# บทที่ 2
# แนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การวิจัยเรื่องประสิทธิภาพของสารสกัดพรอพอลิสในการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวของไม้ผล ผู้วิจัยได้รวบรวมเอกสารและงานวิจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องดังต่อไปนี้

1. โรคหลังการเก็บเกี่ยวของไม้ผล
2. การป้องกันกำจัดโรคหลังการเก็บเกี่ยว
3. พรอพอลิส คืออะไร
4. การสกัดสารสกัดหยาบจากพืช และการทำสารสกัดให้เข้มข้น
   4.1 การสกัดสารจากธรรมชาติด้วยวิธีมาเซอเรชั่น
   4.2 การเลือกตัวทำละลายที่สำคัญในการสกัดสาร
   4.3 การทำสารสกัดให้เข้มข้นด้วยวิธีการกลั่นในภาวะสุญญากาศ
5. รายงานวิจัยเกี่ยวกับพรอพอลิส

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตไม้ผลเขตร้อนที่มีศักยภาพสูงในการส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศ โดยเฉพาะจังหวัดจันทบุรีปัจจุบันเป็นแหล่งผลิตพืชเศรษฐกิจสำคัญของประเทศ เช่น เงาะ ทุเรียน ลำไย มังคุด และกล้วยไข่ นอกจากนี้ยังเป็นแหล่งผลิตมะม่วงอกร่องเสม็ดงามที่มีชื่อเสียง เนื่องจากมีรสชาติอร่อยเป็นที่นิยมของผู้บริโภค และมีราคาแพง ปัญหาสำคัญอย่างหนึ่งในการเพาะปลูกพืช คือ ความเสียหายที่เกิดขึ้นจากโรคหลังการเก็บเกี่ยว ทำให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตทั้งทางปริมาณ และคุณภาพ

## โรคหลังการเก็บเกี่ยวของไม้ผล

ปัญหาด้านโรคหลังการเก็บเกี่ยวที่สำคัญในผลไม้ ได้แก่ กล้วย เงาะ ทุเรียน มะม่วง และมังคุด พบมีรายงานความเสียหายจากโรคแอนแทรคโนส โรคผลเน่า โรคขั้วผลเน่า และโรคขั้วหวีเน่า ทำให้พืชมีอาการเป็นโรคต่าง ๆ กัน ทำให้ผลไม้มีตำหนิ เน่าเสีย ส่งผลต่อปริมาณและคุณภาพของผลผลิต ทั้งนี้มักพบมีรายงานว่ามีสาเหตุจากกลุ่มของเชื้อโรคหลายชนิดในกลุ่มเดียวกัน ดังนี้

**1. โรคแอนแทรคโนส** ลักษณะอาการในผลไม้ต่าง ๆ เช่น มะม่วง มะละกอ ส่วนใหญ่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Colletotrichum goleosporioides* อาการของโรคจะเริ่มปรากฏเมื่อผลสุก เริ่มแรกจะปรากฏอาการเป็นจุดสีน้ำตาลขนาดเล็กบนผล ต่อมาแผลจะขยายขนาดใหญ่ แผลที่อยู่ใกล้เคียงกันขยายตัวรวมกันเป็นแผลใหญ่ เนื้อเยื่อบริเวณแผลจะยุบตัวลง แผลมีสีน้ำตาลเข้มหรือสีดำ (นิพนธ์ วิสารทานนท์, 2542) โรคแอนแทรคโนสในกล้วยมีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum musae* สามารถเข้าทำลายแบบแฝงได้ตั้งแต่ผลกล้วยยังอ่อนอยู่ หรือเข้าทางบาดแผล อาการเริ่มแรกเป็นจุดสีน้ำตาลขนาดเล็ก ฉ่ำน้ำ และขยายการเข้าทำลายสู่เปลือกกล้วยด้าน ผิวเปลือกของผลกล้วยจะเป็นแผลสีน้ำตาลมีขนาดและและรูปร่างไม่แน่นอน เนื้อเยื่อยุบตัวลง บริเวณแผลสร้างกลุ่มของโคนิเดียสีส้ม ถ้ามีความชื้นสูงจะ พบเส้นใยสีขาวของเชื้อรา เมื่อผลกล้วยสุก อาการของโรคจะพัฒนาอย่างรวดเร็ว (สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร, 2557)

