



การขยายพันธุ์ในหลอดทดลองและปลูกเสริมของเปราะทุกระต่าย

วิทยานิพนธ์
ของ
รัตติยา ทุ่งจันทร์

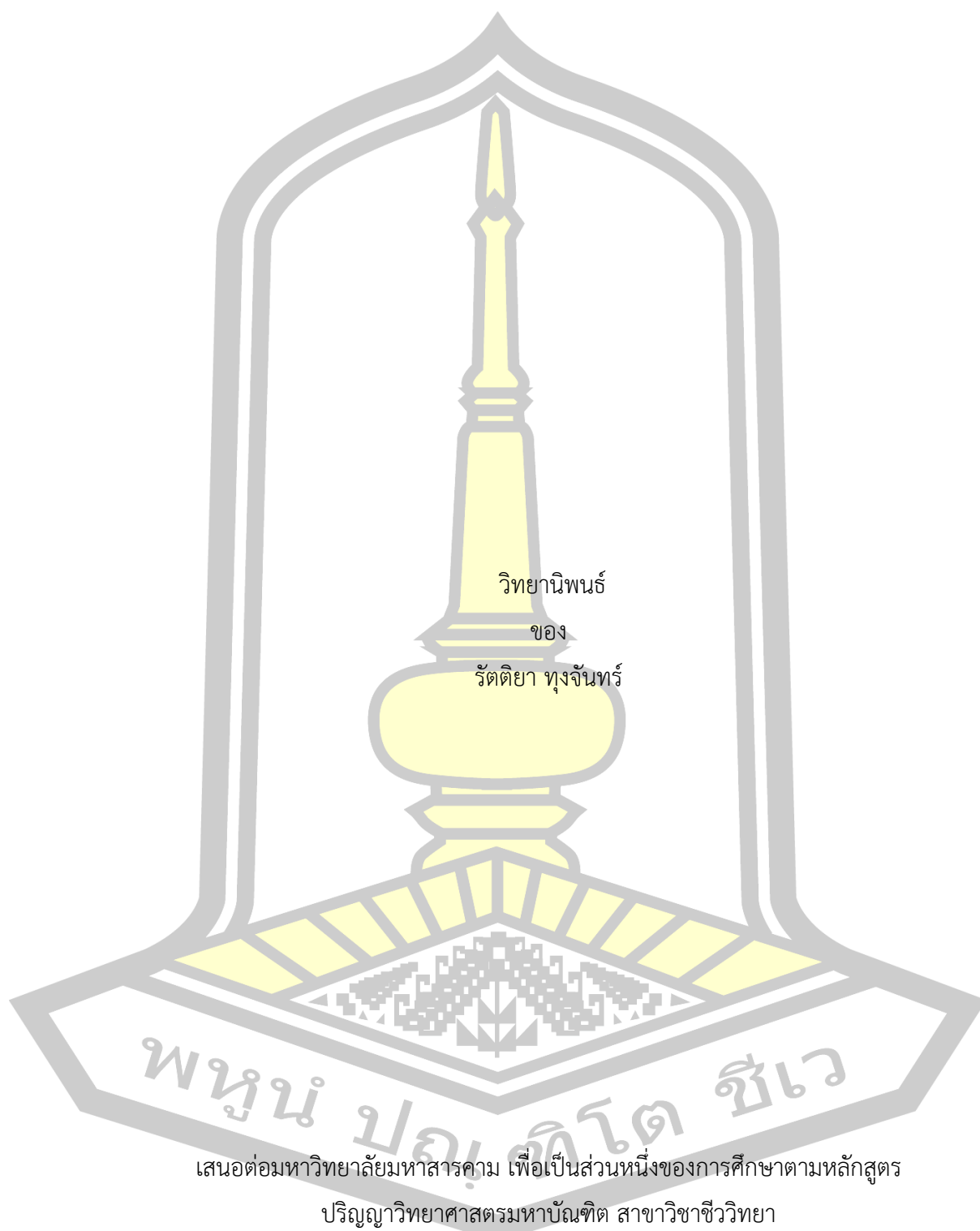
เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีพวิทยา

พฤษภาคม 2567

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

การขยายพันธุ์ในหลอดทดลองและพักษเคมีของเปราะหุกระต่าย



เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

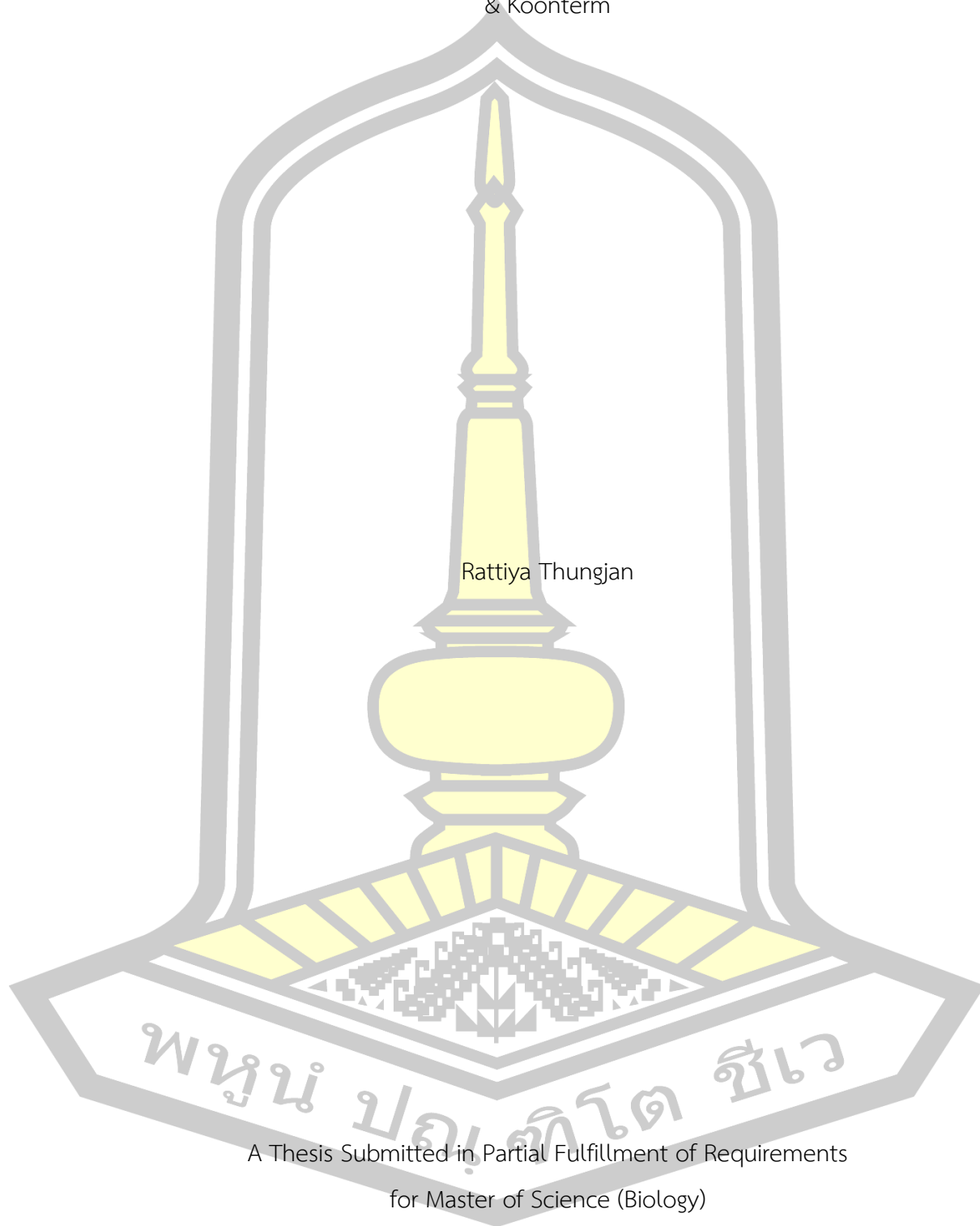
พฤษภาคม 2567

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

In Vitro Propagation and Phytochemical Profiles of *Kaempferia sisaketensis* Picheans.

& Koonterm

Rattiya Thungjan



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of Requirements
for Master of Science (Biology)

May 2024

Copyright of Mahasarakham University



คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณาวิทยานิพนธ์ของนางสาวรัตติยา พงษ์จันทร์
แล้วเห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาชีววิทยา ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

ประธานกรรมการ

(รศ. ดร. หนูเดือน เมืองแสน)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รศ. ดร. ปิยะพร แสนสุข)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รศ. ดร. สุรพล แสนสุข)

กรรมการ

(รศ. ดร. วรณันต์ นาคบรรพต)

กรรมการ

(รศ. ดร. สุธีรา มณีฉาย)

มหาวิทยาลัยขอนแก่นให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

(ศ. ดร. ไพโรจน์ ประมวล)

คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(รศ. ดร. กริสน์ ชัยมูล)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

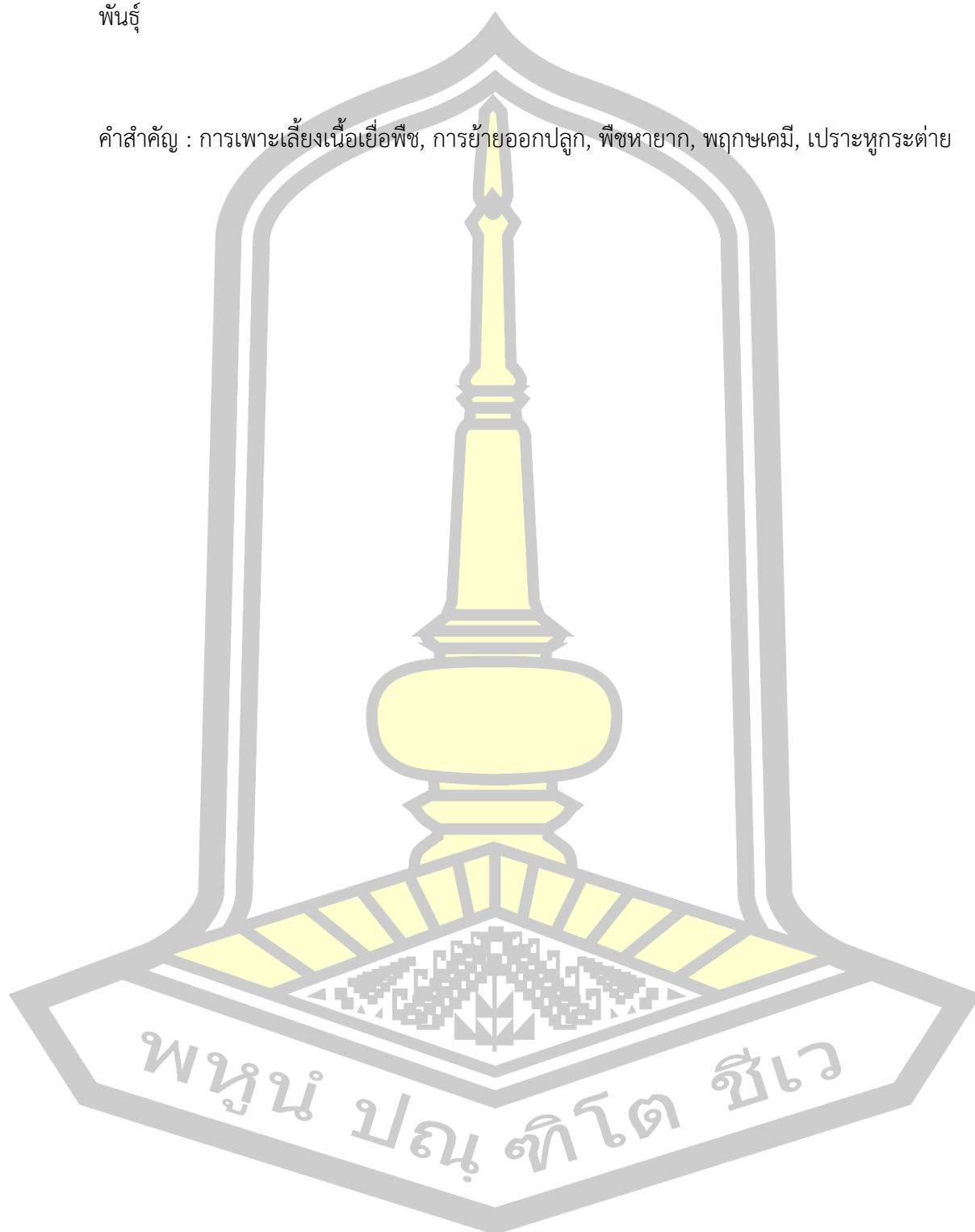
ชื่อเรื่อง	การขยายพันธุ์ในหลอดทดลองและปลูกเสกษเคมีของเปราะหุกระต่าย		
ผู้วิจัย	รัตติยา ทุ่งจันทร์		
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. ปิยะพร แสนสุข		
	รองศาสตราจารย์ ดร. สุรพล แสนสุข		
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต	สาขาวิชา	ชีววิทยา
มหาวิทยาลัย	มหาวิทยาลัยมหาสารคาม	ปีที่พิมพ์	2567

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาวิธีการขยายพันธุ์เปราะหุกระต่าย (*Kaempferia sisaketensis* Pichans. & Koonterm) ซึ่งมีสถานภาพเป็นพืชหายาก พืชถิ่นเดียวที่พบในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช นำต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายขนาด 1 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige และ Skoog (MS) ที่เติมฮอร์โมนไซโทไคนิน (BA, Kinetin และ TDZ) และฮอร์โมนออกซิน (NAA) ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ผลการศึกษาพบว่าต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/ลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 5.30 ยอด/ชิ้นส่วนพืช เมื่อเพาะเลี้ยงต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายในอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากเฉลี่ยมากที่สุด 14.50 ราก/ชิ้นส่วนพืช ต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายที่สมบูรณ์เมื่อย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำในวัสดุปลูกที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าเมื่อย้ายปลูกในดินทรายมีอัตราการรอดชีวิตสูงสุด 100% ศึกษาสารพฤกษเคมีของต้นเปราะหุกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ พืชที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ 1 ปี และพืชที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง พบว่าใบเปราะหุกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด 30.53 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงสุด 24.00 มิลลิกรัมสมมูลรูทีนต่อกรัมน้ำหนักแห้ง วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay, FRAP assay และ ABTS assay พบว่าใบที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH 95.08 เปอร์เซ็นต์ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 62.64 มิลลิกรัมสมมูลเพอร์รัสซัลเฟตต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS 99.92 เปอร์เซ็นต์ วิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) พบกรดฟีนอลิก 4 ชนิด ได้แก่ กรดแกลลิก กรดวานิลลิก กรดคูมาริก และกรดซินนามิก และพบสารประกอบฟลาโวนอยด์ 2 ชนิด ได้แก่ รูทีน และ แคมพ์เฟอร์อล การศึกษานี้เป็นรายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและปลูกเสกษเคมีในเปราะหุกระต่าย

เป็นครั้งแรก จากการศึกษาี้สามารถใช้ในการขยายพันธุ์และอนุรักษ์พันธุ์เปราะหุกระต่ายไม่ให้สูญพันธุ์

คำสำคัญ : การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช, การย้ายออกปลูก, พืชหายาก, พฤษภเคมิ, เปราะหุกระต่าย



TITLE	<i>In Vitro</i> Propagation and Phytochemical Profiles of <i>Kaempferia sisaketensis</i> Picheans. & Koonterm		
AUTHOR	Rattiya Thungjan		
ADVISORS	Associate Professor Piyaporn Saensouk , Ph.D. Associate Professor Surapon Saensouk , Ph.D.		
DEGREE	Master of Science	MAJOR	Biology
UNIVERSITY	Maharakham University	YEAR	2024

ABSTRACT

This research studied a propagation protocol of *Kaempferia sisaketensis* Picheans. & Koonterm which is a rare and endemic plant of Northeast of Thailand using plant tissue culture techniques. Microshoot (1 cm long) of *K. sisaketensis* were cultured on Murashige and Skoog (MS) supplemented with various concentrations of cytokinin (BA, Kinetin, and TDZ) and auxin (NAA) for eight weeks. The results show that culturing the microshoot of *K. sisaketensis* on MS medium supplemented with 1 mg/l Kinetin produced the highest number of shoots, which is 5.30 shoots/explant. For root induction, the results show that the highest number of roots were 14.50 roots/explant when microshoots of *K. sisaketensis* was cultured on MS medium augmented with 2 mg/l Kinetin and 1 mg/l NAA. After transferring complete plantlets of *K. sisaketensis* to pots containing different types of plant materials under greenhouse conditions for eight weeks, the best survival rate was 100% when transplanted in sand. Phytochemical profile were investigated by total phenolic contents (TPC), total flavonoid contents (TFC) and antioxidant activity of conventionally propagated plants, *in vitro* derived plantlets for one year and micropropagated plants of *K. sisaketensis*. The results showed that the leaves of *K. sisaketensis* from conventionally propagated plants presenting the highest values of TPC and TFC were 30.53 mg GAE/g DW and 24.00 mg RE/g DW, respectively. Antioxidant activity (DPPH assay, FRAP assay and ABTS assay) were measured. Leaves of *K. sisaketensis* from natural conditions showed the best inhibition rate of 95.08% by DPPH assay, 62.24 mg FeSO₄/g DW by FRAP assay and

99.92% by ABTS assay. The type and amount of phenolic acid and flavonoid compounds were analyzed using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Four phenolic acid (gallic acid, vanillic acid, *p*-coumaric and cinnamic acid) and two flavonoid contents (rutin and kaempferol) were found. This research is the first report on tissue culture and phytochemical profile of *K. sisaketensis*. This study can be used to propagate and *in vitro* conservation of *K. sisaketensis* from extinction.

Keyword : Plant tissue culture, Transplantation, Rare plant, Phytochemical profile, *Kaempferia sisaketensis* Pichens. & Koonterm



กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยความกรุณา และความช่วยเหลืออย่างสูงยิ่งจาก รองศาสตราจารย์ ดร. ปิยะพร แสนสุข อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก และรองศาสตราจารย์ ดร.สุรพล แสนสุข อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษา ช่วยแก้ไขข้อบกพร่องในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้เสร็จสมบูรณ์ ตลอดจนให้ความช่วยเหลือ ดูแลในด้านต่าง ๆ ตลอดมา ผู้วิจัยขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. หนูเดือน เมืองแสน ประธานกรรมการสอบ ที่กรุณาให้ข้อเสนอแนะเพิ่มเติมและแนวคิดในการแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. วรนันต์ นาคบรรบต และรองศาสตราจารย์ ดร. สุธิรา มณีฉาย ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือ แก้ไข เสนอแนะด้านต่าง ๆ ในการแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคามทุกท่าน ที่กรุณาให้ความรู้แก่ผู้วิจัย

ขอขอบพระคุณทุนอุดหนุนการวิจัยสำหรับนิสิตบัณฑิตศึกษา งบประมาณเงินรายได้ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2566 ที่ให้ทุนสนับสนุนการทำวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบพระคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย

รัตติยา พุ่งจันทร์

พูน ปณ จิตโต ชีเว

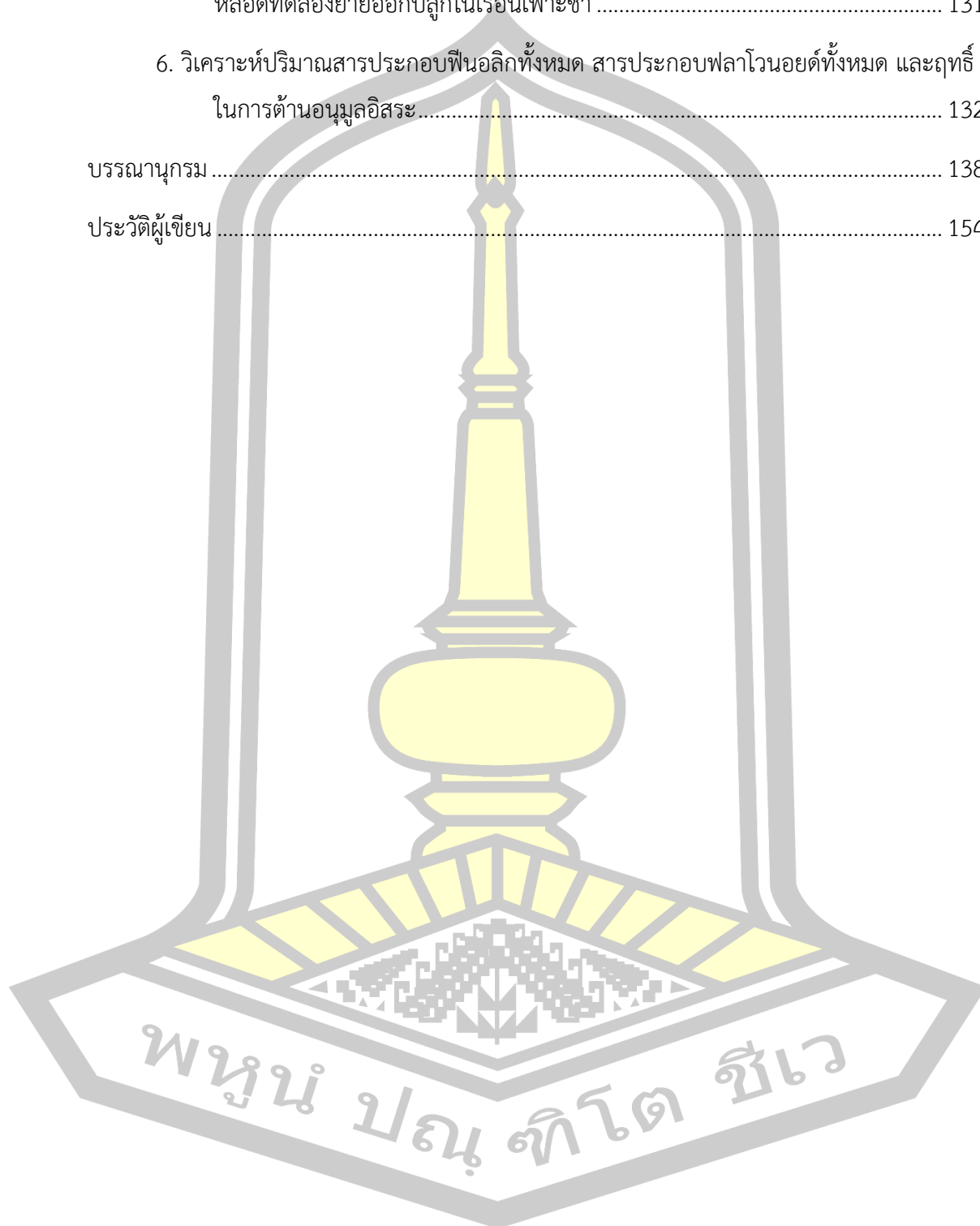
สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ฉ
กิตติกรรมประกาศ.....	ช
สารบัญ.....	ณ
สารบัญตาราง.....	ฐ
สารบัญภาพ.....	ฒ
บทที่ 1.....	1
บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	3
1.4 สถานที่ทำการวิจัย.....	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2.....	4
ปริทัศน์เอกสารข้อมูล.....	4
2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของเปราะหูกะต่าย.....	4
2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
2.3 การย้ายพืชที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกในสภาพธรรมชาติ.....	24
2.4 คลอโรฟิลล์.....	25
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการย้ายพืชที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกในพืชสกุลเปราะ.....	25
2.6 การสกัดสารสำคัญจากพืช.....	53

2.7 สารพฤษเคมี	56
2.8 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	56
2.9 สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds).....	57
2.10 สารประกอบฟลาโวนอยด์ (flavonoid compounds).....	59
2.11 สารอนุมูลอิสระและสารต้านออกซิเดชัน	61
2.12 วิธีวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ	66
2.13 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี	68
1. โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography, HPLC)	68
2.14 งานวิจัยที่เกี่ยวกับการศึกษาสารพฤษเคมีของพืชสกุลเปราะ	68
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	67
3.1 พืชที่ใช้ในการทำวิจัย.....	67
3.2 อุปกรณ์และสารเคมี.....	67
3.3 วิธีดำเนินการวิจัย	71
3.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ.....	83
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	84
4.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเปราะหูกะต่าย	84
1. ผลของความเข้มข้น BA ร่วมกับ NAA ต่อการชักนำต้นอ่อนเปราะหูกะต่ายให้เกิดยอดและราก.....	84
2. ผลของความเข้มข้น Kinetin ร่วมกับ NAA ต่อการชักนำต้นอ่อนเปราะหูกะต่ายให้เกิดยอดและราก.....	88
3. ผลของความเข้มข้น BA และ TDZ ร่วมกับ NAA ต่อการชักนำต้นอ่อนเปราะหูกะต่ายให้เกิดยอดและราก	92
4. ผลของความเข้มข้น Kinetin และ TDZ ร่วมกับ NAA ต่อการชักนำต้นอ่อนเปราะหูกะต่ายให้เกิดยอดและราก	96

5. ผลของวัสดุปลูกที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเปราะหูกะต่ายที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใน หลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ	99
4.2 การศึกษาสารพิษเคมีของเปราะหูกะต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ในหลอด ทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำเป็นเวลา 1 ปีและในหลอดทดลอง.....	102
1. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด.....	102
2. ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด.....	102
3. วิเคราะห์ฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay	105
4. วิเคราะห์ฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay.....	105
5. วิเคราะห์ฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay.....	106
6. ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณ สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดกับฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH assay, FRAP assay และ ABTS assay ของของเปราะหูกะต่ายที่ เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ เป็นเวลา 1 ปีและในหลอดทดลอง.....	108
7. การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ด้วย เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC).....	109
บทที่ 5 สรุป และอภิปรายผลการวิจัย.....	127
5.1 สรุปและอภิปรายผลการวิจัย	127
1. ผลของความเข้มข้น BA ร่วมกับ NAA ต่อการชักนำต้นอ่อนเปราะหูกะต่ายให้เกิดยอดและ ราก.....	127
2. ผลของความเข้มข้น Kinetin ร่วมกับ NAA ต่อการชักนำต้นอ่อนเปราะหูกะต่ายให้เกิด ยอดและราก.....	128
3. ผลของความเข้มข้น BA และ TDZ ร่วมกับ NAA ต่อการชักนำต้นอ่อนเปราะหูกะต่ายให้ เกิดยอดและราก	129
4. ผลของความเข้มข้น Kinetin และ TDZ ร่วมกับ NAA ต่อการชักนำต้นอ่อนเปราะหูกะ ต่ายให้เกิดยอดและราก	130

5. ผลของวัสดุปลูกที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใน หลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ	131
6. วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ ในการต้านอนุมูลอิสระ	132
บรรณานุกรม	138
ประวัติผู้เขียน	154



สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ตารางสรุปงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสกุลเปราะ	14
ตารางที่ 2 ตารางสรุปงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการย้ายพืชสกุลเปราะที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูก.....	28
ตารางที่ 3 ตารางสรุปงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาสารพฤษเคมีของพืชสกุลเปราะ	75
ตารางที่ 4 ผลของ BA ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ต่อการชักนำต้นอ่อนเปราะหูก กระต่ายให้เกิดยอดและราก เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์.....	85
ตารางที่ 5 ผลของ Kinetin ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ต่อการชักนำต้นอ่อน เปราะหูกกระต่ายให้เกิดยอดและราก เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์	89
ตารางที่ 6 ผลของ BA และ TDZ ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ต่อการชักนำต้นอ่อน เปราะหูกกระต่ายให้เกิดยอดและราก เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์	93
ตารางที่ 7 ผลของ Kinetin และ TDZ ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ต่อการชักนำต้น อ่อนเปราะหูกกระต่ายให้เกิดยอดและราก เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์.....	97
ตารางที่ 8 ผลของวัสดุปลูกต่อเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวน รากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ยของเปราะหูกกระต่ายที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดทดลองย้ายออก ปลูกในเรือนเพาะชำ เป็นเวลา 8 สัปดาห์.....	100
ตารางที่ 9 ผลของวัสดุปลูกต่อจำนวนรากสะสมอาหารเฉลี่ย ความยาวรากสะสมอาหารเฉลี่ย เส้นผ่านศูนย์กลางรากสะสมอาหารเฉลี่ย จำนวนใบเฉลี่ย และปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบเฉลี่ยของเปราะ หูกกระต่ายที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ เป็นเวลา 8 สัปดาห์..	100
ตารางที่ 10 วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของเปราะ หูกกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำเป็นเวลา 1 ปีและในหลอดทดลอง	104
ตารางที่ 11 วิเคราะห์ฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของเปราะหูกกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพ ธรรมชาติ ในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำเป็นเวลา 1 ปีและในหลอดทดลองด้วยวิธี DPPH assay, FRAP assay และ ABTS assay	107

ตารางที่ 12 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดกับฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH assay, FRAP assay และ ABTS assay ของเปราะหูกะต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำเป็นเวลา 1 ปีและในหลอดทดลอง..... 109

ตารางที่ 13 ชนิดและปริมาณ gallic acid, protocatechuic acid, p-hydroxybenzoic acid, chlorogenic acid และ vanillic acid จากชิ้นส่วนต่าง ๆ ของเปราะหูกะต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ เป็นเวลา 1 ปี และในหลอดทดลอง..... 118

ตารางที่ 14 ชนิดและปริมาณ caffeic acid, syringic acid, p-coumaric acid, ferulic acid และ cinnamic acid จากชิ้นส่วนต่าง ๆ ของเปราะหูกะต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ เป็นเวลา 1 ปี และในหลอดทดลอง..... 119

ตารางที่ 15 ชนิดและปริมาณฟลาโวนอยด์จากชิ้นส่วนต่าง ๆ ของเปราะหูกะต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ เป็นเวลา 1 ปี และในหลอดทดลอง..... 126



สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของ Trolox	63
ภาพที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของ gallic acid.....	63
ภาพที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของวิตามินเอ (retinol).....	64
ภาพที่ 4 โครงสร้างทางเคมีของวิตามินซี (ascorbic acid).....	65
ภาพที่ 5 ปฏิกริยาระหว่างอนุมูลอิสระดีพีพีเอชทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ	66
ภาพที่ 6 แสดงปฏิกิริยาอนุมูลอิสระเอปียีไอส์กับสารต้านอนุมูลอิสระ.....	67
ภาพที่ 7 เปราะหูกะต่าย (Kaempferia sisaketensis Picheans. & Koonterm).....	67
ภาพที่ 8 ต้นอ่อนเปราะหูกะต่ายเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์.....	86
ภาพที่ 9 รากเปราะหูกะต่ายเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์.....	87
ภาพที่ 10 ต้นอ่อนเปราะหูกะต่ายเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์.....	90
ภาพที่ 11 รากเปราะหูกะต่ายเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์.....	91
ภาพที่ 12 ต้นอ่อนเปราะหูกะต่ายเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ TDZ ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์.....	94
ภาพที่ 13 รากเปราะหูกะต่ายเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ TDZ ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์.....	95
ภาพที่ 14 ต้นอ่อนเปราะหูกะต่ายเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin และ TDZ ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์.....	98
ภาพที่ 15 ต้นอ่อนเปราะหูกะต่ายเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin และ TDZ ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์.....	99

ภาพที่ 16 ต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดทดลองย้ายออกปลูกใน เรือนเพาะชำ เป็นเวลา 8 สัปดาห์	101
ภาพที่ 17 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานแสดงค่าเวลาคงค้าง (ค่า retention time, RT) ของ ปริมาณกรดฟีนอลิกแต่ละชนิดของเปราะหุกระต่าย ที่ความยาวคลื่น 280 และ 320 นาโนเมตร (1) gallic acid (2) protocatechuic acid (3) p-hydroxybenzoic acid (4) chlorogenic acid (5) vanillic acid (6) caffeic acid (7) syringic acid (8) p-coumaric acid (9) ferulic acid (10) cinnamic acid	111
ภาพที่ 18 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานแสดงค่าเวลาคงค้าง (ค่า retention time, RT) ของ ปริมาณฟลาโวนอยด์แต่ละชนิดของเปราะหุกระต่าย ที่ความยาวคลื่น 370 นาโนเมตร (1) catechin (2) rutin (3) quercetin (4) kaempferol.....	111
ภาพที่ 19 โครมาโทแกรมแสดงค่าเวลาคงค้างของเปราะหุกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ	115
ภาพที่ 20 โครมาโทแกรมแสดงค่าเวลาคงค้างของเปราะหุกระต่ายในหลอดทดลองย้ายออกปลูกใน เรือนเพาะชำเป็นเวลา 1 ปี.....	116
ภาพที่ 21 โครมาโทแกรมแสดงค่าเวลาคงค้างของเปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่ เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช.....	117
ภาพที่ 22 โครมาโทแกรมแสดงค่าเวลาคงค้างของเปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	118
ภาพที่ 23 โครมาโทแกรมแสดงค่าเวลาคงค้างของเปราะหุกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ	122
ภาพที่ 24 โครมาโทแกรมแสดงค่าเวลาคงค้างของเปราะหุกระต่ายในหลอดทดลองย้ายออกปลูกใน เรือนเพาะชำเป็นเวลา 1 ปี.....	123
ภาพที่ 25 โครมาโทแกรมแสดงค่าเวลาคงค้างของเปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่ เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช.....	124
ภาพที่ 26 โครมาโทแกรมแสดงค่าเวลาคงค้างของเปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	125

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

พืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae) เป็นพืชล้มลุกอายุหลายปีจัดอยู่ในกลุ่มพืชใบเลี้ยงเดี่ยว (monocotyledonous plant) มีลำต้นใต้ดินหรือเหง้า เจริญเติบโตได้ดีทั้งในเขตร้อนและเขตอบอุ่นที่มีความชื้นสูง มีศูนย์กลางการกระจายพันธุ์อยู่ในทวีปเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีเซลล์ที่มีน้ำมันหอมระเหยกระจายอยู่ทั่วไปในทุกส่วนของพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งในส่วนของเหง้าหรือไรโซมจะมีมากกว่าส่วนอื่น จึงทำให้พืชวงศ์ขิงมีกลิ่นเฉพาะซึ่งเป็นลักษณะเด่นที่สามารถชี้ว่าเป็นพืชวงศ์นี้ (สุรพล แสนสุข และคณะ, 2560) ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีความหลากหลายของพืชวงศ์ขิงสูง ปัจจุบันพบว่ามีพืชในวงศ์ขิงประมาณ 29 สกุล 470 ชนิด จากทั่วโลกมีประมาณ 57 สกุล 1960 ชนิด (Boonma et al., 2023) ปัจจุบันมีการใช้ประโยชน์จากพืชวงศ์ขิง โดยนำมาใช้ในการประกอบอาหารเป็นเครื่องเทศ พืชที่นำมาใช้เป็นเครื่องเทศ เช่น ขิง (*Zingiber officinale*) ข่า (*Alpinia galanga*) กระชาย (*Boesenbergia rotunda*) ขมิ้น (*Curcuma longa*) พืชที่ใช้เป็นสมุนไพร เช่น เปราะหอม (*Kaempferia galanga*) ใช้เป็นยาขับเสมหะ ขับปัสสาวะ ขับลม รักษาโรคกระเพาะอาหาร โรคหืด และโรคความดันโลหิตสูง (Rahman et al., 2004) กระชายดำ (*Kaempferia parviflora*) มีสรรพคุณในการกระตุ้นประสาท บำรุงประสาทและบำรุงสายตา สร้างความสมดุลของความดันโลหิต แก้โรคบิด ปวดท้อง สำหรับสตรี ทำให้ผิวพรรณมีน้ำมีนวล แก้อาการตกขาว เป็นต้น (Chong et al., 2012) ขมิ้นชัน (*C. longa*) มีสรรพคุณที่หลากหลาย ได้แก่ มีฤทธิ์ด้านการเกิดแผล สมานแผลในกระเพาะอาหาร ฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา ต้านอนุมูลอิสระ มีฤทธิ์ด้านการอักเสบ บรรเทาอาการปวดท้อง ท้องอืด จุกเสียดแน่น ขับน้ำดี กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน (ธารททัย มาลาเวช, 2559) ว่านชักมดลูก (*Curcuma zanthorhiza*) เป็นสมุนไพรสำหรับสตรี มีสรรพคุณทำให้ประจำเดือนมาตามปกติ ทำให้มดลูกเข้าอู่เร็ว ช่วยย่อยอาหาร แก้อาการท้องอืด ท้องเฟ้อ แก้อาการท้องผูก ว่านชักมดลูกสามารถออกฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจน แต่ความแรงต่ำกว่าเอสโตรเจน 100 เท่า (กนกพร อะทะวงษา, 2561; Suksamrarn et al., 2008) มหาหงส์ (*Hedychium coronarium*) มีสรรพคุณในการต้านแบคทีเรีย ระวังการอักเสบ ลดความดันโลหิตสูง (ณัฐนรี ไพสิฐสกุลนาท และคณะ, 2565) และพืชที่ใช้เป็นไม้ประดับ เช่น ดาหลา (*Etlingera elatior*) และปทุมมา (*Curcuma alismatifolia*) (พวงเพ็ญ ศิริรักษ์, 2551)

พืชสกุลเปราะ (*Kaempferia* L.) เป็นพืชวงศ์ขิง พบได้ทั่วโลกประมาณ 60 ชนิด มักกระจายพันธุ์ในเขตร้อนในเขตศูนย์สูตรของทวีปแอฟริกา เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และอินเดีย ในประเทศไทยพบว่ามีพืชสกุลเปราะ 40 ชนิด (Boonma et al., 2020; Jenjittikul & Larsen 2020) พืชสกุลเปราะ

เป็นพืชล้มลุกหลายปีที่มีลำต้นใต้ดินหรือเหง้าทอดขนานไปกับพื้นดิน ลำต้นเหนือดินเป็นกาบใบที่หุ้มไปกับลำต้นเทียม (pseudostem) กาบใบสั้น และมี 1-2 ใบ แผ่นใบแบนราบติดพื้นดิน (สุรพล แสนสุข, 2554; คงศักดิ์ พร้อมเทพ และคณะ, 2555) ช่อดอกเกิดโดยตรงจากเหง้า ผิวใบด้านบนเกลี้ยง ผิวใบด้านล่างมีขนละเอียด แผ่นใบมีสีเขียวตลอดทั้งแผ่น กลีบปากสีม่วงกลางกลีบสีม่วงเข้ม บางชนิดกลีบปากสีขาวกลางกลีบมีแถบสีเหลือง บางชนิดรังไข่เกลี้ยง บางชนิดรังไข่ไม่มีขน (กมลทิพย์ สุวรรณเดช และดวงใจ สุขเฉลิม, 2550) เปราะหูกะต่าย (*Kaempferia sisaketensis* Picheans. & Koonterm) เป็นพืชในสกุลเปราะ วงศ์ขิง มีเหง้าสั้น ใบตั้งตรง 2-4 ใบ กาบใบยาว 4.2-8.7 เซนติเมตร ก้านใบยาวได้ถึง 1.2 เซนติเมตร ลิ่นใบปลายแยกเป็น 2 พู เป็นเยื่อบาง ๆ ผิวเกลี้ยง กลีบดอกสีขาว รูปขอบขนาน กลีบปากสีชมพูถึงสีม่วง ปลายแฉกลึกถึงฐานกลีบแต่ละกลีบเป็นรูปไข่กลับ (Picheansoonthon & Koonterm, 2009) เปราะหูกะต่ายมีสถานภาพเป็นพืชหายาก (rare plant) และเป็นพืชเฉพาะถิ่น (endemic plant) พบเฉพาะในพื้นที่โล่งจังหวัดศรีสะเกษ ชายแดนไทย-กัมพูชา ภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยเท่านั้น (สุรพล แสนสุข, 2554) โดยทั่วไปเปราะหูกะต่ายขยายพันธุ์โดยใช้เหง้า แต่เหง้ามีขนาดเล็ก และสั้นทำให้เพิ่มจำนวนต้นได้น้อย นอกจากนี้เปราะหูกะต่ายยังเจริญเติบโตบนพื้นที่ดินปนลานหินซึ่งอาจเป็นอุปสรรคต่อการเพิ่มจำนวนต้นพืชในสภาพธรรมชาติ และเปราะหูกะต่ายในหนึ่งปีเจริญเติบโตได้เพียง 5-6 เดือน หลังจากนั้นจะพักการเจริญเติบโต นอกจากนี้ในปัจจุบันสภาพอากาศมีการเปลี่ยนแปลงไปค่อนข้างมาก จึงทำให้ปริมาณประชากรของเปราะหูกะต่ายในธรรมชาติมีปริมาณลดลง โดยเฉพาะในปีที่ฝนตกน้อย จากปัญหาที่กล่าวมาข้างต้น จึงได้นำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาช่วยในการขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนให้ได้ต้นเปราะหูกะต่ายปริมาณมากโดยปราศจากโรค ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ สามารถขยายพันธุ์ได้ตลอดทั้งปีโดยไม่คำนึงถึงฤดูกาล สามารถเพิ่มจำนวนได้ในระยะเวลาอันรวดเร็ว นอกจากนี้ยังไม่มีภาระงานเกี่ยวกับสารพิษเคมีของเปราะหูกะต่าย รวมถึงผลของการขยายพันธุ์ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชต่อปริมาณสารพิษเคมีของเปราะหูกะต่าย ดังนั้นการศึกษการขยายพันธุ์เปราะหูกะต่ายด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการศึกษาชนิดและปริมาณสารพิษเคมีจึงจำเป็นที่จะต้องทำการวิจัยเพื่อเป็นการอนุรักษ์พันธุ์กรรมพืชชนิดนี้ไม่ให้สูญพันธุ์และเพื่อเป็นพื้นฐานในการนำความรู้ไปใช้ประโยชน์ในด้านอื่นต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชต่อการเกิดยอดและรากของเปราะหูกะต่าย
2. เพื่อศึกษาวัสดุปลูกที่เหมาะสมเมื่อย้ายต้นอ่อนเปราะหูกะต่ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ
3. เพื่อศึกษาสารพิษเคมีของเปราะหูกะต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติและที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองแล้วย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ 1 ปี และที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

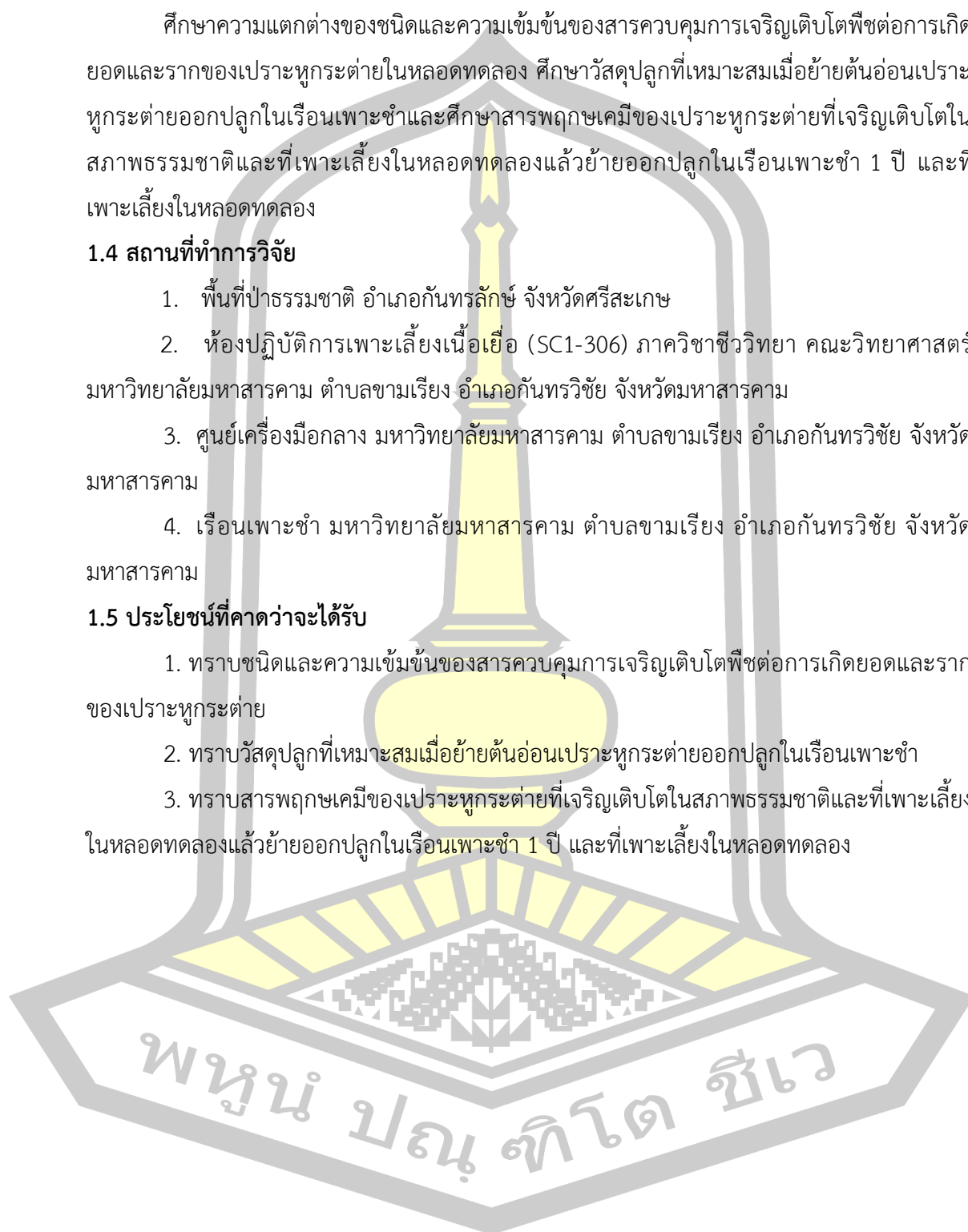
ศึกษาความแตกต่างของชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชต่อการเกิดยอดและรากของเปราะหุกระต่ายในหลอดทดลอง ศึกษาวัสดุปลูกที่เหมาะสมเมื่อย้ายต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายออกปลูกในเรือนเพาะชำและศึกษาสารพิษเคมีของเปราะหุกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติและที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองแล้วย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ 1 ปี และที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง

1.4 สถานที่ทำการวิจัย

1. พื้นที่ป่าธรรมชาติ อำเภอกันทรลักษ์ จังหวัดศรีสะเกษ
2. ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (SC1-306) ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ตำบลขามเรียง อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม
3. ศูนย์เครื่องมือกลาง มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ตำบลขามเรียง อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม
4. เรือนเพาะชำ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ตำบลขามเรียง อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชต่อการเกิดยอดและรากของเปราะหุกระต่าย
2. ทราบวัสดุปลูกที่เหมาะสมเมื่อย้ายต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ
3. ทราบสารพิษเคมีของเปราะหุกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติและที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองแล้วย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ 1 ปี และที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง



บทที่ 2

ปรีทัศน์เอกสารข้อมูล

2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของเปราะหุกระต่าย

เปราะหุกระต่าย (*Kaempferia sisaketensis* Pichans. & Koonterm) เป็นพืชล้มลุก มีเหง้าสั้น มีใบตั้งตรง 2-4 ใบ กาบใบยาว 4.2-8.7 เซนติเมตร ก้านใบยาวได้ถึง 1.2 เซนติเมตร ล้วนใบ ปลายแยกเป็น 2 พู เป็นเยื่อบาง ๆ ผิวเกลี้ยง แผ่นใบรูปหอกกลับหรือรูปรี ยาว 9.6-21.3 เซนติเมตร กว้าง 2.3-4.0 เซนติเมตร ปลายใบแหลม ฐานใบรูปปลี ผิวใบเกลี้ยงทั้งสองด้าน ช่อดอกเกิดกลางกลุ่ม ใบ ก้านช่อดอกยาวได้ถึง 6 เซนติเมตร มีดอกหลายดอก กลีบประดับรูปขอบขนาน ยาว 4.8-13.8 เซนติเมตร กว้าง 0.6-1.6 เซนติเมตร ผิวเกลี้ยง ปลายแหลมถึงปลายเรียวแหลม กลีบประดับย่อยรูปแถบพับเข้าหากันตามแนวยาว ผิวเกลี้ยง ยาว 3-5.5 เซนติเมตร ปลายเรียวแหลม กลีบเลี้ยงลักษณะเป็นหลอด ยาว 3.7- 5.3 เซนติเมตร ปลายโค้งกลม มีรอยแยกเล็กน้อยมาตามยาวด้านหนึ่งของหลอด ผิวเกลี้ยง ก้านดอกเป็นหลอดเรียวยาว 7.9-12.3 เซนติเมตร กลีบดอกสีขาว รูปขอบขนาน กลีบดอกที่อยู่ด้านเดียวกับก้านเกสรเพศผู้ยาว 2.3-2.8 เซนติเมตร กว้าง 0.4-0.5 เซนติเมตร ปลายใบมนกลีบดอกคู่ข้างทั้งสองจะมีขนาดเล็กกว่าเล็กน้อย มีความยาว 2.3-2.6 เซนติเมตร กว้างประมาณ 0.4 เซนติเมตร ปลายใบมน แต่ด้านปลายสุดจะเป็นติ่งแหลมและสั้น หรือปลายทื่อ กลีบปากสีชมพูถึงสีม่วง โคนกลีบสีม่วงเข้ม ปลายแฉกถึงฐานกลีบ แต่ละกลีบเป็นรูปไข่กลับ หรือเกือบกลม ขอบหยักมน เกสรเพศผู้ที่เป็นหมันทั้งสองข้าง สีชมพูถึงม่วง โคนกลีบมีสีม่วงเข้ม รูปไข่กลับ ขนาด 1.4-2.2 x 1.2-2.5 เซนติเมตร ก้านชูเกสรเพศผู้สั้น อับเรณูยาวประมาณ 4 เซนติเมตร รังไข่ทรงกระบอก ขนาดประมาณ 4 x 2 มิลลิเมตร ผิวเกลี้ยง การติดของอวุลบนแกนกลางของรังไข่ที่มีผนังกันเป็น 3 ช่อง มีต่อมน้ำหวาน 2 อัน ลักษณะคล้ายเส้นด้ายยาวประมาณ 4 มิลลิเมตร เปราะหุกระต่ายมีสถานภาพเป็นพืชหายาก (rare species) และเป็นพืชเฉพาะถิ่น (endemic species) พบเฉพาะในพื้นที่โล่ง จังหวัดศรีสะเกษ ชายแดนไทย-กัมพูชา ภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยเท่านั้น การใช้ประโยชน์รากและเหง้านำมาใช้เป็นสมุนไพรพื้นบ้าน ใบอ่อนรับประทานเป็นผัก (สุรพล แสนสุข, 2554; Pichansoonthon & Koonterm, 2009)

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสกุลเปราะ

ผู้วิจัยได้ศึกษาเอกสารและงานวิจัยเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสกุลเปราะทั้งในประเทศและต่างประเทศ ได้ดังนี้

จิราภรณ์ ผุดผ่อง และคณะ (2558) ศึกษาการขยายพันธุ์ของเปราะราศี (*Kaempferia larsenii*) และศึกษาผลของฮอร์โมนกลุ่มไซโทไคนิน (BA, Kinetin และ TDZ) ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ฮอร์โมนกลุ่มไซโทไคนินร่วมกัน (BA ร่วมกับ Kinetin หรือ TDZ) และฮอร์โมนกลุ่มออกซิน (IAA, IBA และ NAA) ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5, 1, 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าหน่ออ่อนเปราะราศีที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยสูงสุด 6.6 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช และหน่ออ่อนเปราะราศีที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดรากมากที่สุด 10.60 รากต่อชิ้นส่วนพืช

มนทิณี กมลธรรม และคณะ (2559) นำหน่ออ่อนที่งอกจากเหง้าของกระชายดำ (*Kaempferia parviflora*) ขนาดประมาณ 1 เซนติเมตร นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 2.0, 4.0, 6.0 และ 8.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.3 เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า สูตรอาหารที่ดีที่สุดในการเพิ่มจำนวนยอดและเกิดรากได้ในเวลาเดียวกันคือ อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยสามารถชักนำให้เกิดยอดเพิ่มขึ้นเฉลี่ย 5 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช

กมลทิพย์ ไหลไผ่ทอง และคณะ (2561) ศึกษาการขยายพันธุ์กระชายดำ โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ที่ระดับความเข้มข้น 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 3.75 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช มีความยาวยอดเฉลี่ย 4.76 เซนติเมตร มีอัตราการเกิดยอด 95 เปอร์เซ็นต์ เพิ่มปริมาณยอดโดยการนำชิ้นส่วนเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารแข็งอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว และอาหารเหลว พบว่าอาหารเหลวให้อัตราการเกิดยอดสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ โดยมีจำนวนยอดสูงสุด 6.30 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช ความยาวยอด 3.94 เซนติเมตร จากนั้นนำยอดที่ได้มาชักนำให้เกิดรากโดยเลี้ยงบนสูตรอาหารสูตร MS, $\frac{1}{2}$ MS, $\frac{1}{3}$ MS และ $\frac{1}{4}$ MS เป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร $\frac{1}{4}$ MS เกิดจำนวนรากสูงสุดเฉลี่ย 7.35 รากต่อชิ้นส่วนพืช และความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 7.22 เซนติเมตร จากนั้นนำพืชต้นใหม่จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและหน่อจากเหง้าในธรรมชาติ มาปลูกเป็นเวลา 9 สัปดาห์ พบว่าต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อให้จำนวนหน่อสูงสุด 3.67 หน่อต่อกอ จำนวนใบสูงสุด 7 ใบต่อกอ และความสูงต้นเฉลี่ยสูงสุด 28 เซนติเมตร

หนูเดือน เมืองแสน และคณะ (2561) สํารวจ เก็บ ปุ๋ยรวบรวมและดูแลรักษาแหล่ง พันธุกรรมพืชวงศ์ขิงที่หายากและมีคุณค่าทางเศรษฐกิจ และขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนเปราะป่า (*Kaempferia marginata*) โดยนำเหง้ามาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin ที่ระดับความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1, 1.0, 1.5, 2 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA ที่ระดับความเข้มข้น 0 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kinetin 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 80 เปอร์เซ็นต์ โดยเกิดแคลลัสขึ้นที่โคนต้น แคลลัสมีสีขาว เกาะกันหลวม ๆ (friable callus) ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรอื่น ๆ ที่มี BA และ Kinetin เกิดแคลลัสทุกสูตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 2.90 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช ความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 1.90 เซนติเมตร จำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 3.50 รากต่อชิ้นส่วนพืช ความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 2.05 เซนติเมตร

สิทธิศักดิ์ สละวรรณ์ และคณะ (2565) ศึกษาการขยายพันธุ์ของเปราะโคราช (*Kaempferia koratensis*) นำหน่ออ่อนขนาดประมาณ 1 เซนติเมตร นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ TDZ ความเข้มข้น 1 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA และ Kinetin ที่ระดับความเข้มข้น 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าหน่ออ่อนเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 8.6 รากต่อชิ้นส่วนพืช และหน่ออ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม Kinetin 1 มิลลิกรัมต่อลิตร TDZ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 6.0 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช

Rahman et al. (2004) ศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัสและการเกิดโซมาติกเอ็มบริโอจาก ชิ้นส่วนใบของ *K. galanga* เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช ได้แก่ 2,4-D, BA และ IBA ที่ระดับความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 สัปดาห์ พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดแคลลัสสูงสุดที่สุด หลังจากนั้นนำแคลลัสย้ายลงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดเอ็มบริโอรูปทรงกลมขนาดเล็กก่อนที่จะนำไปพัฒนาต่อโดยการเลี้ยงในอาหารสูตรเดียวกัน

Swapna et al. (2004) ศึกษาการเพาะเลี้ยงใบและเหง้าของ *K. galanga* นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BAP, Kinetin, 2,4-D, IAA และ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าในอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดยอดอ่อน

จากชิ้นส่วนเหง้าสูงสุด 78.3 เปอร์เซ็นต์ และชักนำให้เกิดยอดอ่อนจากชิ้นส่วนใบ 61.6 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าในอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดรากจากชิ้นส่วนเหง้าสูงสุด 50 เปอร์เซ็นต์

Chirangini et al. (2005) ศึกษาการเพาะเลี้ยงตาเหง้าของ *K. galanga* และ *K. rotunda* บนอาหารสูตร MS ที่เติม IAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.57 และ 2.85 ไมโครโมล ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.54, 2.69, 5.37 และ 10.74 ไมโครโมล ร่วมกับ BAP ที่ระดับความเข้มข้น 0.44, 2.22, 4.44 และ 8.88 ไมโครโมล และ Kinetin ความเข้มข้น 2.32 ไมโครโมล เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 16 สัปดาห์ จากการทดลองพบว่าในอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 4.44 ไมโครโมล สามารถชักนำให้ *K. galanga* เกิดยอดสูงสุด 13.0 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช และในอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 2.22 ไมโครโมล ร่วมกับ NAA 2.69 ไมโครโมล ชักนำให้ *K. rotunda* เกิดยอดสูงสุด 9 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช

Chithra et al. (2005) ศึกษาการเพาะเลี้ยง *K. galanga* โดยนำตาข้างมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมนกลุ่มไซโทไคนิน ได้แก่ BA ความเข้มข้น 2.22, 4.44, 6.66, 8.87, 11.10 และ 13.30 ไมโครโมล Kinetin ความเข้มข้น 0.46, 2.32, 4.65, 6.97, 9.29 และ 13.94 ไมโครโมล และฮอร์โมนกลุ่มออกซิน ได้แก่ IBA ความเข้มข้น 0.49, 2.46 และ 4.90 ไมโครโมล IAA ความเข้มข้น 0.57, 2.87 และ 5.71 ไมโครโมล NAA ความเข้มข้น 0.54, 2.69 และ 5.37 ไมโครโมล และ Silver nitrate (AgNO_3) ความเข้มข้น 5.89, 11.70 และ 17.70 ไมโครโมล เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 8.87 ไมโครโมล ร่วมกับ IBA 2.46 ไมโครโมล และ AgNO_3 11.70 ไมโครโมล ชักนำให้เกิดยอดสูงสุด 8.30 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช และชักนำให้เกิดรากสูงสุด 6.70 รากต่อชิ้นส่วนพืช

Rahman et al. (2005) ศึกษาการเพาะเลี้ยงตาข้างและปลายเหง้าของ *K. galanga* ในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมนกลุ่มออกซิน (NAA, IBA และ IAA) ร่วมกับฮอร์โมนกลุ่มไซโทไคนิน (BA และ Kinetin) เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดยอดสูงสุด 20.50 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช และพบว่าในอาหารสูตร MS ที่เพาะเลี้ยงใน IBA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดรากสูงสุด 12.40 รากต่อชิ้นส่วนพืช

Kalpana & Anbazhagan (2009) ศึกษาการเพาะเลี้ยง *K. galanga* นำตาเหง้าขนาดประมาณ 1 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA, NAA, IAA และ IBA ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 ถึง 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากการทดลองพบว่าในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดยอดสูงสุด 19.40 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช และพบว่าในอาหารสูตร MS ที่เติม IBA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดรากสูงสุด 10.40 รากต่อชิ้นส่วนพืช

Rajasekharan et al. (2009) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเหง้าอ่อนของ *K. galanga* ในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 8.87 ไมโครโมล ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมล เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ จากการทดลองพบว่าสามารถชักนำให้เกิดยอดสูงสุด 8.10 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช

Parida et al. (2010) ศึกษาวิธีการเพิ่มจำนวนที่รวดเร็วและศึกษามวลชีวภาพใบของ *Kaempferia galanga* โดยการเพาะเลี้ยงเหง้าของ *K. galanga* ในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ IAA, IBA, NAA และ adenine sulphates (Ad) พบว่าในอาหารที่เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดยอดสูงสุด 11.5 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช ความยาวยอดสูงสุด 10.8 เซนติเมตร จำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 4.6 รากต่อชิ้นส่วนพืช ความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 2.3 เซนติเมตร และน้ำหนักของใบสูงสุด 7.4 กรัมต่อชิ้นส่วนพืช

Mohanty et al. (2011) ศึกษาการเพาะเลี้ยง *K. galanga* ในอาหารสูตร MS ที่เติม BA, IAA, NAA, GA₃ และ Kinetin ในระดับความเข้มข้นที่ต่างกัน เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดสูงสุด 90 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนยอดสูงสุด 10.1 ± 0.23 ยอดต่อต้น และจำนวนรากสูงสุด 5.5 ± 0.16 รากต่อต้น ทำการย้ายออกปลูกพบว่า มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูง 95.5% และได้ตรวจสอบความแปรผันทางพันธุกรรมกับพืชต้นแม่ด้วยวิธี Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) และวิธี Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) พบว่าแถบดีเอ็นเอของพืชที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองมีความเหมือนกันกับแถบดีเอ็นเอของพืชต้นแม่ในสภาพธรรมชาติ

Ibemhal et al. (2012) ศึกษาการขยายพันธุ์ *K. galanga* โดยนำเหง้ามาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ที่ระดับความเข้มข้น 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร Kinetin ที่ระดับความเข้มข้น 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.25, 0.5, 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างเดียวหรือใช้ร่วมกันในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ และเติมน้ำตาลความเข้มข้นสูง 6 เปอร์เซ็นต์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยสูงสุด 7 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช และชักนำให้เกิดรากเฉลี่ยสูงสุด 6.7 รากต่อชิ้นส่วนพืช

Kochuthressia et al. (2012) ศึกษาการขยายพันธุ์ *K. galanga* โดยใช้ชิ้นส่วนเหง้า นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด 88.5 เปอร์เซ็นต์ ชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ย 7.12 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช และความยาวยอดเฉลี่ย 5.57 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงเหง้าในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kinetin 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยสูงสุด 10.85 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด 88.5 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้ฮอร์โมนในกลุ่มไซโทไคนินทั้ง 2 ชนิด คือ BAP และ Kinetin มีความสามารถในการออกฤทธิ์ส่งเสริมกันเพื่อเพิ่มจำนวนยอดได้อย่างทวีคูณ

Bhattacharya & Sen (2013) ศึกษาการขยายพันธุ์ *K. galanga* โดยใช้ชิ้นส่วนเหง้า นำมาเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชกลุ่มไซโทไคนิน (BAP, Kinetin และ Zeatin) พบว่าเหง้าที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ให้ผลในการเกิดยอดได้ดีกว่า Kinetin และ Zeatin โดย BAP 4 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ย 4.33 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช และ BAP 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ *K. galanga* มีความยาวยอดเฉลี่ย 4.31 เซนติเมตร เมื่อเติม BAP 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kinetin 4 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ย 6.52 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช อาหารสูตร MS ที่เติม BAP 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kinetin 4 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวยอดเฉลี่ย 8.23 เซนติเมตร การนำฮอร์โมนกลุ่มไซโทไคนินหลายชนิดเติมลงในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อร่วมกันจะทำให้มีการเพิ่มจำนวนยอดและการงอกใหม่ของต้นอ่อนพืชเพิ่มมากขึ้นกว่าการใช้ฮอร์โมนเพียงชนิดเดียว BAP มีประสิทธิภาพมากในการเพิ่มจำนวนพืชวงศ์ขิงเมื่อนำมาเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง

Preetha et al. (2013) ศึกษาการชักนำให้เกิดยอด *K. galanga* ในหลอดทดลองจากเหง้าเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA, NAA, GA₃ และน้ำตาลซูโครส ในระดับความเข้มข้นที่ต่างกัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าน้ำตาลซูโครสมีผลต่อการงอกของปลายยอด *K. galanga* โดยน้ำตาลซูโครส 0.4 โมล ชักนำให้เกิดปลายยอดใหม่สูงสุด 36.67 ± 1.82 เปอร์เซ็นต์ และในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ GA₃ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ *K. galanga* เกิดยอดใหม่สูงสุด 50.00 ± 3.16 เปอร์เซ็นต์ และได้ตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมด้วยวิธี RAPD พบว่าไม่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมของพืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองกับพืชในสภาพธรรมชาติ

Sahoo et al. (2014) ศึกษาการเพาะเลี้ยง *K. galanga* ในหลอดทดลองจากชิ้นส่วนเหง้าเมื่อนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA, IAA, NAA และ Adenine sulphates ในระดับความเข้มข้นที่ต่างกัน พบว่าในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดสูงสุด 11.33 ± 1.52 ยอดต่อต้น ความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 10.80 ± 0.32 เซนติเมตร จำนวนรากสูงสุด 6.33 ± 1.52 รากต่อต้น และความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 2.76 ± 0.32 เซนติเมตร

Zuraida et al. (2015) ศึกษาการชักนำให้เกิดต้นอ่อนจากชิ้นส่วนเหง้าของกระชายดำ เพื่อชักนำให้เกิดเหง้าขนาดเล็ก เพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง อาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว และอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BAP ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 0, 10, 30, 45, 60, 90 และ 120 กรัมต่อลิตร พบว่าต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

สามารถสร้างเหง้าขนาดเล็กสูงสุด 60 เปอร์เซ็นต์ จากการทดลองพบว่าน้ำหนักสดของเหง้าขนาดเล็กเท่ากับ 256 มิลลิกรัมต่อต้น

Saensouk et al. (2016) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเปราะป่า (*K. marginata*) ในหลอดทดลอง โดยนำชิ้นส่วนตาเหง้ามาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ, BA และ NAA ที่ระดับความเข้มข้นที่ต่างกัน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าในอาหารที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และในอาหารที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kinetin 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยสูงสุด 4.90 ± 1.77 ยอดต่อต้น และ 2.90 ± 0.5 ยอดต่อต้น ตามลำดับ ส่วนการเกิดรากนั้นพบว่าในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชมีการเกิดรากมากกว่าในอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช เมื่อศึกษาการย้ายปลูก พบว่าในวัสดุปลูกที่เป็นแกลบเผา และทรายในอัตราส่วน 1:1 มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นอ่อนสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 3.39 ± 0.19 ยอด และความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 9.49 ± 0.82 เซนติเมตร

Haque & Ghosh (2018) ศึกษาการขยายพันธุ์ปราบสมุทร (*K. angustifolia*) ในหลอดทดลองและศึกษาผลของการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตพืชร่วมกับสเปอ์มิดีน (Spermidine, SDN) โดยการเพาะเลี้ยงตาเหง้าของปราบสมุทรในหลอดทดลองพบว่าการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตพืชร่วมกันระหว่างฮอร์โมนกลุ่มออกซินและฮอร์โมนกลุ่มไซโทไคนินในอาหารแข็งสูตร MS จะช่วยชักนำการเกิดยอด และหากมีการเติม SDN ที่เป็นสารในกลุ่มโพลีเอมีน (polyamine) เพิ่มเข้า มาจะช่วยให้การเกิดยอดเพิ่มขึ้น โดยในอาหารที่เติม BAP 2 มิลลิกรัมต่อลิตร Kinetin 2 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ SDN 2 มิลลิโมล เกิดยอดเฉลี่ยสูงสุด 94 ± 2.23 เปอร์เซ็นต์ และ 6.6 ± 0.36 ยอดต่อต้น (60 วัน หลังจากการเริ่มต้นเพาะเลี้ยง) ได้ทำการเพาะเลี้ยงต่อพบว่ามีความสามารถในการชักนำให้เกิดยอดได้เพิ่มขึ้นต่อเนื่องเป็น 10.3 ± 0.42 ยอดต่อต้น (120 วัน หลังจากเพาะเลี้ยง) และ 13.7 ± 0.37 ยอดต่อต้น (180 วัน หลังจากเพาะเลี้ยง) และทำการศึกษาผลของการใช้อาหารแข็งสูตร MS และ $1/2$ MS ร่วมกับ IBA พบว่าในอาหาร $1/2$ MS ที่เติม IBA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการชักนำให้เกิดรากสูงสุดที่ 18.5 ± 0.28 รากต่อต้น และมีความยาวรากสูงสุด 6.2 ± 0.34 เซนติเมตร

Labrooy et al. (2020) ศึกษาอิทธิพลของ BA และน้ำตาลซูโครสต่อการชักนำให้เกิดเหง้าขนาดเล็กในหลอดทดลองของกระชายดำ โดยนำตาเหง้ามาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 8.88, 17.76, 26.64, 35.52 และ 44.40 มิลลิโมล และน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 3, 6 และ 9 เปอร์เซ็นต์ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 9 สัปดาห์ พบว่าในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 35.52 มิลลิโมล ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ สามารถชักนำให้เกิดยอดสูงสุด 22.4 ± 1.84 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช มีจำนวนใบ 29.27 ± 1.30 ใบต่อชิ้นส่วนพืช และจำนวนราก 17.8 ± 1.72 รากต่อชิ้นส่วนพืช และในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 6 เปอร์เซ็นต์ สามารถชักนำให้เกิดยอดสูงสุด

8.5±1.58 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช มีจำนวนรากสูงสุด 8.5±1.58 รากต่อชิ้นส่วนพืช น้ำหนักสดของเหง้าขนาดเล็ก 35.7±2.59 กรัมต่อขวด จำนวนเหง้าขนาดเล็ก 5.2±0.78 เหง้าต่อชิ้นส่วนพืช เส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 1.15±0.24 เซนติเมตร

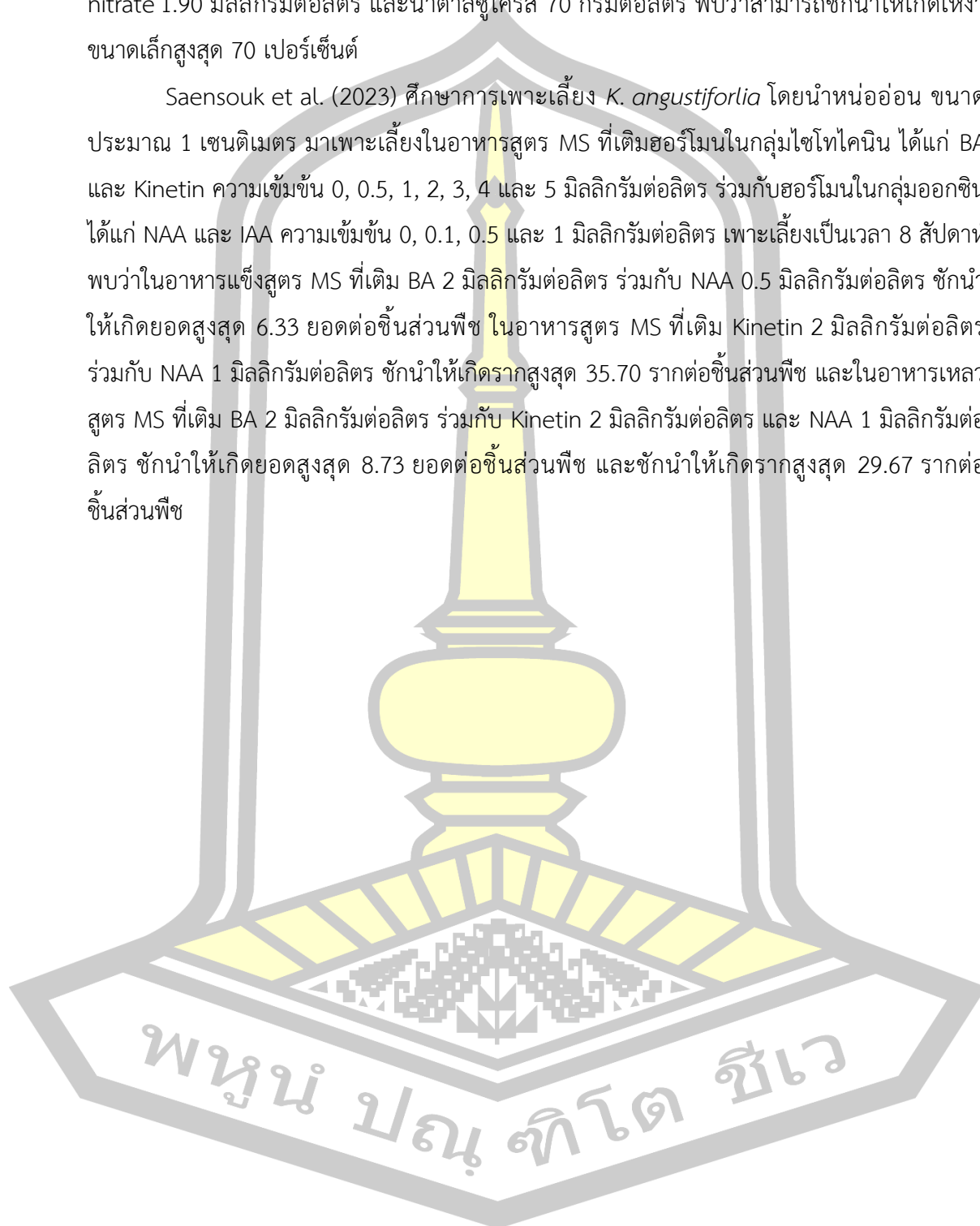
Park et al. (2021) ศึกษาการขยายพันธุ์ในหลอดทดลองและผลของการพอกฆ่าเชื้อด้วย silver oxide nanoparticles ต่อการรอดชีวิตของกระชายดำ นำตาเหง้ามาพอกฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย silver oxide nanoparticles ที่ระดับความเข้มข้น 0, 25, 50, 100, 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน 30, 60 และ 90 นาที จากนั้นนำตาเหง้ามาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมนกลุ่มไซโทไคนิน (BA, Kinetin และ TDZ) ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2, 8 และ 12 ไมโครโมลาร์ ฮอร์โมนกลุ่มออกซิน (NAA และ IBA) ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2, 4, 8 และ 12 ไมโครโมลาร์ พบว่าเมื่อนำตาเหง้ามาพอกฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย silver oxide nanoparticles ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 60 นาที เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์ ชิ้นส่วนพืช ลดการปนเปื้อนได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และมีการรอดชีวิตของชิ้นส่วนพืช 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพาะเลี้ยงตาเหง้าในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 8 ไมโครโมลาร์ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนพืชมีการตอบสนองสูงสุด 78.8 เปอร์เซ็นต์ ชักนำให้เกิดยอดสูงสุด 6.3 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช และเกิดราก 4.6 รากต่อชิ้นส่วนพืช เพาะเลี้ยงตาเหง้าในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 8 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ 0.5 ไมโครโมลาร์ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์พบว่าชิ้นส่วนพืชมีการตอบสนอง 97.2 เปอร์เซ็นต์ ชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยสูงสุด 12.2 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช เพาะเลี้ยงตาเหง้าในอาหารสูตร MS ที่เติม IBA 2 ไมโครโมลาร์ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ สามารถชักนำให้เกิดรากเฉลี่ยสูงสุด 24.0 รากต่อชิ้นส่วนพืช มีความยาวรากเฉลี่ย 7.8 เซนติเมตร มีความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 9.8 เซนติเมตร

Rahman et al. (2022) ศึกษาการเพาะเลี้ยง *K. angustifolia* ในอาหารสูตร MS ที่เติม BAP, Kinetin และ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดยอดสูงสุด 5.80 ยอดต่อชิ้นส่วน เมื่อนำต้นอ่อน *K. angustifolia* มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 45 กรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดรากสูงสุด 11.82 รากต่อชิ้นส่วนพืช มีความยาวรากเฉลี่ย 5-6 เซนติเมตร

Nonthalee et al. (2022) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเปราะสยาม (*K. siamensis*) โดยนำหน่ออ่อนขนาดประมาณ 0.5 เซนติเมตร นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BAP, Kinetin ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าในอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยสูงสุด 7.10 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช และชักนำให้เกิดรากเฉลี่ยสูงสุด 24.20 รากต่อชิ้นส่วนพืช และเมื่อนำต้นอ่อนเปราะสยามมาเพาะเลี้ยงใน

อาหารสูตร MS ที่เติม BAP 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Silver nitrate 1.90 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาลซูโครส 70 กรัมต่อลิตร พบว่าสามารถชักนำให้เกิดเหง้าขนาดเล็กสูงสุด 70 เปอร์เซ็นต์

Saensouk et al. (2023) ศึกษาการเพาะเลี้ยง *K. angustifolia* โดยนำหน่ออ่อน ขนาดประมาณ 1 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมนในกลุ่มไซโทไคนิน ได้แก่ BA และ Kinetin ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับฮอร์โมนในกลุ่มออกซิน ได้แก่ NAA และ IAA ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดยอดสูงสุด 6.33 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช ในอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดรากสูงสุด 35.70 รากต่อชิ้นส่วนพืช และในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kinetin 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดยอดสูงสุด 8.73 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช และชักนำให้เกิดรากสูงสุด 29.67 รากต่อชิ้นส่วนพืช



จากงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสกุลเปราะสามารถสรุปได้ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ตารางสรุปงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสกุลเปราะ

ชนิดพืช	ชิ้นส่วนพืช	อาหารที่เพาะเลี้ยง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ระยะเวลาที่ทำการเพาะเลี้ยง (สัปดาห์)	ผลการศึกษา	อ้างอิง
<i>Kaempferia angustifolia</i>	ตาเหง้า	(MS+BAP 2+Kinetin 2+NAA 1) +SDN 2 มิลลิโมล	8	เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดเฉลี่ยสูงสุด 94 ± 2.23 เปอร์เซ็นต์	Haque & Ghosh (2018)
				เกิดยอดเฉลี่ยสูงสุด 6.6 ± 0.36 ยอดต่อต้น	
			12	เกิดยอด 10.3 ± 0.42 ยอดต่อต้น	
			24	เกิดยอด 13.7 ± 0.37 ยอดต่อต้น	
	เหง้า	MS+BAP 5+NAA 0.5	8	เกิดยอดสูงสุด 5.80 ยอดต่อชิ้นส่วน	Rahman et al. (2022)
		MS+BAP 1+น้ำตาลซูโครส 45 กรัมต่อลิตร		เกิดรากสูงสุด 11.82 รากต่อชิ้นส่วนพืช มีความยาวรากเฉลี่ย 5-6 เซนติเมตร	
	หน่ออ่อน	(อาหารแข็ง) MS+BA 2+NAA 0.5	8	เกิดยอดสูงสุด 6.33 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช	Saensouk et al. (2023)
		(อาหารแข็ง) MS+Kinetin 2+NAA 1		เกิดรากสูงสุด 35.70 รากต่อชิ้นส่วนพืช	
		(อาหารเหลว) MS+BA 2+Kinetin 2+NAA 1		เกิดยอดสูงสุด 8.73 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช และเกิดรากสูงสุด 29.67 รากต่อชิ้นส่วนพืช	

ชนิดพืช	ชิ้นส่วนพืช	อาหารที่เพาะเลี้ยง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ระยะเวลาที่ ทำการ เพาะเลี้ยง (สัปดาห์)	ผลการศึกษา	อ้างอิง
<i>Kaempferia galanga</i>	ชิ้นส่วนใบ	MS+2,4-D 1.5+BA 1	7	ชักนำให้เกิดแคลลัส สูงสุด	Rahman et al. (2004)
		MS+BA 2+NAA 0.1		ชักนำให้เกิดเอ็มบริโอ รูปทรงกลมขนาดเล็ก	
	ใบและ เหง้า	MS+BAP 2.5+IAA 0.5	6	ชักนำให้เกิดยอดอ่อน จากชิ้นส่วนเหง้า สูงสุด 73.3 เปอร์เซ็นต์	Swapna et al. (2004)
		MS+BAP 2.0+IAA 0.5		ชักนำให้เกิดยอดอ่อน จากชิ้นส่วนใบ 61.6 เปอร์เซ็นต์	
	ตาเหง้า	MS+BAP 4.44 ไมโคร โมลาร์	16	เกิดยอดสูงสุด 13.0 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช	Chirangini et al. (2005)
	ตาข้าง	MS+BA 8.87 ไมโคร โมลาร์ BA 3.46 ไมโคร โมลาร์ +silver nitrate 11.70 ไมโคร โมลาร์	8	เกิดยอดสูงสุด 8.30 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช และเกิดรากสูงสุด 6.70 รากต่อชิ้นส่วน พืช	Chithra et al. (2005)
	ตาข้าง และ ปลาย เหง้า	MS+BA 1+NAA 0.1	6	เกิดยอดสูงสุด 20.50 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช	Rahman et al. (2005)
		MS+IBA 2		เกิดรากสูงสุด 12.40 รากต่อชิ้นส่วนพืช	

ชนิดพืช	ชิ้นส่วนพืช	อาหารที่เพาะเลี้ยง (มีลลิกกรัมต่อลิตร)	ระยะเวลา ที่ทำการ เพาะเลี้ยง (สัปดาห์)	ผลการศึกษา	อ้างอิง
<i>Kaempferia galanga</i>	ตา เหง้า	MS+BA 2+NAA 0.2	4	เกิดยอดสูงสุด 19.40 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช	Kalpana & Anbazhagan (2009)
		MS+IBA 1		เกิดรากสูงสุด 10.40 รากต่อชิ้นส่วนพืช	
	เหง้า	MS+BA 1+IAA 0.5	8	เกิดยอดสูงสุด 11.5 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช	Parida et al. (2010)
				ความยาวยอดสูงสุด 10.8 เซนติเมตร	
				เกิดรากเฉลี่ยสูงสุด 4.6 รากต่อชิ้นส่วนพืช	
				ความยาวรากเฉลี่ย สูงสุด 2.3 เซนติเมตร	
				มีน้ำหนักของใบสูงสุด 7.4 กรัมต่อชิ้นส่วนพืช	
	เหง้า	MS+BA 1+IAA 0.5	12	มีเปอร์เซ็นต์การเกิด ยอดสูงสุด 90 เปอร์เซ็นต์	Mohanty et al. (2011)
				เกิดยอดเฉลี่ยสูงสุด 10.1 ยอดต่อต้น	
				เกิดรากเฉลี่ยสูงสุด 5.5 รากต่อต้น	
	เหง้า	MS+Kinetin 2+NAA 1	6	เกิดยอดเฉลี่ยสูงสุด 7 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช	Ibemhal et al. (2012)
				เกิดรากเฉลี่ยสูงสุด 6.7 รากต่อชิ้นส่วนพืช	
				นำต้นอ่อนไปปรับ สภาพแล้วย้ายปลูกมี อัตราการรอดชีวิต 95 เปอร์เซ็นต์	

ชนิดพืช	ชิ้นส่วนพืช	อาหารที่เพาะเลี้ยง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ระยะเวลาที่ทำการเพาะเลี้ยง (สัปดาห์)	ผลการศึกษา	อ้างอิง
Kaempferia galanga	เหง้า	MS+BA 2	4	มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด 88.5 เปอร์เซ็นต์	Kochuthressia et al. (2012)
		MS+BA 2+Kinetin 1		เกิดยอดเฉลี่ย 7.12 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช	
				ความยาวยอดเฉลี่ย 5.57 เซนติเมตร	
				เกิดยอดเฉลี่ยสูงสุด 10.85 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช	
				เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด 88.5 เปอร์เซ็นต์	
	เหง้า	MS+BAP 4	6	เกิดยอดเฉลี่ย 4.33 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช	Bhattacharya & Sen (2013)
		MS+BAP 3		มีความยาวยอดเฉลี่ย 4.31 เซนติเมตร	
		MS+BA 3+Kinetin 4		เกิดยอดเฉลี่ย 6.52 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช	
		MS+BA 2+Kinetin 4		มีความยาวยอดเฉลี่ย 8.23 เซนติเมตร	
	เหง้า	MS+BA 1+NAA 0.5+GA3 0.1	4	เกิดยอดใหม่สูงสุด 50.00±3.16 เปอร์เซ็นต์	Preetha et al. (2013)
				จำนวนรากสูงสุด 6.33±1.52 รากต่อต้น	
				ความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 2.76±0.32 เซนติเมตร	

ชนิดพืช	ชิ้นส่วนพืช	อาหารที่ เพาะเลี้ยง (มิลลิกรัมต่อ ลิตร)	ระยะเวลาที่ทำ การเพาะเลี้ยง (สัปดาห์)	ผลการศึกษา	อ้างอิง
	เหง้า	MS+BA 1+IAA 0.5	12	เกิดยอดสูงสุด 11.33±1.52 ยอดต่อต้น	Sahoo et al. (2014)
				ความยาวยอด เฉลี่ยสูงสุด 10.80±0.32 เซนติเมตร	
				จำนวนรากสูงสุด 6.33±1.52 ราก ต่อต้น	
				ความยาวราก เฉลี่ยสูงสุด 2.76±0.32 เซนติเมตร	
		เมื่อทำการออก ปลูกพบว่ามี เปอร์เซ็นต์การ รอดชีวิต 94 เปอร์เซ็นต์			
<i>Kaempferia larsenii</i>	เหง้า	MS+BA 8.87 ไม โครโมลาร์ +NAA 0.5 ไมโครโมลาร์	8	เกิดยอดสูงสุด 8.10 ยอดต่อ ชิ้นส่วนพืช	Rajasekharan et al. (2009)
	หน่ออ่อน	MS+TDZ 1	8	เกิดยอดเฉลี่ย สูงสุด 6.6 ยอด ต่อชิ้นส่วนพืช	จิราภรณ์ ผุดผ่อง และคณะ (2558)
		MS+IAA 0.5		เกิดรากมากที่สุด 10.60 รากต่อ ชิ้นส่วนพืช	

ชนิดพืช	ชิ้นส่วนพืช	อาหารที่เพาะเลี้ยง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ระยะเวลาที่ทำการเพาะเลี้ยง (สัปดาห์)	ผลการศึกษา	อ้างอิง
<i>Kaempferia koratensis</i>	หน่ออ่อน	(อาหารแข็ง) MS+BA 4 +NAA 0.2	8	เกิดรากสูงสุด 8.6 รากต่อชิ้นส่วนพืช	สิทธิศักดิ์ สะสิวรรณ และคณะ (2565)
		(อาหารเหลว) MS+Kinetin 1+TDZ 2+NAA 0.2		เกิดยอดสูงสุด 6.0 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช	
<i>Kaempferia marginata</i>	เหง้า	MS+BA 2+Kinetin 2.5	8	มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 80 เปอร์เซ็นต์	หนูเดือน เมืองแสน และคณะ (2561)
				ยอดเฉลี่ยสูงสุด 2.90 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช	
				ความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 1.90 เซนติเมตร	
				รากเฉลี่ยสูงสุด 3.50 รากต่อชิ้นส่วนพืช	
	ตาเหง้า	MS+BA 2+Kinetin 2.5	6	ความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 2.0 เซนติเมตร	Saensouk et al. (2016)
				เกิดยอดเฉลี่ยสูงสุด 4.90±1.77 ยอดต่อต้น	
		MS+BA 2+TDZ 1		เกิดยอดเฉลี่ยสูงสุด 2.90±0.5 ยอดต่อต้น	

ชนิดพืช	ชิ้นส่วนพืช	อาหารที่ เพาะเลี้ยง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ระยะเวลาที่ทำการ เพาะเลี้ยง (สัปดาห์)	ผลการศึกษา	อ้างอิง
<i>Kaempferia parviflora</i>	หน่ออ่อน	MS+BA 4+NAA 0.3	4	เกิดยอดเพิ่มขึ้น เฉลี่ย 5 ยอดต่อ ชิ้นส่วนพืช	มนทิณี กมลธรรม และคณะ (2559)
	ต้นอ่อน	MS+BAP 3	6	เกิดยอดเฉลี่ย สูงสุด 3.75 ยอด ต่อชิ้นส่วนพืช	กมลทิพย์ ไหลไผ่ ทอง และคณะ (2561)
				มีความยาวยอด เฉลี่ย 4.76 เซนติเมตร	
				มีอัตราการเกิด ยอด 95 เปอร์เซ็นต์	
		MS+BA 3 (อาหารเหลว)	3	มีอัตราการเกิด ยอดสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์	
		$\frac{1}{4}$ MS		เกิดยอดสูงสุด 6.30 ยอดต่อ ชิ้นส่วนพืช	
				เกิดรากสูงสุด เฉลี่ย 7.35 ราก ต่อชิ้นส่วนพืช	
				ความยาวราก เฉลี่ยสูงสุด 7.22 เซนติเมตร	

พจน ปลูกพืช ชีว

ชนิดพืช	ชิ้นส่วนพืช	อาหารที่เพาะเลี้ยง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ระยะเวลาที่ทำการเพาะเลี้ยง (สัปดาห์)	ผลการศึกษา	อ้างอิง
ตา เหง้า		MS+BA 33.52 มิลลิโมล + น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์	9	เกิดยอดสูงสุด 22.4 ± 1.84 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช	Labrooy et al. (2020)
				มีจำนวนใบ 29.27 ± 1.30 ใบต่อชิ้นส่วนพืช	
				จำนวนราก 17.8 ± 1.72 รากต่อชิ้นส่วนพืช	
		MS+น้ำตาลซูโครส 6 เปอร์เซ็นต์	9	เกิดยอดสูงสุด 8.5 ± 1.58 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช	
				มีจำนวนรากสูงสุด 8.5 ± 1.58 รากต่อชิ้นส่วนพืช	
				มีน้ำหนักสดของเหง้าขนาดเล็ก 35.7 ± 2.59 กรัมต่อ ขวด	
				มีจำนวนเหง้าขนาดเล็ก 5.2 ± 0.78 เหง้าต่อชิ้นส่วนพืช	
				เส้นผ่าศูนย์กลางเหง้าเฉลี่ย 1.15 ± 0.24 เซนติเมตร	
ตา เหง้า		Silver nanoparticles 100	3	ชิ้นส่วนพืชลดการปนเปื้อน ได้ 100 เปอร์เซ็นต์	Park et al. (2021)
				มีการรอดชีวิตของชิ้นส่วนพืช 100 เปอร์เซ็นต์	



ชนิดพืช	ชิ้นส่วนพืช	อาหารที่ เพาะเลี้ยง (มิลลิกรัมต่อ ลิตร)	ระยะเวลาที่ทำ การเพาะเลี้ยง (สัปดาห์)	ผลการศึกษา	อ้างอิง
ตาเหง้า		MS+BA 8 ไมโคร โมลาร์	8	ชิ้นส่วนพืชมีการ ตอบสนองสูงสุด 78.8 เปอร์เซ็นต์	Park et al. (2021)
				เกิดยอดสูงสุด 6.3 ยอดต่อ ชิ้นส่วนพืช	
				เกิดราก 4.6 ราก ต่อชิ้นส่วนพืช	
		MS+BA 8 ไมโคร โมลาร์+TDZ 0.3 ไมโครโมลาร์	8	ชิ้นส่วนพืชมีการ ตอบสนอง 97.2 เปอร์เซ็นต์	
				เกิดยอดเฉลี่ย สูงสุด 12.2 ยอด ต่อชิ้นส่วนพืช	
				เกิดรากเฉลี่ย สูงสุด 24.0 ราก ต่อชิ้นส่วนพืช	
เหง้า		MS+IBA 2 ไมโคร โมลาร์	6	ความยาวราก เฉลี่ย 7.8 เซนติเมตร	
				ความยาวยอด เฉลี่ยสูงสุด 9.8 เซนติเมตร	
				สามารถสร้าง เหง้าขนาดเล็ก สูงสุด 60 เปอร์เซ็นต์ มี น้ำหนักสดของ เหง้าขนาดเล็ก 256 มิลลิกรัมต่อ ต้น	
		MS+BAP 1+NAA 1+ น้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร	4		Zuraida et al. (2015)

ชนิดพืช	ชิ้นส่วนพืช	อาหารที่เพาะเลี้ยง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ระยะเวลาที่ทำการเพาะเลี้ยง (สัปดาห์)	ผลการศึกษา	อ้างอิง
<i>Kaempferia rotunda</i>	ตาเหง้า	MS+BAP 2.22 ไมโครโมลาร์ +NAA 2.69 ไมโครโมลาร์	16	เกิดยอดสูงสุด 9 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช	Chirangini et al. (2005)
<i>Kaempferia siamensis</i>	หน่ออ่อน	MS+BAP 2+NAA 0.1	8	เกิดยอดเฉลี่ยสูงสุด 7.10 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช	Nonthalee et al. (2022)
		MS+BAP 2+NAA 0.1+ Silver nitrate 1.90+น้ำตาลซูโครส 70 กรัมต่อลิตร		เกิดรากเฉลี่ยสูงสุด 24.20 รากต่อชิ้นส่วนพืช	
				เกิดเหง้าขนาดเล็กลงสูงสุด 70 เปอร์เซ็นต์	



2.3 การย้ายพืชที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกในสภาพธรรมชาติ

ต้นอ่อนของพืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเมื่อมีการเจริญเติบโตอย่างสมบูรณ์และแข็งแรง มีราก ลำต้น ใบ ที่พร้อมจะย้ายออกปลูกในสภาพธรรมชาติก่อนการย้ายต้นอ่อนพืชที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในท้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน ได้รับแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ก่อนการย้ายออกปลูกในสภาพธรรมชาติต้องนำพืชมาปรับสภาพให้ชินกับสภาพแวดล้อม โดยนำต้นอ่อนพืชมาปรับสภาพโดยการนำพืชมาวางไว้ในห้องเตรียมอาหารเพื่อให้พืชได้ปรับตัวให้เข้ากับอุณหภูมิที่สูง ปริมาณแสง ความชื้น ปรับสภาพพืชเป็นเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้นนำพืชย้ายออกปลูกในสภาพธรรมชาติ (ปิยะพร แสนสุข, 2563)

วิธีการย้ายออกปลูก

1. ต้นพืชที่เพาะเลี้ยงอยู่ภายในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช นำต้นอ่อนพืชที่ต้องการย้ายออกปลูกความสูงประมาณ 7 ซม. เลือกต้นที่สมบูรณ์ แข็งแรง เป็นต้นเดี่ยว มีราก ลำต้น ใบเจริญดี นำออกมาจากห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาวางไว้ในห้องเตรียมอาหาร เป็นเวลา 2 สัปดาห์ เพื่อให้พืชปรับสภาพให้เคยชินกับสภาพแวดล้อมที่ต่างไปจากเดิม
2. ใช้ปากคีบยาวคีบย้ายต้นอ่อนที่มีลำต้นแข็งแรงมีใบ 4-5 ใบ มีระบบรากแข็งแรง นำต้นอ่อนออกมาจากขวดแล้วนำมาแช่เศษขุยมะพร้าวที่ติดอยู่บริเวณรากและโคนออกให้หมดด้วยความระมัดระวังเนื่องจากรากอาจเสียหายหรือหลุดได้
3. ล้างขุยมะพร้าวที่ติดอยู่ที่ต้นอ่อนออกให้หมดด้วยน้ำประปาในการล้างน้ำประปาให้ระมัดระวังเนื่องจากต้นอ่อนบอบช้ำได้ง่ายอาจใช้ฟูกันช่วยในการล้างทำความสะอาด
4. นำต้นอ่อนไปปลูกในถุงดำขนาดเล็กที่เจาะรูตรงก้นถุงเพื่อป้องกันน้ำท่วมขัง ใส่วัสดุปลูกลงไปเกือบเต็มถุงวัสดุปลูกที่ใช้ได้แก่ ดิน ทราย ดินผสมทราย และดินผสมก้อนหิน เป็นต้น ในอัตราส่วนเท่ากันทั้งนี้ในการเลือกวัสดุที่นำมาใช้ในการปลูกพืชอาจเลียนแบบการเจริญของพืชชนิดนั้นในธรรมชาติ
5. เจาะรูในวัสดุปลูกตรงกลางถุงนำต้นอ่อนปลูกในถุงระวังอย่าให้รากหักหรือบอบช้ำนำวัสดุปลูกกลบโคนต้นให้มิด รดน้ำชุ่ม
6. ต้นอ่อนที่ปลูกในถุงดำนำไปวางไว้ในกระโจมพลาสติกขนาดใหญ่ภายในเรือนเพาะชำเพื่อรักษาความชื้น เพื่อให้ต้นอ่อนสามารถปรับตัวได้ตั้งตรงได้เร็วขึ้นใน 4 สัปดาห์
7. รดน้ำต้นอ่อนวันละ 1 ครั้ง ตอนเช้า
8. เมื่อต้นอ่อนปรับตัวได้แล้วสังเกตจากต้นอ่อนที่ตั้งตัวได้ดี ใบเริ่มคลี่ออกให้นำต้นอ่อนออกจากกระโจมพลาสติกแต่ยังอยู่ภายในเรือนเพาะชำ
9. ประมาณ 2 เดือน ต้นอ่อนจะปรับตัวได้ดีสังเกตจากลำต้นตั้งตรง มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นใหญ่ขึ้น ใบแผ่แบน มีระบบรากเจริญดี สังเกตจากเมื่อนำต้นอ่อนออกจากถุงดำจะมีรากสีขาว

ขนาดใหญ่จำนวนมากบางครั้งอาจพบต้นอ่อนที่เพิ่มจำนวนต้นได้ 2-5 ต้น จำนวนใบและความสูงเพิ่มขึ้นอยู่กับชนิดของวัสดุปลูก บันทึกการรอดชีวิต อัตราการรอดชีวิต จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ยและจำนวนใบเฉลี่ย

10. หลังจากนั้นนำต้นอ่อนออกปลูกนอกเรือนเพาะชำหรือปลูกในกระถาง (ปิยะพร แสนสุข, 2563)

2.4 คลอโรฟิลล์

คลอโรฟิลล์ (chlorophyll) เป็นสารสีที่ทำให้พืชมีสีเขียวและมีปริมาณมากที่สุดในโลก โดยคลอโรฟิลล์จัดอยู่ในกลุ่มของสารประกอบที่มีวงไพโรล 4 วง (tetrapyrroles) คลอโรฟิลล์เป็นองค์ประกอบสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช ซึ่งทำหน้าที่ในการดูดกลืนแสงอาทิตย์และส่งผ่านพลังงานแสงอาทิตย์ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ในพืชพบคลอโรฟิลล์เอ (chlorophyll a) และคลอโรฟิลล์บี (chlorophyll b) ซึ่งคลอโรฟิลล์จะมีวงไพโรล 4 วง ได้แก่ พอร์ไฟริน (porphyrin) กึ่งกลางของอะตอมมีแมกนีเซียม (Mg) และธาตุเหล็ก (Fe) เป็นองค์ประกอบหลัก (ศุภชาติ ธรรมนิติเวทย์, 2562)

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการย้ายพืชที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกในพืชสกุลประา

หนูเดือน เมืองแสน และคณะ (2562) ศึกษาการย้ายต้นอ่อนประาราศี (*K. larsenii* Sirirugs) ออกปลูกในสภาพธรรมชาติโดยใช้วัสดุปลูกคือ ดิน ทราย ปุ๋ยหมัก แกลบดำ ดินและทราย อัตราส่วน (1:1) ดินและปุ๋ยหมัก อัตราส่วน (1:1) ทรายและปุ๋ยหมัก อัตราส่วน (1:1) และ ดิน ทราย และปุ๋ยหมัก อัตราส่วน (1:1:1) เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนประาราศีที่ปลูกในทรายมีอัตราการรอดชีวิตสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ ต้นอ่อนประาราศีที่ปลูกในดิน ทรายและปุ๋ยหมักมีอัตราการรอดชีวิต 50 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 2.50 ยอดต่อต้น ต้นอ่อนประาราศีที่ปลูกในแกลบดำมีอัตราการรอดชีวิต 8.3 เปอร์เซ็นต์ มีความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 13.00 เซนติเมตร และในวัสดุปลูกดินมีอัตราการรอดชีวิต 41.67 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด 3.33 ใบต่อต้น

สิทธิศักดิ์ สละวรรณ์ และคณะ (2565) ศึกษาการย้ายต้นอ่อนประาโคราช (*K. koratensis*) ในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ ย้ายออกปลูกในกระถางโดยใช้วัสดุปลูก 3 ชนิด ได้แก่ ดินร่วน ดินทราย และดินร่วนผสมดินทราย (1:1) ย้ายออกปลูกเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าเมื่อย้ายออกปลูกในวัสดุปลูกทุกชนิด มีอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์

Rahman et al. (2004) ศึกษาการย้ายต้นอ่อน *K. galanga* ย้ายออกปลูกในสภาพธรรมชาติ โดยปลูกในดินที่มีส่วนผสมของขุยมะพร้าว พบว่ามีอัตราการรอดชีวิต 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำต้นอ่อนย้ายปลูกในดินที่มีส่วนผสมของดินสวน ปุ๋ยหมัก และดินทราย อัตราส่วน (2:2:1) พบว่ามีอัตราการรอดชีวิต 90 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้เมื่อนำต้นอ่อนย้ายลงปลูกในกระถางที่มีปุ๋ยอินทรีย์ พบว่ามีอัตราการรอดชีวิต 85 เปอร์เซ็นต์

Chirangini et al. (2005) ศึกษาการย้ายต้นอ่อน *K. galanga* และ *K. rotunda* ย้ายออกปลูกในกระถางพบว่าพืชทั้งสองชนิดมีอัตราการรอดชีวิต 80-90 เปอร์เซ็นต์ และมีการเจริญเติบโตแข็งแรง สมบูรณ์เต็มที่เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ในกระถางที่ปลูกต้นอ่อน *K. rotunda* เมื่อปลูกต้นอ่อนไปเป็นเวลา 8 สัปดาห์พบว่าใบมีลักษณะเป็นสีดำ และเมื่อนำต้นอ่อนในกระถางย้ายออกปลูกในวัสดุปลูกใหม่ คือ ทรายแม่น้ำและปุ๋ยคอก อัตราส่วน (1:1) พบว่าเมื่อปลูกต้นอ่อนเป็นเวลา 2 สัปดาห์ มีการแตกยอดใหม่ 4-6 ยอด และมีการเจริญเติบโตสมบูรณ์เต็มที่หลังจากย้ายออกปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์

Rahman et al. (2005) ศึกษาการย้ายต้นอ่อน *K. galanga* เมื่อย้ายต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกในสภาพธรรมชาติปลูกในกระถางด้วยขุยมะพร้าว พบว่าต้นอ่อนมีสภาพสมบูรณ์แข็งแรง และมีอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือต้นอ่อนที่ย้ายออกปลูกในวัสดุปลูกที่มีส่วนผสมของ ดินสวน ปุ๋ยหมัก และดินทราย อัตราส่วน (2:2:1) พบว่าอัตราการรอดชีวิต 90 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าเมื่อนำต้นอ่อนย้ายออกปลูกในวัสดุปลูกดินและปุ๋ยอินทรีย์ มีอัตราการรอดชีวิต 85 เปอร์เซ็นต์

Geetha et al. (2007) ศึกษาการย้ายต้นอ่อน *K. galanga* และ *K. rotunda* ในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ โดยนำต้นอ่อนที่มีใบ 3-5 ใบ และมีราก 6-10 ราก ย้ายลงปลูกในกระถาง ปลูกในวัสดุปลูก คือ ดินทราย ดินสวน และเวอร์มิคูไลต์ อัตราส่วน (1:1:1) ย้ายออกปลูกเป็นเวลา 12-14 สัปดาห์ พบว่าอัตราการรอดชีวิต 90-95 เปอร์เซ็นต์ ต้นอ่อนที่ย้ายออกปลูกเริ่มมีการงอกของใบ และเกิดรากใหม่เมื่อปลูกไปแล้ว 20-30 วัน

Kalpana & Anbazhagan (2009) ศึกษาการย้ายต้นอ่อน *K. galanga* ในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในสภาพธรรมชาติที่มีลักษณะแข็งแรง สมบูรณ์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยใช้วัสดุปลูกคือ ดินร่วน ดินทราย และเวอร์มิคูไลต์ อัตราส่วน (1:1:1) พบว่า *K. galanga* มีอัตราการรอดชีวิต 81 เปอร์เซ็นต์

Parida et al. (2010) ศึกษาการย้ายต้นอ่อน *K. galanga* ออกปลูกในสภาพธรรมชาติที่มีลักษณะที่แข็งแรง มียอดและรากแข็งแรง นำไปปรับสภาพในเรือนกระจก เป็นเวลา 30 วัน จากนั้นย้ายออกปลูกในกระถางที่มีวัสดุปลูก ดิน ทราย และปุ๋ยคอก อัตราส่วน (1:1:1) พบว่า *K. galanga* มีอัตราการรอดชีวิต 95 เปอร์เซ็นต์

Ibemhal et al. (2012) ศึกษาการย้ายต้นอ่อน *K. galanga* ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกในสภาพธรรมชาติในวัสดุปลูกดิน ปลูกในถ้วยพลาสติกสูง 10 เซนติเมตร เป็นเวลา 2 เดือน พบว่า *Kaempferia galanga* L. มีอัตราการรอดชีวิต 95 เปอร์เซ็นต์

Kochuthressia et al. (2012) ศึกษาการย้ายต้นอ่อน *K. galanga* ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกในสภาพธรรมชาติ มียอดและรากแข็งแรง ย้ายออกปลูกในถ้วยพลาสติกที่มีวัสดุปลูก ดิน ทรา และปุ๋ยคอก อัตราส่วน (1:1:2) พบว่า *K. galanga* มีอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์

Bhattacharya & Sen (2013) ศึกษาการย้ายต้นอ่อน *K. galanga* ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีลักษณะแข็งแรง ต้นโตเต็มที่ย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำโดยใช้วัสดุปลูกคือดินผสมทราย อัตราส่วน (1:1) ปลูกเป็นเวลา 1 เดือน พบว่า *K. galanga* มีอัตราการรอดชีวิตสูงที่สุด 94 เปอร์เซ็นต์

Sahoo et al. (2014) ศึกษาการย้ายต้นอ่อน *K. galanga* ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกในสภาพธรรมชาติในวัสดุปลูกดินผสมปุ๋ยคอกและทราย อัตราส่วน (1:1:1) เป็นเวลา 30 วัน พบว่า *K. galanga* มีอัตราการรอดชีวิต 94 เปอร์เซ็นต์

Saensouk et al. (2016) ศึกษาอัตราการรอดชีวิตของเปราะป่าที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเมื่อนำออกปลูกโดยใช้วัสดุปลูก ดังนี้ แกลบเผา ทราย และแกลบเผาผสมทราย อัตราส่วน (1:1) ย้ายออกปลูกเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนเปราะป่าเมื่อย้ายออกปลูกในแกลบเผาผสมทรายมีอัตราการรอดชีวิตสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด 3.39 ใบต่อต้นและมีความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 9.49 เซนติเมตร

Nonthalee et al. (2022) ศึกษาการย้ายออกปลูกเปราะสยาม (*K. siamensis*) ในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ โดยใช้วัสดุปลูก 2 ชนิดคือ ดินร่วนและดินร่วนผสมดินทราย อัตราส่วน (1:1) ย้ายออกปลูกเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่ามีอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์

Rahman et al. (2022) ศึกษาการย้ายออกปลูก *K. angustifolia* ย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำที่มีความสว่าง 75 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้วัสดุปลูกคือ ดินอินทรีย์และดินส่วนหน้าของหน้าดินตามธรรมชาติ ปลูกในถ้วยพลาสติก พบว่ามีอัตราการรอดชีวิต 95 เปอร์เซ็นต์ ย้ายออกปลูกเป็นเวลา 32 สัปดาห์ สังเกตการทดลองพบการเกิดเหง้า

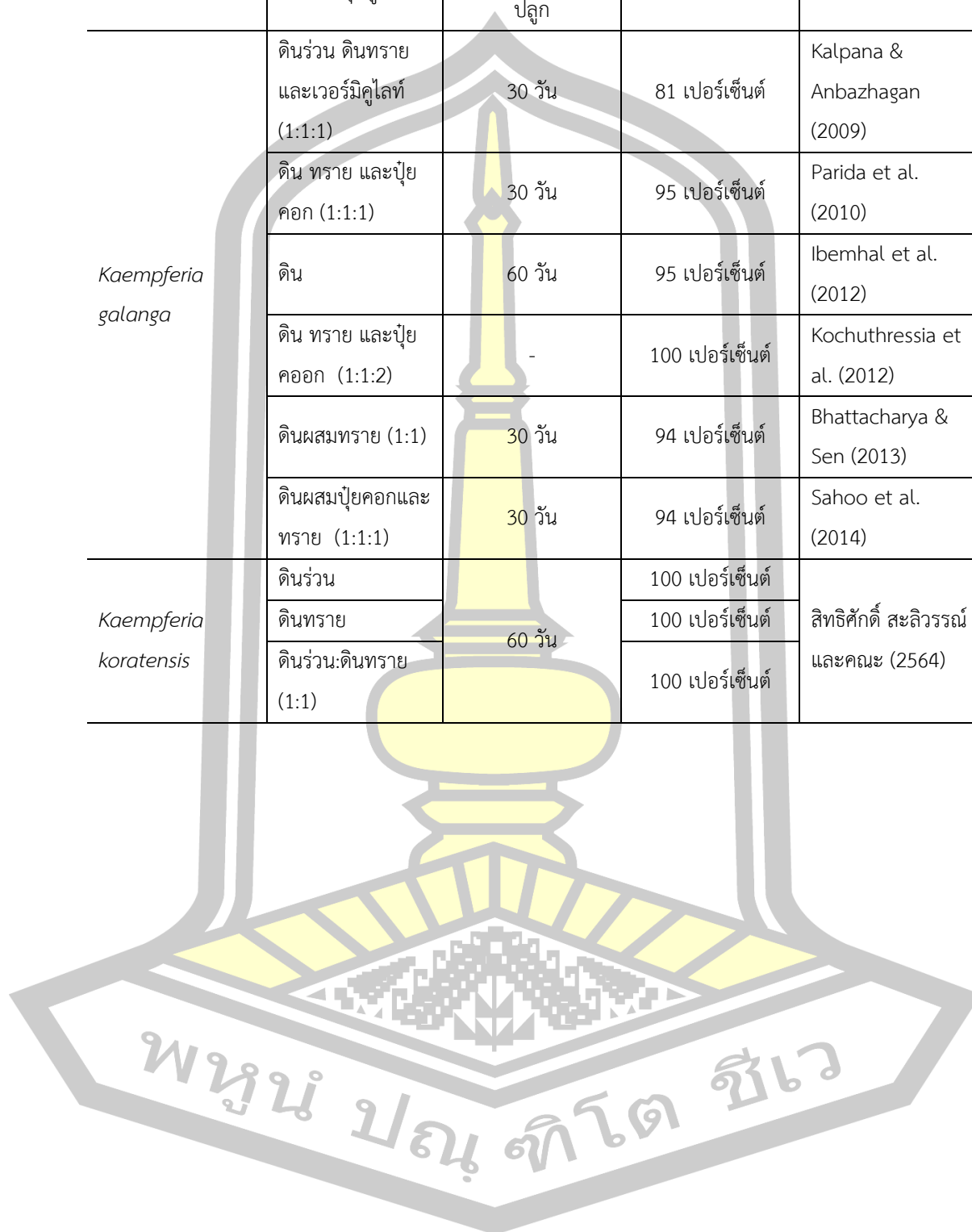
Saensouk et al. (2023) ศึกษาการย้ายออกปลูกปราบสมุทร (*K. angustifolia*) ในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ ในวัสดุปลูกที่แตกต่างกัน ได้แก่ ดินร่วน ดินทราย ดินร่วนผสมดินทราย อัตราส่วน (1:1) และดินร่วนผสมก้อนหินเล็ก ๆ อัตราส่วน (1:1) ย้ายออกปลูกเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ในทุกวัสดุปลูกพบอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าในวัสดุปลูกดินร่วน พบการเกิดยอดสูงสุด 5.20 ยอดต่อต้น และเกิดรากสูงสุด 10.50 รากต่อต้น

จากงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการย้ายพืชที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกในพืชสกุลเปราะ สามารถสรุปได้ดังตารางที่ 2

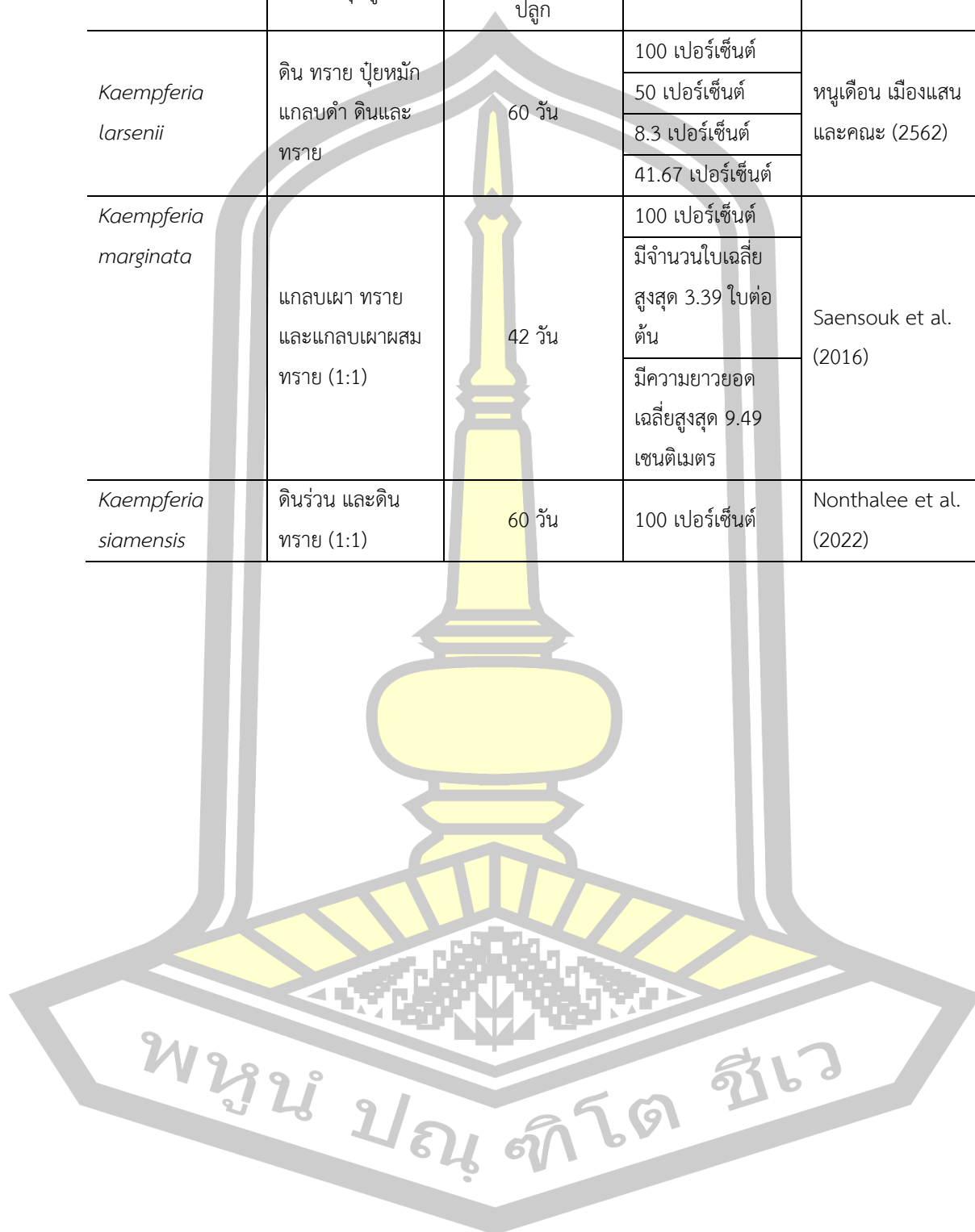
ตารางที่ 2 ตารางสรุปงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการย้ายพีชสกุลเปราะที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูก

ชนิดพืช	วัสดุปลูก	ระยะเวลาย้าย ออกปลูก	อัตราการรอด ชีวิต	อ้างอิง
<i>Kaempferia angustifolia</i>	ดินอินทรีย์ และ ดินส่วนหน้าของ หน้าดินตาม ธรรมชาติ	224 วัน	95 เปอร์เซ็นต์ และพบการเกิด เหง้า	Rahman et al. (2022)
	ดินร่วน	60 วัน	100 เปอร์เซ็นต์	Rahman et al. (2004)
	ดินทราย	60 วัน	100 เปอร์เซ็นต์	
	ดินร่วน และดิน ทราย (1:1)	60 วัน	100 เปอร์เซ็นต์	
	ดินร่วนผสมก้อน หินเล็ก ๆ	60 วัน	100 เปอร์เซ็นต์	
<i>Kaempferia galanga</i>	ดิน:ขุยมะพร้าว	42 วัน	95 เปอร์เซ็นต์	Chirangini et al. (2005)
	ดินสวน ปุ๋ยหมัก และดินทราย (2:2:1)	42 วัน	90 เปอร์เซ็นต์	
	ดินร่วน และปุ๋ย อินทรีย์ (1:1)	42 วัน	85 เปอร์เซ็นต์	
	ทรายแม่น้ำ และ ปุ๋ยคอก	60 วัน	80 เปอร์เซ็นต์	Chirangini et al. (2005)
	ขุยมะพร้าว	42 วัน	100 เปอร์เซ็นต์	Rahman et al. (2005)
	ดินสวน ปุ๋ยหมัก และดินทราย (2:2:1)	42 วัน	90 เปอร์เซ็นต์	
	ดินร่วน และปุ๋ย อินทรีย์ (1:1)	42 วัน	85 เปอร์เซ็นต์	
	ดินทราย ดิน สวน และเวอร์มิ คูไลท์ (1:1:1)	98 วัน	90 เปอร์เซ็นต์	Geetha et al. (2007)

ชนิดพืช	วัสดุปลูก	ระยะเวลาย้ายออก ปลูก	อัตราการรอดชีวิต	อ้างอิง
<i>Kaempferia galanga</i>	ดินร่วน ดินทราย และเวอร์มิคูไลท์ (1:1:1)	30 วัน	81 เปอร์เซ็นต์	Kalpana & Anbazhagan (2009)
	ดิน ทราย และปุ๋ย คอก (1:1:1)	30 วัน	95 เปอร์เซ็นต์	Parida et al. (2010)
	ดิน	60 วัน	95 เปอร์เซ็นต์	Ibemhal et al. (2012)
	ดิน ทราย และปุ๋ย คอก (1:1:2)	-	100 เปอร์เซ็นต์	Kochuthressia et al. (2012)
	ดินผสมทราย (1:1)	30 วัน	94 เปอร์เซ็นต์	Bhattacharya & Sen (2013)
	ดินผสมปุ๋ยคอกและ ทราย (1:1:1)	30 วัน	94 เปอร์เซ็นต์	Sahoo et al. (2014)
<i>Kaempferia koratensis</i>	ดินร่วน	60 วัน	100 เปอร์เซ็นต์	สิทธิศักดิ์ สະลิวรรณ และคณะ (2564)
	ดินทราย		100 เปอร์เซ็นต์	
	ดินร่วน:ดินทราย (1:1)		100 เปอร์เซ็นต์	



ชนิดพืช	วัสดุปลูก	ระยะเวลาย้ายออก ปลูก	อัตราการรอดชีวิต	อ้างอิง
<i>Kaempferia larsenii</i>	ดิน ทราย ปุ๋ยหมัก แกลบดำ ดินและ ทราย	60 วัน	100 เปอร์เซ็นต์	หนูเดือน เมืองแสน และคณะ (2562)
			50 เปอร์เซ็นต์	
			8.3 เปอร์เซ็นต์	
			41.67 เปอร์เซ็นต์	
<i>Kaempferia marginata</i>	แกลบเผา ทราย และแกลบเผาผสม ทราย (1:1)	42 วัน	100 เปอร์เซ็นต์	Saensouk et al. (2016)
			มีจำนวนใบเฉลี่ย สูงสุด 3.39 ใบต่อ ต้น	
			มีความยาวยอด เฉลี่ยสูงสุด 9.49 เซนติเมตร	
<i>Kaempferia siamensis</i>	ดินร่วน และดิน ทราย (1:1)	60 วัน	100 เปอร์เซ็นต์	Nonthalee et al. (2022)



2.6 การสกัดสารสำคัญจากพืช

สารสำคัญในพืชสมุนไพร เป็นสารประกอบที่บ่งบอกความเฉพาะตัวของสมุนไพร พืชสมุนไพร มีความหลากหลายในขณะเดียวกันสารสำคัญหรือสารประกอบในพืชสมุนไพรก็มีมากมายหลายชนิด ซึ่งสารแต่ละชนิดจะมีคุณสมบัติแตกต่างกัน เช่น สารบางชนิดเป็นสารที่มีขี้สามารถละลายน้ำได้ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต กรดอินทรีย์ เป็นต้น หรือสารบางชนิดเป็นสารที่มีขี้สามารถละลายน้ำได้ เช่น แทนนิน ชาโพนิน รวมถึงสารบางชนิดเป็นสารไม่มีขี้ที่ไม่สามารถละลายน้ำได้แต่ละลายได้ดีในตัวทำละลายสารอินทรีย์ เช่น น้ำมันหอมระเหย ไขมัน เป็นต้น ดังนั้นในการสกัดจะต้องทราบว่าสารที่สนใจมีคุณสมบัติอย่างไรเพื่อที่จะได้เลือกวิธีและตัวทำละลายให้เหมาะสมเพื่อใช้ในการสกัด

หลักการสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร มี 2 แบบหลัก ๆ คือ การกลั่น (distillation) ที่ใช้หลักการของการระเหยของสารสำคัญและการพาของน้ำหรือไอน้ำ และการสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction) ที่ใช้หลักการของการละลายของสารสำคัญในตัวทำละลาย วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายที่นิยมใช้ในปัจจุบัน ได้แก่ การสกัดแบบชงแบบอินฟิวชัน (infusion) การสกัดแบบชงแบบเพอร์โคเลชัน (percolation) การสกัดแบบต่อเนื่อง (soxhlet extraction) การสกัดแบบหมัก (maceration) การสกัดโดยใช้ไขมัน (enfleurage) การสกัดสารด้วยคลื่นไมโครเวฟ (microwave-assisted extraction, MAE) และการสกัดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูง (ultrasound assisted extraction, UAE)

1. การกลั่น (distillation) เป็นวิธีการที่ได้รับความนิยมในการสกัดสารสำคัญที่ระเหยง่าย ไม่ละลายน้ำ และไม่ทำปฏิกิริยากับน้ำโดยเฉพาะกับการกลั่นน้ำมันหอมระเหย (essential oils) จากส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น เหง้า ราก ลำต้น ใบ ดอก เปลือกของผลที่มีน้ำมันหอมระเหยเป็นองค์ประกอบ สำหรับการสกัดใช้หลักการทำให้สารสำคัญหรือน้ำมันหอมระเหย ระเหยเป็นไอและควบแน่นเป็นของเหลว โดยใช้น้ำร้อนหรือไอน้ำร้อนพาน้ำมันหอมระเหยออกจากพืชสมุนไพรโดยน้ำหรือไอน้ำจะแทรกซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อของพืช ความร้อนจะทำให้ น้ำมันหอมระเหยกลายเป็นไอปนมากับน้ำร้อนหรือไอน้ำ และถูกส่งไปตามท่อและผ่านระบบหล่อเย็น จากนั้นน้ำมันหอมระเหยและไอน้ำจะควบแน่นกลายเป็นของเหลว โดยของเหลวที่ได้สามารถแยกชั้นเป็นสามส่วน คือ น้ำมันหอมระเหยอยู่ส่วนบน น้ำจะอยู่ส่วนล่าง สำหรับส่วนกลางเป็นส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยและน้ำ การเลือกพืชมาสกัดน้ำมันหอมระเหยควรเลือกพืชที่มีน้ำมันหอมระเหยเป็นองค์ประกอบ และชนิดของน้ำมันหอมระเหยควรระเหยได้ดีที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเดือดของน้ำ หากน้ำมันหอมระเหยระเหยได้ดีที่อุณหภูมิสูงกว่าจุดเดือดของน้ำ จะส่งผลให้น้ำมันหอมระเหยไม่สามารถระเหยออกมาพร้อมกับไอน้ำได้ ทำให้ได้สารสกัดที่มีปริมาณน้ำมันหอมระเหยต่ำ เทคนิคการกลั่นน้ำมันหอมระเหยมี 3 วิธี ได้แก่

1.1 การกลั่นด้วยความร้อน (water distillation) เป็นวิธีที่ง่ายที่สุดของการกลั่นน้ำมันหอมระเหย การกลั่นโดยวิธีนี้เหมาะกับการกลั่นสกัดสารสำคัญที่ทนต่อความร้อนและไม่สลายตัวง่าย

เมื่อให้ความร้อนเป็นเวลานาน โดยภาชนะสำหรับกลั่นต้องจุ่มในน้ำเดือดทั้งหมด ข้อจำกัดของสำหรับการกลั่นด้วยวิธีนี้คือระยะเวลาที่ใช้ในการกลั่นนานกว่าการกลั่นด้วยน้ำและไอน้ำ และการกลั่นด้วยไอน้ำโดยตรง

1.2 การกลั่นด้วยน้ำและไอน้ำ (water and steam distillation) เป็นเทคนิคการกลั่นที่ใช้กันอย่างกว้างขวางในการผลิตน้ำมันหอมระเหยทางการค้า โดยมีหลักการโดยใช้ตะแกรงรองพืชสมุนไพรที่จะกลั่นให้เหนือระดับน้ำในหม้อกลั่น ต้มน้ำให้เดือด ไอน้ำจะลอยตัวขึ้นไปผ่านพืชที่จะกลั่น ซึ่งน้ำจะไม่ถูกกับพืช ไอน้ำจากน้ำเดือดเป็นไอน้ำที่อ้อมตัวที่ความดันบรรยากาศ (atmospheric pressure) จึงเป็นไอน้ำที่ไม่ร้อนจัด การกลั่นด้วยวิธีนี้ เป็นการกลั่นที่สะดวกที่สุด คุณภาพของน้ำมันหอมระเหยที่ได้จะดีกว่าการกลั่นด้วยน้ำร้อน น้ำมันหอมระเหยจะไม่ไวต่อการย่อยสลาย และวิธีนี้ช่วยลดการเสื่อมสภาพจากความร้อนของสารสำคัญได้ดี แต่ใช้เวลาในการสกัดนานกว่าการกลั่นด้วยความร้อน ข้อจำกัดของวิธีการนี้คือต้องมีที่กั้นเพื่อป้องกันไม่ให้น้ำเดือดสัมผัสกับสมุนไพร

1.3 การกลั่นด้วยไอน้ำโดยตรง (direct steam distillation) ทำได้โดยวางพืชอยู่บนตะแกรงในหม้อกลั่น ซึ่งไม่มีน้ำอยู่เลย ไอน้ำภายนอกอาจเป็นไอน้ำอ้อมตัว หรือไอน้ำร้อนจัดที่ความดันสูงกว่าความดันบรรยากาศ ส่งไปตามท่อใต้ตะแกรง ไอน้ำต้องมีปริมาณเพียงพอที่จะช่วยให้ให้น้ำมันระเหยออกมาจากพืชสมุนไพร พืชสมุนไพรบางชนิดอาจใช้น้ำร้อนจัดได้แต่บางชนิดต้องใช้ไอน้ำอ้อมตัว น้ำมันถึงจะถูกปล่อยออกมา ข้อดีของการกลั่นด้วยวิธีนี้ คือ สามารถกลั่นได้อย่างรวดเร็ว ควบคุมปริมาณไอน้ำได้

2. การสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction) ใช้หลักการของการละลาย จำเป็นต้องทราบถึงหลักการของการละลายความมีขั้ว (polarity) ของทั้งตัวทำละลายและสารสำคัญโดยสารสำคัญจะสามารถละลายในตัวทำละลายได้ดีเมื่อความเป็นขั้วของตัวทำละลายสำคัญกับตัวทำละลายมีค่าใกล้เคียงกัน (like dissolves like) คือ ตัวถูกละลายที่มีขั้วจะละลายในตัวทำละลายที่มีขั้วเพราะแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลมีขั้วเป็นแรงไดโพล-ไดโพล (dipole-dipole) ในทางตรงข้ามตัวถูกละลายที่ไม่มีขั้วจะละลายในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วเพราะแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลไม่มีขั้วเป็นแรงแวนเดอร์วาลส์ (van der waals force) เหมือนกัน ตัวทำละลายที่มีขั้วไม่เท่ากันจะมีความสามารถในการละลายสารชนิดเดียวกันได้ไม่เท่ากัน การเลือกใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสม นอกจากจะสามารถละลายสารสำคัญที่ต้องการสกัดได้ดีแล้ว ยังต้องไม่ระเหยง่ายหรือยากเกินไป ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการสกัด ไม่เป็นพิษ และราคาไม่แพงมาก ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัด คือ ขนาดอนุภาคของสมุนไพรที่จะนำมาสกัด สัดส่วนของสมุนไพรกับปริมาณตัวทำละลายที่ใช้ อุณหภูมิ และเวลาที่ใช้ในการสกัด การสกัดด้วยตัวทำละลายมีหลายวิธี ได้แก่

2.1 การสกัดแบบชง (infusion) การชงแบบอินฟิวชัน เป็นการสกัดสารสำคัญโดยใช้ระยะเวลาช่วงสั้น ๆ ร่วมกับการใช้น้ำร้อนหรือน้ำเย็น ซึ่งสารสำคัญควรมีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้

ดี สำหรับการสกัดแบบเพอร์โคเลชัน เป็นการใช้เครื่องชง (percolator) ทำได้โดยหมักสมุนไพรกับตัวทำละลายผ่านอุปกรณ์เครื่องชง และปล่อยให้ตัวทำละลายไหลผ่านผงสมุนไพรอย่างช้า ๆ พร้อมกับละลายสารสำคัญออกมา เครื่องชงมีลักษณะเป็นคอลัมน์ทรงกระบอกปลายเปิดทั้งสองด้าน โดยที่ปลายบนจะกว้างกว่าปลายล่าง เพื่อสะดวกในการบรรจุผงสมุนไพร ส่วนปลายล่างมักจะต่อกับท่อสายยาง ปิด-เปิด เพื่อได้เป็นระยะเวลาที่เหมาะสม แล้วจึงปล่อยให้ตัวทำละลายไหลผ่านผงสมุนไพรในอัตราเร็วพอเหมาะพร้อมกับเติมตัวทำละลายใหม่ผ่านลงเรื่อย ๆ จนองค์ประกอบที่ต้องการในผงสมุนไพรละลายออกมาจนหมดโดยการตรวจสอบจากการสกัดสุดท้าย

2.2 การสกัดแบบซอกซ์เลต (soxhlet extraction) เป็นกระบวนการสกัดสารสำคัญจากสมุนไพรโดยใช้ความร้อน และตัวทำละลายที่มีจุดเดือดต่ำ เครื่องมือที่ใช้เป็นระบบปิดเรียกว่า soxhlet extractor หลักการทำงานของเครื่องคือใส่ตัวทำละลายลงในขวดบรรจุตัวทำละลาย (boiling flask) และให้ความร้อนเพื่อให้ตัวทำละลายระเหยกลายเป็นไอไปตามช่องสำหรับไอระเหย (distillation path) เพื่อให้ไอของตัวทำละลายระเหยขึ้นสู่ส่วนบนซึ่งต่อกับเครื่องควบแน่น (condenser) จากนั้นไอของตัวทำละลายถูกควบแน่นตกลงมาสู่ภาชนะที่บรรจุผงสมุนไพรไว้ (extraction thimble) เมื่อตัวทำละลายใน extraction chamber เพิ่มสูงขึ้นจนถึงระดับกัลก้าน้ำ (siphon arm) ตัวทำละลายด้านล่าง การสกัดจึงหมุนเวียนต่อเนื่องกัน วิธีนี้ทำให้ประหยัดตัวทำละลายและทำให้ได้สารสกัดที่มีความเข้มข้นสูง สมุนไพรจะไม่ถูกความร้อนสูงเท่ากับการต้มโดยตรง ข้อจำกัดของวิธีนี้ คือ ไม่เหมาะกับพืชสมุนไพรและสารสำคัญที่ไม่ทนความร้อน

2.3 การสกัดแบบหมัก (maceration) หลักการสกัดแบบการหมัก คือ การแช่ผงสมุนไพรในตัวทำละลาย จนกระทั่งตัวทำละลายแทรกซึมเข้าไปละลายสารสำคัญในผงสมุนไพรออกมา โดยระยะเวลาในการหมักหรือแช่ผงสมุนไพรในตัวทำละลายประมาณ 2-4 วัน หรือจนกระทั่งสารสำคัญที่ต้องการออกมาหมด หลังจากนั้นกรองแยกกากสมุนไพรออกจากตัวทำละลายและปรับปริมาตรสารสกัดที่ต้องการ ข้อดีของการสกัดแบบหมัก คือ เหมาะกับสารสำคัญที่ไวต่อความร้อน ข้อเสีย คือ ต้องกวนบ่อย ใช้ตัวทำละลายมาก และมีค่าใช้จ่ายสูง (วิภาวรรณ นิละพงษ์ และคณะ, 2561)

2.4 การสกัดโดยใช้ไขมัน (enfleurage) เป็นวิธีการสกัดแบบดั้งเดิม มักใช้กับดอกไม้ที่มีกลิ่นบาง เช่น ลั่นทม กุหลาบ มะลิ เป็นต้น โดยวางกลีบดอกไม้ลงบนไขมันที่เกลี่ยไว้ ตั้งทิ้งไว้ กลิ่นของดอกไม้จะละลายในไขมัน จากนั้นเปลี่ยนดอกไม้ชุดใหม่ ทำซ้ำเช่นนี้ประมาณ 7-10 ครั้ง จนกว่าไขมันจะอิ่มตัว จากนั้นใช้ตัวทำละลาย เช่น แอลกอฮอล์สกัดกลีบดอกไม้จากไขมัน และระเหยตัวทำละลายที่อุณหภูมิและความดันต่ำ จะได้หัวน้ำหอมที่มีความเข้มข้นมาก จากนั้นนำมาแช่เย็นแยกส่วนที่เป็นไขออก จะได้หัวน้ำหอมที่บริสุทธิ์ขึ้น (Stratakos & Koidis, 2016)

2.5 การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ (microwave-assisted extraction, MAE) เป็นวิธีการสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟซึ่งเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความถี่อยู่ในช่วง $3 \times 10^2 - 3 \times 10^5$

เมกะเฮิรตซ์ และความยาวคลื่นอยู่ในช่วง 0.01-1.00 เมตร ร่วมกับตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัด ด้วยคุณสมบัติความเป็นขั้วของโมเลกุลภายในตัวทำละลายที่ใช้สกัดจะเกิดแรงต้านการเคลื่อนที่หรือเสียดสีกันทำให้เกิดความร้อนขึ้นซึ่งมีผลต่อเซลล์พืชและเกิดการสกัดสารสำคัญออกมา พบว่าที่ความถี่ 2,450 เมกะเฮิรตซ์ มีกำลังไฟฟ้าอยู่ในช่วง 600-700 วัตต์ การสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟ มีความสะดวก รวดเร็ว สามารถช่วยลดช่วงระยะเวลาและปริมาณการใช้ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดได้ดี ข้อจำกัดของเทคนิคนี้ คือ ไม่สามารถใช้ร่วมกับตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว เช่น เฮกเซน เนื่องจากตัวทำละลายจะไม่สามารถดูดซับพลังงานคลื่นไมโครเวฟได้จึงทำให้ไม่เกิดความร้อน

2.6 การสกัดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูง (ultrasound assisted extraction; UAE) เป็นการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงในช่วง 20-100 กิโลเฮิรตซ์ เพื่อทำให้เกิดการสั่นสะเทือนหรือทำให้เกิดและสลายฟองอากาศขนาดเล็กจำนวนมากอย่างรวดเร็วในตัวทำละลาย จึงทำให้เกิดการสกัดแล้วเกิดการปลดปล่อยสารสำคัญจากสมุนไพรออกมา ข้อดีของการสกัดด้วยวิธีนี้ คือ ลดระยะเวลา อุณหภูมิ ลดขนาดของอุปกรณ์ลง และได้ปริมาณสารสกัดสูงขึ้น เมื่อเทียบกับการสกัดแบบหมักและการสกัดแบบซอกท์เลต (Strakos & Koidis, 2016; Goula et al., 2017)

2.7 สารพฤษเคมี

สารพฤษเคมี (phytochemical) เป็นสารสำคัญที่พบในพืช โดยส่วนมากเป็นสารทุติยภูมิ (secondary product) ที่พืชสังเคราะห์ขึ้นเพื่อมีจุดประสงค์บางอย่าง เช่น การป้องกันตัวเองจากเชื้อโรค ให้สีสันทับพืชตัวอย่างของสารพฤษเคมี ได้แก่ แทนนิน (tannin) ซาโปนิน (saponins) อัลคาลอยด์ (alkaloids) สารประกอบฟีนอลิก (polyphenolic compound) สารแอนทราควิโนน (anthraquinones) และสารคูมาริน (coumarin) ซึ่งสารพฤษเคมีในพืชมีหลายชนิดในแต่ละชนิดออกฤทธิ์แตกต่างกัน โดยส่วนใหญ่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ เนื่องจากมีโครงสร้างที่ซับซ้อนและมีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนได้ดี (ดัลัด ศิริวัน, 2551)

2.8 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compound) คือ สารจากสิ่งมีชีวิตตามธรรมชาติที่มีผลต่อสิ่งมีชีวิตทั้งคน สัตว์ และพืช โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีต้องเป็นสารที่มีผลจำเพาะเจาะจง เช่น มีความจำเพาะเจาะจงต่อเซลล์มะเร็ง มีฤทธิ์จำเพาะเจาะจงต่อเชื้อไวรัสโรค เป็นต้น และสารนั้นจะต้องไม่มีผลในทางลบต่อร่างกายหรือมีผลข้างเคียงน้อย ซึ่งสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมีหลายชนิด เช่น แอนโธไซยานิน (anthocyanin) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ลูทีน (lutein) สารกลุ่มฟีนอล (polyphenol) และไบโอแอคทีฟเพปไทด์ (bioactive peptide) เป็นต้น (สุริยา ทุดปอ และ จิตรา สิงห์ทอง, 2560)

2.9 สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds)

สารประกอบฟีนอลิกมีโพลีฟีนอลเป็นส่วนประกอบหลักของเมตาบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolites) ในพืชและยังเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วย สารประกอบฟีนอลิกจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ที่พบมากในธรรมชาติ ได้แก่ พืชผัก ผลไม้ ชาเขียว ชาดำ ช็อกโกแลต และไวน์แดง เป็นต้น ปัจจุบันนี้พบสารประกอบฟีนอลิกในธรรมชาติมากกว่า 8,000 ชนิด ตั้งแต่สารที่มีโมเลกุลอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ เป็นต้น และสารที่มีโครงสร้างโมเลกุลที่ซับซ้อน เช่น ลิกนิน เมลานิน และแทนนิน เป็นต้น สารโพลีฟีนอลิกเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญเพราะมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ต้านไวรัส ต้านการอักเสบ ต้านการแพ้ มีคุณสมบัติในการสลายลิ่มเลือด และเป็นสารต้านการเกิดมะเร็ง อีกทั้งสามารถลดความดันโลหิตโดยมีฤทธิ์ขยายหลอดเลือด ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวสัมพันธ์กับลักษณะของการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยสารประกอบฟีนอลิกมีโครงสร้างทั่วไปที่ประกอบด้วยโครงสร้างที่เป็นวงอะโรมาติก และมีหมู่แทนที่เป็นหมู่ไฮดรอกซีอย่างน้อย 1 หมู่และสามารถละลายน้ำได้ ปัจจุบันผู้บริโภคมีความสนใจในอาหารเพื่อสุขภาพ (functional food) มากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งการบริโภคอาหารเพื่อสุขภาพที่มีสารต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่าง ๆ ทั้งโรคมะเร็ง โรคอัลไซเมอร์ โรคหัวใจรวมทั้งโรคที่เกี่ยวข้องกับหลอดเลือดหัวใจ เป็นต้น เนื่องจากสารที่พบในพืช (phytonutrients) เป็นสารที่เข้าไปทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น รังควัตถุและสารฟีนอลิกต่าง ๆ เป็นต้น (ลลิตา ธีระสิริ, 2542; อ้อมใจ วงษ์มณฑา, 2556)

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านออกซิเดชันที่พบมากในอาหารในธรรมชาติ เป็นสารทุติยภูมิที่สร้างขึ้นโดยพืช โดยมีโครงสร้างประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซีเกาะอยู่กับวงแหวนเบนซีนสามารถจำแนกชนิดของสารประกอบฟีนอลิกเป็นกลุ่มต่าง ๆ ได้แก่

1. กลุ่มกรดฟีนอลิกที่มาจาก hydroxybenzoic acid ได้แก่ gallic acid และกรดฟีนอลิกที่มาจาก hydroxycinnamic acid ได้แก่ caffeic acid, ferulic และ coumaric acid
2. กลุ่มฟลาโวนอยด์ เป็นกลุ่มใหญ่ ประกอบด้วย ฟลาโวน (flavones), ฟลาโวนอล (flavonols), ฟลาวาโนนอล (flavanonols), ฟลาวาโนน (flavanones) และไอโซฟลาโวน (isoflavones)
3. กลุ่มสตีลเบน (stilbenes)
4. กลุ่มลิกนินและโพลีเมอร์ของลิกนิน สารประกอบฟีนอลิกพบมากในผลไม้ ผัก และเครื่องเทศ ในอาหารพบกลุ่มฟลาโวนอยด์อยู่มาก เช่น คาร์เทชิน และโปรแอนโธไซยานิดิน และกลุ่มแอนโธไซยานิน

กรดฟีนอลิก เป็นสารประกอบฟีนอลิกกลุ่มหนึ่งที่ถูกสร้างขึ้นโดยพืช สามารถแบ่งกรดฟีนอลิกได้ 2 ชนิด ได้แก่

1. กรดไฮดรอกซีซินนามิก (hydroxycinnamic acids) เป็นกรดฟีนอลิกกลุ่มใหญ่ที่สุดพบมากในพืช กรดฟีนอลิกที่พบมาก ได้แก่ *p*-coumaric, caffeic, ferulic และ sinapic acid

1.1 กรดคูมาริก (*p*-coumaric acid) เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่เป็นอนุพันธ์ของกรดไฮดรอกซีของกรดซินนามิก มีลักษณะเป็นผลึกแข็งสีขาวละลายในน้ำได้แต่ละลายได้ดีในเอทานอลและไดเอซิลเอสเทอร์ กรดนี้พบได้ 3 ไอโซเมอร์ คือ *o*-coumaric acid, *m*-coumaric acid และ *p*-coumaric acid เป็นไอโซเมอร์ที่พบมากที่สุด ในธรรมชาติ เช่น ถั่วลิสง แครอท พริกสีเขียวก และกระเทียม เป็นต้น ฤทธิ์ทางชีวภาพของกรดชนิดนี้คือ สามารถต้านออกซิเดชันของ low-density lipoprotein (LDL)

1.2 กรดคาเฟอิก (caffeic acid) เป็นสารทุติยภูมิที่พืชสร้างขึ้น จัดเป็นกรดคาร์บอกซิลิก ซึ่งอาจอยู่ในรูปกรดอิสระหรือจับกันเป็นโอลิโกเมอร์ หรือเชื่อมด้วยสารประกอบอินทรีย์ในรูปของ กลูโคไซด์ และเอสเทอร์ เป็นสารเมตาโบไลต์ที่เกิดขึ้นในวิถีฟีนีลโพรพานอยด์ กรดคาเฟอิกพบในผลไม้ ผัก เครื่องเทศ และเครื่องดื่ม กรดคาเฟอิกอีเทอร์ ใช้ประโยชน์ทางยา โดยเป็นสารประกอบที่มีฤทธิ์ต้านสารก่อมะเร็ง ด้านภาวะการอักเสบ กรดคาเฟอิกสามารถต้านออกซิเดชัน สามารถกำจัดอนุมูลอิสระและโครงสร้างมีความเสถียร สามารถป้องกันการเกิดออกซิเดชันของกรดลิโนเลอิก (linoleic acid) และป้องกันเนื้อเยื่อและดีเอ็นเอจากการถูกทำลายด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชัน

1.3 กรดวานิลลิก (vanillic acid) เป็นสารประกอบหลักของ biovanillin กรดนี้ประกอบด้วยหมู่อัลดีไฮด์และฟีนอลิก กรดวานิลลิกถูกสร้างขึ้นโดยพืช เช่น ฝักรวานิลลา และสามารถสังเคราะห์ได้ในอุตสาหกรรมอาหาร เพื่อใช้เป็นสารให้กลิ่นในลูกกวาด อาหารและเครื่องดื่ม และได้จากการผลิตเคอร์คูมิน (curcumin) จากขมิ้น กรดวานิลลิกถูกนำมาใช้เป็นยาบำรุงกำลัง กรดวานิลลิกมีคุณสมบัติในการต้านสารก่อมะเร็ง โดยลดจำนวนเซลล์มะเร็งในลำไส้เล็ก สามารถต้านออกซิเดชัน ป้องกันเซลล์จากการทำลายของ H_2O_2 ป้องกันเซลล์ไม่ให้เกิดการกลายพันธุ์ในเซลล์ที่ได้รับความเสียหาย ช่วยให้การฉายาต้านมะเร็งมีประสิทธิภาพมากขึ้น

2. กรดไฮดรอกซีเบนโซอิก (hydroxybenzoic acid) มีโครงสร้างโดยทั่วไป คือ C_6-C_1 เป็นอนุพันธ์ของกรดเบนโซอิก ความแปรผันโครงสร้างของกรดนี้ขึ้นอยู่กับปฏิกิริยา hydroxylation และ methylations ของวงแหวนแอโรมาติก เช่น phydroxybenzoic, vanillic, syringic และ protocatehuic acid ในธรรมชาติพบอยู่ในรูปที่จับกับน้ำตาลหรือกรดอินทรีย์ ถูกสะสมอยู่บริเวณผนังเซลล์ของพืชในส่วนที่เรียกว่าลิกนิน

2.1 กรดแกลลิก (gallic acid) กรดนี้อยู่ในรูปโมเลกุลอิสระหรือเป็นส่วนหนึ่งของโมเลกุลแทนนิน กรดแกลลิกพบมากในธรรมชาติหลายชนิด พืชที่มีกรดนี้สูง ได้แก่ องุ่น ชา และเปลือกต้นโอ๊ก เป็นต้น กรดแกลลิกมีคุณสมบัติในการต้านเชื้อราและต้านเชื้อไวรัส นอกจากนี้สามารถต้านทานการเกิด

ออกซิเดชันไม่ให้เซลล์ถูกทำลาย และยังสามารถต้านเซลล์มะเร็งไม่ให้มีอันตรายต่อเซลล์ได้ กรดกล-
ลิกสามารถใช้ในการป้องกันสาเหตุของเลือดไหลออกที่ลำไส้ได้

2.2 กรดไฮดรอกซีเบนโซอิก (*p*-hydroxybenzoic acid) เป็นกรดที่อยู่ในกลุ่ม
hydroxybenzoic acid ใช้ประโยชน์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ พาราบีนส์มีฤทธิ์ทางชีวภาพหลายอย่าง
แต่โดยทั่วไปเชื่อว่าจะมีผลยับยั้งเนื้อเยื่อขนส่งสารและยับยั้งการทำงานของไมโทคอนเดรียได้ ปัจจุบันมี
การใช้ประโยชน์จากกรดไฮดรอกซีเบนโซอิก เช่น ใช้เติมในเครื่องสำอาง ยา ใช้ในการต้านเชื้อยีสต์
และราในผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น สีน้าอบแห้ง เครื่องดื่ม ผลิตภัณฑ์ผลไม้ น้ำสลัด ไซรัป และน้ำมัน
มะกอก เป็นต้น (ลือชัย บุตุคุป, 2554)

2.10 สารประกอบฟลาโวนอยด์ (flavonoid compounds)

สารประกอบฟลาโวนอยด์ (flavonoid compounds) เป็นกลุ่มหนึ่งของสารประกอบโพลีฟิ-
นอลที่มีอะกลัยโคนเป็นองค์ประกอบ สามารถพบได้มากในผักและผลไม้ จะเกิดปฏิกิริยาไฮดรอก-
ซิเลชัน (hydroxylation reaction) และปฏิกิริยาเอสเตอริฟิเคชัน (esterification reaction) กับ
น้ำตาลและบางครั้งมีหมู่เอซิล (acyl group) อยู่ในโมเลกุลด้วยเช่นเดียวกับแอนโธไซยานิน
(anthocyanin) ฟลาโวนอยด์หลายชนิดมีน้ำตาลเป็นโมโนแซคคาไรด์ (monosaccharides) หรือ
ไดแซคคาไรด์ (disaccharides) อยู่ในโมเลกุลด้วย ซึ่งน้ำตาลที่พบ คือ กลูโคส (glucose) และ แรม-
โนส (rhamnose) (ณัฐริกา ติลลาลัย, 2548)

ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เป็นกลุ่มของสารประกอบที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นฟีนิลเบนโซ-
ไพโรน (phenylbenzopyrones) ซึ่งมีโมเลกุลขนาดเล็กและมีโครงสร้างสารประกอบด้วยการจัดเรียง
ตัวของคาร์บอน 15 ตัว ($C_6-C_3-C_6$) เป็นวงแหวน 3 วง ได้แก่ วงแหวนเบนซีน (benzene ring) 2 วง
เชื่อมต่อกับวงแหวนไพแรน (heterocyclic pyran ring) (วิภาพ สุทชนะ, 2556)

สารประกอบฟลาโวนอยด์สามารถแบ่งเป็น 5 กลุ่มย่อย ได้ดังนี้

1. ฟลาโวน (flavones) หรือ 2-phenyl benzopyrone ในโมเลกุลมีพันธะคู่ระหว่าง
คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และ 3 ฟลาโวนเป็นสารประกอบที่ไม่มีสี ตัวอย่างเช่น อะพิจินิน (apigenin) ลู-
เทโอลิน (luteolin) และ ไตรเซติน (tricetin)

2. ฟลาโวนอล (flavonols) เกิดจากการที่สารประกอบฟลาโวน (flavones) มีการแทนที่ของ
หมู่ไฮดรอกซิล (OH) เพิ่มขึ้นที่ตำแหน่งที่ 3 ตัวอย่างของฟลาโวนอยด์ เช่น แควอซีติน (quercetin)
แคมพ์เฟอรอล (kaempferol) หรือไมริเซติน (myricetin) อะกลัยโคนที่เป็นอนุพันธ์ของฟลาโวน
และฟลาโวนอลที่ทราบโครงสร้างมีอีกประมาณ 60 ชนิด ซึ่งจะแตกต่างกันที่หมู่ไฮดรอกซิล (OH) และ
หมู่เมทอกซี (methoxy group)

3. ฟลาวาโนน (flavanones) มีสูตรโครงสร้างคล้ายฟลาโวน แต่พันธะระหว่างคาร์บอน
ตำแหน่งที่ 2 และ 3 เป็นพันธะเดี่ยว ฟลาวาโนน เป็นฟลาโวนอยด์ที่พบในผลไม้วงศ์ส้ม เช่น

เฮสเพอริดิน (hesperidin) และนารินจีน (naringin) ที่ค่าพีเอชเป็นด่าง (pH 12) วงแหวนที่อยู่ภายในโมเลกุลของเฮสเพอริดินจะเปิดออกได้เป็น ชาลโคน (chalcone) จะมีสีเหลืองถึงสีน้ำตาล

4. ฟลาโวนอล (flavanonols) มีสูตรโครงสร้างคล้ายกับฟลาโวน แต่มีหมู่ไฮดรอกซิล (OH) เพิ่มขึ้นในตำแหน่งที่ 3

5. ไอโซฟลาโวน (isoflavone) มีสูตรโครงสร้างเช่นเดียวกับฟลาโวน แต่วงแหวนฟีนิล (phenyl ring) อยู่ที่ตำแหน่งที่ 3 เป็น 3-phenylbenzopyrone เช่น เจนิสทิน (genistein) เป็นรงควัตถุที่พบในพืชวงศ์ถั่ว สารนี้สลายตัวได้ด้วยด่าง (ญรัฎฐิกา ศีลาฉาย, 2548)

สารประกอบฟลาโวนอยด์ที่พบส่วนใหญ่ ได้แก่

1. ไมริเซติน (myricetin) เป็นสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่แตกต่างจากเคอซีตินเพียงอย่างเดียว ตรงที่มีการเติมหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง 5'-OH เป็นสารที่มีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเซลล์ลิวคีเมีย (leukemia) ในมนุษย์ได้หลายชนิด สามารถยับยั้งเอนไซม์ α -glucosidase และ glyoxalase ในยีสต์ได้ดี ไมริเซตินพบได้ทั่วไปในพืชผัก และผลไม้

2. แคมพ์เฟอรอล (kaempferol) เป็นสารฟลาโวนอยด์ชนิดหนึ่งที่พบมากในแหล่งธรรมชาติ เช่น หัวหอม กระเทียม ผลส้ม องุ่น ไวน์แดง ชา แคมพ์เฟอรอลมีฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านออกซิเดชันสูงช่วยป้องกันเซลล์ไขมัน และดีเอ็นเอจากอันตรายของการเกิดออกซิเดชัน ป้องกันภาวะผนังเส้นโลหิตแดงหนาหรือมีความยืดหยุ่นน้อยลง โดยยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของ LDL และการเกิดลิ่มเลือด

3. รูทีน (rutin) เป็นฟลาโวนอยด์กลัยโคไซด์ที่สังเคราะห์ขึ้นโดยพืชชั้นสูง เพื่อช่วยป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตและโรคต่าง ๆ มีสีเหลืองอมเขียวในธรรมชาติพบอยู่ในรูปของฟลาโวนอยด์ กลัยโคไซด์ ประกอบไปด้วยเคอซีตินและน้ำตาลไคแซคคาไรด์กลุ่มน้ำตาลรีติโนส รูทีนพบในอาหาร เครื่องดื่ม พืช ผัก และผลไม้หลายชนิด แหล่งที่พบมากที่สุด คือ เมล็ดข้าวบักวีค นอกจากนี้ยังพบในผลส้ม ชาดำ รูทีนมีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชันสูง สามารถจับกับไอออนของโลหะ เช่น เหล็ก ซึ่งจะลด fenton reaction ที่ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระ รูทีนสามารถป้องกันและรักษาการเกิดภาวะอักเสบ และยัง สามารถป้องกันโรคมะเร็ง ป้องกันการสะสมไขมันที่ผิวหน้าของเลือดรวมทั้งลดการเกิดออกซิเดชัน LDL

4. เคอซีติน (quercetin) เป็นสารฟลาโวนอยด์ที่พบมากที่สุด โครงสร้างประกอบด้วยวงแหวนเบนซีน 3 วง และมีหมู่ไฮดรอกซิล 5 หมู่ เคอซีตินในธรรมชาติพบอยู่ในรูปของอะกลัยโคน เคอซีตินพบมากในอาหารทั่ว ๆ ไป เช่น ชา หัวหอม เกล็ด ผลไม้ตระกูลเบอร์รี่ กะหล่ำดอก ผักคะน้าและกะหล่ำปลี เคอซีตินมีผลต่อสุขภาพของมนุษย์มาก เช่น ช่วยปรับปรุงระบบหมุนเวียนโลหิต ลดภาวะเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็ง ต้านภาวะอักเสบและอาการแพ้ต่าง ๆ ฤทธิ์ทางชีวภาพทั้งหมด

นี้เกิดจากการต้านการเกิดออกซิเดชันที่มีอยู่สูงของคอเลสเตอรอลโดยการจับกับอนุมูลอิสระที่จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ LDL

2.11 สารอนุมูลอิสระและสารต้านออกซิเดชัน

2.11.1 อนุมูลอิสระ (free radicals)

อนุมูลอิสระ (free radicals) หมายถึง สารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (unpaired electrons) ในอะตอมหรือโมเลกุล พบได้ทุกแห่งทั้งในสิ่งแวดล้อม ในสิ่งมีชีวิต และในเซลล์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกระบวนการผลิตพลังงานภายในเซลล์ หรือจากกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) โดยมีการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนออกจากโมเลกุลของออกซิเจนทำให้อิเล็กตรอนในโมเลกุลออกซิเจนไม่สมดุลกลายเป็นอนุมูลอิสระและว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยามาก และสามารถดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นมาแทนที่อิเล็กตรอนที่ขาดหายไปเพื่อให้ตัวเองเกิดความสมดุลหรือเสถียร ซึ่งปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ และเกิดขึ้นในเซลล์ตลอดเวลา (บุหรัน พันธุ์สวรรค์, 2556)

อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้องต่าง ๆ ในทางชีววิทยาที่สามารถเป็นตัวตั้งต้นที่ทำให้เกิดเป็นอนุมูลอิสระ สามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ คือกลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive oxygen species, ROS) กลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive nitrogen, RNS) และกลุ่มที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive chlorine species, RCS) อนุมูลอิสระที่สำคัญที่สุดเกิดในเซลล์ที่ใช้ออกซิเจน ได้แก่ oxygen peroxide, อนุพันธ์ของ oxygen radical (เช่น superoxide radical และ hydroxyl radical), hydrogen peroxide, transition metals (โลหะทรานซิชัน) เป็นต้น

อนุมูลอิสระมีแหล่งที่มา 2 แหล่งคือจากภายในร่างกาย เช่น การเผาผลาญอาหาร การหายใจ การออกกำลังกายหักโหม การติดเชื้อ เกิดจากความเครียด เป็นต้น นอกจากร่างกาย ได้แก่ การได้รับเชื้อโรค เช่น การติดเชื้อไวรัสหรือเชื้อแบคทีเรีย โรคเกี่ยวกับภูมิคุ้มกัน (immune diseases) การรับรังสี เช่น รังสีอัลตราไวโอเล็ต รังสีเอกซ์ รังสีแกมมา เกิดจากมลภาวะ เช่น คาร์บอนหรือแก๊สจากท่อไอเสีย เช่น ไนตรัสออกไซด์ ไนโตรเจนไดออกไซด์ เขม่าจากเครื่องยนต์ ฝุ่นจากกระบวนการประกอบอาหาร เช่น การนำน้ำมันที่ใช้ทอดอาหารที่มีอุณหภูมิสูง ๆ กลับมาใช้ซ้ำ การทำอาหารไหม้ เกรียมหรือเกิดจากการปิ้งย่าง เกิดจากยาบางชนิด เช่น เพนิซิลลามีน (penicillamine) และพาราเซตามอล (paracetamol) (โอภา วัชรคุปต์ และคณะ, 2550; โรสวินัย พิริยะสมบูรณ์, 2553)

2.11.2 สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants)

สารต้านอนุมูลอิสระถือว่ามีความสำคัญต่อกระบวนการออกซิไดซ์อนุมูลอิสระหรือสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยในสิ่งมีชีวิตจะมีระบบการป้องกันการทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อจากอนุมูลอิสระ ประกอบด้วยสารต้านอนุมูลอิสระมากมายหลายชนิดที่ทำหน้าที่แตกต่างกันไป ซึ่งมี

ทั้งที่เป็นเอนไซม์และไม่เป็นเอนไซม์ สารประกอบที่ละลายในน้ำและสารประกอบที่ละลายในไขมัน โดยสารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้มีกลไกการทำงานต้านอนุมูลอิสระด้วยกันหลายแบบ เช่น ดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging) การยับยั้งการทำงานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน (singlet oxygen quenching) จับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (metal chelation) หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (chain-breaking) และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (enzyme inhibition) ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ บทบาทสำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระคือ ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกายซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่าง ๆ ของมนุษย์ ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่เป็นสาเหตุหลักของการเสื่อมคุณภาพในอาหาร ปัจจุบันองค์การที่เกี่ยวข้องในอุตสาหกรรมอาหารและยา ได้พยายามพัฒนาสารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากธรรมชาติ เช่น สาหร่ายทะเล แบคทีเรีย เชื้อรา และพืชชั้นสูง อย่างไรก็ตามร่างกายของมนุษย์มีการป้องกันการสะสมสารอนุมูลอิสระอยู่ ซึ่งแบ่งออกเป็นสองส่วน คือ ส่วนแรกเกิดจากร่างกายสร้างเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระขึ้นมาควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระให้อยู่ในภาวะที่สมดุล และส่วนที่สองคือ กลุ่มของสารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากวิตามินเอ วิตามินซี วิตามินอี หรือ เบต้าแคโรทีน (β -carotene) รวมทั้งสารประกอบโพลีฟีนอล ซึ่งเป็นพฤษเคมีที่สามารถพบได้ในพืชผักและผลไม้เพื่อเข้าไปช่วยเสริมสร้างระบบการต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกายให้มีประสิทธิภาพในการทำลายอนุมูลอิสระได้ดี ตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระที่พบในร่างกาย เช่น เอนไซม์คะตะเลส (catalase) กลูตาไธโอนเพอรอกซิเดส (glutathione peroxidase) และซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase) หรือ สารประกอบและโปรตีนบางอย่าง เช่น อัลบูมิน (albumin) บิลิรูบิน (bilirubin) เซอรูโลพลาสมิน (ceruloplasmin) กลูตาไธโอน (glutathione) ทรานสเฟอริน (transferrin) ยูบิควินอล (ubiquinol) และยูเรต (urate) เป็นต้น สารเหล่านี้มีหน้าที่คอยควบคุมอนุมูลอิสระต่าง ๆ ให้อยู่ในระดับเหมาะสม หากมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นในปริมาณมากเกินไปที่ระบบป้องกันจะยับยั้งได้หมด จะทำให้เกิดสภาวะที่เรียกว่า ภาวะถูกออกซิไดซ์เกินสมดุล (oxidative stress) ขึ้นภายใต้สภาวะดังกล่าวอนุมูลอิสระจะทำอันตรายต่ออวัยวะและเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของร่างกาย ซึ่งหากเกิดการสะสมมาก ๆ อาจนำไปสู่ความผิดปกติหรือพยาธิสภาพหลายอย่าง (เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหนาม, 2554)

2.11.3 แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระ

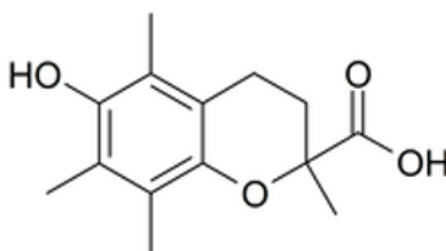
สารต้านอนุมูลอิสระแบ่งตามแหล่งที่มาได้ 2 ชนิด ได้แก่

1. สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (synthetic antioxidants) สารประกอบฟีนอลิกสังเคราะห์ 5 ชนิด ได้แก่ propyl gallate, 2-BHA (2-butylated hydroxyanisole), 3-BHA (3-butylated hydroxyanisole), BHT (butylated hydroxytoluene) และ TBHQ (tertiary butylhydroquinone) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อยับยั้งการ

เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันอันเป็นสาเหตุให้อาหารมีกลิ่น สี และรสชาติที่เปลี่ยนไป สารสังเคราะห์เหล่านี้มีประสิทธิภาพและความคงตัวสูงกว่าสารสกัดจากธรรมชาติ แต่มีข้อจำกัดของการใช้เนื่องจากปัญหาด้านความปลอดภัยในการบริโภค ตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ มีดังนี้ (โอภา วัชรคุปต์ และคณะ, 2550; เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหานาม, 2554)

1.1 trolox

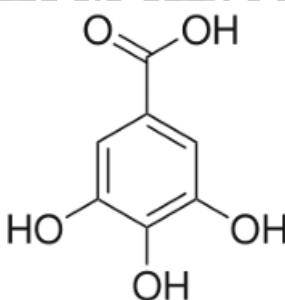
trolox หรือ 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (ภาพที่ 1) มีสูตรโมเลกุลทางเคมี คือ $C_{14}H_{18}O_4$ เป็นอนุพันธ์ของวิตามินอีที่ดัดแปลงโครงสร้างโดยการเปลี่ยนสายอัลเคน เป็นหมู่คาร์บอกซิลิก มีสูตรโครงสร้างที่ทำให้ความสามารถละลายได้ดีในน้ำ แต่เนื่องจากความสามารถในการละลายน้ำได้ดี จึงทำให้การออกฤทธิ์เร็วกว่าวิตามินอี โดยวิตามินอีต้องใช้เวลาเป็นชั่วโมงหรือเป็นวัน ในขณะที่ Trolox ออกฤทธิ์เกือบจะทันทีในวิธีการตรวจสอบหลายวิธี ในการวิจัยนิยมใช้ Trolox เป็นสารมาตรฐานในการตรวจฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ



ภาพที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของ Trolox
ที่มา : Yushkova et al. (2018)

1.2 gallic acid

gallic acid หรือ 3,4,5-hydroxybenzoic acid (ภาพที่ 2) เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีสูตรโมเลกุลทางเคมี คือ $C_7H_6O_5$ gallic acid เป็นส่วนประกอบของแทนนิน พบมากในองุ่น ใบชา เปลือกไม้โอ๊ค และพืชอื่นๆ โดยทั่วไปจะเกี่ยวข้องกับอุตสาหกรรมทางยา คุณสมบัติของ gallic acid คือ สามารถยับยั้งเชื้อรา เชื้อไวรัส และมีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันได้ดี

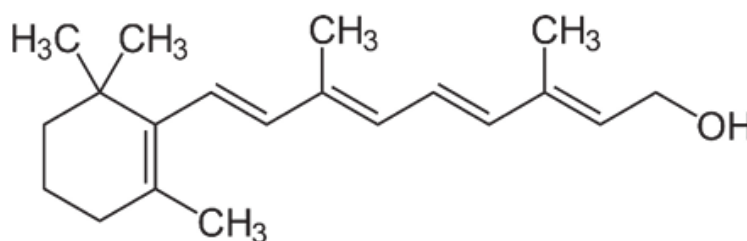


ภาพที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของ gallic acid
ที่มา : Govea-Salas et al. (2018)

2. สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (natural antioxidants) สารกลุ่มนี้ได้รับความสนใจและมีการค้นคว้าอย่างมากในปัจจุบัน เนื่องจากมีความปลอดภัยในการบริโภคมากกว่าสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ ซึ่งพบได้ทั้งในจุลชีพ สัตว์ และพืช อีกทั้งวิตามิน เช่น วิตามินซี วิตามินอี เบต้าแคโรทีน และสารที่ไม่ให้คุณค่าทางโภชนาการ (non-nutrient) มีโครงสร้างเป็นสารประกอบฟีนอลิก โดยเฉพาะกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenol) เช่น แชนธอน (xanthone) และฟลาโวนอยด์ (flavonoid) ซึ่งประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิลที่เกาะบนวงเบนซีน (aromatic hydroxyl) ตั้งแต่ 2 หมู่ขึ้นไป หมู่ฟังก์ชัน (functional group) เหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการดักจับอนุมูลอิสระทำให้ไม่เกิดการกระตุ้นหรือก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ โดยการให้อนุมูล $H\cdot$ แก่อนุมูลอิสระเหล่านั้น นอกจากนี้สารประกอบโพลีฟีนอลที่มีโครงสร้างของ ortho-dihydroxyl phenol อยู่ในโมเลกุลยังสามารถยับยั้งการเกิดอนุมูล $OH\cdot$ ในปฏิกิริยาที่มีอนุมูลโลหะทรานซิชัน คือ Fe^{2+} และ Cu^{2+} เป็นตัวเหนี่ยวนำได้โดยการเข้าจับกับโลหะดังกล่าวเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน (complex) ตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ มีดังนี้

2.1 วิตามินเอ (retinol)

ในธรรมชาติวิตามินเอจะพบเฉพาะในสัตว์เท่านั้น แต่ในพืชจะมีสารประกอบแคโรทีนอยด์ที่สามารถเปลี่ยนเป็นวิตามินเอได้ จัดเป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอ เรียกว่า โปรวิตามินเอ มักพบในพืชผัก ใบเขียว ผักและผลไม้ที่มีสีเหลือง หรือสีส้มแดง (ภาพที่ 3)

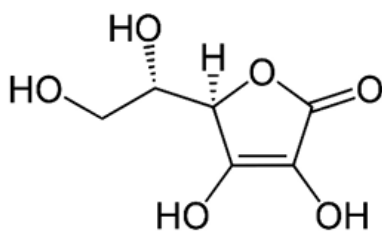


ภาพที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของวิตามินเอ (retinol)

ที่มา : Khadim & Fartusie (2021)

2.2 วิตามินซี (ascorbic acid)

มีชื่อทางเคมีว่า กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) (ภาพที่ 4) เป็นวิตามินที่ละลายได้ในน้ำจะสลายตัวเมื่อถูกความร้อนหรือทิ้งไว้ในอากาศที่มีความชื้น วิตามินซีมีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน โดยจะเข้าทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ อนุมูล hydroxyl และอนุมูล peroxy นอกจากวิตามินซีสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระแล้ว ยังทำหน้าที่เป็นตัวส่งเสริมประสิทธิภาพของสารต้านออกซิเดชัน ของวิตามินอีด้วย (โอภา วัชรคุปต์ และคณะ, 2550; เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหานาม, 2554)



ภาพที่ 4 โครงสร้างทางเคมีของวิตามินซี (ascorbic acid)

ที่มา : Khadim & Fartusie (2021)

2.11.4 กลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ

1. ดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging) เป็นที่ทราบดีว่า สารต้านอนุมูลอิสระสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้โดยการทำให้โมเลกุลของอนุมูลอิสระมีความเสถียรขึ้นซึ่งกลไกของปฏิกิริยาเกิดโดยการให้ไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ

2. ยับยั้งการทำงานของซิงเกิ้ลท็อกซิเจน (singlet oxygen quenching, $^1\text{O}_2^*$) สารกลุ่มแคโรทีนอยด์ สามารถยับยั้งการทำงานของซิงเกิ้ลท็อกซิเจน โดยการเปลี่ยน ($^1\text{O}_2^*$) ให้อยู่ในรูปทริปเปรีท (triplet oxygen, $^3\text{O}_2$) และปล่อยพลังงานที่ได้รับออกไปในรูปความร้อนโดยที่แคโรทีนอยด์จำนวน 1 โมเลกุล สามารถทำปฏิกิริยากับซิงเกิ้ลท็อกซิเจนได้ถึง 1,000 โมเลกุล

3. จับกับโลหะที่สามารถเร่งสารกลุ่มนี้ได้แก่ ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (metal chelation) โลหะที่มีผลต่อการเกิดอนุมูลอิสระคือ Fe^{2+} และ Cu^{2+} ฟลาโวนอยด์ กรดฟอสฟอริก (phosphoric acid) และกรดซิตริก (citric acid) เป็นต้น

4. หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (chain-breaking) วิตามินอี (α -tocopherol; Toc-OH) สามารถป้องกันเยื่อหุ้มเซลล์ไม่ให้ถูกทำลาย จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (lipid autooxidation) โดยทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอน (electron-acceptor antioxidants) จากอนุมูลเปอร์ออกซิล ($\text{ROO}^\bullet$)

5. เสริมฤทธิ์ (synergism) สารชนิดนี้จะช่วยสนับสนุนให้สารต้านอนุมูลอิสระทำงานได้ดีขึ้น เช่น การทำงานร่วมกันระหว่างวิตามินอี (α -tocopherol) กับวิตามินซี โดยที่วิตามินซีไม่สามารถทำงานในสภาวะไม่มีไขมัน (hydrophobic condition) ได้เหมือนกับวิตามินอี แต่จะให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลแอลฟา-โทโคฟีรอล เปอร์ออกซิล (α -tocopherol peroxy) ที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างแอลฟา-โทโคฟีรอลกับอนุมูลเปอร์ออกซิล ($\text{ROO}^\bullet$) เพื่อเปลี่ยนรูปกลับไปเป็นแอลฟา-โทโคฟีรอล ที่สามารถทำงานได้

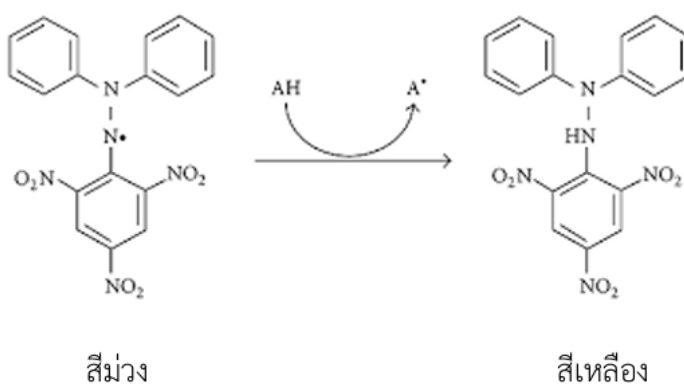
6. ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ (enzyme inhibition) สารประกอบฟีนอลิกบางชนิด เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิก และแกลเลต (gallates) สามารถยับยั้ง

การทำงานของเอนไซม์ลิพอกซีจีเนส (lipoxygenase) โดยสามารถเข้าจับกับไอออนของเหล็ก ซึ่งเป็นโคแฟกเตอร์ (cofactor) ส่งผลให้เอนไซม์ดังกล่าวไม่สามารถทำงานได้ (เจนจิรา จิรัมย์ และ ประสงค์ สีหนาม, 2554)

2.12 วิธีวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ

2.12.1. วิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl assay (DPPH assay)

DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) คือ อนุมูลอิสระที่มีความเสถียร (stable free radical) เป็นสารที่นิยมนำไปใช้เป็นตัวชี้วัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารที่สนใจ ใช้หลักการของ DPPH $\cdot$ ในรูปของอนุมูลอิสระที่อยู่ในสารละลายจะมีสีม่วงเข้ม และดูดกลืนคลื่นแสงในช่วงความยาวคลื่นระหว่าง 515 และ 518 นาโนเมตร การสูญเสียอิเล็กตรอนอิสระให้กับโมเลกุลอื่นโดยมีตัวรับอิเล็กตรอนคือ สารต้านอนุมูลอิสระจะเกิดการเปลี่ยนแปลงไปอยู่ในรูปออกซิไดซ์ (DPPH) ซึ่งการลดลงของอนุมูลอิสระดังกล่าวจะสังเกตได้จากการจางลงของสีม่วงจนเป็นสีเหลืองในสารละลาย (ภาพที่ 5) สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงในช่วงความยาวคลื่นระหว่าง 515 และ 518 นาโนเมตร เป็นตัวชี้วัดของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นหรือการลดลงของ DPPH ที่มีผลมาจากสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งก่อนนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงต้องตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา ทำให้สามารถหาการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างได้จากการคำนวณที่จางลงของการยับยั้ง DPPH $\cdot$ ข้อดีของวิธีนี้ คือ ง่าย สะดวก และรวดเร็ว ส่วนข้อเสีย คือ DPPH $\cdot$ ค่อนข้างเสถียรไม่ว่าต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายจริง จึงทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ช้า ทำให้ค่าการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่วัดได้น้อยกว่าความเป็นจริง และต้องเตรียมสารละลายในตัวทำละลายที่เป็นแอลกอฮอล์ ซึ่งจะทำให้โปรตีนตกตะกอนจึงไม่สามารถวิเคราะห์ในตัวอย่างที่เป็นเลือดได้ อีกทั้งสารปนเปื้อนและโลหะจะรบกวน (interfere) ซึ่งสามารถเป็นตัวรบกวนแล้วทำให้สีของ DPPH $\cdot$ จางลง



ภาพที่ 5 ปฏิกิริยาระหว่างอนุมูลอิสระดีพีพีเอชทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ

ที่มา : Liang & Kitts (2014)

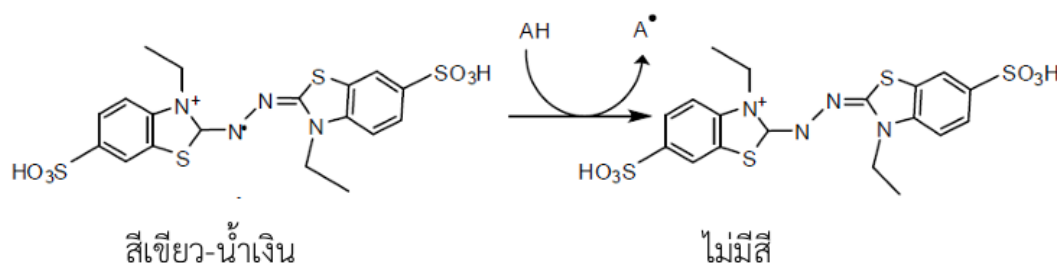
2.12.2 วิธี 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS assay)

เป็นวิธีการวัดความสามารถในการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS) เป็นสารสังเคราะห์ที่มีสีเขียวปนน้ำเงินสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เนื่องจากสีของ ABTS ปกติจะมีค่าการดูดกลืนแสงสูงจึงต้องทำการเจือจาง ABTS ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ จากนั้นนำ ABTS ทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่างที่ละลายด้วยเอทานอลเจือจาง (ภาพที่ 6) ซึ่งจะทำให้สีจางลงและตั้งทิ้งไว้เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาจึงสามารถหาความเป็นสารยับยั้งอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างได้จากการคำนวณสีที่จางลงของการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS ข้อดีของวิธีการนี้คือ ABTS ละลายได้ดีในน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์จึงทำปฏิกิริยาได้อย่างรวดเร็ว และทำปฏิกิริยาได้ดีในช่วงพีเอชกว้าง ส่วนข้อเสีย คือ ABTS ไม่เป็นสารธรรมชาติที่พบในร่างกายหรือในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตและต้องมีการทำปฏิกิริยากับสารอื่นก่อนถึงจะเกิดเป็นอนุมูลอิสระ (Apak et al., 2013) การวิเคราะห์จะใช้เอทานอลเป็นแบล็ก (blank) ทำการทดลอง 5 ซ้ำ โดยใช้วิตามินซีเป็นสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบ คำนวณหาค่า % inhibition จากสมการ

$$\% \text{ Inhibition} = [(A_B - A_E) / A_B] \times 100$$

โดยที่ A_B คือ ค่าดูดกลืนแสงของแบล็ก

A_E ค่าดูดกลืนแสงของสารสกัด (Payet et al., 2005)



ภาพที่ 6 แสดงปฏิกิริยาอนุมูลอิสระเอบีทีเอสกับสารต้านอนุมูลอิสระ

ที่มา : Tian & Schaich (2013)

2.12.3 วิธี ferric reducing antioxidant power assay (FRAP assay)

หลักการของเป็นการวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ขึ้นอยู่กับความสามารถของสารประกอบฟีนอลิกที่จะรีดิวซ์ Fe^{3+} เป็น Fe^{2+} ในสถานะที่เป็นกรดโดยอิเล็กตรอนจะถูกบริจาคให้กับสารอนุมูลอิสระ วิธีการนี้เหมาะสำหรับสารต้านอนุมูลอิสระชนิดไฮโดรฟิลิก (hydrophilic) การวิเคราะห์นี้เป็นวิธีการที่ง่าย รวดเร็ว และราคาไม่สูงเนื่องจากสามารถวิเคราะห์ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) โดยในสารละลาย FRAP ประกอบด้วย Fe^{3+} และ 2,4,6-tri (2-pyridyl)-1,3,5-triazine (TPTZ) ในสถานะที่เป็นกรด โดย Fe^{3+} ใน FRAP reagent จะรับอิเล็กตรอนจากสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน หรือในสารสกัดจากสมุนไพรแล้ว

เปลี่ยนเป็น Fe^{2+} จากนั้นเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับ TPTZ เปลี่ยนเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร การวัดความสามารถการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีนี้ จะวัดจากการเพิ่มขึ้นของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง Fe^{2+} และ TPTZ โดยค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่เพิ่มขึ้น (กิตติพัฒน์ โสภิตธรรมคุณ และปานทิพย์ รัตนศิลป์กุลชาญ, 2560)

2.13 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี

1. โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography, HPLC)

โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography, HPLC) เป็นเครื่องมือที่ใช้สำหรับวิเคราะห์กลุ่มของสารประกอบอินทรีย์ที่ไม่ระเหย (non-volatile organic compounds) หรือกลุ่มสารประกอบอินทรีย์ที่สามารถระเหยได้ปานกลาง (semi-volatile organic compounds) ทั้งนี้ ตัวอย่างที่จะนำมาวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง HPLC นี้จะต้องพิจารณาถึงความสามารถในการละลายของสารที่ต้องการวิเคราะห์กับตัวทำละลายอินทรีย์ผสมที่ใช้ก่อนเพื่อป้องกันการไม่ละลายเข้าด้วยกัน หรือการตกตะกอนของตัวทำละลายผสมและไม่ให้เกิดการอุดตันในระบบรวมถึงพิจารณาค่าการดูดกลืนแสงของตัวทำละลายอินทรีย์ด้วย (UV cut-off) เทคนิคการแยกองค์ประกอบของสารผสมของเครื่องมือดังกล่าวอาศัยความแตกต่างของอัตราการเคลื่อนที่ของแต่ละองค์ประกอบของสารผสมบนเฟสคงที่ (stationary phase) ภายใต้การพาของเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) สำหรับเครื่อง HPLC เฟสคงที่ คือ สารที่อยู่ภายในคอลัมน์ ส่วนเฟสเคลื่อนที่ คือ ตัวทำละลายอินทรีย์ผสมเมื่อสารที่ต้องการวิเคราะห์ผ่านเข้าสู่เครื่อง HPLC สารดังกล่าวจะถูกพาเข้าสู่คอลัมน์โดยตัวทำละลายอินทรีย์ผสมเพื่อให้เกิดการแยกสาร (separation) โดยอาศัยการทำปฏิกิริยา (interaction) ระหว่างสารที่อยู่ภายในคอลัมน์ (stationary phase) และความสามารถในการละลายของสารผสม นอกจากนี้การแยกสารผสมมีความสัมพันธ์กับน้ำหนักโมเลกุลโครงสร้างของสาร และสมบัติทางเคมีของสารที่อยู่ภายในคอลัมน์ซึ่งหลังจากที่สารแต่ละชนิดถูกแยกเป็นส่วน ๆ จะเคลื่อนที่อยู่ภายในคอลัมน์ในเวลาที่แตกต่างกัน โดยสารเชิงเดี่ยวแต่ละชนิดจะผ่านเข้าสู่อุปกรณ์วัดสัญญาณ (detector) แสดงผลในลักษณะเป็นพีค (peak) ซึ่งเรียกว่า โครมาโทแกรม (chromatogram) ระยะเวลาที่สารแต่ละชนิดถูกหน่วงเหนี่ยวไว้กับเฟสคงที่ (retention time) หรือตำแหน่งของพีคที่ปรากฏบนโครมาโทแกรมสามารถนำมาใช้ประโยชน์ด้านการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ และพื้นที่ใต้พีคหรือความสูงของพีคใช้ประโยชน์ด้านการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (แมน อมรสิทธิ์ และอมร เพรชสม, 2539, ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, ม.ป.ป.)

