

บทที่ 4

ผลการวิจัย

1. ศึกษาสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของออลิโกไคโตซานชนิด O-5, O-80 และ SCS

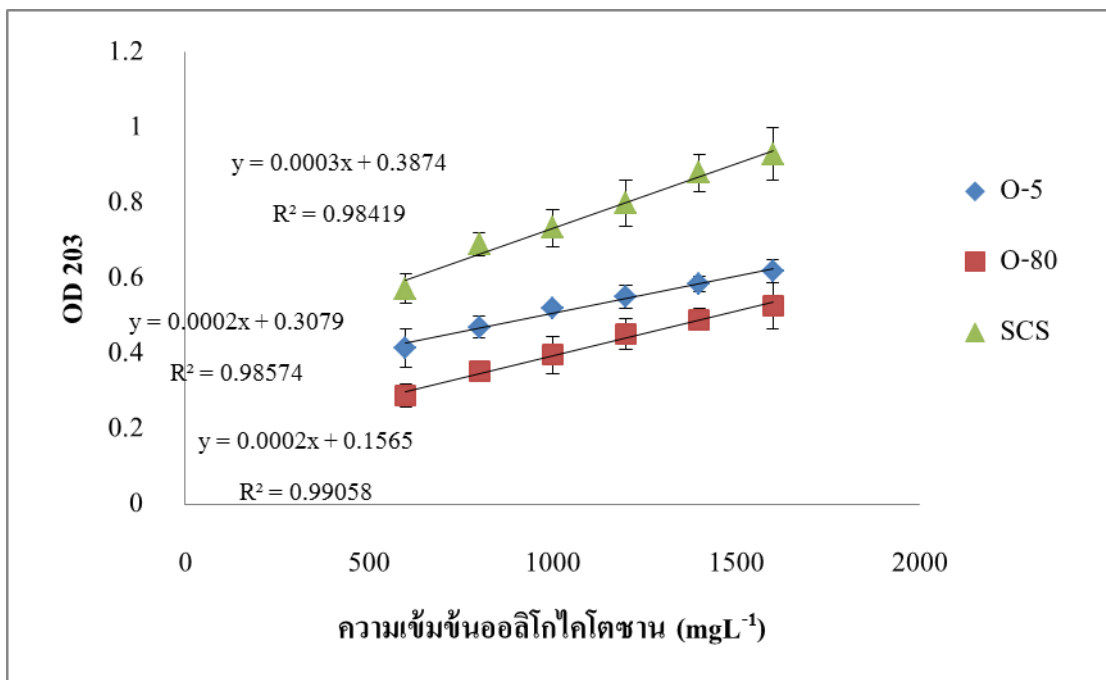
1.1 วิเคราะห์ค่า Degree of Deacetylation ของออลิโกไคโตซานชนิด O-5, O-80 และ SCS

นำออลิโกไคโตซานชนิด O-5, O-80 และ SCS ที่ความเข้มข้น 600 - 1,600 mgL⁻¹ มาหาปริมาณ *N*-acetyl-D-glucosamine ด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 203 นาโนเมตร จากนั้นนำค่าความชันกราฟมาคำนวณหาค่า Degree of Deacetylation เปรียบเทียบกับความชันกราฟของสารละลายไคโตซานซึ่งมีค่า Degree of Deacetylation เท่ากับ 80% ผลจากการทดลองพบว่า ออลิโกไคโตซานชนิด O-5 และ O-80 มีค่า Degree of Deacetylation มากกว่า 80% และออลิโกไคโตซานชนิด SCS มีค่า Degree of Deacetylation เท่ากับ 80% (ดังตารางที่ 7 - 8 และภาพที่ 18) แสดงว่าออลิโกไคโตซานชนิด O-5, O-80 และ SCS มีความบริสุทธิ์ ที่เป็นที่ยอมรับได้

ตารางที่ 7 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 203 นาโนเมตรของสารละลายออลิโกไคโตซานชนิด O-5, O-80 และ SCS

ความเข้มข้นสารละลาย ออลิโกไคโตซาน (mgL ⁻¹)	OD 203		
	O-5	O-80	SCS
600	0.415 ± 0.030	0.288 ± 0.050	0.573 ± 0.040
800	0.471 ± 0.020	0.353 ± 0.030	0.690 ± 0.030
1,000	0.519 ± 0.050	0.397 ± 0.010	0.734 ± 0.050
1,200	0.552 ± 0.040	0.452 ± 0.030	0.800 ± 0.060
1,400	0.584 ± 0.030	0.491 ± 0.020	0.880 ± 0.050
1,600	0.619 ± 0.060	0.527 ± 0.030	0.930 ± 0.070

หมายเหตุ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 203 นาโนเมตรของสารละลายออลิโกไคโตซาน ชนิด O-5, O-80 และ SCS เป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ



ภาพที่ 18 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 203 นาโนเมตรของสารละลาย
โอลิโกไคโตซานชนิด O-5, O-80 และ SCS

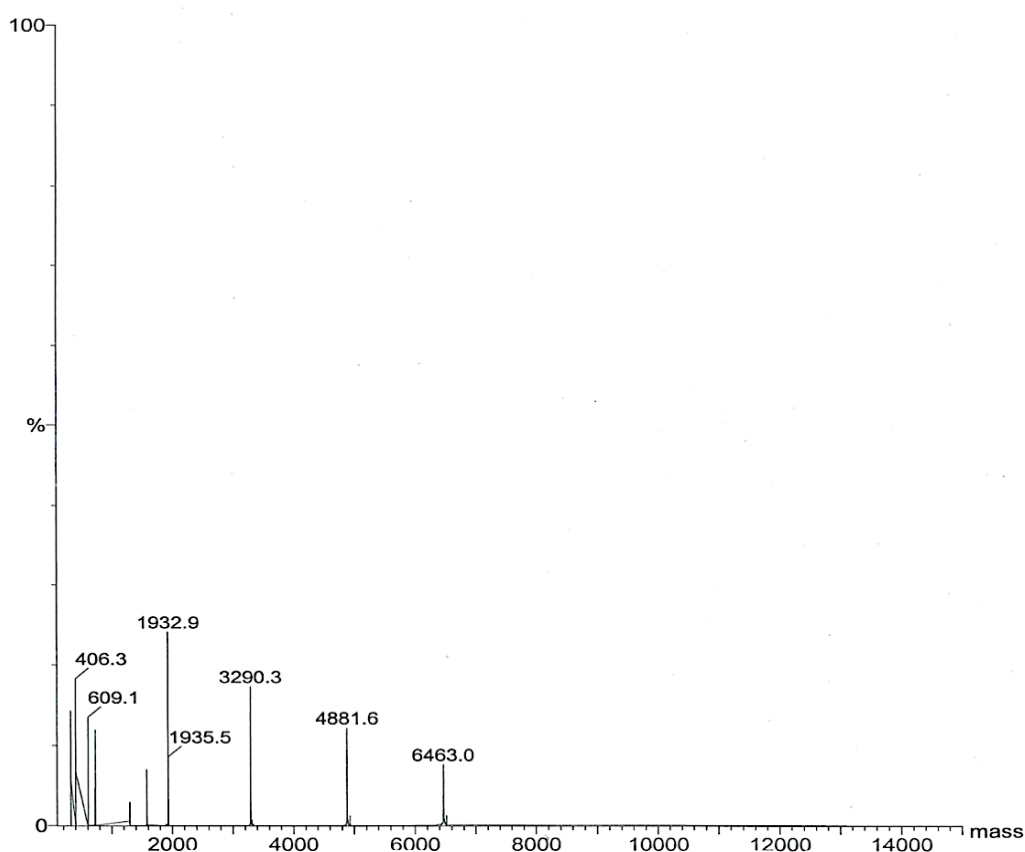
ตารางที่ 8 ผลการคำนวณหาค่า % Degree of Deacetylation ของสารละลายโอลิโกไคโตซานชนิด
O-5, O-80 และ SCS

ชนิดโอลิโกไคโตซาน	ความชันของกราฟ	% Degree of Deacetylation
O-5	0.0002	86.67%
O-80	0.0002	86.67%
SCS	0.0003	80.00%

1.2 การวิเคราะห์ขนาดโมเลกุลของโอลิโกไคโตซานชนิด O-5, O-80 และ SCS ด้วย เทคนิค Electro Spray Ionization Mass Spectrophotometry (ESIMS)

เตรียมสารละลายโอลิโกไคโตซานชนิด O-5, O-80 และ SCS เข้มข้น 2,000 mgL⁻¹ ใน
สารละลาย 1.0% (v/v) Acetic Acid ไปวิเคราะห์ขนาดโมเลกุลด้วยเครื่อง Electro Spray

Ionization Mass Spectrophotometer ผลจากการวิเคราะห์ทำให้ทราบว่า ออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ประกอบด้วยออลิโกไคโตซานโมเลกุลขนาดเล็กโดยมีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 406.30 - 6,463.00 Da (ดังภาพที่ 19) และตรวจพบออลิโกไคโตซานที่มีโมเลกุลขนาดปานกลางจำนวนเล็กน้อยโดยมีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 17,707 - 17,729 Da สำหรับออลิโกไคโตซานชนิด O-80 ตรวจพบว่ามีองค์ประกอบหลักเป็นโมเลกุลขนาดปานกลางมีโดยมีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 25,111.40 - 25,115.30 Da (ดังภาพที่ 20) และตรวจพบออลิโกไคโตซานขนาดโมเลกุลเล็กเจือปนอยู่ในสารละลายเล็กน้อยโดยมีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 2,912 - 15,341 Da ส่วนออลิโกไคโตซานชนิด SCS ซึ่งเป็นไคโตซานจากเปลือกกุ้ง ที่มีโครงสร้างพอลิเมอร์ขนาดใหญ่โดยมีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยประมาณ 1.19×10^6 Da ดังนั้นจึงสามารถเรียงลำดับขนาดโมเลกุลของออลิโกไคโตซานได้ดังนี้ $SCS > O-80 > O-5$ ดังตารางที่ 9



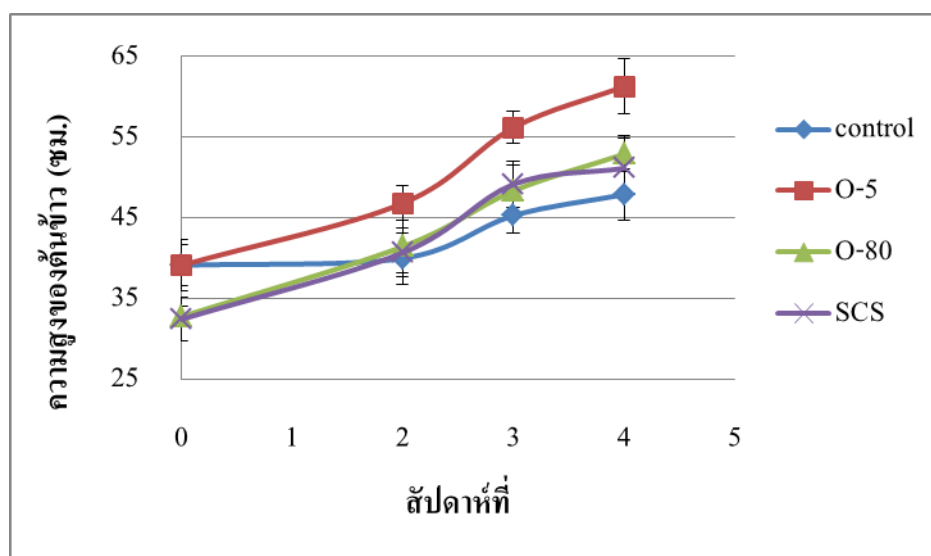
ภาพที่ 19 ผลการวิเคราะห์ขนาดโมเลกุลของออลิโกไคโตซานชนิด O-5

ระยะเวลา 1 เดือน ผลจากการทดลองพบว่า ออลิโกไคโตซานชนิด O-5, O-80 และ SCS ต่างมีความสามารถในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นข้าวสาลีหอยคัพทลงได้ดีกว่าชุดควบคุม โดยออลิโกไคโตซานชนิด O-5 มีความสามารถในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นข้าวสาลีหอยคัพทลงได้ดีที่สุด โดยสามารถ กระตุ้นให้ต้นข้าวสาลีหอยคัพทลงมีความสูงเพิ่มขึ้น 22.18 ซม.คิดเป็น 2.53 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับ ความสูงที่เพิ่มขึ้นของชุดควบคุมดังตารางที่ 10 และภาพที่ 21

ตารางที่ 10 ความสูงต้นข้าวสาลีหอยคัพทลงหลังจากได้รับการกระตุ้นด้วยออลิโกไคโตซานชนิด O-5, O-80 และ SCS ในระยะเวลา 1 เดือน

