ผลของ Folic Acid ต่อการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระของผักบุ้งจีน (*Ipomoea aquatica* Forsk.)

Effect of Folic Acid on Growth and Antioxidants of Kangkong (*Ipomoea aquatica* Forsk.)

ภาณุมาศ ฤทธิไชย*, เยาวพา จิระเกียรติกุล และชานนท์ มณีรัตน์

ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

นภาพร ยังวิเศษ

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

Panumart Rithichai*, Yaowapha Jirakiattikul and Chanon Maneerat

Department of Agricultural Technology, Faculty of Science and Technology, Thammasat University,
Rangsit Centre, Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 12120

Napaporn Youngvises

Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Thammasat University,
Rangsit Centre, Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 12120

บทคัดย่อ

Folic acid (FA) จัดเป็นสารกระตุ้นชีวภาพ (biotic elicitor) ที่ใช้ส่งเสริมการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในพืช โดยการใช้สารกระตุ้นนอกจากชนิดของสารกระตุ้นจะมีความสำคัญแล้ว ยังขึ้นอยู่กับความเข้มข้น และระยะการเจริญเติบโตของพืชอีกด้วย การใช้ FA ในพืชผักชนิดต่าง ๆ เพื่อกระตุ้นให้สร้างสารต้านอนุมูลอิสระมีการศึกษามาบ้างแล้ว แต่ยังไม่มีการศึกษาในผักบุ้งจีน (*Ipomoea aquatica* Forsk.) ซึ่งจัดเป็นผักเศรษฐกิจในประเทศไทย ดังนั้นในการทดลองนี้จึงศึกษาผลของการให้ FA ความเข้มข้นต่างๆ ในระยะเมล็ดและต้นกล้า ต่อการงอก การเจริญเติบโต และสารต้านอนุมูลอิสระของผักบุ้งจีน โดย priming เมล็ดด้วย FA ความเข้มข้น 0 25 50 100 200 และ 400 μM เปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่ผ่านการ priming เป็นสิ่งทดลองควบคุม พบว่า ความงอกในแปลง ระยะเวลาเฉลี่ยในการงอก ความสูงต้น น้ำหนักแห้งต้น ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ไม่แตกต่างกันทางสถิติในทุกสิ่งทดลอง ส่วนการพ่น FA ความเข้มข้น 25 50 100 200 และ 400 μM ให้กับผักบุ้งจีน ที่อายุ 14 วันหลังหยอดเมล็ด เปรียบเทียบกับสิ่งทดลองควบคุมที่ไม่มีการพ่น เก็บเกี่ยวเมื่ออายุ 20 วัน หลังหยอดเมล็ด พบว่าการไม่พ่นและพ่น FA ทุกความเข้มข้น

***ผู้รับผิดชอบบทความ :** panumartss@hotmail.com
DOI 10.14456/tstj.2017.5

ผักบุ้งจีนมีความสูงต้น น้ำหนักแห้งต้น และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ไม่แตกต่างกันทางสถิติ การพ่น FA ความเข้มข้น 50, 100, 200 และ 400 μM สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในผักบุ้งจีนมีปริมาณสูงและไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีแนวโน้มลดลงเมื่อพ่น FA ความเข้มข้น 200 และ 400 μM

คำสำคัญ : *Ipomoea aquatic*; folic acid; สารประกอบฟีนอลิก; ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH

Abstract

Folic acid (FA) is a biotic elicitor being used for promoting the antioxidant production in plants. The elicitor application depends on not only its type but also concentration and growing period of plant. Several studies in vegetables have applied FA as elicitor, but there was no report in kangkong (*Ipomoea aquatica* Forsk.) which is the economical vegetable in Thailand. Therefore, the effect of FA application in seed and seedling at various concentrations on germination, growth and antioxidants were examined in kangkong. The seeds were subjected to priming by soaking with 0, 25, 50, 100, 200 and 400 μM FA compared with non-primed seeds as control. The results indicated that field emergence, mean time to emergence, shoot height, shoot dry weight, total phenolic content and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging capacity were not significantly different among the treatments. The 25, 50, 100, 200 and 400 μM of FA were sprayed at 14 days after sowing compared with non-sprayed as control. The plants were harvested at 20 days after sowing. Shoot height, shoot dry weight and DPPH radical scavenging capacity were not significantly different under non-sprayed and FA treatments. The 50, 100, 200 and 400 μM FA foliar applications showed high contents of total phenolic with non-significant difference. However, total phenolic contents trended to decrease in 200 and 400 μM FA treatments.

