บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมา และความสำคัญของปัญหา

ฮอร์โมนพืช (Plant hormones) คือ สารอินทรีย์ที่พืชสร้างขึ้นเองตามธรรมชาติในปริมาณน้อย และความเข้มข้นต่ำ (10^{-6}-10^{-5} โมลาร์) ฮอร์โมนพืชถูกสร้างขึ้นในส่วนใดส่วนหนึ่งของพืช เช่น ใบอ่อน ราก หรือลำต้น แล้วลำเลียงไปยังเนื้อเยื่อในบริเวณต่าง ๆ ที่จำเพาะของพืชนั้น ๆ และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีระของพืช ฮอร์โมนพืชนี้มีบทบาทสำคัญในการควบคุมการเจริญเติบโตของพืช การขยายพันธุ์ การเร่งการออกดอก การติดผล การเพิ่มขนาดผล เป็นต้น (อานัฐ ตันโช, 2555)

เมื่อกล่าวถึงฮอร์โมนพืชที่เป็นที่รู้จักกันดี มีอยู่ 5 กลุ่ม ได้แก่ ออกซิน (Auxins) จิบเบอเรลลิน (Gibberellins) ไซโตไคนิน (Cytokinins) กรดแอบไซซิก (Abscisic acids) และเอทิลีน (Ethylene) จนกระทั่งในปี ค. ศ. 1970 ได้มีการค้นพบฮอร์โมนพืชกลุ่มใหม่ที่มีชื่อว่า “บราสสิโนสเตียรอยด์ (Brassinosteroid)” จากสารสกัดละอองเกสรของดอกผักกาดก้านขาว (Rape pollen) *Brassica napus* (Mitchell, Mandava. Worley, Plimmer, & Smith, 1970; Pachthong, Supyen, Buddhasukh. & Jatisatienr, 2006) บราสสิโนสเตียรอยด์ จัดเป็นฮอร์โมนพืชกลุ่มที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพสูง ช่วยในการเจริญเติบโตของพืชได้ดีมาก โดยใช้ในปริมาณที่น้อยกว่าเมื่อเทียบกับฮอร์โมนพืชกลุ่มอื่น ๆ ที่กล่าวมา ปัจจุบันมีฮอร์โมนมากกว่า 60 ชนิดในกลุ่มบราสสิโนสเตียรอยด์ที่ถูกค้นพบ และมีการรายงานสูตรโครงสร้าง (Borisevich, Raichenok, Khripach, Zhabinskii, & Ivanova, 2008) โดยฮอร์โมนกลุ่มนี้จะอยู่ในรูปสเตียรอยด์อิสระ หรืออยู่กับสารประกอบน้ำตาลและกรดไขมัน สามารถพบได้ในพืชหลากหลายชนิด ทั้งพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ใบเลี้ยงคู่ เฟิร์น และสาหร่าย โดยพบปริมาณมากที่สุดในเกสรของพืช และในเมล็ดอ่อน (Immature seeds) หรือเมล็ดที่งอก (Germinated seeds) โดยพบอยู่ในช่วง 1-100 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม (Adam & Marquardt, 1986) พบรองลงมาในดอกตูม และใบ โดยพบอยู่ในช่วง 0.01-0.1 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม (Srivastava, 2002)

บราสสิโนไลด์ (Brassinolide) เป็นฮอร์โมนพืชในกลุ่มบราสสิโนสเตียรอยด์ตัวแรกที่ถูกค้นพบ และเป็นสารตัวที่พบมากเช่นเดียวกับแคสตาสเตอโรน (Castasterone) ซึ่งมีรายงานว่าเป็นผลิตภัณฑ์จากการเกิดเมแทบอลิกของบราสสิโนไลด์ และสารฮอร์โมนหลายตัวในกลุ่มบราสสิโนสเตียรอยด์ พบว่าเป็นผลิตภัณฑ์ที่เปลี่ยนมาจากสารตั้งต้นบราสสิโนไลด์ โดยการ

สังเคราะห์ทางชีวภาพ นอกจากนี้บราสสิโนไลด์ยังมีฤทธิ์ทางชีวภาพมากกว่าแคสตาสเตอโรนถึง 5 เท่า (Clouse, 2004) จากข้อมูลเหล่านี้บราสสิโนไลด์ จึงถูกสังเคราะห์ขึ้น และนำมาใช้ประโยชน์เพื่อเร่งการเจริญเติบโตของพืชควบคู่กับการให้ปุ๋ย โดยพบได้จากรายงานการวิจัยของภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ทำการศึกษาผลของฮอร์โมนพืชกลุ่มบราสสิโนสเตียรอยด์ กับการเจริญเติบโตของลำไยพันธุ์ดอ (ชรัสนันท์ ตาชม, 2548; ณัฐพงศ์ สัตยพานิช, 2552) สำหรับการใช้สารสังเคราะห์บราสสิโนไลด์โดยตรงจะต้องนำมาเจือจางลงในอัตราส่วนที่สูงมาก เพราะพืชต้องการในปริมาณที่น้อย หากใส่เยอะเกินอาจทำให้พืชตายได้ และในปัจจุบันแนวคิดวิถีเกษตรอินทรีย์กำลังได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก โดยน้ำหมักชีวภาพที่ได้จากการหมักผักหรือผลไม้ กับน้ำตาลหรือกากน้ำตาล ได้นำมาประยุกต์ใช้ทดแทนปุ๋ยเคมี ฉะนั้นการเลือกวัตถุดิบสำหรับการหมักจึงเป็นสิ่งที่สำคัญอย่างหนึ่ง เนื่องจากจะทำให้น้ำหมักชีวภาพที่ได้มีปริมาณของธาตุอาหาร หรือฮอร์โมนที่เพียงพอและเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืชมากยิ่งขึ้น

