การใช้น้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรเพื่อรักษาคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง พันธุ์ KPS292

THE USE OF PEPPERMINT ESSENTIAL OIL FOR SEED QUALITY MAINTENANCE OF SOYBEAN CULTIVAR KPS292

ณัฐกิติ ภู่รื่น
NATTHAKITI PHURUEN

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเกษตรศาสตร์
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2559
KMITL-2016-AG-M-065-215

การใช้น้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่เพื่อรักษาคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง พันธุ์ KPS292

THE USE OF PEPPERMINT ESSENTIAL OIL FOR SEED QUALITY MAINTENANCE OF SOYBEAN CULTIVAR KPS292

ณัฐกิติ ภู่รื่น

NATTHAKITI PHURUEN

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเกษตรศาสตร์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2559

KMITL-2016-AG-M-065-215

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

THE USE OF PEPPERMINT ESSENTIAL OIL FOR SEED QUALITY MAINTENANCE OF SOYBEAN CULTIVAR KPS292

NATTHAKITI PHURUEN

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE IN AGRICULTURE

FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2016

KMITL-2016-AG-M-065-215

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2016

FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การใช้น้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่เพื่อรักษาคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292

The use of peppermint essential oil for seed quality maintenance of soybean cultivar KPS292

นักศึกษา นายณัฐกิติ ภูรื่น

รหัสประจำตัว 56604088

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา เกษตรศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร.มณทินี ธีรารักษ์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม -

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์		ลายมือชื่อ
รศ.ดร.จำรูญ	เล้าสินวัฒนา	
รศ.ดร.อารมย์	ศรีพิจิตต์	
ผศ.ดร.ธีรวัฒน์	ศรุตโยภาส	
ผศ.ดร.อำมร	อินทร์สังข์	
ผศ.ดร.มณทินี	ธีรารักษ์	

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

วัน / เดือน/ ปี ที่สอบ 24 พฤษภาคม 2559

สถานที่สอบ ห้องประชุมคณะเทคโนโลยีการเกษตร 1 (ชั้น 1 ตึกบุนนาค L)

คณบดีรับรองแล้ว

มณทิน เทียมณี

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มณฑล แก่นมณี)

คณบดีคณะเทคโนโลยีการเกษตร

วันที่ 27 เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การใช้น้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่เพื่อรักษาคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง พันธุ์ KPS292
นักศึกษา	นายณัฐกิติ ภู่รื่น
รหัสประจำตัว	56604088
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เกษตรศาสตร์
พ.ศ.	2559
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มณทินี ธีรารักษ์

บทคัดย่อ

การเกิดกระบวนการลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation) เป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.) Merr.) ในระหว่างการเก็บรักษา วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ (*Mentha piperita* L.) ต่อการส่งเสริมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ภายใต้สภาพการเร่งอายุ และต่อการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีบางประการของเมล็ดพันธุ์ โดยแบ่งเป็น 4 การทดลอง

การทดลองแรกเพื่อประเมินความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่มีค่า IC_{50} หรือค่าความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่ยับยั้งปริมาณของอนุมูลอิสระลดลงครึ่งหนึ่งของปริมาณอนุมูลอิสระทั้งหมดโดยวิธีกำจัดอนุมูล DPPH เท่ากับ 92,856.82 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่า IC_{50} ของความสามารถในการแย่งจับกับโลหะไอออน Fe^{2+} เท่ากับ 989.13 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่า IC_{50} ของความสามารถในการต้าน lipid peroxidation เท่ากับ 4,466.74 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้ค่า EC_{50} ของความสามารถในการรีดิวซ์ของน้ำมันหอมระเหย เท่ากับ 157,632.53 มิลลิกรัมต่อลิตร

การทดลองที่สองเพื่อศึกษาผลของการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ต่อการงอก และการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีบางประการของเมล็ดพันธุ์ พบว่าเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ผ่านการเร่งอายุ เป็นระยะเวลา 0, 1, 2, 3 และ 4 วัน มีความงอก เท่ากับ 87.50, 85.00, 79.00, 47.50 and 39.50% ตามลำดับ นอกจากนี้ยังชักนำให้เกิดการรั่วไหลของสารที่มีประจุ และปริมาณสาร malondialdehyde (MDA) เพิ่มสูงขึ้น และมีกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสลดต่ำลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่สามเพื่อศึกษาอิทธิพลของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ ต่อการงอก และการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีบางประการของเมล็ดพันธุ์ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 3, 6, 10, 20 และ 40 ไมโครลิตรต่อลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าการรมเมล็ดพันธุ์ ที่ระดับความเข้มข้น 20 และ 40 ไมโครลิตรต่อลิตร ทำให้ความงอกลดลง อย่างไรก็ตามไม่มีผลต่อการรั่วไหลของสารที่มีประจุ และปริมาณสาร MDA ในทุกระดับความเข้มข้น แต่มีผลทำให้กิจกรรมเอนไซม์ไลเปสลดลงหลังเพาะเมล็ดพันธุ์ เป็นเวลา 0 และ 6 ชั่วโมง

การทดลองสุดท้ายเพื่อศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง โดยการรมเมล็ดพันธุ์ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 3, 6, 10, 20 และ 40 ไมโครลิตรต่อลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนการเร่งอายุเป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ มีความงอกสูงที่สุดเท่ากับ 87.50 เปอร์เซ็นต์ มีกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสเกิดขึ้นสูงที่สุด มีการรั่วไหลของสารที่มีประจุ และปริมาณสาร MDA ต่ำที่สุด ซึ่งตรงข้ามกับเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเร่งอายุ และไม่ได้ผ่านการรมด้วยน้ำมันหอมระเหย มีความงอกต่ำที่สุดเท่ากับ 47.50 เปอร์เซ็นต์ กิจกรรมเอนไซม์ไลเปสเกิดขึ้นต่ำที่สุด มีการรั่วไหลของสารที่มีประจุ และปริมาณสาร MDA สูงที่สุด ส่วนเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้น 10 ไมโครลิตรต่อลิตร ช่วยลดการสูญเสียการงอกที่เกิดจากการเร่งอายุ โดยมีความงอกเท่ากับ 70.00 เปอร์เซ็นต์ มีกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสสูง มีการรั่วไหลของประจุ และปริมาณสาร MDA ต่ำกว่า เมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเร่งอายุ

สรุป น้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่มีความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH ความสามารถในการจับกับโลหะไอออน Fe^{2+} ความสามารถในการรีดิวซ์ และความสามารถในการต้าน lipid peroxidation การเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองมีผลทำให้ความงอกของเมล็ดพันธุ์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การรั่วไหลของสารที่มีประจุ และปริมาณสาร MDA เพิ่มสูงขึ้น และมีกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสลดต่ำลง ส่วนเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ที่ความเข้มข้น 20 และ 40 ไมโครลิตรต่อลิตร ทำให้ความงอกลดลงมาก และพบว่ามีผลเพียงเล็กน้อยต่อกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส ส่วนเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ ที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครลิตรต่อลิตร และนำไปผ่านการเร่งอายุ พบว่าสามารถช่วยรักษาคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ โดยมีความงอก และกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสสูง ส่วนการรั่วไหลของประจุ และปริมาณสาร MDA ต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเร่งอายุ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	The Use of Peppermint Essential Oil for Seed Quality Maintenance of Soybean cultivar KPS292
Student name	Mr. Natthakiti Phuruen
Student ID	56604088
Degree	Master of Science
Program	Agriculture
Year	2016
Advisor	Assist. Prof. Dr. Montinee Teerarak

Abstract

Lipid peroxidation processes are considered as the primary cause of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) seed deterioration during storage**.** The aims of this investigation were to explore the efficacy of peppermint essential oil (*Mentha piperita* L.) on enhancing the quality of soybean seed cultivar KPS292 under accelerated aging conditions and to study the influence some biochemical changes which took place within the soybean seed. The present investigation consisted of four experiments.

The first experiment was to evaluate antioxidant activities of essential oil of peppermint. It was shown that the half maximal inhibitory concentration (IC_{50}) values were 92,856.82 mg/L for DPPH radical-scavenging activity, 989.13 mg/L for metal chelating activity and 4,466.74 mg/L for inhibition of lipid peroxidation. Moreover, reducing power ability of essential oil of peppermint with half maximal effective concentration (EC_{50}) value was 157,632.53 mg/L.

The second experiment was to study effect of accelerated aging on seed germination and some biochemical changes of the soybean seed. Accelerated aging seeds at 42°C with relative humidity of 100% for 0, 1, 2, 3 and 4 days exhibited germination capacity of 87.50, 85, 79, 47.50 and 39.50%, respectively. In addition, aging seeds performed increase of electrolyte leakage and malondialdehyde (MDA) content and decrease of lipase activity.

The third experiment was to study influence of peppermint essential oil with different rates of 0, 3, 6, 10, 20 and 40 µl/L for 24 h on seed germination and some biochemical changes of the soybean seed during germination. Peppermint essential oil at the rates of 20 and 40 µl/L

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

remarkably reduced seed germination of soybean. However, there was no significant effect on electrolyte leakage and MDA content at all essential oil concentrations. The lipase activity was decreased at the highest rate at 0 and 6 h after sowing.

The last experiment was to study the pretreatment of soybean seeds with peppermint essential oil at the rates of 0, 3, 6, 10, 20 and 40 µl/L for 24 h before accelerated aging treatment at 42°C with relative humidity of 100% for 3 day on seed quality and some biochemical changes of seeds. The results showed that non-aging seeds (control) had the highest germination percentage of 87.5% along with the highest lipase activity as well as both the lowest MDA content and electrolyte leakage. In contrast to that of aging seeds (untreated essential oil) had the lowest germination of 47.5% along with the lowest lipase activity as well as both the highest MDA content and electrolyte leakage. Seeds pretreatment with peppermint essential oil at the rate of 10 µl/L significantly alleviated the aging induced loss of the percentage of seed germination, showing germination capacity of 70%. In peppermint essential oil treated seeds and then accelerated aging, the rates of increase of MDA content and electrolyte leakage and that of decrease of lipase activity were much less than accelerated aging seeds (untreated essential oil).

These findings indicated that essential oil of peppermint is responsible for antioxidant activities of DPPH radical scavenger, ion chelating activity, reducing power, and anti-lipid peroxidation. Accelerated aging resulted in a statistically significant decrease in seed germination which occurred along with the increase of MDA content and electrolyte leakage and decrease of lipase activity. Soybean seeds fumigated with essential oil of peppermint at the rates of 20 and 40 µl/L remarkably reduced seed germination rate and the both treatments showed a little effect on lipase activity. Seeds pretreatment with peppermint essential oil at 10 µl/L and then accelerated aging significantly alleviated the aging induced loss of the seed germinability and the increase of MDA content and electrolyte leakage as well as decrease of lipase was also slowed down.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เรื่อง การใช้น้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่เพื่อรักษาคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 เล่มนี้ สำเร็จอย่างสมบูรณ์ได้ด้วยความช่วยเหลือจากหลายท่าน ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.มณทินี ธีรารักษ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์เป็นอย่างสูง ที่ให้คำปรึกษาและให้คำแนะนำการแก้ไขปัญหาต่างๆ ในการจัดทำวิทยานิพนธ์เรื่องนี้ จนทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้เสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.จำรูญ เล้าสินวัฒนา ผศ.ดร.ธีรวัฒน์ ศรุตโยภาส รศ.ดร.อารมย์ ศรีพิจิตต์ และ ผศ.ดร.อำมร อินทร์สังข์ กรรมการสอบหัวข้อ และโครงร่างวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำตลอดจนข้อชี้แนะในการจัดทำวิทยานิพนธ์เล่มนี้

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ และเจ้าหน้าที่สาขาเกษตรศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่มีส่วนช่วยให้การทำงานวิจัยประกอบวิทยานิพนธ์ดำเนินไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ พี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ นักศึกษาปริญญาโททุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์เรื่องนี้เป็นอย่างดีมาโดยตลอด

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และทุกๆ คนในครอบครัว ที่ให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจในการศึกษาตลอดมาจนสำเร็จสมบูรณ์ด้วยดี

ท้ายสุดนี้หากมีข้อผิดพลาดประการใด ข้าพเจ้าขออภัยเป็นอย่างสูง ในข้อบกพร่องและความผิดพลาดนั้น และหวังเป็นอย่างยิ่งว่าวิทยานิพนธ์เล่มนี้ คงมีประโยชน์ไม่มากก็น้อยสำหรับผู้ที่มีความสนใจในด้านนี้

ณัฐกิติ ภูรี่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... III
กิตติกรรมประกาศ..... V
สารบัญ..... VI
สารบัญตาราง..... IX
สารบัญภาพ..... X
บทที่ 1 บทนำ..... 1
1.1 ที่มาและความสำคัญ..... 1
1.2 วัตถุประสงค์..... 3
1.3 ขอบเขตของงาน..... 3
1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ..... 3

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 4
2.1 อาการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์..... 4
2.2 การเสื่อมสภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง..... 7
2.3 การตรวจสอบการงอกของเมล็ดพันธุ์..... 8
2.4 การตรวจสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์..... 9
2.5 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์..... 11
2.6 เอนไซม์ Lipase ภายในเมล็ด..... 12
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ในสภาวะเครียด..... 14
2.8 อนุมูลอิสระ…..... 16
2.9 สารต้านการเกิดออกซิเดชัน..... 17
2.10 น้ำมันหอมระเหยและคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ..... 24

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ..... 31
3.1 อุปกรณ์การทดลอง..... 31
3.2 วิธีการทดลอง..... 32
3.3 สถานที่ดำเนินการทดลอง..... 44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.4 ระยะเวลาดำเนินการ..... 44

บทที่ 4 ผลการทดลอง..... 45

4.1 การทดลองที่ 1 ศึกษาประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่..... 45

4.2 การทดลองที่ 2 ศึกษาคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ภายหลังการเร่งอายุ..... 53

4.3 การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ ต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ 60

4.4 การทดลองที่ 4 ศึกษาผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ และนำไปผ่านการเร่งอายุต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์..... 68

บทที่ 5 วิจารณ์ผลการทดลอง..... 79

5.1 การทดลองที่ 1 ศึกษาประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่..... 79

5.2 การทดลองที่ 2 ศึกษาคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ภายหลังการเร่งอายุ..... 81

5.3 การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ ต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์... 83

5.4 การทดลองที่ 4 ศึกษาผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ และนำไปผ่านการเร่งอายุต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์..... 84

บทที่ 6 สรุปผลการทดลอง..... 86

6.1 สรุปผลการทดลอง..... 86

6.2 ข้อเสนอแนะ..... 87

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บรรณานุกรม..... 88
ประวัติผู้เขียน..... 96

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 ตัวอย่างสารประกอบเบนซีนอยด์ที่พบในน้ำมันหอมระเหย…….. 26

4.1 ผลของการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ต่อเปอร์เซ็นต์ต้นกล้าปกติ ต้นกล้าผิดปกติ เมล็ดสดไม่งอก และเมล็ดตาย……..... 54

4.2 ผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ต่อเปอร์เซ็นต์ต้นกล้าปกติ ต้นกล้าผิดปกติ เมล็ดสดไม่งอก และเมล็ดตาย……..... 62

4.3 ผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำไปเร่งอายุ เป็นระยะเวลา 3 วัน ต่อเปอร์เซ็นต์ต้นกล้าปกติ ต้นกล้าผิดปกติ เมล็ดสดไม่งอก และเมล็ดตาย……..... 71

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

2.1 ลักษณะอาการที่เกิดขึ้นในขณะที่เมล็ดเสื่อมคุณภาพ..... 6

2.2 โครงสร้างของ Ascorbic acid (วิตามินซี)..... 19

2.3 โครงสร้างของ Tocopherol (วิตามินอี)..... 20

2.4 A ไอโวพรีน (C_2H_4) และ B การต่อกันแบบ head-to-tail ของไอโซพรีน 2 หน่วย..... 25

4.1 ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ด้วยวิธีการกำจัดอนุมูล DPPH ของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ (A) เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน กรด ascorbic (B) และ butylated hydroxytoluene (C)..... 46

4.2 ความสามารถในการแย่งจับกับโลหะไอออน Fe^{2+} (Metal chelating activity) ของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ (A) เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน ethylene-dinitrilotetraacetic acid (B)..... 48

4.3 ความสามารถในการรีดิวซ์ (Reducing power activity) ของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ (A) เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน กรด ascorbic (B)..... 50

4.4 ความสามารถในการต้านการเกิดปฏิกิริยา Lipid-peroxidation ของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่(A) เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน กรด ascorbic (B) และ butylated hydroxytoluene (C)..... 52

4.5 ผลของการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ต่อความงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง..... 54

4.6 ผลของการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ต่อลักษณะต้นกล้าถั่วเหลือง..... 55

4.7 ผลของการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ต่อค่าการนำไฟฟ้าของสารที่รั่วไหลออกจากเมล็ด ที่เวลา 30, 60, 90 และ 120 นาที..... 56

4.8 ผลของการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ต่อปริมาณสาร malondialdehyde ที่เวลา 0, 6 และ 12 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์..... 58

4.9 ผลของการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ต่อกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส ที่เวลา 0, 6 และ 12 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์..... 59

4.10 ผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ต่อความงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง..... 61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4.11 ผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ต่อลักษณะต้นกล้าถั่วเหลือง..... 63

4.12 ผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ต่อค่าการนำไฟฟ้าของสารที่รั่วไหลออกจากเมล็ด ที่เวลา 30, 60, 90 และ 120 นาที..... 65

4.13 ผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ต่อปริมาณสาร malondialdehyde ที่เวลา 0, 6 และ 12 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์..... 66

4.14 ผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ต่อกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส ที่เวลา 0, 6 และ 12 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์..... 68

4.15 ผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำไปเร่งอายุ เป็นระยะเวลา 3 วัน ต่อความงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง..... 70

4.16 ผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำไปเร่งอายุ เป็นระยะเวลา 3 วัน ต่อลักษณะต้นกล้าถั่วเหลือง..... 72

4.17 ผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำไปเร่งอายุ เป็นระยะเวลา 3 วัน ต่อค่าการนำไฟฟ้า ของสารที่รั่วไหลออกจากเมล็ด ที่เวลา 30, 60, 90 และ 120 นาที..... 74

4.18 ผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำไปเร่งอายุ เป็นระยะเวลา 3 วัน ต่อปริมาณสาร malondialdehyde ที่เวลา 0, 6 และ 12 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์..... 76

4.19 ผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำไปเร่งอายุ เป็นระยะเวลา 3 วัน ต่อกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส ที่เวลา 0, 6 และ 12 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์..... 78

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ถั่วเหลืองฝักสด *Glycine max* (L.) Merr. เป็นพืชอาหารคุณภาพที่คนไทยเริ่มรู้จักและหันมารับประทานกันมากขึ้น เนื่องจากถั่วเหลืองฝักสดเป็นพืชที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง นอกจากนี้ยังมี phytoestrogen เป็นสารธรรมชาติที่ได้มาจากพืช ประกอบด้วยสารสำคัญ คือ lignans, coumestans, resorcyclic acid lactones และ isoflavones แหล่งที่พบ isoflavones พบมากในถั่วเขียว ถั่วลันเตา แต่ที่พบว่าอุดมสมบูรณ์ที่สุด คือ ถั่วเหลือง isoflavones ซึ่งเป็นสารที่ช่วยลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคหัวใจ ลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคมะเร็งเต้านม มะเร็งต่อมลูกหมาก ลดอาการวัยทอง (Tham *et al*. 1998) การปลูกถั่วเหลืองฝักสดในประเทศไทยยังไม่มาก เนื่องจากเมล็ดพันธุ์หายาก พันธุ์ที่ใช้ปลูกส่วนใหญ่เป็นพันธุ์เชียงใหม่ 1 ปัจจุบันประเทศไทยดำเนินการส่งออกถั่วเหลืองฝักสดแช่แข็งโดยบริษัทเอกชนในรูปแบบครบวงจร ปริมาณการส่งออกปีละประมาณ 10,000 ตัน มูลค่าประมาณ 800 ล้านบาท ประเทศผู้นำเข้าที่สำคัญคือ ญี่ปุ่น และสหรัฐอเมริกา พันธุ์ที่ใช้ส่งออกคือ AGS259 และพันธุ์ NO.75 แหล่งผลิตส่วนใหญ่อยู่ภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดกำแพงเพชรเพชร เชียงราย เชียงใหม่ พิษณุโลก สุโขทัย ลำปาง อุตรดิตถ์ น่าน พะเยา ลำพูน เพชรบูรณ์ และอุทัยธานี

เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองประกอบด้วยน้ำมันปริมาณมาก โดยไขมันชนิดต่างๆ เหล่านี้ จะอยู่ในผนังเมมเบรนในส่วนย่อยของเซลล์และในโครงสร้างต่างๆ ของเซลล์ โดยทั่วไปแล้วเมล็ดพันธุ์ที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบหลักจะเสื่อมสภาพเร็วกว่าพวกที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบหลัก โดยมีรายงานว่าการเกิดกระบวนการลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น (lipid peroxidation) ทำให้ไขมันถูกทำลาย และก่อให้เกิดสารพิษขึ้นหลายชนิด ซึ่งมีผลเสียต่อความมีชีวิตและการทำงานภายในเซลล์ เกิดการเปลี่ยนแปลงของผนังเมมเบรนจนผนังเมมเบรนเสียสภาพไม่สามารถทำหน้าที่ได้อย่างปกติ นอกจากนี้ยังทำให้ไมโทคอนเดรียบวมพองจนมีโครงสร้างที่ผิดปกติไป (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ. 2549) และในระหว่างที่เมล็ดงอกจะมีการย่อยสารอาหาร และการหายใจ ซึ่งก่อให้เกิดอนุมูลอิสระเข้าทำลายเซลล์ต่างๆ (Khan *et al*. 2006) ทำให้ความงอกของเมล็ดพันธุ์ลดลง ละอองดาว แสงหล้า และคณะ (2554) ศึกษาคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองฝักสดและความสามารถในการเก็บรักษา จำนวน 4 พันธุ์ พบว่าสายพันธุ์ MJ0108-11-5 พันธุ์ Kaori และ KPS292 (หรือ AGS292) สามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องได้นาน 3 เดือน ส่วนสายพันธุ์ MJ0101-4-6 สามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องได้เพียง 2 เดือน ส่วนการเก็บรักษาในห้องควบคุมอุณหภูมิ (อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 66-67%) ถั่วเหลืองทั้ง 4 สายพันธุ์/พันธุ์ สามารถเก็บรักษาได้นาน 3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เดือน ซึ่งจะเห็นได้ว่าเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองแต่ละพันธุ์มีความสามารถในการเก็บรักษาต่างกัน และคุณภาพจะลดลงไปตามอายุการเก็บรักษา เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองจะสูญเสียความงอกต่ำกว่า 50% ภายในระยะเวลา 3-4 เดือน (กรุง สีตะธนี และสิริกุล วะสี. 2538)

การผลิตถั่วเหลืองเพื่อใช้เป็นเมล็ดพันธุ์ ต้องเน้นการผลิตให้ได้เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีชีวิตและสามารถงอกได้เมื่อได้รับปัจจัยในการงอกที่เหมาะสม จึงจำเป็นต้องใช้กระบวนการจัดการหรือวิทยาการก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ผลผลิตสูงและมีคุณภาพดีมาใช้เพาะปลูกต่อไป เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองส่วนมากจะเก็บรักษาได้ไม่นาน เนื่องจากมีอัตราการเสื่อมคุณภาพลดลงเร็วจึงต้องเก็บเมล็ดพันธุ์ไว้ในสภาพที่ควบคุมความชื้นและอุณหภูมิซึ่งต้องมีการลงทุนสูง จากการทดสอบเบื้องต้นในการคัดเลือกน้ำมันหอมระเหยจากพืช 9 ชนิด ได้แก่ น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้หอม ขิง ส้ม มะนาว มะกรูด ส้มโอ สะระแหน่ กานพลู และยี่หร่า ต่อความสามารถในการรักษาคุณภาพการงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองหลังการเร่งอายุ พบว่าเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ทดสอบด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่มีความสามารถในการรักษาคุณภาพเมล็ดพันธุ์ได้ดีที่สุดจึงเลือกมาศึกษา การวิจัยนี้จึงศึกษาหาแนวทางเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองโดยใช้น้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ก่อนการเก็บรักษา โดยอาศัยคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหย ที่อาจมีความเกี่ยวข้องกับกลไกการปกป้องความเสียหายของเซลล์ที่เกิดขึ้นจากอนุมูลอิสระ หรือลดการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation ที่เป็นสาเหตุสำคัญทำให้เมล็ดพันธุ์เกิดการเสื่อมคุณสภาพ ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้คือการประเมินความสามารถของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ในการส่งเสริมศักยภาพในการเก็บรักษา และการยืดอายุของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ภายใต้สภาพการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูง และความชื้นสัมพัทธ์ใกล้เคียง 100% การเร่งอายุจึงเป็นเครื่องมือที่ถูกนำมาใช้ในการศึกษาความเป็นไปได้ในการศึกษากระบวนการเสื่อมคุณสภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในช่วงระยะเวลาสั้นๆ และเป็นการเลียนแบบกระบวนการเสื่อมคุณสภาพตามธรรมชาติ การใช้น้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ก่อนการเก็บรักษาจึงอาจเป็นวิธีการที่นำมาใช้ทดแทนการเก็บในสภาพที่ควบคุมความชื้นและอุณหภูมิที่ต้องมีการลงทุนสูงได้ โดยเมล็ดพันธุ์ยังคงมีคุณภาพดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่

1.2.2 เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ภายหลังการเร่งอายุ

1.2.3 เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ที่ผ่านการรมด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่

1.2.4 เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ที่ผ่านการรมด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ ภายหลังการเร่งอายุ

1.2.5 เพื่อประเมินความสามารถในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ที่ผ่านการรมด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ ภายหลังการเร่งอายุ

1.3 ขอบเขตของงาน

1.3.1 ศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ โดยวิธี กำจัดอนุมูล DPPH ความสามารถในการแย่งจับกับโลหะไอออน Fe^{2+} ความสามารถในการรีดิวซ์ และความสามารถในการต้านการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation

1.3.2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ภายหลังการเร่งอายุ

1.3.3 ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ที่นำไปใช้รมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเมล็ดพันธุ์

1.3.4 ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ที่นำไปใช้รมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 แล้วจึงนำไปเร่งอายุ เพื่อประเมินความสามารถในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์

1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบถึงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่

1.4.2 ทราบถึงการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 หลังการเร่งอายุ

1.4.3 ทราบถึงความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ที่ใช้รมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเมล็ดพันธุ์

1.4.4 ทราบถึงความสามารถในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ที่ผ่านการรมด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 อาการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์

2.1.1 อาการแสดงออกทางสรีรวิทยา

อาการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ที่ปรากฏให้เห็นชัดเจนที่สุด สามารถพบได้โดยดูจากลักษณะรูปร่างภายนอกของเมล็ด ในระหว่างการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้า โดยเฉพาะอย่างยิ่งการลดลงของความสามารถในการงอกไม่ได้เกิดขึ้นพร้อมกันกับการเริ่มต้นของการเสื่อมคุณภาพ นั่นคือการเปลี่ยนแปลงในกระบวนการทางชีวเคมีที่สำคัญ ซึ่งสัมพันธ์กับการเสื่อมคุณภาพของเมล็ด ได้เกิดขึ้นก่อนการลดลงของการงอก เช่น การสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรท และโปรตีน ได้ลดลงอย่างมากในขณะที่ความงอกยังไม่มีการเปลี่ยนแปลง ดังนั้นอาการทางสรีรวิทยาที่ปรากฏให้เห็นจึงเป็นอาการที่เกิดขึ้นช้าที่สุด ลักษณะของอาการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดมักจะปรากฏเป็นลำดับดังต่อไปนี้ (วันชัย จันทร์ประเสริฐ. 2538) สีของเมล็ดที่เสื่อมคุณภาพจะขุ่นมัว ไม่สดใส เปอร์เซ็นต์ความงอกลดลง งอกเป็นต้นกล้าได้ช้า การงอกได้ช้านี้เป็นอาการแรกของหลายๆ อาการทางสรีรวิทยาที่แสดงออกมาให้เห็น ในกรณีที่เมล็ดพันธุ์เสื่อมคุณภาพยังสามารถงอกได้ ต้นกล้าที่เกิดขึ้นจะมีอัตราการเจริญเติบโตช้า เปอร์เซ็นต์ความงอกลดลง สูญเสียความงอกในสภาพไร่ เมล็ดพันธุ์สูญเสียหรือมีความต้านทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมลดลงในระหว่างการงอกและการเจริญในระยะแรกของต้นกล้า ผลผลิตลดลง ในขณะเดียวกันก็มีต้นกล้าผิดปกติเพิ่มมากขึ้น เช่น รากหยุดชะงักการเจริญ hypocotyl ไม่มีการยืดตัว อาการแสดงออกในขั้นสุดท้ายของการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ คือ สูญเสียความงอกโดยสิ้นเชิงหรืองอกไม่ได้ และเมล็ดตายในที่สุด (ภาพที่ 2.1)

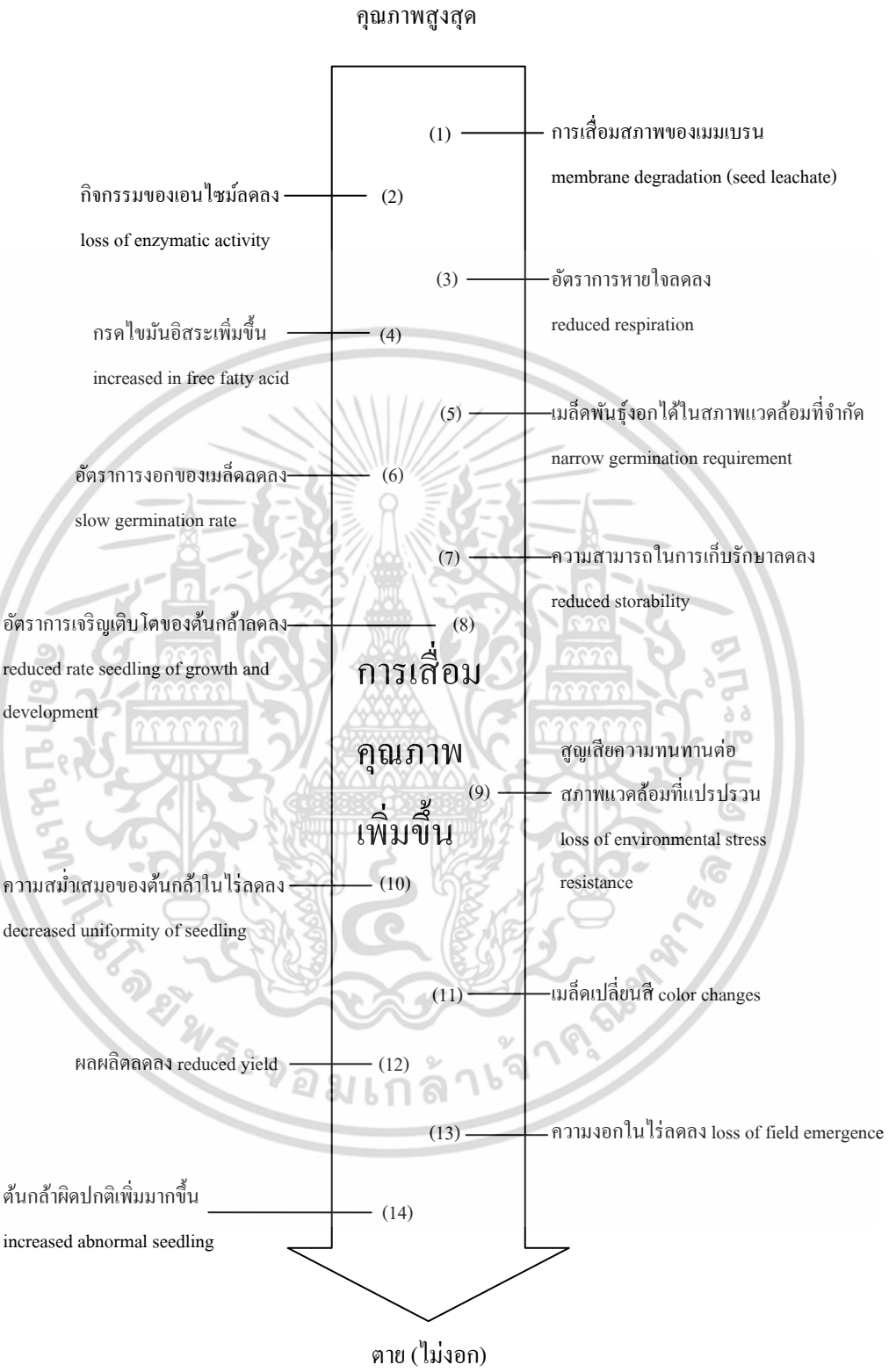
2.1.2 การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี

การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีที่เกิดขึ้นในระหว่างเกิดการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ เช่น ความเสียหายทางพันธุกรรมที่เกิดกับ genome (องค์ประกอบของพันธุกรรม เช่น DNA, chromosome) ในเมล็ดได้รับการเสนอแนะว่าอาจเป็นสาเหตุเบื้องต้น (primary cause) ของการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ การหายใจของเมล็ดพันธุ์ที่เสื่อมคุณภาพจะดูด O_2 ได้น้อยลง จึงทำให้ respiratory quotient (R.Q.) เพิ่มขึ้น (R.Q. คือสัดส่วนของปริมาตร CO_2 ที่ปล่อยออกมาต่อปริมาตร O_2 ที่ดูดเข้าไป) ทำให้เกิดการสะสมสารประกอบ ethanol และ aldehyde เพิ่มขึ้น การเพิ่มขึ้นของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารประกอบดังกล่าวจึงเป็นตัวบ่งชี้ให้เห็นถึงความเสียหายที่เกิดกับไมโทคอนเดรีย จึงทำให้ไมโทคอนเดรียไม่สามารถทำหน้าที่ให้สมดุลกับ glycolysis ได้ ความเสียหายของเมมเบรนในเมล็ดที่เสื่อมคุณภาพหรือเมล็ดที่ตายแล้ว การรั่วไหลของสารประกอบภายในเมล็ดจะเพิ่มขึ้นไปตามสภาพการเสื่อมของเมล็ดนั่นคือ เมล็ดยิ่งเสื่อมคุณภาพมากขึ้นเท่าใด การรั่วไหลก็จะยิ่งเพิ่มมากขึ้นเท่านั้น สภาพเช่นนี้อาจเกิดจากไม่มีกลไกการซ่อมแซมหรือการซ่อมแซมของกลไกไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอ ความเสียหายของเอนไซม์ในเมล็ดพันธุ์ที่เสื่อมคุณภาพ ส่วนใหญ่ไม่พบการทำงานของเอนไซม์ หรืออาจทำหน้าที่ได้แต่เกิดขึ้นน้อยมากๆ การเปลี่ยนแปลงของ DNA สำหรับเมล็ดพันธุ์ที่เสื่อมคุณภาพ การสังเคราะห์ protein จะลดลง จึงส่งผลให้ความงอกของเมล็ดและการเจริญของต้นกล้าลดลงปรากฏการณ์เช่นนี้อาจเกิดจากการเสื่อมหรือความเสียหายของ RNA หรือความเสียหายขององค์ประกอบต่างๆ ที่ใช้ในการผลิต protein เป็นต้น การเปลี่ยนแปลงต่างๆ ดังกล่าวได้รับการเสนอแนะว่าอาจเป็นพื้นฐานที่ทำให้เกิดการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ (ภาพที่ 2.1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.1 ลักษณะอาการที่เกิดขึ้นในขณะที่เมล็ดเสื่อมคุณภาพ