Keywords: *Ipomoea aquatic*; folic acid; phenolic compound; DPPH radical scavenging capacity

1. บทนำ

การใช้สารกระตุ้น (elicitor) เพื่อส่งเสริมการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในผัก เป็นแนวทางหนึ่งในการพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตผักเพื่อเพิ่มคุณค่าทางอาหาร ผู้บริโภคผักนอกจากจะได้รับสารอาหารและเยื่อใยแล้ว ในผักยังมีสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำให้ผักเหล่านั้นมีสมบัติเป็นอาหารเพื่อสุขภาพ ซึ่งปริมาณการสะสมสารต้านอนุมูลอิสระในพืชแต่ละชนิดมักมีหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้อง การใช้สารกระตุ้นเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญโดยเฉพาะอย่างยิ่งความสามารถในการกระตุ้นให้พืชมีการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น [1] folic acid (FA) เป็นสารกระตุ้นชีวภาพ (biotic elicitor) จัดเป็นสารอาหารอยู่ในกลุ่มของวิตามินบี 9 ที่ละลายได้ในน้ำ ซึ่งพืชสามารถสังเคราะห์ได้เองตามธรรมชาติแต่มีปริมาณน้อยมาก โดย FA มีบทบาทต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาของพืชมากมาย เช่น ควบคุมการสังเคราะห์และซ่อมแซมดีเอ็นเอ การแบ่งเซลล์ กระตุ้นการงอกของเมล็ด [2] ส่งเสริมการสังเคราะห์

สารประกอบฟีนอลิก คลอโรฟิลล์ กรดอะมิโน รวมทั้งส่งเสริมการเจริญเติบโตและความแข็งแรงของพืช [3-6] การใช้สารกระตุ้นเพื่อเพิ่มปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในพืชแต่ละชนิด นอกจากจะขึ้นอยู่กับชนิดของสารกระตุ้นที่พืชชนิดนั้น ๆ ตอบสนองแล้วยังขึ้นอยู่กับความเข้มข้น ระยะการเจริญเติบโต วิธีการใช้ จำนวนครั้งในการใช้สาร รวมทั้งระยะเวลาการใช้สารก่อนเก็บเกี่ยว

การใช้สารกระตุ้นในระยะเมล็ด ส่วนใหญ่ใช้ในการ priming เมล็ด โดยแช่เมล็ดในน้ำหรือสารละลายที่มีค่าศักย์ของน้ำต่ำ เพื่อให้เมล็ดดูดน้ำและมีกระบวนการงอกในระยะเริ่มต้น และก่อนที่รากจะงอกออกมานอกเมล็ด จะนำเมล็ดไปปลูกหรือลดความชื้นให้เท่ากับความชื้นเริ่มต้น เมล็ดเหล่านี้เมื่อนำไปเพาะจะงอกได้เร็วขึ้น อีกทั้งยังมีสารต้านอนุมูลอิสระในต้นกล้าเพิ่มมากขึ้น [4,7] การ priming เมล็ดด้วย FA ได้มีรายงานในพืชอื่น ๆ บ้างแล้ว เช่น ถั่วลันเตา [4] ทานตะวัน [8] ส่วนการพ่น FA ทางใบในระยะการเจริญเติบโตต่าง ๆ ก็เป็นวิธีการหนึ่งในการให้สารกระตุ้น ที่สามารถกระตุ้นให้พืชสร้างสารต้านอนุมูลอิสระได้เพิ่มขึ้น เช่น ถั่วลันเตา ข้าวบาร์เล่ย์ [3] ข้าวสาลี [6]

