ผลของสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่สกัดด้วยเอทานอลและเอททิลอะซิเตรตต่อการยับยั้งเชื้อราโรงเก็บในเมล็ดพันธุ์ทานตะวัน

Inhibition Effect of Mangosteen Peel Extracts Using Ethanol and Ethyl Acetate on Storage Fungi in Sunflower Seeds

นิภาดา ราญมีชัย[1] และ ทรงศิลป์ พจน์ชนะชัย[1,2]
Ranmeechai, N. [1], and Photchanachai, S. [1,2]

Abstract

Inhibition effect of mangosteen peel extracts using 95% ethanol and 99.5% ethyl acetate on storage fungi in sunflower seeds was studied. The sunflower seeds (with 5.38% moisture content) were mixed with 2% of the extracts, 0.15% carbendazim, 40% ethanol and compared to non-mixed seeds as a control. They were kept in polyethylene bags at room temperature (30±2°C, 75±5% RH). After mixing, the moisture content increased approximately by 2%, then slightly changed (0.15%-0.63%) after one month of storage. Thus, the extract and chemical treatments could delay infection and reduce contamination of fungi as compared to the control. Moreover, seed germination percentage, germination index and germination percentage after accelerated aging of the coated seeds were significantly higher than that of control. Therefore, the use of mangosteen peel extracts had a potential to delay infection and reduce the fungal contamination in sunflower seeds and did not affect germination and vigor.

Keywords: storage fungi, sunflower seed, mangosteen peel extracts, ethyl acetate

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่สกัดด้วย 95% เอทานอลและ 99.5% เอททิลอะซิเตรตต่อการยับยั้งเชื้อราโรงเก็บในเมล็ดพันธุ์ทานตะวัน จากนั้นคลุกเมล็ดพันธุ์ทานตะวัน (ความชื้น 5.38%) ด้วยสารสกัดความเข้มข้น 2% เปรียบเทียบกับคาร์เบนดาซิม 0.15% เอทานอล 40% และเมล็ดไม่คลุกสาร (ชุดควบคุม) นำเมล็ดมาเก็บรักษาในถุงโพลีเอทิลีนที่อุณหภูมิห้อง (30±2 °C, 75±5% RH) จากผลการทดลองพบว่า หลังการคลุกสารทุกชนิดทำให้ความชื้นของเมล็ดพันธุ์เพิ่มขึ้นประมาณ 2% และเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย (0.15%-0.63%) หลังจากเก็บรักษานาน 1 เดือน การคลุกสารทุกชนิดช่วยชะลอการเข้าทำลายและลดการปนเปื้อนเชื้อราในเมล็ดพันธุ์ได้ อีกทั้งทำให้เปอร์เซ็นต์ความงอก ดัชนีการงอก และความงอกภายหลังการเร่งอายุ มีค่าสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญกับเมล็ดพันธุ์ชุดควบคุม ดังนั้น สารสกัดจากเปลือกมังคุดมีศักยภาพที่จะนำมาใช้ในการชะลอการเข้าทำลายของเชื้อราในเมล็ดพันธุ์ทานตะวันได้โดยไม่มีผลต่อความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ทานตะวัน

คำสำคัญ: เชื้อราโรงเก็บ, เมล็ดพันธุ์ทานตะวัน, สารสกัดจากเปลือกมังคุด, เอททิลอะซิเตรต

คำนำ

ทานตะวัน (*Helianthus annuus* L.) เป็นพืชน้ำมันที่สำคัญทางเศรษฐกิจ มีน้ำมันในเมล็ดประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงถึง 88 เปอร์เซ็นต์ (Fernández-Martínez และคณะ, 2008) ตลาดมีความต้องการสูงจึงเป็นพืชทางเลือกหนึ่งของเกษตรกร แต่ปัญหาหลักที่มักพบในเมล็ดพันธุ์ทานตะวัน คือ การปนเปื้อนเชื้อราโรงเก็บ โดยส่วนใหญ่เป็นเชื้อรา *Aspergillus niger* และพบการปนเปื้อนตั้งแต่ในแปลงปลูกจนกระทั่งถึงโรงเก็บ ทำให้เมล็ดพันธุ์มีความงอกต่ำ (Patil และคณะ, 2018) ซึ่งจะเป็นปัญหาที่สร้างความเสียหายทั้งในระหว่างการเพาะปลูก อีกทั้งเมล็ดพันธุ์ที่ปนเปื้อนเชื้อราจะเสื่อมสภาพอย่างรวดเร็วในระหว่างการเก็บรักษา ทำให้เมล็ดพันธุ์มีคุณภาพต่ำกว่ามาตรฐานที่กำหนด ในปัจจุบัน มีวิธีการลดการปนเปื้อนเชื้อราที่นิยม คือ การคลุกเมล็ดด้วยสารคาร์เบนดาซิม แต่สารเคมีชนิดนี้มีอันตรายทั้งต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม เนื่องจากเป็นสารประเภท

