

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การศึกษาศักยภาพทางอัลติโลพาทีของใบพุทธรักษาถิ่นแดง



T107749



นาย ณัฐสันต์ วัชรสินธุ์

ร.พ.
ร.ว. 3697
2548

เลขหมู่.....T107749
เลขทะเบียน.....
วันเดือนปี.....10 พ.ค. 2553

b.....12210572
i.....

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี สาขาเคมีอุตสาหกรรม

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Study on Allelopathic Potential of Spanish Jasmine Leaves



A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement for
the Degree of Bachelor of Science

Department of Chemistry

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2005

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ การศึกษาศักยภาพทางอัลลีโลพาทีของใบพุทราชาติบ้านแดง
 นักศึกษา นายณัฐศักดิ์ วัชรสินธุ์ รหัส 45050098
 ภาควิชา เคมี คณะวิทยาศาสตร์
 สาขาวิชา เคมีอุตสาหกรรม
 ปีการศึกษา 2548
 อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.พัชนี เจริญยิ่ง
 อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผศ.ดร.จรรุญ เล้าสินวัฒนา

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
 อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

	คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ	รศ.ดร.ธีรวัฒน์ มงคลอัครวัฒน์	
กรรมการ	ดร.อำนาจ เพิ่มทรัพย์สกุล	
กรรมการ	ผศ.ดร.พัชนี เจริญยิ่ง	
กรรมการ	ผศ.ดร.จรรุญ เล้าสินวัฒนา	



(ผศ.ดร.ประยงค์ ดวงดี)
 หัวหน้าภาควิชาเคมี

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การศึกษาศักยภาพทางอัลลีโลพาตีของใบพุทธรักษาถิ่นแดง		
นักศึกษา	นายณัฐสันต์	วัชรสินธุ์	รหัส 45050098
ภาควิชา	เคมี		คณะวิทยาศาสตร์
สาขาวิชา	เคมีอุตสาหกรรม		
ปีการศึกษา	2548		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.พัชนี	เจริญยิ่ง	
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผศ.ดร.จรัสญ	เล่าสินวัฒนา	

บทคัดย่อ

จากการศึกษาผลการเปรียบเทียบทางอัลลีโลพาตีของสารสกัดหยาบที่ได้จากวิธีการ solvent partitioning ของใบพุทธรักษาถิ่นแดง (*Jaminum officinale* Linn.f.var. *grandiforum* (Linn.) Kob.) ต่อผลการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดกวางตุ้งดอก (*Brassica campestris* var. *chinensis*) จำนวน 3 ส่วนคือ สารสกัดหยาบชั้นน้ำ (aqueous fraction : AQ) สารสกัดหยาบที่มีคุณสมบัติเป็นกลาง (neutral compound extract : NE) และสารสกัดหยาบที่มีคุณสมบัติเป็นกรด (acidic compound extract : AE) รวมทั้งสารสกัดหยาบชั้นเมทานอล (crude methanol extract : ME) ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 2,000 และ 4,000 ppm พบว่าสารสกัดหยาบที่มีคุณสมบัติเป็นกรด (acidic compound extract : AE) มีผลยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสารเพาเมล็ดในน้ำกลั่น เมื่อนำส่วนของชั้น AE มาแยกโดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีสามารถแยกสารได้ 8 ส่วนย่อย แล้วนำมาทดสอบผลทางอัลลีโลพาตี ที่ระดับความเข้มข้น 250 500 และ 1,000 ppm พบว่าส่วนย่อยที่ 2 5 6 และ 7 ให้ผลทางอัลลีโลพาตีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบอย่างมีนัยสำคัญ จากการนำสารส่วนย่อยที่ 5 และ 6 มาแยกเป็นสารกลุ่มย่อยโดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี จะได้สารกลุ่มย่อย 5 กลุ่มของส่วนย่อยที่ 5 และได้สารกลุ่มย่อย 4 กลุ่มของส่วนย่อยที่ 6

เมื่อนำสารกลุ่มย่อยของสารส่วนย่อยที่ 5 มาทดสอบศักยภาพทางอัลลีโลพาตีที่ระดับความเข้มข้น 125 250 และ 500 ppm พบว่าสารกลุ่มย่อยที่ 5.3 และ 5.4 มีศักยภาพทางอัลลีโลพาตีต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ ส่วนผลการทดสอบศักยภาพทางอัลลีโลพาตีของสารกลุ่มย่อยที่ได้จากส่วนย่อยที่ 6 ที่ระดับความเข้มข้น 125 250 และ 500 ppm พบว่า สารทุกกลุ่มย่อยมีศักยภาพทางอัลลีโลพาตีต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบอย่างมีนัยสำคัญ

Special Project Title	Study on Allelopathic Potential of Spanish Jasmine Leaves	
Student	Mr. Nuttasun Watcharasin	Code 45050098
Department	Chemistry	Faculty of Science
Program	Industrial Chemistry	
Academic Year	2005	
Special Project Advisor	Asst. Prof. Dr. Patchanee	Charoenying
Special Project co-advisor	Asst. Prof. Dr. Chamroon	Laosinwattana

ABSTRACT

The effect of three parts of solvent partitioning leaf extract from Spanish jasmine (*Jaminum officinale* Linn.f.var. *grandiforum* (Linn.) Kob.); aqueous fraction (AQ), neutral compound extract (NE) and acidic compound extract (AE) including crude methanol extract (ME) were comparative studied on seed germination and seedling growth of *Brassica campestris* var. *chinensis* at the concentrations 1,000, 2,000 and 4,000 ppm. It was shown that the extract from AE part gave the highest inhibitory effect on both seed germination and seedling growth of the tested weeds when distilled water was used as the control. After purified by column chromatography there were 8 fractions from the separated AE part. The 8 fractions were studied on allelopathic effect using each part at 250, 500 and 1,000 ppm. It was found that the fraction 2, 5, 6 and 7 gave the allelopathic effect on both seed germination and seedling growth of the tested weeds significantly. The fraction 5 and 6 which can be analyzing into the groups using the column chromatography gave 5 and 4 groups, respectively.

When 5 groups of fraction 5 were studied on allelopathic potential using each part at 125, 250 and 500 ppm. It results shown that the group 5.3 and 5.4 had the allelopathic potential in inhibitory effect on both seed germination and seedling growth of the tested weeds. The resulted of allelopathic potential of 4 groups from fraction 6 using each part at 125, 250 and 500 ppm that all groups had the allelopathic potential in inhibitory effect on both seed germination and seedling growth of the tested weeds significantly.

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงเป็นอย่างดี เนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์ ให้คำปรึกษา และเอาใจใส่เป็นอย่างดีจากคณาจารย์และเจ้าหน้าที่ ตลอดจนรุ่นพี่หลาย ๆ ท่าน

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.พัชนี เจริญยิ่ง และผศ.ดร.จำรูญ เล้าสินวัฒนา ที่กรุณาให้คำปรึกษา ดูแล เอาใจใส่และแนะนำในหลาย ๆ เรื่องเป็นอย่างดี

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.ธีรวัฒน์ มงคลอัครวัฒน์ และดร.อำนาจ เพิ่มทรัพย์สกุล ที่ให้เกียรติเป็นกรรมการตรวจสอบโครงการพิเศษและให้คำปรึกษาในการแก้ไขรูปแบบให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณรุ่นพี่ที่น่ารักในห้องปฏิบัติการเคมีอินทรีย์ที่ให้คำแนะนำ และกำลังใจในการทำโครงการพิเศษในครั้งนี้.

ขอขอบคุณเพื่อนๆ ในสาขาที่แบ่งปันน้ำใจ และเป็นกำลังใจให้แก่กัน

ขอขอบพระคุณบิดา มารดาที่ให้การสนับสนุนในการศึกษา รวมทั้งญาติพี่น้องทุกคนที่คอยให้กำลังใจเป็นอย่างดี

นายณัฐสันต์ วัชรสินธุ์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ช
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาของโครงการพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	
2.1 สารประกอบทางเคมีของพืช	4
2.2 สารอัลลีโลพาตี	4
2.3 ประวัติและความเป็นมาของอัลลีโลพาตี	6
2.4 วิธีการทดสอบฤทธิ์ของสารอัลลีโลเคมี	8
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	8
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	
3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	11
3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์	11
3.3 แหล่งของพืชและสภาวะที่ใช้ในการทดลอง	12
3.4 การสกัดสารอัลลีโลพาตีจากใบพุทราชาติก้านแดง	14
3.5 การแยกสารอัลลีโลพาตีด้วยวิธี solvent partitioning	14
3.6 การทดสอบผลทางอัลลีโลพาตีของสารสกัดที่แยกด้วยวิธี solvent partitioning	16
3.7 การแยกสารจากสารสกัดหยาบที่ให้ผลทางอัลลีโลพาตีโดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี	18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.8 การทดสอบผลทางอัลลีโลพาทีของสารส่วนย่อยในชั้น AE ต่างๆ ที่แยกโดยเทคนิคคอตมันน์โครมาโทกราฟี	18
3.9 การแยกสารจากส่วนย่อยที่ให้ผลทางอัลลีโลพาทีต่อพืชทดสอบแล้วนำมาทดสอบศักยภาพทางอัลลีโลพาที	20
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล	
4.1 ผลการเปรียบเทียบสารสกัดหยาบที่ได้จากวิธีการ solvent partitioning ของใบพุทธรักษาต้นแดง	24
4.2 ผลการทดสอบทางอัลลีโลพาทีของสารส่วนย่อยต่างๆ ในชั้น AE ที่แยกโดยเทคนิคคอตมันน์โครมาโทกราฟี	28
4.3 ผลการทดสอบศักยภาพทางอัลลีโลพาทีของสารกลุ่มย่อยในสารส่วนย่อยที่แยกโดยเทคนิคคอตมันน์โครมาโทกราฟี	33
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	
5.1 สรุปผลการทดลอง	40
5.2 ข้อเสนอแนะ	42
เอกสารอ้างอิง	43

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3.1	แสดงปริมาณในการเงืงางของสารละลายในแต่ละสารสกัดหยาบ	17
3.2	แสดงปริมาณในการเงืงางของสารละลายในแต่ละส่วนย่อย	19
3.3	แสดงปริมาณในการเงืงางของสารละลายในแต่ละกลุ่มย่อย	22



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้าที่	
3.1	แสดงขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย	13
3.2	แสดงขั้นตอนการสกัดและแยกสารอัลลีโลพาที่จากใบพุทธรักษาที่ก้านแดงด้วยวิธี solvent partitioning	15
4.1	ผลของสารสกัดจากใบพุทธรักษาที่ก้านแดงที่แยกด้วยวิธี solvent partitioning ต่อการงอกของเมล็ดควางตุ้งดอก 7 วันหลังการเพาะเมล็ด จากค่าเฉลี่ยจำนวน 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย โดย DMRT ($p = 0.05$)	24
4.2	ผลของสารสกัดจากใบพุทธรักษาที่ก้านแดงที่แยกด้วยวิธี solvent partitioning ต่อการเจริญเติบโตของเมล็ดควางตุ้งดอก 7 วันหลังการเพาะเมล็ด จากค่าเฉลี่ยจำนวน 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย โดย DMRT ($p = 0.05$)	26
4.3	ผลของสารสกัดจากใบพุทธรักษาที่ก้านแดงที่แยกด้วยวิธี solvent partitioning 3 ระดับ ความเข้มข้นต่อการงอกและการเจริญเติบโตของควางตุ้งดอกหลังการเพาะ 7 วัน	27
4.4	ผลของสารส่วนย่อย 8 ส่วนในชั้น AE ที่แยกโดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ต่อการงอกของเมล็ดควางตุ้งดอก 7 วันหลังการเพาะเมล็ด จากค่าเฉลี่ยจำนวน 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย โดย DMRT ($p = 0.05$)	28
4.5	ผลของสารส่วนย่อย 8 ส่วนในชั้น AE ที่แยกโดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ต่อการเจริญเติบโตของเมล็ดควางตุ้งดอก 7 วันหลังการเพาะเมล็ด จากค่าเฉลี่ยจำนวน 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย โดย DMRT ($p = 0.05$)	30
4.6	ผลทางอัลลีโลพาที่ของสารส่วนย่อย 8 ส่วนในชั้น AE ที่แยกโดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดควางตุ้งดอก 7 วันหลังการเพาะเมล็ด	32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่

หน้าที่

- 4.7 ผลของสารกลุ่มย่อยของสารส่วนย่อยที่ 5 ที่แยกโดยเทคนิคคอลลัมน์โครมาโทกราฟี 33
ต่อการงอกของเมล็ดคางค่าง 7 วันหลังการเพาะเมล็ด จากค่าเฉลี่ยจำนวน 4 ซ้ำ
ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์
ค่าเฉลี่ย โดย DMRT ($p = 0.05$)
- 4.8 ผลของสารกลุ่มย่อยของสารส่วนย่อยที่ 5 ที่แยกโดยเทคนิคคอลลัมน์โครมาโทกราฟี 35
ต่อการเจริญเติบโตของเมล็ดคางค่าง 7 วันหลังการเพาะเมล็ด จากค่าเฉลี่ยจำนวน
4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์
ค่าเฉลี่ย โดย DMRT ($p = 0.05$)
- 4.9 ผลของสารกลุ่มย่อยของสารส่วนย่อยที่ 6 ที่แยกโดยเทคนิคคอลลัมน์โครมาโทกราฟี 37
ต่อการงอกของเมล็ดคางค่าง 7 วันหลังการเพาะเมล็ด จากค่าเฉลี่ยจำนวน 4 ซ้ำ
ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์
ค่าเฉลี่ย โดย DMRT ($p = 0.05$)
- 4.10 ผลของสารกลุ่มย่อยของสารส่วนย่อยที่ 6 ที่แยกโดยเทคนิคคอลลัมน์โครมาโทกราฟี 38
ต่อการเจริญเติบโตของเมล็ดคางค่าง 7 วันหลังการเพาะเมล็ด จากค่าเฉลี่ยจำนวน
4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการ
วิเคราะห์ค่าเฉลี่ย โดย DMRT ($p = 0.05$)
- 4.11 ผลทางอัตรีไลพาทีของสารกลุ่มย่อย 4 กลุ่มของสารส่วนย่อยที่ 6 ที่แยกโดยเทคนิค 39
คอลลัมน์โครมาโทกราฟี ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดคางค่าง 7 วัน
หลังการเพาะเมล็ด

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาของโครงการพิเศษ

ในปัจจุบันประเทศไทยได้มีการค้นพบสารต่าง ๆ มากมายจากพืชสมุนไพร ซึ่งสารที่สกัดได้มาจากพืชสมุนไพรจะเรียกว่า สารธรรมชาติ เนื่องจากเป็นสารที่สกัดมาโดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงสูตร โครงสร้าง ส่วนใหญ่การสกัดสารธรรมชาติ ถูกนำมาใช้เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมีและนำคุณสมบัติของสารที่สกัดได้มาใช้ประโยชน์ในหลายด้าน เช่น ประโยชน์ทางด้านเภสัชกรรมและประโยชน์ทางการเกษตร เป็นต้น ต่อมาอาจมีการดัดแปลงสูตรโครงสร้างทางเคมีของสารที่สกัดได้ เพื่อให้ได้สารที่มีประสิทธิภาพดีกว่าเดิม โดยใช้สารที่สกัดได้เป็นสารตั้งต้นหรือต้นแบบในการสังเคราะห์ และจะเรียกสารที่ได้ว่า สารกึ่งสังเคราะห์ ส่วนสารที่ได้จากการสังเคราะห์ล้วน ๆ จะเรียกสารที่ได้นั้นว่า สารสังเคราะห์

