

ฤทธิ์การต้านราของสารสกัดจากรำข้าวต่อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่แยกได้จากมะม่วงสดและ
มะม่วงสดตัดแต่ง

Antifungal Activity of Rice Bran Extracts against *Colletotrichum gloeosporioides* Isolated from Fresh and
Fresh-cut Mango

อภิวัฒน์ พงงามเงิน¹ และมนัชญา สังข์ศรีอินทร์¹

Apiwan Phungamngoen¹ and Manatchaya Sungsrin-in¹

Abstract

Rice bran is a by-product from rice milling and is available in large volume each year. There are several reports indicating that rice bran contains bioactive compounds that can inhibit microbial growth. There is, however, a limited number of published reports concerning the antimicrobial activities of the rice bran against the spoilage microbial in fruits. The objective of this study was to investigate the antifungal activity of rice bran extracts against a major postharvest decay mold, *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from the peel of ripened mango fruits and fresh-cut ripe mangoes. Four kinds of rice bran were used: ordinary long-grain rice bran, Khao Dawk Mali 105 rice bran, and glutinous rice bran (Gor Kor 6) and Munpoo rice bran. All were extracted by ethanol 70%. Antifungal activity was tested using agar dilution methods. The extracts at 0, 100, 500, 1,000, 5,000 and 10,000 ml/L were used. It was found that the extracts from long-grain rice, Khao Dawk Mali 105, Gor Kor 6 and Munpoo rice. Started to inhibit *C. Gloeosporioides* at 5,000 ml/L with the inhibition activities of 19.40, 17.54, 25.81 and 26.05 %, respectively. This finding would be useful for further investigation into the usage of natural antifungal compounds for fresh-cut fruit industry.

Keywords: rice bran extract, antifungal, postharvest decay

บทคัดย่อ

รำข้าวเป็นผลพลอยได้จากการสีข้าวซึ่งในแต่ละปีมีปริมาณมาก มีรายงานวิจัยจำนวนมากที่กล่าวว่ารำข้าวมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ได้ แต่ยังไม่พบรายงานที่กล่าวถึงฤทธิ์การต้านราของรำข้าวที่มีต่อจุลินทรีย์ที่ทำให้ผลไม้หลังการเก็บเกี่ยวเน่าเสีย การทดลองนี้จึงศึกษาประสิทธิภาพการต้านราของสารสกัดจากรำข้าวต่อราสำคัญที่ทำให้ผลไม้เน่าเสีย โดยใช้ *Colletotrichum gloeosporioides* ที่แยกได้จากผิวของผลมะม่วงสุกสดและชิ้นมะม่วงสดตัดแต่งในการศึกษา ใช้รำข้าวสี่ชนิดคือรำข้าวเจ้า รำข้าวขาวดอกมะลิ 105 รำข้าวเหนียว กข 6 และ รำข้าวมันปู สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 70 ศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งด้วยวิธี agar dilution แปรความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 0, 100, 500, 1,000, 5,000 และ 10,000 มิลลิกรัม/ลิตร ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดจากรำข้าวเจ้า รำข้าวขาวดอกมะลิ 105 รำข้าวเหนียว กข. 6 และรำข้าวมันปู สามารถยับยั้ง *C. gloeosporioides* ได้ที่ระดับความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 5,000 มิลลิกรัม/ลิตร โดยมีค่าเฉลี่ยของร้อยละของการยับยั้ง เป็น 19.40, 17.54, 25.81 และ 26.05 ตามลำดับ ผลจากการศึกษานี้เป็นประโยชน์ในการหาแนวทางการใช้เป็นสารกันราตามธรรมชาติสำหรับผลิตภัณฑ์ผลไม้สดตัดแต่งต่อไป

