



การศึกษาปัจจัยจันธุ์จากเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง

นฤมล มงคลชัยภักดี*

ธิดารัตน์ บุญรอด*

ปภาวดี สุฉันทบุตร*

สมจิตร เนียมสกุล*

ปราณี ชวลิตธำรง*

กัลยา อนุลักขณาปกรณ*

บุษราวรรณ ศรีวรรณะ†

บทคัดย่อ

ได้นำต้นอ่อนปัจจัยจันธุ์ อายุ ๑-๒ เดือน ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในเรือนเพาะชำ จำนวน ๘๘๐ ต้น ไปปลูกในไร่กลางดง อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ บนพื้นที่ ๔๐๐ ตารางเมตร จำนวน ๗ แปลง, แต่ละแปลงขนาดกว้าง ๑ เมตร ยาว ๒๐ เมตร. ทุกแปลงปลูกได้รับการตรวจคุณภาพดินและน้ำ รวมทั้งการปรับปรุงดินตามคำแนะนำกรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. เก็บตัวอย่างพืชส่วนเหนือดิน ๒ ครั้ง. ครั้งแรกเมื่อปลูกได้ ๓ เดือน ซึ่งยังไม่ออกดอก และครั้งที่ ๒ เมื่อปลูกได้ ๔ เดือนครึ่ง ซึ่งต้นปัจจัยจันธุ์เริ่มออกดอก แต่ยังไม่ติดเมล็ดและเป็นระยะเก็บเกี่ยว ได้นำหนักส่วนเหนือดินสด ๓๓๑ กิโลกรัม, นำตัวอย่างไปล้างอบแห้งที่ ๕๕ องศาเซลเซียส ได้นำหนักแห้ง ๓๘.๔ กิโลกรัม เท่ากับร้อยละ ๑๑.๖ ของน้ำหนักสด, เทียบเป็นผลผลิตต่อไร่ ๑,๓๒๔ กิโลกรัมสด หรือ ๑๕๓.๖ กิโลกรัมแห้ง. การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างสมุนไพรแห้งที่ ๓ เดือน และ ๔ เดือนครึ่ง พบว่ามีแซฟโพนินรวม ร้อยละ ๗.๑๑ และ ๘.๐๐ โดยน้ำหนักตามลำดับ (เกณฑ์มาตรฐานปริมาณสารสกัดชนิดหยาบของแซฟโพนินรวมไม่น้อยกว่าร้อยละ ๘ โดยน้ำหนัก). ผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพด้วยวิธีโครมาโทกราฟีชั้นบาง (Thin layer chromatography; TLC) เทียบกับสารมาตรฐาน Ginsenoside Rb1. การตรวจการปนเปื้อนของผงปัจจัยจันธุ์ไม่พบยาฆ่าแมลง; ปริมาณตะกั่ว, แคดเมียม และสารหนู อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน; พบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน แต่สารสกัดปัจจัยจันธุ์ด้วยน้ำผ่านเกณฑ์มาตรฐาน. การทดสอบฤทธิ์สารสกัดปัจจัยจันธุ์ด้วยน้ำที่ความเข้มข้น ๑, ๕, ๑๐ และ ๑๐๐ ไมโครกรัม/มิลลิลิตรในหลอดทดลอง พบว่าสามารถกระตุ้นการแบ่งตัวลิพอฟีไซต์ในเลือดคนปรกติได้.

คำสำคัญ: ปัจจัยจันธุ์, การปลูก, การควบคุมคุณภาพ, การแบ่งตัวของลิพอฟีไซต์

ภูมิหลังและเหตุผล

ปัจจัยจันธุ์มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino วงศ์ Cucurbitaceae^๑ มีสรรพคุณต้านอนุมูลอิสระ ช่วยให้ผ่อนคลาย ลดระดับไขมันในเลือด เสริมภูมิคุ้มกัน ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งบางชนิด

*สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

†สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

ยับยั้งการเกาะตัวของเกล็ดเลือด ต้านอักเสบ และลดระดับน้ำตาลในเลือด. แพทย์จีนใช้เป็นยาแก้กักเสป แก้ไอ ขับเสมหะ และแก้หลอดลมอักเสบชนิดเรื้อรัง^๒ ในปัจจุบัน ชาปัจจัยจันธุ์และสารสกัดปัจจัยจันธุ์บรรจุแคปซูลกำลังได้รับความนิยมใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพ จึงมีความต้องการวัตถุดิบสมุนไพรเพิ่มมากขึ้น จึงได้มีการศึกษาวิจัยขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ^๓. ในการวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาการควบคุมคุณภาพวัตถุดิบสมุนไพรที่ได้จากการนำต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยง

เนื้อเยื่อพืชไปปลูก ทั้งในด้านของสารสำคัญ, การปนเปื้อน และฤทธิ์ทางชีววิทยา.

