Agricultural Sci. J. 46 : 3/1 (Suppl.) : 339-342 (2015) ว. วิทย. กษ. 46 : 3/1 (พิเศษ) : 339-342 (2558)

การปรับปรุงสารสกัดสมุนไพรชนิดสำเร็จรูป เพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนส

Development of the Ready to Use Natural Product to Control Anthracnose Disease

สรรเสริญ รังสุวรรณ[1], **ชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล**[1]**และรัติยา พงศ์พิสุทธา**[1]

Sansern Rangsuwan[1] Chainarong Rattanakreetakul[1] and Ratiya Pongpisutta[1]

Abstract

The ethanolic mixed crude extract of neem, galanga and citronella and the essential oil from peppermint, cinnamon, lemon grass, orange, fennel and star anise were screened with poison food technique to the tested fungi as *Colletotrichum capsici*, *C. gloeosporioides*, *Pythium* sp., *Rhizoctonia solani* and *Trichoderma harzianum*. The result showed that essential oil from lemon grass and cinnamon could inhibit on mycelium to all tested fungi. The persistent test of natural products after addition of the performance enhancing substances was determined with the efficiency of anthracnose disease control. After exposure to sunlight, curcumin mixture with titanium dioxide showed less disease control activity which meant the degrading of active substances. Cinnamon mixture after exposure to sunlight was shown the best inhibition to mango anthracnose disease but there efficiency was shown less in the tested chili. This was similar to peppermint mixture after exposure to sunlight. The bentonite mixture was shown less anthracnose disease control activity on tested fruit in compared with the storage product under ambient conditions which was meant the degrading process by sunlight or temperature occur. Therefore, titanium dioxide can be used as the performance enhancing substance to prevent the product degrading after exposure to sunlight. This knowledge could be used to perform the Ready to Use natural product.

Keywords: Plant extract, Essential oil and titanium dioxide

บทคัดย่อ

สารสกัดด้วยแอลกอฮอล์ของพืชผสม สะเดา ข่า และตะไคร้หอม น้ำมันหอมระเหยจาก สะระแหน่ อบเชย ตะไคร้บ้าน ส้ม ผักชีล้อม และโป๊ยกั๊ก เมื่อนำไปทดสอบการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช *Colletotrichum capsici* *C. gloeosporioides* *Pythium* sp. *Rhizoctonia solani* และ *Trichoderma harzianum* ด้วยเทคนิค poison food พบว่า น้ำมันหอมระเหยตะไคร้บ้าน และอบเชย สามารถยับยั้งเส้นใยเชื้อราโรคพืชที่ทดสอบทุกชนิด เมื่อนำนำมันหอมระเหยไปผสมสารเสริมประสิทธิภาพ เพื่อพัฒนาเป็นสารสกัดสมุนไพรสำเร็จรูป และศึกษาการคงตัวของสารในสภาพแปลง เมื่อนำผลิตภัณฑ์ผสมไปส้มผัสแสงแดด พบว่า สารสกัดจากขมิ้นที่ผสมไททาเนียมไดออกไซด์มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนพืชลดลง ซึ่งบ่งบอกถึงการเสื่อมฤทธิ์ของสารได้ สำหรับสารผสมอบเชยที่ผ่านการถูกแสงแดด ยังคงควบคุมแผลของแอนแทรคโนสบนผลมะม่วงได้ดี แต่ไม่แสดงผลบนพริก เช่นเดียวกับสารผสมสะระแหน่ที่ถูกแสงแดด ขณะที่น้ำมันหอมระเหยผสมเบนโทไนต์ที่ส้มผัสถูกแสง พบการเสื่อมฤทธิ์ได้มากกว่าสารผสมที่เก็บในสภาพห้อง ดังนั้นไททาเนียมไดออกไซด์จึงสามารถใช้เพื่อเสริมประสิทธิภาพในการป้องกันแสงแดด และสามารถนำใช้เพื่อพัฒนาร่วมกับสารออกฤทธิ์จากสมุนไพรสำเร็จรูปได้

