การศึกษาพฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากมะพอกที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของวัชพืชในนาข้าวเพื่อสนับสนุนการใชประโยชน์และเพิ่มมูลค่าความหลากหลายทางชีวภาพอย่างมั่นคงและยั่งยืน

Phytochemical screening and biological activity of extracts from Mapok. They are affecting the growth of weed in a rice field, to support the benefits and value of biodiversity the least stable and sustainable.

อุดมเดชา พลเยี่ยม
อัญชนา ขัตติยะวงศ์

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณรายจ่าย ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร

ชื่อเรื่อง : การศึกษาพฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากมะพอกที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของวัชพืชในนาข้าวเพื่อสนับสนุนการใชประโยชน์และเพิ่มมูลค่าความหลากหลายทางชีวภาพอยางมั่นคงและยั่งยืน

ผู้วิจัย : ผู้ช่วยศาสตราจารย์อุดมเดชา พลเยี่ยม และ อาจารย์อัญชนา ขัตติยะวงศ์
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการศึกษาพฤกษเคมีและศักยภาพของสารสกัดจากมะพอก (*Parinari anamense* Hance) ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก (*Echinochloa crus-galli*) ซึ่งเป็นวัชพืชในนาข้าว โดยการนำผล เปลือก และใบของมะพอกมาทำการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิดคือ เฮกเซน เอทิลแอซิเตต และเมทานอล ได้สารสกัดหยาบทั้งหมด 9 ชนิด ประกอบด้วย สารสกัดหยาบจากผลด้วยเฮกเซน สารสกัดหยาบจากผลด้วยเอทิลแอซิเตต สารสกัดหยาบจากผลด้วยเมทานอล สารสกัดหยาบจากเปลือกด้วยเฮกเซน สารสกัดหยาบจากเปลือกด้วยเอทิล แอซิเตต สารสกัดหยาบจากเปลือกด้วยเมทานอล สารสกัดหยาบจากใบด้วยเฮกเซน สารสกัดหยาบจากใบด้วย เอทิลแอซิเตต และสารสกัดหยาบจากใบด้วยเมทานอล นำสารสกัดหยาบทั้งหมดมาทดสอบประเภทของพฤกษเคมี ทดสอบการยับยั้งการงอก ทดสอบการยับยั้งความยาวราก ทดสอบการยับยั้งความยาวลำต้น และทดสอบการยับยั้งน้ำหนักแห้งของหญ้าข้าวนก จากนั้นเลือกสารสกัดหยาบจากใบด้วยเอทิลแอซิเตตซึ่งมีผลการยับยั้งดีที่สุด นำมาแยกโดยใช้เทคนิคทางคอลัมน์โครมาโตกราฟี จะได้สารทั้งหมด 9 ชั้น (F1 – F9 fraction) และนำมาทดสอบการยับยั้งการการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก

ผลการวิจัยพบว่า

1. สารสกัดจากใบของมะพอกที่สกัดด้วยด้วยเอทิลแอซิเตตที่มีความเข้มข้น 3,000 ppm แสดงการยับยั้งการงอก การยับยั้งความยาวราก และการยับยั้งน้ำหนักแห้งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่สูงที่สุด

2. สารชั้น F8 ที่แยกจากสารสกัดหยาบจากใบด้วยเอทิลแอซิเตตแสดงการยับยั้งการงอก การยับยั้งความยาวราก การยับยั้งความยาวต้น และการยับยั้งน้ำหนักแห้งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่สูงที่สุด

Title: Phytochemical screening and biological activity of extracts from Mapok on affecting the growth of weed in a rice field, to support the benefits and value of biodiversity the least stable and sustainable

Researcher: Udomdeja Polyium (M.Sc) and Anchana Kuttiyawong (M.Ed)
Faculty of Science and Technology
Rajamangala University of Technology Phra Nakorn

ABSTRACT

This research aims to study phytochemicals and potential of Mapok *(Parinari anamense* Hance) extracts to inhibit germination and growth of Barnyard grass *(Echinochloa crus-galli*) a common weed in the rice fields. Organic solvents extracted the part of fruits, barks and leaves of Mapok included hexane, ethyl acetate and methanol. Crude extracts compose of fruit hexane extract, fruit ethyl acetate extract, fruit methanol extract, bark hexane extract, bark ethyl acetate extract, bark methanol extract, leaves hexane extract, leaves ethyl acetate extract and leave methanol extract. Crude extracts were tested of phytochemical, tested of germinating inhibition, root length inhibition, stem length inhibition and dry weight inhibition of Barnyard grass. Leaves ethyl acetate extract showed highest inhibit germination and growth of Barnyard grass, The leave ethyl acetate extract was separated by column chromatography to yield nine fractions (F1 – F9 fraction) and tested inhibit germination and growth repeating.

The results showed that,

1. The crude ethyl acetate extracts from the bark of Mapok at a concentration of 3,000 ppm showed the highest inhibited percentage of germinating inhibition, root length inhibition, stem length inhibition and dry weight inhibition.

2. Fraction F8 of leaves ethyl acetate extract showed the highest inhibited percentage of germinating inhibition, root length inhibition, stem length inhibition and dry weight inhibition.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่องการศึกษาพฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากมะพอกที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของวัชพืชในนาข้าว เพื่อสนับสนุนการใชประโยชน์ และเพิ่มมูลค่าความหลากหลายทางชีวภาพอย่างมั่นคงและยั่งยืน ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณรายจ่าย ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561 ของคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ที่ให้การสนับสนุนการทำวิจัย และอำนวยความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติการทางเคมีอินทรีย์สำหรับการทดลองเป็นอย่างดี

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากงานวิจัยนี้ คณะผู้วิจัยขอมอบบูชาแด่คณาจารย์ทุกท่านที่ประสาทวิชาความรู้แก่คณะผู้วิจัย

สารบัญ

บทคัดย่อภาษาไทย I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ II
กิตติกรรมประกาศ III
สารบัญ IV
สารบัญตาราง VI
สารบัญรูป VII

บทที่ 1 บทนำ **1**
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของการวิจัย 1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย 3
1.3 ขอบเขตของการวิจัย 3
1.4 กรอบแนวความคิดของการวิจัย 4
1.5 ประโยชน์ที่ได้รับ 4

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง **5**
2.1 การเจริญเติบโตของพืช 5
2.2 วัชพืชในนาข้าว 13
2.3 พืชที่ใช้ในการศึกษา 19
2.4 การเก็บและการเตรียมตัวอย่างพืช 20
2.5 เทคนิคการสกัดสารจากพืช 21
2.6 พฤกษเคมีและการตรวจสอบ 24
2.7 เทคนิคการแยกสาร 33
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 38

บทที่ 3 วิธีดำเนินการทดลอง **46**
3.1 อุปกรณ์และสารเคมี 46
3.2 พืชและวัชพืช 46
3.3 วิธีการทดลอง 47
3.4 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล 52
3.5 ระยะเวลาการทดลอง 52
3.6 สถานที่ทำการทดลอง 52

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ 4. ผลการทดลอง **53**

4.1 การตรวจสอบพฤกษเคมี 53

4.2 การยังยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืช 54

4.3 ผลของสารแต่ละชั้นต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืช 55

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ 67

5.1 สรุปผลการทดลอง 67

5.2 อภิปรายผล 69

5.3 ข้อเสนอแนะ 69

บรรณานุกรม **70**

สารบัญตาราง

ตารางที่ 2.1 แสดงสูตรที่ใช้ในการคำนวณในการวิเคราะห์วิธี Conventional growth analysis 12
ตารางที่ 2.2 แสดงรายชื่อวัชพืชที่สำคัญในนาข้าว ในแต่ละสภาพการทำนา 14
ตารางที่ 2.3 แสดงรายชื่อวัชพืชร้ายแรง 10 อันดับแรกของโลก 16
ตารางที่ 2.4 แสดงวัชพืชร้ายแรงในประเทศไทย 17
ตารางที่ 2.5 แสดงการตรวจสอบสารโดยใช้ทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี 30
ตารางที่ 3.1 แสดงชนิดของสารสกัดหยาบที่สกัดได้ทั้งหมด 48
ตารางที่ 4.1 ผลการตรวจสอบพฤกษเคมี 53
ตารางที่ 4.2 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของวัชพืชของสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้น 3 ระดับที่สกัดจากผลของมะพอกที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด 54
ตารางที่ 4.3 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของวัชพืชของสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้น 3 ระดับที่สกัดจากเปลือกของมะพอกที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด 55
ตารางที่ 4.4 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของวัชพืชของสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้น 3 ระดับที่สกัดจากใบของมะพอกที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด 56
ตารางที่ 4.5 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวรากของวัชพืชของสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้น 3 ระดับที่สกัดจากผลของมะพอกที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด 57
ตารางที่ 4.6 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวรากของวัชพืชของสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้น 3 ระดับที่สกัดจากเปลือกของมะพอกที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด 58
ตารางที่ 4.7 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวรากของวัชพืชของสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้น 3 ระดับที่สกัดจากใบของมะพอกที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด 59
ตารางที่ 4.8 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวลำต้นของวัชพืชของสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้น 3 ระดับที่สกัดจากผลของมะพอกที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด 60
ตารางที่ 4.9 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวลำต้นของวัชพืชของสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้น 3 ระดับที่สกัดจากเปลือกของมะพอกที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด 61
ตารางที่ 4.10 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวลำต้นของวัชพืชของสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้น 3 ระดับที่สกัดจากใบของมะพอกที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด 62
ตารางที่ 4.11 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้ำหนักแห้งของวัชพืชของสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้น 3 ระดับที่สกัดจากผลของมะพอกที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด 63
ตารางที่ 4.12 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้ำหนักแห้งของวัชพืชของสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้น 3 ระดับที่สกัดจากเปลือกของมะพอกที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด 64
ตารางที่ 4.13 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้ำหนักแห้งของวัชพืชของสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้น 3 ระดับที่สกัดจากใบของมะพอกที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด 65
ตารางที่ 4.14 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชของสารสกัดชั้น F1-9 ที่สกัดด้วย Ethylacetate จากใบของมะพอก 66

สารบัญรูป

รูปที่ 2.1 การย่อยสลายอาหารที่เก็บสะสมในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว 7
รูปที่ 2.2 การย่อยสลายอาหารที่เก็บสะสมในพืชใบเลี้ยงคู่ 10
รูปที่ 2.3 แสดงการทำงานของจิบเบอเรลลิน (GA) ในกระบวนการงอกของเมล็ด 10
รูปที่ 2.4 แสดงกราฟของการเจริญเติบโตเป็นรูปตัว S 11
รูปที่ 2.5 แสดงหญ้าข้าวนก 16
รูปที่ 2.6 แสดงมะพอก 19
รูปที่ 3.1 แสดงแผนผังขั้นตอนการทดลอง 47

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของการวิจัย

การใช้ประโยชน์จากพืชในท้องถิ่นมีมาอย่างยาวนานและมีการถ่ายทอดสู่คนรุ่นหลังรุ่นต่อรุ่นจนกลายเป็นเป็นความรู้เฉพาะของท้องถิ่นเรียกความรู้นั้นว่าภูมิปัญญาท้องถิ่น(folk knowledge) การนำความรู้จากภูมิปัญญาท้องถิ่นพืชไปต่อยอดการศึกษาวิจัยต่อถึงองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพด้านต่างๆ ประกอบกับการพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีส่งผลให้เกิดความก้าวหน้าในภาคอุตสาหกรรมและเกษตรกรรม ทำให้เกิดสิ่งประดิษฐ์และนวัตกรรมใหม่เพื่อให้การดำรงชีวิตของมนุษย์มีความสะดวกมากขึ้น ในภาคการเกษตรมีการผลิตและการใช้สารเคมีทางการเกษตรจำนวนมาก โดยนำมาใช้ในการปลูกพืชและการเลี้ยงสัตว์ ทั้งในรูปของสารกำจัดวัชพืช (Herbicide) สารกำจัดแมลง (Insecticide) และปุ๋ยเคมีชนิดต่างๆซึ่งสารเหล่านี้ส่วนใหญ่เป็นสารเคมีสังเคราะห์ จึงทำให้เกิดการตกค้างของสารในพืชผัก และสัตว์เลี้ยงที่อยู่ในบริเวณที่มีการใช้สารเคมีเหล่านั้น ซึ่งจะส่งผลให้ผู้บริโภคมีความเสี่ยงที่จะได้รับสารเคมีซึ่งเป็นอันตรายต่อสุขภาพได้ ในปัจจุบันจึงมีแนวโน้มเปลี่ยนจากการใช้สารเคมีวิธีเดิมไปเป็นการควบคุมด้วยชีววิธี (Biological control) ได้แก่การใช้จุลินทรีย์ ฮอร์โมน และสารสกัดจากพืชชนิดต่างๆ การค้นหาสารสกัดจากธรรมชาติเพื่อมาใช้ในการกำจัดวัชพืชเป็นวิธีการใช้ธรรมชาติยับยั้งธรรมชาติด้วยกันที่เรียกว่าอัลลีโลพาธี (Allelopathy) โดยคำนี้มาจากภาษากรีก 2 คำ คือ Allelon หมายถึงซึ่งกันและกัน และ pathos หมายถึงเดือดร้อนหรือทำให้เกิดอันตราย ทั้งนี้ Molisch (1937) ได้ให้ความหมายของ Allelopathy ไว้ว่าเป็นปฏิกิริยาชีวเคมีระหว่างพืชทุกชนิด รวมทั้งจุลินทรีย์ซึ่งจะมีผลทั้งทางด้านการยับยั้งและการกระตุ้นปฏิกิริยาชีวเคมี นอกจากนี้ยังหมายถึงผลกระทบในทางที่เป็นอันตรายของพืชชนิดหนึ่งที่มีต่อการงอก การเติบโตและพัฒนาการของพืชอีกชนิดหนึ่งซึ่งอาจจะมีผลดีในทางกระตุ้น(stimulatory) หรือมีผลเสียในการยับยั้ง (inhibitory) ทั้งนี้ในพืชต่างชนิดกันจะสร้างสารอัลลิโลพาธิกต่างชนิดกัน และในเนื้อเยื่อพืชและส่วนของพืชที่ต่างกันก็จะสร้างสารอัลลิโลพาธิกได้ในปริมาณที่ต่างกันด้วย สารอัลลิโลพาธิกที่พบในพืชส่วนใหญ่เป็นสารทุติยภูมิ กลุ่มแอลคาลอยด์ กลุ่มเทอร์พีนอยด์ กลุ่มฟลาโวนอยด์ กลุ่มฟีนิลโพรเพน กลุ่มพอลิคีไทด์ และกลุ่มพอลิอะเซทิลีน ตัวอย่างสารอัลลิโลพาธิก

การปลดปล่อยสารอัลลิโลพาธิกออกจากพืชที่เป็นผู้ผลิตออกสู่สภาพแวดล้อมสามารถทำได้โดยวิธีการต่างๆ เช่น การระเหย การปลดปล่อยออกทางราก การชะล้าง และจากกระบวนการย่อยสลายซากพืช โดยที่การระเหย (volatilization) เป็นการปลดปล่อยสารอัลลิโลพาธิกออกสู่บรรยากาศรอบๆ ต้นพืชในสภาวะแก๊สแล้วไปมีผลกระทบต่อพืชอื่นๆ รวมทั้งแมลง การปลดปล่อยออกทางราก (exudation) สามารถเกิดขึ้นได้ในธัญพืชบางชนิด เช่น ข้าวสาลี ข้าวไรน์ และข้าวฟ่าง ที่พบว่ามีการปลดปล่อยสารอัลลิโลพาธิกออกสู่สภาพ แวดล้อมที่เป็นดินหรือน้ำโดยทางราก การชะล้าง (leaching) จะอาศัยน้ำฝน น้ำจากการชลประทาน และน้ำค้างเป็นตัวกลางในการชะและนำพาเอาสารอัลลิโลพาธิกจาก ต้นพืชผู้ผลิตไปยังพืชอื่น หรือลงไปในดินหรือน้ำ ส่วนการย่อยสลายของซากพืช (decomposition) เป็นการปลดปล่อยสารอัลลิโลพาธิกออกจากเนื้อเยื่อของพืชเมื่อเกิดการย่อยสลาย สารอัลลิโลพาธิกซึ่งถูกปลดปล่อยสู่สิ่งแวดล้อมแล้วเมื่อพืชอื่นได้รับเข้าไปจะมีผลกระทบต่อการเติบโตได้ทั้งทางตรงและ

ทางอ้อม โดยผลทางตรงจะเป็นผลที่มีต่อลักษณะต่างๆ ของการเติบโตและกระบวนการเมแทบอลึซึมของพืช ส่วนผลทางอ้อมนั้นจะเป็นผลที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของดิน สภาพของธาตุอาหาร การเปลี่ยนแปลงประชากร และกิจกรรมของสิ่งมีชีวิตทั้งที่เป็นอันตรายและเป็นประโยชน์ ผลของสารอัลลิโลพาธิกนั้นอาจเกิดจากผลรวมจากสารหลายชนิดทำปฏิกิริยาร่วมกัน มีผลกระทบต่อกระบวนการหนึ่งหรือหลายกระบวนการในลักษณะพร้อมๆ หรือต่อเนื่องกัน อัลลีโลพาธีเป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นทั่วไปในระบบนิเวศ โดยเฉพาะระบบนิเวศเกษตร มีการศึกษาปรากฏการณ์นี้อย่างกว้างขวางทั้งระหว่างพืชปลูกต่อพืชปลูก พืชปลูกต่อวัชพืช วัชพืชต่อพืชปลูก และวัชพืชต่อวัชพืช เพื่อนำมาพัฒนาต่อยอดในการใช้เป็นสารกำจัดวัชพืชในภาคการเกษตรกรรม

วัชพืชในนาข้าวมีหลายชนิดหญ้าข้าวนก มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv มีชื่อสามัญว่า Barnyard grass เป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดมาจากยุโรปและอินเดีย ซึ่งจัดเป็นวัชพืชที่สร้างปัญหาร้ายแรงมากถึง 42 ประเทศ หญ้าข้าวนกได้รับการวาดภาพเป็นที่รู้จักในภาพวาดจีนตั้งแต่ปี พ.ศ. 2133 และหญ้าข้าวนกได้รับการสำรวจว่าเป็นหนึ่งใน 36 วัชพืชที่เป็นปัญหาระดับโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับข้าวทั่วทุกมุมโลก โดยเป็น 1 ใน 3 ของสามวัชพืชเลวร้ายที่สุดของฝ้ายในประเทศออสเตรเลีย รัสเซียและสเปน ข้าวโพดในประเทศออสเตรเลียและอดีตยูโกสลาเวีย และ ในsugarbeets ในประเทศสหรัฐอเมริกา หญ้าข้าวนกเป็นวัชพืชที่เป็นปัญหากับการปลูกข้าวมานาน โดยทำให้ข้าวลดการแตกกอข้าว 50% และยังลดจำนวนช่อดอก ความสูง น้ำหนักของเมล็ดข้าว และจำนวนของเมล็ดต่อช่อ ผลผลิตข้าวอาจจะลดลง 2000-4000 กิโลกรัมha^{-1} (Francisco A. Macias, et al.,2005 ,4373) ในประเทศไทยมีการสำรวจและจำแนกชนิดของพืชและจัดเป็นวัชพืชหลัก (major weed) พบว่ามีจำนวนประมาณ 100 ชนิด หญ้าข้าวนกเป็นวัชพืชชนิดหนึ่งที่พบในนาข้าว หญ้าข้าวนกเป็นวัชพืชสายพันธ์หนึ่งที่มีแก่งแย่งการเจริญเติบโตกับข้าวสูงมาก (Hisashi Kato-Noguchi, 2011). และหญ้าข้าวนกจัดเป็นวัชพืชร้ายแรง 10 อันดับแรกของโลก (Holm, 1969) และยังเป็นวัชพืชร้ายแรงอันดับต้นของประเทศไทย (พรชัย เหลืองอาภาพงศ์, 2540)

การศึกษาพฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากมะพอกต่อการควบคุมการงอกและเจริญเติบโตของวัชพืชในนาข้าว จึงสนับสนุนและสอดคล้องกับแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ฉบับ ที่ 12 ยุทธศาสตร์การจัดการทรัพยากร ธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมอย่างยั่งยืน มุ่งการพัฒนาทรัพยากร ธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมให้มีประสิทธิภาพ และพัฒนาศักยภาพชุมชนในการเข้าถึง และใช้ประโยชน์ทรัพยากร ธรรมชาติ รวมทั้งส่งเสริมการศึกษาวิจัยเพื่อสร้างระบบบริหารจัดการทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมที่มีประสิทธิภาพ และ นโยบายและยุทธศาสตร์การวิจัยของชาติ ยุทธศาสตร์การวิจัยด้านการอนุรักษ์ เสริมสร้าง และพัฒนาทุนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มุ่งเน้นการวิจัยเกี่ยวกับความหลากหลายทางชีวภาพ การอนุรักษ์ การใช้ประโยชน์จากทรัพยากรธรรมชาติอย่างยั่งยืน รวมทั้งการสร้างองค์ความรู้ และการแบ่งปันการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน

ดังนั้นการศึกษาพฤกษเคมีและฤทธิ์การยั้งยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชของสารสกัดจากมะพอกจึงเป็นประเด็นที่ควรมีการศึกษาเพื่อเพิ่มมูลค่าและการใช้ประโยชน์จากความหลากหลายของทรัพยากรธรรมชาติภายในประเทศให้เกิดประโยชน์สูงสุดและพัฒนาสู่ภาคการเกษตรต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อตรวจสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีจากส่วนต่างๆของมะพอก
2. เพื่อตรวจสอบฤทธิ์การยั้งยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชของสารสกัดจากมะพอกและค้นหาสารชั้นที่มีฤทธิ์การยั้งยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืช
3. เพื่อถ่ายทอดเทคโนโลยีการใช้สารสกัดจากมะพอกควบคุมการงอกและการเจริญเติบโตของวัชพืชสู่ท้องถิ่น

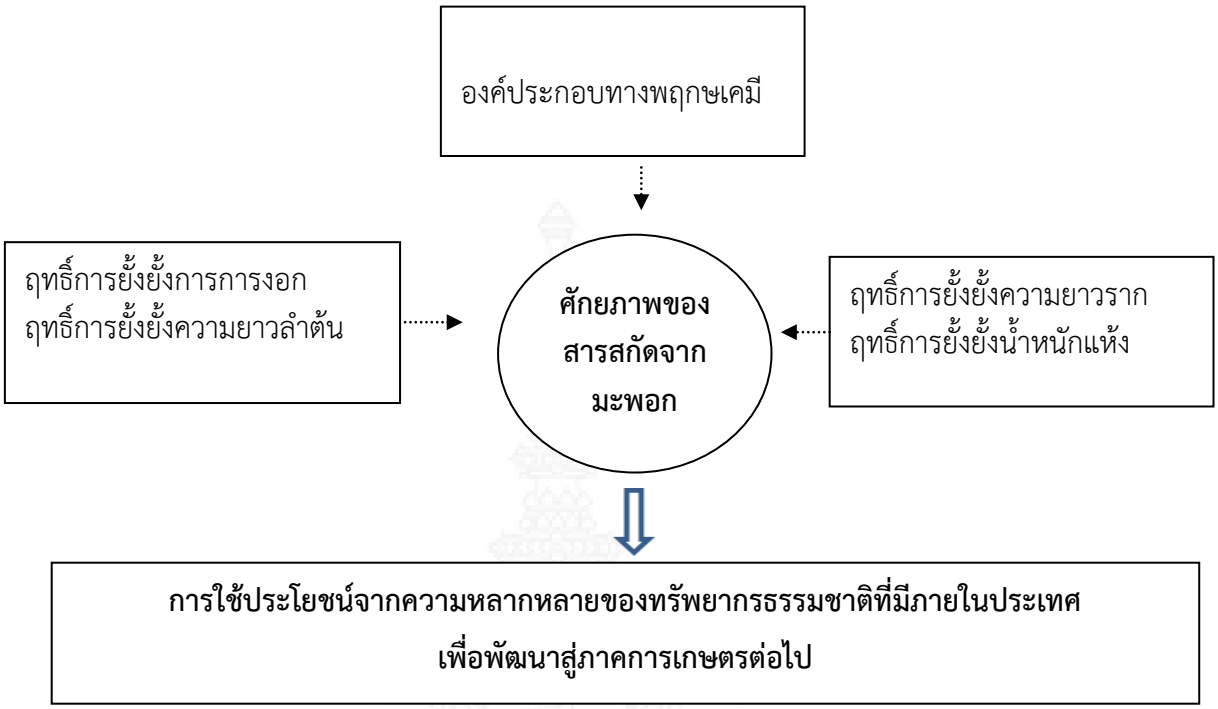
1.3 ขอบเขตของการวิจัย

โครงการวิจัยการศึกษาพฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากมะพอกที่มีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของวัชพืชในนาข้าวเพื่อเป็นการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรชีวภาพอย่างมีประสิทธิภาพและความยั่งยืน กำหนดขอบเขตดังนี้

1. พื้นที่ทำการศึกษาคือจังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
2. พืชที่ใช้ในการศึกษา
    2.1 มะพอก ชื่อวิทยาศาสตร์ *Parinari anamense* Hance
3. ส่วนของพืชสมุนไพรที่ใช้ในการศึกษา
    3.1 ผล
    3.2 เปลือก
    3.3 ใบ
4. องค์ประกอบทางพฤกษเคมี
    4.1 Alkaloids
    4.2 Condensed
    4.3 Tannins
    4.4 Phenolic compounds
    4.5 Triterpenes
    4.6 Steroids
    4.7 Cardiac glycosides
    4.8 Antraquinones
5. วัชพืชในนาข้าวที่ใช้ในการศึกษา
    5.1 หญ้าข้าวนก ชื่อวิทยาศาสตร์ *Echinochloa crus-galli (L.) Beauv*
6. การยั้งยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืช
    6.1 การยับยั้งการงอก
    6.2 การยับยั้งความยาวลำต้น
    6.3 การยับยั้งความยาวราก
    6.4 การยับยั้งน้ำหนักแห้ง
7. ตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด
    7.1 เฮกเซน
    7.2 เอทิลแอซิเตต
    7.3 เมทานอล

1.4 กรอบแนวความคิดของการวิจัย

กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย



1.5 ประโยชน์ที่ได้รับ

1. ได้องค์ความรู้เกี่ยวกับองค์ประกอบทางพฤกษเคมีและฤทธิ์การยั้งยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชสำหรับการวิจัยและการพัฒนาผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในเชิงพาณิชย์ต่อไป

2. การเพิ่มมูลค่าให้กับพืชในท้องถิ่นและนำไปสู่การใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน

3. ส่งเสริมและสร้างความตระหนักถึงคุณค่าของพืชในท้องถิ่นเพื่อนำไปสู่การอนุรักษ์ทรัพยากรพืชอย่างยั่งยืน

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การวิจัยเรื่องการศึกษาพฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากมะพอกที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของวัชพืชในนาข้าวเพื่อสนับสนุนการใชประโยชน์และเพิ่มมูลค่าความหลากหลายทางชีวภาพอยางมั่นคงและยั่งยืน คณะผู้วิจัยทำการศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องดังนี้

2.1 การเจริญเติบโตของพืช
2.2 วัชพืชในนาข้าว
2.3 พืชที่ใช้ในการศึกษา
2.4 การเก็บและการเตรียมตัวอย่างพืช
2.5 เทคนิคการสกัดสารจากพืช
2.6 พฤกษเคมีและการตรวจสอบ
2.7 เทคนิคการแยกสาร
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 การเจริญเติบโตของพืช

2.1.1 การงอก

การงอกของเมล็ดหมายถึง การงอกและพัฒนาการของต้นอ่อน เริ่มตั้งแต่เมล็ดพันธุ์มีกระบวนการต่างเกิดขึ้นในเมล็ดที่กำลังอยู่ในระยะพัก จนถึงระยะที่ต้นอ่อนเจริญเติบโต และพัฒนาไปเป็นต้นกล้าที่ถึง ขั้นที่โครงสร้างที่สำคัญของส่วนต่างๆของต้นอ่อน ที่สามารถบ่งชี้ได้ว่าจะสามารถเจริญเติบโตต่อไปเป็นต้นพืชที่ปกติ ภายใต้สภาพแวดล้อมในดินที่เหมาะสม

2.1.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการงอกของเมล็ด

1. น้ำ เมล็ดที่เจริญเติบโตเต็มพร้อมจะเก็บเกี่ยวภายในเมล็ดจะมีน้ำเป็นส่วนประกอบเหลืออยู่น้อยมาก เมื่อเมล็ดพันธุ์จะงอก น้ำเป็นปัจจัยแรกที่จะกระตุ้นให้เมล็ดเกิดปฏิกิริยาเคมีและกระบวนการเมแทบอลิซึม เริ่มจากเมล็ดพันธุ์ดูดน้ำเข้าไปทำให้เปลือกเมล็ดอ่อนนุ่ม ทำให้เมล็ดพองโต เนื่องจากการขยายของผนังเซลล์และโพรโทพลาสต์ เมื่อเปลือกเมล็ดอ่อนนุ่มทำให้รากแทงผ่านเปลือกได้ เมล็ดพันธุ์พืชแต่ละชนิดต้องการน้ำสำหรับการงอกแตกต่างกัน บางชนิดหากได้รับน้ำมากเกินไปจะทำให้เมล็ดขาดออกซิเจนที่ใช้สำหรับหายใจและทำให้เมล็ดเน่า ในบางชนิด การที่เมล็ดพันธุ์ได้รับน้ำมากๆอาจจะทำให้เมล็ดเข้าสู่สภาวะพักตัวใหม่ สำหรับปัจจัยที่มีผลต่อการดูดน้ำของเมล็ดพันธุ์ ได้แก่ ความหนาของเปลือกสารที่เคลือบอยู่ที่ผิวเปลือก ความเข้มข้นของน้ำ อุณหภูมิ และการสุกแก่ของเมล็ดที่ต่างกัน เป็นต้น

2. ออกซิเจน เมล็ดที่กำลังงอกต้องการพลังงาน ซึ่งได้จากกระบวนการออกซิเดชันโดยใช้ออกซิเจนจากการหายใจ เมล็ดพันธุ์ที่กำลังงอกจะมีอัตราการหายใจสูง เมื่อเทียบกับการหายใจช่วงอื่นและมีกิจกรรมการสลายและเผาผลาญอาหารที่เก็บสะสมไว้ เมล็ดพันธุ์โดยทั่วไปจะงอกในสภาพ

บรรยากาศปกติที่มีออกซิเจนประมาณ 20เปอร์เซ็นต์และคาร์บอนไดออกไซด์ประมาณ 0.03 เปอร์เซ็นต์ แต่ก็มีเมล็ดพันธุ์พืชหลายชนิดที่งอกได้ในสภาพที่มีออกซิเจนต่ำกว่าปกติ เช่น พืชที่งอกได้ในน้ำ

3. อุณหภูมิ มีความสำคัญมากต่อการควบคุมและอัตราการเกิดปฏิกิริยาทางชีวเคมี ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชตามมา ด้วยความแตกต่างของชนิดและถิ่นกำเนิดของพืช ทำให้พืชมีความต้องการอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการงอกที่แตกต่างกัน เช่น พืชเขตหนาว เอนไซม์และปฏิกิริยาชีวเคมีในเมล็ดพันธุ์พืชเขตหนาวยังทำงานได้เมื่ออุณหภูมิใกล้จุดเยือกแข็ง และเมล็ดยังสามารถงอกได้ ในขณะที่ที่จุดเยือกแข็งจะเป็นอันตรายสำหรับการงอกของเมล็ดพันธุ์พืชเขตร้อน ถ้าอุณหภูมิสูงหรือต่ำกว่าระดับที่เหมาะสม ซึ่งเกินกว่าที่เมล็ดพันธุ์จะสามารถงอกได้ เมล็ดบางชนิดอาจจะมีการพักตัวหรือบางชนิดอาจจะเสียชีวิตได้ ดังนั้น เมล็ดพันธุ์แต่ละชนิดจะมีระดับอุณหภูมิสูงสุดและต่ำสุดที่เมล็ดจะสามารถงอกได้แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามเมล็ดพันธุ์ยังมีการปรับตัวต่อช่วงอุณหภูมิสูงสุดและต่ำสุดในรอบวัน คือ ถ้าอุณหภูมิกลางคืนและกลางวันมีความแตกต่างกันมาก เมล็ดพันธุ์จะงอกได้ดีกว่าการได้รับอุณหภูมิที่สม่ำเสมอตลอดเวลา เช่น หญ้า blue grass จะงอกได้ดีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 8 ชั่วโมง และอุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 16 ชั่วโมง

2.1.3 การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในระหว่างการงอกของเมล็ดพันธุ์