**2. โรคผลเน่า** โรคผลเน่าในผลไม้เกิดจากเชื้อราหลายชนิด ผลไม้ที่แสดงอาการเน่าเริ่มแรกจะแสดงอาการจุดที่ผล เมื่อผลไม้สุกอาการจุดสีน้ำตาลจะขยายโต และร่วงหล่นอย่างรวดเร็ว เมื่อมีสภาพฝนตกชุก และมีอากาศร้อนชื้น ผลที่เน่ามักจะมีเชื้อราสีขาวเจริญปกคลุมในเวลาต่อมา เชื้อราสามารถแพร่ระบาดโดยกระเซ็นจากดินเข้าทำลายช่อผลที่ใกล้ระดับดิน และแพร่ระบาดไปยังช่อผลระดับที่สูงกว่า และต้นใกล้เคียง โรคผลเน่าในทุเรียนเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* และมีรายงานว่าเกิดจากเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* ซึ่งพบว่าเป็นสาเหตุของโรคผลเน่าในไม้ผลหลายชนิด เช่น มะม่วง ลำไย มังคุด ลองกอง (สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร, 2557) ในเงาะพบรายงานว่ามีสาเหตุจากเชื้อราหลายชนิด ได้แก่ *Lasiodiplodia theobromae*, *Gliocephalotrichum* spp, *Colletotrichum gloeosporioides*,

*Pestalotiopsis* sp. และ *Phomopsis* sp. (บุญญวดี จิระวุฒิ, 2557; สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร, 2557)

**3. โรคขั้วผลเน่า** ลักษณะอาการในระยะเริ่มแรกจะทำให้ขั้วผลมีแผลสีน้ำตาลอ่อน ต่อมาแผลจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดงถึงสีน้ำตาลดำ และเจริญลุกลามอย่างไม่มีขอบเขต ทำให้ผลเน่าและน่วมอย่างรวดเร็ว บางครั้งพบน้ำเยิ้มออกจากบาดแผลเนื่องจากเชื้อราสร้างเอนไซม์ที่สามารถย่อยผนังเซลล์ได้ โรคขั้วผลเน่าสามารถเกิดจากเชื้อราได้หลายชนิด เช่น *Lasiodiplodia theobromae, Dothiorella dominicana และ Phomopsis mangiferae* (นิพนธ์ วิสารทานนท์, 2542) ในมะม่วงพบมีรายงานว่ามีสาเหตุจากเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae*, *Dothiorella* sp. ในมะละกอพบมีรายงานว่ามีสาเหตุจากเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae*, *Phomopsis* sp. (สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร, 2557)

**4. โรคขั้วหวีเน่า** ลักษณะอาการเริ่มแรกจะเกิดอาการเน่าดำที่ขั้วหวี โดยเริ่มจากจุด หรือบริเวณรอยตัดที่ขั้วหวี การเน่าเป็นไปอย่างรวดเร็วเมื่อกล้วยสุก อาจลุกลามไปยังก้านผล ทำให้ก้านผลเน่าดำ และผลกล้วยหลุดร่วง โรคขั้วหวีเน่าของกล้วยมีรายงานว่ามีสาเหตุเกิดจากเชื้อราหลายชนิด ได้แก่ *Cephalosporium* sp., *Acremonium* sp., *Verticillium theobromae, Fusarium semitect, Colletotrichum musae*, *Chalara paradoxa* (*Ceratocystis paradoxa*) และ *Lasiodiplodia theobromae* (*Botryodiplodia theobromae*) (นิพนธ์ วิสารทานนท์, 2542) อย่างไรก็ตามจากการศึกษาของ พิกุล นุชนวลรัตน์ (2559) ได้รายงานการศึกษาโรคขั้วหวีเน่าของกล้วยไข่ในจังหวัดและจันทบุรีในปี พ.ศ. 2554 – 2555 พบว่ามีสาเหตุจากเชื้อรา คือ *Lasiodiplodia theobromae, Fusarium* sp. และ *Colletotrichum musae* และราทั้งสามชนิดล้วนเป็นปัญหาสำคัญในการส่งออก

## การป้องกันกำจัดโรคหลังการเก็บเกี่ยว

การป้องกันกำจัดโรคพืชโดยทั่วไป ควรทำการป้องกันองค์ประกอบในการเกิดโรคพืช ซึ่งประกอบด้วย พืชอาศัย (host) เชื้อจุลินทรีย์ (pathogen) และสภาพแวดล้อม (environment) เช่น การจัดการสภาพแวดล้อมในแปลงปลูกเพื่อไม่ให้เหมาะสมต่อการเกิดโรค แต่ให้มีความเหมาะสมกับความต้องการของพืช การทำให้พืชมีความแข็งแรง มีกลไกการป้องกันตัวเองได้ดีทั้งทางกายภาพและทางเคมี โอกาสที่จะเกิดโรค หรือได้รับความเสียหายจากโรคก็มีน้อย นอกจากนี้แนวทางหนึ่งในการควบคุมโรคพืช คือการใช้สารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้ง หรือกำจัดเชื้อสาเหตุโรค เช่น การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช ซึ่งเป็นวิธีการที่เกษตรกรนิยมใช้ในการควบคุมโรคพืช