ที่มา: จวงจันทร์ ดวงพัตรา (2521)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 การเสื่อมคุณสภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองเป็นพืชน้ำมัน เมล็ดถั่วเหลืองประกอบด้วยไขมันประมาณ 13-24% โดยทั่วไปปริมาณไขมันในเมล็ดพืชแตกต่างกันไปตามชนิดของพืช มีตั้งแต่ 2 เปอร์เซ็นต์ ไปจนถึง 50 เปอร์เซ็นต์ ไขมันในเมล็ดมีอยู่ 2 แบบด้วยกัน คือไขมันสะสม (storage lipid) กับไขมันที่มีหน้าที่ และเป็นส่วนประกอบของโครงสร้าง (functional lipid) ปริมาณไขมันสะสมจะแตกต่างไปตามชนิดพืช และจะแตกต่างไปตามส่วนต่างๆ ของเมล็ดพืช ซึ่งประกอบด้วยไขมันที่ไม่มีขั้วหรือประจุ (apolar lipids หรือ neutral lipids) ที่พบมาก คือ triacylglycerols หรือ triglycerides ไขมันเหล่านี้สะสมอยู่ในเมล็ดในรูปของเม็ดไขมัน (oil body) ส่วนไขมันที่มีหน้าที่และเป็นส่วนประกอบของโครงสร้าง อาจแบ่งกลุ่มย่อยๆ ได้หลายชนิด เช่น phospholipids, glycolipids, sterols, sterol esters, sterol ester glucosides เป็นต้น กลุ่มไขมันเหล่านี้จะปรากฏอยู่ในผนังเมมเบรนในอวัยวะย่อยของเซลล์ (subcellular organelles) และในโครงสร้างต่างๆ ในเซลล์ เมล็ดส่วนใหญ่จะมี phospholipids ซึ่งเป็นไขมันที่มีขั้วหรือประจุ (polar lipids) เพียง 1-2 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น และเป็นองค์ประกอบทางโครงสร้างของผนังเมมเบรน ถั่วเหลืองเป็นพืชน้ำมันที่สำคัญ น้ำมันถั่วเหลืองเป็นน้ำมันที่มีปริมาณการผลิตมากที่สุดในโลกซึ่งสกัดได้มาจากเมล็ดถั่วเหลืองซึ่งมีน้ำมันประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้ง และเป็นน้ำมันพืชที่มีกรดลิโนเลอิคสูงที่สุด โดยมีอยู่ประมาณ 43-56 เปอร์เซ็นต์ กรดลิโนเลนิค ประมาณ 5-11 เปอร์เซ็นต์ และกรดไขมันชนิดอิ่มตัว ประมาณ 11-26 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด การที่มีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวจะทำให้เกิด autoxidation และเกิดการเหม็นหืนได้ง่าย มีผลทำให้ปริมาณกรดลิโนเลนิคลดลงเหลือน้อยกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ กรดลิโนเลอิคลดลงเหลือ ประมาณ 35 เปอร์เซ็นต์ และมีกรดโอเลอิคเพิ่มสูงขึ้นถึง 50 เปอร์เซ็นต์ ในธรรมชาติจะพบกรดไขมันเป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) ที่อยู่ในไขมัน น้ำมัน และฟอสโฟกลีเซอไรด์ (phosphoglyceride) เป็นส่วนใหญ่ ที่พบในรูปของกรดไขมันอิสระมีน้อยมาก พันธะระหว่างคาร์บอนอะตอมในโมเลกุลของกรดไขมันมีทั้งที่เป็นพันธะเดี่ยว และพันธะคู่ กรดไขมันที่มีพันธะเดี่ยวทั้งหมดเรียกว่า กรดไขมันชนิดอิ่มตัว (saturated fatty acids) ส่วนกรดไขมันที่มีพันธะคู่ 1 อัน หรือมากกว่า 1 อัน เรียกว่ากรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acids) (นิธิยา รัตนาปานนท์. 2545)

เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองเมื่อสุกแก่ทางสรีรวิทยาจะมีความงอกและความแข็งแรงสูงที่สุด หลังจากนั้นการเสื่อมคุณภาพก็จะเกิดขึ้น แล้วดำเนินต่อไป ซึ่งเป็นกระบวนการที่ไม่สามารถยับยั้งและผันกลับได้ การเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์นั้นเริ่มจากการแสดงออกทางสรีรวิทยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(physiological symptoms) การรั่วไหลของสารเคมีจากภายในเซลล์ของเมล็ดเพิ่มขึ้นเนื่องจากการเสื่อมสภาพของผนังเมมเบรน การหายใจก็นับว่าเป็นกระบวนการที่เปลี่ยนแปลงระหว่างการเสื่อมสภาพ โดยเมล็ดที่เสื่อมจะมีอัตราการหายใจลดลง กิจกรรมของเอนไซม์ลดลง โดยเฉพาะเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์เนื้อเยื่อใหม่ๆ และเนื่องจากเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองมีไขมันเป็นองค์ประกอบอยู่สูง (Bewley and Black. 1983) การเปลี่ยนแปลงที่สำคัญอีกประการหนึ่ง คือ การเพิ่มขึ้นของกรดไขมันอิสระ โดยเฉพาะกรดไขมันไม่อิ่มตัวซึ่งเป็นสารตัวกลางของกระบวนการ autoxidation หรือ peroxidation เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เมล็ดเกิดการเสื่อมคุณสภาพ เพราะทำให้เกิดความเสียหายแก่ระบบต่างๆ เช่น สูญเสียการทำงานของเอนไซม์ โปรตีนเสื่อมสภาพการหายใจลดลง เมมเบรนเสียหาย และระงับการสังเคราะห์โปรตีน เป็นต้น (Wilson and McDonald. 1986) ในบรรดาการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเชื่อกันว่าความเสียหายที่เกิดขึ้นกับเมมเบรนเป็นปรากฏขึ้นเริ่มแรกที่เกิดขึ้นในระหว่างการเสื่อมคุณสภาพของเมล็ดพันธุ์ ซึ่งจะนำไปสู่การสูญเสียความงอกและความแข็งแรงในที่สุด (Delouche and Baskin. 1973)

2.3 การตรวจสอบการงอกของเมล็ดพันธุ์

Bewley and Black (1985) ได้ให้ความหมายของการงอกว่า เป็นกระบวนการที่เริ่มต้นตั้งแต่การดูดน้ำของเมล็ดและสิ้นสุดที่การยืดตัวของเอมบริโอ (โดยปกติเป็นราก) ในระหว่างการงอกมีเหตุการณ์ต่างๆ เกิดขึ้นได้แก่ การดูดน้ำของโปรตีน การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างต่างๆ ภายในเซลล์ การหายใจ การสังเคราะห์สารโมเลกุลใหญ่ และการยืดตัวของเซลล์ซึ่งเหตุการณ์เหล่านี้มีผลรวมกันก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพจากเอมบริโอที่อยู่ในภาวะนิ่ง (quiescent state) ไปสู่เอมบริโอที่มีเมแทบอลิซึมสูง จนปรากฏมีการเจริญเติบโตออกมาให้เห็น แต่การงอกในความหมายของนักเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์ จะแตกต่างจากนักสรีรวิทยาเมล็ดพันธุ์ คือ การงอกจะเริ่มตั้งแต่เมล็ดพวก air dry seed ได้รับปัจจัยต่างๆ ที่จำเป็นต่อการงอก แล้วมีกระบวนการต่างๆ เกิดขึ้นภายในเมล็ดที่มีชีวิตเริ่มตั้งแต่ radical แทงทะลุส่วนของเปลือกหุ้มเมล็ดออกมา จนกระทั่งต้นกล้ามีการเจริญเติบโตและตั้งตัวจนสามารถสังเคราะห์แสงได้

การตรวจสอบความงอกมาตรฐาน (standard germination) แม้ว่าจะเป็นวิธีการตรวจสอบที่ยอมรับและถือปฏิบัติกันทั่วไป แต่มีข้อจำกัดหลายประการที่การตรวจสอบความงอกมาตรฐานไม่สามารถบอกให้ทราบถึงคุณภาพที่แท้จริงของเมล็ดพันธุ์ทั้งหมดได้ เพราะการตรวจสอบความงอก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มาตรฐานนั้น เป็นการตรวจสอบภายใต้สภาพปัจจัยที่เหมาะสมมากที่สุดต่อการงอก ผลการตรวจสอบความงอกจึงเป็นความสามารถสูงสุดที่เมล็ดพันธุ์จะงอกได้ แต่เมื่อนำเมล็ดพันธุ์ไปปลูกในแปลงปลูก ซึ่งมีสภาพแวดล้อมแปรปรวน เมล็ดพันธุ์เหล่านี้อาจมีเปอร์เซ็นต์ความงอกในแปลงปลูกต่ำกว่าความงอกมาตรฐานได้ ดังนั้นการตรวจสอบความแข็งแรงจึงถูกนามาใช้เป็นวิธีการตรวจวัดหรือคาดคะเนคุณสมบัติต่างๆ ของเมล็ดพันธุ์ เพื่อใช้ประเมินความสามารถของเมล็ดพันธุ์ที่จะงอกในแปลงปลูก ตลอดจนความสามารถในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ (seed storability) (ธวัชชัย ทีฆชุณหเถียร. 2554)

2.4 การตรวจสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์

เมล็ดพันธุ์ที่มีความแข็งแรงสูงหมายถึง เมล็ดพันธุ์ที่สามารถให้เปอร์เซ็นต์ความงอกสูง ในสภาพแวดล้อมแปลงปลูกที่แปรปรวน นอกจากนี้ยังงอกได้เร็ว ต้นอ่อนมีขนาดสม่ำเสมอ ตั้งตัวดีและเติบโตเร็ว มีผลทำให้ต้นพืชทนทานต่อสภาพแวดล้อม โรค และแมลง นำไปสู่การให้ผลผลิตสูง ในทางตรงข้ามถ้าเมล็ดพันธุ์มีความแข็งแรงต่ำมากจะทำให้ผลผลิตลดต่ำลงได้ (ธวัชชัย ทีฆชุณหเถียร. 2554; Association of Official Seed Analyst (AOSA). 1983; International Seed Testing Association (ISTA). 1995) ในขณะที่เมล็ดพันธุ์ยังมีความงอกสูงอยู่ ความแข็งแรงอาจจะสูงหรือเริ่มลดต่ำลงแล้วก็ได้ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องตรวจสอบหาความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์เพื่อหาศักยภาพในการงอกได้ดีในแปลงปลูก การวัดความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ คือ การวัดลักษณะและปริมาณของการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ก่อนเมล็ดพันธุ์ตาย วิธีการตรวจสอบความแข็งแรงมีมากมายหลายวิธีซึ่ง สมาคมนักวิเคราะห์คุณภาพเมล็ดพันธุ์ Association of Official Seed Analyst; AOSA (1983) ได้แบ่งวิธีการตรวจสอบความแข็งแรงเมล็ดพันธุ์ออกเป็น 3 ประเภทใหญ่ๆ ได้แก่

2.4.1 การตรวจสอบการเจริญเติบโต และการประเมินต้นอ่อน (seedling growth and evaluation test) หลักการของวิธีนี้คือ ประยุกต์วิธีการตรวจสอบความงอกมาตรฐานมาจำแนกระดับความแข็งแรงของต้นอ่อน ตัวอย่างของการเจริญเติบโตที่ใช้ประเมินความแข็งแรง เช่น การวัดความยาวยอด ราก และความยาวรวมของต้นอ่อน (shoot, root and total seedling length) การจำแนกความแข็งแรงของต้นอ่อน (seedling vigor classification) ความเร็วในการงอกหรือดัชนีการงอกของเมล็ดพันธุ์ (germination index) การตรวจสอบอัตราการเจริญเติบโตของต้นอ่อน (seedling growth rate)

2.4.2 ตรวจสอบในสภาวะเครียด (stress test) เมล็ดพันธุ์ที่เก็บรักษาได้ดีในสภาวะเครียดหรืองอกได้ดีในสภาพแปลงปลูกที่ไม่เหมาะสม แสดงว่าเป็นเมล็ดพันธุ์ที่แข็งแรงสูง ซึ่งอาจเป็นสภาพที่ไม่เหมาะสมหรือสภาพเครียดในแปลงปลูกที่เมล็ดพันธุ์มักจะได้รับในขณะที่เมล็ดพันธุ์กำลังงอก เช่น ความชื้นดินสูงเกินไปจากฝนตกหนัก ความชื้นดินต่ำเกินไปจากฝนแล้ง อุณหภูมิสูง อุณหภูมิต่ำ ความแน่นของหน้าดิน เป็นต้น สภาพเครียดในขณะที่เก็บรักษา ได้แก่ อุณหภูมิสูง และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความชื้นสัมพันธ์สูง ฉะนั้นการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ในสภาวะเครียด จึงเป็นการตรวจสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ที่ดีวิธีหนึ่ง ตัวอย่างของวิธีนี้ ได้แก่ การเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ (accelerated aging test; AA test) การตรวจสอบในสภาพอากาศหนาว (cold test) การตรวจสอบในสภาพอากาศเย็น (cool germination test)

2.4.3 การตรวจสอบทางชีวเคมี (biochemical test) วิธีการตรวจสอบความแข็งแรงทางชีวเคมี อาศัย ลักษณะทางชีวเคมีที่มีความสัมพันธ์กับความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ เมล็ดพันธุ์ที่แข็งแรงต้องมีกระบวนการทางชีวเคมีที่ทำงานได้ดี การตรวจสอบโดยวิธีเหล่านี้มีข้อดีที่ใช้เวลาสั้น รู้ผลเร็ว แต่ต้องอาศัยเครื่องมืออุปกรณ์ที่เฉพาะและความรู้ความชำนาญของผู้ปฏิบัติ เช่น การย้อมเมล็ดพันธุ์โดยสารเตตระโซเลียม (tetrazolium test; TZ test) การตรวจสอบค่าการนำไฟฟ้า (electrical conductivity test; EC test) การวัดประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ และอัตราการหายใจ

การตรวจสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์มีหลายวิธี ซึ่งเหมาะกับชนิดพืชและสภาพการเพาะปลูกที่แตกต่างกันไป วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ตรวจสอบก็แตกต่างกันไปได้ จึงไม่มีวิธีการใดใช้เป็นวิธีการมาตรฐานได้สำหรับทุกพืช เช่น การตรวจสอบความแข็งแรงที่เหมาะกับเมล็ดพันธุ์ของพืชที่ใช้เพาะปลูกในบริเวณที่มีภูมิอากาศหนาวเย็น อาจจะใช้ไม่ได้กับเมล็ดพันธุ์พืชที่ปลูกในสภาพภูมิอากาศร้อนชื้น อีกตัวอย่างหนึ่งคือ สภาพการเร่งอายุที่มีความสัมพันธ์กับการเก็บรักษาในสภาพอากาศในเขตหนาว อาจใช้ตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ที่ใช้ในเขตร้อนชื้นได้ไม่แม่นยำเท่าที่ควร ดังนั้นการจะใช้วิธีการใดหรือสภาพใดตรวจสอบความแข็งแรงเมล็ดพันธุ์ในแต่ละพื้นที่ปลูก จำเป็นต้องศึกษาเพื่อปรับเทคนิคให้เหมาะกับสภาพแวดล้อมของการเพาะปลูกและการเก็บรักษา การใช้วิธีการตรวจสอบหลายๆ วิธีร่วมกัน และเป็นวิธีที่มีผลการทดลองยืนยันแล้วว่าเป็นวิธีการที่เหมาะสมกับเมล็ดพันธุ์พืชชนิดนั้นและในสภาพเพาะปลูกนั้นๆ จะให้ผลการประเมินโดยรวมที่มีประสิทธิภาพดีกว่า นอกจากนี้ผู้ปฏิบัติ สามารถปรับประยุกต์วิธีการ วัสดุอุปกรณ์ ให้เหมาะสมกับท้องถิ่นของตนเองได้ หรือพัฒนาวิธีการตรวจสอบใหม่ๆ ขึ้นมาใช้ได้โดยไม่มีข้อจำกัดแต่อย่างใด อย่างไรก็ตามวิธีการที่ใช้ตรวจสอบจะต้องมีความสัมพันธ์อย่างเด่นชัดกับเปอร์เซ็นต์ความงอกในแปลงปลูก (field emergence test) (ธวัชชัย ทีฆชุณหเถียร. 2554; AOSA. 1983) Jonathan *et al*. (2013) ศึกษาการตอบสนองต่อการงอกของเมล็ดสบู่ดำในการเก็บรักษาและการเร่งอายุ ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 48 หรือ 72 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 0, 3, 6, 9 และ 12 เดือน พบว่าเมล็ดสบู่ดำมีเปอร์เซ็นต์ความงอกลดลงตามระยะเวลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น และ Roberts *et al*. (1980) ศึกษาการเกิด lipid peroxidation ที่เกี่ยวข้องกับการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส พบว่าเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่เร่งอายุด้วยความชื้นสูงมีเปอร์เซ็นต์ความงอกลดลงตามระยะเวลาที่ผ่านการเร่งอายุ ส่วนอัตราการรั่วไหลของประจุ และปริมาณสาร malondialdehyde เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่ผ่านการเร่งอายุ ขณะที่เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่เร่งอายุด้วยความชื้นต่ำ มีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูง ส่วนอัตราการรั่วไหลของประจุ มีอัตราการรั่วไหลของประจุต่ำ และปริมาณสาร malondialdehyde พบว่าในช่วงระยะเวลาแรกมีปริมาณสาร malondialdehyde ต่ำ แล้วค่อยเพิ่มสูงขึ้นในช่วงระยะเวลาหลัง เมื่อเทียบกับเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่เร่งอายุด้วยความชื้นสูง

2.5 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์

ความแปรปรวนของสภาพภูมิอากาศเป็นสิ่งที่ไม่สามารถทำนายได้ว่าจะเกิดขึ้นเมื่อใด Delouche (1980) ได้แสดงให้เห็นว่าสภาพอากาศที่มีฝนตกบ่อยสลับกับการมีอุณหภูมิสูงที่เกิดขึ้นภายหลังการสุกแก่และก่อนการเก็บเกี่ยวมีผลทำให้ความงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองลดลงอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้การเก็บเกี่ยวล่าช้าภายหลังการสุกแก่ที่เหมาะสมหรือระยะ harvest maturity ภายใต้สภาพอากาศที่ไม่เหมาะสมดังกล่าวจะทำให้คุณภาพของเมล็ดพันธุ์เสื่อมได้

พันธุกรรม เมล็ดพืชชนิดเดียวกันแต่ต่างพันธุ์กัน มีอัตราการเสื่อมคุณภาพที่แตกต่างกัน ถึงแม้จะได้รับการดูแลรักษาที่เหมือนกันภายใต้สภาพแวดล้อมเดียวกัน ซึ่งความผันแปรทางพันธุกรรมดังกล่าวอาจจะเกี่ยวข้องกับลักษณะต่างๆ ทางกายภาพของเมล็ด Paschal and Ellis (1978) ได้แสดงให้เห็นว่าในถั่วเหลืองพันธุ์ต่างๆ ที่ทำการทดลองนั้น พันธุ์ที่มีขนาดเมล็ดเล็กมีความต้านทานต่อการเสื่อมคุณภาพและการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ดีกว่าพันธุ์ที่มีขนาดเมล็ดพันธุ์ใหญ่กว่า โดยเมล็ดพันธุ์ที่มีขนาดเล็กจะให้ความงอกและความแข็งแรงที่ดีกว่าเมล็ดพันธุ์ที่มีขนาดใหญ่ Dassou and Kueneman (1984) พบว่าเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีขนาดเล็กและมีเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำมีความต้านทานต่อการเสื่อมคุณภาพใน incubator weathering ได้ดีกว่าเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีขนาดใหญ่และเยื่อหุ้มเมล็ดสีเหลือง

เมล็ดพันธุ์ในระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยาจะมีคุณภาพดีที่สุด หลังจากระยะนี้ไปแล้วความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์จะลดลง เพราะฉะนั้นยิ่งเก็บเกี่ยวเมล็ดพันธุ์ช้าเท่าใด เมล็ดพันธุ์ที่ได้จะมีคุณภาพต่ำลงไปเรื่อยๆ ดังนั้นจึงควรเก็บเกี่ยวเมล็ดพันธุ์ภายหลังการสุกแก่ทางสรีรวิทยาให้เร็วที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และลดความชื้นเมล็ดโดยทันทีให้อยู่ในระดับที่ปลอดภัยต่อการเก็บรักษา ก็จะทำให้สามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ได้ยาวนาน การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พืชนั้น มีวัตถุประสงค์เพื่อรักษาคุณภาพเมล็ดพันธุ์ให้มีความงอกและความแข็งแรงอยู่ในระดับที่สามารถใช้เพาะปลูกได้ (Krishnasamy and Seshu. 1990) การที่จะเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองให้มีชีวิตยืนยาวนาน ควรใช้เมล็ดพันธุ์ที่มีความงอกและความแข็งแรงเบื้องต้นสูง โดยเก็บเกี่ยวในระยะเวลาที่เหมาะสม นอกจากนี้ประวัติความเป็นมาของเมล็ดพันธุ์ การดูแลในระหว่างการปลูก การเก็บเกี่ยว การตาก การอบ การทำความสะอาด การบรรจุหีบห่อ และวิธีการเก็บรักษาล้วนมีผลต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ (จวงจันทร์ ดวงพัตรา. 2523) การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ที่มีความชื้นสูงจะทำให้กิจกรรมต่างๆ ภายในเมล็ดเกิดขึ้นมากกว่าปกติ เช่น อัตราการหายใจสูงเกิดความร้อนสูง โรคและแมลงเข้าทำลายได้ง่าย ซึ่งจะทำให้ความแข็งแรงของเมล็ดลดลง และต่อมาความงอกก็จะลดลงตามไปด้วย การเสื่อมคุณภาพจะยังคงเกิดขึ้นต่อไปอีกในระหว่างการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ ถ้าสภาพแวดล้อมดังกล่าวยังคงเกิดขึ้นโดยไม่ได้เก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ให้ถูกต้องหรือเหมาะสม การเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ซึ่งเกิดจากความชื้นและอุณหภูมิ จะเกิดขึ้นมากน้อยเพียงใดนั้นเป็นไปตามกฎ Rules of Thumb ซึ่งกล่าวว่า ความชื้นของเมล็ดที่เพิ่มขึ้น 1 เปอร์เซ็นต์ หรืออุณหภูมิของการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น 5 องศาเซลเซียส จะทำให้อัตราการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์เพิ่มขึ้น 2 เท่า (Halder and Gupta. 1980) เมล็ดพันธุ์ที่เก็บรักษาไว้ได้นานนั้นควรมีความชื้นในเมล็ดต่ำโดยเฉพาะเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง เพราะเป็นพืชที่มีน้ำมันเป็นองค์ประกอบอยู่มากจึงควรลดความชื้นในเมล็ดให้เหลือประมาณ 8-9 เปอร์เซ็นต์ เพราะเมล็ดที่มีความชื้นสูงจะมีอัตราการหายใจสูงมีการสะสมความร้อน และความชื้น จนอาจเป็นอันตรายต่อความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ได้ (จวงจันทร์ ดวงพัตรา. 2521)

2.6 เอนไซม์ Lipase ภายในเมล็ด

ไลเปส (EC 3.1.1.3) เป็นหนึ่งในกลุ่มเอนไซม์ที่สำคัญและถูกนำไปใช้ในกระบวนการผลิตสินค้าอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น อุตสาหกรรมผงซักฟอก อุตสาหกรรมอาหาร เครื่องสำอาง และอุตสาหกรรมยา ไลเปสเป็นเอนไซม์ที่พบในธรรมชาติ และพบในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด ทั้งในสัตว์ พืชและจุลินทรีย์ สำหรับในพืชปริมาณเอนไซม์ไลเปสพบในเนื้อเยื่อหลายชนิด แต่พบมากที่สุดในเมล็ด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปลี่ยนแปลงทางเคมีของไขมันในเมล็ดระหว่างการเก็บรักษา จะเกิดจาก hydrolysis และ peroxidation โดยไขมันจะถูกย่อยโดยเอนไซม์ lipolytic เช่น lipase และ phospholipase ซึ่งไขมันส่วนใหญ่ คือ triglyceride จะถูกย่อยโดยเอนไซม์ lipase ทำให้เกิดกรดไขมันอิสระ กรดไขมันอิสระจะสะสมมากขึ้นตามอายุการเก็บรักษาเมล็ด โดยกิจกรรมของเอนไซม์จะเพิ่มขึ้นเมื่อความชื้นของเมล็ดสูงและอุณหภูมิในโรงเก็บสูง กรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นอาจมีส่วนในการทำลายผนังเมมเบรน หรืออาจทำให้โครงสร้างของไมโทคอนเดรียผิดปกติซึ่งจะส่งผลกระทบต่อการหายใจของเซลล์ (Priestley. 1986) ผลของการย่อยไขมันด้วยเอนไซม์ lipase ทำให้ได้กรดไขมันอิสระ ซึ่งประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวและกรดไขมันอิ่มตัว กรดไขมันไม่อิ่มตัวส่วนหนึ่งจะออกซิไดซ์และกระตุ้นต่อไปด้วย เอนไซม์ lipoxigenase หรือเกิด autoxidation ได้สารประกอบ hydroperoxide (Allen and Hamilton. 1994) และมีรายงานว่า พบเอนไซม์ lipase ในเมล็ดที่มีความชื้นต่ำ (Lin *et al*. 1982) ซึ่งมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายชนิดไวต่อปฏิกิริยา peroxidation เป็นผลให้ไขมันถูกทำลายและเกิดสารต่างๆ จากปฏิกิริยาต่อเนื่องที่ซับซ้อน สามารถทำลายเมมเบรน เอนไซม์ ไวตามิน และโปรตีน (Allen and Hamilton. 1994) การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของไขมันและกรดไขมันโดยปฏิกิริยา peroxidation มีผลต่อการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ชนิดต่างๆ เช่น เมล็ดถั่วเหลือง (Roberts *et al*. 1980; Nakayama *et al*. 1981; Ponquett *et al*. 1992) เมล็ดทานตะวัน (Bailly *et al*. 1996)

ในระหว่างการงอกของเมล็ดพืชสารอาหารที่สะสมอยู่ที่ endosperm หรือ cotyledon จะถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ให้เปลี่ยนจากสารที่มีโมเลกุลใหญ่เป็นสารที่มีโมเลกุลเล็กลง ในเมล็ดธัญพืช embryo จะสังเคราะห์ฮอร์โมน จิบเบอเรลลิน (gibberellins) ซึ่งฮอร์โมนนี้เป็นสัญญาณที่ส่งไปยัง aleurone layer ที่อยู่ชั้นนอกสุดของ endosperm และกระตุ้นให้เกิดการ สังเคราะห์เอนไซม์ย่อยสารอาหารที่สะสมไว้ใน endosperm เช่น เอนไซม์ α-amylase ย่อยสลายแป้ง เป็นน้ำตาลกลูโคสและลำเลียงไปให้ embryo ใช้สำหรับการเจริญเติบโต นอกจาก α-amylase แล้วจะพบเอนไซม์ชนิดอื่น เช่น lipase เป็นเอนไซม์เริ่มต้นที่ทำให้เกิดการย่อยสลายไขมันเป็นน้ำตาลซูโครส และเอนไซม์ protease ที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายโปรตีนเป็นกรดอะมิโน ส่วนกิจกรรมเอนไซม์ lipase จะเกิดขึ้นสูงในขณะที่เมล็ดกำลังงอก ซึ่งพบมากในพืชน้ำมันที่มีการสะสมน้ำมันในเมล็ด เช่น Black seeds (*Guizotia abyssinica*), Caster (*Recimus communis*) และถั่วเหลือง (Gadge *et al*. 2011) Roland *et al*. (2002) ศึกษาคุณสมบัติของเอนไซม์ไลเปสจากการงอกของเมล็ดสบู่ดำ (*Jatropha curcas* L.) ซึ่งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสสามารถพบได้ในเมล็ดที่พักตัว และมีการงอก การแยก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอนไซม์ไลเปสให้บริสุทธิ์ โดยผสมกับแอมโมเนียมซัลเฟตเพื่อให้เกิดการตกตะกอนและกรองอย่างละเอียด จากนั้นนำเอนไซม์ไลเปสมาตรวจสอบกิจกรรมไลเปสในน้ำมันเมล็ดปาล์ม น้ำมันมะพร้าว และน้ำมันมะกอก พบว่ามีกิจกรรมไลเปส ประมาณ 5 µg FFA/µg protein/min ส่วนน้ำมันปาล์ม *Raphia hookeri* และน้ำมันเมล็ดสบู่ดำ พบว่ามีกิจกรรมไลเปสเป็น 2 เท่า ของกลุ่มแรก ส่วนน้ำมันปาล์มกับน้ำมันปลา พบว่ามีกิจกรรม ไลเปสสูงที่สุดเมื่อเทียบกับน้ำมันชนิดอื่นๆ และพบว่าค่า pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมจะทำให้เกิดกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสสูงที่สุด ซึ่งก็คือที่ pH 7.5 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ Begum *et al*. (2014) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ในระหว่างการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง ที่ระยะเวลา 0, 2, 4 และ 6 เดือน พบว่าการเปลี่ยนแปลงในการทำงานของเอนไซม์ขึ้นอยู่กับอายุของเมล็ดพันธุ์ และความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ โดยกิจกรรมเอนไซม์ catalase และ peroxidase ลดลงระหว่างการเก็บรักษา จึงทำให้เมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงมีความแข็งแรงลดลง เนื่องจากเอนไซม์ peroxidase จะไปเปลี่ยนอนุมูลอิสระ H_2O_2 ไปเป็นน้ำเพื่อลดการสะสมของอนุมูลอิสระภายในเมล็ด ส่วนกิจกรรมเอนไซม์ lipase พบว่าแนวโน้มของกิจกรรมมีกิจกรรมเพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ในสภาวะเครียด

ชานนท์ มณีรัตน์ และคณะ (2556) พบว่าอนุมูลอิสระมักเกิดขึ้นในระหว่างการงอกของเมล็ดและเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ความงอกลดลง salicylic acid (SA) และ folic acid (FA) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันไม่ให้ดำเนินต่อไป ในการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของ SA และ FA ต่อความงอก ความแข็งแรงและการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักบุ้งจีน (*Ipomoea aquatic* Forsk.) ทำ priming โดยแช่เมล็ดใน SA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 10^{-6}, 10^{-4} และ 10^{-2} โมลาร์ นาน 30 นาที หรือ FA ความเข้มข้น 0, 25, 50, 100, 200 และ 400 ไมโครโมลาร์ นาน 30, 60, 120 และ 180 นาที พบว่าการ priming ด้วย SA หรือ FA เมล็ดมีความงอก ความแข็งแรงและการเจริญเติบโตของต้นกล้าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทุกสิ่งทดลอง

Bhattacharjee *et al*. (2006) ศึกษาเทคนิคสำหรับการยืดอายุการเก็บรักษาของเมล็ดถั่วเขียวและเมล็ดทานตะวัน โดยใช้ sodium dikegulac กับ น้ำมันยูคาลิปตัส โดยนำเมล็ดพืชทั้ง 2 ชนิดมาทดสอบ โดยการแช่สาร sodium dikegulac ที่ระดับความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และการรมด้วยน้ำมันยูคาลิปตัส ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ในจานทดลอง พร้อมเร่งอายุที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 99.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 0, 15 และ 30 วันหลังจากนั้นทดสอบการงอก พบว่าเมื่อระยะเวลาการเร่งอายุผ่านไปทำให้การงอกของเมล็ดพืชทั้งสองชนิดลดลง แต่ sodium

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

dikegulac ยังคงรักษาการงอกเมล็ดพันธุ์ของพืชทั้ง 2 ชนิด ที่ผ่านการเร่งอายุได้ดีที่สุดรองลงมาคือ น้ำมันยูคาลิปตัส และชุดควบคุมมีการงอกต่ำที่สุด

Khan *et al*. (2006) ศึกษาผลของ ascorbic acid และสารละลายจากเกลือทะเลต่อการงอกของ *Atriplex stocksii*, *Arthrocnemum macrostachyum*, *Haloxylon stocksii*, *Suaeda fruticosa*, *Desmostachya bipinnata and Aeluropus lagopoides* โดยการนำเมล็ดจากพืชแต่ละชนิดมาแช่ในสารละลาย ascorbic acid ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ที่ระดับความเข้มข้น 0, 20, 40 และ 60 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วนำมาทดสอบการงอกในสารละลายจากเกลือทะเล ที่ระดับความเข้มข้น 0, 10, 20, 30 และ 40 dSm^{-1} พบว่าสารละลายจากเกลือทะเลมีผลทำให้ความสามารถในการงอกของเมล็ดพืชลดลงตามความเข้มข้นของสารละลายเกลือทะเลที่เพิ่มขึ้น ส่วนการการแช่สารละลาย ascorbic acid ที่ความเข้มข้น 60 มิลลิโมลาร์ ช่วยทำให้ความสามารถในการงอกของเมล็ดพันธุ์พืชเพิ่มขึ้น

Nimmagadda and Narayanaswamy (2009) ได้มีการทดลองใช้ ascorbic acid กับการกระตุ้นการงอกของเมล็ดพืชชนิดต่างๆ เช่น ในเมล็ดพันธุ์พริกหวานที่ผ่านการเร่งอายุนาน 3 วัน เมื่อนำเมล็ดมาทำ priming โดยแช่ในสารละลาย ascorbic acid ที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 12 ชั่วโมง ทำให้มีความงอกเพิ่มขึ้น 15 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่ได้ทำ priming

Draganic and Lekic (2012) ศึกษาผลของสารต้านอนุมูลอิสระต่อการกระตุ้นการงอก และการเจริญเติบโตของเมล็ดพันธุ์ทานตะวันภายใต้สภาวะที่ไม่เหมาะสม โดยการนำเมล็ดพันธุ์ทานตะวันแช่สารละลาย ascorbic acid ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ tocopherol ที่ระดับความเข้มข้น 0.3 และ 0.9 เปอร์เซ็นต์ glutathione ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ และ ascorbic acid ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ผสม tocopherol ที่ระดับความเข้มข้น 0.3 เปอร์เซ็นต์ และผสม glutathione ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาผึ่งอากาศให้แห้ง ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดระยะเวลาทำการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ทานตะวัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 95-100 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง พบว่าเมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่แช่สารต้านอนุมูลอิสระที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และผ่านการเร่งอายุ มีอัตราการงอกใกล้เคียงกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8 อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (Free radical) คืออะตอม หรือสารประกอบที่มีอิเล็คตรอนเดี่ยวอยู่ในออร์บิทัลวงนอกสุดที่มีระดับพลังงานสูง รวมถึงอะตอมของไฮโดรเจนและอิออนของโลหะทรานซิชันส่วนใหญ่ นอกจากนี้ยังรวมถึงโมเลกุลของออกซิเจน ซึ่งนับว่าเป็นอนุมูล เพราะมีอิเล็คตรอนจำนวน 2 อิเล็คตรอน แต่ละอิเล็คตรอนจะแยกกันอยู่เป็นอิเล็คตรอนเดี่ยวในแต่ละออร์บิทัล ทั้งนี้การหมุนรอบตัวของอิเล็คตรอนทั้งสองจะเป็นแบบคู่ขนานในทิศทางเดี่ยวกัน อนุมูลอิสระมีทั้งอยู่ในสภาวะเป็นกลางทางไฟฟ้า และอนุมูลในสภาวะที่มีประจุไฟฟ้า โดยมีทั้งประจุบวกและประจุลบ สัญลักษณ์ทางเคมีของอนุมูลอิสระ คือ อิเล็คตรอนเดี่ยวของอนุมูลซึ่งจะแสดงด้วยจุดในตำแหน่งข้างบนของสัญลักษณ์ทางเคมี เช่น $A^{\cdot}$ อนุมูล $A^{\cdot-}$ และ อนุมูล $A^{+\cdot}$ โดยเฉพาะอนุมูลที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ จะไวต่อการเกิดปฏิกิริยามากกว่าอนุมูลที่มีน้ำหนักโมเลกุล เนื่องจากอิเล็คตรอนเดี่ยวจะไม่เสถียรและพยายามจับคู่กับอิเล็คตรอนเดี่ยวอื่น ดังนั้นอนุมูลอิสระจึงมีคุณสมบัติเฉพาะ คือ มีความไวสูงในการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นๆ อย่างไรก็ตามยังคงมีอนุมูลอิสระบางชนิดที่มีความเสถียร ไม่ไวในการเกิดปฏิกิริยา สามารถคงอยู่ในสภาพอนุมูลได้นาน อนุมูลที่มีความเสถียรมีจำนวนน้อยชนิดมาก (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ. 2549)