จากความก้าวหน้าของเทคนิคการแยกสารและการทดสอบฤทธิ์ทางชีวเคมีจึงได้มีผู้ทำการทดลองนำพืชสมุนไพรต่าง ๆ มาสกัด เพื่อหาประโยชน์จากสารธรรมชาติที่มีอยู่ในพืชสมุนไพร และจากการที่ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม เพราะมีผืนแผ่นดินที่อุดมไปด้วยแร่ธาตุเหมาะแก่การเพาะปลูก ดังนั้นจึงมีผู้พยายามหาวิธีการสกัดสารธรรมชาติเพื่อนำมาใช้ในการเกษตร และจากการศึกษาของนักวิจัยจึงพบว่าในธรรมชาตินั้น พืชชนิดต่าง ๆ จะมีความสัมพันธ์ทางด้านชีวเคมีต่อกัน โดยพืชชนิดหนึ่งสามารถผลิตสารชีวเคมีและปลดปล่อยสารนั้นออกสู่สภาพแวดล้อมซึ่งส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาการของพืชที่ขึ้นอยู่ในบริเวณนั้น และเรียกปรากฏการณ์นี้ว่า อัลลีโลพาตี (Allelopathy) (Rice, 1984) การสกัดสารธรรมชาติที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชจากพืชที่เจริญเติบโตอยู่ตามธรรมชาติเป็นขั้นตอนแรกของกระบวนการวิจัยและพัฒนาสารธรรมชาติเพื่อใช้ในการควบคุมวัชพืชโดยสารธรรมชาติดังกล่าวอาจนำมาพัฒนาเพื่อใช้เป็นสารควบคุมวัชพืชโดยตรงหรือนำมาเป็นสารต้นแบบในการสังเคราะห์สารควบคุมวัชพืชชนิดใหม่ที่มีความปลอดภัยต่อมนุษย์ สัตว์และระบบนิเวศน์มากกว่า (Chou, 1995) ปัจจุบันมีรายงานผลการศึกษาศักยภาพของสารสกัดจากพืชที่มีผลยับยั้งต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าพืชทดสอบมากมายทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศ เช่น สารสกัดจากงา (*Sesamum indicum*) (ชอุ่ม, 2533) สารสกัดจากประยงค์ (*Aglaia odorata*) (บุญรอด และ วิรัตน์, 2544) สารสกัดจากข้าว (*Oryza sativa*) (Kawaguchi *et al*, 1997 ; Chung *et al*, 2001) สาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สกัดจากหญ้าแพรก (*Cynodon dactylon*) (Alam *et al*, 2001) และสารสกัดจากแตงกวา (*Cucumis sativa*) (Yu *et al*, 2003) เป็นต้น

สำหรับต้นพุทธรักษาถิ่นแดง (Spanish jasmine) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Jasminum officinale* Linn.f.var. *grandiflorum* (Linn.) Kob. เป็นพืชสกุลมะลิชนิดหนึ่ง มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว นิยมนำมาปลูกประดับสถานที่ (ปิยะ, 2541) จากการศึกษาเบื้องต้นโดยเฉพาะส่วนใบ โดยทดสอบสารสกัดน้ำจากใบพืชสกุลมะลิที่รวบรวมทั้งสิ้น 11 ชนิด คือ มะลิฉัตร มะลิซ้อน มะลิถอด มะลิลา มะลิลาซ้อน มะลิวัลย์ มะลิหลวง มะลูลี พุทธรักษา พุทธรักษาถิ่นแดง และพุทธรักษาหลวง ที่ความเข้มข้น 1.56 3.12 6.25 12.50 25.00 และ 50.00 มิลลิกรัมน้ำหนักแห้งต่อมิลลิลิตร ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบคือ ผักกวางตุ้งและผักกาดหัว โดยมีน้ำกลั่นเป็นวิธีการเปรียบเทียบ ปรากฏว่า สารสกัดจากใบพุทธรักษาถิ่นแดงให้ผลดีต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบได้ดี (ดรรรัตน์, 2546)

ด้วยเหตุนี้ จึงได้นำใบพุทธรักษาถิ่นแดงมาทำการศึกษาศึกษาสภาพทางอัลลีโลพาตี โดยนำใบพุทธรักษาถิ่นแดงมาสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ เพื่อทำการแยกสารอัลลีโลพาตีจากใบพุทธรักษาถิ่นแดง จัดกลุ่มสารส่วนย่อยโดยใช้เทคนิคทางโครมาโทกราฟี นำมาวิเคราะห์หาศึกษาสภาพทางอัลลีโลพาตี เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการเป็นสารควบคุมวัชพืชต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อศึกษาการสกัดสารอัลลีโลพาตีจากใบพุทธรักษาถิ่นแดงด้วยวิธี solvent partitioning

1.2.2 เพื่อศึกษาเปรียบเทียบผลของสารสกัดหยาบที่ได้จากวิธีการ solvent partitioning ของใบพุทธรักษาถิ่นแดงที่มีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ

1.2.3 เพื่อศึกษาศึกษาสภาพทางอัลลีโลพาตีของใบพุทธรักษาถิ่นแดงที่มีผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1.3.1 ศึกษาเปรียบเทียบผลของสารสกัดหยาบที่แยกได้จากใบพุทธรักษาถิ่นแดงด้วยวิธี solvent partitioning ทั้ง 3 ส่วนคือ สารสกัดหยาบชั้นน้ำ (aqueous fraction : AQ) สารสกัดหยาบที่มีคุณสมบัติเป็นกลาง (neutral compound extract : NE) และสารสกัดหยาบที่มีคุณสมบัติเป็นกรด (acidic compound extract : AE) รวมทั้งสารสกัดหยาบชั้นเมทานอล (crude methanol extract : ME) ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 2,000 และ 4,000 ppm ที่มีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

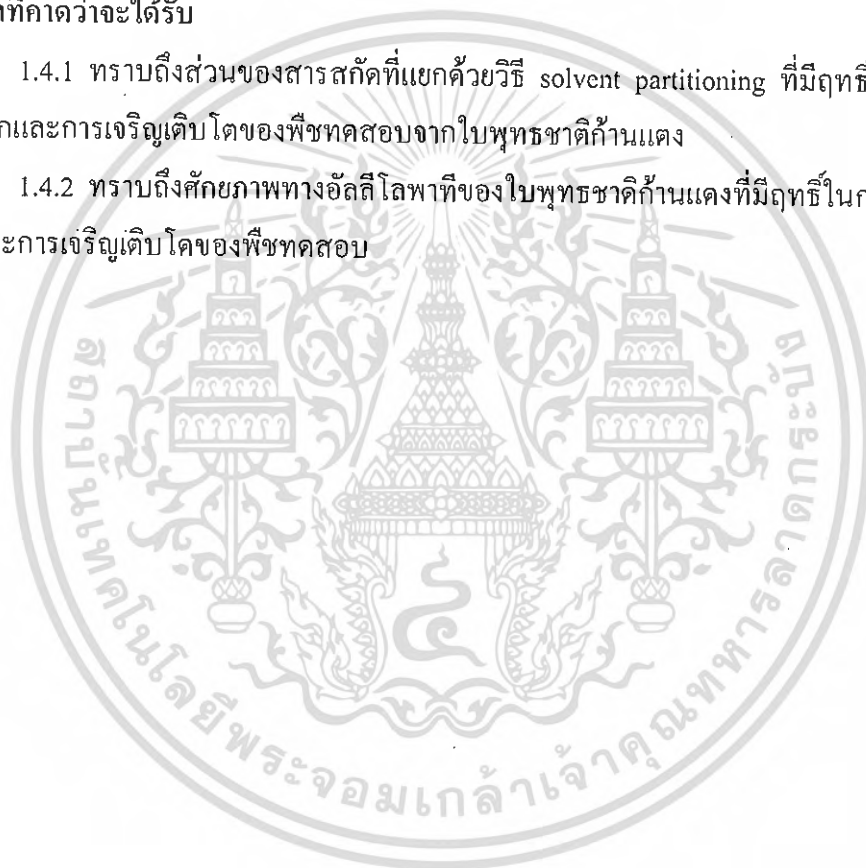
พืชทดสอบคือ กวางตุ้งดอก (*Brassica campestris* var. *chinensis*) โดยใช้สารละลายผงไม่ละลายน้ำ (WP) ที่อัตราเดียวกันและน้ำกลั่นเป็นวิธีการเปรียบเทียบ

1.3.2 นำส่วนของสารสกัดจากวิธี solvent partitioning ที่ให้ผลยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ นำมาวิเคราะห์เพื่อทำการแยกสารเป็นกลุ่มย่อย โดยเทคนิคโครมาโทกราฟี แล้วทำการศึกษาสัณยภาพทางอัลติโลพาที่มีผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ

1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบถึงส่วนของสารสกัดที่แยกด้วยวิธี solvent partitioning ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบจากใบพุทธรักษาถิ่นแดง

1.4.2 ทราบถึงสัณยภาพทางอัลติโลพาของใบพุทธรักษาถิ่นแดงที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและหลักการ

2.1 สารประกอบทางเคมีในพืช

ในพืชประกอบด้วยสารเคมีจำนวนมาก ซึ่งจะแตกต่างกันตามชนิดของพืช ส่งผลให้พืชแต่ละชนิดมีประโยชน์และโทษที่แตกต่างกันออกไป โดยทั่วไปสามารถแยกสารเคมีในพืชออกเป็น 2 ชนิด ได้แก่

2.1.1 Primary Metabolite

คือสารประกอบทางเคมีที่มีอยู่ในพืชทั่วไป ซึ่งเกิดขึ้นจากกระบวนการสังเคราะห์แสง (Photosynthesis) เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน เป็นต้น โดยจะพบในส่วนของรากและลำต้น

2.1.2 Secondary Metabolite

คือสารประกอบทางเคมีที่มีลักษณะค่อนข้างพิเศษ เกิดจากกระบวนการชีวสังเคราะห์ (Biosynthesis) ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของพืช โดยพืชแต่ละชนิดจะมีสารในกลุ่มนี้ที่แตกต่างกันไป สารประกอบทางเคมีในกลุ่ม Secondary Metabolite เป็นสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ซึ่งสารแต่ละชนิดจะมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่แตกต่างกันออกไป โดยขึ้นอยู่กับลักษณะ โครงสร้างและหมู่ฟังก์ชันของสารนั้น ๆ โดยจะพบในส่วนของใบและเปลือก

2.2 อัลลีโลพาตี

ปรากฏการณ์ที่พืช (รวมทั้งจุลินทรีย์) ผลิตสารชีวเคมีขึ้นและปลดปล่อยสารดังกล่าวสู่สภาพแวดล้อม ทำให้เกิดผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาการของพืช (รวมทั้งจุลินทรีย์) ที่อยู่ในบริเวณนั้นเรียกว่า ปรากฏการณ์อัลลีโลพาตี (Rice, 1984) สารอัลลีโลพาตีที่ถูกปล่อยออกมาจากส่วนต่าง ๆ ของพืชไม่ว่าจะเป็น ใบ ดอก เมล็ด ลำต้นและราก ทั้งขณะยังมีชีวิตและซากพืชที่ย่อยสลายแล้วในสภาพแวดล้อมจะถูกปล่อยออกมาในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน (Weston, 1996) โดยสารดังกล่าวนี้จะถูกปลดปล่อยออกมาจากพืชได้หลายทาง ได้แก่

1. การระเหย (volatilization) เกิดขึ้นได้ จากสารเคมีที่ระเหยได้จากดินพืชขณะที่มีชีวิตอยู่
2. การชะล้าง (leaching) เกิดขึ้นจากการชะล้างของหมอก น้ำฝนหรือน้ำค้าง ทำให้สารที่ละลายน้ำได้จากส่วนของดินพืชที่อยู่เหนือดินละลายลงสู่ดิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การปลดปล่อยจากทางราก (root exudation) เกิดขึ้นจากการปลดปล่อยสารที่ละลายน้ำได้ออกมาจากส่วนราก

4. การสลายตัวของซากพืช (decay of plant materials) เกิดขึ้นจากการปลดปล่อยสารออกจากส่วนของต้นพืชที่ไม่มีชีวิต ใบพืชที่ร่วงหล่นลงสู่พื้นดิน หรือรากที่แก่และตายไป ซึ่งเกิดขึ้นจากการย่อยสลายใบหรือส่วนของต้นพืชโดยจุลินทรีย์ (Putnam, 1985; Duke *et al*, 1998)

จากการศึกษาพบว่าสารที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากพืชส่วนใหญ่เป็นสารทุติยภูมิ เช่น ก๊าซพิษ (toxic gas) กรดอินทรีย์ (organic acid and aldehydes aromatic acid) น้ำตาลแลคโตนไม่อิ่มตัว (simple unsaturated lactone) คูมาริน (coumarins) แนปโทควิโนน (naphthoquinones) แอนทราควิโนน (anthraquinones) และสารประกอบควิโนน (complex quinones) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) แทนนิน (tannins) อัลคาลอยด์ (alkaloids) เทอร์พีนอยด์และสเตอรอยด์ (terpenoids and steroids) สารอินทรีย์ละลายน้ำทั่วไป (alcohol, aliphatic aldehyde, ketone) กรดไขมันและพอลิอะซิเตท (long-chain fatty acid and polyacetylene) กรดซินนามิกและอนุพันธ์ (cinnamic acids and derivatives) กรดอะมิโนและพอลิเพปไทด์ (amino acid and polypeptides) ซัลไฟด์และมัสตาร์ดออยด์ไกลโคไซด์ (sulfides and mustard oil glycosides) พิวรีนและนิวคลีโอไซด์ (purine and nucleosides) เมื่อสารที่พืชสร้างขึ้นถูกปลดปล่อยออกสู่สภาพแวดล้อม และสะสมอยู่ในปริมาณที่พอเพียงที่จะก่อให้เกิดผลกระทบต่อพืชอื่น และคงตัวอยู่ชั่วขณะเวลาหนึ่ง หรืออาจจะมีการปลดปล่อยออกมาอย่างต่อเนื่อง ทำให้เกิดผลที่รุนแรงต่อพืชที่ขึ้นอยู่ในบริเวณดังกล่าว (Rice, 1984; Putnam, 1985)

เมื่อสารอัลลีโลพาตีถูกปลดปล่อยสู่สภาพแวดล้อม และถูกดูดซับโดยพืชที่เป็นผู้รับสารเหล่านั้นจะมีผลในการยับยั้งขบวนการต่าง ๆ ของพืชที่เป็นผู้รับ ซึ่งโดยทั่วไปสารอัลลีโลพาตีมีผลกระทบต่อการงอกของเมล็ด น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นและราก รวมทั้งความสูงของต้นและพัฒนาการต่าง ๆ ของพืช โดยสารอัลลีโลพาตีก่อให้เกิดผลต่อพืชในด้านต่าง ๆ เช่น

1. ผลต่อเซลล์วิทยาและโครงสร้างของเซลล์พืช (cytology and ultrastructure) การแบ่งเซลล์และชีวิตของเซลล์ สารที่มีผลต่อการยับยั้งการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าส่วนมากมีกลไกการออกฤทธิ์โดยไปยับยั้งการแบ่งเซลล์และการชีวิตของเซลล์
2. ผลต่อฮอร์โมนพืชและสมดุลของฮอร์โมนพืชและสมดุลของฮอร์โมน (phytohormones and their balance)
3. ผลต่อเมมเบรนและความสามารถในการยอมให้สารซึมผ่าน (membrane and its permeability)
4. ผลต่อการงอกของละอองเรณูหรือสปอร์ (germination of pollens or spores)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ผลต่อการดูดซับธาตุอาหาร (mineral uptake)
6. ผลต่อการเปิด-ปิดของปากใบ การสังเคราะห์รงควัตถุและการสังเคราะห์แสง (stomatal movement, pigment synthesis and photosynthesis)
7. ผลต่อการหายใจ (respiration)
8. ผลต่อการสังเคราะห์โปรตีน (protein synthesis)
9. ผลต่อการสังเคราะห์เล็ฮีโมโกลบินและการตรึงไนโตรเจน (leghaemoglobin synthesis and nitrogen fixation) ในพืช (Rice, 1984)

อย่างไรก็ตาม ศักยภาพของสารอัลลีโลพาที่ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช พืชแต่ละชนิดจะผลิตและปลดปล่อยสารไม่เหมือนกัน สารบางชนิดเมื่ออยู่เดี่ยวไม่มีผลต่อพืช แต่เมื่ออยู่ร่วมกับสารอีกชนิดหนึ่งมีผลที่ก่อให้เกิดการทำลายรุนแรง ความเป็นพิษและระยะเวลาการสะสมของสารก็เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้การตอบสนองของพืชต่อสารอัลลีโลพาที่แตกต่างกันไปในธรรมชาติ อัลลีโลพาที่เป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นทั่วไปไม่ว่าจะในระบบนิเวศน์เกษตร ทွ่งหญ้า ในน้ำทะเล หรือในระบบนิเวศน์ป่าไม้ ซึ่งได้มีการศึกษาวิจัยต่าง ๆ มากมาย โดยเฉพาะในระบบนิเวศน์เกษตรมีการศึกษาถึงผลทางอัลลีโลพาที่ของพืชและวัชพืช เพื่อนำมาพัฒนาปรับปรุงระบบการเกษตรและมีการสนับสนุนให้พัฒนาสารอัลลีโลพาที่ใช้ในการเกษตร เพื่อการจัดการวัชพืชอย่างยั่งยืน (Duke and Lydon, 1993)

2.3 ประวัติและความเป็นมาของอัลลีโลพาที่

ทุกวันนี้ประสิทธิภาพของการทำเกษตรกรรมขึ้นอย่างมากกับการควบคุมโรคและสิ่งต่าง ๆ ที่รบกวนหลากหลาย โดยเฉพาะวัชพืช วัชพืชสามารถให้นิยามง่าย ๆ ได้ว่าเป็นพืชที่เจริญเติบโตขึ้นในที่ที่ไม่ต้องการ มีการแย่งแร่ธาตุต่าง ๆ ในดินจากพืชผลที่เพาะปลูก ทำให้ร้อยละของผลผลิตลดลง และมีการปนเปื้อนในพืชผลทางการเกษตรได้ ดังนั้น จึงเป็นปัญหาตลอดมาในช่วงฤดูการเพาะปลูก

