ประสิทธิภาพของสารสกัดจากเคี่ยมร่วมกับไคโตซานต่อการยับยั้งเชื้อราก่อโรคหลังการเก็บเกี่ยวและการรักษาคุณภาพของผลเงาะ

Efficiency of *Cotylelobium lanceolatum* Craib Extract Combined with Chitosan Against Fungi Causing Postharvest Disease and Maintaining Rambutan Fruit Quality

กานต์สิรี ธิมาบุตร

Karnsiree Thimabut

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Agricultural Science and Technology
Prince of Songkla University
2561

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ประสิทธิภาพของสารสกัดจากเคี่ยมร่วมกับไคโตซานต่อการยับยั้งเชื้อราก่อโรคหลังการเก็บเกี่ยวและการรักษาคุณภาพของผลเงาะ

Efficiency of *Cotylelobium lanceolatum* Craib Extract Combined with Chitosan Against Fungi Causing Postharvest Disease and Maintaining Rambutan Fruit Quality

กานต์สิรี ธิมาบุตร
Karnsiree Thimabut

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Agricultural Science and Technology
Prince of Songkla University
2561
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ ประสิทธิภาพของสารสกัดจากเคี่ยมร่วมกับไคโตซานต่อการยับยั้งเชื้อรา
ก่อโรคหลังการเก็บเกี่ยวและการรักษาคุณภาพของผลเงาะ

ชื่อผู้เขียน นางสาวกานต์สิรี ธิมาบุตร

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

.....
(ดร.นิตยา อัมรัตน์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีร ศรีสวัสดิ์)

.....
(ดร.จรัสลักษณ์ เพชรวัง)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ
(ดร.สุรพล ฐิติธนากุล)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีร ศรีสวัสดิ์)

.....กรรมการ
(ดร.จรัสลักษณ์ เพชรวัง)

.....กรรมการ
(ดร.นิตยา อัมรัตน์)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กนกวรรณ เสรีภาพ)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร

.....
(ศาสตราจารย์ ดร.ดำรงศักดิ์ ฟ้ารุ่งสาง)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลทีมีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ.....
(ดร.นิตยา อัมรัตน์)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลงชื่อ.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีร ศรีสวัสดิ์)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

ลงชื่อ.....
(ดร.จรัสลักษณ์ เพชรวัง)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

ลงชื่อ.....กานต์สิรี ธิมาบุตร.....
(นางสาวกานต์สิรี ธิมาบุตร)
นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....กานต์สิรี ธิมาบุตร.....
(นางสาวกานต์สิรี ธิมาบุตร)
นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์ ประสิทธิภาพของสารสกัดจากเคี่ยมร่วมกับไคโตซานต่อการยับยั้งเชื้อราก่อโรคหลังการเก็บเกี่ยวและการรักษาคุณภาพของผลเงาะ
ชื่อผู้เขียน นางสาวกานต์สิรี ธิมาบุตร
สาขาวิชา วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร
ปีการศึกษา 2560

บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเคี่ยมร่วมกับไคโตซานในการรักษาคุณภาพและการยับยั้งเชื้อก่อโรคหลังการเก็บเกี่ยวของผลเงาะพันธุ์โรงเรียน ในพื้นที่อำเภอบ้านนาสาร จังหวัดสุราษฎร์ธานี สามารถคัดแยกราที่ก่อให้เกิดโรคเน่าหลังการเก็บเกี่ยวจากผลเงาะ ได้ 4 ไอโซเลต คือ *Diaporthe* sp. *Phomopsis* sp. 1 *Phomopsis* sp. 2 และ *Phomopsis* sp. 3 โดยจากการทดสอบการก่อโรคของเชื้อในผลเงาะด้วยวิธี Pathogenicity test พบว่า *Phomopsis* sp. 3 แสดงอาการของโรคเน่าในผลเงาะได้รุนแรงที่สุด และเมื่อนำราทั้ง 4 ไอโซเลต ไปทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากกิ่งและใบเคี่ยมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ 0 (ชุดควบคุม) 500 1,000 2,000 4,000 6,000 และ 8,000 µg/mL พบว่า สารสกัดหยาบจากเคี่ยมที่ระดับความเข้มข้น 8,000 µg/mL สามารถการยับยั้งการเจริญของ *Diaporthe* sp. *Phomopsis* sp. 2 และ *Phomopsis* sp. 3 ได้ดีที่สุด มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อเท่ากับ 39.16 54.24 และ 42.51 % ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมที่ระดับความเข้มข้น 6,000 µg/mL สามารถยับยั้งการเจริญของ *Phomopsis* sp. 1 ได้ดีที่สุด ซึ่งมีค่าการยับยั้งการเจริญของราเท่ากับ 41.48 % โดยจากผลการทดลองที่ได้ ชี้ให้เห็นว่า สารสกัดหยาบจากส่วนของกิ่งเคี่ยมมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ดีกว่าจากส่วนของใบ และจากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมร่วมกับไคโตซานต่อคุณภาพของผลเงาะหลังการเก็บเกี่ยวในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 ºC เป็นเวลา 8 วัน พบว่า การใช้สารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมความเข้มข้น 6,000 µg/mL ร่วมกับไคโตซานความเข้มข้น 10 ppm สามารถลดเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก และชะลอการลดลงของความแน่นเนื้อได้ มีแนวโน้มชะลอการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกและขน การเกิดโรคเน่าบนผิวเงาะ การเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (TSS) และปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ (TA) และมีประสิทธิภาพในการรักษาคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวในเงาะมากขึ้นเมื่อใช้ร่วมกับไคโตซาน ดังนั้น การใช้สารสกัดจากเคี่ยมและไคโตซานจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะนำมาพัฒนาการยืดอายุและรักษาคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวเพื่อใช้ทดแทนการใช้สารเคมี

คำสำคัญ : การยับยั้งรา, ไคโตซาน, สารสกัดจากเคี่ยม, โรคหลังการเก็บเกี่ยว, เงาะ

Thesis Title	Efficiency of *Cotylelobium lanceolatum* Craib Extract Combined with Chitosan Against Fungi Causing Postharvest Disease and Maintaining Rambutan Fruit Quality
Author	Miss Karnsiree Thimabut
Major Program	Agricultural Science and Technology
Academic Year	2017

Abstract

The effects of Kiam (*Cotylelobium lanceolatum* Craib) crude extract combined with chitosan on postharvest fungal diseases and quality of rambutan fruit were conducted in 'Rongrien' rambutan grown in Nasan district, Surat Thani Province. The results of fungal isolation showed that *Diaporthe* sp., *Phomopsis* sp. 1, *Phomopsis* sp. 2 and *Phomopsis* sp. 3 were the most dominant fungi causing fruit rot disease in the rambutan fruits collected from Nasan area. According to the pathogenicity test by wound-inoculation, rambutan fruits infected by *Phomopsis* sp. 3 showed the highest disease severity. The efficacy of branch and leaf extracts from Kiam was investigated on PDA medium containing crude extracts at concentrations of 0 (control), 500, 1,000, 2,000, 4,000, 6,000 and 8,000 µg/mL. The results found that the most effective concentration for controlling *Diaporthe* sp. *Phomopsis* sp. 1 and *Phomopsis* sp. 3 was at 8,000 µg/mL of Kiam extract, which the percentage of inhibition was 39.16, 54.24 and 42.51 % respectively. For *Phomopsis* sp. 2 the highest percentage of inhibition (41.48 %) was observed at the concentration of 6,000 µg/mL of the branch extract. These results suggest the potential of Kium extract, especially from branches better than from leaves, for controlling postharvest fungal disease. The postharvest quality of rambutan fruit effected by the branch extract combined with chitosan were examined during storage at 25 °C for 8 days. It was found that the rambutan fruits treated with 6,000 µg/mL crude extract combined with 10 ppm chitosan could reduce the percentage of weight loss, delay fruit softening, browning of peel and spintern, fruit rot disease, total soluble solids (TSS) and titratable acidity (TA). Therefore, application of Kium extract together with chitosan could be an optional treatment to develop in order to replace chemical usage in postharvest treatment of rambutan and other fruits.

Keywords: antifungal, chitosan, Kiam, postharvest disease, rambutan

กิตติกรรมประกาศ

การดำเนินงานวิทยานิพนธ์นักศึกษาฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีเนื่องจากได้รับความช่วยเหลือจากบุคคลหลายท่าน จึงขอขอบพระคุณเป็นอย่างยิ่ง ณ ที่นี้ด้วย

ขอขอบคุณ ดร.นิตยา อัมรัตน์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีร ศรีสวัสดิ์ และ ดร.จรัสลักษณ์ เพชรวัง อาจารย์ที่ปรึกษาและอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษาและแนะนำแนวทางในการดำเนินงานวิจัย การศึกษาข้อมูล เก็บรวบรวมข้อมูล การเขียนงานวิจัย การจัดทำ รูปแบบนำเสนอผลงาน รูปแบบการเขียนรูปเล่มรายงาน ตลอดจนช่วยแก้ไขปัญหา ด้วยความเอาใจใส่ ทำให้การดำเนินงานวิทยานิพนธ์นักศึกษาครั้งนี้ลุล่วงด้วยดี

ขอขอบคุณ ดร. สุรพล ฐิติธนากุล และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กนกวรรณ เสรีภาพ ที่ให้คำปรึกษา คำแนะนำ และแก้ไขรายงานวิจัยตลอดจนรูปเล่มรายงานในการทำรายงานวิทยานิพนธ์ครั้งนี้ได้ลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณทุนสนับสนุนจากคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี ที่ให้ทุนสนับสนุนการทำโครงงานนักศึกษา เจ้าหน้าที่ศูนย์วิทยาศาสตร์และเครื่องมือกลางที่อนุเคราะห์เครื่องมือ ครุภัณฑ์ และสารเคมี หอบรรณสารสนเทศ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี ที่อนุเคราะห์ในการสืบค้นข้อมูล ส่งผลให้การดำเนินงานสำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบคุณแหล่งทุนสนับสนุนค่าธรรมเนียมการศึกษาระดับบัณฑิตศึกษาที่เน้นการวิจัย ประจำปี 2558 จากมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี

ขอขอบคุณแหล่งทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ ประจำปีงบประมาณ 2559 จากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

กานต์สิรี ธิมาบุตร

1 กุมภาพันธ์ 2561

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ ..... (5)
Abstract ..... (6)
กิตติกรรมประกาศ ..... (7)
สารบัญ ..... (8)
รายการตาราง ..... (11)
รายการตารางภาคผนวก ..... (13)
รายการภาพ ..... (14)
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 บทนำต้นเรื่อง 1
1.2 การตรวจสอบเอกสาร 2
1.2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของเงาะ 2
1.2.2 ชนิดและสายพันธุ์เงาะ 3
1.2.3 คุณค่าทางโภชนาการและสรรพคุณของเงาะ 4
1.2.4 โรคผลเน่าในเงาะ 5
1.2.5 การเข้าทำลายของราสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรคเน่าในเงาะ 8
1.2.6 แนวทางในการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยว 8
1.2.7 ต้นเคี่ยม 12
1.2.8 ไคโตซาน 16
1.2.9 ประโยชน์ของไคโตซาน 16
1.2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้ไคโตซานในการเคลือบผลไม้ เพื่อยืดอายุการเก็บรักษา 17
1.3 วัตถุประสงค์ 19
บทที่ 2 วิธีการวิจัย 20
2.1 วิธีดำเนินการ 20
2.1.1 การเตรียมสารสกัดหยาบจากกิ่งและใบเคี่ยม 20
2.1.2 การแยกเชื้อสาเหตุโรคจากผลเงาะ 20
2.1.3 การทดสอบการก่อโรคบนผลเงาะโดยราที่คัดแยกได้ 21
2.1.4 การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเคี่ยมในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา ด้วยเทคนิค Poisoned food technique 21
2.1.5 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเคี่ยมร่วมกับไคโตซานต่อการยับยั้งราก่อโรคในผลเงาะหลังการเก็บเกี่ยว 22

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.1.6 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเคี่ยมและไคโตซาน ต่อการรักษาคุณภาพของผลเงาะหลังการเก็บเกี่ยว 22
2.1.7 การวิเคราะห์ข้อมูล 24
2.2 วัสดุและอุปกรณ์ 24
บทที่ 3 ผลการวิจัย 26
3.1 สารสกัดจากกิ่งและใบเคี่ยม 26
3.2 เชื้อราสาเหตุโรคเน่าในผลเงาะสายพันธุ์โรงเรียน 26
3.3 การทดสอบการก่อโรคเน่าของเชื้อราที่คัดแยกได้ในผลเงาะ 27
3.4 ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากกิ่งและใบเคี่ยมในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ด้วยเทคนิค Poisoned food 30
3.4.1 ผลของสารสกัดหยาบจากกิ่งและใบเคี่ยมต่อการยับยั้งการเจริญของรา NS1 (*Diaporthe* sp.) 30
3.4.2 ผลของสารสกัดหยาบจากกิ่งและใบเคี่ยมต่อการยับยั้งการเจริญของรา NS2 (*Phomopsis* sp. 1) 32
3.4.3 ผลของสารสกัดหยาบจากกิ่งและใบเคี่ยมต่อการยับยั้งการเจริญของรา NS3 (*Phomopsis* sp. 2) 34
3.4.4 ผลของสารสกัดหยาบจากกิ่งและใบเคี่ยมต่อการยับยั้งการเจริญของรา NS4 (*Phomopsis* sp. 3) 36
3.5 ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเคี่ยมร่วมกับไคโตซานต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรคบนผลเงาะหลังการเก็บเกี่ยว 40
3.6 ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมร่วมกับไคโตซานต่อคุณภาพของผลเงาะหลังการเก็บเกี่ยว 41
3.6.1 การสูญเสียน้ำหนักสด 41
3.6.2 ความแน่นเนื้อ 41
3.6.3 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด 43
3.6.4 ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ 43
3.6.5 การเปลี่ยนแปลงสีเปลือกและขนของผลเงาะ 43
3.6.6 การเกิดโรคในผลเงาะ 46

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 วิจารณ์ผลการทดลอง 48
บทที่ 5 บทสรุปและข้อเสนอแนะ 52
5.1 บทสรุป 52
5.2 ข้อเสนอแนะ 53
บรรณานุกรม 54
ภาคผนวก 62
ประวัติผู้เขียน 68

รายการตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1 คุณค่าทางโภชนาการในเนื้อผลของเงาะปริมาณ 100 กรัม 4
2 ตัวอย่างสาร flavonoids ที่ในพบในพืชสกุล *Cotylelobium* sp. 13
3 แสดงชนิดและลักษณะของราที่แยกได้จากเงาะพันธุ์โรงเรียนที่ปลูกในพื้นที่อำเภอบ้านนาสาร จังหวัดสุราษฎร์ธานี ที่เกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยว 28
4 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนผลเงาะที่ได้รับการปลูกราไอโซเลตต่างๆ..... 29
5 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของรา NS1 บนอาหาร PDA ผสมสารสกัดหยาบจากเคี่ยมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการบ่มเชื้อเป็นเวลา 5 วัน..... 31
6 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของรา NS2 บนอาหาร PDA ผสมสารสกัดหยาบจากเคี่ยมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการบ่มเชื้อเป็นเวลา 5 วัน 33
7 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของรา NS3 บนอาหาร PDA ผสมสารสกัดหยาบจากเคี่ยมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการบ่มเชื้อเป็นเวลา 7 วัน..... 35
8 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของรา NS4 บนอาหาร PDA ผสมสารสกัดหยาบจากเคี่ยมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการบ่มเชื้อเป็นเวลา 5 วัน 37
9 การเจริญของโคโลนีรา NS1, NS2, NS3 และ NS4 บนอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 5 วัน 38
10 การเจริญของโคโลนีรา NS1, NS2, NS3 และ NS4 บนอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดหยาบจากใบเคี่ยมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 5 วัน..... 39
11 เส้นผ่านศูนย์กลางของบาดแผลบนผิวเปลือกเงาะที่ได้รับสารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมและไคโตซานในระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการปลูกเชื้อ NS4 40
12 เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสดของผลเงาะที่ทดสอบด้วยสารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมร่วมกับไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 8 วัน 42
13 ความแน่นเนื้อของผลเงาะที่ทดสอบด้วยสารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมร่วมกับไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 8 วัน 42
14 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดของผลเงาะที่ทดสอบด้วยสารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมร่วมกับไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 8 วัน..... 44
15 ปริมาณของกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ของผลเงาะที่ทดสอบด้วยสารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมร่วมกับไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นต่างๆหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 8 วัน 44

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

16 การเปลี่ยนแปลงสีเปลือกของผลเงาะที่ทดสอบด้วยสารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมร่วมกับไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 8 วัน 45
17 การเปลี่ยนแปลงสีขนของผลเงาะที่ทดสอบด้วยสารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมร่วมกับไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 8 วัน 45
18 การเกิดโรคของผลเงาะที่ทดสอบด้วยสารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมร่วมกับไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 8 วัน..... 47
19 ระดับความรุนแรงของการเกิดโรคบนผลเงาะที่ทดสอบด้วยสารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมร่วมกับไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 8 วัน 47

รายการตารางภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ **หน้า**

1 เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีรา NS1 บนอาหาร PDA ผสมสารสกัดหยาบจากเคี่ยมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการบ่มเชื้อเป็นเวลา 5 วัน 64
2 เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีรา NS2 บนอาหาร PDA ผสมสารสกัดหยาบจากเคี่ยมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการบ่มเชื้อเป็นเวลา 5 วัน 65
3 เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีรา NS3 บนอาหาร PDA ผสมสารสกัดหยาบจากเคี่ยมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการบ่มเชื้อเป็นเวลา 7 วัน 66
4 เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีรา NS4 บนอาหาร PDA ผสมสารสกัดหยาบจากเคี่ยมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการบ่มเชื้อเป็นเวลา 5 วัน 67

รายการภาพ

ภาพที่ **หน้า**

1 ลักษณะของผลเงาะพันธุ์โรงเรียน 3
2 ลักษณะโคโลนีของรา *Lasiodiplodia theobromae* บนอาหาร PDA..... 5
3 ลักษณะโคโลนีของรา Greeneria sp. บนอาหาร PDA 6
4 ลักษณะโคโลนีของรา *Greeneria* sp. บนอาหาร PDA 7
5 ลักษณะโคโลนีของรา *Phomopsis* sp. บนอาหาร PDA..... 7
6 ลักษณะของต้นเคี่ยม *Cotylelobium lanceolatum* Craib..... 12
7 โครงสร้างทางเคมีของไคโตซาน 16
8 ลักษณะการเกิดโรคในผลเงาะที่ทดสอบด้วยวิธี mycelial disc ของเชื้อทั้ง 4 ไอโซเลต 29
9 ลักษณะผลเงาะที่ทดสอบด้วยสารสกัดจากกิ่งเคี่ยมร่วมกับไคโตซานหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 8 วัน..... 46

บทที่ 1
บทนำ

1.1 บทนำต้นเรื่อง

เงาะ (*Nephelium lappaccum* Linn.) เป็นไม้ผลเมืองร้อน อยู่ใน Order Spindales และ Family Spindaceae ซึ่งเป็นวงศ์เดียวกับลิ้นจี่และลำไย จัดเป็นผลไม้เศรษฐกิจของไทยชนิดหนึ่งที่สร้างรายได้ให้กับเกษตรกรได้เป็นอย่างดี มีการปลูกและบริโภคกันอย่างแพร่หลาย เพราะสามารถปลูกได้ง่าย และมีโรคในระยะปลูกที่น้อย อย่างไรก็ตามในการผลิตเงาะ พบว่า มีปัญหาในเรื่องของการจัดการหลังการเก็บเกี่ยว ซึ่งมีสาเหตุมาจากหลายปัจจัย ได้แก่ สภาพแวดล้อม ความชื้น และอุณหภูมิ ทำให้เกิดอาการเหี่ยวและมีสีน้ำตาลบริเวณขนและเปลือกเงาะ ส่งผลให้มีอายุการเก็บรักษาสั้น นอกจากนี้การเข้าทำลายของเชื้อราและแบคทีเรียบางชนิดยังเป็นสาเหตุทำให้เกิดการเน่าเสียของผลได้ เช่น *Colletotrichum* sp. *Botryodiplodia* sp. *Gliocephalotrichum* sp. *Phomopsis* sp. *Pestalotia* sp. และ *Aspergillus* sp. เป็นต้น จึงสามารถปนเปื้อนไปกับผลเงาะในระหว่างการพัฒนาของผลตั้งแต่อยู่ในสวนและแสดงออกหลังการเก็บเกี่ยว ส่งผลให้เกิดโรคเน่าของผลเงาะ (เฉลิมชัย และศิริชัย, 2555)

ปัจจุบันได้มีการนำวิธีการต่างๆ มาควบคุมโรคดังกล่าว โดยเฉพาะการใช้สารเคมีซึ่งเกษตรกรนิยมอย่างมาก เนื่องจากสามารถควบคุมโรคได้อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพ แต่ปัญหาในการใช้สารเคมีนอกจากส่งผลเสียต่อสุขภาพของผู้ใช้และผู้บริโภคแล้ว ยังทำให้เกิดสารพิษตกค้างในดินและน้ำ ซึ่งก่อให้เกิดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อมและส่งผลต่อค่าใช้จ่ายของเกษตรกร ดังนั้นจึงมีการศึกษาวิธีที่สามารถใช้ในการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวในเงาะเพื่อทดแทนการใช้สารเคมี โดยการใช้สารสกัดจากธรรมชาติ ซึ่งสารที่ผลิตได้จากพืชหลายชนิดมีแนวโน้มสามารถนำมาใช้ในการควบคุมโรคพืชได้ เนื่องจากสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) บางชนิดที่พืชผลิตมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราสาเหตุของโรคพืช เช่น พืชในไม้วงศ์ยาง (Dipterocarpaceae) เป็นไม้ยืนต้นที่มีสารออกฤทธิ์ที่มีประสิทธิภาพหลายชนิด โดยเฉพาะในจันทน์กะพ้อ เต็ง รัง และเคี่ยม ซึ่งเป็นพืชที่ปรากฏอยู่ในตำรับยาและงานวิจัยมีประโยชน์ทั้งในการรักษาบาดแผล และการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค เช่น ในต้นเคี่ยม (*Cotylelobium lanceolatum* Craib) พบว่า มีสารทุติยภูมิและสารอื่นๆ ที่สามารถใช้ประโยชน์เป็นยาได้ (รัชฎาวรรณ, 2552) โดยสารในกลุ่ม stilbene ที่ได้จากเนื้อไม้เปลือก และกิ่งของเคี่ยม พบว่า เป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการลดระดับน้ำตาลในเลือด มีสรรพคุณเป็นยาสมานแผล และช่วยในการแข็งตัวของเลือด (Matsuda *et al*., 2009) และสารดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้ (Suchanuch *et al*., 2012)

ในการผลิตเงาะนอกจากปัญหาในเรื่องโรคที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์แล้ว พบว่า ยังมีปัญหาเรื่องอายุการเก็บรักษาและการเปลี่ยนแปลงของสีเปลือกและสีขนเป็นสีน้ำตาลหลังการเก็บเกี่ยว ซึ่งมีสาเหตุมาจากการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี โดยกิจกรรมของเอนไซม์ polyphenol oxidase (PPO) ในสภาพบรรยากาศที่มีก๊าซออกซิเจน รวมถึงการสูญเสียน้ำ (Akamine, 1960) ซึ่งลักษณะของเปลือกของเงาะที่มีสีน้ำตาลมักไม่เป็นที่ต้องการของตลาดและผู้บริโภค ดังนั้นจึงมีการประยุกต์ใช้สารเคลือบผิวที่สามารถรับประทานได้เพื่อยืดอายุการเก็บรักษา และเป็นการเพิ่มมูลค่าในการส่งขาย

ทั้งในประเทศและต่างประเทศได้ เช่น มีการนำไคโตซานซึ่งเป็นสารพอลิเมอร์ที่ผลิตขึ้นจากวัสดุธรรมชาติ มาใช้เป็นสารเคลือบผิวเพื่อชะลอการสุกและการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลผลิต โดยช่วยลดการเน่าเสียหรือการเสื่อมสภาพของผลผลิตได้ (อัญชุลีและกลุ่มวิจัยชีววิเคราะห์, 2558) นอกจากนี้ในงานวิจัยที่ผ่านมา พบว่า มีการประยุกต์ใช้ไคโตซานในการควบคุมคุณภาพของผลไม้หลายชนิด เพื่อลดการเกิดผลสีน้ำตาล และทำให้ผลไม้มีระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้น เช่น ลิ้นจี่ (Marie-Noelle *et al*., 2008) และชมพู่ (ปรางค์ทอง และเบญจมาส, 2557) และมีรายงานเกี่ยวกับการนำไคโตซานมาใช้ในการควบคุมคุณภาพในผลเงาะอีกด้วย (Martínez *et al*., 2009)

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะประยุกต์ใช้สารสกัดหยาบจากกิ่งและใบเคี่ยมร่วมกับไคโตซานในการยับยั้งเชื้อก่อโรคพืช และการรักษาคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของผลเงาะ โดยใช้วิธีทดสอบประสิทธิภาพทางจุลชีววิทยา ซึ่งคาดว่าสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของเคี่ยมจะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยวในผลเงาะได้ และจะเป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้ในผลไม้ชนิดอื่นๆ ต่อไป

1.2 การตรวจเอกสาร

1.2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของเงาะ

เงาะ (*Nephelium lappacium* Linn) มีชื่อสามัญว่า rambutan จัดอยู่ในวงศ์ (family) Sapindaceae พืชในวงศ์นี้เป็นพืชที่ชอบอากาศร้อนและชื้น มีฝนตกชุกและพบมากที่สุดในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ได้แก่ มาเลเซีย ไทย และอินโดนีเซีย แล้วแพร่กระจายไปสู่ ศรีลังกา อินเดีย อเมริกากลาง ออสเตรเลีย และบราซิล โดยในประเทศไทยแหล่งปลูกเงาะที่สำคัญอยู่ในพื้นที่จังหวัด จันทบุรี ตราด ระยอง และ สุราษฎร์ธานี

เงาะเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง มีความสูงประมาณ 15-25 m ลำต้นจะแตกกิ่งก้านสาขามาก เป็นทรงพุ่มรูปครึ่งวงกลมแผ่ออกกว้าง มีใบเป็นใบรวม และมีใบย่อย 2-4 คู่ ก้านใบระหว่างใบย่อยมีขนาดใหญ่ กลม สีน้ำตาลอมแดง ฐานก้านใบหนา รูปร่างใบเป็นรูปโล่ยาวหรือรูปไข่หัวกลับ ขอบใบเรียบสีเขียวอมเหลืองหรือสีนวล เส้นกลางใบขนาดใหญ่ ใต้ใบจะมีคลื่นเล็กน้อย ดอกแบ่งออกได้เป็น 2 ลักษณะ คือ ช่อดอกตัวผู้ เป็นดอกเงาะที่มีดอกตัวผู้ทั้งช่อดอก และอีกลักษณะคือ ดอกสมบูรณ์เพศ หรือที่เรียกว่า ดอกกะเทย เป็นดอกที่มีทั้งเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียอยู่ในดอกเดียวกัน มีผลรวมกันอยู่เป็นช่อ ติดอยู่บนก้านช่อดอก ผลค่อนข้างกลมมีเปลือกสีเขียว (ผลอ่อน) และสีแดง (ผลแก่) บางพันธุ์สีแดงปนเหลือง ขนาดของผลยาวประมาณ 3.5-8.0 cm กว้างประมาณ 2-5 cm (ภาพที่ 1) ส่วนความยาวของขนขึ้นอยู่กับชนิดพันธุ์ แต่โดยทั่วไปจะมีความยาวเฉลี่ย 0.5-1.8 cm มีเนื้อผลใส อ่อนนุ่ม หรือเป็นสีขาวอมเหลืองห่อหุ้มเมล็ด โดยเมล็ดมีลักษณะแบนยาวรี หรือบางครั้งกลมเป็นรูปไข่ ผิวนอกของเมล็ดหุ้มด้วยผิวเปลือกบางๆ สีน้ำตาลอ่อน (ศูนย์วิจัยพืชยืนต้นและไม้ผลเมืองร้อน, มปป)