การใช้สารกระตุ้นเพื่อทำให้พืชผักมีสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้นนั้น มีการศึกษาไปบ้างแล้วในพืชหลายชนิด แต่ยังไม่มีการศึกษาในผักบุ้งจีน ซึ่งจัดเป็นผักเศรษฐกิจในประเทศไทย อีกทั้งการผลิตผักในรูปแบบนี้ยังทำให้ผักมีคุณค่ามากขึ้น สามารถพัฒนาเป็นอาหารเพื่อสุขภาพได้ ส่งผลให้ผู้บริโภคสามารถลดอัตราการเกิดโรคที่ไม่ได้เกิดจากเชื้อโรค เช่น โรคมะเร็ง เนื้องอก เบาหวาน ดังนั้นการทดลองนี้จึงมีการศึกษาการให้ FA ความเข้มข้นต่าง ๆ ในระยะเมล็ดด้วยการ priming รวมทั้งมีการพ่น FA ทางใบในผักบุ้งจีน โดยมีวัตถุประสงค์ ดังนี้

1.1 เพื่อศึกษาผลของการ priming ด้วย FA ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อความงอก การเจริญเติบโต และสารต้านอนุมูลอิสระ

1.2 เพื่อศึกษาการพ่น FA ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตและปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การทดลองที่ 1 ผลของการ priming ด้วย FA ต่อความงอก การเจริญเติบโต และสารต้านอนุมูลอิสระ

นำเมล็ดผักบุ้งจีนพันธุ์ยอดไผ่ 9 จากบริษัท อีสท์ เวสท์ ซีด จำกัด มา priming โดยแช่ในสารละลาย FA ความเข้มข้น 0, 25, 50, 100, 200 และ 400 μM นาน 180 นาที อัตราส่วนเมล็ดต่อสารละลาย 1:10 โดยปริมาตร เก็บในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง (25 °C) เมื่อครบกำหนดนำเมล็ดมาล้างน้ำไหล 5 นาที จากนั้นนำไปผึ่งที่อุณหภูมิห้อง 48 ชั่วโมง หรือจนกว่าเมล็ดมีความชื้นเท่ากับความชื้นเริ่มต้น ซึ่งน้ำหนักเมล็ดก่อนแช่สารละลายและหลังจากผึ่งให้แห้งแล้วจะมีค่าเท่ากันหรือต่ำกว่าเล็กน้อย จากนั้นนำเมล็ดที่ผ่านการ priming และไม่ผ่านการ priming (สิ่งทดลองควบคุม) มาปลูกในกระถางพลาสติกขนาด 15x70x15 cm (กว้างxยาวxสูง) ที่บรรจุด้วยดินผสมและปุ๋ยคอก อัตราส่วน 2:1 โดยปริมาตร ปลูก 2 แถว/กระถาง ระยะปลูก 10x10 cm หยอด 5 เมล็ด/หลุม จำนวน 50 เมล็ด/กระถาง เมื่ออายุ 10 วันหลังหยอดเมล็ด ถอนแยกเหลือหลุมละ 2 ต้น วางกระถางในโรงเรือนทดลอง และให้น้ำทุกวัน ให้ปุ๋ยรองพื้นสูตร 16-16-16 อัตรา 5 g/กระถาง และให้ปุ๋ยยูเรีย 30 g/น้ำ 20 l ในอัตรา 1 l/กระถาง เมื่ออายุ 7 วันหลังหยอดเมล็ด วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 7 สิ่งทดลอง แต่ละสิ่งทดลองมี 3 ซ้ำ

การบันทึกข้อมูล

2.1.1 การงอก

(1) การงอก บันทึกความงอก เมื่ออายุ 10 วันหลังหยอดเมล็ด

(2) ระยะเวลาเฉลี่ยในการงอก (mean time to emergence, MTE) บันทึกความงอกเมื่อเห็นใบเลี้ยงโผล่ขึ้นมาเหนือดิน โดยบันทึกข้อมูลทุกวันจนถึงอายุ 10 วัน หลังหยอดเมล็ด จากนั้นนำมาคำนวณค่า MTE [9] จากสูตร MTE = $\sum(T_i \times N_i)/\sum N_i$ เมื่อ T_i คือจำนวนวันหลังเพาะเมล็ด และ N_i คือจำนวนต้นกล้าที่งอกในแต่ละวันหลังเพาะเมล็ด