ชนิดออลิโก ไคโตซาน	ความสูงของต้นข้าวสาลีหอยคัพทลง (ซม.)				ความสูงที่เพิ่มขึ้น (ซม.)
	สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4	
Control	39.13 ± 2.50	40.00 ± 3.18	45.30 ± 2.21	47.90 ± 3.15	8.77 ± 3.18
O-5	39.12 ± 3.12	46.82 ± 2.15	56.20 ± 1.98	61.30 ± 3.43	22.18 ± 3.43
O-80	32.75 ± 1.23	41.45 ± 3.19	48.36 ± 3.18	52.91 ± 2.23	20.16 ± 3.19
SCS	32.43 ± 2.67	40.69 ± 3.01	49.17 ± 2.89	51.16 ± 3.77	18.73 ± 3.77

หมายเหตุ ข้อมูลความสูงของต้นข้าวสาลีหอยคัพทลงเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ



ภาพที่ 21 ผลของชนิดออลิโกไคโตซานต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นข้าวสาลีหอยคัพทลง

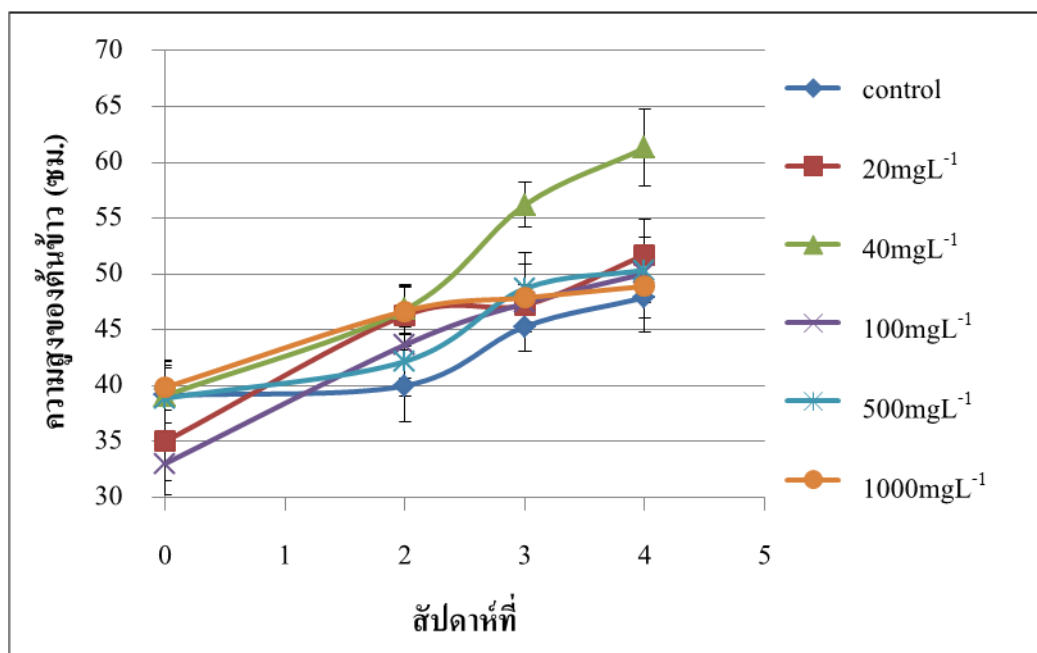
2.2 ผลของความเข้มข้นออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าวสัจหัดพัทลุง

ทำการฉีดพ่นออลิโกไคโตซานชนิด O-5 เข้มข้น 20, 40, 100, 500 และ 1,000 mgL⁻¹ ครั้งละ 10 มิลลิลิตรฉีดพ่นด้วยความถี่ 2 สัปดาห์/ครั้งลงบนต้นข้าวสัจหัดพัทลุงที่มีอายุ 1 เดือน โดยกำหนดให้ต้นข้าวที่ใช้น้ำฉีดพ่นเป็นชุดควบคุม วัดความสูงของต้นข้าวก่อนเริ่มฉีดพ่นและวัดความสูงของต้นข้าวอีกครั้งหลังจากฉีดพ่นแล้ว 2 สัปดาห์จากนั้นทำการวัดความสูงของต้นข้าวทุกสัปดาห์เป็นระยะเวลา 1 เดือน ผลจากการทดลองพบว่า ต้นข้าวสัจหัดพัทลุงที่ได้รับออลิโกไคโตซานชนิด O-5 มีการเจริญเติบโตดีกว่าชุดควบคุม โดยที่ความเข้มข้น 20 - 100 mgL⁻¹ สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นข้าวสัจหัดพัทลุงได้ดีกว่าชุดควบคุม (ดังตารางที่ 11) ซึ่งที่ความเข้มข้น 40 mgL⁻¹ สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตต้นข้าวสัจหัดพัทลุงได้ดีที่สุด โดยสามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวสัจหัดพัทลุงมีความสูงเพิ่มขึ้น 22.18 ซม. คิดเป็น 2.53 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับความสูงที่เพิ่มขึ้นของชุดควบคุมภายในระยะเวลา 1 เดือนดังภาพที่ 22

ตารางที่ 11 ความสูงต้นข้าวสัจหัดพัทลุงหลังจากได้รับการกระตุ้นด้วยออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในระยะเวลา 1 เดือน

ความเข้มข้น O-5 (mgL ⁻¹)	ความสูงของต้นข้าวสัจหัดพัทลุง (ซม.)				ความสูงที่เพิ่มขึ้น (ซม.)
	สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4	
Control	39.13 ± 2.50	40.00 ± 3.18	45.30 ± 2.21	47.90 ± 3.15	8.77 ± 3.18
20	35.02 ± 3.50	46.31 ± 2.75	47.23 ± 1.86	51.72 ± 3.24	16.70 ± 3.50
40	39.12 ± 3.12	46.82 ± 2.15	56.20 ± 1.98	61.30 ± 3.43	22.18 ± 3.43
100	33.03 ± 2.77	43.66 ± 3.00	47.39 ± 1.69	50.05 ± 1.99	17.02 ± 3.00
500	38.88 ± 3.27	42.18 ± 3.14	48.71 ± 3.19	50.37 ± 2.97	11.49 ± 3.27
1,000	39.85 ± 2.01	46.69 ± 2.11	47.88 ± 3.02	48.91 ± 2.89	9.06 ± 3.02

หมายเหตุ ข้อมูลความสูงของต้นข้าวสัจหัดพัทลุงเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ



ภาพที่ 22 ผลของความเข้มข้นสารละลายออลิโกไคโตซานชนิด O-5

ต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตข้าวสังข์หยดพัทลุง

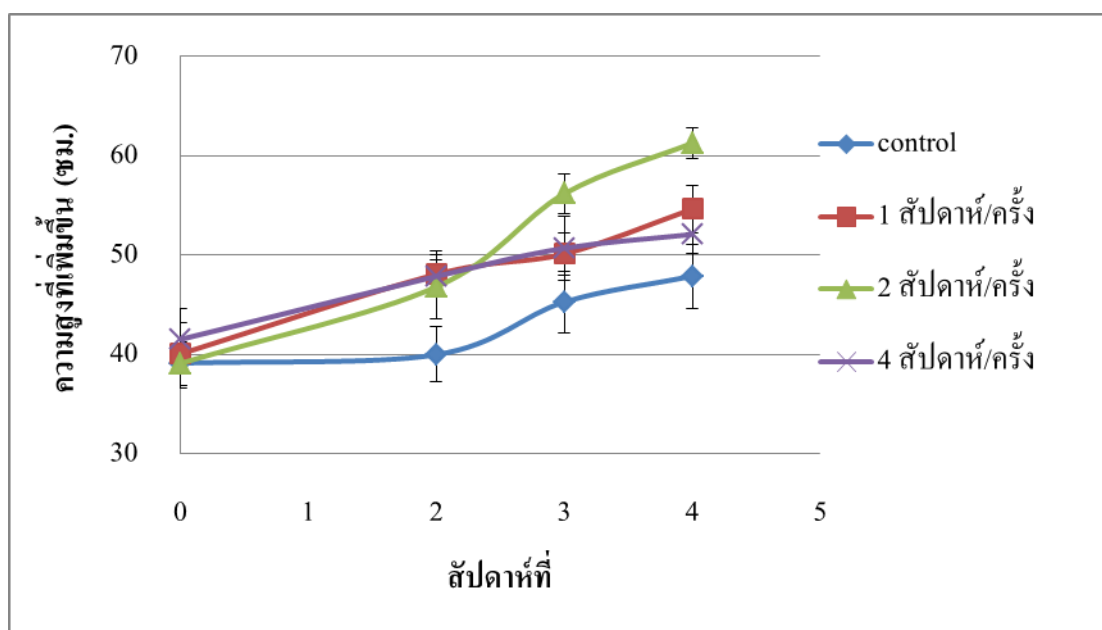
2.2 ผลของควมถี่ในการฉีดพ่นออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าวสังข์หยดพัทลุง

ทำการฉีดพ่นออลิโกไคโตซานชนิด O-5 เข้มข้น 40 mgL^{-1} ครั้งละ 10 มิลลิตรฉีดพ่นด้วยความถี่ 1, 2 และ 4 สัปดาห์/ครั้งลงบนต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงที่มีอายุ 1 เดือน โดยกำหนดให้ ต้นข้าวที่ใช้น้ำฉีดพ่นเป็นชุดควบคุม วัดความสูงของต้นข้าวก่อนเริ่มฉีดพ่นและวัดความสูงของต้นข้าวอีกครั้งหลังจากฉีดพ่นแล้ว 2 สัปดาห์ จากนั้นจะทำการวัดความสูงของต้นข้าวทุกสัปดาห์ เป็นระยะเวลา 1 เดือน ผลจากการทดลองพบว่า การฉีดพ่นสารละลายออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ด้วยความถี่ 1, 2 และ 4 สัปดาห์/ครั้งต่างสามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงมีการเจริญเติบโต ได้ดีกว่าชุดควบคุม โดยการฉีดพ่นออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ด้วยความถี่ 2 สัปดาห์/ครั้งจะสามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงมีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด โดยสามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงมีความสูงเพิ่มขึ้น 22.18 ซม.คิดเป็น 2.53 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับความสูงที่เพิ่มขึ้นของชุดควบคุม ภายในระยะเวลา 1 เดือนดังตารางที่ 12 และภาพที่ 23

ตารางที่ 12 ความสูงต้นข้าวสาลีหัยคัพทูลงหลังจากได้รับการกระตุ้นด้วยอลิโกไคโตซานชนิด O-5 โดยใช้ความถี่แตกต่างกันในระยะเวลา 1 เดือน

ความถี่ในการฉีดพ่น O-5	ความสูงของต้นข้าวสาลีหัยคัพทูลง (ซม.)				ความสูงที่เพิ่มขึ้น (ซม.)
	สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4	
Control	39.13 ± 2.50	40.00 ± 3.18	45.30 ± 2.21	47.90 ± 3.15	8.77 ± 3.18
1 สัปดาห์/ครั้ง	40.08 ± 2.76	48.08 ± 2.33	50.15 ± 3.22	54.66 ± 1.66	14.58 ± 2.01
2 สัปดาห์/ครั้ง	39.12 ± 3.12	46.82 ± 2.15	56.20 ± 1.98	61.30 ± 3.43	22.18 ± 3.43
4 สัปดาห์/ครั้ง	41.53 ± 3.23	47.88 ± 2.39	50.71 ± 1.52	52.11 ± 1.88	10.58 ± 3.55

หมายเหตุ ข้อมูลความสูงของต้นข้าวสาลีหัยคัพทูลงเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ



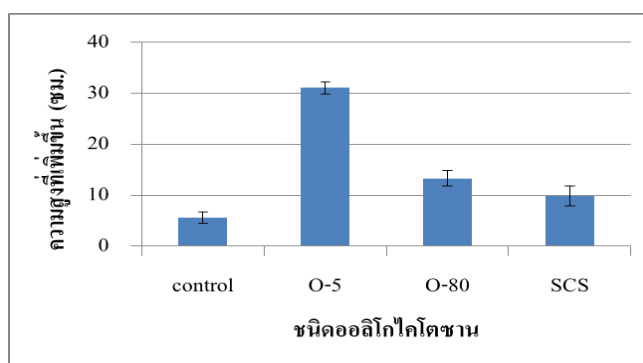
ภาพที่ 23 ผลของความถี่ในการฉีดพ่นอลิโกไคโตซานชนิด O-5 ต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตต้นข้าวสาลีหัยคัพทูลง

2.4 ผลของชนิดออลิโกไคโตซานต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 และพันธุ์พิษณุโลก 2