2.14 งานวิจัยที่เกี่ยวกับการศึกษาสารพิษของพืชสกุลเปราะ

Vipunngeun et al. (2007) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเหง้าของปราบสมุทร (*Kaempferia angustifolia*) ด้วยเทคนิค Gas Chromatography-Mass

Spectrometer (GC-MS) พบว่ามีองค์ประกอบของสารเคมีอย่างน้อย 30 ชนิดซึ่งประกอบด้วย monoterpenes, oxygenated monoterpenes, sesquiterpenes, oxygenated sesquiterpenes, ร้อยละ 66.73, 27.89, 3.49, 1.35 และอื่น ๆ อีกร้อยละ 0.54 ตามลำดับ และมีองค์ประกอบหลักเป็น camphene, camphor, α - pinene และ borneol คิดเป็นร้อยละ 45.53, 17.53, 12.22 และ 5.16 ตามลำดับ

Sahoo et al. (2014) วิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากเหง้าของ *Kaempferia galanga* L. ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองเปรียบเทียบกับพืชในสภาพธรรมชาติ โดยทำการเพาะเลี้ยงเหง้าในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA (1-3 มิลลิกรัมต่อลิตร) IAA (0.5-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) NAA (0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) และอะดีนีนซัลเฟต (adenine sulphate) ความเข้มข้น 50-100 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วทำการย้ายปลูกจากนั้นนำเหง้าที่ได้การเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองมาวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระเปรียบเทียบกับเหง้าในสภาพธรรมชาติ พบว่า อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดยอดสูงสุด 11.33 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช และชักนำให้เกิดรากสูงสุด 6.33 รากต่อชิ้นส่วนพืช เมื่อทำการปรับสภาพต้นอ่อนแล้วย้ายออกปลูกมีอัตราการรอดชีวิต 94 เปอร์เซ็นต์ และผลการวิเคราะห์น้ำมันหอมระเหยด้วยเทคนิค GC-MS พบว่า ในเหง้าของพืชที่เจริญเติบโตตามธรรมชาติและเหง้าจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดทดลองแล้วย้ายปลูก มีสารประกอบน้ำมันหอมระเหยจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ คารีน (3-carene) ยูคาลิปทอล (eucalyptol) เอทิลซินนามेट (ethyl cinnamate) บอเนอล (borneol) เพนตะเดเคน (pentadecane) และเอทิลเมธอกซีซินนามेट (ethyl-p-methoxycinnamate) ซึ่งชนิดของน้ำมันหอมระเหยที่พบมากที่สุดคือ เอทิลเมธอกซีซินนามेट พบในเหง้าที่เจริญในสภาพธรรมชาติและเหง้าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง มีปริมาณ 82.01 เปอร์เซ็นต์ และ 71.77 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับของปริมาณน้ำมันหอมระเหยทั้งหมด และพบว่าสารสกัดจากเหง้าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าเหง้าที่ได้จากสภาพธรรมชาติ ซึ่งวิเคราะห์ผลด้วยวิธี DPPH assay และวิธี hydrogen peroxide scavenging

Jagtap (2015) ศึกษาฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและตรวจสอบสารพฤกษเคมีใน *Kaempferia scapose* (Nimmo) Benth. พบว่าในเหง้าอุดมไปด้วยสารปฐมภูมิและสารทุติยภูมิที่หลากหลาย เช่น คาร์โบไฮเดรต อัลคาลอยด์ วิตามิน C วิตามิน E สารประกอบ ฟลาโวนอยด์ สารประกอบฟีนอลิก ไกลโคไซด์ และแร่ธาตุต่าง ๆ ตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH โดยนำเหง้ามาสกัดด้วยเมทานอล น้ำ คลอโรฟอร์ม และอะซิโตน พบว่าสารสกัดจากเมทานอลมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระสูงสุด 93.12% และสารสกัดจากอะซิโตนมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระต่ำสุด 26.92% และวิเคราะห์หาสารพฤกษเคมีด้วยเทคนิค HPLC ด้วยความยาวคลื่น

254, 366 นาโนเมตร พบว่าที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร มีสารสำคัญ คือ saponanin, apiin, rutin, kaempferol, coumaric acid ที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตรพบสารสำคัญ คือ phenolic acid, coumaric acid, vallinic acid, apiin, rutin, saponanin acid, hesperidin, kaempferol, diosmin, luteolin และ quercetin

Yeap et al. (2017) ศึกษาความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเหง้าปราบสมุทร (*Kaempferia angustifolia* Rosc.) และวิเคราะห์สารประกอบทางชีวภาพ โดยสกัดด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน พบว่า เมื่อวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay สารสกัดจากเหง้าของปราบสมุทรที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์มและเมทานอล มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูงสุด 615.92 มิลลิกรัมโพลล็อกซ์ต่อน้ำหนักแห้ง 1 กรัม และยังพบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอล มีคุณสมบัติ ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด 38.87 มิลลิกรัมโพลล็อกซ์ต่อน้ำหนักแห้ง 1 กรัม เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี ABTS assay สารสกัดที่สกัดด้วยเฮกเซน (hexane) มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูงสุด 901.76 มิลลิกรัมโพลล็อกซ์ต่อน้ำหนักแห้ง 1 กรัม เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC) ในขณะที่สารที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตท (ethyl acetate) มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูงสุด 342.23 มิลลิกรัมโพลล็อกซ์ต่อน้ำหนักแห้ง 1 กรัม เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP assay การวิเคราะห์สารประกอบด้วยเทคนิคโครมาโต กราฟีในเหง้าของปราบสมุทร พบสารประกอบหลัก 5 ชนิด คือ boesenboxide, crotepoixide, 2'-hydroxy-4,4', 6'-trimethoxychalcone, kaempfolienol และ zeyleenol และยังพบว่าเมื่อวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay kaempfolienol มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูงสุด 443.92 มิลลิกรัมโพลล็อกซ์ต่อน้ำหนักแห้ง 1 กรัม ในขณะที่ 2'-hydroxy-4,4', 6'-trimethoxychalcone มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระสูงสุด 42.23, 1497.22 และ 781.53 มิลลิกรัมโพลล็อกซ์ต่อน้ำหนักแห้ง 1 กรัม เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี ABTS, CUPRAC และ FRAP ตามลำดับ

Ali et al. (2018) ศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดกับปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ศึกษาความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยด้วยเทคนิค GC-MS ของ *K. galanga* โดยนำเหง้าปริมาณ 200 กรัมแห้ง มาสกัดด้วยเมทานอลปริมาตร 500 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้อง สกัดด้วยวิธี Maceration จากนั้นนำสารสกัดที่ได้นำมากรองด้วยกระดาษกรองแล้วนำไปแยกตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบหมุน (rotary evaporator) นำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด พบว่ามีปริมาณ 15.40 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด พบว่ามีปริมาณ 37.72 มิลลิกรัมสมมูลคาเทชินต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี

DPPH และ ABTS พบว่าสารสกัดเหง้ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยมีค่า IC_{50} 16.58 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม และ 8.24 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ และศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย พบว่ามีสารประกอบ 8 ชนิด มีสารประกอบ Hexadecanoic acid สูงสุด 35.17 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ Oleic acid พบ 22.15 เปอร์เซ็นต์ และพบ Phthalic acid น้อยที่สุด 3.37 เปอร์เซ็นต์

Rahman et al. (2018) ศึกษาเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดกับฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของกระชายดำ (*Kaempferia parviflora*) ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดทดลองและปลูกในเรือนเพาะชำโดยนำเหง้ามาสกัดด้วยน้ำ ด้วยอุณหภูมิที่แตกต่างกัน คือ 60, 75 และ 90 องศาเซลเซียส สกัดด้วยเวลาที่แตกต่างกัน คือ 30, 60, 90, 120, 150 และ 180 นาที นำเหง้าที่เก็บเกี่ยวจากพืชที่มีอายุต่างกัน คือ 4, 8, 10 และ 12 เดือน ผลการศึกษาพบว่าปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในเหง้ากระชายดำมีปริมาณสูงที่สุดเมื่ออายุ 8 เดือนหลังการเพาะปลูก และพบว่าในเหง้า 2 กรัม สกัดด้วยน้ำ 50 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที ให้ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่ดีที่สุด มีปริมาณทั้งหมดเฉลี่ย 210 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อน้ำหนักแห้ง และมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเฉลี่ย 81 ไมโครกรัมสมมูลเคอควิซินต่อน้ำหนักแห้ง

Sani et al. (2019) ศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของ *K. galanga* นำเหง้าที่ได้จากการตากแห้งมาบดให้ละเอียดปริมาณ 130 กรัม จากนั้นนำไปสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเอทานอล สกัดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 72 ชั่วโมง สกัดด้วยวิธี Maceration จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรอง นำไปแยกตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยแบบหมุน (rotary evaporator) นำสารสกัดที่ได้ไปทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดจากเหง้า ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด และมีค่า IC_{50} เท่ากับ 442.44 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมา คือ สารสกัดจากเหง้าที่สกัดด้วยตัวทำละลาย เฮกเซน มีค่า IC_{50} เท่ากับ 831.82 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดเหง้าที่สกัดด้วยตัวทำละลาย เอทิลอะซิเตตมีค่า IC_{50} น้อยที่สุด เท่ากับ 492.75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Rachkeeree et al. (2020) ศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของ *K. sp.* ที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ นำเหง้ามาทำแห้งด้วยวิธีอบลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน อัตราส่วน 1:5 W/V สกัดด้วยวิธี Maceration ด้วยเครื่องเขย่า สกัดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรอง จากนั้นทำการแยกตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยแบบหมุน (rotary evaporator) จากนั้นนำสารสกัดที่ได้เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วนำตะกอนที่ผ่านการกรองมาสกัดซ้ำด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตและเอทานอล ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ด้วยวิธี Folin-ciocalteu โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน พบว่าสารสกัดเหง้าของ *K. rotunda* ที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตตพบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด

154.28 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมา คือ สารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอล มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 14.54 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และสารสกัดที่สกัดด้วยเฮกเซนมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดน้อยที่สุด 4.68 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

Panyakaew et al. (2021) ศึกษาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเหง้าที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติของเปราะ *Kaempferia* 9 ชนิด ได้แก่ *K. angustiflora*, *K. elegans*, *K. galanga-1*, *K. galanga-2*, *K. galanga-3*, *K. marginata*, *K. parviflora*, *K. pulchra* และ *K. rotunda* นำเหง้าของเปราะ 9 ชนิดที่ทำแห้งแล้วมาบดให้ละเอียดแล้วนำมาสกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ สกัดด้วยเครื่อง Sonicate เป็นเวลา 30 นาที นำสารสกัดที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรอง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด โดยใช้เคอร์ซีตินเป็นสารมาตรฐาน พบว่าสารสกัดจากเหง้าของเปราะ 9 ชนิด *K. parviflora* มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด 384.0 มิลลิกรัมสมมูลเคอร์ซีตินต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมา คือ *K. elegans* ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 236.70 มิลลิกรัมสมมูลเคอร์ซีตินต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และสารสกัดจากเหง้าของ *Kaempferia* อีก 7 ชนิด มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 1.69 ถึง 4.24 มิลลิกรัมสมมูลเคอร์ซีตินต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และนำสารสกัดจากเหง้ามาวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP โดยใช้ทริล็อกซ์เป็นสารมาตรฐาน โดยวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดจากเหง้าของ *K. parviflora* มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด 91.73 มิลลิกรัมสมมูลทริล็อกซ์ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือ *K. rotunda* และ *K. elegans* มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 41.60 และ 30.48 มิลลิกรัมสมมูลทริล็อกซ์ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP พบว่าสารสกัดจากเหง้าของ *K. parviflora* มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด 155.41 มิลลิกรัมสมมูลทริล็อกซ์ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือ *K. rotunda* และ *K. elegans* มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 119.60 และ 49.82 มิลลิกรัมสมมูลทริล็อกซ์ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

Varghese et al. (2021) ศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของ *K. parviflora* นำชิ้นส่วนเหง้าที่ทำแห้งแล้วปริมาณ 10 กรัม สกัดด้วยน้ำบริสุทธิ์ นำไปต้มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง นำสารสกัดไปวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ด้วยวิธี Folin-ciocalteu โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน พบว่ามีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 14.45 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง นำสารสกัดไปวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด โดยใช้เคอร์ซีตินเป็นสารมาตรฐาน พบว่ามีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 40.60 มิลลิกรัมสมมูลเคอร์ซีตินต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และนำไปวิเคราะห์ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดจากเหง้ามีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.44 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Chaisuwan et al. (2022) ศึกษาผลของวิธีการสกัดต่อปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดกับปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของ *K. parviflora* นำเหง้าของกระชายดำมาสกัดด้วยเอทานอล ความเข้มข้นที่ต่างกัน 25, 50, 75 และ 95 เปอร์เซ็นต์ สกัดเป็นเวลา 7 วัน ด้วยเครื่อง sonication-assisted extraction (SAE) พบว่าเมื่อสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด 6.79 ไมโครกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตร และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงสุด 2.11 ไมโครกรัมสมมูลคาเทชินต่อมิลลิลิตร และเมื่อสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 75 เปอร์เซ็นต์ มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay มีค่า IC_{50} เท่ากับ 5.37 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อนำเหง้ามาสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด 5.05 มิลลิกรัมสมมูลโธร็อกซ์ต่อมิลลิลิตร

Nonglang et al. (2022) ศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดกับปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย ด้วยเทคนิค GC-MS ของ *K. galanga* โดยนำเหง้าที่ทำแห้งแล้วปริมาณ 25 กรัม นำมาสกัดด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 125 มิลลิลิตร สกัดด้วยวิธี Maceration ด้วยเครื่องกวนสาร (magnetic stirrer) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง นำสารสกัดที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรอง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ด้วยวิธี Folin-ciocalteu โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน พบว่ามีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 23.55 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และนำมาวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด โดยใช้รูทีนเป็นสารมาตรฐาน พบว่ามีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 100.00 มิลลิกรัมสมมูลรูทีนต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS โดยใช้กรดแอสคอร์บิกเป็นสารมาตรฐาน พบว่าสารสกัดจากเหง้ามีค่า IC_{50} (DPPH) เท่ากับ 1.82 และ มีค่า IC_{50} (ABTS) เท่ากับ 0.31 มิลลิกรัมสมมูลกรดแอสคอร์บิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และนำมาศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย ด้วยเทคนิค GC-MS พบว่ามีสารประกอบ 8 ชนิด โดยสารประกอบที่พบมากที่สุด คือ ethyl p-methoxycinnamate พบ 94.87 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ 3-methyl-2(2-oxopropyl) furan พบ 3.34 เปอร์เซ็นต์ และ dodecane พบ 0.92 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Nonthalee et al. (2023) ศึกษาเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดกับปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย ด้วยเทคนิค GC-MS และวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารประกอบกรดฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) ของพืชที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง และพืชในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ 1 ปี ของ *Kaempferia grandifolia* และ *K. siamensis* โดยใช้ชิ้นส่วนใบและเหง้า นำ

ขึ้นส่วนพืชมาทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาบดเป็นผงให้ละเอียด พบว่า ขึ้นส่วนเหง้าที่ได้จากหลอดทดลองแล้วย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำของ *K. grandifolia* มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด 177.65 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ขึ้นส่วนใบจากสภาพธรรมชาติของ *K. siamensis* มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด 233.51 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ขึ้นส่วนใบที่ได้จากสภาพธรรมชาติของ *K. grandifolia* มีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงสุด 70.24 มิลลิกรัมสมมูลเคอร์ซีตินต่อกรัมสารสกัด ขึ้นส่วนใบที่ได้จากสภาพธรรมชาติของ *K. siamensis* มีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงสุด 137.35 มิลลิกรัมสมมูลเคอร์ซีตินต่อกรัมสารสกัด ขึ้นส่วนเหง้าที่ได้จากหลอดทดลองแล้วย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำของ *K. grandifolia* มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง DPPH สูงสุด 38.10 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นส่วนเหง้าที่ได้จากหลอดทดลองแล้วย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง ABTS สูงสุด 18.48 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นส่วนใบที่ได้จากสภาพธรรมชาติของ *K. siamensis* มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง DPPH สูงสุด 28.08 เปอร์เซ็นต์ และขึ้นส่วนใบที่ได้จากสภาพธรรมชาติมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง ABTS สูงสุด 25.52 เปอร์เซ็นต์ และศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย ด้วยเทคนิค GC-MS พบว่า *K. grandifolia* พบสารประกอบทั้งหมด 38 ชนิด และ *K. siamensis* พบสารประกอบทั้งหมด 19 ชนิด และวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารประกอบกรดฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง พบ *p*-cormaric acid, ferulic acid และ quercetin ในพืชทั้ง 2 ชนิด

Saensouk et al. (2023) ศึกษาเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดกับปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย ด้วยเทคนิค GC-MS ของปราบสมุทร์ ใช้ขึ้นส่วนใบ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช และในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และขึ้นส่วนใบ ลำต้นเทียม เหง้าและรากสะสมอาหารที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ พบว่าขึ้นส่วนเหง้าและรากสะสมอาหารที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด 139.50 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด พบว่าขึ้นส่วนใบที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงสุด 343.08 มิลลิกรัมสมมูลรูทีนต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง นำมาวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP พบว่าขึ้นส่วนใบที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด 323.46 มิลลิกรัมสมมูลโทรลอคซ์ต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง และ 166.00 มิลลิกรัมสมมูลเฟอร์รัสซัลเฟตต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง และนำขึ้นส่วนใบมาศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยด้วยเทคนิค GC-MS พบสารประกอบทั้งหมด 52 ชนิด ใช้ขึ้นส่วนใบในสภาพธรรมชาติพบสารประกอบสูงสุด

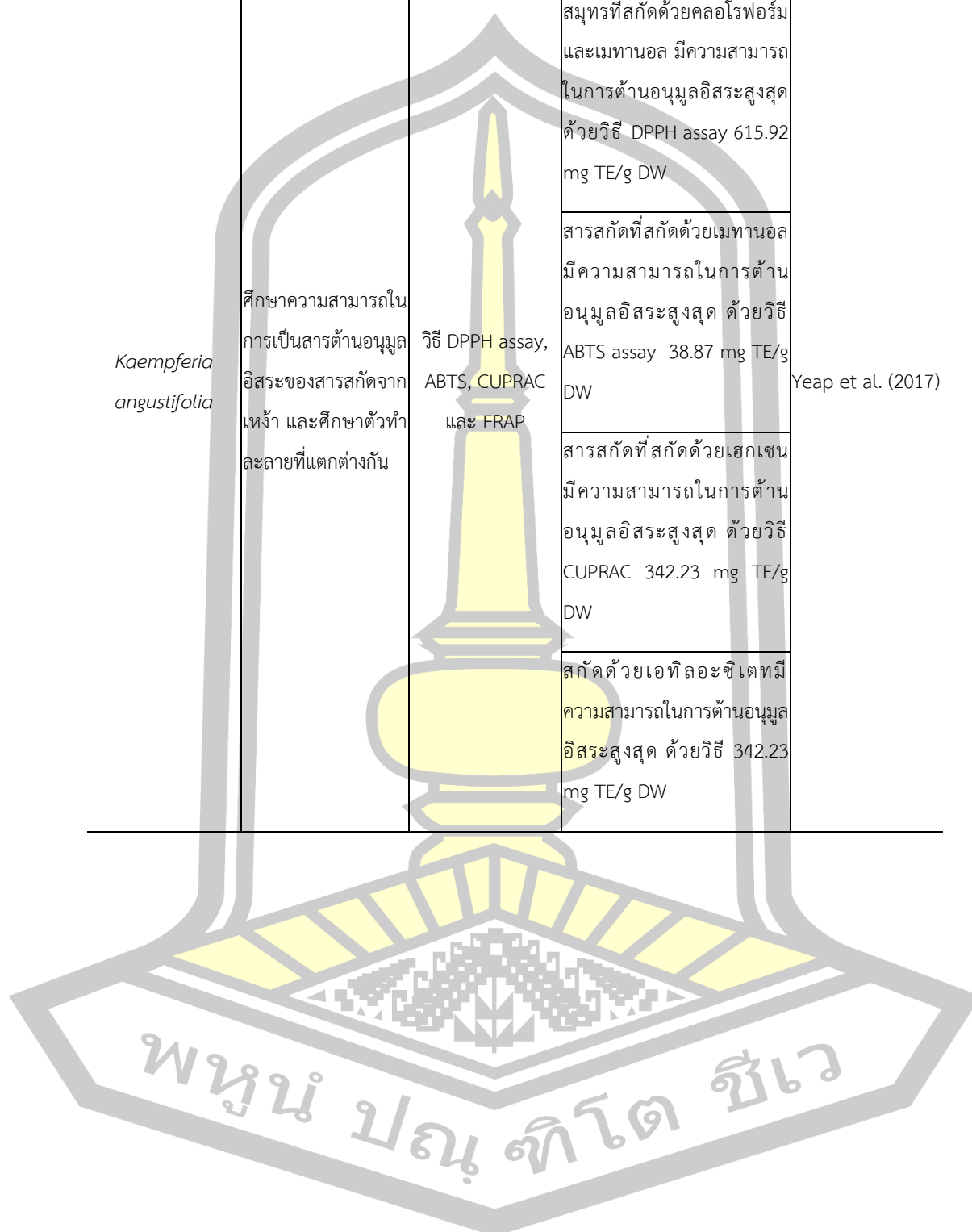
34 ชนิด รองลงมา คือ ชิ้นส่วนใบที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพบสารประกอบ 19 ชนิดจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาสารพฤกษเคมีของพืชสกุลเปราะสามารถสรุปได้ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ตารางสรุปงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาสารพฤกษเคมีของพืชสกุลเปราะ

ชนิดพืช	การศึกษา	วิธีการวิเคราะห์	ผลการศึกษา	อ้างอิง
<i>Kaempferia angustifolia</i>	องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเหง้า	GC-MS	พบว่ามีองค์ประกอบของสารเคมีอย่างน้อย 30 ชนิด monoterpenes ร้อยละ 66.73 Oxygenated monoterpenes ร้อยละ 27.89 sesquiterpenes ร้อยละ 3.49 oxygenated sesquiterpenes ร้อยละ 1.35 สารประกอบอื่นๆ ร้อยละ 0.54 มีสารประกอบหลัก คือ camphene ร้อยละ 45.53 camphor ร้อยละ 17.53 α - pinene ร้อยละ 12.22 borneol ร้อยละ 5.16	Vipunngeun et al. (2007)

พญัน ปณฺ ทิโต ชีเว

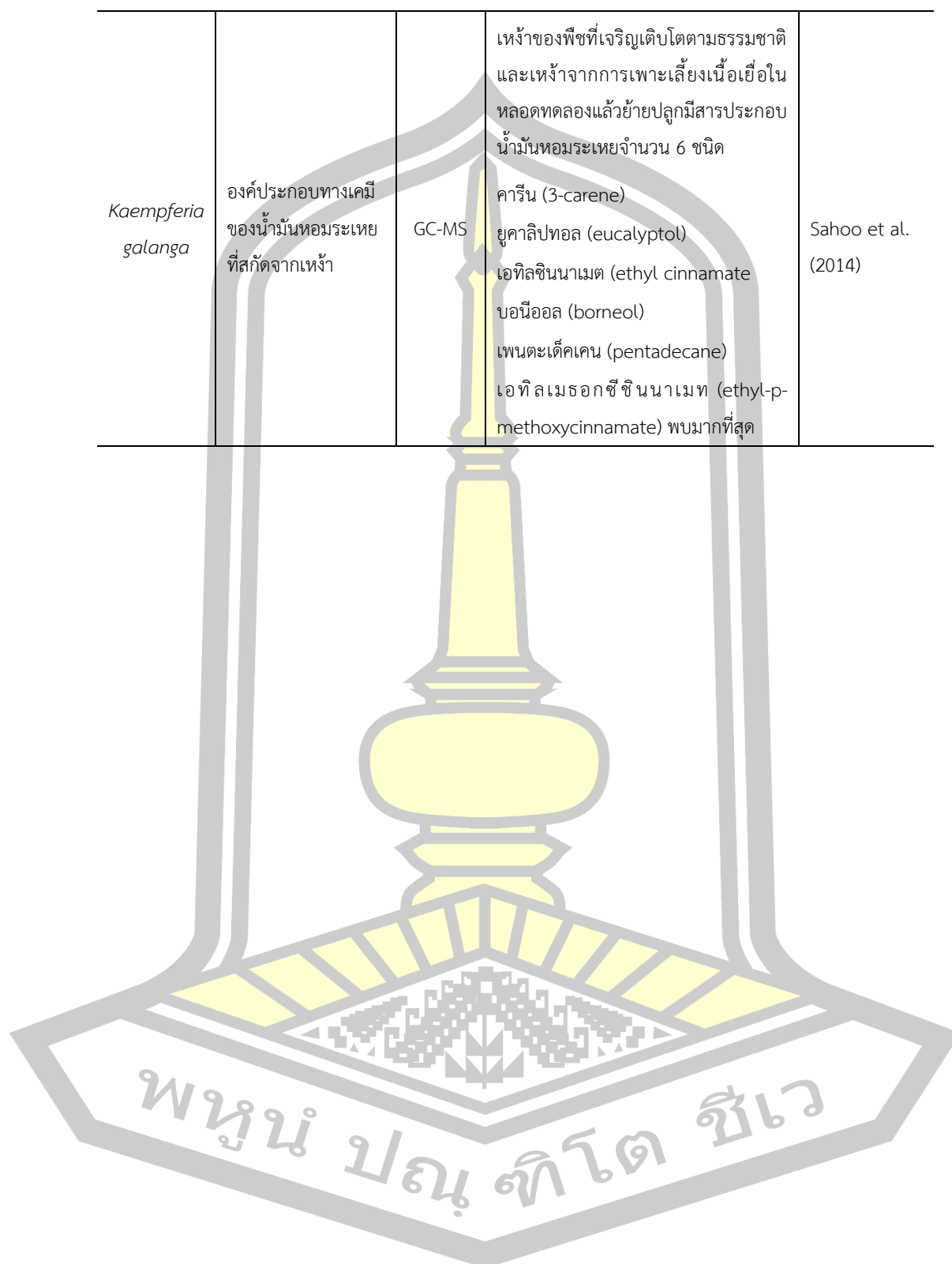
<i>Kaempferia angustifolia</i>	ศึกษาความสามารถใน การเป็นสารต้านอนุมูล อิสระของสารสกัดจาก เหง้า และศึกษาตัวทำ ละลายที่แตกต่างกัน	วิธี DPPH assay, ABTS, CUPRAC และ FRAP	สารสกัดจากเหง้าของปราบ สมุทรที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม และเมทานอล มีความสามารถ ในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด ด้วยวิธี DPPH assay 615.92 mg TE/g DW	Yeap et al. (2017)
			สารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอล มีความสามารถในการต้าน อนุมูลอิสระสูงสุด ด้วยวิธี ABTS assay 38.87 mg TE/g DW	
			สารสกัดที่สกัดด้วยเฮกเซน มีความสามารถในการต้าน อนุมูลอิสระสูงสุด ด้วยวิธี CUPRAC 342.23 mg TE/g DW	
			สกัดด้วยเอทิลอะซิเตทมี ความสามารถในการต้านอนุมูล อิสระสูงสุด ด้วยวิธี 342.23 mg TE/g DW	



<i>Kaempferia angustifolia</i>	ศึกษาเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดกับปริมาณ ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย ด้วยเทคนิค GC-MS	TPC, TFC, DPPH assay, FRAP assay และ GC-MS	นำใบ เหง้า และรากสะสมอาหารมาสกัดด้วยเอทานอลสกัดด้วยวิธี Maceration	Saensouk et al. (2023)
			เหง้าและรากสะสมอาหารที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด 139.50 mg GAE/100g DW	
			ใบที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงสุด 343.08 mg RE/100g DW	
			ใบที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) สูงสุด 323.46 mg TE/100g DW	
			ใบที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (FRAP) สูงสุด 166.00 mg FeSO₄ /100g DW	
			ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยด้วยเทคนิค GC-MS พบสารประกอบทั้งหมด 52 ชนิด	

พญ. ปณ. จิต ชีวะ

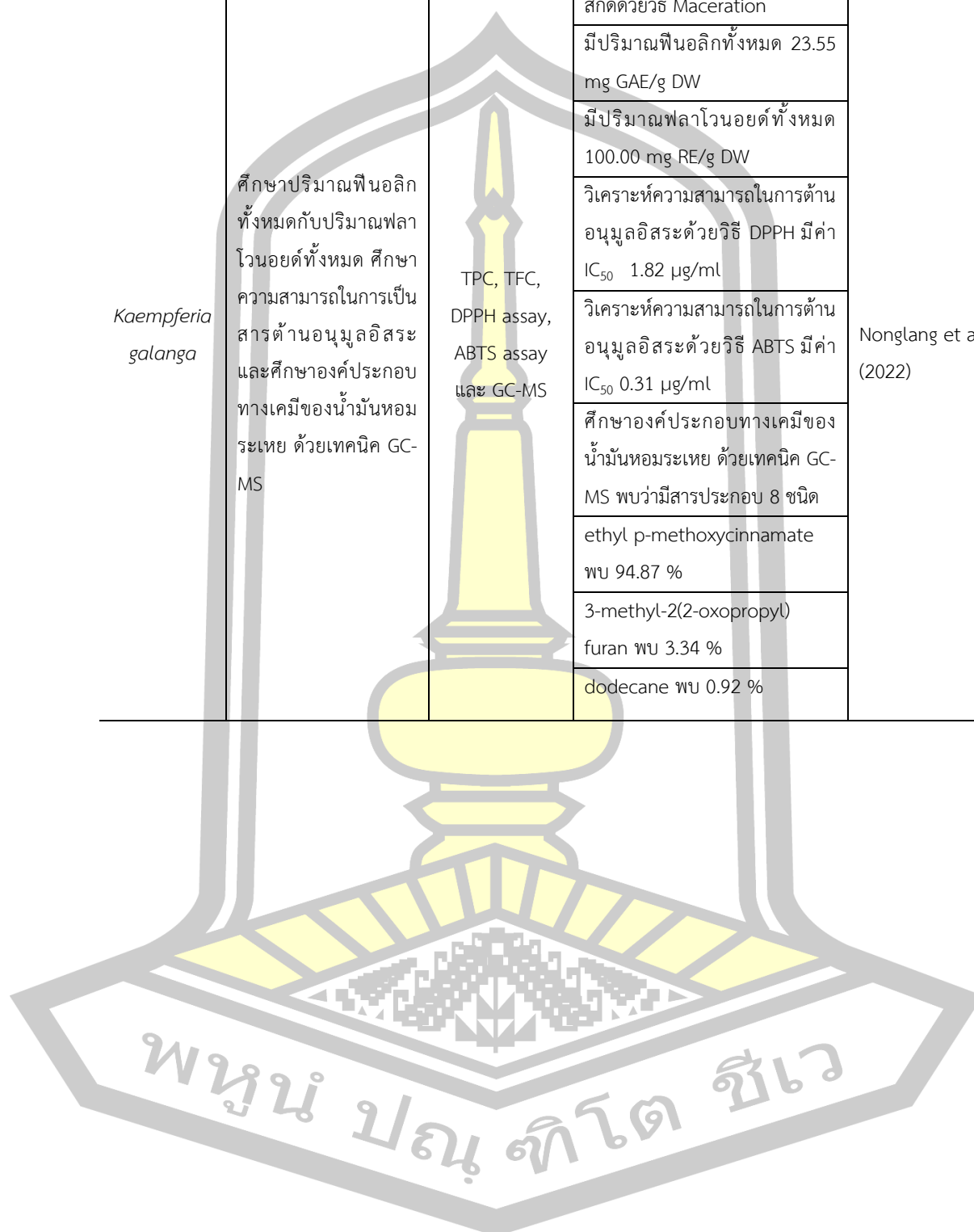
<i>Kaempferia galanga</i>	องค์ประกอบทางเคมี ของน้ำมันหอมระเหย ที่สกัดจากเหง้า	GC-MS	เหง้าของพืชที่เจริญเติบโตตามธรรมชาติ และเหง้าจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใน หลอดทดลองแล้วย้ายปลูกมีสารประกอบ น้ำมันหอมระเหยจำนวน 6 ชนิด คาร์ริน (3-carene) ยูคาลิปทอล (eucalyptol) เอทิลซินนามेट (ethyl cinnamate) บอร์เนอล (borneol) เพนตะเด็คเคน (pentadecane) เอทิลเมธอกซีซินนามาท (ethyl-p-methoxycinnamate) พบมากที่สุด	Sahoo et al. (2014)
---------------------------	---	-------	---	------------------------



Kaempferia galanga	ศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดกับปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ศึกษาความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยด้วยเทคนิค GC-MS	TPC, TFC, DPPH assay, ABTS assay และ GC-MS	แห้งมาสกัดด้วยเมทานอล ด้วยวิธี Maceration	Ali et al. (2018)
			นำมาวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด มีปริมาณ 15.40 mg GAE/g DW	
			นำมาวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด มีปริมาณ 37.72 mg CE/g DW	
			วิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มีค่า IC ₅₀ 16.58 µg/ml	
			วิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS มีค่า IC ₅₀ 8.24 µg/ml	
Kaempferia galanga	ศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ	DPPH	แห้งมาสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเอทานอล สกัดด้วยวิธี Maceration	Sani et al. (2019)
			สกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด และมีค่า IC ₅₀ 442.44 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	
			สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน มีค่า IC ₅₀ 831.82 µg/ml	
			สกัดด้วยเอทิลอะซิเตตมีค่า IC ₅₀ 492.75 µg/ml	

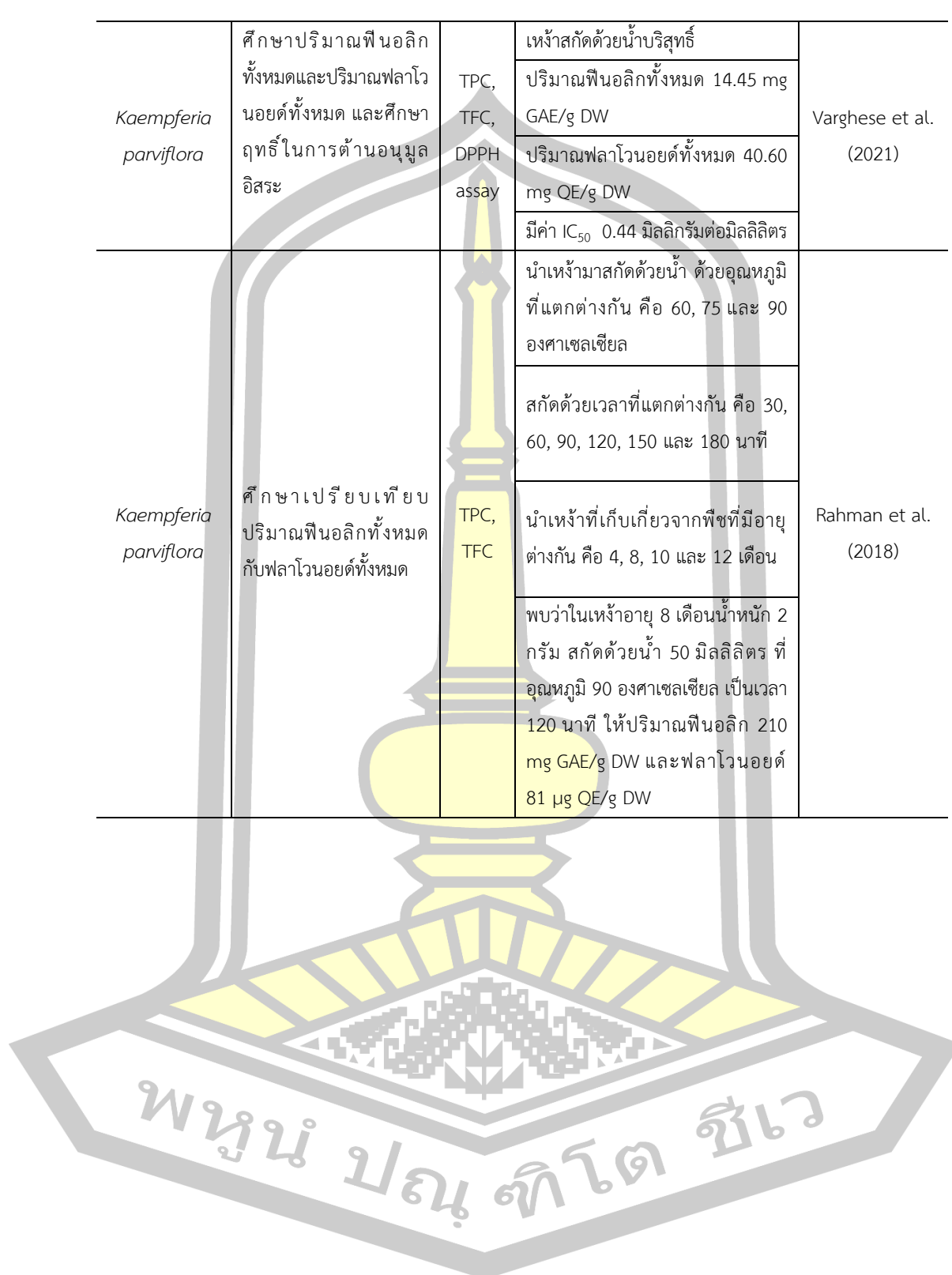
พญ. ปณ. ทิโต ชีเว

<i>Kaempferia galanga</i>	ศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดกับปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ศึกษาความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย ด้วยเทคนิค GC-MS	TPC, TFC, DPPH assay, ABTS assay และ GC-MS	แห้งมาสกัดด้วยเอทานอล 80% สกัดด้วยวิธี Maceration	Nonglang et al. (2022)
			มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 23.55 mg GAE/g DW	
			มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 100.00 mg RE/g DW	
			วิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มีค่า IC ₅₀ 1.82 µg/ml	
			วิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS มีค่า IC ₅₀ 0.31 µg/ml	
			ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย ด้วยเทคนิค GC-MS พบว่ามีสารประกอบ 8 ชนิด	
			ethyl p-methoxycinnamate พบ 94.87 %	
			3-methyl-2(2-oxopropyl)furan พบ 3.34 %	
			dodecane พบ 0.92 %	



<i>Kaempferia grandifolia</i>	ศึกษาเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดกับปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยด้วยเทคนิค GC-MS และวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารประกอบกรดฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ด้วย HPLC ของพืชที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง และพืชในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ	TPC, TFC, DPPH assay, ABTS assay, GC-MS และ HPLC	ใบและเหง้าสกัดด้วยเอทานอล 95 % สกัดด้วยวิธีการแบบต่อเนื่อง (Soxhlet extraction)	Nonthalee et al. (2023)
			เหง้าที่ได้จากหลอดทดลองแล้วย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด 177.65 mg GAE/g extracts	
			ใบที่ได้จากสภาพธรรมชาติมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 170.24 mg GAE/g extracts	
			ใบที่ได้จากสภาพธรรมชาติมีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงสุด 70.24 mg QE/g extracts	
			ใบที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีปริมาณฟลาโวนอยด์ 61.73 mg QE/g extracts	
			เหง้าที่ได้จากหลอดทดลองแล้วย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง DPPH สูงสุด 38.10 %	
			ใบที่ได้จากสภาพธรรมชาติมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง DPPH 29.98 %	
			เหง้าได้จากหลอดทดลองแล้วย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง ABTS สูงสุด 18.48 %	
			ใบที่ได้จากสภาพธรรมชาติมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง ABTS 17.18 %	
			ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย ด้วยเทคนิค GC-MS พบสารประกอบทั้งหมด 38 ชนิด	
			วิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารประกอบกรดฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) พบ p-cormaric acid, ferulic acid และ quercetin	

<i>Kaempferia parviflora</i>	ศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ	TPC, TFC, DPPH assay	แห้งสกัดด้วยน้ำบริสุทธิ์	Varghese et al. (2021)
			ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 14.45 mg GAE/g DW	
			ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 40.60 mg QE/g DW	
			มีค่า IC ₅₀ 0.44 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	
<i>Kaempferia parviflora</i>	ศึกษาเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดกับฟลาโวนอยด์ทั้งหมด	TPC, TFC	นำเหง้ามาสกัดด้วยน้ำ ด้วยอุณหภูมิที่แตกต่างกัน คือ 60, 75 และ 90 องศาเซลเซียส	Rahman et al. (2018)
			สกัดด้วยเวลาที่แตกต่างกัน คือ 30, 60, 90, 120, 150 และ 180 นาที	
			นำเหง้าที่เก็บเกี่ยวจากพืชที่มีอายุต่างกัน คือ 4, 8, 10 และ 12 เดือน	
			พบว่าในเหง้าอายุ 8 เดือนน้ำหนัก 2 กรัม สกัดด้วยน้ำ 50 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที ให้ปริมาณฟีนอลิก 210 mg GAE/g DW และฟลาโวนอยด์ 81 µg QE/g DW	



<i>Kaempferia rotunda</i>	ศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด	TPC	แห้งสกัดด้วยเฮกเซน เอทานอล และเอทิลอะซิเตต สกัดด้วยวิธี Maceration	Rachkeeree et al. (2020)
			สกัดด้วยเอทิลอะซิเตตพบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด 154.28 mg GAE/g DW	
			สกัดด้วยเอทานอล มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 14.54 mg GAE/g DW	
			สกัดด้วยเฮกเซนมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 4.68 mg GAE/g DW	
<i>Kaempferia scapose</i>	ศึกษาฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และตรวจสอบหาสารฟลักซ์เคมีในเหง้า	วิธี DPPH assay และ HPLC	แห้งมาสกัดด้วยเมทานอล น้ำ คลอโรฟอร์ม และอะซิโตน พบว่าสารสกัดจากเมทานอลมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระสูงสุด 93.12 และวิเคราะห์สารฟลักซ์เคมีด้วยความยาวคลื่น 254, 366 นาโนเมตร	Jagtap et al. (2015)
			ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร มีสารสำคัญ คือ saponanin, apiin, rutin, kaempferol และ coumaric acid	
			ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตรพบสารสำคัญ คือ phenolic acid, coumaric acid,	



<i>aempferia siamensis</i>	ศึกษาเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดกับปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย ด้วยเทคนิค GC-MS และวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารประกอบกรดฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ด้วย HPLC ที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง และพืชในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ	TPC, TFC, DPPH assay, ABTS assay, GC-MS และ HPLC	ใบและเหง้าสกัดด้วยเอทานอล 95 % สกัดด้วยวิธีการแบบต่อเนื่อง (Soxhlet extraction)	Nonthalee et al. (2023)
			ใบจากสภาพธรรมชาติมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด 233.51 mg GAE/g extracts	
			เหง้าที่ได้จากหลอดทดลองแล้วย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 187.57 mg GAE/g extracts	
			ใบที่ได้จากสภาพธรรมชาติมีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงสุด 137.35 mg QE/g extracts	
			ใบที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีปริมาณฟลาโวนอยด์ 109.22 mg QE/g extracts	
			ใบที่ได้จากสภาพธรรมชาติมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง DPPH สูงสุด 28.08 %	
			เหง้าที่ได้จากหลอดทดลองแล้วย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง DPPH 27.79 %	
			ใบที่ได้จากสภาพธรรมชาติมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง ABTS สูงสุด 25.52 %	
			เหง้าที่ได้จากหลอดทดลองแล้วย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง ABTS 17.49 %	
			ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย ด้วยเทคนิค GC-MS พบสารประกอบทั้งหมด 19 ชนิด	
			วิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารประกอบกรดฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) พบ p-coumaric acid, ferulic acid และ quercetin	

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 พืชที่ใช้ในการทำวิจัย

เก็บตัวอย่างต้นเปราะหูกะต่าย (*Kaempferia sisaketensis* Picheans. & Koonterm)
จากอำเภอกันทรลักษ์ จังหวัดศรีสะเกษ ในเดือนพฤศจิกายน 2564 (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 เปราะหูกะต่าย (*Kaempferia sisaketensis* Picheans. & Koonterm)

ก. ต้นเปราะหูกะต่ายที่เจริญเติบโตในอำเภอกันทรลักษ์ จังหวัดศรีสะเกษ สูง
จากระดับน้ำทะเล 169 เมตร พิกัดทางภูมิศาสตร์ $14^{\circ} 28.894'N$
 $104^{\circ}36.764'E$

ข. พืชในสภาพธรรมชาติ

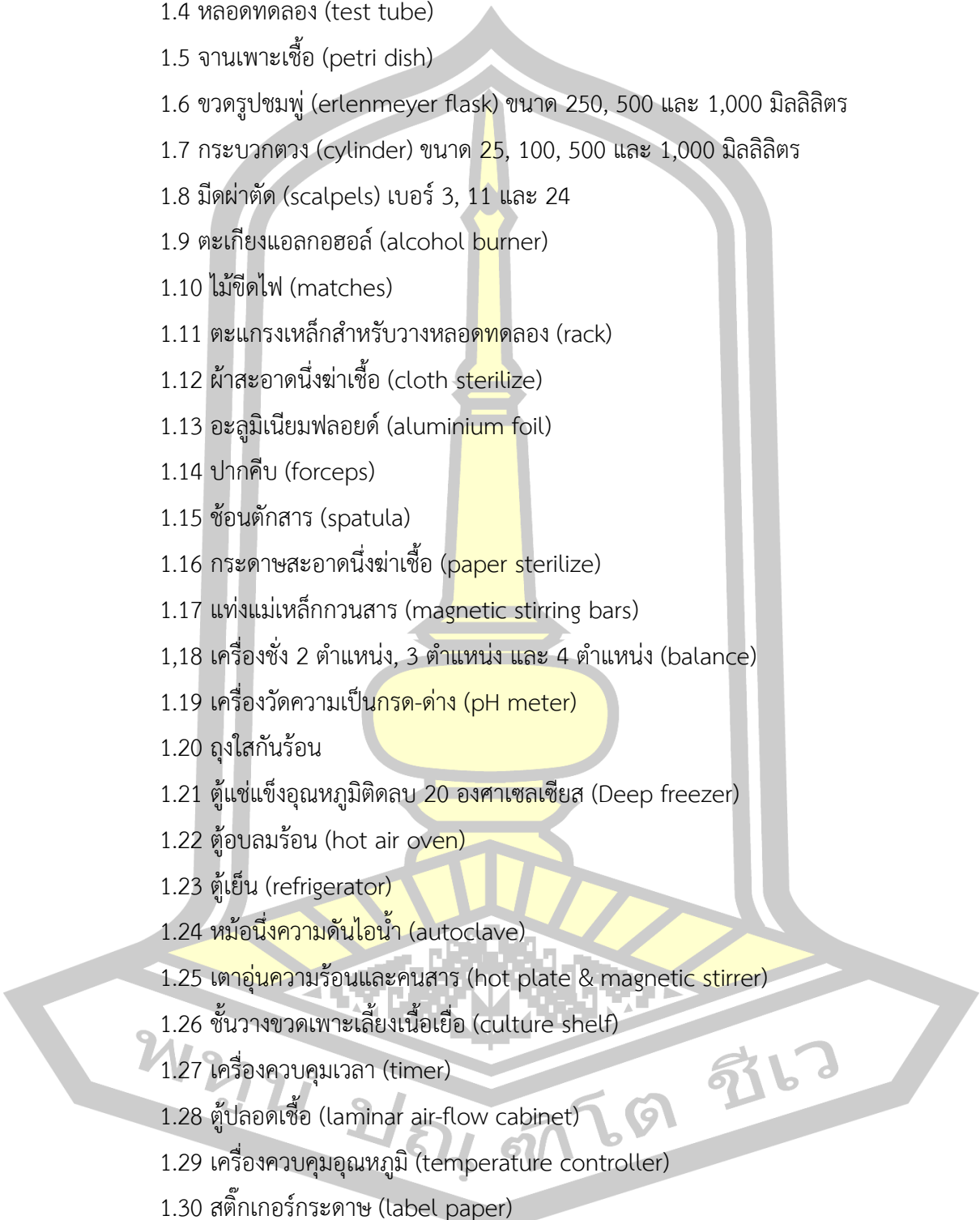
ค. ลักษณะช่อดอก

3.2 อุปกรณ์และสารเคมี

อุปกรณ์ (equipments)

1.1 ปีกเกอร์ (beaker) ขนาด 10, 25, 50, 100, 500 และ 1,000 มิลลิลิตร

1.2 ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (tissue culture bottle) ขนาด 4 ออนซ์และขนาด 8 ออนซ์

- 
- 1.3 ปิเปตต์ (pipette) ขนาด 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร
 - 1.4 หลอดทดลอง (test tube)
 - 1.5 จานเพาะเชื้อ (petri dish)
 - 1.6 ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask) ขนาด 250, 500 และ 1,000 มิลลิลิตร
 - 1.7 กระบอกตวง (cylinder) ขนาด 25, 100, 500 และ 1,000 มิลลิลิตร
 - 1.8 มีดผ่าตัด (scalpels) เบอร์ 3, 11 และ 24
 - 1.9 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (alcohol burner)
 - 1.10 ไม้ขีดไฟ (matches)
 - 1.11 ตะแกรงเหล็กสำหรับวางหลอดทดลอง (rack)
 - 1.12 ผ้าสะอาดนึ่งฆ่าเชื้อ (cloth sterilize)
 - 1.13 อะลูมิเนียมฟลอยด์ (aluminium foil)
 - 1.14 ปากคีบ (forceps)
 - 1.15 ช้อนตักสาร (spatula)
 - 1.16 กระดาษสะอาดนึ่งฆ่าเชื้อ (paper sterilize)
 - 1.17 แท่งแม่เหล็กกวนสาร (magnetic stirring bars)
 - 1.18 เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง, 3 ตำแหน่ง และ 4 ตำแหน่ง (balance)
 - 1.19 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
 - 1.20 ถังใสกันร้อน
 - 1.21 ตู้แช่แข็งอุณหภูมิติดลบ 20 องศาเซลเซียส (Deep freezer)
 - 1.22 ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
 - 1.23 ตู้เย็น (refrigerator)
 - 1.24 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave)
 - 1.25 เตาอุ่นความร้อนและคนสาร (hot plate & magnetic stirrer)
 - 1.26 ชั้นวางขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (culture shelf)
 - 1.27 เครื่องควบคุมเวลา (timer)
 - 1.28 ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air-flow cabinet)
 - 1.29 เครื่องควบคุมอุณหภูมิ (temperature controller)
 - 1.30 สติกเกอร์กระดาษ (label paper)
 - 1.31 ลูกยาง (rubber bulb)
 - 1.32 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)
 - 1.33 เครื่องปรับอากาศ (air conditioner)

- 1.34 หลอดฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence lamp)
- 1.35 หลอดยูวี (uv lamp)
- 1.36 เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dryer)
- 1.37 เครื่องทำปฏิกิริยาไมโครเพลท รีดเดอร์ (microplate reader) ยี่ห้อ Thermo Scientific รุ่น Varioskan LUX
- 1.38 หลอดฉีดยา (syringe)
- 1.39 เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography, HPLC) ยี่ห้อ GL Science Inc., Tokyo, Japan
- 1.40 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (uv-vis spectrophotometer) ยี่ห้อ Shimadzu, Tokyo, Japan
- 1.41 เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (shaking incubator)
- 1.42 เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน (centrifuge)
- 1.43 ชุดกรองสุญญากาศ (filtration assembly)
- 1.44 เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (rotary evaporator)
- 1.45 เยื่อกรองสารละลายสำหรับหลอดฉีดยา (syringe filter) ขนาด 0.2 และ 0.45 ไมโครเมตร
- 1.46 กระดาษกรอง (filter papers) ยี่ห้อ Whatman เบอร์ 4
- 1.47 ขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 5, 10, 100, 500, 1,000 และ 2,000 มิลลิลิตร
- 1.48 ขวดแก้วใส่สารตัวอย่าง (vial) บรรจุสารตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์เครื่อง HPLC
- 1.49 ไมโครปิเปตทิป (micropipette tip)
- 1.50 หลอดไมโครเซนติฟิวก์ (microcentrifuge tube)
- 1.51 ขวดระเหยสาร (evaporating flask)
- 1.52 เครื่องเขย่าสาร (vortex mixer)
- 1.53 คิวเวทท์ (cuvette)
- 1.54 เยื่อกรองสารละลายชนิดเมมเบรนไนลอน (nylon membrane filter) ขนาด 0.3 ไมโครเมตร
- 1.55 เครื่องล้างอัลตราโซนิก (sonicator bath)
- 1.56 แท่งแก้ว (stirring rod)
- 1.57 เครื่องปั่นไฟฟ้า (electric blender)
- 1.58 พาราฟิล์ม (parafilm)

1.59 ไมโครปิเปตต์ (micropipette) ขนาด 2-20 ไมโครลิตร, 20-100 ไมโครลิตร และ 200-1,000 ไมโครลิตร

1.60 ขวดดูแรน (duran) ขนาด 1,000 และ 2,000 มิลลิลิตร

1.61 โกร่งบดสาร (mortar & pestle)

1.62 ไมโครเวลเพลท (microwell plate) 96-well plate

1.63 เครื่องวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบพืช (chlorophyll meter SPAD-502 plus) ยี่ห้อ Konica Minolta, Japan

สารเคมี

2.1 น้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ (distilled water sterilize)

2.2 น้ำปราศจากไอออน (deionized water, DI water)

2.3 อาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige & Skoog, 1962)

2.4 แอลกอฮอล์ (alcohol) ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ และ 95 เปอร์เซ็นต์

2.5 วุ้น (agar)

2.6 Tween 20

2.7 โซเดียมไฮโปคลอไรท์ (sodium hypochlorite, clorox)

2.8 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide, NaOH) ความเข้มข้น 1 นอร์มอล

2.9 สารละลายกรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid, HCl) ความเข้มข้น 1 นอร์มอล

2.10 เบนซิลอะดีนีน (benzyladenine, BA)

2.11 กรดแนฟทาไลน์แอซิดิก (naphthaleneacetic acid, NAA)

2.12 ไคเนติน (6-furfurylamino purine, Kinetin)

2.13 ไทเดียซูรอน (thidiazuron, TDZ)

2.14 สารละลายมาตรฐานสารประกอบฟีนอลิก

- กรดแกลลิก (gallic acid)

- กรดซินนามิก (cinnamic acid)

- กรดโปรโตคาเทอิก (protocatechuic acid)

- กรดไฮดรอกซีเบนโซอิก (p-hydroxybenzoic acid)

- กรดซินแนปิก (sinapic acid)

- กรดคาเฟอิก (caffeic acid)

- กรดเฟอร์ูลิก (ferulic acid)

- กรดคลอโรจีนิก (chlorogenic acid)

- กรดคูมาริก (p-coumaric acid)
- กรดไฮดรอกซีเบนโซอิก (p-hydroxybenzoic acid)

2.15 สารละลายมาตรฐานสารประกอบฟลาโวนอยด์

- รุทีน (rutin)
- เคอร์ซีติน (quercetin)
- แคมพ์เฟอร์อล (kaempferol)
- คาเทชิน (catechin)

2.16 สารละลาย Folin-Ciocalteu's reagent

2.17 เมทานอล (methanol) HPLC grade และ AR grade

2.18 สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate, Na_2CO_3) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์

2.19 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลาร์

2.20 สารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ (aluminium chloride, AlCl_3) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์

2.21 สารละลายโซเดียมไนไตรท์ (sodium nitrite, NaNO_2) ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์

2.22 สารละลาย 2,2-diphenyl-1-hydrazyl radical (DPPH)

2.23 สารละลายโทรลลอคซ์ (trolox)

2.24 สารละลายอะซิโตนไนไตรล์ (acetonitrile)

2.25 กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid)

2.26 สารละลายกรดแอสติก (acetic acid) ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์

2.27 สารละลายมาตรฐาน 2-2'-azino-bis (3-ethylbenthiazoline-6-sulphonic acid, ABTS) ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์

2.28 สารละลายโพแทสเซียมซัลเฟต (potassium persulfate, $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) ความเข้มข้น 2.54 มิลลิโมลาร์

3.3 วิธีดำเนินการวิจัย

1. การทดลองที่ 1 เปรียบเทียบความแตกต่างชนิดและระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชต่อการเจริญเติบโตของเปราะหูกะต่าย

3.1 การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเปราะหูกะต่าย

อาหารที่ใช้ในการทำการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในครั้งนี้ คือ อาหารสูตร MS (Murashige & Skoog, 1962) ประกอบไปด้วย ธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง ธาตุเหล็ก วิตามิน และฮอร์โมนในกลุ่มไซโทไคนิน ได้แก่ benzyladenine (BA), 6-furfurylamino purine

(Kinetin) และ thidiazuron (TDZ) และฮอร์โมนในกลุ่มออกซิน ได้แก่ naphthaleneacetic acid (NAA) ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันเติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ละลายน้ำตาลให้ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร หรือ 1 ลิตร นำไปปรับค่าความเป็นกรด-ด่างประมาณ 5.85 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 นอร์มอล (NaOH, 1 N) หรือกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 นอร์มอล (HCl, 1 N) จากนั้นเติมผงวุ้น 8 กรัมต่อลิตร แล้วนำไปต้มให้วุ้นละลายด้วยเตาอุณหภูมิร้อนจนวุ้นละลายหมด นำอาหารที่ได้ไปเทใส่ขวดสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 4 ออนซ์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ปิดฝาขวดให้สนิทแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ที่ทิ้งไว้ให้อาหารเย็นแล้วจึงนำไปใช้ในการทำการทดลองต่อไป

1.2 การฟอกฆ่าเชื้อเปราะหุกระต่าย

นำตาเหง้าของเปราะหุกระต่าย ที่เก็บจากพื้นที่ป่า จังหวัดศรีสะเกษ นำมาล้างน้ำให้สะอาดเป็นเวลา 30 นาที ฉีดพ่นด้วยแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (sodium hypochlorite) ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาที หยด Tween 20 ประมาณ 1-2 หยด เพื่อลดแรงตึงผิว และนำไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำไปล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที นำตาเหง้าของเปราะหุกระต่ายมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ที่ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ด้วยหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ เปราะหุกระต่ายเกิดหน่อใหม่ จากนั้นเพิ่มจำนวนโดยย้ายหน่ออ่อนไปเพาะเลี้ยงในอาหารใหม่ทุก 4-6 สัปดาห์ จนได้พืชมากพอที่จะนำมาทำการทดลองต่อไป

1.3 การปรับสภาพต้นเปราะหุกระต่าย

นำต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายขนาดประมาณ 1 เซนติเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ย้ายมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมน เพาะเลี้ยงในสภาวะเช่นเดียวกับข้อ 1.2 เป็นเวลา 4 สัปดาห์ หลังจากนั้นจึงนำไปใช้ทำการทดลอง

1.4 การเพาะเลี้ยงเปราะหุกระต่าย

1.4.1 ศึกษาความแตกต่างระดับความเข้มข้นของ BA ร่วมกับ NAA ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเปราะหุกระต่าย

นำต้นอ่อนเปราะหุกระต่าย ขนาดประมาณ 1 เซนติเมตร ที่ผ่านการปรับสภาพแล้วในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ที่ระดับความ

เข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด โดยวางต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายเพาะเลี้ยงต้นละ 1 ขวด เพาะเลี้ยงสภาวะเช่นเดียวกับข้อ 1.2 เป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกการเจริญเติบโต จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย

1.4.2 ศึกษาความแตกต่างระดับความเข้มข้นของ Kinetin ร่วมกับ NAA ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเปราะหุกระต่าย

นำต้นอ่อนเปราะหุกระต่าย ขนาดประมาณ 1 เซนติเมตร ที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว ในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด โดยวางต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายเพาะเลี้ยงต้นละ 1 ขวด เพาะเลี้ยงสภาวะเช่นเดียวกับข้อ 1.2 เป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกการเจริญเติบโต จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย

1.4.3 ศึกษาความแตกต่างระดับความเข้มข้นของ BA และ TDZ ร่วมกับ NAA ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเปราะหุกระต่าย

นำต้นอ่อนเปราะหุกระต่าย ขนาดประมาณ 1 เซนติเมตร ที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว ในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด โดยวางต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายเพาะเลี้ยงต้นละ 1 ขวด เพาะเลี้ยงสภาวะเช่นเดียวกับข้อ 1.2 เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกการเจริญเติบโต จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย

1.4.4 ศึกษาความแตกต่างระดับความเข้มข้นของ Kinetin และ TDZ ร่วมกับ NAA ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเปราะหุกระต่าย

นำต้นอ่อนเปราะหุกระต่าย ขนาดประมาณ 1 เซนติเมตร ที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว ในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด โดยวางต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายเพาะเลี้ยงต้นละ 1 ขวด เพาะเลี้ยงสภาวะเช่นเดียวกับข้อ 1.2 เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกการเจริญเติบโต จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย

2. การทดลองที่ 2 เปรียบเทียบวัสดุปลูกที่เหมาะสมเมื่อย้ายต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกในเรือนเพาะชำ

2.1 การปรับสภาพต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อก่อนการย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ

นำเปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร อายุ 8 สัปดาห์ ที่มีการเจริญเติบโตอย่างสมบูรณ์มียอดและรากที่แข็งแรงเจริญเติบโตเต็มขนาดเพาะเลี้ยง ลำต้นตั้งตรง จากนั้นนำขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเปราะหุกระต่ายออกมาจากห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช นำมาปรับสภาพการเจริญเติบโตที่ห้องเตรียมอาหารที่อุณหภูมิห้อง นำมาปรับสภาพเป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อให้ต้นอ่อนปรับตัวก่อนนำออกจากขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำในช่วงฤดูฝนระหว่างเดือนพฤษภาคม-ตุลาคม 2565

2.2 การนำต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกในเรือนเพาะชำ

2.2.1 ลักษณะของวัสดุปลูก

วัสดุที่ใช้ในการปลูกเปราะหุกระต่ายโดยเลือกวัสดุปลูกที่มีความใกล้เคียงกับดินในสภาพธรรมชาติที่ต้นเปราะหุกระต่ายเจริญเติบโต ซึ่งวัสดุปลูกที่เลือกใช้ได้แก่ ดินปลูก, ดินทราย และดินปลูกผสมดินทราย ดินที่ใช้ในการปลูกเป็นดินปลูกสำเร็จรูปจากร้านค้าในจังหวัดมหาสารคาม ยี่ห้อนายพล โดยมีส่วนผสมของดิน ดังนี้ ปุ๋ยหมักอินทรีย์ชีวภาพ, มูลวัว, แกลบดำ, ขุยมะพร้าว, ใบก้ามปู และแร่ธาตุที่พืชต้องการครบสมบูรณ์ โดยลักษณะของดิน เนื้อดินค่อนข้างนุ่มเมื่อสัมผัสจะรู้สึกนุ่มแต่จะมีความสากเล็กน้อย เมื่อใช้มือกำดินให้แน่นแล้วคลายมือออก ดินจะจับตัวกันเป็นก้อนไม่แตกออกจากกัน ซึ่งดินประเภทนี้มีความสามารถในการอุ้มน้ำค่อนข้างดี และเป็นดินที่เหมาะสมสำหรับการเพาะปลูกพืช ในส่วนของดินทรายใช้ดินทรายจากพื้นที่ป่าฟาร์มมหาวิทยาลัยมหาสารคาม ตำบลนาสีนวน อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม พิกัดทางภูมิศาสตร์ $16^{\circ} 20.47'N$ $103^{\circ} 12.21'E$ สูงจากระดับน้ำทะเล 160 เมตร ลักษณะของดินทรายเนื้อดินมีการเกาะตัวกันหลวม ๆ เมื่อใช้มือสัมผัสดินที่อยู่ในสภาวะแห้งจะรู้สึกสากมือ เมื่อกำดินโดยใช้อุ้งมือกำให้แน่นแล้วคลายมือออก เนื้อดินจะแตกออกจากกัน ในสภาวะที่ดินชื้น ดินจะเป็นก้อนหลวม ๆ แต่พอใช้มือสัมผัสดินจะแตกออกจากกัน โดยดินทรายมีความสามารถในการอุ้มน้ำได้ต่ำ ดินทรายมีการดูดซึมสารอาหารได้ค่อนข้างน้อย ในส่วนของดินผสมทรายใช้ดินและทรายจากพื้นที่ดังกล่าว โดยนำดินมาผสมกันในอัตราส่วน 1 : 1 ลักษณะดินจะจับตัวกันเป็นก้อนและดินจะแตกออกจากกันทันที ดินผสมทรายจะมีความสามารถในการอุ้มน้ำได้ในระดับปานกลาง

2.2.2 การเตรียมวัสดุปลูกเปราะหุกระต่ายและการย้ายต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายออกปลูกในเรือนเพาะชำระหว่างเดือนพฤษภาคม-ตุลาคม 2565

วัสดุที่ใช้ในการปลูกเปราะหุระต่ายมีวัสดุปลูกทั้งหมด 3 ชนิด คือ ดินปลูก ดินทราย และดินปลูกผสมดินทรายอัตราส่วน 1 : 1 ใส่วัสดุปลูกเกือบเต็มถุงพลาสติกดำที่ใช้สำหรับการเพาะชำ ที่ผ่านการเจาะรูที่ก้นถุง ถุงพลาสติกดำที่ใช้สำหรับการปลูกมีขนาด 3X6 นิ้ว วิธีการปลูก ต้นอ่อนเปราะหุระต่าย นำต้นอ่อนเปราะหุระต่ายที่ผ่านการปรับสภาพโดยนำไปตั้งไว้ในห้องเตรียมอาหารที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วนำเปราะหุระต่ายที่มียอดและรากที่แข็งแรงมีการเจริญเติบโตที่สมบูรณ์ มีขนาดความสูงประมาณ 6-8 เซนติเมตร การเลือกต้นอ่อนเปราะหุระต่าย เลือกต้นอ่อนที่มีปลายยอดสูงถึงฝาปิดขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 4 ออนซ์ จากนั้นจึงนำต้นอ่อนเปราะหุระต่ายออกมาจากขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแล้วจึงนำปากคีบปลายทุ่คีบต้นอ่อนเปราะหุระต่ายออกมา นำไปล้างเอาเศษขุ่น เศษอาหารออกให้สะอาดด้วยน้ำประปา 2-3 ครั้ง เพราะเศษขุ่นที่ติดค้างอยู่บนรากจะเป็นตัวชักนำให้เกิดการเข้าทำลายของเชื้อจุลินทรีย์ ส่งผลให้ต้นพืชเกิดโรคได้ จากนั้นใช้มีดผ่าตัดเบอร์ 24 ค่อย ๆ ตัดต้นอ่อนเปราะหุระต่ายให้แยกออกเป็นต้นเดี่ยว ๆ ให้ได้ต้นที่สมบูรณ์ นำต้นเดี่ยว ๆ ที่แยกได้ลงไปปลูกในวัสดุปลูกที่เตรียมไว้ในแต่ละวัสดุปลูกทำการทดลอง 20 ซ้ำหรือปลูกอย่างละ 20 ต้นโดยปลูกต้นอ่อนเปราะหุระต่าย 1 ต้น ต่อ 1 ถุง รดน้ำให้ชุ่มด้วยน้ำประปา แล้วใช้ถุงพลาสติกใสคลุมรอบ ๆ แปลงเพาะปลูกที่นำต้นพืชไปวางไว้ทำเป็นกระโจมเพื่อควบคุมความชื้นให้แก่ต้นพืช จากนั้นใช้ตาข่ายสีดำคลุมทับอีก 1 ชั้น เพื่อช่วยในการพร่างแสงไม่ให้ต้นพืชได้รับแสงแดดมากเกินไป โดยคลุมถุงพลาสติกใสให้กับพืชเป็นเวลา 2 สัปดาห์ เมื่อต้นอ่อนเปราะหุระต่ายเริ่มปรับสภาพให้เข้ากับสภาพแวดล้อมภายในเรือนเพาะชำได้แล้ว สังเกตได้จากใบจะเริ่มกางออก ลำต้นตั้งตรง มียอดอ่อนแตกขึ้นมาใหม่ หลังจากนั้นนำถุงพลาสติกใสที่คลุมออก เมื่อต้นอ่อนเปราะหุระต่ายเจริญเติบโตเต็มที่แล้ว เริ่มแตกยอดขึ้นมาใหม่แตกยอดเพิ่มขึ้นลักษณะต้นพืชมีความแข็งแรง จึงนำตาข่ายสีดำที่คลุมออกเพื่อให้ต้นพืชได้รับแสงแดดได้อย่างเต็มที่ ตลอดระยะเวลาทำการทดลอง 8 สัปดาห์ รดน้ำต้นพืชทุกวัน วันละ 1 ครั้ง รดน้ำในตอนเช้า หลังจากนั้นบันทึกการเจริญเติบโต เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย ความยาวรากเฉลี่ย จำนวนใบเฉลี่ย และวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบเฉลี่ยโดยใช้เครื่องวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบพืช (chlorophyll meter SPAD-502 plus) ยี่ห้อ Konica Minolta

2.3 การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบเปราะหุระต่ายก่อนและหลังย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำด้วยเครื่องวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบพืช

2.3.1 นำเปราะหุระต่ายที่อยู่ในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและต้นเปราะหุระต่ายที่ย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ ทำการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบของเปราะหุระต่ายด้วยเครื่องวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบพืช โดยทำการวัดทุกใบ ทุกต้นของวัสดุปลูกทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ดินปลูก, ดินทราย และดินปลูกผสมดินทราย อัตราส่วน 1 : 1

2.3.2 ขั้นตอนการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบเปราะหุกระต่าย

1. ปรับเครื่องวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบพืชเพื่อทำการวัดค่าโดยเริ่มจากเปิดสวิตช์ ON ที่บริเวณหน้าปัดจะขึ้นคำว่า CAL

2. ใช้นิ้วหัวแม่มือกดที่หัวอ่านลงให้แนบสนิท โดยไม่ต้องใส่ตัวอย่างใบเปราะหุกระต่าย จนกระทั่งมีเสียงดังขึ้นจากเครื่องจึงเอานิ้วหัวแม่มือออก และบริเวณหน้าปัดจะแสดงผลที่พร้อมจะวัด

3. จากนั้นนำเครื่องวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบพืชไปหนีบที่ใบของเปราะหุกระต่าย ที่สะอาดไม่มีเศษดินหรือฝุ่นเกาะ โดยหนีบที่บริเวณกลางแผ่นใบ จากนั้นกดหัววัดค่าให้ปิดสนิทกับใบเปราะหุกระต่าย จนกระทั่งได้ยินเสียงดัง “บี๊” และที่หน้าปัดของเครื่องจะแสดงค่าที่วัดได้ จดบันทึกค่าที่วัดได้ทุกค่าก่อนนำไปคำนวณหาค่าเฉลี่ยและค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (standard error, SE) รายงานผลในหน่วย SPAD unit

4. ในการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบของเปราะหุกระต่ายต้องวัดทุกใบให้เหมือนกัน ทุกครั้งทั้งด้านความลึกของผิวใบและตำแหน่งที่วัด โดยในการวัดไม่วัดบริเวณเส้นกลางใบ

3. การทดลองที่ 3 การศึกษาสารพฤษเคมีของเปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง และต้นที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ

3.1 การเตรียมตัวอย่างพืช

3.1.1 ตัวอย่างพืชที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง

นำชิ้นส่วนพืชเปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช เปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร นำมาตัดแยกเป็นชิ้นส่วน ได้แก่ ราก และใบ จากนั้นนำไปล้างเอาเศษขุ่นออกให้หมดล้างให้สะอาดด้วยน้ำประปาทั้งให้แห้ง นำชิ้นส่วนพืชใส่ในถุงพลาสติกใสถุงซิปล็อคแล้วนำไปแช่ไว้ในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เมื่อชิ้นส่วนพืชเริ่มแข็งตัวนำไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dryer) อย่างรวดเร็วทำแห้งเป็นเวลาประมาณ 15 ชั่วโมง นำชิ้นส่วนพืชไปบดเป็นผงให้ละเอียด ด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้าและโกร่งบดสาร นำตัวอย่างใส่ในถุงซิปล็อค แช่ไว้ในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.1.2 ตัวอย่างพืชในสภาพธรรมชาติ

เก็บต้นเปราะหุกระต่ายในอำเภอกันทรลักษ์ จังหวัดศรีสะเกษ ช่วงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2564 นำต้นเปราะหุกระต่ายไปล้างทำความสะอาดด้วยน้ำประปา ตัดแยกชิ้นส่วนพืช ได้แก่ เหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบ นำชิ้นส่วนพืชใส่ในถุงพลาสติกใสถุงซิปล็อคแล้ว