2.1.2 การเจริญเติบโต เก็บเกี่ยวผักบุ้งจีนเมื่ออายุ 20 วัน หลังหยอดเมล็ด บันทึกความสูงต้นและน้ำหนักแห้งต้น โดยอบที่อุณหภูมิ 50 °C นาน 72 ชั่วโมง โดยเฉลี่ยจาก 10 ต้น/ซ้ำ

2.1.3 สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH นำผักบุ้งจีนที่ได้จากการอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 °C นาน 72 ชั่วโมง มาเตรียมเป็นสารสกัด โดยบดเป็นผงละเอียด จำนวน 5 g สกัดด้วย 95 % ethanol ในอัตราส่วนตัวอย่างและ ethanol 1:3 โดยปริมาตร จากนั้นนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 นำสารสกัดที่ได้มาระเหยตัวทำละลายออก โดยใช้เครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 50 °C จากนั้นนำมาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ดังนี้

(1) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic compound) ดัดแปลงจากวิธีของ Miliauskas และคณะ [10] โดยนำสารสกัดมาละลายด้วยตัวทำละลาย 99.9 % absolute ethanol โดยใช้อัตราส่วนสารสกัดและ absolute ethanol 2 mg/ml จากนั้นนำไป sonicate เป็นเวลา 5 นาที ปิเปตสารละลายปริมาตร 20 µl ใส่ในหลุม 96-well plate เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu's reagent ที่เจือจาง 10 เท่า ปริมาตร 100 µl และเติมสารละลาย 7.5 % Na_2CO_3 (w/v) ปริมาตร 80 µl ทำซ้ำ 4 หลุม micro plate จากนั้นบ่มไว้ในที่มืด 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง (25 °C) เมื่อครบกำหนดเวลานำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 nm ด้วยเครื่อง Microplate Reader รุ่น PowerWave XS ยี่ห้อ Biotek คำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน gallic acid

(2) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ดัดแปลงจากวิธีของ Yamazaki และคณะ (1994) อ้างโดย Jaiarree [11] นำสารสกัดมาละลายด้วยตัวทำละลาย 99.9 % absolute ethanol โดยใช้อัตราส่วนสารสกัดและ absolute ethanol ปริมาตร 2 mg/ml จากนั้นนำไป sonicate เป็นเวลา 5 นาที ปิเปตสารละลายตัวอย่างปริมาตร 100 µl ใส่ลงในหลุม 96-well plate ปริมาตร 100 µl และเติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 100 µl ทำซ้ำ 3 หลุม micro plate บ่มไว้ในที่มืดนาน 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง 25 °C แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 520 nm ด้วยเครื่อง Microplate Reader รุ่น PowerWave XS ยี่ห้อ Biotek คำนวณหา % การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH (% inhibition) จากสูตร % inhibition = [(Abs control- Abs sample)/Abs control] x 100 เมื่อ Abs control คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ control และ Abs sample คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ sample

2.2 การทดลองที่ 2 ผลของการพ่น FA ต่อการเจริญเติบโต และสารต้านอนุมูลอิสระ

การทดลองที่ 1 เมล็ดที่ไม่ผ่านและผ่านการ priming ด้วย FA ความเข้มข้นต่าง ๆ มีความงอกในแปลง ระยะเวลาเฉลี่ยในการงอก ความสูงต้น น้ำหนักแห้งต้น ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้นในการทดลองนี้ จึงนำเมล็ดผักบุ้งจีนที่ไม่ผ่านการ priming มาปลูกในกระถางพลาสติกเช่นเดียวกับการ

ทดลองที่ 1 เมื่อผักบุ้งจีนอายุ 14 วัน หลังหยอดเมล็ด พ่นด้วย FA ความเข้มข้น 25, 50, 100, 200 และ 400 μM เปรียบเทียบกับสิ่งทดลองควบคุมที่ไม่มีการพ่น โดยการพ่น FA ใช้ปริมาตร 20 ml/กระถาง และเติมสารจับใบประมาณ 1-2 หยด พ่นบนใบในช่วงเย็นที่ไม่มีแสง วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 6 สิ่งทดลอง แต่ละสิ่งทดลองมี 3 ซ้ำ

การบันทึกข้อมูล

2.2.1 การเจริญเติบโต เก็บเกี่ยวผักบุ้งจีนเมื่ออายุ 20 วัน หลังหยอดเมล็ด และบันทึกข้อมูลเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

