Agricultural Sci. J. 34 : 4-6 (Suppl.) : 57-60 (2003) ว. วิทย. กษ. 34 : 4-6 (พิเศษ) : 57-60 (2546)

ฤทธิ์ต่อต้านเชื้อราของสารสกัดเปลือกมะม่วงที่ได้จากพันธุ์ต่าง ๆ ทั้งก่อนและหลังเก็บเกี่ยว

Antifungal of an Extract from Mango Peels of Different Mango Cultivars Both Pre- and Post Harvest

บุญญวดี จิระวุฒิ[1] และ สมศิริ แสงโชติ[1]
Boonyawadee chirawut[1] and Somsiri Sangchote[1]

Abstract

Extracts from mango peels of mango both pre (15 days before postharvest) and post harvest of mango cultivars : Khiew Sawoey, Chock Anon, Tong Dom, Nom Dok Mai, Rad, Nang Klangwan, were obtained by using ethanol–dichloromethane as an extractant and then, partially purified with thin–layer chromatography using haxan : ethyl–acetate : methanol (60:40:1) as solvents. These extracts were tested for their inhibition on the growth both of *Cladosporium* sp. and *Colletotrichum gloeosporioides*. It indicated that these extracts produced four bands of inhibition at Rf of 0.06, 0.20, 0.65 and 0.74 of *Cladosporium* sp. and four bands of inhibition at Rf of 0.21, 0.65, 0.76 and 0.90 of *C. gloeosporioides*. These inhibition bands also showed the same on extracts obtained from mango peel cv. Nam Dok Mai from 1-9 days after harvest. The highest inhibition was obtained at Rf 0.65.

บทคัดย่อ

การทดสอบสารสกัดที่ได้จากเปลือกมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย โชคอนันต์ ทองดำ น้ำดอกไม้ แรด และหนังกลางวัน ระยะก่อนเก็บเกี่ยว 15 วัน และหลังเก็บเกี่ยว โดยการสกัดด้วย ethanol–dichloromethane แล้วแยกสารสกัดให้กึ่งบริสุทธิ์ด้วย thin–layer chromatography (TLC) โดยใช้ตัวทำละลาย คือ haxane : ethyl-acetate : methanol (60:40:1 v/v) และตรวจสอบประสิทธิภาพของสารที่สกัด พบว่าสารสกัดจากเปลือกมะม่วงพันธุ์ต่างๆ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Cladosporium* sp. มี 4 แถบ ที่ Rf เฉลี่ย 0.06 0.20 0.65 และ 0.74 และยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* มี 4 แถบ ที่ Rf เฉลี่ย 0.21 0.65 0.76 และ 0.90 เมื่อสกัดสารจากเปลือกมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวตั้งแต่วันที่เก็บเกี่ยวจนถึงวันที่ 9 หลังการเก็บเกี่ยว พบแถบสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Cladosporium* sp. มี 3 แถบ ที่ Rf เฉลี่ย 0.06 0.20 และ 0.65 โดยแถบที่ระดับ Rf 0.65 มีความสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด

คำนำ

โรคแอนแทรคโนสของมะม่วงเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ซึ่งเป็นเชื้อราที่เข้าทำลายผลมะม่วงได้ตั้งแต่อยู่ในสวน เมื่อสปอร์สัมผัสกับผิวผล สปอร์จะงอกและแทงผ่านเข้าไปทาง lenticels หลังจากนั้นก็จะมีการสร้าง appressoria บริเวณ cuticle ของผล ส่วนของเส้นใยก็จะอยู่แบบแฝงบริเวณ intercellular จนกระทั่งระยะเก็บเกี่ยวและผลสุก ในระหว่างผลสุกเชื้อราสามารถเจริญต่อไปได้ ผลก็จะแสดงอาการของโรค ซึ่งจะพบว่าระยะหลังการเก็บเกี่ยวผลมะม่วงมีการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาและสารในผลทำให้เชื้อราสามารถเจริญได้ Droby *et al.* (1986) ศึกษาสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราที่อยู่ในผิวมะม่วง (preformed antifungal compound) คือสาร 5-substituted resorcinol ที่แยกจากผิวมะม่วง พบว่ามีความเข้มข้นสูงในผลมะม่วงก่อนเก็บเกี่ยว จะลดลงในระยะหลังเก็บเกี่ยว และจะแสดงอาการของโรคในเวลาต่อมา งานวิจัยครั้งนี้ทำการศึกษาสารยับยั้งการเจริญของเชื้อราในเปลือกมะม่วงพันธุ์ต่างๆ ก่อนและหลังเก็บเกี่ยวและมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวตั้งแต่วันที่เก็บเกี่ยวจนถึงวันที่ 9