ฉีดพ่นออลิโกไคโตซานชนิด O-5, O-80 และ SCS เข้มข้น 40 mgL^{-1} ครั้งละ 10 มิลลิลิตร ฉีดพ่นด้วยความถี่ 2 สัปดาห์/ครั้งลงบนต้นข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 และพิษณุโลก 2 ที่มีอายุ 1 เดือน โดยกำหนดให้ต้นข้าวที่ใช้น้ำฉีดพ่นเป็นชุดควบคุม วัดความสูงของต้นข้าวก่อนเริ่มฉีดพ่นและวัดความสูงของต้นข้าวอีกครั้งเมื่อต้นข้าวเข้าสู่ระยะออกรวง ผลจากการทดลองพบว่า ออลิโกไคโตซานทุกชนิดสามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวทั้งสองพันธุ์มีการเจริญเติบโตได้ดีกว่าชุดควบคุม โดยออลิโกไคโตซาน ชนิด O-5 จะมีความสามารถในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นข้าวทั้งสองพันธุ์ได้ดีที่สุด (ดังภาพ ที่ 24 - 25) โดยต้นข้าวพันธุ์พิษณุโลก 2 ที่ได้รับออลิโกไคโตซานชนิด O-5 จะมีความสูงเพิ่มขึ้น 31.12 ซม. คิดเป็น 5.63 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับความสูงที่เพิ่มขึ้นของชุดควบคุม สำหรับข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ที่ได้รับออลิโกไคโตซานชนิด O-5 จะมีความสูงเพิ่มขึ้น 39.25 ซม. คิดเป็น 6.01 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับความสูงที่เพิ่มขึ้นของชุดควบคุมดังตารางที่ 13 - 14 ตารางที่ 13 ผลของชนิดออลิโกไคโตซานต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตในต้นข้าวพันธุ์พิษณุโลก 2

ชนิดออลิโกไคโตซาน	ความสูงของต้นข้าว (ซม.)	ความสูงที่เพิ่มขึ้น (ซม.)
Control	35.30 ± 1.02	5.53 ± 1.12
O-5	60.00 ± 1.17	31.12 ± 1.19
O-80	44.30 ± 1.45	13.30 ± 1.57
SCS	40.40 ± 1.81	9.89 ± 1.95

หมายเหตุ ข้อมูลความสูงของต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

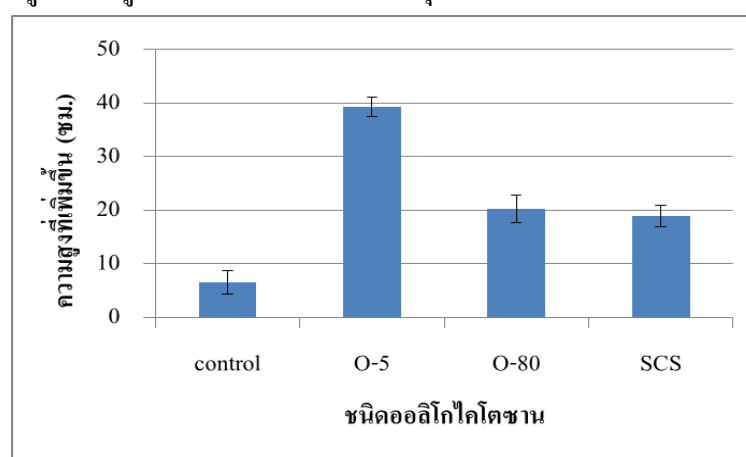


ภาพที่ 24 ผลของชนิดออลิโกไคโตซานต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตในต้นข้าวพันธุ์พิษณุโลก 2

ตารางที่ 14 ผลของชนิดออลิโกไคโตซานต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตในต้นข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1

ชนิดออลิโกไคโตซาน	ความสูงของต้นข้าว (ซม.)	ความสูงที่เพิ่มขึ้น (ซม.)
Control	45.50 ± 2.02	6.53 ± 2.18
O-5	79.40 ± 1.91	39.25 ± 1.79
O-80	59.10 ± 2.43	20.30 ± 2.57
SCS	61.20 ± 1.57	18.89 ± 1.95

หมายเหตุ ข้อมูลความสูงของต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ



ภาพที่ 25 ผลของชนิดออลิโกไคโตซานต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโต
ในต้นข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1

3. ศึกษาผลของออลิโกไคโตซานต่อกิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนสในสารสกัดจากใบข้าวสังข์หยดพัทลุง

3.1 ผลของชนิดออลิโกไคโตซานต่อการกระตุ้นเอนไซม์ไคตินเนสในข้าวสังข์หยดพัทลุง

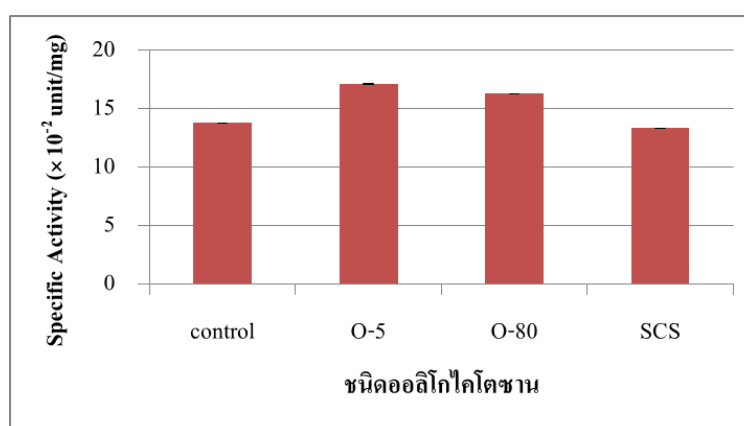
ฉีดพ่นออลิโกไคโตซานชนิด O-5, O-80 และ SCS เข้มข้น 40 mgL⁻¹ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ฉีดพ่นด้วยความถี่ 2 สัปดาห์/ครั้งลงบนต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงที่มีอายุ 1 เดือนเป็นระยะเวลา 1 เดือน โดยกำหนดให้ต้นข้าวที่ใช้น้ำฉีดพ่นเป็นชุดควบคุม ทำการเก็บใบข้าวสังข์หยดพัทลุงมาวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนส ผลจากการทดลองพบว่า ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงที่ได้รับออลิโกไคโตซานชนิด O-5 และ O-80 จะมีกิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนสสูงกว่าชุดควบคุม โดยต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงที่ได้รับออลิโกไคโตซานชนิด O-5 จะปรากฏกิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนสสูงที่สุด คือ 17.130×10^{-2} unit/mg คิดเป็น 1.24 เท่าของชุดควบคุมซึ่งแตกต่างจากต้นข้าวที่ได้รับออลิโกไคโต-

ซานชนิด SCS ที่พบกิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนสไม่แตกต่างจากชุดควบคุมดังตารางที่ 15 และภาพที่ 26

ตารางที่ 15 ผลของชนิดออลิโกไคโตซานต่อการกระตุ้นเอนไซม์ไคตินเนสในต้นข้าวสัจข์หยดพัทลุง

ชนิดออลิโกไคโตซาน	Chitinase Specific Activity ($\times 10^{-2}$ unit/mg)	% Activity Compare with Control
Control	13.800 $\pm$ 0.004	100
O-5	17.130 $\pm$ 0.005	124
O-80	16.320 $\pm$ 0.003	118
SCS	13.360 $\pm$ 0.004	97

หมายเหตุ ข้อมูลการทำงานของเอนไซม์เป็นค่าเฉลี่ยจากการทำการทดลอง 3 ซ้ำ



ภาพที่ 26 ผลของชนิดออลิโกไคโตซานต่อการกระตุ้นเอนไซม์ไคตินเนสในใบข้าวสัจข์หยดพัทลุง

3.2 ผลของออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ต่อการกระตุ้นเอนไซม์ไคตินเนสในข้าวสัจข์หยดพัทลุง

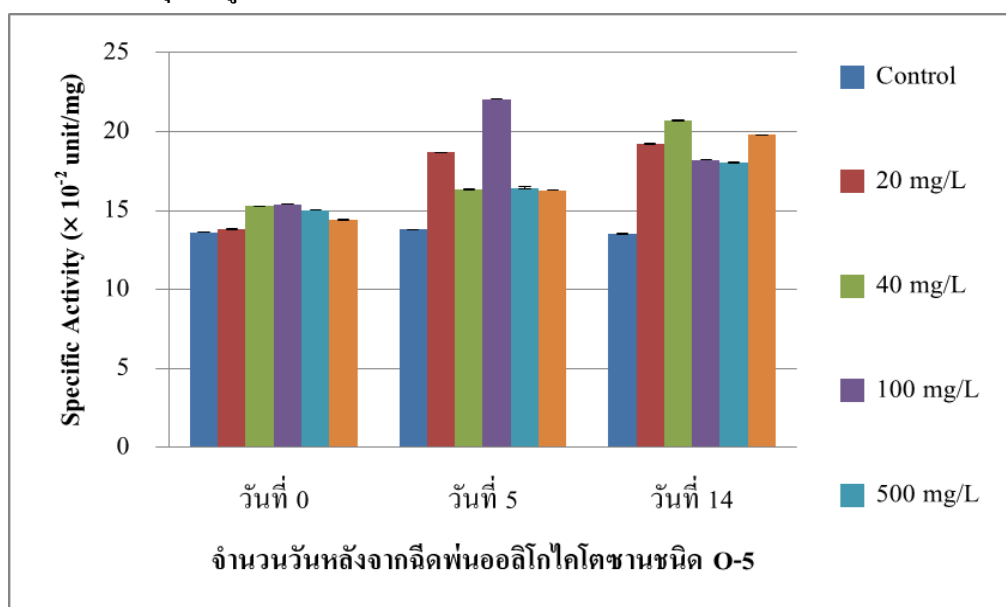
ทำการฉีดพ่นออลิโกไคโตซานชนิด O-5 เข้มข้น 20, 40, 100, 500 และ 1,000 mgL^{-1} ปริมาตร 10 มิลลิลิตรฉีดพ่นด้วยความถี่ 2 สัปดาห์/ครั้งลงบนต้นข้าวสัจข์หยดพัทลุงที่มีอายุ 1 เดือน โดยกำหนดให้ต้นข้าวที่ใช้น้ำฉีดพ่นเป็นชุดควบคุมจากนั้นทำการเก็บใบข้าวสัจข์หยดพัทลุงมาวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนส ผลจากการทดลองพบว่า ต้นข้าวสัจข์หยดพัทลุงที่ได้รับออลิโกไคโตซาน ชนิด O-5 ที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 20 - 1,000 mgL^{-1} มีการกระตุ้นการผลิตเอนไซม์ไคตินเนสเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนที่ได้รับการฉีดพ่นออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ซึ่งแตกต่างจากชุด

ควบคุมที่พบกิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเอสในระดับคงที่ โดยออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ที่ความเข้มข้น 100 mgL^{-1} จะสามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวสังเคราะห์ผลิตเอนไซม์ไคตินเอสได้สูงที่สุดในวันที่ 5 หลังจากได้รับออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ซึ่งตรวจพบ Specific Activity เท่ากับ $22.05 \times 10^{-2} \text{ unit/mg}$ คิดเป็น 1.60 เท่าของชุดควบคุมดังตารางที่ 16 และภาพที่ 27

ตารางที่ 16 ผลของออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในการกระตุ้นเอนไซม์ไคตินเอสในต้นข้าวสังเคราะห์ผลิต

ความเข้มข้น O-5 (mgL^{-1})	Chitinase Specific Activity ($\times 10^{-2} \text{ unit/mg}$)		
	วันที่ 0	วันที่ 5	วันที่ 14
Control	13.630 ± 0.009	13.810 ± 0.005	13.530 ± 0.007
20	13.820 ± 0.007	18.680 ± 0.000	19.230 ± 0.048
40	15.270 ± 0.000	16.340 ± 0.013	20.690 ± 0.018
100	15.390 ± 0.007	22.050 ± 0.007	18.220 ± 0.012
500	15.030 ± 0.003	16.420 ± 0.079	18.040 ± 0.025
1,000	14.41 ± 0.005	16.28 ± 0.004	19.78 ± 0.014

หมายเหตุ ข้อมูลการทำงานของเอนไซม์เป็นค่าเฉลี่ยจากการทำการทดลอง 3 ซ้ำ



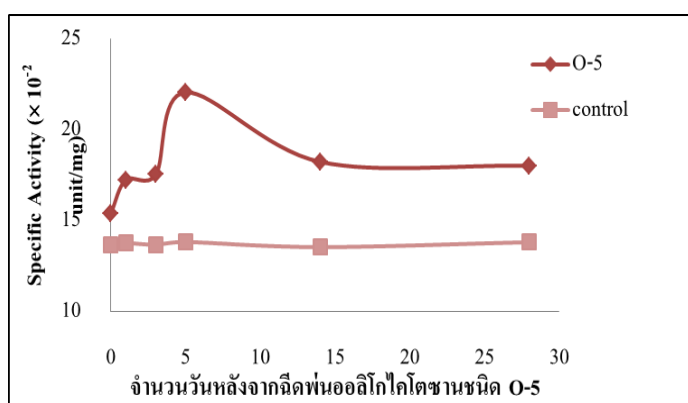
ภาพที่ 27 ผลของความเข้มข้นสารละลายออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ต่อการกระตุ้นเอนไซม์ไคตินเอสในข้าวสังเคราะห์ผลิต

