ผลของการใช้ปุ๋ยน้ำหมักมูลหนอนไหมต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณคลอโรฟิลล์ และสารประกอบฟีนอลิกรวมในหญ้าหวาน

Effect of Silkworm Waste Bio-Extract on Antioxidant Activity, Chlorophyll and Total Phenolic Contents in *Stevia rebaudiana* Bertoni.

กษิดิ์เดช อ่อนศรี[1*] ธีร์สุดา เธียรไทย[1] กัญตนา หลอดทองหลาง[1]
เกศินี ศรีปฐมกุล[1] และ อรพรรณ หัสรังค์[2]
Kasideth Onsri[1*], Thisuda Theanthai[1], Kantana Lodthonglang[1],
Kesinee Sripathomkul[1] and Orapan Hussarang[2]

[1]คณะนวัตกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยรังสิต ตำบลหลักหก อำเภอเมืองปทุมธานี จังหวัดปทุมธานี
[2]คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี ตำบลท่าช้าง อำเภอเมือง จังหวัดจันทบุรี
[1]Faculty of Agricultural Innovation, Rangsit University, Lak Hok, Mueang Pathum Thani, Pathum Thani
[2]Faculty of Agricultural Technology, Rambhai Barni Rajabhat University, Tachang, Muang, Chanthaburi
*Corresponding author. E-mail: kasideth.o@rsu.ac.th

บทคัดย่อ

หญ้าหวานเป็นพืชสมุนไพรที่มีการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องดื่ม ยาสมุนไพร และการแพทย์กันอย่างกว้างขวาง เนื่องจากใบสามารถช่วยในการรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวานและลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ การปลูกหญ้าหวานโดยใช้ปุ๋ยอินทรีย์จะช่วยให้ดินมีความอุดมสมบูรณ์และช่วยลดต้นทุนการใช้ปุ๋ยเคมีได้ จากกระบวนการเลี้ยงตัวหนอนไหมจะถ่ายมูลเป็นจำนวนมากทิ้งไปโดยเปล่าประโยชน์ การทดลองนี้จึงได้ศึกษาการใช้ปุ๋ยน้ำหมักจากมูลหนอนไหมต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณคลอโรฟิลล์และสารประกอบฟีนอลิกรวมในหญ้าหวาน ประกอบด้วย 5 ทรีทเมนต์ ได้แก่ การไม่ใส่ปุ๋ยน้ำหมักมูลหนอนไหม (Silkworm Waste Bio-extract; SWB0) เป็นปัจจัยควบคุม และการใส่ปุ๋ยน้ำหมักมูลหนอนไหมที่มีการเจือจางความเข้มข้น 10, 20, 30 และ 40 เท่า (SWB10, SWB20, SWB30, SWB40) จำนวน 10 ซ้ำ ๆ ละ 1 กระถาง วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) บันทึกผลเมื่อหญ้าหวานพร้อมเก็บเกี่ยวที่อายุครบ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูก ผลการทดลองพบว่า การให้ SWB20 ต้นหญ้าหวานมีปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์รวมสูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 8.36 และ 11.00 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ การให้ SWB20 และ SWB30 ส่งผลให้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด โดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 19.19 และ 20.01 กรัมน้ำหนักสดต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์บี แคโรทีนอยด์ และสารประกอบฟีนอลิกรวมไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ดังนั้น

จากการทดลองนี้สามารถสรุปได้ว่าการให้ปุ๋ยน้ำหมักมูลหนอนไหมที่มีการเจือจางความเข้มข้น 20 เท่า มีประสิทธิภาพที่จะนำไปส่งเสริมเพื่อการผลิตหญ้าหวานอินทรีย์ในอุตสาหกรรมยาได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับความเข้มข้นอื่น ๆ

คำสำคัญ: หญ้าหวาน มูลหนอนไหม ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ คลอโรฟิลล์ สารประกอบฟีนอลิกรวม