2.2.2 สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH นำตัวอย่างแห้งมาเตรียมสารสกัด วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH โดยใช้วิธีเดียวกับการทดลองที่ 1

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) ตามวิธี CRD เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ด้วยโปรแกรม SAS

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 การทดลองที่ 1 ผลของการ priming ด้วย FA ต่อความงอก การเจริญเติบโต และสารต้านอนุมูลอิสระ

3.1.1 การงอก เมล็ดผักบุ้งจีนที่ไม่ผ่านและผ่านการ priming ใน FA ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่ามีความงอกในแปลง และระยะเวลาเฉลี่ยในการงอกไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 1) แสดงว่าการ priming เมล็ดผักบุ้งจีนใน FA ไม่สามารถกระตุ้นการงอกของเมล็ดได้ ทั้งนี้การตอบสนองต่อ FA ในการกระตุ้นการงอกขึ้นกับชนิดพืช ซึ่งการทดลองนี้ให้ผลแตกต่างจากการ priming เมล็ดถั่วลันเตาใน FA ความเข้มข้น 50 μM นาน 48 ชั่วโมง มีความงอกเพิ่มขึ้น [4] หรือการ priming เมล็ดทานตะวันใน FA ความเข้มข้น 15 mg/l นาน 8 ชั่วโมง เมื่อนำไปทดสอบความงอกในห้องปฏิบัติการสามารถเพิ่มความงอก และลดระยะเวลาเฉลี่ยในการงอกได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ [8]

3.1.2 การเจริญเติบโต ผักบุ้งจีนเมื่อปลูกจากเมล็ดที่ไม่ผ่านและผ่านการ priming ด้วย FA ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า มีความสูง และน้ำหนักแห้งต้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 1) ทั้งนี้เนื่องจากการ priming ด้วย FA ไม่มีผลต่อการเพิ่มความงอกและความเร็วในการงอกในแปลง จึงทำให้ผักบุ้งจีนมีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันทางสถิติในทุกสิ่งทดลอง อย่างไรก็ตามการตอบสนองต่อ FA ในการเจริญเติบโตของต้นพืชที่ได้จากเมล็ดที่ผ่านการ priming ก่อนปลูกนั้นขึ้นอยู่กับชนิดพืช และความเข้มข้นของสารกระตุ้น ดังเช่นรายงานของ Burguieres และคณะ [4] ที่ priming เมล็ดถั่วลันเตาใน FA ความเข้มข้น 50 μM นาน 48 ชั่วโมง พบว่ามีน้ำหนักสดต้น ความสูงต้น และความยาวรากเพิ่มขึ้น แต่การเพิ่มความเข้มข้น FA เป็น 200 และ 500 μM กลับมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นกล้าถั่วลันเตา ส่วน El-Saidy และคณะ [8] priming เมล็ดทานตะวันใน FA ความเข้มข้น 15 mg/l นาน 8 ชั่วโมง พบว่าน้ำหนักสดและแห้งของต้นกล้าเพิ่มขึ้น อีกทั้งในระยะเก็บเกี่ยวยังให้ผลผลิตเมล็ดสูงและให้น้ำมันทานตะวันที่มีคุณภาพดี

3.1.3 สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ผักบุ้งจีนที่ปลูกจากเมล็ดที่ไม่ผ่านและผ่านการ priming ด้วย FA ความเข้มข้นต่าง ๆ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 2) แสดงว่าการ priming เมล็ดด้วย FA ทุกความเข้มข้นไม่สามารถกระตุ้นการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ

ได้เพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในผักบุ้งจีนไม่ตอบสนองต่อ FA ด้วยวิธีการ priming ซึ่งแตกต่างจากการรายงานของ Burguieres และคณะ [4] ที่พบว่าการ priming เมล็ดถั่วลันเตาใน FA ความเข้มข้น 50 μM นาน 48 ชั่วโมง ต้นกล้าถั่วลันเตา มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 1 ความงอกในแปลง ระยะเวลาเฉลี่ยในการงอก ความสูงต้น และน้ำหนักแห้งต้น เมื่อปลูกด้วยเมล็ดผักบุ้งจีนที่ไม่ผ่านและผ่านการ priming ด้วย FA ความเข้มข้นต่าง ๆ

