

การใช้สะดวกไทยในการควบคุมเชื้อรา  
ที่ก่อให้เกิดโรคในพืช



นายวัฒน์ เชื้อน้อย  
นายอุเทน เพ็ชรรัตน์

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต  
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2541

ปพ.  
ว ๖๑๗ ก

๒๕๔๑

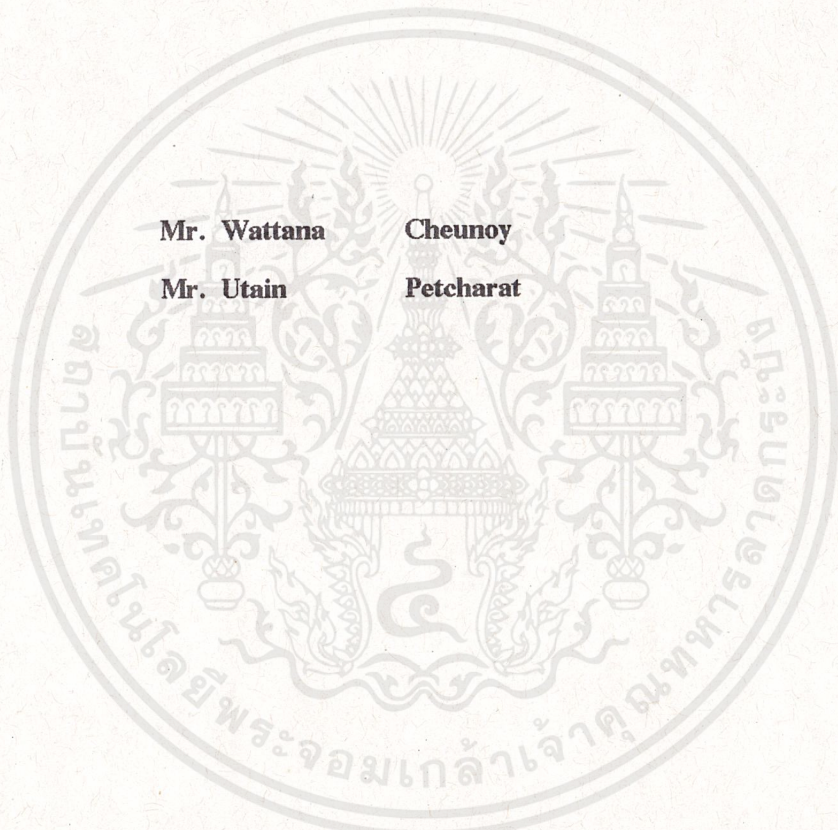
เลขหมู่.....

เลขทะเบียน..... 33524

วัน, เดือน, ปี 13 ส.ค. 2542

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# **Control of Plant Pathogenic Fungi by Thai Neem**



**Mr. Wattana Cheunoy**  
**Mr. Utain Petcharat**

**A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement**

**for the Degree of Bachelor of Science**

**Department of Applied Biology**

**Faculty of Science**


**King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang**

**1998**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ      การใช้ตะไคร่ไทยในการควบคุมเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคในพืช  
โดย                              นายวิณะ              เชื้อน้อย  
                                         นายอุเทน              เพ็ชรรัตน์  
ภาควิชา                              ชีววิทยาประยุกต์  
อาจารย์ที่ปรึกษา              รศ. ดร. คุขณี      ธนะบริพัฒน์

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
อนุมัติให้โครงการฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต


  
.....  
(รศ. ดร. พรรณี จูตาภิชาติ)

หัวหน้าภาควิชาชีววิทยาประยุกต์


คณะกรรมการสอบโครงการพิเศษ

  
.....  
(ผศ. เนาวรัตน์ ปานเยี่ยม)

ประธานกรรมการ

  
.....  
(ผศ. อรไท สุขเจริญ)

กรรมการ

  
.....  
(รศ. ดร. คุขณี ธนะบริพัฒน์)

กรรมการ

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การใช้สะเดาไทยในการควบคุมเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคในพืช	
นักศึกษา	นายวัฒนะ	เชื่อน้อย
	นายอุเทน	เพชรรัตน์
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ. ดร. คุณณี	ธนะบริพัฒน์
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์	
ปีการศึกษา	2541	

#### บทคัดย่อ

สารสกัดจากก้านและใบของสะเดาผสมในอาหาร PDA ที่มีความเข้มข้นเป็น 20,000 40,000 60,000 80,000 และ 100,000 พีพีเอ็ม นำมาเปรียบเทียบและศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา 3 ชนิด คือ *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* และ *Helminthosporium oryzae* จากการวัดขนาดของโคโลนีทุกวันเป็นเวลา 7 วัน พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากใบสะเดาที่เหมาะสมต่อการยับยั้งการเจริญของ *A. flavus* คือ 60,000 พีพีเอ็ม และ *A. parasiticus* คือ 20,000 พีพีเอ็ม ส่วน *H. oryzae* จะถูกยับยั้งที่ 40,000 พีพีเอ็ม และระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากก้านของสะเดาที่ 20,000 พีพีเอ็มจะสามารถยับยั้งการเจริญของ *A. flavus* ได้ดีที่สุด ส่วน *A. parasiticus* จะถูกยับยั้งได้มากที่สุดที่ 40,000 พีพีเอ็ม และ *H. oryzae* ที่ 40,000 พีพีเอ็ม

<b>Special Project Title</b>	Control of Plant Pathogenic Fungi by Thai Neem
<b>Name</b>	Mr. Wattana Cheunoy Mr. Utain Petcharat
<b>Special Project Advisor</b>	Assoc. Prof. Dr. Dusanee Thanaboripat
<b>Department</b>	Applied Biology
<b>Academic</b>	1998

#### Abstracts

Neem tree components, leaf and branch extracts, were incorporated into potato dextrose agar at concentrations of 20,000 , 40,000 , 60,000 , 80,000 and 100,000 ppm. to control aflatoxigenic and plant pathogenic fungi *Aspergillus flavus* , *Aspergillus parasiticus* and *Helminthosporium oryzae*. The fungal colonies were measured everyday for 7 days. The result showed that the neem leaf extract at concentration of 60,000 20,000 and 40,000 ppm. were suitable for reducing the growth of *A. flavus* , *A. parasiticus* and *H. oryzae* , respectively.

The neem branch extract at concentration of 20,000 40,000 40,000 ppm. were appropriated for reducing the growth of *A. flavus* , *A. parasiticus* and the *H. oryzae* , respectively.

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดีด้วยความอนุเคราะห์จาก รศ. ดร. คุณณี ณะบริพัฒน์ ผู้เป็นอาจารย์ที่ปรึกษา และเป็นผู้ชี้แนะแนวทางในการทำโครงการพิเศษ และอาจารย์ทุกท่านที่ให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ต่อโครงการพิเศษนี้ รวมถึงประธานกรรมการสอบและคณะกรรมการสอบโครงการพิเศษ ซึ่งทางคณะผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้ด้วย

อนึ่งคณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณ คุณวิทยา เขียวเงิน คุณพยอม เกียรติกำจร และคุณประเสริฐวิทย์ แพงคำ ซึ่งเป็นเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ เจ้าหน้าที่ธุรการ รวมทั้งพี่ปริญาโท เพื่อน ๆ นักศึกษา รุ่นน้องภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ และมีผู้อุปการะคุณที่มีอาการอ่อนแอไว้ครบถ้วนอีกหลายท่านที่ได้ช่วยเหลือ ทั้งกำลังกาย กำลังใจ กำลังความคิด ซึ่งส่งผลให้โครงการพิเศษนี้ดำเนินไปได้อย่างราบรื่น และสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

คณะผู้จัดทำ

มีนาคม 2542

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญรูป	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	
-วัตถุประสงค์	1
-ขอบเขตของโครงการพิเศษ	2
-ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ตรวจสอบเอกสาร	
2.1 สะเดา( Neem )	3
2.2 ประโยชน์ของสะเดา	8
2.3 เคมีของสะเดา	12
2.4 ลักษณะทั่วไปของเชื้อรา <i>Aspergillus</i>	15
2.5 ลักษณะทั่วไปของเชื้อรา <i>Helminthosporium oryzae</i>	17
บทที่ 3 ขั้นตอนการดำเนินงาน	19
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผล	25
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	52
เอกสารอ้างอิง	54
ภาคผนวก ก	57
ภาคผนวก ข	59
ภาคผนวก ค	61
ภาคผนวก ง	63

## สารบัญตาราง

	หน้า	
ตารางที่ 2.1	เปรียบเทียบลักษณะของใบสะเดาไทยและสะเดาอินเดีย	5
ตารางที่ 2.2	แสดงคุณสมบัติของเนื้อไม้สะเดาเปรียบเทียบกับไม้สัก	8
ตารางที่ 2.3	ส่วนประกอบทางเคมีของใบสะเดาสด	9
ตารางที่ 2.4	แสดงส่วนประกอบของใบสะเดาแห้ง	10
ตารางที่ 2.5	ส่วนประกอบทางเคมีของกากสะเดาที่เหลือจากการสกัดน้ำมันด้วยไอน้ำ	11
ตารางที่ 2.6	ส่วนประกอบทางเคมีของน้ำมันสะเดา	11
ตารางที่ 4.1	ตารางแสดงผลการเจริญของเชื้อ <i>Aspergillus parasiticus</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดจากส่วนก้านของสะเดา	26
ตารางที่ 4.2	ตารางแสดงผลการเจริญของเชื้อ <i>Aspergillus flavus</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดจากส่วนก้านของสะเดา	27
ตารางที่ 4.3	ตารางแสดงผลการเจริญของเชื้อ <i>Helminthosporium oryzae</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดจากส่วนก้านของสะเดา	28
ตารางที่ 4.4	แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของก้านสะเดาที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ <i>Aspergillus parasiticus</i>	29
ตารางที่ 4.5	ตารางวิเคราะห์ความแตกต่างของระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของก้านสะเดาที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ <i>Aspergillus parasiticus</i>	30
ตารางที่ 4.6	แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของก้านสะเดาที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ <i>Aspergillus flavus</i>	31
ตารางที่ 4.7	ตารางวิเคราะห์ความแตกต่างของระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของก้านสะเดาที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ <i>Aspergillus flavus</i>	32
ตารางที่ 4.8	แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของก้านสะเดาที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ <i>Helminthosporium oryzae</i>	32
ตารางที่ 4.9	ตารางวิเคราะห์ความแตกต่างของระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของก้านสะเดาที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ <i>Helminthosporium oryzae</i>	33
ตารางที่ 4.10	ตารางแสดงผลการเจริญของเชื้อ <i>Aspergillus parasiticus</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดจากส่วนใบของสะเดา	35
ตารางที่ 4.11	ตารางแสดงผลการเจริญของเชื้อ <i>Aspergillus flavus</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดจากส่วนใบของสะเดา	36
ตารางที่ 4.12	ตารางแสดงผลการเจริญของเชื้อ <i>Helminthosporium oryzae</i> บนอาหารเลี้ยง	

เอกสารนี้เป็นเอกสารเพื่อ PDA ที่ผสมสารสกัดจากส่วนใบของสะเดา ไม่นอสมุดให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการศึกษา

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.13 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ ไบสะเดาที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญ ของ <i>Aspergillus parasiticus</i>	38
ตารางที่ 4.14 ตารางวิเคราะห์ความแตกต่างของระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของไบสะเดาที่มี ผลต่อการยับยั้งการเจริญของ <i>Aspergillus parasiticus</i>	39
ตารางที่ 4.15 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ ไบสะเดาที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญ ของ <i>Aspergillus flavus</i>	40
ตารางที่ 4.16 ตารางวิเคราะห์ความแตกต่างของระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของไบสะเดาที่มี ผลต่อการยับยั้งการเจริญของ <i>Aspergillus flavus</i>	41
ตารางที่ 4.17 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ ไบสะเดาที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญ ของ <i>Helminthosporium oryzae</i>	42
ตารางที่ 4.18 ตารางวิเคราะห์ความแตกต่างของระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของไบสะเดาที่มี ผลต่อการยับยั้งการเจริญของ <i>Helminthosporium oryzae</i>	43
ตารางที่ 4.19 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ได้จากส่วนใบของสะเดาที่ความยาว คลื่น 670 นาโนเมตร	44
ตารางที่ 4.20 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ได้จากส่วนก้านของสะเดาที่ความยาว คลื่น 670 นาโนเมตร	46
ตารางที่ ง-1 ตารางแสดงผลการเจริญของเชื้อ <i>Aspergillus flavus</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดจากส่วนใบของสะเดา	63
ตารางที่ ง-2 ตารางแสดงผลการเจริญของเชื้อ <i>Aspergillus parasiticus</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดจากส่วนใบของสะเดา	65
ตารางที่ ง-3 ตารางแสดงผลการเจริญของเชื้อ <i>Helminthosporium oryzae</i> บนอาหารเลี้ยง เชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดจากส่วนใบของสะเดา	67
ตารางที่ ง-4 ตารางแสดงผลการเจริญของเชื้อ <i>Aspergillus flavus</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดจากส่วนก้านของสะเดา	69
ตารางที่ ง-5 ตารางแสดงผลการเจริญของเชื้อ <i>Aspergillus parasiticus</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดจากส่วนก้านของสะเดา	71
ตารางที่ ง-6 ตารางแสดงผลการเจริญของเชื้อ <i>Helminthosporium oryzae</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดจากส่วนก้านของสะเดา	73

## สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 2.1 วิธีการวิเคราะห์ห่ออะฟลาทอกซิน ชนิด B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> และ G <sub>2</sub>	17
รูปที่ 3.1 แสดงเชื้อราที่ใช้ในการทดลองทั้ง 3 ชนิด	22
รูปที่ 3.2 ส่วนใบและก้านของสะเดาที่ผ่านการปั่นละเอียด	23
รูปที่ 3.3 สารสกัดจากส่วนก้านของสะเดาผสมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ	23
รูปที่ 3.4 สารสกัดจากส่วนใบของสะเดาผสมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ	24
รูปที่ 4.1 กราฟแสดงอิทธิพลของก้านสะเดาที่มีผลต่อ <i>Aspergillus parasiticus</i>	26
รูปที่ 4.2 กราฟแสดงอิทธิพลของก้านสะเดาที่มีผลต่อ <i>Aspergillus flavus</i>	27
รูปที่ 4.3 กราฟแสดงอิทธิพลของก้านสะเดาที่มีผลต่อ <i>Helminthosporium oryzae</i>	28
รูปที่ 4.4 กราฟแสดงอิทธิพลของใบสะเดาที่มีผลต่อ <i>Aspergillus parasiticus</i>	35
รูปที่ 4.5 กราฟแสดงอิทธิพลของใบสะเดาที่มีผลต่อ <i>Aspergillus flavus</i>	36
รูปที่ 4.6 กราฟแสดงอิทธิพลของใบสะเดาที่มีผลต่อ <i>Helminthosporium oryzae</i>	37
รูปที่ 4.7 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายจากส่วนใบของสะเดาที่ความยาวคลื่น 670 นาโนเมตร	45
รูปที่ 4.8 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายจากส่วนก้านของสะเดาที่ความยาวคลื่น 670 นาโนเมตร	47
รูปที่ 4.9 แสดงผลการเจริญของเชื้อ <i>Aspergillus flavus</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดจากส่วนใบของสะเดาที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ	49
รูปที่ 4.10 แสดงผลการเจริญของเชื้อ <i>Aspergillus flavus</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดจากส่วนก้านของสะเดาที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ	49
รูปที่ 4.11 แสดงผลการเจริญของเชื้อ <i>Aspergillus parasiticus</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดจากส่วนก้านของสะเดาที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ	50
รูปที่ 4.12 แสดงผลการเจริญของเชื้อ <i>Helminthosporium oryzae</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดจากส่วนใบของสะเดาที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ	50
รูปที่ 4.13 แสดงผลการเจริญของเชื้อ <i>Helminthosporium oryzae</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดจากส่วนก้านของสะเดาที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ	51
รูปที่ ค-1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดจากส่วนใบของสะเดา	61
รูปที่ ค-2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดจากส่วนก้านของสะเดา	62

## บทที่ 1

### บทนำ

การควบคุมและการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในพืช ( Plant pathogenic microorganisms) โดยใช้สารเคมีนั้นเป็นวิธีดั้งเดิมที่ใช้กันมาเป็นเวลานานแล้ว ซึ่งวิธีนี้มีข้อดีคือ สะดวก รวดเร็วและใช้ในการควบคุมและยับยั้งได้กว้าง ข้อเสียคือ มีสารเคมีตกค้างในผลิตภัณฑ์ดังกล่าว ทำให้เกิดการสะสมในดินและแหล่งน้ำ ซึ่งสารเคมีเหล่านี้ไม่สามารถถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ได้ และสะสมอยู่ในสภาพแวดล้อมได้นานหลายปีโดยไม่เปลี่ยนแปลงไป ซึ่งส่วนใหญ่เป็นสารอินทรีย์คลอรีน (Chlorine organic) ตัวอย่างเช่น DDT ( 4,4'-Dichlorodiphenyltrichloroethane) เป็นสารที่มีอันตรายถ้าใช้อย่างไม่ระมัดระวัง (Potapov and Tartainchik,1979) ซึ่งเป็นปัญหาที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในปัจจุบัน เพราะมนุษย์อาจได้รับสารเหล่านั้นได้โดยการถ่ายทอดจากการบริโภคผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เหล่านี้ ในการหลีกเลี่ยงปัญหาดังกล่าวนี้ปัจจุบันจึงมีการศึกษาการใช้วิธีควบคุมและยับยั้งโดยทางชีวภาพ (Biocontrol) เช่นการใช้สารอีเอ็ม (Effective microorganisms;EM) ซึ่งประกอบด้วยจุลินทรีย์หลายชนิด (ขวัญชัย , 2539)หรือโดยใช้พืชสมุนไพรเป็นตัวควบคุม เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม ดังนั้นจึงเป็นการง่ายในการเลือกพืชสมุนไพรต่าง ๆ มาใช้เป็นตัวควบคุมและยับยั้ง ตัวอย่างของพืชสมุนไพรตัวหนึ่งที่น่าสนใจมากคือ สะเดา (Neem) ดังนั้นในการศึกษารุ่นนี้จึงเป็นการศึกษาถึงการนำสะเดาไทย (Thai neem) มาใช้ยับยั้งเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคในพืช ซึ่งสะเดามีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคในพืช เชื้อราที่สร้างสารพิษ แบคทีเรีย รวมไปถึงยีสต์ (*Candida albicans*) และไวรัส (Ketker และคณะ,1990) วิธีนี้ผู้บริโภคจะได้รับความปลอดภัยในการบริโภคมากขึ้นและไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมอันสืบเนื่องมาจากการที่มีสารพิษตกค้างอยู่ในดินหรือปนเปื้อนลงสู่แม่น้ำลำคลอง

#### 1.1 วัตถุประสงค์

- 1) เพื่อนำสารสกัดจากสะเดามาใช้ในการควบคุมเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคในพืชและเชื้อราที่สร้างสารพิษได้
- 2) ศึกษาระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เหมาะสมของสารสกัดจากสะเดา ที่สามารถยับยั้งและควบคุมเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคในพืชและเชื้อราที่สร้างสารพิษได้

## 1.2 ขอบเขตของโครงการพิเศษ

ศึกษาการสกัดส่วนของสะเดา เช่น ใบ ก้าน เป็นต้น และระดับความเข้มข้นต่างๆที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคในพืชและสร้างสารพิษจำพวก *Aspergillus flavus* , *Aspergillus parasiticus* และ *Helminthosporium oryzae*

## 1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) ลดปริมาณสารเคมีที่ใช้ในการกำจัดโรคพืช โดยใช้สะเดาซึ่งจะไม่ก่อให้เกิดสารตกค้างที่มีผลทำให้เกิดอันตรายได้
- 2) เป็นการนำสะเดามาใช้ให้เกิดประโยชน์ได้กว้างขึ้น
- 3) เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการศึกษาระดับสูงต่อไป
- 4) ได้ทักษะในการวางแผนการทดลองตลอดจนประสบการณ์ในการแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นในระหว่างการทดลอง

## บทที่ 2

### การตรวจเอกสาร

#### 2.1 สะเดา (Neem)

สะเดาเป็นพืชยืนต้นขนาดกลางอยู่ในตระกูลเดียวกับมะฮอกกานี (Mahogany) จัดอยู่ในแฟมิลี *Meliaceae* (Zeringue and Bhatnagar, 1994) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Azadirachta indica* A. Juss (ชื่อเดิมว่า *Melia azadirachta* L.) พบเริ่มแรกในแถบแห้งแล้ง ในแอฟริกา และพบอีกหลายประเทศในทวีปเอเชียรวมไปถึงบริเวณเส้นศูนย์สูตรที่มีอากาศร้อนชื้น (Lewis and Elven-Lewis, 1983) พันธุ์ไม้สกุลสะเดาในประเทศไทย พบว่ามี 2 ชนิดคือ สะเดาอินเดีย (Neem tree) หรือควินิน (Quinine) (*Azadirachta indica* A. Juss) และสะเดาไทย (Thai neem) (*A. indica* var. *siamensis* Valeton) และยังมีพันธุ์ไม้อีกชนิดหนึ่งที่พบทางภาคใต้ มีลักษณะใกล้เคียงกับสะเดาไทย ชาวบ้านนิยมใช้ใบอ่อนเป็นอาหาร มีผู้เข้าใจผิดคิดว่าเป็นต้นสะเดา จึงเรียกว่า “สะเดาช้าง” หรือคนพื้นเมืองเรียกว่า “เทียม” มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Azadirachta excelsa* (Jack) Jacobs (*Melia excelsa*, *A. integrifolia*) (ขวัญชัย, 2540)

Linnaeus เป็นผู้ที่ตั้งชื่อสะเดาเป็นคนแรก ใน พ.ศ. 2296 มีชื่อว่า *Melia azadirachta* ต่อมาใน พ.ศ. 2373 Antonine Laurent de Jussien ได้เปลี่ยนชื่อเป็น *Azadirachta indica* และใช้กันอยู่ทุกวันนี้ ชื่อ genus *Azadirachta* มาจากภาษาเปอร์เซียว่า Azal-darakht-I-hindi แปลว่า ต้นไม้ที่ไม่มีแมลงทำลายของอินเดีย (free tree of India) (Ketker, 1990)

Valeton ได้จัดสะเดาไทยเป็น variety หนึ่งของสะเดาอินเดีย มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *A. indica* var. *siamensis* คนไทยเรียกชื่อแตกต่างกันในภาคต่าง ๆ เช่นภาคกลางเรียกว่าสะเดา ภาคเหนือชื่อสะเลียม และภาคใต้เรียกว่าสะเดาหรือกะเดา สะเดาไทยมีอยู่ 2 ชนิดคือ ชนิดยอดเขียว และชนิดยอดแดง สะเดายอดเขียวจะมีความขมของใบน้อยกว่าสะเดายอดแดง สะเดายอดเขียวบางต้นมีความขมน้อยมาก บางครั้งชาวบ้านเรียกว่า สะเดามันหรือสะเดาหวาน (ขวัญชัย, 2540)

