

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

กษิต์เดช อ่อนศรี^{1*} ชีร์สุตา เจริญไทย¹ กัญตนา หลอดทองหลาง¹

เกศินี ศรีปฐมกุล¹ และ อรพรรณ หัสรังค์²

Kasideth Onsr^{1*}, Thisuda Theanthai¹, Kantana Lodthonglang¹,

Kesinee Sripathomkul¹ and Orapan Hussarang²

¹คณะนวัตกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยรังสิต ตำบลหลักหก อำเภอเมืองปทุมธานี จังหวัดปทุมธานี

²คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี ตำบลท่าช้าง อำเภอเมือง จังหวัดจันทบุรี

¹Faculty of Agricultural Innovation, Rangsit University, Lak Hok, Mueang Pathum Thani, Pathum Thani

²Faculty 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 ปริมาณคลอโรฟิลล์ และสารประกอบฟีนอลิกรวมในหญ้าหวาน ประกอบด้วย 5 ทริทเมนต์ 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 ส่งผลให้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดในค่า EC₅₀ 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 Bertonii.) 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 ไม่ว่าจะเป็นใช้เป็นยารักษาโรค การใช้เป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอางหรืออาหารเสริม ซึ่งพืชสมุนไพรที่พบตามท้องถิ่นของไทยหลายชนิดนอกจากจะสามารถรับประทานเป็นผักหรือผลไม้ แล้วยังมีฤทธิ์ที่สำคัญอีกมากมาย (วิชณี มัธยม และคณะ, 2563) รวมทั้งสมุนไพรและผักพื้นบ้านมีสรรพคุณและคุณค่าทางตัวยามาก และมีผลข้างเคียงน้อยกว่ายาเคมีหรือสังเคราะห์ (รุ่งทองแสง ชื่นสุวรรณ, 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 ดังนั้นจึงไม่มีผลต่อระบบน้ำตาลในเลือด หลังจากบริโภคและยังช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด รักษาผู้ป่วยเบาหวาน ความดันโลหิตสูง อหิวาตกโรค โรคท้องร่วงอื่น ๆ และลดคอเลสเตอรอล (สุพัฒธนกิจ โพธิ์สว่าง, 2563) อีกทั้งหญ้าหวานเป็นสมุนไพรที่ได้รับความสนใจทั้งทางด้านอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่ม การแพทย์ และยาสมุนไพร ในอดีตชาวพื้นเมืองปารากวัยได้ใช้หญ้าหวานผสมกับชาเพื่อดื่ม ต่อมาประเทศญี่ปุ่นก็นำมาใช้ผสมกับอาหาร เช่น เต้าเจี้ยว ซิอิ๊ว ผักดอง และเนื้อปลาสด เป็นต้น (หทัยชนก กันตรง, 2558)

การผลิตหมอนไหมมีการผลิตกระจายอยู่กว่า 60 ประเทศทั่วโลก ส่วนใหญ่ตั้งอยู่ในทวีปเอเชีย ประเทศไทยเป็นหนึ่งในประเทศที่มีการผลิตหมอนไหมในระดับโลก (กรมหมอนไหม, 2560) ซึ่งการผลิตไหมมีกระบวนการเลี้ยงและผลิตที่ไม่ยุ่งยากมาก เกษตรกรสามารถใช้ประโยชน์ได้จากดักแด้ไหม

