# ฤทธิ์การต้านเชื้อราที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของขนมปังของสารสกัดจากเปลือกสับปะรด
# Antimicrobial Activity of Pineapple Peel Extract Against Bread Spoilage Fungi

**นิรมล ปัญญ์บุศยกุล[1] เพ็ญทิชา สุขทรัพย์[1]และ อิษยา ยอดยิ่ง[1]**
**Punbusayakul, N.[1], Suksab, P.[1] and Yodying, I.[1]**

## Abstract

This work investigated antimicrobial activity of pineapple peel extract against bread spoilage fungi. Pineapple-peel was dried (70 °C), ground (100 mesh) and macerated in distilled water at the pineapple-peel-to-water ratio of 1:10 and shaken at 120 rpm for 4 hrs. The mixture was filtered and the filtrate was subjected for rotary evaporator under reduced pressure to get a pineapple-peel crude extract (PPE). The PP was diluted to the concentration of 0.0039–1.0000 g/mL with distilled water. The *in vitro* antifungal activity of the PPE against *Aspergillus* sp. mycelium growth and spore germination was evaluated by poisoned food bioassay and spore germination test methods, respectively. The mycelium growth and spore germination inhibition increased with the increasing pineapple-peel-crude-extract concentration (9.71 – 33.46 % and 1.93 – 68.91 %, respectively). These results indicate that the PPE is a potential natural antimicrobial agent that could be applied for bread spoilage fungi inhibition.

**Keywords:** *Aspergillus* sp., Spore germination, Mycelium growth, poisoned food bioassay

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารสกัดจากเปลือกสับปะรด โดยอบเปลือกสับปะรด (70 องศาเซลเซียส) บด (100 เมซ) และผสมผงเปลือกสับปะรดกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:10 และเขย่าที่ 120 rpm 4 ชั่วโมง จึงกรอง และระเหยด้วยเครื่องระเหยแบบแบบลดความดันได้สารสกัดหยาบ (PPE) จึงเจือจางให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน (0.0039 – 1.0000 g/mL) และศึกษาฤทธิ์ต้านการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Aspergillus* sp. ด้วยวิธี poisoned food bioassay และฤทธิ์ต้านการงอกของสปอร์เชื้อรา จากการทดลองพบว่าเมื่อความเข้มข้นสารสกัดหยาบเพิ่มขึ้น ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเส้นใย และการงอกของสปอร์เชื้อราเพิ่มขึ้น (9.71 – 33.46 % และ 1.93 – 68.91 % ตามล้าดับ) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบเป็นสารต้านจุลินทรีย์ธรรมชาติที่มีศักยภาพสำหรับใช้ต้านเชื้อราขนมปังได้

**คำสำคัญ:** *Aspergillus* sp. การเจริญของเส้นใยรา การงอกของสปอร์รา

## คำนำ

ขนมปังเป็นผลิตภัณฑ์ขนมอบประเภทหนึ่งที่เป็นที่นิยมรับประทาน โดยเฉพาะสังคมที่มีวิถีชีวิตเร่งรีบในปัจจุบัน อย่างไรก็ตามขนมปังมีอายุการเก็บรักษาสั้น ทั้งนี้การเสื่อมเสียของขนมปังส่วนใหญ่มีสาเหตุมาจากการงอกของสปอร์ราที่ปนเปื้อนมาจากสิ่งแวดล้อมในขั้นตอนหลังการอบ เช่น *Aspergillus* sp. *Penicillium* sp. และ *Rhizopus* sp. (Ravimannan, Sevvel และ Saarutharshan, 2016) ดังนั้นผู้ผลิตจึงนิยมใส่สารต้านจุลินทรีย์สังเคราะห์ลงในขนมปัง เช่น กรดโพรพิโอนิก เพื่อลดการเสื่อมเสียเนื่องจากสาเหตุดังกล่าว แต่สามารถเติมสารต้านจุลินทรีย์ดังกล่าวได้ในปริมาณเท่าที่กฎหมายกำหนดเท่านั้น และความกังวลในอันตรายของสารดังกล่าว ที่สามารถติดไฟได้ มีฤทธิ์กัดกร่อน ทำให้ผิวหนังไหม้อย่างรุนแรงและทำลายดวงตาของผู้ปฏิบัติงาน รวมทั้งสามารถยืดอายุการเก็บรักษาของขนมปังได้ไม่เกิน 7 วัน ประกอบกับในปัจจุบันผู้บริโภคมีความวิตกกังวลในเรื่องสุขภาพ สารต้านจุลินทรีย์จากธรรมชาติจึงได้รับความนิยมเพิ่มขึ้น พืชเป็นแหล่งของสารต้านจุลินทรีย์ทางธรรมชาติที่นิยม เนื่องจากสามารถหาได้ง่าย โดยมีรายงานว่าสารสกัดจากพืชหลายชนิดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของขนมปังได้ เช่น น้ำมันหอมระเหยจากพืชชนิดต่าง ๆ เช่น มะนาว มะกรูด ตะไคร้ สะระแหน่ และขิง แต่ยังคงต้องใช้ในปริมาณสูงอยู่ (0.05-1.0 กรัมต่อมิลลิลิตร) (Garcia และ Copetti, 2019; จาตุรงค์ จงจีน, 2555) จึงมีแนวโน้มที่ผู้ผลิตจะหันมาใช้สารจากธรรมชาติมากขึ้น