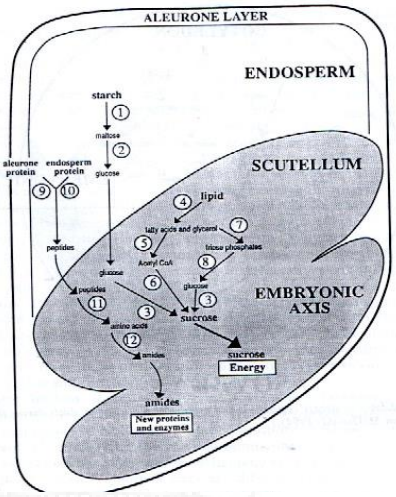
การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีที่เกิดขึ้นในระหว่างการงอกของเมล็ดพันธุ์เกิดได้เนื่องจากมีน้ำเข้าไปกระตุ้น กล่าวคือ เมล็ดพันธุ์เมื่อแก่เต็มที่และแห้งจะอยู่ในสภาวะเงียบ คือ ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น อัตราการหายใจ และการใช้พลังงานภายในเมล็ดพันธุ์เกิดขึ้นน้อยมาก ต่อเมื่อเมล็ดได้รับน้ำเข้าไป ส่งผลให้ขบวนการสังเคราะห์ต่างๆภายในเซลล์เริ่มทำงาน เพราะฉะนั้น ขบานการงอกของเมล็ดพันธุ์จึงเกี่ยวข้องกับขบวนการสังเคราะห์สารที่จำเป็นต่อการทำงานของเซลล์ ขบวนการย่อยสลาย และขบวนการลำเลียงสารอาหารที่เก็บสะสมไว้ นำไปใช้สำหรับการเจริญเติบโตของเอ็มบริโอให้สามารถเจริญเติบโตเป็นต้นกล้าที่ปกติ ซึ่งขบวนการต่างๆสามารถอธิบายได้ดังนี้

1. การสังเคราะห์สารที่จำเป็นต่อการทำงานของเซลล์ สารที่จำเป็นต่อการทำงานของเซลล์ได้แก่ เอนไซม์ DNA และ RNA ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสร้างโปรตีนจะถูกชักนำในการสังเคราะห์เพิ่มขึ้นด้วยเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องได้มาจาก 2 แหล่งคือ เอนไซม์ที่ถูกสร้างขึ้นขณะเมล็ดกำลังเจริญเติบโตจะถูกกระตุ้นให้ทำงาน เนื่องจากการเข้าไปของน้ำ เช่น amylopectin และ glucocidase เอนไซม์ 2 ตัวนี้จะปรากฏขึ้นทันทีหลังจากเมล็ดพันธุ์ดูดน้ำ แหล่งที่สองได้จากการเริ่มสังเคราะห์ขึ้นใหม่ โดยผ่านการควบคุมของกรดนิวคลีอิค (nucleic acid) ที่เรียกว่า *de novo* syntersis โดยพบในเซลล์อะลิวโรน (aleulone) ในเมล็ดข้าวบาเลย์ เอนไซม์ที่สังเคราะห์ขึ้น ได้แก่ amylase, ribonuclease, protease และ lipase เป็นต้น พลังงานที่ต้องใช้ในการสังเคราะห์โปรตีนต่างๆ ได้มาจาก ATP ซึ่งผลิตในไมโทคอนเดรียที่ตื่นตัวภายหลังจากเมล็ดได้รับน้ำเข้ามา การทำงานของไมโทคอนเดรียในการผลิต ATP ทำให้เมล็ดพันธุ์มีอัตราการหายใจเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อเทียบกับสภาพที่เมล็ดยังไม่งอก

2. การย่อยสลายสารอาหารที่สะสมในเมล็ดพันธุ์ สารอาหารที่เมล็ดพันธุ์เก็บสะสมไว้ในส่วนเนื้อเยื่อสะสมอาหาร ได้แก่ คาร์โบไฮเดรท โปรตีน และไขมัน จะถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ที่สร้างขึ้นมา คาร์โบไฮเดรทจะถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ hydrolase เช่น amylase และ phosphorylase จากรูปน้ำตาลที่ละลายไม่ได้เป็นรูปน้ำตาลที่ละลายได้ โปรตีนถูกย่อยโดยเอนไซม์ protease ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สร้างขึ้นมาใหม่ในระหว่างการงอกของเมล็ดพันธุ์ ได้กรดอะมิโน ส่วนการย่อยสลายไขมัน จะถูกย่อยโดย

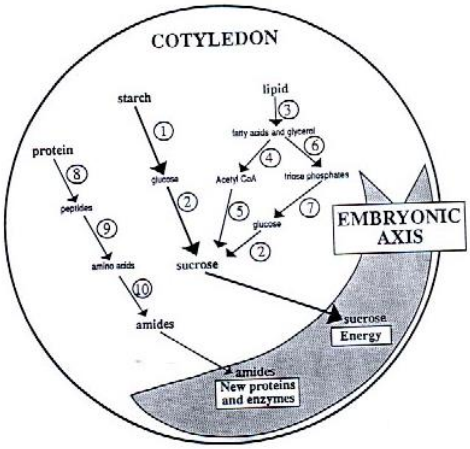
เอนไซม์ lipase ได้กรดไขมันและกลีเซอรอล การย่อยสลายอาหารที่เก็บสะสมไว้ในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่แตกต่างกันดังนี้

1) พืชใบเลี้ยงเดี่ยว เก็บสะสมอาหารไว้ในเอนโดสเปิร์ม ได้แก่ แป้ง และโปรตีน ซึ่งเก็บสะสมไว้ในรูปน้ำตาลที่ละลายได้ และเปปไทด์ (peptides) ตามลำดับ ถูกเคลื่อนย้ายไปยังเอ็มบริโอเพื่อสร้างพลังงานและสร้างเอนไซม์เพื่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อน



รูปที่ 2.1 การย่อยสลายอาหารที่เก็บสะสมในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว
ที่มา : Copeland and McDonald, 1995

2) พืชใบเลี้ยงคู่ เก็บสะสมอาหารไว้ในใบเลี้ยง (cotyledon) มี 3 ชนิด คือ ลิปิด แป้ง และโปรตีน ลิปิดและแป้งถูกย่อยสลายที่ใบเลี้ยงจนได้เป็นน้ำตาลซูโครส (sucrose) ส่วนโปรตีนจะถูกย่อยสลายกลายเป็นเอไมด์ (amides) ทั้งน้ำตาลซูโครสและเอไมด์ เมื่อถูกย่อยให้มีอนุภาคเล็กลงก็จะเคลื่อนย้ายเพื่อเป็นอาหารสำหรับการเจริญเติบโตและการพัฒนาของต้นอ่อนต่อไป



รูปที่ 2.2 การย่อยสลายอาหารที่เก็บสะสมในพืชใบเลี้ยงคู่
ที่มา : Copeland and McDonald, 1995

ในขั้นตอนนี้ การดูดน้ำและการหายใจจะเกิดขึ้นอย่างสม่ำเสมอ สำหรับการหายใจซึ่งต้องใช้ออกซิเจน ถ้าหากมีการย่อยไขมันและน้ำมัน จะใช้ออกซิเจนสูงกว่าปกติ

3. การลำเลียงอาหารที่เก็บสะสม

1) คาร์โบไฮเดรท การลำเลียงอาหารสะสมประเภทคาร์โบไฮเดรทจากที่เคยอยู่ในรูปของน้ำตาลที่ละลายไม่ได้ จะถูกย่อยให้อยู่ในรูปของน้ำตาลที่ละลายได้ ซึ่งเป็นรูปที่สามารถลำเลียงได้

2) โปรตีน จะลำเลียงในรูปของสารประกอบไนโตรเจนที่ละลายได้ เช่น amino acid โดย amino acid จะถูกลำเลียงไปที่เอ็มบริโอ เพื่อเป็นวัตถุดิบในการสร้างโปรตีนใหม่ ในส่วนที่มีการเจริญเติบโต

3) ลิปิด จะถูกลำเลียงในรูปของกรดไขมันและกลีเซอรอล บางส่วนจะถูกลำเลียงไปเป็นวัตถุดิบในการสร้างสารพวก phospholipid และ glycolipid เพื่อสร้างเมมเบรนของออร์แกเนลล์ และเซลล์ที่จะเกิดขึ้นใหม่

4. การเจริญเติบโตของเอ็มบริโอ ในขณะที่เอ็มบริโอมีการเจริญเติบโต น้ำหนักของต้นอ่อนจะเพิ่มมากขึ้น ส่วนที่เป็นเนื้อเยื่อสะสมอาหารจะลดลง และการหายใจจะเพิ่มขึ้นอย่างสม่ำเสมอในเนื้อเยื่อของต้นอ่อน ขณะเดียวกัน ขบวนการเมแทบอลิซึมที่เนื้อเยื่อสะสมอาหารจะลดลง ยกเว้นในส่วนของใบเลี้ยงซึ่งจะทำหน้าที่ในการสังเคราะห์แสงได้ ต่อมาจะมีการยืดตัวและการเจริญเติบโตของยอดอ่อนเกิดเป็นใบแรก (primary leaf) และแกนกลางของเอ็มบริโอ ส่วนใต้ใบเลี้ยงจะเติบโตไปเป็นลำต้นใต้ใบเลี้ยง (hypocotyl) ส่วนเหนือใบเลี้ยงจะเจริญเป็นลำต้นเหนือใบเลี้ยง (epicotyl) จากนั้น ต้นอ่อนก็จะเจริญเติบโตเป็นต้นกล้าปกติ

2.1.4 การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพในระหว่างการงอกของเมล็ด

เมื่อเมล็ดได้รับปัจจัยที่เหมาะสมสำหรับการงอก เมล็ดจะมีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพมีขั้นตอนดังนี้

1. เมล็ดพองโต โดยทั่วไปเมล็ดที่เจริญเติบโตเต็มที่ เมล็ดจะแข็ง เนื่องจากภายในเมล็ดมีความชื้นต่ำมาก เมื่อเมล็ดได้รับน้ำเข้าไปโดยผ่านช่องเปิดธรรมชาติที่มีอยู่ เช่น ไฮลัม (hilum) หรือบาดแผลที่เกิดขึ้นที่บริเวณเปลือกเมล็ด เป็นต้น จะทำให้เมล็ดขยายขนาดใหญ่ขึ้น และเปลือกเมล็ดมีลักษณะอ่อนนุ่ม

2. การเจริญของราก ส่วนแรกที่จะเจริญออกมาจากเมล็ดคือ รากแรกเกิด (radicle) ด้วยบทบาทของน้ำที่ทำให้เปลือกเมล็ดอ่อนนุ่ม จึงทำให้รากแรกเกิดงอกได้สะดวกมากขึ้นรากแรกเกิดเมื่อเจริญพัฒนาต่อไปจะเป็นรากแก้ว เรียกว่า primary root เพื่อความอยู่รอดเมล็ดจะงอกส่วนรากออกมาก่อนเพื่อค้ำจุนต้นกล้า ดูดน้ำและแร่ธาตุอาหารส่งไปยังใบเลี้ยงและยอดอ่อน เพื่อใช้สำหรับการเจริญเติบโตของต้นกล้าต่อไป

3. การเจริญในส่วนของใบเลี้ยงและยอดอ่อน เมล็ดจะงอกส่วนที่เรียกว่าลำต้นเหนือใบเลี้ยง (epicotyl) และลำต้นใต้ใบเลี้ยง (hypocotyl) ออกมา หลังจากนั้น ใบเลี้ยงจะค่อยๆเจริญออกมาและสลัดส่วนของเปลือกเมล็ดทิ้งไป พืชใบเลี้ยงคู่มีใบเลี้ยงสองใบ เมื่อโผล่ขึ้นมาเหนือดิน จะเป็นส่วนแรกที่ทำหน้าที่สังเคราะห์แสงในต้นกล้าได้ ส่วนพืชใบเลี้ยงเดี่ยวมีใบเลี้ยงเพียงใบเดียว ส่วนใหญ่ใบเลี้ยงจะตกค้างอยู่ภายในเมล็ด ทำหน้าที่ดูดอาหารจากเอนโดสเปิร์มส่งไปเลี้ยงต้นอ่อนที่กำลังงอก ส่วนของลำต้นเหนือใบเลี้ยงและลำต้นใต้ใบเลี้ยง ในพืชใบเลี้ยงคู่จะเห็นได้ชัดเจนกว่าในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว และพืชใบเลี้ยงเดี่ยวบางชนิดจะมีลำต้นเหนือใบเลี้ยงที่มีลักษณะยาวเป็นพิเศษ เรียกว่าปล้องแรก (mesocotyl)

2.1.5 ลักษณะการงอกของเมล็ดพันธุ์

1. การงอกแบบใบเลี้ยงอยู่เหนือดิน (epigeal germination) คือ การงอกของเมล็ดเมื่อต้นกล้าเจริญเติบโตเต็มที่จะมีใบเลี้ยงชูขึ้นมาเหนือดินดังรูป โดยขั้นตอนแรกของการงอก เมล็ดพันธุ์ดูดน้ำเข้าไป เมล็ดมีลักษณะพองโต รากแรกเกิดแทงทะลุออกมาลงสู่พื้นดิน ต่อมาไม่นาน มีรากแขนงแตกออก ลำต้นใต้ใบเลี้ยงเริ่มปรากฏมีลักษณะโค้งงออยู่เหนือดิน แล้วดึงส่วนของใบเลี้ยงตามขึ้นมาเหนือดิน ใบเลี้ยงนี้จะทำหน้าที่สังเคราะห์แสงเพื่อสร้างอาหารเพียงช่วงระยะหนึ่ง แล้วจะเหี่ยวแห้งไป เหลือเพียงลำต้นเหนือใบเลี้ยงที่ปรากฏให้เห็น และจะเจริญไปเป็นใบจริงใบแรกต่อไป เมล็ดพันธุ์พืชที่งอกในลักษณะนี้ส่วนใหญ่ที่เห็นอยู่เหนือดินคือ ส่วนของลำต้นที่อยู่ใต้ใบเลี้ยง เช่น ถั่วเหลือง (*Glycine max*) ถั่วแดงหลวง (*Phaseolus vulgaris*) และละหุ่ง (*Ricinus communis*)

2. การงอกแบบใบเลี้ยงอยู่ใต้ดิน (hypogeal germination) คือ การงอกของเมล็ดพันธุ์ที่เมื่อเจริญเติบโตเป็นต้นอ่อนแล้วใบเลี้ยงยังไม่โผล่ขึ้นมาเหนือดิน หรือในบางกรณี อาจจะรวมถึงเอนโดสเปิร์มที่ยังตกค้างอยู่ใต้ดินด้วย ขั้นตอนการงอกในลักษณะนี้คือ เริ่มแรกเมล็ดพันธุ์จะดูดน้ำเข้าไป ทำให้เอ็มบริโอและเอนโดสเปิร์มขยายตัว coleorhiza จะแทงทะลุเปลือกออกมา รากปฐมภูมิ (primary root) เจริญออกมาอย่างรวดเร็ว แล้วเนื้อเยื่อหุ้มยอด (coleoptile) จะเจริญโผล่พ้นดินขึ้นมา เมื่อได้รับแสงแดดจึงหยุดการเจริญ ปล่อยให้ยอดอ่อนเจริญแตกใบจริงออกมา ส่วนใหญ่ที่เห็นอยู่เหนือดินคือ ส่วนของลำต้นที่อยู่เหนือใบเลี้ยง (epicotyl) การงอกในลักษณะนี้มักพบในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว เช่น ข้าวโพด (*Zea mays*) แต่ก็มีพืชใบเลี้ยงคู่บางชนิดที่งอกแบบใบเลี้ยงอยู่ใต้ดิน เช่น ถั่วลันเตา (*Pisum sativum*)

2.1.6 กลไกควบคุมการงอกของเมล็ดพันธุ์

เมื่อเมล็ดพันธุ์แก่เต็มที่ จะมีกลไกในการควบคุมการงอกซึ่งเมล็ดจะสร้างขึ้นมาเพื่อให้สอดคล้องกับสภาวะแวดล้อมและฤดูกาลในธรรมชาติเพื่อความอยู่รอดของต้นอ่อน การควบคุมการงอกของเมล็ดพันธุ์โดยส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นโดยการลดความชื้นภายในเมล็ดลงเมื่อเมล็ดมีการสุกแก่เต็มที่ จึงทำให้เมล็ดพันธุ์ขาดปัจจัยที่สำคัญในการงอกไป นั่นก็คือน้ำ สำหรับโครงสร้างที่ทำหน้าที่ควบคุมน้ำและอากาศที่จะเข้าไปในเมล็ดพันธุ์ก็คือ เปลือกเมล็ด เมล็ดพันธุ์บางชนิดถึงแม้ว่าจะมีปริมาณน้ำในเมล็ดมาก แต่ก็ไม่สามารถงอกได้ เนื่องจากเมล็ดมีกลไกในการป้องกันการงอก เช่น ภายในเมล็ดอาจจะมีสารยับยั้งการงอกอยู่ นอกจากนี้ ยังมีเมล็ดพันธุ์หลายชนิดที่สามารถงอกได้ทั้งๆที่ยังไม่หลุดล่วงออกจากต้นแม่

การงอกลักษณะนี้เรียกว่าการงอกคาต้น (vivipary) เช่น ต้นแสม ต้นโกงกาง เป็นต้น โดยเมล็ดจะงอกส่วนรากที่ แข็งแรง มีลักษณะคล้ายฝัก ทิ่มลงในโคลนเบื้องล่างเพื่อฝังตัว ลักษณะที่เกิดขึ้นเป็นการปรับตัวเพื่อความอยู่รอดของพืช ไม่ให้เมล็ดพันธุ์หลุดลอยไปในบริเวณน้ำลึก

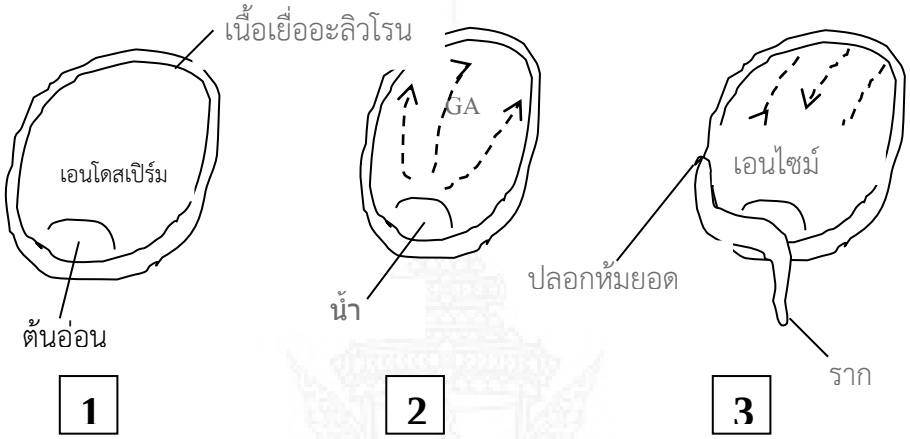
กลไกที่ควบคุมการงอกที่สำคัญอีกแบบคือการพักตัวของเมล็ดถึงแม้ว่าจะมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมและมีปัจจัยสนับสนุนการงอกครบ แต่เมล็ดก็ไม่สามารถงอกได้ ซึ่งจะเกิดผลดีต่อเมล็ดคือทำให้เมล็ดงอกได้ในถิ่นที่เหมาะสมต่อความอยู่รอดของต้นอ่อน และการพักตัวจะจำกัดไม่ให้เมล็ดงอกในสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อน เช่นในฤดูที่มีอุณหภูมิสูงเกินไป มีความชื้นไม่เพียงพอ หรือมีช่วงฤดูฝนที่สั้นเกินไป

2.1.7 บทบาทของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต่อการงอกของเมล็ดพันธุ์

กระบวนการงอกของเมล็ดขึ้นอยู่กับการทำงานร่วมกันของฮอร์โมนหลายตัว Khan (1975) ได้เสนอแบบจำลองว่า จิบเบอเรลลิน (GA) มีบทบาทหลักในการกระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์ ในขณะที่

สารยับยั้ง (inhibitor) จะทำหน้าที่รองคือเป็นตัวห้าม และไซโตไคนิน (cytokinin) จะทำหน้าที่เป็นตัวที่หักล้างอิทธิพลของสารยับยั้ง แต่ถ้าเพิ่มสารยับยั้ง คือ abscisic acid (ABA) จะทำให้การกระตุ้นโดย GA ไม่ได้ผล และการเติมไคเนตินจะไปลบล้างอิทธิพลของ ABA

นอกจากนี้ยังพบว่า เมื่อเมล็ดพันธุ์ข้าวบาเลย์มีการดูดน้ำ เอ็มบริโอจะมีการผลิตฮอร์โมน GA และ GA จะถูกลำเลียงไปยังชั้น aleurone ซึ่งเป็นชั้นเซลล์หุ้มอยู่รอบๆเอนโดสเปิร์ม และกระตุ้นให้เซลล์ aleulone สร้างเอนไซม์ amylase และ hydrolytic อีกหลายตัว แล้วเอนไซม์เหล่านี้จะถูกส่งออกมาย่อยสลายอาหารที่สะสมอยู่ในเอนโดสเปิร์ม แล้วอาหารที่ย่อยได้จะถูกลำเลียงไปเลี้ยงเอ็มบริโอต่อไป



รูปที่ 2.3 แสดงการทำงานของจิบเบอเรลลิน (GA) ในกระบวนการงอกของเมล็ด

2.1.8 การเจริญเติบโตของพืช

การเจริญเติบโตของพืชหมายถึงการเพิ่มขนาด จำนวน หรือการเพิ่มของน้ำหนักแห้งของต้นพืช และมีการเปลี่ยนแปลงอวัยวะต่างๆ ไปตามขั้นตอนของพืชนั้น ๆ การเจริญเติบโตเป็นผลมาจากกระบวนการที่สำคัญคือ การสังเคราะห์แสง การหายใจ

2.1.9 การวัดการเจริญเติบโตของพืช

การวัดการเจริญเติบโตของพืชสามารถวัดได้หลายวิธีได้แก่ความสูง จำนวนใบ ขนาดของใบ เส้นรอบวง มวล

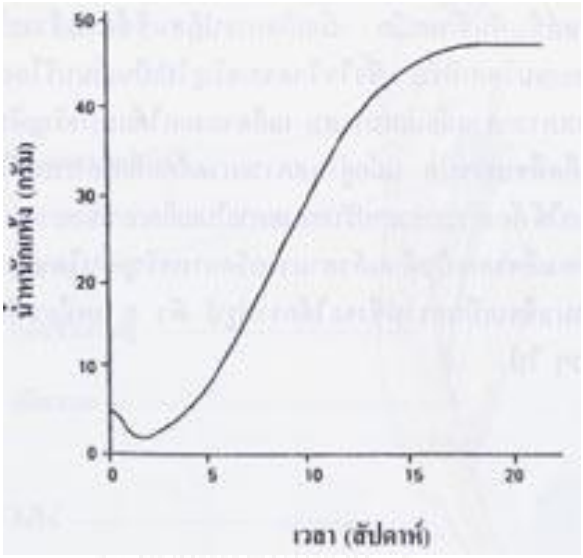
1. การวัดมวล หรือน้ำหนักสดของพืช เป็นวิธีที่นิยมใช้มากที่สุด แต่ผลที่ได้ อาจไม่บ่งถึงการเพิ่มขึ้นของชีวมวลที่แท้จริงทั้งหมดเพราะการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นเกิดจากเซลล์เก็บสะสมน้ำไว้ในปริมาณมาก ๆ จนเซลล์เพิ่มขนาด

2. การชั่งน้ำหนักแห้งที่แท้จริง วิธีนี้ทำให้พืชตาย ดังนั้นพืชที่ใช้วัดจึงต้องปลูกจำนวนมาก แล้วสุ่มตัวอย่างมาเพียงบางส่วนเพื่อเป็นตัวแทนของพืชทั้งหมดในระยะเวลาต่าง ๆ กัน นำมาเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตที่เพิ่มขึ้น แล้วจึงสรุปได้ว่าพืชนั้นมีการเจริญเติบโต

3. การวัดความสูงของพืชเป็นวิธีที่นิยมใช้มากพืชบางชนิดมีความสูงจำกัด แต่กิ่ง ตา ดอก ผล และขนาดของลำต้นสามารถเพิ่มขึ้นได้อีก

นอกจากนี้ยังมีวิธีอื่นๆ เช่น การนับจำนวนใบ การนับวงปี การวัดเส้นรอบวง การวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง เป็นต้น การเลือกวิธีการใดขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ที่ต้องการวัด

การเจริญเติบโตของพืชตั้งแต่งอกออกจากเมล็ดจนโตเต็มที่ ออกดอก ออกผล มีลักษณะคล้ายกับ กราฟการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตทั่ว ๆ ไป สามารถเขียนกราฟของการเจริญเติบโตเป็นรูปตัว S (S – shaped curve)



รูปที่ 2.4 แสดงกราฟของการเจริญเติบโตเป็นรูปตัว S
ที่มา : http://www.lks.ac.th/student/kroo_aumara/bio01/28.html

2.1.10 หลักการวิเคราะห์การเจริญเติบโตของพืช

หลักการวิเคราะห์การเจริญเติบโตของพืช Blackman (1919) กล่าวว่าอัตราการเจริญเติบโตของพืชขึ้นอยู่กับขนาดเริ่มต้นของพืช และ เวลา และเรียกอัตรานี้ว่า Relative growth rate (RGR; R) ดังสมการ

$W = W_0 \exp^{R.T}$

การวิเคราะห์การเจริญเติบโตของพืชแบ่งออกเป็นสองส่วนคืออัตราการสร้างน้ำหนักต่อพื้นที่ผิวใบต่อเวลา Net assimilation rate (NAR; E) และ สัดส่วนของพื้นที่ใบต่อน้ำหนักทั้งหมดของต้นพืช Leaf area ratio (LAR; F)

การวิเคราะห์นี้ได้รับการปรับปรุงโดยนักวิทยาศาสตร์หลาย ๆ ท่านเช่น Briggs *et al*. (1920), Watson (1958), Radford (1967), Evans (1972) และ Hunt (1978) และยังคงความนิยมใช้มาจนกระทั่งปัจจุบัน โดยมักเรียกวิธีนี้ว่า Conventional หรือ Classical growth analysis

เทคนิคนี้ ต้องการการวัดเพียงสองค่าคือ น้ำหนักแห้ง และ พื้นที่ใบ โดยทำการวัดจากต้นพืชตัวอย่างทุก 3 - 7 วัน สำหรับการวัดน้ำหนักแห้งสามารถทำได้อย่างง่ายโดยตัดต้นพืชนำไปอบ แล้วชั่งเพื่อหาน้ำหนักแห้ง ส่วนการวัดพื้นที่ใบสามารถหาจากการลอกรูปภาพใบลงบนกระดาษกราฟ หรือการคำนวณจากค่าความกว้าง ยาวของใบ หรือการใช้ Area meter

Growth analysis สามารถทำจากพืชที่ปลูกเดี่ยว ๆ ในกระถาง หรือจากพืชปลูกในแปลงก็ได้ ในปัจจุบันมีค่าที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์คือ Relative growth rate, Net assimilation rate, Leaf area ratio, Specific leaf weight (SLW), Specific leaf area (SLA), และ ค่าสัดส่วนของน้ำหนักแห้ง

ในส่วนต่าง ๆ ของต้นพืช เช่น Shoot root ratio (S/R), % Leaf dry weight (LWR), % Stem dry weight (SWR), % Root dry weight (RWR) ค่า Leaf area index (LAI) และค่า Leaf area duration (LAD) โดยคำนวณจากสูตรในตาราง

ตารางที่ 2.1 แสดงสูตรที่ใช้ในการคำนวณ ในการวิเคราะห์วิธี Conventional growth analysis

Derived Quantity	Symbol	Instantaneous Value	Formula for Mean Value over Time Interval (T_2-T_1)[b]	Unit
Relative growth rate	RGR, *R*	*1/W * dw/dt*	RGR = (ln *W2*-ln *W1*)/(*T2-T1*)	$W \cdot W^{-1} \cdot T^{-1}$
Leaf area ratio	LAR, *F*	*LA/W*	LAR = $(LA_2/W_2+LA_1/W_1)/2$	$A \cdot W^{-1}$
Specific leaf area	SLA	*LA/LW*	SLA = $(LA_2/W_2+LA_1/W_1)/2$	$A \cdot W^{-1}$
Specific leaf weight	SLW	*Lw/LA*	SLW = $(Lw_2/LA_2)+(Lw_1/LA_1)/2$	$W \cdot A^{-1}$
Net assimilation rate	NAR, *E*	*1/LA * dw/dt*	NAR = $(W_2-W_1)/(T_2-T_1)$ *.(ln LA_2-ln LA_1)/(LA_2-LA_1)	$W \cdot A^{-1} \cdot T^{-1}$
Leaf area index	LAI	*LA/P*	LAI = $(LA_2+LA_1)/2 * (1/G_A)$	dimensionless
Crop growth rate	CGR	*1/P * dw/dt*	CGR = $1/GA * (W_2-W_1)/(T_2-T_1)$	$W \cdot A^{-1} \cdot T^{-1}$
Leaf area duration	LAD	longivity	LAD = $(LA_2+LA_1)(T_2-T_1)/2$	$A \cdot T$
(leaf area basis)		of leaf		
Leaf area index duration	LAID	longivity of LAI	LAID = $(LA_1+LA_2)(T_2-T_1)/2$	T
(leaf area index)				
Biomass duration	BMD	None	$BMD = [(W_2+W_1)/2] * (T_2-T_1)$	$W \cdot T$

. LA = leaf area, LW = leaf weight, G_A = ground area, T = time, W = weight, A = area.