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากเปลือกมะม่วงพันธุ์ต่างๆ

1.1 วิธีการสกัดสาร (Droby *et al*., 1986)

ผลมะม่วงในระยะก่อนเก็บเกี่ยว 15 วัน และหลังการเก็บเกี่ยว พันธุ์ต่างๆ คือ เขียวเสวย โชคอนันต์ ทองดำ น้ำดอกไม้ แรด และหนังกลางวัน เก็บจากสถาบันวิจัยพืชไร่จังหวัดสุพรรณบุรี

[1] ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
[1] Department of Plant Pathology. Faculty of Agriculture, Kasetsart Univesity.

ปอกเปลือกมะม่วงหนา 1–2 mm แช่ใน ethanol 95% (150 ml ต่อ 50 g น้ำหนักสดของเปลือกมะม่วง) บดให้ละเอียดแล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 เพื่อกรองตะกอนออก นำสารที่ได้ไประเหยด้วยเครื่อง Rotary evaporator โดยใช้อุณหภูมิ water bath 40 °ซ. ให้เหลือปริมาตร 1 ใน 3 ของปริมาตรเดิม นำสารที่เหลือไปทำการแยกสาร โดยการเติม dichloromethane ในปริมาตรที่เท่ากัน ในกรวยแยก เขย่าให้เข้ากัน แล้วปล่อยทิ้งไว้จนสารแยกออกเป็น 2 ชั้น แยกเอาส่วนของ dichloromethane ที่มีสารสกัดอยู่ชั้นล่างออกมา (ทำซ้ำอีกครั้ง) นำสารสกัดที่ได้มาเติม $MgSO_4$ เพื่อดูดเอาส่วนของน้ำออก แล้วกรอง $MgSO_4$ ออกด้วยกระดาษกรอง ทำการระเหยสารด้วยเครื่อง Rotary evaporator จนแห้ง ใช้ dichloromethane ปริมาณเล็กน้อยละลายสารที่ได้ ดูดใส่ขวดขนาดเล็ก นำไปทำให้แห้งโดยการเป่าด้วยก๊าซไนโตรเจน

1.2 การแยกสารสกัดบน TLC

นำสารสกัดตัวอย่างมาละลายใน dichloromethane นำไปจุดลงบนแผ่น TLC plate โดยใช้ capillary tube ปล่อยให้สารระเหยจนแห้ง นำ TLC plateไปใส่ในโถแก้วที่มีฝาปิดบรรจุสารละลายอิ่มตัวของสารผสม คือ haxane : ethyl-acetate : methanol (60:40:1 v/v) ทิ้งไว้ให้ตัวทำละลายเคลื่อนที่จนถึงจุดที่กำหนด นำแผ่น TLC ออกจากโถแก้ว ทิ้งไว้จนสารละลายระเหยไปหมด

1.3 การตรวจสอบสารสกัดโดยวิธี TLC-bioassay

นำแผ่น TLC ที่แยกสารสกัดแล้ว มาตรวจสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโดยใช้เชื้อรา *Cladosporium* sp. และ *C. gloeosporioides* เตรียม สารแขวนลอยสปอร์ (spore suspension) ของเชื้อราทั้ง 2 ชนิด นำมาฉีดพ่นลงบนแผ่น TLC ด้วยเครื่อง airbrust นำแผ่น TLC ไปไว้ในกล่องความชื้น ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1–2 วัน ตรวจบริเวณแถบที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา โดยบันทึกผลเป็นค่า Rf

2. การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากเปลือกมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว ตั้งแต่วันที่เก็บเกี่ยวจนถึงวันที่ 9 (วิธีการเช่นเดียวกับข้อ 1)

ผล

1. การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากเปลือกมะม่วงพันธุ์ต่างๆ

ตรวจสอบสารสกัดจากเปลือกมะม่วงพันธุ์ต่างๆ เพื่อหาสารที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Cladosporium* sp. และ *C. gloeosporioides* บนแผ่น TLC พบว่า มีแถบสารที่มีสารยับยั้งการเจริญของเชื้อรา 4 แถบสาร ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Cladosporium* sp. ที่ Rf เฉลี่ย 0.06 0.20 0.65 และ 0.74 (Table 1) และพบว่าแถบสารที่ Rf เฉลี่ย 0.06 พันธุ์โชคอนันต์มีแถบที่มีขนาดกว้างที่สุด แถบสารที่ Rf เฉลี่ย 0.20 และ 0.65 พันธุ์น้ำดอกไม้มีแถบที่มีขนาดกว้างที่สุด ส่วนแถบสารที่ Rf เฉลี่ย 0.74 จะพบในทุกพันธุ์ยกเว้นพันธุ์น้ำดอกไม้ แต่แถบสารจะไม่ชัดเจน (Figure 1) ส่วนประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่ Rf เฉลี่ย 0.21 0.65 0.76 และ 0.90 (Table 1) และพบว่าแถบสารที่ Rf เฉลี่ย 0.21 และ 0.65 พันธุ์น้ำดอกไม้มีแถบที่มีขนาดกว้างที่สุด ส่วนแถบสารที่ Rf เฉลี่ย 0.90 จะพบในทุกพันธุ์ แต่แถบสารจะไม่ชัดเจน (Figure 1)

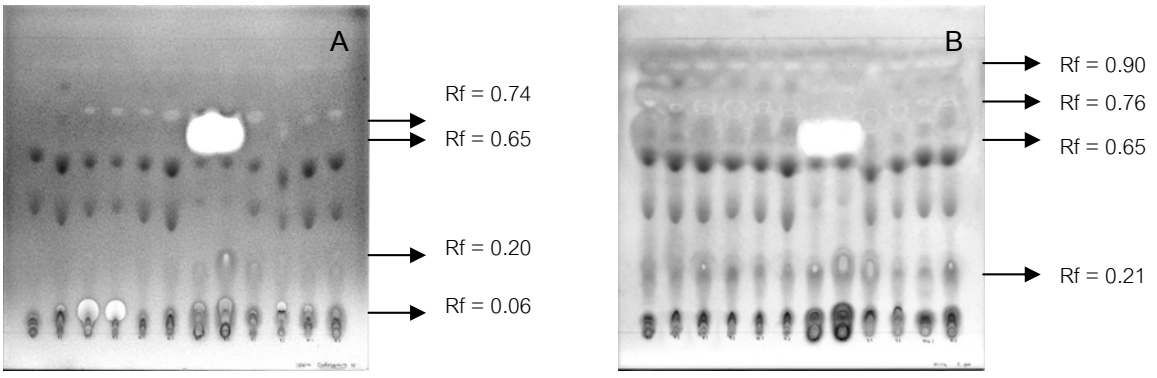

Figure 1 Bio-assay of crude extract from 6 cultivars on the inhibition growth of *Cladosporium* sp. (A) and *C. gloeosporioides* (B) on TLC plates. [Khiew Sawoey (pre), Khiew Sawoey (post), Chock Anon (pre), Chock Anon (post), Tong Dom (pre), Tong Dom (post), Nom Dok Mai (pre), Nom Dok Mai (post), Rad (pre), Rad (post), Nang Klangwan (pre) and Nang Klangwan (post), respectively from left to right].