เมื่อศึกษาผลของออลิโกไคโดซานชนิด O-5 เข้มข้น 100 mgL^{-1} (ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่สามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวสาลีหัดพัทสูงผลิตเอนไซม์ไคตินเนสได้สูงที่สุด) ต่อการกระตุ้นเอนไซม์ไคตินเนส ในต้นข้าวสาลีหัดพัทสูงเป็นระยะเวลา 28 วันพบว่า ต้นข้าวสาลีหัดพัทสูงที่ได้รับออลิโกไคโดซานชนิด O-5 มีการผลิตเอนไซม์ไคตินเนสเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และก่อนได้รับออลิโกไคโดซานชนิด O-5 โดยต้นข้าวสาลีหัดพัทสูงจะมีกิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนสได้สูงที่สุดในวันที่ 5 หลังจากได้รับออลิโกไคโดซานชนิด O-5 และมีกิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนสในระดับคงที่ในวันที่ 14 หลังจากได้รับออลิโกไคโดซานชนิด O-5 ซึ่งแตกต่างจากชุดควบคุมที่ไม่พบการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนสดังตารางที่ 17 และภาพที่ 28

ตารางที่ 17 ผลของออลิโกไคโดซานชนิด O-5 ความเข้มข้น 100 mgL^{-1} ในการกระตุ้นเอนไซม์ไคตินเนสในต้นข้าวสาลีหัดพัทสูง

ความเข้มข้น O-5 (mgL^{-1})	Chitinase Specific Activity ($\times 10^{-2}$ unit/mg)					
	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 3	วันที่ 5	วันที่ 14	วันที่ 28
Control	13.630 ± 0.009	13.750 ± 0.011	13.660 ± 0.007	13.810 ± 0.005	13.530 ± 0.007	13.800 ± 0.010
100	15.390 ± 0.007	17.230 ± 0.015	17.520 ± 0.040	22.050 ± 0.004	18.220 ± 0.012	18.010 ± 0.018

หมายเหตุ ข้อมูลการทำงานของเอนไซม์เป็นค่าเฉลี่ยจากการทำการทดลอง 3 ซ้ำ



ภาพที่ 28 ผลของออลิโกไคโดซานชนิด O-5 ในการกระตุ้นเอนไซม์ไคตินเนสในต้นข้าวสาลีหัดพัทสูง

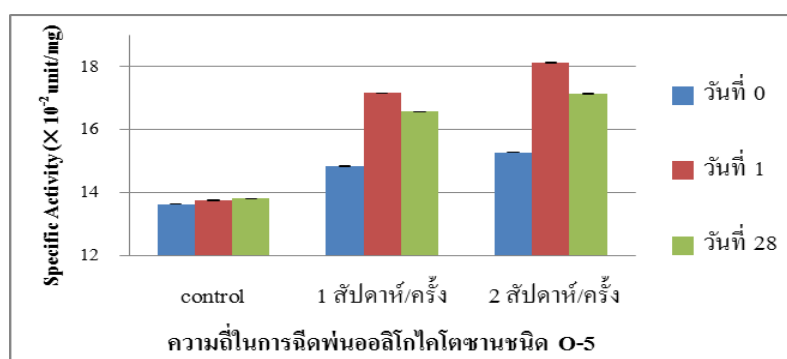
3.3 ผลของความถี่ในการฉีดพ่นออลิโกไคโตซานต่อการกระตุ้นเอนไซม์ไคตินเนสในข้าวสังข์หยดพัทลุง

ทำการฉีดพ่นสารละลายออลิโกไคโตซานชนิด O-5, O-80 และ SCS เข้มข้น 40 mgL^{-1} ครั้งละ 10 มิลลิลิตรฉีดพ่นด้วยความถี่ 1, 2 และ 4 สัปดาห์/ครั้งลงบนต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงที่มีอายุ 1 เดือน โดยกำหนดให้ต้นข้าวที่ใช้น้ำฉีดพ่นเป็นชุดควบคุม จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างใบข้าวมาวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนส ผลจากการทดลองพบว่า การฉีดพ่นออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ด้วยความถี่ 1 และ 2 สัปดาห์/ครั้งสามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงผลิตเอนไซม์ไคตินเนสเพิ่มขึ้นในระดับที่ใกล้เคียงกัน (ดังตารางที่ 18 และภาพที่ 29) ส่วนการฉีดพ่นออลิโกไคโตซานชนิด O-80 ด้วยความถี่ 2 สัปดาห์/ครั้งเท่านั้นที่สามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงผลิตเอนไซม์ไคตินเนสได้เพิ่มขึ้น (ดังตารางที่ 19 และภาพที่ 30) ซึ่งแตกต่างจากการฉีดพ่นออลิโกไคโตซานชนิด SCS ที่ไม่สามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงมีการผลิตเอนไซม์ไคตินเนสในระดับที่เพิ่มขึ้นดังตารางที่ 20 และภาพที่ 31

ตารางที่ 18 กิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนสหลังจากได้รับการกระตุ้นด้วยออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ด้วยความถี่แตกต่างกัน

ความถี่ในการ ฉีดพ่น O-5	Chitinase Specific Activity ($\times 10^{-2}$ unit/mg)		
	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 28
Control	13.630 $\pm$ 0.009	13.750 $\pm$ 0.011	13.800 $\pm$ 0.010
1 สัปดาห์/ครั้ง	14.830 $\pm$ 0.004	17.150 $\pm$ 0.007	15.560 $\pm$ 0.014
2 สัปดาห์/ครั้ง	15.270 $\pm$ 0.000	18.120 $\pm$ 0.006	17.130 $\pm$ 0.015

หมายเหตุ ข้อมูลการทำงานของเอนไซม์เป็นค่าเฉลี่ยจากการทำการทดลอง 3 ซ้ำ

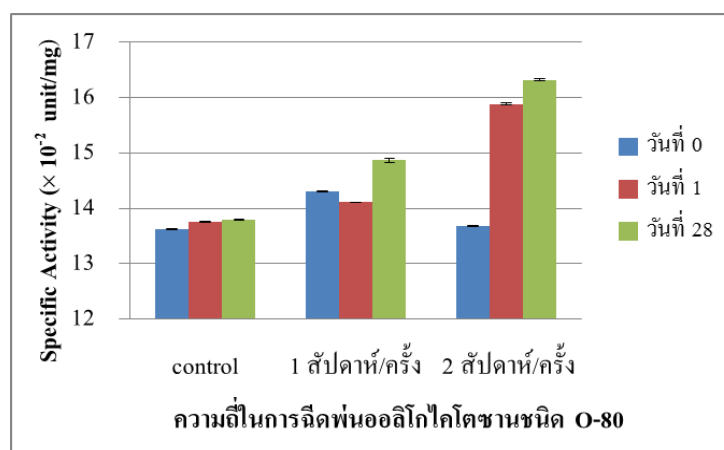


ภาพที่ 29 ผลของความถี่ในการฉีดพ่นออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ต่อการกระตุ้นเอนไซม์ไคตินเนสในข้าวสังข์หยดพัทลุง

ตารางที่ 19 กิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนสหลังจากได้รับการกระตุ้นด้วยอลิโกไคโตซานชนิด O-80 ด้วยความถี่แตกต่างกัน

ความถี่ในการ ฉีดพ่น O-80	Chitinase Specific Activity ($\times 10^{-2}$ unit/mg)		
	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 28
Control	13.630 $\pm$ 0.009	13.750 $\pm$ 0.011	13.800 $\pm$ 0.010
1 สัปดาห์/ครั้ง	14.310 $\pm$ 0.004	14.110 $\pm$ 0.002	14.870 $\pm$ 0.034
2 สัปดาห์/ครั้ง	13.680 $\pm$ 0.003	15.890 $\pm$ 0.018	16.320 $\pm$ 0.021

หมายเหตุ ข้อมูลการทำงานของเอนไซม์เป็นค่าเฉลี่ยจากการทำการทดลอง 3 ซ้ำ

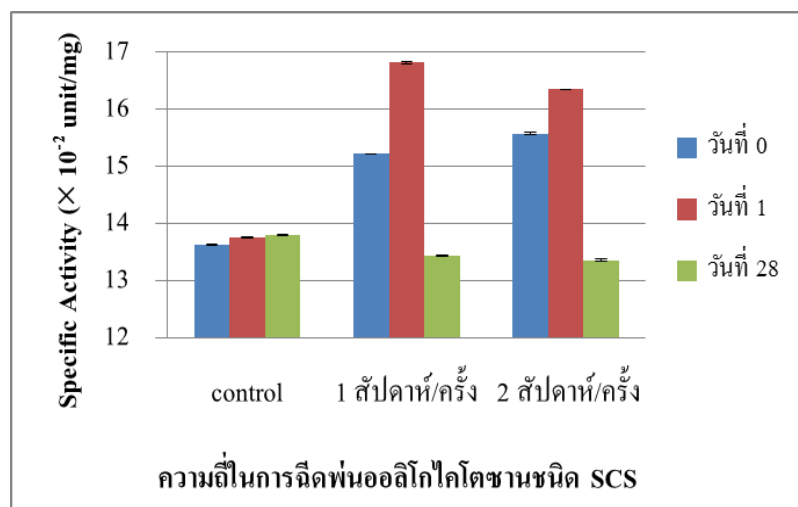


ภาพที่ 30 ผลของความถี่ในการฉีดพ่นอลิโกไคโตซานชนิด O-80 ต่อการกระตุ้นเอนไซม์ไคตินเนสในข้าวสัจหัดพัทลุง

ตารางที่ 20 กิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนสหลังจากได้รับการกระตุ้นด้วยอลิโกไคโตซานชนิด SCS ด้วยความถี่แตกต่างกัน

ความถี่ในการ ฉีดพ่น SCS	Chitinase Specific Activity ($\times 10^{-2}$ unit/mg)		
	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 28
Control	13.630 $\pm$ 0.009	13.750 $\pm$ 0.011	13.800 $\pm$ 0.010
1 สัปดาห์/ครั้ง	15.220 $\pm$ 0.000	16.820 $\pm$ 0.019	13.440 $\pm$ 0.005
2 สัปดาห์/ครั้ง	15.580 $\pm$ 0.021	16.350 $\pm$ 0.005	13.360 $\pm$ 0.024

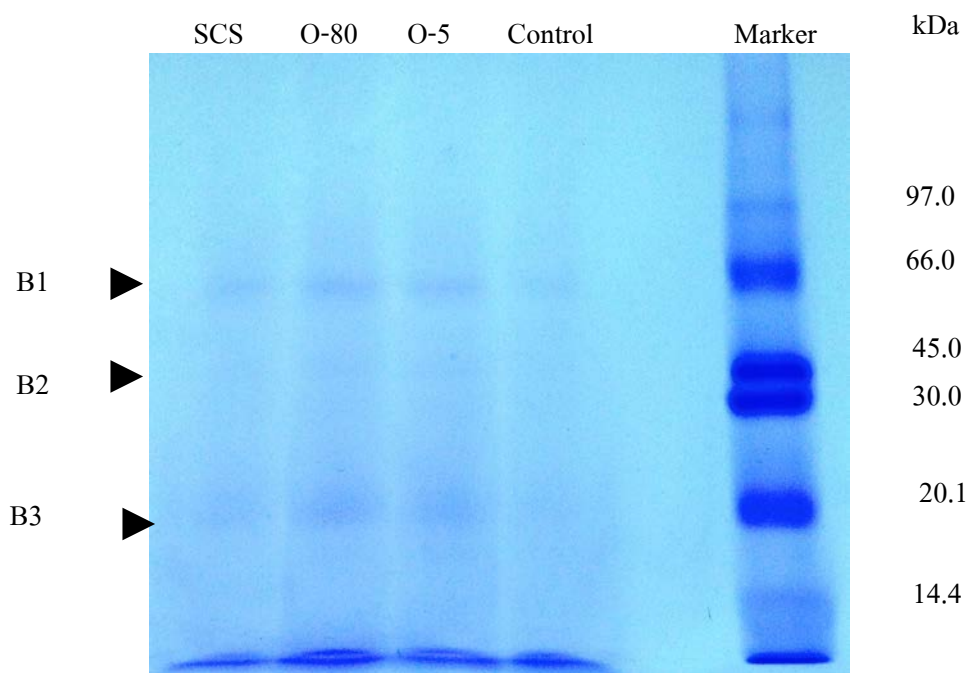
หมายเหตุ ข้อมูลการทำงานของเอนไซม์เป็นค่าเฉลี่ยจากการทำการทดลอง 3 ซ้ำ



