สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ผลของสมุนไพรบางชนิดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ในอาหารวุ้น

นางสาวกนกวรรณ ปั้นดี
นายกิตติพันธ์ อุดมวงศ์ทรัพย์

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 43959
วัน, เดือน, ปี 18 ต.ค. 2545
.b.....
.i.....

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2544

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Inhibitory effect of some herbs on growth of *Aspergillus flavus* in agar media

Miss Kanokwan Pandee
Mr. Kittipun Udomwongsup

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of
the Requirement for Degree of Bachelor of Science
Department of Applied Biology
Faculty of Science
King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang
2001

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ ผลของสมุนไพรบางชนิดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ในอาหารวุ้น

โดย นาวสาวกนกวรรณ ปั้นดี
นายกิตติพันธ์ อุดมวงศ์ทรัพย์

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร.ดุษณี ธนะบริพัฒน์

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้นับโครงงานพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

ลายเซ็น

.....

(รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง) หัวหน้าภาควิชา

คณะกรรมการโครงงานพิเศษ

.....

(ผศ.นวรัตน์ ปานแย้ม) ประธานกรรมการ

.....

(ผศ.วีนา ชูโชติ) กรรมการ

.....

(รศ.ดร.ดุษณี ธนะบริพัฒน์) กรรมการ

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	ผลของสมุนไพรบางชนิดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ในอาหารวุ้น
นักศึกษา	นาวสาวกนกวรรณ ปั้นดี
	นายกิตติพันธ์ อุดมวงศ์ทรัพย์
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดร.ดุษณี ธนะบริพัฒน์
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
ปีการศึกษา	2544

บทคัดย่อ

จากการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ในอาหาร PDA โดยใช้สารสกัดจากสมุนไพร 3 ชนิด ได้แก่ ใบมะกรูด ผลมะระขี้นก และใบยาสูบโดยใช้ตัวทำละลายในการสกัด 2 ชนิด คือ น้ำกลั่นและเอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 95% พบว่าสารสกัดที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสูงสุดคือสารสกัดที่ได้จากใบยาสูบซึ่งสกัดโดยใช้แอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลาย โดยในวันที่ 7 สารสกัดนี้ที่ความเข้มข้น 10% สามารถลดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราจาก 87 ม.ม.เป็น 22.60 ม.ม. สารสกัดที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งรองลงมาได้แก่สารสกัดจากใบมะกรูดที่ระดับความเข้มข้น 10% ซึ่งสกัดโดยใช้แอลกอฮอล์ สารสกัดจากผลมะระขี้นกที่ระดับความเข้มข้น 10% ซึ่งสกัดโดยใช้แอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลาย และสารสกัดจากผลของมะระขี้นกที่ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายในการสกัดที่ระดับความเข้มข้น 2% ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดจากใบยาสูบและสารสกัดจากใบมะกรูดที่ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายในการสกัดให้ผลในการส่งเสริมการเจริญของเชื้อรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	Inhibitory effect of some herbs on growth of *Aspergillus flavus* in agar media
Name	Miss Kanokwan Pandee
	Mr. Kittipun Udomwongsup
Special Project Advisor	Assoc. Prof. Dr.Dussanee Thanaboripat
Department	Applied Biology
Academic year	2001

Abstract

Inhibotory effect of three herbs, i.e., leech lime leaf (*Citrus hystrix*), tobacco leaf (*Nicotiana tabacum*), and bitter cucumber fruit (*Momordicar charantia*), on growth of *Aspergillus flavus* in PDA was examined. The result showed that 10% of tobacco leaf extract from 95% ethanol gave the highest inhibitory effect. The diameter of fungal colony was reduced from 87 to 22.60 m.m. on day 7. At 10% of leech lime extract and bitter cucumber extract by ethanol and 2% of bitter cucumber extract by water gave lower efficiency than tobacco leaf extract. However, extract of tobacco leaf and bitter cucumber by water promoted the growth of the fungus.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดีด้วยความอนุเคราะห์จาก รศ.ดร.ดุษณี ธนะบริพัฒน์ และคณาจารย์ผู้ซึ่งเป็นประธานกรรมการและคณะกรรมการสอบโครงงานพิเศษ รวมทั้งอาจารย์ท่านอื่นๆ ทุกท่านผู้ซึ่งยอมสละเวลาอันมีค่าให้คำปรึกษาแก่พวกเรา นอกจากนี้คณะผู้จัดทำต้องขอขอบพระคุณ คุณวิทยา เขียว-เขิน และคุณพยอม เกียรติกำจร เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ ที่ได้ให้คำปรึกษาการใช้เครื่องมือและอำนวยความสะดวกในการทำโครงงานพิเศษนี้

สุดท้ายนี้คณะผู้จัดทำต้องขอขอบพระคุณพี่ๆ และเพื่อนๆ นักศึกษาทุกท่านที่กรุณาให้คำแนะนำและกำลังใจในการทำงาน รวมถึงผู้มีอุปการะคุณที่มิอาจกล่าวนามให้ครบถ้วนได้ ที่ให้ความช่วยเหลือในทุกๆ ด้าน ซึ่งส่งผลให้โครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