วัชพืชที่พบบนโลกมีมากมายและที่มีการตั้งชื่อระบุมีเกือบ 7,000 สายพันธุ์ แต่มีประมาณ 2 ถึง 3 ร้อยสายพันธุ์ ที่สร้างปัญหาต่าง ๆ ให้กับเกษตรกรทั่วโลก (Patterson, 1985; Macias, 1995) โดยในปี 1998 เกษตรกรในประเทศสหรัฐอเมริกาใช้เงิน 6 พันล้านเหรียญสหรัฐไปกับยาปราบวัชพืช คิดเป็นร้อยละ 70 ของยอดขายทั้งหมดของสารเคมีที่ใช้ในทางการเกษตร (Rogers, 1999)

ตลอดช่วง 50 ปีที่ผ่านมา การวิจัยในการควบคุมวัชพืชเน้นไปที่การสังเคราะห์ยาปราบวัชพืช มีการพัฒนาด้านพันธุวิศวกรรมของยาปราบวัชพืช เพื่อป้องกันผลผลิตทางการเกษตร ส่งผลให้มีการใช้อย่างแพร่หลาย แต่ถึงอย่างไรก็ตาม พบว่ายาปราบวัชพืชที่สังเคราะห์ขึ้นนั้นทำ

ให้วัชพืชมีความสามารถในการต้านทานต่อยาปราบวัชพืช มีปัญหาต่อสุขภาพของมนุษย์และสิ่งแวดล้อมเพิ่มขึ้นด้วย ทำให้มีความตระหนักถึงในการเลือกใช้เทคโนโลยีในการควบคุมวัชพืชจากสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (Dayan *et al*, 1999; Putnam, 1983)

คำว่า อัลลีโลพาตี ถูกใช้ครั้งแรกในปี 1937 ว่าเป็นอันตรกิริยาทางเคมีระหว่างพืช โดยรู้จักมาเป็นเวลานานนับหลายพันปี ก่อนคริสตศักราช 300 ปี Theophrastus ให้นิยามว่า ผลของ chick pea ที่กระทำกับพืชชนิดอื่น ๆ และ ในปีก่อนคริสตศักราช 1 ทศวรรษ Pliny ให้นิยามว่า ผลที่ก่อความเสียหายต่อพืชผลต่าง ๆ มากมาย Pliny อาจเป็นคนแรกที่ทำการบินที่ผลทางอัลลีโลพาตีของต้นมันฮ่อ ที่ส่งผลต่อผลผลิต และพืชอื่น ๆ ที่อยู่ใกล้เคียงแห้งเหี่ยวและตาย (Molisch *et al*, 1937) โดยใบ ราก และลำต้น ของต้นมันฮ่อจะผลิต Hydroquinone 1 เมื่อถูกออกซิไดซ์จากอากาศในสิ่งแวดล้อมกลายเป็น Juglone 2 สารประกอบดังกล่าวเป็นพิษต่อพืชชนิดอื่น (Kocacaliskan *et al*, 2001)



เป็นเวลานานที่การวิจัยด้านอัลลีโลพาตีส่วนใหญ่จะเป็น นักพฤกษศาสตร์ที่ทำกรวิจัย โดยเน้นไปที่ ผลทางอัลลีโลพาตีที่ใช้ปกคลุมพืช ปกคลุมระหว่างพืช และการประยุกต์ใช้สารสกัดหายาจากพืช เพื่อศึกษาผลต่อปริมาณผลผลิตที่ได้และการปราบวัชพืช ขณะที่การวิจัยดำเนินต่อไปพบว่าสิ่งจำเป็นที่ต้องทำคือ การขยายการวิจัยเพื่อจะได้ทราบถึงสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่เฉพาะเจาะจงที่ให้ผลทางอัลลีโลพาตี ดังนั้นจึงมีความต้องการให้นักเคมีอินทรีย์ นักชีววิทยา นักวิทยาศาสตร์เฉพาะทางด้านดิน และนักนิเวศวิทยา มาช่วยในการพัฒนาวิธีการทดลองและเทคโนโลยีในการแยกและวิเคราะห์โครงสร้างของสารอัลลีโลเคมี (Putnam, 1986; Mallik, 2000)

ขณะที่สารอัลลีโลเคมียังไม่สามารถระบุได้แน่ชัด จึงเป็นเรื่องยากอย่างมากที่จะพิสูจน์บทบาทของอันตรกิริยาระหว่างพืช ของสารอัลลีโลเคมี จึงเป็นงานใหญ่ที่ทำหายอย่างมากเพราะการแสดงผลอันตรกิริยาระหว่างพืชนั้นทำได้ยาก เนื่องจากการแข่งขันด้านทรัพยากรแร่ธาตุต่าง ๆ จึงได้มีอนุสัญญาในการพิสูจน์ผลทางด้านอัลลีโลพาตี โดย Koch ซึ่ง Koch ได้วางหลักสำหรับอนุสารที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคและได้แนะนำ รวมไปถึงขั้นตอน ดังนี้

1. แสดงสิ่งที่ทำการรบกวน อธิบายอาการ และบอกถึงปริมาณที่ใช้ในการควบคุมที่เหมาะสม
2. แยก ระบุ และทดสอบองค์ประกอบทางเคมีโดยใช้วิธี bioassays
3. ทำการผลิตซ้ำ โดยการสังเคราะห์หรือผลิตจากธรรมชาติ และเพิ่มความเข้มข้น โดยใช้ระบบชีววิทยาช่วย
4. เพิ่มปริมาณสารอัลลีโลเคมี โดยกระตุ้นให้พืชปลดปล่อยสารอัลลีโลเคมีออกมา และพืชเป้าหมายดูดซับให้มาก

จะเห็นได้ว่า ขั้นตอนที่ 3 และ 4 เป็นสิ่งยากมากที่จะทำให้สำเร็จ นอกจากนี้สารอัลลีโลเคมียังเกิดการผสมกับสารทุติยภูมิอื่น ๆ อีกมากมาย ทำให้เกิดผลทางอัลลีโลพาตีเพิ่มขึ้นอีกด้วย (Synergistic effects) จึงเป็นเรื่องยากที่จะวัดปริมาณสารอัลลีโลเคมีที่ถูกปลดปล่อยออกมา และที่ถูกดูดกลืน เพราะความยุ่งยากของอันตรกิริยาของสารประกอบในสถานะดินต่างกันและการเสื่อมสภาพ หรือการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบในพืชโดยจุลินทรีย์อีกด้วย

2.4 วิธีการทดสอบฤทธิ์ของสารอัลลีโลเคมี

โดยทั่วไปใช้ bioassay ในการวัดแอกทิวิตีของสารอัลลีโลเคมีกับพืชที่ต้องการทดสอบ ทั้งนี้ ยังไม่มีการกำหนดวิธีศึกษาฤทธิ์ของยาปราบวัชพืชที่ผลิตจากสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ บางครั้งใช้ฐานข้อมูลของโครงสร้างกับแอกทิวิตี ในการวิเคราะห์หาโครงสร้างของสารอัลลีโลเคมี (Eingellig, 1986, 1995)

สำหรับการวัดความเข้มข้นของกลอโรฟิลล์และฟลูออเรสเซน ทำให้สามารถประเมินได้ว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงของประสิทธิภาพในการสังเคราะห์ด้วยแสงในพืชทดสอบได้ การวัดค่าการนำความร้อน สามารถตรวจพิสูจน์ได้ว่า สารอัลลีโลเคมีไปทำลายเซลล์เมมเบรนของพืชได้ (Dayan *et al*, 2000)

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

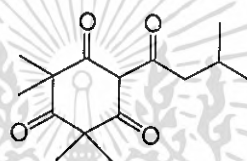
คาราร์ตัน (2546) ศึกษาผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบพืชสกุลมะลิ 11 ชนิด ต่อการงอกของพืชทดสอบ พบว่าสารสกัดจากใบมะลิลาซ้อน (*Jasminum sambac*) และพุทธรักษาถิ่นแดน (*Jaminum officinale*) สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดพืชทดสอบได้ดี จึงทำการเปรียบเทียบผลของสารสกัดน้ำจากพืชทั้ง 2 ชนิดดังกล่าวต่อการงอกและการเจริญเติบโตของวัชพืช 10 ชนิด ปรากฏว่าสารสกัดด้วยน้ำจากใบพุทธรักษาถิ่นแดนมีผลยับยั้งการงอกของเมล็ดพืชทดสอบดีกว่าการใช้สารสกัดน้ำจากใบมะลิลาซ้อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บุญรอด และวิรัตน์ (2544) พบว่าสารสกัดด้วยน้ำจากใบประยงค์มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นกล้าถั่วผี (*Phaseolus lathyroides*)

ช่อม และศิริพร (2531) ได้ศึกษาการใช้ น้ำและสารอินทรีย์อะซีโตนและเมทานอลสกัดสารจากงา พบว่ามีสารยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชอยู่ทุกส่วนของต้นงา โดยมีมากที่สุดในฝักรองลงมาในใบ ลำต้น และราก ตามลำดับ

Van Klink และคณะ (1999) ทำการสกัดแยก essential oil จากพืช *Leptospermum scoparium* ที่พบในออสเตรเลียและนิวซีแลนด์มีชื่อว่า Leptospermone 3 มีฤทธิ์ในการกำจัดวัชพืชใบกว้าง



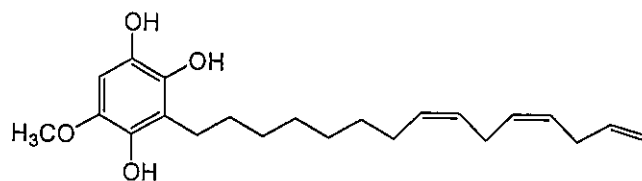
3 Leptospermone

Chagn และคณะ (1986) ทำการสกัดสารที่มีชื่อว่า Sorgoleone 4 จากรากของข้าวฟ่าง เป็นสารประเภท Benzoquinones ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ของวัชพืช *Striga asiatica*



4 Sorgoleone

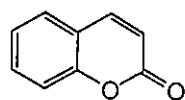
Einhellig และSouza (1992) ทำการสกัดสารอนุพันธ์ของ Sorgoleone 5 จากรากของข้าวฟ่าง เป็นสารประเภท Benzoquinones ซึ่งมีฤทธิ์ต่อการยับยั้งการสร้าง Chlorophyll และการสังเคราะห์ด้วยแสง



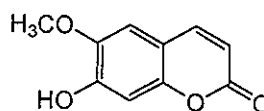
5 derivative of Sorgoleone

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Comman (1946) ทำการค้นพบสาร Coumarin 6 และScopoletin 7 จาก *Rutagraveolens* เป็นสารประเภท Coumarins และอนุพันธ์ของมัน ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดในพืชหลายชนิด และCoumarin ไปยับยั้งขบวนการ Mitosis ในหัวหอมได้

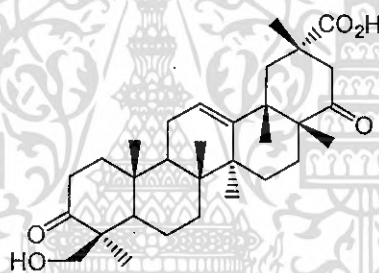


6 Coumarin



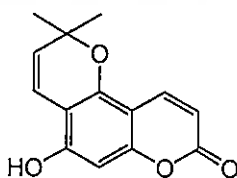
7 Scopoletin

Macias และคณะ (1998) ทำการสกัดสาร Melilotigenins 8 จากกานพลู เป็นสารประเภท Terpenoids ซึ่งมีฤทธิ์ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเมล็ดของ *Hordeum vulgare* (barley)



8 Melilotigenin D

Amaro-Luis และคณะ (1990) ทำการสังเคราะห์สาร Pyrano-Coumarins 9 นำมาทดสอบ bioassay ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นผักกาดหอม พบว่าที่ระดับความเข้มข้นต่ำกว่า 10^{-4} M ไม่มีผลในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของต้นผักกาดหอมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



9 Pyrano-coumarin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. เมทานอล	เกรดการค้า	Zen Point
2. เอทิล อะซิเตต	เกรดการค้า	Zen Point
3. ไคคลอโรมีเทน	เกรดการค้า	Zen Point
4. เฮกเซน	เกรดการค้า	Zen Point
5. อะซิโตน	เกรดการค้า	Zen Point
6. แมกนีเซียมซัลเฟต	เกรดวิเคราะห์	Unilab
7. สารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนตอิ่มตัว		
8. สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6 N		
9. สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น		
10. ผงไม้ละลายน้ำ (Wettable powder ; WP)		
11. ซิลิกาเจล ขนาด 0.02 - 0.06 มิลลิเมตร		
12. ซิลิกาเจล ขนาด 0.06 - 0.2 มิลลิเมตร		
13. น้ำกลั่น		

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ขวดโหลสำหรับแช่พืช	
2. ขวดก้นกลมรูปชมพู่ขนาด 1,000 มิลลิลิตร	
3. บีกเกอร์	
4. กรวยแยก	
5. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 50 มิลลิลิตร	
6. หลอดทดลอง	
7. ช้อนตักสาร	
8. กรวยแก้ว	
9. กระดาษกรอง	Whatman
10. แผ่นทินเลเซอร์โครมาโทกราฟี	Merck

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

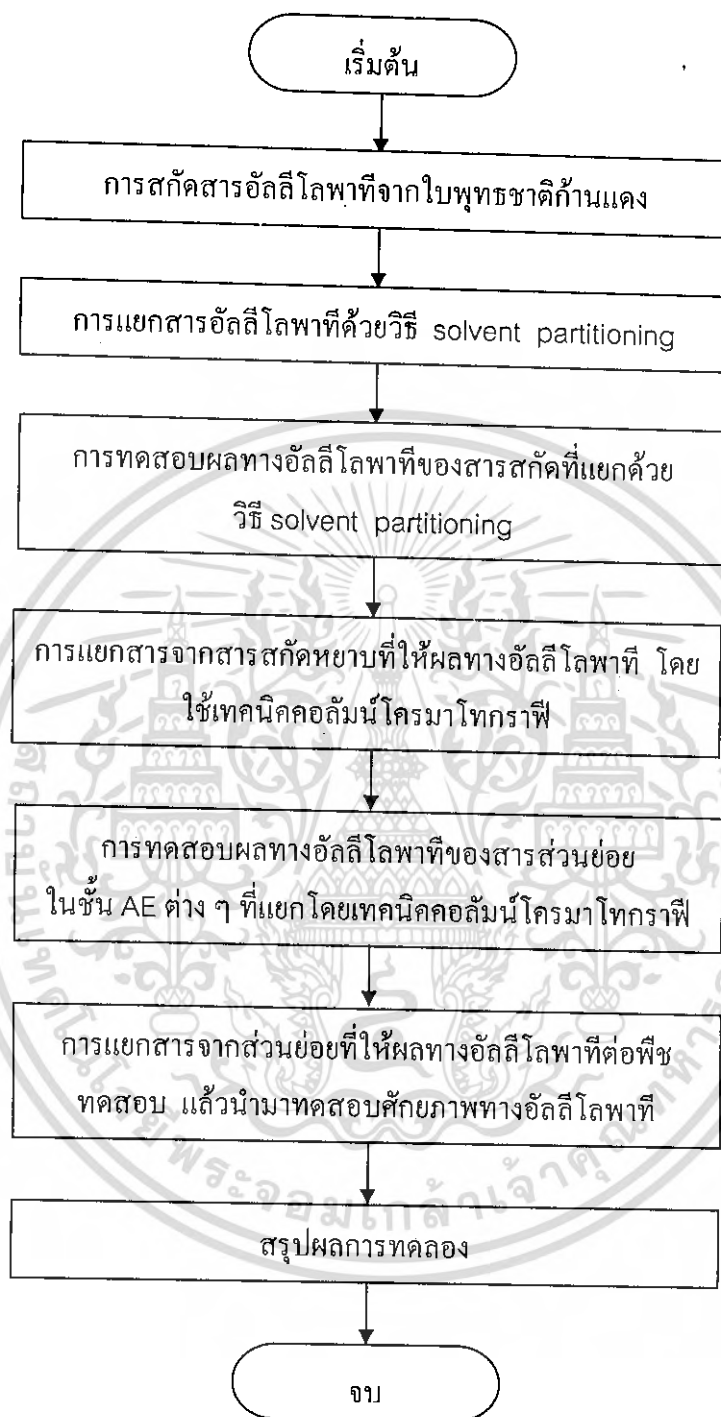
11. แม่เหล็กและเครื่องปั่นกววน Scientific
12. โกร่งบดสาร
13. เข็มฉีดยาขนาด 1 5 และ 10 มิลลิลิตร
14. ปากคีบ
15. ไมโครปิเปต Eppendorf รุ่น Reference
16. จานเพาะเมล็ด เส้นผ่าศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร
17. ขวดขนาดเล็ก เส้นผ่าศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร
18. หลอดหยดสาร
19. กระบอกตวงขนาด 10 และ 100 มิลลิลิตร
20. เครื่องบดละเอียด
21. คอตมันน์
22. เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง Denver Instrument Company รุ่น TC-254
23. เครื่องระเหยสุญญากาศ Buchi Rotavapor รุ่น R-114

