รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการ การใช้สารต้านทานธรรมชาติที่มีในยางของผลมะม่วงเพื่อป้องกันการเกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะม่วง

Application of Antifungal Compounds in Unripe Mango Latex to Prevention

Postharvest Disease of Mango Fruit

โดย ; วิลาวัลย์ คำปวน

พฤศจิกายน 2554

สัญญาเลขที่ MRG4980029

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การใช้สารต้านทานธรรมชาติที่มีในยางของผลมะม่วงเพื่อป้องกัน
การเกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะม่วง

วิลาวัลย์ คำปวน
สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย
และสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว.ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง การใช้สารต้านทานธรรมชาติที่มีในยางของผลมะม่วงเพื่อป้องกันการเกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะม่วง ได้รับการสนับสนุนจากทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่ ประจำปี 2549 โดย สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา (สกอ.) ผู้วิจัยขอขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ดนัย บุณยเกียรติ ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำตลอดการทำวิจัย

ขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์จำนงค์ อุทัยบุตร ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และคุณอรุณี ลิ่วเกียรติ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ช่วยให้คำแนะนำและสนับสนุนในการทำวิจัย และตรวจสอบบัญชีและการเงิน

และขอขอบคุณสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และคณาจารย์และนักศึกษาในห้องปฏิบัติการวิจัยสรีรวิทยาหลังการเก็บเกี่ยว ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาสาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่สนับสนุน และอำนวยความสะดวก ในการทำวิจัยจนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

วิลาวัลย์ คำปวน

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ MRG4980029

ชื่อโครงการ การใช้สารต้านทานธรรมชาติที่มีในยางของผลมะม่วงเพื่อป้องกันการเกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะม่วง

ชื่อนักวิจัย ; วิลาวัลย์ คำปวน

คำสำคัญ สารต้านทานการเจริญของเชื้อรา, ยางของผลมะม่วง, โรคหลังเก็บเกี่ยว, มะม่วง

จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า ยางของผลมะม่วงมีสารต้านทานธรรมชาติที่มีฤทธิต้านทานการเจริญของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporiodes* เชื้อสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วง ในการวิจัยนี้ได้แบ่งออกเป็น 5 การทดลองคือ การทดลองที่ 1 ศึกษาวิธีการเก็บ และวิธีการสกัดแยกหาสารต้านทานธรรมชาติที่มีในยางของผลมะม่วงด้วยวิธีการและตัวทำละลายชนิดต่างๆ การทดลองที่ 2 ตรวจสอบคุณสมบัติของสารที่มีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเชื้อราที่มีในยางของมะม่วง โดยวิเคราะห์แยกหาสารที่มีฤทธิ์ในการต้านทานการเจริญของเชื้อราจากสารสกัดหยาบของยางมะม่วงด้วยคอลัมน์โครมาโตกราฟฟีและก๊าซโครมาโตกราฟฟีแมสสเปก (GC-MS) และตรวจสอบคุณสมบัติทางกายภาพและเคมี การทดลองที่ 3 หาสายพันธุ์และระยะเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมของมะม่วงที่มีสารต้านทานการเจริญของเชื้อราในยางปริมาณมาก โดยใช้มะม่วงพันธุ์ที่มีมูลค่าทางเศรษกิจ 7 สายพันธุ์ การทดลองที่ 4 หาความสัมพันธ์ของปริมาณและคุณภาพของสารต้านทานการเจริญของเชื้อราที่มีในยางของมะม่วงต่อความอ่อนแอต่อโรคแอนแทรคโนสโดยทดสอบผลมะม่วงจำนวน 8 สายพันธุ์ การทดลองที่ 5 หาวิธีการที่เหมาะสมในการนำสารต้านทานการเจริญของเชื้อราที่สกัดได้จากยางของมะม่วงไปใช้ในการป้องกันโรคมะม่วงหลังการเก็บเกี่ยวด้วยวิธีการต่างๆ ผลการวิจัยพบว่า สารที่มีฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อราของยางมะม่วงอยู่ในส่วนที่ไม่ละลายน้ำ และไดคลอโรมีเทนเป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุดในการสกัดแยกสารต้านการเจริญของเชื้อราจากยางของมะม่วง เมื่นำสารสกัดหยาบที่ได้ไปวิเคาะห์องค์ประกอบด้วยคอลัมน์โครมาโตกราฟฟีและ GC-MS สามารถแยกออกเป็น 4 กลุ่มใหญ่ ๆ โดยมีสารในกลุ่ม น้ำมันหอมระเหยและกลุ่มอนุพันธุ์ของ resorcinol เป็นสารที่มีปริมาณมากที่สุด และมีฤทธิ์ในการต้านทานการเจริญของเชื้อรา ดังนั้นจึงสามารถนำสารสกัดหยาบจากยางของมะม่วงมาใช้ในการควบคุมโรคหลังเก็บเกี่ยวได้ทั้งหมด ระหว่างมะม่วง 7 สายพันธุ มะม่วงพันธุ์มหาชนกมีปริมาณของสารสกัดหยาบสูงสุด และมีมากที่สุดในช่วงระยะแก่ทางสรีรวิทยา นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณของสารสกัดหยาบในยางของมะม่วงมีความสัมพันธุ์กับความอ่อนแอต่อโรคแอนแทรคโนส โดยพบว่ามะม่วงพันธุ์แก้วซึ่งมีปริมาณสารสกัดหยาบสูงที่สุดจะมีความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสสูงที่สุด ส่วนมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มีปริมาณสารสกัดหยาบน้อยในยางที่สุดมีความอ่อนแอต่อโรคมากที่สุด โดยที่ปริมาณยางรวมไม่มีผลต่อการต้านทานโรคในผลมะม่วง เมื่อนำสารสกัดหยาบจากยางของมะม่วงไปใช้ในการป้องกันโรคหลังการเก็บเกี่ยวของมะม่วงด้วย พบว่า การผสมสารสกัดหยาบในสารเคลือบผิวใช้ในการเคลือบผิว และผสมสารสกัดหยาบในสารละลายเอทธานอลเพื่อแช่ผลมะม่วงนาน 5 นาทีที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส จะได้ผลในการลดการเกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยวดีที่สุด ถ้าใช้ทั้ง 2 วิธีร่วมกันน่าจะได้ผลดียิ่งขึ้นซึ่งต้องมีการศึกษาต่อไป

Abstract

Project Code : MRG4980029

Project Title : Application of Antifungal Compounds in Unripe Mango Latex to Prevention Postharvest Disease of Mango Fruit

Investigator : Wilawan Kumpoun

Key word : Antifungal compounds, mango latex, Postharvest disease, Mangoes

In the previous study, it was found that mango latex had antifungal compounds which inhibited *Colletotrichum gloeosporiode* the cause of Anthracnose disease in mango fruit. This present research has 5 experiments. The first experiment was finding a method for collection and extraction of antifungal compound fraction using various solvents. The second experiment was determined the antifungal chemical properties of antifungal compound from crude extracts of mango latex by Column Chromatography and Gas Chromatography Mass Spectrum (GC-MS). In addition, physical and chemical properties of each fraction was determined. The third experiment was finding the cultivars and maturity stage which have highest yield of antifungal compounds in the latex from seven cultivars. The fourth experiment was studying relationship between the amount of antifungal compound from crude extract and the susceptibility to anthracnose disease of eight cultivars of mango. The fifth experiment was to apply the appropriate method to use antifungal compound from mango latex to prevention postharvest disease of mango fruit. The results found that antifungal compounds in mango latex presented only in water insoluble fraction. Dichloromethane was the most suitable solvent for extraction water insoluble fraction. Column chromatography and GC-MS analysis indicated that there were 4 groups of compound in the crude extract. Essential and resorcinol derivative were two major compound found in the crude extract which have antifungal properties. Therefore, crude extract from mango latex extracted could be used for prevention postharvest disease of mango. Among 7 cultivars of mango, 'Mahajanaka' had the highest amount of crude extract and at mature green stage. Moreover, the results showed relationship between the amount of antifungal crude extracted and the susceptibility to anthracnose disease. The most tolerant cultivar 'Keaw' had the highest amount of crude extract. In other hand, the susceptible cultivar 'Nam Dok Mai' had the lowest amount of antifungal crude extract in the latex. Furthermore, the amount of total latex did not influence the prevention effect. The possibility method for apply antifungal compounds for prevention postharvest disease of mango was mixed with coating materials for coated mango fruit, dissolved in ethanol solution for dipping at 55 °C for 5 minutes. In conclusion, the high benefit for prevention postharvest disease of mango, dipping and coating should apply used together.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญภาพ	จ
สารบัญตาราง	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ทบทวนเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	8
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	17
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	58
เอกสารอ้างอิง	59

สารบัญภาพ

ภาพ **หน้า**

2.1 แถบสารบนแผ่น TLC ที่แยกจากสารสกัดหยาบจากชิ้นส่วนของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทอง 5

3.1 อุปกรณ์สำหรับเก็บยางของผลมะม่วง 8

4.1 ผลการทดสอบสารที่สกัดจากยางของผลมะม่วงดิบที่ละลายในน้ำกับการเจริญของเส้นใยของ *C.gloeosporioides* 19

4.2 ผลการทดสอบสารที่สกัดจากยางของผลมะม่วงดิบสกัดแยกส่วนที่ไม่ละลายน้ำกับการเจริญของเส้นใยของ *C.gloeosporioides* 19

4.3 แผ่น TLC เมื่อทดสอบ bioassay ด้วยเชื้อ C. gloeosporioides ของสารที่แยกสารสกัดหยาบของยางมะม่วงด้วยคอลัมน์โครมาโตกราฟฟีด้วยสารละลายตัวพา เฮกเซน : เอทิลอะซีเตท : เมทานอล ในอัตราส่วนต่าง ๆ 24

4.4 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบจากยางมะม่วงในส่วนที่ละลายในไดคลอโรมีเทน วิเคราะห์โดย UV-VIS spectrograph 26

4.5 โครมาโตแกรมของสารสกัดหยาบจากยางมะม่วง วิเคราะห์โดย GC-MS 27

4.6 โครมาโตแกรมของสารที่แยกได้ในส่วนที่ละลายใน 100 เปอร์เซ็นต์เฮกเซน จากการแยกสารสกัดหยาบจากยางมะม่วง วิเคราะห์โดย GC-MS 28

4.7 โครมาโตแกรมของสารที่แยกได้ในส่วนที่ละลายในเฮกเซน : เอทิลอซีเตท : เมทานอล อัตรา 60 : 40 : 0 จากการแยกสารสกัดหยาบจากยางมะม่วง วิเคราะห์โดย GC-MS 29

4.8 ปริมาณน้ำหนักแห้งของยาง ส่วนที่ละลายน้ำ และส่วนที่ละลายในไดคลอโรมีเทนของมะม่วงพันธุ์มหาชนกที่เก็บเกี่ยวที่ความแก่ต่าง ๆ 32

4.9 Thin Layer Chromatograph ส่วนที่ไม่ละลายน้ำของยางมะม่วงที่สกัดแยกจากยางของมะม่วงไทย 8 สายพันธุ์ 35

4.10 ขนาดของแผลที่ปลูกด้วยสปอร์ของเชื้อ *C.gloeosporioides* จำนวน 4×10^{5} สปอร์ต่อมิลลิลิตรบนผลมะม่วง 8 สายพันธุ์ เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 36

4.11 ผลมะม่วง 8 สายพันธุ์ หลังจากการปลูกด้วยสปอร์ของเชื้อ *C. gloeosporioides* จำนวน 4×10^{5} สปอร์ต่อ มิลลิลิตรบนผิวผล เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 10 วัน 37

4.12 ระดับของการเกิดโรคบนผลมะม่วงโดยการประเมินระหว่างการเก็บรักษามะม่วงไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 41

4.13 การสูญเสียน้ำหนักของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ระหว่างการเก็บรักษาหลังจากผ่านกรรมวิธีต่าง ๆ 42

4.14 ระดับของการเกิดโรคของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ระหว่างการเก็บรักษาหลังจากผ่านกรรมวิธีต่าง ๆ 44
4.15 การสูญเสียน้ำหนักของผลมะม่วงแต่ละวิธีการทดลองระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 47
4.16 ความรุนแรงของโรคบนผลมะม่วงแต่ละวิธีการทดลองระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 8 และ 12 วัน 48
4.17 สภาพมะม่วงพันธุ์เขียวมรกตของแต่ละกรรมวิธีการทดลองระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 12 วัน 49
4.18 ระดับของการเกิดโรคของมะม่วงจาก 2 สวน (Orchard 1= เชียงดาว, Orchard 2= พร้าว) ที่เคลือบด้วยสารเคลือบผิวชนิดต่างๆ ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน 51
4.19 เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของมะม่วงจากสวนที่ อ.เชียงดาว และอ.พร้าว จ.เชียงใหม่ที่เคลือบด้วยสารเคลือบผิวชนิดต่างๆ ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 52
4. 20 ความแน่นเนื้อของมะม่วงจากสวนที่ อ.เชียงดาวและอ.พร้าว จ.เชียงใหม่ ที่เคลือบด้วยสารเคลือบผิวชนิดต่างๆ ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 และ 12 วัน 53
4.21 ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ของมะม่วงที่ อ.เชียงดาว และอ.พร้าว จ.เชียงใหม่ที่เคลือบด้วยสารเคลือบผิวชนิดต่างๆ ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 และ 12 วัน 54
4.22 ปริมาณกรดที่ไตรเตรทได้ของมะม่วงที่ อ.เชียงดาว และอ.พร้าว จ.เชียงใหม่ ที่เคลือบด้วยสารเคลือบผิวชนิดต่างๆ ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 และ 12 วัน 55
4.23 มะม่วงน้ำดอกไม้จาก สวนอำเภอเชียงดาว ที่เคลือบด้วยสารเคลือบชนิดต่างๆ ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสนาน 10 วัน 56
4.24 มะม่วงน้ำดอกไม้จาก สวนอำเภอพร้าว ที่เคลือบด้วยสารเคลือบผิวชนิดต่างๆ ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสนาน 10 วัน 57

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า

4.1 ผลของการสกัดแยกสารที่ไม่ละลายน้ำและละลายน้ำในยางของมะม่วงด้วยสารละลายชนิดต่างๆ 18
4.2 ปริมาณและสีของสารที่แยกได้จากสารสกัดหยาบของยางมะม่วงพันธ์มหาชนกด้วยวิธี Column Chromatography 21
4.3 ผลการทดสอบการทำปฏิกิริยากับไอระเหยของไอโอดีนอิ่มตัวและทดสอบชีวะวิธีด้วย *C.gloeosporioides* ของสารที่แยกได้จากสารสกัดหยาบของยางมะม่วงด้วย Column Chromatography 22
4.4 ปริมาณสารที่ละลายในน้ำและไม่ละลายในน้ำที่สกัดแยกจากยางของมะม่วงพันธุ์ต่าง ๆ 30
4.5 ปริมาณน้ำหนักแห้งของยาง สารที่ละลายในน้ำ และไม่ละลายในน้ำที่สกัดแยกจากยางของมะม่วงพันธุ์มหาชนกที่ระยะความแก่ต่าง ๆ กัน 32
4.6 ปริมาณสารที่ละลายในน้ำและไม่ละลายในน้ำที่สกัดแยกจากยางของมะม่วงไทย 8 สายพันธุ์ 34
4.7 เปอร์เซ็นต์ของสารที่แยกด้วย GC-MS กลุ่มต่างๆ 4 กลุ่ม จากส่วนที่ไม่ละลายในน้ำที่สกัดแยกจากยางของมะม่วงไทย 8 สายพันธุ์ 35

บทที่ 1
บทนำ

มะม่วงเป็นผลไม้ชนิดหนึ่งที่มีการผลิตเป็นจำนวนมาก สามารถผลิตได้ในทุกพื้นที่ของประเทศไทยและได้มีการส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศ ซึ่งส่วนใหญ่ยังเป็นประเทศในแถบเอเชียเนื่องจากมะม่วงมีอายุการเก็บรักษาสั้น มีการสูญเสียหลังการเก็บเกี่ยวง่าย การสูญเสียหลังการเก็บเกี่ยวมีสาเหตุหลัก 2 ประการคือ การสูญเสียเนื่องจากการเสื่อมสภาพตามการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของผล และการสูญเสียเนื่องจากการถูกทำลายจากศัตรูภายนอก เช่น สัตว์ แมลง และเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุของโรคต่างๆ โรคแอนแทรกโนส เป็นโรคที่มีความสำคัญและก่อให้เกิดความสูญเสียสูงมากสำหรับมะม่วงที่ผลิตในประเทศไทย มีเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. เป็นเชื้อสาเหตุที่สำคัญ โดยเชื้อจะเข้าสู่ผลมะม่วงตั้งแต่ผลดิบแต่จะแสดงอาการของโรคเมื่อผลสุก ทำให้ยากต่อการควบคุมโรค ที่ผ่านมาได้มีการควบคุมโรคชนิดนี้โดยใช้สารเคมีที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อราหลายชนิดในการควบคุมโรคชนิดนี้ได้ผลดี แต่ไม่ได้รับการยอมรับในกรณีของมะม่วงที่ผลิตเพื่อการส่งออกไปจำหน่ายต่างประเทศ และในกรณีที่เป็นผลผลิตแบบเกษตรอินทรีย์ซึ่งไม่สามารถใช้สารเคมีในการควบคุมโรคได้ ที่ผ่านมาผู้วิจัยได้ศึกษาเกี่ยวกับสารต้านทานธรรมชาติที่มีในส่วนต่าง ๆ ของผลมะม่วงดิบพบว่าในส่วนของเปลือกและยางประกอบด้วยสารที่มีฤทธิในการต้านการเจริญของเชื้อราที่เป็นเชื้อสาเหตุของโรคหลังเก็บเกี่ยวของผลมะม่วงได้ แต่เป็นการทดสอบในการต่อต้านการเจริญของเชื้อราในห้องปฏิบัติการ ถ้ามีการศึกษาเพิ่มเติมให้ทราบถึงผลของสารต้านทานธรรมชาติที่มีในผลมะม่วงต่อการต้านทานเชื้อราในธรรมชาติได้ และหาวิธีในการนำไปใช้ให้มีประสิทธิภาพในการป้องกันโรคหลังเก็บเกี่ยว ก็สามารถนำเอาไปใช้เพื่อทดแทนสารเคมีได้ในเชิงพาณิชย์ต่อไป

หลังจากเก็บเกี่ยวผลมะม่วงจากต้นแล้ว ยางของผลมะม่วงเป็นของเสียที่เกษตรกรหรือผู้ประกอบการต้องกำจัดทิ้งก่อนที่จะนำไปล้างทำความสะอาด บรรจุในบรรจุภัณฑ์เพื่อการขนส่งจำหน่ายไปยังต่างประเทศ และการบ่มให้สุก การนำเอายางของผลมะม่วงมาสกัดหาสารที่มีฤทธิในการต้านการเจริญของเชื้อราสาเหตุของโรคแอนแทรกโนส เพื่อหาแนวทางในการนำไปใช้เพื่อป้องกันการเกิดโรคหลังเก็บเกี่ยวของผลมะม่วงจึงน่าจะเป็นประโยชน์ทั้งในการลดความสูญเสียหลังการเก็บเกี่ยวของมะม่วงให้มีอายุหลังการเก็บเกี่ยวนานขึ้น และยังเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับยางมะม่วงซึ่งเป็นสารที่ไม่ต้องการและต้องกำจัดทิ้ง การใช้สารธรรมชาติที่มีในยางในการป้องกันโรคน่าจะมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค และยังเป็นสารอินทรีย์ที่มาจากผลมะม่วงเองอีกด้วย ดังนั้นการวิจัยนี้จึงได้หาวิธีการสกัดสารที่มีฤทธิในการต้านการเจริญของเชื้อราที่สะดวก รวดเร็ว มีประสิทธิภาพ และแยกสารให้บริสุทธิ์ เพื่อนำไปตรวจสอบคุณสมบัติทางเคมี คุณสมบัติทางกายภาพ และสูตรโครงสร้างทางเคมี ตลอดจนหาแนวทางในการใช้ประโยชน์จากสารต้านทานเชื้อราที่มีในยางมะม่วงมาใช้ในการควบคุมการเกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะม่วง โดยสกัดสารนี้ในมะม่วงหลายสายพันธุ์ เพื่อหาพันธุ์ที่เหมาะสมสำหรับนำยางมาสกัดหาสารต้านทานเชื้อราธรรมชาติให้ได้จำนวนมากพอสำหรับนำมาใช้ในการป้องกันกำจัดโรคหลังเก็บเกี่ยวสำหรับผลมะม่วงพันธุ์ที่มีมูลค่าทางเศรษฐกิจสูงและอ่อนแอต่อโรค หรือการผลิตมะม่วงแบบเกษตรอินทรีย์ที่ไม่ใช้สารเคมีต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อหาคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของสารต้านทานเชื้อราธรรมชาติที่มีในยางของผลมะม่วง
2. พัฒนาวิธีการสกัด และการใช้สารต้านทานธรรมชาติที่มีในยางของผลมะม่วงเพื่อให้เกิดประโยชน์ในทางเศรษฐกิจ

บทที่ 2
ทบทวนเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

โรคแอนแทรกโนสบนผลมะม่วง

โรคแอนแทรกโนส เป็นโรคที่ทำความเสียหายต่อผลมะม่วงหลังจากเก็บเกี่ยวแล้วที่สำคัญมาก สาเหตุของโรคเกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับสภาพพื้นที่ปลูก มีรายงานพบว่ามะม่วงที่ปลูกในแถบเอเชีย เช่น ประเทศไทย ประเทศออสเตรเรีย มีเชื้อสาเหตุสำคัญของโรคคือเชื้อรา *Colectrotrichum gloeosporioides* (Johnson *et al*., 1991) ส่วนมะม่วงที่ปลูกในประเทศอิสราเอลพบว่าโรคแอนแทรกโนสเกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อรา *Alternaria alternata* (Cojocaru *et al*., 1986) จากรายงานต่าง ๆ พบว่ามีการตรวจพบเชื้อ *C. gloeosporioides* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุที่สามารถเข้าสู่พืช และทำความเสียหายในทุกส่วนของมะม่วง เช่น ใบ ก้าน ดอก และผล แต่จะแสดงอาการของโรคที่ใบ ช่อดอก ผลอ่อน และผลสุกหลังจากเก็บเกี่ยวแล้ว (Johnson *et al*., 1991) ลักษณะอาการของโรค บนช่อดอกจะพบแผลเป็นจุดสีดำเล็ก ๆ กระจายไปทั่ว และถ้าเป็นมากจะทำให้ช่อดอกแห้งเป็นสีน้ำตาล อาการบนผลอ่อนจะพบจุดสีดำเล็กๆ บนผลทำให้ผลร่วง ไม่พบอาการของโรคบนผลดิบขณะอยู่บนต้น แต่จะแสดงอาการบนผลสุกหลังจากเก็บเกี่ยวแล้ว ในระยะแรกจะพบแผลสีดำเป็นจุด ๆ กระจาย แผลจะลุกลามขยายขนาดออกจนติดกันและระยะสุดท้ายจะเกิด spore masses สีชมพู-ส้มขึ้นบนแผล (Johnson *et al*., 1991; Johnson *et al*., 1995)

สารต้านทานเชื้อราธรรมชาติที่พืชสร้างขึ้น

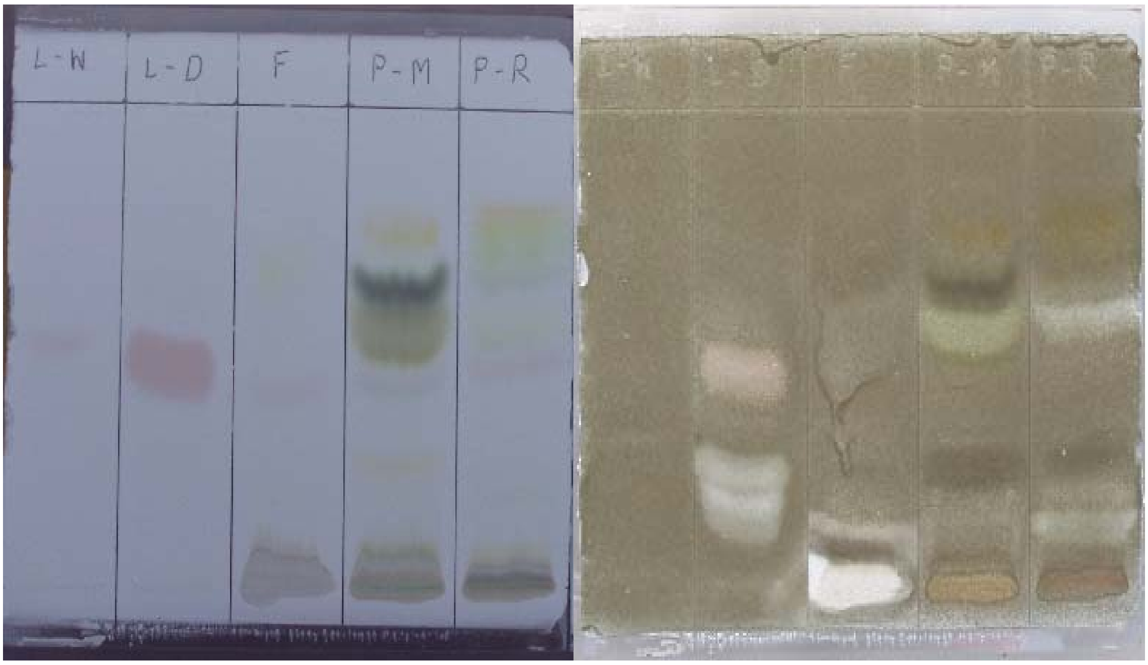
ปกติแล้วพืชจะสร้างกลไกต่าง ๆ เพื่อป้องกันตัวเองจากอันตรายต่าง ๆ เช่น พืชสร้างขนที่เซลล์ผิวชั้นนอก เช่น กีวีฟรุต พืชตระกูลแตงในระยะผลอ่อน สร้างเซลล์ผิวชั้นนอกให้มีความแข็ง เช่น พืชตระกูลแตง สร้างไขเพื่อเคลือบผิว เช่น ผลมะม่วง กล้วย ที่แก่จัด สร้างผนังที่หนาขึ้นเมื่อได้รับการอบหรือผึ่ง เช่น มันเทศ มันฝรั่ง ส้ม นอกจากนี้มีรายงานพบว่าพืชสร้างสารต้านทานธรรมชาติขึ้นหลังจากที่ถูกเชื้อสาเหตุของโรคเข้าทำลาย Prusky (1997) ได้รวบรวมกลไกของสารในธรรมชาติที่พืชสร้างขึ้นในการต้านการเจริญของเชื้อราดังนี้คือ ต้านการงอกของสปอร์ เช่น การสร้างไข ต้านการเข้าทำลายเซลล์โดยสร้างผนังเซลล์ให้หนาขึ้น ต้านการเพิ่มจำนวนแพร่ระบาด เช่น การสร้างสารเพื่อให้บาดแผลแห้ง และการสร้างสารที่เป็นภูมิคุ้มกัน Phytoalexins ภายในให้พืชต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อต่าง ๆ

จากการศึกษารายงานต่าง ๆ พบว่าในเปลือกของผลไม้ขณะที่ผลดิบประกอบด้วยสารที่มีฤทธิต้านการเจริญของเชื้อราสาเหตุของโรคหลังเก็บเกี่ยว เช่น มีรายงานพบว่าผลส้มที่ผ่านการผึ่งผิวหลังจากเก็บเกี่ยวแล้วจะมีผลต่อการต้านทานการเข้าทำลายของเชื้อโรคหลังเก็บเกี่ยวได้ (Ben-Yehoshua *et al*., 1988; Ben-Yehoshua *et al*., 1992; Prusky *et al*., 1983) Prusky *et al*., (1997) รายงานว่าพบสารต้านการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ในเปลือกของผลอโวกาโดดิบ จากรายงานของ Kumpoun *et al.* (1997) พบว่ามีสารที่มีฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อราในเปลือกผลส้มโอดิบที่ปลูกในประเทศไทย ซึ่งสามารถต้านทานการเจริญของเชื้อ *Cladosporium cladosporioides* . ในสภาพทดลองได้ นอกจากนี้ Cojocaru *et al*.