#### ความแตกต่างระหว่างสะเดาอินเดียและสะเดาไทย

สะเดาอินเดียและสะเดาไทยมีลักษณะคล้ายคลึงกันมาก ผู้ที่ไม่คุ้นเคยอาจไม่สามารถแยกความแตกต่างของสะเดาทั้งสองชนิดได้ อย่างไรก็ตามสะเดาทั้งสองชนิดมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกแตกต่างอย่างชัดเจน นักวิทยาศาสตร์บางท่านได้จัดสะเดาไทยเป็นสปีชีส์หนึ่งต่างหากคือ *Azadirachta siamensis* (Sombatsiri และคณะ, 1995)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สะเดาอินเดียและสะเดาไทยมีลักษณะบางอย่างที่เหมือนกันและบางลักษณะที่แตกต่างกัน บ่อยครั้งที่เด็วที่ต้องใช้ลักษณะมากกว่า 1 อย่าง ในการตัดสินใจแยกความแตกต่างระหว่างสะเดาอินเดียและสะเดาไทย ลักษณะเปรียบเทียบสะเดาไทยและสะเดาอินเดียได้แสดงไว้ในตารางที่ 2.1

### **ถิ่นกำเนิดและเขตแพร่กระจาย (Lewis and Elvin-Lewis , 1983)**

ถิ่นหรือแหล่งกำเนิดของสะเดา (สะเดาอินเดีย) มีผู้เข้าใจว่าน่าจะเป็นแคว้นอัสสัม และพม่าตอนเหนือ แต่ไม่มีหลักฐานยืนยันแน่นอน บางท่านกล่าวว่าสะเดาเป็นพืชพื้นเมืองของอินเดีย และมีการแพร่กระจายไปในพื้นที่ป่าแห่งในกลุ่มประเทศในทวีปเอเชีย จากนั้นมีการนำไปปลูกในประเทศต่าง ๆ ในทวีปแอฟริกา และอเมริกา

ถิ่นกำเนิดของสะเดาไทยไม่มีเอกสารอ้างอิง อาจจะเป็นพันธุ์พื้นเมืองของประเทศไทยก็ได้ เพราะมีอยู่เพียงประเทศเดียวที่มีสะเดาเจริญเติบโตเป็นจำนวนมาก และแพร่กระจายทั่วทั้งประเทศ หรืออาจจะเป็นการกลายพันธุ์มาจากสะเดาอินเดีย จากรายงานพบว่า สะเดาไทยแพร่กระจายจำกัดเขตอยู่ในกลุ่มประเทศอินโดจีน เช่น เขมร ลาว พม่า และไทย มีการนำสะเดาไปปลูกบ้างในประเทศอินโดนีเซีย และออสเตรเลีย ประเทศที่มีการปลูกสะเดาไทยมากที่สุด ได้แก่ประเทศไทย เพราะชาวบ้านใช้ดอกและใบอ่อนนำไปบริโภค หรือใช้เป็นยาโบราณรักษาโรค งานวิจัยทางวิทยาศาสตร์ เกี่ยวกับสะเดาไทยมีค่อนข้างน้อยมาก ส่วนใหญ่ใช้ข้อมูลจากสะเดาอินเดีย

ตารางที่ 2.1 เปรียบเทียบลักษณะของสะเดาไทยและสะเดาอินเดีย (โศภณ , 2531)

ลักษณะ	สะเดาไทย	สะเดาอินเดีย
<b>ลักษณะ</b> รูปร่างต้น (Shape of tree)	ทรงสูง ยอดโปร่ง แตกกิ่ง ปานกลาง	ทรงเตี้ยกว่า ยอดทึบ แตกกิ่ง มากกว่า
ขนาดของใบ (Shape of leaflet)	กว้างกว่า ยาวกว่า และ หนากว่า	เล็กกว่า และบางกว่า
ขอบใบและปลายใบ (Margin and tip of leaflet)	รอยหยักขอบใบไม่ชัดเจน ปลายใบเรียวแหลม โคนใบด้านล่างไม่โค้งเข้าหา เส้นกลางใบอย่างชัดเจน	รอยหยักขอบใบ เป็นแบบ ฟันเลื่อย เห็นชัดเจน ปลายใบแหลมยาว โคนใบด้านล่างโค้งเข้าหา เส้นกลางใบชัดเจน
เปลือกลำต้น (Bark)	แตกเป็นร่องชัดเจน	แตกเป็นร่องไม่ชัดเจน
ช่อดอก (Inflorescence)	ก้านช่อดอกแน่น ขนาดสั้น กว่าและขนาดใหญ่กว่า ไม่ จำเป็นต้องแตกมาจากตา โคนใบ	ก้านช่อดอกโปร่ง และยาวกว่า ช่อดอกแตกมาจากตา ดอกโคนใบ (auxillary bud)
ช่วงออกดอก (Flowering period)	ปกติ พฤศจิกายน-ธันวาคม	ปกติ มีนาคม-เมษายน
ผล/เมล็ด	ใหญ่กว่า เปลือกหุ้มเมล็ด นุ่มกว่า	เล็กกว่า เปลือกหุ้มเมล็ด แข็งกว่า
<b>ลักษณะ</b> ใบ ราก	มี tannin น้อยกว่า จำนวน stomata 2.45 /มม. <sup>2</sup> ไม่มี gum ใน pores หรือ vessels ของ root wood และ bark	มี tannin มากกว่า จำนวน stomata 4.15 /มม. <sup>2</sup> ไม่มี gum ใน pores หรือ vessels ของ root wood และ bark

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สภาพภูมิอากาศและการเจริญเติบโต

1. **อุณหภูมิ** สะเดาอินเดียและสะเดาไทยต้องการสภาพภูมิอากาศในการเจริญเติบโตใกล้เคียงกัน สะเดาจัดเป็นไม้โตเร็วชนิดหนึ่งที่มีการแนะนำให้ปลูกเป็นไม้ใช้สอย ป้องกันการชะล้างของดิน เป็นร่มเงาและกันลม (ขวัญชัย , 2540) และเป็นต้นไม้ที่ปลูกไว้สองข้างของถนน (Boulevard tree) สำหรับเดินทางเข้าที่พักอาศัย (Lewis and Elvin-Lewis , 1983) สะเดาเป็นพืชที่ทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดี สามารถทนต่อความร้อนได้ถึง 45 องศาเซลเซียส ถ้าเจริญในที่ร่มทนต่อสภาพอากาศร้อนที่มีอุณหภูมิสูงถึง 49 องศาเซลเซียส และในสภาพอากาศเย็นที่ 0 องศาเซลเซียส หรือสภาพที่เป็นปกคลุมด้วยน้ำแข็ง(Frost) โดยมีรายงานในรัฐอาร์ิโซนา ประเทศอเมริกา ว่าสะเดาที่ใช้เมล็ดที่มาจากทางเหนือของอินเดีย สามารถทนอุณหภูมิ -8 องศาเซลเซียสได้ ( Jacobson , 1986) อุณหภูมิที่พอเหมาะต่อการเจริญเติบโตของสะเดาอยู่ระหว่าง 21 ถึง 32 องศาเซลเซียส

2. **ปริมาณน้ำฝน** ปริมาณน้ำฝนต่อปีที่สะเดาสามารถเจริญเติบโตได้อยู่ระหว่าง 450 ถึง 1150 มิลลิเมตรต่อปี แต่ในบางพื้นที่ปริมาณน้ำฝนเพียง 130 มิลลิเมตรต่อปี ก็พบว่าสะเดาเจริญเติบโตได้เป็นปกติ (Ketker , 1976) ถ้าปริมาณน้ำฝนมากเกินไปคือ 3000 ถึง 4000 มิลลิเมตรต่อปี สะเดาจะไม่สามารถเจริญเติบโตได้ ในพื้นที่ที่มีปริมาณน้ำฝนประมาณ 2500 มิลลิเมตรต่อปี อาจพบสะเดาเจริญเติบโตได้ แต่สภาพดินต้องระบายน้ำได้ดี (ขวัญชัย , 2540)

3. **สภาพดิน** สะเดาสามารถเจริญในสภาพดินที่มีธาตุอาหารต่ำ และดินที่แห้ง เช่น ในสภาพที่เป็นดินทรายได้ เนื่องจากสะเดามีระบบรากที่สามารถแยกธาตุอาหารและความชื้น (Moisture) จากดินได้ สะเดาไม่สามารถเจริญได้ในดินที่มีน้ำขังหรือในสภาพดินเค็มหรือเป็นกรดหรือด่างจัด จะทำให้สะเดาเจริญเติบโตไม่ดี สภาพดินที่เป็นด่าง( พีเอช 10) ไม่ได้ทำให้การเจริญเติบโตของสะเดาลดลง พีเอชของดินพบที่การเจริญเติบโตของสะเดาอยู่ระหว่าง 6.2 ถึง 7.0 คือสภาพดินเป็นกลาง แต่พีเอชที่เหมาะสมที่สุดคือพีเอช 5.0 (Radwanski , 1969) นอกจากนั้นสะเดายังทนต่อสภาพดินเค็มได้ดี

4. **ความสูงของพื้นที่** ความสูงของพื้นที่ที่สะเดาเจริญเติบโตได้ควรอยู่ระหว่าง 50 ถึง 1500 เมตรเหนือระดับน้ำทะเล ในสภาพพื้นที่สูงถึง 1830 เมตรก็ยังพบสะเดาเจริญได้ แต่การเจริญเติบโตจะไม่สมบูรณ์ โดยปกติสะเดาจะเจริญเติบโตได้ไม่ค่อยดีในพื้นที่ที่มีความสูงระหว่าง 1000 ถึง 1500 เมตร

อัตราการเจริญเติบโตของสะเดาในแต่ละพื้นที่จะแตกต่างกันไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพของดิน ภูมิอากาศและอื่น ๆ จากการข้อมูลการศึกษาของกรมป่าไม้ พบว่าสะเดาไทยที่ปลูกที่จังหวัดราชบุรี ซึ่งมีระยะปลูก 1 × 2 เมตร สามารถเจริญเติบโตได้ดีกว่าสะเดาที่ปลูกที่จังหวัดจันทบุรี และกำแพงเพชร โดยในช่วงปีแรกจะมีความสูงถึง 2.10 เมตร และมีเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น 2.05 เซนติเมตร ในปีที่สองจะมีความสูง 4.5 เมตร เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น 4.83 เซนติเมตรนั้น ไม่นับว่าให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม้ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับสะเดาอินเดียที่ปลูกที่ประเทศอินเดียอายุ 2 ปี ระยะปลูก  $1 \times 2$  เมตร จะมีความสูง 3.15 เมตร และมีเส้นรอบลำต้น 9.4 เซนติเมตร (Ketker, 1976) ซึ่งระยะปลูกก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการเจริญของสะเดา (DeJussieu, 1963)

สะเดาไทยที่ปลูกที่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์อายุ 10 ปี มีความสูง 6.9 เมตร เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น 12.3 เซนติเมตร สำหรับสะเดาอินเดียที่ปลูกที่ประเทศอินเดียอายุ 9 ปี จะมีความสูง 6.1 เมตร วัดรอบลำต้นได้ 41.9 เซนติเมตร ส่วนสะเดาอินเดียที่ปลูกที่คิวบาอายุ 8 ปี จะมีความสูง 14.2 เมตร เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น 27 เซนติเมตร (Betancourt, 1972)

### การขยายพันธุ์

สะเดาเป็นพืชที่ขยายพันธุ์ได้ง่าย ทั้งชนิดที่อาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ เช่น ใช้ส่วนต่าง ๆ ของพืช โดยวิธีปักชำ การตอน ตัดตา ทาบกิ่ง เสียบยอด เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหรือใช้วิธีย้ายปลูกเมื่อต้นอ่อนมีความสูง 0.8 - 1.0 เมตร (Troup, 1921) สำหรับวิธีที่นิยมมากในการขยายพันธุ์คือการใช้เมล็ดปลูกโดยตรง แต่ต้องระมัดระวังอย่าใช้เมล็ดที่เก็บไว้นานเพราะความงอกของเมล็ดสะเดาลดลงอย่างรวดเร็ว เนื่องจากเมล็ดมีน้ำมันค่อนข้างสูง (ประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์) ภายหลังที่เก็บเมล็ดสะเดาไว้ 2 - 5 เดือน เมล็ดจะไม่งอก ถ้าต้องการให้เมล็ดมีความงอกสูงควรเพาะเมล็ดที่มีอายุไม่เกิน 1 เดือน ภายหลังที่เก็บผลสุก การเก็บเมล็ดไว้ในที่เย็นจัดจะทำให้ความงอกของเมล็ดลดลง การเก็บเมล็ดไว้ในอุณหภูมิห้องระหว่าง 20 - 28 องศาเซลเซียส ความงอกของเมล็ดจะอยู่ได้นานถึง 16 อาทิตย์ แต่ถ้าเก็บไว้ในอุณหภูมิ 6 - 7 องศาเซลเซียส ความงอกของเมล็ดจะลดลงเหลือ 12 อาทิตย์ อุณหภูมิที่ต่ำเกินไป เช่น 0 องศาเซลเซียส ความงอกของเมล็ดจะหมดไป อย่างไรก็ตาม ถ้าอบเมล็ดให้แห้งมีความชื้นต่ำกว่า 8 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บเมล็ดไว้ในตู้แช่แข็ง โดยจะยังมีอัตราการงอกของเมล็ดแม้จะมีอายุยาวนานถึง 2 ปี ดังนั้นการเก็บรักษาความงอกของเมล็ดสะเดาให้มีอายุยาวนานขึ้น จำเป็นต้องอบให้เมล็ดแห้งเสียก่อนโดยให้มีความชื้นต่ำกว่า 8 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นจึงนำไปแช่เย็น จะทำให้ความงอกของเมล็ดคงทนได้นาน

การปลูกสะเดาโดยใช้เมล็ด ต้องใช้เวลาไม่ต่ำกว่า 5 ปีจึงจะเห็นผล ดังนั้นจึงมีการทดลองโดยใช้วิธีตอนทาบกิ่ง และเสียบยอด ปรากฏว่าสะเดาติดผลได้เร็วกว่า คือจะออกดอกและติดผลได้ตั้งแต่อายุประมาณ 1 ปีขึ้นไป นอกจากนี้ยังพบว่า สะเดาทั้งสามชนิดคือ สะเดาไทย อินเดีย และเทียม สามารถทาบกิ่งหรือเสียบยอดสลับกันได้ไม่ว่าจะใช้สะเดาชนิดใดทำเป็นต้นตอ ในกรณีที่ต้องการขยายพันธุ์ให้ได้ปริมาณมากๆ และไม่ให้เกิดพันธุ์ อาจใช้วิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Rangaswamy and Promilla, 1972) การปลูกพืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นแปลงขนาดใหญ่ อาจมีข้อเสียบางประการคือขาดความหลากหลายของพันธุกรรม ซึ่งมีผลให้พืชอ่อนแอได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.2 ประโยชน์ของสะเดา

ชาวอินเดียรู้จักใช้ประโยชน์จากสะเดามาเป็นเวลานานหลายร้อยปี โดยใช้ในหลายรูปแบบ เช่น เป็นยารักษาโรค บำรุงสุขภาพ สบู่ เครื่องสำอาง อาหารสัตว์ สารป้องกันและกำจัดศัตรูพืช เป็นต้น

การใช้สะเดาทำผลิตภัณฑ์แบ่งออกได้ 2 กลุ่มใหญ่ คือ

**ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากเนื้อไม้** เนื้อไม้สะเดาจัดได้ว่ามีคุณภาพใกล้เคียงกับไม้สักซึ่งนักวิทยาศาสตร์ได้ทดลองเปรียบเทียบดังแสดงในตารางที่ 2.2 (Specific gravity of Neem timber = 0.56 – 0.85 ) (National Academy of Science U.S.A , 1980)

ตารางที่ 2.2 แสดงคุณสมบัติของเนื้อไม้สะเดาเปรียบเทียบกับไม้สัก

คุณสมบัติ	ดัชนีคุณภาพ	
	ไม้สัก	สะเดา
Weight	100	124
Strength (as beam)	100	87
Stiffness (as beam)	100	81
Suitability (as post)	100	82
Shock resistance	100	105
Shape retention	100	77
Shear	100	129
Surface hardness	100	131
Nail holding ability	100	144

มีการนำเนื้อไม้สะเดาไปใช้ประโยชน์บางอย่าง เช่น ในอินเดียไม้สะเดาที่มีอายุประมาณ 50 ปี จะถูกนำไปเป็นเชื้อเพลิง (Kalla และคณะ , 1978) ใช้ในการปลูกบ้าน ทำเสาเข็ม ประตูกบ เฟอร์นิเจอร์ ต่อเรือ ของเล่น อุปกรณ์การเกษตร กล้องนุหรี และภาชนะใส่ของ เป็นต้น เพราะเนื้อไม้สะเดามีความทนทานไม่ถูกทำลายจากแมลงและเชื้อรา(Mitra , 1963)

### ผลิตภัณฑ์ที่ไม่ใช่เนื้อไม้

1. ใบ ใบสะเดามีรสขม ประกอบด้วยสารหลายชนิด เช่น nimbin, nimbinene, nimbandiol, 6-desacetyl nimbinene และ quecetin (Zeringue และ Bhatnagar, 1994) ซึ่งชาวอินเดียนำมาใช้ประโยชน์เป็นยารักษาโรค ตั้งแต่ยุคอายุรเวศ โดยใช้น้ำต้มจากใบสำหรับอาบคนไข้ ภายหลังที่เป็นโรคหัดและไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อีสุกอีใส ใช้เป็น blood purifier รักษาโรคหัวใจ วัณโรค ท้องร่วง โรคบิด เบาหวาน มาลาเรีย โรคผิวหนัง โรคเก๊าท์ และดีซ่าน เป็นต้น นอกจากนี้ชาวอินเดียยังนำใบสะเดามาใช้เป็นอาหารสัตว์โดยผสมกับหญ้า บางแห่งใช้เป็นอาหารวัวและแพะ เพื่อเพิ่มการให้นมภายหลังการมีลูก หรือใช้ใส่ตามตู้เสื้อผ้า และที่เก็บเมล็ดพืชเพื่อป้องกันและกำจัดแมลง นอกจากนี้นักวิทยาศาสตร์ยังค้นพบว่า การปนสารสกัดจากใบกับเมล็ดธัญพืชนั้นจะไปยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน (aflatoxin) ของเชื้อราที่สร้างสารพิษนี้ได้ แต่ไม่ฆ่าเชื้อรา ซึ่ง Zeringue และ Bhatnagar (1994) ได้รายงานผลการทดลองเรื่องนี้เช่นเดียวกัน โดยสารสกัดจากใบสะเดาสามารถลดการสร้างอะฟลาทอกซินได้ถึง 90 เปอร์เซ็นต์

ใบสะเดามีความเป็นค่าเล็กน้อยคือ มีพีเอช 8.2 และมีธาตุอาหารหลักและอาหารรองสำหรับพืชหลายชนิด จึงเหมาะที่จะใช้ใบสะเดาปรับปรุงสภาพดินที่เป็นกรดให้เป็นกลาง หรือใช้เป็นปุ๋ยพืชสดเพื่อบำรุงดินและให้ธาตุอาหารแก่พืช

ส่วนประกอบทางเคมีของใบสะเดาสดและแห้งได้แสดงไว้ในตารางที่ 2.3 และ 2.4 (ดัดแปลงจาก Keher and Nagi , 1949 , Tirimanna , 1983 และ Skellon และคณะ , 1962 )

### ตารางที่ 2.3 ส่วนประกอบทางเคมีของใบสะเดาสด

ส่วนประกอบ	% น้ำหนักแห้ง	ธาตุอาหาร	พีพีเอ็ม
Crude protein	15.00 ± 0.27	แมงกานีส	16.30 ± 1.60
Ether extract	3.80 ± 0.14	ทองแดง	13.80 ± 0.90
Crude fibre	11.24 ± 0.78	โคบอลต์	0.10 ± 0.16
Nitrogen free extract	59.00 ± 0.39	เหล็ก	59.90 ± 5.70
เถ้า	10.95 ± 0.41	โมลิบดีนัม	0.20 ± 0.02
ซิลิกา	1.37 ± 0.17	สังกะสี	25.00 ± 1.25
ฟอสฟอรัส	0.16 ± 0.007		
แคลเซียม	2.96 ± 0.68		
Acid detergent fibre	13.10		
ลิกนิน	5.40		
แคโรทีน (ไมโครกรัมต่อกรัม)	185.00		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.4 แสดงส่วนประกอบของใบสะเดาแห้ง

ส่วนประกอบ	% น้ำหนักแห้ง
Crude protein	8.28 ± 0.09
Ether extract	4.48 ± 0.43
Crude fibre	13.14 ± 1.14
Nitrogen free extract	61.36 ± 1.04
เถ้า	12.74 ± 0.50
ซิลิกา	1.06 ± 0.22
ฟอสฟอรัส	0.058 ± 0.004
แคลเซียม	3.89 ± 0.46

2. กิ่งและลำต้น สามารถใช้กิ่งอ่อนแทนแปรงสีฟันและยาสีฟัน ซึ่งช่วยรักษาฟันให้แข็งแรงและป้องกันโรคเหงือกได้ นอกจากนี้ gum ที่ติดอยู่ที่ลำต้นนำไปใช้เป็น blood purifier , body stimulant และ โทนิค (tonic) ส่วนประกอบทางเคมีของ gum ที่สำคัญคือมีโปรตีนสูงถึง 28.7 % มีกรดอะมิโนบางชนิดสูงคือ serine , theronine และ aspartic acid และมีพอลิแซ็กคาไรด์บางชนิด เช่น L- arabimose , L- fucose และ D- glucuronic acid (Dakshinmurthi , 1954;Mitra and Misra , 1967)

3. ผลและเมล็ด เนื้อสะเดามีรสหวาน เป็นอาหารของนก และใช้เป็นยาฆ่าเชื้อโรค น้ำมันสะเดาที่สกัดได้จากเมล็ดนำไปใช้ในอุตสาหกรรมสบู่ (Godrej , 1975) บางส่วนนำไปใช้เป็นยาสีฟัน เช่น Dr.Grandel's Neem Tooth Paste (Manufactured by Keimdiat Gmbh , Augsburg , West Germany) รักษาเส้นผม เป็นยาคุมกำเนิด (โดยการบีบน้ำมันสะเดาเข้าไปในอวัยวะสืบพันธุ์เพศหญิง ภายหลังการร่วมเพศ เพื่อฆ่าเชื้ออสุจิ) เป็นยารักษาโรคผิวหนัง โรคเรื้อน โรคเก๊าท์ แผลเป็นหนอง แก้พิษแมลงกัดต่อย และใช้น้ำมันสะเดาป้องกันและกำจัดแมลงและโรคพืชบางชนิด