ปัจจุบันเกษตรกร และผู้ส่งออกนิยมใช้สารเคมีประเภทดูดซึม เช่น โพรคลอราช (prochloraz) คาร์เบนดาซิม (carbendazim) หรือ เบนโนมิล (benomyl) ความเข้มข้น 500 ppm

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย

ประมาณ 1 นาที ในการจุ่มผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว ก่อนบรรจุลงกล่อง ซึ่งมีผลเสีย คือการตกค้างของสารเคมีในเปลือก และผล ซึ่งทำให้เกิดพิษต่อผู้บริโภค ทำให้ประเทศคู่ค้ากีดกันทางการค้า โดยอ้างเหตุผลของสารพิษตกค้าง นอกจากนี้กระแสตื่นตัวในการรักษาสุขภาพของคนไทย และชาวต่างชาติมีสูงขึ้น ผู้บริโภคระมัดระวังที่จะบริโภคอาหารปลอดภัยมากขึ้น ทำให้การใช้สารเคมีชนิดดูดซึมมีแนวโน้มลดลง

## พรอพอลิส คืออะไร

พรอพอลิส (propolis) หรือกาวผึ้ง (bee glue) เป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากผึ้ง และชันโรง ภาณุวรรณ จันทวรรณกูร และคนอื่น ๆ (ม.ป.ป.) กล่าวว่า พรอพอลิสเป็นสารเหนียว หรือ ยางเหนียว ๆ ซึ่งผึ้งเก็บมาจากพืชอาจจะเป็นสารหลั่งจากพืช หรือตามรอยแยกจากเปลือกของต้นไม้ จะมีลักษณะแข็ง เมื่ออุณหภูมิต่ำ และเหนียวขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ผึ้งจะใช้เพื่อใช้ปิดรอยโหว่ของรังเลี้ยง และห่อหุ้มศัตรูที่ถูกผึ้งฆ่าตายในรังผึ้ง แต่ไม่สามารถนำออกไปทิ้งนอกรังได้ เพื่อไม่ให้เกิดการเน่าเหม็นในรังผึ้ง พรอพอลิสเป็นที่นิยมในการเก็บจากผึ้งพันธุ์ และชันโรง ส่วนผึ้งโพรงไม่สร้าง หรือเก็บพรอพอลิส ส่วนประกอบทางเคมีของพรอพอลิสเป็นโครงสร้างที่ซับซ้อน ขึ้นอยู่กับแหล่งพืช เนื่องจากในหนึ่งชนิดของพืชอาจจะกอบด้วยสารมากกว่าหนึ่งร้อยชนิด รวมทั้งสารฟลาโวนอยด์ (flavonoid) ประมาณ 40 ชนิด องค์ประกอบทางเคมีของพรอพอลิสโดยทั่วไปจะประกอบด้วยเรซินประมาณร้อยละ 50 ไขร้อยละ 10 น้ำมันหอมระเหยร้อยละ 5 ละอองเกสรร้อยละ 5 และส่วนประกอบอื่น ๆ รวมทั้งสิ่งเจือปนที่เป็นขยะอีกเล็กน้อย (ศิริวรรณ อธิคมกุลชัย, 2551)

การที่พรอพอลิสฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์นั้น มีรายงานว่าเกิดจากสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ กรดอะมิโนแอซิตหอม และเอสเทอร์ในยางจากต้นไม้ Aga, H. et al. (1994) รายงานผลการแยก และจำแนกสารออกฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์จากพรอพอลิสในบราซิล ผลการศึกษาพบว่ามีสารสำคัญ 3 ชนิด คือ สาร 3, 5-diprenyl 4-hydroxycinnamic acid (1), สาร 3-prenyl-4-dihydrocinnamoloxycinnamic acid (2), และ สาร 2, 2-dimethyl-6-carboxyethenyl-2H-l-benzopyran (3) ที่มีผลยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus*, *Enterobacter aerogene* และ *Arthroderma benhamiae* ต่อมา Meneses, E.A. et al. (2009) รายงานผลการศึกษาสารสกัดจากพรอพอลิสจากประเทศโคลัมเบียในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคก่อน และหลังการเก็บเกี่ยวของพืชเศรษฐกิจที่สำคัญได้แก่ *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะละกอ และมะม่วง และ *Botryodiplodia theobromae* สาเหตุโรคในอะโวกาโด และรายงานผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารออกฤทธิ์ พบว่ามีสารสำคัญ 3 ชนิด คือ สาร labdane-type diterpenes: isocupressic acid (1), (+)-agathadiol (2) และ epi-13-torulosol (3) เป็นองค์ประกอบหลัก