1.2.2 ชนิดและสายพันธุ์ของเงาะ

เงาะในประเทศไทยมีหลายพันธุ์ โดยสามารถแบ่งออกเป็น 3 ประเภท คือ พันธุ์ดั้งเดิม เช่น พันธุ์อากร สีนาก เจ๊ะหมง เปเรก นังเบอร์ลี ตาวี ซงลังงอร์ เป็นต้น พันธุ์ปรับปรุง ได้แก่ พลิ้ว1 และ พลิ้ว2 และพันธุ์ที่นิยมปลูกเพื่อบริโภคและการค้า มี 3 พันธุ์ คือ พันธุ์โรงเรียน พันธุ์สีทอง และพันธุ์สีชมพู (ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี, 2557)

1) เงาะพันธุ์โรงเรียน เป็นเงาะสายพันธุ์ดีที่สุดในประเทศไทย และเป็นพันธุ์ดีที่สุดในโลกเท่าที่มีอยู่ในปัจจุบัน ลักษณะเปลือกเมื่อสุกจะมีสีแดงแต่ที่ปลายขนยังมีสีเขียว เงาะพันธุ์โรงเรียนที่นิยมปลูกในประเทศไทย เนื่องจากมีรสชาติหวาน เนื้อกรอบล่อนจากเมล็ด และเปลือกเมล็ดบางไม่แข็ง เงาะโรงเรียนมีต้นกำเนิดที่โรงเรียนนาสาร อำเภอบ้านนาสาร จังหวัดสุราษฎร์ธานี โดยนายเค หว่อง (Mr. K Wong) ซึ่งเป็นชาวจีนสัญชาติมาเลเซีย ได้ปลูกเงาะต้นแม่พันธุ์โรงเรียนนี้เมื่อปี พ.ศ. 2469

2) เงาะพันธุ์สีทอง เป็นเงาะสายพันธุ์ดั้งเดิมที่ปลูกในจังหวัดจันทบุรีและตราด โดยมีลักษณะเด่นคือ มีผลขนาดใหญ่ เมื่อสุกเปลือกและขนจะมีสีแดงเข้ม ส่วนปลายขนมีสีเขียว เนื้อผลมีสีขาวค่อนข้างใส เมล็ดค่อนข้างแบนสีขาวปนน้ำตาล เมื่อเก็บจากต้นใหม่ ๆ จะมีรสหวานอมเปรี้ยวเล็กน้อย แต่ถ้าทิ้งไว้ 1-2 คืน จะมีรสหวานแหลมขึ้นและมีกลิ่นหอม

3) เงาะพันธุ์สีชมพู เป็นสายพันธุ์เงาะที่ปลูกง่าย มีการเจริญเติบโตดี ทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพดินฟ้าอากาศ และให้ผลผลิตสูง ผลมีลักษณะทรงกลมรี ผลอ่อนมีเปลือกสีเขียว มีขนยาวสีเขียวปกคลุมทั่วผล ผลสุกมีเปลือกและขนยาวสีแดง หรือสีชมพูสดปกคลุมทั่วผล เปลือกหนาและแกะออกง่าย ภายในผลมีเนื้อนุ่มฉ่ำน้ำ สีขาวใส รสชาติหวานกรอบ กลิ่นหอม และมีเนื้อร่อน ลักษณะของผลบอบช้ำได้ง่าย จึงไม่ทนทานต่อการขนส่ง (มรกต, 2560)

ภาพที่ 1 ลักษณะของเงาะพันธุ์โรงเรียน (ก): ระยะออกดอก (ข): ระยะติดผล และ (ค): ระยะผลสุก
ที่มา: กานต์สิรี ธิมาบุตร (2559)

1.2.3 คุณค่าทางโภชนาการและสรรพคุณของเงาะ

เงาะเป็นผลไม้รสหวาน มีฤทธิ์อุ่น ไม่มีพิษ อุดมด้วยวิตามินซี แคลเซียม ฟอสฟอรัส เหล็ก และใยอาหาร (fiber) (ตารางที่ 1) ซึ่งสารอาหารต่างๆ เหล่านี้ มีผลช่วยในการป้องกันและรักษาโรคต่างๆ เช่น โรคหวัด โรคบิด และยังมีสารต้านอนุมูลอิสระช่วยลดความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็ง นอกจากนี้เงาะสดสามารถแก้อาการท้องร่วงชนิดรุนแรงได้ผลดี ถ้านำเปลือกมาต้มกินน้ำใช้เป็นยาแก้อักเสบได้ เพราะมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย รักษาอาการอักเสบในช่องปาก และโรคบิดท้องร่วง อย่างไรก็ตาม เมล็ดของเงาะมีความเป็นพิษ จึงไม่ควรรับประทาน เพราะทำให้เกิดอาการปวดท้อง เวียนศีรษะ มีไข้ คลื่นไส้ และอาเจียน (พืชเกษตร, มปป)

ตารางที่ 1 คุณค่าทางโภชนาการในเนื้อผลของเงาะปริมาณ 100 กรัม

สารอาหาร	ปริมาณ	หน่วย
พลังงาน	64.00	(Cal)
โปรตีน	65.00	(mg)
ไขมัน	6.50	(mg)
คาร์โบไฮเดรต	1,072.50	(mg)
เส้นใย	71.50	(mg)
เถ้า	26.00	(mg)
แคลเซียม	20.00	(mg)
เหล็ก	1.90	(mg)
ฟอสฟอรัส	15.00	(mg)
โซเดียม	1.00	(mg)
โพแทสเซียม	64.00	(mg)
ไทอามีน	0.01	(mg)
ไรโบฟลาวิน	0.06	(mg)
ไนอาซีน	0.40	(mg)
กรดแอสคอร์บิก	53.00	(mg)

ที่มา: Issara *et al*. (1972)

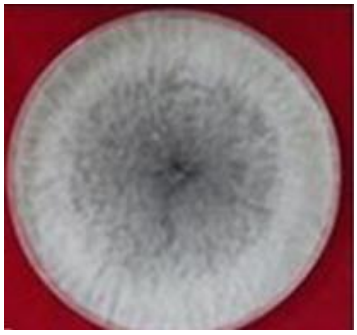
1.2.4 โรคผลเน่าในเงาะ (fruit rot)

ประเทศไทยสามารถผลิตเงาะได้ 7-8 เดือนต่อปี แต่มักพบปัญหาในเรื่องของการจัดการหลังการเก็บเกี่ยว เพราะเงาะมีอายุการเก็บรักษาสั้นและเสื่อมคุณภาพอย่างรวดเร็ว โดยจะแสดงอาการเหี่ยวและเกิดสีน้ำตาลบริเวณขนและเปลือก ซึ่งส่งผลกระทบในการส่งออกผลเงาะสด นอกจากนี้ความเสียหายหลังการเก็บเกี่ยวผลเงาะยังมีสาเหตุมาจากการเข้าทำลายของราหลายชนิด เช่น

1) รา *Lasiodiplodia theobromae*

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา คือ โคโลนี (colony) ของราบนอาหาร PDA (Potato dextrose agar) มีเส้นใยฟูสีเทาอ่อนถึงดำ (ภาพที่ 2) สร้างฟรุตติ้งบอดี้ (fruiting body) แบบพิคนิเดีย (pycnidia) มีช่องเปิด (ostiole) ยื่นออกมา ภายในพิคนิเดียประกอบด้วยเส้นใยพาราไฟซิส (paraphyses) มีลักษณะใส ไม่มีสี และโคนิดิโอฟอร์ (conidiophores) ให้กำเนิดโคนิเดีย (conidia) โดยโคนิเดียระยะแรกจะใส มีลักษณะเป็นเซลล์เดียว รูปไข่ยาวรี จนถึงค่อนข้างกลม ปลายด้านหนึ่งกลมมน และเมื่อโคนิเดียแก่จะสร้างผนังกั้น (septum) แบ่งออกเป็นสองเซลล์ มีรูปร่างรีคล้ายไข่ ผนังด้านนอกหนา 2 ชั้น มีการสร้างเม็ดสีเมลานินบนผิว และเซลล์ด้านในเรียงตัวเป็นริ้วในแนวยาว (กรมวิชาการเกษตร, 2554)

ลักษณะอาการของโรค คือ อาการเริ่มแรกเป็นจุดสีน้ำตาลอ่อนขยายไปตามเปลือกเงาะด้านนอก ต่อมาแผลเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มอย่างรวดเร็ว และสร้างเส้นใยสีขาวเทาฟูบนบาดแผล เปลือกของผลเงาะจะเปลี่ยนเป็นสีดำทั่วทั้งผลและมีเส้นใยสีขาวเทาเจริญ ครอบคลุมทั่วทั้งผลอย่างรวดเร็ว อาการภายในผล คือ เมื่อราเข้าทำลายเปลือกด้านนอกขยายลามเข้าไปถึงเปลือกด้านในจนถึงเนื้อผลของเงาะ สีเนื้อผลจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอ่อนจนถึงสีน้ำตาล เนื้อนิ่มเละ น้ำเยิ้ม และมีกลิ่นเหม็นเปรี้ยว



ภาพที่ 2 ลักษณะโคโลนีของรา *Lasiodiplodia theobromae* บนอาหาร PDA
ที่มา: Farungsang *et al*. (1991)

2) รา *Greeneria* sp.

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา คือ โคโลนีของราบนอาหาร PDA จะสร้างเส้นใยสีขาวหนาฟูเล็กน้อย หรือค่อนข้างแบนราบ โคโลนีเจริญเป็นวงคล้ายกลีบดอกเบญจมาศ ต่อมามีการสร้างกลุ่มของโคนิเดียสีเขียวเข้มจนถึงสีดำเป็นจำนวนมากกระจัดกระจายอยู่บนผิวหน้าของโคโลนี (ภาพที่ 3) ราสร้างฟรุตติ้งบอดี แบบอะเซอวูลัส (acervulus) และโคนิเดียมีรูปร่างท่อนยาวรี ลักษณะใส ไม่มีสี

ลักษณะอาการของโรค คือ เนื้อเยื่อรอบบริเวณที่เชื้อราเข้าทำลายจะเป็นสีน้ำตาลเข้มจนถึงดำ บริเวณแผลเน่าขยายและลุกลามอย่างช้าๆ บริเวณแผลไม่พบการเจริญของเส้น อาการภายในผล คือ เชื้อราจะเข้าทำลายส่วนของเนื้อเงาะ เริ่มแรกเป็นจุดสีน้ำตาลอมเหลืองและขยายลามติดกันเป็นแผลค่อนข้างกลม ต่อมาเนื้อเงาะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล มีน้ำเยิ้มสีเหลือง และมีกลิ่นเหม็นเปรี้ยว

ภาพที่ 3 ลักษณะโคโลนีของรา *Greeneria* sp. บนอาหาร PDA
ที่มา: กรมวิชาการเกษตร (2554)

3) รา *Pestalotiopsis* sp.

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา คือ โคโลนีของราบนอาหารพีดีเอ PDA จะสร้างเส้นใยสีขาวนวลถึงสีน้ำตาลอ่อน เส้นใยหยาบฟูเล็กน้อย มีกลุ่มของโคนิเดียสีดำเป็นมันกระจายอยู่ทั่วโคโลนี (ภาพที่ 4) ราจะสร้างฟรุตติ้งบอดีแบบอะเซอวูลัสสีเข้ม รูปหมอน (cushion shape) เกิดในชั้นอิพิเดอร์มิส (epidermis) ภายในมีโคนิดิโอฟอร์ สั้น ยาวเรียว บางใส ไม่แตกกิ่งก้าน โคนิเดียมีหลายเซลล์ ส่วนใหญ่มี 5 เซลล์ โดยเซลล์ส่วนหัวและท้ายมีลักษณะ แหลมเรียว ไม่มีสี แต่เซลล์บริเวณกลาง 3 เซลล์จะมีสีน้ำตาลเข้มถึงดำ มีรยางค์ (appendage) ยื่นออกไปที่ปลาย 2 เส้นหรือมากกว่า

ลักษณะอาการของโรค คือ อาการเริ่มแรกเป็นจุดสีน้ำตาล แผลจะลุกลามอย่างช้าๆ มีสีน้ำตาลถึงน้ำตาลเข้ม ยุบตัวเล็กน้อย มีเส้นใยเจริญฟูสีขาวขึ้นปกคลุมบริเวณบาดแผล อาการภายในผล คือ เมื่อราเข้าทำลายเปลือกด้านนอก และลามเข้ามาถึงเปลือกชั้นใน เปลือกชั้นในจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ขนาดแผลของเปลือกชั้นในใกล้เคียงกับแผลที่เปลือกด้านนอก ในช่วงแรกส่วนเนื้อเงาะยังไม่เปลี่ยนแปลง จนกระทั่งอาการแผลขยายมากขึ้น เนื้อของผลเงาะจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอ่อน

ภาพที่ 4 ลักษณะโคโลนีของรา *Greeneria* sp. บนอาหาร PDA
ที่มา: Tangthirasunan *et al.* (2014)

4) รา *Phomopsis* sp.

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา คือ มีลักษณะโคโลนีของราบนอาหาร PDA จะสร้างเส้นใยสีขาวจนถึงน้ำตาลอ่อน เส้นใยค่อนข้างหยาบและแนบกับผิวอาหาร (ภาพที่ 5) ราสร้างพิคนิเดียสีดำกระจายทั่วโคโลนี และสร้างฟรุตติ้งบอดีแบบพิคนิเดีย ผนังหนา สีน้ำตาลถึงดำ รูปร่างกลม ผนังหนา อาจมีช่องเดียวหรือหลายช่อง ภายในพิคนิเดียจะสร้างโคนิดิโอฟอร์สีอ่อนแตกแขนงมีผนังกั้น การสร้างโคนิเดียมี 2 แบบ คือ อัลฟาโคนิเดีย (alpha conidia) มีเซลล์เดียว สีใส รูปไข่ และเบต้าโคนิเดีย (beta conidia) มีสีใส เซลล์เดียว รูปร่างเป็นเส้นยาว ส่วนปลายโค้งงอคล้ายตะขอ (filiform)

ลักษณะอาการของโรค คือ อาการเริ่มแรกเป็นแผลสีน้ำตาล แผลขยายออกช้าๆ บริเวณกลางบาดแผลจะมีสีน้ำตาลเข้มปนดำ ขอบแผลจะมีลักษณะเหมือนรอยช้ำ สีน้ำตาลอ่อน บริเวณบาดแผลมีลักษณะแห้งแข็ง แผลมีลักษณะยุบตัวลงเล็กน้อย บนแผลไม่ปรากฏเส้นใยของรา อาการภายในผลพบแผลที่เปลือกชั้นในมีขนาดใกล้เคียงกับแผลที่เปลือกด้านนอก ในช่วงแรกสีของเปลือกชั้นในเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลก่อน ส่วนเนื้อเงาะยังไม่เปลี่ยนแปลง จนกระทั่งอาการแผลขยายมากขึ้น เนื้อเงาะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอ่อนจนถึงสีเหลือง มีน้ำเยิ้มสีเหลือง และกลิ่นเหม็นเปรี้ยว

ภาพที่ 5 ลักษณะโคโลนีของรา *Phomopsis* sp. บนอาหาร PDA
ที่มา: Kongprapan *et al*. (2017)

1.2.5 การเข้าทำลายของราสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรคเน่าในเงาะ มี 2 วิธี คือ

1) การเข้าทำลายก่อนเก็บเกี่ยว ราในกลุ่มนี้สามารถเข้าทำลายผลและส่วนอื่นๆ ของเงาะได้โดยตรง ซึ่งจะแพร่เชื้อโดยอาศัยลม ฝน หรือแมลง ไปยังผลผลิตและเกิดการเข้าทำลาย อาการของโรคจะไม่ปรากฏในขณะที่ผลอยู่บนต้น แต่จะแสดงอาการให้เห็นหลังจากที่เก็บเกี่ยวผลและผลสุก

2) การเข้าทำลายขณะหรือหลังการเก็บเกี่ยว ราในกลุ่มนี้โดยปกติจะพบ สปอร์ หรือส่วนขยายพันธุ์อื่นๆ ปนเปื้อนอยู่ที่ส่วนผิวของผลผลิต อาจเกิดในระหว่างการขนย้าย หรือการปฏิบัติอื่นๆ โดยส่วนของเชื้อเหล่านี้พบอยู่ในบรรยากาศของโรงบรรจุหีบห่อ น้ำที่ใช้ในการล้างและลดอุณหภูมิผลผลิต ภาชนะที่ใช้ในการขนย้ายผลผลิต เป็นต้น เชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคต่ำ และไม่สามารถเข้าทำลายผลผลิตได้โดยตรง การเข้าทำลายต้องอาศัยแผลหรือช่องเปิดธรรมชาติ โดยที่เชื้อในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่มีอัตราการเจริญและแพร่กระจายที่รวดเร็วทำให้ผลผลิตที่ถูกเชื้อเข้าทำลายเกิดการเน่าเสียภายในระยะเวลาอันสั้น (สมศิริ, 2554)

1.2.6 แนวทางในการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยว

1) การป้องกัน

เป็นวิธีการในการป้องกันผลิตผลจากเชื้อต่างๆ เริ่มต้นตั้งแต่ในแปลง เช่น การฉีดพ่นสารเคมีฆ่าราตั้งแต่ระยะออกดอกจนถึงระยะก่อนการเก็บเกี่ยว และเก็บเกี่ยวผลผลิตด้วยความระมัดระวังโดยใช้กรรไกรที่คมและสะอาดตัดช่อผลจากต้น โดยระมัดระวังไม่ให้เกิดแผลขึ้นในระหว่างการจัดการหลังการเก็บเกี่ยว

2) การกำจัดหรือลดการเกิดโรค

เป็นวิธีการกำจัดและยับยั้งเชื้อต่างๆ เพื่อลดจำนวนเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยวในเงาะ ซึ่งมีหลายวิธี ได้แก่

2.1) การใช้สารเคมี เช่น thiabendazole carbendazim และ benomyle ในการฉีดพ่นเงาะก่อนการเก็บเกี่ยว (Sanders *et al*., 2000)

2.2) การใช้อุณหภูมิต่ำหรือทำให้เย็น (cooling) ดังเช่น ในงานวิจัยของ นิลวรรณ และคณะ (2551) ได้ทำการวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการเก็บรักษาเงาะผลสดให้ยาวนานขึ้นเพื่อการส่งออกทางเรือ โดยการบรรจุผลเงาะสดที่ผ่านการล้างทำความสะอาดลงถุงพลาสติก LDPE (low density polyethylene) และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 14+2 °C ในระหว่างการขนส่ง สามารถเก็บรักษาได้นาน 6-11 วัน

2.3) การใช้รังสี เช่น งานวิจัยของ เบญจมาส และคณะ (มปป) ที่นำผลสดของเงาะพันธุ์โรงเรียนมาผ่านการฉายแสงรังสีแกมมา 300 เกรย์ เพื่อยืดอายุการเก็บรักษา พบว่า เงาะที่ผ่านการฉายรังสีแกมมามีอายุการเก็บรักษานาน 9 วัน ที่อุณหภูมิ 13 °C โดยมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมดได้ ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ วิตามินซี และการเปลี่ยนแปลงสภาพภายนอกของผลไม้แตกต่างกับผลเงาะที่ไม่ผ่านการฉายรังสี (ชุดควบคุม)

2.4) การควบคุมสภาพบรรยากาศ เช่น งานวิจัยของ Sivakumar และคณะ (2002) ที่ศึกษาการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวของเงาะ โดยการควบคุมสภาพบรรยากาศร่วมกับ

การใช้สารโพแทสเซียมเมทาไบซัลไฟต์ และ *Trichoderma harzianum* โดยทดสอบกับ *B. theobromae C. gloeosporioides* และ *G. microchlamydosporum* ที่เป็นสาเหตุของเชื้อก่อโรคในเงาะหลังการเก็บเกี่ยว ทำให้เกิดโรคขั้วเน่าโรคแอนแทรกโนสและโรคจุดสีน้ำตาล จากผลการทดลองพบว่า เมื่อควบคุมสภาพบรรยากาศและร่วมกับการใช้เชื้อ *T. harzianum* ในผลเงาะสามารถยืดอายุการเก็บรักษาเงาะได้เพิ่มขึ้นเป็น 21 วัน และสามารถลดปริมาณเชื้อ *G. microchlamydosporum* ที่เป็นสาเหตุของโรคจุดสีน้ำตาลได้

งานวิจัยของดวงธิดา และคณะ (มปป) ได้ศึกษาความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้โอโซนเพื่อควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวของผลเงาะ พบว่า ผลเงาะที่ผ่านการรมด้วยก๊าซโอโซนความเข้มข้น 1 ppm นาน 30 นาที สามารถลดปริมาณราที่ผิวของผลเงาะได้ 93.9 % และในกรณีที่จุ่มผลเงาะในน้ำโอโซนความเข้มข้น 0.3 ppm นาน 15 นาที สามารถลดปริมาณราที่ผิวของผลเงาะได้ 79.2 % และพบว่า การจุ่มผลเงาะในน้ำโอโซนความเข้มข้น 0.5 ppm นาน 10 และ 15 นาที สามารถลดปริมาณราที่ผิวของผลเงาะได้ 68.8 % และ 74.6 % ตามลำดับ และทำให้การเกิดโรคในผลเงาะหลังการเก็บเกี่ยวลดน้อยลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับการจุ่มในน้ำเปล่า (ชุดควบคุม) ในขณะเดียวกันการจุ่มผลทุเรียนในน้ำโอโซนความเข้มข้น 0.5 ppm นาน 10 และ 15 นาที สามารถยับยั้งการเกิดโรคผลเน่าได้แตกต่างจากการจุ่มในน้ำเปล่า (ชุดควบคุม) และยัง พบว่า น้ำโอโซนไม่มีผลในการยับยั้งการเกิดโรคจาก *Colletotrichum* ในมะม่วง นอกจากนี้ พบว่า การใช้ก๊าซโอโซนความเข้มข้น 0.5 ppm ในเงาะและมะม่วง นาน 6 วัน ทำให้สีเปลือกเกิดอาการผิดปกติ

2.5) การใช้วิธีการทางชีววิธี ซึ่งเป็นวิธีการที่นำมาใช้เพื่อทดแทนการใช้สารเคมีที่มีอันตรายต่อผู้บริโภค ดังเช่นในงานวิจัยต่อไปนี้ ซึ่งได้ศึกษาสาเหตุการเกิดโรคในเงาะรวมทั้งวิธีในการควบคุมโรคที่เกิดจากจุลินทรีย์ เช่น งานวิจัยของ สมศิริ และอังสุมา (2526) ได้ศึกษาโรคเน่าของผลเงาะที่เกิดจาก *Botryodiplodia theobromae* Pat. พบว่า เชื้อนี้สร้างพิคนิเดียขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 132-220 µm ภายในพิคนิเดียจะสร้างพิคนิดิโอสปอร์ (pycnidiospore) ขนาด 9.5-13.75×17.75-25 µm เมื่อปลูกเชื้อนี้ลงบนผลเงาะที่มีความยาวขั้วผล 0 1 2 และ 3 cm ตามลำดับ พบว่า ราทำให้เกิดโรคกับผลเงาะที่ไม่มีขั้วอย่างรวดเร็ว และเมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับผลเงาะสีชมพูและเงาะโรงเรียน พบว่า เงาะโรงเรียนจะมีความรุนแรงน้อยกว่าเงาะสีชมพู นอกจากนี้ได้ทำการทดลองเพื่อหาวิธีการเก็บรักษาผลเงาะให้ได้นานโดยการควบคุมอุณหภูมิที่ 10 15 20 25 °C และอุณหภูมิห้อง ผลการทดลอง พบว่าที่อุณหภูมิ 10 °C ผลเงาะจะเกิดโรคน้อยที่สุด และเมื่อนำเอาผลเงาะมาใส่ในถุงพลาสติกเจาะรูและไม่เจาะรู แล้วนำไปเก็บไว้ที่ 10 °C พบว่า มีการเกิดโรคเพียง 2 % ในเวลา 21 วัน

งานวิจัยของกณิษฐาและคณะ (2536) ได้ศึกษาจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่สามารถควบคุมราที่ก่อโรคในเงาะ จากส่วนต่างๆ ของต้นเงาะ คือ ยอดอ่อน ช่อดอก ผลอายุต่างๆ และน้ำค้างจากพุ่มใบ โดยใช้อาหาร nutrient yeast dextrose agar (NYDA) ในการคัดเลือก และนำแบคทีเรียปฏิปักษ์ (antagonistic bacteria) ที่แยกได้มาทดสอบการยับยั้ง *C. gloeosporioides* จำนวน 6 ไอโซเลต ซึ่งจากผลการทดลองสามารถคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ได้ประมาณ 200 ไอโซเลต กลไกในการเป็นปฏิปักษ์ที่แสดงให้เห็นในการทดสอบครั้งนี้ คือ การสร้างสารปฏิชีวนะ และการเจริญเติบโตที่รวดเร็วจนครอบครองพื้นที่การเจริญเติบโตของราสาเหตุโรค อิทธิพลของการเป็นปฏิปักษ์ที่มีต่อราที่

ใช้ทดสอบ เห็นได้จากการเจริญของโคโลนีที่ถูกกำจัดร่วมกับความผิดปกติของโคโลนี การสร้างฟรุตติ้งบอดี้ปริมาณน้อย และโคนิเดียที่ผิดปกติ การศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด แสดงให้เห็นผิวของโคนิเดียและเส้นใยที่ขรุขระ และบางครั้งถูกห้อมล้อมด้วยเซลล์แบคทีเรีย จากผลการทดลองแสดงให้เห็นความสำเร็จขั้นต้นในการทดลองในภาวะควบคุม ในการควบคุมโดยชีววิธีของโรคผลเน่าภายหลังการเก็บเกี่ยวของเงาะที่มีสาเหตุจาก *C. gloeosporioides* ต่อมาในปี พ.ศ. 2547 ทัศวรรณ และคณะ ได้คัดเลือกจุลินทรีย์จากบริเวณรอบทรงพุ่มเงาะ โดยใช้ enrichment technique สามารถแยกจุลินทรีย์ได้ ทั้งหมด 1,618 ไอโซเลต และนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งรา *L. theobromae* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคผลเน่าหลังการเก็บเกี่ยวของเงาะพันธุ์โรงเรียน ในการทดลองสามารถคัดเลือกจุลินทรีย์ที่ยับยั้งการเจริญของเส้นใยราได้ 25 ไอโซเลต ซึ่งในจำนวนนี้มี 10 ไอโซเลต ที่สามารถการยับยั้งการงอกของสปอร์ราได้ โดยมีผลทำให้ความงอกของสปอร์ลดลงจาก 82.2 % เป็น 63.2 % และทำให้ germ tube มีการเจริญผิดรูปร่าง เกิดการบวมพองเมื่อปลูกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ลงบนแผลก่อนปลูกรา จุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการศึกษาครั้งนี้คือ yeast 44-29/3 สามารถลดความรุนแรงของโรคได้ 78.7 %