[1] ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี 20131
[1] Department of Food Science, Faculty of Science, Burapha University, Chonburi 20131 Thailand

ประเทศไทยมีผลผลิตสับปะรดประมาณปีละ 1.80–2.00 ล้านตัน และเป็นประเทศผู้ส่งออกสับปะรดกระป๋องเป็นอันดับหนึ่งของโลก (กรมวิชาการเกษตร, 2560) ทำให้มีเปลือกสับปะรด จากกระบวนการแปรรูปสับปะรดประมาณ 330 พันตันต่อปี (41 % ของสับปะรดทั้งผล) (Asaolu และคณะ, 2016) อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าเปลือกสับปะรดเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์สำคัญทางชีวภาพหลายชนิด เช่น ฟลาโวนอยด์ แทนนิน แคโรทีนอยด์ ไลโคพีน และ ฟินอล (Kalaiselvi และคณะ, 2012) โดยมีกรดแกลลิกเป็นสารประกอบฟีนอลหลักที่พบในเปลือกสับปะรด ซึ่งมีรายงานว่าเป็นสารประกอบที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้ (Li และคณะ, 2014) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าเอนไซม์ไคทีเนส เอ (chitinase A) ในเปลือกสับปะรด สามารถทำลายผนังเซลล์ของเชื้อราซึ่งประกอบด้วยไคติน (chitin) ได้ (Taira และคณะ, 2005)

อย่างไรก็ตามปัจจุบันยังไม่มีการใช้สารสกัดจากเปลือกสับปะรด ในการต้านเชื้อราที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของขนมปัง งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อราของสารสกัดจากเปลือกสับปะรดในหลอดทดลอง (*in vitro*) เพื่อให้เป็นทางเลือกหนึ่งในการป้องกันการเสื่อมเสียของขนมปัง และเพื่อหาความเป็นไปได้ในการใช้สารสกัดจากเปลือกสับปะรดดังกล่าวเป็นสารต้านเชื้อราขนมปังในอุตสาหกรรมอาหารได้

## อุปกรณ์และวิธีการ

**การเตรียมสารสกัดจากเปลือกสับปะรด** โดยวิธีของ วรรณวิสา และคณะ (2560) โดยนำเปลือกสับปะรดมาล้าง และหั่นให้เป็นแผ่นบาง ๆ จากนั้นอบเปลือกสับปะรด ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จนมีความชื้นไม่เกินร้อยละ 13 จึงบดเป็นผง (100 เมซ) ผสมผงเปลือกสับปะรดกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:10 และเขย่าที่ 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จึงกรอง และระเหยแบบลดความดันจนได้สารสกัดหยาบ (PPE) จากนั้นจึงนำ PPE มาเตรียมเป็น stock solution ที่มีความเข้มข้นเป็น 1.0000 กรัมต่อมิลลิลิตร และจึงเจือจาง PPE ที่ได้ด้วยน้ำกลั่นครั้งละ 1 เท่า ได้เป็นความเข้มข้น 1.0000 0.5000 0.2500 0.1250 0.0625 0.0312 0.0156 0.0078 และ 0.0039 กรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

**การศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อราของสารสกัดจากเปลือกสับปะรด**

**เตรียมเชื้อรา** *Aspergillus* sp. ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา โดยถ่ายเชื้อราลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ปลอดเชื้อ และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 - 7 วัน เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

**ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา** ด้วยวิธี poisoned food bioassay โดยดัดแปลงวิธีของ (Tripathi และคณะ, 2008) โดยผสม PPE ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน หรือน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) 2.5 มิลลิลิตร และอาหาร PDA เหลวที่มีอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส 12.5 มิลลิลิตร เทลงในจานเลี้ยงเชื้อ รอจนแข็งตัว จึงถ่ายเส้นใยเชื้อราอายุ 5 วัน โดยใช้ Cork borer (เส้นผ่านศูนย์กลาง 5.0 มิลลิเมตร) เจาะบริเวณขอบของโคโลนี ไปวางบนกึ่งกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา และคำนวณหาค่าร้อยละการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา (growth inhibition : GI) โดย GI = (R1-R2)/R1×100 โดย R1 = ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราทดสอบในชุดควบคุม และ R2 = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราทดสอบในอาหารผสมสารสกัดในแต่ละความเข้มข้น

**ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา** ด้วยวิธี spore germination test โดยดัดแปลงวิธีของ (Gemeda และคณะ, 2014) โดยเทน้ำกลั่นปลอดเชื้อที่มี Tween 80 (0.1 % โดยปริมาตร) 5 – 10 มิลลิลิตร ลงบนโคโลนีเชื้อราที่มีอายุ 5 - 7 วัน และใช้เข็มเขี่ยเชื้อปลายงอขูดโคโลนีออกจากผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นปิเปตสารละลายแขวนลอยของสปอร์เชื้อราไปปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 2000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที และถ่ายส่วนใสไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่สภาวะเดียวกัน นับจำนวนสปอร์เชื้อราภายใต้กลองจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 40 เท่า และปรับจำนวนสปอร์ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ $1x10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร ถ่ายสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี PPE ปริมาณต่าง ๆ กัน หรือน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) 1 มิลลิลิตร และ PDB 4 มิลลิลิตรในหลอดทดลอง บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงนับจำนวนการงอกของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 40 เท่า และคำนวณหาค่าร้อยละการยับยั้งการงอกของสปอร์ (spore germination inhibition : SI) เทียบกับชุดควบคุม

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลอง พบว่า PPE มีฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อราเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของ PPE เพิ่มขึ้น โดยมีค่าร้อยละการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อราอยู่ระหว่าง 9.71 - 33.46 ทั้งนี้เนื่องมาจากสารสกัดจากเปลือกสับปะรดมีสารออกฤทธิ์สำคัญได้แก่ ไคทีเนส เอ ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สามารถทำลายผนังเซลล์ของเชื้อรา ทำให้ผนังเซลล์ของเชื้อราได้รับความเสียหายและเกิดการรั่วไหลของสารภายในเซลล์ ส่งผลให้เชื้อราตายได้ (Taira และคณะ, 2005) หรืออาจเกิดจากฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารประกอบฟีนอล เช่น กรดแกลลิก ในเปลือกสับปะรด ที่เข้าไปรบกวนการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์ หรือไปทำลายสมบัติความเป็นเยื่อเลือกผ่านของผนังเซลล์ จึงทำให้สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อราได้ (Carvalho และคณะ, 2018) นอกจากนี้จากผลการศึกษาค่าพีเอชของ PPE พบว่ามีค่าพีเอชประมาณ 4.2 ทำให้ไม่เหมาะสำหรับการเจริญของ *Aspergillus sp*. ที่สามารถเจริญได้ดีที่สภาวะที่มีค่าพีเอชระหว่าง 5.0 - 6.5 (Passamani และคณะ, 2014) นอกจากนี้ยังพบว่า PPE สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อราได้ โดยเมื่อ PPE มากขึ้น จำนวนสปอร์ที่งอกจะมีจำนวนน้อยลง โดยมีค่าร้อยละการยับยั้งการงอกของสปอร์อยู่ระหว่าง 1.93 - 68.91 จากตารางที่ 1 จะเห็นได้ว่า PPE มีฤทธิ์การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราได้ดีกว่าการยับยั้งการเจริญของเส้นใย สอดคล้องกับงานวิจัยของ (สุนิดา, ทวีรัตน์, วาริช, เฉลิมชัย และทรงศิลป์, 2560) ที่พบว่าสารสกัดจากกระเทียม หอมแดง และพริกแห้งสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราได้ดีกว่าการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อราทดสอบบนอาหารแข็ง PDA ทำให้อาจมีเส้นใยราบางส่วนที่ไม่สัมผัสกับอาหารทีมี PPE และยังคงสามารถเจริญต่อไปได้ ในขณะที่การทดสอบการงอกของสปอร์ทำการทดสอบในอาหารเหลว PDB ซึ่งสปอร์สัมผัสกับสารสกัดโดยตรง นอกจากนี้สภาวะการทดสอบในอาหารเหลวยังเป็นสภาวะที่มีออกซิเจนอยู่น้อยจึงส่งผลทำให้สปอร์งอกได้ช้า