กากที่เหลือจากการสกัดน้ำมันด้วยไอน้ำ เครื่องอัดหรือตัวทำลาย เช่น เฮกเซน และอีเทอร์ เรียกว่า กากสะเดา(neem cake) สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายอย่าง เช่น ผสมกับกากน้ำตาลเป็นอาหารสัตว์ ใช้เป็นปุ๋ย หรือผสมกับปุ๋ยยูเรีย ทำเป็นปุ๋ยยูเรียละลายช้า เป็นสารฆ่าแมลง โรคพืช และไล่เดือนฝอยบางชนิด

กากสะเดานั้นนอกจากจะให้อาหารแก่พืชแล้ว ยังยับยั้งกระบวนการ nitrification ป้องกันการสูญเสียธาตุไนโตรเจนจากดิน โดยยับยั้งการทำงานของแบคทีเรีย 2 ชนิดคือ *Nitrosomonas* และ *Nitrobacter* ซึ่งเป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กากสะเดาที่ได้จากการใช้ไอน้ำไม่สามารถนำไปสกัดต่อเป็นสารฆ่าแมลงเข้มข้นได้ เพราะอุณหภูมิที่สูงเกิน 60 องศาเซลเซียส จะทำให้สารออกฤทธิ์(aza) สลายตัว ดังนั้นกากสะเดาที่นำไปสกัดเป็นสารฆ่าแมลงจะได้จากการอัด (หีบ) หรือใช้ตัวทำละลาย และนำไปสกัดต่อด้วยแอลกอฮอล์ (เมทิล หรือเอทิลแอลกอฮอล์) เพื่อสกัดสาร aza และนำไปสกัดเป็นสารฆ่าแมลงบรรจุขวด สำหรับกากสะเดาที่เหลือจากกระบวนการนี้ ก็สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้เช่นเดียวกับกากสะเดาที่ได้จากการสกัดด้วยไอน้ำ ส่วนประกอบทางเคมีของกากสะเดาและน้ำมันสะเดาได้แสดงไว้ในตารางที่ 2.5 และ 2.6 (Tewari , 1992)

ตารางที่ 2.5 ส่วนประกอบทางเคมีของกากสะเดาที่เหลือจากการสกัดน้ำมันด้วยไอน้ำ

ส่วนประกอบ	%น้ำหนักแห้ง
Crude protein	25.4
Ether extract	7.8
Crude fibre	26.2
Nitrogen free extract	32.9
เถ้า	7.7
ซัลฟิวเรต	4.5
ฟอสฟอรัส	0.40
แคลเซียม	0.71

ตารางที่ 2.6 ส่วนประกอบทางเคมีของน้ำมันสะเดา

%น้ำหนัก	กรดไขมัน
Myristic	0.03
Palmitic	17.80
Stearic	3.10
Arachidic	2.71
Oleic	51.3
Linoleic	14.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.3 เคมีของสะเดา (Koul และคณะ , 1990)

สารเคมีที่สกัดได้จากส่วนต่าง ๆ ของสะเดา เช่น ใบ เปลือก ลำต้น ผล และเมล็ด จะมีสารเคมีหลายชนิดที่จัดอยู่ในกลุ่ม triterpenoids , diterpenoids และ nonterpenoids กลุ่มของสารเคมีที่ได้มีการทดสอบประสิทธิภาพที่มีต่อแมลงและให้ผลดีในการป้องกันและกำจัด ส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่ม terpenoids โดยเฉพาะสาร azadirachtin ที่สกัดได้จากเมล็ดใน(kernel) เท่านั้น สาร aza มีปริมาณสูงสุดเมื่อผลสะเดาสุกเต็มที่ จากการวัดปริมาณสาร aza จากผลสะเดาอินเดียที่ปลูกในประเทศไทยที่สุกเต็มที่(ผลสีเหลือง) เปรียบเทียบกับผลสะเดาที่ยังไม่สุกเต็มที่ แต่เป็นระยะใกล้สุก ก็มีสีเขียวอมเหลืองเล็กน้อย โดยเก็บตัวอย่างพร้อมกันจากลำต้นเดียวกัน ปรากฏว่า สาร aza ในเมล็ดของผลสะเดาสุกเต็มที่ที่มีสาร aza เท่ากับ 5.6 มก.ต่อกรัมและน้ำมัน เท่ากับ 37.9 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสาร aza จากผลสะเดาที่ยังไม่สุกเต็มที่ที่มีสาร aza เท่ากับ 3.1 มก.ต่อกรัมและน้ำมัน เท่ากับ 44.7 เปอร์เซ็นต์

สารในกลุ่ม triterpenoids ที่สกัดได้จากส่วนต่าง ๆ ของสะเดามีอยู่ด้วยกันมากกว่าสามสิบชนิด ในที่นี้จะยกตัวอย่างเฉพาะสารเคมีบางตัวที่ได้มีการศึกษาถึงประสิทธิภาพที่มีต่อแมลง สารเคมีดังกล่าวจัดอยู่ในสองกลุ่มใหญ่ คือ triterpenoids ( protomeliacins) และ meliacins (limonoids หรือ tetranortriterpenoids) ได้แก่

**1.Triterpenoids หรือ protolimonoids(protomeliacins)** สารในกลุ่มนี้เป็นสารเคมีตั้งต้น (precursor) ที่พืชจะสร้างต่อไปเป็นสาร limonoids สารที่มีผลต่อแมลง ได้แก่ meliantriol

Meliantriol( $C_{30}H_{50}O_5$ ) เป็นสารที่สกัดได้จากเมล็ดสะเดาและออกฤทธิ์ในการเป็นสารยับยั้งการกินอาหาร(antifeedants) ของแมลงบางชนิด เช่น ตั๊กแตน (*Schistocerca gregaria*) และด้วงปีกแข็ง (*Epilachna varivestis*) โดยออกฤทธิ์ในการยับยั้งการกินอาหารของตั๊กแตนในความเข้มข้นค่อนข้างต่ำคือในปริมาณ 8 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร บนกระดาดทรง จะสามารถยับยั้งการกินอาหารของตั๊กแตนได้ถึง 100เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับสาร aza ซึ่งออกฤทธิ์เช่นเดียวกัน แต่ในอัตราความเข้มข้นที่ต่ำกว่าคือ 1 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร

**2.Tetranotritrpnoids (limonoidsหรือmeliacins)** สารในกลุ่มนี้เป็นอนุพันธ์ของ triterpenoids โดยมีคาร์บอนอะตอมที่เหลือจับตัวเป็น furan ring จึงมีชื่อเรียกว่า tetranortriterpenoids สารเคมีต่าง ๆ ในกลุ่มนี้ประกอบด้วย

**2.1 กลุ่ม Azadirone** สารในกลุ่มนี้มีสูตรโครงสร้างที่มีวงแหวนคาร์บอน 4 ตัวหลักที่ปิด เช่น Azadirone ( $C_{28}H_{36}O_5$ ) สกัดได้จากผลสะเดาหรือน้ำมัน มีฤทธิ์ทางเป็นสารยับยั้งการกิน โดยมีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 5500 พีพีเอ็มต่อด้วงปีกแข็ง (*E. varivestis*)

Azadiradione( $C_{28}H_{34}O_5$ ) สกัดได้จากผลสะเดาหรือน้ำมันออกฤทธิ์เป็นสารยับยั้งการกิน โดยมีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 320 พีพีเอ็ม และ 42 ppm ต่อแมลง *E. varivestis* และ *Pectinophora gossypiella* ตามลำดับ

Epoxyazadirone(Nimbinin) ( $C_{28}H_{34}O_6$ ) สกัดได้จากน้ำมัน มีผลเป็นสารยับยั้งการกินอาหารมีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 1300 พีพีเอ็ม ต่อแมลง *E. varivestis*

Nimocinolide( $C_{28}H_{36}O_7$ ) และ Isonimocinolide( $C_{28}H_{36}O_7$ ) สกัดได้จากใบสะเดาสดในหน้าหนาว มีพิษทำให้ลูกน้ำยุง *Aedes aegypti* ตายโดยมีค่า  $LC_{50}$  เท่ากับ 0.625 พีพีเอ็ม และ 0.74 พีพีเอ็ม ตามลำดับ

2.2 กลุ่ม Gedunin สารในกลุ่มนี้พัฒนามาจากกลุ่ม azadirone และเกิดวงแหวน D lactones

Gedunin ( $C_{28}H_{34}O_7$ ) สกัดได้จากผลและเปลือก ออกฤทธิ์เป็นสารยับยั้งการกินอาหาร ยับยั้งการเจริญเติบโตและฆ่าเชื้อมาลาเรีย (*Plasmodium falciperum*) โดยมีค่า เป็นสารยับยั้งการกินต่อแมลง *E. varivestis* เท่ากับ 930 พีพีเอ็ม เป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของหนอน *Helicoverpa zea* , *P. gossypiella* และ *Spodoptera frugiperda* มีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 50 , 32 พีพีเอ็ม และ 47 พีพีเอ็ม ตามลำดับ

7-Deacetylgedunin ( $C_{26}H_{32}O_6$ ) สกัดได้จากผลไม้และเปลือก ออกฤทธิ์เป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของหนอน *H. zea* , *P. gossypiella* และ *Spodoptera frugiperda* โดยมีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 165 , 22 พีพีเอ็ม และ 60 พีพีเอ็ม ตามลำดับ

2.3 กลุ่ม Vilasinin เป็นสารที่พบได้ทั่วไปในพืช แฟมิลี Meliaceae สูตรโครงสร้างจะมี oxygen bridge ระหว่าง  $C_{28}$  และ  $C_6$  สันนิษฐานว่าเป็นสาร intermediate ในการสังเคราะห์ c-seco meliacins เช่น nimbin , nimbolide , salannin และอาจเป็น azadirachtin ด้วย

Vilasinin( $C_{26}H_{36}O_5$ ) เป็นสารที่พบได้ในใบสะเดา แต่ไม่ได้มีการทดสอบประสิทธิภาพที่มีต่อแมลง

1,3-Diacetylvilasinin( $C_{30}H_{40}O_7$ ) , 1-Tigloyl-3-acetylvilasinin( $C_{36}H_{46}O_8$ ) , 1- Seneciroyl-3-acetylvilasinin และ 1-Tiglyl-3-acetyl-12O-acftoxyvilasinin สกัดได้จากเมล็ด ออกฤทธิ์เป็นสารยับยั้งการกินอาหารของแมลง *E. varivestis* โดยมีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 13 , 10 , 10 และ 50 พีพีเอ็ม ตามลำดับ

2.4 C-seco Meliacins สารในกลุ่มนี้มีสูตรโครงสร้างคล้าย กลุ่ม Vilasinin แต่ที่วงแหวนคาร์บอนเปิด เป็นกลุ่มที่สำคัญที่สุดของ Tetranortriterpenoids ซึ่งประกอบด้วยสารหลายชนิดที่มีประสิทธิภาพสูงในการป้องกันและกำจัดแมลง เช่น

- กลุ่ม Nimbin สารกลุ่มนี้ตรงตำแหน่งวงแหวนคาร์บอนจะเปิด โดยมี oxygen bridge ที่ C-7/14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Nimbin( $C_{30}H_{36}O_9$ ) สกัดได้จากเมล็ดและใบ ออกฤทธิ์ในทางเป็นสารยับยั้งการกินอาหารต่อแมลง *E. varivestis* โดยมีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 50 พีพีเอ็ม

6-Deacetylnimbin( $C_{28}H_{34}O_8$ ) สกัดได้จากเมล็ด เปลือก และใบ ออกฤทธิ์เป็นสารยับยั้งการกินอาหารต่อแมลง *E. varivestis* โดยมีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 50 พีพีเอ็ม

Nimbolide( $C_{27}H_{30}O_7$ ) สกัดได้จากใบ ออกฤทธิ์เป็นสารยับยั้งการกินอาหารของแมลงและยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อมาลาเรีย (*Plasmodium falciparum*) โดยมีค่าต่อแมลง *E. varivestis* โดยมีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 70 พีพีเอ็ม และต่อเชื้อมาลาเรีย,  $EC_{50}$  เท่ากับ 0.95 ไมโครต่อมล.

28-Deoxonimbolide( $C_{27}H_{32}O_6$ ) สกัดได้จากใบ ออกฤทธิ์เป็นสารยับยั้งการกินอาหารของ *E. varivestis* โดยมีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 65 พีพีเอ็ม

- กลุ่ม Salannin สารในกลุ่มนี้มีสูตรโครงสร้างคล้ายกับกลุ่ม Nimbin แต่จะมี oxygen bridge เพิ่มที่ตำแหน่ง c-6/28

Salannin( $C_{34}H_{44}O_9$ ) และ 3-Deacetylsalannin( $C_{32}H_{42}O_8$ ) สกัดได้จากเมล็ด ออกฤทธิ์เป็นสารยับยั้งการกินอาหารต่อแมลง *E. varivestis* โดยมีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 14 และ 20 พีพีเอ็ม ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีผลในทางเป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของหนอน *Heliothis virescens* โดยมีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 170 พีพีเอ็ม เท่ากันของทั้งสองสาร

- Azadirachtin และอนุพันธ์ azadirachtin เป็นสารที่น่าสนใจมีการศึกษากันมากทั้งทางเคมีและผลที่มีต่อแมลงและสิ่งมีชีวิตอื่นมีนักวิทยาศาสตร์หลายท่านได้เสนอสูตรโครงสร้างทางเคมีของ aza แต่สูตรโครงสร้างที่เป็นที่ยอมรับทั่วไปในปัจจุบันเป็นสูตรของ Kraus และ Cramer (1981)

สารเคมีที่มีสูตร โครงสร้างคล้ายกับ aza แบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ azadirachtol และ azadirachtin

-กลุ่ม Azadirachtol เป็นสารที่พบได้ในเมล็ดสะเดา สูตรโครงสร้างคล้ายคลึงกับ กลุ่ม azadirachtin ซึ่งแต่เดิมจัดเป็นอนุพันธ์ของ azadirachtin

3-Tigloylazadirachtol (azadirachtin B) ( $C_{33}H_{42}O_{14}$ ) สกัดได้จากเมล็ด ออกฤทธิ์ในทางเป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของหนอน *E. varivestis* เป็น 85 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 2 พีพีเอ็ม ในอาหาร

Azadirachtol สกัดได้จากเมล็ด ออกฤทธิ์ในการเป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของหนอน *E. varivestis* โดยมีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 0.08 พีพีเอ็ม

3-Tigloyl-22-23-dihydroazadirachtol, 2',3'-Didyrotigloyl-22,23-dihydroazadirachtol และ 3-Tigloyl-13,14-deepoxy-17-hydroxyazadirachtol (azadirachtin G) สกัดได้จากเมล็ด ออกฤทธิ์ในทางเป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของหนอน *E. varivestis* โดยมีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 0.28, 0.45 พีพีเอ็ม และ 7.69 พีพีเอ็ม ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- กลุ่ม Azadirachtin เป็นสารที่พบได้ในเมล็ดซึ่งมีสูตรโครงสร้างคล้ายคลึงกับ azadirachtol สารในกลุ่มนี้นักวิทยาศาสตร์สนใจมาก เพราะมีประสิทธิภาพสูง ในการป้องกันและกำจัดแมลงมากกว่ากลุ่มอื่น

Azadirachtin ( $C_{33}H_{42}O_{14}$ ) สกัดได้จากเมล็ด ออกฤทธิ์ในทางเป็นสารยับยั้งการการกิน ยับยั้งการเจริญเติบโตของแมลงหลายชนิด เช่น ทดลองเป็นสารยับยั้งการกินอาหารของ *E. varivestis*, *Popillar japonica* และ *S. litura* โดยมีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 13, 2 พีพีเอ็ม และ 0.07 พีพีเอ็ม ตามลำดับ สำหรับคุณสมบัติในทางเป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตที่ทดลองกับหนอน *H. zea*, *H. virescens*, *P. gossypiell* และ *Spodoptera frugiperda* โดยมีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 0.7, 0.07, 0.4 และ 0.4 พีพีเอ็ม ตามลำดับ

3-Deacetylazadirachtin สกัดได้จากเมล็ดมีคุณสมบัติ ในทางเป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของหนอน *E. varivestis* และ *H. virescens* โดยมีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 0.38 และ 0.09 พีพีเอ็ม ตามลำดับ

1-Detigloylazadirachtin (azadirachtin E) สกัดได้จากเมล็ด มีคุณสมบัติในทางเป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของหนอน *E. varivestis* โดยมีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 0.57 พีพีเอ็ม

## 2.4 ลักษณะทั่วไปของเชื้อรา *Aspergillus*

เส้นใยเจริญเติบโตได้ดี ไม่มีสีหรือมีสีอ่อน (hyaline or subhyaline) และมีผนังกัน (septum hyphae) ก้านชูสปอร์ (conidiophore) มีลักษณะเป็นก้านยาวไม่แตกกิ่งก้าน (Unbranch) ตอนปลายจะเป็นเซลล์ที่ให้กำเนิดสปอร์ (sterigma) ซึ่งมีหนึ่งชั้น (uniseriate) หรือสองชั้น (biseriate) ก็ได้ สปอร์เกิดติดต่อกันเป็นลูกโซ่ (Alexopoulos และคณะ, 1996)

เชื้อราในสกุล *Aspergillus* มีทั้งประโยชน์และโทษ มีหลาย species ที่ใช้ประโยชน์ทางอุตสาหกรรม เช่น *A. oryzae* ใช้ทำซีอิ๊ว *A. niger* ผลิตกรดออกซาลิก (Bu'Lock และ Kristiansen, 1987) ในด้านเป็นโทษพบว่าสามารถทำลายคุณภาพอาหารในเมล็ดและอาจเกิดสารพิษอะฟลาทอกซินขึ้นได้ ซึ่งเป็นอันตรายต่อสัตว์เลือดอุ่น และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม *A. flavus* และ *A. niger* เป็นกลุ่มที่พบเข้าทำลายเมล็ดพืชหลายชนิด ในเมล็ดข้าวโพดพบว่าเชื้อรา *Aspergillus flavus* เป็นเชื้อสาเหตุของการเกิดสารพิษอะฟลาทอกซินเป็นส่วนใหญ่ (Gueldner และคณะ, 1985) สายพันธุ์ของ *A. flavus* มีความสามารถสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้แตกต่างกันเมื่อเจริญบนข้าวโพดคือบางสายพันธุ์สร้างสารพิษได้มากหรือสร้างได้น้อยหรือไม่สร้างเลย

สารพิษอะฟลาทอกซินมีสูตรทางเคมีคล้ายกับสาร coumarin ซึ่งมีคุณสมบัติเรืองแสงภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต (ultraviolet) โดยทั่วไปสารพิษอะฟลาทอกซินที่ตรวจพบในธรรมชาติแบ่งออกเป็น 4 ชนิดคือ สารพิษอะฟลาทอกซินชนิด  $B_1$ ,  $B_2$ ,  $G_1$  และ  $G_2$  ชนิด  $B_1$  และ  $B_2$  ซึ่งมีวิธีการสังเคราะห์ดังรูปที่

2.1 สารอะฟลาทอกซินสามารถเรืองแสงสีน้ำเงิน ส่วน  $G_1$  และ  $G_2$  เรืองแสงสีเขียวได้แสงอัลตราไวโอเล็ต

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษเท่านั้น มิอนุญาตให้นำไปเผยแพร่ในเชิงพาณิชย์

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ช่วงคลื่น 365 นาโนเมตร สารพิษอะฟลาทอกซินชนิด B<sub>1</sub>พบมากที่สุดและมีความเป็นพิษสูงสุด จากการทดลองในลูกเป็ดอายุ 1 วัน ซึ่งมีความไวต่อพิษของสารพิษอะฟลาทอกซินมากที่สุด พบว่าสารพิษอะฟลาทอกซินชนิด B<sub>1</sub>, G<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> และ G<sub>2</sub> มีค่า LD<sub>50</sub> เท่ากับ 0.5 , 0.8 , 1.70 และ 3.4 มล.ต่อกก. ตามลำดับ เมล็ดข้าวโพดที่มีเชื้อ *A. flavus* ที่สามารถสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินขึ้นบนเมล็ด พบว่าเชื้อ *A. flavus* ส่วนมากสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินชนิด B<sub>1</sub> และมีส่วนน้อยที่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซินชนิด B<sub>2</sub> สารพิษอะฟลาทอกซินชนิด B<sub>2</sub> และ G<sub>2</sub> เป็น dihydro- derivative ของ B<sub>1</sub> และ G<sub>1</sub> ตามลำดับ (Yu และคณะ , 1998)

การตรวจสอบสารพิษอะฟลาทอกซินสามารถทำได้หลายวิธี เช่น BGYF(bright greenish-yellow fluorescent) หรือ TLC (Thin layer Chromatography) (Zeringue และ Bhatnagar , 1994) ซึ่งแต่ละวิธีการมีขั้นตอนที่ใกล้เคียงกันต่างกันที่สารเคมีที่ใช้ในการสกัดและการตรวจสอบปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินในขั้นตอนสุดท้ายที่จะใช้เครื่องมือต่างกันออกไป แต่โดยทั่วไปแล้วสามารถสรุปขั้นตอนได้ดังนี้ (รณเทพ , 2530)

1. การเตรียมตัวอย่างและการสุ่มตัวอย่างเพื่อนำมาวิเคราะห์
2. ขั้นตอนการกำจัดไขมันขั้นตอนนี้มีความสำคัญและจำเป็นถ้าหากตัวอย่างที่เรานำมาวิเคราะห์มีปริมาณไขมันมากกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ แต่เป็นไปได้ที่จะข้ามขั้นตอนนี้ไปโดยสกัดทั้งไขมันและน้ำมันกับสารพิษ ในขั้นตอนที่ 3 และสกัดเอาไขมันหรือน้ำมันออกในขั้นตอนที่ 4
3. การสกัดสารพิษอะฟลาทอกซินออกจากตัวอย่าง โดยการใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสม
4. ขั้นตอนการทำให้สะอาด(clean up) ของสารที่สกัดได้ ขั้นตอนนี้จะมีการกำจัดสารเรืองแสงที่ปนเปื้อน หรือมีการกำจัดไขมันหรือน้ำมัน
5. การวิเคราะห์ความเข้มข้นของสารพิษอะฟลาทอกซิน
6. ขั้นตอนของการยืนยันว่าเป็นสารพิษอะฟลาทอกซินหรือว่าเป็นสารเรืองแสงอื่น โดยเทียบกับสารพิษมาตรฐาน

