การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชวงศ์ขิงบางชนิดต่อการต้านเชื้อรา *Rhizoctonia solani* Kuhn.

Comparison of the efficacy of Rhizome extracts of some family Zingiberaceae plants for antifungal *Rhizoctonia solani* Kuhn

ภัทรภร เอื้อรักสกุล (Pataraporn Uaraksakul) *E-mail : Pataraporn.Ua@bsru.ac.th* [1]*
กิตติยา ศิลาวงศ์ (Kittiya Silawong) *E-mail : Kittiya.si@bsru.ac.th* [2]
นิลุบล สอนแก้ว (Nilubon Sornkaew) *E-mail : Nilubon.so@bsru.ac.th* [3]
[1]*สาขาวิชาชีววิทยาการแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา*
(Medical Biology Program, Faculty of Science and Technology, Bansomdejchaopraya Rajabhat University)
[2]*สาขาวิชาชีววิทยา คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา*
(Biology Program, Faculty of Education, Bansomdejchaopraya Rajabhat University)
[3]*สาขาวิชาสมุนไพรและกัญชาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา*
(Herbal and Cannabis Science Program, Faculty of Science and Technology, Bansomdejchaopraya Rajabhat University)

Corresponding Author. E-mail : Pataraporn.Ua@bsru.ac.th

(Received: 1 March 2024 ; Revised: 9 May 2024 ; Accepted: 14 May 2024)

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มุ่งเน้นการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเหง้าแห้งของพืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae) 3 ชนิด ได้แก่ ขิง (*Zingiber officinale* Roscoe.) ข่า *(Alpinia galanga* (L.) Willd.) และกระชาย *(Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf.) ที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด ได้แก่ ไดคลอโรมีเทน (CH_2Cl_2) และเมทานอล (CH_3OH) ตามลำดับ โดยนำสารสกัดมาทำการทดสอบการต้านการเจริญของรา *Rhizoctonia solani* Kuhn. เชื้อก่อโรคกาบใบแห้งในข้าว ในระดับห้องปฏิบัติการ ด้วยเทคนิคการทำให้อาหารเป็นพิษ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's Multiple Range Tests (DMRT) จำนวน 3 ซ้ำ ที่ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร (ส่วนในล้านส่วน) พบว่า สารสกัดไดคลอโรมีเทนจากข่าแสดงประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของรา *R. solani* ได้สูงสุด (86.30%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากผลการทดลองหาประสิทธิภาพของสารสกัดไดคลอโรมีเทนจากข่าที่ความเข้มข้น 200 400 600 800 1,000 และ 1,200 ส่วนในล้านส่วน ต่อการต้านการเจริญของรา *R. Solani* พบว่า สารสกัดนี้สามารถต้านเชื้อราดังกล่าว 50% (IC_{50}) ที่ระดับความเข้มข้น 583.02 ส่วนในล้านส่วน และสามารถต้านเชื้อราดังกล่าวได้ถึง 100% ที่ระดับความเข้มข้น 1,176 ส่วนในล้านส่วน จากผลการศึกษาสรุปได้ว่าสารสกัดไดคลอโรมีเทนจากข่ามีประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของรา *R. solani* เชื้อก่อโรคกาบใบแห้งในข้าว ในระดับห้องปฏิบัติการ ผลลัพธ์ที่ได้นี้สามารถเป็นแนวทางสำคัญในการพัฒนาสารป้องกันกาบใบแห้งในข้าวจากสารสกัดของพืชวงศ์ขิงในอนาคต

คำสำคัญ : ขิง ; ข่า ; กระชาย ; ต้านรา ; *Rhizoctonia solani* Kuhn.

Abstract

This research aims to compare the effectiveness of extracts from dried rhizomes of three Zingiberaceae species: ginger (*Zingiber officinale* Roscoe), galangal (*Alpinia galanga* (L.) Willd.), and fingerroot (*Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf.). Extracts were obtained using Dichloromethane (CH_2Cl_2) and Methanol (CH_3OH) as solvents and tested for their ability to inhibit the growth of *Rhizoctonia solani* Kuhn., a pathogenic fungus causing sheath blight in rice. Laboratory experiments utilized the poisoned food method and followed a Completely Randomized Design (CRD). Mean values were compared using Duncan's Multiple Range Tests (DMRT) with three replications at a concentration of 1,000 mg/L. Results showed that the Dichloromethane extract from galangal exhibited the highest inhibition (86.30%), with statistical significance ($p \leq 0.05$). Further analysis at concentrations of 200, 400, 600, 800, 1,000, and 1,200 ppm revealed an IC_{50} of 583.02 ppm and 100% inhibition at 1,176 ppm. This study suggests that the Dichloromethane extract from galangal is a promising antifungal agent against *R. solani*, with potential applications in developing treatments for sheath blight in rice.

Keywords : Ginger ; Galangal ; Fingerroot ; Antifungal ; *Rhizoctonia solani* Kuhn.

บทนำ

ประเทศไทยตั้งอยู่ในเขตร้อนชื้นแถบเส้นศูนย์สูตรของโลก ทำให้เป็นประเทศที่มีความอุดมสมบูรณ์ของพืชพรรณธรรมชาติค่อนข้างมากประเทศหนึ่งในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ รวมถึงประชากรในประเทศโดยส่วนใหญ่ประกอบอาชีพทางด้านเกษตรกรรม การปลูกพืชส่วนมากจะเป็นไปในการส่งออกและใช้บริโภคภายในประเทศ อย่างไรก็ดี ปัจจุบันผลผลิตทางการเกษตรกลับพบปัญหาในเรื่องของคุณภาพของผลผลิตและปริมาณที่ลดลง เป็นผลเนื่องจากปัจจัยทางกายภาพและชีวภาพของสภาพการเพาะปลูก โดยเฉพาะอย่างยิ่งปัญหาโรคพืชที่พบได้จากปัจจัยทางชีวภาพที่ส่งผลกับผลผลิตทางการเกษตรอย่างเห็นได้ชัด