นฤมล และมนตรี (2551) ได้ศึกษาการควบคุมการเจริญของราบนผิวเงาะโดยการใช้น้ำมันหอมระเหยจากอบเชยและกานพลูในอัตราส่วน 5 ต่อ 1 ในการยับยั้งราที่แยกมาจากเปลือกเงาะที่เกิดโรคทั้งหมด 5 ชนิด คือ *Cladosporium* sp. *G. microchlamydosporum Aspergillus niger Penicillium* sp. และ *C. gloeosporioides* โดยการผสมน้ำมันหอมระเหยลงในอาหารเลี้ยงเชื้อในความเข้มข้นตั้งแต่ 60 ถึง 210 µg/mL พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่ ความเข้มข้น 150 µg/mL สามารถยับยั้งราทุกชนิดได้ ยกเว้น *C. gloeosporioides* ที่ต้องใช้ปริมาณน้ำมันหอมระเหย 180 µg/mL ขึ้นไปถึงจะยับยั้งได้ นอกจากนี้ พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากอบเชยและกานพลูที่ความเข้มข้น 180 µg/mL และเมื่อนำผลเงาะที่ผ่านการพ่นสารมาเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 12.5 °C ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 100 % สามารถยืดอายุการเก็บรักษาเงาะได้อย่างน้อย 12 วัน จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าน้ำมันหอมระเหยจากอบเชยและกานพลูสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของราที่พบบนเปลือกเงาะได้ และมีความเป็นไปได้ในการนำน้ำมันหอมระเหยทั้งสองชนิดนี้มาใช้ยับยั้งราบนเปลือกเงาะในระหว่างการเก็บรักษา

อย่างไรก็ตาม ในการผลิตเงาะนอกจากปัญหาในเรื่องโรคหลังการเก็บเกี่ยว ปัญหาที่สำคัญอีกหนึ่งประการคือ การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาและการขนส่ง ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการเกิดสีน้ำตาลในเปลือกและขน เนื่องจากบริเวณขนเงาะมีรูปากใบจำนวนมาก และมากกว่าที่ผิวเปลือกถึง 5 เท่า และที่ปลายขนยังมีขนเล็กๆ (trichome) จำนวนมากทำให้เพิ่มพื้นที่ผิวในการคายน้ำ (สายชล, 2538) ส่งผลให้ผลเงาะเหี่ยวและเกิดสีน้ำตาลอย่างรวดเร็วหลังการเก็บเกี่ยว ซึ่งหลักการที่นิยมทำกันมากคือการรดน้ำผลเงาะอยู่เสมอ แต่มีข้อควรระวังคือน้ำที่ใช้ต้องสะอาด เพราะน้ำที่ไม่สะอาดจะทำให้เงาะเกิดการเน่าเสียได้ง่าย แต่น้ำที่มีสารคลอรีนอยู่มากอาจจะไปเร่งให้ขนเงาะเกิดสีน้ำตาลเร็วขึ้น การใช้สารเคลือบผลเงาะเป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถลดปัญหาการสูญเสียน้ำของผลเงาะ เช่น การศึกษาใช้สารเคลือบผิวจาก carboxymethyl cellulose ในงานวิจัยของของ สมัคร และนพรัตน์ (2558) พบว่า สามารถรักษาคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวและยืดอายุการเก็บรักษาของเงาะพันธุ์โรงเรียนที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 13 °C ได้ และผลเงาะที่เคลือบด้วย

carboxymethyl cellulose ที่ความเข้มข้น 2.0 % มีประสิทธิภาพดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม สามารถเก็บผลเงาะได้นานที่สุดเท่ากับ 13.56 วัน และที่ความเข้มข้น 1 % สามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงผลเงาะหลังการเก็บเกี่ยวได้ โดยสัมพันธ์กับการสูญเสียน้ำหนักสด ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดและลดการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกและขนเงาะได้ดีที่สุด

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการยืดอายุการเก็บรักษาผลเงาะพันธุ์โรงเรียนด้วยการใช้กล่องพลาสติกชนิด Clamshell ทำการบรรจุผลเงาะจำนวน 6 ผล ลงในกล่อง clamshell ที่มีการเจาะรู (0.5 cm) บริเวณ ด้านบน+ด้านล่างของกล่อง จำนวน 0+4 4+4 และ 9+4 รู เปรียบเทียบกับผลเงาะที่ไม่บรรจุกล่อง (ชุดควบคุม) จากนั้นทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 ºC ผลการทดลอง พบว่า ผลเงาะที่บรรจุในกล่องเจาะรูแบบ 0+4 และแบบ 4+4 มีการสูญเสียน้ำหนักสดน้อยที่สุด รองลงมาคือ กล่องเจาะรูแบบ 9+4 และเงาะที่ไม่บรรจุในกล่อง ตามลำดับ การบรรจุเงาะในกล่อง clamshell ที่เจาะรูทั้ง 3 แบบ ช่วยชะลอการเปลี่ยนแปลงสีขนของเงาะจากส้มแดงเป็นสีน้ำตาลดำได้ และมีอายุการเก็บรักษาได้นาน 15 วัน ขณะที่ผลเงาะที่ไม่บรรจุกล่องมีอายุการเก็บรักษาเพียง 9 วัน อย่างไรก็ตาม พบว่า เงาะที่บรรจุในกล่อง clamshell ที่เจาะรูทั้ง 3 แบบ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค ปริมาณความชื้นในเปลือก (relative water content) และคะแนนการยอมรับด้านลักษณะปรากฏไม่แตกต่างจากเงาะในชุดควบคุม (ดุษฎี และคณะ, 2553)

ในปี พ.ศ. 2553 มีรายงานวิจัยของ ศุภฤกษ์ และสมชาย ที่เกี่ยวกับอิทธิพลของสัดส่วนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ออกซิเจน และไนโตรเจน ต่อคุณภาพและอายุการเก็บรักษาเงาะโรงเรียน โดยควบคุมปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และออกซิเจน ทั้งหมด 4 ระดับ คือ 0 5 10 และ 15 % นำผลเงาะคัดแล้วบรรจุในถุง polyethylene (PE) และปรับปริมาตรของก๊าซในถุงให้ครบ 100 % ด้วยก๊าซไนโตรเจน และนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13±2 ºC ผลการวิจัย พบว่า เงาะที่เก็บรักษาที่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10 % ร่วมกับออกซิเจน 10 % และไนโตรเจน 80 % มีการสูญเสียน้ำหนักสดน้อยที่สุด คือ 2.59 % มีการเปลี่ยนแปลงสีเปลือกและสีเนื้อเพียงเล็กน้อย ความแน่นเนื้อของเปลือก ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ลดลงตามอายุการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น และมีอายุการเก็บรักษานานที่สุด คือ 18 วัน โดยมีลักษณะภายนอกและคุณภาพเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

งานวิจัยของ พนิดา และคณะ (2559) ได้ศึกษาการฉีดพนไคโตซานที่ตัดพอลิเมอร์ด้วยการฉายรังสีความเข้มข้น 0 0.5 1 และ 2 % บนผลเงาะพันธุ์โรงเรียนเมื่อเงาะเริ่มติดผล โดยการฉีดพ่นเดือนละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 3 เดือน หลังจากนั้นเก็บเกี่ยวผลเงาะแล้วนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 ºC ความชื้นสัมพัทธ์ 85±5 % และบันทึกผลการทดลองทุก 3 วัน จนสิ้นอายุการเก็บรักษา พบว่า ผลเงาะชุดที่ฉีดพ่นด้วยไคโตซาน 2 % สามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงค่า L* ได้ดีที่สุด และการฉีดพ่นไคโตซานทุกความเข้มข้นไม่มีผลต่อปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด และปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ ผลเงาะโรงเรียนที่ฉีดพ่นด้วยไคโตซานฉายรังสีก่อนการเก็บเกี่ยวสามารถชะลอการสูญเสียน้ำหนักสดได้ดีกว่าเงาะที่ไม่ได้ฉีดพ่นด้วยไคโตซาน

1.2.7 เคี่ยม

เคี่ยม (*Cotylelobium lanceolatum* Craib) ชื่อสามัญ Kiam (Resak tembage) จัดอยู่ในวงศ์ *Dipterocarpaceae* เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ ลำต้นตั้งตรง มีความสูงประมาณ 20-40 m ลักษณะเรือนยอดเป็นพุ่ม ทึบ รูปเจดีย์แบบต่าง ๆ ส่วนเปลือกต้นเป็นสีน้ำตาลเปลือกเรียบ มีรอยด่างสีเทาและสีเหลืองสลับกัน และมีต่อมระบายอากาศกระจายอยู่ทั่วไป เปลือกด้านในเป็นสีน้ำตาลอ่อน (ภาพที่ 6) เจริญเติบโตได้ในดินทุกชนิด ชอบดินร่วนและดินร่วนปนทรายที่มีการระบายน้ำได้ดี ชอบความชื้นสูงและแสงแดดปานกลาง

ใบเคี่ยมมีลักษณะเป็นรูปไข่ ปลายใบเรียวหรือหยักเป็นติ่งยาว ส่วนโคนใบมน ใบมีขนาดกว้างประมาณ 2-5 cm และยาวประมาณ 5-18 cm แผ่นใบหนา หลังใบเรียบเป็นมัน ส่วนท้องใบมีขนสีน้ำตาลปนสีเหลืองเป็นกระจุก (สรัลนุช, 2557) ในใบเคี่ยมสายพันธุ์ lewisianum มีสารในกลุ่ม Flavonoid ได้แก่ สาร quercetin มีคุณสมบัติช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคลมชัก และ apigenin มีคุณสมบัติช่วยลดความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งรังไข่ ส่วนในใบเคี่ยมสายพันธุ์ scabriusculum มีสาร kaempferol ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และมีกลุ่มเดียวกับสายพันธุ์ lewisianum (ตารางที่ 2) (Joshi *et al*., 2008)

ดอกเคี่ยม ดอกสีขาวมีกลิ่นหอมแบบอ่อน ๆ ออกดอกเป็นช่อตามยาวที่ปลายกิ่งและตามง่ามใบ ผลเคี่ยมมีลักษณะของผลเป็นรูปทรงกลม มีขนาดเล็ก ผลมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.7 cm มีขนนุ่มคล้ายขนกำมะหยี่สีน้ำตาล มีปีก 5 ปีก แบ่งเป็นปีกยาว 2 ปีก ปลายปีกมนเรียวสอบมาทางโคน มีเส้น ตามยาว 5 เส้น และปีกสั้นอีก 3 ปีก ลักษณะเป็นรูปหอก ยาวประมาณ 1 ใน 3 รองรับผลอยู่และจะติดผลในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนเมษายน

ภาพที่ 6 ลักษณะของต้นเคี่ยม (*Cotylelobium lanceolatum* Craib) (ก) ลำต้นเคี่ยม (ข) เปลือกเคี่ยม (ค) ใบเคี่ยม
ที่มา: กานต์สิรี ธิมาบุตร (2559)

ตารางที่ 2 ตัวอย่างสาร flavonoids ที่ในพบในพืชสกุล *Cotylelobium* sp.

Scientific name	Flavonoid aglycones							Flavonoid glycosides			
	Flavonol			Flavone		Proanthocyanidin					
	M	Q	K	L	A	D	C	1	2	3	4
Cotylelobium lewisianum	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+
Cotylelobium scabriusculum	-	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+

คำสำคัญ : M = myricetin, Q = quercetin, K = kaempferol, L = luteolin, A = apigenin, D = delphinidin, C =cyanidin, 1 = quercetin 3- glucoside, 2 = quercetin 3- rutinoside, 3 = kaempferol 3, 5 - glucoside, 4 = apigenin, 5 = glucoside, + = detected, – = not detected

ที่มา : Joshi *et al*. (2008)

เปลือกไม้เคี่ยม ใช้เป็นยาสำหรับห้ามเลือดบาดแผลสด และใช้เป็นยาชะล้างบาดแผล นิยมใช้เคี่ยมดำมากกว่าเคี่ยมขาว ชันจากไม้เคี่ยมเป็นยาสมานแผลและแก้ท้องร่วง ยอด ราก ดอก ลำต้นตำพอกแผลแก้ฟกบวมเน่าเปื่อย เป็นต้น (สรัลนุช, 2557) จากรายงานวิจัยเกี่ยวกับการสกัดสารจากเนื้อไม้และเปลือกเคี่ยมสายพันธุ์ melaoxylon พบว่า สารสกัดนี้มีฤทธิ์ช่วยในการยับยั้งระดับของน้ำตาลในเลือด และพบสารตัวใหม่ได้แก่ สารกลุ่ม stilbene dimer (ampelopsin F isoampelopsin F viniferin) stilbene trimer (vaticanol G) lignin (lyoniresinol) และ melanoxylin B ซึ่งพบในเนื้อไม้ และสารในกลุ่ม stilbene dimer (viniferin) กับ stilbene trimer (vaticanols A E และ G) พบในเปลือกไม้ (Matsuda *et al*., 2009)

นอกจากนี้ยังมีรายงานการวิจัยที่มีการค้นพบสารใหม่ 3 ชนิด ในต้นเคี่ยมสายพันธุ์ lanceolatum ได้แก่ resveratrol oligomers, cotylelophenol C (resveratrol tetramer) และ cotylelosides A กับ B (O-glucosides of resveratrol trimer) ร่วมกับ glucosides ของ resveratrol oligomers ที่มีการค้นพบก่อนหน้านี้ 4 ชนิดได้แก่ vaticasides A B C D และสาร piceid ถูกแยกออกจากส่วนที่ละลายในอะซิโตน (acetone) ของต้นเคี่ยมสายพันธุ์นี้ (Ito *et al*., 2006) และในปี 2011 ยังมีงานวิจัยของ Chana-Thaworn และคณะ ที่ศึกษาคุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรียจากสารสกัดของเนื้อไม้ของต้นเคี่ยมสายพันธุ์นี้อีกด้วย จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าสารสกัดจากเคี่ยมความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ คือ 300 mg/L และมีการนำไปประยุกต์ใช้ โดยการผสม Hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) กับสารสกัดจากเคี่ยมที่ระดับความเข้มข้น 1-5 เท่า นำไปใช้ในการทดสอบการยับยังเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิด *คือ Escherichia coli Stephylococcus aureus* และ *Listeria monocytogenus* พบว่า การผสม HPMC กับสกัดจากเคี่ยมที่ระดับความเข้มข้น 3-5 เท่า สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งสามชนิด โดยยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *L. monocytogenus* ได้ดีที่สุด

Kadir และ Hale (2017) ได้ศึกษาหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) จากเปลือกและไม้เนื้อแข็ง ทั้งหมด 12 ชนิด จากประเทศมาเลเซีย ซึ่งหนึ่งในนั้นมีไม้เคี่ยมรวมอยู่ด้วย โดยนำมาทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดจากพืช พบว่า ไม้ทั้ง 12 ชนิด มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมีความแตกต่างกัน พบว่า เปลือกและแก่นไม้ของ *Neobalanocarpus heimii* มีสารต้านอนุมูลอิสระสูงสุด (93.60 และ 83.78 %) และปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (29.11 และ 24.11 mgGAE/g) ตามลำดับ รองลงมาได้แก่ เปลือกและแก่นไม้ของ *C. lanceolatum* ที่มีการผลิตสารต้านอนุมูลอิสระ (86.28 และ 81.38 %) และปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (23.15 และ 20.05 mgGAE/g) จากผลการวิจัยดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าไม้เขตร้อนเหล่านี้อาจเป็นประโยชน์ในการนำมาของผลิตสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติ และสามารถนำมาใช้ในกระบวนการผลิตยาได้

ปุณณาณี (2554) ได้ศึกษาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic) ในวัสดุเศษเหลือของพืชตัวอย่างทั้งหมด 30 ตัวอย่าง พบว่า ตัวอย่างจากใบเคี่ยมมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด คือ 158.14 mg รองลงมาคือ ใบทับทิม เปลือกลูกตาล และเปลือกเงาะ ซึ่งมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ135.69 134.15 และ 109.20 mg ตามลำดับ หลังจากนั้นจึงคัดเลือกตัวอย่างพืชเพียง 15 ชนิด โดยดูจากปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด เพื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และคุณสมบัติในการตกตะกอนโปรตีน พบว่า สารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์ ใบเคี่ยม และเปลือกสะตอ สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคที่นำมาทดสอบทั้ง 6 ชนิด ได้แก่

E. coli S. aureus L. monocytogenus Bacillus cereus Salmonella typhymurium และ *Vibrio cholerae* และเมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและคุณสมบัติในการตกตะกอนพบว่า สารสกัดจากเปลือกสะตอมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด และยังมีคุณสมบัติในการตกตะกอนโปรตีนเท่ากับ 100 % อีกด้วย

สารกลุ่มฟีนอลิกและแทนนิน (tannin) ที่สกัดได้จากส่วนของลำต้นและใบของเคี่ยมชนิด melaoxylon ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคที่เกิดจากแบคทีเรียหลายชนิดได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยพบว่าสารสกัดเอทานอลจากเคี่ยมต่อการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้แก่ *E. coli S. typhymurium V. cholera* และแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *B. cereus S. aureus* และ *L. monocytogenes* (Suchanuch *et al*., 2012)

Chanthachum และ Beuchat (1997) ศึกษาสารสกัดจากไม้เคี่ยมในการยับยั้งและต่อต้านเชื้อก่อโรคที่เกิดจากแบคทีเรียที่แยกได้จากยางของต้นตาล 6 กลุ่ม ได้แก่ Acetobacter, Flavobacterium, Lactobacillus Leuconostoc Micrococcus และ Saccharomyces ผลการทดลอง พบว่า สารสกัดจากเคี่ยมความเข้มข้น 0.2 % สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *L. monocytogenes S. aureus* และ *B. cereus* และเมื่อทดสอบการบ่มเชื้อ *L. monocytogenes* ในกะหล่ำปลี และทดสอบการยับยั้งโดยใช้สารสกัดจากเคี่ยมที่ความเข้มข้น 0 0.5 และ 5 % และเก็บที่อุณหภูมิ 5 ºC เป็นเวลา 5 วัน พบว่า เชื้อ *L. monocytogenes* ในกะหล่ำปลีมีจำนวนลดลง

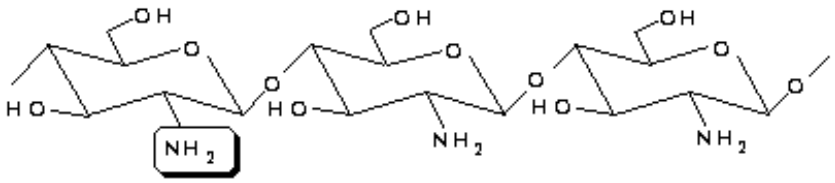
นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชในวงศ์ Dipterocarpaceae ชนิดอื่นๆ เช่น งานวิจัยของ Kawamura และคณะ (2010) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากส่วนของแก่นไม้ กระพี้ และเปลือกของพันธุ์ไม้ในประเทศมาเลเซีย ได้แก่ เต็งรัง (*Dipterocarpus apterus*) ตะเคียน (*Hopea odorata*) ประดู่ *(Pterocarpus indicus)* กระท้อน (*Sandoricum koetjape*) *Shorea curtisii Calophyllum rubiginosum Calophyllum symingtonianum Cynometra inaequifolia Swintonia schwenkii Dyera costulata* และ *Pimeleodendron griffithianum* ในการยับยั้งโรคเน่าสีน้ำตาลและโรคราผุสีขาวที่เกิดจากเชื้อรา *Gloeophyllum trabeum* และเชื้อรา *Pycnoporus sanguineus* ตามลำดับ ซึ่งผลการทดลอง พบว่า สารสกัดจากแก่นไม้ของต้นประดู่ (*C. symingtonianum*) และเปลือกของต้น *S. schwenkii* มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *G. trabeum* มากที่สุด และสารสกัดจากแก่นไม้ของต้นประดู่ และส่วนเปลือกและกระพี้ของต้น *P. griffithianum* และ *C. rubiginosum* มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *P. sanguineus* ได้ โดยในการทดลองนี้ พบว่า การใช้สารสกัดจากส่วนต่างๆ ของพันธุ์ไม้ในประเทศมาเลเซีย มีฤทธิ์ในการยับยั้งราทั้งสองชนิดได้ดีกว่าการใช้สาร glycyrrhizic acid- dipotassium salt

ในงานวิจัยของ Wan Mohd Zain และคณะ (2013) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ ของเปลือกลำต้นเต็งรัง *(Dipterocarpus Crinitus*) ซึ่งพบสารประกอบ oligomer resveratrol 5 ชนิด ได้แก่ viniferin (1) viniferine (2) Hopeaphenol isohopehenol และ laevifonol และยังพบสาร phytoalexin ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ เมื่อนำไปทดสอบในการยับยั้งเชื้อรา *Rhizoctonia solani Fusarium* sp. *Pythium* sp. และ *Phytophthora* sp. ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคในผัก พบว่า สารสกัดดังกล่าวมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อได้ดีมาก

1.2.8 ไคโตซาน

ไคโตซาน (Chitosan) หรือ deacetylated chitin เป็นโคโพลีเมอร์ที่เกิดจาก glucosamine และ N- acetylglucosamine ประกอบด้วย glucosamine มากกว่า 90 % จัดเป็นสารอนุพันธ์ของไคตินที่ผลิตได้จากการทำปฏิกิริยากับด่างเข้มข้นเพื่อกำจัดหมู่อะซิติล ทำให้โมเลกุลเล็กลง และมีคุณสมบัติที่อ่อนตัวสามารถขึ้นรูปเป็นเจลเม็ด เส้นใย หรือคอลลอยด์ รวมถึงการใช้ประโยชน์ในรูปแบบต่างๆได้มากขึ้น นอกจากนั้น ไคโตซานประกอบด้วยหมู่อะมิโน ($-NH_2$) และหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) (ภาพที่ 7) ที่สามารถทำปฏิกิริยากับสารอื่นเปลี่ยนเป็นสารอนุพันธ์อื่นๆได้หลากหลาย (สาวิกา และคณะ, 2556)

ในปัจจุบันนิยมนำไคโตซาน และไคตินทั้งสองรูปมาใช้ประโยชน์ แต่ส่วนใหญ่จะใช้ประโยชน์ในรูปของไคโตซานมากกว่าไคติน เนื่องจากไคโตซานมีคุณสมบัติที่ละลายได้ในสารละลายหลายชนิดที่มี pH ในช่วงกรดต่ำกว่า 5.5 และไม่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิต สามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติ จึงมีความปลอดภัยในการนำเอาไคโตซานมาประยุกต์ใช้งาน (ป่วย, 2548)



ภาพที่ 7 โครงสร้างทางเคมีของไคโตซาน
ที่มา: สุธิดา (2552)

1.2.9 ประโยชน์ของไคโตซาน

1) ด้านการแพทย์ พบว่า ไคโตซานเป็นสารที่มีคุณสมบัติที่ดีที่สามารถนำมาใช้ในทางการแพทย์ได้หลายรูปแบบ สามารถเตรียมได้ในรูปแบบเม็ดเจลแผ่นฟิล์มฟองน้ำเพลเลท แคปซูล และยาเม็ด เป็นต้น และไคโตซาน ยังเป็นอนุพันธ์ใช้ป้องกันฟันผุ เช่น ethylene glycol-chitin, carboxymethyl-chitin และ phosphorylated –chitin สามารถยับยั้งการจับและก่อตัวของแบคทีเรียบนผิวฟันที่เป็นสาเหตุของฟันผุได้ดี ไคตินหรือไคโตซานซัลเฟตสามารถยับยั้งการแข็งตัวของเลือด และปลดปล่อย lipoprotein lipase โดยนำมาประยุกต์ใช้ในขั้นตอนการฟอกเลือดเพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด นอกจากนี้ยังใช้สำหรับรักษาแผล และป้องกันการติดเชื้อของแผลได้ดี (Knorr, 1982)

2) ด้านอุตสาหกรรมอาหาร พบว่า ไคโตซานและไคตินถูกใช้เป็นอาหารเสริมที่สามารถให้พลังงาน และช่วยลดปริมาณคอเลสเตอรอลชนิด low density lipoprotein (LDL) รวมถึงไขมันจำพวกไตรกลีเซอไรด์ในเลือดได้ดี ด้วยการจับตัวกับกลุ่มไขมันทำให้ลดการดูดซึมบริเวณลำไส้จึงนิยมนำไคโตซานผลิตเป็นอาหารเสริมเพื่อลดน้ำหนัก ช่วยป้องกันเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารด้วยคุณสมบัติของไคติน และไคโตซานที่สามารถจับกับเยื้อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ ทำให้เกิดการรั่วไหลของโปรตีน และสารอื่นๆออกมานอกเซลล์จนจุลินทรีย์ไม่สามารถเติบโตและลดจำนวนลง

3) ด้านอุตสาหกรรม มีการนำไคโตซานไปใช้เป็นสารตกตะกอน เช่น นำไปใช้ในด้านการบำบัดน้ำ เนื่องจากพบว่าไคโตซานมีประสิทธิภาพในการใช้เป็นสารตกตะกอนชีวภาพ (bioflocculant) ในการบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมอาหาร โดยสามารถลดความขุ่น และปริมาณตะกอนแขวนลอย ตลอดจนค่า BOD และ COD ลงได้ ทำให้มีคุณภาพน้ำที่ดีขึน โดยการใช้ไคตินและไคโตซานจะทำหน้าที่เป็นตัวจับไอออนโลหะในน้ำทิ้ง

4) ด้านเครื่องสำอาง จะใช้ไคโตซานเป็นสารประเภท non toxic polyelectrolyte ที่มีประโยชน์ต่อการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางค์ ทั้งนี้เพราะประจุบวกของหมู่แอมโนเนียม (NH_3) ที่เรียงอยู่บนโครงสร้างของไคโตซานจะมีความว่องไวต่อการจับกับผิวหนังและเส้นผมที่ประกอบด้วยสาร mucopolysaccharides โปรตีน และไขมัน ที่มีประจุลบได้เป็นอย่างดี ไคโตซานที่เคลือบอยู่นี้จะก่อตัว เป็นฟิล์มบางๆ พร้อมกับดูดซับความชื่นและไขมันเอาไว้จึงช่วยรักษาความชุ่มชื้น และความยืดหยุ่นให้แก่ผิวหนังและเส้นผม และนอกเหนือจากสมบัติในการช่วยยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และลดอาการระคายเคืองหรือคันศีรษะแล้ว ยังมีส่วนในการเพิ่มความเงางามให้แก่เส้นผม ปัจจุบันผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของสารไคตินและไคโตซาน ได้แก่ ครีมและโลชั่นบำรุงผิว แชมพู โลชั่นบำรุงผม แป้งแต่งหน้า ยาทาเล็บ ยาสีฟัน และมอยส์เจอไรเซอร์เป็นต้น

5) ด้านเส้นใยและสิ่งทอ การประยุกต์ใช้ไคตินและไคโตซานทางด้านเส้นใยและสิ่งทอพบว่า สามารถแบ่งตามลักษณะการใช้งานได้ดังนี้ เช่น ผ้านอนวูฟเวน (nonwoven) ผ้าปิดแผลไหมละลาย เป็นต้น

6) ด้านการเกษตร นิยมใช้ไคตินและไคโตซานในหลายด้านด้วยกัน เช่น การใช้เคลือบเมล็ดพันธุ์พืช ป้องกันโรค แมลง การเน่าเสียจากจุลินทรีย์ ยืดอายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ และใช้เร่งการเจริญเติบโตของพืช ทำหน้าที่เป็นฮอร์โมนกระตุ้นการเกิดราก ใช้สำหรับปรับปรุงดิน เพิ่มธาตุอาหารในดิน ปรับปรุงดินเค็ม ปรับปรุงดินที่เป็นกรดให้เปลี่ยนเป็นด่าง นอกจากนี้ไคโตซานยังมีประโยชน์ต่อสิ่งแวดล้อม เนื่องจากคุณสมบัติของไคตินและไคโตซานที่สามารถดูดซับและจับกับสารอินทรีย์จำพวกไขมัน สี รวมถึงสารจำพวกโลหะหนักได้ดี จึงนิยมนำมาประยุกต์ใช้สำหรับเป็นสารกรองหรือตัวดูดซับสารมลพิษในระบบบำบัดน้ำเสีย