ตัวอย่างของอนุมูลที่มีความสำคัญในทางชีวภาพ ได้แก่ อนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์แอนอิออน ($O_2^{\cdot-}$) อนุมูลไฮดรอกซี ($^{\cdot}OH$) อนุมูลอัลคอกซี ($RO^{\cdot}$) และอนุมูลเปอร์ไฮดรอกซี ($HO_2^{\cdot}$) อนุมูลอิสระเหล่านี้จัดเป็นอนุมูลที่ไวในการเกิดปฏิกิริยาสูงมาก และขณะที่ไนตริกออกไซด์ (NO) หรือ อนุมูลไนตริกออกไซด์ ($^{\cdot}NO$) อนุมูลวิตามินอี และอนุมูลวิตามินซี เป็นอนุมูลอิสระที่มีความไวสูงรองลงมา การเกิด อนุมูลอิสระมีได้หลายกลไกที่แตกต่างกัน ดังนี้

2.8.1 การแตกของพันธะโควาเลนท์แบบโฮโมไลซีส

$$A : B \longrightarrow A^{\cdot} + B^{\cdot}$$

2.8.2 การเพิ่มอิเล็กตรอน 1 ตัวให้แก่อะตอมที่เป็นกลาง (ทางไฟฟ้า)

$$A + e^{-} \longrightarrow A^{\cdot-}$$

2.8.3 การสูญเสียอิเล็กตรอน 1 ตัวจากอะตอมที่เป็นกลางทางไฟฟ้า

$$A \longrightarrow A^{+\cdot} + e^{-}$$

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำลายสารชีวโมเลกุลภายในเซลล์ และทำให้เกิดโรคต่างๆ ตามมา อนุมูลที่สำคัญ ได้แก่ superoxide radical, hydroxyl radical และสารอัลดีไฮด์ต่างๆ ที่เกิดจากกระบวนการลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation) เป็นต้นจึงมีการคิดวิธีสังเคราะห์อนุมูลอิสระเหล่านี้ในหลอดทดลอง และทดสอบความสามารถของสารในการยับยั้งอนุมูลอิสระเหล่านี้ (พรทิพย์ วิรัชวงศ์. 2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9 สารต้านการเกิดออกซิเดชัน

สารต้านออกซิเดชัน (antioxidants) หรืออาจเรียกว่าสารต้านนุมูลอิสระ คือสารที่สามารถยับยั้ง หรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดอนุมูลอิสระ (free radical) หรือสารที่สามารถขจัดอนุมูลอิสระออกจากร่างกาย สารต้านอนุมูลอิสระแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ ประเภทแรกป้องกันการเกิดสารอนุมูลอิสระ ได้แก่ เอนไซม์ superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase, peroxidase, cytochrome C peroxidase และโปรตีนซึ่งมีทองแดงอยู่ในโมเลกุล (ceruloplasmin) ส่วนอีกประเภทหนึ่ง คือ สารต้านออกซิเดชัน ในกลุ่มที่ทำลายปฏิกิริยาลูกโซ่นี้ ได้แก่ วิตามินอี เบต้า-แคโรทีน วิตามินซี ubiquinone, uric acid, bilirubin, albumin, sulfhydryl groups ในกรดอะมิโน และ cysteine ซึ่งมีอยู่ในโปรตีน เช่น เนื้อสัตว์ นอกจากกลุ่มสารพวกนี้ยังมี สารประกอบฟีโนลิก (phenolic compounds) และสารกลุ่ม flavonoids ที่เป็นสารต้านออกซิเดชันที่น่าสนใจอีกด้วย (มลศิริ วีโรทัย. 2540) ซึ่งมีรายงานพบมากในพืช ผัก ผลไม้ ทั่วไปยังจัดเป็นสารออกฤทธิ์ต้านการเกิดออกซิเดชันจากแหล่งธรรมชาติที่ดีที่สุดอีกหนึ่งกลุ่มสารต้านการเกิดออกซิเดชันสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภทตามลักษณะการออกฤทธิ์ คือ สารต้านการเกิดออกซิเดชันปฐมภูมิ เป็นสารที่หยุดปฏิกิริยาอนุมูลอิสระโดยการให้อนุมูลไฮโดรเจน ($H^{\cdot}$) หรืออิเล็คตรอน แก่อนุมูลโดยตรงเป็นผลให้อนุมูลนั้นกลายเป็นสารที่มีความเสถียรขึ้นสารออกฤทธิ์ในลักษณะดังกล่าว ได้แก่ สารประกอบกลุ่ม phenolic เช่น flavonoids, eugenol และ vanillin เป็นต้น มีรายงานว่าสารต้านอนุมูลอิสระชนิดนี้จะทำหน้าที่ได้ดีกว่าที่ความเข้มข้นต่ำๆ แต่เมื่อมีความเข้มข้นสูงขึ้นอาจกลายเป็นสารเสริมฤทธิ์ออกซิเดชันได้ สารต้านการเกิดออกซิเดชันทุติยภูมิ สารต้านการเกิดออกซิเดชันประเภทนี้ไม่ทำปฏิกิริยาโดยตรงกับอนุมูลอิสระแต่จะช่วยการทำงานของสารต้านการเกิดออกซิเดชันปฐมภูมิในลักษณะต่างๆ เช่น จับกับ Fe^{2+} ดักจับออกซิเจนดูดซับรังสียูวีไว้เป็นต้น

2.9.1 กลไกการทำงานของสารต้านการเกิดออกซิเดชัน

สารต้านการเกิดออกซิเดชันมีกลไกการทำงานแบ่งได้เป็น 6 แบบใหญ่ๆ คือ

2.9.1.1 ดักจับอนุมูลอิสระ (Radical scavenging)

โดยการให้ไฮโดรเจนหรืออิเล็คตรอนแก่อนุมูลอิสระ (สมการที่ 1-4)

$$R^{\cdot} + AH \longrightarrow RH + A^{\cdot} \quad (1)$$

$$RO^{\cdot} + AH \longrightarrow ROH + A^{\cdot} \quad (2)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$R^{\cdot} + A^{\cdot} \longrightarrow RA \quad (3)$$

$$RO^{\cdot} + A^{\cdot} \longrightarrow ROA \quad (4)$$

2.9.1.2 ยับยั้งการทำงานของ Singlet oxygen (Singlet oxygen quenching)

สารกลุ่มแคโรทีนอยด์ (carotenoids) สามารถยับยั้งการทำงานของ singlet oxygen โดยการเปลี่ยน singlet oxygen ($^1O_2^*$) ให้อยู่ในรูป triplet oxygen ($^3O_2$) (สมการที่ 5) และปล่อยพลังงานที่ได้รับออกไปในรูปความร้อน (สมการที่ 6) โดยที่แคโรทีนอยด์ (Car) 1 โมเลกุล สามารถทำปฏิกิริยากับ singlet oxygen ได้ถึง 10,000 โมเลกุล

$$^1O_2^* + {}^1Car \longrightarrow {}^3O_2 + {}^3Car^* \quad (5)$$

$$^3Car^* \longrightarrow {}^1Car + \text{thermal energy} \quad (6)$$

2.9.1.3 จับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (Metal chelation)

สารที่สามารถจับโลหะที่สำคัญเหล่านี้คือ Fe^{2+} และ Cu^{2+} ได้แก่ flavonoids, phosphoric acid และ citric acid เป็นต้น

2.9.1.4 หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (Chain-breaking)

วิตามินอีสามารถป้องกันเยื่อหุ้มเซลล์ถูกทำลายจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (lipid-auto oxidation) โดยทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็คตรอน (electron-acceptor) จากอนุมูล peroxyl ($ROO^{\cdot}$)

2.9.1.5 เสริมฤทธิ์

สารชนิดนี้จะช่วยสนับสนุนให้สารต้านการเกิดออกซิเดชันทำงานได้ดีขึ้น ตัวอย่างเช่นการทำงานร่วมกันระหว่าง

2.9.1.6 ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ (Enzyme inhibition)

สารประกอบ phenolic บางชนิด เช่น flavonoids, phosphoric acid และ gallates สามารถยับยั้ง lipoxygenase โดยสามารถเข้าจับกับไอออนของเหล็กซึ่งเป็นโคแฟกเตอร์ (Co-factor) มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าว

2.9.2 ตัวอย่างสารต้านออกซิเดชันบางชนิด

2.9.2.1 วิตามินเอ ในธรรมชาติวิตามินเอจะพบเฉพาะในสัตว์เท่านั้น แต่ในพืชจะมีสารประกอบแคโรทีนอยด์ที่สามารถเปลี่ยนเป็นวิตามินเอได้ จัดเป็น precursor ของวิตามินเอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เรียกว่า โปรวิตามินเอ มักพบในพืชผักใบเขียว ผักและผลไม้ที่มีสีเหลือง หรือสีส้มแดง (Packer *et al*. 1999)

2.9.2.2 วิตามินซี มีชื่อทางเคมีว่า กรดแอสคอร์บิค (ascorbic acid) (ภาพที่ 2.2) เป็นวิตามินที่ละลายได้ในน้ำ จะสลายตัวเมื่อถูกความร้อนหรือทิ้งไว้ในอากาศที่มีความชื้น วิตามินซีมีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน โดยจะเข้าทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ อนุมูล hydroxyl และอนุมูล peroxyl (Basu *et al*. 1999) นอกจากวิตามินซีสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระแล้วยังทำหน้าที่เป็นตัวส่งเสริมประสิทธิภาพของสารต้านออกซิเดชันของวิตามินอีด้วย โดยทำให้อนุมูล α-tocopherol$^{\cdot}$ ($TO^{\cdot}$) เปลี่ยนกลับไปเป็น α-tocopherol (TOH) ดังเดิม ดังสมการ

$$TO^{\cdot} + AH^{-} \longrightarrow TOH + A^{\cdot} \qquad (7)$$

ภาพที่ 2.2 โครงสร้างของ Ascorbic acid (วิตามินซี)

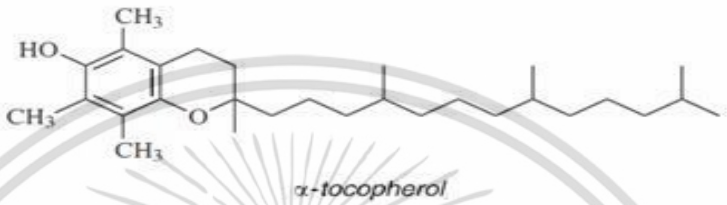
2.9.2.3 วิตามินอี (ภาพที่ 2.3) เป็นวิตามินที่ละลายได้ในไขมันเป็นสารต้านออกซิเดชันที่สำคัญ โดยวิตามินอีทำงานร่วมกับสารต้านออกซิเดชัน ตัวอื่นๆ เช่น วิตามินซีและซิลิเนียมเป็นต้น วิตามินอีช่วยปรับให้ร่างกายสามารถนำเอาวิตามินเอมาใช้ ซึ่งจะช่วยในการป้องกันสารที่เป็นพิษที่มีผลมาจากโลหะ เช่น ตะกั่ว ในธรรมชาติมีวิตามินอีอยู่หลายชนิด ปัจจุบันแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ โทโคฟีรอล และ โทโคไทอินอล แต่ละกลุ่มยังแยกเป็นวิตามินย่อยๆ อีก 4 ชนิด ได้แก่ อัลฟ่า (α-) เบต้า (β-) แกมม่า (γ-) และเดลต้า (δ-) วิตามินอีทำหน้าที่เป็นตัวให้ไฮโดรเจนแก่อนุมูล peroxyl ดังสมการ

$$\alpha\text{- tocopherol} + LOO^{\cdot} \longrightarrow \alpha\text{- tocopherol}^{\cdot} + LOOH \qquad (8)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อนุมูล α- tocopherol• ที่เกิดขึ้น สามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูล peroxyl ตัวอื่น ทำให้ได้สารที่มีความเสถียร (LOO-α- tocopherol) ดังสมการ เป็นผลให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันหยุดลง(Basu *et al*. 1999)

$$\alpha\text{- tocopherol}^{\cdot} + LOO^{\cdot} \longrightarrow LOO\text{-}\alpha\text{- tocopherol} \qquad (9)$$



ภาพที่ 2.3 โครงสร้างของ Tocopherol (วิตามินอี)

2.9.2.4 ซิลิเนียม ทองแดง และสังกะสี เป็นสารต้านออกซิเดชันทางอ้อม เนื่องจากเป็นส่วนประกอบของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เป็นสารต้านออกซิเดชัน มีการศึกษาวิจัยที่แสดงว่าการใช้ซิลิเนียม และวิตามินอีร่วมกันช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการป้องกันการเกิดโรคมะเร็งบางชนิด ซึ่งพบได้ในอาหารตามธรรมชาติ เนื่องจากสารต้านออกซิเดชันมีหน้าที่หลายอย่าง เช่น ทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์ (reducing agent) เป็นตัวขับไล่อนุมูลอิสระจับกับไอออนโลหะที่เร่งให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ด้วยหน้าที่ต่างๆเหล่านี้ จึงทำให้มีผลต่อการชะลอหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน หรือสามารถหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ และทำให้เป็นสารที่มีความเสถียร หรือเป็นสารที่ไม่ทำปฏิกิริยาออกซิเดชันอีกต่อไป หรือเป็นสารที่ไม่ใช่อนุมูลอิสระ (Non-radical product) (Basu *et al*. 1999)

2.9.2.5 แคโรทีนอยด์ แคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุที่พบทั่วไปในธรรมชาติ จะถูกสังเคราะห์ขึ้นในคลอโรพลาสต์ของพืช และพบมากในผักและผลไม้สุก (Tomas-Barberan and Robins. 1997) โครงสร้างพื้นฐานของแคโรทีนอยด์ประกอบด้วยโครงสร้างหลักที่เรียกว่า tetraterpene skeleton ซึ่งอาจมีวงแหวนที่บริเวณปลาด้านใดด้านหนึ่งหรือทั้งสองด้านของโมเลกุล วงแหวนนี้อาจเป็นวงแหวนห้าหรือหกเหลี่ยมก็ได้แคโรทีนอยด์สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ตามองค์ประกอบของโครงสร้างในโมเลกุลดังนี้ (Packer *et al*. 1999)

2.9.2.6 แคโรทีน (carotene) เป็นแคโรทีนอยด์ที่โครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยคาร์บอนและไฮโดรเจนเท่านั้น เช่น เบต้า-แคโรทีน (β-carotene) อัลฟ่า-แคโรทีน (α-carotene) แกมม่า-แคโรทีน (γ-carotene) ไลโคปีน (lycopene) เป็นต้น และซึ่ง เบต้า-แคโรทีน เป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอ การเปลี่ยนรูปจากเบต้า-แคโรทีนไปเป็นวิตามินเอโดยการแตกพันธะคู่ที่ตำแหน่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กึ่งกลางของโมเลกุล โดยเอนไซม์ carotene deoxygenase เมื่อเบต้า-แคโรทีน สามารถดักจับอนุมูลอิสระเข้าไว้ในโมเลกุลแล้ว โมเลกุลของเบต้า-แคโรทีนจะอยู่ในลักษณะที่มีความเสถียร

2.9.2.7 ออกโซแคโรทีนอยด์ (oxocarotenoid) หรือ แซนโทฟิล (xanthophyll) เป็นแคโรทีนอยด์ที่โครงสร้างโมเลกุลบริเวณวงแหวนประกอบด้วยกลุ่มอื่นนอกเหนือจากคาร์บอนและไฮโดรเจน เช่นเบต้า-คริบโทแซนทิน (β-cryptoxanthin) และลูทีน (lutein) (Packer *et al*. 1999)

2.9.2.8 สารประกอบฟีโนลิก (phenolic compounds)สารประกอบฟีโนลิกเป็นสารที่พบได้ในพืชทั่วไป มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนที่มีหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อยหนึ่งหมู่หรือมากกว่านั้น สามารถละลายน้ำได้ ที่พบในพืชมักจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycosides) และพบได้ในส่วนของช่องว่างภายในเซลล์ (cell vacuole) สารประกอบฟีโนลิกที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด มีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน ซึ่งกลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบจะเป็นสารประกอบพวกฟลาโวนอยด์ (flavonoids) นอกจากนั้นยังมีสารประกอบต่างๆ เช่น simple monocyclic phenol, phenyl propanoid, phenolic quinine และ polyphenolic ซึ่งได้แก่พวก lignin, tannin เป็นต้น รวมทั้งยังพบว่ามีสารประกอบที่มีกลุ่มฟีนอล (phenolic unit) รวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีนอัลคาลอยด์ (alkaloid) และเทอร์พีนอยด์ (terpenoid) เป็นต้น (อัญชนา เจนวิถีสุข. 2544)

สารประกอบฟีโนลิกหลายชนิดมีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีโนลิก และ แทนนิน เป็นต้น สารประกอบฟีโนลิกทำหน้าที่เป็นตัวขับไล่อนุมูลอิสระที่สำคัญคืออนุมูล peroxyl (Packer *et al*. 1999) โดยมีกลไก 2 แบบคือ เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีความเข้มข้นต่ำเมื่อเทียบกับสารออกซิไดซ์ สารประกอบฟีโนลิกจะป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน นอกจากนี้อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาจะถูกทำให้เป็นสารที่มีความเสถียร ดังนั้นจึงสามารถป้องกันการเกิดขั้นตอนพลอพาเกชันได้ นอกจากนี้สารประกอบฟีโนลิกบางชนิดยังทำหน้าที่เป็นสารคีเลต ดักจับไอออนของโลหะเข้าไว้ในโมเลกุล เช่น เคอร์ซิทิน (quercetin) สารประกอบฟีโนลิกยังทำหน้าที่ทั้งเป็นสารให้อิเล็กตรอน หรือเป็นตัวให้ไฮโดรเจน และกำจัดออกซิเจนที่อยู่ในรูปแอคทีฟ ด้วยหน้าที่ต่างๆ ดังกล่าวจึงทำให้สารประกอบฟีโนลิกเป็นสารต้านออกซิเดชัน ที่สำคัญชนิดหนึ่งในพืชทั่วไป (Rice-Evans and Miller. 1996)

2.9.3 วิธีการวัดความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ

2.9.3.1 วิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical (Hou *et al*. 2001) อนุมูล $DPPH^{\cdot}$ เป็นอนุมูลไนโตรเจนที่คงตัว มีสีม่วง อยู่ในรูปอนุมูลอยู่แล้ว โดยไม่ต้องทำปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดอนุมูลเหมือนกับกรณีอนุมูล $ABTS^{+\cdot}$ การวิเคราะห์เป็นการวัดความสามารถของสารทดสอบในการกำจัดอนุมูลอิสระ โดยวิธีให้ไฮโดรเจนอะตอม การวัดทำโดยใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(spectrophotometer) วัดการลดลงของสี เมื่อเติมสารต้านออกซิเดชันลงไป โดยวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

DPPH radical ใช้ในการทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระของสารตัวอย่าง(scavenging activity) สารละลายของ DPPH˙ มีสีม่วงในเอทานอล และเมื่อได้รับ H จะเปลี่ยนเป็นสารละลายสีเหลือง ตามสมการดังนี้ (Blois. 1958)

$$DPPH^{\cdot} + RH \longrightarrow DPPH\text{-}H + R^{\cdot} \quad (10)$$

สีม่วง ตัวอย่างทดสอบ สีเหลือง

ค่าที่วัดได้จะแสดงความสามารถในการสารต้านออกซิเดชันออกมาในค่า % inhibition ตามสมการดังนี้

$$\% \text{ inhibition} = [(A_{517 \text{ control}} - A_{517 \text{ test sample}})/ A_{517 \text{ control}})] \times 100 \quad (11)$$

ข้อดีของวิธีนี้คือ ทำได้ง่าย นิยมใช้เป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลของสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ

ข้อเสียของวิธีนี้คือ อนุมูล DPPH˙ มีความคงตัวไม่ไวต่อการทำปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลที่เกิดในเซลล์หรือร่างกาย ดังนั้นวิธีนี้จึงไม่สามารถแยกแยะจัดอันดับอนุมูลที่มีความไวสูงได้

2.9.3.2 วิธี lipid peroxidation (Halliwell *et al*. 1987) เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันแบบลูกโซ่ของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว อนุมูลอิสระเพียง 1 อนุมูลสามารถทำให้เกิดลิปิดเปอร์ออกไซด์เป็นจำนวนหลายร้อยโมเลกุลก่อนที่จะสิ้นสุดปฏิกิริยา เนื่องจากปฏิกิริยา lipid peroxidation สามารถเกิดได้ง่ายกับเยื่อหุ้มเซลล์ ที่ประกอบด้วยลิปิด 2 ชั้นการเกิดลิปิดออกซิเดชันกับลิปิดในเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ มีคุณสมบัติที่เปลี่ยนไป ยังส่งผลกระทบต่อเอนไซม์และรีเซพเตอร์ที่ฝังตัวอยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เอนไซม์และรีเซพเตอร์มีการทำงานที่เสียไปเป็นสาเหตุในเกิดโรคต่างๆ ได้อีกด้วย ผลผลิตที่เกิดขึ้นมาจาก lipid peroxidation ได้แก่ สารไฮโดรคาร์บอน เช่น อีเทน อีทีน และเพนเทน รวมถึง สารคีโตน และสารอัลดีไฮด์ เป็นต้น ซึ่งสารอัลดีไฮด์ที่มีความสำคัญ คือ มาลอนไดอัลดิไฮด์ (malondialdehyde, MDA) lipid peroxidation เป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ได้แก่ ปฏิกิริยาเริ่มต้นของการเกิดโซ่ ปฏิกิริยาการทวีเพิ่มขึ้น และการสิ้นสุดปฏิกิริยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปฏิกิริยาลูกโซ่เริ่มต้นด้วยการมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้น และอนุมูลอิสระนี้เข้าทำปฏิกิริยากับลิปิดและทำให้เกิดอนุมูลลิปิด ($L^{\cdot}$ หรือ $R^{\cdot}$)

วิธีนี้เป็นการวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้ง lipid peroxidation ของสารสกัดทดสอบ โดยใช้ตับหนูมาทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน แล้วทำให้เกิดผลผลิตจากปฏิกิริยา Lipid peroxidation ได้เป็นสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ (MDA) จากนั้นเติมกรดไทโอบาร์บิทูริกในสภาวะกรดสาร MDA จะทำปฏิกิริยากับกรดไทโอบาร์บิทูริก ได้เป็นสารมีสีเรียกว่า TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) เมื่อเติมสารสกัดทดสอบที่มีความสามารถในการยับยั้ง lipid peroxidation ลงไป จะทำให้สารสีจางลง จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ. 2549)

ข้อดีของวิธีการนี้ คือ ทำการศึกษาง่าย สะดวก ไม่ต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาสูง แต่มีข้อเสีย คือต้องใช้สิ่งมีชีวิตในการทำการทดลอง ทำให้ลดความนิยมลงเมื่อได้ค่าการดูดกลืนแสงแล้วนำไปคำนวณหา % inhibition ตามสมการ

$$\% \text{ Inhibition} = [(A_{532 \text{ control}} - A_{532 \text{ test sample}}) / A_{532 \text{ control}}] \times 100 \quad (12)$$

2.9.3.3 วิธี metal chelating activity (Dinis *et al.* 1994) การวัดความสามารถในการแย่งจับกับโลหะเป็นวิธีหนึ่งที่นิยมใช้ในการหาความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารที่ต้องการทดสอบ เพราะโลหะไอออนเป็นตัวการสำคัญในการเร่งปฏิกิริยาทำให้เกิดสารอนุมูลอิสระต่างๆมากมายหลายชนิด โดยเฉพาะธาตุเหล็กที่อยู่ในรูปเฟอร์รัส หรือ Fe^{2+} จะทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับออกซิเจนในอากาศ เกิดเป็นสารอนุมูล superoxide anion radical ($O_2^{\cdot}$) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระตัวเริ่มต้นที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระตัวอื่นๆต่อไป ดังนั้นวิธีการวัดความสามารถในการแย่งจับโลหะ Fe^{2+} ของสารที่ต้องการทดสอบนั้น อาศัยจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 562 nm ที่มีค่าลดลง โดยเมื่อเติมสาร ferrozine ลงไป สารนี้จะไปจับกับ Fe^{2+} แล้วอยู่ในรูป ferrozine-Fe^{2+}complex ซึ่งจะให้สีแดง และถ้าสารที่ต้องการทดสอบมีความสามารถในการแย่งจับกับ Fe^{2+} จะอยู่ในรูป antioxidant - Fe^{2+} complex แล้วจะทำให้สีแดงของ ferrozine - Fe^{2+}complex จางลงได้เมื่อได้ค่าการดูดกลืนแสงแล้วนำไปคำนวณหา % inhibition ตามสมการ

$$\% \text{ Inhibition} = [(A_{562 \text{ control}} - A_{562 \text{ test sample}}) / A_{562 \text{ control}}] \times 100 \quad (13)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9.3.4 วิธี reducing power (Oyaizu. 1986) ความสามารถของการเป็นตัวให้อิเล็กตรอนในปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชันของสารที่ต้องการทดสอบ สามารถใช้ในการหาความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้

วิธีนี้เป็นการศึกษาความสามารถในการรีดิวซ์ หรือให้อิเล็กตรอนของสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบแก่สารอนุมูลอิสระที่สังเคราะห์ขึ้นภายในระบบ โดยสารที่ต้องการทดสอบจะเป็นตัวให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระแล้วทำให้เปลี่ยนเป็นสารที่คงตัว อีกทั้งยังสามารถหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระอีกด้วย โดยอาศัยจากการวัดปฏิกิริยา reduction ของ $Fe^{3+}(CN^{-})_6$ ไปเป็น $Fe^{2+}(CN^{-})_6$ ซึ่งจะทำให้มีสีน้ำเงินที่เข้มขึ้น สามารถตรวจสอบความสามารถในการรีดิวซ์ได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 nm ค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นแสดงถึงความสามารถในการรีดิวซ์ที่มากขึ้น

2.10 น้ำมันหอมระเหยและคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ

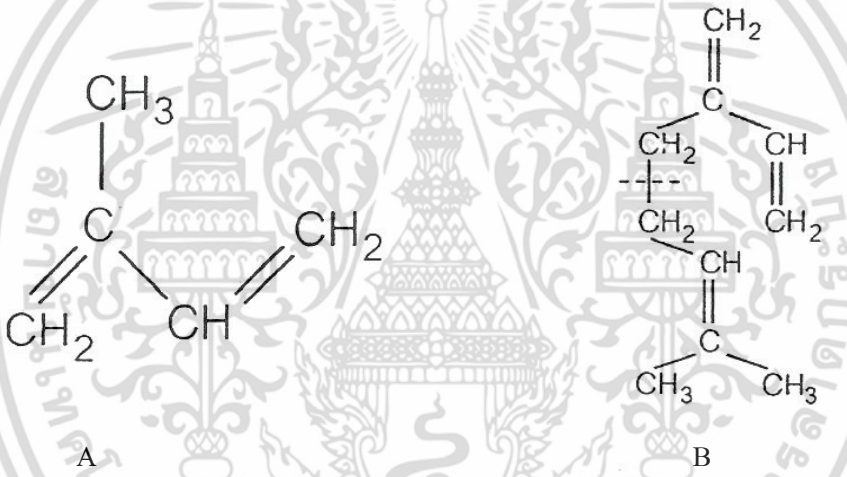
น้ำมันหอมระเหย เป็นสารอินทรีย์ที่มีองค์ประกอบสลับซับซ้อน ได้มาจากการสกัดน้ำมันที่พืชสร้างขึ้นมาจากขบวนการ metabolism แล้วเก็บไว้ตามส่วนต่าง ๆ ของต้น เช่น เมล็ด ดอก ใบ ผล เปลือกลำต้น หรือที่รากและเหง้า เป็นต้น ลักษณะทั่วไปของน้ำมันหอมระเหย จะเป็นของเหลว ใส ไม่มีสีหรือมีสีอ่อนๆ มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว ระเหยได้ง่ายที่อุณหภูมิปกติ และเมื่อได้รับความร้อนน้ำมันจะระเหยได้ดียิ่งขึ้น น้ำมันหอมระเหยจะมีคุณสมบัติที่แตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยที่มีอยู่ในพืชสมุนไพรแต่ละชนิด เช่น น้ำมันตะไคร้หอมประกอบด้วย genaniol, citronella และ borneol ซึ่งมีคุณสมบัติในการไล่แมลง หรือน้ำมันตะไคร้บ้านประกอบด้วย citral, linalool และ geraniol ซึ่งสารประกอบเหล่านี้ มีคุณสมบัติยั้งยับการเจริญเติบโตของพืชและจุลินทรีย์ได้ เป็นต้น โดยในปัจจุบันได้มีการนำพืชสมุนไพรไทยบางชนิดมากลั่นน้ำมันหอมระเหยและนำไปใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่นอุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมเคมี และทางด้านเภสัชกรรม เป็นที่แพร่หลายมากยิ่งขึ้น (กรมส่งเสริมการเกษตร. 2543) การพัฒนาน้ำมันหอมระเหยให้อยู่ในรูปของผลิตภัณฑ์กำจัดวัชพืช ได้มีการทำรูปของสาร (formulation) หรือสภาพของผลิตภัณฑ์กำจัดวัชพืชหลายแบบ โดยการทำรูปหรือปรุงแต่งผลิตภัณฑ์นั้นเพื่อให้มีประสิทธิภาพดีขึ้น การละลายน้ำดีขึ้น การคงรูปดีขึ้น ให้สารผลิตภัณฑ์อยู่ในรูปที่มีความเหมาะสมต่อการนำไปใช้ (พิมพร ลีลาพรพิสิฐ. 2543)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.10.1 กลุ่มของน้ำมันหอมระเหย

น้ำมันหอมระเหยเป็นสารผสมที่มีความซับซ้อน ในบางครั้งประกอบด้วยสารเคมีนับร้อยชนิด สารประกอบเหล่านี้ส่วนมากสามารถแยกออกเป็น 2-3 ชั้นหลักแต่ก็มีองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยอีกมากที่ไม่สามารถจัดลงไว้ในชั้นเหล่านี้ น้ำมันหอมระเหยสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 กลุ่ม ดังนี้ (John and Steven. 1993)

2.10.1.1 กลุ่มเทอร์ปีนอยด์ (terpenoids) เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีโครงสร้างเป็นเส้นตรง หรือเป็นวงแหวน ประกอบด้วยหน่วยไอโซพรีน (isoprene) (ภาพที่ 2.4) ตั้งแต่ 2 หน่วยขึ้นไปเรียกว่า เทอร์พีนไฮโดรคาร์บอน (terpene -hydrocarbons) การรวมกันของไอโซพรีนตั้งแต่ 2 หน่วยขึ้นไปทำให้เกิดกลุ่มของสารประกอบเทอร์ปีนอยด์



ภาพที่ 2.4 A ไอโวพรีน (C_2H_4) และ B การต่อกันแบบ head-to-tail ของไอโซพรีน 2 หน่วย
ที่มา: John and Steven (1993)

2.10.1.2 กลุ่มแอลิเฟติก (aliphatic) เป็นสารประกอบอินทรีย์ ซึ่งเป็นไฮโดรคาร์บอนโซ่ตรง และอนุพันธ์ที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ เช่น แอลกอฮอล์ (alcohols), อัลดีไอด์ (aldehydes), อีเทอร์ (ethers) และเอสเทอร์ (esters) มีจำนวนอะตอมคาร์บอนตั้งแต่ 7-35 ซึ่งพวกที่มีอะตอมคาร์บอนสูงๆอาจตกผลึกในขณะที่ให้เย็นหรือขณะเก็บไว้ ได้แก่ สารพวกสเทียโรปทีน (stearoptenes) น้ำมันหอมระเหยที่มีจุดเดือดต่ำจะพบสารประกอบพวกแอลกอฮอล์ อัลดีไฮด์ และคีโตน

2.10.1.3 กลุ่มเบนซีนอยด์ (benzenoids) น้ำหอมต่างๆมากมายมีเบนซีนอยด์เป็นส่วนประกอบ ดังตารางที่ 2.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างสารประกอบเบนซีนอยด์ที่พบในน้ำมันหอมระเหย

สารประกอบเบนซีนอยด์	แหล่งที่มา
Benzyl acetate	Jasmine, Gardenia, Ylang Ylang
Benzaldehyde	Almonds
Phenyl ethyl alcohol	Geranium, Neroli, Rose
Phenyl acetaldehyde	Hyacinth, Neroli,Rose
Phenyl ethyl acetate	Geranium, Neroli, Rose
Cinnamic alcohol	Balsamic
Cinnamic aldehyde	Cinnamon bark
Amyl cinnamic aldehyde	Jasmine petals
Coumarin	Balsamic
Acetophenone	Orange biossom
Methyl-β -naphthyl ketone	Orange biossom
Diphenyl ether	Geranium, Rose
Eugenol	Cloves,Cinnamon leaf,Bay,Pimento
Isoeugnol	Cloves,Cinnation, Nutmeg
Thymol	Thyma
Vanillin	Vanilla

ที่มา: ประเทืองศรี สินชัยศรี (2542)

2.10.1.4 สารหอมอื่นๆ ตัวอย่างของสารหอมในกลุ่มอื่นๆ สามารถนำมาแสดงไว้เพียง 2-3 ชนิด สารที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบหลายชนิดมีผลต่อกลิ่นของน้ำมันหอมระเหยแม้ว่าจะมีอยู่ในน้ำมันหอมระเหย คอนกรีตส์และแอบโซลูทส์ในปริมาณความเข้มข้นต่ำว่า 0.1 เปอร์เซ็นต์ มีการนำสารไนโตรเจนบริสุทธิ์หรือสารสังเคราะห์มาใช้ประโยชน์ในระดับอุตสาหกรรมในการปรุงแต่งน้ำมันหอมระเหยจากดอกมะลิ น้ำมันลาเวนดินและน้ำ มันเพททิทเกรน สารที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบพบน้อยมากในน้ำมันหอมระเหยแต่พบทั่วไปในกลิ่นที่ได้จากสัตว์ ตัวอย่างของสารที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ พบในน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากกระเทียม มัสตาร์ด และ *Ferula assa-foetida* L. มีการใช้สารสังเคราะห์ที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบในระดับอุตสาหกรรม ในการปรุงแต่งน้ำมัน buchu, galbanum, blackcurrant และ rose oil (Bauer *et al*. 1990)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.10.2 น้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่