ระเบียบวิธีศึกษา

สถานที่ทดลอง

๑. แปลงปลูกไร่กลางดง อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์
๒. ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
๓. ศูนย์ตรวจสอบและรับรองคุณภาพสมุนไพร สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
๔. ห้องปฏิบัติการเภสัชวิทยา สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
๕. สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
๖. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

วัสดุ

๑. ต้นอ่อนปญจจันทร์ อายุ ๑ - ๒ เดือน จากเรือนเพาะชำ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช จำนวน ๘๘๐ ต้น
๒. ปุ๋ยหมักชีวภาพโครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา
๓. ปุ๋ย N P K ๑๖ : ๑๖ : ๑๖
๔. ปุ๋ยยูนิเลต อาหารเสริมทางใบ ประกอบด้วย แมกนีเซียมร้อยละ ๒.๔, แมงกานีส ๑.๕, เหล็ก ๑.๕, ทองแดง ๐.๕, สังกะสี ๐.๕, โคบอลต์ ๐.๐๓, โบรอน ๐.๓, โมลิบดีนัม ๐.๐๓ .
๕. เชื้อ *Trichoderma* (trichomint) จากกรมพัฒนาที่ดิน
๖. รำอ่อน
๗. หินฟอสเฟต
๘. ไม้ไผ่ สำหรับทำแนวรั้วกันดิน
๙. ตาข่ายลึเขียวพรางแสงร้อยละ ๗๐

วิธีการ

ปลูกปญจจันทร์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ณ ไร่กลางดง อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ บนพื้นที่ ๔๐๐

ตารางเมตร โดยวิธีการดังต่อไปนี้

๑. การเตรียมปุ๋ยหมักชีวภาพหมักกับเชื้อไตรโคเดอร์มาและรำอ่อน

ผสมรำอ่อน ๑ กิโลกรัมและเชื้อไตรโคเดอร์มา ๒๕ กรัม (๑ ชอง) ในน้ำจำนวน ๕ ลิตร, คนให้เข้ากันทิ้งไว้ ๕ นาที แล้วนำไปผสมกับปุ๋ยหมักชีวภาพโครงการส่วนพระองค์ ๑๐๐ กิโลกรัม, คลุกเคล้าให้เข้ากันตั้งกองปุ๋ยหมักไว้ประมาณ ๗ วัน (รูปที่ ๑).

วิธีใช้ นำปุ๋ยหมักกองกันหลุม หลุมละ ๑ กำมือ และใช้ใส่บริเวณรอบ ๆ โคนต้น หรือระหว่างแถวที่ปลูก ใส่ ๒ สัปดาห์/ครั้ง.

๒. การเตรียมดินและการปลูก

ตัดหญ้าให้เรียบ พรวันดินอย่างน้อย ๒ ครั้งเพื่อให้ดินร่วนซุย, จากนั้นยกร่องแปลงปลูกขนาด ๑ เมตร × ๒๐ เมตร, ระยะห่างระหว่างแปลง ๐.๕ เมตร ยกร่องสูง ๓๐-๕๐ ซม. โดยใช้ไม้ไผ่กั้นโดยรอบ เพื่อป้องกันการพังทลายและการกัดเซาะของน้ำ และทำแปลงปลูกแบบขั้นบันได, ใส่ปุ๋ยหมักชีวภาพโครงการส่วนพระองค์ อัตราส่วน ๒-๓ ตัน/ไร่ และหินฟอสเฟต ๒๕ กก./๔๐๐ ตารางเมตร (อัตราส่วนนี้เปลี่ยนแปลงตามคุณภาพดินที่ตรวจวิเคราะห์ได้จากกรมพัฒนาที่ดิน).

ขุดหลุมปลูก ระยะระหว่างหลุม ๕๐ × ๕๐ ซม. ใส่ปุ๋ยหมักชีวภาพที่ได้ผสมเชื้อไตรโคเดอร์มาและรำอ่อนและหมักนาน ๗ วันแล้ว (ตามข้อ ๑) มารองกันหลุม รวมกับปุ๋ย N P K ๑๖ : ๑๖ : ๑๖ หลุมละ ๑ กำมือ. ปลูกต้นปญจจันทร์และกลบดิน



รูปที่ ๑ กองปุ๋ยหมักชีวภาพผสมกับเชื้อ ไตรโคเดอร์มา รำอ่อน หมักไว้ ๗ วันก่อนใช้



รูปที่ ๒ เตรียมแปลงปลูกขนาดกว้าง ๑ เมตร ยาว ๒๐ เมตร สูง ๕๐ เซนติเมตร กั้นล้อมด้วยไม้ไผ่ ระยะห่างระหว่างแปลง ๕๐ เซนติเมตร

ให้น้ำ คลุมด้วยตาข่ายพรางแสง เพื่อป้องกันแสงแดดที่มากเกินไป.