1.2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้ไคโตซานในการเคลือบผลไม้เพื่อยืดอายุการเก็บรักษา

ในงานวิจัยของ Zhang และ Quantick (1997) มีการนำสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 1.0 และ 2.0 % เคลือบผลลิ้นจี่เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ก่อนที่จะนำไปแช่ใน thiabendazole (TBZ) ความเข้มข้น 0.1 % แล้วเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C และความชื้นสัมพัทธ์ 90 % พบว่า การใช้สารเคลือบผิวไคโตซานทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงปริมาณของแอนโธไซยานิน ฟลาโวนอยด์ และปริมาณฟีนอลทั้งหมด นอกจากนี้ยังช่วยชะลอการเพิ่มขึ้นของกิจกรรม polyphenol oxidase (PPO) และลดการสูญเสียน้ำหนัก โดยการเปลี่ยนแปลงทั้งหมดนี้สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงของสีน้ำตาลของลิ้นจี่ นอกจากนี้มีงานวิจัยของ Marie-No elle คณะ (2008) ได้นำไคโตซานไปใช้ในการทดสอบเพื่อยืดอายุลิ้นจี่ โดยศึกษาผลการใช้ไคโตซานร่วมกับกรดซิตริก ต่อการทำงานของ PPO, peroxidase (POD) และ anthocyanase ที่มีอยู่ในแอนโทไซยานินของเปลือกลิ้นจี่ ทำให้ลิ้นจี่เกิดผิวสีน้ำตาล

ซึ่งผลการทดลอง พบว่า การใช้ไคโตซานร่วมกับกรดซิตริก สามารถลดการเกิดผิวสีน้ำตาลในลิ้นจี่สายพันธุ์หวาย (Guiwei) และวายจี (Huaizhi) ได้ 64 และ 90 % ตามลำดับ

งานวิจัยของ Jiang และ Li (2001) ได้นำไคโตซานมาใช้ในการเคลือบผลลองกองเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาและรักษาคุณภาพของผลผลิต ผลการทดลอง พบว่า สารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 2.0 % ช่วยลดอัตราการหายใจ การสูญเสียน้ำหนัก การเพิ่มขึ้นของกิจกรรม PPO และการเปลี่ยนแปลงสีเปลือก เช่นเดียวกับงานวิจัยของวาสนา และคณะ (2553) ที่ศึกษาผลของสารเคลือบผิวไคโตซานต่อคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวและอายุการเก็บรักษาผลลางสาด ซึ่งลางสาดจัดเป็นผลไม้ที่อยู่ในวงศ์เดียวกันกับลองกอง ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทดลองโดยใช้ผลลางสาดที่เก็บเกี่ยวในจังหวัดอุตรดิษถ์นำมาเคลือบด้วยไคโตซานที่ระดับความเข้มข้น 0.25 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 % ในสารละลายกรดแอซีติก 0.5 % ร่วมกับสารลดแรงตึงผิว (Tween 80) 0.02 % รวมทั้งชุดควบคุมที่ไม่เคลือบผิว และเคลือบผิวด้วยกรดแอซีติก 0.5 % เพียงอย่างเดียว โดยเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง พบว่า ไคโตซานความเข้มข้น 0.25 และ 0.5 % ช่วยลดการสูญเสียน้ำหนัก การเกิดโรค และการเกิดสีน้ำตาล นอกจากนี้ยังช่วยยืดอายุการเก็บรักษาได้นานที่สุด 6-7 วัน

และงานวิจัยของ Chien และคณะ (2007) ที่มีการนำไคโตซานไปใช้ในการเคลือบมะม่วงที่หั่นเป็นชิ้น เนื่องจากมะม่วงหลังจากถูกหั่นเป็นชิ้นมักพบปัญหาในเรื่องการแห้งที่เร็วมาก และมีอายุการเก็บรักษาสั้น จึงทำให้ไม่เป็นที่ต้องการของตลาดและผู้บริโภค โดยในการทดลองได้นำใคโตซานในระดับความเข้มข้นเดียวกันที่ทดสอบในลองกองมาใช้เคลือบมะม่วงหั่น และวางลงในถาดพลาสติก หุ้มด้วยฟิล์ม PVDC และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 6 °C ผลการทดลอง พบว่า สารเคลือบไคโตซานช่วยลดการสูญเสียน้ำและการลดลงของคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยการเพิ่มปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ความสามารถในการไทเทรตและปริมาณกรดแอสคอร์บิก นอกจากนี้ยังยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ และจากข้อมูลแสดงให้เห็นว่าการเคลือบสารเคลือบไคโตซานช่วยยืดอายุคุณภาพของผลมะม่วงหั่นชิ้นได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่นำไคโตซานมาใช้ในการเคลือบผลมะม่วงสดเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาอีกด้วย เนื่องจากมะม่วงพันธุ์มหาชนกเป็นพันธุ์ที่เหมาะสมสำหรับการส่งออกและได้รับความนิยมจากตลาดต่างประเทศ โดยในการทดลองจะทำการเคลอืบผิวมะม่วงด้วยไคโตซานความเข้มข้น 0.5 1 1.5 และ 2 % เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ไม่ได้เคลือบผิว) และเก็บที่อุณหภูมิ 29 °C ผลการทดลอง พบว่า มะม่วงที่เคลือบด้วยไคโตซานทุกความเข้มข้นสามารถชะลอการสูญเสียน้ำหนัก การเปลี่ยนแปลงสีเปลือก ลดการเกิดโรค และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นาน 14 วัน โดยความเข้มข้นที่สามารถลดการเกิดโรคได้ดีที่สุด คือ 1.5 และ 2.0 %

งานวิจัยของกิ่งชม และคณะ (2548) ทำการเคลือบพริกโดยนำไคโตซานปริมาตร 1 2 และ 3 g ละลายในกรดอะซิติกความเข้มข้น 1 และ 2 % พบว่า ที่ความเข้มข้นของกรดอะซิติกที่ 2 % สามารถละลายไคโตซานได้ดีกว่าที่ความเข้มข้นของกรดอะซิติก 1 % จากนั้นจึงมีการทดสอบกับพริกโดยนำมาจุ่มในแต่ละความเข้มข้น จากนั้นเก็บรักษาพริกที่ผ่านการจุ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง และนำไปชั่งน้ำหนักทุกวันจนน้ำหนักของพริกคงที่ จากการทดลอง พบว่า พริกที่เคลือบผิวด้วยไคโตซานทุกระดับความเข้มข้นสามารถชะลอการสูญเสียน้ำหนัก และเก็บรักษาได้ 10 วัน และพริกที่เคลือบด้วยไคโตซาน 3 g ที่ละลายในกรดอะซิติก 2 % มีการสูญเสียน้ำหนักที่น้อยที่สุด

นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่นำไคโตซานไปใช้ในการทดสอบคุณภาพการเก็บรักษาผลชมพู่พันธุ์ทองสามสี โดยนำผลชมพู่มาสเปรย์ด้วยน้ำสะอาดหรือสารละลายไคโตซานชนิด CH1 (ขนาด

โมเลกุล 100,000 Da) หรือ CH3 (ขนาดโมเลกุล 50,000 Da) ความเข้มข้น 10 หรือ 50 ppm ก่อนนำไปบรรจุและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12 ºC เปรียบเทียบกับการไม่ล้างผลชมพู่พบว่าวิธีการสเปรย์ด้วยสารละลายไคโตซานหรือน้ำในลักษณะเป็นละอองบนผิวของชมพู่ไม่ส่งผลเสียต่อคุณภาพการเก็บรักษาชมพู่อีกทั้งยังมีแนวโน้มในการช่วยลดการสูญเสียน้ำหนักชะลอการเปลี่ยนสีผลและรักษาความสดทำให้ผลชมพู่มีคุณภาพภายนอกเป็นที่ยอมรับได้ดีกว่าผลที่ไม่ถูกสเปรย์เมื่อเก็บรักษานาน 15 วัน (ปรางค์ทอง และเบจมาส, 2557)

และงานวิจัยที่ศึกษาผลการใช้ไคโตซานในการควบคุมคุณภาพของเงาะ โดย Martınez-Castellanos นักวิจัยจากประเทศเม็กซิโก และคณะ (2009) โดยมีการทดสอบใช้เชื้อ *Lactobacillus plantarum* ร่วมกับไคโตซานที่ระดับความเข้มข้น 0.1 0.2 0.3 0.4 0.5 0.6 0.7 0.8 0.9 และ 1.0 g/L ต่อคุณภาพและการเก็บรักษาสีในผลเงาะ เก็บผลเงาะที่อุณหภูมิ 25 และ 10 ºC เป็นเวลา 10 และ 15 วัน ผลการทดลองพบว่าเชื้อ *L. plantarum* ที่ใช้ร่วมกับไคโตซาน ช่วยลดการเกิดผิวสีน้ำตาลบริเวณเปลือกเงาะ และยังช่วยรักษาลักษณะคุณภาพของผลเงาะ เช่น ความแน่นเนื้อ ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด นอกจากนี้ในเงาะยังมีการรักษาคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยว โดยการใช้ไคโตซานร่วมกับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ทดสอบกับเงาะพันธุ์โรงเรียน โดยใช้ ไคโตซานที่ระดับความเข้มข้น 5 10 20 50 และ 100 ppm และสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 0.5 1.0 2.0 และ 3.0 % (w/v) โดยแช่เงาะในสารทั้งสองชนิดเป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 ºC พบว่า ผลเงาะที่แช่ในสารละลายไคโตซานที่ระดับความเข้มข้น 20 ppm ช่วยชะลอการสูญเสียน้ำหนักสด และการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำในส่วนเปลือกของผลเงาะ และผลของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.05 % (w/v) สามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลเงาะได้ดีที่สุด โดยชะลอการสูญเสียน้ำหนักสด และการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำในเปลือกและเนื้อเงาะจึงมีการนำสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 % (w/v) มาใช้ร่วมกับสารละลายไคโตซานที่ระดับความเข้มข้น 5 และ 20 ppm พบว่า สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 % (w/v) ร่วมกับไคโตซานที่ระดับความเข้มข้น 5 ppm สามารถชะลอการสูญเสียน้ำหนักสดและการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำในเปลือกเงาะได้ และเมื่อนำมารวมกับสารละลายไคโตซานที่ระดับความเข้มข้น 20 ppm พบว่า ช่วยลดอัตราการหายใจของผลเงาะได้ โดยมีอัตราการหายใจต่ำสุดในวันที่ 12 ของการเก็บรักษา (รุ่งนภา, 2547)

1.3 วัตถุประสงค์งานวิจัย

1) เพื่อคัดแยกเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคเน่าหลังการเก็บเกี่ยวจากผลเงาะในพื้นที่อำเภอบ้านนาสาร จังหวัดสุราษฎร์ธานี

2) เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากกิ่งและใบเคี่ยมร่วมกับไคโตซานต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรคหลังการเก็บเกี่ยว

3) เพื่อหาระดับความเข้มข้นที่ดีที่สุดของสารสกัดหยาบจากเคี่ยมร่วมกับไคโตซานในการรักษาคุณภาพของผลเงาะหลังการเก็บเกี่ยว

บทที่ 2
วิธีการวิจัย

2.1 วิธีดำเนินการ

2.1.1 การเตรียมสารสกัดหยาบจากกิ่งและใบเคี่ยม

เก็บตัวอย่างกิ่งและใบเคี่ยมล้างให้สะอาด สับด้วยมีดให้ได้ขนาดประมาณ 1-2 cm และวางทิ้งไว้ให้แห้งในที่ร่ม จากนั้นนำตัวอย่างไปบดให้เป็นผงละเอียดด้วยเครื่องบดยาสมุนไพร และนำมาสกัดด้วยเมทิลแอลกอฮอล์ 99 % (Ito *et al*., 2006; Matsuda *et al*., 2009; Yang *et al*., 2013) โดยนำผงจากกิ่งและใบเคี่ยม น้ำหนัก 200 g แช่ในตัวทำละลายเมทิลแอลกอฮอล์ 99 % ปริมาตร 600 mL เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นกรองด้วยผ้าขาวบางและกระดาษกรองเบอร์ 1 และนำไปแยกตัวทำละลายออกจากสารสกัดด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 45 °C และทำการระเหยจนกระทั่งได้สารสกัดที่มีลักษณะข้น ชั่งน้ำหนักของสารสกัดหยาบที่ได้ และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อนำไปใช้ทดสอบประสิทธิภาพในขั้นตอนต่อไป

2.1.2 การแยกเชื้อสาเหตุโรคจากผลเงาะ

สุ่มเก็บตัวอย่างผลเงาะในเขตพื้นที่อำเภอบ้านนาสาร จังหวัดสุราษฎร์ธานี จำนวน 3 แห่ง โดยเลือกเก็บเงาะผลสุก ที่มีลักษณะเปลือกสีแดง 75 % และสีส้มแดง 25 % จากนั้นนำมาวางไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้แสดงการเน่าของผลเงาะ และแยกเชื้อสาเหตุโรคเน่าด้วยวิธีการแยกเชื้อแบบ Tissue transplanting method โดยดัดแปลงวิธีการจากวราภรณ์ และคณะ (2557) ซึ่งมีขั้นตอน คือ ตัดชิ้นส่วนของเปลือกเงาะในผลที่แสดงอาการโรคเน่า ตรงบริเวณรอยต่อระหว่างบริเวณที่เกิดโรคและบริเวณปกติ โดยตัดเป็นชิ้นเล็กขนาด 0.5×0.5 cm นำชิ้นส่วนเปลือกเงาะไปฆ่าเชื้อบริเวณผิวรอบนอกในสารละลาย 3 % โซเดียมไฮโปคลอไรท์ เป็นเวลา 3 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง นำไปวางบนกระดาษซับทิ้งไว้ให้แห้ง จากนั้นนำไปวางบนอาหาร PDA และบ่มที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 4 วันหรือจนกว่าเชื้อจะเจริญเป็นเส้นใย (hyphal tip) ใช้เข็มเขี่ยตัดปลายเส้นใยและย้ายไปวางบนอาหาร PDA ใหม่ และทำซ้ำจนกว่าจะได้เชื้อบริสุทธิ์ จากนั้นทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา โดยเลี้ยงเชื้อราบนอาหาร PDA เป็นเวลา 5-7 วัน สังเกตลักษณะโคโลนี เส้นใย รูปร่าง และขนาดของสปอร์ ด้วยวิธี scotch tape technique โดยดัดแปลงวิธีการจาก Alice และคณะ (2004) ย้อมเส้นใยของราด้วยสี lactophenol cotton blue (LPCB) ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และจำแนกชนิดของตัวอย่างราในระดับโมเลกุล โดยส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์ ณ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ซึ่งมีการจัดจำแนกสาย

พันธุ์รา ด้วยการหาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS rDNA และวิเคราะห์ลำดับเบสด้วยโปรแกรม Cap contig assembly ใน Biological sequence alignment editor (Bio Edit) (http://www.mbio.ncsu.edu/ BioEdit / BioEdit.html) และเปรียบเทียบกับลำดับเบสในฐานข้อมูล Genbank CBS และฐานข้อมูลอื่นๆ ที่เหมาะสม

2.1.3 การทดสอบการก่อโรคเน่าบนผลเงาะโดยราที่คัดแยกได้

จากตัวอย่างราที่คัดแยกได้ข้างต้น ทำการทดสอบเพื่อยืนยันการก่อโรคผลเน่าและสังเกตความรุนแรงในผลเงาะหลังการเก็บเกี่ยว โดยการปลูกเชื้อที่แยกได้ด้วยวิธี Pathogenicity test ดัดแปลงมาจากวิธีของ อุดม และคณะ (2535) มีขั้นตอน คือ คัดเลือกผลเงาะสุกที่มีลักษณะเปลือกสีแดง 75 % และสีส้มแดง 25 % นำไปทำความสะอาดด้วยน้ำเปล่า ผึ่งไว้ให้แห้ง และนำไปทำความสะอาดอีกครั้งด้วยเอทานอลความเข้มข้น 75 % จากนั้นทำให้เกิดบาดแผลโดยใช้มีดผ่าตัดที่ผ่านการฆ่าเชื้อตัดขนเงาะ 1 เส้น และ ตัดโคโลนีของราก่อโรคที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 mm มาวางให้สัมผัสกับบาดแผลของเงาะเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการทดสอบในผลเงาะ เชื้อละ 10 ผล และเก็บรักษาผลเงาะที่อุณหภูมิห้อง บันทึกข้อมูลโดยดูระดับความรุนแรงของการเกิดโรค (Disease severity, DS) หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 3, 5 และ 7 วัน โดยมีสูตรการคำนวน (Maqbool *et al*., 2010) ดังนี้

$$\text{ความรุนแรงของการเกิดโรค (DS)} = \frac{\text{ผลรวมคะแนนความรุนแรงของการเกิดโรคในแต่ละระดับ}}{\text{จำนวนผลทั้งหมดในชุดทดลอง}}$$

โดยเกณฑ์การให้คะแนนความรุนแรงของการเกิดโรค คือ
คะแนน 0 = ปกติ
คะแนน 1 = ผลเน่า 1-25 % ของพื้นที่ผิวทั้งหมด
คะแนน 2 = ผลเน่า 26-50 % ของพื้นที่ผิวทั้งหมด
คะแนน 3 = ผลเน่า 51-75 % ของพื้นที่ผิวทั้งหมด
คะแนน 4 = ผลเน่า 76-100 % ของพื้นที่ผิวทั้งหมด

2.1.4 การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเคี่ยมในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา ด้วยเทคนิค poisoned food

ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากกิ่งและใบเคี่ยมในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา ด้วยวิธีการดัดแปลงของธารทิพย์ (2559) โดยนำราก่อโรคที่เลี้ยงบนอาหาร PDA มาเจาะบริเวณขอบของโคโลนีด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 mm และนำชิ้นวุ้นวางบนกึ่งกลางของจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร PDA ผสมสารสกัดหยาบจากกิ่งและใบเคี่ยม ในระดับความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 0 (ชุดควบคุม) 500 1,000 2,000 4,000 6,000 และ 8,000 µg/mL โดยมีชุดการทดลองที่ใช้สารฆ่ารา carbendarzim ความเข้มข้น 20 mg/L เป็นชุดควบคุมเชิงบวก (positive control) ทำการทดลองความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 จานเพาะเลี้ยง บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน หรือจนกว่าราในชุดควบคุมเจริญถึงขอบจานเพาะเชื้อ บันทึกผลการทดลองโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีรา และคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยราในชุดการทดลองต่างๆ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยใช้สูตรคำนวณตามวิธีของ Quiroga (2001) ดังนี้

เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง = [(A – B) / A] x 100
โดยกำหนดให้
A คือ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีราที่เจริญบนอาหารในชุดควบคุม
B คือ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีราที่เจริญบนอาหารที่ผสมสารสกัดหยาบจากกิ่งและใบเคี่ยมในระดับความเข้มข้นต่างๆ

2.1.5 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเคี่ยมร่วมกับไคโตซานต่อการยับยั้งราก่อโรคในผลเงาะหลังการเก็บเกี่ยว

ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเคี่ยมและไคโตซานต่อการยับยั้งการเกิดโรคเน่าบนผิวเปลือกเงาะ ซึ่งได้รับการปลูกราก่อโรคหลังการเก็บเกี่ยว โดยดัดแปลงวิธีมาจาก Sivakumar และคณะ (2002) มีขั้นตอน คือ คัดเลือกผลเงาะสุก ที่มีลักษณะเปลือกสีแดง 75 % และสีส้มแดง 25 % ล้างด้วยน้ำเปล่า ผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง และนำไปทำความสะอาดอีกครั้งด้วยเอทานอลความเข้มข้น 75 % จากนั้นทำให้เกิดบาดแผลโดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.2 cm เจาะให้ได้ความลึก 3 mm นำโคโลนีของราก่อโรคที่เลี้ยงบนอาหาร PDA และเจาะด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 mm มาวางไว้ให้สัมผัสกับบาดแผลของเงาะ เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นนำผลเงาะไปทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรคด้วยสารสกัดสารสกัดจากเคี่ยมและไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยวางแผนการทดลองแบบ 3×3 factorial in completely randomized design ประกอบด้วย 2 ปัจจัย คือ สารสกัดหยาบจากเคี่ยมที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อก่อโรคหลังการเก็บเกี่ยวได้ดีที่สุด 3 ระดับความเข้มข้น ซึ่งได้จากผลจากการทดลองข้อ 2.1.4 และไคโตซานชนิดน้ำที่สกัดได้จากเปลือกกุ้งที่มีน้ำหนักโมเลกุล 20,000 – 50,000 Da 3 ระดับความเข้มข้น คือ 10, 20 และ 30 ppm โดยหยดสารที่ใช้ในแต่ละชุดการทดลองบนบาดแผลของผลเงาะปริมาตร 100 µL ต่อเงาะ 1 ผล จากนั้นนำเงาะไปบรรจุในกล่องพลาสติกใส (clamshell) ที่เจาะรูโดยในแต่ละชุดการทดลอง 4 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ผล และเก็บรักษาเงาะที่อุณหภูมิห้อง บันทึกผลการทดลองโดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบาดแผลที่แสดงอาการของโรค ทุกๆ 3 วัน เพื่อประเมินความรุนแรงของการเกิดโรค โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคในชุดการทดลองต่างๆ กับชุดควบคุม

2.1.6 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเคี่ยมและไคโตซานต่อการรักษาคุณภาพของผลเงาะหลังการเก็บเกี่ยว

ทดสอบความสามารถของสารสกัดหยาบจากเคี่ยมและไคโตซานในการรักษาคุณภาพของผลเงาะหลังการเก็บเกี่ยวและการยับยั้งการเกิดโรค โดยวางแผนการทดลองแบบ completely randomized design ชุดการทดลองประกอบด้วย การใช้สารสกัดหยาบจากเคี่ยม ไคโตซาน และการใช้สารสกัดหยาบจากเคี่ยมร่วมกับไคโตซาน โดยเลือกระดับความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อก่อโรคหลังการเก็บเกี่ยวในเงาะได้ดีที่สุด 3 ระดับความเข้มข้น ซึ่งได้จากผลการทดลองข้อ 2.1.5 จากนั้นนำผลเงาะมาจุ่มสารในแต่ละชุดการทดลอง ซึ่งมี tween 80 ความเข้มข้น 0.02 % (v/v) เป็นเวลา 5 นาที ผึ่งผลเงาะให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วบรรจุในกล่องพลาสติกใสที่เจาะรู ทำการทดลองชุดละ 4 กล่อง กล่องละ 5 ผล เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง บันทึกผลการทดลองทุกๆ 2 วัน เป็นเวลา 12 วัน โดยสังเกตลักษณะภายนอกของผลเงาะ การเกิดโรค

การสูญเสียน้ำหนักสด และเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ความแน่นเนื้อ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Total soluble solid, TSS) ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ (Titratable acidity, TA) และนำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยมีรายละเอียดการประเมินคุณภาพผลเงาะดังนี้

1) การให้คะแนนสีเปลือก วัดโดยสังเกตการเกิดสีน้ำตาลของสีเปลือกและสีขนของเงาะ (Browning) ตามวิธีของสมัครและนพรัตน์ (2558) คือ

<u>คะแนนการเปลี่ยนแปลงสีเปลือก</u>

คะแนน 0 = ปกติ

คะแนน 1 = ผลเริ่มมีจุดช้ำ หรือ browning ร้อยละ 1-25 ของพื้นที่ผิวเงาะ

คะแนน 2 = ผลเริ่มมีจุดช้ำ หรือ browning ร้อยละ 26-50 ของพื้นที่ผิวเงาะ

คะแนน 3 = ผลเริ่มมีจุดช้ำ หรือ browning ร้อยละ 51-75 ของพื้นที่ผิวเงาะ

คะแนน 4 = ผลเริ่มมีจุดช้ำ หรือ browning ร้อยละ 76-100 ของพื้นที่ผิวเงาะ

<u>คะแนนการเปลี่ยนแปลงสีขน</u>

คะแนน 0 = ปกติ

คะแนน 1 = ขนดำร้อยละ 1-25 ของความยาวขน

คะแนน 2 = ขนดำร้อยละ 26-50 ของความยาวขน/โคนขนดำ

คะแนน 3 = ขนดำร้อยละ 51-75 ของความยาวขน/โคนขนดำ

คะแนน 4 = ขนดำร้อยละ 76-100 ของความยาวขน/โคนขนดำ

2) ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (TSS)

นำตัวอย่างเนื้อเงาะมาคั้นน้ำ และนำไปวัดค่าความหวาน หรือปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ ด้วยเครื่อง hand refractometer โดยค่าที่อ่านได้มีหน่วยเป็นองศาบริกซ์ (°Brix)

3) ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ (Titratable acidity, TA)

นำตัวอย่างเนื้อเงาะมาคั้นน้ำ จำนวน 1 mL ผสมน้ำกลั่น 4 mL และนำไปไทเทรตดวยสารละลาย NaOH 0.1 N โดยใช phenolphthalein ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 1–2 หยด เป็น indicator จนถึงจุดยุติ (เมื่อสารละลายมีสีชมพูอยางน้อย 30 วินาที) คำนวณปริมาณกรดที่ไทเทรตในรูปของเปอร์เซ็นต์กรดซิตริกซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของกรดในผลเงาะ ตามวิธีการของ สมภพและคณะ (2545) โดยใช้สูตรคำนวณ ดังนี้

$$\% \text{ TA} = \frac{\mathbf{(ml\ NaOH)(N\ NaOH)\ x\ meq.wt\ of\ citric\ acid\ (0.6404)}}{\mathbf{mL\ of\ sample}} \times 100$$

4) ความแน่นเนื้อ (Firmness)

วัดความแน่นเนื้อของผลเงาะด้วยเครื่อง penetrometer โดยวางหัววัดให้ตั้งฉากกับผลเงาะ บันทึกค่าความแน่นเนื้อที่ได้ โดยมีหน่วยเป็น นิวตัน (N)

2.1.7 การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลที่ได้จากการทดลองจะนำมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียว (one way analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ $P<0.05$ โดยใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 17.0

2.2 วัสดุและอุปกรณ์

2.2.1 ตัวอย่างพืช

- เงาะพันธุ์โรงเรียน
- กิ่งและใบเคี่ยม

2.2.2 วัสดุและอุปกรณ์

- กล่องพลาสติกใสขนาด 10.0 x 15.7 x 3.9 cm
- ไมโครปิเปต (micropipette) และทิป (tip)
- หลอดไมโครทิวป์ ขนาด 1.5 mL
- ตะกร้าพลาสติก ขนาด 10 L
- เครื่องแก้ว ได้แก่ จานเพาะเลี้ยง บีกเกอร์ กระบอกตวง ขวดดูแรน แท่งแก้ว ขวดรูปชมพู่ เป็นต้น
- อุปกรณ์สำหรับการเลี้ยงและศึกษาเชื้อรา ได้แก่ แผ่นสไลด์ กระจกปิดสไลด์ สำลี มีดผ่าตัด เข็มเขี่ยเชื้อ cork borer เป็นต้น
- อุปกรณ์สำหรับการไตเตรท ได้แก่ บิวเรตต์ ขาตั้งเหล็กและที่ยึดบิวเรตต์

2.2.3 เครื่องมือ

- ตู้เย็น
- เครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (rotary evaporator)
- เครื่องวัดความหวาน (hand refractometer)
- ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
- อ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath)
- หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอ (autoclave)
- เครื่องวัดความแน่นเนื้อ (penetometer)
- เครื่องให้ความร้อน (hot plate)
- เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)
- เครื่องเขย่าอัตโนมัติ (shaker)
- เครื่องชั่งทศนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง
- ตู้ปลอดเชื้อ (laminar flow)
- กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (compound microscope)