## สรุปผล

จากการทดลองสามารถสรุปได้ว่า สารสกัดจากเปลือกสับปะรดมีฤทธิ์การต้านการเจริญของเส้นใยเชื้อรา และการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Aspergillus* sp. ในหลอดทดลอง (*in vitro*) โดยสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราได้ดีกว่าการเจริญของเส้นใยเชื้อรา จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากเปลือกสับปะรดเป็นสารต้านจุลินทรีย์จากธรรมชาติที่มีศักยภาพสำหรับใช้เป็นสารต้านเชื้อราที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของขนมปัง

## คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณโรงงานอาหารสยาม จำกัด (มหาชน) จังหวัดชลบุรี ที่สนับสนุนวัตถุดิบเปลือกสับปะรด ขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพาที่สนับสนุนงบประมาณ ขอบคุณอาจารย์ ดร. ภรณี ศรีปรีชาศักดิ์ และภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ จุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพาที่อนุเคราะห์ เชื้อจุลินทรีย์ และเครื่องมือที่ใช้ในการทำวิจัยครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร, 2560, ยุทธศาสตร์สับปะรดปี 2560-2569 [สืบค้น], http://www.doa.go.th/main/.

วรรณวิสา สุดมี เกศมณี สามารถ และนิรมล ปัญญ์บุศยกุล, 2560, ผลของอุณหภูมิในการอบแห้งและชนิดของตัวทำละลายในการสกัดต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกสับปะรด, รายงานสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการ “วิทยาศาสตร์วิจัย” ครั้งที่ 9, คณะวิทาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี, (หน้า BI372-BI378).

จาตุรงค์ จงจีน, 2555, ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรในการยับยั้งเชื้อราที่เป็นสาเหตุการเน่าเสียในขนมปัง, วารสารวิทยาศาสตร์เกษตรม 43(2)พิเศษ: 145-148

สุนิดา เมืองโคตร ทวีรัตน์ วิจิตรสุนทรกุล วาริช ศรีละออง เฉลิมชัย วงษ์อารี และทรงศิลป์ พจน์ชนะชัย, 2560, ผลของอุณหภูมิการคั่วกระเทียม หอมแดง และพริกแห้งต่อฤทธิ์ในการต้านเชื้อรา *Aspergillus niger*, วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 19(3): 88-100.

Asaolu, O., Rachael, T., and Oyeniyi, 2016, Assessment of Feeding Value of Vegetable-Carried Pineapple Fruit Wastes to Red Sokoto Goats in Ogbomoso, Oyo State of Nigeria, African Journal of Biotechnology, 15(31): 1648-1660.

Carvalho, R.S., Carollo, C.A., de Magalhães, J.C., Palumbo, J.M.C., Boaretto, A.G., Nunes Sá, I.C., and Ferreira, J.M.S., 2018, Antibacterial and Antifungal Activities of Phenolic Compound-Enriched Ethyl Acetate Fraction

from *Cochlospermum regium* (Mart. Et. Schr.) Pilger Roots: Mechanisms of Action and Synergism With Tannin and Gallic Acid, South African Journal of Botany, 114: 181-187.

Garcia, M., and Copetti, M., 2019, Alternative Methods for Mold Spoilage Control in Bread and Bakery Products, International Food Research Journal, 26(3): 737-749.