สะระแหน่ (peppermint) เป็นพืชสมุนไพรพื้นบ้านที่เป็นแหล่งน้ำมันหอมระเหย อยู่ในวงศ์ Lamiaceae ใช้กันมานานตั้งแต่สมัยอียิปต์โบราณ ด้วยสรรพคุณของสะระแหน่ที่ช่วยบรรเทาอาการไอ ติดเชื้อในลำคอ แก้อาการเมารถ ทั้งยังส่งผลให้จิตใจรู้สึกกระปรี้กระเปร่า สดชื่น ผ่อนคลายจากอาการเมื่อยล้า ลดอาการตกใจ และช่วยให้ใจเย็นขึ้น นอกจากนี้ พบว่าการดื่มสะระแหน่ยังช่วยลดอาการปวด และเสียดท้องได้ดี จึงไม่น่าแปลกใจเลยว่าทำไมสะระแหน่ถึงเข้ามาอยู่ในข้าวของเครื่องใช้ประจำวันของคนเราเยอะแยะไปหมด แม้แต่ตามร้านสปาที่อยู่ในรูปของน้ำมันหอมระเหยกลิ่นสะระแหน่ ซึ่งมีสรรพคุณบำบัดความรู้สึกและจิตใจให้สงบ ร่างกายเกิดการตอบสนองให้รู้สึกสดชื่นได้อย่างรวดเร็ว ซึ่งกำลังได้รับความนิยมมาก โดยเฉพาะวัยคนทำงาน เนื่องจากในสะระแหน่มีระดับสารต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าผลไม้ เมล็ดธัญพืช และผักมาก จึงมีประโยชน์ต่อสุขภาพของเรา เช่น ช่วยกำจัดแบคทีเรียหรือระงับอาการปวดและความเจ็บปวดบางอย่างได้ เป็นต้น และไม่ว่าเป็นลูกอมจนถึงหมากฝรั่งหรือช็อกโกแลตรสสะระแหน่ก็ตาม จะช่วยให้ระบบย่อยอาหารดีขึ้นถ้ารับประทานหลังอาหารมื้อหลัก นอกจากนี้ การดมกลิ่นสะระแหน่ในขณะที่เรากำลังหลับยังช่วยเพิ่มการเต้นของหัวใจและกิจกรรมของคลื่นสมองอีกด้วย (Gulluce *et al*. 2007; Chauhan *et al*. 2009; Kizil *et al*. 2010) องค์ประกอบทางเคมี เมื่อนำมาสกัดน้ำมันหอมระเหยโดยวิธีกลั่นด้วยน้ำ ซึ่งประกอบด้วยสารเมนทอล (menthol), ลิมโมนีน (limonene), เมนโทน (menthone), ไอโซเมนโทน (isomenthone) และ 1, 8-ซินีออล (1, 8-cineole) (ฐาปนีย์ หงส์รัตนาวรกิจ. 2550)

2.10.3 ความสามารถของน้ำมันหอมระเหยในการต้านอนุมูลอิสระ

ประภัสสร วีระพันธ์ และวัชรี คุณกิตติ (2554) ได้ศึกษาคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยในหลอดทดลอง โดยศึกษาฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหย 8 ชนิด คือ กะเพรา กานพลู ตะไคร้หอม ตะไคร้บ้าน แฝกหอม มะนาว โรสแมรี่ และอบเชย ทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธี free radical scavenging (DPPH) และ lipid peroxidation inhibition (TBARS) จากการทดสอบพบว่า น้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าประสิทธิภาพของกะเพรา>กานพลู>แฝกหอม>ตะไคร้หอม ตามลำดับ และจากวิธี TBARS พบว่า อบเชย>ตะไคร้บ้าน >กะเพรา>กานพลู>ตะไคร้หอม ตามลำดับ การศึกษานี้พบว่าน้ำมันหอมที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดจากทั้ง 2 วิธีคือ น้ำมันจากกะเพรา และรองลงมาคือ กานพลู อย่างไรก็ตาม การที่น้ำมันหอม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากสมุนไพรแต่ละชนิด มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระได้ไม่เท่ากัน เนื่องจากองค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิดต่างกัน

กฤติกา นรจิตร และคณะ (2549) ศึกษาประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากพืชวงศ์ขิง 5 ชนิด ได้แก่ ขิง (*Zingiber officinale* Roscoe) ข่า (*Alpinia galanga* SW.) ขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.) กระชาย (*Boesenbergia pandurata* Holtt.) และเร่วหอม (*Amomum xanthioides* Wall.) โดยการต้มกลั่นและการสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด (petroleum ether และ ethanol) ด้วยวิธี DPPH และ β-carotene bleaching method พบว่าประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจาก ethanol สูงกว่าที่สกัดจาก petroleum ether และการต้มกลั่น (hydrodistillation) โดยสารสกัดขิงที่สกัดด้วย ethanol (ginger-ED) และสารสกัดขิงที่สกัดจากกากที่เหลือด้วย ethanol (ginger-EW) สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับ DPPH ได้ดีที่สุดซึ่งมีค่า %scavenging effect เท่ากับ 23.75 และ 23.01 ตามลำดับ ส่วนการทดสอบด้วยวิธี β-carotene bleaching method สารสกัดขมิ้นชันที่สกัดจากกากที่เหลือด้วย ethanol (turmeric-EW) และสารสกัดขมิ้นชันที่สกัดด้วย ethanol (turmeric-ED) สามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีที่สุดร้อยละ 86.2 และ 78.21 ตามลำดับ

Viuda-Martos *et al*. (2009) ทำการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยใช้วิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ของน้ำมันหอมระเหยจากไทม์ (*Thymus vulgaris* L.), กานพลู (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr.), ออริกาโน (*Origanum vulgare* L.), เสจ (*Salvia officinalis* L.) และโรสแมรี่ (*Rosmarinus officinalis* L.) มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.10, 0.38, 3.90, 4.20 และ 17.00 g/L ตามลำดับ

Oke *et al*. (2009) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจาก *Satureja cuneifolia* ที่ระดับความเข้มข้น 600-1400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยวิธี DPPH radical scavenging, Reducing power activity และ Metal chelating activity รวมถึง ปริมาณของกลุ่มฟีนอลด้วยเท่ากับ 185.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Joshi *et al*. (2011) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจาก *Neolitsea pallens*, *Lindera pulcherrima*, *Dodecadenia grandiflora*, *Persea duthiei*, *Persea odoratissima*, *Persea gamblei* และ *Phoebe lanceolata* โดยวิธี DPPH radical scavenging, Reducing power activity และ Lipid peroxidation พบว่าน้ำมันหอมระเหยจาก *D. Grandiflora* และ *L. Pulcherrima* มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยวิธี DPPH radical scavenging มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.032 มิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อมิลลิลิตร และ 0.87 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และ Lipid peroxidation มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.44 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 0.74 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

Singh *et al*. (2010) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากใบสมบูรณ์และใบอ่อนของ *Artemisia scoparia* โดยวิธี DPPH radical scavenging ที่ระดับความเข้มข้น 25-200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากใบสมบูรณ์มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าใบอ่อน

Prakash *et al*. (2011) การวิเคราะห์น้ำมันหอมระเหยจากเมล็ด และผลของ *Skimmia anquetilia* มีเปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันสูงและเอสเทอร์ของกรดไขมัน และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดน้ำจากเมล็ดและผลถูกนำมาวิเคราะห์โดย 2,2-diphenyl-1-picryalhydrazide (DPPH) และกิจกรรมการจับของ Fe^{2+} สารสกัดทั้ง 2 ส่วนแสดงให้เห็นว่ามีสารต้านอนุมูลอิสระในระดับปานกลาง

Afify *et al*. (2012) ได้ศึกษากิจกรรมเอนไซม์สารต้านอนุมูลอิสระ และการเกิด lipid peroxidation ที่เป็นตัวชี้วัดในการเก็บรักษาหัวมันฝรั่งโดยใช้น้ำมันหอมระเหยจากกานพลู กับยี่หร่า ซึ่งมีสาร carvone และ eugenol เป็นองค์ประกอบหลัก พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากยี่หร่า ที่ความเข้มข้น 300 ppm สามารถลดการเกิด lipid peroxidation ในการเก็บรักษาหัวมันฝรั่งได้ดีกว่าน้ำมันหอมระเหยจากกานพลูทุกความเข้มข้น

Gursoy *et al*. (2012) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจาก *Salvia palaestina* และ *S. ceratophylla* (L.) โดยวิธี DPPH radical scavenging, Reducing power activity และ Metal chelating activity พบว่าน้ำมันหอมระเหยจาก *S. palaestina* มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ระดับความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยวิธี DPPH radical scavenging มีค่าเท่ากับ 80.57 เปอร์เซ็นต์, ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยวิธี Reducing power activity มีค่าเท่ากับ 0.362 เปอร์เซ็นต์ สำหรับวิธี Metal chelating activity ไม่พบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

Rather *et al*. (2012) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากใบ *Juglans regia* พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากใบ *Juglans regia* โดยวิธี DPPH radical scavenging มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Ascorbic acid และ Butylated hydroxyl toluene (BHT) มีค่า IC_{50} เท่ากับ 34.5 และ 56.4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Singh *et al*. (2012) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจาก *Eucalyptus citriodora* ด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant (FRAP), Ferrous ion chelating activity, Hydrogen peroxide, DPPH radical scavenging และ Lipid peroxidation พบว่าน้ำมันหอมระเหยจาก *Eucalyptus citriodora* มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอยู่ในระดับปานกลางในทุกการทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kulisic *et al*. (2014) ได้ประเมินฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากออริกาโน (*Origanum vulgare* L.) ด้วยวิธีที่แตกต่างกัน คือ วิเคราะห์การสูญเสียของ β-carotene เนื่องมาจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของ linoleic acid, วิเคราะห์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยใช้วิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), วิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการเกิด lipid peroxidation หรือวิธี thiobarbituric acid reactive species (TBARS) ซึ่งจากการรายงานการวิจัยชี้ให้เห็นว่าน้ำมันหอมระเหยจากพืชมีประสิทธิภาพในการลดการเกิด lipid peroxidation ในการเก็บรักษาผลผลิตทางการเกษตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 อุปกรณ์การทดลอง

1. น้ำมันหอมระเหย ได้แก่ น้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ ซื้อจากบริษัท ฮงฮวด จำกัด ถ.จักรวรรดิ เขตสัมพันธวงศ์ จ.กรุงเทพฯ

2. พืชทดสอบ ได้แก่ เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองสายพันธุ์ KPS292 ซื้อจากศูนย์วิจัยพืชผักเขตร้อน อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม

3. สารเคมีที่ใช้ ได้แก่ ethanol 99 %, acetone, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), ferrous sulfate ($FeSo_4$), Ferrozine, phosphate buffer, potassium ferricyanide [$K_3Fe(CN_6)$], trichloroacetic acid (TCA), thiobarbituric acid (TBA), ferric chloride ($FeCl_3$), ascorbic acid, butylhydroxytoluene (BHT), phenolphthalein และ sodium hydroxide

4. อุปกรณ์ทางวิทยาศาสตร์ ได้แก่ บีกเกอร์, บิวเรต, clamps บิวเรต, ขาตั้งบิวเรต, แท่งแก้วคนสาร, กระบอกตวง, หลอดหยด, หลอดวัด spectrophotometer, หลอดทดลอง, โกร่งบด, ไมโครปิเปต (micropipette), กระดาษกรอง Whatman No.1, กรรไกร และมีด

5. เครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ ได้แก่ เครื่องวัดการดูดกลืนแสงของสารละลาย (spectrophotometer, GENESYS20, USA), ตู้ควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (growth chamber, Climacell707, UK), อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath, Memmert SV1422, Germany), ตู้ดูดความชื้น (dessicator), ตู้อบความร้อน (hot air oven, WTB binder FD115, USA), เครื่องชั่งอย่างละเอียด 4 ตำแหน่ง (Pioneer PA214, USA), เครื่องผสมสารละลาย (vortex mixer, GENESYS G650E, USA), เครื่องกวนสาร (stirrer, FAVORIT ST0707V2, Malaysia), เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (shaking incubator, Stuart SI500, UK) เครื่องวัดคุณภาพน้ำหลายตัวแปร (multi-parameter analyser, CONSORT C835, Belgium) และเครื่องเหวี่ยงสารให้ตกตะกอน (centrifuge, Universal 320R, Germany)

6. อุปกรณ์อื่น ๆ ได้แก่ หม้อต้มน้ำ, ไม้บรรทัด, อุปกรณ์ถ่ายภาพ, กล่องพลาสติกสี่เหลี่ยมผืนผ้า ขนาด 10x14.5x5.5 เซนติเมตร, กล่องพลาสติกสี่เหลี่ยมผืนผ้า ขนาด 13x18.5x6 เซนติเมตร, โฟม ขนาด 10x14.5x2.5 เซนติเมตร และตะแกรง ขนาด 10x14.5 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 วิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่

1.1 การทดสอบความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Scavenging activity on DPPH radical) ของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่

1.1.1 วิธีการการวัดความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน

เตรียมน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ ตามความเข้มข้นที่ต้องการศึกษา ละลายในเอทานอล จากนั้นเติมน้ำมันหอมระเหยที่เตรียมไว้ในแต่ละความเข้มข้นใส่ลงในหลอดทดลอง ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เติมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ลงในหลอดทดลองที่มีน้ำมันหอมระเหยแต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันทันทีบ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จึงนำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ทำ 3 ซ้ำ บันทึกค่าการดูดกลืนแสง (Rohman *et al*. 2010)

1.1.2 การบันทึกผล และการวิเคราะห์ผลการทดลอง

นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านอนุมูล DPPH (scavenging capacity) เปรียบเทียบความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันกับสารมาตรฐาน ได้แก่ วิตามินซีละลายในน้ำกลั่น และสาร BHT ละลายในเอทานอล คำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

$$\text{ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (\%)} = [(A-B)-(C-D)/(A-B)] \times 100$$

โดยกำหนดให้

A = ค่าดูดกลืนแสงของ DPPH ที่ไม่ได้ทำปฏิกิริยากับน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่

B = ค่าดูดกลืนแสงของเอทานอล

C = ค่าดูดกลืนแสงของ DPPH ที่ทำปฏิกิริยากับน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่

D = ค่าดูดกลืนแสงของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ในเอทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำข้อมูลฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (%)ไปคำนวณหาค่า IC_{50} (ค่าความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำให้อนุมูลอิสระลดลงครึ่งหนึ่งของปริมาณอนุมูลอิสระทั้งหมด) จากกราฟระหว่างค่า log ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่และเปอร์เซ็นต์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เพื่อหาความสัมพันธ์และสมการเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่กับเปอร์เซ็นต์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

1.2 การทดสอบความสามารถในการแย่งจับกับโลหะไอออน Fe^{2+} (Metal chelating activity) ของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่

1.2.1 วิธีการวัดความสามารถในการแย่งจับกับโลหะไอออน Fe^{2+}

เตรียมน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ ตามความเข้มข้นที่ต้องการศึกษา ละลายในเอทานอล จากนั้นเติมน้ำมันหอมระเหยที่เตรียมไว้ในแต่ละความเข้มข้นใส่ลงในหลอดทดลอง ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และเติมเอทานอล ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตรต่อหลอด เติมสารละลายเฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4$) ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง เขย่าให้เข้ากันและเติมสารละลาย Ferrozine ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ในหลอดทดลอง เขย่าส่วนผสมให้เข้ากันทันที บ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นจึงนำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) ทำ 3 ซ้ำ บันทึกค่าการดูดกลืนแสง (Rohman *et al*. 2010)

1.2.2 การบันทึกผล และการวิเคราะห์ผลการทดลอง

นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการแย่งจับกับโลหะไอออน Fe^{2+} (metal chelating activity) เปรียบเทียบความสามารถในการแย่งจับกับโลหะไอออน Fe^{2+} กับสารมาตรฐาน คือ EDTA ละลายในน้ำกลั่น คำนวณความสามารถในการแย่งจับกับโลหะไอออน Fe^{2+}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความสามารถในการแย่งจับกับโลหะไอออน Fe^{2+} (%) = [(A-B)-(C-D)/(A-B)] x 100

โดยกำหนดให้

A = ค่าดูดกลืนแสงของ Ferrozine ที่ไม่ได้ทำปฏิกิริยากับน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่

B = ค่าดูดกลืนแสงของเอทานอล

C = ค่าดูดกลืนแสงของ Ferrozine ที่ทำปฏิกิริยากับน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่

D = ค่าดูดกลืนแสงของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ในเอทานอล

นำข้อมูลความสามารถในการแย่งจับกับโลหะไอออน Fe^{2+} (%) ไปคำนวณหาค่า IC_{50} จากกราฟระหว่างค่า log ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่และเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการแย่งจับกับโลหะไอออน Fe^{2+} เพื่อหาความสัมพันธ์และสมการเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่กับเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการแย่งจับกับโลหะไอออน Fe^{2+}

1.3 การทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ (Reducing power activity) ของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่

1.3.1 วิธีการวัดความสามารถในการรีดิวซ์

เตรียมน้ำมันหอมระเหยจากจากสะระแหน่ ตามความเข้มข้นที่ต้องการศึกษา ละลายในเอทานอล จากนั้นเติมน้ำมันหอมระเหยที่เตรียมไว้ในแต่ละความเข้มข้นใส่ลงในหลอดทดลอง ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติมสารละลาย phosphate buffer ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และเติมสารละลาย potassium ferricyanide [$K_3Fe(CN_6)$] ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เขย่าให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียล นาน 20 นาที และใส่สารละลาย trichloroacetic acid (TCA) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง เขย่าส่วนผสมให้เข้ากัน นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 3,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที นำสารละลายส่วนบนปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร เติมเอทานอล ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เติมสารละลาย $FeCl_3$ ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที จากนั้นจึงนำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ทำ 3 ซ้ำ บันทึกค่าการดูดกลืนแสง (Rohman *et al*. 2010)

1.3.2 การบันทึกผล และการวิเคราะห์ผลการทดลอง

บันทึกค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ไปคำนวณหาค่า EC_{50} (ค่าความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระทดสอบที่ทำให้ค่าดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.5) จากกราฟระหว่างค่า log ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ และค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร เพื่อหาความสัมพันธ์และสมการเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่กับเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการรีดิวซ์ของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่

1.4 การทดสอบความสามารถในการต้านการเกิดปฏิกิริยา Lipid-peroxidation ของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่

1.4.1 วิธีการวัดความสามารถในการต้านปฏิกิริยา Lipid-peroxidation

เตรียมไข่แดงละลายใน phosphate buffer ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ pH 7.4 เพื่อให้ได้ความเข้มข้น 25 กรัมต่อลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง strrier เป็นเวลา 30 นาที แล้วเติมลงในหลอดทดลอง ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และเตรียมน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ ตามความเข้มข้นที่ต้องการศึกษาละลายในเอทานอล จากนั้นเติมน้ำมันหอมระเหยที่เตรียมไว้ในแต่ละความเข้มข้นใส่ลงในหลอดทดลอง ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เติมสารละลายเฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4$) ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ ลงในหลอดทดลองที่มีน้ำมันหอมระเหยแต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 60 นาที หลังจากนั้นเติมสารละลาย trichloroacetic acid (TCA) ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ตามด้วย thiobarbituric acid (TBA) ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันนำไปต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วหมุนเหวี่ยงที่ 3,500 รอบ/นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จึงนำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ทำ 3 ซ้ำ บันทึกค่าการดูดกลืนแสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4.2 การบันทึกผล และการวิเคราะห์ผลการทดลอง

นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านการเกิดปฏิกิริยา lipid-peroxidation คำนวณฤทธิ์ต้านปฏิกิริยา lipid-peroxidation

ฤทธิ์ต้านปฏิกิริยา lipid-peroxidation (%) = [(A-B)-(C-B-D)/(A-B)] x 100

โดยกำหนดให้

A = ค่าดูดกลืนแสงของหลอดทดลองควบคุมที่เติม $FeSO_4$

B = ค่าดูดกลืนแสงของหลอดทดลองควบคุมที่ไม่เติม $FeSO_4$

C = ค่าดูดกลืนแสงของหลอดทดลองที่มีน้ำมันหอมระเหย และเติม $FeSO_4$

D = ค่าดูดกลืนแสงของหลอดทดลองที่มีน้ำมันหอมระเหย และไม่เติม $FeSO_4$

นำข้อมูลฤทธิ์ในการต้านการเกิดปฏิกิริยา lipid-peroxidation (%) ไปคำนวณหาค่า IC_{50} จากกราฟระหว่างค่า log ของความเข้มข้นและเปอร์เซ็นต์ฤทธิ์ต้านการเกิดปฏิกิริยา lipid-peroxidation เพื่อหาความสัมพันธ์และสมการเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่กับเปอร์เซ็นต์ฤทธิ์ต้านการเกิดปฏิกิริยา lipid-peroxidation

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 2 ศึกษาคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ภายหลังการเร่งอายุ

2.1 การเตรียมตัวอย่างเมล็ดพันธุ์

เมล็ดพืชที่ใช้ทดสอบ คือ เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 เลือกเมล็ดที่มีขนาดเท่า ๆ กัน สมบูรณ์แข็งแรง (เปลือกหุ้มเมล็ดไม่แตก และผิวของเปลือกหุ้มเมล็ดปราศจากเชื้อสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรค) เมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 จำนวน 50 เมล็ดต่อกล่องเพาะทดลอง

2.2 วิธีการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์

ทำการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ตัวอย่างละ 50 เมล็ด จำนวน 4 ซ้ำ ใส่เมล็ดพันธุ์ในตะแกรงสี่เหลี่ยมผืนผ้า ที่มีขนาด 9.7x14.5 เซนติเมตร บนกรอบที่ทำมาจากโฟม ซึ่งสูง 2.5 เซนติเมตร วางในกล่องพลาสติกสี่เหลี่ยมผืนผ้า ที่มีขนาด 9.7x14.5x5.5 เซนติเมตร ที่บรรจุน้ำไว้แล้วจำนวน 100 มิลลิลิตร (ระดับน้ำสูงประมาณ 1.5 เซนติเมตร) ติดกระดาษซับน้ำอย่างหนาไว้ใต้ฝาปิดเพื่อดูดซับน้ำที่เกิดจากการกลั่นตัวใต้ฝากล่องหยดถูกเมล็ดพันธุ์ ปิดฝาให้สนิท แล้วนำไปเร่งอายุ ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามระยะเวลาที่กำหนดไว้ เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาเร่งอายุนำไปไว้ในตู้ดูดความชื้น (desiccator)

2.3 การวางแผนการทดลอง

ทำการทดลองโดยใช้แผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ประกอบด้วย 5 กรรมวิธีทดลอง กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ดังนี้

2.2.1 เมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ (กรรมวิธีควบคุม)

2.2.2 เมล็ดที่เร่งอายุเป็นเวลา 1 วัน

2.2.3 เมล็ดที่เร่งอายุเป็นเวลา 2 วัน

2.2.4 เมล็ดที่เร่งอายุเป็นเวลา 3 วัน

2.2.5 เมล็ดที่เร่งอายุเป็นเวลา 4 วัน

2.4 การบันทึกผลและวิเคราะห์ผล

2.4.1 การตรวจสอบการงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ชั่งทราย 870 กรัม เติมน้ำ 130 มิลลิลิตร นำมาใช้เป็นวัสดุเพาะเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในกล่องพลาสติกสี่เหลี่ยมผืนผ้า ที่มีขนาด 13x18.5x6 เซนติเมตร จำนวน 50 เมล็ดต่อซ้ำ ปิดฝากล่องพลาสติก หลังจากนั้นนำไปเพาะใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตู้ควบคุมการเจริญเติบโตที่ตั้งค่าความเข้มแสง 100 μmol $m^{-2}s^{-1}$ จำนวนชั่วโมง มีแสง 12 ชั่วโมง ไม่มีแสง 12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 80 เปอร์เซ็นต์

นับจำนวนต้นกล้าปกติ นับจำนวนต้นกล้าผิดปกติ นับจำนวนการงอก โดยกำหนดรากต้องงอกออกมาเป็นเมล็ดที่งอก ส่วนเมล็ดที่ไม่งอกจำแนกเป็น (เมล็ดสดไม่งอก คือ เมล็ดที่มีการดูดซับน้ำและยังคงสภาพเดิมไม่มีราก และใบงอกออกมา และเมล็ดตาย คือ เมล็ดที่มีเนื้อเยื่อตายแล้ว อาจมีลักษณะเน่า เหม็น นิ่ม หรือช้ำ) ในวันที่ 8 หลังวันเพาะเมล็ด นำข้อมูลของพืชทดสอบมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Tukey's Studentized Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

2.4.2 การตรวจสอบค่าการนำไฟฟ้า นำเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ตัวอย่างละ 50 เมล็ด จำนวน 4 ซ้ำ แช่เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในน้ำปราศจากประจุ (de-ionization) 250 มิลลิลิตร ในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้อง แล้ววัดค่าการนำไฟฟ้าทุก 30 นาที จนครบ 2 ชั่วโมง ก่อนการวัดค่าการนำไฟฟ้าแนะนำให้เทเมล็ดผ่านตะแกรงเพื่อกรองเอาเมล็ดออกเทสารละลายกลับสู่บีกเกอร์อันเดิม แกว่งบีกเกอร์เบาๆ 10-15 นาที

บันทึกค่าการนำไฟฟ้าทุก 30 นาที จนครบ 2 ชั่วโมง นำค่าการนำไฟฟ้าที่ได้ (ทศนิยม 2 ตำแหน่ง) ในแต่ละซ้ำแต่ละช่วงเวลามาหารด้วยน้ำหนักเมล็ดพันธุ์ จะได้ค่าการนำไฟฟ้าเฉลี่ยต่อน้ำหนักเมล็ด 1 กรัม หน่วยที่ได้จะเป็น μS $cm^{-1}g^{-1}$ นำข้อมูลของค่าการนำไฟฟ้าของพืชทดสอบมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Tukey's Studentized Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

2.4.3 การตรวจสอบปริมาณสาร malondialdehyde (MDA) นำเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ตัวอย่างละ 50 เมล็ด มาเพาะในกล่องพลาสติกสี่เหลี่ยมผืนผ้า ที่มีขนาด 10x14.5 เซนติเมตร โดยมีสำลี 10 กรัม เป็นวัสดุเพาะ และเติมน้ำ 50 มิลลิลิตร โดยแช่เป็นระยะเวลา 0, 6 และ 12 ชั่วโมง วางในกล่องทึบแสง แล้วนำไปไว้ในตู้ควบคุมการเจริญเติบโตที่ตั้งค่าความเข้มแสง 100 μmol $m^{-2}s^{-1}$ จำนวนชั่วโมง มีแสง 12 ชั่วโมง ไม่มีแสง 12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 80 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นนำมาวัดปริมาณ malondialdehyde (MDA) โดยบดเมล็ดให้ละเอียด ชั่งน้ำหนัก 0.5 กรัม ใส่สารละลาย trichloroacetic acid (TCA) ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ปริมาตร 6 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นาที นำสารละลายส่วนบน ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติม thiobarbituric acid (TBA) ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ใน TCA ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ปริมาตร 4 มิลลิลิตร และเติม butylhydroxytoluene (BHT) ความเข้มข้น 4% (w/v) ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร จากนั้นแช่ในน้ำอุณหภูมิ 98 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จากนั้นแช่น้ำแข็งทันทีเป็นเวลา 10 นาที นำสารละลายที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที นำสารละลายส่วนบนไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 532 และ 600 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)

นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณ MDA

1. ความเข้มข้นของ MDA (nmol/mL) = $(A_{532}-A_{600}/155,000) \times 10^6$
2. ปริมาณ MDA (nmol/g fresh weight, FW)

   = MDA concentration (nmol/mL) x homogenate volume (mL)/FW (g)

โดยกำหนดให้

A_{532} = ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร

A_{600} = ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

155,000 (mM^{-1} cm^{-1}) = ค่า extinction coefficient ของ MDA

บันทึกค่าปริมาณ MDA นำข้อมูลปริมาณ MDA ของพืชทดสอบมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Tukey's Studentized Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

2.4.4 การตรวจสอบกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส นำเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ตัวอย่างละ 50 เมล็ด มาเพาะในกล่องพลาสติกสี่เหลี่ยมผืนผ้า ที่มีขนาด 10x14.5 เซนติเมตร โดยมีสำลี 10 กรัม เป็นวัสดุเพาะ และเติมน้ำ 50 มิลลิลิตร โดยแช่เป็นระยะเวลา 0, 6 และ 12 ชั่วโมง วางในกล่องทึบแสง แล้วนำไปไว้ในตู้ควบคุมการเจริญเติบโตที่ตั้งค่าความเข้มแสง 100 $\mu mol\ m^{-2} s^{-1}$ จำนวนชั่วโมงมีแสง 12 ชั่วโมง ไม่มีแสง 12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 80 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำเมล็ดไปบดให้ละเอียดผสมกับอะซิโตน 30 มิลลิลิตร ในสภาพที่เย็น กรองด้วยกระดาษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรอง NO.1 แล้วล้างด้วยอะซิโตน 4 องศาเซลเซียส ครั้งละ 10 มิลลิลิตร จนเมล็ดที่บดในอะซิโตนไม่มีสีหลังจากผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง นำเมล็ดที่บดในอะซิโตนมาเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ขั้นตอนการทำปฏิกิริยา เตรียมน้ำมันพืชทดสอบ คือ น้ำมันมะพร้าว 5 กรัม ลงในหลอดทดลองเติมเฮกเซน 2.5 มิลลิลิตร กับ phosphate buffer ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ pH 7.5 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง strrier เติมเมล็ดที่บดในอะซิโตน 1 กรัม นำไปเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง NO.1 เติมอะซิโตนผสมเอทานอล อัตราส่วน 1:1 25 มิลลิลิตร หลังจากนั้นทำการไทเทรตสาร โดยใช้ NaOH ความเข้มข้น 0.01 นอร์มอล เป็นตัวไทเทรต ก่อนการไทเทรต หยด phenolphthalein ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ 2 ถึง 3 หยด เพื่อเป็นตัวอินดิเคเตอร์ของกิจกรรมไลเปส

นำค่าการไทเทรตด้วยสาร 0.01 N NaOH มาคำนวณเปอร์เซ็นต์กรดไขมันอิสระ

น้ำหนักของเมล็ดที่บดในอะซิโตน = A g

ปริมาณของ 0.01 N NaOH ที่ใช้ไทเทรตที่ทำปฏิกิริยาพอดีกับเมล็ดที่บดในอะซิโตน A g = B ml

ดังนั้น จำนวน NaOH ที่ทำปฏิกิริยาพอดีกับเมล็ดที่บดในอะซิโตน A g

$$= B \times 10^{-3} \text{ L} \times 0.01\text{N (mol L}^{-1}\text{)}$$

$$= B \times 10^{-3} \times 0.01 \text{ mol}$$

น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของกรดไขมันอิสระ = 282

ดังนั้น จำนวนกรดไขมันอิสระที่มี $= 282\ B \times 10^{-3} \times 0.01$ mol

$= 282\ B \times 10^{-5}$ g

คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ $= (282\ B \times 10^{-5} \times 10^{-2})/A$

ปริมาณกรดไขมันอิสระ $= (B \times 282 \times 10^{-3})/A$

บันทึกเปอร์เซ็นต์กรดไขมันอิสระ และนำเปอร์เซ็นต์กรดไขมันอิสระของพืชทดสอบมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Tukey's Studentized Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ ต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์

3.1 การเตรียมพืชทดสอบ

เมล็ดพืชที่ใช้ทดสอบ คือ เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 เลือกเมล็ดที่มีขนาดเท่า ๆ กัน สมบูรณ์แข็งแรง (เปลือกหุ้มเมล็ดไม่แตก และผิวของเปลือกหุ้มเมล็ดปราศจากเชื้อสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรค) เมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 จำนวน 50 เมล็ดต่อกล่องเพาะ จำนวน 4 กล่อง

3.2 การรมเมล็ดพันธุ์ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่

ทำการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ตัวอย่างละ 200 เมล็ด ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ นำเมล็ดวางในกล่องพลาสติกสี่เหลี่ยมผืนผ้า ที่มีขนาด 10x14.5x5.5 เซนติเมตร ติดกระดาษกรองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร บริเวณกึ่งกลางของฝากล่องพลาสติก ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่โดยการหยดน้ำมันหอมระเหยตามความเข้มข้นลงกลางกระดาษเพาะที่ติดอยู่บริเวณกึ่งกลางของฝากล่องพลาสติก จากนั้นปิดฝากล่องพลาสติกแล้วใช้เทปกาวใสพันปิดด้านข้างของกล่องพลาสติก เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.3 การวางแผนการทดลอง

ทำการทดลองโดยใช้แผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ประกอบด้วย 6 กรรมวิธีทดลอง กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ดังนี้

3.2.1 เมล็ดที่ไม่ได้รับน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ (กรรมวิธีควบคุม)

3.2.2 เมล็ดที่ได้รับน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ ที่ระดับความเข้มข้น 3 ไมโครลิตรต่อลิตร

3.2.3 เมล็ดที่ได้รับน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ ที่ระดับความเข้มข้น 6 ไมโครลิตรต่อลิตร

3.2.4 เมล็ดที่ได้รับน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ ที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครลิตรต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.5 เมล็ดที่ได้รับน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ ที่ระดับความเข้มข้น 20 ไมโครลิตรต่อลิตร

3.2.6 เมล็ดที่ได้รับน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ ที่ระดับความเข้มข้น 40 ไมโครลิตรต่อลิตร

3.4 การบันทึกผลและการวิเคราะห์ผล

3.4.1 การตรวจสอบการงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2 ข้อ 2.4.1

3.4.2 การตรวจสอบค่าการนำไฟฟ้า

เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2 ข้อ 2.4.2

3.4.3 การตรวจสอบปริมาณสาร MDA

เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2 ข้อ 2.4.3

3.4.4 การตรวจสอบกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส

เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2 ข้อ 2.4.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 4 ศึกษาผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ และนำไปผ่านการเร่งอายุ ต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์

4.1 การเตรียมพืชทดสอบ

เมล็ดพืชที่ใช้ทดสอบ คือ เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 เลือกเมล็ดที่มีขนาดเท่า ๆ กัน สมบูรณ์แข็งแรง (เปลือกหุ้มเมล็ดไม่แตก และผิวของเปลือกหุ้มเมล็ดปราศจากเชื้อสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรค) เมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 จำนวน 50 เมล็ดต่อกล่องเพาะ จำนวน 4 กล่อง

4.2 วิธีการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์

ทำการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ตัวอย่างละ 200 เมล็ด ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ นำเมล็ดวางในกล่องพลาสติกสี่เหลี่ยมผืนผ้า ที่มีขนาด 10x14.5x5.5 เซนติเมตร ติดกระดาษกรองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร บริเวณกึ่งกลางของฝากล่องพลาสติก ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่โดยการหยดน้ำมันหอมระเหยตามความเข้มข้นลงกลางกระดาษเพาะที่ติดอยู่บริเวณกึ่งกลางของฝากล่องพลาสติก จากนั้นปิดฝากล่องพลาสติกแล้วใช้เทปกาวใสพันปิดด้านข้างของกล่องพลาสติก เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองเป็นเวลา 3 วัน เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.3

4.3 การวางแผนการทดลอง

ทำการทดลองโดยใช้แผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ประกอบด้วย 7 กรรมวิธีทดลอง กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ดังนี้

4.2.1 เมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ (กรรมวิธีควบคุม)

4.2.2 เมล็ดที่เร่งอายุเป็นเวลา 3 วัน

4.2.3 เมล็ดที่ได้รับน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ ที่ระดับความเข้มข้น 3 ไมโครลิตรต่อลิตร ก่อนการเร่งอายุเป็นเวลา 3 วัน