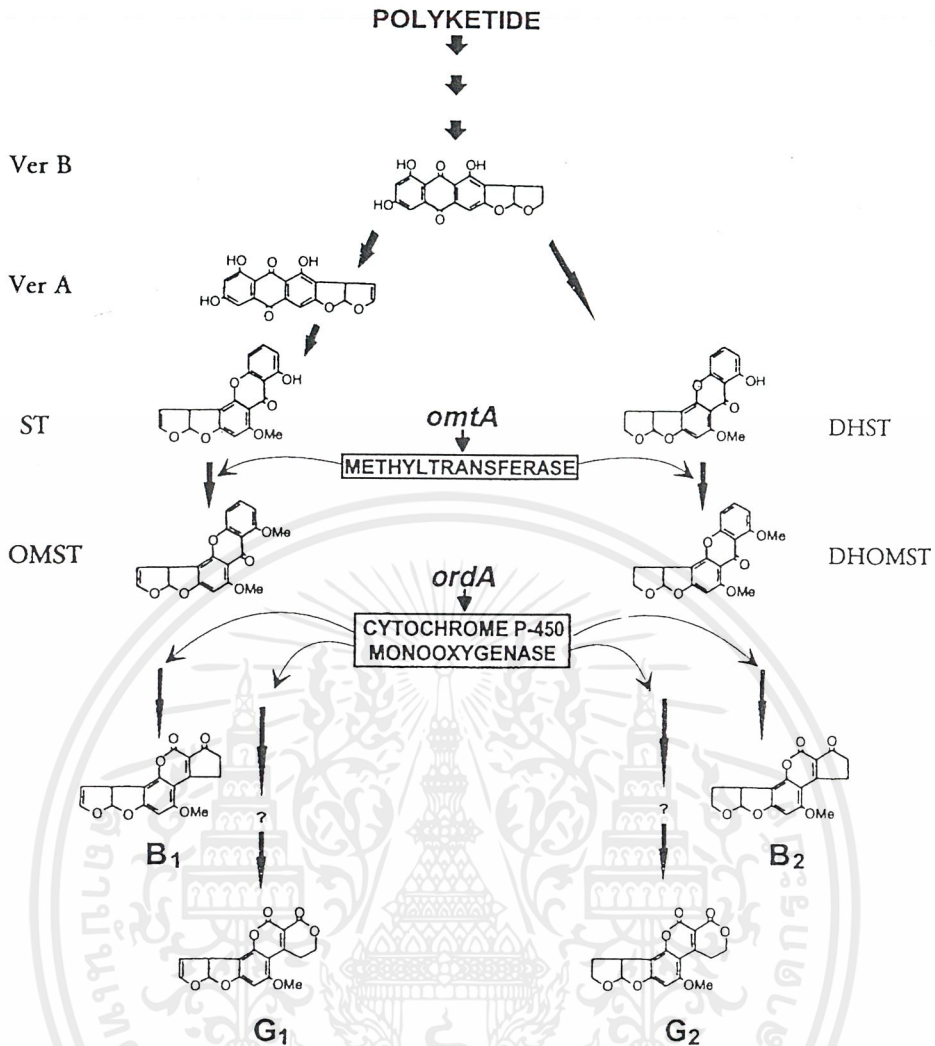


FIG. 1. Schematic representation of the late steps in aflatoxin biosynthesis and postulated enzymatic steps involved in aflatoxin G<sub>1</sub> and G<sub>2</sub> production in *A. parasiticus*. The simplified scheme shows the formation of aflatoxins B<sub>1</sub>, G<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, and G<sub>2</sub>, starting from polyketide and branching at Ver B. The precursors of aflatoxins B<sub>1</sub> and G<sub>1</sub> are Ver A, ST, and OMST, and the precursors of aflatoxins B<sub>2</sub> and G<sub>2</sub> are DHST and DHOMST. The *ordA* gene product, a cytochrome P-450 monooxygenase, is capable of converting OMST to aflatoxins B<sub>1</sub> and G<sub>1</sub> and DHOMST to aflatoxins B<sub>2</sub> and G<sub>2</sub>. It has been proposed (indicated by question marks) that at least one additional enzyme is required for the production of aflatoxins G<sub>1</sub> and G<sub>2</sub> from postulated intermediates (5). Me, methyl group.

รูปที่ 2.1 วิธีการสังเคราะห์อะฟลาทอกซิน ชนิด B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> และ G<sub>2</sub> (Yu และคณะ , 1998)

2.5 ลักษณะทั่วไปของเชื้อรา *Helminthosporium oryzae*

เป็นเชื้อราที่อยู่ในคลาส Deuteromycetes ซึ่งเชื้อราที่พบในคลาสนี้จะไม่พบวงจรชีวิตของการสืบพันธุ์แบบมีเพศ จึงมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า Fungi imperfecti เพราะมีการสืบพันธุ์แบบไม่มีเพศเท่านั้น โดยการสร้างโคนิเดีย (Conidia) มีการดำรงชีวิตอย่างอิสระ (Saprobe) และที่เป็นปรสิตที่ทำให้เกิดโรคได้ในพืช ตั๋วรวมทั้งมนุษย์ด้วย (Alexopoulos และคณะ , 1996)

*Helminthosporium oryzae* เป็นเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคในข้าว เส้นใยที่เจริญจะไม่มีสี (Hyaline) และมีผนังกัน (Septum hyphae) การสืบพันธุ์เป็นแบบไม่อาศัยเพศ โดยการสร้างโคนิเดีย สปอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Comidiospore) มีรูปร่างค่อนข้างกลม (Pyriiform) ซึ่งมีสีน้ำตาลเข้ม โดยหากมีการสร้างสปอร์มากขึ้นก็จะมีผนังกันมากขึ้นตามไปด้วย ทั้งนี้เพราะจะเป็นการช่วยเพิ่มความแข็งแรงให้กับสปอร์ (พิไลพรธม , 2525)

Breda de Haan เป็นผู้ท้อธิบายรูปร่างของเชื้อนี้ไว้เป็นคนแรกในปี 1900 ซึ่งเขาสังเกตเห็นโดยบังเอิญจากใบข้าวที่เป็นจุด หลังจากนั้นไปศึกษาแล้วจึงตั้งชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Helminthosporium oryzae* มีรายงานในหลายประเทศว่าพบเชื้อราชนิดนี้และในปัจจุบันได้มีการแพร่กระจายไปทั่วโลกแล้ว

โรคใบจุดสีน้ำตาล (Brown spot disease) ที่เกิดจาก *H. oryzae* เกิดขึ้นโดยทั่วไปในนาข้าวแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ในประเทศฟิลิปปินส์ โดยต้นข้าวที่ติดเชื้อจะมีจุดสีน้ำตาลขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2 – 3 มิลลิเมตรและจะขยายขนาดขึ้นเรื่อยๆ จนเต็มใบ ซึ่งจะระบาดมากหากสภาพดินเป็นดินที่ไม่อุดมสมบูรณ์ และในต้นข้าวที่ติดเชื้อไวรัส (Hajo blanca virus: HB virus) จะทำให้อาการของโรคมีความรุนแรงมากขึ้น โดยจะทำให้ต้นข้าวไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้ เนื่องจากขาดคลอโรฟิลล์ และจะไม่เจริญเติบโตหรืออาจตายได้ มีรายงานว่าพบเชื้อราตัวนี้ในโรงเก็บ ซึ่งการติดโรคนี้นั้นใน Texas และ Beaumont น่าจะเกิดจากการเก็บเมล็ดข้าวเปลือกในโรงเก็บ (Juliano , 1989) อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าสามารถลดอาการของโรคได้ โดยการเติมแมงกานีสปริมาณ 5 – 10 พีพีเอ็ม ในระหว่างการปลูก ซึ่งมีความสัมพันธ์กับปริมาณฟอสฟอรัสในดิน ซึ่งหากมีปริมาณสูงขึ้น การเกิดโรคก็สูงขึ้นด้วย การให้สารเคมีประเภทไนโตรเจน เช่น ยูเรีย แก่ข้าว โดยให้ช้าๆจะสามารถลดความอ่อนแอของต้นข้าวต่อโรคนี้นี้ได้

มีรายงานเกี่ยวกับการปรับปรุงพันธุ์ข้าว ตัวอย่างเช่น ได้มีความพยายามปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีความต้านทานต่อเชื้อราชนิดนี้ และอื่นๆ เช่น ทนเค็ม ทนต่อโลหะหนัก (แคดเมียม และอลูมิเนียม) และทนสารพิษจาก *Pyricularia oryzae* โดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Bajai , 1991) หรือการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโดยใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรม การถ่ายยีนและการรวมโปรโทพลาสต์ (Protoplast fusion) เพื่อให้ข้าวต้านทานต่อเชื้อราชนิดนี้ (Luh , 1991)

## บทที่ 3

### ขั้นตอนการดำเนินงาน

#### 3.1 เชื้อจุลินทรีย์ (Microorganisms)

*Aspergillus parasiticus* IMI 102566 จาก International Mycological Institute ประเทศอังกฤษ และ *Aspergillus flavus* Link (รูปที่ 3.1)

*Helminthosporium oryzae* (รูปที่ 3.1)

#### 3.2 ตะเคา

ใช้ส่วนของใบและก้านของตะเคา (Thai neem) (รูปที่ 3.2)

#### 3.3 อุปกรณ์และสารเคมี

##### อุปกรณ์

1. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)
2. หม้อนึ่งอัดไอ (Autoclave)
3. ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow)
4. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
5. เครื่องเขย่า (Shaker)
6. เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)
7. เครื่องชั่ง (Balance)
8. Cork borer
9. เครื่องแก้วต่างๆ
10. เครื่องระเหยภายใต้สุญญากาศ (Rotary Evaporator)
11. เครื่องปั่น (Blender)
12. เครื่องวัดพีเอช (pH meter)
13. เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge)
14. คิวเวตต์ (Cuvette)

##### สารเคมี

1. เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95
2. tween 80
3. กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น
4. โซเดียมไฮดรอกไซด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.4 ขั้นตอนการสกัดสารจากส่วนของสะเดา (ปรับปรุงจาก Prabhaker และคณะ , 1986)

1. ล้างส่วนใบและก้านสะเดาสดให้สะอาด แล้วแยกส่วนก้านและใบออกจากกัน
2. นำไปอบที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง
3. ปั่นด้วยเครื่องปั่นจนละเอียด
4. นำส่วนใบและก้านของสะเดาที่ปั่นแล้วไปชั่งจำนวน 20 กรัม
5. ใส่ฟลาสก์(Erlenmeyer flask) ขนาด 250 มิลลิลิตรโดยใส่แยกกัน(ใบและก้าน)แล้วเติมเอทานอลร้อยละ 95 ลงไปปริมาตร 120 มิลลิลิตร
6. นำไปเขย่าโดยใช้ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 6 ชั่วโมง
7. กรองกากของใบสะเดาออกด้วยเครื่องกรองบุชเนอร์(Buchner)โดยใช้กระดาษกรองวิทแมน(Whatman) เบอร์ 4
8. นำสารละลายที่ได้ไประเหยให้แห้งด้วยเครื่องระเหยภายใต้สุญญากาศ
9. อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

### 3.5 ขั้นตอนการเตรียมอาหาร PDA ผสมสารสกัดของสะเดา

เตรียมอาหาร PDA (potato dextrose agar) โดยเติมสารสกัดจากสะเดาในอัตราส่วน 20,000 , 40,000 , 60,000 , 80,000 , และ 100,000 พีพีเอ็ม ดังวิธีการต่อไปนี้ (ปรับปรุงจาก Guedner และคณะ , 1985)

1. ชั่งสารสกัดที่ได้จากส่วนใบและก้านของสะเดาที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้
 

ความเข้มข้น 20,000 พีพีเอ็ม ใช้สารสกัดจากสะเดา	2	กรัม
ความเข้มข้น 40,000 พีพีเอ็ม ใช้สารสกัดจากสะเดา	4	กรัม
ความเข้มข้น 60,000 พีพีเอ็ม ใช้สารสกัดจากสะเดา	6	กรัม
ความเข้มข้น 80,000 พีพีเอ็ม ใช้สารสกัดจากสะเดา	8	กรัม
ความเข้มข้น 100,000 พีพีเอ็ม ใช้สารสกัดจากสะเดา	10	กรัม
2. เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว
3. เติมใส่ขวดอาหารเลี้ยงเชื้อ(ขวดDuram 250 มิลลิลิตร)ที่มีสารสกัดจากใบสะเดาและก้านสะเดา โดยให้แต่ละขวดมีปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร (รูปที่ 3.3 และ 3.4)
4. นำไปอุ่นใน water bath ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เขย่าเป็นระยะ ๆ เพื่อให้เข้ากัน
5. เทใส่ในจานเลี้ยงเชื้อให้มีปริมาตร 25 มิลลิลิตร

### 3.6 การแยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ โดยใช้วิธีแยกให้เป็นสปอร์เดี่ยว (Single spore isolation)

เชื้อ *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus parasiticus*

1. ใช้ลูป (Loop) เขี่ยสปอร์จากตรงกลางโคโลนีของเชื้อราที่มีอายุประมาณ 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. นำไปแขวงในสารละลาย Semisolid suspension
3. ใช้รูปแตะวุ้นใน Semisolid suspension และถ่ายลงในอาหาร PDA
4. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน
5. นำไปใช้ศึกษาการยับยั้งต่อไป

เชื้อ *Helminthosporium oryzae* (ดัดแปลงจาก Baudoin, 1989)

1. นำใบข้าวที่มีจุดสีน้ำตาล (Brown spot) นำมาทำให้แห้งช้าๆ ในเครื่องเตเตอร์ (Desiccator)
2. นำมาบ่มในกล่องพลาสติกที่มีกระดาษทิชชูชุ่มน้ำอยู่ในกล่องเป็นเวลา 12 ชั่วโมง
3. ส่องดูภายใต้กล้องและใช้รูปเขี่ยสปอร์ออกมา
4. นำไปลาก (Streak) ใน Water agar ขาว 3 เซนติเมตร จำนวน 3 เส้น
5. นำจานเลี้ยงเชื้อจากขั้นตอนที่ 4 มาส่องภายใต้กล้องและใช้รูปเขี่ยสปอร์ออกมาให้ได้เพียง 1 สปอร์
6. ถ่ายลงในอาหาร RPA (Rice polish agar)
7. บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน นำไปใช้ศึกษาต่อไป

### 3.7 การเตรียมกล้าเชื้อ (inoculum) ของเชื้อราและการเพาะเชื้อราบนอาหารที่ผสมสารสกัดจากส่วนของตะไคร่

1. เมื่อเชื้อราเจริญจนสร้างโคโลนีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 6 เซนติเมตร ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.8 เซนติเมตร ตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนี
2. นำไปเพาะลงตรงกลางจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร PDA ผสมสารสกัดจากตะไคร่
3. นำไปบ่มที่ตู้บ่มเชื้อ ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส

### 3.8 การวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตะไคร่

1. ชั่งส่วนใบของตะไคร่จำนวน 20 กรัมลงในพลาสติก
2. เติมหักทำละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 120 มิลลิลิตร
3. นำไปเขย่าบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที
4. เก็บสารละลายตัวอย่างทุก 1 ชั่วโมงเป็นเวลา 10 ชั่วโมง
5. นำไปกรองด้วยเครื่องกรองบูรเนอร์โดยใช้กระดาษกรองวัทแมน เบอร์ 4
6. นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 และ 670 นาโนเมตร ตามลำดับ

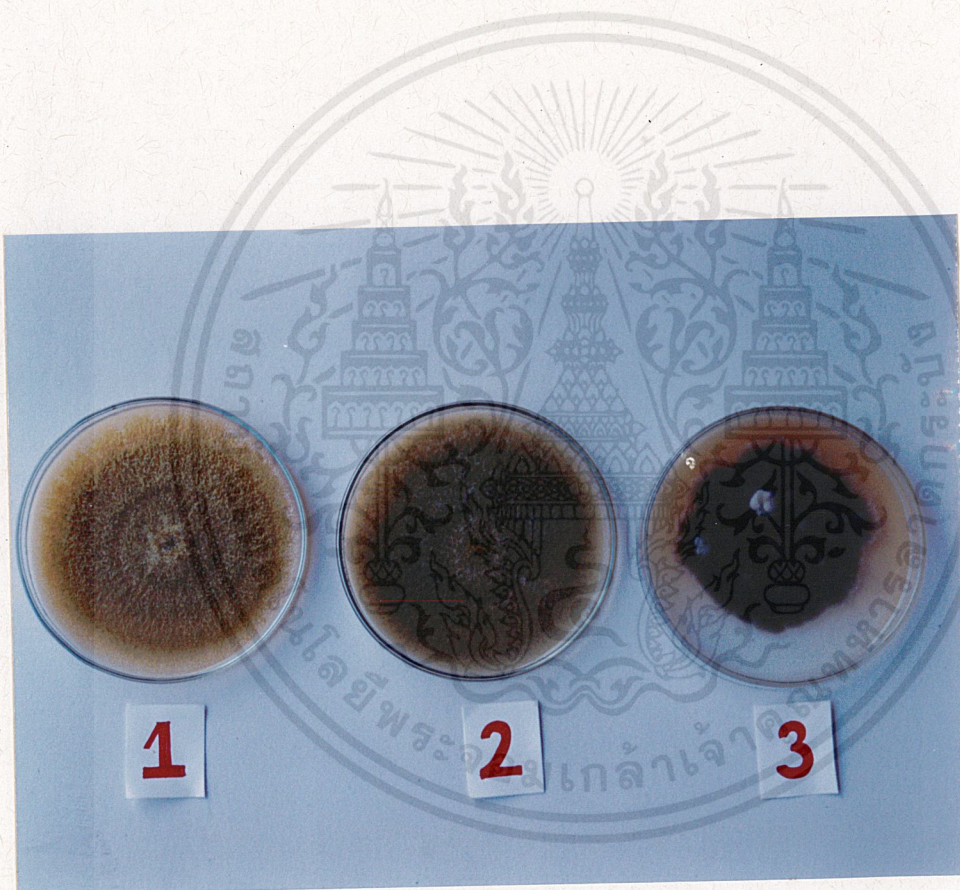
### 3.9 การวัดการเจริญของโคโลนี

ทำการวัดขนาดโคโลนีของเชื้อราทุกวันเป็นเวลา 7 วัน โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีในลักษณะเส้นทแยงมุม 5 เส้น แล้วนำค่าที่ได้มาเฉลี่ย (ทศนิยม 2 ตำแหน่ง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.10 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ใช้การวางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design) กำหนดให้วันเป็นบล็อก ความเข้มข้นของสารสกัดจากส่วนของสะเดาเป็นปัจจัยต่างๆ วิเคราะห์ความเข้มข้นของสารสกัดจากส่วนของสะเดาที่เหมาะสมที่สุดโดยวิธี Duncan 's multiple range test (DMRT) (Cocharan และ Cox , 1957)



รูปที่ 3.1 แสดง เชื้อราที่ใช้ในการทดลองทั้ง 3 ชนิด

- 1) *Aspergillus flavus*
- 2) *Aspergillus parasiticus*
- 3) *Helminthosporium oryzae*

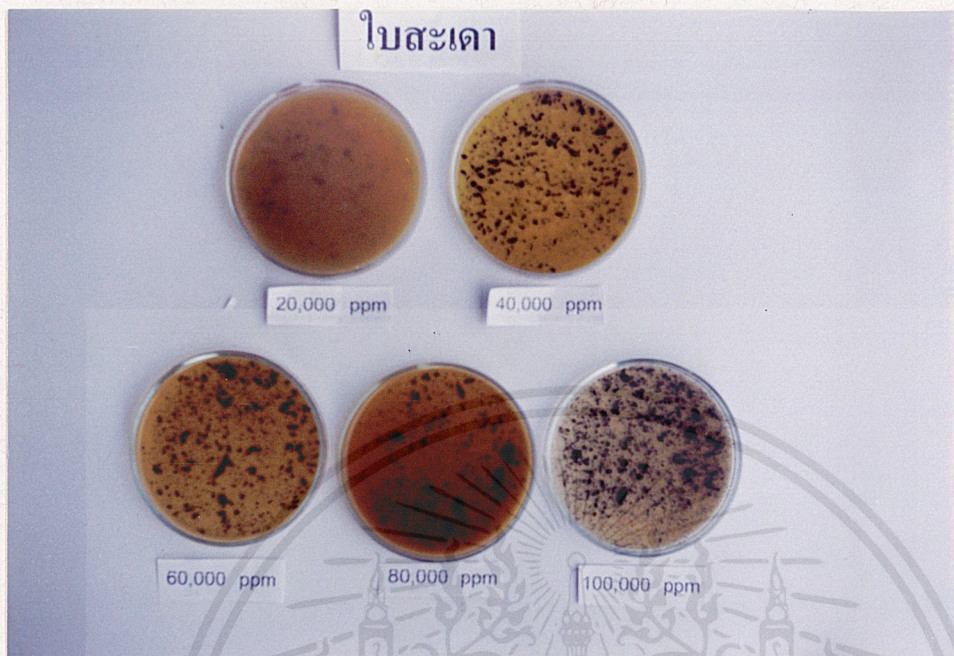
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.2 ส่วนไบและก้านของสะเดาที่ผ่านการปั่นละเอียด



รูปที่ 3.3 สารสกัดจากส่วนของก้านสะเดาผสมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ความเข้มข้น 20,000 , 40,000 , 60,000 , 80,000 และ 100,000 พีพีเอ็ม การศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.4 สารสกัดจากส่วนใบของสะเดาผสมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ความเข้มข้น 20,000 , 40,000 , 60,000 ,80,000 และ 100,000 พีพีเอ็ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

#### 4.1 ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโดยสารสกัดจากส่วนก้านของสะเดาที่ผสมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

การศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. parasiticus* , *A. flavus* และ *H. oryzae* โดยสารสกัดจากส่วนก้านของสะเดา

กำหนดให้ ทริทเมนต์ที่ 1 คือ control (อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ไม่มีส่วนผสมของสารสกัดจากก้านสะเดา)

ทริทเมนต์ที่ 2 คือ อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมสารสกัดจากก้านสะเดาที่ระดับความเข้มข้น 20,000 พีพีเอ็ม

ทริทเมนต์ที่ 3 คือ อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมสารสกัดจากก้านสะเดาที่ระดับความเข้มข้น 40,000 พีพีเอ็ม

ทริทเมนต์ที่ 4 คือ อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมสารสกัดจากก้านสะเดาที่ระดับความเข้มข้น 60,000 พีพีเอ็ม

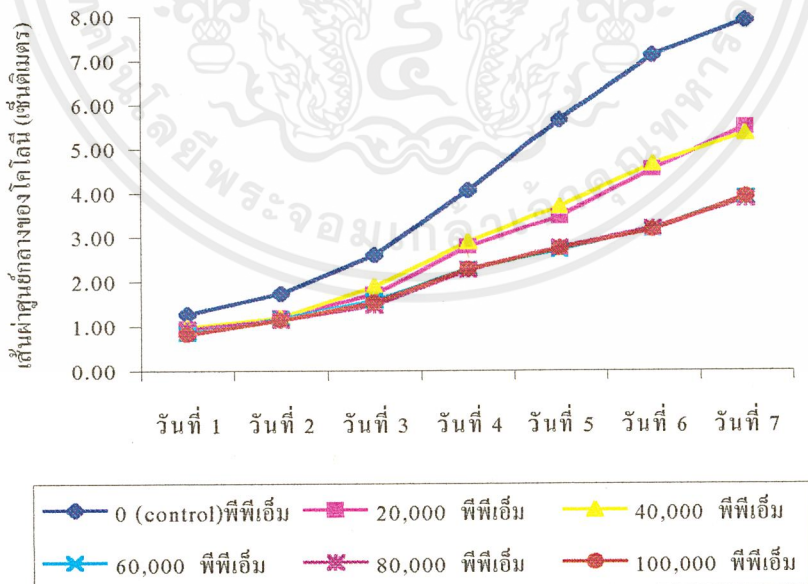
ทริทเมนต์ที่ 5 คือ อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมสารสกัดจากก้านสะเดาที่ระดับความเข้มข้น 80,000 พีพีเอ็ม