๓. การดูแลรักษาและการใส่ปุ๋ย

หลังจากปลูกปัญญาจันทร์และพืชตั้งตัวแล้ว ๑ สัปดาห์ ให้ปุ๋ยชีวภาพที่หมักแล้วตามข้อ ๑ รวมกับ ปุ๋ย N P K และหินฟอสเฟต ๑ กำมือ โรยรอบ ๆ ต้น ๒ สัปดาห์ต่อครั้ง สลับกับการฉีดพ่นปุ๋ยยูนิเลตอาหารเสริมทางใบ อัตราส่วน ๑ - ๒ ช้อนชา (๕ - ๑๐ กรัม) ต่อน้ำ ๒๐ ลิตร ฉีดพ่นทางใบ ๒ สัปดาห์/ครั้ง ให้น้ำทุกวัน และกำจัดวัชพืชทุกเดือน. หยุดให้น้ำ ๑ เดือน ก่อนการเก็บเกี่ยว.

๔. การเก็บเกี่ยว

เก็บเกี่ยวส่วนเหนือดินระยะปลูก ๓ เดือนและ ปัญญาจันทร์ระยะออกดอกแต่ยังไม่เริ่มเมล็ด หรือประมาณ ๔ เดือนครึ่ง. นำส่วนเหนือดินปัญญาจันทร์มาล้างด้วยน้ำสะอาด ๒ ครั้ง แล้วตัดปัญญาจันทร์ให้เป็นท่อน ๆ ละประมาณ ๑-๒ ฟุต ใส่ถาดตากในเรือนตากแดด หรือผึ่งให้แห้งบนแคร่ ๑-๒ วัน. เมื่อสมุนไพรแห้งแล้ว แต่ถ้ายังมีความชื้นอยู่ นำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ ๕๕ องศาเซลเซียส นาน ๑-๒ วัน คอยกลับสมุนไพรให้ทั่วเพื่อให้แห้งเท่า ๆ กัน (ถ้ามีตู้อบแสงอาทิตย์อาจใช้แทนตู้อบไฟฟ้าเพื่อประหยัดพลังงาน) จนกว่าสมุนไพรจะแห้งสนิท โดยการจับดูใบจะกรอบ ๆ แล้วนำเก็บใส่ถุงพลาสติกใสบิดให้สนิท.

๕. การตรวจวิเคราะห์ นำวัตถุดิบสมุนไพรที่ได้มาตรวจวิเคราะห์ ดังต่อไปนี้

๕.๑ ปริมาณแซโปนินรวม (total saponins) ตามวิธีของศูนย์ตรวจสอบและรับรองคุณภาพสมุนไพร สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์^๒.

๕.๒ ตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีด้วยวิธีโครมาโทกราฟีชั้นบาง (Thin layer chromatography; TLC) ตามวิธีของศูนย์ตรวจสอบและรับรองคุณภาพสมุนไพร สถาบันวิจัยสมุนไพรกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์^๒.

๕.๓ การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ โลหะหนัก และสารกำจัดศัตรูพืช ตามวิธีของ Thai Herbal Pharmacopoeia^๓.

๖. การทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการแบ่งตัวของลิมโฟไซต์คนปกติ ใช้วิธีของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์^๔.

ผลการศึกษา

ผลผลิตปัญญาจันทร์

รูปที่ ๓ แสดงปัญญาจันทร์ที่ปลูกนาน ๓ เดือน ซึ่งเป็นระยะที่ยังไม่ออกดอก และส่วนปัญญาจันทร์ที่ปลูกได้ ๔ เดือนครึ่ง เป็นระยะที่ออกดอกแต่ไม่ติดเมล็ด (รูปที่ ๔) และเป็นระยะเก็บเกี่ยวส่วนเหนือดินสดที่ปลูกนาน ๔ เดือนครึ่งได้ ๓๓๑ กิโลกรัม ได้น้ำหนักแห้ง ๓๘.๔ กิโลกรัม คิดเป็นร้อยละ ๑๑.๖ ของน้ำหนักแห้งต่อน้ำหนักสด หรือคิดเป็นผลผลิตต่อไร่เท่ากับ ๑,๓๒๔ กิโลกรัมสด/ไร่ และ ๑๕๓.๖ กิโลกรัมแห้ง/ไร่.