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

**การสกัดสารสกัดหยาบจากพืช และการทำสารสกัดให้เข้มข้น**

วัตถุประสงค์ของการสกัด คือ เพื่อสกัดแยกสารสำคัญ และเพื่อให้ได้สารสกัดที่มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น หลังจากที่ทำการเตรียมตัวอย่างแล้วควรเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมกับชนิดของสารสกัดที่ต้องการสกัด โดยตัวทำละลายควรมีความสามารถในการละลายสารสำคัญมากที่สุดและไม่ละลายหรือละลายองค์ประกอบอื่นได้น้อย (มี selectivity สูง) เนื่องจากสารสำคัญส่วนใหญ่เป็นสารประกอบอินทรีย์ ดังนั้นควรพิจารณาถึงสภาพหรือรูปแบบของสารที่ต้องการสกัดนอกเหนือจากความมีขั้วของสารดังกล่าว

**4.1 การสกัดสารจากธรรมชาติด้วยวิธีมาเซอเรชั่น**

มาเซอเรชั่น (maceration) เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญจากพืช โดยการหมักสมุนไพรกับน้ำยาสกัดจนกระทั่งเนื้อเยื่อของสมุนไพรอ่อนนุ่ม และน้ำยาสกัดสามารถแทรกซึม เข้าไปละลายองค์ประกอบภายในผงสมุนไพรออกมาได้ การหมักสมุนไพรควรทำในภาชนะที่มีฝาปิดสนิทในน้ำยาสกัดที่เหมาะสม จะทำเป็นเวลานาน 7 วัน หรือตามกำหนดในตำรับ หรือจนกระทั่งองค์ประกอบที่ต้องการละลายออกมาหมด ในระหว่างที่หมักผงสมุนไพรนั้นควรเขย่า หรือคนเป็นครั้งคราว เพื่อเพิ่มอัตราเร็วของการสกัด เมื่อครบกำหนดเวลาจึงกรองแยกกากออกจากน้ำยาสกัด วิธีการสกัดนี้เหมาะสมกับพืชสมุนไพรที่มีโครงสร้างเนื้อเยื่อไม่แข็งแรงมากนัก เช่น ใบ ดอก ซึ่งทำให้อ่อนนุ่มได้ง่าย จัดเป็นวิธีที่ใช้น้ำยาสกัดน้อย จึงประหยัด และเนื่องจากเป็นวิธีที่ไม่ได้ใช้ความร้อน จึงเหมาะสมกับสารสกัดที่ไม่ทนความร้อน แต่วิธีการสกัดนี้มักจะไม่สมบูรณ์ เนื่องจากไม่ค่อยมีการเคลื่อนที่ของน้ำยาสกัด เมื่อสารในสมุนไพรละลายออกมาถึงระดับหนึ่งจะเกิดความสมดุลขององค์ประกอบภายในสมุนไพรและน้ำยาสกัดที่ใช้ ทำให้อัตราเร็วของการสกัดชะงักลง จึงไม่เหมาะสม ที่จะใช้สกัดในกรณีที่ต้องการสกัดสารสำคัญจากสมุนไพรจนสมบูรณ์ (รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2547)

**4.2 การเลือกตัวทำละลายที่สำคัญในการสกัดสาร**

ในการเลือกตัวทำละลายมีหลักการโดยทั่วไปว่า ถ้าสารสำคัญมีคุณสมบัติเป็นสารที่มีขั้วก็ควรเลือกตัวทำละลายที่มีขั้วเช่นเดียวกันในการสกัด อีกทั้งตัวทำละลายที่ใช้จะต้องมีความคงตัวดี หาง่าย มีราคาถูก ไม่เป็นพิษต่อร่างกาย และไม่ระเหยง่าย หรือ ยากเกินไป รัตนา อินทรานุปกรณ์ (2547) ได้กล่าวถึงเอทิลแอลกอฮอล์ว่ามีคุณสมบัติเป็นตัวทำละลายที่ดีมากเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำ กล่าวคือ มีความจำเพาะในการละลายมากกว่าน้ำ เนื่องจากสามารถละลายองค์ประกอบที่ต้องการออกมาได้มากกว่า มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และหากต้องการให้สารสกัดเข้มข้นขึ้นจะระเหยได้ง่าย แต่จะมีราคาแพงกว่าน้ำ ส่วนเมทิลแอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารที่มีขั้วเช่นเดียวกับเอทิลแอลกอฮอล์ แต่จะนิยมใช้เอทิลแอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารมากกว่า เพราะราคาถูกกว่า และเป็นพิษน้อยกว่า

**4.3 การทำสารสกัดให้เข้มข้นด้วยวิธีการกลั่นในภาวะสุญญากาศ**

โดยปกติสารสกัดอย่างหยาบที่สกัดได้จะมีปริมาตรมาก และเจือจาง เพื่อให้ทราบระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในการศึกษาการควบคุมโรคพืช จึงควรนำสารสกัดมาทำให้เข้มข้นก่อน (concentration) ซึ่งการทำให้สารสกัดเข้มข้นขึ้นด้วยวิธีการกลั่นในภาวะสุญญากาศ (distillation in vacuum) จัดเป็นวิธีที่นิยมมากที่สุด เป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากน้ำยาสกัดโดยการกลั่นที่อุณหภูมิต่ำ พร้อมทั้งลดความดันลงให้เกือบเป็นสุญญากาศ (vacuum pump) เครื่องมือนี้เรียกว่าเครื่องระเหยสุญญากาศ (rotary evaporator) (รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2547)

## งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ชามา อินชอน และสาวิตรี มาไลยพันธุ์ (2549) รายงานผลการศึกษาความหลากหลายของชนิดชันโรง (Apidae: *Trigona* spp. และ *Hypotrigona* spp.) และพฤติกรรมการเก็บยางไม้ของชันโรงจากธรรมชาติ ในโครงการทองผาภูมิ 72 พรรษามหาราช อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี ทำการทดลองระหว่างเดือนเมษายน 2547 ถึงเดือนมีนาคม 2548 ผลการศึกษาพบชันโรงจำนวน 2 สกุล (*Trigona* spp. และ *Hypotrigona* spp.) มีจำนวน 16 สปีชีส์ ได้แก่ *Trigona apicalis* Smith, *T. melanoleuca* Cockerell, *T. atripes* Smith, *T. canifrons* Smith, *T. thoracica* Smith, *T. terminata* Smith, *T. ventralis* Smith, *T. flavibasis* Cockerell, *T. iridipennis* variety 1, *T. iridipennis* variety 2, *T. iridipennis* variety 3, *T. iridipennis* variety 4, *Hypotrigona scintillans*, *H. pendleburyi* และ *H. klossi* ความหลากหลายของชันโรงชนิด *Trigona* spp. และพฤติกรรมการเก็บเรซิน (resin) และยาง (gum) เกือบทั้งหมดขึ้นอยู่กับปัจจัยด้านสภาพแวดล้อม โดยพบว่าชันโรงชอบเก็บเรซิน และยางจากพืชใน 16 วงศ์ เช่น Anacardiceae, Dipterocarpaceae, Euphobiaceae, Hypericaceae, Meliaceae และ Moraceae ในฤดูฝนผึ้งงานจะเก็บเรซิน และยางตลอดทั้งวัน แต่ในฤดูแล้งจะเก็บในช่วงบ่ายจนเย็นของแต่ละวัน ส่วนชันโรงชนิด *T. apicalis* จะเก็บเรซิน และยางเพื่อสร้างพรอพอลิสที่มีขนาดใหญ่กว่าชันโรงชนิดอื่น สารสกัดพรอพอลิสจากโครงสร้างรังสามารถยับยั้งเชื้อรา *Cladosporium cladosporioides* และ *Sclerotium rolfsii* ที่เป็นสาเหตุโรคพืชได้

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

Yusuf, Durdane & Servet (2005) รายงานการศึกษา antifungal activity ของพรอพอลิสจากประเทศตุรกีต่อเชื้อรา *Phytophthora* spp. สาเหตุโรคพืช โดยการสกัดสารสกัดจากพรอพอลิสด้วยตัวทำละลายเมทานอล แล้วทดสอบผลยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora infestans, P. capsici* และ *P. parasitica* ในสภาพห้องทดลอง ทำการทดลองโดยผสมสารสกัดจากพรอพอลิสที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน 10 ระดับ คือ 10, 7, 5, 3, 1, 0.1, 0.07, 0.05, 0.03 และ 0.01 μg/ml บนอาหาร corn meal agar medium (CMA) โดยมีชุดควบคุม คือ Acetone 4% และ

Metalaxyl 1.8 mg/ml ผลการทดลองพบว่าสารสกัดพรอพอลิสที่ระดับความเข้มข้น 10, 7, 5 และ 3 μg/ml มีผลยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราทั้ง 3 ชนิดได้สมบูรณ์

Meneses, E.A. et al. (2009) รายงานผลการศึกษาสารสกัดจากพรอพอลิสจากประเทศโคลัมเบียในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคก่อน และหลังการเก็บเกี่ยวของพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ ได้แก่ เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะละกอ และมะม่วง และเชื้อรา *Botryodiplodia theobromae* สาเหตุโรคในอะโวกาโด ทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารออกฤทธิ์ในสารสกัดพรอพอลิส โดยทำการสกัดสารออกฤทธิ์ด้วยตัวทำละลายแตกต่างกัน คือ เฮกเซนร่วมกับเมทานอล (*n*-hexane/methanol, EPEM), ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane), เอทิลอะซีเตท (ethyl acetate) และเมทานอล (methanol) ผลการทดลองพบว่าพรอพอลิสที่สกัดด้วยตัวทำละลาย EPEM และไดคลอโรมีเทนมีผลยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราบนอาหารทดลอง ส่วนผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีพบสารสำคัญ 3 ชนิด คือ labdane-type diterpenes: isocupressic acid (1), (+)-agathadiol (2) และ epi-13-torulosol (3) เป็นองค์ประกอบหลัก

