การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นพรมมิด้วยไทไดแอซูรอนและการใช้โพแทสเซียมไนเตรทและโพแทสเซียมคลอไรด์ ต่อการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระในระบบปลูกแบบไร้ดิน

MICROPROPOGATION OF *Bacopa monnieri* (L.) WETTST. INDUCED BY THIDIAZURON AND USING POTASSIUM NITRATE AND POTASSIUM CHLORIDE ON GROWTH AND ANTIOXIDANTS IN HYDROPONICS

ปิยธิดา อุณหคงคา

PIYATIDA OUNNAHAKHONGKHA

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2563

KMITL-2020-AG-M-081-325

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นพรมมิด้วยไทไดแอซูรอนและการใช้โพแทสเซียมไนเตรทและโพแทสเซียมคลอไรด์ ต่อการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระในระบบปลูกแบบไร้ดิน

MICROPROPOGATION OF *Bacopa monnieri* (L.) WETTST. INDUCED BY THIDIAZURON AND USING POTASSIUM NITRATE AND POTASSIUM CHLORIDE ON GROWTH AND ANTIOXIDANTS IN HYDROPONICS

ปิยธิดา อุณหคงคา

PIYATIDA OUNNAHAKHONGKHA

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2563

KMITL-2020-AG-M-081-325

MICROPROPOGATION OF *Bacopa monnieri* (L.) WETTST. INDUCED BY THIDIAZURON AND USING POTASSIUM NITRATE AND POTASSIUM CHLORIDE ON GROWTH AND ANTIOXIDANTS IN HYDROPONICS

PIYATIDA OUNNAHAKHONGKHA

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE IN FISHERIES SCIENCE

FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2020

KMITL-2020-AG-M-081-325

COPYRIGHT 2020

FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นพรมมิด้วยไทไดแอซูรอนและการใช้โพแทสเซียมไนเตรทและโพแทสเซียมคลอไรด์ต่อการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระในระบบปลูกแบบไร้ดิน
นักศึกษา	นางสาวปิยธิดา อุณหคงคา
รหัสประจำตัว	59604052
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การประมง
พ.ศ.	2563
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร.นงนุช เลาหะวิสุทธิ์

บทคัดย่อ

พรมมิ (*Bacopa monnieri* (L.) Wettst.) เป็นพรรณไม้น้ำที่ถูกจัดเป็นพืชสมุนไพร มีสรรพคุณทางเภสัชวิทยาในการรักษาโรค และพบสารซาโปนินที่ช่วยในการบำรุงสมองและความจำ โดยงานทดลองครั้งนี้ประกอบด้วย 4 การทดลอง มีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มผลผลิตและสารต้านอนุมูลอิสระ การทดลองที่ 1 เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นพรมมิในอาหารกึ่งแข็ง MS ร่วมกับสาร TDZ 0, 0.1, 0.4, 1.6 และ 6.4 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า อาหารกึ่งแข็ง MS ร่วมกับสาร TDZ 0.1 – 0.4 mg/L ชักนำให้เกิดยอดกระจุกและสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ (ฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวม DPPH และ ABTS) ในขณะที่การไม่เติมสาร TDZ ให้ต้นพันธุ์ที่สมบูรณ์พร้อมปลูกและมีปริมาณซาโปนินรวม ดีที่สุด เท่ากับ 210.48 mg saponin/g โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย การทดลองที่ 2 การแช่ต้นพรมมิด้วยความเข้มข้นสาร TDZ 0, 0.1, 0.2 และ 0.4 mg/L ร่วมกับระยะเวลา 6, 12 และ 24 ชั่วโมง พบว่า การแช่ต้นพรมมิที่ความเข้มข้น TDZ 0.1 mg/L นาน 12 ชั่วโมง มีความเหมาะสมต่อการนำไปเป็นต้นพันธุ์ในระบบปลูกแบบไร้ดิน การทดลองที่ 3 ปลูกต้นพรมมิในระบบปลูกแบบ ไร้ดินโดยใช้สารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ที่มีปริมาณโพแทสเซียมไนเตรท (KNO_3) 3.4, 3.9, 4.4, 4.9 และ 5.4 meq/L พบว่า การเจริญเติบโตไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ระหว่างชุดการทดลอง ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ (ฟีนอลิกรวม ซาโปนินรวม DPPH และ ABTS) ดีที่สุด โดยซาโปนินรวมที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายมีปริมาณสารเท่ากับ 1154.07 mg saponin/g ที่ความเข้มข้น KNO_3 3.4 meq/L หลังจาก

ปลูกเป็นเวลา 8 สัปดาห์ และ การทดลองที่ 4 ปลูกต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดินโดยใช้สารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ที่เพิ่มปริมาณโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 meq/L พบว่า การเจริญเติบโตไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ระหว่างชุดการทดลอง ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ (ฟีนอลิกรวม ซาโปนินรวม และ DPPH) ดีที่สุด โดยซาโปนินรวมมีปริมาณสารเท่ากับ 1017.73 mg saponin/g โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่ความเข้มข้น KCl 1.5 meq/L หลังจากปลูกเป็นเวลา 8 สัปดาห์ จากงานทดลองครั้งนี้ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นพรมมิเพื่อให้สารสำคัญในรูปซาโปนินรวม ควรใช้อาหารกึ่งแข็ง MS ร่วมกับ TDZ 0.1 – 0.4 mg/L และการเลี้ยงในระบบปลูกแบบไร้ดินควรใช้สารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ที่มี KNO_3 3.4 meq/L หรือ สารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ที่มี KNO_3 4.4 meq/L ร่วมกับการเพิ่ม KCl 1.5 meq/L

Thesis	Micropropogation of *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. Induced by Thidiazuron and Using Potassium nitrate and Potassium chloride on Growth and Antioxidants in Hydroponics
Student	Miss Piyatida Ounnahakhongkha
Student ID.	59604052
Degree	Master of Science
Program	Fisheries Science
Year	2020
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Nongnuch Laohavisuti

ABSTRACT

Brahmi (*Bacopa monnieri*) is an aquatic plant and used for medical purposes such as enhancing human memory and brain function. The study aimed at increasing yield and antioxidant activity. It provided four experiments. The first experiment focused on the effect of Murashige and Skoog (MS) medium with different Thidiazuron (TDZ) concentrations, namely 0, 0.1, 0.4, 1.6 and 6.4 mg/L on growth and antioxidant activities in Brahmi grown *in vitro* for 6 weeks. The MS medium with TDZ concentration at 0.1 – 0.4 mg/L led the highest number of multiple shoots and the highest value of (total phenolic content; TPC, total flavonoid content; TFC, 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl; DPPH and 2,2'azinobiz (3- ethylbenzothiazoline-6-sulfonate); ABTS) whilst the most appropriated treatment for the best mother plants as well as the highest value of total saponin content (TSC) as of 210.48 mg saponin/g was the treatment without TDZ extracted with ethanol solvent. The second experiment focused on soaking Brahmi in different concentrations of TDZ, namely 0, 0.1, 0.2 and 0.4 mg/L, with various soaking periods at 6, 12 and 24 hours respectively. The experiment presented that the plants soaked in TDZ 0.1 mg/L for 12 hours was the best mother plants for hydroponic system. The third experiment focused on the effect of potassium nitrate (KNO_3) concentration on growth and antioxidant properties in hydroponically grown Brahmi with the nutrition solution KMITL 2 containing different proportion of KNO_3 concentrations, namely

3.4, 3.9, 4.4, 4.9 and 5.4 meq/L. The study showed that there were no any statistically significant differences in growth between the treatment ($p>0.05$). As an antioxidant properties, the plant grown in the KMITL 2 solution with the concentration of KNO_3 at 3.4 meq/L for 8 weeks presented the highest value of TPC, DPPH, ABTS and especially the highest value of TSC as of 1154.07 mg saponin/g when using ethanol as a solvent. The last experiment emphasized on growth and antioxidant properties in Brahmi grown in hydroponic system with the nutrition solutions, KMITL 2 added containing different proportions of potassium chloride (KCl), namely 0, 0.5, 1.0 and 1.5 meq/L. The experiment presented no statistically significant differences in growth between the treatment ($p>0.05$). Beside, as for antioxidant properties, KMITL 2 solutions with KCl at 1.5 meq/L gave the highest value of TPC, DPPH as well as the highest value of TSC as for 1017.73 mg saponin/g when using ethanol as a solvent after 8 weeks. According to above mentioned experiments, Brahmi grown *in vitro* with semi – solid MS basal medium and TDZ at 0.1 – 0.4 mg/L gave the maximum capacity of TSC. The best solutions for antioxidant properties in hydroponically grown Brahmi was the KMITL 2 solution with KNO_3 3.4 meq/L or KMITL 2 at 4.4 meq/L added with KCl at 1.5 meq/L.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร.นงนุช เลาหะวิสุทธิ์ ที่ให้คำปรึกษา แนะนำ และให้แนวทางการแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นในระหว่างการทำวิทยานิพนธ์ ตลอดจนให้ความรู้และประสบการณ์ที่ดีแก่ข้าพเจ้าเสมอมา

ขอขอบพระคุณ ดร.มณีรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รศ.ดร.สมชาย หวังวิบูลย์กิจ ผศ.ดร.อัจฉรี เรืองเดช และ รศ.ดร.สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำจนในที่สุดวิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลุล่วง

ขอขอบพระคุณคุณบุปผา จงพัฒน์ ที่ให้ความช่วยเหลือและคำปรึกษาในการใช้สารเคมีตลอดจนการใช้อุปกรณ์วิทยาศาสตร์

ขอขอบพระคุณครอบครัว ที่คอยอบรมสั่งสอน และเป็นกำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์ของข้าพเจ้า

ขอขอบคุณพี่ๆ และน้องๆ หลักสูตรวิทยาศาสตร์การประมง ที่ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจในการทำงานทดลองจนวิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วง

ปิยธิดา อุณหคงคา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... III

กิตติกรรมประกาศ..... V

สารบัญ..... VI

สารบัญตาราง..... XII

สารบัญภาพ..... XV

บทที่ 1 บทนำ..... 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 1

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา..... 3

1.3 สมมุติฐานของการศึกษา..... 3

1.4 ทฤษฎีหรือแนวความคิดที่ใช้ในการวิจัย..... 3

1.5 ขอบเขตการวิจัย..... 4

1.6 ขั้นตอนของการศึกษา..... 4

บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 5

2.1 สมุนไพรพรมมิ..... 5

2.1.1 การแพร่กระจาย..... 5

2.1.2 การใช้ประโยชน์จากต้นพรมมิ..... 5

2.2 สารพฤกษเคมี..... 6

2.2.1 สารฟีนอลิก..... 7

2.2.2 สารฟลาโวนอยด์..... 8

2.2.3 สารอัลคาลอยด์..... 9

2.2.4 สารไกลโคไซด์..... 10

2.2.5 สารพฤกษเคมีที่พบในต้นพรมมิ..... 11

2.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช..... 12

2.3.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อผลิตสารทุติยภูมิ..... 12

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.4 สารไทไดแอซูรอน (Thidiazuron)..... 13

2.5 ระบบปลูกแบบไร้ดิน..... 14

2.5.1 สารละลายธาตุอาหารพืช..... 16

2.5.2 ผลของไนโตรเจนต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ..... 16

2.5.3 ผลของโพแทสเซียมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ..... 17

2.5.4 ผลของคลอไรด์ต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ..... 18

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย..... 19

3.1 พรรณไม้น้ำที่ใช้ในการทดลอง..... 19

3.1.1 เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ..... 19

3.1.2 ระบบปลูกแบบไร้ดิน..... 19

3.2 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและต้นพรมมิ..... 19

3.2.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นพรมมิ..... 19

3.2.2 การเลี้ยงต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน..... 20

3.3 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลองวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ..... 20

3.3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดสาร..... 20

3.3.2 การวิเคราะห์ total phenolic content (TPC)..... 20

3.3.3 การวิเคราะห์ total flavonoid content (TFC)..... 21

3.3.4 การวิเคราะห์ total saponin content (TSC)..... 21

3.3.5 การวิเคราะห์ 2, 2- Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)..... 21

3.3.6 การวิเคราะห์ 2, 2’ azinobiz (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) (ABTS)..... 21

3.4 วิธีดำเนินการ..... 22

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.4.1 การทดลองที่ 1 ศึกษาความเข้มข้นของสาร TDZ ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิ ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ..... 22

3.4.2 การทดลองที่ 2 ศึกษาความเข้มข้นของสาร TDZ ร่วมกับระยะเวลาการแช่ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน..... 25

3.4.3 การทดลองที่ 3 ศึกษาสารประกอบโพแทสเซียมไนเตรท (KNO_3) ในสูตรสารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิ ด้วยระบบปลูกแบบไร้ดิน..... 26

3.4.4 การทดลองที่ 4 ศึกษาการเพิ่มความเข้มข้นของสารประกอบโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) ในสูตรสารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิ ด้วยระบบปลูกแบบไร้ดิน..... 28

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล..... 30

3.6 สถานที่ทำการทดลอง..... 30

3.7 ระยะเวลาทำการทดลอง..... 30

บทที่ 4 ผลการทดลอง..... 31

4.1 ศึกษาความเข้มข้นของสาร TDZ ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิ ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ..... 31

4.1.1 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อความสูงต้นพรมมิ..... 31

4.1.2 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อจำนวนใบต้นพรมมิ..... 32

4.1.3 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อจำนวนกิ่งต้นพรมมิ..... 32

4.1.4 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อเส้นผ่านศูนย์กลางยอดกระจุกในต้นพรมมิ..... 33

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.1.5 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อจำนวนรากต้นพรมมิ..... 33

4.1.6 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อน้ำหนักในต้นพรมมิ..... 34

4.1.7 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิ..... 35

4.2 ศึกษาความเข้มข้นของสาร TDZ ร่วมกับระยะเวลาการแช่ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน..... 40

4.2.1 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ และระยะเวลาการแช่ต่อความสูงต้นพรมมิ..... 40

4.2.2 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ และระยะเวลาการแช่ต่อจำนวนกิ่งต้นพรมมิ..... 41

4.2.3 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ และระยะเวลาการแช่ต่อจำนวนใบต้นพรมมิ..... 41

4.2.4 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ และระยะเวลาการแช่ต่อจำนวนข้อต้นพรมมิ..... 41

4.2.5 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ และระยะเวลาการแช่ต่อจำนวนรากต้นพรมมิ..... 41

4.2.6 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ และระยะเวลาการแช่ต่อน้ำหนักในต้นพรมมิ..... 42

4.3 ศึกษาสารประกอบโพแทสเซียมไนเตรท ในสูตรสารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรมมิ ด้วยระบบปลูกแบบไร้ดิน..... 45

4.3.1 ผลของสารประกอบโพแทสเซียมไนเตรทต่อความสูงต้นพรมมิ..... 45

4.3.2 ผลของสารประกอบโพแทสเซียมไนเตรทต่อจำนวนกิ่งต้นพรมมิ..... 46

4.3.3 ผลของสารประกอบโพแทสเซียมไนเตรทต่อจำนวนใบต้นพรมมิ..... 46

4.3.4 ผลของสารประกอบโพแทสเซียมไนเตรทต่อจำนวนข้อต้นพรมมิ.... 47

4.3.5 ผลของสารประกอบโพแทสเซียมไนเตรทต่อน้ำหนักต้นพรมมิ..... 47

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.3.6 ผลของสารประกอบโพแทสเซียมไนเตรทต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิ เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์..... 48

4.4 ศึกษาการเพิ่มความเข้มข้นของสารประกอบโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) ในสูตรสารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิ ด้วยระบบปลูกแบบไร้ดิน.. 61

4.4.1 ผลของสารประกอบโพแทสเซียมคลอไรด์ต่อความสูงต้นพรมมิ..... 61

4.4.2 ผลของสารประกอบโพแทสเซียมคลอไรด์ต่อจำนวนกิ่งต้นพรมมิ.... 62

4.4.3 ผลของสารประกอบโพแทสเซียมคลอไรด์ต่อจำนวนใบต้นพรมมิ.... 63

4.4.4 ผลของสารประกอบโพแทสเซียมคลอไรด์ต่อจำนวนข้อต้นพรมมิ.... 63

4.4.5 ผลของสารประกอบโพแทสเซียมคลอไรด์ต่อน้ำหนักต้นพรมมิ..... 63

4.4.6 ผลของสารประกอบโพแทสเซียมคลอไรด์ต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิ เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์..... 65

บทที่ 5 วิจารณ์ผลการทดลอง..... 78

5.1 ศึกษาความเข้มข้นของสาร TDZ ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิ ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ..... 78

5.2 ศึกษาความเข้มข้นของสาร TDZ ร่วมกับระยะเวลาการแช่ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นพรมมิด้วยระบบปลูกแบบไร้ดิน..... 79

5.3 ศึกษาสารประกอบโพแทสเซียมไนเตรทในสูตรสารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิ ด้วยระบบปลูกแบบไร้ดิน..... 80

5.4 ศึกษาการเพิ่มความเข้มข้นของสารประกอบโพแทสเซียมคลอไรด์ในสูตรสารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิ ด้วยระบบปลูกแบบไร้ดิน..... 82

บทที่ 6 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ..... 84

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บรรณานุกรม..... 85

ภาคผนวก..... 96

ประวัติผู้เขียน..... 104

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3.1	ความเข้มข้นของสาร TDZ และช่วงเวลาในการแช่ต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน.....	25
3.2	ปริมาณสารเคมีที่ใช้ในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่สารประกอบ KNO_3 แตกต่างกัน (เตรียมสารละลายธาตุอาหารที่ความเข้มข้น 200 เท่า ปริมาตร 20 ลิตร).....	27
3.3	สารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่เติมสารประกอบ KCl แตกต่างกัน (เตรียมสารสารละลายธาตุอาหารที่ความเข้มข้น 200 เท่า ปริมาตร 20 ลิตร)	29
4.1	ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อความสูง (มิลลิเมตร) ของต้นพรมมิเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์.....	31
4.2	ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อจำนวนใบ (ใบต่อชิ้นเนื้อเยื่อ) ในต้นพรมมิเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์.....	32
4.3	ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อจำนวนกิ่ง (กิ่งต่อชิ้นเนื้อเยื่อ) ในต้นพรมมิเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์.....	33
4.4	ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อเส้นผ่านศูนย์กลางยอดกระจุก (มิลลิเมตร) ของต้นพรมมิเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์.....	34
4.5	ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อจำนวนราก (รากต่อชิ้นเนื้อเยื่อ) ของต้นพรมมิเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์.....	34
4.6	น้ำหนักสดและแห้ง (มิลลิกรัมต่อชิ้นเนื้อเยื่อ) ของต้นพรมมิที่เลี้ยงในอาหาร MS ร่วมกับสาร TDZ ความเข้มข้นแตกต่างกัน.....	35
4.7	ผลของความเข้มข้นสาร TDZ และช่วงเวลาการแช่ต่อความสูง จำนวนกิ่ง จำนวนใบ จำนวนข้อ และจำนวนราก ด้วยการเลี้ยงในระบบปลูกแบบไร้ดินเป็นระยะเวลา 7 วัน.....	43
4.8	ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อน้ำหนักสดและแห้ง (กรัมต่อต้น) ของต้นพรมมิ ที่เลี้ยงในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 7 วัน.....	44

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4.9	ผลของความเข้มข้นสาร KNO_3 ที่แตกต่างกันในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ต่อความสูง (เซนติเมตร) ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	45
4.10	ผลของความเข้มข้นสาร KNO_3 ที่แตกต่างกันในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ต่อจำนวนกิ่ง (กิ่งต่อต้น) ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	46
4.11	ผลของความเข้มข้นสาร KNO_3 ที่แตกต่างกันในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ต่อจำนวนใบ (ใบต่อต้น) ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	47
4.12	ผลของความเข้มข้นสาร KNO_3 ที่แตกต่างกันในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ต่อจำนวนข้อ (ข้อต่อต้น) ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	48
4.13	ผลของสาร KNO_3 ต่อน้ำหนักสดและแห้ง (กรัมต่อต้น) ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	48
4.14	ผลของสาร KNO_3 ต่อ TPC ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 %	51
4.15	ผลของสาร KNO_3 ต่อ TFC ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 %	53
4.16	ผลของสาร KNO_3 ต่อ TSC ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 %	56
4.17	ผลของสาร KNO_3 ต่อ DPPH ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 %	58
4.18	ผลของสาร KNO_3 ต่อ ABTS ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 %	61

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4.19	ผลของความเข้มข้นสาร KCl ที่แตกต่างกันในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ต่อความสูง (เซนติเมตร) ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	62
4.20	ผลของความเข้มข้นสาร KCl ที่แตกต่างกันในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ต่อจำนวนกิ่ง (กิ่งต่อต้น) ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	62
4.21	ผลของความเข้มข้นสาร KCl ที่แตกต่างกันในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ต่อจำนวนใบ (ใบต่อต้น) ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	63
4.22	ผลของความเข้มข้นสาร KCl ที่แตกต่างกันในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ต่อจำนวนข้อ (ข้อต่อต้น) ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	64
4.23	ผลของสาร KCl ต่อน้ำหนักสดและแห้ง (กรัมต่อต้น) ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	64
4.24	ผลของสาร KCl ต่อ TPC ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 %	67
4.25	ผลของสาร KCl ต่อ TFC ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 %	69
4.26	ผลของสาร KCl ต่อ TSC ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 %	72
4.27	ผลของสาร KCl ต่อ DPPH ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 %	74
4.28	ผลของสาร KCl ต่อ ABTS ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 %	77

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	ต้นพรมมิ (*Bacopa monnieri* (L.) Wettst.).....	6
2.2	โครงสร้างของ phenolic acid, caffeic acid, chlorogenic acid และ gallic acid	7
2.3	โครงสร้างของ flavonoid, luteolin, apigenin และ quercetin.....	8
2.4	โครงสร้างของ nicotine, morphine, evodiamine และ matrine.....	9
2.5	bacoside A.....	10
2.6	สารบาโคไซด์ชนิดต่างๆ ได้แก่ bacoside A_3, bacopaside I, bacopaside II, bacopaside X, bacopasaponin C, bacopaside N_2, cucurbitacin E, monnieraside III และ plantioside B.....	11
2.7	ระบบการปลูกพืชแบบไร้ดิน ได้แก่ ระบบเปิดและระบบปิด.....	15
2.8	ระบบการปลูกพืชไร้ดินแบบ deep flow technique (DFT).....	16
4.1	ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อ TPC ของต้นพรมมิในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 %.....	36
4.2	ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อ TFC ของต้นพรมมิในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 %.....	37
4.3	ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อ TSC ของต้นพรมมิในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 %.....	38
4.4	ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อ DPPH ของต้นพรมมิในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 %.....	39
4.5	ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อ ABTS ของต้นพรมมิในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 %.....	40

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.6	ผลของสาร KNO_3 ต่อ TPC ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 %	50
4.7	ผลของสาร KNO_3 ต่อ TFC ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 %	52
4.8	ผลของสาร KNO_3 ต่อ TSC ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 %	55
4.9	ผลของสาร KNO_3 ต่อ DPPH ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 %	57
4.10	ผลของสาร KNO_3 ต่อ ABTS ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 %	60
4.11	ผลของสาร KCl ต่อ TPC ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 %	66
4.12	ผลของสาร KCl ต่อ TFC ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 %	68
4.13	ผลของสาร KCl ต่อ TSC ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 %	71
4.14	ผลของสาร KCl ต่อ DPPH ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 %	73
4.15	ผลของสาร KCl ต่อ ABTS ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 %	76

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

พรมมิ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. (Sosa et al., 2018) จัดเป็นพรรณไม้น้ำชนิดหนึ่ง (Karataş and Aasim, 2014) และพืชสมุนไพร โดยมีชื่อเรียกในภาษาฮินดีว่า Brahmi ซึ่งเป็นพืชในวงศ์ Plantaginaceae ลำต้นมีลักษณะทอดเลื้อยไปตามพื้น ใบมีสีเขียว ขนาดเล็ก ดอกสีขาวหรือม่วงอ่อน พบได้ตามบริเวณที่ชื้นแฉะ น้ำท่วมถึง เป็นพืชพื้นเมืองของประเทศอินเดีย และสามารถพบได้ในประเทศเขตร้อนบริเวณใกล้เคียง (Devendra et al., 2018) พรมมิเป็นสมุนไพรทางการแพทย์ที่ถูกจัดเป็นยาอายุรเวทตั้งแต่สมัยโบราณ ใช้รักษาโรคลมชัก หอบหืด แผลอักเสบ บรรเทาอาการปวด บวม (Rai et al., 2017) เป็นยารักษาโรคผิวหนัง ยาบำรุงร่างกาย บรรเทาอาการโรคไขข้อ โรคหลอดลมอักเสบชนิดรุนแรง และโรคไข้หวัด (Gubbannavar et al., 2013) ในขณะเดียวกัน พรมมิยังมีสรรพคุณช่วยบำรุงสมอง ส่งเสริมความจำ และช่วยให้สุขภาพจิตดีขึ้น เนื่องจาก พบสารซาโปนิน (saponin) มีชื่อเฉพาะ เรียกว่า บาโคไซด์ (Bacoside) (Mohan et al., 2011) โดย Bhattacharya et al. (2000) ได้ทำการทดสอบสาร bacoside จากต้นพรมมิ ในหนูทดลอง พบว่า สารชนิดนี้ช่วยดูแลระบบประสาทส่วน hippocampus ของหนูทดลอง ที่การใช้ในปริมาณ 5 ถึง 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม นอกจากนี้ยังมีรายงานของ Rajan et al. (2015) พบว่า พรมมิสามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยา ได้แก่ สารสำคัญในกลุ่มสารประกอบอัลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แทนนิน และฟีนอลิก ซึ่งสารประกอบดังกล่าวเป็นสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติ หรือสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) มีบทบาทในการป้องกันโรคที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกาย เช่น โรคหัวใจ โรคหลอดเลือดหัวใจ เป็นต้น (เอนก และบุณยกฤต, 2560)

ปัจจุบันการขยายพันธุ์พืชด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นวิธีเพิ่มจำนวนต้นได้ในระยะเวลาอันสั้น โดยใช้ชิ้นส่วนเริ่มต้นเพียงเล็กน้อยและได้ผลผลิตที่มีความสมบูรณ์ปราศจากโรค (อนุพันธ์ และ พันธิตรา, 2549) ซึ่งการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาขึ้นอยู่กับการใช้ สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth regulators; PGRs) ทำหน้าที่กระตุ้นการเจริญเติบโตและสร้างสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิ ซึ่งบางชนิดพืชสามารถสร้างขึ้นเองได้ แต่บางชนิดเป็นสารเคมีที่มนุษย์สังเคราะห์ขึ้น (Basra, 2000) เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการ

เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Dörnenburg and Knorr, 1995) สารไทไดแอซูรอน (Thidiazuron ; TDZ) เป็น PGRs ที่ถูกสังเคราะห์ขึ้น มีลักษณะเป็นผลึกสีเหลืองอ่อน ละลายในเอทานอล (Murthy et al., 1998) เป็นอนุพันธ์ฟีนิลยูเรีย (phenyl urea) มีคุณสมบัติเป็นสารยับยั้ง cytokinin oxidase (Mok et al., 2000) ช่วยกระตุ้นลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืชให้พัฒนาเป็นแคลลัส ยอด และราก (Malik and Saxena, 1992) จากงานทดลองของ Rawat et al. (2013) ที่ใช้ PGRs กลุ่ม cytokinin ร่วมกับอาหารกึ่งแข็ง MS (Murashige and Skoog, 1962) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสมุนไพร *Aconitum violaceum* พบว่า สารกลุ่มนี้ชักนำให้เกิดยอดและสร้างสาร เมแทบอไลท์ทุติยภูมิได้ เช่นเดียวกับ Siddique and Anis (2007) ได้ทำการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสมุนไพร *Ocimum basilicum* ในอาหาร MS ชนิดเหลว ร่วมกับ TDZ แสดงให้เห็นว่า ที่ความเข้มข้น TDZ 11 mg/L ชักนำให้เกิดยอดกระจุก (multiple shoot) นอกจากการนำ PGRs มาใช้เติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแล้ว ในสภาวะการเพาะเลี้ยงภายนอกห้องปฏิบัติการสามารถใช้วิธีอื่นได้เช่นกัน ซึ่งวิธีการที่นิยมใช้โดยที่ไม่เปลืองสารและสามารถนำสารกลับมาใช้ซ้ำได้ คือ การแช่ โดยใช้น้ำหรือเอทานอลเป็นตัวทำละลาย (อรุณี, 2559) สภาวะการเพาะเลี้ยงภายนอกห้องปฏิบัติการที่พบได้ในปัจจุบัน คือ การเลี้ยงในระบบปลูกแบบไร้ดิน (hydroponics) ซึ่งสามารถควบคุมสภาพแวดล้อมได้ มีโอกาสเพิ่มปริมาณสารพฤกเคมีได้ และป้องกันการใช้สารเคมีทางการเกษตร เช่น ยาฆ่าแมลง (Wei et al., 2018) โดยในการเลี้ยงประเภทนี้ใช้วิธีให้สารละลายธาตุอาหารแก่พืช ในขณะเดียวกันธาตุอาหารที่ให้พืชมีทั้งธาตุอาหารหลักและรอง ซึ่งธาตุไนโตรเจนและโพแทสเซียมเป็นธาตุอาหารหลักที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและสร้างสารพฤกษเคมีในพืช (เลิศภูมิ, 2557) สารไนโตรเจนที่นิยมใช้มักอยู่ในรูปของเกลือ เช่น ไนเตรท เนื่องจาก มีคุณสมบัติชักนำให้เกิดการสร้างสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิ (Zhu et al., 2014) ส่วนโพแทสเซียมมีคุณสมบัติเกี่ยวข้องกับการสร้างสมดุลในเซลล์ เพื่อให้เกิดการดูดซับสารอาหารได้ดียิ่งขึ้น การเคลื่อนตัวของคาร์โบไฮเดรต และควบคุมการสร้างสารประกอบ phenylpropanoid ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของสารประกอบฟีนอลิก (Díaz-Méndez et al., 2018)

ดังนั้นการศึกษาความเข้มข้นของสาร TDZ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการใช้สารประกอบโพแทสเซียมไนเตรท และโพแทสเซียมคลอไรด์ ในระบบการปลูกแบบไร้ดิน ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิ เพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพคงที่ สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในทางการเกษตร ระดับครัวเรือนและชุมชน และสามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการต่อยอดผลผลิตทางอุตสาหกรรม และทางเภสัชวิทยาได้

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาความเข้มข้นของ TDZ ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิ ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1.2.2 เพื่อศึกษาความเข้มข้นของสาร TDZ ร่วมกับระยะเวลาการแช่ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน

1.2.3 เพื่อศึกษาสารประกอบโพแทสเซียมไนเตรท (KNO_3) ในสูตรสารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิด้วยระบบปลูกแบบไร้ดิน

1.2.4 เพื่อศึกษาการเพิ่มความเข้มข้นของสารประกอบโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) ในสูตรสารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิด้วยระบบปลูกแบบไร้ดิน

1.3 สมมุติฐานของการศึกษา

1.3.1 สาร TDZ มีผลต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นพรมมิ

1.3.2 สาร TDZ และระยะเวลาการแช่ มีอิทธิพลร่วมกันต่อการเจริญเติบโตของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน

1.3.3 การลดและเพิ่ม สาร KNO_3 ในสูตรสารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 มีผลต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรมมิ ในระบบปลูกแบบไร้ดิน

1.3.4 การเพิ่มสาร KCl ในสูตรสารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 มีผลต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรมมิ ในระบบปลูกแบบไร้ดิน

1.4 ทฤษฎีหรือแนวความคิดที่ใช้ในการวิจัย

ผลผลิตของสมุนไพรพรมมิที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ทั้งภาคครัวเรือนและภาคอุตสาหกรรม โดยใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการผลิต เพื่อศึกษาปัจจัยการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ ภายใต้สภาวะการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช โพแทสเซียมไนเตรท และโพแทสเซียมคลอไรด์

1.5 ขอบเขตการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้ประกอบด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นพรมมิเพื่อหาปริมาณความเข้มข้นของการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช คือ สาร TDZ ที่ความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ ต่อจากนั้นจึงนำความเข้มข้น TDZ ที่เหมาะสมมาทำการศึกษาภายนอกห้องปฏิบัติการด้วยการแช่ TDZ ร่วมกับระยะเวลาการแช่ ในระบบปลูกแบบไร้ดิน เมื่อได้ความเข้มข้น TDZ และช่วงเวลาที่เหมาะสมแล้วจึงใช้สารละลายธาตุอาหารพืชในรูปของสารประกอบโพแทสเซียมไนเตรทและโพแทสเซียมคลอไรด์ กระตุ้นการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน

1.6 ขั้นตอนของการศึกษา

ในการศึกษาครั้งนี้สามารถแบ่งออกเป็น 4 ขั้นตอน ได้แก่

1.5.1 ศึกษาการใช้สาร TDZ ที่ความเข้มข้น 0 – 6.4 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) เติมลงในอาหารกึ่งแข็ง MS เพื่อเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นพรมมิในห้องปฏิบัติการ หลังจากนั้นศึกษาการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ

1.5.2 ศึกษาการใช้สาร TDZ ที่ความเข้มข้น 0 – 0.4 mg/L ร่วมกับระยะเวลาการแช่ที่ 6 – 24 ชั่วโมง โดยทดลองภายนอกห้องปฏิบัติการ หลังจากนั้นศึกษาการเจริญเติบโตของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน

1.5.3 ศึกษาการใช้สาร KNO_3 ที่ความเข้มข้น 3.4 – 5.4 meq/L ในสูตรสารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน

1.5.4 ศึกษาการเพิ่มสาร KCl ที่ความเข้มข้น 0 – 1.5 meq/L ในสูตรสารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน

บทที่ 2
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สมุนไพรพรมมิ

ต้นพรมมิ จัดเป็นพืชในชั้น Magnoliidae วงศ์ Plantaginaceae สกุล *Bacopa* ชนิด *monnieri* (Wettstein, 2020 ; Lansdown, 2020) พรมมิ (ภาพที่ 2.1) เป็นพืชสมุนไพรที่จัดเป็นพรรณไม้น้ำ มีชื่อเรียกในภาษาฮินดีว่า Brahmi และมีชื่อเรียกในภาษาอังกฤษว่า Water hyssop (Rai et al., 2017) ลำต้นกลม มีสีเขียว มักขึ้นราบขนานไปกับพื้น ใบออกตรงข้ามกันเป็นคู่และตั้งฉากกับคู่ถัดไป แผ่นใบมีสีเขียวสด เป็นรูปไข่มีฐาน ไม่มีก้านใบ ไม่มีเส้นใบย่อย ปลายใบมน ขอบใบเรียบ ขนาดประมาณ 1-2 เซนติเมตร (ยุพา, 2534) ดอกออกตามซอกใบ เป็นดอกเดี่ยว ก้านดอกยาว 1 - 2 เซนติเมตร มีใบประดับรูปแถบจำนวน 2 ใบ ยาว 2 - 3 มิลลิเมตร วงกลีบเลี้ยงเป็นรูปแฉกปลายกลมหรือแหลมจำนวน 5 กลีบ ขนาด 1.0 - 1.5 เซนติเมตร ฐานดอกด้านข้างรูปไข่ 2 แฉก ปลายแหลม ขนาด 1 เซนติเมตร ส่วนด้านในเป็นรูปแถบ ปลายแหลม ขนาด 3-5 เซนติเมตร กลีบดอกเรียบ มีสีขาวหรือม่วงอ่อน ขนาด 7 - 8 มิลลิเมตร ภายในดอกประกอบด้วยเกสรตัวผู้ 4 อัน และเกสรตัวเมีย 1 อัน ผลรูปไข่ ปลายแหลม ขนาด 5 - 7 มิลลิเมตร (Sosa et al., 2018)

2.1.1 การแพร่กระจาย

ต้นพรมมิ จัดเป็นพืชพื้นเมืองของประเทศอินเดีย และประเทศเขตร้อนอื่นๆ เช่น เนปาล ศรีลังกา จีน ไต้หวัน และเวียดนาม นอกจากนี้ยังสามารถพบได้ในทวีปอเมริกาเหนือ รัฐฟลอริดา และทางตอนใต้ของประเทศสหรัฐอเมริกา สมุนไพรชนิดนี้มักพบบริเวณที่ลุ่มมีน้ำขัง และบริเวณที่น้ำท่วมถึง เจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิ 30 ถึง 40 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 ถึง 80 % และยังพบที่ความสูงเหนือระดับน้ำทะเล 4,000 ฟุต โดยทุกส่วนของต้นพรมมิสามารถนำมาใช้เป็นยาได้ (Rai et al., 2017 ; Devendra et al., 2018)

2.1.2 การใช้ประโยชน์จากต้นพรมมิ

ต้นพรมมิ เป็นพืชสมุนไพรที่ถูกจัดอยู่ในคัมภีร์อายุรเวทโบราณมามากกว่า 3000 ปี และในปัจจุบันพรมมิได้นำมาใช้เป็นยา เนื่องจาก มีสารซาโปนิน ชื่อว่า Bacoside ที่มีคุณสมบัติในการบำรุงระบบสมองและความจำ ลดความเสี่ยงการเกิดโรคอัลไซเมอร์ นอกจากนี้ยังช่วยรักษาอาการของโรคพาร์กินสัน บรรเทาอาการปวด รักษาโรคซึมเศร้า หอบหืด ช่วยขยายหลอดลม บรรเทาอาการอักเสบ ต้านเชื้อแบคทีเรีย มะเร็ง รักษาอาการภูมิแพ้ เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เป็นต้น

ทุกส่วนของต้นพรมมิสามารถนำมาใช้ประโยชน์ทางเภสัชวิทยาได้ โดยสามารถนำมาใช้เป็นยารักษาความผิดปกติของระบบประสาทและอารมณ์ เช่น ลดอาการหูแว่ว อาการวิตกกังวล ช่วยให้นอนหลับสบาย นอกจากนั้นยังใช้รักษาโรคผิวหนัง เป็นยาบำรุงร่างกาย และอีกหนึ่งคุณสมบัติเฉพาะของใบพรมมิ คือ เมื่อนำมาสกัดเป็นน้ำสามารถใช้เป็นยาทาแก้ปวด บวม อันเกิดจากโรคไขข้ออักเสบ ใช้เป็นยารักษาโรคหวัด และหลอดลมอักเสบชนิดรุนแรงได้เช่นกัน การบริโภคพรมมิในผู้ใหญ่ ควรบริโภคในปริมาณ 200 - 400 มิลลิกรัมต่อวัน และเด็ก ควรบริโภค 100 - 200 มิลลิกรัมต่อวัน (Gubbannavar et al., 2013 ; Devendra et al., 2018)

ภาพที่ 2.1 ต้นพรมมิ (*Bacopa monnieri* (L.) Wettst.)