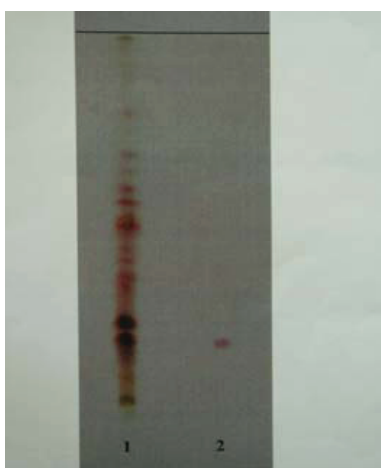
คุณภาพทางเคมีของวัตถุดิบปัญญาจันทร์ จากการตรวจ



รูปที่ ๓ ต้นปัญญาจันทร์ปลูก ๓ เดือน



รูปที่ ๔ ดอกปัญจชันธิ์ปลูก ๔ เดือนครึ่ง



๑ ๒

รูปที่ ๕ โครมาโทกราฟีชั้นบางของปัญจชันธิ์ เทียบกับสารมาตรฐาน Ginsenoside Rb1
 ๑ = น้ำยาดตัวอย่างวัตถุดิบสมุนไพรปัญจชันธิ์
 ๒ = น้ำยามาตรฐาน Ginsenoside Rb1

วิเคราะห์ส่วนเหนือดินที่เก็บหลังปลูกนาน ๓ เดือนและ ๔ เดือนครึ่ง พบมีปริมาณแซโพนินรวมร้อยละ ๗.๑๑ และ ๙.๐๐ โดยน้ำหนักตามลำดับ และการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีด้วย TLC ตรวจพบ Ginsenoside Rb1 เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน (รูปที่ ๕).

การปนเปื้อน

สารกำจัดศัตรูพืช ไม่พบสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออกาโนคลอรีน, ออกาโนฟอสเฟต, คาร์บาเมต และสารสังเคราะห์ไพรีทรอยด์ ในส่วนเหนือดินแห้ง.

โลหะหนัก ตรวจพบปริมาณตะกั่ว ๐.๕๒ มิลลิกรัม/กิโลกรัม (มก./กก.), แคดเมียม ๐.๓ มก./กก. และสารหนู ๐.๐๖ มก./กก. ซึ่งอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน (ปริมาณตะกั่วไม่เกิน ๑๐ มก./กก., แคดเมียมไม่เกิน ๐.๓ มก./กก. และสารหนูไม่เกิน ๔ มก./กก.)^๑

เชื้อจุลินทรีย์ พบว่าผงปัญจชันธิ์ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานเนื่องจากนับเชื้อแบคทีเรียและราที่มีชีวิตไม่ผ่าน แต่ไม่พบเชื้อ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. และ pathogenic *Clostridium* spp.

ฤทธิ์กระตุ้นการแบ่งตัวลิโฟไซต์

การทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการแบ่งตัวลิโฟไซต์โดยใช้ตัวอย่างเลือดคนปกติ ๑๒ ตัวอย่างพบว่าสารสกัดปัญจชันธิ์ด้วยน้ำ ที่ความเข้มข้น ๑, ๕, ๑๐ และ ๑๐๐ มก./มล. สามารถกระตุ้นการแบ่งตัวของลิโฟไซต์ได้.

วิจารณ์

การศึกษาครั้งนี้เป็นการทดลองต่อยอดจากการวิจัยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช^๑ โดยนำต้นอ่อนปัญจชันธิ์จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ปลูกในเรือนเพาะชำอายุ ๑-๒ เดือนไปปลูกในแปลงปลูกที่จังหวัดเพชรบูรณ์ เป็นเวลา ๓ เดือนและ ๔ เดือนครึ่ง พบว่าปัญจชันธิ์ที่ปลูกเป็นระยะเวลา ๔ เดือนครึ่งมีปริมาณแซโพนินรวม เท่ากับร้อยละ ๙ ซึ่งเป็นปริมาณที่เข้าเกณฑ์มาตรฐาน (ไม่น้อยกว่าร้อยละ ๘)^{๒,๕}. การใส่เชื้อไตรโคเดอร์มาสามารถป้องกันโรคพืชโดยไม่ต้องใช้ยาฆ่าแมลง และช่วยให้อัตราการเจริญเติบโตของพืชดีขึ้น^{๖,๗}. การใส่ปุ๋ยอินทรีย์เพื่อใช้เป็นอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อไตรโคเดอร์มา^{๖,๗} เป็นการผลิตวัตถุดิบสมุนไพรอินทรีย์โดยวิธีธรรมชาติ. ส่วนการใส่หินฟอสเฟตเพื่อเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสที่มีปริมาณต่ำ การพ่นปุ๋ยยูนิเลตทางใบเพื่อเป็นอาหารเสริมทางใบ การใส่ NPK เพื่อเพิ่มความสมบูรณ์ของดิน เนื่องจากพื้นที่เป็นเนินเขาและเนินที่ลาดชันช่วยป้องกันการชะล้างธาตุอาหารในดินไปกับน้ำ. ตามปกติพื้นที่ที่ใช้ปลูกพืชไม่ควรมีความลาดชันมากกว่า ๓๕ องศา^๘.