คณะผู้จัดทำ
มีนาคม 2545

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 แสดงความสัมพันธ์ของสารพิษอะฟลาทอกซินกับโรคอื่นๆ 4
ตารางที่ 2 แสดงสูตรโครงสร้าง น้ำหนักโมเลกุล และจุดหลอมเหลวของสารพิษอะฟลาทอกซิน 8
ตารางที่ 3 แสดงเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของเชื้อรา *A. flavus* ที่เจริญในอาหาร PDA ซึ่งผสมสารสกัดจากใบมะกรูดที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย 18
ตารางที่ 4 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของโคโลนีของเชื้อราในอาหารที่ผสมสารสกัดจากใบมะกรูดสกัดโดยใช้เอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 95% 19
ตารางที่ 5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และ 0.01 เพื่อเปรียบเทียบการเจริญของ*A. flavus*ในอาหารที่ผสมสารสกัดจากมะกรูดที่สกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 95% 19
ตารางที่ 6 แสดงการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *A. flavus* ในอาหาร PDA ซึ่งผสมสารสกัดจากใบมะกรูดที่สกัดโดยใช้แอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลายด้วยวิธี DMRT 20
ตารางที่ 7 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของโคโลนีของเชื้อราในอาหารที่ผสมสารสกัดจากผลของมะระขี้นกที่สกัดโดยใช้น้ำกลั่น 20
ตารางที่ 8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และ 0.01 เพื่อเปรียบเทียบการเจริญของ *A. flavus* ในอาหารที่ผสมสารสกัดจากผลของมะระขี้นกที่สกัดด้วยน้ำกลั่น 21
ตารางที่ 9 แสดงการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *A. flavus* ในอาหาร PDA ซึ่งผสมสารสกัดจากผลมะระขี้นกที่สกัดโดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายด้วยวิธี DMRT 21
ตารางที่ 10 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของโคโลนีของเชื้อราในอาหารที่ผสมสารสกัดจากผลของมะระขี้นกที่สกัดโดยใช้แอลกอฮอล์เข้มข้น 95% 22
ตารางที่ 11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และ 0.01 เพื่อเปรียบเทียบการเจริญของ *A. flavus* ในอาหารที่ผสมสารสกัดจากผลของมะระขี้นกที่สกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 22
ตารางที่ 12 แสดงการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *A. flavus* ในอาหาร PDA ซึ่งผสมสารสกัดจากผลของมะระขี้นกที่สกัดโดยใช้แอลกอฮอล์เข้มข้น 95% เป็นตัวทำละลายด้วยวิธี DMRT 23
ตารางที่ 13 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของโคโลนีของเชื้อราในอาหารที่ผสมสารสกัดจากใบยาสูบที่สกัดโดยใช้น้ำกลั่น 23
ตารางที่ 14 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของโคโลนีของเชื้อราในอาหารที่ผสมสารสกัดจากใบยาสูบที่สกัดโดยใช้เอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 95% 24
ตารางที่ 15 การวิเคราะห์ความแปรปรวนที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และ 0.01 เพื่อเปรียบเทียบการเจริญของ *A. flavus* ในอาหารที่ผสมสารสกัดจากใบยาสูบที่สกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 95% 24
ตารางที่ 16 แสดงการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *A. flavus* ในอาหาร PDA ซึ่งผสมสารสกัดจากใบยาสูบที่สกัดโดยใช้แอลกอฮอล์เข้มข้น 95% เป็นตัวทำละลายด้วยวิธี DMRT 25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 1 แสดงสูตรโครงสร้างของสารพิษอะฟลาทอกซิน 6
รูปที่ 2 ใบ ดอก และผลของต้นมะกรูด 10
รูปที่ 3 ผลของมะระขี้นก 11
รูปที่ 4 ต้นยาสูบ 13
รูปที่ 5 การเจริญของ *A. flavus* ในอาหาร PDA ผสมสารสกัดจากใบมะกรูด 30
รูปที่ 6 การเจริญของ *A. flavus* ในอาหาร PDA ผสมสารสกัดจากผลมะระขี้นก 31
รูปที่ 7 การเจริญของ *A. flavus* ในอาหาร PDA ผสมสารสกัดจากใบยาสูบ 32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ ..... ก

Abstract ..... ข

กิตติกรรมประกาศ ..... ค

สารบัญตาราง ..... ง

สารบัญรูป ..... จ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ 2

1.2 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ 2

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2

บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักเกณฑ์ที่เกี่ยวข้อง 3

2.1 สารพิษอะฟลาทอกซินและเชื้อรา *Aspergillus flavus* 3

2.2 สมุนไพร 9

2.2.1 มะกรูด 9

2.2.2 มะระขี้นก 11

2.2.3 ยาสูบ 12

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง 14

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ 14

3.2 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ 14

3.3 ขั้นตอนการดำเนินการทดลอง 15

3.3.1 การสกัดสารจากสมุนไพร 15

3.3.2 การเตรียมเชื้อตั้งต้น 16

3.3.3 การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของ *A. flavus* ของสมุนไพรในอาหารวุ้น ... 16

บทที่ 4 ผลการทดลอง 17

บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ 26

เอกสารอ้างอิง 27

ภาคผนวก 30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

การควบคุมและการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในพืช (Plant pathogenic microorganisms) โดยใช้สารเคมีนั้นเป็นวิธีดั้งเดิมที่ใช้กันมาเป็นเวลานานแล้ว ซึ่งวิธีนี้มีข้อดีคือ สะดวก รวดเร็ว และใช้ในการควบคุมและยับยั้งได้กว้าง แต่มีข้อเสีย คือ มีสารเคมีตกค้างในผลิตภัณฑ์ดังกล่าว ทำให้เกิดการสะสมในดินและแหล่งน้ำ ซึ่งสารเคมีเหล่านี้ไม่สามารถถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ได้ และสะสมอยู่ในสภาพแวดล้อมได้นานหลายปีโดยไม่เปลี่ยนแปลงไป ซึ่งส่วนใหญ่เป็นสารอินทรีย์คลอรีน (Chlorine organic) ตัวอย่างเช่น DDT (4,4 - Dichlorodiphenyltrichloroethane) ซึ่งเป็นสารที่มีอันตรายมากถ้าใช้งานอย่างไม่ระมัดระวัง (Potapov และ Tartainchilk,1979) ซึ่งเป็นปัญหาที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในปัจจุบัน เพราะมนุษย์อาจได้รับสารเหล่านี้ได้โดยการถ่ายทอดจากการบริโภคผลิตภัณฑ์ต่างๆเหล่านี้ ปัจจุบันจึงมีการศึกษาการควบคุมและยับยั้งโดยวิธีทางชีวภาพ (Biocontrol) เพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาดังกล่าวนี้ ตัวอย่างเช่น การใช้สารอีเอ็ม (Effective microorganisms, EM) ซึ่งประกอบด้วยจุลินทรีย์หลายชนิด (ขวัญชัย, 2539) หรือการใช้พืชสมุนไพรเป็นตัวควบคุม

สารพิษอะฟลาทอกซินเป็นสารพิษมีผลในการทำลายตับของทั้งมนุษย์และสัตว์ ทำให้เกิดอาการตับแข็ง ตับอักเสบ มีเลือดออกในตับ และทำให้เซลล์ตับถูกทำลาย หากได้รับสารพิษนี้ในปริมาณมากถึงระดับหนึ่งและเป็นเวลานาน จะทำให้เกิดโรคมะเร็งในตับและตายในที่สุด (U.S. Food and Drug Administration,1992) เพราะฉะนั้นหากมีการตรวจพบสารอะฟลาทอกซินในธัญพืชต่างๆ ก็อาจทำให้ผลิตผลทางการเกษตรเหล่านั้นเกิดความเสียหาย และมีผลกระทบต่อเศรษกิจได้