คำสำคัญ: สารสกัดสมุนไพร น้ำมันหอมระเหย และ ไททาเนียมไดออกไซด์

คำนำ

สารสกัดจากพืชเพื่อควบคุมโรคพืชเป็นแนวทางที่ใช้จัดการโรคพืช เกษตรกรสามารถผลิตได้เอง เมื่อนำไปใช้จะไม่พบผลกระทบต่อร่างกายผู้ใช้-ผู้บริโภค และผลต่อสภาพแวดล้อม รวมถึงแมลงที่มีประโยชน์ แต่สารสกัดจากพืชอาจเกิดการเสื่อมสภาพได้ ดังเช่น Jacobson (1958) พบว่า สารสกัดจากพืชที่ส้มผัสถูกแสงแดดนานประสิทธิภาพในการควบคุมโรคพืชลดลง การศึกษาเพื่อป้องกันการเสื่อมสภาพของสารสกัดจากพืชจึงมีความจำเป็น โดยนำแนวคิดของโลชั่นกันแดดที่ผสมไททาเนียมไดออกไซด์เพื่อสะท้อนแสงในช่วงคลื่น 290-700 นาโนเมตร (Stokes and Diffey, 1997) งานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาศักยภาพของสารเสริมประสิทธิภาพร่วมกับสารสกัดสมุนไพรในด้านการคงตัวเพื่อใช้ในการการควบคุมโรคแอนแทรคโนส

[1]ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ นครปฐม 73140

[1] Department of Plant Pathology, Faculty of Agricultural Kamphang Sean, Kasertsart University, Nakhon Pathom 73140

อุปกรณ์และวิธีการ

1 การคัดเลือกสารสกัดจากพืชที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช

ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชโดยการผสมในอาหาร PDA ที่ความเข้มข้น 3,000 และ 9,000 ppm ด้วยสารสกัดจากเอทานอลของ สะเดา ข่า และตะไคร้หอม (2:1:1 w/w/w) ที่ทำให้เข้มข้นด้วยเครื่อง rotary evaporator เทียบกับน้ำมันหอมระเหย สะระแหน่ ตะไคร้บ้าน ส้ม อบเชย ผักชีล้อม และโป๊ยกั๊ก ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm ทดสอบกับเชื้อรา *C. capsici C. gloeosporioides Pythium* sp. *T. harzianum* และ *R. solani* วัดขนาดของโคโลนี เมื่อเชื้อเจริญได้เกิน 50% ของจานเลี้ยงเชื้อ

2 สารเสริมประสิทธิภาพที่มีผลต่อการคงตัวของสารสกัดจากพืชในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนพืช

นำสารทดสอบที่คัดเลือกในข้อ 1 มาผสมกับน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ให้มีความเข้มข้น 1,000 ppm ผสมกับสารเสริมประสิทธิภาพ ได้แก่ ไททาเนียมไดออกไซด์ และเบนโทไนต์ ความเข้มข้น 0.5% เก็บสารผสมในที่ร่ม (Ambient condition) และสัมผัสถูกแสงแดด (Sunlight exposed condition) เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนด ใช้พู่กันเบอร์ 14 ชุบสารทดสอบทาลงบนผิวมะม่วงพันธุ์มหาชนก และพริกพันธุ์บางช้าง ระยะสุกเต็มที่ เมื่อสารแห้งใช้ชิ้นวุ้นของเชื้อ *C. gloeosporioides* วางลงที่แผลบนผลมะม่วง และใช้ชิ้นวุ้นของ *C. capsici* วางลงที่แผลบนผลพริก บ่มผลไม้ไว้ที่อุณหภูมิห้อง 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 วัน ก่อนย้ายชิ้นวุ้นออก ตรวจวัดขนาดแผลหลังบ่มต่ออีก 5 วัน