FA (μM)	ความงอกในแปลง (%)	ระยะเวลาเฉลี่ยในการงอก (วัน)	ความสูงต้น (cm)	น้ำหนักแห้งต้น (mg/plant)
control	56.00±6.93[1]	4.92±0.23	24.43±0.51	534.7±57.4
0	58.67±5.03	5.02±0.25	24.42±1.97	535.7±64.2
25	66.67±8.08	5.06±0.70	24.93±0.91	429.0±117.2
50	68.00±12.17	4.73±0.16	25.30±0.46	408.3±87.5
100	64.67±11.02	4.84±0.27	26.30±0.62	613.7±187.7
200	70.00±5.29	4.65±0.20	25.27±0.78	479.0±33.0
400	71.33±5.77	4.70±0.19	25.47±0.40	516.0±42.7
F-test	ns	ns	ns	ns
C.V. (%)	12.59	6.91	3.78	19.47

[1]ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน; ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

3.2 การทดลองที่ 2 ผลของการพ่น FA ต่อการเจริญเติบโต และสารต้านอนุมูลอิสระ

3.2.1 การเจริญเติบโต เมื่อพ่นต้นผักบุ้งจีนด้วย FA ความเข้มข้นต่าง ๆ เปรียบเทียบกับต้นที่ไม่มีการพ่น พบว่า มีความสูง และน้ำหนักแห้งต้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 3) แสดงว่าการพ่น FA ทุกความเข้มข้นไม่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักบุ้งจีนได้ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะความเข้มข้น อายุพืชที่พ่น รวมทั้งจำนวนครั้งที่พ่น FA ในการทดลองนี้อาจยังไม่เหมาะสมต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตของผักบุ้งจีน ซึ่งการตอบสนองต่อ FA ในพืชแต่ละชนิดจะแตกต่างกันไป ดังเช่นการทดลองของ Emam และคณะ [5] ที่พ่น FA ความเข้มข้น 20 μM ให้กับ *Linum usitatissimum* เมื่ออายุ 45 60 และ 95 วันหลังหยอดเมล็ด พบว่า *L. usitatissimum* ออกดอกเร็ว มีผลผลิตเมล็ดเพิ่มขึ้น เมล็ดมีน้ำมันสูงขึ้น รวมทั้งให้ผลผลิตเส้นใยเพิ่มขึ้น การพ่น FA ความเข้มข้น 25 mg/l ทั้งในถั่วลันเตา ที่อายุ 5 วัน หลังดอกบาน และในข้าวบาร์เลย์ที่อายุ 3 วัน หลังดอกบาน พบว่าพืชทั้งสองชนิดมีผลผลิตเมล็ดและคุณภาพเมล็ดสูงขึ้น [3] นอกจากนี้การพ่น FA ความเข้มข้น 50 ppm ร่วมกับวิตามินบี 12 ความเข้มข้น 50 ppm และวิตามินซี ความเข้มข้น 500 ppm ในข้าวสาลี เมื่ออายุ 30 และ 60 วันหลังปลูก ส่งผลให้ความสูงต้น ความยาวรวง และผลผลิตเมล็ดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ [6]

ตารางที่ 2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของผักบุ้งจีน เมื่อปลูกด้วยเมล็ดผักบุ้งจีนที่ไม่ผ่านและผ่านการ priming ด้วย FA ความเข้มข้นต่าง ๆ

FA (μM)	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (mg GAE/g dry weight)	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH (% inhibition)
control	2.31±0.26[1]	89.67±4.00
0	1.61±0.63	89.54±6.59
25	2.30±0.51	95.82±2.16
50	2.34±0.89	96.02±0.73
100	2.39±0.07	91.54±5.60
200	2.32±0.40	92.22±7.02
400	2.59±0.52	97.20±0.97
F-test	ns	ns
C.V. (%)	23.24	4.91

[1]ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน; ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

