



มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

รายงานฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพจากสารสกัดจากสะค้านและพลูในการยับยั้ง
การเจริญของเชื้อราบางชนิด

Inhibiterial efficacy of *Piper ribesoides* Wall. and *Piper betle* Linn. extracts
on fungal growth

โดย

ดร. ปิยะวดี เจริญวัฒน์นะ
น.ส. สุมนา ปานสมุทร

ลงทะเบียนวันที่	11 ก.พ. 2552
เลขทะเบียน	099460
เลขหมู่	วพ 8
หัวข้อเรื่อง	บท. 5 262 ก
	สารสกัดชีวภาพ

เสนอ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

รายงานวิจัยฉบับนี้เพื่อใช้ในการเสนอประกอบการได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจาก
งบประมาณเงินผลประโยชน์ปี 2550 หมวดเงินอุดหนุน
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	2
สารบัญตาราง	3
สารบัญภาพ	4
คำนำ	6
วัตถุประสงค์	7
การตรวจเอกสาร	8
อุปกรณ์และวิธีการ	17
ผลและวิจารณ์	20
สรุปผลการทดลอง	32
เอกสารอ้างอิง	33
ภาคผนวก	34

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ประสิทธิภาพเบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากสะค้านและพลูในตัวทำละลาย 5 ชนิด	21
2	การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) การยับยั้งการเจริญของเชื้อราด้วยโปรแกรม SPSS	24
3	การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยการยับยั้งการเจริญของเชื้อราด้วยสารสกัดในตัวทำละลาย 5 ชนิด ด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT)	25
4	การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยการยับยั้งการเจริญของเชื้อราด้วยสารสกัดที่ความเข้มข้น 5 ระดับ ด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT)	27
5	การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา 5 ชนิด ด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT)	29

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะโครงสร้างทางเคมีของสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่สามารถแยกได้จากพืชสกุล <i>Piper</i> spp.	10
2	ขั้นตอนในการเตรียมสารสกัดหยาบจากสะค้านและพลู	19
3	ผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>C. gloeosporioides</i> KUFC4636 ด้วยสารสกัดหยาบจากสะค้าน	21
4	ผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อด้วยสารสกัดหยาบพลูในอะซิโตน เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท และเมทานอล	22
5	ผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อด้วยสารสกัดหยาบพลูในตัวทำละลายชนิดต่างๆที่ระดับความเข้มข้น 100, 200, 300, 400, และ 500 mg/ml	23
6	การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยการยับยั้งการเจริญของเชื้อราด้วยสารสกัดในตัวทำละลาย 5 ชนิด	26
7	การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยการยับยั้งการเจริญของเชื้อราด้วยสารสกัดที่ความเข้มข้น 5 ระดับ	28
8	การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา 5 ชนิด	30
9	การยับยั้งของสารสกัดหยาบพลูในอะซิโตน เฮกเซน ไดคลอโร มีเทน เอทิลอะซิเตท และเมทานอลต่อการเจริญของเชื้อรา	31

บทคัดย่อ

จากการนำสารสกัดหยาบจากสะค้าน (*Piper ribesoides* Wall.) และพลู (*Piper betle* Linn.) สกัดด้วยตัวทำละลาย 5 ชนิด คือ อะซิโตน เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท และเมทานอล และทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่สำคัญ ได้แก่ *Aspergillus flavus* A748, *Aspergillus niger* KUFC4523, *Colletotrichum gloeosporioides* KUFC4636 และ *Penicillium* sp. KUFC 4420 โดยทำการทดสอบด้วยวิธี Paper Disc Diffusion พบว่าสารสกัดหยาบสะค้านในอะซิโตน และไดคลอโรมีเทน ให้ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อ *C. gloeosporioides* มีค่าเท่ากับ 2.3 และ 1.5 เซนติเมตร ส่วนสารสกัดหยาบจากพลูที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตท อะซิโตน และไดคลอโรมีเทน ที่ระดับความเข้มข้น 400-500 mg/ml พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. flavus*, *C. gloeosporioides* และ *Penicillium* sp. โดยให้ค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งเชื้อรา 2.25-2.55 เซนติเมตร ซึ่งประสิทธิภาพของสารสกัดพลูขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำละลายและความเข้มข้นของสารสกัด และอาจใช้สารสกัดจากพลูในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิดที่เข้าทำลายพืชและป็นเป็นในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรเพื่อทดแทนการใช้สารเคมีได้ต่อไป

คำสำคัญ: สะค้าน พลู การยับยั้งเชื้อรา แอฟลาทอกซิน

Abstract

Crude extracts from leaves of *Piper ribesoides* Wall. and *Piper betle* Linn. with five different solvents: acetone, hexane, dichloromethane, ethyl acetate and methanol as elution were tested for antifungal activity on *Aspergillus flavus* A748, *Aspergillus niger* KUFC4523, *Colletotrichum gloeosporioides* KUFC4636 and *Penicillium* sp. KUFC 4420 using Paper Disc Diffusion method. The crude extracts of *P. ribesoides* in acetone and dichloromethane could inhibit the growth of *C. gloeosporioides* which give the inhibition zone at 2.3 and 1.5 centimeters, respectively. The crude extracts of *P. betle* eluting with ethyl acetate dichloromethane and acetone were found predominantly on its efficiency in inhibit *A. flavus*, *C. gloeosporioides* and *Penicillium* sp. at the concentration of 400-500 mg/ml and give the inhibition zone of 2.25-2.55 centimeters. The effectiveness of inhibition zone of *P. betle* depends largely on the types and concentration of the extracts. These results suggest that the *P. betle* extracts can provide as alternative approach other than the fungicides in controlling various plant pathogenic fungi which contaminated in agricultural products.