2.2.4 สารเคมี

- สี Lectophenol cotton blue
- Sodium chloride (NaCl)
- Ethanol 95%
- Methanol 99%
- Sodium hypochlorite
- Phenolphthalein
- Dimethyl Sulfoxide (DMSO)
- Carbendazim
- Potato dextrose agar (PDA)
- Chitosan
- NaOH (Sodium hydroxide)

บทที่ 3
ผลการวิจัย

3.1 สารสกัดจากกิ่งและใบเคี่ยม

จากการสกัดสารจากผงของกิ่งและใบเคี่ยมแห้งด้วยวิธีการแช่ตัวอย่าง (Marceration) ในตัวทำละลายเมทิลแอลกอฮอลล์ 99 % ในอัตราส่วนกิ่งและใบเคี่ยม 1 g ต่อตัวทำละลาย 3 mL ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน และนำสารสกัดหยาบที่ได้ไประเหยแห้งด้วยเครื่องระเหยแบบสูญญากาศด้วยเครื่อง (Rotary evaporator) เพื่อแยกตัวทำละลายออกจากสารสกัด และจากการทดลอง พบว่า ผงของกิ่งเคี่ยมหนัก 200 g สามารถสกัดได้เป็นสารสกัดหยาบปริมาณ 22.92 g ได้เปอร์เซ็นต์สารสกัดหยาบเท่ากับ 11.46 % โดยน้ำหนัก สารสกัดที่ได้จะมีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาลเข้ม และผงของใบเคี่ยมหนัก 200 g สามารถสกัดได้เป็นสารสกัดหยาบปริมาณ 20.66 g ได้เปอร์เซ็นต์สารสกัดหยาบเท่ากับ 10.33 % โดยน้ำหนัก และสารสกัดที่ได้จะมีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีเขียวเข้มจนเกือบดำ เก็บรักษาสารสกัดที่ได้ที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อรอการทดสอบประสิทธิภาพในขั้นตอนต่อไป

3.2 ราสาเหตุโรคเน่าในผลเงาะสายพันธุ์โรงเรียน

จากการเก็บตัวอย่างผลเงาะในเขตอำเภอบ้านนาสาร จังหวัดสุราษฎร์ธานี ที่แสดงอาการโรคเน่านำมาแยกราก่อโรคโดยวิธี tissue transplanting พบว่า สามารถแยกราสำคัญที่เป็นสาเหตุของโรคเน่าได้ทั้งหมด 4 ไอโซเลต คือ NS1 NS2 NS3 และ NS4 (ตารางที่ 3) เมื่อเลี้ยงราทั้ง 4 ไอโซเลตไว้อาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน พบว่าราเหล่านี้มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาของโคโลนีแตกต่างกัน เชื้อมีการเจริญมีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีระหว่าง 6.5-9.0 cm โดยแต่ละไอโซเลต มีลักษณะดังต่อไปนี้

1) รา NS1 มีโคโลนีสีขาวจนถึงสีน้ำตาลอ่อน ลักษณะเส้นใยหยาบและฟูเล็กน้อย โคโลนีเจริญเป็นวงซ้อนกัน และมีฟรุตติ้งบอดี้สีดำเจริญบนอาหาร เส้นใยมีการแตกแขนงเป็นมุมฉาก และมีผนังกั้น (septum) กั้นบริเวณใกล้จุดที่แตกแขนง ลักษณะของสปอร์เป็นเซลล์เดียว รูปไข่ถึงทรงกระบอก หัวท้ายมน มีขนาดความกว้างและความยาวประมาณ 2.5 µm

2) รา NS2 พบว่า มีโคโลนีสีครีมและเจริญเป็นวงซ้อนกัน และมีฟรุตติ้งบอดี้สีดำกระจายอยู่บนผิวหน้าของโคโลนี และมีลักษณะของเส้นใยคล้ายกับ NS1 ลักษณะของโคนิเดียมี 2 รูปแบบ คือ เซลล์เดียวรูปไข่ หัวท้ายมน มีความกว้างประมาณ 7.5-17.5 µm และความยาวประมาณ 5.0-7.5 µm และเซลล์เดียวทรงกระบอก กว้างประมาณ 25-30 µm และยาวประมาณ 5.0 µm

3) รา NS3 พบว่า โคโลนีมีสีขาวปนเทาและแบนเรียบไปกับอาหาร โคโลนีเจริญออกเป็นชั้นเมื่อราแก่เต็มที่โคโลนีจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล มีลักษณะของเส้นใยคล้ายเชื้อ NS1 ลักษณะของโคนิเดียเป็นเซลล์เดียว ทรงกลม มีความกว้างและความยาวประมาณ 5×5 µm

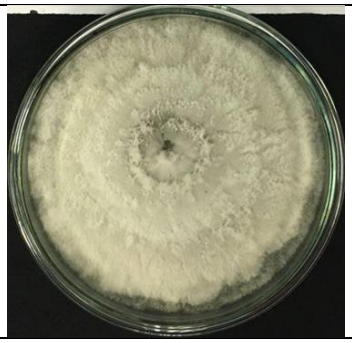
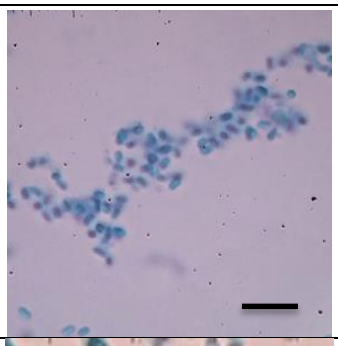
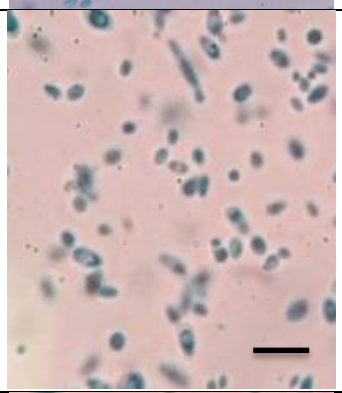
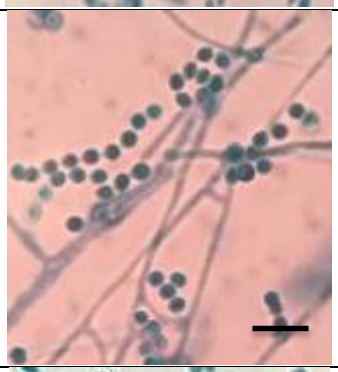
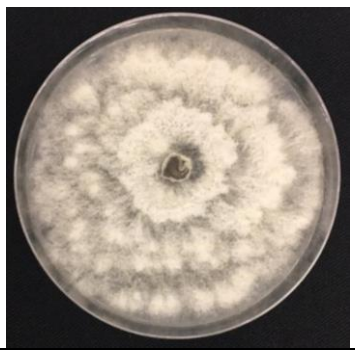
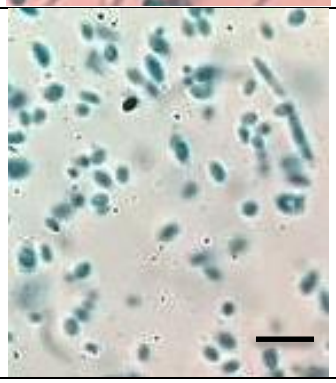
4) รา NS4 พบว่า มีโคโลนีสีขาวและเรียบไปกับผิวอาหาร โคโลนีเจริญออกเป็นชั้นหลายชั้นติดกันและมีลักษณะของเส้นใยคล้าย NS1 ลักษณะของโคนิเดียใกล้เคียงกับเชื้อ NS2 แต่มีขนาดเล็กกว่า ลักษณะของโคนิเดียมี 2 รูปแบบ คือ เซลล์เดียวรูปไข่ หัวท้ายมน มีความกว้างประมาณ 12.5-17.5 µm และความยาวประมาณ 2.5 µm และเซลล์เดียวทรงกระบอก มีความกว้างประมาณ 5.0-12.5 µm และความยาวประมาณ 2.5 µm

โดยศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS rDNA พบว่า ลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อ NS1 เหมือนกับ *Diapothe* sp. 96 % ส่วนเชื้อ NS2 NS3 และ NS4 เหมือนกับ *Phomopsis* sp. 99 %

3.3 การทดสอบการก่อโรคเน่าของเชื้อราที่คัดแยกได้ในผลเงาะ

ผลการทดสอบเพื่อยืนยันการก่อโรคเน่าในเงาะของเชื้อราทั้ง 4 ไอโซเลต ด้วยวิธี mycelial disc พบว่า เชื้อราทั้ง 4 ไอโซเลต มีผลต่อการเกิดโรคเน่าในผลเงาะเมื่อเทียบกับชุดควบคุม (ชุดที่ไม่ปลูกเชื้อ) เมื่อสังเกตการเกิดโรคจากขนาดของบาดแผลและเส้นใยของราในวันที่ 7 (ตารางที่ 4) พบว่า รา NS4 (*Phomopsis* sp. 3) มีระดับความรุนแรงของการเกิดโรคสูงที่สุด คือ 4 คะแนน ซึ่งราชนิดนี้มีลักษณะการเข้าทำลายในช่วงแรกคือจะทำให้เกิดจุดสีน้ำตาลบนผลเงาะ หลังจากนั้นจะทำให้แผลขยายออกเป็นวงกว้างอย่างรวดเร็ว จนกระทั่งผลเงาะแสดงอาการเน่าทั้งผล และสร้างเส้นใยราครอบคลุมผลเงาะ (ภาพที่ 8) รองลงมาคือ ราชนิด NS1 (*Diaporthe* sp.) และ NS2 (*Phomopsis* sp. 1) ที่มีผลต่อการเกิดโรคเน่าเท่ากับ 3.50 และ 3.40 คะแนน ตามลำดับ โดยราทั้งสองชนิดนี้จะมีลักษณะการเข้าทำลายที่คล้ายกันกับรา NS4 แต่มีผลต่อการเกิดโรคเน่าที่น้อยกว่า และพบว่า รา NS3 (*Phomopsis* sp. 2) มีผลต่อการเกิดโรคน้อยที่สุด คือ 2.60 คะแนน ดังนั้น ในขั้นตอนการศึกษาต่อไป จึงเลือกรา NS4 ไปใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากกิ่งเคี่ยมร่วมกับไคโตซานในการยับยั้งเชื้อก่อโรคเน่าในผลเงาะ

ตารางที่ 3 ชนิดและลักษณะของราที่แยกได้จากเงาะพันธุ์โรงเรียนที่ปลูกในพื้นที่อำเภอบ้านนาสาร จังหวัดสุราษฎร์ธานีที่เกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยว

รา	ลักษณะโคโลนี	ลักษณะโคนิเดีย (กำลังขยาย 400 เท่า)
NS1 (*Diaporthe* sp.)		
NS2 (*Phomopsis* sp. 1)		
NS3 (*Phomopsis* sp. 2)		
NS4 (*Phomopsis* sp. 3)		

หมายเหตุ: (▬ = 10 µm)

ตารางที่ 4 ระดับความรุนแรงของการเกิดโรคบนผลเงาะที่ได้รับการปลูกราไอโซเลตต่างๆ

ไอโซเลต	ความรุนแรงของการเกิดโรค (คะแนน)		
	วันที่ 3	วันที่ 5	วันที่ 7
NS1 (*Diaporthe* sp.)	1.50±0.16^{a}	2.50±0.22^{ab}	3.50±0.22^{b}
NS2 (*Phomopsis* sp. 1)	1.70±0.15^{a}	2.20±0.24^{bc}	3.40±0.26^{b}
NS3 (*Phomopsis* sp. 2)	0.80±0.13^{b}	1.70±0.15^{c}	2.60±0.16^{c}
NS4 (*Phomopsis* sp. 3)	1.60±0.16^{a}	3.00±0.00^{a}	4.00±0.00^{a}
P-value	0.001	0.000	0.000

หมายเหตุ: (1) แสดงค่าเฉลี่ย ± คลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.)

(2) ทำการทดลองชุดการทดลองละ 10 ซ้ำ (10 ผล)

(3) ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้ วิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ของค่าเฉลี่ย

Control

Diaporthe sp.

Phomopsis sp. 1

Phomopsis sp. 2

Phomopsis sp. 3

ภาพที่ 8 ลักษณะการเกิดโรคของผลเงาะที่ทดสอบด้วยวิธี mycelial disc ของเชื้อทั้ง 4 ไอโซเลต

3.4 ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากกิ่งและใบเคี่ยมในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ด้วยเทคนิค Poisoned food

จากการทดสอบการเจริญของเส้นใยของรา ด้วยเทคนิค Poisoned food โดยเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของราทั้ง 4 ไอโซเลต บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดหยาบจากกิ่งและใบเคี่ยมที่ความเข้มข้น 7 ระดับ คือ 0 (ชุดควบคุม) 500 1,000 2,000 4,000 6,000 และ 8,000 µg/mL และบ่มเชื้อเป็นเวลา 5 วัน ผลการทดลอง พบว่า สารสกัดหยาบจากกิ่งและใบเคี่ยมสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของราได้ทั้ง 4 ไอโซเลต โดยสารสกัดหยาบในแต่ละชุดการทดลองมีผลต่อการเจริญเติบโตของราแต่ละชนิด ดังนี้

3.4.1 ผลของสารสกัดหยาบจากกิ่งและใบเคี่ยมต่อการยับยั้งการเจริญของรา NS1

จากการทดสอบการเจริญเติบโตของรา NS1 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดหยาบจากกิ่งและใบเคี่ยมที่ความเข้มข้น 7 ระดับ (ตารางที่ 5) พบว่า สารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมสามารถยับยั้งการเจริญของราได้ในระยะแรก โดยในวันที่ 3 มีค่าเฉลี่ยของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีรา NS1 ของชุดควบคุม (0 µg/mL) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ เท่ากับ 4.67 cm ซึ่งแตกต่างกับค่าที่ได้ในชุดการทดลองผสมสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 4,000 6,000 และ 8,000 µg/mL อย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) โดยที่ระดับความเข้มข้น 8,000 µg/mL มีการยับยั้งการเจริญของโคโลนีของรา NS1 ได้ดีที่สุด มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเท่ากับ 3.22 cm มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 28.67 % การยับยั้งที่ให้ผลรองลงมาคือ ที่ระดับความเข้มข้น 6,000 µg/mL มีค่าเฉลี่ยเส้นของผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเท่ากับ 3.57 cm มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 20.89 % อย่างไรก็ตาม ไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างชุดควบคุมกับชุดการทดลองที่ใช้สารสกัดความเข้มข้น 500 1,000 และ 2,000 µg/mL และเมื่อทำการเลี้ยงรา NS1 เป็นเวลา 5 วัน ซึ่งเป็นเวลาที่ราในชุดควบคุมเจริญเต็มอาหารบนจานเพาะเลี้ยง พบว่า ประสิทธิภาพของสารสกัดในการยับยั้งการเจริญของราลดลง โดยในชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองที่มีสารสกัดตั้งแต่ที่ระดับความเข้มข้น 2,000 – 8,000 µg/mL (P<0.05) โดยความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งรา NS1 ได้ดีที่สุด คือ 8,000 µg/mL มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 39.16 % ส่วนสารสกัดจากใบเคี่ยม พบว่า ระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของรา NS1 ได้ในช่วงแรก (วันที่ 3) ที่ระดับความเข้มข้น 6,000 – 8,000 µg/mL โดยความเข้มข้นของสารสกัดจากใบที่สามารถยับยั้งรา NS1 ได้ดีที่สุดคือ 8,000 µg/mL มีค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีราเท่ากับ 5.55 cm มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 39.17 % และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราของสารสกัดหยาบจากกิ่งและใบเคี่ยม พบว่า สารสกัดทั้งสองชนิดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งราไม่แตกต่างกัน

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของรา NS1 บนอาหาร PDA ผสมสารสกัดหยาบจากเคี่ยมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการบ่มเชื้อเป็นเวลา 5 วัน

ชุดการทดลอง		การยับยั้ง (%)	
		วันที่ 3	วันที่ 5
ชุดควบคุม	0	0.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{e}
สารสกัดหยาบจาก	500	0.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{e}
กิ่งเคี่ยม (µg/mL)	1,000	0.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{e}
	2,000	0.00±0.00^{d}	8.33±1.95^{d}
	4,000	8.38±10.53^{abcd}	23.88±2.15^{b}
	6,000	20.89±8.22^{ab}	38.33±0.96^{a}
	8,000	28.67±7.36^{a}	39.16±1.83^{a}
สารสกัดหยาบจาก	500	13.04±10.65^{abc}	16.94±2.58^{c}
ใบเคี่ยม (µg/mL)	1,000	3.98±13.50^{abcd}	17.40±2.59^{c}
	2,,000	3.75±12.91^{abcd}	8.33±1.60^{d}
	4,000	0.00±0.00^{d}	13.61±2.23^{c}
	6,000	18.06±10.72^{ab}	36.38±2.41^{a}
	8,000	23.25±9.56^{ab}	38.33±1.84^{a}
P-value		0.000	0.000

หมายเหตุ: (1) แสดงค่าเฉลี่ย ± คลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.)

(2) ทำการทดลองชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ

(3) ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้ วิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ของค่าเฉลี่ย

3.4.2 ผลของสารสกัดหยาบจากกิ่งและใบเคี่ยมต่อการยับยั้งการเจริญของรา NS2

จากการทดสอบการเจริญเติบโตของรา NS2 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดหยาบจากกิ่งและใบเคี่ยมที่ความเข้มข้น 7 ระดับ (ตารางที่ 6) พบว่า สารสกัดจากกิ่งเคี่ยมทุกระดับความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของรา NS2 บนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ โดยในวันที่ 3 หลังการบ่มเชื้อ พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 6,000 µg/mL สามารถยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเท่ากับ 3.32 cm มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 36.85 % รองลงมา คือ 8,000 และ 4,000 µg/mL มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเท่ากับ 3.47 และ 3.87 cm มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 30.87 และ 22.9 % ตามลำดับ แตกต่างกับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) ในวันที่ 5 พบว่า สารสกัดจากกิ่งเคี่ยมสามารถยับยั้งเชื้อได้ที่ทุกระดับความเข้มข้น และแตกต่างกับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) ความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุดคือ 6,000 µg/mL มีค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเท่ากับ 5.17 cm มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 41.48 %

ผลการการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบเคี่ยมในการยับยั้งการเจริญของรา พบว่า สารสกัดจากใบเคี่ยมสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของรา NS2 ได้ในทุกระดับความเข้มข้นของสารสกัด ยกเว้นที่ระดับความเข้น 2,000 µg/mL อย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) โดยความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด คือ 8,000 µg/mL มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเท่ากับ 3.50 และ 5.90 cm มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 33.71 และ 33.29 % ในวันที่ 3 และ 5 ของการทดลอง ตามลำดับ และจากผลการทดลองพบว่า สารสกัดจากกิ่งเคี่ยมมีประสิทธิภาพในการยับยั้งราก่อโรคได้ดีกว่าสารสกัดจากใบเคี่ยม

ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของรา NS2 บนอาหาร PDA ผสมสารสกัดหยาบจากเคี่ยมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการบ่มเชื้อเป็นเวลา 5 วัน

ชุดการทดลอง		การยับยั้ง (%)	
		วันที่ 3	วันที่ 5
ชุดควบคุม	0	0.00±0.00^{e}	0.00±0.00^{g}
สารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยม (µg/mL)	500	25.09±4.29^{abcd}	12.14±1.81^{f}
	1,000	17.73±3.30^{d}	10.97±0.13^{f}
	2,000	20.90±2.80^{cd}	26.19±1.98^{d}
	4,000	28.24±2.57^{abcd}	32.51±1.41^{cd}
	6,000	36.85±3.58^{a}	41.48±0.86^{a}
	8,000	34.33±2.03^{a}	39.22±0.89^{ab}
สารสกัดหยาบจากใบเคี่ยม (µg/mL)	500	25.56±6.51^{abcd}	14.14±5.22^{ef}
	1,000	22.12±2.73^{bcd}	15.50±0.68^{ef}
	2,000	0.00±0.00^{e}	0.00±1.78^{g}
	4,000	29.74±4.05^{abcd}	19.62±3.51^{e}
	6,000	31.99±2.55^{abc}	31.07±0.78^{cd}
	8,000	33.71±4.21^{ab}	33.29±1.49^{bc}
P-value		0.000	0.000

หมายเหตุ: (1) แสดงค่าเฉลี่ย ± คลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.)

(2) ทำการทดลองชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ

(3) ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้ วิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ของค่าเฉลี่ย

3.4.3 ผลของสารสกัดหยาบจากกิ่งและใบเคี่ยมต่อการยับยั้งการเจริญของรา NS3

จากการทดสอบการเจริญเติบโตของรา NS3 เป็นเวลา 7 วัน บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดหยาบจากกิ่งและใบเคี่ยมที่ความเข้มข้นทั้ง 7 ระดับ (ตารางที่ 7) พบว่า สารสกัดจากกิ่งเคี่ยมมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของราได้ในระยะแรก เช่นเดียวกับ NS1 และ NS2 โดยค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีรา NS3 ในวันที่ 3 พบว่า ชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีมากที่สุด คือ 3.62 cm และแตกต่างกับอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารสกัดในทุกระดับความเข้มข้น อย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) โดยระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของโคโลนีรา NS3 ได้ดีที่สุด คือ ที่ระดับความเข้มข้น 6,000 µg/mL มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเท่ากับ 1.60 cm มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 55.69 % และเมื่อทำการเลี้ยงรา NS3 ต่อไปจนครบ 7 วัน ประสิทธิภาพของสารสกัดในการยับยั้งการเจริญของราลดลง และชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีแตกต่างกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัดทุกระดับความเข้มข้น อย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) โดยความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งรา NS3 ได้ดีที่สุดคือ ที่ระดับความเข้มข้น 6,000 µg/mL มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเท่ากับ 4.36 cm รองลงมา คือ ที่ระดับความเข้มข้น 8,000 µg/mL มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี เท่ากับ 4.42 cm มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 51.48 และ 50.55 % ตามลำดับ และผลการทดลองสารสกัดจากใบเคี่ยมในการยับยั้งเชื้อ NS3 พบว่า สารสกัดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งราที่ใกล้เคียงกันกับสารสกัดในส่วนของใบ โดยสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของรา NS3 ได้ในทุกระดับความเข้มข้น โดยเริ่มตั้งแต่ที่ความเข้มข้น 500 µg/mL ขึ้นไป ระดับความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งราได้ดีที่สุด คือ 8,000 และ 6,000 µg/mL ตามลำดับ มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเท่ากับ 4.10 และ 4.36 cm มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 54.24 และ 51.48 % ตามลำดับ

ตารางที่ 7 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของรา NS3 บนอาหาร PDA ผสมสารสกัดหยาบจากเคี่ยมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการบ่มเชื้อเป็นเวลา 7 วัน

ชุดการทดลอง		การยับยั้ง (%)		
		วันที่ 3	วันที่ 5	วันที่ 7
ชุดควบคุม	0	0.00±0.00^{f}	0.00±0.00^{g}	0.00±0.00^{f}
สารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยม (µg/mL)	500	34.22±2.44^{cd}	41.39±1.98^{cd}	35.08±0.96^{d}
	1,000	26.11±6.70^{de}	31.40±0.73^{e}	25.36±2.98^{e}
	2,000	46.99±2.54^{ab}	51.05±3.14^{ab}	45.10±6.33^{bc}
	4,000	46.24±1.56^{ab}	51.31±1.67^{ab}	48.85±2.67^{ab}
	6,000	55.69±1.45^{a}	52.44±2.69^{a}	51.48±0.74^{ab}
	8,000	48.02±3.78^{ab}	53.09±2.49^{a}	50.55±0.96^{ab}
สารสกัดหยาบจากใบเคี่ยม (µg/mL)	500	20.92±5.76^{f}	34.15±1.11^{cd}	25.31±4.43^{e}
	1,000	18.56±7.51^{f}	23.78±4.46^{f}	24.23±3.46^{e}
	2,000	39.06±1.87^{bc}	39.33±4.66^{cd}	38.46±4.83^{cd}
	4,000	41.29±1.15^{bc}	44.54±0.40^{bc}	38.55±1.21^{cd}
	6,000	53.01±4.63^{a}	52.96±1.61^{a}	51.48±0.74^{ab}
	8,000	55.88±4.30^{a}	56.92±3.92^{a}	54.24±3.53^{a}
P-value		0.000	0.000	0.000

หมายเหตุ: (1) แสดงค่าเฉลี่ย ± คลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.)

(2) ทำการทดลองชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ

(3) ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้ วิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ของค่าเฉลี่ย

3.4.4 ผลของสารสกัดหยาบจากกิ่งและใบเคี่ยมต่อการยับยั้งการเจริญของรา NS4

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบทั้ง 7 ระดับความเข้มข้นต่อการยับยั้งการเจริญของรา NS4 เป็นเวลา 5 วัน (ตารางที่ 8) พบว่า สารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมสามารถยับยั้งการเจริญของโคโลนีรา NS4 ได้ในทุกระดับความเข้มข้น ซึ่งมีความแตกต่างกับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) ในวันที่ 3 และ 5 ของการทดลอง โดยระดับความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการเจริญของโคโลนีราได้ดีที่สุด คือ 4,000 6,000 และ 8,000 µg/mL มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี เท่ากับ 5.12 5.22 และ 4.70 cm มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 41.72 40.72 และ 42.51 % ตามลำดับ ในวันที่ 5 ของการทดลอง และผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบเคี่ยม พบว่า สามารถยับยั้งการเจริญของรา NS4 ได้ในระยะแรก (วันที่3) โดยระดับความเข้มข้นที่ดีที่สุด คือ 6,000 µg/mL มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี เท่ากับ 3.25 cm มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 39.47 % ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 4,000 และ 8,000 µg/mL มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเท่ากับ 3.35 และ 3.37 cm มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 37.68 และ 37.13 % ตามลำดับ แตกต่างกับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) อย่างไรก็ตาม พบว่า ประสิทธิภาพของสารสกัดในการยับยั้งการเจริญของราลดลงในวันที่ 5 ของการทดลอง โดยระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากใบเคี่ยมที่สามารถยับยั้งรา NS4 ได้ดีที่สุด คือ 8,000 µg/mL มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเท่ากับ 5.30 cm มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 39.86 %

จากผลการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากกิ่งและใบเคี่ยมต่อการยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคผลเน่าในเงาะทั้ง 4 ไอโซเลต พบว่า ประสิทธิภาพในการยับยั้งมีความแตกต่างกัน ทั้งนี้ อาจมีผลจากปัจจัยต่างๆ เช่น ลักษณะของสายพันธุ์ของรา ระยะเวลาในการเจริญของรา เป็นต้น ดังแสดงในตารางที่ 5-10

ตารางที่ 8 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของราไอโซเลต NS4 บนอาหาร PDA ผสมสารสกัดหยาบจากเคี่ยมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการบ่มเชื้อเป็นเวลา 5 วัน

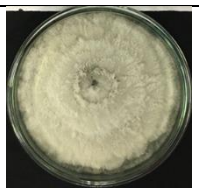
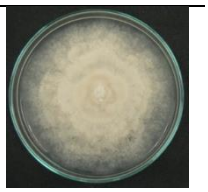
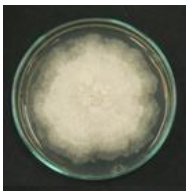
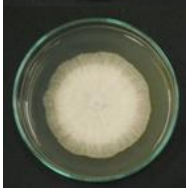
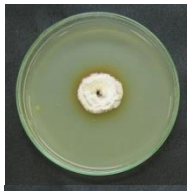
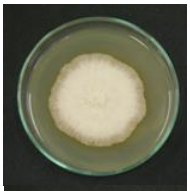
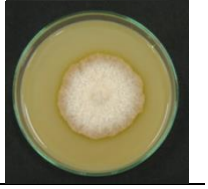
ชุดการทดลอง		การยับยั้ง (%)	
		วันที่ 3	วันที่ 5
ชุดควบคุม	0	0.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{e}
สารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยม (µg/mL)	500	12.96±3.93^{c}	15.18±2.93^{d}
	1,000	18.07±12.47^{bc}	23.47±1.43^{bc}
	2,000	23.20±11.41^{b}	27.43±0.99^{b}
	4,000	35.65±15.77^{a}	41.72±6.29^{a}
	6,000	33.33±1.73^{a}	40.72±1.32^{a}
	8,000	39.22±2.30^{a}	42.51±1.41^{a}
สารสกัดหยาบจากใบเคี่ยม (µg/mL)	500	18.40±5.14^{bc}	18.36±1.45^{cd}
	1,000	15.71±2.88^{bc}	18.86±2.14^{cd}
	2,000	18.15±2.04^{bc}	21.43±2.38^{bcd}
	4,000	37.68±1.14^{a}	38.64±3.55^{a}
	6,000	39.47±1.56^{a}	39.26±2.29^{a}
	8,000	37.13±1.92^{a}	39.86±1.32^{a}
P-value		0.000	0.000

หมายเหตุ: (1) แสดงค่าเฉลี่ย ± คลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.)