3.3 แหล่งของพืชและสภาวะที่ใช้ในการทดลอง

พืชทดสอบ : เมล็ดกวาดงศ์ดอก (*Brassica campestris* var. *chinensis*)

สภาวะที่ใช้ในการทดสอบ : อุณหภูมิห้อง ณ ที่ตำแหน่งเดิมตลอดการทดลอง

ใบพุทธชาดิก้านแดง เก็บจากสวนดารารัตน์ จ. สุพรรณบุรี



รูปที่ 3.1 แสดงขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 การสกัดสารอัลลิโลพาทีจากใบพุทธรักษาตากแห้ง

3.4.1 นำใบพุทธรักษาตากแห้งมาล้างทำความสะอาด จากนั้นนำมาผึ่งและอบแห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

3.4.2 ปั่นให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ ด้วยเครื่องบดละเอียด แล้วนำไปสกัดด้วยเมทานอล โดยการแช่ใบพุทธรักษาตากแห้ง 558 กรัม ด้วยเมทานอล 3 ลิตรในขวดโหลปิดฝาด้วยฟลอยด์ ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 สัปดาห์ และทำการคนทุกวัน

3.4.3 นำสารที่สกัดได้จากใบพุทธรักษาตากแห้งมากรองด้วยกระดาษกรอง เพื่อกำจัดสิ่งปนเปื้อนต่าง ๆ ออกจากสารละลาย

3.4.4 นำสารสกัดด้วยเมทานอลในข้อ 3.4.3 มาทำการระเหยสารละลายเมทานอลออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ

3.4.5 แบ่งสารสกัดหยาบชั้นเมทานอล (crude methanol extract : ME) 1 กรัม เพื่อเก็บไว้ทดสอบผลทางอัลลิโลพาที ส่วนที่เหลือนำมาแยกสารสกัดด้วยวิธี solvent partitioning

3.5 การแยกสารอัลลิโลพาทีด้วยวิธี solvent partitioning

ซึ่งนำนักสารสกัดหยาบชั้นเมทานอล (crude methanol extract : ME) ที่ได้นำมาสกัดแยกสารด้วยวิธี solvent partitioning ตามขั้นตอนในแผนผังแสดงการแยกสาร (รูปที่ 3.2) มีวิธีการดังนี้

1. ซึ่งนำนัก ME 338 กรัม มาเจือจางด้วยน้ำกลั่น 600 มิลลิลิตร ปรับสารละลายให้มี pH เท่ากับ 3

2. สกัดด้วยเอทิล อะซิเตต แยกสารได้เป็น 2 ชั้น คือ ชั้นเอทิล อะซิเตต (neutral and acidic compounds) และชั้นน้ำ ปรับสารละลายชั้นน้ำ (aqueous fraction : AQ) ให้มี pH เท่ากับ 7

3. นำชั้นเอทิล อะซิเตต จากข้อ 2 มาสกัดด้วยสารละลายโซเดียมโบคาร์โบเนตอิ่มตัว แยกสารได้เป็น 2 ชั้น คือชั้นเอทิล อะซิเตต (neutral compounds : NE) และชั้นน้ำ ปรับสารละลายชั้นน้ำ (acidic compounds) ให้มี pH เท่ากับ 3

4. นำชั้นน้ำ (acidic compounds) จากข้อ 3 มาสกัดด้วยเอทิล อะซิเตต แยกสารได้เป็น 2 ชั้น คือชั้นเอทิล อะซิเตต (acidic fraction : AE) และชั้นน้ำ

จากวิธีการสกัดข้อ 2-4 จะได้สารสกัดหยาบ 3 ส่วนคือ สารสกัดหยาบชั้นน้ำ (aqueous fraction : AQ) สารสกัดหยาบที่มีคุณสมบัติเป็นกลาง (neutral compound extract : NE) และสารสกัดหยาบที่มีคุณสมบัติเป็นกรด (acidic compound extract : AE)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.2 แสดงขั้นตอนการสกัดและแยกสารอัลลีโลพาทีจากใบพุทธรักษาตาก้านแดง ด้วยวิธี solvent partitioning

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6 การทดสอบผลทางอัลลิโลพาทีของสารสกัดที่แยกด้วยวิธี solvent partitioning

นำสารสกัดหยาบ 3 ส่วนคือ NE AQ และAE ที่แยกได้จากวิธี solvent partitioning รวมทั้งสารสกัดหยาบชั้นเมทานอล (crude methanol extract : ME) มาทำการทดสอบผลทางอัลลิโลพาที ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบในจานเพาะเมล็ด ในการทดลองนี้ เลือกใช้เมล็ดคางค่างเป็นพืชทดสอบ แบ่งการทดสอบออกเป็น 4 การทดลองย่อยตามชนิดของสารสกัดหยาบที่ได้ โดยใช้น้ำกลั่นและสารละลายผง WP เป็นชุดเปรียบเทียบ โดยในแต่ละการทดลองย่อยใช้แผนการทดลอง แบบ Completely Randomized Design จำนวน 4 ซ้ำโดยที่แต่ละส่วนมีระดับความเข้มข้นเป็น 1,000 2,000 และ4,000 ppm

3.6.1 การเตรียมสารละลายของสารสกัดหยาบ

เนื่องจากสารสกัดในส่วน ME, NE และAE ไม่สามารถกระจายตัวในน้ำได้ จึงจำเป็นต้องเปลี่ยนรูปแบบสาร (formulation) ให้อยู่ในรูปผงไม่ละลายน้ำ (Wettable powder; WP) มีความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) สารสกัดในสภาพ WP นี้จะอยู่ในรูปของแข็งเป็นผงบดละเอียด โดยมีการนำสารเคมีออกฤทธิ์มาผสมกับทัลค์ (Talc) หรือดินเหนียว (Clay) และสารที่ช่วยให้คุณสมบัติการกระจายได้ดี (Dispersing agent) เมื่อนำสารสกัดที่มีสภาพ WP นี้ไปผสมน้ำจะได้สารแขวนลอย (Suspension) โดยถ้าปล่อยทิ้งไว้นาน ๆ จะตกตะกอน ดังนั้นจึงต้องใช้ทันทีที่ผสมสารเคมีแล้ว

ส่วนประกอบที่ทำให้เกิดสภาพ WP ได้แก่สารเคมีออกฤทธิ์เองซึ่งถ้าเป็นผลึกจะต้องมีการบดให้ละเอียดเสียก่อน ตัวทำให้เจือจางซึ่งเป็นพวกดินเหนียวที่เป็นสารละลายน้ำได้ดี (Hydrophilic clay) ได้แก่ พวกริบบอนโทไนท์ (Bentonite) หรือ Attapulgit และส่วนประกอบของสารจับใบ (Surfactant) (พรชัย เหลืองอากาศ, 2540)

WP เป็นของผสมที่ช่วยให้สารสกัดละลายน้ำได้ดีขึ้น ในการทดลองนี้ WP ประกอบด้วย surfactant detergent และbentonite เท่ากับ 1.50 1.50 และ97.00 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักตามลำดับ เตรียมโดยชั่งสารทั้งสามชนิดตามอัตราส่วนแล้วบดผสมให้เป็นผงละเอียดด้วยโกร่งบดสาร

วิธีการเตรียมสารละลายของสารสกัดหยาบในแต่ละส่วนให้มีระดับความเข้มข้นเป็น 1,000 2,000 และ4,000 ppm มีวิธีการดังนี้

1. ชั่งสารสกัดหยาบในแต่ละส่วน 80 มิลลิกรัม ใส่ในขวดเล็ก (vial) จากนั้นละลายด้วยเอทิล อะซิเตต เทใส่โกร่งบดสาร
2. ชั่งผง WP 453.33 มิลลิกรัม เทใส่โกร่งบดสารที่มีสารสกัดหยาบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

3. ทำการบดให้สารสกัดหยาบผสมกับผง WP จนตัวทำละลายระเหยออกหมดจะได้สารลักษณะผงละเอียด

4. นำผงละเอียดมาเจือจางด้วยน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร ทำการคนให้สารเกิดการกระจายตัวเป็นเนื้อเดียวกันจะได้สารละลายของสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้น 4,000 ppm ปริมาตร 20 มิลลิลิตร

5. ทำการเจือจางสารสกัดหยาบในแต่ละส่วนที่เข้มข้น 4,000 ppm ด้วยสารละลายผง 85 เปอร์เซนต์ของ WP เพื่อให้ได้สารละลายในแต่ละส่วนเข้มข้น 1,000 2,000 และ 4,000 ppm โดยใช้ปริมาตรในการเจือจาง ตามตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 แสดงปริมาตรในการเจือจางของสารละลายในแต่ละสารสกัดหยาบ

ความเข้มข้น (ppm)	Stock solution 4,000 ppm (ml)	สารละลายผง 85 เปอร์เซนต์ Wp (ml)	ปริมาตรรวม (ml)
4,000	10	0	10
2,000	5	5	10
1,000	2.5	7.5	10

3.6.2 วิธีการทดสอบผลทางอัสติโลพาทิ

การทดสอบทำในงานเพาะเมล็ด เมื่อทำการเจือจางสารสกัดให้อยู่ในรูปผงไม่ละลายน้ำ ME NE และ AE และสารสกัดในส่วน AQ ที่สามารถละลายน้ำได้ โดยแต่ละส่วนมีความเข้มข้นเป็น 1,000 2,000 และ 4,000 ppm แล้วนำมาทดสอบผลทางอัสติโลพาทิของสารสกัดทั้งหมด ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ โดยทดสอบสารละลายผง 85 เปอร์เซนต์ของ WP ที่ไม่มีสารสกัดหยาบ และน้ำกลั่นเพื่อใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ โดยทดสอบผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตในงานเพาะเมล็ดที่สภาวะเดียวกัน

การทดสอบในงานเพาะเมล็ด

1. ปลูกสารสกัดปริมาตร 2 มิลลิลิตร ด้วยเข็มฉีดยาขนาด 5 มิลลิลิตร ฉีดลงในงานเพาะเมล็ด ที่วางด้วยกระดาษเพาะเมล็ด
2. ใส่เมล็ดควางตั้งดอกลงในงานเพาะเมล็ดจำนวน 10 เมล็ดต่องานเพาะ
3. ปิดฝาครอบเพื่อป้องกันการระเหยของสาร และวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง

3.6.3 การบันทึกผลการทดลอง

นับจำนวนเมล็ดที่งอกในวันที่ 7 โดยนับเมล็ดที่มีรากโผล่พ้นเปลือกหุ้มเมล็ด ออกมาอย่างน้อย 2 มิลลิเมตร แล้วคำนวณเปอร์เซ็นต์การขยับขึ้นการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ด ทำการวัดความยาวส่วนต้น ความยาวส่วนราก

3.6.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้ทั้งหมดมาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธีการ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

3.7 การแยกสารจากสารสกัดหยาบที่ให้ผลทางอัลลีโลพาทีโดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี

เมื่อทำการวิเคราะห์ผลทดสอบทางอัลลีโลพาทีของสารสกัดด้วยวิธี solvent partitioning พบว่าสารสกัดหยาบส่วน AE ให้ผลทางอัลลีโลพาทีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบดีที่สุด จึงนำมาแยกสารจากชั้น AE โดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี มีวิธีการดังนี้

1. แบ่งสารสกัดหยาบ ชั้น AE มาหาระบบตัวทำละลายด้วยเทคนิค TLC (Thin Layer Chromatography) โดยเห็นการแยกของสารชัดเจนที่สุด ได้ระบบคือ ไคคลอโรมีเทนต่อเอทิล อะซิเตด อัตราส่วนเท่ากับ 6 : 4 โดยปริมาตรและเก็บ สารสกัดหยาบ ชั้น AE นี้ไว้สำหรับเปรียบเทียบ TLC ของสารในการแยกโดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีต่อไป

2. นำสารสกัดหยาบ ชั้น AE มาแยกโดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีระบบตัวทำละลายที่ใช้ในการชะสารคือ ไคคลอโรมีเทนต่อเอทิล อะซิเตด อัตราส่วนเท่ากับ 9.5 : 0.5 โดยปริมาตร ใช้ซิลิกาเจลแบบหยาบ แยกสารออกมาได้ 8 ส่วนย่อย

3.8 การทดสอบผลทางอัลลีโลพาทีของสารส่วนย่อยต่าง ๆ ในชั้น AE ที่แยกโดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี

นำสารทั้ง 8 ส่วนย่อย ที่แยกได้จากชั้น AE โดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี มาทำการทดสอบผลทางอัลลีโลพาทีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบในขนาดเล็ก

แบ่งการทดลองออกเป็น 8 การทดลองย่อยตามจำนวนของสารส่วนย่อยที่แยกได้ โดยมีน้ำกลั่นและสารละลายผง WP เป็นชุดเปรียบเทียบ โดยในแต่ละการทดลองย่อยใช้แผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design จำนวน 4 ซ้ำ โดยที่แต่ละส่วนย่อย มีความเข้มข้นเป็น 250 500 และ 1,000 ppm

3.8.1 การเตรียมสารละลายของแต่ละส่วนย่อย

เนื่องจากแต่ละส่วนย่อยไม่สามารถกระจายตัวในน้ำได้ จึงจำเป็นต้องเปลี่ยนรูปแบบสาร (formulation) ให้อยู่ในรูปผงไม่ละลายน้ำ (Wettable powder; WP) มีความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) วิธีการเตรียมสารละลายแต่ละส่วนย่อย ให้มีระดับความเข้มข้น 250 500 และ 1,000 ppm มีวิธีการดังนี้

1. ชั่งสารในแต่ละส่วนย่อย 10 มิลลิกรัม ใส่ในขวดเล็ก จากนั้นนำมาละลายด้วยเอทิลอะซิเตต เทใส่โกร่งบดสาร
2. ชั่งผง WP 56.67 มิลลิกรัม เทใส่โกร่งบดสารที่มีสารในแต่ละส่วนย่อย
3. ทำการบดให้สารในแต่ละส่วนย่อย ผสมเข้ากันกับผง WP จนตัวทำละลายระเหยออกหมด จะได้สารลักษณะเป็นผงละเอียด
4. นำผงละเอียดมาเจือจางด้วยน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ทำการคนให้สารเกิดการกระจายตัวเป็นเนื้อเดียวกัน จะได้สารลักษณะเป็นผงละเอียด จะได้สารละลายในแต่ละส่วนย่อย เข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
5. ทำการเจือจางสารละลายในแต่ละส่วนย่อย เข้มข้น 1,000 ppm ด้วยสารละลายผง 85 เปอร์เซ็นต์ของ WP เพื่อให้ได้สารละลายในแต่ละส่วนย่อย เข้มข้น 250 500 และ 1,000 ppm โดยใช้ปริมาตรในการเจือจางตามตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 แสดงปริมาตรในการเจือจางของสารละลายในแต่ละส่วนย่อย

ความเข้มข้น (ppm)	Stock solution 1,000 ppm (ml)	สารละลายผง 85 เปอร์เซ็นต์ WP (ml)	ปริมาตรรวม (ml)
1,000	5	0	5
500	2.5	2.5	5
250	1.25	3.75	5

3.8.2 วิธีการทดสอบผลทางอัลติโลพาทิ

การทดสอบทำในขวดขนาดเล็ก เมื่อทำการเจือจางสารในแต่ละส่วนย่อย ให้อยู่ในรูปผงไม่ละลายน้ำ โดยที่แต่ละส่วนย่อย มีความเข้มข้นเป็น 250 500 และ 1,000 ppm แล้วนำมาทดสอบผลทางอัลติโลพาทิของทุกส่วนย่อย ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ โดย

ทดสอบสารละลายผง 85 เปอร์เซ็นต์ของ WP ที่ไม่มีสารและน้ำกลั่นเพื่อใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ โดยทดสอบผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตในขวดเล็ก ที่สภาวะเดียวกัน

การทดสอบในขวดขนาดเล็ก

1. เตรียมขวดขนาดเล็ก โดยการวางกระดาษเพาะเมล็ด
2. จุดสารที่ความเข้มข้นต่างๆ ของแต่ละส่วนย่อย ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ด้วยเข็มฉีดยา ขนาด 1.0 มิลลิลิตร ฉีดลงในขวดเล็ก ที่เตรียมไว้ แล้วใส่เมล็ดคางคางตุ้งคอก จำนวน 10 เมล็ดต่อขวดเล็ก
3. ทำการปิดปากขวดด้วยพาราฟิล์ม เพื่อป้องกันการระเหยของสารและวางไว้ในที่อุณหภูมิห้อง