3.2.2 สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เมื่อพ่น FA ความเข้มข้น 50, 100, 200 และ 400 μM พบว่าสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในผักบุ้งจีนมีปริมาณสูงกว่าสิ่งทดลองอื่น ๆ และมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีแนวโน้มลดลงเมื่อพ่น FA ความเข้มข้นสูง (200 และ 400 μM) ส่วนการพ่น FA ความเข้มข้นต่ำ (25 μM) สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีปริมาณลดลงและมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติกับสิ่งทดลองควบคุมที่ไม่มีการพ่น (ตารางที่ 3) จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการพ่น FA ที่ความเข้มข้นเหมาะสมสามารถกระตุ้นให้ผักบุ้งจีนสร้างสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้นได้ อย่างไรก็ตาม การตอบสนองต่อความเข้มข้นของ FA ในการกระตุ้นการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในพืชแต่ละชนิดแตกต่างกันไป เช่น การพ่น FA ความเข้มข้น 20 μM ให้กับ *L. usitatissimum* พบว่าเมล็ดมีสารประกอบฟีนอลิกสูงขึ้น [5] หรือการพ่น FA ความเข้มข้น 25 mg/l ในถั่วลันเตา พบว่าใบมีปริมาณคลอโรฟิลเพิ่มมากขึ้น ในเมล็ดมี glutamate, glycine และ methionine เพิ่มขึ้น [3] นอกจากนี้ในการพ่น FA ความเข้มข้น 50 ppm เพียงอย่างเดียว หรือใช้ FA ความเข้มข้น 50 ppm ร่วมกับวิตามินบี 12 ความเข้มข้น 500 ppm และวิตามินซี ความเข้มข้น 50 ppm พบว่าในใบข้าวสาลีมีคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์เพิ่มมากขึ้น [6]

3.2.3 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าผักบุ้งจีนที่ได้รับการพ่นด้วย FA ความเข้มข้นต่าง ๆ เปรียบเทียบกับต้นที่ไม่มีการพ่น มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 3) ทั้ง ๆ ที่พบว่าเมื่อพ่น FA ความเข้มข้น 50 และ 100 μM มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้น ซึ่งโดยทั่วไปสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH มีความสัมพันธ์กันในทางบวก [12, 13] แต่ในการทดลองนี้สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดให้ผลเป็นไปในทิศทางแตกต่างกันกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH เนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระมีหลายชนิด แต่ละชนิดจะมีความสามารถในการเข้าทำลายกับ

อนุมูลอิสระได้แตกต่างกัน อาจเป็นไปได้ว่าสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในผักบุ้งจีนไม่มีประสิทธิภาพในการเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ DPPH จึงทำให้ค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เป็นไปในทิศทางที่แตกต่างกันกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ซึ่งกรณีดังกล่าวสามารถพบได้ในพืชชนิดอื่น ๆ ได้แก่ *Herissantia crispa* L. [14] *Glycyrrhiza glabra* L., *Chelidonium majus* L. และ *Tanacetum vulgare* L. [15] เป็นต้น

ตารางที่ 3 ความสูงต้น น้ำหนักแห้งต้น ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของผักบุ้งจีน เมื่อพ่นด้วย FA ความเข้มข้นต่าง ๆ เปรียบเทียบกับการไม่พ่น

FA (μM)	ความสูงต้น (cm)	น้ำหนักแห้งต้น (mg/plant)	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (mg GAE/g dry weight)	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH (% inhibition)
control	20.70±1.39[1]	532.33±117.41	1.98±0.58[b]	95.31±2.40
25	21.40±1.01	502.00±47.69	1.74±0.67[b]	93.26±2.30
50	20.87±1.41	538.33±51.96	4.11±0.41[a]	96.47±2.41
100	20.90±2.33	525.00±95.28	4.30±0.41[a]	94.10±3.52
200	20.67±0.65	601.67±101.20	3.00±0.82[ab]	96.47±1.87
400	18.90±0.56	503.67±76.29	2.77±1.26[ab]	92.78±2.29
F-test	ns	ns	*	ns
C.V. (%)	6.61	16.02	28.53	2.66

[1]ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานตามแนวตั้งที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT; * = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p \leq 0.05$; ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

4. สรุป

4.1 เมล็ดผักบุ้งจีนที่ไม่ผ่านและผ่านการ priming ใน FA ความเข้มข้น 0, 25, 50, 100, 200 และ 400 μM พบว่ามีความงอกในแปลง ความเร็วในการงอก ความสูงต้น น้ำหนักแห้งต้น ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