Ali, Cheong & Zahid (2014) รายงานผลการศึกษาสารสกัดพรอพอลิส และกัมอะราบิก (gum arabic) ต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลมะละกอที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และการควบคุมคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวในประเทศมาเลเซีย ทำการทดลองโดยการจุ่มผลมะละกอในสารสกัดพรอพอลิสที่สกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ (EEP) ที่ระดับความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 1.5% เพียงอย่างเดียว หรือใช้ร่วมกับ GA ที่ระดับความเข้มข้น 10% แล้วเก็บรักษาผลมะละกอที่อุณหภูมิ 13±1 องศาเซลเซียส ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 80-90% เป็นเวลา 28 วัน ผลการทดลองพบว่า การจุ่มผลของมะละกอด้วยสารสกัด EEP ความเข้มข้น 1.5% แสดงผลการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* มากที่สุดเท่ากับ 87 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดพรอพอลิสมีผลช่วยชลอการเกิดโรคแอนแทรคโนสบนผลมะละกอ และช่วยรักษาคุณภาพของผลมะละกอได้ การใช้สารสกัดพรอพอลิสความเข้มข้น 1.5% ร่วมกับกัมอะราบิกความเข้มข้น 10% เป็นสารเคลือบผิวมะละกอ มีผลร่วมในการเสริมประสิทธิภาพในลดการเกิดโรคแอนแทรคโนส และรักษาคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของมะละกอได้ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

Guginski-Piva, C.A., et al. (2014) รายงานผลการศึกษาพรอพอลิสจากประเทศบราซิล ในการควบคุมโรคราแป้ง และการชักนำสาร phytoalexins ในแตงกวา โดยทดสอบสารสกัดพรอพอลิสที่สกัดด้วยเอทอลแอลกอฮอลล์ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กันในการยับยั้งเชื้อรา *Podosphaera fuliginea* สาเหตุโรคราแป้งของแตงกวา และศักยภาพในการชักนำแตงกวาให้เกิดความต้านทานโรคราแป้ง โดยทำการทดลองในกระถางในสภาพเรือนทดลอง วางแผนการทดลองแบบ 6x3 factorial in CRD (completely randomized experimental design) ประกอบด้วยสารสกัดพรอพอลิสที่สกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 70% อัตราส่วนพรอพอลิส 30 % : เอทิลแอลกอฮอล์ 70% บรรจุในขวดแก้ว

ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง ทำการเขย่าทุกวันเป็นเวลา 2 เดือน จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง นำมาปรับระดับความเข้มข้นแตกต่างกันเป็น 6 ระดับ ได้แก่ 0, 0.5, 1, 2, 4 และ 8% เพื่อใช้ความควบคุมโรคราแป้งบนแตงกวาที่เวลาแตกต่างกัน 3 ระยะ ได้แก่ 24 ชั่วโมงก่อนปลูกเชื้อ, 24 ชั่วโมงหลังปลูกเชื้อ และเมื่อพบอาการของโรค ทำการประเมินการเกิดโรค (disease incidence) และความรุนแรงของโรค (disease severity) ทุกสัปดาห์ ทำการทดลอง 2 ครั้ง ผลการทดลองพบว่าสารสกัดพรอพอลิสที่ระดับความเข้มข้น 8% ช่วยลดการเกิดโรคได้ เมื่อใช้ 24 ชั่วโมงก่อนการปลูกเชื้อ โดยลดความรุนแรงของโรค 31.33 และ 43.68 เปอร์เซ็นต์ ในการทดลองครั้งที่ 1 และ 2 ตามลำดับ และพบว่าเมื่อใช้สารสกัดพรอพอลิสจากเอทิลแอลกอฮอล์ที่ระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้น สามารถชักนำให้แตงกวามีระดับของสาร phytoalexin สูงขึ้น ผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า การใช้สารสกัดพรอพอลิสที่สกัดจากเอทิลแอลกอฮอล์ที่ระดับความเข้มข้น 8% มีศักยภาพในการป้องกันโรคราแป้งในแตงกวา

Moghim, H. et al. (2015) ทำการศึกษาเปรียบเทียบคุณสมบัติยับยั้งเชื้อราของสารสกัดจากพรอพอลิสในอิหร่านและนมผึ้ง (royal jelly) ต่อเชื้อรา *Rhizopus oryzae และ Candida albicans* สาเหตุโรคในคน เตรียมสารสกัดพรอพอลิสด้วยเอทิลแอลกฮอล์ความเข้มข้น 80% ในอัตราส่วน 1: 1 ทำการสกัดด้วยวิธีเพอร์โคเลชัน (percolation) แล้วทำการระเหยแอลกอฮอล์ออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (rotary vacuum evaporator) ส่วนนมผึ้งซื้อสำเร็จมา ทำการทดลองบนอาหารทดลองในสภาพห้องปฏิบัติการ หลังทำการทดลองพบว่า minimum inhibitory concentration (MIC) และ minimum fungicidal concentration (MFC) ของสารสกัดพรอพอลิสต่อเชื้อรา *Rhizopus oryzae* เท่ากับ 0.1 และ 0.25 mg/ml ตามลำดับ และ MFC ของนมผึ้งต่อ *Rhizopus oryzae* เท่ากับ 100±34 และ 133±46 mg/ml ตามลำดับ