[1]สาขาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (บางขุนเทียน) 49 ซอยเทียนทะเล 25 ถนนบางขุนเทียน-ชายทะเล แขวงท่าข้าม เขตบางขุนเทียน กรุงเทพฯ 10150
[1]Division of Postharvest Technology, School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi (Bangkhuntien), 49 Tientalay 25, Bangkhuntien-Chaithale Road, Thakam, Bangkhuntien, Bangkok 10150, Thailand.
[2]ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม กรุงเทพมหานคร 10400
[2]Postharvest Technology Innovation Center, Ministry of Higher Education, Science, Research and Innovation, Bangkok 10400, Thailand.

ดูดซึมจึงตกค้างในผลผลิตและสิ่งแวดล้อมนาน (สุนีย์, 2533) การนำสารสกัดจากเปลือกมังคุดมาใช้ลดการปนเปื้อนเชื้อราโรงเก็บเป็นอีกทางเลือกหนึ่ง อย่างไรก็ตาม การสกัดสารจากพืช ซึ่งมีองค์ประกอบของสารออกฤทธิ์ต่างกัน ดังนั้น การใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ จึงมีผลต่อชนิดและปริมาณสารออกฤทธิ์ที่ได้ มีรายงานว่า สารสกัดจากเปลือกมังคุดมีสารประกอบจำพวกฟีนอล ฟลาโวนอยด์ แอลฟลา-แมงโกสทีน แซนโทน แทนนิน คาเทชินส์ และแอนโทไซยานิน ที่เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น สารต้านอนุมูลอิสระ สารต้านเชื้อราและแบคทีเรียได้ (Ibrahim และคณะ, 2016; Plainsirichai และคณะ, 2015; Boonrat และ Indranupakorn, 2015) ดังนั้น การใช้สารละลายเป็นตัวสกัดที่เหมาะสมจะทำให้ได้สารออกฤทธิ์ที่มีประสิทธิภาพต่างกัน งานวิจัยที่เกี่ยวกับการศึกษาสารสกัดจากเปลือกมังคุดต่อการยับยั้งเชื้อราโรงเก็บมีน้อย ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะนำเปลือกมังคุดมาสกัดด้วยเอทานอล 95% และเอททิลอะซิเตรต 99.5% เพื่อนำมาใช้ควบคุมเชื้อราโรงเก็บเพื่อลดการใช้สารเคมี และศึกษาผลกระทบที่มีต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ทานตะวัน

อุปกรณ์และวิธีการ

การสกัดสารจากเปลือกมังคุด

นำเปลือกมังคุดสดจำนวน 5 กิโลกรัม มาอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 °C (จนมีความชื้น 8.25%) แล้วนำมาบดหยาบ จากนั้นสกัดเปลือกมังคุดด้วยเอทานอล 95% (95% Ethanol; 95% EtOH) และเอททิลอะซิเตรต 99.5% (99.5% Ethyl acetate; 99.5% EA) ด้วยอัตราส่วน 1:4 (เปลือกมังคุดแห้ง 500 กรัม : สารตัวทำละลาย 2 ลิตร) แช่ไว้นาน 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (30±2 °C) จากนั้นนำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 ด้วยวิธี suction แล้วจึงนำส่วนใสไประเหยสารทำละลายออกด้วยเครื่อง evaporator แล้วนำกากของเปลือกมังคุดมาทำซ้ำจนครบ 3 ครั้ง ได้สารสกัดหยาบนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดเปลือกมังคุดต่อเชื้อราโรงเก็บ

นำสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดความเข้มข้น 2% (2% MPE) ที่สกัดด้วยเอททิลอะซิเตรต 99.5% (99.5% EA) (T5) และเอทานอล 95% (95% EtOH) (T4) มาละลายด้วยเอทานอล 40% คลุกเมล็ดพันธุ์ทานตะวันในอัตรา 40 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัม เปรียบเทียบกับการคลุกด้วยคาร์เบนดาซิม 0.15% (0.15% Carbendazim) (T3) เอทานอล 40% (40% Ethanol; 40% EtOH) (T2) และเมล็ดไม่คลุกสาร (ชุดควบคุม) (Non-mixed) (T1) แล้วบรรจุลงในถุงโพลีเอทธิลีน เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30±2 °C, 75±5% RH) เป็นเวลา 1 เดือน จากนั้นนำมาวิเคราะห์ความชื้น ความงอก และความแข็งแรงของเมล็ด (ดัชนีการงอกและความงอกหลังการเร่งอายุ) (ISTA, 2007) และปริมาณการปนเปื้อนเชื้อราทั้งหมด ด้วยวิธี blotter วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 4 ซ้ำ นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) และการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Tukey’s HSD test โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ SPSS

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 2% ด้วยเอทานอล 95% และเอททิลอะซิเตรต 99.5% เปรียบเทียบกับคาร์เบนดาซิม 0.15% เอทานอล 40% และเมล็ดไม่คลุกสาร ที่มีความชื้นเริ่มต้นเท่ากับ 5.38% ภายหลังการคลุกสาร พบว่า ความชื้นของเมล็ดเพิ่มขึ้นประมาณ 2% ในทุกทรีตเมนท์ (Table 1) เนื่องจากสารที่ใช้คลุกเมล็ดมีน้ำเป็นส่วนผสม แต่หลังจากการเก็บรักษาในถุงโพลีเอทธิลีน นาน 1 เดือน พบว่า ความชื้นลดลงเล็กน้อยประมาณ 0.15%-0.63% เนื่องจากคุณสมบัติของถุงโพลีเอทธิลีนสามารถช่วยชะลอการแลกเปลี่ยนความชื้นระหว่างภายในถุงกับบรรยากาศภายนอก และพบว่า สารจากทุกทรีตเมนท์ลดการปนเปื้อนเชื้อราทั้งหมดในเมล็ดได้ โดยสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 2% ที่สกัดด้วยเอทานอล 95% และเอททิลอะซิเตรต 99.5% ลดการปนเปื้อนเชื้อราได้ไม่แตกต่างกัน และมีประสิทธิภาพดีกว่าทรีตเมนท์อื่น (Table 2) ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า การใช้ตัวทำละลายเอทานอลและเอททิลอะซิเตรตในการสกัด ทำให้ได้สารออกฤทธิ์ที่มีคุณสมบัติใกล้เคียงกัน มีรายงานว่า การสกัดสารแซนโทนทั้งหมดจากเปลือกมังคุดด้วยเอทานอลและเอททิลอะซิเตรตมีค่าไม่แตกต่างกัน (ประมาณ 27-30 mg/ml sample) (Kusmayadi และคณะ, 2018) แม้ว่าคุณสมบัติของสารตัวทำละลายที่ใช้จะแตกต่างกัน ในทางตรงกันข้าม สารสกัดจากเปลือกมังคุดที่แยกส่วนในชั้นเฮกเซนความเข้มข้น 4000 พีพีเอ็ม มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* และ *A. niger* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับชั้นเอททิลอะซิเตรตที่ความเข้มข้นเท่ากัน (สรารัตน์ และ ปณิดา, 2564) เนื่องจากสารสกัดจากเปลือกมังคุดมีสาร Xanthones ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราได้หลายชนิด เช่น *Rhizupus* sp., *A. niger*, *A. flavus*, *Penicillium* sp. และ *Fusarium roseum* เป็นต้น (Pedraza-Chaverri และคณะ, 2008) นอกจากนี้ จากการทดลองพบว่า สารสกัดจากเปลือกมังคุดมีผลทำให้ความงอก และความแข็งแรงของเมล็ดทานตะวัน (ดัชนีการงอก และเปอร์เซ็นต์ความงอกภายหลังการเร่งอายุ) มีค่าสูงกว่าเมล็ดพันธุ์ที่ไม่คลุกสาร (ชุดควบคุม) อย่างมีนัยสำคัญ (Table 1) งานวิจัยของ สรารัตน์ และ ปณิดา (2564) รายงานว่า สารสกัดจากเปลือกมังคุดที่นำมาแยกส่วนในชั้นเอททิลอะซิเตรตความ