โดยทั่วไปแล้ว การวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนพืชกลุ่มบราสสิโนสเตียรอยด์สามารถทำได้โดยอาศัยการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์กับสารประกอบในกลุ่มบอโรนิค แอซิด และทำการตรวจวัดด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ที่มีฟลูออเรสเซนซ์เป็นตัวตรวจวัด (Gamoh, Kitsuwa, Takatsuto, Fujimoto, & Ikekawa, 1988; Gamoh, Okamoto, Takatsuto, & Tejima, 1990; Gamoh, Omote, Okamoto, & Takatsuto, 1989; Gamoh & Takatsuto, 1989; Takatsuto, Omote, Gamoh, & Ishibashi, 1990; Winter, Schneider, Meyenburg, Strack, & Adam, 1999) นอกจากนี้ยังมีการใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมทรีอีกด้วย ((Pachthong, Supyen, Buddhasukh, & Jatisatienr, 2006) อย่างไรก็ตาม เทคนิคการวิเคราะห์เหล่านั้นมีวิธีการเตรียมตัวอย่างที่ค่อนข้างยุ่งยาก และใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้นำเสนอวิธีสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนพืชกลุ่มบราสสิโนสเตียรอยด์รวม ด้วยเทคนิคสเปกโทรฟลูออโรเมทรี โดยเทียบเคียงกับบราสสิโนไลด์ ซึ่งถือเป็นฮอร์โมนพืชตัวแรกที่ถูกค้นพบและมีฤทธิ์ทางชีวภาพสูงกว่าฮอร์โมนพืชตัวอื่น ๆ ในกลุ่มเดียวกัน (Pattanachatchai, 2010; Srivastava, 2002) เทคนิคสเปกโทรฟลูออโรเมทรี เป็นเทคนิคที่มีสภาพไว มีความเลือกเฉพาะเจาะจงต่อกลุ่มสารที่ต้องการวิเคราะห์สูง สามารถใช้งานได้ง่าย เครื่องมือมีราคาถูกเมื่อเทียบกับเทคนิคทางโครมาโทกราฟี โดยกระบวนการวิเคราะห์อาศัยการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ระหว่างบราสสิโนไลด์ และรีเอเจนต์แดนซิลอะมิโนเฟนิลบอโรนิค แอซิด ซึ่งวิธีการวิเคราะห์ที่พัฒนา และนำเสนอขึ้นนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้สำหรับการหาปริมาณฮอร์โมนพืชกลุ่มบราสสิโนสเตียรอยด์รวม โดยเทียบเคียงกับบราสสิโนไลด์ ที่มีอยู่ในตัวอย่างน้ำหมักชีวภาพ และปุ๋ยน้ำที่มีขายอยู่ในท้องตลาดได้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อพัฒนาวิธีวิเคราะห์สำหรับการหาปริมาณฮอร์โมนพืชกลุ่มบราสสิโนสเตียรอยด์ โดยเทียบเคียงกับบราสสิโนไลด์ ด้วยเทคนิคสเปกโทรฟลูออโรเมทรี

2. เพื่อทำการหาปริมาณฮอร์โมนพืชกลุ่มบราสสิโนสเตียรอยด์ โดยเทียบเคียงกับบราสสิโนไลด์ ที่มีอยู่ในตัวอย่าง เช่น น้ำหมักชีวภาพ ปุ๋ยน้ำ เป็นต้น

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. ได้วิธีวิเคราะห์สำหรับการหาปริมาณฮอร์โมนพืชกลุ่มบราสสิโนสเตียรอยด์ โดยเทียบเคียงกับบราสสิโนไลด์ ที่ใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อย ประหยัดสารเคมี และสารตัวอย่าง

2. ได้ทราบปริมาณฮอร์โมนพืชกลุ่มบราสสิโนสเตียรอยด์ โดยเทียบเคียงกับบราสสิโนไลด์ ที่มีอยู่ในน้ำหมักชีวภาพที่เตรียมขึ้นจากพืชท้องถิ่นชนิดต่าง ๆ และในปุ๋ยน้ำ

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนพืชกลุ่มบราสสิโนสเตียรอยด์ โดยเทียบเคียงกับบราสสิโนไลด์ ด้วยเทคนิคสเปกโทรฟลูออโรเมทรี

2. ประเมินวิธีวิเคราะห์สำหรับการหาปริมาณฮอร์โมนพืชกลุ่มบราสสิโนสเตียรอยด์ โดยเทียบเคียงกับบราสสิโนไลด์ ด้วยเทคนิคสเปกโทรฟลูออโรเมทรี โดยการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง กราฟมาตรฐาน ขีดจำกัดการตรวจวัด ขีดจำกัดการหาปริมาณ ความเที่ยง ผลของน้ำตาลต่อการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ และค่าร้อยละการได้กลับคืน

3. นำสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษามาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณของฮอร์โมนพืชกลุ่มบราสสิโนสเตียรอยด์ โดยเทียบเคียงกับบราสสิโนไลด์ ในตัวอย่างน้ำหมักชีวภาพที่เตรียมขึ้นจากพืชท้องถิ่น และตัวอย่างปุ๋ยน้ำที่มีขายอยู่ในท้องตลาด

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University