพร่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ได้ง่ายขึ้นและก่อให้เกิดความไม่สมดุลของกระบวนการเมตาบอลิซึม ผลิตผลจะเกิดการเสื่อมสภาพนอกจากนั้นแล้วยังพบว่าสารประกอบฟีนอลที่สะสมในแวคิวโอล และ PPO ที่สะสมในคลอโรพลาสต์สามารถรั่วไหลไปยังไซโตพลาสซึม ส่งผลให้เกิดการสัมผัสระหว่าง PPO และสารประกอบฟีนอลิก ทำให้เกิดอาการไส้สีน้ำตาล (Vamos-Vigyazo,1981) การใช้สารแคลเซียมโบรอนก่อนการเก็บเกี่ยวร่วมกับการจุ่มสารกรดซาลิไซลิคหลังการเก็บเกี่ยวสามารถชะลอการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลได้ เนื่องจากแคลเซียมสามารถรักษาสภาพความแข็งแรง หน้าที่ของเซลล์และเยื่อหุ้มต่างๆ และรักษาหน้าที่ของกระบวนการเมตาบอลิซึมภายในเซลล์ ทวีศักดิ์ และคณะ (2544) และการใช้สารละลาย SA ที่ความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมนั้นสามารถรักษาเมมเบรนให้สมบูรณ์ได้ โดย SA กระตุ้นเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ เช่น superoxide dismutase, catalase และ ascorbate peroxidation ซึ่งกิจกรรมของเอนไซม์เหล่านี้สามารถลดการสะสมของ Reactive oxygen species จึงลดการเกิด lipid peroxidation ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์มีความทนทานต่อการเกิด CI (Aghdam et al., 2016) เช่นเดียวกันจากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าสารละลาย SA สามารถช่วยชะลอการเกิดอาการ CI ได้ในมะเขือเทศและพริกหวาน (Ding et al., 2001; Fung et al., 2004)

## สรุปผลการทดลอง

การให้สารแคลเซียมคลอไรด์ 1.5 กรัม/ต้น โบรอนร้อยละ 0.4 ให้กับสับปะรดก่อนการเก็บเกี่ยวร่วมกับการใช้กรดซาลิไซลิก 5 มิลลิโมลาร์ สามารถชะลออาการไส้สีน้ำตาล ค่าดัชนีการเกิดสีน้ำตาล การเปลี่ยนแปลงค่าสี กิจกรรมเอนไซม์ PPO ปริมาณสารประกอบฟีนอล ได้ดีกว่าชุดทดลองควบคุม

## คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ บริษัทอาหารสยามสำหรับสถานที่ปลูกสับปะรด และบริษัท V.S. Freshco Co., LTD. สำหรับสถานที่ในการคัดบรรจุ และสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) ที่สนับสนุนทุนวิจัยในการวิจัย รวมไปถึงศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม และ The United Graduate School of Agricultural Science (UGSAS), Gifu University, Japan ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์ในการทำวิจัยครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

Abdullah, H., Rohaya, M.A. and Zaipun, M.Z., 1986, Storage Study of Pineapple (Ananas comosus cv. Sarawak) with special emphasis on blackheart disorder, Mardi Research Bulletin, 14: 132-138.

Aghdam, M.S and Bodbodak, S., 2013, Physiological and biochemical mechanisms regulating chilling tolerance in horticultural crops under postharvest salicylates and jasmonates treatments, Scientia Horticulturae, 156: 73-85.

Ding, C.K., Wang, C.Y., Gross, K.C. and Smith, D.L., 2001, Reduction of chilling injury and transcript accumulation of heat shock proteins in tomato fruit by methyl jasmonate and methyl salicylate, Plant Science, 161:1153–1159.

Fung, R. W. M., Wang, C.Y., Smith, D.L., Gross, K.C. and Tian, M., 2004, MeSA and MeJA increase steady-state transcript levels of alternative oxidase and resistance against chilling injury in sweet peppers, Plant Science, 166: 711-719.

Morris, L.L., 1982, Chilling injury of horticultural crops y an overview.,American Society for Horticultural Science, 17: 161-162.

Youryon, P. and Supapvanich, S., 2021, Effects of Preharvest Boron, Calcium Sulfate Treatment and Postharvest Calcium Chloride Peduncle Infiltration on Chilling Injury Alleviation of Queen Pineapple cv. Sawi Fruit, Current Applied Science and Technology, 21(3): 456-466.

Paull, R.E. and Lobo, M.G., 2012, Pineapple, In: Muhammad, S. (Ed.), Tropical and Subtropical Fruits: Postharvest Physiology, Processing and Packaging, John Wiley & Sons Inc, New Delhi, India, pp. 333–357.

Paull, R.E and Rohrbach, K.G., 1985, Symptom development of chilling injury in pineapple fruit, American Society for Horticultural Science, 110: 100–105.

Vamos-Vigyazo, L., 1981, Polyphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 15: 49-127.

Youryon, P., Supapvanich, S., Kongtrakool, P. and Wongs-Aree, C., 2018, Calcium chloride and calcium gluconate peduncle infiltrations alleviate the internal browning of Queen pineapple in refrigerated storage, Horticulture Environment and Biotechnology, 59: 205-213.

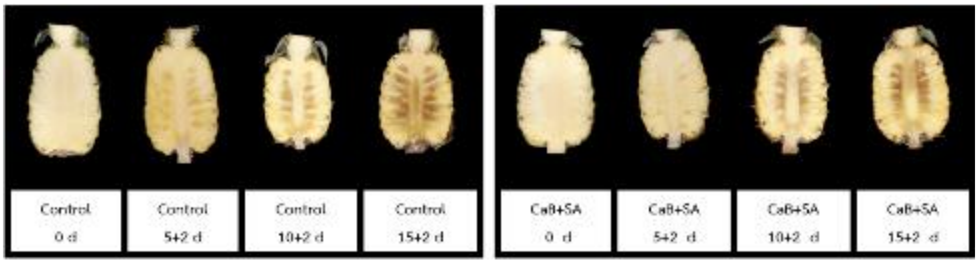



**Figure 1** Visual appearance of half-cut pineapple cv. Pattavia treated with preharvest treatment by 1.5 g/plant of calcium chloride and 0.4% boron (CaB) incorporated with postharvest treatment by 5 mM salicylic acid (SA) for 1 hr after cold storage at 13±1 °C for 0 5 10 and 15 d followed by storage at 25±1 °C for 2 d compared with non-treated pineapple (control).

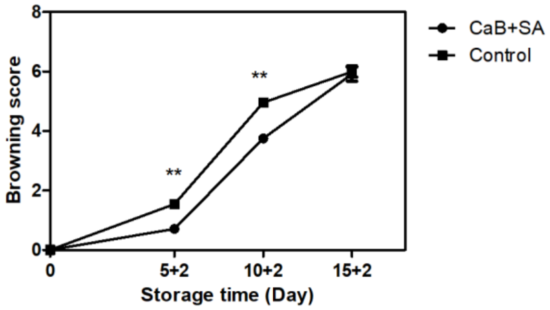



**Figure 2** Browning score of pineapple cv. Pattavia treated with preharvest treatment by 1.5 g/plant of calcium chloride and 0.4% boron (CaB) incorporated with postharvest treatment by 5 mM salicylic acid (SA) for 1 hr after cold storage at 13±1 °C for 0 5 10 and 15 d followed by storage at 25±1 °C for 2 d compared with non-treated pineapple (control).

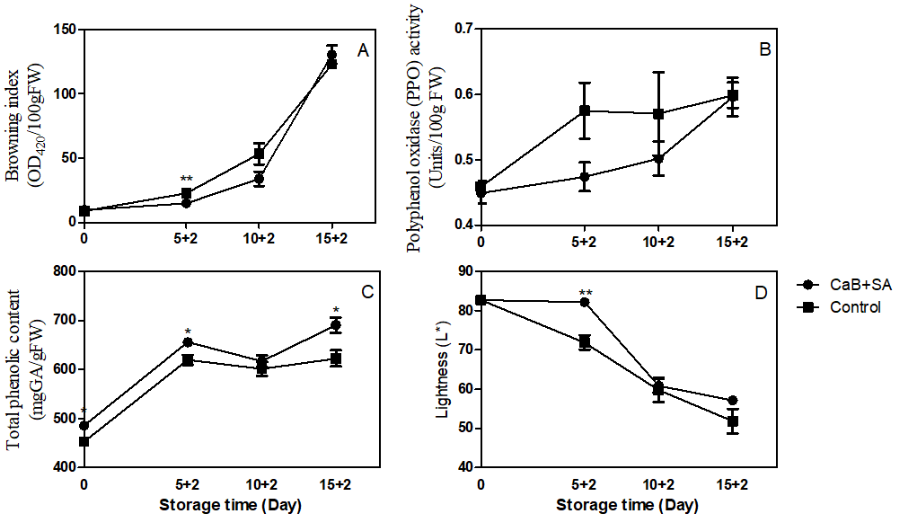



**Figure 3** Internal browning (A), PPO enzyme (B), total phenolics (C) and L* values (D) of pineapple cv. Pattavia treated with preharvest treatment by 1.5 g/plant of calcium chloride and 0.4% boron (CaB) incorporated with postharvest treatment by 5 mM salicylic acid (SA) for 1 hr after cold storage at 13±1 °C for 0 5 10 and 15 d followed by storage at 25±1 °C for 2 d compared with non-treated pineapple (control).

# ผลของจิบเบอเรลลิกแอซิดต่อการงอกของเมล็ดมะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์
# Effect of Gibberellic Acid on Seed Germination of Holland Papaya (*Carica papaya* L.)

**เยาวรัตน์ วงศ์ศรีสกุลแก้ว[1] กนกพร แตงสุข[1] ชลธิชา ขนายงาม[1] และ นิยม บัวบาน[1]**
Wongsrisakulkaew, Y.[1], Taengsuk, K.[1] Kanaingam, C.[1] and Buaban, N.[1]

## Abstract

Effect of gibberellic acid on seed germination and vegetative growth of Holland papaya seedling was studied. The experiment was designed in a completely randomized design with 5 treatments, followed by 10, 20, 40 and 80 mg/L $GA_3$ solution and compared to the seed immersion in reverse osmosis (RO) water as control. Data were recorded after 28 days of seedling. The results showed that immersion in 80 mg/L $GA_3$ resulted in the higher percentage of germination (49%) than other treatments. Also, the vegetative growth of Holland papaya seedling immersed in 80 mg/L $GA_3$ had the maximum values of root length, root fresh and dry weight, numbers of leaves, fresh and dry weight of plant, the height of plant and mean germination time (MGT) which expressed 6.68 cm, 0.14 and 0.027 grams, 6.63 leaves, 0.55 and 0.062 grams, 6.81 cm and 6.15 days, respectively.

**Keywords:** holland papaya, gibberellic acid, seed germination

## บทคัดย่อ

การศึกษาผลของจิบเบอเรลลิกแอซิด ($GA_3$ ) ต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้ามะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) มี 5 สิ่งทดลอง ดังนี้ เมล็ดมะละกอแช่ในน้ำ reverse osmosis (RO) (ชุดควบคุม) และแช่ในจิบเบอเรลลิกแอซิดความเข้มข้น 10, 20, 40 และ 80 mg/L บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของต้นกล้าเมื่ออายุ 28 วันหลังเพาะเมล็ด พบว่า เมล็ดมะละกอที่แช่จิบเบอเรลลิกแอซิดความเข้มข้น 80 mg/L มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุด (49%) เมื่อพิจารณาการเจริญเติบโตของต้นกล้ามะละกอ พบว่า ต้นกล้าที่แช่เมล็ดด้วยจิบเบอเรลลิกแอซิดความเข้มข้น 80 mg/L มีความยาวราก น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของราก จำนวนใบ น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้น ความสูงต้น และใช้เวลาในการงอกเร็วที่สุด เท่ากับ 6.68 เซนติเมตร, 0.14 และ 0.027 กรัม, 6.63 ใบ, 0.55 และ 0.062 กรัม, 6.81 เซนติเมตร และ 6.15 วัน ตามลำดับ

**คำสำคัญ:** มะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์ จิบเบอเรลลิกแอซิด การงอกของเมล็ด

## คำนำ

มะละกอเป็นไม้ผลเขตร้อนกลุ่มหลักที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ โดยในปี 2553-2554 ประเทศไทยมีปริมาณผลผลิตมะละกอเป็นอันดับ 8 ของโลก มะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์กำลังเป็นที่นิยมในการบริโภคผลสุก เพราะมะละกอพันธุ์นี้มีเนื้อหนา รสชาติดี รูปผลได้สัดส่วน เนื้อสีแดงส้ม ไม่เละ และค่อนข้างทนโรคไวรัสจุดวงแหวน (เปรม, 2552) มะละกอนิยมขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ดเนื่องจากทำได้สะดวกรวดเร็วได้ต้นกล้าที่แข็งแรงมีรากแก้วสมบูรณ์ แต่มักพบปัญหาเมล็ดงอกช้า ไม่สม่ำเสมอและมีความงอกต่ำ (Chacko และ Singh, 1966) ทำให้การกำหนดแผนการปลูกทำได้ยากสาเหตุอาจเกิดจากหลายปัจจัยทั้งปัจจัยภายในเมล็ดและสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการงอกของเมล็ดซึ่งเป็นปัญหาสำหรับผู้ผลิตและจำหน่ายเมล็ดพันธุ์ จิบเบอเรลลิกแอซิด ($GA_3$) เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่ช่วยทำลายการพักตัวของเมล็ดและกระตุ้นการงอกของเมล็ด (Desai และคณะ, 1997) Anjanawa และคณะ (2012) รายงานการแช่เมล็ดพันธุ์มะละกอ ‘Barwani red’ ในสารละลาย $GA_3$ ความเข้มข้น 0.01% เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ทำให้เมล็ดมีความงอก 65.4 % เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่แช่ในสารละลายมีความงอกเพียง 43.36 % Zanotti และคณะ (2014) รายงานการแช่เมล็ดมะละกอพันธุ์ Formosa ใน สารละลาย $GA_3$ ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตรนาน 48 ชั่วโมง ทำให้เมล็ดมีความงอก 57 % แตกต่างจากเมล็ดที่แช่ในน้ำมีความงอกเพียง 32 % นอกจากนี้ Desai และคณะ (2017) รายงานการแช่เมล็ดมะละกอพันธุ์ Madhubindu ในสารละลาย $GA_3$ ที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตรทำให้เมล็ดมีความงอก 77 และ 87 % เมื่อเพาะเมล็ดเป็นเวลา 10 และ 20 วันหลังเพาะเมล็ด ตามลำดับ จากการศึกษาที่ผ่านมาวิธีหนึ่งที่จะทำให้เมล็ดพันธุ์งอกได้เร็วและสม่ำเสมอมากยิ่งขึ้น คือการแช่เมล็ดในสารละลายจิบเบอเรลลิกแอซิด ดังนั้น

[1] สาขาการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ปทุมธานี 12130
[1] Division of Crop Production, Faculty of Agricultural Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Pathum Thani, 12130

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของจิบเบอเรลลิกแอซิดที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการงอกของเมล็ดมะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์ เพื่อทำให้เมล็ดงอกได้เร็วและสม่ำเสมอมากยิ่งขึ้นเพื่อเป็นประโยชน์ในการผลิตต้นกล้ามะละกอต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) มี 5 ทรีทเมนต์จำนวน 4 ซ้ำๆ ละ 50 เมล็ด ได้แก่

1) แช่เมล็ดมะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์ในน้ำ RO (ชุดควบคุม)
2) แช่เมล็ดมะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์ในจิบเบอเรลลิกแอซิดความเข้มข้น 10 mg/L
3) แช่เมล็ดมะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์ในจิบเบอเรลลิกแอซิดความเข้มข้น 20 mg/L
4) แช่เมล็ดมะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์ในจิบเบอเรลลิกแอซิดความเข้มข้น 40 mg/L
5) แช่เมล็ดมะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์ในจิบเบอเรลลิกแอซิดความเข้มข้น 80 mg/L

แช่เมล็ดเป็นเวลา 12 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำเมล็ดมะละกอไปทดสอบความงอกในสภาพโรงเรือนโดยใช้พีทมอสเป็นวัสดุเพาะ บันทึกข้อมูลได้แก่ความงอก (%) เวลาเฉลี่ยในการงอก (วัน) และการเจริญเติบโตของต้นกล้าดังนี้

1) เปอร์เซ็นต์ความงอก (germination, %)

$$\text{ความงอก (\%)} = \frac{(\text{จำนวนต้นอ่อนปกติ} \times 100)}{\text{จำนวนเมล็ดทั้งหมด}}$$

2) เวลาเฉลี่ยในการงอก (วัน)

ตรวจนับจำนวนต้นอ่อนปกติทุกวัน เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นคำนวณเวลาเฉลี่ยในการงอก จากสูตร (Ellis and Roberts, 1980)

$$\text{MGT (วัน)} = \Sigma nd / \Sigma n$$

โดย n = จำนวนต้นอ่อนปกติ, d = จำนวนวันหลังเพาะเมล็ด

3) การเจริญเติบโตของต้นกล้า

วัดการเจริญเติบโตของต้นกล้าเมื่ออายุ 28 วันหลังเพาะเมล็ด ได้แก่ ความสูงต้น จำนวนใบ น้ำหนักสดของส่วนเหนือดินและราก น้ำหนักแห้งของส่วนเหนือดินและราก

ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance: ANOVA ) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างสิ่งทดลองด้วย Duncan’s Multiple Range Test (DMRT)

## ผลการทดลอง

การกระตุ้นการงอกของเมล็ดมะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์ด้วยการแช่เมล็ดในน้ำ RO และการใช้จิบเบอเรลลิกแอซิดความเข้มข้น80 mg/L มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การงอกแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการแช่เมล็ดในน้ำ RO และให้เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดมะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 49% และพบว่าการใช้จิบเบอเรลลิกแอซิดความเข้มข้น 80 mg/L ทำให้การงอกของเมล็ดมีค่าเฉลี่ยเร็วที่สุด คือ 6.13 วัน โดยเวลาเฉลี่ยในการงอกของเมล็ดมะละกอที่แช่ในน้ำ RO กับการใช้จิบเบอเรลลิกแอซิดความเข้มข้นต่างๆ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 1)

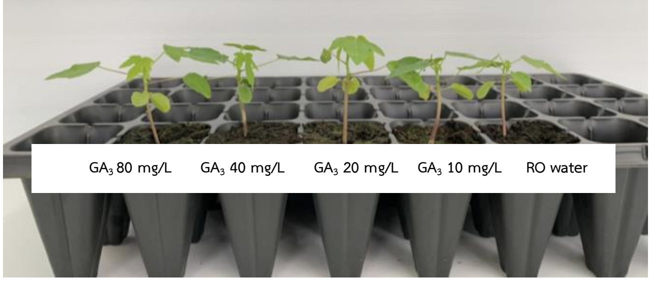



**Figure 1** Seedling of Holland papaya at 28 days after planting by the different soaking treatments followed by reverse osmosis water, 10, 20, 40 and 80 mg/L $GA_3$ solution for 12 hours.

**Table 1** Seed germination and mean germination time of 'Holland' papaya by the different soaking treatments followed by reverse osmosis water, 10, 20, 40 and 80 mg/L $GA_3$ solution for 12 hours.

| Treatments | Seed germination of 'Holland' papaya | |
|---|---|---|
| | Germination (%) | Mean germination time (days) |
| RO water | 37.0 [b] | 13.10 [a] |
| $GA_3$ 10 mg/L | 46.0 [ab] | 10.26 [b] |
| $GA_3$ 20 mg/L | 44.5 [ab] | 9.68 [c] |
| $GA_3$ 40 mg/L | 44.0 [ab] | 8.21 [d] |
| $GA_3$ 80 mg/L | 49.0 [a] | 6.13 [e] |
| F-test | * | * |
| CV.(%) | 13.89 | 0.75 |

[1]Means within the same column follow by different letters showed significantly different between treatments by DMRT at P≤0.05

การเจริญเติบโตของต้นกล้ามะละกอพบว่าต้นกล้าจากเมล็ดที่แช่ด้วยจิบเบอเรลลิกแอซิด มีความยาวราก น้ำหนักสดราก จำนวนใบ และความสูงต้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการแช่เมล็ดในน้ำ RO และพบว่าการใช้จิบเบอเรลลิกแอซิดความเข้มข้น80 mg/L มีผลทำให้ความยาวราก น้ำหนักสดราก จำนวนใบ และความสูงต้นสูงที่สุด คือ 6.68 เซนติเมตร, 0.14 กรัม, 6.63 ใบ, 0.55 กรัม, 0.062 กรัม, 0.027 กรัม และ 6.81 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนน้ำหนักสดต้น น้ำหนักแห้งต้นและน้ำหนักแห้งราก พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 2)

**Table 2** Seedling growth of 'Holland' papaya by the different soaking treatments followed by reverse osmosis water, 10, 20, 40 and 80 mg/L $GA_3$ solution for 12 hours.

| Treatments | Seedling growth of 'Holland' papaya | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | length of root (cm) | number of leaves (leaves) | fresh weight of root (grams) | fresh weight of plant (grams) | dry weight of root (grams) | dry weight of plant (grams) | height of plant (cm) |
| RO water | 4.03 [c] | 6.05 [ab] | 0.08 [b] | 0.44 | 0.01 | 0.04 | 5.87 [b] |
| $GA_3$ 10 mg/L | 4.65 [bc] | 5.74 [b] | 0.12 [ab] | 0.44 | 0.02 | 0.05 | 5.79 [b] |
| $GA_3$ 20 mg/L | 5.33 [b] | 6.04 [ab] | 0.10 [ab] | 0.43 | 0.01 | 0.05 | 5.88 [b] |
| $GA_3$ 40 mg/L | 6.49 [a] | 6.64 [a] | 0.14 [a] | 0.55 | 0.02 | 0.06 | 6.08 [b] |
| $GA_3$ 80 mg/L | 6.69 [a] | 6.44 [a] | 0.14 [a] | 0.50 | 0.02 | 0.06 | 6.82 [a] |
| F-test | * | * | * | ns | ns | ns | * |
| CV.(%) | 3.59 | 6.98 | 12.20 | 27.30 | 21.58 | 27.30 | 3.53 |

[1]Means within the same column follow by different letters showed significantly different between treatments by DMRT at P≤0.05

## วิจารณ์ผล

จากผลการเปรียบเทียบการใช้จิบเบอเรลลิกแอซิดต่อการงอกของเมล็ดมะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์ พบว่าการแช่เมล็ดในสารจิบเบอเรลลิกแอซิด จะช่วยส่งเสริมระยะเวลาในการงอกและเปอร์เซ็นต์การงอกมากกว่าเมล็ดที่แช่ในน้ำ RO (สิ่งทดลองควบคุม) สอดคล้องกับการทดลองของวัชรพล (2561) ที่ทดลองใช้จิบเบอเรลลิกแอซิดที่ความเข้มข้น 6 ระดับ ได้ผลการทดลอง คือสารจิบเบอเรลลิกแอซิดมีผลส่งเสริมอัตราการงอกมากขึ้นและเร่งระยะเวลาในการงอกเร็วขึ้น จากงานวิจัยของ Zanotti และ Barros (2014) กล่าวว่าสารละลายจิบเบอเรลลิกแอซิดมีความสำคัญต่อกระบวนการงอกของเมล็ด ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการงอกของเมล็ดให้เร็วและสม่ำเสมอมากขึ้น ส่วนการเจริญเติบโตของต้นกล้ามะละกอ พบว่าต้นกล้าที่แช่เมล็ดด้วยจิบเบอเรลลิกแอซิดที่ความเข้มข้น 40 และ 80 mg/L มีความยาวราก น้ำหนักสดราก จำนวนใบ และความสูงต้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการแช่เมล็ดในน้ำ RO เนื่องจากสารจิบเบอเรลลิกแอซิดสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชทั้งต้นได้โดยทำให้เกิดการยืดตัวของเซลล์ และกระตุ้นการงอกของเมล็ดที่พักตัว (ดนัย, 2542)

## สรุปผล

การแช่เมล็ดมะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์ในสารละลายจิบเบอเรลลิกแอซิดความเข้มข้น 80 mg/L ทำให้เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่แช่ในน้ำ RO (สิ่งทดลองควบคุม) และมีผลทำให้เมล็ดมีเวลาเฉลี่ยในการงอกเร็วกว่าเมล็ดที่แช่ในน้ำ RO ประมาณ 7 วัน การแช่เมล็ดมะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์ในสารละลายจิบเบอเรลลิกแอซิดที่ความเข้มข้น 40 และ 80 mg/L ทำให้การเจริญเติบโตของต้นกล้ามะละกอในด้านความยาวราก น้ำหนักสดราก จำนวนใบ และความสูงต้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการแช่เมล็ดในน้ำ RO ส่วนน้ำหนักสดต้น น้ำหนักแห้งต้นและน้ำหนักแห้งราก พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

## เอกสารอ้างอิง

ดนัย บุญยเกียรติ, 2546, สารจิบเบอเรลลิน [สืบค้น], https://www.http://web.agri.cmu.ac.th. [12/ March/ 21].

เปรม ณ สงขลา, 2552, ลงพื้นที่ลุยสวนกับนักวิจัย สกว. เคหการเกษตร 33(5):141-145.

วัชรพล ประทุมทอง และทศไนย จารุวัฒนพันธ์, 2561, การกระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์สนญี่ปุ่นด้วยสารจิบเบอเรลลิกแอซิด, *ใน* การประชุมทางวิชาการครั้งที่ 56, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. น.3-7.

Agricultural Regulatory Office, 2018, Quantity and Value of Controlled Seed Exports for Commercial Purposes, (Online), Available: http://www.doa.go.th/ard/wpcontent/uploads/2019/03/PS1PL-Ex61.pdf (July 5, 2019).

Anjanawa, S.R., Kanpure, R.N., Kachouli, B.K. and Mandloi, D.S., 2012, Effect of Plant Growth Regulators and Growth Media on Seed Germination and Growth Vigour of Papaya, Annals of Plant and Soil Research, 15(1): 31-34.

Chacko, E.K. and Singh, R.N., 1966, The Effect of Gibberellic Acid on the Germination of Papaya Seeds and Subsequent Seedling Growth, Journal of Tropical Agriculture, 43(4): 341-346.

Desai, B.B., Kotecha, P.M. and Salunkhe, D.K., 1997, Seed Handbook Biology, Production, Processing and Storage, Marecl Deaker Inc., New York.

Desai, A., Panchal, B., Trivedi, A. and Prajapati, D., 2017, Studies on Seed Germination and Seedling Growth of Papaya (*Carica papaya* L.) cv. Madhubindu as Influenced by Media, $GA_3$ and Cow Urine Under Net House Condition, Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 6(4): 1448-1451.

Ellis, R.H. and Roberts, E.H., 1980, Improved Equation for the Prediction of Seed Longevity, Annuals of Botany, 45: 13-30.

Zanotti, R.F. and Barros, R.S., 2014, Germination of ‘Solo’ Papaya Seeds Treated with Plant Hormones, Journal of Seed Science, 36(1): 94-99.

Zanotti, R.F., Dias, D.C.F.S., Barros, R.S., DaMatta, F.M., and Oliveira, G.L., 2014, Germination and Biochemical Changes in ‘Formosa’ Papaya Seeds Treated with Plant Hormones, Acta Scientiarum, Agronomy 36(4): 435-442.

# การพ่นแคลเซียม แมกนีเซียม และสังกะสี ทางใบต่อผลผลิตและการเกิดโรคใบไหม้ในข้าว (*Oryza sativa* L. )
# Foliar Spraying of Calcium, Magnesium and Zine Affecting Yields and Rice Blast Diseasein Rice (*Oryza sativa* L.)

เฉลิมชัย แพะคำ[1*] จตุพล คนเสงี่ยม[1] ปิยะนันท์ ประสิงห์[1]และ วิพรพรรณ์ เนื่องเม็ก[2]
Paekum, C.[1*], Khonsagiam, J.[1], Prasing, P.[1] and Nuangmek, W.[2]

## Abstract

The study foliar spraying of Ca, Mg and Zn to increases yields in rice (*Oryza sativa* L.) and rice blast disease. An experiment design was RCBD with 4 treatments (T1: water spraying, T2: spraying of 4%Mg, T3: Spraying of 4%Mg+10%Ca and T4: spraying of 4%Mg+10%Ca+5%Zn). The results showed that spraying of 4%Mg+10%Ca+5%Zn has the most growth and yield (Treatment 4) were plant highest (96 cm), number of tillers per hill (36.6), number of spikelets per panicle (240.3) and grains yield (526.6 kg/rai) which is different from other methods statistically significant (P<0.05). In addition, treatment for the secondary macronutrients spraying can be rice blast disease resistance in rice as well.

**Keywords:** Rice, Foliar spraying, blast disease

## บทคัดย่อ

การศึกษาการพ่นแคลเซียม แมกนีเซียม และสังกะสีทางใบต่อการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตและการเกิดโรคในข้าว โดยวางแผนการทดลองแบบบล็อกสุ่มสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design : RCBD) ประกอบด้วย 4 กรรมวิธี ได้แก่ กรรมวิธีที่ 1 พ่นน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) กรรมวิธีที่ 2 พ่นแมกนีเซียมความเข้มข้น 4% กรรมวิธีที่ 3 พ่นแมกนีเซียมความเข้มข้น 4% ร่วมกับแคลเซียมความเข้มข้น 10% และกรรมวิธีที่ 4 พ่นแมกนีเซียมความเข้มข้น 4% ร่วมกับแคลเซียมความเข้มข้น 10% และสังกะสีความเข้มข้น 5% ผลการทดลองพบว่าการใช้แมกนีเซียมร่วมกับแคลเซียมและสังกะสี(กรรมวิธีที่ 4) มีความสูงต้น จำนวนต้นต่อกอ จำนวนเมล็ดดีต่อรวง และผลผลิตต่อไร่มากที่สุด คือ 96.0 เซนติเมตร 36.6 ต้น 240.3 เมล็ด และ 526.6 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างจากกรรมวิธีอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ *(P<0.05)* และจากการประเมินการเกิดโรคพบว่าต้นข้าวที่พ่นธาตุอาหารรองของพืชสามารถลดการเกิดโรคใบไหม้ของข้าวได้อีกด้วย

**คำสำคัญ:** ข้าว ฉีดพ่นทางใบ โรคใบไหม้

## คำนำ

ข้าว (*Oryza sativa* L. ) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศ ทั้งในด้านการบริโภคและการส่งออกนอกจากนี้ยังมีความสำคัญต่อเศรษฐกิจในภูมิภาค มีพื้นที่เพาะปลูกร้อยละ 45.2 ของพื้นที่เกษตรกรรมทั้งหมดของประเทศ (ชัยวัฒน์, 2562). ผลผลิตข้าวทั้งหมดในปี 2563 อาจอยู่ที่ประมาณ 29-30 ล้านตันและการใช้ปุ๋ยเคมี (N, P, K) สูงสุดคือ 51 เปอร์เซ็นต์ของพืชเศรษฐกิจ

ธาตุอาหารรองได้แก่ แคลเซียม (Ca) แมกนีเซียม (Mg) สังกะสี (Zn) และโบรอน (B) ซึ่งจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช เช่น การสังเคราะห์แสง การสร้างฮอร์โมนและการต้านทานโรคพืชจึงมีความสำคัญในการช่วยเพิ่มผลผลิตของพืช Dordas, (2009) รายงานว่าการให้ธาตุอาหารรองเป็นปุ๋ยส่งผลต่อการเจริญเติบโตและความทนทานต่อโรค เจนจิรา และคณะ, (2560) ได้ทำการศึกษาการใช้สารละลายแคลเซียม โบรอน และสังกะสีต่อความแข็งแรงของต้นกล้าข้าว พบว่า การใช่สารละลายแคลเซียมเข้มข้น 5 mM โบรอนเข้มข้น 150 µM และสังกะสีเข้มข้น 15 mM ส่งผลให้ต้นข้าวมีอัตราการงอกและการเจริญเติบโตดีที่สุด Suswanto et al. (2007) รายงานว่าผลผลิตข้าวเพิ่มขึ้นตามปริมาณของแคลเซียมและแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน สอดคล้องกับ Hanumantharaju et al. (2010) ที่พบว่าการใช้แคลเซียมซิลิเกตเพื่อเป็นแหล่งของแคลเซียมเพิ่มผลผลิตข้าวได้ดีกว่าหินปูนบด

[1] บริษัท เค.พี. อะโกร อินดัสทรี้ จำกัด 352 หมู่ 9 ตำบลแม่กาษา อำเภอแม่สอด จังหวัดตาก 63110, * Corresponding author: chalermchai.pae@kpagro.co.th
[1] K.P. Agro Industry CO., LTD 352 Moo 9 Tambon Maekasa, Maesot District, Tak Province 63110 Thailand

[2] คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา 19 หมู่ 2 ตำบลแม่กา อำเภอเมือง จังหวัดพะเยา 56000
[2] School of Agriculture and Natural Resources, University of Phayao 19 Moo 2 Tambon Maeka, Muang District, Phayao Province 56000 Thailand

โดยใส่การแคลเซียมซิลิเกตในอัตรา 4 ตัน/เฮกตาร์ ให้ผลผลิตเมล็ดสูงที่สุด จากการรวบรวมเอกสารพบว่างานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับผลของแคลเซียมและแมกนีเซียมที่ใช้ฉีดพ่นในต้นข้าวยังมีไม่มากนัก งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบการใช้ธาตุอาหารรอง (Ca, Mg และZn ) ส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตข้าว เพื่อลดต้นทุนการใช้ปุ๋ยเม็ดซึ่งพืชดูดซึมได้ช้าและลดผลกระทบต่อคุณสมบัติของดิน

## อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการศึกษาในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในโรงเรือนบริษัท เค.พี. อะโกรอินดัสทรี้ จำกัด อ. แม่สอด จ. ตาก ในช่วงเดือนมิถุนายนถึงเดือนกันยายน ปี 2563 ใช้แผนการทดลองแบบบล็อกสุ่มสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design : RCBD) นำดินที่เก็บจากแปลงมาตากจนแห้งและร่อนผ่านตะแกรงแล้วนำส่งทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพปริมาณธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรองของดิน จากนั้นนำไปบรรจุในกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 30 เซนติเมตร ด้วยปริมาณ 17.5 กิโลกรัมหลังจากนั้นนำเมล็ดข้าวพันธุ์ข้าว ปลูกลงในกระถางจำนวน 5-7 เมล็ด การทดลองทั้งหมด 4 กรรมวิธี จำนวน 3 ซ้ำๆ ละ 4 กระถาง ดังนี้ กรรมวิธีที่ 1 พ่นน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) กรรมวิธีที่ 2 พ่นแมกนีเซียมความเข้มข้น 4% กรรมวิธีที่ 3 พ่นแมกนีเซียมความเข้มข้น 4% ร่วมกับแคลเซียมความเข้มข้น 10% และกรรมวิธีที่ 4 พ่นแมกนีเซียมความเข้มข้น 4% ร่วมกับแคลเซียมความเข้มข้น 10% และสังกะสีความเข้มข้น 5% ใช้ธาตุอาหารรองจากผลิตภัณฑ์ของบริษัท เค.พี. อะโกร อินดัสทรี้ จำกัด จากนั้นบันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตทางลำต้นเมื่อต้นข้าวอายุ 60 วัน ได้แก่ ความสูง จำนวนต้นต่อกอ และเมื่อต้นข้าวอายุ 105 วัน บันทึกข้อมูลองค์ประกอบผลผลิต ได้แก่ จำนวนรวงต่อกอ จำนวนเมล็ดต่อรวง น้ำหนัก 1,000 เมล็ด น้ำหนักต้นแห้ง และผลผลิต ทำการประเมินการเกิดโรคใบไหม้เมื่อต้นข้าวอายุ 25, 35, 45, 55 และ 65 วัน โดยมีเกณฑ์การให้คะแนนการเกิดโรคตามวิธีการของ IRRI (1996) ซึ่งมีระดับคะแนน 1, 3, 5, 7 และ 9 หลังจากนั้นนำข้อมูลดังกล่าวไปวิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองของดินพบว่าดินที่ใช้ในการทดลองเป็นดินร่วนเหนียว (clay loam) ซึ่งมีลักษณะองค์ประกอบทางเคมีเป็นกรดเล็กน้อย อินทรียวัตถุค่อนข้างต่ำ ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัสที่ โพแทสเซียมที่ และสังกะสีต่ำ ส่วนปริมาณแคลเซียมและแมกนีเซียมอยู่ในระดับปานกลาง (Table 1) สอดคล้องกับรายงานของเรวดีและคณะ (2556) ได้ศึกษาดินนาในพื้นที่อำเภอแม่สอดพบว่าดินนาส่วนใหญ่เป็นกรดเล็กน้อย มีปริมาณธาตุอาหารหลักและอาหารรองที่ต่ำ

**Table 1** Physical and chemical characteristics of soil (clay loam)

| Parameter | Value | Rating* |
|---|---|---|
| pH | 5.31 | Strong acid |
| Organic matter (%) | 1.06 | Relatively low |
| Total N (%) | 0.05 | Low |
| Available P (mg $kg^{-1}$) | 4.98 | Low |
| Exchangeable K (mg $kg^{-1}$) | 47.17 | Low |
| Exchangeable Ca (mg $kg^{-1}$) | 989.9 | Medium |
| Exchangeable Mg (mg $kg^{-1}$) | 136.6 | Medium |
| Available Zn (mg $kg^{-1}$) | 0.53 | Low |

* Source: Office of Science for Land Development (2003)

จากการใช้ธาตุแคลเซียม แมกนีเซียม และสังกะสี พ่นในระยะการเจริญเพื่อเพิ่มผลผลิตข้าว พบว่าการใช้ธาตุแคลเซียม แมกนีเซียม และสังกะสี พ่นร่วมกัน (กรรมวิธีที่ 4) ส่งผลต่อการเจริญเติบโตทางลำต้นและการเพิ่มผลผลิตของต้นข้าวขาวดอกมะลิ 105 ทั้งความสูงต้น จำนวนต้นต่อกอ จำนวนรวงต่อกอ จำนวนเมล็ดต่อรวง และผลผลิตต่อไร่ สำหรับเมล็ดดีต่อไร่พบว่าการฉีดพ่นแคลเซียมร่วมกับแมกนีเซียมส่งผลให้เมล็ดข้าวมีการสะสมแป้งได้ดีกว่ากรรมวิธีอื่นๆ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (Table2) สอดคล้องกับงานวิจัยของกนกพร (2560) ใช้แคลเซียมและแมกนีเซียมเพื่อเพิ่มองค์ประกอบผลผลิตของข้าวขาวดอกมะลิ 105 สามารถผลผลิตอยู่ที่ 438-578 กิโลกรัมต่อไร่ และผลผลิตเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเพิ่มปริมาณแคลเซียมและแมกนีเซียม

การฉีดพ่นธาตุแมกนีเซียม และแคลเซียมช่วยให้เมล็ดข้าวมีปริมาณสารหอม 2AP เพิ่มขึ้นด้วย (รณชัย, 2558) จากการฉีดพ่น Zn มีแนวโน้มให้องค์ประกอบด้านผลผลิตสูงกว่าการไม่ฉีดพ่น เนื่องจาก Zn เป็นธาตุอาหารที่พืชต้องการในปริมาณน้อยแต่ก็ไม่สามารถขาดได้ โดย Zn มีความจำเป็นสำหรับกระบวนการสังเคราะห์แสง และโปรตีน รวมทั้งช่วยในการต้านทานโรค ถ้าหากมี Zn ไม่พอกับความต้องการของพืชแล้วทำให้ผลผลิตลดลง (Marschner, 1995; Wissuwa และคณะ, 2006)

Table 2 Plant growth and yield component of rice (harvest at 105 DAT).

| Foliar application | Plant height (cm) | Tiller/plant | Number of Panicle /hill | Number of spiketets /panicle | Filled grain no. /panicle | Yield/Rai (kg) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Control (water)) | 88.6±1.74c | 33.7±6.96c | 17.3±0.82cd | 205.6±11.84d | 185.6±13.36d | 440.2±19.11d |
| 4% Mg | 92.3±11.36b | 34.0±7.72bc | 18.3±2.16c | 219.6±33.09bc | 193.3±17.18bc | 487.4±57.89c |
| 40% Mg + 10% Ca | 94.0±2.86b | 36.5±4.80b | 22.6±5.18b | 221.0±5.40b | 201.0±2.94a | 510.6±62.84ab |
| 4%. Mg + 10% Ca + 5% Zn | 96.0±4.57a | 38.3±4.09a | 24.0±4.20a | 240.3±23.01a | 193.0±41.48bc | 526.6±47.92a |
| F-Test | * | * | * | * | * | * |
| CV% | 3.06 | 14.47 | 29.38 | 33.14 | 26.79 | 18.04 |

จากการประเมินการเกิดโรคใบไหม้ในข้าวขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นพันธุ์ข้าวที่เกิดโรคใบไหม้ได้ง่าย พบว่าต้นข้าวเริ่มแสดงอาการโรคใบไหม้ตั้งแต่ต้นข้าวอายุ 25 วัน และมีการเกิดโรคในทุกกรรมวิธี สำหรับกรรมวิธีที่มีการฉีดพ่น Zn มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยที่สุดในแต่ละระยะ (Figure 2) ซึ่งตรงกับรายงานของ Kalboush และคณะ (2016) ที่ได้ทำการฉีดพ่นซิงค์ออกไซด์ (ZnO) บนต้นกล้าข้าวหลังจากฉีดพ่นสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ของข้าวเป็นระยะเวลา 5 วัน พบว่าสามารถควบคุมการเจริญของสปอร์เชื้อราของโรคใบไหม้ ดังนั้น Zn เป็นธาตุอาหารรองที่มีประโยชน์ นอกจากจะส่งผลต่อการเจริญเติบโตแล้ว ยังจะช่วยป้องกันการเข้าทำลายของโรค เช่นโรคไหม้ (rice blast) โรคใบไหม้ (leaf blight) และโรคใบจุดสีน้ำตาล (brown spot) เป็นต้น (Datnoff และ Rodrigues, 2005)

## สรุปผล

การใช้แมกนีเซียม แคลเซียม และสังกะสี ความเข้มข้น 4%, 10% และ 5% จากผลลิตภัณฑ์ของบริษัทเค.พี. อะโกร อินดัสทรี้ จำกัด สามารถเพิ่มการเจริญเติบโตของข้าวได้ พบว่าในกรรมวิธีที่ 4 พ่นแมกนีเซียมความเข้มข้น 4% ร่วมกับแคลเซียมความเข้มข้น 10% และสังกะสีความเข้มข้น 5% ต้นข้าวมีความสูงต้น จำนวนต้นต่อกอ จำนวนเมล็ดดีต่อรวง และผลผลิตต่อไร่มากที่สุด คือ 96.0 เซนติเมตร 36.6 ต้น 240.3 เมล็ด และ 526.6 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับและยังส่งเสริมให้ต้นข้าวแข็งแรงต้านทานต่อโรคไหม้ (rice blast) ในข้าวได้ดี ซึ่งพบว่าในกรรมวิธีที่ 4 ต้นข้าวมีการเกิดโรคใบไหม้น้อยที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยที่สุด คือ 2.3 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่มีการเกิดโรคมากถึง 31.3 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นการใช้ปุ๋ยน้ำที่มีธาตุอาหารรองฉีดพ่นทางใบจึงนับเป็นอีกหนึ่งทางเลือกให้กับเกษตรกรที่จะลดการใช้ปุ๋ยเคมีชนิดเม็ด ซึ่งมีผลต่อคุณภาพของดิน และพืชไม่สามารถนำไปใช้ได้หมด

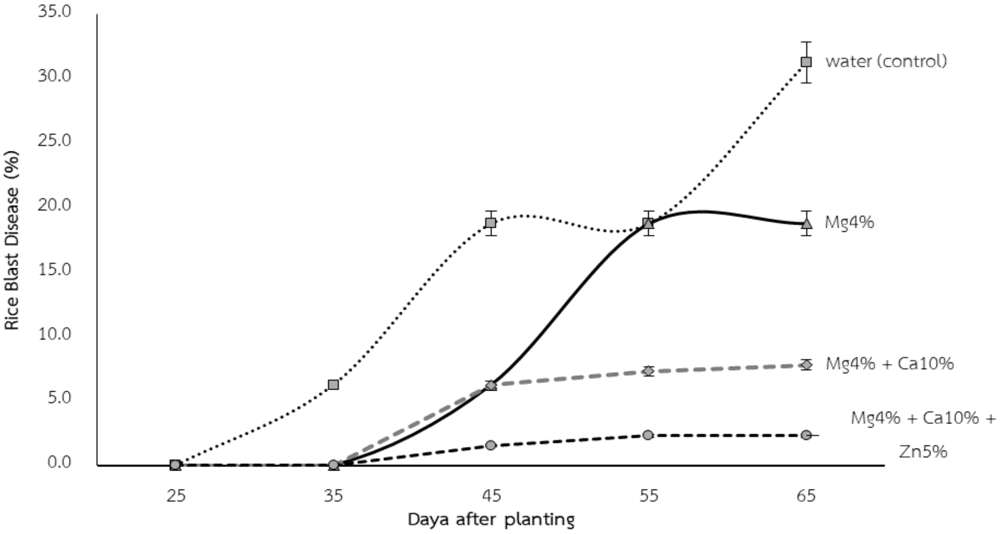



**Figure 2** Rice blast disease each growth stage


## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณบริษัท เค.พี. อะโกรอินดัสทรี้ จำกัด อ. แม่สอด จ. ตากที่ให้ความอนุเคราะห์ผลิตภัณฑ์ธาตุอาหารรองของพืช อุปกรณ์และสถานที่ในการทำวิจัย และขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิพรพรรณ์ เนื่องเม็ก อาจารย์สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยาที่ให้คำปรึกษาตลอดการทำงานวิจัยในครั้งนี้


## เอกสารอ้างอิง


กนกพร มานันตพงศ์ ศุภิฌา ธนะจิตต์ สมชัย อนุสนธิ์พรเพิ่ม และ เอิบ เขียวรื่นรมย์, 2560, ผลของแคลเซียมและแมกนีเซียมต่อข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในดินนาและดินที่ได้รับอิทธิพลจากเกลือ, วาสารแก่นเกษตร, ปีที่ 45: 101-112.

เจนจิรา หม่องอ้น สุคนธมาส เปรมปรุงวิทย์ สยมพร นากลาง วาสนา เสนาพล และอารมณ์ จันทะสอน, 2560, การเพิ่มความแข็งแรงของต้นกล้าข้าว ข้าวโพด และมันสำปะหลังโดยวิธีการแช่เมล็ดและท่อนพันธุ์ในสารละลายแคลเซียม โบรอน และสังกะสี, วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี), ปีที่ 9(18): 49-62.

รณชัย ช่างศรี, 2558, รายงานผลการวิจัยการศึกษาปัจจัยที่มีผลกระทบต่อคุณภาพข้าวหอมมะลิไทย, กองวิจัยและพัฒนาข้าว, กรมการข้าว, กรุงเทพฯ, 161 หน้า.

สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน, 2547, คู่มือการวิเคราะห์ตัวอย่างดิน น้ำ ปุ๋ย พืช วัสดุ ปรับปรุงดิน และการวิเคราะห์เพื่อตรวจรับรองมาตรฐานสินค้า เล่มที่ 1, สำนักวิทยาศาสตร์, กรมพัฒนาที่ดิน, กรุงเทพฯ, 198 หน้า.

Datnoff, L.E. and Rodrigues, F.A., 2005, The Role of Silicon in Suppressing Rice Diseases, APSnet Features, doi 10.1094/APSnetFeature-2005-0205.

Hanumantharaju, T.H., Prakash, N.B., and Narayanaswamy, C., 2010. Effect of Calcium Silicate as a Silicon Source on Growth and Yield of Rice in Different Acid Soils of Karnataka, Southern India, International Rice Research Notes.

IRRI, 1996, Standard Evaluation System for Rice, The International Rice Research Institute, Manila, Philippines,

Kalboush, Zeinab A., Hassan, A. A. and Gabr, W. E., 2016, Control of Rice Blast and Brown Spot Diseases by Synthesized Zinc Oxide Nanoparticles, Egyptian Journal of Biological Pest Control, 26(4): 713-720

Marschner, H., 1995, Mineral Nutrition of Higher Plants, $2^{nd}$ Edition, Academic Press, London.

Suswanto, T., Shamshuddin, J., Syed Omar, S.R., Mat, P. and The, C.B.S., 2007, Alleviating an Acid Sulfate Soil Cultivated to (*Oryza sativa*) Using Gground Magnesium Limestone and Organic Fertilizer, Tanah Dan Lingkungan. 9: 1-9

Wissuwa, M., Ismail, A.M., and Yanagihara, S., 2006, Effects of Zinc Deficiency on Rice Ggrowth and Genetic Factors Contributing to Tolerance, Plant Physiology, 142: 731-741.

# การแยกและคัดเลือกเชื้อราไตรโคเดอร์มา สปีชีส์ จากดินสำหรับยับยั้งเชื้อรา *Phytophthora colocasiae*
# Isolation and Screening *Trichoderma* species. from Soil for Inhibition of *Phytophthora colocasiae*

เพชรพิกุล ขำอ่อน[1] และ กมลวรรณ สนใจยิ่ง[2]
Khumon, P.[1] and Sonjaiying, K.[2]

## Abstract

*Trichoderma* species were isolated from 45 soil samples in Banmo district, Saraburi and 5 soil samples in Lat Lum Kaew district, Pathumthani by soil dilution plate method using Rose Bengal Agar medium. *Trichoderma* sp. were isolates from Saraburi 20 isolates and Pathimtani 1 isolate. Antagonistic activity assay of all isolates were carried out by using dual culture plate technique against *Phytophthora colocasiae*, a causative agent of taro leaf blight disease. BM6 BM1 and BM7 isolates were able to inhibit the mycelium growth of *P. colocasiae* with the percentage of 56.25 55.80 and 54.59 respectively. The antifungal activity of *Trichoderma asperellum* (commercial strain). compare with *Trichoderma* sp. the inhibition of fungal mycelia did not significantly different ($P < 0.05$).

**Keywords:** *Trichoderma* species, Inhibition, *Phytophthora colocasiae*

## บทคัดย่อ

การแยกเชื้อราไตรโคเดอร์มา สปีชีส์ ( *Trichoderma* species ) จากดินอำเภอบ้านหมอ จังหวัดสระบุรี จำนวน 45 ตัวอย่าง และดินในอำเภอลาดหลุมแก้ว จังหวัดปทุมธานี จำนวน 5 ตัวอย่าง โดยวิธี soil dilution plate บนอาหาร Rose Bengal Agar สามารถแยกเชื้อรา *Trichoderma* sp. จากดินในจังหวัดสระบุรี ได้ 20 ไอโซเลท และ จากจังหวัดปทุมธานี ได้ 1 ไอโซเลท เมื่อนำมาทดลงสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora colocasiae* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคใบจุดตาเสือของเผือกในโดยวิธี dual culture พบว่า ไอโซเลท BM6 BM1 และ BM7 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใย *P. colocasiae* โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 56.25 55.80 และ 54.59 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคระหว่างเชื้อรา *Trichoderma asperellum* (สายพันธุ์การค้า) กับเชื้อรา *Trichoderma* sp. ที่แยกได้พบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อราไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

**คำสำคัญ:** ไตรโคเดอร์มา สปีชีส์ การยับยั้ง เชื้อรา *Phytophthora colocasiae*

## คำนำ

เผือกเป็นพืชเศรษฐกิจระดับท้องถิ่นที่สำคัญชนิดหนึ่ง ประเทศไทยมีการปลูกเผือกอยู่ทั่วทุกภาคของประเทศส่วนจังหวัดที่เป็นแหล่งปลูกที่สำคัญ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ นครสวรรค์ พิษณุโลก นครราชสีมา สุรินทร์ สระบุรี อยุธยา ในช่วงฤดูฝนและอากาศมีความชื้นสูงบางพื้นที่มีการระบายน้ำไม่ดีทำให้มีการแพร่ระบาดของเชื้อก่อโรคใบจุดตาเสือ โรคดังกล่าวเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora colocasiae* Rac. โดยทำความเสียหายให้กับเผือกตั้งแต่ระยะเริ่มปลูกจนถึงระยะหลังการเก็บเกี่ยว (Misra et al., 2008) ลักษณะอาการของต้นเผือกที่เกิดโรคใบจุดตาเสือคือ บนใบเกิดจุดสีน้ำตาล เห็นได้ชัดบนผิวใบขนาดใหญ่ขึ้นเป็นวงๆ บริเวณขอบแผลมีหยดสีเหลืองข้น ซึ่งตอนแห้งเป็นเม็ดๆ เกาะอยู่เป็นวงๆ เมื่อใบเผือกถูกทำลายการสังเคราะห์ด้วยแสงจะลดลง ส่งผลให้หัวเผือกมีขนาดเล็กและผลผลิตลดลง รวมทั้งหัวเผือกเกิดอาการเน่าเสียหาย เผือกที่เป็นโรคนี้ถ้ายังไม่เริ่มลงหัวหรือลงหัวไม่โตนักจะเสียหายหมด หัวที่ลงจะไม่ขยายเพิ่มขนาดสามารถทำให้ผลผลิตลดลง 50 ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ (อมรรัตน์, 2552; กลุ่มวิจัยโรคพืช, 2555) การป้องกันกำจัดโรคใบจุดตาเสือในเผือกสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ การเขตกรรม การป้องกันโดยชีววิธี การใช้พันธุ์เผือกที่ต้านทานต่อโรคใบจุดตาเสือเช่น พันธุ์ พจ.06 และการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช ในปัจจุบันพบว่ามีการนำเชื้อจุลินทรีย์ที่ประโยชน์มาใช้ทั้งควบคุมโรคและส่งเสริมการเจริญของพืช โดยพบว่าเชื้อราไตรโคเดอร์มาเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ที่มี

[1] มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา เลขที่ 96 ถ. ปรีดีพนมยงค์ ต. ประตูชัย อ. พระนครศรีอยุธยา จ. พระนครศรีอยุธยา 13000
Phranakhon si Ayutthaya Rajabhat University 96, Pridi Banomyong Rd., Pratu Chai Si Ayutthaya, Phranakhon Sri Ayutthaya 13000, Thailand
[2] มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา เลขที่ 96 ถ. ปรีดีพนมยงค์ ต. ประตูชัย อ. พระนครศรีอยุธยา จ. พระนครศรีอยุธยา 13000
Phranakhon si Ayutthaya Rajabhat University 96, Pridi Banomyong Rd., Pratu Chai Si Ayutthaya, Phranakhon Sri Ayutthaya 13000, Thailand

ประสิทธิภาพควบคุมเชื้อราโรคพืชหลายชนิด งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อแยกและคัดเลือกเชื้อราไตรโคเดอร์มา สปีชีส์ (*Trichoderma* species) จากดินบริเวณขุยไผ่หรือดินใต้โคนไผ่ ซึ่งเป็นแหล่งอาหารของเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มต่างๆ ทั้งเชื้อราแบคทีเรียและยีสต์ ในพื้นที่อำเภอบ้านหมอ จังหวัดสระบุรีและดินจากอำเภอลาดหลุมแก้ว จังหวัดปทุมธานี เพื่อหาเชื้อราไตรโคเดอร์มาสายพันธุ์ใหม่ๆ ที่ดำรงชีวิตประจำถิ่นจากแหล่งธรรมชาติ มาประยุกต์ใช้ในการควบคุมเชื้อรา *P. colocasiae* ในระดับห้องปฏิบัติการ เป็นการจัดการเชื้อสาเหตุโรคพืชด้วยวิธีชีวภาพเพื่อเป็นทางเลือกสำหรับเกษตรกรในการลดการใช้สารเคมีต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

**การเก็บตัวอย่างดินขุยไผ่**

เก็บตัวอย่างดินขุยไผ่จากบริเวณ อ. บ้านหมอ จ. สระบุรี และ อ. ลาดหลุมแก้ว จ. ปทุมธานี ที่ระดับความลึก 10 เซนติเมตร จากผิวดิน นำตัวอย่างดินที่เก็บมาผึ่งเพื่อลดความชื้นที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ก่อนนำไปใช้ทดลองต่อไป

**การแยกเชื้อราไตรโคเดอร์มา**

ชั่งตัวอย่างดินน้ำหนัก 1 กรัม ต่อน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 9 มิลลิลิตร เขย่า 20 –30 นาที วางทิ้งไว้ 10 นาที แยกเชื้อจากสารแขวนลอยดินเจือจาง (soil dilution plating) ที่ระดับความเจือจาง $10^{-2}$ และ $10^{-3}$ ดูดสารละลายดินในแต่ละความเจือจาง เลี้ยงบนอาหาร Rose Bengal (Mohammad และ Hamisu, 2019) บ่มที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน สังเกตและคัดเลือกโคโลนีเดี่ยว ที่มีสีขาว ขาวอมเหลือง เทา ทั้งที่ขอบเรียบและขอบหยักไปทำให้บริสุทธิ์ โดยการเลี้ยงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อพีดีเอ (potato dextrose agar; PDA) เมื่อสร้างสปอร์เต็มที่แล้วจึงนำไปศึกษาต่อไป

**การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา *Trichoderma* sp. ในการยับยั้งเชื้อรา *Phytophthora colocasiae* ในบนอาหารเลี้ยงเชื้อ**

เลี้ยงเชื้อรา *P. colocasiae* และ เชื้อรา *Trichoderma* sp. ที่คัดแยกได้บนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน ใช้ cock borer เจาะบริเวณขอบโคโลนีเชื้อราทั้งสองย้ายชิ้นวุ้นของเชื้อราทั้งสองวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยใช้เทคนิค dual culture จำนวน 3 ซ้ำ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน คำนวณประสิทธิภาพเชื้อรา *Trichoderma* sp. (%) ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. colocasiae* (percent inhibition of radial growth – PIRG) โดยใช้สูตรการคำนวณดังนี้

PIRG = [( Rc - Rt ) / Rc] x 100

Rc = ค่าเฉลี่ยของรัศมีเชื้อรา *P. colocasiae* ในกรรมวิธีควบคุม

Rt = ค่าเฉลี่ยของรัศมีเชื้อรา *P. colocasiae* ในกรรมวิธีทดสอบ

**การวิเคราะห์ข้อมูล**

เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan’s New Multiple Range Teste (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**การเก็บตัวอย่างดินเชื้อรา *Trichoderma* sp. จากดินขุยไผ่**

การเก็บตัวอย่างดินใน อ. บ้านหมอ จ. สระบุรี จำนวน 45 ตัวอย่าง และใน อ. ลาดหลุมแก้ว จ. ปทุมธานี จำนวน 5 ตัวอย่าง สามารถแยกเชื้อไตรโคเดอร์มาจากดินใน อ. บ้านหมอ จ. สระบุรีได้จำนวน 20 ไอโซเลตคือ BM1, BM2, BM3, BM4, BM5, BM6, BM7, BM8, BM9, PB1, PB2, PB3, PB4, PB5, PB6, PB7, PB8, PB9, PB10 และPB11 ในขณะที่ อ. หลุมแก้ว จ. ปทุมธานีได้ 1 ไอโซเลต คือ ไอโซเลต KB1

**การแยกเชื้อรา *Trichoderma* sp. จากดินขุยไผ่**

สามารถแยกเชื้อราไตรโคเดอร์มาโดยวิธี soil dilution plate บนอาหาร Rose Bengal Agar จาก อ. บ้านหมอ จ. สระบุรี ได้ 20 ไอโซเลท และจาก อ. ลาดหลุมแก้ว จ. ปทุมธานี ได้ 1 ไอโซเลท ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อบริสุทธิ์บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าสามารถจำแนกเชื้อราไตรโคเดอร์มาออกได้เป็น 4 กลุ่ม สอดคล้องกับในรายงานของ Bin Liu และคณะ (2020) ซึ่งทำการแยกเชื้อราไตรโคดอร์มาจากดิน โดยศึกษาลักษณะของการเจริญของเส้นใย การสร้างโคนีเดียและการเปลี่ยนสีของอาหาร PDA โดยสามารถจัดกลุ่มที่มีเส้นใยสีขาว สปอร์สีเขียวมีการเจริญเติบโตของเส้นใยที่รวดเร็วจำนวนวน 7 ไอโซเลท คือ BM1 BM2 BM6 BM8 BM9 PB5 และ PB10 (Figure 1) กลุ่มที่สร้างเส้นใยสีขาว มีการสร้างสปอร์สีเขียวช้าจำนวน

6 ไอโซเลท คือ BM7 PB1 PB2 PB6 PB11 และ KB1 กลุ่มที่สร้างเส้นใยช้า มีการสร้างสปอร์สีเขียวจำนวน 2 ไอโซเลท คือ BM4 และ BM5 และกลุ่มที่สร้างเส้นใยขอบหยักจำนวน 5 ไอโซเลท คือ PB3 PB4 PB7 PB8 และPB9 ส่วนเชื้อรา *Trichoderma asperellum* (สายพันธุ์การค้า) ที่นำมาใช้เป็นเชื้ออ้างอิงพบว่ามีสปอร์สีเขียว เส้นใยมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว

**การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราไตรโคเดอร์มาในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. colocasiae***

จากการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งของเชื้อรา *Trichoderma* sp. ที่แยกได้กับเชื้อ *P. colocasiae* โดยวิธี dual culture บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท BM6 BM1 และ BM7 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใย *P. colocasiae* โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 56.25 55.80 และ 54.59 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 1) และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคระหว่างเชื้อรา *T.a asperellum* (สายพันธุ์การค้า) กับเชื้อรา *Trichoderma* sp. ที่แยกได้พบว่า ประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อราไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (Figure 2)

## สรุปผล

เชื้อรา *Trichoderma* sp. จากดินขุยไผ่ อ. บ้านหมอ จ. สระบุรี สามารถแยกได้จำนวน 20 ไอโซเลท และ อ. ลาดหลุมแก้ว จ. ปทุมธานี ได้จำนวน 1 ไอโซเลท และเมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *P. colocasiae* พบว่าเชื้อรา *Trichoserma* sp. ไอโซเลท BM6 BM1 และ BM7 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใย *P. colocasiae* โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 56.25 55.80 และ 54.59 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับและพบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อราไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับเชื้อรา *Trichoderma asperellum* (สายพันธุ์การค้า)

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณศูนย์สะเต็มศึกษา (STEM Education) มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา ที่สนับสนุนทุนวิจัยในครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี และพีระวรรณ พัฒนาวิภาส, 2552, การศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยาของรา *Phytophthora capsici*. *ใน* : ผลงานวิจัย ประจำปี 2555. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร: 2281-2292.

Bin, L., Shida, J., Huifang, Z., Yucheng, W., Zhihua, L., 2020, Isolation of *Trichoderma* in the Rhizosphere soil of *Syringa oblata* from Harbin and Their Biocontrol and Growth Promotion Function, Microbiological Research, 235: 1-10.

Misra, A.K., Sharma, K., Misra, R.S., 2008, Effect of Benzyl Amino Purine on the Pathogen Growth and Disease Development of Taro Leaf Blight Caused by *Phytophthora colocasiae*, Plant Pathology, 90(2): 191-196.

Mohammad, M. S. and Hamisu, A., 2019, Introductory Chapter: Identification and Isolation of *Trichoderma* spp., Agriculture Industrial and Environmental Application, 1-13.

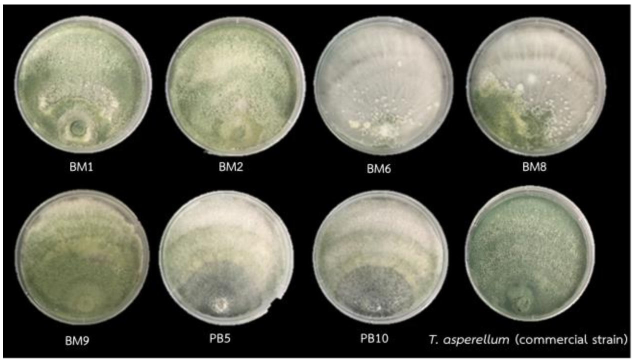



Figure 1 The variation of colours and morphology of the fungal colonies of *Trichoderma* sp. shown on Potato Dextrose Agar (PDA) compare with *T. asperellum* (commercial strain)

Table 1 Antagonistic activity of *Trichoderma* sp. against *P. colocasiae* on Potato Dextrose Agar (PDA) compared with *T. asperellum* (commercial strain)

| Isolate | Percentage Inhibition |
|---|---|
| BM1 | 55.80 ± 0.08[ab] |
| BM6 | 56.52 ± 0.23[a] |
| BM7 | 54.59 ± 0.10[abc] |
| *Trichoderma asperellum* (commercial strain) | 53.14 ± 0.30[bcd] |

Note Different alphabets in the column represents significant difference at P< 0.05 employing DMRT

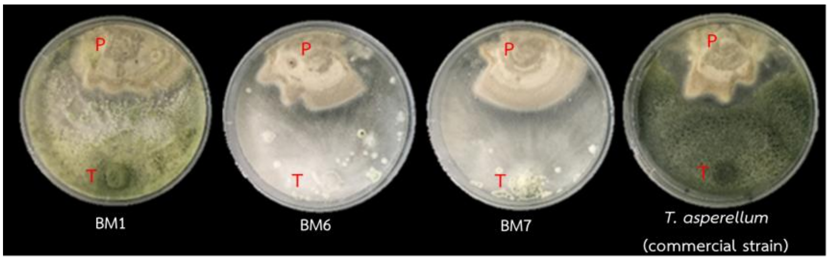



Figure2. Antagonistic effect of *Trichoderma* sp. 3 isolate compare with *T. asperellum* (commercial strain) against *P. colocasiae* on Potato Dextrose Agar (PDA) after 5 days

The antifungal activity of those three isolates was not significantly different from (P < 0.05) from. *Trichoderma asperellum* (commercial strain).

# การอนุรักษ์ดองดึงโดยวิธีการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ
# Conservation of Gloriosa lily (*Gloriosa superba* L.) by Slow Growth Technique

**สุพินญา บุญมานพ**[1]
**Bunmanop, S.**[1]

## Abstract

*Gloriosa superba* L. is a native plant of Asia listed in the family Liliaceae. Its rhizome contains many kinds of alkaloids: Colchicine, which is popularly applied in medical and agricultural use. Since a number of plants are taken from natural habitat, the population of *G. superba* L. is decreasing, therefore, it is vulnerable to extinction. The International Union for Conservation of Nature (IUCN) places *G. superba* L. in IUCN Red List of Threatened Species. This research aims to study the conservation of *G. superba* L. by slow growth under *in vitro* culture. The findings indicated that *in vitro* propagation of *G. superba* L. can be done by culturing apical meristem in MS + NAA 4 mg/l + BA 4 mg/l. It was statistically significant that when cultured in ½ MS + Mannitol 20 g/l without subculturing, rhizome can be preserved for up to 9 months by using slow growth storage.

**Keywords:** *Gloriosa superba* L., slow growth storage, *in vitro*

## บทคัดย่อ

ดองดึง (*Gloriosa superba* L.) อยู่ในวงศ์ Liliaceae เป็นไม้พื้นบ้านในแถบเอเชีย เหง้าดองดึงมีสารอัลคาลอยด์หลายชนิด ได้แก่ โคลชิซิน (colchicine) จึงเป็นที่ต้องการเนื่องจากถูกนำมาใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ และในทางการเกษตร ทำให้ปริมาณที่มีในธรรมชาติลดน้อยลง จึงเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ และทาง IUCN จัดดองดึงให้อยู่ในบัญชีแดง (red list) ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาวิธีการอนุรักษ์ดองดึงโดยวิธีการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า การขยายปริมาณเหง้าของดองดึงในสภาพปลอดเชื้อสามารถทำได้โดยใช้ชิ้นส่วนของยอดดองดึงในอาหารสังเคราะห์สูตร MS + NAA 4 mg/l +BA 4 mg/l และการเก็บรักษาเหง้าดองดึงในสภาพปลอดเชื้อ (การชะลอการเจริญเติบโต) สามารถเก็บรักษาได้นานสูงสุด 9 เดือนอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ แม้ไม่มีการ subculture เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ ½ MS + Manitol 20 g/l ในสภาพปลอดเชื้อ

**คำสำคัญ:** ดองดึง การชะลอการเจริญเติบโต สภาพปลอดเชื้อ

## คำนำ

**ดองดึง** *Gloriosa superba* L. เป็นพืชสมุนไพรที่สำคัญชนิดหนึ่งและจัดอยู่ในแพทย์แผนโบราณของไทย ชื่อเรียกพื้นบ้านของประเทศไทย เช่น พันมหา หัวขวาน ว่านก้ามปู มะขาโก้ง (เสงี่ยม, 2522) ชื่อสามัญ Glory lily, Climbing lily, Superb lily, Turk's cap, Flame lily หรือ Gloriosa lily อยู่ในวงศ์ Liliaceae (สมสุข, 2541) มีถิ่นกำเนิดอยู่ในป่าของทวีปแอฟริกา มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *G. rothchildiana* ในทวีปเอเชีย เช่น ประเทศอินเดีย ศรีลังกา ฟิลิปปินส์ มาเลเซีย และประเทศแถบอินโดจีน พบเพียงชนิดเดียว คือ *G. superba* L. จัดเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่มีหัว/เหง้าอยู่ใต้ดิน (rhizome) เป็นไม้พื้นบ้านในแถบเอเชีย ความหลากหลายของดองดึงสามารถพบได้ทั่วไปตามธรรมชาติในประเทศไทย โดยเฉพาะแถบชายทะเลจะพบมากกว่าแหล่งอื่นๆ (ภาคตะวันออก และภาคใต้ของประเทศไทย) (ศุภฤกษ์ และคณะ, 2545) ดังแสดงในภาพที่ 1 ทั้งนี้ดองดึงจัดเป็นพืชล้มลุกประเภทไม้เลื้อย มีอายุหลายปี (หลายฤดู) ดอกดองดึง มีสีสันสวยงาม เด่น สะดุดตา และดอกทยอยบานจากล่างขึ้นสู่ยอด ช่วงการออกดอกใช้เวลาประมาณ 2-3 เดือน จากคุณสมบัติดังกล่าว จึงถูกจัดเป็นไม้ดอกไม้ประดับได้ไม่แพ้ไม้ดอกชนิดอื่นๆ และจัดเป็นพืชสมุนไพรที่ส่วนต่างๆ สามารถรักษาโรคได้หลายชนิด เนื่องจากในเมล็ด และเหง้าดองดึงมีสารอัลคาลอยด์หลายชนิด ชนิดที่พบว่ามีปริมาณมาก ได้แก่ โคลชิซิน (colchicine) ที่ได้จากส่วนของเมล็ดใช้รักษาโรคไขข้ออักเสบ โรคมะเร็ง (กรมวิชาการเกษตร, 2542) ทางด้านการเกษตรใช้โคลชิซินในการปรับปรุงพันธุ์พืช เพราะมีคุณสมบัติในการกระตุ้นเซลพืชให้เกิดโพลีพลอยด์ (polyploid)

[1] กลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ 10900
[1] Genebank Research and Development Group, Biotechnology Research and Development Office, Department of Agriculture (DOA), Bangkok, 10900, Thailand

(Eigsti และคณะ, 1949; Bunyapraphatsaya, 1991) การขยายพันธุ์ของดองดึงมี 2 วิธี คือ เมล็ด และเหง้า ซึ่งการติดเมล็ดต่อต้นค่อนข้างน้อย และจุดเจริญของเหง้ามี2จุด (ภาพที่ 2) ซึ่งการเกิดต้นใหม่ของดองดึงจะใช้อาหารจากเหง้าเก่าเพื่อเกิดต้นใหม่ (ภาพที่ 3) เนื่องจากถูกนำมาใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ และในทางการเกษตร ทำให้ปริมาณที่มีในธรรมชาติลดน้อยลง อีกทั้งพื้นที่มีการเปลี่ยนแปลงตามความต้องการของเจ้าของสถานที่ และความเจริญของสังคม จึงเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์และได้ถูกจัดเข้าอยู่ในบัญชีแดง (red list) ของ International Union for Conservation of Nature (IUCN) (IUCN, 1980) ในการลดการเจริญเติบโตของพืชในสภาพปลอดเชื้อมีหลายวิธีการ เช่น การลดปริมาณสารอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Lersrutaiyotin et al, 1993) และการใส่สารลดการเจริญเติบโต ได้แก่ mannitol ที่มีผลต่อ osmotic pressure ของพืช ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการดูดซึมสารอาหารของชิ้นเนื้อเยื่อ (Mix, 1982) ทั้งนี้ สนธิชัย (2548) พบว่า การใช้สูตรอาหาร MS + sucrose 40-60 g/l หรือ sucrose 30 g/l + Mannitol 30 g/l หรือสูตรอาหาร ½ MS + Sucrose 40-50 g/l หรือ Sucrose 30 g/l + Mannitol 30-40 g/l สามารถชะลอการเจริญเติบโตได้โดยเพาะเลี้ยงในอาหารเดิมได้นานอย่างน้อย 8 เดือน และวรินทร์พร ศึกษาการเก็บรักษาเนระพูสีไทยในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า สามารถเก็บรักษาได้นาน 9 เดือน บนสูตรอาหาร ½ MS + Sucrose 90 g/l และการเก็บรักษาพันธุ์หอมน้ำไทยในสภาพปลอดเชื้อสามารถเก็บได้นาน 8 เดือน บนสูตรอาหาร ½ MS + Sucrose 30 g/l + Mannitol 10 g/l (วรรณดา และคณะ, 2557) ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาวิธีการอนุรักษ์ดองดึงโดยวิธีการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ

## อุปกรณ์และวิธีการ

การขยายพันธุ์ดองดึงในสภาพปลอดเชื้อ นำชิ้นส่วนยอด/ใบ/ข้อ ของดองดึงที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้ว (นำส่วนของยอดดองดึงมาล้างด้วยน้ำประปาให้สะอาด จากนั้นนำเข้าตู้ปลอดเชื้อทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วยน้ำยาคลอรอกซ์ 10% และ 5% ตามลำดับ ครั้งละประมาณ 15 นาที โดยเติมสารลดความตึงผิว เช่น tween 20 จำนวน 2-3หยดขณะฟอกฆ่าเชื้อ แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 3 ครั้งๆ ประมาณ 1 นาที นำชิ้นส่วนที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้ว (ยอด ใบ และข้อ) มาเลี้ยงลงบนสูตรอาหารสังเคราะห์ Murashige and Skoog Medium (MS)MS ร่วมกับการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซิน $\alpha$-napthalene acetic acied (NAA)(NAA) ที่ระดับความเข้มข้น 1 และ 4 mg/l ร่วมกับกลุ่มไซโตไคนิน 6-benzyladenine (BA)(BA) 4 mg/l เพื่อชักนำการเกิดต้น หลังจากนั้นนำเหง้าดองดึงที่ได้จากการขยายในสภาพปลอดเชื้อมาทดสอบสูตรอาหารเพื่อชะลอการเจริญเติบโตของพืช (slow growth) โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) 9 ทรีตเม้นต์ๆ ละ 15 ซ้ำนำไปเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ควบคุมอุณหภูมิประมาณ 25-27$^{\circ}$C ความเข้มแสงประมาณ 1,000-2,000 ลักซ์ เป็นเวลาประมาณ 8 ชั่วโมงประกอบด้วย MS (control), MS + 10 g/l, MS + 20 g/l, ½ MS, ½ MS + 10 g/l, ½ MS + 20 g/l, ¼ MS, ¼ MS + 10 g/l, ¼ MS + 20 g/lสิ้นสุดการเก็บรักษาเมื่อเหง้าดองดึงเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเกินกว่า 50% ของจำนวนตัวอย่าง

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า ส่วนยอดดองดึงในอาหารสังเคราะห์สูตร MS + NAA 4 mg/l +BA 4 mg/l สามารถเจริญเติบโตทางใบได้และเกิดเหง้าได้มาก (ภาพที่ 4) (การนำชิ้นส่วนของดองดึงที่ฟอกฆ่าเชื้อ คือ ยอด ใบ และข้อ ยอดมีเปอร์เซ็นต์การรอด 100 % ขณะที่ ข้อและใบ มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 0%) แต่การเจริญเติบโตใช้ระยะเวลานานเช่นเดียวกับการเจริญเติบโตในธรรมชาติ (Krause, 1986) และการเก็บรักษาเหง้าดองดึงในสภาพปลอดเชื้อ (การชะลอการเจริญเติบโต) สามารถเก็บรักษาได้นานสูงสุด 9 เดือนอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ภาพที่ 5และตารางที่ 1) เมื่อเปรียบเทียบกับทรีทเมนต์อื่นๆ ที่มีการเก็บรักษาที่อายุ 6-7½เดือน ส่วน control (ทรีทเมนต์ที่ 1) สามารถเก็บรักษาได้นาน 7 เดือนเช่นกัน แม้ไม่มีการเปลี่ยนถ่ายอาหาร (subculture) เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ ½ MS + Mannitol 20 g/l ในสภาพปลอดเชื้อ เป็นการลดปริมาณธาตุอาหารในอาหารสังเคราะห์ซึ่งเป็นธาตุอาหารหลัก และ Mannitol มีผลเกี่ยวกับแรงดันออสโมซิสในอาหาร แต่ระดับความเข้มข้นที่สูงเกินไปอาจเป็นอันตรายต่อพืชได้ Skalova et al (2012) ศึกษาการเจริญเติบโตของบัวหิมะ (*Smallanthus sonchifolius*) พบว่า การเพาะเลี้ยงบัวหิมะในอาหารสูตร ½ MS + Mannitol หรือ Sobitol ความเข้มข้น 10 หรือ 20 g/l ในระยะเวลา 60 วันมีการเจริญเติบโตที่ที่ลดลง และรมณีย์ และศาลักษณ์ (2547) ศึกษาพบว่า สามารถเก็บรักษาพันธุ์เจตมูลเพลิงแดงในสภาพปลอดเชื้อได้นาน 8 เดือนในอาหาร MS + Mannitol 20 m/l สอดคล้องกับการทดลองของสนธิชัย (2548) ในการเก็บรักษาพืชวงศ์ขิง (ขิง ไพล และขมิ้นอ้อย) ได้นาน 8 เดือนบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS ร่วมกับ mannitol (30-40 g/l)

## สรุปผล

การขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อสามารถใช้ส่วนของยอดซึ่งขยายเหง้าได้เป็นจำนวนมากในสูตรอาหาร MS + NAA 4

mg/l +BA 4 mg/l และการอนุรักษ์เหง้าดองดึงโดยวิธีการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ สามสามารถเก็บรักษาเหง้าได้นาน 9 เดือน แม้ไม่มีการเปลี่ยนถ่ายอาหาร เมื่อเลี้ยงบนอาหรสูตรสังเคราะห์ ½ MS + Manitol 20 g/l ในสภาพปลอดเชื้อ

**คำขอบคุณ**

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงานจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) และสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโยชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร และขอขอบคุณ คุณสิริพันธุ์ ศรีจักรวาฬ คุณปราโมทย์ เกิดศิริ คุณจิราพรรณ แพกำเนิด คุณชาญวุฒิ วิถี และคุณขวัญฤทัย วังสุริย์ ที่ได้ช่วยเหลือให้งานวิจัยลุล่วงไปด้วยดี

**เอกสารอ้างอิง**

กรมวิชาการเกษตร, 2542, ดองดึง (*Gloriosa superb* Linn.) ไม้ดอกสารพัดประโยชน์, กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช, กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ, 30 หน้า.

รมณีย์ เจริญทรัพย์ และ ศาลักษณ์ พรรรณศิริ, 2547, การเก็บรักษาพันธุ์เจตมูลเพลิงแดงในสภาพปลอดเชื้อ : ผลของ mannitol ต่อการเจริญของเนื้อเยื่อที่เก็บรักษา, **ใน :** เรื่องเต็มการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42: สาขาพืช วันที่ 3-6 กุมภาพันธ์ 2547 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, 553-559.

วรรณดา พิพัฒน์เจริญชัย กาญจนรี พงษ์ฉวี และรัฐภัทร์ ประดิษฐ์สรรพ์, 2557, การเก็บรักษาพันธุ์หอมน้ำ *Crinum thaianum* Schulze ในสภาพปลอดเชื้อ, สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและพรรณไม้น้ำ, สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด, กรมประมง, 34 หน้า.

ศุภฤกษ์ กุลปภังกร ประพฤติ พรหมสมบูรณ์ บัวทิพย์ อุบลประเสร็ฐ สุธัญญา พรหมสมบูรณ์ อัมรัตน์ โกมลมาศ อนุสสรณ์ วิเศษสิงห์ ทรงศักดิ์ จันทร์อุดม และ นันทพร พึ่งสังวร, 2545, การศึกษาความหลากหลายและการอนุรักษ์สายพันธุ์ดองดึง ในภาคตะวันออกของประเทศไทย, คณะเกษตรศาสตร์บางพระ, สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล, ชลบุรี, 107 หน้า.

สนธิชัย จันทร์เปรม, 2548, การเก็บรักษาพืชวงศ์ขิงบางชนิดโดยการลดการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ, การประชุมวิชาการทรัพยากรไทย: สรรพสิ่งล้วนพันเกี่ยว (ภาคโปสเตอร์), 384-389.

สมสุข ศรีจักรวาล และ ปราโมทย์ เกิดศิริ, 2541, การพัฒนาของดอกดองดึงเมื่อปลูกในช่วงเวลาต่าง ๆ, วารสารวิชาการเกษตร, 16 (1): 42-48.

เสงี่ยม พงษ์บุญรอด, 2522, ไม้เทศเมืองไทย สรรพคุณของยาเทศและยาไทย, เกษมบรรณกิจ, กรุงเทพฯ, 596 หน้า.

Bunyapraphatsara, N., S. Khongchuensin, C. Sagwansupayakorn, C. Sakulmeerit, T. Tipayasak and Y. Sri-ngen-ngaam, 1991, Colchicine content of the seeds of *Gloriosa superba* L. Cultivated in Thailand, pp. 126-134. *In* J.M. Pezzuto, A.D. Kingkorn, H.H. S. Fong, and G.A. Cordell (eds.), Progress on terrestrial and marine natural products of medicinal and biological interest, American Botanical Council, Chicago.

Eigsti, O.J., Jr., Dustin and G.M., Grosvenor, 1949, On the Discovery of the Action of Colchicines on Mitosis, Science 110: 692.

IUCN, 1980, The Word Conservation Strategy, IUCN, Gland, Switzerland, 77p.

Krause, J., 1986, Production of *Gloriosa* tubers from Seeds, Acta Horticulturae, 177: 353-360.

Lersrutaiyotin, R.., Chit-areerat, P. and Vissessuwan, R., 1993, *In Vitro* Preservation of Sugarcane Plantlets Under Low Temperature, Kasetsart Journal (Nat.Sci.) 27: 9-11.

Mix, G., 1982. *In Vitro* Preservation of Potato Material, Plant Genetic Research Newsletter, 51: 6-6.

**Figure 1** *G. superba* L. at the nature seaside in the south of Thailand.

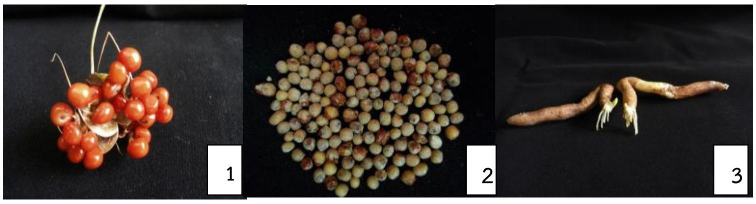



**Figure 2** Ripe fruit (1), seed (2) and rhizome (3) of *G. superba* L.

**Figure 3** *G. superba* L. growth from rhizomes

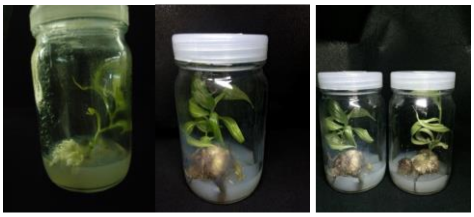
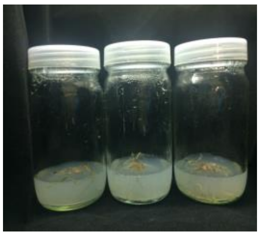


**Figure 4** *G. superba* L. in sterile condition

MS full-strength+Mannitol (0, 10, 20g/L)



MS half-strength+Mannitol (0, 10, 20g/L)

MS one-fourth strength+Mannitol (0,10, 20g/L)

**Figure 5** *G. superba* L. rhizomes *in vitro* cultured for 9 months.rhizomes *in vitro* cultured for 9 months

**Table 1** Average storage period for the rhizomes of *G. superba* L. at 50% of browing color.

| Treatment | Mannitol (g/l) | Average storage period (months)Average storage period (months) |
|---|---|---|
| 1. MS full-strength | 0 | 7.22 d |
| 2. MS full-strength | 10 | 7.24 d |
| 3. MS full-strength | 20 | 7.20 d |
| 4. MS half-strength | 0 | 7.20 d |
| 5. MS half-strength | 10 | 7.53 bc |
| 6. MS half-strength | 20 | 9.10 a |
| 7. MS one fourth-strength | 0 | 6.61 e |
| 8. MS one fourth-strength | 10 | 7.34 cd |
| 9. MS one fourth-strength | 20 | 7.58 b |
| CV (%) | | 3.70 |

Mean values within the column followed by the same lette in superscript are not significantly different at P<0.05 level

# การออกแบบบรรจุภัณฑ์อาหารสำหรับผู้สูงอายุ
# Food Packaging Design for Elderly People

**รัชนีวรรณ กุลจันทร์[1], สุภาวดี ธีรธรรมมากร[2], ภัทรพร เรียงภิรมย์ [1], พรธีรา รัตนรัตน์[1], พิพัฒน์ เนียมเปรม[1]**
**Kulchan, R. [1]*, Thirathummakorn, S.[2], Riangpirom P.[1], Rattanarat, P.[1], Neamprem, P.[1]**

## Abstract

Food packaging is one of the biggest issues for elderly people use. Packaging design ideas for the elders to serve as a guideline for packaging designers or food product manufacturers to develop food packaging were studied. The information on packaging design for the elderly has been collected from the internet research and published articles in domestic and international journals. As a result, there are 3 related theories: Universal design, Inclusive design and Design for all which have a design principle that everyone can use. The design must take into account about the limitations of the elderly use and be created according to the needs of them. Moreover, the packaging design must have clear colors and easy-to-read fonts, beautiful appearance and safe so that the elderly can use it by themselves.
**Keywords:** Packaging Design, Elderly People, Universal Design, Inclusive Design

## บทคัดย่อ

บรรจุภัณฑ์อาหารคือปัญหาใหญ่อย่างหนึ่งในการใช้งานของผู้สูงอายุ บทความนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อนำแนวคิดการออกแบบบรรจุภัณฑ์สำหรับผู้สูงอายุเพื่อใช้เป็นแนวทางให้นักออกแบบบรรจุภัณฑ์หรือผู้ผลิตสินค้าอาหารได้พัฒนาบรรจุภัณฑ์อาหารที่เหมาะสำหรับผู้สูงอายุให้สามารถใช้ได้ด้วยตัวเอง โดยรวบรวมข้อมูลการออกแบบบรรจุภัณฑ์สำหรับผู้สูงอายุจากการค้นคว้าทางอินเตอร์เน็ตและบทความตีพิมพ์ในวารสารทั้งในและต่างประเทศ พบว่าการออกแบบบรรจุภัณฑ์สำหรับผู้สูงอายุ มีทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง 3 ทฤษฎีคือ Universal design, Inclusive design และ Design for all ซึ่งมีกลักการออกแบบที่ต้องการให้ทุกคนสามารถใช้งานได้ การออกแบบต้องมีคำนึงถึงข้อจำกัดของผู้สูงอายุและออกแบบจากความต้องการของผู้สูงอายุ โดยบรรจุภัณฑ์ที่ออกแบบต้องมีสีและตัวอักษรชัดเจนอ่านง่าย สวยงามและปลอดภัย เพื่อให้ผู้สูงอายุสามารถใช้ได้ด้วยตัวเอง ไม่เป็นภาระผู้อื่น
**คำสำคัญ:** การออกแบบบรรจุภัณฑ์ ผู้สูงอายุ การออกแบบเพื่อคนทั้งมวล การออกแบบที่ครอบคลุม

## คำนำ

ตามที่องค์การสหประชาชาติ (United Nations: UN) ได้ให้นิยาม ผู้สูงอายุ (Older person) หมายถึงประชากรทั้งเพศชายและหญิงที่มีอายุมากกว่า 60ปีขึ้นไปและได้แบ่งระดับการเข้าสู่สังคมผู้สูงอายุ เป็น 3 ระดับ ได้แก่

1. ระดับการก้าวเข้าสู่สังคมผู้สูงอายุ (Aging society) หมายถึง สังคมหรือประเทศที่มีประชากรอายุ 60 ปีขึ้นไปมากกว่าร้อยละ 10 ของประชากรทั้งประเทศหรือมีประชากรอายุตั้งแต่ 65 ปีมากกว่าร้อยละ 7 ของประชากรทั้งประเทศ แสดงว่าประเทศนั้นกำลังเข้าสู่สังคมผู้สูงอายุ
2. ระดับสังคมผู้สูงอายุโดยสมบูรณ์ (Aged society) หมายถึง สังคมหรือประเทศที่มีประชากรอายุ 60 ปีขึ้นไป มากกว่าร้อยละ20 ของประชากรทั้งประเทศหรือมีประชากรอายุตั้งแต่ 65 ปี มากกว่าร้อยละ14 ของประชากรทั้งประเทศ แสดงว่าประเทศนั้นเข้าสู่สังคมผู้สูงอายุโดยสมบูรณ์
3. ระดับสังคมผู้สูงอายุอย่างเต็มที่ (Super-aged society) หมายถึง สังคมหรือประเทศที่มีประชากรอายุ 65 ปีขึ้นไปมากกว่าร้อยละ 20 ของประชากรทั้งประเทศ แสดงว่าประเทศนั้นเข้าสู่สังคมผู้สูงอายุอย่างเต็มที่

จากข้อมูลของกรมกิจการผู้สูงอายุ (2564) ได้เสนอจำนวนผู้สูงอายุในประเทศไทยหรือผู้ที่มีอายุมากกว่า 60 ปีขึ้นไป ณ วันที่ 31 ธันวาคม 2563 มีกว่า 17.57% สำนักงานสถิติแห่งชาติ คาดการณ์ว่า ประเทศไทยจะเข้าสู่สังคมผู้สูงอายุอย่างเต็มตัวในปี พ.ศ.2565 และในปี พ.ศ. 2573 จะมีสัดส่วนประชากรสูงวัยเพิ่มขึ้นอยู่ที่ร้อยละ 26.9 ของประชากรทั้งประเทศ ซึ่งส่งผลต่อธุรกิจ

[1] ศูนย์การบรรจุหีบห่อไทย, สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย 196 ถ.พหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900
[1] Thai Packaging Centre, Thailand Institute of Scientific and Technological Research 196 Phahonyothin Rd. Ladyao, Chatuchak, Bangkok 10900 Thailand
[2] มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช 9/9 หมู่ 9 ต.บางพูด อ.ปากเกร็ด จ.นนทบุรี 11120
[2] Sukhothai Thammathirat Open University Chaengwattana Rd. Bangpood, Pakkret, Nonthaburi 11120 Thailand

ต่างต้องปรับตัวเพื่อรองรับ โดยเฉพาะอุตสาหกรรมอาหารและบรรจุภัณฑ์ที่ผู้สูงอายุยังต้องกินต้องใช้และประสบปัญหามากในการใช้งานบรรจุภัณฑ์ที่นักออกแบบมักละเลย ดังนั้น ในบทความนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อนำแนวคิดการออกแบบบรรจุภัณฑ์สำหรับผู้สูงอายุเพื่อใช้เป็นแนวทางให้นักออกแบบบรรจุภัณฑ์หรือผู้ผลิตสินค้าอาหารได้ตระหนักถึงบรรจุภัณฑ์อาหารที่เหมาะสำหรับผู้สูงอายุให้สามารถใช้ได้ด้วยตัวเอง

## อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการค้นคว้าข้อมูลทางอินเตอร์เน็ตและรวบรวมข้อมูลจากบทความตีพิมพ์ในวารสารทั้งในและต่างประเทศที่เกี่ยวข้องกับการออกแบบบรรจุภัณฑ์สำหรับผู้สูงอายุที่มีอายุตั้งแต่ 60 ปี ขึ้นไป แล้วสรุปหลักการการออกแบบและข้อควรระวังต่าง ๆ ในการออกแบบบรรจุภัณฑ์สำหรับผู้สูงอายุพร้อมเสนอกรณีตัวอย่างบรรจุภัณฑ์ที่พัฒนาสำหรับผู้สูงอายุ เพื่อให้เห็นภาพการพัฒนาและการนำหลักการมาใช้พัฒนาจริง

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ด้วยเหตุผลหลายด้านจากสภาพร่างการที่เสื่อมลงของผู้สูงอายุทำให้มีผลกับการใช้ชีวิต ทั้งความแข็งแรงของกล้ามเนื้อแรงมือที่ใช้จับ ดึง เปิดสินค้า ทั้งการมองเห็นซึ่งเป็นสัญญาณแห่งวัยที่เร็วที่สุด เนื่องจากเลนส์ตาเปลี่ยนจุดโฟกัส คือ ระยะ 10 ซม. เมื่ออายุ 20 ปี แต่เปลี่ยนเป็น 100 ซม. เมื่ออายุ 70 ปี (Sloane, 1992) อีกทั้งปัญหารูม่านตามีขนาดเล็กลงแสงเข้าตาน้อยลงจึงต้องการแสงสว่างมากขึ้นจึงจะมองเห็นซึ่งต้องการมากขึ้นเรื่อย ๆ ตามอายุ ผู้สูงอายุ 60 ปีที่มีสายตาปกติก็ต้องการแสงสว่างมากว่าคนอายุ 20 ปีถึง 2 เท่า เพื่อให้มองเห็นปกติ (Pirkl, 1994, Weale, 1961) อีกทั้งความจำที่ลบเลือน เป็นต้น ทำให้การออกแบบบรรจุภัณฑ์สำหรับสินค้าของผู้สูงอายุจึงต้องมีลักษณะพิเศษ จึงได้มีแนวคิดที่จะทำอย่างไรให้ผู้สูงอายุสามารถใช้บรรจุภัณฑ์ได้เหมือนกับคนในวัยอื่นจึงมีการนำเสนอหลักแนวคิดที่ใช้ในการออกแบบไว้หลายทฤษฎี ดังนี้

1. Universal design ทฤษฎีนี้เป็นที่รู้จักและนิยม มีจุดกำเนิดที่สหรัฐอเมริกาและปัจจุบันได้เผยเพร่ไปในหลายประเทศทั้งญี่ปุ่น อินเดีย มีหลักการสำคัญ 7 ข้อ ดัง Table 1
2. Inclusive design เริ่มใน UK มีหลักสำคัญคือ Inclusive (ทุกคนสามารถใช้ได้ปลอดภัย), Responsive (คำนึงถึงสิ่งที่ผู้คนบอกว่าต้องการ), Flexible (สามารถใช้ในรูปที่แตกต่างกันได้), Convenient (ทุกคนใช้งานได้ง่าย), Accommodating รองรับทุกคนโดยไม่คำนึงถึงอายุเพศความคล่องตัว เชื้อชาติ สถานการณ์, Welcoming (ต้อนรับทุกคนโดยไม่ปิดกั้น), Realistic (นำเสนอโซลูชันมากเพื่อช่วยสร้างสมดุลให้กับความต้องการของทุกคน)
3. Design for all หลักสำคัญ คือ Respectful (ทุกคนใช้ได้ไม่แบ่งแยก), Safe (ต้องปลอดภัย), Healthy (ไม่เสี่ยงต่อสุขภาพ), Functional (ไม่มีปัญหาในการใช้งาน), Comprehensible (เข้าใจง่าย), Sustainable (มีความยั่งยืน), Affordable (ราคาไม่แพง), Appealing (น่าสนใจ)

**กลยุทธ์การออกแบบผลิตภัณฑ์เพื่อทุกคน (ที่มา: http://designforall.org/design.php)**

1. To Everyone
2. Adjustable
3. Products Range
4. Compatible with commonly used accessories
5. Premises/Product & complementary service
6. Use an alternative solution to the mainly used offering similar benefits
7. Customized product or service

**การออกแบบบรรจุภัณฑ์อาหารสำหรับผู้สูงอายุ**

1. สีและตัวอักษร การใช้สีต้องมีความแตกต่างกันสูง ขนาดตัวหนังสือต้องใหญ่ คมชัด เนื่องจากผู้สูงอายุสูญเสียการโฟกัสปกติแล้วผู้สูงอายุชายจะมีระยะอ่านหนังสือที่ 40 ซม. ระยะขับรถที่ 7 ม. ถ้าสินค้าที่อยู่บนชั้นวางอยู่ไกลกว่าจุดโฟกัส ผู้สูงอายุก็จะมองไม่เห็น (Wang et al, 2015)
2. คำนึงถึงข้อจำกัด เช่น ความจำ ผู้สูงอายุมีปัญหาเรื่องความจำ ซึ่งต้องใช้เวลานานในการเรียนรู้อะไรใหม่ และเรียนรู้ช้า ดังนั้น การเสนอข้อมูลบนบรรจุภัณฑ์ต้องเรียบง่าย เข้าใจง่าย
3. ออกแบบจากข้อมูล ความต้องการของผู้สูงอายุ ศึกษาลักษณะกายภาพ สรีระที่เปลี่ยนแปลง ดังนั้น บรรจุภัณฑ์จะต้องมีคุณลักษณะ ดังนี้

    (1) Creativity เป็นสิ่งสำคัญที่สุดสำหรับการออกแบบ

(2) Applicability ต้องเหมาะสมกับผู้ใช้หรือผู้สูงอายุสามารถใช้ได้จริง

(3) Conciseness ข้อมูลต้องชัดเจนทั้ง ชื่อ ส่วนประกอบ คุณค่าทางอาหาร คำเตือน เป็นต้น

(4) Beauty สวยงาม น่าสนใจและดึงดูดความสนใจ

(5) Security สุดท้ายคือความปลอดภัยกับผู้ใช้งาน ใช้วัสดุไม่เป็นพิษ รวมทั้งอันตรายต่างที่อาจเกิดขึ้นจากกระบวนผลิตและการใช้งาน

**ตัวอย่างการออกแบบบรรจุภัณฑ์อาหารสำหรับผู้สูงอายุ**

เป็นตัวอย่างการออกแบบบรรจุภัณฑ์สำหรับผู้สูงอายุ ได้แก่ การออกแบบสีตัดกันชัดเจน ขนาดภาพและตัวหนังสือใหญ่ ออกแบบโดยเพิ่มรูที่แผ่นฝาปิดถาดเพื่อให้สามารถใช้อุปกรณ์สอดช่วยเปิดดึง ออกแบบถาดสลัดให้มีองค์ประกอบครบทั้งถาดเล็ก ช้อน ครบและฝาที่เปิดง่าย, ออกแบบถุงทรงตั้งและเปิดง่ายด้วยการใช้มือดึงขอบถุงแยกกัน, ออกแบบฝาสวมเปิดขวดที่มีที่จับถนัดมือสำหรับหมุนเปิด, ออกแบบฝา easy open โดยใช้มือกดให้เปิดง่ายขึ้น และออกแบบฝาแผ่นปิดด้านในให้มีที่ดึงเปิดใหญ่ ดึงได้สะดวก ดัง Figure 1

## สรุปผลการทดลอง

การออกแบบบรรจุภัณฑ์สำหรับผู้สูงอายุมีทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง 3 ทฤษฎีคือ Universal design, Inclusive design และ Design for all โดยมีกลักการออกแบบที่ต้องการให้ทุกคนสามารถใช้งานได้ การออกแบบต้องคำนึงถึงสภาพร่างกายที่เสื่อมลง ข้อจำกัดของผู้สูงอายุเรื่องความจำ สายตา และออกแบบตามความต้องการของผู้สูงอายุ เพื่อให้สามารถใช้งานบรรจุภัณฑ์นั้นอย่างเต็มประสิทธิภาพ เช่น ออกแบบสีและตัวอักษรต้องชัดเจนอ่านง่าย มีความสวยงามและปลอดภัย ผู้สูงอายุสามารถใช้ได้ด้วยตัวเอง ไม่เป็นภาระผู้อื่น จะเห็นได้ว่าแต่ละทฤษฎีจะมีความคล้ายคลึงกัน โดยมีวัตถุประสงค์หลัก เพื่อให้บรรจุภัณฑ์ที่ออกแบบสามารถใช้ประโยชน์ได้ทุกคนไม่แบ่งแยก ปลอดภัย สะดวก ข้อมูลชัดเจน ผู้สูงอายุใช้งานได้ด้วยตัวเองไม่เป็นภาระ

## เอกสารอ้างอิง


กรมกิจการผู้สูงอายุ, 2564, สถิติผู้สูงอายุของประเทศไทย 77 จังหวัด ณ วันที่ 31 ธันวาคม 2563 [สืบค้น], http://www.dop.go.th/th/know/side/1/1/335 [25/April/21].

Giana, L.C. and Annika, O., 2015, Design Towards Better Life Experience: Closing the Gap Between Pharmaceutical Packaging Design and Elderly People, International Conference on Engineering Design, pp. 1-11.

QI, W. and Xue, J., 2017, Research on Packaging Design Art of Elderly Products in Chaina. Advances in Social Science, Education and Humanities Research, (132), 143-147.

Pirkl, J. J., 1994, Transgenerational Design: Products for an Aging Population. New York, NY: Van Nostrand Reinhold.

**Figure 1** Examples packaging design for elderly

Available: www.raconteur.net/packaging/inclusive-design-packaging/, www.seliggroup.com, https://www.bakeryandsnacks.com/Article/2011/12/05/New-project-aims-to-develop-senior-friendly-packaging, http://www.toyo-seikan.co.jp/e/eco/topics2005.html, https://www.trendhunter.com/slideshow/easyopen-packaging https://www.yankodesign.com/2014/09/03/sodavalve-the-hand-saver

**Table 1** Universal design principles

| Principle | Explanation |
|---|---|
| Equity | Useful and appealing to people with diverse abilities<br>o Used in the same or equivalent way by everyone<br>o Does not segregate or stigmatize anyone |
| Flexibility | Accommodates a range of preferences and abilities<br>o Provides choice in method of use<br>o Facilitates accuracy and precision<br>o Adapts to user constraints and pace |
| Simplicity | Easy or intuitive regardless of experience, knowledge base, language skills, and level of concentration<br>o Consistent with users' expectations<br>o Eliminates complexity<br>o Provides cues, prompts, and feedback |
| Perceptibility | Communicates necessary information regardless of ambient conditions and the expected range of user sensory ability<br>o Redundant modes of presentation through different senses (verbal, written, auditory, tactile)<br>o Highlights essential information<br>o Differentiates elements<br>o Maximizes legibility<br>o Compatible with glasses, hearing aids, walkers, etc. |
| Error recovery | Minimizes hazards and unintended actions<br>o Useful elements are accessible, hazardous elements are sequestered or eliminated. Fail-safe features incorporated<br>o Warning signals<br>o Not dependent on vigilance |
| Low effort | Can be used comfortably with minimal strain or fatigue<br>o Minimizes force or sustained effort<br>o Minimizes repetitive actions<br>o Requires neutral body positions |
| Accessibility | Accessible for expected range of body size, posture, or mobility<br>o Clear sight lines<br>o Comfortable reach<br>o Accommodates variations in hand grip or size<br>o Minimizes physical barriers |

Adapted from: Gassman, O., & Reepmeyer, G. (2008). Universal Design - Innovations for all ages. In: F.Kohlbacher & C. Herstatt (Eds.), The Silver Market Phenomenon. Chapter 9 (pp. 125-148). Berlin and Heidelberg: Springer Verlag.

# การศึกษาเบื้องต้นของสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำคั้นผลส้มซ่าที่ปลูกแบบไร้สารพิษในพื้นที่ ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี

# Preliminary Study on Antioxidant in Bitter Orange (*Citrus aurantium* L.) Juice Cultivated in Green Farm at Khlong Ha Subdistrict, Khlong Luang District, Pathum Thani Province

**วัฒนา อัจฉริยะโพธา[1] สินีนาถ สุขทนารักษ์[2] และเบญจางค์ อัจฉริยะโพธา[2]**
Aschariyaphotha, W.[1], Suktanarak, S.[2] and Aschariyaphotha, B.[2]

## Abstract

Organically bitter orange fruits obtained from local sources, Khlong Ha Subdistrict, Khlong Luang District, Pathum Thani Province, was preliminary studies for its antioxidative capacity. Results showed that amount of phenolic compounds from fresh squeezed juice and frozen juice were 451.63 mg GAE/gFW and 139.74 mg GAE/ gFW, respectively. Flavonoid contents in freshly squeezed orange juice and frozen squeezed orange juice were 260.54 mg/gFW and 74.28 mg/gFW, respectively. Freshly squeezed orange juice showed antioxidant activity by DPPH assay value of 56.79, which showed a higher than the frozen orange juice, which was 120.75. In this study, one of postharvest factor showed that the quality of bitter orange juices decreased over the storage time, even at low temperatures.

**Keywords:** Bitter orange, Antioxidant, Phenolics, Flavonoids

## บทคัดย่อ

การศึกษาเบื้องต้นสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำคั้นผลส้มซ่าอินทรีย์ที่ได้จากแหล่งชุมชนท้องถิ่น ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ. ปทุมธานี ผลการศึกษาพบว่าสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำคั้นส้มซ่าสดเทียบกับน้ำส้มซ่าแช่แข็ง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 451.63 mg GAE/gFW และ 139.74 mg GAE/gFW ตามลำดับ ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดพบว่าน้ำส้มซ่าคั้นสดและน้ำส้มซ่าคั้นแช่แข็งมีปริมาณเท่ากับ 260.54 mg/gFW และ 74.28 mg/gFW ตามลำดับ การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ในน้ำส้มซ่าสดให้ผลที่ดีกว่าน้ำส้มซ่าแช่แข็ง เช่นเดียวกับการศึกษาค่า $IC_{50}$ ในน้ำส้มซ่าสดคือ 56.79 ซึ่งแสดงความสามารถได้ดีกว่าน้ำส้มซ่าแช่แข็งซึ่งแสดงค่า คือ 120.75 การศึกษาในครั้งนี้อธิบายปัจจัยหลังการเก็บเกี่ยวด้านหนึ่งว่าน้ำคั้นส้มซ่าคุณภาพลดลงตามระยะเวลาการเก็บถึงแม้ว่าจะเก็บที่อุณหภูมิต่ำ

**คำสำคัญ:** ส้มซ่า สารต้านอนุมูลอิสระ สารฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์

## บทนำ**

ส้มซ่า (*Citrus aurantium* L.) ที่ปลูกในพื้นที่ ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี มีการปลูกในลักษณะเกษตรปลอดภัย คือไม่ใช้สารเคมีในการเพาะปลูก (ภิญญาพัชญ์ นาคภิบาล, 2559) เพื่อส่งเสริมการพัฒนาแหล่งท่องเที่ยวส้มซ่าที่ปลูกในพื้นที่ ต. คลองห้า ถูกนำน้ำคั้นจากผลมาใช้ประกอบของหมี่กรอบซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ของชุมชนอีกทั้งเป็นอาหารไทยโบราณ ปัจจุบันส้มซ่ากลายเป็นพืชที่มีคนรู้จักน้อยทั้งที่เป็นพืชสมุนไพรมาตั้งแต่โบราณ ในการศึกษาถึงคุณสมบัติสารออกฤทธ์ต้านอนุมูลอิสระโดยเฉพาะในพืชตระกูลส้มมีการศึกษาก่อนหน้านี้ คือ สมัคร แก้วสุกแสง และพีรพงศ์ แสงวนางค์กูล (2558) วิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และแอนโทไซยานิน (anthocyanins) พบว่าส้มจุกและส้มโชกุนมีฟลาโวนอยด์ 4 ชนิด คือ Naringin, Narirutin, Hesperidin และ Neohesperidin และยังพบในส้มโอพันธุ์ทับทิมสยาม เช่นเดียวกับเสาวภา ไชยวงศ์ และธีรพงษ์ เทพกรณ์ (2553) ที่ศึกษาฟลาโวนอยด์ในส้มโอไทย สำหรับในการศึกษาถึงส้มซ่ามีรายงานการศึกษาสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในส่วนต่างๆ ของส้มซ่า ที่สกัดด้วยสภาวะต่างๆ โดย ชมัยพร รอดกลิ่น และคณะ (2560) แต่ที่ยังไม่พบการรายงานถึงจากการนำส้มซ่าสดมาศึกษาถึงสารประกอบฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์

[1] หลักสูตรนวัตกรรมชีวผลิตภัณฑ์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จ.ปทุมธานี 13180, ประเทศไทย
[1]Bio-Products Innovation Program, Faculty of Science and Technology, Valaya Alongkorn Rajabhat University under the Royal Patronage, Phathum Thani 13180, Thailand
[2]หลักสูตรคหกรรมศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จ.ปทุมธานี 13180, ประเทศไทย
[2]Home economics Program, Faculty of Science and Technology, Valaya Alongkorn Rajabhat University under the Royal Patronage, Phathum Thani 13180, Thailand

งานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาเบื้องต้นถึงสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำคั้นส้มซ่าคั้นสดที่ได้จากพื้นที่ ต.คลองห้า เปรียบเทียบกับน้ำส้มซ่าแช่แข็งเพื่อเป็นข้อมูลสำหรับนำไปใช้เป็นส่วนประกอบผลิตภัณฑ์ชุมชน ซึ่งทางชุมชนได้นำน้ำส้มซ่าสดมาใช้งานแล้วมีส่วนที่เหลือใช้ จึงมีการเก็บรักษาโดยนำไปแช่แข็งเพื่อนำไปใช้ต่อในโอกาศต่างๆ จึงเกิดความต้องการศึกษาถึงคุณค่าของน้ำส้มซ่าคั้นในด้านการต้านอนุมูลอิสระว่าจะลดลงหรือไม่

## อุปกรณ์และวิธีการ

นำผลส้มซ่าอายุผล 35-40 วัน หลังจากดอกบาน จากพื้นที่ภายใน ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี ชั่งน้ำหนักเพื่อวัดสัดส่วนน้ำส้มซ่าต่อน้ำหนักผล จากนั้นคั้นให้ได้น้ำแล้วแยกออกเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งใช้ศึกษาทันที อีกส่วนหนึ่งนำไปแช่ช่องแข็งที่อุณภูมิ 0°C

1. วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม โดยใช้ Folin-Ciocalteu Reagent (ธนศักดิ์ และคณะ, 2551) นำน้ำส้มซ่าคั้น 0.13 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่น 0.5 มิลลิลิตร เติม Folin-Ciocalteu Reagent 0.13 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 6 นาที เติม 7% $Na_2CO_3$ จำนวน 1.25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 3 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 90 นาที วัดค่าดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิคกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิคที่ความเข้มข้น 20 40 60 80 100 μg/ml
2. วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ (พสุธร อุ่นอมรมาศ และสรณะ สมโน, 2559) นำน้ำส้มซ่าคั้น 1 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่น 4 มิลลิลิตร เติม 5% $NaNo_2$ จำนวน 3 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 5 นาที เติม 10% $AlCl_3$ 10 จำนวน 0.3 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 6 นาที เติม 1M NaOH จำนวน 0.3 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 2.4 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงทันทีที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร เปรียบเทียบปริมาณสารฟลาโวนอยด์กับกราฟมาตรฐานของแคทีชินที่ความเข้มข้น 20 40 60 80 100 μg/ml
3. วิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay และ $IC_{50}$ (Koleva และคณะ, 2002) นำน้ำส้มซ่าคั้น 100 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลายอนุมูล 80mM DPPH ปริมาณ 900 ไมโครลิตร บ่มในที่มืด 30 นาที จากนั้นวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร โดยใช้หลอดควบคุมคือสารละลายอนุมูล DPPH ที่ไม่มีสารตัวอย่าง คำนวณปริมาณการต้านอนุมูลอิสระอธิบายตามสูตร

$$\% \text{ DPPH radical scavenging activity} = [(\text{Abs. of control} - \text{Abs. of sample})/\text{Abs. of control}] \times 100$$

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการคั้นน้ำส้มซ่าผลสดที่ได้มาจาก ต. คลองห้า เทียบเป็นสัดส่วนต่อน้ำหนักน้ำคั้นต่อน้ำหนักผลสดคิดเป็นร้อยละ 63.72 (w/v)

**Table 1** Antioxidant properties of flesh and frozen bitter orange juice.

| | Phenolic content (mgGAE/gFW) | Flavonoid content (mg/gFW) | DPPH Scavenging activity (%) | $IC_{50}$ (mg/l) |
|---|---|---|---|---|
| flesh bitter orange juice | 195.5 | 260.5429 | 88.04 | 56.79 |
| frozen bitter orange juice | 131.75 | 74.2857 | 38.19 | 120.75 |

จาก Table 1 น้ำส้มซ่าคั้นสดที่มีการปลูกแบบไม่ใช้สารเคมี พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมากกว่าน้ำส้มซ่าคั้นแช่แข็งโดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของน้ำส้มซ่าคั้นสดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 139.74 mgGAE/gFW และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของน้ำส้มซ่าคั้นแช่แข็งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 451.63 mgGAE/gFW สำหรับปริมาณฟลาโวนอยด์ในน้ำส้มซ่าคั้นสดมีปริมาณสูงกว่าน้ำส้มซ่าคั้นแช่แข็ง โดยมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด เท่ากับ 260.54 mgCE/gFW และ 74.28 mgCE/gFW ตามลำดับ แต่จากการศึกษาในพืชตระกูลส้มโดย สมัคร แก้วสุกแสง และพีรพงศ์ แสงวนางค์กูล (2558) วิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์พบว่าส้มจุก และส้มโชกุนมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมคือ 2.67 และ 2.38 ug/ml Juice ตามลำดับ ซึ่งศึกษาในน้ำส้มสดและพบฟลาโวนอยด์ 4 ชนิด คือ Naringin, Narirutin, Hesperidin และ Neohesperidin ในส้มทั้ง 2 ชนิด นอกจากน้ำส้มคั้นแล้วในน้ำผลไม้อื่นมีฟีนอลิกทั้งหมดแต่ยังไม่สูงเมื่อเทียบกับน้ำส้มซ่าคั้สด ได้แก่ น้ำมังคุด น้ำสำรอง และน้ำลูกหว้า (รวินิภา และศิริจันทร์, 2556) นอกเหนือไปจากนี้ส้มโอไทยซึ่งเป็นพืชตระกูลส้มเช่นกันก็มีการศึกษาพบว่ามีสารประกอบฟลาโวนอยด์ ได้แก่ Naringin โดยเสาวภา ไชยวงศ์ และธีรพงษ์ เทพกรณ์ (2553) ได้แสดงข้อมูลว่าในพืชตระกูลส้มโดยเฉพาะส้มโอนั้นจะมีปัจจัยที่มีผล

ต่อชนิดและปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่สำคัญ ได้แก่ พันธุ์ ความบริบูรณ์ (ความแก่) และการปลูก/สภาพแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในส้มโอพันธุ์ทับทิมสยามและพันธุ์ทองดีจากจังหวัดนครศรีธรรมราชมีสาร Naringin มากที่สุด แต่ก็ยังไม่มีรายงานถึงปัจจัยหลังจากการเก็บเกี่ยวต่อสารฟลาโวนอยด์ ดังนั้นในการศึกษาวิจัยนี้จึงเป็นการศึกษาเบื้องต้นถึงสภาวะการเก็บรักษาน้ำส้มคั้นจากส้มซ่าว่ามีผลต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ดังกล่าวมาแล้ว อีกทั้งการศึกษานี้ยังได้ศึกษาถึงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มซ่าสดโดยวิธี DPPH radical scavenging assay และ $IC_{50}$ พบว่ามีค่าที่ดีกว่าน้ำส้มซ่าแช่แข็ง ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลและปริมาณสารฟลาโวนอยด์

## สรุปผล

ส้มซ่าที่ปลูกแบบไร้สารเคมีจาก ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในน้ำคั้นสดสูงกว่าแบบแช่แข็ง (0°C) และมีฤทธิ์ต้านทานอนุมูลอิสระที่ดีกว่าน้ำส้มซ่าแช่แข็ง คือประมาณร้อยละ 88 ซึ่งเป็นไปตามหลักการของสรีระพืชที่มีความสดซึ่งก่อนหน้านี้ยังไม่พบว่ามีรายงานถึงปัจจัยหลังการเก็บเกี่ยวของน้ำส้มซ่าที่มีต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นในการศึกษานี้แสดงผลจากการนำน้ำส้มซ่าที่คั้นสดที่เหลือจากการใช้งานมาเก็บรักษาก็จะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบต่างๆ ภายในผลส้มซ่าสดซึ่งปัจจัยดังกล่าวจะทำให้คุณค่าของส้มซ่าในพื้นที่ปลูกลดน้อยลงไป จึงเป็นข้อมูลที่ดีเป็นการเผยแพร่ถึงคุณประโยชน์ในตัวของผลส้มซ่าที่มีการปลูกแบบไร้สารเคมีในพื้นที่เฉพาะคือ ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี

## คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติที่สนับสนุนทุนวิจัยในการทดลองปีงบประมาณ 2563 ครั้งนี้

ขอขอบพระคุณกำนันศรีนวล ทิพาพงษ์ผกาพันธ์ กำนันตำบลคลองห้า อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี ที่ให้ความสนับสนุนงานวิจัยโดยสนับสนุนผลส้มซ่าที่หาได้จากเกษตรผู้ปลูกในท้องที่ ตำบลคลองห้า

## เอกสารอ้างอิง**

ชมัยพร รอดกลิ่น เอกรัฐ ศรีสุข และ กล่าวขวัญ ศรีสุข, 2560, ผลของสภาวะการสกัดต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนต่าง ๆ ของส้มซ่า, วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา, ปีที่ 22 (ฉบับที่ 1) มกราคม – เมษายน: 211-225.

นวพร วรพาณิชย์, วีรวรรณ ทรัพย์กิจการ บัวสาย เพชรสุริยวงศ์ มณฑิรา นพรัตน์ และ พรรณจิรา วงศ์สวัสดิ์, 2557, คุณลักษณะของน้ำมันหอมระเหยส้มซ่าและการนำไปใช้ในเยลลี่, วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 45(2)(พิเศษ): 369-372.

ธนศักดิ์ แซ่เลี่ยว ศศิธร จันทนวรางกูร และวรรณี จิรภาคย์กุล, 2551, ผลของตัวทำละลายต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถต้านออกซิเดชันของกระชายเหลือง (*Boesenbergia pandurata*), เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46: สาขาอุตสาหกรรมเกษตร, กรุงเทพฯ, หน้า 538-545 (677 หน้า).

พสุธร อุ่นอมรมาศ และสรณะ สมโน, 2559, การวิเคราะห์หาสารสำคัญและฤทธิ์การต่อต้านอนุมูลอิสระของดอกไม้กินได้บางชนิด, วารสารเกษตร, 32 (3): 435-445.

พยุงศักดิ์ ตันติไพบูลย์วงศ์ และสุรศักดิ์ ใจเขียนดี, 2555, การวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลดีพีพีเอชและการฟอกสีอนุมูลเอบีทีเอส, น. 21-26, ใน ชลธิชา เทพหนลัพ (บรรณาธิการ), เทคนิคในการตรวจวัด อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และดัชนี ภาวะเครียดออกซิเดชัน, คณะวิทยาศาสตร การแพทยมหาวิทยาลัยพะเยา รวมกับ สมาคม เพื่อการวิจัยอนุมูลอิสระไทย, บริษัท นพบุรีการ พิมพจำกัด, เชียงใหม.

ภิญญาพัชญ์ นาคภิบาล, 2559, การพัฒนารูปแบบการดำเนินชีวิตตามปรัชญาเศรษฐกิจพอเพียง กรณีศึกษาบ้านคลองห้า หมู่ 2 ตำบลคลองห้า อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี, วารสารบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ ปีที่10 ฉบับที่ 3 กันยายน – ธันวาคม.

รวินิภา ศรีมูล และศิริจันทร์ ตาใจ, 2556, ปริมาณฟีนอลรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำผลไม้แปรรูปในรูปในจังหวัดจันทบุรี, มหาวิยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี, จันทบุรี.

สมัคร แก้วสุกแสง และ พีรพงค์ แสงวนางค์กูล, 2558, ปริมาณสารออกฤทธิ์ของผลไม้ตระกูลส้มที่ปลูกในภาคใต้, วารสาร แก่นเกษตร, 43 ฉบับพิเศษ 1: 799-804.

เสาวภา ไชยวงศ์ และธีรพงษ์ เทพกรณ์, 2553, ฟลาโวนอยด์ในส้มโอไทย, วารสารวิทยาศาสตร์ประยุกต์. 9(2): 79-89.

Koleva, I.I., Van Beek, T.A., Linssen, J.P.H., de Groot, A. and Evstatieva, L.N., 2002, Screening of Plant Extracts for Antioxidant Activity: A Comparative Study on Three Testing Methods, Phytochemical Analysis,13: 8–17.

Lee, Y., Howard, L.R. and Lee, Y., Howard, L.R. and Villalon, B., 1995, Flavonoids and Antioxidant Activity of Fresh Pepper (*Capsicum annuum*) Cultivars, Journal of Food Science, 60: 473–476.

Li, Z. X., Fen, X.W., Gang, C., Feng, W.H. and Hu, P.Y., 2017, Two new phenolic glycosides isolated from the fruits of *Citrus aurantium*, Chinese Journal of Natural Medicines, 15(1): 0041-0044.

Park, K.I., Park, H.S., Kim, M.K., Hong, G.E., Nagappan, A., Lee, H.J., Yumnam, S., Lee, W.S., Won, C.K., Shin, S.C. and Kim, G.S., 2014, Flavonoids identified from Korean *Citrus aurantium* L. inhibit Non-Small Cell Lung Cancer growth in vivo and in vitro, Journal of Functional Foods, (7): 287–297.

Sheng, Z.W., Ma, W.H., Jin, Z.Q., Bi, Y., Sun, Z.G., Dou, H.T., Gao, J.H., Li, J.Y. and Han, L.N., 2010, Investigation of Dietary Fiber, Protein, Vitamin E and Other Nutritional Compounds of Banana Flower of Two Cultivars Grown in China, African Journal of Biotechnology, 9(25): 3888–3895.

Wang, Q.H., Shu, Z.P., Xu, B.Q., Xing, N., Jiao, W.J., Yang, B.Y. and Kuang, H.X., 2014, Structural Characterization and antioxidant Activities of Polysaccharides from *Citrus aurantium* L, International Journal of Biological Macromolecules, (67): 112–123.

# ประสิทธิภาพการใช้สารโซเดียมคลอไรท์ที่มีฤทธิ์เป็นกรดต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของไมโครกรีน
# Efficacy of Acidified Sodium Chlorite on Microbial Growth and Quality Change of Microgreen

ปุณิกา แสงสุข[1] ปรียานุช แสงประยูร[1] มธุรส ขุมทองวัฒนา[1] ไชยพร เก็บเงิน[1] มัณฑนา บัวหนอง[1,2] และ พนิดา บุญฤทธิ์ธงไชย[1,2]
Saengsuk, P.[1], Saengprayoon, P.[1], Khumthogwattana, M.[1], Ngebngoen, C.[1], Buanong, M.[1,2] and Boonyaritthongchai, P.[1,2*]

## Abstract

This research was studied the effects of acidified sodium chlorite (ASC) in washing process to control microbial and maintain quality of microgreen. Pea microgreen was used in this research. Pea microgreen were dipped in distilled water (control) to compare with 100 ppm ASC dipping for 1 min. After treatment, microgreen were rewashed by distilled water and centrifuged for removing the excessive water then packed into plastic tray sealed with PP film and held at 10°C for 8 days. Inhibition of microbial growth including total bacteria, coliform, yeast was found in pea microgreen treated with 100 ppm ASC.This treatment also induced antioxidant capacity, total phenolic and maintained chlorophyll content when compared with the control (non-treated pea microgreen) during storage for 8 days.
**Keywords:** microgreen, acidified sodium chlorite, microbial contamination, pea microgreen

## บทคัดย่อ

การวิจัยนี้ศึกษาการใช้สารละลายกรดโซเดียมคลอไรท์ (Acidified sodium chlorite, ASC) ในกระบวนการล้างเพื่อลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์และรักษาคุณภาพของไมโครกรีน การทดลองนี้ใช้ต้นอ่อนถั่วลันเตาหรือโต้วเหมี่ยว โดย นำโต้วเหมี่ยวภายหลังการเก็บเกี่ยวจุ่มลงในน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) เปรียบเทียบกับการจุ่มในสารละลาย ASC ความเข้มข้น 100 ppm เป็นเวลา 1 นาที หลังจากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นและสะเด็ดน้ำ บรรจุในกล่องพลาสติกปิดผนึกด้วยความร้อนด้วยฟิล์มโพลีโพรไพลีน (PP) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน พบว่า โต้วเหมี่ยวที่จุ่มด้วย ASC สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตปริมาณเชื้อแบคทีเรีย โคลิฟอร์ม ยีสต์ และสามารถกระตุ้นกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด รวมถึงชะลอการสูญเสียปริมาณคลอโรฟิลล์ได้ดีกว่าชุดควบคุมในระหว่างการเก็บรักษา 8 วัน
**คำสำคัญ**: ไมโครกรีน กรดโซเดียมคลอไรท์ การปนเปื้อนจุลินทรีย์ โต้วเหมี่ยว

## คำนำ

ปัจจุบันกระแสของการรับประทานไมโครกรีน (Microgreens) ออแกนิคกำลังได้รับความนิยมในกลุ่มของคนรักสุขภาพมากขึ้น ไมโครกรีน หรือ ต้นอ่อนของพืช คือต้นอ่อนที่เพิ่งงอกออกจากเมล็ดและมีอายุ 7-14 วัน ซึ่ง มีรายงานว่าไมโครกรีนมีองค์ประกอบของวิตามิน เกลือแร่ และสารแอนตี้ออกซิแดนต์ (antioxidants) มากกว่าผลผลิตปกติ (mature green) (Treadwell และคณะ, 2010; Xiao และคณะ, 2012) ต้นอ่อนของพืชสามารถผลิตได้ตลอดปี ใช้ระยะเวลาสั้น ปลอดภัยจากสารเคมี โดยทั่วไปไมโครกรีนมีอายุการเก็บรักษาสั้น การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ ที่อาจเกิดจากวัสดุปลูกและน้ำมีใช้ในระหว่างการเพาะ ซึ่งอาจส่งผลถึงความสะอาดของไมโครกรีนที่ปลูกได้ ทั้งนี้การจัดการภายหลังการเก็บเกี่ยวได้แก่ การล้างทำความสะอาดก่อนนำไปบรรจุในบรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสมมีส่วนสำคัญที่ทำให้ลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนและรักษาคุณภาพ ความสด สารสำคัญต่างๆ ในไมโครกรีนได้ ในการผลิตโดยทั่วไปผู้ประกอบการล้างทำความสะอาดไมโครกรีนด้วยสารฆ่าเชื้อที่มีคลอรีน กรด เบส หรือเกลือเป็นองค์ประกอบ แต่สามารถลดปริมาณเชื้อได้เพียง 0.5–1.5 log CFU/g ซึ่งยังไม่สามารถลดปริมาณเชื้อให้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของกระทรวงสาธารณสุขได้ (ไม่เกิน 10 CFU/g) เช่นเดียวกับการใช้สารประกอบเกลือ กรด และคลอรีนบางชนิด เช่น โซเดียมคลอไรด์

[1] สาขาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (บางขุนเทียน) 49 ซอยเทียนทะเล 25 ถนนบางขุนเทียนชายทะเล แขวงท่าข้าม เขตบางขุนเทียน กรุงเทพมหานคร 10150
[1]Division of Postharvest Technology, School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi (Bangkhuntien), 49 Tientalay 25, Thakam, Bangkhuntien, Bangkok 10150, Thailand
[2]ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม กรุงเทพมหานคร 10400
[2]Postharvest Technology Innovation Center, Ministry of Higher Education, Science, Research and Innovation, Bangkok 10400, Thailand

(NaCl) คลอรีนไดออกไซด์ ($ClO_2$) และ โซเดียมไฮโปคลอไรด์ (NaClO) สามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นลงได้ (Singh และคณะ, 2003; Sayyari และคณะ, 2009; Anbalagan และคณะ, 2014) ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงใช้สารละลายกรดโซเดียมคลอไรท์ เพื่อศึกษาการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น และการเปลี่ยนแปลงคุณภาพและสารสำคัญของไมโครกรีนพร้อมบริโภค

## อุปกรณ์และวิธีการ

เตรียมการเพาะปลูกไมโครกรีน ด้วยการนำเมล็ดถั่วลันเตามาแช่ด้วยสารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 200 ppm เป็นระยะเวลา 30 นาที จากนั้นนำมาแช่ด้วยน้ำเปล่าที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 ชั่วโมง นำเมล็ดมาบ่ม โดยใช้ผ้าห่อเมล็ดเป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปปลูกในขุยมะพร้าว ในตะกร้าสูง 1 นิ้ว จากนั้นโรยเมล็ดถั่วลันเตาตะกร้าละ 80 กรัม ทำการรดน้ำวันละ 1 ครั้ง เมื่อ ไมโครกรีนมีอายุประมาณ 7-14 วัน หรือใบเลี้ยงสมบูรณ์และคลี่ออกเต็มที่ จึงเก็บเกี่ยวไมโครกรีนแล้วนำไปล้างทำความสะอาด จุ่มในสาร acidified sodium chlorite (ASC) ความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม) 100 ppm เป็นเวลา 1 นาที แล้วนำไปล้างน้ำกลั่น 2 ครั้ง จากนั้นนำ ไมโครกรีนไปปั่นให้สะเด็ดน้ำ แล้วบรรจุลงในกล่องพลาสติก semi rigid packaging กล่องละ 100 กรัม จำนวน 4 ซ้ำ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ทำการตรวจบันทึกผลการทดลองทุก 2 วัน นาน 8 วัน วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) และวิเคราะห์ผลทางสถิติแบบ Duncan's Multiple Range (DMRT)

## ผลการทดลอง

Figure 1 แสดงปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด โคลิฟอร์ม และยีสต์ของไมโครกรีนถั่วลันเตาชื้อแบคทีเรียทั้งหมดของโต้วเหมี่ยวที่ จุ่มสาร ASC มีปริมาณลดต่ำกว่าโต้วเหมี่ยวชุดควบคุม (ที่ไม่ได้จุ่มสาร) โดยโต้วเหมี่ยวหลังการเก็บเกี่ยวมีปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด 1.85 log10 CFU/g เมื่อผ่านการจุ่ม ASC ปริมาณเชื้อแบคทีเรียลดลงเหลือ 1.49 log10 CFU/g และพบว่าโต้วเหมี่ยวที่จุ่มสาร ASC มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดต่ำกว่าโต้วเหมี่ยวชุดควบคุม ในระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 8 วัน ปริมาณเชื้อโคลิฟอร์มของโต้วเหมี่ยวหลังเก็บเกี่ยว มีปริมาณเชื้อโคลิฟอร์ม 2.67 log10 CFU/g เมื่อผ่านการจุ่ม ASC ปริมาณเชื้อโคลิฟอร์มลดลงเหลือ 1.34 log10 CFU/g และพบว่าโต้วเหมี่ยวที่จุ่มสาร ASC มีปริมาณเชื้อโคลิฟอร์มต่ำกว่าโต้วเหมี่ยวชุดควบคุม ในระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 8 วัน นอกจากนั้นยังพบว่าโต้วเหมี่ยวหลังเก็บเกี่ยวไม่พบเชื้อยีสต์แต่พบเชื้อยีสต์ในวันที่ 2 ของการเก็บรักษา โดยโต้วเหมี่ยวชุดควบคุมพบปริมาณยีสต์สูงกว่าโต้วเหมี่ยวที่ผ่านการจุ่ม ASC ในระหว่างการเก็บรักษา

กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของโต้วเหมี่ยวภายหลังการเก็บเกี่ยวในวันแรกอยู่ในช่วง 1.23 – 1.38 µmole Trolox equivalent/ g FW หลังจากนั้นพบว่าโต้วเหมี่ยวที่จุ่มสาร ASC มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าโต้วเหมี่ยวที่ไม่ผ่านการจุ่มสาร ASC ในระหว่างการเก็บรักษา โดยในวันที่ 4 ของการเก็บรักษา พบว่าโต้วเหมี่ยวที่จุ่ม ASC มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ 1.26 และ 1.38 µmole Trolox equivalent/ g FW ในขณะที่โต้วเหมี่ยวชุดควบคุมมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ 1.04 และ 1.03 µmole Trolox equivalent/ g FW ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิก โดยโต้วเหมี่ยวที่ผ่านการจุ่ม ASC มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าโต้วเหมี่ยวชุดควบคุมในระหว่างการเก็บรักษา นอกจากนั้นโต้วเหมี่ยว ที่ผ่านการจุ่มในสารละลาย ASC มีปริมาณคลอโรฟิลด์มากกว่าโต้วเหมี่ยวชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.01$) (Figure 2)

## วิจารณ์ผลการทดลอง

การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก็เป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่เป็นปัญหาสำคัญของไมโครกรีน โดยการปนเปื้อนจุลินทรีย์จะส่งผลให้ผู้บิโภคได้รับอันตราย และทำให้ไมโครกรียนเสื่อมสภาพเร็วขึ้น (Carlin และคณะ, 1990) ปัจจุบันมีการนำสารละลายโซเดียมคลอไรต์ หรือ ASC ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติเป็นกรด มาใช้ในการล้างผัก เพื่อลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ มีรายงานว่าการแอปเปิ้ลสไลด์ที่แช่ลงในสารละลาย ASC ความเข้มข้น 1g/L สามารถรักษาลักษณะปรากฎ และชะลอการเกิดสีน้ำตาลได้ดีกว่าชุดควบคุม เมื่อเก็บรักษาไปแล้ว 24 ชั่วโมง (Lu และคณะ, 2007) ในขณะเดียวกัน Ruiz-Cruz และคณะ, (2006) รายงานว่าการใช้สารละลาย ASC ที่ความเข้มข้นสูงเกินไป เช่น 500 mg/L อาจทำให้ลักษณะปรากฎของแครอทหั่นฝอยไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค เนื่องจากเนื้อเยื่อของแครอทถูกทำลายด้วยกรด ASC แต่อย่างไรก็ตามเมื่อคุณสมบัติของสารละลาย ASC เป็นกรด ดังนั้นจึงสามารถเข้าทำลายเซลล์ของจุลินทรีย์ได้ โดยสารละลาย ASC เป็นสารออกซิไดส์ที่รุนแรงและมีความเสถียรมากจะแตกตัวได้เป็นกรดคลอรัสจึงทำให้เซลล์ของจุลินทรีย์เสียหาย (Inatsu และคณะ, 2005) Sun และคณะ, (2012) รายงานว่าการใช้ ASC ความเข้มข้น 500 ml/L ล้างมันฝรั่ง มันเทศ แครอท หัวไชเท้า แตงกวา บวบและพริกหยวกตัดแต่งพร้อมบริโภค สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อโคลิฟอร์มได้ดีกว่าชุดควบคุม และ ณัฐชัย และคณะ, (2561) รายงานว่า การล้างมะม่วงดิบเส้นตัดแต่งด้วยสารละลาย ASC ความเข้มข้น 50

และ 100 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนได้ดีกว่าชุดการทดลองอื่น ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกันกับการทดลองนี้

โต้วเหมี่ยวที่ จุ่มในสารละลาย ASC มีแนวโน้มในการกระตุ้นปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดได้ดีกว่าชุดควบคุมในระหว่างการเก็บรักษา ทั้งนี้ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระเป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของผักในระหว่างการเก็บรักษา ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด กรดแอสคอร์บิกเป็นต้น ซึ่งเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิคจะพบว่าเป็นไปในทางเดียวกัน เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิคเป็นสารต้านอนุมูลอิสระหลักในการต้านกระบวนการออกซิเดชันในพืช อย่างไรก็ตามความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ จะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ในการเก็บรักษาไมโครกรีนด้วยด้วย (Barros และคณะ, 2007) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Ruiz-Cruz และคณะ, (2007) รายงานว่าการใช้สารละลาย ASC ที่ความเข้มข้น 100 250 และ 500 ppm สามารถกระตุ้นปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดได้ดีกว่าชุดควบคุม ในขณะที่ ธัญญรัตน์ และคณะ (2559) รายงานว่าการจุ่มผักสลัดคอสตัดแต่ง ในสารละลาย ASC ความเข้มข้น 200 mg/L สามารถกระตุ้นกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ วิธี FRAP และ DPPH ได้ดีกว่าชุดการทดลองอื่น

## สรุปผลการทดลอง

สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่มีฤทธิ์เป็นกรดความเข้มข้น 100 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด โคลิฟอร์ม ยีสต์ และสามารถกระตุ้นกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด รวมถึงชะลอการสูญเสียปริมาณคลอโรฟิลล์ได้ดีกว่าชุดควบคุมในระหว่างการเก็บรักษา 8 วัน

## คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) และขอขอบพระคุณศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม และ The United Graduate School of Agricultural Science (UGSAS), Gifu University, Japan ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์ในการทำวิจัยครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

ณัฐชัย พงษ์ประเสริฐ วาริช ศรีละออง อารีลักษณ์ แก้วเล็ก และพรพรรณ เล็กขำ, 2561, ผลของสารละลาย Acidified Sodium chlorite และ Chlorine Dioxide ต่อการลดเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนและการรักษาคุณภาพของมะม่วงดิบเส้นตัดแต่งพร้อมบริโภค, วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร (พิเศษ), 49: 109-112.

ธัญญรัตน์ โกมล ผ่องเพ็ญ จิตอารีย์รัตน์ อภิรดี อุทัยรัตนกิจ ณัฐชัย พงษ์ประเสริฐ และมัณฑนา บัวหนอง, 2559, ผลของการใช้โซเดียมคลอไรต์ชนิดกรดรวมกับเทคโนโลยีฟองอากาศขนาดไมโครเพื่อควบคุมการเกิดสีน้ำตาลและการเจริญของจุลินทรีย์ในผักสลัดคอสตัดแต่ง, วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร (พิเศษ), 47: 13-16.

Anbalagan, S., Karunakaran, S., Pazhamalai, V., and Dhanasekaran, S., 2014, RTBCE 2014 [12 th August 2014] Recent trends in biotechnology and chemical engineering studies on antibacterial activity of root extract of *costus igneus*, International Journal of ChemTech Research, 6: 974-4290.

Barros, L., Ferreira, M.J., Queiros, B. Ferreira, I.C.F.R., and Baptista, P., 2007, Total phenols, ascorbic acid, β-carotene. Khon Kaen Agriculture Journal, 48: 201-210.

Carlin, F., Nguyen-the, C., Hilbert, G., and Chambroy, Y., 1990, Modified atmosphere packaging of fresh ready - to - use grated carrots in polymeric film, Journal of Food Science, 55: 1033-1038.

Inatsu, Y., Bari, M.L., Kawasaki, S., Isshiki, K., and Kawamoto, S., 2005, Efficacy of acidified sodium chlorite treatments in reducing Escherichia coli O157:H7 on Chinese cabbage, Journal of Food Protection, 68: 251–255.

Lu, S., Luo, Y., Turner, E., and Feng, H., 2007, Efficacy of sodium chlorite as an inhibitor of enzymatic browning in apple slices, Food Chemistry, 104: 824-829.

Ruiz-Cruz, S., Luo, Y., Gonzalez, R.J., Tao, Y., and González Aguilar, G.A., 2006, Acidified sodium chlorite as an alternative to chlorine to control microbial growth on shredded carrots while maintaining quality, Journal of the Science of Food and Agriculture, 86: 1887-1893.

Ruiz-Cruz, S., Felix, E.A., Díaz-Cinco, M., Islas-Osuna, M.A., Aria, A. and González-Aguilara, G.A., 2007, Efficacy of sanitizers in reducing *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* populations on fresh-cut carrots, Food Control, 18: 1383-1390.

Sayyari M., Babalar M., Kalantari S., Serrano M. and Valero D., 2009, Effect of salicylic acid treatment on reducing chilling injury in stored pomegranates, In: Postharvest Biology and Technology, 53: 152-154.

Singh, N., Singh, R.K. and Bhunia, A.K., 2003, Sequential disinfection of *Escherichia coli* O157:H7 inoculated alfalfa seeds before and during sprouting using aqueous chlorine dioxide, ozonated water and thyme essential oil, Lebensmittle Wissenschaft and Technologie, 36: 235-243.

Sun, S.H., Kim, S.J., Kwak S.J., and Yoon, K.S., 2012, Efficacy of sodium hypochlorite and acidified sodium chlorite in preventing browning and microbial growth on fresh-cut produce, Preventive Nutrition and Food Science, 17: 210-216.

Treadwell, D.D., Hochmuth, R., Landrum, L. and Laughlin, W., 2010, Microgreens: a new specialty crop. University of Florida, IFAS, EDIS publ. HS1164. https://edis.ifas.ufl.edu/hs1164. Accessed 23 Feb 2016.

Xiao. Z., Lester, G.E., Luo, Y., and Wang, Q., 2012, Assessment of vitamin and carotenoid concentrations of emerging food products: edible microgreens, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 60: 7644–7651.

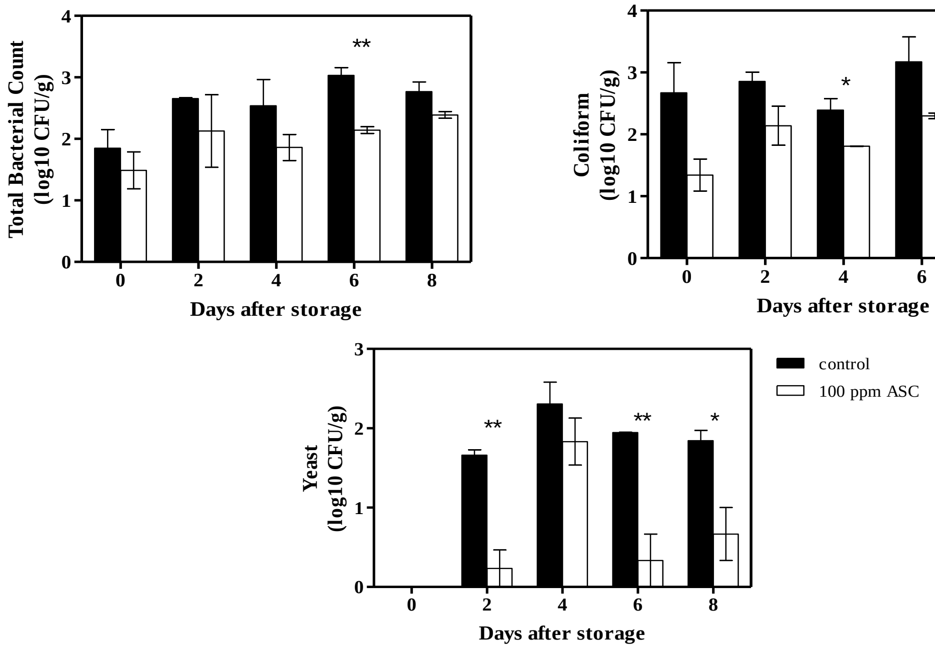



**Figure 1** Total microbial, coliform and yeast of pea microgreen treated with 100 ppm ASC and non-treated microgreen (control) then packed into plastic tray wrapped with PP film storage at 10 °C for 8 days

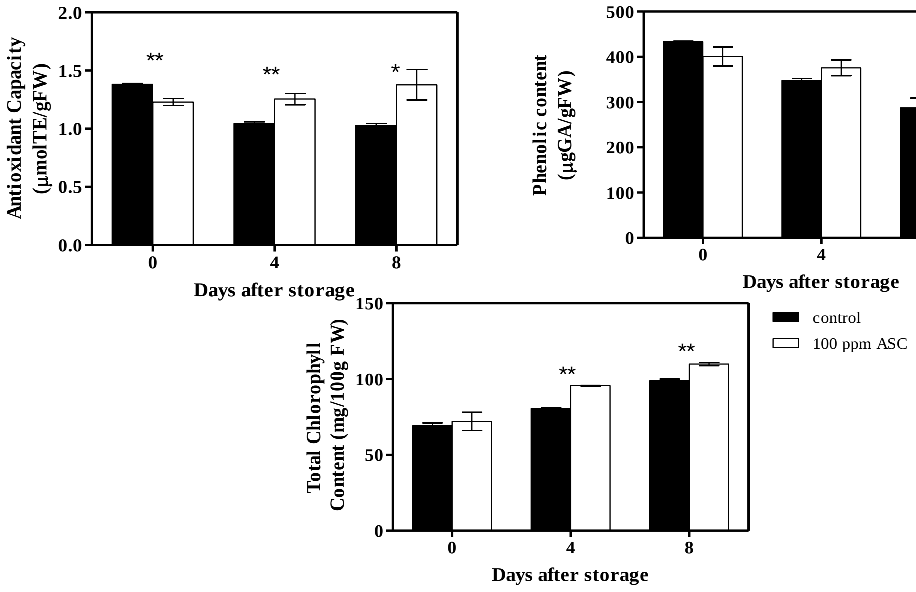



**Figure 2** Antioxidant capacity, total phenolic content and total chlorophyll of pea microgreen treated with 100 ppm ASC and non-treated microgreen (control) then packed into plastic tray wrapped with PP film storage at 10 °C for 8 days

# ผลของกระบวนการออกซิเดชั่นชั้นสูง ($H_2O_2$/UV-C) ร่วมกับฟองก๊าซขนาดไมโครนาโนต่อการกระตุ้นการสร้างสารพฤกษเคมี และสารต้านอนุมูลอิสระในไมโครกรีนไควาเระ

# Effect of Advanced Oxidation Process ($H_2O_2$/UV-C) in Combination with Micro-Nano bubbles on enhancing of Bioactive Compounds and Antioxidants of radish (*Raphanus sativus* L.) Microgreens

สุวนันท์ ยอดสาร[1], พรพรรณ เล็กขำ[1], อารีลักษณ์ แก้วเล็ก[1], Surisa Phornvillay[1], จิราพร อ่อนศรีทอง[1], วาริช ศรีละออง[1,2] และ ณัฐชัย พงษ์ประเสริฐ[1,2]

Yodsarn, S.[1], Lekkham, P.[1], Kaewlek, A.[1], Phornvillay, S.[1], Oonsrithong, J.[1], Srilaong, V.[1,2] and Pongprasert, N.[1,2]

## Abstract

This Research aims to study the effect of advanced oxidation process (AOP) ($H_2O_2$/UV-C) combination with Micro-Nano bubbles ($H_2O_2$/UV-C+Mbs) on enhancement of bioactive compounds and antioxidants of kaiware microgreens. Seeds were wash with AOP containing hydrogen peroxide ($H_2O_2$) solution at a concentration of 3% in combination with Micro-nano bubbles (3%$H_2O_2$/UV-C+Mbs) for 15 Mins. Compared with RO water and unwashed seeds. After washing, seeds were grow for 7 days. Results of the antioxidant activity tended to increase in all washing seed treatments. Microgreens wash with 3%$H_2O_2$+UV-C+Mbs treatment showed significantly highest amount of antioxidant, total flavonoid and glucosinolate. It is concluded that washing seed treatment by using 3%$H_2O_2$/UV-C+Mbs enhanced the production of phytochemical and antioxidants of Kaiware microgreens.