(1986) รายงานว่าในเปลือกของผลมะม่วงดิบมีสาร 5-(12-heptadecenyl)-resorcinol ซึ่งมีฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อ *Alternaria alternata* ที่เป็นเชื้อสาเหตุสำคัญของโรคแอนแทรคโนสในประเทศอิสราเอล สำหรับมะม่วงที่ปลูกในประเทศไทยพบว่าในเปลือกของผลมะม่วงดิบหลายสายพันธุ์มีสาร Resorcinol derivative อยู่จำนวนหนึ่ง (วิลาวัลย์ และคณะ 2536) แต่เมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อ *C. gloeosporioides* แล้วพบว่ามีผลยับยั้งเพียงเล็กน้อย แต่พบว่ามีสารอีกชนิดหนึ่งที่มีฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อ *C. gloeosporioides* ได้ดีกว่าสาร Resorcinol derivative สารชนิดนี้จะมีปริมาณลดลงมากเมื่อผลมะม่วงสุก (ระจิตร 2536; Kumpoun *et al*. 1998) และจากการศึกษาในมะม่วงหลาย ๆ สายพันธุ์ พบว่าในมะม่วงพันธุ์แก้วขณะผลดิบมีปริมาณสารชนิดนี้ในสารสกัดหยาบจากเปลือกสูงกว่าในพันธุ์อื่นๆ (วุฒิพงษ์ 2539) และมะม่วงพันธุ์แก้วมีความทนทานต่อโรคแอนแทรกโนสได้ดีกว่าพันธุ์อื่น ๆ

ส่วนประกอบของยางมะม่วง

ยางของผลมะม่วงจะถูกกำจัดออกก่อนที่จะนำผลมะม่วงไปบ่มให้สุก เนื่องจากยางจะทำให้ผลมะม่วงเปื้อนเลอเทอะ และมะม่วงบางพันธุ์ยางอาจทำลายผิวผลทำให้เกิดบาดแผลได้ และบางครั้งอาจทำให้ผิวหนังของคนที่แพ้ง่ายเกิดอาการการพุพองได้ Saby John *et al*. (1999) ได้วิเคราะห์หาส่วนประกอบของยางมะม่วงอินเดีย 7 สายพันธุ์ด้วยเครื่อง GC-MS รายงานว่า ยางของมะม่วงส่วนที่ไม่ละลายน้ำ ส่วนใหญ่ประกอบด้วย Monoterpene viz., ß-myrcene, *tran-*/*cis*-ocimene และ limonene ซึ่งแต่ละสายพันธุ์มีปริมาณของสารส่วนประกอบแตกต่างกัน นอกจากนี้ Saby John *et al*. (2003) ได้วิเคราะห์หาส่วนประกอบในส่วนที่ละลายน้ำของยางมะม่วง 4 สายพันธุ์ พบว่าส่วนใหญ่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรทที่ไม่สามารถ ผ่านเยื่อไดอาไลสิสได้ ที่ไม่อยู่ในรูปของแป้ง และยังพบเอนไซม์ Polyphenol oxidase และ peroxidase จากงานวิจัยของคณะผู้วิจัยที่ผ่านได้วิเคราะห์หาสารต้านการเจริญของเชื้อราจากส่วนต่าง ๆ ของผลมะม่วง พบว่ายางของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มีสารที่มีฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อ *C. gloeosporioides* มากกว่าในส่วนอื่น ๆ ของผล โดยเชื้อราไม่สามารถเจริญได้ในจุดที่มีสารต้านทานการเจริญของเชื้อรา (ภาพ 2.1) เมื่อตรวจสอบคุณสมบัติการดูดกลืนแสงของสารนี้พบว่าสารนี้น่าจะเป็นสารอนุพันธุ์ของเรสซอซินอล เช่นเดียวกับที่พบในเปลือกของผลมะม่วงดิบ (Kumpoun *et al*., 2005.) และจากรายงานของ Bandyopadhyay, *et al*. (1985) พบว่าในยางมะม่วงมีสาร 5[2(Z)-heptadecenyl]-resorcinol ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิทำให้เกิดอาการพุพองที่ผิวหนัง โดยน่าจะเป็นสารที่มีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเชื้อราในเปลือกและในยางของผลมะม่วงดิบ ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาถึงองค์ประกอบของยางในมะม่วงไทยสายพันธุ์ต่างๆ เพื่อให้ได้สารต้านทานธรรมชาติ เพื่อนำมาศึกษาส่วนประกอบ และหาแนวทางในการนำสารต้านทานเชื้อราที่มีในยางของผลมะม่วงไปใช้ให้เกิดประโยชน์ในการป้องกันการเข้าทำลายของโรคหลังเก็บเกี่ยวต่อไป



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

ภาพ 2.1 แถบสารบนแผ่น TLC ที่แยกจากสารสกัดหยาบจากชิ้นส่วนของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองได้แก่ ยางที่ละลายในน้ำ (1) ยางที่ละลายในไดคลอโรมีเทน (2) เนื้อจากผลดิบ (3) เปลือกจากผลดิบ (4) และเปลือกจากผลสุก (5) และแผ่น TLC ที่ถูกนำไปทดสอบหาสารที่มีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเชื้อรา ยางที่ละลายในน้ำ (6) ยางที่ละลายในไดคลอโรมีเทน (7) เนื้อจากผลดิบ (8) เปลือกจากผลดิบ (9) และเปลือกจากผลสุก (10) Kumpoun *et al.* (2005)

การป้องกันและกำจัดโรคมะม่วงหลังเก็บเกี่ยว

การป้องกันและกำจัดโรคหลังเก็บเกี่ยวบนผลมะม่วง มีหลายวิธีการได้แก่ การใช้ความร้อนซึ่งสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การใช้น้ำร้อน (hot water) ไอร้อน (heat vapor) และลมร้อน (hot air) จากการศึกษารายงานต่างๆ พบว่า จิรพรรณ และสมศิริ 2546 รายงานว่า conidia suspension ของเชื้อ *C. gloeosporioides* ที่จุ่มในน้ำร้อน 55 องศาเซลเซียสนาน 5 นาที ก่อให้เกิดโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วงเพียง 1.32 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เชื้อที่ไม่ถูกความร้อนก่อให้เกิดโรค 14.9 เปอร์เซ็นต์ ผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ที่จุ่มในน้ำร้อน 55 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที สามารถลดการเกิดโรคที่ผิว 80 เปอร์เซ็นต์ จากรายงานของ Jacobi and Giles (1997) ได้ทดสอบการอบไอน้ำและจุ่มน้ำร้อนต่อคุณภาพของผลมะม่วงพันธุ์ Kesington โดยผ่านไอน้ำร้อนจนกระทั่งผลมะม่วงมีอุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และผลมะม่วงที่จุ่มน้ำร้อนอุณหภูมิ 53 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ก่อนนำไปผ่านไอน้ำร้อนจนกระทั่งผลมะม่วงมีอุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 และ 10 วัน การให้ความร้อนมีผลทำให้

มะม่วงมีสีคล้ำขึ้น แต่ผลมะม่วงที่ผ่านไอน้ำร้อนจะเกิดจุดที่เลนติเซล (lenticel) และผิวมีสีน้ำตาล ผลมะม่วงที่ผ่านการจุ่มน้ำร้อนร่วมกับการผ่านไอน้ำร้อนจะให้คุณภาพดีที่สุด จากรายงานของปริยวรรณ และคณะ (2551) ได้เปรียบเทียบผลของผลของการแช่น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 5 นาทีสามารถลดการเกิดโรคแอนแทรคโนสได้ดีกว่าการอบไอน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 46 องสาเซลเซียส นาน 10 นาที การขัดผลมะม่วงขณะแช่ในน้ำร้อนสามารถช่วยลดการเกิดโรคในมะม่วงได้ จากรายงานของ Prusky *et al*. (1999) พบว่า การแปรงมะม่วงในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 56-64 องศาเซลเซียส นาน 15-20 วินาที สำหรับมะม่วงพันธุ์ Tommy Atkins สามารถลดการเข้าทำลายของโรคได้ดีกว่าการแช่ในน้ำร้อน 55 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที อุณหภูมิ 48 – 64 องศาเซลเซียส สำหรับมะม่วงพันธุ์ Keitt และ พันธุ์ Lilly ให้ผลไม่แตกต่างกันตั้งแต่อุณหภูมิ 48 – 60 องศาเซลเซียส สำหรับมะม่วงพันธุ์ Haden และสำหรับมะม่วงพันธุ์ Palmer และพันธุ์ Kent การขัดผลที่อุณหภูมิ 64 องศาเซลเซียส ให้ผลดีกว่าการแช่น้ำร้อน 55 องศาเซลเซียส เพียง 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับ รัมม์พันและคณะ (2554) ทดสอบผลของการแช่น้ำร้อน 53 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที และขัดล้าง 2 นาที ได้ผลในการควบคุมโรคหลังเก็บเกี่ยวได้ดีกว่าการอบไอน้ำที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียสนาน 20 นาที แต่การอบไอน้ำร้อนจะมีผลต่อการกำจัดไข่แมลงวันทองได้ดีกว่า วิทวัส และคณะ (2545) รายงานว่าการแช่น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 5 และ 10 นาที สามารถคุมโรคแอนแทรกโนสของมะม่วงพันธุ์มหาชนกได้ไม่แตกต่างกัน

การเคลือบผิวผลิตผลด้วยสารบางชนิดสามารถลดการสูญเสียน้ำ และลดอัตราการหายใจ ของผลิตผล นอกจากนี้ยังทำให้ผลิตผลเกิดความมันวาวสวยงาม และสามารถป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อจุลินทรีย์ได้อีกด้วย ปัจจุบันผลผลิตที่มีการใช้สารเคลือบผิวกันอย่างแพร่หลายและได้รับการยอมรับของผู้บริโภค ได้แก่ แอปเปิลและส้ม การใช้สารเคลือบผิวกับผลไม้จะสามารถลดอัตราแลกเปลี่ยนก๊าซ ทำให้ปริมาณออกซิเจนลดลงเนื่องจากถูกใช้ไปในขบวนการหายใจ และมีการสะสมของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ขึ้นภายในผล (ชลิต, 2540; Garcia *et al*., 1998; Chen and Nussionovitch, 2000; Diab *et al*., 2001) นอกจากนี้ Hagenmaier (2000) ได้รายงานว่าผลส้มที่เคลือบด้วยสารเคลือบผิวและเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิสูงมีอัตราการสะสมของคาร์บอนไดออกไซด์ในผลสูงและมีปริมาณออกซิเจนในผลลดลงมากกว่าผลส้มที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำ สารเคลือบผิวต่างชนิดกันและส่วนผสมของสารเคลือบผิวที่ใช้เคลือบแตกต่างกันมีผลต่ออัตราการแลกเปลี่ยนก๊าซภายในผลและภายนอกผล ซึ่งมีผลต่อชนิดหรือ สายพันธุ์ของผลไม้แตกต่างกัน (Hagenmaier and Baker, 1993; 1994a; 1994b) สารเคลือบผิวที่มีขายในท้องตลาดส่วนใหญ่ประกอบด้วยไขที่ได้มาจากพืช ได้แก่ carnaubar wax, ยางไม้ (resin) ไขจากสัตว์ ได้แก่ ขี้ผึ้ง ชีแล็ค ไคโตซาน สารเคลือบผิวที่ได้จากผลิตภัณฑ์ของปิโตรเลี่ยม ได้แก่ โพลี่เอทธิลีน โดยแต่ละชนิดมีคุณสมบัติในการยอมให้น้ำและก๊าซต่าง ๆ ซึมผ่านได้แตกต่างกัน จึงทำให้ผลส้มที่ผ่านการเคลือบผิวด้วยสารเคลือบผิวต่างชนิดกันมีคุณภาพระหว่างการเก็บรักษา และมีอายุการเก็บรักษาแตกต่างกัน (Hagenmaier and Baker, 1994 (a); (Hagenmaier and Baker, 1994 (b); Hargenmaier, 1999; Hargenmaier, 2002; Hargenmaier *et.al*, 2002) ได้มีรายงานการศึกษาการใช้สารเคลือบผิวที่สามารถบริโภคได้มาเคลือบผลิตผลชนิดต่าง ๆ เช่น Garcia *et al*. (1998) พบว่าการใช้แป้งข้าวโพดผสม sorbitol หรือ glycerol เป็นสารเคลือบผิว สามารถยืด

อายุการเก็บรักษาผลสตรอเบอร์รี่ Diab *et al.* (2001) พบว่าการใช้ Pullulan ซึ่งเป็น extracellular polysaccharide ผลิตโดย *Aureobasidium pullulans* ผสมกับ sorbitol และ sucrose fatty acid ester เป็นสารเคลือบผิว สามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลสตรอเบอร์รี่ และ กีวีฟรุต Chen and Nussinovitch (2000) ใช้ Xanthan และ locust bean gum เป็นสารเคลือบผิวของส้มเขียวหวาน ชลิต (2540) พบว่าการเคลือบผิวกล้วยไข่ด้วยน้ำมันถั่วลิสงสามารถยืดอายุการเก็บรักษาและการเกิดโรคได้แต่จะเหนียวติดผิวกล้วยไข่ ส่วนการใช้ Star-fresh สารละลายวุ้น แป้งข้าวเจ้า แป้งข้าวเหนียว แป้งถั่วเหลืองและแป้งข้าวโพด เมื่อแห้งแล้วจะมีลักษณะเป็นผงสีขาวติดอยู่ที่ผิวไม่สวยงาม และหลุดลุ่ยออกได้ง่าย Hoa and Ducamp (2008) รายงานว่าการเคลือบผลผลมะม่วงเวียตนามพันธุ์ cat Hoa loc ด้วยสารเคลือบผิวที่ประกอบด้วย carnauba และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง (27-31 องศาเซลเซียส) สามารถลดการสูญเสียน้ำ ส่วนผลมะม่วงที่เคลือบด้วยสารเคลือบผิวที่ประกอบด้วย soybean lecithin จะมีผลในการยืดอายุการเก็บรักษาได้นานกว่าวิธีอื่น 3 วัน วิทวัส และคณะ (2545) รายงานว่าการเคลือบผิวมะม่วงพันธุ์มหาชนกด้วยไคโตซาน 0.5 เปอร์เซนต์ หลังจากการแช่น้ำร้อนอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที สามารถลดการเกิดโรคแอนแทคโนสได้ดีที่สุด เช่นเดียวกับรายงานของ Prusky *et al.* (1999) ที่พบว่าการเคลือบผิวมะม่วงหลังจากการแช่น้ำร้อนสามารถลดการเกิดโรคได้ดีกว่าการแช่น้ำร้อนเพียงอย่างเดียว

การนำเอาสารต้านทานการเจริญของเชื้อราไปใช้ประโยชน์ในการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยว

วิธีการที่จะนำเอาสารต้านทานการเจริญของเชื้อราที่มีในยางของผลมะม่วง ซึ่งเป็นส่วนที่ไม่ละลายน้ำ ไปใช้ประโยชน์ในการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวนั้นค่อนข้างทำได้ยาก การเอาไปผสมในสารเคลือบผิวจึงเป็นวิธีที่น่าสนใจ จากการตรวจเอกสารรายงานต่างๆ พบว่า การผสมสารเคมีในสารเคลือบผิวสำหรับเคลือบผิวผลไม้ เช่น Imazalil ซึ่งเป็นสารเคมีที่ได้รับการอนุญาตให้ใช้ในการป้องกันโรคหลังเก็บเกี่ยว ถูกนำมาผสมในสารเคลือบผิวสำหรับเคลือบผลส้มที่ใช้ในทางการค้า สารต้านการเจริญของเชื้อราที่มีในยางของมะม่วงอยู่ในส่วนที่ไม่สามารถละลายน้ำได้ การนำมาใช้จำเป็นต้องละลายในตัวทำละลายเช่น เอทานอล ซึ่ง Gutierrez-Martinez *et al.* รายงานว่า การใช้เอทานอลความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับการให้ความร้อนที่ 50 องศาเซลเซียส สามารถลดการเข้าทำลายของเชื้อ *Pestalotia mangiferae* และเชื้อ *Curvularia lunata* ซึ่งเป็นเชื้อสำคัญที่ก่อให้เกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยวผลมะม่วงพันธุ์ Tommy Atkins ที่ปลูกในประเทศแม็กซิโก โดยที่ผลมะม่วงยังมีคุณภาพและการสุกปกติ การละลายสารที่มีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเชื้อราที่สกัดได้จากยางมะม่วงในเอทานอลร่วมกับการแช่น้ำร้อนน่าจะทำให้ลดการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุของโรคหลังเก็บเกี่ยวมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ใช้สำหรับทานผลสุก และมีการส่งออกในปริมาณมากได้ดี

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 หาวิธีเก็บยาง และวิธีการสกัดสารต้านทานการเจริญของเชื้อราในยางมะม่วง

1.1 ออกแบบอุปกรณ์ในการเก็บยางจากผลมะม่วง

จัดหาอุปกรณ์ และวิธีการในการเก็บยางของมะม่วงหลังจากเก็บเกี่ยวผลมะม่วงจากต้นแล้ว ที่สะดวกต่อการทำงาน ใช้พื้นที่น้อย และได้ปริมาณยางมะม่วงมากตลอดจนมีการปนเปื้อนน้อย โดยทำเป็นแกนสำหรับยึดผลมะม่วง มีที่สำหรับประดองผลมะม่วงด้วยห่วงเหล็กยึดติดกับแกนตั้ง มีส่วนยึดจับวัสดุที่รองรับยางมะม่วง (บีกเกอร์) และวางผลมะม่วงบนบีกเกอร์ และทำเป็นเซ็ตต่อขึ้นหลายชั้นได้ เพื่อการประหยัดพื้นที่ และสะดวกสำหรับการจัดการเปลี่ยนผลมะม่วง ดังแสดงในภาพ 3.1 การเก็บยางของผลมะม่วง จะเก็บเกี่ยวผลมะม่วงพร้อมก้านยาวประมาณ 5 เซนติเมตรจากแปลงปลูกของเกษตรกรในอำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ และขนส่งมายังห้องปฏิบัติการ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ตัดก้านผลมะม่วงบริเวณ 2-3 มิลลิเมตรจากขั้วผล แล้วรีบนำผลมะม่วงคว่ำลงบนบีกเกอร์อย่างรวดเร็ว วางผลมะม่วงจนกระทั่งยางหยุดไหล (ประมาณ 5 นาที) จึงเก็บเอาผลมะม่วงออกและเปลี่ยนผลใหม่ แล้วนำยางมารวมกัน

ภาพ 3.1 อุปกรณ์สำหรับเก็บยางของผลมะม่วง

1.2 หาวิธีการที่เหมาะสมในการสกัดหยาบ และตรวจหาสารที่มีฤทธิ์ในการต้านทานการเจริญของเชื้อราเหตุของโรคแอนแทรกโนสจากยางของผลมะม่วง

หาชนิดของตัวทำละลายและความเข้มข้นต่างๆ ในการสกัดสารที่มีฤทธิ์ในการต้านทานการเจริญของเชื้อราจากยางของมะม่วงที่ได้จาก 1.1 โดยทำการสกัดที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) โดยใช้ตัวทำละลายต่างๆ ดังนี้

- สารละลายเอทธานอล 70 เปอร์เซ็นต์
- สารละลายเอทธานอล 95 เปอร์เซ็นต์
- เอทธิลอะซีเตท 100 เปอร์เซ็นต์
- เฮกเซน 100 เปอร์เซ็นต์
- ไดคลอโรมีเทน 100 เปอร์เซ็นต์

การแยกสารที่มีฤทธิในการต้านการเจริญของเชื้อราด้วยการใช้กรวยแยก โดยนำเอายาง และตัวทำละลายเทลงในกรวยแยก อัตรายางต่อตัวทำละลาย 1 ต่อ 3 เขย่าประมาณ 1 นาที แล้ววางไว้ประมาณ 5 นาทีให้สารแยกออกจากกัน แล้วแยกสารละลายในแต่ละส่วนออกมา ให้นำสารที่สกัดได้ในแต่ละส่วนของตัวทำละลายไประเหยตัวทำละลายออกแล้วนำไปตรวจสอบหาคุณสมบัติในการต้านการเจริญของเชื้อ *C. gloeosporioides* โดยวิธี Bioassay

1.3 **การทดสอบคุณสมบัติในการต้านการเจริญของเชื้อ** *C. gloeosporioides* **โดยวิธี** Bioassay

การตรวจสอบหาคุณสมบัติในการต้านการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* มีวิธีการดังนี้

1. เตรียมสารแขวนลอยของสปอร์ โดย เลี้ยงเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) ที่หยด 25% lactic acid 2 – 3 หยดต่อจานก่อนเทอาหารหรือ Malt yeast extract agar (MYA) รอจนกระทั่งเชื้อสร้างกลุ่มสปอร์(spore masses) จำนวนมากบนอาหาร จึงนำมาเตรียมสารแขวนลอยของสปอร์ด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว โดยให้มีจำนวนสปอร์ไม่ต่ำกว่า 10^6spore/ml ตรวจนับจำนวนสปอร์ด้วย Hemacytometer

2. ตรวจดูฤทธิ์ของสารที่แยกได้ต่อการงอกของสปอร์ โดยนำสารที่ต้องการทดสอบมาละลายด้วยตัวทำละลาย (ethanol หรือ dichloromethane) แล้วหยดปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงบนแผ่น cellulose acetate filter (pore size 0.45 ไมโครเมตร ; Sartorius® AG37070) ซึ่งตัดเป็นชิ้นขนาด 1 X 1 cm. ที่วางบนแผ่นสไลด์ รอให้ตัวทำละลายระเหยไปหมด แล้วจึงหยดตามด้วยสารแขวนลอยของสปอร์ 20 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปบ่มไว้ในจานเพาะเชื้อที่มีกระดาษกรองชื้นวางรองอยู่ ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 12 ชั่วโมง (สปอร์ของเชื้อราในสภาวะปกติที่มีความชื้นเหมาะสมจะเริ่มงอกที่ 6 ชั่วโมงขึ้นไป) แล้วนำมาตรวจดูการงอกของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยการนำมาย้อมด้วย lactophenol cotton blue โดยใช้กรรมวิธีเปรียบเทียบคือหยดตัวทำละลาย (ethanol หรือ dichloromethane) ลงบนแผ่น cellulose acetate filter ก่อนหยดสารแขวนลอยของสปอร์ของเชื้อ *C. gloeosporioides*

การทดลองที่ 2 การตรวจสอบคุณสมบัติของสารที่มีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเชื้อราที่มีในยางของผลมะม่วง

2.1 การแยกสารต้านทานเชื้อราจากยางของมะม่วง

เก็บเกี่ยวมะม่วงพันธุ์มหาชนกที่เก็บเกี่ยวในระยะแก่สมบูรณ์ (100 วันหลังดอกบาน) จำนวน 100 กิโลกรัม จากสวนของเกษตรกร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ โดยไว้ก้านผล 5 - 10 เซ็นติเมตร ขนส่งมายังห้องปฏิบัติการภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และเช็ดทำความสะอาด แล้วนำมาตัดขั้วผล 3 มิลลิเมตรห่างจากผลเพื่อเก็บยางโดยใช้อุปกรณ์การเก็บยางเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 และนำยางมารวมกัน แล้วนำไปแยกด้วยไดคลอโรมีเทน นำส่วนที่ละลายในไดคลอโรมีเทนที่แยกได้ตามวิธีทดลองที่ 1.2 หลังจากนั้นนำสารสกัดหยาบที่ละลายในไดคลอโรมีเทนมาแยกให้บริสุทธิ์มากขึ้นด้วยวิธี Column Chromatography โดยใช้คอลัมน์แก้วขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร ยาว 40 เซนติเมตร ใช้ Silica gel เป็นตัวกลาง มีวิธีการเตรียมคอลัมน์ที่ปรับปรุงจาก ทวีสิน 2539 ใช้ตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ เป็นตัวพา ใช้สารสกัดหยาบจากยางของมะม่วงจำนวน 1 มิลลิลิตร อัตราของการไหลของสารละลายตัวพา 40 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง เก็บตัวอย่าง (Fraction) ครั้งละ 20 มิลลิลิตร จำนวน 15 ตัวอย่าง สารละลายที่ใช้เป็นตัวพาตามลำดับดังนี้คือ

- เฮกเซน 100 เปอร์เซ็นต์
- เฮกเซน 90 เปอร์เซ็นต์ เอทธิลอะซีเตท 10 เปอร์เซ็นต์
- เฮกเซน 80 เปอร์เซ็นต์ เอทธิลอะซีเตท 20 เปอร์เซ็นต์
- เฮกเซน 60 เปอร์เซ็นต์ เอทธิลอะซีเตท 40 เปอร์เซ็นต์
- เฮกเซน 59.4 เปอร์เซ็นต์ เอทธิลอะซีเตท 39.6 เปอร์เซ็นต์ เมทานอล 1.0 เปอร์เซ็นต์
- เฮกเซน 57.1 เปอร์เซ็นต์ เอทธิลอะซีเตท 38.1 เปอร์เซ็นต์ เมทานอล 4.8 เปอร์เซ็นต์
- เฮกเซน 54.5 เปอร์เซ็นต์ เอทธิลอะซีเตท 36.4 เปอร์เซ็นต์ เมทานอล 9.1 เปอร์เซ็นต์

2.2 การตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสารจากยางมะม่วงที่แยกได้จากวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟีด้วย Thin layer chromatography (TLC)

นำสารที่แยกได้ด้วยคอลัมน์โครมาโคกราฟฟีในแต่ละตัวอย่างมาตรวจสอบด้วยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) โดยหยดสารตัวอย่างลงบนแผ่นกระจกที่เคลือบด้วยซิลิกาเจล 254 60 GF แล้วนำไปแยกด้วยวิธีโครมาโตกราฟฟีโดยใช้ hexan : ethylacetate : methanol อัตราส่วน 60 : 40 : 1 เป็นสารละลายตัวพา เมื่อสารละลายตัวพาเคลื่อนที่ขึ้นจนถึงจุด solvent front จึงนำเอาออกและเป่าให้สารละลายระเหยออกจนแห้ง แล้วนำมาทดสอบด้วยการทำปฏิกิริยากับไอของไอโอดีนในโหลที่มีไอของไอโอดีน นำเอาตัวอย่างที่มีสารที่ทำปฏิกิริยากับไอโอดีน ที่อยู่ในกลุ่มเดียวกันมารวมกันแล้วนำไปประเหยสารละลายตัวพาออกด้วยเครื่องแยกระเหยระบบสุญญากาศและความเย็น นำสารที่ได้แต่ละส่วนที่แยกได้มาละลายด้วยเมทานอลเล็กน้อย แล้วนำไปตรวจสอบหาสารที่มีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ด้วย TLC-bioassay

2.3 การทดสอบประสิทธิภาพในการต้านทานการเจริญของเชื้อราโดยวิธี TLC-bioassay

นำสารที่แยกได้ด้วยคอลัมน์โครมาโตกราฟฟีในแต่ละตัวอย่างมาตรวจสอบด้วยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ที่มี hexan : ethylacetate : methanol อัตราส่วน 60 : 40 : 1 เป็นสารละลายตัวพา แล้วนำไปตรวจสอบฤทธิ์ในการต้านทานการเจริญของเชื้อรา ด้วยวิธีการ Bioassay ด้วยสปอร์ของ *C. gloeosporioides* โดยมีวิธีการดังนี้

1. เตรียมสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา โดยเทอาหาร PDB ปริมาตร 10 มล. ลงบนจานอาหารที่มีเชื้อรา อายุ 5 วัน ใช้ loop เขี่ยเชื้อราเพื่อให้สปอร์กระจายตัวออกมา กรองด้วยผ้าขาวบางที่ฆ่าเชื้อแล้ว เพื่อเอาเส้นใยและวุ้นออก จากนั้นเติม PDB ลงไปอีก โดยให้อัตราส่วนระหว่างสารแขวนลอยของสปอร์เชื้อราต่อ PDB เท่ากับ 1 ต่อ 5

2. เตรียมกล่องบ่มเชื้อ (moist chamber) เช็ดทำความสะอาดกล่องด้วยแอลกอฮอล์เพื่อฆ่าเชื้อแล้ววางทิ้งให้แห้ง บุกล่องด้วยกระดาษทิชชู่ และพ่นน้ำกลั่นให้ทั่ว ปิดฝาทิ้งไว้ เพื่อให้ไอน้ำอิ่มตัว

3. นำสปอร์เชื้อราที่เตรียมไว้ มาพ่นลงบนเพลต TLC ที่เตรียมไว้ทดสอบจาก 2.2 นำมาใส่ลงในกล่องบ่มเชื้อ บ่มเป็นเวลา 3 วัน เมื่อครบกำหนดจึงตรวจดูแถบต้านการเจริญของเชื้อรา (inhibition zone)

2.4 ตรวจสอบคุณสมบัติของสารที่มีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเชื้อราที่แยกได้จากยางมะม่วง

นำเอาสารสกัดหยาบของยางมะม่วงมหาชนกในส่วนที่ละลายในไดคลอโรมีเทนไปตรวจสอบคุณสมบัติต่าง ๆ เช่น การดูดกลืนแสงในช่วงคลื่นต่าง ๆ และนำไปตรวจสอบหาโครมาโตแกรมด้วย Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GC-MS) Shimadsu Japan หลังจากแยกยางมะม่วงด้วยคอลัมน์โครมาโตกราฟฟีแล้วนำเอาแต่ละส่วนที่แยกได้ไปตรวจสอบหาความบริสุทธิ์ และตรวจสอบหาโครมาโตแกรมด้วย Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GC-MS)

การทดลองที่ 3 การหาสายพันธุ์และระยะเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมของมะม่วงที่มีปริมาณสารต้านการเจริญของเชื้อราในยางปริมาณมาก

3.1 การหาสายพันธุ์ของมะม่วงที่มีปริมาณสารต้านการเจริญของเชื้อราในยางปริมาณมาก

เก็บเกี่ยวผลมะม่วงในระยะแก่สมบูรณ์จำนวน 7 สายพันธุ์ ได้แก่ มหาชนก น้ำดอกไม้ โชคอนันต์ ลิ้นงูเห่า แรด ดันแคน และเขียวมรกต จากสวนประพัฒน์และบุตร อำเภอสันทราย จ. เชียงใหม่ ในระยะแก่จัด (mature green) จำนวนสายพันธุ์ละ 10 กิโลกรัมโดยไว้ก้านยาวมากกว่า 5 เซนติเมตร ขนส่งมายังห้องปฏิบัติการภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ นำมาเช็ดทำความสะอาด ตัดขั้ว 3 มิลลเมตรห่างจากขั้วผล และเก็บยางด้วยอุปกรณ์ที่สร้างขึ้นในการทดลองที่ 1 นำยางของมะม่วงมารวมกันโดยแยกตามสายพันธุ์ และนำยางไปแยกด้วยไดคลอโรมีเทน และนำเอาแต่ละส่วนที่แยกได้ไปละเหยเอาสารสกัดออก

- ส่วนที่ละลายในไดคลอโรมีเทน นำไประเหยไดคลอโรมีเทนออกโดยวางที่อุณหภูมิห้องจนแห้ง
- ส่วนที่ไม่ละลายในไดคลอโรมีเทนนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสจนแห้ง

เมื่อสารละลายแห้งแล้วชั่งน้ำหนักของสารในแต่ละส่วนของมะม่วงแต่ละสายพันธุ์และหาอัตราส่วนขององค์ประกอบของยางมะม่วง

3.2 สกัดแยกหาสารต้านการเจริญของเชื้อราในยางมะม่วงในมะม่วงพันธุ์มหาชนกที่มีระยะความแก่ต่าง ๆ กัน