สารพิษอะฟลาทอกซินเป็นสารอินทรีย์ที่สร้างขึ้นโดยเชื้อราบางชนิดเช่น *Aspergillus flavus, A. parasiticus, A. nomius* และ *A. tamarii* แต่ที่พบส่วนใหญ่จะเกิดจากเชื้อรา *A. flavus* ซึ่งสามารถเจริญได้ดีในอาหารที่มีความชื้นสัมพัทธ์สูงกว่า 14% และสามารถมองเห็นเชื้อราชนิดนี้ได้ด้วยตาเปล่าโดยจะมีสปอร์สีเขียวอมเหลืองหรือสีเขียวเข้ม สามารถปนเปื้อนในเมล็ดธัญพืชได้ทั้งในแปลงปลูก จนถึงระยะรอการจำหน่ายของพ่อค้า สารพิษชนิดนี้แบ่งออกเป็นหลายชนิด โดยชนิดที่พบบ่อยและมีอันตราย คือ ชนิดบี1 บี2 จี1 จี2 เอ็ม1 และเอ็ม2 โดยชนิดที่มีฤทธิ์รุนแรงที่สุดก็คือชนิดบี1 สารพิษเหล่านี้มีคุณสมบัติในการทนต่อความร้อนและสามารถทนต่ออุณหภูมิได้สูงถึง 200 องศาเซลเซียส ดังนั้นการหุงต้มธรรมดาที่ใช้ความร้อนไม่เกิน 100 องศาเซลเซียสจึงไม่สามารถทำลายสารพิษชนิดนี้ได้เลย ดังนั้นจึงมีผู้ทำการศึกษาเพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อราชนิดนี้กันมาก (ธรรมศักดิ์,2533)

ในปัจจุบันได้มีผู้ศึกษาวิธีการควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อ *A. flavus* และสารพิษ Aflatoxin กันอย่างกว้างขวาง โดยมีทั้งการควบคุมทั้งในระยะปลูก ระยะเก็บเกี่ยว และการเก็บรักษา โดยแบ่งกระบวนการศึกษาออกเป็นการควบคุมทางกายภาพ การควบคุมโดยใช้วิธีทางชีวภาพ การใช้สารเคมี การควบคุม *A. flavus* และการลดพิษ และวิธีทางเขตกรรม รวมทั้งการปรับปรุงพันธุกรรมพืชเพื่อลดการปนเปื้อนของ *A. flavus* ด้วย โดยในการศึกษาการใช้สารสกัดจากสมุนไพรพบว่าสารสกัดจากพลูมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *A.*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

flavus ได้ดีที่สุดที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 10,000 พีพีเอ็มขึ้นไป และพืชที่มีประสิทธิภาพรองลงมา ได้แก่ กานพลู พริกไทย พริกหอม ดีปลี ชะอมเทศ ดอกจันทน์ ขิงแก่ ใบกะวาน โป๊ยกั๊ก และเทียนขาว ตามลำดับ (ธรรมศักดิ์,2533)

1.1 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

เพื่อทำการศึกษาหาพืชสมุนไพรพื้นบ้านของประเทศที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* สายพันธุ์ IMI242684 ในอาหารวุ้น

1.2 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

ศึกษาหากระบวนการสกัด ทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ในอาหารวุ้นPDA ของพืชสมุนไพร 3 ชนิด ได้แก่ ใบยาสูบ ใบมะกรูด และผลมะระขี้นก

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบถึงสมุนไพรที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* และเป็นข้อมูลในการศึกษาสมุนไพรอื่น ๆ ที่มีความสามารถดังกล่าวต่อไปในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักเกณฑ์ที่เกี่ยวข้อง

2.1 สารพิษอะฟลาทอกซินและเชื้อรา *Aspergillus flavus*

ในช่วงปี ค.ศ. 1960 นักวิทยาศาสตร์ได้มีความสนใจในการศึกษาถึงอันตรายของอาการตับเป็นพิษในตุรกีซึ่งมีผลกระทบต่อสัตว์ในหลาย ๆ พื้นที่ทั่วโลก เนื่องจากมีการรายงานถึงอาการ Turkey "X" disease ซึ่งรายงานถึงเหตุการณ์ที่ลูกไก่และลูกเป็ดในอังกฤษเสียชีวิตเนื่องจากได้รับพิษ โดยมีลักษณะอาการคือเซลล์ตับถูกทำลายอย่างรุนแรง มีของเหลวคั่งในน้ำดี เบื่ออาหาร ปีกไม่มีแรง และเซื่องซึม อาการและความเสียหายของเนื้อเยื่อคล้ายกันนี้ได้เริ่มแพร่ระบาดในสัตว์ปีกในเวลาต่อมา และสารพิษที่พบเป็นสารชนิดเดียวกับสารเมตาบอไลท์จาก *Aspergillus flavus* บางสายพันธุ์ ซึ่งนักวิทยาศาสตร์แยกได้จากเชื้อราที่ขึ้นบนถั่วลิสงซึ่งสหรัฐอเมริกานำมาจากประเทศบราซิล (Sargeant และคณะ, 1961) สารพิษที่พบนี้ถูกเรียกว่า "อะฟลาทอกซิน" นอกจากนี้ในช่วงเวลาต้นยุค 1960 ก็มีการรายงานถึงการแสดงออกของอาการป่วยของสัตว์อีกหลายสายพันธุ์ทั้งที่มีสาเหตุมาจากปนเปื้อนของสารพิษนี้ในอาหารสัตว์และจากการทดลองโดยตรง (Eaton และ Groopman,1994)

นอกจากสัตว์เลี้ยงแล้ว สารพิษอะฟลาทอกซินยังมีอันตรายต่อมนุษย์อีกด้วย โดยมีรายงานว่าในระหว่างสงครามโลกครั้งที่ 2 เชลยสงครามชาวเกาหลีมีอาการตับอักเสบเนื่องจากสารพิษ ในปี ค.ศ. 1967 มีการรายงานถึงผู้ที่ป่วยเป็นโรคตับ เนื่องจากการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินในมันสำปะหลังในยูกันดาและข้าวในไต้หวัน นอกจากนี้ยังมีรายงานซึ่งกล่าวถึงการแพร่ระบาดของโรคตับอักเสบเนื่องจากสารพิษอะฟลาทอกซินในมนุษย์ซึ่งมีหลักฐานเป็นเนื้อเยื่อ เชื้อรา สารพิษจากเชื้อรา และการก่อโรคในประเทศอินเดีย เมื่อปี ค.ศ.1975 กับในเคนยาเมื่อปี ค.ศ. 1982 และมีรายงานซึ่งไม่มีการยืนยันในมาเลเซียเมื่อปี ค.ศ.1988 (Champ และคณะ, 1991)

นอกจากนี้สารพิษอะฟลาทอกซินยังมีส่วนเกี่ยวข้องกับกลุ่มอาการอื่น ๆ ซึ่งเกิดขึ้นกับมนุษย์ ดังแสดงในตารางที่ 1 ความเกี่ยวข้องที่พบส่วนมากเป็นไปในลักษณะของการตรวจพบสารพิษอะฟลาทอกซินในของเหลวที่ได้จากผู้ป่วย แต่ยังไม่สามารถระบุถึงความสัมพันธ์ทางสาเหตุและผลกระทบที่แน่นอนได้ สิ่งสำคัญอีกเรื่องคือ นอกจากอาการมะเร็งในตับขั้นแรกแล้ว ไม่มีการรายงานถึงอาการของโรคเดียวกันนี้ในบริเวณอื่น ๆ ของโลกซึ่งมีการพบอะฟลาทอกซินอย่างแพร่หลายอีกเลย (Champ และคณะ, 1991)