2.2 วัชพืชในนาข้าว

2.2.1 ลักษณะทั่วไป

วัชพืชหมายถึงพืชที่เราไม่ต้องการหรือพืชที่ขึ้นผิดวัตถุประสงค์ เกษตรกรคุ้นเคยกับคำว่าหญ้า จึงเรียกคำนำหน้าวัชพืชว่าหญ้า เช่น หญ้าข้าวนก หญ้าขนหมู เป็นต้น ดังนั้นวัชพืชในนาข้าวจึงหมายถึงพืชอื่นที่ไม่ใช่ข้าวและขึ้นปะปนอยู่กับข้าว พืชมีอยู่ประมาณ 250,000 ชนิด (species) เป็นวัชพืชประมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ หรือ 8,000 ชนิด และมีเพียง 0.1 เปอร์เซ็นต์ ที่จะมีโอกาสเป็นวัชพืชหลักที่ร้ายแรง และเป็นปัญหาต่อเกษตรกร ซึ่งก็เท่ากับจำนวนประมาณ 250 ชนิด เรียกว่าวัชพืชพวกนี้ว่า major weeds สำหรับในประเทศไทยแล้วนั้น ได้มีการสำรวจและจำแนกชนิดของวัชพืชที่ถูกจัดให้เป็นวัชพืชหลัก ซึ่งโดยสภาพทั่วไปแล้วอาจมีจำนวนประมาณกว่า 100 ชนิด เท่านั้น วัชพืชดังกล่าวเป็นพวกที่พบเสมอในท้องที่ต่าง ๆ แต่ในสภาพท้องถิ่นที่แตกต่างกันที่มีการเพาะปลูกแตกต่างกัน มีการระบาดของวัชพืชที่แตกต่างกัน อาจมีวัชพืชมากกว่าที่รายงาน โดยที่จะมีปัญหาที่แตกต่างกันไป วัชพืชบางชนิดแม้อาจยังไม่เป็นวัชพืชที่เป็นปัญหารุนแรงในการเกษตรในปัจจุบันก็ตามแต่ในอนาคตอาจเป็นวัชพืชหลักก็ได้

คุณสมบัติของวัชพืชที่ถูกจัดว่าเป็นวัชพืชร้ายแรง มีดังนี้ มีความสามารถในการเจริญเติบโตดีและรวดเร็ว มีการขยายพันธุ์ แพร่พันธุ์รวดเร็ว มีประสิทธิภาพและมีจำนวนมาก มีความทนทานและปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมได้ดี มีความสามารถในการแข่งขันสูงมีผลกระทบต่อสภาพแวดล้อมอย่างมากและยากต่อการควบคุม

2.2.2 จำแนกวัชพืช

การจำแนกวัชพืชนั้นมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ทราบว่าวัชพืชชนิดนั้นชื่ออะไรจัดเป็นวัชพืชประเภทไหน เพื่อประโยชน์ในการวางแผนป้องกันกำจัดได้ถูกต้องตามหลักในการจำแนกพืชทั่วๆไปนั้นจำแนกพืชออกเป็นหมวดหมู่ตามลำดับคือ Phylum Class Order Family Genus Species ซึ่งนักพฤกษศาสตร์เป็นผู้จำแนกทำให้ได้ชื่อวิทยาศาสาตร์(Scientific name)ซึ่งประกอบด้วย Genus และ Species เป็นชื่อสากลที่ใช้กันทั่วโลก

การจำแนกวัชพืชดังนี้

1. วัชพืชใบแคบ (narrowleaf weed) หรือวัชพืชตระกูลหญ้า (Gramineae) บางครั้งอาจเรียกว่า วัชพืชใบแคบตระกูลหญ้า เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ลำต้นกลมภายในกลวง มีข้อและปล้อง ใบจะแยกเป็นตัวใบและกาบใบ ตัวใบจะมีความกว้างและยาวแตกต่างกันมาก เส้นใบขนานกันไม่มีรากแก้ว เช่น หญ้าข้าวนก หญ้านกสีชมพู หญ้าดอกขาว หญ้าแดง

2. วัชพืชใบกว้าง (broadleaf weed) ส่วนใหญ่เป็นพืชใบเลี้ยงคู่ ลำต้นอาจมีกิ่งก้านสาขา ตัวใบจะมีความกว้างและยาวแตกต่างกันน้อย เส้นใบสานเป็นร่างแห มีรากแก้ว เช่น ผักปอดนา ผักบุ้งเทียนนา

3. วัชพืชตระกูลกก (sedge) ลักษณะคล้ายวัชพืชตระกูลหญ้า แต่ลำต้นไม่มีข้อไม่มีปล้อง ลำต้นมักเป็นรูปสามเหลี่ยมภายในตัน ใบไม่แยกเป็นกาบใบและแผ่นใบ ใบจัดเรียงตัวบนลำต้นเป็น 3 แถว เช่น กกทราย กกสามเหลี่ยม กกขนาก หนวดปลาดุก

4. วัชพืชประเภทเฟิร์น (fern) เป็นพืชชั้นต่ำ ไม่มีเมล็ด ขยายพันธุ์ด้วยส่วนของต้น และอับเรณู (spore) เช่น ผักแว่น ผักกูดนา

5. วัชพืชประเภทสาหร่าย (algae) เป็นพืชชั้นต่ำ มีรูปร่างอย่างง่ายๆ ประกอบด้วยเซลล์เดียวหรือหลายเซลล์มาต่อกัน ราก ลำต้นและใบไม่มีความแตกต่างกัน เช่น สาหร่ายไฟ

ตารางที่ 2.2 แสดงรายชื่อวัชพืชที่สำคัญในนาข้าว ในแต่ละสภาพการทำนา

ชนิดวัชพืช	ชื่อวิทยาศาสตร์	สภาพการทำนาที่ชอบขึ้นแข่งขัน		
		นาหว่านข้าวแห้ง	นาดำ	นาหว่านน้ำตม
หญ้าข้าวนก	*Echinochloa crus-galli*		✓	✓
หญ้านกสีชมพู	Echinochloa colona	✓		✓
หญ้าดอกขาว	*Leptochloa chinensis*	✓		✓
หญ้าแดง	Ischaemum rugosum	✓		✓
หญ้าหางหมา	Setaria geniculata	✓		
หญ้ากุศลา	Panicum cambomgiense	✓		
ผักปอดนา	Sphenoclea zeylanica		✓	✓
ขาเขียด	Monochoria vaginalis		✓	✓
ผักตับเต่า	Mimulus orbicularis		✓	
ผักปราบนา	*Cyanotis oxillaris*	✓		
ผักบุ้ง	*Ipomoea aquatica*	✓		
เซ่งใบยาว	*Pentapetes phoenicea*	✓		
เซ่งใบมน	*Melochia corchorifolia*	✓		
สน	*Aeshynomene spp.*	✓		
เทียนนา	*Jussiaea linifolia*		✓	
กกทราย	*Cyperus iria*	✓	✓	✓
กกขนาก	*Cyperus difformis*	✓	✓	✓
หนวดปลาดุก	*Fimbristylis miliacea*	✓	✓	✓
ผักแว่น	*Marsilea crenata*		✓	✓
สาหร่ายไฟ	*Chara zeylanica*		✓	

2.2.3 การแก่งแย่งแข่งขันของวัชพืชกับพืชปลูก

การแก่งแย่งแข่งขัน (competition) ของวัชพืชกับพืชปลูก เป็นสาเหตุที่ทำให้ผลผลิตของพืชปลูกลดลงทั้งนี้เพราะวัชพืชก็เหมือนพืชปลูกคือมีความต้องการปัจจัยที่ใช้ในการเจริญเติบโตเช่นเดียวกัน ได้แก่ธาตุอาหาร น้ำ และแสงแดด เมื่อมีวัชพืชขึ้นแก่งแย่งแข่งขัน พืชปลูกได้รับปัจจัยในการเจริญเติบโตไม่เต็มที่ เพราะถูกวัชพืชแย่งบางส่วนไป

ปัจจัยที่มีผลต่อความรุนแรงในการแข่งขันของวัชพืชกับพืชปลูก คือชนิดของวัชพืช ชนิดของพืชปลูกปริมาณความหนาแน่นของวัชพืช ช่วงเวลาในการแข่งขันของวัชพืช ปัจจัยภายนอก เช่น ความอุดมสมบูรณ์ของดิน ความชื้น แสงแดด อุณหภูมิ ฤดูปลูกและการจัดการ

2.2.4 หญ้าข้าวนก

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Echinochloa crus-galli* (L.) T. Beauv.

ชื่อสามัญ barnyard grass

ชื่ออื่น หญ้าคอมมิวนิสต์, หญ้าพุ่มพวง

ชีพจักร หญ้า/อายุปีเดียว

ข้าวนกเป็นวัชพืชใบแคบ (NARROWLEAF WEED) หรือวัชพืชตระกูลหญ้า (GRAMINEAE) บางครั้งอาจเรียกว่า วัชพืชใบแคบตระกูลหญ้า เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ลำต้นกลมภายในกลวง มีข้อและปล้อง ใบจะแยกเป็นตัวใบและกาบใบ ตัวใบจะมีความกว้างและยาวแตกต่างกันมาก เส้นใบขนานกันไม่มีรากแก้ว ใบอ่อนจะเป็นคลื่นสีเขียวอ่อนถึงสีเขียว เส้นใบสีเขียวอ่อน ใบจะยาวกว่าใบข้าว ดอกเป็นช่อออกดอกได้ตลอดปีเมื่ออายุ 2-3 เดือน ชอบขึ้นในสภาพดินชื้นแฉะความชื้นตั้งแต่ 50 % สามารถงอกใต้น้ำได้ลึก 1-2 เซนติเมตร การขังน้ำไว้ประมาณ 3-7 วัน จะสามารถทำลายการพักตัวของเมล็ดได้ เจริญเติบโตได้ดีในสภาพน้ำขัง อายุปีเดียว ความสูงประมาณ 120 ซม. รอยต่อระหว่างใบและกาบใบไม่มีลิกิวล์ (LIGULE) ระยะเจริญเติบโตดูคล้ายข้าวมาก เมล็ดงอกพร้อมข้าว ชอบขึ้นในที่ชื้นแฉะ ความชื้น 75-95% งอกได้ 80 % ความชื้น 50% งอกได้ 75% สามารถงอกได้ในน้ำขังลึก 1-2 ซม. อุณหภูมิที่เหมาะสมในการงอกคือ 20-30 องศาเซลเซียส PH ที่สามารถงอกได้คือ 4.6-8.4 ออกซิเจน 20% งอกได้ถึง 99% แต่ออกซิเจนต่ำกว่า 1 % ไม่สามารถงอกได้ สามารถงอกได้ที่ความลึก 2-4 ซม. เมล็ดที่ถูกแช่น้ำนาน 3 เดือน จะงอกได้เพียง 1 % แต่เมล็ดที่ถูกฝังในดินนานถึง 30 เดือนยังสามารถงอกได้ 20-67% ระบาดในนาหว่านน้ำตม แพร่กระจายโดยน้ำ สัตว์ และอุปกรณ์การเกษตร เมล็ดอาจพักตัวนาน 3-4 เดือน (ประสาน วงศาโรจน์, 2540) ผลิตเมล็ดได้สูง 500-20,000 เมล็ด/กอ ความหนาแน่นเพียง 5 ต้น/ตร.ม. อาจทำให้ผลผลิตข้าว ลด 60% (อัมพร สุวรรณเมฆ, 2540) วัชพืชในนาข้าวมีหลายชนิดในประเทศไทยมีการสำรวจและจำแนกชนิดของพืชและจัดเป็นวัชพืชหลัก (MAJOR WEED) พบว่ามีจำนวนประมาณ 100 ชนิด หญ้าข้าวนกจัดเป็นวัชพืชร้ายแรง 10 อันดับแรกของโลก (HOLM, 1969) และยังเป็นวัชพืชร้ายแรงอันดับต้นของประเทศไทย (พรชัย เหลืองอาภาพงศ์, 2540) ดังตารางที่ 1.3 และ 1.4

รูปที่ 2.5 หญ้าข้าวนก

ที่มา : http://www.brrd.in.th/rkb/weed/index.php-file=content.php&id=1.htm

ตารางที่ 2.3 แสดงรายชื่อวัชพืชร้ายแรง 10 อันดับแรกของโลก

ลำดับ	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์
1	Purple nutsedge	*Cyperus rotundus*
2	Bermuda grass	*Cynodon dactylon*
3	Barnyard grass	*Echinochloa crus - galli*
4	Jungll rice	*Echinochloa colonum*
5	Goose grass	*Eluesine indica*
6	Johnson grass	*Sorghum halepense*
7	Guinea grass	*Panicum maximum*
8	Water hyacinth	*Eichhornia crassipes*
9	Cogon grass	*Imperata cylindrica*
10	Lantana	*Lantana camara*

ที่มา : Hoolm, 1969

ตารางที่ 2.4 แสดงวัชพืชร้ายแรงในประเทศไทย

ลำดับ	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์
1	ผักโขมหนาม	*Amaranthus spinosus*
2	หญ้าข้าวนก	*Echinochloa curs – galli*
3	หญ้านกสีชมพู	*Echinochloa colonum*
4	หญ้าคา	*Imperata cylindrica*
5	หญ้าโขย่ง	*Rottboellia cochinchinensis*
6	แห้วหมู	*Cyperus rotundus*
7	ผักปราบ	*Commelina spp.*
8	ไมยราบยักษ์	*Mimosa pigra*
9	สาบเสือ	*Eupatorium odoratum*
10	ผกากรอง	*Lantana camara*

ที่มา : พรชัย เหลืองอาภาพงศ์, 2540

2.2.5 ผลเสียหายที่เกิดจากวัชพืช

วัชพืชที่ขึ้นแข่งขันกับพืชปลูกนั้น เป็นตัวการสำคัญที่ทำให้พืชปลูกได้รับความเสียหายทั้งทางตรงและทางอ้อม ดังนี้

1. วัชพืชทำให้ผลผลิตของพืชปลูกลดลง เนื่องจากวัชพืชแก่งแย่ง ปัจจัยในการเจริญเติบโตของพืชปลูก เช่น น้ำ ธาตุอาหาร และแสงแดด ทำให้พืชปลูกได้รับไม่เต็มที่ ผลผลิตก็ลดลงแต่จะลดลงมากน้อยขนาดไหนขึ้นกับชนิดของพืชปลูก ชนิดของวัชพืชและสภาพแวดล้อม

2. วัชพืชทำให้คุณภาพของผลผลิตลดลง ถ้ามีเมล็ดหรือเศษวัชพืชเจือปน จะทำให้ขายผลผลิตได้ราคาต่ำลง นอกจากนี้การปลูกเพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์ ถ้ามีเมล็ดวัชพืชเจือปนเกินกำหนดก็จะไม่ผ่านมาตรฐาน

3. วัชพืชเป็นที่อาศัยของโรคแมลงและสัตว์ศัตรูพืช สภาพแปลงปลูกพืชที่มีวัชพืชขึ้นแข่งขัน รกรุงรัง อาจทำให้พืชปลูกได้รับผลกระทบทางอ้อม โดยเป็นแหล่งอาศัยของโรค แมลงและสัตว์ศัตรูข้าว ซึ่งจะทำให้เกิดอันตรายแก่พืชปลูก และต้องเพิ่มต้นทุนในการป้องกันกำจัดศัตรูข้าวเหล่านั้นด้วย

4. วัชพืชทำให้เกิดปัญหาในด้านการจัดการแปลงและเก็บเกี่ยว ถ้ามีวัชพืชขึ้นรกรุงรังเป็นจำนวนมาก ทำให้การเตรียมแปลงลำบาก การจัดการน้ำไม่มีประสิทธิภาพ การเก็บเกี่ยวไม่สะดวก เกิดความล่าช้า

2.2.6 หลักการป้องกันกำจัดวัชพืช

หลักการการป้องกันกำจัดวัชพืชมี 3 อย่าง ดังนี้

1. การป้องกัน (prevention)

เป็นการป้องกันไม่ให้วัชพืชจากที่อื่นแพร่ระบาดเข้ามาในพื้นที่หนึ่งๆ ซึ่งอาจเป็นแปลงปลูกพืชในตำบล อำเภอ จังหวัด ภาค หรือประเทศ ส่วนขยายพันธุ์ของวัชพืชที่สามารถแพร่กระจายจากที่หนึ่งไปยังที่หนึ่งก็ คือ เมล็ด และส่วนขยายพันธุ์อื่นๆ เช่น ราก เหง้า หัว ไหล และลำต้น ส่วนต่าง ๆ เหล่านี้

จะมีการแพร่กระจายออกเมื่อมีอายุแก่ และลักษณะพิเศษที่ช่วยในการมีชีวิตอยู่ที่ยาวนาน ตัวการสำคัญที่ทำให้เกิดการแพร่ระบาดดีขึ้น ก็คือ มนุษย์ สัตว์ ลมและน้ำ

2. การควบคุม (control)

การควบคุมเป็นการกระทำที่ลดการรบกวนแก่งแย่งแข่งขันของวัชพืชในการปลูกพืชหรืออีกนัยหนึ่งก็คือ การลดผลเสียหายของวัชพืชที่เกิดแก่พืชปลูกให้น้อยที่สุด ปริมาณการควบคุม จะต้องพิจารณาถึงราคาต้นทุน และปริมาณความเสียหายที่เกิดขึ้น ซึ่งในบางกรณีอาจไม่จำเป็นต้องควบคุมให้สมบูรณ์ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ แต่ทำเพียงระดับที่เหมาะสมที่สุดเท่านั้น

3. การทำลาย (eradication)

เป็นการทำลายให้หมดสิ้น ซึ่งหมายถึงการทำให้ส่วนต่าง ๆ ของวัชพืชพวกลำต้น ใบดอก ราก เมล็ด และส่วนขยายพันธุ์อื่น ๆ หมดสิ้นไปในพื้นที่นั้น ๆ อย่างสิ้นเชิง การทำลายวัชพืชให้หมดสิ้นไปจากพื้นที่ก็เพื่อเป็นการป้องกันการแพร่กระจายไปที่อื่น และป้องกันการเพิ่มขยายพันธุ์ในพื้นที่เดิมด้วย วิธีการทำลายอาจกระทำได้หลายแบบ เช่น การใช้เครื่องจักรกล การใช้สารเคมี ตลอดจนการเขตกรรมด้วยวิธีการต่างๆ

2.2.7 วิธีการป้องกันกำจัดวัชพืช

เมื่อมีวัชพืชขึ้นแข่งขันในแปลงปลูกพืช จำเป็นต้องหาทางป้องกันกำจัดเพื่อลดการแก่งแย่งแข่งขัน หรือลดปริมาณให้อยู่ในระดับต่ำกว่า จุดวิกฤต โดยไม่จำเป็นต้องควบคุมให้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ก็ได้ เพราะอาจจะไม่คุ้มทุน วิธีป้องกันกำจัดวัชพืชมีหลายวิธี ซึ่งอาจจะมีข้อดีข้อเสีย ตลอดจนข้อจำกัดแตกต่างกันไป ต้องเลือกใช้ให้เหมาะสมกับสถานการณ์

1. **การป้องกันกำจัดโดยวิธีกล** (Mechanical control) เป็นการกำจัดวัชพืชโดยใช้แรงงานคน แรงงานสัตว์ การใช้เครื่องทุนแรง การใช้ไฟเผาและการใช้วัสดุคลุมดิน

2. **การป้องกันกำจัดโดยวิธีเขตกรรม** (cultural control) เป็นการปฏิบัติเพื่อลดปัญหาการแข่งขันจากวัชพืช เช่น การจัดการน้ำ การปลูกพืชคลุมดิน การปลูกพืชหมุนเวียน การปลูกพืชแซมและการจัดการปุ๋ย

3. **การป้องกันกำจัดโดยชีววิธี** (Biological control) เป็นการใช้สิ่งมีชีวิตมาควบคุมวัชพืช เช่น แมลง โรคพืช และสัตว์

4. **การป้องกันกำจัดโดยใช้สารเคมี** (Chemical control) เป็นการใช้สารเคมีมาควบคุมวัชพืช หรือที่เรียกว่า สารกำจัดวัชพืช (herbicide) ปัจจุบันมีการใช้อย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีประสิทธิภาพสูง สะดวก รวดเร็ว แต่ต้องใช้ให้ถูกวิธีจึงจะได้ผลดี และไม่เป็นอันตรายต่อผู้ใช้ และสภาพแวดล้อม

5. **การป้องกันกำจัดโดยวิธีผสมผสาน** (Integrated control) การป้องกันกำจัดวัชพืชโดยวิธีใดวิธีหนึ่ง อาจจะไม่สามารถแก้ปัญหาวัชพืชได้อย่างสมบูรณ์ หรือคุ้มค่า เพราะแต่ละวิธีมีข้อดีข้อเสียและข้อจำกัดแตกต่างกัน ถ้านำหลายวิธีมาผสมผสานกันอย่างสอดคล้องเหมาะสม จะทำให้การกำจัดวัชพืชได้ผลดีและมีประสิทธิภาพการที่จะเลือกวิธีการใดมาใช้ร่วมกันต้องคำนึงถึงสภาพพื้นที่ ความพร้อมของผู้ใช้ ง่ายต่อการปฏิบัติตลอดจนสภาพทางเศรษฐกิจและสังคม ทั้งนี้ต้องพิจารณาถึงจุดวิกฤตที่จำเป็นต้องกำจัดวัชพืชด้วย (อาทิตย์ กุคำอู และพิสิฐ พรหมนารท. 2545)

2.3 พืชที่ใช้ในการศึกษา

พืชที่นำมาใช้ในการวิจัยคือ **มะพอก** ข้อมูลอนุกรมวิธานที่สำคัญของพืชประกอบด้วยชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อวงศ์ ชื่อพื้นเมือง ลักษณะทั่วไป ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ และประโยชน์ดังนี้

รูปที่ 2.6 มะพอก
(http://www.dnp.go.th/Pattani_botany/http://www.wangtakrai.com)

มะพอก

1. ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Parinari anamense* Hance
2. ชื่อวงศ์ : CHRYSOBALANACEAE
3. ชื่อพื้นเมือง : พอก กระท้อนรอก (ตราด) จัด จั๊ด (ลำปาง) ตะเลาะ เหลอะ (ส่วย สุรินทร์) ตะโลก (เขมร สุรินทร์) ท่าลอก (พิษณุโลก นครราชสีมา ปราจีนบุรี) ประดงไฟ ประดงเลือด (ราชบุรี) มะคลอก (สุโขทัย อุตรดิตถ์) มะมื่อ หมักมื่อ (เหนือ) หมักมอก (พิษณุโลก) หมากรอก (ประจวบคีรีขันธ์)
4. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลำต้น : สูง 10 – 20 เมตร ลำต้นเปลือกสีน้ำตาลแตกเป็นร่อง กิ่งอ่อนมีขนสีน้ำตาลปกคลุม

ใบ : ใบรูปรีหรือรูปไข่ กว้าง 3 – 6.5 เซนติเมตร ยาว 4 – 10 เซนติเมตร ปลายใบมนหรือแหลม โคนใบ กลมหรือรูปหัวใจตื้นๆขอบใบเรียบ แผ่นใบเหนียวคล้ายแผ่นหนัง ผิวใบด้านบนเกลี้ยง ด้านล่างมีขนนุ่ม สีขาวหนาแน่น เส้นใบ 12 – 13 คู่ ชัดเจนทั้งสองด้าน

ดอก : ดอกเป็นช่อแบบ panicle ออกที่ปลายกิ่ง มีขนหนาแน่น ดอกขนาดเล็ก ฐานแบบ hypanthium หนา ปลายแยกเป็นกลีบเลี้ยง กลีบดอก 5 กลีบ สีขาว เกสรเพศผู้ 6 – 15 อัน สมบูรณ์ 6 – 7 อัน รังไข่มีขน สีน้ำตาลปกคลุมหนาแน่น

ผล : ผลรูปร่างไม่แน่นอนมักเป็นรูปกลม รีหรือเกือบกลม เมื่อแก่สีน้ำตาลผิวมีจุดสีขาวหรือเทาทั่วไป

5. ประโยชน์ : ด้านสมุนไพร เนื้อไม้ รสเฝื่อนเมา ต้มดื่มแก้ประดงผื่นคันตามตัว แก้ปวดแสบปวดร้อน แก้น้ำเหลืองเสีย น้ำมันจากผลใช้ทากระดาษทำร่ม ผสมกับสมุนไพรอื่น แก้หืด เปลือกต้นประคบแก้ช้ำใน แก้บวม เนื้อไม้ กระพี้สีเหลืองอ่อน แก่นสีชมพูเรื่อ ๆ เนื้อค่อนข้างละเอียด เสี้ยนตรงและสม่ำเสมอ เหนียวพอประมาณ เลื่อยไสกบ ตกแต่งไม่ยาก ใช้ทำกระดาน ฝา ฝ้า ผล เนื้อเยื่อภายในใช้รับประทานได้ เมล็ด เนื้อในเมล็ดใช้รับประทานน้ำมันจากเมล็ด ใช้ทาเครื่องเขินให้เป็นเงา ทากระดาษร่มกันน้ำซึม ใช้เป็นส่วนของสารเคลือบธนบัตร ให้มีความทนทานเป็นเงาและเนื้อกระดาษไม่ติดกัน

2.4 การเก็บและการเตรียมตัวอย่างพืช

2.4.1 การเก็บตัวอย่างพืช รัตนา อินทรานุปกรณ์ (2547 : 59-60) กล่าวโดยสรุปดังนี้

1. พืชที่จะนำมาสกัด ต้องมีการตรวจเอกลักษณ์ให้ถูกต้อง เพราะพืชหลายชนิดมีลักษณะคล้ายกันหรือมีชื่อพ้องกัน โดยเฉพาะพืชที่หายากและขาดแคลน ต้องตรวจสอบอย่างรอบครอบ

2. การเลือกเก็บพืชที่สมบูรณ์ มีอายุตามชนิดของพืช สามารถออกดอกออกผลที่มีจำนวนมากพอ เพื่อให้ได้สารสกัดที่มากพอดังนี้

2.1 รากและเหง้า เก็บหลังจากที่พืชเจริญเติบโตเต็มที่แล้วและหยุดการเจริญเติบโตหากเป็นพืชล้มลุกควรเก็บเมื่อต้นตาย

2.2 เปลือกต้น เก็บในระยะเวลาที่พืชเจริญเติบโตเติมที่

2.3 ใบและดอก เก็บก่อนที่พืชจะออกดอกหรือก่อนที่ดอกจะบาน

2.4 ดอก เก็บขณะที่ดอกกำลังจะบานหรือก่อนถึงเวลาผสมเกสร

2.5 ผล เก็บเมื่อผลเจริญเติบโตเต็มที่แต่ยังไม่สุกหรือเมื่อสุกเต็มที่ ตามชนิดของพืช

2.6 เมล็ด เก็บเมื่อแก่เต็มที่แล้ว แต่ควรเก็บก่อนที่ผลจะแตกออก

3. เก็บตัวอย่างให้ถูกฤดูกาลของพืชแต่ละชนิด เช่น พวก ขิง ข่า กระชายดำ จะมีเหง้าอยู่ใต้ดิน ในฤดูฝนเหง้าจะมีน้ำปริมาณมาก ทำให้มีปริมาณสารระเหยต่ำ ดังนั้นจึงควรเก็บเกี่ยวในช่วงฤดูแล้ง จะได้ปริมาณสารระเหยที่มากกว่า

4. วิธีการเก็บตัวอย่างต้องเหมาะสมต่อการนำไปแยกสกัดสาร พืชบางชนิดต้องสกัดสด หรือบางชนิดต้องสกัดแห้ง

5. เก็บตัวอย่างในปริมาณที่มากพอ เพื่อเก็บไว้เป็น Original Sample ซึ่งการเก็บจะต้องมีการจดบันทึกข้อมูลที่เกี่ยวข้อง เช่น วันเวลา ฤดูกาลที่เก็บ สถานที่เก็บ เป็นต้น

6. ถ้าต้องการเก็บตัวอย่างจากร้านค้าและผลิตภัณฑ์ ต้องระวัง สิ่งปลอมปน การใช้ชื่ออื่นมาอ้าง และชื่อพ้องกัน

7. เมื่อเก็บตัวอย่างมาแล้วต้องการทำตัวอย่างแห้ง ต้องใช้อุณหภูมิที่เหมาะสม เพื่อป้องกันการเสื่อมสภาพของสารออกฤทธิ์

2.4.2 การเตรียมตัวอย่างพืช

1. การเตรียมตัวอย่างแบบสด พืชสดสามารถสกัดสารออกฤทธิ์ได้ดี โดยนำพืชสดมาต้มกับแอลกอฮอล์เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ และป้องกันไม่ให้สารเคมีในพืชเกิดการเปลี่ยนแปลง

2. การเตรียมตัวอย่างแบบแห้ง เป็นการป้องกันการเน่าเสียจากจุลินทรีย์ และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่อยู่ในพืชสด การเตรียมตัวอย่างแบบแห้งควรทำให้แห้งด้วยวิธีที่รวดเร็วและใช้อุณหภูมิต่ำ เพราะอุณหภูมิที่สูงจะทำให้สารสำคัญเกิดการเปลี่ยนแปลงได้

3. ระยะเวลาที่ใช้ในการทำให้พืชแห้งโดยทั่วไปดอก ใบ และยอด จะใช้อุณหภูมิที่ 20-40 องศาเซลเซียส ส่วนเปลือกและรากจะใช้อุณหภูมิที่ 30-35 องศาเซลเซียส

4. พืชแห้งควรเก็บในที่แห้งมืดเย็นและมีอากาศหมุนเวียนและไม่เก็บไว้เป็นเวลานาน

2.4.3 การทำให้ตัวอย่างมีขนาดเล็กลง

การสกัดพืชต้องย่อยตัวอย่างให้มีขนาดให้เล็กลง (comminution or pulverization) เนื่องจากสารสำคัญจะอยู่ภายในเซลล์ในสภาพผลึกหรือผงละเอียด เมื่อได้สัมผัสกับน้ำยาสกัดที่เหมาะสมองค์ประกอบเหล่านั้นจะละลายออกมา โดยการบดพืชให้เป็นผงละเอียดเพื่อทำลายผนังเซลล์และเพิ่มพื้นที่ผิวของพืชที่จะสัมผัสกับน้ำยาสกัด การสกัดจะสมบูรณ์ ถ้าเซลล์แตกออกและน้ำยาสกัดเข้าไปสัมผัสสารสำคัญได้มากที่สุด

1. การหั่นหรือตัดพืชแห้งควรตัดตามยาว (longitudinal cut) หรือตัดเป็นรูปสี่เหลี่ยม (rectangular or cubical cut) ก่อนบด (grinding) โดยใช้เครื่องบดแบบต่างๆ ตามชนิดของวัตถุดิบและขนาดที่ต้องการหลังการบด เช่น เครื่องบดชนิดค้อน(driven hammer mill) เหมาะสำหรับย่อยขนาดพืชที่แตกหักง่าย เช่นรากหรือหัว ขนาดของพืชที่ได้ขึ้นอยู่กับขนาดของตระแกรงที่ใช้ ส่วนสารที่มีขนาดใหญ่จะหมุนเวียนกลับไปย่อยอีก จนได้ขนาดที่เล็กพอที่จะลอดผ่านรูตะแกรง หรือเครื่องบดชนิดตัด (cutting mills) เหมาะสำหรับย่อยใบ เปลือกไม้ และรากที่เหนียวมีเส้นใย ขนาดของพืชที่ต้องการลดขนาดขึ้นกับขนาดของตะแกรงที่ใช้และความเร็วของมอเตอร์ที่ใช้หมุนใบมีด เป็นต้น

2. พืชสดทำได้โดยการหั่น (slicing) โดยใช้มีด หรือพืชที่แช่ในแอลกอฮอล์อาจใช้เครื่องปั่น (waring blender) เป็นต้น นอกจากนี้อาจทำการย่อยเนื้อเยื่อพืชโดยใช้เอนไซม์ (enzyme disintegration) หรือโดยใช้สารเคมี (chemical disintegration)

3. การลดขนาดของพืชให้เป็นผงละเอียดควรคำนึงถึงโครงสร้างของพืชเป็นหลัก ถ้าเป็นโครงสร้างแข็งแรง ซึ่งน้ำยาสกัดแทรกซึมเข้าไปได้ยาก เช่น รก เนื้อไม้ ควรบดให้มีขนาดเล็กกว่าส่วนที่มีโครงสร้างอ่อนนุ่ม ซึ่งน้ำยาสกัดแทรกซึมเข้าไปได้ง่าย เช่น ใบ ดอก การบดพืช

4. การย่อยสมุนไพรให้มีขนาดเล็กมากจนเกินไปจะเกิดผลเสียได้ คือทำให้กิดปัญหาในการอุดตันเครื่องกรองในขบวนการสกัด และทำให้ได้องค์ประกอบที่ไม่ต้องการมากขึ้นอันเนื่องมาจากเซลล์แตกมากเกินไป ซึ่งบางครั้งทำให้สารสกัดขุ่น ขนาดของผงพืชที่เหมาะสมหาได้จากการทดลองซึ่งเป็นขนาดที่ทำให้ได้สารสกัดที่มีองค์ประกอบสำคัญสูงสุด

2.5 เทคนิคการสกัดสารจากพืช

การสกัดสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบจากสมุนไพร(Extraction of Active Constituents from Medicinal Plant) ในเบื้องต้นโดยใช้ตัวทำละลาย(solvent)จะได้สารสกัดหยาบ (crude extract) โดยสารสกัดหยาบนี้เป็นของผสมขององค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพรซึ่งจะมีองค์ประกอบที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (pharmacologically active constituents) และองค์ประกอบที่ไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (pharmacologically inactive constituents) ซึ่งชนิดและปริมาณขององค์ประกอบใน

สารสกัดขึ้นอยู่กับสมุนไพรและสภาวะที่ใช้ในการสกัด วัตถุประสงค์ของการสกัดนั้นเพื่อแยกสารสำคัญออกจากสมุนไพร และทำให้ความเข้มข้นของสารสำคัญมีสูงขึ้น และเพื่อลดขนาด (dose) ของการใช้สมุนไพรให้อยู่ในปริมาณที่เหมาะสม (รัตนา อินทรานุปกรณ์. 2547) สรุปดังนี้

2.5.1 มาเซอเรชัน (Maceration) เป็นการหมักสมุนไพรกับตัวทำละลายจนเนื้อเยื่อของสมุนไพรอ่อนนุ่มและตัวทำละลายสามารถแทรกซึมเข้าไปละลายองค์ประกอบภายในผงสมุนไพรออกมาได้ การหมักสมุนไพรควรทำในภาชนะที่มีฝาปิดสนิทในตัวทำละลายที่เหมาะสม จะทำเป็นเวลานาน 7 วัน หรือจนกระทั่งองค์ประกอบที่ต้องการละลายออกมาหมด ในระหว่างที่หมักผงสมุนไพรอยู่นั้นควรเขย่าเป็นครั้งคราวเพื่อเพิ่มอัตราเร็วของการสกัด เมื่อครบกำหนดเวลาจึงกรอง แยกกาก (marc) ออกจากตัวทำละลาย วิธีการสกัดนี้เหมาะสมกับพืชที่มีโครงสร้างหรือเนื้อเยื่อที่ไม่แข็งแรงมากนัก เช่น ใบ ดอก ซึ่งทำให้อ่อนนุ่มได้ง่าย จัดเป็นวิธีที่ใช้ตัวทำละลายน้อย และเนื่องจากเป็นวิธีการที่ไม่ใช้ความร้อน จึงเหมาะสมกับการสกัดสารที่ไม่ทนต่อความร้อน แต่วิธีการสกัดนี้มักจะไม่สมบูรณ์เนื่องจากไม่ค่อยมีการเคลื่อนที่ของตัวทำละลาย เมื่อสารในสุมนไพรละลายออกมาถึงระดับหนึ่งจะเกิดความสมดุลขององค์ประกอบภายในสมุนไพรและตัวทำละลายที่ใช้ ทำให้อัตราเร็วของการสกัดชะงักลง จึงไม่เหมาะที่จะใช้สกัดในกรณีที่ต้องการสกัดสารสำคัญจากสมุนไพรจนสมบูรณ์

การสกัดแบบมาเซอเรชันใช้เวลานาน จึงมีผู้ดัดแปลงใช้มิกเซอร์ (mixer) หรือโฮโมจีไนเซอร์ (homogenizer) มาช่วยทำให้เซลล์พืชแตกออกมาก่อนทำการสกัด เพื่อลดระยะเวลาการสกัด ต่อมาพัฒนาใช้เสียงที่มีความถี่สูงเกิน 20,000 เฮิรตซ์ ร่วมในการสกัดเรียกวิธีนี้ว่า การสกัดอัลตราซาวน์ (ultrasound extraction) แต่วิธีหลังนี้อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของน้ำไปเป็นเพอร์ออกไซด์ ซึ่งอาจมีผลต่อการสกัด นอกจากนี้อาจทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) ต่อสารโดยตรง เพราะขณะที่ใช้การสกัดอัลคราซาวน์ทำให้เกิดช่องว่างและมีอากาศแทรกเข้าไปในตัวทำละลาย