**Keywords:** Advanced Oxidation Process, Antioxidant, Micro-nano bubbles, Glucosinolate, Kaiware microgreens

## บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของกระบวนการออกซิเดชั่นชั้นสูง (AOP) ร่วมกับฟองก๊าซขนาดไมโครนาโน (Mbs) ต่อการกระตุ้นการสร้างสารพฤกษเคมี และสารต้านอนุมูลอิสระในไมโครกรีนไควาเระ โดยทำการล้างเมล็ดด้วยกระบวนการ AOP ประกอบด้วยสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($H_2O_2$) ที่ความเข้มข้น 3% พร้อมกับการให้ UV-C และฟองก๊าซขนาดไมโครนาโน (3%$H_2O_2$/UV-C+Mbs) เป็นเวลา 15 นาที เปรียบเทียบกับการล้างด้วยน้ำกรอง RO (Reverse Osmosis) และเมล็ดที่ไม่ได้ล้างน้ำ นำเมล็ดจากการล้างมาเพาะเมล็ดเป็นต้นอ่อนเป็นเวลา 7 วัน พบว่า ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในทุกชุดการทดลองที่มีกระบวนการล้าง โดยไมโครกรีนไควาเระที่ล้างด้วย 3%$H_2O_2$/UV-C+Mbsมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ, ปริมาณฟลาโวนอยด์ และปริมาณกลูโคซิโนเลตสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้น กระบวนการล้างเมล็ดด้วยกระบวนการออกซิเดชั่นชั้นสูง 3%$H_2O_2$/UV-C+Mbs สามารถกระตุ้นการสร้างสารพฤกษเคมี และสารต้านอนุมูลอิสระของไมโครกรีนไควาเระได้อย่างมีประสิทธิภาพ

**คำสำคัญ:** กระบวนการออกซิเดชั่นขั้นสูง สารต้านอนุมูลอิสระ ฟองก๊าซขนาดไมโครนาโน กลูโคซิโนเลต ไมโครกรีนไควาเระ

## คำนำ

ในปัจจุบันไมโครกรีนได้รับความนิยมไปทั่วโลก เนื่องจากมีปริมาณสารอาหารสูงและมีรสชาติที่เป็นเอกลักษณ์ เมื่อเทียบกับเมล็ดพืชและพืชที่โตเต็มที่ สามารถผลิตได้รวดเร็วและสะดวกในสภาพแวดล้อมที่มีการควบคุมแบบประหยัดพื้นที่ (Ghoora และคณะ, 2020) การผลิตไมโครกรีนส่วนใหญ่มุ่งเน้นไปที่ถั่วต่างๆ และพืชวงศ์ Brassicaceae (Ghoora และคณะ, 2020; Holliday และคณะ, 2001) มีงานวิจัยระบุว่าในบรรดาไมโครกรีน 10 ชนิดที่ได้รับการศึกษาไมโครกรีน หัวไชเท้ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ฟีนอ

[1] สาขาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (บางขุนเทียน)

[1] 49 ซอยเทียนทะเล 25 ถนนบางขุนเทียนชายทะเล แขวงท่าข้าม เขตบางขุนเทียน กรุงเทพมหานคร 10150

Division of Postharvest Technology, School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi (Bangkhuntien), 49 Tientalay 25, Thakam, Bangkhuntein, Bangkok 10150, Thailand

[2] ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม กรุงเทพมหานคร 10400

[2] Postharvest Technology Innovation Center, Ministry of Higher Education, Science, Research and Innovation, Bangkok 10400, Thailand.

ลิก และมีคุณค่าทางโภชนาการมากที่สุด (Ghoora และคณะ, 2020) แต่เมล็ดที่นำมาผลิตไมโครกรีนมักปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ (Kyriacou และคณะ, 2016; Xiao และคณะ, 2014) และถ้าหากเมล็ดมีการปนเปื้อนเชื้อโรคตั้งแต่เริ่มกระบวนการปลูกจะมีการกำจัดออกได้ยาก (Riggio และคณะ, 2019; Wang and Kniel, 2016) นอกจากนี้การล้างหลังการเก็บเกี่ยวไมโครกรีนอาจจะเพิ่มความเสี่ยงต่อการปนเปื้อน เนื่องจากความเสียหายของเนื้อเยื่อที่ทำให้เกิดการเติบโตของเชื้อโรคระหว่างการเพาะปลูก ปัจจุบัน AOP ที่มีการใช้งานมีหลายแบบ เช่น เฟนตอนรีเอเจนต์ (Fenton's reagent), แสงยูวีร่วมกับโอโซน (UV/$O_3$), แสงยูวีร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (UV/$H_2O_2$) หรือใช้แสงยูวีร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และโอโซน ($H_2O_2$/$O_3$/UV) (อาลักษณ์, 2560) ในการกำจัดสารปนเปื้อน โดยเฉพาะน้ำเสียจากอุตสาหกรรมหนัก กระบวนการ AOP จะเป็นกระบวนการใช้สารเคมีที่เป็นตัวออกซิไดซ์ (Chemical Oxidant) เข้ามาช่วยในการกำจัด หรือลดปริมาณของสารเคมี การกำจัดสี และกลิ่น รวมทั้งการฆ่าเชื้อโรค (Disinfection) หรือเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำได้ (Zhou and Smith, 2002) ปัจจุบันมีการนำ AOP มาใช้จุลินทรีย์ในอุตสาหกรรมผักและผลไม้เพิ่มมากขึ้น แต่ยังไม่มีการศึกษาในด้านการส่งผลต่อคุณภาพและสารพฤษเคมี ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอิทธิพลของกระบวนการออกซิเดชั่นชั้นสูง ($H_2O_2$/UV-C) ร่วมกับฟองก๊าซขนาดไมโครนาโนที่ส่งผลต่อการกระตุ้นการสร้างสารพฤกษเคมี และสารต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนไควาเระ

## อุปกรณ์และวิธีการ

นำเมล็ดไควาเระมาล้างด้วยกระบวนการ AOP ด้วยสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซดความเข้มข้น 3% พร้อมกับการให้ UV-C และฟองอากาศขนาดไมโครนาโน (3%$H_2O_2$/UV-C+Mbs) เป็นเวลา 15 นาที โดยเปรียบเทียบกับน้ำกรอง RO (Reverse Osmosis) ซึ่งแบ่งเป็น 6 ชุดการทดลองดังนี้ คือ

ชุดการทดลองที่ 1 ล้างด้วยน้ำกรอง RO เป็นเวลา 5 ชั่วโมง 15 นาที (ชุดความคุม)

ชุดการทดลองที่ 2 ล้างด้วยน้ำกรอง RO เป็นเวลา 5 ชั่วโมง และล้างต่อด้วยสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 3% (3%$H_2O_2$) เป็นเวลา 15 นาที

ชุดการทดลองที่ 3 ล้างด้วยน้ำกรอง RO เป็นเวลา 5 ชั่วโมง และล้างต่อด้วยสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 3% (3%$H_2O_2$) ร่วมกับ UV-C เป็นเวลา 15 นาที

ชุดการทดลองที่ 4 ล้างด้วยน้ำกรอง RO เป็นเวลา 5 ชั่วโมง และล้างด้วยการแช่ต่อด้วย UV-C เป็นเวลา 15 นาที

ชุดการทดลองที่ 5 ล้างด้วยน้ำกรอง RO เป็นเวลา 5 ชั่วโมง และล้างด้วยการแช่ต่อด้วยสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 3% (3%$H_2O_2$) ร่วมกับ UV-C และฟองก๊าซขนาดไมโครนาโน เป็นเวลา 15 นาที

ชุดการทดลองที่ 6 ล้างด้วยน้ำกรอง RO เป็นเวลา 5 ชั่วโมง และล้างด้วยการแช่ต่อด้วยสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 3% (3%$H_2O_2$) ร่วมกับฟองก๊าซขนาดไมโครนาโน เป็นเวลา 15 นาที นำเมล็ดไควาเระที่ล้างด้วยวิธีต่างๆ มาผ่านเครื่องปั่นเหวี่ยงเพื่อทำให้สะเด็ดน้ำ

จากนั้นนำมาเพาะในกระถางพลาสติกที่มีฟองน้ำวางในกระถางพลาสติก และรดน้ำทุกวัน โดยไม่ให้แสง 3 วันหลังจากการเพาะ หลังจากนั้นทำการให้แสง LED สีขาว ความเข้มแสง 70±5 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ เป็นเวลา 4 วัน ที่อุณหภูมิ 22±1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75-80เก็บเกี่ยวไมโครกรีนอายุ 7 วัน เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณสาร Glucosinolate, Total flavonoid และความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของใบและลำต้น วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) จำนวน 4 ซ้ำ

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาพบว่า AOP (3%$H_2O_2$/UV-C) สามารถกระตุ้นความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPHได้สูงและมากกว่าไมโครกรีนชุดควบคุม และชุดการทดลองอื่นๆ เช่นเดียวกันกับปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ส่วนปริมาณสารช่วยลดความเสี่ยงการเกิดมะเร็ง (Glucosinolates) มีการตอบสนองต่อกระบวนการออกซิเดชั่นชั้นสูง 3%$H_2O_2$ ร่วมกับฟองก๊าซขนาดไมโครนาโน และชุดการทดลองที่มีการใช้ UV-C ร่วมด้วยก็ให้ผลการตอบสนองที่ดีรองลงมา เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิค หรือฟลาโวนอยด์มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงเป็นไปในทิศทางเดียวกัน เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิคหรือฟลาโวนอยด์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระหลักในการต้านกระบวนการออกซิเดชันในพืช (Barros และคณะ, 2007; Murakami และคณะ, 2003) ซึ่งมีการรายงานว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ได้จากธรรมชาติยังมีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชันสูงกว่าสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการสังเคราะห์ (Lee และคณะ, 2003) และยังสอดคล้องกับพรชัย และคณะ (2561) จากผลการทดลอง พบว่า ไมโครกรีนจากผัก ขี้หูดพันธุ์มังกรคู่ และผักกาดเขียวน้อยพันธุ์สิงโตมีปริมาณ

สารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด แคโรทีนอยด์ และความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ไมโครกรีนผักขี้หูดพันธุ์มังกรคู่ที่มีสาร ซัลโฟราเฟนสูงที่สุด นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าการให้สาร $H_2O_2$ จากภายนอกสามารถกระตุ้นให้เกิดการสังเคราะห์ฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ในเมล็ดควินัวงอก (Swieca, 2016) $H_2O_2$ ยังมีบทบาทสำคัญในการส่งสัญญาณโมเลกุลในการปรับตัวให้ชินกับสภาพแวดล้อม โดยการกระตุ้นกลไกการป้องกันสารต้านอนุมูลอิสระ (Szopinska, 2014)

## สรุปผล

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการใช้กระบวนการออกซิเดชั่นชั้นสูง (3%$H_2O_2$/UV-C) ร่วมกับฟองก๊าซขนาดไมโครนาโนสามารถเพิ่มปริมาณสารพฤกษเคมีและสารต้านอนุมูลอิสระ ของไมโครกรีนไควาเระได้อย่างมีประสิทธิภาพ

## คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัยในโครงการวิจัยนี้ และขอขอบพระคุณ UGSAS-GU โดยมหาวิทยาลัยกิฟุ สำหรับการสนับสนุนเครื่องมือสำหรับงานวิจัยนี้

## เอกสารอ้างอิง

พรชัย หาระโคตร วาสนา หวายพิมาย เยาวพา จิระเกียรติกุล และภาณุมาศ ฤทธิไชย, 2561, ปริมาณแคโรทีนอยด์ ซัลโฟราเฟน สารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านออกซิเดชันของไมโครกรีนผักพื้นเมืองวงศ์กะหล่ำ, วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ปีที่5 ฉบับที่3 (กรกฎาคม-กันยายน): หน้า 108-117.

อาลักษณ์ ทิพยรัตน์, 2560, โครงการการทำลายฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะในน้ำเสียจากผลิตยาของอุตสาหกรรมอาหารและยา โดยการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีแอดวานซ์ออกซิเดชั่นเพื่อลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม, รายงานวิจัย สำนักงานจัดการศึกษา คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

Barros, L., M.J. Ferreira, B. Queiros, I.C.F.R. Ferreira, and P. Baptista., 2007, Total Phenols, Ascorbic Acid, β-carotene and Lycopene in Portuguese Wild Edible Mushrooms and Their Antioxidant Activities, Food Chemistry, 103: 413-419.

Ghoora, M. D., Babu, D.R. and Srividya, N., 2020, Nutrient Composition, Oxalate Content and Nutritional Ranking of Ten Culinary Microgreens, Journal of Food Composition Analytical, 91: 103495.

Holliday, S. L., Scouten, A. J. and Beuchat, L.R., 2001, Efficacy of Chemical Treatments in Eliminating *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 on Sacrified and Polished Alfalfa Seeds, Journal of Food Protection, 64(10): 1489-1495.

Kyriacou, M. C., Rouphael, Y., Gioia, F. D., Kyratzis, A., Serio, F., Renna, M., Pascale, S. D. and Santamaria, P., 2016, Micro-scale Vegetable Production and the Rise of Microgreens, Trends in Food Science and Technology, 57: 103-115.

Lee, S. E., Hwang, H. J., Ha, J. S., Jeong, H. S., and Kim, J. H., 2003, Screening of Medicinal Plant Extracts for Antioxidant Activity, Life Science, 73: 167–179.

Murakami, M., Yamaguchi, T., Takamura, H., and Matoba, T., 2003, Effects of Ascorbic Acid and Tocopherol on Antioxidant Activity of Polyphenolic Compounds, Food Chemistry and Toxicology, 68: 1622–1625.

Riggio, G. M., Wang, Q., Kniel, K. E. and Gibson, K.E., 2019, Microgreens- A Review of Food Safety Consideration Along the Farm to Fork Continuum, Internationa Journal of Food Microbiololgy, 290: 76-85.

Swieca, M., 2016, Hydrogen Peroxide Treatment and the Phenylpropanoid Pathway Precursors Feeding Improve Phenolics and Antioxidant Capacity of Quinoa Sprouts via an Induction of L-tyrosine and L-phenylalanine Ammonia-lases Activities, Journal of Chemistry, 2016, p. 1-7.

Szopinska, D., 2014, Effects of Hydrogen Peroxide Treatment on the Ggermination, Vigour and Health of *Zizinnia elegans* Seeds, Folia Horticulturae, 26: 19-29.

Wang, Q. and Kniel, K. E., 2016, Survival and Transfer of Murin Norovirus Within a Hydroponic System During Kale and Mustard Microgreen Harvesting, Applied Environmental Microbiology, 82: 705-713.

Xiao, Z., Nou, X., Luo, Y. and Wang, Q., 2014, Comparison of the Growth of *Escherichia coli* O157: H7 and O104: H4 During Sprouting and Microgreen Production from Contaminated Radish Seeds, Food Microbiology, 44: 60-63.

Zhou, H. and Smith, D.W., 2002, Advanced Technologies in Water and Wastewater Treatment, Journal of Environmental Engineering and Science, 1: 247-264.

(B)

(A)

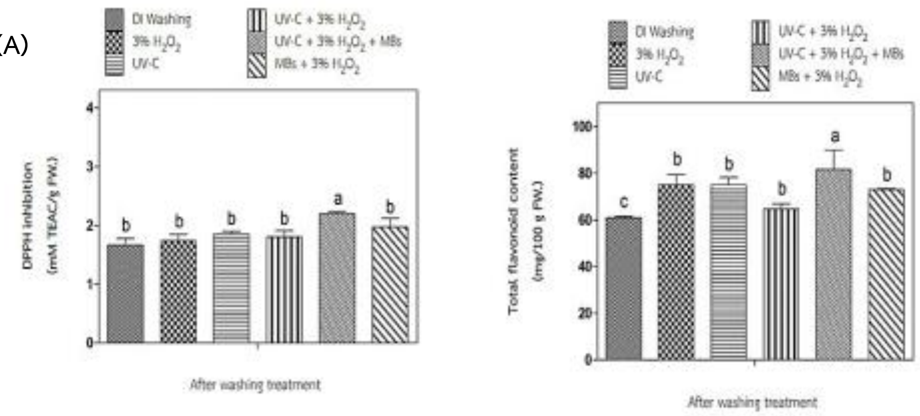



**Figure 1** Effect of washed with various techniques on (A) DPPH radical scavenging activity and (B) total flavonoid content of their corresponding microgreens. Data are means of four replicates ± SE. Means with the same letter are not significantly different at $p \leq 0.05$ by CRD test.

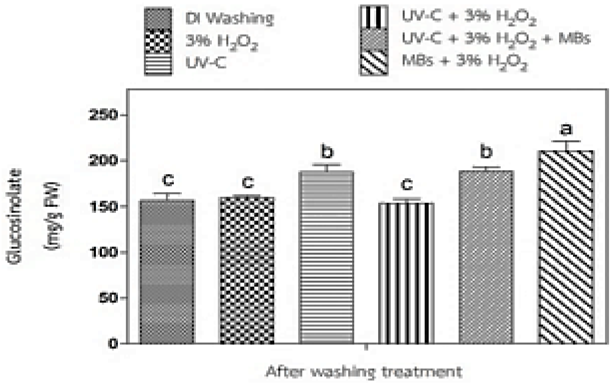



**Figure 2** Effect of washed with various techniques on Glucosinolate content of their corresponding microgreens. Data are means of four replicates ± SE. Means with the same letter are not significantly different at $p \leq 0.05$ by CRD test.

# การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของกาแฟอราบิกาและโรบัสตาในจังหวัดสงขลา
# Comparison of Growth of Arabica and Robusta Coffee Grown in Songkhla Province

ชุติกาญจน์ แสนเสนาะ[1] วันดี อินทร์เจริญ[1] เสาวภา ด้วงปาน[1] และ ระวี เจียรวิภา[1]
Saensano, C.[1] Injaroen, W.[1] Duangpan, S.[1] and Chiarawipa, R.[1]

## Abstract

This aimed to study and compare phenology, plant growth and physiological response of Arabica and Robusta coffee varieties leaves. . It was found that the Arabica has a slow flowering developmental phase, but its fruiting stage was shorter than that of the Robusta. However, the plant growth of the Arabica variety, such as tree height, canopy width, stem diameter, branch length and the number of nodes, was better than the Robusta variety.. In comparing the physiological response, the Arabica had a significantly higher rate of net photosynthesis than that of the Robusta. The study concluded that the Arabica coffee variety showed well growth and physiological adaptation in Songkhla province as the Robusta coffee variety performance.
**Keywords:** Physiological adaptation, phenology, coffee variety

## บทคัดย่อ

การศึกษานี้เป็นการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของกาแฟอราบิกาและโรบัสตาในจังหวัดสงขลา โดยบันทึกระยะฟีโนโลยี ข้อมูลการเจริญเติบโต และการตอบสนองทางด้านสรีรวิทยาของใบ พบว่า กาแฟอราบิกามีระยะพัฒนาการของออกดอกช้า ระยะติดผลสั้นกว่ากาแฟโรบัสตา และมีการเจริญเติบโตทางลำต้น ได้แก่ ความสูงลำต้น ขนาดทรงพุ่ม เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น ความยาวกิ่ง และจำนวนข้อดีกว่ากาแฟโรบัสตา ส่วนการตอบสนองทางด้านสรีรวิทยาของใบ พบว่า เฉพาะอัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิที่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งแสดงให้เห็นว่ากาแฟอราบิกาสามารถเจริญเติบโตและปรับตัวได้ดีใกล้เคียงกับ โรบัสตาในพื้นที่จังหวัดสงขลา
**คำสำคัญ:** การปรับตัวทางสรีรวิทยา, ฟีโนโลยี, สายพันธุ์กาแฟ

## คำนำ*

กาแฟ (*Coffea* spp.) เป็นพืชที่นิยมนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มหลากหลายชนิด เช่น เมล็ดกาแฟเมื่อผ่านกระบวนการหมัก สี ตาก จนได้สารกาแฟเพื่อมาทำเป็นกาแฟสด หรือกาแฟสำเร็จรูปพร้อมดื่ม หรือแม้แต่ส่วนของเปลือกผลที่สามารถนำชา ที่มีสารต้านอนุมูลอิสระสูง (Heeger และคณะ, 2017) ปัจจุบันประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกกาแฟประมาณ 223,690 ไร่ ให้ผลผลิตรวม 22,505 ตัน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2564) แบ่งเป็นพื้นที่ปลูกกาแฟโรบัสตาประมาณ 80% ซึ่งปลูกมากในพื้นที่ทางภาคใต้ ได้แก่ จังหวัดชุมพร ระนอง สุราษฎร์ธานี กระบี่ และนครศรีธรรมราช เป็นต้น และอีกประมาณ 20% เป็นกาแฟอราบิกาพื้นที่ปลูกส่วนใหญ่อยู่ทางภาคเหนือของประเทศ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย แม่ฮ่องสอน ฯลฯ ปัจจุบันการผลิตกาแฟในภาคใต้เพิ่มขึ้น เนื่องจากเกษตรกรประสบกับปัญหาในเรื่องราคายางพาราและปาล์มน้ำมันที่ตกต่ำ จึงทำให้เกษตรกรปลูกกาแฟเป็นพืชร่วมเพื่อสร้างรายได้มากขึ้น โดยธรรมชาติของกาแฟทั้งสองสายพันธุ์สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้เป็นอย่างดี แต่มีการเจริญเติบโตที่ต่างกัน คือ กาแฟอราบิกาเจริญเติบโตได้ดีในสภาพอากาศหนาวเย็น แต่อ่อนแอต่อโรคราสนิม ส่วนกาแฟโรบัสตาเจริญเติบโตได้ดีในสภาพอากาศร้อนชื้น และทนทานต่อโรคราสนิม รวมถึงปัจจัยสภาพแวดล้อมด้วย เช่น สภาพพื้นที่ปลูก ดิน อุณหภูมิ แสง ฯลฯ (กรมวิชาการเกษตร, 2557)

งานวิจัยนี้ จึงเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นกาแฟอราบิกาและโรบัสตาที่ปลูกในสภาพแวดล้อมทางภาคใต้ เพื่อประเมินระยะพัฒนาการของดอกและผล การปรับตัวด้านการเจริญเติบโต และการตอบสนองทางสรีรวิทยาของต้นกาแฟ เพื่อนำมาใช้ในการจัดการสวนกาแฟทั้งสองสายพันธุ์ในพื้นที่ภาคใต้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

[1] สาขาวิชานวัตกรรมการเกษตรและการจัดการ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จ.สงขลา 90110
[1] Agricultural Innovation and Management Division, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Songkhla, 90110

**อุปกรณ์และวิธีการ***

ศึกษาในต้นกาแฟอราบิกา (คาร์ติมอร์) พันธุ์เชียงใหม่ 80 และโรบัสตาพื้นเมือง โดยแบ่งเป็น 2 ทรีตเมนต์ ทรีตเมนต์ละ 18 ต้น วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) ในท่อซีเมนต์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 80 ซม. สูง 40 ซม. จำนวน 1 ต้น/ท่อ บริเวณแปลงทดลองพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ โดยปลูกภายใต้สภาพร่มเงาของต้นสะตอ (อายุประมาณ 20 ปี) ลองกอง (อายุประมาณ 25 ปี) และกล้วย (อายุประมาณ 5 ปี) ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 อัตรา 60 ก./ต้น/เดือน ร่วมกับใส่ปุ๋ยคอกทุกๆ 3 เดือน อัตรา 3 กก./ต้น/เดือน และให้น้ำด้วยระบบสปริงเกอร์ 1-2 ชม./วัน ตั้งแต่เดือนตุลาคม พ.ศ. 2561 ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2562 บันทึกข้อมูลสภาพแวดล้อมด้วยเครื่องบันทึกอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ (DT-172, China) วัดค่าเข้มแสงบริเวณแปลงปลูกด้วยเครื่อง Light meter (PAR Meter, Sunlight Supply Inc., US) ช่วงเวลา 11.00-13.00 น. สัปดาห์ละ 1 ครั้ง เพื่อนำมาหาค่าเฉลี่ยเป็นความเข้มแสงของแต่ละเดือน พร้อมกับประเมินระยะพัฒนาการของดอก ผล และระยะการเจริญเติบโตของกาแฟ (Arcila และคณะ, 2002) บันทึกการเจริญเติบโตรายเดือน ได้แก่ ความสูงลำต้น ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นเหนือผิวดิน (10 ซม.) ด้วยเวอร์เนียคาลิปเปอร์ ขนาดของทรงพุ่ม ความยาวกิ่ง และจำนวนข้อต่อกิ่ง (จำนวน 3 กิ่ง/ต้น) นอกจากนี้วัดการตอบสนองทางด้านสรีรวิทยา ได้แก่ อัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิ (A) อัตราการคายน้ำ (E) อัตราการเปิดของปากใบ ($g_s$) ด้วยเครื่อง Portable photosynthesis system (LCi-SD Ultra Compact Photosynthesis System, ADC, UK) และประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงของคลอโรฟิลล์ที่ (Fv/Fm) ด้วยเครื่อง Portable chlorophyll fluorescence meter (Handy PEA+, Hansatech Intruments, UK) โดยสุ่มวัดใบคู่ที่ 2-3 จากปลายกิ่ง (จำนวน 3 ใบ/ต้น) เพื่อวิเคราะห์อัตราการเจริญเติบโตรายเดือน วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยวิธีการ ANOVA ในแต่ละลักษณะตามวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์* (Completely Randomized Design; CRD) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Least Significant Different (LSD) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป R เวอร์ชั่น R 2.14.0

**ผลการทดลอง**

**ฟีโนโลยีและสภาพอากาศบริเวณแปลงทดลอง**

สภาพภูมิอากาศบริเวณแปลงทดลองในช่วงระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2561 ถึงเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2562 พบว่า มีอุณหภูมิเฉลี่ย 28.12°ซ. อุณหภูมิสูงสุดเฉลี่ย 36.40°ซ. ในเดือนมีนาคม พ.ศ. 2562 ซึ่งตรงกับช่วงเข้าฤดูร้อนของภาคใต้ สำหรับค่าความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ยอยู่ที่ 78.58% และค่าความชื้นสัมพัทธ์ต่ำสุดเฉลี่ย 35.80% ในเดือนเมษายน มีค่าความเข้มแสงเฉลี่ย 1,284.68 ไมโครโมล/ตร.ม./วินาที ค่าเข้มแสงต่ำสุดเฉลี่ย 514.00 ไมโครโมล/ตร.ม./วินาที ในเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2561 และค่าเข้มแสงสูงสุดเฉลี่ย 1,783.40 ไมโครโมล/ตร.ม./วินาที ในเดือนมีนาคม และเมื่อศึกษาระยะพัฒนาการของดอก (สร้างตาดอก-ดอกบาน) และระยะติดผล (ผลขนาดเท่าปลายเข็มหมุด-ผลสุก) พบว่า กาแฟอราบิกามีพัฒนาการของการสร้างดอกนานกว่ากาแฟโรบัสตาเพียงเล็กน้อย แต่มีระยะพัฒนาการของผลสั้นกว่า โดยกาแฟอราบิกามีระยะพัฒนาการของดอกประมาณเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2561ถึงเดือนกลางเดือนธันวาคม พ.ศ. 2561 และการติดผลประมาณเดือนธันวาคม พ.ศ. 2561 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ.2562 ในขณะที่กาแฟโรบัสตามีระยะพัฒนาการของดอกประมาณเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2561 ถึงต้นเดือนธันวาคม พ.ศ. 2561 และพัฒนาการของผลประมาณเดือนธันวาคม พ.ศ. 2561 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2562 (Figure 1)

**การเจริญเติบโตของกาแฟอราบิกาและโรบัสตา**

เมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของการกาแฟทั้งสองสายพันธุ์ พบว่า การเจริญเติบโตทางด้านลำต้น ได้แก่ ความสูงต้น ขนาดทรงพุ่ม เส้นผ่านศูนย์กลาง ความยาวกิ่ง และจำนวนข้อ/กิ่ง ของต้นกาแฟอราบิกามีอัตราการเจริญเติบโตที่มากกว่าต้นกาแฟโรบัสตาที่ปลูกในสภาพแวดล้อมเดียวกัน ซึ่งมีค่าเท่ากับ ท่ากับ 8.36 12.13 13.85 20.57 และ 32.61% ตามลำดับ ในขณะที่กาแฟโรบัสตา มีค่าอยู่ที่ 4.04 5.97 4.73 5.56 และ 11.21% ตามลำดับ (Figure 2)

**การตอบสนองทางสรีรวิทยาของใบ**

อัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิของกาแฟทั้งสองสายพันธุ์มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกาแฟอราบิกามีค่าสูงกว่ากาแฟโรบัสตา คือ 11.10±1.05 และ 7.74±0.74 ไมโครโมล/ตร.ม./วินาที ส่วนอัตราการคายน้ำ การเปิดปากใบ และประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงของคลอโรฟิลล์ พบว่า กาแฟอราบิกาและโรบัสตาไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 1)

## วิจารณ์ผลการทดลอง

กาแฟอราบิกามีระยะพัฒนาการของดอกและติดผลที่ล้าช้ากว่ากาแฟโรบัสตาที่นิยมปลูกกันแพร่หลายทางภาคใต้ของประเทศไทย เนื่องจากมีสภาพอากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต อย่างไรก็ตาม ในการศึกษานี้ ดอกของกาแฟอราบิกามีลักษณะเป็นดอกดาว (Star flower) ซึ่งไม่สามารถพัฒนาไปเป็นผลได้ ทั้งนี้เกิดขึ้นในระยะการสร้างดอกที่ได้รับอุณหภูมิสูง ส่งผลให้มีการพัฒนาของเกสรตัวผู้ที่ไม่สมบูรณ์ (ศูนย์วิจัยและพัฒนากาแฟบนที่สูง, 2537) ในขณะที่อุณหภูมิไม่มีผลต่อต่อมน้ำหวานของดอกกาแฟ โรบัสตา (Prado และคณะ, 2021) ส่วนการปรับตัวด้านการเจริญเติบโตทางลำต้น กาแฟอราบิกาพันธุ์เชียงใหม่ 80 สามารถเจริญเติบโตได้ดีเมื่อปลูกใต้ร่มเงาของไม้ยืนต้น เช่น สะตอ และเหรียง เป็นต้น (สถาบันวิจัยพืชสวน, 2562) โดยมีอัตราการเจริญเติบโตใกล้เคียงทั้งในช่วงฤดูร้อนและฤดูฝน ซึ่งกาแฟแต่ละสายพันธุ์อาจเจริญเติบโตได้ดีต่างกันตามสภาพดินฟ้าอากาศ (ประวีณา และสิรานี, 2557) โดยเฉพาะในช่วงฤดูฝนต้นกาแฟได้รับปริมาณน้ำอย่างเพียงพอและดินมีความชื้นที่เหมาะสมส่งผลให้ต้นกาแฟมีการเจริญเติบโตดีขึ้นทั้งด้านความสูงต้น ความยาวกิ่ง และจำนวนข้อต่อกิ่ง เป็นต้น (สถาบันวิจัยพืชสวน, 2562) ขณะเดียวกันกาแฟอราบิกาสามารถปรับตัวในพื้นที่ภาคใต้ เพราะสภาพร่มเงาของไม้ยืนต้นอาจทำให้มีการปรับตัวได้ดียิ่งขึ้น เช่นเดียวกับการปลูกกาแฟที่ได้รับร่มเงาของต้น Erythrina (*Erythrina poeppigiana*) และกล้วย สามารถให้ผลผลิตที่ดีกว่าต้นกาแฟที่ปลูกกลางแจ้ง (Meylan และคณะ, 2017) ส่วนการตอบสนองทางสรีรวิทยาของต้นกาแฟอราบิกาสามารถปรับตัวได้ดีเช่นเดียวกับกาแฟโรบัสตา ทั้งค่าอัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิ (A) อัตราการคายน้ำ (E) อัตราการเปิดปากใบ ($g_s$) และประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงของคลอโรฟิลล์ (Fv/Fm) แสดงให้เห็นว่าสภาพแวดล้อมของแปลงปลูกกาแฟทั้งสองชนิดไม่ได้อยู่ในสภาพจำกัดแสง เนื่องจากมีค่าความเข้มแสงอยู่ในช่วง 514.00-1783.40 ไมโครโมล/ตร.ม/วินาที (ณัฐวิทย์ และคณะ, 2561) จึงทำให้เอื้อต่อการเจริญเติบโตทางลำต้น อีกทั้งมีการแตกกิ่งและยอดใหม่ได้ดี และไม่พบอาการชะงักการเจริญเติบโต ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษาดังกล่าวสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในด้านการปลูกกาแฟอราบิกาของเกษตรกรทางภาคใต้ต่อไป

## สรุปผล

กาแฟอราบิกามีระยะพัฒนาการของการออกดอกช้ากว่ากาแฟโรบัสตาเพียงเล็กน้อย ระยะพัฒนาการของผลสั้นกว่า สามารถเจริญเติบโตทางด้านลำต้นได้ดี และมีการตอบสนองทางด้านสรีรวิทยาใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นว่ากาแฟอราบิกาสามารถปรับตัวได้ดีในพื้นที่ของจังหวัดสงขลา


## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ ประจำปีงบประมาณ 2561 ระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ทุนผลการเรียนดีเด่นสาขาวิชาพืชศาสตร์ รวมถึงทุนจากศูนย์วิจัยความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ ระยะที่ 3 คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์


## เอกสารอ้างอิง


กรมวิชาการเกษตร, 2557, การเพิ่มประสิทธิภาพ การผลิตกาแฟ, กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.

ณัฐวิทย์ ญาณพิสิฐกุล สุรชาติ เพชรแก้ว และระวี เจียรวิภา, 2561, การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานและสรีรวิทยาภายใต้สภาวะร่มเงาและตำแหน่งคู่ใบของใบกาแฟโรบัสต้า, วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 6: 1054-1065.

ประวีณา อินทร์แขวน และสิรานี มีบุญล้ำ, 2557, การศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับพื้นที่ที่เหมาะสมในการปลูกกาแฟอราบิก้า, วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยนเรศวร.

ศูนย์วิจัยและพัฒนากาแฟบนที่สูง, 2537, การปลูกแลกาแฟอาราบิก้าบนที่สูง, เชียงใหม่: พี อาร์ คอมพิวเตอร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สถาบันวิจัยพืชสวน, 2562, คู่มือการจัดการการผลิตกาแฟโรบัสตา, กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2564, ข้อมูลการผลิตสินค้าเกษตร กาแฟ, เข้าถึงได้จาก: http://www.oae.go.th. เข้าถึงเมื่อ 24 มีนาคม 2564.

Arcila, P.J., Buhr, L., Bleiholder, H., Hack, H., Meier, U. and Wicke, H., 2002, Application of the Extended BBCH Scale for the Description of the Growth Stages of Coffee (*Coffea* spp.), Annals of Applied Biology, 141:19-27.

Heeger, A., Cagnazzo, A.K., Cantergiani, E. and Andlauer, W., 2017, Bioactives of Coffee Cherry Pulp and Its Utilization for Production of Cascara Beverage, Journal of Food Chemistry, 221:969-975.

Meylan, L., Gary, C., Allinne, C., Ortiz, J., Jackson, L. and Rapidel, B., 2017, Evaluating the Effect of Shade Trees on Provision of Ecosystem Services in Intensively Managed Coffee Plantations, Agriculture Ecosystems and Environment, 245: 32-42.

Prado, S.G., Collazo, J.A., Marand, M.H. and Irwin, R.E., 2021, The Influence of Floral Resources and Microclimate on Pollinator Visitation in an Agro-ecosystem, Agriculture Ecosystems and Environment, 307: 1-9.

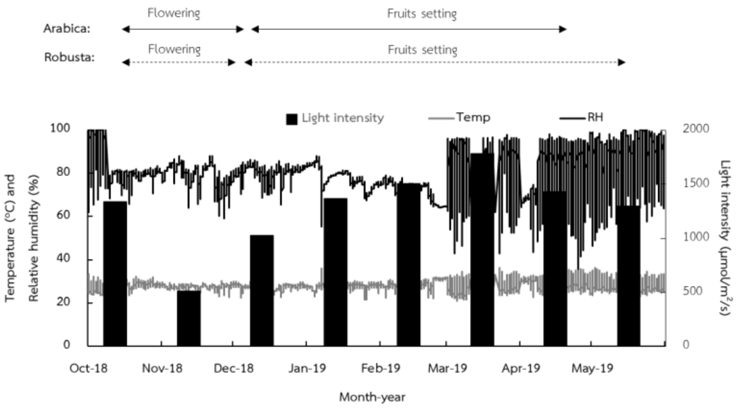



**Figure 1** Hourly changes in air temperature (Temp), relative humidity (RH) and light intensity during October 2018 to May 2019 in the experimental site.

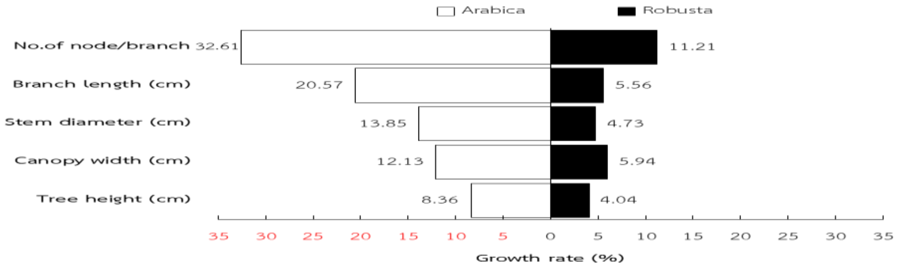



**Figure 2** Percentage of growth rate of Arabica and Robusta coffee trees during November 2018 to May 2019

**Table 1** Comparison of net photosynthetic rate (A), transpiration rate (E), stomatal conductance ($g_s$) and chlorophyll fluorescence (Fv/Fm) between Arabica and Robusta leaves.

| Coffee varieties | A (µmol/m$^2$/s) | E (µmol/m$^2$/s) | $g_s$ (mmol/m$^2$/s) | Fv/Fm |
|---|---|---|---|---|
| Arabica | 11.10±1.05a | 2.63±0.84ns | 0.14±0.03ns | 0.74±0.00ns |
| Robusta | 7.74±0.74b | 2.71±0.53 | 0.13±0.03 | 0.76±0.01 |

Means followed by different letters are significantly different by LSD (P≤0.05), Different letters indicate significant differences between varieties by $LSD_{0.05}$

# ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชที่มีผลต่อคุณภาพผลน้อยหน่าลูกผสมพันธุ์‘ฝ้ายเขียวเกษตร 2’ Effect of Plant Growth Regulators on Fruit Quality of ‘Fai Khiew Kaset 2’ Atemoya (*Annona* x *atemoya* Mabb.)

**โยทะกา รมยาสัย[1] เจนจิรา ชุมภูคำ[2] ชินวัฒน์ ยัพวัฒนพันธ์[2] และ อารยา อาจเจริญ เทียนหอม[2*]**
**Romyasai, Y.[1] Chumpookam, J.[2] Yapwattanaphun C.[2] and Theanhom, A.A.[2*]**

## Abstract

In sugar apple, the amount of pulp large but less seed is an important factor purchasing decision of the consumers. The effect of plant growth regulators (PGRs) on fruit quality of ‘Fai Khiew Kaset 2’ atemoya (*Annona* x *atemoya* Mabb.) were studied. The treatments: NAA (100, 200 ppm), 2,4-D (5, 10 ppm), 4-CPA (7.5, 15 ppm), $GA_3$ (150, 300 ppm) and CPPU (25, 50 ppm) were applied to flowers of atemoya 1 time, volume 0.80 ml per flower at full bloom stage. The experiment was designed in CRD at Pakchong Research Station, Nakhon Ratchasima province. The results showed that the control and the application of $GA_3$ with 300 ppm were similar to fruit width, fruit length, fruit weight, fruit volume, pulp thickness, pulp weight and TSS significantly more than the other treatments. However, the application of all PGRs with any concentrations significantly decreased seed numbers and seed weight in comparison with the control.

**Keywords:** Plant growth regulators, Atemoya, Fruit quality

## บทคัดย่อ

ปริมาณเนื้อผลมากแต่จำนวนเมล็ดน้อยเป็นปัจจัยสำคัญในการตัดสินใจซื้อน้อยหน่าของผู้บริโภค การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช (PGRs) ต่อคุณภาพผลน้อยหน่าลูกผสมพันธุ์‘ฝ้ายเขียวเกษตร 2’ โดยการพ่น NAA (100, 200 ppm) 2,4-D (5, 10 ppm) 4-CPA (7.5, 15 ppm) $GA_3$ (150, 300 ppm) และ CPPU (25, 50 ppm) ดอกน้อยหน่าในระยะดอกบานเต็มที่ จำนวน 1 ครั้ง ปริมาณ 0.80 มิลลิลิตรต่อดอก มีการวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ทำการทดลองที่สถานีวิจัยปากช่อง จ.นครราชสีมา พบว่า น้อยหน่าที่ไม่พ่น PGRs (ชุดควบคุม) และพ่นด้วย $GA_3$ ความเข้มข้น 300 ppm มีความกว้างผล ความยาวผล น้ำหนักผล ปริมาตรผล ความหนาของเนื้อผล น้ำหนักของเนื้อผล และมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ใกล้เคียงกัน และสูงกว่าสิ่งทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญ แต่การพ่น PGRs ทุกสิ่งทดลองส่งผลให้จำนวนและน้ำหนักของเมล็ดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดควบคุม

**คำสำคัญ:** สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช น้อยหน่าลูกผสม คุณภาพผล

## คำนำ

น้อยหน่าลูกผสมพันธุ์‘ฝ้ายเขียวเกษตร 2’ เป็นน้อยหน่าพันธุ์ล่าสุดที่มีการส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกเชิงการค้า ซึ่งทางสถานีวิจัยปากช่อง ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ได้มีการปรับปรุงพันธุ์ขึ้นมา มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Annona* x *atemoya* Mabb. เป็นลูกผสมของพันธุ์เพชรปากช่องกับพันธุ์ฝ้ายเขียวเกษตร 1 (สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช, 2560) มีลักษณะดีเด่น คือเป็นพันธุ์ที่ติดผลง่าย ให้ผลดก ผลมีขนาดใหญ่ อายุการเก็บเกี่ยวสั้น และผลสุกช้า แต่เนื่องจากน้อยหน่านั้นเป็นผลไม้ที่มีเมล็ดมาก จึงส่งผลให้ผู้บริโภค ไม่เลือกซื้อ โดยแนวทางในการแก้ไขปัญหาดังกล่าวคือ การลดจำนวนเมล็ดหรือไม่มีเมล็ด ซึ่งปัจจุบันมีรายงานการนำสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช (Plant growth regulator, PGRs) มาใช้ในการพัฒนาคุณภาพผลของไม้ผลเพิ่มมากขึ้น เช่น เพชรา (2539) ศึกษาผลของสาร PGRs ของพืชกลุ่มออกซินต่อการติดผล พัฒนาการ และคุณภาพของน้อยหน่า พบว่าการพ่นด้วยสาร NAA ความเข้มข้น 300 ppm ที่ดอกเพียงครั้งเดียว ในระยะดอกบาน มีผลทำให้ต้นน้อยหน่าติดผลดก ผลมี

[1] บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
[1] Graduate School Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok 10900
[2] ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เขตจตุจักร กรุเทพฯ 10900
[2] Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok 10900
[*] Corresponding author

ขนาดใหญ่ น้ำหนักผลมาก เนื้อผลหนา และมีความหวานสูง เมล็ดมีขนาดเล็ก และจำนวนเมล็ดน้อยกว่าต้นที่ไม่ได้พ่นด้วยสาร NAA เพ็ญระพี (2541) พบว่าผลฝรั่งที่พ่นด้วย $GA_3$ มีการเจริญเติบโตมากกว่าผลฝรั่งที่ไม่ได้พ่นสาร ซึ่งสาร $GA_3$ ทำให้ผลฝรั่งมีขนาดใหญ่มากขึ้นทั้งทางด้านยาว และด้านกว้าง โดยการพ่น $GA_3$ ที่ 200 มิลลิกรัม/ลิตร ในระยะหลังดอกบาน 5 วัน สามารถเพิ่มน้ำหนักผลและความหนาเนื้อได้มากที่สุด นอกจากนี้การใช้ $GA_3$ ยังสามารถลดจำนวนเมล็ดได้อีกด้วย นอกจากนี้ กิตติพงศ์ และคณะ (2557) รายงานว่าการใช้สาร CPPU ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัม/ลิตร ในองุ่นช่วงที่ผลเริ่มเปลี่ยนสี หรือผลเริ่มนิ่ม (หลังการตัดแต่งกิ่ง 90 วัน) ทำให้องุ่นไม่มีเมล็ดพันธุ์ Marroo Seedless มีน้ำหนักช่อผลมาก และขนาดของผลใหญ่ที่สุด ส่วนการพ่นด้วยสาร CPPU ความเข้มข้น 30 มิลลิกรัม/ลิตร ทำให้ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (TSS) สูงที่สุด ในขณะที่ช่อผลที่พ่นด้วยสาร $GA_3$ ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/ลิตร มีปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (TA) มากที่สุด ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทำการศึกษาผลของ PGRs ต่อคุณภาพผลน้อยหน่าลูกผสมพันธุ์‘ฝ้ายเขียวเกษตร2’ เพื่อพัฒนาคุณภาพของน้อยหน่าให้ดียิ่งขึ้น

## อุปกรณ์และวิธีการ

คัดเลือกต้นน้อยหน่าพันธุ์ฝ้ายเขียวเกษตร 2 อายุประมาณ 4 ปี ที่มีความสมบูรณ์ใกล้เคียงกัน ทำการติดเครื่องหมายที่ดอกน้อยหน่า โดยเลือกดอกน้อยหน่าที่มีความสมบูรณ์ และอยู่ในระยะดอกบานเต็มที่ จากนั้นทำการพ่นสิ่งทดลอง (Treatment) ซึ่งประกอบด้วย 11 สิ่งทดลอง ได้แก่ 1) ไม่พ่นสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช หรือชุดควบคุม (Control) 2) NAA ความเข้มข้น 100 ppm 3) NAA ความเข้มข้น 200 ppm 4) 2,4-D ความเข้มข้น 5 ppm 5) 2,4-D ความเข้มข้น 10 ppm 6) 4-CPA ความเข้มข้น 7.5 ppm 7) 4-CPA ความเข้มข้น 15 ppm 8) $GA_3$ ความเข้มข้น 150 ppm 9) $GA_3$ ความเข้มข้น 300 ppm 10) CPPU ความเข้มข้น 25 ppm และ 11) CPPU ความเข้มข้น 50 ppm จำนวน 1 ครั้ง ปริมาณ 0.80 มิลลิลิตรต่อดอก หลังจากพ่นสิ่งทดลอง 90 – 110 วัน ทำการเก็บเกี่ยวผลน้อยหน่า และรอจนผลน้อยหน่าสุก จากนั้นทำการบันทึกข้อมูลคุณภาพผล ได้แก่ ความกว้างผล ความยาวผล น้ำหนักผล ปริมาตรผล ความหนาของเนื้อผล น้ำหนักของเนื้อผล ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Total Soluble Solid, TSS) จำนวนเมล็ด และน้ำหนักของเมล็ด ทำการทดลองที่สถานีวิจัยปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา มีวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of variance, ANOVA) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธีทางสถิติแบบ Duncan’s New Multiple Rang (DMRT)

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาพบว่าการใช้สาร PGRs ส่งผลให้น้อยหน่ามีจำนวนเมล็ดลดลง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม (Control) โดยน้อยหน่าที่ได้รับสาร CPPU 50 ppm มีจำนวนเมล็ดมากที่สุด คือ 22.00 เมล็ดต่อผล รองลงมา คือ CPPU 25 ppm (21.20 เมล็ดต่อผล), $GA_3$ 300 ppm (17.80 เมล็ดต่อผล), 4-CPA 7.5 ppm (17.40 เมล็ดต่อผล), $GA_3$ 150 ppm (16.33 เมล็ดต่อผล), 2,4-D 10 ppm (14.80 เมล็ดต่อผล), 2,4-D 5 ppm (11.80 เมล็ดต่อผล), 4-CPA 15 ppm (9.60 เมล็ดต่อผล) และ NAA 100 ppm (7.00 เมล็ดต่อผล) ตามลำดับ และน้อยหน่าที่ได้รับสาร NAA 200 ppm มีจำนวนเมล็ดน้อยที่สุด คือ 6.33 เมล็ดต่อผล (Table 1) นอกจากนี้ พบว่าน้อยหน่าที่ได้รับสาร PGRs ส่งผลให้น้อยหน่ามีน้ำหนักเมล็ดลดลง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม (Control) เช่นเดียวกัน โดยน้อยหน่าที่ได้รับสาร CPPU 25 ppm มีน้ำหนักเมล็ดมากที่สุด คือ 5.36 กรัมต่อผล รองลงมา คือ CPPU 50 ppm (5.18 กรัมต่อผล), 4-CPA 7.5 ppm (4.78 กรัมต่อผล), $GA_3$ 150 ppm (4.32 กรัมต่อผล), $GA_3$ 300 ppm (4.29 กรัมต่อผล), 2,4-D 10 ppm (3.40 กรัมต่อผล), 2,4-D 5 ppm (3.19 กรัมต่อผล), 4-CPA 15 ppm (2.78 กรัมต่อผล) และ NAA 100 ppm (1.83 กรัมต่อผล) ตามลำดับ และน้อยหน่าที่ได้รับสาร NAA 200 ppm มีน้ำหนักเมล็ดน้อยที่สุด คือ 1.67 กรัมต่อผล (Table 1) แต่เมื่อพิจารณาลักษณะเชิงอื่น ๆ ได้แก่ ความกว้างผล ความยาวผล น้ำหนักผล ปริมาตรผล ความหนาของเนื้อ และน้ำหนักเนื้อ พบว่าการไม่ใช้สาร PGRs (Control) มีแนวโน้มให้ค่าลักษณะเชิงปริมาณที่ดีกว่าการใช้สาร PGRs แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ เนื่องจากการเจริญเติบโตของผล หรือสรีระของผล ขึ้นอยู่กับเมล็ดภายในผล เมล็ดเป็นแหล่งที่สำคัญในการสังเคราะห์ฮอร์โมนพืช ได้แก่ ออกซิน (Auxin), จิบเบอเรลลิน (Giberellin) และไซโตไคนิน (Cytokinin) ซึ่งฮอร์โมนพืชทั้ง 3 ชนิดนี้มีผลต่อการเจริญเติบโตของผล โดยออกซินจะช่วยในการขยายขนาดของเซลล์ ส่วนจิบเบอเรลลินจะทำให้เซลล์มีการขยายขนาดอย่างรวดเร็ว การที่เซลล์มีจำนวนเพิ่มมากขึ้นและมีการขยายขนาด ส่งผลให้รังไข่มีขนาดใหญ่ขึ้นไปด้วย ส่วนไซโตไคนินมีคุณสมบัติในการดึงเอาธาตุอาหารต่าง ๆ เข้ามาเลี้ยงผล และยังช่วยให้ผนังรังไข่มีการแบ่งเซลล์ ทำให้ผลเจริญเติบโตและมีเปลือกหนาขึ้น (สังคม, 2547) โดยปกติเมื่อรังไข่ได้รับการผสมแล้วจะพัฒนาไปเป็นผล ออวุลจะพัฒนาไปเป็นเมล็ด ส่วนผนังรังไข่จะพัฒนาไปเป็นเนื้อของผลและเปลือก ดังนั้นการให้สาร PGRs ทำให้ผลน้อยหน่ามีจำนวนเมล็ดและน้ำหนักเมล็ดต่อผลลดลง ส่งผลต่อลักษณะเชิงปริมาณอื่น ๆ แต่เมื่อพิจารณาลักษณะทั้งหมดร่วมกัน พบว่าการพ่นด้วย $GA_3$ ความเข้มข้น

300 ppm ส่งผลให้ลักษณะเชิงปริมาณใกล้เคียงกับชุดควบคุม (Control) แต่ให้จำนวนเมล็ด และน้ำหนักเมล็ดลดลง ซึ่งแตกต่างจากสาร PGRs ชนิดอื่นที่จำนวนเมล็ด และน้ำหนักเมล็ดลดลง ร่วมกับลักษณะเชิงปริมาณอื่น ๆ มีค่าลดลงด้วย ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ เพชรา (2539) พบว่าการพ่นด้วยสาร $GA_3$ ทำให้น้อยหน่ามีความกว้างผล น้ำหนักผล ปริมาตรผล ความหนาของเนื้อผล และความหวานของน้ำตาลในเนื้อผล มากกว่าน้อยหน่าที่ไม่ได้พ่นด้วยสาร $GA_3$ เนื่องจาก $GA_3$ เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช (PGRs) ในกลุ่มจิบเบอเรลลิน (Giberellin) ซึ่งมีบทบาทในการชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ (cell division) และส่งเสริมให้เกิดการยืดตัวของเซลล์ (cell elongation) (Taiz and Zeiger, 1991) ซึ่งจะไปกระตุ้นการเจริญเติบโตภายในของผล ทำให้ผลมีการพัฒนาที่ดีขึ้น ดังนั้นเมื่อเซลล์ภายในผลขยายตัวจึงทำให้ขนาดของผล และความหนาของเนื้อผลใหญ่ขึ้นตามไปด้วย นอกจากนี้สอดคล้องกับรายงานของ Soost and Burnett (1960) ที่พบว่า เมล็ดที่กำลังพัฒนานั้นเป็นแหล่งในการสังเคราะห์สารจิบเบอเรลลิน (Giberellin) ซึ่งการให้สารจิบเบอเรลลินสังเคราะห์จากภายนอกที่เพียงพอนั้นจะสามารถเข้าไปทำหน้าที่ในการพัฒนาผลแทนสารจิบเบอเรลลินที่ปกติจะถูกสังเคราะห์จากเมล็ดได้ จึงทำให้เมล็ดเกิดความผิดปกติขึ้น โดยเมล็ดอาจมีขนาดเล็กและลีบ หรือบางเมล็ดสากและไม่เป็นมัน ซึ่งถือเป็นข้อดีที่ทำให้จำนวนเมล็ดน้อยลง และมีขนาดเล็กลง

## สรุปผล

การพ่นด้วยสาร $GA_3$ ความเข้มข้น 300 ppm จำนวน 1 ครั้ง ปริมาณ 0.80 มิลลิลิตร ในระยะดอกบานเต็มที่ ทำให้ผลน้อยหน่ามีขนาดผล น้ำหนักผล และความหนาของเนื้อผลใกล้เคียงกับการไม่พ่นสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช แต่มีจำนวนเมล็ดลดลง ซึ่งตรงตามความต้องการของผู้บริโภค

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสถานีวิจัยปากช่อง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จังหวัดนครราชสีมา ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำการทดลอง และขอขอบคุณอาจารย์เรืองศักดิ์ กมขุนทด ที่คอยช่วยเหลือและให้คำแนะนำ

## เอกสารอ้างอิง

กิตติพงศ์ กิตติวัฒน์โสภณ พินิจ กรินท์ธัญญกิจ และกัลยาณี สุวิทวัส, 2557, ผลของการใช้สาร $GA_3$ และ CPPU ที่มีต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพของผลองุ่นไม่มีเมล็ดพันธุ์ Marroo Seedless, วารสารแก่นเกษตร, 42 ฉบับพิเศษ 3: 69-74.

สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช, 2560, ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง โฆษณาคำขอให้ออกหนังสือรับรองพันธุ์พืชขึ้นทะเบียน ฉบับที่ 128 [สืบค้น], https://www.doa.go.th/ [20/ April /21].

สังคม เตชะวงค์เสถียร, 2547, สรีรวิทยาของพืชสวน, ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 173 หน้า.

เพชรา คำสระแก้ว, 2539, ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต่อการติดผล การพัฒนาการ และคุณภาพของน้อยหน่า, วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

เพ็ญระพี ทองอินทร์, 2541, ผลของ $GA_3$ ต่อการเจริญเติบโตของผลฝรั่งพันธุ์กลมสาลี่, ปัญหาพิเศษปริญญาตรี, ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Soost, R.K. and Burnett, R.H., 1960, Effect of Gibberellin on Yield and Fruit Characteristics of Clementine Mandarin, American Society of Horticultural Science, 77: 194-201.

Taiz, L. and E. Zeiger, 1991, Plant Physiology, The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. California

**Table 1** Effect of plant growth regulators on fruit quality and seed number in 'Fai Khiew Kaset 2' atemoya.**

| Treatment | Fruit width (mm) | Fruit length (mm) | Fruit weight (g) | Fruit volume (ml) | Pulp thickness (mm) | Pulp weight (g) | TSS (°Brix) | Number of seeds/fruit | Seed weight (g)/fruit |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| T1 : Control | 97.10 a | 84.58 a | 287.93 a | 266.60 a | 29.61 a | 139.95 a | 21.20 a | 45.00 a | 9.25 a |
| T2 : NAA 100 ppm | 58.65 d | 49.11 c | 65.95 e | 47.67 d | 22.13 ab | 22.37 d | 18.67 ab | 7.00 c | 1.83 bc |
| T3 : NAA 200 ppm | 62.57 d | 66.73 abc | 108.45 de | 91.67 cd | 18.45 b | 24.75 d | 13.33 c | 6.33 c | 1.67 c |
| T4 : 2,4-D 5 ppm | 68.62 cd | 60.82 bc | 119.98 cde | 87.20 cd | 21.18 ab | 42.42 cd | 16.60 bc | 11.80 bc | 3.19 bc |
| T5 : 2,4-D 10 ppm | 83.03 abc | 66.60 abc | 171.96 bcd | 149.00 bc | 25.63 ab | 82.21 bc | 17.40 abc | 14.80 bc | 3.40 bc |
| T6 : 4-CPA 7.5 ppm | 81.08 abc | 70.34 ab | 157.55 bcde | 134.00 bcd | 27.33 ab | 56.64 bcd | 18.80 ab | 17.40 bc | 4.78 bc |
| T7 : 4-CPA 15 ppm | 75.06 bcd | 60.08 bc | 111.36 de | 94.20 cd | 21.13 ab | 37.89 cd | 16.00 bc | 9.60 bc | 2.78 bc |
| T8 : $GA_3$ 150 ppm | 74.84 bcd | 76.66 ab | 161.69 bcde | 142.67 bcd | 21.47 ab | 64.56 bcd | 18.67 ab | 16.33 bc | 4.32 bc |
| T9 : $GA_3$ 300 ppm | 90.31 ab | 80.66 a | 236.94 ab | 214.80 ab | 28.08 a | 106.20 ab | 19.60 ab | 17.80 bc | 4.29 bc |
| T10 : CPPU 25 ppm | 87.28 ab | 75.14 ab | 190.35 abcd | 172.40 bc | 26.64 ab | 81.55 bc | 20.20 ab | 21.20 b | 5.36 b |
| T11 : CPPU 50 ppm | 89.54 ab | 76.83 ab | 216.82 abc | 194.80 ab | 29.44 a | 77.71 bc | 17.40 abc | 22.00 b | 5.18 bc |
| F-test | * | * | * | * | * | * | * | * | * |
| CV (%) | 19.26 | 21.81 | 51.96 | 58.07 | 25.72 | 66.60 | 17.47 | 74.06 | 67.25 |

* Means in the same column followed by different letters are significantly different (P ≤ 0.05) by DMRT.

# ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแก้วสารพัดนึก (*Alocasia sanderiana* W. Bull.)
# Effects of Plant Growth Regulator on Tissue Culture of *Alocasia sanderiana* W. Bull.

**วัลยา มงคลสวัสดิ์[1] ทัศนัย ปัญจันทร์สิงห์[1] มานิต นรบัติ[2] พลอยทิพย์ เวียงสมุทร[2] และสุกัญญา ทองเพ็ญ[2]**
**Mongkolsawat, W.[1], Punjansing, T[1], Norabat, M.[2], Vaingsamoot, P.[2] and Thongphen, S.[2]**

## Abstract

The effect of plant-growth-regulators (PGR) on growth of *Alocasia sanderiana* W. Bull. microshoots cultured on MS (Murashige and Skoog, 1962) and supplemented with various concentrations (0, 1, 2, 4 and 8 mg/l) of cytokinin (BAP and Kinetin), and with a combination of BAP (1, 2 mg/l) with NAA (0.5, 1 mg/l) for 6 weeks. Multiple shoots were cultured on MS medium supplemented with 2 mg/l BAP with 1 mg/l NAA which it could produce the highest number of shoots per explant of 8.20 cm. MS medium without PGR had the highest shoot length at 4.80 cm and root length at 5.78 cm, whereas MS medium supplemented with 1 and 2 mg/l kinetin had the highest root number at 8.20 and 8.40 roots per shoot, respectively. The highest lengths of leaves, 3.80 leaves per explant, were obtained on the MS medium supplemented with 1 mg/l BAP with 0.5 mg/l NAA.

**Keywords:** Plant tissue culture, Plant growth regulators, Propagation, *Alocasia sanderiana* W. Bull

## บทคัดย่อ

ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเจริญของแก้วสารพัดนึก (*Alocasia sanderiana* W. Bull) โดยเพาะเลี้ยงต้นอ่อนบนอาหารสูตร MS (Murashige และ Skoog, 1962) ที่เติมฮอร์โมนกลุ่มไซโทไคนิน (BAP และ Kinetin) ความเข้มข้น 0, 1, 2, 4 และ 8 มก./ล. และBAP ความเข้มข้น 1 และ 2 มก./ล. ร่วมกับฮอร์โมนออกซิน (NAA) 0.5 และ 1 มก./ล. เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า สูตรอาหาร MS ที่เติม BAP 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล. สามารถชักนำให้เพิ่มจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 8.20 ยอดต่อต้น สูตรอาหารสังเคราะห์ MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต สามารถชักนำให้ความสูงเฉลี่ยสูงสุด 4.80 ซม. และสามารถชักนำความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 5.78 ซม. ในขณะที่สูตรอาหาร MS ที่เติม Kinetin 1 และ 2 มก./ล. สามารถชักนำให้เพิ่มจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 8.20 และ 8.40 รากต่อต้น ตามลำดับ และสูตรอาหารสังเคราะห์ MS ที่เติม BAP 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล สามารถชักนำให้จำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด 3.80 ใบต่อต้น

**คำสำคัญ:** การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การขยายพันธุ์ แก้วสารพัดนึก

## คำนำ

แก้วสารพัดนึก จัดเป็นไม้ใบและต้นไม้มงคล มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Alocasia sanderiana* Bull. จัดอยู่ในวงศ์ Araceae เป็นไม้ประดับในเขตร้อนที่มีถิ่นกำเนิดแถบประเทศอินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ ศรีลังกา มาเลเซีย และประเทศไทย (เทวฤทธิ์ และคณะ, 2541) สามารถสูงได้ถึง 2 เมตร ใบมีลักษณะเป็นแผ่นรูปหัวใจ แฉกลึก แผ่นใบด้านบนมีสีเขียวเข้ม มันวาว ขอบและเส้นใบมีสีเขียวอมเทา ใต้ใบสีม่วงแดง เส้นกลางใบเป็นร่องตื้น สีขาว ก้านใบสีน้ำตาลอมเขียว จากรูปร่างลักษณะของต้นและเป็นพันธุ์ไม้มงคล ทำให้ได้รับความนิยมและเป็นที่ต้องการของตลาดเป็นอย่างมาก ทำให้แก้วสารพัดนึกมีจำนวนลดลง รวมทั้งจัดเป็นพันธุ์ไม้หายากขึ้นบัญชีแดงของ IUCN ว่าเป็นพันธุ์ไม้ที่มีความเสี่ยงขั้นวิกฤตต่อการสูญพันธุ์ (CR-Critically endangered) (Medecilo และคณะ, 2008) นอกจากนี้ในบางพื้นที่สภาพอากาศยังไม่เอื้ออำนวยต่อการปลูก และเกษตรกรผู้ปลูกขาดข้อมูลและความรู้เกี่ยวกับการขยายพันธุ์ด้วยเทคโนโลยีที่ทันสมัย เพื่อให้ได้จำนวนมาก มีความสม่ำเสมอ ปลอดโรค และแมลง หากต้องการเพิ่มปริมาณให้เพียงพอและรองรับการขยายตลาดสู่ในอนาคต การขยายพันธุ์โดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะแก้ไขปัญหาดังกล่าวได้ การขยายพันธุ์พืชวงศ์บอนในสภาพปลอดเชื้อจำเป็นต้องใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช เช่น ออกซิน และ ไซ

[1] สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี ศูนย์การศึกษาสามพร้าว 234/3 หมู่ 12 ต.สามพร้าว อ.เมือง จ.อุดรธานี 41000
[1] Department of Biology, Faculty of Science, Udon Thani Rajabhat University SamPhrao Campus, 234/3 Moo 12 Tombon SamPhrao Muang, Udon Thani 41000
[2] คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี 64 ถนนทหาร ตำบลหมากแข้ง อำเภอเมือง จังหวัดอุดรธานี 41000
[2] Faculty of Education, Udon Thani Rajabhat University, 64 Tahan Road, Muang, Udon Thani 41000

โทไคนิน ในอัตราส่วนที่เหมาะสมเพื่อชักนำให้เกิดการสร้างแคลลัสและต้นต่อไป ดังรายงานของเทวฤทธิ์และคณะ (2541) ศึกษาการเพาะเลี้ยงแก้วหน้าม้าทะเลบัน (*Alocasia lobbianum*) พบว่า ตายอดและตาข้างเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BAP 8.0 มก./ล. สามารถเพิ่มปริมาณยอดได้มากที่สุด การเพิ่มปริมาณต้นบอนสี (*Caladium humboldtii*) พบว่าเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 8.88 ไมโครโมล (Thepsitharc และคณะ, 2011) รายงานการชักนำให้เกิดต้นใหม่จากการเพาะเลี้ยง *Caladium* พบว่าการเติม BA ร่วมกับ NAA สามารถชักนำให้เกิดต้นใหม่จำนวนมาก (Ahmed และคณะ, 2004) และการเพาะเลี้ยงพืชสกุล *Alocasia* 5 สายพันธุ์ คือ *A. amazonica, A. cuprea, A. robusta, A. longiloba* และ *A. chaii* พบว่าอาหารสูตรที่ชักนำให้เกิดหน่อดีที่สุดคือ สูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2 มก./ล. (Bhatt และคณะ, 2013) การเพิ่มประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดต้นจำนวนมากในพืชวงศ์บอนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องอาศัยบทบาทของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโทไคนินและออกซินที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม (Bunnag, 2017) ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาผลของไซโตไคนินและออกซินต่อการเกิดยอดและรากของแก้วสารพัดนึกในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อเป็นการเพิ่มจำนวนและการอนุรักษ์พืชต่อไปในอนาคต

## อุปกรณ์และวิธีการ

### การเพาะเลี้ยงตาข้าง

นำตาข้างที่สมบูรณ์ ล้างให้สะอาดตัดส่วนที่ไม่ต้องการออกเปิดน้ำไหลผ่านประมาณ 1 ชั่วโมง แช่ในสารละลายคลอร็อกซ์เข้มข้น 15 และ 10 เปอร์เซ็นต์ เติม Tween-20 ในอัตราส่วน 1 หยด ต่อสารละลาย 100 มิลลิลิตร เพื่อช่วยให้สารละลายจับกับผิวตัวอย่างได้ดี เขย่าเป็นระยะๆ เป็นเวลานาน 10 นาที ล้างเอาสารละลายออกด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที นำชิ้นส่วนตาข้างที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาเพาะบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เป็นระยะเวลานาน 4 สัปดาห์ โดยนำไปเลี้ยงไว้ที่ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อควบคุมอุณหภูมิ 25±2 °C ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่ความเข้มแสง 3,500 ลักซ์

ศึกษาผลของ BAP, Kinetin และ BAP ร่วมกับ NAA บนอาหารสังเคราะห์ MS (Murashige และ Skoog, 1962) ต่อการเจริญเติบโตต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนแก้วสารพัดนึก วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ประกอบด้วย 13 ทรีทเมนท์ๆ ละ 10 ซ้ำ ต้นอ่อนที่มีขนาด 1-1.5 มิลลิเมตรบนสูตรอาหารสังเคราะห์ MS ที่เติม BAP, Kinetin ความเข้มข้น 0, 1, 2, 4 และ 8 มก./ล. และ MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1 และ 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5, 1 มก./ล. เติมน้ำตาล 30 ก./ล. ผงวุ้น 8 กรัมต่อลิตร pH 5.7-5.8 เพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ที่ควบคุมอุณหภูมิ 25±2 °C ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่ความเข้มแสง 3,500 ลักซ์ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ บันทึกผล โดยวัดจำนวนหน่อ ความสูงต้น จำนวนราก ความยาวราก และ จำนวนใบ

### วิเคราะห์ผลการทดลอง

โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เพื่อหาค่าเฉลี่ย (mean) ค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (Standard error) และทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan’s New Multiple Range Test

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

### ผลของ BAP, Kinetin, และ BAP ร่วมกับ NAA ต่อการเจริญเติบโตของต้นแก้วสารพัดนึก

จากการศึกษาสูตรอาหารสังเคราะห์ MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP, Kinetin และ BAP ร่วมกับ NAA ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน พบว่าสูตรอาหาร MS ที่เติม BAP 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล. สามารถชักนำให้เพิ่มจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 8.20 ยอดต่อต้น และสูตรอาหารสังเคราะห์ MS ที่เติม BAP 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล สามารถชักนำให้จำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด 3.80 ใบต่อต้น เนื่องจากพืชส่วนใหญ่มีการพัฒนาของอวัยวะได้เมื่อได้รับสารควบคุมการเจริญเติบโต 2 กลุ่ม คือ ออกซินและไซโตไคนิน ซึ่งสัดส่วนทั้งสองกลุ่มเป็นตัวกำหนดพัฒนาของเนื้อเยื่อไปเป็นยอดและราก (รังสฤษดิ์, 2545) ดังนั้นการใช้ BAP หรือ Kinetin เพียงอย่างเดียวอาจไม่ใช่สูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดในการพัฒนาให้เกิดยอด ซึ่งมีรายงานการศึกษาของ Skoog และ Miller (1957) พบว่าการใช้ไซโตไคนินร่วมกับออกซินในอัตราส่วนต่ำที่เหมาะสมจะส่งเสริมการพัฒนาของยอด และสอดคล้องกับการชักนำให้เกิดยอดของ *Caladium bicolor* พบว่าการใช้ BAP ร่วมกับ NAA มีผลต่อการเกิดยอดได้ดีกว่าการใช้ BAP เพียงอย่างเดียว (Ali และคณะ, 2007) สูตรอาหารสังเคราะห์ MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต สามารถชักนำให้ความสูงเฉลี่ยสูงสุด 4.80 ซม. และสามารถชักนำความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 5.78 ซม. สอดคล้องรายงานการวิจัยของ Bhatt และคณะ, 2013 ศึกษาการขยายพันธุ์ *Alocasia* 5 ชนิด พบว่า MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต สามารถชักนำให้เกิดรากและความสูงของต้นสูงที่สุด ทั้งนี้อาจเนื่องจากสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เติมลงไปมีผลยับยั้งการเจริญเติบโต จึงทำให้เนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่มีเติม

สารควบคุมการเจริญเติบโตมีการเจริญเติบโตดีกว่า (ยงศักดิ์ และอัญชลี, 2558) ในขณะที่สูตรอาหาร MS ที่เติม Kinetin 1 และ 2 มก./ล. สามารถชักนำให้เพิ่มจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 8.20 และ 8.40 รากต่อต้น ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

## สรุปผล

สูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนแก้วสารพัดนึกให้ได้จำนวนยอดมากที่สุด คือ สูตรอาหาร MS ที่เติม BAP 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล. และสูตรอาหารสังเคราะห์ MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต สามารถชักนำให้ต้นสูง ชักนำความยาวรากสูงสุด 5.78 ซม. ในขณะที่สูตรอาหาร MS ที่เติม Kinetin 1 และ 2 มก./ล. สามารถชักนำให้เพิ่มจำนวนรากมากที่สุด ขั้นตอนที่สำคัญต่อไปคือการนำออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกที่ควรมีการศึกษาตั้งแต่การปรับสภาพของต้นอ่อน เทคนิคการปลูกเลี้ยง ปัจจัยสภาพแวดล้อมและธาตุอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโต เพื่อให้ได้ผลผลิตที่ได้มาตรฐานต่อไป

## คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณหน่วยวิจัยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี ที่สนับสนุนทุนวิจัย และเอื้อเฟื้อสถานที่ในการดำเนินการวิจัย ทำให้การศึกษาวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

## เอกสารอ้างอิง

เทวฤทธิ์ เทพนรินทร์ สุรียา ตันติวิวัฒน์ และมาลี ณ นคร, 2541, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแก้วหน้าม้าทะเลบัน, การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 36, 3-5 กุมภาพันธ์ 2541, กรุงเทพฯ

ยงศักดิ์ ขจรผดุงกิตติ และอัญชลี จาละ, 2558, อิทธิพลของ BA, IAA, 2,4-D และ Kinetin ต่อการขยายพันธุ์ต้นแก้วมังกรจากไฮโปรคอทิลและใบจริงในสภาพปลอดเชื้อ, วารสารคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, 4(2): 147-154.

รังสฤษฏ์ กาวีต๊ะ, 2545, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช: หลักการและเทคนิค. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, 219 หน้า.

Ahmed, E.U., Hayashi, T. and Yazawa, S., 2004, Auxin Increase the Occurrence of Leaf-Colour Variants in *Caladium* Regenerated from Leaf Explants, Scientia Horticulturae, 100: 153-159.

Ali, A., Munawar, A. and Naz, S., 2007, An *In Vitro* Study on Micropropagation of *Carladium bicolor*, International of Agriculture and Biology, 9(5): 731-735.

Bhatt, A., Stanly, C. and Keng, C.L., 2013, *In Vitro* Propagation of Five *Alocasia* species, Horticultura Brasileira, 31: 210-215.

Bunnag, S., 2017, Plant Tissue Culture and Plant Gene Transfer, Khon Kaen University Press, Khon Kaen.

Medecilo, M.P., Amoroso, V.B. and Ong, R., 2008, *Alocasia sanderiana*. In: IUCN (International Union for Conservation of Nature), 2009 IUCN Red List& of Threatened Species. Version 2009.1, [Online], Available: http://www.iucnredlist.org [October 15, 2020].

Murashige, T. and Skoog, F., 1962, A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures, Plant Physiology, 15: 473–497.

Skoog, F. and Miller, C., 1957, Chemical Regulation of Growth and Organ Formation in Plant Tissue Cultured *In Vitro*, Symposia of the Society for Experimental Biology, 11: 118–131.

Thepsithar, C., Thongpukdee, A., Sugaram, R. and Somkanae, U, 2011, Mutated Clones of *Caladium Humboldtii* ‘Phraya Savet’ from *in vitro* Culture and Occurrence of Variants from Somatic Hybridization between Two *Caladium* Species, Journal of Life Sciences, 5: 352-359.

**Figure 1** Effect of BAP Kinetin and NAA on shoot culture of *Alocasia sanderiana* W. Bull. after 6 weeks.
A. MS (control) B. BAP 1 mg/l C. BAP 2 mg/l D. BAP 4 mg/l E. BAP 8 mg/l F. KIN 1 mg/l
G. KIN 2 mg/l H. KIN 4 mg/l I. KIN 8 mg/l J. BAP1+NAA0.5 mg/l K. BAP1+NAA1 mg/l
L. BAP2+NAA0.5 mg/l M. BAP2+NAA1 mg/l

**Table 1** Effect of BAP Kinetin and NAA on shoot culture of *Alocasia sanderiana* W. Bull. after 6 weeks.
Means followed by the same latter are not significantly different at $p<0.05$

| Concentation of Plant Growth regulator | NO. of shoots/explant | Length of shoots/explant (cm) | NO. of roots/shoot | Length of roots/shoot (cm) | NO. of Leaves/shoot |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. MS | $1.00±0.00^{f}$ | $4.80±0.37^{a}$ | $7.00±0.55^{ab}$ | $5.78±0.65^{a}$ | $1.8±0.20^{bcd}$ |
| 2. MS+BAP 1 mg/l | $2.80±0.37^{de}$ | $3.30±0.51^{bcd}$ | $6.80±1.62^{abc}$ | $2.02±0.30^{cd}$ | $2.6±0.75^{abc}$ |
| 3. MS+BAP 2 mg/l | $4.20±0.37^{cd}$ | $2.20±0.12^{de}$ | $3.60±1.21^{cde}$ | $1.42±0.14^{cd}$ | $3.60±0.60^{ab}$ |
| 4. MS+BAP 4 mg/l | $3.80±0.37^{d}$ | $2.20±0.12^{de}$ | $2.40±0.24^{de}$ | $0.72±0.06^{d}$ | $1.40±0.40^{cd}$ |
| 5. MS+BAP 8 mg/l | $4.00±0.00^{cd}$ | $2.00±0.00^{e}$ | $2.00±0.00^{e}$ | $0.50±0.00^{d}$ | $0.00±0.00^{d}$ |
| 6. MS+ Kinetin 1 mg/l | $0.60±0.40^{f}$ | $2.70±0.34^{bcde}$ | $8.20±1.20^{a}$ | $5.50±0.27^{a}$ | $1.60±0.40^{cd}$ |
| 7. MS+ Kinetin 2 mg/l | $1.00±0.45^{f}$ | $3.30±0.73^{bcd}$ | $8.40±1.21^{a}$ | $4.13±0.31^{b}$ | $1.20±0.37^{cd}$ |
| 8. MS+ Kinetin 4 mg/l | $0.80±0.37^{f}$ | $2.70±0.37^{bcde}$ | $5.60±1.08^{abcd}$ | $2.60±0.37^{c}$ | $1.40±0.51^{cd}$ |
| 9. MS+ Kinetin 8 mg/l | $1.20±0.80^{ef}$ | $2.30±0.20^{de}$ | $3.60±1.21^{cde}$ | $2.88±1.33^{bc}$ | $0.20±0.20^{d}$ |
| 10. MS+BAP1+NAA0.5 mg/l | $5.60±0.51^{bc}$ | $3.90±0.43^{ab}$ | $7.00±0.71^{ab}$ | $0.88±0.17^{d}$ | $3.80±0.86^{a}$ |
| 11. MS+BAP1+NAA1 mg/l | $4.40±0.51^{bcd}$ | $3.60±0.51^{bc}$ | $3.60±0.98^{cde}$ | $0.50±0.14^{d}$ | $3.00±1.05^{abc}$ |
| 12. MS+BAP2+NAA0.5 mg/l | $6.00±0.32^{b}$ | $2.40±0.19^{cde}$ | $3.80±0.92^{bcde}$ | $0.46±0.06^{d}$ | $2.20±0.58^{abc}$ |
| 13. MS+BAP2+NAA1 mg/l | $8.20±1.28^{a}$ | $2.90±0.19^{bcde}$ | $7.20±0.66^{a}$ | $0.69±0.15^{d}$ | $3.60±0.68^{ab}$ |

# การคัดแยกจุลินทรีย์ย่อยสลายฟอสเฟตจากดินแปลงนาข้าวอินทรีย์ในจังหวัดสุรินทร์
# Isolation of Phosphate Solubilizing Microorganisms from Organic Paddy Fields Soil in Surin Province

อรลัดา เจือจันทร์[1] นิอร งามฮุย[2] และ อุไรลักษณ์ พงษ์เกษ[3]
Juajun, O.[1], Ngamhui, N.[2] and Pongket, U.[3]

## Abstract

Phosphate solubilizing bacteria were isolated from 16 organic rice field soil samples of Surin province. Soil sample properties such as pH were in the range of 4.19 - 6.62, total phosphate 379.62±22.87 to 44.21±6.80 mg/kg and available phosphorus 31.52±0.18 to 1.64±0.41 mg/kg. The Pikovskaya's solid medium was used to screen the effective phosphate solubilizing bacteria capable of solubilizing inorganic calcium phosphate complex form to a soluble form. Two isolates out of forty-five phosphate solubilizing bacteria were the highest solubility of phosphate. The isolated bacteria can be identified as *Burkholderia vietnamiensis* (PB1601) and *B. anthina/territorii* (PB1603), which has the phosphate solubilizing efficiency (PSE) on solid media with an average of 5.58±0.84 and 5.48±0.23, respectively. Both bacterial strains can dissolve phosphates in Pikovskaya's liquid medium containing tricalcium phosphate 5 mg/ml. In addition, *B. vietnamiensis* and *B. anthina/territorii* bacteria can increasesoluble phosphate content of 11.02±2.21 and 7.10±0.17 mg/ml, respectively.

**Keywords:** Phosphate solubilizing bacteria, Organic rice field, Isolate, Pikovskaya’s solid media

## บทคัดย่อ

การคัดแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟตของดินตัวอย่างจากแปลงนาข้าวอินทรีย์ในจังหวัดสุรินทร์จำนวน 16 แปลงนา โดยตัวอย่างดินมีค่าพีเอชระหว่าง 4.19 – 6.62 ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมด 379.62±22.87 ถึง 44.21±6.80 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืช 31.52±0.18 ถึง 1.64±0.41 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สามารถคัดแยกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตโดยใช้อาหารแข็ง Pikovskaya’s ซึ่งละลายสารประกอบอนินทรีย์แคลเซียมฟอสเฟตให้อยู่ในรูปของเหลวได้จำนวน 45 ไอโซเลท แบคทีเรียที่คัดแยกได้จำนวน 2 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตได้มากที่สุด จำแนกได้สายพันธุ์ *Burkholderia vietnamiensis* (PB1601) และ *B. anthina/territorii* (PB1603) ให้ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟต PSE) บนอาหารแข็งมีค่าเฉลี่ย 5.58±0.84 และ 5.48±0.23 ตามลำดับ โดยแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์สามารถละลายฟอสเฟตในอาหารเหลว Pikovskaya’s ที่มี tricalcium phosphate 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ยังพบว่า แบคทีเรีย *B. vietnamiensis* และ *B. anthina/territorii* ให้ฟอสเฟตละลายน้ำเพิ่มเป็น 11.02±2.21 และ 7.10±0.17 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

**คำสำคัญ:** แบคทีเรียละลายฟอสเฟต นาข้าวอินทรีย์ ไอโซเลท อาหารแข็ง Pikovskaya’s

## คำนำ

ฟอสฟอรัส (Phosphorus) จัดเป็นธาตุอาหารหลักที่มีความสำคัญรองจากธาตุไนโตรเจนสำหรับพืช ช่วยในการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิต ใช้ในขบวนการขนส่งและเก็บรักษาพลังงานในกระบวนการชีวเคมีของเซลล์พืช (Khan และคณะ,

---

[1] สาขาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ อ.เมือง จ.สุรินทร์ 32000
[1] Department of Agro-Industry, Faculty of Agriculture and Technology, Rajamangala University of Technology Isan, Surin Campus. Mueang District, Surin Province. 32000
[2] สาขาพืชศาสตร์ สิ่งทอ และการออกแบบ คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ อ.เมือง จ.สุรินทร์ 32000
[2] Department of Plant Science Textile and Design Faculty of Agriculture and Technology, Rajamangala University of Technology Isan, Surin Campus. Mueang District, Surin Province. 32000
[3] สาขาวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ อ.เมือง จ.สุรินทร์ 32000
[3] Department of Science and Mathematics, Faculty of Agriculture and Technology, Rajamangala University of Technology Isan, Surin Campus. Mueang District, Surin Province. 32000

2009) ซึ่งพืชต้องการในปริมาณมาก แต่พบเพียง 0.1 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณฟอสเฟตที่พบในดินในสภาพสารละลายที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ ซึ่งแสดงว่าฟอสเฟตในดินถูกตรึงไว้และละลายออกมาในดินค่อนข้างต่ำ (Pereira และ Castro, 2014) งานวิจัยทางการเกษตรสมัยใหม่เห็นความสำคัญของการจัดการด้านธาตุอาหารพืช โดยการใช้จุลินทรีย์เพื่อการเพิ่มปริมาณธาตุฟอสฟอรัสในดินเป็นแนวทางที่น่าสนใจ เนื่องจากเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมและค่าใช้จ่ายค่อนข้างต่ำในการเพิ่มธาตุอาหารฟอสฟอรัสให้กับพืช รวมทั้งเป็นปัจจัยสำคัญสำหรับวัฏจักรชีวเคมีธรณี จุลินทรีย์ย่อยสลายฟอสเฟต (phosphate solubilizing microorganisms (PSM) เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีความสามารถละลายและเป็นการเพิ่มแร่ธาตุฟอสเฟตในดินที่อยู่ในรูปอนินทรีย์และอินทรีย์สำหรับพืชนำไปใช้ได้ (Rodriguez และ Fraga, 1999) โดยต้องอยู่ในรูป $H_2PO_4^-$ และ $HPO_4^{2-}$ จุลินทรีย์บริเวณรอบรากพืชจะช่วยให้พืชเจริญเติบโตได้ดี กลุ่มจุลินทรีย์ย่อยสลายฟอสเฟตมีหลากหลายชนิดรวมถึงแบคทีเรีย เชื้อรา และแอคติโนมัยซิส มีความสามารถเหมือนกับกลุ่มจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจน ซึ่งสามารถผลิตฮอร์โมน ควบคุมระบบกิจกรรมต่างๆ ในเซลล์พืชได้ มักพบกลุ่มแบคทีเรียมากกว่าเชื้อราและแอคติโนมัยซิส โดยมีปริมาณ 1 – 50 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนจุลินทรีย์ในดิน (Alam และคณะ, 2002) แบคทีเรียย่อยสลายฟอสเฟตส่วนใหญ่ที่พบในดิน ได้แก่ *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Burkholderia*, *Serratia*, *Enterobacter*, *Rhodococcus* และ *Arthrobacter* (Mamta และคณะ, 2010; Karpagam และ Nagalakshmi, 2014; Pereira และ Castro, 2014) วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ เพื่อคัดเลือกจุลินทรีย์ย่อยสลายฟอสเฟตจากแปลงนาข้าว และศึกษาคุณสมบัติของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

**การเก็บตัวอย่างดิน**

เก็บตัวอย่างดินจากแปลงนาข้าวอินทรีย์ในจังหวัดสุรินทร์ 16 ตัวอย่าง โดยเก็บตัวอย่างดินห่างจากขอบนาประมาณ 1 เมตรทั้ง 4 ด้าน ขุดดินรอบรากต้นข้าว ลึกจากผิวดิน 6 - 15 เซนติเมตร ใส่ในถุงปราศจากเชื้อ (Pande และคณะ, 2017) ผสมดินให้เข้ากันภายในถุง ผึ่งให้แห้ง วิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมด และปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืช

**การวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่างดิน** (กรมพัฒนาที่ดิน, 2553)

ชั่งตัวอย่างดินที่แห้งและร่อนแล้ว 20 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร อัตราส่วนดิน : น้ำ เท่ากับ 1 : 1 (w/w) ใช้แท่งแก้วคนให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้จนดินตกตะกอน วัด pH ตรงบริเวณใส และบันทึกค่า pH

**การเตรียมดินสำหรับวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดและปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืช**

นำดินตัวอย่างใส่ถาดอะลูมิเนียม กระจายดินในถาด และอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนดินแห้ง ร่อนดินด้วยตะกร้าพลาสติกที่มีช่องว่าง เพื่อกรองสิ่งสกปรกออกจากดิน บดดินให้ละเอียด เก็บดินในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อจุลินทรีย์

**การวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมด** (ดัดแปลงจากกลุ่มวิจัยเกษตรเคมี, 2551)

นำดินอบแห้ง ชั่งประมาณ 1.0กรัม เติมกรด $HNO_3$ เข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ย่อยบนเตาจนควันสีน้ำตาลหมด ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เติมกรด $HClO_4$ เข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ย่อยบนเตาจนสารละลายใสทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ให้ความร้อน 2 - 3 นาที ปิเปตสารละลาย 5 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 45 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 5 นาที เติมสารลละลาย molybdovanadate reagent ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 420 นาโนเมตร เทียบกับ blank

$$\%P = \frac{\text{ppm P from standard curve x dilution factor x 100}}{\text{wt of sample (g)} \times 10^6}$$

$$\%P_2O_5 = \frac{\%\text{P x [(2 x Atomic wt.of P)+(5 x Atomic wt.of O)]}}{\text{2 x Atomic wt.of P}}$$

**การวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืช (Available Phosphorus) โดยวิธี Bray II** (ดัดแปลงจาก กรมพัฒนาที่ดิน, 2553)

ชั่งตัวอย่างดินประมาณ 5.0กรัม เติมน้ำยาสกัด Bray II ปริมาตร 40 มิลลิลิตร เขย่า 3 นาที กรองด้วยกระดาษกรอง No.5 ปิเปตสารละลายที่ได้ 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดสอบ เติมน้ำยา develop สี (สาร ascorbic acid ที่มี sulfuric-molybdate-tartrate solution) 16 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ครึ่งชั่วโมง นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ 882 นาโนเมตร นำมาคำนวณ โดย A คือ น้ำหนักของตัวอย่างดิน (กรัม) B คือ น้ำยาสกัด (มิลลิลิตร) X คือ ค่าที่อ่านได้ เทียบกับ Standard curve

$$\text{ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืช (P) (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)} = \frac{B \times X}{A}$$

**ระบุชนิดของแบคทีเรียละลายฟอสเฟต**

คัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพละลายฟอสเฟตบนอาหารแข็ง (PSE) และประสิทธิภาพละลายฟอสเฟตในอาหารเหลวได้ดีที่สุด จำนวน 2 ไอโซเลท ระบุ species ด้วยเทคนิค 16s DNA sequencing โดยส่งวิเคราะห์การจัดจำแนกที่ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ตัวอย่างดินจากแปลงนาข้าวอินทรีย์ในพื้นที่จังหวัดสุรินทร์ จำนวน 16 ตัวอย่าง มีลักษณะของเนื้อดินแตกต่างกันออกไป โดยส่วนใหญ่เป็นดินร่วน 10 ตัวอย่าง และดินเหนียว 6 ตัวอย่าง ตัวอย่างดินส่วนใหญ่มีความเป็นกรดสูงในระดับกรดจัดมาก มีค่า pH 4.19±0.06 ถึง 6.62±0.06 ตัวอย่างดินที่มีปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดมากที่สุดปริมาณเฉลี่ย 379.62±22.87 มิลลิกรัม/กิโลกรัม คิดเป็นร้อยละ 0.038 หรือร้อยละฟอสฟอรัสในรูป $P_2O_5$ เท่ากับ 0.087 ตัวอย่างดินที่มีปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดน้อยที่สุดเฉลี่ย 44.21±6.80 มิลลิกรัม/กิโลกรัม หรือร้อยละ 0.004 คิดเป็นฟอสฟอรัสในรูป $P_2O_5$ ร้อยละ 0.010 ส่วนปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชเฉลี่ยสูงสุด 31.52±0.18 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และมีค่าน้อยที่สุดเท่ากับ 1.64±0.41 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

**การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตบนอาหารแข็งและอาหารเหลว**

คัดแยกจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตจากตัวอย่างดินบนอาหารแข็ง Pikovskaya's agar บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 24-48 ชั่วโมง พบจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายฟอสเฟตได้ 45 ไอโซเลท ลักษณะการเกิดวงใสรอบโคโลนี หรือ Halo zone diameter เกิดจากแบคทีเรียมีเอนไซม์ย่อยสลายฟอสเฟต สามารถแยกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดได้ 5 ไอโซเลท คือ PB1601 PB1602 PB1603 PB0305 และ PB0601 (Figure 1) โดยแบคทีเรียไอโซเลท PB1602 มีค่าประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตมากที่สุดเท่ากับ 7.05±0.92 รองลงมาคือ ไอโซเลท PB1601 PB1603 PB0305 และ PB0601 มีค่า 5.58±0.84 5.48±0.23 4.54±0.08 และ 4.12±0.41 ตามลำดับ (Table 1) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Alam และคณะ (2002) ที่พบว่าจุลินทรีย์ย่อยสลายฟอสเฟตส่วนใหญ่มักเป็นกลุ่มแบคทีเรีย ซึ่งแบคทีเรียละลายฟอสเฟตที่คัดแยกได้ทั้ง 5 ไอโซเลท เมื่อย้อมสี Gram stain พบว่า ติดสีแดงทุกไอโซเลท จัดเป็นแบคทีเรียแกรมลบ แบคทีเรียไอโซเลท PB1601 โคโลนีมีสีเหลืองอ่อน ขอบเรียบ ตรงกลางนูนและสีเข้มกว่ารอบๆ ไม่วาวแสง มีรูปแท่ง ไม่สร้างสปอร์ แต่พบว่าแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการละลายฟอสเฟตในอาหารเหลว Pikovskaya's มี 2 ไอโซเลท คือ ไอโซเลท PB1601 และ PB1603 จึงนำไปประบุสายพันธุ์ในขั้นตอนต่อไป

**ระบุชนิดของแบคทีเรียละลายฟอสเฟตด้วยเทคนิค 16S rDNA sequencing**

นำแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการละลายฟอสเฟตในอาหารเหลว เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rDNA ในฐานข้อมูล โดยการส่งตัวอย่างตรวจวิเคราะห์ที่ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ พบว่าไอโซเลท PB1601 ใกล้เคียงกับรหัสพันธุกรรมของแบคทีเรีย *Burkholderia vietnamiensis* ส่วนไอโซเลท PB1603 มีความใกล้เคียงกับรหัสพันธุกรรมของแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Burkholderia anthina* และ *Burkholderia territorii* มากที่สุด 99.65% ลำดับนิวคลิโอไทด์ของแบคทีเรีย PB1603 ซึ่งไม่สามารถแยกความแตกต่างของแบคทีเรียทั้งสองชนิดได้ชัดเจน หากต้องการแยกสายพันธุ์ให้ชัดเจนต้องศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีนอื่นๆ หรือลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมดของดีเอ็นเอ หรือเปรียบเทียบความเหมือนของดีเอ็นเอทั้งหมดด้วยวิธี DNA-DNA hybridization กับ Type strain ใกล้เคียงเพื่อจำแนกชนิดในระดับ species

## สรุปผล

ตัวอย่างดินจากแปลงนาข้าวอินทรีย์ในจังหวัดสุรินทร์มีลักษณะเป็นดินร่วนและดินเหนียว โดยเป็นดินกรดจัดมาก ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในดินมีค่า 44.21 - 379.62 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชมีค่า 1.64 - 31.52 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สามารถคัดแยกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตในอาหารแข็งได้ แบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการละลายฟอสเฟตบนอาหารแข็งคือ ไอโซเลท PB1601 และ PB1603 ให้ปริมาณฟอสฟอรัสในอาหารเหลวมากที่สุดตามลำดับ ระบุชนิดของแบคทีเรียด้วยเทคนิค 16s DNA sequencing โดยเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16s rDNA ในฐานข้อมูล พบว่า แบคทีเรียไอโซเลท PB1601 มีความใกล้เคียงกับแบคทีเรียสายพันธุ์ *Burkholderia vietnamiensis* และแบคทีเรียไอโซเลท PB1603 มีความใกล้เคียงกับแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์ โดยมีค่าความเหมือนกับแบคทีเรียสายพันธุ์ *Burkholderia anthina* และ *Burkholderia territorii* จึงนำแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ไปทดสอบการปลูกข้าวในการทดลองต่อไป

**คำขอบคุณ**

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณคณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ ที่ได้สนับสนุนการทำวิจัยในครั้งนี้ ตลอดจนเอื้อเฟื้ออุปกรณ์ สารเคมี และสถานที่ในการดำเนินงานวิจัย

## เอกสารอ้างอิง

กรมพัฒนาที่ดิน, 2553, คู่มือการปฏิบัติงาน: กระบวนการวิเคราะห์ตรวจสอบดินทางเคมี. แก้ไขครั้งที่ 1. 1-51.

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี, 2551, คู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี. สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 66 หน้า.

Alam, S., Khalil, S., Ayub, N. and Rashid, M., 2002, In Vitro Solubilization of Inorganic Phosphate by Phosphate Solubilizing Microorganism (PSM) from Maize Rhizosphere, International Journal of Agriculture and Biology, 4: 454-458.

Karpagam, T. and Nagalakshmi, P.K., 2014, Isolation and Characterization of Phosphate Solubilizing Microbes from Agricultural Soil, International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 3(3): 601-614.

Khan, A.A., Jilani, G., Akhtar, S.M., Naqvi, S.M.S. and Rasheed, M., 2009, Phosphorus Solubilizing Bacteria: Occurrence, Mechanisms and Their Role in Crop Production, Research journal of Agriculture and Biological Sciences, 1(1): 48-58.

Mamta, R.P., Pathania, V., Gulati, A., Singh, B., Bhanwra, R.K. and Tewari, R., 2010, Stimulatory Effect of Phosphate-solubilizing Bacteria on Plant Growth, Stevioside and Rebaudioside-A Contents of *Stevia rebaudiana* Bertoni, Applied Soil Ecology, 46: 222-229.

Pande, A., Pandey, P., Mehra, S., Singh, M. and Kaushik, S., 2017, Phenotypic and Genotypic Characterization of Phosphate Solubilizing Bacteria and Their Efficiency on the Growth of Maize, Journal of Genetic Engineering and Biotechnology, 15: 379-391.

Pereira, S.I.A. and Castro, P.L., 2014, Phosphate-solubilizing Rhizobacteria Enhance *Zea mays* Growth in Agricultural P-deficient Soils, Journal of Ecological Engineering, 73: 526-535.

Rodriguez, H. and Fraga, R., 1999, Phosphate Solubilizing Bacteria and Their Role in Plant Growth Promotion, Biotechnology Advances, 17: 319-339.

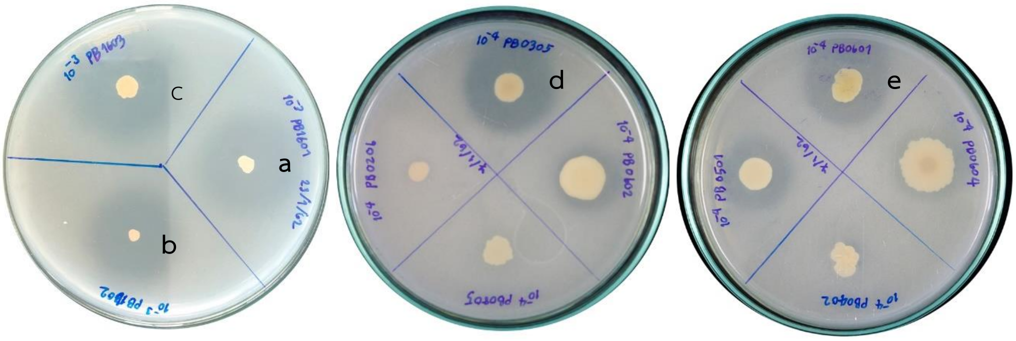



**Figure 1** Halo zone or clear zone of the effective phosphate solubilizing bacteria a) PB1601, b) PB1602, c) PB1603, d) PB0305 and e) PB0601.

**Table 1** Properties of five effective phosphate solubilizing bacteria.

| Isolate | Colony diameter* (cm) | Halo zone diameter* (cm) | PSE* | Phosphorus** (mg/ml) |
|---|---|---|---|---|
| PB1601 | 0.51±0.07 | 2.30±0.15 | 5.58±0.84[b] | 11.02±2.21[a] |
| PB1602 | 0.38±0.06 | 2.26±0.07 | 7.05±0.92[a] | 4.45±1.44[b,c] |
| PB1603 | 0.57±0.03 | 2.57±0.15 | 5.48±0.23[b] | 7.10±0.17[b,c] |
| PB0305 | 0.79±0.03 | 2.78±0.05 | 4.54±0.08[b,c] | 5.81±0.40[b,c] |
| PB0601 | 0.85±0.13 | 2.62±0.10 | 4.12±0.41[c] | 3.18±1.69[c] |

Note: PSE: Phosphate Solubilization Efficiency, * Results in Pikovskaya's agar, ** Results in Pikovskaya's broth

Values are means of triplicate determination. Values within the same column followed by different superscript are significant difference ($p \leq 0.05$).

# ความแตกต่างกันของเทอร์พีนในมะม่วงน้ำดอกไม้ 3 พันธุ์ปลูก
# Differences in Terpenes from 3 cultivars of Nam Dok Mai mango

**ธมกร ตันสกุล[1] สมโภชน์ น้อยจินดา[1] กิตติ โพธิปัทมะ[1] สุริยา ฤธาทิพย์[1] และ เฉลิมชัย วงษ์อารี[2]**
**Tunsakul, T.[1], Noichinda, S.[1], Bodhipadma, K.[1], Rutatip, S.[1] and Wongs-Aree, C.[2]**

## Abstract

Nam Dok Mai (NDM) is the most popular ripe-eaten mango for Thai people, which it contains various kinds of aromatic compounds. It is also known that terpenes are the main odor-active component found in ripe NDM mango flesh. Since cultivars and environmental factors influence the aroma profiles, NDM Sithong has lower fragrance when compared to NDM (in-season) and NDM no.4 (off-season) cultivars. Thus, in this research, compositions of terpenes in 3 NDM cultivars: NDM, NDM no.4 and NDM Sithong were investigated. The slices of fully-ripe NDM flesh from 3 cultivars were placed into glass vial and aroma profile was measured with head space GC-MS. Results showed that monoterpene such as β-ocimene, 2-(acetylmethyl)-3-carene, o-cymene, β-bergamotene and α-guaiene and sesquiterpene such as caryophyllene, humulene, germacreene D and α-farnesene were main aroma components in NDM and NDM no.4 while only sesquiterpene components: caryophyllene, humulene, germacrene D were found in NDM Sithong.

**Keywords:** aroma profile, GC-MS, Nam Dok Mai, ripe mango

## บทคัดย่อ

น้ำดอกไม้เป็นมะม่วงสุกที่คนไทยนิยมรับประทานมากที่สุด สำหรับมะม่วงสุกแล้วจะพบสารประกอบที่ให้กลิ่นหลายชนิด เป็นที่ทราบกันดีว่าเทอร์พีนเป็นส่วนประกอบหลักซึ่งให้กลิ่นในเนื้อมะม่วงน้ำดอกไม้สุก เนื่องจากพันธุ์ปลูกและปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมมีอิทธิพลต่อรูปแบบของกลิ่น น้ำดอกไม้สีทองมีกลิ่นหอมน้อยกว่าเมื่อเทียบกับพันธุ์น้ำดอกไม้ (ในฤดูกาล) และน้ำดอกไม้เบอร์ 4 (นอกฤดูกาล) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาองค์ประกอบของเทอร์พีนในมะม่วงน้ำดอกไม้ 3 พันธุ์ปลูก ได้แก่ น้ำดอกไม้ น้ำดอกไม้เบอร์ 4 และน้ำดอกไม้สีทอง เนื้อของมะม่วงที่สุกเต็มที่จาก 3 พันธุ์ปลูกถูกหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ก่อนใส่ลงในหลอดแก้วแล้วนำไปวิเคราะห์กลิ่นด้วย GC-MS โดยใช้เทคนิคเฮดสเปซ ผลการวิจัยพบว่าสาร monoterpene เช่น β-ocimene, 2- (acetylmethyl) -3-carene, o-cymene, β-bergamotene และ α-guaiene และ sesquiterpene เช่น caryophyllene, humulene, Germacreene D และ α-farnesene เป็นส่วนประกอบหลักของกลิ่นในมะม่วงน้ำดอกไม้และน้ำดอกไม้เบอร์ 4 ในขณะที่น้ำดอกไม้สีทองมีเพียงส่วนประกอบของ sesquiterpene เช่น caryophyllene, humulene, germacrene D เท่านั้น

**คำสำคัญ:** องค์ประกอบของกลิ่น GC-MS น้ำดอกไม้ มะม่วงสุก

## คำนำ

มะม่วง (*Mangifera indica* L.) จัดเป็นผลไม้เขตร้อน (Tropical fruit) ที่มีกลิ่นรสหอมหวานและมีความสำคัญในทางการค้าของประเทศไทย (มณฑาทิพย และคณะ, 2544) และต่างประเทศ โดยเฉพาะประเทศในแถบอาเซียน มะม่วงน้ำดอกไม้เป็นหนึ่งในมะม่วงหลายพันธุ์ที่มีการส่งออกในปริมาณมากและเป็นมะม่วงที่คนไทยนิยมรับประทานเมื่อผลสุก มะม่วงน้ำดอกไม้สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 พันธุ์ คือ น้ำดอกไม้ น้ำดอกไม้ (ทวาย) เบอร์ 4 และน้ำดอกไม้สีทอง โดยพันธุ์ที่เรียกว่าน้ำดอกไม้ให้ผลตามฤดูกาล น้ำดอกไม้เบอร์ 4 ให้ก่อนฤดูกาลแต่ให้ผลผลิตไม่มากนัก และน้ำดอกไม้สีทองจะออกสู่ตลาดล่ากว่าน้ำดอกไม้ (พีระศักดิ์, 2554) เมื่อผลมะม่วงสุกจะมีกลิ่นหอมเฉพาะตัว ซึ่งมีความสำคัญอย่างมากต่อการยอมรับและเลือกบริโภค รวมถึงการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร (Boonbumrung และคณะ, 2001) กลิ่นรสของอาหารส่งผลประสาทการรับรู้ของมนุษย์และมีอิทธิพลต่อการตัดสินใจซื้อ ด้วยเหตุนี้อุตสาหกรรมอาหารจึงให้ความสำคัญต่อกลิ่นของอาหาร และมีการพัฒนาผลิตภัณฑ์ให้มีกลิ่นให้ตรงตามความ

---

[1] สาขาวิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ บางซื่อ กรุงเทพฯ 10800
[1] Division of Agro-Industrial Technology, Faculty of Applied Science, King Mongkut's University of Technology North Bangkok, Bangkok 10800, Thailand
[2] สาขาวิชาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี บางขุนเทียน กรุงเทพฯ 10150
[2] Division of Postharvest Technology, School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangkhuntien, Bangkok 10150, Thailand

ต้องการของผู้บริโภค โดยมีการใช้เทคนิค Gas chromatograph ร่วมกับวิธีการอื่นๆ เพื่อให้องค์ประกอบของกลิ่นในตัวอย่าง หรืออาหารชนิดนั้นๆ (กาญจนา, 2552)

จากงานวิจัยที่มีการศึกษาเกี่ยวกับองค์ประกอบของกลิ่นในมะม่วงสายพันธุ์ต่างประเทศ พบว่าสารระเหยที่ให้กลิ่นส่วนใหญ่เป็นสารประกอบเอสเทอร์ ส่วนมะม่วงไทยมีสารประกอบเทอร์พีนเป็นหลัก (มณฑาทิพย และคณะ, 2544) อย่างไรก็ตาม มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ทั้ง 3 พันธุ์ปลูกมีที่กลิ่นแตกต่างกัน อีกทั้งยังไม่มีการศึกษาข้อมูลการเปรียบเทียบกลิ่นในมะม่วงน้ำดอกไม้พันธุ์ต่างๆ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาองค์ประกอบของเทอร์พีนในมะม่วงน้ำดอกไม้ 3 พันธุ์ปลูกของไทย คือ น้ำดอกไม้ น้ำดอกไม้เบอร์ 4 และน้ำดอกไม้สีทอง เพื่อนำข้อมูลไปใช้ประโยชน์ในเชิงการค้า และอุตสาหกรรมอาหารได้ในอนาคต

## อุปกรณ์และวิธีการ

ซื้อมะม่วงน้ำดอกไม้ทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ น้ำดอกไม้ น้ำดอกไม้เบอร์ 4 และน้ำดอกไม้สีทอง จากตลาดขายส่งสี่มุมเมือง ทำการบ่มที่อุณหภูมิห้องให้ผลมะม่วงสุกงอมและมีกลิ่นหอมเพื่อใช้ในการวิจัย นำเนื้อส่วนกลางผลมาหั่นให้ได้ขนาด 0.5x0.5 เซนติเมตร น้ำหนักเนื้อ 5 กรัม บรรจุลงในขวดแก้วขนาด 20 มิลลิลิตร (20 ml Headspace vial) ซึ่งจำเพาะกับเครื่อง Headspace sampler (HS) ยี่ห้อ Agilent รุ่น 7697A ที่เชื่อมต่อกับเครื่อง Gas chromatograph (GC) ยี่ห้อ Agilent รุ่น 7890B และ mass spectrometer (MS) ยี่ห้อ Agilent รุ่น 5977B

นำสาร Thiophene (Internal standard) ที่มีความเข้มข้น 100 ppm ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ที่ได้จากการเจือจาง Thiophene (100%) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ด้วยเอทานอลที่ผ่านการกรองให้บริสุทธิ์ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เติมลงในขวดแก้วที่บรรจุตัวอย่างมะม่วง และขวดแก้วที่ไม่มีตัวอย่างมะม่วง (control) จากนั้นปิดขวดด้วยฝาแบบยาง (septum) แล้วทำการปิดผนึกฝาขวดที่บรรจุตัวอย่างให้สนิทด้วยอุปกรณ์ผนึกฝาแบบใช้มือ (Manual crimpers)

นำขวดที่บรรจุตัวอย่างและขวดที่บรรจุสาร Internal standard บรรจุลงในช่องสำหรับวางตัวอย่างของเครื่อง Headspace ที่เชื่อมต่อกับเครื่อง Gas chromatograph – mass spectrometer ตั้งระดับอุณหภูมิภายในส่วนของ Headspace ที่ 40 °C นาน 10 นาที ใช้คอลัมน์ HP-5 ที่มีขนาด 30 เมตร ความยาว x 0.25 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง x 0.25 มิลลิเมตร ความหนา ใช้แก๊สฮีเลียมเป็นแก็สตัวพา ที่อัตราการไหล 1.7 มิลลิลิตร/นาที ตรงส่วนที่ปล่อยตัวอย่างเข้าเครื่อง GC (Inlet) ตั้งเป็นโหมด Split-less อุณหภูมิตรงส่วนปล่อยสารเข้าเครื่อง GC ตั้งไว้ที่ 250 °C และอุณหภูมิภายในส่วน Oven ตั้งเริ่มต้นไว้ที่ 40°C นาน 2 นาที หลังจากนั้น ตั้งไว้ที่ 160°C โดยเพิ่มระดับอุณหภูมิที่ 4°C/นาที และเพิ่มขึ้นจนอุณหภูมิสุดท้ายอยู่ที่ 280°C ที่ 50°C/นาที จากนั้นสารต่างๆ ภายในตัวอย่างที่แยก จะเคลื่อนที่เข้าสู่ระบบไร้อากาศ หรือ สุญญากาศของเครื่อง Mass spectrometer ซึ่งจะมีการปล่อยอิเล็คตรอนใส่สารที่เคลื่อนที่เข้าไปทำให้เกิดการแตกตัวเป็นค่าไอออน โดยตั้งค่าโหมด electron ionization mode (EI) อยู่ที่ 70 eV อุณหภูมิของแหล่งไอออนอยู่ที่ 230°C ช่วงค่า mass อยู่ที่ m/z 35-450 แล้วค่าอิเล็กตรอนขององค์ประกอบของสารต่างๆ ที่ถูกทำให้แตกตัว สามารถนำมาระบุชนิดของสารแต่ละตัวได้ โดยนำผลที่แสดงการแตกตัวของสารประกอบต่างๆ มาเทียบกับ NIST Library ของเครื่องและโปรแกรม เพื่อหาองค์ประกอบของสารระเหยที่ให้กลิ่นในมะม่วงแต่ละพันธุ์

องค์ประกอบของสารระเหยที่ให้กลิ่นในมะม่วงแต่ละพันธุ์ เมื่อทำการเทียบกับ NIST Library ของเครื่องและโปรแกรมที่ลงไว้ เลือกข้อมูลที่ได้มาศึกษาเฉพาะสารประกอบเทอร์พีนที่พบในแต่ละพันธุ์ เพื่อดูลักษณะของกลิ่น และคำนวณหาความเข้มข้นของสารประกอบเทอร์พีนแต่ละชนิดที่พบ โดยเปรียบเทียบพื้นที่จุดยอด (Peak area) ของสารประกอบเทอร์พีนที่พบแต่ละชนิดกับความเข้มข้นและพื้นที่จุดยอดของสาร Thiophene (Internal standard) แล้วรายงานผลในหน่วยนาโนกรัมต่อกรัม (ng/g) หลังจากนั้น หาค่าจำเพาะของกลิ่น (Odor activity values, OAV) ของสารประกอบเทอร์พีนแต่ละชนิดด้วยการนำความเข้มข้นของสารประกอบเทอร์พีนแต่ละชนิดที่พบในมะม่วงแต่ละพันธุ์ คำนวณเทียบกับค่า Odor threshold ของสารประกอบเทอร์พีนชนิดนั้นๆ ตามสูตรดังนี้

$$\text{Odor activity values (OAV)} = \frac{\text{ความเข้มข้นของสารประกอบเทอร์พีน (ng/g)}}{\text{Odor threshold ของสารประกอบเทอร์พีน (ng/g)}}$$

## ผลการทดลอง

จากการศึกษาและเปรียบเทียบองค์ประกอบของเทอร์พีนในมะม่วงน้ำดอกไม้ทั้ง 3 พันธุ์ (Table 1) คือ น้ำดอกไม้ น้ำดอกไม้เบอร์ 4 และน้ำดอกไม้สีทองที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HS-GC-MS พบสารประกอบเทอร์พีนทั้งหมด 9 ชนิด แบ่งออกเป็นสารประกอบประเภท Monoterpene 5 ชนิด ได้แก่ β-ocimene, 2-(acetylmethyl) -3-carene, o-cymene,

β-bergamotene และ α-guaiene และสารประกอบประเภท Sesquiterpene 4 ชนิด ได้แก่ caryophyllene, humulene, Germacrene D และ α-farnesene โดยมะม่วงน้ำดอกไม้ และน้ำดอกไม้เบอร์ 4 พบสารประกอบเทอร์พีนทั้งประเภท Monoterpene และ Sesquiterpene เช่น สาร β-ocimene, caryophyllene, humulene และ Germacrene D ในน้ำดอกไม้ และ สาร 2- (acetylmethyl) -3-carene, o-cymene, β-bergamotene, α-guaiene, caryophyllene, humulene, Germacrene D และ α-farnesene ในน้ำดอกไม้เบอร์ 4 ส่วนมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองพบเพียงสารประกอบเทอร์พีนประเภท Sesquiterpene เช่น caryophyllene, humulene และ Germacrene D โดยมีความเข้มข้นและค่า OAV ของสารประกอบเทอร์พีนแต่ละชนิดที่แตกต่างกันในมะม่วงน้ำดอกไม้ทั้ง 3 พันธุ์ปลูกดังแสดงในตารางที่ 1 (Table 1)

**Table 1** Presenting of terpene components in aroma profile of Nam Dok Mai (NDM) mango cultivars

| Compounds | RT (min) | Relative content (ng/gFW)[a] | | | Odor description[b] | Odor threshold (ng/g) | OAV[f] | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | NDM | NDM # 4 | NDM Sithong | | | NDM | NDM # 4 | NDM Sithong |
| **Monoterpene** | | | | | | | | | |
| β-Ocimene | 11.699 | 0.306 | Nf | Nf | Citrus, tropical green | 34[c] | 0.009 | - | - |
| 2- (acetylmethyl) -3-carene | 12.314 | Nf | 0.429 | Nf | Citrus, woody | Nv | - | - | - |
| o-Cymene | 13.255 | Nf | 0.922 | Nf | Woody, minty | Nv | - | - | - |
| β-Bergamotene | 16.439 | Nf | 0.108 | Nf | Citrus, woody | Nv | - | - | - |
| α-Guaiene | 23.784 | Nf | 0.628 | Nf | Balsam, peppery | Nv | - | - | - |
| **Sesquiterpene** | | | | | | | | | |
| Caryophyllene | 24.616 | 6.408 | 7.466 | 1.752 | Sweet woody, clove | 64[d] | 0.100 | 0.117 | 0.027 |
| Humulene | 25.701 | 0.772 | 2.471 | 0.287 | Oceanic-watery | 39[e] | 0.020 | 0.063 | 0.007 |
| Germacrene D | 26.534 | 0.209 | 3.949 | 1.007 | Woody spice | Nv | - | - | - |
| α-Farnesene | 27.004 | Nf | 0.800 | Nf | Citrus, floral, woody green | Nv | - | - | - |

[a]Calculated from internal thiophene
[b]According to the Goodscentscompany web page
[c]Niu, Y., Wang, P., Xiao, Q., Xiao Z., Mao H. and Zhang J., 2020; [d]Cuevas-Glory, L. F., Sauri-Duch, E., Sosa-Moguel, O. and Pino, J. A., 2020; [e]Tamura, H., Boonbumrung, S., Yoshizawa, T. and Varanyanond, W., 2000
[f]Odor activity values were calculated by dividing the concentrations by its odor threshold
Nf = Not found
Nv = Not available odor threshold data

## วิจารณ์ผลการทดลอง

จากองค์ประกอบของเทอร์พีนที่แตกต่างกันในมะม่วงน้ำดอกไม้ทั้ง 3 พันธุ์ จึงทำให้มะม่วงแต่ละพันธุ์มีลักษณะของกลิ่นที่ได้ไม่เหมือนกัน และมีความความเข้มข้นของกลิ่นที่ต่างกัน ถึงแม้ว่า สารประกอบเทอร์พีนบางตัวจะพบในน้ำดอกไม้ทั้ง 3 พันธุ์ เช่น caryophyllene, humulene และ Germacrene D แต่ด้วยความเข้มข้นและค่า OAV ที่ต่างกันตามที่ปรากฏในตารางที่ 1 (Table 1) แสดงให้เห็นว่า มะม่วงน้ำดอกไม้เบอร์ 4 มีความเข้มข้นของสารประกอบเทอร์พีนทั้ง 3 ชนิดมากกว่าพันธุ์น้ำดอกไม้ และน้ำดอกไม้สีทอง และยังมีการตรวจพบองค์ประกอบของเทอร์พีนมากที่สุด รองลงมา คือ น้ำดอกไม้ ซึ่งมีความเข้มข้นและค่า OAV ของสารประกอบเทอร์พีนเช่น Caryophyllene และ Humulene ใกล้เคียงกับน้ำดอกไม้เบอร์ 4 แต่กลับพบองค์ประกอบเทอร์พีนประเภท Monoterpene เพียงชนิดเดียวอย่าง β-ocimene ที่มีการรายงานผลว่า พบในมะม่วงเขียวเสวยของไทย (Tamura et al, 2000) และมะม่วงสายพันธุ์ Ataulfo (Cuevas-Glory et al, 2020) พบสารประกอบ β-ocimene อย่าง trans-β-ocimene เป็นปริมาณมากในมะม่วงแรดและสามฤดู (มณฑาทิพย และคณะ, 2544) ส่วนน้ำดอกไม้สีทองมีค่า OAV ขององค์ประกอบเทอร์พีนน้อยที่สุด แสดงให้เห็นว่าสารประกอบเทอร์พีนประเภท Monoterpenes เป็นสารประกอบหลักที่ส่งผลให้มะม่วงน้ำดอกไม้ 3 พันธุ์ปลูกของไทย มีกลิ่นหอมแรงแตกต่างกันไป

## สรุปผล

องค์ประกอบของเทอร์พีนในมะม่วงน้ำดอกไม้ทั้ง 3 พันธุ์ คือ น้ำดอกไม้ น้ำดอกไม้เบอร์ 4 และน้ำดอกไม้สีทอง เมื่อคำนวณหาความเข้มข้นและค่า OAV ของสารประกอบเทอร์พีนในมะม่วงน้ำดอกไม้แต่ละพันธุ์ สามารถสรุปผลได้ว่า มะม่วงน้ำดอกไม้เบอร์ 4 เป็นมะม่วงที่มีลักษณะกลิ่นที่เด่นชัดที่สุด เนื่องมาจากพบสาร Monoterpene มากที่สุดเช่น 2- (acetylmethyl) -3-carene, o-cymene, β-bergamotene และ α-guaiene มะม่วงน้ำดอกไม้พบเพียง β-ocimene ขณะที่น้ำดอกไม้สีทองเป็นพันธุ์ที่พบเพียงสาร Sesquiterpene เช่น caryophyllene, humulene และ Germacrene D เท่านั้น จึงทำให้มีกลิ่นหอมน้อยกว่าที่สุดในบรรดามะม่วงน้ำดอกไม้ทั้ง 3 พันธุ์

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ และคอมพิวเตอร์สมรรถนะสูง (SICC) กับภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร อาหาร และสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ สำหรับการอนุญาตให้ใช้สถานที่ในการทำการวิจัยและทดลอง

## เอกสารอ้างอิง

มณฑาทิพย์ ยุ่นฉลาด วินัย ปิติยนต์ วิภา โรจนะ เมธากลุ กาญจนารัตน์ ทวีสุขและ ชิดชม ฮิรางะ, 2544, องค์ประกอบทางชีวเคมีและสารให้กลิ่นรสของพันธุ์มะม่วงในประเทศที่มีศักยภาพในอุตสาหกรรมการแปรรูป, รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 39, สาขาอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, หน้า 576- 583.

พีระศักดิ์ ฉายประสาท,2554, การปลูกมะม่วงน้ำดอกไม้สีทอง, ภารกิจโครงการและประสานงานวิจัย, สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, หน้า 1-2.

กาญจนา มหัทธนทวี, 2552, ความสำคัญของกลิ่นรสอาหารกับการตรวจวิเคราะห์กลิ่นอาหารโดยเทคนิค Gas Chromatography-Olfactometry (GC-O), วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม ปีที่ 5 ฉบับที่ 1 มิถุนายน 2552 - พฤษภาคม 2553, หน้า 13-17.

Cuevas-Glory, L.F., Sauri-Duch, E., Sosa-Moguel, O. and Pino, J.A., 2020, Characterization of Odor-active Compounds in Mango ‘Ataulfo’ (*Mangifera indica* L.) Fruit, Chemical Papers, 2020, 74:4025–4032.

Niu, Y., Wang, P., Xiao, Q., Xiao Z., Mao H. and Zhang J., 2020, Characterization of Odor-Active Volatiles and Odor Contribution Based on Binary Interaction: Effects in Mango and Vodka Cocktail, Molecules, 25, 1083.

Tamura, H., Boonbumrung, S., Yoshizawa, T. and Varanyanond, W., 2000, The Volatile Constituents in the Peel and Pulp of a Green Thai Mango, Khieo Sawoei Cultivar (*Mangifera indica* L.), Food Science and Technology Research, 2001, 7 (1), 72–77.

Boonbumrung, S., Tamura, H., Mookdasanit, J., Nakamoto, H., Ishihara, M., Yoshizawa, T. and Varanyanond, W., 2001, Characteristic Aroma Components of the Volatile Oil of Yellow Keaw Mango Fruits Determined by Limited Odor Unit Method, Food Science and Technology Research, 2001, 7 (3), 200–206.

Agricultural Sci. J. 52(1)(Suppl.): 237-240 (2021) ว. วิทย์. กษ. 52(1)(พิเศษ): 237-240 (2564)

# การใช้ ethanol vapor releasing pad เพื่อควบคุมเชื้อจุลินทรีย์และคุณภาพของทุเรียนตัดแต่งพร้อมบริโภค
# Application of Ethanol Vapor Releasing Pad to Control Microbial and Quality of Fresh-cut Durian

**กัลยา ศรีพงษ์[1] ทันวลี ศรีนนท์[1] อภิรดี อุทัยรัตนกิจ[1,2] และ ผ่องเพ็ญ จิตอารีย์รัตน์[1,2,*]**
**Sripong, K.[1], Srinon, T.[1], Uthairatanakij, A.[1,2] and Jitareerat, P.[1,2,*]**

## Abstract

The aim of this study was to investigate the effect of ethanol vapor releasing (EVR) pad on reducing microbial contamination and maintaining the quality of fresh-cut durian. A EVR pad contained 4 and 8 g ethanol/pad was placed on a stencil paper and used for wrapping fresh-cut durian sample (1 pad/locule). Fresh-cut durian (500±10 g) was then packed in a polyethylene terephthalate (PET) clamshell, stored at 4 ºC for 20 days. The EVR pad containing 8 g ethanol/pad showed the best effectiveness on microbial reduction, which it could reduce total bacteria and coliform by 0.8-1 log CFU/g, respectively. On the quality, EVR pad containing 4 and 8 g ethanol/pad did not affect firmness, color of flesh, total soluble solids content and the consumer acceptance (taste and overall appearance). However, EVR pad could reduce the respiration rate and ethylene production in fresh-cut durian.

**Keywords:** ethanol vapor, fresh-cut durian, microbial contamination

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของ ethanol vapor releasing (EVR) pad เพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์และรักษาคุณภาพของทุเรียนตัดแต่งพร้อมบริโภค โดยการหุ้มเนื้อทุเรียนด้วยกระดาษไขที่มี EVR pad ที่บรรจุเอทธานอลปริมาณ 4 และ 8 กรัมต่อซอง โดยใส่จำนวน 1 ซองต่อพู และบรรจุทุเรียนตัดแต่งลงในกล่อง polyethylene terephthalate (PET) ปริมาณ 500±10 กรัมต่อกล่อง เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 20 วัน พบว่าการใช้ EVR pad ปริมาณ 8 กรัมต่อซอง สามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด โดยลดปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดและโคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนในทุเรียนตัดแต่งลงได้ประมาณ 0.8-1 log CFU/g และพบว่าการใช้ EVR pad ปริมาณ 4 และ 8 กรัมต่อซอง ไม่มีผลต่อความแน่นเนื้อ สีของเนื้อทุเรียน ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ และการยอมรับของผู้บริโภค (ด้านรสชาติ และ ลักษณะปรากฏโดยรวม) แต่มีผลช่วยลดอัตราการหายใจ และอัตราการผลิตเอทิธีลีนของทุเรียนตัดแต่งพร้อมบริโภค

**คำสำคัญ:** ไอระเหยเอทานอล ทุเรียนตัดแต่งพร้อมบริโภค การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์

## คำนำ

ปัจจุบันประเทศไทยเป็นผู้ส่งออกทุเรียนรายใหญ่เป็นอันดับต้นๆ ของโลก ปัญหาของการส่งออกทุเรียนคือ ทุเรียนสุกไม่สม่ำเสมอเมื่อถึงปลายทาง ทุเรียนอ่อนหรือสุกงอมเกินไปจนผลแตก ทำให้เกิดปัญหาระหว่างเกษตรกร ผู้ส่งออก และผู้นำเข้ามาโดยตลอด เพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาดังกล่าวทำให้ผู้ประกอบการหันมาส่งออกเนื้อทุเรียนสดตัดแต่งพร้อมบริโภคมากขึ้น อย่างไรก็ตามปัญหาของการผลิตผลไม้ตัดแต่งพร้อมบริโภคคือ การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในระหว่างขั้นตอนการเตรียมผลผลิต เป็นผลทำให้เกิดการเน่าเสีย ส่งผลให้ผลิตผลมีอายุการเก็บรักษาที่สั้นลง การใช้เอทานอลเป็นวิธีหนึ่งที่นิยมนำมาใช้ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ เนื่องจากเอทานอลมีคุณสมบัติรบกวนเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์โดยละลายไขมันที่อยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ และทำให้โปรตีนตกตะกอน (Barker และ Park, 2001) การใช้เอทานอลเป็นวิธีการที่ง่ายต่อการจัดการ ใช้ต้นทุนต่ำ และที่สำคัญเป็นสารในกลุ่มที่มีความปลอดภัย (generally recognized as safe; GRAS) ด้วยคุณสมบัติดังกล่าวจึงมีการนำมาใช้เพื่อควบคุมการเน่าเสียของอาหารอย่างกว้างขวาง ปัจจุบันมีการใช้เอทานอลที่อยู่ในรูปของซองปลดปล่อยไอระเหยเอทานอล หรือ Ethanol vapor releasing pad (ERV) pad ซึ่งเป็นการใช้วัตถุดูดซับเอทานอลแล้วบรรจุในซองที่สามารถควบคุมการซึมผ่านไอของเอทานอลได้ งานวิจัยที่ผ่านพบว่า EVR pad สามารถควบคุมการเน่าเสียและยืดอายุการเก็บรักษาผักและผลไม้หลายชนิด เช่น ส้ม (Noma และคณะ, 2009) ผลม่อน

[1] สาขาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี เขตบางขุนเทียน กรุงเทพ 10150
Division of Postharvest Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangkhuntien, Bangkok 10150, Thailand
[2] ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม กรุงเทพมหานคร 10400
[2] Postharvest Technology Innovation Center, Ministry of Higher Education, Science, Research and Innovation, Bangkok 10400, Thailand
* Corresponding author: pongphen.jit@kmutt.ac.th

(พฤกษ์ และคณะ, 2556) บร็อคโคลี่ (Asoda และคณะ, 2009) และ มะนาว (Opio และคณะ, 2015) เป็นต้น จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของ EVR pad ในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในทุเรียนตัดแต่งพร้อมบริโภคและผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพรวมทั้งการเปลี่ยนแปลงด้านชีวเคมีของเนื้อทุเรียนตัดแต่งพร้อมบริโภค

## อุปกรณ์และวิธีการ

นำผลทุเรียนพันธุ์หมอนทองที่มีระยะการสุกแก่ประมาณ 105-110 วัน หลังดอกบาน น้ำหนักในช่วง 2,000-2,500 กรัมต่อผล มาทำการเร่งให้สุกอย่างสม่ำเสมอด้วยการป้ายขั้วผลด้วยเอทิฟอนความเข้มข้น 52% บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 3 วัน หลังจากนั้นนำทุเรียนมาปอกเปลือกในห้องควบคุมอุณหภูมิที่ 18-20 องศาเซลเซียส

คัดเลือกพูทุเรียนที่มีความสุกและขนาดใกล้เคียงกัน ไม่มีตำหนิที่เกิดจากบาดแผล รอยช้ำ จากการปอกมาทดสอบกับ EVR pad (Antimold-Mild® sachet, Japan) โดยใช้ EVR pad ที่บรรจุเอทานอลปริมาณ 4 หรือ 8 กรัมต่อซอง สอดในกระดาษไขที่ใช้หุ้มทุเรียนจำนวน 1 ซองต่อพู โดยทุเรียนที่หุ้มด้วยกระดาษไขที่ไม่มี EVR pad ใช้เป็นชุดควบคุม บรรจุทุเรียนในกล่อง polyethylene terephthalate (PET) clamshell ขนาด 1,600 มิลลิลิตร จำนวน 500±10 กรัมต่อกล่อง เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 20 วัน บันทึกผลการทดลองทุกๆ 5 วัน โดยสุ่มตัวอย่างทุเรียนเพื่อวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ แบคทีเรียทั้งหมด โคลิฟอร์ม *E. coli Salmonella* spp. ยีสต์และเชื้อรา โดยใช้วิธี Spread plate ในอาหาร Plate Count Agar (PCA), Methylene Blue Agar (EMB), Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) Agar และ Potato Dextrose Agar (PDA) ตามลำดับ และวิเคราะห์คุณภาพของทุเรียน ได้แก่ สีเนื้อ โดยใช้เครื่องวัดสี (Minolta รุ่น CR-300, Japan) ความแน่นเนื้อ โดยใช้เครื่อง Texture analyzer (TA-XT2, America) ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ ด้วยเครื่อง Hand refractometer (ATAGO, Japan) การยอมรับของผู้บริโภคด้านรสชาติและลักษณะปรากฏโดยรวม โดยการประเมินจากผู้ที่ผ่านการฝึกอบรมจำนวน 10 คน ซึ่งผู้ประเมินทั้งหมดได้ผ่านการอบรมจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์แล้ว (5 คะแนน = ชอบมากที่สุด และ 1 คะแนน = ไม่ชอบมากที่สุด) อัตราการหายใจและการผลิตเอทธิลีน โดยใช้เครื่อง Gas chromatograph (Shimadzu, Japan) วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) แต่ละทรีตเมนต์มี 5 ซ้ำ (ถาด)

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลของ EVR pad ต่อการลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์

จากการตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าทุเรียนตัดแต่งทุกทรีตเมนต์มีการปนเปื้อนของเชื้อ total bacteria และ coliforms แต่ไม่พบ *E. coli Salmonella* sp. ยีสต์และเชื้อรา และพบว่าการใช้ EVR pad สามารถลดปริมาณเชื้อ total bacteria และ coliforms ลงได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับทุเรียนชุดควบคุม โดยเฉพาะการใช้ EVR pad ที่บรรจุเอทานอลปริมาณ 8 กรัมต่อซอง สามารถลดเชื้อ total bacteria และ coliforms ได้ดีกว่าการใช้ EVR pad ที่บรรจุเอทานอลปริมาณ 4 กรัมต่อซอง โดยสามารถลดปริมาณเชื้อ total bacteria และ coliforms ลงได้ประมาณ 0.8 – 1 log CFU/g (Figure 1A-1B) การที่ EVR pad สามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ได้ เนื่องจากเอทานอลมีผลรบกวนเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ โดยเอทานอลสามารถละลายไขมันที่อยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์และทำให้โปรตีนตกตะกอน ส่งผลให้เยื่อหุ้มเซลล์เสียสภาพ นอกจากนี้ยังมีผลยับยั้งการขนส่งสารอาหารผ่านทางระบบ membrane-bound ATPases และทำให้ pH ภายในเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ลดลง (Barker และ Park, 2001)

2. ผลของ EVR pad ต่อคุณภาพของทุเรียนตัดแต่งพร้อมบริโภค

การใช้ EVR pad ที่บรรจุเอทานอลปริมาณ 4 และ 8 กรัมต่อซอง ไม่มีผลต่อคุณภาพของทุเรียนตัดแต่งในระหว่างการเก็บรักษา โดยพบว่าสีของเนื้อทุเรียนทุกทรีตเมนต์แทบจะไม่มีการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งแสดงให้เห็นจากค่าความสว่าง (L*) และค่าสีเหลือง (b*) ที่ค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา (Figure 2A-2B) ทั้งนี้อาจมีสาเหตุจากการเก็บรักษาทุเรียนที่อุณหภูมิต่ำ (4°C) ทำให้ช่วยชะลอการเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อทุเรียน ในขณะที่ความแน่นเนื้อของทุเรียนลดลงอย่างรวดเร็ว แต่พบว่าทุเรียนทุกทรีตเมนต์มีค่าความแน่นเนื้อไม่แตกต่างกันทางสถิติ (Table 1) เนื่องจากทุเรียนที่ใช้ผ่านการบ่มให้มีความสุกในระดับที่เท่ากัน สำหรับปริมาณ TSS ของเนื้อทุเรียนทุกทรีตเมนต์มีค่าค่อนข้างคงที่ในช่วง 10 วันแรก หลังจากนั้นมีค่าลดลงเล็กน้อยในระหว่างการเก็บรักษา (Table 1) ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณ total sugar ของเนื้อทุเรียน (ไม่ได้แสดงข้อมูล) ทั้งนี้เนื่องจากน้ำตาลบางส่วนอาจถูกนำไปใช้ในกระบวนการหายใจของพืช (สายชล, 2538) จากการประเมินการยอมรับของผู้บริโภค พบว่าคะแนนการยอมรับด้านรสชาติและลักษณะปรากฏโดยรวมของทุเรียนทุกทรีตเมนต์ลดลงอย่างรวดเร็ว (Table 1) เนื่องจากเนื้อทุเรียนมีความนิ่มและกลิ่นแรงมากขึ้น รวมทั้งมีรสขมเพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษาที่นานขึ้น อย่างไรก็ตามทุเรียนตัดแต่งทั้งที่ใช้ EVR pad และ

ชุดควบคุม มีคะแนนการยอมรับของผู้บริโภคไม่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการใช้ EVR pad ไม่มีผลทำให้ทุเรียนเกิดกลิ่นและรสชาติผิดปกติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

3. ผลของ Ethanol vapor releasing pad ต่ออัตราการหายใจและการผลิตเอทธิลีนของทุเรียนตัดแต่งพร้อมบริโภค

การใช้ EVR pad ที่บรรจุเอทานอลปริมาณ 4 และ 8 กรัมต่อซอง มีผลช่วยลดการผลิตเอทธิลีนและอัตราการหายใจของทุเรียนตัดแต่งพร้อมบริโภค โดยวันแรก (day 0) ของการเก็บรักษา ทุเรียนทุกทรีตเมนต์มีการผลิตเอทธิลีนและการหายใจสูง จากนั้นค่อยๆ ลดลง และพบว่าหลังจากวันที่ 10 ของการเก็บรักษา ทุเรียนที่หุ้มด้วยกระดาษไขที่มี EVR pad มีอัตราการผลิตเอทธิลีนต่ำกว่าทุเรียนในชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Figure 3A) ทั้งนี้เนื่องจากเอทานอลมีผลยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) synthase และ ACC oxidase ในวิถีการสังเคราะห์เอทธิลีนทำให้อัตราการผลิตเอทธิลีนของพืชลดลง (Asoda และคณะ, 2009) นอกจากนี้ยังพบว่าในช่วง 5 วันแรก ทุเรียนที่หุ้มด้วยกระดาษไขที่มี EVR pad มีอัตราการหายใจต่ำกว่าทุเรียนในชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ หลังจากนั้นทุเรียนทุกทรีตเมนต์มีอัตราการหายใจลดลงและมีค่าใกล้เคียงกัน (Figure 3B) สำหรับกลไกของเอทานอลในการลดการอัตราหายใจของพืชเกี่ยวข้องกับการที่เอทานอลไปยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ที่สำคัญในกระบวนการหายใจ ได้แก่ เอนไซม์ในกลุ่ม dehydrogenase ซึ่งจะส่งผลรบกวนกระบวนการไกลโคไลซิสและการถ่ายทอดอิเล็กตรอน ทำให้อัตราการหายใจลดลง (Kern และคณะ, 2009)

## สรุปผล

การใช้ EVR pad ที่บรรจุเอทานอลปริมาณ 4 และ 8 กรัมต่อซอง มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ได้เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ซึ่ง EVR pad ที่บรรจุเอทานอลปริมาณ 8 กรัมต่อซอง สามารถลดเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด ทั้งนี้การใช้ EVR pad ทั้ง 2 ความเข้มข้น ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสีเนื้อ ความแน่นเนื้อ ปริมาณ TSS และการยอมรับของผู้บริโภคด้านรสชาติและลักษณะปรากฏโดยรวม แต่มีผลช่วยลดอัตราการผลิตเอทธิลีน และการหายใจของทุเรียนตัดแต่งพร้อมบริโภค

## คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) ประจำปีงบประมาณ 2562 และผู้วิจัยขอขอบพระคุณหน่วยบริหารและจัดการทุนด้านการพัฒนากำลังคน และทุนการพัฒนาสถาบันอุดมศึกษา การวิจัย และการสร้างนวัตกรรม (บพค.) ที่ให้การสนับสนุนทุนสำหรับนักวิจัย และ United Graduated School of Agricultural Science (UGSAS), Gifu University ที่สนับสนุนเครื่องทางวิทยาศาสตร์

## เอกสารอ้างอิง

พฤกษ์ ชูสังข์ วิโรจน์ แก้วเรือง ชัยรัตน์ เตชะวุฒิพร พนิดา บุญฤทธิ์ธงไชย และเฉลิมชัย วงษ์อารี, 2556, ประสิทธิภาพของไอระเหยเอทานอลต่อการเปลี่ยนแปลงทางคุณภาพของผลหม่อน (*Morus alba* L.) พันธุ์เชียงใหม่ระหว่างการวางจำหน่าย, วารสารวิทยาศาสต์เกษตร, 44 (3): 386-389.

สายชล เกตุษา, 2538, สรีรวิทยาและเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้, โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมแห่งชาติ, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม, 364 หน้า.

Asoda, T., Terai, H., Kato, M. and Suzuki, Y., 2009, Effects of Postharvest Ethanol Vapor Treatment on Ethylene Responsiveness in Broccoli, Postharvest Biology and Technology, 52: 216-220.

Barker, C. and Park, S.F., 2001, Sensitization of *Listeria monocytogenes* to Low pH, Organic acids, and Osmotic Stress by Ethanol, Applied and Environmental Microbiology, 67: 1594-1600.

Kern, K.A., Pergo, E.M., Kagami, F.L., Arraes, L.S., Sert, M.A. and Ishii-Iwamoto, E.L., 2009, The Phytotoxic Effect of Exogenous Ethanol on *Euphorbia heterophylla* L., Plant Physiology and Biochemistry, 47: 1095-1101.

Noma, Y.Y., Suzuki, Y., Terai, H. and Yamauchi, N., 2009, Effects of Postharvest Ethanol Vapor Treatment on Quality of Sudachi (*Citrus suchachi* hort ex, shurai) Fruit, Food preservation Science, 35(4): 187-193.

Opio, P., Jitareerat, P., Pongprasert, N., Wongs-Aree, C., Suzuki, Y. and Srilaong, V., 2015, Postharvest Ethanol Vapor Treatment Delays Chlorophyll Degradation and Maintains Quality of Thai lime (*Citrus aurantifolia* Swingle cv. Paan) Fruit, Agricultural Science Journal, 46(3): 173-176.

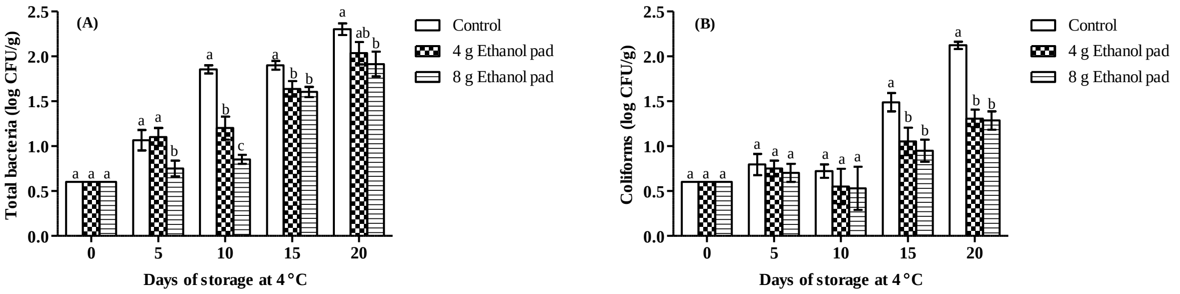



**Figure 1** Total bacteria (A) and coliforms (B) populations of fresh-cut durian treated with 4 and 8 g ethanol vapor releasing pad during storage at 4°C for 20 days. Non-treated fresh-cut durian was a control.

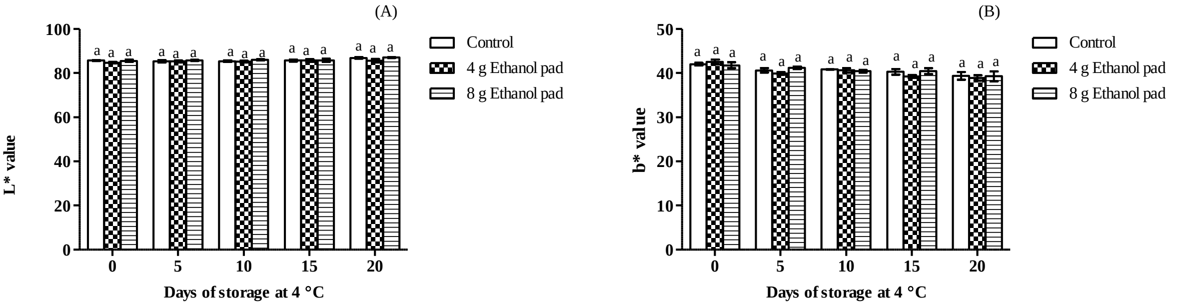



**Figure 2** L* (A) and b* (B) values of fresh-cut durian treated with 4 and 8 g ethanol vapor releasing pad during storage at 4°C for 20 days. Non-treated fresh-cut durian was a control.

**Table 1** Firmness, TSS value, acceptance of consumer for taste and appearance of fresh-cut durian treated with 4 and 8 g ethanol vapor releasing pad. Measurement were taken at the initial day (day 0) and after storage at 4°C for 10 and 20 days. Non-treated fresh-cut durian were the control.

| Treatment | Firmness (N) | | | TSS (°Brix) | | | Taste (score) | | | Appearance (score) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | D0 | D10 | D20 | D0 | D10 | D20 | D0 | D10 | D20 | D0 | D10 | D20 |
| Control | 4.64 | 3.27 | 2.37 | 31.31 | 30.93 | 22.87 | 5.00 | 2.30 | 2.00 | 5.00 | 3.25 | 2.50 |
| 4 g Ethanol pad | 4.35 | 2.82 | 2.42 | 32.62 | 30.93 | 23.00 | 5.00 | 2.80 | 2.30 | 5.00 | 3.60 | 2.80 |
| 8 g Ethanol pad | 4.35 | 3.23 | 2.60 | 32.31 | 32.18 | 22.68 | 5.00 | 3.00 | 2.60 | 5.00 | 3.50 | 2.90 |
| F-test | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |

ns: means within the column are non-significant difference at $p<0.05$.

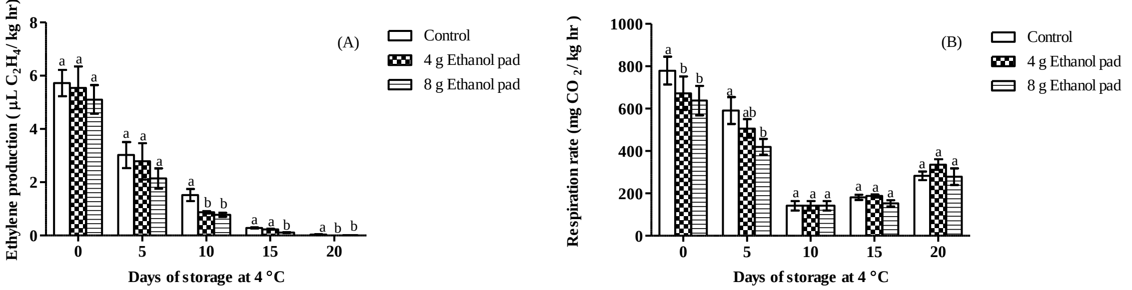



**Figure 3** Ethylene production (A) and respiration rate (B) of fresh-cut durian treated with 4 and 8 g ethanol vapor releasing pad during storage at 4°C for 20 days. Non-treated fresh-cut durian was a control.

# ผลของการใช้แป้งมันเทศสีส้มและแป้งข้าวฟ่างต่อลักษณะคุณภาพของเส้นพาสต้าปราศจากกลูเตน
# Effect of Orange-fleshed Sweet Potato and Sorghum Flour on Quality Characteristics of Gluten-free Pasta

ญาดา ทับทิม[1] ภัทรภรณ์ อุตมะโน[1] นาถสุดา ขจรพงษ์ศรี[1] และ ดวงใจ มาลัย[1]
Tubtim, Y.[1], Utmano, P.[1], Karjohnpongsri, N.[1] and Malai, D.[1]

## Abstract

Pasta is one popular main dishes commonly consumed. However, it produces negative effects on health for people with coeliac disease. Therefore, they must consume gluten-free pasta. This research aimed to study the suitable ratio of orange-fleshed sweet potato flour (PF) to sorghum flour (SF) of gluten-free pasta formula. The ratio of PF to SF was divided into 3 levels: 90:10, 80:20 and 70:30. The findings revealed that the 3 formulas of pasta indicated no difference in chemical composition (p <0.05). The color values (L*, a*, b*) increased as PF content increased. Cooking quality (% cooking yield and % cooking loss), texture (tensile strength, and % total elongation at maximum force) and sensory quality (toughness, smoothness, and liking scores of all attributes) of the 3 formulas did not differ. All pasta formulas had less toughness and smoothness scores than the commercial pasta made from wheat flour.