Abstract

Stevia *(Stevia rebaudiana* Bertoni.) is a medicinal plant that normally uses for beverage, pharmaceutical and medicinal sectors because its leaves can recover diabetes mellitus and decrease blood glucose level. Stevia cultivation using organic fertilizer will maintain soil fertility as well as reduce cost from using inorganic fertilizer. Silkworm rearing process produces a lot of silkworm excrement as its waste. Therefore, this experiment aimed to study the effect of silkworm waste bio-extract at different concentrations on antioxidant activity, chlorophyll and total phenolic contents in stevia. The experiment worked on five treatments which were no applying silkworm waste bio-extract (SWB0) and different diluted silkworm waste bio-extract concentrations: 10, 20, 30 and 40 times (SWB10, SWB20, SWB30 and SWB40, respectively). There were 10 replications and 1 pot in each. The experiment was designed in Complete Randomized Design (CRD) The results were recorded after planting for 6 weeks. It has been shown that the highest chlorophyll A and total chlorophyll contents (8.36 and 11.00 g/L, respectively) were obtained from SWB20. In addition, SWB20 and SWB30 had the greatest antioxidant activities which EC50 of 19.19 and 20.01 gFW/L, respectively. The contents of chlorophyll b, carotenoid and total phenolic compounds were not statistically significant among the treatments. Therefore, silkworm waste bio-extract could be used to grow organic stevia for medicinal purposes.

Keywords: Stevia, Silkworm Droppings, Antioxidant Activity, Chlorophyll, Total Phenolic Compounds

บทนำ

ปัจจุบันประเทศไทย ยังมีการศึกษาค้นคว้าวิจัยพืชสมุนไพร เพื่อนำมาใช้ประโยชน์อย่างต่อเนื่อง ไม่ว่าจะใช้เป็นยารักษาโรค การใช้เป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอางหรืออาหารเสริม ซึ่งพืชสมุนไพรที่พบตามท้องถิ่นของไทยหลายชนิดนอกจากจะสามารถรับประทานเป็นผักหรือผลไม้ แล้วยังมีฤทธิ์ที่สำคัญอีกมากมาย (วิชนี มัธยม และคณะ, 2563) รวมทั้งสมุนไพรและผักพื้นบ้านมีสรรพคุณและคุณค่าทางตัวยามาก และมีผลข้างเคียงน้อยกว่ายาเคมีหรือสังเคราะห์ (รุ้งทอแสง ชั้นสุวรรณ, 2558) หญ้าหวานเป็นพืชสมุนไพรจากธรรมชาติที่เป็นที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย มีคุณสมบัติโดดเด่นด้านการให้ความหวานมากกว่าน้ำตาล 15 - 30 เท่า ซึ่งเป็นสารที่ให้ความหวานประเภท glycoside ได้แก่ stevioside และ rebaudioside ข้อดีของ stevioside คือ ทนทานต่อความร้อนและสภาพเป็นกรดได้ดี (ช่วง pH ประมาณ 3 - 5) แต่จะสลายตัวเมื่ออยู่ในสภาพที่เป็นด่างสูง หญ้าหวาน มีชื่อสามัญว่า Stevia มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Stevia rebaudiana* Bertoni. เป็นพืชพื้นเมืองของประเทศบราซิลและทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศปารากวัยในทวีปอเมริกาใต้ จัดเป็นพืชล้มลุกอายุประมาณ 3 ปี ลักษณะเป็นพุ่มเตี้ย มีความสูงประมาณ 30 - 90 เซนติเมตร มีลำต้นแข็งและกลม ลักษณะทั่วไปคล้ายต้นโหระพา ขยายพันธุ์ด้วยวิธีการใช้เมล็ดและการใช้กิ่งชำปลูก ใบหญ้าหวานเป็นใบเดี่ยว ลักษณะของใบคล้ายรูปหอกหัวกลับ ขอบใบหยักคล้ายฟันเลื่อย มีรสหวานมาก ใช้แทนน้ำตาลได้ ดอกหญ้าหวาน ออกดอกเป็นช่อที่ปลายกิ่ง ดอกมีสีขาว ดอกเล็ก กลีบเป็นรูปไข่สีขาวเล็กมาก มีเกสรตัวผู้เป็นสีขาวงอไปมา ยื่นออกมาเล็กน้อย (Yadav et al., 2011) สำหรับประเทศไทยได้มีการนำหญ้าหวานเข้ามาปลูกเป็นระยะเวลากว่า 20 ปี โดยเฉพาะปลูกกันมากในภาคเหนือ เช่น จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน และเชียงราย เนื่องจากพืชชนิดนี้จะชอบอากาศค่อนข้างเย็น อุณหภูมิประมาณ 20 - 26 องศาเซลเซียส และจะเจริญเติบโตได้ดีเมื่อปลูกในที่สูงจากระดับน้ำทะเล 600 - 700 เมตร (หทัยชนก กันตรง, 2558) หญ้าหวานมีสรรพคุณช่วยเพิ่มกำลัง ช่วยให้เลือดไปเลี้ยงสมองช่วยในการรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวาน ลดระดับน้ำตาลในเส้นเลือด เหมาะสำหรับผู้ที่ต้องการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด ช่วยลดไขมันในเลือดสูง ช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจ ความดันโลหิตสูง และโรคอ้วน ช่วยบำรุงตับ และช่วยสมานแผลทั้งภายในและภายนอกด้วย (Jahan et al., 2010) นอกจากนี้ ยังสามารถช่วยย่อยอาหาร ป้องกันฟันผุ รักษาบาดแผล มีดัชนีไกลซีมิก เท่ากับศูนย์ ดังนั้นจะไม่มีผลต่อระบบน้ำตาลในเลือด หลังจากบริโภคและยังช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด รักษาผู้ป่วยเบาหวาน ความดันโลหิตสูง อหิวาตกโรค โรคท้องร่วงอื่น ๆ และลดคอเลสเตอรอล (สุพัฒธณกิจ โพธิ์สว่าง, 2563) อีกทั้งหญ้าหวานเป็นสมุนไพรที่ได้รับความสนใจทั้งทางด้านอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่ม การแพทย์ และยาสมุนไพร ในอดีตชาวพื้นเมืองปารากวัยได้ใช้หญ้าหวานผสมกับชาเพื่อดื่ม ต่อมาประเทศญี่ปุ่นก็ได้นำมาใช้ผสมกับอาหาร เช่น เต้าเจี้ยว ซีอิ๊ว ผักดอง และเนื้อปลาบด เป็นต้น (หทัยชนก กันตรง, 2558)