นำไปแช่ไว้ในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เมื่อชิ้นส่วนพืชเริ่มแข็งตัวนำไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง นำชิ้นส่วนพืชไปบดเป็นผงให้ละเอียด ด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้า นำตัวอย่างใส่ในถุงซิปล็อก แช่ไว้ในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.2 วิธีการสกัด (extraction)

นำชิ้นส่วนเปราะหุกระต่ายที่บดเป็นผงละเอียดแล้ว ได้แก่ ราก และใบ ที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช เปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และชิ้นส่วนเปราะหุกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ได้แก่ เหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบ ซึ่งตัวอย่างละ 1 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นเติมเมทานอลในน้ำความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 40 มิลลิลิตร นำไปบดด้วยเครื่องเขย่าสารแบบควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างที่สกัดได้นำไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 ยี่ห้อ Whatman นำสารสกัดที่ผ่านการกรองแล้วเทใส่ขวดสีชาขนาด 30 มิลลิลิตร ปิดฝาเกลียวให้สนิทใช้กระดาษฟลอยด์หุ้มรอบ ๆ ขวด เพื่อไม่ให้โดนแสงแล้วนำไปเก็บไว้ในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อทำการทดลองในขั้นตอนต่อไป (ดัดแปลงจาก Chumroenphat et al., 2021)

3.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content, TPC)

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (ดัดแปลงจาก Al-Duais et al., 2009; Kubola & Siriamornpun, 2011) วิเคราะห์ด้วยเทคนิค Folin-Ciocalteu method โดยใช้กรดแกลลิก (gallic acid) เป็นสารมาตรฐาน โดยใช้ชิ้นส่วนเปราะหุกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ได้แก่ เหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบ ใช้ชิ้นส่วน เหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองแล้วย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ 1 ปี ใช้ชิ้นส่วนเปราะหุกระต่ายที่บดเป็นผงละเอียดแล้ว ได้แก่ ราก และใบ ที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช เปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่สกัดด้วยเมทานอลในน้ำความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ เริ่มจากเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ โดยนำสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตไปชั่งน้ำหนักให้ได้ 100 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน (DI) ให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร หรือ 1 ลิตร หลังจากนั้นเตรียมสารละลาย Folin-ciocalteu's reagent ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ โดยปิเปตสารละลาย Folin-ciocalteu's reagent ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI ให้ครบ 10 มิลลิลิตร วิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดทำได้โดย นำสารสกัดตัวอย่างปริมาตร 20 ไมโครลิตร ปิเปตลงในไมโครเวลเพลต และเติมสารละลาย Folin-Ciocalteu's reagent ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำไปเขย่าด้วย

เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (thermo shaker) เป็นเวลา 1 นาที และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 4 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 75 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิเป็นเวลา 1 นาที นำไมโครเวลเพลตห่อด้วยอะลูมิเนียมฟลอยด์แล้วบ่มไว้ในที่มืดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร ด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาไมโครเพลตรีดเดอร์ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยใช้น้ำ DI เป็นแบล็งค์ ใช้แทนสารสกัดตัวอย่าง และใช้กรดแกลลิกที่มีความเข้มข้น 0.97, 1.95, 3.90, 7.81, 15.62, 31.25, 62.5, 125 และ 250 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสารละลายมาตรฐาน โดยทำการทดลองเช่นเดียวกับสารสกัดตัวอย่างข้างต้น โดยเปลี่ยนจากสารสกัดตัวอย่างเป็นสารละลายมาตรฐานแกลลิก จากนั้นนำผลที่ได้จากการทดสอบของสารสกัดตัวอย่างไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน เพื่อคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (mg GAE/g DW)

3.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total flavonoid content, TFC)

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (ดัดแปลงจาก Jia et al., 1999; Kubola & Siriamornpun, 2011) ใช้รูทีน (rutin) เป็นสารมาตรฐาน โดยใช้ชิ้นส่วนเปลือกหูกะต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ได้แก่ เหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบ ใช้ชิ้นส่วน เหง้า ราก และรากสะสมอาหาร และใบ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองแล้วย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ 1 ปี ใช้ชิ้นส่วนเปลือกหูกะต่ายที่บดเป็นผงละเอียดแล้ว ได้แก่ ราก และใบ ที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช เปลือกหูกะต่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่สกัดด้วยเมทานอลในน้ำความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ เริ่มจากการเตรียมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ โดยชั่งสารละลายโซเดียมไนไตรท์ 50 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI ให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร หรือ 1 ลิตร เตรียมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ โดยชั่งสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ 100 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI ให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร และเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ โดยชั่งสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 40 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI ให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร วิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดทำได้โดย ปิเปตสารสกัดตัวอย่างปริมาตร 25 ไมโครลิตร ลงในไมโครเวลเพลต เติมน้ำ DI ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เติมน้ำ DI ปริมาตร 10 ไมโครลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 15 ไมโครลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ เป็นเวลา 6 นาที เติมน้ำ DI ปริมาตร 50 ไมโครลิตร และเติมน้ำ DI

ปริมาตร 50 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาไมโครเพลตรีดเดอร์ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยใช้ น้ำ DI เป็นแบล็งค์ ใช้แทนสารสกัดตัวอย่าง และใช้รูทิน ที่ความเข้มข้น 0.97, 1.95, 3.90, 7.81, 15.62, 31.25, 62.5, 125, 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสารละลายมาตรฐาน โดยทำการทดลองเช่นเดียวกับสารสกัดตัวอย่างข้างต้น โดยเปลี่ยนจากสารสกัดตัวอย่างเป็นสารละลายมาตรฐานรูทิน จากนั้นนำผลที่ได้จากการทดสอบของสารสกัดตัวอย่างไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน เพื่อคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด โดยรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของรูทินต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (mg RE/g DW)

3.5 การวิเคราะห์ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

การทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมี 2 วิธี ดังนี้

3.5.1 การทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay

การทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (ดัดแปลงจาก Rivero-Pérez et al., 2007; Kubola & Siriamornpun, 2011) ใช้สารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH) เป็นสารอนุมูลอิสระ โดยใช้ชิ้นส่วนเปลือกหอยที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ได้แก่ เหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบ ใช้ชิ้นส่วน เหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบ ที่ได้รับการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองแล้วย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ 1 ปี ใช้ชิ้นส่วนเปลือกหอยที่บดเป็นผงละเอียดแล้ว ได้แก่ ราก และใบ ที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช เปลือกหอยที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่สกัดด้วยเมทานอลในน้ำความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ เริ่มจากการเตรียมสารละลาย DPPH ทำได้โดยนำสารละลาย DPPH ไปชั่งน้ำหนัก 5.92 มิลลิกรัม ปรับปริมาณด้วยเมทานอลให้ครบ 100 มิลลิลิตร การทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระทำได้โดย นำสารสกัดตัวอย่างปริมาตร 20 ไมโครลิตร ปิเปตลงในไมโครเวลเพลต เติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 180 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิเป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำไมโครเวลเพลตห่อฟลอยด์แล้วนำไปป้อนไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาไมโครเพลต รีดเดอร์ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยใช้ น้ำ DI เป็นแบล็งค์ ใช้แทนสารสกัดตัวอย่าง และใช้ Trolox (trolox) ที่ความเข้มข้น 0.97, 1.95, 3.90, 7.81, 15.62, 31.25, 62.5, 125, 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสารมาตรฐาน นำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน และสร้างกราฟเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ จากนั้นนำผลที่ได้จากการทดลองจากสารสกัดตัวอย่างไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน เพื่อคำนวณฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ โดยรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของ Trolox ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (mg TE/g DW) การคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (% inhibition) คำนวณได้จากสมการ ดังนี้

$$\% \text{ inhibition} = [(AB-AE)/AB] \times 100$$

โดยที่ AB คือ ค่าการดูดกลืนแสงของแบล็งค์ (blank)

AE คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัด

3.5.2 การทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay

การทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (ดัดแปลงจาก Payet et al., 2005; Chumroenphat et al., 2021) ใช้สารละลาย 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid, ABTS) เป็นสารอนุมูลอิสระ โดยใช้ชิ้นส่วนเปราะหุกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ได้แก่ เหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบ ใช้ชิ้นส่วน เหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองแล้วย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ 1 ปี ใช้ชิ้นส่วนเปราะหุกระต่ายที่บดเป็นผงละเอียดแล้ว ได้แก่ ราก และใบ ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเชิงสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช เปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารเชิงสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่สกัดด้วยเมทานอลในน้ำความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ เริ่มจากการเตรียมสต็อก (stock) ABTS ความเข้มข้น 7.4 มิลลิโมลาร์ โดยชั่งสารละลาย ABTS น้ำหนัก 190.4 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI ให้ครบ 50 มิลลิลิตร จากนั้นเตรียมสต็อกสารละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (K₂S₂O₈) ความเข้มข้น 2.6 มิลลิโมลาร์ โดยชั่งสารละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต น้ำหนัก 35.1 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI ให้ครบ 50 มิลลิลิตร นำสารละลาย ABTS มาผสมกับสารละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต อัตราส่วน 1:1 ผสมกันในขวดสีชาปริมาตร 150 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันจากนั้นนำไปห่อด้วยอะลูมิเนียมฟลอยด์แล้วนำไปตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 12 ชั่วโมง นำสารละลาย ABTS มาเจือจางด้วยเมทานอลและนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาไมโครเพลตรีดเดอร์ ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เจือจางให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ $0.7 \pm 0.02 \bar{X}$ จากนั้นนำสารละลาย ABTS ที่เจือจางแล้วนำไปใช้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดตัวอย่าง เริ่มแรกปิเปตสารสกัดตัวอย่างปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงในไมโครเวลเพลต เติมสารละลาย ABTS ปริมาตร 190 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปเขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ เป็นเวลา 1 นาที นำมาห่ออะลูมิเนียมฟลอยด์และนำไปบ่มในที่มืดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาไมโครเพลตรีดเดอร์ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยใช้น้ำ DI เป็นแบล็งค์ ใช้แทนสารสกัดตัวอย่าง และใช้วิตามินซี ที่ความเข้มข้น 1.95, 3.90, 7.81, 15.62, 31.25, 62.5, 125, 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสารมาตรฐาน นำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน และสร้างกราฟเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ จากนั้นนำผลที่ได้จากการทดลองจากสารสกัดตัวอย่างไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน เพื่อคำนวณฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ โดยรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลกรด

แคสคอปิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (mg AAE/g DW) การคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%) inhibition) คำนวณได้จากสมการในข้อ 3.5.1

3.5.3 การทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay

การทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay ดัดแปลงจาก (Pellegrini., 2003, Kubola & Siriamornpun, 2011; Li et al., 2017) โดยใช้สารละลาย FRAP reagent เป็นอนุมูลอิสระ โดยใช้ชิ้นส่วนเปราะหุกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ได้แก่ เหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบ ใช้ชิ้นส่วน เหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองแล้วย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ 1 ปี ใช้ชิ้นส่วนเปราะหุกระต่ายที่บดเป็นผงละเอียดแล้ว ได้แก่ ราก และใบ ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเชิงสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช เปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารเชิงสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่สกัดด้วยเมทานอลในน้ำความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ เริ่มจากปิเปตสารสกัดตัวอย่าง 5 ไมโครลิตร และสารละลาย FRAP reagent ปริมาตร 180 ไมโครลิตร ลงในไมโครเวลเพลต จากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่า เป็นเวลา 1 นาที นำไปห่อด้วยอะลูมิเนียมฟลอยด์และบ่มไว้ในที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาไมโครเพลต ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ สำหรับแต่ละครั้งใช้น้ำ DI แทนสารสกัดตัวอย่าง และใช้สารละลายเฟอร์รัสซัลเฟต (ferrous sulphate) ที่ความเข้มข้น 0.97, 1.95, 3.90, 7.81, 15.62, 31.25, 62.5, 125, 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสารมาตรฐาน นำไปสร้างกราฟมาตรฐาน จากนั้นนำผลที่ได้จากการทดสอบสารสกัดจากตัวอย่างไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน โดยรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลเฟอร์รัสซัลเฟตต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (mg FeSO₄/g DW)

3.6 การวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r)

การวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดกับฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH assay FRAP assay และ ABTS assay ของเปราะหุกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ 1 ปี และในหลอดทดลอง วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

3.7 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารประกอบกรดฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

3.7.1 ขั้นตอนการเตรียมสารสกัดและขั้นตอนการสกัด

นำตัวอย่างเปราะหุกระต่ายที่บดเป็นผงละเอียดแล้ว ได้แก่ โดยใช้ชิ้นส่วนเปราะหุกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ได้แก่ เหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบ ใช้ชิ้นส่วน เหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองแล้วย้ายออกปลูกใน

เรือนเพาะชำ 1 ปี ใช้ชิ้นส่วนเปราะหุกระด่ายที่บดเป็นผงละเอียดแล้ว ได้แก่ ราก และใบ ที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช เปราะหุกระด่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำหนัก 1 กรัมลงในขวดรูปชมพู่ปริมาณ 250 มิลลิลิตร จากนั้นเติมกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ในเมทานอล ปริมาณ 40 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าสารแบบควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 ชั่วโมง จากนั้นนำสารสกัดไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 ยี่ห้อ Whatman นำสารสกัดที่ผ่านการกรองแล้วนำไปกรองด้วยเยื่อกรองสารละลายขนาด 0.2 ไมโครเมตร บรรจุสารสกัดตัวอย่างลงในขวดโวลุ่มสำหรับวิเคราะห์ในเครื่อง HPLC ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร

3.7.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดฟีนอลิกและสารละลายมาตรฐานสารประกอบฟลาโวนอยด์

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดฟีนอลิก ได้แก่ กรดแกลลิก กรดไฮดรอกซีเบนโซอิก กรดคาเฟอิก กรดเฟอร์ริก กรดโปรโตพิชอิก กรดคูมาริก กรดไซรินจิก กรดวานิลลิก กรดชิแนมพิก และกรดชินามิก สารละลายมาตรฐานสารประกอบฟลาโวนอยด์ ได้แก่ รูทีน เคอร์ซีติน คาพาซิน และแคมป์เฟอร์อล โดยชั่งสารละลายมาตรฐาน 5 กรัม ปรับปริมาตรเมทานอลให้ครบ 10 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร มา 1,000 ไมโครลิตร และ เมทานอล 1,000 ไมโครลิตร เจือจางในอัตราส่วน 1:1 จะได้สารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 300, 150, 75, 37.5, 18.75, 9.37, 4.68, 2.34, 1.17 และ 0.58 มิลลิกรัมต่อลิตร

3.7.3 ขั้นตอนการเตรียมเฟสเคลื่อนที่

เตรียมเฟสเคลื่อนที่จะใช้สารละลายทั้งหมด 2 ชนิด คือ อะซิโตนไตรท์ ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ และสารละลายกรดอะซิติกแอซิก ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ เตรียมในตู้ดูดควัน โดยเทสารละลายกรดอะซิติกปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ใช้น้ำ DI ปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร นำสารละลายกรดอะซิติกไปกรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ โดยใช้เยื่อกรองสารละลายชนิดเมมเบรนไนลอน ขนาด 0.2 ไมโครเมตร จากนั้นนำสารละลายที่ผ่านการกรองแล้วบรรจุลงในขวดดูแรน ขนาด 1,000 มิลลิลิตร เพื่อนำไปใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่สำหรับเครื่อง HPLC

3.7.4 สภาวะการวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

เทคนิค HPLC ใช้คอลัมน์ชนิด C-18 ขนาด 250×4.6 มิลลิเมตร ยี่ห้อ GL Sciences (ขนาดอนุภาค 5 ไมโครเมตร) อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ปริมาตรในการฉีดสาร 20 ไมโครลิตร อัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ควบคุมอุณหภูมิคอลัมน์ที่ 38 องศาเซลเซียส การทดลองในครั้งนี้ใช้ความยาวคลื่น 200-600 นาโนเมตร ในการวิเคราะห์หาปริมาณกรดฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ ใช้ตัวตรวจวัดแบบ UV-diode array ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

(กลุ่มไฮดรอกซีเบนโซอิก) 320 นาโนเมตร (กลุ่มไฮดรอกซีซินนามิก) และ 370 นาโนเมตร (กลุ่มสารประกอบฟลาโวนอยด์) เพื่อนำมาวิเคราะห์หาสารประกอบข้างต้น โดยใช้เฟสเคลื่อนที่ในการวิเคราะห์ในระบบเกรเดียนต์ (ดัดแปลงจากวิธี Kubola & Siriamornpun, 2011; Chumroenphat et al., 2021)

3.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized, CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (one-way ANOVA) และวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) และวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยโปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 16



บทที่ 4 ผลการวิจัย

4.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเปราะหุระต่าย

1. ผลของความเข้มข้น BA ร่วมกับ NAA ต่อการชักนำต้นอ่อนเปราะหุระต่ายให้เกิดยอดและราก

นำต้นอ่อนเปราะหุระต่าย ขนาด 1 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มก/ล และอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มก/ล ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.5 และ 1 มก/ล เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช มีจำนวนยอดเฉลี่ย 1.38 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ความยาวยอดเฉลี่ย 6.88 เซนติเมตร จำนวนรากเฉลี่ย 5.63 ราก/ชิ้นส่วนพืช และมีความยาวรากเฉลี่ย 2.69 เซนติเมตร (ตารางที่ 4) ต้นอ่อนเปราะหุระต่ายมีลักษณะลำต้นเล็ก ผอม ยาว ไม่เพิ่มจำนวนยอด (ภาพที่ 8 ก) รากมีลักษณะผอม ยาว โคลนรากมีสีเขียว ปลายรากมีสีขาว มีจำนวนน้อย (ภาพที่ 9 ก) อาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.1 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 5.40 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ความยาวยอดเฉลี่ย 5.81 เซนติเมตร จำนวนรากเฉลี่ย 10.80 ราก/ชิ้นส่วนพืช และมีความยาวรากเฉลี่ย 3.85 เซนติเมตร (ตารางที่ 4) ต้นอ่อนเปราะหุระต่ายมีลักษณะลำต้นเล็ก เรียว สูง เพิ่มยอดจำนวนมาก ใบเรียวยาว สีเขียวอ่อน (ภาพที่ 8 ฉ) อาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช อาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มก/ล ร่วมกับ NAA 1 มก/ล BA 4 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.1 มก/ล BA 1 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล และ BA 1 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.1 มก/ล มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด 6.88, 6.57, 6.33, 6.29 และ 6.14 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4) อาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มก/ล ร่วมกับ NAA 1 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 11.90 ราก/ชิ้นส่วนพืช (ตารางที่ 4) รากของต้นอ่อนเปราะหุระต่ายมีลักษณะโคนรากขนาดใหญ่ สีเขียวเข้ม ปลายรากมีสีขาว ยาว มีรากแขนงสีขาวจำนวนมาก (ภาพที่ 9 ข) อาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.2 มก/ล ให้จำนวนยอดเฉลี่ย 4.50 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ความยาวยอดเฉลี่ย 6.12 มก/ล จำนวนรากเฉลี่ย 10.20 ราก/ชิ้นส่วนพืช และมีความยาวรากเฉลี่ยสูงที่สุด 4.22 เซนติเมตร (ตารางที่ 4) จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่าการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนเปราะหุระต่ายในอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ BA ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ยมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 4 ผลของ BA ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ต่อการชักนำต้นอ่อนเปราะหูก
กระต่ายให้เกิดยอดและราก เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

BA (มก/ล)	NAA (มก/ล)	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวยอด เฉลี่ย (ซม.)	จำนวนรากเฉลี่ย (ราก/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.)
0	0	1.38±0.18 ^c	6.88±0.58 ^a	5.63±0.50 ^{ef}	2.69±0.35 ^{de}
1	0	3.11±0.70 ^{abc}	5.97±0.51 ^{ab}	8.33±0.82 ^{bcdef}	3.60±0.13 ^{abc}
2	0	3.50±0.91 ^{abc}	5.83±0.64 ^{ab}	8.50±0.92 ^{bcdef}	3.00±0.18 ^{bcde}
4	0	2.20±0.39 ^{bc}	5.80±0.40 ^{ab}	5.20±0.84 ^f	3.86±0.26 ^{ab}
1	0.1	3.60±0.79 ^{abc}	6.14±0.48 ^a	9.40±1.30 ^{abcd}	3.27±0.17 ^{bcd}
1	0.2	3.14±0.51 ^{abc}	4.31±0.30 ^c	7.71±0.84 ^{bcdef}	2.39±0.23 ^e
1	0.5	2.38±0.42 ^{bc}	6.29±0.43 ^a	7.63±0.65 ^{bcdef}	2.92±0.21 ^{cde}
1	1	2.60±0.54 ^{bc}	6.57±0.59 ^a	11.90±0.81 ^a	2.70±0.20 ^{de}
2	0.1	5.40±0.96 ^a	5.81±0.45 ^{ab}	10.80±1.24 ^{ab}	3.85±0.26 ^{ab}
2	0.2	4.50±1.02 ^{ab}	6.12±0.50 ^a	10.20±1.08 ^{abc}	4.22±0.25 ^a
2	0.5	3.20±0.66 ^{abc}	5.19±0.73 ^{ab}	8.60±0.91 ^{bcde}	3.67±0.29 ^{abc}
2	1	3.33±0.76 ^{abc}	5.62±0.58 ^{ab}	8.00±1.11 ^{bcdef}	3.08±0.28 ^{bcde}
4	0.1	3.50±0.83 ^{abc}	6.33±0.51 ^a	6.90±0.97 ^{cdef}	3.83±0.43 ^{ab}
4	0.2	2.78±0.49 ^{bc}	5.92±0.48 ^{ab}	7.44±1.13 ^{cdef}	3.14±0.25 ^{bcde}
4	0.5	2.50±0.56 ^{bc}	5.83±0.49 ^{ab}	6.13±1.08 ^{def}	3.22±0.29 ^{bcde}
4	1	3.89±0.75 ^{ab}	5.57±0.58 ^{ab}	9.33±1.03 ^{abcd}	3.15±0.29 ^{bcde}

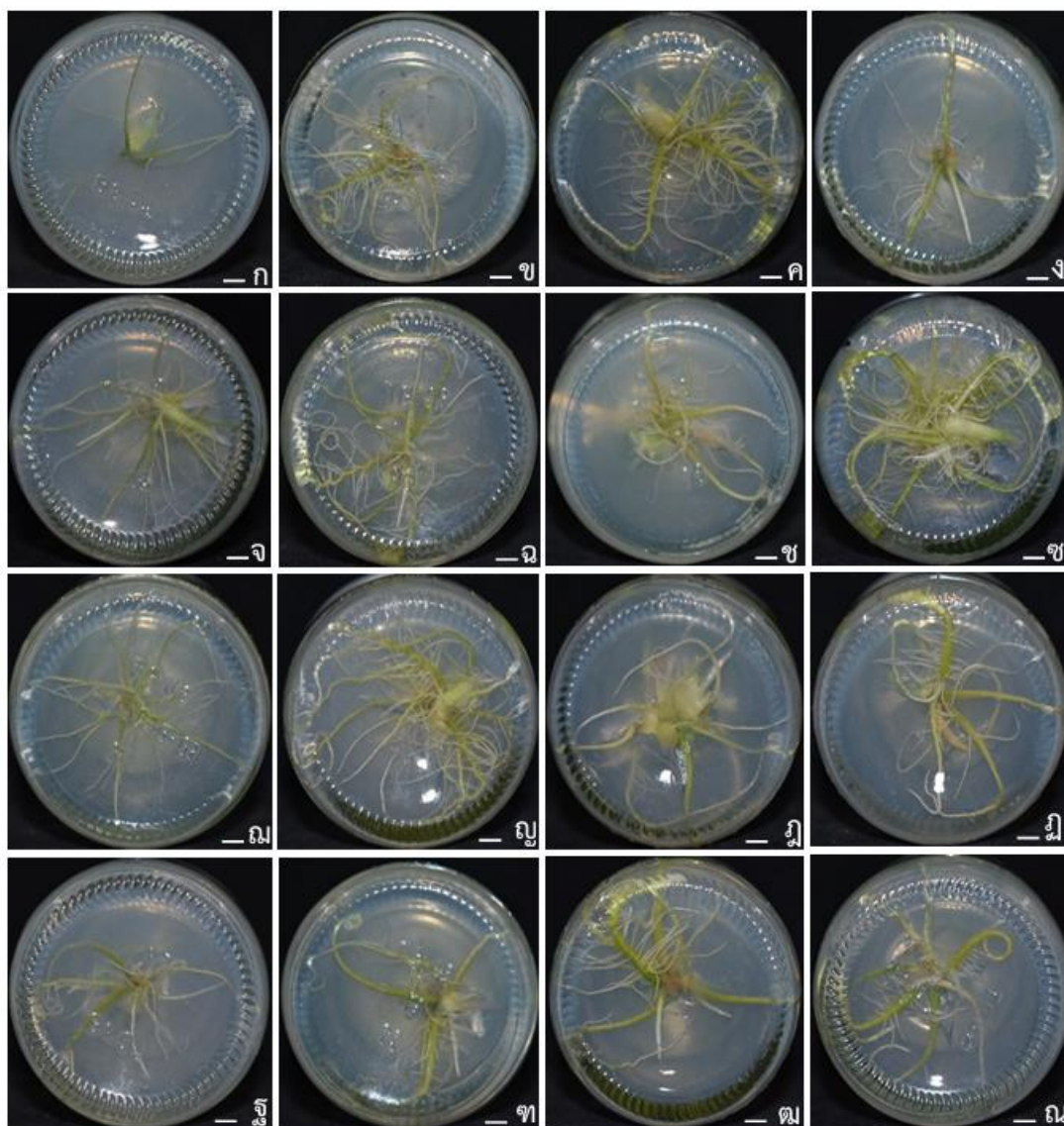
หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จาก
การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT





ภาพที่ 8 ต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

- | | | |
|------------------------|------------------------|------------------------|
| ก. MS (control) | ข. BA 1 มก/ล | ค. BA 2 มก/ล |
| ง. BA 4 มก/ล | จ. BA 1 + NAA 0.1 มก/ล | ฉ. BA 1 + NAA 0.2 มก/ล |
| ช. BA 1 + NAA 0.5 มก/ล | ฅ. BA 1 + NAA 1 มก/ล | ฒ. BA 2 + NAA 0.1 มก/ล |
| ญ. BA 2 + NAA 0.2 มก/ล | ฎ. BA 2 + NAA 0.5 มก/ล | ฏ. BA 2 + NAA 1 มก/ล |
| ฐ. BA 4 + NAA 0.1 มก/ล | ฑ. BA 4 + NAA 0.2 มก/ล | ฒ. BA 4 + NAA 0.5 มก/ล |
| ณ. BA 4 + NAA 1 มก/ล | | |



ภาพที่ 9 รากเปราะหุกระต่ายเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

- | | | |
|------------------------|------------------------|------------------------|
| ก. MS (control) | ข. BA 1 มก/ล | ค. BA 2 มก/ล |
| ง. BA 4 มก/ล | จ. BA 1 + NAA 0.1 มก/ล | ฉ. BA 1 + NAA 0.2 มก/ล |
| ช. BA 1 + NAA 0.5 มก/ล | ซ. BA 1 + NAA 1 มก/ล | ฅ. BA 2 + NAA 0.1 มก/ล |
| ญ. BA 2 + NAA 0.2 มก/ล | ฎ. BA 2 + NAA 0.5 มก/ล | ฏ. BA 2 + NAA 1 มก/ล |
| ฐ. BA 4 + NAA 0.1 มก/ล | ฑ. BA 4 + NAA 0.2 มก/ล | ฒ. BA 4 + NAA 0.5 มก/ล |
| ณ. BA 4 + NAA 1 มก/ล | | |

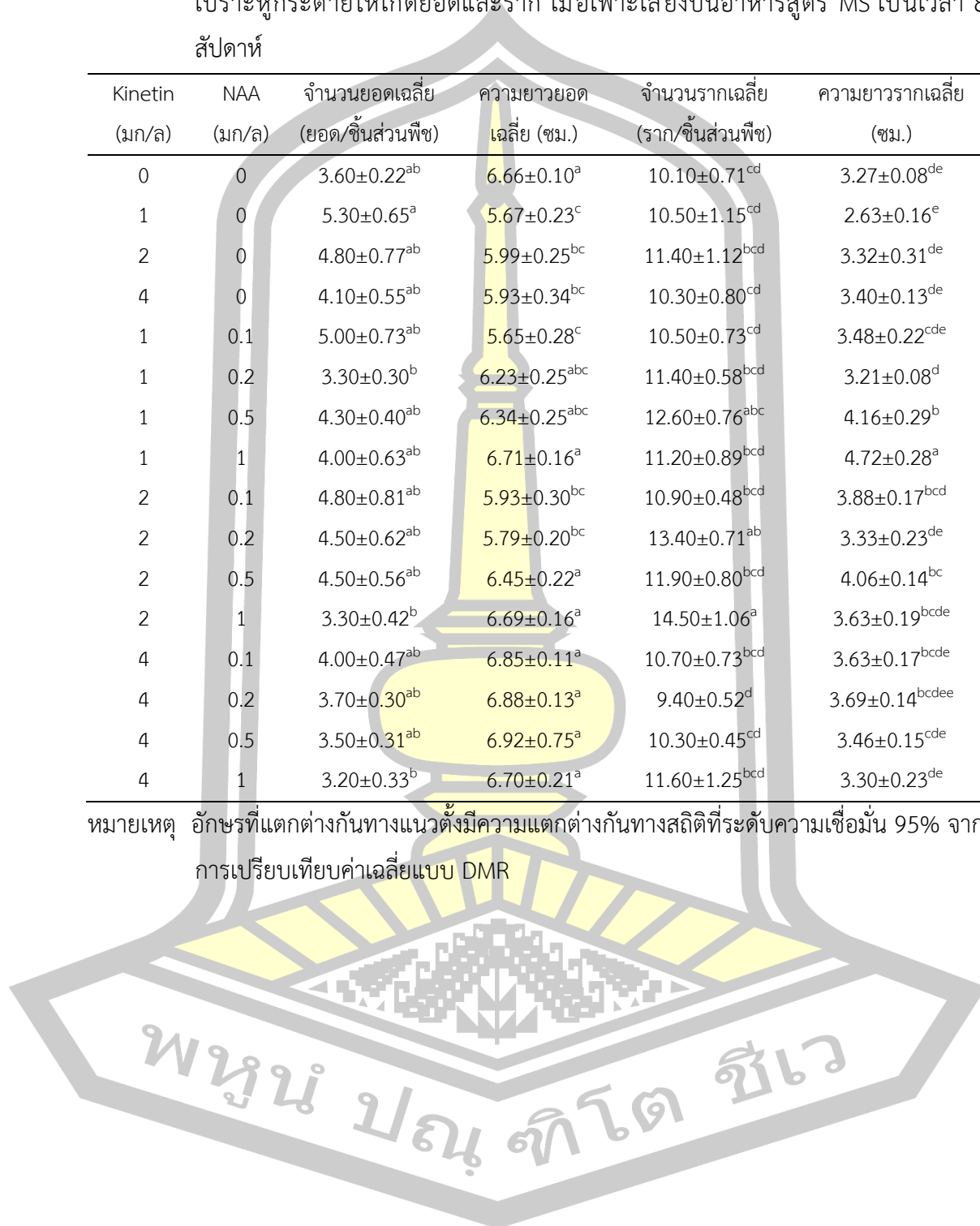
2. ผลของความเข้มข้น Kinetin ร่วมกับ NAA ต่อการชักนำต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายให้ เกิดยอดและราก

เมื่อเพาะเลี้ยงต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายขนาด 1 เซนติเมตร บนอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.5 และ 1 มิลลิกรัม/ลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช มีจำนวนยอดเฉลี่ย 3.60 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ความยาวยอดเฉลี่ย 6.66 เซนติเมตร จำนวนรากเฉลี่ย 10.10 ราก/ชิ้นส่วนพืช และความยาวรากเฉลี่ย 3.27 เซนติเมตร ต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายมีลักษณะลำต้นเล็ก เรียวยาว ใบมีสีเขียวอ่อน รากมีลักษณะอวบ ยาว โคนรากมีสีเขียว ปลายรากมีสีขาว มีรากแขนงจำนวนมาก อาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin 1 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยมากที่สุด 5.30 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ความยาวยอดเฉลี่ย 5.67 เซนติเมตร จำนวนรากเฉลี่ย 10.50 ราก/ชิ้นส่วนพืช และความยาวรากเฉลี่ย 2.63 เซนติเมตร ต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายมีลักษณะลำต้นอวบ เรียว ยาว สูง เพิ่มยอดจำนวนมาก ใบเรียวยาว มีสีเขียวอ่อน อาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin 4 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร Kinetin 4 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร Kinetin 4 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร Kinetin 1 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัม/ลิตร Kinetin 4 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัม/ลิตร Kinetin 2 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัม/ลิตร อาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช และ Kinetin 2 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด 6.92, 6.88, 6.85, 6.71, 6.70, 6.69, 6.66 และ 6.45 เซนติเมตร ตามลำดับ อาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin 2 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากเฉลี่ยมากที่สุด 14.50 ราก/ชิ้นส่วนพืช รากของต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายมีโคนรากใหญ่ สีเขียวเข้ม รากอวบ ปลายรากมีสีขาว มีรากแขนงสีขาวจำนวนมาก (ภาพที่ 11 ค) อาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin 1 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัม/ลิตร ให้จำนวนยอดเฉลี่ย 4.00 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ความยาวยอดเฉลี่ย 6.71 เซนติเมตร จำนวนรากเฉลี่ย 11.20 ราก/ชิ้นส่วนพืช และมีความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุด 4.72 เซนติเมตร จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่าการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายในอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 5 และ ภาพที่ 10)

ตารางที่ 5 ผลของ Kinetin ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ต่อการชักนำต้นอ่อน
เปราะหูกะต่ายให้เกิดยอดและราก เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8
สัปดาห์

Kinetin (มก/ล)	NAA (มก/ล)	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวยอด เฉลี่ย (ซม.)	จำนวนรากเฉลี่ย (ราก/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.)
0	0	3.60±0.22 ^{ab}	6.66±0.10 ^a	10.10±0.71 ^{cd}	3.27±0.08 ^{de}
1	0	5.30±0.65 ^a	5.67±0.23 ^c	10.50±1.15 ^{cd}	2.63±0.16 ^e
2	0	4.80±0.77 ^{ab}	5.99±0.25 ^{bc}	11.40±1.12 ^{bcd}	3.32±0.31 ^{de}
4	0	4.10±0.55 ^{ab}	5.93±0.34 ^{bc}	10.30±0.80 ^{cd}	3.40±0.13 ^{de}
1	0.1	5.00±0.73 ^{ab}	5.65±0.28 ^c	10.50±0.73 ^{cd}	3.48±0.22 ^{cde}
1	0.2	3.30±0.30 ^b	6.23±0.25 ^{abc}	11.40±0.58 ^{bcd}	3.21±0.08 ^d
1	0.5	4.30±0.40 ^{ab}	6.34±0.25 ^{abc}	12.60±0.76 ^{abc}	4.16±0.29 ^b
1	1	4.00±0.63 ^{ab}	6.71±0.16 ^a	11.20±0.89 ^{bcd}	4.72±0.28 ^a
2	0.1	4.80±0.81 ^{ab}	5.93±0.30 ^{bc}	10.90±0.48 ^{bcd}	3.88±0.17 ^{bcd}
2	0.2	4.50±0.62 ^{ab}	5.79±0.20 ^{bc}	13.40±0.71 ^{ab}	3.33±0.23 ^{de}
2	0.5	4.50±0.56 ^{ab}	6.45±0.22 ^a	11.90±0.80 ^{bcd}	4.06±0.14 ^{bc}
2	1	3.30±0.42 ^b	6.69±0.16 ^a	14.50±1.06 ^a	3.63±0.19 ^{bcde}
4	0.1	4.00±0.47 ^{ab}	6.85±0.11 ^a	10.70±0.73 ^{bcd}	3.63±0.17 ^{bcde}
4	0.2	3.70±0.30 ^{ab}	6.88±0.13 ^a	9.40±0.52 ^d	3.69±0.14 ^{bcdee}
4	0.5	3.50±0.31 ^{ab}	6.92±0.75 ^a	10.30±0.45 ^{cd}	3.46±0.15 ^{cde}
4	1	3.20±0.33 ^b	6.70±0.21 ^a	11.60±1.25 ^{bcd}	3.30±0.23 ^{de}

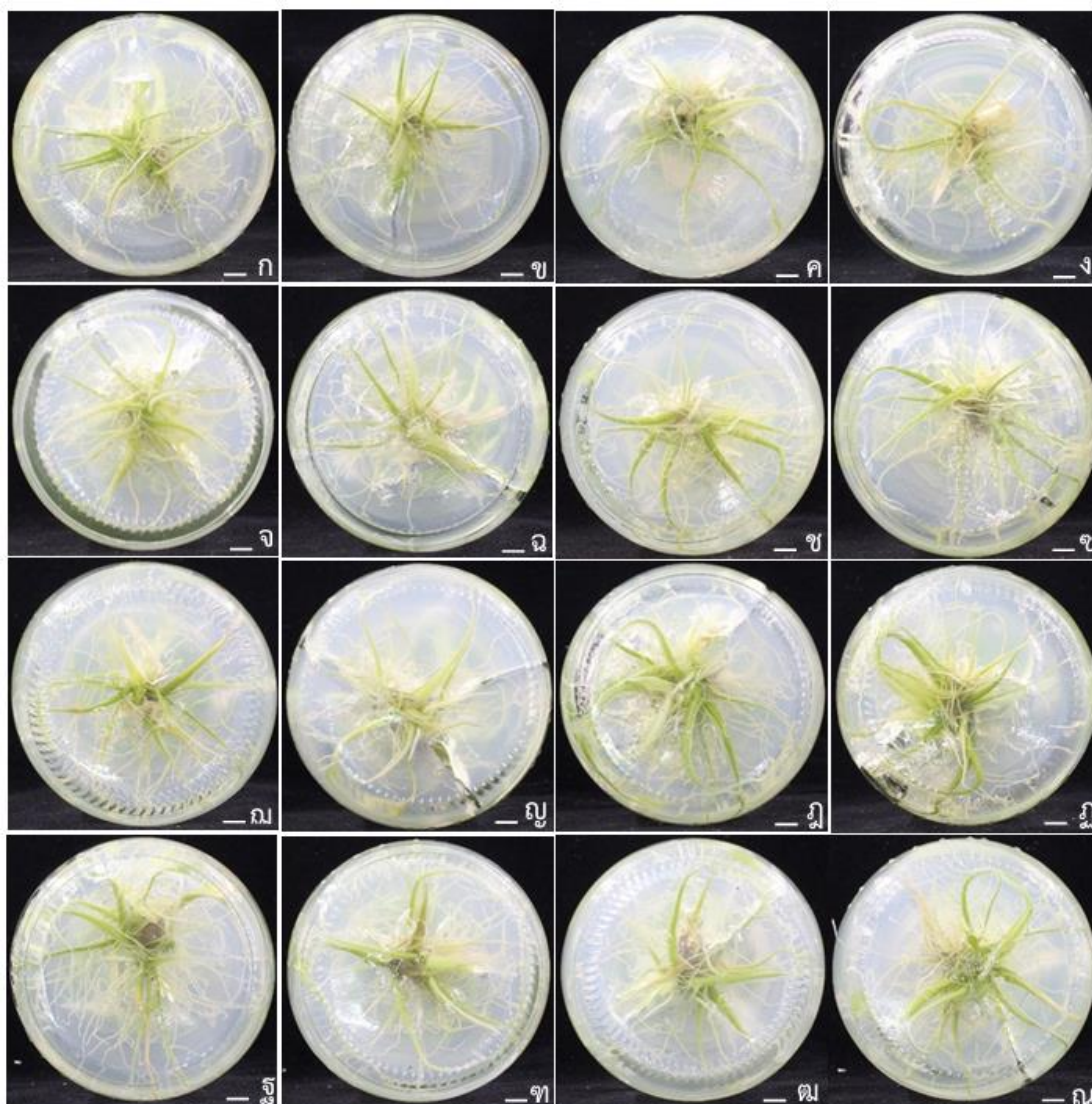
หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จาก
การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMR





ภาพที่ 10 ต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

- | | | |
|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| ก. MS (control) | ข. Kinetin 1 มก/ล | ค. Kinetin 2 มก/ล |
| ง. Kinetin 4 มก/ล | จ. Kinetin 1 + NAA 0.1 มก/ล | ฉ. Kinetin 1 + NAA 0.2 มก/ล |
| ช. Kinetin 1 + NAA 0.5 มก/ล | ซ. Kinetin 1 + NAA 1 มก/ล | ณ. Kinetin 2 + NAA 0.1 มก/ล |
| ญ. Kinetin 2 + NAA 0.2 มก/ล | ฎ. Kinetin 2 + NAA 0.5 มก/ล | ฏ. Kinetin 2 + NAA 1 มก/ล |
| ฐ. Kinetin + NAA 0.1 มก/ล | ฑ. Kinetin 4 + NAA 0.2 มก/ล | ฒ. Kinetin 4 + NAA 0.5 มก/ล |
| ณ. Kinetin 4 + NAA 1 มก/ล | | |



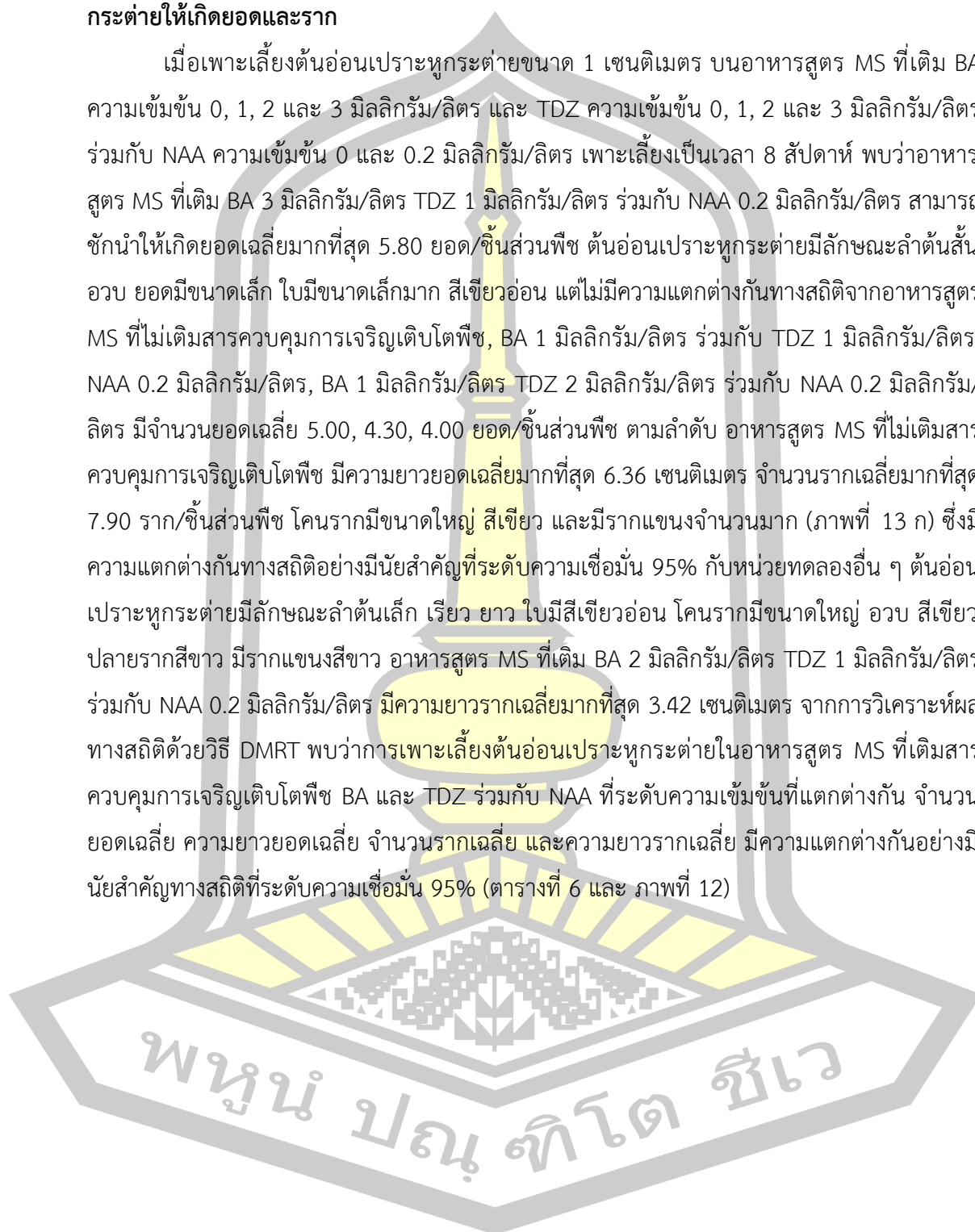
ภาพที่ 11 รากเปราะหุกระต่ายเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

- | | | |
|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| ก. MS (control) | ข. Kinetin 1 มก/ล | ค. Kinetin 2 มก/ล |
| ง. Kinetin 4 มก/ล | จ. Kinetin 1 + NAA 0.1 มก/ล | ฉ. Kinetin 1 + NAA 0.2 มก/ล |
| ช. Kinetin 1 + NAA 0.5 มก/ล | ซ. Kinetin 1 + NAA 1 มก/ล | ฌ. Kinetin 2 + NAA 0.1 มก/ล |
| ญ. Kinetin 2 + NAA 0.2 มก/ล | ฎ. Kinetin 2 + NAA 0.5 มก/ล | ฏ. Kinetin 2 + NAA 1 มก/ล |
| ฐ. Kinetin + NAA 0.1 มก/ล | ฑ. Kinetin 4 + NAA 0.2 มก/ล | ฒ. Kinetin 4 + NAA 0.5 มก/ล |
| ณ. Kinetin 4 + NAA 1 มก/ล | | |

3. ผลของความเข้มข้น BA และ TDZ ร่วมกับ NAA ต่อการชักนำต้นอ่อนเปราะหูก

กระต่ายให้เกิดยอดและราก

เมื่อเพาะเลี้ยงต้นอ่อนเปราะหูกกระต่ายขนาด 1 เซนติเมตร บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัม/ลิตร และ TDZ ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0 และ 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA 3 มิลลิกรัม/ลิตร TDZ 1 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยมากที่สุด 5.80 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ต้นอ่อนเปราะหูกกระต่ายมีลักษณะลำต้นสั้น อวบ ยอดมีขนาดเล็ก ใบมีขนาดเล็กมาก สีเขียวอ่อน แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช, BA 1 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ TDZ 1 มิลลิกรัม/ลิตร, NAA 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร, BA 1 มิลลิกรัม/ลิตร TDZ 2 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ย 5.00, 4.30, 4.00 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ตามลำดับ อาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด 6.36 เซนติเมตร จำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 7.90 ราก/ชิ้นส่วนพืช โคนรากมีขนาดใหญ่ สีเขียว และมีรากแขนงจำนวนมาก (ภาพที่ 13 ก) ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับหน่วยทดลองอื่น ๆ ต้นอ่อนเปราะหูกกระต่ายมีลักษณะลำต้นเล็ก เรียว ยาว ใบมีสีเขียวอ่อน โคนรากมีขนาดใหญ่ อวบ สีเขียว ปลายรากสีขาว มีรากแขนงสีขาว อาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัม/ลิตร TDZ 1 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร มีความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุด 3.42 เซนติเมตร จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่าการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนเปราะหูกกระต่ายในอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช BA และ TDZ ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นที่ต่างกัน จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 6 และ ภาพที่ 12)

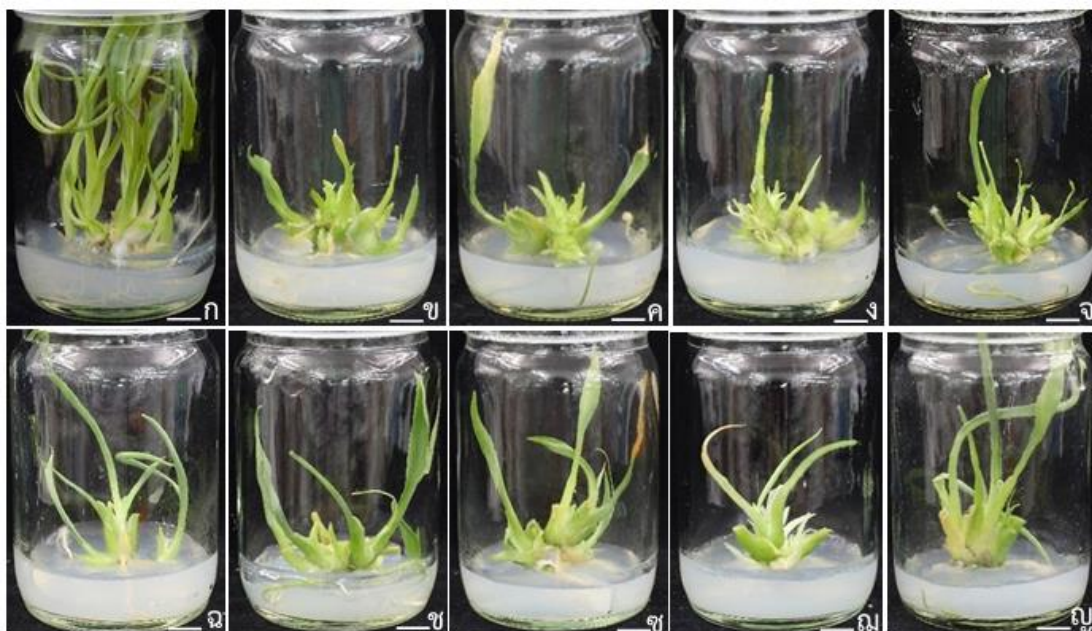


ตารางที่ 6 ผลของ BA และ TDZ ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ต่อการชักนำต้นอ่อน
เปราะหูกะต่ายให้เกิดยอดและราก เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

BA (มก/ล)	TDZ (มก/ล)	NAA (มก/ล)	จำนวนยอด เฉลี่ย (ยอด/ ชิ้นส่วนพืช)	ความยาว ยอดเฉลี่ย (ซม.)	จำนวนราก เฉลี่ย (ราก/ ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวราก เฉลี่ย (ซม.)
0	0	0	5.00±0.54 ^{ab}	6.36±0.34 ^a	7.90±0.87 ^a	3.18±0.31 ^{ab}
1	1	0.2	4.30±0.37 ^{bc}	2.66±0.18 ^{cd}	2.20±0.47 ^{bcd}	3.25±0.44 ^{ab}
2	1	0.2	3.40±0.31 ^{cde}	2.89±0.18 ^{cd}	2.70±0.47 ^{bc}	3.42±0.72 ^a
3	1	0.2	5.80±0.53 ^a	2.29±0.20 ^d	1.20±0.44 ^{cd}	1.06±0.37 ^d
1	2	0.2	4.00±0.45 ^{bcd}	3.35±0.30 ^{cd}	3.20±0.51 ^b	3.08±0.37 ^{ab}
2	2	0.2	3.60±0.45 ^{cde}	3.41±0.29 ^c	3.30±0.45 ^b	3.31±0.17 ^{ab}
3	2	0.2	2.40±0.16 ^e	3.67±0.31 ^c	1.30±0.42 ^{cd}	1.10±0.32 ^d
1	3	0.2	3.00±0.39 ^{de}	4.92±0.49 ^b	0.90±0.23 ^d	2.00±0.48 ^{bcd}
2	3	0.2	2.60±0.22 ^e	3.50±0.40 ^c	1.40±0.31 ^{cd}	1.93±0.58 ^{cd}
3	3	0.2	2.80±0.13 ^e	4.80±0.60 ^b	2.40±0.37 ^{bcd}	2.13±0.26 ^{ab}

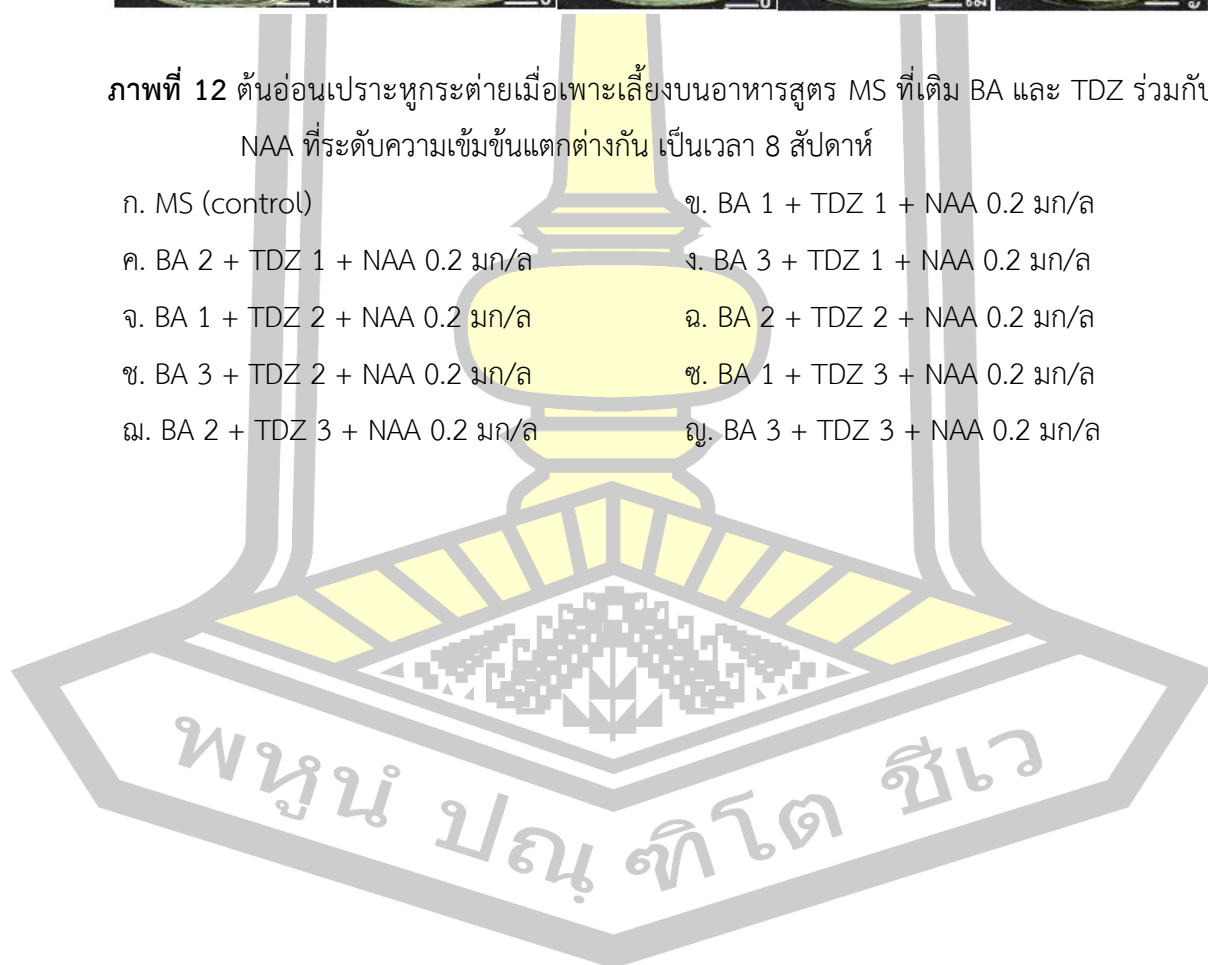
หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จาก
การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

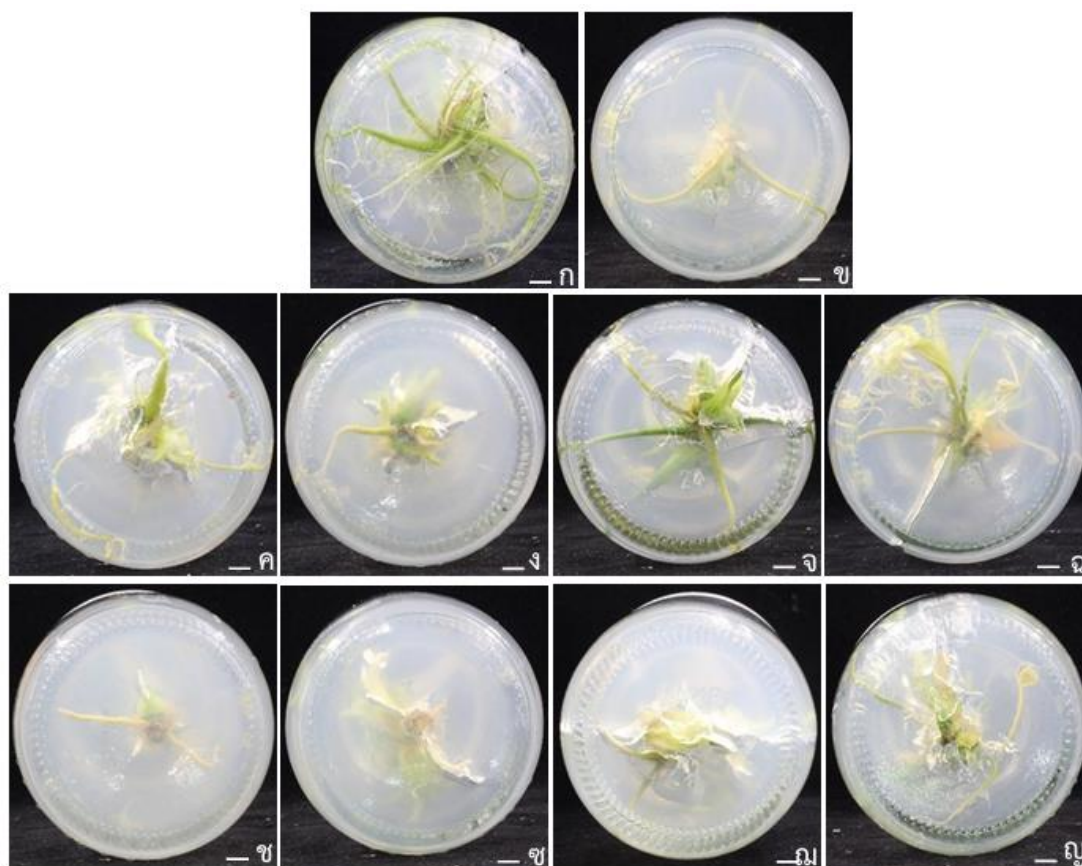




ภาพที่ 12 ต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ TDZ ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

- | | |
|--------------------------------|--------------------------------|
| ก. MS (control) | ข. BA 1 + TDZ 1 + NAA 0.2 มก/ล |
| ค. BA 2 + TDZ 1 + NAA 0.2 มก/ล | ง. BA 3 + TDZ 1 + NAA 0.2 มก/ล |
| จ. BA 1 + TDZ 2 + NAA 0.2 มก/ล | ฉ. BA 2 + TDZ 2 + NAA 0.2 มก/ล |
| ช. BA 3 + TDZ 2 + NAA 0.2 มก/ล | ซ. BA 1 + TDZ 3 + NAA 0.2 มก/ล |
| ฅ. BA 2 + TDZ 3 + NAA 0.2 มก/ล | ญ. BA 3 + TDZ 3 + NAA 0.2 มก/ล |





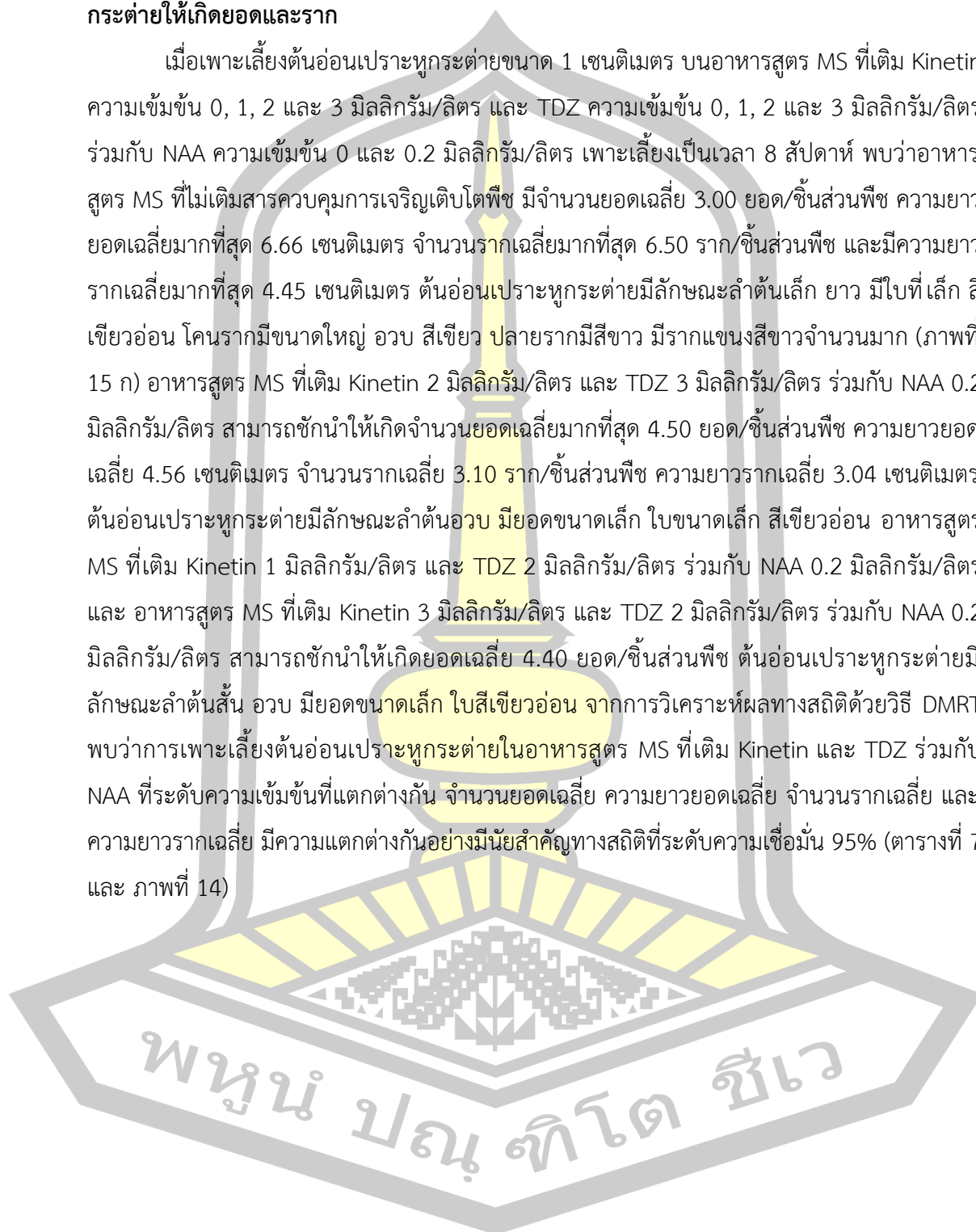
ภาพที่ 13 รากเปราะหูกะต่ายเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ TDZ ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

- | | |
|--------------------------------|--------------------------------|
| ก. MS (control) | ข. BA 1 + TDZ 1 + NAA 0.2 มก/ล |
| ค. BA 2 + TDZ 1 + NAA 0.2 มก/ล | ง. BA 3 + TDZ 1 + NAA 0.2 มก/ล |
| จ. BA 1 + TDZ 2 + NAA 0.2 มก/ล | ฉ. BA 2 + TDZ 2 + NAA 0.2 มก/ล |
| ช. BA 3 + TDZ 2 + NAA 0.2 มก/ล | ซ. BA 1 + TDZ 3 + NAA 0.2 มก/ล |
| ณ. BA 2 + TDZ 3 + NAA 0.2 มก/ล | ญ. BA 3 + TDZ 3 + NAA 0.2 มก/ล |