เก็บเกี่ยวผลมะม่วงมหาชนกที่มีอายุตั้งแต่ 77 – 126 วัน วันหลังดอกบาน โดยเก็บผลมะม่วงทุก ๆ 7 วัน นำมาเก็บยาง ตามวิธีในการทดลองที่ 1 แล้วนำยางไปสกัดแยกหาสารที่ละลายในน้ำและสารที่ไม่ละลายน้ำ ด้วยไดคลอโรมีเทน มีวิธีการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.2 หาอัตราส่วนของยางทั้งสองส่วนในมะม่วงแต่ละระยะเก็บเกี่ยว

การทดลองที่ 4. หาความสัมพันธ์ของปริมาณและคุณภาพของสารต้านการเจริญของเชื้อราที่มีในยางของมะม่วงต่อความอ่อนแอต่อโรคแอนเทรกโนส ของมะม่วงไทย 8 สายพันธุ์

เก็บเกี่ยวผลมะม่วงในระยะแก่สมบูรณ์ (Mature green) จากสวนประพัฒน์และบุตร อำเภอสันทราย จ. เชียงใหม่ จำนวน 8 สายพันธุ์ ได้แก่ แก้ว โชคอนันต์ เขียวเสวย แก้วจุก มหาชนก เขียวมรกต แรด และ น้ำดอกไม้ สายพันธุ์ละ 30 ผล นำมาเก็บยางตามวิธีที่ 1.1 และสกัดแยกสารในส่วนที่ละลายน้ำและไม่ละลายน้ำด้วยไดคลอโรมีเทนตามวิธีในการทดลองที่ 1.2 นำเอาส่วนที่ไม่ละลายน้ำไปแยกด้วย Thin Layer Chromatography และนำไปตรวจสอบจำนวนชนิดของสารต่างๆ ที่แยกได้ด้วยไอของไอโอดีนอิ่มตัวตามวิธีในการทดลองที่ 2.2 แล้วนำเอาส่วนที่ไม่ละลายน้ำไปไปวิเคราะห์แยกด้วย GC-MS ตามวิธีในการทดลองที่ 2.4 หลังจากนั้นนำผลมะม่วงดังกล่าวไปทดสอบการอ่อนแอต่อโรคแอนแทรคโนส ด้วยการปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* จำนวน 4×10^5 สปอร์ต่อมิลิลิตร ปริมาณ 20 ไมโครลิตร บนผิวผลมะม่วงด้วยวิธีการดังต่อไปนี้

วิธีเตรียมสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อ *C. gloeosporioides* ใช้วิธีการเช่นเดียวกับที่เตรียมในการทดลองที่ 1.3

วิธีการปลูกเชื้อบนผิวผลมะม่วง ด้วยการทำแผลบนผลด้วยเข็มขนาด เส้นผ่านศูนย์กลาง 1.0 มิลลิเมตร ลึก 2.0 มิลลิเมตร จำนวน 6 แผล หยดสารแขวนลอยของสปอร์ ของเชื้อ *C. gloeosporioides* ปริมาณ 50 ไมโครกรัม บนแผลที่เตรียมไว้ วางผลมะม่วงไว้ให้สารแขวนลอยของสปอร์แห้ง แล้วนำผลมะม่วงไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส วัดขนาดแผลทุกวัน จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง (ขนาดแผลเกิน 50 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ผิวของผล)

ใช้ผลมะม่วงจำนวน 20 ผล สำหรับติดตามการอ่อนแอต่อโรค และ 20 ผล สำหรับติดตามคุณภาพ โดยวัดหาความแน่นเนื้อ ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์

การทดลองที่ 5 การนำเอาสารต้านทานการเจริญของเชื้อราที่สกัดได้จากยางของมะม่วงไปใช้ในการป้องกันโรค

5.1 ทดสอบการใช้สารต้านทานการเจริญของเชื้อราเปรียบเทียบกับวิธีการควบคุมโรควิธีต่าง ๆ

นำเอายางในส่วนที่ไม่ละลายน้ำของมะม่วงพันธุ์มหาชนกไปทดสอบ เพื่อใช้ในการควบคุมโรคหลังเก็บเกี่ยวของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีความสำคัญในการส่งออก และมีความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของโรคแอนแทรคโนส เก็บเกี่ยวมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้โดยตัดก้านติดผล 5 – 10 เซนติเมตร จากแปลงของเกษตรกรจากอำเภอเนินมะปราง จังหวัดพิษณุโลก ขนส่งมายังห้องปฏิบัติการภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ หลังจากนั้น นำมาตัดก้านจนชิดขั้วผล และวางไว้ให้ยางไหลออกจนหมด ล้างผลมะม่วงด้วยน้ำประปาที่ไหล เป่าผลให้แห้งด้วยพัดลม นำผลไปทดสอบวิธีการควบคุมโรควิธีการต่าง ๆ ดังนี้

A = ชุดควบคุม

B= แช่น้ำร้อนอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

C= ขัดในน้ำร้อน ล้างและขัดด้วยแปรงในน้ำร้อน อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

D= แช่ในคาร์เบนดาซิมร้อน อุณหภูมิ 55 องศเซลเซียส นาน 5 นาที

E= เคลือบด้วยไคโตซาน

F= เคลือบด้วยไคโตซานและยางมะม่วง 1000 ppm

G= เคลือบด้วยยางมะม่วง

H= เคลือบด้วยสารเคลือบผิว Teva

I= เคลือบด้วยสารเคลือบผิว Teva และยางมะม่วง 1000 ppm

J= เคลือบด้วยสารเคลือบผิว Zivdar ที่มีส่วนผสมของ Imazalil

เก็บรักษาผลมะม่วงทุกวิธีการทดลองไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จนกระทั่งผลสุก แต่ละวิธีการทดลองแบ่งผลมะม่วงออกเป็น 2 ส่วน 20 ผลสำหรับการตรวจสอบคุณภาพแบบไม่ทำลาย และอีก 10 ผล สำหรับการตรวจสอบคุณภาพแบบทำลาย วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ระหว่างการเก็บรักษาทุกๆ 2 วัน นำผลมะม่วงมาตรวจสอบคุณภาพแบบไม่ทำลาย ดังนี้

- วัดการสูญเสียน้ำหนัก ด้วยการชั่งน้ำหนัก
- ตรวจการเข้าทำลายของโรคด้วยการประเมิน โดยแบ่งการประเมินเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคตามพื้นที่ผิว ดังนี้

  ระดับ 0 ไม่มีการเข้าทำลายของโรค

  ระดับ 1 มีการเข้าทำลาย ไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์

ระดับ 2 มีการเข้าทำลาย 10 – 20 เปอร์เซ็นต์

ระดับ 3 มีการเข้าทำลาย 20 – 30 เปอร์เซ็นต์

ระดับ 4 มีการเข้าทำลาย 30 – 40 เปอร์เซ็นต์

ระดับ 5 มีการเข้าทำลาย 40 – 50 เปอร์เซ็นต์

หยุดการตรวจสอบเมื่อมีการเข้าทำลายของโรคเกิน 50 เปอร์เซ็นต์

- ตรวจสอบลักษณะภายนอก เช่น สีผิวเปลือก ด้วยการประเมิน
- ประเมินการสุกของผลมะม่วง

เมื่อผลสุก ตรวจสอบคุณภาพมะม่วง เช่น

- ความแน่นเนื้อ
- ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้
- ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้
- การประเมินการยอมรับของผู้บริโภคทางประสาทสัมผัส โดยผู้ประเมินที่ผ่านการอบรม โดยแบ่งระดับผลการประเมินออกเป็น 9 ระดับดังนี้

ระดับ 1 ไม่ชอบมากที่สุด

ระดับ 2 ไม่ชอบมาก

ระดับ 3 ไม่ชอบปานกลาง

ระดับ 4 ไม่ชอบน้อย

ระดับ 5 เฉย ๆ

ระดับ 6 ชอบน้อย

ระดับ 7 ชอบปานกลาง

ระดับ 8 ชอบมาก

ระดับ 9 ชอบมากที่สุด

5.2 ทดสอบการใช้สารต้านทานการเจริญของเชื้อราร่วมการแช่น้ำร้อน

โดยนำเอายางในส่วนที่ไม่ละลายน้ำของมะม่วงพันธุ์มหาชนกไปทดสอบ ใช้ในการควบคุมโรคหลังเก็บเกี่ยวของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ที่เก็บเกี่ยวจากแปลงของเกษตรกรจากอำเภอพร้าว จังหวัดเชียงใหม่ โดยการตัดก้านติดผล 5 – 10 เซนติเมตร ขนส่งมายังห้องปฏิบัติการภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ หลังจากนั้น นำมาตัดก้านจนชิดขั้วผล และวางไว้ให้ยางไหลออกจนหมด ล้างผลมะม่วงด้วยน้ำประปาที่ไหล เป่าผลให้แห้งด้วยพัดลม นำผลไปทดสอบวิธีการควบคุมโรควิธีการต่าง ๆ ดังนี้

- ชุดควบคุม
- แช่น้ำร้อนอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที
- แช่น้ำร้อนที่มีสารสกัดจากยางของมะม่วง 100 ppm. ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

- แช่น้ำร้อนที่มีสารสกัดจากยางของมะม่วง 1000 ppm. ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที
- แช่น้ำที่มีสารสกัดจากยางของมะม่วง 1000 ppm. ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที
- แช่ใน Bacillus ของบริษัทใบธงจำกัด 5 กรัม/น้ำ 1 ลิตร ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

เก็บรักษาผลมะม่วงทุกวิธีการทดลองไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จนกระทั่งผลสุก แต่ละวิธีการทดลองแบ่งผลมะม่วงออกเป็น 2 ส่วน 20 ผลสำหรับการตรวจคุณภาพแบบไม่ทำลาย และอีก 10 ผลสำหรับการตรวจสอบคุณภาพแบบทำลาย วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์

ระหว่างการเก็บรักษาทุกๆ 3 วัน นำผลมะม่วงมาตรวจสอบคุณภาพแบบไม่ทำลาย ได้แก่ การเกิดโรค การสูญเสียน้ำหนัก การเปลี่ยนแปลงสีเปลือก และเมื่อผลสุกนำผลมาวัดคุณภาพแบบทำลาย ได้แก่ สีเปลือก สีเนื้อ การเปลี่ยนแปลงคุณภาพในการบริโภค เช่น ปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ โดยใช้วิธีการเช่นเดียวกับการทดลอง 5.1

5.3 ตรวจสอบการใช้สารต้านทานเชื้อราที่มีในยางของผลมะม่วงในการโรคหลังการเก็บเกี่ยวของมะม่วงเขียวมรกต

นำผลมะม่วงพันธุ์เขียวมรกตที่เก็บเกี่ยวจากศูนย์ศึกษาและพัฒนาลำไยหริภุญชัย จังหวัดลำพูน มากำจัดยาง ล้างทำความสะอาดด้วยน้ำประปา และผึ่งให้แห้ง เตรียมสารต้านทานเชื้อราโดยเก็บและสกัดจากยางของผลมะม่วงพันธุ์มหาชนก ไปใช้ในการทดสอบ การควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยว โดยแบ่งวิธีการใช้สารต้านทานเชื้อราออกเป็น 9 วิธีดังนี้คือ

1. ชุดควบคุม ล้างทำความสะอาดอย่างเดียว
2. เคลือบด้วยสารเคลือบผิวที่ทำจากไขผึ้งสูตร E (ไขผึ้ง เอทธานอล กรดโอลิอิก และเรซิ่น 2, 10, 15 และ 0.4 เปอร์เซ็นต์)
3. เคลือบด้วยในสารเคลือบผิวที่ทำจากไขผึ้งสูตร F (ไขผึ้ง เอทธานอล กรดโอลิอิก เรซิ่น และสารสกัดจากยางมะม่วง 2, 15, 10, 0.4 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์)
4. เคลือบด้วยสารเคลือบผิวที่ทำจากไขผึ้งสูตร G (ไขผึ้ง เอทธานอล กรดโอลิอิก เรซิ่น 4, 15, 10, และ0.8 เปอร์เซ็นต์)
5. เคลือบผิวด้วยสารเคลือบผิวที่มีจำหน่ายทางการค้า (T)
6. แช่ในน้ำร้อนอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที
7. แช่ในสารละลายเอทธานอล 10 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที เคลือบผิวด้วยสารเคลือบผิวที่มีจำหน่ายทางการค้า (T)
8. แช่ในสารละลายเอทธานอล 10 เปอร์เซ็นต์ และผสมสารต้านทานเชื้อราที่ความ เข้มข้น 1000 ppm ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

9. แช่ในสารละลายเอทธานอล 10 เปอร์เซ็นต์ และผสมสารต้านทานเชื้อราที่ความ เข้มข้น 2000 ppm ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

นำผลมะม่วงทุกวิธีการทดลองไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยใช้ มะม่วงจำนวน 30 ผลต่อวิธีการทดลอง

ทำการตรวจคุณภาพของมะม่วง ระหว่างการเก็บรักษาทุกๆ 3 วัน ทั้งแบบทำลายและไม่ทำลาย โดยใช้ผลมะม่วงจำนวน 20 ผล สำหรับติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณภาพแบบไม่ทำลาย ได้แก่ การเกิดโรค การสูญเสียน้ำหนัก การเปลี่ยนแปลงสีเปลือก และอีกจำนวน 10 ผลสำหรับตรวจสอบคุณภาพแบบทำลาย ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงสีเนื้อ คุณภาพในการบริโภค เช่น ปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ โดยใช้วิธีการเช่นเดียวกับการทดลอง 5.1

5.4 ทดสอบการใช้สารสกัดจายางของมะม่วงสารผสมในสารเคลือบผิวสำหรับเคลือบผลมะม่วง โดยใช้เคลือบผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ที่เก็บเกี่ยวจากแปลงเกษตรกรจาก 2 แหล่งผลิตคือ สวน 1 อยู่ในเขตอำเภอเชียงดาว และเขตอำเภอพร้าว จังหวัดเชียงใหม่และขนส่งมายังห้องปฏิบัติการ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย เชียงใหม่ นำมากำจัดยาง ล้างทำความสะอาดด้วยน้ำประปาและผึ่งให้แห้ง แล้วนำไปเคลือบผิวด้วยสารเคลือบที่มีส่วนประกอบหลักเป็นไขผึ้ง โดยมีส่วนผสมแตกต่างกัน 3 สูตร คือ E F และ G เปรียบเทียบกับสารเคลือบผิวที่มีจำหน่ายทางการค้า (Teva) และชุดควบคุมที่ไม่เคลือบผิว แล้วนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยใช้ผลมะม่วงจำนวน 30 ผลต่อวิธีการทดลอง ใช้ผลมะม่วง 12 ผลสำหรับติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณภาพแบบไม่ทำลาย เช่น การสูญเสียน้ำหนัก การเกิดโรค ลักษณะภายนอก ตลอดการทดลอง และ 4 ผลสำหรับวัดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพแบบทำลาย โดยทำการตรวจคุณภาพของมะม่วงระหว่างการเก็บรักษาทุก ๆ 3 วัน

ส่วนผสมของสารเคลือบผิวสูตรต่าง ๆ ดังนี้

สาร E ไขผึ้ง เอทธานอล กรดโอลิอิก และเรซิ่น 2, 10, 15 และ 0.4 เปอร์เซ็นต์

สาร F ไขผึ้ง เอทธานอล กรดโอลิอิก เรซิ่น และสารสกัดจากยางมะม่วง 4, 15, 10, 0.4 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์

สาร G ไขผึ้ง เอทธานอล กรดโอลิอิก เรซิ่น และสารสกัดจากยางมะม่วง 2, 15, 10, 0.8 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์

ระหว่างการเก็บรักษาทำการทดสอบการสูญเสียคุณภาพในระหว่างการเก็บรักษา ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงสีเนื้อ คุณภาพในการบริโภค เช่น ปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ โดยใช้วิธีการเช่นเดียวกับการทดลอง 5.1

บทที่ 4
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 หาวิธีเก็บยางจากผลมะม่วง และวิธีการสกัดสารต้านทานการเจริญของเชื้อราในยางมะม่วง

1.1 การออกแบบอุปกรณ์ในการเก็บยางจากผลมะม่วง

อุปกรณ์ที่ออกแบบสามารถเก็บยางมะม่วงได้ปริมาณมากและมีการปนเปื้อนน้อย ทำเป็นเซ็ตต่อขึ้นหลายชั้นได้ ทำให้สะดวกต่อการทำงาน ใช้พื้นที่น้อย และใช้เวลาน้อยเนื่องจากสามารถหมุนเวียนผลมะม่วงขณะที่รอให้ยางไหลจนหมด (ประมาณ 5 นาที)

ปกติผู้ประกอบการจะเก็บเกี่ยวผลมะม่วงจากแปลงเกษตรกรโดยเหลือติดก้าน 5-10 เซนติเมตร และขนส่งไปยังโรงคัดบรรจุ ตัดขั้วผลให้เหลือก้าน 2-3 เซนติเมตร แล้ววางคว่ำผลลงบนบนกระดาษหรือฟองน้ำเพื่อให้ยางไหลออกจากผลให้หมด ซึ่งทำให้ยางสูญเสียไปไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ และยางบางส่วนยังเปื้อนติดกับผิวบริเวณรอบๆ ขั้วผล ถ้าวางไว้เป็นเวลานานอาจทำให้เกิดแผลที่ผิวผลบริเวณที่เปื้อนยางได้ และผลมะม่วงมีรูปทรงเป็นผลรีจึงยากต่อการตั้งผลบนวัสดุที่รองรับยาง และการวางผลมะม่วงเรียงบนพื้นทำให้ต้องใช้พื้นที่กว้าง

1.2 การหาวิธีการสกัดสารต้านการเจริญของเชื้อราในยางของผลมะม่วง

การสกัดหาสารต้านทานธรรมชาติที่มีในยางของผลมะม่วงด้วยสารเคมีชนิดต่างๆ เช่น เอทานอล 70 และ 100 เปอร์เซ็นต์ เอทิลอะซีเตท เฮกเซน และ ไดคลอโรมีเทน ผลการทดลอง พบว่า ไดคลอโรมีเทน และ เฮกเซนมีคุณสมบัติที่สามารถสกัดแยกส่วนของยางมะม่วงในส่วนที่ละลายน้ำและไม่ละลายน้ำได้ดีกว่าสารชนิดอื่นๆ (ตาราง 1) และเนื่องจากมีจุดเดือดต่ำจึงสามารถระเหยออกได้ง่าย โดยสามารถวางไว้ที่อุณหภูมิห้องจึงมีความสะดวก และไดคลอโรมีเทนมีความถ่วงจำเพาะสูงกว่าน้ำจึงแยกอยู่ด้านล่างทำให้มีความสะดวกในการสกัดแยกด้วยกรวยแยกดีกว่าเฮกเซนที่มีความถ่วงจำเพาะต่ำกว่าน้ำ ทำให้ลอยอยู่เหนือส่วนที่ละลายในน้ำ นอกจากนี้ไดคลอโรมีเทนมีราคาถูกกว่า ดังนั้นจึงได้เลือกไดคลอโรมีเทนสำหรับใช้เป็นสารละลายในการสกัดแยกยางมะม่วงในการทดลองต่อๆไป การสกัดแยกยางมะม่วงด้วยเอทธานอลที่ความเข้มข้นต่างๆ สามารถแยกสารส่วนที่ละลายน้ำบางส่วนปนออกมาด้วยจึงไม่สะดวก ส่วนการสกัดแยกด้วยเอธิลอะซีเตทสามารถแยกออกจากส่วนที่ละลายน้ำได้ แต่เนื่องจากเอทธิลอะซีเตทมีจุดเดือดสูงกว่าไดคลอโรมีเทนและเฮกเซน ดังนั้นวิธีการในการสกัดสารต้านทานการเจริญของเชื้อราจากยางของมะม่วงจะใช้ไดคลอโรมีเทนในการสกัดแยกด้วยกรวยแยกที่อุณหภูมิห้อง และนำไปประเหยไดคลอโรมีเทนออกจนหมด

ตาราง 4.1 ผลของการสกัดแยกสารที่ไม่ละลายน้ำและละลายน้ำในยางของมะม่วงด้วยสารละลายชนิดต่างๆ

ชนิดสารละลาย	ผลที่สังเกตได้
70 % เอทธานอล	ไม่สามารถแยกชั้นได้ขุ่น
100 % เอทธานอล	ขุ่นและตกตะกอน ต้องนำไปกรอง แต่ยังมีสีขุ่นเมื่อแห้งแล้วจะมีคราบขุ่นขาวปนน้ำมัน
ไดคลอโรมีเทน	ใสและแยกอยู่ด้านล่าง สามารถระเหยได้ที่อุณภูมิห้อง เมื่อแห้งแล้วจะมีลักษณะเป็นน้ำมันใส
เฮกเซน	ใสและแยกอยู่ด้านบน สามารถระเหยได้ที่อุณภูมิห้อง เมื่อแห้งแล้วจะมีลักษณะเป็นน้ำมันใส
เอทธิลอะซีเตท	สามารถแยกชั้นได้แต่ต้องใช้เครื่องกลั่นระเหยสารความดันต่ำช่วยทำให้แห้ง

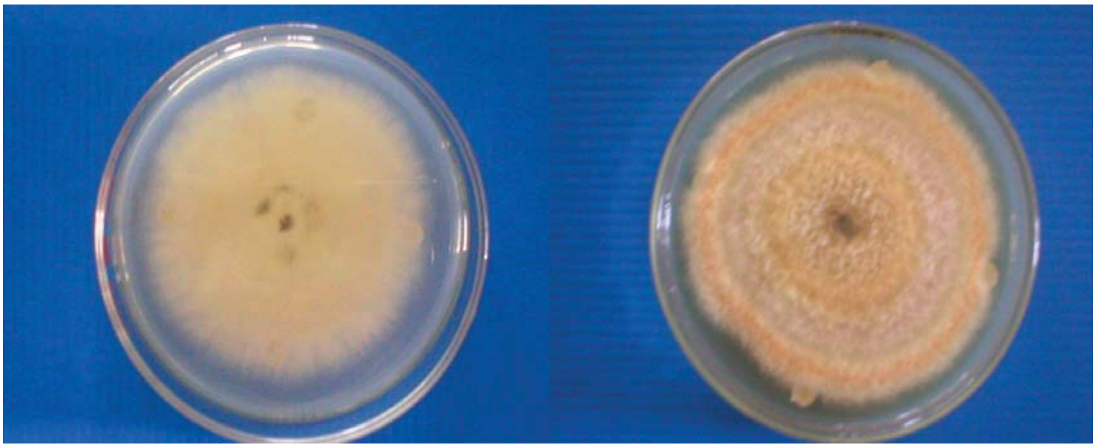
1.3 **การทดสอบคุณสมบัติในการต้านการเจริญของเชื้อ** *C. gloeosporioides* **โดยวิธี** Bioassay

เมื่อนำเอาสารที่แยกด้วยไดคลอโรมีเทนทั้ง 2 ส่วนไปตรวจสอบฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเชื้อรา ด้วยการนำเอาสารที่สกัดได้วางบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อ *C. gloeosporiodes.* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุของโรคแอนแทรกโนสบนผลมะม่วง ผลการทดลองพบว่าเชื้อราไม่สามารถสร้างเส้นใยเจริญข้ามกระดาษกรองที่ชุบด้วยสารที่สกัดได้ในส่วนที่ละลายในไดคลอโรมีเทน ส่วนสารสกัดได้ในส่วนที่ละลายน้ำพบว่าเส้นใยของเชื้อราสามารถเจริญข้ามบนกระดาษกรองที่ชุบสารได้ (ภาพ 4.1 และ 4.2)

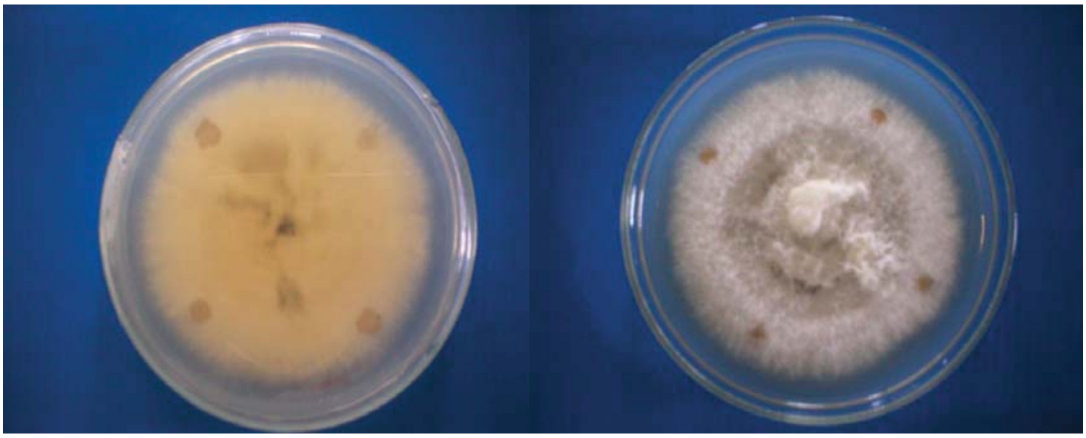
ไดคลอโรมีเทนและเฮกเซนมีคุณสมบัติที่สามารถสกัดแยกส่วนของยางมะม่วงในส่วนที่ละลายน้ำและไม่ละลายน้ำได้ดีกว่าสารชนิดอื่นๆ และเนื่องจากไดคลอโรมีเทนมีจุดเดือดต่ำจึงสามารถระเหยออกได้ง่าย โดยสามารถวางไว้ที่อุณหภูมิห้องจึงมีความสะดวก ไดคลอโรมีเทนมีความถ่วงจำเพาะสูงกว่าเฮกเซนและน้ำจึงทำให้มีความสะดวกในการสกัดแยกมากกว่าเฮกเซนซึ่งมีความถ่วงจำเพาะต่ำกว่าน้ำ ตลอดจนไดคลอโรมีเทนมีราคาถูกกว่า ดังนั้นจึงได้เลือกไดคลอโรมีเทนสำหรับใช้เป็นสารละลายในการสกัดแยกยางมะม่วงในการทดลองต่อๆ ไป

การใช้ไดคลอโรมีเทนสำหรับการแยกเอาส่วนของสารไม่ที่ละลายน้ำออกจากส่วนที่ไม่ละลายน้ำได้ถูกนำมาใช้ในการสกัดแยกสารสกัดหยาบของเปลือกผลมะม่วงและส้มโอมีฤทธิ์ ซึ่งในส่วนของสารสกัดหยาบในส่วนที่ไม่ละลายน้ำประกอบด้วยสารที่มีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเชื้อรา (ระจิตร, 2536; วิลาวัลย์และคณะ, 2536; Kumpoun *et al*, 1998) ซึ่งสารสกัดหยาบที่สกัดได้จากยางของมะม่วงมีลักษณะเป็นของเหลวสีน้ำตาลอ่อน ในขณะที่สารสกัดหยาบจากเปลือกของมะม่วงและส้มโอมีลักษณะเป็นยางข้นมีสีเขียวเข้ม ซึ่งน่าจะเป็นส่วนของสารสีต่างๆ ทำให้การแยกหาสารที่มีฤทธิ์ต้านทานเชื้อราในเปลือกของ

มะม่วงมีขั้นตอนในการสกัดมากกว่าที่สกัดได้จากยางของมะม่วง และในการทำให้สารนี้บริสุทธิ์ต้องใช้วิธีการแยกแบบโครมาโตกราฟฟี่จำนวนหลายครั้ง (ทวีสิน, 2539)



ภาพ 4.1 ผลการทดสอบสารที่สกัดจากยางของผลมะม่วงดิบที่ละลายในน้ำกับการเจริญของเส้นใยของ *C. gloeosporioides*



ภาพ 4.2 ผลการทดสอบสารที่สกัดจากยางของผลมะม่วงดิบสกัดแยกส่วนที่ไม่ละลายน้ำกับการเจริญของเส้นใยของ *C. gloeosporioides*

การทดลองที่ 2 การตรวจสอบคุณสมบัติของสารที่มีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเชื้อราที่มีในยางของผลมะม่วง

2.1 การแยกสารต้านทานเชื้อราจากยางของมะม่วง

เมื่อนำยางของผลมะม่วงมหาชนกมาแยกส่วนที่ไม่ละลายน้ำด้วยไดคลอโรมีเทน แล้วนำมาแยกให้บริสุทธิ์มากขึ้นด้วยวิธี Column Chromatography โดยใช้สารละลายตัวพาชนิดต่างๆ พบว่า สามารถแยกสารจากยางของมะม่วงออกเป็น 14 กลุ่ม (ตาราง 4.2) โดยที่ในส่วนของสารละลายตัวพาเฮกเซน : เอทธิลอะซีเตท : เมทานอล อัตรา 100 : 0 : 0 มี 1 กลุ่ม อยู่ในช่วงลำดับตัวอย่างที่ 7-10 ในสารละลายตัวพาอัตรา 90 : 10 : 0 มี 1 กลุ่ม อยู่ในช่วงลำดับตัวอย่างที่ 9-13 ในสารละลายอัตราส่วน 80 : 20 : 0 มี 2 กลุ่ม อยู่ในช่วงลำดับตัวอย่างที่ 2 และ 7-12 ในสารละลายอัตราส่วน 60 : 40 : 0 มี 5 กลุ่ม อยู่ในช่วงลำดับตัวอย่างที่ 1-2, 3-4, 5-10, 11-12, 13 ในสารละลายอัตราส่วน 60 : 40 : 1 มี 1 กลุ่ม อยู่ในช่วงลำดับตัวอย่างที่ 6-8 ในสารละลายอัตราส่วน 60 : 40 : 5 มี 2 กลุ่ม อยู่ในช่วงลำดับตัวอย่างที่ 3-5 และ 8-10 และในสารละลายอัตราส่วน 60 : 40 : 10 มี 2 กลุ่ม อยู่ในช่วงลำดับตัวอย่างที่ 1-2 และ 6-9 สำหรับปริมาณสารที่แยกได้พบว่า ส่วนใหญ่ยังละลายในสารละลายอัตราส่วน 60 : 40 : 0 มีปริมาณ 85.29 เปอร์เซ็นต์โดยเฉพาะในลำดับที่ 5-10 มีปริมาณมากที่สุด 60.35 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ในช่วงลำดับตัวอย่างที่ 1-2, 3-4, 11-12, 13 มีปริมาณ 0.37, 8.49, 9.81 และ 6.27 ตามลำดับ สารที่ละลายในสารละลายเฮกเซน 100 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณ 9.40 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในสารละลายอัตราส่วนอื่นๆ พบสารหลายชนิดแต่มีปริมาณ น้อยมาก