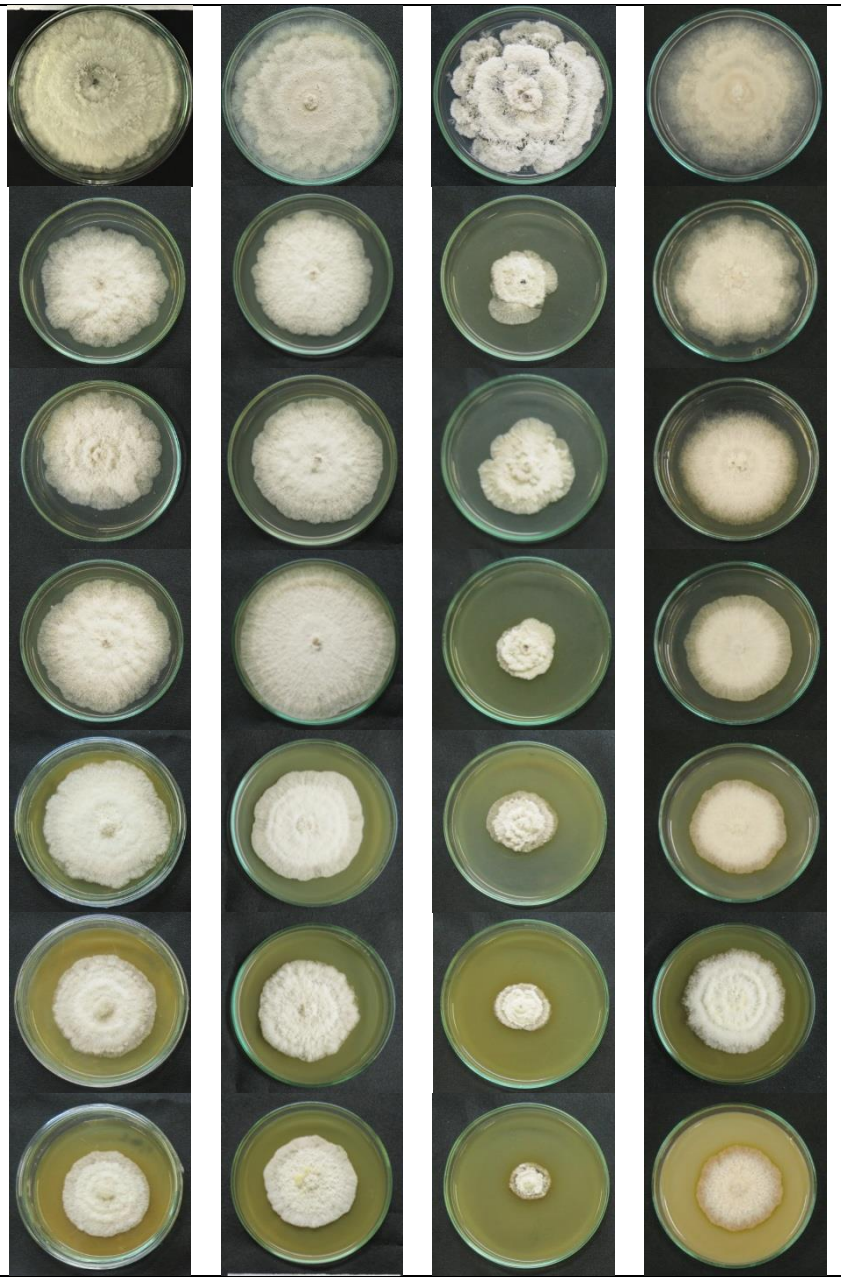
(2) ทำการทดลองชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ

(3) ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้ วิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ของค่าเฉลี่ย

ตารางที่ 9 การเจริญของโคโลนีราไอโซเลต NS1 NS2 NS3 และ NS4 เลี้ยงในอาหาร PDA ผสมสารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 5 วัน

รา สารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยม (µg/mL)	NS1	NS2	NS3	NS4
ชุดควบคุม				
500				
1,000				
2,000				
4,000				
6,000				
8,000				

ตารางที่ 10 การเจริญของโคโลนีรา NS1 NS2 NS3 และ NS4 เลี้ยงในอาหาร PDA ผสมสารสกัดหยาบจากใบเคี่ยมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 5 วัน

รา สารสกัดหยาบจากใบเคี่ยม (µg/mL)	NS1	NS2	NS3	NS4
ชุดควบคุม				
500				
1,000				
2,000				
4,000				
6,000				
8,000				

3.5 ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเคี่ยมร่วมกับไคโตซานต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรคบนผลเงาะหลังการเก็บเกี่ยว

จากราก่อโรคในผลเงาะหลังการเก็บเกี่ยวทั้ง 4 ไอโซเลต ได้เลือกเชื้อ NS4 มาทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากกิ่งเคี่ยมร่วมกับสารละลายไคโตซานต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราบนผิวเงาะ เนื่องจากมีระดับการเกิดโรคเน่ามากที่สุดเท่ากับ 4 คะแนน (ผลเน่า 76-100 % ของพื้นผิวทั้งหมด) โดยเลือกใช้สารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยม 3 ระดับความเข้มข้นที่ดีที่สุดในการยับยั้งเชื้อ NS4 ในอาหารเลี้ยงเชื้อจากตอนที่ 3.4.4 คือ 4,000 6,000 และ 8,000 µg/mL และนำมาใช้ร่วมกับสารละลายไคโตซาน 3 ระดับความเข้มข้น คือ 10 20 และ 30 ppm ผลการทดลองพบว่า สารสกัดจากกิ่งเคี่ยมมีออิทธิผลร่วมกันกับสารละลายไคโตซาน คือมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ NS4 เพิ่มขึ้นเมื่อใช้ร่วมกัน โดยชุดการทดลองที่ดีที่สุดคือ การใช้สารสกัดหยาบจากเคี่ยมความเข้มข้น 6,000 µg/mL ร่วมกับไคโตซาน 20 ppm มีค่าเฉลี่ยของผ่านศูนย์กลางบาดแผลบนผิวเงาะน้อยที่สุด คือ 2.93 cm (ตารางที่ 11)

ส่วนการใช้สารสกัดจากเคี่ยมเพียงอย่างเดียวที่ระดับความเข้มข้น 6,000 µg/mL มีค่าเฉลี่ยของผ่านศูนย์กลางบาดแผลเท่ากับ 3.46 cm และชุดการทดลองที่ใช้สารสกัดจากเคี่ยม 4,000 และ 6,000 µg/mL ร่วมกับสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 10 ppm มีค่าเฉลี่ยของผ่านศูนย์กลางบาดแผลเท่ากับ 3.53 และ 3.52 cm ตามลำดับ

ตารางที่ 11 เส้นผ่านศูนย์กลางของบาดแผลบนผิวเปลือกเงาะที่ได้รับสารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมและไคโตซานในระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการปลูกเชื้อ NS4

ชุดการทดลอง		เส้นผ่านศูนย์กลางบาดแผล (cm)			
สารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยม (µg/mL)		0	4,000	6,000	8,000
ไคโตซาน (ppm)	0	4.81±0.20^{cde}	4.16±0.36^{bcd}	3.46±0.22^{a}	4.19±0.29^{bcde}
	10	5.41±0.20^{f}	3.53±0.33^{abc}	3.52±0.21^{abc}	4.48±0.19^{cd}
	20	5.07±0.12^{cde}	4.35±0.42^{cde}	2.93±0.20^{a}	4.53±0.40^{cd}
	30	4.75±0.24^{cde}	4.54±0.24^{cd}	3.98±0.10^{bcd}	3.56±0.42^{cd}

หมายเหตุ: (1) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบาดแผลบนเปลือกเงาะที่คำนวณได้จากการทดสอบด้วยความเข้มข้นของสารสกัดจากกิ่งเคี่ยมร่วมกับสารละลายไคโตซานทั้งหมด 16 ระดับความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 20 ซ้ำ

(2) แสดงค่าเฉลี่ย ± คลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.)

(3) ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้ วิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ของค่าเฉลี่ย

3.6 ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมร่วมกับไคโตซานต่อคุณภาพของผลเงาะหลังการเก็บเกี่ยว

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมร่วมกับไคโตซานที่มีผลต่อการยับยั้งการเกิดโรคและคุณภาพของผลเงาะหลังการเก็บเกี่ยว โดยเลือกระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากกิ่งเคี่ยมและไคโตซานที่มีผลในการยับยั้งเชื้อที่ก่อโรคในผลเงาะจากผลการทดลองในข้อ 3.5 มา 3 ระดับความเข้มข้น คือ (1) สารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยม 6,000 µg/mL (2) สารสกัดจากกิ่งเคี่ยม 6,000 µg/mL ร่วมกับไคโตซาน 10 ppm (3) สารสกัดจากกิ่งเคี่ยม 6,000 µg/mL ร่วมกับไคโตซาน 20 ppm มาใช้ในการทดสอบคุณภาพของผลเงาะในระหว่างการเก็บรักษา โดยประเมินผลจากการสูญเสียน้ำหนักสด ความแน่นเนื้อ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ และการเปลี่ยนแปลงสีเปลือกและสีขน ซึ่งได้ผลการทดลองดังต่อไปนี้

3.6.1 การสูญเสียน้ำหนักสด

จากการทดลอง พบว่า ผลเงาะมีการเสียน้ำหนักสดเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาเก็บรักษา โดยเงาะที่ได้ผ่านการแช่ในสารสกัดจากกิ่งเคี่ยมระดับความเข้มข้น 6,000 µg/mL ร่วมกับไคโตซานที่ระดับความเข้มข้น 10 และ 20 ppm พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับเงาะในชุดการทดลองควบคุม (P<0.05) ตั้งแต่วันที่ 2 ถึงวันที่ 8 ของการเก็บรักษา (ตารางที่ 12) โดยชุดการทดลองที่มีการสูญเสียน้ำหนักน้อยที่สุด คือ การใช้สารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยม 6,000 µg/mL ร่วมกับสารละลายไคโตซาน 10 ppm ซึ่งมีค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสดในวันที่ 8 ของการเก็บรักษา เท่ากับ 8.72 % ส่วนชุดการทดลองที่ใช้สารหยาบสกัดจากกิ่งเคี่ยม 6,000 µg/mL ร่วมกับสารละลายไคโตซาน 20 ppm และ สารสกัดจากเคี่ยม 6,000 µg/mL เพียงอย่างเดียว มีค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสด เท่ากับ 9.39 และ 10.49 % ตามลำดับ

3.6.2 ความแน่นเนื้อ

ความแน่นเนื้อของเงาะมีค่าลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่มากขึ้น โดยเมื่อนำผลเงาะมาทดสอบสารสกัดจากกิ่งเคี่ยมร่วมกับสารละลายไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่าชุดการทดลองที่มีผลให้ค่าความแน่นเนื้อในระหว่างการเก็บรักษา แตกต่างกับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) (ตารางที่ 13) คือ การใช้สารสกัดจากกิ่งเคี่ยมความเข้มข้น 6,000 µg/mL ร่วมกับไคโตซานความเข้มข้น 10 ppm ซึ่งมีค่าความแน่นเนื้อ เท่ากับ 28.53 N หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 8 วัน ที่อุณหภูมิ 25 ºC

ตารางที่ 12 เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสดของผลเงาะที่ทดสอบด้วยสารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมร่วมกับไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 8 วัน

ชุดการทดลอง	เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสด (%)			
	วันที่ 2	วันที่ 4	วันที่ 6	วันที่ 8
Control	3.23±0.12^{b}	6.76±0.73^{b}	10.30±1.29^{b}	12.97±1.75^{b}
Kiam 6,000 µg/mL	2.63±0.43^{ab}	5.59±0.59^{ab}	8.07±0.84^{ab}	10.49±0.83^{ab}
Kiam 6,000 µg/mL +CH10 ppm	2.27±0.11^{a}	4.34±0.29^{a}	6.68±0.68^{a}	8.72±0.76^{a}
Kiam 6,000 µg/mL +CH20 ppm	2.76±0.44^{ab}	4.89±0.53^{a}	6.98±0.62^{a}	9.39±0.73^{a}
Carbendazim 20 mg/mL	2.04±0.10^{a}	3.99±0.39^{a}	5.58±0.77^{a}	7.64±0.90^{a}
P-value	0.089	0.017	0.027	0.030

หมายเหต: (1) Kiam คือ สารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยม และ CH คือ สารละลายไคโตซาน

(2) แสดงค่าเฉลี่ย ± คลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.)

(3) ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้ วิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ของค่าเฉลี่ย

ตารางที่ 13 แสดงความแน่นเนื้อของผลเงาะที่ทดสอบด้วยสารสกัดจากกิ่งเคี่ยมร่วมกับไคโตซานระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 8 วัน

ชุดการทดลอง	ความแน่นเนื้อ (N)			
	วันที่ 2	วันที่ 4	วันที่ 6	วันที่ 8
Control	31.77±0.06^{a}	25.20±0.03^{c}	25.40±0.04^{c}	25.49±0.05^{b}
Kiam 6,000 µg/mL	31.18±0.06^{ab}	26.87±0.02^{b}	27.06±0.03^{b}	24.61±0.05^{b}
Kiam 6,000 µg/mL+CH10 ppm	30.10±0.04^{ab}	29.12±0.05^{a}	29.32±0.05^{a}	28.53±0.04^{a}
Kiam 6,000 µg/mL+CH20 ppm	30.89±0.06^{ab}	29.22±0.04^{a}	28.63±0.05^{a}	25.20±0.07^{b}
Carbendazim 20 mg/mL	29.81±0.06^{b}	28.63±0.05^{a}	27.26±0.04^{b}	28.14±0.04^{a}
P-value	0.135	0.000	0.000	0.000

หมายเหตุ: (1) Kiam คือ สารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยม และ CH คือ สารละลายไคโตซาน

(2) แสดงค่าเฉลี่ย ± คลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.)

(3) ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้ วิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ของค่าเฉลี่ย

3.6.3 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด

ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดเพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา โดยชุดการทดลองที่มีการเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุด คือ ชุดของผลเงาะที่ทดสอบด้วยสารสกัดจากกิ่งเคี่ยมในระดับความเข้มข้น 6,000 µg/mL ร่วมกับไคโตซานความเข้มข้น 10 ppm (ตารางที่ 14) โดยพบว่าปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ มีค่าเท่ากับ 19.25 °Brix ในวันที่ 8 ของการเก็บรักษา โดยมีความแตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) รองลงมาคือชุดของผลเงาะที่ทดสอบด้วยสารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมในระดับความเข้มข้น 6,000 µg/mL ร่วมกับไคโตซานความเข้มข้น 20 ppm มีค่าปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ 19.85 °Brix

3.6.4 ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้

ปริมาณของกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้จะลดลงตามเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น โดยปริมาณของสารละลาย NaOH จะมีความสัมพันธ์กับปริมาณของความเป็นกรดภายในผลเงาะ (ตารางที่ 15) จากการทดลอง พบว่า ชุดการทดลองที่มีผลการเปลี่ยนแปลงต่อความเป็นกรดในเงาะน้อยที่สุด คือ การใช้สารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมในระดับความเข้มข้น 6,000 µg/mL โดยปริมาณของกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ เท่ากับ 12.27 % เปรียบเทียบกับกรดซิตริก ส่วนชุดการทดลองที่ทดสอบด้วยสารสกัดจากกิ่งเคี่ยมในระดับความเข้มข้น 6,000 µg/mL ร่วมกับไคโตซานความเข้มข้น 10 ppm และสารฆ่าเชื้อรา Carbendazim ตามลำดับ มีปริมาณของกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ เท่ากับ 11.47 และ 12.54 % ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

3.6.5 การเปลี่ยนแปลงสีน้ำตาลที่เปลือกและสีขนของผลเงาะ

การเปลี่ยนแปลงสีเปลือกและขนของผลเงาะมีการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเพิ่มขึ้นตามเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น โดยเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นสีน้ำตาลบริเวณขนเร็วกว่าบริเวณเปลือก (ตารางที่ 16 และ 17) ซึ่งชุดการทดลองที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงบริเวณขนและเปลือกเงาะน้อยที่สุด คือ การใช้สารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมในระดับความเข้มข้น 6,000 µg/mL ร่วมกับไคโตซานความเข้มข้น 10 ppm โดยมีระดับคะแนนการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกและขนเงาะในวันที่ 8 ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง คือ 0.90 และ 1.85 คะแนน (มีการเกิดสีน้ำตาล 1-25 % ของพื้นที่ผิวทั้งหมด) (ภาพที่ 9)

ตารางที่ 14 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดของผลเงาะที่ทดสอบด้วยสารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมร่วมกับไคโตซานระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 8 วัน

ชุดการทดลอง	ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด(TSS, °Brix)			
	วันที่ 2	วันที่ 4	วันที่ 6	วันที่ 8
Control	19.62±0.06^{b}	19.73±0.16^{b}	19.83±0.11^{a}	20.12±0.37^{b}
Kiam 6,000 µg/mL	20.03±0.09^{b}	19.90±0.18^{b}	20.48±0.12^{b}	20.02±0.11^{b}
Kiam 6,000 µg/mL + CH10 ppm	19.22±0.12^{a}	19.70±0.14^{b}	19.82±0.13^{a}	19.25±0.22^{a}
Kiam 6,000 µg/mL + CH20 ppm	19.90±0.19^{b}	18.58±0.64^{a}	19.92±0.08^{a}	19.85±0.15^{ab}
Carbendazim 20 mg/mL	20.67±0.06^{c}	21.30±0.25^{c}	21.02±0.19^{c}	19.63±0.13^{ab}
P-value	0.000	0.000	0.000	0.062

หมายเหตุ: (1) Kiam คือ สารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยม และ CH คือ สารละลายไคโตซาน

(2) แสดงค่าเฉลี่ย ± คลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.).

(3) ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้ วิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ของค่าเฉลี่ย

ตารางที่ 15 ปริมาณของความเป็นกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ของเงาะที่ทดสอบด้วยสารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมร่วมกับไคโตซานระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 8 วัน

ชุดการทดลอง	ปริมาณของกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ (TA, % citric acid)			
	วันที่ 2	วันที่ 4	วันที่ 6	วันที่ 8
Control	11.47±0.47^{a}	14.14±0.73^{a}	17.07±0.71^{c}	14.14±0.47^{c}
Kiam 6,000 µg/mL	15.20±0.41^{c}	12.27±0.77^{a}	13.60±0.41^{b}	11.47±0.47^{a}
Kiam 6,000 µg/mL + CH10 ppm	14.40±0.48^{bc}	12.80±0.39^{a}	13.30±0.53^{b}	12.27±0.77^{ab}
Kiam 6,000 µg/mL + CH20 ppm	14.14±0.47^{bc}	13.60±0.89^{a}	14.14±0.47^{b}	13.34±0.66^{bc}
Carbendazim 20 mg/mL	13.07±0.47^{b}	13.07±0.61^{a}	11.74±0.45^{a}	12.54±0.47^{abc}
P-value	0.000	0.388	0.000	0.024

หมายเหตุ: (1) Kiam คือ สารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยม และ CH คือ สารละลายไคโตซาน

(2) แสดงค่าเฉลี่ย ± คลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.)

(3) ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้ วิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ของค่าเฉลี่ย

ตารางที่ 16 การเปลี่ยนแปลงสีเปลือกของผลเงาะที่ทดสอบด้วยสารสกัดจากกิ่งเคี่ยมร่วมกับไคโตซาน ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 8 วัน

ชุดการทดลอง	การเปลี่ยนแปลงสีเปลือก			
	วันที่ 2	วันที่ 4	วันที่ 6	วันที่ 8
Control	0	0.10±0.57^{b}	0.95±0.27^{b}	1.60±0.16^{a}
Kiam 6,000 µg/mL	0	0.00±0.00^{a}	0.70±0.25^{ab}	1.65±0.18^{a}
Kiam 6,000 µg/mL +CH10 ppm	0	0.00±0.00^{a}	0.15±0.09^{a}	0.90±0.31^{a}
Kiam 6,000 µg/mL +CH20 ppm	0	0.00±0.00^{a}	0.25±0.15^{a}	1.30±0.34^{a}
Carbendazim 20 mg/mL	0	0.00±0.00^{a}	0.40±0.08^{ab}	1.15±0.26^{a}
P-value	0.000	0.053	0.049	0.274

หมายเหต: (1) Kiam คือ สารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยม และ CH คือ สารละลายไคโตซาน

(2) แสดงค่าเฉลี่ย ± คลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.)

(3) ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้ วิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ของค่าเฉลี่ย

(4) คะแนนการเปลี่ยนเปลงสีเปลือก: 0 = ปกติ, 1 = ผลเริ่มมีจุดช้ำ 1-25 %, 2 = ผลเริ่มมีจุดช้ำ 26-50 %, 3 = ผลเริ่มมีจุดช้ำ 51-75 %, 4 = ผลเริ่มมีจุดช้ำ 76-100 % ของพื้นที่ผิวเงาะ

ตารางที่ 17 การเปลี่ยนแปลงสีขนของผลเงาะที่ทดสอบด้วยสารสกัดจากกิ่งเคี่ยมร่วมกับไคโตซาน ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 8 วัน

ชุดการทดลอง	การเปลี่ยนแปลงสีขนของเงาะ			
	วันที่ 2	วันที่ 4	วันที่ 6	วันที่ 8
Control	0.50±0.05^{ab}	1.50±0.05^{bc}	2.10±0.10^{b}	2.30±0.12^{ab}
Kiam 6,000 µg/mL	0.30±0.12^{a}	1.95±0.05^{c}	1.90±0.12^{b}	2.85±0.26^{b}
Kiam 6,000 µg/mL +CH10 ppm	0.50±0.05^{ab}	0.90±0.12^{a}	1.35±0.17^{a}	1.85±0.05^{a}
Kiam 6,000 µg/mL +CH20 ppm	0.35±0.09^{a}	0.60±0.35^{a}	1.95±0.05^{b}	2.10±0.31^{a}
Carbendazim 20 mg/Ml	0.75±0.09^{a}	1.05±0.17^{ab}	1.85±0.20^{b}	2.05±0.12^{a}
P-value	0.028	0.001	0.021	0.029

หมายเหต: (1) Kiam คือ สารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยม และ CH คือ สารละลายไคโตซาน

(2) แสดงค่าเฉลี่ย ± คลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.)

(3) ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้ วิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ของค่าเฉลี่ย

(4) คะแนนการเปลี่ยนแปลงสีขน: 0 = ปกติ, 1 = ขนดำ 1-25 %, 2 = ขนดำ 26-50 %, 3 = ขนดำ 51-75 %, 4 = ขนดำ 76-100 % ของความยาวขน/โคนขนดำ

Control

Kiam 6,000 µg/mL

Kiam 6,000 µg/mL +CH10 ppm

Kiam 6,000 µg/mL +CH20 ppm

Carbendazim 20 mg/mL

ภาพที่ 9 ลักษณะผลเงาะที่ทดสอบด้วยสารสกัดจากกิ่งเคี่ยมร่วมกับไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 8 วัน

3.3.6 การเกิดโรคในผลเงาะหลังการเก็บเกี่ยว

การเกิดโรคบนผลเงาะหลังการเก็บเกี่ยวเพิ่มขึ้นตามเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น โดยชุดการทดลองที่มีผลการเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุด คือ ชุดของผลเงาะที่ทดสอบด้วยสารสกัดจากกิ่งเคี่ยมในระดับความเข้มข้น 6,000 µg/mL ร่วมกับไคโตซานความเข้มข้น 10 ppm โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของเงาะในวันที่ 8 ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเท่ากับ 30 % และมีความรุนแรงของการเกิดโรคเท่ากับ 0.65 คะแนน (มีระดับการเกิดโรค 1-25 % ของพื้นที่ผิวทั้งหมด) (ตารางที่ 18 และตารางที่ 19)

ตารางที่ 18 การเกิดโรคของผลเงาะที่ทดสอบด้วยสารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมร่วมกับไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 8 วัน

ชุดการทดลอง	การเกิดโรค (DI, %)			
	วันที่ 2	วันที่ 4	วันที่ 6	วันที่ 8
Control	0	0±0.00[a]	35±9.57[b]	55±17.07[a]
Kiam 6,000 µg/mL	0	5±5.00[a]	5±5.00[a]	45±17.07[a]
Kiam 6,000 µg/mL +CH10 ppm	0	5±5.00[a]	10±5.77[a]	30±10.00[a]
Kiam 6,000 µg/mL +CH20 ppm	0	5±5.00[a]	10±10.00[a]	50±5.77[a]
Carbendazim 20 mg/mL	0	0±0.00[a]	10±5.77[a]	45±9.57[a]
P-value	0.00	0.736	0.085	0.708

หมายเหตุ: (1) Kiam คือ สารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยม และ CH คือ สารละลายไคโตซาน

(2) แสดงค่าเฉลี่ย ± คลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.)

(3) ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้ วิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ของค่าเฉลี่ย

ตารางที่ 19 ระดับความรุนแรงของการเกิดโรคบนผลเงาะที่ทดสอบด้วยสารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมร่วมกับไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 8 วัน

ชุดการทดลอง	ความรุนแรงของการเกิดโรค (DS)			
	วันที่ 2	วันที่ 4	วันที่ 6	วันที่ 8
Control	0	0.00±0.00[a]	0.80±0.27[b]	1.30±0.23[a]
Kiam 6,000 µg/mL	0	0.05±0.05[a]	0.15±0.15[a]	1.15±0.45[a]
Kiam 6,000 µg/mL +CH10 ppm	0	0.05±0.05[a]	0.15±0.09[a]	0.65±0.22[a]
Kiam 6,000 µg/mL +CH20 ppm	0	0.05±0.05[a]	0.15±0.15[a]	1.15±0.45[a]
Carbendazim 20 mg/mL	0	0.00±0.00[a]	0.25±0.15[a]	0.90±0.17[a]
P-value	0.00	0.736	0.073	0.668

หมายเหตุ: (1) Kiam คือ สารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยม และ CH คือ สารละลายไคโตซาน

(2) แสดงค่0าเฉลี่ย ± คลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.)