พหุพันธ์ ปณ. ทีโตะ ชีเว

4. ผลของความเข้มข้น Kinetin และ TDZ ร่วมกับ NAA ต่อการชักนำต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายให้เกิดยอดและราก

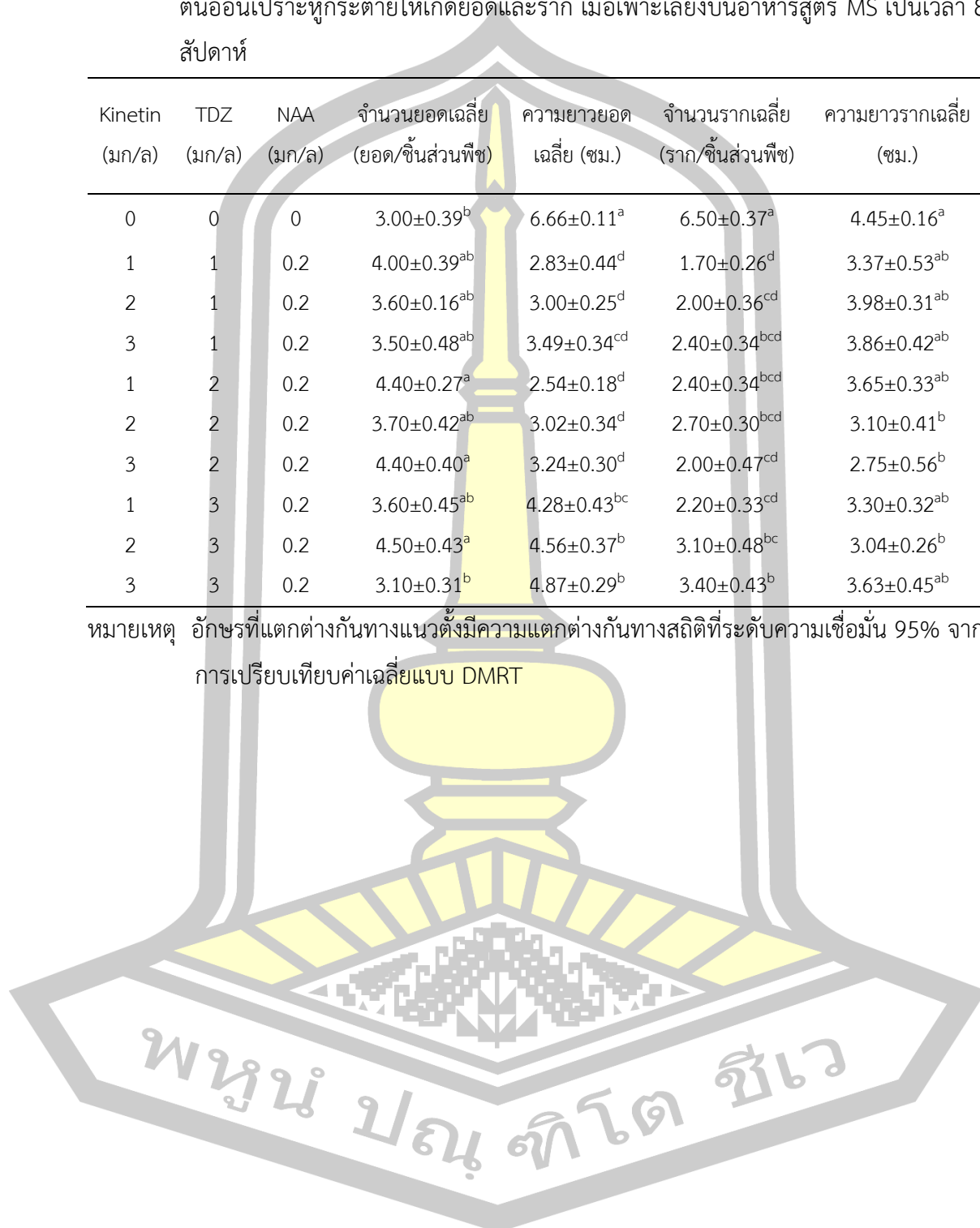
เมื่อเพาะเลี้ยงต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายขนาด 1 เซนติเมตร บนอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัม/ลิตร และ TDZ ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0 และ 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช มีจำนวนยอดเฉลี่ย 3.00 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด 6.66 เซนติเมตร จำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 6.50 ราก/ชิ้นส่วนพืช และมีความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุด 4.45 เซนติเมตร ต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายมีลักษณะลำต้นเล็ก ยาว มีใบที่เล็ก สีเขียวอ่อน โคนรากมีขนาดใหญ่ อวบ สีเขียว ปลายรากมีสีขาว มีรากแขนงสีขาวจำนวนมาก (ภาพที่ 15 ก) อาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin 2 มิลลิกรัม/ลิตร และ TDZ 3 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 4.50 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ความยาวยอดเฉลี่ย 4.56 เซนติเมตร จำนวนรากเฉลี่ย 3.10 ราก/ชิ้นส่วนพืช ความยาวรากเฉลี่ย 3.04 เซนติเมตร ต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายมีลักษณะลำต้นอวบ มียอดขนาดเล็ก ใบขนาดเล็ก สีเขียวอ่อน อาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin 1 มิลลิกรัม/ลิตร และ TDZ 2 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร และ อาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin 3 มิลลิกรัม/ลิตร และ TDZ 2 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ย 4.40 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายมีลักษณะลำต้นสั้น อวบ มียอดขนาดเล็ก ใบสีเขียวอ่อน จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่าการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายในอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin และ TDZ ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นที่ต่างกัน จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 7 และ ภาพที่ 14)

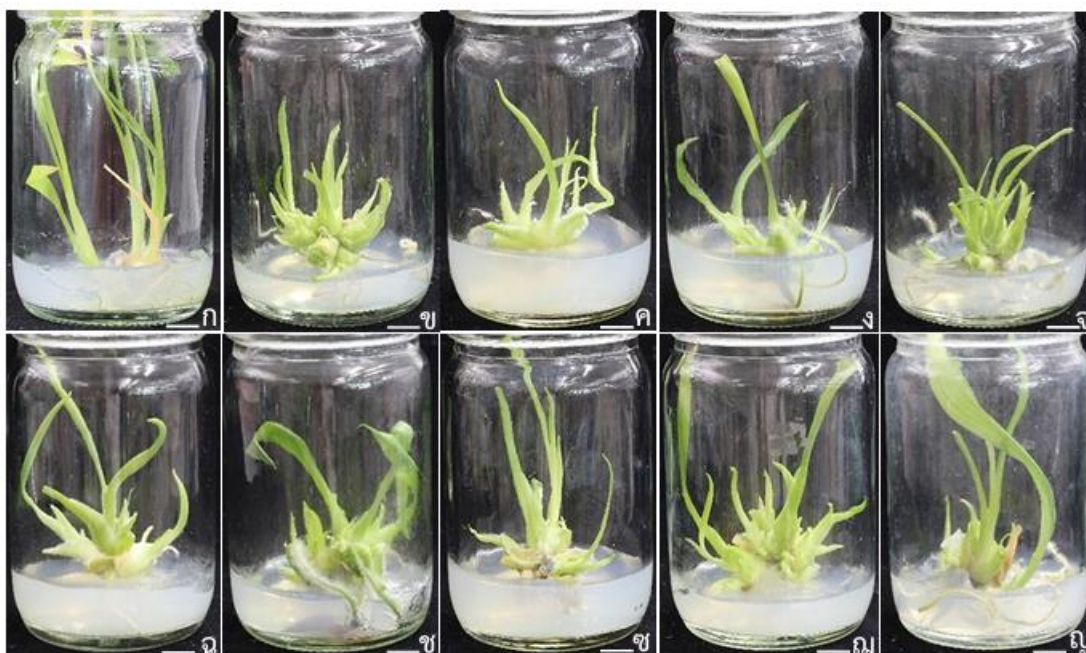


ตารางที่ 7 ผลของ Kinetin และ TDZ ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ต่อการชักนำ
ต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายให้เกิดยอดและราก เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8
สัปดาห์

Kinetin (มก/ล)	TDZ (มก/ล)	NAA (มก/ล)	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวยอด เฉลี่ย (ซม.)	จำนวนรากเฉลี่ย (ราก/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.)
0	0	0	3.00±0.39 ^b	6.66±0.11 ^a	6.50±0.37 ^a	4.45±0.16 ^a
1	1	0.2	4.00±0.39 ^{ab}	2.83±0.44 ^d	1.70±0.26 ^d	3.37±0.53 ^{ab}
2	1	0.2	3.60±0.16 ^{ab}	3.00±0.25 ^d	2.00±0.36 ^{cd}	3.98±0.31 ^{ab}
3	1	0.2	3.50±0.48 ^{ab}	3.49±0.34 ^{cd}	2.40±0.34 ^{bcd}	3.86±0.42 ^{ab}
1	2	0.2	4.40±0.27 ^a	2.54±0.18 ^d	2.40±0.34 ^{bcd}	3.65±0.33 ^{ab}
2	2	0.2	3.70±0.42 ^{ab}	3.02±0.34 ^d	2.70±0.30 ^{bcd}	3.10±0.41 ^b
3	2	0.2	4.40±0.40 ^a	3.24±0.30 ^d	2.00±0.47 ^{cd}	2.75±0.56 ^b
1	3	0.2	3.60±0.45 ^{ab}	4.28±0.43 ^{bc}	2.20±0.33 ^{cd}	3.30±0.32 ^{ab}
2	3	0.2	4.50±0.43 ^a	4.56±0.37 ^b	3.10±0.48 ^{bc}	3.04±0.26 ^b
3	3	0.2	3.10±0.31 ^b	4.87±0.29 ^b	3.40±0.43 ^b	3.63±0.45 ^{ab}

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จาก
การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

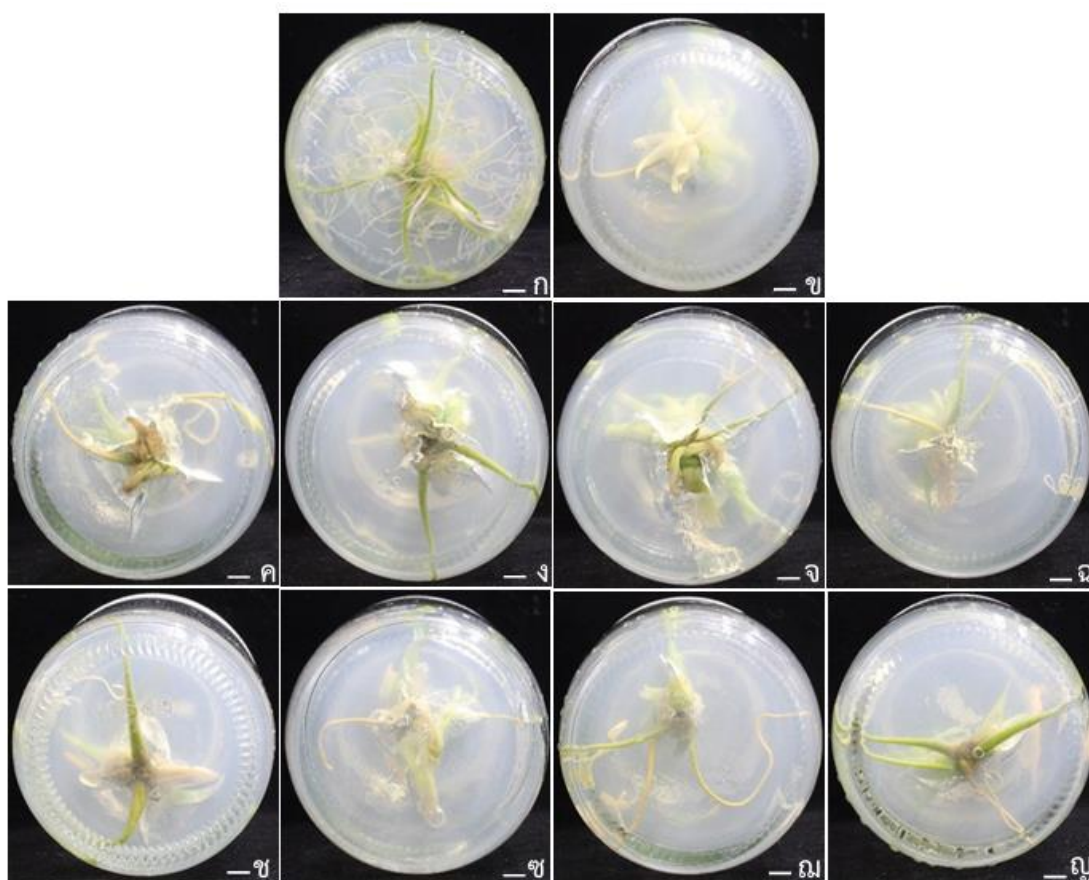




ภาพที่ 14 ตัณอ่อนเปราะหูกะต่ายเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin และ TDZ ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

- | | |
|-------------------------------------|-------------------------------------|
| ก. MS (control) | ข. Kinetin 1 + TDZ 1 + NAA 0.2 มก/ล |
| ค. Kinetin 2 + TDZ 1 + NAA 0.2 มก/ล | ง. Kinetin 3 + TDZ 1 + NAA 0.2 มก/ล |
| จ. Kinetin 1 + TDZ 2 + NAA 0.2 มก/ล | ฉ. Kinetin 2 + TDZ 2 + NAA 0.2 มก/ล |
| ช. Kinetin 3 + TDZ 2 + NAA 0.2 มก/ล | ซ. Kinetin 1 + TDZ 3 + NAA 0.2 มก/ล |
| ฅ. Kinetin 2 + TDZ 3 + NAA 0.2 มก/ล | ญ. Kinetin 3 + TDZ 3 + NAA 0.2 มก/ล |





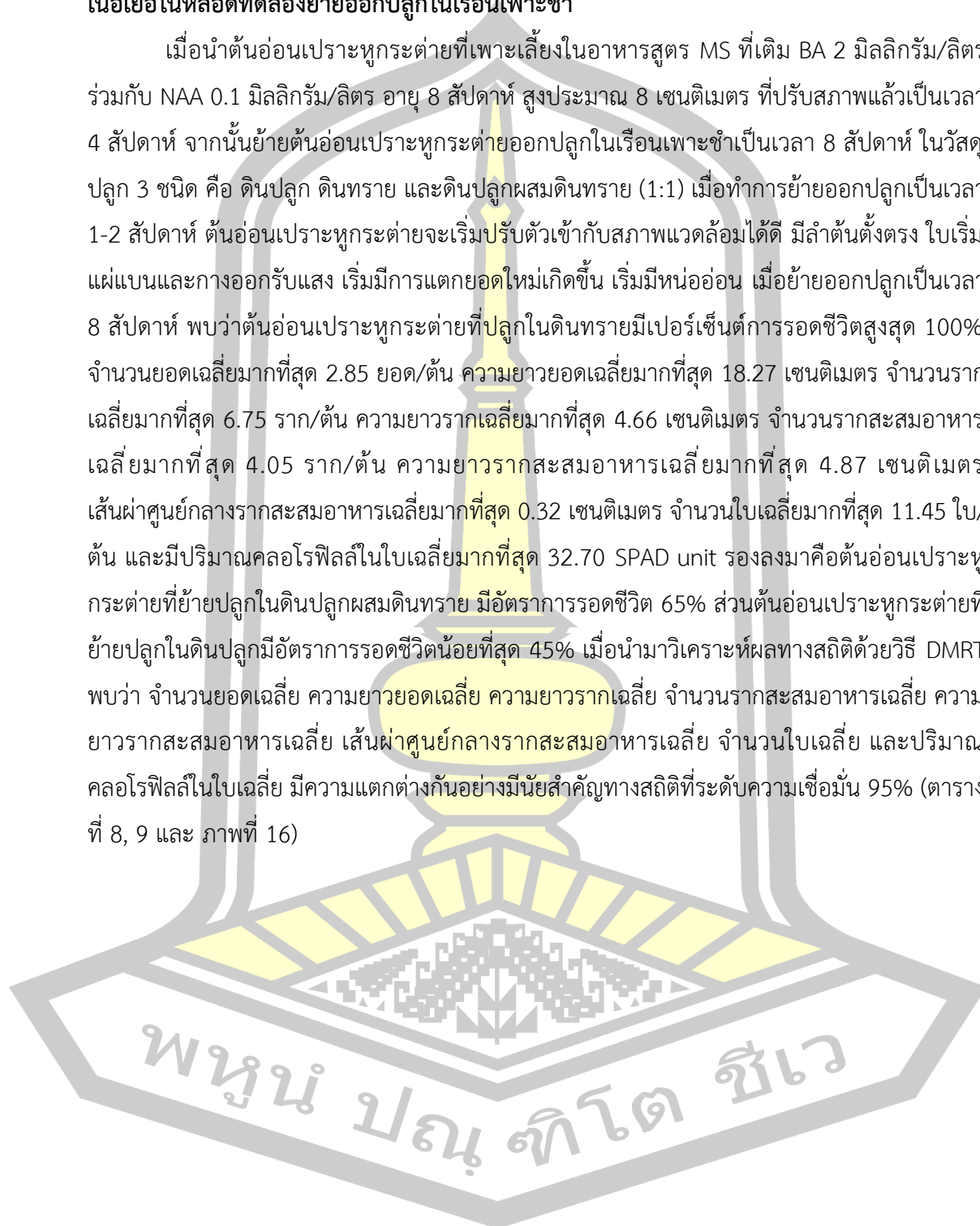
ภาพที่ 15 ต้นอ่อนเปราะหูกกระต่ายเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin และ TDZ ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

- | | |
|-------------------------------------|-------------------------------------|
| ก. MS (control) | ข. Kinetin 1 + TDZ 1 + NAA 0.2 มก/ล |
| ค. Kinetin 2 + TDZ 1 + NAA 0.2 มก/ล | ง. Kinetin 3 + TDZ 1 + NAA 0.2 มก/ล |
| จ. Kinetin 1 + TDZ 2 + NAA 0.2 มก/ล | ฉ. Kinetin 2 + TDZ 2 + NAA 0.2 มก/ล |
| ช. Kinetin 3 + TDZ 2 + NAA 0.2 มก/ล | ซ. Kinetin 1 + TDZ 3 + NAA 0.2 มก/ล |
| ฌ. Kinetin 2 + TDZ 3 + NAA 0.2 มก/ล | ญ. Kinetin 3 + TDZ 3 + NAA 0.2 มก/ล |

พหุพันธ์ ปณฺ ทัต ชีเว

5. ผลของวัสดุปลูกที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยง เนื้อเยื่อในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ

เมื่อนำต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร อายุ 8 สัปดาห์ สูงประมาณ 8 เซนติเมตร ที่ปรับสภาพแล้วเป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นย้ายต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายออกปลูกในเรือนเพาะชำเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ในวัสดุปลูก 3 ชนิด คือ ดินปลูก ดินทราย และดินปลูกผสมดินทราย (1:1) เมื่อทำการย้ายออกปลูกเป็นเวลา 1-2 สัปดาห์ ต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายจะเริ่มปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี มีลำต้นตั้งตรง ใบเริ่มแผ่แบนและกางออกรับแสง เริ่มมีการแตกยอดใหม่เกิดขึ้น เริ่มมีหน่ออ่อน เมื่อย้ายออกปลูกเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายที่ปลูกในดินทรายมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุด 100% จำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 2.85 ยอด/ต้น ความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด 18.27 เซนติเมตร จำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 6.75 ราก/ต้น ความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุด 4.66 เซนติเมตร จำนวนรากสะสมอาหารเฉลี่ยมากที่สุด 4.05 ราก/ต้น ความยาวรากสะสมอาหารเฉลี่ยมากที่สุด 4.87 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางรากสะสมอาหารเฉลี่ยมากที่สุด 0.32 เซนติเมตร จำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด 11.45 ใบ/ต้น และมีปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบเฉลี่ยมากที่สุด 32.70 SPAD unit รองลงมาคือต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายที่ย้ายปลูกในดินปลูกผสมดินทราย มีอัตราการรอดชีวิต 65% ส่วนต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายที่ย้ายปลูกในดินปลูกมีอัตราการรอดชีวิตน้อยที่สุด 45% เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่า จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย ความยาวรากเฉลี่ย จำนวนรากสะสมอาหารเฉลี่ย ความยาวรากสะสมอาหารเฉลี่ย เส้นผ่าศูนย์กลางรากสะสมอาหารเฉลี่ย จำนวนใบเฉลี่ย และปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบเฉลี่ย มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 8, 9 และ ภาพที่ 16)



ตารางที่ 8 ผลของวัสดุปลูกต่อเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ยของเปราะหูกะต่ายที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

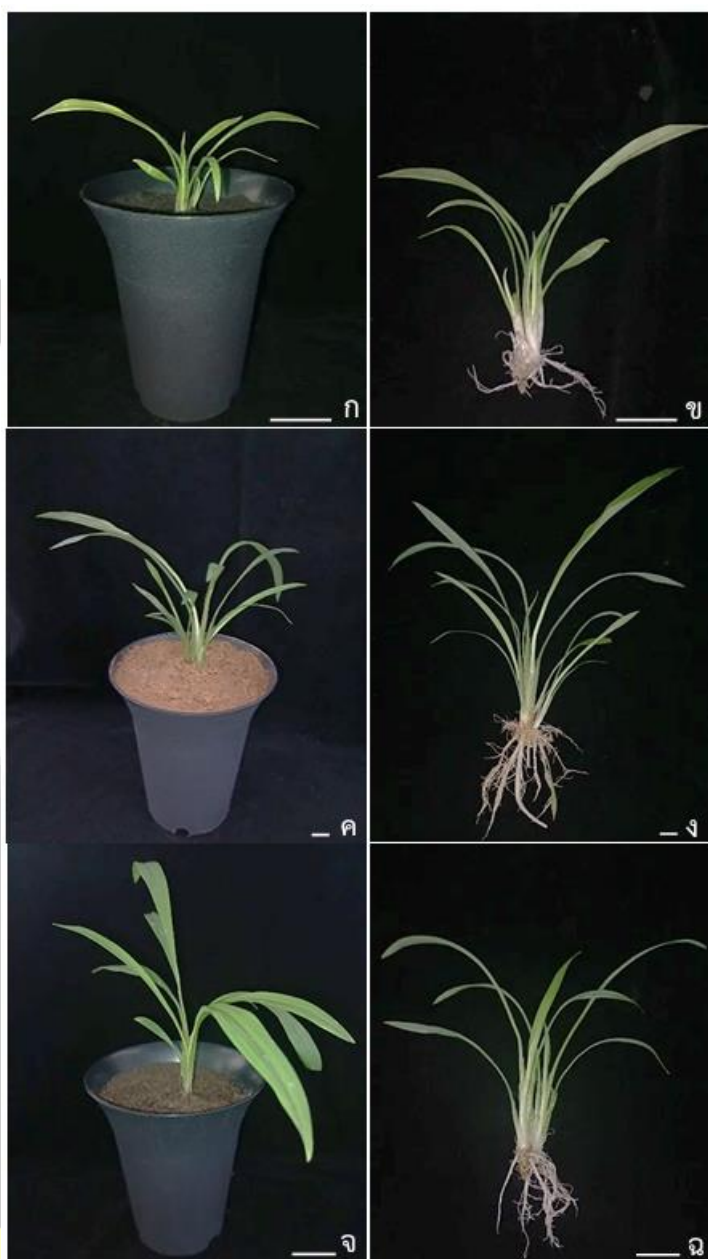
วัสดุปลูก	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต (%)	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด/ต้น)	ความยาวยอดเฉลี่ย (ซม.)	จำนวนรากเฉลี่ย (ราก/ต้น)	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.)
ดินปลูก	45	1.70±0.45 ^b	5.25±1.36 ^c	4.80±1.22 ^a	1.53±0.31 ^b
ดินทราย	100	2.85±0.15 ^a	18.27±0.60 ^a	6.75±0.42 ^a	4.66±0.29 ^a
ดินปลูกผสมดินทราย	65	2.18±0.20 ^{ab}	9.90±1.64 ^b	5.05±0.80 ^a	2.00±0.52 ^b

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

ตารางที่ 9 ผลของวัสดุปลูกต่อจำนวนรากสะสมอาหารเฉลี่ย ความยาวรากสะสมอาหารเฉลี่ย เส้นผ่าศูนย์กลางรากสะสมอาหารเฉลี่ย จำนวนใบเฉลี่ย และปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบเฉลี่ยของเปราะหูกะต่ายที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

วัสดุปลูก	จำนวนรากสะสมอาหารเฉลี่ย (ราก/ต้น)	ความยาวรากสะสมอาหารเฉลี่ย (ซม.)	เส้นผ่าศูนย์กลางรากสะสมอาหารเฉลี่ย (ซม.)	จำนวนใบเฉลี่ย (ใบ/ต้น)	ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบเฉลี่ย (SPAD unit)
ดินปลูก	1.75±0.46 ^b	0.90±0.24 ^b	0.10±0.02 ^b	7.15±1.84 ^b	10.26±2.61 ^c
ดินทราย	4.05±0.17 ^a	4.87±0.51 ^a	0.32±0.02 ^a	11.45±0.72 ^a	32.70±1.13 ^a
ดินปลูกผสมดินทราย	2.55±0.45 ^b	1.76±0.46 ^b	0.15±0.03 ^b	8.25±1.32 ^{ab}	20.18±3.27 ^b

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT



ภาพที่ 16 ต้นอ่อนเปราะทุกระต่ายที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดทดลองย้ายออกปลูกใน
เรือนเพาะชำ เป็นเวลา 8 สัปดาห์
(ก-ข) ดินปลูก (ค-ง) ดินทราย และ (จ-ฉ) ดินปลูกผสมดินทราย

4.2 การศึกษาสารพฤกษเคมีของเปราะหุกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำเป็นเวลา 1 ปีและในหลอดทดลอง

1. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

จากการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolics content) ของเปราะหุกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ได้แก่ เหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบ พืชที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำเป็นเวลา 1 ปี ได้แก่ เหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบ และพืชที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง ได้แก่ ราก และใบ ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช และอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่สกัดด้วยเมทานอลความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ ใช้ตัวอย่างแห้ง 1 กรัมต่อตัวทำละลาย 40 มิลลิลิตร เขย่าบนเครื่องเขย่าสารที่ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง ซึ่งวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยเทียบกับสารมาตรฐานกรดแกลลิก จากสมการเชิงเส้น $y = 0.0054x + 0.0156$ มีค่าสหสัมพันธ์ (R^2) เท่ากับ 0.9994 จากผลการทดลองพบว่าใบของเปราะหุกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด 30.53 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือ ใบของเปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ เป็นเวลา 1 ปี มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 29.46 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รากที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช และในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดน้อยที่สุด 5.70 และ 6.58 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ จากการเปรียบเทียบชิ้นส่วนเหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบของเปราะหุกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ชิ้นส่วนเหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบของเปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำเป็นเวลา 1 ปี และชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช และในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p=0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 10

2. ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

จากการวิเคราะห์สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (total flavonoids content) ของเปราะหุกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ได้แก่ เหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบ พืชที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำเป็นเวลา 1 ปี ได้แก่ เหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบ และพืชที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง ได้แก่ ราก และใบ ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช และอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่สกัดด้วยเมทานอลความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ตัวอย่างแห้ง 1 กรัมต่อตัวทำละลาย 40 มิลลิลิตร เขย่าบนเครื่องเขย่าสารที่ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง ซึ่งวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดโดยเทียบกับสารมาตรฐานรูทีน จากสมการเชิงเส้น $y = 0.0011x + 0.0059$ มีค่าสหสัมพันธ์ (R^2) เท่ากับ 0.9933 จากผลการทดลองพบว่าใบของเปราะหูกะต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงสุด 24.00 มิลลิกรัมสมมูลของรูทีนต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือ ใบของเปราะหูกะต่ายที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ เป็นเวลา 1 ปีมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 22.91 มิลลิกรัมสมมูลของรูทีนต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รากที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช และในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดน้อยที่สุด 2.79 และ 3.18 มิลลิกรัมสมมูลของรูทีนต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ จากการเปรียบเทียบชิ้นส่วนเหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบของเปราะหูกะต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ชิ้นส่วนเหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบของเปราะหูกะต่ายที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ เป็นเวลา 1 ปี และชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช และในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p=0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 10



ตารางที่ 10 วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของ
 เปราะหุกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือน
 เพาะชำเป็นเวลา 1 ปีและในหลอดทดลอง

สภาวะที่พืช เจริญเติบโต	ชิ้นส่วนพืช	ปริมาณฟีนอลิก	ปริมาณฟลาโวนอยด์
		ทั้งหมด (mg GAE/g DW) Mean±SE	ทั้งหมด (mg RE/g Dw) Mean±SE
สภาพธรรมชาติ	เหง้า	19.55±0.08 ^e	18.84±0.25 ^e
	รากและรากสะสม	25.48±0.53 ^c	21.70±0.27 ^c
	อาหาร	30.53±0.14 ^a	24.00±0.06 ^a
	ใบ	17.93±0.27 ^f	17.66±0.20 ^f
เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อย้าย ออกปลูกในเรือนเพาะ ชำ 1 ปี	เหง้า	24.27±0.14 ^d	20.86±0.14 ^d
	รากและรากสะสม	29.46±0.51 ^b	22.91±0.17 ^b
	อาหาร	5.70±0.05 ^h	2.79±0.15 ⁱ
	ใบ	13.13±0.31 ^g	9.32±0.08 ^h
เพาะเลี้ยงใน MS	ราก	6.58±0.40 ^h	3.18±0.20 ⁱ
	ใบ	13.95±0.24 ^g	12.09±0.31 ^g
เพาะเลี้ยงใน MS+BA2+NAA0.1 มิลลิกรัม/ลิตร	ราก		
	ใบ		

หมายเหตุ ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean±SE) ที่ได้จากการ
 ทดลอง 3 ซ้ำ อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับ
 ความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

พจน ปลูก ปลูก ชีว

3. วิเคราะห์ฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay

จากการวิเคราะห์ฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay ของเปราะหูกกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ได้แก่ เหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบ พืชที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำเป็นเวลา 1 ปี ได้แก่ เหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบ และพืชที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง ได้แก่ ราก และใบ ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช และอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่สกัดด้วยเมทานอลความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ตัวอย่างแห้ง 1 กรัมต่อตัวทำละลาย 40 มิลลิลิตร เขย่าบนเครื่องเขย่าสารที่ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง ซึ่งวิเคราะห์ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยเทียบกับสารมาตรฐานโทรล็อกซ์ (trolox) โดยใช้สมการเชิงเส้น $y = 0.549x + 1.1463$ มีค่าสหสัมพันธ์ (R^2) เท่ากับ 0.9997 จากผลการทดลองพบว่า ใบของเปราะหูกกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเฉลี่ยสูงสุด 6.84 มิลลิกรัมสมมูลโทรล็อกซ์ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ (%DPPH) 95.08 รองลงมาคือ ใบของเปราะหูกกระต่ายที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ เป็นเวลา 1 ปี มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเฉลี่ย 6.80 มิลลิกรัมสมมูลโทรล็อกซ์ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ (%DPPH) 94.48 รากของเปราะหูกกระต่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเฉลี่ยน้อยที่สุด 4.17 มิลลิกรัมสมมูลโทรล็อกซ์ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ (%DPPH) 58.36 จากการเปรียบเทียบชิ้นส่วนเหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบของเปราะหูกกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ชิ้นส่วนเหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบของเปราะหูกกระต่ายที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ เป็นเวลา 1 ปี และชิ้นส่วนใบและรากที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช และในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p=0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 11

4. วิเคราะห์ฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay

วิเคราะห์ฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay ของเปราะหูกกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ได้แก่ เหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบ พืชที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำเป็นเวลา 1 ปี ได้แก่ เหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบ และพืชที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง ได้แก่ ราก และใบ ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช และอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่สกัดด้วยเมทานอลความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ตัวอย่างแห้ง 1 กรัมต่อตัวทำละลาย 40 มิลลิลิตร เขย่าบนเครื่องเขย่าสารที่ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15

ข้าวโม่ ซึ่งวิเคราะห์ฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระโดยเทียบกับสารมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟต (FeSO_4) โดยใช้สมการเชิงเส้น $y = 0.0005x - 0.0143$ มีค่าสหสัมพันธ์ (R^2) เท่ากับ 0.9888 จากผลการทดลองพบว่า ใบของเปราะหูกะต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเฉลี่ยสูงสุด 62.64 มิลลิกรัมสมมูลเฟอร์รัสซัลเฟตต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือ ใบของเปราะหูกะต่ายที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ เป็นเวลา 1 ปี มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเฉลี่ย 60.24 มิลลิกรัมสมมูลเฟอร์รัสซัลเฟตต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รากของเปราะหูกะต่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเฉลี่ยน้อยที่สุด 12.94 มิลลิกรัมสมมูลเฟอร์รัสซัลเฟตต่อกรัมน้ำหนักแห้ง จากการเปรียบเทียบชิ้นส่วนเหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบของเปราะหูกะต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ชิ้นส่วนเหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบของเปราะหูกะต่ายที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ เป็นเวลา 1 ปี และชิ้นส่วนรากที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช และในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p=0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 11

5. วิเคราะห์ฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay

วิเคราะห์ฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay ของเปราะหูกะต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ได้แก่ เหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบ พืชที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำเป็นเวลา 1 ปี ได้แก่ เหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบ และพืชที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง ได้แก่ ราก และใบ ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช และอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่สกัดด้วยเมทานอลความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ตัวอย่างแห้ง 1 กรัมต่อตัวทำละลาย 40 มิลลิลิตร เขย่าบนเครื่องเขย่าสารที่ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง ซึ่งวิเคราะห์ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยเทียบกับสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) โดยใช้สมการเชิงเส้น $y = 733.42x - 19.877$ มีค่าสหสัมพันธ์ (R^2) เท่ากับ 0.9992 จากการทดลองพบว่า ใบของเปราะหูกะต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเฉลี่ยสูงสุด 7.36 มิลลิกรัมสมมูลกรดแอสคอร์บิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ (%ABTS) 99.92 รองลงมาคือ ใบของเปราะหูกะต่ายที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ เป็นเวลา 1 ปี มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเฉลี่ย 7.27 มิลลิกรัมสมมูลกรดแอสคอร์บิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ (%ABTS) 98.60 รากของเปราะหูกะต่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเฉลี่ยน้อยที่สุด 3.68 มิลลิกรัมสมมูลกรดแอสคอร์บิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง มีเปอร์เซ็นต์การ

ยับยั้งอนุมูลอิสระน้อยที่สุด 49.40 จากการเปรียบเทียบชิ้นส่วนเหง้า รากและรากสะสมอาหาร และ ใบของเปราะหุกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ชิ้นส่วนเหง้า รากและรากสะสมอาหาร และ ใบของเปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ เป็นเวลา 1 ปี และ ชิ้นส่วนใบและรากที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช และ ในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p=0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 11

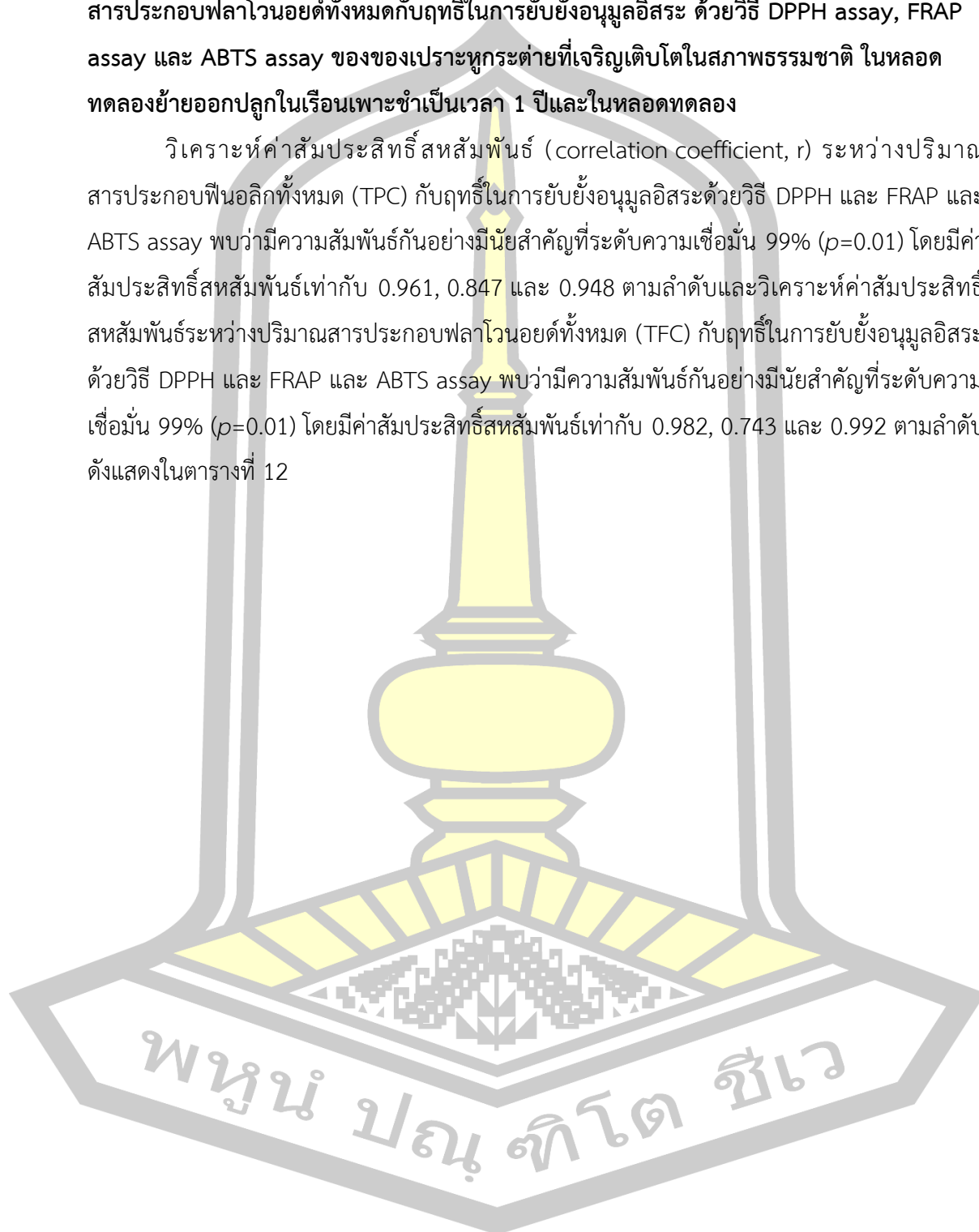
ตารางที่ 11 วิเคราะห์ฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของเปราะหุกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำเป็นเวลา 1 ปีและในหลอดทดลองด้วยวิธี DPPH assay, FRAP assay และ ABTS assay

สภาวะที่พืช เจริญเติบโต	ชิ้นส่วนพืช	DPPH (mg TE/g DW) Mean±SE	DPPH (%inhibition) Mean±SE	FRAP (mg FeSO ₄ /g DW) Mean±SE	ABTS (mg AAE /g DW) Mean±SE	ABTS (%inhibition) Mean±SE
สภาพธรรมชาติ	เหง้า	6.02±0.01 ^d	83.73±0.20 ^d	28.91±0.84 ^d	6.80±0.00 ^e	92.20±0.01 ^e
	รากและรากสะสมอาหาร	6.40±0.01 ^b	88.96±0.15 ^b	34.70±0.02 ^c	7.07±0.00 ^c	95.84±0.06 ^c
	ใบ	6.84±0.01 ^a	95.08±0.15 ^a	62.64±0.41 ^a	7.36±0.00 ^a	99.92±0.03 ^a
	เหง้า	6.19±0.01 ^c	86.11±0.18 ^c	20.54±0.43 ^f	6.75±0.00 ^e	91.55±0.06 ^e
เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ย้ายออกปลูกในเรือน เพาะชำ 1 ปี	รากและรากสะสมอาหาร	6.40±0.00 ^b	89.00±0.08 ^b	22.41±0.21 ^e	6.91±0.00 ^d	93.73±0.02 ^d
	ใบ	6.80±0.00 ^a	94.48±0.06 ^a	60.24±0.14 ^b	7.27±0.00 ^b	98.60±0.07 ^b
	ราก	4.17±0.04 ^h	58.36±0.65 ^h	12.94±0.50 ^h	3.68±0.02 ⁱ	49.40±0.21 ⁱ
เพาะเลี้ยงใน MS	ใบ	4.60±0.05 ^f	64.38±0.49 ^f	21.04±0.30 ^f	4.91±0.02 ^g	66.30±0.21 ^g
	ราก	4.28±0.04 ^g	59.85±0.55 ^g	15.78±0.48 ^g	3.85±0.01 ^h	51.72±0.18 ^h
เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ MS+BA2+NAA0.1 มิลลิกรัม/ลิตร	ใบ	4.91±0.05 ^e	68.65±0.66 ^e	23.24±0.32 ^e	5.18±0.07 ^f	69.97±0.96 ^f

หมายเหตุ ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean±SE) ที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

6. ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดกับฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH assay, FRAP assay และ ABTS assay ของของเปราะหูกะต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำเป็นเวลา 1 ปีและในหลอดทดลอง

วิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) กับฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP และ ABTS assay พบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ($p=0.01$) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.961, 0.847 และ 0.948 ตามลำดับและวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (TFC) กับฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP และ ABTS assay พบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ($p=0.01$) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.982, 0.743 และ 0.992 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 12



ตารางที่ 12 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดกับฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH assay, FRAP assay และ ABTS assay ของเปราะหูกะต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำเป็นเวลา 1 ปีและในหลอดทดลอง

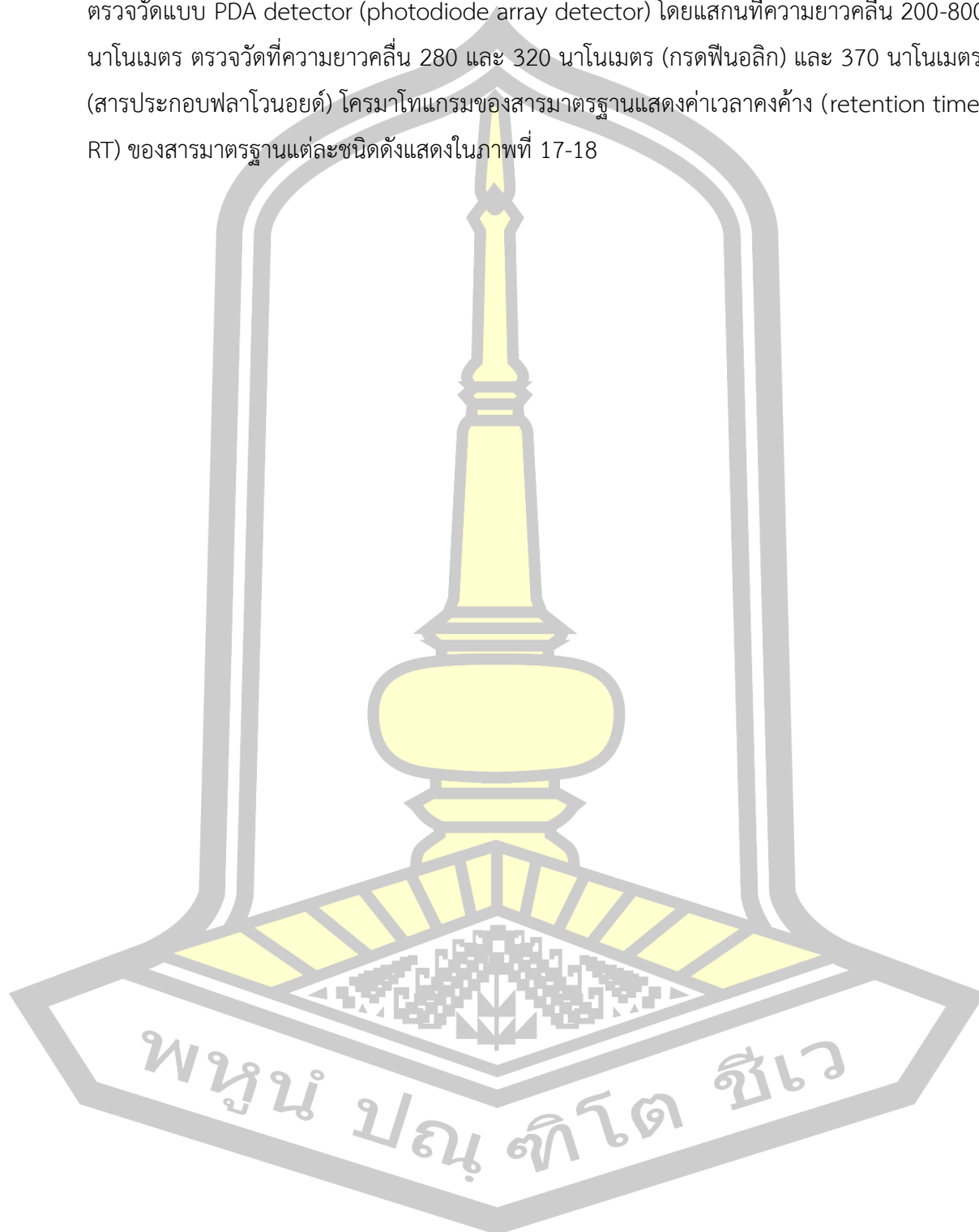
	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation)				
	TPC	TFC	DPPH	FRAP	ABTS
ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (TPC)	1	0.972**	0.961**	0.847	0.948**
ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (TFC)	0.972**	1	0.982**	0.743**	0.992**

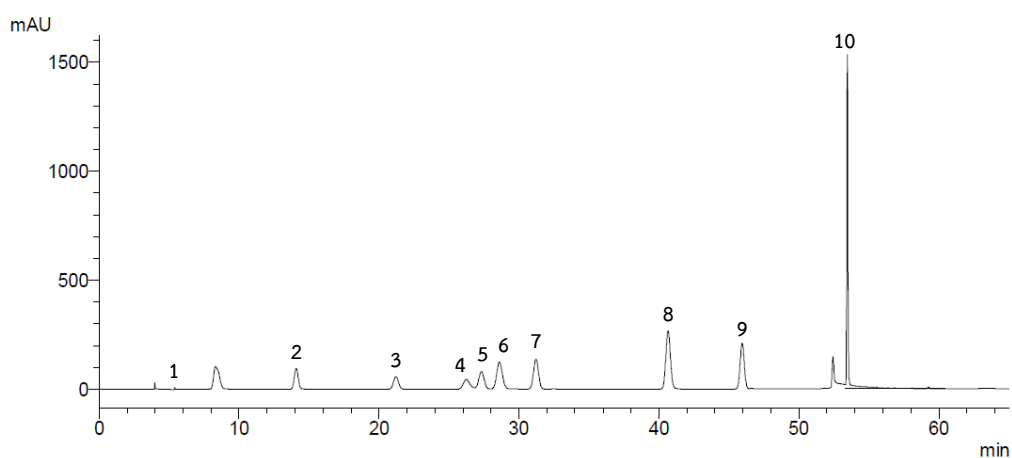
หมายเหตุ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่าง TPC, TFC และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS กับฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP วิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางสถิติระดับความเชื่อมั่น 99% (เครื่องหมาย ** วิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%)

7. การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

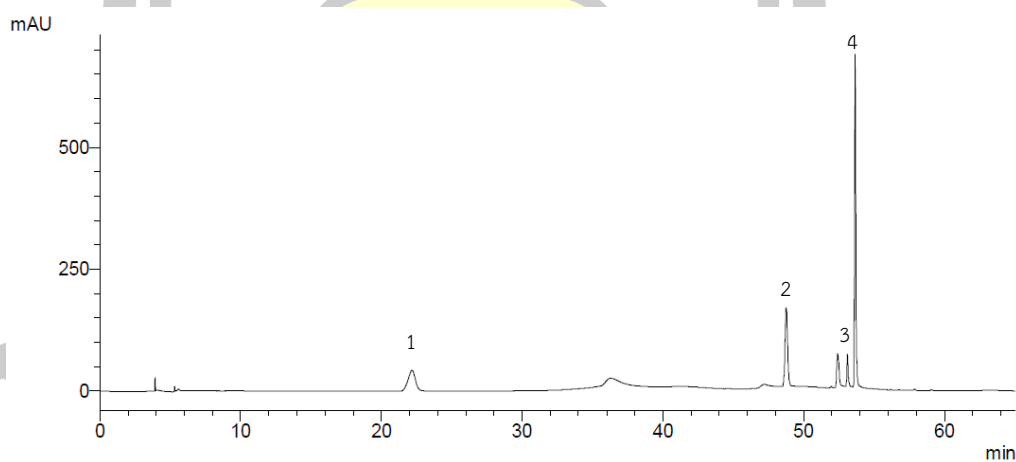
จากการวิเคราะห์ปริมาณของกรดฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์จากชิ้นส่วนต่าง ๆ ของเปราะหูกะต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ เปรียบเทียบกับเปราะหูกะต่ายในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ 1 ปีและในหลอดทดลองที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช และในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการวิเคราะห์ปริมาณด้วยวิธีสารมาตรฐานภายนอก (external standard) โดยใช้กราฟมาตรฐานจากสารประกอบฟีนอลิกรวม 10 ชนิด ได้แก่ กรดแกลลิก (gallic acid) กรดโปรโตคาเทอซิก (protocatechuic acid) กรดไฮดรอกซีเบนโซอิก (*p*-hydroxybenzoic acid) กรดคลอโรเจนิค (chlorogenic acid) กรดวานิลลิก (vanillic acid) กรดคาเฟอิก (caffeic acid) กรดไซริงิก (syringic acid) กรดคูมาริก (*p*-coumaric acid) กรดเฟอร์ูลิก (ferulic acid) และกรดซินนามิก (cinnamic acid) และสารมาตรฐานฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 4 ชนิด ได้แก่ รุทีน (rutin) เควอ

ซีติน (quercetin) แคมพ์เฟอร์อล (kaempferol) และคาเทชิน (catechin) ตรวจวัดปริมาณโดยใช้ตัวตรวจวัดแบบ PDA detector (photodiode array detector) โดยสแกนที่ความยาวคลื่น 200-800 นาโนเมตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 และ 320 นาโนเมตร (กรดฟีนอลิก) และ 370 นาโนเมตร (สารประกอบฟลาโวนอยด์) โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานแสดงค่าเวลาคงค้าง (retention time, RT) ของสารมาตรฐานแต่ละชนิดดังแสดงในภาพที่ 17-18





ภาพที่ 17 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานแสดงค่าเวลาคงค้าง (ค่า retention time, RT) ของ ปริมาณกรดฟีนอลิกแต่ละชนิดของเปราะทุกระต่าย ที่ความยาวคลื่น 280 และ 320 นาโนเมตร (1) gallic acid (2) protocatechuic acid (3) *p*-hydroxybenzoic acid (4) chlorogenic acid (5) vanillic acid (6) caffeic acid (7) syringic acid (8) *p*-coumaric acid (9) ferulic acid (10) cinnamic acid

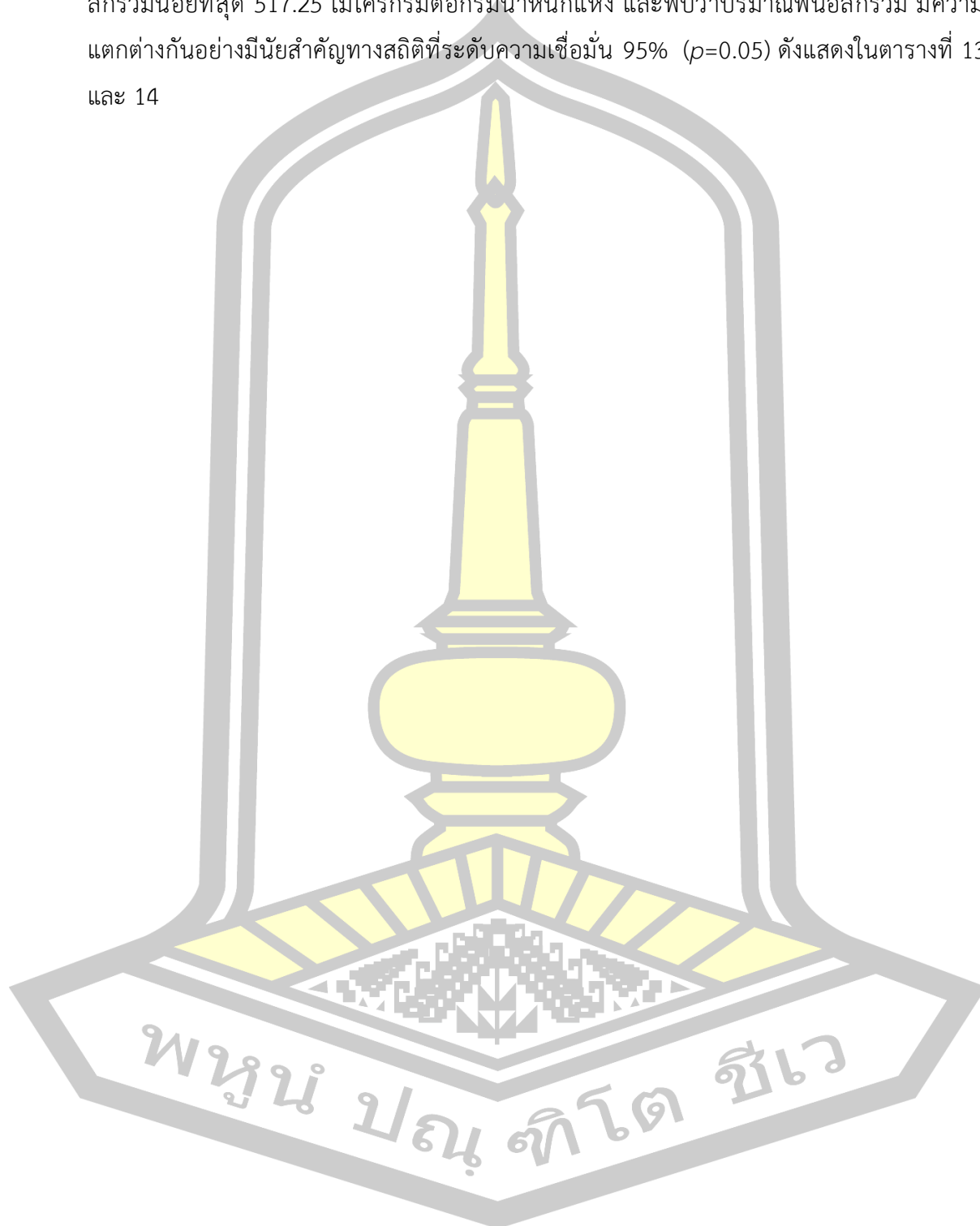


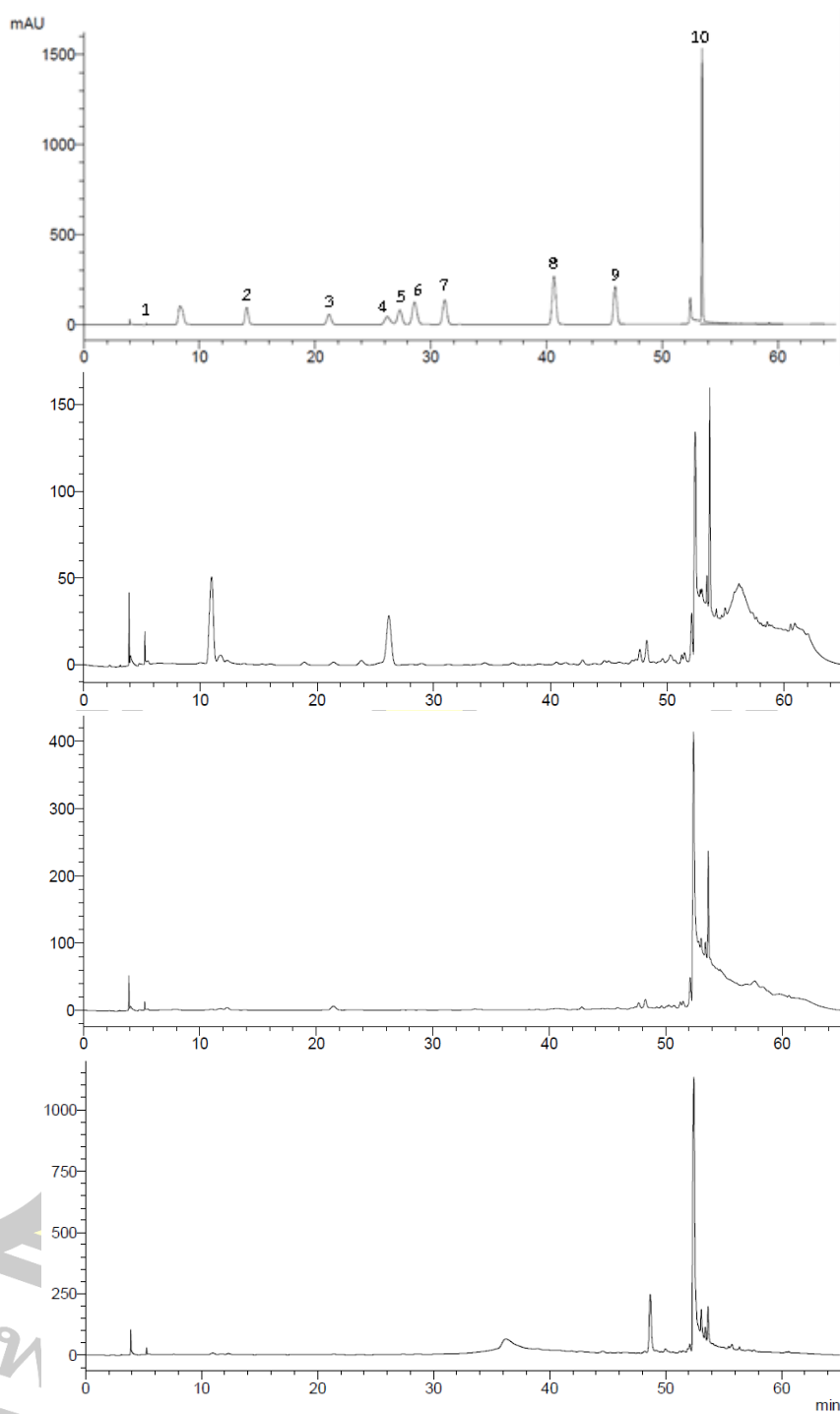
ภาพที่ 18 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานแสดงค่าเวลาคงค้าง (ค่า retention time, RT) ของ ปริมาณฟลาโวนอยด์แต่ละชนิดของเปราะทุกระต่าย ที่ความยาวคลื่น 370 นาโนเมตร (1) catechin (2) rutin (3) quercetin (4) kaempferol

จากการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารประกอบกรดฟีนอลิกในตัวอย่างเปราะหุกระต่าย โดยอ้างอิงค่าเวลาคงค้างของสารมาตรฐานกรดฟีนอลิกทั้ง 10 ชนิด พบว่า ตัวอย่างเปราะหุกระต่ายที่ เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ขึ้นส่วนเหง้า มีกรดฟีนอลิก 9 ชนิด ได้แก่ กรดแกลลิก กรดโปรโตคาที่ ซูอิก กรดไฮดรอกซีเบนโซอิก กรดวานิลลิก กรดคาเฟอิก กรดคลอโรเจนิก กรดคูมาริก กรดเฟอร์ูลิก และกรดซินนามิก ซึ่งตรวจไม่พบกรดไซรินจิก มีปริมาณรวมของกรดฟีนอลิกรวม 517.28 ไมโครกรัม ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และมีปริมาณกรดแกลลิกมากที่สุด 101.13 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือกรดซินนามิก 97.44 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง พบปริมาณกรดโปรโตคาที่ซูอิกน้อย ที่สุด 2.31 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ขึ้นส่วนรากและรากสะสมอาหาร มีกรดฟีนอลิก 8 ชนิด ได้แก่ กรดแกลลิก กรดไฮดรอกซีเบนโซอิก กรดไซรินจิก กรดวานิลลิก กรดคาเฟอิก กรดคูมาริก กรด เฟอร์ูลิก และกรดซินนามิก ซึ่งไม่พบกรดโปรโตคาที่ซูอิกและกรดคลอโรเจนิก มีปริมาณรวมของกรดฟีนอลิกรวม 1,248.89 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และมีปริมาณกรดซินนามิกมากที่สุด 459.82 รองลงมาคือกรดไซรินจิก 347.91 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง พบปริมาณกรดวานิลลิกน้อยที่สุด 19.26 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ขึ้นส่วนใบ มีกรดฟีนอลิก 9 ชนิด ได้แก่ กรดแกลลิก กรดโปรโต คาที่ซูอิก กรดไฮดรอกซีเบนโซอิก กรดไซรินจิก กรดวานิลลิก กรดคาเฟอิก กรดคูมาริก กรดเฟอร์ูลิก และกรดซินนามิก ซึ่งไม่พบกรดคลอโรเจนิก มีปริมาณรวมของกรดฟีนอลิกรวม 8,785.62 ไมโครกรัม ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และมีปริมาณกรดไซรินจิกมากที่สุด 7,003.07 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือกรดซินนามิก 421.72 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง พบปริมาณกรดโปรโตคาที่ซูอิกน้อย ที่สุด 14.10 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (ภาพที่ 19) ตัวอย่างเปราะหุกระต่ายในหลอดทดลองย้าย ออกปลูกในเรือนเพาะชำ 1 ปี ขึ้นส่วนเหง้า มีกรดฟีนอลิก 10 ชนิด ได้แก่ กรดแกลลิก กรดโปรโตคาที่ ซูอิก กรดไฮดรอกซีเบนโซอิก กรดไซรินจิก กรดวานิลลิก กรดคาเฟอิก กรดคลอโรเจนิก กรดคูมาริก กรดเฟอร์ูลิกและกรดซินนามิก มีปริมาณกรดฟีนอลิกรวม 1230.89 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และมีปริมาณกรดไซรินจิกมากที่สุด 634.55 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือกรดซินนามิก 196.02 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง พบปริมาณกรดโปรโตคาที่ซูอิกน้อยที่สุด 4.17 ไมโครกรัมต่อ กรัมน้ำหนักแห้ง ขึ้นส่วนรากและรากสะสมอาหาร มีกรดฟีนอลิก 8 ชนิด ได้แก่ กรดแกลลิก กรดโปร โตคาที่ซูอิก กรดไฮดรอกซีเบนโซอิก กรดไซรินจิก กรดวานิลลิก กรดคูมาริก กรดเฟอร์ูลิก และกรด ซินนามิก ซึ่งไม่พบกรดคลอโรเจนิกและกรดคาเฟอิก มีปริมาณรวมของกรดฟีนอลิกรวม 1011.73 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และมีปริมาณกรดไซรินจิกมากที่สุด 568.34 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนัก แห้ง รองลงมาคือกรดซินนามิก 211.93 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง พบปริมาณกรดโปรโตคาที่ซู อิกน้อยที่สุด 1.76 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ขึ้นส่วนใบ มีกรดฟีนอลิก 9 ชนิด กรดแกลลิก กรด โปรโตคาที่ซูอิก กรดไฮดรอกซีเบนโซอิก กรดไซรินจิก กรดวานิลลิก กรดคาเฟอิก กรดคูมาริก กรด เฟอร์ูลิก และกรดซินนามิก ซึ่งไม่พบกรดคลอโรเจนิก มีปริมาณกรดฟีนอลิกรวม 3,545.86 ไมโครกรัม

ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และมีปริมาณกรดไขมันมากที่สุด 2,690.72 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือกรดซินนามิก 135.18 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง พบปริมาณกรดคูมาลิกน้อยที่สุด 14.94 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (ภาพที่ 20) ตัวอย่างเปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช ขึ้นส่วนราก มีกรดฟีนอลิก 8 ชนิด ได้แก่ กรดแกลลิก กรดไขมันจิก กรดวานิลลิก กรดคาเฟอิก กรดคลอโรเจนิก กรดคูมาริก กรดเฟอร์ูลิกและกรดซินนามิก ซึ่งตรวจไม่พบกรดโปรโตคาทิซุอิกและกรดไฮดรอกซีเบนโซอิก มีปริมาณกรดฟีนอลิกรวม 2,587.72 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และมีปริมาณกรดคาเฟอิกมากที่สุด 1,248.78 ไมโครกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง รองลงมาคือกรดไขมันจิก 908.83 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง พบปริมาณกรดคลอโรเจนิกน้อยที่สุด 4.50 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ขึ้นส่วนใบ มีกรดฟีนอลิก 9 ชนิด ได้แก่ กรดแกลลิก กรดโปรโตคาทิซุอิก กรดไฮดรอกซีเบนโซอิก กรดไขมันจิก กรดวานิลลิก กรดคาเฟอิก กรดคลอโรเจนิก กรดคูมาริกและกรดซินนามิก ซึ่งตรวจไม่พบกรดเฟอร์ูลิก มีปริมาณกรดฟีนอลิกรวม 2,565.47 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และมีปริมาณกรดไขมันจิกมากที่สุด 1,556.47 ไมโครกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง รองลงมาคือกรดคาเฟอิก 590.54 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง พบปริมาณกรดโปรโตคาทิซุอิกน้อยที่สุด 1.94 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (ภาพที่ 21) ตัวอย่างเปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ขึ้นส่วน ราก มีกรดฟีนอลิก 8 ชนิด ได้แก่ กรดแกลลิก กรดไขมันจิก กรดวานิลลิก กรดคาเฟอิก กรดคลอโรเจนิค กรดคูมาริก กรดเฟอร์ูลิกและกรดซินนามิก ซึ่งตรวจไม่พบกรดโปรโตคาทิซุอิกและกรดไฮดรอกซีเบนโซอิก มีปริมาณกรดฟีนอลิกรวม 1,266.66 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และมีปริมาณกรดไขมันจิกมากที่สุด 742.30 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือกรดคาเฟอิก 294.86 ไมโครกรัมต่อกรัม น้ำหนัก พบปริมาณกรดคลอโรเจนิกน้อยที่สุด 5.83 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ขึ้นส่วนใบ มีกรดฟีนอลิก 9 ชนิด ได้แก่ กรดแกลลิก กรดโปรโตคาทิซุอิก กรดไฮดรอกซีเบนโซอิก กรดไขมันจิก กรดวานิลลิก กรดคาเฟอิก กรดคลอโรเจนิก กรดคูมาริกและกรดซินนามิก ซึ่งตรวจไม่พบกรดเฟอร์ูลิก มีปริมาณกรดฟีนอลิกรวม 2,226.72 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และมีปริมาณกรดไขมันจิกมากที่สุด 1,351.55 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือกรดคาเฟอิก 458.92 ไมโครกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง พบปริมาณกรดโปรโตคาทิซุอิกน้อยที่สุด 9.56 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (ภาพที่ 22) จากการเปรียบเทียบขึ้นส่วนเปราะหุกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ เปรียบเทียบกับเปราะหุกระต่ายในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ 1 ปีและในหลอดทดลองที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช และในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าขึ้นส่วนใบที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ พบปริมาณกรดฟีนอลิกรวมสูงสุด 8,785.62 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือ ขึ้นส่วนใบในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ 1 ปี พบปริมาณกรดฟีนอลิกรวมทั้งหมด 3,545.86

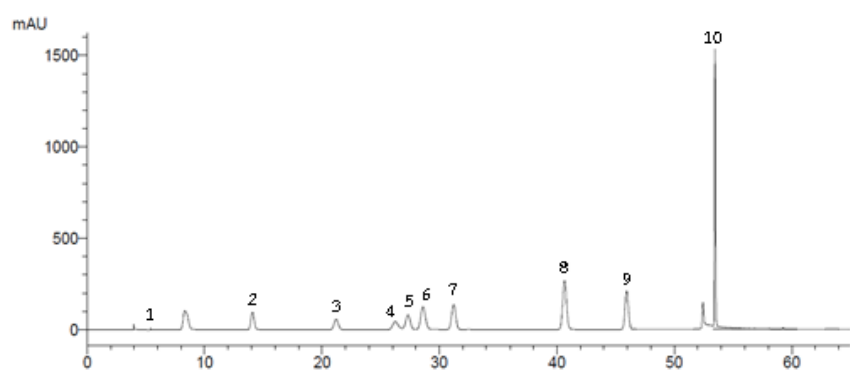
ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และชิ้นส่วนเหง้าที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติพบปริมาณกรดฟีนอลิกรวมน้อยที่สุด 517.25 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และพบว่าปริมาณฟีนอลิกรวม มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p=0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 13 และ 14



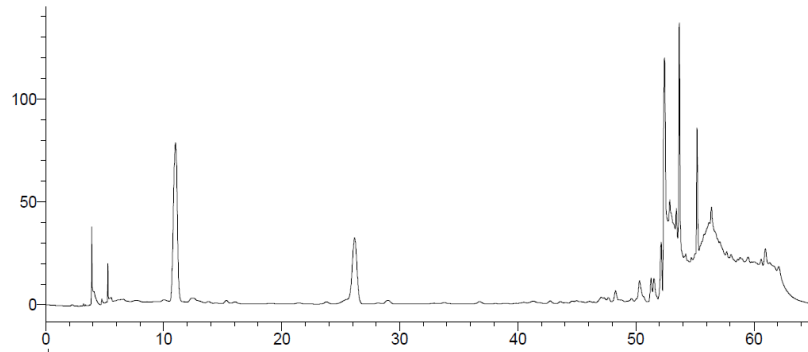


ภาพที่ 19 โครมาโทแกรมแสดงค่าเวลาคงค้างของเปราะหุกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ

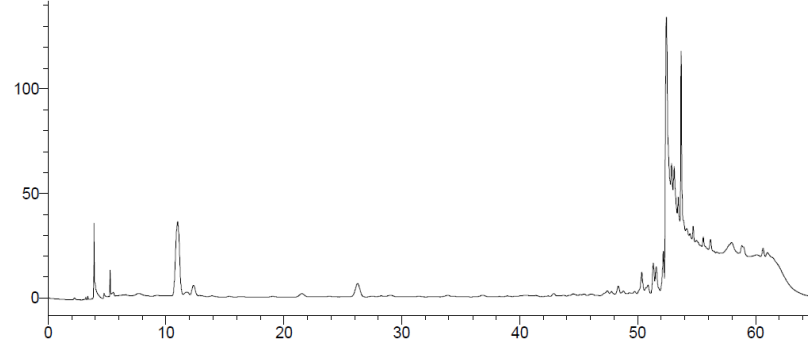
- ก. โครมาโทแกรมสารมาตรฐานกรดฟีนอลิก
- ข. โครมาโทแกรมในเหง้า
- ค. โครมาโทแกรมในรากและรากสะสมอาหาร
- ง. โครมาโทแกรมในใบ



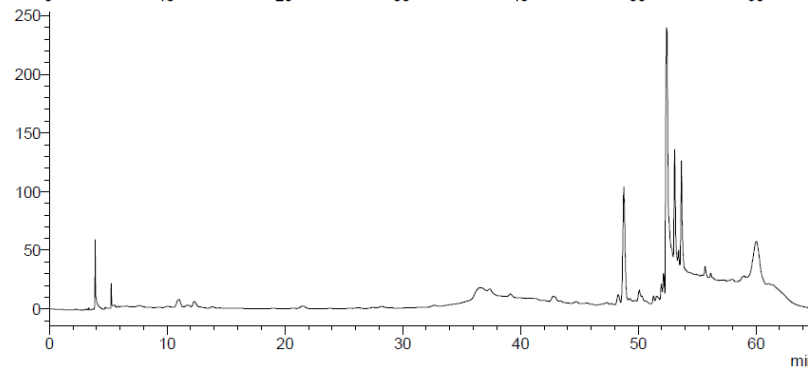
ก.