จากการทดลองทั้ง ๒ ครั้งได้ติดตามปริมาณแซโพนินรวมในปัญจชันธิ์ส่วนเหนือดินของต้นอ่อนอายุ ๑ เดือนในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สูตรอาหาร MS58 และ MS58 รวมกับ

ไคโทสร้อยละ ๐.๑ ต้นอ่อนอายุ ๓ เดือน ที่ปลูกในเรือนเพาะชำ และต้นปญฺจขันธ์ที่ปลูกในแปลงปลูก อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ ที่ปลูก ๓ เดือน และ ๔ เดือนครึ่ง พบว่ามีปริมาณแซโพนินรวมร้อยละ ๕.๒๑, ๕.๔๕, ๖.๖๗, ๗.๑๑ และ ๙.๐๐ ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณเพิ่มขึ้นตามลำดับ การเจริญเติบโตจากในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ในเรือนเพาะชำจนมาถึงแปลงปลูกบนดิน ทำให้เห็นว่าการปลูกที่จะให้ได้ปริมาณแซโพนินสูงจะต้องเก็บเกี่ยวระยะเวลาออกดอกแต่ยังไม่ติดเมล็ด หรือประมาณ ๔ เดือนถึง ๕ เดือน^๙ ในการวิจัยครั้งนี้คือเริ่มปลูกเดือนพฤษภาคม และเก็บเกี่ยวเดือนกันยายน จากรายงานช่วงเก็บเกี่ยวที่ให้สารสำคัญสูงตั้งแต่เดือนมิถุนายนถึงเดือนกันยายน^๙ แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับพื้นที่ปลูกด้วยเช่นกัน โดยพื้นที่ที่เป็นแหล่งกำเนิดของต้นปญฺจขันธ์ซึ่งอยู่ทางภาคเหนือของไทย เช่น เชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน แม่ฮ่องสอน ซึ่งมีภูมิประเทศและภูมิอากาศเหมาะสมกับการเจริญของปญฺจขันธ์จะให้ปริมาณแซโพนินสูงกว่าพื้นที่อื่น^{๑๐} โดยเปรียบเทียบการปลูกปญฺจขันธ์พื้นที่ภาคเหนือจังหวัดเชียงใหม่, จังหวัดแม่ฮ่องสอน^{๑๐} และจังหวัดเพชรบูรณ์ ดังนี้

ปญฺจขันธ์สายพันธุ์พื้นเมืองสวนป่าหลวงสันกำแพง สวนป่าบ้านหลวง สวนป่าแม่หอพระ สวนป่าแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่ และสวนป่าแม่ฮัก จังหวัดแม่ฮ่องสอน ปลูกที่ ๔ เดือน มีแซโพนินรวม เท่ากับ ๑๕.๗๙, ๑๒.๔๑, ๑๔.๒๒, ๗.๕๕ และ ๑๖.๔๒ ตามลำดับ. เมื่อปลูกที่ ๕ เดือน มีร้อยละ ๗.๕๘, ๗.๗๑, ๗.๘๔, ๘.๗๕ และ ๑๓.๗๔ ตามลำดับ. ส่วนปญฺจขันธ์ที่ปลูกที่เขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ ที่ ๓ เดือน และ ๔ เดือนครึ่ง มีร้อยละ ๗.๑๑ และ ๙.๐๐ ตามลำดับ. จากการประมวลผลวิเคราะห์พบว่าเมื่อปลูกปญฺจขันธ์ที่จังหวัดเชียงใหม่ที่ ๔ เดือน และ ๕ เดือน พบว่าที่ ๔ เดือน มีค่าแซโพนินรวมของสวนป่าแม่แจ่มต่ำกว่ามาตรฐาน คือร้อยละ ๗.๕๕ และที่ ๕ เดือน สวนป่าสันกำแพง, สวนป่าบ้านหลวง และสวนป่าหอพระ มีค่าต่ำกว่ามาตรฐาน คือร้อยละ ๗.๕๘, ๗.๗๑ และ ๗.๘๔ ตามลำดับ แสดงว่าการเก็บตัวอย่างดูจากระยะเวลาปลูกคือที่ ๔ เดือน และ ๕ เดือน ไม่ได้ดูจากระยะเวลาที่ออกดอกแต่ยังไม่ติดเมล็ด ซึ่งจะเป็นระยะที่มีแซโพนินสูงสุด จึงทำให้บางครั้งในบางพื้นที่ที่ ๔ เดือน ยังไม่ออกดอก จึงได้ค่าแซโพนินต่ำกว่าที่ ๕ เดือน และต่ำกว่ามาตรฐาน. ส่วนบางพื้นที่ที่ ๕ เดือนเป็นระยะที่เลยเวลาออกดอกมานานแล้วค่าแซโพนินจึงต่ำกว่าที่ ๔