3.8.3 การบันทึกผลการทดลอง

นับจำนวนเมล็ดที่งอกในวันที่ 7 โดยนับเมล็ดที่มีรากโผล่พ้นเปลือกหุ้มเมล็ดออกมาอย่างน้อย 2 มิลลิเมตร แล้วคำนวณเปอร์เซ็นต์การงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ด ทำการวัดความยาวส่วนต้น ความยาวส่วนราก

3.8.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้ทั้งหมดมาวิเคราะห์ ค่าความแปรปรวนทางสถิติและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธีการ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

3.9 การแยกสารจากส่วนย่อยที่ให้ผลทางอัลลีโลพาที่ต่อพืชทดสอบแล้วนำมาทดสอบศักยภาพทางอัลลีโลพาที่

เมื่อทำการวิเคราะห์ผลทดสอบทางอัลลีโลพาที่ของแต่ละส่วนย่อย พบว่ามีส่วนย่อยที่ 2 5 6 และ 7 ให้ผลทางอัลลีโลพาที่ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบอย่างมีนัยสำคัญแต่ส่วนย่อยที่ 2 และ 7 มีปริมาณสารน้อยมากไม่สามารถนำมาแยกโดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีได้จึงนำส่วนย่อยที่ 5 และ 6 มาแยกโดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี มีวิธีการดังนี้

1. แบ่งสารสกัดหยาบ แต่ละส่วนย่อย ไว้พอประมาณเพื่อหาระบบของตัวทำละลายในการทำ TLC (Thin Layer Chromatography) โดยเห็นการแยกของสารชัดเจนที่สุด ได้ระบบคือ ไคคลอโรมีเทนต่อเอทิล อะซิเตด อัตราส่วนเท่ากับ 6 : 4 โดยปริมาตรและเก็บไว้สำหรับเปรียบเทียบ TLC ของสารต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. นำสารสกัดหยาบ แต่ละส่วนย่อยที่เหลื้อมาแยกเป็นกลุ่มของสารโดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ตัวทำละลายที่ใช้ในการชะสารคือ ไดคลอโรมีเทน โดยใช้ซิลิกาแบบละเอียดในการแยก

3. นำสารที่แยกได้มาหาศักยภาพทางอัลติโลพาที โดยทำการทดสอบกับพืชทดสอบ โดยส่วนย่อยที่ 5 แยกสารได้เป็น 5 กลุ่มย่อยและส่วนย่อยที่ 6 แยกสารได้เป็น 4 กลุ่มย่อย มาทำการทดสอบผลทางอัลติโลพาทีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบในขวดเล็ก โดยมีน้ำกลั่นและสารละลายผง WP เป็นชุดเปรียบเทียบ ใช้แผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design จำนวน 4 ซ้ำ โดยที่แต่ละกลุ่มของสาร มีความเข้มข้นเป็น 125 250 และ 500 ppm

การเตรียมสารละลายของแต่ละกลุ่มย่อย

เนื่องจากแต่ละกลุ่มย่อย ไม่สามารถกระจายตัวในน้ำได้ จึงจำเป็นต้องเปลี่ยนรูปแบบสาร (formulation) ให้อยู่ในรูปผงไม่ละลายน้ำ (Wettable powder; WP) มีความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) วิธีการเตรียมสารละลายแต่ละกลุ่มย่อย ให้มีระดับความเข้มข้น 125 250 และ 500 ppm มีวิธีการดังนี้

1. ชั่งสารในแต่ละกลุ่มย่อย 5 มิลลิกรัม ใส่ในขวดเล็ก จากนั้นนำมาละลายด้วยเอทิล อะซิเตต เทใส่โกร่งบดสาร
2. ชั่งผง WP 28.33 มิลลิกรัม เทใส่โกร่งบดสารที่มีสารในแต่ละกลุ่มย่อย
3. ทำการบดให้สารในแต่ละกลุ่มย่อย ผสมเข้ากันกับผง WP จนตัวทำละลายระเหยออกหมด จะได้สารลักษณะเป็นผงละเอียด
4. นำผงละเอียดมาเจือจางด้วยน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ทำการคนให้สารเกิดการกระจายตัวเป็นเนื้อเดียวกัน จะได้สารลักษณะเป็นผงละเอียด จะได้สารละลายในแต่ละกลุ่มย่อย เข้มข้น 500 ppm ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
5. ทำการเจือจางสารละลายในแต่ละกลุ่มย่อย เข้มข้น 500 ppm ด้วยสารละลายผง 85 เปอร์เซ็นต์ของ WP เพื่อให้ได้สารละลายในแต่ละกลุ่มย่อย เข้มข้น 125 250 และ 500 ppm โดยใช้ปริมาตรในการเจือจางตามตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 แสดงปริมาณในการเจือจางของสารละลายในแต่ละกลุ่มย่อย

ความเข้มข้น (ppm)	Stock solution 500 ppm (ml)	สารละลายผง 85 เปอร์เซ็นต์ WP (ml)	ปริมาตรรวม (ml)
500	3	0	3
250	1.5	1.5	3
125	0.75	2.25	3

วิธีการทดสอบผลทางอัลลีโลพาที

การทดสอบทำในขวดขนาดเล็ก เมื่อทำการเจือจางสารในแต่ละกลุ่มย่อย ให้อยู่ในรูปผงไม่ละลายน้ำ โดยที่แต่ละกลุ่มย่อย มีความเข้มข้นเป็น 125 250 และ 500 ppm แล้วนำมาทดสอบผลทางอัลลีโลพาทีของทุกกลุ่มย่อย ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ โดยทดสอบสารละลายผง 85 เปอร์เซ็นต์ของ WP ที่ไม่มีสารและน้ำกลั่นเพื่อใช้เป็นตัวแทนเปรียบเทียบ โดยทดสอบผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตในขวดเล็ก ที่สภาวะเดียวกัน

การทดสอบในขวดขนาดเล็ก

1. เตรียมขวดขนาดเล็ก โดยการวางกระดาษเพาะเมล็ด
2. ดูดสารที่มีความเข้มข้นต่างๆ ของแต่ละกลุ่มย่อย ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ด้วยเข็มฉีดยาขนาด 1.0 มิลลิลิตร ฉีดลงในขวดเล็ก ที่เตรียมไว้ แล้วใส่เมล็ดคางคางตุงดอก จำนวน 10 เมล็ดต่อขวดเล็ก
3. ทำการปิดปากขวดด้วยพาราฟิล์ม เพื่อป้องกันการระเหยของสารและวางไว้ในที่อุณหภูมิห้อง

การบันทึกผลการทดลอง

นับจำนวนเมล็ดที่งอกในวันที่ 7 โดยนับเมล็ดที่มีรากโผล่พ้นเปลือกหุ้มเมล็ดออกมาอย่างน้อย 2 มิลลิเมตร แล้วคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ด ทำการวัดความยาวส่วนต้น ความยาวส่วนราก

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้ทั้งหมดมาวิเคราะห์ ค่าความแปรปรวนทางสถิติและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธีการ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)



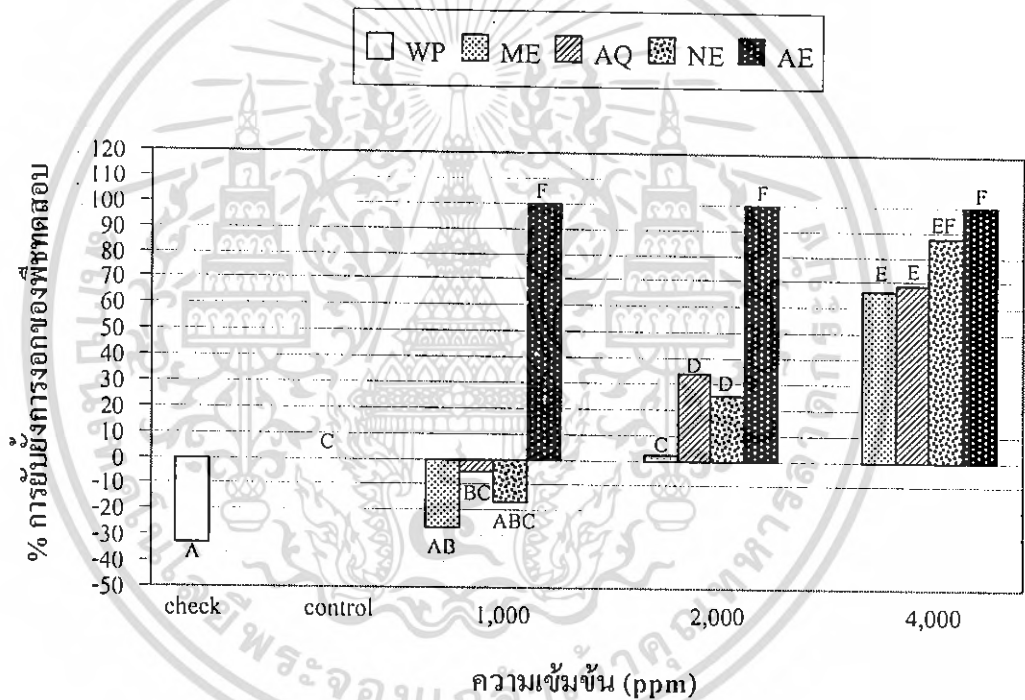
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 ผลการเปรียบเทียบสารสกัดหยาบที่ได้จากวิธีการ solvent partitioning ของใบพุทธรักษาถิ่นแดง

(1) ผลต่อการงอกของพืชทดสอบ

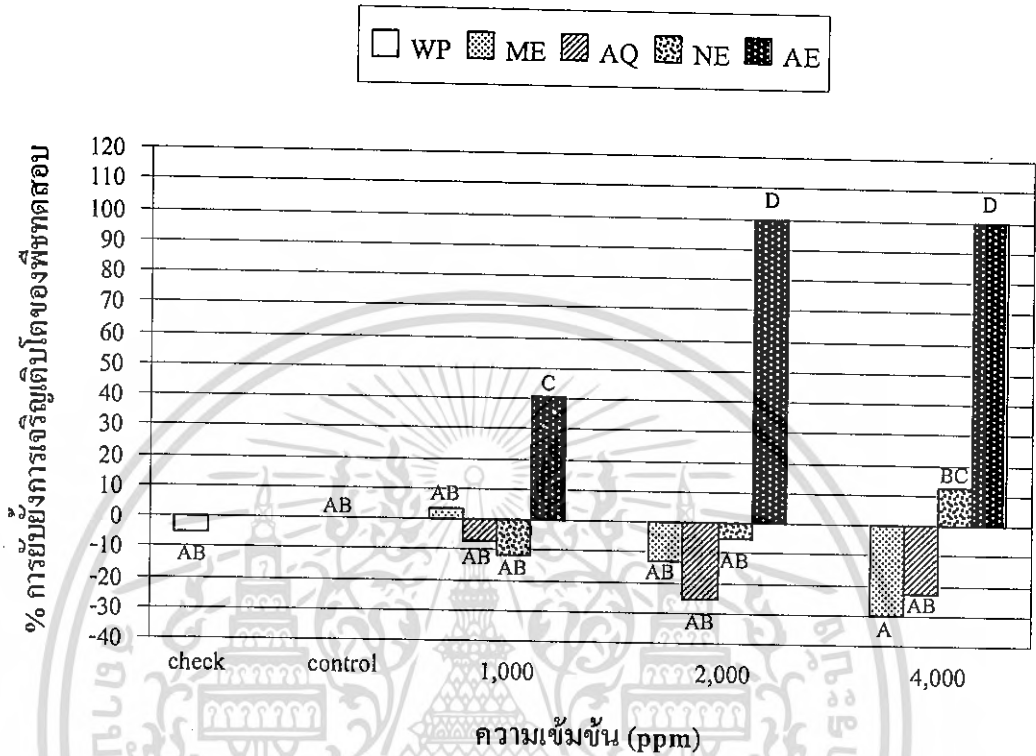


รูปที่ 4.1 ผลของสารสกัดจากใบพุทธรักษาถิ่นแดงที่แยกด้วยวิธี solvent partitioning ต่อการงอกของเมล็ดควางตุ้งดอก 7 วันหลังการเพาะเมล็ด จากค่าเฉลี่ยจำนวน 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย โดย DMRT ($p = 0.05$)

จากการเปรียบเทียบผลการทดลองสารสกัดหยาบที่ได้จากวิธีการ solvent partitioning ของใบพุทธรักษาที่ก้านแดงต่อผลการงอกของกวางตุ้งดอก ทั้ง 3 ส่วนคือ สารสกัดหยาบชั้นน้ำ (aqueous fraction : AQ) สารสกัดหยาบที่มีคุณสมบัติเป็นกลาง(neutral compound extract : NE) และสารสกัดหยาบที่มีคุณสมบัติเป็นกรด (acidic compound extract : AE) และสารสกัดหยาบชั้นเมทานอล (crude methanol extract : ME) พบว่าสารละลาย WP มีผลส่งเสริมการงอกของพืชทดสอบ 32.82 เปอร์เซ็นต์ ME ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm มีผลส่งเสริมการงอกของพืชทดสอบ 26.48 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 2,000 และ 4,000 ppm มีผลยับยั้งการงอกของพืชทดสอบ 2.29 และ 66.38 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ AQ ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm มีผลส่งเสริมการงอกของพืชทดสอบ 5.24 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 2,000 และ 4,000 ppm มีผลยับยั้งการงอกของพืชทดสอบ 34.13 และ 68.54 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ NE ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm มีผลส่งเสริมการงอกของพืชทดสอบ 16.24 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 2,000 และ 4,000 ppm มีผลยับยั้งการงอกของพืชทดสอบ 25.47 และ 87.02 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ AE มีผลยับยั้งการงอกของพืชทดสอบ 100 เปอร์เซ็นต์ ของทุกระดับความเข้มข้น

จากรูปที่ 4.1 พบว่าอิทธิพลของสารสกัดในส่วนต่าง ๆ ระดับความเข้มข้นของสารสกัด และปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสองล้วนมีผลต่อการงอกของพืชทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าสารสกัดจากส่วน AE สามารถยับยั้งการงอกของพืชทดสอบได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดในส่วนอื่น ๆ และสารละลาย WP ซึ่งทุกความเข้มข้นของ AE มีผลการยับยั้ง 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเมล็ดในน้ำกลั่น ในขณะที่สารสกัดจากส่วน AQ และ NE ตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 2,000 ppm ขึ้นไปสามารถยับยั้งการงอกของพืชทดสอบได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเมล็ดในน้ำกลั่น ส่วน ME มีผลในการยับยั้งการงอกของพืชทดสอบได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเข้มข้น 4,000 ppm ขึ้นไปเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเมล็ดในน้ำกลั่น

(2) ผลต่อการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ



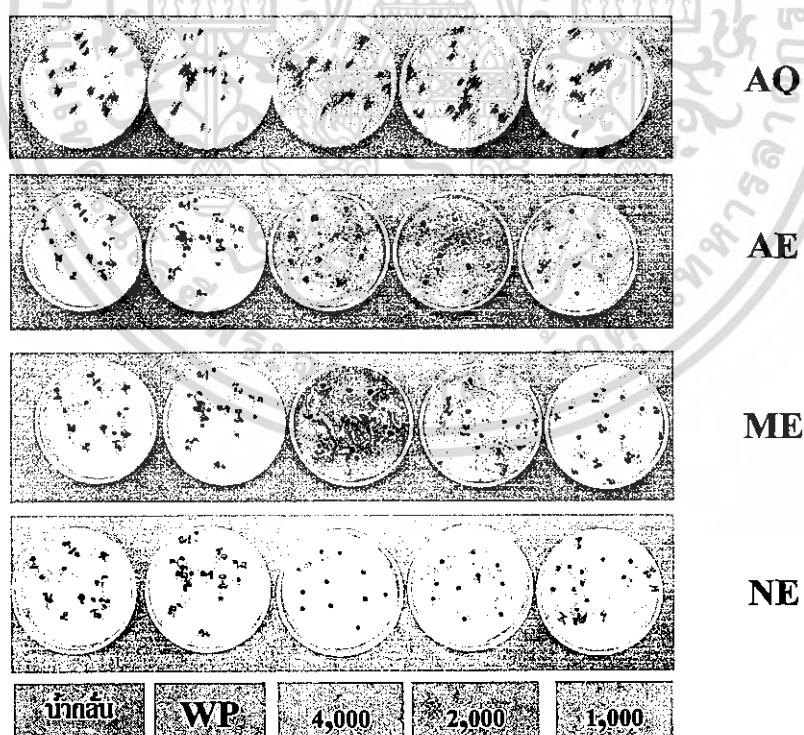
รูปที่ 4.2 ผลของสารสกัดจากใบพุทธรักษาที่แยกด้วยวิธี solvent partitioning ต่อการเจริญเติบโตของเมล็ดควางตุ้งดอก 7 วันหลังการเพาะเมล็ด จากค่าเฉลี่ยจำนวน 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย โดย DMRT ($p = 0.05$)