โรคมะเร็งในตับขั้นที่ 1 เป็นหนึ่งในโรคมะเร็งที่พบได้มากในทวีปเอเชียและแอฟริกา จากการศึกษาในประเทศจีน ไทย ฟิลิปปินส์ เคนยา สวาซิแลนด์ โมซัมบิก และยูกันดา มีหลักฐานถึงความเกี่ยวข้องในการได้รับอะฟลาทอกซินในสาเหตุของโรคมะเร็งในตับ ปัญหาหลักที่สร้างความสับสนในการศึกษาผลของอะฟลาทอกซินต่อการก่อโรคมะเร็งในครั้งนี้คืออาการตับอักเสบเนื่องจากไวรัสตับอักเสบชนิดบีซึ่งมักเป็นโรคประจำตัว กฎของอะฟลาทอกซินในสมุฏฐานวิทยาของโรคมะเร็งในตับขั้นที่ 1 อธิบายได้โดยการตรวจวัดอะฟลาทอกซินผ่านการศึกษาทางเนื้อเยื่อแบบล่วงหน้าและย้อนหลัง ด้วยวิธีการนี้จะสามารถหาความสัมพันธ์อย่างหยาบจากตัว-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 แสดงความสัมพันธ์ของสารพิษอะฟลาทอกซินกับโรคอื่น ๆ

Disease	Evidence	Countries
Primary liver cancer	Experimental in animals Molecular epidermiology Detection in biological samples	Kenya, The Gambia, Mosambique, Swizerland, Uganda, Zimbabwe, The Philipines, People' s Replubic of China, Thailand, Transkei (S.Africa)
Indian childhood cirrhosis	Experimental in animals Accidental exposure Detection in biological samples	India
Chronic gastritis	Epidermiological Detection in biological samples	Kenya
Kwashiorkor	Detection in biological samples	Sudan, Ghana, Nigeria, S. Africa
Reyes syndrome	Detection in biological samples	Thailand, USA
Respiratory disease	Occupational Epidermiological	Czechoslovakia, Netherlands, USA

(ที่มา : Champ และคณะ, 1991)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

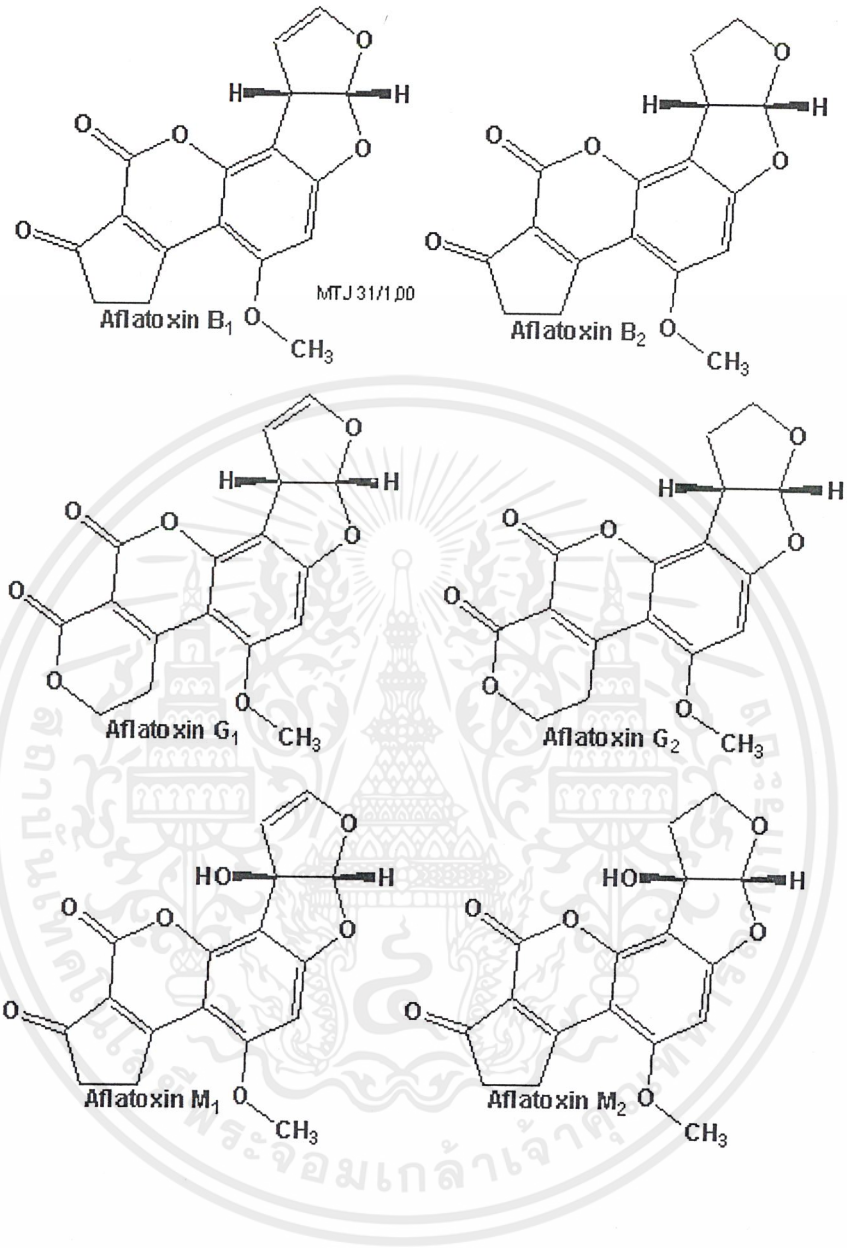
อย่างอาหารที่ปนเปื้อนได้ และเมื่อไม่นานมานี้ได้มีการศึกษาการวิเคราะห์โดยใช้อะฟลาทอกซิน-อัลบูมิน ซึ่งสามารถตรวจพบอะฟลาทอกซิน บี 1 ในเลือดได้ (Champ และคณะ, 1991)