Barrera, E. et al. (2015) ทำการศึกษาการใช้ไคโตซานและสารสกัดพรอพอลิสเป็นสารเคลือบผิวผลมะละกอ (*Carica papaya* L. cv. Hawaiiana) ในประเทศโคลัมเบีย ระยะหลังการเก็บเกี่ยว หลังทำการเคลือบผิวมะละกอด้วยไคโตซานความเข้มข้น 1% ที่มีสารสกัดพรอพอลิสความเข้มข้น 5% แล้วเก็บรักษาอุณหภูมิห้อง (25±3 องศาเซลเซียส) และมีความชื้นสัมพัทธ์ 65-70% เป็นเวลา 8 หรือ 9 วัน ผลการทดลองพบว่า ผลมะละกอมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผลที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ลดลง เมื่อเปรียบเทียบการเคลือบผิวด้วยไคโตซาน 1% เพียงอย่างเดียว และเลื่อนวันการปรากฏอาการของโรคออกไปได้นาน 2 วัน โดยไม่มีผลต่อคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะละกอระหว่างการเก็บรักษา

Haghdoost, N.S. et al. (2016) ทำการศึกษา antifungal activity ของพรอพอลิสในประเทศอิหร่านต่อการสร้าง germ tube ซึ่งมีผลต่อความรุนแรงของโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Candida albicans* สาเหตุโรคในมนุษย์ โดยทำการสกัดสารสกัดพรอพอลิสด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ แล้วทำการศึกษาสารประกอบหลักด้วย GC/MS (gas chromatography-mass spectrometry)

ทำการตรวจสอบค่า minimal inhibitory concentration (MIC) และค่า minimal fungicidal concentration (MFC) ของสารสกัดด้วยวิธี Broth microdilution method ผลการทดลองพบว่าในสารสกัดพรอพอลิสประกอบด้วย phenolic compounds, aromatic acids, aliphatic acids, sugars และ polycyclic aromatic hydrocarbons เป็นส่วนประกอบหลัก ค่าเฉลี่ยของ MIC และ MFC ของสารสกัดพรอพอลิสต่อเชื้อรา *C. albicans* เท่ากับ 360.6 μg/mL และ 1250.1 μg/mL ตามลำดับ เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของสารสกัดพรอพอลิสพบว่ามีผลลดการสร้าง germ tube ของเชื้อราได้สูงขึ้น ซึ่งมีผลลดระดับความรุนแรงของโรคได้

Marino, A.K. et al. (2018) รายงานผลการศึกษาการใช้ไคโตซานร่วมกับพรอพอลิสในการยับยั้ง *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของอะโวกาโดในประเทศบราซิล ผลการทดลองผสมไคโตซาน และพรอพอลิสเดี่ยว ๆ และใช้ร่วมกันบนอาหารทดลอง มีผลยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* ในสภาพห้องปฏิบัติการ การจุ่มผลอะโวกาโดเป็นเวลา 1 นาทีในสารสะลายที่ประกอบด้วยไคโตซานความเข้มข้น 1.5% ร่วมกับพรอพอลิสความเข้มข้น 1.0, 1.5 และ 2.0% ก่อนการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* หลังการเก็บรักษาผลอะโวกาโดที่อุณหภูมิ 22 ± 0.3 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 90 ± 3% เป็นเวลา 7 วัน ผลการทดลองพบว่า การจุ่มผลอะโวกาโดในไคโตซานความเข้มข้น 1.5% เพียงอย่างเดียวมีผลลดความรุนแรงของโรค ลดการเกิดโรคแอนแทรคโนส และรักษาคุณภาพของอะโวกาโดหลังการเก็บรักษาได้ดีกว่าการใช้ร่วมกับพรอพอลิส