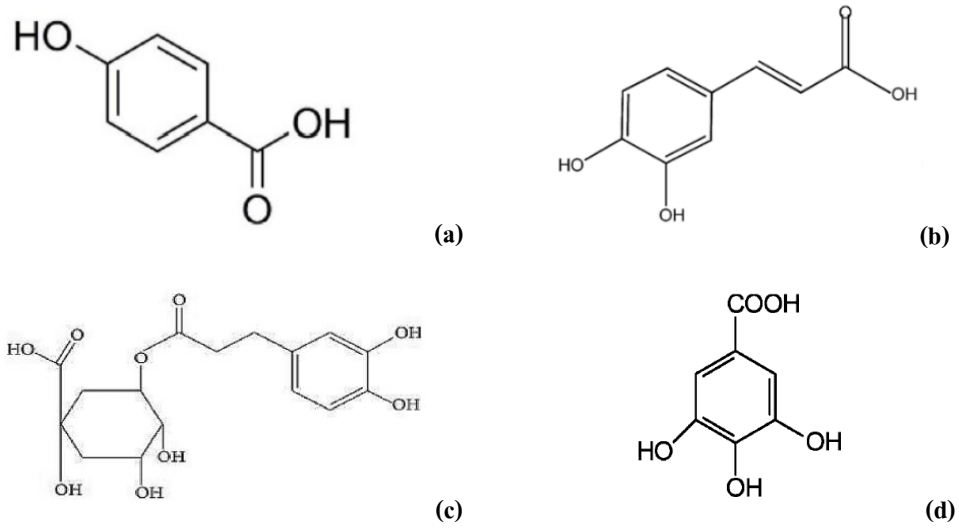
2.2 สารพฤกษเคมี (phytochemical)

สารพฤกษเคมี เป็นสารกลุ่มใหญ่ที่พบได้ในพืชและสมุนไพร โดยส่วนมากมักเป็นสารทุติยภูมิที่พืชสังเคราะห์ขึ้น โครงสร้างมีความซับซ้อน และมีแนวโน้มให้อิเล็กตรอนได้ดี (เฉลิมขวัญ, 2559) เช่น สารฟลาโวนอยด์ ลิกนิน แคโรทีนอยด์ แทนนิน อัลคาลอยด์ สารประกอบโพลีฟีนอล และสารกลุ่มเอสโตรเจนจากพืช (เอกชัย, 2558) ซึ่งในกลุ่มพืชสมุนไพร สารพฤกษเคมีที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพสำคัญที่สุด ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ต้านออกซิเดชัน เพิ่มภูมิคุ้มกันให้แก่ร่างกาย สารอัลคาลอยด์ มีฤทธิ์ต้านมะเร็ง ต้านการอักเสบ สารแอนทราควิโนนไกลโคไซด์ มีฤทธิ์เป็นยาระบาย เป็นต้น และอีกหนึ่งคุณสมบัติที่สำคัญคือเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติที่มีประสิทธิภาพ (ถาวรีย์ และพนิดา, 2562) ในการศึกษา

องค์ประกอบของสารพฤกษเคมีนอกจากเพื่อประโยชน์ทางเภสัชวิทยาแล้ว ยังสามารถใช้เป็นสารกำจัดศัตรูพืชได้ เนื่องจาก ราคาไม่สูง เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากธรรมชาติจึงไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม (Velu et al., 2015)

2.2.1 สารฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิก เป็นกลุ่มสารทุติยภูมิ ที่พบได้ทั่วไปในพืช ผัก ผลไม้ ชา เป็นต้น ส่วนใหญ่พบในรูปของอนุพันธ์หรือไอโซเมอร์ ซึ่งสารเหล่านี้มีฤทธิ์ต้านสภาวะการเกิดออกซิเดชัน ป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง และความดันโลหิต เป็นต้น โดยสารในกลุ่มนี้มีคุณประโยชน์ทางเภสัชวิทยา ต้านสภาวะการอักเสบ สามารถกำจัดอนุมูลอิสระ และช่วยปรับระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย เนื่องจากโครงสร้างของสารมีความเสถียรจึงสามารถป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดลิโนเลอิก และ low-density lipoprotein (LDL) ได้ ป้องกันเนื้อเยื่อ โครงสร้างเซลล์ เช่น เยื่อหุ้มเซลล์ เอนไซม์ และส่วนอื่นๆในร่างกายจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ส่วนมากสารเหล่านี้พบได้ในพืชที่นำมาเป็นอาหาร โดยสารประกอบฟีนอลิกกลุ่มหนึ่งที่ถูกสร้างขึ้นมีชื่อเรียกว่า กรดฟีนอลิก เช่น gallic acid, caffeic acid, ferulic acid, chlorogenic acid และ coumaric acid เป็นต้น (ภาพที่ 2.2)ในธรรมชาติพบได้มากถึง 8,000 ชนิด โครงสร้างประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิลเกาะอยู่กับวงแหวนเบนซีน (ลือชัย, 2555 และ Muszyńska et al., 2016)

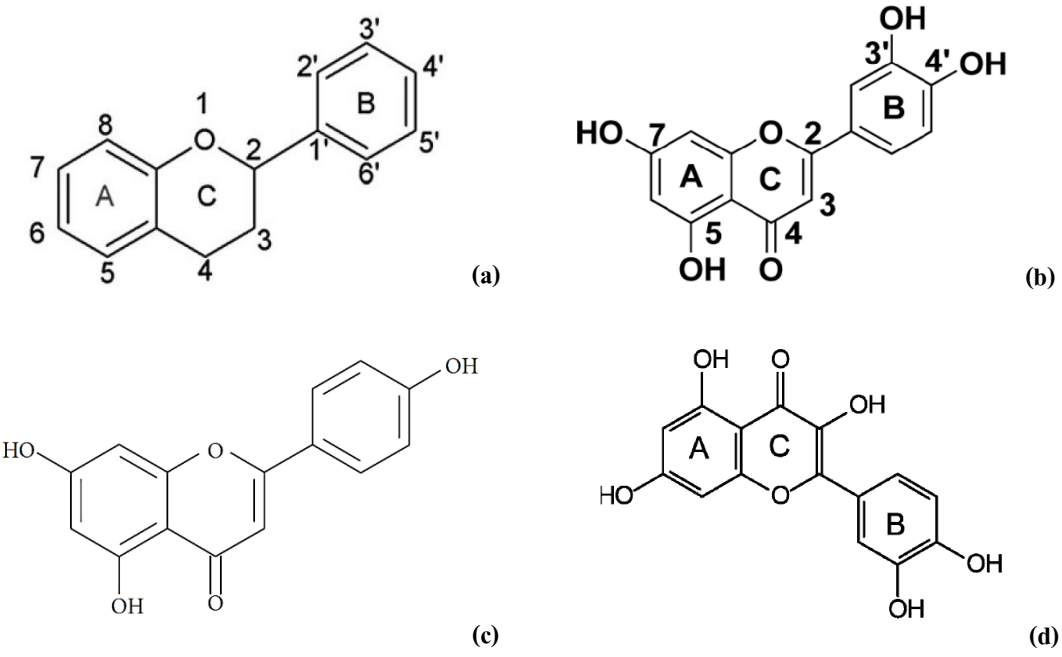


ภาพที่ 2.2 โครงสร้างของ phenolic acid (a), caffeic acid (b), chlorogenic acid (c) และ gallic acid (d)

ที่มา : López et al. (2003) ; Naveed et al. (2018) ; Ahmad et al. (2019)

2.2.2 สารฟลาโวนอยด์

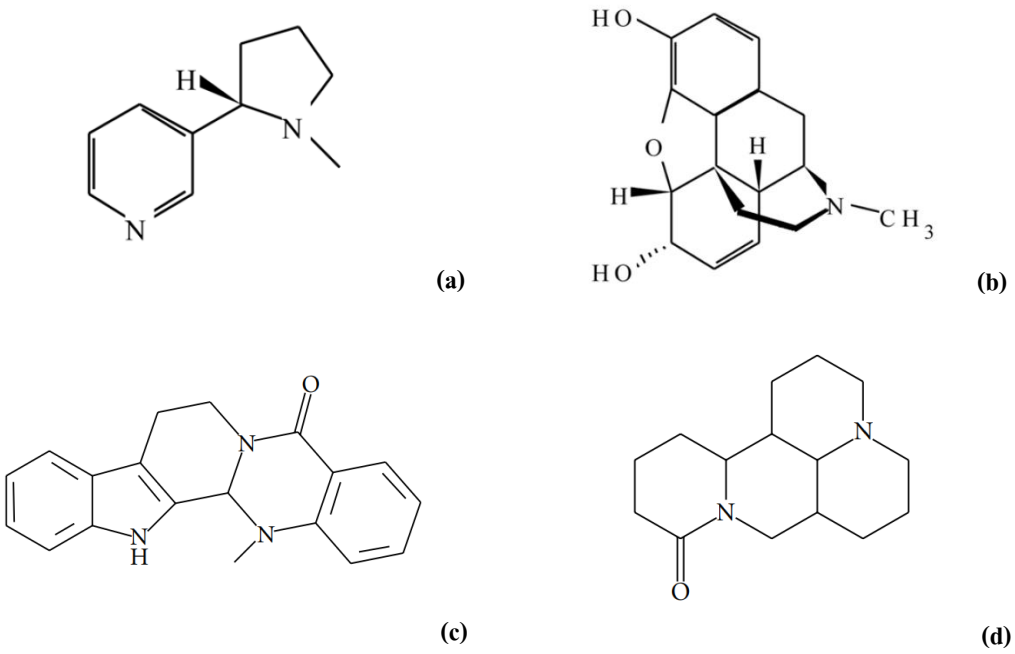
สารประกอบฟลาโวนอยด์ เป็นสารจากธรรมชาติพบได้ในพืชจำพวกผัก ผลไม้ โครงสร้างพื้นฐานเป็นฟีนิลเบนโซไพโรน (phenylbenzopyrones) ประกอบด้วยคาร์บอน 15 ตัว (C_6-C_3-C_6) จัดเรียงเป็น 3 ring เรียกเป็น ring A, B และ C โดย ring A และ B เป็นวงเบนซีน (benzene ring) ส่วน ring C เป็น heterocyclic pyran ring ซึ่งอยู่ตรงกลางของโครงสร้าง ในธรรมชาติสารเหล่านี้พบมากกว่า 4,000 ชนิด รองลงมาจากสารฟีนอลิก ส่วนใหญ่สารฟลาโวนอยด์ที่พบมักอยู่ในรูปของไกลโคไซด์ ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่ หรือมากกว่า ในโมเลกุลของสารจะเกิดพันธะกับน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และคุณสมบัติที่สำคัญของฟลาโวนอยด์ คือเป็นสารสีที่ทำหน้าที่ปกป้องพืชจากรังสีอัลตราไวโอเลต (ณัฐนนท์ และชญาดา, 2559) นอกจากนี้ยังถูกจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติซึ่งทำหน้าที่ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกายที่มีประสิทธิภาพเหนือกว่าการใช้วิตามิน (Justesen and Knuthsen, 2001) สารในกลุ่มนี้ ได้แก่ quercetin, luteolin, apigenin และ catechin เป็นต้น (ภาพที่ 2.3)



ภาพที่ 2.3 โครงสร้างของ flavonoid (a), luteolin (b), apigenin (c) และ quercetin (d)
ที่มา : López et al. (2003) ; Lin et al. (2008) ; Glowacki et al. (2016) ; Panche et al. (2016)

2.2.3 สารอัลคาลอยด์

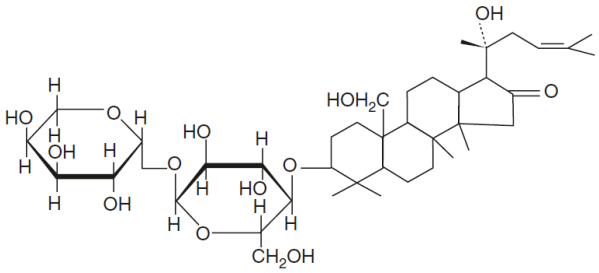
อัลคาลอยด์ คือ กลุ่มสารอินทรีย์ที่มีธาตุไนโตรเจนอยู่ภายในโมเลกุล โดยอาจมี 1 หรือมากกว่าก็ได้ ไนโตรเจนในอัลคาลอยด์เกิดจากกรดอะมิโนซึ่งเป็นสารตั้งต้นในชีวสังเคราะห์ โดยทั่วไปมีคุณสมบัติเป็นด่าง แต่จะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับจำนวนไนโตรเจนภายในโมเลกุล (ประไพรัตน์, 2555) มีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยา ใช้เป็นยาระงับปวด ยาแก้ไอ แก้หอบหืด รักษาแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้ ยาลดความดัน เป็นต้น (อุดมเดชา, 2556) นอกจากนี้ยังสารกลุ่มอัลคาลอยด์ยังเป็นสารจากพืชที่ถูกนำไปเป็นยารักษามะเร็ง ชื่อว่า vinblastine (Lu et al., 2012) ในธรรมชาติพบได้ในกลุ่มพืชชั้นสูง ตามส่วนต่างๆ เช่น ใบ ดอก ผล เมล็ด ราก เป็นต้น อัลคาลอยด์ยังทำหน้าที่เป็นแหล่งสะสมไนโตรเจนเพื่อสร้างโปรตีน ควบคุมการเจริญเติบโตหรือการงอกของเมล็ดพืช ส่วนใหญ่สารนี้มีรสขมและมีพิษ ซึ่งอาจเกิดขึ้นจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของพืช การแบ่งกลุ่มของอัลคาลอยด์สามารถแบ่งได้ตามโครงสร้างทางเคมี 2 กลุ่มหลัก คือ อัลคาลอยด์ที่มีไนโตรเจนอยู่นอกวง และอัลคาลอยด์ที่มีไนโตรเจนเป็นส่วนหนึ่งของวง (ประไพรัตน์, 2555) ตัวอย่างสารในกลุ่มนี้ ได้แก่ nicotine, morphine, evodiamine และ matrine เป็นต้น (ภาพที่ 2.4) (Lu et al., 2012 ; Ncube and Staden, 2015)



ภาพที่ 2.4 โครงสร้างของ nicotine (a), morphine (b), evodiamine (c) และ matrine (d)
ที่มา : Lu et al. (2012) ; Ncube and Staden, (2015)

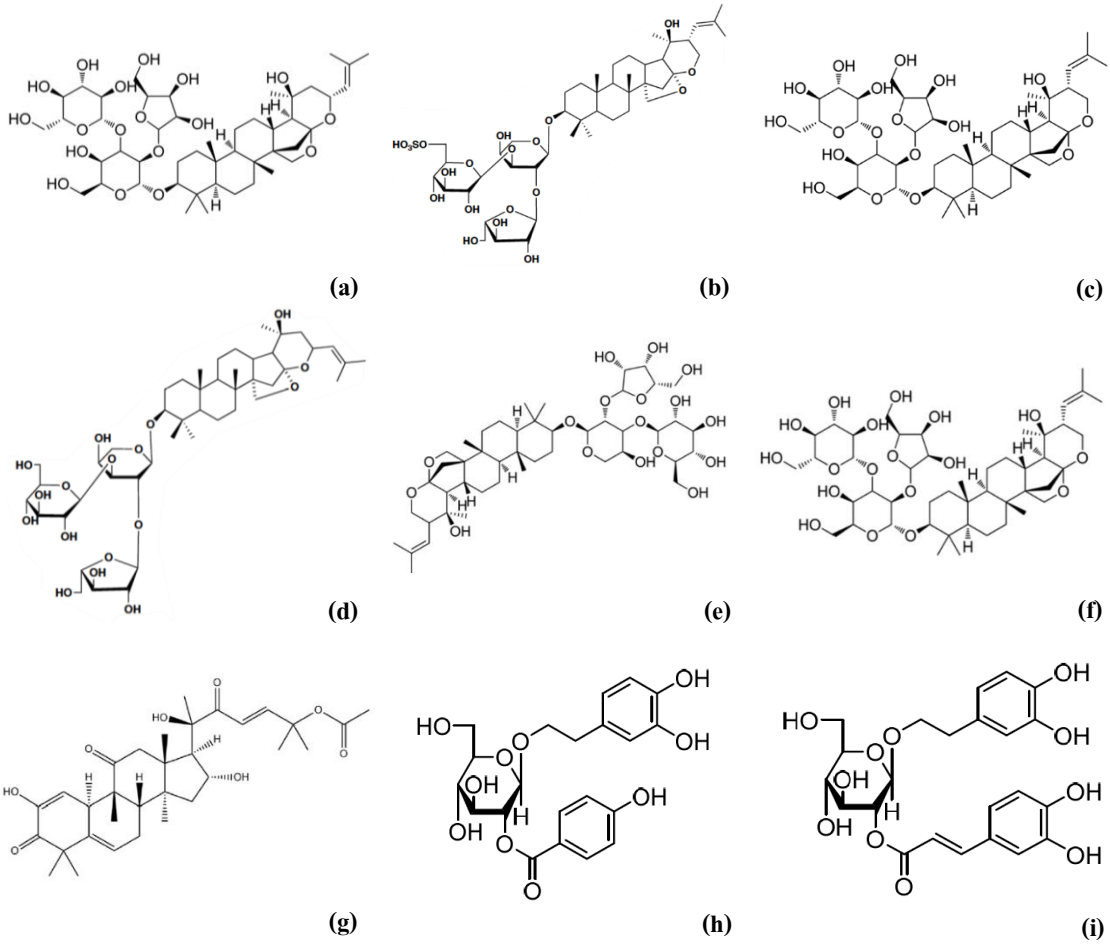
2.2.4 สารไกลโคไซด์

ไกลโคไซด์ เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีโครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยส่วน aglycone หรือ genin จับกับน้ำตาลหรืออนุพันธ์ของน้ำตาล (glycone) โดยทั่วไปจะสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายมีขั้ว ขึ้นกับจำนวนและชนิดน้ำตาลของโครงสร้าง aglycone เมื่อทำปฏิกิริยา hydrolysis จะเกิดการสลายพันธะที่เชื่อมต่อระหว่าง aglycone และ glycone ปกติ aglycone ของไกลโคไซด์มีโครงสร้างแตกต่างกันและนิยมใช้เป็นหลักในการจำแนกประเภท ไกลโคไซด์ถูกจัดเป็นสารกลุ่มใหญ่ที่นำมาใช้ประโยชน์ โดยมักพบในพืชธรรมชาติ มีสรรพคุณทางเภสัชวิทยา เช่น ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย รา บรรเทาสภาวะสมองเสื่อม บำรุงความจำ บรรเทาอาการเกี่ยวกับโรคหัวใจและหลอดเลือด เป็นต้น กลุ่มไกลโคไซด์ที่พบบ่อย ได้แก่ cardiac glycoside, saponin glycoside, antraquinone glycoside, cyanogenic glycoside, isothiocyanate glycoside, flavonoid glycoside และ coumarin glycoside (ลือชัย, 2555) ซึ่งสารซาโปนิน ถูกจัดอยู่ในกลุ่มของไกลโคไซด์เช่นเดียวกัน โดยมักพบในพืชสมุนไพร เช่น ต้นพรมมิ ที่มี aglycone เป็น steroid หรือ triterpenoid โครงสร้างโมเลกุล คือ $C_{57}H_{90}O_{26}$ (Kamkaew et al., 2019) มีชื่อเรียกเฉพาะว่า bacoside ซึ่ง bacoside a (ภาพที่ 2.5) เป็นสารหลักที่พบ ถูกจัดในสารกลุ่ม triterpenoid saponin ชนิด dammarane ร่วมกับส่วนหนึ่งของ jujubogenin หรือ pseudojujubogenin (Ramasamy et al., 2015) บาโคไซด์ที่พบจำนวนมาก คือ Bacosaponin 6 ชนิด ได้แก่ Bacoside A_3, Bacopaside II, Bacopaside I, Bacopaside X, Bacopasaponin C และ Bacopaside N_2 สารที่พบรองลงมา คือ สารกลุ่มสเตียรอยด์ ที่อยู่ในรูปไกลโคไซด์ มีชื่อเรียกว่า คิวเคอร์บิทาซิน (cucurbitacins) ได้แก่ Bacitracin A-D และ Cucurbitacin E นอกจากนี้ยังพบ phenylethanoid glycoside ได้แก่ Monnieraside I, Monnieraside III และ Plantioside B (ภาพที่ 2.6) (Bhandari et al., 2007 ; Naik et al., 2012 ; Rajan et al., 2015 ; Jain et al., 2017 ; Lal and Baraik, 2019)



ภาพที่ 2.5 bacoside A

ที่มา : Vishwakarma et al. (2016)



ภาพที่ 2.6 สารบาโคไซด์ชนิดต่างๆ ได้แก่ bacoside A_3 (a), bacopaside I (b), bacopaside II (c), bacopaside X (d), bacopasaponin C (e), bacopaside N_2 (f), cucurbitacin E (g), monnieraside III (h) และ plantioside B (i)

ที่มา : Nakashima et al. (2016) ; Chanda et al. (2019) ; Sekhar et al. (2019) ; Sukumaran et al. (2019)

2.2.5 สารพฤกษเคมีที่พบในต้นพรมมิ

สารสำคัญที่สามารถพบได้ในต้นพรมมิ สามารถจำแนกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ สารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ อัลคาลอยด์ และไกลโคไซด์ ดังนี้

2.2.5.1 สารฟีนอลิก (phenolic compound) ได้แก่ chlorogenic acid, neochlorogenic acid และ caffeic acid ซึ่งเรียกโดยรวมว่าสารประกอบฟีนอลิก (Muszyńska et al., 2016 และ Jain et al., 2017)

2.2.5.2 สารฟลาโวนอยด์ (flavonoid) ได้แก่ luteolin และ apigenin (Jain et al., 2017 ; Kamkaew et al., 2019)

2.2.5.3 สารอัลคาลอยด์ (alkaloid) ได้แก่ brahmine, nicotine และ herpestine (Al-Snafi, 2013 ; Rajan et al., 2015 ; Jain et al., 2017 ; Thorat et al., 2018)

2.2.5.4 สารไกลโคไซด์ (glycoside) พบสารซาโปนิน (saponin) ที่มีชื่อเฉพาะ เรียกว่า บาโคไซด์ (Bacoside) ซึ่ง บาโคไซด์ที่พบจำนวนมาก คือ Bacosaponin 6 ชนิด ได้แก่ Bacoside A_3, Bacopaside II, Bacopaside I, Bacopaside X, Bacopasaponin C และ Bacopaside N_2 สารที่พบรองลงมา คือ สารกลุ่มสเตียรอยด์ ที่อยู่ในรูปไกลโคไซด์ มีชื่อเรียกว่า คิวเคอร์บิทาซิน (cucurbitacins) ได้แก่ Bacitracin A-D และ Cucurbitacin E นอกจากนี้ยังพบ phenylethanoid glycoside ได้แก่ Monnieraside I, Monnieraside III และ Plantioside B (Bhandari et al., 2007 ; Naik et al., 2012 ; Rajan et al., 2015 ; Jain et al., 2017 ; Lal and Baraik, 2019)

2.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คือ วิธีการขยายพันธุ์พืชด้วยการนำชิ้นส่วนของพืชที่ยังมีชีวิตอยู่ ได้แก่ ปลายยอด ตาข้าง ก้านช่อดอก ใบ ก้านใบ ลำต้น อับละอองเกสร เมล็ด เป็นต้น มาเพาะเลี้ยงลงบนอาหารสังเคราะห์ในสภาพปลอดเชื้อที่มีการควบคุมสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิและแสง โดยชิ้นส่วนของพืชนั้นสามารถเจริญเติบโตและพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ ซึ่งมีทั้ง ส่วนใบ ลำต้น และรากที่สามารถย้ายออกปลูกในสภาพธรรมชาติได้ เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้กับงานทางด้านชีววิทยา เภสัชวิทยา เกษตรกรรม อุตสาหกรรม และการแพทย์ ซึ่งพืชบางชนิดสามารถให้สารที่มีคุณสมบัติทางยาหรือมีประโยชน์ทางด้านเภสัชกรรม แต่ในบางครั้งปริมาณสารที่ต้องการมีอยู่ในปริมาณน้อยมาก และการเก็บพืชสมุนไพรออกมาจากป่าเป็นจำนวนมากและบ่อยครั้ง อาจทำให้สมุนไพรนั้นสูญพันธุ์ไป จึงต้องใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์หรือเนื้อเยื่อพืชมาช่วยในการผลิตเพื่อลดการเก็บสมุนไพรออกจากป่า โดยนำชิ้นส่วนพืชมาเลี้ยงในสภาพแวดล้อมและอาหารที่เหมาะสมก็อาจชักนำให้เกิดการสังเคราะห์สารที่ต้องการได้มากขึ้น ต้นพืชที่ได้ในหลอดทดลองนั้นสามารถนำมาศึกษาทางชีวเคมีและสรีรวิทยาของพืช เพื่อที่จะสามารถติดตามการพัฒนาและการเปลี่ยนแปลงได้ง่าย (เพชรรัตน์, 2556)

2.3.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อผลิตสารทุติยภูมิ (secondary metabolite)

พืชบางชนิดสามารถให้สารที่มีคุณสมบัติทางยาหรือมีประโยชน์ทางด้านเภสัชกรรม อุตสาหกรรม รวมทั้งการแพทย์ โดยได้ถูกนำมาใช้เป็นยา อาหารเสริม รวมถึงการนำมาใช้ในการแต่งสี กลิ่น ในเครื่องสำอาง สารที่ถูกนำมาใช้เหล่านี้จัดเป็นสารทุติยภูมิ โดยปกติพืชจะสร้างสารทุติยภูมิเพื่อทำหน้าที่ป้องกันตัวเองจากการบุกรุกจากเชื้อจุลินทรีย์ แมลง และสัตว์ต่างๆที่มารบกวน

หรือบุกรุก ทำให้พืชสามารถปรับตัวเพื่อดำรงชีวิตในสภาพแวดล้อมได้ โดยสารทุติยภูมิที่พบในพืชส่วนใหญ่จะพบในปริมาณที่ต่ำ สารทุติยภูมิกลุ่ม ต่างๆที่พบในพืช ได้แก่ อัลคาลอยด์ เทอร์พีนอยด์ ฟีนอลิก สเตอรอยด์ ฟลาโวนอยด์ เป็นต้น มีการศึกษาพบว่า สารทุติยภูมิในพืชเป็นสารที่มีฤทธิ์ทางยาและถูกนำมาใช้ในการรักษาโรค ปัจจุบันความกาวหน้าทางเทคโนโลยีชีวภาพได้พัฒนาไปอย่างรวดเร็ว เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจึงถูกนำมาประยุกต์ใช้ในงานการขยายพันธุ์พืชสมุนไพรเพื่อเพิ่มปริมาณ และ ให้ได้สายพันธุ์ที่สามารถสร้างสารที่มีฤทธิ์ทางยาสูงในระยะเวลาสั้น และมีคุณภาพดีทำให้มีประโยชน์ในเชิงการค้า โดยเฉพาะสมุนไพรที่มีข้อจำกัดในการขยายพันธุ์ในธรรมชาติ หรือปัจจัยอื่นๆ ซึ่งการเพาะเลี้ยงอาจได้จากการนำชิ้นส่วนพืช (explants) หรืออวัยวะพืชที่เป็นเนื้อเยื่อเจริญ เช่น ปลายยอด (shoot tip) หรือตาข้าง (axillary bud) มาเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อให้มีการเจริญและพัฒนาไปเป็นต้นจำนวนมากเพื่อนำไปปลูกและขยายพันธุ์ต่อไป หรือได้จากการนำชิ้นส่วนใบ ราก และลำต้น มาชักนำให้เกิดแคลลัส และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นยอดพิเศษ (adventitious shoot) จากนั้นจึงทำให้เกิดรากเพื่อให้ได้ต้นอ่อนที่สมบูรณ์ นอกจากนี้ยังสามารถขยายพันธุ์โดยการชักนำให้เกิด somatic embryo จากเซลล์พืช หรือจากการเพาะเลี้ยงแคลลัสได้เช่นกัน การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อผลิตสารทุติยภูมิจึงมีข้อดีเหนือกว่าการผลิตโดยการใช้การเพาะปลูกในธรรมชาติโดยไม่มีปัจจัยรบกวนจากภูมิประเทศ สภาพอากาศ และสภาพแวดล้อมอื่นๆ สามารถควบคุมสภาวะในการเพาะเลี้ยเนื้อเยื่อเพื่อให้เก็บเกี่ยวผลผลิตได้ตลอดเวลา ทำให้ผลผลิตที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างรุ่นการผลิต และบางวิธียังสามารถเพิ่มผลผลิตให้ได้มากกว่าตามธรรมชาติอีกด้วย (เพชรรัตน์, 2556)

2.4 สารไทไดแอซูรอน (Thidiazuron; TDZ)

สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช (Plant growth regulators ; PGRs) คือ สารควบคุมการเจริญเติบโตที่พืชสามารถสร้างขึ้นได้เองตามธรรมชาติหรืออาจเป็นสารเคมีที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นโดยมนุษย์ ทำหน้าที่กระตุ้นการเจริญเติบโตและการสร้างสารพฤกษเคมี (Basra, 2000) ซึ่งสาร Thidiazuron (TDZ) หรือ N-phenyl-N'-1,2,3-thidiazol-5-yl urea เป็นสารประกอบจำพวก phenylurea มีสูตรทางเคมี คือ $C_9H_8N_4OS$ มีลักษณะเป็นผลึกสีเหลืองอ่อน มวลโมเลกุล เท่ากับ 220.2 มีจุดหลอมเหลวที่ 213 องศาเซลเซียส และละลายได้ดีในตัวทำละลายเอทานอล และถูกใช้อย่างแพร่หลายในวงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช TDZ มีการออกฤทธิ์แบบเดียวกับไซโตไคนิน โดยกระตุ้นการเจริญของแคลลัสได้มากกว่า zeatin ซึ่งการใช้ TDZ จะใช้ในปริมาณความเข้มข้นต่ำ (มิ่งขวัญ, 2549) ที่ความเข้มข้น 0.22 - 22 mg/L สามารถกระตุ้นการเกิดยอดอ่อน แคลลัส และ

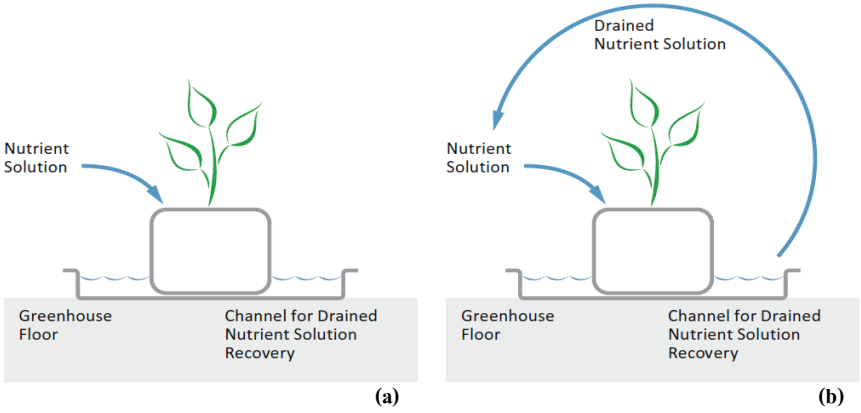
เอมบริโอ (Huetteman and Preece, 1993) TDZ มีผลต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อโดยตรง นอกจากนี้ยังกระตุ้นให้เกิดความเครียด ส่งผลให้เนื้อเยื่อเกิดการเปลี่ยนแปลง เช่น บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ การดูดซับธาตุอาหาร การเปลี่ยนแปลงระดับพลังงาน เป็นต้น (Murthy et al., 1998) ในพืชส่วนใหญ่สาร TDZ สามารถชักนำให้เกิดการพัฒนาของเนื้อเยื่อได้ดีกว่าสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชชนิดอื่น ทั้งในด้านปริมาณสารที่ใช้และผลลัพธ์ที่ได้ (วราภรณ์, 2552) TDZ ถูกนำมาใช้ชักนำให้เกิดต้นอ่อนและเพิ่มจำนวนยอดของพืชสมุนไพร Prathanturarug et al. (2005) ได้ทำการทดลองในต้น *Curcuma longa* พบว่า การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหาร MS ชนิดเหลว ร่วมกับ TDZ 16 mg/L ชักนำให้เกิดยอดกระจุก (multiple shoots)ได้ และ Siddique and Anis (2007) ได้ทำการทดลองในต้น *Ocimum basilicum* โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหาร MS ชนิดเหลว ร่วมกับ TDZ 11 mg/L พบว่า สามารถชักนำให้เกิดยอดกระจุกได้เช่นเดียวกัน นอกจากนี้ จากงานทดลองของ Rawat et al. (2013) ที่ใช้ PGRs กลุ่มไซโตไคนิน ร่วมกับอาหาร MS ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสมุนไพร *Aconitum violaceum* ผลที่เกิดขึ้นแสดงให้เห็นว่า สารกลุ่มนี้มีประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดยอดและสร้างสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิได้

วิธีการให้สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช นอกจากการเติมลงในอาหารสังเคราะห์ยังสามารถใช้วิธีอื่นได้อีก เช่น การจุ่มในสาร การแช่ในสาร การพ่นสารไปยังกิ่งหรือต้นอ่อน การฉีดสารเข้าไปในกิ่งหรือต้นอ่อน การผสมสารในรูปครีมทาโคนกิ่ง เป็นต้น ซึ่งวิธีการที่นิยมใช้มี 2 วิธี คือ การจุ่มอย่างรวดเร็ว (quick dip method) และการแช่ในสาร (prolonged soaking method) เช่น การแช่กิ่ง การแช่เมล็ด เป็นต้น (Noghani et al., 2014) วิธีการแช่จะใช้สารที่ความเข้มข้นต่ำ โดยใช้เอทานอลหรือน้ำเป็นตัวทำละลาย และแช่ทิ้งไว้ประมาณ 1-24 ชั่วโมง โดยการวางในที่ร่ม จากนั้นนำกิ่งที่ผ่านการแช่ไปปักชำ การให้สารในวิธีนี้ต้องคำนึงถึงสภาพแวดล้อมขณะให้สารและชนิดพืช โดยอาจมีการดัดแปลงวิธีการแช่ได้ถ้ากรณีที่ต้องการทำในปริมาณมาก วิธีการแช่สามารถทำได้โดยตัดกิ่งพืชที่ต้องการให้อยู่ในลักษณะพร้อมปักชำแล้วใส่ลงในภาชนะ จากนั้นเทสารละลายที่เตรียมไว้ลงไปให้ท่วมกิ่งพืช และกำหนดเวลาการแช่ ข้อดีของการใช้วิธีนี้ คือ ไม่เปลืองสาร เนื่องจากสามารถนำกลับมาใช้ซ้ำได้อีก 2-3 ครั้ง แต่มีข้อเสีย คือ ใช้เวลานานกว่ากว่าจุ่มแบบรวดเร็ว และอาจก่อให้เกิดการแพร่กระจายของจุลินทรีย์จากกิ่งหนึ่งไปยังกิ่งอื่นได้ (อรุณี, 2559)

2.5 ระบบปลูกแบบไร้ดิน

การปลูกพืชแบบไม่ใช้ดิน (hydroponics) มีที่มาจากภาษากรีก 2 คำ คือ hydro แปลว่า น้ำ และ ponos แปลว่า การทำงาน จึงมีความหมายว่าการปลูกโดยใช้สารละลายธาตุอาหารเพื่อให้พืช

เจริญเติบโต การปลูกพืชลักษณะนี้มีมาตั้งแต่ครั้งโบราณ เช่น สวนลอยฟ้ากรุงบาบิโลน สวนลอยฟ้าของชาว Aztec และชาวจีนพื้นเมือง เป็นต้น ระบบการปลูกพืชประเภทนี้สามารถแบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ ระบบเปิดและระบบปิด โดยระบบเปิด สารละลายธาตุอาหารพืชที่เติมลงไปในระบบไม่สามารถหมุนเวียนกลับมาได้อีก แต่ระบบปิด สารละลายธาตุอาหารที่เติมลงไปสามารถหมุนเวียนกลับเข้ามาใช้ในระบบได้ตลอด (ภาพที่ 2.7) การปลูกพืชแบบไร้ดินสามารถลดปัญหาการเกิดโรคหรือการปนเปื้อนในดิน ควบคุมความสะอาดได้ง่าย ควบคุมสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ ศัตรูพืชได้ เป็นต้น ควบคุมการเจริญเติบโตและผลผลิตด้วยสารละลายธาตุอาหารได้ (Maucieri et al., 2019) ในขณะเดียวกันยังสามารถปลูกพืชในบริเวณที่ใกล้กันได้เพื่อเพิ่มปริมาณผลผลิต (ณัฐิกา, 2559) ซึ่งระบบการปลูกที่ได้รับความนิยม คือ deep flow technique (DFT) (ภาพที่ 2.8) เนื่องจาก รากของพืชสามารถแช่อยู่ในสารละลายธาตุอาหาร ที่ความลึก 2-3 เซนติเมตร ตลอดเวลา (นงนุช, 2548) ทำให้ความเข้มข้นของสารละลายเปลี่ยนแปลงได้ช้า อีกทั้งยังมีการเติมอากาศและสารละลายสามารถหมุนเวียนกลับมาใช้ในระบบได้ (Maucieri et al., 2019) นอกเหนือจากสารละลายธาตุอาหารแล้วยังพบปัจจัยอื่นที่มีความสัมพันธ์กับการปลูกพืชแบบไร้ดิน เช่น แสง อากาศ คุณภาพน้ำ ค่าความเป็นกรดด่าง และค่าการนำไฟฟ้า เป็นต้น (เลิศภูมิ, 2557)



ภาพที่ 2.7 ระบบการปลูกพืชแบบไร้ดิน ได้แก่ ระบบเปิด (a) และ ระบบปิด (b)

ที่มา : Maucieri et al. (2019)

ภาพที่ 2.8 ระบบการปลูกพืชแบบไร้ดิน แบบ deep flow technique (DFT)

2.5.1 สารละลายธาตุอาหารพืช

สารละลายธาตุอาหารพืชมีทั้งหมด 16 ธาตุ ซึ่ง 3 ธาตุ คือ คาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน ได้จากน้ำและอากาศ อีก 13 ธาตุ ได้จากการดูดผ่านทางราก โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ ธาตุอาหารที่พืชต้องการในปริมาณมาก (macronutrient elements) ได้แก่ ไนโตรเจน โพแทสเซียม ฟอสฟอรัส แคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถัน และธาตุอาหารที่พืชต้องการในปริมาณน้อย (micronutrient elements) ได้แก่ สังกะสี โบรอน ทองแดง เหล็ก แมงกานีส โมลิบดีนัม และคลอรีน (เลิศภูมิ, 2557)

2.5.2 ผลของไนโตรเจนต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ

ธาตุไนโตรเจน (N) คือ ธาตุอาหารหลักที่พืชต้องการในปริมาณมาก ซึ่งพืชสามารถดูดกินได้ในรูปของแอมโมเนียไอออน (NH_4^+) และไนเตรทไอออน (NO_3^-) ส่วนใหญ่ในสารละลายธาตุอาหารพืชจะอยู่ในรูป NO_3^- สารเคมีที่นิยมใช้ ได้แก่ แคลเซียมไอออน และโปแตสเซียมไอออน นอกจากนี้อาจได้ไนโตรเจนจากสารเคมีที่ใช้ปรับความเป็นกรดด่างของสารละลายธาตุอาหาร (เลิศภูมิ, 2557) ไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบหลักของสารอินทรีย์ที่มีความสำคัญต่อกระบวนการออกซิเดชัน รีดักชัน และเอนไซม์ (ดิเรก, 2547) ในระบบปลูกพืชแบบไร้ดิน ไนโตรเจนที่นิยมนำมาใช้มักอยู่ในรูปของสารละลายธาตุอาหาร เช่น โพแทสเซียมไนเตรท ที่มีการใช้ไนโตรเจนในรูปของไนเตรท ซึ่งไนเตรทเป็นรูปที่มีประสิทธิภาพมากกว่าไนโตรเจนอื่น อีกทั้งยังมีผลต่อสรีรวิทยาของพืช ช่วยชักนำให้เกิดการเจริญเติบโต มีความเป็นพิษต่ำ ละลายน้ำได้ดี มีคุณสมบัติเป็นกลางค่อนไปทางด่างเล็กน้อย และมีค่าการนำไฟฟ้าต่ำ โดยมีรายงานการทดลองของ