Gemeda, N., Woldeamanuel, Y., Asrat, D., and Debella, A., 2014, Effect of Essential Oils on *Aspergillus* Spore Germination, Growth and Mycotoxin Production: A Potential Source of Botanical Food Preservative, Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 4(Suppl 1): S373-S381.

Kalaiselvi, M., Gomathi, D., and Uma, C., 2012, Occurrence of Bioactive Compounds in *Ananus comosus* (L.): A Quality Standardization by HPTLC, Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2(Suppl 3): S1341-S1346.

Li, T., Shen, P., Liu, W., Liu, C., Liang, R., Yan, N., and Chen, J., 2014, Major Polyphenolics in Pineapple Peels and Their Antioxidant Interactions, International Journal of Food Properties, 17(8): 1805-1817.

Passamani, F.R., Hernandes, T., Lopes, N.A., Bastos, S.C., Santiago, W.D., Cardoso, M., and Batista, L.R., 2014, Effect of Temperature, Water Activity, And pH on Growth and Production of Ochratoxin A by *Aspergillus niger* and *Aspergillus carbonarius* from Brazilian Grapes, Journal of Food Protection, 77(11): 1947-1952.

Ravimannan, N., Sevvel, P., and Saarutharshan, E.., 2016, Study on Fungi Associated with Spoilage of Bread, International journal of advanced research in biological sciences, 3(4): 165-167.

Taira, T., Toma, N., Ichi, M., Takeuchi, M., and Ishihara, M., 2005, Tissue Distribution, Synthesis Stage, and Ethylene Induction of Pineapple (*Ananas comosus*) Chitinases, Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 69(4): 852-854.

Tripathi, P., Dubey, N.K., and Shukla, A.K., 2008, Use of Some Essential Oils as Post-Harvest Botanical Fungicides in the Management of Grey Mould of Grapes Caused by *Botrytis cinerea*, World Journal of Microbiology and Biotechnology, 24(1): 39-46.

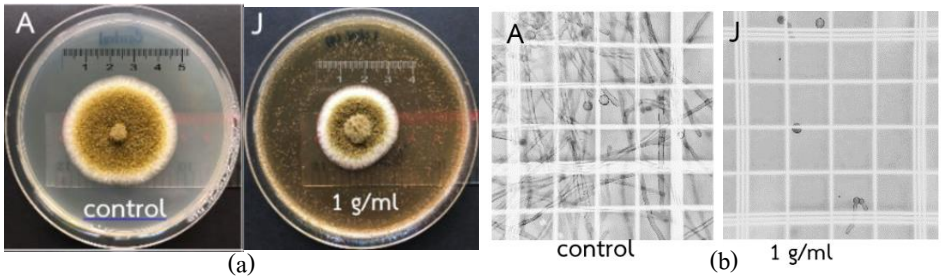


**Figure 1** Mycelium growth (a) and spore germination (b) in media without PPE (A) and with PPE (J).

**Table 1** Mycelium growth (GI) and spore germination (SI) inhibition of the PPE against the *Aspergillus* sp.

| PPE (g/mL) | GI (%)* | SI (%)* |
|---|---|---|
| Control | $0.00 \pm 0.00^{G}$ | $0.00 \pm 0.00^{G}$ |
| 0.0039 | $9.71 \pm 1.19^{F}$ | $1.93 \pm 1.67^{FG}$ |
| 0.0078 | $19.06 \pm 1.48^{DE}$ | $6.81 \pm 1.75^{EF}$ |
| 0.0156 | $17.25 \pm 1.76^{E}$ | $7.76 \pm 1.63^{E}$ |
| 0.0313 | $20.49 \pm 2.10^{D}$ | $25.27 \pm 2.09^{D}$ |
| 0.0625 | $24.45 \pm 1.61^{C}$ | $32.04 \pm 2.99^{C}$ |
| 0.1250 | $29.49 \pm 1.68^{B}$ | $57.28 \pm 1.48^{B}$ |
| 0.2500 | $30.21 \pm 1.19^{B}$ | $58.26 \pm 0.97^{B}$ |
| 0.5000 | $31.65 \pm 1.49^{AB}$ | $61.15 \pm 2.09^{B}$ |
| 1.0000 | $33.46 \pm 1.24^{A}$ | $68.91 \pm 2.18^{A}$ |

*Means within each column with the same superscription are not significantly different ($P<0.05$).