ข.



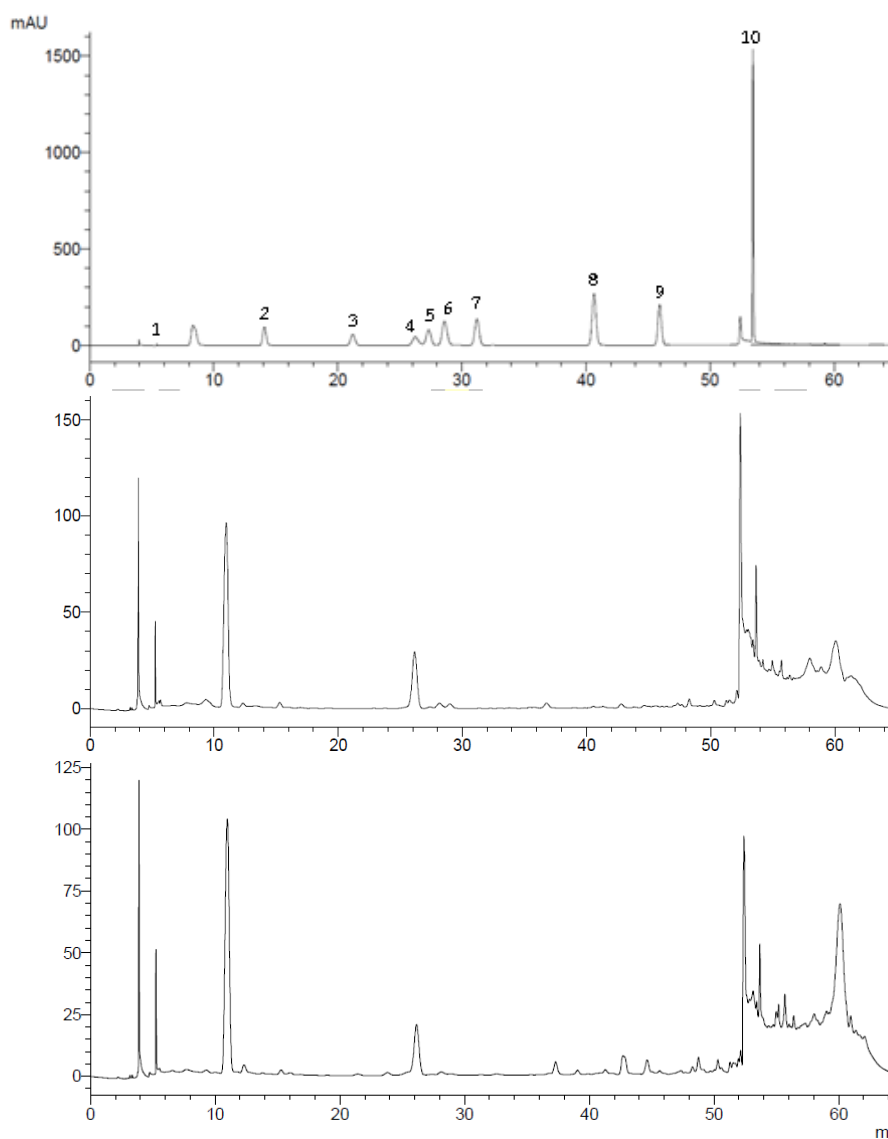
ค.



ง.

ภาพที่ 20 โครมาโทแกรมแสดงค่าเวลาคงค้างของเปราะหุกระต่ายในหลอดทดลองย้ายออกปลุกใน
เรือนเพาะชำเป็นเวลา 1 ปี

- ก. โครมาโทแกรมสารมาตรฐานกรดฟีนอลิก
- ข. โครมาโทแกรมในเหง้า
- ค. โครมาโทแกรมในรากและรากสะสมอาหาร
- ง. โครมาโทแกรมในใบ



ก.

ข.

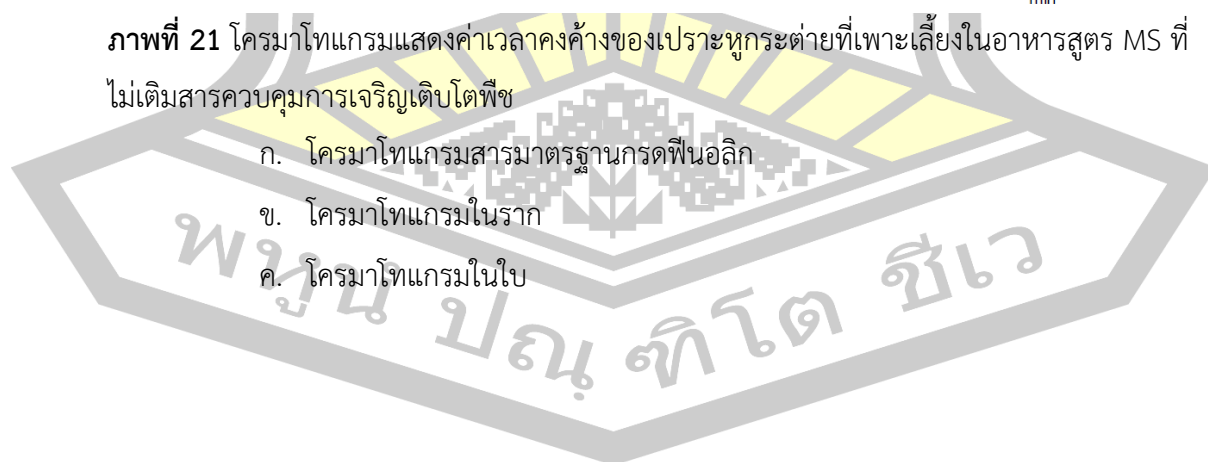
ค.

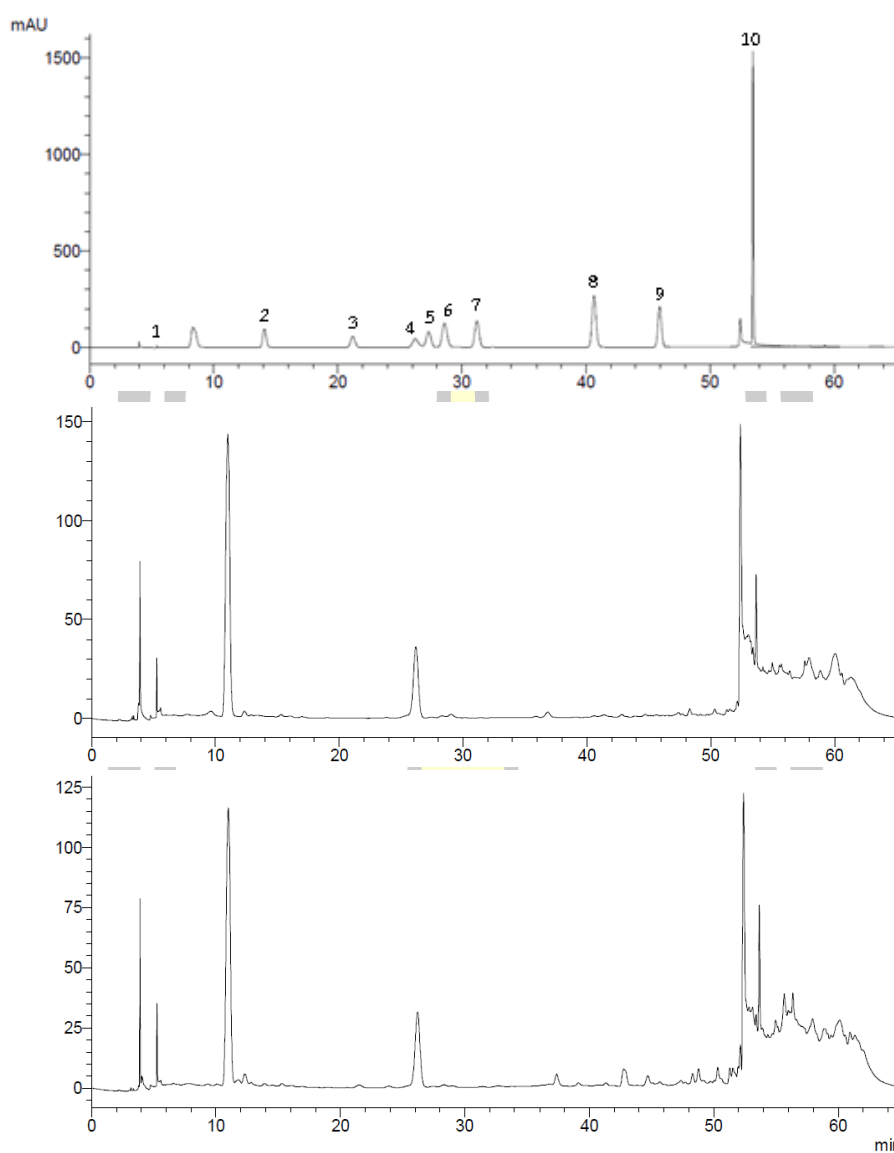
ภาพที่ 21 โครมาโทแกรมแสดงค่าเวลาคงค้างของเปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่ได้เสริมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช

ก. โครมาโทแกรมสารมาตรฐานกรดฟีนอลิก

ข. โครมาโทแกรมในราก

ค. โครมาโทแกรมในใบ





ก.

ข.

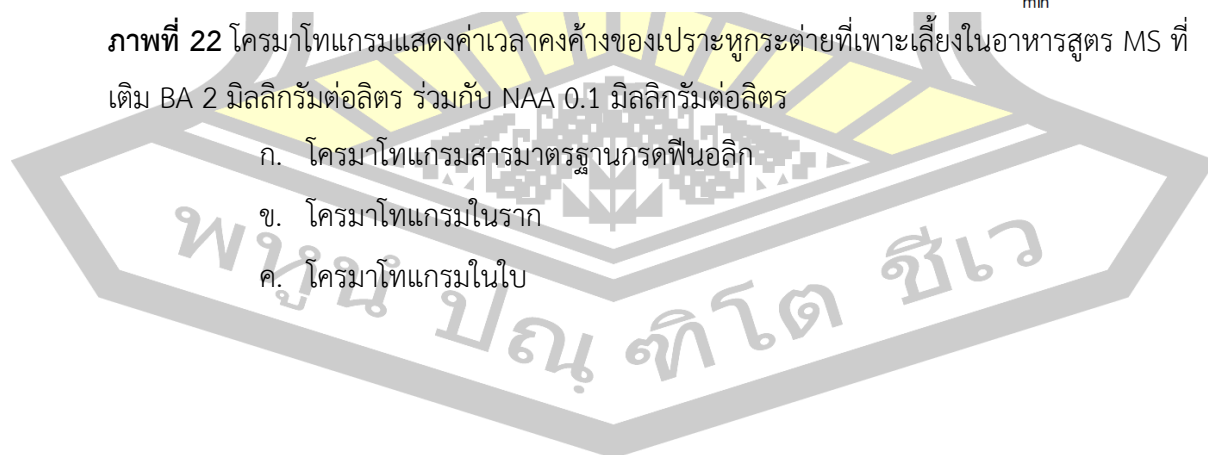
ค.

ภาพที่ 22 โครมาโทแกรมแสดงค่าเวลาคงค้างของเปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ก. โครมาโทแกรมสารมาตรฐานกรดฟีนอลิก

ข. โครมาโทแกรมในราก

ค. โครมาโทแกรมในใบ



ตารางที่ 13 ชนิดและปริมาณ gallic acid, protocatechuic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, chlorogenic acid และ vanillic acid จากชิ้นส่วนต่าง ๆ ของเปราะหูกะต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ เป็นเวลา 1 ปี และในหลอดทดลอง

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของเปราะหูกะต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองแล้วย้ายออกปลูกและที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง (ไม่โครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)						
สภาวะที่เจริญเติบโต	ชิ้นส่วนพืช	gallic acid	protocatechuic acid	<i>p</i> -hydroxybenzoic acid	chlorogenic acid	vanillic acid
สภาพธรรมชาติ	เหง้า	101.13±0.70 ^h	2.31±0.18 ^e	62.83±0.24 ^d	4.33±0.06 ^d	36.93±0.75 ^{de}
	รากและรากสะสมอาหาร	69.07±0.43 ⁱ	ND	124.40±0.45 ^a	ND	19.26±0.84 ^h
	ใบ	133.22±1.10 ^e	14.10±0.33 ^b	81.83±0.48 ^b	ND	107.03±1.67 ^a
เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ 1 ปี	เหง้า	129.34±1.08 ^f	4.17±0.02 ^d	43.92±0.14 ^h	4.74±0.07 ^b	38.74±0.86 ^{cd}
	รากและรากสะสมอาหาร	65.58±0.13 ^j	1.76±0.04 ^f	59.87±0.40 ^e	ND	28.93±0.57 ^g
	ใบ	109.15±0.84 ^g	17.00±0.05 ^a	68.04±0.13 ^c	ND	41.64±0.68 ^c
เพาะเลี้ยงใน MS	ราก	183.10±0.95 ^b	ND	ND	4.50±0.07 ^c	53.65±1.55 ^b
	ใบ	186.12±1.23 ^a	1.94±0.08 ^{ef}	48.12±0.53 ^g	2.98±0.03 ^e	20.41±0.53 ^h
เพาะเลี้ยงใน MS+BA2+NAA0.1 มิลลิกรัม/ลิตร	ราก	136.14±0.16 ^d	ND	ND	5.82±0.02 ^a	32.56±1.54 ^f
	ใบ	178.20±1.06 ^c	9.56±0.11 ^c	55.46±0.53 ^f	5.78±0.04 ^a	34.09±1.27 ^{ef}

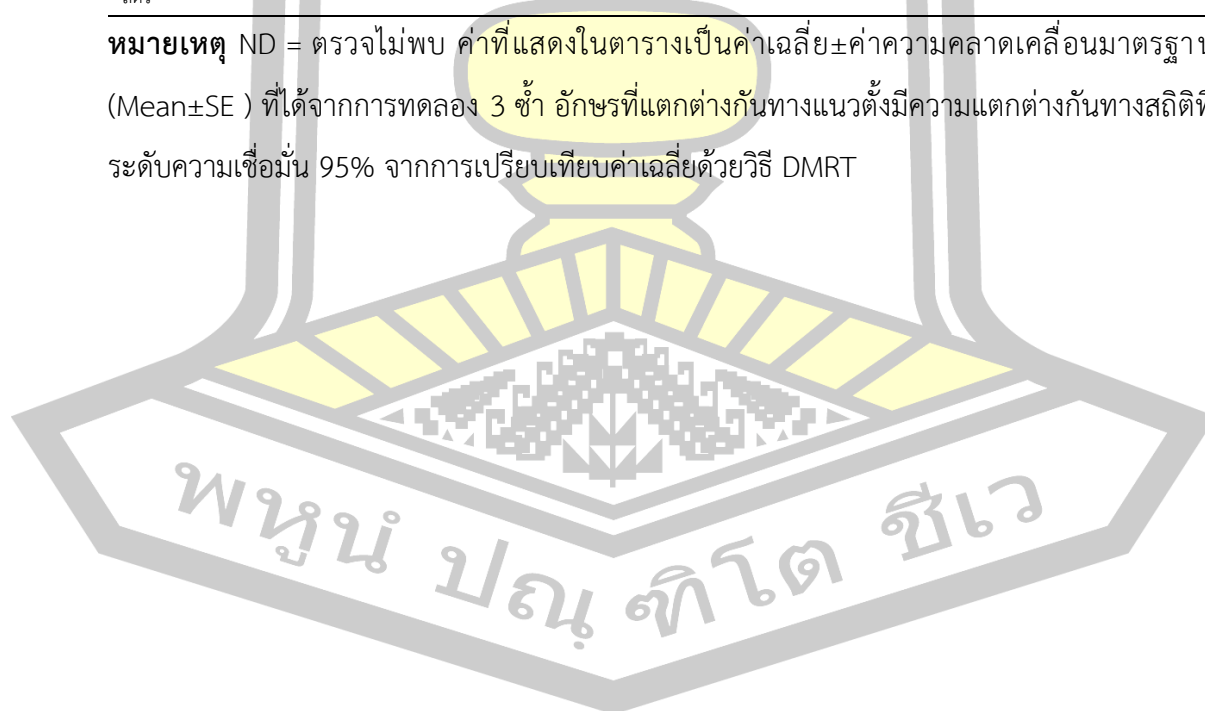
หมายเหตุ ND = ตรวจไม่พบ ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (Mean±SE) ที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ อักษรที่แตกต่างกันทางแนวดิ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

พจน ปลูก จิต ชีเว

ตารางที่ 14 ชนิดและปริมาณ caffeic acid, syringic acid, p-coumaric acid, ferulic acid และ cinnamic acid จากชิ้นส่วนต่าง ๆ ของเปราะหุกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ เป็นเวลา 1 ปี และในหลอดทดลอง

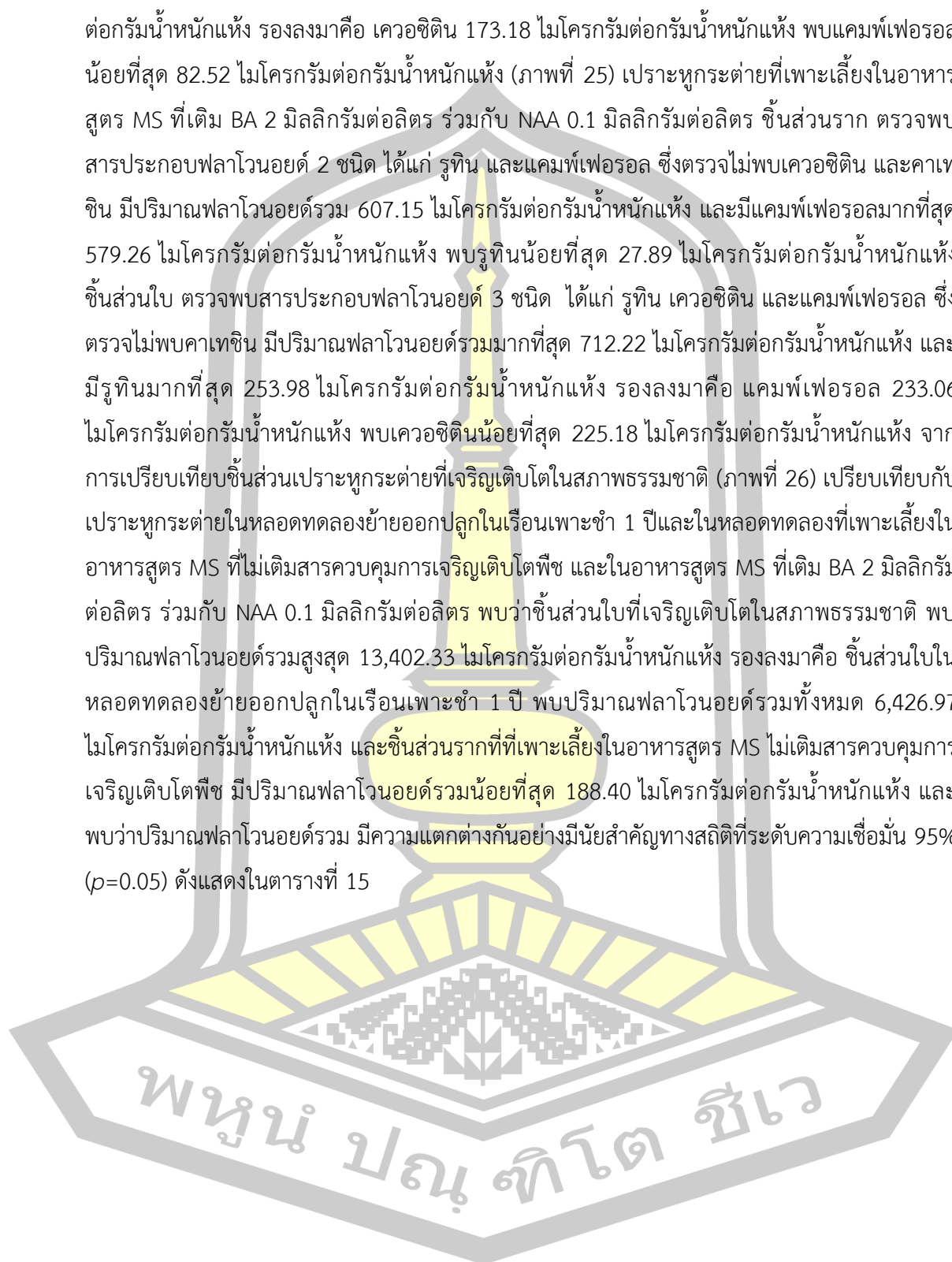
ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของเปราะหุกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองแล้วย้ายออกปลูกและที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง (ไม่โครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)							
สภาวะที่เจริญเติบโต	ชิ้นส่วนพืช	caffeic acid	syringic acid	p-coumaric acid	ferulic acid	cinnamic acid	ปริมาณรวม
สภาพธรรมชาติ	เหง้า	91.00±1.43 ^h	ND	44.94±0.76 ^b	76.37±1.32 ^c	97.44±1.78 ⁱ	517.28±0.60
	รากและรากสะสมอาหาร	75.66±1.16 ⁱ	347.91±1.58 ⁱ	44.85±0.36 ^b	107.92±3.86 ^b	459.82±2.94 ^a	1,248.89±1.29
	ใบ	334.09±0.68 ^e	7,003.07±36.27 ^a	407.50±3.80 ^a	283.06±6.24 ^a	421.72±2.67 ^b	8,785.62±11.54
เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ 1 ปี	เหง้า	110.88±0.86 ^g	634.55±6.44 ^g	23.77±0.32 ^d	44.76±0.41 ^e	196.02±1.97 ^d	1,230.89±1.93
	รากและรากสะสมอาหาร	ND	568.34±6.09 ^h	21.26±0.16 ^d	54.12±1.52 ^d	211.93±2.16 ^c	1,011.73±2.05
	ใบ	411.77±1.40 ^d	2,690.72±12.17 ^b	14.94±0.12 ^{ef}	57.42±0.43 ^d	135.18±1.24 ^f	3,545.86±3.88
เพาะเลี้ยงใน MS	ราก	1,248.78±3.72 ^a	908.83±7.25 ^e	31.00±0.41 ^c	20.32±0.46 ^f	137.54±3.43 ^f	2,587.72±2.45
	ใบ	590.54±0.72 ^b	1,556.47±14.27 ^c	12.00±0.06 ^f	ND	146.76±2.08 ^e	2,565.34±4.59
เพาะเลี้ยงใน MS+BA2+NAA 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร	ราก	294.86±5.63 ^f	742.30±5.29 ^f	27.60±0.06 ^c	39.89±0.13 ^e	123.63±0.31 ^g	1,266.66±2.52
	ใบ	458.92±3.17 ^c	1,351.55±14.36 ^d	16.78±0.55 ^e	ND	116.38±2.37 ^h	2,226.72±4.53

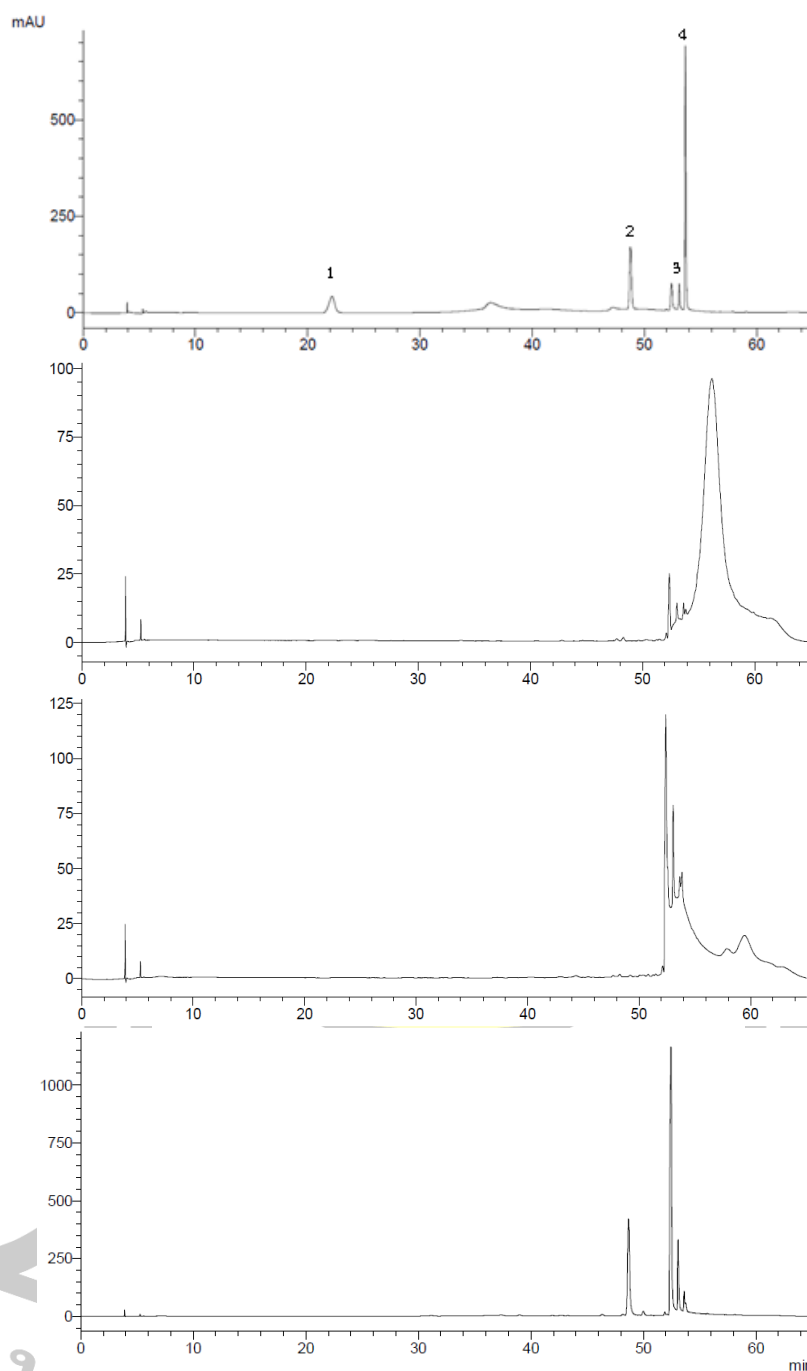
หมายเหตุ ND = ตรวจไม่พบ ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (Mean±SE) ที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ อักษรที่แตกต่างกันทางแนวดิ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT



จากการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารประกอบพลาโวนอยด์ของเปราะหูกะต่ายโดยอ้างอิงจากค่าเวลาคงค้างของสารมาตรฐานสารประกอบพลาโวนอยด์ทั้ง 4 ชนิด พบว่าเปราะหูกะต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติทั้งขึ้นส่วน เหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบ ตรวจพบสารประกอบพลาโวนอยด์ 3 ชนิด ได้แก่ รูทีน เควอซีติน และแคมป์เฟอร์อล ซึ่งตรวจไม่พบคาเทชิน แสดงโครมาโทแกรม (ภาพที่ 23) ในขึ้นส่วนเหง้ามีปริมาณพลาโวนอยด์รวม 395.85 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และมีเควอซีตินมากที่สุด 253.89 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือ แคมป์เฟอร์อล 119.50 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และพบรูทีนน้อยที่สุด 22.46 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ในขึ้นส่วนรากและรากสะสมอาหารมีปริมาณพลาโวนอยด์รวม 1,661.69 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และมีเควอซีตินมากที่สุด 1,019.25 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือ แคมป์เฟอร์อล 586.62 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง พบรูทีนน้อยที่สุด 55.82 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ในขึ้นส่วนใบมีปริมาณสารประกอบพลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด 13,402.33 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และมีรูทีนมากที่สุด 9,213.85 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือ เควอซีติน 3,583.65 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง พบแคมป์เฟอร์อลน้อยที่สุด 604.83 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง เปราะหูกะต่ายในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำเป็นเวลา 1 ปี ทั้งขึ้นส่วน เหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบ ตรวจพบสารประกอบพลาโวนอยด์ 3 ชนิด ได้แก่ รูทีน เควอซีติน และแคมป์เฟอร์อล ซึ่งตรวจไม่พบคาเทชิน แสดงโครมาโทแกรม (ภาพที่ 24) ขึ้นส่วนเหง้ามีปริมาณ พลาโวนอยด์รวม 315 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และมีเควอซีตินมากที่สุด 194.19 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือ แคมป์เฟอร์อล 95.39 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และพบรูทีนน้อยที่สุด 25.94 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ขึ้นส่วนรากและรากสะสมอาหารมีปริมาณพลาโวนอยด์รวม 1,083.43 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และมีเควอซีตินมากที่สุด 642.55 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือ แคมป์เฟอร์อล 413.80 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และพบรูทีนน้อยที่สุด 27.08 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ในขึ้นส่วนใบมีปริมาณพลาโวนอยด์รวมมากที่สุด 6,426.97 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และมีรูทีนมากที่สุด 3,807.88 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือ เควอซีติน 2,168.65 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง พบแคมป์เฟอร์อลน้อยที่สุด 450.44 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง เปราะหูกะต่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช ขึ้นส่วนราก ตรวจพบสารประกอบพลาโวนอยด์ 2 ชนิด ได้แก่ รูทีน และแคมป์เฟอร์อล ซึ่งตรวจไม่พบเควอซีติน และคาเทชิน มีปริมาณพลาโวนอยด์รวม 188.40 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และมีแคมป์เฟอร์อลมากที่สุด 165.67 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง พบรูทีนน้อยที่สุด 22.73 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ขึ้นส่วนใบ ตรวจพบสารประกอบพลาโวนอยด์ 3 ชนิด ได้แก่ รูทีน เควอซีติน และแคมป์เฟอร์อล ซึ่งตรวจไม่พบคาเทชิน มีปริมาณพลาโวนอยด์รวมมากที่สุด 505.48 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และมีรูทีนมากที่สุด 249.78 ไมโครกรัม

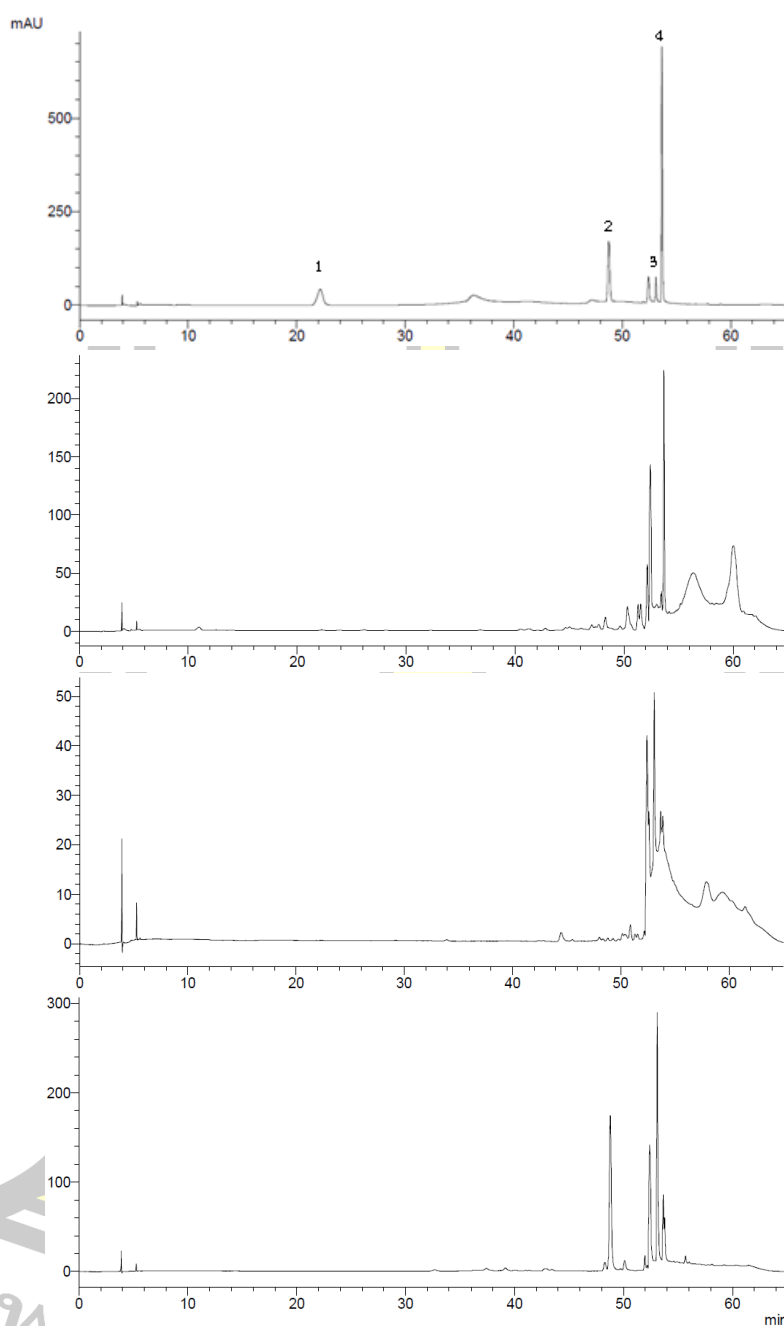
ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือ เควอซิทิน 173.18 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง พบแคมพ์เฟอร์อล น้อยที่สุด 82.52 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (ภาพที่ 25) เพราะหูกกระต่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหาร สูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ขึ้นส่วนราก ตรวจพบ สารประกอบฟลาโวนอยด์ 2 ชนิด ได้แก่ รูทีน และแคมพ์เฟอร์อล ซึ่งตรวจไม่พบเควอซิทิน และคาเท ชิน มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวม 607.15 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และมีแคมพ์เฟอร์อลมากที่สุด 579.26 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง พบรูทีนน้อยที่สุด 27.89 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ขึ้นส่วนใบ ตรวจพบสารประกอบฟลาโวนอยด์ 3 ชนิด ได้แก่ รูทีน เควอซิทิน และแคมพ์เฟอร์อล ซึ่ง ตรวจไม่พบคาเทชิน มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมมากที่สุด 712.22 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และ มีรูทีนมากที่สุด 253.98 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือ แคมพ์เฟอร์อล 233.06 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง พบเควอซิทินน้อยที่สุด 225.18 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง จาก การเปรียบเทียบขึ้นส่วนเพราะหูกกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ (ภาพที่ 26) เปรียบเทียบกับ เพราะหูกกระต่ายในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ 1 ปีและในหลอดทดลองที่เพาะเลี้ยงใน อาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช และในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัม ต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าขึ้นส่วนใบที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ พบ ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงสุด 13,402.33 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือ ขึ้นส่วนใบใน หลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ 1 ปี พบปริมาณฟลาโวนอยด์รวมทั้งหมด 6,426.97 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และขึ้นส่วนรากที่ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการ เจริญเติบโตพืช มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมน้อยที่สุด 188.40 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และ พบว่าปริมาณฟลาโวนอยด์รวม มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p=0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 15





ภาพที่ 23 โครมาโทแกรมแสดงค่าเวลาคงค้างของเปราะหุกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ

- ก. โครมาโทแกรมสารมาตรฐานปริมาณฟลาโวนอยด์
- ข. โครมาโทแกรมในเหง้า
- ค. โครมาโทแกรมในรากและรากสะสมอาหาร
- ง. โครมาโทแกรมในใบ



ก.

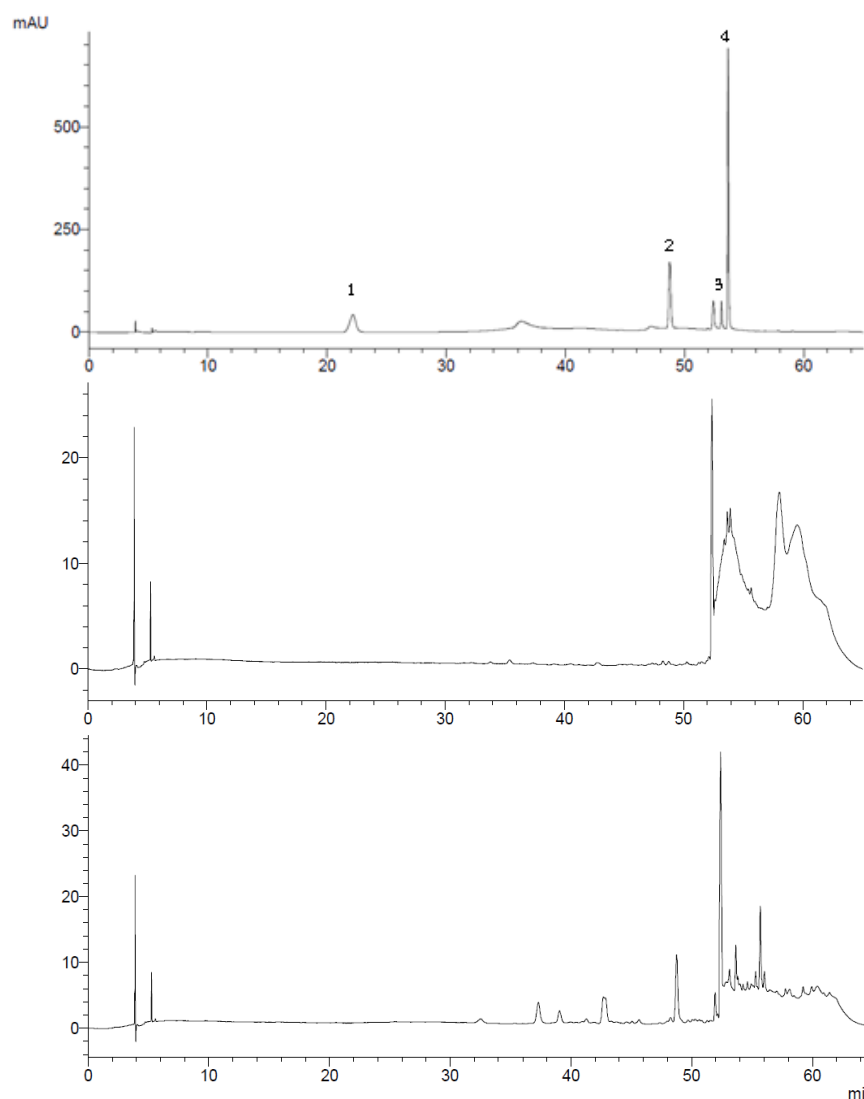
ข.

ค.

ง.

ภาพที่ 24 โครมาโทแกรมแสดงค่าเวลาคงค้างของเปราะหุกระต่ายในหลอดทดลองย้ายออกปลูกใน
เรือนเพาะชำเป็นเวลา 1 ปี

- ก. โครมาโทแกรมสารมาตรฐานปริมาณฟลาโวนอยด์
- ข. โครมาโทแกรมในเหง้า
- ค. โครมาโทแกรมในรากและรากสะสมอาหาร
- ง. โครมาโทแกรมในใบ



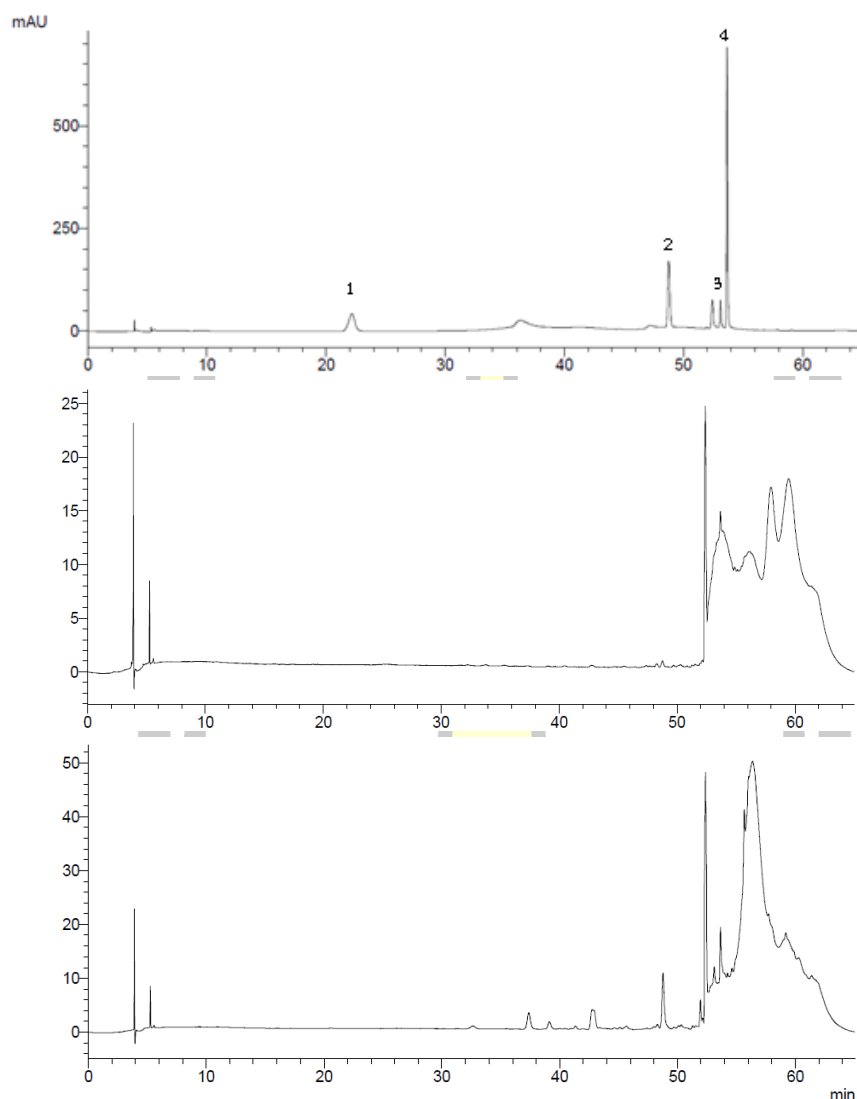
ภาพที่ 25 โครมาโทแกรมแสดงค่าเวลาคงค้างของป्राเซควันเตลที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่ได้เสริมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช

ก. โครมาโทแกรมสารมาตรฐานปริมาณฟลาโวนอยด์

ข. โครมาโทแกรมในราก

ค. โครมาโทแกรมในใบ

พญ. ปณ. จิตโต ชีวะ



ก.

ข.

ค.

ภาพที่ 26 โครมาโทแกรมแสดงค่าเวลาคงค้างของเปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ก. โครมาโทแกรมสารมาตรฐานปริมาณฟลาโวนอยด์

ข. โครมาโทแกรมในราก

ค. โครมาโทแกรมในใบ

พญ. ปณ. จิตโต ชีเว

ตารางที่ 15 ชนิดและปริมาณฟลาโวนอยด์จากชิ้นส่วนต่าง ๆ ของเปราะหูกะต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ เป็นเวลา 1 ปี และในหลอดทดลอง

ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ของเปราะหูกะต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองแล้วย้ายออกปลูก และที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง (ไม่โครกรมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)						
สภาวะที่เจริญเติบโต	ชิ้นส่วนพืช	rutin	quercetin	catechin	kaempferol	ปริมาณรวม
สภาพธรรมชาติ	เหง้า	22.46±0.10 ^e	253.89±1.53 ^e	ND	119.50±1.84 ^g	395.85±0.93
	รากและรากสะสมอาหาร	55.82±0.88 ^d	1,019.25±7.18 ^c	ND	586.62±2.38 ^b	1,661.69±3.29
	ใบ	9,213.85±2.99 ^a	3,583.65±4.74 ^a	ND	604.83±2.22 ^a	13,402.33±1.29
เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ย้ายออกปลูกใน เรือนเพาะชำ 1 ปี	เหง้า	25.94±0.14 ^e	194.19±1.46 ^g	ND	95.39±1.84 ^h	315.52±0.89
	รากและรากสะสมอาหาร	27.08±0.14 ^e	642.55±5.49 ^d	ND	413.80±4.91 ^d	1,083.43±2.94
	ใบ	3,807.88±6.08 ^b	2,168.65±12.64 ^b	ND	450.44±4.95 ^c	6,426.97±4.15
เพาะเลี้ยงใน MS	ราก	22.73±0.02 ^e	ND	ND	165.67±4.88 ^f	188.40±3.44
	ใบ	249.78±4.51 ^c	173.18±3.74 ^h	ND	82.52±0.37 ⁱ	505.48±2.20
เพาะเลี้ยงใน MS+BA2+NAA0.1 มิลลิกรัม/ลิตร	ราก	27.89±0.09 ^e	ND	ND	579.26±3.83 ^b	607.15±2.64
	ใบ	253.98±1.36 ^c	225.18±5.69 ^f	ND	233.06±1.99 ^e	712.22±2.34

หมายเหตุ ND = ตรวจไม่พบ ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (Mean±SE) ที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

พจน ปลูก จิต ชีเว

บทที่ 5 สรุป และอภิปรายผลการวิจัย

5.1 สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

1. ผลของความเข้มข้น BA ร่วมกับ NAA ต่อการชักนำต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายให้เกิดยอดและราก

เมื่อนำต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA ความเข้มข้นแตกต่างกัน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร ชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยมากที่สุด 5.40 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยของ สิทธิศักดิ์ สะสิวรรณและคณะ (2565) เพาะเลี้ยง *Kaempferia koratensis* เป็นเวลา 8 สัปดาห์ บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 4 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร ชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยมากที่สุด 4 ยอด/ชิ้นส่วนพืช สอดคล้องกับงานวิจัยของ Nonthalee et al. (2022) เพาะเลี้ยง *Kaempferia siamensis* เป็นเวลา 8 สัปดาห์ บนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 2 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร ชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยมากที่สุด 7.1 ยอด/ชิ้นส่วนพืช แตกต่างจากงานวิจัยของ Parida et al. (2010) เพาะเลี้ยง *Kaempferia galanga* เป็นเวลา 8 สัปดาห์ บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ IAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยมากที่สุด 11.5 ยอด/ชิ้นส่วนพืช Mohanty et al. (2011) เพาะเลี้ยง *K. galanga* เป็นเวลา 12 สัปดาห์ บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ IAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยมากที่สุด 10.1 ยอด/ชิ้นส่วนพืช Sahoo et al. (2014) เพาะเลี้ยง *K. galanga* เป็นเวลา 12 สัปดาห์ บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ IAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยมากที่สุด 11.33 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และพบว่าต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายมีลักษณะลำต้นเล็ก ใบมีสีเขียว ใบเล็ก ซึ่ง BA เป็นฮอร์โมนในกลุ่มไซโทไคนิน มีผลต่อการกระตุ้นการแบ่งเซลล์ การสังเคราะห์ RNA สังเคราะห์คลอโรฟิลล์ กระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ และควบคุมการเกิดและพัฒนาอวัยวะใหม่ จึงทำให้เกิดยอดใหม่ขึ้น (George et al., 2008) และ BA มีคุณสมบัติเพิ่มอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง (Fuada et al., 2014) อาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัม/ลิตร ชักนำให้เกิดรากเฉลี่ยมากที่สุด 11.90 ราก/ชิ้นส่วนพืช ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยของ Nonthalee et al. (2022) เพาะเลี้ยง *K. siamensis* เป็นเวลา 8 สัปดาห์ บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร ชักนำให้เกิดรากเฉลี่ย 28.3 ราก/ชิ้นส่วนพืช แตกต่างจากงานวิจัยของจิราภรณ์ ผุดพ่องและคณะ (2558) เพาะเลี้ยง *K. larsenii* เป็นเวลา 8 สัปดาห์ บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 2 มิลลิกรัม/ลิตร ชักนำให้เกิดรากเฉลี่ย 8.80 ราก/ชิ้นส่วนพืช Bhatt et al. (2012) เพาะเลี้ยง *K. galanga* บนอาหาร

สูตร MS ที่เติม BA 5 มิลลิกรัม/ลิตร ชักนำให้เกิดรากเฉลี่ยมากที่สุด 31.30 ราก/ชิ้นส่วนพืช Shirin et al. (2000) เพาะเลี้ยง *K. galanga* บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 12 ไมโครโมล ชักนำให้เกิดรากเฉลี่ยมากที่สุด 22.9 ราก/ชิ้นส่วนพืช จากการทดลองในครั้งนี้จะเห็นได้ว่าต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA ต้นอ่อนมีลำต้นที่เรียวยาว ใบมีสีเขียวสด จำนวนรากและความยาวรากมาก มีรากที่แข็งแรง เนื่องจาก NAA เป็นฮอร์โมนในกลุ่มออกซินสามารถกระตุ้นการแบ่งเซลล์ การยืดขยายตัวของเซลล์และกระตุ้นการเกิดราก (Mohammad et al., 2017)

2. ผลของความเข้มข้น Kinetin ร่วมกับ NAA ต่อการชักนำต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายให้เกิดยอดและราก

เมื่อนำต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin ร่วมกับ NAA ความเข้มข้นแตกต่างกัน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin 1 มิลลิกรัม/ลิตร ชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยมากที่สุด 5.30 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยของจิราภรณ์ ผุดผ่องและคณะ (2558) เพาะเลี้ยง *K. larsenii* เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ในอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin 1 มิลลิกรัม/ลิตร ชักนำให้เกิดยอด 3.20 ยอด/ชิ้นส่วนพืช Kochuthressia et al. (2012) เพาะเลี้ยง *K. galanga* เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ในอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin 2 มิลลิกรัม/ลิตร ชักนำให้เกิดยอด 6.42 ยอด/ชิ้นส่วนพืช Bhattacharya & Sen (2013) เพาะเลี้ยง *K. galanga* เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ในอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin 3 มิลลิกรัม/ลิตร ชักนำให้เกิดยอด 3.44 ยอด/ชิ้นส่วนพืช แตกต่างจากงานวิจัยของ Preetha et al. (2013) เพาะเลี้ยง *K. galanga* เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ในอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin 4 มิลลิกรัม/ลิตร ชักนำให้เกิดยอด 2.71 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และพบว่าต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin 2 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัม/ลิตร ชักนำให้เกิดรากเฉลี่ยมากที่สุด 14.50 ราก/ชิ้นส่วนพืช จะเห็นได้ว่าต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin ร่วมกับ NAA จะมีลักษณะลำต้นที่อวบ ยาว แข็งแรง ใบใหญ่ สีเขียว และเมื่อเติม NAA ในความเข้มข้นที่สูงขึ้นจะทำให้เกิดรากเพิ่มขึ้น เนื่องจาก Kinetin เป็นฮอร์โมนในกลุ่มไซโทไคนินที่มีผลในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์ การขยายขนาดของเซลล์ ช่วยในการเจริญของต้น การเกิดหน่อเล็ก ๆ และการเกิดยอด (คำบุญ กาญจนภูมิ, 2542) และ NAA เป็นฮอร์โมนในกลุ่มออกซินสามารถกระตุ้นการแบ่งเซลล์และการเกิดราก (George et al., 2008) จากการศึกษาการเปรียบเทียบความแตกต่างของระดับความเข้มข้นของ BA ร่วมกับ NAA และ Kinetin ร่วมกับ NAA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดและรากของต้นอ่อนเปราะหุกระต่าย พบว่าในอาหารสูตร MS ที่เติม BA เพียงอย่างเดียวจะกระตุ้นการเกิดยอดและรากได้น้อยกว่าการเติมร่วมกับ NAA ที่ความเข้มข้นต่ำ ๆ เนื่องจาก NAA เป็นฮอร์โมนที่สังเคราะห์ขึ้นมาจึงไม่ถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ ปริมาณที่ใช้จึงน้อย (คำบุญ กาญจนภูมิ, 2542) ในขณะเดียวกันเมื่อเติม Kinetin เพียงอย่างเดียวในความเข้มข้นที่ต่ำกว่า 2 มิลลิกรัม/ลิตร จะ

ทำให้เกิดยอดได้ดีเมื่อเติมร่วมกับ NAA จะทำให้เกิดรากได้ดีกว่าการเติม Kinetin เพียงอย่างเดียว ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้พบว่าในอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin ร่วมกับ NAA ทำให้ต้นอ่อนเปราะหักกระต่ายที่นำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีความแข็งแรง ลำต้นอวบ ยาว ใบใหญ่และยาวกว่าการใช้ BA ร่วมกับ NAA ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้นจะต้องมีการควบคุมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชในปริมาณที่เหมาะสมหากใช้ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชที่สูงเกินไป จะทำให้ยับยั้งการเกิดยอดใหม่ และกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์บางชนิด ทำให้เซลล์พืชเป็นอันตรายได้ (Mok & Mok, 1994)

3. ผลของความเข้มข้น BA และ TDZ ร่วมกับ NAA ต่อการชักนำต้นอ่อนเปราะหัก

กระต่ายให้เกิดยอดและราก

เมื่อนำต้นอ่อนเปราะหักกระต่ายมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ TDZ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 3 มิลลิกรัม/ลิตร TDZ 1 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร ชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยมากที่สุด 5.80 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัย Saensouk et al. (2016) เพาะเลี้ยง *Kaempferia marginata* เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ TDZ 1 มิลลิกรัม/ลิตร ชักนำให้เกิดยอด 4.90 ยอด/ชิ้นส่วนพืช แตกต่างจากงานวิจัยของเบญจพร ภูภาบหินและคณะ (2559) เพาะเลี้ยง *Curcuma pierrena* เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 4 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ TDZ 2 มิลลิกรัม/ลิตร ชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยมากที่สุด 4.20 ยอด/ชิ้นส่วนพืช สุกัญญา นนทะลี (2560) เพาะเลี้ยง *Globba annamensis* เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.5 และ 1 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัม/ลิตร ชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยมากที่สุด 5.43 ยอด/ชิ้นส่วนพืช พบว่าต้นอ่อนเปราะหักกระต่ายมีลำต้นสั้น อวบ มียอดขนาดเล็ก ใบขนาดเล็ก สีเขียวอ่อน และพบว่าเมื่อระดับความเข้มข้นของ TDZ สูงขึ้นต้นอ่อนเปราะหักกระต่ายมีความยาวยอดและจำนวนรากลดลง เนื่องจาก TDZ เป็นฮอร์โมนในกลุ่มไซโทไคนิน มีผลทำให้เกิดการแบ่งเซลล์และชักนำให้เกิดต้นพิเศษ (adventitious shoot) (Lu, 1993) และ TDZ มีความเสถียรและออกฤทธิ์คล้าย adenine-type cytokinins ส่วนมากในความเข้มข้นที่ต่ำ TDZ จึงมีประสิทธิภาพสูง (Mok et al., 1987) แต่อย่างไรก็ตาม TDZ มีผลยับยั้งการเกิดรากและความยาวยอด (Huettemann & Preece, 1993) แตกต่างจากงานวิจัยของ Rahman et al. (2005) เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนเหง้าของ *K. galanga* เป็นเวลา 6 สัปดาห์ ในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมนในกลุ่มออกซิน (NAA, IBA และ IAA) ร่วมกับฮอร์โมนในกลุ่มไซโทไคนิน (BA และ Kinetin) พบว่าในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร ชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ย 20.50 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ต้นอ่อนเปราะหักกระต่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด 6.36 เซนติเมตร และมีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 7.90 ราก/ชิ้นส่วนพืช ซึ่งพบว่ามีจำนวน

รากเฉลี่ยมากกว่าในอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ TDZ ร่วมกับ NAA ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยของ สิทธิศักดิ์ สະลิลวรรณและคณะ (2565) เพาะเลี้ยง *K. koratensis* เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัม/ลิตร TDZ 2 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร ชักนำให้เกิด รากเฉลี่ยมากที่สุด 7.40 ราก/ชิ้นส่วนพืช จากการทดลองครั้งนี้ต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงใน อาหารสูตร MS ที่เติม BA และ TDZ ร่วมกับ NAA สามารถชักนำให้เพิ่มจำนวนยอดได้ดี แต่ยอดมี ขนาดเล็ก และเกิดรากจำนวนน้อย ทั้งนี้มีรายงานเพาะเลี้ยงพืชวงศ์ขิงใน อาหารที่เติม TDZ ลงใน อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทำให้ต้นพืชที่เพาะเลี้ยงมีขนาดเล็ก และเกิดรากจำนวนน้อย ได้แก่ *Alpinia galanga* (Baradwaj et al., 2017) *Curcuma soloensis* (Zhang et al., 2011) และ *Kaempferia parviflora* (Park et al., 2021)