Kiferle et al. (2013) ในการใช้สารไนโตรเจนในรูปของแอมโมเนียมและไนเตรท ต่อการเจริญเติบโตของต้น *Ocimum basillicum* L. ในระบบปลูกแบบไร้ดิน พบว่า *O. basilicum* ในกลุ่มที่ได้รับไนเตรทมีการเจริญเติบโตดีกว่ากลุ่มที่ได้รับแอมโมเนียม และไนเตรทร่วมกับแอมโมเนียม ($p<0.05$)ในขณะเดียวกันการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในพืชโดยใช้ไนโตรเจนเป็นตัวกระตุ้น พบว่า พืชที่ถูกกระตุ้นให้สัมผัสไนโตรเจนมักเกิดความเครียด ซึ่งส่งผลต่อ phenylpropanoid pathway ทำให้เกิดการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระขึ้น (Guillén-Román et al., 2018) โดยเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระที่พืชสร้างขึ้น ได้แก่ superoxidase dismutase, ascorbate peroxidase, catalase และ glutathione reductase เป็นต้น (Chrysargyris et al., 2017) และ Allahdadi and Farzane, (2018) ได้กล่าวว่า ไนโตรเจนมีผลต่อสารฟีนอลิก อันเนื่องมาจากการเกิด phenylalanine ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ฟีนอลและโปรตีน โดยสารดังกล่าวถูกจัดเป็นสารตั้งต้นของฟลาโวนอยด์เช่นกัน เมื่อ phenylalanine เพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพการสร้างฟลาโวนอยด์จะเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน ในขณะที่การลดลงของไนเตรทมีผลต่อสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิ ดังงานทดลองของ Award et al. (2002) ที่ทำการทดลองหาความสัมพันธ์ของธาตุอาหารพืชต่อปริมาณของสารฟลาโวนอยด์ในต้น *Malus domestica* พบว่า เมื่อลดความเข้มข้นของสารไนโตรเจนลงทำให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์เพิ่มขึ้น ซึ่งมีผลมาจากการเพิ่มขึ้นของ phenylalanine

2.5.3 ผลของโพแทสเซียมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ

ธาตุโพแทสเซียม (K) คือ ธาตุอาหารหลักที่พืชต้องการในปริมาณมาก โดยรูปของโพแทสเซียมที่พืชนำไปใช้ได้ คือ potassium ion (K^+) เมื่อใดก็ตามที่มีโพแทสเซียมเกินความจำเป็นจะส่งผลต่อการดูดกินแคลเซียมและแมกนีเซียมของพืช (เลิศภูมิ, 2557) โพแทสเซียมมีบทบาทสำคัญเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของพืช การทำงานของเอนไซม์ มีบทบาทในทางสรีรวิทยาและกระบวนการทางชีวเคมี เช่น การแบ่งเซลล์ การกระตุ้นเอนไซม์ ความเสถียรของโครงสร้างเอนไซม์ การเปิดและปิดของปากใบ เป็นต้น (Heidari et al., 2014) สารโพแทสเซียมที่ถูกนำมาใช้ในพืชมีหลากหลายชนิด หนึ่งในนั้นคือ โพแทสเซียมคลอไรด์ ในกรณีที่มีการใช้ความเข้มข้นสูงเกินไปจะส่งผลให้เกิดความเป็นพิษ ซึ่งเป็นอันตรายต่อสรีรวิทยาของเซลล์พืช และส่งผลให้เกิด luxury consumption เนื่องจากพืชสะสมโพแทสเซียมไว้ปริมาณมากแต่การเจริญเติบโตไม่เพิ่มขึ้น (Shaibur et al., 2008) ซึ่งการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในพืชที่สัมผัสโพแทสเซียมเกิดจาก การเพิ่มกระบวนการสังเคราะห์แสงและเพิ่มคาร์โบไฮเดรตให้กับพืชเพื่อนำไปใช้ในกระบวนการเจริญเติบโต จึงเป็นผลต่อกระบวนการ biosynthesis ของสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิที่มีคาร์บอนเป็นพื้นฐาน เช่น สารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ เป็นต้น (Barzegar et al., 2020) ซึ่งสารโพแทสเซียมมีผลต่อ

สารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิในพืช จากงานทดลองของ Yaldiz et al. (2016) โดยใช้ปุ๋ยโพแทสเซียมต่อการสร้างสารพฤกษเคมีในสมุนไพร *Abutilon indicum* พบว่า การได้รับโพแทสเซียมมีผลต่อสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิ โดยองค์ประกอบหลักของ *A. indicum* คือ กรด linoleic, oleic, stearic และ palmitic ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ช่วยป้องกันการเกิดโรคหัวใจในมนุษย์ได้ Diaz-Méndez et al. (2018) ได้กล่าวว่า เมื่อมีการเพิ่มปริมาณสารโพแทสเซียม ปริมาณของฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ถูกเพิ่มขึ้นตามไปเช่นกัน เนื่องจาก โพแทสเซียมมีบทบาทต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมของพืชทำหน้าที่ควบคุมสมดุลเซลล์เพื่อให้คาร์โบไฮเดรตเกิดการดูดซึมและเคลื่อนตัวได้ง่าย อีกทั้งยังควบคุมการสร้างสารประกอบ phenylpropanoid ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของสารประกอบฟีนอลิก

2.5.4 ผลของคลอไรด์ต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ

สารละลายธาตุอาหารที่อยู่ในรูปของเกลือ เช่น คลอไรด์ไอออน (Cl^-) มักมีการทำงานร่วมกับธาตุอื่น เช่น K^+ และ Ca^{2+} เป็นต้น ซึ่งคลอไรด์ คือ ธาตุอาหารรองที่ควบคุมการทำงานของเอนไซม์ในไซโทพลาสซึม ร่วมกับกระบวนการสังเคราะห์แสง (Tavakkoli et al., 2010) โดยความเค็ม คือ ปัจจัยความเครียดซึ่งจัดอยู่ในประเภท abiotic stress (Ahire et al., 2013) ซึ่ง Nedjimi and Daoud (2009) ได้ทำการศึกษาผลของความเค็มในรูป NaCl ต่อการเจริญเติบโตในต้น *Atriplex* sp. พบว่า การเพิ่มความเค็มสูงถึง 23,376 mg/L มีการเจริญเติบโตลดลง ซึ่งเป็นไปในทิศทางตรงกันข้ามกับชุดควบคุม ($p<0.05$) ความเข้มข้นของเกลือที่สูงเกินไปสามารถส่งผลทำให้เกิดการสะสมพิษซึ่งเป็นอันตรายต่อเซลล์พืช (Shaibur et al., 2008) ในขณะที่ Zhou et al. (2018) ได้ทำการศึกษาผลของความเครียดจากเกลือในรูป NaCl ต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในพืชสมุนไพร *Schizonepeta teuifolia* Briq พบว่า ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระของชุดการทดลองที่เติมเกลือมากกว่าชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเกลือ ($p<0.05$) มีการสันนิษฐานว่า เมื่อพืชได้รับผลกระทบจากความเค็มจะสร้างกระบวนการป้องกันตัวเองด้วยการสร้างสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิ เช่น กระบวนการชีวสังเคราะห์ โพลีฟีนอล ฟลาโวนอยด์ เป็นต้น ซึ่งสารดังกล่าวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง มีประสิทธิภาพในการต้านจุลชีพ และมีประโยชน์ทางเภสัชวิทยา (Baâtour et al., 2012)

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 พรรณไม้น้ำที่ใช้ในการทดลอง

3.1.1 เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การทดลองที่ 1 ใช้ต้นอ่อนพรมมิ (*B. monnieri*) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ จากห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ หลักสูตรวิทยาศาสตร์การประมง

3.1.2 ระบบปลูกแบบไร้ดิน

การทดลองที่ 2 ใช้ต้นพรมมิ ความสูง 5-6 เซนติเมตร การทดลองที่ 3 และ 4 ใช้ต้นพรมมิ ความสูง 3-5 เซนติเมตร ที่ทำการเพาะเลี้ยงด้วยสารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ จากโรงเรือนเพาะเลี้ยงพรรณไม้น้ำ หลักสูตรวิทยาศาสตร์การประมง

3.2 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและต้นพรมมิ

3.2.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นพรมมิ

3.2.1.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมอาหารและเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS ได้แก่ เครื่องชั่งดิจิตอล 2 และ 4 ตำแหน่ง บิกเกอร์ ขนาด 100 และ 1000 มิลลิลิตร แท่งแก้วคนสาร ช้อนตักสาร กระบอกตวง เครื่องกวนสารชนิดให้ความร้อน (hot plate stirrer) เครื่องวัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH meter) รุ่น HI 98150 ไมโครปิเปต ขนาด 10 100 และ 1000 ไมโครลิตร และขวดแก้วพร้อมฝาปิด ขนาด 8 ออนซ์

3.2.1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการย้ายเนื้อเยื่อต้นพรมมิ ได้แก่ ตู้ปลอดเชื้อ (laminar flow) ชุดอุปกรณ์ผ่าตัด กระดาษรองตัด จานเพาะเชื้อ ตะเกียงแอลกอฮอล์ ตะแกรงวางหลอดทดลอง ขนาด 5x10 ช่อง ขวดแก้ว ขนาด 8 ออนซ์ บิกเกอร์ ขนาด 1000 มิลลิลิตร และ กระบอกฉีดน้ำ

3.2.1.3 สารเคมีที่ใช้เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) (ตารางผนวกที่ 1) ได้แก่ basal medium ที่ประกอบด้วยสารอินทรีย์ คือ Glycine, Nicotinic acid, Pyridoxine, Thiamine, Inositol, น้ำตาลซูโครส และวุ้น

3.2.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการย้ายเนื้อเยื่อพรมมิ ได้แก่ เอทานอลเข้มข้น 70 และ 95%

3.2.1.5 สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช ได้แก่ Thidiazuron

3.2.2 การเลี้ยงต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน

3.2.2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการปลูกต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน ได้แก่ รางปลูกแบบ DFT ความยาว 1 เมตร รางละ 9 หลุมปลูก จำนวน 27 ราง ถังใส่สารละลายธาตุอาหารพืช ปริมาตร 20 ลิตร จำนวน 27 ถัง ปั๊มน้ำ AP 1000 จำนวน 27 เครื่อง เครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้าของสารละลาย (electric conductivity meter ; EC) และ เครื่องวัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH meter)

3.2.2.2 โรงเรือนสำหรับเพาะเลี้ยงพรรณไม้น้ำแบบกึ่งปิด ขนาด 6x12 เมตร ที่คลุมด้วยพลาสติกใส มีช่องเปิดด้านบนหลังคาที่ปิดด้วยตาข่าย 32 ตาต่อตารางนิ้ว เพื่อระบายอากาศ มีระบบพ่นหมอกเพื่อลดอุณหภูมิ และเพิ่มความชื้นภายในโรงเรือน

3.2.2.3 สารเคมีที่ใช้ในการปลูกต้นพรมมิระบบ DFT ได้แก่ สารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2, สารประกอบโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl), TDZ, กรดไนตริก 10% และ โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 10%

3.3 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลองวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ

3.3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดสาร

ขวดรูปชมพู่ ขนาด 125 มิลลิลิตร หลอดพลาสติกฝาเกลียวก้นแหลม ขนาด 15 มิลลิลิตร เครื่องเขย่าสาร (shaker) อ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath) เครื่องชั่งดิจิตอล 2 ตำแหน่ง ช้อนตักสาร ตะแกรงวางหลอดทดลอง ขนาด 5x10 ช่อง กระบอกตวง ขนาด 10 มิลลิลิตร และ บิกเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตร และสารเคมีที่ใช้ ได้แก่ น้ำกลั่น และ เอทานอลเข้มข้น 95%

3.3.2 การวิเคราะห์ total phenolic content (TPC)

3.3.2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ ได้แก่ เครื่องชั่งดิจิตอล 2 ตำแหน่ง, ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 10 และ 50 มิลลิลิตร ช้อนตักสาร บิกเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตร แท่งแก้วคนสาร หลอดทดลอง ตะแกรงวางหลอดทดลอง ขนาด 5x10 ช่อง ไมโครปิเปต ขนาด 100 และ 1000 ไมโครลิตร เครื่องผสมสารละลาย (vortex mixer) เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) และ คิวเวตแก้ว

3.3.2.2 สารเคมีที่ใช้ ได้แก่ Gallic acid, Folin & Ciocalteu's phenol reagent, โซเดียมคาร์บอเนต 7% (7% $NaCO_3$) และน้ำกลั่น

3.3.3 การวิเคราะห์ total flavonoid content (TFC)

3.3.3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ ได้แก่ เครื่องชั่งดิจิตอล 2 ตำแหน่ง volumetric flask ขนาด 10 และ 20 มิลลิลิตร ช้อนตักสาร บิกเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตร แท่งแก้วคนสาร หลอดทดลอง ตะแกรงวางหลอดทดลอง ขนาด 5x10 ช่อง ไมโครปิเปต ขนาด 100 และ 1000 ไมโครลิตร เครื่องผสมสารละลาย เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง และ คิวเวตพลาสติก

3.3.3.2 สารเคมีที่ใช้ ได้แก่ Quercetin, โซเดียมไนเตรท 5% (5% $NaNO_3$), อลูมิเนียมคลอไรด์ 10% (10% $AlCl_3$), โซเดียมไฮดรอกไซด์ 1M (1M NaOH), น้ำกลั่น และเอทานอลเข้มข้น 95%

3.3.4 การวิเคราะห์ total saponin content (TSC)

3.3.4.1 อุปกรณ์ที่ใช้ ได้แก่ เครื่องชั่งดิจิตอล 2 ตำแหน่ง หลอดทดลอง ตะแกรงวางหลอดทดลอง ขนาด 5x10 ช่อง ไมโครปิเปต ขนาด 100 และ 1000 ไมโครลิตร กระบอกตวง ขนาด 100 มิลลิลิตร บิกเกอร์ 500 มิลลิลิตร แท่งแก้วคนสาร ช้อนตักสาร เครื่องผสมสารละลาย อ่างควบคุมอุณหภูมิ ตู้ดูดควัน (fume hood), เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง และ คิวเวตแก้ว

3.3.4.2 สารเคมีที่ใช้ ได้แก่ Saponin, Anisaldehyde reagent, 50% Sulfuric acid และน้ำกลั่น

3.3.5 การวิเคราะห์ 2, 2- Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

3.3.5.1 อุปกรณ์ที่ใช้ ได้แก่ เครื่องชั่งดิจิตอล 4 ตำแหน่ง ขวดปรับปริมาตร บิกเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตร แท่งแก้วคนสาร ช้อนตักสาร หลอดทดลอง ตะแกรงวางหลอดทดลอง ขนาด 5x10 ช่อง เครื่องผสมสารละลาย ไมโครปิเปต 10 และ 1000 ไมโครลิตร เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง และ คิวเวตแก้ว

3.3.5.2 สารเคมีที่ใช้ ได้แก่ DPPH และ เอทานอลเข้มข้น 95%

3.3.6 การวิเคราะห์ 2, 2’ azinobiz (3- ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) (ABTS)

3.3.6.1 อุปกรณ์ที่ใช้ ได้แก่ เครื่องชั่งดิจิตอล 4 ตำแหน่ง บิกเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตร แท่งแก้วคนสาร ช้อนตักสาร ฟอยล์อลูมิเนียม กระบอกตวง 10 มิลลิลิตร ไมโครปิเปต ขนาด 10 100 และ 1000 ไมโครลิตร หลอดทดลอง ตะแกรงวางหลอดทดลอง ขนาด 5x10 ช่อง เครื่องผสมสารละลาย เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง และ คิวเวตแก้ว

3.3.6.2 สารเคมีที่ใช้ ได้แก่ ABTS, โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ($K_2S_2O_8$), เอทานอลเข้มข้น 95% และน้ำกลั่น

3.4 วิธีดำเนินการ

3.4.1 การทดลองที่ 1 ศึกษาความเข้มข้นของสาร TDZ ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

3.4.1.1 วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design ; CRD) ปัจจัยความเข้มข้น TDZ 5 ระดับ ในอาหารกึ่งแข็ง MS จำนวน 5 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 15 ซ้ำ ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นพรมมิในอาหารกึ่งแข็ง MS โดยไม่มีการเติม TDZ (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลองที่ 2 เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นพรมมิในอาหารกึ่งแข็ง MS ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.1 mg/L

ชุดการทดลองที่ 3 เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นพรมมิในอาหารกึ่งแข็ง MS ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.4 mg/L

ชุดการทดลองที่ 4 เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นพรมมิในอาหารกึ่งแข็ง MS ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 1.6 mg/L

ชุดการทดลองที่ 5 เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นพรมมิในอาหารกึ่งแข็ง MS ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 6.4 mg/L

3.4.1.2 เตรียมสารละลาย TDZ โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น และเตรียมอาหารกึ่งแข็ง MS ลงในขวดแก้วสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นพรมมิ เติม TDZ ที่ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.4, 1.6 และ 6.4 mg/L ลงไปในอาหารนำไปฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นพักทิ้งไว้ให้เย็นเพื่อเตรียมสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

3.4.1.3 ทำการตัดเนื้อเยื่อบริเวณข้อของต้นพรมมิ ความยาวประมาณ 10-15 มิลลิเมตร ลงในอาหารกึ่งแข็ง MS ในแต่ละชุดการทดลองดังข้อ 3.4.1.1 ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ จากนั้นนำไปเลี้ยงบนชั้นวางในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 2,500 ลักซ์ ช่วงการให้แสง 12 ชั่วโมงต่อวัน เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

3.4.1.4 บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของต้นพรมมิทุกสัปดาห์ ได้แก่ ความสูงต้น จำนวนใบจำนวนกิ่ง เส้นผ่านศูนย์กลางยอดกระจุก (multiple shoot) และจำนวนราก

(1) ความสูงต้น ทำการวัดความสูงของชิ้นเนื้อเยื่อจากบริเวณที่สัมผัสอาหารกึ่งแข็ง MS จนถึงปลายยอด ด้วยเวอร์เนียคาลิปเปอร์

(2) จำนวนใบ ใช้วิธีการนับจำนวนใบที่เกิดขึ้นทั้งหมดของชิ้นเนื้อเยื่อ ที่บริเวณเหนืออาหารกึ่งแข็ง MS

(3) จำนวนกิ่ง ใช้วิธีการนับจำนวนกิ่งที่เกิดขึ้นทั้งหมดของชิ้นเนื้อเยื่อ ที่บริเวณเหนืออาหารกึ่งแข็ง MS

(4) เส้นผ่านศูนย์กลางยอดกระจุก ทำการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางชิ้นเนื้อเยื่อบริเวณที่สัมผัสกับอาหารกึ่งแข็ง MS ด้วยเวอร์เนียคาลิปเปอร์

(5) จำนวนราก ใช้วิธีการนับจำนวนรากที่เกิดขึ้นทั้งหมดของชิ้นเนื้อเยื่อ ที่สัมผัสกับอาหารกึ่งแข็ง MS

3.4.1.5 เมื่อสิ้นสุดการทดลอง นำต้นพรมมิทุกชุดการทดลองมาทำการชั่งน้ำหนักสดและนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำพรมมิที่อบแห้งแล้วมาทำการชั่งน้ำหนักหลังอบ และปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นสแตนเลส เพื่อใช้เป็นตัวอย่างในการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ

3.4.1.6 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ

(1) สกัดพรมมิด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 2 ชนิด ได้แก่ น้ำกลั่น และเอทานอลเข้มข้น 95% (ดัดแปลงจาก Shirazi et al. (2014) ; Leite et al. (2018))

(2) วิเคราะห์ total phenolic content (TPC) โดยใช้ gallic acid เป็นสารมาตรฐาน (ภาพผนวกที่ 2) สามารถวิเคราะห์ได้โดยการใช้สารตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำกลั่น 500 ไมโครลิตร และเติม Folin-Ciocalteu 100 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 6 นาที จากนั้นเติม 7% Na_2CO_3 1 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 500 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 90 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร หน่วยการวิเคราะห์ คือ มิลลิกรัมแกลลิคต่อกรัม (mgGAE/g) (ดัดแปลงจาก Shirazi et al., 2014)

(3) การวิเคราะห์ total flavonoid content (TFC) โดยใช้ quercetin เป็นสารมาตรฐาน (ภาพผนวกที่ 3) วิเคราะห์โดยใช้สารตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำกลั่น 500 ไมโครลิตร และ 5% $NaNO_3$ 100 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 6 นาที จากนั้นเติม 10% $AlCl_3$ 150 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที และเติม 1M NaOH 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร หน่วยการวิเคราะห์ คือ มิลลิกรัมเควอซิทินต่อกรัม (mgQE/g) (ดัดแปลงจาก Shirazi et al., 2014)

(4) การวิเคราะห์ total saponin content (TSC) โดยใช้ saponin เป็นสารมาตรฐาน (ภาพผนวกที่ 4) สามารถวิเคราะห์ได้โดยใช้สารตัวอย่าง 500 ไมโครลิตร เติม 0.5% Anisealdehyde

500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที จากนั้นเติม 50% H_2SO_4 2 มิลลิลิตร และนำไปใส่ water bath ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เวลา 10 นาที หลังจากนั้นตั้งทิ้งไว้จนสารตัวอย่างเย็นลงจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 435 นาโนเมตร หน่วยการวิเคราะห์ คือ มิลลิกรัมซาโปนินต่อกรัม (mg saponin/g) (ดัดแปลงจาก Vador et al. (2012) ; Chan et al. (2014))

(5) การทดสอบ 2, 2- Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) เพื่อทดสอบเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ โดยเตรียม DPPH 0.002% ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 15 นาที หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร เพื่อใช้เป็นหลอดควบคุม และใช้สารตัวอย่าง 50 ไมโครลิตร เติม DPPH ที่เตรียมไว้ 3 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 15 นาที หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร เพื่อหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ (ดัดแปลงจาก Shirazi et al., 2014)

ตามสูตรการคำนวณ ดังนี้

$$\text{การยับยั้งอนุมูลอิสระ (\%)} = \left(\frac{\text{ค่าดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม} - \text{ค่าดูดกลืนแสงของหลอดตัวอย่าง}}{\text{ค่าดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม}} \right) \times 100$$

(6) การทดสอบ 2, 2’ azinobiz (3- ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) (ABTS) เพื่อทดสอบเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ โดยเตรียม 7mM ABTS 5 มิลลิลิตร ร่วมกับ 140 mM $K_2S_2O_8$ 88 ไมโครลิตร ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 16 ชั่วโมง เมื่อครบช่วงเวลาจึงนำสาร ABTS 2 มิลลิลิตร มาเจือจางด้วยเอทานอล 99.99% 150 มิลลิลิตร หลังจากนั้นใช้สาร ABTS ที่เจือจางแล้ว 2.7 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เพื่อใช้เป็นหลอดควบคุม และใช้สารตัวอย่าง 300 ไมโครลิตร เติม ABTS เจือจาง 2.7 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 20 นาที หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เพื่อหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ (ดัดแปลงจาก Leite et al., 2018)

ตามสูตรการคำนวณ ดังนี้

$$\text{\% AA} = \left(\frac{\text{ค่าดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม} - \text{ค่าดูดกลืนแสงของหลอดตัวอย่าง}}{\text{ค่าดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม}} \right) \times 100$$

% AA คือ % ของ Antioxidant Activity

3.4.2 การทดลองที่ 2 ศึกษาความเข้มข้นของสาร TDZ ร่วมกับระยะเวลาการแช่ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน

จากการทดลองที่ 1 ความเข้มข้นสาร TDZ 0.1 – 0.4 mg/L เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรมมิด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในห้องปฏิบัติการ งานทดลองที่ 2 จึงทำการทดลองภายนอกห้องปฏิบัติการ โดยทดลองแช่สาร TDZ ความเข้มข้น 4 ระดับ และระยะเวลาการแช่ 3 ช่วงเวลา ในระบบปลูกแบบไร้ดิน

3.4.2.1 วางแผนการทดลองแบบ 4x3 Factorial experimental in CRD ศึกษา 2 ปัจจัย คือ ความเข้มข้น TDZ 4 ระดับ ได้แก่ 0, 0.1, 0.2 และ 0.4 mg/L และระยะเวลาในการแช่ TDZ 3 ช่วงเวลา ได้แก่ 6, 12 และ 24 ชั่วโมง จำนวน 4 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 15 ซ้ำ ในระบบปลูกแบบไร้ดิน ดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ความเข้มข้นของสาร TDZ และช่วงเวลาในการแช่ต้นพรมมิ ในระบบปลูกแบบไร้ดิน

TDZ	ระยะเวลาในการแช่ (ชั่วโมง)		
(mg/L)	6	12	24
0	(0,6)	(0,12)	(0,24)
0.1	(0.1,6)	(0.1,12)	(0.1,24)
0.2	(0.2,6)	(0.2,12)	(0.2,24)
0.4	(0.4,6)	(0.4,12)	(0.4,24)

3.4.2.2 เตรียมสารละลาย TDZ โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น และใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายตามความเข้มข้นที่กำหนดใส่ลงในภาชนะที่เตรียมสำหรับแช่ต้นพรมมิ

3.4.2.3 นำต้นพรมมิที่มีอายุ 4 สัปดาห์ จากโรงเรือนพรรณไม้น้ำ หลักสูตรวิทยาศาสตร์การประมง ที่ปลูกด้วยระบบปลูกแบบไร้ดินมาทำการคัดเลือกเฉพาะส่วนยอดใหม่เพื่อใช้ในการทดลอง เนื่องจากต้นพรมมิเป็นไม้กิ่งจึงตัดให้มีความยาว 5-6 เซนติเมตร นำรากและกิ่งออก ยกเว้นใบ จากนั้นนำไปแช่ในสารละลายดังข้อ 3.4.2.2 จนท่วมข้อที่ 1 ของลำต้นตามระยะเวลาในการแช่ที่กำหนด ดังตารางที่ 3.1

3.4.2.4 เมื่อครบกำหนดนำต้นพรมมิปลูกลงในกระถางพลาสติก พันฉนวนใยหิน (rockwool) บริเวณปลายข้อ จากนั้นนำไปปลูกลงในระบบ DFT แบบถาด (ความลึกของน้ำ 3 เซนติเมตร) เป็นเวลา 7 วัน และเก็บผลการเจริญเติบโตเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

3.4.2.5 บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของต้นพรมมิเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ได้แก่ ความสูงต้น จำนวนกิ่ง จำนวนใบ จำนวนข้อ และจำนวนราก

(1) ความสูงต้น วัดลำต้นของต้นหลักจากบริเวณที่เหนือวัสดุปลูกขึ้นมาจนถึงปลายยอด ด้วยไม้บรรทัด

(2) จำนวนกิ่ง นับจำนวนกิ่งทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากต้นหลัก

(3) จำนวนใบ นับจำนวนใบที่เกิดขึ้นบริเวณลำต้นของต้นหลัก

(4) จำนวนข้อ นับจำนวนข้อที่เกิดขึ้นบริเวณลำต้นของต้นหลัก

(5) จำนวนราก นับจำนวนรากที่เกิดขึ้นจากต้นหลัก

3.4.3 การทดลองที่ 3 ศึกษาสารประกอบโพแทสเซียมไนเตรท (KNO_3) ในสูตรสารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิด้วยระบบปลูกแบบไร้ดิน

จากการทดลองที่ 2 โดยแช่ต้นพรมมิด้วยสาร TDZ 0.1 mg/L นาน 12 ชั่วโมง ในระบบปลูกแบบไร้ดินแล้ว งานทดลองที่ 3 จึงทำการศึกษาต่อโดยใช้สารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ที่มีปริมาณความเข้มข้นของสาร KNO_3 แตกต่างกัน 5 ระดับ ได่แก่ 3.4, 3.9, 4.4, 4.9 และ 5.4 meq/L ต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรมมิ ในระบบปลูกแบบไร้ดิน

3.4.3.1 วางแผนการทดลองแบบ CRD ศึกษาปัจจัยความเข้มข้นของสาร KNO_3 5 ระดับ (ตารางที่ 3.2) จำนวน 5 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 สารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ความเข้มข้น KNO_3 3.40 meq/L

ชุดการทดลองที่ 2 สารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ความเข้มข้น KNO_3 3.90 meq/L

ชุดการทดลองที่ 3 สารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ความเข้มข้น KNO_3 4.40 meq/L (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลองที่ 4 สารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ความเข้มข้น KNO_3 4.90 meq/L

ชุดการทดลองที่ 5 สารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ความเข้มข้น KNO_3 5.40 meq/L

ตารางที่ 3.2 ปริมาณสารเคมีที่ใช้ในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่สารประกอบ KNO_3 แตกต่างกัน (เตรียมสารละลายธาตุอาหารที่ความเข้มข้น 200 เท่า ปริมาตร 20 ลิตร)

สารเคมี	KNO_3 (meq/L)				
	3.40 (-1.0)	3.90 (-0.5)	4.40 (0)*	4.90 (+0.5)	5.40 (+1.0)
สารละลาย A					
$(Ca(NO_3)_2 . 4H_2O$ (kg)	3.767	3.767	3.767	3.767	3.767
Fe-EDDHA (kg)	0.303	0.303	0.303	0.303	0.303
สารละลาย B					
KNO_3 (kg)	1.388	1.592	1.796	2.000	2.204
KH_2PO_4 (kg)	0.653	0.653	0.653	0.653	0.653
$MgSO_4 . 7H_2O$ (kg)	1.037	1.037	1.037	1.037	1.037
$ZnSO_4$ (g)	4.756	4.756	4.756	4.756	4.756
$CuSO_4 . 5H_2O$ (g)	1.016	1.016	1.016	1.016	1.016
$MnSO_4 . H_2O$ (g)	14.194	14.194	14.194	14.194	14.194
H_3Bo_3 (g)	8.894	8.894	8.894	8.894	8.894
$(NH_4)_2 MoO_4$ (g)	0.343	0.343	0.343	0.343	0.343

หมายเหตุ : * ชุดควบคุมโดยใช้สารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2

3.4.3.2 นำต้นพรมมิอายุ 4 สัปดาห์ มาทำการแช่ในความเข้มข้น TDZ ร่วมกับระยะเวลาที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 2 หลังจากนั้นนำไปปลูกบนรางปลูกของระบบ DFT โดยผันแปรสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ตามความเข้มข้นของ KNO_3 ที่ต่างกัน 5 ระดับ ดังข้อ 3.4.3.1 เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ เก็บผลการเจริญเติบโตทุก 2 สัปดาห์ และวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระทุก 4 สัปดาห์

3.4.3.3 บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของต้นพรมมิทุก 2 สัปดาห์ ได้แก่ ความสูงต้น จำนวนกิ่ง จำนวนใบ และจำนวนข้อ และวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระในสัปดาห์ที่ 4 และ 8

(1) ความสูงต้น วัดลำต้นของต้นหลักจากบริเวณที่เหนือวัสดุปลูกขึ้นมาจนถึงปลายยอด ด้วยไม้บรรทัด

(2) จำนวนกิ่ง นับจำนวนกิ่งทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากต้นหลัก

(3) จำนวนใบ นับจำนวนใบที่เกิดขึ้นบริเวณลำต้นของต้นหลัก

(4) จำนวนข้อ นับจำนวนข้อที่เกิดขึ้นบริเวณลำต้นของต้นหลัก

3.4.3.4 เมื่อครบ 4 และ 8 สัปดาห์ วิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระโดยนำต้นพรมมิทุกชุดการทดลองมาทำการชั่งน้ำหนักสดและนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำพรมมิที่อบแห้งแล้วมาทำการชั่งน้ำหนักหลังอบ และปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นสแตนเลส เพื่อนำตัวอย่างไปวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ (ภาพผนวกที่ 5 -7) ทำเช่นเดียวกับข้อ 3.4.1.6

3.4.4 การทดลองที่ 4 ศึกษาการเพิ่มความเข้มข้นของสารประกอบโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) ในสูตรสารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิด้วยระบบปลูกแบบไร้ดิน

จากการทดลองที่ 2 โดยแช่ต้นพรมมิด้วยสาร TDZ 0.1 mg/L นาน 12 ชั่วโมง ในระบบปลูกแบบไร้ดินแล้ว งานทดลองที่ 4 จึงทำการศึกษาต่อโดยใช้สารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ที่มีปริมาณความเข้มข้นของสาร KCl แตกต่างกัน 4 ระดับ ได่แก่ 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 meq/L ต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรมมิ ในระบบปลูกแบบไร้ดิน

3.4.4.1 วางแผนการทดลองแบบ CRD ศึกษาปัจจัยความเข้มข้นของสาร KCl จำนวน 4 ชุดการทดลอง (ตารางที่ 3.3) ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 สารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่ไม่มีการเติม KCl (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลองที่ 2 สารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่เติมสาร KCl 0.5 meq/L

ชุดการทดลองที่ 3 สารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่เติมสาร KCl 1.0 meq/L

ชุดการทดลองที่ 4 สารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่เติมสาร KCl 1.5 meq/L

3.4.4.2 นำต้นพรมมิอายุ 4 สัปดาห์ มาทำการแช่ในความเข้มข้น TDZ ร่วมกับระยะเวลาที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 2 หลังจากนั้นนำไปปลูกบนรางปลูกของระบบ DFT โดยผันแปรสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ตามความเข้มข้นของ KCl ที่ต่างกัน 4 ระดับ ดังข้อ 3.4.4.1 เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ เก็บผลการเจริญเติบโตทุก 2 สัปดาห์ และวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระทุก 4 สัปดาห์

ตารางที่ 3.3 สารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL2 ที่เติมสารประกอบ KCl แตกต่างกัน (เตรียมสารละลายธาตุอาหารที่ความเข้มข้น 200 เท่า ปริมาตร 20 ลิตร ในการทดลอง)

สารเคมี	KCl (meq/L)			
	0*	0.5	1.0	1.5
สารละลาย A				
$(Ca(NO_3)_2 . 4H_2O$ (kg)	3.767	3.767	3.767	3.767
Fe-EDDHA (kg)	0.303	0.303	0.303	0.303
สารละลาย B				
KNO_3 (kg)	1.796	1.796	1.796	1.796
KCl (kg)	0.000	0.149	0.298	0.447
KH_2PO_4 (kg)	0.653	0.653	0.653	0.653
$MgSO_4 . 7H_2O$ (kg)	1.037	1.037	1.037	1.037
$ZnSO_4$ (g)	4.756	4.756	4.756	4.756
$CuSO_4 . 5H_2O$ (g)	1.016	1.016	1.016	1.016
$MnSO_4 . H_2O$ (g)	14.194	14.194	14.194	14.194
H_3Bo_3 (g)	8.894	8.894	8.894	8.894
$(NH_4)_2 MoO_4$ (g)	0.343	0.343	0.343	0.343

หมายเหตุ : * ชุดควบคุมโดยใช้สารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2

3.4.4.3 บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของต้นพรมมิทุก 2 สัปดาห์ ได้แก่ ความสูงต้น จำนวนกิ่ง จำนวนใบ และจำนวนข้อ และวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระในสัปดาห์ที่ 4 และ 8

(1) ความสูงต้น วัดลำต้นของต้นหลักจากบริเวณที่เหนือวัสดุปลูกขึ้นมาจนถึงปลายยอด ด้วยไม้บรรทัด

(2) จำนวนกิ่ง นับจำนวนกิ่งทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากต้นหลัก

(3) จำนวนใบ นับจำนวนใบที่เกิดขึ้นบริเวณลำต้นของต้นหลัก

(4) จำนวนข้อ นับจำนวนข้อที่เกิดขึ้นบริเวณลำต้นของต้นหลัก

3.4.4.4 เมื่อครบ 4 และ 8 สัปดาห์ วิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระโดยนำต้นพรมมิทุกชุดการทดลองมาทำการชั่งน้ำหนักสดและนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำพรมมิที่อบแห้งแล้วมาทำการชั่งน้ำหนักหลังอบ และปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่อง

ปั่นสแตนเลส เพื่อนำตัวอย่างไปวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ (ภาพผนวกที่ 5 -7) ทำเช่นเดียวกับข้อ 3.4.1.6

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากวางแผนการทดลองแบบ CRD มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) จัดชุดการทดลองแบบ Factorial in CRD มาวิเคราะห์ general linear model และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างชุดการทดลองด้วยวิธี duncan's new multiple's range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป

3.6 สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ และโรงเรือนพรรณไม้น้ำ หลักสูตรวิทยาศาสตร์การประมง อาคารเจ้าคุณทหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ

3.7 ระยะเวลาทำการทดลอง

เดือน ตุลาคม 2562 ถึง เดือน มิถุนายน 2563

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ศึกษาความเข้มข้นของสาร TDZ ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ ในต้นพรมมิด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

4.1.1 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อความสูงในต้นพรมมิ

การทดลองนำชิ้นส่วนเนื้อเยื่อบริเวณข้อของต้นพรมมิมาทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารที่เติม TDZ แตกต่างกัน 5 ระดับ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า ความสูงของต้นพรมมิในสัปดาห์ที่ 6 โดยเลี้ยงในอาหารที่ไม่เติม TDZ มีความสูงมากกว่าชุดการทดลองที่เติม TDZ ($p<0.05$) เท่ากับ 41.09 มิลลิเมตร ความเข้มข้น 0.1, 1.6, 0.4 และ 6.4 mg/L ซึ่งมีค่าความสูงเท่ากับ 28.12, 20.68, 18.55 และ 16.16 มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยค่าเฉลี่ยความสูงของต้นพรมมิเพิ่มขึ้นตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 จนสิ้นสุดการทดลอง (ตารางที่ 4.1)

ตารางที่ 4.1 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อความสูง (มิลลิเมตร) ของต้นพรมมิ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

TDZ	ระยะเวลา (สัปดาห์)						
(mg/L)	0	1	2	3	4	5	6
0	16.48±0.30	17.28±0.32	19.90±0.61^{a}	25.91±1.35^{a}	30.57±1.77^{a}	35.48±2.23^{a}	41.09±2.32^{a}
0.1	16.39±0.24	16.97±0.31	17.83±0.63^{b}	16.63±1.27^{b}	18.35±1.38^{b}	22.45±3.03^{b}	28.12±3.10^{b}
0.4	16.79±0.32	17.50±0.38	17.73±0.39^{b}	15.64±0.65^{b}	15.83±0.52^{bc}	16.90±0.61^{c}	18.55±0.68^{c}
1.6	17.13±0.26	17.99±0.27	18.39±0.28^{b}	16.12±0.58^{b}	16.60±0.41^{bc}	16.36±0.39^{c}	20.68±0.41^{c}
6.4	16.35±0.24	16.77±0.21	17.06±0.18^{b}	14.21±0.58^{b}	14.47±0.55^{c}	14.11±0.52^{c}	16.16±0.57^{c}
F-test	ns	ns	*	*	*	*	*

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

4.1.2 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อจำนวนใบในต้นพรมมิ

การทดลองนำชิ้นส่วนเนื้อเยื่อบริเวณข้อของต้นพรมมิมาทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารที่เติม TDZ แตกต่างกัน 5 ระดับ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า ค่าเฉลี่ยจำนวนใบของต้นพรมมิในสัปดาห์ที่ 6 โดยเลี้ยงในอาหารที่ไม่เติม TDZ มีความสูงมากกว่าชุดการทดลองที่เติม TDZ ($p<0.05$) มีค่าเท่ากับ 25.13 ใบต่อชิ้นเนื้อเยื่อ ความเข้มข้น 0.1, 0.4, 1.6 และ 6.4 mg/L เท่ากับ 12.07, 10.00, 0.93 และ 0 ใบต่อชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ โดยค่าเฉลี่ยจำนวนใบของต้นพรมมิเพิ่มขึ้นตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 จนสิ้นสุดการทดลอง (ตารางที่ 4.2)