โรคพืชเป็นสภาวะที่ต้นพืชทำงานผิดปกติจนมีผลเสียหายต่อพืช ซึ่งเกิดจากสาเหตุ 2 ประการ ได้แก่ โรคที่เกิดจากสิ่งไม่มีชีวิต คือ โรคที่ไม่ติดเชื้อ ไม่แพร่ระบาด เกิดจากสภาวะแวดล้อมผิดปกติ และโรคที่เกิดจากสิ่งมีชีวิตเรียกว่า โรคติดเชื้อสามารถแพร่ระบาดติดต่อมาสู่พืชได้ เชื้อโรคพืชมีหลายชนิดคล้ายกับโรคของคนและสัตว์ เช่น เชื้อรา เชื้อแบคทีเรีย เชื้อไวรัส เชื้อไฟโตพลาสมา และไส้เดือนฝอยซึ่งเป็นพยาธิ เชื้อโรคพืชเหล่านี้ทำให้พืชแสดงอาการหลายแบบ เช่น รากเน่า ต้นเหี่ยวตาย ใบเป็นจุด ใบไหม้ ใบด่าง ยอดเป็นพุ่มไม้กวาด หรือผลเน่าเป็นต้น (นิพนธ์ ทวีชัย, 2550) เนื่องจากประเทศแถบเขตร้อนชื้นเป็นประเทศที่มีอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์ในธรรมชาติ การเกิดของโรคพืชจากจุลินทรีย์มีความแตกต่างกันตามลักษณะการเจริญของจุลินทรีย์และการแสดงออกของพืชที่เกิดความผิดปกติจากการรุกรานของจุลินทรีย์ และการแพร่กระจายของจุลินทรีย์โรคพืชมีความรุนแรงแตกต่างกันตามสภาพแวดล้อมที่โรคและพืชเจริญอยู่ โรคพืชที่เกิดจากเชื้อรานับว่าเป็นโรคที่พบได้มากที่สุดในประเทศไทย และพบได้ทั่วทุกภาคของประเทศ เชื้อราสามารถแพร่กระจายได้อย่างรวดเร็วในหลายช่องทาง อีกทั้งความรุนแรงของรอยโรคจะสร้างความเสียหายต่อพืชที่เชื้อราอาศัยอยู่อย่างชัดเจน และส่งผลกระทบต่อคุณภาพผลผลิตให้ลดลงอย่างมาก โรคที่เกิดจากเชื้อรามีหลายชนิดและสามารถเกิดขึ้นกับพืชเศรษฐกิจได้อย่างกว้างขวาง เช่น รา *Rhizoctonia solani* Kuhn ที่เป็นราก่อโรคส่งผลกระทบต่อพืชเศรษฐกิจหลายชนิด

R. solani Kuhn เป็นราก่อโรคกาบใบแห้งในข้าว โรคเน่าคอดิน โรคใบติด เมล็ดเน่า กล้าเน่า ในพืชเศรษฐกิจ เช่น กวางตุ้ง พืชตระกูลถั่ว เป็นต้น โดยทั่วไป *R. solani* สามารถดำรงชีพอยู่ได้ 1-2 ปี ตามพื้นดิน ถ้าบริเวณนั้นมีความชื้นและอุณหภูมิที่เหมาะสม ราชนิดนี้สามารถทำลายพืชได้เกือบทุกส่วน ตั้งแต่เมล็ด ราก ลำต้น ผล และใบ ทำให้เกิดโรคต่างๆในภาคเกษตรกรรม (สิริวัฒน์ ธุวังควัฒน์, 2536) ราสายพันธุ์นี้ทำให้เกิดความเสียหายต่อพืชหลากหลายสายพันธุ์ อาทิ พริกและข้าว เป็นต้น ด้วยเหตุข้างต้นที่กล่าวมา ทำให้เกษตรกรจำเป็นต้องกำจัด ควบคุม และต้านการระบาดของเชื้อราสายพันธุ์นี้ด้วยการใช้สารเคมี อย่างไรก็ตาม เป็นที่ทราบกันดีว่าสารเคมีเหล่านั้นส่วนใหญ่นำเข้าจากต่างประเทศและมีผลต่อร่างกายเกษตรกรและผู้บริโภคทั้งในระยะสั้นและระยะยาว อีกทั้งยังส่งผลต่อการส่งออกในหลายประเทศอีกด้วย ดังนั้น นักวิจัยจึงได้พยายามศึกษาหาสารอินทรีย์จากธรรมชาติเพื่อใช้ควบคุมราและจุลินทรีย์อื่นๆ เช่น สารสกัดจากพืชที่มีภายในประเทศเพื่อใช้ในการควบคุมและกำจัดจุลินทรีย์ก่อโรคได้ จากการที่ประเทศไทยมีความหลากหลายทางชีวภาพและพันธุ์พืช จึงเป็นโอกาสที่ดีในการวิจัยหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีผลในการควบคุมเชื้อราทดสอบนี้

การพัฒนาวิธีการควบคุมโรคกาบใบแห้งในข้าวที่มีความปลอดภัยและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม โดยการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชวงศ์ขิง 3 ชนิดคือ ขิง ข่า และกระชาย ที่มีมากในภูมิภาคเขตร้อนชื้นเช่นประเทศไทยนั้น จะเป็นการเปิดโอกาสการวิจัยหาสารป้องกันที่มีราคาประหยัดและมีประสิทธิภาพสูง เพื่อช่วยลดความเสี่ยงจากการระบาดของโรคในแปลงข้าว นอกจากนี้ การนำเสนอข้อมูลเกี่ยวกับสารสกัดที่มีประสิทธิภาพจากพืชวงศ์ขิงที่สามารถใช้ในการควบคุมโรคราในข้าวจะเป็นประโยชน์ต่อนักวิจัยและผู้ประกอบการในอุตสาหกรรมการเกษตรและการผลิตข้าวทั่วโลกต่อไป

พืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae Family) เป็นพืชที่มีเหง้า มี 47 สกุล ประมาณ 1,000 ชนิด พืชวงศ์ขิงหลายชนิดมีความสำคัญในฐานะเป็นไม้ดอกไม้ประดับ บ้างก็ใช้เป็นเครื่องเทศ หรือยาสมุนไพร พืชสำคัญได้แก่ ขิง ข่า และกระชาย เป็นต้น ขิงมีสารอาหารที่มีคุณค่าต่อร่างกาย เช่น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต แคลเซียม และวิตามินเอ ขิงมีฤทธิ์อุ่น ช่วยขับเหงื่อ ไล่ความเย็น ขับลม แก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ ช่วยให้เจริญอาหาร และทำให้ร่างกายอบอุ่น ในทางยานิยมใช้ขิงแก่ เพราะขิงยิ่งแก่จะยิ่งเผ็ดร้อนและมีใยอาหารมาก นำเหง้าสดย่างไฟให้สุก ตำผสมกับน้ำปูนใสคั้นเอาแต่น้ำดื่ม หรือนำเหง้าสดหมกไฟรับประทานเมื่อมีอาการเบื่ออาหาร ในเหง้าขิงมีน้ำมันหอมระเหยอยู่ประมาณ 1-3% ขึ้นอยู่กับวิธีปลูกและช่วงการเก็บรักษา สารสกัดจากขิงประกอบด้วยสารเคมีที่สำคัญคือ ซิงจิเบอรีน (zingiberene) ซิงจิเบอรอล (zingiberol) ไบซาโบลีน (bisabolene) แคมฟีน (camphene) และมีน้ำมัน (oleo - resin) ในปริมาณสูง เป็นส่วนที่ทำให้ขิงมีกลิ่นฉุนและมีรสเผ็ด ส่วนประกอบสำคัญในน้ำมันได้แก่ จิงเจอรอล (gingerol) โชกาออล (shogaol) ซิงเจอโรน (zingerone) มีคุณสมบัติเป็นสารกัดบูด กันหืน ใช้ใส่ในน้ำมันหรือไขมัน เพื่อป้องกันการบูดหืน สารที่ทำให้ขิงมีคุณสมบัติเป็นสารกันบูด กันหืนได้ คือ สารจำพวกฟีนอลิก (Liu et al., 2019)

ข่ามีฤทธิ์ทางยา เหง้าแก่แก้ปวดท้อง จุกเสียด แน่นท้อง ดอกใช้ทาแก้กลากเกลื้อน ผลช่วยย่อยอาหาร แก้คลื่นเหียนอาเจียน ต้นแก่นำไปเคี่ยวกับน้ำมันมะพร้าว ทาแก้ปวดเมื่อย เป็นตะคริว ใบมีรสเผ็ดร้อน แก้พยาธิ สารสกัดจากข่ามีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย น้ำมันหอมระเหยจากข่ามีฤทธิ์ทำให้ไข่แมลงฝ่อ กำจัดเชื้อราบางชนิดได้ ใช้ผสมกับสะเดาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดแมลง ลดการบีบตัวของลำไส้ ขับน้ำดี ขับลม ลดการอักเสบ ยับยั้งแผลในกระเพาะอาหาร ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ฆ่าเชื้อรา และใช้รักษากลากเกลื้อน (Haginiwa et al., 1963)

กระชายมีน้ำมันหอมระเหยในเหง้า และมีสารสำคัญหลายชนิดสะสมอยู่ ซึ่งมีสรรพคุณในการดับกลิ่นคาว และเป็นสารที่มีสรรพคุณทางยาสมุนไพรหลายชนิด สารนี้คือ แคมฟีน (camphene) ทูจีน (thujene) และการบูร เมื่อรับประทานเป็นอาหารจะพบได้ในน้ำยาขนมจีน และเครื่องแกงต่าง ๆ เนื่องจากกระชายมีสารต่าง ๆ จึงมีสรรพคุณทางยาที่ช่วยในการแก้โรคต่าง ๆ ดังนี้ บำรุงกำลัง แก้แผลในปาก แก้องคชาตตาย แก้ปวดข้อ แก้วิงเวียน

แน่นหน้าอก แก้ท้องเดิน แก้แผลในปาก แก้ฝี แก้กลาก แก้บิด เป็นยาอายุวัฒนะ และในกระชายยังมีสารอาหารที่มีประโยชน์แก่ร่างกายซึ่งพบในเหง้าของกระชาย คือ แคลเซียม ฟอสฟอรัส และวิตามินต่าง ๆ (Ongwisespaiboon, O. & Jiraungkoorskul, W., 2017)

Uaraksakul & Chanprapai (2022) ได้นำเหง้ากระชายมาสกัดด้วย Soxhlet's apparatus โดยใช้ตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนและเอทานอลตามลำดับ ได้สารสกัดไดคลอโรมีเทน และสารสกัดเอทานอล นำมาทดสอบการต้านการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* โดยวิธี Poison Food Technique พบว่าสารสกัดเอทานอลของกระชายมีประสิทธิภาพในการต้านที่ดี โดยมีค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ Minimum Fungicide Concentration (MFC) ที่ 6.25 และ 50 มก./มล. ตามลำดับ

งานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเหง้าแห้งของขิง ข่า และกระชายต่อการควบคุมรา *R. solani* ในระดับห้องปฏิบัติการเพื่อเป็นแนวทางในการนำสารสกัดดังกล่าวไปประยุกต์ใช้ในการควบคุมโรคต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเหง้าแห้งของพืชวงศ์ขิง 3 ชนิด คือ ขิง (*Zingiber officinale* Roscoe., Ginger) ข่า (*Alpinia galanga* (L.) Willd., Galangal) และกระชาย (*Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. , Fingerroot) ในการป้องกันการเจริญของเชื้อรา *Rhizoctonia solani* Kuhn.