สารพิษอะฟลาทอกซินเป็นสารประกอบในกลุ่มบิสฟูราโนคูมาริน (bisfuranocoumarin) ถูกสร้างขึ้นจากเชื้อราในกลุ่มอะฟลาทอกซินฟังไจ เช่น *A. flavus, A. parasiticus, A. nomius* และ *A. tamarii* เป็นต้น สารพิษอะฟลาทอกซินแบ่งออกเป็น อะฟลาทอกซินบี1 บี2 บี2เอ บี3 จี1 จีเอ็ม1 จี2 จี2เอ เอ็ม1 เอ็ม2 เอ็ม 2เอ จีเอ็ม2 พี1 คิว1 อาร์0 และอนุพันธ์อะซีทอกซี โดยมีสูตรโครงสร้างดังแสดงไว้ในรูปที่ 1 อย่างไรก็ตามมีเพียงไม่กี่ชนิดที่มีความสำคัญและพบได้บ่อยได้แก่ ชนิดบี1 ซึ่งพบเป็นสารประกอบตามธรรมชาติ และชนิดเอ็ม 1 ซึ่งพบในนมและผลิตภัณฑ์จากนม สารพิษอะฟลาทอกซินมักปนเปื้อนอยู่ในถั่วและเมล็ดธัญพืช เช่น ข้าวเจ้า ข้าวโพด ข้าวสาลี ฝ้าย ถั่วเหลือง ถั่วลิสง เมล็ดดอกทานตะวัน น้ำมันมะพร้าว น้ำมันจากเมล็ดฝ้าย น้ำมันมะกอก มันสำปะหลัง มันเทศ อัลมอนด์ เมล็ดกาแฟ เมล็ดโกโก้ รวมไปถึงอาหารสัตว์ซึ่งส่งผลให้พบอะฟลาทอกซินในสัตว์ที่กินอาหารนั้น ๆ เช่น กุ้ง ปลา วัว นมวัวและเนยเป็นต้น โดย FAO ได้รายงานไว้ในปี ค.ศ.1990 ถึงการพบสารพิษอะฟลาทอกซินในหลายประเทศ ได้แก่ บังคลาเทศ ภูฏาน เมียนม่า จีน ไอวอรีโคท อียิปต์ เอธิโอเปีย แกมเบีย กาน่า ฮ่องกง อินเดีย อินโดนีเซีย อิหร่าน อิรัก อิสราเอล ญี่ปุ่น เคนยา เกาหลี มาลาวี มาเลเซีย โมซัมบิก เนปาล ไนจีเรีย ปากีสถาน ฟิลิปินส์ เซเนกัล เซียรา สิงคโปร์ ศรีลังกา ซูดาน สวาซิแลนด์ ไต้หวัน แทนซาเนีย ไทย ตูนิเซีย ตุรกี ยูกันดา เวียดนาม แซมเบีย และซิมบับเว โดยสารพิษชนิดนี้จะถูกสร้างขึ้นในสภาพแวดล้อมตามธรรมชาติในประเทศเขตร้อน เขตอบอุ่น และเขตเมดิเตอเรเนียน (Champ และคณะ, 1991)

Gqaleni และคณะ (1997) ได้รายงานถึงผลกระทบของอุณหภูมิ ปริมาณน้ำที่ใช้ในกิจกรรมของเซลล์ (water activity : a_w) และเวลาต่อการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินโดย *Aspergillus flavus* ในอาหาร Yeast Extract Sucrose Agar และ Czapek's Yeast Autolysate Agar โดยกล่าวไว้ว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตคือ 30 ^{o}ซ. และมีค่า a_w ที่ 0.996 โดยสามารถสร้างสารพิษได้มากคือ 0.306 ถึง 0.330 ไมโครกรัมต่ออาหาร 1 กรัมเมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน และจะไม่มีการสร้างสารพิษเลยเมื่อมี a_w ที่ 0.90 ที่อุณหภูมิ 20^{o}ซ. หรือ 37^{o}ซ. และบ่มเป็นเวลา 15 วัน ในขณะที่ *Aspergillus flavus* สามารถเจริญได้ดีที่สุดในอาหาร Czapek's solution agar ที่อุณหภูมิ 26^{o}ซ. โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 4.8-5.6 เซนติเมตรเมื่อมีอายุ 2 สัปดาห์ (ธรรมศักดิ์, 2533)

สารพิษอะฟลาทอกซินมีสารตั้งต้นหลักคือ Sterigmatocystin ซึ่งจะถูกเปลี่ยนเป็นอะฟลาทอกซินชนิดบี1 โดยเอนไซม์เมทิลทรานสเฟอเรส จากนั้นอะฟลาทอกซินบี1 จะเป็นตัวกลางในการเปลี่ยนเป็นอนุพันธ์ชนิดอื่นๆต่อไป ต่อมา Yabe และคณะ (1999) ได้ศึกษากระบวนการสังเคราะห์สารพิษอะฟลาทอกซินและความสัมพันธ์ระหว่างการสังเคราะห์สารพิษอะฟลาทอกซินชนิดบี1 และบี2 กับ ชนิด จี1 และจี2 และรายงานว่าเอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการผลิตสารพิษชนิดนี้จากอะซิทิลโคเอนไซม์เอนั้นมีมากกว่า 18 ชนิด นอกจากนี้ยังพบว่าในกรณีที่มี NADPH ในกระบวนการสังเคราะห์ อะฟลาทอกซินชนิดจี1 และจี2 จะถูกสร้างขึ้นจาก *O*-methylsterigmatocystin และ dihydro-*O*- methylsterigmatocystin ตามลำดับ และไม่มีอะฟลาทอกซินชนิดจีที่สร้างขึ้นจากชนิดบี1 บี2 หรือ Sterigmatin ดังที่เคยเข้าใจในอดีต และสรุปว่าการสังเคราะห์อะฟลาทอกซินชนิดจีไม่ขึ้นกับอะฟลาทอกซินชนิดบี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1 แสดงสูตรโครงสร้างของสารพิษอะฟลาทอกซิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Cliver (1990) ได้กล่าวถึงวิธีการศึกษาการทำลายหรือลดความเป็นพิษของอะฟลาทอกซิน เช่น การใช้รังสีอัลตราไวโอเลต ซึ่งพบว่าสามารถกำจัดสารพิษอะฟลาทอกซินชนิดเอ็ม1 ได้ ทั้งนี้มีข้อจำกัดที่ต้องทำให้น้ำนมเป็นแผ่นบางที่สุดเพื่อให้ได้รับรังสีอย่างทั่วถึง ต่อมาจึงได้มีการพัฒนากระบวนการนี้โดยการเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในปริมาณน้อยเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดสารพิษ และมีแนวโน้มจะใช้แลกโตเปอร์ออกไซด์แทนการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในอุตสาหกรรมนมและผลิตภัณฑ์จากนมในอนาคต