ตารางที่ 4.2 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อจำนวนใบ (ใบต่อชิ้นเนื้อเยื่อ) ของต้นพรมมิ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

TDZ	ระยะเวลา (สัปดาห์)						
(mg/L)	0	1	2	3	4	5	6
0	0.00±0.00	4.07±0.59^{a}	8.33±0.91^{a}	11.07±1.16^{a}	14.07±1.05^{a}	22.73±1.59^{a}	25.13±1.46^{a}
0.1	0.00±0.00	2.47±0.35^{b}	4.87±0.56^{b}	8.67±0.83^{a}	12.80±1.97^{a}	8.40±1.55^{b}	12.07±1.81^{b}
0.4	0.00±0.00	2.40±0.34^{bc}	5.00±0.49^{b}	9.87±1.11^{a}	9.00±0.56^{b}	9.67±0.57^{b}	10.00±1.64^{b}
1.6	0.00±0.00	1.40±0.24^{c}	3.07±0.38^{c}	6.00±0.48^{b}	7.13±0.67^{b}	4.80±0.98^{c}	0.93±0.38^{c}
6.4	0.00±0.00	0.00±0.00^{d}	0.80±0.33^{d}	2.93±0.62^{c}	2.80±0.55^{c}	0.93±0.38^{d}	0.00±0.00^{c}
F-test	ns	*	*	*	*	*	*

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

4.1.3 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อจำนวนกิ่งในต้นพรมมิ

การทดลองนำชิ้นส่วนเนื้อเยื่อบริเวณข้อของต้นพรมมิมาทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารที่เติม TDZ แตกต่างกัน 5 ระดับ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า จำนวนกิ่งของต้นพรมมิในสัปดาห์ที่ 6 โดยเลี้ยงในอาหารที่ไม่เติม TDZ มีความสูงมากกว่าชุดการทดลองที่เติม TDZ ($p<0.05$) เท่ากับ 2.93 กิ่งต่อชิ้นเนื้อเยื่อ ความเข้มข้น 1.6, 0.1, 0.4 และ 6.4 mg/L มีค่าเฉลี่ยจำนวนกิ่งเท่ากับ 0.33, 0.20, 0 และ 0 กิ่งต่อชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ โดยสังเกตได้ว่าในสัปดาห์ที่ 3 จนสิ้นสุดการทดลอง ต้นพรมมิที่เลี้ยงในอาหารเติม TDZ มีจำนวนกิ่งลดลง เนื่องจาก อาจมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาไปเป็นยอดกระจุก (ตารางที่ 4.3)

ตารางที่ 4.3 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อจำนวนกิ่ง (กิ่งต่อชิ้นเนื้อเยื่อ) ของต้นพรมมิ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

TDZ	ระยะเวลา (สัปดาห์)						
(mg/L)	0	1	2	3	4	5	6
0	1.00±0.00	1.60±0.16^{b}	1.80±0.14^{b}	2.40±0.19^{a}	2.67±0.27^{a}	2.93±0.23^{a}	2.93±0.15^{a}
0.1	1.00±0.00	2.60±0.16^{a}	2.87±0.13^{a}	1.67±0.23^{b}	1.53±0.19^{b}	0.20±0.11^{c}	0.20±0.11^{bc}
0.4	1.00±0.00	3.00±0.00^{a}	2.80±0.11^{a}	1.00±0.00^{cd}	1.47±0.22^{b}	0.27±0.15^{c}	0.00±0.00^{c}
1.6	1.00±0.00	3.00±0.17^{a}	2.80±0.20^{a}	0.80±0.22^{d}	1.00±0.00^{b}	0.87±0.22^{b}	0.33±0.13^{b}
6.4	1.00±0.00	2.87±0.22^{a}	2.80±0.20^{a}	1.47±0.22^{bc}	1.33±0.13^{b}	0.00±0.00^{c}	0.00±0.00^{c}
F-test	ns	*	*	*	*	*	*

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

4.1.4 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อเส้นผ่านศูนย์กลางยอดกระจุกในต้นพรมมิ

การทดลองนำชิ้นส่วนเนื้อเยื่อมาทำการเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม TDZ ต่างกัน 5 ระดับ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ โดยใช้ชิ้นส่วนบริเวณข้อของต้นพรมมิ พบว่า เส้นผ่านศูนย์กลางยอดกระจุกของต้นพรมมิที่เลี้ยงในอาหารเติม TDZ มากกว่าชุดการทดลองที่ไม่เติม TDZ ($p<0.05$) ความเข้มข้น 0.4, 0.1, 1.6 และ 6.4 mg/L มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 21.48, 19.70, 15.55 และ 10.34 มิลลิเมตร ตามลำดับ และชุดการทดลองที่ไม่เติม TDZ พบว่าไม่เกิดยอดกระจุก ซึ่งสันนิษฐานว่าเริ่มเกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาไปเป็นยอดกระจุก ในสัปดาห์ที่ 3 (ภาพผนวกที่ 1 และตารางที่ 4.4)

4.1.5 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อจำนวนรากในต้นพรมมิ

การทดลองนำชิ้นส่วนเนื้อเยื่อบริเวณข้อของต้นพรมมิมาทำการเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม TDZ แตกต่างกัน 5 ระดับ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า จำนวนรากของต้นพรมมิที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่เติม TDZ มากกว่าชุดการทดลองที่เติม TDZ ($p<0.05$) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.60 รากต่อชิ้นเนื้อเยื่อ ความเข้มข้น 0.1, 0.4, 1.6 และ 6.4 mg/L เท่ากับ 2.13, 0.60, 0.20 และ 0 รากต่อชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ จากการสังเกตจำนวนรากของต้นพรมมิ พบว่า การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในชุดการทดลองที่ไม่เติม TDZ สามารถชักนำให้เกิดรากมากกว่าชุดการทดลองอื่น ประมาณ 3 ถึง 6 เท่า (ตารางที่ 4.5)

ตารางที่ 4.4 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อเส้นผ่านศูนย์กลางยอดกระจุก (มิลลิเมตร) ของต้นพรมมิ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

TDZ	ระยะเวลา (สัปดาห์)						
(mg/L)	0	1	2	3	4	5	6
0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{c}	0.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{d}
0.1	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	7.35±0.60^{a}	11.04±0.67^{a}	13.14±0.85^{a}	19.70±1.43^{a}
0.4	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	6.90±0.61^{ab}	11.44±0.61^{a}	13.94±0.48^{a}	21.48±0.71^{a}
1.6	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	5.94±0.42^{b}	8.81±0.58^{b}	10.09±0.47^{b}	15.55±0.89^{b}
6.4	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	3.96±0.24^{c}	7.21±0.69^{b}	7.75±0.67^{c}	10.34±1.01^{c}
F-test	ns	ns	ns	*	*	*	*

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

ตารางที่ 4.5 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อจำนวนราก (รากต่อชิ้นเนื้อเยื่อ) ของต้นพรมมิ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

TDZ	ระยะเวลา (สัปดาห์)						
(mg/L)	0	1	2	3	4	5	6
0	0.00±0.00	0.47±0.13^{a}	1.80±0.31^{a}	2.87±0.48^{a}	5.67±0.74^{a}	5.73±0.40^{a}	6.60±0.39^{a}
0.1	0.00±0.00	0.00±0.00^{b}	0.40±0.21^{b}	0.67±0.21^{b}	0.67±0.33^{b}	1.60±0.47^{b}	2.13±0.56^{b}
0.4	0.00±0.00	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.27±0.15^{c}	0.60±0.31^{c}
1.6	0.00±0.00	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.27±0.15^{c}	0.20±0.20^{c}
6.4	0.00±0.00	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{c}	0.00±0.00^{c}
F-test	ns	*	*	*	*	*	*

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

4.1.6 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อน้ำหนักต้นพรมมิ

น้ำหนักหลังสิ้นสุดการทดลอง ได้แก่ น้ำหนักสด (ก่อนอบ) และแห้ง (หลังอบ) ของต้นพรมมิที่เลี้ยงในอาหารเติม TDZ มากกว่าต้นพรมมิที่เลี้ยงในอาหารไม่เติม TDZ ($p<0.05$) โดยต้น

พรมมิที่เลี้ยงในอาหารเติม TDZ 0.4 mg/L มีน้ำหนักหลังสิ้นสุดการทดลองสูงที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดและแห้ง เท่ากับ 312.00 และ 83.40 มิลลิกรัม/ชิ้นเนื้อเยื่อ (ตารางที่ 4.6)

ตารางที่ 4.6 น้ำหนักสดและแห้ง (มิลลิกรัมต่อชิ้นเนื้อเยื่อ) ของต้นพรมมิที่เลี้ยงในอาหาร MS ร่วมกับสาร TDZ ความเข้มข้นแตกต่างกัน

TDZ (mg/L)	น้ำหนักเริ่มต้น		น้ำหนักสุดท้าย	
	น้ำหนักสด (มิลลิกรัม/ชิ้นเนื้อเยื่อ)	น้ำหนักแห้ง (มิลลิกรัม/ชิ้นเนื้อเยื่อ)	น้ำหนักสด (มิลลิกรัม/ชิ้นเนื้อเยื่อ)	น้ำหนักแห้ง (มิลลิกรัม/ชิ้นเนื้อเยื่อ)
0	13.00±1.40	1.30±0.10	89.60±0.70^{e}	27.10±0.20^{e}
0.1	13.00±1.40	1.30±0.10	282.40±2.20^{b}	68.50±0.50^{b}
0.4	13.00±1.40	1.30±0.10	312.00±2.50^{a}	83.40±0.70^{a}
1.6	13.00±1.40	1.30±0.10	167.30±1.30^{c}	43.90±0.40^{d}
6.4	13.00±1.40	1.30±0.10	109.90±0.90^{d}	45.70±0.40^{c}
F-test	ns	ns	*	*

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึง ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$)

4.1.7 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิ

เมื่อสิ้นสุดการทดลองนำต้นพรมมิในแต่ละชุดการทดลองมาทำการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ TPC, TFC และ TSC และวิเคราะห์ฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระ ได้แก่ DPPH และ ABTS โดยใช้สารตัวอย่างที่สกัดด้วยตัวทำละลายแตกต่างกัน 2 ชนิด ได้แก่ น้ำกลั่นและเอทานอลเข้มข้น 95% ดังนี้

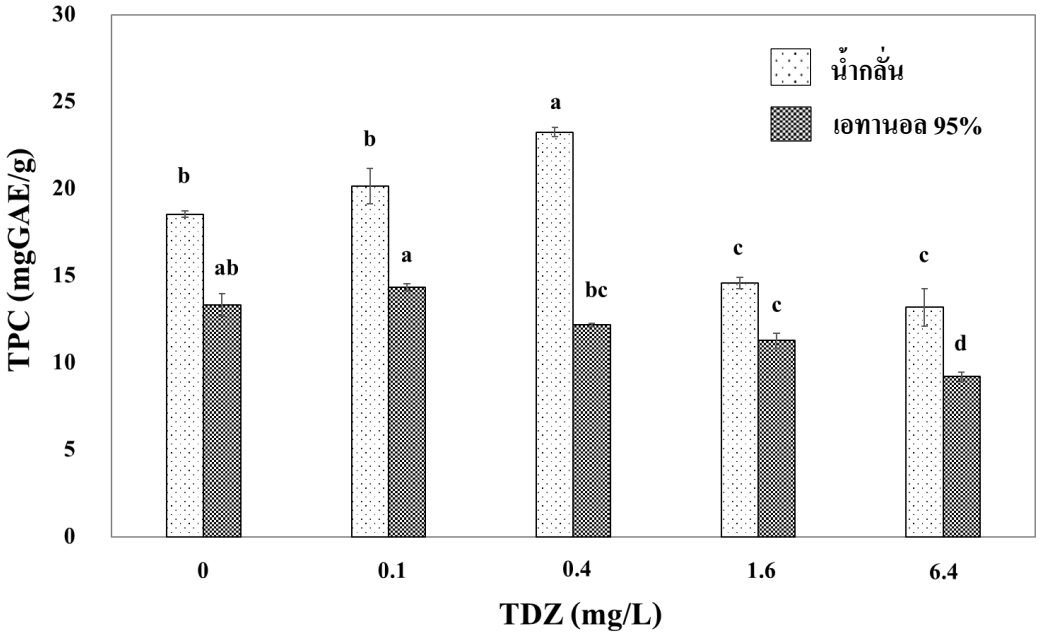
4.1.7.1 TPC

(1) น้ำกลั่น

เมื่อสิ้นสุดการทดลองเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ ปริมาณ TPC ของต้นพรมมิที่เลี้ยงในอาหารเติม TDZ 0.4 mg/L มีค่าเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 23.30 mgGAE/g ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ระหว่างชุดการทดลอง ความเข้มข้น 0.1, 0.4, 1.6 และ 6.4 mg/L เท่ากับ 20.19, 18.57, 14.60 และ 13.21 mgGAE/g ตามลำดับ (ภาพที่ 4.1 และ ตารางผนวกที่ 2)

(2) เอทานอล 95%

ปริมาณ TPC ของต้นพรมมิที่เลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง MS ร่วมกับสาร TDZ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า TDZ 0.1 mg/L มีค่ามากที่สุด เท่ากับ 14.36 mgGAE/g ความเข้มข้น 0, 0.4, 1.6 และ 6.4 mg/L เท่ากับ 13.35, 12.19, 11.31 และ 9.24 mgGAE/g ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ระหว่างชุดการทดลอง (ภาพที่ 4.1 และ ตารางผนวกที่ 2)



ภาพที่ 4.1 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อ TPC ของต้นพรมมิ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลาย น้ำกลั่น เอทานอล 95%

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในตัวทำละลายเดียวกัน หมายถึง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

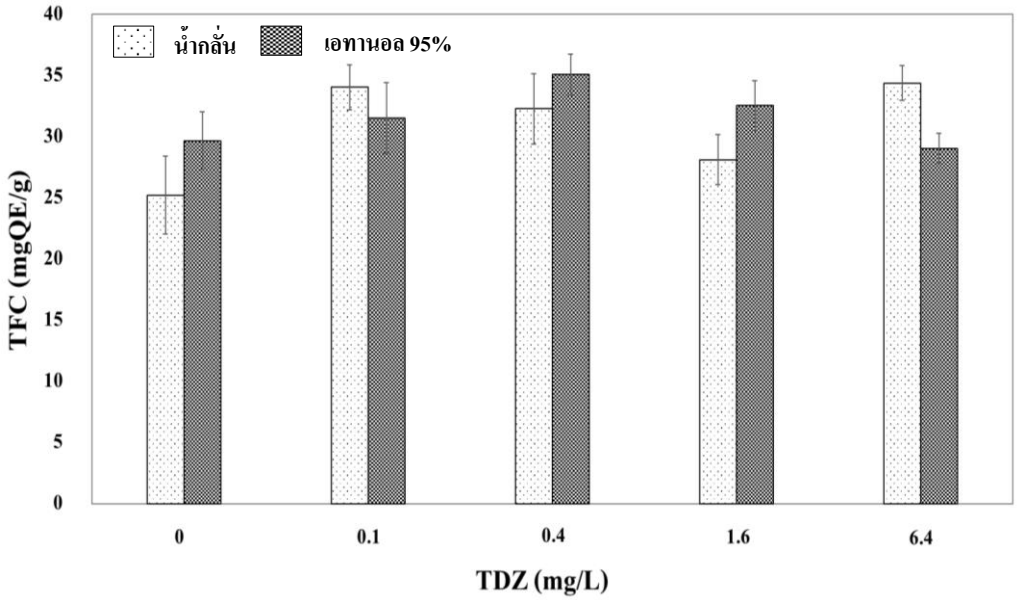
4.1.7.2 TFC

(1) น้ำกลั่น

ปริมาณ TFC ของต้นพรมมิที่เลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง MS ร่วมกับสาร TDZ ความเข้มข้นแตกต่างกัน 5 ระดับ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ในทุกชุดการทดลอง (ภาพที่ 4.2 และ ตารางผนวกที่ 2)

(2) เอทานอล 95%

การทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นพรมมิในอาหารกึ่งแข็ง MS ร่วมกับสาร TDZ ความเข้มข้นแตกต่างกัน 5 ระดับ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า เมื่อสิ้นสุดการทดลองปริมาณ TFC ตลอดทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ภาพที่ 4.2 และ ตารางผนวกที่ 2)



ภาพที่ 4.2 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อ TFC ของต้นพรมมิ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลาย น้ำกลั่น เอทานอล 95%

4.1.7.3 TSC

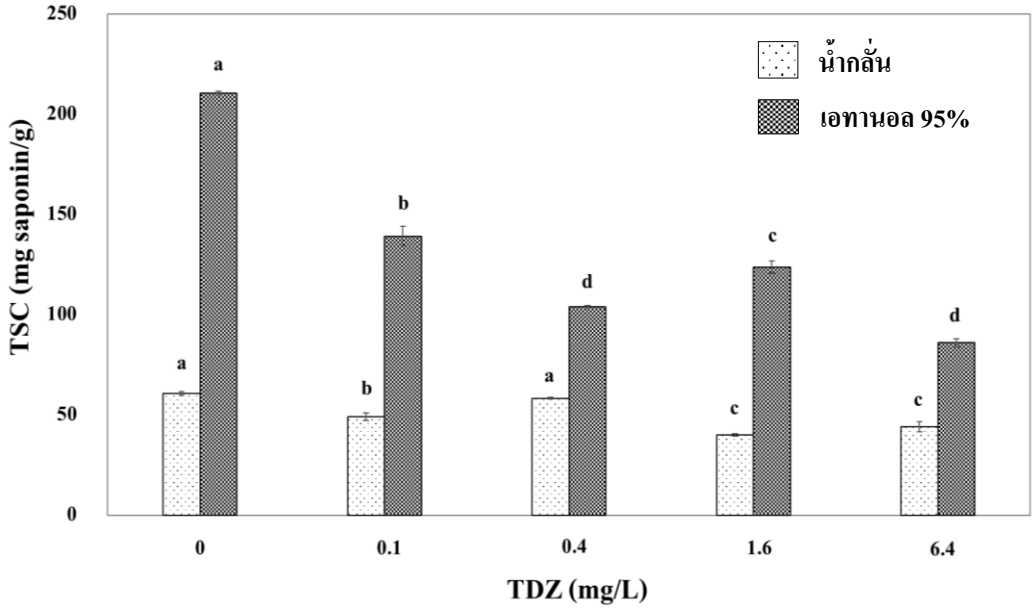
(1) น้ำกลั่น

เมื่อสิ้นสุดการทดลองเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ ปริมาณ TSC ของต้นพรมมิที่เลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง MS โดยไม่เติมสาร TDZ และ เติมสาร TDZ 0.4 mg/L มีค่าเท่ากับ 60.73 และ 58.23 mg saponin/g ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ระหว่างชุดการทดลอง TDZ ความเข้มข้น 0.1, 6.4 และ 1.6 mg/L เท่ากับ 49.06, 44.06 และ 39.90 mg saponin/g ตามลำดับ (ภาพที่ 4.3 และ ตารางผนวกที่ 2)

(2) เอทานอล 95%

ปริมาณ TSC ของต้นพรมมิที่เลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง MS ร่วมกับสาร TDZ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า ชุดการทดลองที่ไม่เติมสาร TDZ มีค่าเท่ากับ 210.48 mg saponin/g ซึ่งแตกต่างกัน

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ระหว่างชุดการทดลอง ความเข้มข้น 0.1, 1.6, 0.4 และ 6.4 mg/L เท่ากับ 139.15, 123.81, 103.81 และ 85.98 mg saponin/g ตามลำดับ (ภาพที่ 4.3 และ ตารางผนวกที่ 2)



ภาพที่ 4.3 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อ TSC ของต้นพรมมิ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลาย น้ำกลั่น เอทานอล 95%

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในตัวทำละลายเดียวกัน หมายถึง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

4.1.7.4 DPPH

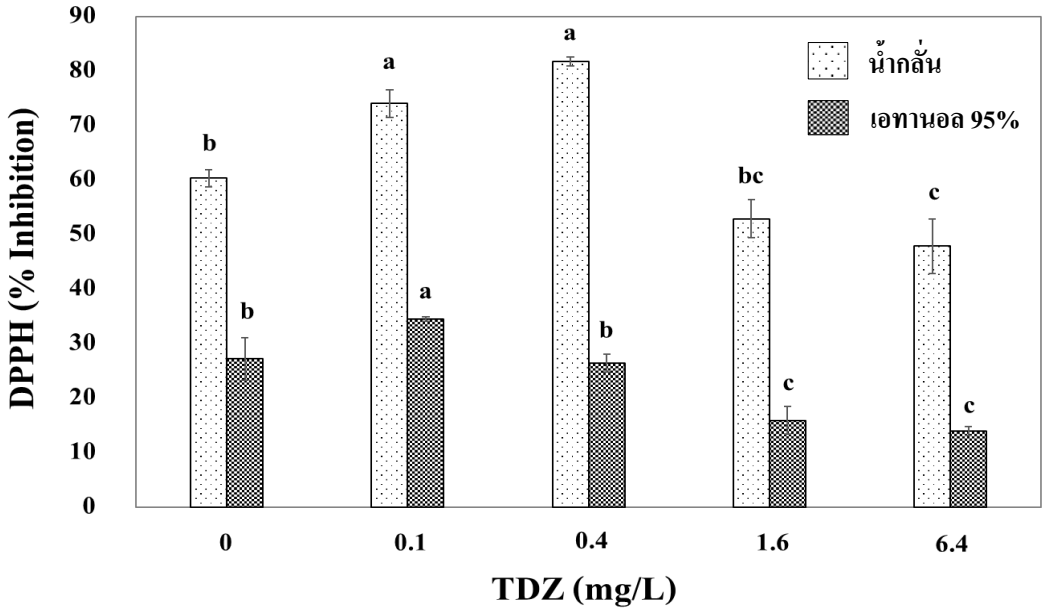
(1) น้ำกลั่น

การทดสอบ DPPH ของต้นพรมมิที่เลี้ยงในอาหารเติม TDZ 0.4 และ 0.1 mg/L เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ เท่ากับ 81.76 และ 74.03 % ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ระหว่างชุดการทดลอง ในขณะที่ความเข้มข้น 0, 1.6 และ 6.4 mg/L เท่ากับ 60.31, 52.88 และ 47.83 % ตามลำดับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ภาพที่ 4.4 และตารางผนวกที่ 2)

(2) เอทานอล 95 %

การทดสอบ DPPH ของต้นพรมมิที่เลี้ยงในอาหารเติม TDZ 0.1 mg/L เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ เท่ากับ 34.46 % ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ทางสถิติ ($p<0.05$) ระหว่างชุดการทดลอง ความเข้มข้น 0, 0.4, 1.6 และ 6.4 mg/L เท่ากับ 27.14, 26.43, 15.89 และ 13.87 % ตามลำดับ (ภาพที่ 4.4 และตารางผนวกที่ 2)



ภาพที่ 4.4 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อ DPPH ของต้นพรมมิ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลาย น้ำกลั่น เอทานอล 95%

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในตัวทำละลายเดียวกัน หมายถึง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

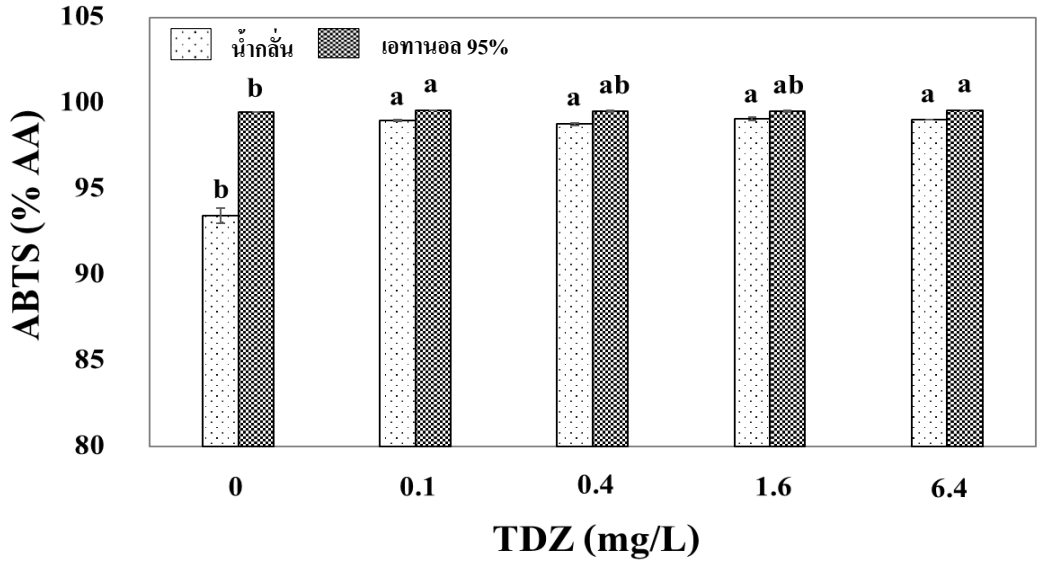
4.1.7.5 ABTS

(1) น้ำกลั่น

การทดสอบ ABTS ของต้นพรมมิที่เลี้ยงในอาหารเติม TDZ 1.6, 6.4, 0.1 และ 0.4 mg/L เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ 99.10, 99.05, 99.01 และ 98.78 % ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับชุดการทดลองที่ไม่เติม TDZ (ภาพที่ 4.5 และตารางผนวกที่ 2)

(2) เอทานอล 95 %

เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์ การทดสอบ ABTS ของต้นพรมมิที่เลี้ยงในอาหารเติม TDZ 0.1 และ 6.4 mg/L มีเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ 99.60 และ 99.60 % ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับชุดการทดลองที่ไม่เติม TDZ ในขณะที่ความเข้มข้น 0.4, 1.6 และ 0 mg/L เท่ากับ 99.55, 99.55 และ 99.46 % ตามลำดับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ภาพที่ 4.5 และตารางผนวกที่ 2)



ภาพที่ 4.5 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อ ABTS ของต้นพรมมิ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลาย น้ำกลั่น เอทานอล 95%

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในตัวทำละลายเดียวกัน หมายถึง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

4.2 ศึกษาความเข้มข้นของสาร TDZ ร่วมกับระยะเวลาการแช่ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน

จากการทดลองที่ 4.1 แสดงให้เห็นว่าสาร TDZ ที่ความเข้มข้น 0.1-0.4 mg/L มีผลต่อการเจริญเติบโตและสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรมมิ ซึ่งงานทดลองดังกล่าวเป็นวิธีการทดลองในห้องปฏิบัติการ โดยการทดลองที่ 4.2 เป็นการทดลองต่อเนื่องซึ่งใช้วิธีการแช่ต้นพรมมิที่ความเข้มข้นสาร TDZ 0.1 - 0.4 mg/L ร่วมกับระยะเวลาที่แตกต่างกัน 3 ช่วงเวลา ภายใต้สภาวะภายนอกห้องปฏิบัติการในระบบปลูกแบบไร้ดิน

4.2.1 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ และระยะเวลาการแช่ต่อความสูงต้นพรมมิ

การทดลองนำต้นพรมมิมาทำการแช่ในสาร TDZ 4 ระดับความเข้มข้น คือ 0, 0.1, 0.2 และ 0.4 mg/L และระยะเวลาการแช่ 3 ช่วงเวลา คือ 6, 12 และ 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเลี้ยงในระบบปลูกแบบไร้ดินเป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่า ความเข้มข้นของสาร TDZ กับระยะเวลา ไม่มีอิทธิพลร่วมกันต่อความสูงต้นของต้นพรมมิ ($p>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นสาร TDZ พบว่า ความเข้มข้น 0.2 mg/L มีผลต่อความสูงต้นพรมมิ เท่ากับ 7.26 เซนติเมตร รองลงมาคือความเข้มข้น 0.4, 0.1 และ 0 mg/L ตามลำดับ ซึ่งมีความสูง เท่ากับ 6.83, 6.27 และ 5.46 เซนติเมตร

ตามลำดับ ($p<0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาในการแช่ พบว่า ความสูงของต้นพรมมิไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) (ตารางที่ 4.7)

4.2.2 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ และระยะเวลาการแช่ต่อจำนวนกิ่งต้นพรมมิ

ทดลองนำต้นพรมมิมาทำการแช่ในสาร TDZ 4 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0, 0.1, 0.2 และ 0.4 mg/L และระยะเวลาการแช่ 3 ช่วงเวลา ได้แก่ 6, 12 และ 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเลี้ยงในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่า ความเข้มข้นของสาร TDZ ไม่มีผลต่อจำนวนกิ่งของต้นพรมมิ ($p>0.05$) ระยะเวลาในการแช่ ไม่ชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนกิ่งในต้นพรมมิ ($p>0.05$) และความเข้มข้นของสาร TDZ กับระยะเวลา ไม่มีอิทธิพลร่วมกันต่อจำนวนกิ่งของต้นพรมมิในทุกชุดการทดลอง ($p>0.05$) (ตารางที่ 4.7)

4.2.3 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ และระยะเวลาการแช่ต่อจำนวนใบต้นพรมมิ

การทดลองนำต้นพรมมิมาทำการแช่ในสาร TDZ 4 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0, 0.1, 0.2 และ 0.4 mg/L และระยะเวลาการแช่ 3 ช่วงเวลา ได้แก่ 6, 12 และ 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเลี้ยงในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่า ปัจจัยของความเข้มข้นสาร TDZ มีผลต่อจำนวนใบในต้นพรมมิ ซึ่งชุดการทดลองที่ไม่เติม TDZ มีจำนวนใบเท่ากับ 5.18 ใบต่อต้น รองลงมา คือ 0.1, 0.2 และ 0.4 mg/L โดยมีจำนวนใบ เท่ากับ 4.49, 4.02 และ 3.98 ใบต่อต้น ตามลำดับ ($p<0.05$) ในขณะที่ค่าเฉลี่ยของระยะเวลาในการแช่ ได้แก่ 6, 12 และ 24 ชั่วโมง ไม่ชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนใบของต้นพรมมิ ($p>0.05$) และความเข้มข้นของสาร TDZ กับระยะเวลาในการแช่ ไม่มีอิทธิพลร่วมกันต่อจำนวนใบของต้นพรมมิ ($p>0.05$) (ตารางที่ 4.7)

4.2.4 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ และระยะเวลาการแช่ต่อจำนวนข้อต้นพรมมิ

การทดลองนำต้นพรมมิมาทำการแช่ในสาร TDZ 4 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0, 0.1, 0.2 และ 0.4 mg/L และระยะเวลาการแช่ 3 ช่วงเวลา ได้แก่ 6, 12 และ 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเลี้ยงในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่า ความเข้มข้นของ TDZ ไม่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนข้อในต้นพรมมิ ($p>0.05$) ระยะเวลาในการแช่ ไม่มีการเพิ่มของจำนวนข้อในทุกชุดการทดลอง ($p>0.05$) และความเข้มข้นของ TDZ กับระยะเวลาในการแช่ ไม่มีอิทธิพลร่วมกันต่อจำนวนข้อในต้นพรมมิ ($p>0.05$) (ตารางที่ 4.7)

4.2.5 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ และระยะเวลาการแช่ต่อจำนวนรากต้นพรมมิ

การทดลองนำต้นพรมมิมาทำการแช่ในสาร TDZ 4 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0, 0.1, 0.2 และ 0.4 mg/L และระยะเวลาการแช่ 3 ช่วงเวลา ได้แก่ 6, 12 และ 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเลี้ยงในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่า ความเข้มข้นของสาร TDZ ไม่กระตุ้นให้เกิดการ

เพิ่มจำนวนราก ($p>0.05$) และความเข้มข้นของสาร TDZ กับระยะเวลาในการแช่ ไม่มีอิทธิพลร่วมกันต่อการเพิ่มจำนวนรากในต้นพรมมิ ($p>0.05$) ในขณะที่ค่าเฉลี่ยของระยะเวลาในการแช่มีผลต่อจำนวนรากของต้นพรมมิ ที่ระยะเวลาการแช่ 12 และ 6 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 1.05 และ 1.02 รากต่อต้น รองลงมา คือ 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 0.15 รากต่อต้น ($p<0.05$) (ตารางที่ 4.7)

4.2.6 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ และระยะเวลาการแช่ต่อน้ำหนักต้นพรมมิ

น้ำหนักหลังสิ้นสุดการทดลองของต้นพรมมิที่ทำการแช่ในสาร TDZ แตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 0, 0.1, 0.2 และ 0.4 mg/L พบว่า น้ำหนักแห้ง (หลังอบ) ของต้นพรมมิที่แช่ในสาร TDZ 0.1 และ 0.4 mg/L มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.0516 และ 0.0518 กรัมต่อต้น รองลงมา คือ ความเข้มข้นสาร TDZ 0.2 และ 0 mg/L มีค่าเท่ากับ 0.0485 และ 0.0472 กรัมต่อต้น ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ระหว่างชุดการทดลอง แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของสาร TDZ มีผลต่อน้ำหนักต้นพรมมิ ในขณะที่ระยะเวลาการแช่มีผลต่อน้ำหนักต้นพรมมิ โดยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่า น้ำหนักแห้ง (หลังอบ) ที่ระยะเวลาการแช่ 12 และ 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 0.0514 และ 0.0517 กรัมต่อต้น รองลงมาคือ 6 ชั่วโมง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.0481 กรัมต่อต้น ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และความเข้มข้นของสาร TDZ กับระยะเวลาการแช่ต้นพรมมิ พบว่า ที่ TDZ 0.1 mg/L ร่วมกับระยะเวลา 12 ชั่วโมง มีน้ำหนักแห้ง(หลังอบ) ภายหลังสิ้นสุดการทดลองเท่ากับ 0.0519 กรัมต่อต้น ซึ่งมากกว่าชุดการทดลองอื่น แสดงให้เห็นว่าที่ความเข้มข้นและระยะเวลาดังกล่าวมีอิทธิพลร่วมกันต่อน้ำหนักของต้นพรมมิ ($p<0.05$) ในขณะที่น้ำหนักสด (ก่อนอบ) ภายหลังสิ้นสุดการทดลองของความเข้มข้นสาร TDZ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ระยะเวลาในการแช่ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) และความเข้มข้นสาร TDZ กับระยะเวลาการแช่ ไม่มีอิทธิพลร่วมกันต่อน้ำหนักแห้ง ($p>0.05$) (ตารางที่ 4.8)

ตารางที่ 4.7 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ และช่วงเวลาการแช่ ต่อความสูง จำนวนกิ่ง จำนวนใบ จำนวนข้อ และจำนวนราก ด้วยการเลี้ยงในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 7 วัน

ปัจจัย	ชุดการทดลอง	ความสูง (เซนติเมตร)	จำนวนกิ่ง (กิ่งต่อต้น)	จำนวนใบ (ใบต่อต้น)	จำนวนข้อ (ข้อต่อต้น)	จำนวนราก (รากต่อต้น)
TDZ (A)	0	5.46±0.25^{c}	0.44±0.08	5.18±0.20^{a}	3.00±0.00	0.82±0.16
(mg/L)	0.1	6.27±0.25^{b}	0.29±0.08	4.49±0.20^{b}	3.00±0.00	0.84±0.16
	0.2	7.26±0.25^{a}	0.31±0.08	4.02±0.20^{b}	3.00±0.00	0.67±0.16
	0.4	6.83±0.25^{ab}	0.33±0.08	3.98±0.20^{b}	3.00±0.00	0.62±0.16
F-test		*	ns	*	ns	ns
Times (B)	6	6.33±0.21	0.35±0.07	4.22±0.18	3.00±0.00	1.02±0.14^{a}
(hrs)	12	6.72±0.21	0.45±0.07	4.30±0.18	3.00±0.00	1.05±0.14^{a}
	24	6.32±0.21	0.23±0.07	4.73±0.18	3.00±0.00	0.15±0.14^{b}
F-test		ns	ns	ns	ns	*
A×B	0×6	5.77±0.43	0.33±0.13	5.33±0.35	3.00±0.00	0.93±0.28
	0×12	5.93±0.43	0.67±0.13	4.80±0.35	3.00±0.00	1.20±0.28
	0×24	4.67±0.43	0.33±0.13	5.40±0.35	3.00±0.00	0.33±0.28
	0.1×6	6.30±0.43	0.40±0.13	3.93±0.35	3.00±0.00	1.33±0.28
	0.1×12	6.79±0.43	0.13±0.13	4.47±0.35	3.00±0.00	1.00±0.28
	0.1×24	5.73±0.43	0.33±0.13	5.07±0.35	3.00±0.00	0.20±0.28
	0.2×6	6.78±0.43	0.27±0.13	3.80±0.35	3.00±0.00	0.73±0.28
	0.2×12	7.15±0.43	0.53±0.13	4.07±0.35	3.00±0.00	1.20±0.28
	0.2×24	7.85±0.43	0.13±0.13	4.20±0.35	3.00±0.00	0.07±0.28
	0.4×6	6.45±0.43	0.40±0.13	3.80±0.35	3.00±0.00	1.07±0.28
	0.4×12	7.01±0.43	0.47±0.13	3.87±0.35	3.00±0.00	0.80±0.28
	0.4×24	7.03±0.43	0.13±0.13	4.27±0.35	3.00±0.00	0.00±0.28
F-test		ns	ns	ns	ns	ns

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวตั้งเดียวกันของแต่ละปัจจัย หมายถึง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

ตารางที่ 4.8 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ และช่วงเวลาการแช่ ต่อน้ำหนักสดและแห้ง (กรัมต่อต้น) ของต้นพรมมิที่เลี้ยงในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 7 วัน

ปัจจัย	ชุดการทดลอง	น้ำหนักเริ่มต้น		น้ำหนักสุดท้าย	
		น้ำหนักสด (กรัมต่อต้น)	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อต้น)	น้ำหนักสด (กรัมต่อต้น)	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อต้น)
TDZ (A)	0	0.4013±0.0035	0.0279±0.0001	0.4913±0.0257	0.0472±0.0001^{c}
(mg/L)	0.1	0.4013±0.0035	0.0279±0.0001	0.5293±0.0368	0.0516±0.0001^{a}
	0.2	0.4013±0.0035	0.0279±0.0001	0.5400±0.0474	0.0485±0.0000^{b}
	0.4	0.4013±0.0035	0.0279±0.0001	0.5940±0.0382	0.0518±0.0001^{a}
F-test		ns	ns	ns	*
Times (B)	6	0.4013±0.0035	0.0279±0.0001	0.5010±0.0203	0.0481±0.0006^{b}
(hrs)	12	0.4013±0.0035	0.0279±0.0001	0.5260±0.0349	0.0514±0.0001^{a}
	24	0.4013±0.0035	0.0279±0.0001	0.5170±0.0374	0.0517±0.0001^{a}
F-test		ns	ns	ns	*
A×B	0×6	0.4013±0.0035	0.0279±0.0001	0.4680±0.0279	0.0470±0.0001^{d}
	0×12	0.4013±0.0035	0.0279±0.0001	0.5160±0.0320	0.0473±0.0000^{d}
	0×24	0.4013±0.0035	0.0279±0.0001	0.4900±0.0205	0.0473±0.0000^{d}
	0.1×6	0.4013±0.0035	0.0279±0.0001	0.4840±0.0452	0.0515±0.0001^{b}
	0.1×12	0.4013±0.0035	0.0279±0.0001	0.5540±0.0456	0.0519±0.0001^{a}
	0.1×24	0.4013±0.0035	0.0279±0.0001	0.5500±0.0189	0.0513±0.0000^{b}
	0.2×6	0.4013±0.0035	0.0279±0.0001	0.5980±0.0497	0.0484±0.0000^{c}
	0.2×12	0.4013±0.0035	0.0279±0.0001	0.5240±0.0529	0.0484±0.0000^{c}
	0.2×24	0.4013±0.0035	0.0279±0.0001	0.4980±0.0463	0.0486±0.0000^{c}
	0.4×6	0.4013±0.0035	0.0279±0.0001	0.5380±0.0400	0.0486±0.0000^{c}
	0.4×12	0.4013±0.0035	0.0279±0.0001	0.6080±0.0378	0.0486±0.0000^{c}
	0.4×24	0.4013±0.0035	0.0279±0.0001	0.6360±0.0407	0.0484±0.0000^{c}
F-test		ns	ns	ns	*