2.2 การตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสารจากยางมะม่วงที่แยกได้จาก Column Chromatography ด้วย Thin Layer Chromatography (TLC)

การนำสารที่แยกได้ด้วยคอลัมน์โครมาโตกราฟฟีในแต่ละตัวอย่างมาตรวจสอบด้วยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ที่มี hexane : ethylacetate : methanol อัตราส่วน 60 : 40 : 1 เป็นสารละลายตัวพา และนำไปตรวจสอบการทำปฏิกิริยากับไอของไอโอดีน พบว่าส่วนใหญ่พบแถบสารเพียงแถบเดียว ยกเว้น ในส่วนที่ละลายในสารละลายอัตราส่วน เฮกเซน : เอทธิลอะซีเตท : เมทานอล อัตรา 80 : 20 : 0 ของกลุ่มตัวอย่างลำดับที่ 7-12 พบสารที่ทำปฏิกิริยากับไอโอดีน 3 แถบ Rf 0.6.2, 0.60, 0.51, ในสารละลายอัตราส่วน 60 : 40 : 5 กลุ่มตัวอย่างลำดับที่ 3-5 พบ 2 แถบที่ Rf 0.06, 0.13 และในกลุ่มตัวอย่างลำดับที่ 8-10 พบ 3 แถบใน Rf 0.03, 0.05 และ 0.66 และพบในสารละลายอัตราส่วน 60 : 40 : 10 กลุ่มตัวอย่างลำดับที่ 1-2 พบ 2 แถบ Rf 0.13, 0.02 และในกลุ่มตัวอย่างลำดับที่ 6-9 พบ 2 แถบ Rf 0.13, 0.02 (ตาราง 4.3)

2.3 การทดสอบประสิทธิภาพในการต้านทานการเจริญของเชื้อราโดยวิธี TLC-bioassay

หลังจากนำสารที่แยกได้ด้วยคอลัมน์โครมาโตกราฟฟีในแต่ละตัวอย่างมาตรวจสอบด้วยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ที่มี hexane : ethylacetate : methanol อัตราส่วน 60 : 40 : 1 เป็นสารละลายตัวพา แล้วนำไปตรวจสอบฤทธิ์ในการต้านทานการเจริญของเชื้อราด้วยวิธการ Bioassay

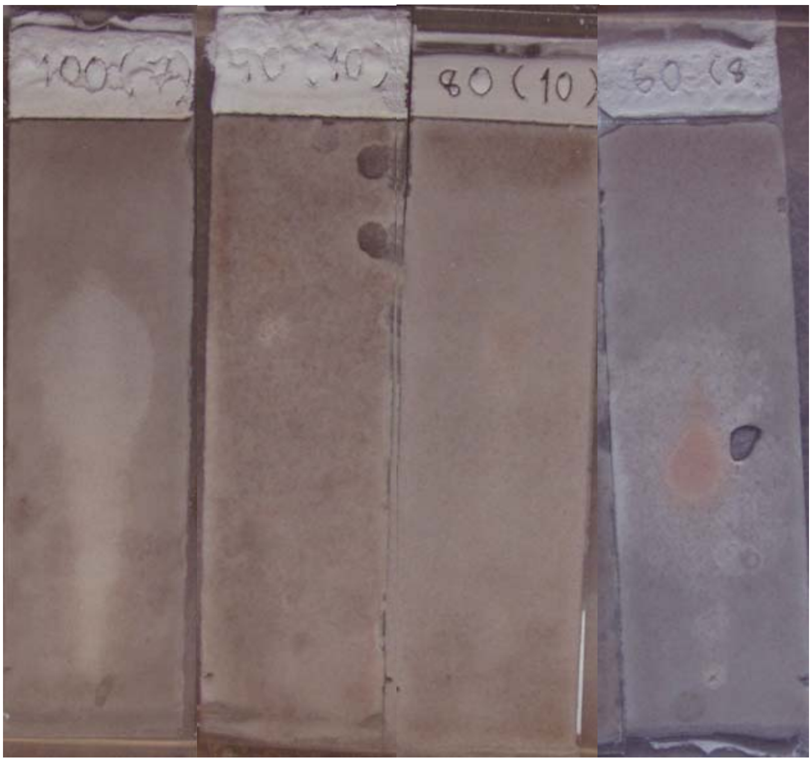
ด้วยสปอร์ของเชื้อ *C. gloeosporioides* พบว่ามีเฉเพาะในส่วนที่ละลายใน เฮกเซน 100 เปอร์เซ็นต์ และที่ละลายในสารละลายอัตราส่วน เฮกเซน : เอทธิลอะซีเตท : เมทานอล อัตรา 60 : 40 : 0 ลำดับตัวอย่างที่ 5-10 ที่พบสารที่มีฤทธิ์ในการต้านทานการเจริญของเชื้อ *C. gloeosporioides* ส่วนที่ละลายในสารละลายสัดส่วนอื่นๆ ไม่พบสารที่มีฤทธิ์ในการต้านทานการเจริญของเชื้อรา (ตาราง4.3 และ ภาพ 4.3)

ตาราง 4.2 ปริมาณและสีของสารที่แยกได้จากสารสกัดหยาบของยางมะม่วงพันธ์มหาชนกด้วยวิธี Column Chromatography

ตัวพา	ตัวทำละลาย เฮกเซน : เอทิลอะซีเตท : เมทานอล	สีของสารละลาย	ปริมาตรของตัวทำละลายที่ใช้ชะ (มล.)	ลำดับของตัวอย่างที่พบสาร	ปริมาณ (เปอร์เซ็นต์)
1	100. : 0 : 0	ไม่มีสี	300	7-10	9.4
2	90 : 10 : 0	ไม่มีสี	300	9-13	1.24
3	80 : 20 : 0	ไม่มีสี	300	2 7-12	0.41 0.49
4	60 : 40 : 0	ไม่มีสี	300	1-2 3-4 5-10 11-12 13	0.33 8.49 60.35 9.81 6.27
5	60 : 40 : 1	ไม่มีสี	300	6-8	1.57
6	60 : 40 : 5	ไม่มีสี	300	3-5 8-10	0.99 0.41
7	60 : 40 : 10	ไม่มีสี	300	1-2 6-9	0.16 0.08

ตาราง 4.3 ผลการทดสอบการทำปฏิกิริยากับไอระเหยของไอโอดีนอิ่มตัวและทดสอบชีวะวิธีด้วย *C. gloeosporioides* ของสารที่แยกได้จากสารสกัดหยาบของยางมะม่วงด้วย Column Chromatography

ตัวพา	ตัวทำละลาย เฮกเซน : เอทธิลอะซีเตท : เมทานอล	ลำดับของตัวอย่างที่พบสาร	ทดสอบด้วยไอโอดีน	ทดสอบชีววิธี
1	100. : 0 : 0	7-10	1 แถบ Rf 0.8	มี
2	90 : 10 : 0	9-13	1 แถบ Rf 0.75	ไม่มี
3	80 : 20 : 0	2 7-12	1 แถบ Rf 0.73 3 แถบ Rf 0.6.2, 0.60, 0.51	ไม่มี ไม่มี
4	60 : 40 : 0	1-2 3-4 5-10 11-12 13	1 แถบ Rf 0.47 1 แถบ Rf 0.47 1 แถบ Rf 0.43 1 แถบ Rf 0.45 1 แถบ Rf 0.0.45	ไม่มี ไม่มี มี มี ไม่มี
5	60 : 40 : 1	6-8	1 แถบ Rf 0.23	ไม่มี
6	60 : 40 : 5	3-5 8-10	2 แถบ Rf 0.06, 0.13 3 แถบ Rf 0.03, 0.05, 0.66	ไม่มี ไม่มี
7	60 : 40 : 10	1-2 6-9	2 แถบ Rf 0.13,0.02 2 แถบ Rf 0.13,0.02	ไม่มี ไม่มี



A B C D

E F G

ภาพ 4.3 แผ่น TLC เมื่อทดสอบ bioassay ด้วยเชื้อ *C. gloeosporioides* ของสารที่แยกสารสกัดหยาบของยางมะม่วงด้วยคอลัมน์โครมาโตกราฟฟีด้วยสารละลายตัวพา เฮกเซน:เอทธิลอะซีเตท:เมทานอล อัตราส่วนต่างๆ A= 100 : 0 : 0, B= 90 : 10 : 0, C= 80 : 20 : 0, D= 60 : 40 : 0, E= 60 : 40 : 1, F= 60 : 40 : 5, G= 60 : 40 : 10

2.4 ตรวจสอบคุณสมบัติของสารที่มีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเชื้อราที่แยกได้จากยางมะม่วง

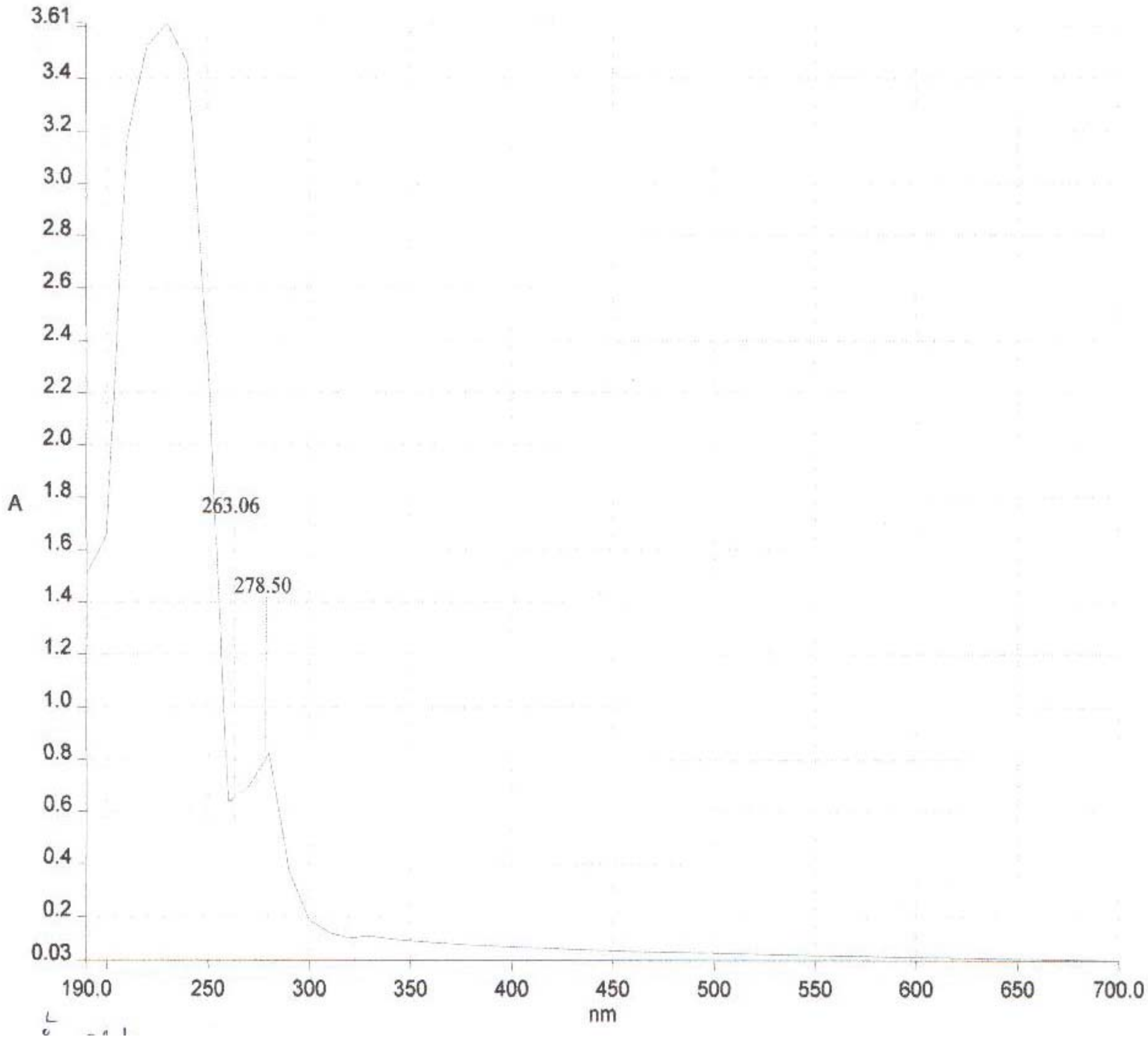
เมื่อนำเอาสารสกัดหยาบของยางมะม่วงมหาชนกในส่วนที่ละลายในไดคลอโรมีเทนไปตรวจสอบคุณสมบัติการดูดกลืนแสงในช่วงคลื่นต่างๆ พบว่า มีการดูดกลืนแสงโดยมี λ max 235 และ 278 นาโนเมตร (ภาพ 4.5) ซึ่งเป็นช่วงคลื่นใกล้เคียงกับสารต้านทานเชื้อราที่มีในยางและเปลือกของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ (kumpoun, *et al.*, 2004)

เมื่อนำเอาสารสกัดหยาบจากยางมะม่วงส่วนที่ละลายในไดคลอโรมีเทน นำไปตรวจสอบหาโครมาโตแกรมด้วย Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GC-MS) หลังจากแยกยางมะม่วงด้วยคอลัมน์โครมาโตกราฟฟี่แล้วนำเอาแต่ละส่วนที่แยกได้ไปตรวจสอบหาความบริสุทธิ์ และตรวจสอบหาโครมาโตแกรมด้วย Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GC-MS) พบว่ามีสารหลายชนิดเช่นเดียวกับที่แยกได้ด้วยคอลัมน์โครมาโตกราฟฟี่และ thin layer chromatography ซึ่งสามารถแบ่งสารต่างๆ ออกได้เป็น 4 กลุ่มคือ กลุ่มที่ 1 กลุ่มของสารที่ออกมาเวลา 6.17-7.54 กลุ่มที่ 2 กลุ่มของสารที่ออกมาเวลา 12.3-13.4 กลุ่มที่ 3 กลุ่มของสารที่ออกมาเวลา 29.3-29.8 กลุ่มที่ 4 กลุ่มของสารที่ออกมาเวลา 36.2-37.3 ดังแสดงในภาพ 4.5 นำส่วนที่แยกได้จากคอลัมน์โครมาโตกราฟฟี่ที่มีคุณสมบัติในการต้านการเจริญของเชื้อ *C. gloeosporioides* ด้วยวิธี Bioassay 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่ละลายในเฮกเซน 100 เปอร์เซ็นต์ และที่ละลายในสารละลายอัตราส่วน เฮกเซน : เอทธิลอะซีเตท : เมทานอล อัตรา 60 : 40 : 0 ลำดับตัวอย่างที่ 5-10 นำไปตรวจสอบความบริสุทธิ์เพื่อหาสูตรโครงสร้างทางเคมี ด้วยเครื่อง Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GC-MS) พบว่าสารทั้งสองกลุ่มยังไม่บริสุทธิ์ ยังคงประกอบด้วยสารหลายชนิด โดยที่ กลุ่มที่ละลายในเฮกเซน 100 เปอร์เซ็นต์ พบสารที่ออกมาเมื่อ retention time 8.76 **-15.54** (ภาพ 4,6) ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับ Chromatograph ของสารสกัดหยาบของยางมะม่วงในกลุ่มที่ 2 ที่มี retention time 12.3-13.4 และเมื่อตรวจสอบกับ mass spectrum มาตรฐานพบว่ามีค่าใกล้เคียงกับกลุ่มของ essential oil สำหรับกลุ่มที่ละลายในสารละลายอัตราส่วน เฮกเซน : เอทธิลอะซีเตท : เมทานอล อัตรา 60 : 40 : 0 ลำดับตัวอย่างที่ 5-10 พบสารที่ออกมามี **2** กลุ่ม คือ กลุ่มที่มี retention time **29.3 -29.9** และ **36.38 – 37.64** (ภาพ 4,7) ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับ Chromatograph ของสารสกัดหยาบของยางมะม่วงในกลุ่มที่ **3** ที่มี retention time **29.35** – 29.86 และ กลุ่มที่ **4** ที่มี retention time 36.24 – 37.37 และเมื่อตรวจสอบกับ mass spectrum มาตรฐานพบว่ามีค่าใกล้เคียงกับกลุ่มของ resorcinol

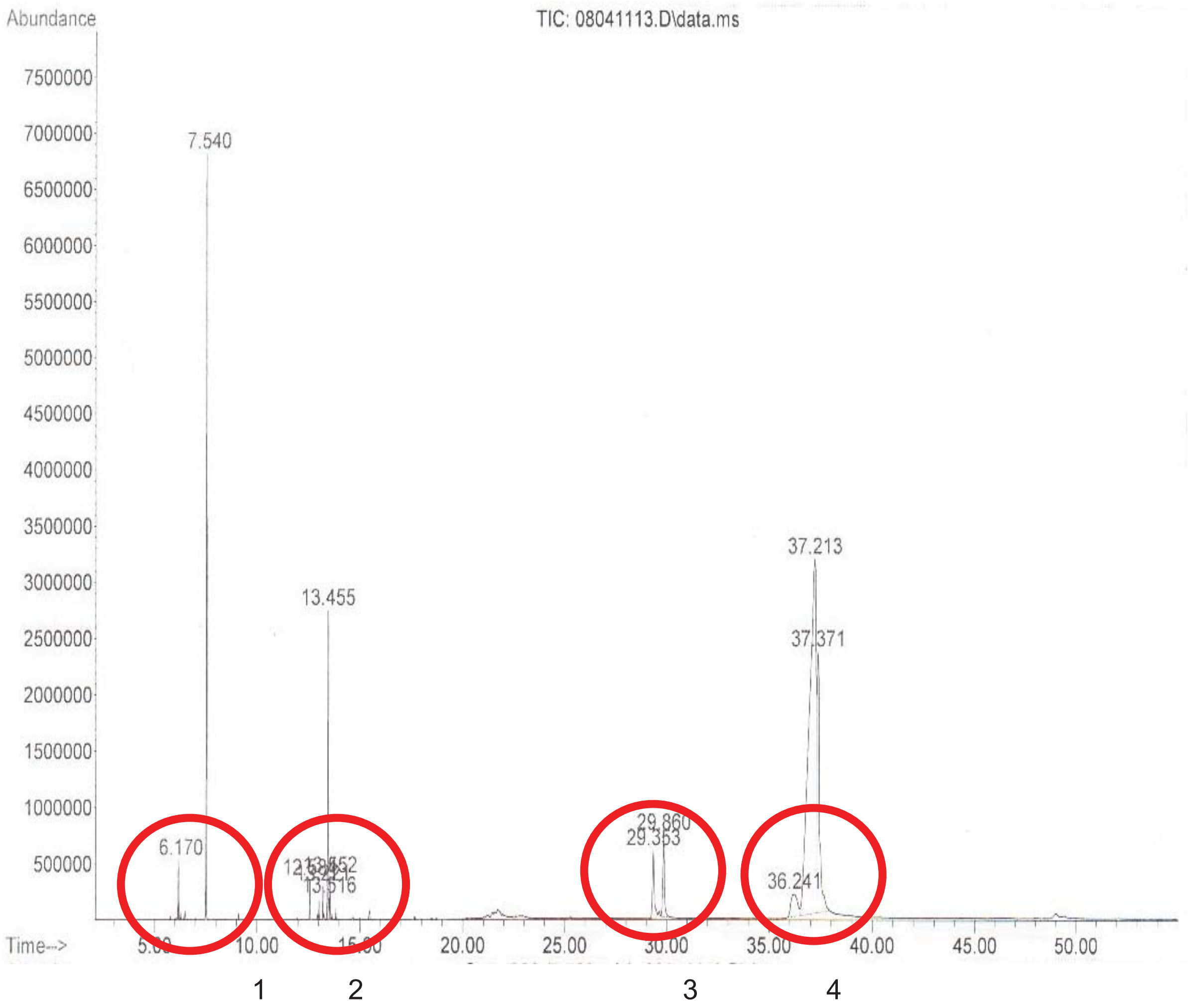
ยางมะม่วงส่วนที่ละลายในไดคลอโรมีเทน มีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นส่วนที่ละลายในเฮกเซน : เอทธิลอะซีเตท : เมทานอล อัตรา 60 : 40 : 0 ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเชื้อรา น่าจะเป็นสารในกลุ่มของ resorcinol เนื่องจากนำมาแยกด้วย Thin layer chromatography ที่มี เฮกเซน : เอทธิลอะซีเตท : เมทานอล อัตรา 60 : 40 : **1** มีค่า Rf ใกล้เคียงกับสาร 5-(12-heptadecenyl)-resorcinol ที่มีในเปลือกของผลมะม่วงดิบมี ซึ่งมีฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อ *Alternaria alternata* ที่เป็นเชื้อสาเหตุสำคัญของโรคแอนแทรคโนสในประเทศอิสราเอล (Cojocaru *et al.*, 1986) สำหรับมะม่วงที่ปลูกในประเทศ

ไทยพบว่าในเปลือกของผลมะม่วงดิบหลายสายพันธุ์มีสาร Resorcinol derivative ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเชื้อรา (วิลาวัลย์และคณะ 2536; ระจิตร, 2536; วุฒิพงษ์ 2539; ทวีสิน, 2539) และมีค่า Rf ใกล้เคียงกับสารต้านทานการเจริญของเชื้อราที่มีในยางของมะม่วงน้ำดอกไม้ (Kumpoun, *et al.*, 2005,) และจากรายงานของ Bandyopadhyay, *et al.* (1985) พบว่าในยางมะม่วงมีสาร 5[2(Z)-heptadecenyl]-resorcinol ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ทำให้เกิดอาการพุพองที่ผิวหนัง

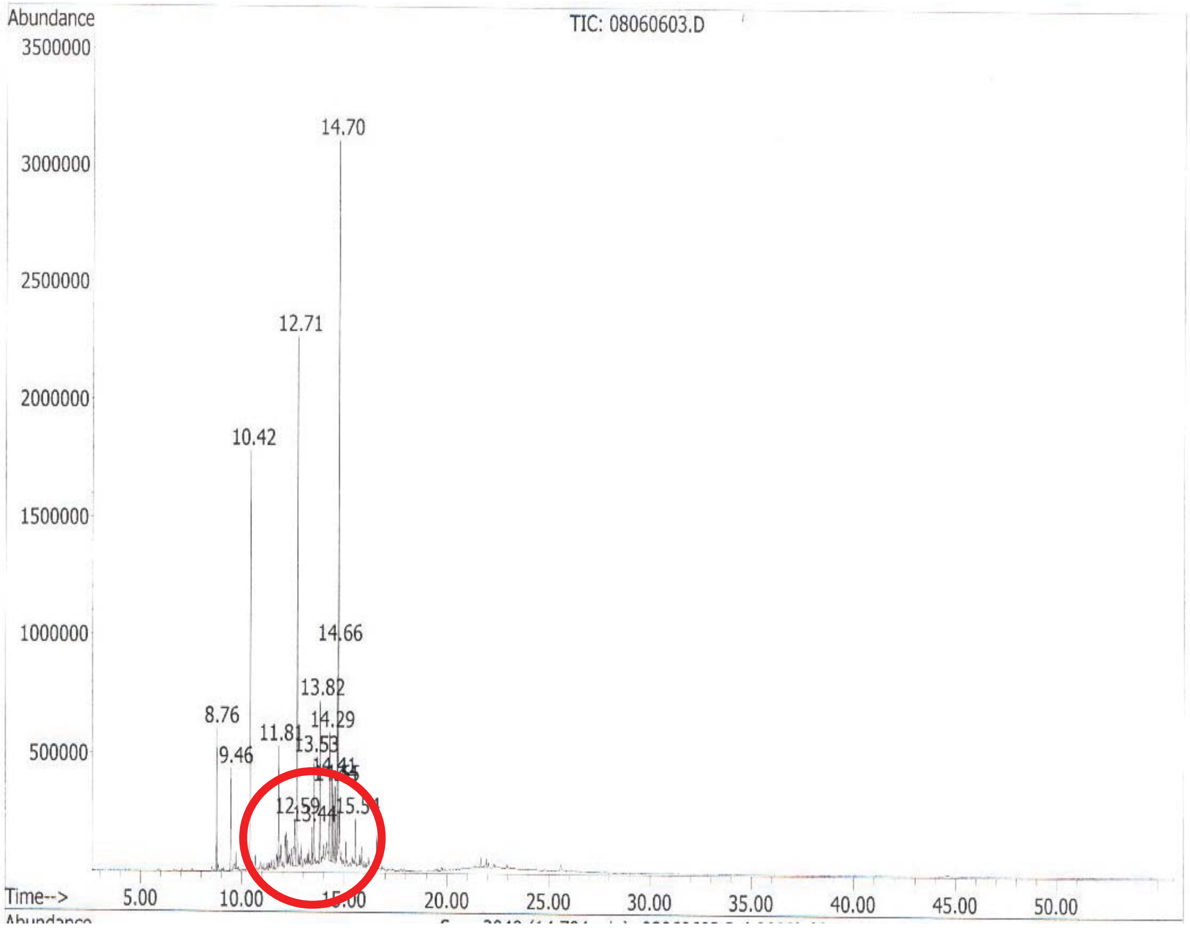
สำหรับสารที่มีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเชื้อราที่แยกได้จากยางของมะม่วงอีกกลุ่มคือ ส่วนที่ละลาย เฮกเซน 100 เปอร์เซ็นต์ น่าจะเป็นสารที่อยู่ในกลุ่มของ essential oil ซึ่ง Saby John *et al.* (1999) ได้วิเคราะห์หาส่วนประกอบของยางมะม่วงอินเดีย 7 สายพันธุ์ด้วยเครื่อง GC-MS รายงานว่ายางของมะม่วงส่วนที่ไม่ละลายน้ำ ส่วนใหญ่ประกอบด้วย Monoterpene viz., ß-myrcene, *tran-/cis-*ocimene และ limonene ซึ่งแต่ละสายพันธุ์มีปริมาณของสารส่วนประกอบแตกต่างกัน การหาสารที่มีฤทธิ์ในการต้านทานเชื้อราให้บริสุทธิ์มากขึ้นจำเป็นต้องเปลี่ยนแปลงวิธีการใหม่ ซึ่งอาจใช้วิธี High Pressure Liquid Chromatography (HPLC) สำหรับแยกสารดังกล่าว ซึ่งจะแยกได้มีประสิทธิภาพมากกว่าวิธี Column Chromatography และ Thin Layer Chromatography เนื่องจากสารที่แยกได้ในปริมาณมากยังคงมีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ทั้งสองกลุ่ม ดังนั้นในการนำสารที่มีฤทธิ์ในการต้านทานการเจริญของเชื้อราไปประยุกต์ใช้ในการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะม่วง จึงไม่มีความจำเป็นในการแยกสารให้บริสุทธิ์ สามารถใช้สารสกัดหยาบจากการสกัดยางมะม่วงด้วยไดคลอโรมีเทน และระเหยไดคลอโรมีเทนออก สามารถเก็บรักษาไว้ได้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส



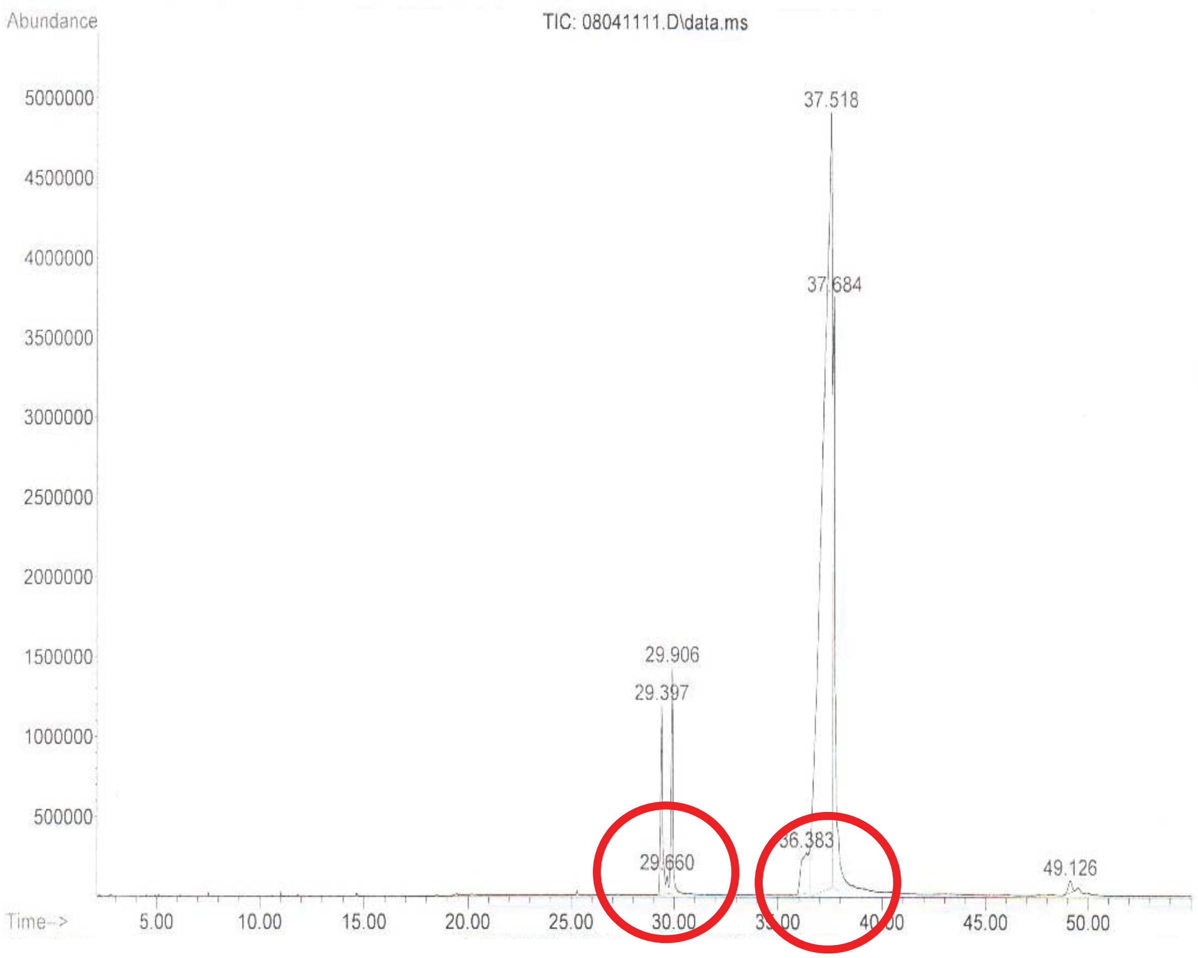
ภาพ 4.4 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบจากยางมะม่วงในส่วนที่ละลายในไดคลอโรมีเทนวิเคราะห์โดย UV-VIS spectrograph