การผลิตหม่อนไหมมีการผลิตกระจายอยู่กว่า 60 ประเทศทั่วโลก ส่วนใหญ่ตั้งอยู่ในทวีปเอเชีย ประเทศไทยเป็นหนึ่งในประเทศที่มีการผลิตหม่อนไหมในระดับโลก (กรมหม่อนไหม, 2560) ซึ่งการผลิตไหมมีกระบวนการเลี้ยงและผลิตที่ไม่ยุ่งยากมาก เกษตรกรสามารถใช้ประโยชน์ได้จากดักแด้ไหม

ที่เป็นอาหารโปรตีนสูง รังไหมและเส้นไหมเป็นที่ต้องการของตลาด และมูลของตัวไหมสามารถใช้เป็นปุ๋ยได้อีกด้วย การทำปุ๋ยน้ำหมักใช้เองในการทำการเกษตร สามารถช่วยลดต้นทุนค่าปุ๋ย ซึ่งการใช้ปุ๋ยหมักเป็นวิธีที่ช่วยเพิ่มปริมาณอินทรียวัตถุให้แก่ดิน ทำให้ดินมีความอุดมสมบูรณ์ ช่วยรักษาความชุ่มชื้นในดินได้ดียิ่งขึ้น โดยการปลูกหม่อนเลี้ยงไหม มีการนำมูลไหมซึ่งเป็นของเสียที่ได้จากการเลี้ยงไหมมาใช้ทำปุ๋ยหมักตามแนวคิดการทำให้ขยะเหลือน้อยที่สุด จนไม่มีขยะเหลือเป็นมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม นอกจากจะช่วยลดขยะซึ่งเป็นของเสียจากการเลี้ยงไหม ให้สภาวะสิ่งแวดล้อมในพื้นที่ดีขึ้น ช่วยเพิ่มปริมาณและคุณภาพผลผลิต แล้วยังช่วยส่งเสริมอาชีพเพิ่มรายได้ครัวเรือนของเกษตรกรและชุมชนให้มีเศรษฐกิจที่ดีและมีความเป็นอยู่ที่ดีขึ้นด้วย (อัตถ์ อัฉริยมนตรี และคณะ, 2561) จากการรายงานของ ปริยานุช จุลกะ และคณะ (2563) ได้มีการศึกษาคุณภาพของมูลหนอนไหมที่ได้จากวิสาหกิจชุมชนกลุ่มแม่บ้านเกษตรปลูกหม่อนเลี้ยงไหมบ้านพญาราม ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทั้งด้านกายภาพและเคมี สารสำคัญต่าง ๆ ของมูลหนอนไหม พบว่า มูลหนอนไหมเมื่อทำเป็นปุ๋ยหมัก จะมีปริมาณธาตุอาหารปริมาณสูง เช่น ธาตุไนโตรเจนมีมากกว่า 2% หรือมีปริมาณธาตุอาหารสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับมูลสัตว์ชนิดอื่น ๆ และมีศักยภาพในการพัฒนาไปเป็นปุ๋ยน้ำหมักสำหรับการปลูกพืชต่าง ๆ ในการวิจัยครั้งนี้จึงได้นำมูลหนอนไหมที่ตัวหนอนไหมถ่ายมูลที่เป็นของเหลือทิ้งมาทำเป็นปุ๋ยน้ำหมัก จากนั้นนำมาใช้ในการปลูกหญ้าหวาน โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเข้มข้นของปุ๋ยน้ำหมักมูลหนอนไหมต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณคลอโรฟิลล์และสารประกอบฟีนอลิกรวมในหญ้าหวาน หากสามารถใช้ปุ๋ยน้ำหมักแทนการใช้ปุ๋ยเคมีได้ดีจะเป็นแนวทางในการผลิตหญ้าหวานโดยใช้ปุ๋ยน้ำหมักจากมูลหนอนไหมสำหรับอุตสาหกรรมยาและการลดการใช้ปุ๋ยเคมีต่อไปได้