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

4.3 ศึกษาสารประกอบโพแทสเซียมไนเตรทในสูตรสารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระของต้นพรมมิด้วยระบบปลูกแบบไร้ดิน

จากการทดลองที่ 4.2 แสดงให้ว่าความเข้มข้นสาร TDZ 0.1 mg/L กับระยะเวลาการแช่ 12 ชั่วโมง มีอิทธิพลร่วมกันต่อการเจริญเติบโตของต้นพรมมิ และการทดลองที่ 4.3 เป็นงานทดลองต่อเนื่องโดยใช้ต้นพรมมิที่มีความสูง 3 – 5 เซนติเมตร แช่สาร TDZ 0.1 mg/L นาน 12 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเลี้ยงในระบบปลูกแบบไร้ดินโดยใช้สารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีความเข้มข้นสาร KNO_3 แตกต่างกัน 5 ระดับ

4.3.1 ผลของสารประกอบโพแทสเซียมไนเตรทต่อความสูงต้นพรมมิ

การทดลองนำต้นพรมมิมาทำการเลี้ยงโดยใช้สารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีความเข้มข้นของสาร KNO_3 แตกต่างกัน 5 ระดับ ได้แก่ 3.40, 3.90, 4.40, 4.90 และ 5.40 มิลลิอิควิวาเลนต์ต่อลิตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ในระบบปลูกแบบไร้ดิน พบว่า ความสูงของต้นพรมมิ มีค่าเท่ากับ 54.05, 52.40, 55.70, 57.25 และ 52.65 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งค่าเฉลี่ยความสูงของต้นพรมมิไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ระหว่างชุดการทดลอง (ตารางที่ 4.9)

ตารางที่ 4.9 ผลของความเข้มข้นสาร KNO_3 ที่แตกต่างกันในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ต่อความสูง (เซนติเมตร) ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

KNO_3	ระยะเวลา (สัปดาห์)				
(meq/L)	0	2	4	6	8
3.40	6.35±0.41	17.62±1.02	34.74±1.66	44.35±2.43	54.05±3.43
3.90	5.61±0.19	16.87±0.75	33.90±1.51	44.55±2.39	52.40±2.65
4.40 (ชุดควบคุม)	5.75±0.26	16.10±0.67	31.70±1.33	47.75±2.11	55.70±2.67
4.90	5.92±0.17	16.62±0.50	32.97±1.29	49.72±1.93	57.25±2.69
5.40	5.43±0.37	15.90±0.89	32.15±1.52	45.00±2.12	52.65±2.70
F-test	ns	ns	ns	ns	ns

หมายเหตุ : ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

4.3.2 ผลของสารประกอบโพแทสเซียมไนเตรทต่อจำนวนกิ่งต้นพรมมิ

การทดลองนำต้นพรมมิมาทำการเลี้ยงในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่ความเข้มข้นของสาร KNO_3 แตกต่างกัน 5 ระดับ ได้แก่ 3.40, 3.90, 4.40, 4.90 และ 5.40 มิลลิอิควิวาเลนต์ต่อลิตร ในระบบปลูกแบบไร้ดิน พบว่า เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 8 จำนวนกิ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 14.50, 13.70, 14.80, 13.90, และ 14.50 กิ่งต่อต้น ตามลำดับ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ระหว่างชุดการทดลอง (ตารางที่ 4.10)

ตารางที่ 4.10 ผลของความเข้มข้นสาร KNO_3 ที่แตกต่างกันในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ต่อจำนวนกิ่ง (กิ่งต่อต้น) ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

KNO_3	ระยะเวลา (สัปดาห์)				
(meq/L)	0	2	4	6	8
3.40	0.00±0.00	5.00±0.42	7.80±0.33	11.70±0.96	14.50±0.75
3.90	0.00±0.00	5.10±0.59	7.90±0.87	11.00±0.94	13.70±1.15
4.40 (ชุดควบคุม)	0.00±0.00	4.20±0.55	7.10±1.18	11.80±1.69	14.80±2.08
4.90	0.00±0.00	4.60±0.34	7.20±0.57	10.30±1.01	13.90±0.82
5.40	0.00±0.00	4.50±0.56	8.00±0.73	11.90±1.29	14.50±1.61
F-test	ns	ns	ns	ns	ns

หมายเหตุ : ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

4.3.3 ผลของสารประกอบโพแทสเซียมไนเตรทต่อจำนวนใบต้นพรมมิ

การทดลองนำต้นพรมมิมาทำการเลี้ยงโดยใช้สารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีความเข้มข้นของสาร KNO_3 ที่ความเข้มข้น ดังนี้ 3.40, 3.90, 4.40, 4.90 และ 5.40 มิลลิอิควิวาเลนต์ต่อลิตร ในระบบปลูกแบบไร้ดินเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่า ค่าเฉลี่ยจำนวนใบของต้นพรมมิ เท่ากับ 46.70, 44.90, 46.40, 45.40 และ 45.30 ใบต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งในระหว่างชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ดังตารางที่ 4.11

ตารางที่ 4.11 ผลของความเข้มข้นสาร KNO_3 ที่แตกต่างกันในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ต่อจำนวนใบ (ใบต่อต้น) ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

KNO_3	ระยะเวลา (สัปดาห์)				
(meq/L)	0	2	4	6	8
3.40	9.60±0.27	18.80±0.44	29.20±0.53	36.40±1.66	46.70±1.92
3.90	9.80±0.36	18.30±0.47	28.90±0.71	35.60±1.48	44.90±1.30
4.40 (ชุดควบคุม)	10.20±0.55	17.80±0.47	28.60±0.60	36.30±1.48	46.40±1.59
4.90	10.20±0.55	18.80±0.44	28.80±0.66	37.20±0.90	45.40±0.98
5.40	9.30±0.42	17.90±0.64	28.20±1.01	35.80±1.48	45.30±1.15
F-test	ns	ns	ns	ns	ns

หมายเหตุ : ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

4.3.4 ผลของสารประกอบโพแทสเซียมไนเตรทต่อจำนวนข้อต้นพรมมิ

การทดลองนำต้นพรมมิมาทำการเลี้ยงในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีความเข้มข้นของสาร KNO_3 แตกต่างกัน 5 ระดับ เท่ากับ 3.40, 3.90, 4.40, 4.90 และ 5.40 มิลลิอิควิวาเลนต์ต่อลิตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ในระบบปลูกแบบไร้ดิน พบว่า ในระหว่างชุดการทดลอง จำนวนข้อไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ซึ่งในสัปดาห์สิ้นสุดการทดลอง จำนวนข้อของต้นพรมมิ มีค่าเฉลี่ย 22.10, 21.60, 21.40, 22.00 และ 21.10 ข้อต่อต้น (ตารางที่ 4.12)

4.3.5 ผลของสารประกอบโพแทสเซียมไนเตรทต่อน้ำหนักต้นพรมมิ

น้ำหนักหลังสิ้นสุดการทดลอง ได้แก่ น้ำหนักสด (ก่อนอบ) และแห้ง (หลังอบ) พบว่า ความเข้มข้นของสาร KNO_3 3.40 มิลลิอิควิวาเลนต์ต่อลิตร มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของต้นพรมมิมากกว่าชุดการทดลองอื่น ($p<0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 0.7688 กรัม รองลงมา คือ 4.40, 5.40, 3.90 และ 4.90 มิลลิอิควิวาเลนต์ต่อลิตร มีค่าเท่ากับ 0.6859, 0.6471, 0.5820 และ 0.5770 กรัม ตามลำดับ ในขณะที่น้ำหนักสดภายหลังสิ้นสุดการทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ดังตารางที่ 4.13

ตารางที่ 4.12 ผลของความเข้มข้นสาร KNO_3 ที่แตกต่างกันในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ต่อจำนวนข้อ (ข้อต่อต้น) ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

KNO_3	ระยะเวลา (สัปดาห์)				
(meq/L)	0	2	4	6	8
3.40	3.00±0.00	7.60±0.31	13.10±0.23	17.80±0.44	22.10±0.64
3.90	3.00±0.00	7.60±0.22	13.10±0.41	17.20±0.59	21.60±0.65
4.40 (ชุดควบคุม)	3.00±0.00	7.10±0.23	12.60±0.40	17.70±0.50	21.40±0.75
4.90	3.00±0.00	7.80±0.13	12.80±0.36	18.10±0.38	22.00±0.61
5.40	3.00±0.00	7.10±0.35	12.70±0.50	16.90±0.62	21.10±0.82
F-test	ns	ns	ns	ns	ns

หมายเหตุ : ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

ตารางที่ 4.13 ผลของสาร KNO_3 ต่อน้ำหนักสดและแห้ง (กรัมต่อต้น) ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

KNO_3	น้ำหนักเริ่มต้น		น้ำหนักสุดท้าย	
(meq/L)	น้ำหนักสด (กรัม/ต้น)	น้ำหนักแห้ง (กรัม/ต้น)	น้ำหนักสด (กรัม/ต้น)	น้ำหนักแห้ง (กรัม/ต้น)
3.40	0.3900±0.0149	0.0287±0.0010	11.2640±0.5309	0.7688±0.0010[a]
3.90	0.3900±0.0149	0.0287±0.0010	10.3940±0.4877	0.5820±0.0000[d]
4.40 (ชุดควบคุม)	0.3900±0.0149	0.0287±0.0010	10.7320±0.5782	0.6859±0.0001[b]
4.90	0.3900±0.0149	0.0287±0.0010	10.4580±0.4357	0.5770±0.0001[e]
5.40	0.3900±0.0149	0.0287±0.0010	10.0290±0.3011	0.6471±0.0009[c]
F-test	ns	ns	ns	*

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวตั้งของแต่ละปัจจัยแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

4.3.6 ผลของสารประกอบโพแทสเซียมไนเตรทต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิเป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์

นำต้นพรมมิที่ปลูกเป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ ในแต่ละชุดการทดลองมาทำการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ TPC, TFC และ TSC และวิเคราะห์ฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระ

ได้แก่ DPPH และ ABTS โดยใช้สารตัวอย่างที่สกัดด้วยตัวทำละลายแตกต่างกัน 2 ชนิด ได้แก่ น้ำกลั่นและเอทานอลเข้มข้น 95% ดังนี้

4.3.6.1 TPC

(1) น้ำกลั่น

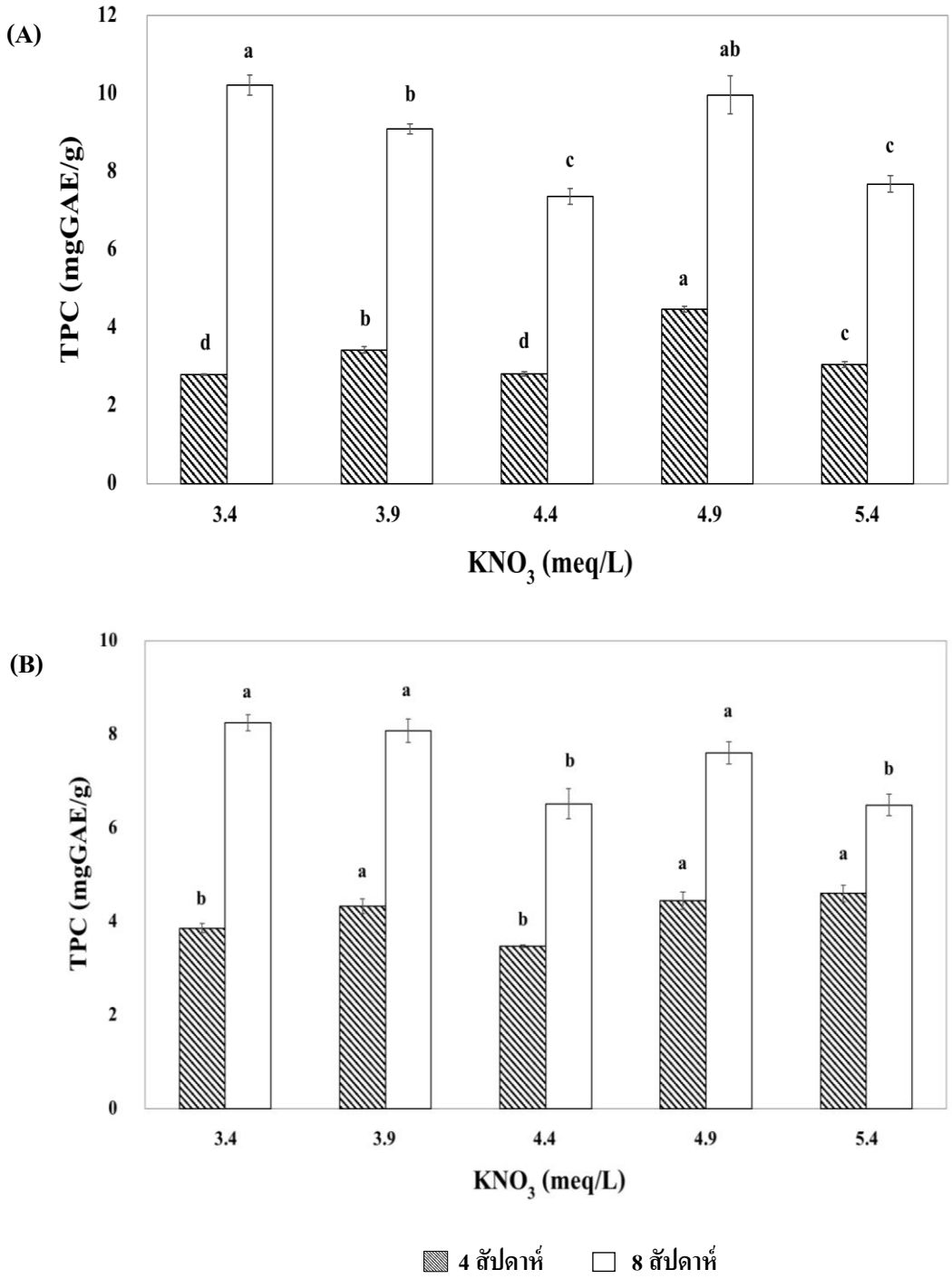
ปริมาณ TPC ของต้นพรมมิที่เลี้ยงในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ปริมาณความเข้มข้นของสาร KNO_3 4.9 meq/L มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.47 mgGAE/g ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในระหว่างชุดการทดลอง รองลงมาคือ 3.90, 5.40, 4.40 และ 3.4 meq/L เท่ากับ 3.43, 3.05, 2.82 และ 2.80 mgGAE/g ตามลำดับ (ภาพที่ 4.6 และตารางผนวกที่ 3) ในขณะที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ปริมาณความเข้มข้นของสาร KNO_3 3.4 meq/L มีค่าเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 10.22 mgGAE/g ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ระหว่างชุดการทดลอง รองลงมาคือ 4.90, 3.90, 5.40 และ 4.40 meq/L มีค่าเท่ากับ 9.96, 9.09, 7.69 และ 7.37 mgGAE/g ตามลำดับ (ภาพที่ 4.6 และตารางผนวกที่ 4)

(2) เอทานอล 95%

ปริมาณ TPC ของต้นพรมมิที่เลี้ยงในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ที่ปริมาณความเข้มข้นของสาร KNO_3 5.40 meq/L มีค่าเท่ากับ 4.61 mgGAE/g ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในระหว่างชุดการทดลอง รองลงมาคือ 4.90, 3.90, 3.40 และ 4.40 meq/L เท่ากับ 4.45, 4.34, 3.87 และ 3.48 mgGAE/g ตามลำดับ (ภาพที่ 4.6 และตารางผนวกที่ 3) ในขณะที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ปริมาณความเข้มข้นของสาร KNO_3 3.40, 3.90 และ 4.90 meq/L มีค่าเท่ากับ 8.25, 8.08 และ 7.61 mgGAE/g ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในระหว่างชุดการทดลอง รองลงมาคือ 4.40 และ 5.40 meq/L เท่ากับ 6.52 และ 6.49 mgGAE/g ตามลำดับ (ภาพที่ 4.6 และตารางผนวกที่ 4)

4.3.6.2 เปรียบเทียบสารต้านอนุมูลอิสระที่ปลูกเป็นเวลา 4 และ 8 สัปดาห์

การทดลองปลูกต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน ด้วยสารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ที่มีระดับ KNO_3 3.4, 3.9, 4.4, 4.9 และ 5.4 meq/L พบว่า หลังจากปลูกต้นพรมมิเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ปริมาณ TPC ที่ใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 % มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในแต่ละความเข้มข้น (ตารางที่ 4.14)



ภาพที่ 4.6 ผลของสาร KNO_3 ต่อ TPC ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่น (A) และเอทานอล 95 % (B)

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในระยะเวลาเดียวกัน หมายถึง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ 4.14 ผลของสาร KNO_3 ต่อ TPC ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 %

KNO_3 (meq/L)	ตัวทำละลาย					
	น้ำกลั่น		F-test	เอทานอล 95 %		F-test
	4 สัปดาห์	8 สัปดาห์		4 สัปดาห์	8 สัปดาห์	
3.40	2.80±0.02[b]	10.22±0.25[a]	*	3.87±0.10[b]	8.25±1.17[a]	*
3.90	3.43±0.08[b]	9.09±0.12[a]	*	4.34±0.15[b]	8.08±0.25[a]	*
4.40 (ชุดควบคุม)	2.82±0.05[b]	7.37±0.20[a]	*	3.48±0.03[b]	6.25±0.32[a]	*
4.90	4.47±0.08[b]	9.96±0.49[a]	*	4.45±0.19[b]	7.61±0.24[a]	*
5.40	3.05±0.08[b]	7.69±0.21[a]	*	4.61±0.18[b]	6.49±0.23[a]	*

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแต่ละความเข้มข้นของตัวทำละลายเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

4.3.6.3 TFC

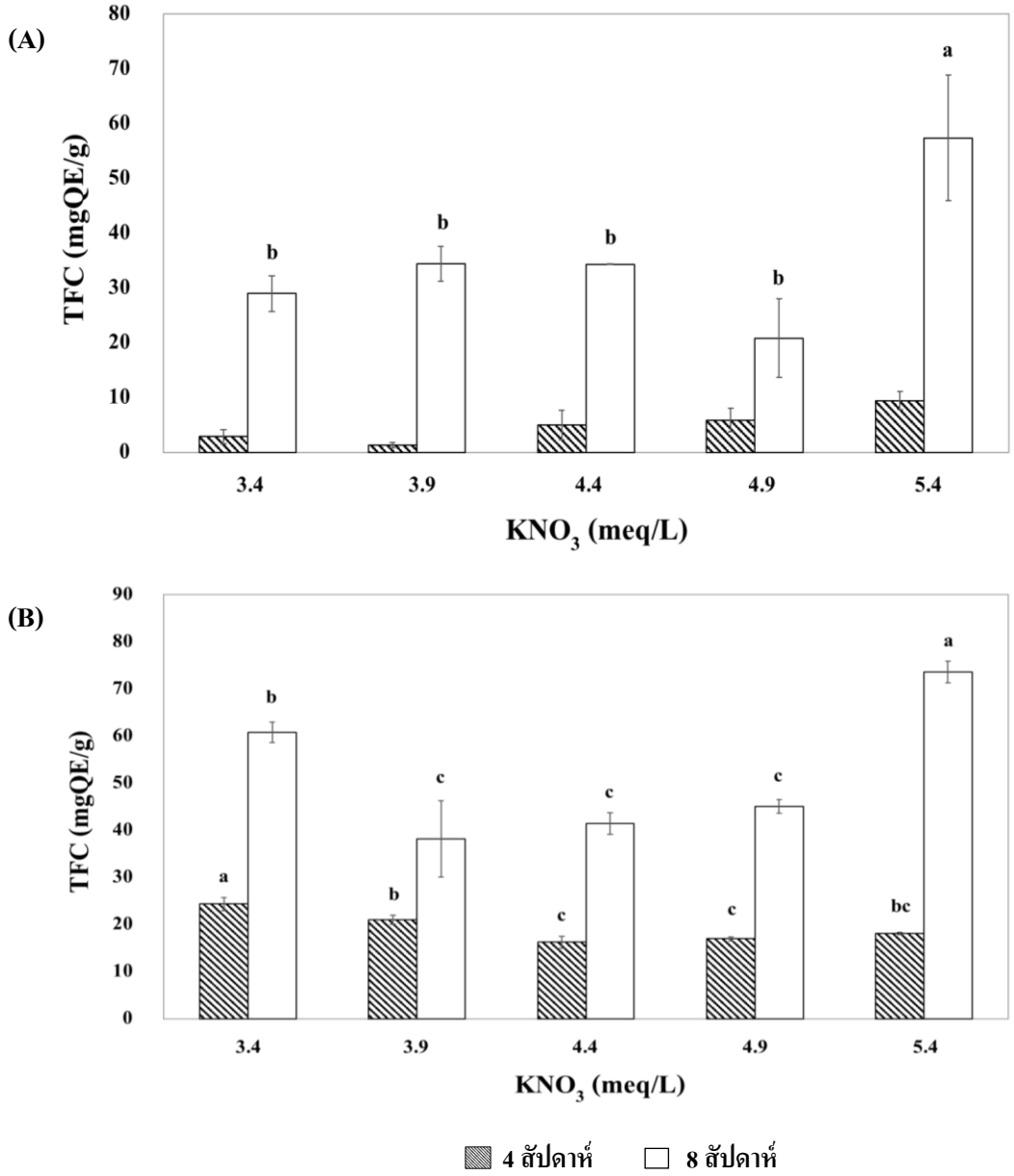
(1) น้ำกลั่น

ปริมาณ TFC ของต้นพรมมิที่เลี้ยงในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ภาพที่ 4.7 และตารางผนวกที่ 3) ในขณะที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ปริมาณ TFC ต้นพรมมิที่เลี้ยงในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีปริมาณความเข้มข้นของสาร KNO_3 5.40 meq/L มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 57.40 mgQE/g ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในระหว่างชุดการทดลอง รองลงมาคือ 3.90, 4.40, 3.40 และ 4.90 meq/L เท่ากับ 34.42, 34.35, 29.00 และ 20.86 mgQE/g ตามลำดับ (ภาพที่ 4.7 และตารางผนวกที่ 4)

(2) เอทานอล 95 %

ปริมาณ TFC ของต้นพรมมิที่เลี้ยงในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ที่ความเข้มข้นของสาร KNO_3 3.4 meq/L เท่ากับ 24.33 mgQE/g ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ระหว่างชุดการทดลอง ความเข้มข้น 3.90, 5.40, 4.90 และ 4.40 meq/L เท่ากับ 20.97, 18.08, 16.98 และ 16.25 mgQE/g ตามลำดับ (ภาพที่ 4.7 และตารางผนวกที่ 3) ในขณะที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ปริมาณความเข้มข้นของสาร KNO_3 5.40 meq/L มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 73.56 mgQE/g ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ระหว่างชุดการทดลอง

ความเข้มข้น 3.40, 4.90, 4.40 และ 3.90 meq/L มีค่าเท่ากับ 60.75, 45.09, 41.41 และ 38.16 mgQE/g ตามลำดับ (ภาพที่ 4.7 และตารางผนวกที่ 4)



ภาพที่ 4.7 ผลของสาร KNO_3 ต่อ TFC ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่น (A) และเอทานอล 95 % (B)

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในระยะเวลาเดียวกัน หมายถึง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

4.3.6.4 เปรียบเทียบสารต้านอนุมูลอิสระที่ปลูกเป็นเวลา 4 และ 8 สัปดาห์

การทดลองปลูกต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน ด้วยสารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ที่มี KNO_3 3.4, 3.9, 4.4, 4.9 และ 5.4 meq/L พบว่า หลังจากปลูกต้นพรมมิเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ปริมาณ TFC ที่ใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในแต่ละความเข้มข้น ในขณะที่การใช้ตัวทำละลายเอทานอล 95 % ที่ความเข้มข้น 3.4, 4.4, 4.9 และ 5.4 meq/L มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในแต่ละความเข้มข้น ยกเว้น ความเข้มข้น 3.9 meq/L ที่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 4.15)

ตารางที่ 4.15 ผลของสาร KNO_3 ต่อ TFC ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 %

KNO_3 (meq/L)	ตัวทำละลาย					
	น้ำกลั่น		F-test	เอทานอล 95 %		F-test
	4 สัปดาห์	8 สัปดาห์		4 สัปดาห์	8 สัปดาห์	
3.40	2.89±1.28^{b}	29.00±3.27^{a}	*	24.33±1.37^{b}	60.75±2.21^{a}	*
3.90	1.33±0.47^{b}	34.42±3.15^{a}	*	20.97±0.96	38.16±8.08^{c}	ns
4.40 (ชุดควบคุม)	5.00±2.67^{b}	34.35±0.09^{a}	*	16.25±1.28^{b}	41.41±2.25^{a}	*
4.90	5.90±2.12^{b}	20.86±7.12^{a}	*	16.98±0.42^{b}	45.09±1.44^{a}	*
5.40	9.43±1.65^{b}	57.40±11.46^{a}	*	18.08±0.30^{b}	73.56±2.27^{a}	*

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแต่ละความเข้มข้นของตัวทำละลายเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$),

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

4.3.6.5 TSC

(1) น้ำกลั่น

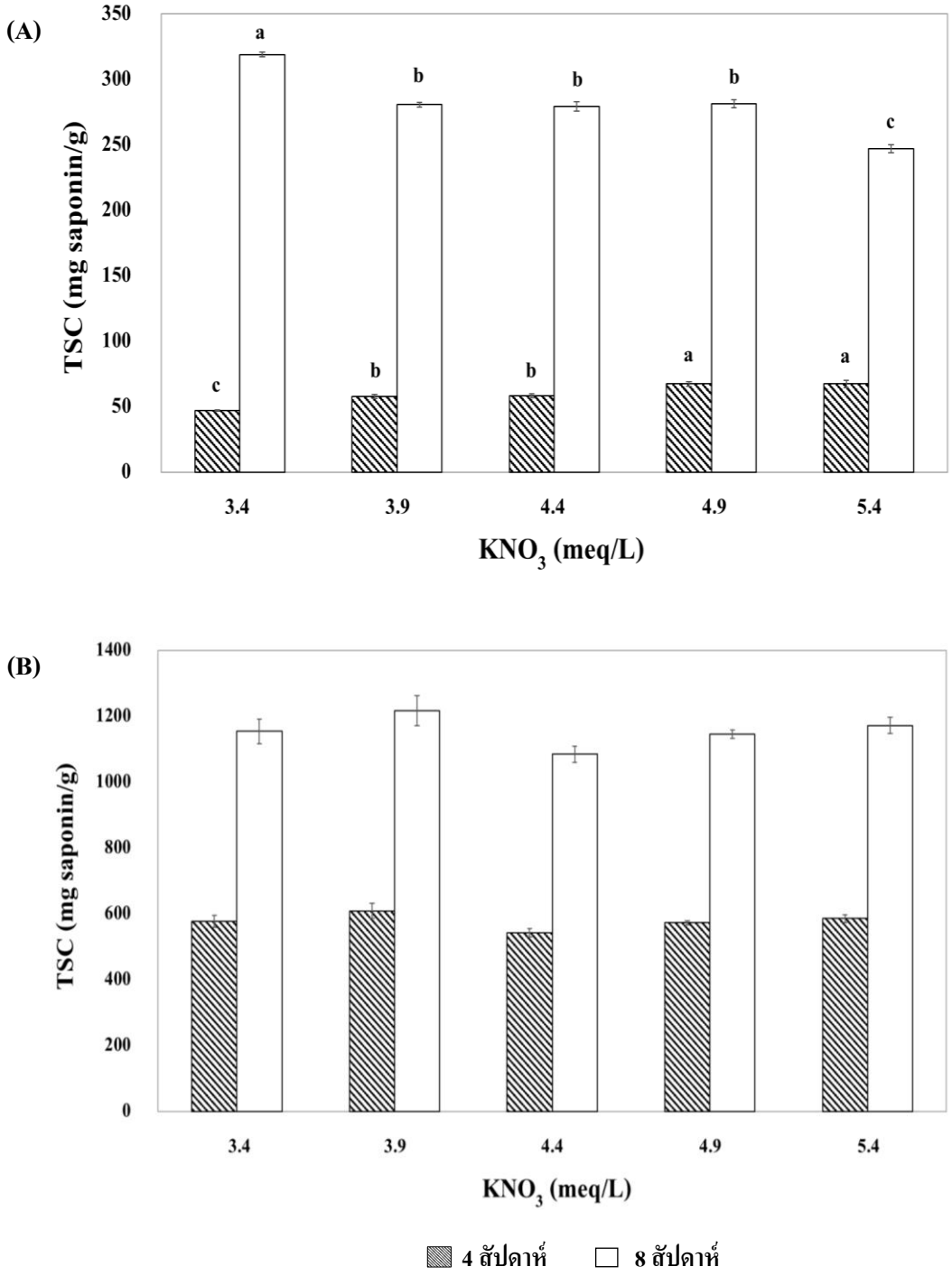
ปริมาณ TSC พบว่า ต้นพรมมิที่เลี้ยงในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีความเข้มข้นของสาร KNO_3 4.90 และ 5.40 meq/L เท่ากับ 67.37 และ 67.37 mg saponin/g ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในระหว่างชุดการทดลอง ความเข้มข้น 4.40, 3.90 และ 3.40 meq/L มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 58.53, 58.03 และ 47.03 mg saponin/g ตามลำดับ (ภาพที่ 4.8 และตารางผนวกที่ 3) ในขณะที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ปริมาณความเข้มข้นของสาร KNO_3 3.4 meq/L มีค่าเท่ากับ 319.07 mg saponin/g ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ระหว่างชุดการทดลอง ความเข้มข้น 4.90, 3.90, 4.40 และ 5.40 meq/L เท่ากับ 281.40, 280.73, 279.40 และ 247.07 mg saponin/g ตามลำดับ (ภาพที่ 4.8 และตารางผนวกที่ 4)

(2) เอทานอล 95 %

ปริมาณ TSC ของต้นพรมมิที่เลี้ยงในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 โดยมีความเข้มข้นของสาร KNO_3 แตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ภาพที่ 4.8 และตารางผนวกที่ 3) เช่นเดียวกับที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ปริมาณ TSC ของต้นพรมมิที่เลี้ยงในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ภาพที่ 4.8 และตารางผนวกที่ 4)

4.3.6.6 เปรียบเทียบสารต้านอนุมูลอิสระที่ปลูกเป็นเวลา 4 และ 8 สัปดาห์

การทดลองปลูกต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน ด้วยสารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ที่มีระดับ KNO_3 3.4, 3.9, 4.4, 4.9 และ 5.4 meq/L พบว่า หลังจากปลูกต้นพรมมิเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ปริมาณ TSC ที่ใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 % มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในแต่ละความเข้มข้น (ตารางที่ 4.16)



ภาพที่ 4.8 ผลของสาร KNO_3 ต่อ TSC ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่น (A) และเอทานอล 95 % (B)

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในระยะเวลาเดียวกัน หมายถึง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ 4.16 ผลของสารประกอบโพแทสเซียมไนเตรทต่อ TSC ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 %

KNO_3 (meq/L)	ตัวทำละลาย					
	น้ำกลั่น		F-test	เอทานอล 95 %		F-test
	4 สัปดาห์	8 สัปดาห์		4 สัปดาห์	8 สัปดาห์	
3.40	47.03±0.60[b]	319.07±1.67[a]	*	577.03±18.91[b]	1154.07±37.82[a]	*
3.90	58.03±1.59[b]	280.73±1.76[a]	*	608.37±22.67[b]	1216.73±45.35[a]	*
4.40 (ชุดควบคุม)	58.53±1.48[b]	279.40±3.52[a]	*	542.20±12.17[b]	1084.40±24.33[a]	*
4.90	67.37±1.64[b]	281.40±3.00[a]	*	573.20±6.43[b]	1146.40±12.86[a]	*
5.40	67.37±2.95[b]	247.07±2.96[a]	*	585.87±12.15[b]	1171.73±24.31[a]	*

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแต่ละความเข้มข้นของตัวทำละลายเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

4.3.6.7 DPPH

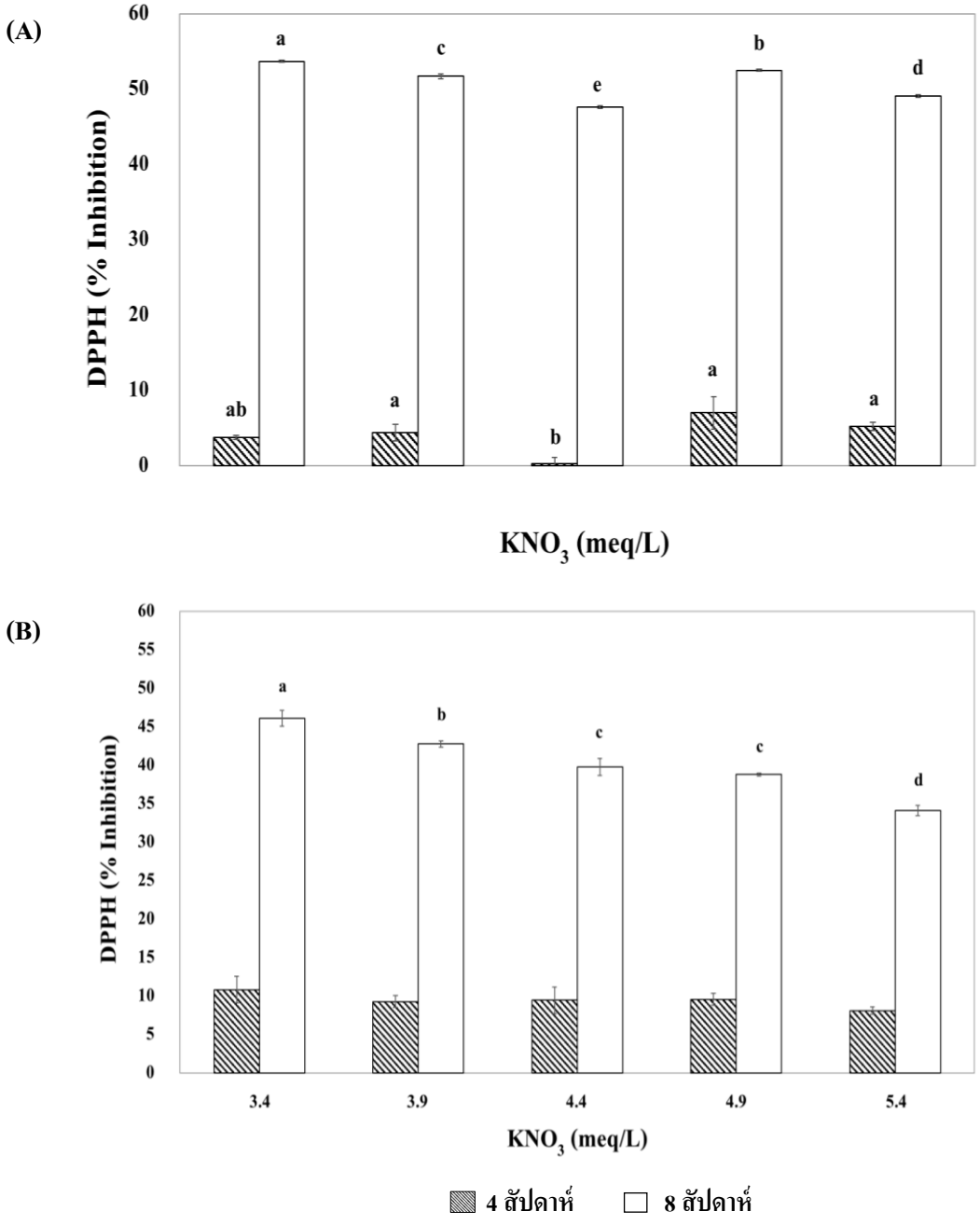
(1) น้ำกลั่น

การทดสอบ DPPH ของต้นพรมมิที่เลี้ยงในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ โดยมีปริมาณความเข้มข้นของสาร KNO_3 4.90, 5.40 และ 3.90 meq/L มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ เท่ากับ 7.03, 5.23 และ 4.40 % ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ระหว่างชุดการทดลอง ความเข้มข้น 3.40 และ 4.40 meq/L มีค่าเท่ากับ 3.77 และ 0.27 % ตามลำดับ (ภาพที่ 4.9 และตารางผนวกที่ 3) ในขณะที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าปริมาณความเข้มข้นของสาร KNO_3 3.40 meq/L มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ เท่ากับ 53.67 % ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ระหว่างชุดการทดลอง ความเข้มข้น 4.90, 3.90, 5.40 และ 4.40 meq/L เท่ากับ 52.47, 51.67, 49.07 และ 47.57 % ตามลำดับ (ภาพที่ 4.9 และตารางผนวกที่ 4)

(2) เอทานอล 95 %

การทดสอบ DPPH ของต้นพรมมิที่เลี้ยงในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 โดยมีความเข้มข้นของสาร KNO_3 แตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ภาพที่ 4.9 และตารางผนวกที่ 3) ในขณะที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ปริมาณความเข้มข้นของสาร KNO_3 3.40 meq/L มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ เท่ากับ 46.08 % ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในระหว่างชุดการทดลอง ความเข้มข้น

3.90, 4.40, 4.90 และ 5.40 meq/L มีค่าเท่ากับ 42.79, 39.80, 38.80 และ 34.14 % ตามลำดับ (ภาพที่ 4.9 และตารางผนวกที่ 4)



ภาพที่ 4.9 ผลของสาร KNO_3 ต่อ DPPH ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่น (A) และเอทานอล 95 % (B)

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในระยะเวลาเดียวกัน หมายถึง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

4.3.6.8 เปรียบเทียบสารต้านอนุมูลอิสระที่ปลูกเป็นเวลา 4 และ 8 สัปดาห์

การทดลองปลูกต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน ด้วยสารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ที่มีระดับ KNO_3 3.4, 3.9, 4.4, 4.9 และ 5.4 meq/L พบว่า หลังจากปลูกต้นพรมมิเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ การทดสอบ DPPH ที่ใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 % มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในแต่ละความเข้มข้น (ตารางที่ 4.17)

ตารางที่ 4.17 ผลของสาร KNO_3 ต่อ DPPH ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 %

KNO_3 (meq/L)	ตัวทำละลาย					
	น้ำกลั่น		F-test	เอทานอล 95 %		F-test
	4 สัปดาห์	8 สัปดาห์		4 สัปดาห์	8 สัปดาห์	
3.40	3.77±0.29[b]	53.67±0.15[a]	*	10.81±1.73[b]	46.08±1.03[a]	*
3.90	4.40±1.12[b]	51.67±0.27[a]	*	9.27±0.77[b]	42.79±0.41[a]	*
4.40 (ชุดควบคุม)	0.27±0.77[b]	47.57±0.17[a]	*	9.46±1.75[b]	39.80±1.09[a]	*
4.90	7.03±2.18[b]	52.47±0.13[a]	*	9.59±0.74[b]	38.80±0.19[a]	*
5.40	5.23±0.53[b]	49.07±0.20[a]	*	8.11±0.48[b]	34.14±0.67[a]	*
F-test	*	*		ns	*	