ที่เป็นอาหารโปรตีนสูง รังไหมและเส้นไหมเป็นที่ต้องการของตลาด และมูลของตัวไหมสามารถใช้เป็นปุ๋ยได้อีกด้วย การทำปุ๋ยน้ำหมักใช้เองในการทำการเกษตร สามารถช่วยลดต้นทุนค่าปุ๋ย ซึ่งการใช้ปุ๋ยหมักเป็นวิธีที่ช่วยเพิ่มปริมาณอินทรีย์วัตถุให้แกดิน ทำให้ดินมีความอุดมสมบูรณ์ ช่วยรักษาความชุ่มชื้นในดินได้ดียิ่งขึ้น โดยการปลูกหม่อนเลี้ยงไหม มีการนำมูลไหมซึ่งเป็นของเสียที่ได้จากการเลี้ยงไหมมาใช้ทำปุ๋ยหมักตามแนวคิดการทำให้ขยะเหลือน้อยที่สุด จนไม่มีขยะเหลือเป็นมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้จะช่วยลดขยะซึ่งเป็นของเสียจากการเลี้ยงไหม ให้สภาวะสิ่งแวดล้อมในพื้นที่ดีขึ้น ช่วยเพิ่มปริมาณและคุณภาพผลผลิต และยังช่วยส่งเสริมอาชีพเพิ่มรายได้ครัวเรือนของเกษตรกรและชุมชนให้มีเศรษฐกิจที่ดี และมีความเป็นอยู่ที่ดีขึ้นด้วย (อรรถ อธิริยมนตรี และคณะ, 2561) จากการรายงานของ ปริญญา จุลกะ และคณะ (2563) ได้มีการศึกษาคุณภาพของมูลหนอนไหมที่ได้จากวิสาหกิจชุมชนกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรปลูกหม่อนเลี้ยงไหมบ้านพญาราม ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทั้งด้านกายภาพและเคมี สารสำคัญต่าง ๆ ของมูลหนอนไหม พบว่า มูลหนอนไหมเมื่อทำเป็นปุ๋ยหมัก จะมีปริมาณธาตุอาหารปริมาณสูง เช่น ธาตุไนโตรเจนมีมากกว่า 2% หรือมีปริมาณธาตุอาหารสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับมูลสัตว์ชนิดอื่น ๆ และมีศักยภาพในการพัฒนาไปเป็นปุ๋ยน้ำหมักสำหรับการปลูกพืชต่าง ๆ ในการวิจัยครั้งนี้จึงได้นำมูลหนอนไหมที่ตัวหนอนไหมถ่ายมูลที่เป็นของเหลือทิ้งมาทำเป็นปุ๋ยน้ำหมัก จากนั้นนำมาใช้ในการปลูกหญ้าหวาน โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเข้มข้นของปุ๋ยน้ำหมักมูลหนอนไหมต่อฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระ ปริมาณคลอโรฟิลล์และสารประกอบฟีนอลิกรวมในหญ้าหวาน หากสามารถใช้ปุ๋ยน้ำหมักแทนการใช้ปุ๋ยเคมีได้ดี จะเป็นแนวทางในการผลิตหญ้าหวานโดยใช้ปุ๋ยน้ำหมักจากมูลหนอนไหมสำหรับอุตสาหกรรมยา และการลดการใช้ปุ๋ยเคมีต่อไปได้

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 แข็งแรงและสมบูรณ์ จำนวน 50 กระถาง เพื่อเริ่มการทดสอบการให้ปุ๋ยน้ำหมักมูลหนอนไหม ทำการทดลอง ณ ศูนย์การศึกษาเรียนรู้วัดกรรมเกษตรทฤษฎีใหม่และเกษตรอินทรีย์ มหาวิทยาลัยรังสิต ต.หนองสาหร่าย อ.พนมทวน จ.กาญจนบุรี

การเตรียมปุ๋ยน้ำหมักจากมูลหนอนไหม ทำตามวิธีการของชัยอาทิตย์ อ้นคำ (2559) โดยให้นำมูลหนอนไหมแห้งประมาณ 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 สามารถเก็บไว้ใช้งานได้

ได้นาน 6 เดือน ตรวจสอบค่าความเป็นกรดต่าง (pH) และเตรียมสำหรับการนำไปพ่นกับพืชโดยแบ่งความเข้มข้นออกเป็น 4 ระดับเปรียบเทียบกับสารไม่ใช้สาร (น้ำเปล่า)

2. การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design ; CRD) โดยใช้ น้ำหมักมูลหนอนไหมที่เตรียมไว้มาทำการทดลอง 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-picrylhydrazyl; 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

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

$A_{517\text{blank}}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของสาร DPPH ที่มีความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

$A_{517\text{sample}}$ = 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 ชั่งใบแต่ละทรีทเมนต์ให้มีน้ำหนัก 30 มิลลิกรัม แล้วนำมาสกัดด้วยเอทานอล 95% ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เก็บในที่มืดและแช่เย็นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

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

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

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

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

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

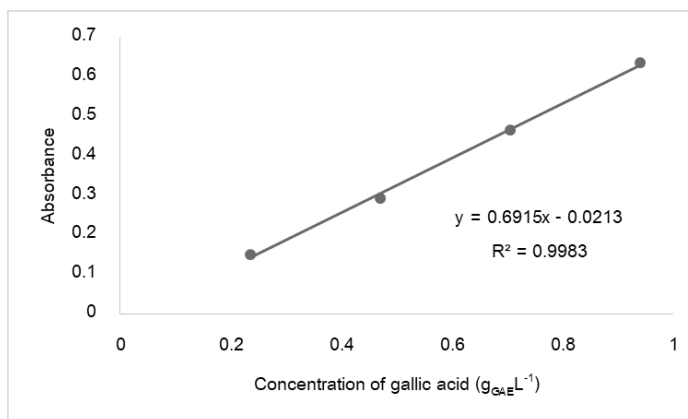
A_{470} sample = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร

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 นาทีในที่มีด 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 ส่วนงานทดลองของ ชัยอาทิตย์ อินคำ (2559) ที่ได้มีการศึกษาปุ๋ยน้ำอินทรีย์เข้มข้นจากมูลหนอนไหมอีรี พบว่า มีปริมาณธาตุไนโตรเจนมากกว่ามูลไส้เดือนและมูลค่างควาประมาณ 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	$22.40 \pm 0.24 d^{1/}$	5.59 ± 0.75
SWB10	$20.84 \pm 0.31 b$	5.63 ± 0.66
SWB20	$19.19 \pm 0.55 a$	5.67 ± 0.68
SWB30	$20.01 \pm 0.24 a$	5.65 ± 0.74
SWB40	$21.87 \pm 0.26 c$	5.61 ± 0.91
F-test	**	ns
C.V. (%)	1.64	13.42