เดือนและต่ำกว่ามาตรฐาน ดังนั้นการเก็บปญฺจขันธ์จึงควรดูจากระยะเวลาที่ออกดอกและยังไม่ติดเมล็ด คือประมาณ ๔ เดือนครึ่ง แต่เนื่องจากพื้นที่ภูมิอากาศภาคเหนือ คือเชียงใหม่ และ แม่ฮ่องสอน เป็นอากาศที่เหมาะสมกับการปลูกปญฺจขันธ์มากกว่าโดยเฉพาะในธรรมชาติ ในป่าดงดิบบนดอยอินทนนท์ สูงสุดแดนสยาม ซึ่งเป็นพื้นที่มีอากาศเย็น จะพบมีปญฺจขันธ์ขึ้นเองได้ตามธรรมชาติอยู่จำนวนมาก จึงทำให้ค่าแซโพนินที่เชียงใหม่สูงกว่าปลูกที่เขาค้อ.

การตรวจการปนเปื้อนของปญฺจขันธ์ไม่พบสารกำจัดศัตรูพืช เนื่องจากการทดลองไม่ได้ใช้สารกำจัดศัตรูพืช ผลการตรวจพบโลหะหนักอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน แสดงว่าพื้นที่ปลูกมีการปนเปื้อนของโลหะหนักน้อย เนื่องจากไม่ได้อยู่ในแหล่งอุตสาหกรรม การตรวจการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ของปญฺจขันธ์ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน เนื่องจากการปลูกปญฺจขันธ์เลื้อยทอดตามดิน ทำให้มีการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียในดิน และมีการล้างวัตถุดิบก่อนอบแห้งไม่สะอาดเพียงพอซึ่งปัญหาการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์นี้อาจแก้ไขได้ โดยการปรับปรุงกระบวนการทำความสะอาดและการทำให้แห้ง หรือด้วยการฉายรังสีแกมมาเพื่อฆ่าเชื้อ. แต่เมื่อนำวัตถุดิบมาสกัดซึ่งเป็นกระบวนการที่ผ่านความร้อน จึงทำให้สามารถฆ่าเชื้อได้ ทำให้การตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดผ่านเกณฑ์มาตรฐาน ส่วนการทดสอบฤทธิ์พบว่าสารสกัดปญฺจขันธ์สามารถกระตุ้นการแบ่งตัวของลิมโฟไซต์ของเลือดคนปกติในหลอดทดลอง ซึ่งจะมีประโยชน์ในด้านการเพิ่มภูมิคุ้มกันโรค.

สรุป

การวิจัยครั้งนี้มีประโยชน์ทำให้ทราบวิธีปลูกปญฺจขันธ์โดยไม่ต้องใช้สารกำจัดศัตรูพืช โดยใช้เชื้อไตรโคเดอร์มา ในการกำจัดศัตรูพืชแทนสารกำจัดศัตรูพืช. การใช้ปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ การให้อาหารเสริมยูนิเลททางใบ การใช้ปุ๋ยเคมี NPK สามารถใส่ได้บ้าง เพื่อเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดิน. การตรวจวิเคราะห์ดินก่อนการปลูก การปรับสภาพดินโดยใช้หินฟอสเฟตเพื่อให้ได้ดินที่เหมาะสมกับการปลูก ระยะเวลากการเก็บเกี่ยวที่ ๔ เดือนครึ่ง เป็นระยะที่ออกดอกแต่ยังไม่ติดเมล็ด ซึ่งเป็นระยะที่ทำให้ได้ปริมาณแซโพนินสูงสุด ทำให้ทราบระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่แน่นอนของปญฺจขันธ์ ทำให้เกษตรกรเกิดความมั่นใจ

ในการปลูกและเก็บเกี่ยว. การปลูกต้นอ่อนจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มีต้นทุนสูง จะใช้ต่อเมื่อระยะเริ่มแรกมีแม่พันธุ์น้อย ซึ่งสามารถขยายพันธุ์ได้ปริมาณมากและปลอดโรค ซึ่งแม่พันธุ์ที่ได้มาจากจังหวัดสตูล ซึ่งประเทศญี่ปุ่นนำเข้ามาปลูกในประเทศไทยครั้งแรก ในระยะแรกนำมาเพียง ๒-๓ ต้นเท่านั้น และทำให้สามารถติดตามการสร้างปริมาณแซโพนินตั้งแต่ต้นอ่อนอายุ ๑ เดือนในเขตเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ก็สามารถสร้างแซโพนินได้สูงถึงร้อยละ ๕.๒๑ และจะเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ ๖.๗๖ เมื่อปลูกในเรือนเพาะชำ และสูงสุดที่ร้อยละ ๙.๐๐ เมื่อปลูกบนแปลงปลูกเขาค้อ.