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมการทดลอง

การเตรียมพืชทดลอง โดยคัดเลือกต้นพันธุ์หญ้าหวานที่มีการเจริญเติบโตเต็มที่ แข็งแรงสมบูรณ์ และไม่มีรอยการทำลายจากศัตรูพืช มาปักชำลงในกระถางขนาด 10 นิ้ว กระถางละ 1 กิ่ง วัสดุปลูกผสม ประกอบด้วย ดิน:แกลบดิบ:ถ่านแกลบ:ปุ๋ยคอก อัตราส่วน 1:1:1:1 โดยปริมาตร จำนวน 100 กระถาง มีการให้น้ำทุกวันในปริมาณที่เท่ากันตลอดระยะเวลาการปลูก และหลังจากทำการปักชำไปแล้วเป็นระยะเวลาประมาณ 2 เดือน คัดเลือกต้นพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตที่ดี แข็งแรงและสมบูรณ์จำนวน 50 กระถาง เพื่อเริ่มการทดสอบการให้ปุ๋ยน้ำหมักมูลหนอนไหม ทำการทดลอง ณ ศูนย์การศึกษาเรียนรู้นวัตกรรมเกษตรทฤษฎีใหม่และเกษตรอินทรีย์ มหาวิทยาลัยรังสิต ต.หนองสาหร่าย อ.พนมทวน จ.กาญจนบุรี

การเตรียมปุ๋ยน้ำหมักจากมูลหนอนไหม ทำตามวิธีการของชัยอาทิตย์ อิ่นคำ (2559) โดยการนำมูลหนอนไหมแห้งประมาณ 2 กิโลกรัม ใส่ถังขนาด 50 ลิตร เทกากน้ำตาลประมาณ 1 ลิตร ผสมให้เข้ากัน ผสมกับสารเร่ง พด. 2 ในน้ำเล็กน้อย คนให้เข้ากัน เติมน้ำประมาณ 40 ลิตร ผสมให้เข้ากัน ปิดฝา คนส่วนผสมวันละ 1 ครั้ง เมื่อครบ 14 วัน กรองด้วยผ้าขาวบาง เก็บใส่ขวด สามารถเก็บไว้ใช้งาน

ได้นาน 6 เดือน ตรวจสอบค่าความเป็นกรดด่าง (pH) และเตรียมสำหรับการนำไปพ่นกับพืชโดยแบ่งความเข้มข้นออกเป็น 4 ระดับเปรียบเทียบกับการไม่ใช้สาร (น้ำเปล่า)

2. การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design ; CRD) โดยใช้น้ำหมักมูลหนอนไหมที่เตรียมไว้มาทำการทดลอง มี 5 ทรีทเมนต์ ได้แก่ การไม่ใส่ปุ๋ยน้ำหมักมูลหนอนไหม (Silkworm waste bio-extract; SWB0) เป็นปัจจัยควบคุม (น้ำเปล่า) และการใส่ปุ๋ยน้ำหมักมูลหนอนไหมที่มีการเจือจางความเข้มข้น 10, 20, 30 และ 40 เท่า (SWB10, SWB20, SWB30, SWB40) จำนวน 10 ซ้ำ ๆ ละ 1 กระถาง โดยให้ปุ๋ยด้วยการฉีดพ่นทางใบปริมาตร 50 มิลลิลิตร ต่อกระถาง ทุก ๆ 7 วัน เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ก่อนเก็บเกี่ยว เมื่อหญ้าหวานมีอายุครบ 6 สัปดาห์หลังจากเริ่มมีการให้ทรีทเมนต์ บันทึกผลการทดลองและนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธี Duncan's multiple range test

3. การบันทึกข้อมูล

3.1 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazy; DPPH)

ทำการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ดัดแปลงตามวิธีการของ Predner et al. (2008) โดยสกัดสารในใบหญ้าหวานด้วยเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:2 (w/v) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบ/นาที แยกเอาส่วนใสไปวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เริ่มจากนำสารละลายที่สกัดได้ไปเจือจางที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยใช้เอทานอล 95% เป็นตัวทำละลาย จากนั้นนำสารสกัดปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรผสมกับสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้ว เก็บไว้ในที่มืดนาน 20 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น UV-1780 ที่มีความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดังสมการด้านล่าง และนำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟเพื่อหาค่า EC_{50} โดยแทนค่า y = 50 ในสมการเส้นตรงที่ได้จากการสร้างกราฟ จะได้ค่า x คือความเข้มข้นที่ทำให้อนุมูลอิสระลดลง

$$\text{ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ} = [(A_{517}\text{blank} - A_{517}\text{sample}) / A_{517}\text{blank}] \times 100 \quad (1)$$

A_{517}blank = ค่าการดูดกลืนแสงของสาร DPPH ที่มีความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

A_{517}sample = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดผสมกับสาร DPPH ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

3.2 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี คลอโรฟิลล์รวม และแคโรทีนอยด์รวม

ทำการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี คลอโรฟิลล์รวม และแคโรทีนอยด์รวม โดยดัดแปลงตามวิธีการของ Rakesh et al. (2009) ทำการสุ่มตัวอย่างใบหญ้าหวาน นำมาทำความสะอาด ตัดใบให้มีขนาด 3-4 เซนติเมตร โดยไม่เอาเส้นใบ ชั่งใบแต่ละทรีตเมนต์ให้มีน้ำหนัก 30 มิลลิกรัม แล้วนำมาสกัดด้วยเอทานอล 95% ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เก็บในที่มืดและแช่เย็นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้น

นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบ/นาที แยกเอาส่วนใสไปวิเคราะห์ โดยนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น UV-1780 ที่มีความยาวคลื่น 470, 644 และ 649 นาโนเมตร แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี คลอโรฟิลล์รวม และแคโรทีนอยด์รวม ดังสมการ

$$\text{Chlorophyll A (ChlA)} = (13.36 \times A_{664}) - (5.19 \times A_{649}) \quad (2)$$

$$\text{Chlorophyll B (ChlB)} = (27.43 \times A_{649}) - (8.12 \times A_{664}) \quad (3)$$

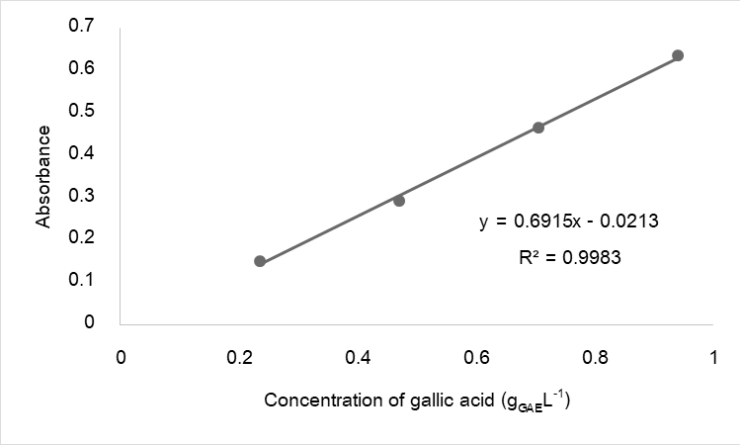
$$\text{Total Chlorophyll} = \text{Chlorophyll A} + \text{Chlorophyll B} \quad (4)$$

$$\text{Total Carotenoids} = [(1000 \times A_{470}) - 2.13\text{ChlA} - 97.64\text{ChlB}]/209 \quad (5)$$