2.5.2 เพอร์โคเลชัน (Percolation) เป็นการปล่อยให้ตัวทำละลายไหลผ่านผงสมุนไพรอย่างช้าๆ พร้อมกับละลายสารสำคัญออกมาโดยใช้เครื่องเพอร์โคเลเตอร์ (percolator) วิธีการทำเพอร์โคเลชัน คือนำผงสมุนไพรมาหมักกับตัวทำละลายก่อน 1 ชั่วโมง เพื่อให้พองตัวเต็มที่แล้วค่อยๆ บรรจุผงทีละชั้นลงในเพอร์โคเลเตอร์ ซึ่งมีลักษณะเป็นคอลัมน์ (column) ปลายเปิดทั้ง 2 ด้าน โดยด้านบนจะกว้างกว่าด้านล่าง เพื่อความสะดวกในการบรรจุผงสมุนไพร ส่วนปลายด้านล่างปิดเปิดได้ เพื่อที่จะสามารถควบคุมอัตราการไหลของสารสกัดหรือเพอร์โคเลตจากเพอร์โคเลเตอร์ได้ เติมตัวทำละลายหรือตัวทำลาย (menstrumm) ลงไปให้ระดับตัวทำละลายสูงเหนือสมุนไพร (solvent head) ประมาณ 0.5 cm ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จึงปล่อยตัวทำละลายไหลผ่านผงสมุนไพรในอัตราเร็วที่พอเหมาะ พร้อมกับเติมตัวทำละลายใหม่ลงไปเรื่อยๆ อย่าให้แห้งเก็บเพอร์โคเลตจนการสกัดสมบูรณ์โดยการตรวจสอบจากเพอร์โคเลตส่วนสุดท้าย นำเพอร์โคเลตที่เก็บได้ทั้งหมดรวมกันนำไปกรอง

วิธีเพอร์โคเลชันจัดเป็นวิธีการสกัดที่ดีสำหรับการสกัดสารจากสมุนไพรแบบสมบูรณ์และไม่ต้องใช้ความร้อน แต่วิธีนี้มีข้อเสีย คือเปลืองตัวทำละลายและใช้เวลานาน จึงมีการดัดแปลงโดยใช้เพอร์โคเลเตอร์ต่อกันหลายตัว และให้มีการเคลื่อนที่ของตัวทำละลายเข้าหากัน

2.5.3 การสกัดแบบต่อเนื่อง(Continuous extraction) โดยการใช้ซอกซ์เลตเอกแทรกเตอร์ (soxhlet extractor) ซึ่งเป็นระบบปิด โดยใช้ตัวทำละลายซึ่งมีจุดเดือดต่ำ เมื่อได้รับความร้อนจากฮีทติงแมนเทิล (heating mantle) หรือหม้ออังไอน้ำ ตัวทำละลายในภาชนะระเหยขึ้นไปแล้วกลั่นตัวลงมาในทิมเบอร์ (thimble) ซึ่งบรรจุสมุนไพรไว้ ตัวทำละลายจะผ่านผงสมุนไพรซ้ำแล้วซ้ำอีกไปเรื่อยๆ จนกระทั่งองค์ประกอบในสมุนไพรถูกสกัดออกมา เมื่อตัวทำละลายในเอกซ์แทรกติงแชมเบอร์

(extracting chamber) สูงถึงระดับจะเกิดกาลักน้ำ สารสกัดจะไหลกลับลงไปในภาชนะวนเวียนเช่นนี้จนกระทั่งการสกัดสมบูรณ์

วิธีการสกัดแบบต่อเนื่องนี้เหมาะสมสำหรับการสกัดองค์ประกอบที่ทนต่อความร้อนและใช้ตัวทำละลายน้อย ไม่สิ้นเปลืองแต่มีข้อเสียคือ ไม่เหมาะที่จะใช้กับองค์ประกอบที่ไม่ทนต่อความร้อน และตัวทำละลายที่ใช้ไม่ควรเป็นของผสม เพราะจะเกิดการแยกตัวทำละลายแต่ละชนิดเนื่องจากมีจุดเดือดต่างกัน จะมีผลให้สัดส่วนของตัวทำละลายแตกต่างไปจากเดิม และผลการสกัดที่ไม่ดี

2.5.4 การสกัดน้ำมันหอมระเหย (extraction of volatile oil) มีหลายวิธี เลือกใช้ตามความเหมาะสมของพืชที่ใช้ ดังนี้

4.1 การกลั่น (distillation) ในทางอุตสาหกรรมมี 3 วิธี คือ

การกลั่นโดยใช้น้ำ (water distillation) ใช้กับพืชแห้งซึ่งไม่ถูกทำลายเมื่อต้ม เนื่องจากพืชที่นำมากลั่นจะแช่อยู่ในน้ำเดือดทั้งหมดตลอดระยะเวลาการกลั่น วิธีนี้ใช้กลั่นน้ำมันจากเปลือกไม้ เช่น กลั่นน้ำมันสน (turpentine oil) จากยางสน เป็นต้น

การกลั่นโดยใช้น้ำและไอน้ำ (water and steam distillation) ใช้ได้กับพืชสดและแห้ง ซึ่งอาจถูกทำลายได้ง่ายเมื่อถูกต้ม เช่น กานพลู จะบดให้เป็นผง เติมน้ำให้ท่วมผ่านไอน้ำเข้าไป ส่วนที่กลั่นได้จะมีทั้งน้ำมันและน้ำ ทำการแยกน้ำมันออกมา การกลั่นวิธีนี้สะดวกที่สุดและใช้กันอย่างกว้างขวางในการผลิตน้ำมันในทางการค้า

การกลั่นโดยใช้ไอน้ำ (steam distillation) วิธีนี้ใช้กับพืชสด เช่น สะระแหน่ โดยนำพืชสดมาวางบนตะแกรง แล้วผ่านไอน้ำเข้าไปโดยตรง โดยไม่ต้องมีการหมักพืชด้วยน้ำก่อน จัดเป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว และค่าใช้จ่ายน้อย

4.2 การบีบหรือการอัด

การบีบหรือการอัด (expression)ใช้กับน้ำมันหอมระเหยที่ใช้วิธีการกลั่นไม่ได้ เนื่องจากถูกทำลายได้ง่ายเมื่อถูกความร้อน เช่น น้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้ม ได้แก่ น้ำมันผิวมะนาว (lemon oil) น้ำมันผิวส้ม (orange oil)

การบีบที่นิยมคือ วิธีเอกคิวเอล (ecuelle method) ซึ่งใช้กับน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้ม (citrus oil) โดยเอาผลไปบีบบนรางที่มีเข็มแหลมๆ อยู่เข็มต้องยาวพอที่จะแทงผ่านผนังชั้นนอก (epidermis) เพื่อให้ต่อมน้ำมันแตกออกมา น้ำมันจะหยดลงไปในรางซึ่งเก็บน้ำมันได้

4.3 วิธีเอ็นฟอยเรนซ์

วิธีเอ็นฟอยเรนซ์ (enfleurange) ใช้กับน้ำมันหอมระเหยของกลีบดอกไม้ต่างๆ เป็นวิธีที่เก็บความหอมได้ดี แต่ก่อนใช้ในอุตสาหกรรมทำน้ำหอม (perfume) วิธีนี้จะใช้ไขมัน (fat) หรือน้ำมันไม่ระเหย (fixed oil) ที่ไม่มีกลิ่นเป็นตัวดูดซับ [ส่วนใหญ่ใช้ไขมันวัว (beef tallow) ร้อยละ 40 กับไขมันหมู (lard) ร้อยละ 60] โดยนำตัวดูดซับมาแผ่เป็นแผ่นบางๆ แล้วเอากลีบดอกไม้มาวางเรียงบนตัวดูดซับนาน 24 ชั่วโมง แล้วเปลี่ยนกลีบดอกไม้ใหม่ ทำเช่นนี้เรื่อยๆ จนตัวดูดซับเอาน้ำมันหอมระเหยมากพอ จึงเอาตัวดูดซับมาสกัดเอาน้ำมันหอมระเหยออกด้วยแอลกอฮอล์

4.4 การสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย

การสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย (extraction with solvent) ตัวทำละลายที่นิยมใช้มากที่สุดคือ ปิโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether) อาจใช้ตัวทำละลายอื่น เช่น แอซีโทน (acetone) เมทานอล แอลกอฮอล์ เป็นต้น วิธีนี้จะควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในช่วงไม่เกิน 50 องศาเซลเซียส ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับการกลั่นที่ต้องใช้อุณหภูมิสูง ทำให้องค์ประกอบทางเคมีเปลี่ยนแปลง และมีกลิ่นผิดไป

จากธรรมชาติได้ จึงนำวิธีการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายนี้มาใช้ในทางอุตสาหกรรม แต่ต้นทุนการผลิตสูงกว่าวิธีการกลั่น

2.5.5 การทำสารสกัดให้เข้มข้น

รัตนา อินทรานุปกรณ์ (2547 : 101-102)กล่าวถึงการทำสารสกัดให้เข้มข้น(concentration) สรุปได้ดังนี้ สารสกัดอย่างหยาบที่ได้จะมีปริมาตรมากและเจือจาง ทำให้นำไปแยกองค์ประกอบได้ไม่สะดวกและไม่มีประสิทธิภาพ จึงต้องนำมาทำให้เข้มข้นเสียก่อนด้วยวิธีการต่างๆ ดังนี้

1. การระเหย (Free evaporation) เป็นการนำตัวทำละลายออกจากตัวละลาย โดยใช้ความร้อนจากหม้ออังไอน้ำ (water bath) หรือแผ่นความร้อน (hot plate) วิธีนี้อาจทำให้องค์ประกอบในสารสกัดสลายตัวได้เนื่องจากอุณหภูมิสูงเกินไป และหากใช้สารอินทรีย์ (organic solvent) ในการสกัด การระเหยโดยให้ความร้อนโดยตรง (direct heat) บนแผ่นความร้อน อาจเกิดอันตรายได้ง่าย นอกจากนี้ควรคำนึงถึงอุณหภูมิที่จะทำให้เกิดการสลายตัวของสาระสำคัญ เมื่อใช้ความร้อน

2. การกลั่นในภาวะสุญญากาศ (Distillation in vacuo) เป็นวิธีที่นิยมมากที่สุดเป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากตัวทำละลายสกัดโดยการกลั่นที่อุณหภูมิต่ำ พร้อมทั้งลดความดันลงให้เกือบเป็นสุญญากาศ(vacuum pump) เครื่องมือนี้เรียกว่า rotary evaporator ซึ่งประกอบด้วยส่วนต่างๆ 3 ส่วน คือ ภาชนะบรรจุสารสกัดอย่างหยาบที่จะกลั่น (distillation flask) ส่วนคอนเดนเซอร์หรือส่วนควบแน่นไอสารละลาย (condenser) และภาชนะรองรับสารละลายหลังการกลั่น (receiving flask) โดยสารสกัดอย่างหยาบซึ่งบรรจุในภาชนะแช่อยู่ในหม้ออังไอน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิได้และจะหมุน (rotate) ตลอดเวลาที่ทำงาน เพื่อให้มีการกระจายความร้อนอย่างทั่วถึงและสม่ำเสมอ ภาชนะบรรจุสารสกัดอย่างหยาบนี้จะต้องต่อเข้ากับส่วนควบแน่น ซึ่งมีระบบทำความเย็นหล่ออยู่ตลอดเวลา ปลายของส่วนควบแน่นจะมีภาชนะรองรับ โดยทั้งระบบจะต้อเข้ากับระบบสุญญากาศ สารละลายที่ระเหยออกจากภาชนะบรรจุจะควบแน่นที่บริเวณคอนเดนเซอร์และหยดลงมาในภาชนะรองรับสารละลายหลังการกลั่นซึ่งสารละลายดังกล่าวสามารถนำไปทำให้บริสุทธิ์และนำกลับมาใช้ใหม่ได้

3. การทำให้แห้ง (drying) เป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากตัวทำละลายจนแห้งได้สารสกัดออกมาในสภาพของเข็งหรือกึ่งของแข็ง มีหลายวิธี เช่น การใช้ความเย็น (lyophilizer หรือ freeze dryer) หรือการใช้ความร้อน (spray dyer)

4. อัลตราฟิลเทรชั่น (ultrafiltration) เป็นการนำสารสกัดด้วยน้ำ ทำให้เข้มข้นโดยใช้แผ่นเมมเบรน (membrane) ใช้กับสารที่มีน้ำหลักโมเลกุล (molecular weight) สูงกว่า 5,000

2.6 พฤกษเคมีและการตรวจสอบ

2.6.1 พฤกษเคมี

รัตนา อินทรานุปกรณ์ (2547 : 19-55) และจาก http://cyberlab.lh1.ku.ac.th/elearn/faculty/agriculture/agri02/lesson.htm กล่าวโดยสรุปดังนี้

สารที่พบในพืชประกอบด้วย สารปฐมภูมิ (Primary Constituents) และสารทุติยภูมิ (Secondary Constituents) สารปฐมภูมิประกอบด้วยแป้ง โปรตีน ไขมัน เซลลูโลส ส่วนสารทุติยภูมิเป็นสารที่พืชสร้างจาก Intermedial basic metabolism มีสมบัติเป็นสารออกฤทธิ์ มีโครงสร้างง่ายๆ ไม่ซับซ้อน สารทุติยภูมิกลุ่มที่มีฤทธิ์ทางเคมี (Chemotaxonomy Group) ประกอบด้วยแอลคาลอยด์

(Alkaloid) ไกลโคไซด์ (Glycoside) แทนนิน (Tannins) ฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) สเตอรอยด์ (Steroid) เทอร์ปีนอยด์ (Terpenoid) น้ำมันหอมระเหย (Essential oil) ยางไม้ (Gums) และอื่นๆ

1. แอลคาลอยด์เป็นสารประกอบเฮเทอโรไซคลิกที่มีไนโตรเจน มีสมบัติเป็นเบส พบในพืช มีโครงสร้างซับซ้อนแตกต่างกัน มีรสขม ไม่ละลายน้ำ ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ สามารถสกัดด้วยกรดอ่อน เมื่อนำสารสกัดไปทำปฏิกิริยากับเบสจะได้แอลคาลอยด์อิสระ ใช้เป็นเป็นยาระงับปวด ยาชาเฉพาะที่ ยาแก้ไอ ยาแก้หอบหืด ยารักษาแผลในกระเพาะและลำไส้ ยาลดความดัน ยาควบคุมการเต้นของหัวใจ แอลคาลอยด์ส่วนมากมีผลต่อความว่องไวเชิงสรีรวิทยา เช่น อะโทรเพน (Atropane) โคเคน (Cocatine) มีสมบัติคล้ายสารเสพติด และเป็นยาแก้ปวด ควินิน (Quinine) รักษาโรคมาลาเรีย

2. ไกลโคไซด์เกิดจาก aglycone หรือ genin จับกับส่วนที่เป็นน้ำตาล (glycone part) ละลายน้ำได้ดี ไกลโคไซด์จำแนกตามโครงสร้างของ aglycone ได้หลายประเภท เช่น คาร์ดิเอ็ก ไกลโคไซด์ (Cardiac glycisides) แอนทราควิโนน ไกลโคไซด์ (Antraw quinonne glycosides) ซาโปนิน ไกลโคไซด์ (Saponin glycosides) ไซยาโนเจนนิติก ไกลโคไซด์ (Cyanogenatic glycosides) ไอโซไทโอไซยาเนท ไกลโคไซด์ (Isothiocyanate glycosides) ฟลาโวนอล ไกลโคไซด์ (Favonol glycoside) แอลกอฮอลิค ไกลโคไซด์ (Alcoholic glycosides)

3. แทนนินพบในพืช มีโครงสร้างโมเลกุลซับซ้อน เป็นกรดอ่อน มีรสฝาด เมื่อรวมกับโปรตีนจะให้สารที่ไม่ละลายน้ำ ใช้เป็นยาฝาดสมาน ยาแก้ท้องเสีย ช่วยรักษาแผลไฟไหม้และใช้ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง ถ้ารับประทานเป็นประจำอาจทำให้เกิดมะเร็งได้ สมุนไพรที่มีแทนนิน เช่น เปลือกทับทิม เปลือกอบเชย ใบฝรั่ง เมื่อทาผิวหรือเยื่อบุอ่อนที่เป็นโรค หรือได้รับอันตราย แทนนิน จะสร้างฟิล์มปกคลุม ทำให้ผิวไม่ไวต่อความรู้สึกเจ็บปวด จะหยุดการหลั่งสารและทำให้หายคัน

4.ฟลาโวนอยด์ เป็นสารมีสีเช่นสารสีแดง (carthamim) จากดอกคำฝอย สารสีเหลือง (luleolin) จากดอกสายน้ำผึ้ง

5. สเตอรอยด์เป็นสารที่มีสูตรโครงสร้างเช่นเดียวกับฮอร์โมนและยาต้านอักเสบ นำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ยา

6. เทอร์ปีนอยด์ พบมากในพืช เป็นองค์ประกอบสำคัญของน้ำมันหอมระเหย เช่น ลิโมนีน (limonene) ซิโทรเนลลอล (citronellol) เป็นต้น

7. น้ำมันหอมระเหย เป็นของเหลวมีกลิ่นหอมเฉพาะ ระเหยได้ในอุณหภูมิห้อง เบากว่าน้ำ สามารถสกัดออกมาจากส่วนของพืชได้โดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำหรือการบีบใช้เป็นสารแต่งกลิ่นในอุตสาหกรรม เครื่องสำอาง และ สมุนไพร และใช้ขับลม ฆ่าเชื้อโรค

8. ยางไม้ เป็นของเหนียวที่พบในพืช จะไหลออกมาเมื่อพืชถูกกรีด บางชนิดนำมาใช้ในการเตรียมยาจำพวกอีมัลชั่นในทางเภสัชกรรม เช่น กัมอะเคเชีย (gum acacia) และกัมทรากาคานท์ (gum tragacanth)

9. สารอื่นๆ ไขมัน คาร์โบไฮเดรต โปรตีน กรดอะมิโน เอ็นไซม์ วิตามิน เรซิน และบาลซัม

2.6.2 การตรวจสอบประเภททางพฤกษเคมี

รัตนา อินทรานุปกรณ์ (2547 : 19-55) และชุติมา ลิ้มมัทวาภิรัติ์ กล่าวโดยสรุปดังนี้

การตรวจสอบประเภทของสารออกฤทธิ์ของผลิตภัณฑธรรมชาติจากพืช ต้องทราบว่าปฏิกิริยาการตรวจสอบเหลานี้ไมจำเพาะเจาะจง และการใหผลบวกก็เปนเพียงการบอกถึงประเภทของสารผลิตภัณฑธรรมชาติบางชนิดเทานั้น เพราะสารประกอบบางชนิดมีโครงสรางคลายกันแต่เป็นสารตางกลุมกันจะใหผลบวกลวง ในอีกแงหนึ่งการใหผลลบก็อาจเกิดจากสารประกอบที่นำมาทดสอบมีความเขมขนต่ำเกินไป หรือมีปริมาณไมพอตอการตรวจสอบดวยสารเคมี การตรวจสอบเบื้องตนทางพฤกษเคมี ดังนี้

2.6.1.1 การตรวจสอบด้วยปฏิกิริยาการเกิดสีหรือการเกิดตะกอน

โดยการนำสารตัวอย่างมาทำปฏิกิริยาเคมีจะปรากฏสี หรือเกิดการขุ่น (turbidity) หรือเกิดตะกอน เป็นวิธีที่มีความไว (sensitive) สูง แต่ไม่จำเพาะเจาะจงกับกลุ่มสารเคมีและต้องระวังปริมาณน้ำยาตรวจสอบที่ใช้และภาวะที่เหมาะสม

1. กลุ่มคาร์โบไฮเดรต

ใช้ปฏิกิริยามอลลิช (Molisch's test) การเกิดวงแหวนสีมวงแดงที่รอยตอระหวางชั้นของเหลวกับ Molisch reagent การตรวจสอบสมบัติการเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing agent) ของโมโนแซคคาร์ไรด์ และไดแซ็กคาร์ไรด์ ใช้สารละลายเฟทลิ่ง (Fehling's solution) ถ้ามีจะเกิดตะกอนแดงของคิวปรัสออกไซด์ (cuprous oxide)

การตรวจสอบน้ำตาลดีออกซี (deoxysugar) ใช้ปฏิกิริยาเคอเลอขคิเลียนี (Keller-Kiliani test) โดยละลายน้ำตาลในกรดน้ำส้มที่มีสารเฟอริกคลอไรด์ (ferric chloride) ละลายอยู่เล็กน้อย เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น ถ้ามีน้ำตาลดีออกซีจะเห็นสีน้ำตาลแดงเกิดขึ้นตรงรอยต่อของชั้นสารละลายและจะค่อยๆเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน

2. กลุ่มแอลคาลอยด์

อัลคาลอยเปนสารที่มีฤทธิ์เปนดางและมีไนโตรเจนเปนองคประกอบในโมเลกุล true alkaloids ตองมีไนโตรเจนอยูใน heterocyclic ring และมีสูตรโครงสรางทางเคมีที่ซับซอน สามารถตรวจสอบดวยน้ำยาทดสอบเบื้องตน เชน Dragendorff's reagent (potassium bismuth iodide) เกิดตะกอนสีแดงอิฐหรือสีสม Kraut's reagent (potassium bismuth iodide) เกิดตะกอนสีสมน้ำตาลแดง Marme's reagent (potassium cadmium iodide) เกิด ตะกอนสีขาว และ Hager's reagent (picric acid) เกิดตะกอนสีเหลือง ทั้งนี้สารที่ใชตรวจสอบอัลคาลอยด เชน Mayer reagent, Dragendorff reagent, Wagner reagent และ Ammonium reineckate จะใหผลบวกลวงกับ coumarins, polyphenols, purines, amino acids, proteins และสารประกอบไนโตรเจนชนิดอื่น ๆ ซึ่งมักพบไดในสาร สกัดจากพืช ในทางตรงกันขามอัลคาลอยดไมทุกชนิดที่อาจพบไดในสารสกัดจากพืชจะใหผลบวกกับสารทดสอบเหลานี้ เพราะลักษณะเฉพาะหรือคุณสมบัติเฉพาะของโครงสรางทางเคมี

3. กลุ่มไกลโคไซด์

3.1 กลุ่มคาร์ดิแอกกลุ่มไกลโคไซด์

ภายในโครงสรางทางเคมีประกอบดวย steroids nucleus, unsaturated lactone ring และ rare sugar ซึ่งมีความสำคัญในการแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพ การตรวจสอบแตละสวนของโครงสรางทำไดดังนี้

1. Steroid nucleus ใชวิธี Liebermann-Burchard test ใหสีฟาหรือเขียว สารทดสอบตองแหงและปราศจากน้ำ

2. Unsaturated lactone ring ตรวจสอบดวย Kedde reagent หรือ Raymond reagent ใหสีมวง น้ำเงิน หรือ Baljet reagent ใหสีสม-แดง

3. Deoxy sugar ตรวจสอบดวย Killer-Kailiani test ใหวงแหวนสีมวงแดงที่รอยต่อระหวางชั้นของเหลว ทั้งนี้สารประกอบหลายชนิดในกลุม sesquiterpene lactones และ cardiacglycosides ที่มีโครงสราง เปน unsaturated lactones จะใหผลบวกกับการทดสอบดวย Kedde reagent, Baljet reagent และ Legal reagent

3.2 กลุ่มซาโปนินไกลโคไซด์

ซาโปนินไกลโคไซด์เป็นสารกลุ่มใหญ่ที่มีโครงสร้างทางเคมีแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม ตามชนิดของอะไกลโคน (aglycone) คือ สเตียรอยดอลซาโปจินิน (steroidal sapogenin) และไทรเทอร์พีนอยด์ซาโปจินิน (triterpenoid sapogenic) การตรวจสอบเบื้องต้น จากการเกิดฟองเมื่อเขยากับน้ำ ฟองรูปหกเหลี่ยมจะคงอยูนานกวา 15 นาที และคุณสมบัติการทำใหเม็ดเลือดแดง แตกออก นอกจากนี้ยังตรวจสอบดวย Liebermann-Burchard test โดย steroidal saponins ใหสีฟา-เขียว ในขณะที่ triterpenoid saponins ใหสีมวงแดง

3.3 กลุ่มแอนทราควิโนนไกลโคไซด์

สารในกลุมนี้ประกอบดวยสวนของ aglycone ของanthraquinones และน้ำตาล ซึ่ง anthraquinones มีคุณสมบัติละลายไดดีในดาง แลวเกิดเปนสีชมพูหรือแดง ดังนั้นจึง ไฮโดรไลซ anthraquinone glycosides ดวยกรดหรือดาง หรือ $FeCl_3$ หรือ sodium dithionate ใหกลายเปน aglycone ของ anthraquinones แลวจึงสกัดออกมาดวยตัวทำละลายอินทรีย จากนั้นนำชั้นตัวทำละลายอินทรียมาทดสอบกับดางจะพบสีชมพู-แดง การทดสอบนี้เรียกวา Borntrager test

3.4 กลุ่มไซยาโนจินิกส์ไกลโคไซด์

ทดสอบดวยวิธี Grignard test และ Guaiac-copper sulfate paper วิธีที่นิยมใช้กันมากคือวิธีที่ใช้กระดาษพิเครท เนื่องจากสามารถตรวจหากรดไฮโดรไซยานิกไดแม้ว่ามีปริมาณน้อยขนาด 1 ไมโครกรัมหรือต่ำกว่าได้ ในการจรวจหากรดไฮโดรไซยานิกมีข้อระวัง คือหากผลการตรวจสอบเป็นผลบวก มิได้หมายความว่าในพืชตัวอย่างนั้น มีไซยาโนจินิกไกลโคไซด์อยู่เป็นองค์ประกอบเสมอไป พืชนั้นอาจจะมีไซยาโนจีนิกไลปิด (cyanogenic lipid) ซึ่งจะถูกไฮโดรไลซ์ได้โดยเอนไซม์ไลเปส (lipase enzyme) ที่อยู่ในพืชนั้นและให้กรดนี้ออกมาหากผลการตรวจสอบให้ผลบวกตั้งแต่ช่วงเวลา 16-24 ชั่วโมง ในกรณีนี้กรดไฮโดรไซยานิกที่ถูกปล่อยออกมาส่วนใหญ่เกิดจากสารเคมีที่ระเหยได้ตัวอื่นๆ มากกว่าจะมาจากไซยาโนจีนิกไกลโคไซด์ สารเคมีเหล่านี้อาจเป็นพวกไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) หรือพวกอัลดีไฮด์ที่ระเหยได้ (volatile aldehydes) หรือแม้แต่พวกสารอินทรีย์ไทโอไซยาเนส (thiocyanates) และไนไทรต์ (nitrites) ก็ให้ผลบวกในการตรวจสอบเช่นเดียวกัน ฉะนั้นช่วงเวลาที่ถือว่าผลการตรวจสอบเป็นผลบวกควรอยู่ในช่วง 15 นาทีถึง 3 ชั่วโมงเท่านั้น

การตรวจหาไซยาโนจีนิกไกลโคไซด์ในพืชตัวอย่างควรทำการเปรียบเทียบกับพืชชนิดเดียวกัน แต่ใช้ภาวะเงื่อนไขที่แตกต่างกัน เช่น หลอดทดลองหนึ่งมีการเติมเอนไซม์อิมัลซิน(emulsion) กับ (linamarase) ลงไป แต่อีกหลอดหนึ่งไม่ต้องเติม เพื่อให้แน่ใจว่าผลการตรวจสอบเป็นผลบวกจริง เนื่องจากพืชบางชนิดถึงแม้จะมีไซยาโนจีนิกไกลโคไซด์เป็นองค์ประกอบจริง แต่อาจขาดเอนไซม์ เบตา-กลูโคซิเดสร่วมอยู่ในพืชนั้น จึงเติมเอนไซม์ทั้งคู่ลงในหลอดทดลองหลอดหนึ่งเพื่อเปรียบเทียบกัน จะช่วยในการตัดสินใจว่าผลการตรวจสอบนั้นเป็นผลบวกจริง

3.5 กลุ่มไอโซไทโอไซยาเนตไกลโคไซด์

การตรวจหาไอโซไทโอไซยาเนตไกลโคไซด์อาจตรวจในสภาพของไกลโคไซด์หรือตรวจหาผลิตภัณฑ์ของไกลโคไซด์จากการไฮโดรไลซิสของเอนไซม์ (enzymic hydrolytic products) เช่น ตรวจหาน้ำตาลกลูโคสหรือหมู่ซัลเฟตหรือโมเลกุลของไอโซไทโอไซยาเนต

การตรวจหาในสภาพไกลโคไซด์จัดเป็นวิธีที่นิยมและง่ายต่อการตรวจหา โดยนำพืชที่ต้องการมาต้มในแอลกอฮอล์เดือด เพื่อขจัดฤทธิ์ของเอนไซม์ จากนั้นทำการสกัดพืชด้วยน้ำต้มเดือดหรือเอทานอลหรือเมทานอล หากพืชมีองค์ประกอบเป็นพวกไขมันมากควรกำจัดไขมันออก แล้วทำให้เข้มข้นโดยเครื่องระเหยแห้งภายใต้ความดันต่ำ (rotary evaporator) และแยกให้ได้สารบริสุทธิ์ด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี (column chromatography) ซึ่งมีอะลูมินา (alumina) เป็นตัวดูดซับหรือมี เรซินชนิดแลกเปลี่ยนประจุลบได้ (anion exchange resin) เป็นตัวแลกเปลี่ยนไอออน นำไกลโคไซด์ที่ได้ไปทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกในสารละลายผสมของแอลกอฮอล์และน้ำ จากนั้นศึกษาเอกลักษณ์ของไอโซไทโอไซยาเนตไกลโคไซด์ด้วยเปเปอร์โครมาโทกราฟีหรือรงคเลขกระดาษ (paper chromatography) ในระบบตัวทำละลาย (solvent system) ของบิวทานอล-กรดแอซิติก- น้ำ (butanol-acetic acid-water) จากนั้นฉีดพ่นด้วย 0.2 โมลาร์ของ ซิลเวอร์ไนเทรต (silver nitrate) และอบให้แห้งด้วย 0.2 โมลาร์ของโพแทสเซียมไดโครเมต (potassium dichromate) ถ้าหากเป็นไอโซไทโอไซยาเนตไกลโคไซด์จะสังเกตเห็นจุดสีเหลือปรากฏขึ้นบนพื้นสีแดง

3.6 กลุ่มฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์

ฟลาโวนอยดแบงออกเปน typical flavonoids, related flavonoids และ miscellaneous flavonoids การตรวจสอบสารในกลุมนี้ ทำไดดังนี้

1. Shibata’s reaction หรือ Cyanidin test เปนการตรวจสอบโครงสรางหลักของฟลาโวนอยด หากมีโครงสรางเปน benzo-pyrone ที่เปนโครงสรางสวนสำคัญใน flavones, flavonols, flavanones, flavanonols และ isoflavones จะเกิดปฏิกิริยากับแมกนีเซียมโดยมีกรดไฮโดรคลอริก เขมขนชวยละลายแมกนีเซียมและเรงปฏิกิริยา ไดผลบวกเปนสารละลายสีสม แดง หรือชมพู

2. Pew test ใชหลักการเดียวกันกับ cyanidin test แตใชสังกะสีเปนตัวเรงปฏิกิริยา ผลบวกจะใหสารละลายเปนสี สม แดง แตสีที่เกิดขึ้นจางกวาวิธี cyanidin test

3. Ferric chloride (FCl_3) test เปนการตรวจสอบ phenolic group ในโครงสราง ซึ่งพบไดใน flavonoids, tannins, coumarins, quinones และสารที่ประกอบดวย phenolic group ผลบวกจะเกิดตะกอนหรือสารละลายมีสีเขียว น้ำเงิน หรือดำ

4. Bromine water เปนการตรวจสอบสารในกลุม proanthocyanidins ที่เปนองคประกอบใน condensed tannins ผลบวกเกิดตะกอนสีเหลือง ซึ่ง flavonoids กลุมอื่น ๆ จะใหผลลบ

5. Molisch's test เปนการทดสอบสารกลุมคารโบไฮเดรต หากพบน้ำตาลซึ่งเปนสวนหนึ่งของ glycosides จะพบวงแหวนสีมวงที่รอยตอระหวางชั้นของเหลว และในบางครั้งพบสีมวงกระจายอยูทั่วไปในชั้นลางที่เปนชั้นกรดซัลฟวริก เขมขน