จากการเปรียบเทียบผลการทดลองสารสกัดหยาบที่ได้จากวิธีการ solvent partitioning ของใบพุทธรักษาที่แยกต่อผลการเจริญเติบโตของควางตุ้งดอก ทั้ง 3 ส่วนคือ สารสกัดหยาบชั้นน้ำ (aqueous fraction : AQ) สารสกัดหยาบที่มีคุณสมบัติเป็นกลาง (neutral compound extract : NE) และสารสกัดหยาบที่มีคุณสมบัติเป็นกรด (acidic compound extract : AE) และสารสกัดหยาบชั้นเมทานอล (crude methanol extract : ME) พบว่าสารละลาย WP มีผลส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 5.19 เปอร์เซ็นต์ ME ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 3.03 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 2,000 และ 4,000 ppm มีผลส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 13.42 และ 30.32 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ AQ ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 2,000 และ 4,000 ppm มีผลส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 6.99 25.86 และ 23.01 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น. ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น. อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ NE ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 และ 2,000 ppm มีผลส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 11.69 และ 4.95 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 4,000 ppm มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 12.62 เปอร์เซ็นต์ AE ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 40.34 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 2,000 และ 4,000 ppm มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 100 เปอร์เซ็นต์

จากรูปที่ 4.2 พบว่าอิทธิพลของสารสกัดในส่วนต่าง ๆ ระดับความเข้มข้นของสารสกัด และปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสองล้วนมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าสารสกัดจากส่วน AE สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดในส่วนอื่น ๆ และสารละลาย WP ซึ่งการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดมีผลให้การเจริญเติบโตของพืชทดสอบถูกยับยั้งมากขึ้น โดยระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 2,000 ppm ขึ้นไปมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตได้อย่างสมบูรณ์ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเมล็ดในน้ำกลั่น

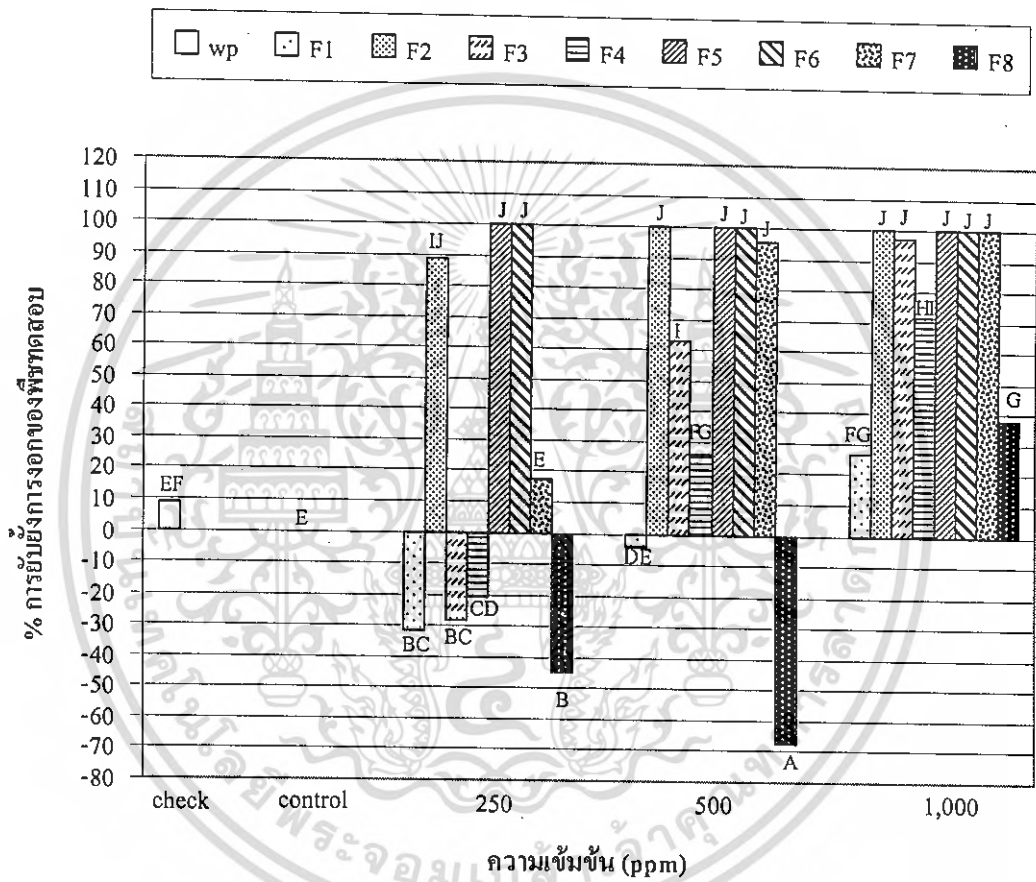


รูปที่ 4.3 ผลของสารสกัดจากใบพุทธรักษาที่แยกด้วยวิธี solvent partitioning 3 ระดับความเข้มข้นต่อการงอกและการเจริญเติบโตของกวางตุ้งดอกหลังการเพาะ 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ภายใต้การดูแลของภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี เมื่อผู้เผยแพร่เห็นประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลการทดสอบทางอัลลีโลพาทีของสารส่วนย่อยต่างๆ ในชั้น AE ที่แยกโดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี

(1) ผลต่อการงอกของพืชทดสอบ

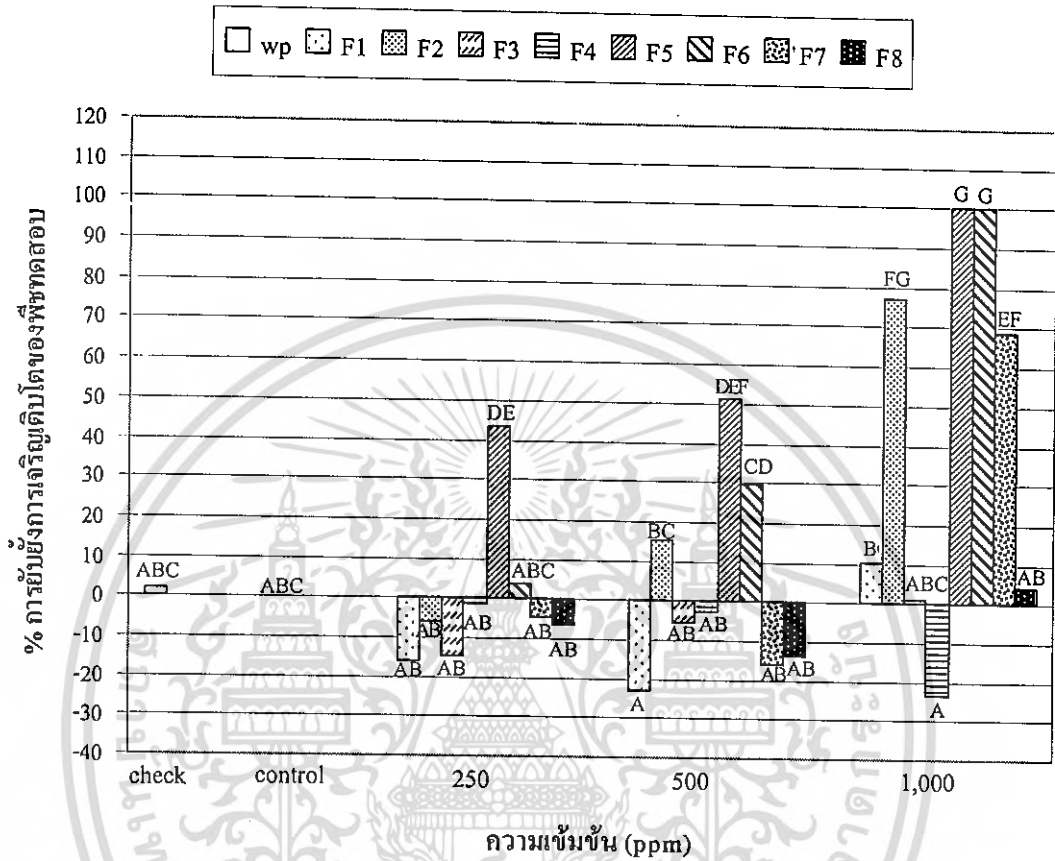


รูปที่ 4.4 ผลของสารส่วนย่อย 8 ส่วนในชั้น AE ที่แยกโดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีต่อการงอกของเมล็ดควางตุ้งดอก 7 วันหลังการเพาะเมล็ด จากค่าเฉลี่ยจำนวน 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย โดย DMRT (p = 0.05)

จากผลการทดสอบทางอัลลีโลพาทีของสารส่วนย่อย 8 ส่วนในชั้น AE ที่แยกโดยเทคนิคคอลลิมน์โครมาโทกราฟีต่อการงอกของกวางตุ้งคอก พบว่าสารละลาย WP มีผลยับยั้งการงอกของพืชทดสอบ 8.83 เปอร์เซ็นต์ สารส่วนย่อยที่ 1 ที่ระดับความเข้มข้น 250 และ 500 ppm มีผลส่งเสริมการงอกของพืชทดสอบ 31.59 และ 4.15 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm มีผลยับยั้งการงอกของพืชทดสอบ 26.58 เปอร์เซ็นต์ สารส่วนย่อยที่ 2 ที่ระดับความเข้มข้น 250 500 และ 1,000 ppm มีผลยับยั้งการงอกของพืชทดสอบ 88.80 100 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สารส่วนย่อยที่ 3 ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm มีผลส่งเสริมการงอกของพืชทดสอบ 28.13 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 1,000 ppm มีผลยับยั้งการงอกของพืชทดสอบ 63.19 และ 97.35 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สารส่วนย่อยที่ 4 ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm มีผลส่งเสริมการงอกของพืชทดสอบ 21.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 1,000 ppm มีผลยับยั้งการงอกของพืชทดสอบ 25.77 และ 71.74 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สารส่วนย่อยที่ 5 และ 6 มีผลยับยั้งการงอกของพืชทดสอบ 100 เปอร์เซ็นต์ ของทุกระดับความเข้มข้น สารส่วนย่อยที่ 7 ที่ระดับความเข้มข้น 250 500 และ 1,000 ppm มีผลยับยั้งการงอกของพืชทดสอบ 17.30 95.27 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สารส่วนย่อยที่ 8 ที่ระดับความเข้มข้น 250 และ 500 ppm มีผลส่งเสริมการงอกของพืชทดสอบ 44.46 และ 67.26 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm มีผลยับยั้งการงอกของพืชทดสอบ 38.23 เปอร์เซ็นต์

จากรูปที่ 4.4 พบว่าอิทธิพลของสารส่วนย่อยต่าง ๆ ของสารสกัด AE ระดับความเข้มข้นของสารส่วนย่อยและปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสองล้วนมีผลต่อการงอกของพืชทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าสารส่วนย่อยที่ 2 5 6 และ 7 สามารถยับยั้งการงอกของพืชทดสอบได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารส่วนย่อยต่าง ๆ และสารละลาย WP ซึ่งการเพิ่มความเข้มข้นของสารส่วนย่อยมีผลให้การงอกของพืชทดสอบถูกยับยั้งมากขึ้น ซึ่งที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm ขึ้นไปสารส่วนย่อยที่ 2 5 และ 6 สามารถยับยั้งการงอกของพืชทดสอบได้อย่างมีนัยสำคัญ และที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ขึ้นไปมีผลยับยั้งการงอกของพืชทดสอบได้อย่างสมบูรณ์เมื่อเปรียบเทียบกับ การเพาะเมล็ดในน้ำกลั่น ในขณะที่สารส่วนย่อยที่ 7 มีผลยับยั้งการงอกของพืชทดสอบได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ขึ้นไป และที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm สามารถยับยั้งการงอกของพืชทดสอบได้อย่างสมบูรณ์เมื่อเปรียบเทียบกับ การเพาะเมล็ดในน้ำกลั่น

(2) ผลต่อการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ

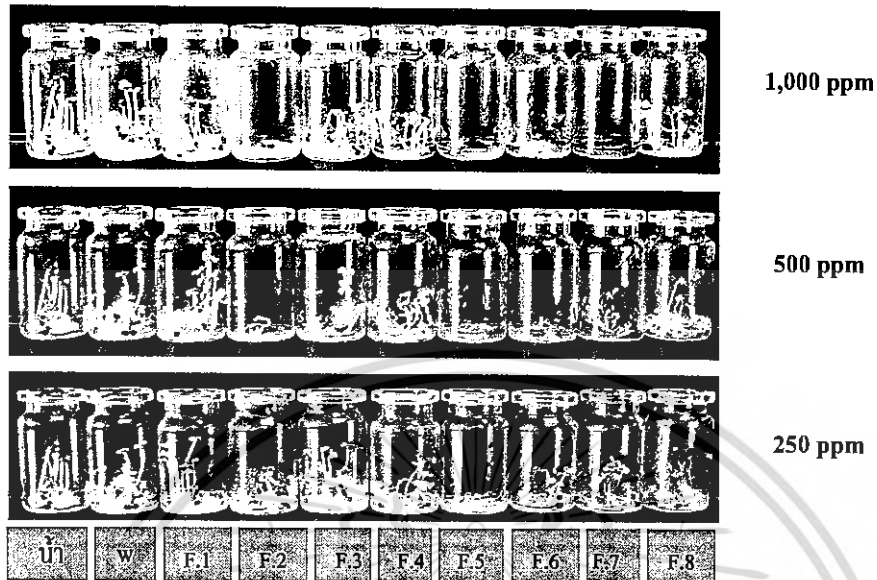


รูปที่ 4.5 ผลของสารส่วนย่อย 8 ส่วนในชั้น AE ที่แยกโดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีต่อการเจริญเติบโตของเมล็ดควางตุ้งดอก 7 วันหลังการเพาะเมล็ด จากค่าเฉลี่ยจำนวน 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย โดย DMRT ($p = 0.05$)

จากผลการทดสอบทางอัลติโลพาทีของสารส่วนย่อย 8 ส่วนในชั้น AE ที่แยกโดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีต่อการเจริญเติบโตของควางตุ้งดอก พบว่าสารละลาย WP มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 2.02 เปอร์เซ็นต์ สารส่วนย่อยที่ 1 ที่ระดับความเข้มข้น 250 และ 500 ppm มีผลส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 15.90 และ 22.81 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 10.16 เปอร์เซ็นต์ สารส่วนย่อยที่ 2 ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm มีผลส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 5.73 เปอร์เซ็นต์ ที่

ระดับความเข้มข้น 500 และ 1,000 ppm มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 15.12 และ 77.18 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สารส่วนย่อยที่ 3 ที่ระดับความเข้มข้น 250 และ 500 ppm มีผลส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 14.86 และ 5.60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 1.04 เปอร์เซ็นต์ สารส่วนย่อยที่ 4 ที่ระดับความเข้มข้น 250 500 และ 1,000 ppm มีผลส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 1.04 2.86 และ 23.53 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สารส่วนย่อยที่ 5 ที่ระดับความเข้มข้น 250 500 และ 1,000 ppm มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 43.67 51.10 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สารส่วนย่อยที่ 6 ที่ระดับความเข้มข้น 250 500 และ 1,000 ppm มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 3.58 29.66 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สารส่วนย่อยที่ 7 ที่ระดับความเข้มข้น 250 และ 500 ppm มีผลส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 4.43 และ 15.97 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 69.03 เปอร์เซ็นต์ ส่วนย่อยที่ 8 ที่ระดับความเข้มข้น 250 และ 500 ppm มีผลส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 6.51 และ 13.62 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 4.43 เปอร์เซ็นต์

จากรูปที่ 4.5 พบว่าอิทธิพลของสารส่วนย่อยต่าง ๆ ของสารสกัด AE ระดับความเข้มข้นของสารส่วนย่อยและปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสองล้วนมีผลต่อการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าสารส่วนย่อยที่ 2 5 6 และ 7 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารส่วนย่อยต่าง ๆ และสารละลาย WP ซึ่งการเพิ่มความเข้มข้นของสารส่วนย่อยมีผลให้การเจริญเติบโตของพืชทดสอบถูกยับยั้งมากขึ้น ซึ่งที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm ขึ้นไปสารส่วนย่อยที่ 5 มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm ขึ้นไปสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบได้อย่างสมบูรณ์เมื่อเปรียบเทียบกับสารละลาย WP โดยที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm ขึ้นไปสารส่วนย่อยที่ 2, 6 และ 7 มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบการเพาะเมล็ดในน้ำกลั่น