ภาพที่ 31 ผลของความถี่ในการฉีดพ่นออลิโกไคโตซานชนิด SCS ต่อการกระตุ้น
เอนไซม์โคคิเนสในข้าวสังข์หยดพัทลุง

3.4 การวิเคราะห์ลักษณะของโปรตีนด้วยเทคนิค SDS - PAGE

เตรียม 10% Separating Gel และ 4% Stacking Gel ในการทำอิเล็กโตรโฟรีซิส จากนั้นทำการโหลดสารสกัดเอนไซม์จากใบข้าวของชุดควบคุมและใบข้าวจากต้นข้าวที่ถูกกระตุ้น ด้วยออลิโกไคโตซานชนิด O-5, O-80 และ SCS ตัวอย่างละ 20 ไมโครลิตร โดยใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้า 140 โวลต์ เป็นระยะเวลาประมาณ 1 ชั่วโมง 30 นาทีแล้วจึงนำแผ่นเจลมาย้อมโปรตีนด้วย Coomassie Brilliant Blue R-250 ผลจากการทดลองพบว่า สารสกัดเอนไซม์ทั้งหมดปรากฏแถบ โปรตีน 3 แถบ โดยสารสกัดเอนไซม์จากใบข้าวสังข์หยดพัทลุงที่ถูกกระตุ้นด้วยออลิโกไคโตซานชนิด O-5 และ O-80 จะปรากฏแถบโปรตีนที่มีความเข้มมากกว่าแถบโปรตีนที่มาจากสารสกัดเอนไซม์จากใบข้าวสังข์หยดพัทลุงที่ถูกกระตุ้นด้วยออลิโกไคโตซานชนิด SCS และจากชุดควบคุม (ดังภาพที่ 32) และเมื่อคำนวณหาค่าน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนในสารสกัดเอนไซม์ที่ได้โดยพิจารณาจากค่า Electrophoretic Mobility (μ) เปรียบเทียบกับโปรตีนมาตรฐานที่ทราบน้ำหนักโมเลกุล (ภาคผนวก) พบว่า ในสารสกัดเอนไซม์ประกอบด้วยโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 65.16 kDa (B1), 32.26 kDa (B2) และ 13.05 kDa (B3) ดังภาพที่ 32 และตารางที่ 21



ภาพที่ 32 แถบโปรตีนบน SDS - PAGE และย้อมด้วยสี Coomassie Brilliant Blue R-250 ของสารสกัดเอนไซม์จากใบข้าวหูดควมคุมและใบข้าวจากต้นข้าวที่ถูกกระตุ้นด้วยออกซิโกลิโคไลโดซานชนิด O-5, O-80 และ SCS

ตารางที่ 21 คำนวณน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนมาตรฐานและโปรตีนในสารสกัดเอนไซม์จากใบข้าวสังขยคพัทลุงที่ถูกกระตุ้นด้วยออกซิโกลิโคไลโดซานชนิด O-5

โปรตีนมาตรฐาน	ระยะทางเคลื่อนที่ (cm)	ค่า Electrophoretic Mobility (μ)	Molecular Weight (kDa)
Phophorylase b	1.10	0.200	97.0
Albumin	1.80	0.327	66.0
Ovalbumin	2.70	0.491	45.0
Carbonic Anhydrase	3.00	0.545	30.0
Trypsin inhibitor	4.05	0.736	20.1
α -Lactalbumin	4.90	0.891	14.4
B1	1.90	0.345	65.16
B2	2.70	0.491	32.26
B3	4.10	0.745	13.05

4. ศึกษาผลของออลิโกไคโตซานต่อการป้องกันเชื้อราก่อโรคไหม้ในต้นข้าว

ในการทดลองนี้ได้ทำการศึกษาความสามารถในการต้านทานต่อเชื้อรา *Pyricularia grisea* ของต้นข้าวทั้งหมด 3 พันธุ์ได้แก่ข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง (พันธุ์อ่อนแอต่อโรคไหม้และให้เมล็ดข้าวไม่มีสี) ข้าวพันธุ์พิษณุโลก 2 (พันธุ์อ่อนแอต่อโรคไหม้และให้เมล็ดข้าวไม่มีสี) และข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 (พันธุ์ต้านทานโรคไหม้) โดยกำหนดให้ข้าวพันธุ์พิษณุโลก 2 และปทุมธานี 1 เป็นพันธุ์ข้าวเปรียบเทียบโดยให้ต้นข้าวทั้ง 3 พันธุ์ที่ได้รับออลิโกไคโตซานเป็นชุดทดลอง ส่วนชุดควบคุมจะไม่ได้รับสารออลิโกไคโตซาน

ผลจากการเตรียมเชื้อรา *Pyricularia grisea* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์พบว่า เชื้อรา *Pyricularia grisea* จะมีการเจริญเติบโต (ดังภาพ ที่ 33) จากนั้นจึงทำการบ่มเชื้อราบนใบข้าวที่ถูกกระตุ้นด้วยออลิโกไคโตซานชนิด O-5, O-80 และ SCS เป็นระยะเวลา 7 วัน บันทึกผลระดับความรุนแรงของโรคไหม้ตามตารางที่ 22



ภาพที่ 33 การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Pyricularia grisea* ระยะเวลา 2 สัปดาห์ ตารางที่ 22 ระดับความรุนแรงของเชื้อโรคไหม้ (ดัดแปลงจาก Kleekron (2005 : 81))

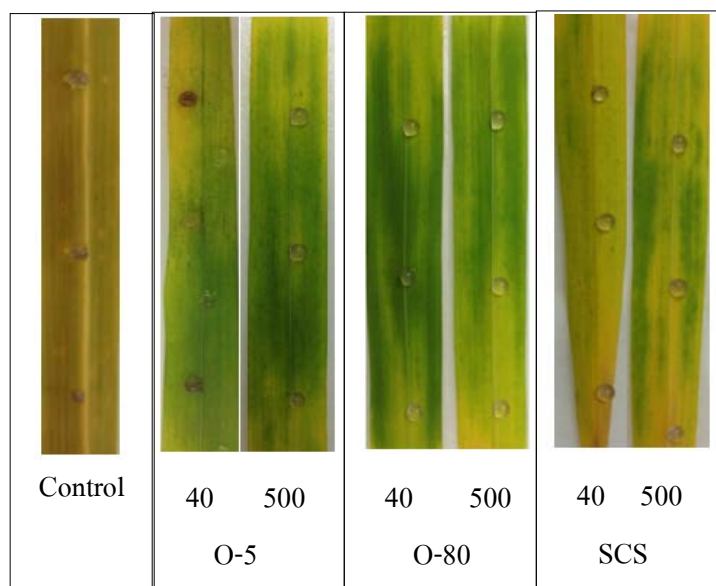
ระดับความรุนแรง ของโรค	ลักษณะอาการ
0	ไม่ปรากฏอาการ
1	ปรากฏจุดสีน้ำตาลขนาดเล็กหรือปรากฏจุดสีน้ำตาลที่มีขนาดใหญ่กว่าแต่บริเวณตรงกลางจุดไม่พบการสร้างสปอร์
2	ปรากฏจุดสีเทาอ่อนข้างกลมถึงยาวเล็กน้อยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 - 2 มม. บริเวณขอบมีสีน้ำตาล
3	ปรากฏอาการโรคไหม้ขนาด 3 มม.หรือมีการติดเชื้อ 10% ของพื้นที่ใบ
4	มีการติดเชื้อโรคไหม้ 11 - 49% ของพื้นที่ใบ
5	มีการติดเชื้อโรคไหม้ 50 - 74% ของพื้นที่ใบ
6	มีการติดเชื้อโรคไหม้ 75 - 89% ของพื้นที่ใบ
7	มีการติดเชื้อโรคไหม้ตั้งแต่ 90% ของพื้นที่ใบ

เมื่อพิจารณาผลของชนิดออลิโกไคโดซานต่อการกระตุ้นกลไกการป้องกันตนเองในต้นข้าว สังกัษยดพัทลุงพบว่า ออลิโกไคโดซานชนิด O-5, O-80 และ SCS ต่างมีประสิทธิภาพในการกระตุ้นกลไกการป้องกันตนเองในต้นข้าวสังักษยดพัทลุง ส่งผลให้ต้นข้าวสังักษยดพัทลุงสามารถป้องกันตนเองจากเชื้อราก่อโรคไหม้ได้ ซึ่งแตกต่างต้นข้าวสังักษยดพัทลุงในชุดควบคุมที่ไม่สามารถป้องกันตนเองจากเชื้อราก่อโรคไหม้ได้เลย ทำให้ใบข้าวสังักษยดพัทลุงที่มาจากชุดควบคุมเกิดการติดเชื้อ 100% หลังจากได้รับเชื้อรา *Pyricularia grisea* เป็นระยะเวลา 7 วันและผลจากการทดลองนี้ได้บ่งชี้ให้เห็นว่าออลิโกไคโดซานชนิด O-5 และ O-80 มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นกลไกการป้องกันตนเองในต้นข้าวสังักษยดพัทลุงได้ดีในระดับที่ใกล้เคียงกันอีกทั้งยังมีประสิทธิภาพที่ดีกว่าออลิโกไคโดซานชนิด SCS โดยใบข้าวสังักษยดพัทลุงที่มาจากต้นที่ได้รับออลิโกไคโดซานชนิด O-80 ที่ความเข้มข้น 40 และ 500 mgL⁻¹ จะไม่ปรากฏอาการโรคไหม้ ส่วนใบข้าวสังักษยดพัทลุงที่มาจากต้นที่ได้รับออลิโกไคโดซานชนิด O-5 ที่ความเข้มข้น 40 และ 500 mgL⁻¹ จะพบการติดเชื้อเพียง 3.75% และ 2.50% เท่านั้น สำหรับใบข้าวสังักษยดพัทลุงที่มาจากต้นที่ได้รับออลิโกไคโดซานชนิด SCS ที่ความเข้มข้น 40 และ 500 mgL⁻¹ จะพบการติดเชื้อ 10.00% และ 7.50% ตามลำดับดังตารางที่ 23 และภาพที่ 34

ตารางที่ 23 การเกิดอาการแผลจุดดำที่เกิดจากเชื้อรา *Pyricularia grisea* ระยะเวลา 7 วันบนใบข้าวสังักษยดพัทลุงที่ถูกกระตุ้นด้วยออลิโกไคโดซานชนิดต่าง ๆ ที่ความเข้มข้น 40 และ 500 mgL⁻¹

ชนิดออลิโกไคโดซาน	ความเข้มข้น (mgL ⁻¹)	Necrosis score	% Necrosis
Control	-	7.00	100.00
O-5	40	1.50	3.75
	500	1.00	2.50
O-80	40	0.00	0.00
	500	0.00	0.00
SCS	40	3.00	10.00
	500	2.00	7.50

หมายเหตุ ข้อมูลการเกิดอาการแผลจุดดำเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ



ภาพที่ 34 ความต้านทานต่อการเกิดอาการแผลจุดดำของเชื้อรา *Pyricularia grisea* บน

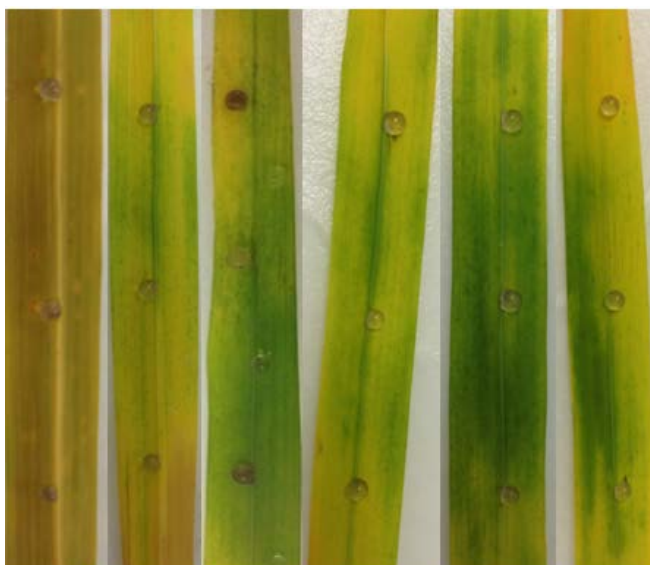
ใบข้าวสังข์หยดพัทลุงที่ได้รับการกระตุ้นด้วยออกลิโกไลโดซานชนิดต่าง ๆ