เข้มข้น 500-1000 พีพีเอ็ม ทำให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดไม่แตกต่างจากเมล็ดไม่คลุกสาร

สรุปผล

การคลุกเมล็ดพันธุ์ทานตะวันด้วยสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่สกัดด้วยเอทานอล 95% และเอททิลอะซิเตรต 99.5% ความเข้มข้น 2% อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัม มีประสิทธิภาพในลดการปนเปื้อนของเชื้อราโรงเก็บได้ดีเมื่อเทียบกับคาร์เบนดาซิม 0.15% เอทานอล 40% และเมล็ดไม่คลุกสาร และสารสกัดทั้งสองชนิดนี้มีประสิทธิในการลดการปนเปื้อนของเชื้อราไม่แตกต่างกัน รวมทั้งไม่ส่งผลกระทบต่อความงอกและความแข็งแรงของเมล็ด ซึ่งน่าจะมีศักยภาพในการนำไปใช้กับเมล็ดพันธุ์พืชชนิดอื่นได้

คำขอบคุณ

เป็นงานวิจัยที่ได้รับทุนสนับสนุนนักวิจัยหลังปริญญาโท ภายใต้โครงการการบ่มเพาะนักวิจัยศักยภาพสูงเพื่อยกระดับอุตสาหกรรมฐานชีวภาพ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี และ United Graduate School of Agricultural Science (UGSAS), Gifu University ที่สนับสนุนเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์

เอกสารอ้างอิง

สรารัตน์ มนต์ขลัง และ ปณิดา ดวงแก้ว, 2564, ประสิทธิภาพของสารสกัดจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดพันธุ์และผลต่อการงอกในเมล็ดข้าวโพด, วารสารแก่นเกษตร, Suppl. 1: 795-800.

สุนีย์ ธัญญโนทัย, 2533, แนะนำสารป้องกันกำจัดโรคพืชคาร์เบนดาซิม, วารสารเคหการเกษตร, 14(6): 105-108.

Boonrat, C. and Indranupakorn, R., 2015, Influence of Extraction Techniques and Solvents on α-Mangosteen Amounts from Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) Pericarp, Thai Bulletin of Pharmaceutical Sciences, 10(2): 1-11.

Fernández-Martínez, J.M., Pérez-Vich, B. and Velasco, L., 2008, Sunflower. In Oil Crops (Eds. Vollmann, J. and Rajcan, I.), Sprinker: New York.

Ibrahim, M.Y., Mariod, A.A., Mohan, S., Hashim, N.M., Abdulla, M.A., Abdelwahab, S.I., Arbab, I.A. and Ali, L.Z., 2016, α-Mangostin from *Garcinia mangostana* Linn: An Updated Review of Its Pharmacological Properties, Arabian Journal of Chemistry, 9: 317-329.

ISTA, 2007, International Rules for Seed Testing Edition, published by the International Seed Testing Association , Switzerland.

Kusmayadi, A., Adriani, L., Abun, A., Muchtaridi, M., Tanuwiria, U.H., 2018, The Effect of Solvents and Extraction Time on Total Xanthone and Antioxidant Yields of Mangosteen Peel (*Garcinia mangostana* L.) Extract, Drug Invention Today, 10(12): 2572-2576.

Patil, A.C., Suryawanshi, A.P., Anbhule, K.A., Raner, R.B. and Hurule, S.S., 2018, Detection of Sunflower Seedborne Mycoflora and their Effect on Seed and Seedling Parameters, International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 6: 2509-2514.