4. ผลของความเข้มข้น Kinetin และ TDZ ร่วมกับ NAA ต่อการชักนำต้นอ่อนเปราะหุ กระต่ายให้เกิดยอดและราก

เมื่อนำต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin และ TDZ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าในอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin 2 มิลลิกรัม/ลิตร TDZ 3 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร ชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยมากที่สุด 4.50 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายมีลำต้นสั้น ยอดสั้น ใบเล็ก ซึ่งพบว่ามีจำนวน ยอดมากกว่าต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการ เจริญเติบโตพืช ที่เกิดยอด 3 ยอด/ชิ้นส่วนพืช เนื่องจาก Kinetin เป็นฮอร์โมนในกลุ่มไซโทไคนิน มีผล ต่อการเจริญเติบโตของยอด การขยายของเซลล์และกระตุ้นการแบ่งเซลล์ (คำณูญ กาญจนภูมิ, 2542) ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยของ Reena et al. (2015) นำตายอดของ *Globba marantina* มาเพาะเลี้ยง ในอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin 3 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ชักนำให้เกิดยอด เฉลี่ย 9.5 ยอด/ชิ้นส่วนพืช แตกต่างจากงานวิจัยของ Yaowachai et al. (2020) นำยอดอ่อนของ *Globba globulifera* มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin 5 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัม/ลิตร ชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ย 6.5 ยอด/ชิ้นส่วนพืช Parida et al. (2018) นำตาข้างของ *G. marantina* มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin 3 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ย 9.5 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงใน อาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด 6.66 เซนติเมตร จำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 6.50 ราก/ชิ้นส่วนพืช และความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุด 4.45 เซนติเมตร รากมีขนาดใหญ่ อวบ สีเขียว ปลายรากมีสีขาว ในการทดลองเพาะเลี้ยงต้นอ่อนเปราะหุ กระต่ายในอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin และ TDZ ร่วมกับ NAA จะส่งเสริมการชักนำให้เกิดยอดได้ ดี แต่ยอดที่ได้มีขนาดเล็กและพบการเกิดรากค่อนข้างน้อย ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจะทำให้พืช

เจริญเติบโตได้นั้นขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช ขึ้นส่วนพืช ชนิดพืช สายพันธุ์พืชและระยะการพัฒนาของพืช

5. ผลของวัสดุปลูกที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ

เมื่อนำต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร อายุ 8 สัปดาห์ ทำการปรับสภาพก่อนย้ายออกปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นทำการย้ายออกปลูกในวัสดุปลูก 3 ชนิด ได้แก่ ดินปลูก ดินทราย และดินปลูกผสมดินทราย (1:1) พบว่าต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายที่ปลูกในดินทรายมีอัตราการรอดชีวิตสูงสุด 100% ต้นอ่อนเปราะหุกระต่าย มีลักษณะสมบูรณ์ แข็งแรง ใบสีเขียว และใบมีจำนวนมาก รองลงมาคือต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายที่ย้ายลงปลูกในดินปลูกผสมดินทราย (1:1) มีอัตราการรอดชีวิต 65% ต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายที่ย้ายลงปลูกในดินปลูก มีอัตราการรอดชีวิตน้อยที่สุด 45% ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยของ Saensouk et al. (2016) ศึกษาอัตราการรอดชีวิตของ *K. marginata* ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแล้วย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำในแกลบผสมดินทราย (1:1) เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อน *K. marginata* มีอัตราการรอดชีวิต 100% มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 8.25 ยอด/ต้น ความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 9.49 เซนติเมตร แตกต่างจากงานวิจัยของ Parida et al. (2010) ศึกษาการย้ายออกปลูกต้นอ่อน *K. galanga* ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแล้วย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ ในวัสดุปลูกดิน ทราย และปุ๋ยคอก (1:1:1) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อน *K. galanga* มีอัตราการรอดชีวิต 95% แตกต่างจากงานวิจัยของ Kochuthressia et al. (2012) ศึกษาการย้ายต้นอ่อน *K. galanga* ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแล้วย้ายออกปลูกในดิน ดินทราย และปุ๋ยคอก (1:1:2) เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อน *K. galanga* มีอัตราการรอดชีวิต 100% แตกต่างจากงานวิจัยของ Bhattacharya & Sen (2013) ศึกษาการย้ายต้นอ่อน *K. galanga* ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำในดินผสมทราย (1:1) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อน *K. galanga* มีอัตราการรอดชีวิต 94% แตกต่างจากงานวิจัยของ Sahoo et al. (2014) ศึกษาการย้ายต้นอ่อน *K. galanga* ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อย้ายออกปลูกในสภาพธรรมชาติ ในดินผสมปุ๋ยคอกและดินทราย (1:1:1) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อน *K. galanga* มีอัตราการรอดชีวิต 94% จากการทดลองในครั้งนี้ต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ สามารถสรุปได้ว่าวัสดุปลูกที่เหมาะสมที่สุด คือ ดินทราย เนื่องจากต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายมีอัตราการรอดชีวิตสูงสุด 100% เนื่องจากดินทรายที่ใช้เป็นดินจากพื้นที่ฟาร์มมหาวิทยาลัยมหาสารคาม ดินมีสีเหลือง เนื้อดินมีการเกาะตัวกันหลวม ๆ เนื้อดินเป็นเม็ดเดี่ยว ๆ ระบายน้ำได้ดี และต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายที่ปลูกในดินปลูกผสมดินทราย (1:1) มีอัตราการรอดชีวิตรองลงมาคือ 65% ดินร่วนที่ใช้เป็นดินสำเร็จรูปที่ประกอบด้วยขี้วัวนม แกลบดำ และดิน ซึ่งดินร่วนมีสีดำ ร่วนซุย เนื้อดินค่อนข้างละเอียดนุ่มมือและ

อุ้มน้ำได้ดี ส่วนต้นอ่อนที่ย้ายปลูกในดินปลูกมีอัตราการรอดชีวิต 45% และมีการเจริญเติบโตไม่ค่อยดี ได้แก่ จำนวนยอด ความยาวยอด ความยาวราก จำนวนรากสะสมอาหาร ความยาวรากสะสมอาหาร เส้นผ่าศูนย์กลางรากสะสมอาหาร จำนวนใบ และปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบเมื่อเปรียบเทียบกับต้นอ่อน เพราะหุกระต่ายที่ย้ายปลูกในดินทรายและดินปลูกผสมดินทราย ทั้งนี้ดินทรายนั่นอาจไม่เหมาะสำหรับการปลูกพืชทุกชนิด เนื่องจากพืชบางชนิดมีลักษณะทางกายภาพ ลักษณะของนิเวศวิทยา และลักษณะนิสัยที่แตกต่างกัน การเลือกใช้วัสดุปลูกที่เหมาะสมจึงเป็นสิ่งสำคัญเป็นอย่างมากในการย้ายพืชที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกในเรือนเพาะชำ

6. วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

จากการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ของเปราะหุกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ได้แก่ เหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบ พืชที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำเป็นเวลา 1 ปี ได้แก่ เหง้า ราก และรากสะสมอาหาร และใบ และพืชที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง ได้แก่ ราก และใบ ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช และอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าชิ้นส่วนใบที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติดีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงสุด รองลงมาคือ ใบที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ 1 ปี รากและรากสะสมอาหารที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ รากและรากสะสมอาหารที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ 1 ปี เหง้าที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ เหง้าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ 1 ปี ใบที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชและอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามด้วยรากที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชและอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ใบเปราะหุกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติดีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุดประมาณ 2 เท่า และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงสุดประมาณ 7 เท่า ของใบที่ย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ 1 ปี และใบที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Nonthalee et al. (2023) ศึกษาเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ของ *Kaempferia grandifolia* และ *K. siamensis* ที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ที่ได้จากเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ และเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง พบว่าชิ้นส่วนใบที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติของ *K. grandifolia* มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด 170.24 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด และชิ้นส่วนใบที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติของ *K. grandifolia* มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงสุด 70.24 มิลลิกรัมสมมูลเคอซีตินต่อกรัมสารสกัด

และขึ้นส่วนใบที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติของ *K. siamensis* มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด 233.51 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด และขึ้นส่วนใบที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติของ *K. siamensis* มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงสุด 137.35 มิลลิกรัมสมมูลเคอร์ซีตินต่อกรัมสารสกัด สอดคล้องกับงานวิจัยของ Saensouk et al. (2023) ศึกษาเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของ *K. angustifolia* ที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ และเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง พบว่าขึ้นส่วนใบที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงสุด 343.08 มิลลิกรัมสมมูลรูทีนต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยของ Safriani et al. (2021) ศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดกับปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจากขึ้นส่วนเหง้าของ *Kaempferia galanga* พบว่ามีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 1.53 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 0.82 มิลลิกรัมสมมูลเคอร์ซีตินต่อกรัมน้ำหนักแห้ง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Nonglang et al. (2022) ศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดกับปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด จากขึ้นส่วนเหง้าของ *K. galanga* พบว่ามีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 23.55 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 100 มิลลิกรัมสมมูลรูทีนต่อกรัมน้ำหนักแห้ง Ail et al. (2018) ศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดกับปริมาณ ฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจากขึ้นส่วนเหง้าของ *K. galanga* พบว่ามีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 15.40 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 37.72 มิลลิกรัมสมมูลคาเทชินต่อกรัมน้ำหนักแห้ง จากการศึกษาในเปราะหุกระต่ายพบว่าขึ้นส่วนใบที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงกว่ารากและรากสะสมอาหาร และเหง้า ทั้งนี้เนื่องจากเปราะหุกระต่ายเป็นพืชวงศ์ขิงสกุลเปราะ เป็นพืชล้มลุกอายุหลายปี ในสภาพธรรมชาติพืชจะเจริญเติบโตได้ดีในช่วงฤดูฝน จะมีระยะพักตัวในช่วงฤดูหนาว จากงานวิจัยนี้ได้นำขึ้นส่วนใบ รากและรากสะสมอาหาร รวมทั้งเหง้าของเปราะหุกระต่ายที่เจริญเติบโตในฤดูฝนมาวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ซึ่งพืชจะเก็บสะสมสารอาหารและสารทุติยภูมิไว้ในใบมากกว่าในเหง้า จึงทำให้ใบมีสารมากกว่าขึ้นส่วนอื่น ๆ และขึ้นส่วนใบของเปราะหุกระต่ายที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด สูงกว่าขึ้นส่วนเหง้า และรากและรากสะสมอาหาร ทั้งนี้เนื่องจากเปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้รับธาตุอาหารที่ครบถ้วนตามที่พืชต้องการ ได้รับธาตุอาหารตลอดเวลาและต่อเนื่อง มีการเก็บสะสมธาตุอาหารไว้ที่ใบ และรากเนื่องจากมีการเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก ๆ 1 เดือน จึงทำให้เปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม่สร้างเหง้า เพราะไม่มีระยะพักการเจริญเติบโตในหลอดทดลอง แต่เมื่อนำต้นอ่อนเปราะหุกระต่ายย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ 1 ปี พืชสามารถสร้างเหง้าได้ตามปกติแต่เหง้ามีขนาดเล็ก และเมื่อย้ายเปราะหุกระต่ายออกปลูกในฤดูฝน พืชเจริญเติบโตได้ดี ใบมีสีเขียว เรียวยาว และ

สร้างรากสะสมอาหาร แต่ในช่วงฤดูหนาวพืชจะมีระยะพักตัว จึงอาจทำให้พืชสะสมสารอาหารไว้ที่ใบมากกว่าในเหง้า ทำให้ใบมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงสุด รองลงมาคือ รากและรากสะสมอาหาร และเหง้า จากการศึกษาเปรียบเทียบเปราะหุกระต่ายที่เจริญเติบโตทั้ง 3 สภาวะ ได้แก่ พืชที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ พืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ 1 ปี และพืชที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่า พืชที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ 1 ปี ทั้งขึ้นส่วนเหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดใกล้เคียงกับพืชที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ และมากกว่าพืชที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองแต่ไม่ได้ย้ายออกปลูก (ตารางที่ 10) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากดินที่ใช้ปลูกต้นเปราะหุกระต่ายเป็นดินทราย จากพื้นที่ป่าธรรมชาติ ฟาร์มมหาวิทยาลัยมหาสารคาม ตั้งอยู่ที่พื้นที่ ต.นาสีนวน อ.กันทรวิชัย จ.มหาสารคาม สภาพพื้นที่เป็นป่าเต็งรัง ยังไม่ถูกรบกวนจากสิ่งแวดล้อมภายนอกจึงเหมาะต่อการนำมาใช้เป็นวัสดุปลูกซึ่งลักษณะดินทรายเนื้อดินมีการเกาะตัวกันหลวม ๆ ความสามารถในการอุ้มน้ำน้อย ส่วนดินที่เปราะหุกระต่ายเจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติเป็นดินที่เรียกว่าดินภูเขาไฟ ซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีความอุดมสมบูรณ์ และเป็นพื้นที่ที่เกิดจากหินภูเขาไฟจำพวกหินบะซอลต์ ลักษณะดินเป็นดินเหนียวปนลูกรัง และเป็นดินเหนียวสีแดง โครงสร้างดินดีทำให้มีการระบายน้ำดี ดินไม่ชื้นไม่แฉะ ทำให้สามารถดูดซับน้ำไว้ในปริมาณที่เป็นประโยชน์ต่อพืช และมีธาตุอาหารที่พืชต้องการในปริมาณสูง (กรมพัฒนาที่ดิน, 2547) จากข้อความข้างต้นอาจเป็นไปได้ว่าดินที่เปราะหุกระต่ายเจริญเติบโตในสภาพมีความอุดมสมบูรณ์ มีแร่ธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อพืชจึงทำให้เปราะหุกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงสุด

จากการศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ของเปราะหุกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ได้แก่ เหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบ พืชที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำเป็นเวลา 1 ปี ได้แก่ เหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบ และพืชที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง ได้แก่ ราก และใบ ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช และอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้แก่ ราก และใบ ด้วยวิธี DPPH assay, FRAP assay และ ABTS assay พบว่าขึ้นส่วนใบที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด 6.84 มิลลิกรัมสมมูลโธโรลิกซ์ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH 95.08 เปอร์เซ็นต์ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay 62.64 มิลลิกรัมสมมูลเฟอร์รัสซัลเฟตต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS 7.36 มิลลิกรัมสมมูลกรดแอสคอร์บิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS 99.92 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งค่อนข้างสอดคล้องกับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่พบมากในใบ มากกว่าในรากและรากสะสมอาหาร และเหง้า จากการศึกษาในครั้งนี้ พบว่า

ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระแปรผันตรงกับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด กล่าวคือ หากปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงขึ้นก็จะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดี ซึ่งการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay ใช้โทรลล็อกซ์เป็นสารมาตรฐาน ข้อดีของวิธีนี้คือ ทำได้ง่าย สะดวกต่อการวิเคราะห์ ข้อเสีย คือ เกิดปฏิกิริยาได้ช้า การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay ใช้กรดแอสคอร์บิกเป็นสารมาตรฐาน ข้อดีของวิธีนี้คือ กรดแอสคอร์บิกละลายน้ำได้ แต่เสื่อมสภาพได้เร็ว และ ABTS ทำปฏิกิริยาได้อย่างรวดเร็ว ข้อเสียคือใช้เวลาเตรียม ABTS นาน และการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay ใช้เฟอร์รัสซัลเฟตเป็นสารมาตรฐาน ข้อดีของวิธีนี้ คือ ทำได้ง่าย และรวดเร็ว ข้อเสียคือ ใช้สารเคมีค่อนข้างเยอะและยุ่งยากในการเตรียมสาร ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chumroenphat et al. (2019) ศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในพืชสกุลขิงและสกุลขมิ้น พบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของตัวอย่างมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระซึ่งแปรผันตามกับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้ เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติพวกฟีนอล (phenol) ซึ่งมีความสามารถในการให้ไฮโดรเจน ทำให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์กับจำนวนและตำแหน่งออโร (ortho) โดยเป็นหมู่ที่สามารถให้อิเล็กตรอนได้ง่ายโดยฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจะมีความสัมพันธ์กับจำนวนและตำแหน่งของหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) (โอภา วัชรคุปต์, 2549) จากการวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) กับฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, FRAP และวิธี ABTS พบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99% โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.961, 0.847 และ 0.948 ตามลำดับ ซึ่งมีความสัมพันธ์เชิงบวกและวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (TFC) กับฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, FRAP และวิธี ABTS พบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99% โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.982, 0.743 และ 0.992 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบค่า Pearson Correlation พบว่ามีค่า Pearson Correlation เป็นบวก แสดงว่ามีความสัมพันธ์เชิงบวกต่อกัน ดังนั้นปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีแนวโน้มสอดคล้องกัน ซึ่งการมีค่า DPPH FRAP และ ABTS ที่สูงขึ้นนั้นแสดงว่ามีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดี หมายความว่าหากมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงจะทำให้ฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระสูงขึ้น ซึ่งการที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงขึ้นนั้น แสดงว่าสารสกัดจากเปราะหูกะต่ายมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดี ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Saensouk et al. (2023) ศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของ *Kaempferia angustifolia* เปรียบเทียบกับพืชในสภาพธรรมชาติและพืชที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง ด้วยวิธี DPPH assay และ FRAP assay นำใบแห้ง และรากสะสมอาหารมาสกัดด้วยเอทานอล พบว่าใบที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่

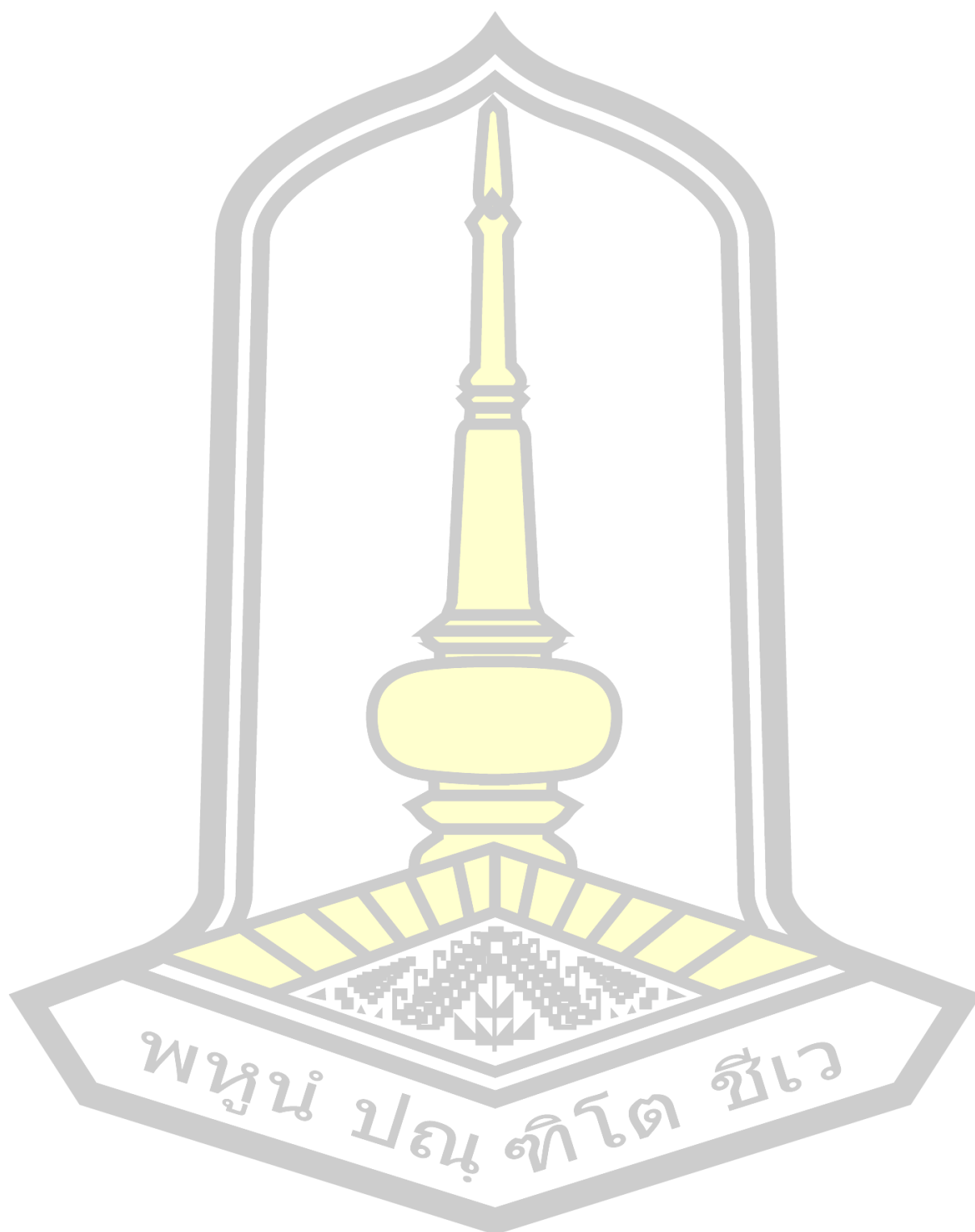
เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) สูงสุด 323.46 มิลลิกรัมสมมูลTroloxต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง และใบที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (FRAP) สูงสุด 166.00 มิลลิกรัมสมมูลเฟอร์รัสซัลเฟตต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง แตกต่างกับงานวิจัยของ Yeap et al. (2017) ศึกษาความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเหง้า และศึกษาตัวทำละลายที่แตกต่างกันใน *K. angustifolia* ด้วยวิธี DPPH assay, ABTS, CUPRAC และ FRAP พบว่าสารสกัดจากเหง้าของ *K. angustifolia* ที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม และเมทานอล มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด 615.92 มิลลิกรัมสมมูลTroloxต่อกรัมน้ำหนักแห้ง เมื่อศึกษาด้วยวิธี DPPH assay สารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอลมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด 38.87 มิลลิกรัมสมมูลTroloxต่อกรัมน้ำหนักแห้งสารสกัด เมื่อศึกษาด้วยวิธี ABTS assay ที่สกัดด้วยเฮกเซน มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด 342.23 มิลลิกรัมสมมูลTroloxต่อกรัมน้ำหนักแห้ง เมื่อศึกษาด้วยวิธี CUPRAC สารสกัดที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตท มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด 342.23 มิลลิกรัมสมมูลTroloxต่อกรัมน้ำหนักแห้ง เมื่อศึกษาด้วยวิธี FRAP assay แตกต่างกับงานวิจัยของ Ali et al. (2018) ศึกษาความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของ *Kaempferia galanga* ด้วยวิธี DPPH assay และ ABTS assay โดยนำเหง้ามาสกัดด้วยเมทานอล พบว่ามีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มีค่า IC_{50} 16.58 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS มีค่า IC_{50} 8.24 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แตกต่างกับงานวิจัยของ Sani et al. (2019) ศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ จากชิ้นส่วนเหง้า ของ *K. galanga* ด้วยวิธี DPPH assay นำเหง้ามาสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเอทานอลพบว่าสกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด และมีค่า IC_{50} 442.44 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน มีค่า IC_{50} 831.82 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสกัดด้วยเอทิลอะซิเตตมีค่า IC_{50} 492.75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แตกต่างกับงานวิจัยของ Nonglang et al. (2022) ศึกษาความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ จากชิ้นส่วนเหง้า ของ *K. galanga* ด้วยวิธี DPPH assay และ ABTS assay นำเหง้ามาสกัดด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มีค่า IC_{50} 1.82 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS มีค่า IC_{50} 0.31 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและ จากการศึกษาการวิเคราะห์ฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของเปราะหุกระต่าย พบว่าชิ้นส่วนใบที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด รองลงมาคือ ใบที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ รากและรากสะสมอาหารที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติและที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ 1 ปี เหง้าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อย้ายออกปลูกในเรือน

เพาะชำ 1 ปีและเหง้าที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ใบที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรและใบในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช และรากที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรและใบในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช ทั้งนี้อาจเนื่องจากเปราะหุกระต่ายเป็นพืชวงศ์ขิง สกุลเปราะา เจริญเติบโตได้ดีในฤดูฝน และมีระยะพักตัวในช่วงฤดูร้อน และฤดูหนาวทำให้พืชเก็บสะสมอาหารและสารทุติยภูมิไว้ที่ใบ จึงทำให้ใบมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่าชิ้นส่วนอื่น ๆ แต่พืชที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองชิ้นส่วนใบมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, FRAP และ ABTS สูงกว่าชิ้นส่วนราก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองจะมีการเปลี่ยนอาหารทุก ๆ 1 เดือน ชิ้นส่วนใบของเปราะหุกระต่าย มีใบสีเขียวอ่อน และมีใบมากกว่า 5 ใบต่อพืช 1 ขวด มีการเจริญเติบโตดี ส่วนรากมีลักษณะอวบยาว บางรากจะมีสีขาว สีเขียว มีรากแขนงจำนวนมาก

การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) ของเปราะหุกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ ได้แก่ เหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบ พืชที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำเป็นเวลา 1 ปี ได้แก่ เหง้า รากและรากสะสมอาหาร และใบ และพืชที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง ได้แก่ ราก และใบ ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช และอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้แก่ ราก และใบ จากการวิเคราะห์พบว่าชิ้นส่วนใบที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติมีปริมาณกรดฟีนอลิกรวมสูงสุด 8,785.62 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งพบปริมาณกรดฟีนอลิกรวมสูงสุดประมาณ 3 เท่าของใบที่ย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ 1 ปี และที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง โดยพบกรดไซรินจิกสูงที่สุด 7,003.07 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง โดยสารไซรินจิกเป็นสารประกอบที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติมักถูกพบในพืชและผลไม้ที่รับประทานได้ (Pacheco-Pelencia et al., 2008; Itoh et al., 2009) ถูกนำไปใช้ประโยชน์ที่หลากหลาย เช่น งานทางด้านเภสัชกรรม ด้านฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Wang et al., 2016; Gao et al., 2018; Zhou et al., 2019) เป็นยาลดไขมัน (Vinayagam, 2010) และมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Lee et al., 2012; Ham et al., 2016) การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม พบว่าชิ้นส่วนใบที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงสุด 13,402.33 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งพบปริมาณฟลาโวนอยด์ประมาณ 26 เท่าของใบที่ย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ 1 ปี และที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง โดยพบรูทีนสูงที่สุด 9,213.85 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รูทีนเป็นสารประกอบฟลาโวนอยด์ที่สังเคราะห์ขึ้นโดยพืชชั้นสูง เพื่อป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ต เป็นสารประกอบฟลาโวนอยด์ที่พบมากในธรรมชาติ มักถูกนำมาใช้ประโยชน์ต่าง ๆ เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูล

อิสระ ป้องกันและรักษาการเกิดภาวะอักเสบ และป้องกันการสะสมไขมันที่ผิวหน้าของเลือด (โอภา วัชรคุปต์ และคณะ, 2550; โรสวันย์ พิริยะสมบูรณ์, 2553) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Chumroenphat et al. (2021) ศึกษาปริมาณของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของขมิ้น (*Curcuma longa* L.) โดยวิเคราะห์ปริมาณกรดฟีนอลิกและปริมาณฟลาโวนอยด์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี ของเหลวสมรรถนะสูง พบว่าองค์ประกอบของกรดฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในขมิ้นเป็นกรดไฮดรอกซีเบนโซอิก ได้แก่ กรดแกลลิก กรดโพรโตคาทิซุอิก และกรดไฮดรอกซีเบนโซอิก และกรดไฮดรอกซีซินนามิก ได้แก่ กรดคลอโรจีนิก กรดคาเฟอิก กรดคูมาริก กรดเฟอร์ูลิก และกรดซินแนฟพิก พบว่ากรดฟีนอลิกเหล่านี้มีความโดดเด่นเนื่องจากมีโครงสร้างคาร์บอนเป็นองค์ประกอบ ทั้งอนุพันธ์ของกรดเบนโซอิก และกรดซินนามิก มีสารตั้งต้นจากการสังเคราะห์ทางชีวภาพจาก aromatic amino acid L-phenylalanine ซึ่งสังเคราะห์ขึ้นเองจาก chorismite ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ขั้นสุดท้ายในวิถีชิคิเมท (shikimate pathway) อย่างไรก็ตามการเพิ่มขึ้น การลดลง หรือการตรวจไม่พบสารสำคัญดังกล่าวของกรดฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ในตัวอย่างเปราะหุกระต่ายที่ทำการศึกษอาจเกิดจากกระบวนการวิถีชีวสังเคราะห์ (biosynthetic pathway) ที่แตกต่างกันและการสะสมสารสำคัญต่าง ๆ ไว้ในส่วนพืชที่ต่างกัน รวมถึงการเกิดกระบวนการย่อยสารประกอบฟีนอลจากเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase) ซึ่งเกิดขึ้นในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง (Chumroenphat et al., 2021) จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าชิ้นส่วนใบที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติมีปริมาณกรดฟีนอลิกสูงสุดและชิ้นส่วนใบที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อย้ายออกปลูก 1 ปี มีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงสุด อาจเนื่องมาจากเปราะหุกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต เช่น แสง อุณหภูมิ และงานวิจัยนี้ได้เก็บตัวอย่างเปราะหุกระต่ายมาจากพื้นที่ป่า อำเภอกันทรลักษ์ จังหวัดศรีสะเกษ ซึ่งเป็นพื้นที่ที่ใช้ปลูกทุเรียนศรีสะเกษ หรือเรียกว่า ทุเรียนภูเขาไฟ ซึ่งดินที่ใช้ปลูกบริเวณนั้นว่าดินภูเขาไฟ ลักษณะของเนื้อดินเป็นดินร่วนปนทรายหรือดินทรายปนดินร่วน สีนํ้าตาลเข้ม หรือสีนํ้าตาลปนแดงเข้ม หรือสีนํ้าตาลปนเหลืองเข้ม อาจพบชั้นกรวดหรือลูกรังในดินชั้นล่าง ธาตุอาหารในดิน พบปริมาณฟอสฟอรัส ปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่มาก และมีปริมาณของแคลเซียม โซเดียม แมกนีเซียมในปริมาณที่ต่ำ มีปริมาณแมงกานีส สังกะสี และเหล็กที่เป็นประโยชน์อยู่มาก (กองสำรวจและจำแนกดิน, 2543) จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นทำให้ชิ้นส่วนใบของเปราะหุกระต่ายที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ มีปริมาณสารสำคัญมากกว่าเปราะหุกระต่ายที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดทดลอง จึงมีการสะสมปริมาณกรดฟีนอลิกและปริมาณฟลาโวนอยด์ไว้ที่ใบมากกว่าหรืออาจเป็นเพราะในธรรมชาติมีสารอาหารบางชนิดหรือปัจจัยแวดล้อมอื่น ๆ ที่ในหลอดทดลองไม่สามารถสร้างขึ้นมาได้ดังนั้นจึงยังต้องมีการศึกษาข้อมูลเพิ่มเติมที่มากขึ้นอีกต่อไป

บรรณานุกรม



- กนกพร อะทะวงษา. (2561). *ว่านชักมดลูกสมุนไพรวัยทอง*. สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 1-8.
- กมลทิพย์ สุวรรณเดช และดวงใจ สุขเฉลิม. (2550). การศึกษาอนุกรมวิธานของพืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae) ในพื้นที่ป่าทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี. *รายงานวิจัยโครงการ BRT ชุดโครงการทองผาภูมิตะวันตก มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์*, 197-208.
- กมลทิพย์ ไหลไผ่ทอง, สมปอง เตชะโต และทัศนีย์ ขาวเนียม. (2561). การพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดของกระชายดำในหลอดทดลอง. *วารสารพืชศาสตร์ สงขลานครินทร์*, 5(1): 13-18.
- กรมพัฒนาที่ดิน. 2547. คู่มือการวิเคราะห์ตัวอย่างดิน น้ำ ปุ๋ย พืช วัสดุปรับปรุงดิน และการวิเคราะห์เพื่อตรวจรับรองมาตรฐานสินค้า เล่มที่ 1. สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- กสิ ภูมิ ทวนคง. (2562). สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากถั่วเหลืองกับคุณสมบัติต่อร่างกาย. *Food Focus Thailand*, 14(157)48-49. สืบค้นจาก <http://www.foodfocusthailand.com/eBook/157/mobile/index.html#p=48>. (สืบค้นเมื่อวันที่ 1 กุมภาพันธ์ 2565).
- กิตติพัฒน์ โสภิตธรรมคุณ และปานทิพย์ รัตนศิลป์ภัทลชาญ. (2560). การสกัดและวิธีวัดความสามารถการต้านอนุมูลอิสระในพืชสมุนไพร. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ*. 3(1): 84-96.
- กองสำรวจและจำแนกดิน. 2543. คู่มือการจำแนกความเหมาะสมของดินสำหรับพืชเศรษฐกิจของประเทศไทย. กองสำรวจและจำแนกดิน กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- คงศักดิ์ พร้อมเทพ, ปรียานันท์ แสนโกชน์ และพันธิตรา กมล. (2555). การสำรวจพรรณไม้วงศ์ขิงในเขตรักษาพันธุ์ป่าห้วยขาแข้ง จังหวัดอุทัยธานี. *วารสารนเรศวร พะเยา*. 5(1): 1-7.
- คำบุญ กาญจนภูมิ. (2542). *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช*. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. หน้า 29-30.
- จิราภรณ์ ผุดผ่อง, สุรพล แสนสุข และปิยะพร แสนสุข. (2558). การขยายพันธุ์เปราะราศี (*Kaempferia larsenii* Sirirugsa) ในหลอดทดลองเพื่อการอนุรักษ์พืชหายากในประเทศ. *วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*, 43(4): 673-687.
- เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหนาม. (2554). อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ: แหล่งที่มาและกลไกการเกิดปฏิกิริยา. *วารสารวิชาการ มหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์*, 1(1): 59-70.

- ณัฐิกา ศีลาฉาย. (2548). ฟลาโวนอยด์ในใบชา : หน้าที่การใช้ประโยชน์ และการวิเคราะห์. *วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม*, 2(1): 2-10.
- ณัฐริ ไพสิฐสกุลนาท, เยาวพา จิระเกียรติกุล และภาณุมาศ ฤทธิไชย. (2565). ผลของ MeJA และ SA ต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ ไทโรซิเนสของยอดมหาหงส์ในสภาพปลอดเชื้อ. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 30(1): 74-84.
- ดลัด ศิริวัน. (2551). *พฤษเคมี สารต้านอนุมูลอิสระในอาหาร*. ของขวัญธรรมชาติ อาหาร. 38(1): 45-48.
- ธารหทัย มาลาเวช. (2559). ผลของสารสกัดสมุนไพรขมิ้นชันต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus*. *รายงานการวิจัยมหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช*, 1-52.
- บุหริน พันธุ์สวรรค์. (2556). อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 21(3): 275-286.
- เบญจพร ภูคาบหิน, สุรพล แสนสุข และปิยะพร แสนสุข. (2559). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมหาอุตมแดง (*Curcuma pierreana* Gagnep.) เพื่อการอนุรักษ์พืชหายากในประเทศไทย. *วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*, 44(2): 294-306.
- ปิยะเนตร จันทร์ถิระติกุล. (2560). *เอกสารประกอบคำสอนการวิเคราะห์ทางเคมีเชิงปริมาณ*. มหาสารคาม: ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.
- ปิยะพร แสนสุข. (2563). *เอกสารประกอบคำสอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช*. มหาสารคาม: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.
- พวงเพ็ญ ศิริรักษ์. (2551). การศึกษาพืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae) ในประเทศไทย. *วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร*, 5(2): 119-128.
- ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. (ม.ป.ป.). High performance liquid chromatography, HPLC. สืบค้นจาก www.env.eng.chula.ac.th/?=contene/high-performance-liquid-chromatography,hplc. (สืบค้นเมื่อวันที่ 1 กุมภาพันธ์ 2565).
- มนทิณี กมลธรรม, สะไบทอง ภูมิคอนสาร และสุภาวดี ชนะพาล. (2559). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสมุนไพรกระชายดำ. *วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์*, 3(3): 74-78.
- แมน อมรสิทธิ์ และอมร เพชรสม. (2539). *หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ*. กรุงเทพฯ: ชวนพิมพ์.
- โรสวันย์ พิริยะสมบูรณ์. (2553). *อาหารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ตัวการโรคร้าย* ปัจจัยเสื่อม. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : Feel Good Publishing.

- ลลิตา อีระสิริ. (2542). ผักพื้นบ้าน : อาหารต้านโรค. รวมบทความการประชุมวิชาการ ผักพื้นบ้าน และอาหารพื้นบ้าน 4 ภาค.
- ลือชัย บุตคุป. (2554). สารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ทางชีวภาพ. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม*, 31(4): 443-455.
- วิภพ สุทชนะ. (2556). ฤทธิ์ต้านมะเร็งของพลาโนนอยด์ : กลไกการออกฤทธิ์. *วารสารศรีนครินทร์เวชสาร*, 28(4): 567-582.
- วิภาวรรณ นิละพงษ์, บุษบา ผลโยธิน และวันแข็ง สิทธิกิจโยธิน. (2561). การสกัดสาระสำคัญจากสมุนไพรไทย: การสกัดด้วยไอน้ำและการสกัดด้วยตัวทำละลาย. *วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ*, 28(4): 901-910.
- ศิรินิตย์ ธารธาดาม และปฐมพร อำนาจอนันต์. (2561) เทคโนโลยี Fourier transform infrared spectroscopy: ทฤษฎีและการประยุกต์ใช้. *วารสารวิทยาศาสตร์สุขภาพสัตว์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์*, 2(1): 29-33.
- ศุภชาติ ธรรมนิติเวช. (2562). การสกัดสารสีจากใบพืชสำหรับใช้ในการศึกษาทางสรีรวิทยาของพืช. *วารสารเกษตรนเรศวร*, 16(1): 73-81.
- สำนักงานพัฒนาการจัดการทรัพยากรสินทางปัญญาและนวัตกรรม มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง. (2562). เครื่อง FTIR-raman spectrometer. สืบค้นจาก http://stdb.most.go.th/equipment_detail.aspx?id=13624. (สืบค้นเมื่อวันที่ 1 กุมภาพันธ์ 2565).
- สุกัญญา นนทะลี, สุรพล แสนสุข และปิยะพร แสนสุข. (2560). การขยายพันธุ์ว่านเข้าพรรษา (*Globba annamensis* Gagnep.) ในหลอดทดลองเพื่อการอนุรักษ์พืชหายากในประเทศไทย. *วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*, 45(4): 858-872.
- สุรพล แสนสุข. (2554). พืชถิ่นเดียวและพืชหายากของวงศ์ขิง ข่าในประเทศไทย. *วารสารวิจัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น*, 16(3): 306-330.
- สุรพล แสนสุข, ปิยะพร แสนสุข และณชยุต จันทร์โชติกุล. (2560). ความหลากหลายและการใช้ประโยชน์พื้นบ้านของพืชวงศ์ขิงในจังหวัดหนองคาย ประเทศไทย. *วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*, 45(3): 574-594.
- สุรียา ทุดปอ และจิตรา สิงห์ทอง. (2560). สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของแก่นตะวันที่มีอายุการเก็บเกี่ยวต่างกัน. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี*, 19(3): 45-57.

- สิทธิศักดิ์ สะสิวรรณ, สุรพล แสนสุข และปิยะพร แสนสุข (2565). การขยายพันธุ์ในหลอดทดลองของเปราะโคราช (*Kaempferia koratensis* Pichens.) พืชถิ่นเดียวของประเทศไทย. *วารสารวิทยาศาสตร์ คชสาร*, 44(1): 1-13.
- หนูเดือน เมืองแสน, ดวงกมล แม้นศิริ, พอ เจ โกรติ, ฐิติพร มะชิโกวา และปิยะพร แสนสุข. (2561). การอนุรักษ์และขยายพันธุ์พืชวงศ์ขิงที่หายากและมีคุณค่าทางเศรษฐกิจ ภายใต้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี. *รายงานวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี*, 1-102.
- หนูเดือน เมืองแสน, ปิยะพร แสนสุข และสุรพล แสนสุข. (2562). การอนุรักษ์และขยายพันธุ์พืชหายากสกุลเปราะและสกุลหงส์เหิน (วงศ์ขิง) ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อภายใต้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี. *รายงานการวิจัย สาขาชีววิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี*. 82 หน้า.
- อรุณรัตน์ สันติจิตวินสกุล. (2563). *สเปกโตรสโกปีสำหรับเคมีอินทรีย์*. โครงการตำรามหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม. ประจำปีงบประมาณ 2563.
- อ้อมใจ วงษ์มณฑา. (2556). *ผักพื้นบ้านและอาหารพื้นเมืองในการรักษาโรค*. นักวิชาการอุดมศึกษา สถาบันวัฒนธรรมศึกษากัลยาณิวัฒนา.
- โอภา วัชรคุปต์, ปรีชา บุญจุง, จันทนา บุญยรัตน์ และมาลีรักษ์ อัดดีสินทอง. (2550). *สารต้านอนุมูลอิสระ* (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพมหานคร : นิเวศมิตรการพิมพ์.
- Al-Duais, M., Müller, L., Böhm, V. & Jetschke, G. (2009). Antioxidant capacity & total phenolics of *Cyphostemma digitatum* before & after processing: use of different assays. *European Food Research & Technology*, 228(1): 813-821.
- Ali, H., Yesmin, R., Satter, M. A., Habib, R. & Yeasmin, T. (2018). Antioxidant and antineoplastic activities of methanolic extract of *Kaempferia galanga* Linn. rhizome against Ehrlich ascites carcinoma cells. *Journal of King Saud University-Science*, 30(3): 386-392.
- Apak, R., Gorinstein, S., Böhm, V., Schaich, K. M., Özyürek, M. & Güçlü, K. (2013). Methods of measurement & evaluation of natural antioxidant capacity/activity (IUPAC Technical Report). *Pure & Applied Chemistry*, 85(5): 957-998.

- Baradwaj, R. G., Rao, M. V. & Senthil, K. T. (2017). Curbing actinomycetes and thidiazuron enhanced micropropagation in the rare *Alpinia galanga*—a medicinal Zingiber. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(7): 1-6.
- Bhattacharya, M. & Sen, A. (2013). *In vitro* regeneration of pathogen free *Kaempferia galanga* L. - A rare medicinal plant. *Research in Plant Biology*, 3(3): 24-30.
- Boonma, T., Saensouk, S. & Saensouk, P. (2020). Two new species of *Kaempferia* L. (Zingiberaceae) from Thailand. *Taiwania*, 65(3): 371.
- Boonma, T., Saensouk, S. & Saensouk, P. (2023). Diversity and traditional utilization of the Zingiberaceae plants in Nakhon Nayok Province, Central Thailand. *Diversity*, 15(8): 904.
- Chaisuwan, V., Dajanta, K. & Srikaeo, K. (2022). Effects of extraction methods on antioxidants and methoxyflavones of *Kaempferia parviflora*. *Food Research*, 6(3), 374-81.
- Chirangini, P., Sinha, S. K. & Sharma, G. J. (2005). *In vitro* propagation and microrhizome induction in *Kaempferia galanga* Linn. and *K. rotunda* Linn. *Indian Journal of Biotechnology*, 4(1): 404-408.
- Chithra, M., Martin, K. P., Sunandakumari, C. & Madhusoodanan, P. V. (2005). Protocol for rapid propagation, and to overcome delayed rhizome formation in field established *in vitro* derived plantlets of *Kaempferia galanga* L. *Scientia Horticulturae*, 104(1): 113-120.
- Chong, Y. H., Khalafalla, M. M, Bhatt, A. & Chan, L. K. (2012). The effects of culture systems and explant incision on *in vitro* propagation of *Curcuma zedoaria* Roscoe. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, 35(4): 863-874.
- Chumroenphat, T., Somboonwatthanakul, I., Saensouk, S. & Siriamornpun, S. (2019). The diversity of biologically active compounds in the rhizomes of recently discovered Zingiberaceae. *Pharmacognosy Journal*, 11(5): 1014-1022.
- Chumroenphat, T., Somboonwatthanakul, I., Saensouk, S. & Siriamornpun, S. (2021). Changes in curcuminoids and chemical components of turmeric (*Curcuma longa* L.) under freeze-drying and low-temperature drying methods. *Food Chemistry*, 339(1): 1-9.

- Fuadi, M., Mohamed, M. T. M., Salleh, N. S., Anwar, M. P., Awang, Y. & Fauzi, R. M. (2014). Effect of different concentrations of benzyladenine and frequency of watering on growth and quality of *Dracaena sanderiana* and *Codiaeum variegatum*. *Journal of Environmental Biology*, 35(6): 1047-1052.
- Gao, S., Wang, Y., Yu, S., Huang, Y., Liu, H., Chen, W. & He, X. (2020). Effects of drought stress on growth, physiology, and secondary metabolites of two Adonis species in Northeast China. *Scientia Horticulturae*, 259(1): 1-10.
- Gao, Y., Guo, X., Liu, Y., Fang, Z., Zhang, M., Zhang, R. & Liu, R. H. (2018). A full utilization of rice husk to evaluate phytochemical bioactivities and prepare cellulose nanocrystals. *Scientific Reports*, 8(1): 1-8.
- George, E. F., Hall, M. A. & De Klerk, G. J. (2008). *Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition*. Netherland: The Background Springer.
- Goula, A. M., Ververi, M., Adamopoulou, A. & Kaderides, K. (2017). Green ultrasound-assisted extraction of carotenoids from pomegranate wastes using vegetable oils. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34: 821-830.
- Govea-Salas, M., Rivas-Estilla, A. M., Ascacio-Valdés, J., Zugasti-Cruz, A., Rodríguez-Herrera, R., Belmares-Cerda, R. & Morlett-Chávez, J. (2018). Gallic acid as a putative antioxidant in usage against liver disease. In *The Liver Academic Press*. 317-322.
- Ham, J. R., Lee, H. I., Choi, R. Y., Sim, M. O., Seo, K. I. & Lee, M. K. (2016). Anti-steatotic and anti-inflammatory roles of syringic acid in high-fat diet-induced obese mice. *Food & Function*, 7(2): 689-697.
- Haque, S. M. & Ghosh, B. (2018). Micropropagation of *Kaempferia angustifolia* Roscoe - an aromatic, essential oil yielding, underutilized medicinal plant of Zingiberaceae family. *Journal of Crop Science & Biotechnology*, 21(2): 147-153.
- Huetteman, C. A. & Preece, J. E. (1993). Thidiazuron: a potent cytokinin for woody plant tissue culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 33: 105-119.

- Ibemhal, A., Laishram, J., Dhananjay, C., Naorem, B. & Toijam, R. (2012). *In vitro* induction of multiple shoot & root from the rhizome of *Kaempferia galanga* L. *NeBIO - An international Journal of Environment & Biodiversity*, 3(3): 46-50.
- Itoh, A., Isoda, K., Kondoh, M., Kawase, M., Kobayashi, M., Tamesada, M. & Yagi, K. (2009). Hepatoprotective effect of syringic acid and vanillic acid on concanavalin a-induced liver injury. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 32(7): 1215-1219.
- Jagtap, S. (2015). Preliminary phytochemical screening & antioxiddant activity of rhizome extracts of *Kaempferia scaposa* (Nimmo) Benth. *Journal of Academia & Industrial Research*, 31(2): 614-620.
- Jenjittikul, T. & Ruchisansakun, S. (2020). *Kaempferia albiflora* (Zingiberaceae), a new species from Thailand. *Kew Bulletin*, 75(1): 1-5.
- Jia, Z., Tang, M. & Wu, J. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry & their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(1): 555-559.
- Kalpana, M. & Anbazhagan, M. (2009). *In vitro* production of *Kaempferia galanga* L. an endangered medicinal plant. *Journal of Phytology*, 1(1): 56-61.
- Khadim, R. M. & Al-Fartusie, F. S. (2021). Antioxidant vitamins and their effect on immune system. In *Journal of Physics: Conference Series*, (pp 1-12). Bagdad: Iraq.
- Kochuthressia, K. P., Britto, S. J., Jaseentha, M. O. & Raphael, R. (2012). *In vitro* antimicrobial evaluation of *Kaempferia galanga* L. rhizome extract. *American Journal Biotechnology Mol Scimago*, 2(1): 1-5.
- Kubola, J. & Siriamornpun, S. (2011). Phytochemicals & antioxidant activity of different fruit fractions (peel, pulp, aril & seed) of Thai gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng). *Food Chemistry*, 127(3): 1138-1145.
- Labrooy, C., Abdullah, T. L. & Stanslas, J. (2020). Influence of N6-benzyladenine and sucrose on *in vitro* direct regeneration and microrhizome induction of *Kaempferia parviflora* Wall. ex Baker, an important ethnomedicinal herb of Asia. *Tropical Life Sciences Research*, 31(1): 123.

- Larsen, K. & Larsen, S. S. (2006). *Gingers of Thailand*. Chiang Mai, Thailand: Queen Sirikit Botanic Garden.
- Lee, M. H., Kang, H., Lee, K., Yang, G., Ham, I., Bu, Y. & Choi, H. Y. (2013). The aerial part of *Taraxacum coreanum* extract has an anti-inflammatory effect on peritoneal macrophages *in vitro* and increases survival in a mouse model of septic shock. *Journal of Ethnopharmacology*, 146(1): 1-8.
- Li, D., Li, B., Ma, Y., Sun, X., Lin, Y. & Meng, X. (2017). Polyphenols, anthocyanins, and flavonoid contents and the antioxidant capacity of various cultivars of highbush and half-high blueberries. *Journal of Food Composition and Analysis*, 62: 84-93.
- Liang, N. & Kitts, D. D. (2014). Antioxidant property of coffee components: assessment of methods that define mechanisms of action. *Molecules*, 19(11): 19180-19208.
- Lu, C. Y. (1993). The use of thidiazuron in tissue culture. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 29(1): 92-96.
- Mohammad, M. K., Mohd, Z., Nik, N. N. & Nashriyah, M. A. T. (2017). Effects of Naphthalene acetic acid (NAA) on the plant growth and sugars effects on the cut flowers Mokara Chark Kuan orchid. *BioScience Journal*, 33(1): 19-30.
- Mohanty, S., Parida, R., Singh, S., Joshi, R., Subudhi, E. & Nayak, S. (2011). Biochemical & molecular profiling of micropropagated & conventionally grown *Kaempferia galanga*. *Plant Cell, Tissue & Organ Culture*, 106(1): 39-46.
- Mok, D. W. & Mok, M. C. (1994). Cytokinin Chemistry, Activity, and Function. Florida: CRC Press.
- Mok, M., Mok, D., Turner, J. & Muejer, C. (1987). Biological and biochemical effects of cytokinin-active phenylurea derivatives in tissue culture systems. *HortScience*, 22(6): 1194-1197.
- Murashige, T. & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assay with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*, 15: 473-497.

- Nonglang, F. P., Khale A. & Bhan, S. (2022). Phytochemical characterization of the ethanolic extract of *Kaempferia galanga* rhizome for anti-oxidant activities by HPTLC and GCMS. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 8(1): 1-12.
- Nonthalee, S., Maneechai, S., Saensouk, S. & Saensouk, P. (2022). *In vitro* propagation, microrhizome induction, and evaluation of genetic variation by RAPD markers of *Kaempferia siamensis* Siriruga. *Propagation of Ornamental Plants*, 22(1): 11-22.
- Nonthalee, S., Maneechai, S., Saensouk, S. & Saensouk, P. (2023). Comparative phytochemical profiling (GC-MS and HPLC) and evaluation of antioxidant activities of wild, *in vitro* cultured and greenhouse plants of *Kaempferia grandifolia* Saensouk and Jenjitt and *Kaempferia siamensis* Siriruga; rare plant species in Thailand. *Pharmacognosy Magazine*, 19(1): 156-167.
- Pacheco-Palencia, L. A., Mertens-Talcott, S. & Talcott, S. T. (2008). Chemical composition, antioxidant properties, and thermal stability of a phytochemical enriched oil from acai (*Euterpe oleracea* Mart.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(12): 4631-4636.
- Panyakaew, J., Chalom, S., Sookkhee, S., Saiai, A., Chandet, N., Meepowpan, P., Thavorniyutikarn, P. & Mungkornasawakul, P. (2021). *Kaempferia* sp. extracts as UV protecting and antioxidant agents in sunscreen. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 27(1): 37-56.
- Parida, R., Mohanty, S. & Nayak, S. (2018). *In vitro* plant regeneration potential of genetically stable *Globba marantina* L., Zingiberaceous species and its conservation. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 88(1): 321-327.
- Parida, R., Mohanty, S., Kuanar, A. & Nayak, S. (2010). Rapid multiplication & *in vitro* production of leaf biomass in *Kaempferia galanga* through tissue culture. *Electronic Journal of Biotechnology*, 13(4): 1-8.

- Park, H. Y., Kim, K. S., Ak, G., Zengin, G., Cziáky, Z., Jekő, J., Adaikalam, K., Song, K., Kim, D. H. & Sivanesan, I. (2021). establishment of a rapid micropropagation system for *Kaempferia parviflora* Wall. Ex Baker: phytochemical analysis of leaf extracts and evaluation of biological activities. *Plants*, 10(4): 1-24.
- Payet, B., Shum Cheong Sing, A. & Smadja, J. (2005). Assessment of antioxidant activity of cane brown sugars by ABTS & DPPH radical scavenging assays: determination of their polyphenolic & volatile constituents. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 53(26): 10074-10079.
- Pellegrini, N. (2003). Total antioxidant capacity of plant, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different *in vitro* assays. *The Journal of Nutrition*, 133(9): 2812-2819.
- Picheansoonthon, C. & Koonterm, S. (2009). A new species of *Kaempferia* L. (Zingiberaceae) from Northeastern Thailand. *Taiwania*, 54(1): 52-56.
- Preetha, T., Hemanthakumar, A. & Krishnan, P. (2013). Shoot tip cryopreservation by vitrification in *Kaempferia galanga* L. an endangered, overexploited medicinal plant in tropical Asia. *IOSR Journal of Pharmacy & Biological Science*, 8(3): 19-23.
- Rachkeeree, A., Kantadoung, K., Puangpradub, R. & Suksathan, R. (2020). Phytochemicals, antioxidants and anti-tyrosinase analyses of selected ginger plants. *Pharmacognosy Journal*, 12(4): 872-883.
- Rahman, M. M., Amin, M. N., Ahamed, T., Ahmad, S., Habib, I. A., Ahmed, R., Ahmed M.B. & Ali, M. R. (2005). *In vitro* rapid propagation of black thorn (*Kaempferia galanga* L.): A rare medicinal and aromatic plant of Bangladesh. *Journal of Biological Sciences*, 5(3): 300-304.
- Rahman, M.N., Amin, M.N., Ahamed, T., Ali, M.R. & Habib, A. (2004). Efficient plant regeneration through somatic embryogenesis from leaf base-derived callus of *Kaempferia galanga* L. *Asian Journal of Plant Sciences*, 3(6): 675-678.
- Rahman, Z., Othman, A. N., Ghazalli, M. N. & Adlan, N. A. S. (2022). Micropropagation of *Kaempferia angustifolia* Roscoe via direct regeneration. *American Journal of Plant Sciences*, 13(6): 734-743.

- Rahman, Z. A., Shukor, S. A., Abbas H., Machap, C. A. L., Alias, M. S. B., R., Sofiyan, S. & Otman, A. N. (2018). Optimization of extraction conditions for total phenolics & total flavonoids from *Kaempferia parviflora* rhizomes. *Advances In Bioscience & Biotechnology*, 9: 205-214.
- Rajasekharan, P. E., Ambika, S. R. & Ganeshan, S. (2009). *In vitro* regeneration and conservation of *Kaempferia galanga*. *IUP Journal of Genetics & Evolution*, 2(2): 235-243.
- Reena, P., Sujata, M. & Sanghamitra, N. (2015). Rapid and stable propagation of Globba marantina L., an important medicinal plant of family Zingiberaceae. *In Annual International Conference on Advances in Biotechnology*, (pp 2251-2489). India: Singapore.
- Rivero-Pérez, M. D., Muñiz, P. & Gonzalez-Sanjósé M. L. (2007). Antioxidant profile of red wines evaluated by total antioxidant capacity, scavenger activity, & biomarkers of oxidative stress methodologies. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 55(14): 5476–5483.
- Saensouk, P., Muangsang, N., Saensouk, S. & Sirinajun, P. (2016). *In vitro* propagation of *Kaempferia marginata* Carey ex Roscoe, a native plant species to Thailand. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 26(5): 1405-1410.
- Saensouk, S., Yaowachai, W., Chumroenphat, T., Nonthalee, S. & Saensouk, P. (2023). *In vitro* regeneration, transplantation and phytochemical profiles of *Kaempferia angustifolia* Roscoe. *Natulae Botanicae Horti Agrobotanicae Cluj-Napoca*, 51(4): 1-21.
- Safriani, N., Rungkat, F. Z., Yuliana, N. D. & Prangdimurti, E. (2021). Immunomodulatory and antioxidant activities of select Indonesian vegetables, herbs, and spices on human lymphocytes. *International Journal of Food Science*, 8: 1-12.
- Sahoo, S., Parida, R., Singh, S., Padhy, R. N. & Nayak, S. (2014). Evaluation of yield, quality & antioxidant activity of essential oil of *in vitro* propagated *Kaempferia galanga* Linn. *Journal of Acute Disease*, 3(2): 124-130.

- Sani, S. A., Faik, A. M., Abdulla, R. & Kunasekaran, S. (2019). Phytochemical, antioxidant and antibacterial activities of two kinds of Sabah Zingberaceae. *In Journal of Physics: Conference Series*, (pp 1-11). Kota Kinabalu, Sabah, Malaysia.
- Shirin, F., Kumar, S. & Mishra, Y. (2000). *In vitro* plantlet production system for *Kaempferia galanga*, a rare Indian medicinal herb. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 63: 193-197.
- Staurt, B. (2004). *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Application*. John Wiley and Sons, Ltd., West Sussex, England. DOI:10 040011149.
- Stratakos, A. C. & Koidis, A. (2016). Methods for extracting essential oils. *In Essential Oils in Food Preservation, Flavour and Safety*, (pp 31-38). Academic Press.
- Suksamrarn, A., Ponglikitmongkol, M., Wongkrajang, K., Chindaduang, A., Kittidanairak, S., Jankam, A. & Piyachaturawat, P. (2008). Diarylheptanoids, new phytoestrogens from the rhizomes of *Curcuma comosa*: Isolation, chemical modification and estrogenic activity evaluation. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16(14): 6891-6902.
- Suphrom, N., Sonyot, W., Insumrong, K., Sawangsup, P., Sutamuang, P. & Ingkaninan, K. (2017). GC-MS analysis and *in vitro* anti-androgenic activity of *Kaempferia rotunda* Linn extract. *Naresuan University Journal: Science and Technology (NUJST)*, 25(4): 34-43.
- Swapna, T. S., Binitha, M. & Manju, T. S. (2004). *In vitro* multiplication in *Kaempferia galanga* Linn. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 118(1): 233-241.
- Tian, X. & Schaich, K. M. (2013). Effects of molecular structure on kinetics and dynamics of the trolox equivalent antioxidant capacity assay with ABTS+. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(23): 5511-5519.
- Trimanto, T. (2017). Ginger species in besiq bermai forest, East Borneo: inventory and collection. *Global Resource Conservation AIP Conference Proceedings*, 1844: 050001-1-050002-9.

- Varghese, B. A., Nair, R., Jude, S., Varma, K., Amalraj, A. & Kuttappan, S. (2021). Green synthesis of gold nanoparticles using *Kaempferia parviflora* rhizome extract and their characterization and application as an antimicrobial, antioxidant and catalytic degradation agent. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 126(1): 166-172.
- Vinayagam, R. (2010). Preventive effect of syringic acid on hepatic marker enzymes and lipid profile against acetaminophen-induced hepatotoxicity rats. *International Journal Pharmaceutical Biological Archives*, 1(4): 393-398.
- Vipunungeun, N., Palanuvej, C. & Ruangrunsi, N. (2007). Essential oil from *Kaempferia angustifolia* rhizome: chemical composition & antimicrobial activities. *Journal of Health Research*, 21(4): 275-278.
- Wang, S., Mateos, R., Goya, L., Amigo-Benavent, M., Sarriá, B. & Bravo, L. (2016). A phenolic extract from grape by-products and its main hydroxybenzoic acids protect Caco-2 cells against pro-oxidant induced toxicity. *Food and Chemical Toxicology*, 88(1): 65-74.
- Yaowachai, W., Saensouk, S. & Saensouk, P. (2020). *In vitro* propagation and determination of total phenolic compounds, flavonoid contents and antioxidative activity of *Globba globulifera* Gagnep. *Pharmacognosy Journal*, 12(6): 1740-1747.
- Yeap, Y., Kassim, N., Ng, R., Ee, G., Yazan, L. & Musa, K. (2017). Antioxidant properties of ginger (*Kaempferia angustifolia* Rosc.) & its chemical markers. *International Journal of Food Properties*, 20(1): 1158-1172.
- Yushkova, Y. V., Chernyak, E. I., Gatilov, Y. V., Vasil'ev, V. G., Morozov, S. V. & Grigor'ev, I. A. (2018). Synthesis, structure, antioxidant activity, and water solubility of trolox ion conjugates. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 26(1): 84-92.
- Zhang, S., Liu, N., Sheng, A., Ma, G. & Wu, G. (2011). Direct and callus-mediated regeneration of *Curcuma soloensis* Valetton (Zingiberaceae) and *ex vitro* performance of regenerated plants. *Scientia Horticulturae*, 130(4): 899-905.

- Zhou, X., Huang, S., Wang, P., Luo, Q., Huang, X., Xu, Q. & Chen, X. (2019). A syringic acid derivative and two iridoid glycosides from the roots of *Stachys geobombycis* and their antioxidant properties. *Natural Product Research*, 33(5): 681-686.
- Zuraida, A. R., Izzati, K. F. L., Nazreena, O. A. & Omar, N. (2015). *In vitro* microrhizome formation in *Kaempferia parviflora*. *Annual Research & Review in Biology*, 5(5): 460-467.



ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาวรัตติยา พงจันทร์
วันเกิด	21 มีนาคม 2542
สถานที่เกิด	โรงพยาบาลนางรอง อำเภอนางรอง จังหวัดบุรีรัมย์
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	291/3 หมู่ 18 ต.โคกมะม่วง อ.ปะคำ จ.บุรีรัมย์ 31220
ตำแหน่งหน้าที่การงาน	นิสิตคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2560 มัธยมศึกษาตอนปลายโรงเรียนนางรอง อำเภอนางรอง จังหวัดบุรีรัมย์ พ.ศ. 2564 ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วทบ. ชีววิทยา) สาขาชีววิทยาคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม พ.ศ. 2566 ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วทม. ชีววิทยา) สาขาชีววิทยาคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
ทุนวิจัย	ทุนอุดหนุนการวิจัยสำหรับนิสิตระดับบัณฑิตศึกษา งบประมาณรายได้ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ประจำปีงบประมาณ 2566
ผลงานวิจัย	รัตติยา พงจันทร์, สุรพล แสนสุข และปิยะพร แสนสุข. (2567). ผลของความแตกต่างของสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชต่อการเพาะเลี้ยงประาหุกระต่ายในหลอดทดลอง. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา มหาวิทยาลัยบูรพา. 29(1): 75-99.

พูน ปณ จิต ชีเว