เมื่อพิจารณาผลของความเข้มข้นออกลิโกไลโดซานชนิด O-5 ต่อการกระตุ้นกลไกการป้องกันตนเองในต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงพบว่า ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงที่ถูกกระตุ้นด้วยออกลิโกไลโดซานชนิด O-5 เข้มข้น $20 - 1,000 \text{ mgL}^{-1}$ จะมีความสามารถในการป้องกันตนเองจากเชื้อรากอโรคไหม้ข้าว ซึ่งแตกต่าง จากชุดควบคุมที่พบการติดเชื้อ 100% หลังจากได้รับเชื้อรา *Pyricularia grisea* เป็นระยะเวลา 7 วัน โดยออกลิโกไลโดซานชนิด O-5 ที่ความเข้มข้น 500 mgL^{-1} จะมีประสิทธิภาพในการกระตุ้นให้ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงสามารถป้องกันตนเองจากเชื้อรากอโรคไหม้ได้ดีที่สุดดังตารางที่ 24 และภาพที่ 35

ตารางที่ 24 การเกิดอาการแผลจุดดำที่เกิดจากเชื้อรา *Pyricularia grisea* ระยะเวลา 7 วันบนใบข้าวสังข์หยดพัทลุงที่ถูกกระตุ้นด้วยออกลิโกไลโดซานชนิด O-5 ที่ความเข้มข้น $20 - 1,000 \text{ mgL}^{-1}$

ความเข้มข้น O-5 (mgL^{-1})	Necrosis score	% Necrosis
Control	7.00	100.00
20	3.50	30.00
40	1.50	3.75
100	3.00	10.00
500	1.00	2.50
1,000	2.50	5.00

หมายเหตุ ข้อมูลการเกิดอาการแผลจุดดำเป็นค่าเฉลี่ยจากการทำการทดลอง 3 ซ้ำ



Control 20 40 100 500 1,000

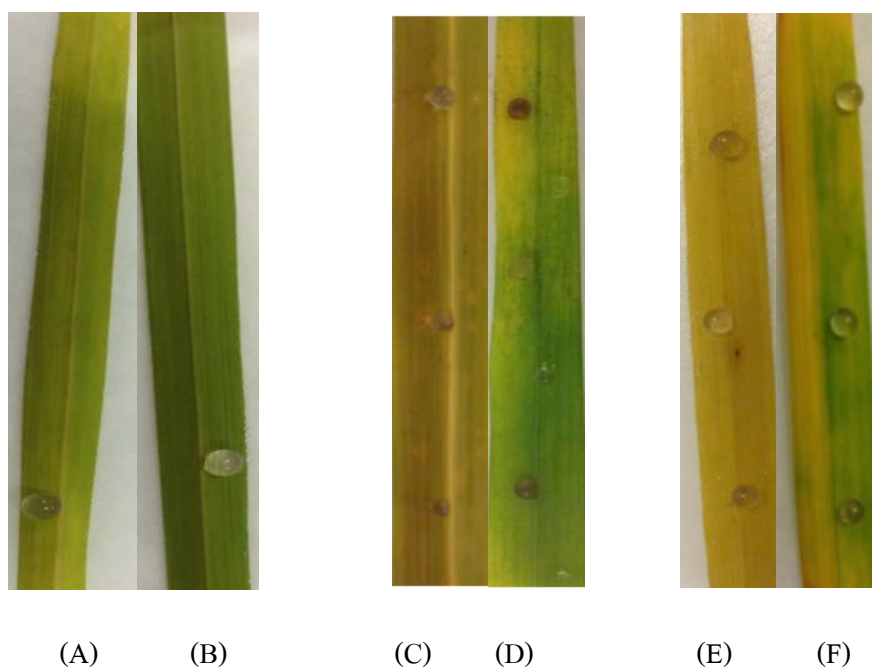
ภาพที่ 35 ความต้านทานต่อการเกิดอาการแผลจุดดำของเชื้อรา *Pyricularia grisea* บนใบข้าวสังข์หยดพัทลุงที่ได้รับการกระตุ้นด้วยออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ที่ความเข้มข้น 20 - 1,000 mgL⁻¹

เมื่อพิจารณาผลของออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ต่อการกระตุ้นกลไกการป้องกันตนเองในต้นข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 (พันธุ์ต้านทานต่อโรคไหม้), ข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุงและพิษณุโลก 2 (พันธุ์อ่อนแอต่อโรคไหม้) พบว่าใบข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ที่มาจากต้นที่ได้รับออลิโกไคโตซานชนิด O-5 รวมทั้งชุดควบคุมต่างมีความสามารถในการต้านทานเชื้อรา *Pyricularia grisea* สำหรับใบข้าวพันธุ์ สังข์หยดพัทลุงและพิษณุโลก 2 ที่มาจากชุดควบคุมจะพบการติดเชื้อถึง 100% ซึ่งแตกต่างจากใบข้าวที่มาจากต้นที่ได้รับออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ที่สามารถต้านทานเชื้อรา *Pyricularia grisea* ได้ แม้จะได้รับเชื้อรา *Pyricularia grisea* เป็นระยะเวลา 7 วัน โดยใบข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุงพบการติดเชื้อ 3.75% และใบข้าวพันธุ์พิษณุโลก 2 พบการติดเชื้อ 7.50% ดังตารางที่ 25 และภาพที่ 36

ตารางที่ 25 การเกิดอาการแผลจุดดำที่เกิดจากเชื้อรา *Pyricularia grisea* ระยะเวลา 7 วันบนใบข้าว
ปทุมธานี 1 สังกัษยดพัทลุงและพิษณุโลก 2 ที่ได้รับการกระตุ้นด้วยออกซิโกไคโตซานชนิด
O-5 ความเข้มข้น 40 mgL^{-1}

พันธุ์ข้าว	ชุดการทดลอง	Necrosis score	% Necrosis
ปทุมธานี 1	Control	0.00	0.00
	O-5	0.00	0.00
สังข์หยดพัทลุง	Control	7.00	100.00
	O-5	1.50	3.75
พิษณุโลก 2	Control	7.00	100.00
	O-5	5.00	50.00

หมายเหตุ ข้อมูลการเกิดอาการแผลจุดดำเป็นค่าเฉลี่ยจากการทำการทดลอง 3 ซ้ำ



ภาพที่ 36 ความต้านทานต่อการเกิดอาการแผลจุดดำของเชื้อรา *Pyricularia grisea* บนใบข้าวทั้ง 3
สายพันธุ์

- (A) ใบข้าวปทุมธานี 1 ชุดควบคุม (B) ใบข้าวปทุมธานี 1 ที่ถูกกระตุ้นด้วย O-5
(C) ใบข้าวสังข์หยดพัทลุงชุดควบคุม (D) ใบข้าวสังข์หยดพัทลุงที่ถูกกระตุ้นด้วย O-5
(E) ใบข้าวพิษณุโลก 2 ชุดควบคุม (F) ใบข้าวพิษณุโลก 2 ที่ถูกกระตุ้นด้วย O-5

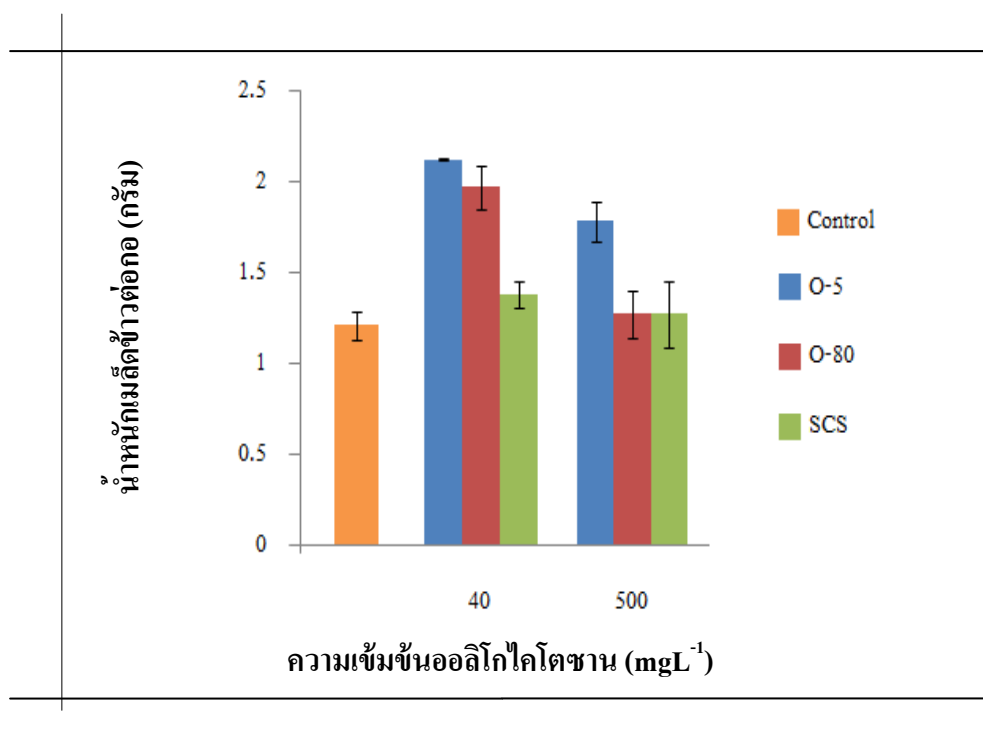
5. ศึกษาผลของชนิดออลิโกไคโตซานต่อผลผลิตของข้าวสัจหัดพัทลุง

เมื่อต้นข้าวออกรวงวัดผลผลิตของต้นข้าวโดยคัดแยกเมล็ดที่สมบูรณ์ในแต่ละกอแล้วนำไปชั่งน้ำหนัก ผลจากการทดลองพบว่าออลิโกไคโตซานชนิด O-5, O-80 และ SCS ต่างสามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวสัจหัดพัทลุงออกรวงเร็วกว่าชุดควบคุมเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ อีกทั้งยังให้ปริมาณผลผลิตมากกว่าชุดควบคุมอีกด้วย โดยออลิโกไคโตซานชนิด O-5 สามารถกระตุ้นต้นข้าวสัจหัดพัทลุงให้ปริมาณผลผลิตมากที่สุด (ดังตารางที่ 26 และภาพที่ 37) และเมื่อพิจารณาความเข้มข้นของออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ในการกระตุ้นปริมาณผลผลิตพบว่า ต้นข้าวสัจหัดพัทลุงที่ได้รับออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 40 - 1,000 mgL⁻¹ จะให้ปริมาณผลผลิตสูงกว่าชุดควบคุม โดยที่ความเข้มข้น 40 mgL⁻¹ สามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวสัจหัดพัทลุงให้ปริมาณผลผลิตเพิ่มขึ้นสูงที่สุดคือ 2.22 กรัม/กอคิดเป็น 1.83 เท่าของชุดควบคุม (ดังตารางที่ 27 และภาพที่ 38) สำหรับออลิโกไคโตซานชนิด O-80 ที่ความเข้มข้น 40 mgL⁻¹ จะกระตุ้นต้นข้าวสัจหัดพัทลุงให้ปริมาณผลผลิตเพิ่มขึ้นในปริมาณที่ใกล้เคียงกับต้นข้าวสัจหัดพัทลุงที่ถูกกระตุ้นด้วยออลิโกไคโตซาน ชนิด O-5 คือ 2.06 กรัม/กอ แต่กลับไม่พบการกระตุ้นปริมาณผลผลิตในต้นข้าวสัจหัดพัทลุงที่ได้รับออลิโกไคโตซานชนิด SCS

ตารางที่ 26 ผลของชนิดออลิโกไคโตซานต่อการกระตุ้นผลผลิตของต้นข้าวสัจหัดพัทลุง

ความเข้มข้น (mgL ⁻¹)	ชนิดออลิโกไคโตซาน	น้ำหนักเมล็ดข้าวสมบูรณ์ต่อกอ (กรัม)
40	Control	1.210 ± 0.079
	O-5	2.220 ± 0.005
	O-80	2.060 ± 0.122
	SCS	1.440 ± 0.075
500	Control	1.210 ± 0.0079
	O-5	1.880 ± 0.114
	O-80	1.340 ± 0.134
	SCS	1.340 ± 0.189

หมายเหตุ ข้อมูลผลผลิตของต้นข้าวสัจหัดพัทลุงเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