**Keywords:** orange-fleshed sweet potato, sorghum flour, pasta, gluten

## บทคัดย่อ

เส้นพาสต้าเป็นอาหารในอาหารมื้อหลักที่นิยมบริโภคทั่วไป แต่จะมีผลเสียต่อสุขภาพของผู้ที่แพ้กลูเตน ดังนั้นเส้นพาสต้าที่คนกลุ่มนี้จะบริโภคได้จึงต้องปราศจากกลูเตน งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสัดส่วนของแป้งมันเทศสีส้มและแป้งข้าวฟ่างที่เหมาะสมในการผลิตเส้นพาสต้าปราศจากกลูเตน โดยแปรสัดส่วนของแป้งมันเทศต่อแป้งข้าวฟ่างเป็น 3 ระดับ คือ 90:10, 80:20 และ 70:30 ผลการศึกษาพบว่าเส้นพาสต้าทั้ง 3 สูตร มีองค์ประกอบหลักของอาหารไม่แตกต่างกัน (p ≤ 0.05) แต่มีค่าสี L* a* b* เพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณแป้งมันเทศเพิ่มขึ้น คุณภาพการหุงต้ม (ร้อยละของน้ำหนักหลังต้ม และร้อยละของปริมาณของแข็งที่สูญเสียระหว่างต้ม) เนื้อสัมผัส (ค่าความต้านแรงดึง และร้อยละของความยืดตัว) และคุณภาพทางประสาทสัมผัส (ความเหนียว ความเรียบเนียน และความชอบในด้านต่างๆ) ของทั้ง 3 สูตรไม่แตกต่างกัน เส้นพาสต้าทุกสูตรมีคะแนนความเหนียวและความเรียบเนียนน้อยกว่าเส้นพาสต้าทางการค้าที่ผลิตจากแป้งสาลี

**คำสำคัญ:** แป้งมันเทศสีส้ม แป้งข้าวฟ่าง เส้นพาสต้า กลูเตน

## คำนำ

เส้นพาสต้าเป็นผลิตภัณฑ์อาหารในกลุ่มอาหารหลักที่นิยมมากในแถบยุโรปและอเมริกา รวมทั้งประเทศไทยด้วย เส้นพาสต้ามีส่วนประกอบหลักคือแป้งซาโมลินา (Semolina) และน้ำ แป้งซาโมลินามีปริมาณโปรตีนและกลูเตนสูง ซึ่งทำให้เกิดโดที่มีความเหนียวแต่ไม่ยืดง่าย สามารถอัดขึ้นรูปได้ดี แต่สำหรับผู้ที่เป็นโรคแพ้กลูเตน (Coeliac disease) จะไม่สามารถกินอาหารที่มีกลูเตนได้ โดยประชากรกลุ่มนี้มีถึงร้อยละ 1 ของประชากรโลก (วัชราภรณ์, 2562) มันเทศ (Sweet potato) หรือ *Ipomoea batatus L.* เป็นพืชหัวที่ปลูกได้ทุกภาคของไทย มีคุณค่าทางโภชนาการ ราคาถูก และไม่มีกลูเตน โดยมันเทศสีส้มมีเบต้า-แคโรทีน (โพรวิตามินเอ) สูงที่สุดเมื่อเทียบกับมันเทศสีอื่น จึงนำมาใช้ในการป้องกันการขาดวิตามินเอ ช่วยต้านอนุมูลอิสระ เบาหวาน รวมถึงความดันโลหิตสูง (Menon และคณะ, 2016) จากการศึกษาของ Kolaric และคณะ (2019) พบว่านำมันเทศสีส้มมาทดแทนแป้งสาลีจะส่งผลต่อเนื้อสัมผัสของพาสต้า จึงมีแนวคิดที่จะใช้ข้าวฟ่าง (Sorghum) ซึ่งมีองค์ประกอบสำคัญคือกลุ่มโปรตีนโพรลามิน (Prolamin) ที่สามารถรวมตัวกันเกิดพันธะไดซัลไฟด์ โดยมีโปรตีนคาฟิริน (Kafirin) ที่ช่วยให้โดมีสมบัติด้าน Extensional viscosity คล้ายกับโปรตีนกลูเตน (พิลัยพร และคณะ, 2554) จึงเป็นทางเลือกสำหรับผู้ที่แพ้กลูเตน การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ

[1] ภาควิชาโภชนวิทยา คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล 420/1 ถ.ราชวิถี แขวงทุ่งพญาไท เขตราชเทวี กทม. 10400
[1] Department of Nutrition, Faculty of Public Health, Mahidol University 420/1 Ratchawithi Rd., Thung Phaya Thai Subdistrict, Ratchathewi District, Bangkok 10400

ศึกษาสัดส่วนของแป้งมันเทศสีส้ม (PF) และแป้งข้าวฟ่าง (SF) ที่เหมาะสมในด้านคุณลักษณะทางเคมี กายภาพ และประสาทสัมผัสของเส้นพาสต้าปราศจากกลูเตน

## อุปกรณ์และวิธีการ

มันเทศสีส้มซื้อจากตลาดสี่มุมเมือง จ.ปทุมธานี นำมาเตรียมเป็นแป้ง PF ใช้วิธีดัดแปลงจาก Thuy และคณะ (2020) โดยนำมาล้างด้วยน้ำให้สะอาด ปอกเปลือกและหั่นเป็นชิ้นบาง (หนา 2 มม.) นำไปลวกในน้ำเดือด 2 นาที แช่น้ำเย็นทันที แล้วสะเด็ดน้ำ เรียงบนตะแกรง นำไปอบแห้งด้วย hot air dryer ที่อุณหภูมิ 60$^{\circ}$C นาน 8 ชม. หรือจนความชื้นไม่เกิน ร้อยละ 12 นำมาโม่แล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 70 เมช แล้วใส่กล่องพลาสติกชนิด PP ปิดฝาเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อนำไปศึกษาต่อไป สำหรับแป้งข้าวฟ่าง (SF) ใช้ตรา Bob's Red Mill

1. การศึกษาสมบัติทางกายภาพและเคมีของแป้ง วัดขนาดอนุภาคของ PF ด้วยเครื่องเขย่าตะแกรงร่อน รุ่น Octagon Digital 2000 ความแรงในการเขย่าที่ระดับ 7 เป็นเวลา 10 นาที การวัดค่าสี ใช้ระบบ CIE L*, a*, b* ด้วยเครื่อง ColorFlex EZ spectrophotometer แต่ละตัวอย่างวัด 3 ครั้ง การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารและขนาดอนุภาคของ PF การวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี (proximate analysis) ได้แก่ ความชื้นด้วยวิธี hot air oven โปรตีนด้วยวิธี Kjeldahl method ไขมันด้วยวิธี Soxhlet กากใยอาหาร (Crude fiber) เถ้า (Crude ash) และคาร์โบไฮเดรตด้วยวิธี By difference ตามวิธี AOAC (1990) รายงานผลเป็นร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง

2. การศึกษาสัดส่วนของ PF และ SF ของเส้นพาสต้า แปรสัดส่วนของ PF และ SF เป็น 3 ระดับ คือ 90:10, 80:20 และ 70:30 (PS90, PS80, PS70 ตามลำดับ) วิธีและสูตรการผลิต ดัดแปลงจาก Kolaric และคณะ (2020) โดยมีส่วนผสมคือ PF, SF, ไข่ไก่ น้ำ แซนแทนกัม และเวย์โปรตีนร้อยละ 46.4 5.2 23.8 0.7 และ 6.5 ตามลำดับ (สำหรับสูตร PS90) มีขั้นตอนการผลิตเส้นพาสต้าคือ นำแป้งที่ร่อนแล้วมาเทผสมให้เข้ากันกับส่วนผสมอื่น นวดด้วยมือเป็นเวลา 10 นาที พักแป้งโด 30 นาที แล้วรีดด้วยเครื่องรีดเส้น จนถึงเบอร์ 4 ตัดเส้นให้มีความยาว 25 ซม. ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที นำไปอบที่ 40$^{\circ}$C 1 ชม. 80$^{\circ}$C 2 ชม. และ 40$^{\circ}$C 2 ชม. จนมีความชื้นไม่เกิน ร้อยละ 8 แล้วเก็บไว้ในถุงพลาสติก ชนิด PP

3. การศึกษาสมบัติทางกายภาพ เคมี และประสาทสัมผัสของเส้นพาสต้า วัดค่าสี (ใช้วิธีเดียวกับข้อ 1) วัดคุณภาพการหุงต้มของเส้น โดยวัดค่าร้อยละของน้ำหนักหลังต้ม (Cooking yield) ปริมาณของแข็งที่สูญเสีย (Cooking loss) (นรินทร์ และวิยดา, 2560) และเวลาที่เหมาะสมในการต้ม (Optimum cooking time) (Kolaric และคณะ, 2020) การวัดเนื้อสัมผัสโดยวัดความแข็งแรง (Tensile strength) และร้อยละของความยืดตัว (%Total elongation at maximum force) ของเส้นด้วยเครื่อง Texturometer ยี่ห้อ LLOYD material testing รุ่น TA1 หัววัด Spaghetti grip วิเคราะห์ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า เส้นใยหยาบ และคาร์โบไฮเดรต (เช่นเดียวกับข้อ 1) และวิเคราะห์ค่าพลังงานด้วยเครื่อง Bomb calorimeter ยี่ห้อ IKA การประเมินทางประสาทสัมผัสใช้การทดสอบแบบ Scoring test สำหรับประเมินความเหนียว และความเรียบเนียน ด้วยสเกล 5 ระดับ (5 คือมากที่สุด และ 1 คือน้อยที่สุด) ทดสอบหาความชอบด้วย 9-Point hedonic scale สำหรับประเมินสี กลิ่นรส ความเหนียว ความเรียบเนียน และความชอบโดยรวม ใช้ผู้ทดสอบชนิดกึ่งฝึกฝนจำนวน 29 คน (นักศึกษาและบุคลากร คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล) ผู้ทดสอบได้รับตัวอย่างที่ลวกแล้ว จัดใส่ถ้วยตัวอย่างละ 10 กรัม สำหรับการทดสอบหาความชอบ ตัวอย่างจะราดด้วยซอสคาร์โบนารา 2 ช้อนโต๊ะ จัดตัวอย่างให้ผู้ทดสอบแบบสมดุล (Balance order) โดยเส้นพาสต้า (ปกติ) ทางการค้ายี่ห้อ Agnesi

การวิเคราะห์ทางสถิติ ใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test ที่ $p<0.05$ โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์สถิติ SPSS version 18 ทดลอง 3 ซ้ำ แสดงผลเป็น mean $\pm$ SD

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ขนาดอนุภาคของ PF พบว่าส่วนใหญ่มีขนาดไม่ใหญ่กว่า 100 เมช โดยมีร้อยละ 80.21 และสัดส่วนที่มากที่สุดคือขนาดอนุภาค 100 เมช ร้อยละ 56.28 (ไม่แสดงผล) ค่าสีของ PF มีค่า L*, a*, b* เท่ากับ 88.60$\pm$0.12, 5.57$\pm$0.02, 20.51$\pm$0.04 ตามลำดับ และของ SF เท่ากับ 87.34$\pm$0.12, 1.10$\pm$0.02, 19.84$\pm$0.20 ตามลำดับ (ไม่แสดงผล) พบว่า PF มีค่าสีทุกค่าสูงกว่า SF โดยเฉพาะค่า a* ที่บอกความเป็นสีแดงมีความแตกต่างกันอย่างมาก ($p\leq0.05$) ปริมาณความชื้น ไขมัน โปรตีน เส้นใยหยาบ เถ้าและคาร์โบไฮเดรตของ PF มีร้อยละ 5.28$\pm$0.32, 1.24$\pm$0.37, 5.60$\pm$0.35, 2.94$\pm$0.59, 1.66$\pm$0.10, 86.22$\pm$0.52 ตามลำดับ และของ SF มีร้อยละ 8.88$\pm$1.76, 4.22$\pm$0.36, 11.43$\pm$0.79, 0.94$\pm$0.07, 1.04$\pm$0.20, 74.43$\pm$1.73 ตามลำดับ (ไม่แสดงผล)

เส้นพาสต้าทั้ง 3 สูตรมีค่า L*, a*, b* แตกต่างกัน โดย PS70 มีค่า L* ไม่แตกต่างจากสูตรอื่น และมีค่า a* และ b* ต่ำ

ที่สุด (Table 1) ทั้งนี้เป็นผลจากปริมาณ PF ที่ลดลง ส่งผลต่อค่าความเป็นสีแดง และความเป็นสีเหลืองของตัวอย่างตามลำดับ โดยรงควัตถุใน PF ที่ให้สีส้มคือบีต้า-แคโรทีน จึงทำให้ PS90 มีค่าความเป็นสีแดงและค่าความเป็นสีเหลืองสูงที่สุด ร้อยละน้ำหนักหลังการหุงต้ม ปริมาณของแข็งที่สูญเสียระหว่างต้มของเส้นพาสต้าทั้ง 3 สูตรไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเกิดจากปริมาณเม็ดแป้งของทุกสูตรแตกต่างกันไม่มาก เมื่อเพิ่มปริมาณข้าวฟ่างมาทดแทน โดยมีปริมาณของแข็งที่สูญเสียระหว่างต้มเฉลี่ยอยู่ในช่วงร้อยละ 6-7 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ของพาสต้าปกติ คือมีค่าไม่เกินร้อยละ 8 (Dick และ Youngs, 1988) แต่เวลาที่เหมาะสมในการต้มพบว่า PS70 ใช้เวลามากที่สุดคือ 10 นาที เนื่องจาก SF มีปริมาณอะไมโลสสูงกว่า PF ปริมาณอะไมโลสที่มีมากมีผลต่อโครงสร้างของเม็ดแป้งของ SF คือเกิดเป็นร่างแหที่แข็งแรง ส่งผลต่อการพองตัวและการละลายต่ำ (จิรนาถ และสุกัญญา, 2559) จึงต้องใช้เวลาในการต้มที่นานขึ้น ผลการวัดเนื้อสัมผัสพบว่าตัวอย่างทั้ง 3 สูตรเมื่อเทียบกับตัวอย่างทางการค้าในด้านความแข็งแรงและร้อยละของความยืดตัวไม่แตกต่างกัน (Table 2) โดยค่าความแข็งแรงบอกถึงความต้านทานต่อแรงดึงในทิศทางตรงกันข้าม ทั้งนี้อาจเป็นผลจากส่วนประกอบในสูตร ได้แก่ แซนแทนกัมมีสมบัติให้ความหนืดสูง เวย์โปรตีนที่ทำให้พันธะระหว่างแป้งและโปรตีนมีความแข็งแรง (Ungureanu-luga และคณะ, 2020) ส่วนร้อยละของความยืดตัวมีค่าไม่แตกต่างจากตัวอย่างทางการค้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้อาจเกิดจากเม็ดแป้งของข้าวฟ่างถูกล้อมรอบด้วยโปรตีนคาฟิริน ซึ่งมีสมบัติในการจับน้ำ และทำให้มีสมบัติ extensional viscosity จึงส่งผลต่อการยืดตัวของพาสต้าคล้ายกลูเตน องค์ประกอบหลักทางเคมีของเส้นพาสต้าทั้ง 3 สูตรไม่แตกต่างกันทางสถิติ ยกเว้นค่าความชื้น ที่พบว่า PS90 มีค่าสูงที่สุด (Table 3) และ PS มีค่าพลังงานต่ำสุด ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสในด้านเนื้อสัมผัสของเส้นพาสต้าเทียบกับตัวอย่างทางการค้าพบว่า เส้นพาสต้าปราศจากกลูเตนทั้ง 3 สูตรมีค่าความเหนียวและความเรียบเนียนน้อยกว่า แต่ทั้ง 3 สูตรไม่แตกต่างกัน ส่วนผลการทดสอบความชอบพบว่าทั้ง 3 สูตรได้รับคะแนนความชอบในด้านสี กลิ่นรส ความเหนียว ความเรียบเนียน และความชอบโดยรวมไม่แตกต่างกัน (Table 4) โดยคะแนนความชอบโดยรวมเฉลี่ยอยู่ระหว่างชอบเล็กน้อยถึงเฉยๆ ข้อเสนอแนะควรศึกษาเพิ่มในเรื่องการพัฒนาเนื้อสัมผัสของเส้นให้มีความเหนียวและเรียบเนียนมากขึ้น เช่น การเตรียม PF ให้มีขนาดอนุภาคที่เล็กลง

## สรุปผล

เส้นพาสต้าทุกสูตรไม่มีความแตกต่างกันในองค์ประกอบหลักทางเคมียกเว้น ค่าความชื้นที่ PS90 มีมากที่สุด และมีค่าพลังงานต่ำที่สุด ทุกสูตรได้รับคะแนนการยอมรับไม่แตกต่างกัน ดังนั้นสูตรที่ควรนำไปพัฒนาต่อคือ PS90 เนื่องจากมีปริมาณ PF และเบต้า-แคโรทีนสูงที่สุด

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณภาควิชาโภชนวิทยา บุคลากรและนักศึกษาคณะสาธารณสุขศาสตร์ ม.มหิดล ที่ให้ความร่วมมืออย่างดียิ่งในการเป็นผู้ทดสอบชิม ตลอดจนอาจารย์และเจ้าหน้าที่คณะสาธารณสุขศาสตร์ ม.มหิดล ที่ให้การสนับสนุน

## เอกสารอ้างอิง

จิรนาค บุญคง และสุกัญญา ส่งแสง, 2559, การใช้แป้งข้าวฟ่างแทนซาโมลินาบางส่วนเพื่อใช้ในการผลิตพาสต้า, วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 42(2):281-284.

จิรนาถ ทิพย์รักษา และสุภักษร นุดวงแก้ว, 2551, พาสต้าเสริมเส้นใยจากแป้งถั่วแดงหลวง, วารสารเทคโนโลยีการอาหารมหาวิทยาลัยมหาสารคาม, 4(1):16-22.

นรินทร์ เจริญพันธ์ และวิยดา กวานเหียน, 2560, ผลของแป้งจากเศษทิ้งของทุเรียนต่อคุณภาพของเส้นพาสต้าปราศจากกลูเตน [วิทยานิพนธ์] มหาวิทยาลัยบูรพา, ชลบุรี, 73 หน้า.

พิลัยพร ดื่มโชค และมาศอุบล ทองงาม, 2554, การใช้แป้งข้าวฟ่างทดแทนแป้งสาลีในผลิตภัณฑ์บะหมี่, ใน: การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49, สาขาอุตสาหกรรมเกษตร, สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย, กรุงเทพฯ, หน้า 613-620.

วัชราภรณ์ สนทนา, 2562, ฟลาวมันสำปะหลังแบรนด์ไทยไร้กลูเตน [สืบค้น], https://www.nstda.or.th/th/news/12600-sci-update-20190613 [2/November/20].

Dick, J.W. and Youngs, V.L., 1988, Evaluation of Durum Wheat, Semolina, and Pasta in The United States. In Fabriani, G. and Lintas, C. (Eds.) Durum Wheat Chemistry and Technology, St. Paul: AACC Press.

Kolaric, L., Minarovicova, L., Laukova, M., Karovicova, J., and Kohajdova, Z., 2019, Pasta Noodles Enriched with

Sweet Potato Starch: Impact on Quality Parameters and Resistant Starch Content, Journal of Texture Studies, 51:464-74, p.1-11.

Menon, R., Padmaja, G., Jyothi, A.N., Asha, V., and Sajeev, M.S., 2016, Gluten-Free Starch Noodle from Sweet Potato with Reduced Starch Digestibility and Enhanced Protein Content, Journal of Food Science and Technology, 53(9):3532-3542.

The Association of Official Analytical Chemistry, Inc., 1990, Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical Chemistry, Vol.2, 15th, Ed., United States, 1220 p.

Thuy, N.M., Chi, N.T.D., Huyen, T.H.B., and Tai, N.V., 2020, Orange-Fleshed Sweet Potato Grown in Vietnam as Potential Source for Making Noodles, Food Research, 4(3):712-721.

Ungureanu-Iugaa, M., Dimianb, M., and Mironeasa, S., 2020, Development and Quality Evaluation of Gluten-Free Pasta with Grape Peels and Whey Powders, Journal of Food Science and Technology, 130:1-9.

**Table 1** Color and cooking quality of pasta (mean ± SD)

| Sample | L* | a* | b* | Cooking yield (%) | Cooking loss (%) | Optimum cooking time (min.) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| PS90 | 60.89±0.75$^{b}$ | 18.77±0.41$^{c}$ | 53.21±0.29$^{c}$ | 133.46±1.92$^{ns}$ | 6.99±0.71$^{ns}$ | 9.0 |
| PS80 | 59.70±1.79$^{a}$ | 17.91±1.06$^{b}$ | 50.40±1.06$^{b}$ | 132.09±3.80 | 6.46±0.71 | 9.0 |
| PS70 | 60.06±0.16$^{ab}$ | 12.68±0.09$^{a}$ | 44.13±0.24$^{a}$ | 135.55±3.28 | 7.20±0.99 | 10.0 |

Means in the same column with different superscripts are different ($p \leq 0.05$).

**Table 2** Texture of pasta from texturometer and sensory test (n = 29) ns = not significant

| Sample | Tensile strength (kgf/cm$^{2}$) | %Total elongation at maximum force | Scoring test | |
|---|---|---|---|---|
| | | | Toughness | Smoothness |
| Commercial | 0.46±0.15$^{ns}$ | 19.30±0.39$^{ns}$ | 3.38±0.82$^{b}$ | 4.28±0.84$^{b}$ |
| PS90 | 0.41±0.10 | 19.55±0.30 | 2.31±0.85$^{a}$ | 2.97±0.98$^{a}$ |
| PS80 | 0.39±0.19 | 19.60±0.20 | 2.10±0.82$^{a}$ | 2.48±0.91$^{a}$ |
| PS70 | 0.33±0.91 | 19.69±0.24 | 2.00±0.96$^{a}$ | 2.32±0.94$^{a}$ |

Means in the same column with different superscripts are different ($p \leq 0.05$). ns = not significant

**Table 3** Chemical composition of pasta (%DB) and energy (kcal/ 100 g)

| **Sample** | **Moisture** | **Fat** | **Protein** | **Crude fiber** | **Ash** | **Carbohydrate** | **Energy** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| PS90 | 7.16±0.07$^{b}$ | 1.48±0.25$^{ns}$ | 16.87±0.21$^{ns}$ | 2.70±0.33$^{ns}$ | 2.01±0.15$^{ns}$ | 72.48±0.15$^{ns}$ | 417.05±1.88$^{a}$ |
| PS80 | 6.72±0.15$^{a}$ | 1.42±0.16 | 16.65±0.55 | 1.98±0.33 | 1.49±0.92 | 73.72±0.75 | 419.49±0.81$^{ab}$ |
| PS70 | 6.67±0.18$^{a}$ | 1.67±0.23 | 17.33±1.04 | 1.72±1.11 | 1.62±0.77 | 72.71±1.11 | 422.91±0.75$^{b}$ |

Means in the same column with different superscripts are different ($p \leq 0.05$). ns = not significant

**Table 4** Liking score of pasta (n=29)

| Sample | Color | Flavor | Toughness | Smoothness | Overall |
|---|---|---|---|---|---|
| PS90 | 6.55±1.62$^{ns}$ | 7.03±1.30$^{ns}$ | 5.55±1.27$^{ns}$ | 5.59±1.55$^{ns}$ | 6.38±1.32$^{ns}$ |
| PS80 | 6.97±1.27 | 6.59±1.66 | 5.69±1.71 | 5.83±1.79 | 6.41±1.43 |
| PS70 | 6.66±1.47 | 6.31±1.28 | 5.17±1.71 | 5.66±1.80 | 5.90±1.38 |

ns = not significant

# การผลิตโยเกิร์ตข้าวดำ
# Yoghurt Production from Black Rice

ปุญญิศา วัฒนะชัย[1] สุรีรัตน์ ราศรีดี[1] และ หยาดรุ้ง สุวรรณรัตน์[2]
Wattanachai, P.[1], Rasidee, S.[1] and Suwannarat, Y[2]

## Abstract

This research studied the production of black rice yoghurt variety Maepaya tongdum. A different level (1:1, 1:5 and 1:10 %w/w) of rice and contain carrageenan 0.1-0.5 g during ferment at 45 °C and the shelf life of the yoghurt production at 4 °C for 21 days, including volume of anthocyanin in yoghurt. It was found the ratio of rice content and stabilizer agent was no difference in sensory quality (color, smell, taste, texture and total acceptability). When stored for 21 days, the rice yoghurt formula 1:1 with 0.1 g of carrageenan gave the volume of anthocyanin 3.78±1.09 mg/L. Total acid in lactic acid form 1.34 % (w/v), total soluble solid 2.20°Brix and lactic acid bacteria 1.77x$10^9$ CFU/g. The storage of yoghurt product for 21 days still give most benefit for body.

**Keywords:** Maepaya Tongdum black rice, Yoghurt

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการผลิตโยเกิร์ตข้าวดำพันธุ์ “แม่พญาทองดำ” โดยแปรผันอัตราส่วนข้าวต่อน้ำ ในอัตราส่วน 1:1, 1:5 และ 1:10 (น้ำหนักต่อปริมาตร) และปริมาณสารให้ความคงตัว 0.1-0.5 กรัม ในระหว่างการบ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 วัน รวมถึงปริมาณสารแอนโทไซยานินในโยเกิร์ต พบว่าอัตราส่วนปริมาณข้าวและสารให้ความคงตัวไม่มีผลต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัส (สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม) เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 21 วัน พบว่าโยเกิร์ตข้าวในอัตราส่วน 1:1 ที่มีปริมาณคาราจีแนน 0.1 กรัม ให้ปริมาณสารแอนโทไซยานิน 3.78±1.09 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดแลคติก 1.34 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ 2.20 องศาบริกซ์ และมีปริมาณแบคทีเรียแลคติกเท่ากับ 1.77x$10^9$ CFUต่อกรัม ซึ่งการเก็บรักษาโยเกิร์ตเป็นเวลา 21 วัน จะยังคงคุณประโยชน์ของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตได้

**คำสำคัญ:** ข้าวดำแม่พญาทองดำ โยเกิร์ต

## คำนำ

โยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพที่ได้รับความนิยมจากผู้บริโภคที่ใส่ใจในสุขภาพ เนื่องจากมีคุณประโยชน์ต่อร่างกายมากมาย โยเกิร์ต (yoghurt) เป็นผลิตภัณฑ์นมที่เกิดจากการหมักร่วมกันของแบคทีเรีย *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 353, 2556) โยเกิร์ตข้าวเป็นอีกหนึ่งอาหารเพื่อสุขภาพ เนื่องจากข้าวเป็นพืชที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง อาทิเช่น ไฟเบอร์ วิตามินหลากหลายชนิด รวมถึงแร่ธาตุที่สำคัญต่างๆ ในประเทศไทยมีการปลูกข้าวหลากหลายพันธุ์ โดยเฉพาะข้าวมีสี เช่น ข้าวไรซ์เบอรี่ ข้าวสังข์หยด ข้าวหอมนิล เป็นต้น ข้าวมีสีส่วนใหญ่เหล่านี้เป็นข้าวพันธุ์พื้นเมืองซึ่งมีคุณสมบัติที่เฉพาะตัว ภาคตะวันออก มีข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่มีชื่อว่า ข้าวดำแม่พญาทองดำ (Oryza sativa L) หรือข้าวหอมแม่พญาทองดำ เป็นข้าวไร่พันธุ์พื้นเมืองดั้งเดิมของกลุ่มชาวชองที่อาศัยในจังหวัดจันทบุรี เดิมชื่อ “ข้าวญา” เนื่องจากมีคุณสมบัติเป็นยาระบาย ลักษณะเป็นข้าวที่มีเมล็ดสีดำเข้ม เนื่องจากมีสารแอนโทไซยานิน (anthocyanin) หรือสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณสูง (นภาพร, 2555) จึงมีความสนใจในการนำข้าวดำแม่พญาทองดำมาแปรรูปเป็นโยเกิร์ต โดยศึกษาปริมาณข้าวและสารให้ความคงตัวที่เหมาะต่อการผลิตโยเกิร์ตข้าวชนิดคงตัว รวมทั้งศึกษาอายุการเก็บรักษาต่อคุณภาพของโยเกิร์ตและปริมาณสารแอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตข้าวจากข้าวดำแม่พญาทองดำ เพื่อให้ผู้บริโภคได้รับประโยชน์และใช้เป็นแนวในการเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ข้าวพื้นเมืองอีกทั้งยังเป็นส่วนช่วยในการอนุรักษ์พันธุ์ข้าวพื้นเมืองดังกล่าวอีกทางหนึ่งด้วย

[1] ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จ.ชลบุรี 20131
Department of Microbiology Faculty of Science, Burapha University Chonburi Province 20131
[2] คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี จ. จันทบุรี 22000
[2] Faculty of Agricultural Technology, Rambhai Barni Rajabhat University Chantaburi Province 22000

## อุปกรณ์และวิธีการ

ข้าวดำพันธุ์แม่พญาทองดำ ได้รับความอนุเคราะห์จากคณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี จังหวัดจันทบุรี ปั่นเป็นผงละเอียด ผสมน้ำสะอาดในอัตราส่วน 1:1 1:5 และ 1:10 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที นำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเพื่อเตรียมโยเกิร์ตข้าวต่อไป เตรียมส่วนประกอบโยเกิร์ตโดยแต่ละสูตร (1:1 1:5 และ 1:10) ใช้น้ำนมพร่องมันเนย 20 มิลลิลิตร หัวเชื้อโยเกิร์ตสำเร็จรูป 9 กรัม ปริมาณแป้งข้าวระหว่าง 70.9-70.5 กรัม ปริมาณคาราจีแนน 0.1-0.5 กรัม ได้โยเกิร์ตปริมาณ 100 กรัมในทุกสูตร บ่มที่ 45 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง (ค่าพีเอช 4.5-4.6) โยเกิร์ตแต่ละสูตร นำไปทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีการทดสอบแบบ 9-point Hedonic scale วิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานินในโยเกิร์ตข้าว (สุภาพร และศิรประภา, 2560) ศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เวลา 21 วัน ด้วยการนับจุลินทรีย์ทั้งหมดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ปริมาณแบคทีเรียแลคติกบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar รายงานผลในรูป CFUต่อกรัม รวมทั้งวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดแลคติก ทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม minitab 17 วิเคราะห์หาความแปรปรวน (analysis of variance - ANOVA) และวิเคราะห์หาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Tukey ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาการผลิตโยเกิร์ตแบบคงตัวจากข้าวดำแม่พญาทองดำ โดยแปรผันอัตราส่วนระหว่างข้าวและปริมาณคาราจีแนนต่อการผลิตโยเกิร์ตข้าว ทั้ง 3 สูตร (1:1,1:5 และ 1:10) โดยวิเคราะห์ค่าพีเอชทุกชั่วโมงจนครบ 6 ชั่วโมง ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 1 พบว่าโยเกิร์ตทุกสูตรที่ทำการทดลองมีค่าพีเอชเริ่มต้นในชั่วโมงที่ 0 อยู่ระหว่าง 5.47-5.69 ค่าพีเอชลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึงชั่วโมงสุดท้ายของการหมัก ค่าพีเอชของโยเกิร์ตทุกสูตรอยู่ในช่วง 4.23-4.31 มีปริมาณกรดแลคติกอยู่ในช่วงร้อยละ 0.90-1.89 น้ำหนักต่อปริมาตร เกิดจากกิจกรรมของหัวเชื้อตั้งต้นแบคทีเรียแลคติกที่หมักย่อยน้ำตาลกลูโคสในน้ำนม ให้เป็นกรดแลคติกไปทำปฏิกิริยากับเคซีนโปรตีนในน้ำนม ทำให้เคซีนเสียสภาพ เกิดการรวมตัวกันและตกตะกอนบางส่วน ทำให้เกิดลักษณะเป็นเคริด์ (curd) ซึ่งช่วยในการคงตัวของโยเกิร์ต์ จากการสังเกตในระหว่างการทดลอง โยเกิร์ตทุกสูตรเริ่มเซ็ตตัวในชั่วโมงที่ 2 ของการหมัก เห็นได้ว่าสามารถใช้ข้าวเป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตโยเกิร์ตในการทดลองนี้ได้ และยังคงมีคุณสมบัติของโยเกิร์ตได้ตามมาตรฐานอุตสาหกรรมการผลิตนมเปรี้ยวที่กำหนดว่า นมเปรี้ยวต้องมีค่าพีเอช 4.0-4.6 และมีปริมาณกรดแลคติกไม่น้อยกว่าร้อยละ 0.6 (มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมนมเปรี้ยว, 2547) เมื่อนำโยเกิร์ตข้าวทั้ง 3 สูตรไปทำการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ข้อมูลไม่ได้แสดง) ทั้งด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม ผู้วิจัยจึงได้ทำการเลือกสูตรโยเกิร์ตที่มีอัตราส่วนของข้าว 1:1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) และมีปริมาณคาราจีแนน 0.1 กรัม เนื่องจากต้องการศึกษาปริมาณสารแอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตและต้องการใช้สารให้ความคงตัวในปริมาณที่น้อยที่สุดที่ช่วยให้โยเกิร์ตยังสามารถคงตัวได้ มาทำการวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป

การวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตข้าวจากข้าวหอมแม่พญาทองดำ ที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 วัน เก็บตัวอย่างในวันที่ 0, 7, 14 และ 21 พบว่ามีปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุดเมื่อใช้ระยะเวลาในการเก็บรักษา 14 วันและลดลงเมื่อระยะเวลานาน 21 วัน โดยมีค่าเท่ากับ 3.28±0.64, 3.57±1.26, 4.18±1.28 และ 3.78±1.09 mg/L ตามลำดับ อย่างไรก็ดีปริมาณแอนโทไซยานินไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงดังภาพที่ 2 โดยจากการทดลองมีปริมาณสารแอนโทไซยานินค่อนข้างสูง เนื่องจากข้าวหอมแม่พญาทองดำเป็นข้าวที่มีสีดำ สอดคล้องกับนวลพรรณและคณะ (2557) รายงานไว้ว่าข้าวพันธุ์หอมนิล และข้าวไรซ์เบอรี่ ซึ่งเป็นข้าวที่มีสีดำ มีปริมาณแอนโทไซยานินในข้าวทั้ง 2 ชนิดนี้ (1,937±78.6 และ 1,719±44.2 μg/g) มากกว่าปริมาณสารแอนโทไซยานินในข้าวเสาไห้ ซึ่งเป็นข้าวที่มีสีขาว (12±3.6 μg/g)

ผลการศึกษาอายุการเก็บรักษาของโยเกิร์ตข้าว ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 วัน พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 14 วัน โยเกิร์ตมีปริมาณแบคทีเรียแลคติกและแบคทีเรียทั้งหมดเพิ่มขึ้นจากตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 1 และเริ่มลดลงเมื่อการเก็บรักษาเวลาผ่านไป 21 วัน อย่างไรก็ดีจำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตข้าว ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 วัน เป็นไปตามมาตรฐานของนมเปรี้ยวตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 353 (2556) ที่กำหนดว่าต้องมีปริมาณแบคทีเรียแลคติกไม่น้อยกว่า $10^7$ โคโลนีต่อกรัม ปริมาณแลคติกแบคทีเรียที่รอดชีวิตในโยเกิร์ตยังคงมีอยู่ในจำนวนที่เหมาะสม สามารถก่อให้เกิดประโยชน์ต่อร่างกายได้ ซึ่งการรอดชีวิตของจุลินทรีย์แลคติกในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตอาจเกิดจากสารต้านอนุมูลอิสระในแป้งข้าวที่ช่วยเพิ่มความสามารถในการอยู่รอดแก่จุลินทรีย์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยในปี 2015 ของ Michael,

Phebus และ Schmid ที่รายงานว่า สารสกัดจากพืชมีความสามารถในการช่วยเพิ่มการอยู่รอดของ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* ในระหว่างเก็บรักษา

**Table 1** Changes in Lactic acid bacteria and total plate count in during storage of rice yoghurt at 4°C

| วันที่เก็บตัวอย่าง | จำนวนจุลินทรีย์ (CFUต่อกรัม) | |
|---|---|---|
| | แบคทีเรียแลคติก | แบคทีเรียทั้งหมด |
| วันที่ 0 | $7.11 \times 10^{8} \pm 0.19$ | $7.95 \times 10^{8} \pm 0.24$ |
| วันที่ 7 | $1.56 \times 10^{9} \pm 0.04$ | $1.35 \times 10^{9} \pm 0.01$ |
| วันที่ 14 | $1.87 \times 10^{9} \pm 0.03$ | $2.37 \times 10^{9} \pm 0.01$ |
| วันที่ 21 | $1.77 \times 10^{9} \pm 0.03$ | $1.77 \times 10^{9} \pm 0.04$ |

ผลการศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตข้าว ที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในวันที่ 0 7 14 และ 21 มีค่าพีเอชเท่ากับ 4.53, 4.45, 4.70 และ 4.25 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณกรดทั้งหมดที่ได้จากการไทเทรตผลิตภัณฑ์ คือ ร้อยละ 1.18±0.24, 1.24±0.14, 1.44±0.13 และ 1.34±0.16 น้ำหนักต่อปริมาตร เนื่องจากกิจกรรมการหมักของหัวเชื้อตั้งต้นที่ยังคงมีการสร้างกรดแลคติกออกมา โดยในวันที่ 14 จะมีปริมาณกรดเกิดขึ้นสูงสุด ปริมาณกรดที่พบในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตเป็นไปตามมาตรฐานที่ระบุว่าต้องมีปริมาณกรดแลคติกไม่น้อยกว่าร้อยละ 0.6 และโยเกิร์ตเมื่อผ่านการหมักไป 7 วัน พบมีสีม่วงที่เข้มขึ้น มีกลิ่นข้าวมากกว่ากลิ่นเปรี้ยว ผิวหน้าเรียบ หลังจากผ่านไป 21 วันแล้วจะมีกลิ่นเปรี้ยวมาก และเกิดการแยกชั้นขึ้น จากการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ จะสังเกตว่ามีปริมาณเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการเก็บรักษา โดยวันที่ 21 พบปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้อยู่ที่ 22 องศาบริกซ์ โดยที่ส่วนประกอบของโยเกิร์ตไม่มีการเติมสารเติมแต่ง เช่น สารให้ความหวานลงไป แต่การมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำที่เพิ่มมากขึ้นอาจจะมีผลอันเนื่องมาจากกระบวนการหมักของเชื้อที่ทำการหมักย่อยน้ำตาล ทั้งจากการในนม หรือจากการปล่อยเอนไซม์ออกมาย่อยแป้ง แล้วทำการย่อยแป้งออกเป็นน้ำตาลเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานอีกทั้งแป้งข้าวยังช่วยในการปกป้องเซลล์จากการถูกทำลายจากสิ่งแวดล้อมได้อีกด้วย (Batista และคณะ, 2017)

## สรุปผล

การผลิตโยเกิร์ตข้าวดำพันธุ์แม่พญาทองดำในสูตร 1:1 ปริมาณคาราจีแนน 0.1 กรัม พบว่าหลังจากเก็บรักษาโยเกิร์ตที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 วัน มีปริมาณแอนโทไซยานิน 3.78±1.09 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณกรดแลคติก 1.34 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้เท่ากับ 2.20 °Brix และมีปริมาณแลคติกแบคทีเรียที่รอดชีวิตในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต $1.77 \times 10^{9}$ CFUต่อกรัม

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ที่ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยในครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

นภาพร วันทมาศ, 2555, ข้าวหอมแม่พญาทองดำ ข้าวโบราณสายพันธุ์เก่าเกิดใหม่ [สืบค้น], www.rakbankerd.com/agriculture/page.php?id=4133&s=tblrice

นวลพรรณ นงเยาว์ นันท์นภัส แก้วประดับ พรรณี รัตนชัยสิทธ์ และจิรศักดิ์ คงเกียรติขจร, 2557, การวิเคราะห์องค์ประกอบแอนโทไซยานินในรำข้าวสี, วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, 10(พิเศษ): 649-660.

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 353) พ.ศ. 2556 เรื่องนมเปรี้ยว, ราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป เล่ม 130 ตอนพิเศษ 87 ง. ลงวันที่ 24 กรกฎาคม 2556.

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม นมเปรี้ยว ประกาศในราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป เล่ม 121 ตอนที่ 29 ง ลงวันที่ 8 เมษายน 2547.

สุภาพร ฟักเงิน และศิรประภา มีรอด, 2560, การสกัดแยกหาปริมาณแอนโทไซยานินจากลูกมะม่วงหาวมะนาวโห่, การประชุมวิชาการระดับชาติ สถาบันวิจัย มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร, 4: 1002-1011.

Batista, A., L., D., Silva, R., Cappato, L., Ferreira, M., V., S., Nascimento, K., O., Schmiele, M.,Esmerino, E., A., Balthazar, C., F., Silva, H., L., A., Moraes, J., Pimentel, T., C., Freitar, M., Q., Raices, R., S., L., and Silva, M., C., 2017, Developing a Symbiotic Fermented Milk Using Probiotic Bacteria and Organic Green Banana Flour, Journal of Functional Foods, 38: 242-250.

Michael, M., Phebus, K., Randall, Schmidf, A., Karen, 2015, Plant Extract Enhances the Viability of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Lactobacillus acidophilus* in Probiotic Nonfat Yogurt, Food Science and Nutrition, 3(1): 48-55.

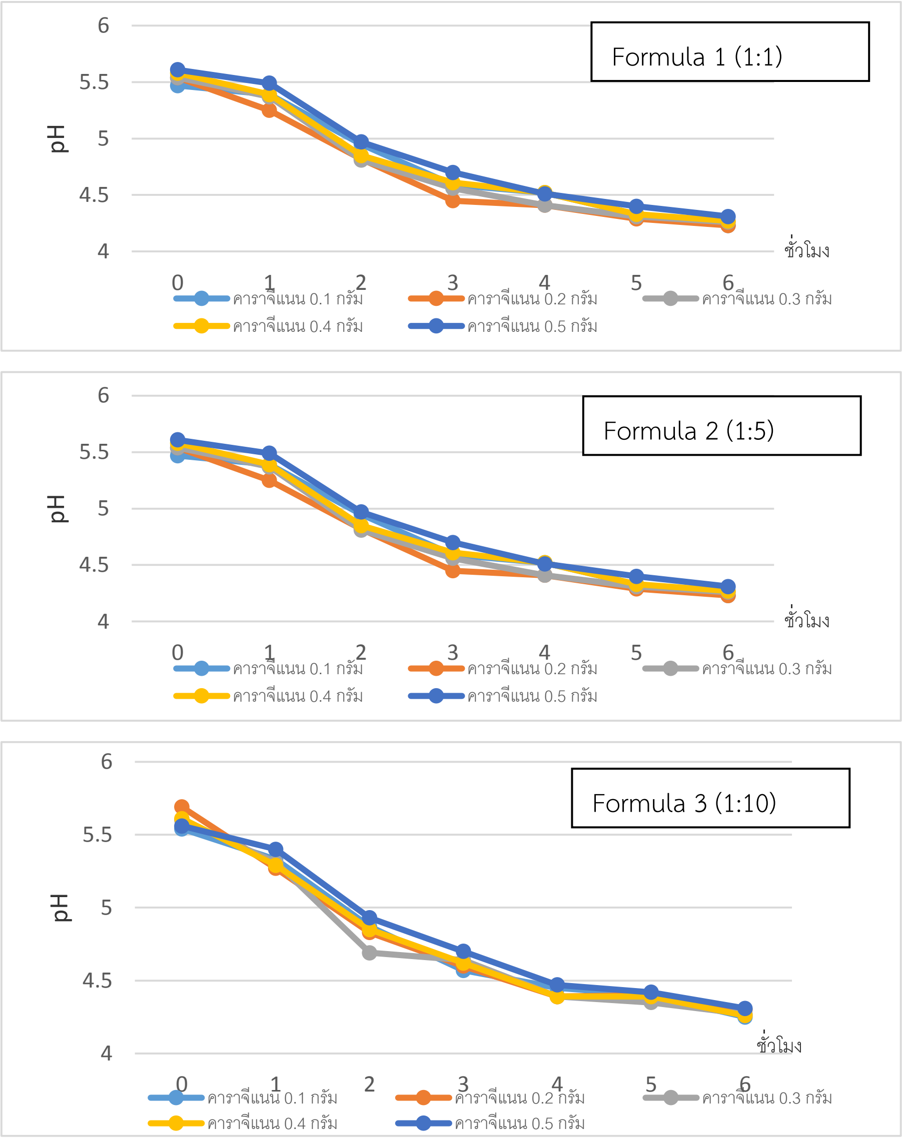



**Figure 1** pH changes during the fermentation time of rice yoghurt and added to carrageenan from 0.1-0.5 g

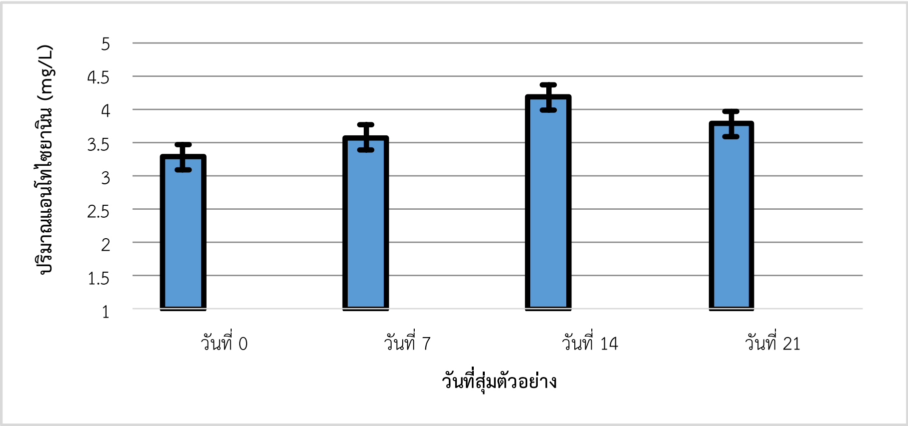



**Figure 2** Changes in anthocyanin content in rice yoghurt during storage at 4°C.

# ผลของ *Lactobacillus casei* (TISTR 1463) และ *Lactobacillus acidophilus* (TISTR 1336) ต่อปริมาณวิตามินซี ฟีนอลิก และสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำชาเขียว

# Effect of *Lactobacillus casei* (TISTR 1463) and *Lactobacillus acidophilus* (TISTR 1336) on Vitamin C, Phenolic and Antioxidant Contents in Green Tea Beverage

**พริมา พิริยางกูร[1] อชิรญา แก่นจันทร์[1] และ จุฑาทิพย์ โพธิ์อุบล[2]**
**Phiriyangkul, P.[1], Kanchan, A.[1] and Poubol, J.[2]**

## Abstract

The objectives of this research were to study on the effect of probiotic bacteria *Lactobacillus casei* (TISTR 1463) and *Lactobacillus acidophilus* (TISTR 1336) on vitamin C, phenolic compound, and antioxidant content of green tea. Each strain of probiotic bacteria was added to the green tea that brewed with boiled water. Un-inoculate green tea sample was used as control. The green tea was filled in a sterile plastic bottle and stored at 4°C. Vitamin C, phenolic compound and antioxidant content in green tea were investigated every week. It was found that green tea inoculated with both probiotic strains had a significantly increased of vitamin C content ($P<0.05$) at 3, 4 and 6 weeks of storage. Whereas phenolic contents were not significantly different from the control sample, the antioxidant content of green tea inoculated with *L. casei* was higher than the others ($P<0.05$).
**Keywords:** probiotic bacteria, vitamin C, phenolic compound, antioxidant

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลโปรไบโอติกแบคทีเรีย *Lactobacillus casei* (TISTR 1463) และ *Lactobacillus acidophilus* (TISTR 1338) ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซี สารประกอบฟีนอล และสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำชาเขียว โดยเติมเชื้อโปรไบโอติกแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ลงในน้ำชาเขียวที่ผ่านการชงด้วยน้ำต้มสุก เปรียบเทียบกับน้ำชาเขียวที่ไม่ได้เติมเชื้อโปรไบโอติกแบคทีเรีย (ชุดควบคุม) จากนั้นบรรจุน้ำชาเขียวลงในขวดพลาสติกที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ตรวจวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซี สารประกอบฟีนอล และสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำชาเขียวทุกสัปดาห์ จากการทดลองพบว่าน้ำชาเขียวที่เติมเชื้อโปรไบโอติกทั้ง 2 สายพันธุ์ มีปริมาณวิตามินซีเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในสัปดาห์ที่ 3 4 และ 6 ของการเก็บรักษาเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ในขณะที่ปริมาณสารประกอบฟีนอลไม่แตกต่างจากชุดควบคุม ส่วนปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำชาเขียวที่เติม *L. casei* มีมากกว่าในน้ำชาเขียวที่เติม *L. acidophilus* และชุดควบคุม ($P<0.05$)
**คำสำคัญ:** โปรไบโอติกแบคทีเรีย วิตามินซี สารประกอบฟีนอล สารต้านอนุมูลอิสระ

## คำนำ

ชาเขียวจากใบ *Camellia sinensis* เป็นเครื่องดื่มที่ได้รับความนิยมบริโภคทั่วโลก เนื่องจากการบริโภคชาเขียวมีประโยชน์ต่อสุขภาพมากมาย (Pinto, M. de S., 2013) เช่น ลดคอเลสเตอรอล ป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือด ต้านมะเร็ง ต้านเบาหวาน ต้านโรคอ้วน ต้านเชื้อแบคทีเรีย และต้านไวรัส (Suzuki และคณะ., 2012) คุณสมบัติที่ส่งผลดีต่อสุขภาพส่วนใหญ่ได้มาจาก คาเทชิน (catechins; flavan-3-ol) ซึ่งเป็นสารประกอบพอลีฟีนอลฟลาวโวนอยด์ (polyphenolic flavonoids) หลักที่พบในชา (Musial. และคณะ, 2020) มีสารประกอบฟีนอลิกปริมาณสูงซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Lorenzo และ Munekata, 2016) ชาเขียวนิยมใช้เป็นสารเติมแต่ง กลิ่นและรสชาติจากธรรมชาติ ช่วยยืดอายุการเก็บรักษา นำเสนอภาพลักษณ์ที่ดีต่อสุขภาพแก่ผู้บริโภค และช่วยยับยั้งเชื้อก่อโรคโดยไม่ทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติก (Lactic

---

[1] สาขาวิชาชีวเคมี ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140
[1] Division of Biochemistry, Department of Science, Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University, KamphaengSaen Campus, NakhonPathom 73140
[2] สาขาวิชาจุลชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140
[2] Division of Microbiology, Department of Science, Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University, KamphaengSaen Campus, NakhonPathom 73140

acid bacteria, LAB) (Wang. และคณะ, 2003) การผสมผงชาเขียวในโยเกิร์ตสามารถเพิ่มผลดีต่อสุขภาพ โดยการเพิ่มฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ส่งเสริมการเจริญเติบโตของ LAB และเพิ่มฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Jeong และคณะ, 2018) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลโปรไบโอติกแบคทีเรีย *Lactobacillus casei* (TISTR 1463) และ *Lactobacillus acidophilus* (TISTR 1338) ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซี สารประกอบฟีนอล และสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำชาเขียว เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

## อุปกรณ์และวิธีการ

เตรียมน้ำชาเขียว (*Camellia sinensis* Linn.) โดยต้มชาเขียวอบแห้ง (มูลนิธิคนสร้างชาติ จังหวัดนครปฐม) 60 กรัม ในน้ำเดือด (100 องศาเซลเซียส) ปริมาตร 7 ลิตร นาน 10 นาที จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง กรองเอาแต่ส่วนใส และแบ่งน้ำชาเขียวออกเป็น 3 ชุดทดลอง โดยชุดที่ 1 เป็นน้ำชาเขียวที่ไม่มีการเติมเชื้อโปรไบโอติก (ชุดควบคุม) ชุดที่ 2 เป็นน้ำชาเขียวที่เติมเชื้อ *L. casei* (TISTR 1463) ชุดที่ 3 เป็นน้ำชาเขียวที่เติมเชื้อ *L. acidophilus* (TISTR 1336) โดยมีความเข้มข้นของเชื้อโปรไบโอติก เท่ากับ $1.4 \times 10^8$ CFU/ml จากนั้นบรรจุลงในขวดพลาสติกที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วขนาด 220 มิลลิลิตร ปิดฝาให้สนิท แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 6 สัปดาห์ วิเคราะห์ปริมาณวิตามิน ซี ฟีนอลิก และสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำชาเขียวทั้ง 3 ชุด ทุกสัปดาห์ จำนวน 3 ซ้ำ วิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ferric reducing antioxidant power (FRAP) (Benzie และ Strain, 1996) โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน 2 ชนิด คือ วิตามิน ซี และวิตามิน อี เพื่อเป็นตัวแทนสำหรับสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถละลายน้ำและไขมัน ตามลำดับ วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก โดยวิธี Folin-Ciocalteu (Singleton และคณะ, 1999) แล้วเทียบกับกราฟมาตรฐานแกลลิค แอซิด วิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติของผลการทดลอง เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย ด้วย Duncan’s multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P<0.05$)

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

เมื่อเก็บรักษาน้ำชาเขียว (ชุดควบคุม) น้ำชาเขียวที่เติมเชื้อ *L. casei* และน้ำชาเขียวที่เติมเชื้อ *L. acidophilus* ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณวิตามินซีใน 3 ชุดทดลองมีปริมาณน้อยที่สุดเมื่อเริ่มต้น และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยมีปริมาณสูงสุดที่สัปดาห์ที่ 3 ของการเก็บรักษา หลังจากนั้นปริมาณวิตามินซีจะลดลง ในสัปดาห์สุดท้ายของการเก็บรักษาพบว่าน้ำชาเขียวที่เติมเชื้อ *L. casei* และน้ำชาเขียวที่เติมเชื้อ *L. acidophilus* มีปริมาณวิตามินซีเท่ากับ 13.58 และ 17.64 กรัมต่อน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ (Figure 1A) ในขณะที่ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกใน 3 ชุดทดลองมีค่ามากที่สุดเมื่อเริ่มต้นและมีแนวโน้มลดลงตามอายุการเก็บรักษาจนถึงสัปดาห์ที่ 3 หลังจากนั้นปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจะเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 4 ($p<0.05$) แล้วลดลงตลอดอายุการเก็บรักษา ทั้งนี้ปริมาณฟีนอลิกในน้ำชาเขียว (ชุดควบคุม) และน้ำชาเขียวที่เติมเชื้อทั้งสองชนิดมีแนวโน้มเหมือนกันตลอด 6 สัปดาห์ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ($p\geq0.05$) สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงปริมาณฟีนอลิกในชาโยเกิร์ต (Jeong และคณะ, 2018) ซึ่งเกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมจากจุลินทรีย์ที่มีการสร้างสารประกอบฟีนอลิกใหม่ระหว่างการสร้างกรดของแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก (LAB) ส่งผลให้ปริมาณสารฟีนอลิกเพิ่มสูงขึ้น (Blum, U., 1998) ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตลอดอายุการเก็บรักษา มีค่าสูงสุดที่สัปดาห์สุดท้ายของการเก็บรักษา โดยมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำชาเขียว น้ำชาเขียวที่เติมเชื้อ *L. casei* และ *L. acidophilus* เท่ากับ 3.52 ± 0.07, 4.34 ± 0.12 และ 3.42 ± 0.17 mg/ml, เทียบเท่าวิตามินอี 3.01 ± 0.06, 3.37 ± 0.21 และ 2.91 ± 0.01 เทียบเท่ามิลลิกรัมวิตามินซีต่อมิลลิลิตร ทั้งนี้ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำชาเขียวที่เติมเชื้อ *L. casei* จะมีปริมาณมากกว่าน้ำชาเขียวที่เติมเชื้อ *L. acidophilus* และชุดควบคุม ($p<0.05$) Leiko (2014), Muniandy และคณะ (2016) และ Jeong และคณะ (2018) ที่พบว่าการผสมชาเขียวในโยเกิร์ตหรือนมที่ผสมโปรไบโอติกจะช่วยเพิ่มคุณประโยชน์ โดยการเพิ่มฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ส่งเสริมการเจริญของ LAB และช่วยป้องกันการอักเสบได้ ทั้งนี้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่เพิ่มขึ้นในโยเกิร์ต อาจเนื่องมาจากเปปไทด์ที่ได้จากการหมักของ LAB และสารประกอบฟีนอลิก

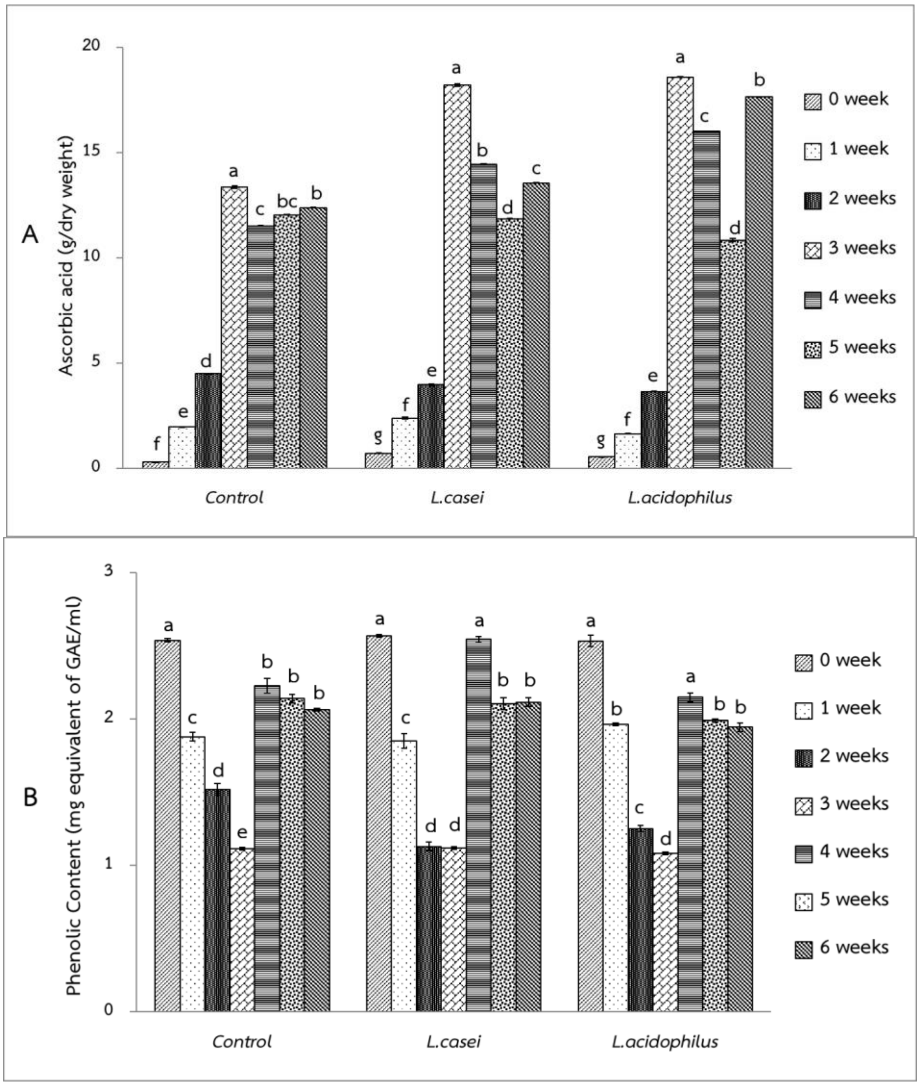



**Figure 1** Ascorbic acid (A) and phenolic content (B) in green tea (control), green tea with *Lactobacillus casei* (TISTR 1463) or *Lactobacillus acidophilus* (TISTR 1336) after storage at 4°C for 6 weeks.

## สรุปผล

ปริมาณวิตามินซี ฟีนอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำชาเขียวที่เติม *L. casei* และน้ำชาเขียวที่เติม *L. acidophilus* มีแนวโน้มเหมือนกับชุดควบคุม เมื่อเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส 6 สัปดาห์ โดยปริมาณวิตามินซีในน้ำชาเขียวที่เติมโปรไบโอติกทั้งสองสายพันธุ์จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 3 4 และ 6 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ($P$<0.5) ปริมาณฟีนอลิกในน้ำชาเขียวผสมโปรไบโอติกไม่แตกต่างจากชุดควบคุมตลอดอายุการเก็บรักษา ในขณะที่ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระมีปริมาณเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ในสัปดาห์ที่ 6 ของการเก็บรักษา พบว่าปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำชาเขียวที่เติม *L. casei* มีมากกว่าน้ำชาเขียวที่เติม *L. acidophilus* และชุดควบคุม ($P$<0.05) ดังนั้นการเติม *L. casei* และ *L. acidophilus* ในน้ำชาเขียวสามารถช่วยเพิ่มคุณประโยชน์ต่อสุขภาพของผลิตภัณฑ์ชาเขียวได้

## คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากหลักสูตรวิทยาศาสตร์ชีวภาพ สาขาวิชาชีวเคมี โครงการจัดตั้งภาควิชาจุลชีววิทยา กองทุนพัฒนานิสิต คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

**Table 1** Antioxidant content (mg equivalent Vit. C or Vit. E/ml) in green tea (control), green tea with *Lactobacillus casei* (TISTR 1463) or *Lactobacillus acidophilus* (TISTR 1336) after storage at 4°C for 6 weeks.

| **Storage time (Weeks)** | **Antioxidant (mg equivalent Vit. C/ml)** | | | **Antioxidant (mg equivalent Vit. E/ml)** | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Control | *L. casei* | *L. acidophilus* | Control | *L. casei* | *L. acidophilus* |
| **0** | $0.04 \pm 0.0^{d}$ | $0.06 \pm 0.00^{d}$ | $0.05 \pm 0.00^{d}$ | $0.04 \pm 0.00^{d}$ | $0.05 \pm 0.00^{d}$ | $0.05 \pm 0.00^{d}$ |
| **1** | $0.05 \pm 0.05^{d}$ | $0.05 \pm 0.05^{d}$ | $0.05 \pm 0.05^{d}$ | $0.04 \pm 0.00^{d}$ | $0.04 \pm 0.00^{d}$ | $0.04 \pm 0.00^{d}$ |
| **2** | $1.23 \pm 0.03^{c}$ | $1.19 \pm 0.03^{c}$ | $1.20 \pm 0.01^{c}$ | $1.05 \pm 0.02^{c}$ | $1.01 \pm 0.03^{c}$ | $1.02 \pm 0.01^{c}$ |
| **3** | $1.08 \pm 0.04^{c}$ | $1.20 \pm 0.02^{c}$ | $1.06 \pm 0.02^{c}$ | $0.92 \pm 0.03^{c}$ | $1.02 \pm 0.02^{c}$ | $0.91 \pm 0.01^{c}$ |
| **4** | $1.40 \pm 0.09^{bc}$ | $1.86 \pm 0.10^{bc}$ | $1.07 \pm 0.07^{c}$ | $1.19 \pm 0.07^{bc}$ | $1.58 \pm 0.21^{bc}$ | $0.91 \pm 0.06^{c}$ |
| **5** | $1.80 \pm 0.02^{b}$ | $2.30 \pm 0.05^{b}$ | $2.17 \pm 0.06^{b}$ | $1.55 \pm 0.02^{b}$ | $1.96 \pm 0.03^{b}$ | $1.85 \pm 0.05^{b}$ |
| **6** | $3.52 \pm 0.07^{a}$ | $4.34 \pm 0.12^{a}$ | $3.42 \pm 0.17^{a}$ | $3.01 \pm 0.06^{a}$ | $3.37 \pm 0.21^{a}$ | $2.91 \pm 0.01^{a}$ |

Values are expressed as mean ± SE (n=3). Different upper-case letters in the same column indicate significantly different ($p < 0.05$).

## เอกสารอ้างอิง


Benzie, I.F.F. and Stain, J.J., 1996, The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as Measure of Antioxidant Power: The FRAP Assay, Analytical Biochemistry, 239: 70–76.

Blum, U., 1998, Effects of Microbial Utilization of Phenolic Acids and Their Phenolic Acid Breakdown Products on Allelpathic Interactions, Journal of Chemical Ecology, 24: 685-708.

Jeong, C.H., Ryu, H., Zhang, T., Lee, C.H., Seo, H.G., and Han, S.G., 2018, Green Tea Powder Supplementation Enhances Fermentation and Antioxidant Activity of Set-type Yogurt, Food Science and Biotechnology, 27(5): 1419-1427.

Lejko, D.N., 2014, Effect of Green Tea Supplementation on the Microbiological, Antioxidant, and Sensory Properties of Probiotic Milks, Dairy Science and Technology, 94(4): 327-339.

Lorenzo, J.M. and Munekata, P.E.S., 2016, Phenolic Compounds of Green Tea: Health Benefits and Technological Application in Food, Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 6(8): 709-719.

Muniandy, P., Shori, A.B., and Baba, A.S., 2016, Influence of Green, White and Black Tea Addition on the Antioxidant Activity of Probiotic Yogurt During Refrigerated Storage, Food Packaging and Shelf Life, 8: 1-8.

Musial, C., Kuban-Jankowska, A. and Gorska-Ponikowska, M., 2020, Beneficial Properties of Green Tea Catechins, International Journal of Molecular Science, 21(5): 1744.

Pinto, M. S., 2013, Tea: A New Perspective on Health Benefits, Food Research International, 53(2): 558-567.

Singleton, V. L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R.M., 1999, Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates by Means of Folin-Ciocalteu Reagent, Methods in Enzymology, 299: 152–178.

Suzuki, Y., Miyoshi, N., and Isemura, A., 2012, Health-promoting Effects of Green Tea, Proceedings of The Japan Academy, Series B Physical and Biological Sciences, 88(3): 88-101.

Wang, H., Provan, G., Helliwell, K., Ransom, W., 2003, The Functional Benefits of Flavonoids: The case of tea, Phytochemical Functional Foods, Elsevier Ltd, United Kingdom, p.128-159.

# ผลของอุณหภูมิและอายุการเก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสรีรวิทยาและคุณภาพของผลโกโก้
# Effects of Temperature and Shelf Life on Physiological and Quality Changes of Cacao Pod

**นัฐริษา ลิ่มจำเริญ[1] อดิเรก รักคง[1] สุภาณี ชนะวีรวรรณ[1] และ ระวี เจียรวิภา[1]**
**Limjumrern, N.[1], Rugkong, A.[1], Chanaweerawan, S.[1] and Chiarawipa, R.[1]**

## Abstract

In cacao production, postharvest deterioration causes adverse effects on the shelf-life quality of the cacao pod. Hence, cacao pod storages at low temperature (15 °C) and room temperature (29 °C) were studied on the physiological and quality changes of the pod during the shelf life. The weight loss and browning index of the cacao storage at 15 °C were significantly less than those of the storage at 29 °C._Significant higher numbers of the lightness, hue° and firmness of the cacao's skin were found at the low temperature storage during the storage life from 6 to 10 days, 2 to 8 days, and 4 to 8 days, respectively. However, the different storage temperatures did not influence TSS, TA and TSS/TA of the cacao pulp. In conclusion, the results proved that the low temperature storage could maintain the quality and slow down the physiological changes of the cacao pod's shelf life.

**Keywords:** cocoa, pod storage, pulp preconditioning, postharvest deterioration

## บทคัดย่อ

การเสื่อมสภาพหลังการเก็บเกี่ยวส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตโกโก้ การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำช่วยลดความสูญเสียที่เกิดขึ้นภายหลังการเก็บเกี่ยวและยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตผลโกโก้ได้ ดังนั้น จึงมีการศึกษาผลของการเก็บรักษาผลโกโก้ที่อุณหภูมิต่ำ (15 °C) และอุณหภูมิห้อง (29 °C) เพื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาและคุณภาพของโกโก้ในระหว่างการเก็บรักษา พบว่า การสูญเสียน้ำหนักและดัชนีการเกิดสีน้ำตาลของโกโก้การเก็บรักษาที่ 15 °C มีค่าน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญกับที่ 29 °C ขณะที่ค่าความสว่าง (L*) ค่ามุมสี (Hue°) และค่าความแน่นเนื้อของผลโกโก้การเก็บรักษาที่ 15 °C มีค่าสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญกับที่ 29 °C ในช่วงการเก็บรักษาที่ 6-10 วัน 2-8 วัน และ 4-8 วัน ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างกันไม่มีอิทธิพลต่อปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ และค่า TSS/TA ของเยื่อหุ้มเมล็ดโกโก้ ดังนั้น การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำสามารถรักษาคุณภาพและชะลอการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาในระหว่างการเก็บรักษาได้

คำสำคัญ: โกโก้ การเก็บรักษาฝัก การปรับสภาพเยื่อหุ้มเมล็ด การเสื่อมสภาพหลังการเก็บเกี่ยว

## คำนำ

โกโก้ (*Theobroma cacao* L) เป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจที่นิยมนำมาใช้เพื่อการผลิตช็อกโกแลต เครื่องดื่มและเป็นส่วนประกอบของอาหาร ในการผลิตช็อกโกแลตจำเป็นต้องผ่านกระบวนการหมักเมล็ดโกโก้เพื่อกลิ่นและรสชาติ ซึ่งเป็นตัวแปรที่สำคัญของคุณภาพช็อกโกแลต (Hii และคณะ, 2009) การหมักเพื่อให้ได้เมล็ดโกโก้คุณภาพดีจำเป็นต้องหมักอย่างต่ำ 15 กก. อย่างไรก็ตาม ยังมีเกษตรกรบางกลุ่มมีพื้นที่ปลูกไม่มากนัก อีกทั้งบางฤดูกาลเก็บเกี่ยวมีจำนวนผลผลิตโกโก้น้อยทำให้เป็นปัจจัยจำกัดในการหมักโกโก้ให้มีคุณภาพตามที่ต้องการ การเก็บรักษาหรือการบ่มผลโกโก้เป็นเทคนิคที่สามารถนำมาใช้เพื่อปรับปรุงคุณภาพของเมล็ดโกโก้ได้ เช่น การเก็บรักษาฝักโกโก้ 2-3 วันก่อนนำไปหมัก ช่วยลดระดับความเป็นกรดที่ไม่พึงประสงค์บางชนิด (Hinneh และคณะ, 2018) ทั้งนี้ระยะเวลาการเก็บรักษาในสภาพแตกต่างกันตามปัจจัยอุณหภูมิและสภาพอากาศในแต่ละพื้นที่มีผลต่อคุณภาพของโกโก้ก่อนนำไปหมัก การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำจึงอาจเป็นวิธีการหนึ่งที่ช่วยยืดอายุการเก็บรักษาผลิตผล และชะลอการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาก่อนนำไปหมักได้ ปัจจุบันการศึกษาเกี่ยวกับการเก็บรักษาผลโกโก้ภายหลังการเก็บเกี่ยวยังมีจำกัด ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาและคุณภาพของผลโกโก้ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างกันเพื่อให้ทราบอายุและอุณหภูมิในการเก็บรักษาที่เหมาะสมต่อการผลิตเมล็ดโกโก้

[1] สาขาวิชานวัตกรรมการเกษตรและการจัดการ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จ.สงขลา 90110
[1] Agricultural Innovation and Management Division, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Songkhla, 90110

## อุปกรณ์และวิธีการ

นำผลโกโก้อายุ 5-6 เดือนหลังจากดอกบาน คัดเลือกทำความสะอาดด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 100 มก. ต่อล. จากนั้นล้างด้วยน้ำสะอาด และบรรจุผลโกโก้ลงในตะกร้าพลาสติกขนาด (กว้าง x ยาว x สูง) : 25.5 x 33.5 x 8.5 ซม. นำไปเก็บรักษา 2 ทรีตเมนต์ 1 (T1) ได้แก่ เก็บที่อุณหภูมิ 15±2 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 74±8.8% และ T2 เก็บที่อุณหภูมิห้อง (29±2 °C) ความชื้นสัมพัทธ์ 62.7±6.8% ทำการทดลอง ณ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สังเกตและบันทึกลักษณะทางสรีรวิทยาเละคุณภาพเป็นระยะเวลา 14 วัน ได้แก่ เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก ค่าสีเปลือก (L* และ Hue°) ด้วยเครื่องวัดสี (KONICA MINOTA.,รุ่น CR 400, Japan) ดัชนีการเกิดสีน้ำตาล (Browning index; BI) ความแน่นเนื้อของฝักโกโก้ด้วยเครื่อง Firmness tester ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (Total soluble solids: TSS) ด้วยเครื่อง Hand refractometer และวัดปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (Titratable acidity: TA) ทั้งหมดของเยื่อหุ้มเมล็ดโกโก้โดยวิธีไทเทรต วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) จำนวน 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance; ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติด้วย Duncan's multiple rang test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรม R-Studio

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในระหว่างการเก็บรักษาการสูญเสียน้ำหนักสดของผลโกโก้ทั้งสองอุณหภูมิการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยผลโกโก้ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (29 °C) มีอัตราการสูญเสียน้ำหนักสดเพิ่มขึ้นสูงกว่าผลโกโก้ที่เก็บรักษาที่อุณหภุมิต่ำ (15 °C) ประมาณ 2 เท่า ส่งผลให้ผลโกโก้ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำมีอายุการเก็บรักษานานกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง โดยการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นาน 14 วัน ในขณะที่การเก็บรักษาอุณหภูมิห้องเก็บรักษาได้เป็นเวลา 8 วัน (Figure 1A) นอกจากนี้การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างกันมีความชื้นสัมพัทธ์ต่างกัน การเก็บรักษาที่ความชื้นสัมพัทธ์ในบรรยากาศต่ำส่งผลให้ผลโกโก้มีการสูญเสียน้ำหนักมากขึ้น (จริงแท้, 2544) การสูญเสียน้ำเป็นสาเหตุในการเสื่อมสภาพของผลิต อาการที่แสดงออก ได้อย่างผลเหี่ยว การแผลสีน้ำตาลบนเปลือกเพิ่มขึ้น และนำไปสู่การเสื่อมสภาพของผลิตผล ค่าความแน่นเนื้อของผลโกโก้ที่เก็บรักษาทั้งสองอุณหภูมิมีค่าลดลงอย่างต่อเนื่องในตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ทั้งนี้การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำช่วยชะลอการเปลี่ยนแปลงค่าความแน่นเนื้อของผลโกโก้ได้ดีกว่าการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง โดยมีค่าลดลงจาก 49.04 นิวตัน เป็น 35.51 นิวตัน ในระหว่างการเก็บรักษาวันที่ 6 ถึง 8 (Figure 1B) ทั้งนี้ เนื่องจากอุณหภูมิต่ำจะช่วยชะลอการเกิดปฏิกิริยาในกระบวนการเมทาบอลิซึม เช่น ช่วยลดอัตราการหายใจของผลิตผล จึงเป็นอีกวิธีที่ช่วยลดการสูญเสียน้ำของผลิตผล ถึงแม้โกโก้จะเป็นผลิตผลประเภท Non climacteric แต่ค่าความแน่นเนื้อมีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะพัฒนาการสุกแก่เพิ่มขึ้น (Rojas และคณะ, 2020) ซึ่งเกิดจากผนังเซลล์ที่อยู่ในรูปของ Protopectin ซึ่งอยู่ในรูปไม่ละลายน้ำสลายตัวกลายเป็นแพกทินที่ละลายน้ำส่งผลให้เปลือกผลมีลักษณะอ่อนนุ่มลง (ดนัย, 2556)

การเปลี่ยนแปลงสีของผลโกโก้ พบว่า การเกิดสีน้ำตาลเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำเป็นเวลา 8 วัน ขณะที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องการเกิดสีน้ำตาลมากกว่า 50% (Figure 1C) โดยค่าสีเปลือก (L* และ Hue°) มีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะพัฒนาการสีผิวเพิ่มขึ้น โดยค่า L* ของสีผิวผลโกโก้มีค่าสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ เป็นเวลา 6 8 และ 10 วัน ตามลำดับ (Figure 1D) เช่นเดียวกันกับค่า Hue° ของสีผิวผลโกโก้มีค่าต่ำอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเก็บรักษาอุณหภูมิต่ำเป็นเวลา 4 6 และ 8 วัน ตามลำดับ (Figure 1E) แสดงให้เห็นว่าผลโกโก้พัฒนาเป็นสีเหลืองมากขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา ซึ่งมีรายงานว่าค่าความสว่างของเปลือกเพิ่มขึ้นเมื่อผลโกโก้แก่ขึ้น (Rojas และคณะ, 2020) ในขณะที่จุดสีน้ำตาลบนเปลือกผลเกิดจากการสร้างหรือสลายตัวของสารสี (Pigment) และปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของสารประกอบฟีนอลิกหรือแสดงถึงการเสื่อมสภาพทางสรีรวิทยาซึ่งจะปรากฏเพิ่มขึ้นเมื่อเก็บรักษานานขึ้น (โชคชัย, 2550)

สำหรับค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (TA) และสัดส่วน TSS/TA ของเยื่อหุ้มเมล็ดโกโก้ การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างกันให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 2.50–3.45 °Bx 1.83 – 2.29% และ 10.78 –13.33 ตามลำดับ (Figure 1F-H) ปริมาณ TA มีแนวโน้มลดลงส่วน TSS/TA มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่ออายุการเก็บรักษานานขึ้น ในขณะที่ค่า TSS คงที่ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าการเก็บรักษาโกโก้ในฝักช่วยชะลอการเปลี่ยนแปลงกระบวนการเมทาบอลิซึม ส่งผลให้การเปลี่ยนแปลงทางเคมีเกิดขึ้นช้าลง เมล็ดที่ถูกห่อหุ้มด้วยฝักมีส่วนช่วยป้องกันการสูญเสียน้ำของเยื่อหุ้มเมล็ด ซึ่งโดยปกติพืชที่สูญเสียน้ำมากส่งผลให้มีความเข้มข้นของปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้สูงขึ้นได้ภายในเซลล์พืช (สายชล, 2551)

## สรุปผล

การเก็บรักษาผลโกโก้ที่อุณหภูมิต่ำส่งผลดีต่อลักษณะทางกายภาพของผลโกโก้มากกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ในขณะที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิทั้ง 2 ระดับไม่มีผลต่อค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (TA) และสัดส่วน TSS/TA ของผลโกโก้ โดยลักษณะของผลิตผลโกโก้ที่เหมาะสมในการนำไปหมัก คือ ระยะการสุกงอมของผล (Ripeness state) ซึ่งเมล็ดมีปริมาณของเข็งที่ละลายน้ำได้สูง ความเป็นกรดต่ำ ซึ่งมีผลเชิงบวกกับการพัฒนากลิ่นเละรสในกระบวนการหมัก การเก็บรักษาผลโกโก้ที่อุณหภูมิต่ำสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นาน 14 วัน โดยดัชนีการเสื่อมสภาพของผลโกโก้ภายหลังการเก็บเกี่ยว ได้เก่ อาการเหี่ยว การเกิดสีน้ำตาลบริเวณผิวผล ซึ่งนำไปสู่การเข้าทำลายของเชื้อจุลินทรีย์ส่งผลให้เกิดการเน่าเสีย การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15±2 °C โดยช่วยชะลอการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผล อายุการเก็บรักษานานกว่า และมีการสูญเสียน้ำหนักได้ดีกว่าการเก็บรักษาผลโกโก้ที่อุณหภูมิ 29±2 °C

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ ประจำปีงบประมาณ 2562 ระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่สนับสนุนทุนสำหรับการวิจัยครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

โชคชัย ธีรกุลเกียรติ, 2550, สารสกัดจากรำข้าว เพื่อใช้ในการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาล เนื่องจากเอนไซม์ในผักและผลไม้, กรุงเทพฯ: ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร, คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ดนัย บุณยเกียรติ, 2556, สรีรวิทยาหลังการเก็บเกี่ยวผลิตผลพืชสวน, กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

สายชล เกตุษา, 2551, โครงการส่งเสริมกลุ่มวิจัยและพัฒนาสรีรวิทยาหลังการเก็บเกี่ยวของผลิตผลพืชสวน, กรุงเทพฯ: คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Hii, C.L., Law, C.L., Cloke, M. and Suzannah, S., 2009, Thin Layer Drying Kinetics of Cocoa and Dried Product Quality, Biosystems Engineering, 102: 153–161.

Hinneh, M., Semanhyiaa, E., Wallea, D.V., Winnec, A., Tzompa-Sosaa, A.D., Scaloned, G.L.L., Meulenaerd, B.B., Messense, K., Durmec, J.V., Afoakwab, E.O., Coomanc, L. and Dewettinck, K., 2018, Assessing the Influence of Pod Storage on Sugar and Free Amino Acid Profiles and the Implications on Some Maillard Reaction Related Flavor Volatiles in Forastero Cocoa Beans, Food Research International, 111: 607-620.

Rojas, K.E., Garcia, M.C., Ceron, I.X., Ortiz, R.E. and Tarazona, M.P., 2020, Identification of Potential Maturity Indicators for Harvesting Cacao, Heliyon, 6: 1-8.

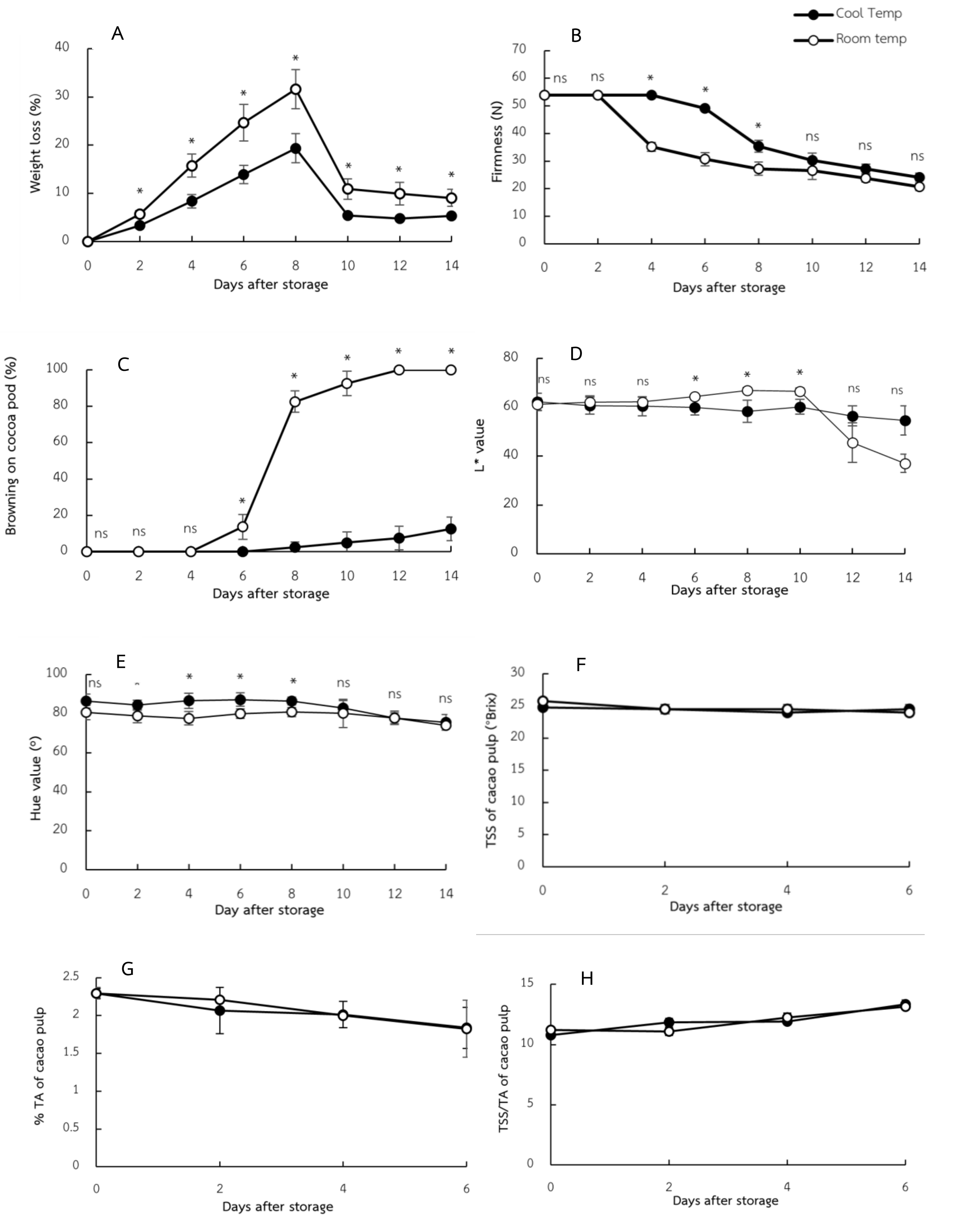



**Figure 1** Weight loss (A), firmness (B), L* value (C), hue value (D), browning Index (E), total soluble solid (F), percentage of titratable acidity (G) and TSS/TA ration of cacao pulp (H) during postharvest storage at 15±2 °C and 29±2 °C.

# ระยะปลูกที่เหมาะสมสำหรับการผลิตงาอินทรีย์ในชุดดินสันทราย
# Suitable Spacing for the Production of Organic Sesame in Sansai Soil Series

เนตรนภา อินสลุด[1] พีรพันธ์ ทองเปลว[1] และ ปริญญา มรดกพนา[1]
Insalud, N.[1], Thongplew, P.[1] and Moradokphana, P.[1]

## Abstract

Defining an appropriate spacing is necessary for crop management in order to allow plant access to sufficient resources that will help maximize growth and yield for each cultivar. This work evaluated 3 sesame cultivars planted at 20 x 20 cm or 20 x 40 cm spacing under an organic system in Sansai soil series. There was difference of yield per unit area for sesame cultivars planted at different spacing due to the doubling plant numbers. At 20x 40 cm sesame gave higher numbers of capsule/plant and higher yield/plant than those planted at 20 x 20 cm. Addition, seed weight per unit area was depended on the cultivars. Ubonratchatani (UB) 1 gave higher yield than the UB 2 and UB 3. This study suggests that under nutrient poor soil and organic management, planting sesame cultivar UB 1 at the 20 x 40 cm spacing is recommended.
**Keywords:** Plant spacing, Organic Sesame, Sansai Soil Series

## บทคัดย่อ

การจัดการระยะปลูกเป็นการจัดการเพื่อให้พืชได้รับปัจจัยสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตได้ตามศักยภาพของสายพันธุ์ งานวิจัยนี้ศึกษาระยะการปลูกของงา 3 พันธุ์ ที่ 20 x 20 และ 20 x 40 เซนติเมตร แบบระบบอินทรีย์ในชุดดินสันทรายพบว่า งาแต่ละพันธุ์ที่ปลูกระยะต่างกันมีผลผลิตต่อพื้นที่แตกต่างกันเนื่องจากจำนวนต้นต่อพื้นที่ต่างกันเท่าตัว การปลูกงาที่ปลูกระยะ 20 x 40 เซนติเมตร มีจำนวนฝักต่อต้นสูง และมีน้ำหนักเมล็ดต่อต้นสูงกว่างาที่ปลูกระยะ 20x20 เซนติเมตร นอกจากนี้ น้ำหนักเมล็ดต่อพื้นที่ขึ้นอยู่กับพันธุ์ของงา โดยงาแดงพันธุ์อุบลราชธานี 1 มีผลผลิตสูงกว่างาขาวพันธุ์อุบลราชธานี 2 และงาดำพันธุ์อุบลราชธานี 3 การศึกษานี้จะเห็นว่าการปลูกในระบบอินทรีย์ที่มีความอุดมสมบูรณ์ดินต่ำควรปลูกงาแดงพันธุ์อุบลราชธานี 1 ด้วยระยะ 20 x 40 เซนติเมตร
**คำสำคัญ:** ระยะปลูก, งาอินทรีย์, ชุดดินสันทราย

## คำนำ

งา (*Sesame indicum* L.) เป็นพืชที่สามารถปลูกได้ทุกภาคของประเทศไทยทั้งในสภาพไร่และสภาพนา มีศักยภาพในการผลิตสูงและเป็นที่ต้องการของตลาด ปลูกง่าย ต้องการปัจจัยในการผลิตน้อย ทนต่อสภาพความแห้งแล้งและสามารถให้ผลผลิตได้ดี (ศานิตย์, 2558) ทำให้การเพาะปลูกพืชระบบอินทรีย์เหมาะสมสำหรับการปลูกงา อย่างไรก็ตามการนำงามาปลูกในชุดดินสันทราย ซึ่งพื้นที่ส่วนมากใช้ปลูกข้าว ประกอบกับเป็นชุดดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ ใต้ชั้นไถพรวนมักแนนทึบรากพืชชอนไชได้ยากและระบายน้ำไม่ดี (กรมพัฒนาที่ดิน, 2564) งามีการเจริญเติบโตและให้ผลผลิต แตกต่างกันตามแต่ละสายพันธุ์ โดยสายพันธุ์งาที่ปลูกในประเทศไทยส่วนใหญ่มี 3 สายพันธุ์ที่จำแนกตามสีของเปลือกหุ้มเมล็ด ได้แก่ งาแดง งาขาว และงาดำ ซึ่งแต่ละสายพันธุ์จะมีความเหมาะสมในการผลผลิตในแต่ละพื้นที่แตกต่างกัน (ตุลย์ และคณะ, 2557) ในการปลูกงาแบบอินทรีย์ การจัดการระยะปลูกเป็นวิธีหนึ่งในการจัดการการปลูกเพื่อให้งาได้รับปัจจัยสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิต (Caliskan และคณะ, 2004) ดังนั้นในการศึกษานี้จึงทำการศึกษาการเจริญเติบโตของงา 3 สายพันธุ์ ซึ่งมีระยะการปลูกที่แตกต่างกัน 2 ระยะ เพื่อเป็นแนวทางในการจัดการระยะปลูกที่เหมาะสมสำหรับการผลิตงาอินทรีย์ในชุดดินสันทราย

## อุปกรณ์และวิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ 3x2 Factorial in RCBD มี 2 ปัจจัย ปัจจัยที่ 1 ได้แก่ งาแดงพันธุ์อุบลราชธานี 1 งาขาวพันธุ์อุบลราชธานี 2 และงาดำพันธุ์อุบลราชธานี 3 ปัจจัยที่ 2 คือ ระยะปลูก (ระยะต้น x ระยะแถว) ได้แก่ 20x20 เซนติเมตร และ

[1] สาขาวิชาพืชไร่ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ 50290
[1] Division of Agronomy, Faculty of Agricultural Production, Maejo University, Chiang Mai 50290, Thailand

20x40 เซนติเมตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ (Block) ปลูกศึกษาในแปลงขนาด 1.5 x 5.0 เมตร ระยะห่างระหว่างแปลง 0.5 เมตร รวมทั้งสิ้น 18 แปลง ในระบบอินทรีย์ บนพื้นที่ดินชุดสันทราย บริเวณฟาร์มพืชไร่ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่มีเนื้อดินร่วนปนทราย มีปริมาณอินทรียวัตถุปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้อยู่ในระดับต่ำ และมีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์สูง (Table 1) จากนั้นปลูกงาตามระยะปลูกที่กำหนด โดยหยอดเป็นหลุม หลุมละ 2-3 เมล็ด ใส่ปุ๋ยอินทรีย์อัดเม็ดรองพื้น อัตรา 300 กิโลกรัมต่อไร่ เมื่อต้นกล้าอายุ 15 วัน ทำการถอนแยกให้เหลือหลุมละ 1 ต้น เก็บข้อมูลโดยสุ่มพื้นที่ 1 ตารางเมตรในแต่ละแปลง และประเมินการเจริญเติบโตด้านความสูงและจำนวนใบทุก ๆ 7 วัน ตั้งแต่อายุ 21-42 วันหลังปลูก และที่อายุ 35 วันหลังปลูก ประเมินน้ำหนักแห้งของใบ ลำต้นและราก โดยอบความร้อนที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง และชั่งด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง และที่อายุ 90 วัน หลังปลูก นำต้นงาใน 1 ตารางเมตร มาประเมินองค์ประกอบผลผลิต ได้แก่ จำนวนฝักต่อต้น น้ำหนักเมล็ดต่อต้น น้ำหนักเมล็ดต่อพื้นที่ และน้ำหนัก 1,000 เมล็ด จากนั้นวิเคราะห์ความแปรปรวน Analysis of variances (ANOVA) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Least Significant Different (LSD) ที่ระดับ $P < 0.05$ ด้วยโปรแกรม R

## ผลการทดลอง

การเจริญเติบโตและองค์ประกอบผลผลิตของงาอินทรีย์บนพื้นที่ชุดดินสันทรายพบว่า งาแดงพันธุ์อุบลราชธานี 1 ที่ปลูกด้วยระยะปลูก 20x40 เซนติเมตร มีผลผลิตต่อพื้นที่ และผลผลิตต่อต้นเพิ่มสูงกว่างาสายพันธุ์อื่น ๆ (3-4 กรัมต่อต้น) ที่ปลูกในระยะปลูกเดียวกัน นอกจากนี้จำนวนฝักต่อต้นของงาที่ปลูกด้วยระยะปลูก 20x40 เซนติเมตร มีจำนวนมากกว่าที่ระยะปลูก 20x20 เซนติเมตร ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามงาขาวพันธุ์อุบลราชธานี 2 ไม่พบความแตกต่างของผลผลิตต่อพื้นที่ทั้ง 2 ระยะปลูก และมีน้ำหนัก 1,000 เมล็ดสูงที่สุด แสดงว่าเมล็ดมีขนาดใหญ่กว่าเมล็ดงาดำพันธุ์อุบลราชธานี 3 และงาแดงพันธุ์อุบลราชธานี 1 ตามลำดับ (Table 2) แม้ว่างาทั้ง 3 พันธุ์ที่ปลูกด้วย 2 ระยะปลูก มีองค์ประกอบของผลผลิตแตกต่างกัน แต่ไม่พบความแตกต่างของลักษณะจำนวนใบต่อต้น (Figure 1B) และการสร้างน้ำหนักแห้งต้น ใบ และรากที่อายุ 35 วัน (Table 2) แต่งาแดงพันธุ์อุบลราชธานี 1 ที่ปลูกด้วยระยะปลูก 20x20 เซนติเมตร มีความสูงต้นสูงที่สุดที่อายุ 21-35 วันหลังการปลูก (Figure 1A)

## วิจารณ์ผล

การปลูกงาที่ระยะปลูก 20x40 เซนติเมตร มีผลผลิตมากกว่างาที่ปลูกในระยะปลูก 20x20 เซนติเมตร เนื่องจากงาที่ปลูกระยะ 20x40 เซนติเมตร มีแนวโน้มทำให้ความสูง จำนวนใบต่อต้น จำนวนฝักต่อต้น และน้ำหนักต่อต้น มากกว่างาที่ปลูกในระยะ 20x20 เซนติเมตร ซึ่งลักษณะเหล่านี้ล้วนส่งผลต่อผลผลิต แต่การปลูกในระยะปลูก 20x40 เซนติเมตร มีจำนวนต้นต่อตารางเมตร (24 ต้น) น้อยกว่าการปลูกในระยะ 20x20 เซนติเมตร (34 ต้น) แต่กลับให้ผลผลิตมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญ จำนวนต้นต่อพื้นที่ที่ระยะปลูก 20x40 เซนติเมตร ซึ่งขัดกับการศึกษาของ (Caliskan และคณะ, 2004) ที่รายงานว่าจำนวนต้นต่อพื้นที่ที่เหมาะสมในการให้ผลผลิตของงาอยู่ที่ประมาณ 50 ต้นต่อตารางเมตร แต่ในพื้นที่ที่ทำการศึกษาเป็นพื้นที่ที่มีความอุดมสมบูรณ์ดินค่อนข้างต่ำ (Table 1) รวมทั้งการปลูกในระบบอินทรีย์ จึงทำให้ระยะปลูกที่ทำการศึกษาไม่ทำให้ต้นงามีการแข่งขันกันในการดูดใช้ธาตุอาหาร สำหรับลักษณะการเจริญเติบโตของงาสอดคล้องกับ Mohammed และ Hamidu, (2018) ที่ได้ศึกษาการปลูกงาที่ระยะ 20x40 และ 20x70 เซนติเมตร พบว่าลักษณะจำนวนใบต่อต้นของงาในช่วงอายุงาที่ 28 วัน ที่ปลูกด้วยระยะ 20x70 เซนติเมตร มากกว่างาที่ปลูกด้วยระยะ 20x40 เซนติเมตร เช่นเดียวกันกับการศึกษานี้ที่การปลูกในระยะ 20x40 เซนติเมตร มีจำนวนใบต่อต้นสูงกว่าในระยะ 20x20 เซนติเมตร นอกจากนี้เมื่อพิจารณาถึงอิทธิพลของสายพันธุ์ซึ่งผลให้งามีผลผลิตต่างกัน สอดคล้องกับ อานนท์, (2541) รายงานว่าการให้ผลผลิตของงาดำ งาขาว และงาสายพันธุ์จากต่างประเทศอีก 2 สายพันธุ์ พบว่าผลผลิตของงาดำและงาขาวไม่มีความแตกต่างกันเมื่อปลูกศึกษาในชุดดินสันทรายที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ ณ ฟาร์มพืชไร่ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

## สรุปผล

ระยะปลูกงาที่ 20x40 เซนติเมตร เป็นระยะที่เหมาะสม สามารถนำไปแนะนำในการปลูกงาในแบบระบบอินทรีย์ บนชุดดินสันทรายที่มีความอุดมสมบูรณ์ของดินค่อนข้างต่ำ และเป็นระยะปลูกที่เกษตรกรสามารถลดปริมาณการใช้เมล็ดพันธุ์งาต่อพื้นที่ได้เป็นอย่างดี สำหรับงาแดงพันธุ์อุบลราชธานี 1 เป็นสายพันธุ์แนะนำเนื่องจากเป็นสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการให้ผลผลิตสูงในพื้นที่ศึกษา

**คำขอบคุณ**

ขอขอบคุณ อาจารย์ ดร.จุฑามาศ อาจนาเสียว ที่กรุณาแนะนำตรวจทานบทคัดย่อภาษาอังกฤษ และขอขอบคุณฟาร์มพืชไร่ สาขาวิชาพืชไร่ คณะผลิตกรรมการเกษตร ที่อนุเคราะห์สถานที่ในการทดลอง

**เอกสารอ้างอิง**

กรมพัฒนาที่ดิน, 2564, ชุดดินสันทราย [สืบค้น], http://iddindee.ldd.go.th/SoilSeries/S_2/18_Series_(Sai).pdf [29/January/21].

ศานิต สวัสดิกาญจน์, 2558, พืชน้ำมัน: งา, สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ, 339 หน้า.

ตุลย์ แก่นหอม, ศักดิ์ดา จงแก้ววัฒนา และ สาวิตร มีจุ้ย, 2557, การตอบสนองของงาที่ปลูกปลายฤดูฝนต่อระดับการให้ไนโตรเจน, วารสารแก่นเกษตร, 42(2)(พิเศษ): 183-189.

อานนท์ เที่ยงตรง, 2541, สรีรวิทยาของพืชน้ำมัน – งา, สำนักพิมพ์สันติภาพพริ้นท์, เชียงใหม่, 203 หน้า

Caliskan, S., Arslan, M., Arioglu, H. and Isler, N, 2004, Effect of Planting Method and Plant Population on Growth and Yield of Sesame (*Sesamum indicum* L.) in a Mediterranean Type of Environment, Asian Journal of Plant Sciences, 3(5): 610-613.

Mohammed B. and Hamidu G. A., 2018, Growth and Yield Performance of Sesame (*Sesamum indicum* L.) Varieties at Varying Levels of Inter-row Spacing in Northern Part of Sokoto, Nigeria, Asian Journal of Research in Crop Science, 1(2): 1-14.

**Table 1** Physical and chemical properties of experimental soil before planting.

| Soil properties | Values | Fertility Levels |
|---|---|---|
| Texture | Sandy loam | |
| pH | 7.2 ± 0.2 | Neutral |
| Soil organic matter (%) | 1.0 ± 0.2 | Low |
| Total nitrogen (%) | 0.05 ± 0.01 | Very low |
| Available-phosphorus (ppm) | 192.71 ± 28.35 | Very high |
| Extractable forms–potassium (ppm) | 54.38 ± 13.06 | Low |

Notes. Values are mean of three replicates ± standard errors

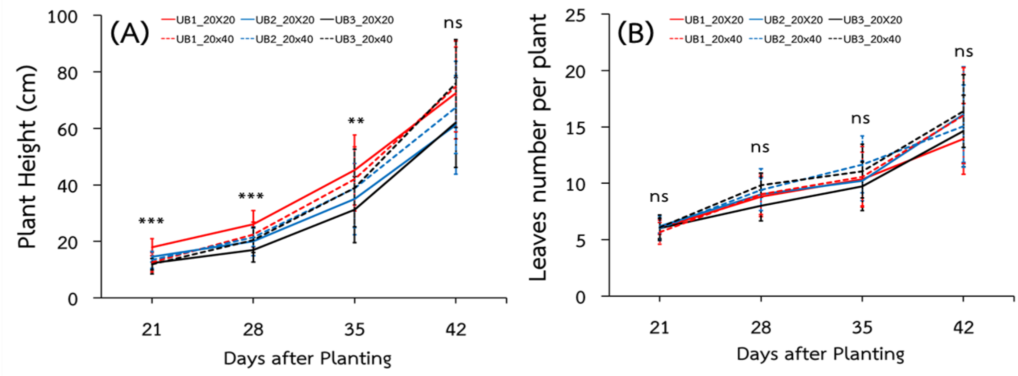



**Figure 1** Growth characteristics (A) plant height (B) leaves number per plant of three sesame cultivars under different plant spacing between 21-42 days after planting.

Notes. UB 1= Ubon Ratchathani 1, UB 2= Ubon Ratchathani 2 and UB 3= Ubon Ratchathani 3. ns = non significantly different and ** and *** significantly different at 99% and 99.9% respectively. Interaction (Cultivar x Plant spacing) significantly different (LSD).

**Table 2** Growth and yield components of three sesame cultivars under different plant spacing at 35 and 90 days after planting.

| Cultivar | Plant spacing | Plant number per $m^2$ | 35 Days after planting. Dry weight (g) | | | 90 Days after planting. | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Leaves | Stem | Root | Capsule per plant | 1,000 Seed weight (g) | Yield/ plant (g) | Yield/ $m^2$ (g) |
| UB 1 (Red) | | 28.3 ± 6.9 | 1.51 ± 0.661 | 1.10 ± 0.501 | 0.86 ± 0.281 | 13.8 ± 6.8 | 2.93 ± 0.13 c | 9.0 ± 2.87 a | 266.35 ± 26.12 a |
| UB 2 (White) | | 29.8 ± 7.3 | 1.73 ± 0.772 | 1.08 ± 0.492 | 0.71 ± 0.189 | 15.7 ± 4.6 | 3.89 ± 0.13 a | 6.3 ± 1.36 b | 172.32 ± 25.22 b |
| UB 3 (Black) | | 30.2 ± 5.8 | 1.37 ± 0.725 | 1.18 ± 0.682 | 0.66 ± 0.216 | 10.7 ± 3.5 | 3.28 ± 0.14 b | 6.8 ± 2.44 b | 189.91 ± 31.80 b |
| $LSD_{.05}$ | | ns | ns | ns | ns | ns | 0.14*** | 1.06*** | 24.58*** |
| | 20 x 20 cm. | 34.9 ± 3.0 a | 1.12 ± 0.489 | 1.00 ± 0.505 | 0.66 ± 0.225 | 10.3 ± 3.3 b | 3.31 ± 0.41 | 5.48 ± 1.04 b | 194.59 ± 39.66 b |
| | 20 x 40 cm. | 24.0 ± 3.1 b | 1.95 ± 0.560 | 1.24 ± 0.589 | 0.83 ± 0.290 | 16.5 ± 5.1 a | 3.42 ± 0.46 | 9.25 ± 2.00 a | 224.46 ± 55.94 a |
| $LSD_{.05}$ | | 3.38*** | ns | ns | ns | 4.24** | ns | 0.86*** | 20.07** |
| UB 1 (Red) | 20 x 20 cm. | 34.0 ± 3.6 | 1.13 ± 0.528 | 0.98 ± 0.515 | 0.77 ± 0.646 | 9.2 ± 3.5 | 2.95 ± 0.14 | 6.47 ± 0.84 cd | 245.40 ± 12.32 b |
| | 20 x 40 cm. | 22.7 ± 3.1 | 1.88 ± 0.582 | 1.22 ± 0.481 | 0.95 ± 0.739 | 18.4 ± 6.5 | 2.91 ± 0.14 | 11.52 ± 0.87 a | 287.29 ± 15.41 a |
| UB 2 (White) | 20 x 20 cm. | 35.7 ± 3.6 | 1.16 ± 0.523 | 1.02 ± 0.490 | 0.56 ± 0.288 | 13.1 ± 3.4 | 3.83 ± 0.15 | 5.29 ± 0.55 de | 175.44 ± 11.51 c |
| | 20 x 40 cm. | 24.0 ± 4.1 | 2.30 ± 0.581 | 1.14 ± 0.512 | 0.86 ± 0.609 | 18.2 ± 4.7 | 3.95 ± 0.09 | 7.31 ± 1.11 c | 169.19 ± 37.79 c |
| UB 3 (Black) | 20 x 20 cm. | 35.1 ± 3.0 | 1.07 ± 0.461 | 1.01 ± 0.562 | 0.65 ± 0.601 | 8.5 ± 1.7 | 3.16 ± 0.06 | 4.67 ± 0.90 e | 162.92 ± 9.02 c |
| | 20 x 40 cm. | 25.4 ± 2.1 | 1.68 ± 0.532 | 1.36 ± 0.573 | 0.67 ± 0.447 | 13.0 ± 3.6 | 3.40 ± 0.05 | 8.93 ± 0.65 b | 216.91 ± 16.13 b |
| $LSD_{.05}$ | | ns | ns | ns | ns | ns | ns | 1.49* | 34.76* |
| CV (%) | | 11.17 | 21.26 | 20.43 | 25.0 | 17.32 | 3.32 | 11.4 | 10.32 |

Notes. UB 1= Ubon Ratchathani 1, UB 2= Ubon Ratchathani 2 and UB 3= Ubon Ratchathani 3.
Values are mean of three replicates ± standard errors, Mean values within a column followed by the different letters are significantly different (LSD).
ns = non significantly different and *, ** and *** significantly different at 95%, 99% and 99.9% respectively.

# ผลการกระตุ้นการงอกเมล็ดแคคตัส (*Gymnocalycium* sp.) ด้วยแสง light emission diode และฮอร์โมนจิบเบอเรลลิน

# Effect of Seed Enhancement on *Gymnocalycium* sp. with Light Emission Diode and Hormones Gibberellins*

พงศกร นิตย์มี[1*], ณรงค์ศักดิ์ กุลกรินีธรรม[2], จักรกฤษณ์ ศรีแสง[1], เตชิตา ปิ่นสันเทียะ[1], ภัทรา ประทับกอง[1],
เรวัตร จินดาเจี่ย[1], พงษ์ศักดิ์ แก้วศรี[1] และ สุรสิทธิ์ วงษ์สัจจานันท์[1]
Nitmee, P.[1*], Kulkarineetham, N.[2], Sreesaeng, J.[1], Pinsanthia, T.[1], Pratabkong, P.[1],
Jindajia, R.[1], Kaewsri, P.[1] and Wongsasjanan, S.[1]

## Abstract

Effect of seed enhancement on *Gymnocalycium* sp. with light emission diode (LED) and hormones Gibberellins was conducted. First experiment was planned completely randomized (CRD) 6 treatments was GA concentration of 0, 250, 500, 1,000 and 2,000 ppm showed that 1000 ppm of GA concentration resulted in the highest seed germination and germination index. And second experiment was planned with CDR, 2x6 factorials at 4 replications, consisting factor A was GA concentration of 0 ppm and 1000 ppm and factor B was the type of LED, including dark, red, blue, white, white plus red plus blue (1:1:1) and natural light. The result indicated that using red light in combination with GA concentration of 1,000 ppm resulted in the highest percentage germination and germination index.

**Keywords:** Seed enhancement, *Gymnocalycium* sp., light Colors, Gibberellins

## บทคัดย่อ

ศึกษาผลการกระตุ้นการงอกเมล็ดแคคตัส (*Gymnocalycium* sp.) ด้วยแสง light emission diode (LED) สีต่าง ๆ และฮอร์โมนจิบเบอเรลลิน (GA) โดยการทดลองที่ 1 วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) 6 ทรีตเม้นท์ คือ GA ความเข้มข้น 0, 250, 500, 1,000 และ 2,000 ppm พบว่า การใช้ GA ความเข้มข้น 1,000 ppm ทำให้เมล็ดมีความงอกและดัชนีการงอกสูงที่สุด และการทดลองที่ 2 วางแผนการทดลองแบบ CRD แบบ 2 x 6 factorials จำนวน 4 ซ้ำ ประกอบด้วย ปัจจัย A คือ การแช่ GA ความเข้มข้น 0 ppm และ 1,000 ppm ปัจจัย B คือ ไม่ให้แสง, แสงสีแดง, สีน้ำเงิน, สีขาว, สีขาว+สีแดง+น้ำเงิน (1:1:1) และแสงธรรมชาติ พบว่า การให้แสงสีแดงร่วมกับการแช่ GA ความเข้มข้น 1,000 ppm ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การงอกและดัชนีการการดีที่สุด

**คำสำคัญ:** การกระตุ้นการงอก เมล็ดแคคตัส แสงสี จิบเบอเรลลิน

## คำนำ

แคคตัส (cactus) เป็นไม้อวบน้ำเขตร้อน โดยส่วนใหญ่มีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกาใต้ และแพร่กระจายทั่วโลก มีสายพันธุ์ที่หลากหลาย โดยทั่วไปมีถิ่นกำเนิดในแถบทะเลทราย เป็นพืชที่มีลักษณะโดดเด่น เช่น ลำต้นสีเขียวหรือเขียวเข้ม เป็นรูปเหลี่ยมทรงกระบอก มีขนหรือหนามรอบต้น ซึ่งหนามคือส่วนของใบที่เปลี่ยนไปเพื่อลดพื้นที่การคายน้ำ แคคตัสสามารถเก็บสะสมน้ำไว้ในลำต้นจำนวนมาก และใช้น้ำที่สะสมเพื่อการเจริญเติบโต

แคคตัสที่พบในประเทศไทย เช่น เสมา และโบตั๋น เป็นต้น และนิยมเรียกต้นไม้กลุ่มนี้ว่า ตะบองเพชรหรือกระบองเพชร ในปัจจุบันนี้การเพาะเลี้ยงไม้แคคตัสพันธุ์ที่มีความต้องการของตลาดที่เพิ่มมากขึ้นทุกวัน และมีผู้ประกอบการหลายกลุ่มเริ่มพัฒนาสายพันธุ์ที่มีความสวยงามและโดดเด่น เช่น มีสีสันที่หลากหลาย รูปร่างแปลกใหม่ เป็นต้น แคคตัส

[1] สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย 35 ม. 3 ต. คลองห้า อ. คลองหลวง จ. ปทุมธานี 12120
[1]Thailand Institute of Scientific and Technological Research
[2]คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม 85 ถนนมาลัยแมน ตำบลนครปฐม อำเภอเมืองนครปฐม จังหวัดนครปฐม 73000
[2]Faculty of Science and Technology, Nakhon Pathom Rajabhat University
* Corresponding author pongsakorn@tistr.or.th

สามารถขยายพันธุ์ได้หลายวิธี เช่น การเพาะเมล็ด การแยกหน่อ เป็นต้น การเพาะเมล็ดจัดเป็นวิธีหนึ่งที่ได้รับความนิยม เนื่องจากต้นกล้าแคคตัสมีรากแก้ว และเป็นพื้นฐานของงานด้านการปรับปรุงพันธุ์

เมล็ดพันธุ์แคคตัสบางชนิดมีอัตราการงอกต่ำ งอกช้าหรืองอกไม่สม่ำเสมอ เนื่องจากเปลือกหุ้มเมล็ด (Seed coat) มีลักษณะหนา ทำให้น้ำซึมผ่านได้น้อย และสภาพแวดล้อมขณะเพาะเมล็ดที่ไม่เหมาะสม เช่น น้ำ อุณหภูมิ ออกซิเจน แสง เป็นต้น นอกจากนี้การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตจิบเบอเรลลินสามารถกระตุ้นการงอกของเมล็ดได้ (ชิติ และคณะ, 2559) และในปัจจุบันมีการใช้แสงจาก ไดโอดเปล่งแสง (Light Emitting Diode, LEDs) ในการกระตุ้นการงอกของเมล็ด โดยแสงไฟเหล่านี้ มีความเหมาะสมมากกว่าแสงชนิดอื่น กล่าวคือ สามารถกำหนดความยาวคลื่นที่จำเพาะได้ โดยมีช่วงความถี่แคบและใช้พลังงานต่ำกว่าหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ รำไพ และคณะ (2559) รายงานว่า หลอดไดโอดเปล่งแสง (LED) ที่มีสัดส่วนเปอร์เซ็นต์ของแสงแตกต่างกันมีผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้ามะละกอ พันธุ์ 'แขกดำ' จากการศึกษาพบว่าทุกกรรมวิธีมีการงอกของเมล็ดสูง 95-100% และการให้แสงด้วยไดโอดเปล่งแสงสีแดง 100% ส่งผลทำให้ระยะเวลาในการงอกของเมล็ดสั้นกว่าวิธีการอื่นๆ

ดังนั้น ในการทดลองครั้งนี้เพื่อศึกษาหาแสงสีชนิดต่างๆ ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการงอกของเมล็ด และปริมาณจิบเบอเรลลินต่อการงอกของเมล็ด *Gymnocalycium mihanovichii* LB2178 'Agua Dulce'

## อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองประกอบด้วย 2 งานทดลอง ได้แก่ 1. วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) 5 ชุดการทดลอง โดยทดสอบปริมาณฮอร์โมน GA ความเข้มข้น 0, 250, 500, 1,000 และ 2,000 ppm จากนั้นนำผลที่ได้ในงานทดลองที่ 1 ไปใช้ในงานทดลองที่ 2 คือ โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD แบบ 2 x 6 factorials จำนวน 4 ซ้ำ ประกอบด้วย ปัจจัย A คือ การแช่ GA ความเข้มข้น 0 ppm และ 1,000 ppm ปัจจัย B คือ ชนิดแสง คือ ไม่ให้แสง แสงสีแดง สีน้ำเงิน สีขาว สีขาว+แสงสีแดง+น้ำเงิน (1:1:1) และแสงธรรมชาติ และการเก็บข้อมูลเปอร์เซ็นต์การงอกและดัชนีการงอก เป็นเวลา 30 วัน โดยเพาะเมล็ดแคคตัส ที่แช่ GA นาน 6 ชั่วโมง และให้แสงนาน 12 ชั่วโมง/วัน ทดสอบความงอกโดยการใช้วิธี Top of Paper เพื่อประเมิน

คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความงอก (germination percentage) โดยทำการนับต้นกล้าปกติประเมินความงอก ระยะ 30 วันหลังการเพาะ

ค่าดัชนีการงอก (germination Index) โดยนับจำนวนต้นกล้าปกติทุกวันจนครบ 30 วัน แล้วนำมาคำนวณจากสูตร

$$\text{ดัชนีการงอก (GI)} = \Sigma \frac{\text{(จำนวนต้นกล้าปกติที่งอก)}}{\text{จำนวนวันหลังการเพาะ}}$$

## ผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของการกระตุ้นการงอกของเมล็ดแคคตัส สกุล *Gymnocalycium* sp. ด้วยGA ความเข้มข้นต่างๆ พบว่า เปอร์เซ็นต์การงอกและดัชนีการงอกของเมล็ดแคคตัส แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ **(Table 1 )** กล่าวคือ GA ความเข้มข้น 1,000 ppm ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การงอกและดัชนีการงอกของเมล็ดแคคตัส สูงที่สุด คือ 91.50 เปอร์เซ็นต์ และ 1.65 ตามลำดับ

เมื่อนำเมล็ดมากระตุ้นการงอก ด้วยแสงสีชนิดต่าง ๆ และ GA พบว่า เปอร์เซ็นต์การงอกและดัชนีการงอกของเมล็ดแคคตัส มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ **(Table 2 )** กล่าวคือ การให้แสงสีแดงร่วมกับการแช่ GA ที่ 1,000 ppm ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดแคคตัส สูงที่สุด คือ 95.00 เปอร์เซ็นต์ และการใช้แสงสีแดง สีน้ำเงิน และไม่ให้แสง ร่วมกับการไม่แช่ฮอร์โมน GA พบว่าให้ค่าเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำ ส่วนความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ที่วัดจากดัชนีการงอก พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยการให้แสงแดงร่วมกับการแช่ GA ที่ 1,000 ppm ส่งผลให้ ดัชนีการงอกของเมล็ดแคคตัสสูงที่สุด คือ 1.87 และการใช้แสงสีแดง สีน้ำเงิน และไม่ให้แสง ร่วมกับการไม่แช่ฮอร์โมน GA พบว่า เมล็ดมีค่าดัชนีการงอกต่ำ

**Table 1** GA concentrations at different levels on germination percentages and germination index of cactus seeds at 30 days after sowing.

| GA concentrations (ppm) | Germination percentage | Germination index |
|---|---|---|
| 0 | 0.00 c | 0.00 c |
| 250 | 76.75 b | 1.07 b |
| 500 | 78.00 b | 1.21 b |
| 1,000 | 91.50 a | 1.65 a |
| 2,000 | 76.75 b | 0.95 b |
| F-test | ** | ** |
| %CV | 12.56 | 27.00 |

Mean within the same column followed by the same letter indicated no statistical difference using by DMRT.
** indicated significant difference at P< 0.01

**Table 2** Germination percentage and germination index of cactus seeds dipped with Gibberellin (GA) and various types of light exposure for 30 days after sowing.

| Light treatment (B) | Germination percentage GA (A) | | Avg. (B) | Germination index GA (A) | | Avg. (B) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 ppm | 1,000 ppm | | 0 ppm | 1,000 ppm | |
| Dark | 0.00 f | 10.25 de | 5.13 D | 0.00 c | 0.12 c | 0.06 C |
| Red light | 0.00 f | 95.00 a | 47.50 AB | 0.00 c | 1.87 a | 0.93 A |
| Blue light | 0.00 f | 12.50 d | 6.25 D | 0.00 c | 0.13 c | 0.06 C |
| White light | 14.25 d | 87.50 b | 50.88 A | 0.10 c | 1.38 b | 0.74 B |
| White+red+blue light (1:1:1) | 8.75 de | 82.50 b | 45.63 B | 0.09 c | 1.52 b | 0.81 AB |
| Natural light | 5.00 e | 75.00 c | 40.00 C | 0.07 c | 1.30 b | 0.68 B |
| Avg. (A) | 4.67 Y | 60.46 X | | 0.04 Y | 1.05 X | |
| F-test ; A | ** | | | ** | | |
| B | ** | | | ** | | |
| AxB | ** | | | ** | | |
| CV. (%) | 12.52 | | | 32.96 | | |

Mean within the same column followed by the same letter indicated no statistical difference using by DMRT.
** indicated significant difference at P< 0.01

## วิจารณ์ผล

จากการศึกษาผลของการกระตุ้นการงอกของเมล็ดแคคตัส สกุล *Gymnocalycium* sp. ด้วย GA ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การงอกและดัชนีการงอกของเมล็ดแคคตัสสูงที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ ชาญชัย และสุภชัย (2563) ที่มีการรายงานว่า การแช่ด้วยกรดจิบเบอเรลลิน ความเข้มข้น 1,000 ppm นาน 12 ชั่วโมง สามารถเพิ่มดัชนีความเร็วการงอกของเมล็ดและสามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์การงอกให้กับเมล็ดได้ดีที่สุด นอกจากนี้การใช้แสงสีแดงร่วมกับการแช่ GA ที่ 1,000 ppm ก็ยังส่งผลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกและดัชนีการงอกของเมล็ดสูงที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ รำไพ และคณะ (2559) ที่มีการรายงานว่า การให้แสงด้วยไดโอดเปล่งแสงสีแดง 100% สามารถส่งผลทำให้ระยะเวลาในการงอกสั้นกว่าการให้แสงอื่น ๆ

## สรุปผล

จากการศึกษาผลการกระตุ้นการงอกเมล็ดแคคตัส (*Gymnocalycium* sp.) ด้วยแสงสีชนิดต่าง ๆ และ GA พบว่า การใช้ GA ความเข้มข้น 1,000 ppm ส่งผลให้เมล็ดมีคุณภาพเมล็ดพันธุ์สูงที่สุด และการใช้แสงสีแดงร่วมกับการแช่ GA ที่ 1,000 ppm ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกและดัชนีการงอกของเมล็ดสูงที่สุด

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยที่ให้การสนับสนุนงานวิจัยด้านเทคโนโลยีในการกระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์ ตลอดจนนักวิจัยและบุคลากรที่มีส่วนร่วมในการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

ชาญชัย แซ่ห่าง และ สุภชัย วงค์พนากุล, 2563, **ผลของการกระตุ้นการงอกของเมล็ดพริก**, ปัญหาพิเศษ สาขาวิชาเกษตรศาสตร์(พืชสวน) คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่.

ชิติ ศรีตนทิพย์ สันติ ช่างเจรจา สัญชัย พันธโชติ ปริญญาวดี ศรีตนทิพย์ และ ปรียาพร วิกาหะ, 2559, ผลของวิธีกลและสารเคมีต่อการงอกของเมล็ดมะแขว่น (*Zanthoxylum limonelle* Alston), **วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์, 3**: 9-12.

รำไพ นามพิลา สุภัทร์ อิศรางกูร ณ อยุธยา และ สังคม เตชะวงค์เสถียร, 2559, อิทธิพลของไดโอดเปล่งแสง (LEDs) ต่อการงอกและการเจริญของเมล็ดมะละกอ (*Carica papaya* L.), **วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์, 3**: 13-17.

# ศึกษาเปรียบเทียบการเติบโตและผลผลิตของพริกขี้หนูหัวเรือ
# Comparative Study on Growth and Yield of 'Hua-ruea' Chili (*Capsicum annuum* L)

**สุดใจ ล้อเจริญ[1] จีรภา ออสติน[2] จันทนา โชคพาชื่น[1] และ รัชนี ศิริยาน[1]**
Locharoen S.[1], Austin J.[2], Chokpachuen C.[1], and Siriyan R.[1]

## Abstract

'Hua-ruea' chili is favored growing in the south area of the Northeast in Thailand. However, it is difficult to harvest a short-height plant of 'Hua-ruea' chili. Moreover, the light green immature fruit does not meet the market requirement. Therefore, Si Sa Ket Horticultural Research Center had improved 'Hua-ruea' chili to have tall plant and dark green immature fruit since 2013. The five verities were selected, including 'SK13xCK', 'SK25xCL(1)', 'SK13xCL(1)', 'SK25xCL(2)', and 'SK13xCL(1)'. The selected verities were grown compare with the 'Hua-ruea SK13' to study growth and yield at Si Sa Ket Horticulture Research Center, Si Sa Ket during 2018-2019. The experiment was designed in RCBD with 6 treatments, 4 replications. The results revealed that the plant height of selected varieties was higher than 'Hua-ruea SK13' and immature fruit was dark green. Also, a yield per rai of 'SK13 x CK' was similar to 'Hua-ruea SK13'.

**Keywords:** Chili, SK13, Breeding, Improvement

## บทคัดย่อ

พริกหัวเรือนิยมปลูกในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่างของประเทศไทย แต่มีข้อด้อยคือต้นเตี้ยยากต่อการเก็บเกี่ยวและผลอ่อนมีสีเขียวอ่อนซึ่งไม่ตรงกับความต้องการของตลาดในปัจจุบัน ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษจึงได้ปรับปรุงพันธุ์พริกหัวเรือให้มีต้นสูงและผลอ่อนมีสีเขียวเข้มตั้งแต่ปี 2556 จนกระทั่งได้สายพันธุ์พริกหัวเรือ 5 สายพันธุ์ ได้แก่ ศก.13xชก ศก.25xจล(1) ศก.13xจล(1) ศก.25xจล(2) และศก.13xจล(2) เมื่อนำมาปลูกเปรียบเทียบกับพันธุ์หัวเรือ ศก.13 เพื่อศึกษาการเติบโตและผลผลิตในศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ จังหวัดศรีสะเกษ ในปี 2561 ถึงปี 2562 วางแผนการทดลองแบบ RCBD จำนวน 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ พบว่าทุกสายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือกมีความสูงต้นมากกว่าพันธุ์หัวเรือ ศก.13 และมีสีผลอ่อนเป็นสีเขียวเข้ม นอกจากนี้พบว่าพริกสายพันธุ์ ศก.13xชก มีผลผลิตต่อไร่ใกล้เคียงกับพริกหัวเรือ ศก.13

**คำสำคัญ:** พริก ศก.13 ปรับปรุงพันธุ์ การปรับปรุง

## คำนำ

พริกขี้หนูผลใหญ่พันธุ์หัวเรือนิยมปลูกกันอย่างแพร่หลายเนื่องจากสามารถเก็บผลผลิตจำหน่ายได้ทั้งแบบสดและตากแห้ง มีพื้นที่ปลูกมากในจังหวัดอุบลราชธานีและศรีสะเกษ (บุญส่ง และคณะ, 2549) ส่วนพันธุ์พริกหัวเรือ ศก.13 ที่ได้รับการยอมรับจากเกษตรกรในด้านการติดผลจำนวนมาก และความสม่ำเสมอของพันธุ์ แต่ยังคงมีข้อด้อยบางประการได้แก่ ผลดิบเขียวที่มีสีอ่อน และต้นเตี้ย ซึ่งความสูงของต้นจะผันแปรตามสภาพของการปฏิบัติดูแลรักษาที่แตกต่างกัน โดยเฉพาะการดูแลรักษาตามวิธีปฏิบัติของเกษตรกรทำให้ความสูงของต้นพริกลดลง ซึ่งต้นพริกควรสูงกว่าพันธุ์หัวเรือ ศก.13 เพื่อสะดวกในการเก็บเกี่ยวผลผลิต และผลอ่อนควรมีสีเขียวเข้ม (พรรณผกา และคณะ, 2551 พรรณผกา และคณะ, 2552 และจิรภา และคณะ, 2558) ในปี 2556-2560 ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษได้ปรับปรุงพันธุ์พริกหัวเรือเพื่อลดข้อด้อยดังกล่าวด้วยการสร้างลูกผสมโดยใช้พริกหัวเรือ ศก.13 และ ศก.25 เป็นพันธุ์แม่ และให้พริกไชยปราการ และพันธุ์จินดาเลยเป็นพันธุ์พ่อ และทำการคัดเลือกพันธุ์แบบบันทึกประวัติ (สุชีลา, 2557) สามารถคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีลักษณะตามต้องการได้ 5 สายพันธุ์ ได้แก่ ศก.13xชก ศก.25xจล(1) ศก.13xจล(1) ศก.25xจล(2) และ ศก.13xจล(2) (จิรภา และคณะ, 2558) ดังนั้นการทดลองในครั้งนี้จึงทำการเปรียบเทียบพริกทั้ง 5 สายพันธุ์กับพริกหัวเรือ ศก.13 (Figure 1) เพื่อประเมินศักยภาพของสายพันธุ์คัดเลือกสำหรับการสร้างพันธุ์ใหม่ให้เป็นทางเลือกกับเกษตรกรตามขั้นตอนการ

---

[1]ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ ต.หนองไผ่ อ.เมือง จ.ศรีสะเกษ 33000
[1]Si Sa Ket Horticultural Research Center, Nong Phai, Mueang Si Sa Ket, Si Sa Ket 33000.
[2]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพังงา ต.บางม่วง อ.ตะกั่วป่า จ.พังงา 82190
[2]Phangnga Agricultural Research and Development Center, Bang Muang, Ta Kua Pa, Phangnga 82190

ปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

ปลูกพริกสายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือก ได้แก่ ศก.13xชก ศก.25xจล(1) ศก.13xจล(1) ศก.25xจล(2) และ ศก.13xจล(2) เปรียบเทียบกับพันธุ์หัวเรือ ศก.13 โดยใช้ระยะปลูก 50 x 100 เซนติเมตร ในสภาพแปลงเปิดของศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ จังหวัดศรีสะเกษ ในปี 2561 และ 2562 วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) 6 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ โดยให้สายพันธุ์เป็นกรรมวิธี และในหนึ่งซ้ำปลูกพริกจำนวน 48 ต้น ให้ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 อัตรา 15 กิโลกรัมต่อไร่ ทุก ๆ 2 สัปดาห์ พ่นสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในพริกตามความเหมาะสม เมื่อต้นพริกมีอายุประมาณ 90 วันหลังย้ายปลูก ทำการบันทึกการเติบโตของต้นพริกด้วยการวัดความสูงต้น และความกว้างทรงพุ่ม บันทึกข้อมูลคุณภาพผลผลิตจากตัวอย่างผลสุกแดงจำนวน 50 ผลต่อซ้ำ ได้แก่ ความยาวผล ความกว้างผล ความยาวก้านผล น้ำหนักสดต่อผล และน้ำหนักแห้งต่อผล บันทึกจำนวนผลดีต่อต้น โดยการเก็บเกี่ยวผลสุกแดง เพื่อนำมาคำนวณผลผลิตรวมต่อไร่จากสูตร น้ำหนักสดต่อผล x จำนวนผลต่อต้น x 3200 ต้น (จำนวนต้นพริกที่ปลูกในพื้นที่ 1 ไร่ด้วยระยะปลูก 50 x 100 เซนติเมตร)

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในปี 2561 พบว่าพริกหัวเรือสายพันธุ์คัดเลือกทุกสายพันธุ์มีความสูงต้นมากกว่าพริกหัวเรือ ศก.13 แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ด้านความกว้างทรงพุ่ม (Table 1) คุณภาพผลผลิตด้านความยาวผลปรากฏว่าพันธุ์หัวเรือ ศก.13xไชยปราการ หัวเรือ ศก.25xจินดาเลย(1) และ หัวเรือ ศก. 13 มีความยาวผลมากที่สุด และมีเพียงพริกหัวเรือ ศก.13 ที่ให้ความกว้างผลมากที่สุด ส่วนพันธุ์หัวเรือ ศก.25xจินดาเลย(1)ให้ความยาวก้านผลมากที่สุด (Table 2) การศึกษาในครั้งนี้ไม่พบความแตกต่างของน้ำหนักสดต่อผลในทุกพันธุ์ แต่พันธุ์หัวเรือ ศก.13xจินดาเลย(2) ให้น้ำหนักแห้งต่อผลมากที่สุด และผลผลิตรวมต่อไร่มากที่สุดได้แก่ พันธุ์หัวเรือ ศก.13 รองลงมา คือสายพันธุ์ หัวเรือ ศก.13xไชยปราการ ที่ให้ผลผลิตรวมต่อไร่ใกล้เคียงกัน (Table 3) และในปี 2562 การเติบโตของพริกหัวเรือสายพันธุ์คัดเลือกทุกสายพันธุ์มีความสูงต้นมากกว่าพันธุ์หัวเรือ ศก.13 แต่ไม่พบความแตกต่างของความกว้างทรงพุ่มในทุก ๆ สายพันธุ์ (Table 1) คุณภาพผลผลิตด้านความกว้างผลไม่พบความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ พริกพันธุ์หัวเรือ ศก.13xไชยปราการมีความยาวผลมากที่สุด ส่วนความยาวก้านผลพันธุ์หัวเรือ ศก.13xไชยปราการ หัวเรือ ศก.25xจินดาเลย(1) และหัวเรือ ศก.13xจินดาเลย(1)มีความยาวมากกว่าพันธุ์อื่น ๆ (Table 2) น้ำหนักสดและแห้งต่อผลไม่มีความแตกต่างระหว่างพันธุ์ และผลผลิตรวมต่อไร่มากที่สุดคือพันธุ์หัวเรือ ศก.13 ซึ่งใกล้เคียงกับสายพันธุ์หัวเรือ ศก.13xไชยปราการ และหัวเรือ ศก.13xจินดาเลย(2) (Table 3) เมื่อพิจารณาคุณภาพผลผลิต และผลผลิตรวมต่อไร่ของพริกหัวเรือในปี 2562 ที่ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับปี 2561 น่าจะเนื่องมาจากพบอาการของโรคใบด่างในต้นพริก ซึ่งส่งผลต่อคุณภาพผลผลิต และผลผลิตรวมต่อไร่ (เครือพันธุ์ และวันเพ็ญ, 2545) ที่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้เพียงแค่ครั้งเดียว

## สรุปผล

พริกหัวเรือสายพันธุ์คัดทุกสายพันธุ์มีความสูงต้นมากกว่าพันธุ์หัวเรือ ศก.13 โดยพริกสายพันธุ์หัวเรือ ศก.13xไชยปราการมีความโดดเด่นในด้านคุณภาพผลผลิต และให้ผลผลิตรวมต่อไร่ใกล้เคียงกับพันธุ์หัวเรือ ศก.13 ที่ให้ผลิตรวมต่อไร่มากที่สุด

## คำขอบคุณ

คณะผู้ดำเนินงานวิจัยขอขอบคุณกรมวิชาการเกษตรที่ให้การสนับสนุนงบประมาณในการวิจัยอย่างต่อเนื่อง และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกฝ่ายในศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษที่ให้การสนับสนุน และร่วมมือในการดำเนินงานจนสามารถทำให้งานสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

## เอกสารอ้างอิง

เครือพันธุ์ กิตติปกรณ์ และวันเพ็ญ ศรีทองชัย, 2545, โรคไวรัสที่สำคัญของพืชผักและพืชน้ำมัน, กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, กรมวิชาการเกษตร, โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ, 88 หน้า

จิรภา ออสติน เสาวนี เขตสกุล รัชนี ศิริยาน สุภาวดี สมภาค จันทนา โชคพาชื่น ธารทิพย์ ภาสบุตร และยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี, 2558, การผสมและคัดเลือกพันธุ์พริกขี้หนูผลสดหัวเรือ, [สืบค้น],

http://www.doa.go.th/hort/wp-content/uploads/2020/10/การผสมและคัดเลือกพันธุ์พริกขี้หนูผลสดหัวเรือ.pdf [February 8, 2020]

บุญส่ง เอกพงษ์ อภิญญา เอกพงษ์ นพมาศ นามพิมพ์ และอุทัย อันพิมพ์, 2549,การศึกษาสถานภาพการตลาด การแปรรูป และตลาดของผลิตภัณฑ์พริก ในเขตพื้นที่จังหวัดอุบลราชธานี และศรีสะเกษ, รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ เลขที่ RDG4820053, สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.), กรุงเทพฯ, 158 หน้า.

พรรณผกา รัตนโกศล สุระพงษ์ รัตนโกศล สมศักดิ์ ศรีสมบุญ อุดม คำชา รัตน์ติยา สืบสายบุญส่ง ธวัชชัย นิ่มกิ่งรัตน์ ปริศนา หาญวิริยะพันธุ์ พุฒนา รุ่งระวี พเยาว์ พรหมพันธุ์ใจ จิรภา ออสติน สุทธินี เจริญคิด และพันธ์ศักดิ์ แก่นหอม, 2552, การพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตพริกขี้หนูผลใหญ่ร่วมกับเกษตรกรในเขตจังหวัดน่าน, รายงานผลงานวิจัยดีเด่น และผลงานวิจัยที่เสนอเข้าร่วมเพื่อพิจารณาเป็นผลงานวิจัยดีเด่นประจำปี 2552, กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ หน้า 205-206.

พรรณผกา รัตนโกศล สุระพงษ์ รัตนโกศล และอุดม คำชา, 2551, ความหนาแน่นของประชากรพริกหัวเรือ ศก.13 ที่เหมาะสมสำหรับพื้นที่จังหวัดน่าน, วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 39(3)(พิเศษ) : 310-313.

สุชีลา เตชะวงค์เสถียร, 2557, พริก:นวัตกรรมจากทฤษฏีการปรับปรุงพันธุ์พืชสู่การใช้ประโยชน์, หจก.โรงพิมพ์คลังนานาชาติ, ขอนแก่น, 285 หน้า.

**Figure 1** Fruit characteristics of 'Hua-ruea' chili. Bar indicated 3 cm

**Table 1** Growth of 'Hua-ruea' chili at Si Sa Ket Horticultural Research Center.

| Treatments | Plant height (cm) | | Plant width (cm) | |
|---|---|---|---|---|
| | 2018 | 2019 | 2018 | 2019 |
| SK13xCK | 76.30 bc | 89.15 b | 63.52 | 80.30 |
| SK25xCL(1) | 90.65 a | 109.60 a | 59.35 | 75.20 |
| SK13xCL(1) | 80.00 b | 92.85 b | 61.10 | 74.90 |
| SK25xCL(2) | 76.20 bc | 105.85 a | 59.38 | 78.50 |
| SK13xCL(2) | 81.90 ab | 107.65 a | 57.58 | 80.30 |
| Hua ruea SK13 | 69.25 c | 74.95 c | 64.75 | 85.90 |
| F-test | ** 1/ | ** | ns 2/ | ns |
| C.V. | 7.87 | 6.79 | 9.09 | 8.16 |

1/ mean separation within column by LSD, $\alpha$ 0.01
2/ non-significant

**Table 2** Fruit size of 'Hua-ruea' chili at Si Sa Ket Horticultural Research Center

| Treatments | Fruit width (cm.) | | Fruit length (cm.) | | pedicel length (cm) | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 2018 | 2019 | 2018 | 2019 | 2018 | 2019 |
| SK13xCK | 0.88 b | 0.75 | 7.31 a | 5.36 a | 4.09 bc | 4.32 a |
| SK25xCL(1) | 0.92 b | 0.78 | 6.51 c | 4.92 abc | 4.78 a | 4.28 a |
| SK13xCL(1) | 0.88 b | 0.80 | 6.18 c | 4.75 c | 4.34 b | 4.47 a |
| SK25xCL(2) | 0.94 ab | 0.83 | 6.37 bc | 4.86 bc | 4.21 bc | 3.84 b |
| SK13xCL(2) | 0.95 ab | 0.76 | 6.96 ab | 5.21 ab | 3.98 c | 3.85 b |
| Hua ruea SK13 | 1.00 a | 0.80 | 7.31 a | 5.16 abc | 3.36 d | 3.22 c |
| F-test | * 2/ | ns 3/ | * | * | ** 1/ | ** |
| C.V. | 4.86 | 6.00 | 6.84 | 5.55 | 5.01 | 4.62 |

1/ mean separation within column by LSD, $\alpha$ 0.01
2/ mean separation within column by LSD, $\alpha$ 0.05
3/ non-significant

**Table 3** Fruit weight and yield of 'Hua-ruea' chili at Si Sa Ket Horticultural Center

| Treatments | Fruit fresh weight (g) | | Fruit dry weight (g) | | Yield per rai (kg) 1/ | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 2018 | 2019 | 2018 | 2019 | 2018 | 2019 |
| SK13xCK | 3.31 | 2.03 | 0.86 bc | 0.58 | 3299.85 ab | 1091.25 b |
| SK25xCL(1) | 3.09 | 1.98 | 0.84 bc | 0.66 | 1749.50 bc | 881.34 b |
| SK13xCL(1) | 3.02 | 2.19 | 0.83 c | 0.67 | 1650.02 c | 1053.95 b |
| SK25xCL(2) | 3.23 | 2.06 | 0.90 abc | 0.67 | 3218.50 abc | 1047.25 b |
| SK13xCL(2) | 3.29 | 1.92 | 1.00 a | 0.66 | 2746.22 bc | 1196.73 b |
| Hua ruea SK13 | 3.74 | 2.18 | 0.99 ab | 0.65 | 4546.51 a | 2006.94 a |
| F-test | ns 4/ | ns | * 3/ | ns | * | ** 2/ |
| C.V. | 9.10 | 10.21 | 8.35 | 11.69 | 37.94 | 27.59 |

1/ three times harvesting in 2018 and one times harvesting in 2019
2/ mean separation within column by LSD, $\alpha$ 0.01
3/ mean separation within column by LSD, $\alpha$ 0.05
4/ non-significant

# เปรียบเทียบการเติบโตและผลผลิตของพริกช่อในศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษและไร่เกษตรกร
# Comparison of Growth and Yield Trials of 'Chor' Chili at Si Sa Ket Horticultural Research Center and Famer Field

สุดใจ ล้อเจริญ[1] จีรภา ออสติน[2] จันทนา โชคพาชื่น[1] และ รัชนี ศิริยาน[1]
Locharoen S.[1], Austin J.[2], Chokpachuen C.[1], and Siriyan R.[1]

## Abstract

'Chor' chili is a member of the large-fruit bird chili pepper group whichand its planting area is in Ubon-Ratchathani, Chaiyaphum, and Loei. However,the variety grown is varied in plant height, fruit shape and low yield. Si-Sa-Ket Horticultural Research Center had collected 'Chor' chili seed and selected varieties by pedigree selection method since 2013. The selection criteria are high plant height and yield, uniformity, and fruit characteristic meetingmeet market requirement. In 2019, five varieties were selected, including 8-04-1, 27-01-2(1), 44-01-3(1), 46-01-1, and 57-03-1 and grown to compare with the famer variety in term of growth and yield at Si-Sa-Ket Horticulture Research Center and farmer field, Si-Sa-Ket. The experiment design was RCBD with 6 treatments, 4 replications. Results of both sites showed that the highest plant height was found in 46-01-4. The yield per rai of 57-03-1 and 27-01-2(3) were significantly higher than the farmer varieties.
**Keywords:** Cluster chili, Bird chili, Improvement, Breeding

## บทคัดย่อ

พริกช่ออยู่ในกลุ่มพริกชี้หนูผลใหญ่ มีพื้นที่ปลูกอยู่ในจังหวัดอุบลราชธานี ชัยภูมิ และเลย แต่พบว่าพันธุ์ที่เกษตรกรปลูกมีความแปรปรวนในด้านความสูงต้นและลักษณะผล อีกทั้งให้ผลผลิตต่ำ ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษจึงรวบรวมและคัดเลือกสายพันธุ์แบบบันทึกประวัติตั้งแต่ปี 2556 เพื่อให้มีความสูงต้นเพิ่มขึ้น ผลผลิตสูง มีความสม่ำเสมอทางพันธุกรรม และลักษณะผลตรงตามความต้องการของตลาด และในปี 2562 สามารถคัดเลือกสายพันธุ์ได้ทั้งสิ้น 5 สายพันธุ์ ได้แก่ 8-04-1, 27-01-2(1), 44-01-3(1), 46-01-1, และ 57-03-1 นำมาปลูกเปรียบเทียบกับพันธุ์เกษตรกร เพื่อศึกษาการเติบโตและผลผลิตในศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษและไร่เกษตรกร จังหวัดศรีสะเกษ วางแผนการทดลองแบบ RCBD 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ผลการทดลองทั้งสองสถานที่พบว่าสายพันธุ์ 46-01-4 ซึ่งมีรูปร่างผลคล้ายพริกยอดสน มีความสูงต้นมากที่สุด สายพันธุ์ 57-03-1 มีรูปร่างผลคล้ายพริกจินดา และ 27-01-2(3) มีรูปร่างผลคล้ายพริกยอดสน ให้ผลผลิตต่อไร่สูงกว่าพันธุ์เกษตรกรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
**คำสำคัญ:** พริกช่อ พริกขี้หนู การปรับปรุง ผสมพันธุ์

## คำนำ

พริกช่อจัดเป็นพริกในกลุ่มพริกขี้หนูผลใหญ่ มีลักษณะเด่นในการติดผลเป็นช่อ และเหมาะสำหรับบริโภคผลสด พริกช่อปลูกมากในเขตจังหวัดอุบลราชธานี ชัยภูมิ และเลย แต่พบความแปรปรวนในสายพันธุ์สูง ลักษณะของผลมีความแตกต่างกันทั้งสีผล และขนาดผล รูปร่างผลอ้วนป้อม อีกทั้งต้นเตี้ยทำให้เก็บเกี่ยวผลผลิตได้ลำบาก (บุญส่ง และคณะ, 2549, จิรภา และคณะ, 2558) ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษจึงรวบรวมพันธุ์พริกช่อจากแหล่งต่าง ๆ ได้แก่ จังหวัดเชียงราย น่าน อุบลราชธานี และเพชรบูรณ์ เพื่อดำเนินการคัดเลือกพันธุ์แบบบันทึกประวัติ (สุชีลา, 2557) ตั้งแต่ปี 2556 โดยคัดเลือกพันธุ์ให้มีความสูงต้นเพิ่มขึ้น ผลผลิตสูง มีความสม่ำเสมอของพันธุ์ และมีรูปร่างผลคล้ายกับพริกที่นิยมในตลาดปัจจุบัน จนกระทั่งสามารถคัดพันธุ์พริกช่อได้ 5 สายพันธุ์ โดยมีรูปร่างผลคล้ายพริกจินดา 2 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ 8-04-1 และ 57-03-1 มีรูปร่างคล้ายพริกยอดสน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ 27-01-2(3) 44-01-3(1) และ46-01-1 (จิรภา และคณะ, 2558) ดังนั้นการทดลองในครั้งนี้จึงทำการประเมินศักยภาพของสายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือกเปรียบเทียบกับพันธุ์เกษตรกร (Figure 1) ตามขั้นตอนการปรับปรุงพันธุ์เพื่อสร้างพันธุ์ทางเลือกของพริกช่อให้กับผู้สนใจ

[1]ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ ต.หนองไผ่ อ.เมือง จ.ศรีสะเกษ 33000
[1]Si Sa Ket Horticultural Research Center, Nong Phai, Mueang Si Sa Ket, Si Sa Ket 33000.
[2]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพังงา ต.บางม่วง อ.ตะกั่วป่า จ.พังงา 82190
[2]Phangnga Agricultural Research and Development Center, Bang Muang, Ta Kua Pa, Phangnga 82190

**อุปกรณ์และวิธีการ**

ปลูกพริกสายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือก ได้แก่ 8-04-1 27-01-2(1) 44-01-3(1) 46-01-1 และ 57-03-1 เปรียบเทียบกับพันธุ์เกษตรกร (farmer varieties) โดยใช้ระยะปลูก 50 x 100 เซนติเมตร ในสภาพแปลงเปิดของศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ และไร่เกษตรกร อ.ยางชุมน้อย จังหวัดศรีสะเกษ ในปี 2562 วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) 6 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ โดยให้สายพันธุ์เป็นกรรมวิธี และในหนึ่งซ้ำปลูกพริกจำนวน 48 ต้น ให้ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 อัตรา 15 กิโลกรัมต่อไร่ ทุก ๆ 2 สัปดาห์ พ่นสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในพริกตามความเหมาะสม เมื่อต้นพริกมีอายุประมาณ 90 วันหลังย้ายปลูก ทำการบันทึกการเติบโตของต้นพริกด้วยการวัดความสูงต้น และความกว้างทรงพุ่ม บันทึกข้อมูลคุณภาพผลผลิตจากตัวอย่างผลสุกแดงจำนวน 50 ตัวอย่างต่อซ้ำ ได้แก่ จำนวนผลต่อช่อ ความยาวผล ความกว้างผล ความยาวก้านผล และน้ำหนักสดต่อผล บันทึกจำนวนผลดีต่อต้น โดยการเก็บเกี่ยวผลสุกแดง 2 ครั้งในแปลงศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ และเก็บเกี่ยว 1 ครั้งในแปลงเกษตรกร เพื่อนำมาคำนวณผลผลิตรวมต่อไร่จากสูตร น้ำหนักสดต่อผล x จำนวนผลต่อต้น x 3200 ต้น (จำนวนต้นพริกที่ปลูกในพื้นที่ 1 ไร่ด้วยระยะปลูก 50 x 100 เซนติเมตร)

**ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง**

การเปรียบเทียบพันธุ์พริกช่อในศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษพบว่า สายพันธุ์ 46-01-1 มีความสูงต้นสูงที่สุด แต่ไม่พบความแตกต่างของความกว้างทรงพุ่ม และจำนวนผลต่อช่อในทุกสายพันธุ์ (Table 1) ในด้านคุณภาพผลผลิตพันธุ์เกษตรกร และสายพันธุ์ 44-01-3(1) มีความกว้างผลมากที่สุด ส่วนความยาวผล และความยาวก้านพบมากที่สุดในสายพันธุ์ 57-03-1 และสายพันธุ์ 44-01-3(1) ตามลำดับ (Table 2) พันธุ์เกษตรกรมีน้ำหนักสดต่อผลมากที่สุด แต่ผลผลิตรวมต่อไร่สายพันธุ์ 57-03-1 8-04-1 46-01-1 และ 27-01-2(3) สูงกว่าพันธุ์เกษตรกร (Table 3) และการเปรียบเทียบพันธุ์พริกช่อในไร่เกษตรกร ผลปรากฏว่าทุกสายพันธุ์ไม่มีความแตกต่างในด้านความสูง ความกว้างทรงพุ่ม และจำนวนผลต่อช่อ (Table 1) คุณภาพผลผลิตพันธุ์เกษตรกรมีความกว้างผลมากที่สุด ส่วนความยาวผล และความยาวก้านพบมากที่สุดในสายพันธุ์ 57-03-1 และ 46-01-1 ตามลำดับ (Table 2) พันธุ์เกษตรกรมีน้ำหนักสดต่อผลมากที่สุด แต่ผลผลิตรวมต่อไร่สายพันธุ์ 57-03-1 และ 27-01-2(3) สูงกว่าพันธุ์เกษตรกร (Table 3) การเติบโต และคุณภาพผลผลิตของทั้งสองสถานที่ในการทดลองมีความใกล้เคียงกัน แต่ผลผลิตที่เก็บเกี่ยวได้มีความแตกต่างกัน (Table 3) เนื่องจากในไร่เกษตรกรหลังจากเก็บเกี่ยวผลผลิตในครั้งแรก ต้นพริกได้รับความเสียหายจากการระบาดของหนอนใยผัก และพบอาการของโรคใบด่างในพริก ซึ่งส่งผลต่อผลผลิตรวมต่อไร่ (เครือพันธุ์ และวันเพ็ญ, 2545) ทำให้ไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตในครั้งต่อมาได้

**สรุปผล**

พริกสายพันธุ์ 46-01-1 57-03-1 และ 27-01-2(3) มีความสูงต้น ความยาวผล ความยาวก้าน และปริมาณผลผลิตรวมต่อไร่มากกว่าพันธุ์เกษตรกรและให้ผลการทดลองในทิศทางเดียวกันทั้งสองสถานที่ปลูก

**คำขอบคุณ**

คณะผู้ดำเนินงานวิจัยขอขอบคุณกรมวิชาการเกษตรที่ให้การสนับสนุนงบประมาณในการวิจัยอย่างต่อเนื่อง และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกฝ่ายในศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษที่ให้การสนับสนุน และร่วมมือในการดำเนินงานจนสามารถทำให้งานสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

**เอกสารอ้างอิง**

เครือพันธุ์ กิตติปกรณ์ และวันเพ็ญ ศรีทองชัย, 2545, โรคไวรัสที่สำคัญของพืชผักและพืชน้ำมัน, กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, กรมวิชาการเกษตร, โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ, 88 หน้า.

จิรภา ออสติน เสาวนี เขตสกุล รัชนี ศิริยาน สุภาวดี สมภาค จันทนา โชคพาชื่น ธารทิพย์ ภาสบุตร และ ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี, 2558, การปรับปรุงพันธุ์พริกช่อเพื่อเพิ่มผลผลิตและคุณภาพ, [สืบค้น], http://www.doa.go.th/hort/wp-content/uploads/2020/10/การปรับปรุงพันธุ์พริกช่อเพื่อเพิ่มผลผลิตและคุณภาพ.pdf [February 8, 2020]

บุญส่ง เอกพงษ์ อภิญญา เอกพงษ์ นพมาศ นามพิมพ์ และอุทัย อันพิมพ์, 2549,การศึกษาสถานภาพการตลาด การแปรรูป และตลาดของผลิตภัณฑ์พริก ในเขตพื้นที่จังหวัดอุบลราชธานี และศรีสะเกษ, รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ เลขที่ RDG4820053, สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.), กรุงเทพฯ, 158 หน้า.