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแต่ละความเข้มข้นของตัวทำละลายเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

4.3.6.9 ABTS

(1) น้ำกลั่น

การทดสอบ ABTS ของต้นพรมมิที่เลี้ยงในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ โดยมีปริมาณความเข้มข้นของสาร KNO_3 4.90 meq/L มีการออกฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ 30.23 % ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ระหว่างชุดการทดลองความเข้มข้น 5.40, 4.40, 3.90 และ 3.40 meq/L เท่ากับ 24.20, 23.47, 21.97 และ 17.40 % ตามลำดับ (ภาพที่ 4.10 และตารางผนวกที่ 3) ในขณะที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า การทดสอบABTS ที่ปริมาณความเข้มข้นของสาร KNO_3 5.40 meq/L มีการออกฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ 95.90 % ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ระหว่างชุดการทดลอง ความเข้มข้น 3.40, 3.90,

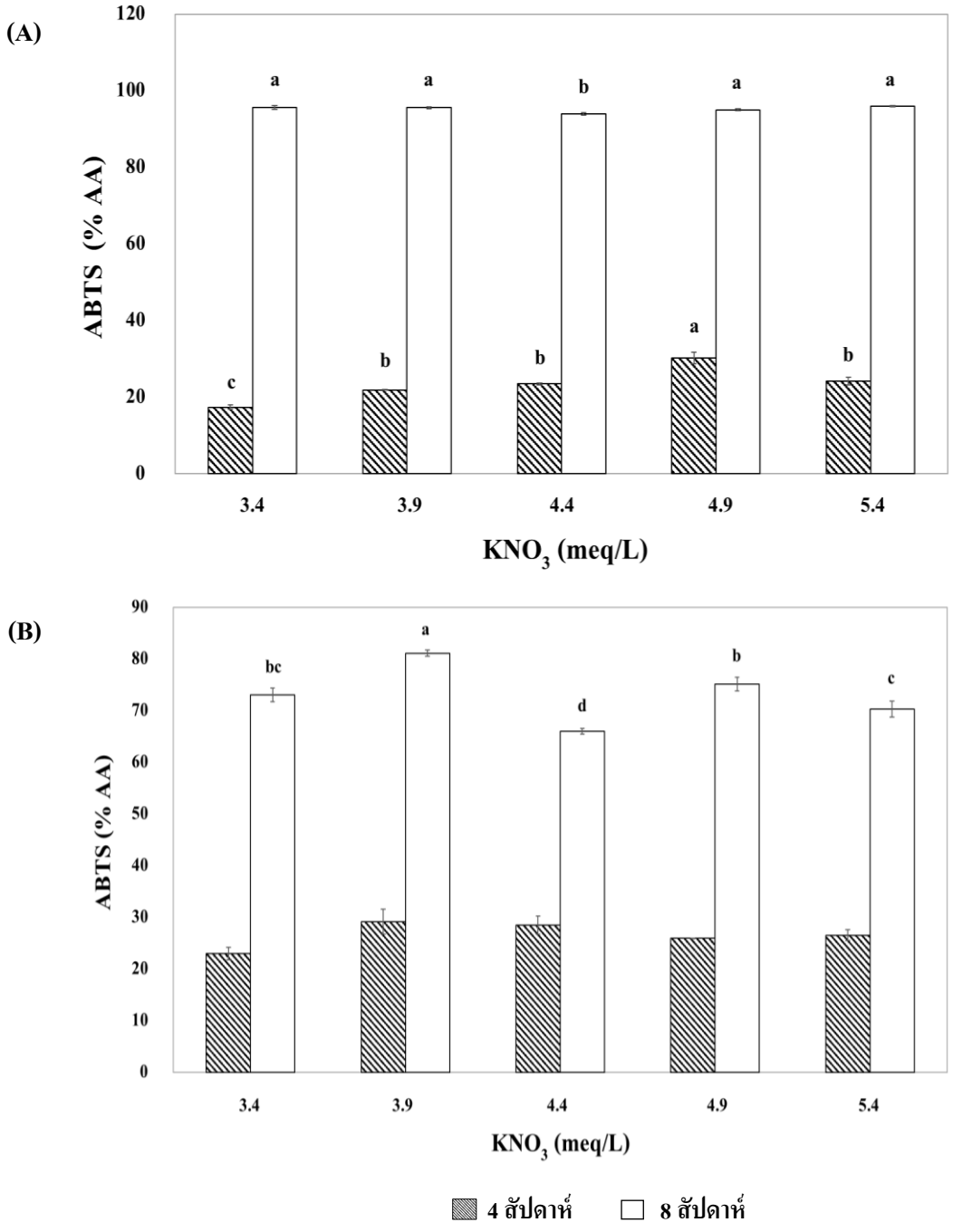
4.90 และ 4.40 meq/L เท่ากับ 95.63, 95.57, 95.03 และ 93.93 % ตามลำดับ (ภาพที่ 4.10 และตารางผนวกที่ 4)

(2) เอทานอล 95 %

การทดสอบ ABTS ของต้นพรมมิที่เลี้ยงในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 โดยมีความเข้มข้นของสาร KNO_3 แตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ภาพที่ 4.10 และตารางผนวกที่ 3) ในขณะที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ปริมาณความเข้มข้นของสาร KNO_3 3.90 meq/L มีการออกฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ 81.15 % ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ระหว่างชุดการทดลอง รองลงมาคือ 4.90, 3.40, 5.40 และ 4.40 meq/L มีค่าเท่ากับ 75.16, 73.06, 70.28 และ 65.99 % ตามลำดับ (ภาพที่ 4.10 และตารางผนวกที่ 4)

4.3.6.10 เปรียบเทียบสารต้านอนุมูลอิสระที่ปลูกเป็นเวลา 4 และ 8 สัปดาห์

การทดลองปลูกต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน ด้วยสารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ที่มีระดับ KNO_3 3.4, 3.9, 4.4, 4.9 และ 5.4 meq/L พบว่า หลังจากปลูกต้นพรมมิเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ การทดสอบ ABTS ที่ใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 % มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในแต่ละความเข้มข้น (ตารางที่ 4.18)



ภาพที่ 4.10 ผลของสาร KNO_3 ต่อ ABTS ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่น (A) และเอทานอล 95 % (B)

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในระยะเวลาเดียวกัน หมายถึง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ 4.18 ผลของสาร KNO_3 ต่อ ABTS ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 %

KNO_3 (meq/L)	ตัวทำละลาย					
	น้ำกลั่น		F-test	เอทานอล 95 %		F-test
	4 สัปดาห์	8 สัปดาห์		4 สัปดาห์	8 สัปดาห์	
3.40	17.40±0.60[b]	95.63±0.47[a]	*	22.97±1.23[b]	73.06±1.30[a]	*
3.90	21.97±0.13[b]	95.57±0.23[a]	*	29.18±2.45[b]	81.15±0.59[a]	*
4.40 (ชุดควบคุม)	23.47±0.22[b]	93.93±0.32[a]	*	28.46±1.75[b]	65.99±0.53[a]	*
4.90	30.23±1.52[b]	95.03±0.28[a]	*	25.95±0.05[b]	75.16±1.28[a]	*
5.40	24.20±1.03[b]	95.90±0.17[a]	*	26.57±1.04[b]	70.28±1.55[a]	*

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแต่ละความเข้มข้นของตัวทำละลายเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

4.4 ศึกษาการเพิ่มความเข้มข้นของสารประกอบโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) ในสูตรสารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิด้วยระบบปลูกแบบไร้ดิน

จากการทดลองที่ 4.2 แสดงให้ว่าความเข้มข้นสาร TDZ 0.1 mg/L กับระยะเวลาการแช่ 12 ชั่วโมง มีอิทธิพลร่วมกันต่อการเจริญเติบโตของต้นพรมมิ และการทดลองที่ 4.4 เป็นงานทดลองต่อเนื่องโดยใช้ต้นพรมมิที่มีความสูง 3 – 5 เซนติเมตร แช่สาร TDZ 0.1 mg/L นาน 12 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเลี้ยงในระบบปลูกแบบไร้ดินโดยใช้สารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีความเข้มข้นสาร KCl แตกต่างกัน 4 ระดับ

4.4.1 ผลของสารประกอบโพแทสเซียมคลอไรด์ต่อความสูงต้นพรมมิ

การทดลองนำต้นพรมมิมาทำการเลี้ยงโดยใช้สารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีความเข้มข้นของสาร KCl แตกต่างกัน 4 ระดับ ได้แก่ 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 meq/L ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ในระบบปลูกแบบไร้ดิน พบว่า ความสูงของต้นพรมมิในสัปดาห์ที่ 2 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยความสูงของต้นพรมมิเมื่อสิ้นสุดการทดลอง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 62.09, 63.39, 58.17 และ 60.17 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ดังตารางที่ 4.19

ตารางที่ 4.19 ผลของความเข้มข้นสาร KCl ที่แตกต่างกันในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ต่อความสูง (เซนติเมตร) ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

KCl	ระยะเวลา (สัปดาห์)				
(meq/L)	0	2	4	6	8
0 (ชุดควบคุม)	8.40±0.21	18.00±0.82[a]	37.09±1.90	52.94±3.47	62.09±3.68
0.5	8.02±0.38	18.13±0.52[a]	36.89±1.24	54.33±2.42	63.39±3.14
1.0	8.06±0.07	14.94±0.62[b]	33.39±0.98	48.42±1.83	58.17±2.00
1.5	8.24±0.20	15.91±0.73[b]	35.11±1.27	52.32±0.96	60.17±1.98
F-test	ns	*	ns	ns	ns

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

4.4.2 ผลของสารประกอบโพแทสเซียมคลอไรด์ต่อจำนวนกิ่งต้นพรมมิ

การทดลองนำต้นพรมมิมาทำการเลี้ยงโดยใช้สารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีความเข้มข้นของสาร KCl แตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 meq/L ในระบบปลูกแบบไร้ดิน พบว่า จำนวนกิ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ระหว่างการทดลอง โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 17.44, 17.89, 18.67 และ 17.33 กิ่งต่อต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 4.20)

ตารางที่ 4.20 ผลของความเข้มข้นสาร KCl ที่แตกต่างกันในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ต่อจำนวนกิ่ง (กิ่งต่อต้น) ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

KCl	ระยะเวลา (สัปดาห์)				
(meq/L)	0	2	4	6	8
0 (ชุดควบคุม)	0.00±0.00	7.78±0.66	10.56±0.71	14.67±1.39	17.44±1.30
0.5	0.00±0.00	7.00±0.83	10.78±1.35	15.11±1.37	17.89±1.49
1.0	0.00±0.00	6.11±0.81	10.89±0.81	15.44±1.25	18.67±1.75
1.5	0.00±0.00	6.67±0.60	12.11±0.89	14.78±1.00	17.33±1.21
F-test	ns	ns	ns	ns	ns

หมายเหตุ : ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

4.4.3 ผลของสารประกอบโพแทสเซียมคลอไรด์ต่อจำนวนใบต้นพรมมิ

ในการทดลองนำต้นพรมมิมาทำการเลี้ยงโดยใช้สารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีความเข้มข้นของสาร KCl แตกต่างกัน 4 ระดับ ได้แก่ 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 meq/L ในระบบปลูกแบบไร้ดินเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ จากการทดลองพบว่า จำนวนใบของต้นพรมมิไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ระหว่างชุดการทดลอง ซึ่งค่าเฉลี่ยจำนวนใบเมื่อสิ้นสุดการทดลอง เท่ากับ 43.78, 45.22, 45.89 และ 45.22 ใบต่อต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 4.21)

ตารางที่ 4.21 ผลของความเข้มข้นสาร KCl ที่แตกต่างกันในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ต่อจำนวนใบ (ใบต่อต้น) ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

KCl	ระยะเวลา (สัปดาห์)				
(meq/L)	0	2	4	6	8
0 (ชุดควบคุม)	12.56±0.44	18.89±0.48	29.33±0.88	36.00±1.73	43.78±1.15
0.5	12.33±0.47	20.00±0.33	30.68±0.87	36.44±2.00	45.22±2.61
1.0	12.44±0.44	18.44±0.44	29.56±0.56	38.33±1.44	45.89±1.96
1.5	12.22±0.40	19.11±0.35	31.00±0.62	38.11±0.98	45.22±1.61
F-test	ns	ns	ns	ns	ns

หมายเหตุ : ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

4.4.4 ผลของสารประกอบโพแทสเซียมคลอไรด์ต่อจำนวนข้อต้นพรมมิ

การทดลองนำต้นพรมมิมาทำการเลี้ยงโดยใช้สารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่มีความเข้มข้นของสาร KCl แตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 meq/L เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ในระบบปลูกแบบไร้ดิน พบว่า เมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเฉลี่ยจำนวนข้อเท่ากับ 22.33, 22.11, 21.67 และ 22.00 ข้อต่อต้น ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ระหว่างชุดการทดลอง (ตารางที่ 4.22)

4.4.5 ผลของสารประกอบโพแทสเซียมคลอไรด์ต่อน้ำหนักต้นพรมมิ

น้ำหนักหลังสิ้นสุดการทดลอง ได้แก่ น้ำหนักสด (ก่อนอบ) พบว่า ในชุดการทดลองที่มีสาร KCl ความเข้มข้น 1.0 และ 0.5 meq/L มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของต้นพรมมิมากกว่าชุดการทดลองอื่น ($p<0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 12.8620 และ12.5190 กรัม รองลงมา คือ 1.5 และ 0 meq/L มีค่าเท่ากับ 10.3920 และ 9.2940 กรัม ตามลำดับ ในขณะที่น้ำหนักแห้ง ชุดการทดลองที่มีสาร KCl ความเข้มข้น

1.0 และ 0.5 meq/L มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของต้นพรมมิมากกว่าชุดการทดลองอื่น ($p<0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 1.1948 และ 1.1937 กรัม รองลงมา คือ 1.5 และ 0 meq/L มีค่าเท่ากับ 1.1763 และ 0.9025 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 4.23)

ตารางที่ 4.22 ผลของความเข้มข้นสาร KCl ที่แตกต่างกันในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ต่อจำนวนข้อ (ข้อต่อต้น) ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

KCl	ระยะเวลา (สัปดาห์)				
(meq/L)	0	2	4	6	8
0 (ชุดควบคุม)	3.00±0.00	8.33±0.24	13.11±0.35	17.89±0.68	22.33±0.58
0.5	3.00±0.00	8.56±0.29	14.00±0.33	18.67±0.53	22.11±0.59
1.0	3.00±0.00	8.00±0.24	12.89±0.26	17.67±0.37	21.67±0.69
1.5	3.00±0.00	8.00±0.24	13.22±0.22	18.33±0.44	22.00±0.75
F-test	ns	ns	ns	ns	ns

หมายเหตุ : ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

ตารางที่ 4.23 ผลของสาร KCl ต่อน้ำหนักสดและแห้ง (กรัมต่อต้น) ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

KCl (meq/L)	Initial weight		Final weight	
	Fresh weight (กรัมต่อต้น)	Dry weight (กรัมต่อต้น)	Fresh weight (กรัมต่อต้น)	Dry weight (กรัมต่อต้น)
0 (ชุดควบคุม)	0.3900±0.0149	0.0287±0.0010	9.2940±0.2921^{b}	0.9025±0.0008^{c}
0.5	0.3900±0.0149	0.0287±0.0010	12.5190±0.3173^{a}	1.1937±0.0009^{a}
1.0	0.3900±0.0149	0.0287±0.0010	12.8620±0.5662^{a}	1.1948±0.0004^{a}
1.5	0.3900±0.0149	0.0287±0.0010	10.3920±0.3377^{b}	1.1763±0.0008^{b}
F-test	ns	ns	*	*

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งของแต่ละปัจจัยแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

4.4.6 ผลของสารประกอบโพแทสเซียมคลอไรด์ต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิเป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์

นำต้นพรมมิที่ปลูกเป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ ในแต่ละชุดการทดลองมาทำการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ TPC, TFC และ TSC และวิเคราะห์ฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระ ได้แก่ DPPH และ ABTS โดยใช้สารตัวอย่างที่สกัดด้วยตัวทำละลายแตกต่างกัน 2 ชนิด ได้แก่ น้ำกลั่นและเอทานอลเข้มข้น 95% ดังนี้

4.4.6.1 TPC

(1) น้ำกลั่น

ปริมาณ TPC ของต้นพรมมิที่เลี้ยงในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ปริมาณความเข้มข้นของสาร KCl 1.0 และ 1.5 meq/L มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 5.14 และ 4.14 mgGAE/g ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในระหว่างชุดการทดลอง รองลงมาคือ 0 และ 0.5 meq/L เท่ากับ 4.27 และ 3.95 mgGAE/g ตามลำดับ (ภาพที่ 4.11 และตารางผนวกที่ 5)ในขณะที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ภาพที่ 4.11 และตารางผนวกที่ 6)

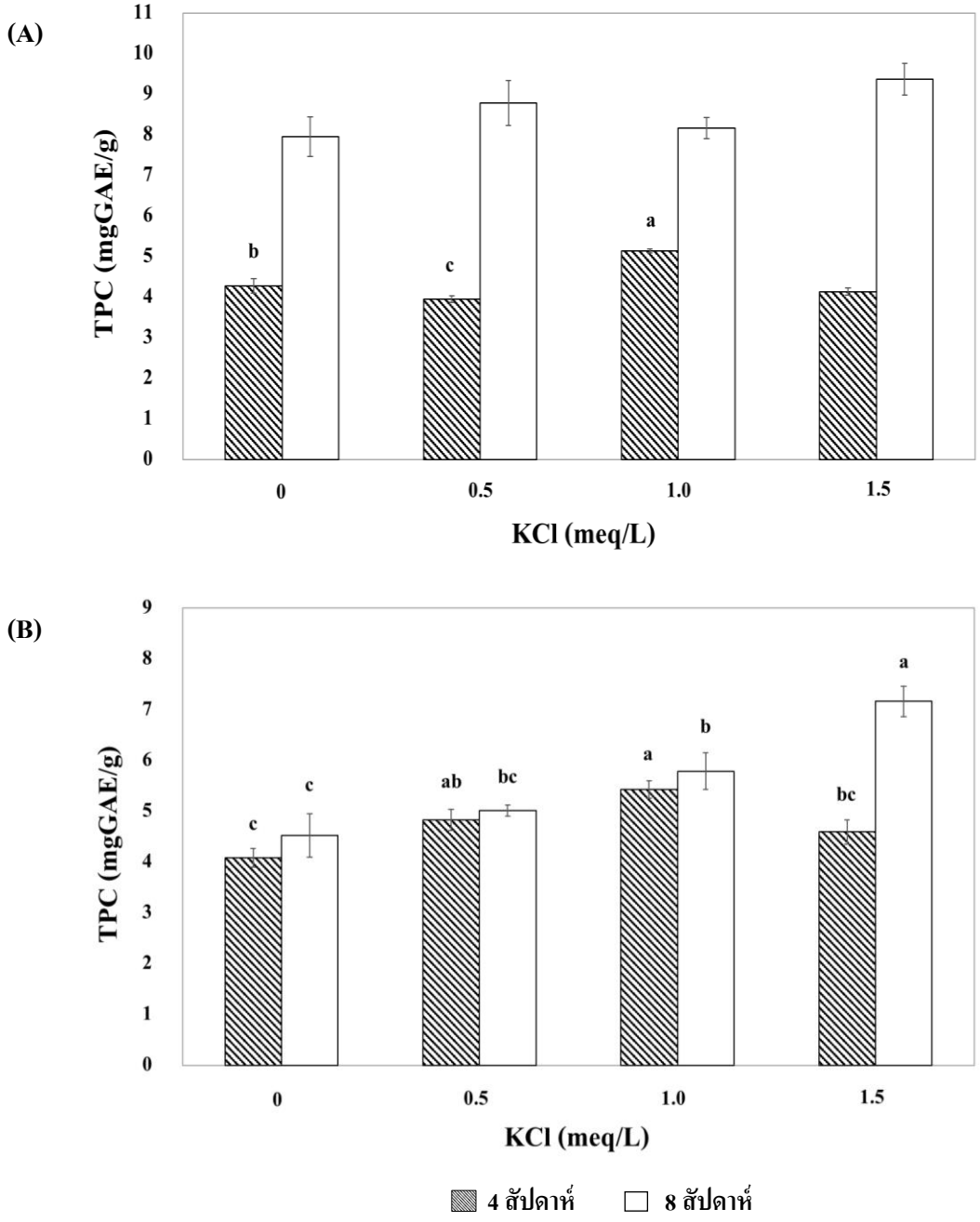
(2) เอทานอล 95%

ปริมาณ TPC ของต้นพรมมิที่เลี้ยงในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ที่ปริมาณความเข้มข้นของสาร KCl 1.0 meq/L มีค่าเท่ากับ 5.43 mgGAE/g ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในระหว่างชุดการทดลอง ความเข้มข้น 0.5, 1.5 และ 0 meq/L เท่ากับ 4.83, 4.59 และ 4.09 mgGAE/g ตามลำดับ (ภาพที่ 4.11 และตารางผนวกที่ 5) ในขณะที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ปริมาณความเข้มข้นของสาร KCl 1.5 meq/L มีค่าเท่ากับ 7.16 mgGAE/g ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในระหว่างชุดการทดลอง รองลงมาคือ 1.0, 0.5 และ 0 meq/L เท่ากับ 5.79, 5.01 และ 4.52 mgGAE/g ตามลำดับ (ภาพที่ 4.11 และตารางผนวกที่ 6)

4.4.6.2 เปรียบเทียบสารต้านอนุมูลอิสระที่ปลูกเป็นเวลา 4 และ 8 สัปดาห์

การทดลองปลูกต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน ด้วยสารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ที่ความเข้มข้นสาร KCl 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 meq/L พบว่า หลังจากปลูกต้นพรมมิเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ปริมาณ TPC ที่ใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่น มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในแต่ละความเข้มข้น ในขณะที่ตัวทำละลายเอทานอล 95 % ความเข้มข้น KCl 0, 0.5 และ

1.0 meq/L ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ยกเว้น KCl 1.5 meq/L ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 4.24)



ภาพที่ 4.11 ผลของสาร KCl ต่อ TPC ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่น (A) และเอทานอล 95 % (B)

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในระยะเวลาเดียวกัน หมายถึง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ 4.24 ผลของสาร KCl ต่อ TPC ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 %

KCl (meq/L)	ตัวทำละลาย					
	น้ำกลั่น		F-test	เอทานอล 95 %		F-test
	4 สัปดาห์	8 สัปดาห์		4 สัปดาห์	8 สัปดาห์	
0 (ชุดควบคุม)	4.27±0.18[b]	7.95±0.49[a]	*	4.09±0.18	4.52±0.43	ns
0.5	3.95±0.18[b]	8.78±0.56[a]	*	4.83±0.21	5.01±0.11	ns
1.0	5.14±0.06[b]	8.16±0.26[a]	*	5.43±0.18	5.79±0.36	ns
1.5	4.14±0.09[b]	9.36±0.39[a]	*	4.59±0.24[b]	7.16±0.30[a]	*

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแต่ละความเข้มข้นของตัวทำละลายเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

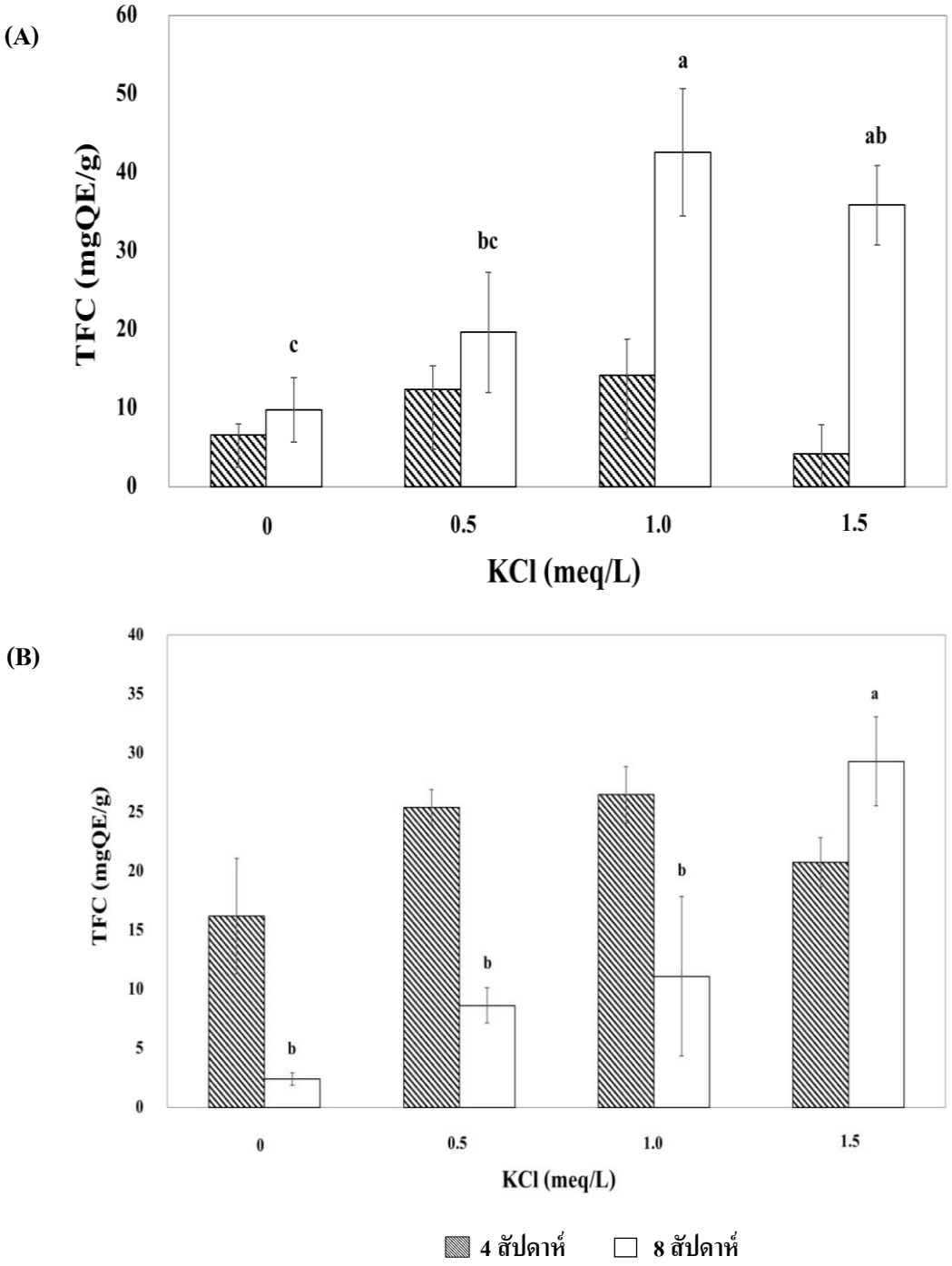
4.4.6.3 TFC

(1) น้ำกลั่น

ปริมาณ TFC ของต้นพรมมิที่เลี้ยงในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ภาพที่ 4.12 และตารางผนวกที่ 5) ในขณะที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ ปริมาณความเข้มข้นของสาร KCl 1.0 meq/L มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 42.62 mgQE/g ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในระหว่างชุดการทดลองความเข้มข้น 1.5, 0.5 และ 0 meq/L เท่ากับ 35.88, 19.65 และ 9.80 mgQE/g ตามลำดับ (ภาพที่ 4.12 และตารางผนวกที่ 6)

(2) เอทานอล 95%

ปริมาณ TFC ของต้นพรมมิที่เลี้ยงในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ภาพที่ 4.12 และตารางผนวกที่ 5) ในขณะที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ ปริมาณความเข้มข้นของสาร KCl 1.5 meq/L มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 29.32 mgQE/g ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในระหว่างชุดการทดลองความเข้มข้น 1.0, 0.5 และ 0 meq/L เท่ากับ 11.12, 8.66 และ 2.41 mgQE/g ตามลำดับ (ภาพที่ 4.12 และตารางผนวกที่ 6)



ภาพที่ 4.12 ผลของสาร KCl ต่อ TFC ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่น (A) และเอทานอล 95 % (B)

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในระยะเวลาเดียวกัน หมายถึง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

4.4.6.4 เปรียบเทียบสารต้านอนุมูลอิสระที่ปลูกเป็นเวลา 4 และ 8 สัปดาห์

การทดลองปลูกต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน ด้วยสารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ที่ความเข้มข้นสาร KCl 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 meq/L พบว่า หลังจากปลูกต้นพรมมิเป็นระยะเวลา 8

สัปดาห์ ปริมาณ TFC ที่ใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่น ความเข้มข้น KCl 0 และ 0.5 meq/L ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) แต่ 1.0 และ 1.5 meq/L มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในแต่ละความเข้มข้น ในขณะที่ตัวทำละลายเอทานอล 95 % ความเข้มข้น KCl 0 และ 0.5 meq/L มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในแต่ละความเข้มข้น แต่ 1.0 และ 1.5 meq/L ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 4.25)

ตารางที่ 4.25 ผลของสาร KCl ต่อ TFC ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 %

KCl (meq/L)	ตัวทำละลาย					
	น้ำกลั่น		F-test	เอทานอล 95 %		F-test
	4 สัปดาห์	8 สัปดาห์		4 สัปดาห์	8 สัปดาห์	
0 (ชุดควบคุม)	6.63±1.39	9.80±4.12	ns	16.21±4.89[a]	2.41±0.53[b]	*
0.5	12.40±2.98	19.65±7.61	ns	25.42±1.49[a]	8.66±1.51[b]	*
1.0	14.16±4.60[b]	42.62±8.10[a]	*	26.49±2.40	11.12±6.57	ns
1.5	4.22±2.24[b]	35.88±5.04[a]	*	20.78±2.08	29.32±3.77	ns

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแต่ละความเข้มข้นของตัวทำละลายเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

4.4.6.5 TSC

(1) น้ำกลั่น

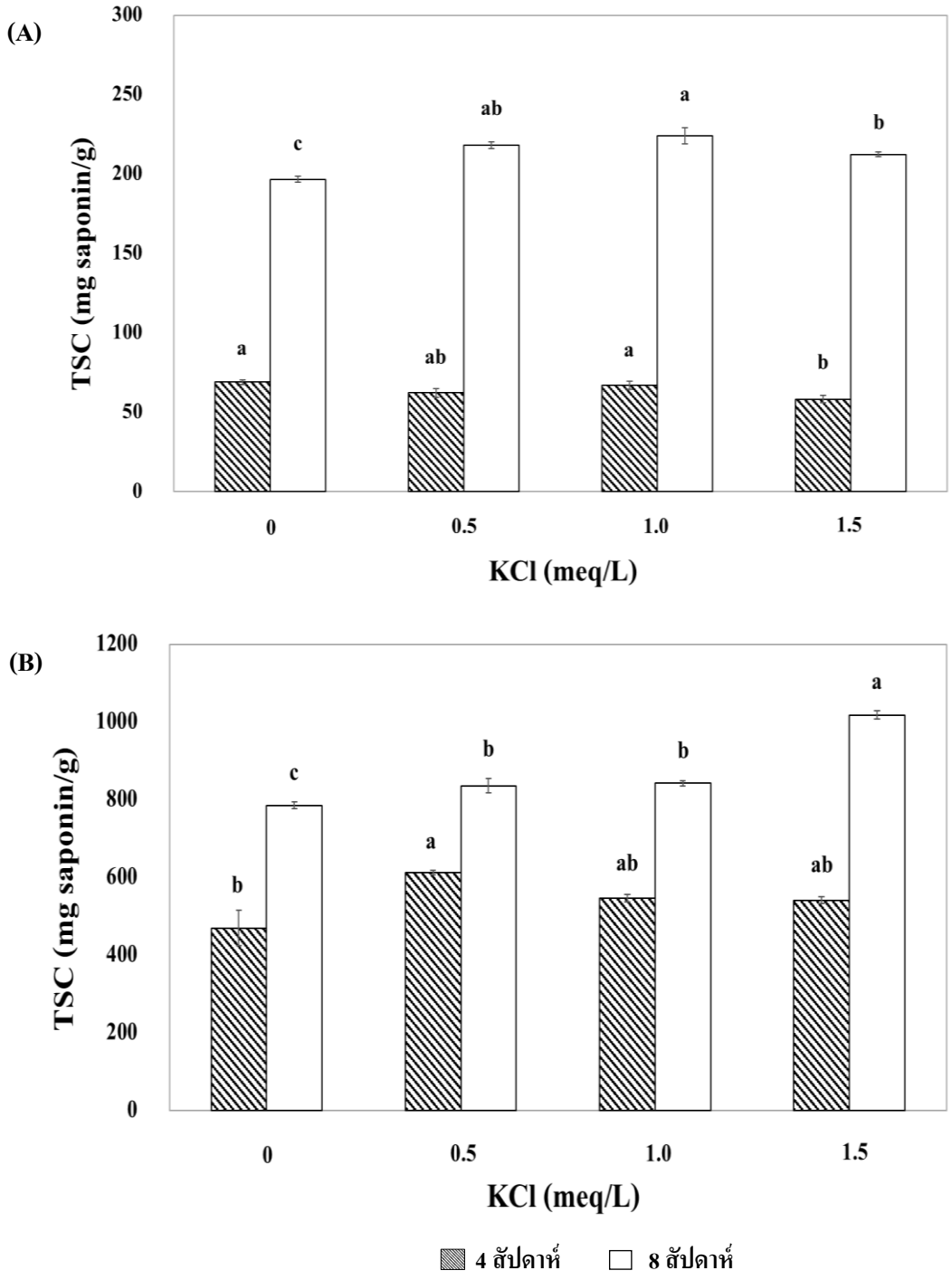
ปริมาณ TSC ของต้นพรมมิที่เลี้ยงในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ปริมาณความเข้มข้นของสาร KCl 0 และ 1.0 meq/L มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 69.03 และ 67.20 mg saponin/g ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในระหว่างชุดการทดลอง ความเข้มข้น 0.5 และ 1.5 meq/L เท่ากับ 62.20 และ 58.37 mg saponin/g ตามลำดับ (ภาพที่ 4.13 และตารางผนวกที่ 5) ในขณะที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ ปริมาณความเข้มข้นของสาร KCl 1.0 meq/L มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 224.07 mg saponin/g ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในระหว่างชุดการทดลอง ความเข้มข้น 0.5, 1.5 และ 0 meq/L เท่ากับ 218.07, 212.40 และ 196.73 mg saponin/g ตามลำดับ (ภาพที่ 4.13 และตารางผนวกที่ 6)

(2) เอทานอล 95%

ปริมาณ TSC ของต้นพรมมิที่เลี้ยงในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ปริมาณความเข้มข้นของสาร KCl 0.5 meq/L มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 611.87 mg saponin/g ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในระหว่างชุดการทดลอง ความเข้มข้น 1.0, 1.5 และ 0 meq/L เท่ากับ 547.20, 541.37 และ 469.87 mg saponin/g ตามลำดับ (ภาพที่ 4.13 และตารางผนวกที่ 5) ในขณะที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ ปริมาณความเข้มข้นของสาร KCl 1.5 meq/L มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1017.73 mg saponin/g ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในระหว่างชุดการทดลอง ความเข้มข้น 1.0, 0.5 และ 0 meq/L เท่ากับ 842.07, 835.73 และ 785.07 mg saponin/g ตามลำดับ (ภาพที่ 4.13 และตารางผนวกที่ 6)

4.4.6.6 เปรียบเทียบสารต้านอนุมูลอิสระที่ปลูกเป็นเวลา 4 และ 8 สัปดาห์

การทดลองปลูกต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน ด้วยสารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ที่ความเข้มข้นสาร KCl 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 meq/L พบว่า หลังจากปลูกต้นพรมมิเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ปริมาณ TSC ที่ใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 % มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในแต่ละความเข้มข้น (ตารางที่ 4.26)



ภาพที่ 4.13 ผลของสาร KCl ต่อ TSC ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่น (A) และเอทานอล 95 % (B)

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในระยะเวลาเดียวกัน หมายถึง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ 4.26 ผลของสาร KCl ต่อ TSC ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 %

KCl (meq/L)	ตัวทำละลาย					
	น้ำกลั่น		F-test	เอทานอล 95 %		F-test
	4 สัปดาห์	8 สัปดาห์		4 สัปดาห์	8 สัปดาห์	
0 (ชุดควบคุม)	69.03±1.48[b]	196.73±1.76[a]	*	469.87±44.83[b]	785.07±8.42[a]	*
0.5	62.20±2.84[b]	218.07±2.19[a]	*	611.87±5.63[b]	835.73±18.22[a]	*
1.0	67.20±2.57[b]	224.07±5.24[a]	*	547.20±9.57[b]	842.07±7.31[a]	*
1.5	58.37±2.20[b]	212.40±5.13[a]	*	541.37±8.08[b]	1017.73±10.84[a]	*

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแต่ละความเข้มข้นของตัวทำละลายเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

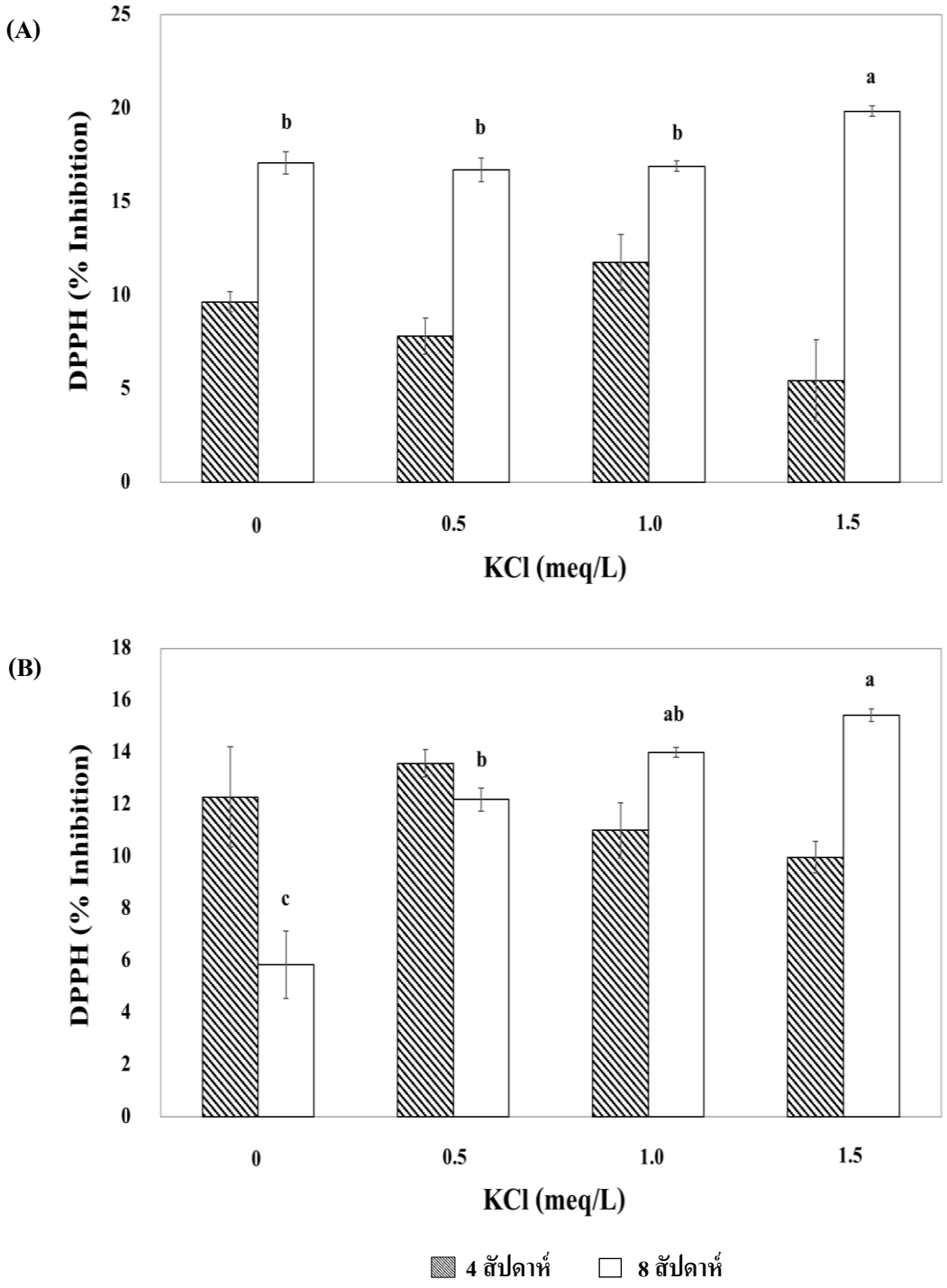
4.4.6.7 DPPH

(1) น้ำกลั่น

การทดสอบ DPPH ของต้นพรมมิที่เลี้ยงในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระไม่มีความแตกต่างทางสถิติในทุกชุดการทดลอง ($p>0.05$) (ภาพที่ 4.14 และตารางผนวกที่ 5) ในขณะที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ ปริมาณความเข้มข้นของสาร KCl 1.5 meq/L มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ เท่ากับ 19.83 % ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในระหว่างชุดการทดลอง ความเข้มข้น 0, 1.0 และ 0.5 meq/L เท่ากับ 17.10, 16.93 และ 16.73 % ตามลำดับ (ภาพที่ 4.14 และตารางผนวกที่ 6)