ภาพ 4.5 โครมาโตแกรมของสารสกัดหยาบจากยางมะม่วง วิเคราะห์โดย GC-MS



ภาพ 4.6 โครมาโตแกรมของสารที่แยกได้ในส่วนที่ละลายใน 100 เปอร์เซ็นต์เฮกเซน จากการแยกสารสกัดหยาบจากยางมะม่วง วิเคราะห์โดย GC-MS



ภาพ 4.7 โครมาโตแกรมของสารที่แยกได้ในส่วนที่ละลายใน เฮกเซน : เอทิลอซีเตท : เมทานอล อัตรา 60 : 40 : 0 จากการแยกสารสกัดหยาบจากยางมะม่วง วิเคราะห์โดย GC-MS

การทดลองที่ 3 การหาสายพันธุ์และระยะเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมของมะม่วงที่มีปริมาณสารต้านการเจริญของเชื้อราในยางปริมาณมาก

3.1 **การหาสายพันธุ์ของมะม่วงที่มีปริมาณสารต้านการเจริญของเชื้อราในยางปริมาณมาก**

เมื่อนำมะม่วงสายพันธุ์ต่างๆ 7 สายพันธุ์มาสกัดหาปริมาณสารที่ละลายในไดคลอโรมีเทน ซึ่งเป็นส่วนที่มีสารที่มีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเชื้อ *C. gloeosporioides* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุของโรคแอนแทรกโนสของมะม่วงที่ปลูกในประเทศไทย พบว่า มะม่วงแต่ละสายพันธุ์มีปริมาณสารที่ละลายในไดคลอโรมีเทนแตกต่างกัน โดยเรียงลำดับจากมากไปหาน้อยดังนี้ พันธุ์มหาชนก พันธุ์เขียวมรกต พันธุ์โชคอนันต์ พันธุ์ดันแคน พันธุ์ลิ้นงูเห่า พันธุ์แรด และพันธุ์น้ำดอกไม้ ซึ่งมีปริมาณ 50.2, 38.1, 19.1, 15.7, 8.4, 6.8 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมผลมะม่วง ตามลำดับ สำหรับส่วนที่ละลายในน้ำมีปริมาณเรียงจากมากไปหาน้อยดังนี้ พันธุ์มหาชนก พันธุ์แรด พันธุ์โชคอนันต์ พันธุ์น้ำดอกไม้ พันธุ์เขียวมรกต พันธุ์ลิ้นงูเห่า และ พันธุ์ดันแคน ซึ่งมีปริมาณ 1361.5, 773.3, 497.0, 384.3, 374.6, 338.8 และ 96.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมผลมะม่วง ตามลำดับ (ตาราง 4.3) เมื่อพิจารณาปริมาณยางทั้งหมดพบว่ามะม่วงพันธุ์มหาชนกมีปริมาณยางรวมมากที่สุด ในขณะที่พันธุ์ดันแคนมีปริมาณยางรวมน้อยที่สุด สัดส่วนของยางมะม่วงในส่วนที่ละลายในไดคลอโรมีเทนและส่วนที่ละลายในน้ำ พบว่ามะม่วงพันธุ์ดันแคนมีส่วนที่ละลายในไดคลอโรมีเทนมากที่สุดในขณะที่มะม่วงน้ำดอกไม้มีปริมาณสัดส่วนของที่ละลายในไดคลอโรมีเทนน้อยที่สุด

มะม่วงพันธุ์มหาชนกมีปริมาณสารที่ละลายในไดคลอโรมีเทนสูงที่สุด ซึ่งมากกว่ามะม่วงน้ำดอกไม้ มากกว่า เกือบ 50 เท่า ประกอบกับมะม่วงมหาชนกที่ผลิตได้บางส่วนยังถูกนำไปแปรรูปเป็นน้ำมะม่วง มะม่วงแช่แข็ง เป็นต้น ดังนั้นมะม่วงพันธุ์มหาชนกจึงเป็นพันธุ์ที่เหมาะสำหรับนำมาสกัดแยกเอาสารในส่วนที่ไม่ละลายน้ำให้ได้ปริมาณมากๆ เพื่อนำไปหาวิธีนำเอาไปใช้ในการควบคุมโรคหลังเก็บเกี่ยวของผลมะม่วงต่อไป

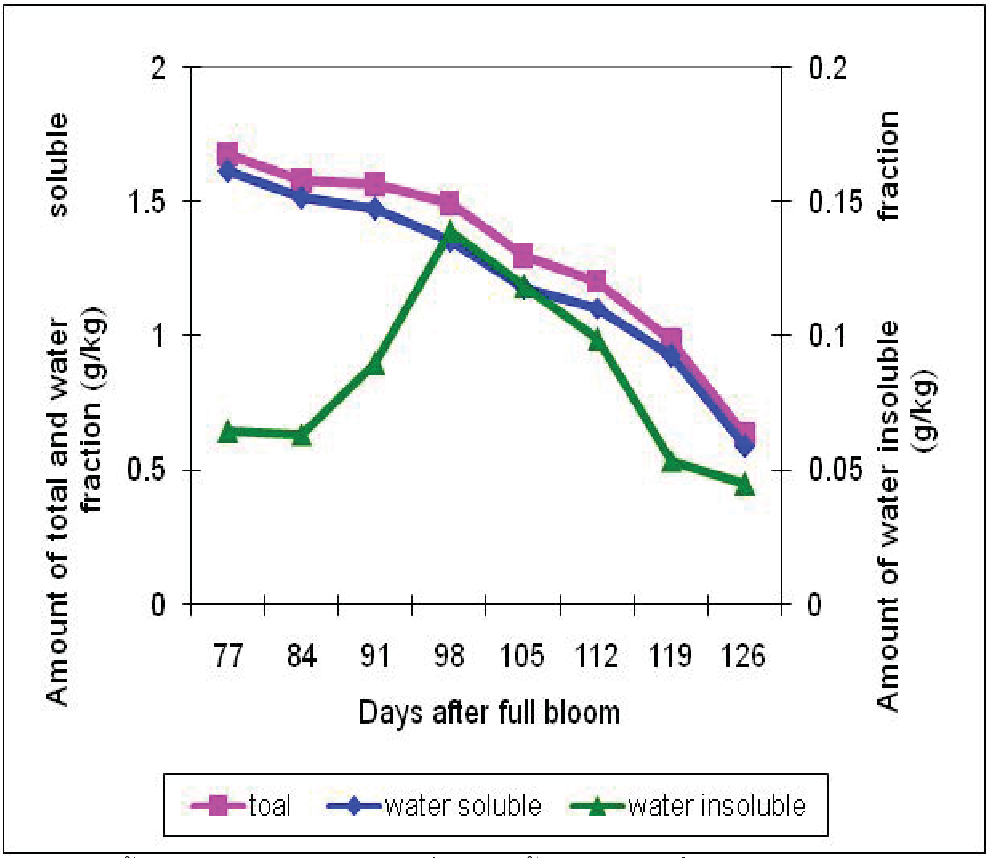
ตาราง 4.4 ปริมาณสารที่ละลายในน้ำและไม่ละลายในน้ำที่สกัดแยกจากยางของมะม่วง พันธุ์ต่าง ๆ

สายพันธุ์	สารที่ไม่ละลายในน้ำ (มก./กก.)	สารที่ละลายในน้ำ (มก./กก.)	% สารที่ไม่ละลายในน้ำ	% สารที่ละลายในน้ำ
มหาชนก	50.20	1361.45	6.823	93.18
น้ำดอกไม้	1.01	384.25	0.263	99.74
โชคอนันต์	19.10	497.01	3.701	96.30
ลิ้นงูเห่า	8.35	338.79	2.405	97.60
แรด	6.80	773.3	0.872	99.13
ดันแคน	15.66	96.28	13.993	86.01
เขียวมรกต	38.05	374.63	9.220	90.78

3.2 สกัดแยกหาสารต้านการเจริญของเชื้อราในยางมะม่วงในมะม่วงพันธุ์มหาชนกที่มีระยะความแก่ต่าง ๆ กัน

เมื่อนำเอาผลมะม่วงมหาชนกที่เก็บเกี่ยวอายุแตกต่างกันตั้งแต่ **77 – 126** วันหลังดอกบาน โดยเก็บผลมะม่วงทุก ๆ **7** วัน มาสกัดแยกด้วยไดคลอโรมีเทน พบว่าปริมาณของยางทั้งหมดมีปริมาณลดลงเมื่อผลมะม่วงมีอายุเพิ่มมากขึ้นโดยมีปริมาณสูงสุดเมื่อผลมะม่วงมีอายุ 77 วัน จำนวน 1979.58, มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของมะม่วง และมีปริมาณลดลงเมื่อผลมะม่วงมีอายุมากขึ้นโดยมีปริมาณน้อยที่สุดเมื่อเก็บเกี่ยวที่อายุ 126 วัน จำนวน 634.24 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมผลมะม่วง ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกับปริมาณของสารที่ละลายในน้ำมีปริมาณลดลงเมื่อผลมะม่วงมีอายุเพิ่มขึ้นโดยมีปริมาณมากที่สุดเมื่อผลมะม่วงมีอายุ 77 วัน จำนวน 1616.08 และปริมาณลดลงน้อยที่สุดเมื่อผลมะม่วงมีอายุ 126 วัน จำนวน 589.31 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมผลมะม่วง สำหรับปริมาณสารที่ละลายในไดคลอโรมีเทน (ไม่ละลายน้ำ) มีปริมาณเพิ่มขึ้น เมื่อผลมีอายุมากขึ้นจนถึงระยะเก็บเกี่ยว เมื่อมีอายุ 98 วัน มีปริมาณ 138.97 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมผลมะม่วง และปริมาณจะลดลงเมื่อผลมะม่วงมีอายุมากขึ้นจนถึงอายุ 126 วัน มีปริมาณสารที่ไม่ละลายน้ำ 44.94 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมผลมะม่วง (ภาพ 4.8) สัดส่วนของสารที่ไม่ละลายน้ำต่อปริมาณยางทั้งหมดมีการเปลี่ยนแปลงไปในทิศทางเดียวกับปริมาณของสารที่ไม่ละลายน้ำโดยมีค่า 3.78 เปอร์เซ็นต์ เมื่อมะม่วงมีอายุ 77 วัน มีค่าเพิ่มมากขึ้นเมื่อมะม่วงมีอายุมากขึ้นและมีค่ามากที่สุดในเมื่อผลมะม่วงมีอายุ **98** วัน 9.3 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นช่วงระยะเก็บเกี่ยว (Mature green) และจะลดลงเมื่อผลมะม่วงมีอายุมากขึ้น มีค่า 8.22 เมื่อมะม่วงมีอายุ 126 วัน (ตาราง 4.5)

ปริมาณของสารส่วนไม่ละลายน้ำมีสารที่มีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเชื้อราอยู่ สารนี้มีปริมาณสูงสุดในช่วงที่มะม่วงมีอายุอยู่ในช่วงเก็บเกี่ยว ซึ่งความสัมพันธ์กับการเกิดโรคของผลมะม่วง จากรายงานที่ผ่านมาพบว่า ผลมะม่วงที่เก็บเกี่ยวล่าช้าจะมีอัตราการเกิดโรคสูงกว่าผลที่เก็บเกี่ยวในระยะแก่ทางสรีรวิทยา สารที่มีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเชื้อราจะมีปริมาณลดลงมากเมื่อผลมะม่วงสุก (ระจิตร 2536; Kumpoun *et al.* 1998) การที่ผลมะม่วงในระยะเก็บเกี่ยวมีสารในส่วนที่ไม่ละลายน้ำในยางปริมาณมากทำให้มีความเป็นไปได้ในการนำเอายางมะม่วงมาใช้ให้เกิดประโยชน์ในการป้องกันโรคหลังเก็บเกี่ยวมะม่วง เนื่องจากยางของมะม่วงซึ่งเป็นส่วนที่ต้องกำจัดทิ้งหลังจากเก็บเกี่ยวจากต้นแล้ว ก่อนที่จะนำไปจัดการกระบวนการหลังการเก็บเกี่ยวในโรงคัดบรรจุหรือนำไปแปรรูปต่อไป ซึ่งน่าจะเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับยางของมะม่วงได้ ถ้าสารต้านทานการเจริญของเชื้อรามีมากในช่วงผลอ่อนอาจทำให้ไม่สามารถนำยางมาใช้ให้เกิดประโยชน์ในทางเศรษฐกิจได้ เนื่องจากผลมะม่วงที่นำมาสกัดยางไม่สามารถนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์ได้ซึ่งทำให้เกิดการสูญเสียมูลค่าทางเศรษฐกิจ



ภาพ 4.8 ปริมาณน้ำหนักแห้งของยาง ส่วนที่ละลายน้ำ และส่วนที่ละลายในไดคลอโรมีเทนของมะม่วงพันธุ์มหาชนกที่เก็บเกี่ยวที่ความแก่ต่างๆ

ตาราง 4.5 ปริมาณน้ำหนักแห้งของยาง สารที่ละลายในน้ำ และไม่ละลายในน้ำที่สกัดแยกจากยางของมะม่วงพันธุ์มหาชนกที่ระยะความแก่ต่าง ๆ กัน

จำนวนวันหลังดอกบาน	ปริมาณยางทั้งหมด (มก./กก.)	สารที่ไม่ละลายในน้ำ (มก./กก.)	สารที่ละลายในน้ำ (มก./กก.)	% สารที่ไม่ละลายในน้ำ	% สารที่ละลายในน้ำ
77 วัน	1679.58	63.50	1616.08	3.78	96.22
84 วัน	1580.07	64.73	1515.34	4.10	95.90
91 วัน	1563.72	89.95	1473.78	5.75	94.25
98 วัน	1493.75	138.97	1354.78	9.30	90.70
105 วัน	1297.72	118.53	1179.19	9.13	90.87
112 วัน	1204.81	99.03	1105.78	8.22	91.78
119 วัน	982,70	53.65	929.05	5.46	94.54
126 วัน	634.24	44.94	589.31	7.09	92.91

การทดลองที่ 4 ความสัมพันธ์ของปริมาณและคุณภาพของสารต้านการเจริญของเชื้อราที่มีในยางของมะม่วงต่อความอ่อนแอต่อโรคแอนเทรกโนส ของมะม่วงไทย 8 สายพันธุ์

เมื่อนำเอาผลมะม่วงจำนวน 8 สายพันธุ์ ที่เก็บเกี่ยวในระยะเก็บเกี่ยวทางการค้ามาเก็บยางและนำยางมาสกัดแยกด้วยไดคลอโรมีเทน ผลการทดลองพบว่ามะม่วงพันธุ์แก้วมีปริมาณของสารที่ไม่ละลายในน้ำต่อกิโลกรัมของผลมะม่วงมากที่สุด และเรียงจากมากไปหาน้อยดังนี้คือ พันธุ์แก้ว พันธุ์มหาชนก พันธุ์เขียวมรกต พันธุ์แก้วจุก พันธุ์โชคอนันต์ พันธุ์น้ำดอกไม้ พันธุ์แรด และ พันธุ์เขียวเสวยโดยมีค่า 158.2, 86.9, 63.9, 51.0, 28.6, 19.3, 13.4 และ 7.9 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมผลมะม่วง ตามลำดับ สัดส่วนของสารที่ไม่ละลายในน้ำต่อปริมาณยางทั้งหมดในแต่ละสายพันธุ์แตกต่างกัน โดยเรียงจากมากไปหาน้อยดังนี้ พันธุ์แก้ว พันธุ์มหาชนก พันธุ์โชคอนันต์ พันธุ์เขียวเสวย พันธุ์แก้วจุก พันธุ์เขียวมรกต พันธุ์แรด และพันธุ์น้ำดอกไม้ โดยมีค่า 20.9, 13.3, 11.3, 11.0, 9.0, 9.0, 2.7, และ 2.0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตาราง 4.6) เมื่อนำเอาสารส่วนที่ไม่ละลายน้ำของแต่ละสายพันธุ์ปริมาณเท่ากันไปแยกด้วย Thin Layer Chromatography พบว่า รูปแบบของสารที่แยกได้มะม่วงพันธุ์แก้วประกอบด้วยสารเพียง 2 กลุ่ม พันธุ์แก้วจุก พันธุ์โชคอนันต์ พันธุ์เขียวมรกต และพันธุ์มหาชนก ประกอบด้วยสาร 4 กลุ่ม พันธุ์เขียวเสวย พันธุ์น้ำดอกไม้ และพันธุ์แรด ประกอบด้วยสาร 5 กลุ่ม (ภาพ 4.9) เมื่อนำเอาส่วนที่ไม่ละลายน้ำไปแยกด้วย GC-MS และแบ่งโครมาโตแกรมของสารต่างๆ ออกเป็น 4 กลุ่มตามภาพ 4.5 พบว่าปริมาณของสารในแต่ละกลุ่มของแต่ละสายพันธุ์แตกต่างกัน โดยปริมาณของสารในกลุ่ม 1 ซึ่งเป็นสารในกลุ่มของ essential oil เรียงจากมากไปหาน้อย คือ พันธุ์แก้ว พันธุ์มหาชนก พันธุ์แก้วจุก พันธุ์โชคอนันต์ พันธุ์เขียวมรกต พันธุ์เขียวเสวย พันธุ์แรด และพันธุ์น้ำดอกไม้ โดยมีปริมาณสารในกลุ่ม 1 49.2, 46.2, 36.2, 35.9, 20.9, 0.9, 0.6 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีปริมาณตรงข้ามกับสารในกลุ่มที่ 4 ซึ่งมีค่าเรียงจากน้อยไปหามากดังนี้ 43.4, 46.2, 54.2, 53.3, 63.1, 82.1 89.7 และ 93.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตาราง 4.7)

เมื่อนำผลมะม่วงแต่ละสายพันธุ์ไปปลูกเชื้อบนผิวของผลด้วยเชื้อ *C. gloeosporioides* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุของโรคแอนแทรกโนสแล้ววางไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่า ขนาดของบาดแผลที่เกิดจากการปลูกเชื้อที่ผิวของผลมะม่วงมีขนาดแตกต่างกัน โดยเรียงจากแผลขนาดเล็กไปหาแผลขนาดใหญ่ ดังนี้ พันธุ์เขียวมรกต พันธุ์แก้ว พันธุ์โชคอนันต์ พันธุ์เขียวเสวย พันธุ์แก้วจุก พันธุ์มหาชนก พันธุ์แรด และ พันธุ์น้ำดอกไม้ หลังจากการปลูกเชื้อ 10 วัน ขนาดของแผลบนผลขนาด 0.7, 0.9, 1.0 1.9, 2.1, 4.9 และ 6.1 เซนติเมตร ตามลำดับ (ภาพ 4.10) หลังจากการปลูกเชื้อและเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 10 วัน ขนาดแผลที่ปลูกเชื้อบนผิวผลมะม่วงพันธุ์เขียวมรกตมีขนาดแผลเล็กที่สุด พบว่ามะม่วงพันธุ์เขียวมรกตมีการสุกช้ากว่ามะม่วงพันธุ์อื่นๆโดยที่สีเปลือก สีเนื้อ และความแน่นเนื้อยังไม่มีการเปลี่ยนแปลง ในขณะที่มะม่วงพันธุ์อื่นๆ ผลเริ่มสุก สีเปลือกและสีเนื้อเปลี่ยนเป็นสีเหลืองมากขึ้น เนื้อผลอ่อนนิ่ม (ภาพ 4.11)

มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้และพันธุ์แรดมีความอ่อนแอต่อการเกิดโรคมากกว่าพันธุ์อื่นๆ เนื่องจากมีขนาดของแผลบนผลมะม่วงใหญ่กว่าพันธุ์อื่นๆ เมื่อพิจารณาปริมาณสารที่ไม่ละลายในน้ำในยางของผลมะม่วงในแต่ละสายพันธุ์ พบว่าพันธุ์น้ำดอกไม้และพันธุ์แรดมีปริมาณสารที่ไม่ละลายในน้ำน้อยกว่าพันธุ์อื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ปริมาณของส่วนที่ไม่ละลายน้ำในยางของผลมะม่วงความสัมพันธ์โดยตรงต่อการต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนส โดยเรียงจากแผลขนาดเล็กไปหาแผลขนาดใหญ่ และจากปริมาณสารในส่วนที่ไม่ละลายน้ำจากมากไปหาน้อยดังนี้คือ พันธุ์แก้ว พันธุ์โชคอนันต์ พันธุ์เขียวเสวย พันธุ์แก้วจุก พันธุ์มหาชนกเขียวมรกต พันธุ์แรด และ พันธุ์น้ำดอกไม้ ที่มะม่วงพันธุ์แก้วมีปริมาณสารที่ไม่ละลายน้ำสูงที่สุด ในขณะที่พันธุ์น้ำดอกไม้มีปริมาณสารที่ไม่ละลายน้ำต่ำที่สุด ซึ่งตรงข้ามกับขนาดของบาดแผลที่เกิดจากการปลูกเชื้อที่ผิวของผลมะม่วง สายพันธุ์มะม่วงที่มีขนาดความกว้างของบาดแผลที่ปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุของโรคแอนแทรกโนสเรียงจากน้อยไปหามาก และมีปริมาณของสารที่ไม่ละลายในน้ำ และจากการศึกษามะม่วงหลายสายพันธุ์ พบว่าในมะม่วงพันธุ์แก้วขณะผลดิบมีปริมาณต้านทานการเจริญของเชื้อราสารชนิดนี้ในสารสกัดหยาบจากเปลือกสูงกว่าในพันธุ์อื่นๆ (วุฒิพงษ์ 2539) และมะม่วงพันธุ์แก้วมีความทนทานต่อโรคแอนแทรกโนสได้ดีกว่าพันธุ์อื่น ๆ

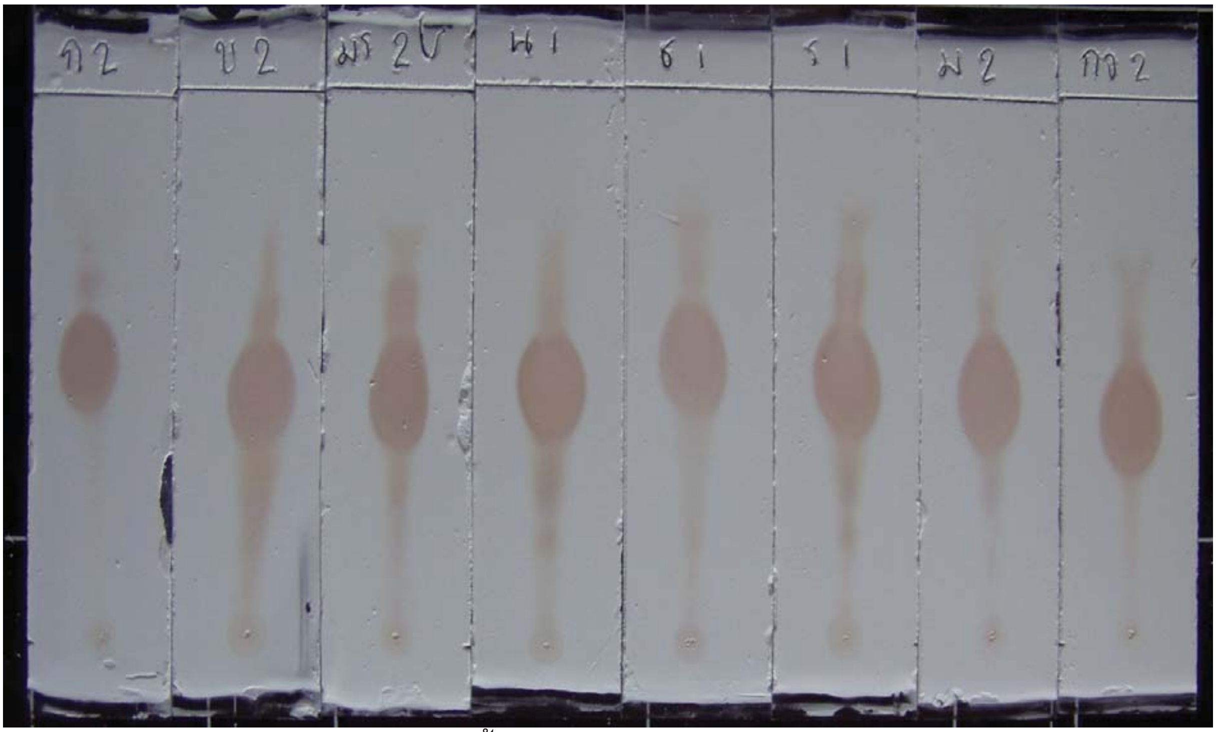
ในส่วนต่างๆ ของยางมะม่วงที่แยกได้ด้วย GC-MS สารในกลุ่มที่ 1 ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม essential oil มีความสัมพันธ์กับการต้านทานโรคของมะม่วงกล่าวคือ มะม่วงพันธุ์แก้วซึ่งมีความต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนสโดยมีขนาดของแผลเล็กที่สุด มีปริมาณมีสารในกลุ่มที่ 1 มากที่สุด และในทางตรงข้ามมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ และพันธุ์แรดมีความอ่อนแอต่อโรคแอนแทรกโนสโดยมีขนาดของแผลกว้างที่สุดมีปริมาณมีสารในกลุ่มที่ 1 น้อยที่สุด ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่า สารที่มีผลต่อการต้านทานโรคแอนแทรกโนสที่มีในยางของมะม่วงส่วนที่เป็น essential oil มากกว่าในกลุ่มที่ 3 และกลุ่ม 4 ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มอนุพันธ์ของ resorcinol

ตาราง 4.6 ปริมาณสารที่ละลายในน้ำและไม่ละลายในน้ำที่สกัดแยกจากยางของมะม่วงไทย 8 สายพันธุ์

สายพันธุ์	สารที่ไม่ละลายในน้ำ (มก./กก.)	สารที่ละลายในน้ำ (มก./กก.)	% สารที่ไม่ละลายในน้ำ	% สารที่ละลายในน้ำ
น้ำดอกไม้	19.31	955.92	1.980	98.02
แรด	13.40	478.40	2.724	97.28
เขียวเสวย	7.91	61.57	11.384	88.62
โชคอนันต์	28.56	186.35	13.288	86.71
แก้ว	158.23	598.63	20.906	79.09
แก้วจุก	51.03	414.80	10.955	89.05
มหาชนก	86.94	876.99	9.019	90.98
เขียวมรกต	63.86	643.74	9.025	90.98

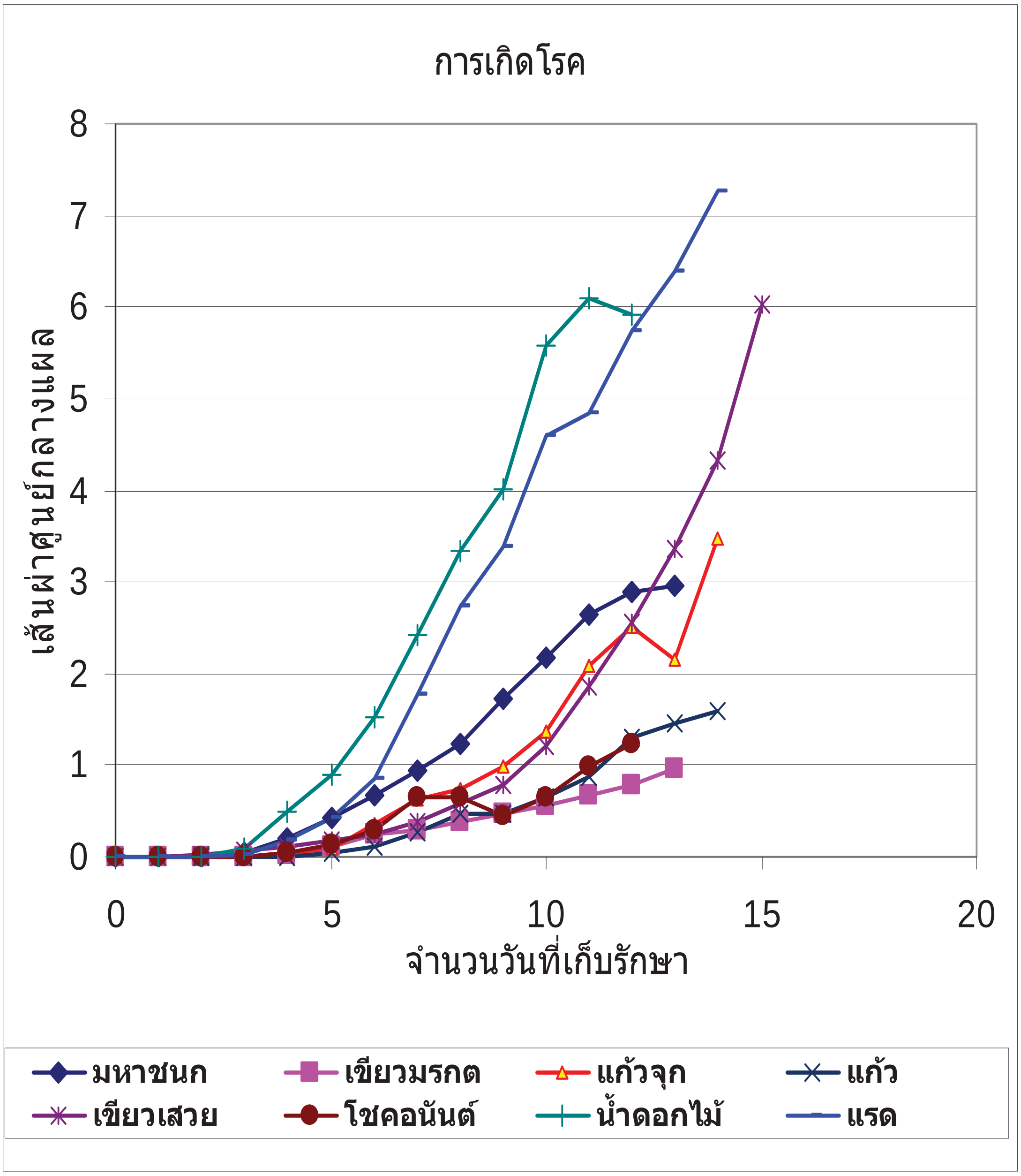
ตาราง 4.7 เปอร์เซ็นต์ของสารที่แยกด้วย GC-MS กลุ่มต่างๆ 4 กลุ่ม จากส่วนที่ไม่ละลายในน้ำที่สกัดแยกจากยางของมะม่วงไทย 8 สายพันธุ์