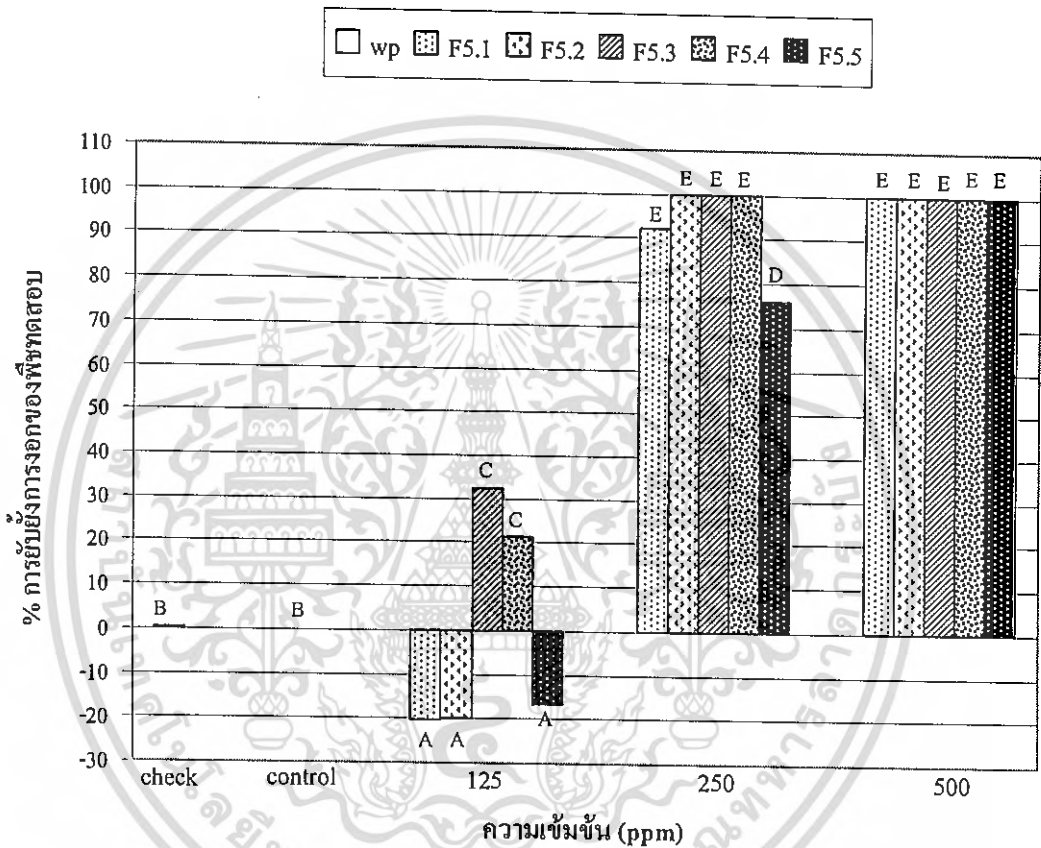


รูปที่ 4.6 ผลทางอัลตราไวโอเล็ตของสารส่วนย่อย 8 ส่วนในชั้น AE ที่แยก โดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดควางตุ้งดอก 7 วันหลังการเพาะเมล็ด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลการทดสอบศักยภาพทางอัลลีโลพาทีของสารกลุ่มย่อยในสารส่วนย่อย ที่แยกโดยเทคนิค คอด้มันโครมาโทกราฟี

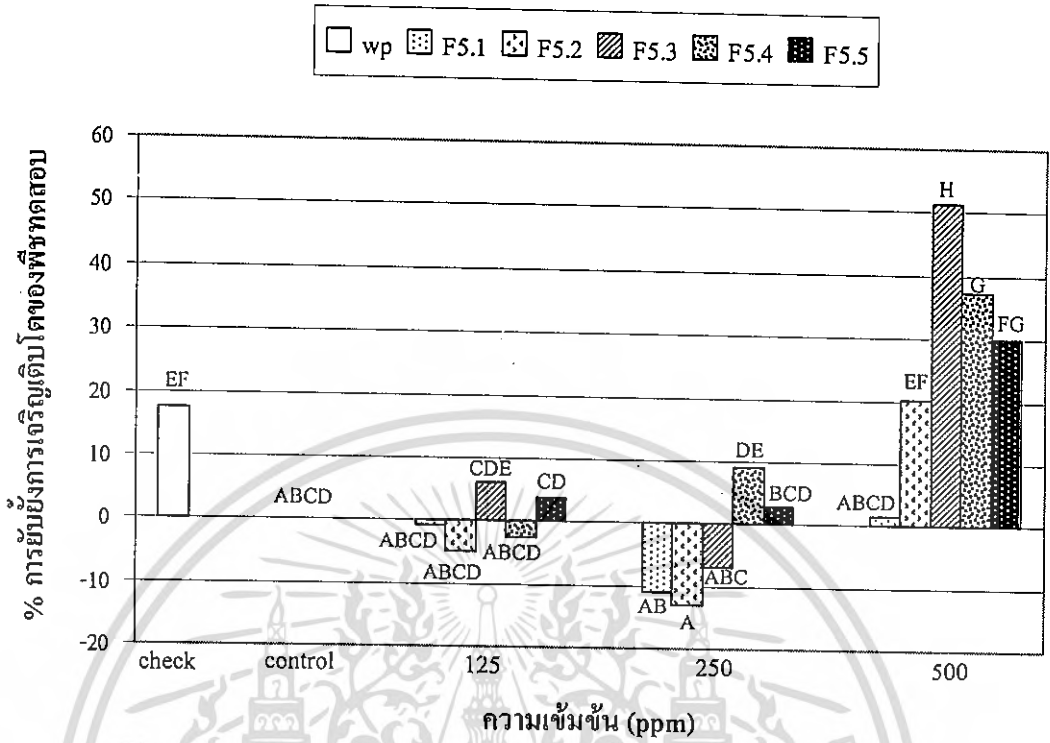
4.3.1 ผลการทดสอบการงอกและการเจริญเติบโตของสารกลุ่มย่อยของส่วนย่อยที่ 5



รูปที่ 4.7 ผลของสารกลุ่มย่อยของสารส่วนย่อยที่ 5 ที่แยกโดยเทคนิคคอด้มันโครมาโทกราฟีต่อการงอกของเมล็ดควางตุ้งดอก 7 วันหลังการเพาะเมล็ด จากค่าเฉลี่ยจำนวน 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย โดย DMRT ($p = 0.05$)

จากผลการทดสอบทางอัลลีโลพาตีของสารกลุ่มย่อยในสารส่วนย่อยที่ 5 ที่แยกโดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีต่อการงอกของกวางตุ้งดอก พบว่าสารละลาย WP มีผลยับยั้งการงอกของพืชทดสอบ 0.37 เปอร์เซ็นต์ สารกลุ่มย่อยที่ 5.1 ที่ระดับความเข้มข้น 125 ppm มีผลส่งเสริมการงอกของพืชทดสอบ 20.47 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 250 และ 500 ppm มีผลยับยั้งการงอกของพืชทดสอบ 92.00 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สารกลุ่มย่อยที่ 5.2 ที่ระดับความเข้มข้น 125 ppm มีผลส่งเสริมการงอกของพืชทดสอบ 19.98 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 250 และ 500 ppm มีผลยับยั้งการงอกของพืชทดสอบ 100 เปอร์เซ็นต์ สารกลุ่มย่อยที่ 5.3 ที่ระดับความเข้มข้น 125 250 และ 500 ppm มีผลยับยั้งการงอกของพืชทดสอบ 32.37 100 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สารกลุ่มย่อยที่ 5.4 ที่ระดับความเข้มข้น 125 250 และ 500 ppm มีผลยับยั้งการงอกของพืชทดสอบ 21.4 100 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สารกลุ่มย่อยที่ 5.5 ที่ระดับความเข้มข้น 125 ppm มีผลส่งเสริมการงอกของพืชทดสอบ 16.84 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 250 และ 500 ppm มีผลยับยั้งการงอกของพืชทดสอบ 76.00 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากรูปที่ 4.7 พบว่าอิทธิพลของสารกลุ่มย่อยต่างๆ ของสารส่วนย่อยที่ 5 ระดับความเข้มข้นของสารกลุ่มย่อยและปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสองล้วนมีผลต่อการงอกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การเพิ่มความเข้มข้นของสารกลุ่มย่อยมีผลให้การงอกของพืชทดสอบถูกยับยั้งมากขึ้น ซึ่งที่ระดับความเข้มข้น 125 ppm ขึ้นไปสารกลุ่มย่อยที่ 5.3 และ 5.4 มีผลยับยั้งการงอกของพืชทดสอบได้อย่างมีนัยสำคัญและที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm ขึ้นไปสามารถยับยั้งการงอกของพืชทดสอบได้อย่างสมบูรณ์เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเมล็ดในน้ำกลั่น โดยที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ขึ้นไปพบว่า สารทุกกลุ่มย่อยมีผลยับยั้งการงอกของพืชทดสอบได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเมล็ดในน้ำกลั่น



รูปที่ 4.8 ผลของสารกลุ่มย่อยของสารส่วนย่อยที่ 5 ที่แยกโดยเทคนิคโคลัมน์โครมาโทกราฟีต่อการเจริญเติบโตของเมล็ดคางคอก 7 วันหลังการเพาะเมล็ด จากค่าเฉลี่ยจำนวน 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย โดย DMRT ($p = 0.05$)

จากผลการทดสอบทางอวลีโลพาทีของสารกลุ่มย่อยในสารส่วนย่อยที่ 5 ที่แยกโดยเทคนิคโคลัมน์โครมาโทกราฟีต่อการเจริญเติบโตของคางคอก พบว่าสารละลาย WP มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 17.68 เปอร์เซ็นต์ สารกลุ่มย่อยที่ 5.1 ที่ระดับความเข้มข้น 125 และ 250 ppm มีผลส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 0.73 และ 11.03 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 1.55 เปอร์เซ็นต์ สารกลุ่มย่อยที่ 5.2 ที่ระดับความเข้มข้น 125 และ 250 ppm มีผลส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 4.94 และ 12.95 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 20.23 เปอร์เซ็นต์ สารกลุ่มย่อยที่ 5.3 ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm มีผลส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 6.86 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 125 และ 500 ppm มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 6.13 และ 51.14 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สารกลุ่มย่อยที่ 5.4 ที่ระดับความเข้มข้น 125 ppm มีผลส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 2.60 เปอร์เซ็นต์ ที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

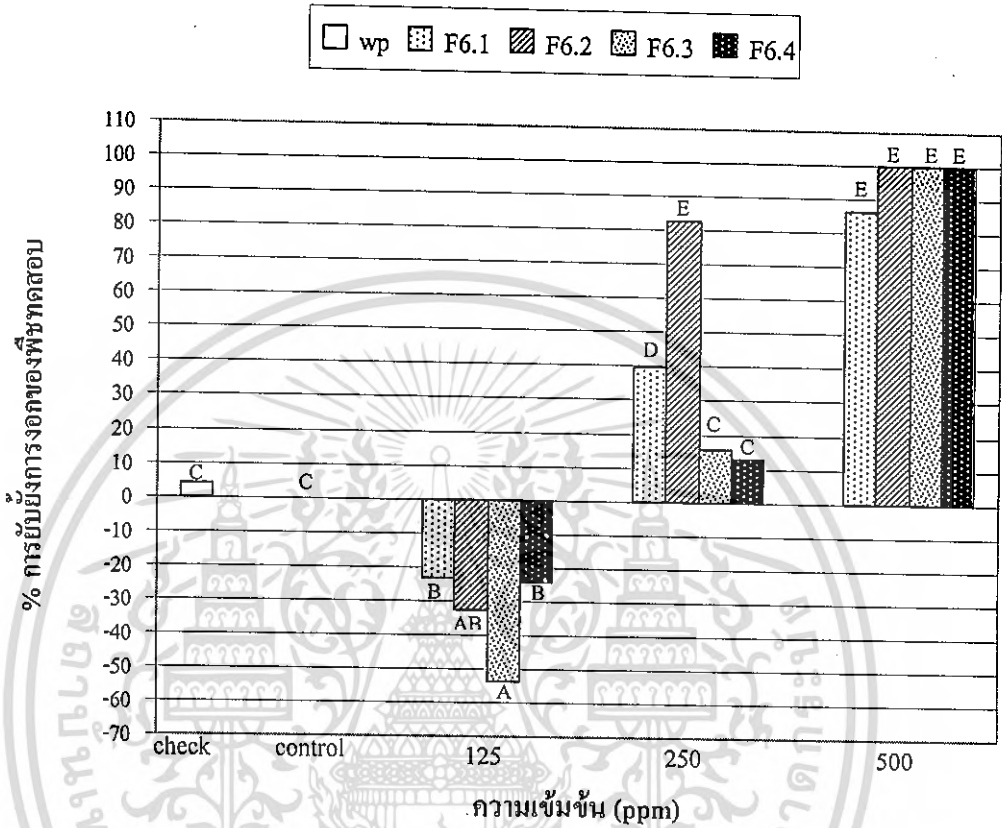
ระดับความเข้มข้น 250 และ 500 ppm มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 9.20 และ 37.40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สารกลุ่มย่อยที่ 5.5 ที่ระดับความเข้มข้น ที่ระดับความเข้มข้น 125 250 และ 500 ppm มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 3.84 3.06 และ 30.17 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากรูปที่ 4.8 พบว่าอิทธิพลของสารกลุ่มย่อยต่าง ๆ ของสารส่วนย่อยที่ 5 ระดับความเข้มข้นของสารกลุ่มย่อยและปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสองล้วนมีผลต่อการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การเพิ่มความเข้มข้นของสารกลุ่มย่อยมีผลให้การเจริญเติบโตของพืชทดสอบถูกยับยั้งมากขึ้น ซึ่งที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ขึ้นไปสารกลุ่มย่อยที่ 5.2 5.3 5.4 และ 5.5 สามารถยับยั้งการงอกของพืชทดสอบได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเมล็ดในน้ำกลั่น



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 ผลการทดสอบการงอกและการเจริญเติบโตของสารกลุ่มย่อยของส่วนย่อยที่ 6



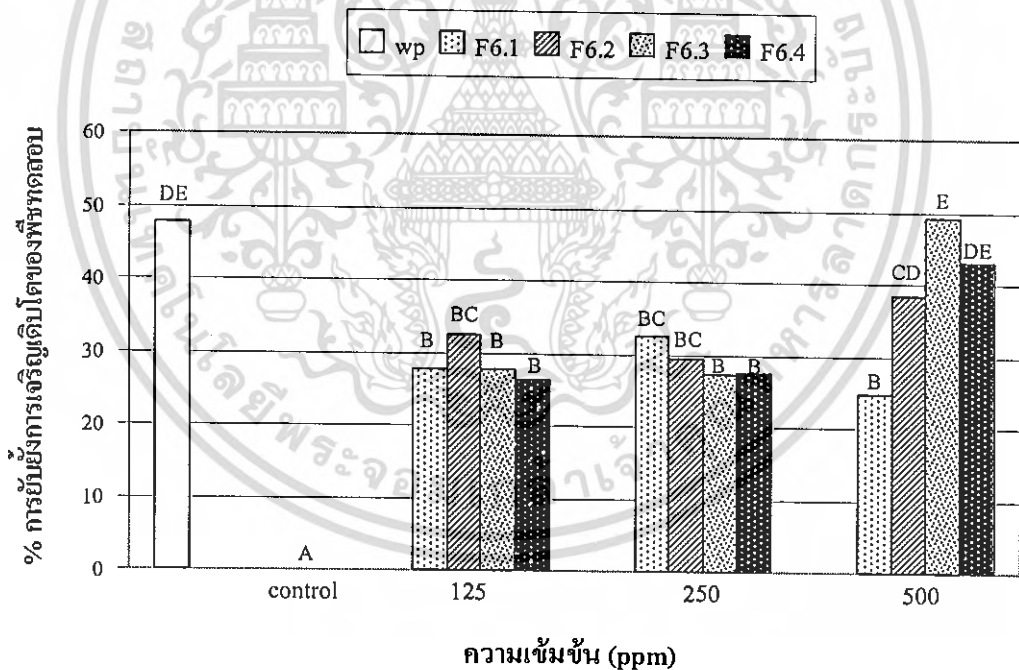
รูปที่ 4.9 ผลของสารกลุ่มย่อยของสารส่วนย่อยที่ 6 ที่แยกโดยเทคนิคโคลดีนน์โครมาโทกราฟีต่อการงอกของเมล็ดควางคู้ดดอก 7 วันหลังการเพาะเมล็ด จากค่าเฉลี่ยจำนวน 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย โดย DMRT ($p = 0.05$)