Table 1 Bio-assay crude extract from peels pre and postharvest of 6 mango cultivars tested against *Cladosporium* sp. and *C. gloeosporioides*on on TLC plates.

cultivar	Pre/post	*Cladosporium* sp.				*C. gloeosporioides*			
		Rf = 0.06	Rf = 0.20	Rf = 0.65	Rf = 0.74	Rf = 0.21	Rf = 0.65	Rf = 0.76	Rf = 0.90
Khiew Sawoey	Pre	-	-	-	-	-	-	/	/
	Post	/	-	-	-	-	-	/	/
Chock Anon	Pre	/	-	-	/	/	-	-	/
	Post	/	-	-	/	-	-	-	/
Tong Dom	Pre	/	-	-	/	-	-	-	/
	Post	/	-	-	/	-	-	-	/
Nom Dok Mai	Pre	/	/	/	-	/	/	-	/
	Post	/	/	/	-	/	/	-	/
Rad	Pre	/	/	-	/	/	/	-	/
	Post	/	-	-	/	-	-	-	/
Nang Klangwan	Pre	/	-	-	/	-	-	-	/
	post	/	-	-	/	/	-	-	/

(/) inhibition zone

2. การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากเปลือกมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ก่อนและหลังเก็บเกี่ยว ตั้งแต่วันที่เก็บเกี่ยวจนถึงวันที่ 9

ผลการตรวจสอบสารสกัดจากมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวตั้งแต่วันที่เก็บเกี่ยวจนถึงวันที่ 9 เพื่อตรวจหาสารที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Cladosporium* sp บนแผ่น TLC พบว่า มีแถบสารที่มีสารยับยั้งการเจริญของเชื้อรา 3 แถบสาร ที่ Rf เฉลี่ย 0.06 0.20 และ 0.65 และพบว่าแถบที่ระดับ Rf 0.65 มีความสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด (Figure 2)

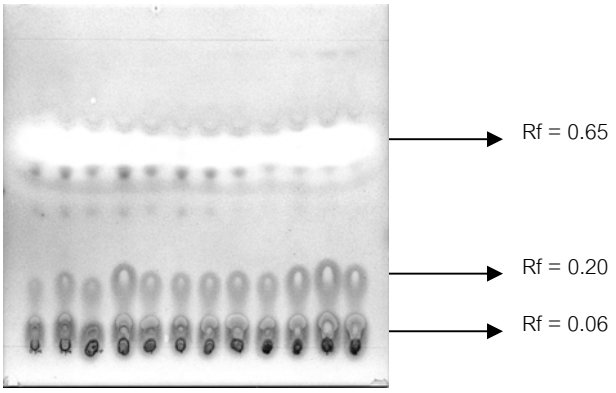

Figure 2 Bio-assay of crude extract from peels of Nam Dok Mai to inhibit the growth of *Cladosporium* sp. on TLC plate. [pre and postharvest (0-9 days after harvest) of Nam Dok Mai respectively from left to right)]

วิจารณ์และสรุป

สารสกัดจากเปลือกมะม่วงพันธุ์ต่างๆ พบสารที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Cladosporium* sp. และ *C. gloeosporioides* มีแถบสารที่มีสารยับยั้งการเจริญของเชื้อรา 4 แถบสาร (Figure 1 และ 2) และพบว่าประสิทธิภาพของสารสกัดในการยับยั้งเชื้อราทั้งสองชนิดนี้มีความแตกต่างกันในบางแถบสาร เช่น แถบสารที่ Rf เฉลี่ย 0.06 สามารถยับยั้งเชื้อรา *Cladosporium* sp. ในมะม่วงทุกพันธุ์ที่ทำการทดลอง แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ และในบางแถบสารมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราทั้งสองชนิดได้เหมือนกัน เช่น แถบสารที่ Rf เฉลี่ย 0.20 และ 0.65 ในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ เป็นต้น ในการตรวจผลการทดลองบน TLC ด้วยวิธี bioassay โดยใช้เชื้อรา *Cladosporium* sp. เพียงเชื้อเดียวอาจเกิดความผิดพลาดได้ จึงควรทำการตรวจสอบอีกครั้งด้วยเชื้อสาเหตุของโรค