Keywords: *Piper ribesoides* Wall., *Piper betle* Linn., antifungal activity, Aflatoxin

การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพจากสารสกัดจากสะค้านและพลูในการยับยั้ง
การเจริญของเชื้อราบางชนิด

Inhibiterial efficacy of *Piper ri bes soides* Wall. and *Piper betle* Linn. extracts
on fungal growth

คำนำ

ปัจจุบันมีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับพืชสมุนไพรเพื่อนำมาใช้ประโยชน์จากสารสกัดสมุนไพรหลายชนิดเพื่อใช้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ที่เป็นสาเหตุสำคัญในการก่อให้เกิดโรคในพืชหลายชนิดเพื่อทดแทนหรือหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีที่เกษตรกรใช้กันอยู่ในปัจจุบันและเป็นการลดการใช้สารเคมีให้มากที่สุดเนื่องจากสารเคมีเหล่านี้เป็นสารเคมีสังเคราะห์และเป็นวัตถุมีพิษเมื่อใช้กันมากจะทำให้มีการสะสมสารพิษในสิ่งแวดล้อมจนเป็นอันตรายต่อชีวิตและสุขภาพของมนุษย์ ดังนั้นจึงมีการนำพืชสมุนไพร เครื่องหอม พืชหอม วัชพืช หรือ พืชท้องถิ่นที่มีคุณสมบัติในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยเฉพาะโรคพืช ที่สามารถนำมาใช้อย่างปลอดภัยเนื่องจากสารที่มีอยู่ในพืชเป็นสารที่สลายตัวได้ง่ายมีความปลอดภัยอย่างสูงต่อผู้บริโภคและผู้ใช้ โดยจากการรายงานพบว่าสารสกัดสมุนไพรเหล่านี้มีผลในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิดที่ก่อให้เกิดปัญหาและทำลายทั้งด้านปริมาณและคุณภาพของผลผลิตในช่วงระยะการปลูก ระยะเก็บเกี่ยว ระยะตากแห้ง ระหว่างการขนส่ง และ ระหว่างการเก็บเกี่ยวถึงมือผู้บริโภค ถั่วลิสงจัดเป็นพืชที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงและเป็นแหล่งอาหารประเภทโปรตีนและพลังงาน แต่ข้อจำกัดที่สำคัญของถั่วลิสงคือการเกิดสารพิษขึ้นในเมล็ดถั่วลิสงที่เกิดจากเชื้อราที่เรียกว่า สารอะฟลาท็อกซิน โดยเชื้อราที่เป็นสาเหตุคือเชื้อราในกลุ่ม *Aspergillus* spp. ซึ่งสามารถผลิตสาร Aflatoxin ได้ และยังพบในเมล็ดธัญพืชต่างๆ เช่น ข้าว ข้าวโพด ข้าวฟ่าง และถั่วชนิดต่างๆ เมื่อคนหรือสัตว์กินเข้าไปจะก่อให้เกิดอาการผิดปกติขึ้นแก่เซลล์ของตับ ทำให้เกิดโรคตับและเป็นมะเร็งได้ อาการที่แสดงออกมาในลักษณะเจ็บพลงหรือเรื้อรังขึ้นกับปริมาณของสารพิษที่ได้รับ และสภาพของผู้ที่ได้รับสารพิษว่าจะมีความไวต่อพิษดังกล่าวเพียงใด สารอะฟลาท็อกซินเป็นสารพิษชนิดร้ายแรงที่เกิดขึ้นในธรรมชาติมีความทนทานต่อความร้อนถึง 260° C ดังนั้นในการหุงต้มจะไม่ทำลายพิษนี้ได้ นอกจากนี้เชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) Sacc ยังจัดเป็นเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคพืชที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งโดยเป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสในพืชผักและโรคหลังการเก็บเกี่ยวของไม้ผลหลายชนิดเช่น มะม่วง มะละกอ ชมพู ฝรั่ง เป็นต้น เชื้อจะเข้าทำลายตั้งแต่ระยะเจริญเติบโต ของ ใบ ดอก และผลตลอดจนการเก็บเกี่ยว ทำให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจเป็นอย่างมาก งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาเกี่ยวกับชนิดตัวทำลายที่เหมาะสมในการนำมาใช้สกัดสารจากสะค้านและพลู ตลอดจนการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดดังกล่าวในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่สำคัญบางชนิด เพื่อเป็นแนวทางในการนำไปใช้ในการประยุกต์ใช้ในการควบคุมโรคและการปนเปื้อนของเชื้อราในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารจากสะค่านและพลู
2. เพื่อทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากสะค่านและพลู ที่สามารถยับยั้งเชื้อราในกลุ่ม *Aspergillus* spp. และเชื้อราทางด้านโรคพืชบางชนิด
3. เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากสะค่านและพลูในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