A_{470} sample = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร
A_{649} sample = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่ความยาวคลื่น 649 นาโนเมตร
A_{664} sample = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่ความยาวคลื่น 664 นาโนเมตร

3.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ดัดแปลงตามวิธีการของ Gao et al. (2000) ทำการสกัดสารใบหญ้าหวานด้วยเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:2 (w/v) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบ/นาที แยกเอาส่วนใสไปวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกรวม โดยใช้สารสกัด 0.1 มิลลิลิตร เติมลงในหลอดที่มีน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร และเติม Folin & Ciocalteu's phenol reagent 0.2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 3 นาที จากนั้นเติม 20 % โซเดียมคาร์บอเนต 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 60 นาทีในที่มืด นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตรด้วยเครื่อง spectrophotometer นำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก (ภาพที่ 1) รายงานผลเป็นสารประกอบฟีนอลิกรวม (มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/มิลลิลิตร)



ภาพที่ 1 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

จากการศึกษาทดลองความเข้มข้นของน้ำหมักมูลหนอนไหมจำนวน 5 ทรีทเมนต์ที่ให้กับต้นหญ้าหวาน ได้มีการศึกษาปริมาณธาตุอาหาร N P และ K ของปุ๋ยน้ำหมักมูลหนอนไหม โดยมีปริมาณ N P และ K เท่ากับ 0.16, 0.077 และ 0.258 % ตามลำดับ ดังนั้นการใส่ปุ๋ยน้ำหมักมูลหนอนไหมที่มีการเจือจางความเข้มข้น 10, 20, 30 และ 40 เท่า จึงทำให้มีค่า N เท่ากับ 1.6, 0.8, 0.53 และ 0.4 กรัม มี P เท่ากับ 0.77, 0.385, 0.257 และ 0.193 กรัม และมี K เท่ากับ 2.85, 1.29, 0.86 และ 0.645 กรัม ตามลำดับ ส่วนงานทดลองของชัยอาทิตย์ อิ่นคำ (2559) ที่ได้มีการศึกษาปุ๋ยน้ำอินทรีย์เข้มข้นจากมูลหนอนไหมอีรี่ พบว่า มีปริมาณธาตุไนโตรเจนมากกว่ามูลไส้เดือนและมูลค้างคาวประมาณ 10 เท่า

ตารางที่ 1 ปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกรวมของหญ้าหวานจากการใส่ปุ๋ยน้ำหมักมูลหนอนไหมที่มีการเจือจางความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อหญ้าหวานมีอายุครบ 6 สัปดาห์หลังจากเริ่มมีการให้ทรีทเมนต์

Treatment	DPPH scavenging activity EC_{50} ($g_{FW}L^{-1}$)	Total phenolic compound ($g_{GAE}L^{-1}$)
SWB0	22.40 ± 0.24 d[1/]	5.59 ± 0.75
SWB10	20.84 ± 0.31 b	5.63 ± 0.66
SWB20	19.19 ± 0.55 a	5.67 ± 0.68
SWB30	20.01 ± 0.24 a	5.65 ± 0.74
SWB40	21.87 ± 0.26 c	5.61 ± 0.91
F-test	**	ns
C.V. (%)	1.64	13.42

หมายเหตุ [1/] ค่าเฉลี่ยตามแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ได้จากการเปรียบเทียบค่าทางสถิติ ** มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ SWB0 = การไม่ใส่ปุ๋ยน้ำหมักมูลหนอนไหม SWB10, SWB20, SWB30, SWB40 = การใส่ปุ๋ยน้ำหมักมูลหนอนไหมที่มีการเจือจางความเข้มข้น 10, 20, 30 และ 40 เท่าตามลำดับ

การใช้ปุ๋ยน้ำหมักมูลหนอนไหมแต่ละความเข้มข้นมีผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ และคลอโรฟิลล์รวมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) ส่วนปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม คลอโรฟิลล์บี และแคโรทีนอยด์รวมไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยบันทึกผลเมื่อหญ้าหวานมีอายุครบ 6 สัปดาห์หลังจากเริ่มมีการให้ทรีทเมนต์ พบว่า การให้ SWB20 และ SWB30 ส่งผลให้หญ้าหวานมีค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด โดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 19.19 และ 20.01 กรัมน้ำหนักสด