6. การตรวจสอบโดยใชสารละลายกรดและดาง จะพบวาฟลาโวนอยดมีคุณสมบัติเปลี่ยนแปลงสีไดตามสภาพความ เปนกรดหรือดาง หากเปนสารกลุม anthocyanins เมื่ออยูในสภาวะกรดจะใหสีแดง และในสภาวะดางจะใหสีมวง หรือน้ำเงิน หากเปนสารกลุม chalcones และ aurones เมื่ออยูในสภาวะกรดจะใหสีแดง และในสภาวะดางจะใหสี สมหรือแดง ทั้งนี้สารในกลุมฟลาโวนอยดจะใหผลบวกกับ Shinoda test และกรดซัลฟวริก ในขณะที่สารพวก polyphenols ชนิดอื่นก็สามารถใหผลบวกลวงกับสารทดสอบเหลานี้ดวย

4. กลุ่มคูมาริน

คูมารินเปนสารที่มีโครงสรางพื้นฐานเปน benzo-pyrone หรือ phenylpropanoid lactone หรือ benzopyran-2-one ตรวจสอบดวยการนำสารสกัดดวยแอลกอฮอลมาละลายในเอธานอลแลวกรอง จากนั้นนำไปชุบดวยกระดาษ กรอง แลวจึงหยดดวย 10% NaOH จะพบการเรืองแสงที่ long wave UV (365 nm)

5. กลุ่มแทนนิน

แทนนิน เปนสารจำพวก polyphenols แบงออกเปน 3 กลุม คือ 1). hydrolyzable tannins ที่โครงสรางทางเคมี ประกอบดวย phenolic acids และน้ำตาล เมื่อตมในกรดหรือใชเอนไซมจะกลายเปน กรดและน้ำตาล 2). condensed tannins มีโครงสรางเปน oligomer หรือ polymer ที่มี monomer เปน catechins (flavan-3-ol) ซึ่งอาจจัดเปน proanthocyanidins ของ flavonoids เมื่อนำไปตมกับกรดจะเกิดตะกอนสีแดงที่เรียกวา phloba phene จึงเรียกสารเหลานี้วา phlobatannins และ 3). pseudotannins เปนสารเชิงเดี่ยวมีขนาดโมเลกุลเล็ก แทนนินมีฤทธิ์ฝาดสมานและ ตกตะกอนอัลคาลอยดได จึงทำใหอัลคาลอยดหมดฤทธิ์ทางชีวภาพ การตรวจสอบแทนนินอาศัยการเกิดตะกอนระหวาง แทนนินกับ gelatin, lead acetate, zinc acetate หรืออัลคาลอยด ได ดังนี้

1. การตรวจสอบดวย gelatin สารจำพวก true tannins จะเกิดตะกอนคงตัวกับ gelatin แตสารจำพวก pseudotannins จะเกิดตะกอนที่ไมคงตัว

2. การตรวจสอบดวย bromine water หากเปน condensed tannins จะเกิดสีเหลืองกับ bromine water

3. การตรวจสอบดวย $FeCl_3$ หากเปน hydrolyzable tannins จะเกิดตะกอนสีน้ำเงิน ในขณะที่ condensed tannins จะเกิดตะกอนสีเขียว สำหรับสารอื่น ๆ ที่ประกอบดวย phenolic group เชน flavonoids และ coumarins จะเกิดสี เขียวหรือน้ำเงิน ในขณะที่สารพวก polyphenols อื่น ๆ จะเกิดตะกอนสีน้ำตาลกับสารละลาย ferric chloride (5%) ในน้ำหรือเอธานอล

4. การตรวจสอบดวย vanillin reagent และกรดไฮโดรคลอริกเขมขน พบวา condensed tannins จะเกิดสีแดง

6. กลุ่มเทอร์พีนอยด์

การตรวจสอบเทอร์พีนอยด์อาศัยหลักการเกิดสีกับน้ำยาทดสอบบางชนิด เช่น น้ำยา 2,6-ได-เทอร์-บิวทิว-พารา-ครีซอลในเอทานอล (2,6-di-tert-butyl-p-cresol in ethanol) ใช้ตรวจสอบเพนตา

ไซคลิกไทรเทอร์พีนอยด์ (pentacyclic trirerpenoids) ให้สีม่วง หรือใช้น้ำยากรดคลอโรซัลโฟนิก (chlorosulfonic acid) ไทรเทอร์พีนอยด์ให้สีแดง เป็นต้น

2.6.1.2 การตรวจสอบโดยใช้ทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี

รัตนา อินทรานุปกรณ์ (2547 : 77-79) กล่าวไว้สรุปได้ดังนี้

ทินเลเยอร์โครมาโทกราฟีเป็นวิธีการตรวจสอบเอกลักษณ์ที่สะดวก รวดเร็ว และแม่นยำ โดยประเมินค่า R_f (Relative Front หรือ Retardation Factor) หรือค่าอัตราส่วนของระยะทางที่สารเคลื่อนที่กับระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ สีและความเข้มข้องสีเปรียบเทียบกับสารอ้างอิง (Reference substance) หรือสารมาตรฐาน (Standard substance) ในกรณีที่ไม่มีสารอ้างอิงหรือสารมาตรฐาน อาจใช้พิมพ์ลายนิ้วมือ (fingerprint) ของโครมาโทแกรม (chromatogram) ของสมุนไพรนั้น เนื่องจากไม่มีพืชใดที่มีองค์ประกอบและปริมาณสารที่เหมือนกันทุกอย่าง ทำให้ได้ลักษณะโครมาโทแกรมเฉพาะตัวของพืชนั้น

ตารางที่ 2.5 แสดงการตรวจสอบสารโดยใช้ทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี

สารประกอบ (Compound)	**ตัวดูดซับ (Adsorbent)**	**ระบบตัวทำละลาย (Solvent System)**	**น้ำยาตรวจสอบ (Detection Agent)**
น้ำมันหอมระเหย (essential oils)	ซิลิกาเจล (silica gel)	โทลูอีน: เอทิลแอซีเทต (toluene :ethyl acetate) 73:7	วานิลลิน : กรดซัลฟิวริก (vanillin : sulphuric acid) ให้สีแดงหรือน้ำเงิน
แอลคาลอยด์ (alkaloids)	ซิลิกาเจล (silica gel)	เมทานอล : คลอโรฟอร์ม (methanol chloroform) 85 : 15 หรือ โทลูอีน :เอทิลแอซีเทต: ไดเอทิลเอไมด์ (toluene : ethyl acetate : diethylamine) 70:20:10	น้ำยาดราเจนดอร์ฟ (Dragendorff's reagent) ให้สีส้ม
คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ (cardiac glycosides)	ซิลิกาเจล (silica gel)	เอทิลแอซีเทต : เมทานอล : น้ำ (ethyl acetate : methanol : water) 65:35:10 หรือ เอ็นบิวทานอล : กรดแอซีติก : น้ำ (n-buthanol : acetic acid :water) 4:1:5	น้ำยาเดคเด (Kedde reagent) ให้สีชมพู หรือน้ำเงินอมม่วงกับพวกคาร์ดีโนไลด์ (cardenolide) แอนติโมนีคลอไรด์ (antimony chloride) ให้สีน้ำเงินหรือเรืองแสงสีเหลืองอมเขียวที่ความยาวคลื่น 365 nm กับพวกบิวฟาไดอีโนไลด์ (bufadienolide)

ตารางที่ 2.5 แสดงการตรวจสอบสารโดยใช้ทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (ต่อ)

สารประกอบ (Compound)	ตัวดูดซับ (Adsorbent)	ระบบตัวทำละลาย (Solvent System)	น้ำยาตรวจสอบ (Detection Agent)
ซาโปนินไกลโคไซด์ (saponin glycosides)	ซิลิกาเจล (silica gel)	ไซโคลเฮกเซน : ไดเอทิลเอมีน (cyclohexane : diethylamine) 9:1 หรือ คลอโรฟอร์ม : โทลูอีน: คลอโรฟอร์ม :เมทานอล: น้ำ (chloroform :methanol :water) 64:50:10	วานิลลิน: กรดซัลฟิวริก (vanillin :sulphuric acid) ให้สีน้ำเงิน
แอนทราควิโนนไกลโคไซด์ (anthraquuinone glycosides)	ซิลิกาเจล (silica gel)	โทลูอีน : คลอโรฟอร์ม (toluene : chloroform) 9:11 หรือ โทลูอีน : แอซีโทน :คลอโรฟอร์ม (toluene : acrtone :chloroform) 40:25:35 หรือ แอซีเทต : เมทานอล : น้ำ(ethyl acetate:methanol:water) 100:13.5:10	ปฏิกิริยาบอนเทรเกอร์ (Borntraeger reaction) แอนทราควิโนนให้สีแดงหรือเรืองแสงสีแดงเมื่อใช้แสงอัลตราไวโอเลต (UV) 365 nm แอนโทรน (anthrone) ให้สีเหลืองหรือเรืองแสงสีเหลือง
ฟลาโวนอยด์ (flavonoids)	ซิลิกาเจล (silica gel)	คลอโรฟอร์ม :แอซีโทน : กรดฟอร์มิก (chloroform : acetone : formic acid) 75:16.5 :8.5 หรือ เอทิลแอซีเทต :เมทานอล :น้ำ (ethyl acetate : methanol:water) 100:13.5:10 หรือโทลูอีน : คลอโรฟอร์ม (toluene: chloroform) 9:11	เนเซอรัล โปรดักส์ (ไดฟีนิลโบริลออกซีเอทิลลามีน) -พอลีเอทิลีนไกลคอล) (natural products (dephenylboryloxyethylamine)-polyethylene glycol) แล้วส่องดูด้วยแสงอัลตราไวโอเลต (UV) –ถ nm เรืองแสงสีเหลือง ส้ม หรือเขียว
คูมารินไกลโคไซด์ (coumarin glycosides)	ซิลิกาเจล (silica gel)	โทลูอีน :แอซีโทน :คลอโรฟอร์ม (toluene :acetone: chloroform) 40 : 25:35 หรือ	โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (potassium hydroxide) หรือแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์

ตารางที่ 2.5 แสดงการตรวจสอบสารโดยใช้ทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (ต่อ)

สารประกอบ (Compound)	ตัวดูดซับ (Adsorbent)	ระบบตัวทำละลาย (Solvent System)	น้ำยาตรวจสอบ (Detection Agent)
		โทลูอีน:คลอโรฟอร์ม (toluene:chloroform) 9:11	(ammonium hydroxide) เรืองแสงสีน้ำเงินหรือเขียวที่ความยาวคลื่น 365 nm
อิริดอยด์ไกลโคไซด์ (iridoid glycosides)	ซิลิกาเจล (silica gel)	โทลูอีน : แอทิลแอซีเทต (toluene:ethyl acetate) 93:7 หรือ คลอโรฟอร์ม : กรดแอซีติก : น้ำ (chloroform : acetic acid : water) 80:10:5:2:6	กรดเกลือ-กรดแอซีติก (hydrochloric acid: acetic acid) ให้สีน้ำเงินหรือน้ำตาล
แทนนิน (tannin)	ซิลิกาเจล (silica gel)	เอ็น-บิวทานอล: กรดแอซีติก: น้ำ (n-butanol:acetic acid:water) 4:1:5 หรือ เอ็นบิวทานอล:โทลูอีน: เมทานอล : กรดแอซีติก : น้ำ (n-butanol: acetic acid:water) 80:10:5:2:6 หรือ เบนซีน:ไดออกเซน : กรดแอซีติก 90:25:4	1% เมทานอลิกเฟอร์ริกคลอไรด์ (1% methanolic ferric chloride) ให้สีเขียวหรือสีน้ำเงิน
แทนนิน (tannin)	ซิลิกาเจล (silica gel)	คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (chloroform: methanol) 95:5 เอทิลแอซีเทต :เมทานอล :น้ำ (ethyl acetate:methanol :water) 77:15:8	กรดซัลโฟนิก (chlorosulfonic acid) ให้สีแดง

ที่มา : รัตนา อินทรานุปกรณ์. 2547 : 77-79

2.7 เทคนิคการแยกสาร

เทคนิคทางโครมาโตกราฟีที่นิยมใช้แยกสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ไดแก่ Solid phase extraction (SPE) ,thin layer chromatography (TCL), column chromatography (CC) และ high performance liquid chromatography (HPLC) เป็นต้น ซึ่งการจะเลือกใช้เทคนิคใดนั้นจะขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ในการแยกสารและชนิดของสารที่เป็นองค์ประกอบทางเคมีในสารสกัด ดังจะกล่าวถึงในรายละเอียดต่อไปนี้ (ชุติมา ลิ้มมัทวาภิรัติ์) กล่าวโดยสรุปดังนี้

1. Solid phase extraction (SPE)

Solid phase extraction เป็นการแยกสารโดยให้สารที่สนใจติดค้างอยู่ในคอลัมน์ ในขณะที่สารที่ไม่สนใจหรือไม่ต้องการจะถูกชะออกมาจากคอลัมน์ จากนั้นจึงใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมชะสาร ที่สนใจให้ออกจากคอลัมน์ในภายหลัง โดยทั่วไปสารที่สนใจจะจับอยู่กับวัฏภาคคงที่ (Stationary phase) ซึ่งเป็นสารดูดซับ (adsorbent) ที่มีรูปร่างเป็นเม็ดเล็ก (bead) หรือเรซิน (rasin) ซึ่งอาจเป็นnormal phase, reverse phase หรือ ion-exchange media ก็ได้ และสามารถบรรจุไว้ในคอลัมน์ได้ซึ่งโดยทั่วไปมักเป็นไซริงค์ (syring) ตัวอย่างเช่น นำสารที่สกัดด้วยน้ำมาแยกด้วย SPE ที่มีวัฏภาคคงที่เป็น reverse phase พบว่าสารที่มีขั้วต่ำจะติดอยู่ในคอลัมน์แต่สารที่มีขั้วสูงจะถูกชะออกมาก่อน จากนั้นจึงใช้ตัวทำละลายที่มีขั้นต่ำชะสารที่ติดอยู่ในคอลัมน์ออกมา ซึ่งสารที่ถูกชะออกมานี้ค่อนข้างจะบริสุทธิ์ ในปัจจุบันได้มีการนำ SPEไปใช้ประโยชน์หลายด้าน เช่น การใช้แยกสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีขั้วต่ำ โดยสารที่ไม่มีขั้วหรือมีขั้วต่ำจะจับอยู่กับเรซินที่เป็น reverse phase การแยกสารโดยปรับความแรงของ eluting power ให้เพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ เพื่อชะสารออกมาเป็นลำดับตามความมีขั้ว ใช้ศึกษาความเหมือนกันของสารเนื่องจากสารที่มีโครงสร้างทางเคมีคล้ายคลึงกันจะจับกับวัฏภาคคงที่ได้เหมือนกัน และแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพได้เหมือนกันอีกด้วย จึงช่วยในการจัดสินใจว่าสารสกัดหยาบที่แยกด้วย SPE มาแล้วจะเป็นสารชนิดเดียวกันกับที่เคยแยกได้หรือไม่ นอกจากนี้ยังใช้ SPE เตรียมสารปริมาณมากให้บริสุทธิ์ขึ้น หรือนิยมใช้แยกสารสกัดหยาบก่อนที่จะแยกต่อไปด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟีชนิดอื่น ซึ่งการแยกในขั้นแรกด้วย SPE นี้เรียกว่า clean-up โดยจะแยกสารปนเปื้อนจำนวนมากออกไปจากสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่สนใจ เช่น การใช้ SPEกำจัดสารที่มีขั้วจำนวนมากที่ไม่ต้องการและมีที่มาจาก buffer salt หรือส่วนประกอบต่างๆ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นต้น ใช้SPE ในการเตรียมสารให้มีความเข้มข้นสูงขึ้น โดยผ่านสารละลายที่เจือจางลงไปในคอลัมน์ SPE จากนั้นชะสารที่ต้องการซึ่งติดค้างอยู่บนคอลัมน์ให้ออกมาโดยใช้ตัวทำละลายในปริมาณน้อยๆ นิยมใช้ SPE เพื่อเตรียมสารในปริมาณน้อยมาก เช่น เมแทบอไลท์ของยาในตัวอย่างเลือด สารปนเปื้อนจากสิ่งแวดล้อมในน้ำทะเล และสารสกัดหยาบจากสิ่งมีชีวิตในทะเล ให้บริสุทธิ์มากขึ้น ก่อนนำไปแยกต่อไปด้วยเทคนิคอื่นทางโครมาโทกราฟี

2. Thin layer chromatography (TCL)

Thin layer chromatography สามารถแย่งออกได้เป็น 2 ชนิด ตามลักษณะของวัฏภาคคงที่ คือnormal phase TCL และ reverse phase TCL หากเป็น normal phase TCL สารที่มีขั้วต่ำจะเคลื่อนที่ได้ไกลกว่าสารที่มีขั้วสูง ในขณะที่ reverse phase TCL สารที่มีขั้วสูงจะเคลื่อนที่ได้ไกลกว่าสารที่มีขั้วต่ำ โดยทั่วไปนิยมทดลองแยกตัวอย่างด้วย TCL เพื่อหาค่า R_f ที่เหมาะสมของตัวอย่างที่ต้องการแยกให้บริสุทธิ์ก่อนที่จะทำการแยกจริงด้วย column chromatography (CC) ค่า R_f ที่ดีจะต้องเป็น

ค่าที่ไม่ทำให้สารที่สนใจติดค้างอยู่จุดเริ่มต้นหรือเคลื่อนที่ด้ำกลเกินไปจนใกล้หรือคิดตัก solvent front เมื่อหาสภาวะของวัฏภาคเคลื่อนที่ได้เหมาะสมแล้วจึงนำตัวอย่างที่ต้องการแยกในปริมาณสูงขึ้นมาแยกในคอลัมน์ต่อไป อย่างไรก็ตามไม่สามารถนำสภาวะหรือสัดส่วนขององค์ประกอบของวัฏภาคเคลื่อนที่ที่ได้จาก TCL มาใช้กับ CC ได้โดยตรง เนื่องจากคอลัมน์เป็นการเคลื่อนที่แบบสองทิศทางและมีสมดุลเกิดขึ้นในคอลัมน์ แต่ TCL นั้นมีสมดุลระหว่างวัฏภาคเคลื่อนที่และวัฏภาคคงที่ซึ่งจะเปลี่ยนแปลงตลอดระยะทางที่สารเคลื่อนที่ ดังนั้นเมื่อต้องการนำสภาวะของวัฏภาคเคลื่อนที่ใช้ใน TLC ไปใช้ในการแยกสารด้วย CC จึงแนะนำให้ลดความมีขั้วของวัฏภาคเคลื่อนที่ที่ใช้ใน TLC ลงเล็กน้อย(ในกรณีที่วัฏภาคคงที่เป็น normal phase) และเพิ่มความมีขั้วของวัฏภาคเคลื่อนที่ทีใช้ใน TLC มากขึ้นเล็กน้อย (ในกรณีวัฏภาคคงที่เป็น reverse phase) เพื่อให้การแยกสารในคอลัมน์เกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์

R_f = ระยะทางที่สารเคลื่อนที่ / ระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่

โดยทั่วไปมักใช้ TLC ร่วมกับ densitometric detector เพราะเป็นเทคนิคที่มีความไวสูง แยกสารได้รวดเร็วสามารถใช้วิเคราะห์หาปริมาณสาร หรือใช้แยกสารเจือปนออกได้ นอกจากนี้ยังได้พัฒนามาเป็น high –performance TLC (HTLC) ซึ่งมีความหนาของวัฏภาคคงที่ที่บางลงและขนาดอนุภาคของวัฏภาคคงที่ที่เล็กลงด้วย จึงทำให้มีประสิทธิภาพในการแยกสารได้ดีขึ้น

3. Column chromatography (CC)

Column chromatography เป็นเทคนิคการแยกสารที่ภายในคอลัมน์จะบรรจุวัฏภาคคงที่ชนิดต่างๆ เอาไว้ เมื่อบรรจุ (load) สารตัวอย่างที่ต้อการแยกให้บริสุทธิ์ไปบนคอลัมน์แล้ว จึงชะสารออกจากคอลัมน์ตามแบนด์ (band) ที่ปรากฏอยู่ในคอลัมน์ด้วยวัฏภาคเคลื่อนที่ที่เหมาะสมต่อไป

การแยกสารตัวอย่างในคอลัมน์ออกเป็นแบนด์อาศัยหลักการของโครมาโตกราฟีซึ่งหมายถึงการกระจาย (distribution) ของสารระหว่างวัฏภาคเคลื่อนที่กับวัฏภาคคงที่ ดังสมการต่อไปนี้

$$K_D = \frac{[X]_{stationary\ phase}}{[X]_{mobile\ phase}}$$

ความสามารถในการแยกสารเกิดจากอันตรกิริยา (interaction) ของสารกับวัฏภาคคงที่และการแย่งกันจับกับวัฏภาคคงที่ระหว่างสารกับวัฏภาคเคลื่อนที่ วัฏภาคคงที่อาจเป็นของแข็งหรือของเหลวและวัฏภาคเคลื่อนที่อาจเป็นของเหลวหรือก๊าซ ซึ่งจัดเป็น liquid chromatography (CL) และgas chromatography (GC) ตามลำดับ นิยมใช้ GC โดยเฉพาะ Gas-liquid chromatography (GLC)

ในงานวิเคราะห์แต่ไม่สามารถใช้เทคนิคนี้แยกสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีโครงสร้างทางเคมีหลากหลายได้ทุกชนิด โดยทั่วไปสามารถแบ่ง LC ออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ คือ การแบ่งตามลักษณะทางกายภาพของระบบ ได้แก่ CC และ planar chromatography (TLC และ paper chromatography) สำหรับ countercurrent chromatography เป็นการแยกสารด้วยของเหลว 2 เฟสที่แบ่งออกเป็นวัฏภาคคงที่และวัฏภาคเคลื่อนที่ โครมาโทกราฟีส่วนมากมักบรรจุวัฏภาคคงที่ไว้ในคอลัมน์และมีวัฏภาคเคลื่อนที่เป็นของเหลว และการแบ่งตามลักษณะการแยกสารที่อาศัยแรงกระทำระหว่างโมเลกุล หรือลักษณะการแยกที่แตกต่างกัน เช่น การดูดซับ (adsorption) การแยกส่วน (partition) ประจุ (charge) ขนาด (size) และการจับกันของชีวโมเลกุล (biological affinity) เป็นต้น

การดูดซับ (adsorption) เป็นการแบ่งภาคหรือแยกส่วนของโมเลกุลระหว่างผิวหน้าของวัฏภาคคงที่กับวัฏภาคเคลื่อนที่ ณ ที่สมดุลพลวัต (dynamic equilibrium) ซึ่งจะมีสารเข้าและออกระหว่างวัฏภาคคงที่และวัฏภาคเคลื่อนที่ในปริมาณที่เท่าๆ กัน เรียกกระบวนการที่เกิดขึ้นนี้ว่า การดูดซับ(sorption) และการคาย(desorption) ตามลำดับ โดยอาศัยแรงทางพันธุเคมีที่เป็นแรงอ่อนๆ เช่น hydrogen bond , Van der Waals force และ dipole-dipole interaction สารที่นิยมนำมาใช้เป็นสารดูดซับ (adsorbent) จะต้องคงตัวและไม่เกิดปฏิกิริยาได้ง่าย เช่น silica, cellulose, styrene, divinylbenzene, alumina และ carbon เป็นต้น

การแยกส่วน (partition) เป็นการแบ่งภาคหรือแยกส่วนของสารที่อาศัยหลักการสกัดระหว่างของเหลวกับของเหลวโดยวัฏภาคคงที่เป็นของเหลวชนิดหนึ่งที่เคลือบอยู่บน solid support เช่น คอลัมน์ของ เซลลูโลสที่เคลือบด้วยน้ำ หรือ silica TLC plate ที่ดูดซับน้ำเอาไว้บนผิวหน้า ส่วนวัฏภาคเคลื่อนที่เป็นของเหลวอีกชนิดหนึ่งที่เข้ากันไม่ได้กับของเหลวที่เป็นวัฏภาคคงที่ จึงทำให้เกิดการสกัดระหว่างขั้นของของเหลว (liquid-liquid extraction) ซึ่งเป็นข้อดีของการแยกสารด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี อย่าไรก็ตามเทคนิคนี้ก็มีข้อเสียคือวัฏภาคคงที่ที่เป็นของเหลวจะถูกชะออกไปจากคอลัมน์พร้อมกับวัฏภาคเคลื่อนที่ และเกิดการละลายของวัฏภาคคงที่ได้

โดยทั่วไปแล้ววัฏภาคเคลื่อนที่ที่เป็นของเหลวมักเกิดพันธะเคมีกับตัวรองที่เฉื่อย (inert support) ได้เป็น bonded phase ซึ่งหมายถึงพันธะที่คงตัว เช่น พันธะระหว่าง silanol group (Si-OH) บน silica support กับ chlorosilane ซึ่งสารจำพวก silane มักเป็นสายไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon chain)ที่มีคาร์บอนมาเชื่อมต่อกันยาวประมาณ 1,2,6, 8 หรือ 18คาร์บอน ดังนั้น bonded phase chromatography หรือ modified partition chromatography จึงเป็นการแยกสารที่อาศัยหลักการร่วมกันระหว่างการแยกส่วน (partition) และการดูดซับ (adsorption) สำหรับความแตกต่างระหว่าง normal phase กับ reverse phase คือ normal phase มีวัฏภาคคงที่มีความเป็นขั้วสูงกว่าวัฏภาคเคลื่อนที่ ตัวอย่างเช่น silica column มี silanol group ที่มีขั้วสูงกว่าตัวทำละลายอินทรีย์ที่เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ ในขณะที่ reverse phase จะมีวัฏภาคคงที่ที่มีขั้วต่ำกว่าวัฏภาคเคลื่อนที่ เช่น สายไฮโดรคาร์บอนที่สร้างพันธะกับ silica support เป็นเสมือนวัฏภาคคงที่ที่มีขั้วต่ำและมีวัฏภาคเคลื่อนที่เป็นน้ำที่มีขั้วสูง ซึ่งอาจผสมกับตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ เช่น เมธานอลหรืออะซีโตไนไตร์ (acetonitrite) อย่างไรก็ตาม หากสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่กำลังแยกอยู่นั้นมีขั้วต่ำและไม่ชอบน้ำ มันจึงอาจติดค้างอยู่ในคอลัมน์ได้ ดังนั้นจึงแนะนำให้ติดตามการชะสารออกจากคอลัมน์โดยการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารที่อยู่ในส่วนสกัดต่างๆ ที่ถูกชะออกจากคอลัมน์ด้วย TLC เพื่อให้แน่ใจว่าไม่มีสารใดติดค้างอยู่ในคอลัมน์

ประจุ (charge) สารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติหลายชนิดเมื่อมีการปรับเปลี่ยนค่าพีเอชของสารละลายด้วยกรดหรือด่างอาจจะทำให้สารผลิตภัณฑ์ธรรมชาตินั้นถูกเปลี่ยนแปลงไปให้อยู่ในรูปของไอออนบวกหรือลบได้ ดังนั้นจึงนำคุณสมบัติการแตกตัวเป็นไอออนนี้มาใช้ในการแยกสารให้บริสุทธิ์ดังต่อไปนี้

3.1 Ion-exchange chromatography

เป็นเทคนิคการแยกสารที่วัฏภาคคงที่ประกอบด้วยเมทริกซ์ที่ไม่ละลาย (insoluble matrix) บนผิวหน้ามีหมู่ฟังก์ชันที่เป็นประจุลบหรือบวก ซึ่งหมู่ฟังก์ชันนี้จะสัมพันธ์กับไอออนตรงข้าม

(counter-ion) ที่มีประจุตรงกันข้าม หลักในการแยกสารขึ้นอยู่กับความสามารถของไอออนสารตัวอย่างที่แข่งขันกับไอออนตรงข้ามในการเข้าจับกับวัฏภาคคงที่ เรียกระบบที่มีวัฏภาคที่เป็นประจุลบและไอออนตรงข้ามเป็นประจุบวกว่า cation- exchange chromatography และเรียกระบบที่มีวัฏภาคคงที่เป็นประจุบวกและไอออนตรงข้ามเป็นประจุลบว่า anion-exchange chromatography การแยกสารที่เกิดขึ้นจากแต่ละโมเลกุลของสารตัวอย่างที่มีความแตกต่างกันที่ความแรงในการจับกับ exchange site จึงสามารถชะสารตัวอย่างออกมาตามลำดับโดยอาศัยการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของวัฏภาคเคลื่อนที่ซึ่งมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะการแตกตัวของสารที่มีประจุ หรือการเพิ่ม ionic concentration ของวัฏภาคเคลื่อนที่ที่มีผลเพิ่มการแย่งจับที่ exchange site และมีผลไล่ที่ไอออนของสารตัวอย่าง ความสามารถในการจับของสารตัวอย่างจะขึ้นอยู่กับธรรมชาติของไอออนสารตัวอย่างและหมู่ฟังก์ชันบน ion exchange rasin ไอออนสารตัวอย่างที่จับกับวัฏภาคคงที่ได้ดีจะอยู่ในคอลัมน์ได้นานและถูกชะออกมาช้ากว่า ในทางตรงกันข้ามไอออนสารตัวอย่างที่จับได้ไม่มีจะถูกชะออกมาเร็วกว่า

3.2 Ion-pair chromatography / ion-suppression chromatography

เป็นเทคนิคการแยกสารที่สามารถแยกไอออนสารตัวอย่างได้ด้วยวัฏภาคคงที่มีขั้วต่ำ เช่น reverse phase modified partition column โดยการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของวัฏภาคเคลื่อนที่เพื่อลดการแตกตัวเป็นไอออนของโมเลกุลสารตัวอย่าง ทำให้โมเลกุลของสารตัวอย่างมีความเป็นกลาง(ไม่มีขั้ว) และสามารถจับกับวัฏภาคคงที่ที่ไม่มีขั้วได้ ในทำนองเดียวกัน ion-pair chromatography จะมีวัฏภาคเคลื่อนที่ประกอบด้วยโมเลกุลสารอินทรีย์ขนาดใหญ่ที่มีหมู่ฟังก์ชันที่สามารถแตกตัวได้ (ionizable group) และมีส่วนที่ชอบไขมัน (lipophillic region) ซึ่งทำหน้าที่เป็นไอออนตรงข้าม (counter-ion) ที่จะทำให้เกิด reversible ion-pair กับสารตัวอย่าง โดยมี ionic modifier ทำหน้าที่จับคู่ (pairing) กับไอออนสารตัวอย่าง ในสารละลายแล้วทำให้เกิดสปีชีส์ที่ไม่มีขั้วที่สามารถแยกส่วน (partition) เข้าไปในวัฏภาคคงที่ที่มีหมู่ฟังก์ชันที่มีประจุแล้วเกิดเป็นคู่ไอออน (ion – pair) กับสารตัวอย่างได้ ข้อดีของเทคนิคนี้คือใช้แยกสารตัวอย่างที่มีขั้วและไม่มีขั้วได้ในระบบเดียวกัน

ขนาด (size) โครมาโทกราฟีที่แยกสารตามขนาดของโมเลกุลนั้นจะไม่อาศัยการจับกันระหว่างสารตัวอย่างและวัฏภาคคงที่ การแยกสารด้วยเทคนิค size exclusion chromatography จะครอบคลุมถึง gel permeation chromatography และ gel filtration ซึ่งมีลักษณะของ packing material เป็นเม็ดเล็ก (bead) ที่ทำจากโพลิเมอร์ เช่น polyacrylamide , agarose หรือ silica โดยมีระดับของ polymer crosslinking ช่วยควบคุมความพรุนของเม็ดเล็กเหล่านี้ โมเลกุลสารตัวอย่างที่มีขนาดใหญ่จะไม่สามารถผ่านเข้าไปในรูพรุนได้และจะถูกชะออกมาก่อนในขณะที่โมเลกุลสารตัวอย่างที่มีขนาดเล็กกว่าเส้นผ่าศูนย์กลางของรูพรุนจะสามารถแพร่เข้าไปในรูพรุนได้โมเลกุลสารตัวอย่างที่มีขนาดเล็กที่สุดจะสามารถแพร่เข้าไปในรูพรุนที่มีขนาดเล็กที่สุดได้ ที่ว่างใน cross-linked polymer ทำหน้าที่เสมือนวัฏภาคคงที่ ซึ่งโมเลกุลขนาดใหญ่ที่สุดจะถูกชะออกมาจากคอลัมน์ได้เร็วกว่าโมเลกุลขนาดเล็กและไหลออกมาในทิศทางตรง ซึ่งแทรกอยู่ระหว่างเม็ดเล็ก โมเลกุลที่มีขนาดรองลงมาจะมี diffusible volume มากกว่าทำให้ถูกชะออกมาได้หลายทิศทางและใช้เวลาในการชะออกมาจากคอลัมน์นานกว่าโมเลกุลขนาดใหญ่ โมเลกุลที่เล็กที่สุดสามารถแทรกเข้าไปในรูพรุนขนาดเล็กที่สุดได้และจะถูกชะออกมาทีหลังสุด size exclusion chromatography เป็นเทคนิคที่ทำได้ง่ายมากและไม่ทำลายโครงสร้างทางเคมีของสารตัวอย่าง ดังนั้นจึงนิยมใช้ในการแยกชีวโมเลกุลที่มีขนาด