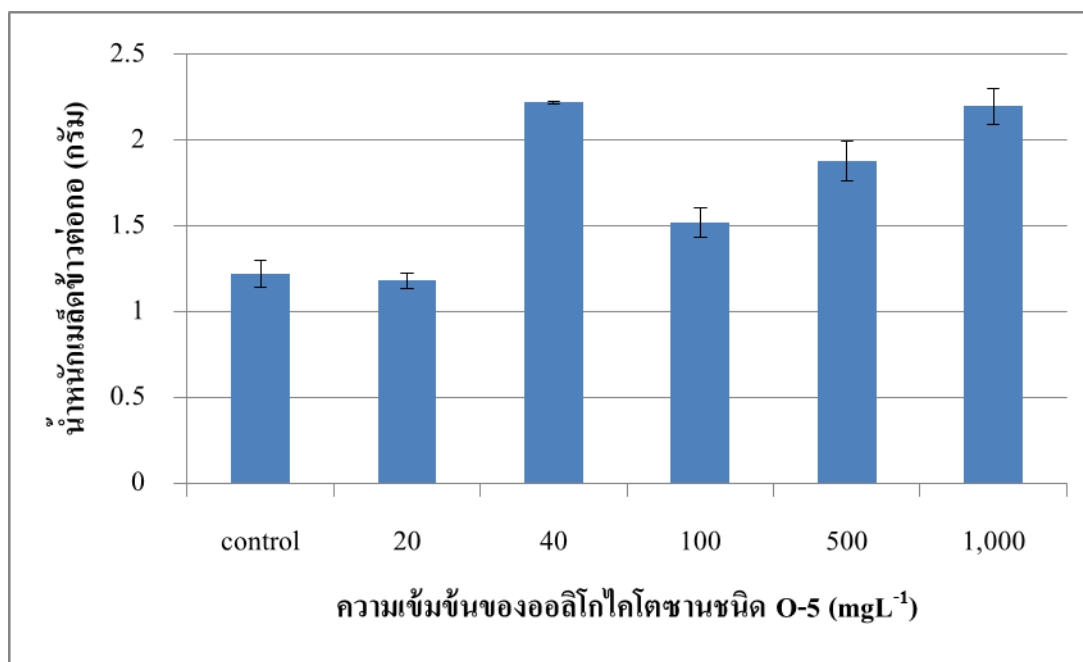


ภาพที่ 37 ผลของชนิดออลิโกไคโตซานต่อการกระตุ้นผลผลิตในต้นข้าวสัจหคพทลุง

ตารางที่ 27 ผลของความเข้มข้นออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ต่อการกระตุ้นผลผลิตของต้นข้าวสัจหคพทลุง

ความเข้มข้น O-5 (mgL ⁻¹)	น้ำหนักเมล็ดข้าวสมบูรณ์ตอก (กรัม)
Control	1.220 ± 0.079
20	1.180 ± 0.045
40	2.220 ± 0.005
100	1.520 ± 0.087
500	1.880 ± 0.114
1,000	2.200 ± 0.105

หมายเหตุ ข้อมูลผลผลิตของต้นข้าวสัจหคพทลุงเป็นค่าเฉลี่ยจากการทำการทดลอง 3 ซ้ำ



ภาพที่ 38 ผลของความเข้มข้นของออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ต่อผลผลิตข้าวสังข์หยดพัทลุง

6. ศึกษาความเข้มของสีและปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวสังข์หยดพัทลุงที่ได้รับการกระตุ้นด้วยออลิโกไคโตซาน

6.1 ศึกษาความเข้มของสีเมล็ดข้าวสังข์หยดพัทลุงด้วยเครื่องวัดสีแบบตั้งโต๊ะ Colorimeter (Color Flex)

เมื่อต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงออกรวงแล้วเป็นระยะเวลา 30 วันนำรวงข้าวในแต่ละกอมาคัดแยกเมล็ดสมบูรณ์และไม่สมบูรณ์ออกจากกัน จากนั้นแกะเปลือกข้าวออกเพื่อนำเมล็ดข้าวมาวัดความเข้มสีด้วยเครื่องวัดสีแบบตั้งโต๊ะ Colorimeter (Color Flex) ผลจากการทดลองพบว่าเมล็ดข้าวสังข์หยดพัทลุงจากต้นที่ได้รับการกระตุ้นด้วยออลิโกไคโตซานชนิดต่าง ๆ มีความเข้มของสีแดงสูงกว่าเมล็ดข้าวจากชุดควบคุมโดยต้นที่ได้รับการกระตุ้นด้วยออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ที่ความเข้มข้น 40 และ 500 mgL⁻¹ จะให้เมล็ดข้าวที่มีความเข้มของสีแดงมากที่สุดซึ่งให้ค่า Chroma เท่ากับ 27.89 C^o และ 27.90 C^o ตามลำดับดังตารางที่ 28 - 29

ตารางที่ 28 ค่าสีในระบบ CIE L* a* b* ของเมล็ดข้าวสังข์หยดพัทลุงจากต้นข้าวสังข์หยดพัทลุง
ที่ได้รับการกระตุ้นด้วยออลิโกไคโตซานชนิดต่าง ๆ ที่ความเข้มข้น 40 mgL⁻¹

ชนิดออลิโก ไคโตซาน	L*	a*	b*	Chroma (C ^o)	Hue (h ^o)
Control	35.92 ± 0.14	13.97 ± 0.11	23.26 ± 0.10	27.13 ± 0.10	1.03 ± 0.11
O-5	34.62 ± 0.48	14.78 ± 0.09	23.65 ± 0.47	27.89 ± 0.28	1.01 ± 0.47
O-80	35.14 ± 0.56	14.36 ± 0.38	23.48 ± 0.47	27.52 ± 0.43	1.02 ± 0.47
SCS	36.28 ± 0.58	14.18 ± 0.34	23.55 ± 0.30	27.51 ± 0.32	1.03 ± 0.34

หมายเหตุ ข้อมูลค่าสีในระบบ CIE L* a* b* ของเมล็ดข้าวสังข์หยดพัทลุงเป็นค่าเฉลี่ย
จากการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางที่ 29 ค่าสีในระบบ CIE L* a* b* ของเมล็ดข้าวสังข์หยดพัทลุงจากต้นข้าวสังข์หยดพัทลุง
ที่ได้รับการกระตุ้นด้วยออลิโกไคโตซานชนิดต่าง ๆ ที่ความเข้มข้น 500 mgL⁻¹

ชนิดออลิโก ไคโตซาน	L*	a*	b*	Chroma (C ^o)	Hue (h ^o)
Control	35.92 ± 0.14	13.97 ± 0.11	23.26 ± 0.10	27.13 ± 0.10	1.03 ± 0.11
O-5	35.90 ± 0.45	14.96 ± 0.15	23.55 ± 0.12	27.90 ± 0.14	1.00 ± 0.15
O-80	35.97 ± 0.54	14.01 ± 0.31	23.84 ± 0.82	27.65 ± 0.56	1.04 ± 0.82
SCS	35.55 ± 0.53	14.63 ± 0.18	23.84 ± 0.20	27.97 ± 0.19	1.02 ± 0.20

หมายเหตุ ข้อมูลค่าสีในระบบ CIE L* a* b* ของเมล็ดข้าวสังข์หยดพัทลุงเป็นค่าเฉลี่ย
จากการทดลอง 3 ซ้ำ

6.2 ศึกษาปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวสังข์หยดพัทลุงด้วยเทคนิค

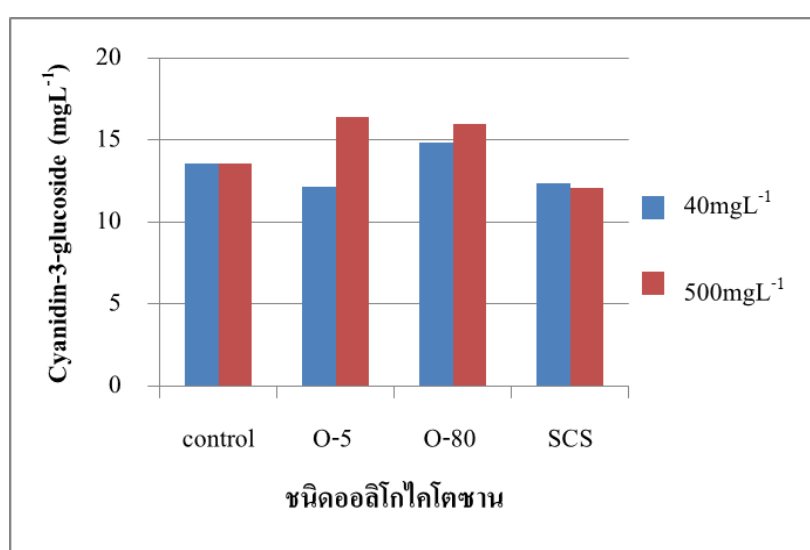
High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

จากการสกัดแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวสังข์หยดพัทลุงด้วยสารละลาย 1 N hydrochloric Acid ใน Methanol (85 : 15 v/v) นำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้ ODS-3 Column และใช้สารละลาย 5% (v/v) Formic Acid กับ 45% (v/v) Acetonitrile เป็นตัวทำละลาย เคลื่อนที่ ผลจากการทดลองพบว่าเมล็ดข้าวสังข์หยดพัทลุงจากต้นข้าวที่ได้รับการกระตุ้นด้วยออลิโกไคโตซานชนิด

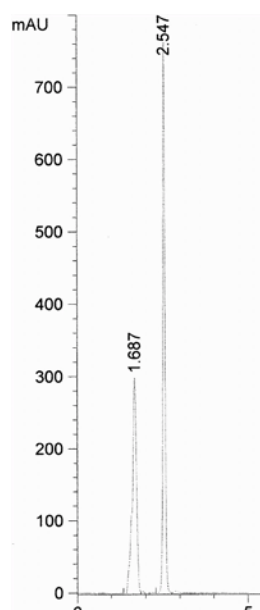
O-5 และ O-80 เข้มข้น 500 mgL^{-1} มีปริมาณแอนโทไซยานินชนิด Cyanidin-3-glucoside สูงกว่า ชุดควบคุมซึ่งมีปริมาณ Cyanidin-3-glucoside เท่ากับ 16.39 และ 15.98 mgL^{-1} คิดเป็น 1.21 และ 1.18 เท่าของชุดควบคุมตามลำดับซึ่งแตกต่างจากเมล็ดข้าวสังข์หยดพัทลุงจากต้นข้าวที่ได้รับออลิโกไคโตซานชนิด SCS ที่พบปริมาณ Cyanidin-3-glucoside ใกล้เคียงกับชุดควบคุมดังตารางที่ 30 และภาพที่ 39 - 42 ตารางที่ 30 ปริมาณ Cyanidin-3-glucoside ในเมล็ดข้าวสังข์หยดพัทลุงที่ได้รับการกระตุ้นด้วยออลิโกไคโตซานชนิดต่าง ๆ ด้วยเทคนิค HPLC

ชนิดออลิโกไคโตซาน	ความเข้มข้นออลิโกไคโตซาน (mgL^{-1})	Cyanidin-3-glucoside (mgL^{-1}) (Peak 1)	Cyanidin-3-glucoside (mgL^{-1}) (Peak 2)	Total Cyanidin-3-glucoside (mgL^{-1})
Control	0	11.64 ± 0.22	1.94 ± 0.22	13.58 ± 0.22
O-5	40	11.00 ± 0.12	1.12 ± 0.12	12.12 ± 0.12
O-80		12.56 ± 0.15	2.26 ± 0.15	14.82 ± 0.15
SCS		10.68 ± 0.13	1.67 ± 0.13	12.35 ± 0.13
O-5	500	14.46 ± 0.16	1.94 ± 0.16	16.39 ± 0.16
O-80		13.97 ± 0.17	2.01 ± 0.17	15.98 ± 0.17
SCS		10.48 ± 0.10	1.59 ± 0.10	12.07 ± 0.10