ระเบียบวิธีการวิจัย

การวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติที่ใช้

การวิเคราะห์ข้อมูลในครั้งนี้ผู้วิจัยดำเนินการวิเคราะห์ข้อมูลโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) วิเคราะห์ผลสถิติด้วย ANOVA ใช้โปรแกรม Statistical Package for the Social Science for Windows เวอร์ชั่น 22 (SPSS version 22) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย Duncan’s Multiple Ranged Tests (DMRT) โปรแกรม SPSS version 20

วิธีการทดลอง

1. การสกัดสารจากพืชตัวอย่าง

เหง้าขิง ข่า และกระชายชนิดละ 1 กิโลกรัม(kg) ถูกนำมาตัดให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ ก่อนนำไปตากในที่ร่มให้แห้ง และอบแห้งให้น้ำหนักแห้งคงที่ ก่อนทำการบด บรรจุในถุงสกัดเพื่อทำการสกัดด้วย Soxhlet’s apparatus โดยสกัดครั้งแรกด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วน้อยคือ ไดคลอโรมีเทน (CH_2Cl_2) และกรองสารสกัดเพื่อนำมาทำแห้งด้วย Rotary Vacuum Evapaorator ทำการสกัดซ้ำจนกว่าไม่มีสารสกัดแห้งออกมาอีก จากนั้นจึงนำสารที่สกัดได้ไปทำแห้ง ชั่งหาน้ำหนักแห้งของสารสกัดไดคลอโรมีเทน โดยสารสกัดดังกล่าวจะประกอบด้วยสารประกอบที่มีขั้วต่ำกว่าหรือเท่ากับตัวทำละลายที่ใช้ ในขั้นนี้คือไดคลอโรมีเทน นำส่วนกากตัวอย่างพืชที่แยกจากการสกัดครั้งที่แล้วมาทำการสกัดต่อด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วสูงขึ้นด้วยเมทานอล (CH_3OH) โดยวิธีการเดียวกัน จะได้สารสกัดเมทานอล ซึ่งประกอบด้วยสารประกอบที่มีขั้วสูงกว่าที่มีในสารสกัดไดคลอโรมีเทน (แผนภูมิที่ 1) วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วต่างกันนี้ทำให้สามารถแยกสารประกอบที่มีขั้วต่างกันได้

2. การทดสอบการต้านรา *R. solani*

รา *R. solani* จากศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพาะในจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) บ่มที่อุณภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน ก่อนนำไปใช้ในการทดสอบ

การทดสอบการต้านการเจริญของเส้นใยรา *R. solani* ด้วยวิธี Poisoned Food Technique โดยเตรียมสารละลายของสารสกัดเริ่มต้น 100,000 มิลลิกรัมต่อลิตร(mg/l) หรือ ส่วนในล้านส่วน(ppm) ด้วยการนำสารสกัดที่เตรียมได้จากข้อ 1) 0.1 กรัม(g) มาละลายในสารไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Dimethyl Sulfoxide , DMSO) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร(ml) จากนั้นนำมาเตรียมอาหาร PDA ให้มีสารสกัด 1,000 mg/l โดยแบ่งสารละลายของสารสกัดเริ่มต้นมา 0.1 ml ใส่ใน PDA ให้ได้ปริมาตรรวม 10 ml วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) จำนวนสารสกัดละ 3 ซ้ำ โดยใช้ PDA ที่ผสมสาร DMSO โดยปราศจากสารสกัดเป็นชุดควบคุม นำเส้นใยรา *R. solani* อายุ 3 วัน ที่เพาะไว้บนอาหาร PDA มาตัดให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร(cm) ด้วย cork borer โดยเลือกตัดที่บริเวณขอบโคโลนีเพื่อให้ได้เส้นใยใหม่ที่กำลังเจริญเติบโตดี ย้ายชิ้นวุ้นของเส้นใยรามาวางบนอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดแต่ละชนิด ให้ชิ้นวุ้นของเส้นใยราอยู่ตำแหน่งกลางของจานเลี้ยง จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิห้อง ระยะเวลาบันทึกผลคือเวลาที่เส้นใยเชื้อราในชุดควบคุมเจริญเต็มจานเลี้ยง บันทึกผลโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของทุกชุดการทดลองเพื่อนำมาคำนวณร้อยละการต้านการเจริญของเส้นใยราดังนี้

$$\frac{(r1 - r2)}{r1} \times 100$$

*r1 คือ ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีราบนจานเลี้ยงเชื้อชุดควบคุม
*r2 คือ ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีราบนจานเลี้ยงเชื้อของชุดทดลอง

3. การวางแผนการทดลองและการวิเคราะห์ผลทางสถิติ

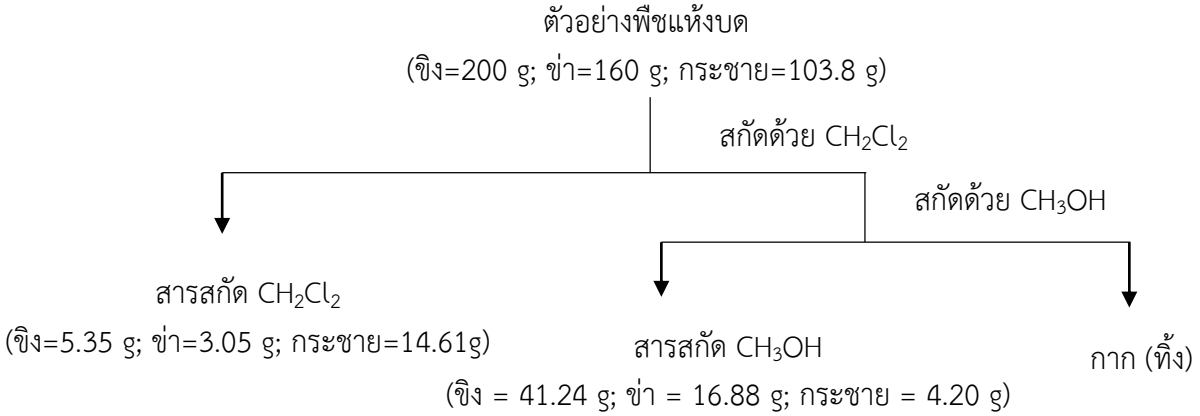
การทดลองนี้เป็นการวางแผนแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ นำค่าร้อยละการต้านการเจริญของเส้นใยรามาวิเคราะห์ผลสถิติด้วย ANOVA ใช้โปรแกรม Statistical Package for the Social Science for Windows เวอร์ชั่น 22 (SPSS version 22) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's Multiple Ranged Tests (DMRT) จากโปรแกรม SPSS version 20