สุชีลา เตชะวงค์เสถียร, 2557, พริก:นวัตกรรมจากทฤษฏีการปรับปรุงพันธุ์พืชสู่การใช้ประโยชน์, หจก.โรงพิมพ์คลังนานาชาติ, ขอนแก่น, 285 หน้า.

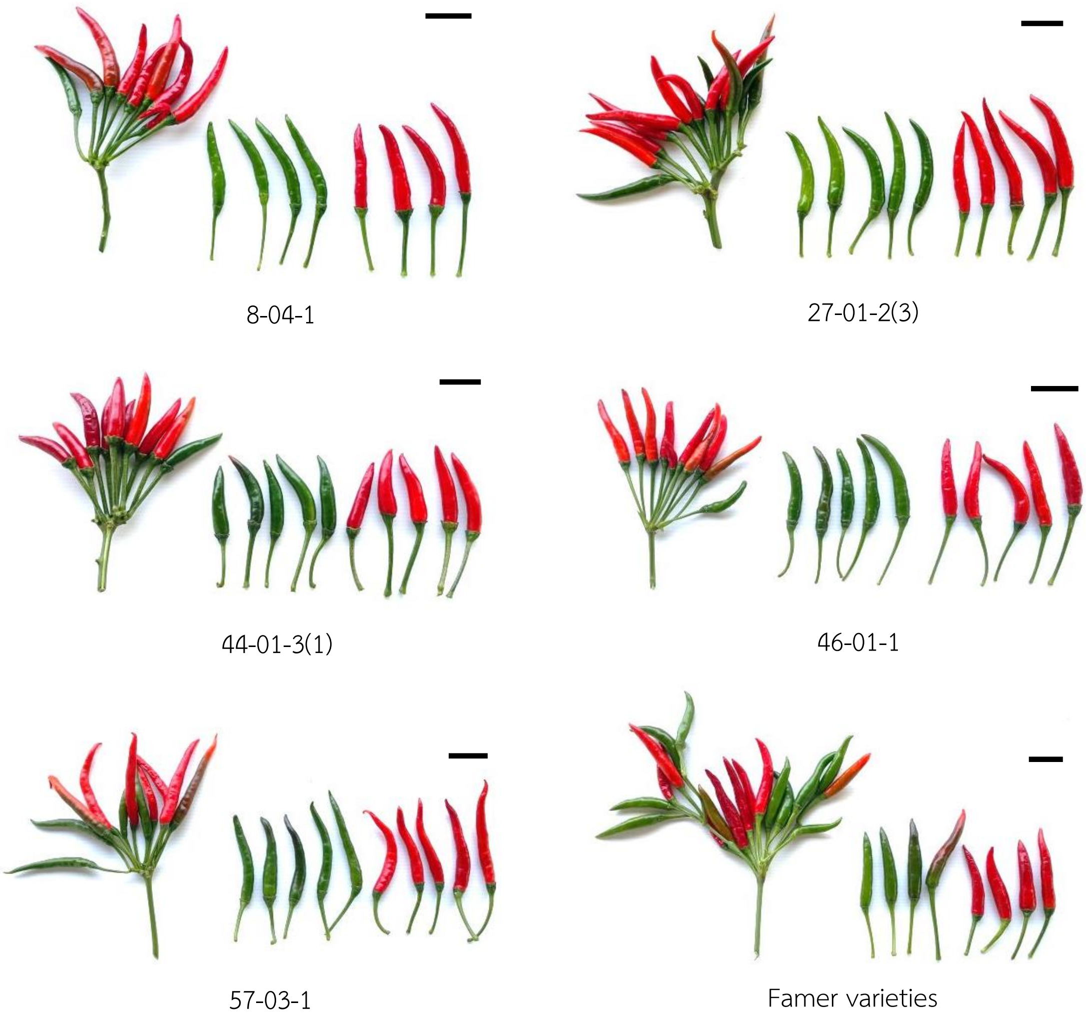



**Figure 1** Fruit characteristics of ‘Chor’ chili. Bar indicated 3 cm

**Table 1** Growth and number of fruit per cluster of 'Chor' chili at Si Sa Ket Horticultural Research Center (SSK HRC) and farmer field (FF)

| Treatments | Plant height (cm) | | Plant width (cm) | | No. of fruit per cluster | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | SSK HRC | FF | SSK HRC | FF | SSK HRC | FF |
| 8-04-1 | 76.80 c | 92.30 | 62.43 | 71.13 | 4.93 | 4.87 |
| 27-01-2(3) | 80.00 bc | 104.20 | 68.03 | 76.15 | 5.19 | 4.95 |
| 44-01-3(1) | 81.20 bc | 106.30 | 61.53 | 68.18 | 4.73 | 4.08 |
| 46-01-1 | 91.65 a | 110.95 | 66.35 | 73.88 | 4.78 | 4.58 |
| 57-03-1 | 86.25 ab | 101.35 | 69.50 | 67.10 | 5.13 | 4.75 |
| farmer varieties | 86.30 ab | 106.10 | 66.60 | 71.83 | 4.97 | 4.45 |
| F-test | **[1/] | ns[2/] | ns | ns | ns | ns |
| C.V. | 6.13 | 7.46 | 11.84 | 12.32 | 11.16 | 11.55 |

[1/] mean separation within column by LSD, α 0.01
[2/] non-significant

**Table 2** Fruit size of 'Chor' chili at Si Sa Ket Horticultural Research Center (SSK HRC) and farmer field (FF)

| Treatments | Fruit width (cm.) | | Fruit length (cm.) | | pedicel length (cm) | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | SSK HRC | FF | SSK HRC | FF | SSK HRC | FF |
| 8-04-1 | 0.71 bc | 0.70 c | 4.81 b | 4.67 b | 3.74 c | 3.94 b |
| 27-01-2(3) | 0.65 c | 0.69 c | 5.07 b | 4.72 b | 3.42 d | 3.35 c |
| 44-01-3(1) | 0.87 a | 0.82 ab | 4.50 c | 4.14 c | 4.39 a | 4.22 ab |
| 46-01-1 | 0.64 c | 0.64 d | 4.36 c | 4.43 bc | 4.21 ab | 4.34 a |
| 57-03-1 | 0.74 b | 0.73 bc | 5.63 a | 5.42 a | 4.01 bc | 4.06 ab |
| farmer varieties | 0.89 a | 0.86 a | 4.98 b | 4.70 b | 3.92 bc | 3.85 b |
| F-test | **[1/] | ** | ** | ** | ** | ** |
| C.V. | 7.61 | 5.18 | 3.84 | 7.25 | 4.61 | 6.76 |

[1/] mean separation within column by LSD, α 0.01

**Table 3** Fruit weight and yield of 'Chor' chili at Si Sa Ket Horticultural Research Center (SSK HRC) and farmer field (FF)

| Treatments | Fruit fresh weight (g) | | Yield per rai (kg)[1/] | |
|---|---|---|---|---|
| | SSK HRC | FF | SSK HRC | FF |
| 8-04-1 | 1.53 c | 1.41 cd | 975.25 a | 359.04 ab |
| 27-01-2(3) | 1.58 c | 1.53 bc | 971.45 a | 436.78 a |
| 44-01-3(1) | 1.94 b | 1.64 bc | 669.87 b | 199.57 c |
| 46-01-1 | 1.20 d | 1.26 d | 972.53 a | 383.99 ab |
| 57-03-1 | 1.83 b | 1.72 b | 1038.73 a | 435.42 a |
| farmer varieties | 2.19 a | 1.99 a | 845.35 ab | 235.32 bc |
| F-test | **[2/] | ** | *[3/] | ** |
| C.V. | 6.68 | 9.85 | 20.20 | 30.94 |

[1/] two times harvesting at SSK HRC and one times harvesting at FF
[2/] mean separation within column by LSD, α 0.01
[3/] mean separation within column by LSD, α 0.05

# การวิเคราะห์การท่องเที่ยวโดยชุมชนบ้านถ้ำเสือ:การประยุกต์ปรัชญาของเศรษฐกิจพอเพียง

# Analyzing Ban Thamsua Community-Based Tourism: Application of the Sufficiency Economy Philosophy

**สาวิตรี รังสิภัทร์[1]**

**Rangsipaht, S.[1]**

## Abstract

The objective of this research was to analyze Ban Thamsua Community-Based Tourism by applying the Sufficiency Economy Philosophy. Information was obtained using an in-depth interview with the two key informants and a focus group discussion with ten local citizens participating in Ban Thamsua Community-Based Tourism. Triangulation was employed to validate the information. Findings from the application of the Sufficiency Economy Philosophy were: 1) moderation by using the existing social capital and getting local citizens involved in income-generating activities; 2) reasonableness by bringing prosperity to the community while having activities to help tourists appreciate the natural beauty and the environmental conservation; 3) self-immunity by expanding networking both inside and outside the community; 4) knowledge by using related knowledge from various organizations in planning and taking action; and 5) morality by using honesty, patience, perseverance, and intelligence in implementing Community-Based Tourism.

**Keywords:** Community-Based Tourism, Sufficiency Economy Philosophy, tourist, sustainable development

## บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อวิเคราะห์การท่องเที่ยวโดยชุมชนบ้านถ้ำเสือโดยการประยุกต์ปรัชญาของเศรษฐกิจพอเพียง ข้อมูลได้จากการใช้การสัมภาษณ์เชิงลึกผู้ให้ข้อมูลหลักสองคนและการสนทนากลุ่มประชาชนในท้องถิ่นสิบคนที่เข้าร่วมในการท่องเที่ยวโดยชุมชนบ้านถ้ำเสือ ใช้ Triangulation ตรวจสอบความเที่ยงตรงของข้อมูล ผลจากการประยุกต์ปรัชญาของเศรษฐกิจพอเพียงคือ 1)ความพอประมาณ โดยการใช้ทุนทางสังคมที่มีอยู่และการนำประชาชนในท้องถิ่นเข้าร่วมในกิจกรรมสร้างรายได้ 2)ความมีเหตุผลโดยการนำความมั่งคั่งสู่ชุมชนในขณะที่มีกิจกรรมที่ช่วยให้นักท่องเที่ยวชื่นชมความงามของธรรมชาติและการอนุรักษ์สิ่งแวดล้อม 3)การมีภูมิคุ้มกันตนเอง โดยการขยายเครือข่ายทั้งภายในและภายนอกชุมชน 4) ความรู้ โดยการใช้ความรู้ที่เกี่ยวข้องจากหน่วยงานต่าง ๆ ในการวางแผนและการดำเนินการ 5)คุณธรรมโดยการใช้ความซื่อสัตย์ ความอดทน ความเพียร และสติปัญญาในการดำเนินการท่องเที่ยวโดยชุมชน

**คำสำคัญ:** การท่องเที่ยวโดยชุมชน ปรัชญาของเศรษฐกิจพอเพียง นักท่องเที่ยว การพัฒนาที่ยั่งยืน

## Introduction*

The global widespread of COVID-19 has affected people's lives not only the domestic concerns but also the international crises. Even though the confirmed cases of coronavirus infection in Thailand have been declined, its impacts are tremendously illustrated. In 2018, the Gross Domestic Product (GDP) of Thailand was generated mainly by the export and international tourism services from China in particular. The impacts of coronavirus pandemic since 2019 have caused the decline in export and international tourism in Thailand significantly (Office of the National Economic and Social Development Council, 2020). As a result of domestic economic problems, Thai government has launched the accelerated program called "Visiting Thailand" to stimulate tourism in the country as well as to generate income in the communities as a whole.

In searching for the role model in Community-Based Tourism amid the coronavirus pandemic, it is widely accepted that Ban Thamsua is recognized for tourists on the Community-Based Tourism and

[1] ภาควิชาส่งเสริมและนิเทศศาสตร์เกษตร คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เลขที่ 50 ถนนงามวงศ์วาน เขตจตุจักร กรุงเทพฯ10900

[1] Dept. of Agricultural Extension and Communication, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, 50 Ngam Wong Wan Road, Chatuchak District, Bangkok 10900

application of the Sufficiency Economy Philosophy. The concept of Community-Based Tourism (CBT) is to focus on the participation of local citizens in tourism community by planning, developing, and having positive impacts on social, economic, and environmental conditions. Local citizens become owners and decision makers in managing tourism for the community's benefits. They will preserve, support, and be aware of the culture, natural heritage, and tourism impacts on the community and environment. Also, they will set aside money at least part of the income from tourism activities to the community as a whole (Nitikasetsoontorn, 2015). The concept of the Sufficiency Economy Philosophy (SE) has brought up since 1974 during His Majesty the King Bhumibol Adulyadej’s speech given on December 4, 1974. The SE consists of three pillars and two conditions which are: 1) Moderation refers to sufficiency at a level of not doing too little or too much at the expense of oneself or others. 2) Reasonableness refers to making consideration of the factors concerned and anticipating outcomes carefully which may be expected from such action. 3) Self-immunity refers to the preparation to cope with the likely impacts and changes in various aspects by foreseeing the probability of the future situations. Two conditions underlying the decisions and activities at the sufficient level are as follows: 1) Knowledge refers to bring the relevant knowledge into consideration and understanding the relationship among various fields in order to use them in planning and operation. 2) Morality refers to leading one’s life with honesty, patience, perseverance, and intelligence (The Chaipattana Foundation, 2020).

In this research, the triangulation was employed to validate the information including: 1) data triangulation by verifying the data through different points in time; 2) investigator triangulation by exchanging point of view with different observers; and 3) method triangulation by verifying the consistency of findings from the documentary studies, observation, in-depth interview, and focus group discussion (Chanthawanit, 2012). The congruent information acquired from the documentary studies, observation, in-depth interview, and focus group discussion will be certain the validity of the information obtained.

Ban Thamsua was situated in Moo5, Ao Luk Tai sub-district, Ao Luk district, Krabi province, Thailand. There were 149 households with four main families. The idea of having Ban Thamsua become a tourism community has begun since 1999. Key leaders discussed on how to strengthen the community by providing benefits and returning happiness to all citizens. The ideas of participation in planning, brainstorming, being responsible, and profit-sharing have been put into practice. One of the key leaders mentioned that the community was clean and safe. People deducted 10% of their income from the community’s activities to the central administration. At the beginning, they donated 200,000 THB to start the activities. The empirical evidence showed that in 2011, Ban Thamsua received the role model award in applying of the SE. In the following year, this community received the role model award in CBT (Ratananan, 2019).

In this research, the objective was to analyze Ban Thamsua by using the concept of the SE. Findings would be useful to understand this community and implement them in other communities at a similar condition and concern.

## Materials and Methods*

This qualitative research was carried out from June to September 2019. The information was gathered using 1) the documentary studies about the concept of CBT, the SE, relevant studies, and related researches; 2) the non-participant observation in Ban Thamsua; 3) the in-depth interview with two informants; namely, Mr. Worawat RATANANAN, a coordinator of the local wisdom zone, and Mr. Chatuphon ARAM, an owner of Rai Prida homestay; and 4) focus group discussion with ten local citizens participating in CBT to answer the research question on the application of the SE in Ban Thamsua. The in-

depth interview and focus group discussion was the instrument to collect data. Triangulation was used to validate the information.

## Results and Discussion*

**1.Moderation** by considering not doing too much or too little at the expense of oneself. Based upon the analysis, local citizens at Ban Thamsua have started with what they were and what the community had. They realized that the existing social capital in the community was their livelihoods, the natural heritages, and the strong networking. Authentic foods and desserts such as Shrimp Chili Paste, Crispy Lotus Blossom Cookie, Coconut Balls, Khee Mord Dessert, dried squids, and dried seafood were ready to serve tourists and were available on sale. Tourists would enjoy the activities given such as learning how to tie, dye, and design fabric for their own souvenirs. T-shirts, cotton bags, cotton jackets, scarfs, and etc. designed by tie-dye fabric were displayed and were available on sale also. Local citizens of all age groups would participate in the activities provided for tourists. For example, senior citizens would demonstrate how to weave the coconut leaf baskets while inviting tourists to join them. It was noticeable that the elderly here looked cheerfully and enjoyed laughing. Folkways such as Ronggen dance, Manohra dance, Li Ke Pa performance, and Muay Thai Chaiya demonstration were additional aspects of the social capital which would illustrate significantly the strengths of individuals and their families. Local citizens of all ages, therefore, would be able to involve in and could generate income for their families sustainably. Findings of this research were in compliance with Siriphanupong and Rungkasiri (2017) that to support the balance among social, economy, and environment by applying the concept of the SE would enable to build a strong foundation for sustainable business.

**2. Reasonableness** by making rational consideration of the factors and outcomes from such action. In Ban Thamsua, related factors to become the role model in CBT were to bring the prosperity to the community. In this regard, tourists might join the activities provided such as bike tour to visit temples, caves, natural sightseeing places, kayaking, or enjoyed the body spa covered by warm sea mud. Based upon the observation, the outcomes from such activities helped tourists get closer to the nature. The more they appreciated the natural beauty, the more they expressed the sense of environmental conservation occurred.

**3. Self-immunity** by preparing to cope with the likely impacts and changes and foreseeing the probability of future situations. Regarding Ban Thamsua, to cope with and foresee the demand of tourists visiting the community was to expand the networking. For example, three main homestays were available in the community. Ruan Phu Hai homestay could accommodate 15-20 tourists while Ruan Phai Lin homestay could service 30-40 tourists. For large group of tourists (150-200 persons), they could check in at Rai Prida homestay. However, Ban Suan Thip homestay and Laem Sak Seafood homestay situated outside the community could accommodate 20-30 tourists each.

**4. Knowledge** by bringing the relevant knowledge and understanding the relationship among various fields to use them in planning and taking action. The well-rounded knowledge was clarified since Ban Thamsua was a learning place where expansions of networking were illustrated clearly. Ao Luk District Agricultural Extension Office, Krabi Provincial Community Development Office, Ao Luk Non-Formal Education Center, World Vision Foundation of Thailand, and Bank of Agriculture and Agricultural Cooperatives (BAAC) were external networking to support Ban Thamsua. BAAC in particular has placed this community in its project called BAAC leading towards Thailand tour by following the footsteps of Majesty King Bhumibol Adulyadej.

**5. Morality** by leading one's life with honesty, patience, perseverance, and intelligence. Local citizens have proved that the honesty in implementing CBT with patience, perseverance, and intelligence by

applying the SE would help them socially, financially, and environmentally sustain. Local citizens enjoyed their livelihoods and lived happily ever after.

Considering the essence of the SE from this research, it was supported by Mongsawad and Thongpakde (2016) that people should behave with moderation and morality in economic decision making. Moderation would filter out greed and consumerist behavior. Morality would lead people to consider the consequence of their actions to others and society. Reasonableness would imply non-extreme risk-taking behavior. Also, findings of this study agreed with Suriyankietkaew and Kantamara (2019) that the moderation, reasonableness, resilience, knowledge, ethnics/morality, compassion and caring for stakeholders were underlying the achievement of the long-term corporate and business enterprise sustainability.

Based upon the findings, it was recommended that to promote the CBT by applying the SE should include: 1) to analyze social capital in the community and wisely use it; 2) to get local citizens involved in, share profits, and set aside money from the income generating activities to the central administration of the community; 3) to promote the success stories of CBT through electronic devices such as social media and internet; 4) to establish both internal and external CBT networking; and 5) to strengthen and expand the roles of young generation to move forward CBT sustainability.

## Summary*

Analyzing Ban Thamsua CBT by applying the SE revealed as follows: moderation by considering the strengths of community derived from the existing social capital for the income generating activities; reasonableness by bringing prosperity to the community without scarifying the environmental conservation; self-immunity by foreseeing the demand of tourists in the community and expanding homestays networking; knowledge by using relevant knowledge in planning and taking action; and morality by using honesty, patience, and intelligence in CBT to sustain socially, financially, and environmentally in the community.

## References

Chaipattana Foundation., 2020, Philosophy of Sufficiency Economy. [Online], Available: https//www.chaipat.or.th/eng/concepts-theories/sufficiency-economy-ne.../ [Jan 22,2020].

Chanthawanit, S., 2012, Qualitative Research Methods, 20th ed., Bangkok: Chulalongkorn University Press, 233 p.

Mongsawad, P. and Thongpakde, N., 2016, Sufficiency Economy Philosophy: A Holistic Approach to Economic Development and Mainstream Economic Thought, Asian Social Science, 12 (7): 136-142.

Nitikasetsoontorn, S., 2015, The Success of Factors of Community-Based Tourism in Thailand, NIDA Development Journal, 55 (2): 24-58.

Office of the National Economic and Social Development Council., 2020, GDP Q4 in 2019 and Trend in 2020. [Online], Available: https://www.nesdc.go.th/ewt_dl_link.p.../ [Sept 10, 2020].

Ratananan, W., 2019, A Coordinator of the Local Wisdom Zone, Interview, June 27, 2019, p. 2.

Siriphanupong, T. and Rungkasiri, T., 2017, A Business Practice of Sufficiency Economy Philosophy: A Contribution to Performance of New Product, International Journal of Productivity and Quality Management, 20 (2): 139-153.

Suriyankietkaew, S. and Kantamara, P., 2019, Business Ethnics and Spirituality for Corporate Sustainability: A Buddhism Perspective, Journal of Management, Spirituality and Religion, 16 (3): 264-289.

# องค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยของพืชสกุลขมิ้นที่เก็บรวบรวมจากพื้นที่สูงภูทับเบิก
# Essential Oil Composition of *Curcuma* spp. Collected from Phu Thap Berk Highland

อภิญญา วงศ์เปี้ย[1] ชลลดา สามพันพวง[1] ธีรภัทร เหลืองศุภบูลย์[1] กัญญาภรณ์ พิพิธแสงจันทร์[1] วินัย สมประสงค์[2] และ สมชาย บุญประดับ[3]
Wongpia, A.[1], Samphunphuang, C.[1], Luangsuphabool, T.[1], Pipithsangchan, K.[1], Somprasong, W.[2] and Boonpradub, S.[3]

## Abstract

Phytochemical investigation of traditional medicinal plants collected from Phu Thap Berk highland was conducted. In this study, the volatile compounds of rhizome oils from six types of *Curcuma* spp., including four different Wan Chak Mod Look (C1-C4), Wan En Lueng (C5), and Wan Mahamek (C6), was analyzed by GC-MS. A total of 45 compounds, representing 76.42-93.23% of the essential oils were identified. The rhizome oils of *Curcuma* spp. mainly consisted of monoterpenes and sesquiterpenes. The major volatile components of Wan Chak Mod Look (C1) were camphor (17.82%), β-curcumene (16.86%), xanthorrhizol (14.41%), and ar-curcumene (13.49%), whereas curzerenone (21.78-41.29%) and β-elemenone (10.45-21.16%) were abundant in other five *Curcuma* spp. (C2-C6). The taxonomic classification and their bioactivities of six *Curcuma* spp. need to be further studied for promoting the cultivation and utilization in Phu Thap Berk communities.

**Keywords:** GC-MS, phytochemical, rhizome, Thap Berk Model Project

## บทคัดย่อ

การศึกษาพฤกษเคมีในพืชสมุนไพรพื้นบ้านที่เก็บรวบรวมจากพื้นที่สูงภูทับเบิก โดยวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในน้ำมันหอมระเหยจากเหง้าของพืชสกุลขมิ้น 6 กลุ่มตัวอย่าง ได้แก่ ว่านชักมดลูก 4 ชนิด (C1-C4) ว่านเอ็นเหลือง (C5) และว่านมหาเมฆ (C6) ด้วยเทคนิค GC-MS องค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยสามารถระบุได้ 45 ชนิดจากปริมาณ 76.42-93.23% ขององค์ประกอบทั้งหมด น้ำมันจากเหง้าของพืชสกุลขมิ้นส่วนใหญ่ประกอบด้วยกลุ่มโมโนเทอร์ปีนและเซสควิเทอร์ปีน องค์ประกอบหลักในน้ำมันหอมระเหยของว่านชักมดลูก (C1) ได้แก่ camphor (17.82%) β-curcumene (16.86%) xanthorrhizol (14.41%) และ ar-curcumene (13.49%) ขณะที่ curzerenone (21.78-41.29%) และ β-elemenone (10.45-21.16%) พบมากในพืชสกุลขมิ้นอีก 5 ชนิด (C2-C6) สำหรับการจำแนกพืชตามหลักอนุกรมวิธานรวมถึงฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชสกุลขมิ้น 6 ชนิดนี้จำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อส่งเสริมการเพาะปลูกและการใช้ประโยชน์ในชุมชนภูทับเบิก

**คำสำคัญ:** แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมตรี พฤกษเคมี เหง้า โครงการทับเบิกโมเดล

## คำนำ

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของกิจกรรมการสำรวจและศึกษาพืชสมุนไพรพื้นบ้านบนพื้นที่สูงภูทับเบิก ภายใต้โครงการพัฒนาระบบการผลิตพืชอย่างยั่งยืนบนพื้นที่สูงเขาหัวโล้นภูทับเบิก (ทับเบิกโมเดล) ของกรมวิชาการเกษตร โดยพื้นที่สูงภูทับเบิกมีความหลากหลายของพืชสมุนไพรและมีการใช้ประโยชน์ตามภูมิปัญญาท้องถิ่นมาช้านาน จากข้อมูลบัญชีพืชสมุนไพรในพื้นที่ภูทับเบิกที่ครอบคลุม 3 จังหวัด ได้แก่ เลย พิษณุโลก และเพชรบูรณ์ (สำนักงานพัฒนาเศรษฐกิจจากฐานชีวภาพ, 2561) สามารถรวบรวมข้อมูลพืชสมุนไพรได้ 85 วงศ์ รวมทั้งหมด 353 ชนิด อย่างไรก็ตามยังไม่มีการรวบรวมข้อมูลเชิงพฤกษเคมีที่ยืนยันสรรพคุณของพืชสมุนไพรเพื่อบ่งบอกแนวโน้มของการนำไปใช้เชิงสุขภาพและเภสัชบำบัดได้

พืชสกุลขมิ้น (*Curcuma*) เป็นสมุนไพรที่นิยมปลูกประจำบ้านเพื่อเป็นอาหารและยารักษาโรค รวมถึงปลูกเชิงพาณิชย์ พืชสกุลขมิ้นเป็นพืชในวงศ์ขิง (Zingiberaceae) ซึ่งพบน้ำมันหอมระเหยแทบทุกส่วนและให้สรรพคุณทางเภสัชหลายด้าน มีรายงานว่าน้ำมันหอมระเหยของ *C. comosa* พบพฤกษเคมี 20 ชนิดโดยมี 1,8-cineole (49.5%) และ terpinolene (37.8%) เป็น

[1] สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร, 85 หมู่ 1 ถ.รังสิต-นครนายก ต.รังสิต อ.ธัญบุรี จ.ปทุมธานี 12110
[1] Biotechnology Research and Development Office, Department of Agriculture, 85 M.1 Rangsit-Nakorn Nayok Rd., Rangsit, Thanyaburi, Pathum Thani 12110
[2] สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร, 50 ถ.พหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900
[2] Plant Varieties Protection Office, Department of Agriculture, 50 Phaholyothin Rd., Ladyao, Chatuchack, Bangkok 10900
[3] สำนักผู้เชี่ยวชาญ กรมวิชาการเกษตร, 50 ถ.พหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900
[3] Senior Expert Office, Department of Agriculture, 50 Phaholyothin Rd., Ladyao, Chatuchack, Bangkok 10900

องค์ประกอบหลักซึ่งแสดงฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ 5 สายพันธุ์ (Palanuvej และ Ruangrungsi, 2007) น้ำมันหอมระเหยของ *C. xanthorrhiza* ในประเทศมาเลเซีย ประกอบด้วยพฤกษเคมีในกลุ่มเซสควิเทอร์ปีนและอนุพันธ์ถึงร้อยละ 92 โดยมี xanthorrhizol (31.9%), β-curcumene (17.1%) และ ar-curcumene (13.2%) เป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเกิดออกซิเดชันของ low density lipoprotein (LDL) ในมนุษย์ (Jantan และคณะ, 2012) อย่างไรก็ตาม การศึกษาพฤกษเคมีในพืชสกุลขมิ้นที่เชื่อมโยงกับสรรพคุณของพืชยังมีน้อย งานวิจัยนี้จึงคัดเลือกพืชสกุลขมิ้นจำนวน 6 ตัวอย่างที่รวบรวมจากชุมชนในเขตพื้นที่สูงภูทับเบิกที่มีการเพาะปลูกพืชเหล่านี้เพื่อจำหน่ายเป็นวัตถุดิบสมุนไพร มาวิเคราะห์องค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธี GC-MS เพื่อระบุชนิดพฤกษเคมีที่เป็นองค์ประกอบหลักและสืบค้นฤทธิ์ทางชีวภาพของพฤกษเคมีเหล่านั้น

## อุปกรณ์และวิธีการ

คัดเลือกเหง้าของพืชสกุลขมิ้น 6 ตัวอย่าง ได้แก่ ว่านชักมดลูกตัวผู้และตัวเมียบ้านเข็กน้อย ต.เข็กน้อย อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์ (C1 และ C2) ว่านชักมดลูกตัวผู้และตัวเมีย และว่านเอ็นเหลืองบ้านห้วยน้ำไซ ต.เนินเพิ่ม อ.นครไทย จ.พิษณุโลก (C3, C4 และ C5) และว่านมหาเมฆบ้านภูขัด ต.นาบัว อ.นครไทย จ.พิษณุโลก (C6) (Figure 1) มาล้างและผึ่งให้แห้งก่อนส่งวิเคราะห์ที่ศูนย์เชี่ยวชาญนวัตกรรมผลิตภัณฑ์สมุนไพร (ศนส.) ของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) โดยนำตัวอย่างบดละเอียด 100 กรัมไปสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีต้มกลั่น (hydrodistillation) โดยใช้ชุดสกัด clevenger type apparatus จากนั้นวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในน้ำมันหอมระเหยด้วย GC-MS (Agilent Technologies, model 7890 B) โดยใช้คอลัมน์ HP-5MS (30 m x 0.25 mm, film thickness 0.25 µm) ฉีดตัวอย่างแบบ pulse split (split ratio, 20:1) อุณหภูมิ injector เท่ากับ 230°C โดยไม่บ่มตัวอย่างก่อนฉีด สภาวะคอลัมน์เริ่มต้นที่อุณหภูมิ 50°C แล้วเพิ่มขึ้นในอัตรา 4°C ต่อนาทีจนถึง 230°C ใช้ฮีเลียมเป็นแก๊สตัวพา (11.01 psi, flow 1.2 ml/min) ตรวจวัดด้วยเครื่อง Mass Selective Detector (MSD, EI 70 eV, scan mode, 40-400 amu) และวิเคราะห์องค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยเทียบกับฐานข้อมูล Wiley 11$^{th}$ และ National Institute of Standards and Technology (NIST 2014 และ 2017) โดยใช้ 90% quality match

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

น้ำมันหอมระเหยของพืชสกุลขมิ้นทั้ง 6 กลุ่มตัวอย่าง (C1-C6) มี %yield เท่ากับ 1.50, 0.50, 0.70, 0.50, 0.75 และ 0.30 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ โดยว่านมหาเมฆ (C6) และว่านชักมดลูกตัวผู้บ้านเข็กน้อย (C1) ให้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยต่ำและสูงที่สุดตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยด้วย GC-MS สามารถระบุชนิดพฤกษเคมีเทียบกับฐานข้อมูล (library) ได้ 45 ชนิด ซึ่งมีปริมาณจากพื้นที่ใต้กราฟ เท่ากับ 76.42-93.23% ขององค์ประกอบทั้งหมด เมื่อจัดจำแนกพฤกษเคมีตามโครงสร้างทางเคมีพบว่าส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มโมโนเทอร์ปีนและเซสควิเทอร์ปีน ซึ่งสารในกลุ่มเทอร์ปีนนี้มีสรรพคุณในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ต้านจุลินทรีย์ และต้านการอักเสบ เป็นต้น (Noriega, 2020)

เมื่อเปรียบเทียบ chromatogram ของพืชสกุลขมิ้นทั้ง 6 ตัวอย่าง (Table 1 และ Figure 2) พบว่าว่านชักมดลูกตัวผู้บ้านเข็กน้อย (C1) มีรูปแบบ chromatogram แตกต่างไปจากพืชอีก 5 ชนิด (C2-C6) โดยมี xanthorrhizol เป็นสารพฤกษเคมีที่สำคัญและมีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ลดระดับน้ำตาลในเลือด ลดการจับกันของเกล็ดเลือด และต้านการอักเสบ เป็นต้น (Oon และคณะ, 2015) (Table 1) นอกจากนี้ xanthorrhizol ยังจัดเป็นสารในกลุ่มเซสควิเทอร์ปีนเช่นเดียวกับที่พบในว่านชัดมดลูกชนิด Javanese turmeric (*Curcuma xanthorrhiza*) (Oon และคณะ, 2015) ส่วนองค์ประกอบหลักอื่น ได้แก่ camphor, β-curcumene และ ar-curcumene ในพืชสกุลขมิ้นอีก 5 ชนิด (C2-C6) นั้นมี chromatogram ที่คล้ายคลึงกัน แสดงให้เห็นว่ามีสารพฤกษเคมีที่เป็นองค์ประกอบหลักกลุ่มเดียวกัน นอกจากนี้ยังมีสาร curzerenone และ β-elemenone เป็นพฤกษเคมีสำคัญที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านจุลินทรีย์ ต้านมะเร็ง บรรเทาปวด เป็นพิษต่อลูกน้ำยุง และฆ่าเชื้อโปรโตซัวลิชมาเนีย (Rodrigues และคณะ, 2013; Govindarajan และคณะ, 2017; Zheng และคณะ, 2019)

ในกลุ่มว่านชัดมดลูกทั้ง 4 ตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ ยังไม่มีข้อมูลที่สามารถยืนยันแน่ชัดว่าตัวอย่างเหล่านั้นเป็นตัวผู้หรือตัวเมียนอกเหนือจากชื่อเรียกตามภาษาท้องถิ่นเช่นเดียวกับว่านเอ็นเหลือง ส่วนว่านมหาเมฆเมื่อพิจารณาจากลักษณะต้นและเหง้ารวมถึงชนิดพฤกษเคมีที่วิเคราะห์ได้ ควรจัดอยู่ในสปีชีส์ *C. aeruginosa* อย่างไรก็ตามต้องมีการศึกษาสัณฐานวิทยาร่วมกับการวิเคราะห์ทางชีวโมเลกุลเพื่อจำแนกชนิดพืชให้ถูกต้องตามหลักอนุกรมวิธาน รวมถึงการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพเพื่อการใช้ประโยชน์ในอนาคต ข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยนี้จะช่วยสนับสนุนการใช้ประโยชน์จากพืชสมุนไพรตามภูมิปัญญาท้องถิ่น นำไปสู่การพัฒนาผลิตภัณฑ์และส่งเสริมการปลูกในชุมชนพื้นที่สูงภูทับเบิก เพื่อการผลิตพืชอย่างยั่งยืนตามเป้าหมายของโครงการทับเบิกโมเดล

## สรุปผล

สามารถระบุเป็นองค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยจากเหง้าของพืชสกุลขมิ้นทั้ง 6 ตัวอย่างได้ 45 ชนิด โดยว่านชักมดลูกตัวผู้บ้านเข็กน้อย (C1) มีพฤกษเคมีที่เป็นองค์ประกอบหลัก 4 ชนิด ได้แก่ camphor, β-curcumene, ar-curcumene และ xanthorrhizol ซึ่งชนิดหลังเป็นพฤกษเคมีที่โดดเด่นที่สามารถต้านอนุมูลอิสระ ลดระดับน้ำตาลในเลือด ป้องกันตับ ลดการจับกันของเกล็ดเลือด และต้านการอักเสบ ส่วนพืชสกุลขมิ้นอีก 5 ตัวอย่าง (C2-C6) มี curzerenone และ β-elemenone เป็นพฤกษเคมีที่โดดเด่นที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพในด้านต้านจุลินทรีย์ ต้านมะเร็ง บรรเทาปวด เป็นพิษต่อลูกน้ำยุง และฆ่าเชื้อโปรโตซัว

## คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากแหล่งเงินรายได้จากการดำเนินงานวิจัยด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ขอขอบคุณคุณ ศนส. วว. สำหรับข้อแนะนำเรื่องการวิเคราะห์ GC-MS และขอขอบคุณ สทช. ที่อำนวยความสะดวกด้านบุคลากรและสถานที่ทำวิจัย

## เอกสารอ้างอิง

สำนักงานพัฒนาเศรษฐกิจจากฐานชีวภาพ (องค์การมหาชน), 2561, บัญชีรายการทรัพยากรชีวภาพพืชสมุนไพร เลย พิษณุโลก เพชรบูรณ์, สำนักงานพัฒนาเศรษฐกิจจากฐานชีวภาพ (องค์การมหาชน), กรุงเทพฯ, 393 หน้า.

AlSheblya, M.M., AlQahtanib, F.S., Govindarajanc, M., Gopinathd, K., Vijayanc, P. and Benelli, G., 2017, Toxicity of Ar-Curcumene and Epi-β-Bisabolol from *Hedychium larsenii* (Zingiberaceae) Essential Oil on Malaria, Chikungunya and St. Louis Encephalitis Mosquito Vectors, Ecotoxicology and Environmental Safety, 137: 149-157.

Arivoli, S., Tennyson, S., Divya, S., Rani, S. and Marin, G., 2019, GC-MS Analysis of Bioactive Compounds of *Curcuma longa* Linnaeus (Zingiberaceae) Rhizome Extract, Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 8(6): 49-52.

Govindarajan, M., Rajeswary, M., Senthilmurugan, S., Vijayan, P., Alharbi, N.S., Kadaikunnan, S., Khaled, J.M. and Benelli, G., 2017, Curzerene, *Trans*-β-Elemenone, and γ-Elemene as Effective Larvicides against *Anopheles subpictus*, *Aedes albopictus*, and *Culex tritaeniorhynchus* : Toxicity on Non-target Aquatic Predators, Environmental Science and Pollution Research, 25: 10272-10282.

Jantan, I., Saputri, F.C., Qaisar, M.N. and Buang, F., 2012, Correlation between Chemical Composition of *Curcuma domestica* and *Curcuma xanthorrhiza*, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2012: 438356.

Noriega, P., 2020, Terpenes in Essential Oils: Bioactivity and Applications, IntechOpen.

Oon, S.F., Nallappan, M., Tee, T.T., Shohaimi, S., Kassim, N.K., Sa'ariwijaya, M.S.F. and Cheah, Y.H., 2015, Xanthorrhizol: A Review of Its Pharmacological Activities and Anticancer Properties, Cancer Cell International, 15:100.

Palanuvej, C. and Ruangrungsi, N., 2007, Chemical Constituents and Antimicrobial Activity of Volatile Oil from *Curcuma comosa* Rhizome, Journal of Health Research, 21(1): 35-42.

Rodrigues, K.A.F., Amorim, L.V., Oliveira, J.M.G., Dias, C.N., Moraes, D.F.C., Andrade, E.H.A., Maia, J.G.S., Carneiro, S.M.P. and Carvalho, F.A.A., 2013, *Eugenia uniflora* L. Essential Oil as a Potential Anti-Leishmania Agent : Effects on *Leishmania amazonensis* and Possible Mechanisms of Action. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2013:279726.

Tran, T.A., Ho, M.T., Song, Y.W., Cho, M. and Cho, S.K., 2015, Camphor Induces Proliferative and Antisenescence Activities in Human Primary Dermal Fibroblasts and Inhibits UV-Induced Wrinkle Formation in Mouse Skin, Phytotherapy Research, 29: 1917-1925.

Zheng, T., Xiao, H., Shen, Y., Zhang, X., Jiang, K., Liu, L., Bai, X., Peng, J. and Chen, Y., 2019, Anticancer Effects of Curzerenone Against Drug-Resistant Human Lung Carcinoma Cells are Mediated via Programmed Cell Death, Loss of Mitochondrial Membrane Potential, ROS, and Blocking the ERK/MAPK and NF-κB Signaling Pathway, Journal of the Balkan Union of Oncology, 24(3): 907-912.

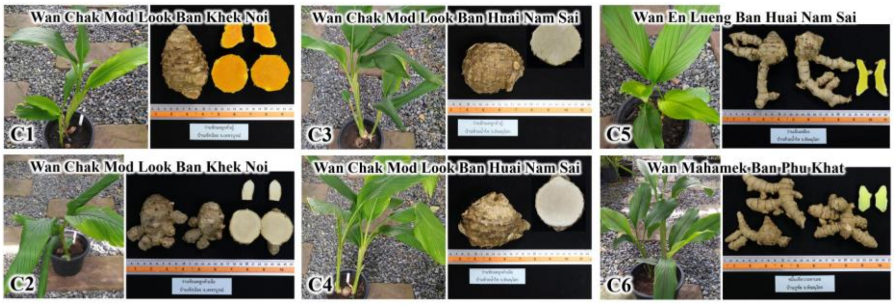



**Figure 1** Six *Curcuma* spp. collected from 3 villages located in Phu Thap Berk highland

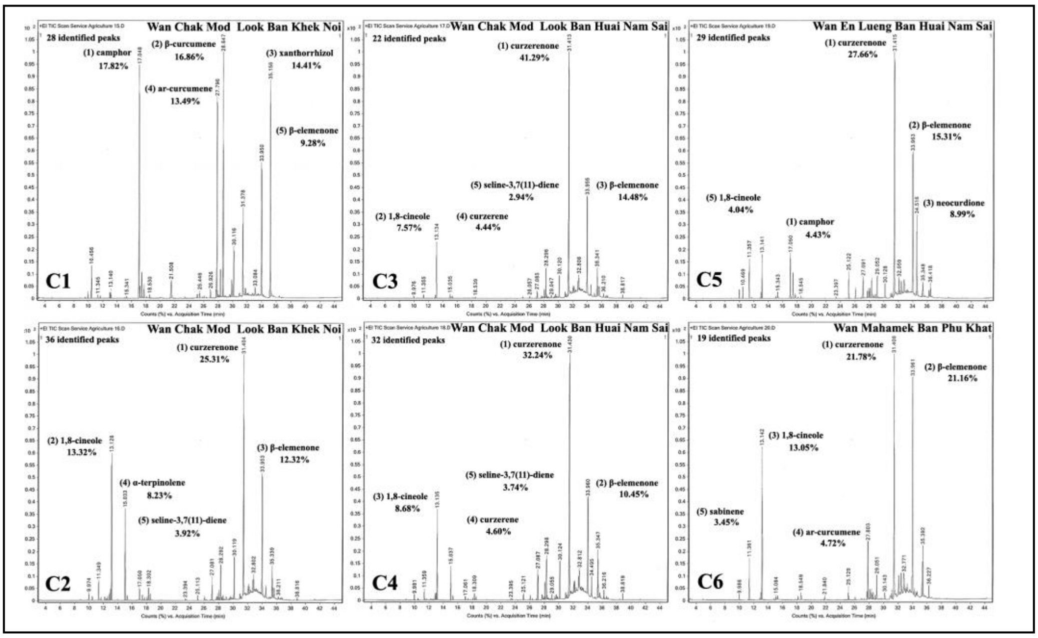
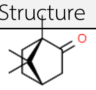
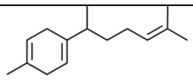
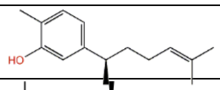
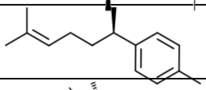
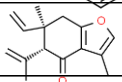
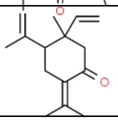



**Figure 2** GC/MS chromatograms of the rhizome oils of six *Curcuma* spp.

**Table 1** Structures and biological activities of major components identified from six Curcuma rhizome oils.

| Phytochemical | Structure | Biological activity |
|---|---|---|
| camphor (monoterpene) |  | antioxidant, anti-aging, antiwrinkle (Tran และคณะ, 2015) |
| β-curcumene (sesquiterpene) |  | antioxidant, antimicrobial, anti-diabetic (Arivoli และคณะ, 2019) |
| xanthorrhizol (sesquiterpene) |  | antioxidant, antihyperglycemic, hepatoprotective, antiplatelet, anti-inflammatory (Oon และคณะ, 2015) |
| ar-curcumene (sesquiterpene) |  | antioxidant, antimicrobial, toxicity against malaria and chikungunya mosquito vectors (AlShebly และคณะ, 2017) |
| curzerenone (sesquiterpene) |  | antimicrobial, analgesic action, anticancer (Zheng และคณะ, 2019) |
| β-elemenone (sesquiterpene) |  | larvicides against *Anopheles subpictus*, *Aedes albopictus*, and *Culex tritaeniorhynchus* (Govindarajan *et al*., 2017), anti-Leishmania (Rodrigues และคณะ., 2013) |

# ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจากตับอ่อนและเอนไซม์คอเลสเตอรอลเอสเทอเรส ของสารสกัดกากน้ำตาล

# Pancreatic Lipase and Cholesterol Esterase Enzyme Inhibitory Activity of Molasses Extracts

สุภาภรณ์ เลขวัต[1] และ อุบลวรรณา ศรีมงคลลักษณ์[1]
Lekhavat, S.[1] and Srimongkoluk, U[1]

## Abstract

Total phenolic contents, antioxidant activity determined by DPPH assay and inhibitory effect of molasses (Type A, B and C) and molasses extracts, which was extracted by acidic alcohol at ratio of 1:30 (molasses: acidic alcohol), on pancreatic lipase and cholesterol esterase enzyme, are investigated. The results showed that molasses C has the highest value of total phenolic content (39.63 mg. of GAE/g. sample) and has the best $IC_{50}$ value (120 µg/ml), while the lowest phenolic content and antioxidant capacity was molasses C $_{KSL}$). Pancreatic lipase and cholesterol esterase enzyme inhibition rate of molasses and the extracts are in range of 6-100 % and 2-75%, respectively. It was found that the level of inhibition depends on the concentration of molasses. On comparison, the results showed more phenolic content, antioxidant activity and capacity of pancreatic lipase enzyme inhibition of molasses than its extracts.
**Keywords:** molasses, cholesterol esterase inhibition, pancreatic lipase inhibition

## บทคัดย่อ

การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH และฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจากตับอ่อนและเอนไซม์คอเลสเตอรอลเอสเทอเรสในกากน้ำตาล (ชนิด A, B และ C) และสารสกัดจากกากน้ำตาลที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์เติมกรดที่อัตราส่วน 1:30 (กากน้ำตาล:แอลกอฮอล์เติมกรด) พบว่ากากน้ำตาลชนิด C มีสารประกอบฟีนอลิกที่สูงที่สุด (39.63 mg GAE/g.) และมีค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่ $IC_{50}$ ดีที่สุด (120 µg/ml) ในขณะที่กากน้ำตาล C $_{KSL}$ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจากตับอ่อนและเอนไซม์คอเลสเตอรอลเอสเทอเรสของกากน้ำตาลและสารสกัดอยู่ในช่วง 6-100 % และ 2-75 % ตามลำดับ ซึ่งพบว่าระดับความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ขึ้นกับค่าความเข้มข้นของกากน้ำตาล เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกากน้ำตาลและสารสกัดจากกากน้ำตาล พบว่ากากน้ำตาลมีปริมาณฟีนอลิกสูง มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระและการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสได้ดีกว่าสารสกัด
**คำสำคัญ:** กากน้ำตาล การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ คอเลสเตอรอลเอสเทอเรส ไลเปส ตับอ่อน

## คำนำ

กากน้ำตาลเป็นของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลเข้มประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส กลูโคสและฟรุคโตส น้ำตาลรีดิวส์ และส่วนประกอบที่ไม่ใช่น้ำตาล เช่น โพลีฟีนอล แร่ธาตุ และสารสีที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลรีดิวส์และอะมิโนแอซิด (คาราเมล) (Solomon, 2011) โดยพบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (TPC) 101.3 mg GAE/g และมีค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระคำนวณเป็น IC50 เท่ากับ 126 µg/ml (Yu และคณะ,2016) ปัจจุบันมักนำไปใช้ผลิตอาหารสัตว์และเป็นวัตถุดิบในกระบวนการหมักในอุตสาหกรรมแอลกอฮอล์ การผลิตกรดซิตริก ยีสต์ ผงชูรส และเด็กซ์แทรน เป็นต้น ไม่นิยมบริโภคเนื่องจากสีและองค์ประกอบเคมีบางชนิด กากน้ำตาลเป็นผลิตภัณฑ์พลอยได้จากการผลิตน้ำตาลซึ่งมีปริมาณสูงมาก (ประมาณ 4-5 %) ในขณะที่มูลค่าน้อย ดังนั้นจึงได้มีการนำกากน้ำตาลมาใช้ประโยชน์เพื่อเพิ่มมูลค่าและลดการค่าใช้จ่ายในการกำจัดของเสียใน

[1] ศูนย์เชี่ยวชาญนวัตกรรมอาหารสุขภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย 35 หมู่ 3 ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120
[1] Expert Centre of Innovative Health Food, Thailand Institute of Scientific and Technological Research, 35 Moo 3, Khlong 5, Khlong Luang, Pathum Thani, 12120

กระบวนการ ซึ่งพบว่าการเติมกากน้ำตาลที่กรองแล้วในอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตสูงมีผลต่อระดับอินซูลินทำให้ค่าดัชนีน้ำตาลลดลงเนื่องจากมีสารประกอบฟีนอลิกบางชนิด เช่น ferulic acid และ epigallocatechin รวมถึงแร่ธาตุบางชนิด เช่น แคลเซียม แมกเนเซียม และโพแทสเซียม ที่ยับยั้งการย่อยสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตและดูดซึมกลูโคส (Wright และคณะ, 2014) นอกจากนี้ Schlegelmilch และคณะ (2005) ได้ทดสอบฤทธิ์ของกากน้ำตาลในหนูทดลองพบว่าอาหารป้อนที่มีกากน้ำตาลสามารถเพิ่มระดับของคอเลสเตอรอลชนิดดี (High-Density Lipoprotein Cholesterol, HDL-C) มีค่าตับและไตรกลีเซอไรด์ลดลง

โดยปกติเอนไซม์ไลเปสจากตับอ่อน หรือ pancreatic lipase จะทำหน้าที่ย่อยไขมันในลำไส้เล็กได้เป็นกรดไขมันและกลีเซอรอลซึ่งจะถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย ในขณะที่บทบาทหน้าที่ของเอนไซม์คอเลสเตอรอลเทอเรสจะช่วยควบคุมการสลายไขมันโดยเฉพาะอาหารที่มีคอเลสเตอรอลในรูปพันธะเอสเทอร์ ทำให้เกิดคอเลสเตอรอลในรูปอิสระในรูปไมเซลล์และมีผลโดยตรงต่อการเพิ่มการดูดซึมคอเลสเตอรอล (Chatatikun และ Kwanhian, 2020) ดังนั้นการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองชนิดจึงเป็นแนวทางหนึ่งในการชะลอการย่อยไขมันในกลุ่มของไตรกลีเซอร์ไรด์ให้กลายเป็นกรดไขมันอิสระและลดการดูดซึมคอเลสเตอรอลเข้าสู่กระแสเลือด

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของกากน้ำตาลและสารสกัดจากกากน้ำตาลชนิด A, B และ C ที่ได้จากกระบวนการแยกผลึกน้ำตาลในอุตสาหกรรมน้ำตาลทราย โดยมุ่งเน้นศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจากตับอ่อน (pancreatic lipase) และ เอนไซม์คอเลสเตอรอลเทอเรส (cholesterol esterase) บนสมมติฐานของความแตกต่างของชนิดกากน้ำตาลจากแหล่งและการผลิตที่แตกต่างกันมีผลต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองชนิด

## อุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอย่างกากน้ำตาลจำนวน 4 ตัวอย่าง ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทประจวบอุตสาหกรรมน้ำตาล จำกัด (ชนิด A, B และ C) และจากบริษัทน้ำตาลขอนแก่น จำกัด (KSL) (ชนิด $C_{KSL}$) ทำการสกัดกากน้ำตาลด้วยตัวแอลกอฮอล์ที่ปรับกรด (ดัดแปลงจาก Chen และคณะ, 2017) อัตราส่วนกากน้ำตาลต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1:30 w/v เขย่าด้วยเครื่องเขย่าความถี่สูง ควบคุมอุณหภูมิที่ 45 C เป็นเวลา 70 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1000 g นาน 10 นาที แยกส่วนใสและนำไประเหยภายใต้สุญญากาศ ที่ 45 C จนเหลือสารสกัดประมาณ 10 กรัม ทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

นำตัวอย่างทั้งหมด ได้แก่ กากน้ำตาล (A, B, C, $C_{KSL}$) และสารสกัดน้ำตาล (E_A, E_B, E_C, E_$C_{KSL}$) รวม 8 ตัวอย่าง ไปทำการวิเคราะห์ค่า TPC ด้วยวิธี Folin Ciocaltaeu’s reagent (ดัดแปลงจาก Maisuthisakul และคณะ, 2007) โดยใช้กรดแกลลิคเป็นสารมาตรฐาน วัดค่าเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นในช่วง 0-100 mg/l ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH Assay) (ดัดแปลงจาก Wong และ Chye 2009) โดยคำนวณ % radical scavenging activity (%RSA $=[(A_0-A_1)/A_0] \times 100$) และคำนวณค่า $IC_{50}$

ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสโดยเตรียมตัวอย่างและตัวอย่างควบคุม (ไม่เติมเอนไซม์) ที่ความเข้มข้น 0.01, 0.1 และ 1 mg/ml ตามลำดับ ปริมาณ 5 µl ผสมกับสาร reaction buffer (pH 8.0) (ซึ่งมีส่วนผสมของ 13 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl และ 1.3 mM $CaCl_2$ ในน้ำกลั่น 1 l) ปริมาณ 20 µl จากนั้นเติม 0.1 mM 4-Metheylumbelliferyl oleate (4-MU) ปริมาณ 50 µl และ Porcine Pancreatic lipase เข้มข้น 50 Unit/l ปริมาณ 25 µl ผสมให้เข้ากันและบ่มที่อุณหภูมิ 25 C 30 นาที เติม 0.1 M Sodium citrate (pH 4.2) 100 µl เพื่อหยุดปฏิกิริยา วัดค่าเรืองแสงจากฟลูออเรสเซนต์ที่ Ex 355 nm และ Em 460 nm คำนวณค่า % enzyme inhibition

ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์คอเลสเตอรอลเอสเทอเรส โดยเตรียมตัวอย่างและตัวอย่างควบคุม (ไม่เติมเอนไซม์) ที่ความเข้มข้น 0.01, 0.1 และ 1 mg./ml. ปริมาณ 5 µl โดยใช้สารละลาย 0.1 M phosphate buffer pH 6.9 เป็นตัวทำละลาย เติม 0.1 M phosphate buffer 30 µl, 12mM Taurocholic acid 50 µl, 20 mM p-nitrophenyl butyrate (p-NPB) 5 µl, และ cholesterol esterase ความเข้มข้น 10 µg/ml ปริมาณ 10 µl ผสมให้เข้ากันแล้วบ่มที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ 405 nm คำนวณค่า % enzyme inhibition

สารเคมีทั้งหมดที่ใช้ในการวิเคราะห์จากบริษัท Sigma-Aldrich (St. Louis, MO) ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง และวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมประเมินผลทางสถิติ SPSS version 17 วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนและความแตกต่างของตัวอย่างด้วยวิธี Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

Figure 1 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (TPC) และค่า $IC_{50}$ ของกากน้ำตาลและสารสกัด พบว่าค่า TPC และ $IC_{50}$ อยู่ในช่วง 53.7-39.63 mg GAE/g. และ 122-221 µg/ml กากน้ำตาล C มีค่า TPCสูงที่สุดเท่ากับ 39.63 mg GAE/g และมีค่า $IC_{50}$ ดีที่สุด(120.79 µg/ml) ($P\leq0.05$) ทั้งนี้สารสกัดกากน้ำตาลมีค่า TPC และ $IC_{50}$ น้อยกว่ากากน้ำตาลแม้ว่าแนวโน้มของค่าดังกล่าวในสารสกัดจากกากน้ำตาลแต่ละชนิดเป็นไปในทำนองเดียวกันกับกากน้ำตาล โดยสารสกัด E_C มี TPC สูงที่สุด (11.25 mg GAE/g crude extract) และ $IC_{50}$ น้อยที่สุด (160.15 µg/ml) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Yu และคณะ (2016) ที่พบว่ากากน้ำตาลมี TPC และมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง

พบว่าฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส (Table 1) แปรผันตามความเข้มข้นของของกากน้ำตาลและสารสกัด โดยตัวอย่างที่ความเข้มข้น 1 mg/ml จะออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานสูงถึง 100 % เมื่อเทียบกับตัวออย่างควบคุมที่ไม่ได้เติมเอนไซม์ (0%) ที่ความเข้มข้นตัวอย่าง 0.01 และ 0.1 mg/ml พบว่ากากน้ำตาล C และ B จะออกฤทธิ์ยับยั้งสูงกว่าตัวอย่างอื่น ($P\leq0.05$) ซึ่งกากน้ำตาลมีฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสได้ดีกว่าสารสกัด สอดคล้องกับค่า TPC และ $IC_{50}$ สามารถอภิปรายได้ว่าการสกัดกากน้ำตาลด้วยกรดเอทานอลสามารถสกัดสารสำคัญได้เพียงบางส่วน ซึ่งเกิดจากโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกมีทั้งที่อยู่ในรูปที่ละลายในตัวทำละลายที่มีขั้ว (45%) และไม่มีขั้ว (Gulsunoglu และคณะ,2019)

อย่างไรก็ตามพบว่า สารสกัดมีฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์คอเลสเตอรอลเอสเทอเรสได้ดีกว่ากากน้ำตาล (Table 1) ซึ่งค่าการยับยั้งแปรผันตรงกับความเข้มข้น โดยสารสกัด $E_C_{KSL}$ ออกฤทธิ์ยับยั้งสูงที่สุด (64 -80 %) สามารถอภิปรายได้ในทำนองเดียวกันคือในกากน้ำตาลที่ผ่านการสกัดอาจจะมีสารประกอบฟีนอลิกบางกลุ่มที่มีฤทธิ์ยังยั้งการทำงานของเอนไซม์คอเลสเตอรอลเอสเทอเรสได้ดี

ผลการวิเคราะห์สอดคล้องกับงานวิจัยที่รายงานว่ากากน้ำตาลเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระ (Valli และคณะ, 2012) และช่วยเพิ่ม HDL-C (Wright และคณะ, 2014) และสามารถสรุปได้ว่าชนิดกากน้ำตาลที่แตกต่างกันมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่แตกต่างกัน โดยกากน้ำตาล A ซึ่งได้จากการปั่นแยกผลึกน้ำตาลในครั้งแรกจะยังคงมีน้ำตาลซูโครสอยู่ในปริมาณสูงและมีสารโพลีฟีนอลน้อยกว่ากากน้ำตาล B และ C ซึ่งได้จากการปั่นแยกผลึกครั้งที่ 2 และ 3 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่ากากน้ำตาล C จะให้ผลดีที่สุด แต่ในการนำไปใช้ประโยชน์ในเชิงหน้าที่ในผลิตภัณฑ์อาหารต้องคำนึงถึงการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคและความปลอดภัยอันเนื่องมาจากองค์ประกอบทางเคมีบางชนิดจากปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลและกรดอะมิโน

## สรุปผล

ชนิดและแหล่งผลิตกากน้ำตาลมีผลต่อปริมาณสารประกอบทางชีวภาพและฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปสและคอเลสเตอรอลเอสเทอเรส โดยกากน้ำตาลชนิด C ซึ่งได้จากขั้นตอนสุดท้ายของการปั่นแยกผลึกน้ำตาล จะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่ $IC_{50}$ ดีที่สุด ในขณะที่ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของของเอนไซม์ไลเปสของตับอ่อนและคอเลสเตอรอลเอสเทอเรสจะแปรผันตรงกับชนิดและความเข้มข้นของกากน้ำตาลและสารสกัดจากกากน้ำตาล โดยสารสกัดจากกน้ำตาลชนิด C มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์สูงที่สุดซึ่งสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

## เอกสารอ้างอิง


Chatatikun, M. and Kwanhian, W., 2020, Phenolic Profile of Nipa Palm Vinegar and Evaluation of Its Antilipidemic Activities, Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, 3:1-8.

Chen, M., Zhao, Z., Meng, H. and Yu, S., 2017, The Antibiotic Activity and Mechanisms of Sugar Beet (*Beta vulgaris*) Molasses Polyphenols Against Selected Food-borne Pathogens, Food Science and Technology, 82: 354-360.

Gulsunoglu, Z., Guler, F. K., Reas, K. and Meral, K. A., 2019, Solutble and Insolutble-bound Phenolics and Antioxidant Activity of Various Industrial Plant Waste, Food Properties, 22: 1501-1510.

Maisuthisakul, P., Suttajit, M. and Pongsawatmanit, R., 2007, Assessment of Phenolic content and free radical scavenging capacity of some Thai indigenous plants, Food Chemistry, 100: 1409-1418.

Schlegelmilch, U. L. F., Brandch, C., Stangl, G. I. and Elder, K., 2005, Molasses Increases HDL Cholesterol in Rats Research Note, International Journal for Vitamin and Nutrition Research, 75: 211-217.

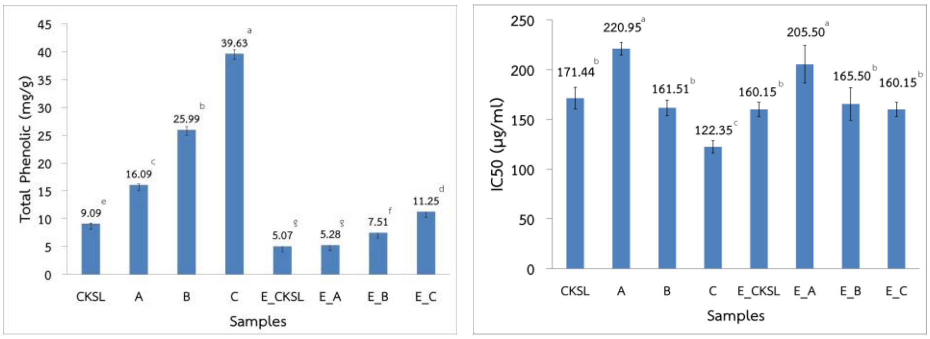
Solomon, S., 2011, Sugarcane By-Products Based Industries in India, Sugar Technology, 13: 408-416.

Valli, V., Caravaca, A. G., M. D., Danesi, F., Caboni, M. and Bordoni, A., 2012, Sugar Cane and Sugar Beet Molasses, Antioxidant-rich Alternatives to Refined Sugar, Agricultural and Chemistry, 60: 12508-12515.

Wright, A. G., Ellis, T. P., and Ilag, L. L., 2014, Filtered Molasses Concentrate from Sugar Cane: Natural Funtional Ingredient Effective in Lowering the Glycaemic Index and Insulin Response of High Carbohydrate Foods, Plant Foods Hum Nutr, 69: 310-316.

Wong, Y.J. and Chye, Y.F., 2009, Antioxidant Properties of Selected Tropical Wild Edible Mushrooms, Journal of Food Composition and Analysis, 22: 269–277.

Yu, D., Chen, M. S. and Yu, S. J., 2016, Effect of Sugarcane Molasses Extract on the Formation of 2-amiono-1-methyl-6-phenylidazo 4,5-b pyridine (PhIP) in a Model System, Food Chemistry, 197: 924-929.




(a) (b)

**Figure 1** (a) Phenolic contents and (b) antioxidant activity ($IC_{50}$) of molasses and molasses extracts

**Table 1** Inhibitory activity (%) of pancreatic lipase and cholesterol esterase from molasses and molasses extracts.

| Sample | % Inhibition of pancreatic lipase | | | % Inhibition of cholesterol esterase | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0.01 mg/ml | 0.1 mg/ml | 1 mg/ml$^{ns}$ | 0.01 mg/ml | 0.1 mg/ml | 1 mg/ml |
| $C_{KSL}$ | $30 \pm 5^{c}$ | $56 \pm 4^{c}$ | $100 \pm 0$ | $28 \pm 3^{c}$ | $43 \pm 5^{c}$ | $61 \pm 4^{c}$ |
| A | $44 \pm 1^{b}$ | $62 \pm 2^{c}$ | $100 \pm 0$ | $2 \pm 1^{e}$ | $19 \pm 1^{de}$ | $28 \pm 3^{d}$ |
| B | $61 \pm 2^{a}$ | $99 \pm 1^{a}$ | $100 \pm 0$ | $30 \pm 4^{c}$ | $45 \pm 4^{c}$ | $64 \pm 6^{bc}$ |
| C | $63 \pm 1^{a}$ | $99 \pm 1^{a}$ | $100 \pm 0$ | $16 \pm 2^{d}$ | $41 \pm 4^{c}$ | $47 \pm 1^{c}$ |
| $E_C_{KSL}$ | $17 \pm 2^{d}$ | $83 \pm 3^{b}$ | $100 \pm 0$ | $64 \pm 3^{a}$ | $75 \pm 1^{a}$ | $79 \pm 1^{a}$ |
| E_A | $8 \pm 2^{e}$ | $36 \pm 4^{e}$ | $100 \pm 0$ | $11 \pm 1^{de}$ | $14 \pm 1^{e}$ | $13 \pm 2^{e}$ |
| E_B | $6 \pm 1^{e}$ | $47 \pm 2^{d}$ | $100 \pm 0$ | $41 \pm 3^{b}$ | $55 \pm 3^{b}$ | $72 \pm 3^{ab}$ |
| E_C | $16 \pm 1^{d}$ | $71 \pm 2^{b}$ | $100 \pm 0$ | $17 \pm 1^{d}$ | $23 \pm 2^{d}$ | $46 \pm 5^{c}$ |
| Control (no enzyme) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

*Data are means ± SD; n=3

Mean values within the same column with different letters in superscript letters (a,b,c,d) are significantly different ($P \leq 0.05$) ; ns= not significant different ($P > 0.05$)

# ผลของการสกัดด้วยเอนไซม์ต่อคุณภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสทจากรำข้าว*
# Effect of Enzymatic Control on the Quality of Rice Bran Meal

**เรวดี มีสัตย์[1] วีรยุทธ พรหมจันทร์[1] สดศรี เนียมเปรม[1] และกุศล เอี่ยมทรัพย์[1]**
**Meesat, R.[1], Promjan, W.[1], Neamprem, S.[1] and Iamsub, K.[1]**

## Abstract

This research aimed to investigate types of solvents used in rice bran protein extraction, antioxidant capacity (DDPH) and determination of optimal conditions for extracting rice bran with water in 90 minutes. extracted with sodium hydroxide (pH8, 9, 10) in 90 minutes and alcalase enzyme at concentration 0.3, 0.5, 0.7 %v/v digested at 60°C for 30, 60 and 90 minutes. This research was found that the optimum condition for protein extraction from rice bran is extracted with alcalase enzyme 0.7 %v/v in 90 minutes. the highest protein content was 15.75%. Moreover, the extracted protein has the highest antioxidant capacity of 10.2%, making an ideal method for extracting rice bran protein in order to use the resulting protein as an ingredient in food and beverage production.
Keyword: Rice bran, Hydrolyzate, alcalase, Protein

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดโปรตีนรำข้าวและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (DDPH) และหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดรำข้าวด้วยน้ำ 90 นาที สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (pH8, 9, 10) เวลา 90 นาที และเอนไซม์อัลคาเลส ความเข้มข้น 0.3, 0.5, 0.7%v/v ย่อยที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30, 60 และ 90 นาที พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากรำข้าว คือ สกัดด้วยเอนไซม์อัลคาเลส ร้อยละ 0.7 %v/v นาน 90 นาที โดยได้ปริมาณโปรตีนสูงสุด คือ ร้อยละ 15.75 รวมทั้งโปรตีนที่สกัดได้มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้สูงที่สุด ร้อยละ 10.2 จึงเป็นวิธีที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนรำข้าวเพื่อที่จะนำโปรตีนที่ได้ไปเป็นส่วนผสมในการผลิตอาหารและเครื่องดื่ม
คำสำคัญ: รำข้าว ไฮโดรไลเซท อัลคาเลส โปรตีน

## บทนำ*

เมื่อพิจารณาแนวโน้มการผลิตข้าวของประเทศไทยตั้งแต่ปี 2555-2556 ซึ่งรัฐบาลได้ดำเนินการจำนำข้าวราคาสูงตามที่ได้เสนอนโยบายไว้ พบว่าปริมาณการผลิตข้าวของประเทศไทยสูงขึ้น ในขณะที่มีแนวโน้มการส่งออกลดลง เนื่องจากราคาข้าวไทยสูงกว่าคู่แข่งอย่างเวียดนามและอินเดียที่เร่งระบายข้าวที่เก็บไว้ในสต๊อก ปริมาณข้าวที่เดิมมีการผลิตมากเกินกว่าความต้องการโดยส่งออกในสัดส่วนเพียง 45 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณข้าวทั้งหมด (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2558) เมื่อมีนโยบายดังกล่าวจึงทำให้มีข้าวเหลือจากการบริโภคและจำเป็นต้องเก็บรักษาในปริมาณมากขึ้น ข้าวดังกล่าวจะเกิดการเสื่อมคุณภาพตามระยะเวลาที่เก็บรักษาการนำข้าวที่เหลือจากการส่งออกและบริโภคโดยตรงในรูปของข้าวสารมาใช้เป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารที่มีมูลค่าเพิ่ม จึงนับเป็นทางออกหนึ่งที่ช่วยเพิ่มช่องทางในการใช้ประโยชน์ของข้าวและสร้างความยั่งยืนให้กับเกษตรกรผู้ปลูกข้าวในอนาคต เมื่อนำข้าวมาผ่านกระบวนการแปรรูปจะทำให้ได้รำข้าว ซึ่งเป็นผลพลอยได้ในปริมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักข้าวเปลือก (นิพนธ์, 2556) จากปริมาณผลผลิตข้าวในปี 2559 หากคิดปริมาณรำข้าวที่เกิดขึ้นพบว่า มีปริมาณสูงถึง 988,328 ตัน รำข้าวเป็นแหล่งที่ดีของไขมันและโปรตีน โดยพบว่า มีปริมาณ 13-20 และ 12-14 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งเป็นโปรตีนที่เหมาะสมสำหรับนำมาเพิ่มมูลค่า โดยการนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่มฟังก์ชั่นที่เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนที่เสริมสุขภาพได้จากปัญหาดังกล่าว ดังนั้นงานวิจัยนี้จะเป็นส่วนหนึ่งที่ช่วยส่งเสริมให้มีการนำเทคโนโลยีการพัฒนาผลิตภัณฑ์ในกลุ่มของอาหารและเครื่องดื่มฟังก์ชั่นพร้อมบริโภคที่เหมาะสมและมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคค่อนข้างสูง

รำข้าวเป็นเหล่งโปรตีนหลักในเมล็ดข้าว ถ้าใช้เวลาในการขัดข้าวนาน บริเวณชั้นซับแอลิวโรนซึ่งเป็นชั้นที่สะสมของโปรตีนจะถูกขัดออกมามากขึ้นทำให้ปริมาณโปรตีนในเมล็ดข้าวลดลง เมื่อเพิ่มระยะเวลาการขัดสีข้าว (Schramm และคณะ, 2007) รำข้าวมีโปรตีนมากรองจากคาร์โบไฮเดรตเละไขมัน โปรตีนรำข้าวมีคุณค่าทางอาหารสูงเมื่อเทียบกับโปรตีนธัญพืชอื่น เป็นโปรตีนไม่ก่อให้เกิดภูมิแพ้ ต่อต้านการเกิดมะเร็ง (Helm and Burks, 1996; Shoji et al.,2001) โปรตีนรำข้าวเป็นโปรตีนคุณภาพดีย่อยง่าย ไม่ก่อให้เกิดอาการแพ้เละมีคุณค่าทางโภชนาการสูง (Wang et al,1999; Helm Burks, 1996) มีกรดอะมิโนที่จำเป็น เช่น

[1] สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย
[1]Thailand Institute of Scientific and Technological Research

ไลซีนและทรีโอนีนในปริมาณที่สูงซึ่งโดยทั่วไปแล้วธัญพืชอื่นไม่มีกรดอะมิโนชนิดนี้ (Juliano,1985; Mawal และคณะ, 1987) งานวิจัยนี้จึงมุ่งที่จะสกัดสกัดโปรตีนจากรำข้าวเพื่อที่จะมาเป็นส่วนประกอบในเครื่องดื่ม ในการสกัดโปรตีนรำข้าวเพื่อให้ได้ผลผลิตสูง (%yield) คือการทำให้โปรตีนที่อยู่ในเซลล์ออกมามากที่สุดและอยู่ในสารละลาย การทำลายผนังเซลล์มีทั้งวิธีทางเคมีและกายภาพ เช่น การใช้สารเคมี การใช้เอนไซม์ การบด การปั่น การใช้คลื่นความถี่สูง วิธีการสกัดโปรตีนรำข้าวให้ออกมามากที่สุดจะใช้วิธีการร่วมกันทั้งทางเคมีและกายภาพ งานวิจัยนี้เราเลือกใช้เอนไซม์อัลคาเลสซึ่งเป็นโปรติเอส ประเภทเอ็นโดเปปติเดสและโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกัน

## อุปกรณ์และวิธีการ*

**การศึกษาค่าทางกายภาพและทางเคมีของรำข้าวและโปรตีนรำข้าว**

โดยการนำรำข้าวเริ่มต้นและผงโปรตีนรำข้าวที่ได้จากการสกัดมาวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าสี ค่าปริมาณของแข็งที่ละลาย (°Brix) และ ค่าความชื้น

เนื่องจากที่ต้องวัดค่าความเป็นกรดด่างของรำข้าวเพราะค่าความความเป็นกรดด่าง (pH) ของรำข้าวมีผลต่อการเลือกสารและเอนไซม์ที่มาใช้ในการสกัดโปรตีน

**การศึกษาความเข้มข้นและระยะเวลาในการย่อยที่เหมาะสมของเอนไซม์อัลคาเลส**

ผสมรำข้าวต่อน้ำกลั่นในสัดส่วน 1:5 (น้ำหนักต่อปริมาตรและ ปรับ pH ให้เท่ากับ 8 โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่องเช็กและให้ความร้อนด้วยอ่างควบคุมอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เติมเอนไซม์อัลคาเลส 0.7(V/V) ปริมาตร 1 ml เป็นเวลา90 นาที แล้วยับยั้งเอนไซม์โดยการต้มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส 3 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น ปรับ pH เท่ากับ 7 ด้วยสารละลายไฮโดรคลอลิก ความเข้มข้น 6 โมลาร์ แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงแยกตะกอน 3,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แยกส่วนที่เป็นตะกอนนำไปวิเคราะห์โปรตีนโดยใช้วิธี Kjeldahl method

ผสมรำข้าวต่อน้ำกลั่นในสัดส่วน 1:5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) และ ปรับpH ให้เท่ากับ 8 โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่องเช็กและให้ความร้อนด้วยอ่างควบคุมอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เติมเอนไซม์อัลคาเลสความเข้มข้น ร้อยละ 0.7(%V/V) ปริมาตร 1 ml เป็นเวลา 90 นาทีแล้วยับยั้งเอนไซม์ด้วยการต้มให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส 3นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น ปรับ pH เท่ากับ 7 ด้วยสารละลายไฮโดรคลอลิก ความเข้มข้น 6 โมลาร์ แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงแยกตะกอน 3,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แยกส่วนที่เป็นตะกอนนำไปวิเคราะห์โปรตีนโดยใช้วิธี Kjeldahl method (AOAC,2000)

มีสูตรการคำนวณโปรตีน ดังนี้

$$\text{ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{(A-B)\times N\times 1.4\times F}{W_t}$$

A คือ ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรตกับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)
B คือ ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรตกับ blank (มิลลิลิตร)
Wt คือ น้ำหนักของตัวอย่าง
N คือ ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก (N)
F คือ ค่าแฟคเตอร์

**การวิเคราะห์หาฤทธิ์ของสารสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ**

ปิเปตตัวอย่างปริมาตร 50 ไมโครลิตร และสารละลาย DPPH ที่ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันในไมโครเพลทนาน 1 นาที จากนั้นตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงแบบไมโครเพลท โดยใช้กรดแอสคอร์บิกเป็นตัวควบคุมบวก (สุจิตรา และคณะ, 2563) ปิเปตตัวอย่างปริมาตร 50 ไมโครลิตร และสารละลาย DPPH ที่ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันในไมโครเพลท นาน 1 นาที จากนั้นตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงแบบไมโครเพลท โดยใช้กรดแอสคอร์บิก เป็นตัวควบคุมบวก (Nanasombat และTeckchuen)

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง*

**การศึกษาค่าทางกายภาพและทางเคมีของรำข้าว**

การวิเคราะห์หาค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าสี และปริมาณความชื้นของรำข้าวก่อนนำไปสกัดด้วยเอนไซม์อัลคาเลส (ดังแสดงใน Table 1)

**การศึกษาความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมของเอนไซม์อัลคาเลส**

จากการศึกษา พบว่า สภาวะที่ใช้ในการสกัดโปรตีนรำข้าวด้วยน้ำ สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ปรับ pH เท่ากับ 8, 9 และ 10 พบว่ามีปริมาณโปรตีน เท่ากับ ร้อยละ 2.92 , 4.65 ,7.24, 6.51 ตามลำดับ และทำการสกัดด้วยเอนไซม์ที่ความเข้มข้น 0.3,0.5,0.7 (V/V) เติมเอนไซม์อัลคาเลสปริมาตร 1ml ย่อยที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30, 60 และ 90 นาที พบว่า ปริมาณโปรตีนที่ย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสที่ความเข้มข้น ร้อยละ 0.3 และ0.5 (%v/v) เวลา 90 นาที มีค่าโปรตีน เท่ากับ ร้อยละ 13.21 และ ร้อยละ 14.11 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าโปรตีนที่ได้น้อยกว่าเอนไซม์อัลคาเลสร้อยละ 0.7(v/v) ซึ่งมีปริมาณโปรตีน เท่ากับร้อยละ 15.75 (ดังแสดงใน Table 2) จึงเป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดโปรตีนจากรำข้าว

จากการศึกษาพบว่า การย่อยโปรตีนรำข้าวด้วยเอนไซม์กลุ่มโปรติเอสทำให้โมเลกุลของโปรตีนเล็กลง ซึ่งจะมีส่วนส่งเสริมคุณสมบัติการละลาย (Hmmada, 2000) โปรตีนรำข้าวที่สกัดด้วยสารละลายด่างมีสมบัติต้านการเกิดมะเร็งและโปรตีนรำข้าวที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลสจะได้เพนตะเพปไทด์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งเต้านม ปอด ตับ และลำไส้ใหญ่ (Kannan et al.,2010) การใช้เอนไซม์ในระบบย่อยอาหารย่อยโปรตีนรำข้าวได้เพปไทดที่มีสมบัติการต้านอนมูลอิสระ (Chanput et al, 2007; Wattanasiritham et al.,2016) เละโปรตีนรำข้าวที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลสจะได้เพปไทด์ที่มีสมบัติยับยั้งแองจิโอคอนเวอร์สติงเอนไซม์ซึ่งเป็นเอไซม์ที่ส่งผลให้ความดันในเลือดสูง (Uraipong และ Zhao, 2015)* การทดลองนี้จึงเลือกใช้เอนไซม์อัลคาเลสในการสกัดโปรตีนรำข้าวโดยศึกษาดังนี้

สภาวะที่ใช้ในการสกัดโปรตีนรำข้าวด้วยน้ำ สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ปรับ pH เท่ากับ 8, 9 และ 10 พบว่า มีปริมาณโปรตีนท่ากับ ร้อยละ 2.92 , 4.65 , 7.24 , 6.51 ตามลำดับ และทำการสกัดด้วยเอนไซม์อัลคาเลสที่ความเข้มข้น 0.3 , 0.5 ,0.7 (%V/V) 1ml ย่อยที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 , 60 และ 90 นาที พบว่า ปริมาณโปรตีนที่ย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสที่ความเข้มข้น ร้อยละ 0.3 และ 0.5 (%v/v) เวลา 90 นาที มีค่าโปรตีน เท่ากับ ร้อยละ 13.21 และ ร้อยละ 14.11 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าโปรตีนที่ได้น้อยกว่า เอนไซม์อัลคาเลสร้อยละ 0.7 (%v/v) ซึ่งมีปริมาณโปรตีน เท่ากับร้อยละ 15.75 (ดังแสดงใน Table 2) จึงเป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดโปรตีนจากรำข้าว

**การวิเคราะห์หาฤทธิ์ของสาระสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ**

จากการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (Table 3) พบว่า โปรตีนรำข้าวที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลส 0.7(%V/V) เวลา 90 นาที (Table 3) มีปริมาณการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด คือ ร้อยละ 10.2 และรองลงมาคือรำข้าวที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลส 0.5 และ 0.3(%V/V) เวลา 90 นาที เท่ากับ ร้อยละ 9.17 และ 8.89

**การศึกษาค่าทางกายภาพและทางเคมีของโปรตีนรำข้าว**

การวิเคราะห์ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าสี และปริมาณความชื้นของรำข้าวหลังจากนำไปสกัดด้วยเอนไซม์ (Table 4)

## สรุปผล

จากการทดลองนี้จึงเลือกสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดโปรตีนจากรำข้าว ที่ร้อยละความเข้มข้นเอนไซม์อัลคาเลส 0.7 (%v/v) คำนวณมีเอนไซม์ในสัดส่วนเอนไซม์ต่อรำข้าว เป็น 0.002 (%v/w) เวลาย่อยที่ 90 นาที อุณหภูมิ ซึ่งมีค่าโปรตีนเท่ากับ ร้อยละ15.75 และมีค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ ร้อยละ10.2 และจากการศึกษาการสกัดโปรตีนรำข้าวโดยการเปรียบเทียบเทคนิคเละวิธีการสกัดรำข้าว โดยการเลือกใช้น้ำในการสกัดปริมาณโปรตีนที่สกัดได้น้อยมาก เนื่องจากโปรตีนในรำข้าวเป็นสารประกอบเชิงซ้อน การที่โปรตีนรำข้าวมีความสามารถในการละลายต่ำเนื่องจากเกิดการเกาะกลุ่มเละมีพันธะไดซัลไฟด์เชื่อมต่อระหว่างโมเลกุล ในรำข้าวประกอบด้วยกรดไฟติค ซึ่งมีหมู่ฟังก์ชันกลุ่มฟอสเฟตประจุลบจะจับกับฟังก์ชันกลุ่มประจุบวกของโปรตีนที่ pH ต่ำกว่าค่าของ PI ของโปรตีน จึงมีผลต่อการละลายและทำให้แยกโปรตีนได้ยากที่ pH สูงกว่า 10 กรดไฟติคไม่ละลาย pH ของสารละลายมีความสำคัญต่อการสกัดแยกโปรตีนรำข้าวโซเดียมไฮดรอกไซด์และเอนไซม์อัลคาเลส ควบคุมอุณหภูมิและระยะเวลาเดียวกัน วิธีการสกัดรำข้าวที่เหมาะสมเละได้ปริมาณผลผลิตของโปรตีนรำข้าวมากที่สุด คือ การสกัดด้วยเอนไซม์อัลคาเลสร่วมกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.7 (%V/V) อัลคาเลสย่อยได้ดีที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 90 นาที ได้โปรตีนเท่ากับร้อยละ 15.75 เพราะโปรตีนรำข้าวข้าวสะสมอยู่ในผนังเซลล์พืชที่มีเยื้อหุ้มเซลล์ในการสกัดจำเป็นต้องทำลายเยื่อหุ้มเซลล์เพื่อปลดปล่อยโปรตีนให้อยู่ในสารละลายการสกัดโปรตีนรำข้าว จึงไม่สามารถใช้น้ำหรือกรด-ด่างได้เพียงอย่างเดียวและต้องมีเอนไซม์เข้ามาช่วยย่อยโปรตีนและเหมาะสมที่ที่จะนำโปรตีนที่ได้ไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเสริมโปรตีนต่อไป

Table 1 The physical and chemical values of rice bran

| sample | pH | Soluble solid content (°Brix) | Moisture (%) | Color value | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | L* | a* | b* |
| **Rice bran** | 6.8 | 0.1 | 18.10 | 69.32 | 3.74 | 17.22 |

Table 2 The comparison of times. Percentage concentration of alkalase enzyme with protein content

| Rice bran | time(minute) | Protein content percentage |
|---|---|---|
| water | 90 | 2.92 |
| pH8(NaoH) | 90 | 4.65$^{c}$±0.02 |
| pH9(NaoH) | 90 | 7.24$^{a}$±0.025 |
| pH10(NaoH) | 90 | 6.51$^{b}$±0.03 |
| 0.3% alcalase | 90 | 13.21$^{c}$±0.025 |
| 0.5% alcalase | 90 | 14.11$^{b}$±0.025 |
| 0.7% alcalase | 90 | 15.75$^{a}$±0.03 |

Table 3 Anti-oxidative value of rice bran protein.

| Rice bran protein extracted | DPPH IC50 (mg/ml) |
|---|---|
| **0.3% alcalase** | 8.89c±0.025 |
| **0.5% alcalse** | 9.17b±0.025 |
| **0.7% alcalase** | 10.2a±0.026 |

Table 4 The physical and chemical values of protein hydrolysate from rice bran oil

| sample | pH | Soluble solid content (°Brix) | Moisture (%) | Color value | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | L* | a* | B* |
| **Rice bran protein** | 7.4 | 5.0 | 5.68 | 81.06 | 3.98 | 21.34 |

**เอกสารอ้างอิง***


กรรณานุช ศรีกอก, 2555, การสกัดโปรตีนเละการผลิตไฮโดรไลเซทจากรำข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุงที่ผ่านการสกัดน้ำมัน, วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

เกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ สุนีย์ โชตินีรนาท รุ่งทิวา วันสุขศรี ละกล้าณรงค์ ศรีรอด, *การเตรียมและคุณสมบัติของโปรตีนในเป้งข้าว, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ธันยนันท์ ศรีพันธ์ลม และ ฐิฏิพร ชูศรี, 2556, การศึกษาการสกัดโปรตีนจากใบกระถินด้วยเอนไซม์อัลคาเลส, โปรแกรมวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม.

พสุธร อุ่นอมรมาศ และ สรณะ สมโม, 2559, การวิเคราะห์หาสารสำคัญและฤทธิ์การต่อต้านอนุมูลอิสระของดอกไม้กินได้บางชนิด, วารสารเกษตร, 32(3):435-445.

รีราวดี วรรณาเวศน์ และ ปฐมพงษ์ เที่ยงเพชร, 2560, การหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระเละสารประกอบฟีนอลิก ทั้งหมดของถั่วงอก, คณะวิทยาศาสตร์เละเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร.

สุรีวรรณ ราชสม และ เพ็ญวรัตน์ พันธ์ภัทรชัย, 2019, การศึกษาอุณหภูมิการอบเห้งรกสุกรเละการสกัดโปรตีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, วิทยาลัยเทคโนโลยีและสหวิทยาการ, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา.

อุกฤต มากศรีทรง, 2562, คุณสมบัติของสารสกัด และโปรตีนไฮโดรไลเซทจากมะรุมต่อความสามารถในการต้านออกซิเดชัน. ปริญญามหาบัณฑิต, สาขาเทคโนโลยีการอาหาร, มหาวิทยาลัยราชมงคลธัญบุรี.

Chanput, W., Theerakulkait, C., and Nakai, S., 2009, Antioxidative Properties of Partially Purified Barley Hordein, Rice Bran Protein Fractions and Their Hydrolysates, Journal of Cereal Science, 49: 422-428.

Hamada, J.S., 1997, Characterization of Protein Fractions of Rice Bran to Devise Effective Methods of Protein Solubilization, Cereal Chemistry, 74: 662-668.

Hamada, J.S., 1999, Use of Proteases to Enhance Solubilization of Rice Bran Proteins, Journal of Food Biochemistry, 23(3): 307-321.

Hamada J.S., 2000, Characterization and Functional Properties of Rice Bran Proteins Modified by Commercial Exoproteases and Endoproteases, Journal of Food Science, 65(2): 305-310.

Kannan, A,, Hettiarachchy, N.S., Lay, J.O. and Liyanage, R., 2010, Human Cancer Cell Proliferation Inhibition by a Pentapeptide Isolated and Characterized from Rice Bran, Peptides, 31(9): 1629-1634.

Uraipong, C. and Zhao, J., 2015, Rice Bran Protein Hydrolysates Exhibit Strong *In Vitro*, Journal of the Science of Food and Agriculture, (wileyonlinelibrary.com) DOI 10.1002/jsfa.7182.

Wang, M., Hettiarachchy, N.S., Qi, M., Burks, W., and Siebenmorgen, T., 1999, Preparation and Functional Properties of Rice Bran Protein Isolate, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47: 411–416.

Wattanasiritham, L., Theerakulkait, C., Wickramasekara, S., Maier, C.S. and Stevens, J.F., 2016, Isolation and Identification of Antioxidant Peptides from Enzymatically Hydrolyzed Rice Bran Protein, Food Chemistry, 192:156-162.

Agricultural Sci. J. 52(1)(Suppl.): 293-296 (2021) ว. วิทย์. กษ. 52(1)(พิเศษ): 293-296 (2564)

# ผลของอุณหภูมิอบแห้งต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และการอยู่รอดของเชื้อโพรไบโอติกในโยเกิร์ตผงจากถั่วลูกไก่หลังการทำแห้งแบบพ่นฝอย

# The Effect of Drying Temperature on Total Phenolic Compound, Antioxidant Activity and Survival Rate of Probiotic in Chickpea *(Cicer arietinum)* Yoghurt after Spray Drying Process

อุบลวรรณา ศรีมงคลลักษณ์[1] นภสร นิ่มกลิ่น[1] และ สุภาภรณ์ เลขวัต[1]

Srimongkoluk, U.[1], Nimklin, N.[1] and Lekhavat, S.[1]

## Abstract

This research investigated the effect of drying outlet temperature (70, 80, and 90 °C) on phenolic compound content, antioxidant activity (DPPH scavenging capacity and ferric reducing antioxidant power (FRAP)) and probiotic survival rate of chickpea yoghurt powder after spray drying process. The results showed that the outlet air temperature had a significant effect on cell survival rate (80-99 %), phenolic compound content (7-11% decreased), DPPH scavenging capacity (0.005-0.008 % decreased) and FRAP value (5.0-16.34 % decreased). The highest survival rate, phenolic compound, and antioxidant activity were found in a sample that was spray dried at an outlet temperature of 80 °C, while the lowest was found when spray drying at an outlet temperature of 90°C.

**Keywords:** chickpea, probiotic, bioactive compounds, antioxidant activity

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาผลของอุณหภูมิอบแห้ง (70 80 และ 90 °C) ต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ (โดยวิธี DPPH และ FRAP) และอัตราการรอดของเชื้อโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตผงจากถั่วลูกไก่หลังการทำแห้งแบบพ่นฝอย ผลการศึกษาพบว่าอุณหภูมิการทำแห้งมีผลต่ออัตราการรอดของเซลล์ (80-99 %) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (ลดลง 7-11%) และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH (ลดลง 0.005-0.008%) และ FRAP (ลดลง 5.0-16.34 %) ทั้งนี้อัตราการรอดของเชื้อ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระที่สูงที่สุดพบในตัวอย่างที่ทำแห้งที่อุณหภูมิ 80 °C ในขณะที่ค่าต่ำสุดพบในตัวอย่างที่ทำแห้งที่อุณหภูมิที่ 90 °C

**คำสำคัญ:** ถั่วลูกไก่, โพรไบโอติก, สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ, ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ

## คำนำ

โยเกิร์ต (Yoghurt) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักนมโดยเชื้อจุลินทรีย์ (Culture product) โดยโยเกิร์ตทำจากน้ำนม อาจเป็นนมสด นมพร่องมันเนย นมคืนรูปจากนมพร่องมัน เนย หมักด้วยจุลินทรีย์ นิยมใช้เชื้อผสมของ Lactic acid bacteria ที่ผ่านการคัดเลือกแล้ว คือ *Lactobacillus bulgaricus* กับ *Streptococcus thermophilus* โดยจุลินทรีย์จะเปลี่ยนน้ำตาลในนม คือ แลคโตสให้เป็นกรดแลคติก (Lactic acid) ที่ทำให้โปรตีนตกตะกอน มีลักษณะเป็น ลิ่มค่อนข้างนุ่ม (Soft curd) คือมีเนื้อสัมผัสกึ่งแข็งกึ่งเหลว โดยทั่วไปมีสีขาวถึงขาวนวล มีกลิ่น หอมอ่อนๆ เฉพาะตัว รสชาติเปรี้ยว เนื่องจากมีกรดค่อนข้างสูง และมีจุลินทรีย์ที่มีชีวิตอยู่ปริมาณมาก (จิรเดช, 2553)

ถั่วลูกไก่หรือถั่วชิกพี (*Cicer Arietinum*) เป็นผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพที่มีโปรตีนสูง เป็นพืชตระกูลถั่ว ถั่วลูกไก่เติบโตในเอเชียอินเดียยุโรปตะวันออกแอฟริกาประเทศแถบเมดิเตอร์เรเนียน ประโยชน์ของถั่วชิกพีต่อสุขภาพของมนุษย์นั้นมากมาย เนื่องจากผลิตภัณฑ์นี้มีกรดอะมิโนที่จำเป็นวิตามินหลายชนิดและธาตุที่มีคุณค่า ถั่วลูกไก่ มีกรดโฟลิค โพแตสเซียม และสารฟลาโวนอยด์ ที่ช่วยต่อต้านการเกิดโรคหัวใจ ถั่วชิกพีสามารถรับประทานได้ทั้งแบบดิบต้มและอบ คุณค่าทางโภชนาการของถั่วชิกพี (ต่อผลิตภัณฑ์ดิบ 100 กรัม) พบว่ามีโปรตีน 20.5 กรัม ไขมัน 4.25 กรัม คาร์โบไฮเดรต 45.9 กรัม ซึ่งมีปริมาณแคลอรี 362 กิโลแคลอรีต่อถั่วชิกพีดิบ 100 กรัม

[1] ศูนย์เชี่ยวชาญนวัตกรรมอาหารสุขภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย 35 หมู่ 3 ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120

[1] Expert Centre of Innovative Health Food, Thailand Institute of Scientific and Technological Research, 35 Moo 3, Khlong 5, Khlong Luang, Pathum Thani, 12120

โพรไบโอติก (Probiotics) เป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่สามารถสร้างกรดแลคติก หรือกรดในน้ำนมได้พบได้ในทางเดิน อาหารของคน สัตว์และในอาหารหมักดองชนิดต่าง ๆ โดยเป็นจุลินทรีย์ที่ สามารถจับที่บริเวณผิวของเยื่อบุลำไส้แล้วผลิตสารต่อต้านหรือกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ รวมถึงก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพได้ (สุนัดดา, 2557) จุลินทรีย์โพรไบโอติกทีมีการศึกษาและเป็นที่รู้จักในปัจจุบัน ได้แก่ แลกโตบาซิลัส (*Lactobacillus*) และไบฟิโดแบคทีเรียม (*Bifidobacterium*) โดยแลกโตบาซิลัสมักจะอาศัยอยู่ใน ร่างกายมนุษย์บริเวณลำไส้เล็กตั้งแต่วัยแรกเกิด ส่วนไบฟิโดแบคทีเรียม มักอาศัยอยู่ในเด็กที่ดื่มน้ำนมมารดาตั้งแต่อายุ 7 วันขึ้นไป จึงเป็นผลทำให้ทารกที่ดื่มน้ำนมมารดาตั้งแต่แรกคลอดมีสุขภาพแข็งแรง และมีระบบภูมิคุ้มกันที่ ดีกว่าทารกที่ดื่มนมขวดหรือนมกระป๋อง เนื่องจากในลำไส้ของทารกที่ดื่มน้ำนมมารดามีแบคทีเรียทั้งสองสกุลนี้ซึ่งแบคทีเรียทั้งสอง (จิรเดช, 2553)

การอบแห้งแบบพ่นฝอย (Spray Drying) เป็นเทคนิคการทำแห้งโดยใช้ลมร้อนเพื่อระเหยน้ำออกจากของเหลวอย่างรวดเร็วได้ผลิตภัณฑ์อยู่ในรูปของผงแห้ง ซึ่งตัวแปรที่มีผลต่อคุณภาพของอนุภาคผงที่ได้แก่ ความเข้มข้นของสารละลายป้อน ความหนืดและอุณหภูมิของสารละลายที่ผ่านเข้าเครื่อง ระบบพ่นฝอย (atomization unit) ลักษณะการสัมผัสระหว่างอากาศร้อนและหยดของเหลว อัตราการไหลของของเหลวเข้าเครื่อง อุณหภูมิอากาศขาเข้าและขาออกจากเครื่อง และค่าแรงตึงผิวของหยดของเหลว เป็นต้น ปัจจุบันผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตผลิตจากนมวัวเป็นหลัก ซึ่งอาจมีปัญหาเรื่องไขมันส่วนเกินและระบบการย่อยอาหารที่ไม่สามารถย่อยน้ำตาลแลคโตสในนมวัวได้ ส่วนโยเกิร์ตที่ผลิตจากพืชในตลาดปัจจุบันยังมีจำนวนจำกัดทำให้ผู้ผลิตโภคไม่มีทางเลือกมากนัก และส่วนใหญ่ทำจากนมถั่วเหลืองซึ่งไม่เหมาะสำหรับผู้ที่แพ้ถั่วเหลือง ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาผลของอุณหภูมิทำแห้งต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตจากถั่วลูกไก่เสริมเชื้อโพไบโอติกในรูปแบบผง ที่ช่วยเสริมสร้างจุลินทรีย์ที่ดีในกระเพาะอาหาร ช่วยในการขับถ่าย ซึ่งผลิตภัณฑ์รูปแบบผงโดยการอบแห้งแบบพ่นฝอยมีข้อดีคือมีต้นทุนต่ำ ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความชื้นต่ำจึงช่วยลดกิจกรรมของจุลินทรีย์ และการเกิดปฏิกิริยาเคมีต่าง ๆ ทำให้ผลิตภัณฑ์มีอายุการเก็บรักษายาวนานขึ้นและลดค่าใช้จ่ายในการขนส่งและเก็บรักษา

## อุปกรณ์และวิธีการ

เตรียมโยเกิร์ตจากถั่วลูกไก่โดยนำถั่วมาแช่น้ำเป็นเวลา 12-15 ชั่วโมง ก่อนนำไปสกัดน้ำนมและหมักด้วยหัวเชื้อจากโยเกิร์ตถั่วเหลืองทางการค้า 5 % และน้ำตาล 5 % (น้ำหนักต่อปริมาตร) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 42 °C เป็นเวลา 15 ชั่วโมง เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C โดยเก็บรักษาในสภาวะแช่เย็นและมีอายุการเก็บไม่เกิน 7 วัน

เตรียมสารละลายป้อนโดยนำตัวอย่างโยเกิร์ตที่เตรียมได้ผสมกับเชื้อ *L. paracasei* (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย) 4 % จากนั้นนำสารละลายโยเกิร์ตไปทำแห้งโดยกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยด้วยเครื่อง Buchi Mini Spray Dryer B-290 ควบคุมอุณหภูมิลมร้อนขาเข้าที่ 150 °C และอุณหภูมิลมร้อนขาออกที่ 70 80 และ 90 °C อัตราการป้อนสาร 10 มิลลิลิตร/นาที อัตราไหลของอากาศร้อน 35 ลิตร/ชั่วโมง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

วิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและทางกายภาพ โดยวิเคราะห์ปริมาณของแข็งละลายน้ำได้ ค่าpH (EUTECH รุ่น pHTestr20, สิงคโปร์) ปริมาณกรดแลคติก ปริมาณน้ำอิสระ ($a_W$ Aqualab Series 4, สหรัฐอเมริกา) ปริมาณความชื้น และค่าสี (TECAN รุ่น Infinite M200 PRO, สวิตเซอร์แลนด์) ทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

วิเคราะห์คุณภาพตัวอย่างก่อนและหลังกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย โดยวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (ดัดแปลงจาก Maisuthisakul และคณะ, 2007) ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH Assay (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay) โดยคำนวณเป็นค่า $IC_{50}$ (ดัดแปลงจาก Wong และ Chye 2009) และ FRAP Assay (Ferric reducing antioxidant power assay) (ดัดแปลงจากวิธีการของ Benzie และ Strain, 1996) อัตราการรอดตายของเชื้อจุลินทรีย์โดยนับจำนวนเชื้อก่อนและหลังการทำแห้งด้วยเทคนิคการดรอปเพลท

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมประเมินผลทางสถิติ SPSS version 17 วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนและความแตกต่างของตัวอย่างด้วยวิธี Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการทดลองพบว่าร้อยละผลผลิตอยู่ในช่วง 4.19-6.75 % ตามลำดับ (Table 1) โดยก่อนผ่านการอบแห้ง มีปริมาณฟีนอลิก 0.017 มิลลิกรัมสมมูลย์แกลลิกต่อมิลลิลิตร ค่า $IC_{50}$ 0.12 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า FRAP 25.935 มิลลิกรัมโทลอกซ์/กรัมสารสกัด และเมื่อผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิ 70, 80 และ 90 °C พบว่าโยเกิร์ตผงที่ได้มีปริมาณฟีนอลิก 0.117±0.01 0.138±0.01 และ 0.129±0.01 มิลลิกรัมสมมูลย์แกลลิกต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ค่า IC50 เท่ากับ 0.006, 0.007 และ 0.006 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และค่าการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP เท่ากับ 228.83±0.63 262.52±1.33 และ 200.41±1.85 มิลลิกรัมโทลอกซ์/กรัมสารสกัด ตามลำดับ (Table 2) โดยพบว่าที่ 80 °C มีการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด ซึ่งปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและค่าการต้านอนุมูลอิสระที่เพิ่มขึ้น สามารถอภิปรายได้ว่ามีสาเหตุเนื่องมาจากการที่สารประกอบฟีนอลิกที่มีโมเลกุลต่ำบางตัวถูกปลดปล่อยออกมามากขึ้นเมื่อผ่านกระบวนการที่มีความร้อนหรือกระบวนการหมัก ทำให้มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและค่า DPPH สูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ (Niwa และ Miyachi ,1986; Niwa และคณะ, 1988; Lee และคณะ, 2003; Jeong และคณะ, 2004) ซึ่งหากพิจารณาร่วมกับค่า FRAP พบว่าอุณหภูมิการทำแห้งที่ 80 °C ให้ค่าที่ดีที่สุด

อัตราการรอดของเชื้อหลังผ่านการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิลมร้อนขาออก 70 80 และ 90 °C มีค่าเท่ากับ 90.4 92.8 และ 83.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Figure1) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Pispan และคณะ (2013) ที่พบว่าอัตราการรอดของจุลินทรีย์มีค่าลดลงเมื่ออุณหภูมิการอบแห้งแบบพ่นฝอยสูงกว่า 80 °C ทั้งนี้ พบว่าโยเกิร์ตจากถั่วลูกไก่ มีค่า pH อยู่ในช่วง 4.29-4.41 ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ อยู่ในช่วง 9.6-12.7 °Brix ค่าปริมาณน้ำอิสระอยู่ในช่วง 0.188-0.231 ค่าความชื้นอยู่ในช่วง 13.814-14.342 มีปริมาณกรดแลคติก อยู่ที่ 0.006 และค่าสี L อยู่ในช่วง 88.345 - 92.308 ค่าสี a -0.263 - 0.042 และค่าสี b 9.357-10.953

## สรุปผล

การวิจัยเปรียบเทียบผลของอุณหภูมิอบแห้ง 3 ระดับ ที่ 70, 80 และ 90 °C ในการทำแห้งผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตจากถั่วลูกไก่ โดยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย ที่มีต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ (โดยวิธี DPPH และ FRAP) และอัตราการรอดของเชื้อโพรไบโอติก พบว่าอุณหภูมิทำแห้งมีผลต่อคุณภาพโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ โดยที่ 80 °C เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการทำแห้ง ผลิตภัณฑ์ผงที่ได้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 0.138±0.01 มิลลิกรัมสมมูลย์แกลลิกต่อมิลลิลิตร ค่าการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เมื่อคำนวณเป็นค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 0.007 และค่าการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP เท่ากับ 262.52±1.33 มิลลิกรัมโทรลอกซ์/กรัมสารสกัด และมีอัตราการรอดของเชื้ออยู่ที่ 92.8 เปอร์เซ็นต์

## เอกสารอ้างอิง

จิระเดช มณีรัตน์, 2553, การเปรียบเทียบคุณภาพของการผลิตโยเกิร์ตจากน้ำนมแพะผสม น้ำนมนมโค, คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล ธัญบุรี,ปทุมธานี, หน้า 2-8.

สุวนันท์ ใจอารี, 2559, หลักการของเครื่อง spray dry [สืบค้น], เข้าถึง: http://www.cdipthailand.com/th/innovation-thai/article-thai/206-spray-dryer.html. [April 11, 2021].

สุนัดดา โยมญาติ, 2557, โยเกิร์ต (YOGURT) [Online], Available: http://biology.ipst.ac.th/?p=987. [April 11, 2021].Bell, S.S., 2014, The Small But Mighty Chickpea, [Online], Available: https://phys.org/news/2014-03-small-mighty-chickpea.html [March 30, 2021].

Benzie, I.F.F. and Strain, J.J., 1996, The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay, [Online], Available: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8660627/ [March 30, 2021].

Jeong, S.M., Kim, S.Y, Kim, D.R., Jo, S.C., Nam K.C., Ahn, D.U., and Lee, S.C., 2004, Effect of Heat Treatment on the Antioxidant Activity of Extracts from Citrus Peels, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52: 3389–3393.

Lee, S.C., Kim, J.H., Jeong, S.M., Kim, D.R., Ha, J.U., Nam, K.C. and Ahn, D.U., 2003, Effect of Far-infrared Radiation on the Antioxidant Activity of Rice Hulls, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51: 4400-4403.

Maisuthisakul, P., Suttajit, M. and Pongsawatmanit, R., 2007, Assessment of Phenolic Content and Free Radical

Scavenging Capacity of Some Thai Indigenous Plants, Food Chemistry, 100: 1409-1418.

Niwa, Y. and Miyachi, Y., 1986, Antioxidant Action of Natural Health Products and Chinese Herbs, Inflammation, 10: 79-97.

Niwa, Y., Kanoh, T., Kasama, T., and Neigishi, M., 1988, Activation of Antioxidant Activity in Natural Medicinal Products by Heating, Brewing and Lipophilization, A New Drug Delivery System, Drugs under Experimental and Clinical Research, 14: 361-372.

Pispan, S., Hewit, C.J. and Stapley, A.G.F., 2013, Comparison of Cell Survival Rates of *E. coli K12* and *L. acidophilus* Undergoing Spray Drying, Food and Bioproducts Processing, 91: 362-359.

Wong, Y.J. and Chye, Y.F., 2009, Antioxidant Properties of Selected Tropical Wild Edible Mushrooms, Journal of Food Composition and Analysis, 22: 269–277.

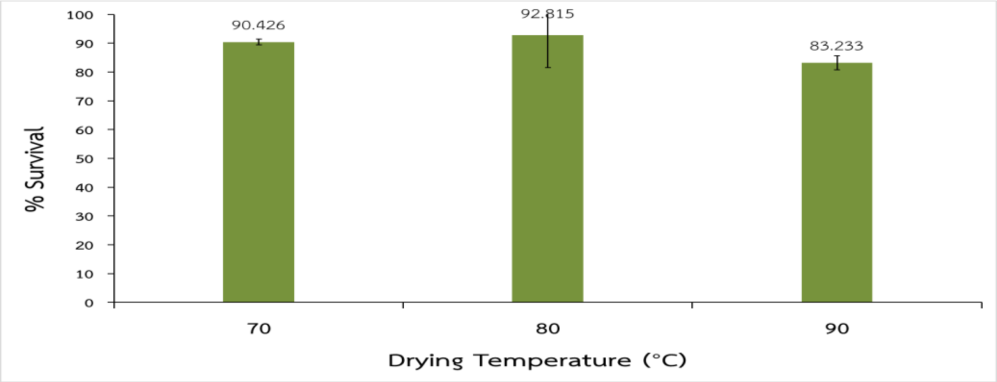



**Figure 1** Survival rate of Probiotic in chickpea yoghurt after spray drying process at outlet temperature of 70, 80, and 90°C, respectively.

**Table 1** %Yield, physical and chemical properties of chickpea yoghurt after spray drying at outlet temperature of 70, 80, and 90°C.

| Temp (°C) | Yield (%) | $a_w$ | Moisture content (%) | Lactic content (%) | Color value | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | L | a | b |
| **70** | 5.02±0.48 | $0.231±0.03^{a}$ | $14.342±0.02^{a}$ | $0.006±0.00^{ns}$ | $88.345±1.44^{c}$ | $-0.062±0.01^{b}$ | $10.737±0.08^{a}$ |
| **80** | 4.19±1.41 | $0.206±0.01^{ab}$ | $13.814±0.04^{b}$ | $0.006±0.00^{ns}$ | $92.308±0.38^{a}$ | $-0.263±0.03^{c}$ | $9.357±0.67^{b}$ |
| **90** | 6.75±0.32 | $0.188±0.01^{b}$ | $14.179±0.22^{a}$ | $0.006±0.00^{ns}$ | $90.382±0.92^{b}$ | $0.042±0.01^{a}$ | $10.953±0.55^{a}$ |

*Means within the same column with the different superscript letters (a,b,c) are significantly different (P≤0.05)

**Table 2** Total phenolic content and antioxidant activity of chickpea yoghurt before and after spray drying at outlet temperature of 70, 80, and 90°C.

| | Temp (°C) | Total Phenolic (mg GA/g extract) | $IC_{50}$ of DPPH (mg/ml) | FRAP value (mg TE/g extract) |
|---|---|---|---|---|
| *Before | 70 | $0.011±0.00^{ns}$ | $0.110±0.00^{ns}$ | $32.25±1.01^{ns}$ |
| | 80 | $0.011±0.00^{ns}$ | $0.110±0.00^{ns}$ | $17.03±3.03^{ns}$ |
| | 90 | $0.011±0.00^{ns}$ | $0.110±0.00^{ns}$ | $19.89±1.73^{ns}$ |
| **After | 70 | $0.117±0.01^{b}$ | $0.006±0.00^{ns}$ | $228.83±0.63^{ab}$ |
| | 80 | $0.138±0.01^{a}$ | $0.007±0.00^{ns}$ | $262.52±1.33^{a}$ |
| | 90 | $0.129±0.01^{a}$ | $0.006±0.00^{ns}$ | $200.41±1.85^{b}$ |

*Before spray drying, means within the same column with the different superscript letters (a,b,c) are significantly different (P≤0.05); ns = not significant

** After spray drying, means within the same column with the different superscript letters (a,b,c) are significantly different (P≤0.05)

# การศึกษาการอบแห้งโฟมสาหร่ายผักกาดทะเลด้วยอากาศร้อนและอากาศร้อนร่วมกับการแผ่รังสีอินฟราเรดไกล
# Study on Drying of Sea Lettuce Foam with Hot Air and Combined Hot Air and Far-Infrared Radiation

รติยา ธุวพาณิชยานันท์[1] ดลฤดี ใจสุทธิ์[1] อนุสรณ์ เชื้อสามารถ[1] และ จันทนา ไพรบูรณ์[2]
Thuwapanichayanan, R.[1], Jaisut, D.[1], Chueasamat, A.[1] and Praiboon, J.[2]

## Abstract

Drying of sea lettuce foam consists of blending the sea lettuce into puree, whipping into stable foam, and then drying. Drying of foam can shorten the drying time. The objective of this work was to study the effect of drying methods, i.e., hot air drying at 80°C and combined hot air at 50°C and far-infrared radiation at the power level of 350W drying on the drying time, total phenolic content and antioxidant activities of sea lettuce foam. The experimental results showed that combined hot air at 50°C and far-infrared radiation at the power level of 350W took longer drying time than hot air drying at 80°C. However, the sea lettuce foam dried by combined hot air at 50°C and far-infrared radiation at the power level of 350W had higher antioxidant activity assessed by DPPH radical scavenging activity and reducing activity than that dried by hot air at 80°C.
**Keywords:** Antioxidant activity, Combined hot air and far-infrared radiation, Sea lettuce foam, Total phenolic content

## บทคัดย่อ

การอบแห้งโฟมสาหร่ายผักกาดทะเลประกอบด้วยขั้นตอนการทำให้สาหร่ายผักกาดทะเลเป็นของเหลวข้น การตีให้เกิดฟองที่เสถียร และการอบแห้ง ซึ่งการอบแห้งโฟมจะช่วยลดระยะเวลาในการอบแห้งลงได้ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของวิธีการอบแห้ง ได้แก่ การอบแห้งด้วยอากาศร้อนอุณหภูมิ 80°C และการอบแห้งด้วยอากาศร้อนอุณหภูมิ 50°C ร่วมกับการแผ่รังสีอินฟราเรดไกลที่ความเข้ม 350W ที่มีต่อระยะเวลาที่ใช้ในการอบแห้ง ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของโฟมสาหร่ายผักกาดทะเล จากผลการทดลองพบว่า การอบแห้งด้วยอากาศร้อนอุณหภูมิ 50°C ร่วมกับการแผ่รังสีอินฟราเรดไกลที่ความเข้ม 350W ใช้ระยะเวลาอบแห้งนานกว่าการอบแห้งด้วยอากาศร้อนอุณหภูมิ 80°C แต่โฟมสาหร่ายผักกาดทะเลที่ผ่านการอบแห้งด้วยอากาศร้อนอุณหภูมิ 50°C ร่วมกับการแผ่รังสีอินฟราเรดไกลที่ความเข้ม 350W มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระซึ่งหาโดยวิธีการกำจัดอนุมูล DPPH และมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริคสูงกว่าโฟมสาหร่ายผักกาดทะเลที่ผ่านการอบแห้งด้วยอากาศร้อนอุณหภูมิ 80°C
**คำสำคัญ:** กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด โฟมสาหร่ายผักกาดทะเล อากาศร้อนร่วมกับการแผ่รังสีอินฟราเรดไกล

## คำนำ

สาหร่ายผักกาดทะเล (*Ulva rigida*) มีชื่อสามัญว่า Sea Lettuce เป็นสาหร่ายสีเขียว มีคุณค่าทางโภชนาการ มีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูง (Yildiz และคณะ, 2012) นอกจากนี้ยังมีกลิ่นหอมเฉพาะของสาหร่าย และมีเนื้อสัมผัสใกล้เคียงกับสาหร่ายสายใบ (porphyra) หรือจีฉ่าย แต่มีราคาถูกกว่า ดังนั้นจึงนิยมนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ หรือนำไปเป็นส่วนประกอบของอาหาร (จารุวรรณ และคณะ, 2563) ซึ่งจะช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับสาหร่ายผักกาดทะเล

การอบแห้งเป็นขั้นตอนสำคัญในกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์จำพวกสาหร่ายอบแห้งปรุงรส สาหร่ายแผ่นอบกรอบ และผงสาหร่าย การอบแห้งโดยใช้อากาศร้อนในเครื่องอบแห้งแบบถาดหรือแบบตู้เป็นที่นิยมสำหรับการอบแห้งสาหร่าย รติยา และคณะ

[1] ภาควิชาเกษตรกลวิธาน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 50 ถ. งามวงศ์วาน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพ 10900
[1] Department of Farm Mechanics, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, 50 Ngamwongwan Road, Lardyao, Chatuchak, Bangkok, 10900
[2] ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 50 ถ. งามวงศ์วาน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพ 10900
[2] Department of Fishery Biology, Faculty of Fishery, Kasetsart University, 50 Ngamwongwan Road, Lardyao, Chatuchak, Bangkok, 10900

(2562) ศึกษาผลของอุณหภูมิอากาศร้อน (50-80°C) ที่มีต่อปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ รวมถึงการใช้พลังงานจำเพาะในการอบแห้งสาหร่ายผักกาดทะเล พบว่า สาหร่ายผักกาดทะเลที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 80°C มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระซึ่งหาโดยวิธีการขจัดอนุมูล DPPH สูงสุด แต่มีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด และมีความสามารถในการรีดิวซ์ $Fe^{3+}$ ไม่แตกต่างจากสาหร่ายผักกาดทะเลที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 50°C แต่มีการใช้พลังงานค่อนข้างสูง การอบแห้งด้วยอากาศร้อนร่วมกับการแผ่รังสีอินฟราเรดไกลจะช่วยลดการใช้พลังงานในการอบแห้งได้ (El-Mesery และ Mwithiga, 2015) นอกจากนี้การอบแห้งโฟมซึ่งประกอบด้วยขั้นตอนการตีอาหารที่มีลักษณะเป็นของเหลว โดยผสมสารก่อฟองและสารที่ทำให้ฟองเสถียรลงไป เพื่อทำให้เกิดฟองในอาหารและฟองที่เกิดขึ้นมีความเสถียร แล้วจึงนำไปอบแห้ง จะช่วยลดระยะเวลาในการอบแห้งลงได้ เนื่องจากเกิดโครงสร้างรูพรุนในอาหาร ที่ผ่านมามีการศึกษาการอบแห้งโฟมสาหร่ายสไปรูลิน่า (Prasetyaningrum และ Djaeni, 2012) และสาหร่ายสีแดง (Djaeni และคณะ, 2015) ทั้งนี้ยังไม่มีการศึกษาการอบแห้งโฟมสาหร่ายผักกาดทะเล ซึ่งผลจากการศึกษาการอบแห้งโฟมสาหร่ายจะสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์จำพวกสาหร่ายอบแห้ง สาหร่ายอบกรอบ และผงสาหร่ายได้ ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาผลของวิธีการอบแห้ง ได้แก่ การอบแห้งด้วยอากาศร้อนอุณหภูมิ 80°C และการอบแห้งด้วยอากาศร้อนอุณหภูมิ 50°C ร่วมกับการแผ่รังสีอินฟราเรดไกลที่ความเข้ม 350W ที่มีต่อระยะเวลาที่ใช้ในการอบแห้ง การใช้พลังงานในการอบแห้ง ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของโฟมสาหร่ายผักกาดทะเลอบแห้ง เพื่อเปรียบเทียบกับสาหร่ายผักกาดทะเลที่ไม่ผ่านการทำโฟมและอบแห้งด้วยอากาศร้อนอุณหภูมิ 80°C

## อุปกรณ์และวิธีการ

เตรียมโฟมสาหร่ายผักกาดทะเลให้มีความหนาแน่น 0.5 $g/cm^3$ ก่อนนำไปอบแห้ง โดยปั่นสาหร่ายผักกาดทะเลกับน้ำ ใช้อัตราส่วนสาหร่ายผักกาดทะเลต่อน้ำเท่ากับ 2 ต่อ 5 (w/w) ปั่นเป็นเวลา 3 นาที เพื่อให้ได้สาหร่ายผักกาดทะเลเหลวข้นที่เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นเตรียมสารก่อโฟมและสารที่ทำให้ฟองเสถียร (Methyl cellulose, viscosity 4000 cP) ให้มีความเข้มข้น 0.4% (w/w) ผสมสารก่อโฟมที่ได้กับสาหร่ายผักกาดทะเลปั่นและคนให้เข้ากัน แล้วเทส่วนผสมลงในเครื่องผสมอาหาร Kitchen Aid Mixer (model no. 5K5SS, Strombeek-Bever, Belgium) และตีผสมที่ระดับความเร็วสูงสุด เป็นเวลาประมาณ 10 นาที เพื่อให้ได้ความหนาแน่นของโฟมสาหร่ายผักกาดทะเล 0.5 $g/cm^3$ จากนั้นเกลี่ยโฟมสาหร่ายผักกาดทะเลลงบนถาดที่ปูด้วยแผ่นรองอบเทฟลอน ให้เนื้อโฟมมีความหนา 5 mm จะได้มวลของโฟมสาหร่ายผักกาดทะเลถาดละประมาณ 140-145 กรัม จำนวน 5 ถาด แล้วนำไปอบแห้งในเครื่องอบแห้งแบบถาด โดยใช้อากาศร้อนอุณหภูมิ 80°C และใช้อากาศร้อนอุณหภูมิ 50°C ร่วมกับการแผ่รังสีอินฟราเรดไกลที่ความเข้มเท่ากับ 350W ความเร็วลม 0.4 m/s จนกระทั่งเหลือความชื้นสุดท้ายประมาณ 0.1 (เศษส่วนมาตรฐานแห้ง) และประเมินค่าความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะ (Specific energy consumption, SEC) จากพลังงานที่ใช้โดยขดลวดความร้อนและพัดลมในการระเหยน้ำ 1 กิโลกรัม (MJ/kg$H_2O$ evaporated) เปรียบเทียบกับการอบแห้งสาหร่ายผักกาดทะเลที่ไม่ผ่านการทำโฟม โดยใช้อากาศร้อนอุณหภูมิ 80°C โดยเตรียมตัวอย่างตามขั้นตอนของ รติยา และคณะ (2562) สำหรับการสกัดตัวอย่างสาหร่ายผักกาดทะเลและโฟมสาหร่ายผักกาดทะเลอบแห้ง การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ซึ่งรายงานผลเป็นมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/กรัมสารสกัด) การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ (ใช้วิธี DPPH radical scavenging activity ซึ่งรายงานผลเป็นค่า $IC_{50}$ ใช้ความเข้มข้นของสารสกัดในช่วง 0.25-3.00 mg/mL และวิธี $Fe^{3+}$ reducing activity ซึ่งรายงานผลเป็นมิลลิกรัมสมมูลของกรดแอสคอร์บิก/กรัมสารสกัด) ทำตามขั้นตอนของ รติยา และคณะ (2562)

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

Figure 1 (a) แสดงการเปลี่ยนแปลงความชื้นของโฟมสาหร่ายผักกาดทะเล (F) ที่ผ่านการอบแห้งด้วยอากาศร้อนอุณหภูมิ 80°C และอากาศร้อนอุณหภูมิ 50°C ร่วมกับการแผ่รังสีอินฟราเรดไกลที่ความเข้ม 350W เปรียบเทียบกับสาหร่ายผักกาดทะเลที่ไม่ผ่านการทำโฟม (NF) และอบแห้งด้วยอากาศร้อนอุณหภูมิ 80°C จากผลการทดลองพบว่า สาหร่ายผักกาดทะเลที่ไม่ผ่านการทำโฟมมีความชื้นเริ่มต้นต่ำกว่าโฟมสาหร่ายผักกาดทะเล เนื่องจากในกระบวนการทำโฟม ต้องนำสาหร่ายผักกาดทะเลไปปั่นผสมกับน้ำจนเป็นเนื้อเดียวกันก่อน โดยสาหร่ายผักกาดทะเลที่ไม่ผ่านการทำโฟม เมื่ออบแห้งด้วยอากาศร้อนอุณหภูมิ 80°C จะใช้ระยะเวลาในการอบแห้ง 270 นาที กรณีโฟมสาหร่ายผักกาดทะเล เมื่ออบแห้งด้วยอากาศร้อนอุณหภูมิ 80°C และอากาศร้อนอุณหภูมิ 50°C ร่วมกับการแผ่รังสีอินฟราเรดไกลที่ความเข้ม 350W จะใช้ระยะเวลาในการอบแห้ง 240 และ 330 นาที ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าการอบแห้งโฟมสาหร่ายผักกาดทะเลจะใช้ระยะเวลาในการอบแห้งสั้นกว่าสาหร่ายผักกาดทะเลที่ไม่ผ่านการทำโฟมเล็กน้อย เมื่ออบแห้ง

ที่อุณหภูมิเดียวกัน ทั้งที่โฟมสาหร่ายผักกาดทะเลมีความชื้นเริ่มต้นสูงกว่า ทั้งนี้เนื่องจากโฟมสาหร่ายผักกาดทะเลมีฟองอากาศอยู่ภายใน เมื่อผ่านการอบแห้งจะทำให้เกิดโครงสร้างรูพรุน ทำให้น้ำเคลื่อนที่และระเหยออกได้ง่าย เมื่อเปรียบเทียบเทคนิคในการอบแห้งพบว่า โฟมสาหร่ายผักกาดทะเลที่ผ่านการอบแห้งด้วยอากาศร้อนอุณหภูมิ 80°C จะใช้ระยะเวลาในการอบแห้งสั้นกว่าการอบแห้งด้วยอากาศร้อนอุณหภูมิ 50°C ร่วมกับการแผ่รังสีอินฟราเรดไกลที่ความเข้ม 350W ทั้งนี้เนื่องจากการอบแห้งด้วยอากาศร้อนอุณหภูมิ 80°C ทำให้วัสดุมีอุณหภูมิสูงกว่าการอบแห้งด้วยอากาศร้อนอุณหภูมิ 50°C ร่วมกับการแผ่รังสีอินฟราเรดไกลที่ความเข้ม 350W สัมประสิทธิ์การแพร่ความชื้นจึงมีค่าสูงกว่า ดังนั้นจึงใช้ระยะเวลาในการอบแห้งสั้นกว่า

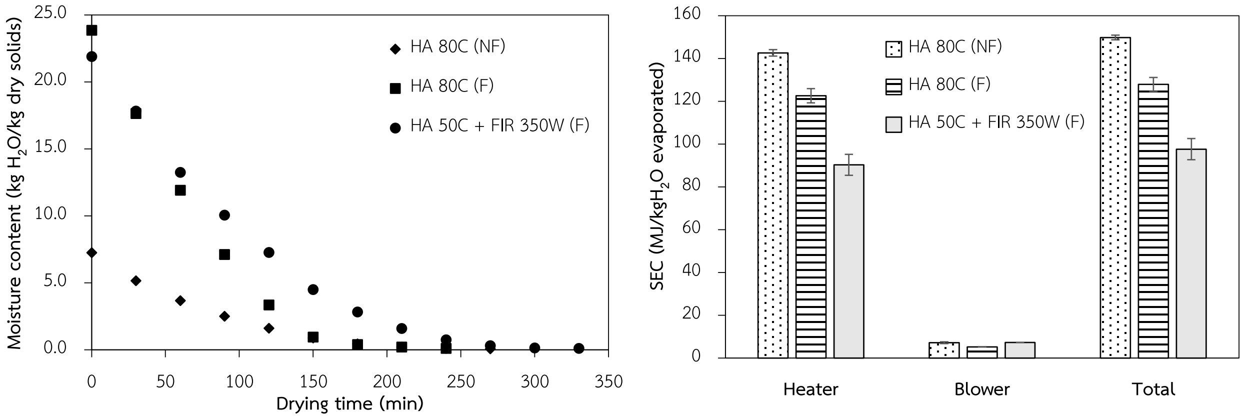



**Figure 1** (a) Drying curves and (b) Specific energy consumption (SEC) of sea lettuce foam dried by hot air at 80°C and combined hot air at 50°C and far-infrared radiation at the power level of 350W, compared with non-foamed sea lettuce dried by hot air at 80°C

เมื่อพิจารณาค่าความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะ (Specific Energy Consumption, SEC) ของอุปกรณ์ให้ความร้อน ($SEC_{Heater}$) และพัดลม ($SEC_{Blower}$) และความสิ้นเปลืองพลังงานจำเพาะรวม ($SEC_{Total}$) ดังแสดงใน Figure 1 (b) พบว่าการอบแห้งโฟมสาหร่ายผักกาดทะเลช่วยลดค่า $SEC_{Heater}$, $SEC_{Blower}$ และ $SEC_{Total}$ ลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่ออบแห้งที่อุณหภูมิเดียวกัน เนื่องจากการอบแห้งโฟมใช้ระยะเวลาในการอบแห้งสั้นกว่า และระเหยน้ำออกได้ในปริมาณมากกว่า เมื่อเปรียบเทียบเทคนิคในการอบแห้งพบว่า การอบแห้งโฟมสาหร่ายผักกาดทะเลด้วยอากาศร้อนอุณหภูมิ 50°C ร่วมกับการแผ่รังสีอินฟราเรดไกลที่ความเข้ม 350W มีค่า $SEC_{Heater}$ และ $SEC_{Total}$ ต่ำกว่าการอบแห้งโฟมสาหร่ายผักกาดทะเลด้วยอากาศร้อนอุณหภูมิ 80°C ถึงแม้ใช้ระยะเวลาในการอบแห้งนานกว่า เนื่องจากอุณหภูมิของอากาศร้อนกรณีอบแห้งด้วยอากาศร้อนร่วมกับการแผ่รังสีอินฟราเรดไกลต่ำกว่า ภาระการทำความร้อนของอุปกรณ์ให้ความร้อนจึงต่ำกว่า และหลอดรังสีอินฟราเรดไกลใช้พลังงานเพียง 350W ต่อหลอด (งานวิจัยนี้ใช้จำนวน 2 หลอด)

Table 1 แสดงปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในโฟมสาหร่ายผักกาดทะเลที่ผ่านการอบแห้งด้วยอากาศร้อนอุณหภูมิ 80°C และอากาศร้อนอุณหภูมิ 50°C ร่วมกับการแผ่รังสีอินฟราเรดไกลที่ความเข้ม 350W เปรียบเทียบกับสาหร่ายผักกาดทะเลที่ไม่ผ่านการทำโฟม และอบแห้งด้วยอากาศร้อนอุณหภูมิ 80°C จากผลการทดลองพบว่าโฟมสาหร่ายผักกาดทะเลมีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดต่ำกว่าสาหร่ายผักกาดทะเลที่ไม่ผ่านการทำโฟม เมื่ออบแห้งที่อุณหภูมิ 80°C เนื่องจากโฟม สาหร่ายผักกาดทะเลมีความเป็นรูพรุนสูง ซึ่งอาจทำให้สารประกอบฟีนอลิกเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ง่าย โดยเฉพาะที่อุณหภูมิสูง (Ali และคณะ, 2018) ทำให้โฟมสาหร่ายผักกาดทะเลมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระซึ่งหาโดยวิธีการกำจัดอนุมูล DPPH ต่ำกว่า (ค่า $IC_{50}$ สูงกว่า) และมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริคต่ำกว่าสาหร่ายผักกาดทะเลที่ไม่ผ่านการทำโฟม เมื่อเปรียบเทียบเทคนิคการอบแห้งพบว่า โฟมสาหร่ายผักกาดทะเลที่ผ่านการอบแห้งด้วยอากาศร้อนอุณหภูมิ 50°C ร่วมกับการแผ่รังสีอินฟราเรดไกลที่ความเข้ม 350W จะมีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดไม่แตกต่างจากโฟมสาหร่ายผักกาดทะเลที่ผ่านการอบแห้งด้วยอากาศร้อนอุณหภูมิ 80°C ทั้งที่การอบแห้งโฟมสาหร่ายผักกาดทะเลด้วยอากาศร้อนอุณหภูมิ 50°C ร่วมกับการแผ่รังสีอินฟราเรดไกลที่ความเข้ม 350W ใช้ระยะเวลานานกว่าการอบแห้งด้วยอากาศร้อนอุณหภูมิ 80°C ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากโฟมสาหร่ายผักกาดทะเลซึ่งมีความชื้นสูง สามารถดูดซับรังสีอินฟราเรดได้ดี ทำให้สารประกอบฟีนอลิกถูกปลดปล่อยออกมา (Lee และคณะ, 2005) ส่งผลให้มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระซึ่งหาโดยวิธีการกำจัดอนุมูล DPPH สูงกว่า (ค่า $IC_{50}$ ต่ำกว่า) และมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริคสูงกว่าการอบแห้งด้วยอากาศร้อนอุณหภูมิ 80°C

**Table 1** Total phenolic content (TPC), DPPH radical scavenging activity and $Fe^{3+}$ reducing activity of sea lettuce foam dried by different drying methods compared to the non-foamed sea lettuce dried at 80°C

| Sample Condition | TPC (mg GAE/g extract) | Antioxidant activities | |
|---|---|---|---|
| | | DPPH radical scavenging activity ($IC_{50}$; mg/ml) | $Fe^{3+}$ reducing activity (mg AA/g extract) |
| HA 80°C (NF) | 27.71±3.07$^{b}$ | 0.36±0.01$^{a}$ | 10.97±0.68$^{b}$ |
| HA 80°C (F) | 20.90±1.09$^{a}$ | 0.47±0.01$^{c}$ | 7.10±0.81$^{a}$ |
| HA 50°C + FIR 350W (F) | 23.56±0.89$^{a}$ | 0.45±0.01$^{b}$ | 10.48±0.12$^{b}$ |

Different letters in the same column indicate that the values are significantly different ($p < 0.05$)

## สรุปผล

การอบแห้งโฟมสาหร่ายผักกาดทะเลด้วยอากาศร้อนอุณหภูมิ 50°C ร่วมกับการแผ่รังสีอินฟราเรดไกลที่ความเข้ม 350W มีความเหมาะสมมากกว่าการอบแห้งด้วยอากาศร้อนอุณหภูมิ 80°C เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่ได้มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระซึ่งหาโดยวิธีการกำจัดอนุมูล DPPH และมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริคสูงกว่าการอบแห้งด้วยอากาศร้อนอุณหภูมิ 80°C นอกจากนี้ยังมีการใช้พลังงานในการอบแห้งต่ำกว่าการอบแห้งด้วยอากาศร้อนอุณหภูมิ 80°C

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสำนักงานสภานโยบายการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรมแห่งชาติ โดยหน่วยบริหารและจัดการทุนด้านการเพิ่มความสามารถในการแข่งขันของประเทศ (บพข.) ที่สนับสนุนงบประมาณในการทำงานวิจัย และภาควิชาเกษตรกลวิธาน คณะเกษตร ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่สนับสนุนอุปกรณ์และเครื่องมือในการทำงานวิจัย

## เอกสารอ้างอิง

จารุวรรณ สุพรรณพยัคฆ์ ปาริสุทธิ์ เฉลิมชัยวัฒน์ และ ทัศนีย์ ลิ้มสุวรรณ, 2563, ผลของการอบแห้งสาหร่ายผักกาดทะเล (*Ulva rigida*) ต่อคุณภาพและการนำไปใช้ประโยชน์ในข้าวเกรียบ, วารสารวิทยาศาสตร์ มข., 48(2): 227-235.

รติยา ธุวพาณิชยานันท์ ดลฤดี ใจสุทธิ์ และ จันทนา ไพรบูรณ์, 2562, ผลของอุณหภูมิอบแห้งที่มีต่อจลนพลศาสตร์การอบแห้ง การใช้พลังงานในการอบแห้ง และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสาหร่ายผักกาดทะเล, วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 50(2)(พิเศษ): 157-160.

Ali, A., Chong, C.H., Mah, S.H., Abdullah, L.C., Choong, T.S.Y., and Chua, B.L., 2018, Impact of Storage Conditions on the Stability of Predominant Phenolic Constituents and Antioxidant Activity of Dried *Piper betle* Extracts, Molecules, 23: 84.

Djaeni, M., Prasetyaningrum, A., Sasongko, S.B., Widayat, W., and Hii, C.L., 2015, Application of Foam-Mat Drying with Egg White for Carrageenan: Drying Rate and Product Quality Aspects, Journal of Food Science and Technology, 52: 1170-1175.

El-Mesery, H.S. and Mwithiga, G., 2015, Performance of a Convective, Infrared and Combined Infrared-Convective Heated Conveyor-Belt Dryer, Journal of Food Science and Technology, 52: 2721-2730.

Lee, S.C., Jeong, S.M., Kim, S.Y., Nam, K.C., and Ahn, D.U., 2005, Effect of Far-Infrared Irradiation on the Antioxidant Activity of Defatted Sesame Meal Extracts, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53: 1495-1498.

Prasetyaningrum, A. and Djaeni, M., 2012, Drying *Spirulina* with Foam Mat Drying at Medium Temperature, International Journal of Science and Engineering, 3: 1-3.

Yildiz, G., Celikler, S., Vatan, O., and Dere, D., 2012, Determination of the Anti-Oxidative Capacity and Bioactive Compounds in Green Seaweed *Ulva rigida* C. Agardh, International Journal of Food Properties, 15: 1182-1189.

# ประเมินพันธุ์ข้าวโพดหวานสีม่วงแดงที่เหมาะกับการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ไอศกรีมและชาจากไหม
# Reddish-purple Sweet Corn Varieties Evaluation for Processing into Ice-cream and Silk-based Tea

ชฎามาศ จิตต์เลขา[1] บงกชมาศ โสภา[1] เสาวนีย์ ฝัดศิริ[1] และชูศักดิ์ จอมพุก[2]
Jittlaka, C[1], Sopa, B[1], Fudsiri, S[1], Jompuk, C[2]

## Abstract

The objective of this study is to evaluate the new variety of the reddish-purple sweet corn, regarding the characteristics of the yield and sensory quality of the products processed into ice-cream and silk-based tea. To study, 10 varieties of the yields trials were conducted in the randomized complete block design (RCBD) with three replications. The sensory quality was tested by a sampling group of 60 customers from Rai Suwan shop, using 9 point hedonic scale. Results showed that Kspsx5910 presented good potential with higher amounts of fresh husked and unhusked yields than in the average of 2,167 and 1,490 kg./rai, respectively. The full seeds stuck with a pod length of 17 cm. and width of 5 cm. Regarding to results of the preference, the tea received in the moderate to slight scores, while the slight like to like (6-7) level for the ice-cream.

**Keywords:** Reddish-purple sweet corn, Ice cream, Tea

## บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินคัดเลือกลูกผสมข้าวโพดหวานสีม่วงแดงพันธุ์ใหม่โดยพิจารณาจากลักษณะผลผลิตและคุณภาพทางประสาทสัมผัสจากผลิตภัณฑ์แปรรูปเป็นไอศกรีมและชาจากไหมข้าวโพด โดยการปลูกเปรียบเทียบผลผลิตข้าวโพดหวานจำนวน 10 พันธุ์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design, RCBD) จำนวน 3 ซ้ำ และคัดเลือกพันธุ์ที่มีแนวโน้มสามารถทำเป็นผลิตภัณฑ์ไอศกรีม และชาจากไหม ประเมินคุณภาพประสาทสัมผัสโดยสุ่มตัวอย่างจากลูกค้าร้านค้าข้าวโพดหวานไร่สุวรรณ จำนวน 60 ท่าน วิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยใช้ 9 Point Hedonic Scale ซึ่งพันธุ์Kspsx5910 เป็นพันธุ์ที่ประเมินได้ว่ามีศักยภาพดีเหมาะแก่การแปรรูปทั้ง 2 ผลิตภัณฑ์ โดยมีผลผลิตฝักสดทั้งเปลือกและปอกเปลือกที่มากกว่าค่าเฉลี่ยคือ 2,167 และ 1,490 กก/ไร่ ตามลำดับ มีลักษณะการติดเมล็ดเต็มทั้งฝักโดยมีความยาวฝัก 17 เซนติเมตร ฝักมีขนาดกว้าง 5 เซนติเมตร และให้ผลการทดสอบความชอบผลิตภัณฑ์ไอศกรีมมีคะแนน (6-7) อยู่ในระดับความชอบเล็กน้อยถึงชอบ และความชอบชาไหมอยู่ในระดับพึงพอใจระดับกลางถึงชอบเล็กน้อย

**คำสำคัญ:** ข้าวโพดหวานสีม่วงแดง ไอศกรีม ชา

## คำนำ

ปัจจุบันการดูแลในเรื่องของสุขภาพนั้นกำลังได้รับความนิยมจากผู้บริโภคทั้งผู้สูงอายุ วัยทำงาน รวมไปถึงวันรุ่นมากขึ้น เห็นได้จากการเลือกบริโภคผักผลไม้ที่มีสีสันต่างๆ พืชผักที่มีสีม่วง สีแดง มีสารแอนโทไซยานินที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสามารถยับยั้งการเกิดเนื้องอก และลดจำนวนเซลล์มะเร็ง (Cevallos-Casals and Cisneros Zevallos, 2003) สำหรับข้าวโพดสีม่วง (purple corn) อุดมไปด้วยสารแอนโทไซยานิน (anthocyanin) โดยมีการสะสมในเยื่อหุ้มเมล็ด (aleurone layer) และเปลือกหุ้มเมล็ด (pericarp) และมี cyaniding-3-O-ß-D-glucoside เป็นสารหลักประมาณ 75 เปอร์เซ็นต์ (Hiromitsu และคณะ, 2002) โครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ได้พัฒนาพันธุ์ข้าวโพดหวานสีม่วงลูกผสมเพื่อเพิ่มปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ด โดยชฎามาศ และคณะ (2563) ได้ปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดหวานเพื่อเพิ่มปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ด พบว่าเมล็ดลูกผสมทดสอบมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (182 - 460 mg/g), น้ำตาลนอนรีดิวซ์ (174 - 451

[1] ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30320

[1] National Corn and Sorghum Research Center, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Kasetsart University Pakchong, Nakhonrachasima, 30320

[2] ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

[2] Department of Agronomy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Kamphaeng Saen, Nakornpathom, 73140

mg/g) และปริมาณสารแอนโทไซยานิน (131 – 141 mg/100g) ในเมล็ดสูง ทุกคู่ผสมมีเมล็ดสีม่วงและมีคุณภาพการรับประทานดี นอกจากนี้ สารแอนโทไซยานินในเมล็ดลูกผสมทดสอบมีปริมาณสูงกว่าข้าวโพดหวานพันธุ์ร่วมทดสอบทั้งเมล็ดสีม่วง (71 mg/100g) และเมล็ดสีเหลือง (5 mg/100g) ซึ่งข้าวโพดหวานที่มีสีม่วงนั้นสามารถเพิ่มคุณค่าทางอาหารของข้าวโพดหวานได้ ข้าวโพดหวานสีม่วงนั้นมีการใช้ประโยชน์จากเมล็ดสดเพื่อการบริโภค นอกจากนั้นสารแอนโทไซยานินยังพบได้ในส่วนของซัง เปลือกหุ้มฝัก ไหม และลำต้น ซึ่งเมื่อนำเมล็ดสด ซังสด และไหมสดของข้าวโพดสีม่วง มาสกัดสารแอนโทไซยานิน พบว่าซังสดมีปริมาณสารแอนโทไซยานินมากกว่าไหมสด และเมล็ดสด (รัตนา และคณะ, 2557) จากคุณประโยชน์ทางสารอาหารที่ได้จากส่วนต่างๆของข้าวโพดหวานสีม่วงทำให้สามารถแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ได้หลากหลายเช่น ไอศกรีมจากซังข้าวโพดหวานสีม่วง (บงกชมาศ และคณะ2562) น้ำข้าวโพด และชาจากไหมข้าวโพด เป็นต้น เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร และใช้ประโยชน์จากส่วนต่างๆของข้าวโพดอย่างคุ้มค่า อีกทั้งยังเป็นการเพิ่มรายได้ให้แก่เกษตรกร และผู้บริโภคได้รับประโยชน์จากอาหารที่ดีต่อสุขภาพ การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาพันธุ์ข้าวโพดหวานสีม่วงแดงที่เหมาะสมในการผลิตไอศกรีมจากเมล็ดและชาจากไหมข้าวโพด

## อุปกรณ์และวิธีการ

ดำเนินการวิจัยทดสอบผลผลิตฝักสดและลักษณะฝัก ที่ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา โดยปลูกข้าวโพดหวานสีม่วงแดงจำนวน 10 พันธุ์ ได้แก่ Kspsx5901, Kspsx5902, Kspsx5903, Kspsx5904, Kspsx5905, Kspsx5906, Kspsx5907, Kspsx5908, Kspsx 5909 และ Kspsx5910 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่พัฒนาจากโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพด มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โดยมีการวางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design, RCBD) จำนวน 3 ซ้ำ บันทึกข้อมูลลักษณะที่สำคัญ ได้แก่ ผลผลิตฝักสดทั้งเปลือก ผลผลิตฝักสดปอกเปลือก และลักษณะฝัก จากนั้นเก็บตัวอย่างส่วนของซัง และไหมเพื่อนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ไอศกรีม และชาจากไหมข้าวโพด

การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์ไอศกรีม และชาจากไหมข้าวโพด **ได้ทำการคัดเลือกสายพันธุ์เบื้องต้นจากทีมผู้วิจัยโดยประเมินผลิตภัณฑ์ไอศกรีมและชาไหมที่ใช้ข้าวโพดพันธุต่าง ๆ** ซึ่งได้พิจารณาพันธุ์ที่เหมาะสมจากคุณภาพการรับประทานฝักสด และสีของผลิตภัณฑ์แปรรูปไอศกรีม และชาจากไหม ดังนี้

1 ผลิตภัณฑ์ไอศกรีม

คัดเลือกพันธุ์ข้าวโพดหวานสีม่วงแดงจำนวน 5 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ Kspsx5901, Kspsx5902, Kspsx5906, Kspsx5907 และ Kspsx5910 จากนั้นแปรรูปข้าวโพดหวานสีม่วงแดงเพื่อผลิตเป็นไอศกรีมโดยดัดแปลงวิธีการผลิตจากบงกชมาศ และคณะ (2562)โดยนำข้าวโพดที่ผ่านการเปลือกข้าวโพดและล้างทำความสะอาดมาฝาน นำเมล็ดที่ได้ต้มในน้ำสะอาดโดยใช้อัตราส่วนเมล็ดต่อน้ำคือ 1:1 ให้ความร้อนอุณหภูมิ 95 $^{o}$ซ นาน 12 นาที จากนั้นนำเข้าปั่นและแยกกาก และลดอุณหภูมิให้ต่ำกว่า 4 $^{o}$ซ (บงกชมาศ และคณะ, 2561) น้ำนมข้าวโพดหวานสีม่วงที่ได้จะถูกนำไปใช้เพื่อผลิตไอศกรีม โดยสูตรของไอศกรีมที่ศึกษาประกอบด้วยนมข้าวโพดหวานสีม่วง นมสด วิปปิ้งครีม น้ำตาลทราย เกลือ อิมัลซิไฟเออร์ และสารคงตัว คิดเป็นร้อยละ 250, 375, 219.6, 150, 0.4, 1 และ 4 โดยน้ำหนักของส่วนผสมทั้งหมด ตามลำดับ เริ่มจากเติมส่วนผสมที่เป็นของเหลว (น้ำนมข้าวโพดหวานสีม่วง นมสด และวิปปิ้งครีม) ลงในโถเครื่องปั่นผสม ปั่นจนเนียนเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วเทส่วนผสมลงในหม้อ สเตนเลส เมื่ออุณหภูมิถึง 50 $^{o}$ซ เติมน้ำตาลทราย เกลือ สารคงตัว อิมัลซิไฟเออร์ อุ่นให้ร้อนถึงอุณหภูมิ 65 $^{o}$ซ จึงเทส่วนผสมลงในเครื่องปั่นผสมโดยใช้ความเร็วสูงสุดปั่นนาน 1 นาที ทำการพาสเจอร์ไรซ์ ที่อุณหภูมิ 80 $^{o}$ซ นาน 2 นาที หลังจากนั้นนำมาลดอุณหภูมิลงอย่างรวดเร็ว บ่มที่อุณหภูมิ 4 $^{o}$ซ เป็นเวลา 24 ชม. นำส่วนผสมที่ผ่านการบ่มเข้าเครื่องปั่นไอศกรีมนาน 20 นาที บรรจุไอศกรีมใส่ภาชนะ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 ถึง -20 $^{o}$ซ นาน 24 ชม. แล้วทำการทดสอบและประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส เปรียบเทียบระดับความชอบในคุณลักษณะด้านการยอมรับโดยรวม สี ลักษณะปรากฏ รสชาติ และเนื้อสัมผัส จากนั้นสุ่มตัวอย่างกลุ่มทดสอบจากลูกค้าร้านค้าข้าวโพดหวานไร่สุวรรณ จำนวน 60 ท่าน วิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยโดยใช้ 9 Point Hedonic Scale วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) วิเคราะห์ความแปรปรวนและทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan’s Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

2 ชาจากไหมข้าวโพด

คัดเลือกไหมจากข้าวโพดหวานสีม่วงแดงจำนวน 5 พันธุ์ ได้แก่ Kspsx5903, Kspsx5906, Kspsx5907, Kspsx5908 และ Kspsx5910 นำไหมข้าวโพดไปคั่วแบบกระทะร้อนอุณหภูมิ 170$^{o}$ซ นาน 10 นาที (อมร, 2559) นำตัวอย่างบรรจุใส่ถุงชา 1.5 กรัม แช่ในน้ำร้อน 90$^{o}$ซ 3-5 นาที เทใส่แก้วพลาสติกปริมาตร 30 มล.จากนั้นนำมาทดสอบและประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคเมื่อทดสอบดื่มชาไหมข้าวโพดหวานสีม่วงแดงที่ได้ทำการเปรียบเทียบระดับความชอบในคุณลักษณะด้านสี กลิ่น

รสชาติ ความรู้สึกหลังกลืน และการยอมรับโดยรวม โดยสุ่มตัวอย่างกลุ่มทดสอบจากลูกค้าร้านค้าข้าวโพดหวานไร่สุวรรณ จำนวน 60 ท่าน วิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยโดยใช้ 9 Point Hedonic Scale วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) วิเคราะห์ความแปรปรวนและทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan’s Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการปลูกทดสอบผลผลิตได้ผลการทดลอง ดังนี้ ผลผลิตฝักสดทั้งเปลือกมีค่าเฉลี่ยระหว่าง 1,605-2,844 กก./ไร่ ซึ่งพันธุ์ที่มีผลผลิตฝักสดทั้งเปลือกสูงสุดได้แก่ Kspsx5901 และผลผลิตฝักสดปอกเปลือกมีค่าเฉลี่ยระหว่าง 1,016-1,856 กก./ไร่ ซึ่งพันธุ์ Kspsx5901 เป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตฝักสดปอกเปลือกสูงสุด นอกจากนั้นพันธุ์ Kspsx5901, Kspsx5908, Kspsx 5909 และ Kspsx5910 มีผลผลิตฝักสดทั้งเปลือกสูงกว่าผลผลิตเฉลี่ยของทั้ง 10 พันธุ์ (2,148 กก./ไร่) และผลผลิตฝักสดปอกเปลือกของพันธุ์ Kspsx5901, Kspsx5903, Kspsx 5909 และ Kspsx5910 มีค่าสูงกว่าผลผลิตเฉลี่ยปอกเปลือก(1,389 กก./ไร่) ของพันธุ์ทั้งหมด สำหรับลักษณะฝักได้แก่ ความยาวฝัก ความกว้างฝัก และจำนวนแถวเมล็ดบนฝัก พบว่า ความยาวฝักมีค่าระหว่าง 16 – 18 ซม. พันธุ์ที่มีความยาวฝักสูงสุดได้แก่ พันธุ์ Kspsx5901, Kspsx5906 และ Kspsx5909 ความกว้างฝักมีค่าระหว่าง 4 – 5 ซม. โดยพันธุ์ Kspsx5910 เป็นพันธุ์ที่มีความกว้างฝักสูงสุด และค่าเฉลี่ยของจำนวนแถวเมล็ดบนฝักเท่ากับ 14-16 แถว (Table1)

ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคเมื่อทดสอบชิมไอศกรีม โดยคุณลักษณะดังกล่าวของแต่ละพันธุ์มีค่าเฉลี่ยระดับในระดับความชอบเล็กน้อยถึงชอบ (6 – 7 ) ผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ได้จากพันธุ์ Kspsx5902 มีค่าสูงสุดแต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับผลิตภัณฑ์ไอศกรีมจากพันธุ์ Kspsx5901, Kspsx5907 และ Kspsx5910 (Table2)

จากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคเมื่อทดสอบดื่มชาไหมข้าวโพดหวานสีม่วงแดง เปรียบเทียบระดับความชอบในคุณลักษณะด้านความ สี กลิ่น รสชาติ ความรู้สึกหลังกลืน และการยอมรับโดยรวม ผลการทดลองในทุกลักษณะจากไหมข้าวโพดหวานสีม่วงแดงทุกพันธุ์มีค่าระดับการประเมินอยู่ระหว่าง 5 – 6 คือ ผู้บริโภคมีความพึงพอใจในระดับกลางถึงชอบเล็กน้อย รสชาติชาจากไหมของพันธุ์ Kspsx5906 มีค่าคะแนนสูงสุด มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่ไม่แตกต่างกับชาไหมที่ได้จากพันธุ์ Kspsx5903, Kspsx5908 และ Kspsx5910 (Table 3)

จะเห็นว่าพันธุ์ข้าวโพดหวานสีม่วงแดงแต่ละพันธุ์ให้ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์ไอศกรีมและชาจากไหมที่แตกต่างกันเป็นไปได้ว่าแต่ละพันธุ์มีความเหมาะสมที่จะนำมาแปรรูปผลิตภัณฑ์ที่ต่างกัน

## สรุปผล

จากผลการทดสอบผลผลิตข้าวโพดหวานสีม่วงแดงและประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมและผลิตภัณฑ์ชาจากไหม ถึงแม้ผลผลิตฝักสดจะมีค่าไม่แตกต่างทางสถิติ และระดับความพึงพอใจจากการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยส่วนใหญ่มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ($p>0.05$) แต่จากผลการวิจัยจะเห็นว่าพันธุ์ที่มีค่าเฉลี่ยผลผลิตฝักสดสูงกว่าค่าเฉลี่ยของพันธุ์ทดสอบทั้งหมด และเป็นพันธุ์ที่ได้รับการประเมินผลิตภัณฑ์ทั้งสองผลิตภัณฑ์ซึ่งมีระดับความพึงพอใจระดับกลางถึงชอบ นั่นคือ พันธุ์ Kspsx5910 ดังนั้น พันธุ์ข้าวโพดหวานสีม่วงแดง Kspsx5910 จึงเป็นพันธุ์ที่มีความเหมาะสมทั้งด้านผลผลิตและมีศักยภาพในการนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์แปรรูปไอศกรีมและชาจากไหม พันธุ์ Kspsx5910 จึงเป็นพันธุ์ที่เหมาะสมที่จะส่งเสริมต่อไป

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติที่สนับสนุนทุนวิจัยภายใต้โครงการวิจัยและส่งเสริมการผลิตข้าวโพดหวานและผลิตภัณฑ์เกษตรชุมชน

## เอกสารอ้างอิง

ชฎามาศ จิตต์เลขา ชูศักดิ์ จอมพุก และกฤษฎา สัมพันธารักษ์, 2563, การปรับปรุงพันธุ์เพื่อเพิ่มแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวโพดหวานลูกผสม, Thai Journal of Science and Technology, v9, p265-275.