ต่อลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 1) การให้ SWB20 พบว่า ต้นหญ้าหวานมีปริมาณคลอโรฟิลล์เอ และคลอโรฟิลล์รวมสูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 8.36 และ 11.00 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ส่วนต้นหญ้าหวานที่ได้รับปุ๋ยน้ำหมักมูลหนอนไหมทุกความเข้มข้นและปัจจัยควบคุม มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 5.59 - 5.67 กรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อลิตร (ตารางที่ 1) ปริมาณคลอโรฟิลล์บีเท่ากับ 1.46 - 2.64 กรัมต่อลิตรและปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 1.59 - 2.53 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 2) ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานทดลองของ กมลทิพย์ เรารัตน์ (2551) ได้ศึกษาผลของปุ๋ยไนโตรเจนต่อการเจริญเติบโต ผลผลิตคุณภาพการสีและปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของเมล็ดข้าวในช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา พบว่า การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนไม่มีผลต่อการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกรวม และสอดคล้องกับงานทดลองของ ปริญญาวดี ศรีตนทิพย์ และคณะ (2559) ได้มีการศึกษาหาอัตราที่เหมาะสมของปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดินชนิดผง (แม่โจ้®) 5 อัตรา คือ 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 ตันต่อไร่ในการผลิตผักเชียงดาให้มีคุณภาพ ผลการทดลองพบว่า การใส่ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดินอัตรา 0.5 - 2.0 ตันต่อไร่ มีน้ำหนักยอดรวมต่อต้นต่อเดือน และจำนวนยอดรวมต่อต้นต่อเดือนสูงกว่าการไม่ใส่ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดิน แต่ไม่มีผลต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 2 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี คลอโรฟิลล์รวม และแคโรทีนอยด์รวมของหญ้าหวานจากการใส่ปุ๋ยน้ำหมักมูลหนอนไหมที่มีการเจือจางความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อหญ้าหวานมีอายุครบ 6 สัปดาห์หลังจากเริ่มมีการให้ทรีทเมนต์

Treatment	Chlorophyll A ($g_{FW}L^{-1}$)	Chlorophyll B ($g_{FW}L^{-1}$)	Total Chlorophyll ($g_{FW}L^{-1}$)	Total Carotenoid ($g_{FW}L^{-1}$)
SWB0	3.01 ± 0.79 c[1/]	1.46 ± 0.64	4.47 ± 1.12 c	1.59 ± 0.31
SWB10	5.54 ± 1.14 b	1.92 ± 1.01	7.46 ± 1.02 b	1.98 ± 0.75
SWB20	8.36 ± 0.46 a	2.64 ± 0.74	11.00 ± 0.93 a	2.53 ± 0.41
SWB30	6.17 ± 1.09 b	2.15 ± 0.63	8.32 ± 1.70 b	2.33 ± 0.23
SWB40	5.10 ± 0.89 b	1.76 ± 0.97	6.86 ± 1.10 bc	1.88 ± 0.60
F-test	**	ns	**	Ns
C.V. (%)	12.08	13.05	15.83	14.05

หมายเหตุ [1/] ค่าเฉลี่ยตามแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ได้จากการเปรียบเทียบค่าทางสถิติ ** มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ SWB0 = การไม่ใส่ปุ๋ยน้ำหมักมูลหนอนไหม SWB10, SWB20, SWB30, SWB40 = การใส่ปุ๋ยน้ำหมักมูลหนอนไหมที่มีการเจือจางความเข้มข้น 10, 20, 30 และ 40 เท่าตามลำดับ

สรุปผลและเสนอแนะ

การให้ปุ๋ยน้ำหมักมูลหนอนไหมที่มีการเจือจางความเข้มข้น 20 เท่า (SWB20) ส่งผลให้หญ้าหวานมีปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์รวมมากที่สุด และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด ดังนั้นจากการทดลองนี้สามารถสรุปได้ว่าการให้ปุ๋ยน้ำหมักมูลหนอนไหมที่มีการเจือจางความเข้มข้น 20 เท่า มีประสิทธิภาพที่จะนำไปส่งเสริมเพื่อการผลิตหญ้าหวานอินทรีย์ในอุตสาหกรรมยาได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับความเข้มข้นอื่น ๆ