ผลการวิจัย

1. ผลการสกัดสารจากพืชตัวอย่าง

เหง้าของขิง ข่า และกระชายชนิดละ 1 กิโลกรัม ถูกนำมาตัดให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ ก่อนนำไปตากในที่ร่มให้แห้งและอบแห้งให้น้ำหนักแห้งคงที่ ได้ตัวอย่างพืชน้ำหนักแห้ง 200 160 และ 103.8 กรัม ตามลำดับ ก่อนทำการบดบรรจุในถุงสกัดเพื่อทำการสกัดด้วย Soxhlet's Apparatus โดยสกัดครั้งแรกด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วน้อยคือไดคลอโรมีเทน *(CH_2Cl_2)* และกรองสารสกัดเพื่อนำมาทำแห้งด้วย Rotary Vacuum Evapaorator ทำการสกัดซ้ำจนกว่าไม่มีสารสกัดแห้งออกมาอีก จากนั้นจึงนำสารที่สกัดได้ไปทำแห้ง ชั่งหาน้ำหนักแห้งของสารสกัดไดคลอโรมีเทนก่อนนำไปศึกษาต่อไป ส่วนกากตัวอย่างพืชนำมาทำการสกัดต่อด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วสูงขึ้น ในที่นี้ใช้เมทานอล *(CH_3OH)* ด้วยวิธีการเดียวกับข้างต้นจากนั้นบันทึกผลและได้สารสกัดจากตัวอย่างพืชเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป ดังแผนภูมิที่ 1 และผลการสกัดในตารางที่ 1

แผนภูมิที่ 1 การสกัดพืชด้วยตัวทำละลาย



ตารางที่ 1 ผลการสกัด ขิง ข่า และกระชายด้วยตัวทำละลาย

พืช	น้ำหนักแห้ง (g)	ตัวทำละลาย	น้ำหนักสารสกัด (% yield)	ลักษณะสารสกัด
ขิง	200	CH_2Cl_2	2.68	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลเข้ม
		CH_3OH	20.62	ของแข็งและของเหลวแยกชั้น มีสีน้ำตาลออกดำ
ข่า	160	CH_2Cl_2	1.90	ของเหลวที่สีน้ำตาล
		CH_3OH	10.55	ของเหลวข้นสีน้ำตาลแดง
กระชาย	103.8	CH_2Cl_2	14.08	คล้ายขี้ผึ้ง สีน้ำตาลเข้ม
		CH_3OH	4.05	ของแข็งสีส้มค่อนข้างเข้ม

จากตารางที่ 1 ผลการสกัดขิง พบว่า สารสกัดไดคลอโรมีเทนมีร้อยละของน้ำหนักต่ำกว่าสารสกัดเมทานอล แสดงว่าขิงมีสารประกอบที่มีขั้วต่ำมีปริมาณมากกว่าสารประกอบที่มีขั้วสูง

ผลการสกัดข่า พบว่า สารสกัดไดคลอโรมีเทนมีร้อยละของน้ำหนักต่ำกว่าสารสกัดเมทานอล แสดงว่าข่ามีสารประกอบที่มีขั้วต่ำมีปริมาณมากกว่าสารประกอบที่มีขั้วสูง

ผลการสกัดกระชาย พบว่า สารสกัดไดคลอโรมีเทนมีร้อยละของน้ำหนักสูงกว่าสารสกัดเมทานอล แสดงว่ากระชายมีสารประกอบที่มีขั้วสูงมีปริมาณน้อยกว่าสารประกอบที่มีขั้วต่ำ

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารสกัดเมทานอล พบว่า ขิงให้ร้อยละของน้ำหนักมากกว่าข่าและกระชาย แสดงว่าขิงมีปริมาณของสารที่มีขั้วสูงมากกว่าข่าและกระชาย

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารสกัดไดคลอโรมีเทน พบว่า กระชายให้ร้อยละของน้ำหนักมากกว่าขิงและข่า แสดงว่ากระชายมีปริมาณของสารที่มีขั้วต่ำมากกว่าขิงและข่า

2. ผลการทดสอบการต้านรา *R. solani*

ผลการทดสอบการต้าน การเจริญของเส้นใยรา *R. solani* ด้วยวิธี Poisoned Food Technique บันทึกผลโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของทุกชุดการทดลอง นำมาคำนวณร้อยละการต้านการเจริญของเส้นใยราของสารสกัด นำร้อยละที่ได้มาวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยด้วยโปรแกรม SPSS version22 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย DMRT ดังแสดงผลในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพการต้านการเจริญของเส้นใยรา *R. solani* ที่ความเข้มข้นสารสกัด 1,000 mg/l

พืช	สารสกัดพืชที่ใช้ตัวทำละลายต่าง ๆ	ร้อยละการต้านการเจริญของเส้นใยรา (% mycelia growth inhibition) (% Mean±SD), *n*=3	ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ* (DMRT, $p \leq 0.05$)
ขิง	CH_2Cl_2	64.44±2.00	B
	CH_3OH	0.00	D
ข่า	CH_2Cl_2	86.30±2.25	A
	CH_3OH	0.00	D
กระชาย	CH_2Cl_2	61.48±0.32	C
	CH_3OH	60.55±2.55	C