ได้มีการทดลองการกำจัดอะฟลาทอกซินโดยใช้ *Flavobacterium aurantiacum* แต่การทดลองนี้ไม่ได้รับการศึกษาต่อ เนื่องจากไม่ได้รับการยอมรับเพราะจุลินทรีย์ชนิดนี้จะสร้างโปรติโอไลติกและไลโปไลติกเอนไซม์ ซึ่งมีผลทำให้คุณลักษณะของอาหารเปลี่ยนไป (Cliver, 1990) Dusanee และคณะ (1997) ได้ศึกษาการใช้ *Streptococcus lactis* และ Lactic acid bacteria ในการลดความเป็นพิษของอะฟลาทอกซินในโยเกิร์ต พบว่าในเวลา 2 วัน จุลินทรีย์ที่ใช้สามารถลดปริมาณการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของ *Aspergillus parasiticus* ได้ นอกจากนี้ดุษณีและคณะ (2539) ได้รายงานผลการยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของ *A. parasiticus* ระหว่างการผลิตเทมเป้ (Tempeh) ด้วยเชื้อรา *Rhizopus oligosporus* ว่าเมื่อเติม สปอร์ของ *R. oligosporus* และ *A. parasiticus* ลงไปในถั่วเหลืองนึ่งพร้อมกัน จะไม่มีการสร้างสารพิษของอะฟลาทอกซินเลย ในขณะที่ถั่วเหลืองนึ่งที่เติมสปอร์ของ *A. parasiticus* เพียงชนิดเดียวจะมีการสร้างอะฟลาทอกซินขึ้น

การใช้ความร้อนในการทำลายความเป็นพิษพบว่าสามารถทำได้ แต่เนื่องจากจุดหลอมเหลวของสารพิษเหล่านี้สูงมากกว่า 200°ซ. (แสดงในตารางที่ 2) จึงไม่สามารถนำมาใช้กับอาหารได้ และไม่คุ้มค่าหากจะนำมาประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรม อย่างไรก็ตามการใช้ความร้อนที่ต่ำลงก็สามารถลดความเป็นพิษของสารพิษได้ ตัวอย่างเช่น เมื่อต้มน้ำมันหมูที่ 100°ซ.เป็นเวลา 2 ชม. จะสามารถลดความเป็นพิษได้ถึง 80% (Cliver, 1990)

Cliver (1990) กล่าวว่าสารชักนำการยอกซิไดซ์หลายชนิดมีประสิทธิภาพในการลดความเป็นพิษของอะฟลาทอกซิน ตัวอย่างเช่นการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในการลดอะฟลาทอกซินเอ็ม1 ในอุตสาหกรรมนม นอกจากนี้ในห้องปฏิบัติการจะมีการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรด์เพื่อลดอันตรายของสารพิษชนิดนี้ในการทดลอง

Dusanee และคณะ (1996) ได้ศึกษาผลของการใช้สารถนอมอาหาร คือ กรดเบนโซอิก เกลือโซเดียมเบนโซเอท และโพแตสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ที่มีต่อการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. flavus* รายงานว่าในเวลา 6 วัน โซเดียมเบนโซเอทเข้มข้น 10 ม.ก./ก.ก. สามารถชะลอการเจริญของ *A. flavus* ได้ 13% และลดการสร้างอะฟลาทอกซินได้ 35% ในขณะที่กรดเบนโซอิกเข้มข้น 6 ม.ก./ก.ก. และโพ-แตสเซียมเมตาไบซัลไฟต์เข้มข้น 2 ม.ก./ก.ก. สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราและการสร้างสารพิษได้อย่างสมบูรณ์ นอกจากนี้ Kittisak และคณะ (2536) รายงานไว้ว่าการใช้เกลือที่ความเข้มข้น 80 กรัมต่อถั่วลิสง 1 กรัม สามารถยับยั้งการเจริญของ *A. flavus* และการสร้างสารพิษได้อย่างสมบูรณ์

สารที่มีคุณสมบัติเป็นเบสก็มีความสามารถในการลดความเป็นพิษของอะฟลาทอกซินได้ เช่น แอมโมเนีย โดยได้มีการทดลองเพิ่มแอมโนเนียให้กับข้าวโพดในระหว่างการเพาะปลูก และพบว่าแอมโมเนียจะทำปฏิกิริยาสะเทินกับอะฟลาทอกซินและทำให้หมดความเป็นพิษ อีกทั้งยังไม่เป็นปัญหาในการใช้เลี้ยงสัตว์อีกด้วย จึงมีการใช้แอมโนเนียในการลดอันตรายของสารอะฟลาทอกซินในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1990 ส่วนในอุตสาหกรรมแปรรูปข้าวโพดจะมีการเติมสารพวกซัลไฟต์หรือไบซัลไฟต์ก่อนที่จะนำข้าวโพดเหล่านี้ไปทำเป็นไซรัปหรือป่นเป็นผง (Cliver, 1990)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 แสดงสูตรโครงสร้าง น้ำหนักโมเลกุล และจุดหลอมเหลวของสารพิษอะฟลาทอกซิน

Aflatoxin	Formular	Molecular weight	Melting point (°C)
B_1	$C_{17}H_{12}O_6$	312	268-269
B_2	$C_{17}H_{14}O_6$	314	286-289
G_1	$C_{17}H_{12}O_7$	328	244-246
G_2	$C_{17}H_{14}O_7$	330	237-240

(ที่มา : Cliver, 1990)

วิธีสุดท้ายที่สามารถลดอันตรายจากอะฟลาทอกซินได้คือการใช้สภาวะที่เหมาะสมในการเก็บรักษา เนื่องจากเชื้อราจะเจริญได้ดีและสร้างสารพิษเมื่ออยู่ในสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมเท่านั้น ทั้งนี้สถาบันวิจัยพืชไร่ (2543) ได้รายงานถึงวิธีการที่ดีที่สุดในการเก็บรักษาข้าวโพดหลังการเก็บเกี่ยวว่าควรเก็บเกี่ยวข้าวโพดเมื่อฝักแก่เต็มที่ โดยปล่อยข้าวโพดไว้ในแปลงต่อไปอีก 7 วันเป็นอย่างช้าหลังจากใบข้าวโพดเหลืองหมด ซึ่งเมล็ดในช่วงดังกล่าวจะมีความชื้นต่ำกว่า 23% ซึ่งจะทำให้ปลอดจากการปนเปื้อนของสารอะฟลาทอกซินตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ในกรณีที่เกษตรกรต้องรีบเก็บเกี่ยว ควรเริ่มเก็บเกี่ยวหลังจากที่ใบข้าวโพดเปลี่ยนเป็นสีเหลืองหมดแล้ว ซึ่งเมล็ดจะมีความชื้นต่ำกว่า 25% แต่หากเก็บเกี่ยวข้าวโพดที่มีความชื้นสูงกว่า 25% ควรขายภายในเวลา 15 วัน และวิธีเก็บรักษาเมล็ดข้าวโพดที่มีความชื้นสูงทำได้โดยการรมกองข้าวโพดที่มีความชื้นในช่วง 20-30% ด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในอัตราส่วน 0.5 กิโลกรัมต่อเมล็ด 1 ตัน ภายใน 48 ชั่วโมงหลังจากกระเทาะเปลือก หรือทำการดูดอากาศออกจากกองข้าวโพดก่อน แล้วจึงรมด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในอัตราส่วน 0.3 กิโลกรัมต่อเมล็ด 1 ตัน วิธีการนี้จะสามารถรักษาคุณภาพของเมล็ดข้าวโพดจากการทำลายของเชื้อรา *A. flavus* และการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินได้นานถึง 10 วัน นอกจากนี้ Mellon และคณะ (1995) ได้ทำการทดลองเคลือบเมล็ดฝ้ายด้วยไซแลน (Xylan) พบว่าสามารถยับยั้งการสร้างสารอะฟลาทอกซินได้นานถึง 25 วันในห้องปฏิบัติการ