ทริทเมนต์ที่ 6 คือ อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมสารสกัดจากก้านสะเดาที่ระดับความเข้มข้น 100,000 พีพีเอ็ม

ใช้การวางแผนการทดลองแบบบล็อก (Randomized Complete Block Design) กำหนดให้ช่วงเวลา ( period of time ) ช่วงละ 1 วันเป็นบล็อก ทำการบันทึกผลการทดลองโดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา (เช่นติเมตร) เป็นเวลา 7 วันได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.1 - 4.3 และรูปที่ 4.1 - 4.3

ตารางที่ 4.1 ตารางแสดงขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของเชื้อ *A. parasiticus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดจากส่วนก้านของสะเดาที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี( ซม. )						
	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5	วันที่ 6	วันที่ 7
0(control)	1.28	1.74	2.61	4.07	5.67	7.13	7.92
20,000	1.02	1.26	1.89	2.82	3.56	4.82	5.91
40,000	0.99	1.24	1.56	2.57	3.28	4.73	5.83
60,000	0.92	1.26	1.77	2.59	3.25	4.73	5.76
80,000	0.97	1.17	1.53	2.16	2.74	3.58	4.29
100,000	0.87	1.12	1.51	2.30	2.68	4.18	4.56

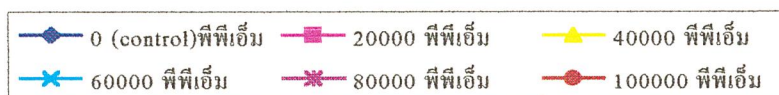
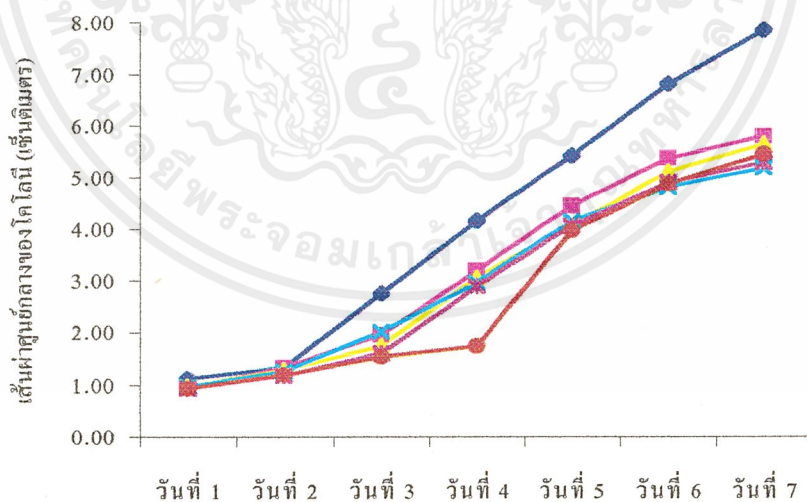


รูปที่ 4.1 กราฟแสดงอิทธิพลของก้านสะเดาที่มีผลต่อ *A. parasiticus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ตารางแสดงขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของเชื้อ *A. flavus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสม สารสกัดจากส่วนก้านของสะเดาที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี( ซม. )						
	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5	วันที่ 6	วันที่ 7
0(control)	1.13	1.34	2.76	4.18	5.43	6.82	7.85
20,000	0.95	1.34	1.97	3.20	4.46	5.38	5.80
40,000	0.98	1.30	1.76	3.07	4.08	5.12	5.65
60,000	0.95	1.27	2.04	2.97	4.16	4.82	5.19
80,000	0.95	1.19	1.61	2.89	4.08	4.91	5.29
100,000	0.95	1.20	1.55	2.75	3.97	4.88	5.45

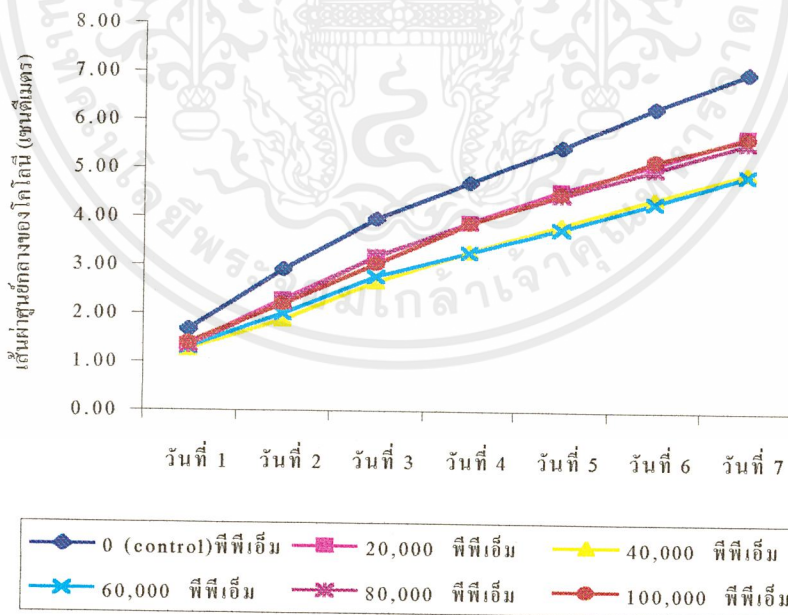


รูปที่ 4.2 กราฟแสดงอิทธิพลของก้านสะเดาที่มีผลต่อ *A. flavus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ตารางแสดงขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของเชื้อ *H. oryzae* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสม สารสกัดจากส่วนก้านของสะเดาที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี( ซม. )						
	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5	วันที่ 6	วันที่ 7
0(control)	1.67	2.92	3.97	4.72	5.45	6.28	7.00
20,000	1.35	2.30	3.19	3.90	4.56	5.12	5.69
40,000	1.27	1.88	2.68	3.29	3.85	4.40	4.94
60,000	1.32	2.02	2.77	3.28	3.77	4.31	4.87
80,000	1.34	2.25	3.20	3.88	4.45	5.00	5.55
100,000	1.40	2.21	3.04	3.87	4.49	5.18	5.66



รูปที่ 4.3 กราฟแสดงอิทธิพลของก้านสะเดาที่มีผลต่อ *H. oryzae*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### ผลการทดลอง

เมื่อนำข้อมูลผลการทดลอง ที่ได้จากตารางที่ 4.1 มาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ จะได้ค่าดังแสดงในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของเส้นผ่าศูนย์กลางของ *A. parasiticus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดจากส่วนด้านของสะเดา

Source of variation	Degree of freedom	Sum of Square	Mean of Square	F- value
Period of Time	6	116.6210	19.4368	
Treatment	5	17.8779	3.5755	14.56 **
Error	30	7.3676	0.2455	
Total	41	141.8665		

cv = 16.5%

\*\* significant at 1% level

### สมมติฐาน

Ho : ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากก้านสะเดาที่ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ *A. parasiticus*

Ha : ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากก้านสะเดาที่ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีความแตกต่างกันอย่างน้อย 2 ระดับความเข้มข้นที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ *A. parasiticus*

จากตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน พบว่า

เนื่องจากค่า F- value ที่ได้จากการคำนวณมีค่ามากกว่าค่า F ที่ได้จากราย แสดงว่า ปฏิเสธ  $H_0$  คือระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากก้านสะเดาที่ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีความแตกต่างกันอย่างน้อย 2 ระดับความเข้มข้น

จากนั้นทำการวิเคราะห์หาความแตกต่างของระดับความเข้มข้น โดยใช้วิธีของคันแคน(Duncan's Multiple Rank Test;DMRT)

ตารางที่ 4.5 ตารางวิเคราะห์ความแตกต่างของระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของก้านตะเภาที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ *A. parasiticus*

RANKS	ความเข้มข้น	MEANS
1	control	4.34643 a
2	20,000	3.04000 b
3	60,000	2.89714 bc
4	40,000	2.88571 bc
5	100,000	2.46000 bc
6	80,000	2.34857 c
MEAN		2.99631

จากตารางสามารถแบ่งความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราออกเป็น 3 กลุ่ม

กลุ่ม a: ที่ระดับความเข้มข้น 0 พีพีเอ็ม (control)

กลุ่ม b: ที่ระดับความเข้มข้น 20,000, 40,000, 60,000 และ 100,000 พีพีเอ็ม

กลุ่ม c: ที่ระดับความเข้มข้น 40,000, 60,000, 80,000 และ 100,000 พีพีเอ็ม

เนื่องจากทริทเม้นท์ในกลุ่ม b มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราไม่แตกต่างกัน และทริทเม้นท์ภายในกลุ่ม c ก็มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ไม่แตกต่างกัน กลุ่ม a มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้น้อยกว่ากลุ่ม b และกลุ่ม b มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญได้น้อยกว่ากลุ่ม c ดังนั้นระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา คือ ระดับความเข้มข้นที่ 40,000 พีพีเอ็ม เนื่องจากใช้ปริมาณสารสกัดน้อยกว่าที่ระดับความเข้มข้นอื่น ๆ

ตารางที่ 4.6 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของเส้นผ่านศูนย์กลางของ *A. flavus* บนอาหาร  
เลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดจากส่วนก้านของสะเดา

Source of variation	Degree of freedom	Sum of Square	Mean of Square	F- value
Period of Time	6	138.6812	23.1135	
Conc (C)	5	7.9010	1.5802	12.46 **
Error	30	3.8052	0.1268	
Total	41	150.3875		

cv = 10.9%

\*\* significant at 1% level

#### สมมติฐาน

Ho : ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากก้านสะเดาที่ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ *A. flavus*

Ha : ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากก้านสะเดาที่ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีความแตกต่างกันอย่างน้อย 2 ระดับความเข้มข้นที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ *A. flavus*

จากตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน พบว่า

เนื่องจากค่า F- value ที่ได้จากการคำนวณมีค่ามากกว่าค่า F ที่ได้จากราย แสดงว่า ปฏิเสธ  $H_0$  คือระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากก้านสะเดาที่ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญอย่างน้อย 2 ระดับความเข้มข้น

ตารางที่ 4.7 ตารางวิเคราะห์ความแตกต่างของระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของก้านตะเคาที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ *A. flavus*

RANKS	ความเข้มข้น	MEANS
1	control	4.2157 a
2	20,000	3.3000 b
3	40,000	3.1371 b
4	60,000	3.0614 b
5	80,000	2.9886 b
6	100,000	2.9643 b
MEAN		3.2779

จากตารางสามารถแบ่งความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราออกเป็น 2 กลุ่ม

กลุ่ม a : ที่ระดับความเข้มข้น 0 พีพีเอ็ม (control)

กลุ่ม b : ที่ระดับความเข้มข้น 20,000 , 40,000 , 60,000 , 80,000 และ 100,000 พีพีเอ็ม

เนื่องจากทริทเม้นท์ในกลุ่ม b มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราไม่แตกต่างกัน กลุ่ม a มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้น้อยกว่ากลุ่ม b ดังนั้นระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราคือ ระดับความเข้มข้นที่ 20,000 พีพีเอ็ม เนื่องจากใช้ปริมาณสารสกัดน้อยกว่าที่ระดับความเข้มข้นอื่นๆ

ตารางที่ 4.8 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของเส้นผ่าศูนย์กลางของ *H. oryzae* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดจากถั่วเน่าของตะเคา

Source of variation	Degree of freedom	Sum of Square	Mean of Square	F- value
Peroid of Time	6	82.4144	13.7357	
Conc (C)	5	8.9863	1.7972	36.04**
Error	30	1.4961	0.0498	
Total	41	92.8969		

cv = %

\*\* significant at 1% leve

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### สมมติฐาน

Ho : ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากก้านสะเดาที่ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ *H. oryzae*

Ha : ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากก้านสะเดาที่ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีความแตกต่างกันอย่างน้อย 2 ระดับความเข้มข้นที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ *H. oryzae*

จากตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน พบว่า

เนื่องจากค่า F- value ที่ได้จากการคำนวณมีค่ามากกว่าค่า F ที่ได้จกตาราง แสดงว่า ปฏิเสธ  $H_0$  คือระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากก้านสะเดาที่ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งอย่างน้อย 2 ระดับความเข้มข้น

ตารางที่ 4.9 ตารางวิเคราะห์ความแตกต่างของระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของก้านสะเดาที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ *H. oryzae*

RANKS	ความเข้มข้น	MEANS
1	control	4.5744 a
2	20,000	3.7309 b
3	100,000	3.6931 b
4	80,000	3.6683 b
5	60,000	3.1917 c
6	40,000	3.1874 c
MEAN		3.6744

จากตารางสามารถแบ่งความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราออกเป็น 3 กลุ่ม

กลุ่ม a : ที่ระดับความเข้มข้น 0 พีพีเอ็ม (control)

กลุ่ม b : ที่ระดับความเข้มข้น 20,000 , 80,000 และ 100,000 พีพีเอ็ม

กลุ่ม c : ที่ระดับความเข้มข้น 40,000 และ 60,000 พีพีเอ็ม

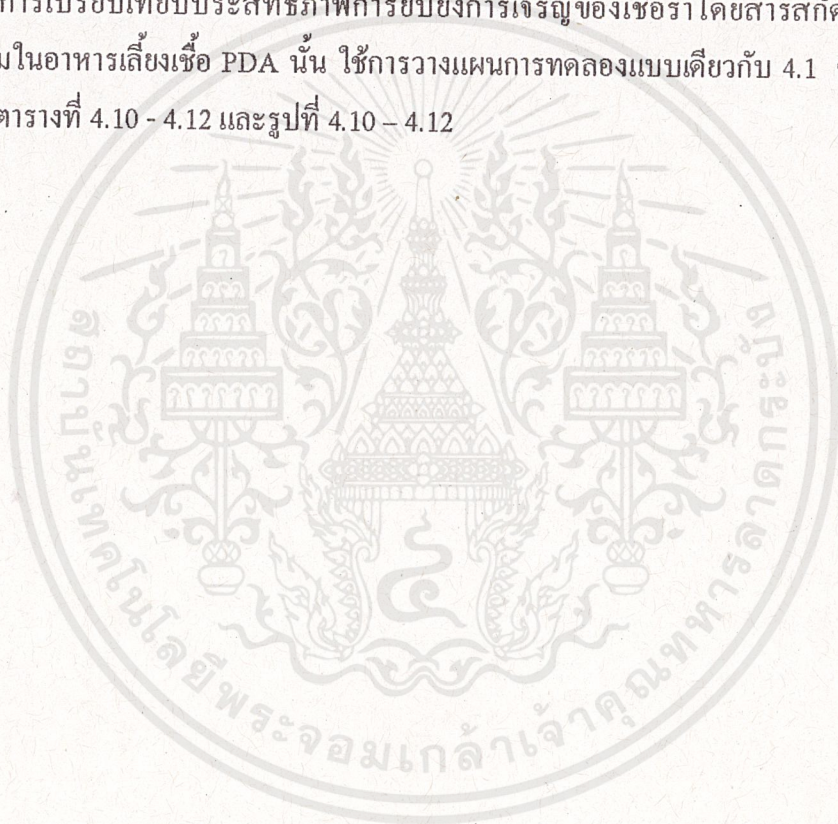
เนื่องจากทริทเม้นท์ในกลุ่ม b มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราไม่แตกต่างกัน และทริทเม้นท์ภายในกลุ่ม c ก็มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ไม่แตกต่างกัน กลุ่ม a มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้น้อยกว่ากลุ่ม b และกลุ่ม b มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญได้น้อยกว่ากลุ่ม c ดังนั้นระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา

ไม่ทราบแน่ชัดว่า... อย่างไรก็ตาม... ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คือ ระดับความเข้มข้นที่ 40,000 พีพีเอ็ม เนื่องจากใช้ปริมาณสารสกัดน้อยกว่าที่ระดับความเข้มข้นที่ 60,000 พีพีเอ็ม

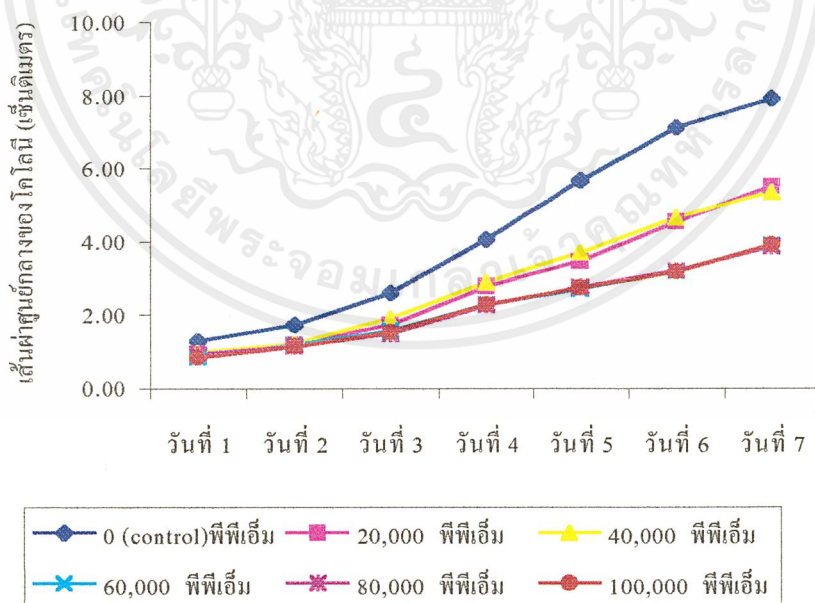
#### 4.2 ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโดยสารสกัดจากส่วนใบของตะไคร่ที่ผสมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

ในการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโดยสารสกัดจากส่วนใบของตะไคร่ที่ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA นั้น ใช้การวางแผนการทดลองแบบเดียวกับ 4.1 ซึ่งผลการทดลองเป็นไปตามตารางที่ 4.10 - 4.12 และรูปที่ 4.10 - 4.12



ตารางที่ 4.10 ตารางแสดงขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของเชื้อ *A. parasiticus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดจากส่วนใบของสะเดาที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี ( ซม. )						
	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5	วันที่ 6	วันที่ 7
0(control)	1.28	1.74	2.61	4.07	5.67	7.13	7.92
20,000	0.96	1.20	1.73	2.79	3.48	4.55	5.51
40,000	0.98	1.21	1.90	2.90	3.71	4.67	5.36
60,000	0.85	1.18	1.58	2.29	2.72	3.20	3.91
80,000	0.94	1.15	1.48	2.28	2.77	3.22	3.87
100,000	0.83	1.14	1.53	2.29	2.75	3.18	3.93

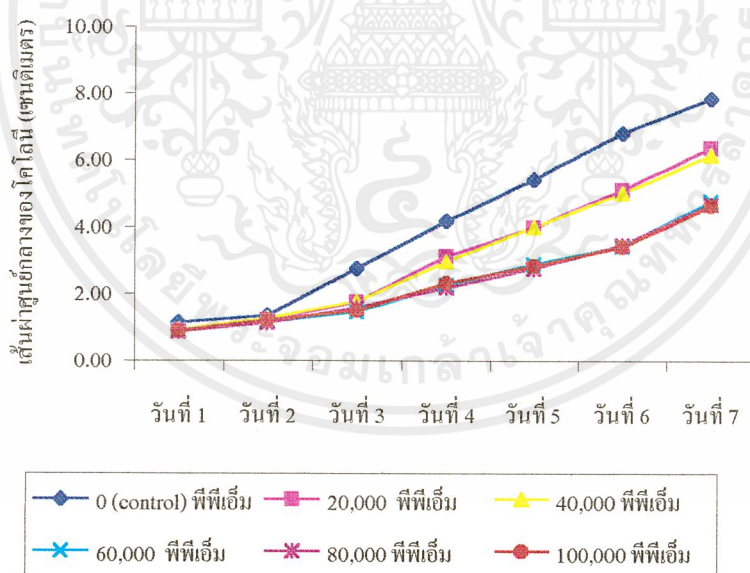


รูปที่ 4.4 กราฟแสดงอิทธิพลของใบสะเดาที่มีผลต่อ *A. parasiticus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 ตารางแสดงขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของเชื้อ *A. flavus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสม สารสกัดจากส่วนใบของสะเดาที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (ซม.)						
	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5	วันที่ 6	วันที่ 7
0(control)	1.13	1.34	2.76	4.18	5.43	6.82	7.85
20,000	0.90	1.21	1.75	3.12	4.00	5.13	6.38
40,000	0.92	1.27	1.76	2.98	4.01	5.03	6.16
60,000	0.90	1.15	1.48	2.27	2.90	3.44	4.77
80,000	0.86	1.13	1.57	2.18	2.77	3.48	4.69
100,000	0.89	1.20	1.49	2.32	2.85	3.42	4.64

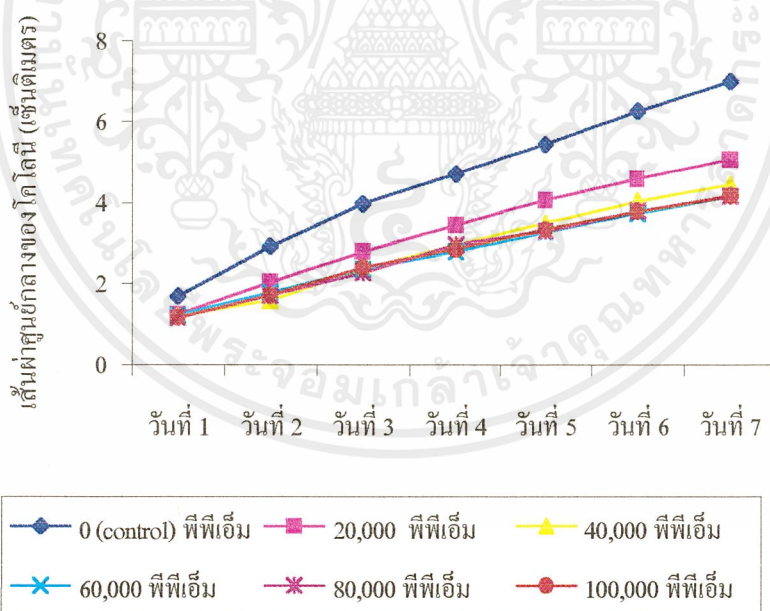


รูปที่ 4.5 กราฟแสดงอิทธิพลของใบสะเดาที่มีผลต่อ *A. flavus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.12 ตารางแสดงขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของเชื้อ *H. oryzae* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดจากส่วนใบของสะเดาที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี ( ซม.)						
	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5	วันที่ 6	วันที่ 7
0(control)	1.67	2.92	3.97	4.72	5.45	6.28	7.00
20,000	1.24	2.04	2.80	3.44	4.07	4.59	5.07
40,000	1.19	1.57	2.34	2.95	3.50	4.05	4.45
60,000	1.22	1.78	2.34	2.79	3.29	3.74	4.15
80,000	1.17	1.70	2.26	2.95	3.30	3.79	4.15
100,000	1.17	1.69	2.38	2.86	3.33	3.79	4.17