*ตัวอักษรที่เหมือนกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยของชุดทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 05.0$) R^2=0.9987

จากตารางที่ 2 พบว่าสารสกัดไดคลอโรมีเทนของข่ามีประสิทธิภาพในการต้านรา *R. solani* มากกว่าสารสกัดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (86.30±2.25%) รองลงมาคือสารสกัดไดคลอโรมีเทนของขิง (64.44±2.00%) สารสกัดไดคลอโรมีเทนของกระชาย (61.48±0.32%) และสารสกัดเมทานอลของกระชาย (60.55±2.55%) ตามลำดับ ประสิทธิภาพการต้านการเจริญของราของสารสกัดทั้งสองของกระชายไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนสารสกัดเมทานอลของทั้งขิงและข่าไม่สามารถต้านรา *R. solani* ได้

ผลการทดสอบดังกล่าวแสดงว่าสารประกอบที่มีขั้วต่ำของขิงและข่ามีประสิทธิภาพในการต้านรา *R. solani* ในขณะที่สารประกอบที่มีขั้วสูงของขิงและข่าไม่มีประสิทธิภาพในการต้านรา *R. solani*

สารประกอบที่มีขั้วต่ำและขั้วสูงของกระชายมีประสิทธิภาพในการต้านรา *R. solani* ใกล้เคียงกัน

เนื่องจากสารสกัดไดคลอโรมีเทนของข่าแสดงประสิทธิภาพในการต้านสูงสุด จึงเลือกสารสกัดไดคลอโรมีเทนของข่าในการทดสอบต่อเพื่อหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่มีประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของราที่ 50% หรือ Inhibitory Concentration of 50% (IC_{50})

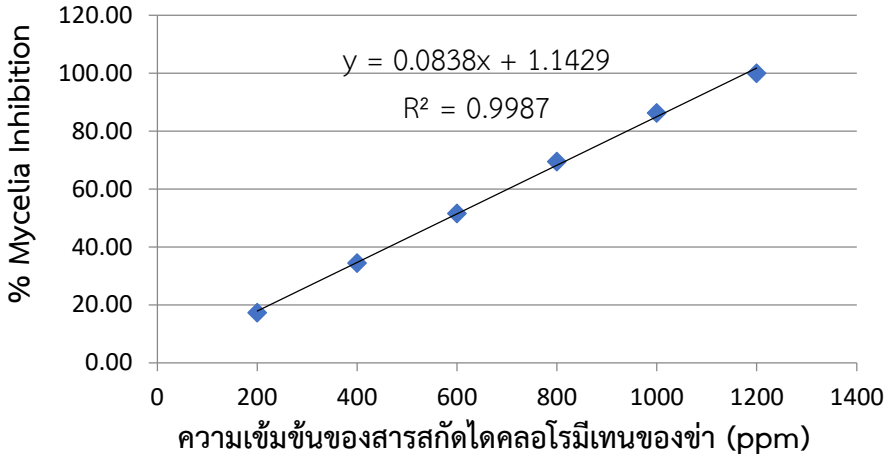
ประสิทธิภาพของสารสกัดไดคลอโรมีเทนของข่าในการต้านการเจริญของรา *R. solani* ที่ 50% จากผลการทดสอบด้วยความเข้มข้นของสารสกัดที่ 200 400 600 800 1,000 และ 1,200 ppm (mg/L) เมื่อนำผลการทดสอบที่ได้มาทำการพลอตกราฟเพื่อแสดงค่าสมการเส้นตรงได้ค่า y=0.0838x+1.1429; R^2=0.9987 นำมาคำนวณหาค่า IC_{50} ได้ค่าความเข้มข้นที่ 583.02 ppm หรือ 0.583 mg/mL ดังตารางที่ 3 และภาพที่ 1

ตารางที่ 3 การต้านการเจริญของเส้นใยรา *R. solani* ของสารสกัดไดคลอโรมีเทนของข่าที่ความเข้มข้นต่างกัน

ความเข้มข้น (ppm)	การต้านการเจริญของเส้นใยรา *R. solani*				
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย	ค่า SD
200	17.26	17.50	17.10	17.29	0.20
400	34.52	35.00	33.75	34.42	0.63
600	51.78	52.18	50.78	51.58	0.72
800	69.04	70.45	68.75	69.41	0.91
1,000	85.98	86.45	86.20	86.21	0.24
1,200	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00

(N=3)

ภาพที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยร้อยละของการต้านการเจริญของเส้นใยรา *R. solani* กับความเข้มข้นของสารสกัดของไดคลอโรมีเทนของข่า



จากภาพที่ 1 ตามค่าการคำนวณจากสมการเส้นตรงยังพบว่า ประสิทธิภาพในการต้านการเจริญเส้นใยรา *R. solani* เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดไดคลอโรมีเทนของข่าเพิ่มขึ้น และสามารถต้านการเจริญเติบโตของเส้นใยราได้อย่างสมบูรณ์ 100% ที่ความเข้มข้น 1,176 ppm