(3) ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้ วิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ของค่าเฉลี่ย

(4) คะแนนการเปลี่ยนเปลงสีเปลือก: 0 = ปกติ, 1 = ผลเน่า 1-25 %, 2 = ผลเน่า 26-50 %, 3 = ผลเน่า 51-75 %, 4 = ผลเน่า 76-100 % ของพื้นที่ผิวเงาะ

บทที่ 4
บทวิจารณ์ผลการทดลอง

จากขั้นตอนการเตรียมสารสกัดหยาบของกิ่งและใบเคี่ยม โดยผงของกิ่งเคี่ยมสามารถสกัดได้เป็นสารสกัดหยาบประมาณ 11.46 % สารสกัดหยาบที่ได้มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาลเข้ม ส่วนผงของใบเคี่ยมได้สารสกัดหยาบประมาณ 10.33 % ที่มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีเขียวเข้มจนเกือบดำ สารสกัดหยาบที่ได้จากพืชจะมีส่วนผสมระหว่างองค์ประกอบทางเคมีทั้งที่มีและไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา โดยสารที่ไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เช่น คาร์โบไฮเดรต กรดอะมิโน และไขมัน ซึ่งเป็น primary metabolite ที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืชทุกชนิด (อุดมเดชา, 2556) ส่วนองค์ประกอบที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา จัดเป็นสารทุติยภูมิที่พืชแต่ละชนิดจะพบไม่เหมือนกัน มีสารเริ่มต้นเป็นกรดอะมิโน (amino acid) อะซีเตท (acetate) และวาโลเนท (mevalonate) เป็นต้น โดยมีเอนไซม์เข้ามาเกี่ยวข้อง ซึ่งพืชต่างชนิดกันจะมีเอนไซม์ที่ไม่เหมือนกัน ทำให้วิถีทางในกระบวนการชีวสังเคราะห์ (biosynthesis) ต่างกันไป (ธีรวุฒิ และรัชนี, 2550) เช่น ในใบเคี่ยม มีสารในกลุ่ม flavonoid ได้แก่ สาร quercetin apigenin และ kaempferol (Joshi *et al*., 2008) และในกิ่งเคี่ยม มีสารในกลุ่มฟีนอลิก (Kadir and Itale, 2017) จึงทำให้ความเข้มข้นของสารสำคัญสูงขึ้น และส่งผลให้สารสกัดหยาบที่มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม หรือน้ำตาลเข้มจนเกือบดำ ดังผลการทดลองที่ได้ในการศึกษานี้

จากการศึกษาราก่อโรคเน่าในผลเงาะพันธุ์โรงเรียนในเขตอำเภอบ้านนาสาร จังหวัดสุราษฎร์ธานี พบราก่อโรคที่สำคัญ 4 ไอโซเลท คือ *Diaporthe* sp. *Phomopsis* sp. 1 *Phomopsis* sp. 2 และ *Phomopsis* sp. 3 ซึ่งมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกัน โดยราดังกล่าวเป็นราที่มีการสร้างโคโลนีเป็นเป็นวงกลมซ้อนกัน เส้นใยมีผนังกั้นระหว่างช่องของเส้นใย มีลักษณะโคนิเดีย 2 แบบ คือ alpha และ beta conidia (Luongo *et al*., 2011) เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง และจากการวิเคราะห์สายพันธุ์ราในระดับโมเลกุลด้วยเทคนิคการหาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS พบว่า เชื้อ NS1 มีลักษณะใกล้เคียงกับราสายพันธุ์ *Diaporthe* sp. ส่วน NS2 NS3 และ NS4 มีลักษณะใกล้เคียงกับราสายพันธุ์ *Phomopsis* sp. ซึ่งราดังกล่าวจัดอยู่ในตระกูล (order) เดียวกันคือ Diaporthales โดย *Diaporthe* sp. จะมีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (telemorph) ส่วน *Phomopsis* sp. จะมีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (anamorph) (Phillips, 2003) จากการศึกษางานวิจัยเกี่ยวกับเชื้อราก่อโรคในผลเงาะ พบว่าในประเทศเปอร์โตรีโก พบราก่อโรคในผลเงาะที่สำคัญ 8 ชนิด ได้แก่ *Lasmenia* sp. *Lasiodiplodia* sp. *Colletotrichum* sp. *Calonectria* sp. *Gliocephalotrichum* sp. *Pestalotiopsis* sp. *Fusarium* sp. และ *Diaporthe* sp. (Serra-Diaz *et al*., 2015) ส่วนในประเทศไทยมีรายงานเกี่ยวกับราก่อโรคผลเน่าในเงาะ ได้แก่ *L. theobromae Gliocephalotrichum* spp. *Greeneria* sp. *C. gloeosporioides* และ *Pestalotiopsis* sp. (Farungsang *et al*., 1994; บุญญวดี และสุภา, 2552)

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากกิ่งและใบเคี่ยมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งราก่อโรคหลังการเก็บเกี่ยวในผลเงาะ ทั้ง 4 ชนิด ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากกิ่งและใบเคี่ยมมีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของ *Diaporthe* sp. (NS1) และ *Phomopsis* sp. ทั้ง 3 ไอโซเลต (NS2 NS3 และ NS4) ได้ โดยสารสกัดหยาบจากเคี่ยมที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *Diaporthe* sp. ได้ดีที่สุด คือ สารสกัดจากกิ่งเคี่ยมระดับความเข้มข้น 8,000 µg/mL (เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง คือ 39.16 %) *Phomopsis* sp. 1 (NS2) คือ สารสกัดจากกิ่งเคี่ยมระดับความเข้มข้น 6,000 µg/mL (เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง คือ 41.48 %) *Phomopsis* sp. 2 (NS3) คือ สารสกัดจากใบเคี่ยมระดับความเข้มข้น 8,000 µg/mL (เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง คือ 54.24 %) และ *Phomopsis* sp. 3 (NS4) คือ สารสกัดจากกิ่งเคี่ยมระดับความเข้มข้น 8,000 µg/mL (เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง คือ 39.16 %) (เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง คือ 42.51 %) โดยประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเคี่ยมในการยับยั้งเชื้อราอาจเกิดจากสารสกัดจากเคี่ยมมีสารที่สำคัญหลายชนิด เช่น flavonoids สารกลุ่มฟีนอลิกและแทนนิน (Matsuda *et al*., 2009) ซึ่งเคยมีงานวิจัยรายงานว่าสารสกัดจากเคี่ยมมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ และจากการศึกษาถึงปริมาณสารฟีนอลิกจากพืชสมุนไพรเพื่อใช้ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ พบว่า สมุนไพรที่มีปริมาณสารฟีนอลลิกสูงจะสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้ดี (สุวรรณี และคณะ, 2555) เนื่องจากสารในกลุ่มฟีนอลิกมีคุณสมบัติในการกระตุ้นเชื้อราให้สร้างเอนไซม์ออกมาเพื่อกีดกันการสร้างสารที่มีความจำเป็นในการเจริญเติบโต ยับยั้งการสร้าง ATP และธาตุเหล็กของเชื้อจุลินทรีย์ (Scalbert, 1991) จึงทำให้เชื้อจุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญได้และตายไปในที่สุด อย่างไรก็ตามในการทดลอง พบว่า นี้ต้องใช้สารสกัดในระดับความเข้มข้นสูงในการยับยั้งรา ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยอื่นๆ พบว่า การใช้สารสกัดจากธรรมชาตินั้น ส่วนใหญ่ต้องใช้สารในระดับความเข้มข้นสูงเพื่อให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (จำเนียร และคณะ, 2558) ดังเช่นในงานวิจัยของ ศิริจรรยาและคณะ (มมป) ที่ศึกษาปริมาณสาร flavonoids ในใบหม่อนและประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย พบว่า สารสกัดจากใบหม่อนมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus B. cereus* และ *Pseudomonas flurorescens* ได้ โดยระดับความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพดี คือ 4,000 µg/mL

จากผลการทดสอบความรุนแรงของการเกิดโรคของเชื้อทั้ง 4 ชนิด โดยการปลูกเชื้อกลับไปยังผิวของผลเงาะปกติ พบว่า *Phomopsis* sp. 3 ทำให้มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงที่สุด คือ 100 % ในระยะเวลา 7 วัน การทำลายผลเงาะของราชนิดนี้ จะแสดงอาการเน่าเป็นไปอย่างช้าๆ โดยเริ่มจากจุดสีน้ำตาลและขยายไปทั่วผลภายในเวลา 7 วัน เนื้อเงาะจะเน่าเละรุนแรง และมีกลิ่นเหม็น (จริวัฒน์ และนิพนธ์, มปป) ซึ่งมีงานวิจัย พบว่า *Phomopsis* sp. สามารถพักตัวในผลอ่อนและทำความเสียหายกับผลสุกของผลไม้หลังการเก็บเกี่ยวหลายชนิด (Pcheidt and Pearson, 1989)

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเคี่ยมร่วมกับไคโตซานต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรคหลังการเก็บเกี่ยวในเงาะ พบว่า การใช้สารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมความเข้มข้น 6000 µg/mL ร่วมกับไคโตซาน 20 ppm มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อก่อโรคบนผลเงาะได้ดีที่สุด จากผลการทดลองจะเห็นว่าการใช้สารสกัดจากเคี่ยมร่วมกับไคโตซาน สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคได้ เนื่องจากคุณสมบัติในสารสกัดของเคี่ยมมีสารที่มีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ (lipophilic) นำไปสู่การเปลี่ยนแปลงของผนังเซลล์ ทำให้ proton และ potassium ions ผ่านเข้าภายในเซลล์ยากขึ้น และส่งผลกระทบต่อกระบวนการสร้าง ATP (Friedmen, 2006) และคุณสมบัติของของการเป็นสารยับยั้งการเจริญของราโดยตรงจากไคโตซาน ที่มีการเหนี่ยวนำให้เกิด

เอนไซม์ chitinase และ β-1,3-glucanase มาย่อยผนังเซลล์ของรา และการกระตุ้นการสร้างสารต่อต้านรา อย่างไรก็ตามเมื่อใช้สารละลายไคโตซานเพียงอย่างเดียว พบว่า ไม่มีผลในการยับยั้งรา ซึ่งอาจเกิดจากวิธีการดำเนินการที่ใช้ในทดสอบ ที่ทำการปลูกเชื้อบนแผลที่ทำขึ้นก่อนจะหยดสารสกัด เพื่อให้สามารถตรวจวัดอาการของแผลที่เกิดขึ้นได้ชัดเจน วิธีนี้เป็นการเอื้อประโยชน์ต่อเชื้อโรคทำให้เชื้อเจริญได้ดี และมีระดับความรุนแรงกว่าปกติ (ทัศวรรณ และคณะ, 2547; Droy *et al*., 1989; สมศิริ และคณะ 2540) และอาจทำให้สารสกัดบางความเข้มข้นไม่มีประสิทธิภาพมากพอในการยับยั้งราดังกล่าว ดังนั้น ในขั้นตอนต่อไปจึงเลือกใช้สารสกัดจากกิ่งเคี่ยมที่ระดับความเข้มข้น 6,000 µg/mL และไคโตซานความเข้มข้น 10 และ 20 ppm ไปใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพในการรักษาคุณภาพผลเงาะหลังการเก็บเกี่ยว

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมร่วมกับไคโตซานต่อคุณภาพผลเงาะหลังการเก็บเกี่ยว พบว่า การใช้สารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมระดับความเข้มข้น 6,000 µg/mL กับไคโตซาน 10 ppm มีผลต่อการรักษาคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวผลเงาะได้ดีที่สุด โดยผลเงาะสามารถเก็บได้นานสูงสุด 8 วัน ที่อุณหภูมิ 25 °C และพบว่าเงาะในชุดการทดลองที่แช่ในสารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมความเข้มข้น 6,000 µg/mL ร่วมกับสารละลายไคโตซาน 10 ppm มีการสูญเสียน้ำหนักสดน้อยกว่าชุดควบคุม นอกจากนี้การใช้สารสกัดหยาบยังช่วยชะลอการเกิดสีน้ำตาลที่เปลือกและขนของเงาะได้ ซึ่งการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกและขนเงาะมีสาเหตุมาจากการสลายตัวของสารประกอบฟีนอลโดยกิจกรรมของเอนไซม์ polyphenol oxidase (PPO) (จริงแท้, 2542) ซึ่งช้ากว่าเงาะทั่วไปที่มีการเกิดสีน้ำตาลที่ขนและเปลือก ในวันที่ 4 และ 5 ซึ่งจะสอดคล้องเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสด (Landrigan, 1996) นอกจากนี้ พบว่า สารสกัดจากเคี่ยมและไคโตซานมีแนวโน้มในการช่วยชะลอการลดลงของความแน่นเนื้อได้ อาจเกิดจากไคโตซานที่ใช้เป็นไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลขนาดเล็กที่สามารถซึมผ่านเข้าไปในเซลล์ของพืชได้ง่าย และไปกระตุ้นการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับกลไกการป้องกันตัวของพืช เช่น ยีนที่สร้าง phenylalanine ammonialyase (PAL) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สร้างสารประกอบฟีนอล เช่น ลิกนิน (lignin) ซึ่งเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ (Notsu *et al*., 1994; Chang *et al*., 2003; เยาวพา, 2555) และอาจเกิดจากเมื่อพืชดูดไคซานเข้าทางปากหรือช่องเปิดต่างๆ แล้ว ไคโตซานจะเข้าไปสะสมที่ผนังของเซลล์พืชและจับตัวกับสารประกอบหลายอย่างในผนังเซลล์ เกิดเป็นโครงสร้างเชิงซ้อน (complex) ซึ่งมีลักษณะคล้ายผลึกโครงสร้างตาข่าย ทำให้ผนังเซลล์พืชมีแรงยึดเกาะระหว่างกันได้ดียิ่งขึ้น และทำให้โครงสร้างผนังเซลล์แข็งแรงขึ้น (วรรณิศา และพรไพรินทร์, 2559)

ส่วนผลของสารสกัดหยาบจากเคี่ยมและไคโตซานต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมี ได้แก่ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดและปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ พบว่า การใช้สารสกัดหยาบจากเคี่ยมและไคโตซานมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของรสชาติหลังการเก็บเกี่ยวของผลเงาะ โดยสังเกตจากค่าเฉลี่ยของปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดและปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ที่มีค่าลดลงเมื่อเทียบกับข้อมูลที่ได้จากวันแรกของการทดลอง ถึงแม้ว่าเงาะจะเป็นผลไม้ประเภท non-climacteric แต่ก็ยังมีการหายใจอยู่ ดังนั้นปริมาณกรดที่ลดลงเมื่อเก็บรักษานานขึ้น น่าจะมาจากการที่กรดอินทรีย์ถูกใช้ไปในวัฏจักร Kreb's cycle (จริงแท้, 2542) โดยกรดอินทรีย์ที่พบมากในน้ำคั้นจากผลเงาะ คือ กรดซิตริก ซึ่งเมื่อเข้าสู่ขั้นตอน Kreb's cycle จะถูกออกซิไดซ์ให้กลายเป็นสารอื่นเพื่อให้ผลิตภัณฑ์ตัวสุดท้ายคือก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ และ

พลังงานที่ใช้ในการดำรงชีวิตอยู่ เมื่อระยะเวลาผ่านไปปริมาณกรดอินทรีย์จะลดลงเรื่อยๆ ตามอายุการเก็บรักษา (จริงแท้, 2542)

ผลการทดลองเกี่ยวกับการเกิดโรคและระดับความรุนแรงของโรค พบว่า ผลเงาะมีการเกิดโรคเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเก็บรักษา เนื่องจากเมื่อผลผลิตมีการสุกเกิดขึ้นความต้านทานต่อเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ ของเนื้อเยื่อภายในผลลดลง ทำให้จุลินทรีย์ที่ติดมากับผลเงาะที่มีอยู่ทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนมากขึ้น นอกจากนี้การเกิดโรคของผลเงาะซึ่งมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นหลังจากการเก็บรักษานั้น เนื่องจากผลเงาะเริ่มมีการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลมากขึ้น จึงเป็นแหล่งอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อโรคหรือเชื้อจุลินทรีย์ จึงทำให้มีการเน่าเสียเพิ่มมากขึ้น และนอกจากนี้ยังพบว่าวิธีการที่ใช้ในทดสอบสารสกัดในการรักษาคุณภาพเงาะ คือ การจุ่มหรือแช่ผลเงาะในสารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมและสารละลายไคโตซาน อาจทำให้เกิดความฉ่ำน้ำเพิ่มขึ้นจึงส่งผลให้ผิวได้รับความเสียหาย และเกิดการเข้าทำลายของเชื้อโรคได้ง่าย ก่อให้เกิดการเน่าเสียเพิ่มขึ้น (เบญจมาส และปรางค์ทอง, 2557) ดังนั้น ผลของการเกิดโรคในผลเงาะที่แช่ในสารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมร่วมกับไคโตซานทุกความเข้มข้นจึงไม่แตกต่างกันทางสถิติ

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาประสิทธิภาพของการใช้สารสกัดหยาบจากกิ่งและใบเคี่ยมร่วมกับสารละลายไคโตซานในการรักษาคุณภาพและการยับยั้งเชื้อก่อโรคเน่าหลังการเก็บเกี่ยว ในเงาะสายพันธุ์โรงเรียนที่ปลูกในพื้นที่อำเภอบ้านนาสาร จังหวัดสุราษฎร์ธานี สามารถสรุปผลการทดลองได้ดังนี้

5.1.1 สารสกัดหยาบจากกิ่งและใบเคี่ยมที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล พบว่า สารสกัดหยาบที่ได้จากกิ่งเคี่ยม มีลักษณะเป็นของเหลวข้นเหนียวสีน้ำตาล และสารสกัดหยาบที่ได้จากใบเคี่ยม มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีเขียวเข้มจนเกือบดำ โดยน้ำหนักของสารสกัดหยาบที่ได้จากกิ่งและใบเคี่ยมคิดเป็น 11.46 และ 10.33 % ของน้ำหนักแห้งเริ่มต้น

5.1.2 จากการแยกราก่อโรคในผลเงาะพันธุ์โรงเรียน ที่แสดงอาการโรคเน่า โดยใช้ตัวอย่างเงาะที่ปลูกในเขตอำเภอบ้านนาสาร มาแยกราสาเหตุโรคผลเน่า ด้วยวิธี tissue transplanting และเลี้ยงเชื้อให้บริสุทธิ์ที่อุณหภูมิ 25 ºC สามารถแยกราบริสุทธิ์ได้ 4 ไอโซเลต คือ *Diaporthe* sp. และ *Phomopsis* sp. 3 ไอโซเลต (*Phomopsis* sp. 1 *Phomopsis* sp. 2 และ *Phomopsis* sp. 3) ซึ่งจากการทดสอบเพื่อยืนยันการก่อโรคในผลเงาะ โดยการปลูกราที่แยกได้บนเปลือกเงาะด้วยวิธี Pathogenicity test พบว่า เชื้อราทั้ง 4 ไอโซเลตที่คัดแยกได้ เป็นราที่ทำให้เกิดโรคเน่าในผลเงาะ โดยราที่ก่อให้เกิดความรุนแรงของโรคมากที่สุด คือ *Phomopsis* sp. 3 (NS4)

5.1.3 ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากกิ่งและใบเคี่ยมในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราทั้ง 4 ไอโซเลต ที่ทดลองบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ด้วยเทคนิค Poisoned food พบว่า สารสกัดหยาบจากกิ่งและใบเคี่ยมสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของราบนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ดังนี้

จากการทดสอบการยับยั้ง *Diaporthe* sp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัดหยาบจากกิ่งและในเคี่ยม พบว่า ระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากกิ่งและใบที่สามารถยับยั้งการเจริญของโคโลนีได้ คือ ความเข้มข้น 4,000 - 8,000 µg/mL โดยประสิทธิภาพการยับยั้งจะเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลานานขึ้น และระดับความเข้มข้น 8,000 µg/mL ให้ผลการยับยั้งดีที่สุด และจากการทดสอบการยับยั้ง Phomopsis 3 ไอโซเลต (*Phomopsis* sp. 1 *Phomopsis* sp. 2 และ *Phomopsis* sp. 3 บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัดหยาบจากกิ่งและใบเคี่ยม พบว่า สารสกัดหยาบจากกิ่งและใบเคี่ยมสามารถยับยั้งการเจริญของโคโลนีราได้ในทุกระดับความเข้มข้น โดยความเข้มข้นของสารสกัดที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง *Phomopsis* sp. 1 ดีที่สุด คือ สารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมที่ความเข้มข้น 6,000 µg/mL ความเข้มข้นของสารสกัดที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง *Phomopsis* sp. 2 ดีที่สุด คือ สารสกัดหยาบจากใบเคี่ยมที่ความเข้มข้น 8,000 µg/mL และความเข้มข้นของสารสกัดที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง *Phomopsis* sp. 3 ดีที่สุด คือสารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมที่ความเข้มข้น 8,000 µg/mL

5.1.4 จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากกิ่งเคี่ยม 3 ระดับความเข้มข้นที่ดีที่สุดในการยับยั้ง *Phomopsis* sp. 3 คือ 4,000 6,000 และ 8,000 µg/mL ร่วมกับไคโตซาน 3 ระดับความเข้มข้น คือ 10, 20 และ 30 ppm ต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรคบนผลเงาะหลังการเก็บเกี่ยว สรุปได้ว่า การใช้สารสกัดจากกิ่งเคี่ยมที่ระดับความเข้มข้น 6,000 µg/mL ร่วมกับไคโตซานที่ระดับความเข้มข้น 20 ppm เป็นระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม เนื่องจากสามารถยับยั้งการเจริญของราก่อโรคเน่าสายพันธุ์ *Phomopsis* sp. 3 ได้

5.1.5 จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมร่วมกับไคโตซานต่อคุณภาพของผลเงาะหลังการเก็บเกี่ยว สรุปได้ว่า สารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมที่ระดับความเข้มข้น 6,000 µg/mL ร่วมกับไคโตซานความเข้มข้น 10 ppm มีประสิทธิภาพในการรักษาคุณภาพของเงาะได้ดีที่สุด โดยสามารถลดเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสดและชะลอการลดลงของความแน่นเนื้อของผลเงาะได้ดีที่สุด ทำให้ผลเงาะมีการเกิดสีน้ำตาลบริเวณเปลือกและขนช้าลง และชะลอการเปลี่ยนแปลงระดับของปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดและปริมาณของกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ทั้งหมด นอกจากนี้การใช้สารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยมและไคโตซาน ทำให้ผลเงาะมีความรุนแรงของการเกิดโรคลดลง

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 สารสกัดหยาบที่ได้ควรจะทำการแยกส่วน (fractionation) ด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมอีกครั้ง เพื่อจะทำให้ได้เป็นสารกึ่งบริสุทธิ์และปรากฏบริเวณยับยั้งที่สามารถแยกออกจากกันได้อย่างชัดเจน ตลอดจนควรทำการวิเคราะห์หาสารบริสุทธิ์เป็นลำดับถัดไป

5.2.2 ควรจำแนกชนิดของเชื้อราก่อโรคให้ถึงระดับชนิดของเชื้อ (species) เพื่อให้ข้อมูลมีความชัดเจนมากยิ่งขึ้น

5.2.3 ในขั้นตอนของการทดสอบสารสกัดจากกิ่งเคี่ยมร่วมกับไคโตซาน ควรเพิ่มขั้นตอนของการหยดสารก่อนการปลูกเชื้อราลงบนผลเงาะเพื่อทดสอบดูว่าสารสกัดมีการป้องกันการเกิดโรคได้โดยวิธีใด

5.2.4 ควรมีการทดสอบเปรียบเทียบอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาผลเงาะหลังการเก็บเกี่ยวโดยการใช้อุณหภูมิต่ำในการเก็บรักษาซึ่งอาจทำให้เงาะสามารถเก็บรักษาได้นานยิ่งขึ้น

บรรณานุกรม

กณิษฐา สังคะหะ, นวลวรรณ ฟ้ารุ่งสาง, อุดม ฟ้ารุ่งสาง, สมศิริ แสงโชติ และ จริงแท้ ศิริพานิช. 2536. ทดสอบแบคทีเรียแอนทาโกนิสต์ขั้นต้นในการควบคุมโรคผลเน่าของเงาะหลังการเก็บเกี่ยวที่เกิดจากรา *Colletotrichum gloeosporioides* โดยชีววิธี. รายงานผลการวิจัย สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

กิ่งชม พิชวงค์, ประธาน จิรานุวัฒนวงษ์ และ ปิยศักดิ์ประกอบแสง. 2548. การชุบเคลือบพริกด้วยไคตินไคโตซานจากเปลือกกุ้ง. https://app.enit.kku.ac.th/mis/project/project_detail.php?projectID=CHE2005-10&start=2100&proName=&proDep=&proYear= (สืบค้นเมื่อ 25 ตุลาคม 2557).

กรมวิชาการเกษตร. 2554. โรคผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว. http://www.doa.go.th/pprdo/download/text2.pdf (สืบค้นเมื่อ 25 กรกฎาคม 2558)

จิรวัฒน์ พิมพ์อักษร และ นิพนธ์ วิสารทานนท์. มปป. การทดสอบเชื้อราจากดอกเงาะพันธุ์โรงเรียนต่อการเกิดโรคผลเงาะเน่า. ภาควิชาโรคพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์: 10.

จริงแท้ ศิรพานิช. 2542. สรีรวิทยาและเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้. พิมพครั้งที่ 3. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ: 396.

จำเนียร กิ้วเส้ง, สุมาลี เลี่ยมทอง และ ศุภวรรณ พรหมเพรา. 2558. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากพืชสกุลไมร์ทาซีอี้ที่พบในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง. *วารสารวิชาการและวิจัย มทร. พระนคร ฉบับพิเศษ* 5: 320-330.

เฉลิมชัย วงษ์อารี และ ศิริชัย กัลป์ยาณรัตน์. 2555. การเก็บรักษาเงาะเพื่อการส่งออก. http://www.phtnet.org/article/view-article.asp?aID=53. (สืบค้นจากเมื่อ 20 ตุลาคม 2557).

ดุษฎี ทรัพย์บัว ผ่องเพ็ญ จิตอารีย์รัตน์ วาริช ศรีละออง และ อภิรดี อุทัยรัตนกิจ. 2553. การยืดอายุการเก็บรักษาเงาะพันธุ์โรงเรียนด้วยบรรจุภัณฑ์ชนิด Clamshell. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร* 41: 565-568.

ดวงธิดา ขุมทอง, มนตรี อิสรไกรศีล, วาริน อินทนา, หมุดตอเล็บ หนิสอ และ ประคอง เย็นจิตต์. 2548. ผลของการใช้โอโซนในการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวของเงาะ ทุเรียน และมะม่วง การสัมมนาวิชาการ วิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว/หลังการผลิตแห่งชาติ ครั้งที่ 3 ณ โรงแรมทิพย์วิมานรีสอร์ท หาดชะอำ จังหวัดเพชรบุรี วันที่ 10-11 ตุลาคม 2548.

ทัศวรรณ ศรีวะอุไร, นวลวรรณ ฟ้ารุ่งสาง, สมศิริ แสงโชติ, ชลิดา เล็กสมบูรณ์, จริงแท้ ศิริพานิช และ อุดม ฟ้ารุ่งสาง. 2547. การยับยั้งรา *Lasiodiplodia theobromae* สาเหตุโรคผลเน่า

หลังการเก็บเกี่ยวของเงาะโดยจุลินทรีย์ที่ได้จากทรงพุ่ม. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 42: 529-536.

ธารทิพย์ รัตนะ. 2559. ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากสับปะรดและมะละกอในการต่อต้านราก่อโรคแอนแทรกโนสในพริก. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 24(3): 456-468.

ธีรวุฒิ หวังอำนวยพร และ รัชนี ไสยประจง. 2550. ความสามารถในการต้านจุลินทรีย์และต้านสารอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพรไทยบางชนิด. มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย.

นฤมล มาแทน และ มนตรี อิสรไกรศีล. 2551. การควบคุมการเจริญของเชื้อราบนผิวเงาะโดยการใช้น้ำมันหอมระเหยจากอบเชยและกานพลู. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร* 39: 444-447.