คำสำคัญ: สารสกัดจากรำข้าว, สารต้านรา, การเน่าเสียหลังการเก็บเกี่ยว

คำนำ

ข้าว (rice bran) เป็นที่รู้จักดีในประเทศที่ปลูกข้าวและบริโภคเป็นอาหารหลัก รำข้าวเป็นผลพลอยได้จากการสีข้าว โดยการสีครั้งแรกจะเป็นการกะเทาะเปลือกซึ่งจะได้แกลบ รำข้าว และข้าวกล้อง ข้าวกล้องจะถูกนำไปขัดให้ขาวอีกครั้งเพื่อผลิตเป็นข้าวสาร รำข้าว และปลายข้าว ปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์ให้ความสนใจสารประกอบฟีนอลมากขึ้นเนื่องจากมีคุณสมบัติเป็นสารฆ่าเชื้อ สารกันเหี่ยว ป้องกันการติดเชื้อ ป้องกันการเกิดเนื้องอกและมะเร็ง ธัญพืชมีองค์ประกอบในกลุ่มของกรดฟีนอลิกหลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มของหมู่กรดเบนโซอิกและซินนามิก (benzoic and cinnamic acids series) ชั้นเปลือกนอกของเมล็ดธัญพืช (husk) เปลือกชั้นใน (pericarp) เทสตาและแอลิวโรน (testa and aleurone) มีสารประกอบ

¹ ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหารและโภชนศาสตร์ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อ.กันทรวิชัย จ.มหาสารคาม 44150

¹ Department of Food Technology, Mahasarakham University, Kantharawichai district, Mahasarakham 44150

ฟีนอลทั้งหมดมากกว่าในส่วนของชั้นเอนโดสเปิร์ม (endosperm layers) ในข้าว พบเป็นกลุ่มกรดพาราไฮดรอกซีเบนโซอิกและโพรโตคาเทชอิก (p - hydroxybenzoic and protocatechuic acids) (ศุภวรรณ และคณะ, 2543) ในพืชสารประกอบฟีนอลนี้เป็นผลพลอยได้จากกระบวนการเมทาบอลิซึมของเซลล์พืช ซึ่งพืชสร้างโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อต้านทานโรคและการรบกวนจากภายนอก จึงมีคุณสมบัติต้านจุลินทรีย์ได้ เช่นสารประกอบฟีนอลที่สกัดจากเมล็ดของมะม่วงมีคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรียชนิดแกรมลบ ได้แก่ *Escherichia coli*. และ *Salmonella* spp. (พงศธร และคณะ, 2551) ปัจจุบันมะม่วงไทยมีแนวโน้มที่จะได้รับความนิยมในรูปผลิตภัณฑ์สดตัดแต่ง (fresh-cut product) มากขึ้นในต่างประเทศ แต่มีก่อบริการปัญหาความไม่สม่ำเสมอของคุณภาพและการเสื่อมเสียง่ายมีจุลินทรีย์ที่ผิวผลมากและการปนเปื้อนเข้าสู่ผลิตภัณฑ์ เช่นรา *C. gloeosporioides* การจะใช้สารเคมีควบคุมราโรคพืชกับผลิตภัณฑ์สดตัดแต่งก่อให้เกิดการไม่ยอมรับของผู้บริโภคและกระทบต่อการส่งออก ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาวิธีการลดการสูญเสียที่จะเกิดขึ้นดังกล่าว โดยนำสารสกัดจากธรรมชาติ ได้แก่ รำข้าว ซึ่งเป็นส่วนเหลือใช้หลังการสีข้าวมาสกัดเพื่อยับยั้งการเจริญของราที่ก่อให้เกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยวของผลไม้ ซึ่งจะเป็นแนวทางในการผลิตและพัฒนาเพื่อใช้กับผลิตภัณฑ์ผลไม้สดตัดแต่งต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

ราที่ใช้สำหรับงานวิจัยนี้ คือ *C. Gloeosporioides* ที่แยกได้จากผลมะม่วงสุกและมะม่วงสดตัดแต่งของงานวิจัยก่อนหน้านี้ทำการแยกและพิสูจน์ตามวิธีของ Koch's postulation (ไฟโรจัน, 2522) นำราที่พิสูจน์ได้แล้วมาเลี้ยงบนอาหาร PDA เพื่อเก็บเป็น stock culture ไว้ทำการทดลองในขั้นต่อไป รำข้าวที่ใช้คือรำข้าวเจ้าผสมที่ได้จากโรงสีในอำเภอชุมแพ จังหวัดขอนแก่น รำข้าวขาวดอกมะลิ 105 รำข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 และรำข้าวมันญู ได้จากการนำข้าวเปลือกจากโรงสีในจังหวัดร้อยเอ็ด กาฬสินธุ์และมหาสารคามตามลำดับ มาสีเพื่อให้ได้รำด้วยเครื่องสีข้าวของภาควิเศษ ทำการร่อนรำข้าวผ่านตะแกรงขนาด 60 mesh นำไปให้ความร้อนที่ 100 °C นาน 15 นาที เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส สกัดสารสกัดจากรำข้าวโดยการดัดแปลงวิธีการของ Butsat and Siriamonpun (2010) สกัดรำข้าวและแกลบด้วยเอทานอลร้อยละ 70 (1 : 10 w / v) เป็นเวลา 24 ชั่วโมงโดยกวนอย่างสม่ำเสมอจากนั้น ระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 °C

ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดรำข้าวและแกลบในการต้านการเจริญของราด้วยวิธี agar dilution โดยเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (Difco, USA) ที่ผสมสารสกัดโดยให้ความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้ทดสอบคือ 0, 100, 500, 1000, 5,000 10,000 และ 20,000 มิลลิกรัม/ลิตร วางแผ่นเส้นใย (mycelial disc) ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร ที่กลางจานอาหาร บ่มที่ 25 °C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง แล้ววัดเส้นผ่านศูนย์กลางของ mycelial disc ของรากับบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วนำไปคำนวณเป็นร้อยละการยับยั้งการเจริญของรา (อนุวัฒน์, 2545) ใช้ เอทานอลร้อยละ 70 ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/ลิตร และกรดเบนโซอิกเป็นชุดควบคุม ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

การคำนวณร้อยละการยับยั้งการเจริญ

$$\text{ร้อยละการยับยั้ง} = \frac{(A - B)}{A} \times 100$$

A

A คือ ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีรากับบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อชุดควบคุม

B คือ ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีรากับบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัด

ผลและวิจารณ์

สารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดรำข้าวชนิดต่างๆ มีประสิทธิภาพในการต้าน *C. Gloeosporioides* ได้ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 5,000 มิลลิกรัม/ลิตร เมื่อศึกษาร้อยละของการยับยั้งราได้ พบว่าชุดควบคุมเอทานอลร้อยละ 70 (negative control) ไม่สามารถยับยั้งราได้ ส่วนการใช้กรดเบนโซอิกที่ความเข้มข้นที่แนะนำให้ใช้ในอาหารสำเร็จรูปนั้นสามารถยับยั้ง *C. gloeosporioides* ได้ร้อยละ 68.54 ± 0.54 ซึ่งหากต้องการให้ยับยั้งมากกว่านี้อาจต้องใช้ความเข้มข้นที่สูงขึ้น ระดับความเข้มข้นเริ่มต้นที่ 5,000 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของรานี้ได้ พบว่าสารสกัดจากรำข้าวแต่ละชนิดให้ผลการยับยั้งแตกต่างกัน (Table 1) โดยมีค่าเฉลี่ยของร้อยละของการยับยั้ง เป็น 19.40 ± 0.63 , 17.54 ± 2.54 , 25.81 ± 0.36 และ 26.05 ± 0.52 ตามลำดับ

Table 1 The antifungal effects of all the rice bran extracts against *C. gloeosporioides*. Data are the means \pm standard deviation of three replicates.

Concentration (ml/L)	Inhibition zone (mm)			
	B02	B04	B09	B18
5,000	19.40 \pm 0.63 ^{aAB}	17.54 \pm 2.54 ^{aA}	25.81 \pm 0.36 ^{aB}	26.05 \pm 0.52 ^{aB}
5,500	19.96 \pm 0.25 ^{aA}	23.58 \pm 0.25 ^{bA}	33.08 \pm 0.82 ^{bB}	35.27 \pm 0.23 ^{bB}
10,000	22.40 \pm 0.12 ^{abA}	22.50 \pm 0.83 ^{bA}	44.72 \pm 4.74 ^{cB}	41.09 \pm 1.20 ^{cB}
15,000	36.20 \pm 0.99 ^{bB}	30.54 \pm 1.20 ^{cA}	46.90 \pm 0.92 ^{cC}	52.36 \pm 0.95 ^{dD}
20,000	39.33 \pm 0.85 ^{bA}	36.52 \pm 2.00 ^{cA}	49.55 \pm 0.84 ^{cdB}	56.00 \pm 0.33 ^{dD}

Data with different letters (a b c.. within column; A B C.. within row) are significantly different at 5% level according to Duncan's new multiple range test.