4.2.4 เมล็ดที่ได้รับน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ ที่ระดับความเข้มข้น 6 ไมโครลิตรต่อลิตร ก่อนการเร่งอายุเป็นเวลา 3 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.5 เมล็ดที่ได้รับน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ ที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครลิตรต่อลิตร ก่อนการเร่งอายุเป็นเวลา 3 วัน

4.2.6 เมล็ดที่ได้รับน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ ที่ระดับความเข้มข้น 20 ไมโครลิตรต่อลิตร ก่อนการเร่งอายุเป็นเวลา 3 วัน

4.2.7 เมล็ดที่ได้รับน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ ที่ระดับความเข้มข้น 40 ไมโครลิตรต่อลิตร ก่อนการเร่งอายุเป็นเวลา 3 วัน

4.4 การบันทึกผลและการวิเคราะห์ผล

4.4.1 การตรวจสอบการงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2 ข้อ 2.4.1

4.4.2 การตรวจสอบค่าการนำไฟฟ้า

เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2 ข้อ 2.4.2

4.4.3 การตรวจสอบปริมาณสาร MDA

เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2 ข้อ 2.4.3

4.4.4 การตรวจสอบกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส

เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2 ข้อ 2.4.4

3.3 สถานที่ดำเนินการทดลอง

ห้องปฏิบัติการภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.4 ระยะเวลาดำเนินการ

ใช้ระยะเวลาในการทดลองทั้งหมด 24 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลอง

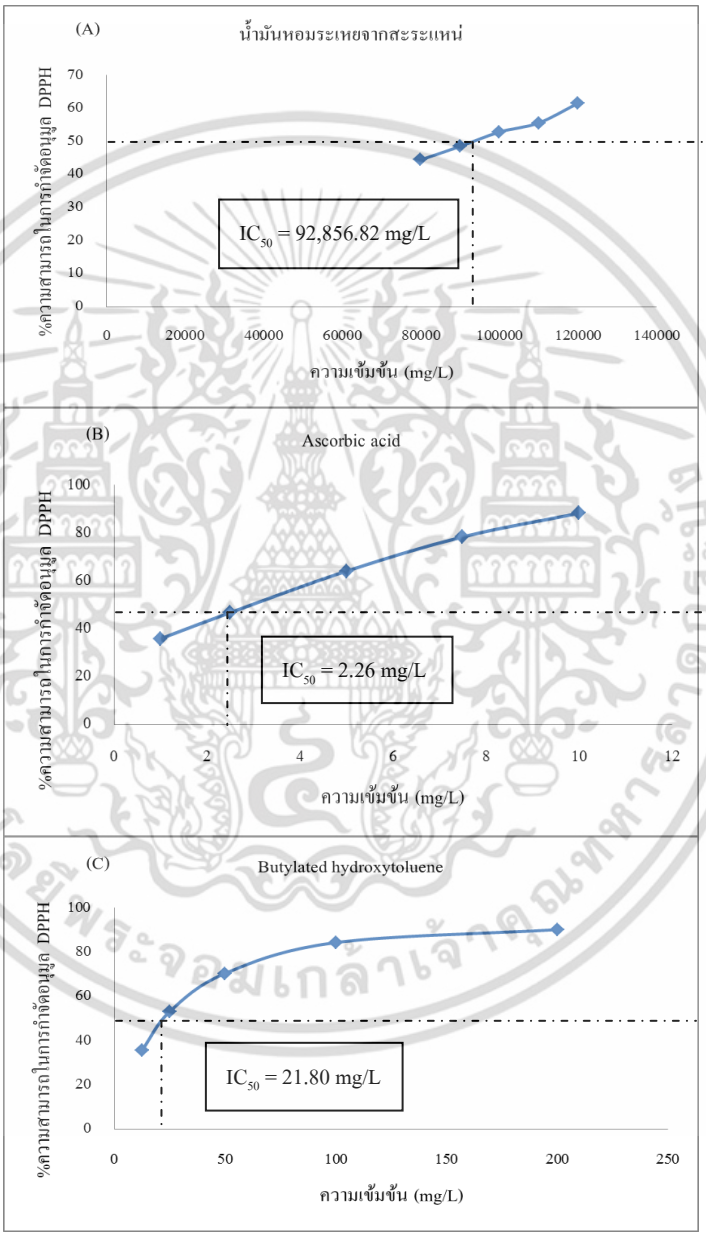
4.1 การทดลองที่ 1 ศึกษาประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่

4.1.1 การทดลองที่ 1.1 การทดสอบความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ด้วยวิธีการกำจัดอนุมูล DPPH ของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่

การทดสอบความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน จากการวัดความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH (scavenging activity on DPPH radical) การวัดความสามารถของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ที่เกิดขึ้น โดยเปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน คือ กรด ascorbic และ butylated hydroxytoluene (BHT) โดยนำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ (% radical scavenging activity) และนำค่าเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระมาคำนวณค่า 50% Inhibitory concentration (IC_{50}) ซึ่งหมายถึงค่าความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระทดสอบที่ทำให้ปริมาณของอนุมูลอิสระลดลงครึ่งหนึ่งของปริมาณอนุมูลอิสระทั้งหมด จากกราฟระหว่างค่า log ของความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระทดสอบ และเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH เพื่อหาความสัมพันธ์และสมการเส้นตรง เมื่อนำน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่มาทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 80,000, 90,000, 100,000, 110,000 และ 120,000 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับกรด ascorbic ที่ระดับความเข้มข้น 1, 2.5, 5, 7.5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BHT ที่ระดับความเข้มข้น 12.5, 25, 50, 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเมื่อความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย และสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐานเพิ่มขึ้น ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นตามไปด้วย และยังพบว่าความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยที่ระดับความเข้มข้น 120,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นสูงที่สุด มีความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH เท่ากับ 61.54 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่สารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน กรด ascorbic ที่ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH เท่ากับ 88.29 เปอร์เซ็นต์ และ BHT ที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH เท่ากับ 90.27 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 4.1) เมื่อคำนวณค่า IC_{50} ถ้าค่า IC_{50} มีค่าต่ำ แสดงให้เห็นว่ามีความสามารถในการต้านอนุมูล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อิสระสูง โดยน้ำมันหอมระเหย มีค่า IC_{50} เท่ากับ 92,856.82 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน กรด ascorbic และ BHT มีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.26 และ 21.80 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ แสดงว่ากรด ascorbic มีความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH มากที่สุด รองลงมาคือ BHT และน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ตามลำดับ



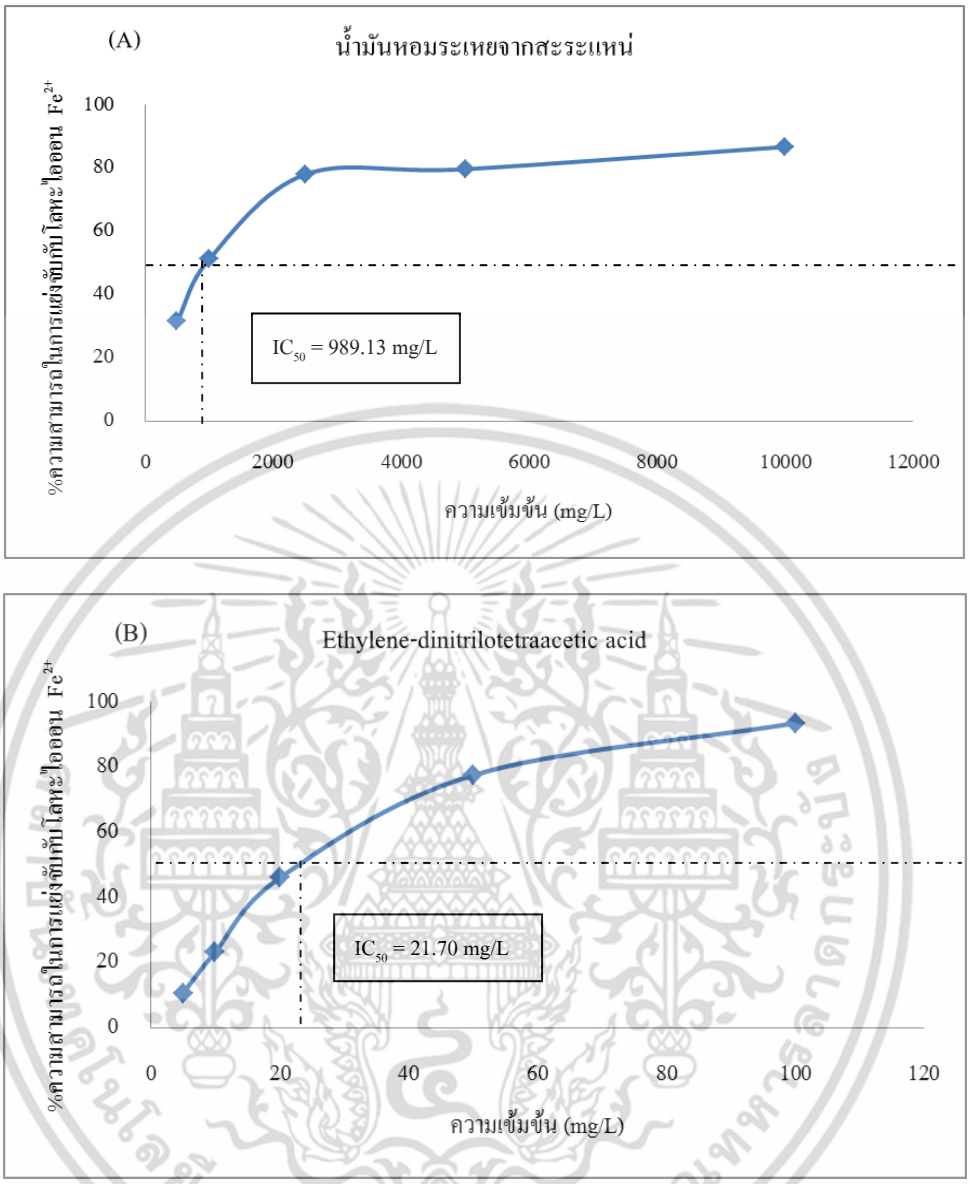
ภาพที่ 4.1 ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ด้วยวิธีการกำจัดอนุมูล DPPH ของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ (A) เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน กรด ascorbic (B) และ butylated hydroxytoluene (C)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.2 การทดลองที่ 1.2 การทดสอบความสามารถในการแย่งจับกับโลหะไอออน Fe^{2+} (Metal chelating activity) ของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่

การคีเลตไอออนของโลหะเป็นการทดสอบความสามารถของสารทดสอบในการแย่งจับกับโลหะไอออน Fe^{2+} เป็นอีกกลไกหนึ่งในการต้านอนุมูลอิสระ โดยทำการทดสอบความสามารถในการคีเลตไอออนโลหะของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน คือ ethylene-dinitrilotetraacetic acid (EDTA) โดยนำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการแย่งจับกับโลหะไอออน Fe^{2+} (% ferrous ion-chelating ability) และนำค่าเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการแย่งจับกับโลหะไอออน Fe^{2+} มาคำนวณค่า 50% Inhibitory concentration (IC_{50}) ซึ่งหมายถึงค่าความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระทดสอบที่ทำให้ปริมาณของโลหะไอออน Fe^{2+} ลดลงครึ่งหนึ่งของปริมาณโลหะไอออน Fe^{2+} ทั้งหมด จากกราฟระหว่างค่า log ของความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระทดสอบ และเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการแย่งจับกับโลหะไอออน Fe^{2+} เพื่อหาความสัมพันธ์และสมการเส้นตรง เมื่อนำน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่มาทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 500, 1,000, 2,500, 5,000 และ 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับ EDTA ที่ระดับความเข้มข้น 5, 10, 20, 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเมื่อความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย และสารมาตรฐานเพิ่มขึ้น ความสามารถในการแย่งจับกับโลหะไอออน Fe^{2+} เพิ่มขึ้นตามไปด้วย และยังพบว่าความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยที่ระดับความเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นสูงที่สุด มีความสามารถในการแย่งจับกับโลหะไอออน Fe^{2+} เท่ากับ 86.80 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่สารมาตรฐาน EDTA ที่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสามารถในการแย่งจับกับโลหะไอออน Fe^{2+} เท่ากับ 93.55 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 4.2) เมื่อคำนวณค่า IC_{50} ถ้าค่า IC_{50} มีค่าต่ำ แสดงให้เห็นว่ามีความสามารถในการแย่งจับกับโลหะไอออน Fe^{2+} สูง โดยน้ำมันหอมระเหยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 989.13 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนสารมาตรฐาน EDTA มีค่า IC_{50} เท่ากับ 21.70 มิลลิกรัมต่อลิตร แสดงว่า EDTA มีความสามารถในการแย่งจับกับโลหะไอออน Fe^{2+} มากที่สุด รองลงมาคือ น้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



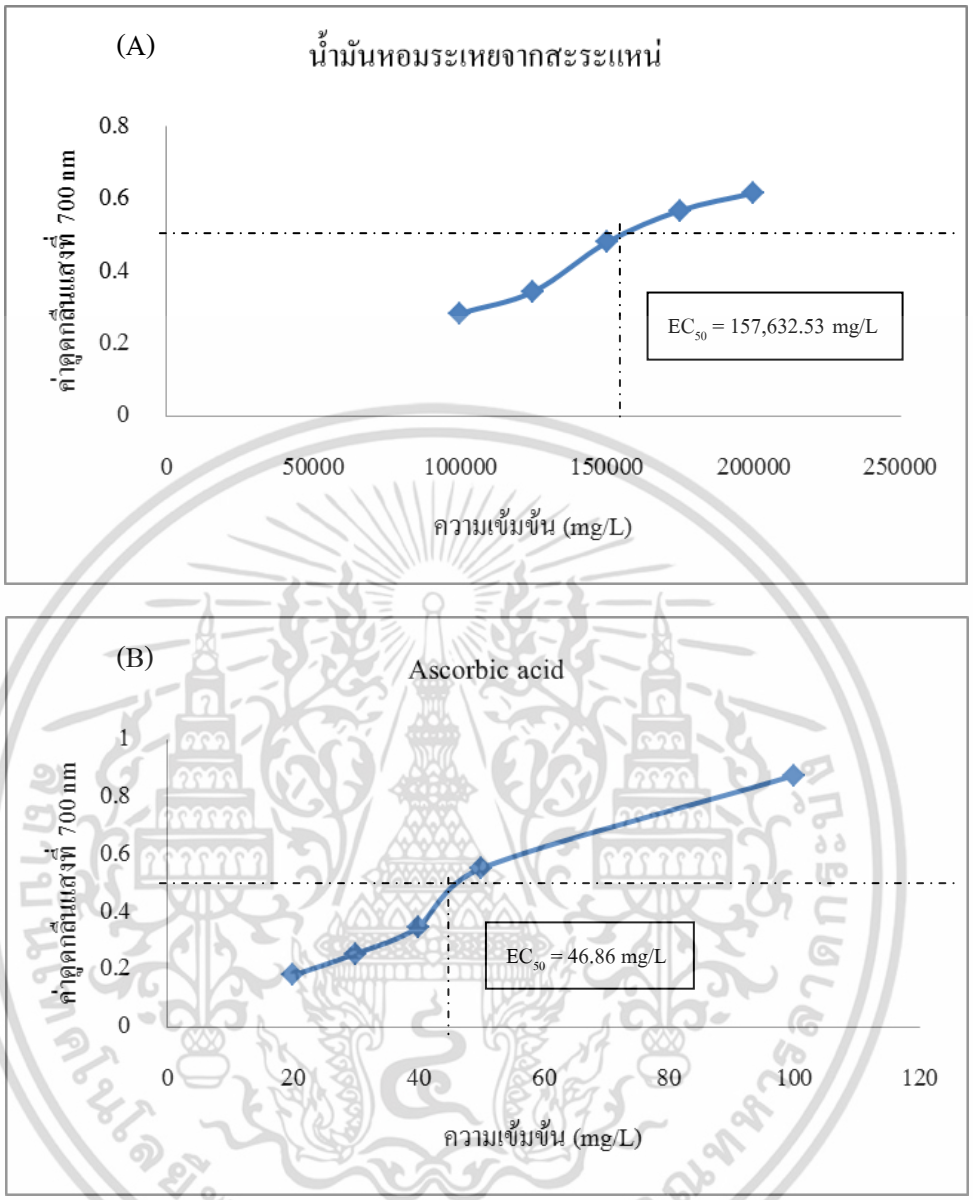
ภาพที่ 4.2 ความสามารถในการแย่งจับกับโลหะไอออน Fe^{2+} (Metal chelating activity) ของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ (A) เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน ethylene-dinitrilotetraacetic acid (B)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.3 การทดลองที่ 1.3 การทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ (Reducing power activity) ของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่

การทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ หรือความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของสารต้านอนุมูลอิสระ โดยทำการวัดความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ เปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน คือ กรด ascorbic โดยนำค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้จากการเกิดปฏิกิริยารีดักชัน ที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร มาคำนวณค่า 50% Effective concentration (EC_{50}) ซึ่งหมายถึงค่าความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระทดสอบที่ทำให้ค่าดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.5 จากกราฟระหว่างค่า log ของความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระทดสอบ และค่าดูดกลืนแสง เพื่อหาความสัมพันธ์และสมการเส้นตรง เมื่อศึกษาความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 100,000, 125,000, 150,000, 175,000 และ 200,000 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน กรด ascorbic ที่ระดับความเข้มข้น 20, 30, 40, 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของน้ำมันหอมระเหย และกรด ascorbic มีค่าเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย และกรด ascorbic ที่เพิ่มขึ้น โดยน้ำมันหอมระเหย มีค่า EC_{50} เท่ากับ 157,632.53 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน กรด ascorbic มีค่า EC_{50} เท่ากับ 46.86 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 4.3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.3 ความสามารถในการรีดิวซ์ (Reducing power activity) ของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ (A) เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน กรด ascorbic (B)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

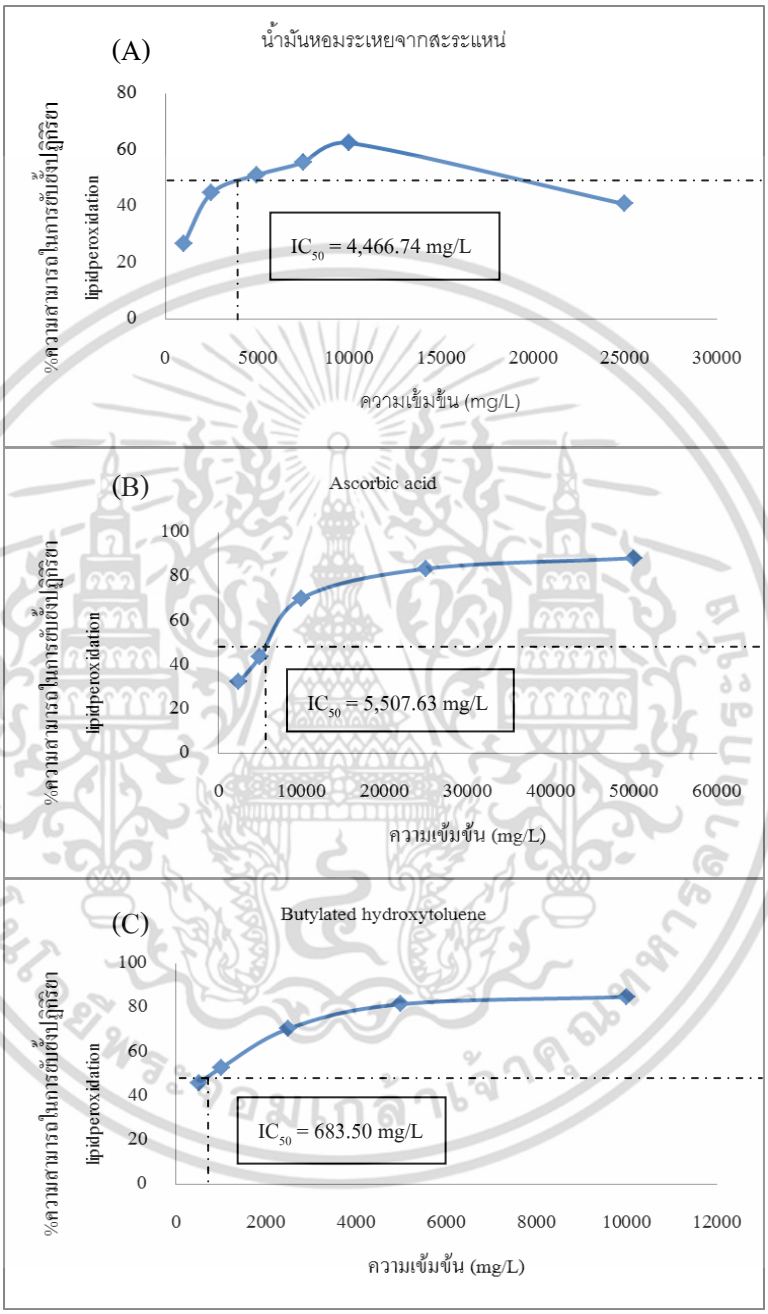
4.1.4 การทดลองที่ 1.4 การทดสอบความสามารถในการต้านการเกิดปฏิกิริยา Lipid-peroxidation ของ น้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่

การวัดความสามารถของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา lipid-peroxidation โดยการวัดจากปริมาณ malondialdehyde ที่ทำปฏิกิริยากับกรดไทโอบาบิทูริก ได้เป็นสารสีที่เรียกว่า thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) เปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน คือ กรด ascorbic และ butylated hydroxytoluene (BHT) นำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยา lipid-peroxidation (% anti-lipid peroxidation activity) และนำค่าเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยา lipid-peroxidation มาคำนวณค่า 50% Inhibitory concentration (IC_{50}) ซึ่งหมายถึงค่าความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระทดสอบที่ทำให้การเกิดปฏิกิริยาลดลงครึ่งหนึ่งจากการเกิดปฏิกิริยาทั้งหมด จากกราฟระหว่างค่า log ของความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระทดสอบ และเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยา lipid-peroxidation เพื่อหาความสัมพันธ์และสมการเส้นตรง เมื่อนำน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่มาทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 1,000, 2,500, 5,000, 7,500, 10,000 และ 25,000 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับกรด ascorbic ที่ระดับความเข้มข้น 2,500, 5,000, 10,000, 25,000 และ 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BHT ที่ระดับความเข้มข้น 500, 1,000, 2,500, 5,000 และ 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเมื่อความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย และสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐานเพิ่มขึ้น ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นตามไปด้วย และยังพบว่าความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยที่ระดับความเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยา lipid-peroxidation เท่ากับ 62.51 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่สารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน กรด ascorbic ที่ระดับความเข้มข้น 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยา lipid-peroxidation เท่ากับ 88.34 เปอร์เซ็นต์ และ BHT ที่ระดับความเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยา lipid-peroxidation เท่ากับ 84.85 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 4.4)

น้ำมันหอมระเหย ที่มีความเข้มข้นสูงมีความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยา lipid-peroxidation ลดต่ำลง แต่ในสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐานเมื่อมีความเข้มข้นสูงๆ มีแนวโน้มในการยับยั้งปฏิกิริยา lipid-peroxidation คงที่ (ภาพที่ 4.4) เมื่อคำนวณค่า IC_{50} ถ้าค่า IC_{50} มีค่าต่ำแสดงให้เห็นว่ามีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง โดยน้ำมันหอมระเหย มีค่า IC_{50} เท่ากับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4,466.74 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน กรด ascorbic และ BHT มีค่า IC_{50} เท่ากับ 5,507.63 และ 683.50 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ



ภาพที่ 4.4 ความสามารถในการต้านการเกิดปฏิกิริยา Lipid-peroxidation ของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่(A) เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน กรด ascorbic (B) และ butylated hydroxytoluene (C)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การทดลองที่ 2 ศึกษาคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ภายหลังการเร่งอายุ

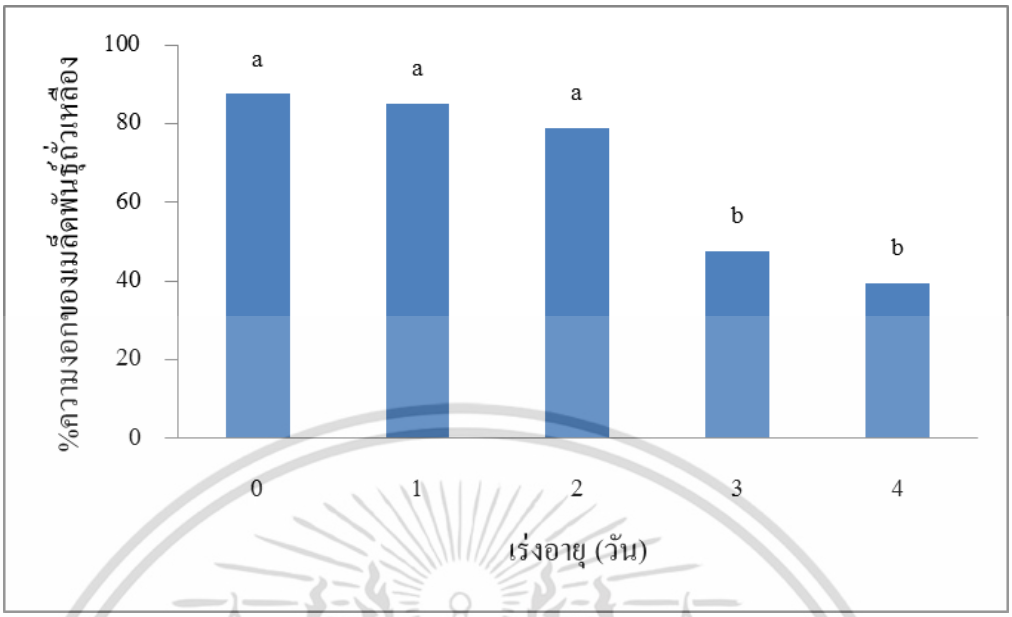
การงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

จากการทดลองการเร่งอายุของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 1, 2, 3 และ 4 วัน โดยมีเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้ผ่านการเร่งอายุเป็นกรรมวิธีควบคุม พบว่าการเร่งอายุของเมล็ดพันธุ์มีผลต่อการงอกของเมล็ดพันธุ์ โดยเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเร่งอายุเป็นเวลา 4 วัน มีอัตราการงอกต่ำที่สุด คือ 39.50 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเร่งอายุเป็นเวลา 3 วัน มีอัตราการงอก เท่ากับ 47.50 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเร่งอายุเป็นเวลา 2, 1 วัน และเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ (กรรมวิธีควบคุม) มีอัตราการงอกไม่แตกต่างกันในทางสถิติ โดยมีอัตราการงอก เท่ากับ 79.00, 85.00 และ 87.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพที่ 4.5 และภาพที่ 4.6)

การประเมินผลการทดสอบความงอก ได้จำแนกต้นกล้าที่งอกจากเมล็ดเป็นต้นกล้าปกติและต้นกล้าผิดปกติ พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเร่งอายุเป็นเวลา 4 วัน มีอัตราต้นกล้าปกติต่ำที่สุด คือ 35.50 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเร่งอายุเป็นเวลา 3 วัน มีอัตราต้นกล้าปกติ เท่ากับ 42.00 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเร่งอายุเป็นเวลา 2, 1 วัน และเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ (กรรมวิธีควบคุม) มีอัตราต้นกล้าปกติไม่แตกต่างกันในทางสถิติ โดยมีอัตราต้นกล้าปกติ เท่ากับ 73.00, 77.00 และ 78.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และยังพบว่าเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเร่งอายุเป็นเวลา 1, 2 วัน และเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ (กรรมวิธีควบคุม) มีอัตราต้นกล้าผิดปกติสูงและไม่แตกต่างกันในทางสถิติ โดยมีอัตราต้นกล้าผิดปกติ เท่ากับ 8.00, 6.00 และ 9.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ขณะที่เมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเร่งอายุเป็นเวลา 3 และ 4 วัน มีอัตราต้นกล้าผิดปกติต่ำและไม่แตกต่างกันในทางสถิติ (ตารางที่ 4.1)

ในการประเมินผลเมล็ดพันธุ์ที่ไม่งอก แบ่งเป็น 2 ส่วน คือ เมล็ดสดไม่งอก และเมล็ดตาย (ตารางที่ 4.1) เมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเร่งอายุเป็นเวลา 1, 2, 3, 4 วัน และเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ (กรรมวิธีควบคุม) มีอัตราเมล็ดสดไม่งอกไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ส่วนเมล็ดตาย พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเร่งอายุเป็นเวลา 4 วัน มีอัตราเมล็ดตายสูงที่สุด คือ 60.50 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเร่งอายุเป็นเวลา 3 วัน มีอัตราเมล็ดตาย เท่ากับ 51.00 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเร่งอายุเป็นเวลา 2, 1 วัน และเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ (กรรมวิธีควบคุม) มีอัตราเมล็ดตายไม่แตกต่างกันในทางสถิติ โดยมีอัตราเมล็ดตาย เท่ากับ 21.00, 15.00 และ 12.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



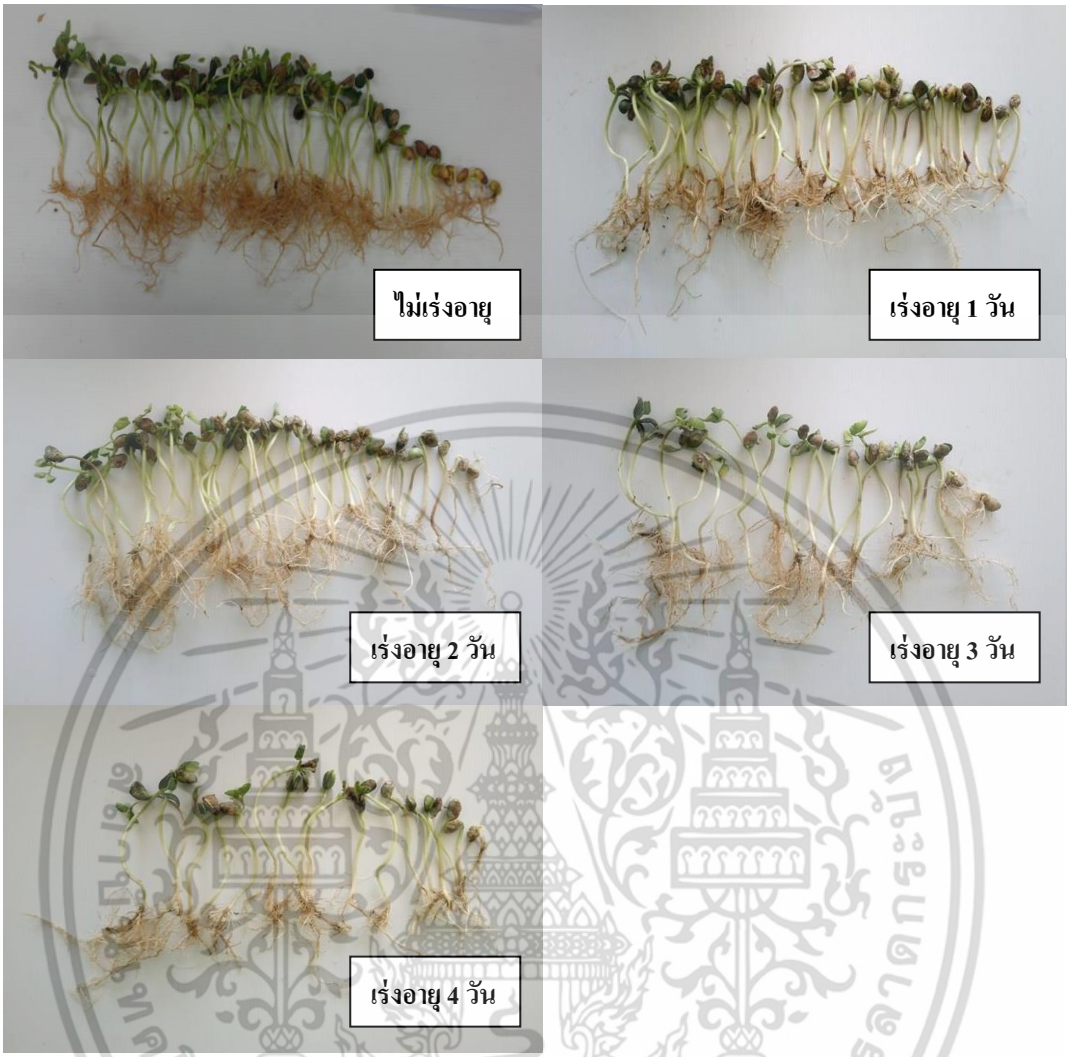
ภาพที่ 4.5 ผลของการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ต่อความงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยแบบ Tukey's Studentized Range Test (p=0.05)

ตารางที่ 4.1 ผลของการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ต่อเปอร์เซ็นต์ต้นกล้าปกติ ต้นกล้าผิดปกติ เมล็ดสดไม่งอก และเมล็ดตาย

เร่งอายุ (วัน)	ต้นกล้าปกติ (%)	ต้นกล้าผิดปกติ (%)	เมล็ดสดไม่งอก (%)	เมล็ดตาย (%)
0	78.00a ±6.32	9.50a ±1.91	0.00a ±0.00	12.50c ±4.73
1	77.00a ±3.83	8.00ab ±1.63	0.00a ±0.00	15.00c ±4.16
2	73.00a ±4.76	6.00ab ±2.31	0.00a ±0.00	21.00c ±4.16
3	42.00b ±4.32	4.50b ±2.52	1.50a ±3.00	51.00b ±5.29
4	35.50b ±1.91	4.00b ±1.63	0.00a ±0.00	60.50a ±3.42

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยแบบ Tukey's Studentized Range Test (p=0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

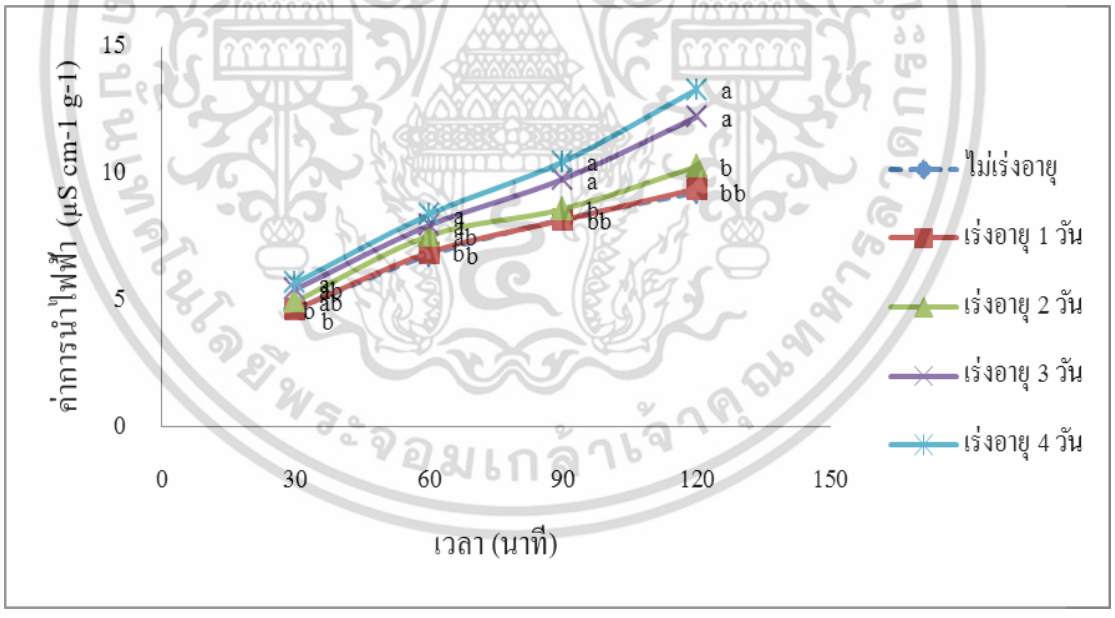


ภาพที่ 4.6 ผลของการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ต่อลักษณะต้นกล้าถั่วเหลือง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าการนำไฟฟ้าของสารที่รั่วไหลออกจากเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