โมเลกุลแตกต่าง กันมาก เช่น ใช้แยกโปรตีนที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ออกจากเมแทบอไลท์ที่มีขนาดโมเลกุลเกล็กกว่ามาก อย่างไรก็ตามเนื่องจากเมแทบอไลท์ทุติยภูมิมักมีขนาดโมเลกุลเล็กและมีขนาดโมเลกุลใกล้เคียง กันมาก ดังนั้นจึงไม่นิยมใช้ size exclusion chromatography ในการแยกสารเหล่านี้ ทั้งนี้ มีข้อยกเว้นสำหรับ Sephadex LH20 ที่ยังคงนิยมนำมาใช้แยกสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเพราะมีข้อดีที่สามารถใช้กับวัฏภาคเคลื่อนที่ที่ไม่ใช่น้ำ (nonaqueoese) ได้

การจับกันของสารชีวโมเลกุล (biological affinity) มีความสัมพันธ์กับเทคนิค affinity chromatography ซึ่งเป็นการแยกสารที่ขึ้นอยู่กับอันตรกิริยาอย่างจำเพาะเจาะจง(specific interaction) ของชีวโมเลกุล เช่น antibody-antigen interaction, enzyme-inhibitor interaction, DNA-DNA binding, DNA-protein interaction หรือ receptor –agonist/antagonist interaction โดยที่ลิแกนด์ (ligand) หรือรีเซปเตอร์ (receptor) จะจับกับ packing material ด้วยพันธะโควาเลนท์ (covalent bond) และทำหน้าที่เป็นวัฏภาคคงที่ ของผสมจะไหลผ่านคอลัมน์โมเลกุลที่มีความชอบจับอย่าจำเพาะเจาะจง (specific affinity) กับลิแกนด์จะถูกจับอยู่ในคอลัมน์ในขณะที่โมเลกุลอื่นที่ไม่มีความชอบจับอย่างจำเพาะเจาะจงจะถูกชะออกมาจากคอลัมน์ การชะสารทำได้โดยการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชและ/หรือองค์ประกอบของบัฟเฟอร์ซึ่งจะทำให้แรงที่จับกันระหว่างสารตัวอย่างและลิแกนด์นั้นอ่อนลง โดยทั่วไปแล้วการแยกสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจะหมายรวมถึงการแยกสารประกอบที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพอย่างจำเพาะเจาะจง ดังนั้นการแยกสารด้วยเทคนิคนี้จึงนับว่าเป็นแนวทางที่ดีในการแยกสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่อาศัยความจำเพาะเจาะจงทางชีวภาพ (biological specicity) อย่างไรก็ตามไม่สามารถแยกเมแทบอไลท์ทุติยภูมิในปริมาณมากด้วย affinity chromatography เนื่องจากเทคนิคนี้ทำได้ยากและต้องใช้เวลานานมากในการเตรียมลิแกนด์ที่เหมาะสมให้มีปริมาณเพียงพอต่อการแยกสารแต่ละครั้ง หากสารผสมเมื่อเริ่มต้นนั้นซับซ้อนเช่นในกรณีสารสกัดหยาบจากพืชหรือจุลินทรีย์ทีมักมีสารอื่นเข้ามารบกวนการแยกหรือขัดขวางการจับกันระหว่างรีเซปเตอร์และลิแกนด์ (receptor –ligand interaction) หรือสารเหล่านี้เข้าไปดูดซับแบบไม่จำเพาะเจาะจงกับวัฏภาคคงที่ จะทำให้การแยกสารไม่สมบูรณ์ และยิ่งไปกว่านั้นการได้สารกลับคืนมา(recovery) จะขึ้นอยู่กับแรงที่จับกันอย่างผันกลับได้ ซึ่งการรบกวนของสารหลายชนิดอาจขัดขวางการได้สารกลับคืนมาด้วย

4. Gradient high performance liquid chromatography (Gradient HPLC)

Gradient high performance liquid chromatography เป็นเทคนิคการแยกสารโดยอาศัยการเปลี่ยนแปลงความต่างระดับของความมีขั้ว (gradient) ของวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) ตลอดเวลา เพื่อแยกของผสมและชะองค์ประกอบทุกชนิดให้ออกมาจากคอลัมน์ตามลำดับความมีขั้ว การชะสารออกจากคอลัมน์ด้วย gradient elution มีข้อดีกว่า isocratic elution ซึ่งมีสัดส่วนของตัวทำละลายอินทรีย์คงที่ตลอดเวลา ตรงที่สามารถแยกสารที่มีขั้วใกล้เคียงกันมากออกจากกันได้อย่างสมบูรณ์ และสามารถแยกสารที่มีขั้วสูงและต่ำออกจากกันได้อย่างมีประสิทธิภาพและรวดเร็ว ในปัจจุบันได้มีการนำเทคนิคการคู่ต่อมาการใช้ประโยชน์ในการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบเป็นจำนวนมาก เช่น HPLC-UV, GC-MS, HPLC-MS และ HPLC-NMR เป็นต้น การวิเคราะห์สารที่แยกออกมาจาก HPLC column ด้วย UV และ NMR จะสามารถนำสารนั้นกลับคืนมาได้ ในขณะที่การวิเคราะห์ GC และ MS ไม่สามารถนำสารที่ถูกวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือดังกล่าวกลับคืนมาได้ อย่างไร

ก็ตามสารต่างชนิดกันอาจดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นเดียวกันได้ ทำให้ UV มีความจำเพาะเจาะจง (selectivity) ต่ำกว่า MS นอกจากนี้ MS ยังมีความไว (sensitivity) ที่สูงกว่า UV จึงสามารถวิเคราะห์สารในปริมาณต่ำมากได้ การแยกสารด้วย GC มีข้อด้อยกว่าการแยกด้วย HPLC เนื่องจาก GC เหมาะสำหรับการแยกสารที่สามารถระเหยได้และทนต่อความร้อน หากสารที่ต้องการแยกระเหยไม่ได้จะต้องเตรียมให้อยู่ในรูปของอนุพันธ์ที่ระเหยได้เสียก่อน จึงทำให้มีขั้นตอนที่ยุ่งยากและเสียเวลามาก ดังนั้นในปัจจุบันจึงมักพบว่า HPLC-MS เริ่มเข้ามามีบทบาทมากขึ้นในการศึกษาองค์ปีระกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบจากสิ่งมีชีวิตในธรรมชาติ

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

อุดมเดชา พลเยี่ยมและคณะ (2558) ศึกษาศักยภาพของสารสกัดจากมะหาด (*Artocarpus lakoocha* Roxb) ต่อการควบคุมการงอกและเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก (*Echinochloa crus-galli*) ซึ่งเป็นวัชพืชในนาข้าว โดยการนำผล เปลือก และใบของมะหาดมาทำการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิดคือ เฮกเซน เอทิลแอซิเตต และเมทานอล ได้สารสกัดหยาบทั้งหมด 9 ชนิด ประกอบด้วย สารสกัดหยาบจากผลด้วยเฮกเซน สารสกัดหยาบจากผลด้วยเอทิลแอซิเตต สารสกัดหยาบจากผลด้วยเมทานอล สารสกัดหยาบจากเปลือกด้วยเฮกเซน สารสกัดหยาบจากเปลือกด้วยเอทิล แอซิเตต สารสกัดหยาบจากเปลือกด้วยเมทานอล สารสกัดหยาบจากใบด้วยเฮกเซน สารสกัดหยาบจากใบด้วย เอทิลแอซิเตต และสารสกัดหยาบจากใบด้วยเมทานอล นำสารสกัดหยาบทั้งหมดมาทดสอบประเภทของพฤกษเคมี ทดสอบการยับยั้งการงอก ทดสอบการยับยั้งความยาวราก ทดสอบการยับยั้งความยาวลำต้น และทดสอบการยับยั้งน้ำหนักแห้งของหญ้าข้าวนก จากนั้นเลือกสารสกัดหยาบจากเปลือกด้วยเมทานอลซึ่งมีผลการยับยั้งดีที่สุด นำมาแยกโดยใช้เทคนิคทางคอลัมน์โครมาโตกราฟีจะได้สารทั้งหมด 11 ชั้น (F1 - F11 fraction) และนำมาทดสอบการยับยั้งการการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก พบว่าสารสกัดจากเปลือกของมะหาดที่สกัดด้วยด้วยเมทานอล ที่มีความเข้มข้น 3,000 ppm แสดงการยับยั้งการงอก การยับยั้งความยาวราก และการยับยั้งน้ำหนักแห้งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่สูงที่สุด และสารชั้นที่แยกจากสารสกัดหยาบจากเปลือกด้วย เมทานอล ชั้น F7 แสดงการยับยั้งการงอก การยับยั้งความยาวราก การยับยั้งความยาวต้น และการยับยั้งน้ำหนักแห้งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่สูงที่สุด

สุขุมาลย์ เลิศมงคล (2558) ศึกษาผลทางอัลลิโลพาธิกของผักเสี้ยนดอกม่วงต้นสดและต้นแห้งต่อการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนกและผักโขมหนาม พบว่าผลทางอัลลิโลพาธิกของผักเสี้ยนดอกม่วงต้นสดและต้นแห้งสกัดด้วยน้ำที่ระดับความเข้มข้น 1 5 10 และ 15 มก./มล. ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนกและผักโขมหนาม ผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากผักเสี้ยนต้นสด ความเข้มข้น 5, 10 และ 15 มก./มล. สามารถยับยั้งการงอก ความยาวราก ความยาวยอด และน้ำหนักแห้งของหญ้าข้าวนกและผักโขมหนาม 100% ส่วนความเข้มข้น 1 มก./มล. ส่งเสริมการงอกของหญ้าข้าวนกและผักโขมหนาม 78.64 และ 80% ตามลำดับ ส่งเสริมความยาวของราก ความยาวยอด และน้ำหนักแห้งของหญ้าข้าวนก 9.83 51.27 และ 57.43 % ตามลำดับ และผักโขมหนาม 14.05 59.52 และ 63.34 % ตามลำดับ สำหรับผักเสี้ยนต้นแห้งพบว่า ความเข้มข้น 15 มก./มล. สามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตได้มากที่สุด โดยมีฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกของหญ้าข้าวนกและผักโขมหนาม 61.47 และ 77.63% ตามลำดับ ยับยั้งความยาวราก 78.56 และ 82.71 % ความยาวยอด

79.61 และ 87.15 % และน้ำหนักแห้ง 63.19 และ 72.24 % ตามลำดับ แสดงว่าสารอัลลิโลพาธิกจากผักเสี้ยนต้นสดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตดีกว่าต้นแห้ง ผักเสี้ยนต้นสดที่อัตราความเข้มข้นต่างจะมีฤทธิ์ในการส่งเสริมการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนกและผักโขมหนาม ถ้าใช้ในอัตราความเข้มข้นสูงขึ้นจะมีฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโต ส่วนผักเสี้ยนต้นแห้งถ้าเพิ่มอัตราความเข้มข้นสูงขึ้นจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น ผักโขมหนามซึ่งเป็นวัชพืชใบกว้างจะได้รับผลกระทบมากกว่าหญ้าข้าวนกซึ่งเป็นวัชพืชใบแคบเล็กน้อย

บุญรอด ชาติยานนท์ (2557) ศึกษาผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบพืชวงศ์กะเพราบางชนิดต่อการงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้าหญ้าขจรจบดอกเหลือง (*Pennisetum setosum L.*) เพื่อเปรียบเทียบผลของสารสกัดหยาบด้วยน้ำจากใบแห้งของกะเพรา โหระพา แมงลักยี่หร่า และสะระแหน่ ที่อัตราส่วนความเข้มข้น 1:30 1:20 และ 1:10 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าหญ้าขจรจบดอกเหลือง (*Pennisetum setosum L.)* โดยใช้น้ำกลั่นเป็นชุดควบคุมผลการศึกษาพบว่าสารสกัดด้วยน้ำจากใบแมงลักมีผลต่อการยับยั้งการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าหญ้าขจรจบดอกเหลืองมากที่สุด ($p < .05$) เมื่อเปรียบเทียบผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบแมงลักสด และใบแมงลักแห้ง ที่อัตราส่วนความเข้มข้น 1:30, 1:20 และ 1:10 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ต่อการงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้าหญ้าขจรจบดอกเหลือง โดยใช้น้ำกลั่นเป็นชุดควบคุม พบว่า สารสกัดจากใบแมงลักมีผลทำให้การงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าหญ้าขจรจบดอกเหลืองลดลง ($p < .05$) และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดมากขึ้น สารสกัดจากใบแมงลักแห้ง มีผลยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าหญ้าขจรจบดอกเหลืองดีกว่าสารสกัดจากใบแมงลักสด การใช้สารสกัดจากใบแมงลักแห้งที่อัตราส่วน 1:10 ให้ผลในการยับยั้งการงอกของเมล็ดหญ้าขจรจบดอกเหลืองทั้งหมด (100 เปอร์เซ็นต์) จากการทดสอบผลของค่าศักย์ออสโมซิสของสารละลายต่อการงอกของเมล็ดหญ้าขจรจบดอกเหลือง โดยใช้สารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ แสดงให้เห็นว่า ค่าศักย์ออสโมซิสของสารสกัดจากใบแมงลักแห้งไม่มีผลต่อการยับยั้งการงอกของเมล็ดหญ้าขจรจบดอกเหลือง แสดงว่า ผลการยับยั้งของสารสกัดจากใบแมงลักแห้งเกิดจากสารเคมีบางชนิดที่มีอยู่ในใบพืชเอง

สุพัตรา คำเรียง (2557) ศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากข่าต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชปลูกและวัชพืชบางชนิด พบว่าสารสกัดหยาบจากข่า (*Alpinia galangal (Linn.) Swartz*) ที่แยกเป็น 2 ส่วน (fractions) โดยวิธี Column Chromatography นำมาทดสอบผลของสารสกัดต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชปลูก และวัชพืช 6 ชนิด ได้แก่ ข้าว ข้าวโพด ถั่วลิสง คะน้า หญ้าสาบม่วง และหญ้าข้าวนก ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการและเรือนทดลองของภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม โดยศึกษาสารสกัด fraction A และ fraction B ที่ระดับความเข้มข้น 1%, 3% และ 5% ผลทดลองพบว่า fraction A ที่ระดับความเข้มข้น 5% สามารถยับยั้งการงอกของข้าว ข้าวโพด ถั่วลิสง และคะน้า ได้ดีที่สุด ในขณะที่ fraction B ที่ระดับความเข้มข้น 5% สามารถยับยั้งการงอกของหญ้าสาบม่วงและหญ้าข้าวนกได้ดีที่สุด เมื่อศึกษาสารสกัดหยาบจากข่าที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตในส่วนของ ความกว้างใบ และความยาวต้นของพืชทั้ง 6 ชนิด พบว่า fraction A ที่ระดับความเข้มข้น 5% ยับยั้งได้ดีที่สุด รองลงมาคือ fraction B ที่ระดับความเข้มข้น 5% อย่างไรก็ตามอิทธิพลของสารสกัดหยาบทั้ง fraction A และ fraction B ที่

ระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้นมีผลต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชที่ทดสอบเพิ่มมากขึ้น และเป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์สารชีวภาพในการกำจัดวัชพืชโดยไม่มีผลกระทบต่อพืชปลูก

อุดมเดชา พลเยี่ยมและคณะ (2557) ศึกษาศักยภาพของสารสกัดจากมะเดื่อ (*Ficus hispida* Linn) ต่อการยับยั้งการงอก และการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก (*Echinochloa crus-galli*) ซึ่งเป็นวัชพืชในนาข้าว โดยนำเปลือก ใบและผล ของมะเดื่อ มาแยกสารโดยนำมาหมักและสกัดตามลำดับความมีขั้วของตัวทำละลาย ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ คือ เฮกเซน เอทิลแอซิเตต และเมทานอล จะได้สารสกัดหยาบ 9 ชนิด นำสารสกัดหยาบมาการทดสอบประเภทของพฤกษเคมี ทดสอบการยับยั้งการงอก การยับยั้งความยาวราก การยับยั้งความยาวลำต้น และการยับยั้งน้ำหนักแห้งของหญ้าข้าวนก และเลือกสารสกัดหยาบที่มีผลการยับยั้งดีที่สุดมาแยกชั้นโดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟีจะได้สารแต่ละชั้น(fraction) และนำมาทดสอบการยับยั้งการการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนกผลการวิจัยพบว่า 1. สารสกัดจากเปลือก ใบ และ ผลของมะเดื่อที่สกัดด้วยด้วย เมทานอลที่มีความเข้มข้น 3,000 ppm แสดงการยับยั้งการงอก การยับยั้งความยาวราก การยับยั้งความยาวต้น และการยับยั้งน้ำหนักแห้งในเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่สูง 2. สารสกัดจากเปลือก ใบ และผลของมะเดื่อที่สกัดด้วยเมทานอล เมื่อแยกชั้นสารด้วยเทคนิคคอลัมม์โครมาโทกราฟฟี่พบว่าเมื่อนำสารสกัดจากของมะเดื่อที่สกัดด้วยด้วย Methanol ไปแยกชั้นพบว่าสารสกัดชั้น F 5F8 และ Fแสดงการยับยั้งการงอก การยับยั้งความ 2 ยาวราก การยับยั้งความยาวต้น และการยับยั้งน้ำหนักแห้งในเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่สูง

อัญชลี จาละ (2556) ศึกษาผลของสารอัลลีโลพาทีจากต้อยติ่งที่มีต่อการงอกของเมล็ดไมยราบ ผักเสี้ยนผี และผักโขมหิน พบว่ามีผลต่อการงอกของเมล็ดวัชพืชได้แก่ ไมยราบ ผักเสี้ยนผี และผักโขม เมล็ดวัชพืชเหล่านี้หลังจากได้รับสารสกัดจากส่วนของราก ลำต้น และใบของต้อยติ่งที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (0, 20, 40, 60, 80 และ 100 %) ผลปรากฏว่าสารสกัดที่ได้จากส่วนของราก ลำต้นและใบของต้อยติ่งที่ความเข้มข้นต่ำ (20 และ 40 %) มีผลกระตุ้นให้เมล็ดวัชพืชทั้ง 3 ชนิดงอกได้ แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดสูงขึ้น (60, 80 และ 100 %) จะมีผลยับยั้งการงอกของเมล็ดวัชพืชมากขึ้น ซึ่งขึ้นอยู่กับความเข้มข้นและส่วนต่าง ๆ ของต้อยติ่งที่ใช้ในในการสกัด

ใจเอก ชลชีวะ และคณะ (2544) ศึกษาการเปรียบเทียบการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตต้นกล้าผักกาดหอมของสารสกัดจากปีกผล รากอากาศ และเมล็ดของลำพู การคนหาสารชีวภาพที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการเติบโตของวัชพืชเปนสิ่งนาสนใจ การทดลองนี้ไดนำสารสกัดจากเมล็ดปกผล และรากอากาศของตนลำพูที่สกัดดวยเมธานอลมาศึกษาผลตอการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดผักกาดหอม (*Lactuca sativa L.)* โดยศึกษาผลของสารสกัดที่ความเขมขน 1, 5 และ 10 mg/ml เปรียบเทียบกับสารละลายยาปราบศัตรูพืชเจือจางพบวาสารสกัดจากปกผลลำพูความเขมขนตั้งแต 5 mg/ml มีผลทำใหการงอกของเมล็ด การเจริญของสวนยอดและรากลดลงอยางมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับสารละลายยาปราบศัตรูพืชเจือจาง สารสกัดจากรากอากาศของลำพูมีผลยังยั้งการเจริญของรากผักกาดหอมอยางมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ความเขมขน 10 mg/ml แตที่ความเขมขนที่ศึกษามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของสวนยอดและการงอกของเมล็ดผักกาดหอมยังไมเทียบเทากับยาปราบศัตรูพืชเจือจาง สารสกัดที่สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดผักกาดหอมไดดีที่สุดคือสารสกัดจากปกลำพูซึ่งมีความสามารถในการยับยั้งการงอกถึง 94.62 เปอรเซ็นต นอกจากนี้ยังสามารถ

ยับยั้งการเจริญสวนยอดและสวนราก ไดถึง 100 เปอรเซ็นต และ 95 เปอรเซ็นต ตามลำดับที่ความเขมข น 10 มิลลิกรัม ตอมิลลิลิตร

สุธีรดา ฉิมน้อย และคณะ (2551) ศึกษาประสิทธิภาพของใบประยงค์ผงต่อการเจริญเติบโต ของพืชทดสอบโดยใชใบประยงคแหงบดเปนผงพบวา การใชใบประยงคแหงบดเปนผงที่ปริมาณ 31.25 62.5 125 มก./จานเพาะ มีผลตอการงอกและการเจริญเติบโตของถั่วผี โดยมีความงอก 100 95 และ 75% ตามลำดับ และมีผลตอการงอกและการเจริญเติบโตของหญาขาวนก โดยมีความงอก 75 50 และ 30% ตามลำดับ ในขณะที่ใบประยงคแหงบดเปนผง 250 มก./จานเพาะ มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง การงอกและการเจริญเติบโตของถั่วผีและหญาขาวนกโดยสมบูรณ การศึกษาประสิทธิภาพของผลิต ภัณฑกำจัดวัชพืชจากใบประยงค (50% ใบประยงคแหง) พบวา การใชผลิตภัณฑกำจัดวัชพืชจากใบ ประยงค ที่ปริมาณ 62.5 125 และ 250 มก/จานเพาะ มีผลตอการงอกและการเจริญเติบโตของถั่วผี โดยมีความงอก 100 83.5 และ 30% ตามลำดับ และมีผลตอการงอกและการเจริญเติบโตของหญาข าวนก โดยมีความงอก 80 60 และ 25% ตามลำดับ ในขณะที่ปริมาณผลิตภัณฑกำจัดวัชพืชจากใบประ ยงค 500 มก./จานเพาะ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของถั่วผีและหญ าขาวนกโดยสมบูรณ ผลการทดลองนี้แสดงใหเห็นว่าใบ ประยงคที่แปรรูปเปนผลิตภัณฑแลวมี ประสิทธิภาพเพิ่มมากขึ้น

ศานิต สวัสดิกาญจน์ และคณะ (2551) ผลของสารสกัดจากหญาดอกขาวตอการงอกและการ เจริญเติบโตของพืชผัก 2 ชนิด โดยทำการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากลำตนหญาดอกขาวด วยเอทิลแอซิเตตที่มีความ เขมขน 6 ระดับ คือ 0 0.25 0.50 0.75 1.00 และ 1.25 กรัม/ลิตร ต อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชผัก 2 ชนิด คือ ผักกาดกวางตุงและผักกาดหอม พบวา สารสกัดจากหญาดอกขาวที่มีความเขมขน 1.25 กรัม/ลิตร สามารถยับยั้งการงอกของผักกาดกวางตุง และผักกาดหอมไดมากที่สุด โดยมีเปอรเซ็นตยับยั้งการงอก เทากับ 22.26 และ 16.18% ตามลำดับ ส วนการยับยั้งการเจริญเติบโตของตน กลาพบวาสารสกัดจาก หญาดอกขาวที่มีความเขมขน 1.25 กรัม/ ลิตร มีฤทธิ์ในการยับยั้งความยาวยอด ความยาวราก และน้ำหนัก แหงของตนกลาของพืชทดสอบทั้ง สองชนิดมากที่สุด โดยเฉพาะน้ำหนักแหงของตน กล้าที่มีการยับยั้งเทากับ 95.05 และ 80.65% ใน ผักกาดกวางตุงและผักกาดหอมตามลำดับ การเพิ่มความเขมขนของสารสกัดจากหญาดอกขาว ทำ ใหการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของตน กลาพืชทดสอบทั้งสองชนิดเพิ่มขึ้น

วิมลพรรณ รุงพรหม (2550) ศึกษาสารยับยั้งการงอกเมล็ดวัชพืชจากรากลำเจียกโดยการด สอบฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องตน ในการยับยั้งการงอกของเมล็ดวัชพืช ดวยสารสกัดของวัชพืชเขตรอนใน นาขาวของไทย พบวาสารสกัดเอทิลแอซีเตต ความเขมขน 10 mg/ml ของรากลำเจียก *Coix aquatica* Roxb แสดงผลการยับยั้งการงอกของเมล็ดไมยราบยักษไดดี โดยมีเปอรเซนตการยับยั้งการ งอกรอยละ85 ผูวิจัยจึงทำการแยกสารโดยใชฤทธิ์การยับยั้งการงอกของเมล็ดไมยราบ เปนตัวชี้นำการ แยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ พบวาเมื่อแยกสารและทำสารใหบริสุทธิ์โดยวิธีทางโครมาโทรกราฟ สามารถแยกสารไดประกอบ 2 ชนิด เมื่อพิสูจนโครงสรางของสารที่แยกไดโดยใชเทคนิคทางสเปกโทรส โกป ไดแก นิวเคลียรแมกเนติกเรโซแนนซและแมสเปกโทรเมทรี พบวาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพดังกลา วคือ กรดพารา-เมทอกซีเบนโซอิก (p-methoxybenzoic acid, 1) ไซลินดอล บี (cylindol B, 2)

สารบริสุทธิ์ทั้งสองชนิด แสดงการยับยั้งการงอกของเมล็ดไมยราบยักษ ที่ความเขมขน 10 mg/ml โดยมีรอยละของการยับยั้งเปน 75 และ 80 ตามลำดับ

ภัทริน วิจิตรตระการ (2555) ผลในการยับยั้งการงอกของสารสกัดน้ำจากดาวเรืองและการแยกกลุ่มสารออกฤทธิ โดยทดลองเปรียบเทียบผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต้น ใบ ดอก และรากของดาวเรือง (*Tagetes erecta L.*) ต่อการงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของวัชพืชทดสอบได้แก่ หญ้าข้าวนก (*Echinochloa crus–galli* (L.) Beauv.) และกวางตุ้ง (*Brassica chinensis* Jusl var. *parachinensis* (Bailey) ผลปรากฏว่าสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนใบดาวเรืองสามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตได้ดีกว่าสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต้น ดอก และรากของดาวเรือง โดยที่สารสกัดด้วยน้ำจากส่วนใบดาวเรืองสามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของกวางตุ้งได้ดีกว่าหญ้าข้าวนก เมื่อศึกษาการแยกกลุ่มสารออกฤทธิ์จากใบดาวเรืองโดยวิธี acid-base solvent partitioning พบว่าสารออกฤทธิ์ในกลุ่ม acidic fraction (AE) สามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบได้ดีที่สุดรองลงมาคือ hydrolyze fraction, NE fraction, crude ethanol และ AQ fraction

วราภรณ์ ฉุยฉาย (2555) ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากพืชในประเทศไทย: ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและอัลลีโลพาทีโดยศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากพืชด้านการใช้กำจัดวัชพืชและการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งวิธีการศึกษาการอออกฤทธิ์ทั้งสองแบบนี้ มีวิธีการศึกษาที่ไม่ซับซ้อน โดยได้เสนอทั้งวิธีการศึกษาอย่างง่ายที่นิยมใช้กันทั่วไป และตัวอย่างพืชที่พบในประเทศไทย ซึ่งได้มีรายงานแล้วว่ามีฤทธิ์ทางชีวภาพดังกล่าว เพื่อเป็นประโยชน์สำหรับผู้สนใจศึกษาวิจัยในด้านนี้ต่อไป

อาทิตยา นุราฤทธิ์ และคณะ (2552) ศึกษาผลของสารสกัดจากใบพืชในวงศ์ Anonaceae 3 ชนิดต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้า หญ้าขจรจบดอกเล็กและหญ้ารังนกพบว่าสารสกัดจากใบลำดวน กระดังงาจีน และน้อยหน่า มีผลต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของหญ้าขจรจบและดอกเล็กและหญ้ารังนกที่ระดับแตกต่างกัน และมีผลต่อความยาวของราก และความยาวของลำต้นในเปอร์เซนต์ที่สูง

นราจันทร์ พิมเสน (2551) ศึกษาผลของสิ่งสกัดหยาบจากวัชพืชเขตร้อนบางชนิดต่อการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดไมยราบยักษ์ Mimosa pigra L. พบว่าสิ่งสกัดหยาบที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทนจากแห้วหมู หญ้างวงช้าง และพญามุตติแสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งได้ดีกว่าสิ่งสกัดหยาบที่สกัดด้วยเมทานอล การใช้สิ่งสกัดหยาบความเข้มข้นเทียบเท่าน้ำหนักแห้งของพืชทั้ง 3 ชนิด 1 กรัม พบว่าสิ่งสกัดหยาบจากพืชทั้ง 3 ชนิด สามารถยับยั้งการงอก 86 76 และ73 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีการเจริญเติบโตของความยาวรากลดลงเท่ากับ 81 61 และ 35 เปอร์เซ็นต์ และความยาวต้นลดลงเท่ากับ 62 46 และ 32 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนผลการทดสอบทางแอลลิโลพาธิคของแห้วหมู หญ้างวงช้าง และพญามุตติ กับพืชปลูกบางชนิด ได้แก่ เมล็ดผักบุ้ง คะน้า กวางตุ้ง ข้าวโพด และวัชพืชอื่นได้แก่ เมล็ดหงอนไก่ป่า ต้อยติ่ง หญ้าปากควาย และหญ้ารังนก ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 กรัมเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง พบว่าสามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดหญ้าปากควาย หญ้ารังนก และหงอนไก่ป่า ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดต้อยติ่ง 47 เปอร์เซ็นต์ และยับยั้งการงอกของเมล็ดผักบุ้ง และเมล็ดข้าวโพดเท่ากับ 35

และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่ไม่สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดคะน้า และกวางตุ้ง เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

สุธีรดา ฉิมน้อย และคณะ (2551) ศึกษาประสิทธิภาพของใบประยงค์ผงต่อการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ พบว่าการใช้ใบประยงค์แห้งบดเป็นผงปริมาณ 31.25 62.5 125มก./จานเพาะ มีผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของถั่วผี โดยมีความงอก 100 95 และ 75% ตามลำดับ และมีผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก โดยมีความงอก 75 50 และ 30% ตามลำดับ ในขณะที่ใบประยงค์แห้งบดเป็นผง 250 มก./จานเพาะ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของถั่วผีและหญ้าข้าวนกโดยสมบูรณ์

วิมลพรรณ รุ่งพรหม และ สุปราณี แก้วกระจ่าง (2550) ศึกษาสารยับยั้งการงอกของเมล็ดวัชพืชจากรากลำเจียกในนาข้าวของไทย พบว่าสารสกัดเอทิลแอซีเตต ความเข้มข้น 10 mg/ml ของรากลำเจียก *Coix aquatica* Roxb แสดงผลการยับยั้งการงอกของเมล็ดไมยราบยักษ์ได้ดี โดยมีเปอร์เซนต์การยับยั้งการงอกร้อยละ85 ผู้วิจัยจึงทำการแยกสารโดยใช้ฤทธิ์การยับยั้งการงอกของเมล็ดไมยราบ เป็นตัวชี้นำการแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่าเมื่อแยกสารและทำสารให้บริสุทธิ์โดยวิธีทางโครมาโทรกราฟี สามารถแยกสารได้ประกอบ 2 ชนิด เมื่อพิสูจน์โครงสร้างของสารที่แยกได้โดยใช้เทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้แก่นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ และแมสเปกโทรเมทรี พบว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพดังกล่าวคือ กรดพารา-เมทอกซีเบนโซอิก(p-methoxybenzoic acid, 1) ไซลินดอล บี (cylindol B, 2) สารบริสุทธิ์ทั้งสองชนิด แสดงการยับยั้งการงอกของเมล็ดไมยราบยักษ์ ที่ความเข้มข้น 10 mg/ml โดยมีร้อยละของการยับยั้งเป็น 75 และ 80 ตามลำดับ

เกล้ายุคล สุจิรา (2547) ศึกษาผลของสารสกัดจากธูปฤาษี (*Typha angustifolia* Linn.) ต่อการเจริญเติบโตของพืช และการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยพบว่าสารสกัดจากเมล็ดมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูงสุดและเอทานอลเป็นสารละลายที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดสารสกัดที่มีความเข้นข้น 5000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของรากพืชมากกว่าร้อยละ 80 ของพืชควบคุม ยับยั้งการเจริญของต้นผักกาดขาวปลี หงอนไก่ป่า ก้นจ้ำขาว ดอกใหญ่ ถั่วผี ไมยราบเครือ และสามารถยับยั้งการงอกของผักกาดขาวปลีได้อย่างสมบูรณ์

ดารารัตน์ มณีจันทร์ (2547) ศึกษาผลทางอัลลีโลพาทีของพุทธชาดก้านแดงพบว่าสารสกัดจากใบ กิ่ง ลำต้น ส่งผลต่อการงอกของโสน ไมยรา หญ้าข้าวนก และหญ้าอะตราตัม สารสกัดที่เป็น acidic extract มีผลในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทั้ง 4 ชนิดได้ดีกว่าตัวทำละลายชนิดอื่น การเพิ่มระดับความเข้มข้นของสารสกัดมีผลให้การงอกและการเจริญเติบโตถูกยับยั้งมากขึ้น