Diba, Mahmoodi & Hashemi (2018) ทำการศึกษาผลของสารสกัดพรอพอลิสที่สกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ในการควบคุมเชื้อ *Candida* sp. และ *Aspergillus* spp. ในอิหร่าน โดยทำการสกัดสารสกัดหยาบจากพรอพอลิสด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 96% โดยนำพรอพอลิส 10 กรัม แช่แอลกอฮอล์ 100 ml บดส่วนผสมด้วย homogenizer จำนวน 2 ครั้งต่อวัน ทำจำนวน 3 วัน แล้วเก็บรักษาในที่มืดอุณหภูมิประมาณ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 สัปดาห์ ทำการกรองและศึกษาผลการยับยั้งเชื้อราในการทดลองที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กันในอาหารเหลว พบว่าสารสกัดพรอพอลิสความเข้มข้น 0.25 g/dl แสดงผลการยับยั้ง และฆ่าเชื้อราในการทดลองได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ผลการศึกษาในเชื้อรา *Candida* sp. พบว่าที่ระดับความเข้มข้นที่ลดลงมาได้แก่ 0.0312 และ 0.0625 g/dl ไม่มีผลยับยั้ง และฆ่าเชื้อรา *Candida* sp. ส่วนผลการศึกษาในเชื้อรา *Aspergillus* spp. พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.0312 g/dl มีผลยับยั้ง และฆ่าเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* และที่ระดับความเข้มข้น 0.125 g/dl มีผลยับยั้ง และฆ่าเชื้อรา *Aspergillus niger*

Ezazi & Davari (2019) รายงานผลการศึกษา antifungal activity ของสารสกัดพรอพอลิสที่สกัดด้วยเอทานอลต่อเชื้อราสาเหตุโรคหลังการเก็บเกี่ยวในอิหร่านในสภาพห้องปฏิบัติการ ทำการศึกษาเชื้อรา 4 ชนิดได้แก่ *Aspergillus flavus* สาเหตุโรค pistachio yellow rot, *Botrytis*

*cinerea*, *Aspergillus tubingensis* และ *Cladosporium cladosporioides* สาเหตุโรคผลเน่าขององุ่น ทำการทดลองบนอาหาร PDA (potato dextrose agar) ที่ผสมสารสกัดพรอพอลิสความเข้มข้น 50, 100, 250, 500 และ 1,000 µg/ml ผลการทดลองพบว่า สารสกัดพรอพอลิสมีผลยับยั้งเชื้อราแต่ละชนิดแตกต่างกัน เมื่อใช้ในระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้นจะมีผลยับยั้งเชื้อราได้สูงขึ้น สารสกัดพรอพอลิสที่ระดับความเข้มข้น 1,000 µg/ml มีผลยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *A. tubingensis* และ *C. cladosporioides* มากที่สุดเท่ากับ 80.88 และ 79.11 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

วชิราภรณ์ ฟูนัน และกนกวรรณ นพคุณ (2564) รายงานผลการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารสกัดพรอพอลิสจากชันโรง *Tetragonula pagdeni* (Schwarz) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* sp. สาเหตุโรคเน่าราเขียวในส้มเขียวหวาน โดยทำการศึกษาประสิทธิภาพของตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ อะซิโตน เอทานอล และเมทานอล ในการสกัดพรอพอลิสจากรังชันโรงในสวนผลไม้ อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี และศึกษาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม คือ 1, 2.5 และ 5% ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย ผลการทดสอบพบว่า สารสกัดพรอพอลิสเมทานอล (PME) ที่ความเข้มข้น 2.5% มีผลยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Penicillium* sp.ได้มากที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งเท่ากับ 65.80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยรวมความเข้มข้นของสารสกัดพรอพอลิสที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดพรอพอลิสมีค่าสูงขึ้น ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเขียวในส้มมีแนวโน้มสูงขึ้น โดยค่าเฉลี่ยรวมการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสูงสุดอยู่ที่ความเข้มข้น 5% ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับความเข้มข้น 2.5 และ 1% ที่มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งเท่ากับ 60.18, 55.77 และ 55.35 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

งานวิจัยเกี่ยวกับพรอพอลิสในประเทศไทยนั้นยังมีจำนวนน้อยมาก โดยเฉพาะงานวิจัยเกี่ยวกับการใช้พรอพอลิสในการควบคุมโรคพืช จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการศึกษาพรอพอลิสจากประเทศไทย เนื่องจากพบมีรายงานว่าองคประกอบทางเคมี และความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของพรอพอลิสในแต่ละพื้นที่นั้นมีความแตกต่างกันตามสภาพภูมิประเทศ ภูมิอากาศ และพืชพรรณ (Bankova, V. et al.,1998) ทั้งนี้เพราะว่าชันโรงสร้างพรอพอลิสโดยเก็บยางของต้นไม้และนำมาผสมหรือเปลี่ยนแปลงยางไม้ให้เป็นพรอพอลิส เนื่องจากจังหวัดจันทบุรีมีความหลากหลายของพรรณพืช มีการส่งเสริมการเลี้ยงผึ้ง และชันโรงในสวนผลไม้ อาจมีความเป็นไปได้ว่า พรอพอลิสจากอำเภอที่ต่างกันของจังหวัดจันทบุรี อาจมีองค์ประกอบทางเคมี และสรรพคุณในการป้องกันกำจัดโรคพืชแตกต่างกัน