รูปที่ 4.6 กราฟแสดงอิทธิพลของใบสะเดาที่มีผลต่อ *H. oryzae*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### ผลการทดลอง

เมื่อนำผลการทดลองที่ได้จากตารางที่ 4.10 มาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติจะได้ค่าดังตารางที่ 4.13

**ตารางที่ 4.13 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของเส้นผ่านศูนย์กลางของ *A. parasiticus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดจากส่วนใบของสะเดา**

Source of variation	Degree of freedom	Sum of Square	Mean of Square	F- value
Peroid of Time	6	88.3176	14.7196	
Conc (C)	5	23.4898	4.6979	12.80 **
Error	30	11.0096	0.3669	
Total	41	122.8171		

cv = 21.5%

\*\* significant at 1% level

### สมมติฐาน

Ho : ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากใบสะเดาที่ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ *A. parasiticus*

Ha : ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากใบสะเดาที่ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีความแตกต่างกันอย่างน้อย 2 ระดับความเข้มข้นที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ *A. parasiticus*

จากตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน พบว่า

เนื่องจากค่า F- value ที่ได้จากการคำนวณมีค่ามากกว่าค่า F ที่ได้จากตาราง แสดงว่า ปฏิเสธ  $H_0$  คือระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากใบสะเดาที่ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีความแตกต่างกันอย่างน้อย 2 ระดับความเข้มข้น

ตารางที่ 4.14 ตารางวิเคราะห์ความแตกต่างของระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของใบสะเดาที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ *A. parasiticus*

RANKS	ความเข้มข้น	MEANS
1	control	4.3464 a
2	40,000	2.96143 b
3	20,000	2.88857 b
4	60,000	2.24714 b
5	80,000	2.24429 b
6	100,000	2.23571 b
MEAN		2.82060

จากตารางสามารถแบ่งความสามารถในการยับยั้งออกเป็น 2 กลุ่ม

กลุ่ม a : ที่ระดับความเข้มข้น 0 พีพีเอ็ม (control)

กลุ่ม b : ที่ระดับความเข้มข้น 20,000 , 40,000 , 60,000 , 80,000 และ 100,000 พีพีเอ็ม

เนื่องจากทรีทเม้นท์ในกลุ่ม b มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราไม่แตกต่างกัน

กลุ่ม a มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้น้อยกว่ากลุ่ม b ดังนั้นระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราคือ ระดับความเข้มข้นที่ 20,000 พีพีเอ็ม เนื่องจากใช้ปริมาณสารสกัดน้อยกว่าที่ระดับความเข้มข้นอื่น ๆ

ตารางที่ 4.15 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของเส้นผ่านศูนย์กลางของ *A. flavus* บนอาหาร  
เลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดจากส่วนใบของตะเคา

Source of variation	Degree of freedom	Sum of Square	Mean of Square	F- value
Peroid of Time	6	115.8340	19.3056	
Conc (C)	5	18.3576	3.6715	12.40 **
Error	30	8.8840	0.2961	
Total	41	143.0756		

cv = 18.4%

\*\* significant at 1% level

#### สมมติฐาน

Ho : ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากใบตะเคาที่ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ *A. flavus*

Ha : ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากใบตะเคาที่ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีความแตกต่างกันอย่างน้อย 2 ระดับความเข้มข้นที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ *A. flavus*

จากตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน พบว่า

เนื่องจากค่า F- value ที่ได้จากการคำนวณมีค่ามากกว่าค่า F ที่ได้จากราง แสดงว่า ปฏิเสธ  $H_0$  คือระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากใบตะเคาที่ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีความแตกต่างกันอย่างน้อยสำคัญยิ่งอย่างน้อย 2 ระดับความเข้มข้น

ตารางที่ 4.16 ตารางวิเคราะห์ความแตกต่างของระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของใบสะเดาที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ *A. flavus*

RANKS	ความเข้มข้น	MEANS
1	control	4.2157 a
2	20,000	3.2129 b
3	40,000	3.1614 b
4	60,000	2.4157 c
5	100,000	2.4014 c
6	80,000	2.3829 c
MEAN		2.9650

จากตารางสามารถแบ่งความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราออกเป็น 3 กลุ่ม

กลุ่ม a : ที่ระดับความเข้มข้น 0 พีพีเอ็ม (control)

กลุ่ม b : ที่ระดับความเข้มข้น 20,000 และ 40,000 พีพีเอ็ม

กลุ่ม c : ที่ระดับความเข้มข้น 60,000 , 80,000 และ 100,000 พีพีเอ็ม

เนื่องจากทรีทเม้นท์ในกลุ่ม b มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราไม่แตกต่างกัน และทรีทเม้นท์ภายในกลุ่ม c ก็มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ไม่แตกต่างกัน กลุ่ม a มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้น้อยกว่ากลุ่ม b และกลุ่ม b มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญได้น้อยกว่ากลุ่ม c ดังนั้นระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราคือระดับความเข้มข้นที่ 60,000 พีพีเอ็ม เนื่องจากใช้ปริมาณสารสกัดน้อยกว่าที่ระดับความเข้มข้นอื่น ๆ

ตารางที่ 4.17 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของเส้นผ่านศูนย์กลางของ *H. oryzae* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดจากส่วนใบของตะเคา

Source of variation	Degree of freedom	Sum of Square	Mean of Square	F- value
Peroid of Time	6	59.6845	9.9474	
Conc (C)	5	18.0735	3.6147	35.85**
Error	30	3.0252	0.1008	
Total	41	80.7832		

cv = 10.0 %

\*\* significant at 1% level

#### สมมติฐาน

Ho : ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากใบตะเคาที่ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ *H. oryzae*

Ha : ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากใบตะเคาที่ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีความแตกต่างกันอย่างน้อย 2 ระดับความเข้มข้นที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ *H. oryzae*

จากตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน พบว่า

เนื่องจากค่า F- value ที่ได้จากการคำนวณมีค่ามากกว่าค่า F ที่ได้จกตาราง แสดงว่า ปฏิเสธ  $H_0$  คือระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากใบตะเคาที่ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีความแตกต่างกันอย่างน้อย 2 ระดับความเข้มข้น

ตารางที่ 4.18 ตารางวิเคราะห์ความแตกต่างของระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของใบสะเดาที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ *H. oryzae*

RANKS	ความเข้มข้น	MEANS
1	control	4.5744 a
2	20,000	3.3226 b
3	40,000	2.8654 c
4	100,000	2.7726 b
5	60,000	2.7606 b
6	80,000	2.7600 b
MEAN		3.1759

จากตารางสามารถแบ่งความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราออกเป็น 3 กลุ่ม

กลุ่ม a : ที่ระดับความเข้มข้น 0 พีพีเอ็ม (control )

กลุ่ม b : ที่ระดับความเข้มข้น 20,000 , 60,000 , 80,000 และ 100,000 พีพีเอ็ม

กลุ่ม c : ที่ระดับความเข้มข้น 40,000 พีพีเอ็ม

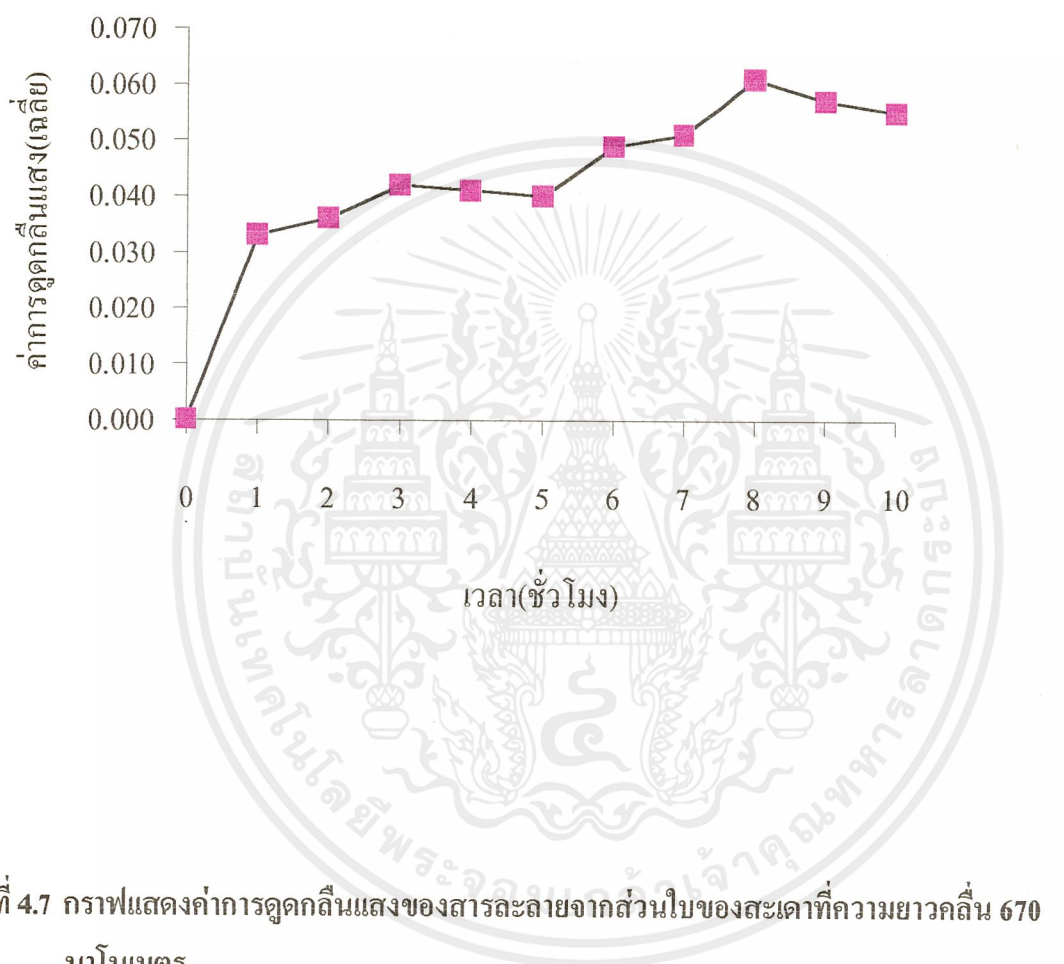
เนื่องจากทรีทमेंท์ในกลุ่ม b มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราไม่แตกต่างกัน กลุ่ม a มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้น้อยกว่ากลุ่ม b และกลุ่ม b มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญได้น้อยกว่ากลุ่ม c ดังนั้นระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราคือ ระดับความเข้มข้นที่ 40,000 พีพีเอ็ม

### 4.3 ผลการดูดกลืนแสงของสารละลายสะเดาที่ความยาวคลื่น 670 นาโนเมตร

ในการศึกษาค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายสะเดาทั้งส่วนใบและส่วนก้านโดยใช้เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลาย แล้วนำไปเข้าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาทีและทำการเก็บผลทุกๆ 1 ชั่วโมงเป็นเวลา 10 ชั่วโมง เพื่อหาชั่วโมงที่สามารถสกัดสารที่อยู่ในส่วนของสะเดาออกมาได้มากที่สุด โดยวัดจากค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายสะเดาที่ความยาวคลื่น 670 นาโนเมตร ได้ผลดังตารางที่ 4.19 และ 4.20 ตามลำดับ

**ตารางที่ 4.19 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ได้จากส่วนใบของสะเดาที่ความยาวคลื่น 670 นาโนเมตร**

ชม.ที่	ค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดจากใบสะเดาที่ 670 นาโนเมตร			เฉลี่ย
	หลอดที่ 1	หลอดที่ 2	หลอดที่ 3	
1	0.098	0.117	0.100	0.033
2	0.109	0.115	0.093	0.036
3	0.125	0.126	0.109	0.042
4	0.123	0.137	0.132	0.041
5	0.120	0.137	0.126	0.040
6	0.148	0.161	0.118	0.049
7	0.152	0.169	0.131	0.051
8	0.184	0.196	0.174	0.061
9	0.172	0.192	0.169	0.057
10	0.164	0.184	0.171	0.055



รูปที่ 4.7 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายจากส่วนใบของสะเดาที่ความยาวคลื่น 670 นาโนเมตร

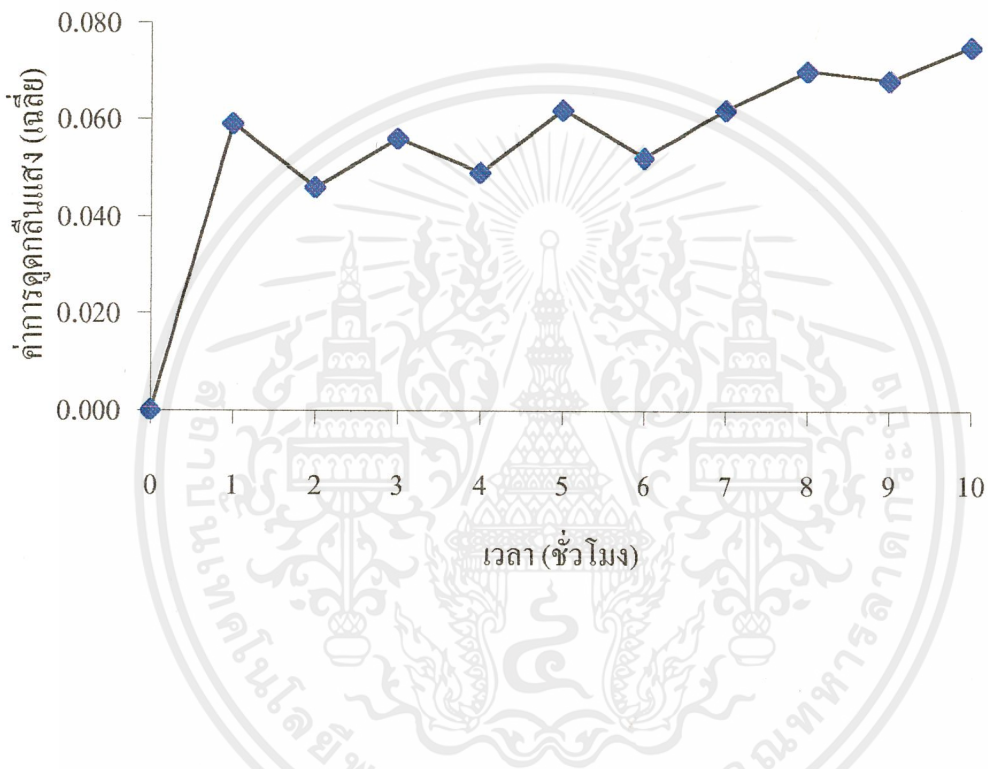
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### ผลการทดลอง

จากกราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายจากส่วนใบของสะเดาที่ความยาวคลื่น 670 นาโนเมตร พบว่าเมื่อทำการเขย่าสารละลายที่ผสมระหว่างส่วนใบของสะเดาและเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นเวลา 8 ชั่วโมง จะทำให้สามารถสกัดสารที่อยู่ภายในส่วนใบของสะเดาออกมาได้มากที่สุด แสดงว่า สารสกัดจากส่วนใบของสะเดาจะถูกสกัดออกมาได้มากที่สุด เมื่อทำการเขย่าเป็นเวลา 8 ชั่วโมง

ตารางที่ 4.20 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ได้จากส่วนก้านของสะเดาที่ความยาวคลื่น 670 นาโนเมตร

ชม.ที่	ค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดจากก้านสะเดาที่ 670 นาโนเมตร			เฉลี่ย
	หลอดที่ 1	หลอดที่ 2	หลอดที่ 3	
1	0.052	0.069	0.055	0.059
2	0.040	0.053	0.045	0.046
3	0.059	0.052	0.057	0.056
4	0.044	0.051	0.051	0.049
5	0.055	0.066	0.065	0.062
6	0.061	0.048	0.048	0.052
7	0.074	0.057	0.054	0.062
8	0.077	0.070	0.064	0.070
9	0.083	0.061	0.060	0.068
10	0.092	0.069	0.063	0.075



รูปที่ 4.8 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายจากส่วนก้านสะเดาที่มีความยาวคลื่น 670 นาโนเมตร

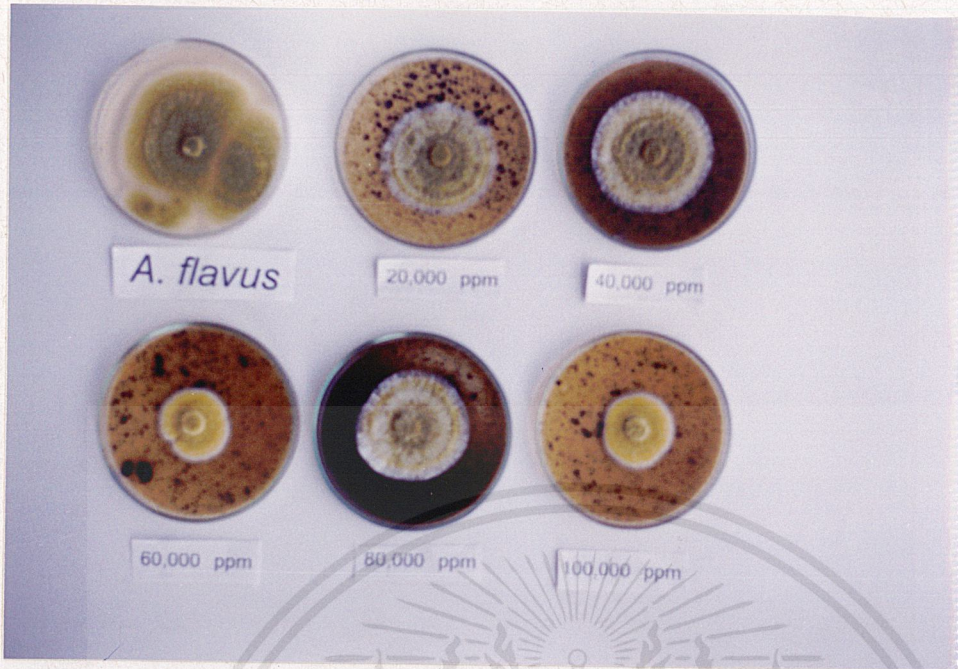
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### ผลการทดลอง

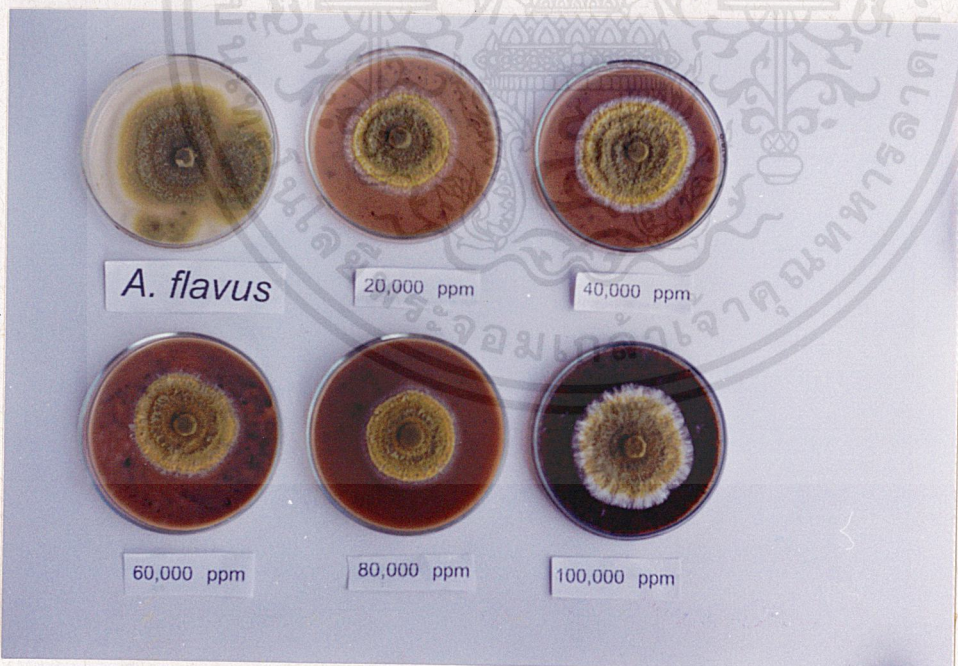
จากกราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายจากส่วนก้านของสะเดาที่มีความยาวคลื่น 670 นาโนเมตร พบว่า เมื่อทำการเขย่าสารละลายที่ผสมระหว่างส่วนก้านของสะเดาและเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นเวลา 10 ชั่วโมง จะทำให้สามารถสกัดสารที่อยู่ภายในส่วนก้านของสะเดาออกมาได้มากที่สุด แสดงว่า สารสกัดจากส่วนก้านของสะเดาจะถูกสกัดออกมาได้มากที่สุด เมื่อทำการเขย่าเป็นเวลา 10 ชั่วโมง

### วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดจากใบและก้านของสะเดา ที่มีผลต่อเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคในพืชนั้น ข้อผิดพลาดของการศึกษาครั้งนี้อาจเกิดจาก ในขั้นตอนการอบแห้งใบและก้านสะเดาสดที่ 55 องศาเซลเซียสและขั้นตอนการระเหยภายใต้สุญญากาศ ซึ่งอาจทำให้สูญเสียสารที่ระเหยง่ายในใบสะเดาไป อาจทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราลดน้อยลงไปและในการวัดการเจริญของเชื้อราจากที่ใช้การวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีนั้น อาจมีข้อผิดพลาดในการวัด เนื่องจากลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่เจริญมีรูปร่างไม่แน่นอน