บงกชมาศ โสภา เสาวนีย์ ฝัดศิริ ชฎามาศ จิตต์เลขา และ สุวีณา จันทพิรักษ์, 2562, ไอศกรีมข้าวโพดหวานสีม่วงเพื่อสุขภาพ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 50 (2) (พิเศษ) : 57-60.

รัตนา ม่วงรัตน์ กรวิกา สกุลไกรพีระ ธัญญารัตน์ บุระคา และ ลีลาวดี ชมนาน, 2557, ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารแอนโธไซยานินจากข้าวโพดสีม่วง, วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 22(3): 367-380.

อมร บุญสมบัติ, 2559, ผลของวิธีการคั่วต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในไหมข้าวโพดแห้งเพื่อการผลิตชา, วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

Cevallos-Casals, B.A. and Cisneros-Zevallos, L., 2003, Stoichiometric and Kinetic Studies of Phenolic Antioxidants from Andean Purple Corn and Red-fleshed Sweet Potato, Journal Agricultural Food Chemistry, 51: 3313-3319.

Hiromitsu, A., Kuze, N. and Kato, Y., 2002, Anthocyanins Isolated from Purple Corn (*Zea mays* L.), Foods and Food Ingredient Journal (Japan), 199: 41-45.

Table 1 Mean of fresh yields and yield component for the 10 reddish-purple sweet corn hybrids.

| Hybrid | Yield (kg/rai) | | Ear length[1/] (cm) | Ear Width[1/] (cm) | Kernel row[1/] |
|---|---|---|---|---|---|
| | Green wt[1/] | Good wt[1/] | | | |
| Kspsx5901 | 2844 | 1856 | 18 | 4 | 16 |
| Kspsx5902 | 1605 | 1016 | 16 | 4 | 16 |
| Kspsx5903 | 2140 | 1544 | 17 | 4 | 14 |
| Kspsx5904 | 1768 | 1077 | 16 | 4 | 16 |
| Kspsx5905 | 2086 | 1219 | 17 | 4 | 14 |
| Kspsx5906 | 1950 | 1368 | 18 | 4 | 14 |
| Kspsx5907 | 2099 | 1341 | 17 | 4 | 14 |
| Kspsx5908 | 2303 | 1341 | 17 | 4 | 14 |
| Kspsx5909 | 2519 | 1639 | 18 | 4 | 14 |
| Kspsx5910 | 2167 | 1490 | 17 | 5 | 14 |
| Mean | 2148 | 1389 | 17 | 4 | 14 |
| (%) CV | 29 | 32 | 3 | 33 | 6 |
| F-test | ns | ns | ** | ns | ns |
| LSD (0.05) | - | - | 0.99 | - | - |
| LSD (0.01) | - | 0 | 1.4 | - | - |

ns = non-significant difference (P>0.05) [1/]

Table 2 Sensory evaluation of ice cream reddish-purple sweet corn

| Hybrid | Color(ns) | Appearance(ns) | Taste(ns) | Texture (ns) | Overall |
|---|---|---|---|---|---|
| Kspsx5901 | 6.84±1.30 | 6.82±1.30 | 6.82±1.38 | 7.08±1.61 | 6.90±1.15[ab] |
| Kspsx5902 | 6.86±1.20 | 6.90±1.02 | 6.80±1.25 | 7.22±1.26 | 7.00±1.05[a] |
| Kspsx5906 | 6.60±1.81 | 6.68±1.32 | 6.84±1.60 | 7.22±1.52 | 6.56±1.21[b] |
| Kspsx5907 | 6.48±1.63 | 6.74±1.31 | 6.88±1.45 | 7.24±1.36 | 6.84±1.20[ab] |
| Kspsx5910 | 6.96±1.41 | 6.76±1.32 | 6.78±1.57 | 7.22±1.27 | 6.72±1.40[ab] |

a, b,c ... within columns represent significant difference (p≤0.05). ns mean statically non significance.

Table 3 Sensory evaluation of tea from reddish-purple sweet corn silk

| Hybrid | Color(ns) | Odour(ns) | Taste | After taste(ns) | Overall(ns) |
|---|---|---|---|---|---|
| Kspsx5903 | 6.12±1.42 | 5.96±1.34 | 6.02±1.44[ab] | 6.10±1.42 | 6.18±1.41 |
| Kspsx5906 | 5.92±1.35 | 6.04±1.34 | 6.16±1.28[a] | 6.06±1.33 | 6.08±1.38 |
| Kspsx5907 | 5.86±1.60 | 5.74±1.56 | 5.76±1.55[b] | 5.80±1.54 | 5.86±1.55 |
| Kspsx5908 | 5.92±1.51 | 5.98±1.45 | 6.06±1.48[ab] | 5.98±1.46 | 6.10±1.56 |
| Kspsx5910 | 6.02±1.60 | 5.94±1.53 | 5.96±1.55[ab] | 5.84±1.58 | 5.84±1.54 |

a, b,c ... within columns represent significant difference (p≤0.05). ns mean statically non significance.

# ชนิดและอัตราส่วนของถ่านชีวภาพจากเปลือกเสาวรสและเปลือกมะขามต่อการเจริญเติบโต และผลผลิต ของผักกาดขาวปลี ที่ปลูกในพื้นที่ตำบลหนองแม่นา อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์

# Types and Proportion of Passionfruit Peel Biochar and Tamarind Peel Biochar on Growth and Yield of Chinese Cabbage in Nong-Mae-Na Sub-district, Khao-Kho District, Phetchabun Province.

**เกศศิรินทร์ แสงมณี[1*] และ อิสระ ตั้งสุวรรณ์[2]**
**Sangmanee, K[1] and Tangsuwan, I[2]**

## Abstract

This research aimed to use farmland waste to produce biochar for nurturing the Chinese cabbages in the organic agriculture system. Split Plot Design in Randomized Complete Block with four duplicates was applied, by which main plots included 1) passionfruit peel biochar and 2) tamarind-peel biochar. The sub-plots were treated by various amounts of biochar; 1) 0 kg/rai, 2) 500 kg/rai, 3) 1,000 kg/rai, and 4) 2,000 kg/rai. As a result, using passionfruit peel as biochar materials had greater physical and chemical properties, than tamarind peel. Both types of biochar showed insignificant growth of these crops. Except, treating with passionfruit peel biochar with 500 kg/rai resulted in more effective in leaf-to-stem ratio than the plots without applying biochar. It tended to encourage higher growth and yield, compared to another rates. Also, it can be an alternative for cultivating organic agriculture vegetables.

**Keywords:** Passionfruit peel biochar, Tamarind peel biochar, Chinese cabbage, Organic agriculture

## บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรในพื้นที่ มาผลิตเป็นถ่านชีวภาพเพื่อปรับปรุงดินในการปลูกผักกาดขาวปลีในระบบเกษตรอินทรีย์ วางแผนการทดลอง แบบ Split plot design in Randomized Complete Block จำนวน 4 ซ้ำ ปัจจัยหลัก (main plot) คือ ชนิดของถ่านชีวภาพ คือ 1) ถ่านชีวภาพจากเปลือกเสาวรส 2) ถ่านชีวภาพจากเปลือกมะขาม ปัจจัยรอง (sub plot) คือ 1) 0 กิโลกรัมต่อไร่ 2) 500 กิโลกรัมต่อไร่ 3) 1000 กิโลกรัมต่อไร่ 4) 2000 กิโลกรัมต่อไร่ พบว่า การนำเปลือกเสาวรสมาทำเป็นถ่านชีวภาพมีคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีที่ดีกว่าการใช้ถ่านชีวภาพจากเปลือกมะขาม การใช้ถ่านชีวภาพทั้ง 2 ชนิด ไม่ทำให้การเจริญเติบโตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ยกเว้นการใช้ถ่านชีวภาพจากเปลือกเสาวรสอัตรา 500 กิโลกรัมต่อไร่ ทำให้จำนวนใบต่อต้นดีกว่าแปลงที่ไม่ใส่ถ่านชีวภาพ และมีแนวโน้มทำให้การเจริญเติบโตและผลผลิตดีกว่าอัตราอื่น เป็นแนวทางหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการผลิตพืชในระบบเกษตรอินทรีย์

**คำสำคัญ:** ถ่านชีวภาพจากเปลือกเสาวรส ถ่านชีวภาพจากเปลือกทุเรียน ผักกาดขาวปลี เกษตรอินทรีย์

## คำนำ

จังหวัดเพชรบูรณ์จัดเป็นแหล่งปลูกมะขามและเสาวรส ซึ่งพบว่าปี พ.ศ. 2559 อำเภอเขาค้อ มีผลผลิตเสาวรสที่เก็บเกี่ยวได้ 3,413,905 กิโลกรัม โดยใช้เนื้อที่เพาะปลูก จำนวน 3,694 ไร่ มากที่สุดในจังหวัดเพชรบูรณ์ (สำนักงานเกษตรจังหวัดเพชรบูรณ์, 2560) ทำให้มีวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรส่วนใหญ่จะเป็นเปลือกเสาวรสจำนวนมาก จึงนำมาทำเป็นถ่านชีวภาพเพื่อใช้ในการปรับปรุงบำรุงดิน เพื่อเพิ่มปริมาณธาตุอาหาร และจุลินทรีย์ในดิน เพราะถ่านชีวภาพมีพรุนและปริมาณธาตุอาหารที่มาก โดยเฉพาะไนโตรเจน ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม แคมเซียม อีกทั้งมีคุณสมบัติเป็นด่าง เมื่อนำมาใช้ในการปรับปรุงดินกรด ช่วยลดความเป็นกรดลงได้ เกศศิรินทร์ และคณะ, (2560) ศึกษาผลของอัตรและถ่านชีวภาพแต่ละชนิดในการปรับปรุงดินเปรี้ยวจัด พบว่าการใส่ถ่านชีวภาพในอัตราที่เพิ่มขึ้นทำให้ดินมีสมบัติทางเคมีและกายภาพที่ดีขึ้น โดยเฉพาะค่าเป็นกรดลดลง และมีปริมาณธาตุอาหารที่เพิ่มขึ้นภายใน 2 เดือน อีกทั้งส่งผลให้กระเจี๊ยบเขียวเจริญโตและผลผลิตที่ดี นอกจากนี้ยังพบว่าถ่านชีวภาพช่วยกักเก็บคาร์บอนใน

---

[1] สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร แขวงอนุสาวรีย์ เขตบางเขน กรุงเทพฯ 10220
[1] Department of Agriculture, Faculty of Science and Technology, Phranakorn Rajabhat University, Bangkok 10220
[2] สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ 67000
[2] Environmental of Science, Faculty of Science and Technology, Phetchabun Rajabhat University, Phetchabun 67000

ดินได้ด้วย ดังนั้น งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของถ่านชีวภาพในการปรับปรุงดินทรายตื้นที่ปลูกผักกาดขาวปลีในพื้นที่ตำบลหนองแม่นา อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ เพื่อลดการใช้ปุ๋ยเคมี และเป็นแนวทางในการผลิตพืชในระบบเกษตรอินทรีย์ต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการคัดเลือกพื้นที่ดินทรายตื้น ปลูกผักกาดขาวปลี ตำบลหนองแม่นา อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ นำเปลือกเสาวรส และเปลือกมะขาม มาเผาด้วยเตาเผาถ่านชีวภาพด้วยกระบวนการไพโรไลซีส ความร้อน 400 – 600 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง นำถ่านชีวภาพทั้ง 2 ชนิด มาบดให้เป็นผง และนำมาใส่ในแปลงทดลอง โดยวางแผนการทดลองแบบ Split plot design in Randomized Complete Block จำนวน 3 ซ้ำ ปัจจัยหลัก (main plot) ชนิดของถ่านชีวภาพ คือ เปลือกเสาวรสและเปลือกมะขาม ปัจจัยรอง (sub plot) อัตรา 4 ระดับ คือ 0, 500, 1000 และ 2000 กิโลกรัมต่อไร่ ใส่ถ่านชีวภาพตามแผนการทดลองลงในแปลงขนาด 3 x 3 ตารางเมตร และคลุกเคล้าให้เข้ากัน หมักทิ้งไว้ 14 วัน และนำต้นกล้าผักกาดขาวปลีอายุ 21 วัน ย้ายปลูกลงแปลงมีระยะปลูก 50 x 50 เซนติเมตร นอกจากนี้ใส่ปุ๋ยอินทรีย์อัดเม็ดอัตรา 300 กิโลกรัมต่อไร่ หลังจากย้ายปลูกทุก ๆ 15 วัน บันทึกข้อมูล ได้แก่ จำนวนใบต่อต้น น้ำหนัดสดก่อนตัดแต่งปลี น้ำหนักสดหลังตัดแต่งปลี เส้นผ่าศูนย์กลางหัว ความยาวหัว และผลผลิตรวมต่อไร่ ทำการทดลองระหว่าง เดือนเมษายน ถึง เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2562

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการนำเปลือกเสาวรสและเปลือกมะขามมาเผาทำเป็นถ่านชีวภาพ โดยใช้กระบวนการไพโรไลซีสแบบใช้ออกซิเจนน้อยมากหรือไม่ใช้ออกซิเจน เป็นการใช้ความร้อนไล่ความชื้นในวัสดุออกที่อุณหภูมิ 400 – 600 องศาเซลเซียส พบว่า ถ่านชีวภาพจากเปลือกเสาวรสมีสมบัติทางเคมี (OM 44.20 %, N 1.04 %, P 2.12 % และ K 7.19 %) สูงกว่าถ่านชีวภาพจากเปลือกมะขาม (OM 16.63 %, N 0.55 %, P 1.46 % และ K 2.21 %) และเมื่อนำภาพจาก SEM มาพิจารณาพบว่าถ่านชีวภาพจากเปลือกเสาวรส มีโครงสร้างภายในคล้ายฟองน้ำ มีจำนวนช่องว่างต่อพื้นที่มากและมีขนาดเล็ก (Figure 1) เมื่อนำมาปรับปรุงบำรุงดิน ทำให้ดินมีปริมาณธาตุอาหารและมีความสามารถในการอุ้มน้ำมากขึ้น อีกทั้งการปลูกพืชในระบบเกษตรอินทรีย์จะทำให้จุลินทรีย์ในดินเพิ่ม จุลินทรีย์จะเข้าไปอาศัยในช่องว่างเหล่านี้และยังช่วยปลดปล่อยธาตุอาหารให้พืช จากการทดลองในแปลงผลิตผักกาดขาวปลี พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่การใช้ถ่านชีวภาพจากเปลือกเสาวรส มีแนวโน้มให้ผักกาดขาวปลีมีการเจริญเติบโตและผลผลิตด้านน้ำหนักหัวก่อนตัดแต่ง น้ำหนักหัวหลังตัดแต่งปลี และผลผลิตรวมต่อพื้นที่ (1356.10 กรัม, 992.19 กรัม และ 8220.00 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ) เพิ่มมากกว่าการใช้ถ่านชีวภาพจากเปลือกมะขาม (Table 2) เนื่องจากสมบัติทางเคมีของปริมาณฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมในถ่านชีวภาพจากเปลือกเสาวรสที่มีปริมาณสูงมาก (Table 1) ซึ่งทั้ง 2 ธาตุนี้ มีผลส่งเสริมการสร้างหัวของพืชที่มีหัวใต้ดินและพืชที่ห่อหัว จึงทำให้มีการเจริญเติบโตที่ดีกว่า และอัตราส่วนที่เหมาะสม พบว่า การใส่ถ่านชีวภาพอัตรา 500 กิโลกรัมต่อไร่ ทำให้มีผลผลิตด้านน้ำหนักหลังตัดแต่งปลีและผลผลิตต่อพื้นที่มากที่สุด 1035.00 กรัม และ 8488.00 กิโลกรัมต่อไร่ (Table 2)

ส่วนอิทธพลร่วมระหว่างชนิดและอัตราของถ่านชีวภาพ พบว่า ใช้ถ่านชีวภาพจากเปลือกเสาวรส อัตรา 500 กิโลกรัมต่อไร่ ส่งผลต่อจำนวนใบต่อหัว น้ำหนักสดก่อนตัดแต่งปลี น้ำหนักสดหลังตัดแต่งปลี ความยาวหัว เส้นผ่าศูนย์กลางของหัว และผลผลิตต่อพื้นที่มากที่สุด แม้ว่าจะไม่แตกต่างทางสถิติกับสิ่งทดลองอื่น (Table 3) เนื่องจากสมบัติทางเคมีและกายภาพของถ่านชีวภาพจากเปลือกเสาวรส มีปริมาณธาตุอาหารที่สูง ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืช และยังพบว่า การใช้ถ่านชีวภาพนั้น ช่วยยับยั้งการเกิดโรคไส้เน่าในผักกาด ที่เกิดจากการขาดธาตุโพแทสเซียมและแคลเซียมในดิน เมื่อเปรียบเทียบกับผลผลิตของเกษตรกรที่ปลูกแบบใส่ปุ๋ยเคมี อีกทั้งการปรับปรุงดินด้วยถ่านชีวภาพยังสร้างความอุดมสมบูรณ์ในดินทั้งปริมาณธาตุอาหารและปริมาณจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในดิน ทำให้เกิดความหลากหลายของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์กับพืชในระยะยาว ซึ่งงานวิจัยของ เกศศิรินทร์ และคณะ (2560) ได้มีการศึกษาผลของถ่านชีวภาพแต่ละชนิดต่อปริมาณจุลินทรีย์ในดิน พบว่า การใส่ถ่านชีวภาพทำให้มีปริมาณจุลินทรีย์ได้แก่ แบคทีเรีย *Bacillus* spp., กลุ่มแบคทีเรียทั่วไป, แบคทีเรีย *Pseudomonas* spp. และกลุ่มเชื้อราที่สร้างเส้นใยจากในสัดส่วนเฉลี่ยของแต่ละชนิดถ่านชีวภาพพบว่าทุกชนิดของถ่านชีวภาพมีประสิทธิภาพในการปรับปรุงดิน เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาและอัตราที่ใส่ ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้มีผลต่อการยั้บยังโรค ส่งเสริมาการเจริญเติบโต และช่วยในการย่อยสลายอินทรียวัตถุ จึงทำให้ดินที่มีการใส่ถ่านชีวภาพมีการเจริญเติบโตของพืชที่ดี ซึ่งในระยะยาวนั้น ส่งผลต่อการลดใช้ปุ๋ย และยังสร้างความอุดมสมบูรณีของดิน สร้างระบบนิเวศในดินทำให้เกิดความยั่งยืน

## สรุปผล

การใช้ถ่านชีวภาพจากเปลือกเสาวรส อัตรา 500 กิโลกรัมต่อไร่ ส่งผลต่อจำนวนใบต่อหัวอย่างมีนัยสำคัญ ส่งผลให้หนักสดก่อนตัดแต่ง น้ำหนักสดหลังตัดแต่ง ความยาวหัว เส้นผ่าศูนย์กลางของหัว และผลผลิตต่อพื้นที่มากที่สุด

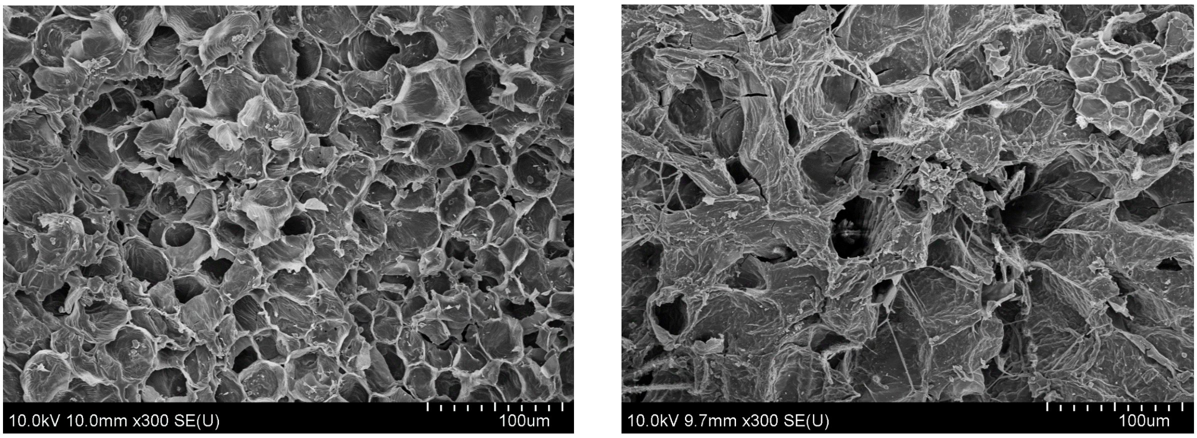
## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่มอบทุนสนับสนุนการดำเนินงานวิจัยในปี 2562 จนทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

## เอกสารอ้างอิง

เกศศิรินทร์ แสงมณี, จิตรยา จารุจิตร์ และพิชย์ชัย ทองนวรัตน์, 2560, การศึกษาชนิดและอัตราส่วนของถ่านชีวภาพต่อสมบัติของดิน การเจริญเติบโต ผลผลิต และคุณภาพของกระเจี๊ยบเขียวที่ปลูกในพื้นที่ดินเปรี้ยวจัด, รายงานผลการวิจัยประจำปี 2560, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร กรุงเทพฯ, หน้า 73 – 96.

สำนักงานเกษตรจังหวัดเพชรบูรณ์, 2560, รายงานปริมาณวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร, จังหวัดเพชรบูรณ์.




(a) (b)

**Figure 1** Physical appearances of Passionfruit peel biochar (a) and Tamarind peel biochar (b)

**Table 1** Chemical Property of Passionfruit peel biochar and Tamarind peel biochar

| Chemical Property | Passionfruit peel biochar | Tamarind peel biochar |
|---|---|---|
| pH | 10.55 | 9.84 |
| EC (dS/m) | 0.22 | 1.27 |
| Organic metter (%) | 44.20 | 16.63 |
| Organic carbon (%) | 25.64 | 9.65 |
| C/N ration | 25.00 | 18.00 |
| N (%) | 1.04 | 0.55 |
| P (%) | 2.12 | 1.46 |
| K (%) | 7.19 | 2.21 |

**Table 2** Effects of Types and Proportion of Biochar on growth of Chinese cabbage.

| Factor | | number of leaves | wet weight before removing outer leaves (g) | wet weight after removing outer leaves (g) | diameter (cm) | length (cm) | Yield (kg/rai) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Type (A) | Passionfruit peel biochar | 52.64 | 1356.10 | 992.19 | 12.05 | 32.53 | 8220.00 |
| | Tamarind peel biochar | 52.03 | 1351.30 | 960.31 | 12.29 | 33.33 | 8063.30 |
| F - Test | | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| Ratio (B) | No Biochar | 50.78 b[1/] | 1305.60 | 916.90 | 12.37 | 32.28 | 8133.30 |
| | 500 kg/rai | 52.75 ab | 1387.50 | 1035.00 | 12.00 | 33.78 | 8488.90 |
| | 1000 kg/rai | 52.25 ab | 1285.30 | 938.70 | 12.08 | 32.91 | 7740.00 |
| | 2000 kg/rai | 53.56 a | 1436.30 | 1014.40 | 12.24 | 32.28 | 8204.40 |
| F - Test | | * | ns | ns | ns | ns | ns |
| A x B | | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| C.V. (%) | | 3.71 | 14.04 | 19.90 | 8.23 | 4.82 | 14.01 |

[1/] Mean in the same column followed by the same letter are not significant different at $p \leq 0.05$ by Duncan's multiple range test

**Table 3** Interaction of Types and Proportion of Biochar on growth of Chinese cabbage

| Factor | | wet weight before removing outer leaves (g) | wet weight after removing outer leaves (g) | diameter (cm) | length (cm) | Yield (kg/rai) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Passionfruit peel biochar | no Biochar | 1243.70 | 861.30 | 12.26 | 31.18 | 8106.70 |
| | 500 kg/rai | 1451.30 | 1107.50 | 11.87 | 33.75 | 9240.00 |
| | 1000 kg/rai | 1296.90 | 982.50 | 11.74 | 32.37 | 7408.90 |
| | 2000 kg/rai | 1432.50 | 1017.50 | 12.34 | 32.81 | 8124.40 |
| Tamarind peel biochar | no Biochar | 1367.50 | 972.50 | 12.47 | 33.37 | 8160.00 |
| | 500 kg/rai | 1323.80 | 962.50 | 12.13 | 33.81 | 7737.30 |
| | 1000 kg/rai | 1273.80 | 895.00 | 12.42 | 33.44 | 8071.10 |
| | 2000 kg/rai | 1440.00 | 1011.30 | 12.14 | 32.68 | 8284.40 |
| A x B | | ns | ns | ns | ns | ns |
| C.V. (%) | | 14.04 | 19.90 | 8.23 | 4.82 | 14.01 |

[1/] Mean in the same column followed by the same letter are not significant different at $p \leq 0.05$ by Duncan's multiple range test

Agricultural Sci. J. 52(1)(Suppl.): 309-312 (2021) ว. วิทย์. กษ. 52(1)(พิเศษ): 309-312 (2564)

# การคัดเลือกพันธุ์มะเขือเทศต้านทานโรคเหี่ยวเขียว
# Screening for Bacterial Wilt Resistance in Tomato

รัชนี ศิริยาน[1] เสาวนี เขตสกุล[1] จีรภา ออสติน[2] วีรยุทธ ดัดตนรัมย์[1] รุ่งนภา ทองเครง[3] และ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[3]
Siriyan, R.[1], Ketsakul, S.[1] ,Austin, J.[2] , Dadtonrum, W[1], Thongkreng, R.[3] , and Kositcharoenkul, N.[3]

## Abstract

Bacterial wilt is a serious cause disease in tomato. This study aimed to assess bacterial wilt resistance in good characteristic tomato with highly beta-carotene and lycopene. The inoculation method was used for resistant screening in 59 tomato lines. After 4 weeks, the result showed that all tomato lines were susceptible, ranged from 68-100 disease index percentage. The resistant tomato were collected, grown and self-pollinated. The seeds were sowed and repeated for bacterial wilt inoculation until the fifth generation ($S_5$). The result found that tomato had increased resistance to bacterial wilt in each generation. The first to the second generations ($S_1$-$S_2$) showed 25-100 disease index percentage. The third to the fourth generations ($S_3$-$S_4$) had 0-100 disease index percentage and the fifth generation ($S_5$) had 0-31 disease index percentage. The five disease resistant lines were selected. These lines will be used for bacterial wilt resistance breeding program.

**Keywords:** Bacterial wilt, Inoculation, Disease percentage, Resistant cultivars

## บทคัดย่อ

โรคเหี่ยวเขียวจากเชื้อแบคทีเรียเป็นโรคที่สำคัญต่อการปลูกมะเขือเทศ การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกมะเขือเทศที่มีลักษณะดีทางการเกษตร มีสารเบต้าแคโรทีนและไลโคปีนสูง ให้มีลักษณะต้านทานโรคเหี่ยวเขียว โดยการปลูกเชื้อโรคเหี่ยวเขียวให้แก่มะเขือเทศสายพันธุ์คัดเลือกจำนวน 59 สายพันธุ์ ตรวจสอบการตอบสนองต่อเชื้อโรคหลังปลูกเชื้อเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่า ทุกสายพันธุ์อ่อนแอต่อเชื้อโรคเหี่ยวเขียวโดยมีดัชนีเกิดโรค 68-100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนต้นที่ไม่แสดงอาการจะคลุมดอกเพื่อเก็บเมล็ดผสมตัวเอง แล้วนำมาทดสอบความต้านทานต่อโรคเหี่ยวเขียว ทำซ้ำจนกระทั่งถึงรุ่นที่ 5 ($S_5$) พบว่ามะเขือเทศมีความต้านทานโรคเหี่ยวเขียวเพิ่มขึ้นในแต่ละรุ่น โดยรุ่น $S_1$-$S_2$ มีค่าดัชนีการเกิดโรค 25-100 เปอร์เซ็นต์ รุ่น $S_3$-$S_4$ มีค่าดัชนีการเกิดโรค 0-100 เปอร์เซ็นต์ และรุ่น $S_5$ มีค่าดัชนีการเกิดโรค 0-31 เปอร์เซ็นต์สามารถคัดเลือกได้มะเขือเทศต้านทานโรคเหี่ยวเขียว 5 สายพันธุ์ มะเขือเทศต้านทานเหล่านี้จะใช้ในการพัฒนาพันธุ์มะเขือเทศต้านทานโรคเหี่ยวเขียวต่อไป

**คำสำคัญ:** โรคเหี่ยวเขียว, การปลูกเชื้อโรคเหี่ยวเขียว, เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค, พันธุ์ต้านทานโรค

## คำนำ

โรคเหี่ยวเขียว (Bacterial wilt) เป็นโรคที่สำคัญมากที่สุดของมะเขือเทศที่ปลูกในเขตร้อน เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน ลักษณะโคโลนีบนอาหารค่อนข้างกลม ผิวของโคโลนีเรียบเป็นมัน สีค่อนข้างขาว สามารถแยกความแตกต่างของเชื้อชนิดรุนแรงและไม่รุนแรงออกจากกันได้ โดยลักษณะของเชื้อชนิดรุนแรงบนอาหาร Triphenyltetrazolium chloride (TZC) อายุ 48 ชั่วโมง โคโลนีค่อนข้างกลม สีขาวขุ่น มีจุดสีชมพูตรงกลางโคโลนี เชื้อชนิดไม่รุนแรง จะมีโคโลนีขอบเรียบ คล้ายเนยเหลว กลางโคโลนีสีแดงเข้มขอบใส ไม่สามารถก่อให้เกิดโรคได้ (เย็นจิตร, 2549) อาการโรคในมะเขือเทศ เริ่มจากใบล่างเหี่ยวและเกิดการเหี่ยวทั้งต้นอย่างรวดเร็ว หลังจากอาการเริ่มแรกปรากฏ 2-3 วัน อาจมีรากอากาศแตกออกจากส่วนลำต้นเป็นจำนวนมาก ซึ่งพบมากในกรณีที่การเกิดโรคมีการพัฒนาค่อนข้างช้า (เพชรรัตน์

[1] ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ ตำบลหนองไผ่ อำเภอเมือง จังหวัดศรีสะเกษ 33000
Si Sa Ket Horticultural Research Center, Nong Phai, Mueang, Si Sa Ket 33000
[2] ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพังงา เลขที่ 52 หมู่ที่ 1 ต.บางม่วง อ.ตะกั่วป่า จ.พังงา 82110
[2] Phangnga Research and Development Center, 52 Moo 1, Bang Muang, Ta Kua Pa, Phangnga 82110
[3] สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ 10900
[3] Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture, Chatuchak, Bangkok 10900

และ พิศาล, 2547) โรคนี้พบได้ทั่วไปในแหล่งปลูกมะเขือเทศของประเทศไทย อาการโรคในมะเขือเทศ เริ่มจากใบล่างเหี่ยวแต่ใบยังเขียวอยู่ และพบว่าเชื้อโรคจะเข้าไปในต้นพืชผ่านทางรากและเพิ่มปริมาณในท่อน้ำ ทำให้รบกวนการลำเลียงน้ำและอาหารของพืช การควบคุมโรคทำได้ยาก เนื่องจากเชื้ออาศัยอยู่ในดิน วิธีการควบคุมที่ได้ผลดีที่สุด คือ การใช้พันธุ์ต้านทาน (Agrios, 2005) แต่มะเขือเทศพันธุ์ต้านทานมีความจำเพาะในบางพื้นที่และสูญเสียความต้านทานง่าย การเสียบยอดโดยใช้พันธุ์ต้านทานเป็นต้นตอ เป็นอีกแนวทางหนึ่งในการควบคุมโรคที่มีประสิทธิภาพ สามารถลดการเข้าทำลายของเชื้อโรคเหี่ยวเขียวได้ (Laeshita และ Arwiyanto, 2017)

ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษดำเนินโครงการสำรวจและรวบรวมมะเขือเทศเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ ระหว่างปี พ.ศ. 2555 –2557 ได้รวบรวมมะเขือเทศจากแหล่งต่างๆ นำมาปลูกศึกษาลักษณะทางการเกษตร และได้วิเคราะห์สารสำคัญ ได้แก่ เบต้าแคโรทีนและไลโคปีน หลายพันธุ์มีลักษณะต้านทานต่อโรคเหี่ยวเขียวในสภาพแปลง เหมาะสำหรับนำมาใช้เป็นพันธุ์ต้านทานโรคหรือใช้เป็นพันธุ์ต้นตอ ดังนั้น จึงได้นำพันธุ์ที่มีศักยภาพเหล่านี้มาทดสอบความต้านทานต่อโรคเหี่ยวเขียวในโรงเรือน เพื่อคัดเลือกพันธุ์ที่มีความต้านทานโรคหรือใช้เป็นพันธุ์ต้นตอ สำหรับให้เกษตรกรปลูกต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมต้นมะเขือเทศ

เพาะเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศในกระบะเพาะ เมื่อมีใบจริง 1 คู่ ย้ายปลูกต้นมะเขือเทศลงกระถาง ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 นิ้ว โดยใช้มะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์เป็นพันธุ์อ่อนแอเปรียบเทียบ ส่วนพันธุ์ต้านทานใช้พันธุ์ H7996 และ BWR#1405 เป็นพันธุ์เปรียบเทียบ ปลูกมะเขือเทศในเรือนปลูกพืชทดลองให้มีอายุ 30 วัน โดยใช้ต้นมะเขือเทศในการทดสอบจำนวน 20 ต้นต่อสายพันธุ์

2. การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum*

นำเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* ที่เก็บรักษาไว้ในศูนย์เก็บรักษาเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร มาฟื้นฟูความมีชีวิตโดยนำมาเลี้ยงบนอาหาร Wakimoto's medium (PSA) บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-4 วัน หรือเลี้ยงบนอาหาร TZC เลือกโคโลนีที่มีลักษณะเยิ้ม สีขาวขุ่น รูปร่างไม่แน่นอน ตรงกลางสีชมพู นำไปเลี้ยงเพิ่มปริมาณบนอาหาร PSA บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36-48 ชั่วโมง นำเชื้อมาละลายด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ วัดความเข้มข้นด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 600 นาโนเมตร ให้ได้ค่าความทึบแสง (Optical density, OD) เท่ากับ 0.3 มีความเข้มข้นของเชื้อประมาณ $10^8$ หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร

3. การทดสอบปฏิกิริยาพันธุ์มะเขือเทศต่อโรคเหี่ยวเขียว

โดยนำเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* ที่เตรียมไว้ข้างต้น มาปลูกเชื้อลงบนต้นมะเขือเทศที่เตรียมไว้ โดยก่อนปลูกเชื้องดการให้น้ำมะเขือเทศเป็นเวลา 1 วัน ปลูกเชื้อลงบนมะเขือเทศโดยใช้มีดหรือคัตเตอร์ที่สะอาดตัดส่วนรากห่างจากต้น 1-2 เซนติเมตร ราดด้วยสารละลายเชื้อที่เตรียมทันที โดยใช้อัตราส่วนสารละลายต่อดินในกระถาง 1: 10 (v/v) (20 มิลลิลิตรต่อต้น) การบันทึกผล ตรวจผลการทดลองหลังการปลูกเชื้อทุก 7 วัน โดยนับจำนวนต้นที่เกิดโรคหลังปลูกเชื้อ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ นับจำนวนต้นที่แสดงอาการโรคแต่ละระดับคะแนน ตามระดับอาการต่อโรค 5 ระดับ (Winstead และ Kelman, 1952) คือ 0 พืชไม่แสดงอาการเหี่ยวหรือพืชปกติ (Healthy plant), 1 ใบพืชแสดงอาการเหี่ยว 1 ใบ/ต้น, 2 ใบพืชแสดงอาการเหี่ยว 2 ใบ/ต้น หรือ ¼ ของต้นแสดงอาการเหี่ยว, 3 ใบพืชแสดงอาการเหี่ยว 3 ใบ/ต้นหรือ ½ ของต้นแสดงอาการเหี่ยว, 4 ใบพืชแสดงอาการเหี่ยว 4-5 ใบ/ต้นหรือ ¾ ของต้นแสดงอาการเหี่ยว, 5 พืชแสดงอาการเหี่ยวทั้งต้นหรือต้นตาย คำนวณค่าดัชนีการเกิดโรคตามสูตร

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค (\%) (Disease index, DI)} = \frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนต้นพืชแต่ละระดับอาการ} \times \text{ระดับอาการของโรค}}{\text{จำนวนต้นพืชทดสอบทั้งหมด} \times \text{ระดับอาการสูงสุด}} \times 100$$

นำค่าดัชนีการเกิดโรคมาใช้จัดระดับความต้านทาน ดังนี้ 0 % = ต้านทานมาก (Highly resistant, HR), 1-10 % = ต้านทาน (Resistant, R), 11-20 % = ต้านทานปานกลาง (Moderate resistant, MR), 21-30 % = อ่อนแอปานกลาง (Moderately susceptible, MS), 31-70 % = อ่อนแอ (Susceptible, S), 71-100 % = อ่อนแอมาก (Highly susceptible, HS)

## ผลการทดลอง

ผลการปลูกเชื้อโรคเหี่ยวเขียวให้แก่ต้นกล้ามะเขือเทศ จำนวน 59 สายพันธุ์ เปรียบเทียบกับพันธุ์ต้านทานและพันธุ์อ่อนแอ พบว่า มะเขือเทศทุกสายพันธุ์อ่อนแอต่อโรคเหี่ยวเขียว (Table 1) โดยมีค่า DI ตั้งแต่ 68-100 เปอร์เซ็นต์ มีเพียง 10 สายพันธุ์มีต้นที่ไม่แสดงอาการโรคเหี่ยวเขียว ได้แก่ สายพันธุ์ 007 010 034 045-2 047 296 333-2 357-2 397 และ 399 โดยมีดัชนีการเกิดโรค 97, 87, 92, 96, 83, 87, 68, 79, 73 และ 88 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

**Table 1** Reaction of tomato lines to *Ralstonia solanacearum.*

| Disease index (%) | Number of line | Response |
|---|---|---|
| 60-70 | 1 | Susceptible |
| 71-80 | 2 | Highly susceptible |
| 81-90 | 6 | Highly susceptible |
| 91-100 | 50 | Highly susceptible |
| Total | 59 | |

หลังจากนั้นนำต้นที่ไม่แสดงอาการเหี่ยว ย้ายปลูกในถุงดำขนาด 7x14 นิ้ว ปฏิบัติดูแลรักษา จนกระทั่งต้นมะเขือเทศออกดอก ใช้ถุงรีเมย์คลุมช่อดอกเพื่อป้องกันการผสมข้าม เมื่อผลมะเขือเทศสุกผ่าเก็บเมล็ด ตากเมล็ดให้แห้ง แล้วนำเมล็ดมาเพาะกล้าในถาดเพาะ ย้ายปลูกต้นกล้าใส่กระถางพลาสติกสีดำและปลูกเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* ตามกรรมวิธีข้างต้น พบว่า การปลูกเชื้อให้ต้นกล้ามะเขือเทศที่ได้จากต้นต้านทานและผสมตัวเองรุ่นที่ 1 ($S_1$) และรุ่นที่ 2 ($S_2$) มีความต้านทานโรคเหี่ยวเขียวเพิ่มขึ้น โดยมีค่า DI ระหว่าง 25-100 เปอร์เซ็นต์ โดยสายพันธุ์ 034 มีค่า DI 25 เปอร์เซ็นต์เท่ากับพันธุ์ H-7996 ซึ่งเป็นพันธุ์ต้านทานเปรียบเทียบ และ สายพันธุ์ 045 มีค่า DI 27 เปอร์เซ็นต์

การทดสอบความต้านทานต่อโรคเหี่ยวเขียวในรุ่นที่ 3 ($S_3$) ซึ่งเก็บเมล็ดจากต้นต้านทานรุ่น $S_2$ พบว่ามีค่า DI ระหว่าง 3-97 เปอร์เซ็นต์ และความต้านทานต่อโรคเหี่ยวเขียวในรุ่นที่ 4 ($S_4$) ซึ่งเก็บเมล็ดจากต้นต้านทานรุ่น $S_3$ พบว่ามีค่า DI ระหว่าง 0-100 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นเก็บเมล็ดจากต้นมะเขือเทศที่แสดงความต้านทานในรุ่นที่ 5 ($S_5$) นำมาเพาะกล้าและทดสอบปฏิกิริยาต่อโรคเหี่ยวเขียวตามวิธีการที่กล่าวมาแล้ว พบว่า สายพันธุ์มะเขือเทศแสดงความต้านทานต่อโรคเหี่ยวเขียว โดยมีค่า DI ระหว่าง 0-31 เปอร์เซ็นต์ (Table 2) และมีมะเขือเทศ 5 สายพันธุ์ที่มีค่า DI เท่ากับ 0 เปอร์เซ็นต์หรือไม่แสดงอาการของโรคเลย ได้แก่ สายพันธุ์ 034-5-1r, 034-5-1-2n, 045-3-1r, 045-3-1-5n และ 045-10-1-3n

## วิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการศึกษาการคัดเลือกมะเขือเทศต้านทานโรคเหี่ยวเขียว สามารถคัดเลือกสายพันธุ์มะเขือเทศที่มีความต้านทานได้ โดยในรุ่นแรกๆ มะเขือเทศมีความอ่อนแอต่อโรคมาก แต่ยังคงมีบางต้นไม่แสดงอาการของโรค การแสดงความต้านทานและอ่อนแอของต้นมะเขือเทศโดยสังเกตอาการของโรคบนต้นมะเขือเทศ โดยพันธุ์ที่อ่อนแอจะแสดงอาการหลังปลูกเชื้อ 4 วัน และพันธุ์ที่มีความต้านทานจะแสดงอาการหลังปลูกเชื้อ 14 วันหรือมากกว่าและยังคงมีต้นไม่แสดงอาการโรคหลังปลูกเชื้อ 4 สัปดาห์ เมื่อเก็บเมล็ดจากต้นต้านทานเหล่านั้นมาปลูกและทดสอบความต้านทานโรค โดยทำซ้ำๆหลายๆรุ่น พบว่า ความต้านทานของโรคเพิ่มขึ้นในรุ่นที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของยีนต้านทาน ความต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรียโรคเหี่ยวเขียวนี้ถูกควบคุมด้วยยีน ซึ่งในมะเขือเทศยีนที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานนี้มีลักษณะถ่ายทอดเชิงปริมาณ (Quantitative trait loci) ทำให้การแสดงออกมีหลายระดับ และสภาพแวดล้อมมีผลต่อการแสดงความต้านทาน (Ishihara และคณะ, 2012) นอกจากนี้ Hanson และ คณะ (1996) รายงานการตอบสนองของพันธุ์มะเขือเทศและเชื้อโรคเหี่ยวเขียว พบว่ามีความแตกต่างกันในแต่ละแหล่งปลูก โดยสายพันธุ์มะเขือเทศที่มีความต้านทานต่อโรคเหี่ยวเขียวในมาเลเซียและไต้หวัน เมื่อนำมาทดสอบที่ฟิลิปปินส์และอินโดนีเซีย แสดงความอ่อนแอต่อโรคเหี่ยวเขียวของฟิลิปปินส์และอินโดนีเซีย แสดงให้เห็นว่า แหล่งพันธุกรรมที่จะนำมาใช้ประเมินความต้านทานควรจะอยู่ในพื้นที่เดียวกันกับเชื้อสาเหตุโรค จึงจะสามารถคัดเลือกพันธุต้านทานให้ประสบผลสำเร็จ

## สรุปผล

การคัดเลือกมะเขือเทศต้านทานโรคเหี่ยวเขียว สามารถคัดเลือกได้สายพันธุ์มะเขือเทศในรุ่นที่ 5 ($S_5$) ที่มีความต้านทานสูงจำนวน 5 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ 034-5-1r, 045-3-1r, 045-3-1-5n และ 045-10-1-3n โดยมีดัชนีการเกิดโรค 0

เปอร์เซ็นต์ ทั้ง 5 สายพันธุ์ สามารถนำมาพัฒนาต่อเพื่อให้ได้มะเขือเทศพันธุ์ใหม่ต้านทานโรคเหี่ยวเขียว และใช้เป็นต้นตอสำหรับพันธุ์การค้าที่มีความอ่อนแอต่อโรคเหี่ยวเขียวได้

**Table 2** Response of tomato to bacterial wilt infection after inoculation for 4 weeks.

| Generation | Tomato lines | Total plants | Resistant percentage | Disease index (%) | Phenotype |
|---|---|---|---|---|---|
| $S_4$ | 034-2-2 | 29 | 97 | 3 | R |
| | 034-5-1 | 30 | 93 | 7 | R |
| | 045-14-4 | 30 | 47 | 53 | S |
| | 045-3-1 | 30 | 63 | 37 | S |
| | 045-10-1 | 29 | 100 | 0.0 | HR |
| | 337-1-1 | 30 | 0 | 100 | HS |
| | 357-10-2 | 30 | 23 | 77 | HS |
| | 357-2-12 | 30 | 60 | 40 | S |
| $S_5$ | 034-2-2r | 31 | 93 | 7 | R |
| | 034-2-2-2n | 30 | 97 | 3 | R |
| | 034-2-2-1n | 20 | 95 | 5 | R |
| | 034-5-1r | 30 | 100 | 0 | HR |
| | 034-5-1-2n | 25 | 100 | 0 | HR |
| | 045-3-1r | 30 | 100 | 0 | HR |
| | 045-3-1-5n | 30 | 100 | 0 | HR |
| | 045-10-1-3n | 30 | 63 | 7 | R |
| | 045-10-1r | 29 | 97 | 3 | R |
| | 045-10-1-3n | 27 | 100 | 0 | HR |
| | 357-12-2r | 27 | 70 | 30 | MS |
| | 357-12-2-1n | 29 | 69 | 31 | S |

## เอกสารอ้างอิง


เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล และพิศาล ศิริธร, 2547, รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ การพัฒนาเทคนิค ELISA สำหรับการตรวจวินิจฉัยโรคเหี่ยวมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียต้องห้ามในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศเพื่อส่งออก, ภาควิชาโรคพืชวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 37 น.

เย็นจิต เรเรือง, 2549, การคัดเลือกมะเขือเทศพันธุ์ต้านทานโรคเหี่ยวเขียวโดยใช้แผนที่ละเอียดระดับโมเลกุลและการทดสอบมะเขือเทศสายพันธุ์คู่แฝดที่มียีนต้านทานโรคเหี่ยวเขียว, วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 140 น.

Agrios, G.N., 2005, Plant Pathology ($4^{th}$ ed.), Academic Press, New York, 922 p.

Hanson, P.M., Wang, J.F., Licardo, O., Hanudin, Mah, S.Y., Hartman, G.L., Lin, Y.C., and Chen, J.T., 1996, Variable Reaction of Tomato Lines to Bacterial Wilt Evaluated at Several Locations in Southeast Asia, HortScience, 31: 143–146.

Ishihara, T., Takahashi, I., and Nakaho, K., 2012, Transcriptome Analysis of Quantitative Resistance-specific Response upon *Ralstonia solanacearum* Infection in Tomato, PLOS One, 7: e46763.

Laeshita, P. and Arwiyanto, T., 2017, Resistance Test of Several Tomato Varieties to Bacterial Wilt Diseases Caused by *Ralstonia solanacearum*, J.P.T. Indonesia, 21: 51-53.

Winstead, N.N. and Kelman, A., 1952, Inoculation Technique for Evaluating Resistance to *Pseudomonas solanacearum*, Phytopathology, 42: 628-634.

# การตรวจสอบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ทุเรียนฟรีซดราย
# Investigation of microbial contamination of freeze-dried durian process

ชาลินี พินผึ้ง[1] เบญจวรรณ ธรรมธนารักษ์[1] และ สาวิตรี วทัญญูไพศาล[1*]
Pinpueng, C.[1] Thumthanaruk, B.[1] and Vatanyoopaisarn, S.[1*]

## Abstract

This research aimed to investigate sources of microbial contamination in the durian freeze-dried (DFD) process before and after disinfecting were analyzed. Results showed that before disinfecting, the total plate count (TPC) and yeasts and molds (YM) of the atmosphere in the peeling room were 183 and 204 CFU/plate, and the freeze-dried product had TPC and YM of $1.4x10^4$ and $2.1x10^4$ CFU/g, respectively. After spraying disinfectant in the peeling room and spraying with 70% alcohol onto the washed hands of workers, the contact surface of table and containers, it was found that the TPC and YM of atmosphere in the room reduced to 69 and 3 CFU/plate. The TPC of the freeze-dried product was only $5.7x10^3$ CFU/g with non-detectable YM. Therefore, the cleaned atmosphere in the peeling room and sanitized worker's hands and all contact surfaces by 70% alcohol are needed for producing microbiological safe freeze-dried durian.
**Keywords:** Freeze-dried durian, Disinfectant, Airborne microorganism

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตทุเรียนฟรีซดรายก่อนและหลังการฆ่าเชื้อ พบว่าก่อนการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ภายในห้องปอกเปลือกทุเรียนพบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดและยีสต์ราเฉลี่ยเท่ากับ 183 และ 204 CFU/plate และผลิตภัณฑ์ทุเรียนฟรีซดรายมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด และยีสต์ราเฉลี่ยเท่ากับ $1.4x10^4$ และ $2.1x10^4$ CFU/g ตามลำดับ เมื่อทำการฉีดสเปรย์ฆ่าเชื้อในอากาศด้วยผลิตภัณฑ์ปรับอากาศ ยี่ห้อ glade และการฉีดแอลกอฮอล์ 70% บนมือพนักงาน (ที่ล้างแล้ว) ที่พื้นผิวของโต๊ะและที่บริเวณภาชนะที่สัมผัสกับผลิตภัณฑ์ พบว่าทำให้เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดและยีสต์ราในห้องปอกเปลือกลดลง เหลือ 69 และ 3 CFU/plate ตามลำดับ และผลิตภัณฑ์ทุเรียนฟรีซดรายมีเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลง $5.7x10^3$ CFU/g และไม่พบเชื้อยีสต์รา ดังนั้นอากาศที่สะอาดในห้องปอกเปลือกและการฆ่าเชื้อที่มือพนักงานร่วมกับพื้นผิวสัมผัสต่างๆด้วยแอลกอฮอล์ 70% ช่วยลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นและในระหว่างกระบวนการผลิตได้ ดังนั้นขั้นตอนดังกล่าวจึงจำเป็นสำหรับการผลิตผลิตภัณฑ์ทุเรียนฟรีซดรายที่มีความปลอดภัยจากเชื้อจุลินทรีย์
คำสำคัญ: ทุเรียนฟรีซดราย การฆ่าเชื้อ เชื้อจุลินทรีย์แพร่ในอากาศ

## คำนำ

ทุเรียน (*Durio zibethinus* Murr.) เป็นผลไม้ไทย มีลักษณะลำต้นสูงใหญ่ ใบเขียว ผลแก่จัดจะมีกลิ่นแรง (หิรัญ และคณะ, 2547) แต่ทุเรียนสดนั้นมีขนาดผลที่ใหญ่ และมีเปลือกหนา แหลม ทำให้เกิดความยุ่งยากในการล้างทำความสะอาดก่อนในการบริโภค ทุเรียนเป็นผลไม้ที่มีการส่งออกมูลค่าเฉลี่ยประมาณ 65 ล้านบาท ในปี 2563 (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2564) การส่งออกของทุเรียนมีจำนวนเพิ่มสูงขึ้นทำให้การขนส่งทุเรียนสดพบปัญหาการเน่าเสียระหว่างการขนส่ง จึงเกิดการแปรรูปเพื่อสะดวกต่อการรับประทานและการขนส่ง ทุเรียนฟรีซดรายเป็นผลิตภัณฑ์แปรรูปที่ได้รับความนิยมเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากเป็นการอบแห้งโดยใช้ความเย็น ตัวผลิตภัณฑ์จะยังคงกลิ่นและรสชาติได้ดีกว่าการใช้ความร้อนในการแปรรูป (Bourdoux และคณะ, 2016) กระบวนการฟรีซดรายไม่สามารถลดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ได้ มีรายงานพบเชื้อราปนเปื้อนในอินทผลัมอบแห้งในตลาดเปรูเกียประเทศอิตาลี โดยเชื้อส่วนใหญ่ที่พบในผลไม้อบแห้งคือ *Aspergillus*, *Penicillium* และ *Cladosporium* (Mara และคณะ, 2020) ปัญหาที่พบจากสินค้าทุเรียนฟรีซดรายส่งออกคือเชื้อจุลินทรีย์เกินตามมาตรฐานโดยอ้างอิงจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข หัวข้อผักและผลไม้ที่ดอง แช่อิ่ม เชื่อม กวน หรือทำให้แห้ง จะต้องมีมาตรฐานดังนี้ จำนวน จุลินทรีย์

[1] ภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร อาหาร และสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ 1518 ถนนประชาราษฎร์ 1 บางซื่อ กรุงเทพ 10800
[1]Department of Bioindustrial, Food and Environmental Technology, Faculty of Applied Science, King Mongkut's University of Technology North Bangkok, 1518 Pracharaj I Road, Bangsue, Bangkok 10800

แบคทีเรียทั่วไป น้อยกว่า $10^5$ CFU/g จำนวนยีสต์และรา น้อยกว่า $10^3$ CFU/g ตามมาตรฐานที่กำหนด จากการตรวจสอบมีทุเรียนฟรีซดรายบางล็อตที่มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เกินมาตรฐานซึ่งอาจเกิดการปนเปื้อนจากวัตถุดิบ กระบวนการผลิต การเก็บรักษา และการขนส่ง ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์แหล่งที่มาของการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตและเพื่อศึกษาแนวทางการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์

## อุปกรณ์และวิธีการ

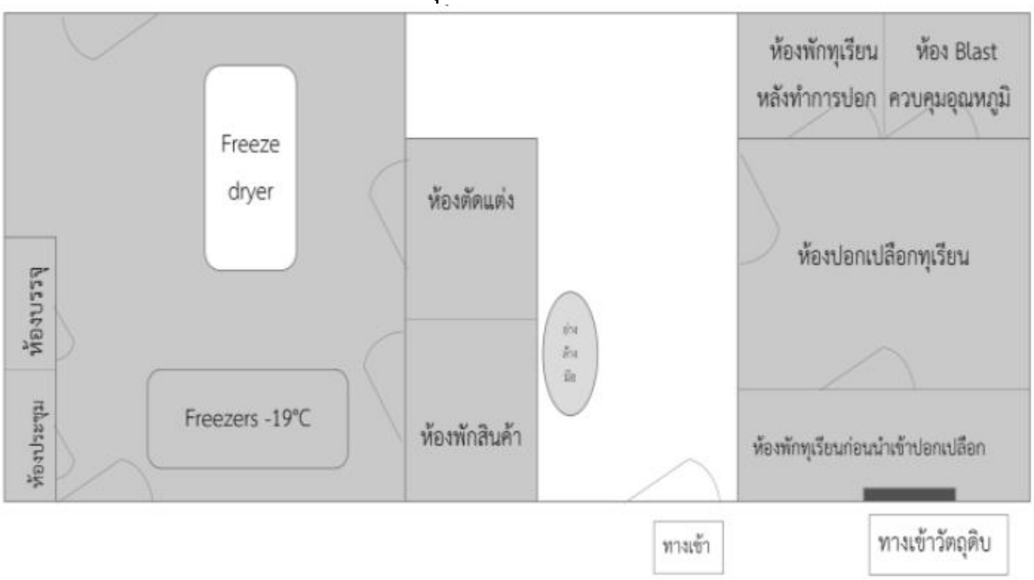



**Figure 1** layouts factory of the route of raw materials into the production process in different parts.

**1.การวิเคราะห์สาเหตุการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ทุเรียนฟรีซดราย** โดยใช้แผนผังก้างปลาในการวิเคราะห์ในกระบวนการผลิตทุเรียนฟรีซดราย (วันรัตน์, 2553)

**2.การตรวจสอบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในบรรยากาศของบริเวณที่ทำงาน** จำนวน 4 ห้องได้แก่ห้องปอกเปลือก ห้องพัก ห้องตัดแต่งและห้องบรรจุ โดยการเปิดจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar (PCA) สำหรับเชื้อแบคทีเรีย และ Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar (DRBC) สำหรับเชื้อยีสต์และราเป็นเวลานาน 30 นาที แล้วนำจานอาหาร PCA บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 1-3 วัน และ อาหารเลี้ยงเชื้อ DRBC บ่มที่ 25 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน ตรวจนับจำนวนโคโลนีแล้วรายงานเป็น CFU/plate จากนั้นทำการทดสอบผลของการใช้สเปรย์ปรับอากาศยี่ห้อ Glade สูตร clear Air ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย โดยมีส่วนประกอบของ Triethylene Glycol สามารถลดเชื้อแบคทีเรียและขจัดกลิ่นในอากาศและเชื้อไวรัสหวัด H1N1 (ไข้หวัดสายพันธ์ 2009) ได้ถึง 99% เฉพาะพื้นผิวแข็งและขจัดกลิ่นในอากาศ โดยการฉีดสเปรย์ที่บริเวณห้องทำงานจำนวน 4 ห้อง แล้วตรวจสอบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าว (สาวิตรี และคณะ, 2558)

**3.การตรวจสอบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่างเนื้อทุเรียนและอุปกรณ์ในที่ทำงาน** จำนวน 3 ห้อง ได้แก่ ห้องปอกเปลือก ห้องเป่าลมเย็น และห้องบรรจุ (ภาพที่ 1) นำเนื้อทุเรียนมาเจือจางใน Maximum recovery diluents (MRD) และทำการ spread plate บนอาหาร PCA และ DRBC แล้วนำจานอาหาร PCA บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 1-3 วัน และ อาหารเลี้ยงเชื้อ DRBC บ่มที่ 25 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน ตรวจนับจำนวนโคโลนีแล้วรายงานเป็น CFU/g จากนั้นทำการทดสอบประสิทธิภาพของการใช้แอลกอฮอล์ 70% โดยการฉีดทำความสะอาดมือพนักงาน และพื้นผิวของโต๊ะทำงานที่สัมผัสกับทุเรียน แล้วตรวจสอบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าว (สาวิตรี และคณะ, 2558)

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

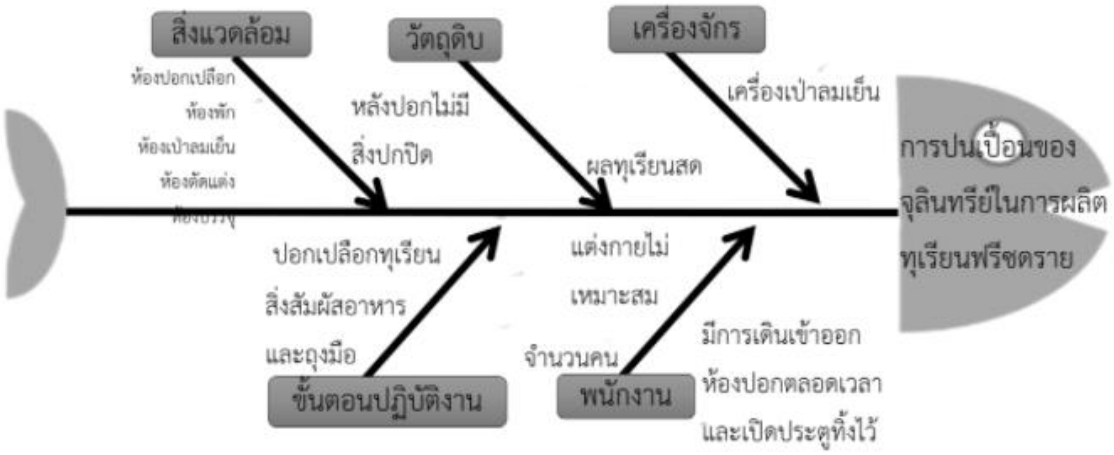



**Figure 2** Fishbone diagram to assess the probability of microbial contamination in durian from the production process by observing employees' s performance.

ผลวิเคราะห์สาเหตุการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ทุเรียนฟรีซดราย พบว่าห้องที่ปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์สูงสุด คือ ห้องปอกเปลือกทุเรียน เนื่องจากพนักงานไม่มีการปิดประตูและเดินเข้าออกบริเวณห้องปอกเปลือกตลอดเวลา ทำให้เกิดการปนเปื้อนเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้หลังการปอกไม่มีการปิดหรือคลุมตัววัตถุดิบทำให้เกิดการปนเปื้อนจากอากาศสู่เนื้อทุเรียน รวมถึงภาชนะที่สัมผัสทุเรียนไม่มีการทำความสะอาดอย่างสม่ำเสมอ

ผลการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในสภาพอากาศบริเวณที่ทำงานและผลิตทุเรียนฟรีซดราย เกิดจากการปนเปื้อนจากวัตถุดิบและอากาศในบริเวณห้องปอกเปลือก เนื่องจากบริเวณห้องปอกเปลือกอยู่ติดกับประตูทางเข้าห้องรับวัตถุดิบ (ภาพที่ 1) พบว่าก่อนทำการฆ่าเชื้อบริเวณห้องปอกเปลือกมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเฉลี่ยเท่ากับ 183 CFU/plate ปริมาณยีสต์ราเฉลี่ยเท่ากับ 204 CFU/plate แต่หลังจากผ่านการฆ่าเชื้อพบว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลงเหลือเฉลี่ยเท่ากับ 69 CFU/plate ปริมาณยีสต์ราลดลงเฉลี่ยเท่ากับ 3 CFU/plate ตามลำดับ

**Table 1** The number of microorganisms in the atmosphere in the freeze-dried durian production process.

| Room | Total Bacterial CFU/plate | | Total Fungi CFU/plate | |
|---|---|---|---|---|
| | Before | After | Before | After |
| Peeling room | 183 | 69 | 204 | 3 |
| Raw material room | 34 | 11 | 105 | 1 |
| Cutting room | 5 | 0 | 10 | 0 |
| Packing room | 1 | 0 | 10 | 0 |

ผลการวิเคราะห์การลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ ยีสต์ราในเนื้อทุเรียน ในห้องแต่ละส่วน ได้แก่ ห้องปอกเปลือก ห้องเป่าลมเย็น และห้องบรรจุ พบว่ามีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดเริ่มต้นเฉลี่ยเท่ากับ $1.2x10^4$, $5.4x10^5$ และ$1.4x10^4$ CFU/gFW ตามลำดับ ปริมาณยีสต์ราทั้งหมดเริ่มต้นเฉลี่ยเท่ากับ $1.2x10^3$, $3.1x10^3$ และ $2.1x10^4$ CFU/gFW ตามลำดับ โดยหลังฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ 70% ตามภาชนะที่สัมผัสโดนเนื้อทุเรียนและมือของพนักงานก่อนเข้าสู่กระบวนการผลิต พบว่ามีปริมาณเชื้อที่ลดลง โดยมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดเริ่มต้นเฉลี่ยเท่ากับ $1.3x10^4$, $6.7x10^4$และ $5.7x10^3$CFU/gFW ตามลำดับ ปริมาณยีสต์ราทั้งหมดเริ่มต้นเฉลี่ยเท่ากับ $3.1x10^3$, $3x10^2$ CFU/gFW และไม่พบเชื้อยีสต์รา ตามลำดับ ตามมาตรฐานกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กระทรวงสาธารณสุข ปี 2560 โดยมีข้อกำหนดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดต้องไม่เกิน $10^5$ CFU/g และยีสต์ราทั้งหมดต้องไม่เกิน $10^3$ CFU/g พบว่ามีการลดลงของปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดและปริมาณยีสต์ราได้ (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กระทรวงสาธารณสุข, 2560)

## สรุปผล

ในกระบวนการผลิตทุเรียนฟรีซดรายพบว่าบริเวณห้องปอกเปลือกเป็นบริเวณที่พบเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด และยีสต์รามากที่สุด โดยพบว่าวิธีการฆ่าเชื้อด้วยสเปรย์ปรับอากาศมีประสิทธิภาพ สามารถลดปริมาณเชื้อในอากาศบริเวณดังกล่าวได้ ส่วนการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อทุเรียน พบว่าแนวทางในการลดการปนเปื้อนสามารถทำได้โดยการฉีดแอลกอฮอล์ 70% บริเวณโต๊ะที่สัมผัสกับเนื้อทุเรียน และมือพนักงานก่อนเข้าสายการผลิต ซึ่งจะทำให้สามารถลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมดและยีสต์ราได้

## เอกสารอ้างอิง


กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กระทรวงสาธารณสุข, 2560, ผักและผลไม้ที่ดอง แช่อิ่ม เชื่อม กวน หรือทำให้แห้ง, เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร, ฉบับที่ 3. P.15-19

หิรัญ หิรัญประดิษฐ์ และสุมน อมรวิวัฒน์, 2547, ทุเรียน, ใน: สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน เล่มที่ 28 [Internet], 2547, [สืบค้นวันที่ 24 เมษายน 2563], Available from: http://saranukromthai.or.th/sub/book/book 3.

มกษ 9046-2560, มาตรฐานสินค้าเกษตร, การปฏิบัติที่ดีสำหรับการผลิตทุเรียนแช่เยือกแข็ง.

สาวิตรี วทัญญูไพศาล รสมันต์ จงเจริญ วรรณรัก นพเจริญกุล และ พีรพงษ์ พรวงศ์ทอง, 2558, ปฏิบัติการจุลชีววิทยาสำหรับนักเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม, กรุงเทพมหานคร: สหมิตรพัฒนาการพิมพ์.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2564, การกำหนดเขตเศรษฐกิจสำหรับสินค้าเกษตร, กรุงเทพฯ : กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

วันรัตน์ จันทกิจ, 2553, 17 เครื่องมือนักคิด, กรุงเทพฯ: สถาบันเพิ่มผลผลิตแห่งชาติ.

Bourdoux, S., Li, D., Rajkovic, A., Devlieghere, F, Uyttendaele M., 2016, Performance of Drying Technologies to Ensure Microbial Safety of Dried Fruits and Vegetables, Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 15(6), 1056–1066.

Mara, Q., Marina, S., Michael, S., Andrea, O., Lorenzo, C., Giovanni, B., 2020, *Aspergillus, Penicillium* and *Cladosporium* species Associated with Dried Date Fruits Collected in the Perugia (Umbria, Central Italy) Market, International Journal of Food Microbiology, Volume 322.

# ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยจากพืชวงศ์กะเพราบางชนิดต่อเชื้อสเตร็ปโตคอคคัสมิวแทนส์
# Antibacterial Activity of Some *Lamiaceae* Essential Oil Against *Streptococcus mutans*

**เพลินพิศ ยะสินธ์[1] เยี่ยมศิริ มณีพิศมัย[1] และเพชรรัตน์ ไกรวพันธุ์[2]**
**Yasin, P.[1], Maneepisamai, Y.[1] and Kraivaphan, P.[2]**

## Abstract

The research was aimed to study the inhibitory effect of essential oil from some plants in Lamiaceae against oral bacteria. The plants used in this research were *Ocimum bacillicum* Linn. and *Ocimum americanum* Linn. Essential oil was isolated by water distillation method and steam distillation method. The cytotoxicity was tested by MTT method. The antibacterial activity of the oils was evaluated using disc diffusion method against *Streptococcus mutans*, which causing dental caries development. The cytotoxic effect of all 4 kinds of essential oils was not found. The antibacterial activities showed that all the oils had activity against *S. mutans*. Among these, the oil of *O. americanum* L. obtained from steam distillation which had the highest potential to inhibit *S. mutans*,

**Keywords:** Antibacterial Activity, Lamiaceae, *Streptococcus mutans*

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในช่องปากของน้ำมันหอมระเหยจากพืชวงศ์กะเพราบางชนิด โดยพืชที่ใช้ในการศึกษาได้แก่ ใบโหระพา และใบแมงลัก สกัดน้ำมันหอมระเหยโดยการกลั่นด้วยน้ำและการกลั่นด้วยไอน้ำ แล้วทดสอบความเป็นพิษ (cytotoxicity) ของน้ำมันหอมระเหยต่อเซลล์ด้วยวิธี MTT และทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียด้วยวิธี disc diffusion method แบคทีเรียที่ใช้ในการศึกษาคือ *Streptococcus mutans* ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียสำคัญ ที่เป็นสาเหตุก่อให้เกิดฟันผุ ผลการทดลองพบว่า น้ำมันหอมระเหยทั้ง 4 ชนิดไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ และมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* โดยน้ำมันหอมระเหยจากใบแมงลักกลั่นด้วยไอน้ำ มีฤทธิ์ดีที่สุด

**คำสำคัญ:** ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย พืชวงศ์กะเพรา สเตร็ปโตคอคคัสมิวแทนส์

## คำนำ

โรคฟันผุ เป็นโรคที่พบบ่อยในช่องปากซึ่งเป็นปัญหาหนึ่งที่มีความสำคัญของประเทศ โดยเฉพาะประชากรในวัยเด็ก (Nathawut ,2013) โรคฟันผุ มีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในช่องปาก โดยเฉพาะ *Streptococcus mutans* เป็นเชื้อที่มีบทบาทสำคัญ ก่อให้เกิดการรวมตัวกับเศษอาหารและน้ำลายสะสมกันจนเป็นคราบ คราบฟัน หรือคราบแบคทีเรีย ซึ่งจะเกาะอยู่บนผิวของฟันแบคทีเรียเหล่านี้จะเปลี่ยนน้ำตาลและแป้งให้เป็นกรด ทำลายผิวฟัน จนกระทั่งเกิดฟันผุตามมา (Nobuhiro และ Bente, 2010) ซึ่งผลกระทบจากการเกิดฟันผุนอกจากส่งผลทำ ให้เกิดกลิ่นปาก อาการเสียวและปวดฟัน ยังส่งผลกระทบต่อการพัฒนาด้านสติปัญญา บุคลิกภาพ และปัญหาทางโภชนาการตามมา ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องหาวิธีป้องกันและผลิตภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพ ราคาไม่แพง ซึ่งผลิตภัณฑ์จากพืชจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ

พืชวงศ์ Lamiaceae (วงศ์กะเพรา) เป็นพืชหอมของไทยที่มีกลิ่นหอมฉุน ทำให้ลมหายใจหอมสดชื่นใช้ปรุงอาหารทำให้มีกลิ่นหอม มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และเป็นพืชที่มีสรรพคุณทางยาหลากหลาย ซึ่งพืชในวงศ์กระเพราประกอบด้วยสารสำคัญหลายชนิดที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย เช่น eugenal, $\beta$-caryophyllene linalool, และ limonene (Wannu และคณะ, 2010) โดยพบว่า limonene เป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคปริทันต์และระงับกลิ่นปาก (Aripin และคณะ, 2015) ฉะนั้นพืชในวงศ์กะเพรา จึงน่าจะมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียในช่องปากที่ทำให้ฟันผุ ดังนั้นผู้วิจัยและคณะจึงมีแนวคิดที่จะทำการศึกษาโดยสกัดน้ำมันหอมระเหยโดยการกลั่นด้วยน้ำและกลั่นด้วยไอน้ำ พืชที่ใช้ศึกษาคือโหระพา และแมงลัก และทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดฟันผุ และความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติเพื่อประโยชน์ในการนำมาใช้

[1] สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม กรุงเทพ 10900
Department of Chemistry, Faculty of Science Chandrakasem Rajabhat University, Bangkok 10900, Thailand
[2] สาขาเภสัชวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพ 10400
Pharmacology Faculty of Dentistry Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand

อย่างปลอดภัย ในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ดูแลช่องปาก เช่น น้ำยาบ้วนปาก สเปรย์ระงับกลิ่นปาก หรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร เป็นต้น

## อุปกรณ์และวิธีการ

เตรียมน้ำมันหอมระเหยจากใบโหระพาและใบแมงลักด้วยวิธีกลั่นด้วยน้ำ และกลั่นด้วยไอน้ำ (อุไรวรรณ, 2549) โดยนำส่วนใบสดล้างและ หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ จำนวน 1,500 กรัม และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 2,000 มิลลิลิตร โดยกลั่นเป็นเวลา 4 ชั่วโมง

ทดสอบความเป็นพิษของน้ำมันหอมระเหยต่อเซลล์เพาะเลี้ยง (Human gingival fibroblast) โดยวิธี MTT Assay (Mosmann, 1983) เป็นการทดสอบการมีชีวิตรอดของเซลล์ (cell viability) โดยเตรียมน้ำมันหอมระเหย เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เจือจางครั้งละ 2 เท่า ด้วย 1% DMSO ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม ในจานเพาะเลี้ยงเซลล์ขนาด 96 หลุม จากนั้นเติมเซลล์เพาะเลี้ยงซึ่งมีเซลล์แขวนลอยในอาหาร DMEM ปริมาณ $1x10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุมลงไป นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เติมน้ำยา MTT เข้มข้น 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตรต่อหลุม**และ**นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง ล้างน้ำยา MTT ออก แล้วเติม DMSO ก่อนนำไปแล้วนำไปวัดค่า $A_{540}$ และคำนวณค่าร้อยละเซลล์ที่รอดชีวิต (% cell viability) ดังนี้

% cell viability = 100 x (ค่าเฉลี่ย $A_{540}$ของน้ำมัน/ค่าเฉลี่ยของ $A_{540}$ ของ Blank) เมื่อ Blank คือ อาหารเลี้ยงเซลล์

ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. mutans* ของน้ำมันหอมระเหย ด้วยวิธี agar disc diffusion (Suparat และคณะ, 2010) โดยเตรียมน้ำมันหอมระเหยเข้มข้น และกลุ่มควบคุม โดยใช้ 95% เอทานอลเป็นชุดควบคุมเชิงลบ และ 0.2% chlohexidine เป็นชุดควบคุมเชิงบวก ปริมาตรอย่างละ 15 ไมโครลิตรลงใน paper disc ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิลิตรปล่อยให้แห้งประมาณ 30 นาที จากนั้นวาง paper disc ลงบนผิวหน้าอาหารแข็งที่ใช้เตรียมไว้ โดยใช้ *S. mutans* ที่มีความขุ่นเท่ากับ McFarland No. 0.5 และใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Brain Heart Infusion Agar แล้วนำไปบ่มในตู้บ่มที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 5% ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกผลด้วยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่เชื้อไม่เจริญ (Inhibition Zone) รอบ paper disc ซึ่งมีลักษณะเป็นวงใสเกิดขึ้นบนอาหารแข็งหน่วยเป็นมิลลิเมตร โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ และหาความเข้มข้นต่ำสุด (Minimum Inhibition Concentration; MIC) ของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ โดยเตรียมน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ต้าน *S. mutans* ให้มีความเข้มข้นลดลงครั้งละ 2 เท่า แล้วทำการทดสอบเช่นเดียวกับการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย บันทึกความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถต้านเชื้อได้

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบโหระพาสดและใบแมงลักสด ด้วยวิธีกลั่นด้วยน้ำและกลั่นด้วยไอน้ำนั้น พบว่าใบโหระพาสดให้เปอร์เซนต์ผลผลิตสูงกว่าใบแมงลักทั้งวิธีการกลั่นด้วยน้ำ และการกลั่นด้วยไอน้ำโดยมีค่าเท่ากับ 0.36 กรัม/100 กรัม และ 0.27 กรัม/100 กรัม ตามลำดับ ดังแสดงใน Table 1 ซึ่งการกลั่นด้วยน้ำจะให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตของน้ำมันใบโหระพาสูงกว่าการกลั่นด้วยไอน้ำคิดเป็น 1.3 เท่า และความหนาแน่นของน้ำมันใบโหระพาจากวิธีการกลั่นด้วยน้ำจะสูงกว่าวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ โดยมีค่าเท่า 0.96 กรัม/มิลลิลิตร และ 0.94 กรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

ผลการทดสอบความเป็นพิษของน้ำมันหอมระเหยต่อเซลล์เพาะเลี้ยง พบว่า น้ำมันหอมระเหยทั้ง 4 ชนิด มีเปอร์เซ็นต์เซลล์รอดชีวิตเฉลี่ยอยู่ในช่วง 94.060-98.011% เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมคือ 1% DMSO มีเปอร์เซ็นต์เซลล์รอดชีวิต 100.227% ดังแสดงใน Table 2 ดังนั้นน้ำมันหอมระเหยทั้ง 4 ชนิด ที่สกัดได้จากใบโหระพา และใบแมงลัก โดยการกลั่นด้วยน้ำ และไอน้ำนั้นไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยงเมื่อทดสอบด้วยวิธี MTT ส่วนผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. mutans* ดังแสดงใน Table 3 พบว่าน้ำมันหอมระเหยทั้ง 4 ชนิด มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* น้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ดีที่สุดคือ ใบแมงลักกลั่นด้วยไอน้ำ รองลงมาคือ ใบแมงลักกลั่นด้วยน้ำ ใบโหระพากลั่นด้วยไอน้ำ โดยมีค่า MIC เท่ากับ 54.3 mg/ml และใบโหระพากลั่นด้วยน้ำ ตามลำดับ ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากใบแมงลัก จากรายงานของ Belong และคณะ (2013) พบว่า สารองค์ประกอบหลักในน้ำมันหอมระเหยจากใบแมงลักที่วิเคราะห์ด้วย GC/MS นั้นประกอบด้วย linalool (53.8%), limonene (22.2%), eugenol (9.5%) และ $\alpha$-cardinol (2.4%) ซึ่งสอดคล้องกับ Hanada และคณะ (2005) ที่พบว่า limonene มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในช่องปากและระงับกลิ่นปาก และรายงานของ Moon และคณะ (2011) ที่พบว่า eugenol มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียในช่องปากที่ก่อให้เกิดโรคปริทันต์ซึ่งรวมถึงแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดฟันผุด้วย

## สรุปผล

การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบโหระพาสดและใบแมงลักสด ด้วยวิธีกลั่นด้วยน้ำและกลั่นด้วยไอน้ำนั้น ใบโหระพาสดให้เปอร์เซนต์ผลผลิตสูงกว่าใบแมงลักทั้งวิธีการกลั่นด้วยน้ำ และการกลั่นด้วยไอน้ำ น้ำมันหอมระเหยทั้ง 4 ชนิด ที่สกัดได้จากใบโหระพา และใบแมงลัก โดยการกลั่นด้วยน้ำ และไอน้ำนั้น ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยงเมื่อทดสอบด้วยวิธี MTT น้ำมันหอมระเหยทั้ง 4 ชนิด มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* โดยน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ดีที่สุดคือ ใบแมงลักกลั่นด้วยไอน้ำ รองลงมาคือ ใบแมงลักกลั่นด้วยน้ำ ใบโหระพากลั่นด้วยไอน้ำ โดยมีค่า MIC เท่ากับ 54.3 mg/ml และใบโหระพากลั่นด้วยน้ำตามลำดับ

## คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษมในการสนับสนุนงบประมาณการวิจัย

## เอกสารอ้างอิง

อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์, 2549, การสกัดแยกสาร และน้ำมันหอมระเหยจากพืชขั้นพื้นฐาน. สถาบัน ค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Aripin, D., Julaeha, E., Dardjan, M. and Cahyanto, A., 2015, Chemical Composition of *Citrus spp.* and Oral Antimicrobial Effect of *Citrus spp.* Peels Essential Oils Against *Streptococcus mutans*, Padjadjaran Journal of Dentistry, 27(1): 1-11.

Moon, S.E., Kim, H.Y. and Cha, J.D., 2011, Synergistic Effect between Clove Oil and Its Major Compounds and Antibiotics Against Oral Bacteria, Archives of Oral Biology, 56(9): 907-916.

Mosmann, T., 1983, Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assay, Journal of Immunological Methods, 65: 55-63.

Nathawut, K., Thananat, B., Kongvuth, L., Chavarot, M. and Jarinya, C., 2013, The Prevalence and Physical Factors Related to Dental Caries in Children-Patients at the Faculty of Dentistry, Srinakharinwirot University. Srinakharinwirot University Dental Journal, 6(2): 35-47.

Nobuhiro, T. and Bente, N., 2010, The Role of Bacteria in the Caries Process: Ecological Perspectives, Journal of Dental Research, 90(3): 294-303.

Suparat, C., Sayomphol, A., Wate, S. and Noppawat, P., 2010, Antimicrobial Activity of *Alpinia conchigera* Extract on *Enterococcus faecalis* Biofilm, Thai Pharmaceutical and Health Science Journal, 5(4): 279-285.

Wannu, D., Kerdchoechuen, O., Laohakunjit, N., and Tungsangprateep, S., 2010, Chemical Composition and Antibacterial Activity of five Essential Oils. Agricultural Science Journal, 41(3/1)(Suppl.): 633-636.

**Table 1** Extraction yield of essential oil

| plants | Weight of leaves (kg) | Volume of oil (ml) | Weight of oil (g) | Densityof oil (g/ml) | % Yield (g/100 g) |
|---|---|---|---|---|---|
| Basil (water distillation) | 4.725 | 17.80 | 17.09 | 0.96 | 0.36 |
| Hairy Basil (water distillation) | 5.913 | 7.10 | 6.11 | 0.86 | 0.12 |
| Basil (steam distillation) | 4.20 | 12.50 | 11.75 | 0.94 | 0.27 |
| Hairy Basil (steam distillation) | 3.40 | 3.00 | 2.61 | 0.87 | 0.02 |

หมายเหตุ สภาวะในการกลั่น: กลั่นด้วยไอน้ำภายใต้ความดันที่ 1.5 kg/cm$^3$ (20 psi)

**Table 2** % cell viability of essential oil concentration 0-1 mg/ml of MTT assay

| Essential oil | % cell viability |
|---|---|
| Basil (Water Distillation) | 97.155 |
| Basil (Steam Distillation) | 94.060 |
| Hairy Basil (Water Distillation) | 98.011 |
| Hairy Basil (Steam Distillation) | 96.505 |
| 1% DMSO | 100.277 |

**Table 3** Antibacterial activity of Essential against *S. mutans*

| Essential oil | Inhibition zone (diameter-mm) | | | | | | MIC |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Conc | 1:2 | 1:4 | 1:8 | 1:16 | 1:32 | (mg/ml) |
| Basil<br>(Water Distillation) | 12 | 12 | 9 | - | - | - | 238.8<br>(1:4 v/v) |
| Basil<br>(Steam Distillation) | > 30 | > 30 | 23 | 11 | - | -- | 107.9<br>(1:8 v/v) |
| HairyBasil<br>(Water Distillation) | 15 | 14 | 13 | 12 | 12 | -- | 58.7<br>(1:16 v/v) |
| Hairy Basil<br>(Steam Distillation) | > 30 | > 30 | > 30 | 18 | 8 | - | 54.3<br>(1:16 v/v) |

**Remark: - Inhibition zone (IZ) does not occur, IZ ≤ 8 mm indicates low antifungal activity, IZ from 9-11 mm indicates intermediate activity, and IZ ≥ 12 indicates strong activity**

# ผลของคาราจีแนนต่อคุณภาพพุดดิ้งธัญชาติ
# Effect of Carrageenan on Quality of Cereal Pudding

ธนวรรณ เพ็งชัย[1] และ ศยามน ปริยาจารย์[1]
Pengchai, T.[1] and Pariyacharn, S.[1]

## Abstract

This research aimed to study effect of carrageenan on quality of cereal pudding from rice germ, lotus seed, soybean and black sesame was added 5 levels: 0.25 0.30 0.35 0.40 and 0.45 % (w/w). Physical properties, sensory characteristics and chemical composition of products were determined. The results showed that the more quality of carrageenan in cereal pudding, the higher in texture, hardness and gumminess while the lower of syneresis, but not significantly in color ($p \leq 0.05$). This study found that the organoleptic test of pudding by using 0.3% carrageenan is the most acceptability score. For the proximate analysis of this new product (in wb) has found that there are moisture, protein, lipid, crude fiber, ash, and carbohydrate: 79.45, 2.94, 0.30, 1.50, 0.43 and 15.39 % wb respectively. In shelf life, it was found that we could be kept in 4±2 °C for about 9 days.

**Keywords:** Pudding, Cereal, Carrageenan

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณคาราจีแนนต่อคุณภาพพุดดิ้งธัญชาติ ที่ผลิตจากน้ำนม จมูกข้าวเจ้า เม็ดบัว ถั่วเหลือง และงาดำ โดยแปรปริมาณคาราจีแนน 5 ระดับ คือ ร้อยละ 0.25 0.30 0.35 0.40 และ 0.45 (โดยน้ำหนัก) แล้วทำการประเมินสมบัติทางกายภาพ การยอมรับทางประสาทสัมผัสและคุณค่าทางโภชนาการ ผลการทดลองพบว่า ปริมาณของคาราจีแนนในพุดดิ้งธัญชาติเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ด้านกายภาพของผลิตภัณฑ์มีเนื้อสัมผัส ค่าความแข็งและค่าความเหนียวเพิ่มขึ้น ส่วนค่าการแยกตัวของน้ำลดลง($p \leq 0.05$) แต่ไม่มีผลต่อค่าสี ผลทางประสาทสัมผัส พบว่า พุดดิ้งธัญชาติที่ใช้คาราจีแนนร้อยละ 0.30 มีคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสมากที่สุด ส่วนคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์พุดดิ้งมีค่าปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เส้นใย เถ้า และคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 79.45 2.94 0.30 1.50 0.43 และ 15.39 (โดยน้ำหนักเปียก) ตามลำดับ และเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียสได้นาน 9 วัน

**คำสำคัญ:** พุดดิ้ง ธัญชาติ คาราจีแนน

## คำนำ

ในปัจจุบันธัญชาติซึ่งเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรต โปรตีน ใยอาหาร(dietary fiber) วิตามินบี1 นิยมนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพและเป็นผลิตภัณฑ์ทางเลือกใหม่สำหรับผู้บริโภคในปัจจุบัน เช่น ผลิตภัณฑ์อาหารเช้าจากธัญชาติ(breakfast cereal) เครื่องดื่มธัญชาติ เยลลี่ธัญพืช พุดดิ้งข้าวหอมมะลิ เป็นต้น พุดดิ้งเป็นอาหารที่อุดมไปด้วยสารอาหาร รับประทานได้ง่าย เหมาะกับทุกเพศทุกวัย มีส่วนผสมเป็นน้ำนมวัว น้ำตาล และสารที่ทำให้เกิดเจล ซึ่งจะให้ผลิตภัณฑ์ที่เนื้อละเอียด นุ่ม และคงรูป (ฤทัยและคณะ, 2559) ลักษณะของพุดดิ้งที่ดีควรมีเนื้อสัมผัสแบบกึ่งของแข็ง(Lim และ Narsimhan, 2006) พุดดิ้งธัญชาติเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้น้ำนมจากธัญชาติแทนน้ำนมวัว ในการพัฒนาพุดดิ้งปริมาณสารที่ทำให้เกิดเจล มีผลต่อคุณภาพของพุดดิ้งที่ได้ โดยสารที่ทำให้เกิดเจล มีดังนี้ เจลาติน วุ้น คาราจีแนน (วิชชุดาและทวีศักดิ์, 2561; ชนิกาและคณะ, 2562) โดยมีรายงานว่าการใช้คาราจีแนนทำให้เจลมีลักษณะนุ่มและยืดหยุ่น แต่เปราะ แตกง่ายในเยลลี่คาราจีแนนสูตรน้ำผัก(สุทธิวัฒน์ และคณะ, 2554) และมีการใช้คาราจีแนนผสมกับกลูโคแมนแนน จะทำให้เจลที่เกิดขึ้น มีความแน่นเนื้อ และความยืดหยุ่นดีกว่าเจลที่เกิดจากการใช้คาราจีแนนเพียงอย่างเดียวในเยลลี่ธัญพืช(กุสุมาและนัทมน, 2559) ดังนั้นการศึกษาจึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาปริมาณแคปปา-คาราจีแนนผสมกลูโคแมนแนน ต่อคุณภาพพุดดิ้งธัญชาติและศึกษาคุณค่าทางโภชนาการและอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้น

## อุปกรณ์และวิธีการ

[1] สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี จังหวัดอุดรธานี 41000
[1] Department of Food Science and Technology, Faculty of Technology, Udonthani Rajabhat University, Udon thani, 41000

โดยการเตรียมน้ำนมธัญชาติที่มีส่วนผสม ดังนี้ จมูกข้าวเจ้า เม็ดบัว ถั่วเหลือง งา และน้ำ ในอัตราส่วนร้อยละ 10 10 5 1 และ 74 ตามลำดับ จากนั้นนำจมูกข้าวเจ้า เม็ดบัว ถั่วเหลือง มาแช่น้ำ 12 ชั่วโมง งาคั่ว เติมน้ำแล้วบดรวมกันด้วยเครื่องปั่นผสม แล้วกรองเอาแต่น้ำออกมา นำไปให้ความร้อน 95 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จะได้น้ำนมธัญชาติ ที่ใช้เตรียมพุดดิ้งธัญชาติ ซึ่งมีส่วนผสม ดังนี้ น้ำนมธัญชาติ น้ำตาล หางนมผง กลูโคแมนแนน แคปปา-คาราจีแนนและน้ำ โดยแปรปริมาณแคปปา-คาราจีแนน 5 ระดับ คือ ร้อยละ 0.25 0.30 0.35 0.40 และ 0.45 (โดยน้ำหนัก) ดังแสดงใน Table 1 วิธีการผลิตพุดดิ้งธัญชาติจากกุสุมาและนัทมน (2559) โดยนำส่วนผสมทั้งหมด ไปให้ความร้อนจนละลายเป็นเนื้อเดียวกันแล้วทำการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วินาที ลดอุณหภูมิลงเหลือประมาณ 60 องศาเซลเซียส บรรจุในถ้วยพลาสติก ปิดฝาแล้วปล่อยให้เกิดเจล แล้วนำไปเก็บในตู้เย็น ทำการประเมินคุณภาพทางกายภาพ ดังนี้ วิเคราะห์ค่าสีตามระบบ CIE L* a* b* ด้วยเครื่องวัดสี Hunter Lab รุ่น Color Flex รายงานค่าสีตามระบบ Hunter วิเคราะห์เนื้อสัมผัสด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส (Texture analyzer) ยี่ห้อ Brookfield รุ่น CT3 รายงานเป็นค่าความแข็ง (hardness) ค่าความเหนียว(gumminess) ค่าความยืดหยุ่น (springiness) และการแยกตัวของน้ำ (syneresis) ตามวิธีของ สายสมร (2547) ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัสและความชอบโดยรวม ด้วยวิธีการทดสอบทางประสาทสัมผัสแบบ 9 point hedonic scale โดยใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 30 คน เพื่อคัดเลือกสูตรที่ได้การยอมรับมากที่สุด มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี คือ ปริมาณความชื้น เถ้า โปรตีน ไขมัน เยื่อใย และคาร์โบไฮเดรตตามวิธี AOAC (2000) และศึกษาอายุการเก็บรักษาของพุดดิ้งธัญชาติ โดยบรรจุในถ้วยพลาสติกพร้อมฝาปิด และเก็บที่อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส จากนั้น สุ่มตัวอย่างมาทุกๆ 3 วัน ระยะเวลา 12 วัน เพื่อตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดด้วยวิธี pour plate โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ TPC ตามมาตรฐานของ AOAC (2000)

เมื่อได้ข้อมูลทางคุณภาพด้านกายภาพ มาวิเคราะห์ทางสถิติ วิเคราะห์ความแปรปรวน Analysis of variance (ANOVA) วางแผนการทดลองแบบ Complete randomized design (CRD) ส่วนข้อมูลคุณภาพทางคุณภาพด้านประสาทวางแผนการทดลองแบบ Randomized complete block design (RCBD) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \le 0.05$) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

พุดดิ้งธัญชาติที่ผลิตจากน้ำนมจากจมูกข้าวเจ้า เม็ดบัว ถั่วเหลือง และงาดำ ใช้แคปปา-คาราจีแนนใช้เป็นสารที่ทำให้เกิดเจล ปริมาณทั้ง 5 ระดับ ผลการประเมินทางกายภาพโดยวัดค่าสี เนื้อสัมผัส และการแยกตัวของน้ำ (syneresis) ดังแสดงใน Table 2 พบว่า เมื่อใช้ปริมาณแคปปา-คาราจีแนนเพิ่มขึ้น ไม่มีผลต่อค่าสี (L*,a*,b*) ของผลิตภัณฑ์($p > 0.05$) เนื่องจากลักษณะเจลของแคปปา-คาราจีแนน จะมีลักษณะใส ไม่มีสี ด้านเนื้อสัมผัสมีค่าความแข็ง (hardness)และค่าความเหนียว(gumminess)เพิ่มขึ้น ไม่มีผลต่อค่าความยืดหยุ่น (springiness) มีการแยกตัวของน้ำลดลง($p \le 0.05$) เนื่องจากเจลที่เกิดขึ้นในระบบเกิดจากการรวมตัวกันระหว่างพันธะคู่(double helices)ของแคปปา-คาราจีแนนที่ดูดซับสายกูลโคแมนแนนไว้ที่บริเวณผิวหน้า เมื่อเพิ่มปริมาณแคปปา-คาราจีแนน ทำให้มีพันธะคู่ที่เกิดขึ้นในระบบมีปริมาณมากขึ้น ส่งผลให้โครงร่างสามมิติ(junction zones)ของเจลมีความแข็งแรงและมีความคงตัวมากขึ้น สามารถกักเก็บน้ำภายในเจลได้ดี (นิธิยา, 2553; กุสุมาและนัทมน, 2559) ผลการประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ดังแสดงใน Table 3 พบว่าปริมาณแคปปา-คาราจีแนนเพิ่มขึ้น มีผลต่อคะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏ เนื้อสัมผัสและความชอบโดยรวมมากขึ้น($p \le 0.05$) ผลการทดลองไปในแนวทางเดียวกันกับผลการทดสอบทางกายภาพ และเมื่อพิจารณาผลการประเมินทางกายภาพและคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ พบว่าปริมาณแคปปา-คาราจีแนนร้อยละ 0.3 เหมาะสมในผลิตภัณฑ์พุดดิ้งธัญชาติ ดังนั้นจึงนำไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ พบว่า มีค่าปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เส้นใย เถ้า และคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 79.45 2.94 0.30 1.50 0.43 และ 15.39 (โดยน้ำหนักเปียก) ตามลำดับ ดังแสดงใน Table 4 และมีอายุเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียสได้นาน 9 วัน มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน มาตรฐานเต้าฮวยนมสด มผช.528/2547 ที่กำหนดจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดต้องไม่เกิน $5x10^4$ cfu/g ดังแสดงใน Table 5

## สรุปผลการทดลอง

พุดดิ้งธัญชาติที่ผลิตจากน้ำนมจากจมูกข้าวเจ้า เม็ดบัว ถั่วเหลือง และงาดำ ที่ใช้แคปปา-คาราจีแนนร้อยละ 0.30 โดยน้ำหนักเป็นสารที่ให้ทำเกิดเจล ทำให้เนื้อพุดดิ้งมีความคงตัว การแยกตัวของน้ำลดลง คุณค่าทางโภชนาการ มีค่าปริมาณความชื้นโปรตีน ไขมัน เส้นใย เถ้า และคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 79.45 2.94 0.30 1.50 0.43 และ 15.39 (โดยน้ำหนักเปียก) ตามลำดับ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียสได้นาน 9 วัน

**Table 1** Amount of different Kappa-carrageenan of cereal pudding formulas.

| Ingredients (g) | Kappa-carrageenan (%) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | **0.25** | **0.30** | **0.35** | **0.40** | **0.45** |
| Cereal milk | 85 | 85 | 85 | 85 | 85 |
| Sugar | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| Skim milk | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 |
| Glucomannan | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| Water | 4.15 | 4.10 | 4.05 | 4.00 | 3.95 |

**Table 2** Physical properties of cereal pudding with different kappa-carrageenan levels

| Physical properties | | Kappa-carrageenan (%) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | **0.25** | **0.30** | **0.35** | **0.40** | **0.45** |
| **Color** | $L^{*\,ns}$ | 59.49 ± 0.87 | 59.37 ± 0.25 | 58.51 ± 0.95 | 58.85 ± 1.99 | 59.58 ± 0.67 |
| | $a^{*\,ns}$ | -1.77 ± 0.21 | -0.98 ± 0.11 | -1.07 ± 0.15 | -1.15 ± 0.25 | -1.15 ± 0.31 |
| | $b^{*\,ns}$ | 4.34 ± 0.18 | 4.28 ± 0.09 | 3.85 ± 1.21 | 3.51 ± 0.77 | 4.01 ± 0.07 |
| **Texture** | **Hardness (g force)** | $73.00 \pm 14.00^{c}$ | $101.00 \pm 15.98^{bc}$ | $114.00 \pm 4.77^{bc}$ | $147.83 \pm 39.25^{ab}$ | $182.17 \pm 60.22^{a}$ |
| | **Gumminess (g force)** | $47.43 \pm 7.39^{c}$ | $65.00 \pm 10.12^{bc}$ | $78.53 \pm 5.23^{bc}$ | $96.93 \pm 33.23^{ab}$ | $118.23 \pm 29.78^{a}$ |
| | **Springiness$^{ns}$ (mm)** | 28.50 ± 0.20 | 28.96 ± 0.59 | 29.33 ± 0.64 | 29.31 ± 0.55 | 29.43 ± 0.20 |
| **Syneresis** | | $1.87 \pm 0.15^{a}$ | $1.71 \pm 0.24^{ab}$ | $1.48 \pm 0.16^{b}$ | $1.36 \pm 0.21^{b}$ | $1.34 \pm 0.24^{b}$ |

$^{a,b,c,d}$ Difference letters in the same row indicated significantly difference ($p \leq 0.05$)

$^{ns}$ Non significantly difference ($p > 0.05$)

**Table 3** Hedonic scale of sensory evaluation of cereal pudding with different kappa-carrageenan levels

| Sensory attributes | Kappa-carrageenan (%) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | **0.25** | **0.30** | **0.35** | **0.40** | **0.45** |
| **Appearance** | $5.97 \pm 1.01^{b}$ | $6.57 \pm 0.72^{a}$ | $6.53 \pm 0.82^{a}$ | $6.63 \pm 1.04^{a}$ | $6.50 \pm 0.95^{a}$ |
| **Color$^{ns}$** | 6.17±1.46 | 6.60±1.30 | 6.17±1.32 | 6.37±1.27 | 6.00±1.29 |
| **Odor$^{ns}$** | 5.83±1.42 | 6.57±1.11 | 5.83±1.42 | 5.93±1.23 | 6.27±1.28 |
| **Taste$^{ns}$** | 5.63±1.77 | 6.30±1.02 | 5.77±1.14 | 5.83±1.56 | 5.70±1.68 |
| **Texture** | $6.10 \pm 1.52^{b}$ | $6.70 \pm 0.95^{a}$ | $5.77 \pm 1.38^{bc}$ | $5.73 \pm 1.55^{bc}$ | $5.43 \pm 1.65^{c}$ |
| **Overall liking** | $5.60 \pm 1.85^{b}$ | $7.00 \pm 0.98^{a}$ | $6.13 \pm 1.28^{b}$ | $5.97 \pm 1.52^{b}$ | $5.90 \pm 1.47^{b}$ |

$^{a,b,c,d}$ Difference letters in the same row indicated significantly difference ($p \leq 0.05$)

$^{ns}$ Non significantly difference ($p > 0.05$)

**Table 4** Chemical properties of 0.30% Kappa-carrageenan cereal pudding product

| Chemical composition(%wb) | Cereal pudding product |
|---|---|
| Moisture | 79.45±0.68 |
| Protein | 2.94±0.09 |
| Fat | 0.30±0.04 |
| Ash | 1.50±0.10 |
| Crude fiber | 0.43±0.06 |
| Carbohydrate | 15.39±0.54 |

**Table 5** Total plate count of 0.30% Kappa-carrageenan cereal pudding product during 12 days

| Storage (days) | Total plate count (cfu/g) |
|---|---|
| 0 | <10 |
| 3 | <10 |
| 6 | $2.78\times10^{2}$ |
| 9 | $5.35\times10^{3}$ |
| 12 | $7.06\times10^{4}$ |

**คำขอบคุณ**

ขอขอบคุณสาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี ในการสนับสนุนอุปกรณ์และเครื่องมือในการทำวิจัยครั้งนี้ ให้ลุล่วงไปด้วยดี

**เอกสารอ้างอิง**

กุสุมา ทินกร ณ อยุธยา และนัทมน พุฒดวง, 2559, การพัฒนาผลิตภัณฑ์เยลลี่ธัญพืชเพื่อสุขภาพ, วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม, 11(1): 13-20.

ชนิกา ฉิมเกิด น้ำผึ้ง ร่งเรือง ภรัณยา ธิยะใจ ศศิอำไพ พฤฒิพรธานี ยุราพร สหัสกุล ดุลยพร ตราชูธรรม และธัญญ์นลิน วิญญูประสิทธิ์, 2562, การพัฒนาผลิภัณฑ์พุดดิ้งผักเพื่อผู้สูงอายุและผลของการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ต่อปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ, วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ(สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี), 11(21): 64-76.

นิธิยา รัตนาปนนท์, 2553, เคมีอาหาร, พิมพ์ครั้งที่ 4, กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์, 487น.

มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน, 528/2547, 2547, เต้าหู้นมสด [ออนไลน์], เข้าถึงได้จาก: http://tcps.tisi.go.th/pub/tcps528_47, pdf[1 กุมภาพันธ์ 2564].

ฤทัย เรืองธรรมสิงห์ พรทิพย์ ปิยะสุวรรณยิ่ง และน้องนุช ศิริวงศ์, 2559, การพัฒนาสูตรพุดดิ้งนมสดที่ทดแทนด้วยน้ำนมข้าวโพด, วารสารวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 44(2): 345-354.

วิชชุดา สังข์แก้ว และทวีศักดิ์ พงษ์ปัญญา, 2561, การพัฒนาเต้าฮวยนมสดมะพร้าวอ่อนเสริมเวย์โปรตีน, วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 49(2)(พิเศษ): 101-104.

สุทธิวัฒน์ แซ่ฮ้อ ณัฐพัฒน์ วัฒนกฤษฎา ผาณิต ไทยยันโต และเบญจวรรณ ธรรมธนารักษ์, 2554, การพัฒนาผลิตภัณฑ์เยลลี่คาราจีแนนสูตรน้ำผัก, วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 42(2)(พิเศษ): 509-512.

A.O.A.C., 2000, Official Method of Analysis, 17th ed., The Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C.

Lim, H.S. and Narsimhan, G., 2006, Pasting and Rheological Behavior of Soy Protein-based Pudding, LWT Food Science and Technology, 39(4): 343-349.

# การวิเคราะห์ปริมาณไซยาไนด์ในมันสำปะหลังแผ่นด้วยเทคนิคสเปกโตรสโคปีโดยใช้ปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบสีม่วงไดแอนไอออนของโอไนโตรฟีนิลไฮดรอกซีลามีน

# Determination of Cyanide Content in Cassava Chip with Spectroscopy Using Reaction to form a Purple Color Compound of Dianion of *o*-Nitrophenyl Hydroxylamine

**นงนุช สังข์อยุทธ์[1], ชนากานต์ นาคเวช[2], สวามินี ไชยสวัสดิ์[2], กนกพร ไตรวิทยากร[3],รุ่งทิวา วงศกรทรัพย์[2]**

**Sungayuth, N.[1], Nakkawet, C.[2], Chaisawet, S.[2], Triwitayakorn, K.[3], Wongsagonsup, R.[2]**

## Abstract

As recommended by the World Health Organization as safe limit for consumers, the maximal residue cyanide content in cassava chips is 10 ppm. Therefore, this research aimed to determine cyanide content in cassava chips after using different pretreatment methods and conditions with a spectrophotometer using reaction to form a purple color of dianion of *o*-nitrophenyl hydroxylamine. Bitter cassava chips were subjected to blanching treatment at 70°C for 0, 15, 20 and 25 min, microwave treatment at 450 W for 0, 4, 7 and 10 min, and ultrasonic treatment at 600 W for 0, 10, 15 and 20 min. The optimum conditions for cyanide content reduction in each treatment were blanching for 25 min, microwave for 7 min and ultrasonic for 20 min, which can reduce the cyanide content up to 93.99, 95.36 and 92.86%, respectively, and the amount of cyanide decreases range to 4-6 mg/kg.

**Keywords:** Cyanide, Bitter cassava, Treatment methods, o-nitrophenyl hydroxylamine, purple color compound

## บทคัดย่อ

ปริมาณไซยาไนด์ในมันสำปะหลังแผ่นตามที่ World Health Organization กำหนดนั้น ต้องมีปริมาณคงเหลือสูงสุดไม่เกิน 10 พีพีเอ็ม ในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ปริมาณไซยาไนด์ในมันสำปะหลังแผ่นหลังผ่านกระบวนการที่แตกต่างกัน โดยวิเคราะห์ด้วยปฏิกิริยาเคมีที่เกิดสารประกอบสีม่วงของโอไนโตรฟีนิลไฮดรอกซีลามีนและวัดค่าด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยการนำมันสำปะหลังชนิดขมแผ่นบางผ่านกระบวนการทรีตเมนต์ ได้แก่ การลวกที่อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 0 15 20 และ 25 นาที ไมโครเวฟที่กำลังไฟฟ้า 450 W เป็นเวลา 0 4 7 และ 10 นาที และการทรีตเมนต์ด้วยการอัลตราโซนิกที่กำลังไฟฟ้า 600 W เป็นเวลา 0 10 15 และ 20 นาที พบว่าสภาวะที่เหมาะสม คือ การลวกเป็นเวลา 25 นาที ไมโครเวฟ 7 นาที และ อัลตราโซนิก 20 นาที ซึ่งสามารถลดปริมาณไซยาไนด์ได้ถึงร้อยละ 93.99 95.36 และ 92.86 ตามลำดับ และปริมาณไซยาไนด์อยู่ในช่วง 4-6 mg/kg

**คำสำคัญ:** ไซยาไนด์ มันสำปะหลังชนิดขม วิธีการทรีตเม้นท์ โอไนโตรฟีนิลไฮดรอกซีลามีน สารประกอบสีม่วง

## คำนำ

มันสำปะหลัง (*Manihot esculenta* Crantz) เป็นไม้พุ่มที่อยู่ในวงศ์ spurge (Euphorbiaceae) (Shigaki, 2016) ปลูกง่ายให้ผลผลิตดีในสภาพแวดล้อมที่ดี แม้ในสภาวะดินที่ไม่ดี มีความแห้งแล้งสูงมันสำปะหลังยังสามารถเจริญเติมโตได้ จึงทำให้มันสำปะหลังเป็นพืชที่สำคัญเป็นอันดับ 5 ของโลก รองจากข้าวสาลี ข้าวโพด ข้าว และมันฝรั่ง ซึ่งทุกส่วนของมันสำปะหลังสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ทั้งหมด (Junior และคณะ, 2019)

ไซยาไนด์ (cyanide) เป็นสารพิษที่มีฤทธิ์รุนแรง เมื่อได้รับไซยาไนด์ในปริมาณสูงทำให้เกิดปัญหาสุขภาพและความปลอดภัยของผู้บริโภค ซึ่งอาจทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน ท้องร่วง เวียนศีรษะ ร่างกายอ่อนแรง และก่อให้เกิดโรคทางระบบประสาท เกิดความผิดปกติของต่อมไทรอยด์ และอัมพาตแบบไม่สามารถหายได้ นอกจากนี้ในบางกรณีอาจส่งผลถึงแก่ชีวิตได้

[1] หลักสูตรวิทยาศาสตร์และศิลปศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตกาญจนบุรี 199 ต.ลุ่มสุ่ม อ.ไทรโยค จ.กาญจนบุรี 71150

[1] Division of Science and Liberal Arts, Mahidol University, Kanchanaburi Campus 199 Lumsum Saiyok Kanchanaburi 71150

[2] หลักสูตรเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตกาญจนบุรี 199 ต.ลุ่มสุ่ม อ.ไทรโยค จ.กาญจนบุรี 71150

[2] Food Technology, Mahidol University, Kanchanaburi Campus 199 Lumsum Saiyok Kanchanaburi 71150

[3] สถาบันชีววิทยาศาสตร์โมเลกุล มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา 25/25 พุทธมณฑลสาย 4 ศาลายา, นครปฐม ,73170

[3] Institute of Molecular Biosciences, Mahidol University 25/25 Phutthamonthon sai4 Salaya, Nakhon Pathom, 73170

เนื่องจากไซยาไนด์จะมีการยับยั้งการหายใจของเซลล์ (Zhang และคณะ, 2019) ดังนั้น Nigerian Industrial Standards (NIS) และ Codex Alimentarius Commission (CAC) จึงกำหนดให้มีปริมาณของไซยาไนด์ ที่พบในผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังสูงสุดได้ไม่เกิน 10 mg/kg ถึงแม้ว่าไซยาไนด์จะมีความเป็นพิษสูงแต่ด้วยคุณสมบัติที่สามารถละลายน้ำได้และจุดเดือดต่ำอุณหภูมิอยู่ที่ 26°C (Bikhit et al, 2017) จึงทำให้สามารถลดปริมาณของไซยาไนด์ได้โดยการแช่หรือทำการหมักมันสำปะหลังด้วยน้ำ และการนำไปผ่านการให้ความร้อนด้วยวิธีการต่างๆ เช่น การทอด การต้มด้วยน้ำร้อน การนำไปอบด้วยตู้อบลมร้อน หรือการให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ คลื่นอัลตราโซนิก เป็นต้น ซึ่งในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมาได้มีการใช้วิธีการต่างๆ เพื่อลดปริมาณของไซยาไนด์ในพืชสำคัญทางเศรษฐกิจบางชนิด เช่น มันสำปะหลัง เมล็ดแฟลกซ์และอัลมอนด์ ในปัจจุบันยังไม่มีการนำวิธีการต่างๆ ที่แตกต่างกันมาทำลดปริมาณของไซยาไนด์ในผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังชนิดแผ่นบาง ดังนั้นจึงได้มีการศึกษาเพื่อประเมินความเป็นไปได้ในการใช้วิธีการทรีตเมนต์ที่แตกต่างกันทั้ง 3 วิธี ได้แก่ การลวก การให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ และการใช้คลื่นอัลตราโซนิก รวมถึงการทอดหลังผ่านวิธีการทรีตเมนต์แบบต่างๆ เพื่อลดปริมาณไซยาไนด์ในมันสำปะหลังชนิดขมแผ่นบางให้มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

## อุปกรณ์และวิธีการ

***มันสำปะหลังสด (ชนิดขม)*** ใช้สายพันธุ์เกษตรศาสตร์ 72 ที่เพาะปลูกในเดือน พ.ค. 2563 โดยเก็บตัวอย่างมันสำปะหลังในเดือน ก.พ. 2564 (อายุ 9-10 เดือน) ซึ่งอยู่ในพื้นที่หมู่ 2 ตำบลสิงห์ อำเภอไทรโยค จังหวัดกาญจนบุรี นำหัวมันสำปะหลังสดมาทำการล้างด้วยน้ำสะอาด ซับด้วยกระดาษทิชชู่และวางทิ้งไว้ให้แห้ง จากนั้นนำ หัวมันสำปะหลังบรรจุในถุงก่อนนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C เมื่อต้องการนำมาทดลอง นำหัวมันสำปะหลังออกจากตู้เย็นแล้วทำการปอกเปลือกมันสำปะหลังและสไลด์เป็นแผ่นบางขนาด 1.5 มิลลิเมตรด้วยเครื่องสไลด์ เพื่อให้ได้ขนาดที่สม่ำเสมอกัน ก่อนนำไปผ่านกระบวนการทรีตเมนต์ที่แตกต่างกัน

***วิธีการทรีตเมนต์*** มีการออกแบบการทดลองแบบบล็อกสุ่มสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design : RCBD) เนื่องจากหัวมันสำปะหลังแต่ละหัวให้ค่าปริมาณไซยาไนด์เริ่มต้นไม่เท่ากัน จึงต้องทำบล็อกเพื่อผลการทดลองที่สมบูรณ์

โดยมีวิธีการทรีตเม้นท์ 3 วิธี ได้แก่ การลวก ไมโครเวฟ และอัลตราโซนิก โดยใช้ตัวอย่างมันสำปะหลังที่สไลด์เป็นแผ่นบางจำนวน 50 กรัม มาผ่านวิธีการที่ 1 การลวกที่อุณหภูมิ 70°C ที่เวลา 0 15 20 25 นาที วิธีการที่ 2 ไมโคเวฟ ที่กำลัง 450 W ที่เวลา 0 4 7 และ 10 นาที และวิธีการที่ 3 อัลตราโซนิค ที่กำลังไฟฟ้า 450 W เป็นเวลา 0 4 7 และ 10 นาที จากนั้นทำการล้างแผ่นมันสำปะหลังด้วยน้ำกลั่น เพื่อทำความสะอาดเมือกออก แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณไซยาไนด์และวัดค่าสีทันที สำหรับตัวอย่างที่เหลือจากการนำไปวิเคราะห์ปริมาณไซยาไนด์ทำการ จัดเก็บในถุงซิปล็อคและเก็บที่อุณหภูมิ -20°C เพื่อใช้สำหรับการทอดมันสำหลังแผ่นบางต่อไป

***การสร้างกราฟมาตรฐาน (standard curve)*** ทำการเตรียมเป็นสารละลายโพแทสเซียมไซยาไนด์มาตรฐาน (KCN) 1 mg CN/kg (จาก stock standard solution10 mg CN/kg) ที่มีปริมาณไซยาไนด์ 0.0005 0.0010 0.0015 และ 0.0020 มิลลิกรัมไซยาไนด์ ตามลำดับ

***การสกัดและการวิเคราะห์ปริมาณไซยาไนด์*** โดยทำการชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 50 mg (น้ำหนักเปียก) สำหรับตัวอย่างมันสำปะหลังสดและชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 100 mg (น้ำหนักเปียก) สำหรับตัวอย่างที่ผ่านการทรีตเมนต์ก่อนทอด เนื่องจากตัวอย่างมันสำปะหลังสดมีปริมาณไซยาไนด์สูง จึงต้องใช้ปริมาณตัวอย่างน้อยแต่ตัวอย่างที่ผ่านกระบวนการทรีตเมนต์ก่อนทอด ปริมาณไซยาไนด์ลดลงจึงต้องเพิ่มน้ำหนักตัวอย่าง เพื่อให้อยู่ในช่วงของกราฟมาตรฐาน จากนั้นนำตัวอย่างที่ชั่งใส่ลงในขวดพลาสติกขนาด 20 ml เติมเอนไซม์ลินามาเลส (4 U) ปริมาณ 0.05 g และphosphate buffer (0.1M, pH 6) ปริมาตร 0.5 ml ทำการปิดฝาให้สนิท นำแผ่นกระดาษที่ผ่านการเตรียมตามขั้นตอนทำกราฟมาตรฐาน จากนั้นใส่ลงในขวดปิดฝาแล้วตั้งทิ้งไว้ 10 นาที เมื่อครบเวลานำแผ่นกระดาษ จากขวดพลาสติกไปที่หลอด centrifuge ขนาด 15 มิลลิลิตร ที่มีสาร Sodium Tetraborate buffer pH 9 ปริมาตร 1 ml ทำการผสมโดยการเขย่าด้วยเครื่องเขย่า เป็นเวลา 20 นาที ดูดส่วนใสที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ 540 nm ด้วยเครื่อง microplate reader แล้วจึงนำไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานปริมาณไซยาไนด์ (standard curve) โดยมีสมการ ดังนี้ $y = 264x – 0.0885$ และค่า $R^2$ เท่ากับ 0.9982 โดย y คือ ค่าการดูดกลืนแสง และ x คือ มิลลิกรัมของไซยาไนด์

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาการสูญเสียไซยาไนด์หลังการลวกมันสำปะหลังชนิดขมแผ่นบางที่อุณหภูมิ 70°C ภายใต้เวลาที่แตกต่างกันดังแสดงใน ***Table 1*** พบว่า ปริมาณไซยาไนด์ลดลงเมื่อเวลาที่ใช้ในการลวกเพิ่มขึ้น การลดลงของปริมาณไซยาไนด์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p≤0.05$) โดยที่เวลา 25 นาทีปริมาณไซยาไนด์ลดลงมากที่สุดจาก 80.66 mg/kg (ในหัวมันสำปะหลังสด) เป็น 4.85 mg/kg คิดเป็นการลดลงของปริมาณไซยาไนด์เท่ากับร้อยละ 93.99 การลดลงของปริมาณไซยาไนด์เป็นผลมาจากกิจกรรมของเอนไซม์ linamarase ถูกกระตุ้นด้วยอุณหภูมิในช่วงอุณหภูมิ 70°C ซึ่งช่วยเพิ่มความสามารถในการเปลี่ยน linamarin เป็น

ไซยาไนด์ (Yu และคณะ, 2005; Jaswal และคณะ, 2018) และเวลาการลวกที่เพิ่มมากขึ้นช่วยส่งเสริมให้ไซยาไนด์ที่เกิดขึ้นละลายน้ำและถูกระเหยมากขึ้น เนื่องจากไซยาไนด์มีคุณสมบัติสามารถละลายน้ำได้ และจุดเดือดต่ำ (25.7–26.5°C) (Khare และคณะ, 1994) รวมถึงการลวกมีการก่อตัวของไอน้ำ โดยไอน้ำที่เกิดขึ้นอาจทำให้อัตราการระเหยของไซยาไนด์เพิ่มขึ้นและสามารถกำจัดไซยาไนด์ได้ในระดับหนึ่ง (Yang, 2004; Ishiwu และคณะ, 2015) ดังนั้นการกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ linamarase ให้เพิ่มขึ้นและการเร่งการระเหยของน้ำ จะส่งผลให้ปริมาณไซยาไนด์ลดลงได้ด้วยวิธีการแปรรูปด้วยการลวก

จากการศึกษาการสูญเสียไซยาไนด์หลังการให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟที่กำลังไฟฟ้า 450 W ของมันสำปะหลังชนิดขมแผ่นบางภายใต้เวลาที่แตกต่างกัน พบว่า ปริมาณไซยาไนด์ลดลงเมื่อเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟเพิ่มขึ้นที่กำลังวัตต์เท่ากันและพบว่า ที่เวลา 7 และ 10 นาที การลดลงของปริมาณไซยาไนด์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ที่เวลา 4 7 และ 10 นาทีปริมาณไซยาไนด์ลดลงจาก 101.87 mg/kg (ในหัวมันสำปะหลังสด) เป็น 5.83 4.73 และ 5.18 mg/kg ตามลำดับ คิดเป็นร้อยละการลดลงของปริมาณไซยาไนด์เท่ากับ 94.28 95.36 และ 94.92 ตามลำดับ การให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟสามารถลดปริมาณไซยาไนด์ได้เนื่องจากโมเลกุลน้ำของมันสำปะหลังและโมเลกุลน้ำเปลี่ยนเป็นพลังงานความร้อน โดยเมื่อโมเลกุลของน้ำอยู่ภายในสนามไฟฟ้า จะเกิดการจัดเรียงตัวของโมเลกุลให้มีทิศทางเดียวกับสนามไฟฟ้า แต่เนื่องจากสนามไฟฟ้ามีการสลับขั้ว โมเลกุลน้ำจึงเกิดการหมุนและสั่นสะเทือน ทำให้เกิดพลังงานจลน์และเปลี่ยนเป็นพลังงานความร้อนในที่สุด ซึ่งในระหว่างการให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟอุณหภูมิน้ำจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจึงเป็นการเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ linamarase ในการการเปลี่ยน linamarin ให้เป็นไซยาไนด์ และไซยาไนด์ที่เกิดขึ้นจะถูกกำจัดไปพร้อมกับน้ำที่มีการระเหย (Yu และคณะ, 2005; Jaswal และคณะ, 2018) ปริมาณไซยาไนด์ในมันสำปะหลังชนิดขมแผ่นบางลดลงอย่างมากเมื่อเพิ่มเวลาในการให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ แต่เมื่ออุณหภูมิถึงจุดหนึ่งจะทำให้การทำงานของเอนไซม์ลดลง ส่งผลต่อการลดลงของปริมาณไซยาไนด์ที่ไม่เพิ่มขึ้น (Feng และคณะ, 2003; Yang, 2004)

จากการศึกษาการลดลงของปริมาณไซยาไนด์หลังการอัลตราโซนิกที่กำลังไฟฟ้า 600 W ความถี่ 45 Hz ของมันสำปะหลังชนิดขมแผ่นบางภายใต้เวลาที่แตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่า ปริมาณไซยาไนด์ลดลงเมื่อเวลาที่ใช้ในการอัลตราโซนิกเพิ่มขึ้นที่กำลังไฟฟ้าเท่ากัน การลดลงของปริมาณไซยาไนด์เกิดขึ้นเนื่องจากคลื่นอัลตราโซนิกเป็นคลื่นเสียงพลังงานสูง ซึ่งจะทำการเปลี่ยนของเหลวคือน้ำให้เป็นฟองอากาศเรียกว่า ปรากฏการณ์ cavitation โดยกลไกที่เกิดขึ้นเป็นการเปลี่ยนแปลงความดัน เมื่อความดันลดลงจะทำให้เกิดจุดเดือดลดลง ส่งผลให้น้ำที่มีสถานะเป็นของเหลวกลายเป็นฟองอากาศ (cavitation bubbles) ลอยขึ้นจากก้นบีกเกอร์ หลังจากนั้นเมื่อความดันสูงฟองอากาศจะแตกออก (bubbles burst) เกิดเป็นความร้อนเรียกว่า hot spots เมื่อเกิดความร้อนมากขึ้นอุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นจึงเป็นการกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ linamarase ในการการเปลี่ยน linamarin ให้เป็นไซยาไนด์ (Yu และคณะ, 2005; Jaswal และคณะ, 2018) อีกทั้งพลังงานจากคลื่นอัลตราโซนิกมีพลังงานสูงสามารถทำลายผนังเซลล์ ส่งผลให้เอนไซม์ linamarase ที่อยู่ในผนังเซลล์หลุดออกมาและย่อย linamarin ภายในเซลล์ของมันสำปะหลังได้มากขึ้น (Servant, 2000; ชูชาติ, 2544) ดังนั้นการเพิ่มระยะเวลาทำให้การแพร่กระจายของคลื่น อัลตราโซนิกเกิดขึ้นได้อย่างมีประสิทธิภาพสามารถเกิดปรากฏการณ์ cavitation เพิ่มขึ้น มีการแตกออกฟองอากาศมากขึ้น ทำให้อุณหภูมิในพื้นที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้การลดลงของไซยาไนด์เพิ่มขึ้น (Ashokkumar และคณะ, 2007)

## สรุปผล

มันสำปะหลังชนิดขม เป็นมันสำปะหลังที่มีปริมาณไซยาไนด์สูง ซึ่งมีความเป็นพิษต่อผู้บริโภค เมื่อนำมาผลิตมันสำปะหลังชนิดแผ่นบาง ปริมาณไซยาไนด์จึงเป็นปัจจัยที่สำคัญแสดงถึงความปลอดภัยต่อผู้บริโภค และบ่งบอกได้ว่าปลอดภัยต่อการนำมาบริโภคหรือไม่ พบว่าปฏิกิริยาเคมีที่เกิดสารประกอบสีม่วงของโอไนโตรฟีนิลไฮดรอกซีลามีน มีความไว ความแม่นยำ ความรวดเร็ว และการนำไปใช้วิเคราะห์กับตัวอย่างมันสำปะหลังแผ่นร่วมกับเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

การนำมันสำปะหลังชนิดขมแผ่นบางมาผ่านกระบวรการเพื่อลดปริมาณไซยาไนด์ ให้อยู่ในระดับที่ปลอดภัยสำหรับผู้บริโภค โดย Nigerian Industrial Standards (NIS) และ Codex Alimentarius Commission (CAC) ได้กำหนดให้มีปริมาณของไซยาไนด์ ที่พบในผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังสูงสุดได้ไม่เกิน 10 mg/kg ดังนั้นในการลดปริมาณไซยาไนด์ในมันสำปะหลังชนิดขมแผ่นบาง ด้วยการนำไปผ่านวิธีการทรีตเมนต์ทั้ง 3 วิธี ได้แก่ การลวก การให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ และการใช้เครื่องอัลตราโซนิกก่อนทำการทอด พบว่า การลวก 25 นาที การให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ 7 นาที และการใช้เครื่องอัลตราโซนิก 20 นาทีเป็นสภาวะที่เหมาะสม สามารถลดปริมาณไซยาไนด์จากเดิมอยู่ในช่วง 80.66-101.87 mg/kg ลดลงเหลือ 4.85 4.73 และ 6.05 mg/kg ตามลำดับ คิดเป็นร้อยละของการลดลงของปริมาณไซยาไนด์ 93.99 95.36 และ 92.86 ตามลำดับ

## เอกสารอ้างอิง

กลุ่มสารสนเทศการเกษตร. 2563. เอกสารโครงการพัฒนาฐานข้อมูลด้านการเกษตรและสหกรณ์จังหวัด เรื่อง “มันสำปะหลังจังหวัดพะเยา ปี 2563.

จิณณจาร์ หาญเศรษฐสุข. 2551. เอกสารวิชาการ. คุณสมบัติและประโยชน์ของหัวและแป้งมันสำปะหลัง.

ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์. 2544. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ (SCIENTIFIC INSTRUMENTS) (พิมพ์ครั้งที่ 3). ขอนแก่น: โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา.

สถาบันวิจัย และพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2558. งานวิจัย และพัฒนาพันธุ์มันสำปะหลัง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สถาบันวิจัย และพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2558. มันสำปะหลังพันธุ์ เกษตรศาสตร์ 72. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สสวท.) กระทรวงศึกษาธิการ. 2562. คลื่นไมโครเวฟ และหลักการทำงานของไมโครเวฟ. สืบค้นจาก: https://www.scimath.org/article-physics/item/10459-2019 [10 มีนาคม 2564].

สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. 2562. กรอบงานวิจัยด้านเกษตรและอุตสาหกรรมชีวภาพ. การผลิตฟลามันสำปะหลังไซยาไนด์ต่ำจากพันธุ์เกษตรศาสตร์50.

สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. มปป. เลือกมันสำปะหลังพันธุ์อะไร ให้เหมาะกับดิน.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2562. มันสำปะหลังโรงงาน: เนื้อที่เพาะปลูก เนื้อที่เก็บเกี่ยว ผลผลิต และผลผลิตต่อไร่ ปี 2562. สืบค้นจาก: http://www.oae.go.th/assets/portals/1/fileups/prcaidata/files/casava62(1).pdf [20 ก.พ. 2564].

อรุณีวงศ์ราเชน. 2549. เอกสารประกอบการบรรยายวิชาวงจรมันสำปะหลังและระบบบัญชีธุรกิจมันสำปะหลัง เรื่องวงจรมันสำปะหลังและการดำเนินธุรกิจมันสำปะหลังผ่านระบบสหกรณ์. สำนักงานตรวจบัญชีสหกรณ์ที่ 4 กรมตรวจบัญชีสหกรณ์.

Ashokkumar, M., Lee, J., Kentish, S. & Grieser, F. , 2007, Bubbles in An Acoustic Field: An Overview. Ultrasonics Sonochemistry, 14; 470-475.

Bekhit, A. E.-D. A., Shavandi, A., Jodjaja, T., Bircha, J., The, S., Ahmed, I. A. M., Juhaimi F. Y. A., Saeedi, P., & Bekhit, A. A. 2018. Flaxseed: Composition, Detoxification, Utilization, and Opportunities. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 13, 129-152.

Feng, D., Shen, Y., & Chavez, R. E. , 2003, Effectiveness of Different Processing Methods in Reducing Hydrogen Cyanide Content of Flaxseed. Journal of the Science of Food and Agriculture, 83; 836-841.

Ishiwu, C. N., Obiegbuna, J. E. & Igwe, E. C. , 2015, Effect of Process Variables on Some Physical Properties and Hydrogen Cyanide Content of Dried Cassava Slices (“abacha”). Journal of Food Processing & Technology, 6(8); 1-5.

Jaswal, V., Palanivelu, J. & Ramalingam, C. , 2018, Effects of The Gut Microbiota on Amygdalin and Its Use As an Anti-Cancer Therapy: Substantial Review on The Key Components Involved in Altering Dose Efficacy and Toxicity. Biochemistry Biophysics Reports, 14; 125-132.

Junior, E. N. M., Chisté, R. C., & Pena, R. d. S. 2019. Oven Drying and Hot Water Cooking Processes Decrease HCN Contents of Cassava Leaves. Food Research International, 119, 517-523.

Khare, B. N., Sagan, C., Thompson, W. R., Arakawa, E.T., Meisse, C. & Tuminello, P. S. , 1994, Optical Properties of Poly-HCN and Their Astronomical Applications. Canadian Journal of Chemistry-Revue Canadienne De Chimie, 72; 678-694.

Nambisan, B., & Sundaresan, S. 1985. Effect of Processing on The Cyanoglucoside Content of Cassava. Journal of the Science of Food and Agriculture, 36, 1197-1203.

Servant, G., Caltagirone, J. P., Gerard, A., Laborde, J. L., Hita, A. , 2000, Numerical Simulation of Cavitation Bubble Dynamics Induced by Ultrasound Waves in a High Frequency Reactor. Ultrasonics Sonochemistry, 7; 217-227.

Shigaki, T. 2016. Cassava: The Nature and Uses. Encyclopedia of Food and Health, 687-693

Yu, X., Trapp, S., Zhou, P. & Hu, H., 2005, The Effect of Temperature on The Rate of Cyanide Metabolism of Two Woody Plants. Chemosphere, 59(8); 1099-1104

Zhang, L., Zhao, M., Chen, J., Wang, M., & Yu, X. 2019. Reduction of Cyanide Content of Bitter Almond and Its Oil Using Different Treatments. International Journal of Food Science and Technology, 54, 3083–3090

**Table 1** Effect of blanching, microwave and ultrasonic treatments with different treatment times on the reduction of cyanide content in bitter cassava chips.

| วิธีการทรีตเมนต์ | เวลา (นาที) | ปริมาณไซยาไนด์ ( mg/kg in db) | ร้อยละการลดลงของไซยาไนด์ |
|---|---|---|---|
| การลวก | 0 | $80.66 \pm 0.00^{a}$ | - |
| | 15 | $15.99 \pm 0.79^{b}$ | $80.18 \pm 0.98^{c}$ |
| | 20 | $13.27 \pm 0.64^{c}$ | $83.54 \pm 0.77^{b}$ |
| | 25 | $4.85 \pm 0.42^{d}$ | $93.99 \pm 0.51^{a}$ |
| ไมโครเวฟ | 0 | $101.87 \pm 2.99^{a}$ | - |
| | 4 | $5.83 \pm 0.56^{b}$ | $94.28 \pm 0.54^{b}$ |
| | 7 | $4.73 \pm 0.21^{b}$ | $95.36 \pm 0.20^{a}$ |
| | 10 | $5.18 \pm 0.35^{b}$ | $94.92 \pm 0.34^{a}$ |
| อัลตราโซนิก | 0 | $84.74 \pm 2.79^{a}$ | - |
| | 10 | $12.55 \pm 0.88^{b}$ | $85.19 \pm 1.03^{c}$ |
| | 15 | $9.95 \pm 0.37^{c}$ | $88.26 \pm 0.43^{b}$ |
| | 20 | $6.05 \pm 0.24^{d}$ | $92.86 \pm 0.29^{a}$ |

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันของแต่ละทรีตเมนต์ภายในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

# การพัฒนาผลิตภัณฑ์เส้นบะหมี่อบแห้งเสริมผงจิ้งหรีด
# Development of Dried Noodles Supplemented with Cricket Powder

อรลัดา เจือจันทร์[1] กัญญามาศ สายยศ[1] และ อภิญญา การะเกต[1]
Juajun, O.[1], Saiyod, K.[1] and Karaket, A.[1]

## Abstract

This research aimed to study the optimal cricket powder for noodle production and the optimum temperature for dried noodles supplemented with cricket powder. The cricket powder had 17.06% protein. Fresh noodle was supplemented with cricket powder at four levels (0, 3, 5 and 7%). It was found that panelist ’s preference score for fresh noodle products supplemented with 3% cricket powder was not different significance from the control formula. The noodles with 3% cricket powder were dried at 55, 60 and 65 °C. The best recipe from panelist was dehydrated at 65°C for 90 minutes. The cooking time was 9 minutes, weight after boiling and solid content lost during boiling 233.71 and 3.49%, respectively. Proximate analysis of dried noodles supplemented with cricket powder such as moisture, ash, fat, protein, fiber and carbohydrate were 11.07, 2.27, 5.11, 0.63, 6.32 and 80.93 %, respectively, and the total energy was 349.83 kcal.
**Keywords:** Dried noodles, Cricket powder, Cooking time

## บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์งานวิจัยนี้เพื่อศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของผงจิ้งหรีดในการผลิตบะหมี่ และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการอบแห้งเส้นบะหมี่เสริมผงจิ้งหรีด ผงจิ้งหรีดมีค่าโปรตีนร้อยละ 17.06 ปริมาณการเสริมผงจิ้งหรีดในบะหมี่เส้นสด 4 ระดับ (ร้อยละ 0, 3, 5 และ 7) พบว่าผู้ชิมให้คะแนนความชอบในผลิตภัณฑ์เส้นบะหมี่เส้นสดเสริมผงจิ้งหรีดร้อยละ 3 ไม่แตกต่างจากสูตรควบคุม ทำการอบแห้งเส้นบะหมี่ที่อุณหภูมิ 55, 60 และ 65 องศาเซลเซียส พบว่าสูตรที่ได้รับการยอมรับมากที่สุดจากผู้ชิม คือ การอบแห้งที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 90 นาที ระยะเวลาในการต้มสุกคือ 9 นาที น้ำหนักหลังการต้มและปริมาณของแข็งที่สูญเสียระหว่างการต้มร้อยละ 233.71 และ 3.49 ตามลำดับ องค์ประกอบทางเคมีของเส้นบะหมี่เสริมผงจิ้งหรีดอบแห้ง ได้แก่ ปริมาณความชื้น เถ้า ไขมัน โปรตีน เยื่อใย และคาร์โบไฮเดรต ร้อยละ 11.07, 2.27, 5.11, 0.63, 6.32 และ 80.93 ตามลำดับ และค่าพลังงาน 349.83 กิโลแคลอรี่
**คำสำคัญ:** บะหมี่อบแห้ง ผงจิ้งหรีด ระยะเวลาต้มสุก

## คำนำ

บะหมี่เป็นผลิตภัณฑ์อาหารที่นิยมบริโภค สูตรพื้นฐานของบะหมี่ประกอบด้วยแป้งสาลี น้ำ เกลือ และเบส ประเภทของบะหมี่แตกต่างกันตามวัตถุดิบที่ใช้และกรรมวิธีในการผลิตที่แตกต่างกัน บะหมี่ส่วนใหญ่มีคุณค่าทางอาหารค่อนข้างต่ำ โดยคุณค่าทางอาหารที่ได้ส่วนใหญ่ได้จากแป้งสาลีเป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งเป็นสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต บะหมี่เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความชื้นสูง จึงทำให้เส้นบะหมี่สดที่ไม่ได้ใส่สารกันเสียเก็บไว้ได้ไม่นาน

โปรตีนเป็นสารอาหารที่จำเป็นต่อร่างกาย ช่วยในการสร้างเซลล์และซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอ ช่วยสร้างกล้ามเนื้อ แหล่งโปรตีนส่วนใหญ่ได้จากเนื้อสัตว์ แต่มีแหล่งโปรตีนราคาถูและมีประโยชน์เทียบเท่ากับเนื้อสัตว์ คือ แมลงกินได้ ส่วนใหญ่นิยมบริโภคแมลงมากขึ้น จิ้งหรีดเป็นแมลงกินได้อีกชนิดหนึ่งที่คนนิยมบริโภคโดยการทอดหรือคั่ว อีกทั้งยังเป็นแหล่งของโปรตีนร้อยละ 48.87 ไขมันในปริมาณร้อยละ 28.75 มีกรดอะมิโนจำเป็น ได้แก่ ทรีโอนีน ไทโรซีน วาลีน เมไทโอนีน และไลซีน (Osimani และคณะ, 2018) นอกจากนี้ยังพบว่าไคตินและไคโตซานเป็นสารที่มีอยู่มากในจิ้งหรีดซึ่งสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในลำไส้ได้ (Liu และคณะ, 2010) ดังนั้นคณะผู้วิจัยนี้จึงทดลองทำบะหมี่แห้งเสริมผงจิ้งหรีด เพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการให้กับผลิตภัณฑ์อาหาร อีกทั้งยังเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับวัตถุดิบทางการเกษตร

[1] สาขาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ อ.เมือง จ.สุรินทร์ 32000
[1] Department of Agro-Industry, Faculty of Agriculture and Technology, Rajamangala University of Technology Isan, Surin Campus. Mueang District, Surin Province. 32000

## อุปกรณ์และวิธีการ

**การเตรียมผงจิ้งหรีด**

นำจิ้งหรีดแช่แข็งมาละลายโดยวางไว้ในตู้เย็นช่องธรรมดา แล้วล้างจิ้งหรีดให้สะอาด ต้มในน้ำอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ทำให้สะเด็ดน้ำ สับละเอียด อบในเครื่องตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 8 ชั่วโมง ปั่นให้ละเอียด ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 80 เมช บรรจุด้วยถุงสุญญากาศ

**ศึกษาปริมาณผงจิ้งหรีดที่เหมาะสมในการผลิตเส้นบะหมี่**

ร่อนแป้งสาลีอเนกประสงค์ 100 กรัม ผงจิ้งหรีด (ร้อยละ 0, 3, 5 และ 7 ของน้ำหนักสูตร) เกลือ 2 กรัม เติมโซเดียมคาร์บอเนต 1 กรัม และน้ำ 40 กรัม นวดส่วนผสมให้เข้ากัน พักไว้ 1 ชั่วโมง ปิดด้วยพลาสติก คลึงแป้งด้วยมือ รีดด้วยเครื่องรีดบะหมี่ จนได้โดที่เรียบเนียนมีความหนา 2 มิลลิเมตร ตัดด้วยชุดลูกกลิ้งสำหรับตัดเส้น ทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสโดยวิธี 9 - Hedonic Scaling test ใช้แผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) เปรียบเทียบความแตกต่างด้วยวิธี Duncan’s Multiple Range Test (DMRT) โดยผู้ชิมที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 30 คน โดยการต้มเส้นนาน 6 นาที เสริฟร้อนในน้ำซุป ประเมินคุณภาพทางด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม โดยให้คะแนน 1 = ไม่ชอบมากที่สุด 5 = เฉยๆ และ 9 = ชอบมากที่สุด

**ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการอบแห้งเส้นบะหมี่เสริมผงจิ้งหรีด**

นำบะหมี่เสริมผงจิ้งหรีดที่คัดเลือกได้ นึ่งที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที พลิกบะหมี่เพื่อให้บะหมี่โดนไอน้ำสม่ำเสมอทั้ง 2 ด้าน นึ่งต่ออีก 10 นาที นำบะหมี่วางเรียงบนถาดและนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 55 60 และ 65 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างทุกๆ 10 นาที บันทึกปริมาณความชื้นและค่า $a_w$ ของตัวอย่าง แล้วหาเวลาที่เหมาะสมในการอบแห้งแต่ละอุณหภูมิ โดยเปรียบเทียบกับค่าที่มาตรฐานกำหนด คือปริมาณความชื้นไม่เกินร้อยละ 12 (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2548) และค่า $a_W$ น้อยกว่า 0.6 (พิมพ์เพ็ญ และ นิธิยา, ม.ป.ป)

**วิเคราะห์ค่าทางกายภาพของผลิตภัณฑ์บะหมี่อบแห้งเสริมผงจิ้งหรีด**

นำเส้นบะหมี่อบแห้งเสริมผงจิ้งหรีดวัดค่าสี (L*, a*, b*) ด้วยเครื่อง Colormeter (Hunter Lab) . ด้วยระบบ CIE โดยค่า L* คือค่าความสว่าง (0 = สีดำ, 100 = สีขาว) ค่า a* (+a = สีแดง, -a = สีเขียว), ค่า b* (+b = สีเหลือง, -b = สีน้ำเงิน) วัดปริมาณน้ำอิสระ ($a_W$) ด้วยเครื่อง water activity meter วัดค่าความเป็นกรดด่างด้วยเครื่อง pH meter วัดค่าแรงดึงสูงสุดด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส (Texture Measuring System) โดยนำเส้นบะหมี่ล้างด้วยน้ำเย็น สะเด็ดน้ำ วัดเนื้อสัมผัสของบะหมี่ที่ผ่านการต้มสุกแล้ว วัดค่าความต้านทานต่อการดึงขาด (tensile strength) โดยใช้หัววัด spaghetti tensile grips (A/SPR) ตรวจคุณภาพหลังการต้ม (cooking quality) ได้แก่ ระยะเวลาที่เหมาะสมในการต้มบะหมี่ให้สุก (cooking time) โดยชั่งเส้นบะหมี่ 5 กรัม ต้มในน้ำเดือด 200 มิลลิลิตร ในบีกเกอร์ที่มีกระจกนาฬิกาปิด จับเวลาที่ทำให้บะหมี่สุก โดยสุ่มตัวอย่างทุกๆ 30 วินาที จนเส้นบะหมี่ไม่มีส่วนทึบแข็งที่จุดกึ่งกลางเหลืออยู่ ส่วนน้ำหนักที่ได้หลังการต้ม (cooking yield) ทำโดยชั่งเส้นบะหมี่ 5 กรัม ต้มในน้ำเดือด 200 มิลลิลิตร ใช้เวลาในการต้มที่เหมาะสม ทิ้งให้สะเด็ดน้ำ 1 นาที บนตะแกรง ซับความชื้นส่วนเกินออก แล้วนำบะหมี่ไปชั่งน้ำหนัก คำนวณหาร้อยละน้ำหนักที่ได้หลังการต้ม

$$\text{ร้อยละน้ำหนักที่ได้หลังการต้ม} = \frac{\text{น้ำหนักบะหมี่หลังต้ม}}{\text{น้ำหนักบะหมี่ก่อนต้ม}} \times 100$$

ปริมาณของแข็งที่สูญเสียระหว่างการต้ม (cooking loss) โดยชั่งบะหมี่ 5 กรัม ต้มในน้ำเดือด 200 มิลลิลิตร โดยใช้เวลาในการต้มที่เหมาะสม ตักบะหมี่ขึ้นมาสะเด็ดน้ำ 5 นาที นำน้ำต้มปริมาตร 50 – 100 มิลลิลิตร ใส่ใน crucible (ที่นำไปอบชั่งน้ำหนัก (B)) นำไปประเหยใน water bath จนแห้ง นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ ชั่งน้ำหนักหลังอบ (A) คำนวณปริมาณของแข็งที่สูญเสียระหว่างการต้ม

$$\text{ร้อยละน้ำหนักปริมาณของแข็งที่สูญเสียระหว่างการต้ม} = \frac{(A - B) \times 100}{\text{มล. ของตัวอย่าง}}$$

**วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเส้นบะหมี่อบแห้งเสริมผงจิ้งหรีด**

นำบะหมี่อบแห้งเสริมผงจิ้งหรีดที่ได้รับการยอมรับมากที่สุด วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เยื่อใย เถ้า คาร์โบไฮเดรต และพลังงานทั้งหมด ตามวิธี AOAC

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การผลิตบะหมี่เส้นสดโดยการเสริมผงจิ้งหรีดในปริมาณร้อยละ 0, 3, 5 และ 7 พบว่าผู้ทดสอบชิมให้การยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสของบะหมี่เส้นสดเสริมผงจิ้งหรีดร้อยละ 3 มากกว่าการเสริมผงจิ้งหรีดในปริมาณร้อยละ 5 และ 7 โดยค่าสีมีความแตกต่างจากสูตรเสริมจิ้งหรีดสูตรอื่นๆ ($p \leq 0.05$) แต่ไม่แตกต่างจากสูตรควบคุม และพบว่าด้านกลิ่นและรสชาติ ผู้บริโภคให้การยอมรับไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกๆ สูตร (Figure 1 and Table 1) บะหมี่เส้นสดที่ผ่านการปรุงสุกมีค่าความสว่างน้อยกว่าบะหมี่ที่ไม่ผ่านการปรุงสุก และพบว่าบะหมี่เส้นสดเสริมผงจิ้งหรีดในปริมาณมากขึ้นเมื่อผ่านการปรุงสุก ทำให้มีค่าแรงดึงสูงสุดลดลง อาจเนื่องมาจากอุณหภูมิที่ทำให้แป้งเกิดการเจลาตินไนซ์ เม็ดแป้งเกิดการพองตัวจนอะไมโลสและอะไมโลเพกตินบางส่วนหลุดออกจากโครงสร้างของเม็ดแป้ง (Bakar และคณะ, 2009) ทำให้โครงสร้างอ่อนนุ่มเพิ่มขึ้น และเมื่อแป้งแทรกตัวอยู่กับโปรตีนจากผงจิ้งหรีด จึงทำให้แป้งมีความแข็งลดลง ส่งผลให้โครงสร้างบะหมี่มีความเหนียวลดลงและมีแรงดึงสูงสุดลดลงตามไปด้วยระยะเวลาที่เหมาะสมในการต้มเส้นบะหมี่ให้สุก โดยการสังเกตทุกๆ 1 นาที พบว่าเส้นบะหมี่ที่ต้มจนลักษณะตรงกลางเส้นบะหมี่ไม่มีจุดสีขาวปรากฏของสูตรควบคุมคือ 5 นาที และระยะเวลาที่เหมาะสมในการต้มให้สุกของบะหมี่เสริมผงจิ้งหรีดคือ 6 นาที บะหมี่เส้นสดสูตรควบคุมมีปริมาณของแข็งที่สูญเสียระหว่างการต้มมากที่สุดร้อยละ 3.47 รองลงมาคือ บะหมี่เส้นสดเสริมผงจิ้งหรีดร้อยละ 3, 5 และ 7 มีค่าเท่ากับร้อยละ 2.70, 2.30 และ 2.17 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเมื่อมีการเติมผงจิ้งหรีดในปริมาณมากขึ้น ปริมาณของแข็งที่สูญเสียระหว่างการต้มมีปริมาณน้อยลง ซึ่งทำให้บะหมี่เส้นสดเสริมผงจิ้งหรีดร้อยละ 7 มีน้ำหนักหลังการต้มมากที่สุดร้อยละ 233.60 รองลงมาคือ บะหมี่เส้นสดเสริมผงจิ้งหรีดร้อยละ 5, 3 และสูตรควบคุม มีค่าเท่ากับร้อยละ 223.15, 211.04 และ 176.21 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเมื่อมีการเติมผงจิ้งหรีดในปริมาณมากขึ้น ทำให้น้ำหนักที่ได้หลังการต้มมีปริมาณมากขึ้นเช่นเดียวกัน

ในการอบแห้งผลิตภัณฑ์บะหมี่เสริมผงจิ้งหรีดร้อยละ 3 ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ต้องใช้เวลาในการอบแห้งมากที่สุดคือ 120 นาที เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการอบเป็น 60 และ 65 องศาเซลเซียส ทำให้ใช้เวลาในการอบแห้งลดลงคือ 105 และ 90 นาที ตามลำดับ โดยมีค่าความชื้นและปริมาณน้ำอิสระตามมาตรฐานของผลิตภัณฑ์บะหมี่ และมีค่าความเป็นกรดด่างไม่แตกต่างกัน การเพิ่มอุณหภูมิในการอบทำให้ปริมาณน้ำอิสระ ค่าแรงดึงสูงสุด และค่าความสว่าง (L*) ของผลิตภัณฑ์บะหมี่อบแห้งลดลง ส่วนค่า a* และ b* มีค่าเพิ่มขึ้น ($p \leq 0.05$) และยังพบว่าบะหมี่สูตรควบคุมมีปริมาณของแข็งที่สูญเสียระหว่างการต้มมากที่สุด มีค่าร้อยละ 3.80 รองลงมาคือบะหมี่อบแห้งเสริมผงจิ้งหรีดที่อุณหภูมิ 65, 60 และ 55 องศาเซลเซียส มีปริมาณของแข็งที่สูญเสียระหว่างการต้มร้อยละ 3.50, 2.80 และ 2.67 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเมื่อมีการเพิ่มอุณหภูมิมากขึ้นปริมาณของแข็งที่สูญเสียระหว่างการต้มก็มีปริมาณมากขึ้นด้วย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sirichokworrakit และคณะ (2015) เมื่อมีการเสริมส่วนผสมอื่นในผลิตภัณฑ์เส้น เช่น การเสริมแป้งข้าวไรซ์เบอรี่ในปริมาณที่มากขึ้น ทำให้ปริมาณของแข็งสูญเสียระหว่างการต้มเพิ่มขึ้น ส่วนบะหมี่อบแห้งที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส มีน้ำหนักหลังการต้มมากที่สุด ร้อยละ 263.33 รองลงมาคือบะหมี่อบแห้งที่อุณหภูมิ 60, 55 องศาเซลเซียส และสูตรควบคุม มีค่าเท่ากับร้อยละ 255.21, 233.71 และ 231.21 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเมื่อมีการอบแห้งในอุณหภูมิที่สูงขึ้น น้ำหนักที่ได้หลังการต้มก็มีปริมาณมากขึ้น ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์บะหมี่อบแห้งเสริมผงจิ้งหรีดร้อยละ 3 พบว่า มีปริมาณความชื้น เถ้า ไขมัน โปรตีน เยื่อใย และคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 11.07, 2.27, 5.11, 0.63, 6.32 และ 80.93 ตามลำดับ และมีค่าพลังงานเท่ากับ 349.83 กิโลแคลอรี

## สรุปผล

ผลิตภัณฑ์บะหมี่เส้นสดเสริมผงจิ้งหรีดในอัตราร้อยละ 3 เป็นปริมาณที่เหมาะสมที่สุด โดยมีคะแนนความชอบด้านประสาทสัมผัสใกล้เคียงกับสูตรควบคุม ระยะเวลาในการต้มสุก 6 นาที การอบแห้งบะหมี่เสริมผงจิ้งหรีดร้อยละ 3 ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที ได้รับการยอมรับจากผู้ทดสอบชิมมากที่สุด และต้องใช้เวลาในการต้มให้สุก 9 นาที การอบแห้งในอุณหภูมิสูงขึ้นทำให้น้ำหนักบะหมี่เสริมผงจิ้งหรีดที่ได้หลังการต้มมีปริมาณเพิ่มขึ้น การเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการให้ผลิตภัณฑ์บะหมี่ จึงเป็นทางเลือกให้กับผู้บริโภคและเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร

## คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณคณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ ที่ได้สนับสนุนการทำวิจัยในครั้งนี้ ตลอดจนเอื้อเฟื้ออุปกรณ์ สารเคมี และสถานที่ในการดำเนินงานวิจัย

**เอกสารอ้างอิง**


พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์, ม.ป.ป., Dried food/อาหารแห้ง, [สืบค้น], http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/132/dried-food-อาหารแห้ง [14/ April /21].