เอกสารอ้างอิง

กมลทิพย์ เรารัตน์. (2551). *ผลของปุ๋ยไนโตรเจนต่อการเจริญเติบโต ผลผลิตคุณภาพการสีและปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของเมล็ดข้าวในช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา* [วิทยานิพนธ์บัณฑิตวิทยาลัย]. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

กรมหม่อนไหม. (2560). *ร่างยุทธศาสตร์กรมหม่อนไหมระยะ 20 ปี*. เข้าถึงได้จาก www.qsds.go.th

ชัยอาทิตย์ อิ่นคำ. (2559). *ปุ๋ยน้ำอินทรีย์เข้มข้นจากมูลหนอนไหมอีรี่*. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. https://www.nnr.nstda.or.th

ปริญญาวดี ศรีตนทิพย์, ชิติ ศรีตนทิพย์ และณัฐธยาน์ ธะวิไส. (2559). ผลของปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดินต่อสมบัติทางเคมีบางประการของดิน ผลผลิตส่วนที่บริโภคได้และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในผักเชียงดา. *วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์, 3*(พิเศษ), 50-56.

ปริยานุช จุลกะ, เบญญา มะโนชัย, พิจิตรา แก้วสอน, เกศศิรินทร์ แสงมณี และเบ็ญจมาศ แก้วรัตน์. (2563). *การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากมูลหนอนไหมมาใช้ประโยชน์ทางการเกษตรเพื่อความยั่งยืนของชุมชนที่ปลูกหม่อนเลี้ยงไหม* [รายงานการวิจัย]. สำนักงานการวิจัยแห่งชาติ.

รุ้งทอแสง ชั้นสุวรรณ. (2558). ความรู้และปัจจัยที่ส่งผลต่อพฤติกรรมการบริโภคเครื่องสำอางทั่วไปของสมุนไพร. *วารสารการเมือง การบริหาร และกฎหมาย, 8*(1), 293-321.

วิชนี มัธยม, กานดาวดี โนชัย, กัญญา กอแก้ว, กาญจนา พิศาภาค และดารานัย รบเมือง. (2563). การศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำมะหวด. *วารสารวิชาการ มทร.สุวรรณภูมิ, 8*(2), 187-198.

สุพัฒธณกิจ โพธิ์สว่าง. 2563. *หญ้าหวาน*. ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่, สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. https://www.doa.go.th/

หทัยชนก กันตรง. (2558). หญ้าหวาน สมุนไพรที่มีรสหวานแต่เปี่ยมไปด้วยคุณค่า. *วารสารอาหาร, 45*(3), 41-44.

อัตถ์ อัฉริยมนตรี, รัชนีพร สุทธิภาศิลป์, และนริศรา วิชิต. (2561). การศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของน้ำหมักชีวภาพจากเศษวัสดุอินทรีย์ต่อการเจริญเติบโตของพืชผัก. *วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่, 12*(1), 1-16.

Gao, X., Ohlander, M., Jeppsson, B. L., & Trajkovski, V. (2000). Changes in antioxidant effects and their relationship to phytonutrients in fruits of Sea Buckthorn *(Hippophae rhamnoides* L.) *during maturation. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 4*(5), 1485–1490.

Jahan, I. A., Mostafa, M., Hossain, H., Nimmi, I., Sattar, A., Alim, A., & Moeiz, S.M.I. (2010).Antioxidant activity of *Stevia rebaudiana* Bert. leaves from Bangladesh. *Bangladesh Pharmaceutical Journal, 13*(2), 67-75.

Predner, D., Hsieh, P. Ch., Lai, P. Y., & Charles, A. L. (2008). Evaluation of drying methodson antioxidant activity, total phenolic and total carotenoid contents of sweetpotato *(Ipomoea batatas* (L.) Lam.) var. Tainong73. *Journal of International Cooperation, 3*(2), 73-86.

Rakesh, M., Gabriela, M., Benjamin, L.,& Stephanie, L. (2009). Development of a standardized methodology for quantifying total chlorophyll and carotenoids from foliage of hardwood and conifer tree species. *Canadian Journal of Forest Research,* 39, 849-861.

Yadav, A. K., Singh, S., Dhyani, D.,& Ahuja, P. S. (2011). A review on the improvement of Stevia [*Stevia rebaudiana* (Bertoni)]. *Canadian Journal of Plant Science, 91*(1),1-27.