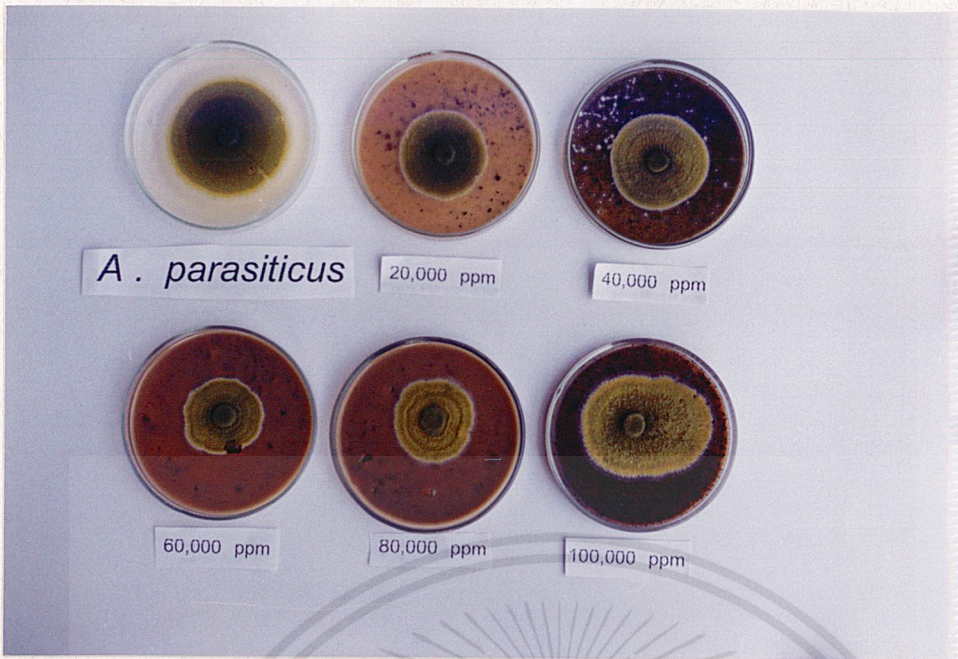


รูปที่ 4.9 แสดงผลการเจริญของเชื้อ *Aspergillus flavus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดจาก ส่วนใบของสะเดาที่ระดับความเข้มข้น 0(control) , 20,000 , 40,000 , 60,000 , 80,000 และ 100,000 พีพีเอ็ม

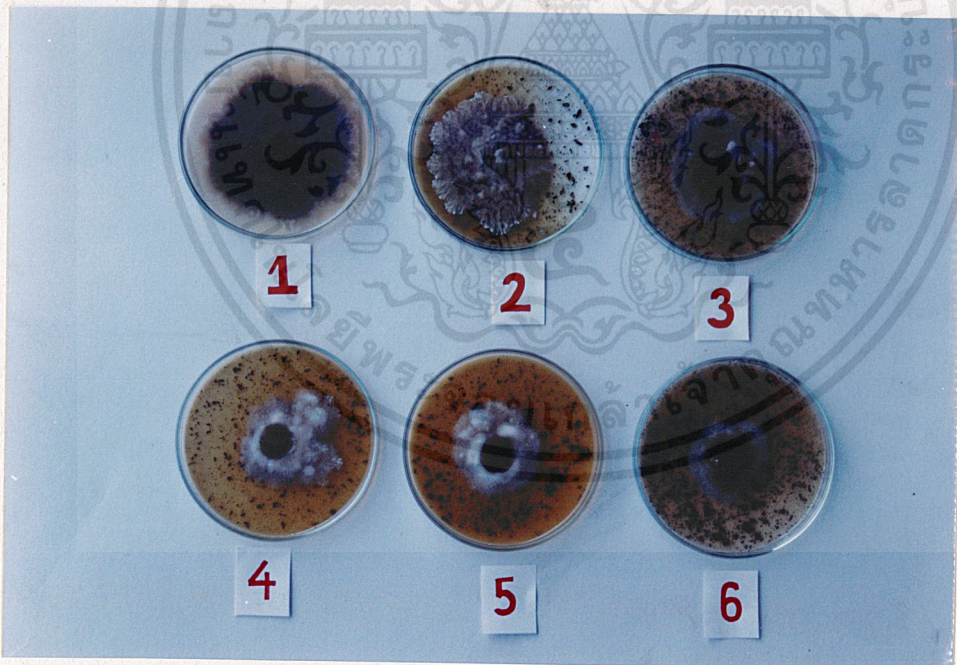


รูปที่ 4.10 แสดงผลการเจริญของเชื้อ *Aspergillus flavus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดจาก ส่วนก้านของสะเดาที่ระดับความเข้มข้น 0(control) , 20,000 , 40,000 , 60,000 , 80,000 และ 100,000 พีพีเอ็ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



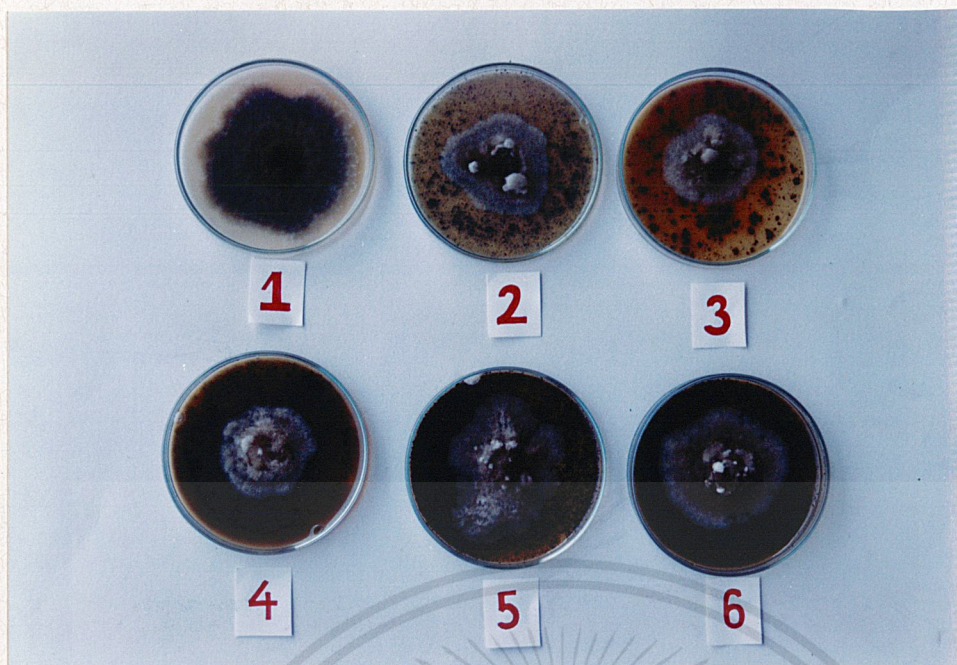
รูปที่ 4.11 แสดงผลการเจริญของเชื้อ *Aspergillus parasiticus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดจากส่วนก้านของตะไคร้ที่ระดับความเข้มข้น 0(control) , 20,000 , 40,000 , 60,000 , 80,000 และ 100,000 พีพีเอ็ม



รูปที่ 4.12 แสดงผลการเจริญของเชื้อ *Helminthosporium oryzae* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดจากส่วนใบของตะไคร้ที่ความเข้มข้น

- |                        |                    |                     |
|------------------------|--------------------|---------------------|
| 1) 0(control) พีพีเอ็ม | 2) 20,000 พีพีเอ็ม | 3) 40,000 พีพีเอ็ม  |
| 4) 60,000 พีพีเอ็ม     | 5) 80,000 พีพีเอ็ม | 6) 100,000 พีพีเอ็ม |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.13 แสดงผลการเจริญของเชื้อ *Helminthosporium oryzae* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดจาก ส่วนก้านของสะเดา ที่ความเข้มข้น

- |                        |                    |                     |
|------------------------|--------------------|---------------------|
| 1) 0(control) พีพีเอ็ม | 2) 20,000 พีพีเอ็ม | 3) 40,000 พีพีเอ็ม  |
| 4) 60,000 พีพีเอ็ม     | 5) 80,000 พีพีเอ็ม | 6) 100,000 พีพีเอ็ม |

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

#### ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโดยสารสกัดจากส่วนก้านที่ผสมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

จากการศึกษาส่วนก้านของสะเดา พบว่าสารสกัดจากส่วนก้านของสะเดาที่ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ระดับความเข้มข้น 20,000 พีพีเอ็ม เหมาะสมต่อการยับยั้งการเจริญของ *Aspergillus flavus* และที่ระดับความเข้มข้น 40,000 พีพีเอ็ม เหมาะสมต่อการยับยั้งการเจริญของ *Aspergillus parasiticus* และ *Helminthosporium oryzae*

#### ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโดยสารสกัดจากส่วนใบที่ผสมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

จากการศึกษาส่วนใบของสะเดา พบว่าสารสกัดจากส่วนใบของสะเดาที่ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ระดับความเข้มข้น 60,000 พีพีเอ็ม เหมาะสมต่อการยับยั้งการเจริญของ *Aspergillus flavus* และที่ระดับความเข้มข้น 20,000 พีพีเอ็ม เหมาะสมต่อการยับยั้งการเจริญของ *Aspergillus parasiticus* ส่วนระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการยับยั้งการเจริญของ *Helminthosporium oryzae* คือ 40,000 พีพีเอ็ม

#### ผลการดูกลั่นแสงของสารละลาย

จากการศึกษาการดูกลั่นแสงของสารละลายสะเดาที่ความยาวคลื่น 670 นาโนเมตร พบว่าเมื่อทำการเขย่าสารละลายที่มีส่วนก้านของสะเดาผสมอยู่เป็นเวลา 10 ชั่วโมง จะทำให้ได้สารสกัดออกมาในปริมาณที่มากที่สุด และเมื่อทำการเขย่าสารละลายที่มีส่วนของใบสะเดาผสมอยู่เป็นเวลา 8 ชั่วโมง จะทำให้ได้สารสกัดออกมาในปริมาณที่มากที่สุด

#### ข้อเสนอแนะ

ในการศึกษาครั้งนี้ สารที่ใช้เป็นสารสกัดอย่างหยาบ(Crude Extract) ซึ่งในการยับยั้งเชื้อราทั้ง 3 ชนิดนั้น ยังไม่ได้สกัดสารออกฤทธิ์ที่มีผลต่อการยับยั้งจากใบและก้านของสะเดา จากรายงานของ Zeringue (1994) ใช้เทคนิค HPLC วิเคราะห์สารในใบสะเดา พบว่าสารที่มีผลต่อเชื้อราที่ใช้ทดสอบคือ กลุ่มของสารประเภทแอลกอฮอล์ 23 เปอร์เซนต์ คีโตน 43 เปอร์เซนต์ และสารไฮโดรคาร์บอนอีก 11 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นในการศึกษาครั้งต่อไป ควรปรับปรุงเทคนิคการสกัดให้ได้สารออกฤทธิ์บริสุทธิ์ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราทั้ง 3 ชนิด ให้ได้ผลมากขึ้น



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เอกสารอ้างอิง

ขวัญชัย สมบัติศิริ “ประสิทธิภาพของสาร อีเอ็ม ผสมกับสารสกัดสะเดาที่มีต่อแมลงศัตรูพืช”

Kasetsart J. 30 (2539) : 104 – 109.

ขวัญชัย สมบัติศิริ สะเดาและสารสกัดสะเดา สะเดา : มิติใหม่ของการป้องกันและกำจัดแมลง

หน้า 13 – 40 สำนักพิมพ์ ป.สัมพันธ์พานิชย์ กรุงเทพฯ. 2540.

พิไลพรรณ พงษ์พูล ราวิทยาเบื้องต้น หน้า 199 – 215 สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์ วัจบุรพา กรุงเทพฯ.

2525.

รณภพ บรรณเจตเชิดชู “เชื้อราในโรงเก็บ สารพิษอะฟลาทอกซินและการควบคุมด้วยสารเคมีบน

เมล็ดข้าวโพด” วิทยานิพนธ์ ปริญญาโท สาขาเกษตรศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2530.

โสภณ บุญมีวิเศษ “ลักษณะทางกายวิภาคของสะเดาอินเดียและสะเดาไทย” วิทยานิพนธ์ปริญญาโท

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 2531.

Alexopoulos, J.C., Mims, W.C. and Black well, M. Introductory Mycology 4 th ed., pp. 214 –

217, John Wiley and Son., New York, 1996.

Bajai, Y.P.S. Biotechnology in Agriculture and Forestry Vol. 14. Pp. 340, Springer – Verlag Berlin,

Heidelberg, 1991.

Baudoin, A.B.A.M., Hooper, R.G., Mathre, E.D. and Carroll, B.R. Laboratory Exercises in Plant

Pathology pp. 23 – 26, The American Phytopathological Society, 1989.

Betancourt, A “Growth of *Azadirachta indica* in Cuba” Baracoa 2 (1972) : 17 – 23.

Bu’Lock, J.D. and Kristiansen, B. Basic Biotechnology Academic Press Inc., Orlando, Florida,

1987.

Cocharan, C.W. and Cox, M.G. Experimental Design. John Wiley and Sons, New York, 1957.

Dakshinmusthi, K. “The amino acids in the leaf of *Azadirachta indica* (*Melia*)” Curr. Sci

(Bangalore) 23 (1954) : 125 – 126.

De Jussieu, A. “*Azadirachta indica* and *Melia azadarach*, (silviculture) characteristics and

planting method” Rev. bois For. Trop. 88 (1963) : 23.

Dutton, F.M. “Enzyme and aflatoxin biosynthesis” Microbiol. Rev. 52(2). (1988) :

274 – 295.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Godrej , A.B. The fatty acid industry and minor oils. In Proceedings of a Workshop on Minor Oil Seed Collection , Processing and End Uses. Calcutta , India , pp 101 – 102 , February 1975.
- Gueldner , C.R. , Wilson , M.D. and Heidt , R.A. “Volatile compounds inhibiting *Aspergillus flavus*” Agric. Food Chem. 33 (1985) : 411 – 413.
- Jacobson , M. Neem research and cultivation in the western hemisphere. In Proceeding of the 3 rd International Neem Conference , Nairobi , Kenya , pp. 33 – 44 , July 1987.
- Juliano , O. Rice : Chemistry and Technology pp. 272 , The American Association of Cereal Chemists , Inc , 1989.
- Kalla , C.J., Chand , G. , Vyas , L.D. and Gehlot , S.N. “Technoeconomic felling cycles for selected energy plantation species in an area of weatern Rajasthan” Ann. Arid Zone 17 (1978) : 42 – 51.
- Keher , D.N. and Nagi , S.S. “Neem leaves as a feed for livestock” Curr. Sci. (Bangalore) 18(1949) : 325.
- Ketker , M.C. “Utilization of neem and its bye-products” Sadhana Press , India , 1976 : 233.
- Koul , O., Isman , B.M. and Ketker , M.C. “Properties and uses of neem , *Azadirachta indica*” Can. J. Bot. 68 (1990) : 1 – 7.
- Kraus , W. and Cramer , R. Pentanortriterpenoids from *Azadirachta indica* A. Juss ( Meliaceae ). Chem.ber. 114 : 2375 – 2381. 1981.
- Lewis , H.W. and Eloit – Lewis , F.P.M. “Neem cultivation in Haiti” Econ. Bot. 37 (1983) : 69 - 70.
- Luh , S.B. Rice production 2 nd ed., pp 23 – 83 , 103 – 165 , 187 – 205 , Van Nostrand Rein hold , 1991.
- Mitra , R.C. “Neem” Indian Central Oil Seed Committee , Himayatnagar , Hyderabad , India. (1963) : 15 – 68.
- Mitra , R.C. and Misra , S.P. “Amino acids of processed seed meal proteins” Journal Agric. Food Chem. 15 (1967) : 697 – 700.
- National Academy of Sciences , U.S.A. Fire wood crops – shrub and tree species for energy plantation. 1980 : 114 – 117.
- Potapov , M.V. and Tatarinchik , N.S. Organic Chemistry pp. 169 , Mir Publisher , Moscow , 1979.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Prabhaker, N., Coudriet, L.D., Kishaba, N.A. and Meyerdisk, E.D. "Laboratory evaluation of neem- seed extract against larvae of the cabbage looper and beet armyworm" J. Econ Entomol. 79(1). (1986) : 39 – 41.
- Radwanski, S. "Improvement of red acid sand by neem tree (*Azadirachta indica*) in Sokoto, North Western state of Nigeria" Appl. Ecol. 6 (1969) : 507 – 511.
- Rangaswamy, S.N. and Promilla "Morphogenesis of the adult embryo of *Azadirachta indica* A. juss" Z. Pflazenphysiol 67 (1972) : 377 – 379.
- Royse, J.D. and Ries, M.S. "The influence of fungi isolated from peach twigs on the pathogenicity of *Cytospora cincta*" Phytopathology 68 (1978) : 603 – 607.
- Skellon, H.J., Thorburn, S., Spence, J. and Chatterjee, N.S. "The fatty acids of neem oil and their reduction products" Journal Sci. Food Agric. 13 (1962) : 639 – 643.
- Sombatsiri, K., Ermel, K. and Schmutterer, H. "The Thai neem tree : *Azadirachta siamensis* (val.)" The Neem Tree, VCH Publisher, Germany, 1995 : 585 – 597.
- Tewari, N.D. "Monograph of Neem" International Book Distribution, India, 1992 : 279.
- Tirimanna, A.S.L. Sureying the chemical constituents of the neem leaf by two-dimensional thin layer chromatography. In Proceedings of the 2<sup>nd</sup> International Neem Conference, Rausch holzhausen, West Germany, pp. 67 – 74, May 1983.
- Troup, R.S. The silvicultused Indian trees. Vol. 1. Clasenden Tress, Oxford, 1921.
- Yu, J., Chang, K.P., Ehrlich, C.K., Cary, W.J., Montalbano, B., Dyer, M.J., Bhatnagar, D. and Cleveland, E.T. "Characterization of the critical amino acids of an *Aspergillus parasiticus* cytochrome P-450 monooxygenase encoded by *orda* that is involved in the biosynthesis of aflatoxins B<sub>1</sub>, G<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> and G<sub>2</sub>" App. Environ. Microbiol. 64 (12). (1998) : 4834 – 4841.
- Zeringue, J.H. and Bhatnagar, D. "Effects of neem leaf Volatiles on submerged cultures of aflatoxigenic *Aspergillus parasiticus*" App. Environ. Microbiol. 60(10). (1994) : 3543 – 3547.

## ภาคผนวก ก

### อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (Potato Dextrose Agar)

#### ส่วนประกอบ

มันฝรั่งหั่นเป็นรูปลูกบาศก์ขนาด 0.5 กรัม	250	กรัม
เดกซ์โทรส (Dextrose)	20	กรัม
ผงวุ้น (Agar powder)	20	กรัม
น้ำกลั่น (Distilled water)	1000	มิลลิลิตร

#### การเตรียม

นำมันฝรั่ง 250 กรัม ที่เตรียมไว้เติมน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร แล้วต้มเป็นเวลา 15 ถึง 20 นาที กรองเอาแต่ส่วนที่เป็นน้ำ เติมส่วนประกอบที่เหลือ ผสมให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1,000 มิลลิลิตร ปรับ pH เป็น 5.6 นึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (PSI) เป็นเวลา 15 นาที

### อาหารเลี้ยงเชื้อ RPA (Rice Polish Agar)

#### ส่วนประกอบ

รำข้าว (Rice polish)	2	กรัม
ยีสต์สกัด (Yeast extract)	0.2	กรัม
ผงวุ้น (Agar powder)	2	กรัม
น้ำกลั่น (Distilled water)	100	มิลลิลิตร

#### การเตรียม

นำส่วนผสมทั้งหมดผสมกัน (Mix) ให้เข้ากันโดยใช้ไมโครเวฟ (Microwave) หรือความร้อนนำไปทำให้ปลอดเชื้อ (Sterile) โดยการนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) ที่ 121 องศาเซลเซียส 15 PSI เป็นเวลา 15 นาที

### Semisolid suspension

#### ส่วนประกอบ

ผงวุ้น	0.20 %
tween 80	0.05 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำกลั่น 99.50 %

อาหาร PDA 0.20 – 0.40 มิลลิลิตร

การเตรียม

นำส่วนผสมต่างๆ มาผสมกันแล้ว นำมาใส่ลงในขวดขนาดเล็กรับจำนวน 0.2 – 0.4 มิลลิลิตร ปิดฝาเกลียวแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 – 20 นาที



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ข

### การเตรียมสารเคมี

#### 1. ไฮโดรคลอริก 1 โมลาร์ จำนวน 100 มิลลิลิตร

ไฮโดรคลอริก เข้มข้นร้อยละ 99

น้ำกลั่น

#### วิธีการเตรียม

นำ HCl เข้มข้นร้อยละ 99 จำนวน 10 มิลลิลิตรใส่ขวดวัดปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร

↓  
ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

↓  
ปิดฝาและเขย่าให้สารละลายผสมกัน

↓  
เทสารละลายกรดที่ได้ลงในขวดสีชา

คำนวณหาความเข้มข้นโดยใช้สูตร

$$\text{ความเข้มข้น HCl (M)} = \frac{10 \times (\%) \times (D)}{M_w \text{ HCl}}$$

ปริมาตรที่ใช้เตรียมคำนวณจากสูตร

$$\text{ปริมาตรเริ่มต้น}(V_1) \text{ HCl (ml)} = \frac{M_2 V_2}{M_1}$$

\* $M_1$  = ความเข้มข้นเป็นโมลาร์ (Molarity) ของกรดก่อนเจือจาง

\* $M_2$  = ความเข้มข้นเป็นโมลาร์ (Molarity) ของกรดหลังเจือจาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

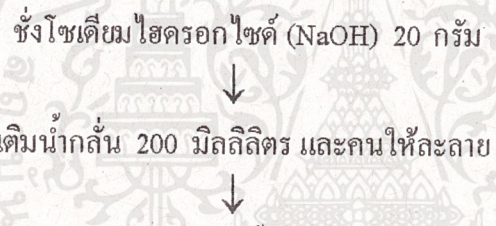
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- \*V<sub>1</sub> = ปริมาตรของกรดก่อนการเจือจาง
- \*V<sub>2</sub> = ปริมาตรของกรดหลังการเจือจาง
- \*% = ความเข้มข้นเป็นร้อยละของกรดที่ใช้เตรียม
- \*D = ความหนาแน่น (Density) ของกรด ( D=m / v )
- \*มวลโมเลกุล (Molecular weight ; M<sub>w</sub>) HCl = 36.5 g/mol

**2. โซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 โมลาร์ ปริมาตร 500 มิลลิลิตร**

โซเดียมไฮดรอกไซด์ 20 กรัม  
น้ำกลั่น

วิธีการเตรียม



ปรับปริมาตรให้เป็น 500 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่นในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร

คำนวณหาความเข้มข้นโดยใช้สูตร

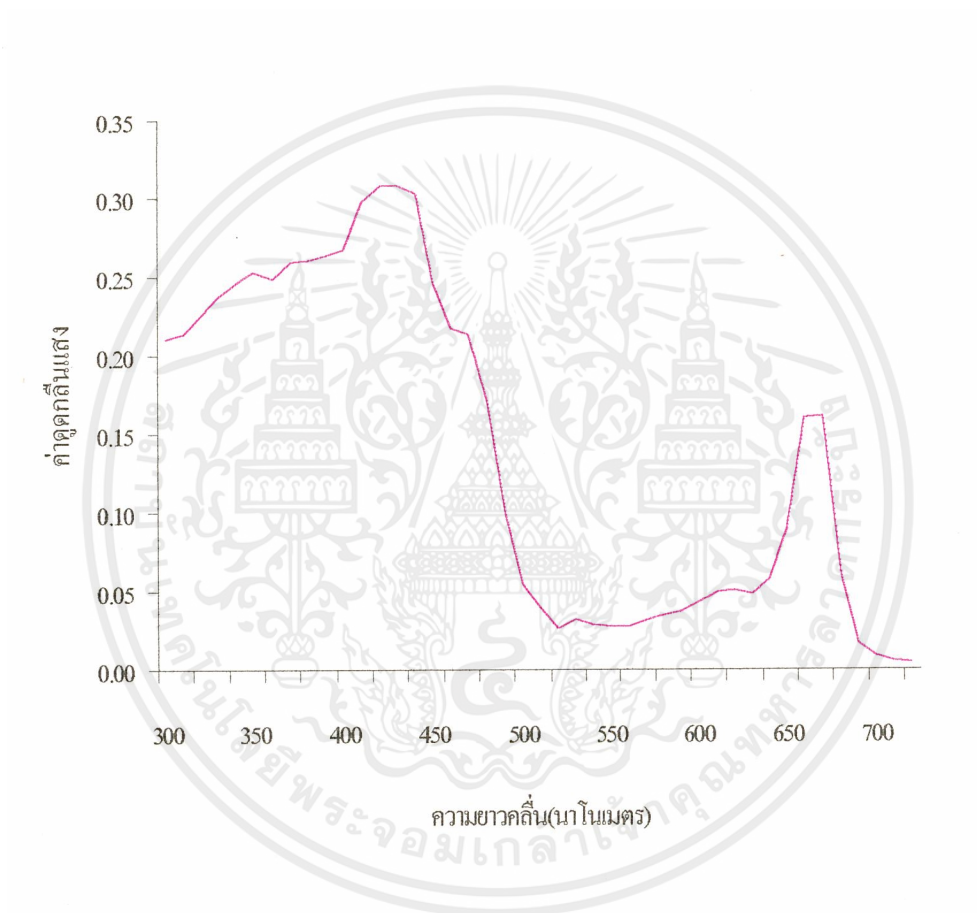
$$\text{จำนวน โมล NaOH (mol)} = \frac{\text{น้ำหนัก NaOH ที่ชั่งมา}}{\text{มวลโมเลกุล NaOH}}$$

$$\text{ความเข้มข้นเป็นโมลาร์ (M)} = \text{mol} / 0.5 \text{ M}$$

$$\text{*มวลโมเลกุลของ NaOH} = 40 \text{ g/mol}$$

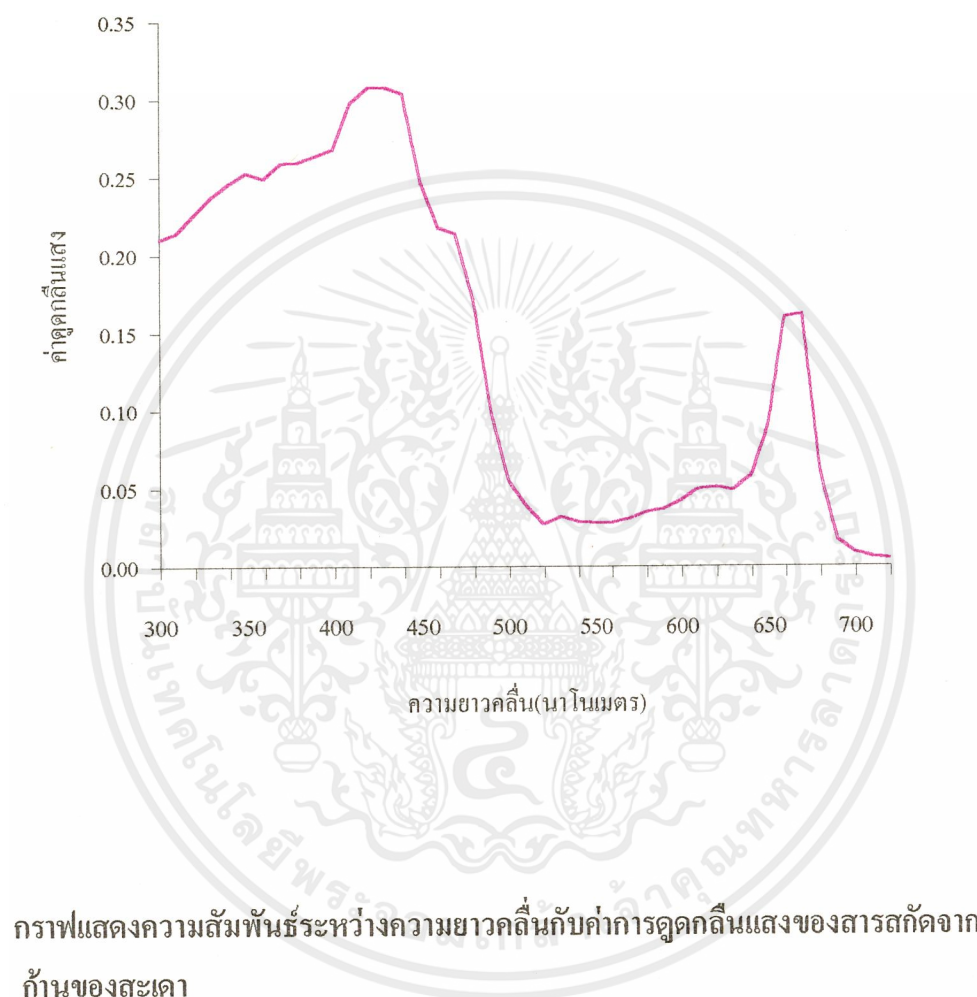
## ภาคผนวก ก

กราฟแสดงการวิเคราะห์หาความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการวัดอัตราการดูดซับของสารละลายสะเดา



รูปที่ ก-1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดจากส่วนใบของสะเดา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก-2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดจากส่วน  
ก้านของสะเดา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ง

ตารางที่ ง-1 ตารางแสดงผลการเจริญของเชื้อ *A. flavus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดจากส่วน  
ใบของตะเตา

วันที่ทำการบันทึกผล เส้นผ่าศูนย์กลาง(ซม.)	Plate ที่	ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)					
		0(control)	20,000	40,000	60,000	80,000	100,000
วันที่ 1	1	1.25	0.95	0.90	0.90	0.95	0.85
	2	1.05	1.00	1.00	0.90	0.90	0.85
	3	1.05	0.85	0.85	0.85	0.85	0.85
	4	1.10	0.95	0.95	0.95	0.85	0.85
	5	1.20	0.85	0.80	0.85	0.95	0.90
วันที่ 2	1	1.50	1.20	1.15	1.25	1.10	1.20
	2	1.30	1.30	1.30	1.20	1.15	1.15
	3	1.25	1.35	1.25	1.25	1.20	1.15
	4	1.30	1.25	1.25	1.15	1.15	1.00
	5	1.35	1.25	1.10	1.15	1.15	1.15
วันที่ 3	1	2.90	1.80	1.70	1.50	1.50	1.65
	2	2.80	1.85	1.65	1.55	1.45	1.60
	3	2.65	1.75	1.80	1.45	1.65	1.55
	4	2.75	1.65	1.85	1.50	1.35	1.65
	p5	2.70	1.75	1.75	1.45	1.45	1.40
วันที่ 4	1	4.60	2.95	3.20	2.25	2.25	2.10
	2	4.10	2.85	2.80	2.25	2.35	2.10
	3	4.20	3.10	3.20	2.45	2.35	2.20
	4	4.20	3.00	3.25	2.40	2.20	2.25
	5	3.80	3.00	3.15	2.25	2.20	2.25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วันที่ทำการบันทึกผล เส้นผ่านศูนย์กลาง(ซม.)	Plate ที่	ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)					
		0(control)	20,000	40,000	60,000	80,000	100,000
วันที่ 5	1	6.10	3.95	4.10	2.80	2.85	2.75
	2	5.40	3.95	3.90	2.85	2.85	2.70
	3	5.40	4.00	4.05	2.80	2.90	2.80
	4	5.25	4.05	4.00	2.85	2.90	2.80
	5	5.00	4.10	3.95	2.95	2.00	2.80
วันที่ 6	1	7.20	5.05	5.15	3.45	3.35	3.45
	2	6.90	4.95	5.10	3.40	3.45	3.35
	3	6.80	5.10	5.15	3.40	3.45	3.40
	4	6.75	5.05	5.15	3.35	3.60	3.60
	5	6.45	5.00	5.10	3.50	3.35	3.60
วันที่ 7	1	8.15	6.15	6.45	4.65	4.70	4.65
	2	7.85	6.25	6.30	4.55	4.80	4.65
	3	7.90	6.25	6.40	4.70	4.80	4.75
	4	8.00	6.05	6.30	4.65	4.85	4.80
	5	7.35	6.10	6.45	4.65	4.70	4.60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-2 ตารางแสดงผลการเจริญของเชื้อ *A. parasiticus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัด จากส่วนใบของสะเดา

วันที่ทำการบันทึกผล เส้นผ่าศูนย์กลาง(ซม.)	Plate ที่	ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)					
		0(control)	20,000	40,000	60,000	80,000	100,000
วันที่ 1	1	1.45	0.95	1.00	0.85	0.95	0.80
	2	1.25	0.95	1.05	0.85	0.95	0.85
	3	1.25	0.85	0.95	0.80	0.95	0.80
	4	1.50	1.00	0.90	0.85	0.90	0.90
	5	0.95	1.05	1.00	0.90	0.95	0.80
วันที่ 2	1	1.95	1.15	1.25	1.10	1.20	1.15
	2	1.70	1.25	1.25	1.25	1.15	1.10
	3	1.65	1.25	1.15	1.25	1.15	1.20
	4	1.95	1.20	1.15	1.20	1.05	1.15
	5	1.45	1.15	1.25	1.10	1.20	1.10
วันที่ 3	1	2.85	1.60	2.00	1.60	1.55	1.45
	2	2.70	1.75	1.85	1.55	1.50	1.55
	3	2.70	1.95	1.80	1.65	1.55	1.60
	4	2.45	1.70	1.90	1.60	1.40	1.55
	5	2.35	1.65	1.95	1.50	1.40	1.50
วันที่ 4	1	4.50	2.70	2.85	2.30	2.25	2.25
	2	3.95	2.85	2.55	2.35	2.30	2.25
	3	4.10	2.10	2.75	2.35	2.35	2.35
	4	4.00	2.75	3.75	2.25	2.20	2.30
	5	3.80	2.75	2.60	2.20	2.30	2.30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วันที่ทำการบันทึกผล เส้นผ่าศูนย์กลาง(ซม.)	plate ที่	ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)					
		0(control)	20,000	40,000	60,000	80,000	100,000
วันที่ 5	1	6.00	3.60	3.85	2.75	2.70	2.65
	2	5.90	3.55	3.60	2.70	2.75	2.70
	3	5.40	3.60	3.55	2.75	2.85	2.85
	4	5.60	3.30	3.80	2.70	2.75	2.75
	5	5.40	3.35	3.75	2.70	2.80	2.80
วันที่ 6	1	7.50	4.55	4.75	3.15	3.25	3.05
	2	7.05	4.45	4.55	3.25	3.20	3.25
	3	6.85	4.60	4.65	3.15	3.25	3.25
	4	7.10	4.50	4.60	3.20	3.15	3.15
	5	7.05	4.64	4.80	3.25	3.25	3.20
วันที่ 7	1	7.95	5.55	5.35	3.90	3.80	3.95
	2	7.90	5.30	5.40	3.95	3.90	3.90
	3	7.80	5.55	5.55	3.85	3.80	3.95
	4	7.95	5.65	5.35	3.90	3.95	4.00
	5	8.00	5.50	5.25	3.95	3.90	3.85

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-3 ตารางแสดงผลการเจริญของเชื้อ *H. oryzae* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดจาก ส่วนใบของสะเดา

วันที่ทำการบันทึกผล เส้นผ่าศูนย์กลาง(ซม.)	plate ที่	ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)					
		0(control)	20,000	40,000	60,000	80,000	100,000
วันที่ 1	1	1.80	1.30	1.20	1.25	1.15	1.10
	2	1.60	1.30	1.10	1.20	1.25	1.25
	3	1.70	1.20	1.15	1.25	1.20	1.20
	4	1.70	1.25	1.20	1.20	1.15	1.20
	5	1.65	1.15	1.30	1.20	1.10	1.10
วันที่ 2	1	2.80	2.02	1.15	1.80	1.70	1.61
	2	2.91	2.05	1.40	1.91	1.85	1.91
	3	3.00	1.95	1.65	1.71	1.65	1.81
	4	3.00	2.10	1.70	1.70	1.75	1.95
	5	2.90	2.10	1.60	1.80	1.55	1.25
วันที่ 3	1	2.61	2.81	2.11	2.21	2.15	2.21
	2	4.50	2.85	2.41	2.50	2.45	2.31
	3	4.00	2.80	2.60	2.31	2.25	2.40
	4	3.90	2.75	2.30	2.31	2.30	2.50
	5	3.85	2.80	2.31	2.40	2.15	2.51
วันที่ 4	1	4.00	3.41	3.00	2.65	2.85	2.40
	2	5.41	3.40	3.20	2.70	2.95	2.81
	3	4.70	3.45	3.00	3.91	2.95	2.81
	4	4.70	3.50	2.71	3.00	3.15	3.00
	5	4.80	3.45	2.85	2.70	2.85	3.30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วันที่ทำการบันทึกผล เส้นผ่าศูนย์กลาง(ซม.)	plate ที่	ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)					
		0(control)	20,000	40,000	60,000	80,000	100,000
วันที่ 5	1	4.60	4.00	3.85	3.05	3.25	2.80
	2	6.15	3.95	4.10	3.15	3.30	3.25
	3	5.45	4.05	3.35	3.51	3.20	3.30
	4	5.35	4.25	3.05	3.65	3.20	3.35
	5	5.70	4.10	3.15	3.10	3.55	3.95
วันที่ 6	1	5.20	4.50	4.65	3.50	3.65	3.05
	2	7.10	4.55	4.85	3.65	3.75	3.75
	3	6.45	4.50	3.80	4.05	3.80	3.75
	4	6.10	4.80	3.40	4.15	3.80	3.75
	5	6.85	4.60	3.55	3.35	3.95	4.65
วันที่ 7	1	5.90	4.90	5.20	3.95	4.05	3.30
	2	7.85	5.05	5.20	4.05	4.10	4.20
	3	6.80	4.85	4.20	4.55	4.25	4.15
	4	6.90	3.25	3.85	4.70	4.10	4.15
	5	7.55	5.30	3.80	3.50	4.25	5.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-4 ตารางแสดงผลการเจริญของเชื้อ *A. flavus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดจาก ส่วนด้านของตะเภา

วันที่ทำการบันทึกผล เส้นผ่าศูนย์กลาง(ซม.)	plate ที่	ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)					
		0(control)	20,000	40,000	60,000	80,000	100,000
วันที่ 1	1	1.25	0.95	1.00	0.95	0.90	0.95
	2	1.05	0.90	1.00	1.05	0.95	1.00
	3	1.05	1.00	0.95	1.05	0.95	0.90
	4	1.10	1.00	1.05	0.95	1.00	0.95
	5	1.20	0.90	0.90	0.90	0.95	0.95
วันที่ 2	1	1.50	1.40	1.30	1.25	1.15	1.30
	2	1.30	1.30	1.30	1.20	1.25	1.20
	3	1.25	1.35	1.25	1.35	1.25	1.15
	4	1.30	1.30	1.30	1.25	1.20	1.20
	5	1.35	1.35	1.35	1.30	1.10	1.15
วันที่ 3	1	2.90	1.85	1.80	2.15	1.65	1.50
	2	2.80	2.10	1.70	2.05	1.65	1.65
	3	2.65	2.05	1.75	1.95	1.55	1.70
	4	2.75	1.90	1.75	2.05	1.70	1.45
	5	2.70	1.95	1.80	2.00	1.50	1.45
วันที่ 4	1	4.60	3.10	3.05	2.95	2.85	2.75
	2	4.10	3.20	3.15	2.95	2.90	2.80
	3	4.20	3.30	3.10	3.00	2.90	2.75
	4	4.20	3.25	3.00	3.15	2.95	2.75
	5	3.80	3.15	3.05	2.80	2.85	2.70

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วันที่ทำการบันทึกผล เส้นผ่าศูนย์กลาง(ซม.)	plate ที่	ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)					
		0(control)	20,000	40,000	60,000	80,000	100,000
วันที่ 5	1	6.10	4.50	4.10	4.10	4.10	4.05
	2	5.40	4.55	4.05	4.20	4.00	3.95
	3	5.40	4.40	4.05	4.30	4.15	3.90
	4	5.25	4.45	4.00	4.10	4.10	4.00
	5	5.00	4.40	4.20	4.10	4.05	3.95
วันที่ 6	1	7.20	5.35	5.00	4.90	4.85	4.90
	2	6.90	5.40	5.15	4.90	4.90	4.85
	3	6.80	5.35	5.25	4.80	5.00	4.85
	4	6.75	5.30	5.05	4.75	4.95	4.95
	5	6.45	5.50	5.15	4.75	4.85	4.85
วันที่ 7	1	8.15	5.90	5.65	5.35	5.35	5.45
	2	7.85	5.95	5.65	5.15	5.35	5.45
	3	7.90	5.65	5.75	5.25	5.40	5.30
	4	8.00	5.85	5.60	5.10	5.25	5.60
	5	7.35	6.05	5.60	5.10	5.10	5.45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ๓-5 ตารางแสดงผลการเจริญของเชื้อ *A. parasiticus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัด  
จากส่วนด้านของตะเภา

วันที่ทำการบันทึกผล เส้นผ่าศูนย์กลาง(ซม.)	plate ที่	ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)					
		0(control)	20,000	40,000	60,000	80,000	100,000
วันที่ 1	1	1.45	0.95	1.00	0.90	0.95	0.80
	2	1.25	1.10	1.00	0.90	0.90	0.85
	3	1.25	1.10	0.95	0.90	1.00	0.80
	4	1.50	0.95	1.00	0.95	1.05	0.95
	5	0.95	1.00	1.00	0.95	0.95	0.95
วันที่ 2	1	1.95	1.25	1.30	1.35	1.20	1.00
	2	1.70	1.30	1.20	1.25	1.15	1.10
	3	1.65	1.35	1.25	1.30	1.15	1.15
	4	1.95	1.20	1.25	1.20	1.20	1.15
	5	1.45	1.20	1.20	1.20	1.15	1.20
วันที่ 3	1	2.85	1.80	1.50	1.85	1.70	1.15
	2	2.70	1.85	1.65	1.80	1.45	1.15
	3	2.70	2.00	1.60	1.95	1.55	1.55
	4	2.45	1.95	1.55	1.60	1.40	1.50
	5	2.35	1.85	1.50	1.65	1.55	1.50
วันที่ 4	1	4.50	2.70	2.50	2.65	2.20	2.25
	2	3.95	2.70	2.55	2.55	2.15	2.40
	3	4.10	2.95	2.60	2.65	2.10	2.25
	4	4.00	2.90	2.65	2.55	2.20	2.30
	5	3.80	2.85	2.55	2.55	2.15	2.30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วันที่ทำการบันทึกผล เส้นผ่าศูนย์กลาง(ซม.)	plate ที่	ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)					
		0(control)	20,000	40,000	60,000	80,000	100,000
วันที่ 5	1	6.00	3.50	3.30	3.30	2.65	2.90
	2	5.90	3.55	3.25	3.30	2.75	2.30
	3	5.40	3.65	3.35	3.25	2.80	2.80
	4	5.60	3.55	3.30	3.20	2.75	2.85
	5	5.40	3.55	3.20	3.20	2.75	2.60
วันที่ 6	1	7.50	4.95	4.70	4.80	3.60	4.10
	2	7.05	4.80	4.75	4.85	3.65	4.30
	3	6.85	4.85	4.85	4.75	3.65	4.20
	4	7.10	4.75	4.80	4.60	3.50	4.25
	5	7.05	4.75	4.55	4.65	3.50	4.05
วันที่ 7	1	7.95	5.95	5.80	5.80	4.45	4.50
	2	7.90	6.05	5.85	5.85	4.20	4.65
	3	7.80	5.80	5.75	5.70	4.20	4.50
	4	7.95	5.85	5.90	5.75	4.30	4.55
	5	8.00	5.90	5.85	5.70	4.30	4.60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-6 ตารางแสดงผลการเจริญของเชื้อ *H. oryzae* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดจาก  
ส่วนก้านของตะเคา

วันที่ทำการบันทึกผล เส้นผ่าศูนย์กลาง(ซม.)	plate ที่	ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)					
		0(control)	20,000	40,000	60,000	80,000	100,000
วันที่ 1	1	1.80	1.30	1.25	1.35	1.45	1.45
	2	1.60	1.40	1.35	1.40	1.35	1.40
	3	1.70	1.40	1.25	1.40	1.45	1.35
	4	1.70	1.30	1.25	1.30	1.25	1.45
	5	1.65	1.35	1.25	1.15	1.20	1.35
วันที่ 2	1	2.80	2.21	1.20	1.90	2.31	2.20
	2	2.91	2.25	2.40	1.95	2.30	2.20
	3	3.00	2.40	2.30	2.30	2.20	2.20
	4	3.00	2.35	1.30	2.00	2.20	2.25
	5	2.90	2.31	2.20	1.95	2.25	2.20
วันที่ 3	1	2.61	3.20	2.10	2.40	3.40	3.01
	2	4.50	3.20	3.20	2.60	3.01	3.10
	3	4.00	3.30	2.95	3.20	3.15	3.00
	4	3.90	3.15	2.21	3.00	3.10	3.00
	5	3.85	3.11	2.95	2.65	3.35	3.10
วันที่ 4	1	4.00	3.80	2.70	2.70	3.81	3.80
	2	5.41	3.90	3.80	3.15	3.90	3.85
	3	4.70	4.00	3.70	3.81	3.90	4.00
	4	4.70	3.90	2.70	3.55	3.85	3.90
	5	4.80	3.90	3.55	3.20	3.95	3.80

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วันที่ทำการบันทึกผล เส้นผ่าศูนย์กลาง(ซม.)	plate ที่	ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)					
		0(control)	20,000	40,000	60,000	80,000	100,000
วันที่ 5	1	4.60	4.45	3.30	3.05	4.45	4.45
	2	6.15	4.50	4.40	3.65	4.60	4.50
	3	5.45	4.65	4.15	4.40	4.55	4.75
	4	5.35	4.65	3.35	4.10	4.35	4.65
	5	5.70	4.55	4.05	3.65	4.30	4.10
วันที่ 6	1	5.20	4.95	3.80	3.45	5.01	5.01
	2	7.10	5.25	4.95	4.05	5.20	5.15
	3	6.45	5.30	4.80	5.05	5.15	5.20
	4	6.10	5.15	3.90	4.55	5.00	5.25
	5	6.85	4.95	4.55	4.45	4.65	5.30
วันที่ 7	1	5.90	5.40	4.30	3.75	5.55	5.60
	2	7.85	5.75	5.25	4.50	5.80	5.70
	3	6.80	5.85	5.35	5.55	5.75	5.60
	4	6.90	5.65	4.55	5.05	5.60	5.85
	5	7.55	5.80	5.25	5.50	5.05	5.55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้