

วิธีการสกัดสารสกัดหยาบจากพอร์พอลิสของชันโรงที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว

วชิราภรณ์ พูนัน

สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร เขตบางเขน กรุงเทพมหานคร 10220

wachiraporn_da@hotmail.com

บทคัดย่อ

ประเทศไทยอยู่ในเขตร้อนชื้น มีความหลากหลายทางชีวภาพของผลไม้ชนิดต่าง ๆ มีการส่งออกผลไม้ต่อปีในปริมาณมาก ส่งผลให้เกิดการใช้สารเคมีในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคหลังการเก็บเกี่ยวในปริมาณสูง ทำให้เกิดสารตกค้างในผลไม้เหล่านั้นตามมา การใช้สารควบคุมเชื้อราจากธรรมชาติจึงเป็นสิ่งที่จำเป็น เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค พอร์พอลิสมีองค์ประกอบหลักเป็นยางไม้ที่แมลงในกลุ่มผึ้งและชันโรงเก็บมาเพื่อใช้ในการสร้างรัง และคาดว่าจะมีองค์ประกอบเป็นสารในกลุ่มฟีนอลิก ซึ่งมีรายงานฤทธิ์การยับยั้งเชื้อราและแบคทีเรีย แต่เนื่องจากการสกัดสารออกฤทธิ์จากพอร์พอลิสเป็นสิ่งที่ยาก งานวิจัยนี้จึงมีจุดประสงค์ที่จะเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบพอร์พอลิสที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ อะซิโตน เอทานอล และเมทานอล และวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน 2 วิธี คือ การเขย่า (shaking) และการกวน (stirring) ในอัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เป็นเวลา 3 วัน จะได้สารสกัดหยาบพอร์พอลิส 6 ชนิด เปรียบเทียบน้ำหนักผลผลิตที่ได้ พบว่าการใช้เมทานอลในการสกัดสารจากพอร์พอลิสให้น้ำหนักผลผลิตมากที่สุด รองลงมาคือ เอทานอล และอะซิโตน ส่วนวิธีการสกัดโดยการเขย่าและการกวนให้ค่าร้อยละของผลผลิตสารสกัดหยาบไม่แตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนส (*Colletotrichum* sp.) และโรคข้าวหีเนา (*Fusarium* sp.) ที่แยกได้จากกล้วยน้ำว้า แบบ *in vitro* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร พบว่าสารสกัดหยาบพอร์พอลิสที่สกัดด้วยเมทานอลโดยการกวน (PME-St) ให้ค่าการยับยั้งสูงที่สุดที่ร้อยละ 48.08 และ 19.41 ตามลำดับ โดยที่สารสกัดพอร์พอลิสที่สกัดด้วยเอทานอลให้ค่าร้อยละการยับยั้งเฉลี่ยรวมสูงที่สุด และวิธีการสกัดสารสกัดหยาบจากพอร์พอลิสแบบการกวนให้ค่าเฉลี่ยรวมของการยับยั้งเชื้อราสูงกว่าการสกัดแบบเขย่าอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้น หากชาวสวนผลไม้ต้องการสกัดสารจากพอร์พอลิสควรเลือกใช้วิธีการสกัดแบบการกวนและควรใช้ตัวทำละลายเอทานอลซึ่งหาได้ง่ายและให้ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนสและโรคข้าวหีเนาในกล้วยน้ำว้าได้สูงกว่า

คำสำคัญ: สารสกัดหยาบ พอร์พอลิส ชันโรง การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา โรคผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว

บทนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมที่อยู่ในเขตร้อนชื้น มีความหลากหลายของพืชผลทางการเกษตรมากโดยเฉพาะผลไม้เมืองร้อน ที่มีการปลูกทั้งเพื่อบริโภคภายในประเทศและเพื่อการส่งออก โดยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ทุกปี ได้แก่ สับปะรด ลำไย เงาะทุเรียน มังคุด ลิ้นจี่ ส้มเขียวหวาน ลองกอง มะม่วง มะขาม กล้วย ส้มโอ แอปเปิ้ล องุ่น น้อยหน่า มะละกอ แตงโม ฝรั่ง และมะพร้าวอ่อน เป็นต้น (ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2558) แต่เนื่องจากสภาพภูมิอากาศแบบร้อนชื้นของประเทศไทย ทำให้ทั้งอุณหภูมิและความชื้นเหมาะสมแก่การเจริญเติบโตของเชื้อราได้หลายชนิด บางชนิดสามารถสร้างสารพิษที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคได้ การเข้าทำลายผลไม้หลังการเก็บเกี่ยวของจุลินทรีย์เหล่านี้ ก่อให้เกิดความเสียหายทั้งในระหว่างการขนส่ง การเก็บรักษา และการวางตลาด ซึ่งเป็นปัญหาใหญ่ที่เกี่ยวข้องกับเศรษฐกิจของผลไม้เหล่านี้ (กรมวิชาการเกษตร, 2557)

โรคหลังการเก็บเกี่ยวในผลไม้ที่สำคัญ ได้แก่ โรคข้าวหีเนาและโรคแอนแทรกโนส ซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อราในกลุ่ม *Colletotrichum* sp. *Lasiodiplodia* sp. และ *Fusarium* sp. เป็นหลัก เชื้อราดังกล่าวสามารถทำลายผลไม้ได้หลายชนิด เช่น กล้วย มะม่วง มังคุด และมะละกอ โดยเชื้อราอาจจะเข้าไปพักตัวแฝงอยู่ในผลไม้ตั้งแต่ระยะที่ผลไม้กกำลังเจริญเติบโต และจะทำให้เกิดอาการของโรคเมื่อผลไม้เริ่มสุก หรือเข้ามาทางบาดแผลที่เกิดจากการตัดแต่งเพื่อบรรจุลงหีบห่อ การลดความเสียหายเนื่องจากโรคเหล่านี้ จึงมักใช้สารเคมีเป็น

ส่วนใหญ่ เช่น Thiabendazole Benomyl Imazalil Fluconazole Itraconazole และ Amphotericin B ซึ่งมักก่อให้เกิดปัญหาเรื่องสารเคมีตกค้างในผลไม้ตามมา โดยเฉพาะในบางประเทศที่เข้มงวดเกี่ยวกับการนำเข้าผลไม้สด (กรมวิชาการเกษตร, 2557) ในการแก้ปัญหาการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวในผลไม้ จึงควรพิจารณาใช้วิธีการที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภคด้วยการไม่ใช้สารเคมีที่เป็นอันตราย ทำให้ลดปัญหาสารเคมีตกค้าง ดังนั้น การพัฒนาคุณภาพผลผลิต เพื่อลดการเน่าเสียและยืดอายุการเก็บรักษาจึงควรใช้ชีววิธีผสมผสานกับวิธีทางกายภาพ

พาราลิซเป็นสารเหี่ยวที่ฝังและชั้นโรงสร้างขึ้นมาจากการไปเก็บยางไม้มาผสมกับเอนไซม์และสารจากตัวฝังเพื่อใช้ในการสร้างรังเพื่อป้องกันเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ ที่จะมาก่อความเสียหายให้แก่รัง (อัญชลี สวาศดีธรรม, 2556) มีงานวิจัยจำนวนมากที่ใช้ประโยชน์จากพาราลิซของผึ้ง หนึ่งในนั้นคืองานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ทั้งแบคทีเรียและรา รวมถึงเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิด เช่น *Cladosporium cladosporioides* C. *sphaerospermum* (Bankova et al., 2014) *Alternaria alternata* *Penicillium digitatum* (Özcan, 1999) *F. oxysporium* (Ozcan, 2004) *Aspergillus niger* *Fusarium* sp. *P. notatum* *Phomopsis* sp. *Thichoderma* spp. (Quiroga et al., 2006) *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Botryodiplodia theobromae* (Meneses et al., 2009) เป็นต้น แต่มีงานวิจัยไม่มากนักที่ใช้ประโยชน์จากพาราลิซของชั้นโรงในการเป็นสารต้านเชื้อรา ประกอบกับในประเทศไทยเริ่มมีการนำชั้นโรงมาเลี้ยงและใช้เป็นแมลงผสมเกสรในสวนผลไม้แทนผึ้งมาเมื่อไม่นานนี้ เนื่องจากมีประสิทธิภาพดีกว่าการใช้ผึ้งพันธุ์และไม่เป็นอันตราย ชั้นโรงเป็นแมลงที่มีขนาดเล็ก ไม่มีเหล็กใน มีนิสัยชอบเก็บยางไม้มาสร้างเป็นรังและส่วนประกอบต่าง ๆ ภายในรังเพื่อป้องกันโรคและแมลงศัตรูต่าง ๆ ที่มารบกวน ผลพลอยได้จากการเลี้ยงชั้นโรงในสวนผลไม้ คือ ผลิตภัณฑ์จากชั้นโรง ได้แก่ น้ำผึ้งชั้นโรง ที่มีคุณค่าทางยาสูงกว่าน้ำผึ้งจากผึ้งพันธุ์ และชั้นหรือพาราลิซที่เหลือจากการเก็บเกี่ยวน้ำผึ้งชั้นโรง ชั้นโรงเป็นแมลงที่พบและแพร่กระจายอยู่ทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทย คนสมัยก่อนใช้ประโยชน์จากชั้นโรงโดยการนำชั้นโรงไปยารหรืออุดรอยรั่วในเรือ อุดภาชนะอุดฐานพระ การนำไปทำเครื่องดนตรีแคน เป็นต้น (อัญชลี สวาศดีธรรม, 2556)

จากคุณสมบัติของพาราลิซที่ชั้นโรงนำมาใช้สร้างรังเพื่อป้องกันเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ และการที่พาราลิซมีองค์ประกอบหลักเป็นยางไม้ ทำให้งานจะมีสารในกลุ่มของฟลาโวนอยด์ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิกประเภทหนึ่งที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และต้านเชื้อจุลินทรีย์ (อัญชลี สวาศดีธรรม, 2556) จากเหตุผลเหล่านี้ น่าจะทำให้พาราลิซมีคุณสมบัติที่จะเป็นสารป้องกันเชื้อราก่อโรคในผลไม้ได้ แต่เนื่องจากพาราลิซมีลักษณะเป็นสารเหนียวที่ถูกละลายได้ยาก และจากหลายรายงานก่อนหน้านี้ พบว่าสารออกฤทธิ์แต่ละชนิดจะถูกสกัดออกมาด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน โดยสารประกอบในกลุ่มฟีนอลิกมักจะถูกสกัดออกมาได้ด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วสูง (Kubiliene et al., 2015; Mouhoubi-Tafnine et al., 2016) การสกัดสารจากพาราลิซเพื่อให้ได้สารยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์มีหลากหลายวิธี เช่น การสกัดที่อุณหภูมิห้อง ที่อุณหภูมิสูง หรืออุณหภูมิต่ำ เทคนิคในการสกัดแบบกวน เขย่า การใช้ความดัน เป็นต้น หรือการใช้ตัวทำละลายต่าง ๆ เช่น การสกัดด้วยน้ำ เอทานอล อะซิโตน น้ำมัน (Kubiliene et al., 2015) ซึ่งยังไม่มีวิธีที่ใช้ในการสกัดสารออกฤทธิ์จากพาราลิซที่มีประสิทธิภาพมากพอ ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะนำสารเหนียวพาราลิซที่เหลือจากการเก็บเกี่ยวน้ำผึ้งชั้นโรง มาศึกษาขั้นตอนการสกัดอย่างง่ายโดยเปรียบเทียบชนิดของตัวทำละลายและวิธีการที่ใช้สกัดเพื่อให้ได้สารสกัดที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว และชาวสวนผลไม้ได้นำพาราลิซจากชั้นโรงที่เลี้ยงไว้ ไปสกัดและประยุกต์ใช้เป็นสารจุ่มต่อต้านเชื้อราในผลไม้ของตนเองได้ต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

เชื้อราสาเหตุโรคหลังการเก็บเกี่ยวที่ใช้ในการศึกษา

เชื้อราที่ใช้ในการศึกษานี้เป็นเชื้อราสาเหตุโรคหัวเหินและโรคแอนแทรคโนสที่แยกได้จากกล้วยน้ำว้าที่แสดงอาการของโรค โดยตัดชิ้นส่วนเนื้อเยื่อกล้วยที่แสดงอาการของโรคระหว่างบริเวณที่มีเส้นใยและไม่มีเส้นใย มาวางบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง จนกระทั่งเชื้อเจริญเติบโต และแยกเชื้อจนได้เชื้อบริสุทธิ์ ทำการยืนยันการเป็นเชื้อก่อโรคโดยวิธี Koch's postulation ตรวจดูอาการของโรคที่เกิดขึ้น แยกเชื้อซ้ำอีกครั้งโดยนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อยืนยันลักษณะโคโลนีและทำให้บริสุทธิ์เพื่อนำไปทดสอบต่อไป

การสกัดสารสกัดหยาบจากพอลิซิสของชันโรง

นำชันหรือพอลิซิสที่เก็บเกี่ยวได้จากส่วนถ้วยเก็บน้ำหวานของชันโรงชนิดผึ้งจิ๋วเงิน (*Tetragonula pagdeni* Schwarz, 1939) จากจังหวัดจันทบุรี มาล้างทำความสะอาด และผึ่งให้แห้ง หลังจากนั้นนำมาฉีกเป็นชิ้นเล็ก ๆ และนำมาสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ อะซิโตน เอทานอล และเมทานอล ในอัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (w/v) เป็นเวลา 3 วัน ในสภาวะมืด โดยแบ่งออกเป็น 2 วิธีการ คือ (1) สกัดโดยการเขย่าเป็นวงกลมด้วยเครื่องเขย่า (Shaker) (2) สกัดโดยการกวนด้วยเครื่องกวน (magnetic stirrer) หลังจากนั้นนำสารสกัดที่ได้มากรองผ่านกระดาษกรอง และนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั่นสุญญากาศ (rotary evaporator) จะได้สารสกัดหยาบพอลิซิส (propolis crude extracts) แต่ละชนิด นำไปชั่งน้ำหนัก และเก็บไว้สำหรับทดสอบต่อไป

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบพอลิซิสแต่ละชนิดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคหลังการเก็บเกี่ยวในกล้วยแบบ *in vitro*

นำสารสกัดหยาบพอลิซิสแต่ละชนิด มาทำการเจือจางด้วยตัวทำละลายผสมระหว่างเอทานอลและ Tween 80 อัตราส่วน 1 : 4 (w/w) ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายที่ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นร้อยละ 5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคโดยวิธี Poisoned food technique (เทคนิคอาหารเป็นพิษ) โดยผสมสารละลายของสารสกัดหยาบที่เตรียมไว้ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA วางชั้นวุ้นขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตรของเชื้อราสาเหตุโรคที่มีการเจริญเติบโตของเส้นใย 7 วัน ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมกับสารสกัดหยาบพอลิซิสแต่ละชนิด ทำซ้ำทั้งหมด 3 ซ้ำ และบ่มไว้ในที่อุณหภูมิห้องในสภาวะมืด สังเกตผลการทดลองทุกวัน เมื่อเส้นใยเชื้อราในชุดควบคุมเจริญจนเต็มจานเพาะเชื้อ วัดเส้นผ่านศูนย์กลางการเจริญเติบโตของโคโลนีเชื้อราในชุดทดลองและชุดควบคุม นำมาคำนวณร้อยละการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา จากสูตร

$$\% \text{ Inhibition} = ((a-b)/a) \times 100 \quad (1)$$

โดยที่ a = เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของโคโลนีเชื้อราในชุดควบคุม (มิลลิเมตร)

b = เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของโคโลนีเชื้อราในชุดทดลอง (มิลลิเมตร)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยโดยใช้ one-way ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Tukey's multiple comparison test ที่ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P < 0.05$)

ผลและอภิปรายผล

ผลการสกัดสารสกัดหยาบจากพอลิซิส

จากการสกัดสารสกัดหยาบพอลิซิสด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ อะซิโตน เอทานอล และเมทานอล โดยใช้วิธีการสกัด 2 วิธี คือ การสกัดแบบเขย่า (shaking) และการสกัดแบบกวน (stirring) ได้สารสกัดหยาบพอลิซิสทั้งหมด 6 ชนิด โดยสารสกัดหยาบพอลิซิสที่สกัดด้วยเมทานอลโดยวิธีเขย่า (PME-Sh) ให้ค่าร้อยละของผลผลิตมากที่สุดร้อยละ 37.09 (ตารางที่ 1) โดยที่เมทานอลเป็นตัวทำละลายที่ให้ค่าร้อยละของผลผลิตรวมของสารสกัดหยาบพอลิซิสเฉลี่ยสูงสุดที่ร้อยละ 36.49 ซึ่งมากกว่าสารสกัดหยาบพอลิซิสที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลและอะซิโตน ตามลำดับ (ร้อยละ 31.75 และ 30.60 ตามลำดับ) ส่วนค่าเฉลี่ยร้อยละของผลผลิตรวมที่ได้จากวิธีการสกัดทั้ง 2 วิธีไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 ค่าร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบแต่ละชนิดที่สกัดด้วยวิธีการและตัวทำละลายที่แตกต่างกัน

ชนิดของสารสกัดหยาบ	วิธีการสกัด	ตัวทำละลาย	ร้อยละของผลผลิตที่ได้*
1. สารสกัดหยาบ PAE-Sh	แบบเขย่า	อะซิโตน	30.61 ^a
2. สารสกัดหยาบ PEE-Sh	แบบเขย่า	เอทานอล	31.10 ^b
3. สารสกัดหยาบ PME-Sh	แบบเขย่า	เมทานอล	37.09 ^c
4. สารสกัดหยาบ PAE-St	แบบกวน	อะซิโตน	30.59 ^a
5. สารสกัดหยาบ PEE-St	แบบกวน	เอทานอล	32.39 ^c
6. สารสกัดหยาบ PME-St	แบบกวน	เมทานอล	35.88 ^d

*ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรต่างกันในระดับเดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยร้อยละของผลผลิตรวมของสารสกัดหยาบพรอพอลิสแต่ละชนิด

วิธีการสกัด/ตัวทำละลาย	ร้อยละของผลผลิตที่ได้			
	อะซิโตน	เอทานอล	เมทานอล	ค่าเฉลี่ย
แบบเขย่า (shaking)	30.61	31.10	37.09	32.93
แบบกวน (stirring)	30.59	32.39	35.88	32.95
ค่าเฉลี่ย	30.60	31.75	36.49	32.94

ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบพรอพอลิสแต่ละชนิดในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคในผลกล้วย

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบพรอพอลิสทั้ง 6 ชนิดที่สกัดด้วยวิธีและตัวทำละลายที่แตกต่างกันในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum* sp. และ *Fusarium* sp. ที่แยกได้จากกล้วยน้ำว้า พบว่าสารสกัดหยาบพรอพอลิส PME-St ที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลโดยวิธีการกวนให้ค่าร้อยละการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราทั้ง 2 ชนิดได้สูงที่สุดที่ร้อยละ 48.08 และ 19.41 ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ ที่พบว่าตัวทำละลายที่มีขั้วสูงจะสกัดสารประกอบในกลุ่มฟีนอลิกออกมาได้มากกว่า ซึ่งสารประกอบในกลุ่มฟีนอลิกมีรายงานว่ามียฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ (Temiz et al., 2013; Mouhoubi-Tafnine et al., 2016) และเมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยรวมแยกตามชนิดตัวทำละลาย พบว่าสารสกัดพรอพอลิสที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมีแนวโน้มให้ค่าเฉลี่ยรวมการยับยั้งสูงที่สุดที่ร้อยละ 29.58 แต่ไม่แตกต่างจากสารสกัดพรอพอลิสที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลและอะซิโตน หากพิจารณาแยกตามวิธีการสกัด พบว่าสารสกัดหยาบพรอพอลิสที่สกัดโดยวิธีการกวน (stirring) มีแนวโน้มให้ค่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้งสองชนิดได้สูงกว่าการสกัดด้วยวิธีการเขย่า (shaking) (ตารางที่ 4) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากวิธีการกวนโดยใช้แท่งแม่เหล็ก (magnetic bar) ทำให้พรอพอลิสมีความละเอียดมากกว่า ตัวทำละลายจึงสามารถสกัดสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราออกมาได้มากกว่าวิธีการสกัดโดยการเขย่าซึ่งยังเหลือพรอพอลิสที่เป็นก้อนใหญ่อยู่มาก

ตารางที่ 3 ค่าร้อยละการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคข้าวหีเนาและโรคแอนแทรกโนสที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

ชนิดของสารสกัด	ร้อยละการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา*	
	Colletotrichum sp.	Fusarium sp.
1. สารสกัดหยาบ PAE-Sh	33.97 ± 2.00 ^a	5.06 ± 3.80 ^a
2. สารสกัดหยาบ PEE-Sh	40.71 ± 4.74 ^{ab}	14.77 ± 2.64 ^{ab}
3. สารสกัดหยาบ PME-Sh	31.09 ± 7.34 ^a	8.86 ± 6.70 ^{ab}
4. สารสกัดหยาบ PAE-St	45.19 ± 0.96 ^b	18.57 ± 3.87 ^b
5. สารสกัดหยาบ PEE-St	46.79 ± 1.47 ^b	16.03 ± 4.07 ^{ab}
6. สารสกัดหยาบ PME-St	48.08 ± 2.54 ^b	19.41 ± 0.73 ^b

*ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรต่างกันในระดับเดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยร้อยละการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราของสารสกัดหยาบพารามิตแยกตามชนิดตัวทำละลายและวิธีการสกัด

วิธีการสกัด	เชื้อทดสอบ	ตัวทำละลาย			ค่าเฉลี่ย
		อะซิโตน	เอทานอล	เมทานอล	
แบบเขย่า (Shaking)	Colletotrichum sp.	33.97	40.71	31.09	22.41
	Fusarium sp.	5.06	14.77	8.86	
แบบกวน (Stirring)	Colletotrichum sp.	45.19	46.79	48.08	32.35
	Fusarium sp.	18.57	16.03	19.41	
ค่าเฉลี่ย		25.70	29.58	26.86	27.38

สรุปผลการวิจัย

ตัวทำละลายที่ให้ค่าร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบพารามิตสูงที่สุดคือ เมทานอล รองลงมาคือ เอทานอล และอะซิโตน ส่วนวิธีการสกัดทั้งแบบกวนและแบบเขย่าให้ค่าร้อยละของผลผลิตไม่แตกต่างกัน แต่สารสกัดพารามิตที่ได้มาจากวิธีการกวนมีแนวโน้มให้ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยราสูงกว่าวิธีการเขย่า ในขณะที่สารสกัดพารามิตจากเอทานอลให้ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยราทั้ง 2 ชนิดได้ดีที่สุด ดังนั้น หากต้องการสกัดสารจากพารามิตให้มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราก่อโรคหลังการเก็บเกี่ยวในกล้วยสุ่งที่สุด ควรสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล โดยวิธีการกวน จึงจะดีที่สุด ซึ่งเป็นวิธีการอย่างง่ายที่ชาวสวนผลไม้สามารถนำไปทำตามได้ เพื่อใช้ในการควบคุมเชื้อราในผลไม้หลังการเก็บเกี่ยวแทนการใช้สารเคมี

ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับการสกัดสารสกัดหยาบพารามิตโดยวิธีการต่าง ๆ เพื่อให้ได้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีผลยับยั้งเชื้อราก่อโรคหลังการเก็บเกี่ยวในผลไม้ หากต้องการให้สารสกัดหยาบพารามิตมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้นสามารถนำไปใช้ควบคุมเชื้อราในผลไม้ได้ ควรศึกษาเพิ่มเติมถึงความเข้มข้นของสารสกัดและผลของสารสกัดหยาบที่มีต่อเชื้อราสาเหตุโรคหลังการเก็บเกี่ยวในผลไม้ชนิดอื่น ๆ ด้วย

Ethic Committee No.

เลขที่คำขออนุญาตใช้สัตว์ U1-03271-2559 ออกโดยสถาบันพัฒนาการดำเนินการต่อสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ (สพสว.) สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)

กิตติกรรมประกาศ

สนับสนุนงบประมาณโดยทุนอุดหนุนการวิจัยจากกองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร ประจำปี 2560 และขอขอบคุณ สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครที่อำนวยความสะดวกเรื่องอุปกรณ์ เครื่องมือ และ ห้องปฏิบัติการในการวิจัย

บรรณานุกรม

- Bankova, V., Popova, M., & Trusheva, B. (2014). Propolis volatile compounds: chemical diversity and biological activity: A review. *Chemistry Central Journal*, 8, 28.
- Kubiliene, L., Laugaliene, V., Pavilonis, A., Maruska, A., Majiene, D., Barcauskaite, K., Kubilius, R., Kasparaaviciene, G., & Savickas, A. (2015). Alternative preparation of propolis extracts: composition of their composition and biological activities. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15, 156.
- Meneses, E.A., Durango, D.L., & Garcia, C.M. (2009). Antifungal activity against postharvest fungi by extracts from Columbian propolis. *Quimica Nova*, 32(8), 2011-2017.
- Mouhoubi-Tafnine, Z., Ouchemoukh, S., & Tamendjari, A. (2016). Antioxidant activity of some Algerian honey and propolis. *Industrial Crops and Products*, 88, 85-90.
- Özcan, M. (1999). Antifungal properties of propolis. *Grasas & Aceites*, 5(1999), 395-398.
- Ozcan, M., Unver, A., Ceylan, D.A., & Yetisir, R. (2004). Inhibitory effect of pollen and propolis extracts. *Nahrung*, 48(3), 188-194.
- Quiroga, E.N., Sampietro, D.A., Soberón, J.R., Sgariglia, M.A., & Vattuone, M.A. (2006). Propolis from the northwest of Argentina as a source of antifungal principles. *Journal of Applied Microbiology*, 101(2006), 103-110.
- Temiz, A., Mumcu, A.S., Tüylü, A.Ö. Sorkun, K., & Salih, B. (2013). Antifungal activity of propolis samples collected from different geographical regions of Turkey against two food-related molds. *Journal of Food*, 38(3), 135-142.
- กรมวิชาการเกษตร. (2557). โรคผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว. กรุงเทพฯ: บริษัท จามจุรีโปรดักส์ จำกัด.
- ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2558). สถิติการค้าสินค้าเกษตรไทยกับต่างประเทศ ปี 2558. เอกสารสถิติการเกษตร เลขที่ 403.
- อัญชลี สวัสดิ์ธรรม. (2556). มหัศจรรย์ชันโรง. พิมพ์ครั้งที่ 1. ปทุมธานี: บริษัท ทริปเฟลล์ กรุ๊ป จำกัด.