Pedraza-Chaverri, J., Cárdenas-Rodríguez, N., Orozco-Ibarra, M. and Pérez-Rojas, J.M., 2008, Review: Medicinal Properties of Mangosteen (*Garcinia mangostana*). Food and Chemical Toxicology, 46: 3227-3239.

Plainsirichai, M., Prasomthong, N., Bussaman, P. and Wongsawas, M., 2015, Methanol, Ethanol, and Acetone Result in Non Different Concentration of Total Phenolic Content in Mangosteen (*Gacinia mangostana* L.) Peel, Journal of Agricultural Science, 7(2): 131-134.

Table 1 Moisture content, germination percentage (%G), germination index (GI), germination after accelerate aging test (AA-test) of sunflower seed during storage for 1 month.

Treatments	Moisture content (%)		Germination (%)		Germination index		AA-test (%)	
	Storage time (months)							
	0	1	0	1	0	1	0	1
Non-mixed	5.38 ^{c}	5.23 ^{c}	80.25 ^{b}	79.50 ^{b}	9.01 ^{b}	9.19 ^{b}	87.50 ^{ab}	80.75 ^{b}
40% EtOH	7.19 ^{ab}	6.77 ^{b}	95.25 ^{a}	95.25 ^{a}	12.54 ^{a}	13.75 ^{a}	92.25 ^{a}	88.00 ^{ab}
0.15% Carbendazim	7.67 ^{a}	7.51 ^{a}	96.50 ^{a}	94.75 ^{a}	14.01 ^{a}	15.39 ^{a}	92.50 ^{a}	90.50 ^{a}
2% MPE-95% EtOH	7.03 ^{b}	6.81 ^{b}	95.25 ^{a}	88.75 ^{a}	13.34 ^{a}	14.83 ^{a}	85.00 ^{b}	87.00 ^{ab}
2% MPE-99.5% EA	7.19 ^{ab}	6.56 ^{b}	96.75 ^{a}	93.75 ^{a}	13.75 ^{a}	14.56 ^{a}	85.75 ^{ab}	83.00 ^{ab}
F-test	**	**	**	**	**	**	*	**
$HSD_{0.05}$	0.51	0.56	6.12	8.09	1.72	1.66	7.08	7.60

Means followed by the different superscript letters within the *column (a-c)* are significantly different according to Tukey's HSD test ($p \leq 0.05$); * = significantly ($p \leq 0.05$); ** = significantly ($p \leq 0.01$).

Table 2 Total fungal contamination of sunflower seeds during storage for 1 month.

Treatments	Total fungal contamination (%)									
	Day1		Day2		Day3		Day4		Day5	
	Storage time (months)									
	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1
Non-mixed	3.00 ^{a}	4.25 ^{a}	100 ^{a}	100 ^{a}	100 ^{a}	100 ^{a}	100 ^{a}	100 ^{a}	100 ^{a}	100 ^{a}
40% EtOH	0.50 ^{b}	1.50 ^{b}	8.50 ^{bc}	3.75 ^{bc}	18.00 ^{b}	7.00 ^{c}	30.00 ^{b}	10.25 ^{c}	34.75 ^{b}	11.00 ^{c}
0.15% Carbendazim	0.75 ^{b}	0.00 ^{b}	9.00 ^{b}	5.75 ^{b}	17.25 ^{b}	14.50 ^{b}	28.00 ^{bc}	19.50 ^{b}	30.75 ^{bc}	20.75 ^{b}
2% MPE-95% EtOH	0.25 ^{b}	0.50 ^{b}	4.00 ^{c}	1.75 ^{c}	11.50 ^{b}	5.25 ^{c}	18.25 ^{c}	6.00 ^{c}	22.25 ^{c}	7.25 ^{c}
2% MPE-99.5% EA	0.50 ^{b}	0.00 ^{b}	4.00 ^{c}	1.75 ^{c}	11.75 ^{b}	4.50 ^{c}	18.25 ^{c}	6.00 ^{c}	19.75 ^{c}	6.25 ^{c}
F-test	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
$HSD_{0.05}$	1.54	1.67	4.75	3.87	7.27	7.15	11.33	9.02	12.47	8.99

Means followed by the different superscript letters within the *column (a-c)* are significantly different according to Tukey's HSD test ($p \leq 0.05$); ** = significantly ($p \leq 0.01$).