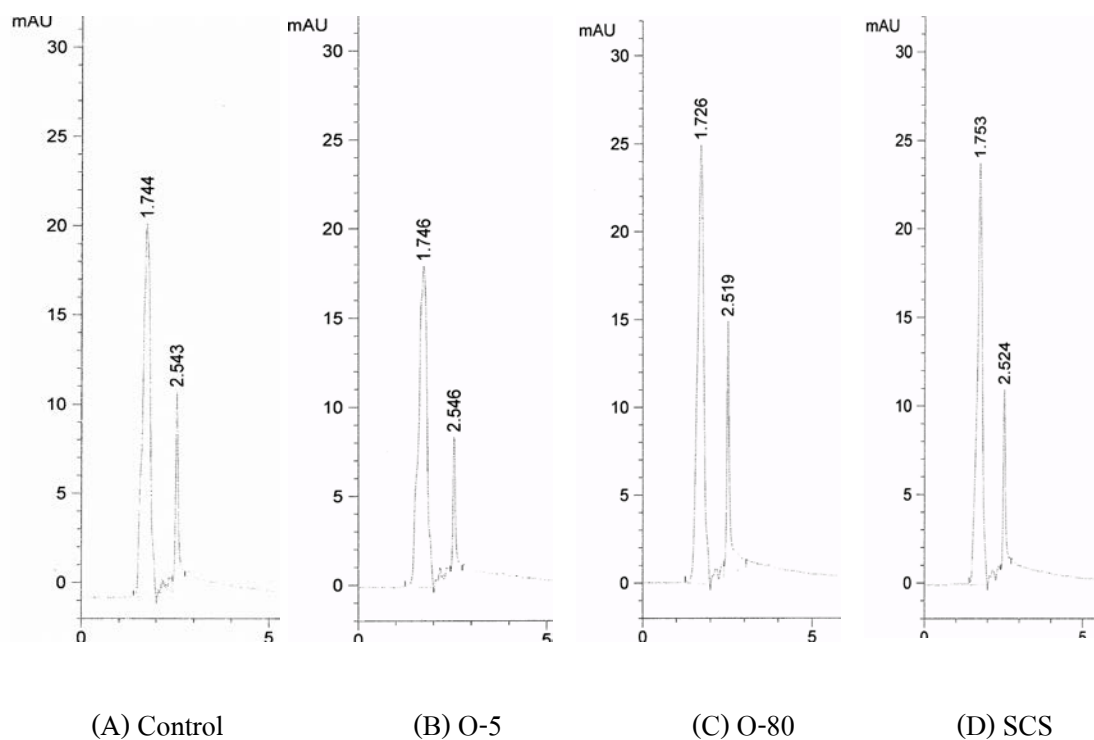
หมายเหตุ ข้อมูลปริมาณสารแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวสังข์หยดเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ



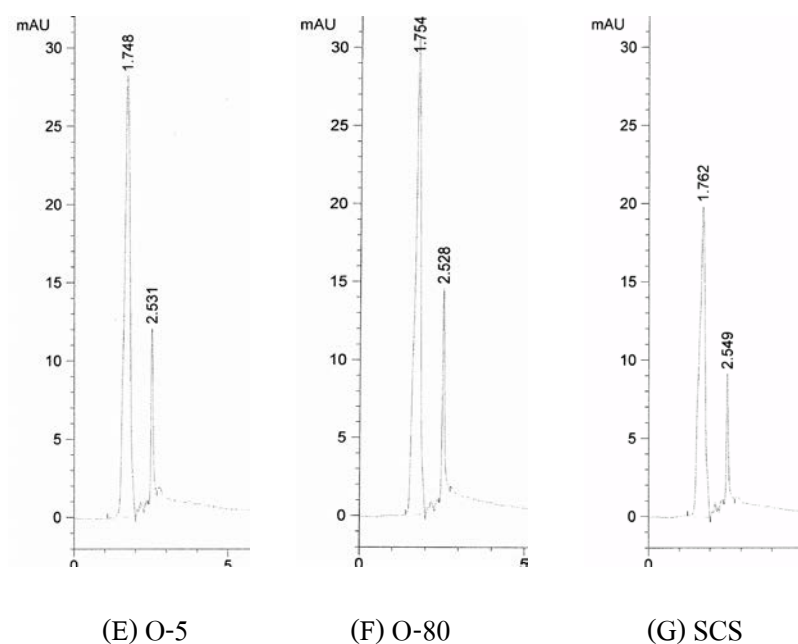
ภาพที่ 39 ชนิดออลิโกไคโตซานต่อการกระตุ้น Cyanidin-3-glucoside ในเมล็ดข้าวสังข์หยดพัทลุง



ภาพที่ 40 โครมาโทแกรมสารมาตรฐาน Cyanidin-3-glucoside



ภาพที่ 41 (A - D) โครมาโทแกรมของสารสกัดจากเมล็ดข้าวสาลีที่หาค่าจากต้นข้าวในชุด Control, O-5, O-80 และ SCS ที่ความเข้มข้น 40 mgL^{-1}



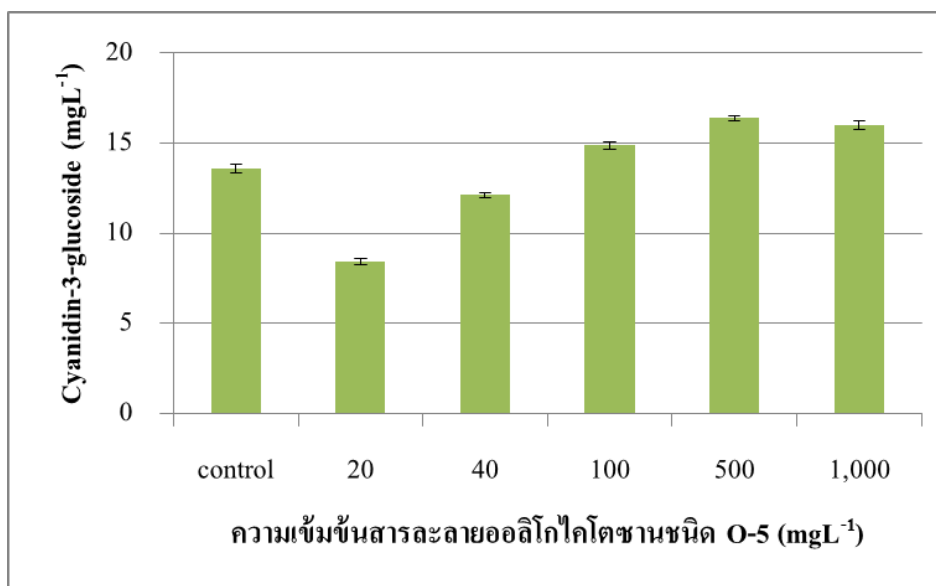
ภาพที่ 42 (E - G) โครมาโทแกรมของสารสกัดจากเมล็ดข้าวสังข์หยดที่ปลูกจากต้นข้าวในชุด O-5, O-80 และ SCS ที่ความเข้มข้น 500 mgL⁻¹

เมื่อทำการศึกษาผลของความเข้มข้นอลิโกไคโดซานชนิด O-5 ที่ความเข้มข้น 20 - 1,000 mgL⁻¹ พบว่า เมล็ดข้าวสังข์หยดที่ปลูกจากต้นข้าวที่ได้รับอลิโกไคโดซานชนิด O-5 ความเข้มข้น 100 - 1,000 mgL⁻¹ มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงกว่าชุดควบคุมดังตารางที่ 31 และภาพที่ 43 - 45

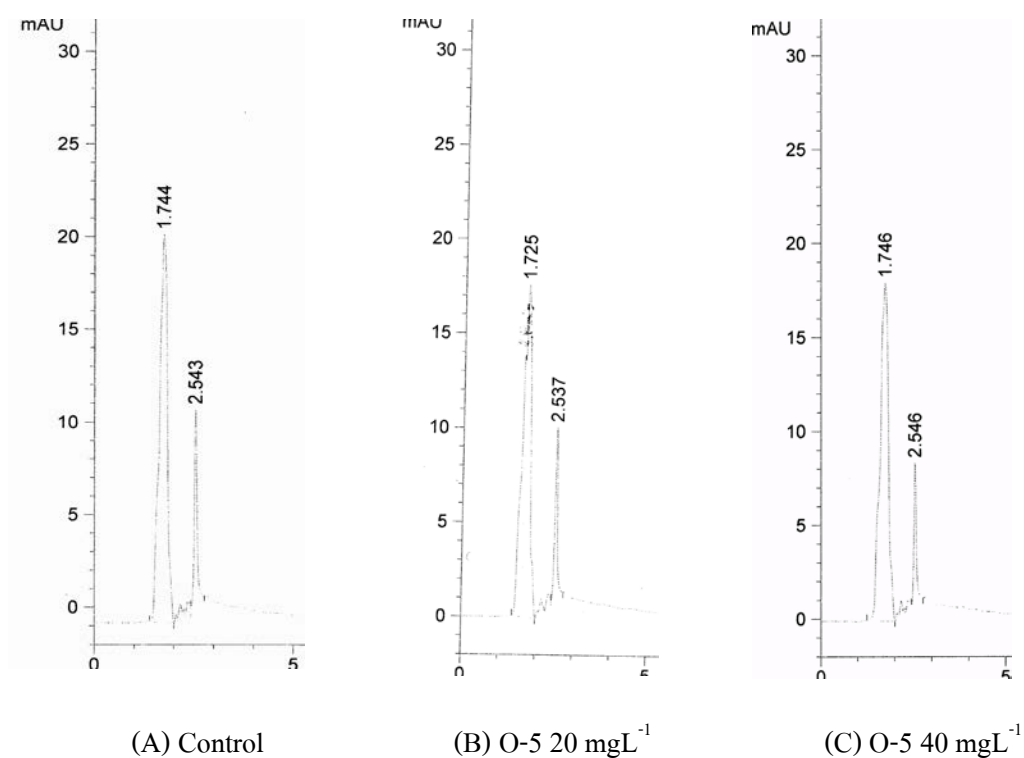
ตารางที่ 31 ปริมาณ Cyanidin-3-glucoside ในข้าวสังข์หยดที่ปลูกที่ถูกกระตุ้นด้วยอลิโกไคโดซานชนิด O-5 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยเทคนิค HPLC

ความเข้มข้น O-5 (mgL ⁻¹)	Cyanidin-3-glucoside (mgL ⁻¹) (Peak1)	Cyanidin-3-glucoside (mgL ⁻¹) (Peak2)	Total Cyanidin-3- glucoside (mgL ⁻¹)
Control	11.64 ± 0.22	1.94 ± 0.22	13.58 ± 0.22
20	6.99 ± 0.18	1.43 ± 0.18	8.42 ± 0.18
40	11.00 ± 0.12	1.12 ± 0.12	12.12 ± 0.12
100	12.73 ± 0.20	2.16 ± 0.20	14.89 ± 0.20
500	14.46 ± 0.16	1.94 ± 0.16	16.39 ± 0.16
1,000	14.03 ± 0.24	1.97 ± 0.24	16.00 ± 0.24

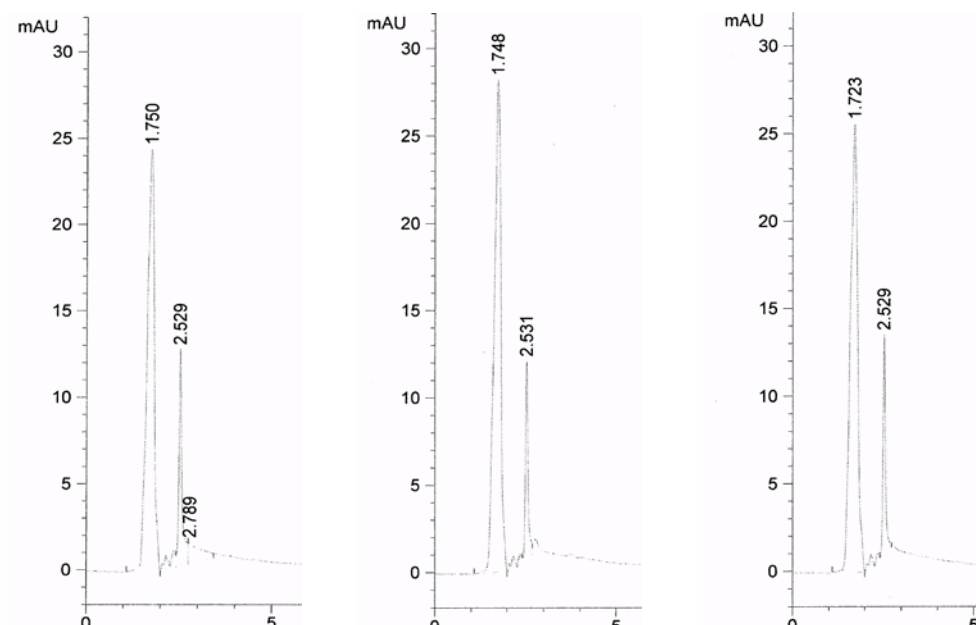
หมายเหตุ ข้อมูลปริมาณสารแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวสังข์หยดเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ



ภาพที่ 43 ผลของความเข้มข้นอลิโกไคโตซานชนิด O-5 ต่อการกระตุ้น Cyanidin-3-glucoside ในเมล็ดข้าวสาลีหอดพัทลุง



ภาพที่ 44 โครมาโทแกรมในการวิเคราะห์ปริมาณ Cyanidin-3-glucoside ในข้าวสาลีหอดพัทลุง ชุด Control และชุดที่ได้รับการกระตุ้นด้วย O-5 ความเข้มข้น 20 และ 40 mgL^{-1}

(D) O-5 100 mgL⁻¹(E) O-5 500 mgL⁻¹(D) O-5 1,000 mgL⁻¹

ภาพที่ 45 โครมาโทแกรมในการวิเคราะห์ปริมาณ Cyanidin-3-glucoside ในข้าวสังข์หยดพัทลุง ที่ได้รับการกระตุ้นด้วย O-5 ความเข้มข้น 100, 500 และ 1,000 mgL⁻¹