พะเยาว์ สีนวนสลุง (2544) ศึกษาผลของสารอัลลีโลพาธิกจากสาบเสือ (*Eupatorium odoratum* Linn.) ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชปลูกและวัชพืชบางชนิด พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารจากใบสาบเสือที่มีผลต่อการยับยั้งความงอกดีที่สุด เป็นดังนี้ ตัวทำละลายคือไดคลอโรมีเทน ส่วนของพืชคือใบ พืชที่ได้รับผลกระทบมากที่สุดคือผักขมหนาม

ศิริพร ซึงสนธิพร (2535) ศึกษาผลทางอัลลิโลพาธิคของวัชพืชสาบหมา(*Eupatorium adenophorum* Spreng.) ต่อการเจริญเติบโตของพืชปลูกและวัชพืชบางชนิด พบว่าสารสกัดจากวัชพืชสาบหมาสามารถยับยั้งการงอกอย่างรุนแรง (ร้อยละ 80-90) ต่อวัชพืช 8 ชนิดคือ ผักโขมหนาม ผักโขมหัด ปืนนกไส้ กระดุมใบใหญ่ กระหล่ำปลี หงอนไก่ป่า โสนขน และหญ้าปากควาย

Dilpreet S. Riar et, al. (2013) ศึกษาการนำ Barnyardgrass biotypes จาก Arkansas (AR1 and AR2) และ Mississippi (MS1) โดยใช้ acetolactate synthase มายับยั้งวัชพืช การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงเป้าหมายเป็นกลไกของความต้านทานต่อการ imazamox ใน AR2 และอาจจะอยู่ใน AR1 นอกจากนี้การโยกย้ายที่ลดลงซึ่งอาจจะเป็นผลมาจากการเผาผลาญอาหารอาจนำไปสู่ imazamox และความต้านทาน bispyribac โซเดียมใน AR1 และ MS1

R.C. Tigre. et, al (2012) ศึกษาศักยภาพทางอัลลิโลพาธิกและศักยภาพการเป็นสารชีวภาพกำจัดวัชพืชของไลเคน Cladonia verticillaris ต่อการงอกและการเติบโตของผักกาดหอม (Lactuca sativa) โดยดำเนินการทดลองในห้องปฏิบัติการด้วยการใช้สารสกัดและสารบริสุทธ์จากไลเคนในอัตราที่แตกต่างกัน พบว่า ไม่มีชุดทดลองใดที่แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของสารสกัดต่อการงอกและการเติบโตของผักกาดหอม แต่พบการเปลี่ยนแปลงในพื้นที่ใบ ส่วนใต้ใบเลี้ยง (hypocotyl) และรากของต้นอ่อน ในส่วนของการทดลองการเติบโต พบว่า ต้นอ่อนที่ได้รับสารสกัดด้วยอีเทอร์หรืออะซีโตนจะมีส่วนใต้ใบเลี้ยงที่เล็กกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม นอกจากนี้ยังพบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดจะส่งผลต่อความผิดปกติของต้นอ่อน โดยคณะผู้วิจัยได้ดำเนินการจำแนกและตรวจสอบสารเคมีอัลลิโลพาธิก สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบหลักของต้นอ่อน กรด fumarprotocetraric และ protocetraric ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟชนิดของเหลวประสิทธิภาพสูง (HPLC) และพบว่าต้นอ่อนที่ได้รับกรดทั้งสองอย่าง คือ fumarprotocetraric และ protocetraric จะมีขนาดพื้นที่ใบที่เพิ่มขึ้น ขณะที่ต้นอ่อนที่ได้รับกรดprotocetraric เพียงอย่างเดียวจะพบการเปลี่ยนแปลงในส่วนใต้ลำต้นและรากในระดับความเข้มข้นที่ต่างกัน การมีอิทธิพลต่อการเติบโตของผักการหอมของ กรด fumarprotocetraric และ protocetraric ที่สกัดจากไลเคน C. verticillaris and Parmotrema dilatatum ในระดับความเข้มข้นสูงแสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการนำกรดทั้งสองอย่างนี้มาใช้เป็นสารชีวภาพกำจัดวัชพืช

Francisco . A. et, al .(2008) ศึกษาการนำ benzoxazinones และ อนุพันธ์ของสารที่สังเคราะอื่นๆ มาใช้ทดสอบการกำจัดวัชพืช โดยมุ่งศึกษาในระบบ Oryza sativa - *Echinochloa crus-galli*. พบว่า สารที่ออกฤทธิ์สูงคือ 2-ethyl-4-hydroxy-(2H)-1,4-benzoxazin-3(4H)-one

Bran. V. et, al. (2005) จากเดิมพบว่าการต่อต้านกันของสารกำจัดวัชพืชมีผลให้การควบคุมวัชพืชลดลงมาจากการใช้สารผสมของสารเคมีกำจัดวัชพืชสองหรือมากกว่า Cyhalofop-butyl, graminicide ใช้สำหรับการควบคุม postemergence grass weed ซึ่งเป็นวัชพืชในนาข้าว ผลของประเภทของการต่อต้านนี้ทำให้ผลในการการควบคุมวัชพืชลดลง การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ผลของ Cyhalofop-butyl ต่อเนื้อเยื่อ barnyardgrass เมื่อใช้ Cyhalofop-butyl อย่างเดียว Cyhalofop-butyl กับ halosulfuron, Cyhalofop-butyl กับ propanil หรือ Cyhalofop-butyl กับ

triclopyr ผลการศึกษาพบการดูดซึมของ Cyhalofop-butyl ไปเป็นสารพิษ และ cyhalofop acid เกิดอย่างรวดเร็วส่วน halosulfuron และ triclopyr ไม่มีผล

Francisco . A. et, al.(2005) ศึกษาโครงสร้างของ Benzoxazinones และ อนุพันธ์ ที่มีผลต่อ หญ้าข้าวนกซึ่งเป็นวัชพืชกระจายอย่างกว้างขวางและถือว่าเป็นปัญหาที่ร้ายแรงและสำคัญในโลก สารที่ศึกษาคือ 2O -A-D-glucopyranosyl-4-hydroxy- (2 H) -1,4-benzoxazin-3 (4 H) -One (DIBOA-Glc), 2,4-dihydroxy-7-methoxy- (2 H) -1,4-benzoxazin-3 (4 H) -One (DIMBOA) และ 2,4-dihydroxy (2 H) -1,4-benzoxazin-3 (4 H) -One (DIBOA) ร่วมกับบางอนุพันธ์ที่ย่อยสลายในดินที่ปลูกข้าวสาลี สารประกอบที่ใช้ส่วนใหญ่เป็นอนุพันธ์ของ 2 aminophenol (APH) และ 4 hydroxy- (2 H) -1,4-benzoxazin-3 (4 H) -One (D-DIBOA) การทอลองนี้เป็นการยืนยังรูปแบบสารกำจัดวัชพืชธรรมชาติที่มีโครงสร้าง benzoxazinone

Hari Om, S.D และคณะ (2002) ศึกษาการตอบสนองอัลลิโลพาธิกของหญ้า *Phalaris minor* ต่อพืชและวัชพืชชนิดอื่นในระบบนิเวศข้าว-ข้าวสาลีโดยใช้ปุ๋ยพืชสดจากทานตะวันและโสน พบว่าปุ๋ยพืชสดจากทานตะวันและโสนสามารถลดจำนวนประชากรของหญ้า *P.minor* ได้ร้อยละ 100 ภายใต้การทดสอบในห้องปฏิบัติการ และร้อยละ 42 และร้อยละ 15 ตามลำดับในการทดสอบภาคสนาม แสดงให้เห็นถึงบทบาทของสารอัลลีโลเคมีในปุ๋ยพืชสดที่มีต่อการยับยั้งการเติบโตของวัชพืช อีกทั้งยังพบว่า การใช้ปุ๋ยพืชสดจากทานตะวันและโสนปรับปรุงดินก่อนการเพาะปลูกมีส่วนในการเพิ่มผลผลิตของข้าวอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบศักยภาพทางอัลลิโลพาธิกของวัชพืชใบกว้างต่อการยับยั้งการงอกของหญ้า *P.minor* พบว่า สาบเสือ (*Chenopodium album*) หญ้า *Medicago denticulata* และหญ้าชี้นแฉะ *(Convolvulus arvensis)* สามารถยับยั้งการงอก (ร้อยละ 100) ได้มากกว่า หญ้า*Vicia hirsuta* (86 ร้อยละ) มากกว่า หญ้า *Cirsium arvense* (ร้อยละ 48) มากกว่า หญ้า *Lathyrus aphaca* (ร้อยละ38) และ หญ้า *Rumex acetosella* (ร้อยละ 9) ตามลำดับ อีกทั้งยังพบว่าสารอัลลิโลพาธิกที่ถูกปลดปล่อยออกทางรากของข้าวสายพันธุ์ HKR 126,IR 64, Jaya และ Haryana Basmati-1 สามารถยับยั้งการงอกของหญ้า *P.minor* ได้ร้อยละ 50 อย่างไรก็ตามเนื่องจากมีการเจือจางของสารสกัดทำให้ผลการตอบสนองอัลลิโลพาธิกลดลงอย่างมากในกลุ่มข้าวไม่หอมเมื่อเทียบกับกลุ่มข้าวหอม โดยเมื่อเปรียบเทียบข้าวสาลี11 พบว่าข้าวพันธุ์ WH533ให้ผลในการยับยั้งการงอกของหญ้า *P.minor* สูงสุด(ร้อยละ 30) ตามด้วยพันธุ์ WH542 (21 ร้อยละ)

บทที่ 3
วิธีดำเนินการทดลอง

การวิจัยเรื่องการศึกษาพฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากมะพอกที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของวัชพืชในนาข้าวเพื่อสนับสนุนการใชประโยชน์และเพิ่มมูลค่าความหลากหลายทางชีวภาพอยางมั่นคงและยั่งยืน ดำเนินการวิจัยดังนี้

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 อุปกรณ์

1. ตู้อบ
2. เครื่องบดไฟฟ้า (Blender)
3. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
4. เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotary evaporator)
5. เครื่องทำแสง UV
6. เตาไฟฟ้า
7. อุปกรณ์เครื่องแก้ว
8. ชุดกรองสาร
9. ชุดคอลัมน์โครมาโตกราฟี
10. TLC Siliga gel 60 Merck Germany

3.1.2 สารเคมี

1. เฮกเซน (Hexane) AR grade
2. เมทานอล (Methanol) AR grade
3. เอทิลแอซิเตต (Ethylacetate) AR grade
4. ไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane) AR grade
5. ผงซิลิกา (Siliga gel 60) Merck Germany
6. แมกนีเซียม ซัลเฟต

3.2 พืชและวัชพืช

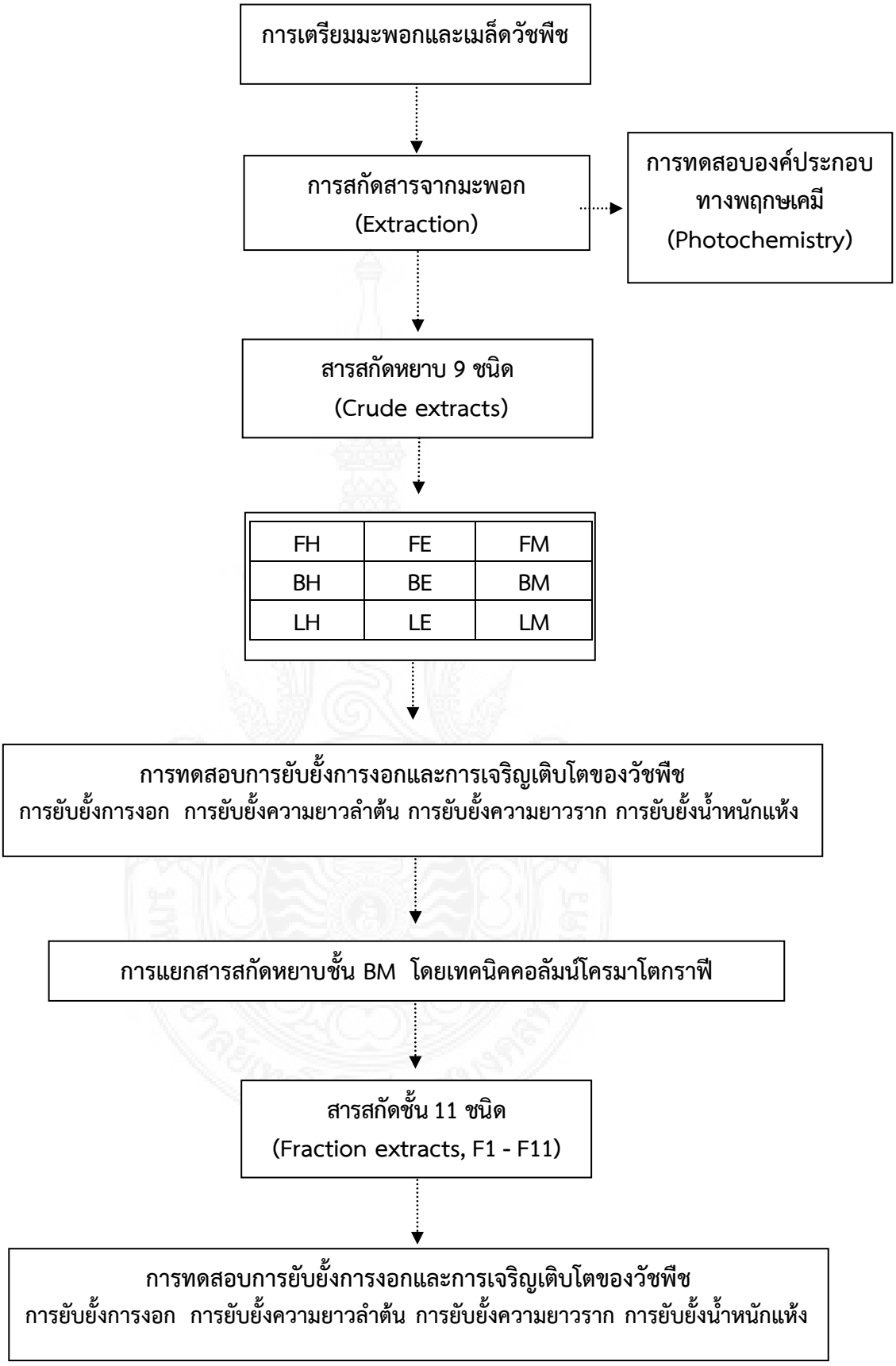
3.2.1 พืช

มะพอก ชื่อวิทยาศาสตร์ *Parinari anamense* Hance

3.2.2 วัชพืช

หญ้าข้าวนก ชื่อวิทยาศาสตร์ *Echinochloa crus-galli* (L.) T. Beauv.

3.3 วิธีการทดลอง



รูปที่ 3.1 แผนผังขั้นตอนการทดลอง

การวิจัยเรื่องการศึกษาพฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากมะพอกที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของวัชพืชในนาข้าวเพื่อสนับสนุนการใชประโยชน์และเพิ่มมูลค่าความหลากหลายทางชีวภาพอยางมั่นคงและยั่งยืน โดยการนำผลมะพอก เปลือกมะพอก และใบมะพอกมาสกัดโดยนำมาหมักด้วยวิธี Maceration และทำการสกัดด้วยเทคนิค Sequential Extraction ด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิดคือ เฮกเซน เอทิลแอซิเตต และเมทานอล จะได้สารสกัดหยาบ (Crude extracts) ทั้งหมด 9 ชนิด แสดงดังตารางที่ 3.1 ประกอบด้วย สารสกัดหยาบจากผลชั้นเฮกเซน (FH) สารสกัดหยาบจากผลชั้นเอทิลแอซิเตต (FE) สารสกัดหยาบจากผลชั้นเมทานอล (FM) สารสกัดหยาบจากเปลือกชั้นเฮกเซน (BH) สารสกัดหยาบจากเปลือกชั้นเอทิลแอซิเตต (BE) สารสกัดหยาบจากเปลือชั้นเมทานอล (BM) สารสกัดหยาบจากใบชั้นเฮกเซน (LH) สารสกัดหยาบจากใบชั้นเอทิลแอซิเตต (LE) และ สารสกัดหยาบจากใบชั้นเมทานอล (LM)

ตารางที่ 3.1 แสดงชนิดของสารสกัดหยาบที่สกัดได้ทั้งหมด

ส่วนที่ทดลอง	Crude extracts		
	Hexane	**Ethylacetate**	**Methanol**
Fruits	FH	FE	FM
Barks	BH	BE	BM
Leaves	LH	LE	LM

3.3.1 การเก็บและการเตรียมตัวอย่าง

1. ทำการเปรียบเทียบอนุกรมวิธานของพืชตัวอย่างที่ใช้ในการทดลองคือมะพอก โดยรับรองพืชตัวอย่างโดยผู้เชี่ยวชาญทางพฤกษศาสตร์ (Voucher Specimens)

2. นำผล เปลือก และใบของมะพอก มาทำความสะอาด หั่นให้เล็กแล้วนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

3. นำผล เปลือก และใบของมะพอกที่แห้งแล้ว ไปบดให้ละเอียด ด้วยเครื่องบดไฟฟ้า (Blender)

3.3.2 การสกัดสารจากตัวอย่าง

การสกัดสารที่มีองค์ประกอบสำคัญจากมะพอกใช้เทคนิคการสกัดแบบ Sequential Extraction โดยการหมัก(Maceration) ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์จากตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำไปยังมีขั้วสูง คือ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเมทานอล ตามลำดับดังนี้

1. นำผล เปลือก และใบของมะพอกที่บดละเอียดมาชั่งหาน้ำหนักที่แน่นอน 4 กิโลกรัม แล้วนำมาแช่ด้วยตัวทำละลายคือ เฮกเซน ในภาชนะปิด ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน

2. นำของผสมมากรองแยกสารสกัดและกากออกจากกัน โดยส่วนที่เป็นสารสกัดนำไประเหยแยกตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จะได้สารสกัดหยาบ (Crude extract) ของชั้นเฮกเซน ชั่งน้ำหนักและเก็บไว้ทดสอบในขั้นตอนต่อไป

3. ส่วนที่เป็นกากนำไปผึ่งลมให้แห้ง แล้วนำมาแช่ด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วสูงขึ้นคือเอทิลอะซิเตต และเมทานอล ตามลำดับ และทำการสกัดสารโดยใช้วิธีเดียวกันกับตัวทำละลายเฮกเซน

3.3.3 การทดสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมี

นำสารสกัดหยาบที่สกัดได้ไปทดสอบหากลุ่มสารสำคัญ ดังนี้

1. Alkaloids สารสกัด MeOH (ประมาณ 0.5 กรัม) ละลายใน 5% HCl 20 ml อุ่น 15 นาที กรอง ทดสอบกับ Dragendorff's test, Marme's test, Mayer's test, Wanger's test, และ Kruat's test สังเกตสีและตะกอนที่เกิดขึ้น

2. Tannins และ phenolic compounds สารสกัด MeOH (ประมาณ 0.5 กรัม) ละลายในน้ำ 20 ml อุ่น 15 นาที กรอง ถ้าขุ่นหยด 4-5 หยด 10% NaCl กรอง นำมาทดสอบกับ gelatin solution, gelatin salt solution, 1% $FeCl_3$, Br_2 water, Vanilin, 40% Formalin / HCl, และ Lime water

3. Triterpenes และ Steroids สารสกัด MeOH (ประมาณ 0.5 กรัม) ละลายด้วย $CHCl_3$ 1-2 ml นำมาทดสอบวิธี Liebermann Burchard test โดย หยด Acetic anhydride 3 หยด จากนั้นค่อยๆ หยด conc. H_2SO_4 1 หยด ลงในหลอดทดลอง สังเกตวงแหวนที่เกิดขึ้นและเขย่าดูสีที่เกิดขึ้น

4. Flavonoids สารสกัด MeOH (ประมาณ 0.5 กรัม) ละลายใน Petoleum ether 4 ml กรอง แล้วเอา residue ละลายใน 80 % ethanol 8 ml นำมาทดสอบ Cyadinin test โดยนำลวด Mg มาใส่ ในหลอดทดลอง 3-4 ชิ้น แล้วค่อยหยด conc. HCl 3 หยด สังเกตฟองที่เกิด ทิ้งไว้ให้ละลายจนหมด จากนั้น เติมน้ำ 1 ml และ Octyl alcohol 1 ml สังเกตสีในชั้นของ Octyl alcohol

5. Antraquinones สารสกัด MeOH (ประมาณ 0.5 กรัม) ละลายใน 0.5 M KOH 10 ml แล้วเติม 3% H_2O_2 1ml ต้มบนหม้ออังไอน้ำ 10 นาที กรอง ทิ้งให้เย็น หยด CH_3COOH จนเป็นกรดสกัด ด้วย C_6H_6 10 ml นำมาทดสอบ Modified Borntragers test โดยนำชั้นของ C_6H_6 ไปหยด NH_3 T.S. ตั้งทิ้งไว้

6. Cardiac glycosides สารสกัด MeOH (ประมาณ 0.5 กรัม) ละลายใน 10% Lead acetate 10 ml อุ่น 15 นาที ทิ้งให้เย็น กรอง สกัดด้วย $CHCl_3$ 5ml 3 ครั้ง นำมาทดสอบวิธี Liebermann burchard test โดย หยด Acetic anhydride 3 หยด จากนั้นค่อยๆ หยด conc. H_2SO_4 1-2 หยด ลงใน หลอดทดลอง สังเกตสีที่เกิดขึ้นและเขย่าดูสีที่เกิดขึ้น

3.3.4 การทดสอบการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของวัชพืช

1. นำสารสกัดที่ได้ในชั้นเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเมทานอล มาชั่งน้ำหนัก และเจือจางให้ได้ระดับความเข้มข้นตามที่กำหนดคือ 1,000 2,000 และ 3,000 ppm โดยทดสอบเปรียบเทียบกับน้ำกลั่น

2. ใส่สารสกัดทุกระดับความเข้มข้นคือ 1,000 2,000 และ 3,000 ppm ลงในจานเพาะจำนวน 5 มิลลิลิตร ซึ่งในจานเพาะรองด้วยกระดาษเพาะเมล็ด ทำการทดลอง 5 ซ้ำ

3. นำจานเพาะที่ใส่สารสกัดแล้วไปใส่ในตู้ดูดควันเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้ตัวละลายระเหยจนหมด ให้เหลือแต่สารที่สกัดได้

4. เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตรต่อจานเพาะ นำไปเพาะเมล็ดวัชพืช โดยนำเมล็ดวัชพืชใส่ลงไปในจานเพาะเมล็ดจำนวน 20 เมล็ดต่อจาน ปิดฝาครอบจานแล้ววางไว้ในสภาพอุณหภูมิห้องปกติเป็นเวลา 7 วัน

5. บันทึกผลการงอก โดยนับเมล็ดที่มีรากโผล่พ้นเปลือกหุ้มเมล็ดซึ่งมีรากยาวอย่างน้อย 2 มิลลิเมตร วัดความยาวของรากและความยาวของต้นวัชพืช แต่ละจานเพาะทำ 5 ซ้ำ แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แล้วน้ำมาชั่งหาน้ำหนักแห้ง

นำผลที่ได้มาคำนวณ เพื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอก เปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวราก เปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวลำต้น และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้ำหนักแห้งของวัชพืช โดยใช้สูตรคำนวณดังนี้

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอก = {1 - (T/C) } ×100

C แทน จำนวนเมล็ดที่งอกโดยเฉลี่ยในชุดควบคุมโดยใช้น้ำกลั่น

T แทน จำนวนเมล็ดที่งอกโดยเฉลี่ยในชุดสารสกัด

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวราก = {1 - (T/C) } ×100

C แทน ความยาวของรากโดยเฉลี่ยในชุดควบคุมโดยใช้น้ำกลั่น

T แทน ความยาวของรากโดยเฉลี่ยในชุดสารสกัด

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวลำต้น = {1 - (T/C) } ×100

C แทน ความยาวลำต้นโดยเฉลี่ยในชุดควบคุมโดยใช้น้ำกลั่น

T แทน ความยาวลำต้นโดยเฉลี่ยในชุดสารสกัด

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้ำหนักแห้ง = {1 - (T/C) } ×100

C แทน น้ำหนักแห้งโดยเฉลี่ยในชุดควบคุมโดยใช้น้ำกลั่น

T แทน น้ำหนักแห้งโดยเฉลี่ยในชุดสารสกัด

3.3.5 การแยกสาร และการทดสอบ

การแยกสารสกัดโดยเทคนิคโครมาโตกราฟีและการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของวัชพืช

3.3.5.1 การหาตัวทำละลายที่เหมาะสมด้วยวิธีทินแลร์เยอร์โครมาโตกราฟี

นำสารสกัดที่ให้ผลดีที่สุดในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของวัชพืช มาทำการแยกสารโดยวิธีทินแลร์เยอร์โครมาโตกราฟี เพื่อหาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกสารที่อยู่ในชั้นต่างๆ เพื่อนำไปใช้ในการแยกสารโดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ดังนี้

1. นำสารสกัดที่ให้ผลดีที่สุดใส่ในขวดเล็ก และละลายด้วยตัวทำละลายชนิดเดิม

2. เตรียมแผ่น TLC ให้มีขนาดพอเหมาะประมาณ 2×5 เซนติเมตร แล้วจุด(spot) สารสกัดที่ละลายแล้วในขั้นตอนที่ 1 ลงบนแผน TLC โดยใช้หลอดรูเล็ก (capillary tube) จุดสารสกัดที่ต้องการทดสอบลงบนแผ่น TLC 2 จุด โดยให้ห่างจากขอบล่างของแผ่น TLC ประมาณ 0.5 เซนติเมตร และแต่ละจุดห่างกันพอประมาณ ด้านบนของแผ่น TLC ขีดระดับตัวทำละลาย (solvent front) ไว้

3. เตรียม TLC tank โดยใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมใส่ในขวดแก้ว นั้นนำกระดาษกรองมาใส่ลงในขวดแก้วโดยให้กระดาษกรองทาบผิวด้านในขวดแก้ว แล้วเตรียมแผ่นกระจกปิดไว้เพื่อให้ขวดแก้วอิ่มตัวด้วยไอของตัวทำละลาย

4. นำแผ่น TLC ที่จุดสารสกัด แล้วไปจุ่มลงในขวดแก้วที่อิ่มตัวด้วยไอของตัวทำละลายซึ่งเตรียมไว้ ปิดฝาขวดแก้วปล่อยให้ตัวทำละลายเคลื่อนที่จนถึงระดับตัวทำละลาย (solvent front) ที่กำหนดไว้ นำแผ่น TLC ออกจากขวดแก้ว ปล่อยให้ตัวทำละลายระเหยจนแห้ง

5. นำแผ่น TLC ไปทดสอบการดูดกลืนแสงอุลตร้าไวโอเลต (UV) ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร

6. นำแผ่น TLC ไปย้อมด้วย developing solvent แล้วนำไปอุ่นบนเตาไฟฟ้า (hot plate) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส สังเกตการเปลี่ยนแปลงสี

7. เตรียมตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกสารสกัดโดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี

3.3.5.2 การแยกสารสกัดโดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี และการทดสอบฤทธิ์ของสาร

เตรียมคอลัมน์แก้วโดยใช้ขาตั้ง (stand) และตัวจับ (clamp) จับคอลัมน์ให้ตั้งฉากกับพื้น อุดปลายคอลัมน์ด้วยสำลีสะอาดจำนวนเล็กน้อย ใช้แท่งแก้วดันสำลีให้อยู่ปลายด้านล่าง บรรจุตัวทำละลายเฮกเซนลงไปประมาณครึ่งคอลัมน์เปิดก๊อกปิดเปิด (stopcock) ด้านล่างคอลัมน์ให้ตัวทำละลายไหลออกอย่างช้าๆ เพื่อไล่ฟองอากาศและป้องกันสำลียุ้ย นำซิลิกาเจล ผสมกับตัวทำละลายเฮกเซนให้เข้ากัน เพื่อห้องกันการเกิดฟองอากาศในคอลัมน์ แล้วนำไปบรรจุในคอลัมน์ ค่อยๆ บรรจุซิลิกาเจลลงไปให้ติดต่อ และสม่ำเสมอกันพร้อมทั้งเปิดที่ก๊อกปิดเปิดด้านล่างคอลัมน์ให้ตัวทำละลายไหลผ่านอย่างช้าๆ และค่อยๆ ปรับผิวหน้าให้เรียบโดยการเคาะคอลัมน์เบาๆ เพื่อให้ซิลิกาเจลเรียงตัวในคอลัมน์อย่างสม่ำเสมอ เมื่อบรรจุซิลิกาเจลเสร็จแล้วก็ปล่อยให้ตัวทำละลายลดลงจนเหลือประมาณ 5 เซนติเมตรเหนือผิวหน้าซิลิกาเจลจึงปิดที่ก๊อกปิดเปิดด้านล่างของคอลัมน์ นำสารสกัดหยาบจากมะพอกที่ให้ผลดีที่สุดมาคลุกกับซิลิกาเจลให้เข้ากันจนร่วน และบรรจุลงในคอลัมน์ช้าๆ โดยระวังอย่าให้มีฟองอากาศ ปรับผิวหน้าให้เรียบ ฉีดล้างด้านในคอลัมน์ให้สะอาดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนในปริมาณเล็กน้อย จากนั้นปล่อยให้ระดับของสารละลายลดลงจนเกือบถึงผิวหน้าของซิลิกาเจลและจึงชะลอคอลัมน์ด้วยตัวทำละลาย โดยเรียงความมีขั้วน้อยไปหาขั้วมาก ได้แก่ สารเฮกเซน 100 เปอร์เซ็นต์ สารผสมระหว่างเฮกเซนกับไดคลอโรมีเทน 5 10 20 30 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์ สารผสมระหว่างเฮกเซนกับเอธิลอะซิเตรต 10 20 30 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์ และเมทานอล 100 เปอร์เซ็นต์ โดยเติมตัวทำละลายแต่ละชนิดครั้งละ 200 มิลลิลิตรลงไป ทำการเก็บสารละลายที่ถูกชะออกมาครั้งละ 20 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ถูกชะออกมาแต่ละชั้นมาทดสอบว่ามีองค์ประกอบทางเคมีเหมือกันหรือไม่ โดยใช้วิธีทินแลร์เยอร์โครมาโตกราฟี (TLC) จากนั้นจึงทำการรวมสารที่เหมือนกันในแต่ละชั้น (fraction) เข้าด้วยกันและนำไปทำการระเหยก่อนนำไปทำการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของวัชพืชในขั้นตอนต่อไป

3.3.6 การทดสอบการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของวัชพืชของสารแต่ละชั้น

1. นำสารชั้น (fraction) มาชั่งน้ำหนัก และเจือจางให้ได้ระดับความเข้มข้นตามที่กำหนดคือ 100 ppm โดยทดสอบเปรียบเทียบกับน้ำกลั่น

2. ใส่สารสกัดทุกชั้น (fraction) ที่ะดับความเข้มข้นคือ 100 ลงในจานเพาะจำนวน 5 มิลลิลิตร ซึ่งในจานเพาะรองด้วยกระดาษเพาะเมล็ด ทำการทดลอง 5 ซ้ำ

3. นำจานเพาะที่ใส่สารสกัดแล้วไปใส่ในตู้ดูดควันเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้ตัวละลายระเหยจนหมด ให้เหลือแต่สารที่สกัดได้

4. เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตรต่อจานเพาะ นำไปเพาะเมล็ดวัชพืช โดยนำเมล็ดวัชพืชใส่ลงไปในจานเพาะเมล็ดจำนวน 20 เมล็ดต่อจาน ปิดฝาครอบจานแล้ววางไว้ในสภาพอุณหภูมิห้องปกติเป็นเวลา 7 วัน

5. บันทึกผลการงอก โดยนับเมล็ดที่มีรากโผล่พ้นเปลือกหุ้มเมล็ดซึ่งมีรากยาวอย่างน้อย 2 มิลลิเมตร วัดความยาวของรากและความยาวของต้นวัชพืช แต่ละจานเพาะทำ 5 ซ้ำ แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แล้วน้ำมาชั่งหาน้ำหนักแห้ง

นำผลที่ได้มาคำนวณ เพื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอก เปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวราก เปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวต้น และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้ำหนักแห้งของวัชพืช โดยใช้สูตรคำนวณดังนี้

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอก = $\{1 - (T/C)\} \times 100$

C แทน จำนวนเมล็ดที่งอกโดยเฉลี่ยในชุดควบคุมโดยใช้น้ำกลั่น

T แทน จำนวนเมล็ดที่งอกโดยเฉลี่ยในชุดสารสกัด

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวราก = $\{1 - (T/C)\} \times 100$

C แทน ความยาวของรากโดยเฉลี่ยในชุดควบคุมโดยใช้น้ำกลั่น

T แทน ความยาวของรากโดยเฉลี่ยในชุดสารสกัด

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวลำต้น = $\{1 - (T/C)\} \times 100$

C แทน ความยาวลำต้นโดยเฉลี่ยในชุดควบคุมโดยใช้น้ำกลั่น

T แทน ความยาวลำต้นโดยเฉลี่ยในชุดสารสกัด

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้ำหนักแห้ง = $\{1 - (T/C)\} \times 100$