ผล

การใช้เทคนิค poison food ทดสอบสารสกัดจากพืชที่มีผลในควบคุมเส้นใยเชื้อรา (Table 1) พบว่า น้ำมันหอมระเหยตะไคร้บ้าน และอบเชย ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm ยับยั้งเส้นใยเชื้อราทุกชนิดได้อย่างสมบูรณ์ น้ำมันหอมระเหยจากผักชีล้อม โป๊ยกั๊ก ยับยั้งเชื้อ *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* ได้ 60 – 77 % ในกลุ่มเชื้อราดิน พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากอบเชย ผักชีล้อม โป๊ยกั๊ก สะระแหน่ ตะไคร้บ้าน ยับยั้งเชื้อ *Pythium* sp. ได้ 100% ส่วนเชื้อ *R. solani* พบว่าน้ำมันหอมระเหยอบเชยและตะไคร้บ้าน ยับยั้งได้ 100% และเชื้อ *T. harzianum* พบว่า น้ำมันหอมระเหยอบเชย ยับยั้งได้ 100% เมื่อนำน้ำมันหอมระเหยจากอบเชย และตะไคร้บ้าน ไปผสมกับไททาเนียมไดออกไซด์ เพื่อศึกษาการคงตัวของสารผสมโดยสังเกตผลการควบคุมโรคแอนแทรคโนสมะม่วง และพริก (Figure1 และ Table 2) พบว่า น้ำมันหอมระเหยอบเชยให้ผลในการควบคุมขนาดแผลแอนแทรคโนสบนผลมะม่วงดี และเมื่อตรวจสอบการคงตัวของสารสกัดจากพืช โดยวัดขนาดแผลบนผลมะม่วงที่สัมผัสสารผสมที่เก็บไว้ในที่ร่ม เทียบกับสารที่สัมผัสแสงแดดเป็นระยะเวลานาน 6 ชั่วโมง พบว่า สารสกัดผสมขมิ้นมีการเสื่อมสภาพเมื่อเทียบกับสารอื่นๆ โดยน้ำมันหอมระเหยสะระแหน่ และอบเชยที่ผสมไททาเนียมไดออกไซด์สามารถทนต่อการเสื่อมสภาพจากแสงแดดได้เมื่อเทียบจากผลการยับยั้งขนาดแผลบนผลมะม่วง สำหรับน้ำมันหอมระเหยที่ผสมเบนโทไนต์ พบโอกาสการเสื่อมสภาพจากแสงแดดได้มาก ดังจะเห็นได้จากน้ำมันหอมระเหยอบเชยและสารสกัดจากขมิ้นที่ผสมเบนโทไนต์ เมื่อสัมผัสถูกแสงแดด 6 ชั่วโมง มีประสิทธิภาพการควบคุมโรคลดลงเมื่อเทียบกับสารผสมไททาเนียมไดออกไซด์ อย่างไรก็ตามจากการทดสอบการคงตัวของผลิตภัณฑ์ที่บรรจุในภาชนะและวางภายใต้แสงแดดนั้น ผลิตภัณฑ์อาจเกิดการเสื่อมสภาพจากแสงแดดโดยตรง หรือความร้อนสะสมภายในผลิตภัณฑ์ได้

Figure 1 Persistent test of plant extract mixed with titanium dioxide under the exposure to sunlight condition. Anthracnose disease control in mango (left) and chili (right)

Table 1 Percentage of mycelial inhibition from mixed plant extract and essential oil to the tested plant pathogenic fungi after the poison food technique.

Treatment	Percent of fungal mycelium inhibition (%)				
	Cc 5 d	Cg 5 d	Py 1 d	Rs 2 d	Tr 2 d
Plant extract mix 3,000 ppm	29.63^{e}	37.81^{d}	27.04^{c}	64.18^{b}	42.44^{cd}
Plant extract mix 9,000 ppm	48.46^{cde}	47.57^{cd}	71.47^{b}	75.33^{ab}	50.32^{bcd}
Peppermint oil 1,000 ppm	59.14^{bcd}	64.76^{b}	100.00^{a}	57.52^{b}	28.58^{d}
Lemon grass oil 1,000 ppm	100.00^{a}	100.00^{a}	100.00^{a}	100.00^{a}	91.78^{a}
Orange oil 1,000 ppm	40.05^{de}	56.75^{bc}	78.39^{a}	59.56^{b}	37.03^{d}
Cinnamon oil 1,000 ppm	100.00^{a}	100.00^{a}	100.00^{a}	100.00^{a}	100.00^{a}
Fennel oil 1,000 ppm	77.61^{ab}	60.35^{b}	76.00^{a}	57.49^{b}	62.03^{bc}
Star anise oil 1,000 ppm	66.42^{bc}	65.68^{b}	43.05^{bc}	90.90^{a}	66.58^{b}
CV	30.58	12.05	27.80	23.11	26.73
LSD	25.67	10.35	30.24	25.51	23.34

Means in the same block followed by the same letter are not significant different (p = 0.05)

Cc = *Colletotrichum capsici*, Cg= *Colletotrichum gloeosporioides,* Py = *Pythium* sp., Rs= *Rhizoctonia solani*

Tr= *Trichoderma harzianum*

Table 2 Anthracnose disease lesion size on tested fruits treated with the modified plant extract using titanium dioxide (TiO_2) and bentonite under the persistent test.