อภิปรายผล

จากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดในการต้านการเจริญของเส้นใยรา *R. solani* พบว่าสารสกัดข่าด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน สามารถต้านเชื้อราดังกล่าวได้ดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากสมมติฐานที่ว่า ถ้าสารสกัดสามารถต้านเชื้อราได้ ดังนั้น *R. solani* จะไม่เจริญหรือลดการเจริญของเส้นใยในอาหารที่มีสารสกัดละลายอยู่ จะเห็นว่า สารสกัดมีความสามารถในการต้านการเจริญของราได้ แต่มีประสิทธิภาพต่างกัน ยกเว้นสารสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล ที่ไม่สามารถต้านการเจริญได้ อาจเนื่องจากสารที่ละลายออกมาในตัวทำละลายเมทานอล เป็นกลุ่มของสารที่ไม่สามารถแสดงผลการต้านการเจริญของราทดสอบได้ สำหรับสารสกัดกระชายที่ให้ผลการต้านการเจริญของเส้นใยรา *R. solani* ไม่แตกต่างกัน ทั้งจากส่วนที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน และสกัดด้วยเมทานอล อาจเนื่องจากทั้งสองส่วนมีสารที่มีความสามารถในการต้านใกล้เคียง ซึ่งควรตรวจสอบเพิ่มด้วยเทคนิค Thin Layer Chromatography เพื่อเปรียบเทียบสารที่อยู่ในสองส่วนสกัดว่ามีความเหมือนหรือต่างกันอย่างไร ซึ่งหากไม่ต่างกันอาจเนื่องจากความผิดพลาดของขั้นตอนการแยกสกัด ควรทำการทดลองแยกซ้ำ หรือหากพบสารทั้งสองส่วนมีความต่าง ประกอบกับผลร้อยละการต้านอยู่ในระดับที่น่าสนใจ อาจนำส่วนสกัดที่ให้ผลการทดลองน่าสนใจทำการแยกให้ได้สารบริสุทธิ์ขึ้นด้วยเทคนิค Column Chromatography

งานวิจัยหลายฉบับรายงานว่าสารสกัดจากขิง ข่า สามารถใช้ในการต้านการเจริญเติบโตของราแบบ *in vitro* ทั้งที่เป็นเชื้อราที่ก่อโรคในพืชและราประเภทอื่น ๆ เช่น มีงานวิจัยพบว่าสารสกัดจากขิงโดยใช้เอทานอล 95%สกัด มีประสิทธิภาพในการต้านการเจริญเติบโตของรา *Aspergillus niger* และ *Alternaria brassicicola* ที่ความเข้มข้น 5,000 ppm (สร้อยสุดา อุตระกูล และคณะ, 2552) สารสกัดขมิ้นและข่าที่สกัดด้วยเอทานอลสามารถต้านการเจริญเติบโตของรา *Tricophyton longifusus* ได้ 65% และ 60% ตามลำดับ (อารินี ชัชวาลชลธีระ และคณะ, 2549) น้ำมันหอมระเหยของทั้ง *Cinnamomum camphora* และ *Alpinia galangal* ให้ผลในการต้านการเจริญของรา *Aspergillus flavus* และการสร้าง alflatoxin B1 ได้ดีกว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยเพียงชนิดเดียว เช่น การทดลองของ Srivastava et al.(2008) ที่พบว่าน้ำมันหอมระเหยในข่าให้ผลการต้านราที่ไม่ดี อย่างไรก็ตาม ราที่ใช้ทดสอบนั้นเป็นเชื้อราที่ก่อโรคผิวหนัง นอกจากนี้ในการทดลองใช้สารสกัดจากข่าที่สกัดด้วย

เอทานอลสามารถต้านการเจริญเติบโตของเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคผิวหนัง โดยมีค่า IC_{50} ระหว่าง 20-60 mg/mL (นพมาศ ตระการรังสี และคณะ, 2547) นอกจากสารสกัดจากขิงสกัดด้วยเอทานอลและน้ำมันหอมระเหยจากการกลั่นขิง สามารถต้านการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus niger* ได้ดีใกล้เคียงกับการใช้ยาปฏิชีวนะ streptomycin ส่วน Tripathi et al. (2004) รายงานว่าน้ำมันหอมระเหยของขิงที่ความเข้มข้น 5 g/L มีประสิทธิภาพในการต้าน *Penicillium italicum* ที่เป็นเชื้อราบนผิวพืชตระกูลส้มได้ 100%

Photree et al (2022) นำน้ำมันหอมระเหย (essential oil) ที่สกัดจากต้นผักแขยง (Rice paddy herb; *Limnophila aromatic* (Lam.) Merr) มาทดสอบฤทธิ์ต้านการเจริญของเส้นใยราก่อโรคโดยวิธี percentage of mycelial growth inhibition พบว่ามีฤทธิ์ต้านรา *Rhizoctonia solani, Bipolaris oryzae, Alternaria porri* และ *Fusarium oxysporum* ได้ดีตามลำดับ และเมื่อนำน้ำมันหอมระเหยสกัดดังกล่าวมาทดสอบฤทธิ์ต้านการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคโดยวิธี agar diffusion assay พบว่า มีฤทธิ์ต้าน *Xanthomonas oryzae pv.oryzae* และ *X. oryzae* pv. *oryzicola* เมื่อนำน้ำมันหอมระเหยสกัดจากต้นผักแขยงทำการวิเคราะห์พบมีสาร 1-limonene (47.3%) linalool (18.5%) และ (+)-trans-Mentha-2,8-diene (9.2%)

สรุปผลการทดลอง

สารสกัดจากเหง้าแห้งของพืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae) 3 ชนิด ได้แก่ ขิง *(Zingiber officinale* Roscoe.) ข่า *(Alpinia galanga* (L.) Willd.) และกระชาย *(Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf.) ที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด ได้แก่ ไดคลอโรมีเทน (CH_2Cl_2) และเมทานอล (CH_3OH) ที่ถูกนำมาทำการทดสอบการต้านการเจริญของรา *R. solani* Kuhn. เชื้อก่อโรคกาบใบแห้งในข้าว ในระดับห้องปฏิบัติการ ด้วยเทคนิคการทำให้อาหารเป็นพิษ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's Multiple Range Tests จำนวน 3 ซ้ำ ที่ความเข้มข้น 1,000 mg/L พบว่า สารสกัดไดคลอโรมีเทนจากข่าแสดงประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของรา *R. solani* ได้สูงสุด (30.86±2.25 %) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) รองลงมาคือ สารสกัดไดคลอโรมีเทนจากขิง (64.44±2.00 %) สารสกัดไดคลอโรมีเทนจากกระชาย (61.48±0.32 %) และ สารสกัดเมทานอลจากกระชาย (60.55±2.55 %) ตามลำดับ