การทำความสะอาดวัตถุดิบหลังเก็บเกี่ยว ควรทำความสะอาดด้วยน้ำเปล่าที่สะอาด ๒ ครั้ง เพื่อคัดเลือกเอาเศษดินออก และควรล้างอย่างเร็วเพื่อป้องกันไม่ให้สารสำคัญสูญเสียโดยละลายไปกับน้ำ รวมทั้งการตาก อบให้แห้งควรทำให้เร็วไม่ควรเกิน ๓-๔ วัน เพื่อป้องกันการสูญเสียสารสำคัญ การหั่นปัญจชันก่อนตากอบ ควรเป็นท่อนใหญ่ ๑-๒ ฟุต หรือถ้าพื้นที่ตากกว้างไม่ต้องหั่นเลย เพื่อป้องกันการสูญเสียสารสำคัญเมื่ออบแห้งแล้วควรตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อน หากพบว่ายังมีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ มีวิธีฆ่าเชื้อโดยการฉายรังสี หรือเตรียมเป็นสารสกัด.

กิตติกรรมประกาศ

กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้ให้ความอนุเคราะห์ตรวจวิเคราะห์ดินและน้ำพร้อมทั้งให้คำแนะนำในการปรับปรุงดิน, นายสันติสุข ประสิทธิ์ศักดิ์ ข้าราชการบำนาญ องค์การอุตสาหกรรมป่าไม้ ได้ให้คำปรึกษาด้านการเกษตร, นายสุเทพ ศรีสนาม ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สถาบันวิจัยสมุนไพร ได้ช่วยเตรียมแปลงปลูกและติดตามดูแลการปลูกต้นปัญจชันเป็นอย่างดี นายภูริทัต รัตนสิริ ศูนย์ตรวจสอบและรับรองคุณภาพสมุนไพรได้ให้ความอนุเคราะห์ตรวจวิเคราะห์ปริมาณแซโพนินรวม และตรวจระบุ ginsenoside Rb1 ด้วย TLC, นางจรีภรณ์ บุญยวงศ์วิโรจน์ ผู้อำนวยการสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ได้ให้ความอนุเคราะห์การตรวจการปนเปื้อนของโลหะหนักและยาฆ่าแมลง, น.ส.ปัทมาวดี เสตะกัณณะ ห้องปฏิบัติการเภสัชวิทยา สถาบันวิจัยสมุนไพร ได้ให้ความอนุเคราะห์ตรวจการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์, น.ส.พัชรี โยควิบูล และ น.ส.ปิยวรรณ ศรีเจริญ

ฝ่ายภูมิคุ้มกันแบบอาศัยเซลล์สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้ช่วยทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดปัญจชันต่อการแบ่งตัวของลิมโฟซัยต์ของคนปกติในหลอดทดลอง.

เอกสารอ้างอิง

๑. นฤมล มงคลชัยภักดิ์, ธิดารัตน์ บุญรอด, ปภาวดี สุชนทบุตร, ปภาณี ขวลิตรารัง. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชของปัญจชันและสาระสำคัญ. วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก ๒๕๔๘-๙;๔:๗๙-๙๕.
๒. เย็นจิตร เตชะดำรงสิน, ธิดารัตน์ บุญรอด, จารีย์ บันสิทธิ์, วาภูมิ จิรวินนาพงศ์, ประไพ วงศ์สินคงม้น, ดวงเพ็ญ ปัทมดิลก และคณะ. คุณภาพทางเคมีของปัญจชัน. ใน : ปภาณี ขวลิตรารัง, จารีย์ บันสิทธิ์, กัลยา อนุลักขณาปรกรณ์, ธิดารัตน์ บุญรอด, บุษรารวรรณ ศรีวรรณนะ. สมุนไพรน่ารู้ (๒) ปัญจชัน *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์การศาสนา; ๒๕๔๘ หน้า ๔๕-๔๖.
๓. Department of Medical Sciences. Supplement to Thai Herbal Pharmacopoeia. Bangkok: Printed by Prachachon Co.,Ltd; 2004. p. 5,41-47.
๔. James SP. Measurement proliferative response of culture lymphocytes. In: Coligan JE, Kruisbeek AM, Margulies DH, Shevach EM, Strober W. Current protocols in immunology. New York: John Wiley & Sons, Inc.; 1994. p. 7.10.1-7.10.10.
๕. เย็นจิตร เตชะดำรงสิน, นิตยาพร ตันมณี, จริญญา ดิษฐไชยวงศ์, กอบเกียรติ บันสิทธิ์, ปภาณี ขวลิตรารัง, เบญจนิษฐ์ ภาพาณิษฐ์ และคณะ. การควบคุมคุณภาพของวัตถุดิบ ปัญจชันปัจจัยทางกายภาพ. แนวทางการผลิตวัตถุดิบปัญจชันในประเทศไทย. ร้านพิมพ์ทอง; ๒๕๔๘ หน้า ๑๕-๑๙, ๒๕-๖.
๖. กนิษฐา สังคหะ, ภาณี มั่นอิน, ยงยุทธ โอสดสภา. เอกสารประกอบการฝึกอบรมโครงการถ่ายทอดเทคโนโลยี การวินิจฉัยโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราในดินและการควบคุมโดยชีววิธี ๑๑-๑๓ กรกฎาคม ๒๕๕๐ งานวินิจฉัยและกักกันศัตรูพืช ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง สถาบันวิจัยและพัฒนาฯ ม. เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม. ๒๕๕๐. ๔๒ หน้า.
๗. Harman GE, Kubicek CP. Trichoderma and Gliocladium, Enzymes, Biological Control and Commercial Applications. Vol 2. London : Taylor & Francis; 1988. p. 393.
๘. จริญญา ดิษฐไชยวงศ์, สุชน สุวรรณบุตร, ธีรยุทธ มาลาทอง, ธิดารัตน์ บุญรอด, นิตยาพร ตันมณี, เย็นจิตร เตชะดำรงสิน. แบบการปลูกและอายุเก็บเกี่ยวของปัญจชัน. วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก ๒๕๕๐;๕:๑๘๑-๔.
๙. จารีย์ บันสิทธิ์, ปภาณี ขวลิตรารัง, กัลยา อนุลักขณาปรกรณ์, ธิดารัตน์ บุญรอด, บุษรารวรรณ ศรีวรรณนะ. ทฤษฎีการพัฒนารูปแบบการผลิตปัญจชัน สมุนไพรน่ารู้ (๒) ปัญจชัน *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์การศาสนา; ๒๕๔๘ หน้า ๘๕-๑๐๐.
๑๐. วิชัย โชควิวัฒน์, ขวลิตร สันติกิจรุ่งเรือง, เย็นจิตร เตชะดำรงสิน, นัยนา วัฒนาเมธี, นิตยาพร ตันมณี, ปภาณี ขวลิตรารัง และคณะ. การศึกษาเปรียบเทียบคุณภาพของปัญจชันพันธุ์พื้นเมืองและพันธุ์จีน. วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก ๒๕๔๘; ๓:๕๒-๖๙.

Abstract**Study of *Gynostema pentaphyllum* (Thunb.) Makino Planted from Tissue Culture: Quality Control and Its In Vitro Activity on Human Lymphocytes**

Naruemol Mongkolchaipak*, Thidarat Boonrod*, Pabhawadee Sushantabutr*, Somjit Niumsakul*, Pranee Chavalittumrong*, Kalaya Anulakanapakorn*, Busarawan Sriwatana[†]

*Medicinal Plant Research Institute, [†]Health Science Research Institute, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Nonthaburi

Plantlets of *Gynostema pentaphyllum* (Thunb.) Makino from tissue cultures aged 1-2 months grown in a nursery were transferred to Rai Khrang Dong, Kao Ko, in Petchaboon Province. Soil and water samples from the selected field for the plantlets to grow were analyzed by the Department of Land Development, Ministry of Agriculture and Cooperatives. The quality of the land was improved based on the analytical results. The fresh upper parts of the plantlets were collected twice for analysis of total saponins, i.e., at 3 months old before flowering and at 4.5 months old, which was the harvesting period when the plants flowered but bore no fruits. The harvested fresh plants weighed 331 kg. After washing and drying in the oven at about 55°C, the dried plants weighed 38.4 kg, giving a percentage yield of 11.6. The output was about 1,334 kg/rai of fresh plants, or 153.6 kg/rai of dried plants. The total saponins of the 3 and 4.5-month-old plants were 7.11 percent and 9.00 percent, respectively, while the standard specification of this plant states that total saponins in the crude drug should be not less than 8 percent. Ginsenoside Rb1 was detected by thin layer chromatography (TLC) as compared with standard Ginsenoside Rb1. Analysis of powdered crude drug showed no insecticide contamination, while lead, cadmium and arsenic levels were within limits. Powdered crude drug did not pass the test for microbial contamination, while the water extract met the requirements. In vitro study in human peripheral blood mononuclear cells showed that *Gynostemma pentaphyllum* aqueous extract at the concentrations of 1, 5, 10 and 100 µg/ml could stimulate lymphocyte proliferation.

Key words: *Gynostemma pentaphyllum*, quality control, lymphocyte proliferation