พันธุ์	กลุ่มที่ 1	กลุ่มที่ 2	กลุ่มที่ 3	กลุ่มที่ 4
มหาชนก	46.83	3.34	3.68	46.16
เขียวมรกต	20.91	5.37	10.66	63.07
แก้วจุก	36.19	1.86	7.75	54.20
แก้ว	49.21	2.03	5.39	43.36
เขียวเสวย	0.93	0.57	16.39	82.12
โชคอนันต์	35.87	5.30	5.59	53.25
น้ำดอกไม้	0.65	2.47	7.14	89.74
แรด	0.49	0.09	10.12	89.31



แก้ว เขียวเสวย เขียวมรกต น้ำดอกไม้ โชคอนันต์ แรด มหาชนก แก้วจุก

ภาพ 4.9 Thin Layer Chromatograph ส่วนที่ไม่ละลายน้ำของยางมะม่วงที่สกัดแยกจากยางของมะม่วงไทย 8 สายพันธุ์



ภาพ 4.10 ขนาดของแผลที่ปลูกด้วยสปอร์ของเชื้อ *C. gloeosporioides* จำนวน 4×10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร บนผลมะม่วง 8 สายพันธุ์ เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ภาพ 4.11 ผลมะม่วง 8 สายพันธุ์ หลังจากการปลูกด้วยสปอร์ของเชื้อ *C. gloeosporioides* จำนวน 4 x 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตรบนผิวผล เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 10 วัน

การทดลองที่ 5. วิธีการนำเอาสารที่สกัดได้จากยางของมะม่วงไปใช้ในการป้องกันโรค

5.1 ทดสอบการใช้สารต้านทานการเจริญของเชื้อราเปรียบเทียบกับวิธีการควบคุมโรควิธีต่าง ๆ

นำเอายางในส่วนที่ไม่ละลายน้ำของมะม่วงพันธุ์มหาชนกไปทดสอบ เพื่อใช้ในการควบคุมโรคหลังเก็บเกี่ยวของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีความสำคัญในการส่งออก และมีความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของโรคแอนแทรกโนสมากที่สุด ด้วยวิธีการต่างๆ 10 วิธี พบว่าผลมะม่วงที่เคลือบผลด้วยสารเคลือบผิว Teva ที่ผสมสารที่สกัดได้จากยางของมะม่วงพันธุ์มหาชนก 1000 ppm (J) และเคลือบด้วยสารเคลือบผิว Zivdar ที่มีส่วนผสมของสารเคมีกำจัดเชื้อรา Imazalil (I) มีการเกิดโรคต่ำที่สุด โดยเรียงลำดับของการเกิดโรคจากน้อยไปหามากดังนี้ เคลือบด้วยสารเคลือบผิว Teva (H), ชุดควบคุม (A), แช่น้ำร้อนอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสนาน 5 นาที (B), เคลือบด้วยไคโตซาน (E), เคลือบด้วยไคโตซานและยางมะม่วง 1000 ppm (F), เคลือบด้วยยางมะม่วง (G), ขัดในน้ำร้อน อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสนาน 5 นาที (C) และ แช่ในคาร์เบนดาซิมร้อนอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสนาน 5 นาที (D) (ภาพ 4.12) ระหว่างการเก็บรักษาผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่ามีการสูญเสียน้ำหนักแตกต่างกัน โดยที่ผลที่มีการเคลือบผิวด้วยสารเคลือบผิวทางการค้า Teva ทั้ง 3 วิธีการ มีการสูญเสียน้ำหนักไม่แตกต่างกันและมีค่าน้อยที่สุด 6 - 8 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษานาน 8 วัน ขณะที่ผลมะม่วงที่ขัดในน้ำร้อนมีการสูญเสียน้ำมากที่สุด 21 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษานาน 8 วัน ผลมะม่วงที่แช่ในน้ำร้อน แช่ในคาร์เบนดาซิมร้อน เคลือบผิวด้วยสารสกัดจากยางของมะม่วง เคลือบผิวด้วยไคโตซาน และเคลือบผิวด้วยไคโตซานและสารสกัดจากยางมะม่วง มีการสูญเสียน้ำไม่แตกต่างจากชุดควบคุมที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการใดๆ โดยมีการสูญเสียน้ำ 13 – 18 เปอร์เซ็นต์ (ภาพ 4.13) ผลมะม่วงมีการพัฒนาการสุกไมแตกต่างกัน โดยที่มีคุณภาพในการบริโภคต่างๆ เช่น ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ ความแน่นเนื้อ สีเนื้อ สีเปลือก และการประเมินรสชาติในการบริโภคไม่มีความแตกต่างกัน

การใช้สารที่สกัดได้จากยางของมะม่วงพันธุ์มหาชนกเพื่อใช้ในการป้องกันการเกิดโรคแอนแทรกโนส บนผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีความสำคัญในการส่งออกและมีความอ่อนแอต่อโรคแอนแทรกโนสมากที่สุด การนำเอาสารที่สกัดได้จากยางของมะม่วงผสมสารเคลือบผิวทางการค้า Teva สามารถลดการเข้าทำลายของโรคได้ เท่ากับที่เคลือบด้วยด้วยสารเคลือบผิวทางการค้า Zivdar ที่มีส่วนประกอบเช่นเดียวกับสารเคลือบผิว Teva แต่มีการเติมสารเคมีกำจัดเชื้อรา Imazalil และมีการเกิดโรคน้อยกว่าผลมะม่วงที่เคลือบด้วยสารเคลือบผิว Teva แสดงว่าสารที่สกัดได้จากยางมะม่วงมีผลในการกำจัดโรคได้เช่นเดียวกับสารเคมีกำจัดเชื้อรา Imazalil นอกจากนี้การเคลือบผิวด้วยสารเคลือบผิวยังช่วยทำให้ลดการสูญเสียน้ำของผลมะม่วง และยังทำให้เกิดความสวยงามกับผิวผลด้วย

การแช่ผลมะม่วงในสารละลายของสารที่สกัดได้จากยางมะม่วงในสภาพอุณหภูมิสูงมีแนวโน้มในการลดการเข้าทำลายของโรคได้ดี แตกต่างจากวิธีการอื่นๆ เช่น การเคลือบผลมะม่วงด้วยสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยตรง ซึ่งพบว่าไม่สามารถลดการเกิดโรคได้ อาจเนื่องจากการเคลือบด้วยยางโดยตรงไม่สามารถติดที่ผิวผลได้นาน และเนื่องจากสารชนิดนี้มีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ จึงทำให้การเคลือบไม่สามารถติดผลได้ จึงได้มีการทดสอบวิธีการแช่ผลมะม่วงในสารละลายที่สกัดได้จากยางของมะม่วงใน

สภาพความดันบรรยากาศต่ำในระยะเวลาต่างๆ เพื่อผลักให้สารแทรกซึมเข้าไปในผิวผล พบว่าไม่มีผลในการลดการเกิดโรคแอนแทรกโนส แต่ยังเป็นการกระตุ้นให้ผลมะม่วงเกิดการสูญเสียน้ำและสุกเร็วขึ้น วิธีการนำเอาสารสกัดจากยางของมะม่วงมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมโรค อาจเกิดการเสื่อมสภาพของสารที่มีฤทธิ์ในการต้านทานเชื้อราของสารที่สกัดได้จากยางของมะม่วง ไม่ได้แสดงข้อมูล

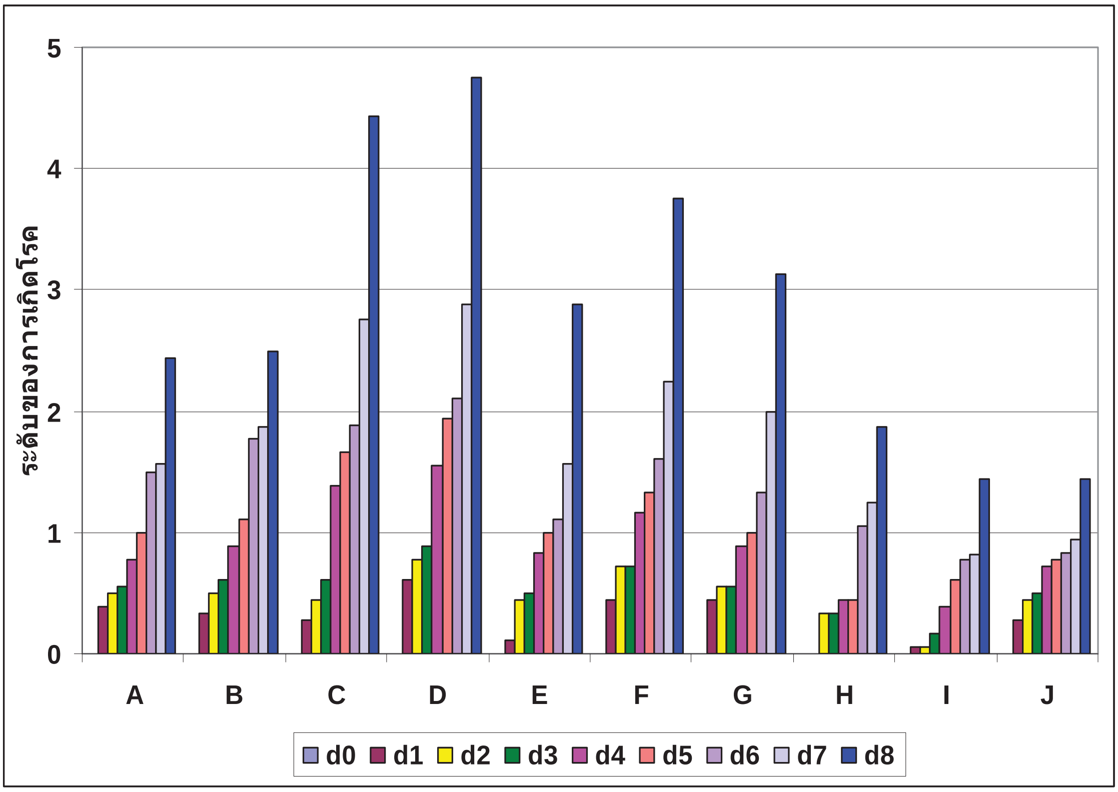
การขัดผลมะม่วงด้วยแปรงในน้ำร้อนอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ไม่สามารถลดการเกิดโรคและยังเป็นการกระตุ้นให้มะม่วงมีการสูญเสียน้ำสูง และเกิดบาดแผลทำให้เกิดโรคได้ง่าย ซึ่งได้ผลแตกต่างจากรายงานของ Prusky *et al.* (1999) พบว่าการแปรงมะม่วงในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 56-64 องศาเซลเซียส นาน 15-20 วินาที สำหรับมะม่วงพันธุ์ Tommy Atkins สามารถลดการเข้าทำลายของโรคได้ดีกว่าการแช่ในน้ำร้อน 55 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที อุณหภูมิ 48 – 64 องศาเซลเซียส สำหรับมะม่วงพันธุ์ Keitt และ พันธุ์ Lilly ให้ผลไม่แตกต่างกันตั้งแต่อุณหภูมิ 48 – 60 องศาเซลเซียส สำหรับมะม่วงพันธุ์ Haden และสำหรับมะม่วงพันธุ์ Palmer และพันธุ์ Kent การขัดผลที่อุณหภูมิ 64 องศาเซลเซียสให้ผลดีกว่าการแช่น้ำร้อน 55 องศาเซลเซียส เพียง 50 เปอร์เซ็นต์ การขัดผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ด้วยแปรงที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 5 นาทีอาจนานเกินไปทำให้เกิดบาดแผลทำให้เกิดการสูญเสียน้ำได้ง่าย และเกิดการเข้าทำลายของเชื้อโรคได้ง่าย และยังเป็นการแพร่ระบาดของโรคจากผลหนึ่งไปยังผลอื่นๆ ได้ จากงานของ Prunsky *et al.* ขัดผิวที่อุณหภูมิ 48-64 ใช้ระยะเวลาในการขัดเพียง 15 – 20 วินาที และอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับมะม่วงแต่ละสายพันธุ์แตกต่างกัน นอกจากนี้รัมม์พันและคณะ (2554) ได้รายงานการทดสอบผลของการแช่น้ำร้อน 53 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที และขัดล้าง 2 นาที ได้ผลในการควบคุมโรคหลังเก็บเกี่ยวได้ดีกว่าการอบไอน้ำที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียสนาน 20 นาที ดังนั้นถ้าต้องการนำมาใช้ในกรณีของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ จึงควรมีการทดสอบเพิ่มเติมทั้งอุณหภูมิที่เหมาะสม วิธีการขัด และเวลาที่ใช้ในการขัด เพื่อหลีกเลี่ยงการเกิดบาดแผลต่อผลมะม่วง

การแช่ผลมะม่วงในสารละลายคาร์เบนดาซิม ซึ่งเป็นสารเคมีที่ใช้ในการป้องกันเชื้อรา การที่นำมาใช้ร่วมกับน้ำร้อนอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส อาจทำให้สารเคมีเสื่อมสภาพในการกำจัดเชื้อ และอาจมีผลต่อผิวของมะม่วงทำให้มะม่วงอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อได้ จึงทำให้ผลมะม่วงมีการเกิดโรครุนแรงกว่าวิธีการอื่นๆ และชุดควบคุม

การเคลือบผิวผลมะม่วงด้วยไคโตซาน และผสมสารที่สกัดได้จากยางมะม่วงในไคโตซาน พบว่าไม่มีผลต่อทั้งการลดโรคและการลดการสูญเสียน้ำหนัก แตกต่างจากการเคลือบผิวผลมะม่วงด้วยสารเคลือบผิวทางการค้า Teva ที่ผสมสารสกัดจากยางของมะม่วง สามารถลดการสูญเสียน้ำได้ดีและยังลดการเข้าทำลายของโรคแอนแทรกโนสด้วย ซึ่งสารเคลือบผิวทางการค้า Teva มีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นออกซิไดซ์โพลีเอทธิลีน และได้ผลแตกต่างจากวิทวัสและคณะ (2545) รายงานว่าการเคลือบผิวมะม่วงพันธุ์มหาชนกด้วยไคโตซาน 0.5 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดการเกิดโรคแอนแทคโนสได้ การที่ผลมะม่วงที่เคลือบผิวด้วยไคโตซานไม่มีผลต่อการลดการสูญเสียน้ำหนักและลดการเกิดโรคได้ อาจเป็นผลเนื่องจากไคโตซานที่ใช้ในครั้งนี้อาจมีคุณสมบัติแตกต่างจากที่วิทวัสและคณะใช้ในการเคลือบผลมะม่วงพันธุ์มหาชนก และยังใช้เคลือบมะม่วงมะม่วงต่างสายพันธุ์กัน ซึ่ง Hagenmaier and Baker, (1993; 1994a; 1994b) รายงานว่าสารเคลือบผิวต่างชนิดกันและส่วนผสมของสารเคลือบผิวที่ใช้เคลือบแตกต่าง

กัน มีผลต่ออัตราการแลกเปลี่ยนก๊าซภายในผลและภายนอกผล และมีผลต่อชนิดหรือสายพันธุ์ของผลไม้แตกต่าง นอกจากนี้วิลาวัลย์และคณะ (2552) รายงานว่าส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งที่เก็บเกี่ยวจากแหล่งผลิตต่างกัน เมื่อนำมาเคลือบผิวด้วยสารเคลือบผิวชนิดเดียวกันและเก็บรักษาในสภาพเดียวกันจะมีการสูญเสียน้ำหนัก และมีการสะสมก๊าซภายในผลแตกต่างกัน

การใช้ประโยชน์จากสารสดักจากยางของมะม่วงในการป้องกันโรคหลังเก็บเกี่ยวของผลมะม่วง การผสมสารที่สกัดได้จากยางของมะม่วงในสารเคลือบผิวชนิดต่างๆ และการแช่ผลมะม่วงในสารละลายของสารที่สกัดได้ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในสภาพอุณหภูมิสูง จึงเป็นวิธีการที่มีความเป็นไปได้ในการควบคุมโรคหลังเก็บเกี่ยวของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีการส่งออกเป็นปริมาณมาก ดังนั้นจึงควรนำไปทำการทดลองซ้ำเพื่อหาวิธีการควบคุมการเข้าทำลายของโรคให้มีประสิทธิภาพในฤดูต่อไป ด้วยการหาความเข้มข้นที่เหมาะสม และอาจศึกษาร่วมกับการเก็บรักษาด้วยวิธีการอื่นๆ ด้วย



A = ชุดควบคุม

B= แช่น้ำร้อนอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

C= ล้างและขัดด้วยแปรงในน้ำร้อน อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

D= แช่ในคาร์เบนดาซิมร้อน อุณหภูมิ 55 องศเซลเซียส นาน 5 นาที

E= เคลือบด้วยไคโตซาน

F= เคลือบด้วยไคโตซานและยางมะม่วง 1000 ppm

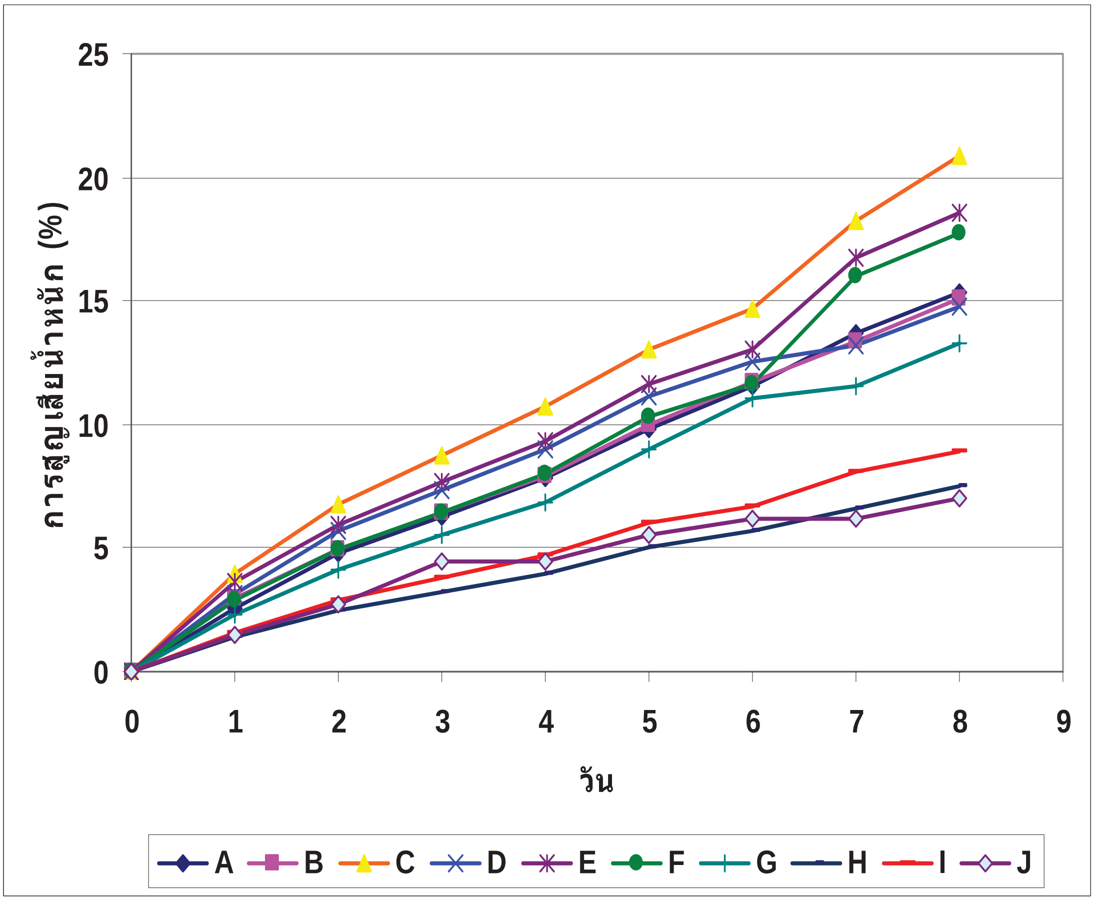
G= เคลือบด้วยยางมะม่วง

H= เคลือบด้วยสารเคลือบผิว Teva

I= เคลือบด้วยสารเคลือบผิว Teva และยางมะม่วง 1000 ppm

J= เคลือบด้วยสารเคลือบผิว Zivdar ที่มีส่วนผสมของ Imazalil

ภาพ 4.12 ระดับของการเกิดโรคบนผลมะม่วงโดยการประเมินระหว่างการเก็บรักษามะม่วงไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส



A = ชุดควบคุม

B= แช่น้ำร้อนอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

C= ล้างและขัดด้วยแปรงในน้ำร้อน อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

D= แช่ในคาร์เบนดาซิมร้อน อุณหภูมิ 55 องศเซลเซียส นาน 5 นาที

E= เคลือบด้วยไคโตซาน

F= เคลือบด้วยไคโตซานและยางมะม่วง 1000 ppm

G= เคลือบด้วยยางมะม่วง

H= เคลือบด้วยสารเคลือบผิว Teva

I= เคลือบด้วยสารเคลือบผิว Teva และยางมะม่วง 1000 ppm

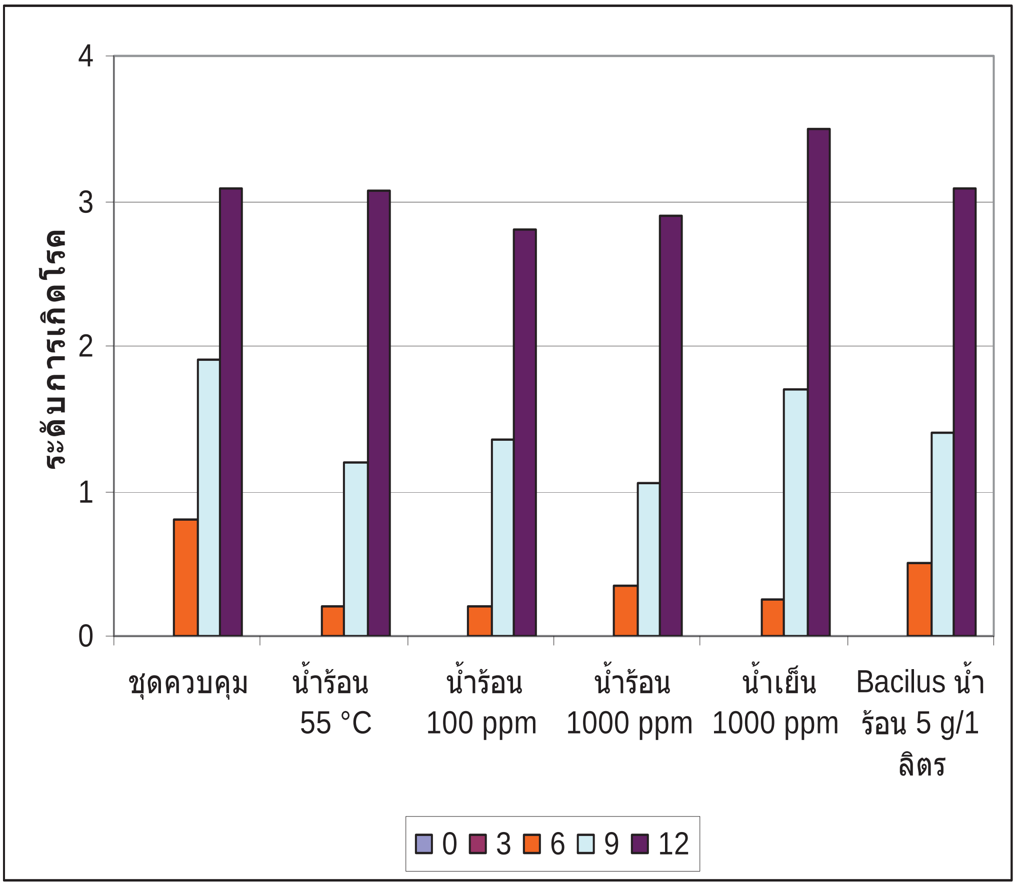
J= เคลือบด้วยสารเคลือบผิว Zivdar ที่มีส่วนผสมของ Imazalil

ภาพ 4.13 การสูญเสียน้ำหนักของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ระหว่างการเก็บรักษาหลังจากผ่านกรรมวิธีต่าง ๆ

5.2 ทดสอบการใช้สารต้านทานการเจริญของเชื้อราร่วมการแช่น้ำร้อน

การนำเอาสารสกัดจากยางของมะม่วงพันธุ์มหาชนกไปทดสอบเพื่อใช้ในการควบคุมโรคหลังเก็บเกี่ยวของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ ด้วยการแช่ในสารละลายของสารที่สกัดได้จากยางของมะม่วงที่อุณหภูมิสูง เปรียบเทียบกับการแช่น้ำร้อน และการแช่ด้วยสารละลายของจุลินทรีย์ Bacillus ผลการทดลองพบว่า ผลมะม่วงเริ่มแสดงอาการของโรคแอนแทรกเมื่อเก็บรักษามะม่วงนาน 6 วันในช่วงที่ผลมะม่วงเริ่มสุก โดยที่ผลมะม่วงในชุดควบคุมมีการเกิดโรคสูงที่สุด ส่วนผลมะม่วงที่แช่น้ำร้อนอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส, แช่น้ำร้อนที่มีสารสกัดจากยางของมะม่วง 100 ppm. ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส, แช่น้ำร้อนที่มีสารสกัดจากยางของมะม่วง 1000 ppm. ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส, แช่น้ำที่มีสารสกัดจากยางของมะม่วง 1000 ppm. ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีการเกิดโรคไม่แตกต่างกัน และมีการเกิดโรคต่ำกว่าผลมะม่วงที่แช่ใน Bacillus 5 กรัม/น้ำ 1 ลิตร ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เมื่อเก็บรักษานาน 9 วัน ซึ่งเป็นช่วงที่มะม่วงสุกพอดี พบว่า ผลมะม่วงในชุดควบคุมมีการเกิดโรคสูงที่สุด ในขณะที่ผลมะม่วงที่แช่น้ำร้อนที่มีสารสกัดจากยางของมะม่วง 1000 ppm. ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส มีการเกิดโรคต่ำที่สุด ส่วนผลมะม่วงที่แช่น้ำที่มีสารสกัดจากยางของมะม่วง 1000 ppm. ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีการเกิดโรคลุกลามรวดเร็วเกือบเท่ากับชุดควบคุม สำหรับผลมะม่วงที่แช่น้ำร้อนอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส, แช่น้ำร้อนที่มีสารสกัดจากยางของมะม่วง 100 ppm. ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส, มีการเกิดโรคไม่แตกต่างกัน เมื่อเก็บรักษานาน 12 วันซึ่งเป็นช่วงที่ผลงอม ผลมะม่วงที่แช่น้ำที่มีสารสกัดจากยางของมะม่วง 1000 ppm. ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีการเกิดโรคลุกลามรวดเร็วมากกว่าชุดควบคุม ในขณะที่ผลมะม่วงในวิธีการทดลองอื่นๆ มีการลุกลามของโรคใกล้เคียงกัน (ภาพ 4.14)

การที่ผลมะม่วงแช่น้ำร้อนที่มีสารสกัดจากยางของมะม่วง 1000 ppm. ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส มีการเกิดโรคต่ำที่สุดในวันที่ 9 ของการเก็บรักษา ในขณะที่ผลมะม่วงที่แช่น้ำที่มีสารสกัดจากยางของมะม่วง 1000 ppm. ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีการเกิดโรคลุกลามรวดเร็วมากกว่าชุดควบคุมแสดงว่าสารต้านทานเชื้อราที่มีในสารสกัดจากยางของมะม่วงมีผลต่อการชะลอการลุกลามของโรคได้ดีเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น อาจทำให้การดูดซึมเข้าสู่ผิวมะม่วงได้ดีขึ้น ความเข้มข้นของสารที่สกัดได้จากยางของมะม่วง 1000 ppm. มีผลต่อการชะลอการลุกลามของโรคได้ดีกว่าที่ความเข้มข้น 100 การใช้แช่ผลมะม่วงที่ในสารละลายที่มี Bacillus 5 กรัม/น้ำ 1 ลิตร ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ไม่มีผลต่อการลดการเกิดโรคได้ ซึ่งอาจเนื่องจาก Bacillus ไม่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ *C. gloeosporioides* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสในผลมะม่วงได้ หรืออาจเนื่องความเข้มข้นและอุณหภูมิที่ใช้ยังไม่มีความเหมาะสม ซึ่งต้องศึกษาเพิ่มเติมต่อไป