แถบสารที่มีสารประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อราในมะม่วงพันธุ์ต่างๆ ใกล้เคียงกับการศึกษาของ นิพนธ์ (2539) พบแถบสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Cladosporium mangiferae* ได้ 4 แถบ คือ Rf เฉลี่ย 0.08 0.12 0.56 และ 0.65 ในสารสกัดมะม่วงสายพันธุ์ต่างๆ แต่ก็มีบางแถบสารจากการทดลองครั้งนี้แตกต่างจากนิพนธ์ (2539) คือ Rf เฉลี่ย 0.20 และ 0.74 อาจเนื่องมาจากขั้นตอนการสกัดสารที่แตกต่างกัน คือการใช้อุณหภูมิของ water bath 60 °ซ. (นิพนธ์, 2539) ส่วนพันธุ์โชคอนันต์ พบแถบสารที่ Rf เฉลี่ย 0.06 สามารถยับยั้งเชื้อราได้ดีที่สุดซึ่งตรงกับงานวิจัยของ Supyen (1998) ได้ทำการศึกษาพบว่ามีแถบสารที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Cladosporium cladosporioides* ได้ 3 แถบ คือ Rf 0.1-0.23 0.40-0.46 และ 0.66-0.70 และแถบสารที่ Rf 0.1-0.23 ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *C. cladosporioides* ได้ดีที่สุด และทำการวิเคราะห์ชนิดของสารโดยเทคนิค gas chromatography และ mass spectrometry (GC-MS) พบว่าเป็นสาร di-2-ethyl-hexyl phthalate แต่อย่างไรก็ตามเมื่อนำสารประกอบชนิดเดียวกันนี้จาก BDH company มาทดสอบ สารนี้ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้

สารสกัดที่ได้จากเปลือกมะม่วงพันธุ์น้ำดอกได้ พบแถบสารที่มีสารประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Cladosporium* sp. มี 3 แถบ ใกล้เคียงกับการศึกษาของสกลวัฒน์ซึ่งพบแถบสารที่มีสารประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา 2 แถบสาร คือ Rf 0.06-0.11 และ Rf 0.64-0.72 แต่ไม่พบแถบสารที่ Rf เฉลี่ย 0.20 อาจเนื่องมาจากขั้นตอนการสกัดสารที่แตกต่างกัน คือการใช้อุณหภูมิของ water bath 60 °ซ. (สกลวัฒน์, 2543)

จากการทดลองครั้งนี้ไม่พบสารในกลุ่ม resorcinol ที่มีรายงานไว้ว่าสาร resorcinol ที่พบบนแผ่น TLC ที่ค่า Rf 0.46 ซึ่งในการทดลองครั้งนี้ไม่พบการยับยั้งเชื้อราที่บริเวณค่า Rf ดังกล่าว

คำขอบคุณ

โครงการพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้การสนับสนุนการทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

นิพนธ์ วิสารทานนท์ สกลวัฒน์ โอสิริ ธิติมา วงษ์ชีรี และ ดวงพร วรสุนทรโรสถ. 2538. สารสกัดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อราจากเปลือกและเนื้อผลมะม่วงพันธุ์ต่างๆ 8 สายพันธุ์. น. 161-167. *ใน* เอกสารประชุมวิชาการ ครั้งที่ 34. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

สกลวัฒน์ โอสิริ. 2543. การควบคุมโรคผลเน่าของมะม่วงน้ำดอกไม้ด้วยการใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และผลการชักนำให้เกิดการยับยั้งการเข้าทำลายเชื้อรา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

Droby. S., D. Prusky, B. Jacoby and A. Goldman. 1986. Presence of antifungal compounds in the peel of mango fruits and their relation to latent infections of *Alternaria alternata*. Physiol. & Mol. Plant Pathol. 29: 173-183.

Supyen, D., N. Chairangai and V. Sardsud. 1998. Non-resorcinol antifungal compounds in Mango Peel. *In* Johnson, G.I. E. Highley and D. C. Joyce (eds.) Disease Resistance in Fruit. Australian Center for International Agricultural Research. Canberra. p.115-120.