C แทน น้ำหนักแห้งโดยเฉลี่ยในชุดควบคุมโดยใช้น้ำกลั่น

T แทน น้ำหนักแห้งโดยเฉลี่ยในชุดสารสกัด

3.4 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

สถิติที่ใช้ได้แก่ ค่าเฉลี่ย และค่าร้อยละ

3.5 ระยะเวลาการทดลอง

1 ตุลาคม 2560 – 30 กันยายน 2561

3.6 สถานที่ทำการทดลอง

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร

บทที่ 4
ผลการทดลอง

การวิจัยเรื่องการศึกษาพฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากมะพอกที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของวัชพืชในนาข้าวเพื่อสนับสนุนการใชประโยชน์และเพิ่มมูลค่าความหลากหลายทางชีวภาพอยางมั่นคงและยั่งยืน โดยใช้สารสกัดจากเปลือก ใบและผลของมะพอกมาทดสอบทดสอบการยับยั้งการงอก การยับยั้งความยาวราก การยับยั้งความยาวลำต้น และการยับยั้งน้ำหนักแห้งของหญ้าข้าวนกซึ่งเป็นวัชพืชในนาข้าวผล ผลการทดลองเป็นดังนี้

4.1 การตรวจสอบพฤกษเคมี

ตารางที่ 4.1 ผลการตรวจสอบพฤกษเคมี

Phytochemical screening	ผลการทดสอบ		
	ผล	เปลือก	ใบ
1. alkaloids	+	+++	++
2. condensed tannins	++	+	+
3. phenolic compounds	++	+	+
4. flavonoids	++	+	+
5. triterpenes	+	+	+
6. steroids	+	++	+
7. cardiac glycosides	+	-	-
8. antraquinones	-	+	+

การตรวจสอบพฤกษเคมีพบว่า

1. สารสกัดจากผลพบสารกลุ่ม alkaloids, condensed tannins, phenolic compounds, flavonoids, triterpenes, steroids, และ cardiac glycosides

2. สารสกัดจากเปลือกและใบพบสารกลุ่ม alkaloids, condensed tannins, phenolic compounds, flavonoids, triterpenes, steroids, และ antraquinones

4.2 การยังยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืช

4.2.1 การยับยั้งการงอกของวัชพืช

ตารางที่ 4.2 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของวัชพืชของสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้น 3 ระดับ ที่สกัดจากผลของมะพอกที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด

ความเข้มข้น (ppm)	การยับยั้งการงอก (%)		
	Hexane	Ethylacetate	Methanol
1,000	43.83	61.33	57.55
2,000	45.54	65.97	58.51
3,000	48.92	69.52	60.09

ตารางที่ 4.2 แสดงการยับยั้งการงอกสารสกัดหยาบจากผลของมะพอกที่สกัดด้วย Ethylacetate ที่ระดับความเข้มข้น 3,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกสูงสุด (69.52%) สารสกัดหยาบที่สกัดด้วย Hexane ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกต่ำ (43.83%)

ตารางที่ 4.3 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของวัชพืชของสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้น 3 ระดับ ที่สกัดจากเปลือกของมะพอกที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด

ความเข้มข้น (ppm)	การยับยั้งการงอก (%)		
	Hexane	Ethylacetate	Methanol
1,000	58.22	72.18	64.32
2,000	60.97	73.27	66.80
3,000	61.12	75.32	68.11

ตารางที่ 4.3 แสดงการยับยั้งการงอก สารสกัดหยาบจากเปลือกของมะพอกที่สกัดด้วย Ethylacetate ที่ระดับความเข้มข้น 3,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกสูงที่สุด (75.32%) สารสกัดหยาบที่สกัดด้วย Hexane ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกต่ำที่สุด (58.22%)

ตารางที่ 4.4 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของวัชพืชของสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้น 3 ระดับ ที่สกัดจากใบของมะพอกที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด

ความเข้มข้น (ppm)	**การยับยั้งการงอก (%)**		
	Hexane	**Ethylacetate**	**Methanol**
1,000	58.34	75.87	66.49
2,000	60.63	77.48	68.72
3,000	63.81	79.03	69.95

ตารางที่ 4.4 แสดงการยับยั้งการงอก สารสกัดหยาบจากใบของมะพอกที่สกัดด้วย Ethylacetate ที่ระดับความเข้มข้น 3,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกสูงที่สุด (79.03%) สารสกัดหยาบที่สกัดด้วย Hexane ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกต่ำที่สุด (58.34%)

4.2.2 การยับยั้งความยาวรากของวัชพืช

ตารางที่ 4.5 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวรากของวัชพืชของสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้น 3 ระดับที่สกัดจากผลของมะพอกที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด

ความเข้มข้น (ppm)	การยับยั้งความยาวราก (%)		
	Hexane	Ethylacetate	Methanol
1,000	48.21	68.29	55.03
2,000	48.49	70.48	56.77
3,000	49.97	73.24	56.51

ตารางที่ 4.5 แสดงการยับยั้งความยาวราก สารสกัดหยาบจากผลของมะพอกที่สกัดด้วย Ethylacetate ที่ระดับความเข้มข้น 3,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวรากสูงที่สุด (73.24%) สารสกัดหยาบจากผลของมะพอกที่สกัดด้วย Hexane ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวรากต่ำที่สุด (48.21%)

ตารางที่ 4.6 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวรากของวัชพืชของสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้น 3 ระดับที่สกัดจากเปลือกของมะพอกที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด

ความเข้มข้น (ppm)	ความยาวราก (%)		
	Hexane	Ethylacetate	Methanol
1,000	48.97	65.93	52.48
2,000	49.64	67.84	55.29
3,000	50.91	69.35	57.10

ตารางที่ 4.6 แสดงการยับยั้งความยาวราก สารสกัดหยาบจากเปลือกของมะพอกที่สกัด Ethylacetate ที่ระดับความเข้มข้น 3,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวรากสูงที่สุด (69.35%) สารสกัดหยาบจากเปลือกของมะพอกที่สกัดด้วย Hexane ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวรากต่ำที่สุด (48.97%)

ตารางที่ 4.7 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวรากของวัชพืชของสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้น 3 ระดับที่สกัดจากใบของมะพอกที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด

ความเข้มข้น (ppm)	**ความยาวราก (%)**		
	Hexane	**Ethylacetate**	**Methanol**
1,000	53.80	66.87	54.72
2,000	55.22	68.77	56.57
3,000	56.01	70.27	57.88

ตารางที่ 4.7 แสดงการยับยั้งความยาวราก สารสกัดหยาบจากใบของมะพอกที่สกัดด้วย Ethylacetate ที่ระดับความเข้มข้น 3,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวรากสูงที่สุด (70.27%) สารสกัดหยาบจากใบของมะพอกที่สกัดด้วย Hexane ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวรากต่ำที่สุด (53.80%)

4.2.3 ผลการยับยั้งความยาวลำต้นของวัชพืช

ตารางที่ 4.8 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวลำต้นของวัชพืชของสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้น 3 ระดับที่สกัดจากผลของมะพอกที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด

ความเข้มข้น (ppm)	การยับยั้งความยาวลำต้น(%)		
	Hexane	Ethylacetate	Methanol
1,000	47.36	73.22	58.05
2,000	46.70	75.69	60.39
3,000	49.58	77.04	62.57

ตารางที่ 4.8 แสดงการยับยั้งความยาวลำต้น สารสกัดหยาบจากผลของมะพอกที่สกัดด้วย Ethylacetate ที่ระดับความเข้มข้น 3,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวลำต้นสูงที่สุด (77.04%) สารสกัดหยาบจากผลของมะพอกที่สกัดด้วย Hexane ที่ระดับความเข้มข้น 2,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวลำต้นต่ำที่สุด (47.36%)

ตารางที่ 4.9 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวลำต้นของวัชพืชของสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้น 3 ระดับที่สกัดจากเปลือกของมะพอกที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด

ความเข้มข้น (ppm)	การยับยั้งความยาวลำต้น(%)		
	Hexane	Ethylacetate	Methanol
1,000	45.27	73.51	52.59
2,000	47.89	74.24	57.33
3,000	49.92	76.55	60.49

ตารางที่ 4.9 แสดงการยับยั้งความยาวลำต้น สารสกัดหยาบจากเปลือกของมะพอกที่สกัดด้วย Ethylacetate ที่ระดับความเข้มข้น 3,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวลำต้นสูงที่สุด (76.55%) สารสกัดหยาบจากเปลือกของมะพอกที่สกัดด้วย Hexane ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวลำต้นต่ำที่สุด (45.27%)

ตารางที่ 4.10 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวลำต้นของวัชพืชของสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้น 3 ระดับที่สกัดจากใบของมะพอกที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด

ความเข้มข้น (ppm)	การยับยั้งความยาวลำต้น(%)		
	Hexane	Ethylacetate	Methanol
1,000	49.28	75.23	64.95
2,000	53.99	76.41	67.32
3,000	57.84	78.96	68.76

ตารางที่ 4.10 แสดงการยับยั้งความยาวลำต้น สารสกัดหยาบจากใบของมะพอกที่สกัดด้วย Ethylacetate ที่ระดับความเข้มข้น 3,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวลำต้นสูงที่สุด (78.96%) สารสกัดหยาบจากใบของมะพอกที่สกัดด้วย Hexane ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวลำต้นต่ำที่สุด (49.28%)

ตารางที่ 4.11 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้ำหนักแห้งของวัชพืชของสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้น 3 ระดับที่สกัดจากผลของมะพอกที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด

ความเข้มข้น (ppm)	การยับยั้งน้ำหนักแห้ง(%)		
	Hexane	Ethylacetate	Methanol
1,000	55.47	80.64	72.99
2,000	58.53	82.95	75.25
3,000	61.28	83.26	76.54

ตารางที่ 4.11 แสดงการยับยั้งน้ำหนักแห้ง สารสกัดหยาบจากผลของมะพอกที่สกัดด้วย Ethylacetate ที่ระดับความเข้มข้น 3,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้ำหนักแห้งสูงที่สุด (83.26%) สารสกัดหยาบจากผลของมะพอกที่สกัดด้วย Hexane ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้ำหนักแห้งต่ำที่สุด (55.47%)

4.2.4 ผลการยับยั้งน้ำหนักแห้งของวัชพืช

ตารางที่ 4.12 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้ำหนักแห้งของวัชพืชของสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้น 3 ระดับที่สกัดจากเปลือกของมะพอกที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด

ความเข้มข้น (ppm)	การยับยั้งน้ำหนักแห้ง(%)		
	Hexane	Ethylacetate	Methanol
1,000	59.68	83.57	74.32
2,000	62.31	85.61	76.74
3,000	63.59	85.55	77.68

ตารางที่ 4.12 แสดงการยับยั้งน้ำหนักแห้ง สารสกัดหยาบจากเปลือกของมะพอกที่สกัดด้วย Ethylacetate ที่ระดับความเข้มข้น 3,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้ำหนักแห้งสูงที่สุด (85.55%) สารสกัดหยาบจากเปลือกของมะพอกที่สกัดด้วย Hexane ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้ำหนักแห้งต่ำที่สุด (59.68%)

ตารางที่ 4.13 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้ำหนักแห้งของวัชพืชของสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้น 3 ระดับที่สกัดจากใบของมะพอกที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด

ความเข้มข้น (ppm)	การยับยั้งน้ำหนักแห้ง(%)		
	Hexane	Ethylacetate	Methanol
1,000	62.80	83.32	70.80
2,000	63.98	86.58	70.99
3,000	65.21	87.77	72.32

ตารางที่ 4.13 แสดงการยับยั้งน้ำหนักแห้ง สารสกัดหยาบจากใบของมะพอกที่สกัดด้วย Ethylacetate ที่ระดับความเข้มข้น 3,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้ำหนักแห้งสูงที่สุด (87.77%) สารสกัดหยาบจากใบของมะพอกที่สกัดด้วย Hexane ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้ำหนักแห้งต่ำที่สุด (62.80%)

4.3 ผลของสารแต่ละชั้นต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืช

ตารางที่ 4.14 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชของสารสกัดชั้น F1-9 ที่สกัดด้วย **Ethylacetate** จากใบของมะพอก

การยับยั้งการเจริญเติบโต (%)									
Fraction	**F1**	**F2**	**F3**	**F4**	**F5**	**F6**	**F7**	**F8**	**F9**
การงอก	46.29	51.29	58.25	65.14	58.31	76.71	77.32	82.45	74.87
ความยาวราก	47.16	55.41	59.90	67.99	59.91	78.59	79.14	85.59	76.69
ความยาวลำต้น	48.91	58.22	59.64	67.34	60.44	78.55	80.51	86.34	78.37
น้ำหนักแห้ง	50.66	60.08	63.77	72.35	64.26	79.47	81.09	88.01	79.54

ตารางที่ 4.14 แสดงสารสกัดจากใบของมะพอกด้วย Ethylacetate ชั้น F8 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอก เปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวลำต้น เปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวราก และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้ำหนักแห้ง สูงที่สุดมีค่าเท่ากับ 82.45, 85.59, 86.34 และ 88.01% ตามลำดับ โดยที่สารสกัด ชั้น F1 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตต่ำที่สุด

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

5.1.1 การตรวจสอบพฤกษเคมี

1. สารสกัดจากผลพบสารกลุ่ม alkaloids, condensed tannins, phenolic compounds, flavonoids, triterpenes, steroids, และ cardiac glycosides

2. สารสกัดจากเปลือกและใบพบสารกลุ่ม alkaloids, condensed tannins, phenolic compounds, flavonoids, triterpenes, steroids, และ antraquinones

5.1.2 การยังยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืช

5.1.2.1 การยับยั้งการงอก

1. การยับยั้งการงอกสารสกัดหยาบจากผลของมะพอกที่สกัดด้วย Ethylacetate ที่ระดับความเข้มข้น 3,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกสูงสุด (69.52%) สารสกัดหยาบที่สกัดด้วย Hexane ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกต่ำ (43.83%)

2. การยับยั้งการงอกสารสกัดหยาบจากเปลือกของมะพอกที่สกัดด้วย Ethylacetate ที่ระดับความเข้มข้น 3,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกสูงที่สุด (75.32%) สารสกัดหยาบที่สกัดด้วย Hexane ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกต่ำที่สุด (58.22%)

3. การยับยั้งการงอก สารสกัดหยาบจากใบของมะพอกที่สกัดด้วย Ethylacetate ที่ระดับความเข้มข้น 3,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกสูงที่สุด (79.03%) สารสกัดหยาบที่สกัดด้วย Hexane ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกต่ำที่สุด (58.34%)

5.1.2.2 การยับยั้งความยาวราก

1. การยับยั้งความยาวราก สารสกัดหยาบจากผลของมะพอกที่สกัดด้วย Ethylacetate ที่ระดับความเข้มข้น 3,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวรากสูงที่สุด (73.24%) สารสกัดหยาบจากผลของมะพอกที่สกัดด้วย Hexane ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวรากต่ำที่สุด (48.21%)

2. การยับยั้งความยาวราก สารสกัดหยาบจากเปลือกของมะพอกที่สกัด Ethylacetate ที่ระดับความเข้มข้น 3,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวรากสูงที่สุด (69.35%) สารสกัดหยาบจากเปลือกของมะพอกที่สกัดด้วย Hexane ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวรากต่ำที่สุด (48.97%)

3. การยับยั้งความยาวราก สารสกัดหยาบจากใบของมะพอกที่สกัดด้วย Ethylacetate ที่ระดับความเข้มข้น 3,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวรากสูงที่สุด (70.27%) สารสกัดหยาบจากใบของมะพอกที่สกัดด้วย Hexane ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวรากต่ำที่สุด (53.80%)

5.1.2.3 การยับยั้งความยาวลำต้น

1. การยับยั้งความยาวลำต้น สารสกัดหยาบจากผลของมะพอกที่สกัดด้วย Ethylacetate ที่ระดับความเข้มข้น 3,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวลำต้นสูงที่สุด (77.04%) สารสกัดหยาบจากผลของมะพอกที่สกัดด้วย Hexane ที่ระดับความเข้มข้น 2,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวลำต้นต่ำที่สุด (47.36%)

2. การยับยั้งความยาวลำต้น สารสกัดหยาบจากเปลือกของมะพอกที่สกัดด้วย Ethylacetate ที่ระดับความเข้มข้น 3,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวลำต้นสูงที่สุด (76.55%) สารสกัดหยาบจากเปลือกของมะพอกที่สกัดด้วย Hexane ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวลำต้นต่ำที่สุด (45.27%)

3. การยับยั้งความยาวลำต้น สารสกัดหยาบจากใบของมะพอกที่สกัดด้วย Ethylacetate ที่ระดับความเข้มข้น 3,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวลำต้นสูงที่สุด (78.96%) สารสกัดหยาบจากใบของมะพอกที่สกัดด้วย Hexane ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวลำต้นต่ำที่สุด (49.28%)

5.1.2.4 การยับยั้งน้ำหนักแห้ง

1. การยับยั้งน้ำหนักแห้ง สารสกัดหยาบจากผลของมะพอกที่สกัดด้วย Ethylacetate ที่ระดับความเข้มข้น 3,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้ำหนักแห้งสูงที่สุด (83.26%) สารสกัดหยาบจากผลของมะพอกที่สกัดด้วย Hexane ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้ำหนักแห้งต่ำที่สุด (55.47%)

2. การยับยั้งน้ำหนักแห้ง สารสกัดหยาบจากเปลือกของมะพอกที่สกัดด้วย Ethylacetate ที่ระดับความเข้มข้น 3,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้ำหนักแห้งสูงที่สุด (85.55%) สารสกัดหยาบจากเปลือกของมะพอกที่สกัดด้วย Hexane ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้ำหนักแห้งต่ำที่สุด (59.68%)

3. การยับยั้งน้ำหนักแห้ง สารสกัดหยาบจากใบของมะพอกที่สกัดด้วย Ethylacetate ที่ระดับความเข้มข้น 3,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้ำหนักแห้งสูงที่สุด (87.77%) สารสกัดหยาบจากใบของมะพอกที่สกัดด้วย Hexane ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้ำหนักแห้งต่ำที่สุด (62.80%)

5.1.3 ผลของสารแต่ละชั้นต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของวัชพืช

สารสกัดจากใบของมะพอกด้วย Ethylacetate ชั้น F8 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอก เปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวลำต้น เปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวราก และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้ำหนักแห้ง สูงที่สุดมีค่าเท่ากับ 77.32, 79.14, 80.51 และ 81.09 % ตามลำดับ โดยที่สารสกัดชั้น F1 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตต่ำที่สุด

5.2 อภิปรายผล

การวิจัยเรื่องการศึกษาพฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากมะพอกที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของวัชพืชในนาข้าวเพื่อสนับสนุนการใชประโยชน์และเพิ่มมูลค่าความหลากหลายทางชีวภาพอยางมั่นคงและยั่งยืนทำการทดลอง โดยการนำผล เปลือก และใบมะพอก มาสกัดโดยนำมาหมักด้วยวิธี Maceration และทำการสกัดด้วยเทคนิค Sequential Extraction ด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิดคือ เฮกเซน เอทิลแอซิเตต และเมทานอลจะได้สารสกัดหยาบทั้งหมด 9 ชนิด จากกนั้นทดสอบผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชโดยสารสกัดหยาบทั้งหมด 9 ชนิดไปมาทดสอบหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอก เปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวราก เปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวลำต้น และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้ำหนักแห้งของหญ้าข้าวนกซึ่งเป็นวัชพืชในนาข้าว และเลือกสารสกัดหยาบที่มีเปอร์เซ็นต์การควบคุมการงอกและเจริญเติบโตของวัชพืชสูงที่สุดคือสารสกัดหยาบจากใบมะพอกชั้น Ethylacetate ไปแยกชั้นสารด้วยเทคนิคทางโครมาโทรกราฟฟี ได้สารทั้งหมด 9 ชั้น (F1-F-9) และนำสารทั้ง 9 ชั้นไปทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชจากผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจากใบของมะพอกที่สกัดด้วยด้วย Ethylacetate ที่มีความเข้มข้น 3,000 ppm แสดงการยับยั้งการงอก การยับยั้งความยาวราก และการยับยั้งน้ำหนักแห้งในเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่สูงที่สุด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก สารอัลลีโลพาธี (Allelopathy) เป็นกลุ่มสารที่มีความมีขั้วเทียบเท่าหรือเหมาะสมกับสภาพขั้วของ Ethylacetateทำให้ถูกสกัดออกมาได้ดีด้วยตัวทำละลายที่เป็น Ethylacetate จึงให้ผลยับยั้งการเจริญเติบโตดังที่กล่าวมา ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิจัยของวิมลพรรณ รุงพรหม (2550) ที่ศึกษาสารยับยั้งการงอกเมล็ดวัชพืชจากรากลำเจียกในการยับยั้งการงอกของเมล็ดวัชพืชดวยสารสกัดของวัชพืชเขตรอนในนาขาวของไทย พบวาสารสกัดเอทิลแอซีเตต ความเขมขน 10 mg/ml ของรากลำเจียก *Coix aquatica* Roxb แสดงผลการยับยั้งการงอกของเมล็ดไมยราบยักษไดดี โดยมีเปอรเซนตการยับยั้งการงอกรอยละ 85 และเมื่อนำสารสกัดจากใบมะพอกชั้น Ethylacetate มาแยกและทดสอบพบว่าชั้น F8 เป็นชั้นที่แสดงผลการยับยั้งการเจริญเติบโตได้สูงที่สุด นั่นคือสารในชั้น F8 อาจจะเป็นกลุ่มสารที่มีความมีขั้วสูงซึ่งอธิบายได้จากการเติมสารลงในคอลัมน์ โดยเรียงความมีขั้วน้อยไปหาขั้วมาก ได้แก่ สารเฮกเซน 100 เปอร์เซ็นต์ สารผสมระหว่างเฮกเซนกับไดคลอโรมีเทน 5 10 20 30 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์ สารผสมระหว่างเฮกเซนกับเอธิลอะซิเตรต 10 20 30 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์ และเมทานอล 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสาร F8 ออกมาในตอนท้ายๆ นั่นเอง

5.3 ข้อเสนอแนะ

ในการวิจัยต่อไปควรมีการศึกษาการแยกสารบริสุทธิ์ในระดับโครงสร้างโมเลกุลและนำกลับมาทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตเพื่อเป็นข้อมูลสำหรับการต่อยอดการวิจัยในภาคเกษตรกรรมต่อไป

บรรณานุกรม

เอกสารภาษาอังกฤษ

Copeland L. O. and M. B. McDonald. 1995. Principles of Seed Science and Technology. 3rd ed. Thomson publishing Company, Mexico.

Beadle, C.L. 1993. Growth analysis. In (Hall, D.O. *et al*. Ed.) Photosynthesis and Production in the Changing Environment: A Field and Laboratory Manual. Chapman & Hall : London.

Brian V. Ottis. et, al. 2005. Determination of Antagonism between Cyhalofop-butyl and Other Rice (Oryza sativa) Herbicides in Barnyardgrass (Echinochloacrus-galli) J. Agric. Food Chem. 2005, 53, p4064–4068.

Dilpreet S. Riar et, al. 2013. Physiological and Molecular Basis of Acetolactate Synthase-Inhibiting Herbicide Resistance in Barnyardgrass (Echinochloa crus-galli) J. Agric. Food Chem. 2013, 61, p278 – 289.

Francisco A. Macias, et al.2008. Modified Benzoxazinones in the System Oryza sativa – Echinochloa crus-galli: An Approach to the Development of Biorational Herbicide Models J. Agric. Food Chem. 2008, 56, p9941–9948.

Francisco A. Macias, et al.2005. Structure–Activity Relationship Studies of Benzoxazinones and Related Compounds. Phytotoxicity on Echinochloa crus-galli (L.) P. Beauv. J. Agric. Food Chem. 2005, 53, p4373–4380.

Hari Om, et al .2002. Allelopathic response of Phalaris minor to crop and weed plants in rice–wheat system. Crop Protection 21 (2002) p699–705.

Hisashi Kato-Noguchi, 2011. Barnyard grass-induced rice allelopathy and momilactone B .Journal of Plant Physiology, 168 : p1016–1020.

Holm, L. 1969. Weed propblems in developing countries. Weed Sci. 17: p113 – 118.

Molisch, H. 1937. Der Einfluss einer Pflanze auf die andere-Allelopathie. Fischer, Jena.

Montinee Teerarak , et al .2010. Evaluation of allelopathic, decomposition and cytogenetic activities of *Jasminum officinale* L. f. var. *grandiflorum* (L.) Kob. on bioassay plants Bioresource Technology 101 (2010) p5677–5684.

Tigre R.C., et al. 2012. Allelopathic and bioherbicidal potential of Cladonia verticillaris on the germination and growth of Lactuca sativa .Ecotoxicology and Environmental Safety 84 (2012) p125–132.

Udomdeja polyium. 2013. Allelopathic effects of Xylocarpus gangeticus Parkins on germination and growth of weed in rice fields. journal of applied sciences research . 2013 Special, 9(12) p6180-6184.

Jessica Kelton, Andrew J. Price and Jorge Mosjidis (2012). Allelopathic Weed Suppression Through the Use of Cover Crops, Weed Control, Dr. Andrew Price (Ed.), ISBN: 978-953-51-0159-8, InTech, Available from: http://www.intechopen.com/books/weed-control/allelopathic-weed-suppression-through-the-use-of-cover-crops

เอกสารภาษาไทย

กรรณิกา สุขนิตย์ สุรินทร์ . 2544. การทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาประเภทของสารเคมีในพืช. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏสุรินทร์

เกล้ายุคล สุจิรา 2547. ผลของสารสกัดจากธูปฤาษี (*Typha angustifolia Linn*.) ต่อการเจริญเติบโตของพืชและการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จินดา ศรศรีวิชัย. 2514. สรีรวิทยาภาคการเจริญเติบโตและการควบคุม. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ใจเอก ชลชีวะ และคณะ .2544. การเปรียบเทียบการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตต้นกล้าผักกาดหอมของสารสกัดจากปีกผล รากอากาศ และเมล็ดของลำพู. “ศิลปากรวิจัย ครั้งที่ 4 บูรณาการศาสตร์และศิลป์ คือ ศิลปากร” 19-21 มกราคม 2554 มหาวิทยาลัยศิลปากร พระราชวังสนามจันทร์นครปฐม

จวงจันทร์ ดวงพัตรา. 2529. เทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ดารารัตน์ มณีจันทร์ 2547. ผลทางอัลลีโลพาทีของพทุธชาติก้านแดง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร มหาบัณฑิต. บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

นราจันทร์ พิมเสน .2551. ผลของสิ่งสกัดหยาบจากวัชพืชเขตร้อนบางชนิดต่อการงอกและการเจริญเติบโตของ เมล็ดไมยราบยักษ์ *Mimosa pigra L*. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นริศา คำแก่น . 2551. การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสมุนไพร. กรุงเทพฯ : ก็อปปี้บอกซ์.

บุญรอด ชาติยานนท์. 2557. ผลของสารสกัดด้วยน้ำาจากใบพืชวงศ์กะเพราบางชนิดต่อการงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้าหญ้าขจรจบดอกเหลือง (*Pennisetum setosum L*.). วารสารมหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์ ปีที่ 6 ฉบับที่ 3 กันยายน-ธันวาคม 2557.

ปัทมาวดี เสตะกัณณะ. การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพของสมุนไพรไทย วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 44, 2 (2545) : 110-124

ประสาน วงศาโรจน์. 2540. การจัดการวัชพืชในนาข้าว. กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร. โรงพิมพ์ห้างหุ้นส่วน จำกัด มีเดีย เพรส.

พะเยาว์ สีนวนสลุง 2544 . ผลของสารอัลลีโลพาธิกจากสามเสือ (*Eupatorium odoratum* Linn.) ต่อการ งอกและการเจริญเติบโตของพืชปลูกและวัชพืชบางชนิด. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิตบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

พรชัย เหลืองอาภาพงศ์. 2540. วัชพืชศาสตร์. ภาควิชาพืชไร่, คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ภัทริน วิจิตรตระการ. 2555 . ผลในการยับยั้งการงอกของสารสกัดน้ำจากดาวเรืองและการแยกกลุ่มสารออกฤทธิ์. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า ปีที่ 30 ฉบับที่ 3 หน้า 87-94 พ.ศ. 2555

รัตนา อินทรานุปกรณ์. 2547. การตรวจสอบและการสกัดสาระสำคัญจากสมุนไพร. กรุงเทพฯ. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วราภรณ์ ฉุยฉาย. 2555. ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากพืชในประเทศไทย: ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและอัลลีโลพาที. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์. ปีที่ 4 ฉบับที่ 4 ตุลาคม 2554- กันยายน 2555

วิมลพรรณ รุงพรหม. 2550. สารยับยั้งการงอกของเมล็ดวัชพืชจากรากลำเจียก วารสารวิทยาศาสตรการเกษตร ปที่ 38 ฉบับที่ 6 พฤศจิกายน – ธันวาคม 2550

วันดี กฤษณพันธ์. 2529. พฤกษเคมีเบื้องต้น. เภสัชวินิจฉัย. ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ เล่ม 1. กรุงเทพ.

วันชัย จันทร์ประเสริฐ. 2538. สรีรวิทยาเมล็ดพันธุ์. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิชัย แซ่เซียว. 2531. ผลทางแอลลิลโลพาธิคของยูคาลิปตัส (*Eucalyptus Camaldulensis*) ที่มีต่อต้นอ่อนของไมยราบยักษ์. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วิมลพรรณ รุ่งพรหม และ สุปราณี แก้วกระจ่าง. 2550. การศึกษาสารยับยั้งการงอกของเมล็ดวัชพืชจากรากลำเจียก. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร . 38(6) (พิเศษ): 299-302.

ศานิต สวัสดิกาญจน์ และคณะ . 2551. ผลของสารสกัดจากหญ้าดอกขาวตอการงอกและการเจริญเติบโตของพืชผัก 2 ชนิด. 2551.วารสารวิทยาศาสตรการเกษตร ปที่ 39 ฉบับที่ 3 พิเศษ) กันยายน – ธันวาคม 2551

ศิริพร ซึงสนธิพร. 2535. ผลทางอัลลิโลพาธิคของวัชพืชสาบหมา (*Eupatorium adenophorum Spreng.*) ต่อการเจริญเติบโตของพืชปลูกและวัชพืชบางชนิด วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย.2546. ทรัพยากรพืชในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ 12 (1) . พืชสมุนไพรและพืชมีพิษ เล่ม 1 : ซีเอ็ดยูเคชั่น จำกัด.

สุขุมาลย์ เลิศมงคล. 2558. ผลทางอัลลิโลพาธิกของผักเสี้ยนดอกม่วงต้นสดและต้นแห้งต่อการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนกและผักโขมหนาม. วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก ปีที่ 8 ฉบับที่ 1 มกราคม - มิถุนายน 2558.

สุพัตรา คำเรียง. 2557 . ผลของสารสกัดหยาบจากข่าต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชปลูกและวัชพืชบางชนิด . วารสารแก่นเกษตร ปีที่ 42 ฉบับพิเศษ 1

สุภาพ บุณยะรัตเวช. 2523. การทดสอบประเภทของสารเคมีในพืชสมุนไพร. วารสารวิจัยจุฬา. กรุงเทพฯ. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุธีรดา ฉิมน้อย และคณะ. 2551. ประสิทธิภาพของใบประยงค์ผงต่อการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ. วารสารวิทยาศาสตรการเกษตร. ปที่ 39 ฉบับที่ 3 (พิเศษ) กันยายน-ธันวาคม 2551. 317-320

สืบศักดิ์ อนันต์พัฒนา. 2547. ผลทางอัลลีโลพาทิกของแซนทอกซีลินจากผลกำจัดต้น. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

อาทิตยา นุราฤทธิ์ และคณะ (2552) ผลของสารสกัดจากใบพืชในวงศ์ Anonaceae ต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าหญ้าขจรจบและดอกเล็กและหญ้ารังนก. วารสารวิทยาศาสตร์ มศว. ปีที่ 25 ฉ 1 2552 น115-131

อัญชลี จาละ. 2556. ผลของสารอัลลีโลพาทีจากต้อยติ่งที่มีต่อการงอกของเมล็ดไมยราบ ผักเสี้ยนผีและผักโขมหิน. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ปีที่ 21 ฉบับที่ 6 (ฉบับพิเศษ).

อุดมเดชา พลเยี่ยม. 2557. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์เรื่องศักยภาพของสารสกัดจากมะเดื่อต่อการควบคุมการงอกและเจริญเติบโตของวัชพืชในนาข้าวเพื่อเพิ่มมูลค่าความหลากหลายทางชีวภาพและการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร.

เอกสารประกอบการบรรยาย. 2545. การฝึกอบรมการใช้เทคโนโลยีแบบบูรณาการเพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวคุณภาพดี. 29 พฤษภาคม – 1 มิถุนายน 2545 ณ ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี อ.ธัญบุรี จ.ปทุมธานี.