นิลวรรณ ลีอังกูรเสถียร, สุชาติ วิจิตรานนท์, ปัญจพร เลิศรัตน์, ภิรมย์ ขุนจันทึก, เสริมสุข สลักเพ็ชร และ อรวินทินี ชูศรี. 2551. ศึกษาการผลิตเงาะ. ผลงานวิจัยและพัฒนา ปี 2551. กรมวิชาการเกษตร.

เบญจมาส รัตนชินกร, ศิรฏา ทิมประเสริฐ, วัชรีพร โอฬาร, กนก ประเวทย และ แกวชวง ดารินทร กำแพงเพชร อุมาภรณ สุจริตทวีสุข และยสวันต บุษปวนชิ. 2548. ผลของรังสีแกมมาต่อคุณภาพการเก็บรักษาเงาะพันธุ์โรงเรียน การสัมมนาวิชาการ วิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว/หลังการผลิตแห่งชาติ ครั้งที่ 3 วันที่ 10-11 ตุลาคม 2548.

บุญญวดี จิระวุฒิ และ สุภา อโนธารมณ์. 2552. การใช้สารในกลุ่ม GRAS ในการควบคุมโรคผลเน่าหลังการเก็บเกี่ยวของเงาะ. การประชุมวิชาการวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร ณ โรงแรมฮอลิเดย์ อินน์รีสอร์ท รีเจนท์ บีช, ชะอำ, เพชรบุรี. 28-30 มิถุนายน 2552: 80-96.

ปรางค์ทอง กวานห้องและ เบญจมาส รัตนชินกร. 2557. ผลของไคโตซานความเข้มข้นต่ำต่อคุณภาพการเก็บรักษาชมพู่พันธุ์ทองสามสี. *วารสารแก่นเกษตร* 42. 180-185.

ปุณณานี สัมภวะผล. 2554. การสกัดองค์ประกอบ คุณสมบัติบางประการ และการประยุกต์ใช้ของสารสกัดแทนนินจากวัสดุเศษเหลือของพืช. http://kb.psu.ac.th/psukb/bitstream/2010/9496/1/387779-abs.pdf (สืบค้นเมื่อ 10 ตุลาคม 2559).

ป๋วย อุ่นใจ. 2548. ไคติน-ไคโตซานสารมหัศจรรย์จากธรรมชาติ. http://update.se-ed.com/162/chitin.htm. (สืบค้นเมื่อ 11 พฤศจิกายน 2558).

พนิดา บุญฤทธิ์ธงไชย ณิชาภัทร แกวมณี มัณฑนา บัวหนอง และเฉลิมชัย วงษ์อารี. 2559. การใช้ไคโตซานที่ตัดพอลิเมอร์ด้วยรังสีก่อนการเก็บเกี่ยวเพื่อลดการเกิดโรคของผลเงาะพันธุ์โรงเรียน. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร* 47(3): 83-86.

พืชเกษตร. มปป. เงาะ(Rambutan) เงาะโรงเรียน และการปลูกเงาะ. http://puechkaset.com/%E0%B9%80%E0%B8%87%E0%B8%B2%E0%B8%B0/ (สืบค้นเมื่อ 15 กันยายน 2559).

มรกต จักร์แก้ว. 2560. เงาะ (Ranmbutan). http://reportnews.doae.go.th/fileupload/pr_form/201705311496199664.pdf (สืบค้นเมื่อ 14 พฤษภาคม 2558).

เยาวภา สุวัติถิ. 2555. ไคโตซานกับการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์. วารสารเพื่อการวิจัยและพัฒนาองค์กรเภสัชกรรม 19(4): 4-5.

รัชฎาวรรณ ปัญญา. 2552. สารเคมีในพืช. http://www.weloveshopping.com/shop/show_article.php?shopid=192244&qid=74036 (สืบค้นเมื่อ 25 สิงหาคม 2558).

รุ่งนภา อินทปิ่น. 2547. การใช้แคลเซียมคลอไรด์และไคโตซานรักษาคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของผลเงาะพันธุ์โรงเรียน *Nephelium lappaceum* L. cv. Rongrian. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วราภรณ์ สุทธิสา, ภานุวัฒน์ เทพคำราม, วัชรา กาญจนรัช และ พนิดา อริมัตสึ. 2557. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพรไทยในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum* sp. สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของมะม่วง. *วารสารแก่นเกษตร* 42: 665-670.

วาสนา พิทักษ์พล, นิธิยา รัตนาปนนท์, นัทรญา นุเสน และ สุมนา เหลืองฐิติกาญจนา. 2557. ผลของการเคลือบผิวด้วยไคโตซานต่อคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวและอายุการเก็บรักษาผลลางสาด *Naresuan Phayao Journal* 3: 84-91.

วรรณิศา ปัทมะภูษิต และ พรไพรินทร์ รุ่งเจริญทอง. 2559. ผลของไคโตซานต่อการเจริญเติบโตผลผลิตและปริมาณกรดซาลิไซลิกในพริกขี้หนู. *วารสารแก่นเกษตร* 44(1): 141-146.

สรัลนุช คำตั๋น. 2557. สำนักงานโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี “เคี่ยม”. www.rspg.or.th. (สืบค้นเมื่อ 16 กันยายน 2557).

สมัคร แก้วสุกแสง และ นพรัตน์ ทัดมาลา. 2558. การรักษาคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของเงาะพันธุ์โรงเรียนและยืดอายุการเก็บรักษาด้วยการเคลือบผิว Carboxymethyl cellulose. *วารสารแก่นเกษตร* 43: 818-822.

สาวิกา กัลปพฤกษ์, ผกายวรรณ กึกก้อง และ สิทธิ กุหลาบทอง. 2556. ไคโตซานในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. *วารสารวิชาการ Veridian E-Journal* 6: 984-993.

สายชล เกตุษา, 2538. ผลกระทบของการใช้ฟิล์มพลาสติกกรุภาชนะบรรจุและอุณหภูมิต่ำที่มีต่ออายุการเก็บรักษาและคุณภาพของผลเงาะพันธุ์โรงเรียน. *วารสารเกษตรศาสตร์* (วิทย) 2: 149-160.

สมภพ อยู่เอ, วิษณุ นิยมเหลา และ ศิริชัย กัลยาณรัตน์. 2545. ผลของ 1-Methylcycropropene (1-MCP) ต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของผลเงาะพันธุ์โรงเรียน. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร* 33(6): 32-35.

สมศิริ แสงโชติ และ อังสุมา ชยสมบัติ. 2526. โรคเน่าของผลเงาะที่เกิดจากเชื้อรา *Botryodiplodia theobromae* Pat. รายงานการประชุมทางวิชาการ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 21: 408-415.

สมศิริ แสงโชติ, อุดม ฟ้ารุ่งสาง และ นวลวรรณ ฟ้ารุ่งสาง. 2540. การเข้าทำลายของผลเงาะก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวของเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคผลเน่าและการควบคุมโรคผลเน่าภายหลังการเก็บเกี่ยว. รายงานการประชุมวชิาการครั้งที่ 35 สาขาพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ: 108-116.

สมศิริ แสงโชติ. 2554. โรคภายหลังการเก็บเกี่ยวของผักผลไม้และการจัดการ. http://www.phtnet.org/2011/06/94/ (สืบค้นเมื่อ 5 พฤษภาคม 2559).

สุธิดา คงทอง. 2552. ไคติน-ไคโตซาน. *วารสารวิชาการอุตสาหกรรมศึกษา* 3(1): 1-7.

สุวรรณี แสนทวีสุข, ดวงใจ จงตามกลาง, ทัศน์วรรณ สมจันทร์ และ ปิติพงษ์ โตบันลือภพ. 2555. ปริมาณสารฟีนอลิคทั้งหมด ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสมุนไพรบางชนิด. *วารสารแก่นเกษตร* 40(2): 480-483.

ศิริจรรยา เขาประเสริฐ, ศจี สุวรรณศรี, อมรรัตน์ พรหมบุญ และ ปุณฑริกา รัตนตรัยวงศ์. 2551. การใช้ประโยชน์ของสารสกัดจากใบหม่อนเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาปลาสลิดกึ่งแห้ง. *วารสารเกษตรนเรศวร* 11(3): 21-30.

ศุภฤกษ์ พ้นภัย และ สมชาย กล้าหาญ. 2553. อิทธิพลของสัดส่วนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกซิเจนและ ไนโตรเจนต่อคุณภาพและอายุการเก็บรักษาเงาะโรงเรียน. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร* 41: 77-80.

ศูนย์วิจัยพืชยืนต้นและไม้ผลเมืองร้อน. มปป. เงาะ (rambutan). http://natres.psu.ac.th/researchcenter/tropicalfruit/fruit/rambutan.htm (สืบค้นเมื่อ 16กันยายน 2558).

ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี. มปป. เงาะ. http://www.doa.go.th/ghrc/chantaburi/index.php?option=com_content&view=article&id=56&Itemid=67 (สืบค้นเมื่อ 16 กันยายน 2558).

อัญชุลีเลิศสงคราม และ กลุ่มวิจัยชีววิเคราะห์. 2558. การใช้ประโยชน์ของไคโตซานในการยืดอายุของอาหารและเครื่องดื่ม. *วารสารเพื่อการวิจัยและพัฒนาองค์การเภสัชกรรม* 22: 23-26.

อุดมเดชา ผลเยี่ยม. 2556. การศึกษาโครงสร้างทางเคมีจากสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากมะเดื่อ. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร: 8.

อุษณา ไตรนอก, เบ็ญจวรรณ ชุติชูเดช, ศริพิร เรียบร้อย และ ประสิทธิ์ ชุติชูเดช. 2557. ผลของไคโตซานต่อคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวและอายุการเก็บรักษาของมะม่วงพันธุ์มหาชนก. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม* 10: 196-203.

Akamine, E. K. 1960. Preventing the darkening of fresh lychees prepared for export. Hawaii Agricultural Experimental Station, University of Hawaii, *Technical Programme Report* 127: 1–17.

Alice, D. H., Giovanni, D. L. and Donald, L. 2004. The ‘double-layer tape prep': an improvement to a standard technique. *Journal of Medical Micrology*. 53: 455-455.

Chieng, P. J., Sheu, F. and Yang, F. H. 2007. Effects of edible chitosan coating on quality and shelf life of sliced mango fruit. *Journal of Food Engineering* 78: 225-229.

Chana-Thaworn, J. Chanthachum, S. and Wittaya, T. 2011. Properties and antimicrobial activity of edible films incorporated with kiam wood (*Cotyleobium lanceolatum*) extract. *LWT-Food Science and Technology* 44: 284-292.

Chanthachum, S. and Beuchat, L. R. 1997. Inhibitory effect of kiam (*cotylelobium lanceotatum* craih). Wood extract on gram-positive food borne pathogens and spoilage micro-organisms. *Food Microbiology* 14: 603-608.

Droy, B. F., Davis, M. E. and Hinton, D. E. 1989. Mechanism of allyl fornate-induced hepatotoxicity in rainbow trout. *Toxicology and Applied Pharmacology* 98: 313-324.

Farungoang, U., Farungsang, N. and Sangchote, S. 1991. Postharvest diseases of rambutan during storage at 13 or 25°C. 8yh Austral. *Plant Pathol. Soc. Congr*., Sydney, Australia (abstract).

Farungsang, U., Sangchote, S. and Farungsang, N. 1994. Rambutan postharvest diseases in Thailand. In: Johnson, G.I. and Higbley, E., ed., Development of postharvest bandling technology for tropical fruits: a workshop heldin Bangkok. TbaiJand.l6J8 July 1992. ACIAR Proceedings 58: 51-59.

Friedman, M. 2006. Antibiotic activities of plant compounds against non-resistant and antibiotic-resistant food borne human pathogens. *Advances in microbial food safety* 167-183.

Ito, T., Ali, Z., Furusawa, M., Iliya, I., Tanaka, T., Nakaya, K., Murata, J., Darnaedi, D. and Iinuma, M. 2006. Resveratrol oligomers and their O-Glucosides from *Cotylelobium Lanceolatum*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 3: 363-367.

Issara, U., Zzaman, W. and Yang, T. A. 2014. Rambutan seed fat as a potential source of cocoa butter substitute in confectionary product. *International Food Research Journal* 21(1): 25-31.

Jiang, Y. and Li, Y. 2001. Effects of chitosan coating on postharvest life and quality of longan fruit. *Food Chemistry* 73 (2): 139-143.

Joshi, K., Seneviratne, G. I. and Senanayake, S. P. 2008. Leaf flavonoid aglycone patterns in the species of Dipterocarpaceae in Sri Lanka. *Biochemical Systematics and Ecology* 32: 329-336.

Kadir, R. and Hale, M, D. 2017. Antioxidant potential and content of phenolic compounds in extracts of twelve selected Malaysian commercial wood species. *European Journal of Wood and Wood Products* 75:615–622.

Kawamura, F., Mahamud, A., Sulaiman, O. and Hashim, R. 2010. Antifungal activities of extracts from heartwood, sapwood and bark of 11 malaysian timbers against *Gloeophyllum trabeum* and *Pycnoporus sanguineus*. *Journal of Tropical Forest Science* 22: 170–174.

Knorr, D. 1982. Functional properties of chitin and chitosan. *Journal food science* 47: 593-595.

Kongprapan, T. Xu, X., Rukachaisirikul, V., Phongpaichit, S., Sakayaroj, J., Chen, J. and Shen, X. 2017. Cytosporone derivatives from the endophytic fungus *Phomopsis* sp. PSU-H188. *Phytochemistry Letters* 22: 219-223.

Landrigan, M., Morris, S. C., Eamus, D. and McGlasson, W. B. 1996. Postharvest water relationships and tissue browning of rambutan fruits. *Scientia Horticulture* 66: 201–208.

Luongo, L., Santori, A., Riccioni, L. and Belisario, A. 2011. *Phomopsis* sp. associated with post-harvest fruit rot of kiwi fruit in Italy. *Journal of Plant Pathology* 93 (1): 205-209.

Maqbool, M., Ali, A. and Alderson, P. G. 2010. Effect of cinnamon oil on the incidence of anthracnose and postharvest quality of bananas during storage. *International Journal of Agriculture & Biology* 12: 516-520.

Marie-Noelle, D. C., Hassina, R., Marc, L., Guy, S. and Max, R. 2008. Effect of citric acid and chitosan on maintaining red colouration of litchi fruit pericarp. *Postharvest Biology and Technology* 49: 241–246.

Martinez, C., Shirai K., Pelayo-Zaldivar, C., Perez-Flores, L. J. and Sepulveda-Sánchez, J. D. 2009. Effect of *Lactobacillus plantarum* and chitosan in the reduction of browning of pericarp Rambutan (*Nephelium lappaceum*). *Food Microbiol* 26: 444-9.

Matsuda, H., Asao, Y., Nakamura, S., Hamao, M., Sugimoto, S., Hongo, M., Pongpiriyadacha, Y. and Yoshikawa, M. 2009. Antidiabetogenic constituents from the Thai traditional medicine *Cotylelobium melanoxylon*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 5: 487-494.

Notsu, S., Saito, N., Kosaki, H., Inui, H. and Hirano, S. 1994. Stimulation of phenylalanine ammonia-lyase activity and lignification in rice callus treated with chitin, chitosan, and their derivatives. *Biosci. Biotechnol. Biochem* 58(3): 522-533.

Pscheidt, J. W., and Pearson, R. C. 1989. Effect of grapevine training systems and pruning practices on occurrence of Phomopsis cane and leaf spot. *Plant Disease* 73: 825-828.

Phillips, A, J, L. 2003. Morphological characterization of *Diaporthe* foeniculacea and its *Phomopsis* anamorph on Foeniculum vulgare. https://www.zobodat.at/pdf/Sydowia_55_0274-0285.pdf (สืบค้นเมื่อ 1 มกราคม 2560).

Quiroga, E. N., Sampietro, A. R. and Vattuone, M. A. 2001. Screening antifungal activities of selected medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* 74: 89–96.

Sander, P., Stevenson, K., King, M. and Coates, D. 2000. University Students' Expectations of Teaching. Studies in Higher Education 25(3): 309-323.

Scalbert, A. 1991 Antimicrobial properties tannins. *Phytochemistry* 30: 3875–3883.

Sivakumar, D., Wilson, R. S. and Wijeratnam, R. L. C. 2002. Control of postharvest diseases of rambutan using controlled atmosphere storage and potassium metabisulphite or *Trichoderma harzianum*. *Phytoparasitica* 30: 403-409.

Suchanuch, W. and Punnanee, S. 2012. Antibacterial Activity of selected plant by-products against food borne pathogenic bacteria. *International Conference on Nutrition and Food Sciences* 39: 126-130.

Tangthirasunan, N., Silar, P., Bhat, D. J., Maharachchikumbura, S. S. N. and Hyde, K. 2014. *Greeneria sprophytica sp. nov* on dead leaves of *Syzygium cumini* from Chiang rai, Thailand. *Phytotexa* 185(5): 275-282.

Wan Mohd Zain, W, Z., Ahmat, N., Norizan, N., Win, A., Takaya, Y. and Ramli, N. K. C. 2013. Phytochemical studies on resveratrol from *Dipterocarpus Crinitus* as damping off disease agent. *The Open Conference Proccedings Journal*.

Yang, W. S., Lee, B. H., Kim, S. H., Kim, H. G., Yi, Y. S., Htwe, K. M., Kim, Y. D., Yoon, K. D., Hong, S., Lee, W. S. and Cho, J. Y. 2013. *Dipterocarpus tuberculatus* ethanol extract strongly suppresses *in vitro* macrophage-mediated inflammatory responsesand *in vivo* acutegastritis. *Journal of Ethnopharmacology* 3: 873-880.

Young, D. H. and Kauss, H. 1983. Release of calcium from suspension cultured Glycine max cells by chitosan, other polycations and polyamines in relation to effects on membrane permeability. *Plant Physiol*. 73: 698-702.

Zhang, D. and Peter, C. Q. 1997. Effects of chitosan coating on enzymatic browning and decay during postharvest storage of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit. *Postharvest Biology and Technology* 12: 195–202.

ภาคผนวก

การเตรียม Stock Solution

1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อรา Potato Dextrose Agar (PDA)

ละลาย PDA 39 ในน้ำกลั่นปริมาตร 1 L นำไป autoclave ที่ 121 °C ภายใต้แรงดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นลงประมาณ 50-60 °C เทใส่จานเลี้ยงเชื้อจานละประมาณ 10 mL

2. การเตรียมสารสกัดจากเคี่ยม

ละลายสารสกัดหยาบปริมาตร 0.4 g ในตัวทำละลาย DMSO 99% ปริมาตร 1 mL จะได้สารสัดความเข้มข้น 400,000 µg/mL จากนั้นเจือจางสารละลายแบบ Serial dilution ให้ได้สารละลายที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 80,000 60,000 40,000 20,000 10,000 และ 5,000 µg/mL

ภาพที่ 1 ขั้นตอนการเตรียมสารสกัด
ที่มา : กานต์สิรี ธิมาบุตร ถ่ายเมื่อวันที่ 16 มิถุนายน 2558

ตารางที่ 1 เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีรา NS1 บนอาหาร PDA ผสมสารสกัดหยาบจากเคี่ยมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการบ่มเชื้อเป็นเวลา 5 วัน

ชุดการทดลอง		เส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)	
		วันที่ 3	วันที่ 5
ชุดควบคุม	**0**	4.67±0.50^{de}	9.00±0.00^{e}
สารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยม (µg/mL)	**500**	6.60±0.17^{h}	9.00±0.00^{e}
	1,000	5.82±0.02^{g}	9.00±0.00^{e}
	2,000	5.55±0.05^{fg}	9.00±0.00^{d}
	4,000	4.12±0.11^{bcd}	8.25±0.17^{b}
	6,000	3.57±0.02^{bc}	6.85±0.19^{a}
	8,000	3.22±0.02^{a}	5.55±0.08^{a}
สารสกัดหยาบจากใบเคี่ยม (µg/mL)	**500**	3.92±0.62^{bc}	7.47±0.23^{c}
	1,000	4.30±0.48^{cd}	5.57±1.86^{c}
	2,000	4.32±0.45^{cd}	8.25±0.14^{d}
	4,000	5.10±0.46^{ef}	7.77±0.20^{cd}
	6,000	3.67±0.27^{abc}	5.72±0.21^{a}
	8,000	3.45±0.23^{ab}	5.55±0.16^{a}

หมายเหตุ: (1) แสดงค่าเฉลี่ย ± คลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.)

(2) ทำการทดลองชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ

(3) ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยใช้ วิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ของค่าเฉลี่ย

ตารางที่ 2 เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีรา NS2 บนอาหาร PDA ผสมสารสกัดหยาบจากเคี่ยมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการบ่มเชื้อเป็นเวลา 5 วัน

ชุดการทดลอง		เส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)	
		วันที่ 3	วันที่ 5
ชุดควบคุม	0	5.02±0.39^{e}	8.85±0.15^{h}
สารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยม (µg/mL)	500	4.17±0.17^{bcd}	7.77±0.20^{fg}
	1,000	4.45±0.06^{d}	5.87±1.96^{g}
	2,000	4.27±0.09^{cd}	6.52±0.51^{d}
	4,000	3.87±0.02^{abc}	6.45±0.51^{cd}
	6,000	3.32±0.11^{a}	5.17±0.04^{a}
	8,000	3.47±0.10^{a}	5.37±0.04^{ab}
สารสกัดหยาบจากใบเคี่ยม (µg/mL)	500	4.07±0.19^{bcd}	7.57±0.35^{efg}
	1,000	4.17±0.08^{bcd}	7.57±0.16^{ef}
	2,000	5.50±0.23^{e}	9.00±0.00^{h}
	4,000	3.87±0.21^{abc}	7.10±0.21^{e}
	6,000	3.70±0.07^{ab}	6.10±0.12^{cd}
	8,000	3.50±0.11^{a}	5.90±0.16^{bc}

หมายเหตุ: (1) แสดงค่าเฉลี่ย ± คลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.)

(2) ทำการทดลองชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ

(3) ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยใช้ วิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ของค่าเฉลี่ย

ตารางที่ 3 เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีรา NS3 บนอาหาร PDA ผสมสารสกัดหยาบจากเคี่ยมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการบ่มเชื้อเป็นเวลา 7 วัน

ชุดการทดลอง		ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)		
		วันที่ 3	วันที่ 5	วันที่ 7
ชุดควบคุม	0	3.62±0.21^{b}	7.30±0.12^{e}	8.95±0.05^{e}
สารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยม (µg/mL)	500	2.37±0.11^{de}	5.15±0.81^{cd}	5.80±0.10^{c}
	1,000	2.67±0.27^{ef}	5.57±0.55^{d}	6.60±0.26^{d}
	2,000	1.92±0.16^{abcd}	4.95±1.36^{abcd}	4.90±0.55^{ab}
	4,000	1.95±0.13^{abcd}	3.55±0.86^{ab}	4.57±0.22^{a}
	6,000	1.60±0.07^{ab}	4.07±0.64^{abc}	4.36±0.66^{a}
	8,000	1.87±0.03^{abcd}	3.42±0.19^{ab}	4.42±0.75^{a}
สารสกัดหยาบจากใบเคี่ยม (µg/mL)	500	2.67±0.08^{fg}	4.62±0.18^{bcd}	6.50±0.29^{d}
	1,000	2.82±0.22^{gh}	5.40±0.30^{d}	6.76±0.29^{d}
	2,000	2.20±0.09^{cde}	5.57±1.15^{abcd}	5.07±0.53^{bc}
	4,000	2.12±0.10^{bcd}	4.05±0.09^{abc}	5.50±0.12^{bc}
	6,000	1.67±0.08^{abc}	3.37±0.07^{ab}	4.36±0.06^{a}
	8,000	1.57±0.08^{a}	3.17±0.27^{a}	4.10±0.33^{a}

หมายเหตุ: (1) แสดงค่าเฉลี่ย ± คลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.)

(2) ทำการทดลองชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ

(3) ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยใช้ วิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ของค่าเฉลี่ย

ตารางที่ 4 เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีรา NS4 บนอาหาร PDA ผสมสารสกัดหยาบจากเคี่ยมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการบ่มเชื้อเป็นเวลา 5 วัน

ชุดการทดลอง		เส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)	
		วันที่ 3	วันที่ 5
ชุดควบคุม	0	5.37±0.75^{e}	8.82±0.17^{e}
สารสกัดหยาบจากกิ่งเคี่ยม (µg/mL)	500	4.67±0.19^{d}	7.47±0.20^{d}
	1,000	4.40±0.10^{d}	6.75±0.14^{cd}
	2,000	4.12±0.04^{cd}	6.40±0.09^{c}
	4,000	3.45±0.28^{b}	5.12±0.51^{ab}
	6,000	3.60±0.09^{bc}	5.22±0.06^{ab}
	8,000	2.87±0.43^{a}	4.70±0.33^{a}
สารสกัดหยาบจากใบเคี่ยม (µg/mL)	500	4.37±0.21^{d}	7.20±0.12^{d}
	1,000	4.52±0.11^{d}	7.15±0.09^{d}
	2,000	4.40±0.13^{d}	6.92±0.16^{cd}
	4,000	3.35±0.08^{ab}	5.40±0.23^{b}
	6,000	3.25±0.05^{ab}	5.35±0.13^{b}
	8,000	3.37±0.06^{ab}	5.30±0.04^{b}

หมายเหตุ: (1) แสดงค่าเฉลี่ย ± คลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.)

(2) ทำการทดลองชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ

(3) ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยใช้ วิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ของค่าเฉลี่ย

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวกานต์สิรี ธิมาบุตร
รหัสประจำตัวนักศึกษา 5840320101
วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีการผลิตทางชีวภาพ)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2557

ทุนการศึกษา

ทุนสนับสนุนค่าธรรมเนียมการศึกษาระดับบัณฑิตศึกษาที่เน้นการศึกษาวิจัย ประจำปีการศึกษา 2558 จากมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี

ทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ ประจำปีงบประมาณ 2559 จากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

การนำเสนอผลงานทางวิชาการ

กานต์สิรี ธิมาบุตร, ธีร ศรีสวัสดิ์ และ นิตยา อัมรัตน์. การศึกษาประสิทธิภาพจากกิ่งเคี่ยมในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในการเก็บเกี่ยวผลเงาะ. การประชุมวิชาการระดับปริญญาตรีและบัณฑิตศึกษา ทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ม.อ. สุราษฎร์ธานี ณ ห้องประชุมเขาท่าเพชร ตึกสำนักงานอธิการบดี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี อำเภอเมือง จังหวัดสุราษฎร์ธานี วันที่ 18-20 สิงหาคม 2559.

กานต์สิรี ธิมาบุตร, ธีร ศรีสวัสดิ์ และ นิตยา อัมรัตน์. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากกิ่งเคี่ยม (*Cotylelobium lanceolatum* Craib.) ในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคหลังการเก็บเกี่ยวของผลเงาะ. การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 15 (พืชสวนไทย ปลอดภัย มั่งคั่ง และยั่งยืน) ณ โรงแรมลีการ์เดนส์ พลาซ่า อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 9-12 พฤศจิกายน 2559 วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ ปีที่ 3 ฉบับพิเศษ (I) หน้า 132-137 (ISSN 2351-0846).

การตีพิมพ์และเผยแพร่ผลงานวิจัย

กานต์สิรี ธิมาบุตร ธีร ศรีสวัสดิ์ และ นิตยา อัมรัตน์. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากกิ่งเคี่ยม (*Cotylelobium lanceolatum* Craib) ในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคหลังการเก็บเกี่ยวของผลเงาะ การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 15 (พืชสวนไทย ปลอดภัย มั่งคั่ง และยั่งยืน) ณ โรงแรมลีการ์เดนส์ พลาซ่า อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 9-12 พฤศจิกายน 2559 วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ ปีที่ 3 ฉบับพิเศษ (I) หน้า 132-137 (ISSN 2351-0846)