Treatment	Lesion size of disease on tested fruit							
	PE-O 1,000 ppm		LE-O 1,000 ppm		CI-O 1,000 ppm		CU-E	
	Ambient	Exposed sunlight	Ambient	Exposed sunlight	Ambient	Exposed sunlight	Ambient	Exposed sunlight
Lesion size of disease on mango "Maha Cha Nok"								
Non treat	1.50^{b}		1.50^{a}		1.50^{a}		1.50^{c}	
TiO_2	1.75^{a}	1.10^{d}	1.30^{a}	1.48^{a}	1.20^{b}	0.52^{d}	1.67^{bc}	2.55^{a}
Bentonite	1.52^{b}	1.22^{c}	1.30^{a}	1.42^{a}	0.75^{c}	1.10^{b}	1.05^{d}	1.62^{bc}
TiO_2 + Bentonite	0.80^{f}	0.90^{e}	1.37^{a}	0.50^{b}	1.42^{a}	0.45^{b}	1.85^{b}	0.80^{d}
LSD	0.08		0.37		0.18		0.25	
CV	4.42		19.79		12.33		10.93	
Lesion size of disease on chili "Bang Chang"								
Non treat	0.80^{cd}		0.80^{ab}		0.80^{ab}		0.80^{bc}	
TiO_2	1.55^{a}	1.08^{bc}	0.92^{a}	0.95^{a}	0.80^{ab}	0.80^{ab}	0.72^{c}	0.85^{bc}
Bentonite	0.82^{cd}	0.58^{d}	0.60^{b}	0.80^{ab}	0.85^{ab}	0.72^{b}	0.82^{bc}	1.02^{ab}
TiO_2 + Bentonite	0.62^{d}	1.20^{b}	0.75^{ab}	0.88^{ab}	1.05^{a}	0.75^{ab}	0.92^{abc}	1.15^{a}
LSD	0.33		0.30		0.32		0.29	
CV	24.09		25.07		26.42		21.82	

Means in the same block followed by the same letter are not significant different (p = 0.05)

PE-O= Peppermint oil, LE-O= Lemon grass oil, CI-O= Cinnamon oil, and CU-E= Curcumin extract

วิจารณ์ผล

จากการศึกษาครั้งนี้น้ำมันหอมระเหยอบเชย และตะไคร้บ้าน ที่ระดับ 1,000 ppm สามารถควบคุมเชื้อ *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* ได้ 100% ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของศานิต และคณะ (2556) ที่ใช้สารสกัดหยาบจากอบเชย 10,000 ppm ในการควบคุมเชื้อ *C. musae* ได้ 100% ผลของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้บ้าน ที่มีการศึกษาโดย รวีวรรณ (2552) ที่ระดับ 4,000 ppm สามารถพบโรคแอนแทรคโนส บนผลมะม่วงได้ 1.95% ในมะม่วงที่ปลูกเชื้อก่อนได้รับสาร และ 2.15% ในมะม่วงที่ปลูกเชื้อหลังได้รับสาร