(2) เอทานอล 95%

การทดสอบ DPPH ของต้นพรมมิที่เลี้ยงในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระไม่มีความแตกต่างทางสถิติในทุกชุดการทดลอง ($p>0.05$) (ภาพที่ 4.14 และตารางผนวกที่ 5) ในขณะที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ ปริมาณความเข้มข้นของสาร KCl 1.5 meq/L มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ เท่ากับ 15.42 % ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในระหว่างชุดการทดลอง ความเข้มข้น 1.0, 0.5 และ 0 meq/L เท่ากับ 14.00, 12.19 และ 5.85 % ตามลำดับ (ภาพที่ 4.14 และตารางผนวกที่ 6)



ภาพที่ 4.14 ผลของสาร KCl ต่อ DPPH ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่น (A) และเอทานอล 95 % (B)

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในระยะเวลาเดียวกัน หมายถึง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

4.4.6.8 เปรียบเทียบสารต้านอนุมูลอิสระที่ปลูกเป็นเวลา 4 และ 8 สัปดาห์

การทดลองปลูกต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน ด้วยสารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ที่ความเข้มข้นสาร KCl 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 meq/L พบว่า หลังจากปลูกต้นพรมมิเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ การทดสอบ DPPH โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในแต่ละความเข้มข้น ในขณะที่ตัวทำละลายเอทานอล 95 % ที่ความเข้มข้น 1.0 และ 1.5 meq/L ที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในแต่ละความเข้มข้น แต่ที่ KCl 0.5 meq/L ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) ของระยะเวลา ยกเว้นชุดการทดลองที่ไม่เติม KCl ที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์ สามารถทดสอบ DPPH ได้มากกว่าที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ ($p<0.05$) (ตารางที่ 4.27)

ตารางที่ 4.27 ผลของสาร KCl ต่อ DPPH ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 %

KCl (meq/L)	ตัวทำละลาย					
	น้ำกลั่น		F-test	เอทานอล 95 %		F-test
	4 สัปดาห์	8 สัปดาห์		4 สัปดาห์	8 สัปดาห์	
0 (ชุดควบคุม)	9.67±0.52^{b}	17.10±0.61^{a}	*	12.29±1.92^{a}	5.85±1.29^{b}	*
0.5	7.83±0.96^{b}	16.73±0.64^{a}	*	13.58±0.53	12.19±0.43	ns
1.0	11.77±1.48^{b}	16.93±0.26^{a}	*	11.00±0.16^{b}	14.00±0.19^{a}	*
1.5	5.47±2.17^{b}	19.83±0.27^{a}	*	9.97±0.61^{b}	15.42±0.25^{a}	*

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแต่ละความเข้มข้นของตัวทำละลายเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

4.4.6.9 ABTS

(1) น้ำกลั่น

การทดสอบ ABTS ของต้นพรมมิที่เลี้ยงในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ปริมาณความเข้มข้นของสาร KCl 1.0 และ 0 meq/L มีเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ 35.77 และ 34.00 % ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในระหว่างชุดการทดลอง ความเข้มข้น 0.5 และ 1.5 meq/L เท่ากับ 30.87 และ 29.37 % ตามลำดับ ในขณะที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า เปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ของ

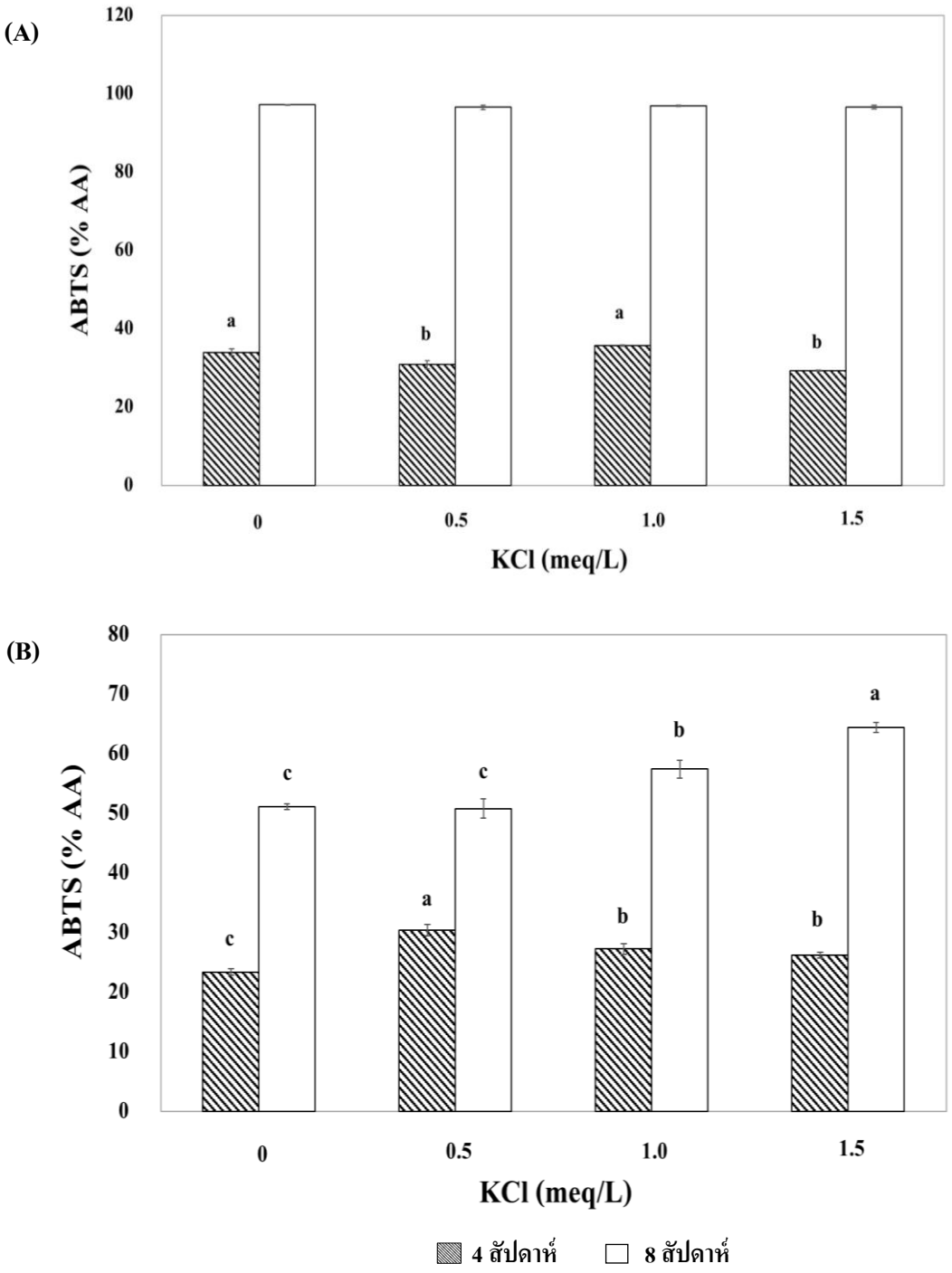
สารต้านอนุมูลอิสระ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติในทุกชุดการทดลอง ($p>0.05$) (ภาพที่ 4.15 และตารางที่ 4.28)

(2) เอทานอล 95%

การทดสอบ ABTS ของต้นพรมมิที่เลี้ยงในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ปริมาณความเข้มข้นของสาร KCl 0.5 meq/L มีเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ 30.41 % ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในระหว่างชุดการทดลอง ความเข้มข้น 1.0, 1.5 และ 0 meq/L เท่ากับ 27.28, 26.26 และ 23.43 % ตามลำดับ ในขณะที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ปริมาณความเข้มข้นของสาร KCl 1.5 meq/L มีเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ 64.48 % ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในระหว่างชุดการทดลอง ความเข้มข้น 1.0, 0 และ 0.5 meq/L เท่ากับ 57.46, 51.16 และ 50.80 % ตามลำดับ (ภาพที่ 4.15 และตารางที่ 4.28)

4.4.6.10 เปรียบเทียบสารต้านอนุมูลอิสระที่ปลูกเป็นเวลา 4 และ 8 สัปดาห์

การทดลองปลูกต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน ด้วยสารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ที่ความเข้มข้นสาร KCl 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 meq/L พบว่า หลังจากปลูกต้นพรมมิเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ การทดสอบ ABTS ที่ใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 % มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในแต่ละความเข้มข้น (ตารางที่ 4.28)



ภาพที่ 4.15 ผลของสาร KCl ต่อ ABTS ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่น (A) และเอทานอล 95 % (B)

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในระยะเวลาเดียวกัน หมายถึง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ 4.28 ผลของสาร KCl ต่อ ABTS ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล 95 %

KCl (meq/L)	ตัวทำละลาย					
	น้ำกลั่น		F-test	เอทานอล 95 %		F-test
	4 สัปดาห์	8 สัปดาห์		4 สัปดาห์	8 สัปดาห์	
0 (ชุดควบคุม)	34.00±0.85^{b}	97.23±0.03^{a}	*	23.43±0.50^{b}	51.16±0.47^{a}	*
0.5	30.87±1.03^{b}	96.53±0.57^{a}	*	30.41±0.98^{b}	50.80±1.62^{a}	*
1.0	35.77±0.19^{b}	96.93±0.18^{a}	*	27.28±0.94^{b}	57.46±1.52^{a}	*
1.5	29.37±0.18^{b}	96.60±0.51^{a}	*	26.26±0.44^{b}	64.48±0.83^{a}	*

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแต่ละความเข้มข้นของตัวทำละลายเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

บทที่ 5
วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 ศึกษาความเข้มข้นของสาร TDZ ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นพรมมิในอาหาร MS ที่ไม่เติม TDZ มีความสูงต้น จำนวนใบ จำนวนกิ่ง และจำนวนราก มากกว่าต้นพรมมิที่เลี้ยงในอาหารเติม TDZ ส่วนเส้นผ่านศูนย์กลางยอดกระจุกในอาหารที่เติม TDZ 0.1 และ 0.4 mg/L มีค่ามากกว่าชุดการทดลองอื่น ($p<0.05$) แสดงให้เห็นว่า การขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อเพิ่มจำนวนต้นพรมมิในการนำออกปลูกโรงเรือนแบบปิดโดยใช้อาหาร MS ที่ไม่เติม TDZ มีความเหมาะสมที่สุด เนื่องจาก TDZ คือ สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มไซโตไคนิน ที่มีฟีนิลยูเรียเป็นองค์ประกอบ ซึ่งจะช่วยกระตุ้นให้พืชเกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์จนสามารถพัฒนาเป็นอวัยวะ เช่น ยอด ราก พัฒนาเป็นแคลลัส หรือกระตุ้นการเจริญของเซลล์ (Zhou et al., 1994) นอกจกนั้น TDZ มีศักยภาพในการควบคุมเอนไซม์ cytokinin oxidase ที่มีหน้าที่ยับยั้งการสร้างสารไซโตไคนินในเซลล์เนื้อเยื่อพืช (Khan et al., 2016) โดยในธรรมชาติพืชจะสร้างไซโตไคนินเพื่อแบ่งเซลล์และแปรสภาพเซลล์ทำให้เกิดการเจริญเติบโต (Thomas and Katterman, 1986) เมื่อเอนไซม์ดังกล่าวถูกควบคุมด้วย TDZ จึงส่งผลให้การเกิดต้นอ่อนถูกกระตุ้นมากขึ้น (Ali et al., 2018) ในขณะที่การใช้ TDZ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรมมิสามารถชักนำให้เกิดยอดกระจุก แต่จากการทดลอง พบว่า การใช้ TDZ ที่ความเข้มข้นมากกว่า 0.4 mg/L ส่งผลให้การเกิดยอดกระจุกลดลง สอดคล้องกับ Ainsley et al. (2001) ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Prunus dulcis* Mill ในอาหาร MS ร่วมกับ สารควบคุมการเจริญเติบโตพืชในกลุ่มไซโตไคนิน พบว่า ชุดการทดลองที่เติมสารควบคุมดังกล่าวมีความสูงของยอดลดลง แต่มีการเจริญเติบโตในแนวระนาบ เรียกว่า multiple shoots แทน และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารควบคุมกลับส่งผลให้การเกิดยอดถูกยับยั้งการเจริญเติบโตได้

การทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นพรมมิในอาหาร MS ที่เติม TDZ 0.1 หรือ 0.4 mg/L มีการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ และมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ มากกว่าต้นพรมมิในชุดการทดลองอื่น โดยมีรายงานว่าใช้พืชสมุนไพรในธรรมชาติมีสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งเป็นที่นิยมนำมาใช้ประโยชน์ เนื่องจาก มีความปลอดภัยและมีผลข้างเคียงต่อร่างกายน้อยมากสารกลุ่มที่พบได้แก่ สารฟลาโวนอยด์และสารฟีนอลิก ที่มีหมู่ไฮดรอกซิลเป็นองค์ประกอบ มีคุณสมบัติเป็นสาร

ต้านอนุมูลอิสระและมีความสามารถในการออกฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระที่ทำลายเซลล์ในร่างกายมนุษย์ได้ (Asgarirad et al. (2010) ; Ali et al. (2018)) นอกจากนั้นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสมุนไพร *Ajuga bracteosa* ในอาหาร MS ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชในกลุ่มไซโตไคนิน ต่อสารประกอบทุติยภูมิ พบว่า เนื้อเยื่อสมุนไพรที่เลี้ยงในอาหารดังกล่าวถูกกระตุ้นให้เกิดความเครียดและมีการสร้างสารฟีนอลิกเพิ่มขึ้น เนื่องจาก เอนไซม์ phenylalanine ammonia lyase (PAL) ที่ทำหน้าที่ควบคุมการสังเคราะห์ฟีนอลิกถูกกระตุ้นให้เพิ่มสูงขึ้น สารต้านอนุมูลอิสระอีกประเภทก็คือสารซาโปนิน จัดอยู่ในกลุ่มสเตียรอยด์ เป็นสารประกอบเทอร์พีนอยด์ที่ได้จากการสังเคราะห์ผ่านวิถีชีวสังเคราะห์ (mevalonate pathway) มีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยา (Georgiev et al., 2011) และ Mahato (2000) ได้อธิบายถึงคุณสมบัติของสารซาโปนินที่สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายมีขั้ว พบได้มากในบริเวณใบของพืช โดยสารประกอบที่กล่าวมาข้างต้นล้วนมีคุณสมบัติเป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีหลายวิธี ดังรายงานของ Olszowy and Dawidowicz (2017) ที่ได้ทำการประเมินวิธีการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ พบว่า วิธี DPPH และ ABTS มีความเหมาะสมในการทดสอบ เนื่องจาก เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว มีความเสถียรสูง และใช้ระยะเวลาในการวิเคราะห์ไม่นาน จึงนิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย ซึ่งการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระของการทดลองนี้ สอดคล้องกับ Mohan et al. (2011) ได้ทำการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *B. monnieri* ในอาหาร MS ร่วมกับ TDZ ต่อการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ โดยมีการทดสอบฤทธิ์การยับยั้ง อนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่า ได้เท่ากับ 71.17 % ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกับงานทดลองครั้งนี้ และ Ahmed et al. (2019) ได้อธิบายว่า ฤทธิ์การยับยั้ง DPPH มีความสัมพันธ์กับปริมาณ TPC เนื่องจาก TPC เป็นกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกที่มีหน้าที่หลัก คือ ทำลายอนุมูลอิสระ (free radical) เมื่อ TPC มีปริมาณเพิ่มสูงขึ้น เปอร์เซ็นต์การยับยั้งจะเพิ่มสูงตามไปด้วยเช่นกัน

5.2 ศึกษาความเข้มข้นของสาร TDZ ร่วมกับระยะเวลาการแช่ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน

การทดลองแช่กิ่งของต้นพรมมิในสาร TDZ 0.1 mg/L ร่วมกับระยะเวลาการแช่ 12 ชั่วโมง มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักแห้ง หลังสิ้นสุดการทดลอง ซึ่งสอดคล้องกับ Langer et al. (1973) ที่ทดลองใช้สาร kinetin ต่อการเพิ่มความยาวจำนวนหน่อในต้นข้าวสาลี เป็นระยะเวลา 8 วัน พบว่า เมื่อสิ้นสุดการทดลองน้ำหนักแห้งของข้าวสาลีในชุดการทดลองที่เติม kinetin มีน้ำหนักแห้งมากกว่าชุดการทดลองที่ไม่เติม Nagel et al. (2001) ได้กล่าวว่า ไซโตไคนินมีผลต่อการสะสมปริมาณน้ำหนักแห้ง โดย TDZ และ kinetin เป็นสารออกฤทธิ์ในกลุ่มไซโตไคนิน ซึ่งทำหน้าที่แบ่ง

เซลล์ และมีผลต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมของไซโตไคนินในเซลล์พืช ส่งผลให้สามารถสร้างไซโตไคนินขึ้นมาเองได้ (ณัฐนรี และคณะ, 2562) อีกทั้งยังกระตุ้นให้เกิดความเครียดในพืชและเกิดการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ขึ้น ซึ่งการใช้สาร TDZ นิยมใช้ที่ความเข้มข้นต่ำ และมีการนำมาใช้แทนไซโตไคนินชนิดอื่นที่ใช้ในพืชไม่ได้ผล (Murthy et al., 1998) โดยสารกลุ่มไซโตไคนินนี้มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการแบ่งเซลล์ของพืช การสร้างอวัยวะ กระตุ้นการแตกตาข้าง การเจริญของคลอโรพลาส ชะลอการแก่ชรา เป็นต้น สารนี้พบมากในบริเวณที่กำลังเจริญเติบโต บริเวณที่มีการเจริญเติบโตอย่างต่อเนื่อง บริเวณเนื้อเยื่อเจริญและคัพภะซึ่งแหล่งสร้างไซโตไคนินที่สำคัญในพืช คือ ปลายราก มีคุณสมบัติในการดึงสารอาหารต่างๆ มายังแหล่งที่มีการสะสมของไซโตไคนินแล้วส่งไปยังส่วนต่างๆ ของพืชทางท่อลำเลียง ในขณะเดียวกันมีการสังเคราะห์สารไซโตไคนินขึ้น เช่น BAP, Kinetin, Thidiazuron เป็นต้น (Mok et al., 2000) ตัวอย่างสารไซโตไคนินธรรมชาติที่พบมากสุดในพืช คือ zeatin

5.3 ศึกษาสารประกอบโพแทสเซียมไนเตรท (KNO_3) ในสูตรสารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิด้วยระบบปลูกแบบไร้ดิน

จากการทดลอง พบว่า การเจริญเติบโตของต้นพรมมิที่ได้รับสาร KNO_3 ระดับต่างกัน ในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ไม่มีความแตกต่างกันในแต่ละชุดทดลอง เนื่องจาก ในระบบปลูกพืชแบบไร้ดิน ไนโตรเจนที่นิยมนำมาใช้มักอยู่ในรูปของสารละลายธาตุอาหาร เช่น โพแทสเซียมไนเตรท ที่มีการใช้ไนโตรเจนในรูปของไนเตรท ซึ่งไนเตรทเป็นรูปที่มีประสิทธิภาพมากกว่าไนโตรเจนอื่น ซึ่งไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืช และสัดส่วนของผลผลิตที่เพิ่มขึ้น (เสรี และปริญญาวดี, 2557) และเป็นองค์ประกอบหลักของสารอินทรีย์ที่มีความสำคัญต่อกระบวนการออกซิเดชัน รีดักชัน และเอนไซม์ (ดิเรก, 2547) อีกทั้งยังมีผลต่อสรีรวิทยาของพืช ช่วยชักนำให้เกิดการเจริญเติบโต มีความเป็นพิษต่ำ ละลายน้ำได้ดี มีคุณสมบัติเป็นกลางค่อนไปทางด่างเล็กน้อย และมีค่าการนำไฟฟ้าต่ำ โดยมีการทดลองใช้สารไนโตรเจนในรูปของแอมโมเนียมและไนเตรท ต่อการเจริญเติบโตของต้น *Ocimum basillicum* L. ในระบบปลูกแบบไร้ดิน พบว่า *O. basilicum* ในกลุ่มที่ได้รับไนเตรทมีการเจริญเติบโตดีกว่ากลุ่มที่ได้รับแอมโมเนียม และไนเตรทร่วมกับแอมโมเนียม (Kiferle et al., 2013)

ผลการทดลองปลูกต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดินที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ ต้นพรมมิที่เลี้ยงในสาร KNO_3 ความเข้มข้น 3.4 meq/L มีการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระและมีเปอร์เซ็นต์การ

ยับยั้งอนุมูลอิสระมากกว่าต้นพรมมิในชุดการทดลองอื่น สอดคล้องกับรายงาน Allahdadi and Farzane (2018) ได้กล่าวว่า ไนโตรเจนมีผลต่อสารฟีนอลิก ส่งผลให้การเกิด phenylalanine ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ฟีนอลและโปรตีนอีกทั้งเป็นสารตั้งต้นของฟลาโวนอยด์เช่นกัน กล่าวคือ เมื่อ phenylalanine เพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพการสร้างฟลาโวนอยด์จะเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน ในขณะที่การลดลงของไนเตรทมีผลต่อสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิ ดังงานทดลองของ Award et al. (2002) หาความสัมพันธ์ของธาตุอาหารพืชต่อปริมาณของสารฟลาโวนอยด์ในต้น *Malus domestica* พบว่า เมื่อมีการลดความเข้มข้นของสารไนโตรเจนลงกลับส่งผลให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์เพิ่มขึ้น ซึ่งมีผลมาจากการเพิ่มขึ้นของ phenylalanine นอกจากนั้น สารซาโปนินยังถูกจัดเป็นสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิที่มีความสำคัญสามารถพบได้ในพืช สมุนไพร มีประโยชน์ต่อมนุษย์ในทางเภสัชวิทยา ถูกนำมาใช้เป็นยารักษาโรค ใช้ในอุตสาหกรรมผลิตเครื่องสำอาง การเกษตร เป็นต้น (Szakiel et al., 2011) โดยการสร้างซาโปนินในพืช เกิดขึ้นระหว่างปฏิกิริยา glycosylation ของเอนไซม์ glycoslytransferases ซึ่งมีการสันนิษฐานว่าการสะสมสารไนโตรเจนในเซลล์พืชเป็นตัวกำหนดให้เกิดการสังเคราะห์สารซาโปนิน (Müller et al., 2013) ในขณะที่การวิเคราะห์ประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ของงานทดลองครั้งนี้ พบว่า เปอร์เซ็นต์การยับยั้งในชุดการทดลองที่มี KNO_3 3.4 meq/L ซึ่งเป็นชุดการทดลองที่เติมสารไนโตรเจนน้อยที่สุด มีประสิทธิภาพการยับยั้งมากกว่าชุดทดลองอื่น สอดคล้องกับ Ibrahim et al. (2012) ที่ทดลองหาความสัมพันธ์ของสารไนโตรเจนต่อการวิเคราะห์ DPPH ในสมุนไพร *Labisia pumila* Blume ในระบบปลูกแบบไร้ดิน พบว่า ชุดการทดลองที่มีการเพิ่มสารไนโตรเจน มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง DPPH น้อยกว่าชุดการทดลองที่มีการลดปริมาณสารไนโตรเจนลง มีค่าเท่ากับ 61.30 % และ Janpen et al. (2019) ได้ศึกษาการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระของต้น *Mentha arvensis* ภายใต้สภาวะการขาดธาตุอาหาร ในระบบปลูกแบบไร้ดิน พบว่า เมื่อพืชขาดธาตุไนโตรเจน จะส่งผลให้พืชเกิดความเครียด และมีเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น เมื่อทำการวิเคราะห์ ABTS ภายหลังสิ้นสุดการทดลอง เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับงานทดลองในครั้งนี้ เนื่องมาจาก สารไนโตรเจนที่อยู่ในรูปของสารไนเตรทมีผลต่อการเพิ่ม nitrate reductase ซึ่งถือเป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนไนเตรทเป็นไนไตร์ท หลังจากนั้นเปลี่ยนไนไตร์ทเป็นแอมโมเนียมเพื่อให้พืชนำไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์โปรตีน ซึ่งส่งผลให้ปริมาณการสังเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเช่นกัน (Lara et al., 2014)

5.4 ศึกษาการเพิ่มความเข้มข้นของสารประกอบโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) ในสูตรสารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิด้วยระบบปลูกแบบไร้ดิน

การเจริญเติบโตของต้นพรมมิที่ได้รับสาร KCl ในสารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2 ที่ระดับแตกต่างกัน ไม่มีความแตกต่างกันในแต่ละชุดทดลอง เนื่องจาก โพแทสเซียมมีบทบาทสำคัญในทางสรีรวิทยาที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตและกระบวนการทางชีวเคมี เช่น การแบ่งเซลล์ การกระตุ้นเอนไซม์ ความเสถียรของโครงสร้างเอนไซม์ การเปิดและปิดของปากใบ เป็นต้น (Heidari et al., 2014) โดยรูปของโพแทสเซียมที่พืชนำไปใช้ได้ คือ potassium ion (K^+) เมื่อใดก็ตามที่มีโพแทสเซียมเกินความจำเป็นจะส่งผลต่อการดูดกินแคลเซียมและแมกนีเซียมของพืช (เลิศภูมิ, 2557) สารโพแทสเซียมที่ถูกนำมาใช้ในพืชมีหลากหลายชนิด หนึ่งในนั้นคือ โพแทสเซียมคลอไรด์ ในกรณีที่มีการใช้ความเข้มข้นสูงเกินไปจะส่งผลให้เกิดความเป็นพิษ ซึ่งเป็นอันตรายต่อสรีรวิทยาของเซลล์พืช และส่งผลให้เกิด luxury consumption โดยพืชสะสมโพแทสเซียมไว้ปริมาณมากแต่การเจริญเติบโตไม่เพิ่มขึ้น (Shaibur et al., 2008)

เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ นำต้นพรมมิในทุกชุดการทดลองมาวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ โดยต้นพรมมิที่เลี้ยงในชุดการทดลองที่เพิ่มสาร KCl ในระดับความเข้มข้นสูงที่สุด เท่ากับ 1.5 meq/L (111.75 mg/L) มีสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่าชุดการทดลองอื่น ซึ่งสอดคล้องกับ Chen et al. (2013) ที่ศึกษาผลของความเข้มข้น KCl ต่อสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิของต้น *Prunella vulgaris* L. พบว่า การเพิ่มสาร KCl 2.98 mg/L ซึ่งเป็นระดับสูงที่สุดมีปริมาณสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิมากกว่าชุดการทดลองอื่น โดย Diaz-Méndez et al. (2018) ได้กล่าวว่า เมื่อมีการเพิ่มปริมาณสารโพแทสเซียม ส่งผลให้ปริมาณของสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์เพิ่มขึ้นตามด้วยไปเช่นกัน เนื่องจาก โพแทสเซียมมีบทบาทต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมของพืช ทำหน้าที่ควบคุมสมดุลเซลล์เพื่อให้คาร์โบไฮเดรตเกิดการดูดซึมและเคลื่อนตัวได้ง่าย อีกทั้งยังสามารถควบคุมการสร้างสารประกอบ phenylpropanoid ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของสารประกอบฟีนอลิก นอกจากนั้นมีรายงานของ Zhou et al. (2018) ได้ทำการศึกษาผลของความเครียดจากเกลือในรูป NaCl ต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในพืชสมุนไพร *Schizonepeta teuifolia* Briq พบว่า ในชุดการทดลองที่เติมเกลือมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง ABTS มากกว่าชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเกลือ ($p<0.05$) นอกจากสารที่กล่าวมาข้างต้นแล้วในต้นพรมมิยังพบสารสำคัญ คือ ซาโปนิน ที่มีชื่อเฉพาะว่า บาโคไซด์ ซึ่ง Maneeply et al. (2018) ได้กล่าวว่า บาโคไซด์ คือ สารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิที่สังเคราะห์ได้ในต้นพรมมิ เมื่ออยู่ภายใต้สภาวะเครียดจากปัจจัยที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต เช่น เชื้อโรค

สารละลาย อุณหภูมิ สิ่งแวดล้อม เป็นต้น ซึ่งความเครียดดังกล่าวสามารถเปลี่ยนกระบวนการทางสรีรวิทยาและกระตุ้นให้พืชสร้างสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิขึ้นเพื่อปกป้องตัวเอง เช่น การสร้างสารซาโปนิน สารประกอบฟีนอลิก เอนไซม์ เป็นต้น จากการทดลองในต้นพรมมิ พบว่า เมื่อมีการเพิ่มปริมาณสาร KCl ในระดับความเข้มข้นสูงที่สุด คือ 1.5 meq/L มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ระหว่างชุดการทดลอง สอดคล้องกับ Yao et al. (2010) ศึกษาผลของความเค็มในรูป KCl ต่อสารต้านอนุมูลอิสระของต้น *Chenopodium album* พบว่า ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระมีมากที่สุดในชุดการทดลองที่เพิ่ม KCl 22.37 mg/L ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นสูงที่สุดของการทดลอง โดยการทดลองในต้นพรมมิ พบว่า เมื่อเพิ่มสาร KCl 1.5 meq/L มีผลต่อการเพิ่มปริมาณสาร TSC เท่ากับ 1017.73 mg saponin/g สอดคล้องกับ Haghighi et al. (2012) ที่ศึกษาการเพิ่มขึ้นของสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิในต้น *Plantago ovata* Forsk. โดยใช้ความเค็มจากเกลือในรูปสาร NaCl พบว่า เมื่อมีการเพิ่มความเข้มข้นสาร NaCl เท่ากับ 17.53 mg/L ซึ่งความเข้มข้นดังกล่าวเป็นความเข้มข้นสูงที่สุดของชุดการทดลอง ส่งผลให้พืชมีปริมาณสารซาโปนินรวมดีที่สุด เท่ากับ 244.6 มิลลิกรัมต่อกรัม ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ระหว่างชุดการทดลอง ซึ่งสันนิษฐานว่าการเพิ่มปริมาณ KCl ในพืชต่างชนิดกันส่งผลให้ปริมาณสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิในพืชมีปริมาณต่างกัน โดยการเพิ่มของสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิมีสาเหตุมาจากการถูกกระตุ้นด้วยความเค็มและส่งผลให้พืชเกิดความเครียดจึงสร้างสารดังกล่าวออกมาเป็นจำนวนมาก ดังนั้นการเพิ่มความเครียดให้พืชโดยใช้เกลือมีผลต่อพืชทางสรีรวิทยา ซึ่งภายใต้สภาวะที่พืชได้รับความเค็มทำให้เกิดการสร้างเอนไซม์เพื่อกำจัดอนุมูลอิสระ เพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมาก เนื่องจาก หากสารดังกล่าวสร้างขึ้นไม่เพียงพอโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่น ดีเอ็นเอ โปรตีน เยื่อหุ้มเซลล์ อาจถูกทำลายและเป็นผลทำให้เซลล์ตายได้ นอกจากการสร้างเอนไซม์แล้วพืชสามารถสร้างสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิขึ้นได้ ตัวอย่างสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิที่พืชสร้างขึ้น เช่น ไฮโดรฟีลิก ฟีนอลิก ฟลาโวนอล แคโรทีนอยด์ เป็นต้น (Caliskan et al., 2017)

บทที่ 6
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

6.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นพรมมิในอาหารกึ่งแข็ง MS ร่วมกับสาร TDZ 0.1 – 0.4 mg/L มีความเหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดกระจุกและสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ ในขณะที่อาหารกึ่งแข็ง MS ไม่เติมสาร TDZ เหมาะสำหรับเตรียมต้นพันธุ์เพื่อย้ายปลูก

6.2 การแช่ต้นพรมมิที่ความเข้มข้นสาร TDZ 0.1 mg/L นาน 12 ชั่วโมง เพื่อเป็นต้นพันธุ์สำหรับการปลูกในระบบปลูกแบบไร้ดิน

6.3 การเพาะเลี้ยงต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดินโดยใช้สาร KNO_3 ความเข้มข้น 3.4 meq/L มีความเหมาะสมต่อการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ

6.4 การเพาะเลี้ยงต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดินโดยการเพิ่มสาร KCl ความเข้มข้น 1.5 meq/L มีความเหมาะสมต่อการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ

6.5 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารกึ่งแข็ง MS ไม่เติมสาร TDZ สามารถสกัดสารบาโคไซด์ของต้นพรมมิในรูปซาโปนินรวมได้ดีที่ตัวทำละลายเอทานอล ในขณะที่ซาโปนินรวมของต้นพรมมิในระบบปลูกไร้ดิน มีปริมาณมากที่สุดที่ระยะเวลาการเลี้ยง 8 สัปดาห์ โดยใช้ตัวทำละลายชนิดเดียวกัน

ข้อเสนอแนะ

(1) ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นพรมมิด้วยระบบ bioreactor เพื่อเพิ่มจำนวนต้นพันธุ์ที่ปลอดเชื้อต่อไปในอนาคต

(2) ควรมีการศึกษาเพิ่มเติม เรื่อง การเพิ่มความเข้มข้นของสารโพแทสเซียมคลอไรด์ ในการปลูกต้นพรมมิด้วยระบบปลูกแบบไร้ดิน เพื่อทดสอบประสิทธิภาพการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจาก การเติมโพแทสเซียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 1.5 meq/L ให้สารสำคัญมากที่สุด

บรรณานุกรม

เฉลิมขวัญ จันดี. 2559. พฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านแบคทีเรียของสารสกัดองุ่นป่า (*Ampelocissus martini* Planch). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยบูรพา.

ณัฐนนท์ อยู่สถิตย์ และชญาดา กลิ่นจันทร์. 2559. การวิเคราะห์สารประกอบฟลาโวนอยด์ในใบสะระแหน่ ใบทับทิม และใบว่านแร้งคอดำ เพื่อแปรรูปเป็นชาสมุนไพร. หน้า 322-338. ใน การประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร ครั้งที่ 3. กำแพงเพชร : มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร.

ณัฐนรี ไพสิฐสกุลนาท, เยาวพา จิระเกียรติกุล และภาณุมาศ ฤทธิไชย. 2562. ผลของ Thidiazuron ต่อการเพิ่มจำนวนยอดของมหาหงส์ในสภาพปลอดเชื้อ. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร* 50(2): 53-56.

ณัฐิกา สุทธิประสิทธิ์. 2559. การศึกษาความเป็นไปได้ของการลงทุนในธุรกิจการปลูกผักไฮโดรโปนิกส์. วิทยานิพนธ์บริหารธุรกิจมหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยศิลปากร.

ดิเรก ทองอร่าม. 2547. *การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน หลักการจัดการผลิตและเทคโนโลยีการผลิตเชิงธุรกิจในประเทศไทย.* พิมพ์ครั้งที่ 2. ราชบุรี: ธรรมรักษ์การพิมพ์.

ถาวรีย์ วิบูลย์วัฒน์ และพนิดา แสนประกอบ. 2562. การประเมินฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญของเครื่องเคียงไทยบางชนิด. ใน *การประชุมวิชาการระดับชาติ วลัยลักษณ์วิจัย ครั้งที่ 11*. น. 1-7. กรุงเทพฯ.

นงนุช เลาหะวิสุทธิ์. 2548. *เอกสารประกอบคำสอนปลาสวยงามและพรรณไม้น้ำ.* กรุงเทพฯ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ประไพรัตน์ สีพลไกร. 2555. สารอินโดลอัลคาลอยด์และฤทธิ์ทางชีวภาพของต้นพญาสัตบรรณ. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี*. 14(1): 54-65.

เพชรรัตน์ จันทรทิณ. 2556. *เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อการเกษตร.* กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยกรุงเทพธนบุรี.

มิ่งขวัญ ทวีทรัพย์. 2549. ผลของสารไธไดอะซูรอนต่อการเกิดยอดของหน้าวัว. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการผลิตพืช มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

ยุพา วรยศ. 2534. *พันธุ์ไม้น้ำ.* ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง.

ลือชัย บุตคุป. 2555. สารประกอบฟีโนลิกและฤทธิ์ทางชีวภาพ. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม* 31(4): 443-455.

เลิศภูมิ จันทรเพ็ญกุล. 2557. การควบคุมสารละลายในการผลิตผักไร้ดิน. *วารสารเกษตรราชพฤกษ์* 1: 1-17.

วราภรณ์ ฉุยฉาย. 2552. บทบาทของ Thidiazuron ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. *วารสารมหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา* 4(2): 123-135.

เสรี เลาเทาะ และปริญญาวดี ศรีตนทิพย์. 2557. อิทธิพลของปุ๋ยไนโตรเจนต่อการเจริญเติบโต ความเขียวของใบ และผลผลิตส่วนที่บริโภคได้ของผักเชียงดา. *แก่นเกษตร* 42(3): 789-794.

อนุพันธ์ กงบังเกิด และพันธิตรา กมล. 2549. ผลของไซโตไคนินและออกซินต่อการพัฒนาของเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงกระเจียวขาว. *NU Science Journal* 2(2): 183-201.

อรุณี ม่วงแก้วงาม. 2559. รายงานวิจัย การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตต้นพันธุ์ดาหลาด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. ยะลา : คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา.

อุดมเดชา พลเยี่ยม. 2556. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ การศึกษาโครงสร้างทางเคมีของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากมะเดื่อ. กรุงเทพฯ : คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร.

เอกชัย จารุเนตรวิลาส. 2558. *อาหารฟังก์ชัน*. อุดรธานี : มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี.

เอนก หาลี และบุณยกฤต รัตนพันธุ์. 2560. การศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระจากพืชผักสมุนไพรพื้นบ้าน 15 ชนิด. *วารสารวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี* 2: 283-293.

Ahire, M. L., Laxmi, S., Walunj, P. R., Kavi Kishor, P. B., and Nikam, T. D. 2013. Effect of potassium chloride and calcium chloride induced stress on in vitro cultures of *Bacopa monnieri* (L.) Pennell and accumulation of medicinally important bacoside A. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology* 1-13.