จากผลการทดสอบทางอัลลิโลพาทีของสารกลุ่มย่อยในสารส่วนย่อยที่ 6 ที่แยกโดยเทคนิคโคลดีนน์โครมาโทกราฟีต่อการงอกของควางคู้ดดอก พบว่าสารละลาย WP มีผลยับยั้งการงอกของพืชทดสอบ 3.99 เปอร์เซ็นต์ สารกลุ่มย่อยที่ 6.1 ที่ระดับความเข้มข้น 125 ppm มีผลส่งเสริมการงอกของพืชทดสอบ 23.27 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 250 และ 500 ppm มีผลยับยั้งการงอกของพืชทดสอบ 39.78 และ 86.59 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สารกลุ่มย่อยที่ 6.2 ที่ระดับความเข้มข้น 125 ppm มีผลส่งเสริมการงอกของพืชทดสอบ 32.71 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 250 และ 500 ppm มีผลยับยั้งการงอกของพืชทดสอบ 82.83 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สารกลุ่มย่อยที่ 6.3 และ 6.4 ไม่พบการยับยั้งหรือส่งเสริมการงอกของพืชทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.3 ที่ระดับความเข้มข้น 125 ppm มีผลส่งเสริมการงอกของพืชทดสอบ 53.80 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 250 และ 500 ppm มีผลยับยั้งการงอกของพืชทดสอบ 15.32 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สารกลุ่มย่อยที่ 6.4 ที่ระดับความเข้มข้น 125 ppm มีผลส่งเสริมการงอกของพืชทดสอบ 24.30 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 250 และ 500 ppm มีผลยับยั้งการงอกของพืชทดสอบ 13.05 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

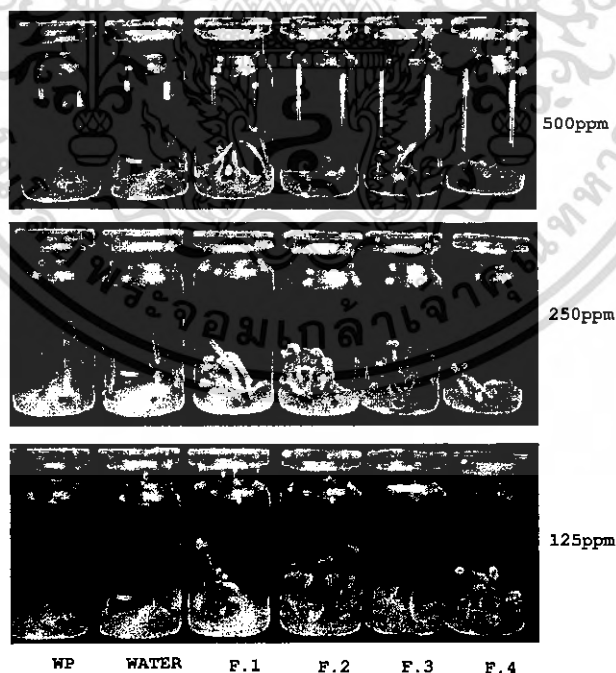
จากรูปที่ 4.9 พบว่าอิทธิพลของสารกลุ่มย่อยต่าง ๆ ของสารส่วนย่อยที่ 6 ระดับความเข้มข้นของสารกลุ่มย่อยและปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสองล้วนมีผลต่อการงอกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การเพิ่มความเข้มข้นของสารกลุ่มย่อยมีผลให้การงอกของพืชทดสอบถูกยับยั้งมากขึ้น ซึ่งที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm ขึ้นไปสารกลุ่มย่อยที่ 6.1 และ 6.2 สามารถยับยั้งการงอกของพืชทดสอบได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเมล็ดในน้ำกลั่น ในขณะที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ขึ้นไปพบว่า สารกลุ่มย่อยที่ 6.3 และ 6.4 จึงจะมีผลยับยั้งการงอกของพืชทดสอบได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเมล็ดในน้ำกลั่น



รูปที่ 4.10 ผลของสารกลุ่มย่อยของสารส่วนย่อยที่ 6 ที่แยกโดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีต่อการเจริญเติบโตของเมล็ดควางดุ้งดอก 7 วันหลังการเพาะเมล็ด จากค่าเฉลี่ยจำนวน 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย โดย DMRT ($p = 0.05$)

จากผลการทดสอบทางอัลลีโลพาทีของสารกลุ่มย่อยในสารส่วนย่อยที่ 6 ที่แยกโดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีต่อการเจริญเติบโตของกวางตุ้งดอก พบว่าสารละลาย WP มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 47.67 เปอร์เซ็นต์ สารกลุ่มย่อยที่ 6.1 ที่ระดับความเข้มข้น 125 250 และ 500 ppm มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 27.80 32.49 และ 24.71 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับสารกลุ่มย่อยที่ 6.2 ที่ระดับความเข้มข้น 125 250 และ 500 ppm มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 32.49 29.35 และ 38.43 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับสารกลุ่มย่อยที่ 6.3 ที่ระดับความเข้มข้น 125 250 และ 500 ppm มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 27.68 27.36 และ 49.14 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับสารกลุ่มย่อยที่ 6.1 ที่ระดับความเข้มข้น 125 250 และ 500 ppm มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 26.26 27.60 และ 43.15 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากรูปที่ 4.10 พบว่าอิทธิพลของสารกลุ่มย่อยต่างๆ ของสารส่วนย่อยที่ 6 ระดับความเข้มข้นของสารกลุ่มย่อยและปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสองล้วนมีผลต่อการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การเพิ่มความเข้มข้นของสารกลุ่มย่อยมีผลให้การเจริญเติบโตของพืชทดสอบถูกยับยั้งมากขึ้น พบว่าสารทุกกลุ่มย่อย สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเมล็ดในน้ำกลั่น



รูปที่ 4.11 ผลทางอัลลีโลพาทีของสารกลุ่มย่อย 4 กลุ่มของสารส่วนย่อยที่ 6 ที่แยกโดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดกวางตุ้งดอก 7 วันหลังการเพาะเมล็ด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

5.1.1 ผลการเปรียบเทียบสารสกัดหยาบที่ได้จากวิธีการ solvent partitioning ของใบพุทธรักษาถิ่นแดงต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ

จากการเปรียบเทียบผลของสารสกัดหยาบที่ได้จากวิธีการ solvent partitioning ของใบพุทธรักษาถิ่นแดงต่อผลการงอกของกวางตุ้งดอก ในส่วนของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอล (crude methanol extract : ME) สารสกัดหยาบชั้นน้ำ (aqueous fraction : AQ) สารสกัดหยาบที่มีคุณสมบัติเป็นกลาง (neutral compound extract : NE) และสารสกัดหยาบที่มีคุณสมบัติเป็นกรด (acidic compound extract : AE) ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 2,000 และ 4,000 ppm โดยใช้สารละลาย WP ที่ความเข้มข้นเดียวกันเป็นวิธีการเปรียบเทียบ พบว่าสารสกัดในส่วน AE มีผลยับยั้งการงอกของพืชทดสอบ 100 เปอร์เซ็นต์ ทุกระดับความเข้มข้น และมีผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 100 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 2,000 และ 4,000 ppm ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 มีผลการยับยั้ง 40.34 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสารสกัดในส่วน AE มีผลต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารละลาย WP และสารสกัดในส่วนอื่น

5.1.2 ผลการทดสอบทางอัลติโลพาทีของสารส่วนย่อยต่าง ๆ ในชั้น AE ที่แยกโดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี

จากเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีสามารถแยกสารสกัดหยาบในชั้น AE ได้ 8 ส่วนย่อย แล้วนำมาทดสอบผลทางอัลติโลพาที ที่ระดับความเข้มข้น 250 500 และ 1,000 ppm ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ โดยใช้สารละลาย WP ที่ความเข้มข้นเดียวกันเป็นวิธีการเปรียบเทียบ พบว่า สารส่วนย่อยที่ 2 5 6 และ 7 ให้ผลทางอัลติโลพาทีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบอย่างมีนัยสำคัญ โดยสารส่วนย่อยที่ 2 5 และ 6 ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm สามารถยับยั้งการงอกของพืชทดสอบได้อย่างมีนัยสำคัญ และที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ขึ้นไปมีผลยับยั้งการงอกของพืชทดสอบได้อย่างสมบูรณ์เมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายเมลิคไดโน น้ำกลั่น ในขณะที่สารส่วนย่อยที่ 7 มีผลยับยั้งการงอกของพืชทดสอบได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ขึ้นไป และที่ 1,000 ppm สามารถยับยั้งการงอกของพืชทดสอบได้อย่างสมบูรณ์เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเมล็ดในน้ำกลั่น

โดยด้านการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm ขึ้นไป สารส่วนย่อยที่ 5 มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm ขึ้นไปสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบได้อย่างสมบูรณ์เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเมล็ดในน้ำกลั่น โดยที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm ขึ้นไป สารส่วนย่อยที่ 2 6 และ 7 มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเมล็ดในน้ำกลั่น

5.1.3 ผลการทดสอบศักยภาพทางอัลติโลพาทีของสารกลุ่มย่อยในสารส่วนย่อย ที่แยกโดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี

จากเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีสามารถแยกสารส่วนย่อยที่ 5 และ 6 ออกเป็น 5 และ 4 กลุ่มย่อย ตามลำดับ โดยในส่วนของสารส่วนย่อยที่ 2 และ 7 มีปริมาณสารน้อยมากไม่สามารถนำมาแยกโดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี

5.1.3.1 ผลการทดสอบการงอกและการเจริญเติบโตของสารกลุ่มย่อยของส่วนย่อยที่ 5

จากเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีสามารถแยกสารส่วนย่อยที่ 5 ออกเป็น 5 กลุ่มย่อยทำการศึกษาศักยภาพทางอัลติโลพาทีที่ระดับความเข้มข้น 125 250 และ 500 ppm ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ โดยใช้สารละลาย WP ที่ความเข้มข้นเดียวกันเป็นวิธีการเปรียบเทียบ พบว่าสารกลุ่มย่อยที่ 5.3 และ 5.4 มีศักยภาพทางอัลติโลพาทีต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งที่ระดับความเข้มข้น 125 ppm ขึ้นไปสารกลุ่มย่อยที่ 5.3 และ 5.4 มีผลยับยั้งการงอกของพืชทดสอบได้อย่างมีนัยสำคัญและที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm ขึ้นไปสามารถยับยั้งการงอกของพืชทดสอบได้อย่างสมบูรณ์เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเมล็ดในน้ำกลั่น โดยที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ขึ้นไปพบว่า สารทุกกลุ่มย่อยมีผลยับยั้งการงอกของพืชทดสอบได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเมล็ดในน้ำกลั่น

โดยด้านการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ขึ้นไปพบว่าสารกลุ่มย่อยที่ 5.2 5.3 5.4 และ 5.5 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเมล็ดในน้ำกลั่น

5.1.3.2 ผลการทดสอบการงอกและการเจริญเติบโตของสารกลุ่มย่อยของส่วนย่อยที่ 6

จากเทคนิคคอตมันน์โครมาโทกราฟีสามารถแยกสารส่วนย่อยที่ 6 ออกเป็น 4 กลุ่มย่อยทำการศึกษาศักยภาพทางอัลลีโลพาที่ที่ระดับความเข้มข้น 125 250 และ 500 ppm ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ โดยใช้สารละลาย WP ที่ความเข้มข้นเดียวกันเป็นวิธีการเปรียบเทียบ พบว่าสารทุกกลุ่มย่อยมีศักยภาพทางอัลลีโลพาที่ต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm ขึ้นไปสารกลุ่มย่อยที่ 6.1 และ 6.2 สามารถยับยั้งการงอกของพืชทดสอบได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเมล็ดคในน้ำกลั่น ในขณะที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ขึ้นไปพบว่า สารกลุ่มย่อยที่ 6.3 และ 6.4 จึงจะมีผลยับยั้งการงอกของพืชทดสอบได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเมล็ดคในน้ำกลั่น

โดยด้านการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ พบว่าสารทุกกลุ่มย่อยสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทดสอบได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเมล็ดคในน้ำกลั่น

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. จากการศึกษาศักยภาพทางอัลลีโลพาที่ของใบพุทธรักษาถิ่นแดงพบว่าให้ผลดีมากต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดกวาดั่งดอก ควรมีการศึกษาผลต่อพืชชนิดอื่นให้กว้างขวางมากขึ้น
2. ค้นคว้าหาวิธีการในด้านการสกัดที่มีศักยภาพมากขึ้น เพื่อลดการสิ้นเปลืองของสารเคมีที่นำมาสกัดและสารสกัดที่อาจสูญเสียได้
3. ทำการสกัดแยกสารอัลลีโลพาที่ของใบพุทธรักษาถิ่นแดงให้บริสุทธิ์ เพื่อทราบถึงโครงสร้างของสารอัลลีโลเคมีจากใบพุทธรักษาถิ่นแดง
4. ทำการสังเคราะห์เลียนแบบสารอัลลีโลเคมีและนำไปใช้ประโยชน์ในการควบคุมวัชพืชต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- ชอุ่ม เปรมชัยเรือง. 2533. สารพิษจากต้นงาต่อการเจริญเติบโตของวัชพืช. วารสารข่าวพฤกษศาสตร์และวัชพืช. ปีที่ 3 (1): 8.
- ชอุ่ม เปรมชัยเรือง และศิริพร ชิงสนธิพร. 2531. การศึกษาผลของสารยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชที่มีในต้นงา. วารสารข่าวพฤกษศาสตร์และวัชพืช. ปีที่ 1 (3): 3.
- คารารัตน์ มณีจันทร์. 2546. ผลทางอัลลีโลพาตีของสารสกัดด้วยน้ำจากใบพืชสกุลมะลิ. ปัญหาพิเศษปริญญาโท สาขาวิชาพืชสวน บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- บุญรอด ขาดิยานนท์ และวิรัตน์ ภูวิวัฒน์. 2544. สารสกัดด้วยน้ำจากใบประยงค์ยับยั้งการออกของเมล็ดวัชพืชใบเลี้ยงเดี่ยวสองชนิด. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. ฉบับพิเศษ 32 (1-4): 291-293.
- ปิยะ เฉลิมกลิ่น. 2541. ไม้ดอกหอมเล่ม 2. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์บ้านและสวน.
- พรชัย เหลืองอากาศ. 2540. วัชพืชศาสตร์ WEED SCIENCE. เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- Amaro-Luis, J. M.; Massanet, G. M.; Pando, E.; Rodriguez-Luis, F. and Zubia, E. 1990. *Planta Med.* 56 : 304-306.
- Chang, M.; Netzly, D. H.; Butler, L. G. and Lynn, D. G. 1986. *J. Am. Chem. Soc.* 108 : 7858-7860.
- Comman, I. 1946. *Am. J. Bot.* 33 : 217-219.
- Dayan, F. E.; Romagni, J. G.; Tellez, M.; Rimando, A. and Duke, S. 1999. *Pest. Outlook.* 185-188.
- Dayan, F. E.; Romagni, J. G. and Duke, S. O. 2000. *Ecol. J. Chem.* 26 : 2079-2094.
- Duke, S. O. and Lydon, J. 1993. Natural Phytotoxins as Herbicides. 100-103. In Duke, S.O. (ed.). *Pest Control with Enhanced Environmental Safety.* Washington, D.C. : American Chemical Society.
- Einhellig, F. A. 1986. In *The Science of Allelopathy.* New York : Wiley.
- Einhellig, F. A. and Souza, I. F. 1992. *J. Chem. Ecol.* 18 : 1-11.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Einhellig, F. A. 1995. In *Allelopathy: Organisms, Processes and Applications*; Inderjit, Dakshini, K. M. M., Einhellig, F. A., Eds. **ACS Symposium Series 582**. 96-116. Washington, D. C. : American Chemical Society.
- Kocacaliskan, I. and Terzi, I. 2001. *Biotech. J. Hort. Sci.* 76 : 436-440.
- Macias, F. A. 1995. In *Allelopathy: Organisms, Processes and Applications*; Inderjit, Dakshini, K. M. M., Einhellig, F. A., Eds. **ACS Symposium Series 582**. 310-329. Washington, D. C. : American Chemical Society.
- Macias, F. A.; Simonet, A. M.; Galindo, J. C. G.; Pacheco, P. C. and Sanchez, J. A. 1998. *Phytochemistry*. 49 : 709-717.
- Mallik, A. U. 2000. *Ecol. J. Chem.* 26 : 2007-2009.
- Molisch, H. 1937. **Der Einfluss einer Pflanze auf die andere Allelopathie**. Germany : Fischer Jena.
- Patterson, D. T. 1985. Weed allelopathy. 101-129. In Duke, S. O. (ed.). **Weed Physiology Vol 1**. Boca Raton : CRC Press, Inc.
- Putnam, A. R. 1983. *Chem. Eng. News*. 61(14) : 34-45.
- Putnam, A. R. 1985. Weed allelopathy. 131-155. In Duke, S. O. (ed.). **Weed Physiology Vol 1 : Reproduction and Ecophysiology**. Florida : CRC Press, Inc.
- Putnam, A. R.; Tang, C. -S. 1986 **In The Science of Allelopathy**. New York : Wiley.
- Rice, E.L. 1984. *Allelopathy*. 2nd ed. Orlando : Academic Press, Inc.
- Rogers, R.S. 1999. *Chem. Eng. News*. 77(36) : 17-20.
- Van Klink, J. W.; Brophy, J.J.; Perry, N.B. and Weavers, R.T. 1999. *J. Nat. Prod.* 62 : 487-489.
- Weston, L.A. 1996. Utilization of Allelopathy for Weed Management in Agroecosystem. *Agron. J.* 88(6) : 860-866.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้