ภาพ 4.14 ระดับของการเกิดโรคของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ระหว่างการเก็บรักษาหลังจากผ่านกรรมวิธีต่าง ๆ เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 0, 3, 6, 9 และ 12 วัน

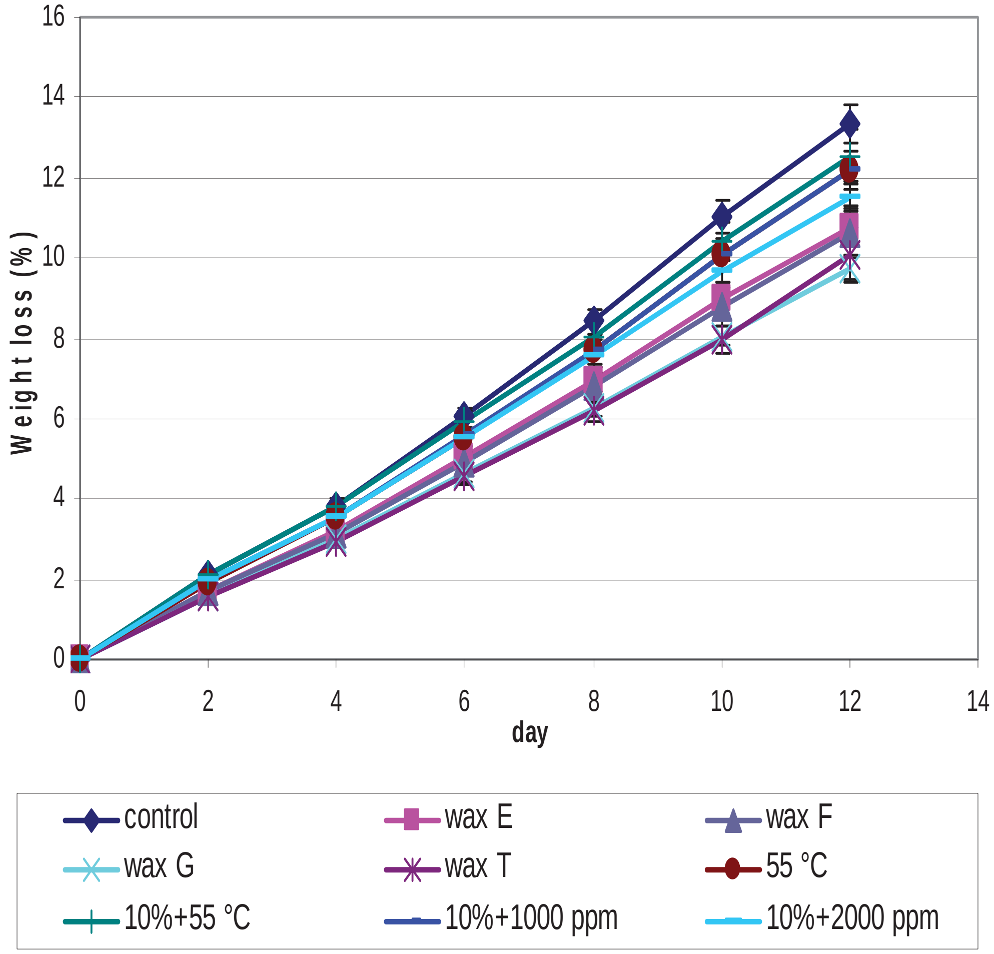
5.3 ตรวจสอบการใช้สารต้านทานเชื้อราที่มีในยางของผลมะม่วงในการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวของมะม่วงเขียวมรกต

การใช้สารต้านทานเชื้อราที่สกัดได้จากยางของมะม่วงในการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวของมะม่วงพันธุ์เขียวมรกต ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีการดูแลในแปลงน้อย และไม่มีการห่อผล ทำให้มีโรคติดมาจากแปลงปลูกปริมาณมาก ด้วยการผสมสารที่สกัดได้จากยางมะม่วงในสารเคลือบผิวที่ผสมขึ้นจากไขผึ้ง 3 สูตรคือ E, F และ G เปรียบเทียบกับการเคลือบผิวด้วยสารเคลือบผิวที่มีจำหน่ายทางการค้า (T) เปรียบเทียบกับการแช่ในน้ำร้อนอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที, แช่ในสารละลายเอทธานอล 10 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที, แช่ในสารละลายที่ผสมสารต้านทานเชื้อราที่ความ เข้มข้น 1000 ppm และ 2000 ppm ในสารละลายเอทธานอล 10 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่เพียงล้างทำความสะอาด ระหว่างการเก็บรักษาผลมะม่วงไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ผลการทดลองพบว่า ผลมะม่วงในชุดควบคุมมีความรุนแรงของโรคและการสูญเสียน้ำหนักมากที่สุด ในขณะที่ผลมะม่วงที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบผิวสูตร G ซึ่งประกอบด้วยไขผึ้ง 4 เปอร์เซ็นต์ และสารเคลือบผิวทางการค้า Teva มีการสูญเสียน้ำหนักน้อยที่สุด ผลมะม่วงที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบผิว E และ F ประกอบด้วยไขผึ้ง 2 เปอร์เซ็นต์ มีการสูญเสียน้ำหนักสูงกว่ามะม่วงที่เคลือบด้วยสารเคลือบผิว G แต่ต่ำกว่าผลที่ไม่ได้เคลือบผิวในชุดควบคุมและการแช่ผลในสารละลาย 5 นาที (ภาพ 4.15) ผลมะม่วงที่แช่ในสารละลายของสารต้านทานเชื้อราที่สกัดได้จากมะม่วง 2000 ppm. ในสารละลายเอทธานอล 10 เปอร์เซ็นต์ แสดงการอาการของโรคต่ำที่สุด การแช่ผลมะม่วงในสารละลายเอทานอลสามารถควบคุมการเกิดโรคได้ดีกว่าแช่ในน้ำร้อนอย่างเดียว และชุดควบคุม การผสมสารต้านทานเชื้อราที่มีในยางของผลมะม่วงในสารเคลือบผิว (สูตร F) สามารถลดอัตราการขยายตัวของโรคได้เมื่อเปรียบเทียบสูตรอื่นที่ไม่มีสารที่สกัดจากยางของมะม่วง (ภาพ 4.16 และ 4.17)

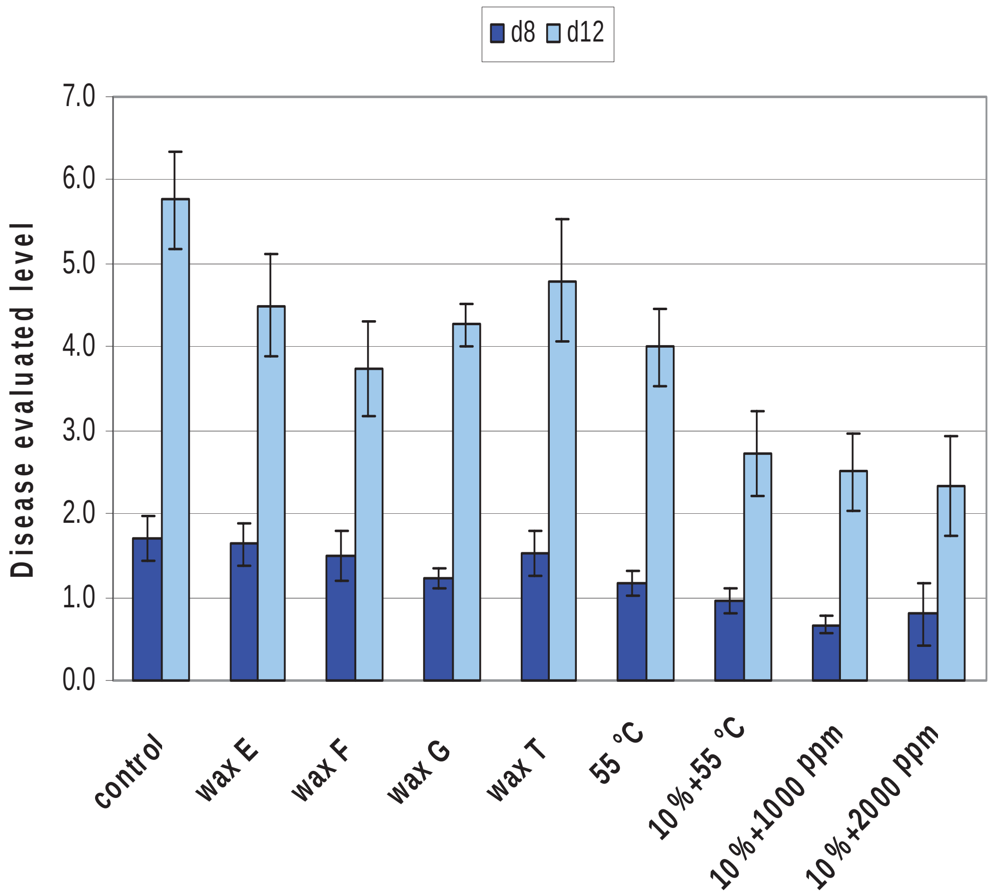
จากผลการทดลองแสดงว่าสารต้านทานเชื้อราที่มีในยางของผลมะม่วงสามารถชะลอการเกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะม่วงเขียวมรกตได้ ได้ผลเช่นเดียวกับรายงานของ Negi *et al.* (2002) พบว่าสารสกัดจากยางของมะม่วงมีฤทธิ์ต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิด การที่จะนำเอาสารต้านทานการเจริญของเชื้อราที่มีในยางของผลมะม่วง ซึ่งเป็นส่วนที่ไม่ละลายน้ำ การนำมาใช้จำเป็นต้องละลายในตัวทำละลายเช่น เอทานอล จากผลการทดลองพบว่ามะม่วงที่แช่ในสารละลายเอทานอล 10 เปอร์เซ็นต์ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส สามารถลดการเกิดโรคในมะม่วงได้ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Gutierrez-Martinez *et al.* พบว่าการใช้เอทานอลความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับการให้ความร้อนที่ 50 องศาเซลเซียส สามารถลดการเข้าทำลายของเชื้อ *Pestalotia mangiferae* และเชื้อ *Curvularia lunata* ซึ่งเป็นเชื้อสำคัญที่ก่อให้เกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยวผลมะม่วงพันธุ์ Tommy Atkins ที่ปลูกในประเทศแม็กซิโก โดยที่ผลมะม่วงยังมีคุณภาพและการสุกปกติ และการผสมสารสกัดจากยางของมะม่วงจะช่วยเพิ่มประสิทธิในการป้องกันโรคได้มากขึ้น

การเคลือบผลมะม่วงด้วยสารเคลือบผิวสามารถป้องกันการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาได้เช่นเดียวกับรายงานรายงานของ Hoa and Ducamp (2008) พบว่าการเคลือบผลผลมะม่วงเวียตนามพันธุ์ cat Hoa loc ด้วยสารเคลือบผิวที่ประกอบด้วย carnauba และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง (27-31 องศาเซลเซียส) สามารถลดการสูญเสียน้ำ ส่วนผลมะม่วงที่เคลือบด้วยสารเคลือบผิวที่ประกอบด้วย soybean lecithin จะมีผลในการยืดอายุการเก็บรักษาได้นานกว่าวิธีอื่น 3 วัน นอกจากนี้การเคลือบผิวยังสามารถเติมสารที่มีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเชื้อราชนิดต่างๆ เพื่อช่วยป้องกันการเกิดโรคหลังเก็บเกี่ยวได้ สารสกัดจากยางของมะม่วงที่มีฤทธิ์ในการต้านทานการเจริญของเชื้อราอยู่ในส่วนที่ไม่ละลายน้ำ การนำสารสกัดจากยางของมะม่วงมาผสมเป็นส่วนประกอบในสารเคลือบผิวจึงทำให้สามารถควบคุมการเกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยวในมะม่วงได้

เนื่องจากผลมะม่วงที่ใช้ในการทดลองมีการสะสมของโรคจำนวนมากจึงสามารถลดโรคได้ในระดับหนึ่งเท่านั้น จากรายงายของวิทวัส และคณะ (2545) รายงานว่าการเคลือบผิวมะม่วงพันธุ์มหาชนกด้วยไคโตซาน 0.5 เปอร์เซ็นต์หลังจากการแช่น้ำร้อนอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที สามารถลดการเกิดโรคแอนแทคโนสได้ดีที่สุด เช่นเดียวกับรายงานของ Prusky *et al*. (1999) พบว่าการเคลือบผิวมะม่วงหลังจากการแช่น้ำร้อนสามารถลดการเกิดโรคได้ดีกว่าการแช่น้ำร้อนเพียงอย่างเดียว ดังนั้นแนวทางในการใช้ประโยชน์จากสารต้านทานที่สกัดได้จากยางของผลมะม่วงในการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะม่วงทั้งสองกรรมวิธีน่าจะนำมาใช้ผสมผสานกัน โดยแช่ผลมะม่วงในสารละลายเอทานอลที่ผสมสารต้านทานเชื้อราที่สกัดได้จากยางของมะม่วงก่อน แล้วจึงเคลือบด้วยสารเคลือบผิวที่มีส่วนผสมของสารต้านทานเชื้อราที่สกัดได้จากยางของมะม่วงอีก น่าจะใช้ทดแทนการใช้เคมีได้ดี



ภาพ 4.15 การสูญเสียน้ำหนักของผลมะม่วงแต่ละวิธีการทดลองระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส



ภาพ 4.16 ความรุนแรงของโรคบนผลมะม่วงพันธุ์เขียวมรกตของแต่ละวิธีการทดลองระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสนาน 8 และ 12 วัน

ชุดควบคุม

สารเคลือบผิว E

สารเคลือบผิว F

สารเคลือบผิว G

สารเคลือบผิวที่ใช้ในทางการค้า

น้ำร้อน 55 ซ° นาน 5 นาที

เอทธานอล 10 % ที่ 55 ซ° นาน 5 นาที

เอทธานอล 10 % ยาง 1000 ppm 55 ซ° 5 นาที

แช่เอทธานอล 10 % ยาง 2000 ppm 55 ซ° 5 นาที

ภาพ 4.17 สภาพมะม่วงพันธุ์เขียวมรกตของแต่ละวิธีการทดลองระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสนาน 12 วัน

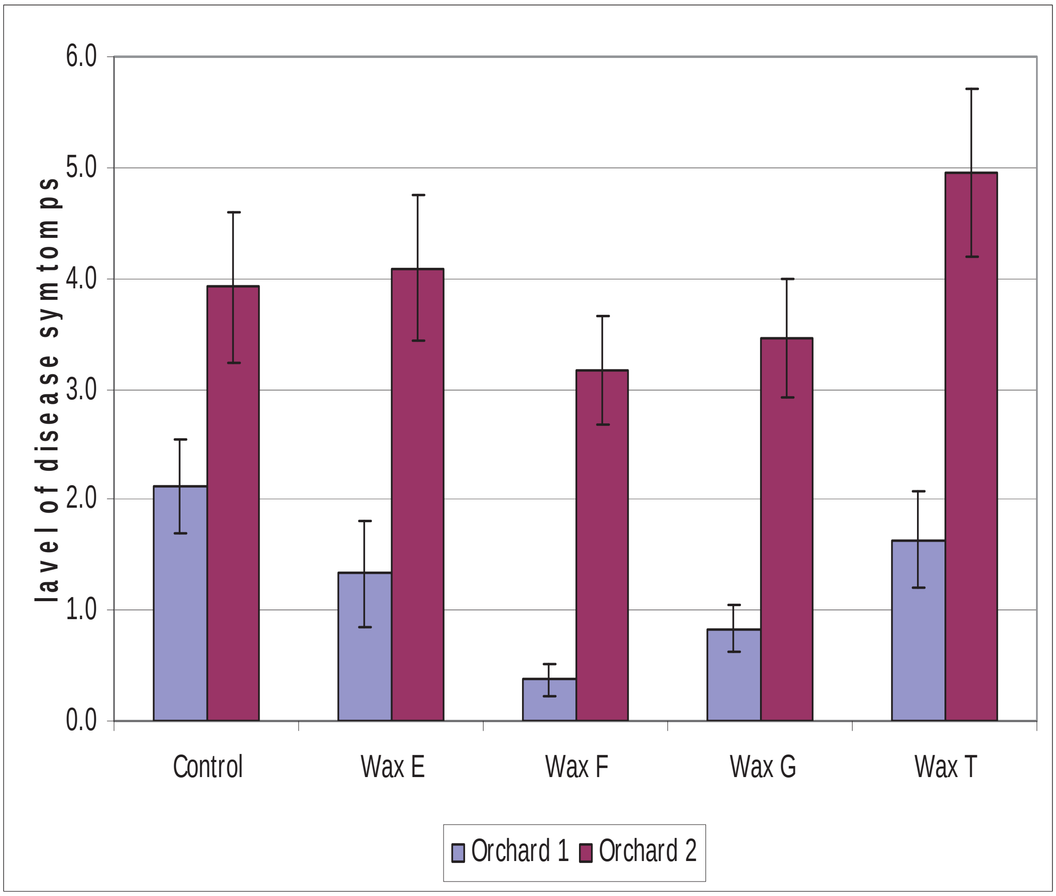
5.4 ทดสอบสารที่สกัดได้จากยางมะม่วงผสมเป็นสารเคลือบผิวสำหรับเคลือบผลมะม่วง

การเคลือบผลผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ที่เก็บเกี่ยวจากแปลงเกษตรกรจาก 2 แหล่งผลิตคือ สวน 1 อยู่ในเขตอำเภอเชียงดาว และสวน 2 อยู่ในเขตอำเภอพร้าว จังหวัดเชียงใหม่ ด้วยสารเคลือบผิวที่มีส่วนผสมของไขผึ้งในปริมาณต่าง ๆ กัน 3 สูตรได้แก่ สาร E ไขผึ้ง 2 เปอร์เซ็นต์ เอทธานอล 15 เปอร์เซ็นต์ กรดโอลิอิก 10 เปอร์เซ็นต์ และเรซิ่น 0.4 เปอร์เซ็นต์ สาร F ไขผึ้ง 4 เปอร์เซ็นต์ เอทธานอล 15 เปอร์เซ็นต์ กรดโอลิอิก 10 เปอร์เซ็นต์ เรซิ่น 0.4 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดจากยางมะม่วง 0.2 เปอร์เซ็นต์ และสาร G ไขผึ้ง 2 เปอร์เซ็นต์ เอทธานอล 15 เปอร์เซ็นต์ กรดโอลิอิก 10 เปอร์เซ็นต์ เรซิ่น 0.8 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดจากยางมะม่วง 0.2 เปอร์เซ็นต์)โดยใช้ทดสอบเคลือบผิวเปรียบเทียบกับสารเคลือบผิวที่มีจำหน่ายทางการค้า (Teva) และชุดควบคุมที่ไม่เคลือบผิว ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ผลการทดลองพบว่า ในระหว่างการเก็บรักษา ผลมะม่วงจากทั้งสองแหล่งผลิต ที่เคลือบผิวทุกชนิด มีการสูญเสียน้ำต่ำกว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้เคลือบผิวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลมะม่วงจากแหล่งผลิตที่ 1 ผลที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบผิว F มีการสูญเสียน้ำต่ำที่สุด และชุดควบคุมมีการสูญเสียน้ำสูงที่สุด ในขณะที่ มะม่วงจากแหล่งผลิตที่ 2 ที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบผิวทุกชนิดมีการสูญเสียน้ำ ไม่แตกต่างกัน (ภาพ 4.19) เมื่อสังเกตการณ์เกิดโรค พบว่า ผลมะม่วงจากแหล่งผลิตที่ 1 ผลที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบผิว F มีการเกิดโรคต่ำที่สุด และชุดควบคุมมีการเกิดโรคสูงที่สุด ในขณะที่ มะม่วงจากแหล่งผลิตที่ 2 ที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบผิวทุกชนิดมีการเกิดโรคไม่แตกต่างกัน ผลมะม่วงมีการระบาดของโรคในระดับสูงมากทุกวิธีการทดลอง (ภาพ 4.18) การเปลี่ยนแปลงสีเปลือกของผลมะม่วง พบว่า ผลที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบผิว F ของแหล่งผลิตที่ 1 และมีการเปลี่ยนแปลงช้ากว่าวิธีการอื่น โดยที่ยังมีสีเขียวบางส่วนในขณะที่มะม่วงวิธีการอื่นเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 10 วัน (ภาพ 4.23) เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 14 วัน ผลที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบผิว F เปลี่ยนเป็นสีเหลืองได้ตามปกติ ส่วนผลมะม่วงจากสวนที่สองมะม่วงทุกวิธีการทดลองเปลี่ยนเป็นสีเหลืองไม่มีความแตกต่างกัน สำหรับคุณภาพในการบริโภค พบว่า เมื่อเก็บรักษานาน 12 วัน มะม่วงทุกวิธีการทดลองและจาก 2 แหล่งผลิตมีการสุกปกติ โดยที่มีความแน่นเนื้อ (ภาพ 4.20) ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (ภาพ 4.21) ปริมาณกรดที่ไตรเตรทได้ ไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (ภาพ 4.22) และไม่พบผลที่มีกลิ่นและรสชาติผิดปกติจากการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจนทั้งสองแหล่งผลิต

ผลมะม่วงจากแหล่งผลิตที่ 1 ผลที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบผิว F มีการสูญเสียน้ำและการเกิดโรคต่ำที่สุด และชุดควบคุมมีการสูญเสียน้ำและมีการเกิดโรคสูงที่สุด สารเคลือบชนิด F ประกอบด้วยไขผึ้งในปริมาณที่สูงกว่าสารเคลือบผิวอีก 2 สูตร จึงสามารถลดการสูญเสียน้ำของมะม่วงได้ดีกว่า มีผลชะลอการสุกและลดการสูญเสียน้ำของมะม่วงได้มากกว่า นอกจากนี้ยังสามารถลดการเข้าทำลายของเชื้อโรคหลังเก็บเกี่ยวมากกว่าสารชนิดอื่นได้ เนื่องจากสารเคลือบผิว F ประกอบด้วยสารสกัดจากยางของมะม่วงซึ่งมีรายงานพบว่ามีผลต่อการต้านทานการเจริญของเชื้อรา จึงทำให้มีผลชะลอการเกิดโรคแอนแทรกโนสได้ (Kumpoun, *et al.*, 2005) การเคลือบผิวด้วยสารเคลือบผิว F ทำให้ผลมะม่วงมีการสุก

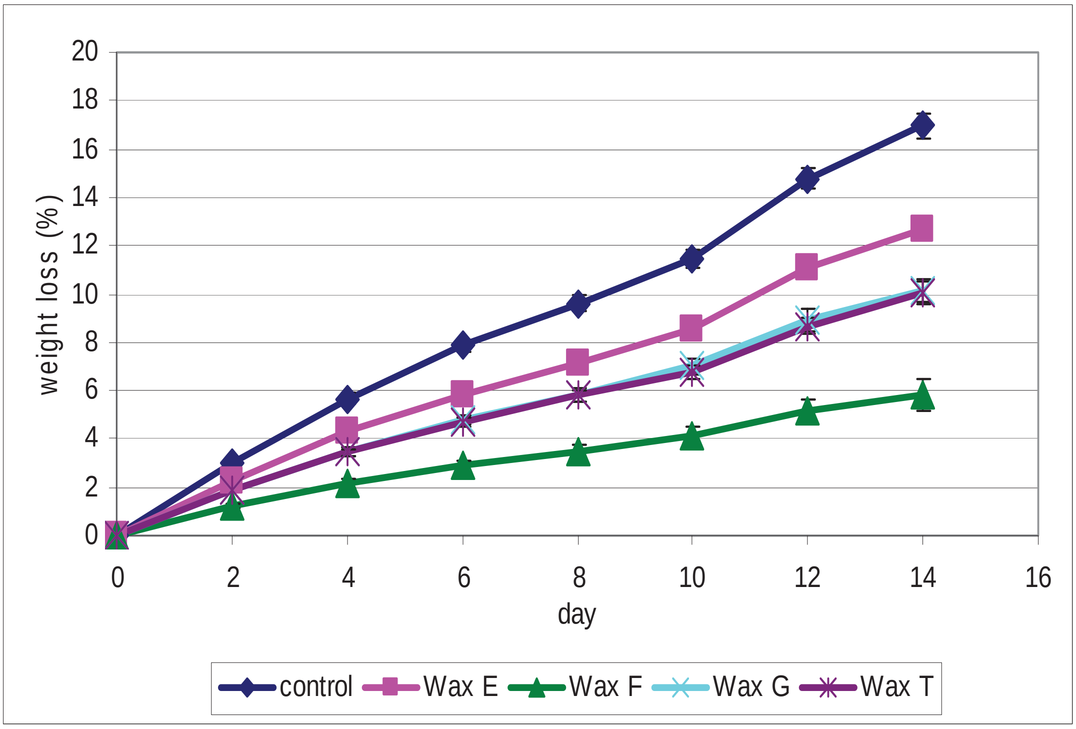
ช้ากว่าผลที่เคลือบด้วยสารเคลือบผิวชนิดอื่น และมีการสุกได้ตามปกติเมื่อเก็บรักษาไว้นานขึ้น จึงทำให้สามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลมะม่วงออกไปได้อีก

สำหรับมะม่วงจากแหล่งผลิตที่ 2 ที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบผิวทุกชนิดมีการสูญเสียน้ำ และการเกิดโรคไม่แตกต่างกัน เนื่องจากผลมะม่วงมีการระบาดของโรคในระดับสูงมากทุกวิธีการทดลอง แสดงว่าการเกิดโรคซึ่งเป็นบาดแผลเปิด จึงทำให้สารเคลือบผิวไม่สามารถป้องกันการสูญเสียน้ำได้ สารสกัดจากยางของมะม่วงที่ผสมในสารเคลือบผิว F และ G ไม่ผลต่อการชะลอการเกิดโรคได้ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าสารเคลือบผิวชนิด F มีส่วนประกอบที่เหมาะสมสำหรับยืดอายุการเก็บรักษามะม่วงน้ำดอกไม้ได้ดีสำหรับผลมะม่วงที่มาจากแปลงที่มีการควบคุมโรคก่อนการเก็บเกี่ยวเท่านั้น ซึ่งได้มีรายงานผลการศึกษาต่าง ๆ พบว่าสารเคลือบผิวต่างชนิดกัน และ ส่วนผสมของสารเคลือบผิวที่ใช้เคลือบแตกต่างกันจะมีผลต่ออัตราการแลกเปลี่ยนก๊าซภายในผลและภายนอกผล มีผลต่อชนิด หรือ สายพันธุ์ของผลไม้แตกต่างกัน (วิลาวัลย์ และจำนงค์ 2550; Hagenmaier and Baker, 1994) อย่างไรก็ตามสารเคลือบผิวชนิด F น่าจะเป็นสูตรที่เหมาะสมสำหรับนำไปปรับปรุงเพื่อผลิตเป็นสารเคลือบผิวมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ในอนาคตได้

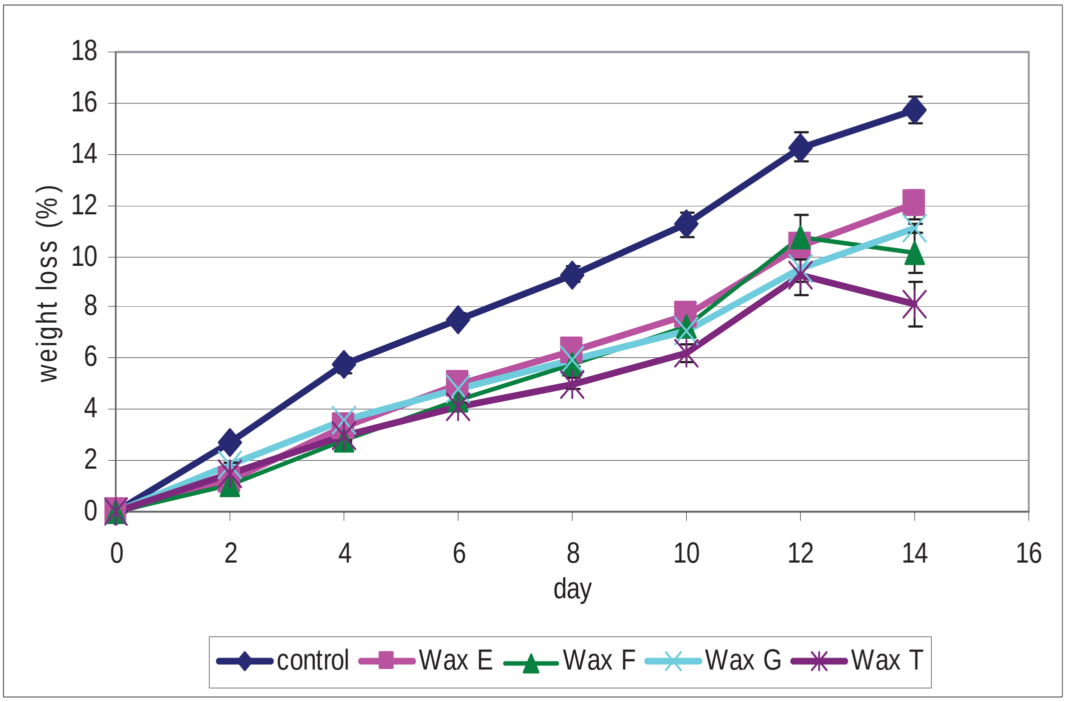


ภาพ 4.18 ระดับของการเกิดโรคของมะม่วงจาก 2 สวน (Orchard 1= เชียงดาว, Orchard 2= พร้าว) ที่เคลือบด้วยสารเคลือบผิวชนิดต่างๆ ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน

เชียงดาว

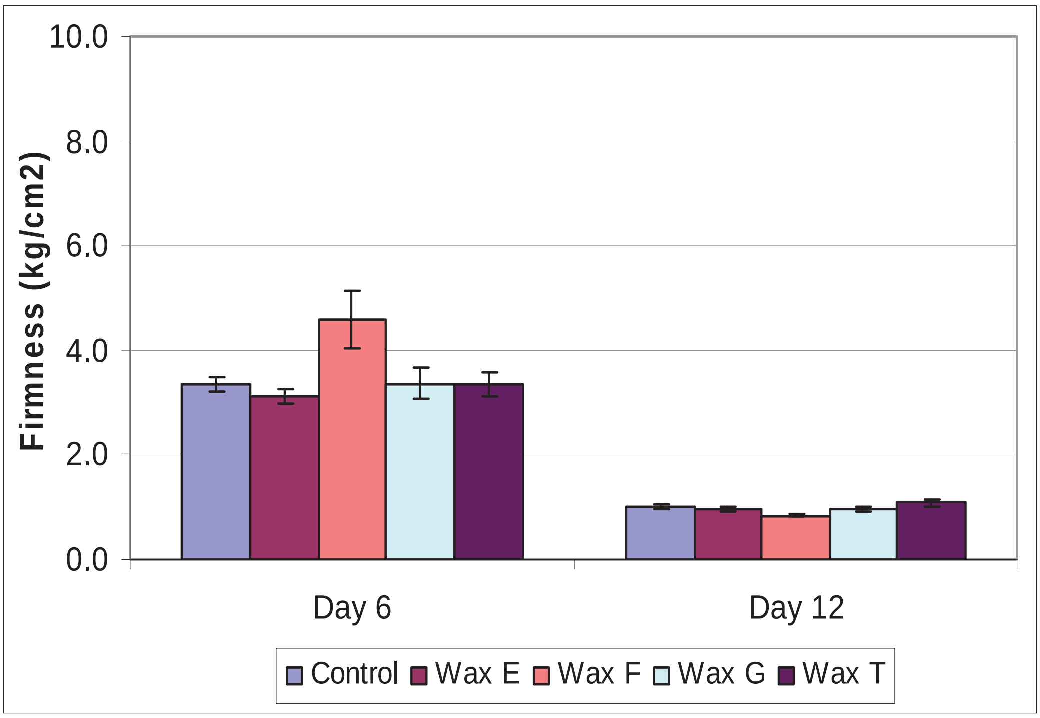


พร้าว

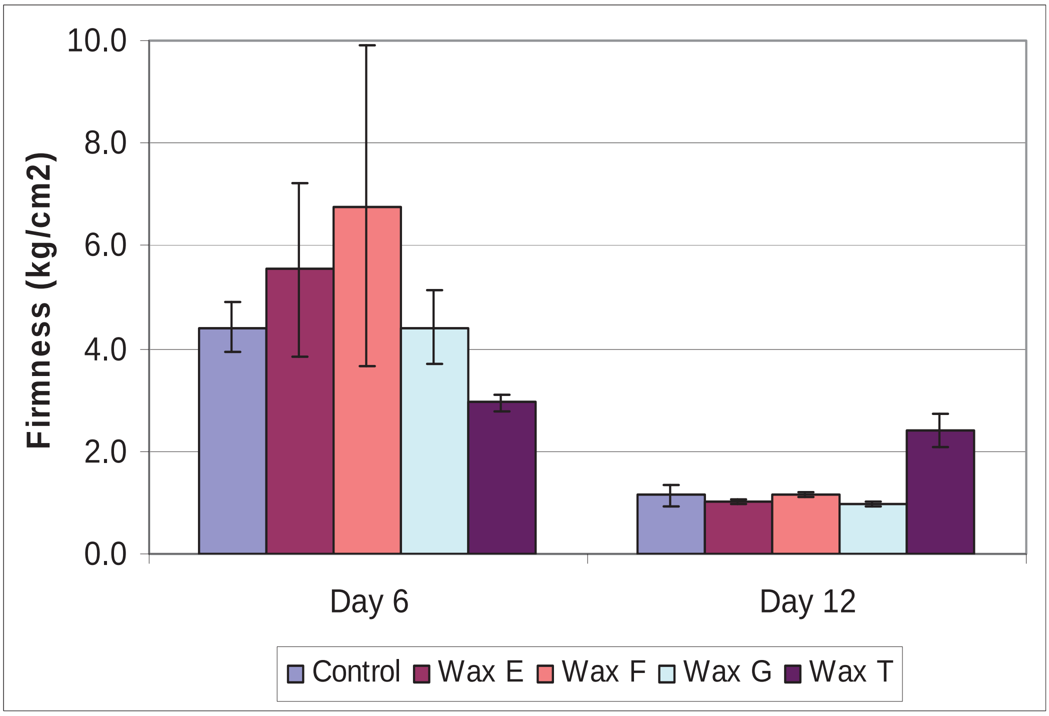


ภาพ 4.19 เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของมะม่วงจากสวนที่ อ.เชียงดาว และอ.พร้าว จ.เชียงใหม่ที่เคลือบด้วยสารเคลือบผิวชนิดต่างๆ ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

เชียงดาว

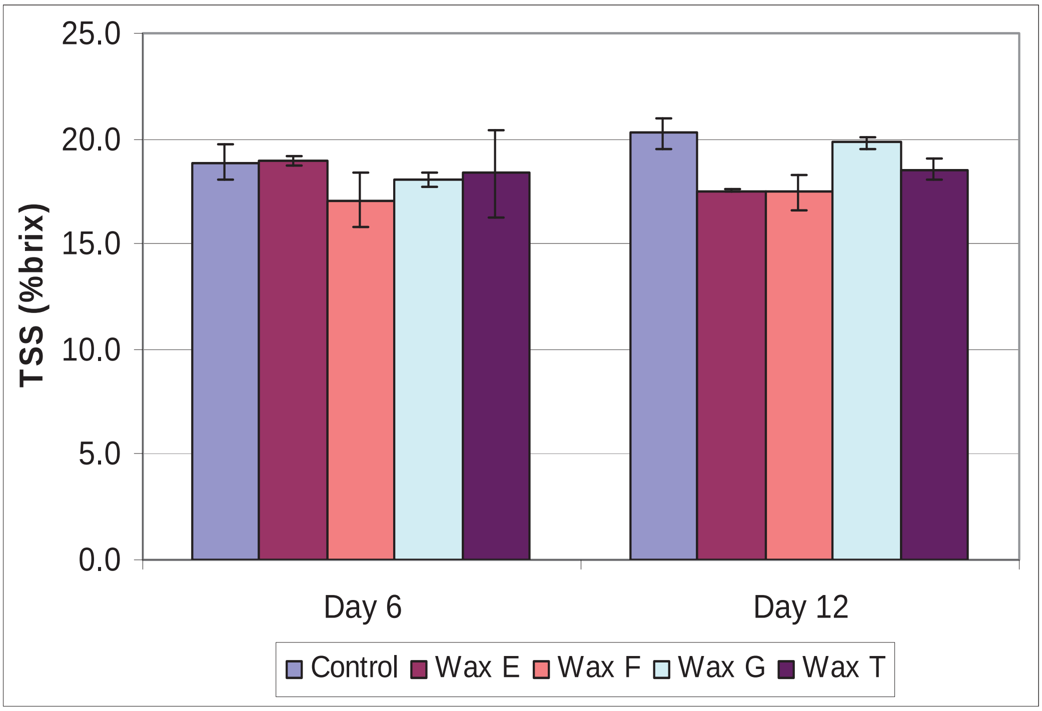


พร้าว

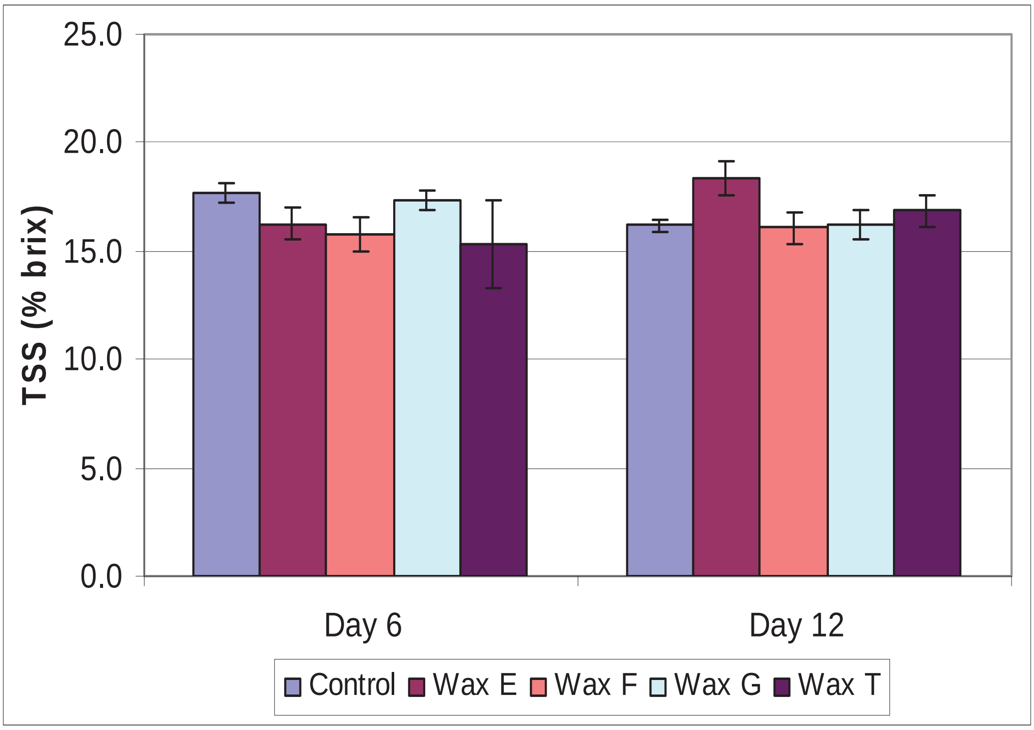


ภาพ 4. 20 ความแน่นเนื้อของมะม่วงจากสวนที่ อ.เชียงดาวและอ.พร้าว จ.เชียงใหม่ ที่เคลือบด้วยสารเคลือบผิวชนิดต่างๆ ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 และ 12 วัน

เชียงดาว

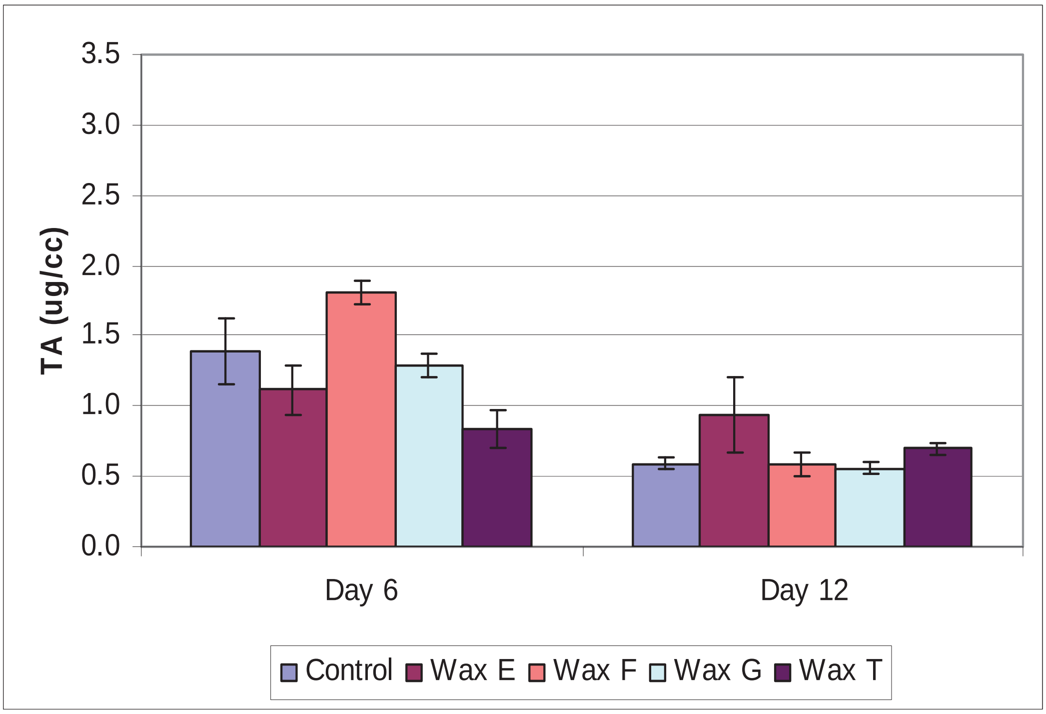


พร้าว

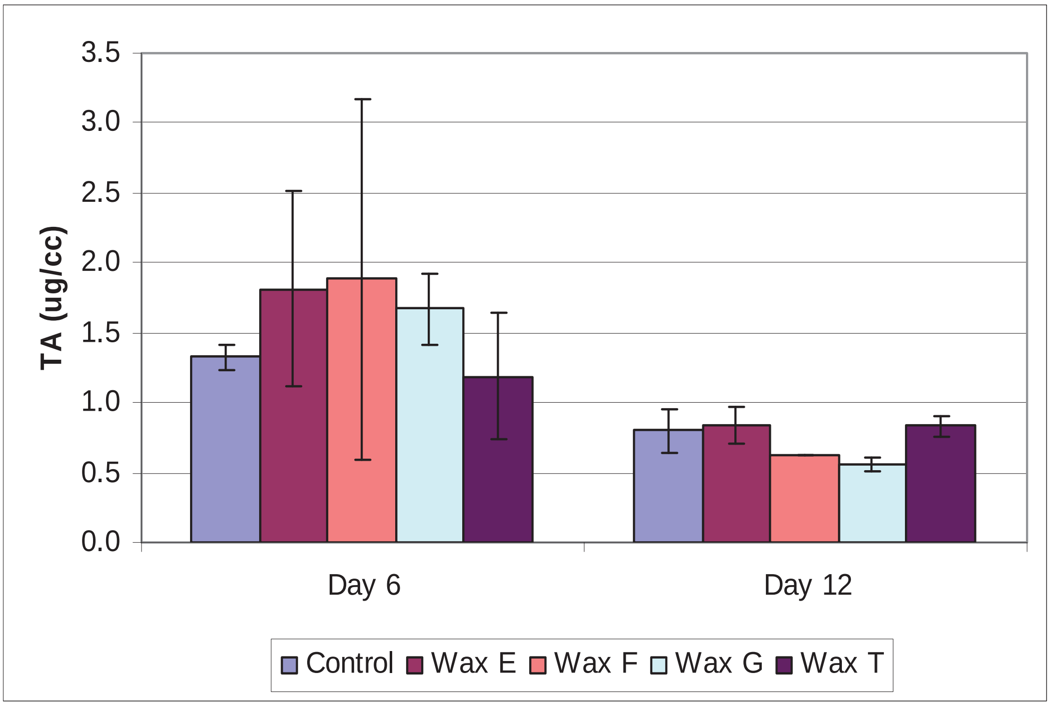


ภาพ 4.21 ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ของมะม่วงที่ อ.เชียงดาว และอ.พร้าว จ.เชียงใหม่ที่เคลือบด้วยสารเคลือบผิวชนิดต่างๆ ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 และ 12 วัน

เชียงดาว



พร้าว



ภาพ 4.22 ปริมาณกรดที่ไตรเตรทได้ของมะม่วงที่ อ.เชียงดาว และอ.พร้าว จ.เชียงใหม่ที่เคลือบด้วยสารเคลือบผิวชนิดต่างๆ ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 และ 12 วัน

ชุดควบคุม **Wax E**

Wax F **Wax G**

Wax TEVA

ภาพ 4.23 มะม่วงน้ำดอกไม้จาก สวนอำเภอเชียงดาว ที่เคลือบด้วยสารเคลือบชนิดต่างๆ ที่เก็บรักษาไว้ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสนาน 10 วัน

ขุดควบคุม

Wax E

Wax F

Wax G

Wax TEVA

ภาพ 4.24 มะม่วงน้ำดอกไม้จาก สวนอำเภอพร้าว ที่เคลือบด้วยสารเคลือบผิวชนิดต่างๆ ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสนาน 10 วัน

บทที่ 5
สรุปและข้อเสนอแนะ

1. สารต้านทานการเจริญของเชื้อราที่มีในยางของผลมะม่วงอยู่ในส่วนที่ไม่ละลายน้ำ ดังนั้นการสกัดแยกสารต้านทานการเจริญของเชื้อราด้วยไดคลอโรมีเทนเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพ สะดวก และราคาถูกที่สุด
2. สารต้านทานการเจริญของเชื้อราที่มีในยางของมะม่วงสามารถแยกด้วยคอลัมน์โครมาโตกราฟฟีและ GC-MS สามารถแยกออกเป็น 4 กลุ่มใหญ่ ๆ ซึ่ง 2 กลุ่มที่มี สัดส่วนปริมาณมาก มีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเชื้อราได้ดี โดยมีคุณสมบัติน่าจะจัดอยู่ในกลุ่มของ essential oil และอนุพันธ์ของ resorcinol ดังนั้นจึงสามารถนำสารสกัดหยาบจากยางของมะม่วงมาใช้ในการควบคุมโรคหลังเก็บเกี่ยวได้ทั้งหมด
3. มะม่วงพันธุ์มหาชนกมีปริมาณสารต้านการเจริญของเชื้อรามากที่สุดระหว่างมะม่วง 7 สายพันธุ์ และช่วงระยะแก่ทางสรีรวิทยาเป็นช่วงที่ยางของมะม่วงมีส่วนประกอบของสารสกัดหยาบมากที่สุด ซึ่งมีความเป็นไปได้ในการที่จะนำยางของมะม่วงพันธุ์มหาชนกซึ่งเป็นของเหลือทิ้งมาใช้ประโยชน์ได้
4. ปริมาณของสารสกัดหยาบในมะม่วง 8 สายพันธุ์มีความสัมพันธุ์กับความอ่อนแอต่อโรคแอนแทรกโนส โดยที่มะม่วงพันธุ์แก้วมีปริมาณสารสกัดหยาบสูงที่สุด และมีความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสสูงที่สุด ส่วนมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มีปริมาณสารสกัดหยาบน้อยที่สุด และมีความอ่อนแอต่อโรคมากที่สุด มะม่วงพันธุ์แก้วเป็นพันธุ์ที่ใช้สำหรับการแปรรูป ซึ่งต้องกำจัดยางทิ้ง ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำเอายางของมะม่วงแก้วมาใช้ในการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยว ทำให้เกิดมูลค่าเพิ่มให้กับของเหลือทิ้ง
5. การนำเอาสารสกัดจากยางของมะม่วงไปใช้ในการป้องกันโรคหลังการเก็บเกี่ยวของมะม่วงพบว่า การผสมสารสกัดหยาบในสารเคลือบผิว และการผสมในน้ำ และผสมในสารละลายเอทธานอลที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส จะได้ผลดีที่สุด และถ้าใช้ทั้ง 2 วิธีร่วมกันน่าจะได้ผลดียิ่งขึ้น ซึ่งจะต้องมีการทำการศึกษาต่อไป เพื่อเป็นทางเลือกสำหรับผู้ประกอบการส่งออกมะม่วงที่ต้องการสารธรรมชาติทดแทนสารเคมี ซึ่งได้รับการปฏิเสธจากประเทศผู้นำเข้า
6. การนำสารสกัดหยาบจากยางของมะม่วงเพื่อใช้ในการป้องกันโรคหลังการเก็บเกี่ยวมะม่วง ไม่สามารถกำจัดโรคที่ติดมาจากแปลงปลูกที่ไม่มีการควบคุมโรคได้ จะได้เพียงแต่ชลอการเกิดโรค แต่ถ้าผลมะม่วงที่มาจากสวนที่มีการควบคุมโรคได้ดี สามารถใช้สารต้านทานเชื้อราที่มีในยางของผลมะม่วงในการป้องกันโรคหลังการเก็บเกี่ยวได้ดี

เอกสารอ้างอิง

จริงแท้ ศิริพานิช. 2549. ชีววิทยาหลังการเก็บเกี่ยวและการวายของพืช. โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่ชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม. 453 หน้า

จิรพรรณ โสภี และสมศิริ แสงโชติ. 2546. ผลของความร้อนที่มีผลต่อเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และโรคแอนแทรคโนสผลมะม่วง. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 34(4-6): 43-56.

ชลิต เขาวงศ์ทอง. 2540. ผลของสารเคลือบผิวที่บริโภคได้ และอุณหภูมิต่อคุณภาพกล้วยไข่หลังการเก็บเกี่ยว. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ทวีสิน กล่อมเกล้า. 2539. การแยกสารต้านเชื้อราในผิวมะม่วง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 69 หน้า.

ปริยวรรณ ทรัพย์สาร หทัยทิพย์ นิมิตเกียรติไกล ชัยรัตน์ เตชวุฒิพร และเฉลิมชัย วงษ์อารี. 2551. การเปรียบเทียบการจุ่มน้ำร้อนต่อคุณภาพการสุกของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 39(3): 91-94.

พรเทพ ซุ้นสุวรรณ และอุราภรณ์ สะอาดสุด. 2546. การควบคุมแอนแทรคโนสในผลมะม่วงหลังการเก็บเกี่ยว โดยใช้การแช่น้ำร้อนร่วมกับจุลินทรีย์จากอาหาร. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 34(4-6): 45-48.

ระจิตร จุฑากรณ์. 2536. ความสัมพันธ์ระหว่างความแก่และสายพันธุ์กับปริมาณสารต้านทานโรคแอนแทรกโนสในผิวมะม่วง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 107 หน้า.

รัมม์พัน โกศลานันท์ กรรณิการ์ เพ็งคุ้ม และวีรภรณ์ เดชนำบัญชาชัย. 2554. การขัดล้างด้วยน้ำร้อน: ทางเลือกสำหรับการอบไอน้ำเพื่อลดการเกิดโรคแอนแทรคโนสของผลมะม่วง. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 42(1): 15-18.

วิทวัส ศาสนนันทน์ วิชชา สอาดสุข และอุราภรณ์ สอาดสุข. 2545. ผลของน้ำร้อนและไคโตซานต่อคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยว และอายุการวางจำหน่ายมะม่วงพันธุ์มหาชนก. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 33(6): 71-74.

วิลาวัลย์ คำปวน ดำรัส ทรัพย์เย็น วิชชา สอาดสุด จำนงค์ อุทัยบุตร และ จินดา ศรศรีวิชัย. 2536. การวิเคราะห์หาสารอนุพันธ์เรสซอซินอลในผิวมะม่วง 5 สายพันธุ์. รายงานการประชุมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยครั้งที่ 19.

วุฒิพงษ์ ศิลปวิศาล. 2539. การแยกหาลักษณะเฉพาะของสารยับยั้งการเจริญของเชื้อรา แคลดโดสปอเรียม แคลดโดสปอริโอเดสในผิวมะม่วงแก้ว. วิทยานิพนธ์ ปริญญามหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 65 หน้า

Bandyopadhyay, C., Gholap, A.S., and Mamdapur, V.R. 1985. Characterization of Alkenylresorcinol in mango (Mangifera indica L.) latex. J. Agric. Food Chem. 33: 377-379.

Ben-Yehoshua, S., Shapiro, B., Kim, J.J., Sharoni, J. Cameli, S., and Kashman, Y. 1988. Resistance of citrus fruit to pathogen and its enhancement by curing. In Proceeding 6th International Citrus Congress, Tel Aviv, Israel. 371-1379.

Ben-Yehoshua, S., Kim, J.J., and Shapiro, B. 1992. Curing of citrus fruit-application and mode of action. In Proceeding 5th International CA Research Conference. Washington 2: 179-196.

Chen, S. and Nussinovitch, A. 2000. Galactomanans in disturbances of structured wax-hydrocolloid-based coatings of citrus fruit (easy-peelers) Food Hydrocolloids. 14: 561-568.

Cojocaru, M., Droby, S., Glotter,E., Goldman, A., Gottlieb, H.E., Jacoby, B. and Prusky, D. 1986. 5-(12-heptadecenyl)-resorcinol, the major component of the anti-fungal activity in the peel of mango fruit. Phytochemistry 25: 1093-1095.

Diab, T., Biliaderis, C. G., Gerasopoulos, D. and Sfakiotakis, E. 2001. Physicochemical properties and application of pullulan edible films an coatings in fruit preservation. J. Sci. Food Agric. 81: 988-1000.

Droby, S., Prusky, D., Jacoby, B., and Goldman, A. 1986. Presence of antifungal compounds in the peel of mango fruits and their relation to latent infections of *Alternaria alternate*. Physio. And Molec. Plant Patho. 29: 173-183.

Droby, S., Prusky, D., Jacoby, B., and Goldman, A. 1987. Induction of antifungal resorcinols in fresh of unripe mango fruits and it relation to latent infections of *Alternaria alternata*. Physio. and Molec. Plant Patho. 30: 285-292.

Gutiérrez-Martínez, P., Osuna-López, S. G., Calderón-Santoyo, M., Cruz-Hernández, A., and Bautista-Baños, S. 2012. Influence of ethanol and heat on disease control and quality in stored mango fruits. Food Science and Technology 45: 20-27.

Hagenmaier R. D. 1999. Wax microemulsion formulations used as fruit coatings. Proc. Fla. State Hort. Soc. 111: 251-255.

Hagenmaier R. D. 2002. The flavor of mandarin hybrids with different coatings. Postharvest Biology and Technology. 24: 79-87.

Hagenmaier R. D. and Baker R. A. 1994a. Internal gases, ethanol content and gloss of citrus fruit coated with polyethylene wax, carnauba wax, shellac or resin at different application levels. Proc. Fla. State Hort. Soc. 107: 261-265.

Hagenmaier R. D. and Baker R. A. 1994b. Wax microemulsion and emulsions as citrus coatings. J. Agric. Food Chem. 42: 899-902.

Hoa, T.T., and Ducamp, M.-N. 2008. Effects of different coatings on biochemical changes of 'cat Hoa loc' mangoes in storage. Postharv. Biol. Technol. 48: 150-152.

Jacobi, K.K. and Giles, J.E. 1997. Quality of ‘Kensington’ mango (*Mangifera indica* Linn.) fruit following combined vapour heat disinfestation and hot water disease control treatment. Postharv. Biol. Technol. 12: 285-292.

Johnson, G., Muirhead, I., Mayers, P., and Cooke, T., 1991. Diseases. In Mango Pests and Disorders, Queensland Department of Primary Industries Information Series Q189007. 1-9.

Johnson, G.I., Mayers, P.E., and Cooke, A.W., 1991. Mangoes Diseases. In Tropical Fruit, Postharvest Diseases of horticultural Produce Vol. 2, Queensland Department of Primary Industries Information Series Q194020. 46-52.

Kumpoun, W., Supyen, D., Kitsawatpaiboon, P., Sardsud V., Chansri, P., Promin, S., and Sornsrivichai, J., 1998. Detection and Isolation of Antifungal Compounds from the Peel of Pomelo (Citrus Gandis (L.) Osb.). In ACIAR Proceeding No. 80: Disease Resistance in fruit, Proceedings of an International workshop held at Chiang Mai Thailand 18-21 May 1997. Australian Centre for International Agricultural Research. Canbera. 223-227.

Kumpoun, W., Uthaibuta J. Wongsheree, T., Sornsrivichai, J., Supyen, D., and Sardsud V. 1998. Effect of carbondioxide pulsing during the postharvest period on ‘Nam Dok Mai’ mango fruit. In ACIAR Proceeding No. 81: Disease Control and Storage Life Extension in fruit, Proceedings of an International workshop held at Chiang Mai Thailand 18-21 May 1997. Australian Centre for International Agricultural Research. Canbera. 27-30.

Kumpoun, W., Chansri, P. Supyen, D., and Sornsrivichai, J. 2004. Antifungal compounds in Thai mango fruits latex. Volume of abstract of 5th International postharvest Symposium held at Verona, Italy 6 – 11 June S10-26. 106 pp.

Negi, P.S., Saby John, K. and Prasada Rao, U.J.S. 2002. Antimicrobial activity of mango sap. Eur. Food. Res. Technol. 214; 327-330.

Ponce, A.G., Roura, SI., Del-Valle, CE., Moreira, MR. 2008. Antimicrobial and antioxidant of edible coatings enriched with natural plant extracts: In vitro and in vivo studies. Postharvest Biol. technol. 49 (2): 294-300.

Prusky, D., Fuchs, Y., Kobiler, I., Roth, I., Weksler, A., Shalom, Y., Fallik, E., Zauberman, G., Pesis, E., Akerman, M., Yekutiely, O., Weisblum, A., Rogev, R., and Artes, L. 1999. Effects of hot water brushing, prochloraz treatment and waxing on the incidence of

black spot decay caused by *Alternaria alternate* in mango fruits. Postharv. Biol. Technol. 15: 165-174.

Prusky, D. 1998. Mechanisms of Resistance of Fruits and Vegetables to Postharvest Diseases. In ACIAR Proceeding No. 80: Disease Resistance in fruit, Proceedings of an International workshop held at Chiang Mai Thailand 18-21 May 1997. Australian Centre for International Agricultural Research. Canbera. 19-33.

Prusky, D., Keen, N.I., and Eaks, I. 1983. Further Evidence for the Involvement of preformed antifungal compounds on the latency of *Colletotrichum gloeosporioides* on unripe avocado fruits. Physiol Plant Pathol. 27 : 269-279.

Saby John, K., Jagan Mohan Rao, L., Bhat, S.G. and Prasada Rao, U.J.S. 1999. Characterization of aroma component of sap from different Indian mango varieties. Phytochem. 52; 891-894.

Saby John, K., Bhat, S.G. and Prasada, U.J.S. 2003. Biochemical characterization of sap (latex) of a few Indian mango varieties. Phytochem. 62; 13-19.

Stoilova, I., Gargova, S., Stoyanova, A., and Ho, L. 2005. Antimicrobial and antioxidant activity of the polyphenol mangiferin. Herbal Polonica 51: 37-44.