การวิเคราะห์หาการปนเปื้อนของสารพิษอะฟลาทอกซินนั้น วิธีที่ง่ายที่สุดคือการตรวจสอบด้วยแสงอัลตราไวโอเลต เนื่องจากอะฟลาทอกซินชนิดจีและบีมีคุณสมบัติในการเรืองแสงอัลตราไวโอเลตในช่วงสีเขียวและสีฟ้าตามลำดับ แต่วิธีการนี้ไม่สามารถบอกถึงปริมาณของสารพิษได้ ซึ่งการวัดปริมาณสารพิษที่ปนเปื้อนนั้นต้องทำการสกัดสารพิษออกมาจากตัวอย่างและทำการแยกด้วยวิธี Thin-Layer Chramatography (TLC), High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC), High Performance Liquid Chromatography (HPLC), Gas Chromatography Electron Capture detector (GC-EC), Gas Chromatography Flame Ionized detector (GC-FID) และ Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS) (Cole, 1986)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 สมุนไพร

เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมและมีพืชสมุนไพรอยู่หลายชนิด จึงได้มีการนำสมุนไพรมาศึกษาในคุณสมบัติต่าง ๆ ทั้งคุณสมบัติในทางเภสัชกรรม และคุณสมบัติในทางเคมี คุณสมบัติการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก็เป็นหัวข้อที่ได้รับความสนใจอย่างสูงของกลุ่มนักวิทยาศาสตร์ มีผู้ทำการศึกษาคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. flavus* โดยมีรายงานว่าสารสกัดจากพลูมีประสิทธิภาพในการยับยั้งได้ดีที่สุดที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 10,000 พีพีเอ็มขึ้นไป และพืชที่มีประสิทธิภาพรองลงมาได้แก่ กานพลู พริกไทย พริกหอม ดีปลี ชะอมเทศ ดอกจันทน์ ขิงแก่ ใบกระวาน โป๊ยกั๊ก และเทียนขาว ตามลำดับ (ธรรม-ศักดิ์, 2533)

Dusanee และคณะ (1997) ได้รายงานถึงผลของการใช้กระเทียม กานพลู และแครอทต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* และการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน โดยกระเทียมและกานพลูที่มีความเข้มข้น 100,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถลดการสร้างสารพิษของเชื้อราได้จาก 5.94 ไมโครกรัมต่อกรัม เป็น 0.15 และ 0.06 ไมโครกรัมต่อกรัมตามลำดับ ในขณะที่แครอทที่ความเข้มข้น 20,000 ppm สามารถยับยั้งการสร้างสารพิษได้ โดยลดปริมาณสารพิษจาก 5.94 เป็น 0.03 ไมโครกรัมต่อกรัม นอกจากนี้ทั้งกระเทียม กานพลู และแครอทที่ระดับความเข้มข้น 100,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ยังสามารถยับยั้งการเจริญของ *A. flavus* ได้อีกด้วย

มีรายงานของการใช้มะนาว หอม และขิงที่ระดับความเข้มข้น 20,000, 40,000, 60,000, 80,000 และ 100,000 ppm ในการยับยั้งการเจริญของ *A. flavus* โดยมะนาวที่ความเข้มข้นสูง คือ 100,000 ppm จะยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีกว่าที่ความเข้มข้นต่ำ ในขณะที่ขิงที่ความเข้มข้น 60,000 ppm ขึ้นไปจะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีกว่าขิงที่มีระดับความเข้มข้นต่ำกว่า ในขณะที่หอมไม่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราชนิดนี้ (ดุษณี, 2532) นอกจากนี้มีรายงานว่าสารสกัดหยาบที่ได้จากใบสะเดาที่ระดับความเข้มข้น 6 และ 2 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตรเป็นความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* และ *A. parasiticus* ตามลำดับ (ดุษณีและคณะ, 2543)

2.2.1 มะกรูด

มะกรูดเป็นไม้ยืนต้น สูง 2-8 เมตร ใบและดอกคล้ายมะนาว (รูปที่ 2) โดยใบมีรูปค่อนข้างกลมกว้าง 2.5-5 เซนติเมตร ยาว 3-8 เซนติเมตร ก้านใบมีครีบขนาดใหญ่เท่าตัวใบ ผลเป็นผลสด รูปร่างค่อนข้างกลม มีผิวขรุขระ มีชื่อท้องถิ่นว่ามะขุน มะขูด หมากกรูด ส้มกรูด มีชื่อภาษาอังกฤษคือ Leech Lime และมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Citrus hystrix* (กระทรวงสาธารณสุข)

สรรพคุณของมะกรูดตามตำราแพทย์แผนโบราณกล่าวไว้ว่า รากใช้กระทุ้งพิษ ถอนพิษผิดสำแดง แก้ลมจุกเสียด แก้พิษฝีในปาก แก้เสมหะเป็นโทษ ลูกมะกรูดนำมาดองเปรี้ยวเค็มรับประทานเป็นยาฟอกล้างบำรุงโลหิต ลูกมะกรูดเผาไฟ ควักไส้ในออกแล้วใส่มหาหิงส์ในกลางผล สุมไฟให้เกรียมจนกรอบ บดเป็นผงละลายน้ำผึ้งใช้ป้ายลิ้นเด็กคลอดใหม่ แก้ปวดท้อง ขับลมเด็ก ผิวของลูกมะกรูดเป็นยาขับลมในลำไส้และขับระดู (ปรีชา, 2532)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสำคัญที่พบในมะกรูดได้แก่ Beta-pinene 36-42%, Sabinene 23-26%, Beta-caryopkyllene 10%, Linalol 3%, Citronellol 2%, Linalyl acetate, Citronellyl acetate, Octanal, Citronellal 10%, Citrals 20%, Coumarines และ Furocoumarines (Citrus histrix)

ก. ใบมะกรูด

ข. ดอกมะกรูด

ค. ผลมะกรูด

รูปที่ 2 ใบ ดอก และผลของต้นมะกรูด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2 มะระขี้นก