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2548, มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมบะหมี่กึ่งสำเร็จรูป (มอก.271-2548), กระทรวงอุตสาหกรรม.

Bakar, J., Saeed, M.A., Abbas, K.A., Rahman, A.R., Karim, R., and Hashim, D., 2009, Protein- Starch Interaction and Their Effect on Thermal and Rheological Characteristics of a Food System: A Review. Journal of Food, Agriculture and Environment, 7(2): 169-174.

Liu, P., Piao, X.S., Thacker, P.A., Zeng, Z.K., Wang, P.F. and Kim, S.W., 2010, Chitooligosaccharide Reduces Diarrhea Incidence and Attenuates the Immune Response of Weaned Pigs Challenged with *Escherichia coli* K881, Journal of Animal Science, 88: 3871-3879.

Osimani, A., Milmanovic, V., Cardinali, F., Roncolini, A., Garofalo, C., Clementi, F., Pasquini, M., Mozzon, M., Foligni, R., Raffaelli, N., Zamporlini, F. and Lucia, A., 2018, Bread Enriched with Cricket Powder (*Acheta domesticus*): A Technological, Microbiological and Nutritional Evaluation. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 48: 150-163.

Sirichokworrakit, S., Phetkhut, J. and Khommoon, A., 2015, Effect of Partial Substitution of Wheat Flour with Riceberry Flour on Quality of Noodles, Procedia-Social and Behavioral Sciences, 197: 1006-1012.

a) b) c) d)

**Figure 1** Fresh noodles supplemented with cricket powder. a.) 0% b.) 3% c.) 5% d.) 7%

**Table 1** Sensory evaluation of noodles supplemented with cricket powder.

| Properties | Score | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 0% | 3% | 5% | 7% |
| Color | 7.13 ± 1.25[a] | 6.83 ± 1.29[a] | 6.27 ± 1.08[b] | 6.00 ± 1.51[b] |
| Odor[ns] | 6.10 ± 1.37 | 6.40 ± 1.33 | 5.97 ± 1.40 | 5.93 ± 1.36 |
| Flavor[ns] | 6.67 ± 1.09 | 6.47 ± 1.61 | 6.10 ± 1.12 | 6.10 ± 1.49 |
| Texture | 6.63 ± 1.16[ab] | 6.90 ± 1.12[a] | 6.47 ± 1.17[ab] | 6.30 ± 1.34[b] |
| Overall acceptability | 6.83 ± 0.99[a] | 6.97 ± 1.13[a] | 6.47 ± 0.90[ab] | 6.07 ± 1.34[b] |

a-b Different superscript letters in a row indicate significantly difference ($p \leq 0.05$). ns means not significant difference ($p > 0.05$).

# ประสิทธิภาพของสารสกัดจากรังไหมต่อการลดการเกิดสีน้ำตาลของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ตัดแต่งพร้อมบริโภค
# Effectiveness of Silkworm Cocoon Extract on Preventing Browning Incidence in Fresh-Cut Mango cv. 'Nam Dok Mai'

**ชลิดา ฉิมวารี[1,2] สุริยัณห์ สุภาพวานิช[3] เฉลิมชัย วงษ์อารี[1,2] ชัยรัตน์ เตชวุฒิพร[3] รชา เทพษร[4] และ พนิดา บุญฤทธิ์ธงไชย[1,2]**
**Chimvaree, C.[1,2], Supapvanich, S.[3], Wongs-Aree, C.[1,2] , Techavuthiporn, C.[3], Tepsorn, R. [4] and Boonyaritthongchai, P.[1,2]**

## Abstract

This study was to investigate the effectiveness of sericin extracted from silkworm cocoon to prevent browning incidence in fresh-cut mango cv. 'Nam Dok Mai'. Ripe mango pieces were immersed in hydrolysate and non-hydrolysate sericin, and in distilled water for 1 minute. All treatments were placed in semi-rigid package and stored at 10±2°C, 80-90% RH for 4 days. Results showed that both types of sericin could effectively delay the increases of flesh browning incidence greater than the other treatments. The lightness (L*) values of sericin treatments were higher and the browning scores were lower than that of the control, but there was not significant difference between two types of sericin. Hydrolyzed and non-hydrolyzed treated mango revealed the lower activity of PPO and higher total phenolic content than the control during storage. Sericin treatments had the storage life for 4 days while non-treated fruit had the storage life for 1 day.
**Keywords:** Fresh cut fruit, Sericin, Browning Incidence

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาประสิทธิภาพของโปรตีนเซริซินซึ่งสกัดได้จากรังไหมต่อการลดการเกิดสีน้ำตาลในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ตัดแต่งพร้อมบริโภค โดยนำชิ้นมะม่วงสุก มาจุ่มลงในสารละลายเซริซินไฮโดรไลเสส และนอนไฮโดรไลเสส เปรียบเทียบกับไม่จุ่มสาร (ชุดควบคุม) นาน 1 นาที จากนั้นบรรจุลงในกล่องพลาสติกกึ่งคงรูปมีฝาปิด เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 80-90 เป็นเวลา 4 วัน ผลการทดลองพบว่า สารเซริซินทั้งสองชนิดสามารถยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลได้ดีที่สุด โดยมีค่าความสว่างของสีเนื้อ (L*) สูง และค่าคะแนนการเกิดสีน้ำตาลต่ำกว่ามะม่วงชุดควบคุม แต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติระหว่างมะม่วงที่จุ่มสารเซริซินทั้งสองชนิด ชิ้นมะม่วงชุดที่จุ่มสารเซริซินทั้งสองชนิดมีกิจกรรมเอนไซม์ PPO ต่ำกว่ามะม่วงชุดควบคุม และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าชุดควบคุมในระหว่างการเก็บรักษา และมะม่วงที่จุ่มสารเซริซินทั้งสองชนิดมีอายุการเก็บรักษา 4 วัน ในขณะที่ชุดควบคุมเก็บรักษาได้ 1 วัน
**คำสำคัญ** ผลไม้ตัดแต่งพร้อมบริโภค เซริซิน การเกิดสีน้ำตาล

## คำนำ

มะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภค คือ มะม่วงที่ผ่านขั้นตอนต่าง ๆ ภายหลังการเก็บเกี่ยว ได้แก่ การล้าง การปอก การหั่น การตัดแต่ง ซึ่งการปฏิบัติในแต่ละขั้นตอนข้างต้นทำให้สารต่าง ๆ ภายในเซลล์ออกมาบริเวณรอยแผลที่เกิดจากการตัดแต่ง ส่งผลต่อการเร่งการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาและชีวเคมี เกิดสีน้ำตาลบริเวณรอยตัดแต่ง ซึ่งไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค และเกิดการเจริญ

[1] สาขาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี 49 ถนนเทียนทะเล 25 บางขุนเทียน กรุงเทพ 10150
[1]Division of Postharvest Technology, School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi (Bangkhuntien), 49 Tientalay 25, Thakam, Bangkhuntien, Bangkok 10150, Thailand
[2]ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม กทม. 10400
[2]Postharvest Technology Innovation Center, Ministry of Higher Education, Science, Research and Innovation, Bangkok 10400, Thailand.
[3]ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง 1 ซอยฉลองกรุง 1 เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520
[3]Department of Agricultural Education, Faculty of industrial Education, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, 1 Soi Chalongkrung 1,Ladkrabang, Bangkok, Thailand, 10520
[4]ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ปทุมธานี 12121
[4]Department of Food Science and Technology, Faculty of Science and Technology, Thammasat University, Rangsit Centre, Pathumthani 12121

ของเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนได้อย่างรวดเร็ว (Clemente และ Pastore, 1998) ดังนั้น จึงมีความจำเป็นในการหาเทคโนโลยีที่เหมาะสมเพื่อลดการเกิดสีน้ำตาลในมะม่วงสุกตัดแต่งพร้อมบริโภค เซริซินเป็นโปรตีนที่สกัดจากรังไหม ในด้านอุตสาหกรรมอาหารมีการวิจัยนำเซริซินมาใช้ในการผลิตฟิล์มที่บริโภคได้ และการใช้เป็นสารเคลือบผิวที่บริโภคได้ เนื่องด้วยคุณสมบัติที่สามารถจับตัวเป็นพอลิเมอร์ สามารถผสมกับสารโมเลกุลใหญ่ได้ดี มีลักษณะเป็นกัม และป้องกันการสูญเสียน้ำได้ดี (Sothornvit และ Chollakup, 2009; Sothornvit และคณะ, 2010) มีรายงานวิจัยพบว่าการเคลือบผิวแอปเปิ้ลตัดสดพร้อมบริโภค ด้วยสารเคลือบผิวเซริซินสามารถควบคุมการเกิดสีน้ำตาลระหว่างการเก็บรักษาได้เป็นอย่างดี (Thongsook และ Tiyaboonchai, 2011) การสกัดสารเซริซินออกจากรังไหมมีหลายวิธีการ ซึ่งส่งผลต่อคุณสมบัติและประสิทธิภาพของเซริซินที่ได้ต่างกัน ดังนั้นงานวิจัยนี้ได้ศึกษาคุณสมบัติของสารเซริซินที่สกัดจากรังไหมโดยมีระดับการไฮโดรไลซ์ที่แตกต่างกันต่อการลดการเกิดสีน้ำตาลในมะม่วงน้ำดอกไม้ตัดแต่งพร้อมบริโภค

## อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

มะม่วงสุกพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองที่มีคุณภาพดี นำมาล้างด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตรทิ้งไว้ให้แห้ง เพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนมากับมะม่วง ผึ่งให้แห้งแล้วนำมาปอกเปลือกและหั่นตามขวาง 4 ชิ้นต่อมะม่วงครึ่งผล นำมาแบ่งชุดทดลองดังนี้ ชุดควบคุม (มะม่วงไม่ได้จุ่มสารใดๆ) จุ่มด้วยสารละลาย non-hydrolysated sericin ความเข้มข้นร้อยละ 2 และจุ่มด้วยสารละลาย hydrolysated sericin ความเข้มข้นร้อยละ 2 บรรจุในกล่องพลาสติกแบบ semi-rigid packaging ขนาด 11.5 × 17 × 4.5 เซนติเมตร บรรจุ 4 ชิ้นต่อกล่อง นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 80-90 วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ (1 กล่องต่อซ้ำ) ทำการบันทึกผลการทดลองทุกวัน ได้แก่ คะแนนการเกิดสีน้ำตาล (คะแนนการเกิดสีน้ำตาลของมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองตัดแต่งพร้อมบริโภคอยู่ในช่วง 0-4 คะแนน โดย 0 = ไม่เกิดสีน้ำตาลเลยของพื้นที่ผิวทั้งหมด คะแนน 1 = เกิดสีน้ำตาลอ่อนร้อยละ 1-25 ของพื้นที่ผิวทั้งหมด 2 = เกิดสีน้ำตาลปานกลางร้อยละ 26-50 ของพื้นที่ผิวทั้งหมด 3 = เกิดสีน้ำตาลเข้มร้อยละ 51-75 ของพื้นที่ผิวทั้งหมด และ 4 = เกิดสีน้ำตาลเข้มมากร้อยละ 76-100 ของพื้นที่ผิวทั้งหมด) การเปลี่ยนแปลงสีค่า กิจกรรมเอนไซม์พอลีฟีนอลออกซิเดส (PPO) และปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

## ผลการทดลอง

จากการทดลองพบว่าคะแนนการเกิดสีน้ำตาลมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในทุกชุดการทดลองตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา (Figure 1 A) การเกิดสีน้ำตาลของเนื้อมะม่วงตัดแต่งเริ่มเกิดในวันที่ 1 ของการเก็บรักษา โดยชุดควบคุมมีคะแนนการเกิดสีน้ำตาลสูงกว่าชุดที่จุ่มเซริซินทั้งสองชนิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ($p \leq 0.05$) อย่างไรก็ตาม พบว่าคะแนนการเกิดสีน้ำตาลของเนื้อมะม่วงที่จุ่มในสารละลายโปรตีนเซริซินทั้งสองชนิดไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา และพบว่าค่าความสว่าง L* ของทุกชุดทดลองมีแนวโน้มลดลง (มะม่วงมีสีน้ำตาลมากขึ้น) (Figure 1 B และ 3) โดยในระหว่างการเก็บรักษาพบว่า การลดลงของค่าความสว่างในมะม่วงที่จุ่มในสารละลายโปรตีนเซริซินเกิดช้ากว่ามะม่วงที่ไม่ได้จุ่มสารละลายโปรตีนเซริซินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่ค่า L* ของมะม่วงที่จุ่มในสารละลายโปรตีนเซริซินทั้ง 2 ชนิด ได้แก่ non-hydrolysate และ hydrolysate ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

กิจกรรมเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส (PPO) ของชุดควบคุมเพิ่มขึ้นในวันแรกของการเก็บรักษาและหลังจากนั้นมีแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ในวันเริ่มต้นการเก็บรักษา พบว่าเนื้อมะม่วงชุดควบคุมมีกิจกรรมเอนไซม์ PPO สูงที่สุดเท่ากับ 0.49 unit/mg protein ในขณะที่มะม่วงจุ่ม non-hydrolysate และ hydrolysate มีกิจกรรมเอนไซม์ PPO ต่ำกว่าเท่ากับ 0.26 unit/mg protein และเนื้อมะม่วงจุ่มสารเซริซินทั้งสองชนิดมีกิจกรรมเอนไซม์ PPO ต่ำกว่าชุดควบคุมตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา อย่างไรก็ตามพบว่ากิจกรรมเอนไซม์ PPO ของเนื้อมะม่วงที่จุ่มในสารละลายโปรตีนเซริซินทั้งสองชนิดไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (Figure 2 A) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา พบว่ามะม่วงชุดควบคุม และมะม่วงที่จุ่ม non-hydrolysated sericin มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่ามะม่วงที่จุ่ม hydrolysated sericin และในวันที่ 3 พบว่ามะม่วงชุดควบคุมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่ามะม่วงจุ่มเซริซินทั้งสองชนิด (Figure 2 B)

## วิจารณ์ผล

มะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภคที่จุ่มด้วยสารเซริซินสามารถลดการเกิดสีน้ำตาลได้ การจุ่มมะม่วงในสารละลายโปรตีนเซริซินสามารถยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ PPO ได้ เป็นผลมาจากการจับตัวกันระหว่างเซริซินและซับสเตรทของการเกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลตามที่กล่าวมาข้างต้น เซริซินมีคุณสมบัติเป็นตัวยับยั้งเอนไซม์ PPO (Kato et al., 1998) เซริซินสามารถยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ PPO ได้ 2 ทาง โดยทำปฏิกิริยากับ o-quinones และทำหน้าที่เป็นคีเลติงเจนต์ (Kahn, 1985; Goetghebeur และ

Kermasha, 1996) เนื่องจากเซริซินประกอบด้วยกรดอะมิโนที่มีหมู่ไฮดรอกซิลสูง ซึ่งหมู่ไฮดรอกซิลมีสมบัติเป็นคีเลติงเจนต์ที่ดีโดยจะไปจับกับทองแดงที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ PPO ทั้งนี้โลหะทองแดงเป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของเอนไซม์ PPO ดังนั้นการที่เซริซินมีสมบัติดังกล่าวจึงส่งผลช่วยในการลดการเกิดสีน้ำตาลได้ อย่างไรก็ตามพบว่ากิจกรรมเอนไซม์ PPO ของเนื้อมะม่วงที่จุ่มในสารละลายโปรตีนเซริซินทั้งสองชนิดไม่มีความแตกต่างทางสถิติ จากสมมติฐานเซริซินชนิด hydrolysate จะมีประสิทธิภาพในการลดการเกิดสีน้ำตาลได้ดีกว่าชนิด non-hydrolysate เนื่องจากการไฮโดรไลซ์ด้วยความร้อนจะทำให้โมเลกุลของเซริซินมีขนาดเล็กลง เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการเป็นสารคีเลติงเจนท์ เช่นเดียวกับ Thongsook และ Tiyaboonchai (2011) รายงานว่าสารละลายเซริซินที่ผ่านการไฮโดรไลเสทสามารถลดการเกิดสีน้ำตาลได้ดีกว่าสารละลายเซริซินที่ไม่ผ่านการไฮโดรไลเสท อย่างไรก็ตาม แต่อย่างไรก็ตามในงานวิจัยนี้ไม่พบความแตกต่างในด้านการลดการเกิดสีน้ำตาล ทั้งนี้เมื่อนำเซริซินทั้งสองชนิดไปตรวจสอบขนาดน้ำหนักโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE พบว่ามีน้ำหนักโมเลกุลใกล้เคียงกัน (ไม่แสดงข้อมูล) อาจเนื่องจากกระบวนการที่ใช้ในการไฮโดไลซ์ไม่เพียงพอที่จะย่อยขนาดโมเลกุลของเซริซินให้เล็กลง ส่งผลให้เซริซินที่ผ่านการไฮโดรไลซ์ด้วยความร้อนไม่ได้มีผลต่อประสิทธิภาพการยับยั้งสีน้ำตาล ความรุนแรงของการเกิดสีน้ำตาลในพืชขึ้นอยู่กับปริมาณสารประกอบฟีนอลและกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง Nguyen et al. (2003) รายงานว่า การเก็บรักษากล้วยที่อุณหภูมิ 6 องศาเซลเซียส เปลือกกล้วยเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหลังจากเก็บรักษา 3 วัน มีกิจกรรมเอนไซม์ PPO, PAL และมีความรุนแรงของการเกิดสีน้ำตาลมากขึ้น ขณะที่ปริมาณของสารประกอบฟีนอลเพิ่มขึ้นเนื่องจากสารประกอบฟีนอลอาจจะถูกนำมาใช้ในการเกิดสีน้ำตาล อย่างไรก็ตามมะม่วงน้ำดอกไม้ตัดแต่งพร้อมบริโภคที่จุ่มด้วยสารละลาย non hydrolysated sericin และสารละลาย hydrolysated sericin ช่วยป้องกันการเกิดสีน้ำตาลที่มีออกซิเจนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เนื่องจากเซริซินมีคุณสมบัติเป็นฟิล์มสามารถลดการผ่านเข้าออกของออกซิเจน และเซริซินยังมีคุณสมบัติเป็นสารคีเลติงเจนต์ สามารถลดสะสมสารสีน้ำตาลได้เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้จุ่มสาร

## สรุปผล

สารละลายเซริซินทั้งแบบ non-hydrolysate และ hydrolysate sericin มีประสิทธิภาพในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ PPO และลดการเกิดสีน้ำตาลในมะม่วงน้ำดอกไม้ตัดแต่งพร้อมบริโภคได้ เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน

## คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม และขอขอบคุณ The United Graduate School of Agricultural Science (UGSAS), Gifu University, Japan ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์ในการทำวิจัยครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

Clemente, E. and Pastore, G.M., 1998, Peroxidase and Polyphenoloxidase, the Importance for Food Technology, Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 32: 167-171.

Goeighebeur, M. and Kermasha, S., 1996, Inhibition of Polyphenol Oxidase by Copper Metallothionein from *Aspergillus niger*, Phytochemistry, 42: 935-940.

Kahn, V., 1985, Effect of Protein, Protein Hydrolyzate and Amino Acids on Dihydroxyphenolase Activity of Polyphenol Oxidase of Mushroom, Avocado and Banana, Journal of Food Science, 50: 111–115.

Kato, N., Sato, S., Yamanaka, A., Yamada, H., Fuwa, N. and Nomura, M., 1998, Silk Protein, Sericin, Inhibits Lipid peroxidation and Tyrosinase Activity, Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 62: 145-147.

Nguyen, T.B.T, Ketsa, S. and van Doorn, W.G., 2003, Relationship between Browning and the Activities of Polyphenol Oxidase and Phenylalanine Ammonia Lyase in Banana Peel During Low Temperature Storage, Postharvest Biology and Technology, 30: 187–193.

Robards, K., Prenzler, P.D., Tucker, G., Swatsitang, P. and Glover, W., 1999, Phenolic Compounds and Their Role in Oxidant Processes in Fruits, Food Chemistry, 66: 41-436.

Sothornvit, R. and Chollakup, R., 2009, Properties of Sericin-glucomannan Composite Films, International Journal of Food Science and Technology, 44: 1395-1400.

Sothornvit, R., Chollakup, R. and Suwanruji, P., 2010, Extracted Sericin from Silk Waste for Film Formation, Songklanakarin Journal of Science and Technology, 32: 17-22.

Thongsook, T. and Tiyaboonchai, W., 2011, Inhibitory Effect of Sericin on Polyphenol Oxidase and Its Application as Edible Coating, International Journal of Food Science and Technology, 46: 2052–2061.

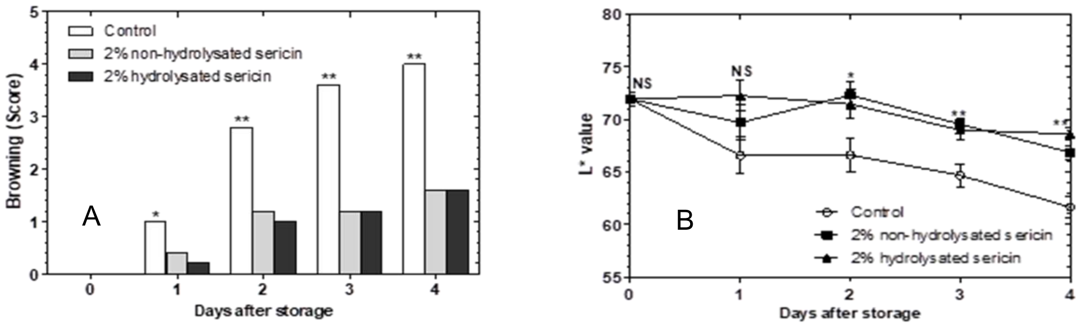



**Figure 1** Browning score (A) L* value (B) of fresh cut mango cv. Nam Dok Mai treated with non-hydrolysated sericin, hydrolysated sericin compared to non-treated mango (control) during storage at 10°C for 4 days.

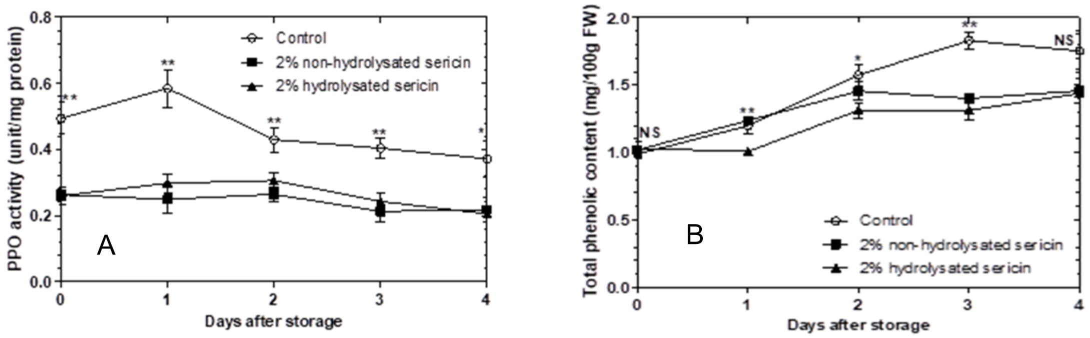



**Figure 2** Polyphenol oxidase (PPO) activity (A) Total phenolic contents (B) of fresh cut mango cv. Nam Dok Mai treated with non-hydrolysated sericin, hydrolysated sericin compared to non-treated mango (control) during storage at 10°C for 4 days.

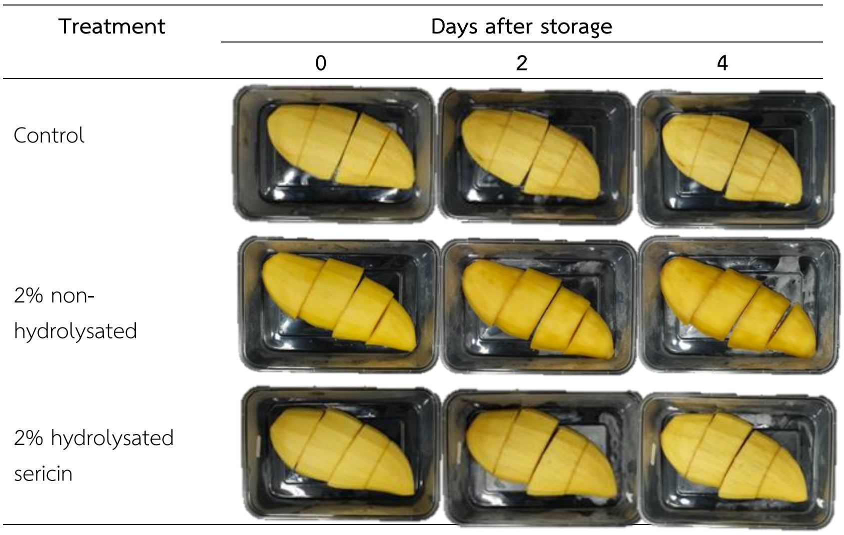



**Figure 3** Appearance of fresh cut mango cv. Nam Dok Mai treated with non-hydrolysated sericin, hydrolysated sericin compared to non-treated mango (control) during storage at 10°C for 4 days.

# ผลของสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่สกัดด้วยเอทานอลและเอทิลอะซิเตรตต่อการยับยั้งเชื้อราโรงเก็บในเมล็ดพันธุ์ทานตะวัน

# Inhibition Effect of Mangosteen Peel Extracts Using Ethanol and Ethyl Acetate on Storage Fungi in Sunflower Seeds

**นิภาดา ราญมีชัย[1] และ ทรงศิลป์ พจน์ชนะชัย[1,2]**
Ranmeechai, N. [1], and Photchanachai, S. [1,2]

## Abstract

Inhibition effect of mangosteen peel extracts using 95% ethanol and 99.5% ethyl acetate on storage fungi in sunflower seeds was studied. The sunflower seeds (with 5.38% moisture content) were mixed with 2% of the extracts, 0.15% carbendazim, 40% ethanol and compared to non-mixed seeds as a control. They were kept in polyethylene bags at room temperature (30±2°C, 75±5% RH). After mixing, the moisture content increased approximately by 2%, then slightly changed (0.15%-0.63%) after one month of storage. Thus, the extract and chemical treatments could delay infection and reduce contamination of fungi as compared to the control. Moreover, seed germination percentage, germination index and germination percentage after accelerated aging of the coated seeds were significantly higher than that of control. Therefore, the use of mangosteen peel extracts had a potential to delay infection and reduce the fungal contamination in sunflower seeds and did not affect germination and vigor.
**Keywords:** storage fungi, sunflower seed, mangosteen peel extracts, ethyl acetate

## บทคัดย่อ

การศึกษาผลของสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่สกัดด้วย 95% เอทานอลและ 99.5% เอทิลอะซิเตรตต่อการยับยั้งเชื้อราโรงเก็บในเมล็ดพันธุ์ทานตะวัน จากนั้นคลุกเมล็ดพันธุ์ทานตะวัน (ความชื้น 5.38%) ด้วยสารสกัดความเข้มข้น 2% เปรียบเทียบกับคาร์เบนดาซิม 0.15% เอทานอล 40% และเมล็ดไม่คลุกสาร (ชุดควบคุม) นำเมล็ดมาเก็บรักษาในถุงโพลีเอทิลีนที่อุณหภูมิห้อง (30±2 °C, 75±5% RH) จากผลการทดลองพบว่า หลังการคลุกสารทุกชนิดทำให้ความชื้นของเมล็ดพันธุ์เพิ่มขึ้นประมาณ 2% และเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย (0.15%-0.63%) หลังจากเก็บรักษานาน 1 เดือน การคลุกสารทุกชนิดช่วยชะลอการเข้าทำลายและลดการปนเปื้อนเชื้อราในเมล็ดพันธุ์ได้ อีกทั้งทำให้เปอร์เซ็นต์ความงอก ดัชนีการงอก และความงอกภายหลังการเร่งอายุ มีค่าสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญกับเมล็ดพันธุ์ชุดควบคุม ดังนั้น สารสกัดจากเปลือกมังคุดมีศักยภาพที่จะนำมาใช้ในการชะลอการเข้าทำลายของเชื้อราในเมล็ดพันธุ์ทานตะวันได้โดยไม่มีผลต่อความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ทานตะวัน
**คำสำคัญ:** เชื้อราโรงเก็บ, เมล็ดพันธุ์ทานตะวัน, สารสกัดจากเปลือกมังคุด, เอทิลอะซิเตรต

## คำนำ

ทานตะวัน (*Helianthus annuus* L.) เป็นพืชน้ำมันที่สำคัญทางเศรษฐกิจ มีน้ำมันในเมล็ดประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงถึง 88 เปอร์เซ็นต์ (Fernández-Martínez และคณะ, 2008) ตลาดมีความต้องการสูงจึงเป็นพืชทางเลือกหนึ่งของเกษตรกร แต่ปัญหาหลักที่มักพบในเมล็ดพันธุ์ทานตะวัน คือ การปนเปื้อนเชื้อราโรงเก็บ โดยส่วนใหญ่เป็นเชื้อรา *Aspergillus niger* และพบการปนเปื้อนตั้งแต่ในแปลงปลูกจนกระทั่งถึงโรงเก็บ ทำให้เมล็ดพันธุ์มีความงอกต่ำ (Patil และคณะ, 2018) ซึ่งจะเป็นปัญหาที่สร้างความเสียหายทั้งในระหว่างการเพาะปลูก อีกทั้งเมล็ดพันธุ์ที่ปนเปื้อนเชื้อราจะเสื่อมสภาพอย่างรวดเร็วในระหว่างการเก็บรักษา ทำให้เมล็ดพันธุ์มีคุณภาพต่ำกว่ามาตรฐานที่กำหนด ในปัจจุบัน มีวิธีการลดการปนเปื้อนเชื้อราที่นิยม คือ การคลุกเมล็ดด้วยสารคาร์เบนดาซิม แต่สารเคมีชนิดนี้มีอันตรายทั้งต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม เนื่องจากเป็นสารประเภท

[1]สาขาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (บางขุนเทียน) 49 ซอยเทียนทะเล 25 ถนนบางขุนเทียน-ชายทะเล แขวงท่าข้าม เขตบางขุนเทียน กรุงเทพฯ 10150
[1]Division of Postharvest Technology, School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi (Bangkhuntien), 49 Tientalay 25, Bangkhuntien-Chaithale Road, Thakam, Bangkhuntien, Bangkok 10150, Thailand.
[2]ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม กรุงเทพมหานคร 10400
[2]Postharvest Technology Innovation Center, Ministry of Higher Education, Science, Research and Innovation, Bangkok 10400, Thailand.

ดูดซึมจึงตกค้างในผลผลิตและสิ่งแวดล้อมนาน (สุนีย์, 2533) การนำสารสกัดจากเปลือกมังคุดมาใช้ลดการปนเปื้อนเชื้อราโรงเก็บเป็นอีกทางเลือกหนึ่ง อย่างไรก็ตาม การสกัดสารจากพืช ซึ่งมีองค์ประกอบของสารออกฤทธิ์ต่างกัน ดังนั้น การใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ จึงมีผลต่อชนิดและปริมาณสารออกฤทธิ์ที่ได้ มีรายงานว่า สารสกัดจากเปลือกมังคุดมีสารประกอบจำพวกฟีนอล ฟลาโวนอยด์ แอลฟา-แมงโกสทีน แซนโทน แทนนิน คาเทชินส์ และแอนโทไซยานิน ที่เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น สารต้านอนุมูลอิสระ สารต้านเชื้อราและแบคทีเรียได้ (Ibrahim และคณะ, 2016; Plainsirichai และคณะ, 2015; Boonrat และ Indranupakorn, 2015) ดังนั้น การใช้สารละลายเป็นตัวสกัดที่เหมาะสมจะทำให้ได้สารออกฤทธิ์ที่มีประสิทธิภาพต่างกัน งานวิจัยที่เกี่ยวกับการศึกษาสารสกัดจากเปลือกมังคุดต่อการยับยั้งเชื้อราโรงเก็บมีน้อย ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะนำเปลือกมังคุดมาสกัดด้วยเอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตรต 99.5% เพื่อนำมาใช้ควบคุมเชื้อราโรงเก็บเพื่อลดการใช้สารเคมี และศึกษาผลกระทบที่มีต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ทานตะวัน

## อุปกรณ์และวิธีการ

**การสกัดสารจากเปลือกมังคุด**

นำเปลือกมังคุดสดจำนวน 5 กิโลกรัม มาอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 °C (จนมีความชื้น 8.25%) แล้วนำมาบดหยาบ จากนั้นสกัดเปลือกมังคุดด้วยเอทานอล 95% (95% Ethanol; 95% EtOH) และเอทิลอะซิเตรต 99.5% (99.5% Ethyl acetate; 99.5% EA) ด้วยอัตราส่วน 1:4 (เปลือกมังคุดแห้ง 500 กรัม : สารตัวทำละลาย 2 ลิตร) แช่ไว้นาน 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (30±2 °C) จากนั้นนำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 ด้วยวิธี suction แล้วจึงนำส่วนใสไประเหยสารทำละลายออกด้วยเครื่อง evaporator แล้วนำกากของเปลือกมังคุดมาทำซ้ำจนครบ 3 ครั้ง ได้สารสกัดหยาบนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

**การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดเปลือกมังคุดต่อเชื้อราโรงเก็บ**

นำสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดความเข้มข้น 2% (2% MPE) ที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตรต 99.5% (99.5% EA) (T5) และเอทานอล 95% (95% EtOH) (T4) มาละลายด้วยเอทานอล 40% คลุกเมล็ดพันธุ์ทานตะวันในอัตรา 40 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัม เปรียบเทียบกับการคลุกด้วยคาร์เบนดาซิม 0.15% (0.15% Carbendazim) (T3) เอทานอล 40% (40% Ethanol; 40% EtOH) (T2) และเมล็ดไม่คลุกสาร (ชุดควบคุม) (Non-mixed) (T1) แล้วบรรจุลงในถุงโพลีเอทธิลีน เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30±2 °C, 75±5% RH) เป็นเวลา 1 เดือน จากนั้นนำมาวิเคราะห์ความชื้น ความงอก และความแข็งแรงของเมล็ด (ดัชนีการงอกและความงอกหลังการเร่งอายุ) (ISTA, 2007) และปริมาณการปนเปื้อนเชื้อราทั้งหมด ด้วยวิธี blotter วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 4 ซ้ำ นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) และการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Tukey’s HSD test โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ SPSS

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 2% ด้วยเอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตรต 99.5% เปรียบเทียบกับคาร์เบนดาซิม 0.15% เอทานอล 40% และเมล็ดไม่คลุกสาร ที่มีความชื้นเริ่มต้นเท่ากับ 5.38% ภายหลังการคลุกสาร พบว่า ความชื้นของเมล็ดเพิ่มขึ้นประมาณ 2% ในทุกทรีตเมนท์ (Table 1) เนื่องจากสารที่ใช้คลุกเมล็ดมีน้ำเป็นส่วนผสม แต่หลังจากการเก็บรักษาในถุงโพลีเอทธิลีน นาน 1 เดือน พบว่า ความชื้นลดลงเล็กน้อยประมาณ 0.15%-0.63% เนื่องจากคุณสมบัติของถุงโพลีเอทธิลีนสามารถช่วยชะลอการแลกเปลี่ยนความชื้นระหว่างภายในถุงกับบรรยากาศภายนอก และพบว่า สารจากทุกทรีตเมนท์ลดการปนเปื้อนเชื้อราทั้งหมดในเมล็ดได้ โดยสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 2% ที่สกัดด้วยเอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตรต 99.5% ลดการปนเปื้อนเชื้อราได้ไม่แตกต่างกัน และมีประสิทธิภาพดีกว่าทรีตเมนท์อื่น (Table 2) ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า การใช้ตัวทำละลายเอทานอลและเอทิลอะซิเตรตในการสกัด ทำให้ได้สารออกฤทธิ์ที่มีคุณสมบัติใกล้เคียงกัน มีรายงานว่า การสกัดสารแซนโทนทั้งหมดจากเปลือกมังคุดด้วยเอทานอลและเอทิลอะซิเตรตมีค่าไม่แตกต่างกัน (ประมาณ 27-30 mg/ml sample) (Kusmayadi และคณะ, 2018) แม้ว่าคุณสมบัติของสารตัวทำละลายที่ใช้จะแตกต่างกัน ในทางตรงกันข้าม สารสกัดจากเปลือกมังคุดที่แยกส่วนในชั้นเฮกเซนความเข้มข้น 4000 พีพีเอ็ม มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* และ *A. niger* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับชั้นเอทิลอะซิเตรตที่ความเข้มข้นเท่ากัน (สรารัตน์ และ ปณิดา, 2564) เนื่องจากสารสกัดจากเปลือกมังคุดมีสาร Xanthones ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราได้หลายชนิด เช่น *Rhizupus* sp., *A. niger*, *A. flavus*, *Penicillium* sp. และ *Fusarium roseum* เป็นต้น (Pedraza-Chaverri และคณะ, 2008) นอกจากนี้ จากการทดลองพบว่า สารสกัดจากเปลือกมังคุดมีผลทำให้ความงอก และความแข็งแรงของเมล็ดทานตะวัน (ดัชนีการงอก และเปอร์เซ็นต์ความงอกภายหลังการเร่งอายุ) มีค่าสูงกว่าเมล็ดพันธุ์ที่ไม่คลุกสาร (ชุดควบคุม) อย่างมีนัยสำคัญ (Table 1) งานวิจัยของ สรารัตน์ และ ปณิดา (2564) รายงานว่า สารสกัดจากเปลือกมังคุดที่นำมาแยกส่วนในชั้นเอทิลอะซิเตรตความ

เข้มข้น 500-1000 พีพีเอ็ม ทำให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดไม่แตกต่างจากเมล็ดไม่คลุกสาร

## สรุปผล

การคลุกเมล็ดพันธุ์ทานตะวันด้วยสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่สกัดด้วยเอทานอล 95% และเอททิลอะซิเตรต 99.5% ความเข้มข้น 2% อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัม มีประสิทธิภาพในลดการปนเปื้อนของเชื้อราโรงเก็บได้ดีเมื่อเทียบกับคาร์เบนดาซิม 0.15% เอทานอล 40% และเมล็ดไม่คลุกสาร และสารสกัดทั้งสองชนิดนี้มีประสิทธิในการลดการปนเปื้อนของเชื้อราไม่แตกต่างกัน รวมทั้งไม่ส่งผลกระทบต่อความงอกและความแข็งแรงของเมล็ด ซึ่งน่าจะมีศักยภาพในการนำไปใช้กับเมล็ดพันธุ์พืชชนิดอื่นได้

## คำขอบคุณ

เป็นงานวิจัยที่ได้รับทุนสนับสนุนนักวิจัยหลังปริญญาโท ภายใต้โครงการการบ่มเพาะนักวิจัยศักยภาพสูงเพื่อยกระดับอุตสาหกรรมฐานชีวภาพ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี และ United Graduate School of Agricultural Science (UGSAS), Gifu University ที่สนับสนุนเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์

## เอกสารอ้างอิง

สรารัตน์ มนต์ขลัง และ ปณิดา ดวงแก้ว, 2564, ประสิทธิภาพของสารสกัดจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดพันธุ์และผลต่อการงอกในเมล็ดข้าวโพด, วารสารแก่นเกษตร, Suppl. 1: 795-800.

สุนีย์ ธัญญูโนทัย, 2533, แนะนำสารป้องกันกำจัดโรคพืชคาร์เบนดาซิม, วารสารเคหการเกษตร, 14(6): 105-108.

Boonrat, C. and Indranupakorn, R., 2015, Influence of Extraction Techniques and Solvents on α-Mangosteen Amounts from Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) Pericarp, Thai Bulletin of Pharmaceutical Sciences, 10(2): 1-11.

Fernández-Martínez, J.M., Pérez-Vich, B. and Velasco, L., 2008, Sunflower. In Oil Crops (Eds. Vollmann, J. and Rajcan, I.), Sprinker: New York.

Ibrahim, M.Y., Mariod, A.A., Mohan, S., Hashim, N.M., Abdulla, M.A., Abdelwahab, S.I., Arbab, I.A. and Ali, L.Z., 2016, α-Mangostin from *Garcinia mangostana* Linn: An Updated Review of Its Pharmacological Properties, Arabian Journal of Chemistry, 9: 317-329.

ISTA, 2007, International Rules for Seed Testing Edition, published by the International Seed Testing Association , Switzerland.

Kusmayadi, A., Adriani, L., Abun, A., Muchtaridi, M., Tanuwiria, U.H., 2018, The Effect of Solvents and Extraction Time on Total Xanthone and Antioxidant Yields of Mangosteen Peel (*Garcinia mangostana* L.) Extract, Drug Invention Today, 10(12): 2572-2576.

Patil, A.C., Suryawanshi, A.P., Anbhule, K.A., Raner, R.B. and Hurule, S.S., 2018, Detection of Sunflower Seedborne Mycoflora and their Effect on Seed and Seedling Parameters, International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 6: 2509-2514.

Pedraza-Chaverri, J., Cárdenas-Rodríguez, N., Orozco-Ibarra, M. and Pérez-Rojas, J.M., 2008, Review: Medicinal Properties of Mangosteen (*Garcinia mangostana*). Food and Chemical Toxicology, 46: 3227-3239.

Plainsirichai, M., Prasomthong, N., Bussaman, P. and Wongsawas, M., 2015, Methanol, Ethanol, and Acetone Result in Non Different Concentration of Total Phenolic Content in Mangosteen (*Gacinia mangostana* L.) Peel, Journal of Agricultural Science, 7(2): 131-134.

**Table 1** Moisture content, germination percentage (%G), germination index (GI), germination after accelerate aging test (AA-test) of sunflower seed during storage for 1 month.

| Treatments | Moisture content (%) | | Germination (%) | | Germination index | | AA-test (%) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Storage time (months) | | | | | | | |
| | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| Non-mixed | 5.38 $^{c}$ | 5.23 $^{c}$ | 80.25 $^{b}$ | 79.50 $^{b}$ | 9.01 $^{b}$ | 9.19 $^{b}$ | 87.50 $^{ab}$ | 80.75 $^{b}$ |
| 40% EtOH | 7.19 $^{ab}$ | 6.77 $^{b}$ | 95.25 $^{a}$ | 95.25 $^{a}$ | 12.54 $^{a}$ | 13.75 $^{a}$ | 92.25 $^{a}$ | 88.00 $^{ab}$ |
| 0.15% Carbendazim | 7.67 $^{a}$ | 7.51 $^{a}$ | 96.50 $^{a}$ | 94.75 $^{a}$ | 14.01 $^{a}$ | 15.39 $^{a}$ | 92.50 $^{a}$ | 90.50 $^{a}$ |
| 2% MPE-95% EtOH | 7.03 $^{b}$ | 6.81 $^{b}$ | 95.25 $^{a}$ | 88.75 $^{a}$ | 13.34 $^{a}$ | 14.83 $^{a}$ | 85.00 $^{b}$ | 87.00 $^{ab}$ |
| 2% MPE-99.5% EA | 7.19 $^{ab}$ | 6.56 $^{b}$ | 96.75 $^{a}$ | 93.75 $^{a}$ | 13.75 $^{a}$ | 14.56 $^{a}$ | 85.75 $^{ab}$ | 83.00 $^{ab}$ |
| F-test | ** | ** | ** | ** | ** | ** | * | ** |
| $HSD_{0.05}$ | 0.51 | 0.56 | 6.12 | 8.09 | 1.72 | 1.66 | 7.08 | 7.60 |

Means followed by the different superscript letters within the *column (a-c)* are significantly different according to Tukey's HSD test ($p$≤0.05); * = significantly ($p$≤0.05); ** = significantly ($p$≤0.01).

**Table 2** Total fungal contamination of sunflower seeds during storage for 1 month.

| Treatments | Total fungal contamination (%) | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Day1 | | Day2 | | Day3 | | Day4 | | Day5 | |
| | Storage time (months) | | | | | | | | | |
| | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| Non-mixed | 3.00 $^{a}$ | 4.25 $^{a}$ | 100 $^{a}$ | 100 $^{a}$ | 100 $^{a}$ | 100 $^{a}$ | 100 $^{a}$ | 100 $^{a}$ | 100 $^{a}$ | 100 $^{a}$ |
| 40% EtOH | 0.50 $^{b}$ | 1.50 $^{b}$ | 8.50 $^{bc}$ | 3.75 $^{bc}$ | 18.00 $^{b}$ | 7.00 $^{c}$ | 30.00 $^{b}$ | 10.25 $^{c}$ | 34.75 $^{b}$ | 11.00 $^{c}$ |
| 0.15% Carbendazim | 0.75 $^{b}$ | 0.00 $^{b}$ | 9.00 $^{b}$ | 5.75 $^{b}$ | 17.25 $^{b}$ | 14.50 $^{b}$ | 28.00 $^{bc}$ | 19.50 $^{b}$ | 30.75 $^{bc}$ | 20.75 $^{b}$ |
| 2% MPE-95% EtOH | 0.25 $^{b}$ | 0.50 $^{b}$ | 4.00 $^{c}$ | 1.75 $^{c}$ | 11.50 $^{b}$ | 5.25 $^{c}$ | 18.25 $^{c}$ | 6.00 $^{c}$ | 22.25 $^{c}$ | 7.25 $^{c}$ |
| 2% MPE-99.5% EA | 0.50 $^{b}$ | 0.00 $^{b}$ | 4.00 $^{c}$ | 1.75 $^{c}$ | 11.75 $^{b}$ | 4.50 $^{c}$ | 18.25 $^{c}$ | 6.00 $^{c}$ | 19.75 $^{c}$ | 6.25 $^{c}$ |
| F-test | ** | ** | ** | ** | ** | ** | ** | ** | ** | ** |
| $HSD_{0.05}$ | 1.54 | 1.67 | 4.75 | 3.87 | 7.27 | 7.15 | 11.33 | 9.02 | 12.47 | 8.99 |

Means followed by the different superscript letters within the *column (a-c)* are significantly different according to Tukey's HSD test ($p$≤0.05); ** = significantly ($p$≤0.01).

# อิทธิพลของฤดูและความเข้มข้นของน้ำตาลต่อการติดเมล็ดและพัฒนาฝักของข้าวโพดหวานฮอกไกโด
# Effect of Season and Sugar Concentration on Kernel Set and Ear Development of 'Hokkaido' Sweet Corn

**กฤษณา บุญศิริ[1] พัชราภรณ์ สมศรี[1] สุทธิพงศ์ ร่มรื่น[1]และ กาญจนา เหลืองสุวาลัย[2]**
**Boonsiri, K.[1], Somsri, P.[1], RomRuen[1] S. and Luangsuvalai, K.[2]**

## Abstract

The effect of season and sugar concentration on kernel set and ear development of 'Hokkaido' sweet corn was conducted. The experiment was set up in factorial in RCBD with 4 replications and 2 factors ,1) season; rainy and late rainy and 2) method of pollination; hand pollination, spraying water and spraying 5 and 10% of sugar prior hand pollination. The treatment without hand pollination was a control. The results showed that season effected on ear weight, ear size and total soluble solids content (TSS). Growing in rainy season observed higher weight and bigger ear yield than that in late rainy but less TSS. Percentage of kernel set was found that ear yield in wet season was higher kernel set than late rainy. Applying water and sugar solution increased kernel set and score of fully developed ear in late rainy season. Spraying sugar did not affect the TSS of kernel.

**Keywords:** 'Hokkaido' sweet corn, hand pollination, sugar solution

## บทคัดย่อ

การศึกษาอิทธิพลของฤดูและความเข้มข้นของน้ำตาลต่อการติดเมล็ดและพัฒนาฝักข้าวโพดหวานฮอกไกโด วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อคสมบูรณ์ จัดสิ่งทดลองแบบแฟคทอเรียล มี 4 ซ้ำ สองปัจจัยคือ ฤดูปลูก (ฤดูฝน และปลายฤดูฝน ) และวิธีการผสมเกสร (การช่วยผสมเกสร การพ่นน้ำก่อนช่วยผสมเกสร พ่นสารละลายน้ำตาลความเข้มข้น 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ก่อนการช่วยผสมเกสร โดยการผสมเกสรตามธรรมชาติเป็นสิ่งทดลองควบคุม) ผลการทดลองพบว่าฤดูปลูกมีผลต่อน้ำหนักฝัก ขนาดฝัก และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ โดยการปลูกในฤดูฝนให้น้ำหนักฝักและขนาดฝักมากกว่าการปลูกในปลายฤดูฝนแต่มีความหวานน้อยกว่า ส่วนเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดพบว่าฝักที่ปลูกในฤดูฝนมีการติดเมล็ดมากกว่าฝักในปลายฤดูฝน การให้น้ำและสารละลายน้ำตาลในปลายฤดูฝนช่วยให้มีการติดเมล็ดและมีคะแนนความสมบูรณ์ของฝักเพิ่มขึ้น แต่สารละลายน้ำตาลไม่มีผลต่อความหวานของข้าวโพด

**คำสำคัญ:** ข้าวโพดหวานฮอกไกโด การช่วยผสมเกสร สารละลายน้ำตาล

## คำนำ

ข้าวโพดหวานเป็นพืชอาหารเศรษฐกิจที่มีความสำคัญของประเทศไทย ข้าวโพดหวานเป็นพืชอายุสั้นให้ผลตอบแทนค่อนข้างสูง สามารถจำหน่ายได้ทั้งตลาดบริโภคสดและส่งโรงงานอุตสาหกรรมบรรจุกระป๋องเพื่อนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ข้าวโพดหวาน เช่น ซุปข้าวโพด เมล็ดข้าวโพดในน้ำเกลือ และน้ำนมข้าวโพด ปัจจุบันมีการพัฒนาข้าวโพดหวานสายพันธุ์ใหม่ๆ เพิ่มมากขึ้น เช่น ข้าวโพดหวานที่สามารถบริโภคสดได้โดยไม่ต้องทำให้สุกก่อน (นิรนาม, 2562) ข้าวโพดหวานสายพันธุ์เพียวไวท์ฮอกไกโดซึ่งมีเมล็ดสีขาวที่นำเมล็ดมาจากประเทศญี่ปุ่น เป็นข้าวโพดหวานรับประทานสดที่นิยมปลูกในประเทศไทยเนื่องจากมีรสชาติหวาน ผลผลิตข้าวโพดหวานที่มีคุณภาพดีต้องเมล็ดเต็มฝักซึ่งเป็นผลมาจากการผสมเกสรที่สมบูรณ์ โดยสาเหตุของการผสมเกสรที่ไม่สมบูรณ์อาจเกิดจากสภาพอากาศไม่เหมาะสม อากาศที่ร้อนหรือความชื้นต่ำทำให้ไหม (silk) เหี่ยวหรือแห้งก่อนที่จะรับละอองเรณู ไหมหรือก้านชูเกสรเพศเมีย มีลักษณะเป็นเส้นยาวและมีขน (trichrome) ทำหน้าที่ในการจับละอองเกสรเพศผู้ (Nielson, 2020) ไหมของข้าวโพดหวานมีน้ำเป็นองค์ประกอบ 89 เปอร์เซ็นต์ (Senphan และคณะ, 2019) ดังนั้นความชื้นของไหมมีผลต่อการถ่ายละอองเรณู การปฏิสนธิของเมล็ดข้าวโพด การติดเมล็ดและการพัฒนาฝักที่ดีขึ้น (Anderson *et al.*, 2004) จากการวิจัยที่ผ่าน

[1] วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีนครสวรรค์ อ.เมือง จ.นครสวรรค์ 60000
Nakhonsawan College of Agriculture and Technology, Ampore Mueng, Nakhonsawan 60000
[2] คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา 1061 ถนนอิสรภาพ เขตธนบุรี กรุงเทพฯ 10600
Faculty of Science and Technology Rajabhat Bansomdejchaopraya University 1061 Issaraphap Street Thonbury District Bangkok 10600

มาพบว่าการฉีดพ่นสารละลายน้ำตาลและนมผงช่วยเพิ่มการติดผลและการหลุดร่วงของผลมะม่วงนอกฤดูผล (นิรนาม, 2563) ในการวิจัยนี้มุ่งศึกษาผลของฤดูและระดับความเข้มข้นของน้ำตาลที่เหมาะสมเพื่อช่วยในการผสมเกสรที่ส่งผลต่อการติดเมล็ดของข้าวโพดหวานฮอกไกโด เพื่อให้ได้แนวทางอันเป็นประโยชน์ต่อการเพิ่มผลผลิตและคุณภาพของข้าวโพดหวานรับประทานสด

## อุปกรณ์และวิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ RCBD จัดสิ่งทดลองแบบแฟคทอเรียลประกอบด้วย 2 ปัจจัย คือ 1) ฤดู (ฤดูฝน เดือนมิถุนายน ถึง สิงหาคม และปลายฤดูฝน เดือนกันยายน ถึง พฤศจิกายน 2562) และ 2) วิธีการผสมเกสร ได้แก่ การช่วยผสมเกสร การให้น้ำ การให้สารละลายน้ำตาลความเข้มข้น 5 และ 10 % ก่อนการช่วยผสมเกสร และการผสมเกสรตามธรรมชาติเป็นสิ่งทดลองควบคุม การทดลองมี 4 ซ้ำ โดยเพาะเมล็ดข้าวโพดหวานฮอกไกโดในถาดเพาะ เมื่ออายุต้นกล้า 5 วันหลังจากงอก ย้ายปลูกลงในแปลงขนาด 1x1.6 เมตร ระยะปลูก 75x20 ซม. ใส่ปุ๋ยรองพื้นสูตร 16-16-16 ปริมาณ 5 กรัมต่อต้น ใส่ปุ๋ยสูตร 46-0-0 ปริมาณ 5 กรัมต่อต้น ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์อัดเม็ด อัตรา 25 กรัมต่อต้น หลังย้ายกล้า 14 วัน และใส่ปุ๋ยสูตร 16-16-16 ปริมาณ 5 กรัมต่อต้นร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์อัดเม็ด อัตรา 25 กรัมต่อต้น หลังย้ายกล้า 29 วัน เมื่อต้นอายุได้ 37 วันหลังย้ายกล้า ใส่ปุ๋ยสูตร 8-24-24 ปริมาณ 5 กรัมต่อต้นร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์อัดเม็ด อัตรา 25 กรัมต่อต้น เมื่อข้าวโพดอายุประมาณ 40 วันหลังจากเพาะเมล็ด จะสังเกตเห็นไหมหรือยอดเกสรเพศเมียยาวประมาณ 1 ซม. จึงทำการฉีดพ่นน้ำหรือพ่นสารละลายน้ำตาลความเข้มข้น 5 และ 10 % แล้วผสมเกสร ซึ่งการผสมเกสรตามธรรมชาติเป็นสิ่งทดลองควบคุม เก็บเกี่ยวฝักข้าวโพดที่อายุ 20 วันหลังจากผสมเกสร บันทึกน้ำหนักฝักก่อนและหลังปอกเปลือก ขนาดฝัก ความหวานและความสมบูรณ์ของฝัก (kernel set) ให้คะแนนเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยฝักที่เมล็ดติดเต็มพื้นที่ทั้งหมดของฝักให้คะแนน 100 % ส่วนฝักที่เมล็ดติดประมาณ 1 ใน 4 ของฝัก ให้คะแนน 70 % (Figure 1)

## ผลการทดลอง

น้ำหนักและขนาดของฝักแตกต่างกันใน 2 ฤดูปลูก โดยการปลูกในฤดูฝนให้น้ำหนักฝักทั้งเปลือก (276.38 – 320.25 กรัม) น้ำหนักฝักปอกเปลือก (190.50 -235.75 กรัม) เส้นผ่าศูนย์กลางของฝัก (4.52 -4.78 ซม.) ความยาวของฝัก (18.43 -19.21 ซม.) มากกว่าการปลูกในปลายฤดูฝน ส่วนการให้น้ำและสารละลายน้ำตาลไม่มีผลต่อน้ำหนักและขนาดของข้าวโพดหวานฮอกไกโด และไม่มีปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างการให้สารละลายกับฤดูปลูก (Table 1) สำหรับความหวาน (TSS) พบว่ามีความแตกต่างกันใน 2 ฤดู โดยการปลูกในฤดูฝนมีค่าความหวานอยู่ระหว่าง 16.50-18.00 องศาบริกซ์ ซึ่งต่ำกว่าการปลูกในปลายฤดูฝนเล็กน้อย (17.88-19.38 องศาบริกซ์) ส่วนการให้น้ำและสารละลายน้ำตาลไม่มีผลต่อความหวาน และไม่มีปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างฤดูปลูกกับการให้สารละลายน้ำตาล ด้านความสมบูรณ์ของฝักมีความแตกต่างกันทั้ง 2 ฤดูปลูก การปลูกในฤดูฝนมีการติดเมล็ดมากกว่าในปลายฤดูฝน โดยมีค่าคะแนนความสมบูรณ์ของฝักระหว่าง 86.95-96.10 ส่วนการปลูกในปลายฤดูฝนมีคะแนนความสมบูรณ์ระหว่าง 72.50-94.00 และมีปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างฤดูปลูกกับการให้สารละลาย โดยการปลูกในปลายฤดูฝนร่วมกับให้น้ำและสารละลายน้ำตาลให้ฝักที่มีความสมบูรณ์ของฝักมากกว่า (Table 2)

## วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองพบว่าฤดูปลูกมีปฏิกิริยาสัมพันธ์กับน้ำหนักและขนาดของฝัก ฤดูปลูกส่งผลต่อการสังเคราะห์แสง การสร้างอาหาร และการเจริญเติบโตของต้น ทำให้มีขนาดผลผลิตที่แตกต่างกัน โดยต้นข้าวโพดที่ปลูกในฤดูฝนมีความสูงมากกว่าต้นข้าวโพดที่ปลูกปลายฤดูฝน ส่งผลให้ฝักมีขนาดใหญ่กว่า (ไม่ได้แสดงข้อมูล) สอดคล้องกับการทดลองของ Buriro และคณะ (2015) ที่พบว่าต้นข้าวโพดที่ปลูกในเดือนตุลาคม มีความสูงมากกว่าและให้ขนาดฝักใหญ่กว่าต้นข้าวโพดที่ปลูกในเดือนพฤศจิกายน ส่วนฤดูปลูกมีผลต่อความหวานของข้าวโพดหวานฮอกไกโด จากการวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ พบว่าการปลูกในฤดูฝนมีความหวานน้อยกว่าการปลูกในปลายฤดูฝน ความหวานของพืชเกี่ยวข้องกับปริมาณน้ำและความชื้นของสภาพการเพาะปลูก การปลูกพืชใสภาพที่มีความชื้นน้อยจะมีความหวานมากกว่าการปลูกในที่มีสภาพความชื้นสูง (รัตติกาลและคณะ, 2564) สำหรับความสมบูรณ์ของฝัก พบว่าปลายฤดูฝนมีความสมบูรณ์ของฝักน้อยกว่าฤดูฝน และการให้น้ำและสารละลายน้ำตาลช่วยให้คะแนนความสมบูรณ์ของฝักเพิ่มขึ้น อาจเนื่องจากความชื้นและน้ำตาลมีส่วนช่วยในการงอกของเรณูข้าวโพดหวาน (พรชัยและคณะ, 2562)

## สรุปผล

ฤดูมีผลต่อการพัฒนาขนาดและน้ำหนักของฝักข้าวโพดหวาน และการให้น้ำและสารละลายน้ำตาลช่วยส่งเสริมให้มีถ่ายละอองเรณูมากขึ้นในปลายฤดูฝน ส่งผลให้มีการพัฒนาฝักที่สมบูรณ์มากขึ้น

**คำขอบคุณ**

ขอขอบคุณวิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีนครสวรรค์ให้เงินทุนสนับสนุนในการวิจัย

**เอกสารอ้างอิง**

นิรนาม, 2562, เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวานสีขาว Pure White [สืบค้น],http://cat-seeds-preorder.blogspot.com/2016/01/pre-order-pure-white.html [25/May/19].

นิรนาม, 2563, เปิด 3 เทคนิคง่ายๆ เพิ่มผลผลิตมะม่วงนอกฤดู ขายได้ราคาดีเท่าตัว, เส้นทางเศรษฐีออนไลน์, [สืบค้น], https://www.sentangsedtee.com/farming-trendy/article_139745 [1/May/21].

พรชัย หาระโคตร จุฬารัตน์ หมื่นสุข เยาวพา จิระเกียรติกุล และพลัง สุริหาร, 2562, ความมีชีวิตและการเก็บรักษาเรณูในเชื้อพันธุกรรมข้าวโพดหวานพิเศษจากเขตอบอุ่น, วารสารแก่นเกษตร, 47(4):705-714.

รัตติกาล เสนน้อย ฐิติพร ต่ายสันเทียะ และวรากร อ่อนนนท์, 2564, อิทธิพลของฤดูปลูกต่อการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตของแก่นตะวันพันธุ์อายุสั้น, วารสารเกษตรพระจอมเกล้า, 39(1): 57-64.

Anderson, S.R., Lauer, M.J., Schoper, J.B. and Shibles, R., 2004, Pollination Timing Effects on Kernel Set and Silk Receptivity in Four Maize Hybrids, Crop Science, 44(2): 464-493.

Buriro, M., Bhutto, T.A., Gandahi, A.W., Kumbhar, I.A., and Shar, M.U., 2015, Effect of Sowing Dates on Growth, Yield and Grain Quality of hybrid Maize, Journal of Basic and Applied Sciences, 11: 553-558

Nielsen, R.L., 2020, Silk Development and Emergence in Corn, Corney News Network, Purdue Extension [Online], Available at http://www.kingcorn.org/news/timeless/Silks.html [May 1, 2021].

Senphan T., Yakong, N., Aurtae, K., Songchanthuek, S., Choommongkol, V., Fungpaiboon, N., Phing, P.L. and Yarnpakdee, S. , 2019, Comparative Studies on Chemical Composition and Antioxidant activity of Corn Silk from Two Varieties of Sweet Corn and Purple waxy Corn as Influenced by Drying Methods, Food and Applied Bioscience Journal, 7(3): 64-80.

**Table 1** Effect of season and method of pollination on ear weight (g.) and ear size (cm.)

| Treatment | | Ear weight (g.) | | Ear size (cm.) | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | husk | unhusk | diameter | length |
| A : rainy season | B: control | 276.38 a | 190.50 a | 4.52 a | 18.43 a |
| | hand pollination | 304.63 a | 213.63 a | 4.55 a | 19.07 a |
| | water | 320.25 a | 235.75 a | 4.78 a | 19.21 a |
| | 5 % sugar | 286.88 a | 209.63 a | 4.47 a | 18.60 a |
| | 10 % sugar | 316.25 a | 220.63 a | 4.59 a | 18.52 a |
| A: late rainy | B: control | 157.88 b | 113.88 b | 3.79 b | 14.65 b |
| | hand pollination | 162.38 b | 119.25 b | 3.83 b | 15.06 b |
| | water | 159.63 b | 118.88 b | 3.85 b | 15.09 b |
| | 5 % sugar | 210.00 b | 164.00 b | 4.11 b | 16.89 b |
| | 10 % sugar | 201.13 b | 155.25 b | 4.11 b | 16.72 b |
| A | | * | * | * | * |
| B | | ns | ns | ns | ns |
| A x B | | ns | ns | ns | ns |
| C.V. (%) | | 12.89 | 15.71 | 6.33 | 6.33 |

Means within the same column followed by the same letter(s) are not significantly different at 5% level

**Table 2** Effect of season and method of pollination on TSS (°brix) and kernel set (%)

| Treatment | | TSS (°brix) | Kernel set (%) |
|---|---|---|---|
| A : rainy season | B: control | 16.50 b | 86.95 bcd |
| | hand pollination | 17.75 ab | 93.58 ab |
| | water | 17.63 ab | 93.20 abc |
| | 5 % sugar | 18.00 ab | 94.00 a |
| | 10 % sugar | 17.88 ab | 96.10 a |
| A: late rainy | B: control | 18.38 a | 72.50 e |
| | hand pollination | 18.13 a | 83.88 d |
| | water | 17.88 ab | 86.63 cd |
| | 5 % sugar | 19.13 a | 93.00 abc |
| | 10 % sugar | 19.38 a | 94.00 a |
| A | | * | * |
| B | | ns | * |
| A x B | | ns | * |
| C.V. (%) | | 4.47 | 4.77 |

Means within the same column followed by the same letter(s) are not significantly different at 5% level

**Kernel set** **100 %** **90 %** **80 %** **70%**

**Fig. 1** Score of kernel set from 100 to 70 percent

# การชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนข้อพลูคาวในสภาพหลอดทดลองเพื่อการผลิตพืชสมุนไพรอย่างมีคุณภาพ
# *In Vitro* Multiple Shoot Induction from Nodal Explants of *Houttuynia cordata* Thunb to Improve Medicinal Plant Production Quality

วรารัตน์ ศรีประพัฒน์[1*] ประกาย อ่อนวิมล[1] ภุมรินทร์ วณิชชนานันท์[1] สุพินญา บุญมานพ[2]
Sriprapat, W.[1*], Onwimol, P.[1], Wanichananan, P.[1] and Boonmanop, S.[2]

## Abstract

Plant tissue culture technique for medicinal plant; *Houttuynia cordata* Thunb, is considered to be the most efficient technology for large scale plant multiplication for improving the production process as in pharmaceutical industry. In this work, the most effective treatment for sterilization of *H. cordata* was evaluated and the effect of plant growth regulators on shoot multiplication was also studied. Among four sterilizing processes used in this experiment, the results showed that the maximum percentage of clean and alive nodal (95%) was observed when using 95% ethanol for 1 minute, followed by 15% Clorox for 15 minutes, and then followed by 5% Clorox for 5 minutes. Furthermore, after cultured the sterilized explants on MS medium supplemented with 0–4.0 mg·L$^{-1}$ BA for 45 days. The highest number of shoots regenerated (4.15±0.90 shoots/explant) were observed on MS medium supplemented with 1.0 mg·L$^{-1}$ BA.

**Keywords:** *Houttuynia cordata* Thunb, Plant tissue culture, Sterilization, Plant growth regulator

## บทคัดย่อ

การขยายพันธุ์สมุนไพรพลูคาวโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถเพิ่มปริมาณต้นให้เพียงพอต่อความต้องการเพื่อรองรับอุตสาหกรรมการผลิตสมุนไพรอย่างมีคุณภาพ งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อและผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพลูคาว ซึ่งพบว่าวิธีการฟอกฆ่าเชื้อส่วนข้อที่เหมาะสม คือ การใช้เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที ตามด้วยคลอร็อกซ์ 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาที และตามด้วยคลอร็อกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที ซึ่งทำให้ได้ข้อที่ปลอดเชื้อและสามารถพัฒนาเจริญเป็นต้นอ่อนได้ดีที่สุดถึง 95 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำชิ้นส่วนที่ปลอดเชื้อไปเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิด BA ความเข้มข้น 0–4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 45 วัน พบว่าการใช้ BA ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้จำนวนยอดเฉลี่ยเพิ่มขึ้นมากที่สุด (4.15±0.90 ยอดต่อข้อ)

**คำสำคัญ:** พลูคาว การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช การฟอกฆ่าเชื้อ สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช

## คำนำ

พลูคาว (*Houttuynia cordata* Thunb.) เป็นสมุนไพรที่มีความสำคัญซึ่งในปัจจุบันอุตสาหกรรมการผลิตยา เครื่องสำอาง รวมทั้งอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์อาหารเสริมและเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพได้ให้ความสนใจ เนื่องจากพลูคาวสามารถแปรรูปเป็นยารักษาโรคต่างๆ ได้ เช่น ยายับยั้งแบคทีเรียและไวรัส ยาขับปัสสาวะ ยาลดอาการบวมน้ำ ยาแก้โรคผิวหนัง และแก้ผื่นคัน เป็นต้น (Chen และคณะ, 2011) สารพฤกษ์เคมีหรือสารสำคัญที่พบในพลูคาว ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ สเตอรอยด์ แอลคาลอยด์ กรดอินทรีย์ กรดไขมัน กรดอะมิโน และน้ำมันหอมระเหย เป็นต้น (Fu และคณะ, 2013) ซึ่งสารพฤกษ์เคมีที่พบในพลูคาวนี้มีฤทธิ์ต้านการติดเชื้อไวรัส ต้านการเกิดอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ป้องกันหลอดเลือดฝอยแตก และยังสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง (Wangchauy และ Chanprasert, 2012) อย่างไรก็ตามเป็นที่ทราบกันดีว่าปริมาณสารพฤกษ์เคมีหรือสำคัญในพืชมักแปรผันตามสภาพแวดล้อมหรือพื้นที่เพาะปลูก ในปัจจุบันจึงได้มีการประยุกต์ใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการผลิตสารสำคัญในพืช ซึ่งทำให้การผลิตสารสำคัญสามารถทำได้อย่างต่อเนื่องเพื่อทดแทนการผลิตสารจากการเพาะปลูกพืชตาม

[1] กลุ่มวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร เลขที่ 85 หมู่ 1 ถ.รังสิต-นครนายก ต.รังสิต อ.ธัญบุรี จ.ปทุมธานี 12110
[1] Agricultural Biotechnology Research Group, Biotechnology Research and Development Office, Department of Agriculture, 85 Sirindhorn plant genetic resources building, rangsit-nakhon nayok Rd., Thanyaburi, Pathum Thani 12110, Thailand
[2] กลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร 50 ถ.พหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
[2] Genebank Research and Development Group, Biotechnology Research and Development Office, Department of Agriculture, 50 Phahonyothin Rd., Ladyao, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

ธรรมชาติ (วราภรณ์, 2551) อย่างไรก็ตามแม้ว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจะสามารถขยายพันธุ์พืชได้อย่างรวดเร็ว แต่การจะทำให้ชิ้นส่วนพืชบางชนิดปลอดจุลินทรีย์ก่อนนำมาเพาะเลี้ยงนั้นทำได้ยาก เนื่องจากชิ้นส่วนตาข้างอาจมีซอกระหว่างก้านใบกับลำต้นหรือมีขนปกคลุม การฟอกฆ่าเชื้อ (surface sterilization) จึงเป็นกระบวนการหนึ่งที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยสารฟอกฆ่าเชื้อจะกำจัดหรือลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์จากผิวของเนื้อเยื่อเพื่อไม่ให้มีการเจริญเติบโตและสร้างความเสียหายแก่การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งปัจจัยที่สำคัญที่มีผลต่อความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้แก่สารควบคุมการเจริญเติบโต (growth regulators) ซึ่งในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นมักมีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในอาหารเพาะเลี้ยงเพื่อให้มีผลต่อการชักนำให้ชิ้นส่วนพืชพัฒนาเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ได้จำนวนมากและรวดเร็วขึ้น (Phetkhong และคณะ, 2010) ดังนั้นงานวิจัยนี้จะพัฒนากระบวนการผลิตพืชสมุนไพรพลูคาวสายพันธุ์ไทยในสภาพปลอดเชื้อเพื่อให้ได้พืชสมุนไพรที่มีคุณภาพ ปราศจากการปนเปื้อนสารพิษและสิ่งเจือปน ซึ่งจะเป็นทางเลือกในการปลูกพืชที่มีประสิทธิภาพเพื่อการวิจัยและพัฒนารวมทั้งควบคุมคุณภาพมาตรฐานในการผลิตสมุนไพรพลูคาวในเชิงพาณิชย์ต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

### การศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพลูคาว

คัดเลือกต้นพลูคาวก้านม่วงสายพันธุ์ไทยที่มีความสมบูรณ์ปราศจากโรคและศัตรูพืชที่มีอายุ 6 เดือน จากนั้นตัดชิ้นส่วนบริเวณปลายยอดและข้อออกมาจากกระถางเพาะเลี้ยง นำชิ้นส่วนพืชที่ตัดได้มาล้างด้วยน้ำสะอาด 2 ครั้ง ตัดใบส่วนเกินแล้วนำมาล้างทำความสะอาดเอาเศษดินที่ติดมาออกด้วยน้ำยาล้างจาน จำนวน 1 ครั้ง และล้างน้ำไหลผ่าน เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำชิ้นส่วนพืชมาตัดเป็นท่อนสั้นๆ ทำความสะอาดชิ้นส่วนข้อและยอดพลูคาวโดยใช้สารฟอกฆ่าเชื้อและเวลาในการทำความสะอาดแตกต่างกัน โดยวางแผนการทดลองแบบ RCBD มี 4 กรรมวิธี 20 ซ้ำ โดย 1 หน่วยการทดลอง คือ 1 ขวดเพาะเลี้ยง ได้แก่

<u>กรรมการวิธีที่ 1</u> ฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชด้วยคลอร็อกซ์ 15 เปอร์เซ็นต์ 15 นาที

<u>กรรมการวิธีที่ 2</u> ฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชด้วยคลอร็อกซ์ 15 เปอร์เซ็นต์ 15 นาที และคลอร็อกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ 5 นาที

<u>กรรมการวิธีที่ 3</u> ฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชด้วยแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ 1 นาที จากนั้นนำไปฟอกฆ่าเชื้อต่อด้วยคลอร็อกซ์ 15 เปอร์เซ็นต์ 15 นาที และคลอร็อกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ 5 นาที

<u>กรรมการวิธีที่ 4</u> ฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชด้วยแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ 5 นาที จากนั้นนำไปฟอกฆ่าเชื้อต่อด้วยคลอร็อกซ์ 15 เปอร์เซ็นต์ 15 นาที และคลอร็อกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ 5 นาที

ซึ่งทุกทรีตเมนต์เติมสาร Tween20 เพื่อลดแรงตึงผิว จากนั้นเมื่อครบตามเวลาที่กำหนดนำชิ้นส่วนไปล้างด้วยน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที ตัดชิ้นส่วนเนื้อเยื่อที่ตายออกแล้วตัดชิ้นส่วนข้อให้ได้ความยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร จากนั้นนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกจำนวนชิ้นที่ปราศจากการปนเปื้อนและสามารถพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ นำผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี ANOVA และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์โดยวิธี Tukey's HSD test

### การทดสอบประสิทธิภาพของ BA ในการชักนำให้เกิดยอด

นำต้นพลูคาวที่อยู่ในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารสูตร MS อายุ 2 เดือน มาตัดใบและปลายยอดออกให้หมดแล้วตัดแยกเป็นข้อเดี่ยว ๆ นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 0, 1.0, 2.0, 3.0, และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร วางแผนการทดลองแบบ RCBD โดยแต่ละทรีทเมนต์มี 3 ซ้ำ โดย 1 หน่วยการทดลอง คือ 7 ขวดเพาะเลี้ยง ในทุกสูตรอาหารเติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น 2.5 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในสภาพที่มีแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 วัน บันทึกผลโดยนับจำนวนยอดและบันทึกลักษณะยอดที่เกิดขึ้น จากนั้นวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการทดลองด้วยวิธี ANOVA และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์โดยวิธี Tukey's HSD test

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การฟอกฆ่าเชื้อสมุนไพรพลูคาวก้านม่วงสายพันธุ์ไทยด้วยกรรมวิธีต่างๆ พบว่าแต่ละกรรมวิธีส่งผลให้เนื้อเยื่อพืชมีเปอร์เซ็นการปลอดเชื้อและการพัฒนาที่แตกต่างกัน โดยวิธีการฟอกฆ่าเชื้อข้อพลูคาวที่เหมาะสมคือการใช้เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที ตามด้วยคลอร็อกซ์ 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาที และคลอร็อกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที ซึ่งจะทำให้ได้ข้อที่ปลอดเชื้อและสามารถพัฒนาเจริญเป็นต้นอ่อนได้ดีที่สุดถึง 95 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 8 สัปดาห์ พืชจะมีจำนวนใบต่อต้นเท่ากับ 3.80±1.01 ใบ (Figure 1) เทียบกับกรรมวิธีอื่นๆ มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมัน

95% (Table 1) อย่างไรก็ตามหากใช้เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที ตามด้วยคลอร็อกซ์ 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาที และคลอร็อกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที จะมีผลให้ได้ข้อที่ปลอดเชื้อถึง 95 เปอร์เซ็นต์ เช่นกัน แต่เนื้อเยื่อพืชที่เพาะเลี้ยงได้จะมีการพัฒนาที่ต่ำกว่า โดยเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 8 สัปดาห์ พืชจะมีจำนวนใบต่อต้นเพียง 1.75±1.29 ใบ ดังนั้นประสิทธิภาพของการฟอกฆ่าเชื้อจะขึ้นอยู่กับระยะเวลาและปริมาณความเข้มข้นของสารที่ใช้ เนื่องจากใบต้นพลูคาวมีลักษณะซ้อนกันมีซอกใบจำนวนมากทำให้น้ำยาที่ใช้ฟอกเข้าไปไม่ทั่วถึง ถ้าใช้เวลาในการฟอกน้อยเกินไปทำให้มีจุลินทรีย์ จำพวกแบคทีเรียและเชื้อราหลงเหลืออยู่ ทำให้อัตราการปราศจากเชื้อค่อนข้างต่ำ แต่ถ้าใช้เวลาในการฟอกนานเกินไปทำให้ยอดอ่อนจะเกิดสีน้ำตาลและตายได้จึงส่งผลให้อัตราการรอดชีวิตค่อนข้างต่ำหรืออาจส่งผลต่อการพัฒนาของเซลล์และเนื้อเยื่อของพลูคาวได้ นอกจากนี้ในเนื้อเยื่อพืชเองก็มีอาจมีเชื้อเอนโดไฟต์ที่เป็นแบคทีเรียหรือเชื้อราเจริญเติบโตอยู่ในเนื้อเยื่อพืชซึ่งไม่ก่อให้เกิดอาการของโรคพืช โดยเชื้อเอนโดไฟต์เหล่านี้มักก่อให้เกิดปัญหาในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Ulrich และคณะ, 2008) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องทำการจัดการที่เหมาะสมเพื่อลดปัญหาการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ของชิ้นส่วนหรือต้นพืช

จากการศึกษาหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสมุนไพรพลูคาวก้านม่วงสายพันธุ์ไทยให้เกิดยอดจานวนมากบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วย BA ที่ความเข้มข้น 0, 1.0, 2.0, 3.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 45 วัน พบว่าสูตรอาหาร MS ที่ประกอบด้วย BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้ได้ยอดจำนวนมากที่สุด เมื่อเทียบกับกรรมวิธีอื่นๆ มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (Table 2) โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 4.15±0.90 ยอดต่อข้อ (Table 2 และ Figure 2A) อย่างไรก็ตามเมื่อชักนำให้เกิดยอดโดยใช้ BA ที่ความเข้มข้น 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าจำนวนยอดจะลดลง และที่ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ลักษณะลำต้นจะแคระแกร็นไม่สูงและบางตัวอย่างไม่สามารถเกิดยอดได้อย่างชัดเจน พืชไม่สามารถพัฒนาใบและรากที่สมบูรณ์ได้ (Figure 2B) รากมีลักษณะผิดปกติคือสั้นเป็นปุ่มปม ดังนั้นการใช้ BA ที่ความเข้มข้นสูงอาจส่งผลเกิดสารตกค้างภายในเนื้อเยื่อพืชได้ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยเกี่ยวกับการใช้สารสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน โดยพบว่าการใช้ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินต่ำในช่วงของการชักนำให้เกิดยอดมีผลทำให้ต้นอ่อนเกิดรากได้ดีกว่าการใช้ไซโตไคนินความเข้มข้นสูงในการชักนำยอด (Saunders และ Bingham, 1975; นัฎฐา และคณะ, 2561)

## สรุปผล

เทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อต้นพลูคาวที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดคือการใช้เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที ตามด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรด์ 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาที และตามด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรด์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที และสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิด BA ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้สามารถชักนำให้เกิดยอดจำนวนเฉลี่ยเพิ่มขึ้นมากที่สุด เท่ากับ 4.15±0.90 ยอดต่อข้อ

## คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากกองทุนส่งเสริม ววน. ทะเบียนวิจัยกรมวิชาการเกษตร 03-10-59-03-00-00-07-64

## เอกสารอ้างอิง

วราภรณ์ ภูตะลุน, 2551, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสมุนไพร: แนวทางการศึกษาเพื่อผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา, สำนักพิมพ์ขอนแก่นพิมพ์พัฒนา, ขอนแก่น, 120 หน้า.

นัฏฐา นิตย์วัฒนกุล นิภาวัลย์ แหมไธสง และอารักษ์ ธีรอาพน, 2561, ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้กุหลาบเหลืองโคราช (*Aerides houlletiana* Rchb.f.), วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 49: 1 (พิเศษ) : 291-293.

Chen, X., Wang, Z., Yang, Z., Wang, J., Xu, Y., and Tan, R.X., 2011, *Houttuynia cordata* blocks HSV Infection Through Inhibition of NF-kB Activation, Antiviral Research., 92: 341-345.

Fu, J., Dai, L., Lin Z. and Lu, H., 2013, *Houttuynia cordata Thunb.*: A review of Phytochemistry and Pharmacology and Quality Control, Chinese Medicine, 4: 101-123.

Murashige, T. and Skoog, F., 1962, A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures, Physiologia Plantarum, 15, 473-497.

Phetkhong, S., Sumochitraporn, S., and Makkasab, C., 2010, Surface Sterilization Study and Growth Regulators Effect in Tissue Culture of Aquatic plant *Cryptocoryne albida*, In Technical Paper No.9/2010, Pathumthani: Aquaculture Animal Genetics Research and Development Institute. (in Thai)

Saunders, J.W. and Bingham, E.T., 1975, Growth Regulator Effects on Bud Initiation in Callus Cultures of *Medicago sativa*, American Journal of Botany, 62: 850-855.

Ulrich, K., Stauber, T. and Ewald, D., 2008, *Paenibacillus*—A Predominant Endophytic Bacterium Colonising Tissue Cultures of Woody Plants, Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 93: 347–351.

Wangchauy, C., and Chanprasert, S., 2012, Effects of Houttuynia *cordata* Thunb. Extract, Isoquercetin and Rutin on Cell Growth Inhibition and Apoptotic Induction in K562 Human Leukemic Cells, Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 4(5): 2590-2598.

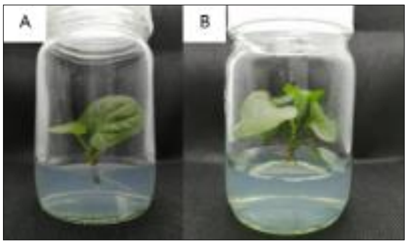



**Figure 1** *In vitro* propagation of *H. cordata* on MS medium for (A) 4 weeks and (B) 8 weeks.

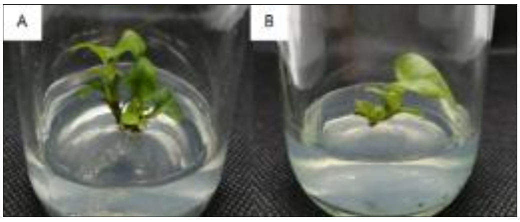



**Figure 2** Multiple shoot regenerated of *H. cordata* after cultured on MS medium supplement with BA (A) 1 mg·L$^{-1}$ and (B) 4 mg·L$^{-1}$ for 6 weeks.

**Table 1** Effectiveness of different sterilization schemes and leaf development of sterilized *H. cordata* after cultured on MS medium for 8 weeks.

| Sterilizing agents | Percentage of sterilized buds (%) | Number of leaves per shoot |
|---|---|---|
| Clorox 15% for 15 min | 30 | 1.10±1.74 $^{c}$ |
| Clorox 15% for 15 min and Clorox 5% for 5 min | 75 | 2.35±1.42 $^{b}$ |
| Alcohol 95 % for 1 min, Clorox 15% 15 min and Clorox 5% 5 min | 95 | 3.80±1.01 $^{a}$ |
| Alcohol 95 % for 5 min, Clorox 15% 15 min and Clorox 5% 5 min | 95 | 1.75±1.29 $^{b}$ |

Different superscript letters in the same column indicate significant differences at $p < 0.05$.

**Table 2** Morphogenetic responses of nodal explants of *H. cordata* cultured on MS medium supplemented with different concentrations of BA for 45 days.

| BA (mg·L$^{-1}$) | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
|---|---|---|---|---|---|
| Number of shoots per explant | 1.10±0.30$^{b}$ | 4.15±0.90$^{a}$ | 1.25±0.53$^{b}$ | 1.15±0.36$^{b}$ | 1.40±0.58$^{b}$ |

Different superscript letters in the same row indicate significant differences at $p < 0.05$.

Agricultural Sci. J. 52(1)(Suppl.): 349-352 (2021) ว. วิทย์. กษ. 52(1)(พิเศษ): 349-352 (2564)

# พรีไบโอติกจากแป้ง 6 ชนิดที่เหมาะสมสำหรับจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่มีความสัมพันธ์กับโรคลำไส้แปรปรวน
# Prebiotic from 6 Kinds of Flour for Probiotics Related to Irritable Bowel Syndrome

**ศศิวิมล พลเยี่ยม[1] สุภัจรี เรืองสมวงษ์[1] และ สุภาภรณ์ เลขวัต[2]**
**Phonyiam, S.[1], Reungsomwong, S.[1] and Lekhavat, S.[2]**

## Abstract

Three strains of probiotic bacteria related to irritable bowel syndrome (IBS), namely, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis*, were selected to study in this work. Prebiotic activity (PA) scores assessment of 6 types of flour prepared from white radish, boiled white radish, Kluai Hom Thong bananas, Kluai Namwa bananas, Jerusalem artichoke and Hydrolyzed Konjac were evaluated. Growth study of probiotic strains in media containing tested flour was examined. The results showed that radish either fresh or boiled has a high PA scores (15-20) that promoted the growth of *L paracasei*. In addition, boiled white radish and hydrolyzed Konjac flour slightly promoted *B. animalis*. However, all of tested flour has no any potential to enhance the growth of *L. acidophilus*. Furthermore, it was found that growth rate of all probiotic strains in testing media containing boiled white radish is better than others and closely to media containing fructooligosaccharide and commercial media.

**Keywords:** Prebiotic, Probiotic, Prebiotic activity scores

## บทคัดย่อ

งานวิจัยเลือกใช้โพรไบโอติกสามสายพันธุ์ที่มีความสัมพันธ์กับโรคลำไส้แปรปรวน ได้แก่ *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus acidophilus* และ *Bifidobacterium animalis* ทำการประเมินค่ากิจกรรมพรีไบโอติก (PA) ของแป้งจากพืช 6 ชนิด คือ หัวไชเท้า, หัวไชเท้าต้ม, กล้วยหอมทอง, กล้วยน้ำว้า, แก่นตะวัน และบุกที่ผ่านการย่อย ทำการวัดการเจริญของโพรไบโอติกในอาหารทดสอบที่มีแป้งตัวอย่าง พบว่าแป้งหัวไชเท้าทั้งชนิดดิบและชนิดต้มมีค่า PA สูง (15-20) ซึ่งส่งเสริมการเจริญของ *L. paracasei* ได้ดี และพบว่าแป้งหัวไชเท้าแบบต้มและแป้งบุกที่ผ่านการย่อยส่งเสริมการเจริญของ *B. animalis* ได้เล็กน้อย อย่างไรก็ตามพบว่าแป้งทุกชนิดไม่ส่งเสริมการเจริญของ *L. acidophilus* นอกจากนี้ยังพบว่าโพรไบโอติกทุกสายพันธุ์ในอาหารทดสอบที่มีแป้งหัวเท้าต้มมีอัตราการเจริญของเชื้อที่ดีว่าแป้งชนิดอื่นและมีค่าใกล้เคียงกับอาหารทดสอบที่มีฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์และอาหารเลี้ยงเชื้อทางการค้า

**คำสำคัญ:** พรีไบโอติก โพรไบโอติก ค่ากิจกรรมพรีไบโอติก

## คำนำ

โรคลำไส้แปรปรวน (Irritable bowel syndrome , IBS) เป็นโรคเกิดจากอาการผิดปกติเรื้อรังของการทำงานของระบบทางเดินอาหารโดยเฉพาะในส่วนของลำไส้ พบบ่อยในผู้หญิง และมากกว่าร้อยละ 50 เกิดกับผู้ที่อยู่ในช่วงวัยทำงานจนถึงอายุ 35 ปี เนื่องจากยังไม่ทราบสาเหตุที่แน่นอนของการเกิดโรคและมีการแสดงอาการที่หลากหลายทำให้ยากต่อการ การรักษาจึงต้องรักษาตามอาการที่เกิดขึ้น ผู้มีภาวะโรคลำไส้แปรปรวนควรเลือกบริโภคอาหารที่เหมาะสม

โพรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์และมีบทบาทในระบบย่อยอาหาร โดยมีความสัมพันธ์ต่อการเกิดโรคระบบทางเดินอาหาร ซึ่งโพรไบโอติกจะทำหน้าที่ปรับสมดุลจำนวนประชากรของจุลินทรีย์ที่อยู่ในลำไส้โดยจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติกและผลผลิตที่เกิดจากจุลินทรีย์เองจะไปจำกัดการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค (Fuller, 1989) ปัจจุบันจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกที่เป็นที่รู้จักมี 2 กลุ่ม คือ จุลินทรีย์กลุ่มแลคโตบาซิลลัส (Lactobacillus) และกลุ่ม ไบฟิโดแบคทีเรียม (Bifidobacterium) อาหารบางประเภทจะมีการย่อยแค่บางส่วนในระบบการย่อยไปจนเมื่อถึงลำไส้ใหญ่จึงจะใช้แบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ช่วยย่อยจึงทำให้เกิดลมในท้องและปวดบีบได้ ดังนั้นจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่มีบทบาทในระบบทางเดินอาหารจึงมีความสัมพันธ์กับอาการของโรคลำไส้แปรปรวน และพบว่าการบริโภคอาหารที่มีใยอาหาร (fiber) มากขึ้น จะช่วยให้ลำไส้ได้ฝึกบีบตัวดีขึ้น

---

[1] ศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย 35 หมู่ 3 ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120
Biodiversity Research Centre, Thailand Institute of Scientific and Technological Research, 35 Moo 3, Khlong 5, Khlong Luang, Pathum Thani, 12120
[2] ศูนย์เชี่ยวชาญนวัตกรรมอาหารสุขภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย 35 หมู่ 3 ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120
Expert Centre of Innovative Health Food, Thailand Institute of Scientific and Technological Research, 35 Moo 3, Khlong 5, Khlong Luang, Pathum Thani, 12120

พรีไบโอติกเป็นสารประกอบกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์ที่ช่วยในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในลำไส้ โดยสารที่เป็นพรีไบโอติกจะต้องไม่ถูกย่อยและดูดซึมในระบบทางเดินอาหารส่วนบน และถูกใช้เป็นสารอาหารสำหรับจุลินทรีย์ในระบบลำไส้ (Gibson และ Roberfroid, 1995) นอกจากฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ อินูลิน และกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ แล้วยังมีน้ำตาลในกลุ่มราฟิโนส และแป้งที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (resistance starch) ที่มีมีคุณสมบัติเป็นสารพรีไบโอติก รวมถึงน้ำตาลแอลกอฮอล์บางชนิดเช่น แลคทิทอล ซอร์บิทอล และมอลทิทอล (Gibson และคณะ, 2000) ซึ่งมีงานวิจัยจำนวนหนึ่งรายงานของพรีไบโอติกที่ช่วยส่งเสริมการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มแลคโตบาซิไลและไบฟิโดแบคทีเรีย และมีผลในการลดจำนวนลงของจุลินทรีย์กลุ่มคลอสทิเดีย กลุ่มเอนเทอโรคอคไค กลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรีย และกลุ่มแบคทีรอยด์ (Tanaka และคณะ, 1983; Hidaka และคณะ, 1986; Hayakawa และคณะ, 1990)))

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชนิดของแป้งที่เตรียมจากหัวไชเท้า, หัวไชเท้าต้ม, กล้วยหอมทอง, กล้วยน้ำว้า, แก่นตะวัน และบุกที่ผ่านการย่อยที่มีคุณสมบัติพรีไบโอติกที่ช่วยในการส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติก โดยทดสอบกับโพรไบโอติก 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *L. paracasei*, *L. acidophilus* และ *B. animalis* วิเคราะห์ค่ากิจกรรมพรีไบโอติกซึ่งคำนวณเปรียบเทียบกับการเจริญของเชื้อ *E. coli K12* และทำการศึกษาการเจริญของเชื้อทั้งสามชนิดในอาหารทดสอบเทียบกับฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์และอาหารทางการค้า

## อุปกรณ์และวิธีการ

เตรียมกล้าเชื้อโพรไบโอติก 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *L. paracasei* (TISTR 2593), *L. acidophilus* (TISTR 2734) และ *B. animalis* (TISTR 2591) (ศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ, สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย) ที่มีความสัมพันธ์กับโรคลำไส้แปรปรวน โดยปิเปตต้นเชื้อโพรไบโอติก 1% v/v ลงในหลอดอาหารเหลวปริมาตร 5 ml ที่เตรียมจาก MRS both (Sigma, USA) เสริมด้วย L-cysteine (Sigma, USA) 0.05% w/v จากนั้นนำไปบ่ม 37 $^{\circ}$C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และทำการกระตุ้นเชื้ออีกครั้งโดยวิธีการเดิม เก็บรักษากล้าเชื้อไว้ในหลอดทดลองที่ปิดสนิทในอุณหภูมิ 4 $^{\circ}$C ก่อนนำมาใช้ทำการทดลองโดยเก็บไม่เกิน 48 ชม.(Azmi และคณะ, 2012)

เตรียมแป้งที่ทำการศึกษา 6 ชนิด จาก หัวไชเท้าดิบ หัวไชเท้าต้ม กล้วยหอมทอง กล้วยน้ำว้า แก่นตะวัน ที่นำไปอบแห้งและบดเป็นผง และแป้งบุกที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แมนนาเนส ประเมินค่ากิจกรรมพรีไบโอติกในแป้งทดสอบโดยคำนวณเปรียบเทียบกับเชื้อ *E coli* K12 (Huebner และคณะ, 2007) และทดสอบอัตราการเจริญของเชื้อโพรไบโอติกที่อุณหภูมิการบ่ม 37 $^{\circ}$C เป็นเวลา 48 ชม. ในอาหารทดสอบเทียบกับกลูโคสและอาหารทางการค้า (Azmi และคณะ, 2012) นับจำนวนเชื้อโดยวิธีดรอปเพลท (Naghili และตณะ, 2012) และวัดค่าปริมาณกรดแลกเตทด้วยเครื่องวิเคราะห์ชีวเคมี (YSI 2900 Biochemistry Analyzer, USA) บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาการบ่ม ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง และนำข้อมูลไปวิเคราะห์ผลและพลอตกราฟจำนวนเซลล์ที่นับได้ ปริมาณกรดแลคเตท และค่า PA โดยคำนวณค่า PA = (การเจริญของเชื้อโพรไบโอติกในพรีไบโอติก/การเจริญของเชื้อโพรไบโอติกในกลูโคส)- (การเจริญของเชื้อ *E coli* K12 ในพรีไบโอติก/การเจริญของเชื้อ *E coli* K12 ในกลูโคส)

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

แป้งหัวไชเท้าทั้งชนิดดิบและชนิดที่ผ่านการต้มมีแนวโน้มเป็นสารพรีไบโอติกที่สามารถส่งเสริมการเจริญของเชื้อโพรไบโอติก *L. paracasei* ได้ดี มีค่า PAเป็นบวกสูงในช่วง 15-20 รองลงมาคือแป้งกล้วยหอม (0.69) และแป้งบุกที่ผ่านการย่อย (0.16) (Figure 1) ทั้งนี้พบว่าแป้งจากหัวไชเท้าต้มและแป้งบุกที่ผ่านการย่อยสามารถส่งเสริมการเจริญของเชื้อ *B. animalis* ได้เพียงเล็กน้อย อย่างไรก็ตามพบว่าแป้งทุกชนิดไม่ส่งเสริมการเจริญของเชื้อ *L. acidophilus* (ค่า PA เป็นลบ)

พบว่าจำนวนเซลล์ที่นับได้มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการบ่มนานขึ้น และเริ่มมีอัตราการเจริญคงที่ในระยะเวลาการบ่มตั้งแต่ 24 ชม. (Figure 2 a-c) เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการบ่มพบว่าอาหารทดสอบที่มีส่วนผสมของแป้งหัวไชเท้ามีแนวโน้มการเจริญของ *L. paracasei*, *L. acidophilus* และ *B. animalis* ใกล้เคียงกับอาหารทดสอบทางการค้า (MRS broth) ซึ่งพบเชื้อมากที่สุด (Log 8.0 –Log 9.5 CFU/ml.) ในขณะที่อาหารทดสอบที่ไม่มีกลูโคสและอาหารทดสอบที่มีแป้งบุกมีการเจริญต่ำสุด (Log 8.0 –Log 8.5 CFU/ml) สามารถอภิปรายได้ว่าแป้งหัวไชเท้าเป็นพืชหัวที่มีแหล่งคาร์บอนหรือมีน้ำตาลชนิดที่เชื้อ *L. paracasei* สามารถนำไปใช้ได้ สอดคล้องกับผลวิเคราะห์ชนิดน้ำตาลในหัวไชเท้าที่พบ FOS 0.16% และอินนูลิน 2.14% (Moongngarm และคณะ, 2011) อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าแป้งกล้วยหอมที่เหมาะสมควรเตรียมจากกล้วยดิบซึ่งจะมีคุณสมบัติพรีไบโอติกที่ดีกว่ากล้วยหอมแบบห่ามที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ ซึ่งมีการศึกษาว่าแป้งกล้วยดิบสามารถส่งเสริมการเจริญของ *L. acidophilus* (Mahore และ Shirolkar,2018)

แนวโน้มของจำนวนเซลล์ที่นับได้เพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการบ่มที่นานขึ้น (Figure 2 a-c) และสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงของค่ากรดแลคเตทที่เชื้อสร้างขึ้น โดยพบว่าเชื้อ *L. paracasei* จะสร้างแลคเตทสูง ในอาหารทดสอบที่มี MRS (14 g/l) แป้งหัวไชเท้า (8.77 g/l) แป้งหัวไชเท้าต้ม (8.50 g/l) และแป้งกล้วยหอม (4.38 g/l) ตามลำดับ (Figure 2 a) โดยที่เชื้อ *L. acidophilus* จะสร้างแลคเตทสูง ในอาหารทดสอบที่มีแป้งหัวไชเท้าต้ม (6.09 g/l) แป้งหัวไชเท้า (5.66 g/l) แป้งแก่นตะวัน (5.13 g/l) และ MRS (4.35 g/l) ตามลำดับ (Figure 2 b ) ในขณะที่เชื้อ *B. animalis* จะสร้างแลคเตทสูงที่ในอาหารทดสอบที่มี FOS (6.9 g/l) แป้งแก่นตะวัน (4.96 g/l) และแป้งแก่นหัวไชเท้าต้ม (4.86 g/l) ตามลำดับ (Figure 2 c)

จากข้อมูลผลการทดลองข้างต้นจะเห็นได้ว่าแป้งหัวไชเท้า แป้งหัวไชเท้าต้ม แป้งกล้วยหอม และแป้งแก่นตะวัน เป็นสารพรีไบโอติกที่ดีซึ่งสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติกทั้ง 3 สายพันธุ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสายพันธุ์ *L. paracasei* ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mitsou และคณะ (2011) ที่รายงานสมบัติโพรไบโอติกของกล้วยหอม และ Jovanovic และคณะ (2014) ที่รายงานผลการวิเคราะห์ปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์ในผักและผลไม้

## สรุปผล

งานวิจัยทำการศึกษาสมบัติพรีไบโอติกโดยประเมินจากคะแนนค่ากิจกรรมพรีไบโอติก (Prebiotic activity) และอัตราการเจริญของเชื้อ ของแป้ง 6 ชนิด ได้แก่ หัวไชเท้า, หัวไชเท้าต้ม, กล้วยหอมทอง, กล้วยน้ำว้า, แก่นตะวัน และบุกที่ผ่านการย่อย ที่เหมาะสมกับโพรไบโอติกสายพันธุ์ที่มีความสัมพันธุ์กับโรคลำไส้แปรปรวน ได้แก่ *L. paracasei L. acidophilus* และ โดย *B. animalis* พบว่าแป้งหัวไชเท้าดิบและหัวไชเท้าต้มเป็นพรีไบโอติกที่ส่งเสริมการเจริญของ *L. paracasei* ในขณะที่แป้งจากหัวไชเท้าต้มและแป้งบุกที่ผ่านการย่อยสามารถส่งเสริมการเจริญของเชื้อ *B. animalis* เล็กน้อย และผลการเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์ พบว่าอาหารทดสอบที่มีแป้งหัวไชเท้ามีการเจริญของ *L. paracasei*, *L. acidophilus* และ *B. animalis* ใกล้เคียงกับอาหารทดสอบทางการค้า (MRS broth) ซึ่งพบเชื้อมากที่สุด (Log 8.0 –Log 9.5 CFU/ml.) และสูงกว่าการเจริญของเชื้อในอาหารทดสอบที่มี FOS

## เอกสารอ้างอิง

Azmi, A.F.M.N., Mustafa, S., Hashim, D.Md. and Manap, Y.A., 2012, Prebiotic Activity of Polysaccharides Extracted from *Gigantochloa Levis* (Buluh beting) Shoots, Molecules, 17:1635-1651.

Fuller, R., 1989, Probiotics in Man and Animals, Journal of Applied Bacteriology, 66: 365-378.

Gibson, G. R., Ottaway, P. B. and Rastall, R. A., 2000, Prebiotics: New Developments in Functional Foods, Chandos Publishing Ltd., Oxford. 108 p.

Hayakawa, K., Mizutani, J., Wada, K., Massai, T., Yoshihara, I. and Mitsuoka, T., 1990, Effects of Soybean Oligosaccharides on Human Fecal Flora, Microbial Ecology in Health and disease, 3: 293-303.

Hidaka, H., Eida, T., Takizawa, T., Tokunaga, T. and Tashiro, Y., 1986, Effects of Fructooligosaccharides on Intestinal Flora and Human Health, Bifidobacteria Microflora, 5: 37-50.

Huebner, J., Wehling, R. L. and Hutkins, R. W., 2007, Functional Activity of Commercial Prebiotics, International Dairy Journal, 17(7): 770-775.

Jovanovic, M. R., Kuzmanova, S. and Winkelhausen, E., 2014, Oligosaccharide Profile in Fruits and Vegetables as Sources of Prebiotics and Functional foods, International Journal of Food Properties, 17(5): 949-965.

Mahore, J.G. and Shirolkar, S.V., 2018, Investigation of Effect of Ripening and Processing on Prebiotic Potential of Banana, Journal of Yong Pharmacists, 10(4): 293-297.

Mitsou E. K., Kougia E., Nomikos Tz, Yannakoulia M., Mountzouris K. C. and Kyriacou A., 2011, Effect of Banana Consumption on Fecal Microbiota: a Randomised, Controlled Trial, Anaerobe, 17(6): 384-387.

Moongngarm A., Trachoo N. and Sirigungwan N., 2011, Low Molecular Weight Carbohydrates, Prebiotic Content, and Prebiotic Activity of Selected Food Plants in Thailand, Advance Journal of Food Science and Technology, 3(4): 269-274.

Naghili, H., Tajik, H., Mardani, K., Rouhani, S.M.R., Ehsani, A. and Zare, P., 2013, Validation of Drop Plate Technique for Bacterial Enumeration by Parametric and Nonparametric tests, Veterinary Research Forum, 4 (3): 179–183.

Tanaka, R., Takayama, H., Morotomi, M., Kuroshima, T., Ueyama, S., Matsumoto, K., Kuroda, A. and Mutai, M., 1983, Effects of Administration of TOS and *Bifidobacterium breve* 4006 on The Human Fecal Flora, Bifidobacteria Microflora, 2: 17-24.

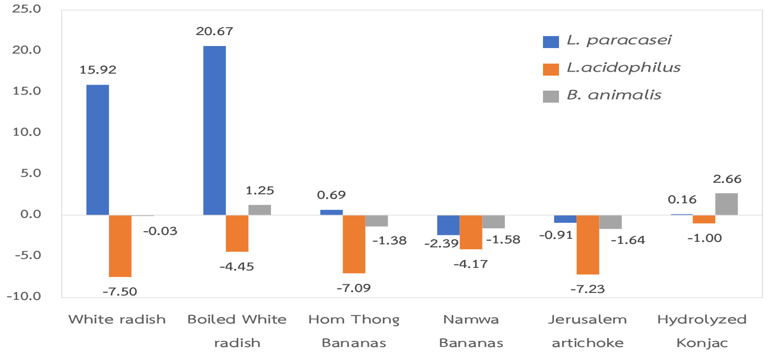



**Figure 1** Prebiotic activity scores of *L. paracasei*, *L.acidophilus* and *B. animalis* on testing flour: White radish, Boiled White radish, Hom Thong bananas, Namwa bananas, Jerusalem artichoke and Hydrolyzed Konjac glucomannan. Data are means of tree replicate trials.

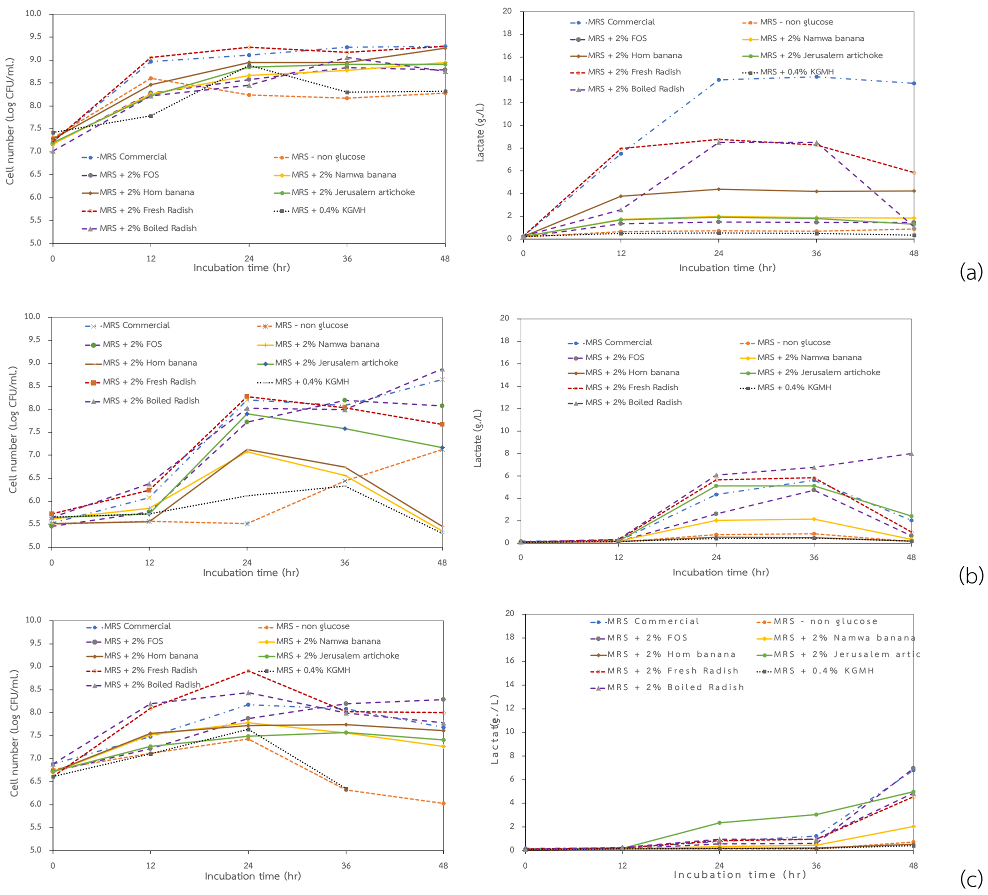



**Figure 2** Counted cell number and lactate content of (a) *L. paracasei*, (b) *L. acidophilus* and (c) *B. animalis* in cultured broth containing testing media: Commercial, Non-Glucose, 2% FOS, 2% White radish, 2% Boiled White radish, 2% Hom Thong bananas, 2% Namwa bananas, 2% Jerusalem artichoke and 2% Hydrolyzed Konjac glucomannan during 48 hr incubation time at 37 $^{\circ}$c. Data are means of tree replicate trials.

Agricultural Sci. J. 52(1)(Suppl.): 353-356 (2021) ว. วิทย์. กษ. 52(1)(พิเศษ): 353-356 (2564)

# ผลของบรรจุภัณฑ์ขายปลีกต่อคุณภาพ และการประเมินอายุการวางจำหน่าย ของกล้วยหอมทอง [*Musa* (AAA group, 'Gros Mitchel' sub.)]

# Effect of Retail Packaging on Quality and Shelf Life Evaluation of 'Hom Thong' Banana [*Musa* (AAA group, 'Gros Mitchel' sub.)]

วิสะนี เหนือเมฆิน[1] รัชนีวรรณ กุลจันทร์[1] พรธีรา รัตนรัตน์[1] และ ภัทรพร เรียงภิรมย์[1]
Nueamekin, W.[1], Kulchan, R.[1], Rattanarat, P.[1] and Riangpirom, P.[1]

## Abstract

This study was aimed to investigate the effect of retail packaging on the quality and shelf life evaluation of 'Hom Thong' banana. In this study, shelf life and physicochemical changes of 'Hom Thong' banana packed in polypropylene plastic bags (PP), polypropylene ventilated plastic bags (VP), active plastic bag (AP) and non-bagged banana (control) were studied. Bananas were stored at a temperature of 30±2 °C and relative humidity of 70±5%. The results show that storage banana in PP bag significantly extend the shelf life ($p$<0.05). PP bag significantly prevented weight loss, retained peel green color, firmness and total soluble solid content compared to other treatments ($p$<0.05). PP bag can extend shelf life of 12 days followed by AP bag, VP bag and control which can extend shelf life of 9 and 7 days, respectively. Moreover, it was found that banana packed in PP bag had higher sensory evaluation scores ($p$<0.05).

**Keywords:** Hom Thong banana, Retail packaging, Shelf life

## บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของบรรจุภัณฑ์ขายปลีกต่อคุณภาพ และการประเมินอายุการวางจำหน่ายกล้วยหอมทอง โดยได้ทำการศึกษาอายุการเก็บ และการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและทางเคมี ของกล้วยหอมทองที่บรรจุในถุงพลาสติกพอลีพรอพิลีน (PP) ถุงพลาสติกพอลีพรอพิลีน เจาะช่องระบายอากาศ (VP) ถุงพลาสติกหายใจได้ (AP) และกล้วยหอมทองที่ไม่ได้บรรจุถุง (ตัวอย่างควบคุม) และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 70±5 ผลการศึกษาพบว่าการบรรจุกล้วยหอมทองในถุง PP สามารถยืดอายุการเก็บรักษาของกล้วยหอมทองได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p$<0.05) โดยป้องกันการสูญเสียน้ำหนัก รักษาสีเขียวของเปลือก ความแข็งของเนื้อ และการเพิ่มขึ้นของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญ ($p$<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างอื่นๆ ถุง PP สามารถยืดอายุการเก็บรักษาของกล้วยหอมทองได้ 12 วัน รองลงมาคือ ถุง AP สามารถเก็บรักษาได้นาน 9 วัน ส่วนถุง VP และตัวอย่างควบคุม เก็บรักษาได้นานเท่ากันคือ 7 วัน นอกจากนี้ยังพบว่า กล้วยที่บรรจุในถุง PP ยังมีคะแนนการประเมินทางประสาทสัมผัสสูงกว่าตัวอย่างอื่นๆ ($p$<0.05)

**คำสำคัญ:** กล้วยหอมทอง บรรจุภัณฑ์ขายปลีก อายุการเก็บรักษา

## คำนำ

กล้วยหอมทอง [*Musa acuminata* (AAA Group) "KluaiHom Thong" กลุ่มย่อย Gros Michel] เป็นไม้ผลที่สำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของประเทศไทย มีการปลูกกันอย่างแพร่หลายในทุกภาคของประเทศ โดยประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกกล้วยหอม 34,018 ไร่ปริมาณการส่งออกกล้วยหอมสด 3,297 ตันคิดเป็นมูลค่า 99.17 ล้านบาทแหล่งผลิตที่สำคัญ ได้แก่ พื้นที่จังหวัดปทุมธานี เพชรบุรี ชุมพร หนองคาย และสระบุรี (กรมเศรษฐกิจการเกษตร, 2558)

อย่างไรก็ตามจากการศึกษาวิจัยพบปัญหาที่สำคัญของกล้วยหอมทองหลังการเก็บเกี่ยวคือ การสุกเพราะกล้วยจัดเป็นผลไม้กลุ่ม climacteric ที่สุกเร็วมาก และความเสียหายในระหว่างการขนส่ง ซึ่งเป็นลักษณะปรากฏที่ผู้บริโภคไม่ต้องการโดยพบว่ากล้วยมีอัตราการหายใจเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิการเก็บเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ที่อุณหภูมิของการค้าปลีก (25-30 องศาเซลเซียส) กล้วยจะมีอัตราการหายใจสูง เกิดการสุกและการเปลี่ยนแปลงอย่างอย่างรวดเร็ว (Gane, 1936) เพื่อยืดอายุของกล้วยโดยทั่วไปจึงสามารถ

[1] สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.), 35 หมู่ 3 เทคโนธานี ถ.เลียบคลองห้า ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120, ประเทศไทย
[1] Thailand Institute of Scientific and Technological Research (TISTR), 35 Mu 3 Technopolis, Tambon Khlong Ha, Amphoe Khlong Luang, Pathum Thani 12120, Thailand

เก็บรักษากล้วยที่อุณหภูมิประมาณ 12-14 องศาเซลเซียส แต่บรรจุภัณฑ์ก็เป็นหนึ่งในปัจจัยสำคัญของการยืดอายุการเก็บของกล้วย เช่น ถุง PP หรือ AP ซึ่งมีอัตราการซึมผ่านแก๊สและไอน้ำที่แตกต่างกัน ส่งผลต่อปริมาณก๊าซและความชื้นในบรรจุภัณฑ์ ซึ่งมีผลต่อการหายใจของผลไม้ (Azene และคณะ, 2014) ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชนิดของบรรจุภัณฑ์ขายปลีกต่อคุณภาพของกล้วยหอมทอง โดยที่กล้วยหอมทองยังคงมีคุณภาพและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ซึ่งก็จะเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการช่วยให้เกษตรกรลดปัญหากล้วยหอมทองสุกก่อนที่จะถึงปลายทางเพื่อจัดส่งไปจำหน่าย

## อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

คัดเลือกกล้วยหอมทองที่เก็บเกี่ยวในระยะเพื่อการค้าโดยมีสี ขนาด และรูปร่างสม่ำเสมอกัน น้ำหนักอยู่ในช่วง 200-250 กรัม/ผล จากอำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี และขนส่งด้วยรถตู้ปรับอากาศ มายังห้องปฏิบัติการของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) หลังจากนั้นทำการแบ่งกล้วยหอมทองออกเป็นผล ทิ้งไว้จนน้ำยางหยุดไหล แล้วทำการล้างยางกล้วยที่ติดอยู่ที่ผลด้วยน้ำสะอาด หลังจากนั้นนำกล้วยไปแช่ในสารละลายคลอรอกซ์ (Clorox) ที่ความเข้มข้น 0.02% นาน 3 นาที แล้วทำการผึ่งกล้วยให้แห้ง วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 3 ซ้ำๆ ละ 1 ผล บรรจุผลกล้วยหอมทองลงในถุงพลาสติกพอลีพรอพิลีนเจาะช่องระบายอากาศ ร้อยละ 3 –ของพื้นที่ (Polypropylene ventilated plastic bags, VP) ถุงพลาสติกพอลีพรอพิลีน (Polypropylene plastic bag ,PP) และถุงพลาสติกหายใจได้ (Active plastic bag, AP) ทำการเก็บรักษาในตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้น ที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 70±5 ตรวจวัดผลการทดลองเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้บรรจุถุง โดยตรวจวัดผลการทดลองและบันทึกข้อมูลการเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างการเก็บรักษา ทุกวันที่ 0, 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 ประกอบด้วยการสูญเสียน้ำหนัก การเปลี่ยนแปลงสี ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ ความแน่นเนื้อ และการยอมรับทางประสาทสัมผัสโดยใช้เกณฑ์ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม แบบวิธี 5-point Hedonic scale โดยใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10 คน

**Table 1** Physical properties of packaging films

| Packaging films | Thickness (µm) | WVTR ($g/m^2$ /day@ 38 °c, 90% RH) | OTR ($cm^3$ / $m^2$ /day@23 °c, 90% RH) |
|---|---|---|---|
| Polypropylene plastic bags (PP) | 25 | 10.9 | 6,434 |
| Active plastic bag (AP) | 24 | 23.5 | 16,585 |

WVTR: Water Vapor Transmission Rate
OTR: Oxygen Transmission Rate

## ผลการทดลอง

จากการทดลอง ผลของบรรจุภัณฑ์ขายปลีกต่อคุณภาพ และการประเมินอายุการวางจำหน่ายกล้วยหอมทอง โดยบรรจุในถุง PP, VP และ AP เปรียบเทียบกับกล้วยหอมทองที่ไม่ได้บรรจุในถุง (ชุดควบคุม) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30±2 °C นาน 12 วัน พบว่ากล้วยหอมทองที่บรรจุในถุงพลาสติกชนิดต่างๆ มีร้อยละการสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา (Figure 1A) โดยที่อายุการเก็บ 10 วัน กล้วยหอมทองที่บรรจุในถุง PP และ AP มีอัตราการสูญเสียน้ำหนักน้อยที่สุดคือร้อยละ 0.5 และ 0.6 ซึ่งน้อยกว่ากล้วยหอมทองที่บรรจุในถุง VP และชุดควบคุม ที่มีการสูญเสียน้ำหนักคือร้อยละ 1.9 และ 3.0 ($p$<0.05) และยังพบว่าร้อยละการสูญเสียน้ำหนักรวมของกล้วยหอมทองชุดควบคุมมีค่าสูงที่สุดที่ร้อยละ 12.3 ($p$<0.05) รองลงมาคือกล้วยหอมทองที่บรรจุในถุง VP มีการสูญเสียน้ำหนักร้อยละ 5.2 และกล้วยหอมทองที่บรรจุในถุง PP และ AP มีการสูญเสียน้ำหนักแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p$≥0.05) โดยมีค่าร้อยละ 1.7 และ 1.5

นอกจากการเก็บในถุงพลาสติกทุกชนิดยังชะลอการเสื่อมสภาพของกล้วยหอมทองได้ โดยไปชะลอการเปลี่ยนเป็นสีเหลืองของเปลือกได้ดี โดยพบว่าที่อายุการเก็บ 10 วัน กล้วยหอมทองที่บรรจุในถุง PP และ AP มีค่าการเปลี่ยนแปลงสี ($\Delta E^*$) เพิ่มขึ้นน้อยกว่าทุกชุดการทดลอง โดยมีค่า $\Delta E^*$ อยู่ที่ 7.3 และ 12.8 ซึ่งน้อยกว่ากล้วยหอมทองที่บรรจุในถุง VP และชุดควบคุม ซึ่งมีค่า $\Delta E^*$ อยู่ที่ 25.6 และ 32.9 ($p$<0.05) (Figure 1B)

อย่างไรก็ตามค่าความแน่นเนื้อของกล้วยหอมทองทุกชุดการทดลอง มีแนวโน้มลดลงอย่างรวดเร็ว (Figure 1C) ในวันที่ 4 ของการเก็บรักษา และลดลงอย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลาของการเก็บรักษา พบว่าที่อายุการเก็บ 4 วัน กล้วยหอมทองในถุง PP

และ AP มีค่าความแน่นเนื้อสูงที่สุด โดยมีค่า 484.9 และ 506.1 นิวตัน รองลงมาคือกล้วยหอมทองในถุง VP และกล้วยหอมทองในชุดควบคุม ซึ่งมีค่าความแน่นเนื้อ 342. 3 และ 46.5 ตามลำดับ ($p$<0.05)

ในส่วนของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) ของกล้วยหอมทองในทุกชุดการทดลอง (Figure 1D) พบว่ากล้วยหอมทองที่บรรจุในถุงพลาสติกชนิดต่างๆ มีค่า TSS เพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาของการเก็บรักษา โดยกล้วยหอมทองในชุดควบคุม กล้วยหอมทองที่บรรจุในถุง VP และ AP ที่อายุการเก็บ 10 วัน มีค่า TSS คือ 12.5, 13.3 และ 11.9°บริกซ์ ซึ่งมีค่าสูงกว่ากล้วยหอมทองที่บรรจุในถุง PP ซึ่งมีค่า TSS 9.3 °บริกซ์ อย่างมีนัยสำคัญ ($p$<0.05) และจากการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส ผู้บริโภคยอมรับกล้วยหอมทองที่บรรจุในถุง PP ในด้านกลิ่น และเนื้อสัมผัส มากกว่ากล้วยหอมทองชุดควบคุม กล้วยหอมทองที่บรรจุในถุง VP และ AP ดังนั้น การบรรจุกล้วยหอมทองในถุง PP ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30±2 °C สามารถชะลอการสุก การเสื่อมสภาพของกล้วยหอมทองได้ดีตลอดการเก็บรักษานาน 12 วัน (Figure 2)

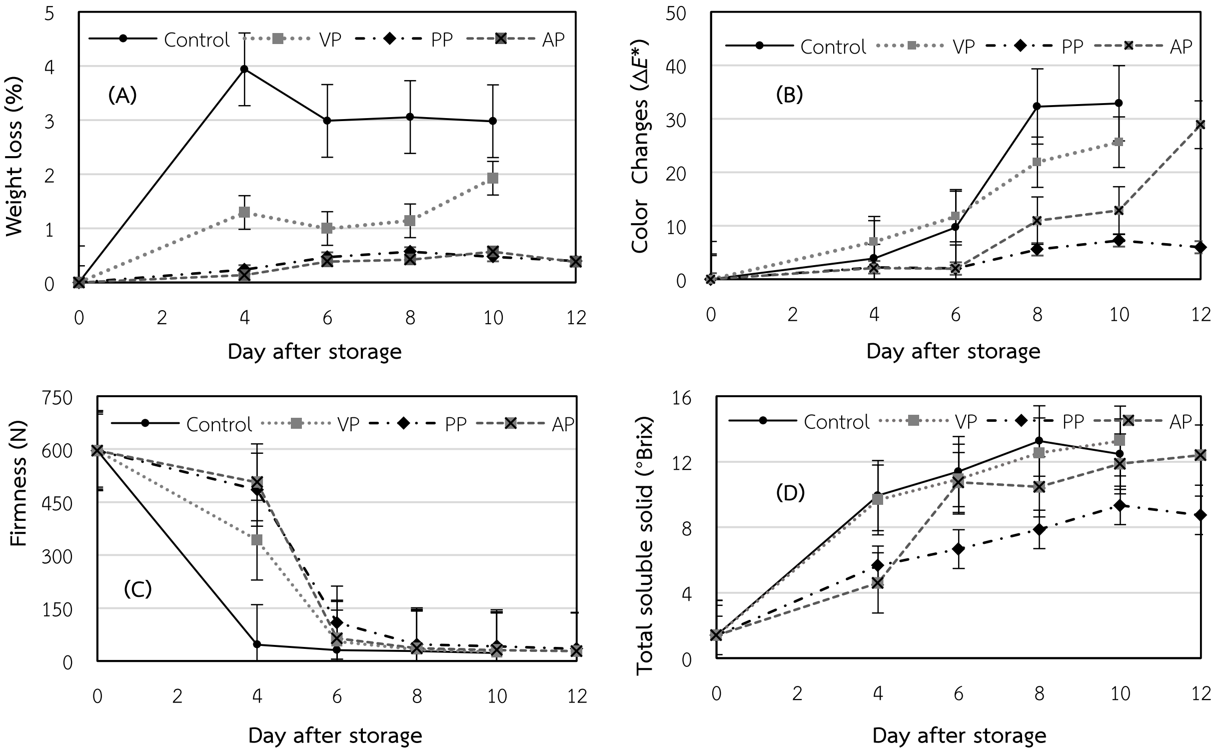



**Figure 1** Changes in Weight loss (A), color changes (B), firmness (C) and total soluble solids (D) of 'Hom Thong' banana stored in VP, PP and AP bags and non-bagged banana (Control) for 12 days

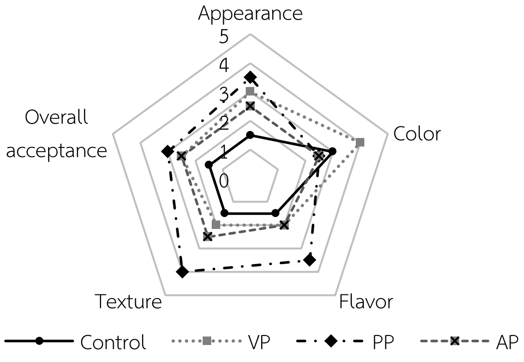



**Figure 2** Sensory acceptability of appearance, color, flavor, texture and overall acceptance of 'Hom Thong' banana storage in VP, PP and AP bags and non-bagged bananas (Control) for 10 days

## วิจารณ์ผลการทดลอง

การใช้ถุงบรรจุภัณฑ์ชนิดพลอลิพอพิลีน (PP) บรรจุกล้วยหอมทอง และนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส สามารถยืดอายุการเก็บรักษากล้วยหอมทองได้ดีตลอดอายุการเก็บรักษา 12 วัน ส่วนกล้วยหอมทองที่บรรจุในถุง AP และ VP สามารถคงคุณภาพของกล้วยหอมทองได้ประมาณ 10 วัน ทั้งนี้เป็นเพราะถุง PP มีค่า WVTR และ OTR ที่ต่ำกว่าถุง AP และ VP ทำให้บรรยากาศภายในถุง PP มีความชื้นสัมพัทธ์สูง ซึ่งเป็นปัจจัยที่ส่งผลให้ผลไม้ในถุงมีการหายใจช้าลง (Azene, Workneh and Woldetsadik, 2014) จึงทำให้กล้วยในถุงสามารถชะลอการสูญเสียน้ำหนักซึ่งมีสาเหตุหลักมาจากการสูญเสียน้ำระหว่างการหายใจได้ ได้และยังสามารถชะลอการสุกซึ่งทำให้กล้วยหอมทองมีการการเปลี่ยนแปลงสี ความแน่นเนื้อ และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดช้าลง นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าภายในถุงพลาสติกซึ่งใช้บรรจุกล้วยจะมีก๊าซออกซิเจนประมาณ 5-10% และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ประมาณ 2-15% ซึ่งเป็นสภาวะที่สามารถยืดอายุการเก็บของผลไม้ได้ (เฉลิมชัย และคณะ, 2556) ในขณะที่กล้วยหอมทองตัวอย่างควบคุมที่ไม่บรรจุถุงพลาสติกสุกสมบูรณ์ในวันที่ 4 ของการเก็บรักษา

## สรุปผลการทดลอง

การเก็บรักษากล้วยหอมทองที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส ทำให้กล้วยหอมทองที่ไม่บรรจุถุงพลาสติกสุกสมบูรณ์ในวันที่ 4 ของการเก็บรักษา ในขณะที่กล้วยหอมทองที่เก็บในถุงชนิดต่างๆ เก็บได้ตลอด 12 วันของการเก็บรักษา อย่างไรก็ตามกล้วยหอมทองที่บรรจุในถุง PP และ AP สามารถยืดอายุการเก็บรักษาของกล้วยได้ดีกว่าถุง VP และการไม่บรรจุถุง โดยช่วยชะลอการสูญเสียน้ำหนัก การเปลี่ยนสี การเพิ่มปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และการเปลี่ยนแปลงความแน่นเนื้อได้

## เอกสารอ้างอิง

กรมเศรษฐกิจการเกษตร, 2558, สารสนเทศเศรษฐกิจการเกษตรรายสินค้า. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร

จริงแท้ ศิริพานิช, 2549, ชีววิทยาหลังการเก็บเกี่ยวและการวายของพืช. นครปฐม : โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ

เฉลิมชัย วงษ์อารี, ชวนพิศ จิระพงษ์, กาญจนา วรราษฎร์, และพนิดา บุญฤทธิ์ธงไชย, 2556, การเปรียบเทียบวิธีการยืดอายุการเก็บรักษากล้วยไข่ในถุงพลาสติกแบบต่างๆ เพื่อการส่งออก, [สืบค้น] http://www.crdc.kmutt.ac.th/Data%202013/CRDC7/data/545-548.pdf [11 มกราคม 2564].

Azene, M., Workneh, T. S., & Woldetsadik, K. (2014). Effect of packaging materials and storage environment on postharvest quality of papaya fruit. *Journal of food science and technology*, 51(6), 1041-1055.

Gane, R., (1936). A Study of the Respiration of Bananas. *New Phytologist*, 35(5), 383-390.

# อิทธิพลของการอบแห้งที่มีต่อสมบัติและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของแผ่นฟิล์มขิงละลายในช่องปาก
# Influence of Drying on Properties and Bioactive Compounds of Ginger Orally Dissolving Film

ศิรดา สังสินชัย[1] ธีร์ธวัช เพชรพรประภาส[1] นนท์กฤช ฮุนศรีนพรัตน์[1] กิตตธัช ศิริเวชพงศ์กุล[1] และ ชลิดา เนียมนุ้ย[1]
Sungsinchai, S.[1] Petchpornprapas, T.[1] Hunsrinopparat, N.[1] Sirivechphongkul, K.[1] and Niamnuy, C.[1]

## Abstract

The development of ginger orally dissolving film was conducted. The objective was to study the influence of drying techniques and temperatures on drying kinetic, color value, morphology, functional groups, crystallinity, *in vitro* dissolution time and bioactive compound contents of ginger film. Films were prepared by a solvent-casting method. Films contained ginger extract, tapioca starch, gelatin, carboxymethyl cellulose, sorbitol and sucralose of 9.87, 27.62, 18.83, 43.11, 0.19 and 0.38% (w/w), respectively. The drying conditions included hot air drying and infrared drying at the range of 40-60 °C, compared to shade drying. Infrared drying presented a higher drying rate than other drying methods. The drying rate of the film increased with an increase in drying temperature. Infrared drying of film at 50 °C exhibited the shortest *in vitro* dissolution time and the highest ginger bioactive compound contents, compared to other drying conditions.
**Keywords: G**inger, Gingerol, Infrared drying, Shogaol

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาแผ่นฟิล์มขิงสำหรับละลายในช่องปาก โดยวัตถุประสงค์ของงานนี้เพื่อศึกษาอิทธิพลของเทคนิคและอุณหภูมิการอบแห้งต่อจลนพลศาสตร์การอบแห้ง ค่าสี สัณฐานวิทยา หมู่ฟังก์ชัน ความเป็นผลึก เวลาในการละลายในหลอดทดลอง และปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของแผ่นฟิล์มขิง แผ่นฟิล์มขิงถูกเตรียมด้วยวิธีการเทโดยอาศัยตัวทำละลาย แผ่นฟิล์มขิงประกอบด้วยสารสกัดขิง แป้งมันสำปะหลัง เจลาติน คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส ซอร์บิทอล และซูคราโลส เท่ากับ 9.87 27.62 18.83 43.11 0.19 และ 0.38% (w/w) ตามลำดับ สภาวะการอบแห้งที่ทำการศึกษาคือการอบแห้งด้วยอากาศร้อนและการอบแห้งด้วยอินฟราเรดที่อุณหภูมิ 40-60 °C เทียบกับการทำให้แห้งโดยการผึ่ง พบว่าการอบแห้งด้วยอินฟราเรดให้อัตราการอบแห้งสูงกว่าวิธีการอบแห้งแบบอื่นๆ อัตราการอบแห้งของฟิล์มเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิในการอบแห้ง โดยการอบแห้งฟิล์มด้วยอินฟราเรดที่อุณหภูมิ 50 °C แสดงเวลาในการละลายในหลอดทดลองของฟิล์มสั้นที่สุด และมีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของขิงสูงที่สุดเมื่อเทียบกับการอบแห้งที่สภาวะอื่นๆ
**คำสำคัญ:** การอบแห้งด้วยอินฟราเรด ขิง จินเจอรอล โชกาออล

## คำนำ

ประเทศไทยมีจำนวนประชากรและสัดส่วนผู้สูงอายุเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและต่อเนื่องทุกปี ซึ่งในบรรดาผู้สูงอายุเหล่านี้มักมีภาวะกลืนลำบากอันเนื่องมาจากโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบประสาทและสมอง เช่น โรคหลอดเลือดสมองและโรคสมองเสื่อม เป็นต้น ทำให้ผู้ป่วยรับประทานอาหารได้อย่างจำกัด ซึ่งส่งผลต่อปัญหาด้านสุขภาพและภาวะโภชนาการได้ (Sungsinchai และคณะ, 2019) ปัจจุบันพบว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของขิงในกลุ่มจินเจอรอล (gingerol) และโชกาออล (gingerol) (Ghasemzadeh และคณะ, 2018) สามารถกระตุ้นการทำงานของกล้ามเนื้อที่ใช้ในการกลืนอาหารบริเวณลำคอ การเตรียมสารสกัดขิงในรูปแผ่นฟิล์มจึงเป็นทางเลือกในการบำบัดอาการกลืนลำบากโดยใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพร ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีแนวคิดในการพัฒนาแผ่นฟิล์มขิงสำหรับละลายในช่องปากเพื่อกระตุ้นการกลืนสำหรับผู้ป่วยที่มีภาวะกลืนลำบาก อย่างไรก็ตามพบว่าการเตรียมแผ่นฟิล์มโดยเฉพาะอย่างยิ่งขั้นตอนการอบแห้งมีผลต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพรวมถึงสมบัติต่างๆของแผ่นฟิล์มขิง Ghasemzadeh และคณะ (2018) พบว่าปริมาณ 6- 8- และ 10-gingerols ลดลงในขณะที่ปริมาณ 6-shogaol เพิ่มขึ้นเมื่ออบแห้งขิงด้วยอากาศร้อนเทียบกับการอบแห้งด้วยแสงอาทิตย์ในระบบเปิดและในอุโมงค์ นอกจากนี้ Niamnuy และคณะ (2013) ยังพบว่าการอบแห้งใบบัวบกด้วยอินฟราเรดให้อัตราการอบแห้งสูงกว่าอากาศร้อนและไอน้ำร้อนยวดยิ่งที่สภาวะความดันต่ำ ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือเพื่อศึกษาอิทธิพลของเทคนิคและอุณหภูมิ

[1] ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 50 ถ.งามวงศ์วาน ลาดยาว จตุจักร กรุงเทพฯ 10900
[1] Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Kasetsart University, 50 Ngam Wong Wan Rd, Lat Yao, Chatuchak, Bangkok 10900

การอบแห้งที่มีต่อจลนพลศาสตร์การอบแห้ง ค่าสี สัณฐานวิทยา หมู่ฟังก์ชัน ความเป็นผลึก เวลาในการละลายในหลอดทดลอง และปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของแผ่นฟิล์มขิงที่จะใช้กระตุ้นการกลืนของผู้ป่วยที่มีภาวะกลืนลำบาก

## อุปกรณ์และวิธีการ

เตรียมสารก่อฟิล์มเริ่มจากการเตรียมสารละลายน้ำแป้งมันสำปะหลังสุกความเข้มข้น 10% (w/v) สารละลายเจลาตินความเข้มข้น 25% (w/v) และคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสความเข้มข้น 3% (w/v) ตามวิธีการของ Heinemann และคณะ (2016) เตรียมแผ่นฟิล์มขิงด้วยวิธีการเทโดยอาศัยตัวทำละลาย (solvent-casting) (Heinemann และคณะ, 2016) ซึ่งประกอบด้วยสารสกัดขิง แป้งมันสำปะหลัง เจลาติน คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส ซอร์บิทอล และซูคราโลส เท่ากับ 9.87 27.62 18.83 43.11 0.19 และ 0.38% (w/w) ตามลำดับ กวนผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปไล่ฟองด้วยอากาศด้วยเครื่องอัลตร้าโซนิคที่ความถี่ 40 kHz เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำมาเทใส่แม่พิมพ์ (10 × 13 × 0.4 cm) นำไปอบแห้งด้วยอากาศร้อน (Redline by Binder, FD115, Tuttlingen, Germany) และอินฟราเรด (Niamnuy และคณะ, 2013) ที่อุณหภูมิ 40-60 °C โดยติดตามจลนพลศาสตร์การอบแห้งตั้งแต่เริ่มการอบแห้งจนกระทั่งความชื้นเข้าสู่สภาวะสมดุล ทำการวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น (AOAC, 2000) ค่าสีในหน่วยระบบสี CIELAB (L* a* และ b*) โดย L* คือค่าความสว่างและความมืด a* คือค่าสีแดงและสีเขียว และ b* คือค่าสีเหลืองและสีน้ำเงิน โดยใช้เครื่องวัดสี (Spectrophotometer) (Ultra scan, Hunter lab, Virginia, USA) ความหนาของแผ่นฟิล์มและความเป็นผลึก (X-ray diffraction, XRD) ตามวิธีการของ Hazirah และคณะ (2016) สัณฐานวิทยา หมู่ฟังก์ชัน (Fourier-transform infrared (FTIR) spectroscopy) และเวลาในการละลายในหลอดทดลองตามวิธีการของ Heinemann และคณะ (2016) และวิธีวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพดัดแปลงจากวิธีของ Ghasemzadeh และคณะ (2018) โดยนำตัวอย่างฟิล์มขิงมาละลายในน้ำลายเทียม (Sungsinchai และคณะ, 2017) อบให้แห้งและละลายใหม่อีกครั้งด้วยเมทานอล นำไปวิเคราะห์ปริมาณ 6- 8- 10-gingerol และ 6-shogaol ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (SPD-M20A; Shimadzu, Kyoto, Japan) ที่มี UV detector ที่ความยาวคลื่น 282 nm ใช้คอลัมน์ Gemini $C_{18}$ (5 µm) ขนาด 250 × 4.6 mm อุณหภูมิคอลัมน์ 48 °C เฟสเคลื่อนที่เป็นน้ำและอะซิโตไนไตรล์มีอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เป็น 0.8 mL/min ปริมาตรในการฉีดคือ 50 µL เทียบกับสารมาตรฐาน 6- 8- 10-gingerol และ 6-shogaol (Chengdu Biopurify Phytochemicals Ltd., Chengdu, China) ที่ละลายในเมทานอลที่ความเข้มข้น 0-200 µg/mL โดยเปรียบเทียบค่าต่างๆกับฟิล์มขิงที่แห้งด้วยการผึ่งในที่ร่ม

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองพบว่าการอบแห้งด้วยอินฟราเรดให้อัตราการอบแห้งที่สูงกว่าการอบแห้งด้วยอากาศร้อน (Figure 1) เนื่องจากการอบแห้งด้วยอินฟราเรดใช้การถ่ายเทความร้อนแบบการแผ่รังสี (Radiation) จากแหล่งกำเนิดโดยไม่ต้องอาศัยตัวกลาง ทำให้โมเลกุลของน้ำใต้พื้นผิววัสดุดูดซับพลังงาน เกิดการสั่นและเกิดความร้อนขึ้นได้ ทำให้อุณหภูมิของวัสดุเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและสม่ำเสมอ ดังนั้นน้ำภายในวัสดุจึงระเหยได้รวดเร็วกว่าเมื่อเทียบกับการอบแห้งด้วยอากาศร้อนที่ใช้การถ่ายเทความร้อนแบบการพาความร้อน (convection) ดังจะเห็นได้จากปริมาณความชื้น ณ สภาวะสมดุลของการอบแห้งด้วยอินฟราเรดมีค่าต่ำกว่าการอบแห้งด้วยอากาศร้อนที่อุณหภูมิเดียวกัน (Table 2) และพบว่าการเพิ่มอุณหภูมิจะใช้เวลาในการอบแห้งที่สั้นลงเนื่องจากมีอัตราการอบแห้งที่สูงขึ้นนั่นเอง (Niamnuy และคณะ, 2013) โดยเวลาที่ใช้ในการอบแห้งแผ่นฟิล์มจนกระทั่งความชื้นเข้าสู่สภาวะสมดุลที่อุณหภูมิ 40 50 และ 60 °C ของการอบแห้งด้วยอากาศร้อนคือ 2,280 1,980 และ 1,680 นาที ตามลำดับ และด้วยอินฟราเรดคือ 1,620 1,440 และ 1,260 นาที ตามลำดับ อย่างไรก็ตามพบว่าการผึ่งในที่ร่มให้เวลาในการอบแห้งแผ่นฟิล์มขิงนานที่สุดคือ 72 ชั่วโมง

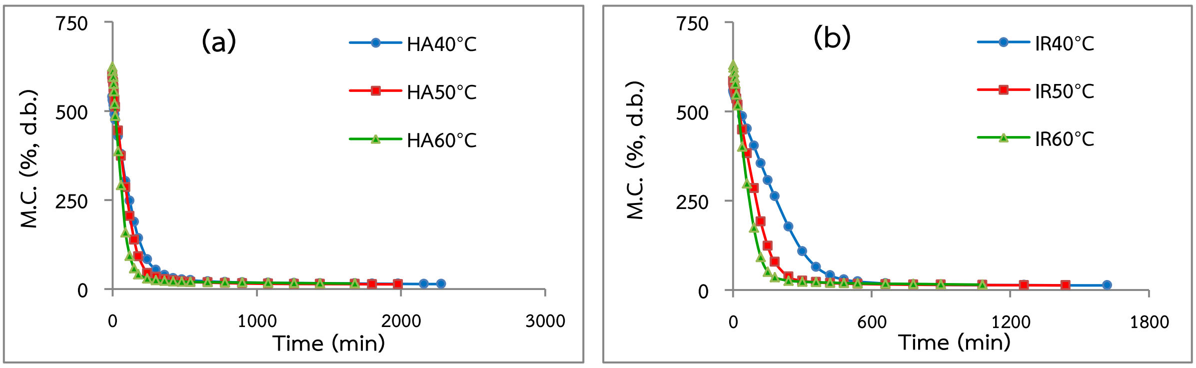



**Figure 1** Drying kinetics of ginger orally dissolving film during (a) hot air drying and (b) infrared drying at 40, 50 and 60 °C

เมื่อพิจารณาลักษณะทางสัณฐานวิทยาจากโครงสร้างทางจุลภาค (Table 1) พบว่าการอบแห้งด้วยอินฟราเรดที่ 40 °C ให้ลักษณะผิวหน้าที่เรียบเนียนกว่าสภาวะการอบแห้งอื่นๆ อาจเนื่องจากการอบแห้งด้วยอินฟราเรดที่อุณหภูมิต่ำทำให้มีการกระจายความร้อนและการระเหยของน้ำที่สม่ำเสมอ ส่งผลให้ฟิล์มมีเกรเดียนท์ความชื้นบนผิวหน้าและภายในแผ่นฟิล์มน้อยกว่าในกรณีการอบแห้งที่สภาวะอื่นๆ

**Table 1** Appearance of ginger orally dissolving film after drying.

| Sample | Appearance** |
|---|---|
| HA40°C | ผิวขรุขระมาก มีฟองอากาศมาก |
| HA50°C | ผิวขรุขระเล็กน้อย มีฟองอากาศมาก |
| HA60°C | ผิวขรุขระมาก มีฟองอากาศปานกลาง |
| IR40°C | ผิวเรียบ มีฟองอากาศเล็กน้อย |
| IR50°C | ผิวขรุขระเล็กน้อย มีฟองอากาศเล็กน้อย |
| IR60°C | ผิวขรุขระมาก มีฟองอากาศเล็กน้อย |
| Shade drying | ผิวขรุขระมาก มีฟองอากาศปานกลาง |

จาก Figure 2a พบว่าฟิล์มขิงมีความเป็นผลึกน้อยลงเมื่อเทียบกับสารก่อฟิล์มบริสุทธิ์ และพบว่าพีค (peak) ของแผ่นฟิล์มขิงที่ผ่านการอบแห้งฟิล์มด้วยอินฟราเรดที่ 50 °C มีความเข้ม (Intensity) ของพีคต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับแผ่นฟิล์มขิงที่สภาวะการอบแห้งอื่นๆ ซึ่งบ่งบอกถึงความเป็นผลึกน้อยที่สุดนั่นเอง และใน Figure 2b พบว่าหมู่ฟังก์ชันไม่มีความแตกต่างกันในแต่ละสภาวะการอบแห้ง โดยพบว่าที่ตำแหน่ง 3320 2926 1639 และ 1080 $cm^{-1}$ สอดคล้องกับหมู่ฟังก์ชัน O-H C-H amide C=O (amide-I) และ C-O ตามลำดับ (Hazirah และคณะ, 2016)

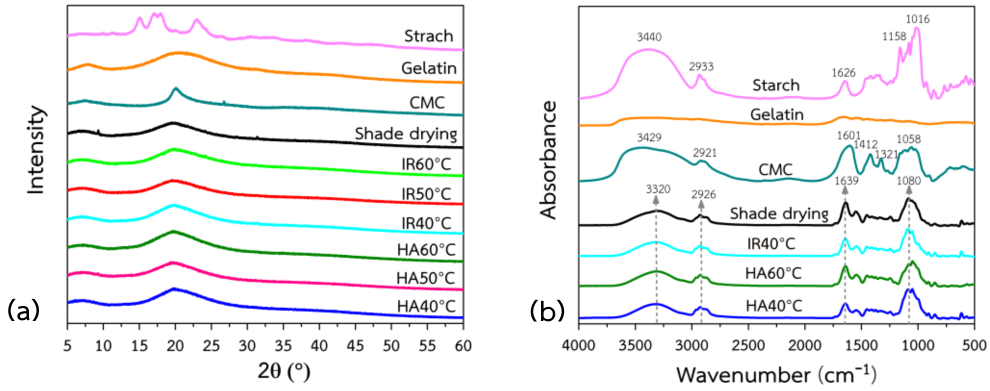



**Figure** 2 XRD (a) and FTIR (b) of starch, gelatin, CMC and dried ginger orally dissolving film.

จากผลการทดลองใน Table 2 พบว่าการอบแห้งด้วยอินฟราเรดโดยเฉพาะที่อุณหภูมิ 50 °C ทำให้ฟิล์มมีค่าความสว่างสูงกว่า แต่มีค่าสีแดงและสีเหลืองต่ำกว่าการอบแห้งแบบลมร้อนและแบบผึ่งในที่ร่ม แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิและเวลาในการอบแห้งส่งผลต่อการเกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลของสารองค์ประกอบในแผ่นฟิล์มระหว่างหมู่คาร์บอนิลและหมู่อะมิโนโดยมีความร้อนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Riquelme และคณะ, 2015) เมื่อพิจารณาเวลาในการละลายในหลอดทดลองของฟิล์มขิง พบว่าการอบแห้งด้วยอินฟราเรดใช้เวลาในการละลายในหลอดทดลองน้อยกว่าเมื่อเทียบกับการอบแห้งด้วยอากาศร้อนที่อุณหภูมิเดียวกัน และพบว่าที่อุณหภูมิ 50 °C ใช้เวลาในการละลายน้อยกว่าที่อุณหภูมิ 40 °C และ 60 °C ทั้งการอบแห้งด้วยอากาศร้อนและอินฟราเรด โดยเฉพาะการอบแห้งด้วยอินฟราเรดที่อุณหภูมิ 50 °C ใช้เวลาในการละลายน้อยที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการที่แผ่นฟิล์มมีความเป็นผลึกต่ำที่สุด แสดงให้เห็นว่าอันตรกิริยาระหว่างอุณหภูมิและเวลาในการอบแห้งมีผลต่อความสามารถในการละลายของแผ่นฟิล์ม อย่างไรก็ตามพบว่าการผึ่งที่อุณหภูมิห้องใช้ระยะเวลาในการทำให้แผ่นฟิล์มละลายนานที่สุด ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากการที่แผ่นฟิล์มมีลักษณะความเป็นผลึกที่มากและมีพีคของหมู่ฟังก์ชันที่ตำแหน่ง 1639 $cm^{-1}$ สูงกว่าการอบแห้งกรณีอื่นๆ ซึ่งแสดงถึงความสามารถในการละลายที่ต่ำ

เมื่อพิจารณาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่าในสารสกัดขิงมีปริมาณของ 6-gingerol 8-gingerol 10-gingerol และ 6-shogaol เท่ากับ 336.61 2,164.82 4,235.45 และ 8,529.15 µg/g dry solid และมีปริมาณสารทั้งหมดเท่ากับ 15,266.03 µg/g dry solid จาก Table 2 พบว่าการอบแห้งฟิล์มขิงด้วยเทคนิคและอุณหภูมิต่างๆ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารดังกล่าวได้เนื่องจากเกิดการเสื่อมสลายของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในระหว่างอบแห้ง (Ghasemzadeh และคณะ, 2018) โดยพบว่าการอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 °C สามารถรักษาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ดีกว่าเมื่อเทียบกับการอบแห้งที่อุณหภูมิ 40 °C ซึ่งใช้เวลาในการ

อบแห้งนานกว่าและที่อุณหภูมิ 60 °C ที่แม้จะใช้เวลาอบแห้งสั้นกว่าแต่ใช้อุณหภูมิที่สูงกว่าในการอบแห้ง นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อพิจารณาที่อุณหภูมิอบแห้งเดียวกัน การอบแห้งด้วยอินฟราเรดสามารถรักษาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในแผ่นฟิล์มขิงได้ดีกว่าเมื่อเทียบกับการอบแห้งด้วยอากาศร้อน โดยเฉพาะอย่างยิ่งการอบแห้งด้วยอินฟราเรดที่อุณหภูมิ 50 °C สามารถรักษาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้สูงที่สุดเมื่อเทียบกับการอบแห้งที่สภาวะอื่นๆ จากผลการทดลองทำให้ทราบว่าทั้งเทคนิคและอุณหภูมิอบแห้งส่งผลร่วมกันต่อการรักษาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในแผ่นฟิล์มขิง

**Table 2** Moisture content, color, *in vitro* dissolution time and the bioactive compound contents of ginger orally dissolving film undergone different drying conditions

| Sample | Moisture content (%, d.b.) | Color | | | *In vitro* dissolution time (min) | Bioactive compound contents (µg/ g dry solid) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | *L** | *a** | *b** | | 6-gingerol | 8-gingerol | 10-gingerol | 6-shogaol | Total |
| HA40°C | 13.72 | 43.90 | 22.69 | 42.58 | 17.8 | 164.24 | 178.91 | 349.57 | 2244.59 | 2937.31 |
| HA50°C | 12.98 | 44.47 | 20.96 | 37.77 | 17.2 | 193.49 | 216.58 | 447.12 | 2322.39 | 3179.58 |
| HA60°C | 15.23 | 41.49 | 22.53 | 41.96 | 20.0 | 136.55 | 137.73 | 348.64 | 1310.46 | 1933.38 |
| IR40°C | 12.79 | 43.68 | 22.84 | 40.90 | 17.5 | 176.48 | 195.29 | 384.05 | 2511.62 | 3267.44 |
| IR50°C | 12.88 | 48.24 | 20.99 | 33.77 | 16.8 | 383.32 | 227.16 | 538.36 | 3269.83 | 4418.67 |
| IR60°C | 14.85 | 43.88 | 22.57 | 40.53 | 19.5 | 147.87 | 244.83 | 294.56 | 1809.76 | 2497.02 |
| Shade drying | 14.25 | 45.08 | 21.28 | 35.73 | 25.5 | 224.29 | 133.98 | 753.62 | 2460.06 | 3571.95 |

## สรุปผล

การอบแห้งแผ่นฟิล์มขิงด้วยอินฟราเรดให้อัตราการอบแห้งที่สูงกว่าการอบแห้งด้วยอากาศร้อน และอัตราการอบแห้งเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการอบแห้ง นอกจากนี้ยังพบว่าการอบแห้งแผ่นฟิล์มด้วยอินฟราเรดที่อุณหภูมิ 50 °C แสดงเวลาในการละลายในหลอดทดลองสั้นที่สุด และมีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของขิงสูงที่สุดเมื่อเทียบกับการอบแห้งที่สภาวะอื่นๆ

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณคณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในการสนับสนุนทุนวิจัย

## เอกสารอ้างอิง

AOAC, 2000, Official Methods of Analysis of AOAC Internatonal, 17th ed, AOAC International, Gaithersburg, Maryland.