Ahmad, T., Cawood, M., Iqbal, Q., Ariño, A., Batool, A., Tariq, R. M. S., Azam, M., and Akhtar, S. 2019. Phytochemicals in *Daucus carota* and their health benefits. *Foods* 8(424): 1-22.

Ainsley, P. J., Hammerschlag, F. A., Bertozzi, T., Collins, G. G., and Sedgley, M. 2001. Regeneration of almond from immature seed cotyledons. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 67: 221-226.

Ali, H., Khan, M. A., Kayani, W. K., Khan, T., Mashwani, Z. R., Ullah, N., and Khan, R. S. 2018. Thidiazuron regulated growth, secondary metabolism and essential oil profile in shoot cultures of *Ajuga bracteosa*. *Industrial Crops & Products* 121: 418-427.

Allahdadi, M., and Farzane, P. 2018. Influence of different levels of nitrogen fertilizer on some phytochemical characteristics of artichock (*Cynara scolymus* L.) leaves. *Journal of Medicinal Plants Studies* 6(1): 109-115.

Al-Snafi, A. E. 2013. The pharmacology of *Bacopa monniera*. a review. *International Journal of Phama Sciences and Research* 4(12): 154-159.

Asgarirad, H., Pourmorad, F., Hosseinimehr, S. J., Saeidnia, S., Ebrahimzadeh, M. A., and Lotfi, F. 2010. In vitro antioxidant analysis of *Achillea tenuifolia*. *African Journal of Biotechnology* 9(24): 3536-3541.

Award, M. A., and Jager, A. 2002. Relationships between fruit nutrients and concentrations of flavonoids and chlorogenic acid in Elstar apple skin. *Scientia Horticulturae* 92: 265-276.

Baâtour, O., Mahmoudi, H., Tarchoun, I., Nasri, N., Trabelsi, N., Kaddour, R., Zaghdoudi, M., Hamdawi, G., Ksouri, R., Lachaâl, M., and Marzouk, B. 2012. Salt stress on phenolics and antioxidant activities of Tunisian and Canadian sweet majoram (*Origanum majorana* L.) shoots. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 1-8.

Barzegar, T., Mohammadi, S., and Ghahremani, Z. 2020. Effect of nitrogen and potassium fertilizer on growth, yield and chemical composition of sweet funnel. *Journal of Plant Nutrition* 1-17.

Basra, A. S. 2000. *Plant growth regulators in agriculture and horticulture : Their Role and Commercial Uses.* New York: Haworth Press.

Bhandari, P., Kumar, N., Singh, B., and Kaul, V. K. 2007. Cucurbitacins from *Bacopa monnieri*. *Phytochemistry* 68: 1248-1254.

Bhattacharya, S. K., Bhatthachaya, A., Kumar, A., and Ghosal, S. 2000. Antioxidant activity of *Bacopa monniera* in rat frontal cortex, striatum and hippocampus. *Phytotherapy Research* 14: 174-179.

Caliskan, O., Radusiene, J., Temizel, K. E., Staunis, Z., Cirak, C., Kurt, D., and Odabas, M. S. 2017. The effects of salt and drought stress on phenolic accumulation in greenhouse-grown *Hypericum pruinatum*. *Italian Journal of Agronomy* 12(918): 271-275.

Chan, K. W., Iqbal, S., Khong, N. M. H., Ooi, D. J., and Ismail, M. 2014. Antioxidant activity of phenolics – saponins rich fraction prepared from defatted kenaf seed meal. *LWT – Food Science and Technology* 56: 181-186.

Chanda, J., Biswas, S., Kar, A., and Mukherjee, P. K. 2019. Determination of cucurbitacin e in some selected herbs of ayurvedic importance through RP-HPLC. *Journal of Ayurvedic and Integrative Medicine* 1-7.

Chen, Y., Yu, M., Zhu, Z., Zhang, L., and Guo, Q. 2013. Optimisation of potassium chloride nutrition for proper growth, physiological development and bioactive component production in *Prunella vulgaris* L. *Plos One* 8(7): 1-7.

Chrysargyris, A., Nikolaidou, E., Stamatakis, A., and Tzortzakis, N. 2017. Vegetative, physiological, nutritional and antioxidant behavior of spearmint (*Mentha spicata* L.) in response to different nitrogen supply in hydroponics. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* 1-10.

Devendra, P., Shankar, P. S., Santanu, B., Gajanan, D., and Rupesh, D. 2018. Brahmi (*Bacopa monnieri*) as functional food ingredient in food processing industry. *Journal of Phamacognosy and Phytochemistry* 7(3): 189-194.

Díaz-Méndez, H. A., Preciado-Rangel, P., Chávez, E. S., Rivera, J. R. E., Hernández, M. F., and Álvarez-Reyna, V. P. 2018. Potassium in the nutraceutical quality of hydroponic cucumber fruits. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 20: 4245-4250.

Dörnenburg, H., and Knorr, D. 1995. Strategies for the improvement of secondary metabolite production in plant cell culture. *Enzyme and Microbial Technology* 17: 674-684.

Georgiev, G. I., Maslenkova, L., lvanova, A., Lazarova, I., and Evstatieva, L. 2011. The effect of Thidiazuron (dropp) on the growth, photostnthetic activity and saponin content of Puncture vine (*Tribulus terrestris* L.). *Biotechnology & Biotechnological Equipment* 2362-2365.

Glowacki, R., Furmaniak, P., Kubalczyk, P., and Borowczyk, K. 2016. Determination of total apigenin in herbs by micellar eletrokinetic chromatography with uv detection. *Journal of Analytical Methods in Chemistry* 1-8.

Gubbannavar, J. S., Chandola, H. M., Harisha, C. R., Khanpara, K., and Shukla, V. J. 2013. A comparative pharmacognostical and preliminary physio-chemical analysis of stem and leaf of *Bacopa monnieri* (L.) Pennel and *Bacopa floribunda* (R.BR.) Wettst. *An International Quarterly Journal of Research in Ayurveda* 34(1): 95-102.

Guillén-Román, C. J., Guevara-González, R. G., Rocha-Guzmáa, N. E., Mercado-Luna, A., and Pérez-Pérez, M. C. I. 2018. Effect of nitrogen privation on the phenolics contents, antioxidant and antibacterial activities in *Moringa oleifera* leaves. *Industrial Crops&Products* 114: 45-51.

Haghighi, Z., Karimi, N., Modarresi, M., and Mollayi, S. 2012. Enhancement of compatible solute and secondary metabolites production in *Plantago ovata* Forsk. by salinity stress. *Journal of Medicinal Plants Research* 6(18): 3495-3500.

Heidari, S., Soltani, F., Azizi, M., and Hadian, J. 2014. Foliar application of Ca and K improves growth, yield, essential oil yield and nutrient uptake of tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) grown in Iran. *International Journal of Biosciences* 4(12): 323-338.

Huetteman, C. A., and Preece, J. E. 1993. Thidiazuron: a potent cytokinin for woody plant tissue culture. *Tissue and Organ Culture* 33: 105-119.

Ibrahim, M. H. Jaafar, H. Z. E., Rahmat, A., and Rahman, Z. A. 2012. Involvement of nitrogen on flavonoids, glutathione, anthocyanin, ascorbic acid and antioxidant activities of Malaysian medicinal plant *Labisia pumila* Blume (Kacip Fatimah). *International Journal of Molecular Sciences* 13: 393-408.

Jain, P., Sharma, H. P., Basri, F., Priya, K., and Singh, P. 2017. Phytochemical analysis of *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. and their anti-fungal activities. *Indian Journal of Traditional Knowledge* 16(2): 310-318.

Janpen, C., Kanthawang, N., Inkham, C., Tsan, F. Y., and Sommano, S. R. 2019. Physiological responses of hydroponically-grown Japanese mint under nutrient deficiency. *PeerJ* 1-19.

Justesen, U., and Knuthsen, P. 2001. Composition of flavonoids in fresh herb and calculation of flavonoid intake by use of herbs in traditional danish dishes. *Food Chemistry* 73: 245-250.

Kamkaew, N., Paracha, T. U., Ingkaninan, K., Waranuch, N., and Chootip, K. 2019. Vasodilatory effects and mechanisms of action of *Bacopa monnieri* active compounds on rat mesenteric arteries. *Molecules* 24(2243): 1-11.

Karatas, M., and Aasim, M. 2014. Efficient *in vitro* regeneration of medicinal aquatic plant water hyssop (*Bacopa monnieri* L. Pennell). *Pakistan Journal of Agriculture Sciences* 51(3): 667-672.

Khan, T., Abbasi, B. H., Khan, M. A., and Shinwari, Z. K. 2016. Differental effects of Thidiazuron on production of anticancer phenolic compounds in callus cultures of *Fagonia indica*. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 179: 46-58.

Kiferle, C., Maggini, R., and Pordossi, A. 2013. Influence of nitrogen nutrition on growth and accumulation of rosmarinic acid in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) grown in hydroponic culture. *Australian Journal of Crop Science* 7(3): 321-327.

Lal, S., and Baraik, B. 2019. Phytochemical and pharmacological profile of *Bacopa monnieri* – an ethnomedicinal plant. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 10(3): 1001-1013.

Langer, R. H. M., Prasad, P. C., and Laude, H. M. 1973. Effect of kinetin on tiller bud elongation in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Annals of Botany* 37(3): 565-571.

Lansdown, R. V. 2020. Water hyssop. iucnredlist.org/ja/species/164168/17722668#taxonomy (28 เมษายน 2563).

Lara, T. S., Lira, J. M. S., Rodrigues, A. C., Rakocevic, M., and Alvarenga, A. A. 2014. Potassium nitrate priming affects the activity of nitrate reductase and antioxidant enzymes in tomato germination. *Joutnal of Agricultural Science* 6(2): 72-80.

Leite, K. C. S., Garcia, L. F., Lobón, G. S., Thomaz, D. V., Moreno, E. K. G., Carvalho, M. F., Rocha, M. L., Santos, W. T. P., and Gil, E. S. 2018. Antioxidant activity evaluation of dried herbal extracts: an electroanalytical approach. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 28(3): 325-332.

Lin, Y., Shi, R., Wang, X., and Shen, H. M. 2008. Luteolin, a flavonoid with potentials for cancer prevention and therapy. *National Institutes of Health* 8(7): 634-646.

López M., Martínez, F., Valle, C. D., Ferrit, M., and Luque, R. 2003. Study of phenolic compounds as natural antioxidants by a fluorescence method. *Talanta 60* 60(2-3): 609-616.

Lu, J. J., Bao, J. L., Chen, X. P., Huang, M., and Wang, Y. T. 2012. Alkaloids isolated from natural herbs as the anticancer agent. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 1-12.

Mahato, S. B. 2000. Bioactive saponins from some plants used in Indian traditional medicine. In *Saponins in Food, Feedstuffs and Medicinal Plants*, W. Oleszek and A. Marston, ed. pp. 13-23. Dordrecht: Springer.

Malik, K. A., and Saxena, P. K. 1992. Thidiazuron induces hight-frequency shoot regenerate in intack seedling of pea (*Pisum sativum*), chickpea (*Cicer arietinum*) and lentil (*Lens culinaris*). *Australian Journal of Plant Physiology* 19(6): 731-740.

Maneeply, C., Sujipuli, K., and Kunpratum, N. 2018. Growth of Brahmi (*Bacopa monnieri* (L.) Wettst.) by NFT and DFT hydroponic systems and their accumulation of saponin bacosides. *NU International Journal of Science* 15(2): 114-124.

Maucieri, C., Nicoletto, C., Os, E. V., Anseeuw, D., Havermaet, R. V., and Junge, R. 2019. *Aquaponics Food Production System*. Switzerland: Springer.

Mohan, N., Jassal, P. S., Kumar, V., and Singh, R. P. 2011. Comparative *in vitro* and *in vivo* study of antioxidants and phytochemical content in *Bacopa monnieri*. *Recent Research in Science and Science and Technology* 3(9): 78-83.

Mok, M. C., Martin, R. C., and Mok, D. W. S. 2000. Cytokinins: biosynthesis, metabolism and perception. *In Vitro Cellular & Development Biology – Plant* 36(2): 102-107.

Müller, V., Lankes, C., Zimmermann, B. F., Noga, G., and Hunsche, M. 2013. Centelloside accumulation in leaves of *Centella asiatica* is determined by resource partitioning between primary and secondary metabolism while influenced by supply levels of either nitrogen, phosphorus or potassium. *Journal of Plant Physiology* 170: 1165-1175.

Murashige, T., and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497.

Murthy, B. N. S., Murch, S. J., and Saxena, P. K. 1998. Thidiazuron: a potent regulator of *in vitro* plant morphogenesis. *In Vito Cellular&Developmental Biology-Plant* 34(4): 267-275.

Muszynska, B., Lojewski, M., Sutkowska-Ziaja, K., Szewczyk, A., Gdula-Argasinska, J., and Hataszuk, P. 2016. *In vitro* cultures of *Bacopa monnieri* and analysis of selected group of biologically active metabolites in their biomass. *Phamaceutical Biology* 54(11): 2443-2453.

Nagel, L., Brewster, R., Riedell, W. E., and Reese, R. N. 2001. Cytokinin regulation of flower and pod set in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). *Annals of Botany* 88: 27-31.

Naik, P. M., Manohar, S. H., Praveen, N., Upadhya, V., and Murthy, H. N. 2012. Evaluation of Bacoside A content in different accessions and various organs of *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. *Journal of Herb, Spices & Medicinal Plants* 18: 387-395.

Nakashima, S., Ohta, T., Nakamura, S., Oda, Y., Koumoto, M., Kashiwazaki, E., Kado, M., Shimada, A., Akita, R., and Matsuda, H. 2016. Caffeic acid derivatives from *Bacopa monniera* plants as inhibitors of pancreatic lipase activity and their structural requirements. *Natural Product Communications* 11(12): 1855-1858.

Naveed, M., Hejazi, V., Abbas, M., Kamboh, A. A., Khan, G. J., Shumzaid, L., and Xiaohui, Z. 2018. Chlorogenic acid (CGA): a pharmacological review and call for further research. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 97: 67-74.

Ncube, B., and Staden, J. V. 2015. Tilting plant metabolism for improved metabolite biosynthesis and enhanced human benefit. *Molecules* 20: 12698-12731.

Nedjimi, B., and Daoud, Y. 2009. Effect of calcium chloride on growth, membrane permeability and root hydraulic conductivity in two *Atriplex* species grown at high (sodium chloride) salinity. *Journal of Plant Nutrition* 32: 1818-1830.

Noghani, M., Shakori, M. J., and Darandeh, N. 2014. Effect of cytokinin and gibberellin on lettuce seeds germination. *International Journal of Biosciences* 5(7): 1-4.

Olszowy, M., and Dawidowicz, A. L. 2017. It is possible to use the DPPH and ABTS methods for reliable estimation of antioxidant power of colored compound. *Chemical Paper* 72: 393-400.

Panche, A. N., Diwan, A. D., and Chandra, S. R. 2016. Flavonoids : an overview. *Journal of Nutritional Science* 5(47): 1-15.

Prathanturarug, S., Soonthornchareonnon, N., Chuakul, W., Phaidee, Y., and Saralamp, P. 2005. Rapid micropropogation of *Curcuma longa* using bud explant pre-cultured in Thidiazuron-supplemented liquid medium. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 80: 347-351.

Rai, K., Gupta, N., Dharamdasani, L., Nair, P., and Bodhankar, P. 2017. *Bacopa monnieri*: a wonder drug changing fortune of people. *International Journal of Applied Science and Biotechnology* 5(2): 127-132.

Rajan, K. E., Preethi, J., and Singh, H. K. 2015. Molecular and functional characterization of *Bacopa monnieri*: a retrospective review. *Evidence-Based Complementary and Alterative Medicine* 1-12.

Ramasamy, S., Chin, S. P., Sukumaran, S. D., Buckle, M. J. C., Kiew, L. V., and Chung, L. Y. 2015. In silico and *in vitro* analysis of Bacoside A aglycones and Its derivatives as the constituents responsible for the cognitive effects of *Bacopa monnieri*. *Plos One* 10(5): 1-19.

Rawat, J. M., Rawat, B., Chandra, A., and Nautiyal, S. 2013. Influence of plant growth regulators on indirect shoot organogenesis and secondary metabolite production in *Aconitum violaceum* Jacq. *African Journal of Biotechnology* 12(44): 6287-6293.

Sekhar, V. C., Viswanathan, G., and Baby, S. 2019. Insights into the molecular aspects of neutroprotective Bacoside A and Bacopaside I. *Current Neuropharmacology* 17: 438-446.

Shaibur, M. R., Shamim, A. H. M., and Kawai, S. 2008. Growth response of hydroponic rice seedling at elevated concentrations of potassium chloride. *Journal of Agriculture & Rural Development* 6(1&2): 43-53.

Shirazi, O. U., Khattak, M. M. A. K., Shukri, N. A. M., and Anuar, M. N. N. 2014. Determination of total phenolic, flavonoid content and free radical scavenging activities of common herb and spices. *Journal of Phamacognosy and Phytochemistry* 3(3): 104-108.

Siddique, I., and Anis, M. 2007. Rapid micropropogation of *Ocimum basilicum* using shoot tip explant pre-culture in Thidiazuron supplemented liquid medium. *Biologia Plantarum* 51(4): 787-790.

Sosa, M. L. M., Moroni, P., and O'Leary, N. 2018. A taxonomic revision of the genus *Bacopa* (Gratioleae, Plantaginaceae) in Argentina. *Phytotaxa* 336(1): 1-27.

Sukumaran, N. P., Amalraj, A., and Gopi, S. 2019. Neuropharmacological and cognitive effects of *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. – a review on its mechanistic aspects. *Complementary Therapies in Medicine* 44: 68-82.

Szakiel, A. Paczkowski, C., and Henry, M. 2011. Influence of environmental abiotic factors on the content of saponin in plants. *Phytochemistry Review* 10: 471-491.

Tavakkoli, E., Rengasamy, P., and Mcdonald, G. K. 2010. High concentrations of Na^+ and Cl^- ions in soil solution have simultaneous detrimental effect on growth of faba bean under salinity stress. *Journal of Experimental Botany* 61(15): 4449-4459.

Thomas, J. C., and F. R., Katterman. 1986. Cytokinin activity induced by Thidiazuron. *Plant Physiology* 81: 681-683.

Thorat, B. S., Bagkar, T. A., and Patil, R. R. 2018. Brahmi the memory booster medicinal herb. *Journal of Medicinal Plants Studies* 6(1): 185-187.

Vador, N., Vador, B., and Hole, R. 2012. Simple spectrophotometric methods for standardizing ayurvedic formulation. *Indian Journal of Phamaceutical Science* 74(2): 161-163.

Velu, K., Elumalai, D., Hemalatha, P., Babu, M., Janaki, A., and Kaleena, P. K. 2015. Phytochemical screening and larvicidal activity of peel extracts of *Arachis hypogaea* against chikungunya and malarial vectors. *International Journal of Mosquito Research* 2(1): 01-08.

Vishwakarma, R. K., Kumari, U., and Khan, B. M. 2016. *Medicinal plants – recent advances in research and development.* Singapore: Springer.

Wei, H., Manivannan, A., Chen, Y., and Jeong, B. R. 2018. Effect of different cultivation system on the accumulation of nutrients and phytochemicals in *Ligularia fischeri. Horticultural Plant Journal* 4(1): 24-29.

Wettstein, R.V. 2020. *Bacopa monnieri*. legacy.tropicas.org/Name/29202063 (28 เมษายน 2563).

Yaldiz, G., Yildirim, A. B., Arici, Y. K., and Camlica, M. 2016. Yield, yield features, phytochemical composition, antioxidant and antibacterial activities of *Abutilon indicum* cultivated under different fertilizers. *Ciencie e Investiga Ción Agraria* 43(3): 464-475.

Yao, S., Chen, S., Xu, D., and Lan, H. 2010. Plant growth and responses of antioxidants of *Chenopodium album* to long-term NaCl and KCl stress. *Plant Growth Regul* 60: 115-125.

Zhou, J., Ma, H., Guo F., and Luo, X. 1994. Effect of thidiazuron on somatic embryogenesis of *Cayratia japonica*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 36(1): 73-79.

Zhou, Y., Tang, N., Huang, L., Zhao, Y., Tang, X., and Wang, K. 2018. Effect of salt stress on plant growth, antioxidant capacity, glandular trichome density and volatile exudates of *Schizonepeta tennifolia* Briq. *International Journal of Molecular Sciences* 19(252): 1-15.

Zhu, Z., Yu, M-M., Chen, Y-H., Guo, Q-S., Zhang, L-X., Shi, H-Z., and Lui, L. 2014. Effect of ammonium to nitrate ratio on growth, nitrogen metabolism, photosynthetic efficiency and bioactive phytochemical production of *Prunella vulgaris*. *Phamaceutical Biology* 52(12): 1518-1525.

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 สารเคมีในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS

สารเคมี	ปริมาณที่ใช้ (mg/L)
NH_4NO_3	1,650
KNO_3	1,900
$CaCl_2 \cdot 2\ H_2O$	440
$MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$	370
KH_2PO_4	170
H_3BO_3	6.2
$MnSO_4 \cdot 4\ H_2O$	22.3
$ZnSO_4 \cdot 7\ H_2O$	8.6
KI	0.83
$Na_2MoO_4 \cdot 2\ H_2O$	0.25
$CuSO_4 \cdot 5\ H_2O$	0.025
$CoCl_2 \cdot 6\ H_2O$	0.025
Na_2EDTA	37.25
$FeSO_4 \cdot 5\ H_2O$	27.85
Glycine	2.0
Nicotinie acid	0.5
Pyridoxine-HCl	0.5
Thiamine-HCl	0.1
Myo-inosital	100
Sucrose	30,000

หมายเหตุ : ปรับค่า pH ให้เท่ากับ 5.6

ตารางผนวกที่ 2 ผลของความเข้มข้นสาร TDZ ต่อการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิด้วยตัวทำ ละลายในการสกัดที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

ปัจจัย		TDZ (mg/L)				
		0	0.1	0.4	1.6	6.4
TPC	น้ำกลั่น	18.57±0.19^{b}	20.19±1.01^{b}	23.28±0.27^{a}	14.60±0.33^{c}	13.21±1.09^{c}
(mgGAE/g)	เอทานอล	13.35±0.66^{ab}	14.36±0.21^{a}	12.19±0.11^{bc}	11.31±0.42^{c}	9.24±0.26^{d}
TFC	น้ำกลั่น	25.23±3.17	34.05±1.84	32.29±2.89	28.11±2.05	34.39±1.44
(mgQE/g)	เอทานอล	29.68±2.37	31.54±2.90	35.08±1.68	32.55±2.06	29.07±1.21
TSC	น้ำกลั่น	60.73±102.40^{a}	49.06±197.03^{b}	58.23±46.40^{a}	39.90±57.74^{c}	44.06±252.63^{c}
(mgSaponin/g)	เอทานอล	210.48±101.38^{a}	139.15±491.81^{b}	103.81±88.19^{d}	123.81±313.69^{c}	85.98±197.03^{e}
DPPH	น้ำกลั่น	60.31±1.56^{b}	74.03±2.54^{a}	81.76±0.83^{a}	52.88±3.54^{bc}	47.83±5.02^{c}
(% Inhibition)	เอทานอล	27.14±3.88^{b}	34.46±0.47^{a}	26.43±1.66^{b}	15.89±2.50^{c}	13.87±0.83^{c}
ABTS	น้ำกลั่น	93.45±0.46^{b}	99.01±0.04^{a}	98.78±0.08^{a}	99.10±0.09^{a}	99.05±0.00^{a}
(% AA)	เอทานอล	99.46±0.00^{b}	99.60±0.00^{a}	99.55±0.05^{ab}	99.55±0.05^{ab}	99.60±0.00^{a}

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอนของแต่ละปัจจัยแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางผนวกที่ 3 ผลของความเข้มข้นสารประกอบโพแทสเซียมไนเตรทในสูตรสารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ต่อการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิด้วยตัวทำ ละลายในการสกัดที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

ปัจจัย		KNO_3 (meq/L)				
		3.4 (-1.0)	3.9 (-0.5)	4.4 (0)*	4.9 (+0.5)	5.4 (+1.0)
TPC	น้ำกลั่น	2.80±0.02^{d}	3.43±0.08^{b}	2.82±0.05^{d}	4.47±0.08^{a}	3.05±0.08^{c}
(mgGAE/g)	เอทานอล	3.87±0.10^{b}	4.34±0.15^{a}	3.48±0.03^{b}	4.45±0.19^{a}	4.61±0.18^{a}
TFC	น้ำกลั่น	2.89±1.28	1.33±0.47	5.00±2.67	5.90±2.12	9.43±1.65
(mgQE/g)	เอทานอล	24.33±1.37^{a}	20.97±0.96^{b}	16.25±1.28^{c}	16.98±0.42^{c}	18.08±0.30^{bc}
TSC	น้ำกลั่น	47.03±0.60^{c}	58.03±1.59^{b}	58.53±1.48^{b}	67.37±1.64^{a}	67.37±2.95^{a}
(mgSaponin/g)	เอทานอล	577.03±18.91	608.37±22.67	542.20±12.17	573.20±6.43	585.87±12.15
DPPH	น้ำกลั่น	3.77±0.29^{ab}	4.40±1.12^{a}	0.27±0.77^{b}	7.03±2.18^{a}	5.23±0.53^{a}
(% Inhibition)	เอทานอล	10.81±1.73	9.27±0.77	9.46±1.75	9.59±0.74	8.11±0.48
ABTS	น้ำกลั่น	17.40±0.60^{c}	21.97±0.13^{b}	23.47±0.22^{b}	30.23±1.52^{a}	24.20±1.03^{b}
(% AA)	เอทานอล	22.97±1.23	29.18±2.45	28.46±1.75	25.95±0.05	26.57±1.04

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอนของแต่ละปัจจัยแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* หมายถึง ชุดควบคุมโดยใช้สารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2

ตารางผนวกที่ 4 ผลของความเข้มข้นสารประกอบโพแทสเซียมไนเตรทในสูตรสารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ต่อการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิด้วยตัวทำละลายในการสกัดที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ปัจจัย		KNO_3 (meq/L)				
		3.4 (-1.0)	3.9 (-0.5)	4.4 (0)*	4.9 (+0.5)	5.4 (+1.0)
TPC	น้ำกลั่น	10.22±0.25^{a}	9.09±0.12^{b}	7.37±0.20^{c}	9.96±0.49^{ab}	7.69±0.21^{c}
(mgGAE/g)	เอทานอล	8.25±1.17^{a}	8.08±0.25^{a}	6.52±0.32^{b}	7.61±0.24^{a}	6.49±0.23^{b}
TFC	น้ำกลั่น	29.00±3.27^{b}	34.42±3.15^{b}	34.35±0.09^{b}	20.86±7.12^{b}	57.40±11.46^{a}
(mgQE/g)	เอทานอล	60.75±2.21^{b}	38.16±8.08^{c}	41.41±2.25^{c}	45.09±1.44^{c}	73.56±2.27^{a}
TSC	น้ำกลั่น	319.07±1.67^{a}	280.73±1.76^{b}	279.40±3.52^{b}	281.40±3.00^{b}	247.07±2.96^{c}
(mgSaponin/g)	เอทานอล	1154.07±37.82	1216.73±45.35	1084.40±24.33	1146.40±12.86	1171.73±24.31
DPPH	น้ำกลั่น	53.67±0.15^{a}	51.67±0.27^{c}	47.57±0.17^{e}	52.47±0.13^{b}	49.07±0.20^{d}
(% Inhibition)	เอทานอล	46.08±1.03^{a}	42.79±0.41^{b}	39.80±1.09^{c}	38.80±0.19^{c}	34.14±0.67^{d}
ABTS	น้ำกลั่น	95.63±0.47^{a}	95.57±0.23^{a}	93.93±0.32^{b}	95.03±0.28^{a}	95.90±0.17^{a}
(% AA)	เอทานอล	73.06±1.30^{bc}	81.15±0.59^{a}	65.99±0.53^{d}	75.16±1.28^{b}	70.28±1.55^{c}

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอนของแต่ละปัจจัยแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* หมายถึง ชุดควบคุมโดยใช้สารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2

ตารางผนวกที่ 5 ผลของความเข้มข้นสารประกอบโพแทสเซียมคลอไรด์ในสูตรสารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ต่อการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิด้วยตัวทำละลายในการสกัดที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

ปัจจัย		KCl (meq/L)			
		0*	0.5	1	1.5
TPC	น้ำกลั่น	4.27±0.18^{b}	3.95±0.18^{c}	5.14±0.06^{a}	4.14±0.09^{b}
(mgGAE/g)	เอทานอล	4.09±0.18^{c}	4.83±0.21^{ab}	5.43±0.18^{a}	4.59±0.24^{bc}
TFC	น้ำกลั่น	6.63±1.39	12.40±2.98	14.16±4.60	4.22±2.24
(mgQE/g)	เอทานอล	16.21±4.89	25.42±1.49	26.49±2.40	20.78±2.08
TSC	น้ำกลั่น	69.03±1.48^{a}	62.20±2.84^{ab}	67.20±2.57^{b}	58.37±2.20^{b}
(mgSaponin/g)	เอทานอล	469.87±44.83^{b}	611.87±5.63^{a}	547.20±9.57^{ab}	541.37±8.08^{ab}
DPPH	น้ำกลั่น	9.67±0.52	7.83±0.96	11.77±1.48	5.47±2.17
(% Inhibition)	เอทานอล	12.29±1.92	13.58±0.53	11.00±0.16	9.97±0.61
ABTS	น้ำกลั่น	34.00±0.85^{a}	30.87±1.03^{b}	35.77±0.19^{a}	29.37±0.18^{b}
(% AA)	เอทานอล	23.43±0.50^{c}	30.41±0.98^{a}	27.28±0.94^{b}	26.26±0.44^{b}

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอนของแต่ละปัจจัยแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* หมายถึง ชุดควบคุมโดยใช้สารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2

ตารางผนวกที่ 6 ผลของความเข้มข้นสารประกอบโพแทสเซียมคลอไรด์ในสูตรสารละลายธาตุอาหาร KMITL 2 ต่อการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิด้วยตัวทำละลายในการสกัดที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ปัจจัย		KCl (meq/L)			
		0*	0.5	1	1.5
TPC	น้ำกลั่น	7.95±0.49	8.78±0.56	8.16±0.26	9.36±0.39
(mgGAE/g)	เอทานอล	4.52±0.43^{c}	5.01±0.11^{bc}	5.79±0.36^{b}	7.16±0.30^{a}
TFC	น้ำกลั่น	9.80±4.12^{c}	19.65±7.61^{bc}	42.62±8.10^{a}	35.88±5.04^{ab}
(mgQE/g)	เอทานอล	2.41±0.53^{b}	8.66±1.51^{b}	11.12±6.57^{b}	29.32±3.77^{a}
TSC	น้ำกลั่น	196.73±1.76^{c}	218.07±2.19^{ab}	224.07±5.24^{a}	212.40±5.13^{b}
(mgSaponin/g)	เอทานอล	785.07±8.42^{c}	835.73±18.22^{b}	842.07±7.31^{b}	1017.73±10.84^{a}
DPPH	น้ำกลั่น	17.10±0.61^{b}	16.73±0.64^{b}	16.93±0.26^{b}	19.83±0.27^{a}
(% Inhibition)	เอทานอล	5.85±1.29^{c}	12.19±0.43^{b}	14.00±0.19^{ab}	15.42±0.25^{a}
ABTS	น้ำกลั่น	97.23±0.03	96.53±0.57	96.93±0.18	96.60±0.51
(% AA)	เอทานอล	51.16±0.47^{c}	50.80±1.62^{c}	57.46±1.52^{b}	64.48±0.83^{a}

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอนของแต่ละปัจจัยแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* หมายถึง ชุดควบคุมโดยใช้สารละลายธาตุอาหารสูตร KMITL 2

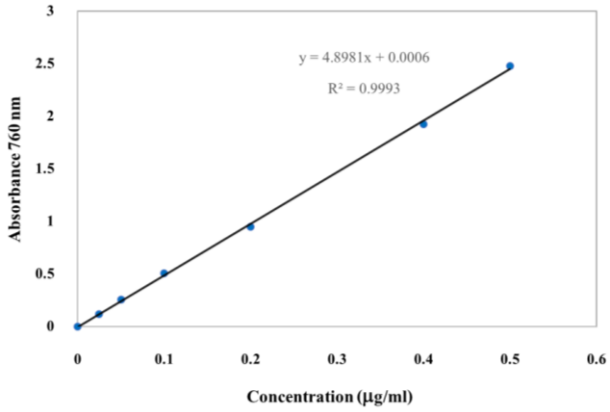
ตารางผนวกที่ 7 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระในต้นพรมมิจากธรรมชาติด้วยตัวทำละลายในการสกัดที่แตกต่างกัน

พรมมิจากธรรมชาติ		
TPC	น้ำกลั่น	8.70±0.06
(mgGAE/g)	เอทานอล	6.02±1.38
TFC	น้ำกลั่น	19.04±0.12
(mgQE/g)	เอทานอล	0.24±0.12
TSC	น้ำกลั่น	108.07±0.33
(mgSaponin/g)	เอทานอล	1270.73±3.84
DPPH	น้ำกลั่น	16.98±0.06
(% Inhibition)	เอทานอล	9.29±0.33
ABTS	น้ำกลั่น	93.48±0.25
(% AA)	เอทานอล	83.60±0.36

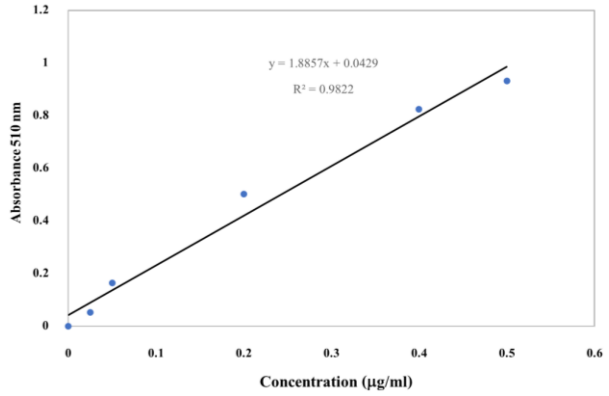
ตารางผนวกที่ 8 น้ำหนักสดและแห้งของต้นพรมมิจากธรรมชาติ

Factor	Fresh weight	Dry weight
Natural	0.2639±0.0125	0.0168±0.0005

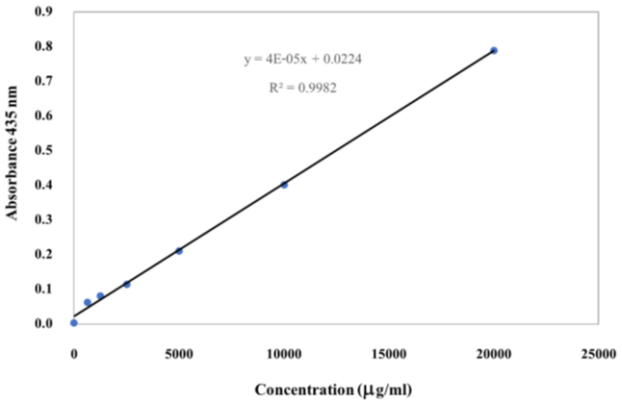
ภาพผนวกที่ 1 เส้นผ่านศูนย์กลางยอดกระจุกของต้นพรมมิในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ความเข้มข้น TDZ 0 (a), 0.1 mg/L (b), 0.4 mg/L (c), 1.6 mg/L (d) และ 6.4 mg/L (e) ที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์



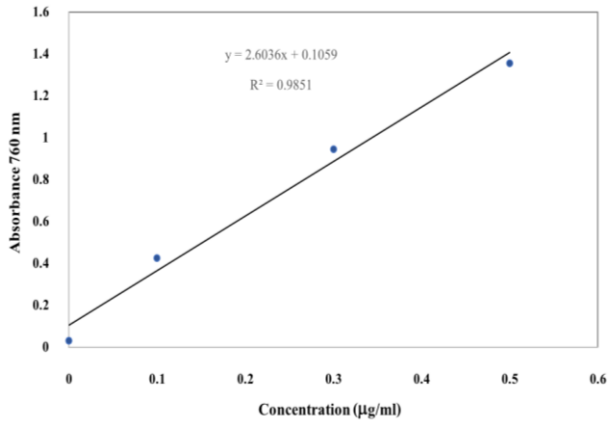
ภาพผนวกที่ 2 standard curve of gallic acid ในการวิเคราะห์ TPC ของต้นพรมมิในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ



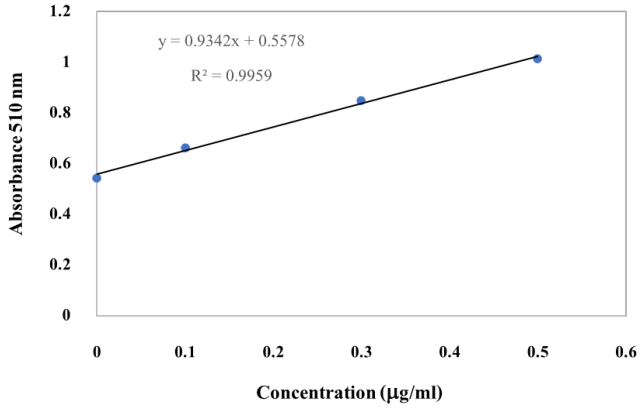
ภาพผนวกที่ 3 standard curve of quercetin ในการวิเคราะห์ TFC ของต้นพรมมิในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ



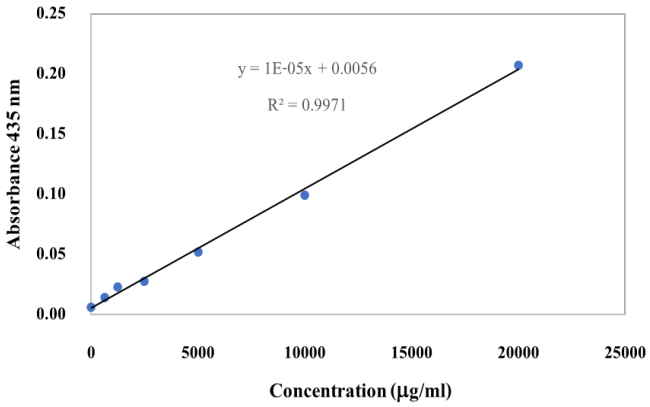
ภาพผนวกที่ 4 standard curve of saponin ในการวิเคราะห์ TSC ของต้นพรมมิในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ



ภาพผนวกที่ 5 standard curve of gallic acid ในการวิเคราะห์ TPC ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน



ภาพผนวกที่ 6 standard curve of quercetin ในการวิเคราะห์ TFC ของต้นพรมมิในระบบปลูกแบบไร้ดิน



ภาพผนวกที่ 7 standard curve of saponin ในการวิเคราะห์ TSC ของต้นพรมมิในระบบ ปลูกแบบไร้ดิน

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวปิยธิดา อุณหคงคา
วัน เดือน ปีเกิด	2 มิถุนายน 2537
ที่อยู่	29 หมู่ 1 ต.ราชคราม อ.บางไทร จ.พระนครศรีอยุธยา ปณ. 13290
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2558 วิทยาศาสตรบัณฑิต หลักสูตรวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ
ผลงานทางวิชาการ	พ.ศ. 2563 บทความวิจัยเรื่อง ประสิทธิผลของไทเดียซูรอน (TDZ) ต่อการเจริญเติบโตและสารสำคัญในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นพรมมิ ในวารสารเกษตรพระจอมเกล้า ปีที่ 38 ฉบับที่ 4