จากผลการทดลองหาประสิทธิภาพของสารสกัดไดคลอโรมีเทนจากข่าที่ความเข้มข้น 200 400 600 800 1,000 และ 1,200 ppm (mg/L) ต่อการต้านการเจริญของรา *R. solani* พบว่า สารสกัดนี้สามารถต้านเชื้อราดังกล่าว 50% (IC_{50}) ที่ระดับความเข้มข้น 583.02 ppm และสามารถต้านเชื้อราดังกล่าวได้ถึง 100% ที่ระดับความเข้มข้น 1,176 ppm

จากผลการศึกษาสรุปได้ว่า สารสกัดไดคลอโรมีเทนจากข่ามีประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของรา *R. solani* เชื้อก่อโรคกาบใบแห้งในข้าวในระดับห้องปฏิบัติการ ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจในการนำไปศึกษาต่อเพื่อเป็นประโยชน์ต่อไป

ข้อเสนอแนะ

ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยครั้งต่อไป

1. ควรศึกษาต่อโดยนำสารสกัดไปทดสอบกับเชื้อก่อโรคอื่นเพิ่มเติม เช่น เชื้อก่อโรคทางเกษตรกรรม ปศุสัตว์ หรือทางการแพทย์เป็นต้น

2. ควรศึกษาต่อโดยทำการแยกสกัดสารออกฤทธิ์ด้วยวิธี Based on Biological Assay

กิตติกรรมประกาศ คุณความดีและประโยชน์ใดจากงานวิจัยนี้ขออุทิศให้แก่ อาจารย์ ดร.ประกรรษวัต จันทร์ประไพ (Pragatsawat Chanprapai, Ph.D.) ผู้วายชนม์

เอกสารอ้างอิง

นิพนธ์ ทวีชัย. (2550). การควบคุมโรคพืชโดยวิธีธรรมชาติ. *หนังสือเฉลิมพระเกียรติในวโรกาสมหามงคลพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวทรงเจริญพระชนมพรรษา 80 พรรษา.* กรุงเทพมหานคร : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นพมาศ ตระการรังสี, อารินี ชัชวาลชลธีระ และ วัชรี คุณกิตติ. (2547). การพัฒนาพลูครีมเพื่อใช้ในการรักษาโรคผิวหนังที่เกิดจากเชื้อราซึ่งติดต่อสู่กันระหว่างคนและสัตว์. *เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์* ครั้งที่ 42, 441-448.

สร้อยสุดา อุตระกูล และคณะ. (2552). ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากขิง *(Zingiber officinale* Roscoe) และตะไคร้ *(Cymbopogon citratus* L.) ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus niger* ในเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด และ *Altemaria brassicicola* ในเมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลี. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร,* 40(3) (พิเศษ), 313-316.

สิริวัฒน์ ธุวังควัฒน์. (2536). *การป้องกันกำจัดโรคกาบใบแห้งของข้าวหอมที่เกิดจากเชื้อรา Rhizoctonia solani Kuhn*. (วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์) คลังข้อมูลการวิจัยการเกษตรไทย https://tarr.arda.or.th/preview/item/R_2eEljxCkPB-B8N5Fre7?keyword=โรคข้าว

อารินี ชัชวาลชลธีระ, พุทธชาด ศรีโสภา, อุษา นาคสกุล, ปฏิญญา รัตนภักดี, สกุลแก้ว ยาคำ, สิรินารถ พุ่มพับ, กชกร ดิเรกศิลป์ และ กมลชัย ตรงวานิชนาม. (2549). ฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารสกัดขมิ้นชันในการต้านเชื้อ Trichophyton mentagrophytes. *วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข., 16*(3), 57-64.

Haginiwa, J., Hasada, M. & Morishita, I. (1963). Pharmacological studies on crude drugs. VII. Properties of essential oil components of aromatics and their phamacological effect on mouse intestine. *Yakugaku Zasshi*, 83:624-628

Liu, Y., Liu, J., & Zhang, Y. (2019). Research Progress on Chemical Constituents of *Zingiber officinale* Roscoe. *BioMed research international*, 5370823. https://doi.org/10.1155/2019/5370823

Ongwisespaiboon, O. & Jiraungkoorskul, W. (2017). Fingerroot, *Boesenbergia rotunda* and its Aphrodisiac Activity. *Pharmacognosy reviews*, *11*(21), 27–30.

Pholtree, K., Thongchure, S., Uaraksakul, P., Pisamayarom, & K., Chanprapai, P. (2022). The efficacy of rice paddy herb essential oil as a herbicide and antimicrobial activity against phytopathogenic bacteria and fungi. *Research Square.* https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2174507/v1

Srivastava, B., Singh, P., Shukla, R. & Dubey, N.K. (2008). A novel combination of the essential oils of *Cinnamomum camphora* and *Alpinia galanga* in checking aflatoxin B 1production by a toxigenic strain of *Aspergillus flavus*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. *24*(5), 693–697. http://dx.doi.org/10.1007/s11274-007-9526-0

Tripathi, P., Dubey, N.K., Banerji, R & Chansouria, J.P.N. (2004). Evaluation of some essential oils as botanical fungitoxicants in management of post-harvest rotting of citrus fruits. *World Journal of Microbiology and Biotechnology. 20*, 317–321. https://doi.org/10.1023/B:WIBI.0000023844.80464.59

Uaraksakul, P. & Chanprapai, P. (2022). In Vitro Antifungal Activity of *Boesenbergia rotundo* Linn. and *Syzygium aromaticum* L. Merr. and Perry Extracts against *Aspergillus flavus*. *Medical Sciences Forum*. *12*(1):8. https://doi.org/10.3390/eca2022-12687