Ghasemzadeh, A., Jaafar, H.Z., Baghdadi, A. and Tayebi-Meigooni, A., 2018, Formation of 6-, 8-and 10-Shogaol in Ginger through Application of Different Drying Methods: Altered Antioxidant and Antimicrobial Activity, Molecules, 23(7): 1646.

Hazirah, M.N., Isa, M.I.N. and Sarbon, N.M., 2016, Effect of Xanthan Gum on the Physical and Mechanical Properties of Gelatin-Carboxymethyl Cellulose Film Blends, Food Packaging and Shelf Life, 9: 55–63.

Heinemann, R.J.B., Vanin, F.M., Carvalho, R.A.D., Trindade, M.A. and Fávaro-Trindade, C.S., 2017, Characterization of Low Cost Orally Disintegrating Film (ODF), Polímeros, 27(1): 48–54.

Niamnuy, C., Charoenchaitrakool, M., Mayachiew, P. and Devahastin, S., 2013, Bioactive Compounds and Bioactivities of *Centella asiatica* (L.) Urban Prepared by Different Drying Methods and Conditions, Drying Technology, 31(16): 2007–2015.

Riquelme, N., Díaz-Calderón, P., Enrione, J. and Matiacevich, S., 2015, Effect of Physical State of Gelatin-Plasticizer Based Films on to the Occurrence of Maillard Reactions, Food Chemistry, 175: 478-484.

Sungsinchai, S., Niamnuy, C., Jaree, A. and Devahastin, S., 2017, Influences of Pretreatment and Drying Methods on Composition, Micro/molecular Structures and Some Health-related Functional Characteristics of Dietary Fibre Powder from Orange Pulp Residues, International Journal of Food Science & Technology, 52(10): 2217–2229.

Sungsinchai, S., Niamnuy, C., Wattanapan, P., Charoenchaitrakool, M. and Devahastin, S., 2019, Texture Modification Technologies and Their Opportunities for the Production of Dysphagia Foods: A Review, Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 18(6): 1898–1912.

# การพัฒนาแผ่นฟิล์มขิงละลายในช่องปาก
# Development of Ginger Orally Dissolving Film

**ศิรดา สังสินชัย[1] ธีรพัฒน์ เติมธีรพรพิมล[1] ธีรานุช ศรีศรัณยา[1] ภัทรา วัฒนพันธุ์[2] และ ชลิดา เนียมนุ้ย[1]**
**Sungsinchai, S.[1] Termteerapornpimol, T.[1] Srisarunya, T.[1] Wattanapan P.[2] and Niamnuy, C.[1]**

## Abstract

The objective of this work was to study effect ratio of film forming agents on the properties of ginger orally dissolving film (ODF) for oral health. The film forming agents used in this work were xanthan gum, gelatin and pullulan. Extreme vertices method was used for the experimental design. Film was prepared by solvent-casting method. The procedure of ODF started with mixing film forming agents, ginger extract, glycerine, tween80 and sucralose. After that, degassing by ultrasonic technique. Next, the mixture was casted on a mold and dried using a hot air oven at 50 °C for 72 h. Finally, dried films were tested and analyzed. The result showed that the suitable ratio of three film forming agents (Pullulan: Gelatin: Xanthan gum) was 0.45:0.45:0.10. This condition presented the film with the lowest shrinkage and the shortest *in-vitro* dissolving time. The percentage of bioactive compounds retention in film was 38.33 ± 2.12.

**Keywords:** Ginger, Dissolving time, Shrinkage

## บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาผลของอัตราส่วนของสารก่อฟิล์มที่ใช้ในการผลิตแผ่นฟิล์มขิงละลายในช่องปากเพื่อประยุกต์ใช้งานสำหรับสุขภาพอนามัยในช่องปาก สารก่อฟิล์มที่ใช้ในงานวิจัยนี้คือ แซนแทนกัม, เจลาติน และพูลลูแลน ออกแบบการทดลองด้วยวิธี Extreme Vertices ใช้วิธี Solvent-casting ในการผลิตแผ่นฟิล์ม โดยมีขั้นตอนดังนี้ เตรียมสารละลายของสารก่อฟิล์มทั้ง 3 ประเภทมาผสมรวมกับสารสกัดขิง กลีเซอรีน ทวีน80 และซูคราโลส ผสมให้เข้ากัน นำไปไล่ฟองอากาศโดยใช้วิธีอัลตร้าโซนิคแล้วนำไปเทลงบนแม่พิมพ์ ทำการอบแห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จะได้แผ่นฟิล์มขิงแล้วนำไปทดสอบสมบัติต่างๆ จากการทดลองพบว่าแผ่นฟิล์มขิงที่มีอัตราส่วนของสารก่อฟิล์ม พูลลูแลน: เจลาติน: แซนแทนกัมที่เหมาะสมที่สุด คือ 0.45:0.45:0.10 โดยอัตราส่วนนี้แสดงแผ่นฟิล์มที่มีการหดตัวน้อยที่สุด และใช้เวลาในการละลายสั้นที่สุด โดยมีร้อยละการคงเหลือของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในแผ่นฟิล์มเท่ากับ 38.33 ± 2.12

**คำสำคัญ:** การหดตัว ขิง เวลาในการละลาย

## คำนำ

ขิง (Ginger) มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Zingiber officinale* Roscoe เป็นพืชวงศ์ขิง (ZINGIBERACEAE) ขิงเป็นสมุนไพรไทยที่มีสรรพคุณทางยาหลากหลาย อาทิ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ลดอาการท้องเฟ้อจุกเสียด บรรเทาอาการปวด เป็นต้น นอกจากนี้จากงานวิจัยที่ผ่านมา (Hirata และคณะ, 2016; Kiyama, 2020) พบว่าขิงมีสรรพคุณยับยั้งแบคทีเรียในช่องปาก ต้านการอักเสบและสมานแผล รวมถึงการกระตุ้นการกลืนในผู้ที่มีภาวะกลืนลำบาก โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในขิง ได้แก่ 6-gingerol 8-gingerol 10-gingerol และ 6-shogaol การนำขิงมาใช้ในงานเพื่อสุขภาพอนามัยในช่องปาก รวมถึงกระตุ้นการกลืนถือเป็นการใช้ประโยชน์จากสารออกฤทธิ์จากธรรมชาติเพื่อลดการใช้ยาสังเคราะห์ อย่างไรก็ตาม สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสามารถเสื่อมสลายได้เร็วและมีความสามารถในการละลายต่ำหากอยู่ในรูปแบบสารสกัด การใช้สารออกฤทธิ์ในรูปของแผ่นฟิล์มละลายในช่องปากถือเป็นทางเลือกที่น่าสนใจ ทั้งนี้ชนิดและสัดส่วนของสารก่อฟิล์มถือเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการกักเก็บสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสมบัติของแผ่นฟิล์ม โดยเฉพาะสารก่อฟิล์มได้แก่ เจลาติน แซนแทนกัม และพูลลูแลน ซึ่งนิยมใช้ในการผลิตแผ่นฟิล์มแตกตัวในช่องปาก เนื่องจากละลายน้ำได้ดี ใช้เวลาในการแตกตัวน้อย อีกทั้งยังเพิ่มสมบัติทางกลให้กับแผ่นฟิล์ม (Pacheco และคณะ, 2021) อย่างไรก็ตามการใช้สารก่อฟิล์มหลาย

[1] ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 50 ถ.งามวงศ์วาน ลาดยาว จตุจักร กรุงเทพฯ 10900
[1] Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Kasetsart University, 50 Ngam Wong Wan Rd, Lat Yao, Chatuchak, Bangkok 10900
[2] ภาควิชาเวชศาสตร์ฟื้นฟู คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 123 ถ.มิตรภาพ อ.เมือง ขอนแก่น 40002
[2] Department of Rehabilitation Medicine, Faculty of Medicine, Khon Kaen University, 123 Mittapap Rd, Muang, Khon Kaen 40002

ชนิดรวมกันย่อมส่งผลโดยตรงต่อสมบัติเชิงกลของฟิล์ม เช่น สมบัติการละลาย เป็นต้น ดังนั้นวัตถุประสงค์ในการศึกษานี้คือ เพื่อศึกษาผลของสัดส่วนของสารก่อฟิล์มชนิดต่างๆที่มีต่อสมบัติของแผ่นฟิล์มขิงละลายในช่องปาก

## อุปกรณ์และวิธีการ

แผ่นฟิล์มขิงละลายในช่องปากเตรียมด้วยวิธีการเทโดยอาศัยตัวทำละลาย (solvent-casting) (Heinemann และคณะ, 2016) โดยเริ่มจากการเตรียมสารก่อฟิล์มจากพูลลูแลน เจลาติน และแซนแทนกัม ละลายในน้ำปราศจากไอออนที่ความเข้มข้น 10 10 และ 3% (w/v) ตามลำดับ จากนั้นผสมสารละลายของสารก่อฟิล์มทั้ง 3 ชนิดด้วยอัตราส่วนที่ได้จากการทดลองออกแบบส่วนผสม (mixture design) แบบ Extreme vertices ดังแสดงใน Table 1 นำส่วนผสมของสารก่อฟิล์มแต่ละสูตรปริมาณ 88.92% (w/w) มารวมกับสารสกัดขิง กลีเซอรีน ทวีน 80 และซูคราโลสในปริมาณเท่ากับ 8.74 1.68 0.33 และ 0.33% (w/w) ตามลำดับ ผสมให้เข้ากัน นำไปไล่ฟองอากาศโดยใช้วิธีอัลตร้าโซนิคแล้วนำไปเทลงบนแม่พิมพ์ขนาด 10 × 13 × 0.3 เซนติเมตร ทำการอบแห้งซึ่งดัดแปลงวิธีการทดลองมาจาก Heinemann และคณะ (2016) โดยใช้ตู้อบลมร้อน (Redline by Binder, FD115, Tuttlingen, Germany) ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นนำมาวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันโดยเทคนิค FTIR (Heinemann และคณะ, 2016) ความเป็นผลึกโดยเทคนิค XRD (Hazirah และคณะ, 2016) การหดตัวเชิงพื้นที่และเชิงปริมาตรของแผ่นฟิล์มโดยซอฟแวร์ ImageJ (version 1.51k) (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) (Kurozawa และคณะ, 2012) เวลาที่ใช้ในการละลายของแผ่นฟิล์มในหลอดทดลองโดยวิธีของ Heinemann และคณะ (2016) และปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของขิงในแผ่นฟิล์มได้แก่ 6-gingerol 8-gingerol 10-gingerol และ 6-shogaol โดย ดัดแปลงจากวิธีของ Ghasemzadeh และคณะ (2018) ทำได้โดยการนำตัวอย่างฟิล์มขิงขนาด 2×2 เซนติเมตร มาผสมกับน้ำลายเทียม (Sungsinchai และคณะ, 2017) คนให้ละลายเข้ากัน อบให้แห้งและนำเมทานอลมาละลายใหม่อีกครั้งเพื่อให้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในขิงหลุดออกมา จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง สูง (SPD-M20A; Shimadzu, Kyoto, Japan) ที่มี UV detector ที่ความยาวคลื่น 282 nm ใช้คอลัมน์ Gemini $C_{18}$ (5 μm) ขนาด 250 × 4.6 mm อุณหภูมิคอลัมน์ 48 °C เฟสเคลื่อนที่เป็นน้ำและอะซิโตไนไตรล์ (Ghasemzadeh และคณะ (2018) มีอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เป็น 0.8 mL/min ปริมาตรในการฉีดคือ 50 μL เทียบกับสารมาตรฐาน 6- 8- 10-gingerol และ 6-shogaol ที่ละลายในเมทานอลที่ความเข้มข้น 0-200 μg/mL

**Table 1** The ratio of film forming agents designed by Extreme vertices method

| Run no. | Pullulan (% dry solid) | Gelatin (% dry solid) | Xanthan gum (% dry solid) | Visual observation |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 0.10 | 0.10 | 0.80 | ผิวขรุขระมาก มีฟองอากาศมาก แผ่นฟิล์มสม่ำเสมอ |
| 2 | 0.10 | 0.80 | 0.10 | ผิวขรุขระ มีรอยแตกร้าวทั้งแผ่นฟิล์ม |
| 3 | 0.80 | 0.10 | 0.10 | ผิวเรียบ ความหนาไม่สม่ำเสมอ |
| 4 | 0.22 | 0.22 | 0.57 | ผิวขรุขระ มีฟองอากาศมาก แผ่นฟิล์มสม่ำเสมอ |
| 5 | 0.22 | 0.57 | 0.22 | ผิวขรุขระ มีรอยแตกร้าวทั้งแผ่นฟิล์ม |
| 6 | 0.57 | 0.22 | 0.22 | ผิวเรียบ มีช่องว่างขนาดใหญ่ในแผ่นฟิล์ม |
| 7 | 0.10 | 0.45 | 0.45 | ผิวขรุขระ มีฟองอากาศมาก มีช่องว่างในแผ่นฟิล์ม |
| 8 | 0.45 | 0.10 | 0.45 | ผิวขรุขระ มีฟองอากาศมาก แผ่นฟิล์มสม่ำเสมอ |
| 9 | 0.45 | 0.45 | 0.10 | ผิวเรียบ มีฟองอากาศเล็กน้อย แผ่นฟิล์มสม่ำเสมอ |
| 10 | 0.33 | 0.33 | 0.33 | ผิวขรุขระ มีฟองอากาศมาก มีช่องว่างในแผ่นฟิล์ม |

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองพบว่าหลังการอบแห้ง แผ่นฟิล์มขิงมีสมบัติแตกต่างกันไปตามสัดส่วนของสารก่อฟิล์มชนิดต่างๆ แผ่นฟิล์มที่มีปริมาณของพูลลูแลนมาก พบว่ามีการหดตัวมากและขาดความต่อเนื่องของแผ่นฟิล์ม ไม่เป็นแผ่นฟิล์มสมบูรณ์ ส่วนแผ่นฟิล์มที่มีปริมาณของเจลาตินมาก มีการเกิดรอยแตกเกิดขึ้นไม่สามารถคงเป็นแผ่นฟิล์มได้ และแผ่นฟิล์มที่มีปริมาณของแซนแทนกัมมาก พบว่ามีฟองอากาศในแผ่นฟิล์มเกิดขึ้นเป็นปริมาณมาก ทำให้พื้นผิวของแผ่นฟิล์มไม่เรียบเนียน โดยแผ่นฟิล์มที่มีลักษณะผิวเรียบเนียนและสามารถคงสภาพความเป็นแผ่นได้มีจำนวน 4 ตัวอย่าง ได้แก่ ตัวอย่างที่มีอัตราส่วนของพูลลูแลน เจลาติน และแซนแทนกัม เท่ากับ 0.10:0.10:0.80 (หมายเลข 1) 0.22:0.22:0.57 (หมายเลข 4) 0.45:0.10:0.45 (หมายเลข 8) และ 0.45:0.45:0.10 (หมายเลข 9) ตามลำดับ ซึ่งได้นำไปวิเคราะห์สมบัติอื่นๆต่อไป โดยแผ่นฟิล์มขิงที่มีความสมบูรณ์มากที่สุดคือแผ่นฟิล์มตัวอย่างหมายเลข 9 ซึ่งมีอัตราส่วนของพูลลูแลน เจลาติน และแซนแทนกัมเท่ากับ 0.45:0.45:0.10 ตามลำดับ

จาก Table 2 เมื่อพิจารณาการหดตัวของแผ่นฟิล์มตัวอย่างที่มีอัตราส่วนของพูลลูแลน เจลาติน และแซนแทนกัมเท่ากับ 0.10:0.10:0.80 (หมายเลข 1) 0.22:0.22:0.57 (หมายเลข 4) 0.45:0.10:0.45 (หมายเลข 8) และ 0.45:0.45:0.10 (หมายเลข 9) ตามลำดับ พบว่าแผ่นฟิล์มที่มีปริมาณแซนแทนกัมมากแสดงการหดตัวทั้งเชิงพื้นที่และเชิงปริมาตรมากกว่าแผ่นฟิล์มที่ได้จากสภาวะอื่นๆ สภาวะที่มีการหดตัวน้อยที่สุดคือสภาวะหมายเลข 9 และเมื่อพิจารณาเวลาที่ใช้ในการละลายของแผ่นฟิล์มในหลอดทดลอง พบว่าสภาวะหมายเลข 4 และสภาวะหมายเลข 9 เป็นสภาวะที่ใช้เวลาในการละลายของแผ่นฟิล์มขิงยาวที่สุด และสั้นที่สุด ตามลำดับ ทั้งนี้เกิดจากความสามารถในการละลายน้ำได้ดีของพูลลูแลนและเจลาติน ขณะที่แซนแทนกัมมีความสามารถในการอุ้มน้ำที่ดี แต่ความสามารถในการละลายต่ำกว่าพูลลูแลนและเจลาติน เมื่อทำการเตรียมแผ่นฟิล์มที่ได้จากการเตรียมด้วยสภาวะหมายเลข 9 ที่ไม่มีการเติมสารสกัดขิงมาทดสอบเวลาที่ใช้ในการละลายของแผ่นฟิล์มในหลอดทดลอง พบว่าสามารถละลายเร็วกว่ากรณีที่มีการเติมสารสกัดขิงประมาณ 2 เท่า ซึ่งสอดคล้องกับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD ซึ่งพบว่าแผ่นฟิล์มที่มีการเติมสารสกัดขิงมีความเป็นผลึกสูงกว่าแผ่นฟิล์มที่ไม่มีการเติมสารสกัดขิงที่อัตราส่วนสารก่อฟิล์มเดียวกัน (ไม่แสดงข้อมูลการวิเคราะห์) ผลการทดลองนี้ทำให้ทราบว่าการมีปริมาณพูลลูแลนและเจลาตินเท่ากัน และมีแซนแทนกัมน้อยกว่าสารก่อฟิล์มอื่นประมาณ 4.5 เท่าจะทำให้ฟิล์มขิงที่มีการหดตัวน้อยที่สุดและใช้เวลาในการละลายของแผ่นฟิล์มในหลอดทดลองสั้นที่สุด เมื่อเทียบกับการใช้สารก่อฟิล์มที่อัตราส่วนอื่นๆ

เมื่อนำแผ่นฟิล์มขิงที่สภาวะหมายเลข 9 ไปทำการวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพก่อนและหลังการอบแห้ง ได้ผลการทดลองดังแสดงใน Table 3 โดยพบว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ 6-gingerol 8-gingerol 10-gingerol และ 6-shogaol มีปริมาณลดลง โดย 6-gingerol มีความเสถียรต่ำที่สุด การลดลงของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในสารสกัดขิงนี้เกิดจากการเสื่อมสลายเนื่องจากความร้อน (Thermal degradation) และปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation degradation) ในระหว่างการอบแห้ง

**Table 2** Shrinkage and *in vitro* dissolution time of ginger orally dissolving films

| Run no. | Ratio of film forming agents (P : G : XG) | Shrinkage by area (%) | Shrinkage by volume (%) | *In vitro* dissolution time (min) |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 0.10 : 0.10 : 0.80 | 3.36 | 76.45 | 81.17 |
| 4 | 0.22 : 0.22 : 0.57 | 0.95 | 78.21 | 131.57 |
| 8 | 0.45 : 0.10 : 0.45 | 3.10 | 79.01 | 88.29 |
| 9 | 0.45 : 0.45 : 0.10 | 0.07 | 75.35 | 18.26 |
| 9 (without ginger extract) | 0.45 : 0.45 : 0.10 | - | - | 9.54 |

**Table 3** The bioactive compounds retention in ginger orally dissolving film (Run no. 9)

| Bioactive compound | Content (µg/ g solid) | |
|---|---|---|
| | Before drying | After drying |
| 6-gingerol | 445.61 | 51.43 |
| 8-gingerol | 1,488.46 | 380.02 |
| 10-gingerol | 1,770.16 | 840.88 |
| 6-shogaol | 11,561.80 | 4,579.90 |
| Total | 15,266.03 | 5,852.22 |
| % Retention | | 38.33 |

เมื่อพิจารณาที่หมู่ฟังก์ชันใน Figure 1b พบว่าลักษณะของพีค (peak) มีความแตกต่างจากสารก่อฟิล์มบริสุทธิ์ (Figure 1a) เนื่องการการเกิดอันตรกิริยากันของสารประกอบที่อยู่ภายในแผ่นฟิล์ม อย่างไรก็ตามพบว่าสารสกัดขิงและฟิล์มขิงที่ได้จากการเตรียมด้วยสภาวะที่มีอัตราส่วนของพูลลูแลน เจลาติน และแซนแทนกัมเท่ากับ 0.10:0.10:0.80 (หมายเลข 1) 0.80:0.10:0.10 (หมายเลข 3) 0.45:0.45:0.10 (หมายเลข 9) และ 0.33:0.33:0.33 (หมายเลข 10) ตามลำดับ มีหมู่ฟังก์ชัน O-H ที่ตำแหน่ง 3000-3700 $cm^{-1}$ หมู่ฟังก์ชัน C-H ที่ตำแหน่ง 2800-3000 $cm^{-1}$ หมู่ฟังก์ชัน amide C=O (amide-I) ที่ตำแหน่งระหว่าง 1600-1700 $cm^{-1}$ และหมู่ฟังก์ชัน C-O ที่ตำแหน่ง 900-1100 $cm^{-1}$ (Hazirah และคณะ, 2016) สังเกตได้ว่าแผ่นฟิล์มที่ได้จากการเตรียมด้วยสภาวะหมายเลข 1 และ 10 มีความเข้ม (Intensity) ของพีคหมู่ฟังก์ชัน amide-I สูงกว่า ซึ่งแสดงถึงความสามารถในการละลายที่ต่ำกว่า เมื่อเทียบกับแผ่นฟิล์มที่เตรียมด้วยสภาวะหมายเลข 3 และ 9 ในขณะที่แผ่นฟิล์มที่ได้จากการเตรียมด้วยสภาวะหมายเลข 3 แม้จะมีความเข้มของพีคหมู่ฟังก์ชัน amide-I ที่ต่ำ แต่มีการหดตัวมาก จึงไม่เหมาะสมในนำมาใช้เป็นสภาวะการเตรียมแผ่นฟิล์มขิง ทั้งนี้จะเห็นได้ว่าแผ่นฟิล์มที่ได้จากการ

เตรียมด้วยสภาวะหมายเลข 9 มีความเข้มของพีคหมู่ฟังก์ชัน amide-I ที่ต่ำ และมีพื้นที่ของพีคของหมู่ฟังก์ชัน C-O ที่กว้าง บ่งบอกถึงสมบัติความเป็นผลึกต่ำ ซึ่งสอดคล้องกับความสามารถในการละลายที่สูงกว่าแผ่นฟิล์มที่เตรียมด้วยสภาวะอื่นๆ

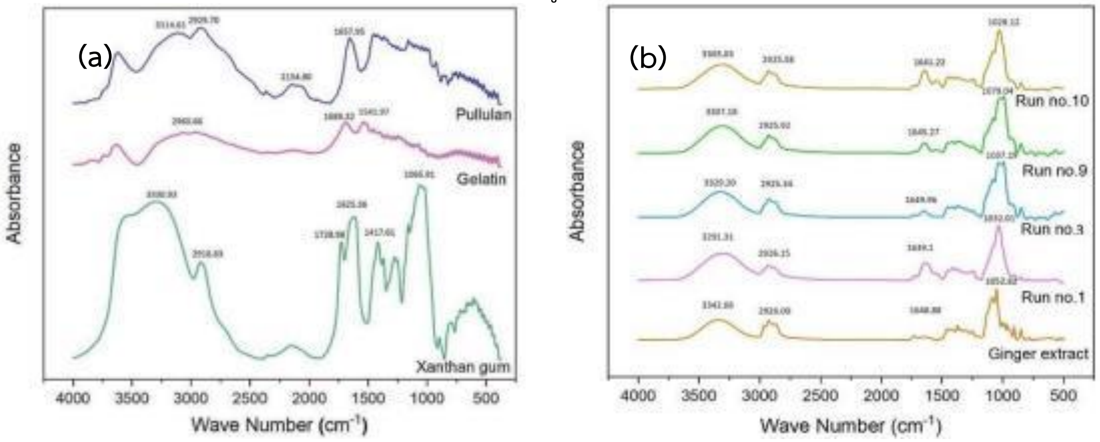



**Figure 1** FTIR (a) and XRD (b) ginger orally dissolving film

## สรุปผล

สภาวะที่ดีที่สุดในการผลิตแผ่นฟิล์มขิงคือ การเตรียมแผ่นฟิล์มที่อัตราส่วนของพูลลูแลน เจลาติน และแซนแทนกัม เท่ากับ 0.45:0.45:0.10 ตามลำดับ โดยพบว่าแผ่นฟิล์มมีการหดตัวของแผ่นฟิล์มน้อยที่สุด และใช้เวลาในการละลายในหลอดทดลองสั้นที่สุด ทั้งนี้พบว่าแผ่นฟิล์มขิงที่ได้มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพคงเหลือในแผ่นฟิล์มหลังการอบแห้งเท่ากับ 38.33 ± 2.12% ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในแผ่นฟิล์มก่อนการอบแห้ง

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณคณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในการสนับสนุนทุนวิจัย

## เอกสารอ้างอิง

Dugasani, S., Pichika, M.R., Nadarajah, V.D., Balijepalli, M.K., Tandra, S. and Korlakunta, J.N., 2010, Comparative Antioxidant and Anti-inflammatory Effects of [6]-Gingerol, [8]-Gingerol, [10]-Gingerol and [6]-Shogaol, Journal of Ethnopharmacology, 127(2): 515–520.

Ghasemzadeh, A., Jaafar, H.Z., Baghdadi, A. and Tayebi-Meigooni, A., 2018, Formation of 6-, 8-and 10-Shogaol in Ginger through Application of Different Drying Methods: Altered Antioxidant and Antimicrobial Activity, Molecules, 23(7): 1646.

Heinemann, R.J.B., Vanin, F.M., Carvalho, R.A.D., Trindade, M.A. and Fávaro-Trindade, C.S., 2017, Characterization of Low Cost Orally Disintegrating Film (ODF), Polímeros, 27(1): 48–54.

Hirata, A., Funato, H., Nakai, M., Iizuka, M., Abe, N., Yagi, Y., Shiraishi, H., Jobu, K., Yokota, J., Hirose, K., Hyodo, M. and Miyamura, M., 2016, Ginger Orally Disintegrating Tablets to Improve Swallowing in Older People, Biological and Pharmaceutical Bulletin, 39(7): 1107–1111.

Kiyama, R., 2020, Nutritional Implications of Ginger: Chemistry, Biological Activities and Signaling Pathways, The Journal of Nutritional Biochemistry, 86: 108486.

Kurozawa, L.E., Hubinger, M.D. and Park, K.J., 2012, Glass Transition Phenomenon on Shrinkage of Papaya during Convective Drying, Journal of Food Engineering, 108(1): 43-50.

Pacheco, M.S., Barbieri, D., da Silva, C.F. and de Moraes, M.A., 2021, A Review on Orally Disintegrating Films (ODFs) Made from Natural Polymers such as Pullulan, Maltodextrin, Starch, and Others, International Journal of Biological Macromolecules, 178: 504–513.

Sungsinchai, S., Niamnuy, C., Jaree, A. and Devahastin, S., 2017, Influences of Pretreatment and Drying Methods on Composition, Micro/molecular Structures and Some Health-related Functional Characteristics of Dietary Fibre Powder from Orange Pulp Residues, International Journal of Food Science & Technology, 52(10): 2217–2229.

# การสกัดพอลิแซคคาไรด์จากว่านหางจระเข้ด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคที่มีของเหลวไอออนิกเป็นองค์ประกอบ และตรวจวัดปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวในพอลิแซคคาไรด์ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง*

# Extraction of Aloe Polysaccharides Using Ionic Liquid Based Aqueous Two-Phased System and Determination of the Monosaccharide Constitutes in Aloe Polysaccharides by HPLC-ELSD

**มณีรัตน์ มีพลอย[1] รัตนศิริ จิวานนท์[1] และ เสาวลักษณ์ เรืองศรี[1]**
**Meeploy, M.[1], Giwanon, R.[1] and Rungsri, S.[1]**

**Abstract**

This work aimed to simultaneously extract aloe polysaccharides and proteins by an ionic liquid based aqueous two-phased system (ILATPS) of 1-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate ([Bmim]$BF_4$) and $NaH_2PO_4$ solution coupled with dialysis and quantify the monosaccharide constitutes of aloe polysaccharides by high performance liquid chromatography equipped with evaporative light scattering detector (HPLC-ELSD). The solution of freeze-dried aloe gel powder was added into ILATPS. An ionic liquid based aqueous two-phased system contained 20.0 mL of the solution of freeze-dried aloe gel powder, 15.0 mL of 3.89 mol $L^{-1}$ $NaH_2PO_4$ solution, 5.0 g of [Bmim]$BF_4$ .The results showed that 98.48% aloe polysaccharides and 11.19% proteins were extracted in salt-rich phase and ionic liquid-rich phase, respectively. Salts were removed from aloe polysaccharides extract by dialysis. Determination of monosaccharide constitutes was carried out by HPLC-ELSD. The result showed that 27.96 mg of mannose and 2.47 mg of galactose were found in 1.0 g of aloe polysaccharide hydrolysate.

**Keywords:** aloe polysaccharides, aqueous two-phase system, dialysis, HPLC-ELSD

**บทคัดย่อ**

การทดลองนี้มีจุดประสงค์เพื่อสกัดพอลิแซคคาไรด์และโปรตีนจากผงเจลว่านหางจระเข้ด้วยระบบสารละลายน้ำสอง วัฏภาคที่มีองค์ประกอบของของเหลวไอออนิก ได้แก่ 1-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate ([Bmim]$BF_4$) และสารละลายโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ($NaH_2PO_4$) ร่วมกับวิธีไดอะไลซิส และตรวจวัดปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เป็นองค์ประกอบของพอลิแซคคาไรด์จากว่านหางจระเข้ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงที่มีการตรวจวัดแบบอาศัยการกระเจิงแสงของอนุภาค (HPLC-ELSD) พบว่า ในสภาวะของการสกัดด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคซึ่งประกอบด้วย สารละลายผงเจลว่านหางจระเข้ ปริมาตร 20.0 มิลลิลิตร สารละลายโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต เข้มข้น 3.89 โมลต่อลิตร ปริมาตร 15.0 มิลลิลิตร และ [Bmim]$BF_4$ 5.0 กรัม สามารถสกัดพอลิแซคคาไรด์ ($E_a$) และโปรตีน ($E_p$) ได้เท่ากับ 98.48% และ 11.19% ตามลำดับ จากนั้นกำจัดเกลือในสารละลายพอลิแซคคาไรด์ออกด้วยวิธีไดอะไลซิส และตรวจวัดปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวด้วยเทคนิค HPLC-ELSD พบน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวแมนโนส และกาแล็กโทส เท่ากับ 27.96 มิลลิกรัม และ 2.47 มิลลิกรัม ในพอลิแซคคาไรด์ไฮโดรไลเสต น้ำหนัก 1.0 กรัม

**คำสำคัญ: พอลิ**แซคคาไรด์จากว่านหางจระเข้ ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค ไดอะไลซิส โครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

## คำนำ

ว่านหางจระเข้มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Aloe vera* Linn. (*Aloe barbadensis* Miller) อยู่ในวงศ์ ASPHODELACEAE เป็นพืชล้มลุกอายุหลายปี ใบหนาอวบน้ำ เติบโตได้ในที่แห้งแล้งกันดาร (perennial succulent xerophyte) ว่านหางจระเข้ถูกนำมาใช้เป็นพืชสมุนไพร (medicinal plant) อย่างยาวนานหลายศตวรรษ มีรายงานการวิจัยพบว่าพอลิแซคคาไรด์ในเนื้อวุ้นว่านหางจระเข้มีฤทธิ์ทางชีวภาพ (biological activity) ที่สำคัญ (Reynolds และ Dweck, 1999; Hamman, 2008) โดยอะซีแมนแนน (acemannan หรือ acetylated mannan) เป็นพอลิแซคคาไรด์หลักในเนื้อวุ้นว่านหางจระเขที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive polysaccharide) ได้แก่ ฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกัน ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ทำให้แผลหายเร็วขึ้น เพิ่มความชุ่มชื้นแก่ผิวหนัง ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย รา และไวรัส ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านเบาหวาน (Sierra-Garcia และคณะ, 2014; Liu และคณะ, 2019) อะซีแมนแนนมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 1,000-1,600 กิโลดาลตัน ประกอบด้วยแมนโนส 84.9% กลูโคส 7.2% และกาแล็กโทส 3.9% โดยมีโครงสร้างเป็นสายโซ่ยาวของแมนโนสและกลูโคสซึ่งเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิกที่ตำแหน่ง เบต้า 1,4 มีหมู่ แอซีทิลกระจายอยู่บนสายโซ่ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และ 3 ของแมนโนส และมีกาแล็กโทสแตกกิ่งก้านออกไป (side chain) จากสายโซ่ที่ตำแหน่ง แอลฟา 1,6 โดยอัตราส่วนของกลูโคสต่อแมนโนสใน repeating unit (เท่ากับ 1:3, 1:6, 1:15 และ 1:22) มีความแตกต่างขึ้นกับปัจจัยของสปีชีส์ว่านหางจระเข้ รวมทั้งวิธีที่ใช้ในการเตรียมอะซีแมนแนน (Liu และ

[1] ศูนย์เชี่ยวชาญนวัตกรรมเกษตรสร้างสรรค์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) 35 หมู่ 3 เทคโนธานี ต. คลองห้า อ. คลองหลวง จ. ปทุมธานี 12120, ประเทศไทย
[1] Expert Center of Innovative Agriculture 35 Mu 3 Technopolis, Tambon Khlong Ha, Amphoe Khlong Luang, Pathum Thani 12120, THAILAND

คณะ, 2019; Hamman, 2008) อย่างไรก็ตามปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญที่จะส่งผลต่อฤทธิ์ทางชีวภาพของพอลิแซคคาไรด์อะซีแมนแนน ได้แก่ การเตรียมพอลิแซคคาไรด์ซึ่งประกอบด้วยหลายขั้นตอน ได้แก่ water extraction ethanol precipitation ammonium sulfate precipitation ultrafiltration anion exchange chromatography และ gel permeation chromatography เป็นต้น การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการสกัดพอลิแซคคาไรด์จากเนื้อวุ้นว่านหางจระเข้ด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคที่มีของเหลว ไอออนิกเป็นองค์ประกอบตามวิธีที่ดัดแปลงเล็กน้อยจากวิธีของ Tan และคณะ (2012) ระบบนี้เกิดจากการผสมสารละลายต่างชนิดกันสองสารละลาย ในการทดลองนี้เป็นการผสมกันของของเหลวไอออนิก (ionic liquid) ได้แก่ [Bmim]$BF_4$ กับสารละลายเกลืออนินทรีย์ $NaH_2PO_4$ วิธีนี้เป็นวิธีที่ไม่ซับซ้อน ใช้เวลาน้อย มีประสิทธิภาพสูงในการสกัดพอลิแซคคาไรด์ และสามารถสกัดโปรตีนพร้อมทั้งสิ่งเจือปนอื่นออกจากพอลิแซคคาไรด์ได้ในเวลาเดียวกัน ของเหลวไอออนิกจัดเป็นสารประเภทเกลืออินทรีย์ที่มีสถานะเป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้อง ระเหยยาก มีความดันไอต่ำที่สภาวะอุณหภูมิห้อง มีความเสถียรต่อความร้อนและปฏิกิริยาเคมีได้ดี มีความหนาแน่นของประจุสูงทำให้สามารถละลายสารชีวพอลิเมอร์ธรรมชาติที่มีโครงสร้างภายในที่แข็งแรงได้ นอกจากนี้ของเหลวไอออนิกที่ใช้สกัดแล้วสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ จึงมีความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction) ซึ่งใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ระเหยง่าย (volatile organic solvent) ในปริมาณมาก มีความเป็นพิษ และไวไฟ

## อุปกรณ์และวิธีการ

นำใบว่านหางจระเข้มาล้างน้ำเพื่อทำความสะอาด ปอกเปลือกใบว่านหางจระเข้ให้เหลือเฉพาะเนื้อวุ้น ล้างเนื้อวุ้นอีกครั้ง นำส่วนเนื้อวุ้นน้ำหนัก 1 กิโลกรัม ไปปั่นจนละเอียดด้วยเครื่องปั่น จากนั้นนำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ชั่งน้ำหนักผงแห้ง ทำการสกัดพอลิแซคคาไรด์และโปรตีนในตัวอย่างผงแห้งจากเนื้อวุ้นว่านหางจระเข้ด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคที่มีองค์ประกอบของของเหลวไอออนิก ได้แก่ 1-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate ([Bmim]$BF_4$) โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ($NaH_2PO_4$)ง ตามวิธีของ Tan และคณะ, (2012) โดยละลายตัวอย่างผงแห้งจากเนื้อวุ้นว่านหางจระเข้ น้ำหนัก 0.5 กรัม ในเอธานอลเข้มข้น 9.0% โดยปริมาตร ปริมาตร 30 มิลลิลิตร กวนบนเครื่องกวนที่ปรับอุณหภูมิได้ จนกระทั่งตัวอย่างเดือด จากนั้นยกมากวนที่อุณหภูมิห้องจนตัวอย่างละลายสมบูรณ์ ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 50 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8,500 รอบต่อนาที นาน 20 นาที นำส่วนใสปริมาตร 20 มิลลิลิตร เติม 1-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate ปริมาตร 4.13 มิลลิลิตร (คิดเป็นน้ำหนัก 5 กรัม) และสารละลายโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต เข้มข้น 3.89 โมลต่อลิตร ปริมาตร 15 มิลลิลิตร กวนเบาๆ บนเครื่องกวนสารแบบแท่งแม่เหล็ก ที่อุณหภูมิห้อง นาน 60 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8,500 รอบต่อนาที นาน 20 นาที เพื่อให้เกิดการแยกชั้น เก็บสารละลายส่วนบน (ionic liquid-rich phase) วัดปริมาตร สกัด 1-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate ออกด้วยไดคลอโรมีเทน และนำไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Bradford method (Bradford, 1976) เก็บสารละลายส่วนล่าง (salt-rich phase) วัดปริมาตร นำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (total sugar) ด้วยวิธี phenol-sulfuric acid method (Dubois และคณะ, 1956) คำนวณประสิทธิภาพการสกัดพอลิแซคคาไรด์ (extraction efficiency of aloe polysaccharides, $E_a$) และประสิทธิภาพการสกัดโปรตีน (extraction efficiency of proteins, $E_p$) ดังสมการ (1) และ (2) ตามลำดับ จากนั้นกำจัดเกลือในสารละลายส่วนล่างด้วยวิธีไดอะไลซิส (dialysis) นำสารละลายทั้งหมดที่ได้หลังจากการไดอะไลซิสไปทำแห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ชั่งน้ำหนักตัวอย่างแห้ง นำไปย่อยด้วยกรดไตรฟลูออโรอะซิติก (TFA) เข้มข้น 3 โมลาร์ ที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง จากนั้นระเหยกรดไตรฟลูออโรอะซิติกที่เหลือออกโดยทำภายใต้ความดันสุญญากาศ ชั่งน้ำหนักแห้งพอลิแซคคาไรด์ที่ถูกย่อยด้วยกรดแล้ว (polysaccharide hydrolysate) ละลายตัวอย่างพอลิแซคคาไรด์ไฮโดรไลเสตด้วยน้ำบริสุทธิ์สูง กรองด้วยตัวกรอง (syringe filter) ขนาด 0.45 ไมครอน นำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวด้วยเทคนิค โครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงที่มีการตรวจวัดแบบอาศัยการกระเจิงแสงของอนุภาค (high-performance liquid chromatography-evaporative light scattering detector, HPLC-ELSD) ตามวิธีที่ได้ดัดแปลงเล็กน้อยจากวิธีของ Meeploy และ Deewatthanawong, (2016)

$$E_a = (C_b V_b / m_a) \times 100\% \quad (1)$$

$$E_p = (C_t V_t / m_p) \times 100\% \quad (2)$$

เมื่อ $m_a$ และ $m_p$ คือ ปริมาณพอลิแซคคาไรด์และปริมาณโปรตีนในสารละลายผงแห้งจากเนื้อวุ้นว่านหางจระเข้ก่อนสกัดตามลำดับ $C_b$ และ $V_b$ คือ ความเข้มข้นของพอลิแซคคาไรด์และปริมาตรของสารละลายชั้นล่าง (salt-rich phase) ตามลำดับ $C_t$ และ $V_t$ คือ ความเข้มข้นของโปรตีนและปริมาตรของสารละลายชั้นบน (ionic liquid-rich phase) ตามลำดับ

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

### 1. ประสิทธิภาพการสกัดพอลิแซคคาไรด์ ($E_a$) และประสิทธิภาพการสกัดโปรตีน ($E_p$)

จากการเตรียมผงแห้งจากเนื้อวุ้นว่านหางจระเข้ พบว่า เนื้อวุ้นว่านหางจระเข้น้ำหนัก 1 กิโลกรัม ทำเป็นผงแห้งได้ 7.7 กรัม คิดเป็นผลผลิต (yield) ที่ได้เท่ากับ 0.77% โดยน้ำหนัก เมื่อนำผงแห้งจากเนื้อวุ้นว่านหางจระเข้มาสกัดพอลิแซคคาไรด์และโปรตีนด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคที่มีองค์ประกอบของของเหลวไอออนิก พบว่า ประสิทธิภาพการสกัดพอลิแซคคาไรด์ และประสิทธิภาพการสกัดโปรตีน เท่ากับ 98.48% และ 11.19% ตามลำดับ

**2. การวิเคราะห์น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว**

วิเคราะห์น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวในพอลิแซคคาไรด์ไฮโดรไลเสตด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ประกอบด้วยคอลัมน์ Inertsil® $NH_2$ (ขนาด 250 mm x 4.6 mm ID) ระบบตัวทำละลายในการชะประกอบด้วย acetonitrile และน้ำ (80 : 20 โดยปริมาตร) กำหนดการชะเป็นแบบ isocratic elution system ด้วยอัตราการไหลเท่ากับ 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ใช้เครื่องตรวจวัด Alltech®3300 ELSD แบบอาศัยการกระเจิงแสงของอนุภาค กำหนดสภาวะของการตรวจวัดคือ อัตราการไหลของแก๊สไนโตรเจน (nebulizing gas) เท่ากับ 4.0 ลิตรต่อนาที ความดันแก๊สไนโตรเจน เท่ากับ 70 psi อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานแมนโนสและกาแล็กโทส พบว่า ที่สภาวะการย่อยพอลิแซคคาไรด์ด้วยกรดไตรฟลูออโรอะซิติก เข้มข้น 3 โมลาร์ ที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง พอลิแซคคาไรด์ไฮโดรไลเสต น้ำหนัก 1 กรัม วิเคราะห์พบน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวแมนโนส และกาแล็กโทส ได้เท่ากับ 27.96 มิลลิกรัม และ 2.47 มิลลิกรัม ตามลำดับ ดังรูปที่ 1 และรูปที่ 2

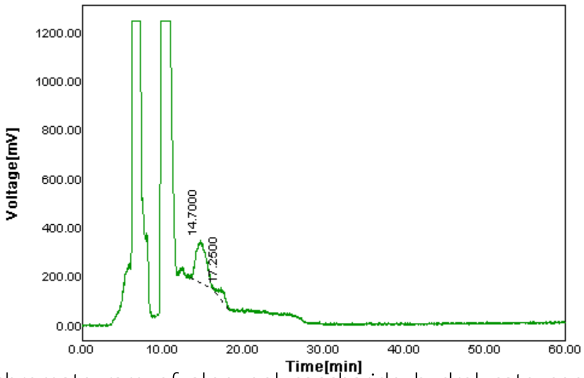



**Figure 1** Typical HPLC-ELSD chromatogram of aloe polysaccharide hydrolysate separating on the Inertsil® $NH_2$ HPLC column. Mannose and galactose were separated with retention time of 14.7000 and 17.2500 min, respectively.

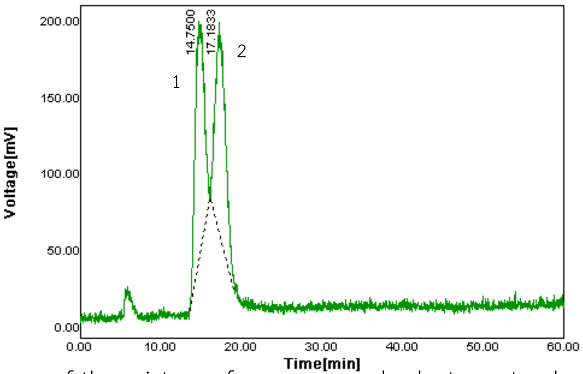



**Figure 2** HPLC-ELSD chromatogram of the mixture of mannose and galactose standards separating on the Inertsil® $NH_2$ HPLC column under the isocratic elution system of acetonitrile and water. The flow rate was maintained at 0.8 mL/min and the injection volume was 20 µL. The flow rate of the nebulizing gas was 4.0 L/min. The drift tube temperature was 40°C and the gain was set at 1. Peaks: 1-mannose (RT=14.7500 min) and 2-galactose (RT=17.1833 min).

ใบว่านหางจระเข้ประกอบด้วยเปลือกใบ (rind) 20%-30% โดยน้ำหนัก และเนื้อวุ้น (pulp หรือ parenchyma tissue) 70%-80% โดยน้ำหนัก เนื้อวุ้นว่านหางจระเข้มีองค์ประกอบทางโครงสร้างที่สำคัญ 3 ส่วน ซึ่งแต่ละส่วนประกอบด้วย พอลิแซคคาไรด์ที่แตกต่างกัน ได้แก่ ผนังเซลล์ (galacturonic acid-rich), ออร์แกเนลล์ต่างๆ ที่เสื่อมแล้วภายในเซลล์ (galactose-rich) และของเหลวใสลักษณะข้นหนืด (mannose-rich) ซึ่งอยู่ภายในเซลล์พาเรนไคมา (parenchyma cell) เนื้อวุ้นว่านหางจระเข้ประกอบด้วยน้ำถึง 99%-99.5% ส่วนที่เหลือ 0.5%-1% เป็นส่วนของของแข็ง ได้แก่ วิตามิน แร่ธาตุ เอนไซม์ กรดแอมิโน พอลิแซคคาไรด์ สารประกอบฟีนอลิก และกรดอินทรีย์ (Hamman, 2008) จากผลการทดลองเตรียมผงแห้งจากเนื้อวุ้นว่านหางจระเข้ พบว่าได้ผลผลิตเท่ากับ 0.77% ซึ่งความสอดคล้องตามข้อมูลเบื้องต้น

ในการสกัดพอลิแซคคาไรด์และโปรตีนจากเนื้อวุ้นว่านหางจระเข้พร้อมกันด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคที่มีของเหลวไอออนิกเป็นองค์ประกอบตามวิธีที่ Tan และคณะ (2012) ได้รายงานไว้ พบว่า การสกัดพอลิแซคคาไรด์มีประสิทธิภาพดี (98.48%) ในขณะที่การสกัดโปรตีนมีประสิทธิภาพต่ำ (11.19%) (ตามรายงานของ Tan และคณะ (2012) เท่ากับ 90.69% และ 44.59% ตามลำดับ เมื่อสภาวะของการสกัดมี $[Bmim]BF_4$ เข้มข้น 18.52% โดยน้ำหนัก และ $NaH_2PO_4$ เข้มข้น 25.93% โดยน้ำหนัก) อาจเป็นผลจากอัตราส่วนและความเข้มข้นของสารละลายสองชนิดได้แก่ $[Bmim]BF_4$ และสารละลายโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตที่ยังไม่เหมาะสม และ/หรือ มีการสูญเสีย

โปรตีนไปบางส่วนในระหว่างขั้นตอนของการสกัด [Bmim]$BF_4$ ออกด้วยไดคลอโรมีเทน

จาก Figure 1 แสดงให้เห็นว่าน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่พบเป็นส่วนใหญ่ในพอลิแซคคาไรด์ไฮโดรไลเสต ได้แก่ แมนโนส มีกาแล็กโทส อยู่ปริมาณเล็กน้อย และไม่พบกลูโคส ซึ่งแมนโนสและกาแล็กโทสเป็นองค์ประกอบหลักในพอลิแซคคาไรด์อะซีแมนแนนและออร์แกเนลล์ต่างๆภายในเซลล์พาเรนไคมา นอกจากนี้ยังพบว่ามี peak ของสารประกอบอื่นๆ อยู่ปริมาณมากในพอลิแซคคาไรด์ที่สกัดได้ ซึ่งอาจเป็นโปรตีน พอลิแซคคาไรด์ วิตามิน ลิปิด ที่เป็นส่วนประกอบในเนื้อวุ้นว่านหางจระเข้ (ELSD จะตรวจวัดตัวถูกละลายทุกชนิดที่ไม่ระเหย ณ อุณหภูมิที่กำหนดไว้บริเวณ drift tube) จึงอาจจำเป็นต้องเพิ่มขั้นตอนในการสกัดตัวอย่างผงแห้งเนื้อวุ้นว่านหางจระเข้ ได้แก่ การปั่นแยกกาก การสกัดด้วยน้ำ การตกตะกอนด้วยเอธานอล เพื่อช่วยให้ตัวอย่างผงแห้งเนื้อวุ้นว่านหางจระเข้สะอาดมากขึ้น สภาวะการย่อยพอลิแซคคาไรด์ด้วยกรดฟลูออโรอะซิติกเป็นอีกสิ่งหนึ่งที่ควรคำนึงถึงหากสภาวะของการย่อยไม่เหมาะสมอาจส่งผลต่อการสลายพันธะไกลโคซิดิกในสายโซ่พอลิแซคคาไรด์ ปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการย่อยพอลิแซคคาไรด์ด้วยกรด ได้แก่ ความเข้มข้นของกรด อุณหภูมิ และระยะเวลาของการย่อย เป็นต้น

## สรุปผล

การสกัดพอลิแซคคาไรด์จากเนื้อวุ้นว่านหางจระเข้ด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคที่มีองค์ประกอบของของเหลวไอออนิกร่วมกับวิธีไดอะไลซิส เป็นวิธีการที่ไม่ซับซ้อน และมีประสิทธิภาพดีในการสกัดแยกพอลิแซคคาไรด์จากว่านหางจระเข้ อย่างไรก็ตามการทำให้พอลิแซคคาไรด์อะซีแมนแนนมีความบริสุทธิ์มากขึ้นนั้นนอกจากการปรับปัจจัยต่างๆ ดังที่กล่าวมาแล้ว อาจต้องใช้วิธีการทำให้บริสุทธิ์อื่นร่วมด้วย ได้แก่ ion exchange chromatography gel permeation chromatography เป็นต้น

## เอกสารอ้างอิง

Bradford, M.M., 1976, A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding, Analytical Biochemistry, 72: 248-254.

Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F., 1956, Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances, Analytical Biochemistry, 28: 350-356.

Hamman, J.H., 2008, Composition and Applications of *Aloe vera* Leaf Gel, Molecules, 13: 1599-1616.

Liu, C., Cui, Y., Pi, F., Cheng, Y., Guo, Y., Qian, H., 2019, Extraction, Purification, Structural Characteristics, Biological Activities and Pharmacological Applications of Acemannan, a Polysaccharide from *Aloe vera*: A Review, Molecules, 24: 1554-1574.

Meeploy, M. and Deewatthanawong, R., 2016, Determination of gamma-Aminobutyric Acid (GABA) in Rambutan Fruit cv. Rongrian by HPLC-ELSD and Separation of GABA from Rambutan Fruit Using Dowex 50W-X8 Column, Journal of Chromatographic Science, 54: 445-452.

Reynolds, T. and Dweck, A.C., 1999, *Aloe vera* Leaf Gel: a Review Update, Journal of Ethnopharmacology, 68: 3-37.

Sierra-García, G.D., Castro-Ríos, R., González-Horta, A., Lara-Arias, J., Chávez-Montes, A., 2014, Acemannan, an Extracted Polysaccharide from *Aloe vera*: A Literature Review, Natural Product Communications, 9: 1217-1221.

Tan, Z.J., Li, F.F., Xu, X.L., Xing, J.M., 2012, Simultaneous Extraction and Purification of Aloe Polysaccharides and Proteins Using Ionic Liquid Based Aqueous Two-Phase System Coupled with Dialysis Membrane, Desalination, 286: 389-393.

# ผลของการปรับสภาพที่สภาวะต่างๆ ต่อการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของกากยีสต์

# Effect of Various Pretreatment Conditions on Enzymatic Hydrolysis and DPPH Free radical Scavenging Activity of Spent Yeast

**ณัฐหทัย สุทธิวงษ์[1] และ ปิยดา สุขดี[1]**
**Sutthiwong, N.[1] and Sukdee, P.[1]**

## Abstract

This work aimed to study the effects of various pretreatment conditions including temperature, pressure, and ultrasound on the degree of hydrolysis and antioxidant property of spent yeast hydrolysates. After pretreating with 5 conditions either autoclaving (121 °C, 15 psi, 20 min), ultrasonication for 15 min, ultrasonication for 30 min, boiling at 50 °C for an hour, or boiling at 85 °C for an hour, samples were hydrolyzed by a commercial protease from *Bacillus* sp. at the recommended conditions for 6 h. Spent yeast hydrolysates were then determined for their degree of hydrolysis and DPPH free radical scavenging activity. The best results in terms of the degree of hydrolysis were obtained from pretreating spent yeast using ultrasound for 30 min (58.86%) as well as boiling at 85 °C for an hour (56.50%). The highest antioxidant activity was found in the hydrolysate pretreated using ultrasonic wave for 30 min (66.67%).
**Keywords:** Spent yeast, Pretreatment, Hydrolysis, Antioxidant

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการปรับสภาพ ด้วย อุณหภูมิ ความดัน และคลื่นอัลตร้าโซนิค ต่อระดับของการย่อยสลายและคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของกากยีสต์ หลังจากปรับสภาพด้วยสภาวะอย่างใดอย่างหนึ่ง คือ การใช้ความร้อนร่วมกับแรงดันไอน้ำ (121 °C, 15 psi, 20 นาที) การใช้คลื่นอัลตราโซนิก(15 นาที) การใช้คลื่นอัลตราโซนิก(30 นาที) การต้มที่อุณหภูมิ 50 °C (60 นาที) หรือการต้มที่ 85 °C (60 นาที) ไฮโดรไลซ์ตัวอย่างโดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Bacillus* sp. ตามสภาวะที่แนะนำเป็นเวลา 6 ชม. จากนั้นวิเคราะห์ระดับการย่อยสลายของโปรตีนและฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของไฮโดรไลเซทที่ได้ ผลการวิเคราะห์ระดับการย่อยสลายโปรตีนพบว่ามีค่าสูงสุดจากการเตรียมกากยีสต์ด้วยการใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค 30 นาที (58.86%) และการต้มที่อุณหภูมิ 85 °C 60 นาที (56.50%) ขณะที่ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญในไฮโดรไลเซทที่ปรับสภาพด้วยการใช้คลื่นอัลตราโซนิก 30 นาที (66.67%)
**คำสำคัญ:** กากยีสต์ การปรับสภาพ ไฮโดรไลซิส ต้านอนุมูลอิสระ

## คำนำ

ปัจจุบันการศึกษาวิจัยการดัดแปรโปรตีนเพื่อผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทได้รับความสนใจอย่างกว้างขวาง เนื่องจากโปรตีนจากแหล่งธรรมชาติส่วนใหญ่มักมีข้อจำกัดในการใช้ประโยชน์เพราะมีสมบัติบางประการที่ไม่เหมาะสม การดัดแปรโปรตีนเป็นวิธีหนึ่งที่ช่วยปรับปรุงสมบัติของโปรตีนให้ดีขึ้น ซึ่งจะช่วยเพิ่มความหลากหลายในการนำโปรตีนไปใช้ประโยชน์ (อ้างใน เกียรติศักดิ์ และบูรฉัตร, 2557) หลักการของการดัดแปรโปรตีนคือการทำให้พันธะเพปไทด์ของโปรตีนแตกออก ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติของโปรตีน ผลผลิตที่ได้จากการดัดแปรโปรตีน เรียกว่า โปรตีนไฮโดรไลเซท (Protein hydrolysate) วิธีการดัดแปรด้วยเอนไซม์เป็นวิธีที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างยิ่งในปัจจุบัน ทั้งนี้เนื่องจากมีสภาวะที่ไม่รุนแรง มีความจำเพาะสูง และสามารถควบคุมระดับการย่อยได้ (Tavano, 2013)

หลายปีที่ผ่านมาได้มีการศึกษาการนำเทคนิคต่างๆ มาใช้ร่วมกับการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อทำให้โปรตีนในวัตถุดิบเกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติ (denaturation) ซึ่งทำให้เอนไซม์สามารถจับกับโปรตีนได้มากขึ้น ระดับการย่อยสลายของโปรตีนสูงขึ้น จึงส่งผลต่อปริมาณและสมบัติของโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตได้เทคนิคที่นำมาใช้ส่วนใหญ่จะเป็นการใช้ในขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบก่อนเข้าสู่กระบวนการย่อย (pretreatment) เช่น การให้ความร้อน (thermal denaturation) การ

[1] ศูนย์เชี่ยวชาญนวัตกรรมอาหารสุขภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแหงประเทศไทย ปทุมธานี 12120
[1] Expert Centre of Innovative Health Food, Thailand Institute of Scientific and Technological Research, Pathum Thani 12120

ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ( pH denaturation) และการให้แรงกล (mechanical denaturation) (Chen และคณะ, 2011; Taheri และคณะ, 2020, Cheison และคณะ, 2011)

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสภาวะการปรับสภาพทางกายภาพต่างๆ ของวัตถุดิบ ได้แก่ อุณหภูมิ ความดัน และคลื่นอัลตร้าโซนิค ต่อระดับของการย่อยสลายของโปรตีนและคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนไฮโดรไลเซททีได้

## อุปกรณ์และวิธีการ

เตรียมวัตถุดิบ คือ กากยีสต์ ให้อยู่ในรูปสารแขวนลอย โดยการเติมน้ำกลั่นอัตราส่วน 1:6 (w/v) แล้วนำไปปรับสภาพทางกายภาพที่สภาวะต่างๆ ได้แก่ (1) การใช้ความร้อนร่วมกับแรงดันไอน้ำ (121°C, 15 psi, 20 นาที) (2) การใช้คลื่นอัลตราโซนิกเป็นเวลา 15 นาที (3) การใช้คลื่นอัลตราโซนิกเป็นเวลา 30 นาที (4) การต้มที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 60 นาที และ (5) การต้มที่ 85°C เป็นเวลา 60 นาที จากนั้นเติม Protamex เอนไซม์ทางการค้าจากเชื้อ *Bacillus* sp. ให้ความเข้มข้นของเอนไซม์ต่อโปรตีนในตัวอย่าง ร้อยละ 5 ดัดแปลงจากวิธีของ Chiang และคณะ (2018) ตามสภาวะที่แนะนำ และเขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 6 ชม. เมื่อครบกำหนดเวลาให้ความร้อนที่ 95-100°C เป็นเวลา 15 นาที เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แล้วทิ้งไว้ให้เย็น นำไปปั่นเหวี่ยงแยกตะกอนด้วยความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใส (hydrolysate) ที่ได้ไปวิเคราะห์ระดับการย่อยสลายของโปรตีน (Degree of hydrolysis; DH) ตามวิธีของ Frister และคณะ (1988) และฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH เปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่มีการปรับสภาพก่อนการย่อย

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การวิเคราะห์ระดับการย่อยสลายของโปรตีนจากโปรตีนไฮโดรไลเซททีได้หลังการย่อยตัวอย่างกากยีสต์ที่มีการปรับสภาพ (เตรียมตัวอย่าง) ด้วยกรรมวิธีต่างๆ ด้วยเอนไซม์ Protamex พบว่าการเตรียมกากยีสต์ด้วยการใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคเป็นเวลา 30 นาที และการต้มที่อุณหภูมิ 85 °C เป็นเวลาหนึ่งชั่วโมง มีระดับการย่อยสลายของโปรตีนสูงที่สุด คือ ร้อยละ 58.86 และ 56.50 ตามลำดับ (Figure 1) จากรายงานของ Majid และคณะ (2015) ระบุว่าคลื่นอัลตร้าโซนิค (อัลตร้าซาวนด์) สามารถสร้างผลกระทบหลายอย่าง ทั้งผลที่เกิดจากความร้อน (thermal effect) และที่ไม่ใช่ความร้อน (non-thermal effects) เช่น ผลทางกล (mechanical effect) และการเกิดฟองก๊าซในเนื้อเยื่อซึ่งเกิดขึ้นเนื่องจากการสั่นสะเทือนของคลื่นอัลตร้าซาวด์ (cativation effect) ผลกระทบเหล่านี้สามารถเปลี่ยนโครงสร้างของโปรตีนได้โดยการเพิ่มความสามารถในการขยายตัวของโปรตีนและทำให้เกิดส่วนที่จับกับเอนไซม์มากขึ้น การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนสามารถส่งเสริมกระบวนการไฮโดรไลซิสของเอนไซม์โดยการเพิ่มการรวมกันของเอนไซม์และโปรตีน ผลของอัลตราซาวนด์ขึ้นอยู่กับปัจจัยที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่าง เช่น กำลัง เวลา ความถี่ของคลื่น และรูปแบบของคลื่น (Jia และคณะ, 2010) เช่นเดียวกับการปรับสภาพตัวอย่างด้วยการใช้ความร้อน ที่พบว่าสามารถส่งเสริมประสิทธิภาพของเอนไซม์ในการย่อยสลายโปรตีน โดยความร้อนจะทำให้พันธะเพปไทด์เกิดการคลายตัวแล้วทำให้เกิดการเผยหมู่ที่ไม่ชอบน้ำที่อยู่ภายในโครงสร้างของโปรตีน (internal cleavage site) ให้ออกมาอยู่บริเวณผิวหน้าของโปรตีนที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์ ซึ่งมีผลต่อสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของโปรตีน (Zhang และคณะ, 2013)

เมื่อนำโปรตีนไฮโดรไลเซททีได้ไปทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยการวิเคราะห์ DPPH scavenging activity พบว่าไฮโดรไลเซททีได้จากการปรับสภาพวัตถุดิบก่อนย่อยด้วยเอนไซม์ ด้วยการใช้คลื่นอัลตราโซนิกเป็นเวลา 30 นาที ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด (66.67%) อย่างมีนัยสำคัญ (Figure 2) Wang และคณะ (2014) ซึ่งศึกษาผลของการปรับสภาพตัวอย่างด้วยการใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคต่อกิจกรรมของเพปไทด์ที่ย่อยจากข้าวโอ๊ตที่มีฤทธิ์ยับยั้ง Angiotensin-converting enzyme (ACE) รายงานว่ากำลังของคลื่นอัลตร้าโซนิคและเวลาที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่าง มีอิทธิพลอย่างมากต่อระดับของกิจกรรมการยับยั้ง ACE ของเปปไทด์ดังกล่าว ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Liang และคณะ, (2017) ที่พบว่าปัจจัยทั้งสองนี้ส่งผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนไฮโดรไลเซททีได้จากข้าวโพด

## สรุปผล

การใช้เทคนิคต่างๆ เพื่อปรับสภาพวัตถุดิบที่ใช้ในการทดลองนี้ คือ กากยีสต์ ก่อนการย่อยด้วยเอนไซม์ Protamex ส่งผลต่อระดับการย่อยสลายของโปรตีน ซึ่งจากผลการวิเคราะห์พบว่าการเตรียมตัวอย่างก่อนกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์ด้วยการใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคเป็นเวลา 30 นาที ส่งผลให้ DH สูงที่สุด คือ 58.86% และโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด (66.67%) เมื่อเปรียบเทียบกับการปรับสภาพกากยีสต์ด้วยเทคนิคอื่นๆ

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ บริษัท ไทยลักซ์ เอ็นเตอร์ไพรส์ (ประเทศไทย) จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์วัตถุดิบสำหรับใช้ในการทำวิจัยครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์, บูรฉัตร ศรีทองแท้, 2557, การดัดแปรสมบัติของโปรตีนโดยใช้เอนไซม์โปรติเอสและการประยุกต์ใช้. KKU Science Journal, 42(2): 247-288.

Tavano, O. L., 2013, Protein Hydrolysis Using Proteases: An Important Tool for Food Biotechnology, Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 90: 1-11.

Taheri, M.E., Salimi, E., Saragas, K., Novakovic, J., Barampouti, E.M., Mai, S., Malamis, D., Moustakas, K., and Loizidou, M., 2021, Effect of Pretreatment Techniques on Enzymatic Hydrolysis of Food Waste, Biomass Conversion and Biorefinery, 11: 219-226, https://doi.org/10.1007/s13399-020-00729-7.

Chen, L., Chen, J., Ren, J., and Zhao, M., 2011, Effects of Ultrasonic Pretreatment on the Enzymatic Hydrolysis of Soy Protein Isolated and on the Emulsifying Properties of Hydrolysates, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59: 2600-2609.

Cheison, S. C., Leeb, E., Toro-Seirra, J., and Kulozik, U., 2011, Influence of Hydrolysis Temperature and pH on the Selective Hydrolysis of Whey Proteins by Trypsin and Potential Recovery of Native Alpha-Lactalbumin, International Dairy Journal, 21(3): 166-171.

Chiang, J. H., Loveday, S. M., Hardacre, A. K., and Parker, M. E., 2018, Effects of Enzymatic Hydrolysis Treatments on the Physicochemical Properties of Beef Bone Extract Using Endo- and Exoproteases, International Journal of Food Science and Technology, https://doi.org/10.1111/ijfs.13911.

Frister, H., Meisel, H., and Schlimme, E., 1988, OPA Method Modified by Use of N,N-dimethyl-2-mercaptoethylammonium Chloride as Thiol Component, Fresenius Journal of Analytical Chemistry, 330(7): 631–633, http://doi.org/10.1007/BF00473782.

Majid, I., Nayik, G. H., Nanda, V., and Yildiz, F., 2015, Ultrasonication and Food Technology: A Review, Cogent Food & Agriculture, 1(1), https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1071022.

Jia, J., Ma, H., Zhao, W., Wang, Z., Tian, W., Luo, L., and He, R., 2010, The Use of Ultrasound for Enzymatic Preparation of ACE-Inhibitory Peptides from Wheat Germ Protein, Food Chemistry, 119(1): 336-342.

Zhang, Y., Olsen, K., Grossi, A., and Otte, J., 2013, Effect of Pretreatment on Enzymatic Hydrolysis of Bovine Collagen and Formation of ACE-Inhibitory Peptides, Food Chemistry, 14(3): 2343-2354.

Wang, B., Atungulu, G. G., Khir, R., Geng, J., Ma, H., Li, Y., and Wu, B., 2014, Ultrasonic Treatment Effect on Enzymolysis Kinetics and Activities of ACE-Inhibitory Peptides from Oat-Isolated Protein. Food Biophysics, 10: 244-252, http://doi.org/10.1007/s11483-014-9375-y.

Liang, Q., Ren, X., Ma, H., Li, S., Xu, K., and Oladejo, A.O., 2017, Effect of Low-Frequency Ultrasonic-Assisted Enzymolysis on the Physicochemical and Antioxidant Properties of Corn Protein Hydrolysates, Journal of Food Quality, Article ID 2784146, https://doi.org/10.1155/2017/2784146.

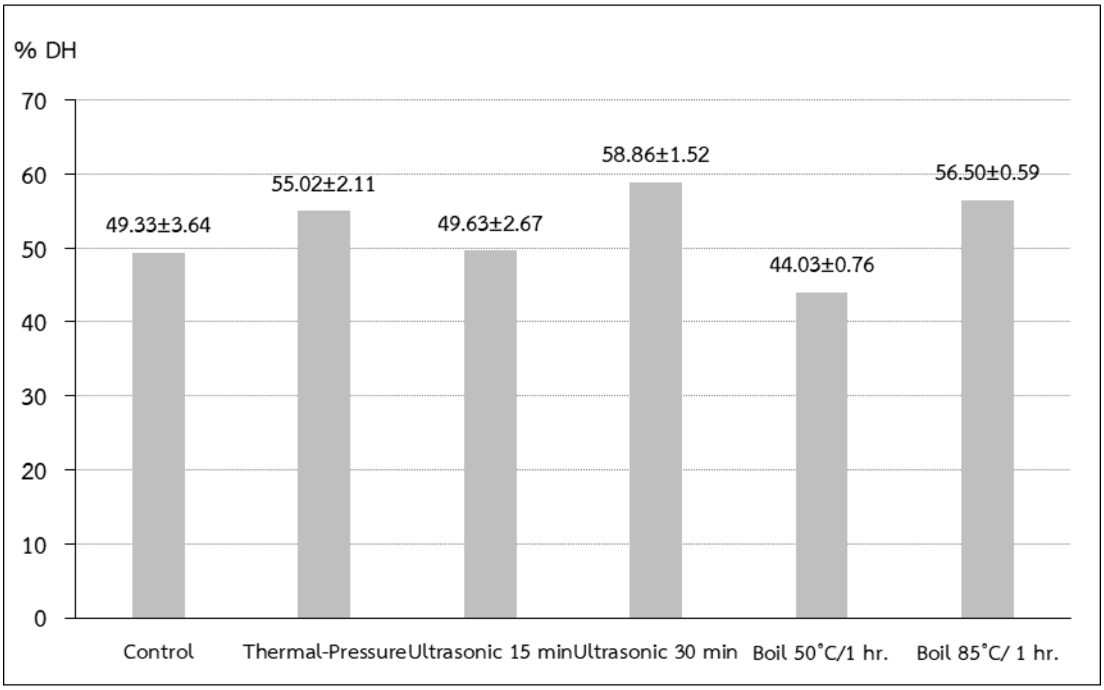



**Figure 1** Degree of hydrolysis of spent yeast hydrolysates pretreated with different techniques.

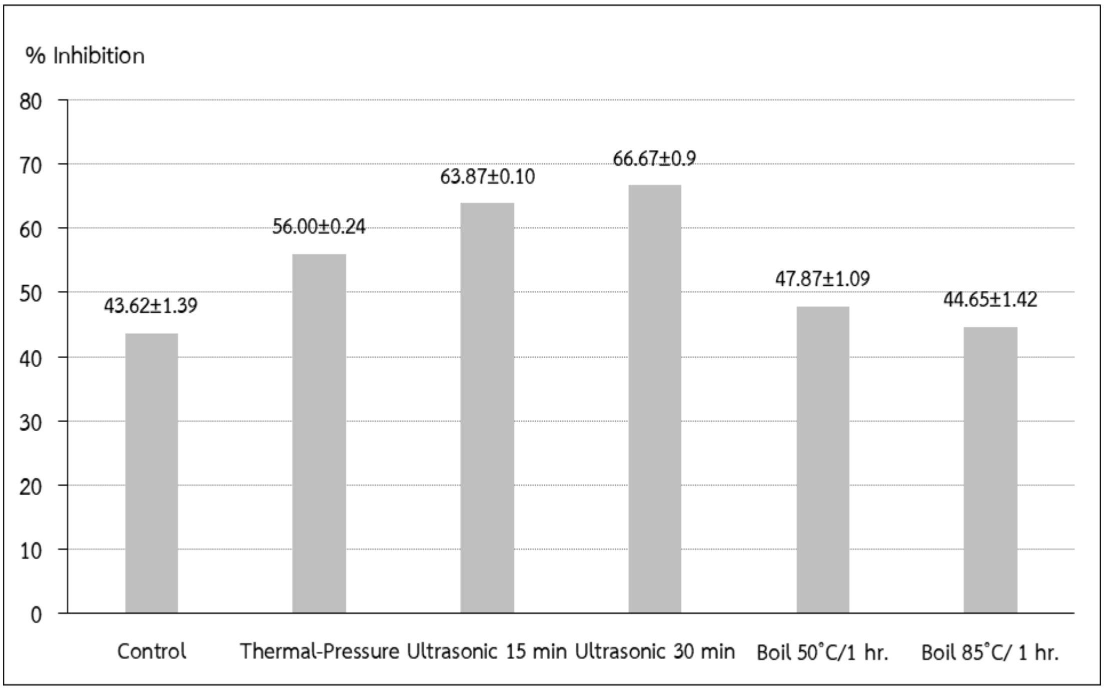



**Figure 2** Antioxidant activity of spent yeast hydrolysates pretreated with different techniques.

# ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเปลือกมันฝรั่งที่หมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Rhizopus oryzae* ต่อฤทธิ์ต้านการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase

# Efficiency of Crude Extracts from Potato Peel Fermented with *Rhizopus oryzae* Against the Activity of HMG-CoA Reductase

ณัฐหทัย สุทธิวงษ์[1] ปิยดา สุขดี[1] เพ็ญนภา ชลปฐมพิกุลเลิศ[1] และ วสวัตติ์ ดำรงค์ธวัชชัย[1]
Sutthiwong, N.[1], Sukdee, P.[1], Chonpathompikunlert, P.[1] and Dumrongthawatchai, W.[1]

## Abstract

Potato (*Solanum tuberosum* L.) is a tuber crop containing a wide range of phytochemicals, which have been reported to exhibit cholesterol-lowering properties. These compounds are mainly found in the periderm of potato tubers and are mostly in non-bioavailable functional forms. This study aimed to investigate the efficiency of potato peel crude extracts pre-treated by fermenting with *Rhizopus oryzae* against the *in vitro* activity of HMG-CoA reductase, an enzyme responsible for cholesterol synthesis. The results showed that the fermented PPE suppressed the activity of this enzyme higher than those of the unfermented PPE. Besides, extraction using 2 solvents including water and 95% ethanol in various ratios affected the enzyme activity. The PPE by pure 95% ethanol presented the highest HMG-CoA reductase inhibitory activity (-1.2115) followed by water and 95% ethanol in ratios of 50:50 (-1.1818) and 80:20 (-1.0583), and pure water (-1.0259), respectively.

**Keywords:** Potato peel, Inhibition, HMG-CoA, *Rhizopus*

## บทคัดย่อ

มันฝรั่ง (*Solanum tuberosu*m L.) เป็นพืชที่มีสารพฤกษเคมีเป็นองค์ประกอบหลากหลายกลุ่ม ซึ่งมีรายงานว่ามีคุณสมบัติลดคอเลสเตอรอล สารเหล่านี้ถูกพบได้มากที่ผิวของหัวมันฝรั่ง ส่วนมากอยู่ในรูปของสารประกอบที่ร่างกายไม่สามารถดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้ การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประสิทธิภาพของสารสกัดเปลือกมันฝรั่งที่หมักด้วยเชื้อ *Rhizopus oryzae* ต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่สังเคราะห์คอเลสเตอรอลHMG-CoA reductase ในระดับ *in vitro* ผลการทดลองพบว่าสารสกัดเปลือกมันฝรั่งที่หมักด้วยเชื้อ *R. oryzae* นี้ มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ HMG-CoA reductase เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดเปลือกมันฝรั่งที่ไม่ผ่านการหมัก นอกจากนั้นยังพบว่าการสกัดเปลือกมันฝรั่งที่ผ่านการหมักด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด ได้แก่ น้ำและแอลกอฮอล์ ในอัตราส่วนต่างๆ ส่งผลต่อฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ HMG-CoA reductase การสกัดด้วยเอทานอล 95% ให้ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ HMG-CoA reductase สูงสุด (-1.2115) รองลงมาได้แก่ เอทานอล 95% และน้ำ อัตราส่วน 50:50 (-1.1818) และอัตราส่วน 80:20 (-1.0583) และน้ำ (-1.0259) ตามลำดับเนื้อหา

**คำสำคัญ:** เปลือกมันฝรั่ง การยับยั้ง HMG-CoA *Rhizopus*

## คำนำ

ภาวะไขมันในเลือดสูง (Hyperlipidemia) จัดเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทย เนื่องจากส่งผลให้เกิดความผิดปกติหรือความเสื่อมที่ผนังด้านในของหลอดเลือดแดงที่ไปเลี้ยงอวัยวะสำคัญ ได้แก่ สมอง หัวใจ และไต ทำให้เกิดโรคเรื้อรังหลายชนิดและความพิการในอวัยวะเหล่านี้ จากสถิติประเทศไทย พบว่า ประมาณร้อยละ 43.8 ของประชากรไทยอายุ 15 ปีขึ้นไปมีภาวะไขมันในเลือดสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประชากรที่มีอายุระหว่าง 45-69 ปี (พันธนีย์ ธิติชัย และคณะ, 2562) ปัญหาดังกล่าวส่งผลกระทบต่อการดำรงชีวิต ภาวะเศรษฐกิจของผู้ป่วยและครอบครัว รวมทั้งประเทศ การรักษาภาวะไขมันในเลือดสูงโดยทั่วไปเป็นการใช้ยาลดไขมันในเลือด กลุ่มที่ได้รับความนิยมและมีมูลค่าการใช้มากที่สุดคือ HMG-Co A reductase inhibitor (Statin) เนื่องจากมีประสิทธิภาพการรักษาได้ผลดี (Bonfim และคณะ, 2015) อย่างไรก็ตามการใช้ยาเพื่อลดระดับไขมันในเลือดสร้างภาระค่าใช้จ่ายในการรักษาค่อนข้างสูงเนื่องจากต้องรับประทานอย่างต่อเนื่อง นอกจากนั้นยังสามารถก่อให้เกิดอาการข้างเคียง (Zhang และคณะ, 2020)

[1] ศูนย์เชี่ยวชาญนวัตกรรมอาหารสุขภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแหงประเทศไทย ปทุมธานี 12120
[1] Expert Centre of Innovative Health Food, Thailand Institute of Scientific and Technological Research, Pathum Thani 12120

มันฝรั่ง (Solanum tuberosum L.) เป็นพืชที่มีสารพฤกษเคมีเป็นองค์ประกอบหลากหลายกลุ่ม เช่น Phenolic compounds (PCs; chlorogenic acid, caffeic acid, gallic acid) และ Fatty alcohols (FAs) ที่มีรายงานว่าคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระและลดระดับคอเลสเตอรอล (Hsieh และคณะ., 2016) โดยสารออกฤทธิ์ชีวภาพดังกล่าวถูกพบได้มากที่ผิวของหัวมันฝรั่งซึ่งเป็นส่วนที่ไม่นิยมนำไปบริโภค เห็นได้ชัดจากปริมาณเปลือกมันฝรั่งเหลือทิ้งจำนวนมากที่เกิดขึ้นในขั้นตอนการปอกเปลือกแบบขัดสี (Abration peeling) ในอุตสาหกรรมการแปรรูปมันฝรั่ง ปัจจุบันอุตสาหกรรมการแปรรูปมันฝรั่งในประเทศไทยมีการขยายตัวอย่างต่อเนื่องทุกปี โดยเฉพาะอย่างยิ่งการผลิตมันฝรั่งทอดกรอบซึ่งมีความต้องการมันฝรั่งสดประมาณ 200,000 ตันต่อปี ซึ่งก่อให้เกิดเปลือกมันฝรั่งเหลือทิ้งประมาณปีละ 10,000 ตัน (มยุราและคณะ, 2555; RYT9, 2563) สารพฤษเคมีที่มีคุณสมบัติลดคอเลสเตอรอลและต้านอนุมูลอิสระซึ่งพบที่ผิวมันฝรั่งส่วนมากอยู่ในรูปของสารประกอบที่ร่างกายไม่สามารถดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้ จำเป็นต้องอาศัยเอนไซม์หรือสารเคมีที่สามารถทำลายพันธะแตกออกเป็นขนาดเล็กแล้วอยู่ในรูปที่ร่างกายนำไปใช้ประโยชน์ได้ การวิจัยที่ผ่านมาพบว่าการเตรียมวัตถุดิบ (Pre-treatment) โดยการหมักมันฝรั่งด้วยเชื้อ *Rhizopus* sp. ส่งผลให้ปริมาณสารสำคัญเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (Yamauchi และคณะ, 2004; Ibarruri และคณะ, 2017) Musa และคณะ (2004) วิเคราะห์ปริมาณสารโพลิโคซานอล (Policosanol) และกรดไขมันสายยาว (Very long chain fatty acid; VLFAs) จากเปลือกมันฝรั่งที่หมักด้วย *R. oryzae* พบว่าสารดังกล่าวมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้น 1.5 และ 5.6 เท่า ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับเปลือกมันฝรั่งที่ไม่ผ่านการหมัก ซึ่งผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นถึงประโยชน์ของการหมักวัตถุดิบด้วยเชื้อ *R. oryzae* ต่อการเพิ่มปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในสารสกัดจากเปลือกมันฝรั่ง

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประยุกต์ใช้เทคโนโลยีการหมักในการเปลี่ยนเปลือกมันฝรั่งเหลือทิ้งซึ่งเป็นแหล่งของสารสำคัญที่ให้อยู่ในรูปของผลิตภัณฑ์ใหม่โดยผ่านกิจกรรมของจุลินทรีย์ เพื่อนำผลผลิตที่ได้จากการหมักไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพที่เกี่ยวข้องกับการลดระดับคอเลสเตอรอล ซึ่งจะเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มจากวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมแปรรูปมันฝรั่ง

## อุปกรณ์และวิธีการ

เพาะเชื้อจุลินทรีย์ *Rhizopus oryzae* ที่คัดแยกได้จากข้าวหมาก ลงบนเปลือกมันฝรั่งที่ผ่านทำให้ปลอดเชื้อด้วยเครื่องนึ่งไอน้ำ หลังจากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 1 สัปดาห์ เมื่อครบกำหนดนำมาทำให้ปลอดเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำอีกครั้ง แล้วจึงนำไปทำแห้งด้วยการแช่เยือกแข็ง (ดัดแปลงจาก Musa และคณะ, 2004) นำเปลือกมันฝรั่งที่ผ่านการหมักและไม่หมักมาสกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ ได้แก่ (1) น้ำกลั่น (2) เอทานอล 95% (food grade) และ (3) เอทานอล 95% (food grade) ผสมน้ำกลั่น อัตราส่วน 80:20 (v/v) และ (4) เอทานอล 95% (food grade) ผสมน้ำกลั่น อัตราส่วน 50:50 (v/v) โดยใช้เครื่องโฮโมจิไนซ์ (D-160, DLAB, UAS) ที่ระดับความเร็ว 21,200 rpm เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงตกตะกอน (Universal 320, Hettich, Spain) ที่ความเร็ว 6,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสที่ได้ไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ HMG-CoA reductase โดยใช้ชุดทดสอบ HMG-CoA Reductase assay kit (Sigma-Aldrich, Germany) แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร ด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท (Infinite 200 Pro, TECAN, Switzerland) ทุก ๆ 30 วินาที เป็นเวลา 10 นาที นำค่า OD ที่ได้มาคำนวณการเกิดปฏิกิริยายับยั้ง HMG-CoA Reductase เทียบกับสารมาตรฐาน Pravastatin (Bakaran และคณะ, 2015) สูตรการคำนวณการยับยั้ง HMG-CoA Reductase (%) ดังนี้

$$\text{HMG-CoA activity (Unit/mg protein)} = \frac{(\Delta A340/\min_{sample} - \Delta A340/\min_{blank})}{12.44 x V x 0.6 x LP} \times TV$$

| | | | |
|---|---|---|---|
| เมื่อ | A340 | = | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร |
| | TV | = | ปริมาตรทั้งหมดของตัวอย่างที่ต้องการวัดการเกิดปฏิกิริยา (mL) |
| | V | = | ปริมาตรของเอนไซม์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ (mL) |
| | 0.6 | = | ความเข้มข้นของเอนไซม์ในหน่วย mg-protein (mgP)/mL (0.50–0.70 mgP/ml) |
| | LP | = | Light path in cm (0.55 for plates) |

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดสอบสารสกัดหยาบของเปลือกมันฝรั่งที่หมักและไม่หมักด้วยเชื้อ *R. oryzae* ที่สกัดด้วยตัวทำลาย2 ชนิด ได้แก่ น้ำกลั่น และแอลกอฮอล์ (95%, food grade) และแปรผันสัดส่วนของตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิดนี้ คือ 1) 100% น้ำกลั่น 2) 100% เอทานอล 3) 80:20 (v/v) เอทานอลต่อน้ำกลั่น และ 4) 50:50 (v/v) เอทานอลต่อน้ำกลั่น ต่อฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ

HMG-CoA reductase ในระดับ *in vitro* เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Pravastatin ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม statin ออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ที่ร่างกายใช้สร้าง cholesterol ผลที่ได้จะแสดงเป็นค่า HMG-CoA activity (Unit/mg protein) ซึ่งค่า HMG-CoA activity ยิ่งน้อย แสดงว่าสารสกัดมีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของ HMG-CoA reductase ได้ดี ดังนั้นจากผลการทดสอบพบว่าสารสกัดเปลือกมันฝรั่งที่หมักด้วยเชื้อ *R. oryzae* มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ HMG-CoA reductase เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดเปลือกมันฝรั่งที่ไม่ผ่านการหมัก (Table 1) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Musa *et. al*. (2004) ซึ่งรายงานว่าการหมักเปลือกมันฝรั่งด้วยเชื้อ *R. oryzae* NBRC 4707 ส่งผลให้ปริมาณสารสำคัญ เช่น VLFAs และ fatty alcohols (FAs) เพิ่มสูงขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่ง VLFAs ที่มีปริมาณสูงขึ้นจากเดิม 2-6 เท่า และงานวิจัยของ Balli และคณะ (2020) ที่รายงานว่าการหมักส่งผลให้ปริมาณ Phenolic compounds ในสารสกัดจากธัญพืชเพิ่มขึ้น ทั้ง PCs VLFAs และ FAs มีคุณสมบัติทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับการลดระดับไขมัน/คอเลสเตอรอล โดยต้านการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase (Das, 2008; Oliaro-Bosso และคณะ., 2009)

เมื่อพิจารณาชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดพบว่าสารสกัดหยาบเปลือกมันฝรั่งความเข้มข้น 50 μg/μL ได้จากการสกัดด้วย 100% เอทานอล ให้ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ HMG-CoA reductase สูงสุด (-1.2115) รองลงมาได้แก่ 50:50 (v/v) เอทานอลต่อน้ำกลั่น (-1.1818) 80:20 (v/v) เอทานอลต่อน้ำกลั่น (-1.0583) และ 100% น้ำ (-1.0259) ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าชนิดตัวทำละลายที่เลือกใช้ในการสกัดส่งผลต่อประสิทธิภาพของสารสกัดที่ได้ โดยตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติเกี่ยวข้องกับการยับยั้งการสร้างคอเลอเลสเตอรอลจากเปลือกมันฝรั่งที่ผ่านการหมักด้วย *R. oryzae* คือ เอทานอล 95% การศึกษาวิจัยที่ผ่านมาเกี่ยวกับคุณสมบัติของ FAs ในเมล็ด *Tecoma stans* รายงานว่าเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการสกัด FAs เพราะนอกจากจะให้ปริมาณผลผลิต (yield) ที่ได้สูงแล้ว สารสกัดที่ได้ยังมีคุณสมบัติเด่นกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดอื่นๆ (Jedidi และคณะ, 2020) การเลือกใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัดที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร อาจถือได้ว่าเป็นทางเลือกที่มีความเหมาะสมเนื่องจากไม่ทิ้งสารไฮโดรคาร์บอนในสารสกัดที่ได้ สารตกค้างนี้ไม่เพียงแต่ไม่สามารถกำจัดออกจากสารสกัดได้แต่ยังให้กลิ่นเหม็นและอาจเป็นพิษได้อีกด้วย

## สรุปผล

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดเปลือกมันฝรั่งต่อฤทธิ์ต้านการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase ในระดับ *in vitro* ครั้งนี้ พบว่าสารสกัดเปลือกมันฝรั่งที่ผ่านการเตรียมวัตถุดิบโดยการหมักด้วยเชื้อ *R. oryzae* มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ HMG-CoA reductase เพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดเปลือกมันฝรั่งที่ไม่ผ่านการหมัก และการสกัดด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกันส่งผลต่อฤทธิ์ต้านการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าว คือ การสกัดด้วย 100% เอทานอล ให้ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ HMG-CoA reductase สูงสุด รองลงมาได้แก่ 50:50 (v/v) เอทานอลต่อน้ำกลั่น, 80:20 (v/v) เอทานอลต่อน้ำกลั่น และ 100% น้ำ ตามลำดับ

## เอกสารอ้างอิง

พันธนีย์ ธิติชัย ผไท สิงห์คำ และอรัฐา รังผึ้ง, 2562, รายงานความก้าวหน้าการดำเนินงานฉบับสมบูรณ์ โครงการพัฒนาระบบเฝ้าระวังและข้อมูลโรคไม่ติดต่อเพื่อการติดตามและประเมินผลม, สืบค้นจาก http://www.ddc.moph.go.th/uploads/publish/968720200109070935.pdf.

มยุรา ศรีกลัยานุกูล, ฐปน ชื่นบาล, ศิราภรณ์ ชื่นบาล, ไพโรจน์วงศ์พุทธิสิน, 2555, การผลิตอาหารเลี้ยงเชื้อราจากน้ำทิ้งโรงงานมันฝรั่งทอดกรอบ, สืบค้นจาก http://webpac.library.mju.ac.th:8080/mm/fulltext/research/2557/mayura_srikanlayanukul_2555/fulltext.pdf วันที่ 25 เม.ย. 2564.

Balli, D., Bellumori, M., Pucci, L., Gabriele, M., Longo, V., Paoli, P., Melani, F., Mulinacci, N., and Innocenti, M., 2020, Does Fermentation Really Increase the Phenolic Content in Cereals? A Study on Millet, Foods, 9: 303, http://www.doi:10.3390/foods9030303.

Baskaran, G., Salvamani, S., Ahmad, S. A., Shaharuddin, N. A., Pattiram, P. D., and Shukor. M. Y., 2015, HMG-CoA Reductase Inhibitory Activity and Phytocomponent Investigation of *Basella alba* Leaf Extract as a Treatment for Hypercholesterolemia, Drug Design, Development and Therapy, 9: 509–517.

Bonfim, M. R., Oliviera, A. S. B., Amaral, S. L., and Monteiro, H. L., 2015, Treatment of Dyslipidemia with Statins and Physical Exercises: Recent Findings of Skeletal Muscle Responses, Arquivos Brasileiros de Cardiologia, 104(4): 324-332.

Das, U. N., 2008, Essential Fatty Acids and Their Metabolites Could Function as Endogenous HMG-CoA Reductase and ACE Enzyme Inhibitors, Anti-arrhythmic, Anti-hypertensive, Anti-atherosclerotic, Anti-inflammatory, Cytoprotective, and Cardioprotective Molecules, Lipids in Health and Disease, 7(1): 37, http://www.doi.org/10.1186/1476-511X-7-37.

Hsieh, Y.L., Yeh, Y.H., Lee, Y.T., and Huang, C.Y., 2016, Dietary Potato Peel Extract Reduces the Toxicity of Cholesterol Oxidation Products in Rats, Journal of Functional Food, 27: 461-471.

Ibarruri, J. and Hernández, I., 2017, *Rhizopus oryzae* as Fermentation Agent in Food Derived Subproducts, Waste and Biomass Valorization, 10, 2107–2115. http://www.doi.org/10.1007/s12649-017-0017-8.

Jedidi, B., SMokbli, S., Sbihi, H. M., , Romdhani-Younes, M., and Al-Resayes, S., 2020, Effect of Extraction Solvents on Fatty acid Composition and Physicochemical Properties of *Tecoma stans* Seed Oils, Journal of King Saud University – Science, 32(4): 2468-2473.

Musa, R., Yunoki, K., Kinoshita, M., Oda, Y., and Ohnishi, M., 2004, Increased Levels of Policosanol and Very Long-chain Fatty Acids in Potato Pulp Fermented with *Rhizopus oryzae,* Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 68(11): 2401-2404.

Oliaro-Bosso, S., Gaudino, E. C., Mantegna, S., Giraudo, E., Meda, C.; Viola, F., and Cravotto, G., 2009, Regulation of HMG-CoA Reductase Activity by Policosanol and Octacosadienol, A New Synthetic Analogue of Octacosanol, Lipids, 44(10): 907-16, http://www.doi.org/10.1007/s11745-009-3338-y.

RYT, 2563, การขอขยายปริมาณในโควตาการนำเข้าสินค้าหัวมันฝรั่งสดเพื่อแปรรูป ภายใต้ความตกลงองค์การการค้าโลก (WTO) ปี 2563 เพิ่มเติม. สืบค้นจาก https://www.ryt9.com/s/cabt/3123069 วันที่ 25 เม.ย. 2564.

Yamauchi, H.; Noda, T.; Matsuura-Endo, C., Takigawa, S., Saito, K.; Oda, K.; Funatsuki, W., and Hashimota, N., 2004, Improving the Utility of Potato Pulp for Bread-making by Fermentation with *Rhizopus oryzae*, Food Science and Technology Research, 10: 314-319. https://doi.org/10.3136/fstr.10.314.

Zhang , X., Xing, L., Jia, X., Pang, X., Xiang, Q., Zhao, X., Ma, L., Liu, Z., Hu, K., Wang, Z., and Cui, Y., 2020, Comparative Lipid-Lowering/Increasing Efficacy of 7 Statins in Patients with Dyslipidemia, Cardiovascular Diseases, or Diabetes Mellitus: Systematic Review and Network Meta-Analyses of 50 Randomized Controlled Trials, Cardiovascular Therapeutics, ID 3987065, https://doi.org/10.1155/2020/398706.

**Table 1** Effectiveness of fermented and non-fermented using various solvents against the activity of HMG-CoA reductase.

| Substrate | Solvent | HMG-CoA activity (Unit/mg protein) |
|---|---|---|
| Pravastatin | - | -0.4207 ± 0.01 |
| Non-fermented potato peel extract | 100% $H_2O$ | -0.4571 ± 0.03 |
| | 100% EtOH(95%) | -0.7314 ± 0.05 |
| | 80% (v/v) EtOH(95%):$H_2O$ | -0.8838 ± 0.07 |
| | 50% (v/v) EtOH(95%):H2O | -0.6523 ± 0.05 |
| Fermented potato peel extract | 100% $H_2O$ | -1.0259 ± 0.03 |
| | 100% EtOH(95%) | -1.2115 ± 0.05 |
| | 80% (v/v) EtOH(95%):$H_2O$ | -1.0583 ± 0.05 |
| | 50% (v/v) EtOH(95%):H2O | -1.1818 ± 0.03 |

# พิษเฉียบพลันของสารสกัดใบมะรุมต่อปลานิลแดง
# Acute Toxicity of Moringa Leaf Extract on Red Tilapia (*Oreochromis niloticus*)

**จิราพร กุลคำ[1] สมิง จำปาศรี[1] กิตติมา วานิชกูล[1] และวราภรณ์ ใจเย็น[1]**
**Kulkham, J.[1], Champasri, S.[1], Vanichkul, K.[1] and Jaiyen, W.[1]**

## Abstract

The aim of this study was to investigate acute toxicity of Moringa Leaf Extract on Red Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). Static Bioassay test were exposed to the crude extract concentrations was 0 (Control), 600, 678, 765, 863, 968 and 1,100 mg/L. Probit analysis was performed for evaluating the median ethal concentration ($LC_{50}$). The 24-h $LC_{50}$ were found to be 792 (746.18-840.63) mg/L. for *O. niloticus*. At 95% confidence of slop function was 1.247 (0.6412-2.4251) mg/L. and safe concentration was 39.6 mg/L. Behavior responses of fish were obtained moringa leaf extract showed loss of equilibrium, restlessness, jerky movements, rapid operculum and 100 percent death were exposed to the crude extract concentrations of 1100 mg/L. Water qualities were the standard level of the water quality used for aquaculture activity.
**Keywords :** Moringa leaf extract, Toxicity, Red Tilapia

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาพิษเฉียบพลันของสารสกัดใบมะรุมต่อปลานิลแดง โดยใช้วิธีชีววิเคราะห์น้ำนิ่ง (Static Bioassays) เพื่อหาค่าความเป็นพิษที่ทำให้ปลานิลแดงตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ($LC_{50}$) ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง ใช้สารสกัดใบมะรุมความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม), 600, 678, 765, 863, 968 และ 1,100 มิลลิกรัมต่อลิตร คำนวณหาค่าความเข้มข้นที่ทำให้ปลานิลแดงตายร้อยละ 50 ($LC_{50}$) ด้วยการวิเคราะห์โพรบิท (Probit analysis) พบว่าค่า $LC_{50}$ ที่เวลา 24 ชั่วโมง ของปลานิลแดงมีค่าเท่ากับ 792 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ช่วงความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความลาดเอียง (Slope function) เท่ากับ 1.247 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าความเข้มข้นที่ปลอดภัย (Safe concentration) ของสารสกัดหยาบจากใบมะรุมต่อปลานิลแดงเท่ากับ 39.6 มิลลิกรัมต่อลิตร พฤติกรรมการตอบสนองของปลาต่อสารสกัดใบมะรุมโดยการสูญเสียการทรงตัว กระสับกระส่าย ขยับแผ่นปิดเหงือกอย่างรวดเร็ว และตาย 100 เปอร์เซ็นต์ที่ระดับความเข้มข้น 1100 มิลลิกรัมต่อลิตร คุณภาพน้ำอยู่ในระดับปกติของมาตรฐานคุณภาพน้ำที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด
**คำสำคัญ:** สารสกัดใบมะรุม ความเป็นพิษ ปลานิลแดง

## คำนำ

ปลานิลแดงเป็นปลาน้ำจืดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เป็นปลากินพืช เลี้ยงง่าย โตเร็ว เนื้อมีรสชาติดี และสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี จึงทำให้มีความต้องการและความนิยมในบริโภคค่อนข้างสูงขึ้น เป็นที่ต้องการของตลาดทั้งในประเทศและต่างประเทศ เกษตรกรจึงนิยมเลี้ยงกันอย่างแพร่หลาย แต่ในระหว่างการเลี้ยงเกษตรกรมักพบปัญหาการเกิดโรคปลา ซึ่งหากเกิดโรคที่รุนแรงก็สามารถสร้างความเสียหายให้กับเกษตรกรได้ จึงทำให้เกษตรกรส่วนใหญ่หันมาใช้ยาปฏิชีวนะมากขึ้น ส่งผลให้เกิดการตกค้างของยาในปลา และตกค้างในสิ่งแวดล้อม ทั้งยังส่งผลให้มีการสะสมของยาในผู้บริโภค จึงมีความพยายามในการใช้สารสกัดจากใบของพืชสมุนไพรเพื่อช่วยให้ปลาที่เลี้ยง อาศัยอยู่ในน้ำที่มีมลพิษระบบนิเวศสำหรับการล้างพิษ และเพื่อการต่อต้านอนุมูลอิสระ (Sayed และ Hamed, 2017) เพื่อปรับปรุงสุขภาพ และการเจริญเติบโตของปลา (Hamed และ Abdel-Tawwab, 2017) ดังนั้นจึงมีแนวทางการเลือกใช้สมุนไพรที่มีคุณสมบัติและฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อโรคโดยไม่ก่อให้เกิดการตกค้าง

มะรุม (*Moringa oleifera* Lam.) มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่นกรดอะมิโน กำมะถัน antioxidants, essential oils, alkaloids, terpenoids, steroids และ phenolics (Aly และคณะ, 2016; Elsayed และคณะ, 2015) ปัจจุบันมีงานวิจัยหลายชิ้นใช้ สารสกัดจากใบมะรุม และเมล็ดมะรุม เพื่อศึกษาเกี่ยวกับผลกระทบทางพิษวิทยา ความปลอดภัยของมะรุมต่อสัตว์น้ำ (El-Hak และคณะ, 2017; de Sartana Silva และคณะ (2017) นอกจากนั้นยังสามารถนำสารสกัดมะรุมมาใส่ลงในน้ำที่เลี้ยงปลานิลเพื่อลดความเป็นพิษที่เกิดจากสารกำจัดวัชพืช (Pendimethalin) ที่ปนเปื้อนลงในแหล่งน้ำได้ (Tabassum และคณะ, 2015).

---

[1] สาขาประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ธัญบุรี ปทุมธานี 12130
[1] Fisheries Program, Faculty of Agricultural Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Pathumthani, 12130

สารสกัดจากใบมะรุมมีสรรพคุณที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างหลากหลายในกิจกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ แต่อันตรายต่อสุขภาพของสัตว์น้ำยังมีการศึกษาน้อยมาก และมีข้อจำกัดที่ผู้ใช้ต้องระวังเป็นอย่างยิ่งโดยเฉพาะความเป็นพิษของสารสกัดใบมะรุม ดังนั้น การศึกษาพิษเฉียบพลันสารสกัดใบมะรุมต่อปลานิลแดงจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการใช้ประโยชน์จากสารสกัดใบมะรุม และหาค่าความเข้มข้นที่ปลอดภัยต่อสัตว์น้ำและสิ่งแวดล้อม (Safe Concentration) เพื่อเป็นแนวทางในการเลี้ยงปลาที่มีคุณภาพ และปลอดภัยช่วยในการกำหนดความเข้มข้น และผลกระทบที่ปลอดภัยสารสกัดใบมะรุม ต่อคุณภาพน้ำและปริมาณของสารสกัดสามารถนำไปคาดการณ์ได้อย่างปลอดภัยในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

## อุปกรณ์และวิธีการ

การทดสอบพิษเฉียบพลันของสารสกัดใบมะรุมโดยวิธีชีววิเคราะห์แบบน้ำนิ่ง (Static Bioassay) แบ่งการทดลองเป็น 2 การทดลอง คือ 1) การทดลองขั้นต้น (Preliminary test) เพื่อหาระดับของสารสกัดใบมะรุมที่ทำให้ปลานิลแดงตาย 100 เปอร์เซ็นต์ และรอด 100 เปอร์เซ็นต์ ในเวลา 24 ชั่วโมง และ 2) การทดลองแบบละเอียด (Full scale test) โดยนำผลจากการทดลองขั้นต้นมากำหนดระดับความเข้มข้นของสารสกัดใบมะรุม โดยใช้ log scale

เตรียมสารสกัดใบมะรุม ด้วยวิธีแช่ยุ่ย (maceration โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานเข้มข้น (stock solution) 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ชั่งสารสกัดใบมะรุมที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล 100 มิลลิกรัม เจือจางด้วยน้ำกลั่น 1 ลิตร เติมน้ำปริมาตร 8 ลิตร ลงในตู้กระจกขนาด 18x35x23 เซนติเมตร เติมสารสกัดใบมะรุมตามความเข้มข้นที่กำหนด ใส่ปลานิลแดงความยาวเฉลี่ย 3.03±0.07 เซนติเมตร ตู้ละ 10 ตัว งดให้อาหารก่อนเริ่มการทดลอง 24 ชั่วโมง)

บันทึกลักษณะการตอบสนอง พฤติกรรมของลูกปลา และอัตราการตายสะสมที่เวลา 6, 12, 18 และ 24 ชั่วโมง วิเคราะห์หาระดับความเข้มข้นที่ทำให้ปลานิลแดงตายร้อยละ 50 ของจำนวนสัตว์ทดลอง $LC_{50}$ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธีวิเคราะห์แบบโพรบิท (Probit analysis) ตามวิธีของ Litchfield and Wilcoxon (1949) และประเมินค่าความเข้มข้นที่ปลอดภัย (Safe concentration) ของสารสกัดใบมะรุมที่มีต่อปลานิลแดง ตรวจคุณภาพน้ำบางประการ ได้แก่ อุณหภูมิ (Temperature) ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (DO) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของสารสกัดใบมะรุม ที่ใช้ทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันต่อปลานิลแดง ด้วยเครื่องวัด Multi-Para meter ยี่ห้อ YSI รุ่น 550A ที่ช่วงเวลา 0, 6, 12, 18 และ 24 ชั่วโมง

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาพิษเฉียบพลันของสารสกัดใบมะรุมต่อปลานิลแดง จากการทดลองขั้นต้น พบว่า ระดับความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดใบมะรุมที่ทำให้ปลานิลแดงตาย 100 เปอร์เซ็นต์ และระดับความเข้มข้นของสารสกัดใบมะรุมสูงสุดที่ทำให้ปลานิลแดงรอด 100 เปอร์เซ็นต์ คือ 600 และ1,100 มิลลิกรัมต่อลิตร และนำค่าที่ได้มากำหนดช่วงระดับความเข้มข้นในการทดลองขั้นละเอียดด้วย log scale ได้ระดับความเข้มข้นในขั้นละเอียด คือ 0 (ชุดควบคุม), 0, 600, 678, 765, 863, 968 และ 1,100 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อนำมาใช้ทดลองพิษเฉียบพลันของสารใบมะรุมต่อปลานิลแดง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า ระดับความเข้มข้น 0 และ 600 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่พบการตายของปลานิลแดง ที่ระดับความเข้มข้นที่ 678 มิลลิกรัมต่อลิตร ปลานิลแดงตายในชั่วโมงที่ 24 โดยมีอัตราการตายสะสมคิดเป็น 20 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 765 มิลลิกรัมต่อลิตร ปลานิลแดงเริ่มตายในชั่วโมงที่ 18 และ 24 โดยมีอัตราการตายสะสมคิดเป็น 20 และ 40 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 863 มิลลิกรัมต่อลิตร ปลานิลแดงเริ่มตายในชั่วโมงที่ 12, 18 และ 24 คิดเป็นอัตราการตายสะสม 10, 26.6 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น968 มิลลิกรัมต่อลิตรลูกปลานิลเริ่มแดงมีการตายในชั่วโมงที่ 12, 18 และ 24 ชั่วโมง ซึ่งคิดเป็นอัตราการตายสะสม 20, 46.6 และ 76.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และในระดับความเข้มข้น 1,100 มิลลิกรัมต่อลิตร ลูกปลานิลมีการตายตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6, 12, 18 และ 24 มีอัตราการตาย สะสมคิดเป็น 20, 43.3, 76.6, และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 1, Figure1)

หลังครบ 24 ชั่วโมง วิเคราะห์หาระดับความเข้มข้นที่ทำให้ปลานิลแดงร้อยละ 50 ของ ($LC_{50}$) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 792 (746.18-840.63 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าความเข้มข้นที่ปลอดภัย (Safe Concentration) เท่ากับ 39.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการศึกษาของ Kumar และคณะ (2010) พบว่า ความเป็นพิษของสารสกัดใบมะรุมที่ทำให้ปลาปลาไนตาย 50 เปอร์เซ็นต์ในเวลา 96 ชั่วโมง เท่ากับ 124 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากปลานิลแดงมีความอดทนต่อสภาพแวดล้อมสามารถดำรงชีวิตอยู่ในออกซิเจนที่ละลายในน้ำต่ำได้ดีกว่าปลาไน อย่างไรก็ตาม Hamed และTawwab (2017) กล่าวว่าการเพิ่มสารสกัดใบมะรุมลงในน้ำที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสามารถลดความเครียดในปลานิลได้ Elsayed และคณะ (2020) รายงานว่าพิษเฉียบพลันองสารสกัดเมล็ดมะรุม ระดับความเข้มข้นที่ทำให้ปลาม้าลาย (zebrafish) ตายร้อยละ 50 ของ ($LC_{50}$) ที่ 96 ชั่วโมง มีค่าที่คำนวณได้คือ 21.24±0.44 กรัมต่อมิลลิลิตร

**Table 1** Cumulative mortality of Red Tilapia were obtained Moringa Leaf Extract

| Moringa leaf concentration (mg/L) | n | Cumulative mortality (%) | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 6 hrs | 12 hrs | 18 hrs | 24 hrs |
| 600 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 678 | 10 | 0 | 0 | 0 | 20 |
| 765 | 10 | 0 | 0 | 20 | 40 |
| 863 | 10 | 0 | 10 | 26.6 | 50.0 |
| 968 | 10 | 0 | 20 | 46.6 | 76.6 |
| 1,100 | 10 | 20 | 43.3 | 76.6 | 100 |

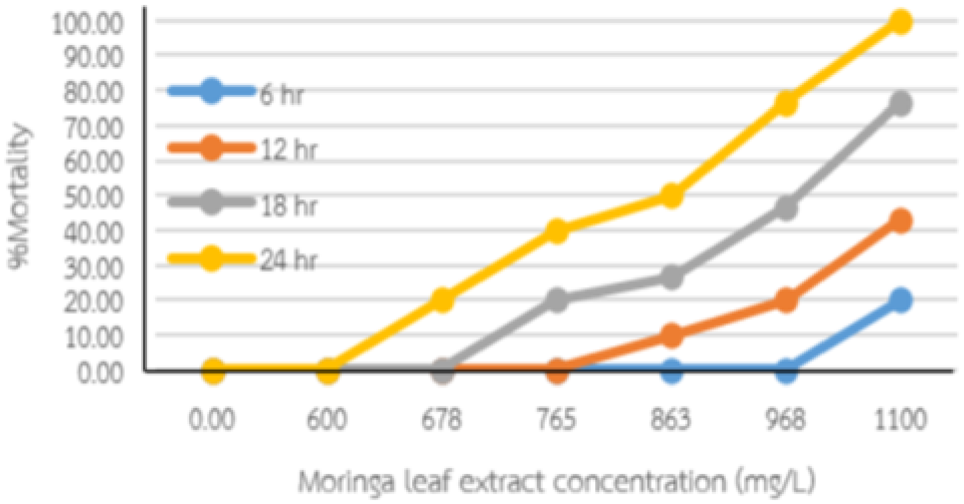



Figure 1 Percentage of mortality of Red Tilapia were obtained moringa leaf extract during 24 hours

ลักษณะอาการของปลาที่ตอบสนองต่อสารสกัดใบมะรุม ปลานิลแดงเริ่มมีการขับถ่ายเพิ่มขึ้น ว่ายน้ำช้าลง แผ่นปิดเหงือกเปิดปิดอย่างรวดเร็ว สูญเสียการทรงตัว กระสับกระส่าย ลอยนิ่งอยู่ก้นตู้ และตายในที่สุด โดยเฉพาะระดับความเข้มข้น1,100 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าปลานิลแดงมีการตอบสนองเร็วกว่า และแสดงอาการมากกว่าในทุกระดับความเข้มข้นจนกระทั่งตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ในเวลา 24 ชั่วโมง สอดคล้องกับการศึกษาของ Kavitha และคณะ(2012) ที่ทดสอบพิษเฉียบพลันสารสกัดเมล็ดมะรุมและหาค่า $LC_{50}$ ต่อปลาไน (*Cyprinus carpio*) เพื่อดูการตอบสนอง และพฤติกรรม เมื่อปลาได้สัมผัสกับสารสกัดที่มีความเข้มข้นสูงขึ้น ปลามีอาการหลั่งเมือกจำนวนมาก สูญเสียการทรงตัว กระสับกระส่าย มีการเคลื่อนไหวที่กระตุก และแผ่นปิดเหงือก (operculum) เปิดปิดอย่างรวดเร็ว เมื่อปลาได้รับสารที่เป็นสิ่งแปลกปลอม หรือทำให้เกิดสภาวะเครียด ปลาจะมีอาการเปิดปิดแผ่นเหงือกเร็วขึ้น และอาจทำให้ตายได้ Huntman (1995) ถ้าปลาเกิดความเครียดสามารถใส่สารสกัดใบมะรุมลงในน้ำที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสามารถลดความเครียดในปลานิลได้ (Hamed และ El-Sayed, 2519)

คณภาพน้ำบางประการตลอดการทดลอง พบว่า อุณหภูมิน้ำ 27.0-28.5 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดเป็นด่าง 6.73-7.00 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ 3.05-5.57 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ เริ่มลดลงในช่วงเวลา 12 ชั่วโมง แต่อยู่ในระดับปกติของมาตรฐานคุณภาพน้ำที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด (กรมควบคุมมลพิษ, 2561)

## สรุป

พิษเฉียบพลันของสารสกัดใบมะรุมต่อปลานิลแดง ค่า $LC_{50}$ ที่เวลา 24 ชั่วโมง ที่ช่วงความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 792 (746.18-840.63) มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าความลาดเอียง (Slope Function) เท่ากับ 1.247 (0.6412-2.4251) มิลลิกรัมต่อลิตร และค่าความเข้มข้นที่ปลอดภัย (Safe Concentration) ของสารสกัดใบมะรุมต่อปลานิลแดง มีค่าเท่ากับ 39.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ปลามีอาการหลั่งเมือกจำนวนมาก สูญเสียการทรงตัว กระสับกระส่าย มีการเคลื่อนไหวที่กระตุก และแผ่นปิดเหงือกเปิดปิดอย่างรวดเร็ว และตาย 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อมีความเข้มข้นของสารสกัดใบมะรุมสูงขึ้น

**เอกสารอ้างอิง**


กรมควบคุมมลพิษ, 2561, มาตรฐานคุณภาพน้ำ.แหล่งที่มา: http://pcd.go.th/info_serv/reg_std_water06.html#s1, 24 เมษายน 2564.

Aly, A.A., Maraei, R.W., and Ali, H.G.M., 2016, Fatty Acids Profile and Chemical Composition of Egyptian *Moringa oleifera* Seed Oils, Journal of the American Oil Chemists' Society, 93: 397–404.

de Santana Silva, L.L., Alves, R.N., de Paulo, D.V., da Silva, J.D.F., and de Oliveira, A.P.S., Coelho, L.C.B.B., do Amaral Ferraz Navarro, D.M., Napoleao, T.H., do Amaral, I.P.G., de Carvalvo, P.S.M. and Paiva, P.M.G., 2017, Ecotoxicity of Water-soluble Lectin from *Moringa oleifera* Seeds to Zebrafish (*Danio rerio*) Embryos and Larvae, Chemosphere, 185: 178–182

El-Hak, H.N.G., Moustafa, A.R.A., and Mansour, S.R., 2017, Toxic Effect of *Moringa peregrina* Seeds on Histological and Biochemical Analyses of Adult Male Albino Rats, Toxicology Report, 12: 38–45.

Elsayed, E.A., Sharaf-Eldin, M.A and Wadaan, M., 2015, *In Vitro* Evaluation of Cytotoxic Activities of Essential Oil from *Moringa oleifera* Seeds on HeLa, HepG2, MCF-7, CACO-2 and L929 Cell Lines, Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 16: 4671–4675.

Elsayed, E.A., Farooqa, M., Sharaf-Eldin, M.A., El-Enshasy, H.A. and Wadaan, M., 2020, Evaluation of Developmental Toxicity and Anti-angiogenic Potential of Essential Oils from *Moringa oleifera* and *Moringa peregrina* Seeds in Zebrafish (*Danio rerio*) Model, South African Journal of Botany, 129: 229–237.

Hamed, H.S. and Abdel-Tawwab, M., 2017, Ameliorative Effect of Propolis Supplementation on Alleviating Bisphenol-A Toxicity: Growth Performance, Biochemical Variables, and Oxidative Stress Biomarkers of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) Fingerlings, Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology, 202: 63–69.

Hamed, H.S. and El-Sayed, Y.S., 2519, Antioxidant Activities of *Moringa oleifera* Leaf Extract Against Pendimethalin-induced Oxidative Stress and Genotoxicity in Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), Fish Physiology and Biochemistry, 45(1):71-82.

Huntman, L.C., 1995, *In Vitro* Studies of Eosinophilic Granule Cell of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Small Intestine, A Thesis Submitted to the Graduate Faculty in Partial Fulfillment of the Requirement for Degree of Master of Science in the Department of Anatomy and Physiology, Faculty of Veterinary Medicine University of Prince Edward Island.

Kavitha, C., Ramesh, M., Kumaran, S.S. and Lakshmi., S.A., 2012, Toxicity of *Moringa oleifera* Seed Extract on Some Hematological and Biochemical Profiles in a Freshwater Fish, *Cyprinus carpio,* Experimental and Toxicologic Pathology, 64: 681–687.

Kumar, A, Prasad, M., Mishra, D., Srivastav, S., and Srivastav, A., 2010, Toxicity of Aqueous Extract of *Euphorbia tirucalli* Latex on Catfish, *Heteropneustes fossilis,* Ecotoxicology and Environmental Safety, 73:1671–3.

Litchfield, J.T. and Wilcoxon, F., 1949, A Simplified Method of Evaluating Does Effect Experiments, Journal of Pharmacology and Experiment Therapeutics, 96: 99-113.

Sayed A.E.H. and Hamed H.S., 2017, Induction of Apoptosis and DNA Damage by 4-Nonylphenol in African Catfish (*Clarias gariepinus*) and the Antioxidant Role of *Cydonia oblonga*, Ecotoxicology and Environmental Safety, 139: 97–101.

Tabassum H, Afjal M.A, Khan J, Raisuddin S, and Parvez S., 2015, Neurotoxicological Assessment of Pendimethalin in Freshwater Fish *Channa punctata* Bloch, Ecology Indic, 58:411–417.

# ผลของกากน้ำตาล และคาร์บอกซีเมลทิลเซลลูโลสที่ผลิตจากอุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาลต่อการผลิตคุกกี้เพื่อสุขภาพ
# Effects of Molasses and Carboxymeltylcellulose Produced from Sugarcane Industry on the Production of Healthy Cookies

วราภรณ์ ศรเดช[1] และ สุภาภรณ์ เลขวัต[1]
Sorndech, W. [1], and Lekhavat, S.[1]

## Abstract

Healthy cookie recipes were performed by using molasses (A or B types), inulin and carboxymethyl cellulose (CMC). Sensory quality and microstructure presented in three-dimensional networks of starch, fat and protein of cookies dough were examined. The Sensory evaluation data revealed that the appropriate content of CMC, inulin and molasses were 5.8, 4.2 and 8.3%, respectively. Recipes consisting of molasses A and B showed the low hardness/firmness. However, the color of all recipes was not significantly different. These results imply that the hardness and color of cookies were not affected by molasses types. It was found that cookies dough after added with molasses, inulin and CMC caused a loose structure and more in void spaces than those of control. Taken together, these results exhibited that there is an association between molasses, inulin and CMC and cookies structures which will be used as an alternative value-added healthy cookies recipe from sugarcane industry.
**Keywords:** Molasses, Healthy cookies, Microstructure

## บทคัดย่อ

สูตรคุกกี้เพื่อสุขภาพพัฒนาจากการใช้กากน้ำตาล (ชนิด A หรือ B) อินนูลิน และคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (CMC) จากนั้นทำการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสและโครงสร้างจุลภาคในรูปแบบ 3 มิติของแป้ง ไขมัน และ โปรตีนของคุกกี้โด ผลการประเมินทางประสาทสัมผัสพบว่าปริมาณ CMC อินนูลิน และกากน้ำตาล ที่เหมาะสมเท่ากับ 5.8%, 4.2% และ 8.3% ตามลำดับ สูตรที่ใช้กากน้ำตาล A และ B ส่งผลให้มีค่าความแข็ง/ความแน่นต่ำ อย่างไรก็ตามพบว่าสีของคุกกี้ทุกสูตรไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จากข้อมูลดังกล่าวสามารถอภิปรายได้ว่าประเภทกากน้ำตาลไม่มีผลต่อความแข็งและสีของคุกกี้ พบว่าคุกกี้โดที่เติมกากน้ำตาล อินนูลิน และ CMC ทำให้เกิดโครงสร้างหลวมและมีช่องว่างมากกว่าสูตรควบคุม จากข้อมูลทั้งหมดแสดงให้เห็นว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างการเติมกากน้ำตาล อินนูลิน และ CMC และโครงสร้างคุกกี้ ซึ่งจะใช้เป็นสูตรคุกกี้เพื่อสุขภาพที่มีการเพิ่มมูลค่าจากของเหลือจากอุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาล
**คำสำคัญ:** กากน้ำตาล คุกกี้เพื่อสุขภาพ โครงสร้างจุลภาค

## คำนำ

ผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากแป้งและทำให้สุกโดยการอบ มักมีองค์ประกอบหลักคือ แป้ง เนย และน้ำตาล โดยเฉพาะอย่างยิ่ง คุกกี้ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายทั่วทุกมุมโลก มีการบริโภคกันมาเป็นเวลานาน คุกกี้มีส่วนประกอบสำคัญ คือน้ำตาล และไขมันในปริมาณสูง ส่งผลให้คุกกี้มีแคลอรีสูง ทำให้ผู้บริโภคที่ชอบรับประทานคุกกี้เป็นอาหารว่าง มีปัญหาโรคอ้วน ซึ่งอยู่ในกลุ่มโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง (NCDs, non-communicable diseases) ที่เกิดจากพฤติกรรมการดำเนินชีวิต ซึ่งการดำเนินโรคจะเกิดขึ้นอย่างช้าๆ และสะสมอาการอย่างต่อเนื่อง เมื่อมีอาการของโรคแล้วมักจะเกิดการเรื้อรังของโรคได้อีกด้วย โดยพฤติกรรมการบริโภคอาหารนับเป็นปัจจัยหลักที่นำไปสู่โรคไม่ติดต่อเรื้อรัง รวมถึงและปัญหาสุขภาพอื่นๆ ตามมา และในปัจจุบันภาครัฐได้มีการจัดเก็บภาษีน้ำตาลในผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่ม ซึ่งเป็นหนึ่งในมาตรการการต่อสู้กับโรคไม่ติดต่อเรื้อรังในไทย ผู้ประกอบการจึงหันมาให้ความสำคัญกับการพัฒนาสูตรอาหารและเครื่องดื่มที่ให้ประโยชน์ต่อสุขภาพมากขึ้นเพื่อเป็นทางเลือกใหม่ให้ผู้บริโภคที่ห่วงใยสุขภาพ การใช้สารให้ความหวานทดแทนน้ำตาล เช่น น้ำตาลจากหญ้า

[1] ศูนย์เชี่ยวชาญนวัตกรรมอาหารสุขภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย 35 หมู่ 3 เทคโนธานี ถ.เลียบคลองห้า ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120
[1] Expert Center of Innovative Health Food, Thailand Institute of Scientific and Technological Research 35 Mu 3, Khlong Ha, Khlong Luang, Pathum Thani, 12120

หวาน (Stevioside) และน้ำตาลแอลกอฮอล์ (Sugar-alcohol) ที่ไม่ให้พลังงาน หรือให้พลังงานต่ำ จึงเข้ามามีบทบาทสำคัญในการพัฒนาสูตรอาหารและเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ

จากข้อมูลดังกล่าวจึงนำมาสู่แนวคิดการพัฒนาผลิตภัณฑ์คุกกี้เพื่อสุขภาพ ที่มีส่วนประกอบของ CMC และอินนูลิน (Inulin) ในการทดแทนเนย และลดน้ำตาลทรายโดยใช้น้ำตาลจากหญ้าหวานและน้ำตาลมอลทิทอล รวมทั้งศึกษาผลของชนิดกากน้ำตาล (ชนิด A และ B) ซึ่งมีสารต้านอนุมูลอิสระเป็นส่วนผสมในสูตรคุกกี้ โดยกากน้ำตาลชนิด A และ B ได้มาจากกระบวนการแปรรูปน้ำตาลอ้อยให้เป็นน้ำตาลทรายในขั้นตอนที่แตกต่างกัน รวมทั้งศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ เนื้อสัมผัส ลักษณะทางประสาทสัมผัส และโครงสร้างจุลภาคของคุกกี้โดเพื่อให้ทราบถึงปฏิสัมพันธ์ของส่วนผสมในคุกกี้โด และได้สูตรคุกกี้ที่ใกล้เคียงกับสูตรปกติที่ไม่มีการลดไขมันและน้ำตาลโดยใช้การออกแบบการทดลองแบบผสม งานวิจัยนี้เป็นการวิจัยเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับกากน้ำตาล และ CMC ที่ได้จากกระบวนการแปรรูปน้ำตาลอ้อย นอกจากนี้คุกกี้ในท้องตลาดมักจะมีส่วนผสมของน้ำตาลเป็นจำนวนมากทำให้ส่งผลเสียต่อสุขภาพ ดังนั้นงานวิจัยนี้ยังเป็นการสร้างสูตรอาหารทางเลือกใหม่ให้กับผู้บริโภคอีกด้วย

## อุปกรณ์และวิธีการ

การผลิตคุกกี้เพื่อสุขภาพที่มีการใช้สารทดแทนน้ำตาลทราย และทดแทนไขมัน นำคุกกี้สูตรพื้นฐานที่ดัดแปลงจาก Suan Dusit International Culinary School (2010) การทดลองในสูตรพื้นฐาน ทำได้โดยนำเนยสดชนิดเค็มตราอิมพีเรียล (31.3 %w/w) ผสมด้วยเครื่องผสมอาหารแบบมือถือ (EHM3407, Electrolux, Rayong, Thailand) ใช้หัวตีแบบตะกร้อ ผสมเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นใส่น้ำตาลทราย (18.0 % w/w) ผสมต่ออีก 5 นาที ใส่ไข่ไก่ (12.0 % w/w) และกลิ่นวานิลลา (1.3 % w/w) ผสมเป็นเวลา 1 นาที ตีด้วยความเร็วปานกลาง และใส่แป้งเค้กผสมแป้งสาลีอเนกประสงค์ (36.0 %w/w) และผงฟู (1.3 % w/w) ที่ร่อนแล้ว ตีด้วยความเร็วต่ำ เป็นเวลา 1 นาที ตักใส่พิมพ์ และวางบนแผ่นรองอบ จากนั้นนำไปอบในเตาอบไฟฟ้า (Modular electrical ovens, Salva, Lezo, Spain) ที่อุณหภูมิ 155 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 35 นาที นำออกจากเตาอบและวางบนตะแกรงพักให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที ทำการทดลอง 3 ซ้ำ สำหรับสูตรที่มีการเติมสารทดแทนน้ำตาลและไขมัน ให้เติม CMC (5-10%) อินนูลิน (2.5-5%) และสารกัดหญ้าหวาน (10%) และมอลทิทอล (4%) ลงในขั้นตอนการเติมน้ำตาลทราย และเติมกากน้ำตาล (5-10%) ลงในขั้นตอนการเติมไข่ไก่และวานิลลา ค่าสีใช้เครื่องวัดสี chroma meter รุ่น CR-400/410 ยี่ห้อ Konica minolta โดยใช้พารามิเตอร์สี CIE Lab ผลลัพธ์ของการวัดค่าสีของฟิล์มจะแสดงค่าในระบบฮันเตอร์ (Hunter system) และพิกัดสี่เหลี่ยม (rectangular coordinates) ลักษณะเนื้อสัมผัสใช้การทดสอบแบบการทดสอบแรงกด (compression test) ได้แก่ ค่าความแข็ง (Hardness) และค่าความแน่นเนื้อ (Firmness) วัดโดยใช้เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (texture analyzer ยี่ห้อ LLOYD instruments) หัววัด p/0.5HS โดยใช้ตัวอย่างผลิตภัณฑ์คุกกี้ทดสอบตัวอย่างละ 10 ซ้ำ จากนั้นนำข้อมูลมาทำการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วยการวิเคราะห์หาความแปรปรวน (Analysis of Variance; ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้โปรแกรม SPSS ลักษณะทางประสาทสัมผัสใช้วิธีการทดสอบแบบ 7- point hedonic scale โดยใช้ผู้ทดสอบชิมทั่วไปจำนวน 30 คน จากนั้นนำข้อมูลมาทำการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วยการวิเคราะห์หาความแปรปรวน (Analysis of Variance; ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้โปรแกรม SPSS และเปรียบเทียบความแตกต่างของคะแนนเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เพื่อเปรียบเทียบความชอบของผลิตภัณฑ์คุกกี้เพื่อสุขภาพ การศึกษาโครงสร้างจุลภาคภายในคุกกี้ ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบคอนโฟคอลชนิดที่ใช้เลเซอร์ในการสแกน (confocal laser scanning microscopy; CLSM) (Nikon A1R, Nikon Crop., Tokyo, Japan) ตามวิธีการที่ดัดแปลงจาก Matignon และคณะ, (2014) ใช้สีย้อม 3 สี ได้แก่ Nile blue A, Fluorescein isothiocyanate isomer I และ Rhodamine-B-isothiocyanate โดยเตรียมย้อมสี 3 ส่วนหลักคือ 1) ย้อมสีเนยโดยใช้ RITC ปริมาตร 200 ไมโครลิตร 2) ย้อมสี CMC + อินนูลิน + หญ้าหวาน+ น้ำตาลมอลทิทอล + แป้ง โดยใช้ Nile blue A ปริมาตร 200 ไมโครลิตร และ 3) ย้อมสีไข่ไก่และโมลาส โดยใช้ FITC ปริมาตร 200 ไมโครลิตร จากนั้นเก็บตัวอย่างทั้งหมดไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน เกลี่ยบนสไลด์ และนำไปสังเกตดูโครงสร้างภายในโดยใช้เลนส์วัตถุ (objective lens) ที่กำลังขยาย 20 หรือ 40 เท่า

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลของการใช้สารทดแทนน้ำตาลและไขมันต่อลักษณะปรากฏของคุกกี้ จากข้อมูลการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของกากน้ำตาลชนิด A และ B จากโรงงานอุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาลทราย พบว่าค่าการต้านอนุมูลอิสระเมื่อใช้วิธี DPPH ของกากน้ำตาลชนิด A และ B มีค่า IC50 คือ 22.08 mg/L และ 16.44 mg/L ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่ากากน้ำตาลทั้งสองชนิดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และนำมาผลิตคุกกี้ พบว่าสูตรที่ผู้ทดสอบชอบมากที่สุดคือสูตร S4 S6 และ S7 เมื่อพิจารณาลักษณะปรากฏของคุกกี้พบว่าคุกกี้มีสีเข้มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม ทั้งนี้เกิดจากผลของการใช้กากน้ำตาล อย่างไรก็ตามการใช้กากน้ำตาล

ชนิด A และ B ให้ลักษณะปรากฏของคุกกี้หลังอบที่ไม่แตกต่างกัน จากข้อมูล Table 1 พบว่าค่าความสว่าง (L*) ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% แต่การเติมกากน้ำตาลทำให้มีแนวโน้มความสว่างของคุกกี้ลดลง นั่นคือมีสีที่เข้มขึ้น การแสดงค่าสีแดง (a*) มีแนวโน้มแปรผันตามปริมาณกากน้ำตาลที่ใช้ นั่นคือ คุกกี้สูตร S6 มีค่า a* แตกต่างจากสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสูตร S6 มีการใช้กากน้ำตาลสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสูตร S4 และ S7 ค่าสีที่ได้สอดคล้องกับผลการทดลองของ Filipčev และคณะ (2012) ที่ใช้กากน้ำตาลจากบีทรูทมาแทนที่การใช้น้ำผึ้งในการพัฒนาสูตรบิสกิต และพบว่าการใช้กากน้ำตาลปริมาณสูง (40% w/w) เพื่อทดแทนน้ำผึ้งทำให้บิสกิตมีสีเข้มขึ้น ค่าความแข็งของคุกกี้ พบว่าสูตร S4 มีค่าค่าความแข็งแตกต่างจากสูตรควบคุม และสูตร S7 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับปริมาณ CMC ในสูตร S4 ที่มีปริมาณสูงที่สุด โดยผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของ Emami และคณะ (2018) ที่ศึกษาการใช้ อินนูลิน เดกซ์ทรินทนย่อย และ CMC ทดแทนไขมันในผลิตภัณฑ์บิสกิต ซึ่งพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณอินนูลิน เดกซ์ทรินทนย่อย และ CMC ทดแทนไขมัน จะทำให้บิสกิตมีค่าความแข็งเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม นอกจากนี้การใช้กากน้ำตาลชนิด A หรือ B ไม่ส่งผลให้เกิดความแตกต่างของค่าความแข็งและความแน่นเนื้อของคุกกี้อย่างชัดเจน

จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่าคุกกี้สูตร S7 เป็นสูตรที่ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบโดยรวมสูงที่สุด เมื่อใช้กากน้ำตาลทั้งชนิด A หรือ B ซึ่งแสดงให้เห็นว่าชนิดของกากน้ำตาลไม่มีผลต่อความชอบโดยรวมของคุกกี้ เมื่อนำปัจจัยที่มีผลต่อความชอบโดยรวมจากการทดลองแบบผสม (Mixture Design) มาทำการวิเคราะห์การถดถอยต่อเพื่อสร้างสมการถดถอยประมาณค่าความชอบโดยรวมและวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยต่างๆ ดังแสดงในสมการ ดังนี้ $Y = 5.504A + 5.204B + 5.504C - 1.209AB + 0.591AC + 3.591BC$ โดย A คือ CMC; B คือ Inulin และ C คือ Molasses โดยมีสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Adjust $r^2$) เท่ากับ 95.90 % และการวิเคราะห์ Response Optimization ได้ค่าระดับปัจจัยที่เหมาะสมสำหรับความชอบโดยรวมของคุกกี้เพื่อสุขภาพ พบว่า Optimum Desirability ที่ทำให้ความชอบโดยรวมมากที่สุดคือ ปัจจัย A: ซีเอ็มซีเท่ากับ 0.1667 (5.8%) ปัจจัย B: อินนูลินเท่ากับ 0.1798 (4.2%) และปัจจัย C: กากน้ำตาลเท่ากับ 0.6535 (8.3%) ซึ่งสอดคล้องกับสูตรคุกกี้เพื่อสุขภาพที่มีผู้ทดสอบชอบมากที่สุดคือสูตร S7 เมื่อศึกษาโครงสร้างจุลภาคของคุกกี้โดที่มีการเติมสารทดแทนน้ำตาลทราย และสารทดแทนไขมันเพื่ออธิบายถึงการเกาะตัวกันของคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมันดังแสดงใน Figure 2 พบว่าคุกกี้โดที่เติมกากน้ำตาล อินนูลิน และ CMC (Figure 2-B และ 4-C) ทำให้เกิดโครงสร้างหลวมและมีช่องว่างมากกว่าสูตรควบคุม (Figure 2-A) แสดงให้เห็นว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างการเติมกากน้ำตาล อินนูลิน และ CMC และโครงสร้างคุกกี้ โดยข้อมูลนี้สอดคล้องกับการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสที่พบว่าคุกกี้สูตรควบคุมมีคะแนนความชอบโดยรวมสูงที่สุด

## สรุปผล

การศึกษาผลของการใช้สารทดแทนน้ำตาลทรายและไขมันเพื่อพัฒนาสูตรคุกกี้เพื่อสุขภาพ โดยใช้กากน้ำตาล (ชนิด A หรือ B) อินนูลิน และคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (CMC) พบว่าประเภทของกากน้ำตาลไม่มีผลต่อความแข็งและสีของคุกกี้ สมการถดถอยประมาณค่าความชอบโดยรวมและวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยต่างๆ คือ $Y = 5.504A + 5.204B + 5.504C - 1.209AB + 0.591AC + 3.591BC$ โดย A คือ CMC; B คือ Inulin และ C คือ Molasses ได้องค์ประกอบที่ดีที่สุดคือสูตรที่ใช้ปริมาณ CMC อินนูลิน และกากน้ำตาล เท่ากับ 5.8%, 4.2% และ 8.3% ตามลำดับ

## คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.) และขอขอบคุณ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆในการศึกษาวิจัย และบริษัท เค.ซี. เกษตรกรรม จำกัด เลขที่ 14/2 หมู่ที่ 10 ถนนแสงชูโต ต.ท่ามะกา อ.ท่ามะกา กาญจนบุรี 71120 ที่ให้การสนับสนุนกากน้ำตาลในการทดลอง

## เอกสารอ้างอิง

Emami, N., Dehghan, P., Mohtarami, F., Ostadrahimi, A., and Azizi, M. H., 2018, Physicochemical, Textural, and Sensory Evaluation of Reduced Fat Gluten- Free Biscuit Prepared with Inulin and Resistant Dextrin Prebiotic, Journal of Agricultural Science and Technology, 20(4): 719-731.

Filipčev, B., Bodroža-Solarov, M., Šimurina, O., and Cvetković, B., 2012, Use of Sugar Beet Molasses in Processing of Gingerbread Type Biscuits: Effect on Quality Characteristics, Nutritional Profile, and Bioavailability of Calcium and Iron, Acta Alimentaria, 41(4): 494-505.

Matignon, A., Moulina, G., Bareye, P., Desprairiese, M., Mauduite, S., Sieffermanna, J. M., and Michon, C., 2014, Starch/Carrageenan/Milk Proteins Interactions Studied Using Multiple Staining and Confocal Laser Scanning Microscopy, Carbohydrate Polymers. 99(2): 345-355.

Suan Dusit International Culinary School, 2010, Short Course Hand Out- Cake. Bangkok: Suan Dusit University.

**Table 1** Appearance and physical properties of cookie samples.

| Molasses types | Cookies recipe | Appearance | Color | | | Hardness (N) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | L* | a* | b* | |
| None | Control | | 71.88±1.25 ns | 9.91±0.31 bc | 25.76±0.33 b | 68.87±2.37 c |
| Molasses A | S4 | | 67.27±0.24 ns | 9.62±0.06 cd | 26.25±0.11 a | 95.26±2.21 a |
| | S6 | | 68.37±0.75 ns | 10.21±0.27 ab | 26.21±0.23 a | 82.51±8.55 b |
| | S7 | | 70.41±0.62 ns | 9.92±0.43 bc | 25.48±0.21 b | 69.49±1.31 c |
| Molasses B | S4 | | 71.21±0.97 ns | 9.21±0.074 e | 25.43±0.25 b | 87.59±1.27 ab |
| | S6 | | 68.77±0.46 ns | 10.46±0.08 a | 26.21±0.23 a | 91.26±5.08 ab |
| | S7 | | 70.41±0.62 ns | 9.54±0.06 d | 26.11±0.24 a | 67.26±4.34 c |

Values (mean ±SD) in particular column followed with different letters show significant differences (P≤0.05). S4: CMC=6.7%, inulin=3.3% and molasses=6.7%; S6: CMC=5.8%, inulin=2.9% and molasses=5.8%; S7: CMC=5.8%, inulin=2.4% and molasses=8.3%;

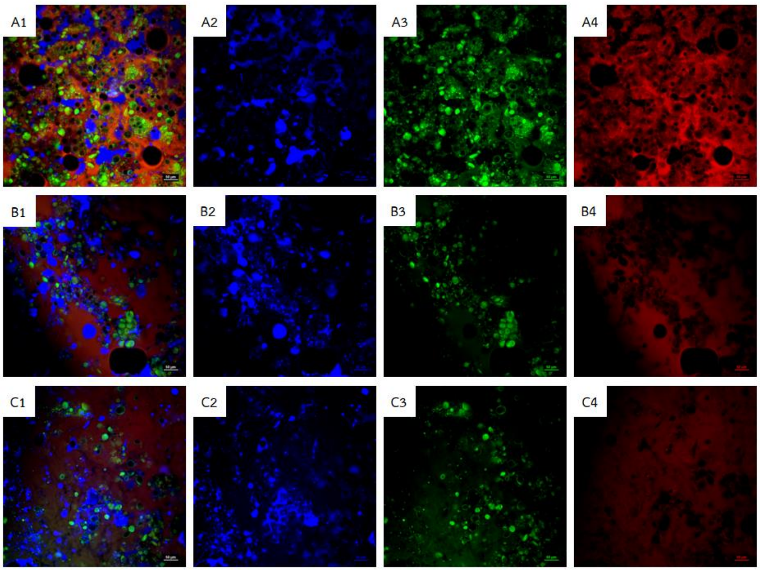



**Figure 2** Confocal images of microstructures of cookie dough; control (A), S7-molasses A (B), and S7-molasses B (C). Number 2: polysaccharides staining, number 3: protein staining and number 4: lipid staining. Bar = 50 μm

Agricultural Sci. J. 52(1)(Suppl.): 385-388 (2021) ว. วิทย์. กษ. 52(1)(พิเศษ): 385-388 (2564)

# การศึกษาระยะเวลาในการให้น้ำที่เหมาะสมสำหรับการปลูกข้าวไรซ์เบอรี่ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและผลผลิต*

# Study on the Optimum Irrigation Time for 'Riceberry' Rice Cultivation Affecting the Growth and Yield

เรวัตร จินดาเจี่ย[1] จักรกฤษณ์ ศรีแสง[1] พงษ์ศักดิ์ แก้วศรี[1] จรรยา มุ่งงาม[1] บัณฑิตา เพ็ญสุริยะ และ น้ำฝน ชาชัย[1]

Chindachia,R.[1], Sreesaeng, J.[1], Keawsri, P.[1], Mungngam, J.[1], Pinsanthia B.[1], and Prathapkong, p.[1]

## Abstract

The study of the optimum irrigation time for riceberry cultivation was conduct to guide efficient water management for economic use of water. By planning a complete randomized design of 4 treatments, 10 repetitions as follows: 1$^{ST}$experiment: control (the recommended water application), 2$^{nd}$ experiment: water added every 3 days, 3$^{rd}$ experiment: water added every 5 days and 4$^{th}$ experiment: water added every 7 days. It was found the height, number of plants per hill, number of panicle hill, number of filled grain panicle, weight of filled grain panicle and weight of total filled grain were no statistically different. But it was likely that adding water every 3 days was the highest. As for adding water every 7 days, the number of plants per hill, number of panicle hill, number of filled grain panicle, weight of filled grain panicle and weight of total filled grain was the highest.