พบว่าถ้าความเข้มข้นสารสกัดเพิ่มขึ้นความสามารถในการต้านการเจริญของราจะเพิ่มขึ้นด้วย เมื่อทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการต้านราระหว่างชนิดของรำข้าวพบว่า ที่ความเข้มข้นเดียวกันสารสกัดรำข้าวเหนียว กข 6 และรำข้าวมันปู สามารถยับยั้ง *C. gloeosporioides* ได้มากกว่ารำข้าวเจ้าทั้ง 2 ชนิด ที่ความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 15,000 และ 20,000 มิลลิกรัม/ลิตร มีประสิทธิภาพการยับยั้งที่ไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) ที่ความเข้มข้นสูงสุดของการศึกษานี้คือ 20,000 มิลลิกรัม/ลิตร สารสกัดจากรำข้าวมันปูมีร้อยละของการยับยั้งรามากที่สุด รองมาคือสารสกัดจากรำข้าวเหนียว กข 6 สารสกัดจากรำข้าวเจ้า และสารสกัดจากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 โดยมีค่าเฉลี่ยของร้อยละของการยับยั้ง เป็น 56.0 \pm 0.33, 49.55 \pm 0.84, 36.52 \pm 2.00 และ 39.33 \pm 0.85 ตามลำดับ ซึ่งอาจเป็นเพราะในรำข้าวชนิดมีสีและรำข้าวเหนียวมีปริมาณสารประกอบฟีนอลมากกว่ารำข้าวเจ้า (Nakornriab and Srihanam, 2010) ที่ความเข้มข้นของสารสกัดตั้งแต่ 20,000 มิลลิกรัม/ลิตร ขึ้นไปพบปัญหาการละลายของสารสกัดในอาหารเลี้ยงเชื้อจึงทำให้ผลการยับยั้งลดลง โดยอาจต้องเปลี่ยนวิธีการศึกษาเพื่อหาความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งราได้ทั้งหมด

สรุป

สารสกัดหยาบจากรำข้าวเจ้า รำข้าวขาวดอกมะลิ 105 รำข้าวเหนียว กข 6 และรำข้าวมันปู มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *C. gloeosporioides* ที่แยกได้โดยสามารถเริ่มยับยั้งได้ที่ความเข้มข้น 5,000 มิลลิกรัม/ลิตร ความเข้มข้นสารสกัดเพิ่มขึ้น ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของราเพิ่มขึ้น และสารสกัดจากรำข้าวเหนียว กข 6 และสกัดจากรำข้าวมันปูมีฤทธิ์ในการต้านรามากกว่าสารสกัดจากรำข้าวเจ้าทั้ง 2 ชนิด

คำขอบคุณ

งบประมาณบางส่วน of โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากมูลนิธิโทเรส่งเสริมวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย

เอกสารอ้างอิง

- พงศธร ล้อสุวรรณ, จิตศิริ ราชตะนะพันธุ์ และศศิธร จันทร์วางกูร. 2550. สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และการต้านจุลินทรีย์ของเปลือกผลไม้. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ไพโรจน์ จ่างพานิช. 2525. หลัทธิวิชาโรคพืช. กรุงเทพฯ : บริษัทสื่อสารมวลชนจำกัด.
- ศุภวรรณ ถาวรชินสมบัติ, จินตนา ศรีมุข และ ปฎิมากร พะสุวรรณ. 2543. การใช้ประโยชน์จากเปลือกข้าว (แกลบ) เพื่อสกัดสารกันเหินจากธรรมชาติ. รายงานการวิจัย ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- อนุวัฒน์ จรัสรัตน์ไพบูลย์. 2545. ผลของสารสกัดหยาบจากข้าวต่อโรคแอนแทรกซ์และการเจริญเติบโตของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- Butsat, S. and S. Siriamonpun. 2010. Antioxidant capacities and phenolic compounds of the husk, bran and endosperm of Thai rice. Food Chemistry 119: 606 – 613.
- Nakornriab, N. and P. Srihanam. 2010. Study on total phenolic contents and their antioxidant activities of Thai white, red and black rice bran extracts. Pakistan Journal of Biological Sciences 13(4) : 170-174.