4.2 การไม่พ่นและพ่น FA ความเข้มข้น 25, 50, 100, 200 และ 400 μM ผักบุ้งจีนมีการเจริญเติบโตและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

4.3 การพ่น FA ความเข้มข้น 50, 100, 200 และ 400 μM ผักบุ้งจีนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าสิ่งทดลองอื่น ๆ แต่การพ่น FA ความเข้มข้นสูง (200 และ 400 μM) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีแนวโน้มลดลง

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและการพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ ของสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กองทุนวิจัย มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ประจำปี

งบประมาณ 2555 และได้รับการสนับสนุนการวิจัยบางส่วนจากศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

6. รายการอ้างอิง

[1] วราภรณ์ ภูตะลุน, 2551, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสมุนไพร : แนวทางการศึกษาเพื่อผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา, สำนักพิมพ์ขอนแก่นพิมพ์พัฒนา, ขอนแก่น, 120 น.

[2] Esfandiari, E., Enayati, W., Sabaghnia, N. and Janmohammadi, M., 2012, Effects of folic acid on seed germination properties and seedling growth of wheat, Albanian J. Agri. Sci. 11: 2218-2020.

[3] Stakhova, L.N., Stakhov, L.F. and Ladygin, V.G., 2000, Effects of exogenous folic acid on the yield and amino acid content of the seed of *Pisum sativum* L. and *Hordeum vulgare* L., Appl. Biochem. Micro. 36: 85-89.

[4] Burguieres, E., McCue, P., Kwon, Y. and Shetty, K., 2007, Effect of vitamin C and folic acid on seed vigour response and phenolic-linked antioxidant activity, Biores. Technol. 98: 1393-1404.

[5] Emam, M.M., El-Sweify, A.H. and Helal, N.M., 2011, Efficiencies of some vitamins in improving yield and quality of flax plant, Afr. J. Agric. Res. 6: 4362-4369.

[6] Mohamed, N.E.M., 2013, Behaviour of wheat cv. Masr-1 plants to foliar application of some vitamins, Nat. Sci. 11: 1-5.

[7] Bruggink, G.T., 2005, Flower seed priming, pregermination, pelleting and coating, pp. 249-262, In McDonald, M.B. and Kwong. F.Y. (Eds.), Flower Seeds Biology and Technology, CABI Publishing, Wallingford.

[8] El-Saidy, A.E.A., Farouk, S. and El-Ghany, H.M.A., 2011, Evaluation of different seed priming on seedling growth, yield and quality components in two sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars, Trends Appl. Sci. Res. 6: 977-991.

[9] Geneve, R.L., 2005, Vigour testing in flower seed, pp. 311-332, In McDonald, M.B. and Kwong. F.Y. (Eds.), Flower Seeds Biology and Technology, CABI Publishing, Wallingford.

[10] Miliauskas, G., Venskutonis, P.R. and van Beek, T.A., 2004, Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts, Food Chem. 85: 231-237.

[11] Jaiarree, N., 2010, Biological Activities of Dioscorea birmanica Prain and Burkill Extract and Its Active Ingredients, Dissertation in Medical Sciences, Faculty of Medicine, Thammasat University, Pathum Thani.

[12] Dudonné, S., Vitrac, X., Coutière, P., Woillez, M. and Mérillon, J.M., 2009, Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD and ORAC assay, J. Agri. Food Chem. 57: 1768-1774.

[13] Fidrianny, I., Windyaswari, A.S. and Wirastisna, K.R., 2013, DPPH scavenging activity of various extracts of sweet potatoes leaves with varying tubers colors, Int. J. Res. Pharm. Sci. 3: 133-145.

[14] Oliveira, A.M.F., Pinheiro, L.S., Pereira, C.K.S., Matias, W.N., Gomes, R.A., Chaves, O.S., Souza, M.D.F.V., Almeida, D. and de Assis, T.S., 2012, Total phenolic content and antioxidant activity of some Malvaceae family species, Antioxidants. 1: 33-43.

[15] Wojdylo, A., Oszmianski, J. and Czemerys, R., 2007, Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs, Food Chem. 105: 940-949.