สภาพการถูกแสงแดดของผลิตภัณฑ์ อาจเกิดจากการสะสมความร้อนในผลิตภัณฑ์ก็เป็นได้ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ Olfat and El-Shiekh (2012) ที่พบการเสื่อมสภาพของสะเดาเมื่อเก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิ 54 องศาเซลเซียส ด้วยเหตุที่ไททาเนียมไดออกไซด์มีคุณสมบัติสะท้อนแสงตลอดช่วงความยาวคลื่น 290 - 700 นาโนเมตร ที่มากระทบกับอนุภาคของสาร ทั้งนี้ไททาเนียมไดออกไซด์สามารถสะท้อนแสงยูวีเอและบีในช่วง 290 - 400 นาโนเมตรได้ สุชาตา (2547) พบว่าช่วงรังสียูวีสามารถทำให้สารสกัดสมุนไพรเสื่อมสภาพได้ ดังนั้นไททาเนียมไดออกไซด์จึงช่วยทำให้สารสกัดจากพืชไม่ถูกออกซิไดซ์และคงสภาพจากการถูกแสงแดด (วิไลพร และจักรพันธ์, 2557) ประสิทธิภาพดังกล่าวจะเห็นได้จากการศึกษาครั้งนี้ที่น้ำมันหอมระเหยจากอบเชยและสะระแหน่ที่ผสมไททาเนียมไดออกไซด์ให้ความคงตัวได้ดีกว่า สำหรับเบนโทไนต์เป็นสารในกลุ่มแร่ดินเหนียว (Wikipedia, 2015) ที่ใช้ในการพองตัวของสาร ไม่พบรายงานผลต่อการสะท้อนแสงยูวีแต่อย่างใด ในการศึกษาครั้งนี้จะเห็นได้จากกลุ่มสารผสมที่มีเบนโทไนต์เป็นองค์ประกอบจะมีฤทธิ์ในการควบคุมขนาดแผลของโรคแอนแทรคโนสลดลง เมื่อเทียบกับสารที่ผสมไททาเนียมไดออกไซด์ ดังนั้นการใช้สารเสริมประสิทธิภาพชนิดไททาเนียมไดออกไซด์ร่วมกับสารสกัดจากพืช จะมีแนวโน้มที่ดีในการนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สารสกัดจากพืชสำเร็จรูปได้

สรุป

น้ำมันหอมระเหยอบเชย และตะไคร้บ้าน ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm สามารถควบคุมเชื้อ *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* ได้ดีที่สุด เมื่อนำไปผสมกับไททาเนียมไดออกไซด์ระดับ 0.5% ทำให้ความสามารถในการคงสภาพของสารสกัดจากพืชดีขึ้น โดยเฉพาะในน้ำมันหอมระเหยจากอบเชย และสะระแหน่ ทั้งนี้สังเกตได้จากขนาดแผลของโรคแอนแทรคโนสที่ลดลงเมื่อเทียบกับชุดที่สัมผัสถูกแสงแดดนาน 6 ชั่วโมง และชุดควบคุม

เอกสารอ้างอิง

รวีวรรณ เดื่อมขันมณี. 2552. การใช้น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้หอม (*Cymbopogon nardus*) เพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสมะม่วงระยะหลังการเก็บเกี่ยว. การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยขอนแก่น ประจำปี 2552 : กรมพัฒนาชนบทที่ยั่งยืน : 474-477.

วิไลพร ลักษมีวาณิชย์ และจักรพันธุ์ จอมแสนปิง. 2557. ผลของอนุภาคนาโนไทเทเนียมไดออกไซด์ต่อสมบัติทางแสงและสมบัติเชิงกลของกระดาษสา. วารสารวิจัยราชภัฏเชียงใหม่ 15 : 6-16.

ศานิต สวัสดิกาญจน์, สิริวรรณ สมิทธิอาภรณ์ และธีราพร แสนสุด. 2556. ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากพืช 20 ชนิดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Colletotrichum musae* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของกล้วย. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 44 : 138-141.

สุชาตา ชินะจิตร. 2547. ความรู้เกี่ยวกับสารกันแดด. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.neutron.rmutphysics.com/news/index.php?option=com_content&task=view&id=2204. (13 มิถุนายน 2558).

Jacobson, M. 1958. Insecticide from plants. A Review of the Literature, 1941-1953. United States Department of Agriculture, United State.

Olfat, A.R and Y.W.A. El-Shiekh. 2012. Degrading of neem oil 90% EC (Azadirachtin) under storage conditions and its insecticide activity against cotton leafworm *S. littoralis*. Reseacher 4(3): 77-83.

Stokes, R. and B. Diffey. 1997. How well are sunscreen users protecd ? Protodermatol Photoimmunol Protomed 13: 186-188.

Wikipedia. 2015. Bentonite. [Online]. Available Source: https://en.wikipedia.org/wiki/Bentonite. (13 June 2015).