เมื่อนำเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ผ่านการเร่งอายุ มาตรวจสอบค่าการนำไฟฟ้า ที่อุณหภูมิห้อง ทุก 30 นาที จนครบ 2 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ (ภาพที่ 4.7) พบว่า จากการวัดค่าการนำไฟฟ้าที่ 30 นาที เมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเร่งอายุเป็นเวลา 4 วัน มีค่าการนำไฟฟ้าสูงที่สุด คือ 5.69 $\mu S\ cm^{-1}g^{-1}$ รองลงมาคือ เมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเร่งอายุเป็นเวลา 3 และ 2 วัน มีค่าการนำไฟฟ้า เท่ากับ 5.44 และ 4.96 $\mu S\ cm^{-1}g^{-1}$ ตามลำดับ ในขณะที่เมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเร่งอายุเป็นเวลา 1 วัน และเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ (กรรมวิธีควบคุม) มีค่าการนำไฟฟ้าต่ำและใกล้เคียงกัน ซึ่งไม่แตกต่างกันในทางสถิติ คือ 4.64 และ 4.66 $\mu S\ cm^{-1}g^{-1}$ ตามลำดับ และเมื่อระยะเวลาผ่านไปที่ 60, 90 และ 120 นาที เมล็ดพันธุ์ทุกกรรมวิธีมีแนวโน้มของค่าการนำไฟฟ้าสูงขึ้น โดยที่ระยะเวลา 120 นาที เห็นได้ชัดเจนว่าเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเร่งอายุเป็นเวลา 4 และ 3 วัน มีค่าการนำไฟฟ้าสูงที่สุด คือ 13.32 และ 12.23 $\mu S\ cm^{-1}g^{-1}$ ส่วนเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเร่งอายุเป็นเวลา 2, 1 วัน และเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ (กรรมวิธีควบคุม) มีค่าการนำไฟฟ้าใกล้เคียงกันและไม่แตกต่างกันในทางสถิติ คือ 10.28, 9.40 และ 9.26 $\mu S\ cm^{-1}g^{-1}$ ตามลำดับ



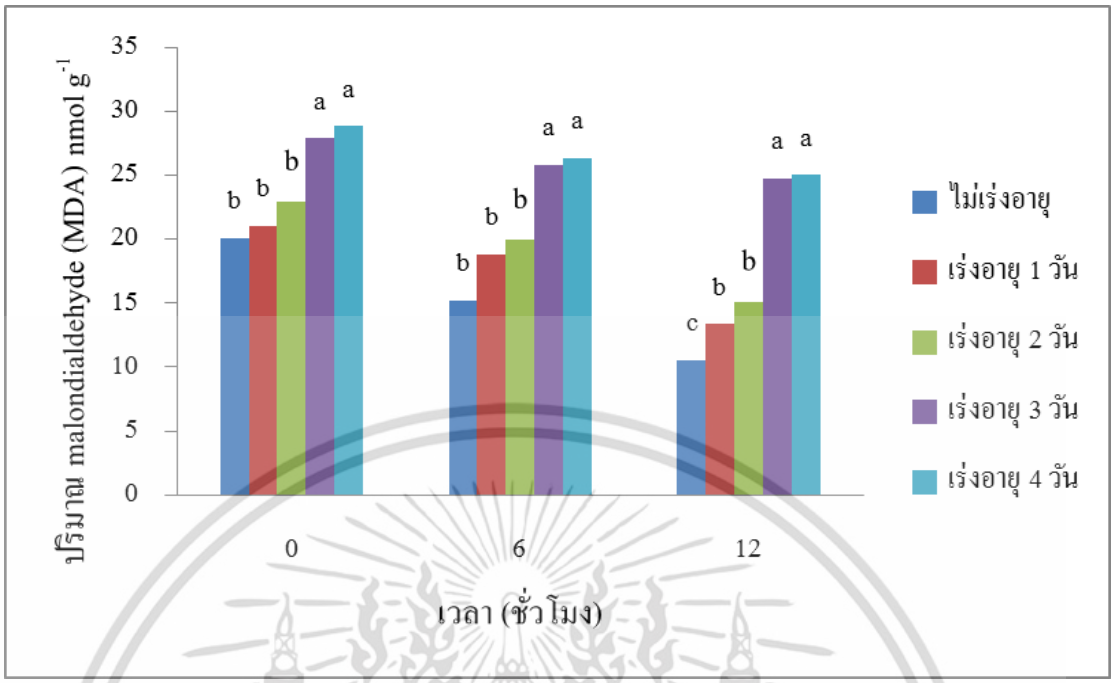
ภาพที่ 4.7 ผลของการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ต่อค่าการนำไฟฟ้าของสารที่รั่วไหลออกจากเมล็ด ที่เวลา 30, 60, 90 และ 120 นาที ค่าเฉลี่ยที่อยู่ในนาที (30, 60, 90 และ 120 นาที) เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยแบบ Tukey's Studentized Range Test (p=0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณสาร malondialdehyde (MDA) ภายในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองระหว่างการงอก

จากการทดลองการเร่งอายุของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 1, 2, 3 และ 4 วัน โดยมีเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้ผ่านการเร่งอายุเป็นกรรมวิธีควบคุม นำเมล็ดพันธุ์ไปเพาะเพื่อตรวจสอบปริมาณสาร MDA หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์เป็นระยะเวลา 0, 6 และ 12 ชั่วโมง (ภาพที่ 4.8) พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเร่งอายุเป็นเวลา 4 วัน ที่เวลา 0 ชั่วโมง หลังเพาะเมล็ดพันธุ์ มีปริมาณสาร MDA สูงที่สุด โดยมีค่า เท่ากับ 28.83 nmol g^{-1} รองลงมาคือเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเร่งอายุเป็นเวลา 3 วัน มีปริมาณสาร MDA เท่ากับ 27.87 nmol g^{-1} ในขณะที่เมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเร่งอายุเป็นเวลา 2, 1 วัน และเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ (กรรมวิธีควบคุม) มีปริมาณสาร MDA ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ โดยมีค่าเท่ากับ 22.93, 21.05 และ 20.07 nmol g^{-1} ตามลำดับ และเมล็ดพันธุ์ที่เพาะเป็นเวลา 6 และ 12 ชั่วโมง พบว่าเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในทุกกรรมวิธี ที่เวลา 6 ชั่วโมง มีปริมาณสาร MDA ลดลง และที่เวลา 12 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ปริมาณสาร MDA ยังคงลดลงอย่างต่อเนื่อง และเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับปริมาณสาร MDA ที่เวลา 6 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ โดยเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ (กรรมวิธีควบคุม) ที่เวลา 12 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ พบปริมาณสาร MDA ต่ำที่สุด มีค่าเท่ากับ 10.56 nmol g^{-1} และใกล้เคียงกับเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเร่งอายุเป็นเวลา 1 และ 2 วัน โดยมีค่าเท่ากับ 13.35 และ 15.12 nmol g^{-1} ในขณะที่เมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเร่งอายุเป็นเวลา 3 และ 4 วัน มีปริมาณสาร MDA สูงที่สุด คือ 24.74 และ 25.02 nmol g^{-1} ตามลำดับ และแตกต่างกันในทางสถิติกับเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ (กรรมวิธีควบคุม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



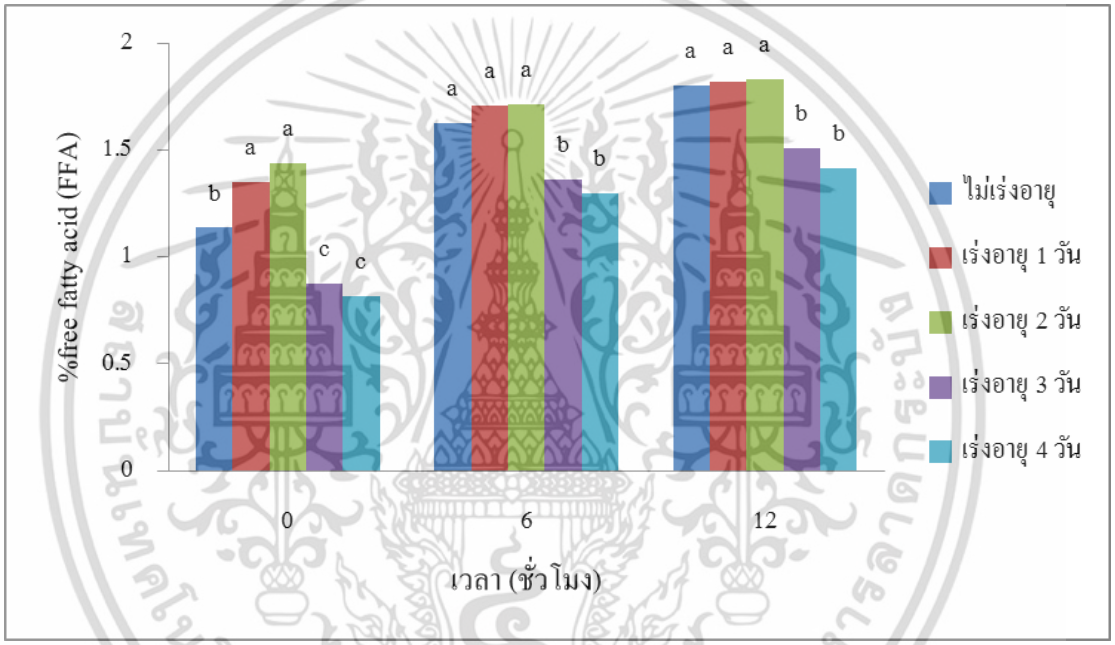
ภาพที่ 4.8 ผลของการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ต่อปริมาณสาร malondialdehyde ที่เวลา 0, 6 และ 12 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ ค่าเฉลี่ยที่อยู่ในชั่วโมง (0, 6 และ 12 ชั่วโมง) เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยแบบ Tukey's Studentized Range Test (p=0.05)

กิจกรรมเอนไซม์ไลเปสของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองระหว่างการงอก

จากการทดลองการเร่งอายุของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 1, 2, 3 และ 4 วัน โดยมีเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้ผ่านการเร่งอายุเป็นกรรมวิธีควบคุม เพื่อตรวจสอบกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสจากการทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้น (น้ำมันมะพร้าว) ได้กรดไขมันอิสระ (free fatty acid, FFA) หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ เป็นระยะเวลา 0, 6 และ 12 ชั่วโมง (ภาพที่ 4.9) พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเร่งอายุเป็นเวลา 3 และ 4 วัน ที่เวลา 0 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ มีปริมาณกรดไขมันอิสระต่ำที่สุดซึ่งไม่แตกต่างกันในทางสถิติ โดยมีค่าเท่ากับ 0.87 และ 0.87 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รองลงมาคือเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ (กรรมวิธีควบคุม) มีปริมาณกรดไขมันอิสระ เท่ากับ 1.13 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเร่งอายุเป็นเวลา 2 และ 1 วัน มีปริมาณกรดไขมันอิสระสูงและใกล้เคียงกัน ซึ่งไม่แตกต่างกันในทางสถิติ โดยมีปริมาณกรดไขมันอิสระ เท่ากับ 1.43 และ 1.35 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมล็ดพันธุ์ที่เพาะเป็นเวลา 6 และ 12 ชั่วโมง พบว่าเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในทุกกรรมวิธี ที่เวลา 6 ชั่วโมง มีปริมาณกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้น และที่เวลา 12 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ปริมาณกรดไขมันอิสระ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยังคงเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง และเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับปริมาณกรดไขมันอิสระ ที่เวลา 6 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ โดยเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเร่งอายุเป็นเวลา 2, 1 วัน และเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ (กรรมวิธีควบคุม) ที่เวลา 12 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ พบปริมาณกรดไขมันอิสระสูงและใกล้เคียงกัน ซึ่งไม่แตกต่างกันในทางสถิติ โดยมีปริมาณกรดไขมันอิสระ เท่ากับ 1.83, 1.82 และ 1.80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่เมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเร่งอายุเป็นเวลา 3 และ 4 วัน มีปริมาณกรดไขมันอิสระต่ำที่สุด เท่ากับ 1.51 และ 1.41 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และแตกต่างกันในทางสถิติกับเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ (กรรมวิธีควบคุม)



ภาพที่ 4.9 ผลของการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ต่อกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส ที่เวลา 0, 6 และ 12 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ ค่าเฉลี่ยที่อยู่ในชั่วโมง (0, 6 และ 12 ชั่วโมง) เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยแบบ Tukey's Studentized Range Test (p=0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ ต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์

การงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

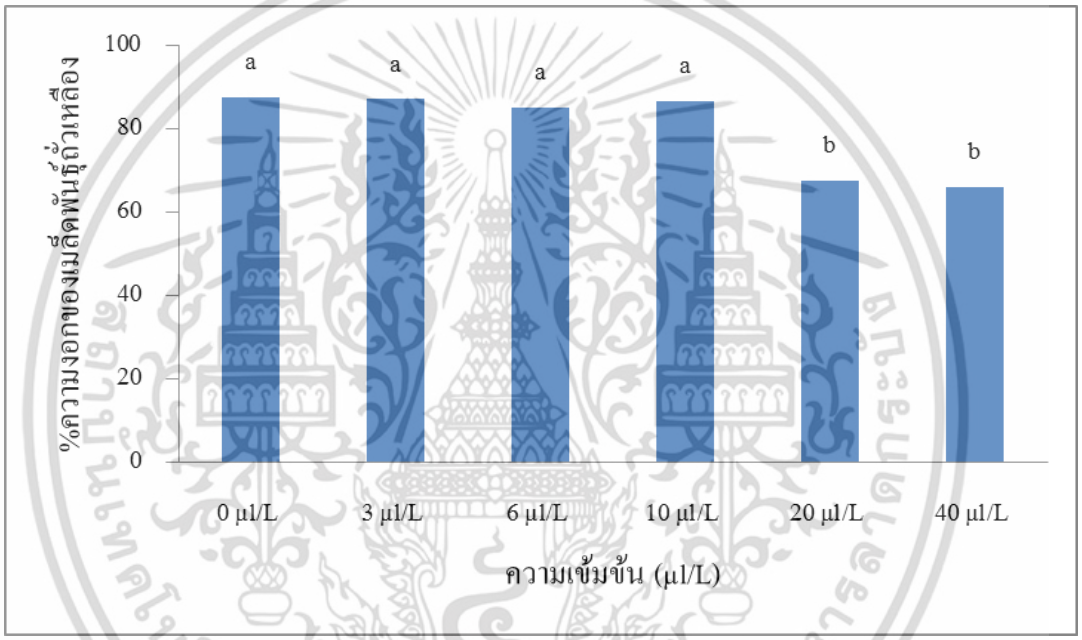
จากการทดลองผลของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ โดยการรมเมล็ดพันธุ์ ที่ระดับความเข้มข้น 3, 6, 10, 20 และ 40 ไมโครลิตรต่อลิตร และที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เป็นกรรมวิธีควบคุม เพื่อศึกษาการงอกของเมล็ดพันธุ์ (ภาพที่ 4.10 และภาพที่ 4.11) พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 3, 6 และ 10 ไมโครลิตรต่อลิตร มีอัตราการงอกสูงและใกล้เคียงกับเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร (กรรมวิธีควบคุม) ซึ่งไม่แตกต่างกันในทางสถิติ โดยมีค่าเท่ากับ 87.00, 85.00 และ 86.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ขณะที่เมล็ดพันธุ์ที่ทดสอบด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร (กรรมวิธีควบคุม) มีอัตราการงอก เท่ากับ 87.50 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 20 และ 40 ไมโครลิตรต่อลิตร มีอัตราการงอกต่ำ โดยมีค่าเท่ากับ 67.50 และ 66.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และแตกต่างกันในทางสถิติกับเมล็ดพันธุ์ที่ทดสอบด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร (กรรมวิธีควบคุม)

การประเมินผลการทดสอบความงอก ได้จำแนกต้นกล้าที่งอกจากเมล็ดเป็นต้นกล้าปกติและต้นกล้าผิดปกติ (ตารางที่ 4.2) พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 3, 6 และ 10 ไมโครลิตรต่อลิตร มีอัตราต้นกล้าปกติสูงและใกล้เคียงกับเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร (กรรมวิธีควบคุม) ซึ่งไม่แตกต่างกันในทางสถิติ โดยมีค่าเท่ากับ 75.50, 74.50 และ 77.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ขณะที่เมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร (กรรมวิธีควบคุม) มีอัตราต้นกล้าปกติเท่ากับ 78.00 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 20 และ 40 ไมโครลิตรต่อลิตร มีอัตราต้นกล้าปกติต่ำ โดยมีค่าเท่ากับ 59.00 และ 57.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และแตกต่างกันในทางสถิติกับเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร (กรรมวิธีควบคุม) และยังพบว่าเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กรรมวิธีควบคุม), 3, 6, 10, 20 และ 40 ไมโครลิตรต่อลิตร มีอัตราต้นกล้าผิดปกติไม่แตกต่างกันในทางสถิติ

ในการประเมินผลเมล็ดพันธุ์ที่ไม่งอก แบ่งเป็น 2 ส่วน คือ เมล็ดสดไม่งอก และเมล็ดตาย (ตารางที่ 4.2) พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กรรมวิธีควบคุม), 3, 6, 10, 20 และ 40 ไมโครลิตรต่อลิตร มีอัตราเมล็ดสดไม่งอกไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ส่วนเมล็ดตาย พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 3, 6 และ 10 ไมโครลิตรต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลิตร มีอัตราเมล็ดตายต่ำและใกล้เคียงกับเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร (กรรมวิธีควบคุม) ซึ่งไม่แตกต่างกันในทางสถิติ โดยมีค่าเท่ากับ 8.50, 12.00 และ 12.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ขณะที่เมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร (กรรมวิธีควบคุม) มีอัตราเมล็ดตาย เท่ากับ 12.50 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 20 และ 40 ไมโครลิตรต่อลิตร มีอัตราเมล็ดตายสูง โดยมีค่าเท่ากับ 30.00 และ 31.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และแตกต่างกันในทางสถิติกับเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร (กรรมวิธีควบคุม)



ภาพที่ 4.10 ผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ต่อความงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยแบบ Tukey's Studentized Range Test (p=0.05)

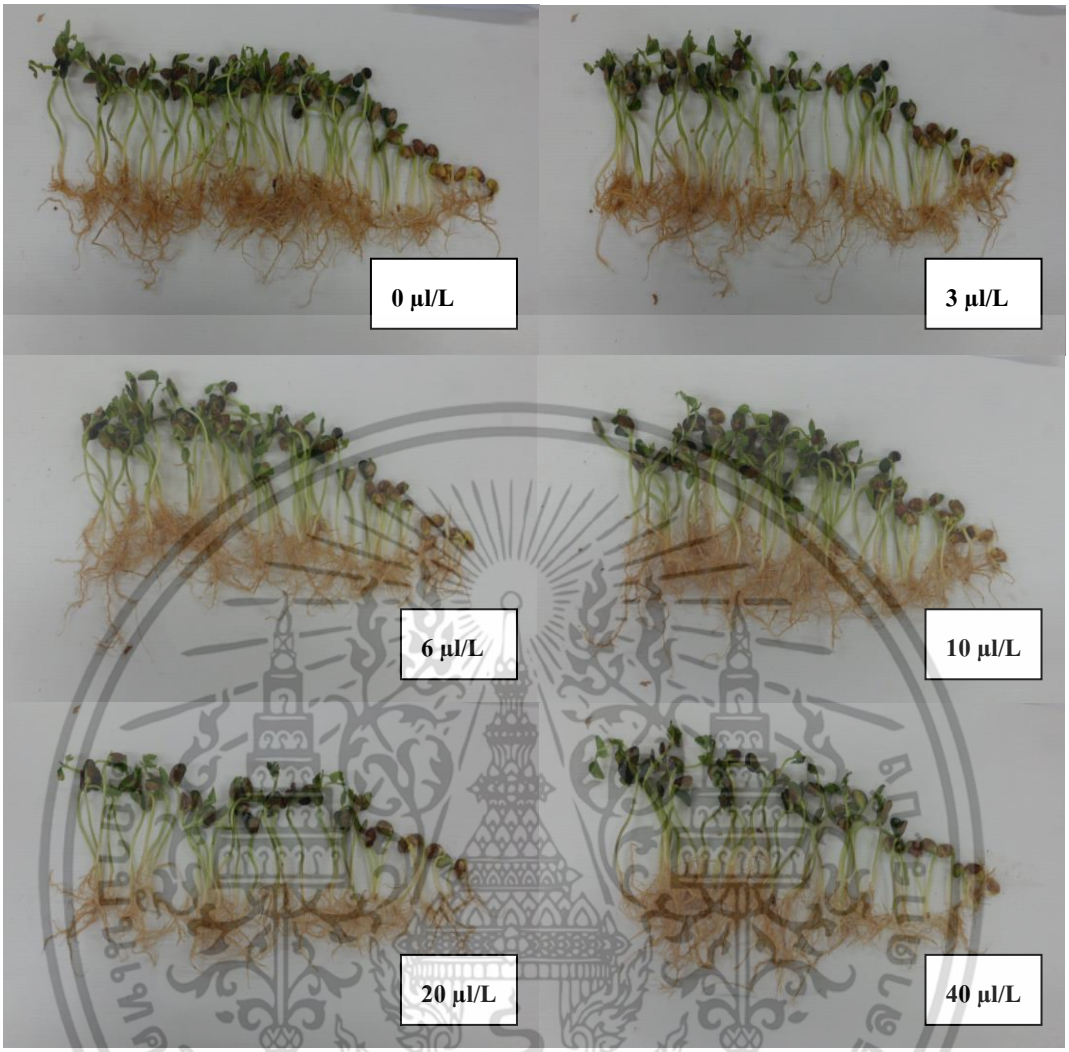
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ต่อเปอร์เซ็นต์ต้นกล้าปกติ ต้นกล้าผิดปกติ เมล็ดสดไม่งอก และเมล็ดตาย

ความเข้มข้น (µl/L)	ต้นกล้าปกติ (%)	ต้นกล้าผิดปกติ (%)	เมล็ดสดไม่งอก (%)	เมล็ดตาย (%)
0 µl/L	78.00a ±6.32	9.50a ±1.91	0.00a ±0.00	12.50b ±4.73
3 µl/L	75.50a ±7.55	11.50a ±1.91	2.50a ±1.91	8.50b ±4.76
6 µl/L	74.50a ±4.73	10.50a ±1.91	3.00a ±3.83	12.00b ±3.46
10 µl/L	77.50a ±4.43	9.00a ±1.15	1.00a ±2.00	12.50b ±2.58
20 µl/L	59.00b ±6.00	8.50a ±2.52	2.50a ±3.00	30.00a ±7.72
40 µl/L	57.50b ±3.00	8.50a ±1.91	2.50a ±1.91	31.50a ±5.00

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยแบบ Tukey's Studentized Range Test (p=0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



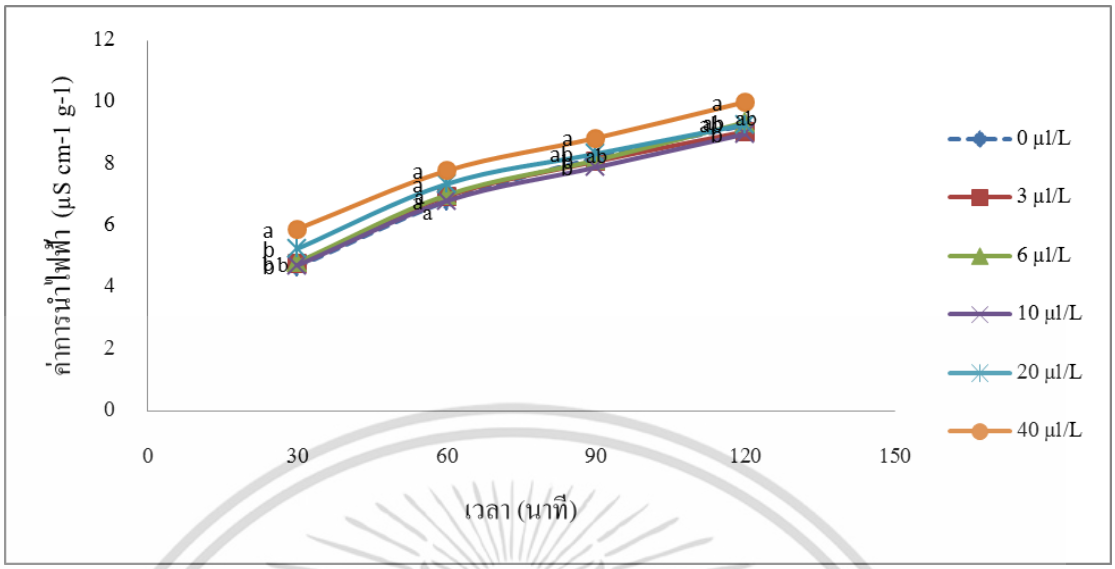
ภาพที่ 4.11 ผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ต่อลักษณะต้นกล้าถั่วเหลือง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าการนำไฟฟ้าของสารที่รั่วไหลออกจากเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

จากการทดลองผลของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ โดยการรมเมล็ดพันธุ์ ที่ระดับความเข้มข้น 3, 6, 10, 20 และ 40 ไมโครลิตรต่อลิตร และที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร เป็นกรรมวิธีควบคุม มาตรวจสอบค่าการนำไฟฟ้า ที่อุณหภูมิห้อง ทุก 30 นาที จนครบ 2 ชั่วโมง (ภาพที่ 4.12) พบว่าจากการวัดค่าการนำไฟฟ้าที่ 30 นาที เมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กรรมวิธีควบคุม), 3, 6, 10 และ 20 ไมโครลิตรต่อลิตร มีค่าการนำไฟฟ้าต่ำและไม่แตกต่างกันในทางสถิติ โดยมีค่าเท่ากับ 4.66, 4.76, 4.81, 4.71 และ 5.25 $\mu S\ cm^{-1}g^{-1}$ ตามลำดับ ส่วนเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 40 ไมโครลิตรต่อลิตร มีค่าการนำไฟฟ้าสูง โดยมีค่าเท่ากับ 5.89 $\mu S\ cm^{-1}g^{-1}$ และแตกต่างกันในทางสถิติกับเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร (กรรมวิธีควบคุม) และเมื่อระยะเวลาผ่านไปที่ 60, 90 และ 120 นาที เมล็ดพันธุ์ทุกกรรมวิธีมีแนวโน้มของค่าการนำไฟฟ้าสูงขึ้น โดยที่ระยะเวลา 120 นาที เห็นได้ชัดเจนว่าเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กรรมวิธีควบคุม), 3, 6, 10 และ 20 ไมโครลิตรต่อลิตร มีค่าการนำไฟฟ้าต่ำและใกล้เคียงกัน โดยมีค่าเท่ากับ 9.26, 9.05, 9.35, 8.97 และ 9.28 $\mu S\ cm^{-1}g^{-1}$ ตามลำดับ ส่วนเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 40 ไมโครลิตรต่อลิตร มีค่าการนำไฟฟ้าสูง โดยมีค่าเท่ากับ 10.01 $\mu S\ cm^{-1}g^{-1}$ และแตกต่างกันในทางสถิติกับเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร (กรรมวิธีควบคุม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



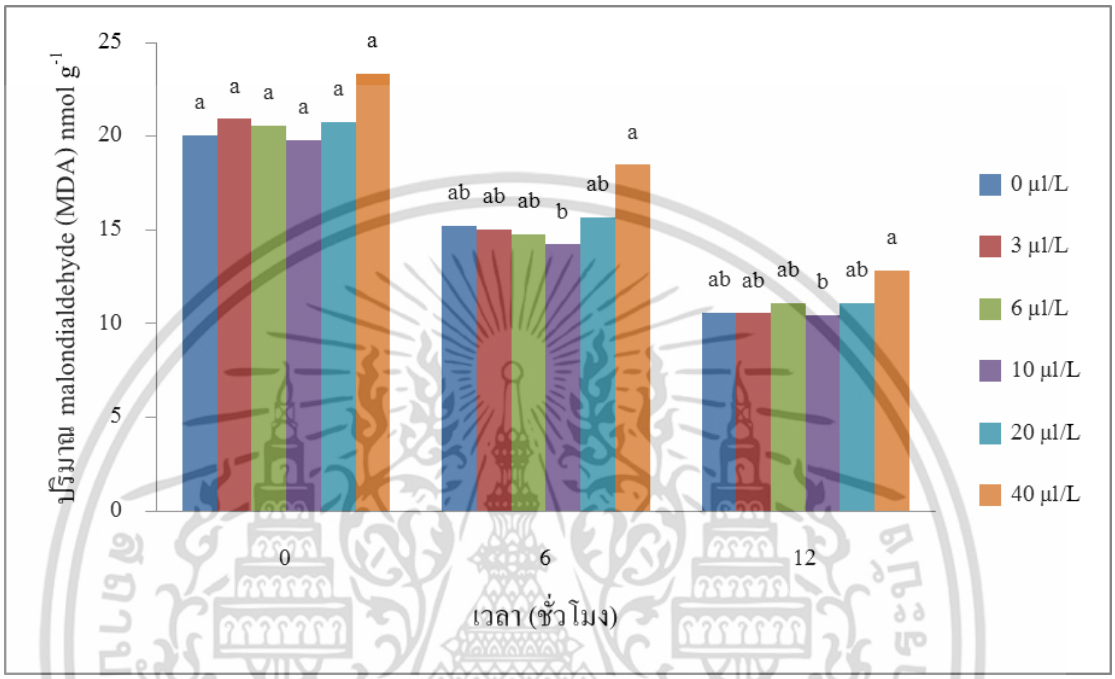
ภาพที่ 4.12 ผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ต่อค่าการนำไฟฟ้าของสารที่รั่วไหลออกจากเมล็ด ที่เวลา 30, 60, 90 และ 120 นาที ค่าเฉลี่ยที่อยู่ในนาที (30, 60, 90 และ 120 นาที) เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยแบบ Tukey's Studentized Range Test (p=0.05)

ปริมาณสาร malondialdehyde (MDA) ภายในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองระหว่างการงอก

จากการทดลองผลของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ โดยการรมเมล็ดพันธุ์ ที่ระดับความเข้มข้น 3, 6, 10, 20 และ 40 ไมโครลิตรต่อลิตร และที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร เป็นกรรมวิธีควบคุม นำเมล็ดพันธุ์ไปเพาะเพื่อตรวจสอบปริมาณสาร MDA หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์เป็นระยะเวลา 0, 6 และ 12 ชั่วโมง (ภาพที่ 4.13) พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กรรมวิธีควบคุม), 3, 6, 10, 20 และ 40 ไมโครลิตรต่อลิตร ที่เวลา 0 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ มีปริมาณสาร MDA ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ และเมล็ดพันธุ์ที่เพาะเป็นเวลา 6 และ 12 ชั่วโมง พบว่าเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในทุกกรรมวิธี ที่เวลา 6 ชั่วโมง มีปริมาณสาร MDA ลดลง และที่เวลา 12 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ปริมาณสาร MDA ยังคงลดลงอย่างต่อเนื่อง และเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับปริมาณสาร MDA ที่เวลา 6 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ โดยเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครลิตรต่อลิตร ที่เวลา 12 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ พบปริมาณสาร MDA ต่ำที่สุด มีค่าเท่ากับ 10.43 nmol g^{-1} และใกล้เคียงกับเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กรรมวิธีควบคุม), 3, 6 และ 20 ไมโครลิตรต่อลิตร โดยมีค่าเท่ากับ 10.56, 10.55, 11.08 และ 11.12 nmol g^{-1} ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในขณะที่เมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 40 ไมโครลิตรต่อลิตร มีปริมาณสาร MDA สูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 12.86 nmol g^{-1} และแตกต่างกันในทางสถิติกับเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครลิตรต่อลิตร



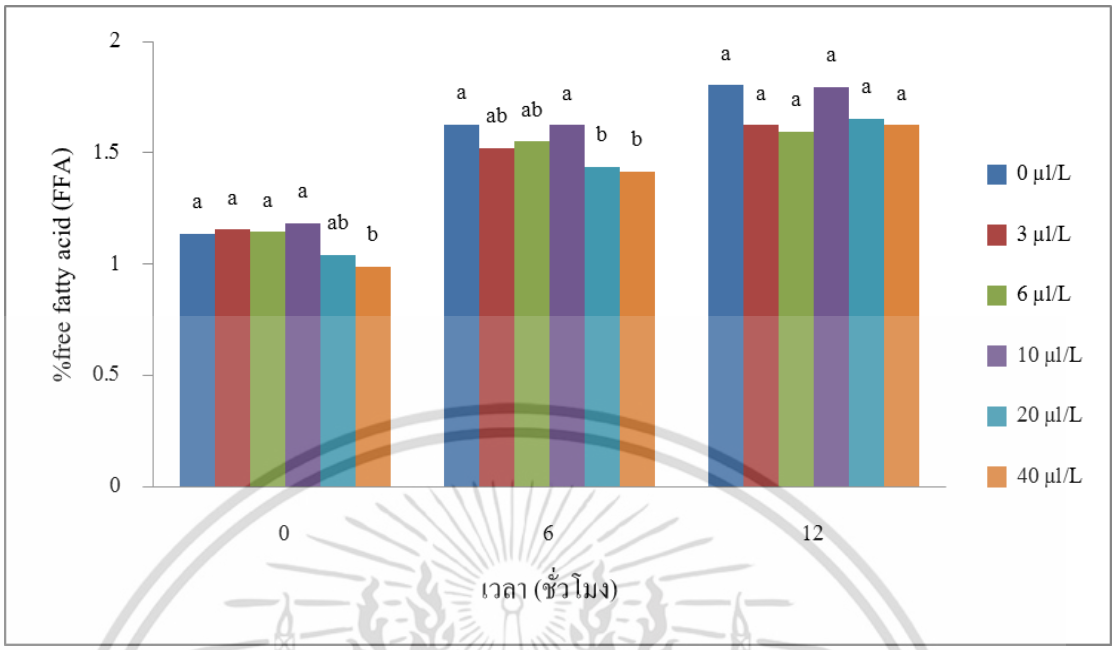
ภาพที่ 4.13 ผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ต่อปริมาณสาร malondialdehyde ที่เวลา 0, 6 และ 12 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ ค่าเฉลี่ยที่อยู่ในชั่วโมง (0, 6 และ 12 ชั่วโมง) เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยแบบ Tukey's Studentized Range Test (p=0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิจกรรมเอนไซม์ไลเปสของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองระหว่างการงอก

จากการทดลองผลของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ ที่ระดับความเข้มข้น 3, 6, 10, 20 และ 40 ไมโครลิตรต่อลิตร และที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร เป็นกรรมวิธีควบคุม เพื่อตรวจสอบกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสจากการทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้น (น้ำมันมะพร้าว) ได้กรดไขมันอิสระ (free fatty acid, FFA) หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ เป็นระยะเวลา 0, 6 และ 12 ชั่วโมง (ภาพที่ 4.14) พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กรรมวิธีควบคุม), 3, 6, 10 และ 20 ไมโครลิตรต่อลิตร ที่เวลา 0 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ มีปริมาณกรดไขมันอิสระใกล้เคียงกัน โดยมีค่าเท่ากับ 1.13, 1.15, 1.14, 1.18 และ 1.04 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 40 ไมโครลิตรต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์กรดไขมันอิสระต่ำที่สุด เท่ากับ 0.98 เปอร์เซ็นต์ และแตกต่างกันในทางสถิติกับเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร (กรรมวิธีควบคุม) และเมล็ดพันธุ์ที่เพาะเป็นเวลา 6 และ 12 ชั่วโมง พบว่าเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในทุกกรรมวิธี ที่เวลา 6 ชั่วโมง มีปริมาณกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้น และที่เวลา 12 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ปริมาณกรดไขมันอิสระยังคงเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง และเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับปริมาณกรดไขมันอิสระ ที่เวลา 6 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ โดยเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กรรมวิธีควบคุม), 3, 6, 10, 20 และ 40 ไมโครลิตรต่อลิตร ที่เวลา 12 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ พบว่ามีปริมาณกรดไขมันอิสระใกล้เคียงกันและไม่แตกต่างกันในทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.14 ผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ต่อกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส ที่เวลา 0, 6 และ 12 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ ค่าเฉลี่ยที่อยู่ในชั่วโมง (0, 6 และ 12 ชั่วโมง) เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยแบบ Tukey's Studentized Range Test (p=0.05)

4.4 การทดลองที่ 4 ศึกษาผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ และนำไปผ่านการเร่งอายุ ต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์

การงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

จากการทดลองผลของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ โดยการรมเมล็ดพันธุ์ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 3, 6, 10, 20 และ 40 ไมโครลิตรต่อลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาเร่งอายุเป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร และไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ เป็นกรรมวิธีควบคุม เพื่อศึกษาการงอกของเมล็ดพันธุ์ (ภาพที่ 4.15 และภาพที่ 4.16) พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร และไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ (กรรมวิธีควบคุม) มีอัตราการงอกสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ได้รับน้ำมันหอมระเหยทุกระดับความเข้มข้น โดยมีค่าเท่ากับ 87.50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบเฉพาะกรรมวิธีที่ได้รับการรมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ แล้วนำไปเร่งอายุเป็นเวลา 3 วัน พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

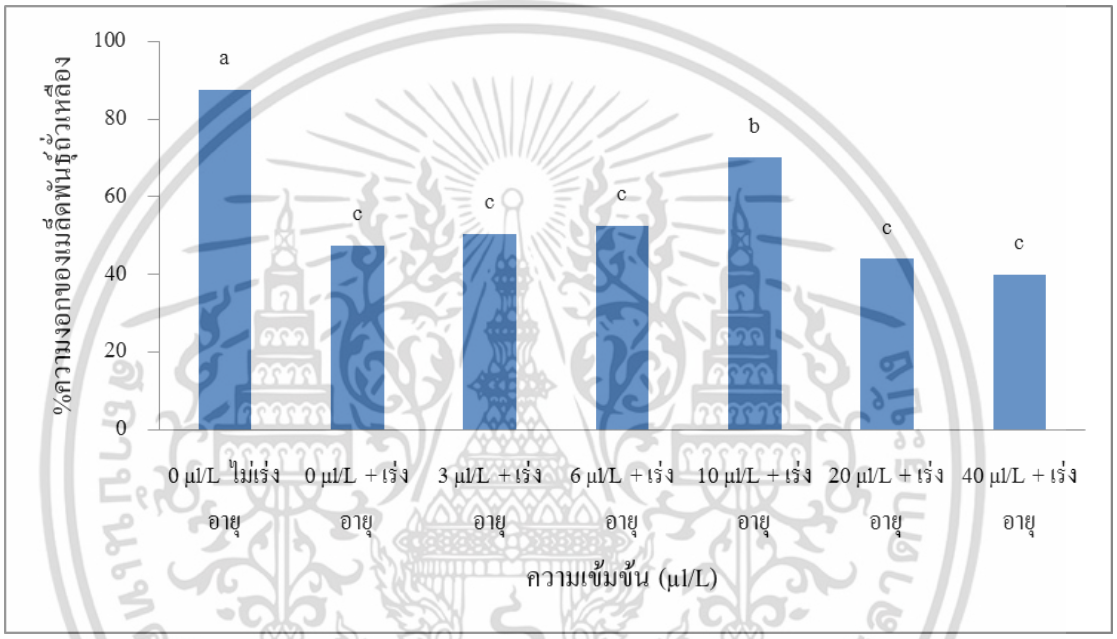
ความเข้มข้น 10 ไมโครลิตรต่อลิตร มีอัตราการงอกสูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 70.00 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0, 3, 6, 20 และ 40 ไมโครลิตรต่อลิตร มีอัตราการงอกใกล้เคียงกันและไม่แตกต่างกันในทางสถิติ โดยมีอัตราการงอกเท่ากับ 47.50, 50.50, 52.50, 44.00 และ 40.00 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามทุกกรรมวิธีที่ได้รับน้ำมันหอมระเหยทุกระดับความเข้มข้น มีอัตราการงอกต่ำกว่าเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร และไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ (กรรมวิธีควบคุม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงว่าเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครลิตรต่อลิตร สามารถลดความสูญเสียการงอกที่เกิดจากการเร่งอายุ จึงทำให้มีอัตราการงอกสูงกว่าเมล็ดที่ผ่านการเร่งอายุแต่ไม่ได้ผ่านการรมด้วยน้ำมันหอมระเหยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การประเมินผลการทดสอบความงอก ได้จำแนกต้นกล้าที่งอกจากเมล็ดเป็นต้นกล้าปกติและต้นกล้าผิดปกติ (ตารางที่ 4.3) พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร และไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ (กรรมวิธีควบคุม) มีอัตราต้นกล้าปกติสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ได้รับน้ำมันหอมระเหยทุกระดับความเข้มข้น โดยมีค่าเท่ากับ 78.00 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบเฉพาะกรรมวิธีที่ได้รับการรมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และนำไปเร่งอายุเป็นเวลา 3 วัน พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครลิตรต่อลิตร มีอัตราต้นกล้าปกติสูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 60.50 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0, 3, 6, 20 และ 40 ไมโครลิตรต่อลิตร มีอัตราต้นกล้าปกติใกล้เคียงกันและไม่แตกต่างกันในทางสถิติ และยังพบว่าเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร และไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ (กรรมวิธีควบคุม), 3, 6, 10, 20 และ 40 ไมโครลิตรต่อลิตร และเร่งอายุเป็นเวลา 3 วัน มีอัตราต้นกล้าผิดปกติใกล้เคียงกัน โดยมีค่าเท่ากับ 9.50, 8.50, 7.50, 9.50, 7.50 และ 7.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่เมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร และเร่งอายุเป็นเวลา 3 วัน มีอัตราต้นกล้าผิดปกติต่ำที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 4.50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างกันในทางสถิติกับเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร และไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ (กรรมวิธีควบคุม) และเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครลิตรต่อลิตร และเร่งอายุเป็นเวลา 3 วัน

ในการประเมินผลเมล็ดพันธุ์ที่ไม่งอก แบ่งเป็น 2 ส่วน คือ เมล็ดสดไม่งอก และเมล็ดตาย (ตารางที่ 4.3) พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร และไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ (กรรมวิธีควบคุม), 0, 3, 6, 10, 20 และ 40 ไมโครลิตรต่อลิตร และเร่งอายุเป็นเวลา 3 วัน มีอัตราเมล็ดสดไม่งอกไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ส่วนเมล็ดตาย พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร และไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(กรรมวิธีควบคุม) มีอัตราเมล็ดตายต่ำที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ได้รับน้ำมันหอมระเหยทุกระดับความเข้มข้น โดยมีค่าเท่ากับ 12.50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบเฉพาะกรรมวิธีที่ได้รับการรมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และนำไปเร่งอายุเป็นเวลา 3 วัน พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครลิตรต่อลิตร มีอัตราเมล็ดตายต่ำที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 27.00 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0, 3, 6, 20 และ 40 ไมโครลิตรต่อลิตร มีอัตราเมล็ดตายใกล้เคียงกันและไม่แตกต่างกันในทางสถิติ



ภาพที่ 4.15 ผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำไปเร่งอายุ เป็นระยะเวลา 3 วัน ต่อความงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยแบบ Tukey's Studentized Range Test (p=0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำไปเร่งอายุ เป็นระยะเวลา 3 วัน ต่อเปอร์เซ็นต์ต้นกล้าปกติ ต้นกล้าผิดปกติ เมล็ดสดไม่งอก และเมล็ดตาย

ความเข้มข้น (µl/L)	ต้นกล้าปกติ (%)	ต้นกล้าผิดปกติ (%)	เมล็ดสดไม่งอก (%)	เมล็ดตาย (%)
0 µl/L ไม่เร่งอายุ	78.00a ±6.32	9.50a ±1.91	0.00a ±0.00	12.50c ±4.73
0 µl/L + เร่งอายุ	42.00c ±4.32	4.50b ±2.52	1.50a ±3.00	51.00a ±5.29
3 µl/L + เร่งอายุ	42.00c ±3.27	8.50ab ±2.52	2.00a ±4.00	47.50a ±4.43
6 µl/L + เร่งอายุ	45.00c ±6.22	7.50ab ±1.00	3.00a ±3.83	44.50a ±5.26
10 µl/L + เร่งอายุ	60.50b ±9.29	9.50a ±1.91	3.00a ±3.83	27.00b ±4.16
20 µl/L + เร่งอายุ	36.50c ±2.52	7.50ab ±1.91	2.50a ±3.00	53.50a ±5.26
40 µl/L + เร่งอายุ	33.00c ±6.22	7.00ab ±1.15	3.50a ±4.12	56.50a ±5.97

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยแบบ Tukey's Studentized Range Test (p=0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

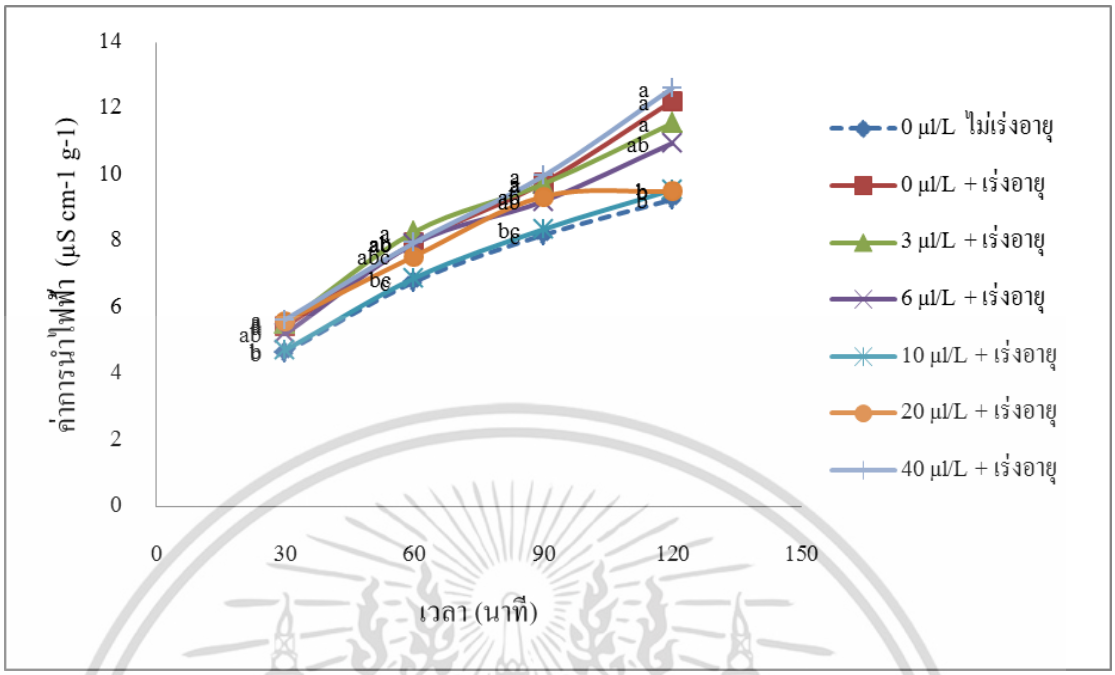
ภาพที่ 4.16 ผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำไปเร่งอายุ เป็นระยะเวลา 3 วัน ต่อลักษณะต้นกล้าถั่วเหลือง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าการนำไฟฟ้าของสารที่รั่วไหลออกจากเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

จากการทดลองผลของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ โดยการรมเมล็ดพันธุ์ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 3, 6, 10, 20 และ 40 ไมโครลิตรต่อลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาเร่งอายุเป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร และไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ เป็นกรรมวิธีควบคุม มาตรวจสอบค่าการนำไฟฟ้า ที่อุณหภูมิห้อง ทุก 30 นาที จนครบ 2 ชั่วโมง (ภาพที่ 4.17) พบว่าจากการวัดค่าการนำไฟฟ้าที่ 30 นาที เมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครลิตรต่อลิตร และเร่งอายุเป็นเวลา 3 วัน มีค่าการนำไฟฟ้าต่ำ โดยมีค่าเท่ากับ 4.72 $\mu S\ cm^{-1}g^{-1}$ และไม่แตกต่างกันในทางสถิติกับเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร และไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ (กรรมวิธีควบคุม) โดยมีค่าการนำไฟฟ้า เท่ากับ 4.66 $\mu S\ cm^{-1}g^{-1}$ ส่วนเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0, 3, 6, 20 และ 40 ไมโครลิตรต่อลิตร และเร่งอายุเป็นเวลา 3 วัน มีค่าการนำไฟฟ้าใกล้เคียงกัน โดยมีค่าเท่ากับ 5.44, 5.53, 5.22, 5.59 และ 5.64 $\mu S\ cm^{-1}g^{-1}$ ตามลำดับ และแตกต่างกันในทางสถิติกับเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร และไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ (กรรมวิธีควบคุม) และเมื่อระยะเวลาผ่านไปที่ 60, 90 และ 120 นาที เมล็ดพันธุ์ทุกกรรมวิธีมีแนวโน้มของค่าการนำไฟฟ้าสูงขึ้น โดยที่ระยะเวลา 120 นาที เมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 10 และ 20ไมโครลิตรต่อลิตร และเร่งอายุเป็นเวลา 3 วัน มีค่าการนำไฟฟ้าต่ำและใกล้เคียงกัน โดยมีค่าเท่ากับ 9.55 และ 9.51 $\mu S\ cm^{-1}g^{-1}$ ตามลำดับ และไม่แตกต่างกันในทางสถิติกับเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร และไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ (กรรมวิธีควบคุม) โดยมีค่าการนำไฟฟ้า เท่ากับ 9.26 $\mu S\ cm^{-1}g^{-1}$ ในขณะที่เมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0, 3, 6 และ 40 ไมโครลิตรต่อลิตร และเร่งอายุเป็นเวลา 3 วัน มีค่าการนำไฟฟ้าใกล้เคียงกัน โดยมีค่าเท่ากับ 12.23, 11.56, 10.97 และ 12.62 $\mu S\ cm^{-1}g^{-1}$ ตามลำดับ และแตกต่างกันในทางสถิติกับเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร และไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ (กรรมวิธีควบคุม) แสดงว่าเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครลิตรต่อลิตร สามารถรักษาคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ โดยลดการรั่วไหลของสารที่มีประจุที่เกิดจากการเร่งอายุ จึงทำให้มีค่าการนำไฟฟ้าต่ำกว่าเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเร่งอายุ แต่ไม่ได้ผ่านการรมด้วยน้ำมันหอมระเหยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และไม่แตกต่างกันในทางสถิติกับเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.17 ผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำไปเร่งอายุ เป็นระยะเวลา 3 วัน ต่อค่าการนำไฟฟ้าของสารที่รั่วไหลออกจากเมล็ด ที่เวลา 30, 60, 90 และ 120 นาที ค่าเฉลี่ยที่อยู่ในนาที (30, 60, 90 และ 120 นาที) เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยแบบ Tukey's Studentized Range Test (p=0.05)

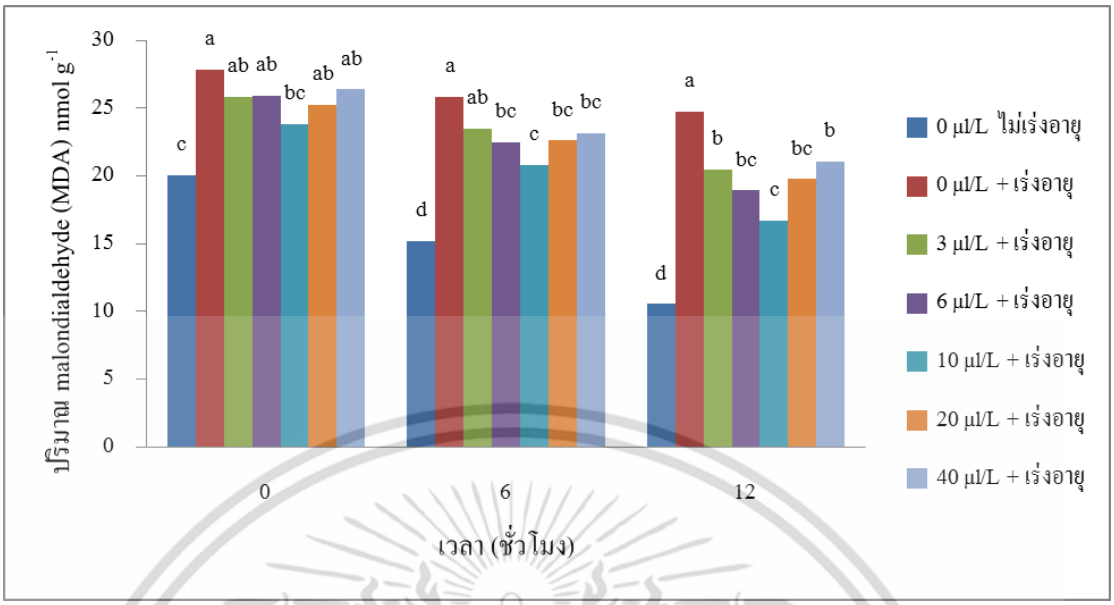
ปริมาณสาร malondialdehyde (MDA) ภายในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองระหว่างการงอก

จากการทดลองผลของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ โดยการรมเมล็ดพันธุ์ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 3, 6, 10, 20 และ 40 ไมโครลิตรต่อลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาเร่งอายุเป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร และไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ เป็นกรรมวิธีควบคุม นำเมล็ดพันธุ์ไปเพาะเพื่อตรวจสอบปริมาณสาร MDA หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ เป็นระยะเวลา 0, 6 และ 12 ชั่วโมง (ภาพที่ 4.18) พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร และไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ (กรรมวิธีควบคุม) ที่เวลา 0 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ มีปริมาณสาร MDA ต่ำที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ได้รับน้ำมันหอมระเหยทุกระดับความเข้มข้น โดยมีค่าเท่ากับ 20.08 nmol g^{-1} เมื่อเปรียบเทียบเฉพาะกรรมวิธีที่ได้รับการรมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และนำไปเร่งอายุเป็นเวลา 3 วัน พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครลิตรต่อลิตร มีปริมาณสาร MDA ต่ำที่สุด เท่ากับ 23.85 nmol g^{-1} ส่วนเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 3, 6, 20 และ 40 ไมโครลิตรต่อลิตร มีปริมาณสาร MDA ใกล้เคียงกันและไม่แตกต่างกันในทางสถิติ 25.84, 25.89, 25.27 และ 26.38 nmol g^{-1} ตามลำดับ และเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร มีปริมาณสาร MDA สูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 27.87 nmol g^{-1} และเมล็ดพันธุ์ที่เพาะเป็นเวลา 6 และ 12 ชั่วโมง พบว่าเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในทุกกรรมวิธี ที่เวลา 6 ชั่วโมง มีปริมาณสาร MDA ลดลง และที่เวลา 12 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ปริมาณสาร MDA ยังคงลดลงอย่างต่อเนื่อง และเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับปริมาณสาร MDA ที่เวลา 6 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ โดยเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร และไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ (กรรมวิธีควบคุม) ที่เวลา 12 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ มีปริมาณสาร MDA ต่ำที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ได้รับน้ำมันหอมระเหยทุกระดับความเข้มข้น โดยมีค่าเท่ากับ 10.56 nmol g^{-1} เมื่อเปรียบเทียบเฉพาะกรรมวิธีที่ได้รับการรมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และนำไปเร่งอายุเป็นเวลา 3 วัน พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครลิตรต่อลิตร มีปริมาณสารต่ำที่สุด MDA เท่ากับ 16.72 nmol g^{-1} ส่วนเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 3, 6, 20 และ 40 ไมโครลิตรต่อลิตร มีปริมาณสาร MDA ใกล้เคียงกัน โดยมีค่าเท่ากับ 20.50, 18.92, 19.76 และ 21.05 nmol g^{-1} ตามลำดับ ส่วนเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร มีปริมาณสาร MDA สูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 24.74 nmol g^{-1} อย่างไรก็ตามทุกกรรมวิธีที่ได้รับน้ำมันหอมระเหยทุกระดับความเข้มข้น มีปริมาณสาร MDA สูงกว่าเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้ผ่านการเร่งอายุอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงว่าเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครลิตรต่อลิตร ชะลอการเพิ่มขึ้นของปริมาณ MDA ที่เกิดจากการเร่งอายุจึงทำให้มีปริมาณ MDA ต่ำกว่าเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเร่งอายุ แต่ไม่ได้ผ่านการรมด้วยน้ำมันหอมระเหยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.18 ผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำไปเร่งอายุ เป็นระยะเวลา 3 วัน ต่อปริมาณสาร malondialdehyde ที่เวลา 0, 6 และ 12 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ ค่าเฉลี่ยที่อยู่ในชั่วโมง (0, 6 และ 12 ชั่วโมง) เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยแบบ Tukey's Studentized Range Test (p=0.05)

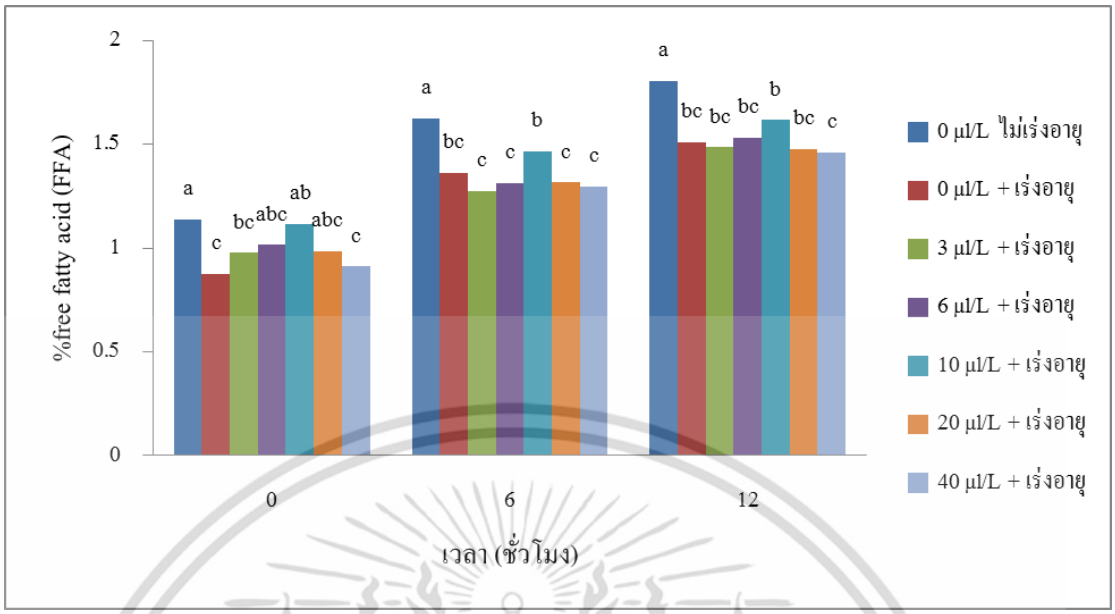
กิจกรรมเอนไซม์ไลเปสของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองระหว่างการงอก

จากการทดลองผลของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ โดยการรมเมล็ดพันธุ์ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 3, 6, 10, 20 และ 40 ไมโครลิตรต่อลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาเร่งอายุเป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร และไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ เป็นกรรมวิธีควบคุม เพื่อตรวจสอบกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสจากการทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้น (น้ำมันมะพร้าว) ได้กรดไขมันอิสระ (free fatty acid, FFA) หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ เป็นระยะเวลา 0, 6 และ 12 ชั่วโมง (ภาพที่ 4.19) พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร และไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ (กรรมวิธีควบคุม) ที่เวลา 0 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ มีปริมาณกรดไขมันอิสระสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ได้รับน้ำมันหอมระเหยทุกระดับความเข้มข้น โดยมีค่าเท่ากับ 1.14 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบเฉพาะกรรมวิธีที่ได้รับการรมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และนำไปเร่งอายุเป็นเวลา 3 วัน พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้น 10 ไมโครลิตรต่อลิตร มีปริมาณกรดไขมันอิสระ เท่ากับ 1.12 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 3, 6 และ 20 ไมโครลิตรต่อลิตร มีปริมาณกรดไขมันอิสระใกล้เคียงกัน โดยมีค่าเท่ากับ 0.98, 1.01 และ 0.99 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 และ 40 ไมโครลิตรต่อลิตร พบปริมาณกรดไขมันอิสระต่ำที่สุดและใกล้เคียงกัน โดยมีค่าเท่ากับ 0.87 และ 0.91 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมล็ดพันธุ์ที่เพาะเป็นเวลา 6 และ 12 ชั่วโมง พบว่าเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในทุกกรรมวิธี ที่เวลา 6 ชั่วโมง มีปริมาณกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้น และที่เวลา 12 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ปริมาณกรดไขมันอิสระยังคงเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง และเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับปริมาณกรดไขมันอิสระ ที่เวลา 6 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ โดยเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครลิตรต่อลิตร และไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ (กรรมวิธีควบคุม) ที่เวลา 12 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ พบปริมาณกรดไขมันอิสระสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ได้รับน้ำมันหอมระเหยทุกระดับความเข้มข้น โดยมีค่าเท่ากับ 1.80 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเปรียบเทียบเฉพาะกรรมวิธีที่ได้รับการรมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และนำไปเร่งอายุเป็นเวลา 3 วัน พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครลิตรต่อลิตร มีปริมาณกรดไขมันอิสระสูงที่สุด เท่ากับ 1.62 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 0, 3, 6, 20 และ 40 ไมโครลิตรต่อลิตร มีปริมาณกรดไขมันอิสระใกล้เคียงกัน อย่างไรก็ตามทุกกรรมวิธีที่ได้รับน้ำมันหอมระเหยทุกระดับความเข้มข้น มีปริมาณกรดไขมันอิสระต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงว่าเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครลิตรต่อลิตร สามารถชะลอการลดลงของกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสที่เกิดจากการเร่งอายุ จึงทำให้มีกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสสูงกว่าเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเร่งอายุ แต่ไม่ได้ผ่านการรมด้วยน้ำมันหอมระเหย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.19 ผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำไปเร่งอายุ เป็นระยะเวลา 3 วัน ต่อกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส ที่เวลา 0, 6 และ 12 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ ค่าเฉลี่ยที่อยู่ในชั่วโมง (0, 6 และ 12 ชั่วโมง) เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยแบบ Tukey's Studentized Range Test (p=0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 การทดลองที่ 1 ศึกษาประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่

5.1.1 การทดลองที่ 1.1 การทดสอบความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ด้วยวิธีการกำจัดอนุมูล DPPH ของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่

จากการศึกษาความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ด้วยวิธีการวัดความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH (scavenging activity on DPPH radical) ซึ่งอนุมูล DPPH เป็นอนุมูลไนโตรเจนที่คงตัว มีสีม่วงอยู่ในรูปอนุมูลอยู่แล้วโดยไม่ต้องทำปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดอนุมูล (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ. 2549) อนุมูล DPPH เมื่ออยู่ในสารละลายจะมีสีม่วงและเมื่อมีสารต้านอนุมูลอิสระให้หรือรับอิเล็กตรอนแก่อนุมูล DPPH จะได้เป็นสาร diphenyl picrylhydrazyl (DPPH:H) ที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระอีกต่อไป สีที่เกิดขึ้นมีสีเหลืองนวล การวัดความสามารถของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ในการยับยั้งอนุมูล DPPH ที่เกิดขึ้น พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ มีความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 92,856.82 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Manjamalai and Grace (2012) พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากเบญจมาศ (*Wedelia chinensis* (Osbeck)) มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง DPPH radical scavenging เท่ากับ 48 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่วิตามินซีเป็นสารละลายมาตรฐานมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 62 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

5.1.2 การทดลองที่ 1.2 การทดสอบความสามารถในการแย่งจับกับโลหะไอออน Fe^{2+} (Metal chelating activity) ของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่

เนื่องจากโลหะไอออนเป็นตัวการสำคัญในการเร่งปฏิกิริยา ทำให้เกิดสารอนุมูลอิสระต่างๆ มากมายหลายชนิด โดยเฉพาะโลหะไอออน Fe^{2+} จะทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับออกซิเจนในอากาศเกิดเป็นสารอนุมูล superoxide anion radical ($O_2^{-\bullet}$) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระตัวเริ่มต้นที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระตัวอื่นๆ ต่อไป จากการศึกษาความสามารถในการแย่งจับกับโลหะไอออน Fe^{2+} ของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ มีความสามารถในการแย่งจับกับโลหะไอออน Fe^{2+} โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 989.13 มิลลิกรัมต่อลิตร แสดงว่าน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่มีกลไกการต้านอนุมูลอิสระ โดยอาจลดการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation และลดการเกิดอนุมูลอิสระ เนื่องจากธาตุเหล็กที่อยู่ในรูปเฟอร์รัส (Fe^{2+}) ซึ่งเป็นตัวการสำคัญในการเร่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปฏิกิริยา lipid peroxidation การทดสอบความสามารถในการคีเลตไอออนของโลหะ หรือการทดสอบความสามารถของสารในการแย่งจับกับโลหะไอออน Fe^{2+} ทำให้ปริมาณอนุมูลอิสระอยู่ในสมดุล ซึ่งเป็นอีกกลไกหนึ่งในการต้านอนุมูลอิสระโดยที่สารต้านอนุมูลอิสระจะจับกับ Fe^{2+} ทำให้ลดการเกิดอนุมูลอิสระ (Rice-Evans *et al*. 1995) เช่นเดียวกับ Zhang *et al*. (2006) ประเมินความสามารถในการแย่งจับกับโลหะไอออนของน้ำมันหอมระเหยจากผักชีฝรั่ง (*Petroselinum crispum*) พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากผักชีฝรั่งมีความสามารถในการแย่งจับกับโลหะไอออน

5.1.3 การทดลองที่ 1.3 การทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ (Reducing power activity) ของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่

การทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ ซึ่งเป็นกลไกหนึ่งในการต้านออกซิเดชัน เป็นการทดสอบความสามารถในการส่งผ่านอิเล็กตรอนไปรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก Fe^{3+} เป็น Fe^{2+} เนื่องจาก Fe^{3+} มีความสามารถในการดึงอิเล็กตรอนจากสารอื่นๆ ได้ดี ไอออนอิสระของเหล็กสามารถเป็นตัวเร่งการเกิด reactive oxygen species (ROS) ซึ่งจะส่งผลให้เกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระได้ เพื่อทำให้อนุมูลอิสระเปลี่ยนเป็นอนุมูลที่เสถียร จากการศึกษาความสามารถในการรีดิวซ์ของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่มีความสามารถในการรีดิวซ์ โดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 157,632.53 มิลลิกรัมต่อลิตร แสดงว่าน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่มีคุณสมบัติเป็นตัวให้อิเล็กตรอนสามารถทำให้อนุมูลอิสระเปลี่ยนเป็นอนุมูลที่เสถียรจึงส่งผลให้หยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระได้ โดยศึกษากลไกการยับยั้งการทำงานของอนุมูลอิสระ ที่ดูจากการลด oxidation state ของโลหะ $Fe^{3+}(CN)_6$ ถูกรีดิวซ์ไปเป็น $Fe^{2+}(CN)_6$ (Dehpour *et al*. 2009) เช่นเดียวกับ Gursoy *et al*. (2012) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจาก *Salvia palaestina* และ *S. ceratophylla* (L.) โดยวิธี reducing power activity พบว่าน้ำมันหอมระเหยจาก *S. palaestina* ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 0.362 เปอร์เซ็นต์

5.1.4 การทดลองที่ 1.4 การทดสอบความสามารถในการต้านการเกิดปฏิกิริยา Lipid-peroxidation ของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่

วิธีนี้เป็นการวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้ง lipid peroxidation ของสารทดสอบ โดยใช้ไข่แดง ซึ่งเป็นแหล่งของไขมันมาทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ปฏิกิริยา lipid peroxidation เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันแบบลูกโซ่ของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว อนุมูลอิสระเพียง 1 อนุมูลสามารถทำให้เกิดลิปิดเปอร์ออกไซด์ เป็นจำนวนหลายร้อยโมเลกุลก่อนที่จะสิ้นสุดปฏิกิริยา เนื่องจากปฏิกิริยา lipid peroxidation สามารถเกิดได้ง่ายกับเยื่อหุ้มเซลล์ ที่ประกอบด้วยลิปิด 2 ชั้น การเกิดลิ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปิดออกซิเดชันกับลิปิดในเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์มีคุณสมบัติที่เปลี่ยนไป ยังส่งผลกระทบต่อเอนไซม์ที่ฝังตัวอยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เอนไซม์มีการทำงานเสียไป (Rice-Evans *et al*. 1995) ปฏิกิริยา lipid peroxidation ทำให้เกิดสาร malondialdehyde (MDA) ซึ่งเป็นสารประกอบทางอินทรีย์พวก aldehyde จับกับ TBA แล้วได้สีชมพู เรียกว่า TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) ดังนั้นน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระจะต้องมีความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยา lipid peroxidation ได้ดี แล้วทำให้เกิด MDA น้อย จึงทำให้สีจางลง (ประภัสสร วีระพันธ์ และวัชรี คุณกิตติ. 2554) จากการศึกษาความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยา lipid peroxidation ของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่มีความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยา lipid-peroxidation โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 4,466.74 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Satthanakul and Khunkiti (2011) พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากกานพลูที่ระดับความเข้มข้น 100, 500 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ เท่ากับ 64.7, 67.2 และ 81.2 ตามลำดับ แสดงว่าน้ำมันหอมระเหยจากกานพลูมีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ จากการหาฤทธิ์ของความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีนี้มีข้อจำกัดบางประการคือ TBA จับกับ MDA อย่างไม่จำเพาะเจาะจง กล่าวคือ ถ้าหากในระบบดังกล่าวเกิดสารบางอย่าง เช่น น้ำตาล TBA ก็จะสามารถเกิดสีกับสารดังกล่าวแล้วทำให้เกิดสีชมพูได้เช่นเดียวกัน ดังนั้นการที่น้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ มีค่าการยับยั้งลดลงเมื่อความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยสูงขึ้น อาจเกิดจากมีสารบางอย่างในระบบเกิดขึ้นซึ่งสามารถรวมตัวกันแล้วจับกับ TBA แล้วทำให้เกิดสีชมพูขึ้นได้ (ประภัสสร วีระพันธ์ และวัชรี คุณกิตติ. 2554)

จากการตรวจสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่โดยการวิเคราะห์เชิงปริมาณ ด้วยวิธีต่างๆ พบว่าน้ำมันหอมระเหยมีความสามารถในการแย่งจับกับโลหะไอออน Fe^{2+} สูงที่สุดรองลงมาคือ ความสามารถในการต้านการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ด้วยวิธีการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์ ตามลำดับ

5.2 การทดลองที่ 2 ศึกษาคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ภายหลังการเร่งอายุ

วิธีเร่งอายุเมล็ดพันธุ์เป็นวิธีการตรวจสอบความแข็งแรงเมล็ดพันธุ์ที่ได้รับความนิยมมากที่สุด เนื่องจากเป็นวิธีที่ไม่ซับซ้อน ประหยัด ไม่ต้องการความชำนาญพิเศษ ซึ่งมีความสัมพันธ์สูงกับความงอกในแปลงปลูก และอายุการเก็บรักษา (AOSA. 1983) อุณหภูมิ และระยะเวลาเร่งอายุจะเป็นไปตามชนิดเมล็ดพันธุ์ที่มีอัตราการเสื่อมคุณภาพตามธรรมชาติ เมล็ดพืชชนิดที่เสื่อมคุณภาพช้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เช่น เมล็ดธัญพืชจะต้องใช้อุณหภูมิสูงและระยะเวลาเร่งอายุนานกว่าชนิดที่เสื่อมคุณภาพเร็ว เช่น ถั่วเหลือง (AOSA. 1983; ISTA. 1995) ในคู่มือของ ISTA (1995) แนะนำให้เร่งอายุเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากการศึกษาคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ที่ผ่านการเร่งอายุ โดยการตรวจสอบอัตราการงอก ค่าการนำไฟฟ้า ปริมาณสาร malondialdehyde (MDA) และกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส พบว่าเมล็ดที่มีการเสื่อมคุณภาพจะมีอัตราการงอกต่ำ มีค่าการนำไฟฟ้าสูง มีปริมาณสาร MDA สูง และมีกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสต่ำ เนื่องจากเกิดการสูญเสียสภาพของเมมเบรนทำให้เกิดการรั่วไหลของสารละลายออกจากเซลล์มากขึ้น (McDonald. 1999; AOSA. 1985) การเสื่อมสภาพของเยื่อหุ้มเมมเบรนเกิดขึ้น เนื่องจากการเร่งอายุทำให้เกิดขบวนการหายใจ และการทำงานของเอนไซม์เพิ่มขึ้น มีการปล่อย CO_2 เพิ่มมากขึ้นในขณะที่การดูด O_2 ลดลง ทำให้เกิดความไม่สมดุลกันระหว่าง glycolysis และ Krebs cycle ซึ่งอาจนำไปสู่การสะสมของ pyruvate เพิ่มสูงขึ้นใน cytoplasm แทนที่จะเคลื่อนเข้าไปใน mitochondria ทำให้ Krebs cycle ไม่เกิดขึ้นหรือเกิดขึ้นในสภาพที่มีประสิทธิภาพต่ำ จึงทำให้ pyruvate ที่สะสมเพิ่มขึ้นเปลี่ยนไปเป็น ethanol และ aldehyde และนอกจากนี้อนุมูลอิสระไปชักนำให้เกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation อาจทำให้เกิด secondary products เช่น aldehyde และ phenolic เป็นต้น สารประกอบเหล่านี้เมื่อมีการสะสมมากขึ้นทำให้เมมเบรนเสื่อมสภาพ โครงสร้างเอนไซม์เสียหายจนไม่สามารถทำงานได้ และอาจไปยับยั้งการงอกไม่ให้เกิดขึ้น (Taiz and Zeiger. 2006) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Roberts *et al*. (1980) ได้ศึกษาการเกิด lipid peroxidation ที่เกี่ยวข้องกับการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส พบว่าเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่เร่งอายุด้วยความชื้นสูงมีเปอร์เซ็นต์การงอก ลดลงตามระยะเวลาที่ผ่านการเร่งอายุ ส่วนเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของประจุ และปริมาณสาร MDA เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่ผ่านการเร่งอายุ ขณะที่เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่เร่งอายุด้วยความชื้นต่ำ มีเปอร์เซ็นต์การงอก สูงและคงที่ตามระยะเวลาที่ผ่านการเร่งอายุ ส่วนการรั่วไหลของประจุ มีค่าการรั่วไหลของประจุต่ำและคงที่ตามระยะเวลาที่ผ่านการเร่งอายุ และปริมาณสาร MDA พบว่าในช่วงระยะเวลาแรกมีปริมาณสาร MDA ต่ำ แล้วค่อยเพิ่มสูงขึ้นในช่วงระยะเวลาหลัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.3 การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ ต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์

จากการศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ต่อเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 โดยการตรวจสอบอัตราการงอก ค่าการนำไฟฟ้า ปริมาณสาร malondialdehyde (MDA) และกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส พบว่ามล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้นมีผลยับยั้งการงอกของเมล็ดพันธุ์ Abrahim *et al.* (2000) ได้รายงานว่าในน้ำมันหอมระเหยจากพืชหลายๆ ชนิด มีสารในกลุ่ม monoterpene ที่ละลายในน้ำและในไขมัน ที่มีผลไปยับยั้งการงอกของเมล็ดพันธุ์พืช แสดงว่าในน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่มีสารในกลุ่ม monoterpene และการเกิด lipid peroxidation เป็นกระบวนการทางสรีรวิทยาที่แสดงถึงการเพิ่มขึ้นของ reactive oxygen species (ROS) ในภาวะเครียดแล้วเข้าทำลายไขมันซึ่งเป็นองค์ประกอบของเซลล์ เช่นเดียวกับสารสกัดบางชนิดที่ ROS ทำให้เกิดความเป็นพิษและส่งผลต่อพืชได้ (Reigosa *et al.* 2006) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Jalaei *et al.* (2015) ศึกษากิจกรรมทางด้าน Allelopathic ของน้ำมันหอมระเหยจาก *Dracocephalum kotschyi* Boiss. ที่มีองค์ประกอบทางเคมี คือ limonene-10-al และ limonene สูง โดยการรมเมล็ดพันธุ์พืชทดสอบ คือ *Amaranthus retroflexus* และ *Chenopodium album* ที่ปริมาตร 0, 2, 5, 20 และ 40 ไมโครลิตร พบว่าความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยเพิ่มสูงขึ้นความสามารถในการงอกของเมล็ดพันธุ์พืชทดสอบลดลงตามไปด้วย และงานวิจัยของ Despina *et al.* (2003) ได้ศึกษาผลของ Monoterpenoids ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดพันธุ์ *Lactuca sativa* โดยจับคู่ผสมสาร Monoterpenoids แต่ละชนิดเข้าด้วยกัน ได้ 11 คู่ ดังนี้ (1R)-(+)-α-pinene : (1S)-(-)-β-pinene; α-terpinene : -terpinene; (R)-(C)-limonene : (S)-(-)-limonene; p-cymene : (C)-3-carene; p-cymene : carvacrol; γ-terpinene : carvacrol; isopulegyl acetate : (-)-carvyl acetate; (R)-(+)-limonene : cineol; geraniol : (1S; 2S; 5R)-(+)-neomenthol; (-)-menthone : (S)-(+)-carvone; geraniol : terpinen-4-ol ที่อัตราส่วน 1:3, 1:2, 1:1, 2:1 และ 3:1 พบว่า terpinen-4-ol มีผลยับยั้งการงอกของเมล็ดพันธุ์ *Lactuca sativa* จากการศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ต่อเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง โดยการตรวจสอบค่าการนำไฟฟ้า ปริมาณสาร MDA และกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส พบว่าทุกกรรมวิธีมีปริมาณสาร MDA ซึ่งบ่งบอกถึงการเสื่อมสภาพของเยื่อหุ้มเมมเบรนใกล้เคียงกัน และสอดคล้องกับผลค่าการนำไฟฟ้า เนื่องจากทุกกรรมวิธีมีการรั่วไหลของประจุออกมาใกล้เคียงกัน ส่วนกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส พบว่าไม่มีความแตกต่างกับกรรมวิธีควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แสดงว่าสาเหตุที่เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองมีอัตราการงอกต่ำ อาจจะไม่เกี่ยวข้องกับปริมาณสาร MDA ค่าการนำไฟฟ้า และกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส Abrahim *et al*. (2000) ได้รายงานว่าสารในกลุ่ม monoterpene ไปรบกวนกิจกรรมการหายใจของพืช ทำให้มีอัตราการงอก และอัตราการเจริญเติบโตลดลง เนื่องจากการหายใจมีความสำคัญต่อกระบวนการเมแทบอลิซึม โดยเป็นศูนย์กลางของการผลิตพลังงานในรูปของ ATP (adenosine triphosphate) เพื่อนำไปใช้ในการทำงานของกระบวนการต่างๆ ของเมแทบอลิซึม ในระหว่างและหลังการงอก

5.4 การทดลองที่ 4 ศึกษาผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ และนำไปผ่านการเร่งอายุ ต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์

จากการศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ต่อเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 และผ่านการเร่งอายุเป็นเวลา 3 วัน โดยการตรวจสอบอัตราการงอก ค่าการนำไฟฟ้า ปริมาณสาร malondialdehyde (MDA) และกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหยที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครลิตรต่อลิตร สามารถรักษาคุณภาพเมล็ดพันธุ์ โดยมีอัตราการงอกสูง มีค่าการนำไฟฟ้าและปริมาณสาร MDA ต่ำ และมีกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสสูง เมื่อเทียบกับเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และเมื่อนำเมล็ดไปเพาะแล้วตรวจสอบปริมาณสาร MDA และมีกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ พบว่าเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่เวลา 6 ชั่วโมง มีปริมาณสาร MDA ลดลง และที่เวลา 12 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์ ปริมาณสาร malondialdehyde ยังคงลดลงอย่างต่อเนื่อง ส่วนกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส พบว่าเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่เวลา 6 ชั่วโมง มีกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสเพิ่มขึ้น และที่เวลา 12 ชั่วโมง หลังการเพาะเมล็ดพันธุ์กิจกรรมเอนไซม์ไลเปสยังคงเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง Mirjana *et al*. (2010) รายงานว่าพืชมีกลไกการป้องกันตัวเองจากอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น โดยการผลิตเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ เช่น superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POD) และ glutathione peroxidase (GPx) เป็นต้น จะเห็นได้ว่าเมื่อเมล็ดเริ่มดูดน้ำกิจกรรมทางชีวเคมีจะเริ่มขึ้น เช่น ขบวนการหายใจ การสังเคราะห์โปรตีน การสังเคราะห์สารชีวเคมีที่จำเป็น และกิจกรรมเอนไซม์ SOD ที่ทำหน้าที่ขจัด O_2^- ไปเป็น H_2O_2 และ O_2 (Scandalios. 1993; Stefan and Irwin. 2007) ส่วนกิจกรรมเอนไซม์ POD จะเปลี่ยน H_2O_2 เป็นน้ำ เพื่อลดการสะสมของอนุมูลอิสระที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดความเสียหาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อเมล็ดพันธุ์ การเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ทำให้เกิดขบวนการหายใจ และการทำงานของเอนไซม์เพิ่มขึ้น ซึ่งนำไปสู่การสะสม ethanol, aldehyde และอนุมูลอิสระ ซึ่งอนุมูลอิสระไปชักนำให้เกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation ทำให้เยื่อหุ้มเมมเบรนเสื่อมสภาพ โครงสร้างเอนไซม์เสียหายจนไม่สามารถทำงานได้ และอาจไปยับยั้งการงอกไม่ให้เกิดขึ้น (Taiz and Zeiger. 2006) จากการตรวจสอบความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ พบว่าน้ำมันหอมระเหยมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ อาจจะไปยับยั้งปฏิกิริยา lipid peroxidation ที่เป็นสาเหตุทำให้เยื่อหุ้มเมมเบรน และเมล็ดพันธุ์เสื่อมคุณภาพ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Bhattacharjee *et al*. (2006) ศึกษาเทคนิคสำหรับการยืดอายุการเก็บรักษาของเมล็ดถั่วเขียว และเมล็ดทานตะวัน โดยใช้ sodium dikegulac กับ น้ำมันยูคาลิปตัส โดยนำเมล็ดพืชทั้ง 2 ชนิดมาทดสอบ โดยการแช่สาร sodium dikegulac ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 250 มิลลิลิตร และการรมด้วยน้ำมันยูคาลิปตัส ปริมาตร 5 มิลลิลิตร พร้อมเร่งอายุที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 99.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 0, 15 และ 30 วันหลังจากนั้นทดสอบการงอก พบว่าเมื่อระยะเวลาการเร่งอายุผ่านไปทำให้การงอกของเมล็ดพืชทั้งสองชนิดลดลง แต่ sodium dikegulac ยังคงรักษาความงอกเมล็ดพันธุ์ของพืชทั้ง 2 ชนิด ที่ผ่านการเร่งอายุได้ดีที่สุดรองลงมาคือน้ำมันยูคาลิปตัส และชุดควบคุมมีความงอกต่ำที่สุด ส่วนเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 20 และ 40 ไมโครลิตรต่อลิตร พบว่ามีอัตราการงอกต่ำ เนื่องจากอิทธิพลของการเร่งอายุร่วมกับน้ำมันหอมระเหยในระดับความเข้มข้นที่สูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 6
สรุปผลการทดลอง

6.1 สรุปผลการทดลอง

การศึกษาประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่

จากการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ โดยการวิเคราะห์เชิงปริมาณ ด้วยวิธีการวัดความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ด้วยวิธีการกำจัดอนุมูล DPPH ความสามารถในการแย่งจับกับโลหะไอออน Fe^{2+} ความสามารถในการรีดิวซ์ และความสามารถในการต้านการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation ของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่นั้น พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่มีความสามารถในการแย่งจับกับโลหะไอออน Fe^{2+} สูงที่สุด รองลงมาคือความสามารถในการต้านการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation ความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยอาจลดการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation และลดการเกิดอนุมูลอิสระ เนื่องจากธาตุเหล็กที่อยู่ในรูปเฟอร์รัส (Fe^{2+}) ซึ่งเป็นตัวการสำคัญในการเร่งปฏิกิริยา lipid peroxidation

การศึกษาคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ภายหลังการเร่งอายุ

จากการศึกษาการเร่งอายุของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์ แล้วตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง โดยการวัดอัตราการงอก ค่าการนำไฟฟ้า ปริมาณสาร malondialdehyde (MDA) และกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส พบว่าเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองมีอัตราการงอกลดลง ค่าการนำไฟฟ้าเพิ่มขึ้น ปริมาณสาร MDA เพิ่มขึ้น และกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสลดลง ตามระยะเวลาการเร่งอายุที่เพิ่มขึ้น

การศึกษาผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ ต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์

จากการศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ต่อเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง โดยการวัดอัตราการงอก ค่าการนำไฟฟ้า ปริมาณสาร malondialdehyde (MDA) และกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส พบว่าการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ ที่ระดับความเข้มข้น 3, 6 และ 10 ไมโครลิตรต่อลิตร ไม่มีผลต่ออัตราการงอก แต่ที่ระดับความเข้มข้น 20 และ 40 ไมโครลิตรต่อลิตร มีผลทำให้อัตราการงอกลดลง มีค่าการนำไฟฟ้า และปริมาณสาร MDA สูงขึ้น ส่วนกิจกรรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอนไซม์ไลเปส พบว่าทุกกรรมวิธีมีปริมาณกรดไขมันอิสระใกล้เคียงกันและไม่แตกต่างกันในทางสถิติ

การศึกษาผลของการรมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ KPS292 ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ และนำไปผ่านการเร่งอายุ ต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์

จากการศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ และผ่านการเร่งอายุเป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยการวัดอัตราการงอก ค่าการนำไฟฟ้า ปริมาณสาร malondialdehyde (MDA) และกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่รมด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครลิตรต่อลิตร สามารถที่จะรักษาคุณภาพเมล็ดพันธุ์ไว้ได้ โดยอาศัยความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหย

6.2 ข้อเสนอแนะ

ควรมีการศึกษาถึงการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองด้วยวิธีการรมน้ำมันหอมระเหย จากนั้นนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 6 ถึง 12 เดือน และทดสอบอัตราการงอกของเมล็ดพันธุ์ทั้งในระดับห้องปฏิบัติการ และแปลงทดลอง เปรียบเทียบกับเมล็ดพันธุ์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2543. **คู่มือสมุนไพรและเครื่องเทศ** ชุดที่ 3 พืชสมุนไพรน้ำมันหอมระเหย เขตจตุจักร กรุงเทพฯ หน้า 12-13.

กฤติกา นรจิตร ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์ และอรพิน เกิดชูชื่น. 2549. ประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากพืชวงศ์ขิง 5 ชนิด. **วารสารอาหาร**. 37(3): 265-280.

กรุง สีตะธนี และสิริกุล วะสี. 2538. **เอกสารเผยแพร่** อันดับที่ 50 โดย ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม.

จวงจันทร์ ดวงพัตรา. 2521. **เทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์**. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

จวงจันทร์ ดวงพัตรา. 2523. **สรีรวิทยาเมล็ดพันธุ์**. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

ชานนท์ มณีรัตน์ ภาณุมาศ ฤทธิไชย และเยาวพา จิระเกียรติคุณ. 2556. ผลของการ priming ด้วย salicylic acid และ folic acid ต่อความงอก ความแข็งแรง และการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักบุ้งจีน. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.** 21(6): 512-519.

ฐาปนีย์ หงส์รัตนาวรกิจ. 2550. **น้ำมันหอมระเหยและการใช้ในสุคนธบำบัด**. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ กรุงเทพฯ. 240 หน้า.

ธวัชชัย ทีฆชุณหเถียร. 2554. หน่วยที่ 5 การตรวจสอบคุณภาพและการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์: เรื่องที่ 5.3.1 การตรวจสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์, น. 55-63. **เอกสารการสอนชุดวิชา การฝึกปฏิบัติเสริมทักษะการผลิตพืช** หน่วยที่ 1-7. มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช, กรุงเทพฯ.

นิธิยา รัตนาปานนท์. 2545. **เคมีอาหาร**. โอเดียนสโตร์ กรุงเทพฯ. พิมพ์ครั้งที่ 1. 244 หน้า.

ประเทืองศรี สินชัยศรี. 2542. **พรรณไม้หอมและน้ำมันหอมระเหย.สำนักวิจัยและพัฒนาพืชน้ำมันและผลิตภัณฑ์น้ำมันพืชอุตสาหกรรมเกษตร**. กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 130 หน้า.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประเทืองศรี สินชัยศรี. 2543. **การสกัดน้ำมันพืชและน้ำมันหอมระเหยโดยเทคนิคของการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะเหนือจุดวิกฤติ**. เอกสารโรเนียว สำนักวิจัยและพัฒนาพืชน้ำมันและผลิตภัณฑ์น้ำมันพืชเพื่ออุตสาหกรรมเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร. 12 หน้า.

ประภัสสร วีระพันธ์ และวัชรี คุณกิตติ. 2554. คุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยในหลอดทดลอง. **วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน**. 7(3): 30-38.

พรทิพย์ วิรัชวงศ์. 2550. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ. [Online]. Avilable : http://www.gpo.or.th/rdi/html/antioxidants.html [19/2/2014]

พิมพร ลีลาพรพิสิฐ. 2543. **เครื่องสำอางธรรมชาติ ผลิตภัณฑ์สำหรับผิวหนัง**. ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม. คณะเภสัชศาสตร์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

มลศิริ วีโรทัย. 2540. ส่วนประกอบของอาหารเพื่อสุขภาพชนิดใหม่. **วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรี- นครินทรวิโรฒ**. 13(2): 69-75.

ละอองดาว แสงหล้า พิมพ์นภา ขุนพิลึก กัลยา วิธี และนพพร ทองเปลว. 2554. การเปรียบเทียบศักยภาพของผลผลิตเมล็ดพันธุ์และคุณภาพในการเก็บรักษาของถั่วเหลืองฝักสดกลิ่นหอม. **แก่นเกษตร**. 39(3): 91-96.

วันชัย จันทร์ประเสริฐ. 2538. **สรีรวิทยาเมล็ดพันธุ์**. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 213 หน้า.

อัญชนา เจนวิถีสุข. 2544. **การตรวจหาและบ่งชี้ชนิดสารต้านอนุมูลอิสระจากผักพื้นบ้านและสมุนไพรไทย**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

โอภา วัชระคุปต์ ปรีชา บุญจง จันทนา บุญยะรัตน์ และมาลีรักษ์ อัตต์สินทอง. 2549. **สารต้านอนุมูลอิสระ Radical Scavenging Agent**. พี.เอส.พริ้นท์ กรุงเทพฯ. พิมพ์ครั้งที่ 1. 190 หน้า.

Abrahim, D., W.L. Braguini, A.M. Kelmer-Bracht and E.L. Ishii-Iwamoto. 2000. Effects of four monoterpenes on germination, primary root growth, and mitochondrial respiration of maize. **J. Chem. Ecol.** 26: 611–624.

Afify, A. El-M.M.R., H.S. El-Beltagi, A.A. Aly and A.E. El-Ansary. 2012. Antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation as biomarker for potato tuber stored by two essential oils from Caraway and Clove and its main component carvone and eugenol. **APJTB**. 772-780.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Allen, J.C. and R.J. Hamilton. 1994. **Ranceidity in Food**. 3rd ed. Chapman & Hall. Glasgow. UK.

Association of Official Seed Analysts. 1983. **Seed Vigor Testing Handbook**. Contribution No. 32. Association of Official Seed Analysts. Lincon. NE. U.S.A.

Association of Official Seed Analysts. 1985. Rules for seed testing. **J. Seed Technol.** 13: 1-126.

Bailly, C., A. Benamar, F. Corbineau and D. Come. 1996. Changes in malondialdehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase activities in sunflower seeds as related to deterioration during accelerated aging. **Physiol. Plantarum**. 97: 104-110.

Basu, T.K., N.J. Temple and M.L. Garg. 1999. **Antioxidant in Human Health and Disease**. CABI publishing. UK.

Bauer, K., D. Garbe and H. Surburg. 1990. **Common Fragrance and Flavor Materials.** VCH Publisher. New York. 365 p.

Begum, M.A.J., P. Balamurugau, K. Vanagamudi, K. Prabakar and R. Ramakrishnan. 2014. Enzyme changes during seed storage in groundnut (*Arachis hypogaea* L.). **J. Appl. Natural Sci.** 6(2): 748-750.

Bewley, J.D. and M. Black. 1983. **Seeds: Physiology of Development and Germination**. Plenum Press. New York and London.

Bewley, J.D. and M. Black. 1985. **Seeds: Physiology of Development and Germination**. Plenum Press. New York and London.

Bhattacharjee, A., U.K. Kanp, D. Chakrabarti and C.K. Pati. 2006. Technique for storage longevity of mung bean and sunflower seeds using sodium dikegulac and *Eucalyptus* oil. **Bangladesh J. Bot**. 35(1): 55-61.

Blois, M.S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical**. Nature.** 181: 1199-1200.

Chauhan, R.S., M.K. Kaul, A.K. Shahi, A. Kumar, G. Ram and A. Tawa. 2009. Chemical composition of essential oils in *Mentha spicata* L. accession [IIIM (J) 26] from North West Himalayan region. **India J. Ind. Crops Prod**. 29: 654-656.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Dassou, S. and E.A. Kueneman. 1984. Screening methodology for resistance to field weathering of field weathering of soybean seed. **Crop Sci**. 24: 774-779.

Dehpour, A.A., M.A. Ebrahimzadeh, N.S. Fazel and N.S. Mohammad. 2009. Antioxidant activity of the methanol extract of *Ferula assafoetida* and its essential oil composition. **Grasas Aceites**. 60(4): 405-412.

Delouche, J.C. and C.C. Baskin. 1973. Accelerated aging techniques for predicting therelative storability of seed lots. **Seed Sci. & Technol**. 1: 427-452.

Delouche, J.C. 1980. Environment effects on seed development and seed quality. **Hort Sci**. 15: 775-780.

Despina, V., D. Panagiota, J.B. George and M.H. John. 2003. Effects of monoterpenoids, acting alone or in pairs, on seed germination and subsequent seedling growth. **J. Chem. Ecol.** 29: 2284-2299.

Dinis, T.C.P., V.M.C. Madeira and L.M. Almeida. 1994. Action of phenolic derivatives (acetoaminophen, salycilate, and 5-aminosalycilate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxylradical scavengers. **Arch. Biochem. Biophysic**. 315: 161-169.

Draganic, I. and S. Lekic. 2012. Seed priming with antioxidants improves sunflower seed germination and seedling growth under unfavorable germination conditions. **Turk J. Agric.** 36: 421-428.

Gadge, P.P., S.D. Madhikar, J.N. Yewle, U.U. Jadhav, A.D. Chougale, V.P. Zambare and M.V. Padul. 2011. Biochemical studies of lipase from germinating oil seeds (*Glycine max*). **AJBB**. 7(3): 141-145.

Gulluce, M., F. Sahin, M. Sokmen, H. Ozer, D. Daferera, A. Sokmen, M. Polissiou, A. Adiguzel and H. Ozkan. 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia*. **Food Chem**. 103: 1449-1456.

Gursoy, N., B. Tepe and H.A. Akpulat**.** 2012. Chemical Composition and Antioxidant Activity of the Essential Oils of *Salvia palaestina* (Bentham) and *S. ceratophylla* (L.). **Rec. Nat. Prod.** 6(3): 278-287.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Halder, S. and K. Gupta. 1980. Effect of storage of sunflower seed in high and low relative humidity on solute leaching and internal biochemical changes. **Seed Sci. and Technol**. 8(3): 317-321.

Halliwell, B., J.M.C. Gutteridge and L. Aruoma. 1987. The deoxyribose method: a simple test-tube assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals. **J. Anal. Biochem**. 165(1): 215-219.

Hou, W.C., Y.C. Chen, Y.H. Lin, L.L. Yang and M.H. Lee. 2001. Antioxidant activities of trypsin Inhibitor a 33 KDa root storage protein of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam cv. Tainong 57). **J. Agri. Food Chem**. 49: 2978-2981.

International Seed Testing Association. 1995. **Handbook of Vigour Test Methods**. 3rd edition. Internaitonal Seed Testing Association. Zürich, Switzerland.

Jalaei, Z., M. Fattahi and S. Aramideh. 2015. Allelopathic and insecticidal activities of essential oil of *Dracocephalum kotschyi* Boiss. From Iran: A new chemotype with highest limonene-10-al and limonene. **Ind. Crop. Prod.** 73: 109-117.

John, K. and P. Steven. 1993. The Handbook of Cosmetic Science & Technology. 1st ed., **Elsevier Advanced Technology**, oxford, UK. 581 p.

Jonathan, M.E., C.F.S. Barbara, R.S.S. Silvia, A.A.G. Joao, J.L.A. Maria Claudjane and F.P. Marcelo. 2013. Germination responses of *Jatropha curcas* L. seeds to storage and aging. **Ind. Crop. Prod.** 44: 684-690.

Joshi, S.C., A.R. Verma and C.S. Mathela. 2011. Antioxidant and antibacterial activities of the leaf essential oils of Himalayan Lauraceae species. **Food Chem. Toxicol**. 48: 37–40.

Khan, M.A., M.Z. Ahmed and A. Hameed. 2006. Effect of sea salt and L-ascorbic acid on the seed germination of halophytes. **J. Arid Environ**. 67: 535-540.

Kizil, S., N. Hasimi, V. Tolan, E. Kilinc and U. Yuksel. 2010. Mineral content, essential oil compoment and biological activity of two mentha specie (*M. piperita* L., *M. spicata* L). **Turkish J. Field Crops**. 15(2): 148-153.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Krishnasamy, V. and D.V. Seshu. 1990. Germination after accelerated aging and associated characters of rice varieties. **Seed Sci. and Technol**. 18: 147-156.

Kulisic, T., A. Radonic, V. Katalinic and M. Milos. 2014. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. **Food Chem**. 85: 633-640.

Lin, Y.H., R.A. Moreau and A.S.C. Huang. 1982. Involvement of glyoxysomal lipase in the hydrolysis of storage triacylglycerols in the cotyledons of soybean seedlings. **Plant Physiol**. 70: 108-112.

Manjamalai, A.V.M. and B. Grace. 2012. Antioxidant activity of essential oils from *Wedelia chinensis* (Osbeck) in vitro and in vivo lung cancer bearing C57BL/6 mice. **Asian Pac. J. Cancer P**. 13: 3065-3071.

McDonald, R.P. 1999. **Test theory: A unified treatment**. Lawrence Erlbaum Associates Publishers. London. 61 p.

Mirjana, M., V. Milka and K. Dura. 2010. Vigour tests as indicators of seed viability. **Genetika.** 42(1): 103-118.

Nakayama, Y., K. Saio and M. Kito. 1981. Decomposition of phospholipids in soybeans during storage. **Cereal Chem**. 58: 260-264.

Nimmagadda, L. and G.K. Narayanaswamy. 2009. Cryptic red light signal regulates ascorbic acid in soybean. **J. Plant Physiol**. 166: 329-332.

Oke, F., B. Aslim, S. Ozturk and S. Altundag. 2009. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten. **Food Chem.** 112: 874–879.

Oyaizu, M. 1986. The studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. **JJND**. 44: 307-315.

Packer, L., M. Hiramatsu and T. Yoshikawa. 1999. **Antioxidant Food Supplements in Human Health**. Academic Press**.** U.S.A. 511 p.

Paschal, E.H. and M.A. Eills. 1978. Variation in seed quality characteristics of tropically grown soybean. **Crop Sci**. 18: 837-840.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pongquett, R.T., M.T. Smith and G. Ross. 1992. Lipid autoxidation and seed aging: putative relationships between seed longevity and lipid stability. **Seed Sci. Res**. 2: 51-54.

Prakash, O., M. Gondwal and A.K. Pant. 2011. Essential oils composition and antioxidant activity of water extract from seeds and fruit pulp of *Skimmia anquetilia* N.P. Taylor and Airy Shaw. **IJNPR**. 2(4): 435-441.

Priestley, D.A. 1986. **Seed Aging**: Implications for seed stroage and persistence in the soil. Comstock Publishing Associates, London.

Rathera, M.A., B.A. Dara, M.Y. Darb, B.A. Wanic, W.A. Shahb, B.A. Bhata, B.A. Ganaic, K.A. Bhata, R. Anandd and M.A. Qurishib. 2012. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the leaf essential oil of *Juglans regia* L. and its constituents. **Phytomedicine**. 19: 1185–1190.

Reigosa, M.J., N. Pedrol and L. Gonzalez. 2006. **Allelopathy**: A physiological process with ecological implications. Springer, Dordrecht. Netherlands. 637 p.

Rice-Evans, C.A., N.J. Miller, P.G. Bolwell, P.M. Bramley and J.B. Pridham. 1995. The relative antioxidant activities of plant derived polyphenolic flavonoids. **Free Radic. Res.** 22: 375-383

Rice-Evans, C.A. and N.J. Miller. 1996. Antioxidant acitivities of flavonoids as bioactive compounds of foods. **J. Biochem. Soc. Trans.** 24(3): 790-795.

Roberts, R., C. Stewart and J.D. Bewley. 1980. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. **Plant Physiol**. 65: 245-248.

Rohman, A., S. Riyanto, N. Yuniarti, W.R. Saputra, R. Utami, and W. Mulatsih. 2010. Antioxidant activity, total phenolic, and total flavaonoid of extracts and fractions of red fruit (*Pandanus conoideus* Lam). **IFRJ**. 17: 97-106.

Roland, D.A., P.O. Uadia, T.A. Foglia, M.J. Haas, K. Scott and B.J. Savary. 2002. Partial purification and properties of lipase from germinating seeds of *Jatropha curcas* L. **JAOCS**. 79(11): 1123-1126.

Satthanakul, P. and W. Khunkiti. 2011. Potential of clove oil on in vitro antioxidant activity and factors affecting oil encapsulation efficiency in solid lipid particles. **KKU Res. J.** 16(5): 504-516.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Scandalios, J.G. 1993. Oxygen stress and superoxide dismutase. **Plant Physiol.** 101: 7–12.

Singh, H.P., S. Kaur, S. Mittal, D.R. Batish and R.K. Kohli. 2010. In vitro screening of essential oil from young and mature leaves of *Artemisia scoparia* compared to its major constituents for free radical scavenging activity. **Food Chem. Toxicol**. 48: 1040–1044.

Singh, H.P., S. Kaur, K. Negi, S. Kumari, V. Saini, D.R. Batish and R.K. Kohli. 2012. Assessment of in vitro antioxidant activity of essential oil of *Eucalyptus citriodora* (lemon-scented Eucalypt; Myrtaceae) and its major constituents. **Food Sci. Technol.** 48: 237-241.

Stefan, I.L. and F. Irwin. 2007. The effects of superoxide dismutase on H_2O_2 formation. **FRBM.** 42: 1465–1469.

Taiz, L. and E. Zeiger. 2006. **Plant Physiology, Fourth Edition**. Sinauer Associates. Sunderland, MA. 764 p.

Tham, D.M., C.D. Gardner and W.A. Haskell. 1998. Potential health benefits of dietary phytoestrogens: A review of the clinical, epidemiological, and mechanistic evidence. **JCE & M**. 83(7): 2223-2235.

Tomas-Barberan, F.A. and R.J. Robins. 1997. **Phytochemistry of fruits and vegetables.** Oxford University Press Inc. New York. U.S.A.

Viuda-Martos, M., Y. Ruiz Navajas, E. Sanchez Zapata, J. Fernandez-Lopez and J.A. Perez-Alvarez. 2009. Antioxidant activity of essential oils of five spice plants widely used in a Mediterranean diet. **Flavour and Frag. J.** 25: 13-19.

Wilson, D.O. and M.B. McDonald. 1986. The lipid peroxidation model of seed aging. Seed **Sci & Technol**. 14: 269-275.

Zhang, H., F. Chen, X. Wang and H.Y. Yao. 2006. Evaluation of antioxidant activity of parsley (*Petroselinum crispum*) essential oil and identification of its antioxidant constituents. **Food Res. Int.** 39: 833-839.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นายณัฐกิติ ภู่รื่น
วัน เดือน ปีเกิด	10 ตุลาคม 2533 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร
ที่อยู่	90/64 ซอยสายไหม 51 แขวงสายไหม เขตสายไหม จังหวัดกรุงเทพมหานคร

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2546	มัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนชัยภูมิภักดีชุมพล ชัยภูมิ
พ.ศ. 2549	มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนสตรีชัยภูมิ ชัยภูมิ
พ.ศ. 2552	ระดับปริญญาตรี วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ผลงานวิจัย

2015	1. งานวิจัยเรื่อง The use of peppermint essential oil for seed quality maintenance of soybean cultivar KPS292 under accelerated aging ในงาน International Symposium on Engineering and Natural Science (ISEANS) วันที่ 12-14 สิงหาคม 2015 ณ Comfort Suites Yayuncun ปักกิ่ง ประเทศจีน
	2. งานวิจัยเรื่อง Evaluation of antioxidant activities of essential oils from peppermint and ginger ในงาน International Symposium on Agricultural Technology (ISAT) “Global Agriculture Trends for Sustainability” วันที่ 1-3 กรกฎาคม 2015 ณ โรงแรม A-One The Royal Cruise พัทยา ประเทศไทย
2014	3. งานวิจัยเรื่อง การประเมินฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากใบฝรั่ง ในงานการประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 13 “นวัตกรรมพืชสวน เพื่อชีวิตที่ยืนยาวอย่างเป็นสุข” วันที่ 29-31 กรกฎาคม 2014 ณ โรงแรมเซ็นทาราแอนด์คอนเวนชั่นเซ็นเตอร์ อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้