**Keywords:** iirrigation time, economic use of water, Riceberry rice, yield of riceberry

## บทคัดย่อ

การศึกษาระยะเวลาในการให้น้ำที่เหมาะสมสำหรับการปลูกข้าวไรซ์เบอรี่ เพื่อเป็นแนวทางในการจัดการน้ำในการปลูกข้าวไรซ์เบอรี่อย่างมีประสิทธิภาพและการใช้น้ำอย่างประหยัด โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 4 ตำรับการทดลอง 10 ซ้ำ ดังนี้ ตำรับการทดลองที่ 1 ตำรับการควบคุม (ตามคำแนะนำ) ตำรับการทดลองที่ 2 เติมน้ำทุกๆ 3 วัน ตำรับการทดลองที่ 3 เติมน้ำทุกๆ 5 วัน และตำรับการทดลองที่ 4 เติมน้ำทุกๆ 7 วัน พบว่าความสูง จำนวนต้นต่อกอ จำนวนรวงต่อกอ จำนวนเมล็ดดีต่อรวง น้ำหนักเมล็ดดีต่อรวง และน้ำหนักเมล็ดดีทั้งหมดในทุกตำรับการทดลองไม่แตกต่างทางสถิติ แต่มีแนวโน้มว่าการเติมน้ำทุกๆ 3 วันมีความสูงมากที่สุด ส่วนการเติมน้ำทุกๆ 7 วันให้จำนวนต้นต่อกอ จำนวนรวงต่อกอ จำนวนเมล็ดดีต่อรวง น้ำหนักเมล็ดดีต่อรวง และน้ำหนักเมล็ดดีทั้งหมดสูงที่สุด

**คำสำคัญ:** ระยะเวลาการให้น้ำ การใช้น้ำอย่างประหยัด ข้าวไรซ์เบอรี่ ผลผลิตของข้าวไรซ์เบอรี่

## คำนำ

ข้าวไรซ์เบอรี่ อุดมไปด้วยคุณค่าทางอาหารสูง มีคุณสมบัติต่อต้านอนุมูลอิสระได้ดี อุดมไปด้วยโฟเลจในปริมาณสูง นอกจากนั้นยังอุดมไปด้วยสารอาหารอื่นๆ ที่มีประโยชน์ต่อร่างกายมากมายหลายชนิด ได้แก่ เบต้าแคโรทีน, แกมมาโอไรซานอล, วิตามินอี, วิตามินบี 1, ลูทีน, แทนนิน, สังกะสี, โอเมก้า 3, ธาตุเหล็ก, โพลีฟีนอล และเส้นใย เป็นต้น ซึ่งสารอาหารเหล่านี้มีส่วนช่วยในการ บำรุงร่างกาย บำรุงสายตา บำรุงระบบประสาท ลดความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็ง ช่วยป้องกันโรคต่างๆ ได้อย่างมากมาย (https://www.hongthongrice.com/life/ข้าวเพื่อสุขภาพ/riceberry-01/) อย่างไรก็ตามจากสภาพปัญหาการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ โดยเฉพาะภัยแล้งติดต่อกันยาวนาน และคาดการณ์กันว่าจะเกิดขึ้นอีกเรื่อย ๆ ส่งผลให้ปริมาณน้ำเพื่อการเกษตรเกิดการขาดแคลนเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะนาข้าวที่ต้องใช้ปริมาณน้ำในการเพาะปลูกสูง มีค่าเฉลี่ยการใช้น้ำไม่น้อยกว่า 700 – 1,500 ลูกบาศก์เมตรต่อไร่ต่อฤดูปลูก (Bhuiyan, 1992) เช่นเดียวกับการปลูกข้าวไรซ์เบอรี่ที่ต้องการใช้ปริมาณน้ำสูง ตั้งแต่การเตรียมพื้นที่ปลูกไปจนถึงก่อนการเก็บเกี่ยวข้าว ดังนั้นการศึกษาวิธีการจัดการน้ำที่เหมาะสมสำหรับการปลูกข้าวไรซ์เบอรี่ จึงมีผลทำให้เกษตรกรสามารถใช้น้ำในการผลิตข้าวไรซ์เบอรี่ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทำให้เกิดการใช้น้ำอย่างประหยัด ช่วยลดต้นทุนทางด้านการผลิต โดยไม่มีผลต่อปริมาณผลผลิตของข้างไรซ์เบอรี่

[1] สถานีวิจัยลำตะคอง สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) 333 หมู่ที่ 12 ตำบลหนองสาหร่าย อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา 30130

[1] Lamtakhong Research Station, Thailand Institute of Scientific and Technological Research (TISTR) 333 Mu 12, Nongsarai, Pakchong, NaKhon Ratchasima 30130.

## อุปกรณ์และวิธีการ

1. การศึกษานี้ใช้ถังปลูกเป็นแบบจำลองของการปลูกข้าวไรซ์เบอรี่ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) มีจำนวน 4 ตำรับการทดลอง 10 ซ้ำ ดังนี้ ตำรับการทดลองที่ 1 ตำรับการควบคุม (ตามคำแนะนำของเกษตรกร) เป็นวิธีการทำนา โดยการเติมน้ำให้มีระดับน้ำสูงจากผิวหน้าไม่เกิน 15 เซนติเมตรและปล่อยจนน้ำแห้ง จึงเติมน้ำให้ได้ระดับผิวหน้าไม่เกิน 15 เซนติเมตร สลับไปมาจนถึงระยะเก็บเกี่ยว ตำรับการทดลองที่ 2 เติมน้ำทุกๆ 3 วัน ตำรับการทดลองที่ 3 เติมน้ำทุกๆ 5 วัน และตำรับการทดลองที่ 4 เติมน้ำทุกๆ 7 วัน ดินที่ใช้ในการศึกษาเป็นดินที่มีเนื้อดินเหนียวปนทราย (ชุดดินชัยบาดาล)

2. นำถังปลูกขนาด 10 ลิตร มาใส่ดินให้เหลือพื้นที่ระหว่างขอบบนถังกับดินห่างกันประมาณ 20 เซนติเมตร เก็บข้อมูลดินก่อนปลูก เติมน้ำใส่ถังจนดินอิ่มตัวด้วยน้ำ ทิ้งไว้ประมาณ 1 วัน นำเมล็ดข้าวไรซ์เบอรี่มาหยอดลงในถังปลูกที่เตรียมไว้ประมาณ 4-5 เมล็ด เมื่อกล้าข้าวงอกได้ประมาณ 7 วัน ทำการย้ายกล้าให้เหลือ 1 ต้นต่อถังปลูก

3. เริ่มใส่น้ำตามระยะเวลาที่แต่ละตำรับการทดลองกำหนด โดยให้มีระดับน้ำสูงจากผิวหน้าไม่เกิน 15 เซนติเมตร พร้อมกับใส่ปุ๋ยตามคำแนะนำ (ปุ๋ยหมักจากขี้วัวนมอัตรา 600 กิโลกรัมต่อไร่ ร่วมกับ ปุ๋ยสูตร 16-20-0 อัตรา 35 กิโลกรัมต่อไร่ หลังปลูก 20 วัน และปุ๋ยสูตร 46-0-0 อัตรา 20 กิโลกรัมต่อไร่หลังปลูก 60 วัน

4. เก็บข้อมูลการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวไรซ์เบอรี่ เพื่อนำไปวิเคราะห์ผลการศึกษา

## ผลการทดลอง

จากการศึกษาการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวไรซ์เบอรี่ที่ได้รับระยะเวลาการให้น้ำที่แตกต่างกัน 4 วิธีพบว่า ความสูง จำนวนต้นต่อกอ จำนวนรวงต่อกอ จำนวนเมล็ดดีต่อรวง น้ำหนักเมล็ดดีต่อรวง และน้ำหนักเมล็ดดีทั้งหมด ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยต้นข้าวไรซ์เบอรี่ที่ได้รับการให้น้ำทุกๆ 3 วันให้ความสูงมากที่สุด แต่ให้จำนวนต้นต่อกอน้อยที่สุด ส่วนการให้น้ำข้าวไรซ์เบอรี่ทุกๆ 7 วันให้จำนวนต้นต่อกอมากที่สุด (Figure 1 และ 2 ตามลำดับ)

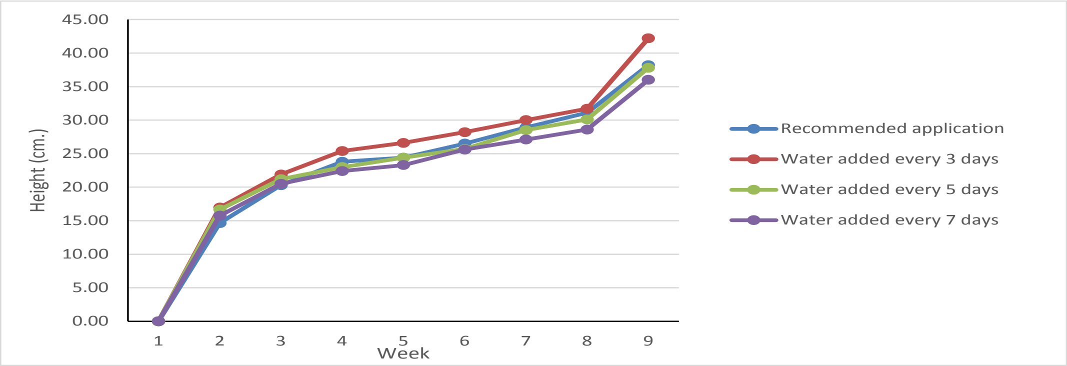



**Figure 1** Height of riceberry under different water irrigation time.

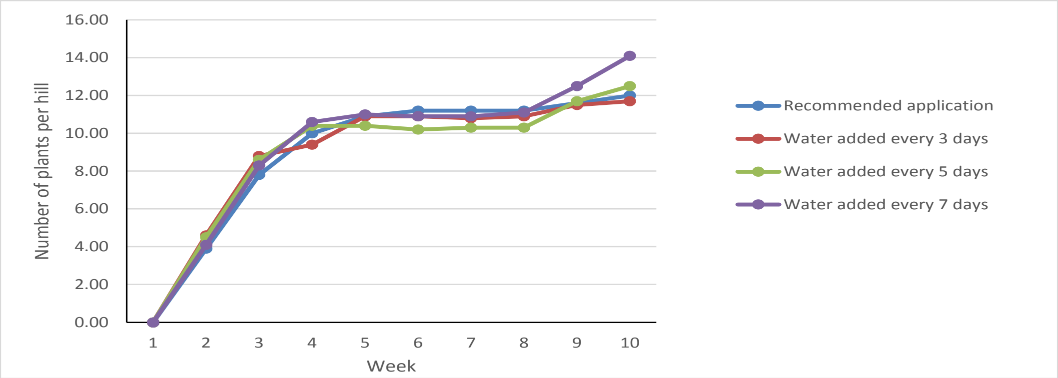



**Figure 2** Number of plants per hill under different water irrigation time.

การศึกษาผลผลิตของข้าวไรซ์เบอรี่ที่ได้รับระยะเวลาการให้น้ำที่แตกต่างกัน 4 วิธีพบว่า จำนวนเมล็ดดีต่อรวง น้ำหนักเมล็ดดีต่อรวง จำนวนรวงต่อกอ และน้ำหนักเมล็ดดีทั้งหมด ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีแนวโน้มว่าการเติมน้ำทุกๆ 7 วันให้จำนวนรวงต่อกอ จำนวนเมล็ดดีต่อรวง น้ำหนักเมล็ดดีต่อรวง และน้ำหนักเมล็ดดีทั้งหมดสูงที่สุด ส่วนการให้น้ำตามคำแนะนำที่เกษตรกรแนะนำ โดยเป็นวิธีเปียกสลับแห้งนั้นพบว่า ทำให้ต้นข้าวไรซ์เบอรี่ให้จำนวนรวงต่อกอ จำนวนเมล็ดดีต่อรวง น้ำหนักเมล็ดดีต่อรวง และน้ำหนักเมล็ดดีทั้งหมดน้อยที่สุด (Table 1)

**Table 1** Yields of riceberry under different water irrigation time.

| Irrigation time | Yields of riceberry | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Number of panicle hill | Number of filled grain panicle | Weight of filled grain panicle (g) | weight of total filled grain (g) |
| Recommended application | 10.90±0.48 | 132.17±3.07 | 3.30±0.05 | 111.37+5.26 |
| Water added every 3 days | 11.50±0.48 | 138.27±3.07 | 3.34±0.05 | 113.46+5.26 |
| Water added every 5 days | 11.00±0.48 | 139.23±3.07 | 3.42±0.05 | 115.71+5.26 |
| Water added every 7 days | **13.00±0.48** | **147.10±3.07** | **3.53±0.05** | **134.26+5.26** |
| F-test | ns | Ns | ns | ns |

## วิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการศึกษาระยะเวลาการให้น้ำข้าวไรซ์เบอรี่ที่แตกต่างกันพบว่าการให้น้ำทุกๆ 3 วันมีแนวโน้มที่ทำให้ความสูงของต้นข้าวดีกว่าการให้น้ำที่ยาวนานขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ พรชัยและคณะ (2559) ที่พบว่าการให้น้ำข้าวไรซ์เบอรี่แบบท่วมขังให้การเจริญเติบโตและผลผลิตสูงกว่าการให้น้ำแบบเปียกสลับแห้ง แต่อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้พบว่าการให้น้ำทุกๆ 7 วันมีความเหมาะสมต่อการผลิตข้าวไรซ์เบอรี่เพราะให้ผลผลิตสูงกว่าระยะเวลาการให้น้ำที่ถี่ขึ้นและสูงกว่าการให้น้ำแบบเปียกสลับแห้ง

## สรุปผล

เนื่องจาก ความสูง จำนวนรวงต่อกอ จำนวนเมล็ดดีต่อรวง น้ำหนักเมล็ดดีต่อรวง และน้ำหนักเมล็ดดี ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ในวิธีการให้น้ำทั้ง 4 วิธี ดังนั้นการให้น้ำทุกๆ 7 วันมีความเหมาะสมต่อการปลูกข้าวไรซ์เบอรี่มากที่สุด แต่อย่างไรก็ตาม หากมีปริมาณน้ำที่ใช้ในการทำนาน้อย อาจเลือกวิธีการทำนาแบบเปียกสลับแห้ง เนื่องจากเป็นวิธีการจัดการที่ง่ายและใช้น้ำที่น้อยที่สุดมีความเหมาะสมต่อการปลูกข้าวไรซ์เบอรี่

## เอกสารอ้างอิง

พรชัย หาระโคตร และอรุณ ทองอุ่น, 2559, ผลของการจัดการน้ำและระยะปลูกต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ภายใต้ระบบการผลิตแบบประณีต (SRI), วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, ปีที่ 24 ฉบับที่ 6 (ฉบับพิเศษ) 2559, หน้า 986-997.

ข้าวไรซ์เบอร์รี่ (Riceberry): ข้าวมากประโยชน์ เพื่อสุขภาพ ควบคุมน้ำหนัก, สืบค้นจาก https://www.hongthongrice.com/life/ข้าวเพื่อสุขภาพ/riceberry-01/.

Bhuiyan S. I., 1992, Water Management in Relation to Crop Productivity: Case Study on Rice, Outlook Agriculture., pp. 293-299.

Agricultural Sci. J. 52(1)(Suppl.): 389-392 (2021) ว. วิทย์. กษ. 52(1)(พิเศษ): 389-392 (2564)

# ผลของการประยุกต์ใช้ปุ๋ยหมักจากมูลโคนมต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวไรซ์เบอรี่*
# Effect of Dairy Manure Compost Applications on the Growth and Yield of Riceberry Rice

จรรยา มุ่งงาม[1] สุรสิทธิ์ วงษ์สัจจานันท์[1] พงศกร นิตย์มี[1] เตชิตา ปิ่นสันเทียะ[1] ภัทรา ประทับกอง[1] และ เรวัตร จินดาเจี่ย[1]
Mungngam, J.[1], Wongsasjanan, S.[1], Nitmee, P.[1], Pinsanthia, T.[1], Prathapkong, P.[1] and Chindachia, R.[1]

## Abstract

The effect of applications of dairy manure compost (DMC) on the growth and yield of Riceberry rice was investigated. The experiment was conducted in complete randomized design of 5 treatments, 10 repetitions as follows: First experiment: Control (without fertilizer), Second experiment: the recommended fertilizer application (DMC at the rate of 600 Kg/rai with chemical fertilizer formular 16-20-0 at the rate of 35 kg/rai and chemical fertilizer formular 46-0-0 at the rate of 20 kg/rai), Third experiment: DMC at the rate of 1.0 tons/rai, Fourth experiment: 1.5 tons/rai and Fifth experiment: DMC at the rate of 3.0 tons/rai. By Experiment 3, 4 and 5 were put in 2 times at 20 and 60 days after planting, respectively. It was found that DMC at the rate of 2.0 tons/rai affected on the highest of the height, number of plant per hill, number of panicle hill, number of filled grain panicle, weight of filled grain panicle and weight of total filled grain and no statistically different from the recommended fertilizer application.

**Keywords:** dairy manure compost (DMC), Riceberry rice, growth of riceberry, yield of riceberry

## บทคัดย่อ

การศึกษาผลของการประยุกต์ใช้ปุ๋ยหมักจากมูลโคนมต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวไรซ์เบอรี่ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 5 ตำรับการทดลอง 10 ซ้ำ ตำรับการทดลองที่ 1 ตำรับการควบคุม (ไม่ใส่ปุ๋ย) ตำรับการทดลองที่ 2 ใส่ปุ๋ยตามคำแนะนำ (ปุ๋ยหมักปุ๋ยหมักจากขี้วัวนม 600 กิโลกรัมต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยเคมีสูตร 16-20-0 35 กิโลกรัมต่อไร่ และปุ๋ยเคมีสูตร 46-0-0 20 กิโลกรัมต่อไร่) ตำรับการทดลองที่ 3 ใส่ปุ๋ยหมักจากขี้วัวนม 1.0 ตัน/ไร่ ตำรับการทดลองที่ 4 ใส่ปุ๋ยหมักจากขี้วัวนม 1.5 ตัน/ไร่ และตำรับการทดลองที่ 5 ใส่ปุ๋ยหมักจากขี้วัวนม 2.0 ตัน/ไร่ โดยตำรับการทดลองที่ 3 4 และ 5 แบ่งใส่ 2 ครั้งหลังปลูก 20 และ 60 วัน พบว่าการใส่ปุ๋ยหมักจากขี้วัวนม 2.0 ตันต่อไร่มีผลต่อความสูง จำนวนต้นต่อกอ จำนวนรวงต่อกอ จำนวนเมล็ดดีต่อรวง น้ำหนักเมล็ดดีต่อรวง และน้ำหนักเมล็ดดีทั้งหมดสูง และไม่แตกต่างทางสถิติกับการใช้ปุ๋ยตามคำแนะนำ

**คำสำคัญ:** ปุ๋ยหมักจากมูลโคนม ข้าวไรซ์เบอรี่ การเจริญเติบโตของข้าวไรซ์เบอรี่ ผลผลิตของข้าวไรซ์เบอรี่

## คำนำ

ข้าวไรซ์เบอรี่ อุดมไปด้วยคุณค่าทางอาหารสูง มีคุณสมบัติต่อต้านอนุมูลอิสระได้ดี อุดมไปด้วยโฟเลจในปริมาณสูง นอกจากนั้นยังอุดมไปด้วยสารอาหารอื่นๆ ที่มีประโยชน์ต่อร่างกายมากมายหลายชนิด ได้แก่ เบต้าแคโรทีน, แกมมาโอไรซานอล, วิตามินอี, วิตามินบี 1, ลูทีน, แทนนิน, สังกะสี, โอเมก้า 3, ธาตุเหล็ก, โพลีฟีนอล และเส้นใย เป็นต้น ซึ่งสารอาหารเหล่านี้มีส่วนช่วยในการ บำรุงร่างกาย บำรุงสายตา บำรุงระบบประสาท ลดความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็ง ช่วยป้องกันโรคต่างๆ ได้อย่างมากมาย (https://www.hongthongrice.com/life/ข้าวเพื่อสุขภาพ/riceberry-01/) ทำให้ข้าวไรซ์เบอรี่ถูกนำไปใช้ในการทำเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพมากมายหลายชนิด จากการใช้ข้าวไรซ์เบอรี่เป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ ทำให้ข้าวไรซ์เบอรี่ต้องผลิตจากแปลงปลูกที่ได้รับรองความปลอดภัยต่อผู้บริโภค โดยเฉพาะถ้าผลิตจากแปลงที่ได้รับรองการผลิตในแบบเกษตรอินทรีย์ทั้งในเรื่องของการเตรียมแปลง ความอุดมสมบูรณ์ดิน การจัดการปุ๋ยอินทรีย์ การจัดการเมล็ดพันธุ์ รวมไปถึงการจัดการศัตรูพืช (ศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว, 2564) ยิ่งเป็นที่ต้องการอย่างมาก การใช้ปุ๋ยหมักจากมูลโคนมสำหรับนาข้าวมีคำแนะนะให้ทำเป็นปุ๋ยหมักเสียก่อน โดยนำมูลโคนมมาหมักร่วมกับสารเร่งซุปเปอร์ พด. 1 ของกรมพัฒนาที่ดิน

[1] สถานีวิจัยลำตะคอง ศูนย์เชี่ยวชาญนวัตกรรมเกษตรสร้างสรรค์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)
333 หมู่ที่ 12 ตำบลหนองสาหร่าย อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา 30130
[1]Lamtakhong Research Station, Expert Center of innovative Agriculture, Thailand Institute of Scientific and Technological Research (TISTR)
333 Mu 12, Nongsarai, Pakchong, NaKhon Ratchasima 30130.

(http://r01.ldd.go.th/aya/information/techno/techno_6.pdf) โดยใช้มูลโคนมจำนวน 1,000 กิโลกรัมร่วมกับ พด. 1 จำนวน 1 ซอง ใช้ระยะเวลาในการทำปุ๋ยประมาณ 1 เดือน แล้วนำไปใส่ในเป็นปุ๋ยรองพื้นในอัตรา 600 – 1,000 กิโลกรัมต่อไร่

ดังนั้นการศึกษาการใช้ปุ๋ยหมักจากมูลโคนมในอัตราที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวไรซ์เบอรี่ จึงเป็นทางเลือกหนึ่งให้กับเกษตรกรผู้ปลูกข้าวไรซ์เบอรี่ เพื่อผลิตข้าวไรซ์เบอรี่ที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค รวมไปถึงการช่วยให้เกษตรกรสามารถลดต้นทุนจากการใช้ปุ๋ยเคมีได้อีกทางหนึ่งด้วย

## อุปกรณ์และวิธีการ

1. การศึกษานี้ใช้ถังปลูกเป็นแบบจำลองของการปลูกข้าวไรซ์เบอรี่ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) มีจำนวน 5 ตำรับการทดลอง 10 ซ้ำ ดังนี้ตำรับการทดลองที่ 1 ตำรับการควบคุม (ไม่ใส่ปุ๋ย) ตำรับการทดลองที่ 2 ใส่ปุ๋ยตามคำแนะนำ (ปุ๋ยหมักจากมูลโคนมอัตรา 600 กิโลกรัมต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยเคมี 16-20-0 อัตรา 35 กิโลกรัมต่อไร่ หลังปลูก 20 วัน และ ปุ๋ยเคมี 46-0-0 อัตรา 20 กิโลกรัมต่อไร่หลังปลูก 60 วัน) ตำรับการทดลองที่ 3 ใส่ปุ๋ยหมักจากมูลโคนมมอัตรา 1.0 ตัน/ไร่ ตำรับการทดลองที่ 4 ใส่ปุ๋ยหมักจามูลโคนมมอัตรา 1.5 ตัน/ไร่ และตำรับการทดลองที่ 5 ใส่ปุ๋ยหมักจากมูลโคนมอัตรา 2.0 ตัน/ไร่ ดินที่ใช้ในการศึกษาเป็นดินที่มีเนื้อดินเหนียวปนทราย (ชุดดินชัยบาดาล)

2. นำถังปลูกขนาด 10 ลิตร มาใส่ดินให้เหลือพื้นที่ระหว่างขอบบนถังกับดินห่างกันประมาณ 20 เซนติเมตร เก็บข้อมูลดินก่อนปลูก เติมน้ำใส่ถังจนดินอิ่มตัวด้วยน้ำ ทิ้งไว้ประมาณ 1 วัน นำเมล็ดข้าวไรซ์เบอรี่มาหยอดลงในถังปลูกที่เตรียมไว้ประมาณ 4-5 เมล็ด เมื่อกล้าข้าวงอกได้ประมาณ 7 วัน ทำการย้ายกล้าให้เหลือ 1 ต้นต่อถังปลูก

3. ใส่ปุ๋ยตามตำรับการทดลองที่กำหนดทั้ง 5 ตำรับการทดลอง โดยตำรับการทดลองที่ 3, 4 และ 5 แบ่งการใส่ออกเป็น 2 ครั้ง ได้แก่ ใส่เมื่อข้าวไรซ์เบอรี่มีอายุ 20 และ 60 วันหลังปลูก

4. การให้น้ำใช้วิธีการให้น้ำทุกๆ 7 วัน โดยให้มีระดับน้ำสูงจากผิวดินไม่เกิน 15 เซนติเมตร รวมไปถึงดำเนินการเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวไรซ์เบอรี่ แล้วนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

## ผลการทดลอง

ผลการศึกษาการประยุกต์ใช้ปุ๋ยหมักจากมูลโคนมต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวไรซ์เบอรี่ พบว่าผลของความสูงและจำนวนต้นต่อกอของข้าวไรซ์เบอรีที่ได้รับปุ๋ยทั้ง 5 ตำรับการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยลำคัญทางสถิติ โดยตำรับการทดลองที่มีการใส่ปุ๋ยหมักจากมูลโคนมอัตรา 2.0 ตันต่อไร่ ทำให้ความสูงและจำนวนต้นต่อกอสูงที่สุด และไม่แตกต่างทางสถิติกับการใส่ปุ๋ยตามคำแนะนำ (Figure 1 และ 2)

ส่วนผลผลิตของข้าวไรซ์เบอรี่ที่ได้รับปุ๋ยทั้ง 5 ตำรับการทดลองพบว่า จำนวนเมล็ดดีต่อรวงและน้ำหนักหนักเมล็ดดีต่อรวงมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยลำคัญ และ จำนวนรวงต่อกอและน้ำหนักเมล็ดดีทั้งหมดมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยลำคัญยิ่ง โดยตำรับการทดลองที่มีการใส่ปุ๋ยหมักจากมูลโคนมอัตรา 2.0 ตันต่อไร่ให้จำนวนเมล็ดดีต่อรวงน้ำหนักหนักเมล็ดดี จำนวนรวงต่อกอและน้ำหนักเมล็ดดีทั้งหมดสูงที่สุด และไม่แตกต่างทางสถิติกับการใส่ปุ๋ยตามคำแนะนำ (Table 1)

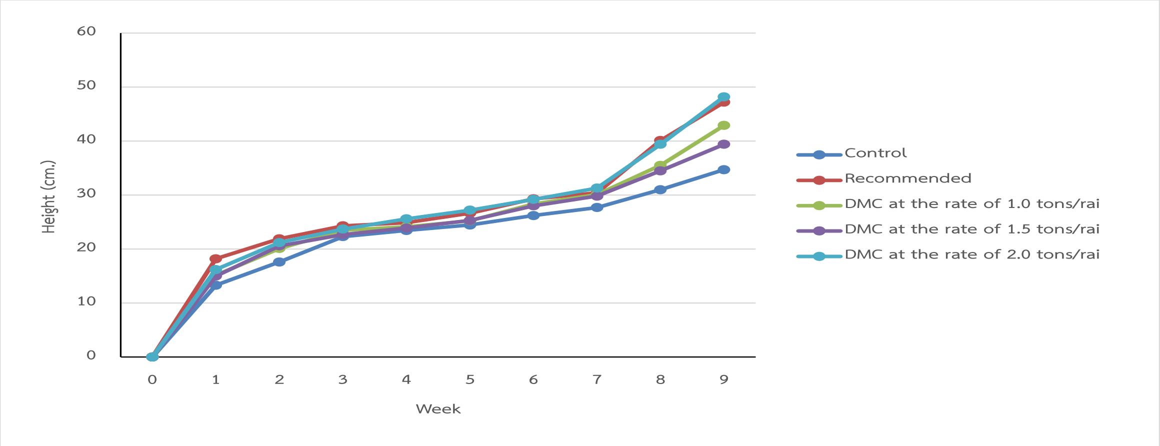



Figure 1 Changes in the height of riceberry under different fertilizer formulas.

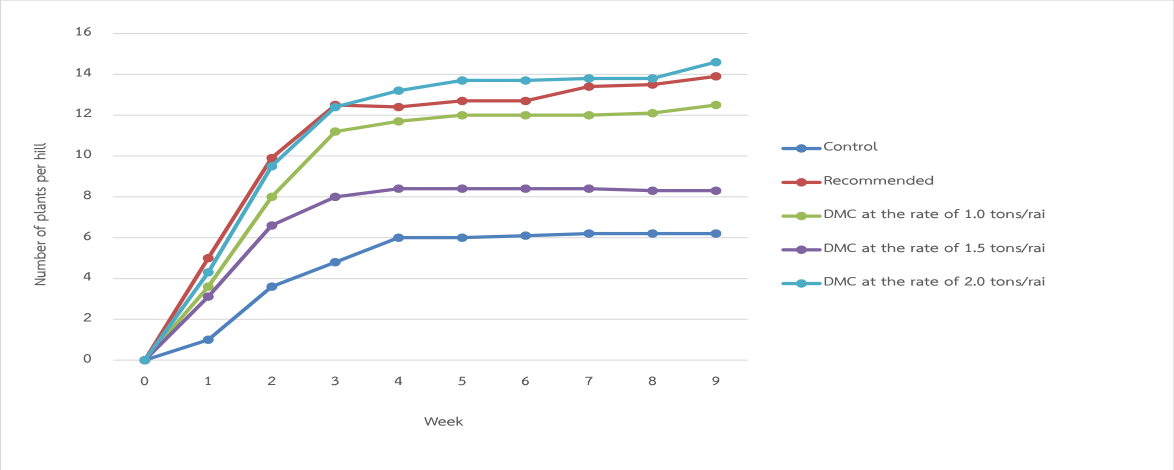



Figure 2 Number of plants per hill of riceberry under different fertilizer formulas.

Table 1 Riceberry yield under the different fertilizer formulas.

| Various fertilizers | Yields of riceberry | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Number of panicle hill | number of filled grain panicle | weight of filled grain panicle (g) | weight of total filled grain (g) |
| Control | 5.10+2.58d | 80.10+14.42c | 6.20+1.08c | 32.02+30.67d |
| Recommended | 14.80+2.58ab | 132.10+14.42ab | 9.95+1.04ab | 140.72+30.67ab |
| DMC at the rate of 1.0 tons/rai | 7.40+2.58c | 94.83+14.42c | 6.95+1.04c | 51.67+30.67c |
| DMC at the rate of 1.5 tons/rai | 12.90+2.58b | 119.20+14.42b | 8.87+1.04b | 106.55+30.67b |
| DMC at the rate of 2.0 tons/rai | **18.40+2.58a** | **152.37+14.42a** | **11.21+1.04a** | **180.08+30.67a** |
| F-test | ** | * | * | ** |

## วิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการศึกษาพบว่าปุ๋ยอินทรีย์ที่ได้จากการหมักมูลโคนมมีปริมาณธาตุอาหารพอเหมาะเทียบเท่ากับการใช้ปุ๋ยตามคำแนะนำ ทำให้ข้าวไรซ์เบอรี่มีความสูง จำนวนต้นต่อกอ จำนวนรวงต่อกอ จำนวนเมล็ดดีต่อรวง น้ำหนักเมล็ดดีต่อรวง และน้ำหนักเมล็ดดีทั้งหมดสูงที่สุดและไม่แตกต่างกันกับการใช้ปุ๋ยตามคำแนะนำ ซึ่งสอดคลองกับการทดลองของ Sukkasame รายงานว่าข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ใส่ปุ๋ยอินทรียที่ระดับธาตุไนโตรเจนไม่น้อยกว่า 43.68 กิโลกรัมต่อไร่ จะส่งผลให้เกิดการแตกกอและมีผลผลิตสูงกว่าการ ใส่ปุ๋ยเคมี และไม่ควรใส่ปุ๋ยอินทรีย์ที่ระดับธาตุไนโตรเจนไม่น้อยกว่า น้อยกว่า 24.18 กิโลกรัมต่อไร่ เพราะจะทำให้ผลผลิตน้อยกว่าปุ๋ยเคมี โดยที่ปุ๋ยหมักจากมูลโคนมอัตรา 2 ตันต่อไร่ มีระดับธาตุไนโตรเจนไม่น้อยกว่า 30 -34 กิโลกรัมต่อไร่

## สรุปผล

การใส่ปุ๋ยหมักจากมูลโคนมอัตรา 2.0 ตันต่อไร่ แบ่งใส่ 2 ครั้ง คือ 20 และ 60 วันหลังปลูกข้าวไรซ์เบอรี่มีผลทำให้ความสูง จำนวนต้นต่อกอ จำนวนรวงต่อกอ จำนวนเมล็ดดีต่อรวง น้ำหนักเมล็ดดีต่อรวง และน้ำหนักเมล็ดดีทั้งหมด มีค่ามากที่สุดและไม่แตกต่างทางสถิติกับการใส่ปุ๋ยตามคำแนะนำ

**เอกสารอ้างอิง**


ข้าวไรซ์เบอร์รี่ (Riceberry): ข้าวมากประโยชน์ เพื่อสุขภาพ ควบคุมน้ำหนัก, (สืบค้น) https://www.hongthongrice.com/life/ข้าวเพื่อสุขภาพ/riceberry-01/

สำนักนิเทศและถ่ายทอดเทคโนโลยีการพัฒนาที่ดิน, การผลิตปุ๋ยหมักโดยใช้สารเร่งซุปเปอร์ พด.1, กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, (สืบค้น) http://r01.ldd.go.th/aya/information/techno/techno_6.pdf.

ศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว, 2564, การปลูกข้าวไรซ์เบอร์รี่ ระบบเกษตรอินทรีย์, (สืบค้น) http://dna.kps.ku.ac.th/index.php/research-develop/rice-research-and-knowledge/310-organic-riceberry-cultivation.

Sukkasame, N., O. Aungoolprasert, P. Poomipan and V. Luckanatinvong, 2015, “Efficacy of high quality organic-fertilizer on growth and yield of Purple Riceberry in different soil series”, In The 4th International Symposium on Engineering, Energy and Environment. 52-57. November 8-10,2015, Learning Resort. Chonburi: Thammasat University.

# ปริมาณไขอ้อยที่ได้จากวัสดุเหลือทิ้งในกระบวนการผลิตน้ำตาล
# Sugarcane Wax Contents Obtained from Byproducts in the Sugar Production Process

ณัฐหทัย สุทธิวงษ์[1] เพ็ญนภา ชลปฐมพิกุลเลิศ[1] และ ปิยดา สุขดี[1]
Sutthiwong, N.[1], Chonpathompikunlert, P.[1] and Sukdee, P.[1]

## Abstract

Sugar production from sugarcane creates wastes/byproducts such as leaves, press mud, molasses, and bagasse. Currently, the extraction of wax from the press mud is of interest to researchers. However, sugarcane wax is a compound particularly found on the surface of sugarcane stems; therefore, it possibly remains in other byproducts obtained during sugar production processes. This research aimed to study the amount of sugarcane wax from byproducts of the sugar production process, including leaves, which is a waste generated from harvesting. The results of analysis of sugarcane wax content found that molasses had the highest content of wax (15.24%), followed by press mud (5.37%), bagasse (2.72%), and leaves (2.65%), respectively. Besides, the extract from molasses showed its potential against the *in vitro* activity of HMG-CoA reductase similar to Pravastatin.

**Keywords:** Sugarcane wax, Byproducts, Molasses

## บทคัดย่อ

กระบวนการผลิตน้ำตาลจากอ้อยก่อให้เกิดวัสดุเหลือทิ้ง เช่น ใบอ้อย กากตะกอนหม้อกรอง กากน้ำตาล และชานอ้อยปริมาณมาก ปัจจุบันการสกัดไขจากกากตะกอนหม้อกรองเป็นที่สนใจของนักวิจัย อย่างไรก็ตามไขอ้อยเป็นสารประกอบที่พบที่ผิวของลำต้นของอ้อย ดังนั้นจึงอาจตกค้างได้ในวัสดุเหลือทิ้งอื่นๆ ที่เกิดจากกระบวนการผลิตน้ำตาล การวิจัยนี้ทำการศึกษาปริมาณไขอ้อยของผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตน้ำตาล รวมทั้งใบอ้อยซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งที่เกิดจากการเก็บเกี่ยวด้วย ผลการวิเคราะห์ปริมาณไขอ้อยพบว่ากากน้ำตาลมีปริมาณไขอ้อยสูงที่สุด (15.24%) รองลงมาได้แก่ กากตะกอนหม้อกรอง (5.37%) ชานอ้อย (2.72%) และใบอ้อย (2.65%) ตามลำดับ นอกจากนั้นเมื่อทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase ระดับหลอดทดลองพบว่ามีค่าใกล้เคียงกับ Pravastatin

**คำสำคัญ:** ไขอ้อย วัสดุเหลือทิ้ง กากน้ำตาล

## คำนำ

อุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาลเป็นอุตสาหกรรมที่มีความสำคัญอย่างมากต่อภาคเกษตรกรรมและภาคอุตสาหกรรม เนื่องจากสร้างรายได้จากการส่งออกเข้าสู่ประเทศหลายหมื่นล้านบาทต่อปี กระบวนการผลิตน้ำตาลจากอ้อยก่อให้เกิดวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและผลิตภัณฑ์พลอยได้ (by-products) หลากชนิด ได้แก่ ใบอ้อย ชานอ้อย (bagasse) กากน้ำตาล (molasses) และกากตะกอนหม้อกรอง (Press mud) ซึ่งการใช้ประโยชน์จากผลิตภัณฑ์พลอยได้จากอุตสาหกรรมน้ำตาลนั้นแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับสภาพการผลิตและสภาวะการขนส่งการแจกจ่ายวัตถุดิบเหล่านั้นของแต่ละโรงงาน ปัจจุบันการงานวิจัยจำนวนมากมุ่งเน้นศึกษาเกี่ยวกับปริมาณและวิธีการสกัดสารสำคัญจากไขอ้อยที่ปะปนอยู่ในกากตะกอนหม้อกรอง (Chakhathanbordee และคณะ, 2016) อย่างไรก็ตามไขอ้อยเป็นสารประกอบที่พบที่ผิวของลำต้นของอ้อย ดังนั้นจึงอาจตกค้างได้ในวัสดุเหลือทิ้งอื่นๆ ที่เกิดจากกระบวนการผลิตน้ำตาล โดยไขอ้อยที่ผิวของลำต้นอ้อยส่วนหนึ่งจะติดไปกับน้ำอ้อยขณะที่บางส่วนจะติดไปกับชานอ้อยในระหว่างกระบวนการผลิตน้ำตาล ซึ่งส่วนที่ติดไปกับน้ำอ้อยจะถูกแยกออกไปกับกากตะกอนหม้อกรองและกากน้ำตาล

ไข (wax) ของอ้อย เป็นสารตั้งต้นธรรมชาติที่สำคัญของสารที่มีคุณสมบัติลดคอเลสเตอรอลและต้านอนุมูลอิสระหลายชนิด เช่น กรดไขมันสายยาว (very long chain fatty acids; VLFAs) โพลิโคซานอล (policosanol) ไฟโตสเตอรอล (phytosterol) เอสเทอร์ (esters) และอื่นๆ ซึ่งพบว่าสาร 3 กลุ่มหลัก ได้แก่ VLFAs, policosanol และ phytosterol มีรายงานการวิจัยทางการแพทย์อย่างกว้างขวาง ว่าสามารถลดคอเลสเตอรอล ลดระดับไขมันความหนาแน่นต่ำ (Low-density lipoprotein;

[1] ศูนย์เชี่ยวชาญนวัตกรรมอาหารสุขภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแหงประเทศไทย ปทุมธานี 12120
[1] Expert Centre of Innovative Health Food, Thailand Institute of Scientific and Technological Research, Pathum Thani 12120

LDL) ในเลือด และป้องกันการเกิดโรคหัวใจ รวมทั้งการต้านอนุมูลอิสระ (Gnanaraj, 2012)

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณไขอ้อยของผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตน้ำตาล รวมทั้งใบอ้อยซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งที่เกิดจากการเก็บเกี่ยว และคุณสมบัติเบื้องต้นต่อการยั้งยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล

## อุปกรณ์และวิธีการ

วัตถุดิบที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ได้รับความอนุเคราะห์จาก บริษัท น้ำตาลนครเพชร จำกัด ซึ่งมีโรงงานน้ำตาลและไร่อ้อยตั้งอยู่ในพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดกำแพงเพชร เตรียมวัตถุดิบ ได้แก่ ใบอ้อย (leaves) ชานอ้อย (Bagasse) และกากตะกอนหม้อกรอง (Press mud) โดยการทำให้แห้งด้วยตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เนื่องจากกากน้ำตาล (Molasses) ซึ่งเป็นของเหลว มีลักษณะข้นและความหนืดค่อนข้างมาก ไม่ละลายเมื่อนำมาผสมกับตัวละลายเฮกเซนโดยตรง จึงทำการเจือจางด้วยน้ำโดยให้ความร้อนร่วมด้วย เมื่อสารผสมเข้ากันดีแล้วจึงนำมาสกัดแยกส่วนด้วยการผสมกับตัวทำละลายเฮกเซน ขณะที่วัตถุดิบอื่นๆ คือ ใบอ้อย ชานอ้อย และกากตะกอนหม้อกรอง สกัดด้วยเฮกเซนโดยใช้ Soxhlet apparatus การสกัดไขจากวัตถุดิบที่เป็นของแข็ง (ใบอ้อย ชานอ้อย และกากตะกอนหม้อกรอง) แต่ละชนิด สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน อัตราส่วน 1:30 (w/v) ที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง (ดัดแปลงจาก Bhosale และคณะ, 2012 และ Chen และคณะ, 2007) ขณะที่วัตถุดิบที่เป็นของเหลว คือ กากน้ำตาล สกัดด้วยวิธีการแยกส่วน โดยใช้น้ำและเฮกเซนเป็นตัวทำละลาย อัตราส่วน 1:10:2 (v/v/v) ร่วมกับการให้ความร้อน นำสารสกัดชั้นเฮกเซนที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ จากนั้นนำภาชนะที่ใส่สารสกัดไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ทิ้งให้เย็นใน Desiccator จนน้ำหนักคงที่ แล้วนำไปชั่งหาน้ำหนักที่แน่นอนเพื่อคำนวณปริมาณผลผลิต (% Yield; เท่ากับ (น้ำหนักของสารสกัด/น้ำหนักแห้งของวัตถุดิบ) x 100)) สารสกัดที่ได้นำไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ HMG-CoA reductase โดยใช้ชุดทดสอบ HMG-CoA Reductase assay kit (Sigma-Aldrich, Germany) แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตรด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท (Infinite 200 Pro, TECAN, Switzerland) ทุก ๆ 30 วินาที เป็นเวลา 10 นาที นำค่า OD ที่ได้มาคำนวณการเกิดปฏิกิริยายับยั้ง HMG-CoA Reductase เทียบกับสารมาตรฐาน Pravastatin (Bakaran และคณะ, 2015) สูตรการคำนวณ ดังนี้

$$\text{HMG-CoA activity (Unit/mg protein)} = \frac{(\Delta A340/min_{sample} - \Delta A340/min_{blank})}{12.44 x V x 0.6 x LP} \times TV$$

| | | | |
|---|---|---|---|
| เมื่อ | A340 | = | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร |
| | TV | = | ปริมาตรทั้งหมดของตัวอย่างที่ต้องการวัดการเกิดปฏิกิริยา (mL) |
| | V | = | ปริมาตรของเอนไซม์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ (mL) |
| | 0.6 | = | ความเข้มข้นของเอนไซม์ในหน่วย mg-protein (mgP)/mL (0.50–0.70 mgP/ml) |
| | LP | = | Light path in cm (0.55 for plates) |

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การคำนวณปริมาณผลผลิตองสารสกัดหยาบไขอ้อยที่ได้ (Crude wax) จากวัตถุดิบ 4 ชนิด พบว่ากากน้ำตาลมีปริมาณไขอ้อยสูงที่สุด คือ 15.24% รองลงมาได้แก่ กากตะกอนหม้อกรอง (5.37%) ชานอ้อย (2.72%) และใบอ้อย (2.65%) ตามลำดับ (Figure 1) จากผลการวิเคราะห์นี้เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่น เช่น Chakhathanbordee และคณะ (2016) ที่ทำการศึกษาปริมาณไขอ้อย โดยใช้วัตถุดิบที่ได้จากโรงงานน้ำตาลในจังหวัดชัยภูมิ ได้รายงาน % Yield ของสารสกัดจากกากตะกอนหม้อกรองที่สกัดด้วย Soxhlet apparatus และใช้ตัวทำละลายเฮกเซน คือ 9.03% แสดงให้เห็นว่าแหล่งที่มาของวัตถุดิบ (โรงงานน้ำตาล) มีแนวโน้มที่จะส่งผลต่อความแตกต่างของปริมาณไขที่สกัดได้ โดยปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับปริมาณไขอ้อยที่ได้จากผลิตภัณฑ์พลอยได้ของแต่ละโรงงานที่นอกเหนือจากความแตกต่างทางด้านภูมิประเทศ ภูมิอากาศ และสายพันธุ์ของอ้อยที่เพาะปลูกแล้ว (Asikin และคณะ, 2012) วิธีเตรียมพื้นที่ก่อนการตัดอ้อยก็อาจเป็นส่วนสำคัญที่ทำให้เกิดการสูญเสียของไขอ้อยได้ เนื่องจากเกษตรกรที่ปลูกอ้อยส่วนใหญ่จะเลือกใช้วิธีการเผาอ้อยก่อนการเก็บเกี่ยว เพื่อกำจัดใบอ้อย ทำให้การเก็บเกี่ยวทำได้ง่ายขึ้น (Attard, 2015)

จากนั้นนำสารสกัดหยาบไขอ้อยจากกากน้ำตาลซึ่งให้ % Yield สูงสุดมาทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Pravastatin ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม statin หรือ HMG-CoA reductase inhibitors ออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ที่ร่างกายใช้สร้าง cholesterol โดยผลที่ได้จะแสดงเป็นค่า HMG-CoA activity (Unit/mg

protein) ซึ่งค่า HMG-CoA activity ยิ่งน้อยแสดงว่าสารสกัดมีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของ HMG-CoA reductase ได้ดี พบว่าสารสกัดหยาบไขอ้อยจากกากน้ำตาลมีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase เท่ากับ -0.1056 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน คิดเป็น 84.34% เมื่อเปรียบเทียบกับยา Pravastatin ซึ่งมีค่าเท่ากับ -0.1252 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน งานวิจัยที่ผ่านมา เช่น Arruzazabala และคณะ (2004) รายงานว่า D-003 ซึ่งเป็นสารที่แยกจากไขอ้อยมีคุณสมบัติในการลดคอเลสเตอรอลและลดการเกาะตัวกันของเกล็ดเลือดในอาสาสมัครที่เข้าร่วมการทดสอบ และการศึกษาของ Pérez และคณะ (2013) ที่รายงานว่าสาร policosanol และ D-003 ซึ่งแยกได้จากไขอ้อยมีคุณสมบัติในการลดคอเลสเตอรอลเมื่อทดสอบในระดับ in vitro โดยการใช้ enzyme microsomal ที่เตรียมจาก platelets ของหนู ด้วยเหตุนี้จึงอาจสรุปได้ว่าสารสกัดหยาบไขอ้อยที่ได้จากศึกษานี้มีสารสำคัญที่มีคุณสมบัติในการลดคอเลสเตอรอล ซึ่งการแยกสารสำคัญที่มีรายงานว่าพบในไขอ้อยและมีคุณสมบัติดังกล่าวอยู่ระหว่างการศึกษา

## สรุปผล

การสกัดไขอ้อยจากวัตถุดิบ 4 ชนิด ได้แก่ ใบอ้อย ชานอ้อย กากตะกอนหม้อกรอง และกากน้ำตาล ซึ่งเป็นผลพลอยได้และวัสดุเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตน้ำตาลจากอ้อย ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนโดยใช้ Soxhlet apparatus (สำหรับใบอ้อย ชานอ้อย และกากตะกอนหม้อกรอง) และการสกัดแบบแยกส่วน (สำหรับกากน้ำตาล) พบว่าสารสกัดหยาบไขอ้อย (Crude wax) จากกากน้ำตาลมี % Yield สูงที่สุด คือ 15.24% รองลงมาได้แก่ กากตะกอนหม้อกรอง (5.37%) ชานอ้อย (2.72%) และใบอ้อย (2.65%) ตามลำดับ เมื่อนำสารสกัดหยาบไขอ้อยที่ได้จากกากน้ำตาลไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase ระดับหลอดทดลอง พบว่ามีค่าใกล้เคียงกับ Pravastatin (84.34%)

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ บริษัท น้ำตาลนครเพชร จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์วัตถุดิบสำหรับใช้ในการทำวิจัยครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

Chakhathanbordee, R., Khotavivattana, S., and Sriroth, K., 2016, Development of Sugarcane Wax Extraction Methods from Sugarcane Filter Cake for Value Creation, VRU Research and Development Journal of Science and Technology, 3: 95-105.

Gnanaraj, R.A., 2012, Applications of Sugarcane Wax and Its Products: A Review, International Journal of ChemTech Research, 4: 705-712.

Bhosale, P.R., Chonde, S.G., and Raut, P.D., 2012, Studies on Extraction of Sugarcane Wax from Press Mud of Sugar Factories from Kolhapur District, Maharashtra, Journal of Environmental Research and Development, 6(3): 715-720.

Chen, G.L., Guo, H.R., Wang, X.F., and Li, R.Y., 2007, Extraction and Characterization of Aliphatic Alcohol from Sugar Wax, Sugar Technology, 9(4): 1-5.

Baskaran, G., Salvamani, S., Ahmad, S.A., Shaharuddin, N.A., Pattiram, P.D., and Shukor, M.Y., 2015, HMG-CoA Reductase Inhibitory Activity and Phytocomponent Investigation of *Basella alba* Leaf Extract as a Treatment for Hypercholesterolemia, Drug Design, Development and Therapy, 9: 509–517.

Athukorala, Y., Mazza, G., and Oomah, B.D., 2009, Extraction, Purification and Characterization of Wax from Flax (*Linum usitatissimum*) Straw, European Journal of Lipid Science and Technology, 111(7): 705-719.

Asikin, Y., Takahashi, M., Hirose, N., Hou, D.X., Takara, K., and Wada, K., 2012, Wax, Policosanol, and Long-Chain Aldehydes of Different Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) Cultivars, European Journal of Lipid Science and Technology, http://www.org.doi/10.1002/ejlt.201100300.

Attard, T.M., 2015, Supercritical CO2 Extraction of Waxes as Part of a Holistic Biorefinery, Doctoral dissertation, University of York, https://core.ac.uk/download/pdf/30268356.pdf.

Arruzazabala, M.L., Mas, R., Molina, V., Carbajal, D., Fernández, L., Illnait, J., Castaño, G., Fernández, J., and Mendoza, S., 2004, Effects of D-003, a New Substance Purified from Sugar Cane Wax, on Platelet

Aggregation and Plasma Levels of Arachidonic Acid Metabolites in Healthy Volunteers, International Journal of Clinical Pharmacology Research, 24(2-3): 55-63.

Pérez, Y., Mas, R., Oyarzábal, A., Jiménez, S., and Molina, V., 2013, Effects of Policosanol (Sugar Cane Wax Alcohols) and D-003 (Sugarcane Wax Acids) on Cyclooxygenase (Cox) Enzyme Activity *In Vitro*, International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, 4: 18-23.

Rosin, S., Ojansivu, I., Kopu, A., Keto-Tokoi, M., and Gylling, H., 2015, Optimal Use of Plant Stanol Ester in the Management of Hypercholesterolemia. Cholesterol, http://www.doi.org/10.1155/2015/706970.

De Jong, A., Plat, J. Bast, A., Godschalk, R. W. L., Basu, S., and Mensink, R. P., 2008, Effects of Plant Sterol and Stanol Ester Consumption on Lipid Metabolism, Antioxidant Status and Markers of Oxidative Stress, Endothelial Function and Low-Grade Inflammation in Patients on Current Statin Treatment, European Journal of Clinical Nutrition, 62: 263–273.

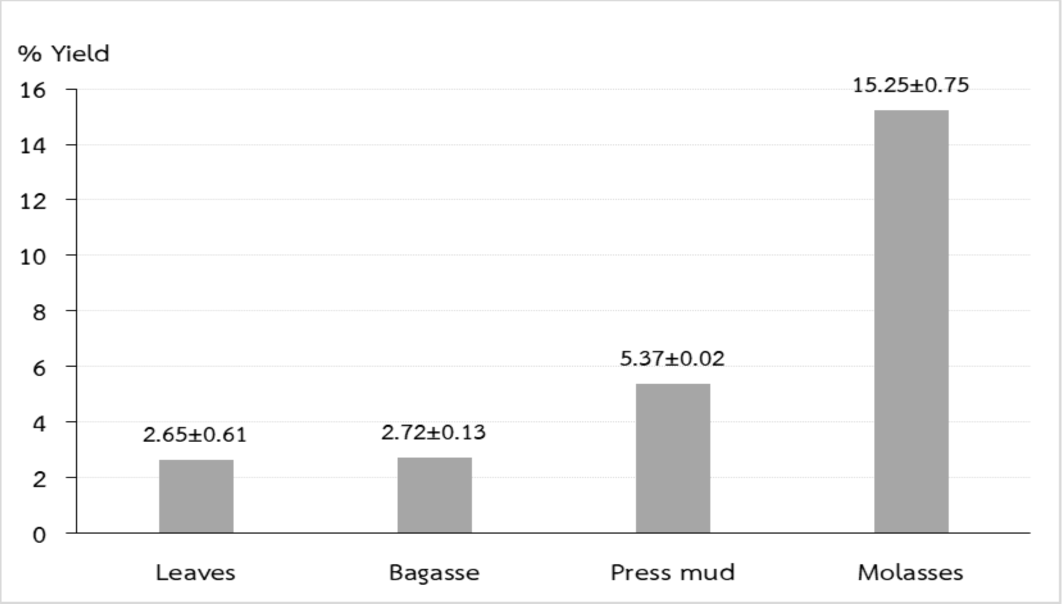



**Figure 1** Yield of crude wax extracted from by-products and waste from sugar manufacturing.

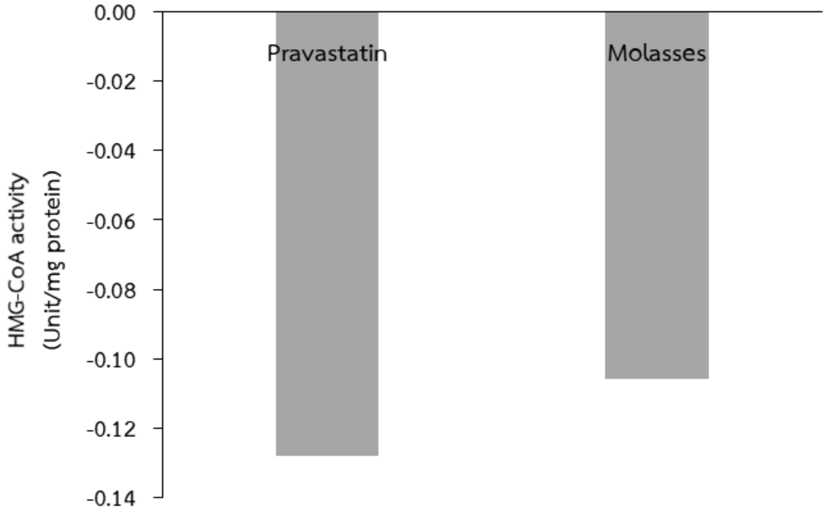



**Figure 2** Comparison of the molasses extract and Pravastatin on the inhibitory effect against HMG-CoA reductase.

# ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากใบไชยา
# Antibacterial Activity of Crude Extract from Leaves of Vegetable Spinach (*Cnidoscolus chayamansa* McVaugh)

**ศศิธร ธงชัย และ จาตุรงค์ จงจีน**[1]
Thongchai, S. and Jongjeen, J.[1]

## Abstract

The purpose of this study to screening of antibacterial activity of crude extracted from leave of vegetable spinach (*Cnidoscolus chayamansa* McVaugh) against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* using agar disc diffusion and evaluated the minimum inhibitory concentrations (MICs) and minimum bactericidal concentrations (MBCs) by broth dilution and drop plate techniques. Result showed that all bacterial strain susceptible to fresh and dried-crude ethanolic-extract of vegetable spinach at the concentration of 1,000 mg/ml, which *B. subtilis* had highest inhibition zone (32.8±0.2 mm and 32.3±0.6 mm for fresh and dried-crude extracted, respectively) when compared with control group. For the result of MIC and MBC value of this extract had shown greatest concentration as 125 and 500 mg/ml, respectively. This study indicated that crude extracted from leave of vegetable spinach had antibacterial activity that may be benefit alternative substance uses to therapeutic agents for bacterial infection in the further.

**Keywords:** *Cnidoscolus chayamansa* McVaugh, Crude extract, Medicinal Plant, Antibacterial activity

## บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้ เพื่อศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นในการการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากส่วนใบต้นไชยาต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Bacillus subtilis* ด้วยวิธี Agar disc diffusion และหาค่าระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ด้วยวิธี Broth microdilution และวิธี Drop plate ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดหยาบจากส่วนใบต้นไชยาทั้งแบบสดและแบบแห้ง ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบทั้ง 3 ชนิดได้ โดยมีผลต่อเชื้อ *B. subtilis* ดีที่สุด ให้ค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งเท่ากับ 32.8±0.2 มิลลิเมตร (แบบสด) และ 32.3±0.6 มิลลิเมตร (แบบแห้ง) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม นอกจากนี้ค่า MIC และ MBC ของสารสกัดหยาบให้ค่าที่ดีที่สุดเท่ากับ 125 และ 500 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ผลการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดในเบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากส่วนใบต้นไชยา นำไปใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากธรรมชาติที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้ในอนาคต

**คำสำคัญ:** ต้นไชยา สารสกัดหยาบ พืชสมุนไพร ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

## คำนำ

ปัจจุบันโรคติดเชื้อจากแบคทีเรียก่อโรคยังคงเป็นปัญหาที่สำคัญและพบได้บ่อยรวมทั้งก่อให้เกิดผลเสียต่อสุขภาพของมนุษย์ เชื้อที่พบบ่อยได้แก่ *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) เป็นเชื้อประจำถิ่นที่พบตามบริเวณผิวหนัง ก่อให้เกิดการติดเชื้อทางบาดแผล ผิวหนังและเป็นสาเหตุภาวะอาหารเป็นพิษ ตลอดจนโรคแทรกซ้อนอื่นๆ (นิติพงษ์ และเอกชัย, 2552) *Bacillus subtilis* (*B.subtilis*) พบปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมและสร้างสารพิษออกมาขณะปนเปื้อนอยู่ในอาหาร ก่อให้เกิดภาวะอาหารเป็นพิษที่เรียกว่า fried-rice syndrome (Prajapati และ Cutting, 2002) และ *Escherichia coli* (*E.coli*) เป็นเชื้อประจำถิ่นอีกชนิดที่พบในระบบทางเดินอาหาร มีบางสายพันธุ์ เช่น *E. coli* 0157: H7 ทำให้เกิดโรคท้องร่วง และโรคอื่นๆ นอกจากนี้เชื้อดังกล่าวยังมีความสามารถต้านทานต่อยาปฏิชีวนะสูง ก่อให้เกิดปัญหาการดื้อยา ดังนั้นการหาสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อก่อโรคจึงมีความจำเป็น ผู้วิจัยจึงมีความสนใจต้นไชยา (*Cnidoscolus chayamansa* McVaugh) หรือคะน้าเม็กซิโก หรือต้นผงชูรส ถือเป็นพืชอีกชนิดหนึ่งที่ในปัจจุบันมีการให้ความสนใจเป็นอย่างยิ่งเนื่องจากเป็นพืชที่ปลูกง่าย ทนต่อสภาพแวดล้อมและการเข้าทำลายของแมลง

---

[1] สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี อ.เมือง จ.อุบลราชธานี 34000
[1] Program of Biology, Faculty of Science, Ubon Ratchathani Rajabhat University, Ubon Ratchathani 34000, Thailand

รวมทั้งเป็นแหล่งโปรตีนสำหรับกลุ่มผู้บริโภคอาหารมังสวิรัติ เนื่องจากมีคุณค่าทางอาหารมากกว่าผักใบเขียวบางชนิด 2-3 เท่า (กฤติยา, 2562; ณพัฐ, 2020) มีสรรพคุณทางยารักษาโรคได้ชนิด เช่น โรคมะเร็ง ความดันโลหิตสูง เบาหวาน รวมทั้งใช้เป็นอาหารควบคุมน้ำหนัก (Jiménez-Arellanes, 2014) อีกทั้ง กลุ่มสารสำคัญที่พบในต้นไชยา ได้แก่ Flavonoids, Phenolic acids, Saponins, Cardiac glycoside และ Alkaloids ซึ่งสารที่มีการรายงานพบคือ สาร Kaempferol เป็นสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) พบมากบริเวณส่วนใบ ซึ่งสารดังกล่าวมีฤทธิ์ควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด (Pillai, 2012) นอกจากนี้สารกลุ่มอื่นๆยังมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอื่นๆ เช่น ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ต้านจุลชีพ และลดระดับคอเลสเตอรอล (Garcia-Rodriguea และคณะ, 2014) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีความสนใจในการศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากส่วนใบของต้นไชยาในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคบางชนิด โดยใช้ส่วนใบแบบสดและแห้งมาสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ และทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย เพื่อเป็นแนวทางในการนำพืชสมุนไพรมาใช้ประโยชน์ได้ในอนาคต

## อุปกรณ์และวิธีการ

**1. การเตรียมสมุนไพรและเตรียมสารสกัดหยาบ**

นำตัวอย่างส่วนใบไชยา (สดและแบบแห้ง) มาทำการสกัด ด้วยวิธีแช่ยุ่ย (maceration) โดยใช้เอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 95% (95% EtOH) ในอัตราส่วน1:5 (น้ำหนักตัวอย่างพืชต่อปริมาตรตัวทำละลายสกัด : w/v) ที่อุณหภูมิ 37°C เป็น เวลา 7 วัน และเขย่าเป็นประจำทุกวัน เมื่อครบกำหนด นำตัวอย่างสกัดมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 แล้วนำไประเหยตัวทำละลายด้วยตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 50°C จนได้สารสกัดที่มีลักษณะเหนียวหนืด เตรียมสารสกัดหยาบโดยนำมาละลายด้วย DMSO (dimethyl sulfoxide) ให้ได้ความเข้มข้น 1,000 mg/ml ทำให้ปราศจากเชื้อด้วยการกรองผ่าน Millipore filter เก็บสารสกัดหยาบไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C จนกว่าจะนำมาทดสอบ (ดัดแปลงจากจารวี และสุบงกช, 2555)

**2. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดด้วยวิธี Agar disc diffusion**

เตรียมเชื้อแบคทีเรียทดสอบ (*S. aureus*, *E. coli* และ *B. subtilis*) ให้มีความขุ่นที่ระดับ 0.5 McFarland standard (1.5 × $10^8$ CFU/ml) จุ่มไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อ (sterile cotton swab) นำมาป้าย (swab) ลงบนผิวหน้าอาหาร Muller-Hinton Agar (MHA) ให้ทั่ว ปล่อยให้ผิวหน้าอาหารแห้ง ปิเปตสารสกัดหยาบ 100 µl ลงบนแผ่น paper disc เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร (100 mg/disc) นำมาวางตามตำแหน่งที่กำหนดไว้ บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 18-24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดอ่านผลโดยวัดขนาดบริเวณโซนใส (clear zone) ที่เกิดขึ้น ในหน่วยเป็นมิลลิเมตร เทียบกับชุดควบคุม (ยาปฏิชีวนะ Tetracycline 250 µg/ml และ DMSO 0.1% v/v) ทำการทดสอบทั้งหมด 3 ซ้ำ (อ้างจาก วารีรัตน์, 2557)

**3. การหาความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Minimal inhibitory concentration: MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (Minimal bactericidal concentration: MBC) ด้วยวิธี Broth microdilution และ วิธี Drop plate technique**

เจือจางสารสกัดลงทีละ 2 เท่า จากความเข้มข้น 1000 mg/ml ด้วยอาหาร MHB ในหลุม 96 well plate เติมเชื้อแบคทีเรียที่ปรับความขุ่นหลุมละ 100 µl บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 24 ชั่วโมง ครบกำหนดอ่านค่า MIC ด้วยตาเปล่าโดยสังเกตหลุมสุดท้ายที่ไม่มีการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย และยืนยันการอ่านค่า MIC ด้วยสารละลาย resazurin (7-Hydroxy-3H-phenoxazin-3-one1*O*-oxide) ตามวิธีการของ Rakhmawatie (2019) สำหรับการหาค่า MBC โดยวิธี drop plate (ดัดแปลงจาก Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2009) โดยหยดสารสกัดจากการทำ MIC ปริมาตร 10 µl ลงบนผิวหน้าอาหาร MHA ปล่อยให้จุดสารแห้ง บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 18-24 ชั่วโมง ครบกำหนด สังเกตค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ไม่พบการเจริญของเชื้อ ให้อ่านเป็นค่า MBC และแปลผลฤทธิ์ยับยั้งเชื้อของสารสกัดโดยหาค่าสัดส่วน MBC/MIC หากค่าMBC/MIC ≤4 มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ(Bactericidal) และถ้า MBC/MIC >4 มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ (Bacteriostatic) (Mogana, 2020) ทำการทดสอบทั้งหมด 3 ซ้ำ

## ผลการทดลอง

ผลการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* , *E. coli* และ *B. subtilis* ของสารสกัดหยาบจากส่วนใบไชยาแบบสดและแบบแห้ง ด้วยวิธี Agar disc diffusion พบว่าสารสกัดหยาบแบบสดและแห้งที่ระดับความเข้มข้น 1000 mg/ml สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทดสอบทั้ง 3 ชนิดได้ โดยมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* ได้มากที่สุด ให้ค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งเท่ากับ 32.8 ± 0.2 mm (แบบสด) และ 32.3 ± 0.6 mm (แบบแห้ง) รองลงมาคือเชื้อ *S. aureus* ในขณะที่เชื้อ *E. coli* ยับยั้งได้น้อยที่สุด เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (Table 1 และ Figure 1) นอกจากนี้สารสกัดหยาบให้ค่า MIC และค่า

MBC ที่ดีที่สุดคือ 125 mg/ml (MIC) และ 500 mg/ml (MBC) ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาค่าสัดส่วน MBC/MIC ของสารสกัดหยาบ พบว่า สารสกัดส่วนใหญ่ให้ค่าสัดส่วน MBC/MIC>4 ซึ่งมีแนวโน้มออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ (MBC/MIC>4; Bacteriostatic) ยกเว้น ผลต่อเชื้อ *B. subtilis* มีแนวโน้มออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อ (MBC/MIC ≤4; Bactericidal) ซึ่งคล้ายกับยาปฏิชีวนะTetracycline

**Table 1** Antibacterial activity of leaves extract of *C. chayamansa* against some bacterial pathogen.

| Test organisms | Extracts | Inhibition zone (mm; $\bar{x}$±SD) | MIC | MBC | Antibacterial activity (MBC/MIC ratio) |
|---|---|---|---|---|---|
| *S.aureus* | fresh leaves (1,000 mg/ml) | 31.0±0.1 | 125 | >1,000 | Bacteriostatic |
| | dried leaves (1,000 mg/ml) | 31.7±0.3 | 125 | >1,000 | Bacteriostatic |
| | Tetracycline (250 µg/ml) | 35.0±0.1 | 7.81 | 15.62 | Bactericidal |
| | DMSO (0.1% v/v) | 0 | ND | ND | ND |
| ***B.subtilis*** | **fresh leaves (1,000 mg/ml)** | **32.8±0.2** | **250** | **1,000** | **Bactericidal** |
| | **dried leaves (1,000 mg/ml)** | **32.3±0.6** | **500** | **500** | **Bactericidal** |
| | Tetracycline (250 µg/ml) | 18.0±0.1 | 31.25 | 62.25 | Bactericidal |
| | DMSO (0.1% v/v) | 0 | ND | ND | ND |
| *E.coli* | fresh leaves (1,000 mg/ml) | 28.0±0.1 | 125 | >1,000 | Bacteriostatic |
| | dried leaves (1,000 mg/ml) | 27.2±0.3 | 125 | >1,000 | Bacteriostatic |
| | Tetracycline (250 µg/ml) | 25.7±0.3 | 1.95 | 3.90 | Bactericidal |
| | DMSO (0.1% v/v) | 0 | ND | ND | ND |

ND = not determined; MIC= minimal inhibitory concentration; MBC= minimal bactericidal concentration

The ratio of MBC/MIC for appreciate antibacterial activity, MBC/MIC ≤4 = Bactericidal; MBC/MIC >4 = Bacteriostatic

**Figure 1** Inhibition zone of fresh and dried leaves extract of *C. chayamansa* against the growth of bacterial (A) *B.subtilis,* (B) *S.aureus* and (C) *E.coli.*

1 = DMSO (0.1%v/v), 2 = fresh leaves extract, 3= dried leaves extract, 4 = Tetracycline (250 ug/ml)

## วิจารณ์ผล

การศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากใบไชยาในครั้งนี้ พบว่าสารสกัดสดและแห้งสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้แตกต่างกัน โดยยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือเชื้อ *S.aureus* และ *E.coli* ซึ่งในการศึกษาสารสกัดหยาบที่นำมาศึกษาในครั้งนี้ยังไม่ถูกแยกให้เป็นสารบริสุทธิ์ จึงคาดว่าอาจมีกลุ่มสารสำคัญหลายชนิดที่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ รวมทั้งอาจขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่นำมาศึกษา จึงทำให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อที่แตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Perez-Gonzalez และคณะ (2017) ที่พบว่า สารสกัดจากใบไชยา (1 mg/disc) สามารถยับยั้งเชื้อแต่ละชนิดได้แตกต่างกัน โดยเฉพาะเชื้อ *E.coli* และ *Ps.aeruginosa* และเมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยบริเวณการยับยั้งกับค่าสัดส่วน MBC/MIC ของสารสกัดเพื่อดูแนวโน้มการออกฤทธิ์ของสารสกัด พบว่า สารสกัดหยาบให้ค่าเฉลี่ยบริเวณการยับยั้งที่ใกล้เคียงกับยาปฏิชีวนะ รวมทั้งค่าสัดส่วน MBC/MIC ของสารสกัดยังมีแนวโน้มการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อคล้ายยาปฏิชีวนะ Tetracycline ที่ใช้เป็นชุดควบคุม โดยเฉพาะผลต่อเชื้อ *B. subtilis* ที่มีแนวโน้มออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อ (Bactericidal) การศึกษาในครั้งนี้จึงแสดงให้เห็นว่า สารสกัดหยาบจากส่วนใบของต้นไชยาอาจมีกลุ่มสารสำคัญที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ ดังนั้นต้นไชยาจึงเป็นอีกสมุนไพรที่ควรนำมาศึกษาเพิ่มเติมในเชิงลึกเพื่อพัฒนาและใช้ประโยชน์ต่อไป

## สรุปผล

จากผลการศึกษาในครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่า สารสกัดหยาบจากส่วนใบของต้นไชยาสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ได้ ซึ่งให้ค่า MIC และ MBC ที่ดีที่สุดมีค่าเท่ากับ 125 mg/ml (MIC) และ 500 mg/ml (MBC) ตามลำดับ และจากค่าสัดส่วน MBC/MIC พบว่า ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อของสารสกัดส่วนใหญ่ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ ยกเว้นเชื้อ *B. subtilis* มีแนวโน้มออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อ

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณผู้ร่วมวิจัยทุกท่านและสาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี ที่ได้อำนวยความสะดวกในการให้ความอนุเคราะห์สถานที่จัดสรรอุปกรณ์ เครื่องมือและสารเคมีต่างๆ ในการทำงานวิจัยครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

กฤติยา ไชยนอก, 2563, คะน้าเม็กซิโก ต้นไม้แสนอร่อย [สืบค้น], https://cutt.ly/0maXiSJ [20/มีนาคม/2563].

จารวี สุขประเสริฐ และสุบงกช ทรัพย์แตง, 2555, การศึกษาผลของตัวทำละลายในการสกัดสมุนไพรที่มีผลต่อการยับยั้งเบคทีเรีย, วารสารผลงานวิชาการกรมวิทยาศาสตร์บริการ, 1(1): 99-109.

ณพัฐ อรบัวฉุน, 2020, พฤกษทางเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ในการยับยั้งแอลฟา-อะไมเลส และแอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดคะน้าเม็กซิโก, Research Journal Phranakhon Rajabhat: Science and Technology, 15(1).

นิติพงษ์ ศิริวงศ์ และเอกชัย ชูเกียรติโรจน์, 2552, การดื้อยาปฏิชีวนะของ *Staphylococcus aureus* และแนวทางการควบคุม, สงขลานครินทร์เวชสาร, 27(4): 347-358.

วารีรัตน์ หนูหีต, 2557, การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ปนเปื้อนบนพื้นผิวสัมผัสโดยใช้สารสกัดจากพืชตระกูลขิง, วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2009, Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically; Approved Standard, Eighth Edition (8th ed), CLSI Documents M7-A8, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

García-Rodríguez, R.V., Gutiérrez-Rebolledo, G.A., Méndez-Bolaina, E., Sánchez-Medina, A., Maldonado-Saavedra, O., Domínguez-Ortiz, M.Á., Vázquez-Hernández M, Muñoz-MuñizOD and Cruz-Sánchez, J.S., 2014, *Cnidoscolus chayamansa* McVaugh, An Important Antioxidant, Anti-inflammatory and Cardioprotective Plant Used in Mexico, Journal of Ethnopharmacology, 151(2): 937-943.

Jiménez-Arellanes, M.A., García-Martínez, I. and Rojas-Tomé, S., 2014, Potencial Biológico de Especies Medicinales del Género *Cnidoscolus* (Euphorbiacea), Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, 45(4): 1-6.

Mogana, R., Adhikari, A., Tzar, M. N., Ramliza, R. and Wiart, C., 2020, Antibacterial Activities of the Extracts: Fractions and Isolated Compounds from *Canarium patentinervium* Miq. Against Bacterial Clinical Isolates, BMC Complementary Medicine and Therapies, 20(1): 1-11.

Pérez-González, M. Z., Gutiérrez-Rebolledo, G. A., Yépez-Mulia, L., Rojas-Tomé, I. S., Luna-Herrera, J. and Jiménez-Arellanes, M. A., 2017, Antiprotozoal, Antimycobacterial, and Anti-inflammatory Evaluation of *Cnidoscolus chayamansa* (Mc Vaugh) Extract and the Isolated Compounds, Biomedicine & Pharmacotherapy, 89: 89-97.

Pillai, K. K., Chidambaranathan, N., Halith, M. M., Jayaprakash, S. and Narayanan, N., 2012, Anti-hyperglycemic Effect of Alcoholic Extracts of *Cnidoscolus chayamansa* in Experimental Diabetes and their Effects on Key Metabolic Enzymes Involved in Carbohydrate Metabolism, International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry, 2(1): 179-187.

Prajapati, R.S. and Cutting, S.M., 2002, Spore and Sporulation and Germination, In: Sussman, M (et.) Molecular Medical Microbiology, San Diego, USA, 199-208.

Rakhmawatie, M. D., Wibawa, T., Lisdiyanti, P. and Pratiwi, W. R., 2019, Evaluation of Crystal Violet Decolorization Assay and Resazurin Microplate Assay for Antimycobacterial Screening, Heliyon, 5(8): e02263.

# ผลของสารเคลือบผิวคาร์บอกซิลเมทิลเซลลูโลสจากใบข้าวโพด ต่อคุณภาพของพริกสดระหว่างการเก็บรักษา
# Effects of Coating using Carboxymethyl Cellulose from Corn Leaves on Qualities of Fresh Pepper during Storage

นิตยา ภูงาม*[1] อรอุมา นิลดา[1] วชิราภรณ์ เสาแก้ว[1] ณัฏฐวลิณคล เศรษฐปราโมทย์[1] อาทิตยา ดวงสุพรรณ[1] และวีรเวทย์ อุทโธ[3]
Phungam, N.*[1], Nilda, O.[1], Settapramote, N.[1] Duangsuphan, A.[1] and Utto, W.[3]

## Abstract

Effects of the carboxymethyl cellulose (CMC) from corn leaves (1 2 3 and 4% (w/v)) on the postharvest qualities of pepper were monitored. Results showed that 2% CMC (w/v) could prolong higher qualities of fresh pepper than other concentrations. Besides, no disease detection was found in CMC and chitosan coated peppers and the visual appearance became as same as that of appearance on day 0 but slight wilting on the peel peppers. On day 15 of storage, peppers coated with CMC or chitosan (0.5 % (w/v)) had lower weight losses (of 17.0% and 16.00%, respectively) and higher firmness than control peppers (41.0%). Moreover, CMC coated pepper expressed higher value of total soluble solids content (TSS), and titratable acidity (TA%) than other treatments. The quality is similar to that of fresh red chili peppers coated with chitosan coating.

**Keywords**: Carboxymethyl Cellulose, Corn Leaves, Fresh Pepper, Qualities

## บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพของสารเคลือบผิว คาร์บอกซิลเมทิลเซลลูโลสจากใบข้าวโพด ต่อการชะลอการเปลี่ยนแปลงคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของพริกขี้หนูสวนสดสีแดง พบว่า สารเคลือบผิวคาร์บอกซิลเมทิลเซลลูโลส (CMC) 1 2 3 และ4% (w/v) ซึ่งสารเคลือบผิว CMC จากใบข้าวโพด ความเข้มข้น 2% (w/v) สามารถรักษาคุณภาพของพริกสดได้ดีกว่าความเข้มข้นอื่น ๆ นอกจากนี้พริกสดที่ผ่านการเคลือบผิวด้วยสารละลาย CMC และไคโตซาน (สารเคลือบผิวเชิงพาณิชย์) ความเข้มข้น 0.5% (w/v) ไม่พบการเกิดโรคและลักษณะปรากฏภายนอกที่แตกต่างจากพริกสดในวันที่ 0 แต่มีรอยเหี่ยวย่นเล็กน้อยบนผิวของพริกขี้หนูสวนสดสีแดง ในวันที่ 15 ของการเก็บรักษา การสูญเสียน้ำหนักเฉลี่ยของพริกขี้หนูสวนสดสีแดง ที่เคลือบด้วย CMC 2% (w/v) (17.0%) หรือ ไคโตซาน (16.0%) ต่ำ กว่าพริกสดชุดควบคุม (41.0%) และมีความแน่นเนื้อสูงกว่าชุดควบคุม นอกจากนี้ยังพบว่า พริกขี้หนูสวนสดสีแดง ที่เคลือบด้วย CMC มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) และปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ (TA) มีคุณภาพใกล้เคียงกับพริกขี้หนูสวนสดสีแดงที่เคลือบด้วยสารเคลือบผิวไคโตซาน

**คำสำคัญ**: คาร์บอกซิลเมทิล เซลลูโลส ใบข้าวโพด พริกสด คุณภาพ

## คำนำ

ในปัจจุบันการพัฒนาสารเคลือบผิวผักและผลไม้มีการปรับปรุงให้มีคุณสมบัติและคุณภาพที่ดีขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยได้มีการนำเอาวัตถุดิบพืชไร่หรือวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เช่น ผักตบชวา และ ฟางข้าว เป็นต้น มาผลิตใช้เป็นสารเคลือบผิวที่สามารถบริโภคได้ เช่น คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (Carboxymethyl cellulose: CMC) (กฤษณเวช และวิทวัส, 2554) การใช้งานสารเคลือบผิวเพื่อชะลอการคายน้ำ อัตราการหายใจ และการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางสรีรวิทยา เช่น การเปลี่ยนแปลงสี ลักษณะเนื้อสัมผัส และลักษณะการเหี่ยวย่นของผักและผลไม้ (จุฑามาศ, 2559) แต่ในปัจจุบันคาร์บอกซี เมทิวเซลลูโลสส่วนใหญ่นั้นมีราคาแพง เพราะนำเข้าจากต่างประเทศ (ณัฏฐ์ธวดี และคณะ, 2555) ซึ่งสาร CMC จากใบข้าวโพดที่ผ่านการพัฒนาเป็นสารเคลือบผิวผัก

---

[1] สาขาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ ถนน สุรินทร์-ปราสาท อ.เมือง จ. สุรินทร์
[1] Department of Agro-Industrial, Faculty of Agriculture and Technology, Rajamangala University of Technology Isan Surin Campus, Surin-Prasant Road, Mueang district, Surin
[2] พืชศาสตร์ สิ่งทอและการออกแบบ คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ ถนน สุรินทร์-ปราสาท อ.เมือง จ. สุรินทร์
[2] Department of Plant Science, Textiles and design, Faculty of Agriculture and Technology, Rajamangala University of Technology Isan Surin Campus, Surin-Prasant Road, Mueang district, Surin
[3] สาขาเทคโนโลยีการอาหาร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ถนนสถลมาร์ค อ.วารินชำราบ จ.อุบลราชธานี
[3]Department of Food Technology, Faculty of Agriculture, Ubon Ratchathani University, StiMrak Road, Warinchamrab district, Ubon Ratchathani.

และผลไม้ มีคุณสมบัติช่วยยืดอายุการเก็บรักษาภายหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้ได้ (จุฑามาศ, 2559) ดังนั้น งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการพัฒนาสารเคลือบผิวผักและผลไม้โดยใช้คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่สกัดได้จากใบข้าวโพด (ข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์สำลี) และทดสอบผลของสารเคลือบผิวต่อคุณภาพภายหลังการเก็บเกี่ยวพริกขี้หนูสวนสดสีแดง เนื่องจากเป็นผลผลิตที่มีแนวโน้มการสูญเสียน้ำหนัก และการเปลี่ยนแปลงเนื้อสัมผัสได้ง่าย การนำใบข้าวโพดมาใช้ประโยชน์จึงเป็นการเพิ่มมูลค่าทางการตลาดให้กับใบข้าวโพดได้ช่วยให้เกษตรกรกลุ่มปลูกข้าวโพดมีรายได้เพิ่มมากขึ้น

## อุปกรณ์และวิธีการ

**1. การสกัดและการเตรียมสารเคลือบผิว (1.1) การเตรียมเยื่อใบข้าวโพด** นำใบข้าวโพด ล้างทำความสะอาด หั่นเป็นชิ้นขนาด 1 นิ้ว อบในตู้อบให้แห้ง อุณหภูมิ 65°C นาน 2 ชั่วโมง นำมาปั่นในเครื่องบดอาหารนาน 5 นาที และนำเนื้อเยื่อที่ได้เข้าอบอีกครั้งให้แห้งสนิท อุณหภูมิ 65°C นาน 24 ชั่วโมง **(1.2) การฟอกเนื้อเยื่อใบข้าวโพด (Purify)** ชั่งเนื้อเยื่อใบข้าวโพด 10 g เติมสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 10% (w/v) ปริมาตร 250 mL คนด้วยแท่งแก้วให้เข้ากัน จากนั้นปิดด้วยพลาสติกห่อหุ้มอาหารตั้งทิ้งไว้ นาน 2 ชั่วโมง ทำซ้ำอีก 2 ครั้ง นำเนื้อเยื่อใบข้าวโพดที่ฟอกแล้วล้างน้ำให้สะอาด กรองด้วยกระชอน จากนั้นเทลงในถาด แล้วนำไปอบจนแห้งที่ อุณหภูมิ 65°C **(1.3) การต้มเยื่อใบข้าวโพดด้วยด่าง (Alkaline treatment)** นำเนื้อเยื่อที่ฟอกแล้วมาผสมกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 10% (w/v) ในอัตราส่วน 1:10 แล้วนำมาต้มที่อุณหภูมิ 80°C นาน 3 ชั่วโมง จากนั้นกรองเยื่อแล้วล้างด้วยน้ำ นำไปอบแห้งในตู้อบ อุณหภูมิ 60°C นาน 12 ชั่วโมง **(1.4) การสังเคราะห์คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสจากผงเซลลูโลส** ชั่งผงเซลลูโลส 5 g ใส่ลงในบีกเกอร์ ที่มีสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 40% ปริมาตร 84 ml นำมาผสมกับสารละลายไอโซโพรพานอล ปริมาตรรวม 84 mL ทำต้ม อุณหภูมิ 30°C นาน 30 นาที (กวนด้วยแมกนีติกในระหว่างการต้ม) จากนั้นเติมกรดโมโนคลอโรอะซิติก 6 g กวนต่อไปอีกเป็นเวลา 90 นาที เมื่อครบเวลานำเข้าเตาอบเพื่อทำปฏิกิริยาต่อที่ อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง กรองสารละลาย และล้างตะกอนด้วย เมทานอล ต่อ เอทานอล ความเข้มข้น 70% ปริมาตร 50 ต่อ 50 ml ในระหว่างที่ล้างทำการปรับค่าพีเอสของสารละลายด้วยกรดอะซิติกเข้มข้น ให้เป็นกลาง (pH 7.0) นำคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่สังเคราะห์ได้ไปอบแห้งที่ อุณหภูมิ 60°C นำมาเก็บไว้ในถุงอลูมิเนียม ฟรอยด์ เพื่อนำไปเตรียมเป็นสารละลายสารเคลือบผิวในลำดับต่อไป (นิภาพร และคณะ, 2551) **(1.5) เตรียมสารเคลือบผิวความเข้มข้น 1 2 และ 3%** โดยชั่งซีเอ็มซีจากใบข้าวโพดน้ำหนัก 1 2 และ 3 g ลงในบีกเกอร์ ขนาด 250 ml ผสมกับน้ำกลั่นปริมาณ 69 68 และ 67 ml ตามลำดับ จากนั้นผสมสารเติมแต่ง (กลีเซอรอล) ปริมาตร 30 ml จะได้ปริมาตรรวม 100 ml ให้ความร้อนสารละลายพร้อมกวนที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 40 นาที รอให้สารละลายเย็นที่อุณหภูมิห้องก่อนนำไปใช้งานต่อไป

**2. การเคลือบผิวและการทดสอบคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยว** พริกขี้หนูสวนสดสีแดง (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 x 5 cm) ที่ผ่านการทำความสะอาดด้วยการแช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปรคลอไรด์ ความเข้มข้น 100 ppm เป็นเวลา 3 นาที มาเคลือบผิวโดยการนำพริกมาจุ่มลงในสารละลายสารเคลือบผิวจนทั่ว (สารเคลือบผิว CMC จากใบข้าวโพดความเข้มข้น 1 2 และ3% และไคโตซาน ความเข้มข้น 5%) และเป่าแห้งด้วยพัดลม และทำการเคลือบซ้ำอีกครั้งและเป่าให้แห้งด้วยพัดลม โดยวางพริกขี้หนูสวนสดสีแดงที่ผ่านการเคลือบบนตะกร้า เรียงชั้นเดียวไม่ให้มีการซ้อนทับกัน นำไปเก็บรักษา ที่อุณหภูมิ 10°C เป็นเวลา 15 วัน (ดัดแปลงจาก นิตยา, 2560) ศึกษาคุณภาพภายหลังการเก็บเกี่ยว ดังนี้ (2.1) ศ**ึกษาลักษณะปรากฏของพริกสด** ด้วยการสังเกตลักษณะภายนอก เช่น สี ลักษณะการเหี่ยวย่น ด้วยการให้ค่าคะแนนเปรียบเทียบกับชุดควบคุม **(2.2) เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก** ทำการเปรียบเทียบน้ำหนักเริ่มต้น และรายงานเป็นร้อยละการสูญเสียน้ำหนัก **(2.3) ความแน่นเนื้อ** โดยใช้เครื่อง Texture analyzer (LLODY model, LR series, USA) ใช้หัวทดสอบแบบ shearing test ใช้สภาวะในการทดสอบ Pre-Test Speed 1.00 mm/sec, Test Speed 2.00 mm/sec, Post- Test Speed 5.00 mm/sec, Distance 10.0 mm โดยรายงานผลเป็นค่าแรงสูงสุด หน่วยเป็นนิวตัน (N) **(2.4) ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้** โดยใช้เครื่องรีแฟรกโตมิเตอร์ (Refractometer) และรายงานผลเป็นร้อยละ **(2.4) ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้** ด้วยการประยุกต์วิธีการของ โศรดา และคณะ (2555) รายงานเป็นเปอร์เซ็นต์ (%) การศึกษานี้ได้เปรียบเทียบผลของการเคลือบผิวด้วยสารเคลือบที่พัฒนาขึ้นกับพริกสดชุดควบคุมที่ไม่ผ่านการเคลือบผิวและพริกสดที่เคลือบผิวด้วยสารละลายไคโตซาน ความเข้มข้น 5% (บริษัทกัสเทค-เอส) เนื่องจากเป็นระดับความเข้มข้นที่สามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลผลิตได้ ซึ่งเป็นสารเคลือบผิวที่จำหน่ายเชิงพาณิชย์ (Benefit Chitosan)

**3. การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์** วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) โดยทำการวิเคราะห์ผลของปัจจัยต่อคุณภาพการเก็บรักษา 2 ตัวแปรอิสระที่มีผลต่อคุณภาพของพริกสด คือ ชนิดของสารเคลือบผิว และระยะเวลาในการเก็บรักษา ด้วยการวิเคราะห์ Analysis of variance (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองโดยใช้ Duncan multiple’s range test ด้วยโปรแกรม SPSS ดำเนินการศึกษาจำนวน 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้พริกสด 8 ผล และทำการตรวจสอบทุกๆ 3 วัน

## ผลการทดลอง

จากการเคลือบผิวพริกสดด้วยสารเคลือบผิว CMC ความเข้มข้น 1 2 และ 3% (w/v) เปรียบเทียบกับการใช้สารเคลือบผิวไคโตแซน 5% และการไม่เคลือบสาร พบว่า สารเคลือบผิว CMC ความเข้มข้น 2% (w/v) มีประสิทธิภาพในการรักษาคุณภาพด้านการสูญเสียน้ำหนัก เนื้อสัมผัส ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ และปริมาณกรดทั้งหมดของพริกดีที่สุด เนื่องจากสารเคลือบผิว CMC ความเข้มที่ 1 และ 3% ส่งผลให้ลักษณะเนื้อสัมผัส ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ และปริมาณกรดทั้งหมด ของพริกเปลี่ยนแปลงเร็วเพียง 7 วัน จึงทำให้พริกที่เคลือบด้วย CMC ความเข้มข้น 2% คงคุณภาพดีที่สุด ทั้งนี้สารเคลือบผิว CMC ความเข้มข้น 2% และไคโตซาน ความเข้มข้น 5% ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะปรากฏภายนอกที่แตกต่างจากวันที่ 0 โดยผู้วิจัยได้ทำการให้คะแต่ภายหลังการเก็บรักษา 15 วัน บริเวณผิวของพริกสดมีรอยเหี่ยวย่นเล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบการสูญเสียน้ำหนักของพริกสดที่เคลือบผิว CMC 2% ไคโตซาน 5% และชุดควบคุม (Control) พบว่า การเคลือบผิวพริกสดด้วย CMC 2% และไคโตซาน ~~มี~~5% มีการสูญเสียน้ำหนักสดประมาณ 5.0-12.30% ซึ่งน้อยกว่าการสูญเสียน้ำหนักของชุดควบคุม (40.00%) (Figure 1A) ความแน่นเนื้อของพริกสดมีแนวโน้มลดลงตลอดการเก็บรักษา แต่พริกสดที่เคลือบผิวด้วยไคโตซาน และ CMC 2% มีการเปลี่ยนแปลงต่ำกว่า (9.00-6.10 N) พริกที่ไม่ได้เคลือบผิว (9.00-4.10 N) ซึ่งจากผลการทดลองของพริกสดที่ผ่านการเคลือบผิวด้วย CMC และไคโตซานสามารถคงความแน่นเนื้อได้สูงกว่าพริกที่ไม่ผ่านการเคลือบผิว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) กับชุดควบคุม (Figure 1B)

จากการศึกษาปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) ของพริกสดที่เคลือบผิว CMC-2% และไคโตซาน มีค่าเพิ่มขึ้น เท่ากับ 5.00-6.10% จากวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ในขณะที่ชุดควบคุมมีค่า TSS เพิ่มขึ้น เท่ากับ 5.00-8.00% (Figure 2A) ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ทั้งหมด (TA) พบว่า พริกสดที่เคลือบผิว CMC 2% และไคโตซาน 5% มีค่า TA เพิ่มขึ้นเล็กน้อย (0.005-0.016%) ในขณะที่ค่า TA ของชุดควบคุมมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง (0.005-0.030%) โดยค่า TA และ TSS ของพริกสดที่ผ่านการเคลือบผิว มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) กับชุดควบคุม (Figure 2B)

## วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาการเคลือบผิวพริกสดด้วยสารเคลือบผิวที่พัฒนาจากสารสกัดคาร์บอกซิลเมทิลเซลลูโลสจากใบข้าวโพดช่วยชะลอการเปลี่ยนลักษณะปรากฏ เช่น สี เนื้อสัมผัส และรอยเหี่ยวย่น ได้ (ไม่ได้แสดงผลการทดลอง) รวมทั้งชะลอการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของพริกสดได้ดีกว่าพริกสดที่ไม่ผ่านการเคลือบผิว เนื่องจากสารเคลือบผิวมีสมบัติในการทดแทนไขที่เกิดจากธรรมชาติที่ได้สูญเสียไปในระหว่างกระบวนการล้างทำความสะอาด โดยสารเคลือบผิวจะมีคุณสมบัติเป็นฟิล์มเคลือบทับบริเวณปากใบของพริก ส่งผลให้คายน้ำออกทางปากใบได้น้อย อีกทั้งสารเคลือบผิว CMC มีสมบัติป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำได้ซึ่งใกล้เคียงกับสารเคลือบผิวเชิงพาณิชย์ (ไคโตซาน) ทำให้การเปลี่ยนลักษณะทางกายภาพ และการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของพริกสดลดลง (ธนาภรณ์ และคณะ, 2551) สอดคล้องกับงานของ ปิยะนุช และคณะ (2563) สารเคลือบผิวน้ำมันมะพร้าวและว่านหางจระเข้ช่วยชะลอการเปลี่ยนแปลง สี เนื้อสัมผัส และการสูญเสียน้ำหนักของฝรั่งกิมจูได้ นอกจากนี้สารเคลือบผิวช่วยชะลอการเปลี่ยนแปลงค่า TSS และ TA ของพริกสดได้ เนื่องจากสารเคลือบผิวที่เคลือบบนผิวหน้าของพริกสดสามารถชะลอการซึมผ่านของออกซิเจนให้เข้าไปภายในผล ซึ่งออกซิเจนเป็นซับสเตรทของการหายใจ ซึ่งเมื่อออกซิเจนซึมผ่านเข้าไปในปริมาณำกัดจึงทำให้พริกมีการหายใจลดลงจึงส่งผลให้พริกสดมีการเสื่อมสภาพช้าลง ด้วย (ศักยะ และคณะ, 2555; กิ่งชม และคณะ, 2548)

## สรุปผล

สารเคลือบผิวจากสารสกัดคาร์บอกซิลเมทิลเซลลูโลสจากใบข้าวโพด ที่ความเข้มข้น 2% มีประสิทธิภาพในการชะลอการเปลี่ยนแปลงภายหลังการเก็บเกี่ยวของพริกสด ได้แก่ ชะลอการสูญเสียน้ำหนัก ความแน่นเนื้อ ค่า TSS และTA ได้ ซึ่งมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับสารเคลือบผิวไคโตซาน (สารเคลือบผิวเชิงพาณิชย์) ในการชะลอการเปลี่ยนแปลงคุณภาพภายหลังการเก็บเกี่ยวของพริกสด

## เอกสารอ้างอิง

กฤษณเวช ทรงธนศักดิ์ และวิทวัส จิรัฐพงศ์, 2554, การศึกษาปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินจากของเหลือทิ้งจากพืชเพื่อใช้ในการผลิตแผ่นฟิล์มพลาสติกชีวภาพ, รายงานการประชุมวิชาการนานาชาติวิศวกรรมเคมีและเคมีประยุกต์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 21, สาขาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม ภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ, กรุงเทพฯ, 10 หน้า.

กิ่งชม พิชพงค์, ประธาน จิรานุวัฒนวงษ และปยศักดิ์ ประกอบแสง. 2548. การชุบเคลือบพริกด้วยไคติน-ไคโตซาน จากเปลือกกุ้ง. รายงานงาน โครงการ ภาควิชาวิศวกรรมเคมีคณะวิศวกรรมศาสตรมหาวิทยาลัยขอนแกน. ขอนแกน. 34 น.

จุฑามาศ กลิ่นโซดา, 2559, สารเคลือบผิวอาหารกับการประยุกต์ใช้ในผักและผลไม้, วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 46: 33–36.

ศักยะ สมบัติไพรวัน, เทวรัตน์ ตรีอานรรค และกระวี ตรีอำนรรค, 2555, ปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับระยะการสุกของมะม่วงน้ำดอกไม้หลังการเก็บเกี่ยว, วารสารสมาคมวิศวกรรมเกษตรแห่งประเทศไทย, 18: 52-58.

โศรดา กนกพานนท์, สีรุ้ง ปรีชานนท์ และอภิตา บุญศิริ, 2555, การพัฒนาสารเคลือบผิวผลไม้จากสารละลายเชลแล็กเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาและรักษาคุณภาพผลไม้เมืองร้อนไทย. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.), กรุงเทพฯ, 62 หน้า.

ณัฏฐ์ธวดี จินาพันธ์ เจิมขวัญ สังข์สุวรรณ สุทธิรา สุทธสุภา และสฐพัศ คำไทย, 2555, คุณสมบัติของฟิล์มคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสจากเยื่อฟางข้าว, วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 43: 617 – 620.

นิตยา ภูงาม, 2560, การใช้ประโยชน์จากไขที่สกัดจากใบกะหล่ำปลีคัดทิ้งสำหรับการเคลือบผิวหน้าผักและผลไม้, วิทยานิพนธ์ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 200 หน้า.

นิภาพร แสงจู ชุลีพร พุฒนวล วนิดา พงษ์ศักดิ์ชาติ กุลยา ลิ้มรุ่งเรืองรัตน์ และอาภัสรา แสงนาค, 2551, วิธีการและภาวะที่เหมาะสมในการผลิตคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสจากฟางขาว, วารสารวิจัยและพัฒนา มจธ, 31: 797 – 809.

ธนาภรณ ศรีศิริพนธ์, จำนงค อุทัยบุตร และ กอบเกียรติ แสงนิล. 2551. ผลของการเคลือบผิวด้วยไคโตซานตอปริมาณสารประกอบฟนอลคทั้งหมด ลิกนิน และแทนนิน ของผลพริกหวานในระหวางการเก็บรักษา. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 39(3) (พิเศษ): 388-391

ปิยะนุช ทวีศรี, สุปราณี เอี่ยมโสภณ และนิตยา อัมรัตน์, 2563, ผลของสารเคลือบผิวจากนมันมะพร้าวและว่านหางจระเข้ต่อคุณภาพของผลฝรั่งพันธุ์กิมจูหลังการเก็บเกี่ยว, วารสารแก่นเกษตร, 48: 1115-1122.

Pandey, S.K., Joushwa, J.E. and Bisen, A., 2010, Influence of Gamma Irradiation, Growth Retardants and Coatings on the Shelf Life of Winter Guava Fruits *(Psidium guajava* L.), Journal Food Science Technology, 47: 124- 127.

Vieira, J. M., Flores-López, M. L., Rodríguez, D. J., Maria C. Sousa, Vicente, A. A., and Martins, J.T., 2016, Effect of Chitosan Aloevera Coating on Postharvest Quality of Blueberry (Vaccinium corymbosum) Fruit, Postharvest Biology Technology, 116: 88-97.

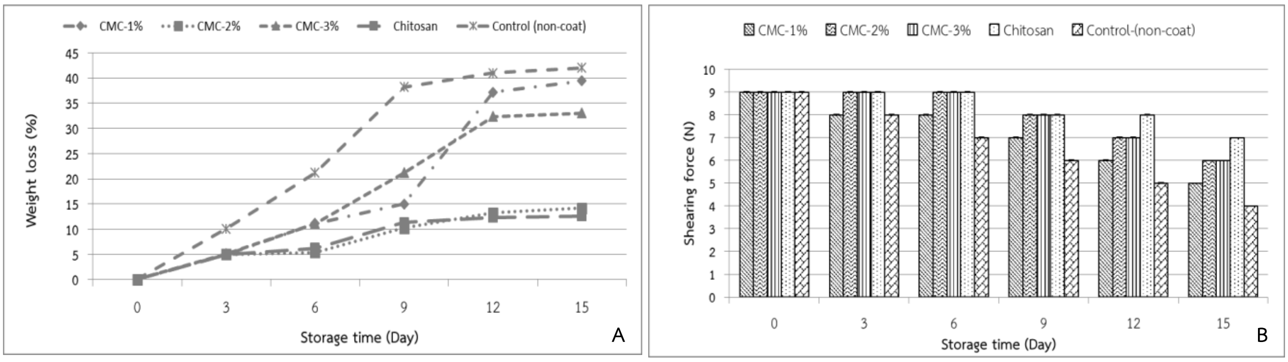



**Figure 1** Effects of CMC coating and chitosan coating on weight loss (A) and firmness (B) of fresh pepper during storage at 10°C for 15 days (error bar represent ± standard error and n=8). Ctrl (control) represents non-coated pepper at 10°C for 15 days.

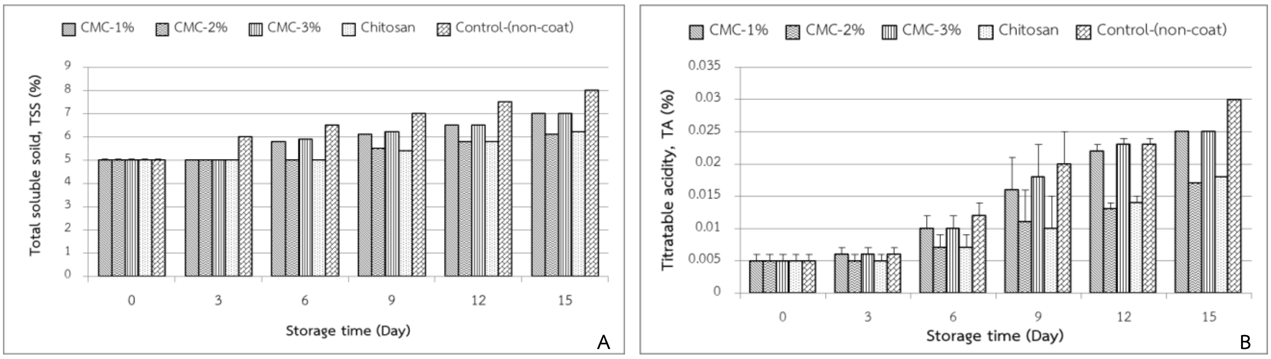



**Figure 2** Effects of CMC coating and chitosan coating on the TSS (A) and TA (B) of fresh pepper (average ± standard error; n=8). Ctrl (control) represents non-coated bell pepper at 10°C for 15 days.

# การศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระในมะม่วงหาวมะนาวโห่เพื่อพัฒนาเป็นเครื่องดื่มสุขภาพ
# Study of Antioxidants in Karonda (*Carissa carandas* L.) to Develop into a Healthy Drink.

ชัชฎาพร องอาจ[1] และ แสงอรุณ สมิงไพร[1]
Ongard, C.[1] and Smingpai, S.[1]

## Abstract

The research aimed to study bioactive compounds from Karonda (half-ripened stage) for processing into concentrated and ready-to-drink product. Storage time of beverages on antioxidant properties and the content of various important substances were also evaluated. Results showed the half ripe Karonda fruits contained vitamin C, total phenolics, anthocyanins and total flavonoids were at 7.53±1.21 mg/g, 24.90±1.80 mg GAE/g, 1.47±0.20 mg/g, 26.8±2.33 mg RE/g, respectively. Antioxidant capacity by DPPH, metal ion chelating ability and antioxidant capacity by reducing power were 98.17±3.49%, 81.52±2.78% 73.98±1.05%, respectively. It was also found that the sensory, color, smell, taste, texture, appearance, preferences of the healthy, concentrated and ready-to-drink formulas ranged from 83.86-92.59%. They were able to be stored for 45 days in the refrigerator where the contents of various important substances decreased slightly.

**Keywords:** *Carissa carandas* L., Antioxidant, Total phenolic, Total flavonoid

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณสารระสำคัญในมะม่วงหาวมะนาวโห่ (ระยะผลกึ่งสุก) เพื่อแปรรูปเป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพสูตรเข้มข้นและสูตรพร้อมดื่ม และศึกษาระยะเวลาการเก็บรักษาเครื่องดื่มต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารสำคัญต่างๆ พบว่ามะม่วงหาวมะนาวโห่ระยะผลกึ่งสุกมีปริมาณปริมาณวิตามินซี สารฟีนอลิกทั้งหมด สารแอนโทไซยานินและสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด เท่ากับ 7.53±1.21 mg/g, 24.90± 1.80 mg GAE/g, 1.47±0.20 mg/g, 26.8±2.33 mg RE/g ตามลำดับ มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH 98.17±3.49% ความสามารถในการคีเลทไอออนของโลหะ 81.52±2.78% และความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี reducing power 73.98±1.05 % เมื่อแปรรูปเป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพสูตรเข้มข้นและสูตรพร้อมดื่ม และศึกษาระยะเวลาการเก็บรักษาเครื่องดื่มต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารสำคัญต่างๆ พบว่าประสาทสัมผัส สี กลิ่นรส รสชาติ เนื้อสัมผัส ลักษณะปรากฏ ความชอบรวม ของทั้ง 2 สูตร อยู่ในช่วง 83.86-92.59 % สามารถเก็บได้นาน 45 วัน โดยแช่ตู้เย็นซึ่งปริมาณสารสำคัญต่างๆ ลดลงเล็กน้อย

**คำสำคัญ:** มะม่วงหาวมะนาวโห่ สารต้านอนุมูลอิสระ สารฟีนอลิกทั้งหมด สารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

## คำนำ **

มะม่วงหาวมะนาวโห่เป็นผลไม้พื้นบ้าน และเป็นพืชสมุนไพรที่นำมาใช้ในการดูแลสุขภาพและรักษาโรคต่างๆ เช่น โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคหัวใจ รวมทั้งโรคอัลไซเมอร์ (Sharma และคณะ, 2007; Bhaskar และ Balakrishnan, 2009) เนื่องจากมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงประกอบด้วยสารโพลีฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ ฟลาวาโนน วิตามินซี อัลคาลอยด์ ซาโปนิน และแทนนิน (Kubola และคณะ , 2011; Itankar และคณะ , 2011; Simla และคณะ, 2013; Gupta และคณะ, 2014; สกุลกานต์ สิมลา และคณะ, 2556; วชิราภรณ์ ผิวล่อง และคณะ, 2556) ซึ่งปัจจุบันผู้บริโภครู้จักและสนใจผลไม้ชนิดนี้กันมากขึ้น รวมทั้งยังนิยมนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น มะม่วงหาวมะนาวโห่ดอง แช่อิ่ม หยี แยม เยลลี่ และเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ เป็นต้น และสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้แทบทุกส่วนของต้น แต่ปัญหาของผู้บริโภคในการทานสด รสฝาดมากและเปรี้ยวรับประทานยาก จึงคิดทำเป็นเครื่องดื่มพร้อมดื่ม เพื่อความสะดวกและง่ายต่อการรับประทาน งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณสารสำคัญในมะม่วงหาวมะนาวโห่ (ระยะผลกึ่งสุก) เพื่อแปรรูปเป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพสูตรเข้มข้นและสูตรพร้อมดื่ม และศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารสำคัญต่างๆ ได้แก่ วิตามินซี สารฟีนอลิกทั้งหมด สารแอนโทไซยานิน สารฟลาโว

[1] มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา เลขที่ 96 ถ. ปรีดีพนมยงค์ ต. ประตูชัย อ. พระนครศรีอยุธยา จ. พระนครศรีอยุธยา 13000
[1] Phranakhon si Ayutthaya Rajabhat University 96, Pridi Banomyong Rd., Pratu Chai Si Ayutthaya, Phranakhon Sri Ayutthaya 13000, Thailand
[2] มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา เลขที่ 96 ถ. ปรีดีพนมยงค์ ต. ประตูชัย อ. พระนครศรีอยุธยา จ. พระนครศรีอยุธยา 13000
[2] Phranakhon si Ayutthaya Rajabhat University 96, Pridi Banomyong Rd., Pratu Chai Si Ayutthaya, Phranakhon Sri Ayutthaya 13000, Thailand

นอยด์ทั้งหมดและศึกษาระยะเวลาการเก็บรักษาเครื่องดื่ม

**อุปกรณ์และวิธีการ****

ตัวอย่างผลมะม่วงหาวมะนาวโห่นำมาจากสวนใน ต.บางแม่หม้าย อ.บางปลาม้า จ.สุพรรณบุรี โดยเก็บผลระยะกึ่งสุก มาผ่าเอาเมล็ดออกแล้วนำเนื้อมาทำเป็นเครื่องดื่มพร้อมดื่ม 2 สูตร คือสูตร เข้มข้นและสูตรพร้อมดื่มโดยทำสูตรเข้มข้น 3 สูตร สูตรพร้อมดื่ม 3 สูตร โดยสูตรเข้มข้นจะมีปริมาณเนื้อมะม่วงหาวมะนาวโห่ 50% (w/v) สูตรพร้อมดื่มจะมีปริมาณเนื้อมะม่วงหาวมะนาวโห่ 15%(w/v) สูตรที่ 1 ,2 และ 3 จะปริมาณกระเจี๊ยบสดร่วมด้วยในปริมาณ 3, 5 และ 7% (w/v) เพื่อเพิ่มรสชาติให้ดีขึ้น หลังนั้นทำการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (radical scavenging activity) ด้วยวิธีการ DPPH radical scavenging activity assay (Peschel และคณะ , 2006) ทดสอบความสามารถในการในการคีเลทไอออนของโลหะ (Ferrous-ion chelating ,FIC) และวิธี reducing power และศึกษาปริมาณสารสำคัญต่างๆ ได้แก่ การหาปริมาณวิตามินซีตามวิธีการของ AOAC (1990) การหาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (Bakar และคณะ , 2009) การหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Bakar และคณะ, 2009) และการหาปริมาณแอนโธไซยานินทั้งหมด (total anthocyanins) ด้วยวิธีpH differential method (Wrolstad และคณะ, 2005) พร้อมทั้งประเมินความพึงพอใจที่มีต่อ เครื่องดื่มแปรรูปทั้ง 2 ชนิด ในรูปแบบสอบถามที่เกี่ยวข้องกับประสาทสัมผัส สี กลิ่นรส รสชาติ เนื้อสัมผัส ลักษณะปรากฏ ความชอบรวม และทำการศึกษาระยะเวลาการเก็บเครื่องดื่มทั้ง 2 ชนิดโดยติดตามสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

**ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง****

ผลการทดลองพบว่ามะม่วงหาวมะนาวโห่ระยะผลกึ่งสุกมีปริมาณปริมาณวิตามินซี สารฟีนอลิกทั้งหมด สารแอนโทไซยานิน และสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด เท่ากับ 7.53±1.21 mg/g, 24.90± 1.80 mg GAE/g, 1.47±0.20 mg/g, 26.8±2.33 mg RE/g ตามลำดับ ( Table 1 ) มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH 98.17±3.49% ความสามารถในการคีเลทไอออนของโลหะ 81.52±2.78% และความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี reducing power 73.98±1.05 % ( Table 2)

เมื่อแปรรูปเป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพสูตรเข้มข้นและสูตรพร้อมดื่ม พบว่าปริมาณสาระสำคัญ และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระทั้ง 3 วิธี มีปริมาณลดลงกว่าที่เป็นผลสดและในแต่ละสูตรไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ดังTable 1,2) เนื่องจากสารสำคัญเหล่านี้ สามารถสูญเสียหรือสลายตัวเนื่องจากความร้อนในขณะที่ทำการปรุงเป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพจึงเป็นผลทำให้สมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของเครื่องดื่มทั้ง 2 สูตร มีค่าลดลงตามลำดับ การศึกษาระยะเวลาการเก็บรักษาเครื่องดื่มต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารสำคัญต่างๆ พบว่าประสาทสัมผัส สี กลิ่นรส รสชาติ เนื้อสัมผัส ลักษณะปรากฏ ความชอบรวมของทั้ง 2 สูตร อยู่ในช่วง 83.86-92.59 % ดัง Table 3

Table 1 The content of important substances in the samples of fresh Karonda and various formulations of healthy beverages.

| Sample | Vitamin C mg/g | Total phenolic mg GAE/g | Anthocyanin mg/g | Total flavonoids mg/g |
|---|---|---|---|---|
| fresh Karonda | 7.53±1.21 | 24.90± 1.80 | 1.47±0.20 | 26.80±2.33 |
| ready to drink 1 | 2.32±0.22 | 17.50± 1.21 | 0.81±0.08 | 19.08±0.94 |
| ready to drink 2 | 2.98±0.30 | 16.90± 1.10 | 0.95±0.12 | 18.98±0.35 |
| ready to drink 3 | 2.75±0.24 | 17.30± 1.06 | 1.11±0.04 | 20.03±1.06 |
| concentrate 1 | 5.43±0.25 | 22.89± 0.84 | 1.27±0.24 | 23.96±1.98 |
| concentrate 2 | 6.10±0.47 | 21.76± 1.05 | 1.09±0.15 | 24.28±1.60 |
| concentrate 3 | 6.05±0.27 | 22.45± 0.90 | 1.15±0.20 | 24.23±2.02 |

Table 2. Anti-oxidative properties in samples of fresh Karonda and various formulations of healthy beverages.

| Sample | reducing power DPPH scavenging assay (%) | Ferric – ion chelating (FIC ) (%) | reducing power assay assay (%) |
|---|---|---|---|
| fresh Karonda | 98.17 ± 3.49 | 81.52± 2.78% | 73.98±1.05 |
| ready to drink 1 | 74.37 ± 2.10 | 62.35± 2.78% | 58.19±1.06 |
| ready to drink 2 | 73.16 ± 2.60 | 61.82± 2.78% | 57.09±1.17 |
| ready to drink 3 | 68.25 ± 3.2 | 64.32± 2.78% | 61.18±1.38 |
| concentrate 1 | 78.17 ± 2.44 | 70.52± 1.08% | 68.78±1.09 |
| concentrate 2 | 82.17 ± 2.15 | 68.52± 1.78% | 63.98±1.10 |
| concentrate 3 | 79.98 ± 1.88 | 74.52± 2.18% | 61.98±0.41 |

Table 3 The results of the evaluation of properties from the questionnaire of both beverages ready-to-drink formula and concentrated formula

| Topic | ready-to-drink1 (%) | ready-to-drink 2 (%) | ready-to-drink 3 (%) | Concentrate1 (%) | Concentrate 2 (%) | Concentrate3 (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| sensory | 89.27±0.15 | 87.53±0.17 | 88.97±0.23 | 87.39±0.19 | 87.37±0.36 | 89.90±0.23 |
| color | 91.53±0.79 | 84.22±1.16 | 89.86±1.11 | 90.27±0.35 | 88.12±0.23 | 89.02±0.19 |
| smell | 84.92±0.19 | 88.57±0.18 | 87.89±0.20 | 85.93±0.91 | 84.73±0.26 | 90.89±0.21 |
| taste | 84.92±0.22 | 89.1±0.20 | 89.1±0.25 | 85.28±0.62 | 86.51±0.24 | 89.96±0.20 |
| texture | 83.86±0.18 | 90.69±0.19 | 87.8±0.19 | 84.65±0.48 | 91.03±0.18 | 90.8±0.24 |
| appearance | 86.51±0.18 | 89.22±0.19 | 85.28±0.18 | 88.34±0.36 | 87.85±0.15 | 89.83±0.22 |
| overall liking | 92.59±0.13 | 91.71±0.17 | 89.51±0.18 | 91.35±0.36 | 90.71±0.21 | 90.51±0.17 |

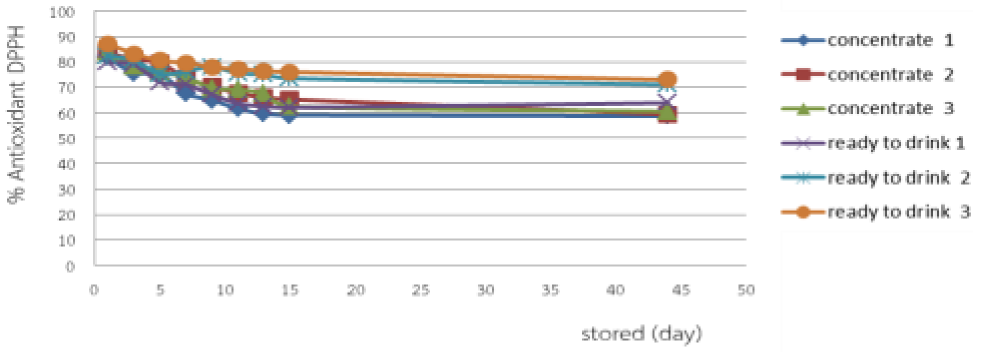



Figure 1 Antioxidant DPPH percentage of both beverage samples stored in the refrigerator for 45 days.

จาก Figure 1เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของตัวอย่างเครื่องดื่มทั้ง 2 สูตร ที่เก็บนาน 45 วัน โดยแช่ตู้เย็น จะพบว่ามีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH มีค่าลดลงเล็กน้อย

## สรุปผล*

มะม่วงหาวมะนาวโห่ระยะผลกึ่งสุกมีปริมาณปริมาณวิตามินซี สารฟีนอลิกทั้งหมด สารแอนโทไซยานิน และสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด เท่ากับ 7.53±1.21 mg/g, 24.90± 1.80 mg GAE/g, 1.47±0.20 mg/g, 26.8±2.33 mg RE/g ตามลำดับ มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH 98.17 ± 3.49% ความสามารถในการคีเลทไอออนของโลหะ 81.52± 2.78% และวิธี reducing power 73.98±1.05% เมื่อแปรรูปเป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพสูตรเข้มข้นและสูตรพร้อมดื่มจะทำให้มีปริมาณสารสำคัญต่างๆ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระลดลง เนื่องการกระบวนการทำเครื่องดื่ม การประเมินความพึงพอใจต่อประสาทสัมผัส สี กลิ่นรส รสชาติ เนื้อสัมผัส ลักษณะปรากฏ ความชอบรวม ของทั้ง 2 สูตร อยู่ในช่วง 83.86- 92.59% และสามารถเก็บเครื่องดื่มแปรรูปนี้ได้นาน 45 วัน โดย แช่ตู้เย็นซึ่งมีปริมาณเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ลดลงเล็กน้อย

## คำขอบคุณ

การทำวิจัยในครั้งนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยาที่ได้อนุเคราะห์เครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ สำหรับการดำเนินการวิจัย

## เอกสารอ้างอิง

ณพัฐอร บัวฉุน, 2561, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกของเมล็ดและเนื้อมะม่วง ไม่รู้โห่, วารสารวิจัยและพัฒนา-วไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์, 13(2): 53-63.

วชิราภรณ์ ผิวล่อง สุรศักดิ์สัจจบุตร ศิริลักษณ์ สิงห์เพชร และ จารุรัตน์ เอี่ยมศิริ, 2556, อิทธิพลของระยะเวลาสุกต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของมะม่วงหาวมะนาวโห่, วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 44(ฉบับพิเศษ 2): 337-340.

สกุลกานต์ สิมลา สุรศักดิ์ บุญแต่ง และ พัชรี สิริตระกูลศักดิ์, 2556, การประเมินปริมาณสารพฤกษเคมีบางประการและกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระใน Carissa carandas Linn, แก่นเกษตร, 41(ฉบับพิเศษ 1): 602-606.

สกุลกานต์ สิมลา, 2559, มะนาวโห่ พืชในวรรณคดีไทยที่มากมายด้วยประโยชน์, วารสารแก่นเกษตร**,** 41(3): 557-566.

A.O.A.C., 1990, Official Methods of Analysis of the Association of official Analytical Chemistry (15$^{th}$ ed.),A.O.A.C., wachington, D.C.

Bhaskar V.H. and Balakrishnan N., 2009, Analgesic, Anti-Inflammatory and Antipyretic Activities of *Pergularia daemia* and *Carissa carandas*, DARU Journal of Pharmaceutical Sciences, 17(3): 168-174.

Gupta, P., Bhatnagar, I., Kim, SK., Verma, A.K., and Sharma, A., 2014, *In-vitro* Cancer Cell Cytotoxicity and Alpha Amylase Inhibition Effect of Seven Tropical Fruit Residues, Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 4(2): s665-s671.

Itankar, P.R., Lokhande, S.J., Verma, P.R., Arora, S.K., Sahu, R.A., and Patil, A.T., 2011, Antidiabetic Potential of Unripe *Carissa carandas* Linn. Fruit Extract, Journal of Ethnopharmacology, 135(2): 430-433.

Kubola, J., Siriamornpun, S., and Meeso, N., 2011, Phytochemicals, Vitamin C and Sugar Content of Thai Wild Fruits, Food Chemistry, 126(3): 972-981.

Peschel, W.,Sánchez-Rabaneda, F.,Diekmann, W.,Plescher, A.,and Gartzía, I., 2006, An Industrial Approach in the Search of Natural Antioxidants from Vegetable and Fruit Wastes, Food Chemistry, 97(1): 137-150.

Sharma, A., Reddy, G. D., Kaushik, A., Shanker, K., Tiwari, R. K., Mukherjee, A., and Rao, C. V., 2007, Analgesic and Anti-inflammatory Activity of *Carissa carandas* L. Fruits and *Microstylis wallichii* Lindl Tubers, Natural Product Sciences, 13(1): 6-10.

Wrolstad, R. E.,Durst, R. W. and Lee, J., 2005, Tracking Color and Pigment Changes in Anthocyanin Products, Trends in Food Science and Technology*,* 16(9): 423-428.

# สภาวะที่เหมาะสมในการพาสเจอร์ไรส์พิวเร่เยื่อหุ้มเมล็ดและเนื้อฟักข้าวต่อปริมาณไลโคปีน และเบต้าแคโรทีน
# Optimization of Pasteurizer of Gas aril and Pulp puree on Lycopene and Beta-carotene content

ณัฎวลิณคล เศรษฐปราโมทย์[1*] นิตยา ภูงาม[1] และชณิชา จินาการ[2]
Settapramote, N.[1*], Pungam, N.[1] and Jinakarn, C.[2]

## Abstract

The objective of this research was to study the optimum conditions for pasteurization of gac aril and pulp puree on lycopene and beta-carotene content. Temperature (75-95 degrees Celsius) and time (0-10 minutes) of pasteurization were studied. The CCD (Central composite Design) experiment was designed, and the lycopene and beta-carotene content were analyzed. It showed that the optimum condition of pasteurization of gac aril and pulp puree were 90 degrees Celsius for 8 minutes 30 seconds and 92 degrees Celsius for 8 minutes 31 seconds, respectively. Furthermore, lycopene and beta-carotene content of gac aril and pulp puree were 489.28 mg/g, 73.95 µg/g and 23.94 mg/g, 8.66 µg/g, respectively.
**Keywords:** Gac purée, beta-carotene, lycopene, pasteurization

## บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการวิจัยครั้งนี้เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการพาสเจอร์ไรส์พิวเร่เยื่อหุ้มเมล็ดและเนื้อฟักข้าวต่อปริมาณไลโคปีน และเบต้าแคโรทีน โดยศึกษาอุณหภูมิและเวลาในการพาสเจอร์ไรส์ ระหว่าง 75-95 องศาเซลเซียส และ 0-10 นาที ออกแบบการทดลองแบบ CCD (Central composite Design) จากนั้นนำมาวิเคราะห์ปริมาณไลโคปีน และเบต้าแคโรทีน พบว่าสภาวะการพาสเจอไรส์ที่เหมาะสมของพิวเร่เยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวและเนื้อฟักข้าวคือ 90 องศาเซลเซียส นาน 8 นาที 30 วินาที และ 92 องศาเซลเซียสนาน 8 นาที 31 วินาที ตามลำดับ โดยพิวเร่เยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวและเนื้อฟักข้าวมีปริมาณไลโคปีน และเบต้าแคโรทีนเท่ากับ 489.28 µg/g, 73.95 µg/g และ 23.94 µg/g, 8.66 µg/g ตามลำดับ
**คำสำคัญ:** พิวเร่ฟักข้าว เบต้าแคโรทีน ไลโคทีน พาสเจอร์ไรส์

## คำนำ

ฟักข้าวเป็นพืชพื้นเมืองที่อุดมไปด้วยวิตามินและเกลือแร่ต่าง ๆ โดยเฉพาะสารพฤกษาเคมีที่สำคัญในฟักข้าว คือ ไลโคปีน และเบต้าแคโรทีน ซึ่งสารทั้งสองเป็นสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่น สามารถป้องกันเซลล์ถูกทำลายจากกระบวนการออกซิเดชั่นได้ จึงมีผลลดความเสี่ยงของการเกิดโรคต่าง ๆ อาทิเช่น โรคหลอดเลือดหัวใจ โรคมะเร็งต่อมลูกหมาก โรคมะเร็งปอด และโรคมะเร็งกระเพาะอาหาร (ณัฐณิชา, 2560) นอกจากนี้ฟักข้าวเป็นผลไม้ที่อุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการ เช่น กรดไขมัน วิตามินอี และสารประกอบฟีนอลิค (Kha และคณะ, 2013) สารประกอบฟีนอลิคเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compound) ประกอบด้วย สารประกอบออกานิคที่มีกลุ่มไฮดรอกซิลบนวงแหวนอะโรมาติก มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ทำให้ฟักข้าวเป็นพืชที่มีความน่าสนใจที่ควรนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ในเชิงพาณิชย์ต่อไป (Banchog และคณะ, 2010) ซึ่งสารสำคัญดังกล่าวจะพบมากในเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว และเนื้อฟักข้าว มีนักวิจัยหลายท่านสนใจนำฟักข้าวมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร และผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง อาทิเช่น เครื่องดื่มสารสกัดฟักข้าว ซอสปรุงรส ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารแคปซูล เซรั่มชะลอแก่ ครีมป้องกันรังสียูวี และโลชั่นให้ความชุ่มชื้นผิวต่าง ๆ แต่มักประสบปัญหาเรื่องวัตถุดิบของฟักข้าวเนื่องจากฟักข้าวออกผลตามฤดูกาล จึงต้องการเก็บฟักข้าวเพื่อผลิตผลิตภัณฑ์ให้ได้ตลอดทั้งปี มีนักวิจัยนำฟักข้าวมาทำเป็นผงแห้งโดยวิธีพ่นฝอย หรือ ทำการแช่แข็ง การอบแห้งด้วยลมร้อน การทำแห้งแบบสุญญากาศ และการทำแห้งแบบลูกกลิ้ง เป็นต้น แต่ละวิธีมีข้อดีและข้อจำกัดแตกต่างกัน (Henriquez และคณะ, 2014) ซึ่งวิธีที่กล่าวมาข้าต้นค่อนข้างใช้ต้นทุนในการผลิตสูง ดังนั้นผู้วิจัยจึงแนวคิดนำฟักข้าวมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์พิวเร่ ที่มีลักษณะ ข้น หนืด เนื้อเนียน ได้จากการแยกส่วนที่กินได้และการ

---

[1] สาขาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์, จังหวัดสุรินทร์
[2] สาขาอุตสาหกรรมเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา ลำปาง, ลำปาง
[1] Department of Agro-Industry, Faculty of Agriculture and technology, Rajamangala University of Technology Isan Surin Campus, Surin.
[2] Department of Agro-Industry. Faculty of Agricultural Science and Technology, Rajamangala University of Technology Lanna, Lampang

ปอกเปลือก แต่ต้องมิได้มีการนำน้ำของผลไม้ดังกล่าวออกไป จากนั้นผ่านกระบวนการพลาสเจอร์ไรส์ที่มีวิธีการไม่ซับซ้อน ต้นทุนในการผลิตต่ำ และยังสามารถเก็บไว้ได้นานที่อุณหภูมิห้อง แต่ขณะเดียวกันกระบวนการพลาสเจอร์ไรส์เป็นกระบวนการที่ใช้อุณหภูมิสูงและระยะเวลานาน ซึ่งอาจส่งผลต่อปริมาณไลโคปีน และเบต้าแคโรทีน ซึ่งเป็นสารพฤกษาเคมีที่สำคัญในฟักข้าว ดังนั้นวัตถุประสงค์ในการวิจัยเพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการพลาสเจอร์ไรส์ต่อปริมาณไลโคปีน และเบต้าแคโรทีนของผลิตภัณฑ์พิวเร่เยื่อหุ้มเมล็ดและเนื้อฟักข้าว

## อุปกรณ์และวิธีการ

1.วัตถุดิบ: เยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว และพิวเร่เนื้อฟักข้าว ผลฟักข้าวมาจากจังหวัดนครปฐม นำมาแยกเยื่อหุ้มเมล็ดและเนื้อฟักข้าว เก็บไว้ที่ -18 องศาเซลเซียส ก่อนนำมาศึกษาต่อไป

2. วิธีการทดลอง: ผลิตภัณฑ์พิวเร่เยื่อหุ้มเมล็ด และเนื้อฟักข้าวดังนี้

นำเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวและเนื้อฟักข้าว มาทำการปรับความเป็นกรด- ด่างด้วยกรดซิตริกเข้มข้นในช่วง 3.8- 4.1 โดยนำเยื่อหุ้มฟักข้าว และเนื้อฟักข้าว บรรจุลงในถุงพลาสติกชนิด Polypropylene เก็บรักษาในตู้แช่แข็ง อุณหภูมิ -21 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาทำการศึกษาระยะเวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการพาสเจอไรส์ ขั้นตอนการพาสเจอไรส์ นำเยื่อหุ้มฟักข้าว หรือเนื้อฟักข้าว ใส่ลงในหม้อสแตนเลท และนำไปพาสในหม้ออีกชั้นที่ใส่น้ำและต้มให้ร้อน ในระหว่างขั้นตอนการพาสเจอไรส์ใช้เทอโมมิเตอร์วัดอุณหภูมิ และจับเวลาด้วยนาฬิกาดิจิตอล (Wayne et al., 2002) และทำการบันทึกอุณหภูมิ และระยะเวลาที่เหมาะสม ปัจจัยที่ศึกษาคือระยะเวลาการพาสเจอไรส์ 0-10 นาที และอุณหภูมิในการพาสเจอไรส์ 75-95 องศาเซลเซียส จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้จากการทดลองไปตรวจสอบคุณภาพดังนี้ **(1) ปริมาณไลโคปีน และ ปริมาณเบต้าแคโรทีน** นำเยื่อหุ้มฟักข้าว และเนื้อฟักข้าวสับละเอียด หรือพิวเร่เยื่อหุ้มเมล็ดและเนื้อฟักข้าวที่ผ่านการพาสเจอไรส์ แล้วมาชั่งให้ได้น้ำหนัก 0.2 กรัม ใส่ในหลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร เติม Hexane: Acetone: Ethanol (HAE) อัตราส่วน 2:1:1 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปปั่นด้วยเครื่อง Homogenizer (รุ่น Polytron PT 2100) เติม HAE ปริมาตร 15 มิลลิลิตรต่อหลอด ปิดฝาแล้วตั้งทิ้งไว้ 15 นาที แล้วเติมน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร ปิดฝาตั้งทิ้งไว้อีก 15 นาที นำส่วนที่เป็นสารละลายด้านบน (Hexane) มาวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 444 และ 503 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer (รุ่น Genesys 10S UV-VIS) โดยใช้ Hexane เป็นตัวเปรียบเทียบ แล้วคำนวณหาปริมาณไลโคปีนและเบต้าแคโรทีนตามสูตร (Gordon, 2007) ดังนี้

**ปริมาณไลโคปีน** (μg/100 กรัม) = $(6.95\times \text{Abs.503}) - (1.59\times \text{Abs.444})\times 295.35\times \frac{V}{W} \times 100$

**ปริมาณเบต้าแคโรทีน** (μg /100 กรัม) = $(9.38\times \text{Abs.444}) - (6.70\times \text{Abs.503}) \times 295.35\times \frac{V}{W} \times 100$

**เมื่อ** Abs.503 คือ ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 503 นาโนเมตร; Abs.444 คือ ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 444 นาโนเมตร; V คือ ปริมาตรสารละลาย HAE (มิลลิลิตร) W คือ น้ำหนักเยื่อฟักข้าว หรือ เนื้อฟักข้าว (มิลลิกรัม)

**(2) การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อทั้งหมด** นำพิวเร่เยื่อหุ้มเมล็ดและเนื้อฟักข้าว มาวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด แล้วนำมานับจำนวนโคโลนีเชื้อจุลินทรีย์บนอาหารตัวอย่าง ในแต่ละความเจือจาง (30-300 โคโลนี) แล้วทำการบันทึกผล ทำการคำนวณจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เป็น Colony forming unit / gram (cfu/g) (AOAC, 2000)

3. การวิเคราะห์ข้อมูลทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยออกแบบการทดลองแบบ CCD (Central composite Design) โดยทำการวิเคราะห์ผลของปัจจัยต่อคุณภาพการเก็บรักษา 2 ตัวแปรอิสระ อุณหภูมิ และระยะเวลาในการพาสเจอไรซ์พิวเร่ ทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลอง ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Design-Expert Version 6.0.2 (Minneapolis, Minnesota)

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของพิวเร่เยื่อหุ้มเมล็ดและเนื้อฟักข้าวไม่พบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของพิวเร่เยื่อหุ้มเมล็ดและเนื้อฟักข้าว ดังแสดงในTable1 เนื่องจากในผลิตภัณฑ์พิวเร่ฟักข้าวมีนำกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ ซึ่งเป็นการใช้ความร้อน (Thermal processing) ในการฆ่าเชื้อเชิงพาณิชย์ที่ช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์จึงส่งผลให้ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในระหว่างกระบวนการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์พิวเร่ฟักข้าว (จริยา, 2561) จากการวิเคราะห์ปริมาณไลโคปีนและปริมาณเบต้าแคโรทีนของพิวเร่เยื่อหุ้มเมล็ดและเนื้อฟักข้าว พบว่ามีปริมาณระหว่าง 360.83 – 490.23 mg/g และ 50.55-73.44 μg/g และ14.56-25.01 mg/g และ 7.29-9.25 μg/g เมื่อนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์หาสมการถดถอยโดยใช้โปรแกรม Design Expert (Ver. 6.0.2) และได้สมการที่มีนัยสำคัญ ($p< 0.05$) และค่า Adjust $R^2$ มากกว่าหรือเท่ากับ 0.75 ได้ดังสมการดังนี้

ผลิตภัณฑ์พิวเร่เยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว

ปริมาณไลโคปีน = $-5286.07+133.17X_1 -34.08X_2 -0.78X_1^2 -2.75X_2^2+ 0.81X_1X_2$ R-Squared 0.89

ปริมาณเบต้าแคโรทีน = $9.93+1.63 X_1-20.56 X_2-0.01X_1^2+0.21 X_2^2+0.22X_1 X_2$ R-Squared 0.84

ผลิตภัณฑ์พิวเร่เนื้อฟักข้าว

ปริมาณไลโคปีน = $240.75-5.19 X_1-7.35 X_2+0.03 X_1^2+0.10 X_2^2+0.07X_1 X_2$ R-Squared 0.90

ปริมาณเบต้าแคโรทีน = $31.65-0.27X_1-1.83X_2+0.022X_1X_2$ R-Squared 0.75

เมื่อ $X_1$: อุณหภูมิ, $X_2$: เวลา

จากภาพที่ 1-A และ 2-A ปริมาณไลโคปีนของพิวเร่เยื่อหุ้มเมล็ดฟักและพิวเร่เนื้อฟักข้าวเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสอดคล้องกับภาพที่ 1-B และ 2-B ปริมาณเบต้าแคโรทีนของพิวเร่เยื่อหุ้มเมล็ดฟักและพิวเร่เนื้อฟักข้าว ซึ่งเมื่อพิจารณาปริมาณไลโคปีนและปริมาณเบต้าแคโรทีนของพิวเร่เยื่อหุ้มเมล็ดและเนื้อฟักข้าว จะพบว่าเมื่อใช้อุณหภูมิสูงและระยะเวลานานในการพาสเจอไรส์มีแนวโน้มส่งผลให้ปริมาณไลโคปีนและปริมาณเบต้าแคโรทีนมีค่าสูงขึ้น สอดคล้องการวิจัยของ Praychoen และคณะ (2013) ศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อปริมาณพฤกษเคมีและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของน้ำฟักข้าว แสดงให้เห็นว่าปริมาณของปริมาณไลโคปีนและเบต้าแคโรทีนของน้ำฟักข้าวมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น และ Novelinaa และคณะ (2016) ได้ศึกษาปริมาณไลโคปีนในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเจลลี่จากน้ำมะเขือเทศ พบว่าอุณหภูมิในการแปรรูปผลิตภัณฑ์สูงขึ้นส่งผลให้ปริมาณไลโคปีนสูงขึ้นเช่นกัน รวมทั้งมีการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่ากระบวนการแปรรูปด้วยความร้อนส่งให้ต่อสารไลโคปีน ทำให้สารไลโคปีนที่เป็นไอโซเมอร์แบบทรานส์เปลี่ยนเป็นไอโซเมอร์แบบซิสซึ่งมี bioavailability มากกว่า (Agarwal, 2001) และในการทดลองครั้งนี้เป็นกระบวนการพาสเจอไรส์แบบระบบเปิด โดยในระหว่างการให้ความร้อนปริมาณน้ำที่อยู่ภายในผลิตภัณฑ์จะระเหยออกไปด้วยจึงส่งผลให้ปริมาณไลโคปีนและเบต้าแคโรทีนมีความเข้มขึ้นมากขึ้น (วัฒนา, 2554) รวมทั้งมีการปรับกรดด้วยกรดซิตริกจึงมีผลต่อปริมาณไลโคปีนเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับการศึกษาการเติมน้ำมะนาวในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเจลลี่จากน้ำมะเขือเทศที่แสดงให้เห็นว่าเมื่อเติมน้ำมะนาวลงในผลิตภัณฑ์ทำให้ปริมาณไลโคปีนเพิ่มขึ้นสองเท่า (Novelinaa และคณะ, 2016) นอกจากนี้มีการศึกษาของวัฒนา (2554) การเสียสภาพของสารไลโคปีนที่กล่าวว่าสารไลโคปีนจะเกิดการเสียสภาพและมีปริมาณลดลงเมื่อใช้อุณหภูมิ 100 และ120 องศาเซลเซียส แต่อย่างไรก็ตามมีงานวิจัยที่ขัดแย้งกับผลการทดลอง โดยวัฒนา (2554) แสดงให้เห็นว่าเมื่อการพาสเจอไรส์ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และระยะเวลานาน 20 นาที ในผลิตภัณฑ์น้ำมะเขือเทศส่งผลให้ปริมาณไลโคปีนมีค่าลดลง รวมทั้ง Engin และคณะ (2013) และ หยาดฝน และพูนพัฒน์ (2557) ได้ทำการศึกษาปริมาณไลโคปีนและเบต้าแคโรทีนในฟักข้าว พบว่าเมื่ออุณหภูมิในการแปรรูปฟักข้าวสูงขึ้นส่งผลให้ปริมาณไลโคปีนและเบต้าแคโรทีนลดลง เมื่อทำการวิเคราะห์หาระยะเวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการพาสเจอไรส์พิวเร่เยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว คือ 90 องศาเซลเซียส นาน 8 นาที 30 วินาที แสดงดัง Figure 1-C และ ระยะเวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการพาสเจอไรส์พิวเร่เนื้อฟักข้าว คือ 92 องศาเซลเซียสนาน 8 นาที 31 วินาที แสดงดังภาพที่ 2-C จากนั้นนำค่าการทำนายคุณภาพทางกายภาพและคุณภาพทางเคมีของเนื้อฟักข้าวที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Design Expert มาทำการหาเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนกับข้อมูลผลการทดลองที่วิเคราะห์ได้ พบว่าปริมาณไลโคปีน และปริมาณเบต้าแคโรทีน ค่าเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนไม่เกินร้อยละ 10

## สรุปผล

ฟักข้าวเป็นพืชพื้นบ้านที่มีสารอาหารและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพปริมาณสูง โดยเฉพาะในเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวที่เป็นมีสีแดง และเนื้อฟักข้าวที่มีสีเหลือง ซึ่งมีปริมาณสารไลโคปีน และเบต้าแคโรทีนสูง สารดังกล่าวมีฤทธิ์ในการต้านการเกิดออกซิเดชั่น เมื่อศึกษาสภาวะการพาสเจอไรส์ที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์พิวเร่เยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว คืออุณหภูมิและเวลาเท่ากับ 90 องศาเซลเซียส นาน 8 นาที 30 วินาที และสภาวะการพาสเจอไรส์ที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์พิวเร่เนื้อฟักข้าว คือ 92 องศาเซลเซียสนาน 8 นาที 31 วินาที ซึ่งในสภาวะการพาสเจอไรส์นี้จะทำให้มีปริมาณไลโคปีน และเบต้าแคโรทีนสูงที่สุด

## เอกสารอ้างอิง

จริยา สุขจันทรา, 2561, การยืดอายุการเก็บรักษาน้ำบูดูผสมโดยวิธีการพาสเจอร์ไรส์. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร, มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา. ยะลา. หน้า 909-916.

ณัฐณิชา ทวีแสง, 2560, การศึกษาปริมาณผงฟักข้าวและวิธีการอบแห้งที่เหมาะสมในการผลิตปลาแผ่น,วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 25(3): 412-423.

วัฒนา วิริวุฒิกร, 2554, ผลของอุณหภูมิที่มีต่อปริมาณวิตามินซีและไลโคปีนในผลิตภัณฑ์น้ำมะเขือเทศผสมน้ำส้มเขียวหวาน,

รายงานการวิจัย คณะเทคโนโลยีการเกษตร, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี, กรุงเทพมหานคร, 79 หน้า.

หยาดฝน ทะนงการกิจ และพูนพัฒน์ พูนน้อย, 2557, การผลิตสีผสมอาหารธรรมชาติจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว, รายงานการวิจัย คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่, 42 หน้า.

Agarwal, A., Shen, H., Rao, A.V., 2001, Lycopene Content of Tomato Products: Its Stability, Bioavailability and In Vivo Antioxidant Properties, Journal of Medicinal Food, 4: 9-15.

Association official Analytical chemists (AOAC), 1990, Official Methods of Anlysis of the Association Official Analytical Chemists. 14thed, Woshington, D.C., 1141 p.

Biswas, J. Sahoo, M.K. Chatli., 2011, A simple UV-Vis Spectrophotometric Method for Determination of β-carotene Content in Raw Carrot, Sweet potato and Supplemented Chicken Meat Nuggets, LWT-Food Science and Technology, 44(8): 1809-1813.

Engin D., Yahya, T. and Yusuf, Y., 2013, Degradation kinetics of Lycopene, β -Carotene and Ascorbic acid in Tomatoes During Hot Air Drying, LWT-Food Science and Technology, 50: 172-176.

Gordon Anthon and Diane M.Barrett., 2007, Standardization of a Rapid Spectrophometric Method for Lycopene Analysis, Acta Hort, 758: 111-127.

Henríquez, C., Cordova, A., Almonacid, S. and Saavedra, J., 2014, Kinetic Modeling of Phenolic Compound Degradation During Drum-drying of Apple Peel By-Products, Journal of Food Engineering, 143: 146-153.

Kha, T.C., Nguyen, M.H., Roach, P.D., Parks, S.E and Stathopoulos, C., 2013, Gac Fruit: Nutrient and Phytochemical Composition, and Options for Processing, Food Reviews International, 29(1): 92-106.

Novelinaa, N. Nazira, and M. Reza Adrian, 2016, The Improvement Lycopene Availability and Antioxidant Activitiesof Tomato (Lycopersicum esculentum, Mill) Jelly Drink, Agriculture and Agricultural Science Procedia, 9: 328–334.

Praychoen, P., Praychoen, P., and Phongtongpasuk, S., 2013, Effect of Thermal Treatment on Phytochemical Content and Antioxidant Activity of Gac Juice, Burapha Science Journal, 18: 90-96.

Wayne W. Fish, P. Perkins-Veazie, and J. K. Collins., 2002, A Quantitative Assay for Lycopene That Utilizes Reduced Volumes of Organic Solvents, Journal of Food Composition and Analysis, 15(3): 309-317.

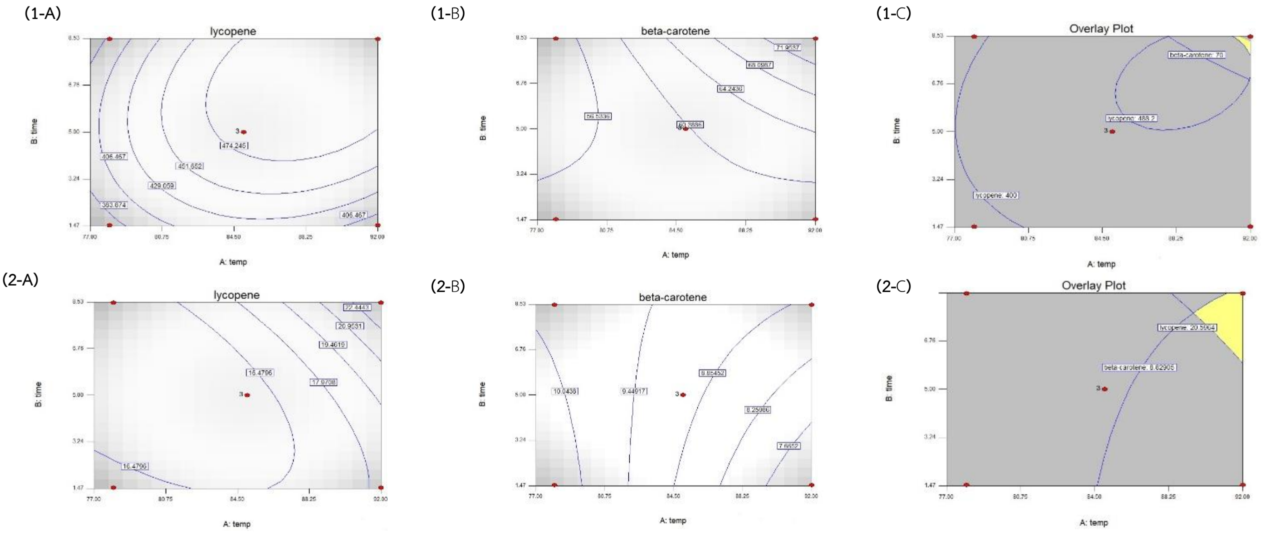



**Figure 1** Response surface analysis on the effect of (1-A) lycopene, (1-B) beta-carotene and (1-C) the optimum condition pasteurization of gac aril puree. And response surface analysis on the effect of (2-A) lycopene, (2-B) beta-carotene and (2-C) the optimum condition pasteurization of gac pulp puree.

การประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยพืชเขตร้อนและกึ่งร้อน ครั้งที่ 13
วันที่ 13 พฤษภาคม 2564
ณ มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย กรุงเทพมหานคร (ออนไลน์)

13th National Conference on
Tropical and Sub-Tropical Crops

ศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชเขตร้อนและกึ่งร้อน คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี