แบบประเมินบทความ/งานวิจัย สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา

ชื่อบทความ (ภาษาไทย) : การใช้สารสกัดสมุนไพรบางชนิดเพื่อการควบคุมโรคเน่าในผักตระกูลกะหล่ำ

(ภาษาอังกฤษ) : The Use of Certain Herb Extracts, for Controlling Soft Rot Disease in Cauliflower

หัวข้อการพิจารณา

หัวข้อ	คะแนนประเมิน					ข้อแก้ไข / ข้อเสนอแนะ
	1	2	3	4	5	
1. บทคัดย่อ				/		- ควรระบุค่าของ total phenolic content ที่ว flavonoid content เป็นตัวเลขและหน่วย ด้วยในบทคัดย่อ - ควรสรุปด้วยว่า ฤทธิ์การต้านเชื้อนี้ดีกว่าหรือด้อยกว่าสารสังเคราะห์
2. Abstract				/		
3. บทนำ				/		- เหตุผลที่ใช้ เช่น Ethanol ในการสกัด ทั้งๆ ที่ไม่ได้กล่าวไว้ใน review. - ...
4. วัตถุประสงค์การวิจัย/การศึกษา				/		- ไม่ได้กล่าวถึงการต้านจุลชีพ
5. วิธีการวิจัย/วิธีการศึกษา				/		- ... เพิ่มเติมการใช้ positive control ที่เป็น disc ยาต้านชนิด cefotaxime (ระบุบริษัทและปริมาณยา)
6. ผลการวิจัย/ผลการศึกษา				/	✱	- ตัวอักษรในตารางที่เป็นตัวยก เช่น $\bar{X} \pm SD^{a}$ $\bar{X} \pm SD^{B}$ .... ทางวารสารฯ ก็ไม่ได้อธิบายความหมายไว้ด้วย
7. สรุปผลการวิจัย/สรุปผลการศึกษา				/		- ควร การเปรียบเทียบว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเด่นกว่า เด่นกว่าเมื่อเทียบกับฤทธิ์การต้านจุลชีพอย่างไร ในการป้องกันโรคเน่าในของกะหล่ำ การที่ฤทธิ์ต้านเชื้อไม่สัมพันธ์กับปริมาณที่จึงควรกล่าว แต่เพียงว่าสารออกฤทธิ์อาจเป็นกลุ่มใดบ้าง เพิ่มเติม ให้ได้ในบางส่วน...
8. อภิปรายผล/ข้อเสนอแนะ				/		
9. เอกสารอ้างอิง				/		
10. ความใหม่และคุณค่าทางวิชาการ				/		→ มีประโยชน์ในแง่การเกษตร

(อาจมีเอกสารแนบหรือข้อเสนอแนะเพิ่มเติม – ถ้ามี)

การใช้สารสกัดสมุนไพรบางชนิดเพื่อการควบคุมโรคเน่าในผักตระกูลกะหล่ำ

ชนากานต์ ลักษณะ และอรสุรางค์ โสภิพันธ์*

สาขานวัตกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตสระแก้ว

email: onsulang@buu.ac.th

บทคัดย่อ

ในปัจจุบันการบริโภคผักอินทรีย์กำลังได้รับความนิยมอย่างสูง โดยปัญหาสำคัญในกระบวนการผลิตผักอินทรีย์คือโรคและแมลงศัตรูพืช งานวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดใบชะมวง ใบฝรั่ง และใบยูคาด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ เอธานอล เอธานอล 40%โดยปริมาตร และเมธานอลต่อการยับยั้งการเจริญของ Erwinia carotovora subsp. Carotovora (ECC) สาเหตุโรคเน่าในผักตระกูลกะหล่ำ ปริมาณฟีนอลิกรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมในสารสกัดสมุนไพรทุกชนิดทำการตรวจวัดด้วยเทคนิคทางยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรสโคปี การสกัดพืชทั้ง 3 ชนิดด้วยทำละลาย 40%เอธานอลโดยปริมาตรพบปริมาณฟีนอลิกรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงสุด โดยปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดสมุนไพรเป็นดังนี้ สารสกัดใบยูคา > สารสกัดใบฝรั่ง > สารสกัดใบชะมวง ในขณะที่ปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัดสมุนไพรเป็นดังนี้ สารสกัดใบฝรั่ง > สารสกัดใบยูคา > สารสกัดใบชะมวง โดยฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดแปรผันตรงกับปริมาณฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวม จากนั้นทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรทุกชนิดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ ECC โดยวิธี Agar disc diffusion ที่ระดับความเข้มข้น 2 4 6 8 และ 10 มิลลิกรัม/ดิสก์ ผลการทดลองพบว่า สารสกัดใบชะมวงด้วยตัวทำละลายทุกชนิดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ ECC และสารสกัดใบฝรั่งและใบยูคาไม่สามารถยับยั้งเชื้อ ECC ได้

คำสำคัญ: สารสกัดพืช, โรคเน่าในพืชตระกูลกะหล่ำ, เชื้อ Erwinia carotovora subsp. Carotovora

The Use of Certain Herb Extracts, for Controlling Soft Rot Disease in Cauliflower

Chanakan Laksana and Onsulang Sophiphun*

Department of Agricultural Innovation, Faculty of Agricultural Technology, Burapha University Sakaeo Campus
email: onsulang@buu.ac.th

Abstract

Recently the consumption of organic vegetables is highly favorable. However, the most important problems in the organic vegetable production are disease and pests. This research studied the efficacy of plant extracts from chamuang leaf, guava leaf and eucalyptus leaf with 3 types of solvent following as ethanol, 40%v/v of ethanol and methanol on the growth inhibition of Erwinia carotovora subsp. Carotovora (ECC), the causal agent of soft rot disease in cauliflower. Total phenolic and flavonoid contents of all plant extracts were measured by UV-Visible spectroscopy. The 3 types of plant extracts by 40%v/v ethanol provided the highest total phenolic and total flavonoid contents. The total phenolic content of the plant extracts was following of eucalyptus leaf extract > guava leaf extract > chamuang leaf extract. Meanwhile, the total flavonoid content of the plant extracts was following of leaf guava extract > eucalyptus leaf extract > chamuang leaf extract. The antioxidant activity of the plant extracts was proportional to the total phenolic and total flavonoid contents. Then the efficacy of the plant extracts were tested on the growth inhibition of ECC by Agar disc diffusion method with the plant extract concentrations of 2 4 6 8 and 10 mg/disc. From the result, chamuang leaf extracts by all solvents could inhibit the growth of ECC while the guava leaf and eucalyptus leaf extracts could not inhibit the growth of ECC.

Keywords: Plant extracts, soft rot disease in cauliflower, Erwinia carotovora subsp. Carotovora

บทนำ

ในปัจจุบันผู้บริโภคได้ตระหนักถึงความสำคัญของสุขภาพเป็นอย่างมาก ดังนั้นผักผลไม้ที่มีสัญลักษณ์บ่งชี้ว่าปลอดภัยหรืออินทรีย์จึงเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคเพิ่มขึ้น เกษตรกรจึงจำเป็นต้องปรับเปลี่ยนวิถีการทำเกษตรโดยไม่พึ่งพาสารเคมี เน้นการใช้สารชีวภัณฑ์ซึ่งผลิตได้จากสิ่งมีชีวิตทั้ง พืช สัตว์ และจุลินทรีย์เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมศัตรูพืชแทน เนื่องจากสารชีวภัณฑ์ไม่เป็นพิษต่อคน สัตว์ และสิ่งแวดล้อม มีความจำเพาะเจาะจงกับศัตรูพืช และคงทนอยู่ได้ในสิ่งแวดล้อมช่วงระยะเวลาหนึ่ง ไม่ตกค้างในผักและไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค งานนี้สนใจศึกษาโรคเน่าในพืชตระกูลกะหล่ำ ซึ่งเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia carotovora subsp. carotovora* (ECC) พบมากในผักคะน้า กะหล่ำ ผักกวางตุ้ง ผักกาด เป็นต้น เมื่อพืชเป็นโรคนี้สังเกตอาการได้จากรอยฉ่ำน้ำและจะกลายเป็นแผลสีน้ำตาล เน่าเละมีเมือก และส่งกลิ่นเหม็น โดยอาการของโรคจะแพร่กระจายได้รวดเร็วเมื่อสภาพอากาศร้อนจัด สามารถเกิดโรคได้ทุกระยะการเพาะปลูก เก็บเกี่ยว และจำหน่าย ซึ่งส่งผลให้ผลผลิตเสียหายอย่างมากตลอดจนยังไม่พบวิธีในการรักษาทำได้เพียงป้องกันเท่านั้น โดยที่ผ่านมามีงานวิจัยมากมายที่ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชชนิดต่างๆ เพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อ EEC ดังเช่นงานวิจัยของศศิธร (2547) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบใบฝรั่งด้วยตัวทำละลายเอธานอล 95%โดยปริมาตร ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ ECC ผลการทดลองพบว่าสามารถยับยั้งเชื้อ EEC ได้ที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายใบฝรั่ง 50,000 ppm ขึ้นไป และที่ระดับความเข้มข้น 100,000 ppm จะก่อให้เกิดบริเวณยับยั้งเฉลี่ยอย่างเห็นได้ชัด 13.2 มิลลิเมตร ต่อมาประทุมพร และคณะ (2558) ได้ศึกษาผลของสารสกัดจากใบชะมวง กาฝาก สาบเสือ พิลังกาสา มังคุด และใบย่านางต่อการยับยั้งเชื้อ ECC ด้วยวิธี paper disc diffusion บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA พบว่าสารสกัดจากใบชะมวงที่ระดับความเข้มข้น 500,000 ppm มีประสิทธิภาพดีที่สุด โดยปรากฏเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งกว้างที่สุดเท่ากับ 7 มิลลิเมตร จากงานวิจัยของ Bhat และคณะ (2017) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดเอธานอลของพืช 26 ชนิด ต่อการยับยั้งเชื้อ Pectobacterium carotovorum subsp. carotovorum (Pcc) ที่ก่อโรครากเน่าในมันฝรั่ง ด้วยวิธี paper disc diffusion และ agar well diffusion จากการทดลองพบว่าสารสกัดใบยูคาลิปตัส (25%โดยน้ำหนัก/ปริมาตร) ปรากฏบริเวณยับยั้งขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 14.33 มิลลิเมตร และ 20.66 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในงานวิจัยนี้สนใจศึกษาผลของสารสกัดใบชะมวง ใบฝรั่ง และใบยูคาลิปตัสซึ่งเป็นพืชที่หาได้ง่ายทั่วไป โดยทำการสกัดด้วยวิธีการหมัก (Maceration) ในตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ เอธานอล สารละลายเอธานอล 40%โดยปริมาตร และเมธานอล สารสกัดพืชที่ได้จะนำไปทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ ECC ที่ก่อโรคเน่าในกระบวนการผลิตผักอินทรีย์ต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดพืชจากใบชะมวง ใบฝรั่ง และใบยูคาลิปตัสที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ได้แก่ เอธานอล เอธานอล 40%โดยปริมาตร และเมธานอล
2. เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดพืชชนิดต่างๆต่อการยับยั้งเชื้อ *Erwinia carotovora subsp. carotovora* (ECC) ซึ่งก่อโรคเน่าในผักตระกูลกะหล่ำในระดับห้องปฏิบัติการ

ระเบียบวิธีวิจัย

1. การสกัดตัวอย่างพืชด้วยตัวทำละลาย

นำใบของต้นชะมวง (*Garcinia cowa Roxb.*) ต้นฝรั่งพันธุ์กิมจู (*Psidium guajava* L.) และต้นยูคาลิปตัส (*Eucalyptus camaldulensis Dehnh.*) มาล้างทำความสะอาดและผึ่งให้แห้ง จากนั้นอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 วันด้วยตู้อบลมร้อน แล้วบดตัวอย่างพืชให้ละเอียดด้วยเครื่องบดไฟฟ้า ผงตัวอย่างพืชที่ได้บรรจุในซองพลาสติกและจัดเก็บในโถดูดความชื้น สำหรับขั้นตอนการสกัดสารให้นำตัวอย่างพืชที่ผ่านการอบและบดแล้วมาหมักในตัวทำละลาย 3 ชนิด ดังนี้ 1) เอธานอล 2) เอธานอล 40%โดยปริมาตร และ 3) เมธานอล โดยชั่งตัวอย่างพืช 20 g ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250

มิลลิลิตร จากนั้นเติมตัวทำละลายปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปิดปากขวดรูปชมพูให้สนิท นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าอัตราเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้องนาน 3 วัน จากนั้นนำมากรองด้วยสำลีเพื่อแยกกากสมุนไพรออก และนำสารละลายที่ได้กรองอีกครั้งผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 45 °C ได้สารสกัดหยาบของใบฝรั่ง ใบยูคาลิปตัส และใบชะมวงจัดเก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิ -20 °C

2. การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัดพืชด้วยวิธี Folin-Ciocalteu

นำสารสกัดหยาบของพืชตัวอย่าง 2 มิลลิกรัมมาละลายด้วยเมธานอล 2 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายตัวอย่างที่เตรียมได้ 100 ไมโครลิตรลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย Folin-Ciocalteu 500 ไมโครลิตร ทิ้งให้ทำปฏิกิริยาในที่มืด 2 นาที เมื่อครบกำหนดเติมน้ำ DI ปริมาตร 6 มิลลิลิตร และสารละลาย Na_2CO_3 15% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) 2 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI ให้ครบ 10 มิลลิลิตร จากนั้นทำการเขย่าสารละลายและตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 15 นาที จะสังเกตเห็นว่าสารละลายจะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีน้ำเงินและนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรมิเตอร์ (METASPEC PRO รุ่น AE-S60-Series) ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัดพืชสามารถคำนวณเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน Gallic acid (GEA) ที่ช่วงความเข้มข้น 0.0005-0.01 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และแสดงผลเป็นมิลลิกรัมสมมูลของ GEA ต่อกรัมของสารสกัดหยาบ (mg GEA /g crude extract) โดยการวิเคราะห์ตัวอย่างซ้ำ 3 รอบ

3. การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมในตัวอย่างสารสกัดพืชด้วยวิธี Aluminium chloride colorimetry

ชั่งสารสกัดพืช 2 มิลลิกรัมจากนั้นละลายด้วยเมธานอล 2 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายตัวอย่างที่เตรียมได้ 500 ไมโครลิตรลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 5 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำ DI 2 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย $NaNO_2$ 5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร 0.15 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย $AlCl_3$ 10%โดยน้ำหนักต่อปริมาตร 0.15 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้นาน 5 นาที แล้วเติมสารละลาย NaOH เข้มข้น 1M ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นทำการปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI จนมีปริมาตรครบ 5 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรมิเตอร์ (METASPEC PRO รุ่น AE-S60-Series) ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมในสารสกัดพืชสามารถคำนวณเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลาย rutin ที่ช่วงความเข้มข้น 0.002-0.05 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และแสดงผลเป็นมิลลิกรัมสมมูลของ rutin ต่อกรัมของสารสกัดหยาบ (mg rutin/g crude extract) โดยการวิเคราะห์ตัวอย่างซ้ำ 3 รอบ

4. การวิเคราะห์ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพืชด้วยวิธี DPPH

วิธีการดัดแปลงจากงานของ บัณฑรวรรณ และคณะ (2559) ปิเปตเมธานอลปริมาตร 3 มิลลิลิตรลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 5 มิลลิลิตร จำนวน 6 ขวดๆ จากนั้นเติมสารละลาย 0.2mM DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) ปริมาตร 200 ไมโครลิตรลงในทุกขวด ทำการเตรียมสารละลายเมธานอลของสารสกัดพืชตัวอย่างเข้มข้น 50 150 250 500 750 และ 1000 ppm แล้วทำการปิเปตลงในขวดปรับปริมาตรทั้ง 6 ขวดๆละ 100 ไมโครลิตรตามลำดับ พักทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 5 มิลลิลิตรด้วยเมธานอล นำสารละลายที่ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้กรดแอสคอบิกเป็นสารมาตรฐาน จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง จากสมการที่ 1

$$\% \text{ Inhibition} = [(A_{DPPH} - A_{\text{สารตัวอย่าง}}) / A_{DPPH}] \times 100 \quad \text{.....(สมการที่ 1)}$$

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจะแสดงเป็นค่า IC_{50} คือความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50 %

5. ศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดใบชะมวง ใบฝรั่ง และใบยูคาลิปตัส ด้วยวิธี agar disc diffusion

นำเชื้อแบคทรีเรีย ECC เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว Nutrient broth บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวัดความขุ่นด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ 600 นาโนเมตร ให้มีค่า absorbance อยู่ระหว่าง 0.03-0.3 (จำนวนเซลล์ 106 CFU/ml) แล้วนำไปทดสอบทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัด ด้วยวิธี Agar disc diffusion ทำการเตรียมอาหารแข็ง Nutrient agar (NA) ในจานเพาะเลี้ยง ใช้ไม้พันสำลีที่นึ่งฆ่าเชื้อและปราศจากเชื้อแล้วนำไปจุ่มแบคทีเรียที่ปรับความขุ่นไว้ ทำการ swab ให้ทั่วบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar จากนั้นวางแผ่น paper disc (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิลิตร) ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ NA หยดสารสกัดที่จะทดสอบลงบนแผ่น paper disc โดยหยดสารสกัดที่ความเข้มข้น ตำแหน่งละ 2 4 6 8 และ10 mg/disc รวมทั้งหยดตัวทำละลาย DMSO เป็น control แล้ววางให้แห้งแล้วจึงย้ายไปวางบนอาหารที่มีเชื้อ จากนั้นนำจานเพาะเชื้อนี้ไปบ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 – 18 ชั่วโมง แล้วนำมาวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) โดยวัดหน่วยเป็นมิลลิเมตร

ผลการวิจัย

จากการทดลองนำใบพืช 3 ชนิด ได้แก่ ใบชะมวง ใบฝรั่ง และใบยูคาลิปตัส มาหมักกับตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิด ได้แก่ เอธานอล เอธานอล 40%โดยปริมาตร และเมธานอล ด้วยอัตราส่วนระหว่างพืช:ตัวทำละลายเท่ากับ 20 กรัม:100 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลานาน 3 วัน จากนั้นทำการแยกเอาสารละลายที่ได้จากการหมักแล้วทำให้แห้งด้วยวิธีการระเหยแบบสุญญากาศได้เป็นสารสกัดหยาบพืช โดยร้อยละของผลผลิตจากกระบวนการหมักกับตัวทำละลายอินทรีย์แสดงดังตารางที่ 1 ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 5.32-22.10 โดยจะเห็นได้ว่าแนวโน้มร้อยละผลผลิตของสารสกัดพืชทั้ง 3 ชนิดด้วยตัวทำละลายเป็นดังนี้ เมธานอล > เอธานอล 40%โดยปริมาตร > เอธานอล

ตารางที่ 1 ร้อยละผลผลิตของสารสกัดพืชด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

ชนิดพืช	ร้อยละผลผลิต (%)		
	ตัวทำละลาย		
	เอธานอล	เอธานอล 40%โดยปริมาตร	เมธานอล
ใบชะมวง	14.52 ± 0.14^{D}	15.49 ± 0.01^{C}	16.07 ± 0.02^{B}
ใบฝรั่ง	5.32 ± 0.02^{I}	6.89 ± 0.05^{H}	11.28 ± 0.06^{F}
ใบยูคาลิปตัส	9.20 ± 0.09^{D}	11.43 ± 0.06^{E}	22.10 ± 0.05^{A}

ค่าเฉลี่ยในแถวเดียวกันที่กำกับด้วยอักษรต่างชนิดกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $p<0.05$ โดยวิธี DMRT

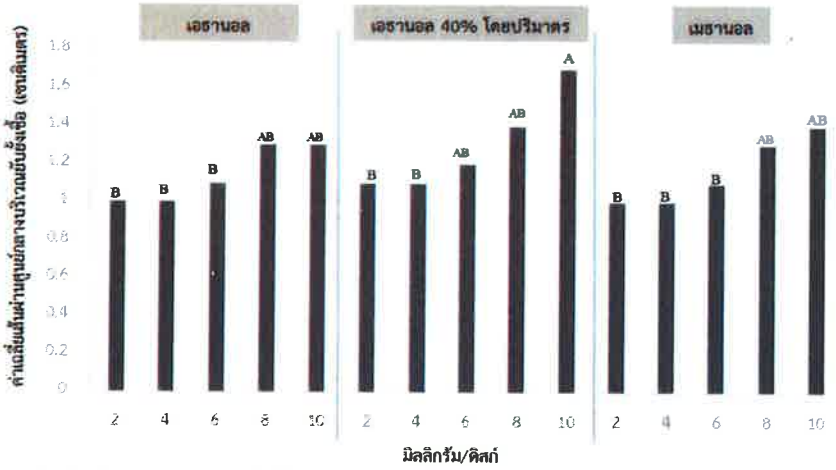
เมื่อนำสารสกัดหยาบของพืชทั้ง 3 ชนิดมาวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบแสดงผลดังตารางที่ 2 โดยปริมาณฟีนอลิกรวมสามารถคำนวณได้จากกราฟมาตรฐานของ Gallic acid (GEA) ($y=104.64x-0.0049$, $R^2=0.9994$) และปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสามารถคำนวณได้จากกราฟมาตรฐานของ rutin ($y=16.495x+0.0382$, $R^2=0.9830$) จะเห็นได้ว่าการสกัดพืชทั้ง 3 ชนิดด้วยตัวทำละลายเอธานอล 40%โดยปริมาตรให้ปริมาณฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวมมากที่สุด รองลงมาคือการสกัดด้วยตัวทำละลายเมธานอล และเอธานอลตามลำดับ โดยปริมาณฟีนอลิกรวมในสารสกัดหยาบพืชเรียงลำดับจากมากไปหาน้อย ดังนี้ สารสกัดใบยูคาลิปตัส > สารสกัดใบฝรั่ง > สารสกัดใบชะมวง ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณอยู่ในช่วงระหว่าง 68.07 - 916.70 มิลลิกรัม GEA/กรัมสารสกัดหยาบ และปริมาณฟลาโวนอยด์รวมในสารสกัดหยาบพืชเรียงลำดับจากมากไปหาน้อย ดังนี้ สารสกัดใบฝรั่ง > สารสกัดใบยูคาลิปตัส > สารสกัดใบชะมวง ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณอยู่ในช่วงระหว่าง 7.76 - 464.57 มิลลิกรัม rutin/กรัมสารสกัดหยาบ นอกจากนี้ผู้วิจัยได้ศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพืชทั้ง 3 ชนิดด้วยวิธี DPPH และรายงานผลเป็นความเข้มข้น

ของสารสกัดหยาบพืชที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ ได้ 50% (IC_{50}) ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 32.24 ถึงมากกว่า 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยภาพรวมปริมาณค่า IC_{50} ของสารสกัดพืชแต่ละชนิดเรียงลำดับจากน้อยไปหามากได้ดังนี้ สารสกัดใบฝรั่ง < สารสกัดใบยูคาลิปตัส < สารสกัดใบชะมวง เมื่อพิจารณาผลของชนิดตัวทำละลายพบว่าการสกัดพืชทั้ง 3 ชนิดด้วยตัวทำละลายเอธานอล 40%โดยปริมาตรจะให้ค่า IC_{50} น้อยกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายเมธานอล และเอธานอลตามลำดับ

ตารางที่ 2 ปริมาณฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดพืชด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

ปริมาณสาร	ชนิดพืช	ตัวทำละลาย		
		เอธานอล	เอธานอล 40%โดยปริมาตร	เมธานอล
ฟีนอลิกรวม (มิลลิกรัม GEA /กรัมสารสกัดหยาบ)	ใบชะมวง	67.80 ± 0.05^{I}	87.51 ± 0.04^{H}	68.07 ± 0.07^{G}
	ใบฝรั่ง	124.14 ± 0.04^{F}	687.34 ± 0.02^{B}	284.37 ± 0.44^{C}
	ใบยูคาลิปตัส	162.37 ± 0.20^{D}	916.70 ± 0.01^{A}	139.43 ± 0.58^{E}
ฟลาโวนอยด์รวม (มิลลิกรัม rutin/กรัมสารสกัดหยาบ)	ใบชะมวง	7.76 ± 0.06^{I}	100.82 ± 0.09^{D}	40.80 ± 1.49^{H}
	ใบฝรั่ง	71.11 ± 1.18^{F}	464.57 ± 0.51^{A}	140.53 ± 0.90^{C}
	ใบยูคาลิปตัส	56.87 ± 0.89^{G}	344.83 ± 0.36^{B}	92.63 ± 0.21^{E}
IC_{50} (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ใบชะมวง	$>1000^{A}$	435.12 ± 0.699^{C}	730.12 ± 0.15^{B}
	ใบฝรั่ง	50.12 ± 0.02^{F}	32.24 ± 0.03^{I}	35.45 ± 0.07^{G}
	ใบยูคาลิปตัส	60.00 ± 0.11^{D}	35.16 ± 0.24^{H}	50.14 ± 0.05^{E}

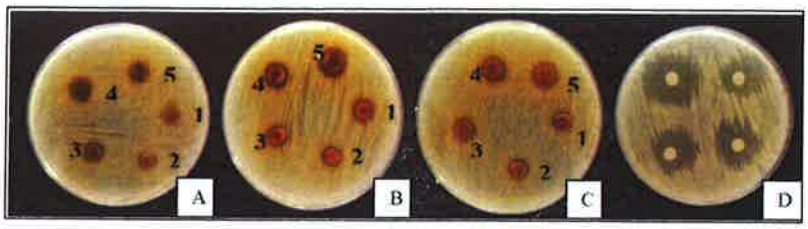
ค่าเฉลี่ยในแถวเดียวกันที่กำกับด้วยอักษรต่างชนิดกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $p<0.05$ โดยวิธี DMRT



กราฟที่ 1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดใบชะมวงด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด (เอธานอล เอธานอล 40% โดยปริมาตร และเมธานอล) และค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *Erwinia carotovora subsp. carotovora* (ECC)

จากการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *E. carotovora* subsp. carotovora (ECC) ของสารสกัดใบฝรั่ง ใบยูคาลิปตัส และใบชะมวงที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอธานอล เอธานอล 40%โดยปริมาตร และเมธานอลโดยใช้วิธี disc diffusion techniques ที่ความเข้มข้นของสารสกัดที่ความเข้มข้น 2 4 6 8 และ 10 มิลลิกรัม/ดิสก์ ผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากใบชะมวงด้วยตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิดสามารถยับยั้งเชื้อได้ (กราฟที่ 1 และภาพที่ 1) ทั้งนี้เมื่อความเข้มข้นของตัวทำละลายทุกชนิดยิ่งสูงประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อก็มากขึ้น โดยสารสกัดใบชะมวงด้วยตัวทำละลายเอธานอล 40%โดยปริมาตรที่

ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/ดิสก์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ ECC ได้ดีที่สุด พบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งมีค่าเท่ากับ 17.3±0.25 เซนติเมตร ส่วนสารสกัดจากใบฝรั่งและใบยูคาลิปตัสด้วยตัวทำละลายทุกชนิดพบว่าไม่สามารถยับยั้งเชื้อ ECC ได้



ภาพที่ 1 แสดงการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. carotovora* subsp. carotovora ของสารสกัดใบชะมวงที่สกัดด้วยเอทานอล (A) 40%เอทานอล (B) เมทานอล (C) และ (D) cefotaxime ที่ความเข้มข้น 250 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร หมายเลขแทนความเข้มข้นของสารสกัด 1= 2 มิลลิกรัม/ดิสก์ 2=4 มิลลิกรัม/ดิสก์ 3=6 มิลลิกรัม/ดิสก์ 4=8 มิลลิกรัม/ดิสก์ 5=10 มิลลิกรัม/ดิสก์

สรุปและอภิปรายผล

การเตรียมสารสกัดหยาบจากพืชทั้ง 3 ชนิดด้วยวิธีการหมัก (Maceration) ในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีสภาพขั้วที่แตกต่างกัน ได้แก่ เอธานอล สารละลายเอธานอล 40% โดยปริมาตร และเมธานอล จะเห็นได้ว่าชนิดของพืชและตัวทำละลายอินทรีย์มีผลต่อร้อยละผลผลิตที่ได้ โดยตัวทำละลายที่ใช้ในการทดลองนี้มีสภาพขั้วค่อนข้างสูง จึงอาจกล่าวได้ว่าสารสกัดหยาบที่ได้จากพืชทั้ง 3 ชนิดจัดอยู่ในกลุ่มสารที่มีขั้ว การเติมน้ำผสมกับเอธานอลเพื่อเตรียมสารละลายเอธานอล 40%โดยปริมาตรทำให้ได้สารละลายเอธานอลที่มีสภาพขั้วสูงขึ้น เมื่อใช้เป็นตัวทำละลายส่งผลให้มีประสิทธิภาพในการสกัดสารได้ในปริมาณที่สูงขึ้น สอดคล้องกับงานวิจัยของธนัชสัณห์ (2562) ที่ศึกษาผลของความเข้มข้นที่แตกต่างกันของเอธานอลต่อการสกัดสารสกัดหยาบของใบแก้ว โดยนำผงแห้งของใบแก้วมาหมักกับสารละลายเอธานอลที่ผสมกับน้ำด้วยอัตราส่วน 10 กรัม:100 มิลลิลิตร ที่ระดับความเข้มข้นของเอธานอล 0, 25, 50, 75, 100%โดยปริมาตร ตามลำดับ พบว่าการผสมเอธานอลกับน้ำในอัตรา 50:50 มีร้อยละของผลผลิตสารสกัดหยาบสูงที่สุด และมีค่ามากกว่าการใช้เอธานอลบริสุทธิ์และน้ำเป็นตัวทำละลาย สำหรับการวิจัยครั้งนี้ได้มีการนำสารสกัดพืชทุกชนิดมาวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน พบว่าชนิดของพืชและตัวทำละลายอินทรีย์มีผลต่อปริมาณองค์ประกอบทางเคมีที่กล่าวข้างต้นและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยปริมาณฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวมในสารสกัดหยาบจากพืชทั้ง 3 ชนิดจะแปรผันตรงกับสภาพขั้วของตัวทำละลายที่เพิ่มขึ้น ซึ่งสภาพขั้วของตัวทำละลายสามารถเรียงลำดับจากมากไปหาน้อยได้ดังนี้ เอธานอล 40%โดยปริมาตร > เมธานอล > เอธานอล สอดคล้องกับงานวิจัยของอรชรและกาญจนา (2558) ที่ศึกษาระบบตัวทำละลายในการสกัดดอกดาวเรืองสดโดยให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด พบว่าการสกัดดอกดาวเรืองด้วยตัวทำละลายเอธานอล 40%โดยปริมาตร จะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเป็น 2 เท่า และมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์เป็น 3 เท่าของการสกัดดอกดาวเรืองด้วยเอธานอลบริสุทธิ์ อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่มขั้วของตัวทำละลาย (เพิ่มปริมาตรของน้ำ) โดยใช้สารละลายเอธานอล 10%โดยปริมาตร พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดมีปริมาณต่ำกว่าการใช้สารละลายเอธานอล 40%โดยปริมาตรเป็นตัวทำละลาย ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงสรุปได้ว่าสารละลายเอธานอล 40%โดยปริมาตรเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดพืชทั้ง 3 ชนิดเนื่องจากมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงที่สุด โดยสารสกัดใบชะมวงมีปริมาณฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวมที่มีค่าน้อยสุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดใบฝรั่งและใบยูคาลิปตัสด้วยตัวทำละลายทุกชนิด สารประกอบฟีนอลิกจัดเป็นสารสำคัญที่พบในพืชมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและใช้ประโยชน์ในเชิงสุขภาพ สารประกอบฟีนอลิกที่พบทั่วไปในพืชสามารถจำแนกได้ดังนี้ 1) กลุ่มสารประกอบกรดฟีนอลิก 2) กลุ่มสารประกอบฟลาโวนอยด์ 3) กลุ่มสารประกอบแทนนิน และ 4) กลุ่มสารประกอบลิกแนน (Vermerris and Nicholson, 2006) ซึ่งสารฟลาโวนอยด์เป็นส่วนหนึ่งของสารฟีนอลิกรวมนั่นเอง เมื่อ

ทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดด้วยตัวทำละลายต่างๆ จะเห็นได้ว่าประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพืชสอดคล้องกับปริมาณสารฟีนอลิกรวมและสารฟลาโวนอยด์รวม เนื่องจากสารสกัดที่มีปริมาณสารสำคัญทั้ง 2 กลุ่มที่กล่าวมาสูงจะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงนั่นเอง โดยสารสกัดใบชะมวงมีประสิทธิภาพในการการต้านอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ ได้น้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดใบฝรั่งและใบยูคาลิปตัส แต่อย่างไรก็ตามเมื่อนำสารสกัดหยาบของพืชทุกชนิดไปศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ECC ที่ก่อโรคเน่าในพืชตระกูลกะหล่ำ พบว่าเฉพาะสารสกัดใบชะมวงด้วยตัวทำละลายทุกชนิดเท่านั้นที่สามารถยับยั้งเชื้อ ECC โดยสารสกัดใบชะมวงด้วยตัวทำละลายเอธานอล 40%โดยปริมาตรที่ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/ดิสก์มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ ECC ได้ดีที่สุด จะเห็นได้ว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ ECC ของสารสกัดใบชะมวงมีได้ขึ้นกับปริมาณสารฟีนอลิกรวมและสารฟลาโวนอยด์รวมเป็นหลัก จากงานวิจัยของประทุมพรและคณะ (2558) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดพืช 6 ชนิด ได้แก่ คะน้า ย่านาง สาบเสือ พิลังกาสา มังคุด ชะมวง และกาฝากด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทและเอทานอล 95% โดยปริมาตร ในการยับยั้งเชื้อ ECC พบว่าสารสกัดจากชะมวงด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทที่ระดับความเข้มข้น 1,000,000 และ 500,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้สูงสุด เช่นเดียวกับงานวิจัยของกานต์ชนา และมนัสวี (2560) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดใบชะมวง ใบหว้า และใบฝรั่งโดยใช้ตัวทำละลายเป็นน้ำ เพื่อยับยั้งเชื้อแบคทรีเรียก่อโรคท้องเสีย *Escerichia coli* *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella Typhimurium* ผลการทดลองพบว่าสารสกัดใบชะมวงสามารถยับยั้งเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์ได้ดีที่สุด โดยกรดอินทรีย์หลักที่พบในสารสกัดใบชะมวงด้วยน้ำคือ (-)-Hydroxycitric acid รวมทั้งกรดอินทรีย์ชนิดอื่นๆส่งผลให้สารสกัดมีสภาพ pH เป็นกรดไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทรีเรียทั้ง 3 นั่นเอง (Jena et al., 2002) นอกจากนี้ยังมีการรายงานประสิทธิภาพของสารสกัดใบชะมวงในการยับยั้งเชื้อ Salmonella enterica Typhimurium ATCC 13311 โดยมีการจำลองการปนเปื้อนเชื้อบนใบผักกาดหอมอินทรีย์จากนั้นทำการแช่ในสารสกัดใบชะมวงเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรที่ระยะเวลาต่างๆ พบว่า การแช่ผักในสารสกัดใบชะมวง 15 นาทีไม่สามารถตรวจพบการปนเปื้อนของเชื้อได้ โดยสารสกัดใบชะมวงมีค่าความเป็นกรด-เบส เท่ากับ 1 เนื่องจากองค์ประกอบหลักเป็นกรดอินทรีย์ เมื่อปรับให้สารสกัดใบชะมวงเป็นกลางพบว่าไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อได้ (พรรนิภา และทิพวรรณ, 2560)

ข้อเสนอแนะ

ประสิทธิภาพของสารสกัดใบชะมวงต่อการยับยั้งเชื้อ *E. carotovora* subsp. carotovora (ECC) สามารถทำการศึกษาเพิ่มเติมให้ทราบถึงชนิดสารออกฤทธิ์ซึ่งจำเพาะต่อเชื้อ โดยองค์ความรู้ที่ได้สามารถนำไปต่อยอดผลิตเป็นสารชีวภัณฑ์ทางการค้าเพื่อใช้ในกระบวนการผลิตผักอินทรีย์ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ประทุมพร ปลอดภัย จิตติมา โสตถิวิไลพงศ์ วิลาวรรณ์ เชื้อบุญ และดุสิต อธินุวัฒน์. (2558). **การควบคุมแบคทรีเรีย Erwinia carotovora subp. carotivorum สาเหตุโรคเน่าเละของผักคะน้าด้วยสารสกัดจากพืช**. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 53 (น. 210-217). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ไทย. สืบค้นจาก https://kukr2.lib.ku.ac.th/kukr_es/index.php?/BKN/search_detail/result/315117.

กานต์ชนา สิทธิ์เหล่าถาวร และมนัสวี เดชกล้า. (2560). **การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากสมุนไพรในการยับยั้งแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคท้องเสียและการประยุกต์ใช้แก่นตะวันเป็นพรีไบโอติกในการผลิตโยเกิร์ต**. SDU Research Journal, 10(3), 69-86.

ธนัชสัณห์ พูนไพบูลย์พิพัฒน์. (2562). **ผลของความเข้มข้นที่แตกต่างกันของเอทานอลต่อการสกัดสารสกัดหยาบและฤทธิ์ทางอัลลีโลพาธีของใบแก้ว**. วารสารเกษตรนเรศวร, 16 (1), 1-8.

บัณฑรวรรณ ธุระพระ จันทนา บุญยะรัตน์ เยาวเรศ ชูลิขิต และสุภาวดี ดาวดี. (2559). **การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในส้มโอ.** วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน, 1(พิเศษ), 80-91.

พรรนิภา ศิริเพิ่มพูน และทิพวรรณ คำสม. (2560). **ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดจากใบชะมวงต่อเชื้อ Salmonella enterica Typhimurium ATCC 13311 บนใบผักกาดหอมอินทรีย์.** วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด , 29(3), 281-288.

ศศิธร วุฒิวณิชย์. (2547). **ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญของ Erwinia carotovora subsp. carotovora เชื้อสาเหตุโรคเน่าเละของผัก.** วิทยาสารกำแพงแสน, 2(2), 72-81.

อรชร ไอสันเทียะ และ กาญจนา วงศ์กระจ่าง. (2558). **การศึกษาระบบตัวทำละลายของการสกัดสารประกอบฟี นอลิกสารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดจากดอกดาวเรืองสด.** วารสารวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์, 7(7), 29-40.

Bhat, K.A., H.S. Viswanath, N.A. Bhat and T.A. Wani. (2017). **Bioactivity of Various Ethanolic Plant Extracts against Pectobacterium carotovorum subsp.** carotovorum **Causing Soft Rot of Potato Tubers.** Indian Phytopathology, 4(70), 463-470.

Jena, B. S., G. K. Jayaprakasha, and K.K. Sakariah. (2002). **Organic Acids from Leaves, Fruits, and Rinds of Garcinia cowa.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, 12(50), 3431–3434.

Vermerris, W., and R. Nicholson. (2006). **Phenolic compound biochemistry.** Netherlands: Springer.