หมายเหตุ ^{1/} ค่าเฉลี่ยตามแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ได้จากการเปรียบเทียบค่าทางสถิติ ** มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ SWB0 = การไม่ใส่ปุ๋ยน้ำหมักมูลหนอนไหม SWB10, SWB20, SWB30, SWB40 = การใส่ปุ๋ยน้ำหมักมูลหนอนไหมที่มีการเจือจางความเข้มข้น 10, 20, 30 และ 40 เท่าตามลำดับ

การใส่ปุ๋ยน้ำหมักมูลหนอนไหมแต่ละความเข้มข้นมีผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ และคลอโรฟิลล์รวมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) ส่วนปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม คลอโรฟิลล์บี และแคโรทีนอยด์รวมไม่มีความแตกต่างทางสถิติโดยบันทึกผลเมื่อหญ้าหวานมีอายุครบ 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) ส่วนต้นหญ้าหวานที่ได้รับปุ๋ยน้ำหมักมูลหอนไหมทุกความเข้มข้นและปัจจัยควบคุม 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 ปริญญาดี ศรีตันทิพย์ และคณะ (2559) ได้มีการศึกษาหาอัตราที่เหมาะสมของปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดินชนิดผง (แมโจ®) 5 อัตรา คือ 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 ตันต่อไร่ในการผลิตผักเชียงดาให้มีคุณภาพ ผลการทดลองพบว่า การใส่ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดินอัตรา 0.5 - 2.0 ตันต่อไร่ มีน้ำหนักรวมต่อต้นต่อเดือน และจำนวนยอดรวมต่อต้นต่อเดือนสูงกว่าการไม่ใส่ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดิน แต่ไม่มีผลต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 2 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี คลอโรฟิลล์รวม และแคโรทีนอยด์รวมของหญ้าหวานจากการใส่ปุ๋ยน้ำหมักมูลหอนไหมที่มีการเจือจางความเข้มข้นต่าง 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 เปอร์เซนต์ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ SWB0 = การไม่ใส่ปุ๋ยน้ำหมักมูลหอนไหม SWB10, SWB20, SWB30, SWB40 = การใส่ปุ๋ยน้ำหมักมูลหอนไหมที่มีการเจือจางความเข้มข้น 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 อินคำ. (2559). *ปุ๋ยน้ำอินทรีย์เข้มข้นจากมูลหนอนไหมอีรี่*. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. <https://www.nnr.nstda.or.th>
- ปริญญาวดี ศรีตันทิพย์, ชิตี ศรีตันทิพย์ และณัฐธยาน์ ะวิโส. (2559). ผลของปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดินต่อสมบัติทางเคมีบางประการของดิน ผลผลิตส่วนที่บริโภคได้และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในผักเชียงดา. *วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์*, 3(พิเศษ), 50-56.
- ปริญญช จุลกะ, เบญญา มะโนชัย, พิจิตรา แก้วสอน, เกศศิรินทร์ แสงมณี และเบญจมาศ แก้วรัตน์. (2563). *การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากมูลหนอนไหมมาใช้ประโยชน์ทางการเกษตรเพื่อความยั่งยืนของชุมชนที่ปลูกหม่อนเลี้ยงไหม* [รายงานการวิจัย]. สำนักงานการวิจัยแห่งชาติ.
- รุ่งทอแสง ชื่นสุวรรณ. (2558). ความรู้และปัจจัยที่ส่งผลต่อพฤติกรรมการบริโภคเครื่องสำอางทั่วไปของสมุนไพร. *วารสารการเมือง การบริหาร และกฎหมาย*, 8(1), 293-321.
- วิชนี มัธยม, กานดาวิดี โนชัย, กัญญา กอแก้ว, กาญจนา พิศาภาค และดารานัย รมเมือง. (2563). การศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำมะหาด. *วารสารวิชาการ มทร.สุวรรณภูมิ*, 8(2), 187-198.
- สุพัฒน์ธกิจ โพธิ์สว่าง. 2563. *หญ้าหวาน*. ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่, สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. <https://www.doa.go.th/>
- หทัยชนก กันตรัง. (2558). *หญ้าหวาน สมุนไพรที่มีรสหวานแต่เปี่ยมไปด้วยคุณค่า*. *วารสารอาหาร*, 45(3), 41-44.
- อัคร์ อัคริยมนตรี, รัชนิพร สุทธิภาศิลป์, และนริศรา วิจิต. (2561). การศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของน้ำหมักชีวภาพจากเศษวัสดุอินทรีย์ต่อการเจริญเติบโตของพืชผัก. *วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่*, 12(1), 1-16.

- 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.