มะระขี้นกมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Momordica charantia* Linn. มีชื่อภาษาอังกฤษว่า Bitter cucumber เป็นไม้เถามีมือเกาะ ใบเดี่ยวเรียงสลับรูปฝ่ามือ ขนาดกว้างและยาวประมาณ 4-7 เซนติเมตร ขอบใบเว้าเป็นแฉกลึก 5-7 แฉก ดอกเป็นดอกเดี่ยวออกที่ซอกใบ แยกเพศอยู่บนต้นเดียวกัน กลีบดอกสีเหลืองรูประฆัง ผลเป็นรูปกระสวย ผิวขรุขระ (รูปที่ 3) มีรสขม ในตำราไทยใช้เนื้อเป็นยาขมเจริญอาหาร บำรุงน้ำดี แก้โรคม้ามและตับ ขับพยาธิ น้ำที่คั้นจากผลเป็นยาระบายอ่อนๆ แก้ไข้ อมแก้ปากเปื่อย ปากเป็นขุย ปัจจุบันมีการศึกษาพบว่าผลดิบของมะระขี้นกมีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดเนื่องจากมะระขี้นกจะกระตุ้นการหลั่งอินซูลิน นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสามารถแยกสารประกอบโปรตีน MAP30 (Momordica Anti-HIV Protein of 30 kDa) ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อไวรัส เอชไอวีซึ่งเป็นสาเหตุของโรคเอดส์ได้ (กระทรวงสาธารณสุข)

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมี พบว่าในผลของมะระขี้นกมีสาร Charanthin และองค์ประกอบพวก acylglycosyl sterols ซึ่งสารประกอบส่วนใหญ่เป็น 3-O-{6'-O-palmitoyl-[D-glucosyl]-stigmata-5}25 (27)-diene ต่อมามีรายงานเพิ่มเติมว่าในผลดิบมีสารประกอบ Pyrimidine arabinopyranoside ชื่อ Charine (2,4-diamino-6-dihydroxy-pyrimidine-5-arabinoside) และแยกสาร Vicine ได้จากเมล็ดอีกด้วย ในเมล็ดพบสารประกอบพวกกรดอะมิโน เช่น Arginine, Glutamic acid, Histidine, Proline, Serine, Tyrosine และ Aminobutyric acid นอกจากนี้ยังพบสาร Vacine, Mycose, 3-O-(-D-glucopyranosyl)-24-ethyl-5-cholesta-7trans-22E,25,(27)-trien-3-ol, Momorcharaside A และ B, Momordicine และโปรตีน MAP30 ส่วนในใบสดพบ Momordicine (กระทรวงสาธารณสุข)

รูปที่ 3 ผลของมะระขี้นก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3 **ยาสูบ**

ยาสูบหรือจะวั้ว มีชื่อภาษาอังกฤษว่า Tobacco มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Nicotiana tabacum* Linn. เป็นไม้ล้มลุกอายุ 1 ปี ต้นตั้งตรง สูงราว 1-1.5 เมตร ลำต้นมีขนสีขาวดกทึบ ไม่แตกกิ่งก้านสาขา ใบเดี่ยว รูปหอกปลายแหลม กว้างโต สีเขียวอมเหลือง ดอกรูปปากแตร สีชมพูแดง ออกเป็นช่อที่ปลายยอด ผลรูปไข่ (รูปที่ 4)

ใบของยาสูบใช้เป็นยาทำให้ง่วง มีฤทธิ์ระงับประสาท ขับเหงื่อ ทำให้อาเจียน นอกจากนี้ยังสามารถใช้ฆ่าเหาได้ด้วย (ภูมิพิชญ์)

ในก้านใบของต้นยาสูบจะพบสาร Nicotine ในปริมาณมาก ซึ่งสารนี้มีความเป็นพิษมากแม้จะมีปริมาณน้อย มีสูตรโครงสร้างเป็น $C_{10}H_{14}N_2$ ไม่มีสี เป็นน้ำมัน มีรสเปรี้ยว มีคุณสมบัติเป็นเบสสูง เมื่อรวมตัวกับกรดจะเกิดเป็นผลึก ละลายในน้ำ แอลกอฮอล์ และอีเทอร์ แล้วจะมีสีน้ำตาลแดง (Hinds)

สารสำคัญที่สกัดได้จากใบยาสูบ ได้แก่ Nicotine, Nicotianine, Tobacco acid หรือ Malic acid, Nitric acid, Hydrochloric acid, Sulfuric acid, Phosphoric acid, Citric acid, Acetic acid, Oxalic acid, Pictic acid, Ulmic acid, Albumem, Cellulose, Gum, Resin, Lime, Potash, Common salt, Magnesium และ Silica (Hinds)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก. ดอกยาสูบ

ข. ใบยาสูบ

ค. ต้นยาสูบ

รูปที่ 4 ต้นยาสูบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องปั่น
2. บีกเกอร์ขนาด 100 , 250 และ 1,000 ม.ล.
3. เครื่องหมุนเหวี่ยง
4. ขวดก้นกลมขนาด 500 ม.ล.
5. เครื่องระเหย Rotary Evaporator
6. ปิเปตต์ขนาด 1 ม.ล., 5 ม.ล. และ 10 ม.ล.
7. จุกยาง
8. ขวดใส่อาหาร
9. ตู้อบไมโครเวฟ
10. จานเพาะเชื้อ
11. เข็มเขี่ยเชื้อ
12. Cork borer
13. ตู้ปลอดเชื้อ
14. ตู้บ่มเชื้อ
15. Autoclave
16. Stomacher
17. เครื่องวัด pH
18. หลอดทดลอง

3.2 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA)

3.2 เอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 95 %

3.3 กรดทาทาริก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 ขั้นตอนการดำเนินการทดลอง

3.3.1 การสกัดสารจากสมุนไพร

สมุนไพรที่ใช้ได้แก่ ใบยาสูบ ใบมะกรูด และผลมะระขี้นก โดยใช้วิธีสกัด 2 วิธี คือ

วิธีที่1 การสกัดโดยใช้แอลกอฮอล์เข้มข้น 95% เป็นตัวทำละลาย (ปิยะมาศ, 2543)

1. ล้างและคัดเลือกเอาเฉพาะส่วนของสมุนไพรที่ต้องการใช้
2. นำไปบดด้วยเครื่องบดจนละเอียด
3. เติมเอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 95% จนท่วมสมุนไพร ปิดปากภาชนะ แช่ไว้นาน 3 วัน
4. กรองเอากากสมุนไพรออกด้วยผ้าขาวบาง เก็บส่วนใสไว้
5. นำส่วนใสไปหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,600 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นแยกเก็บส่วนใสไว้
6. นำส่วนใสที่ได้ไปกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No.1
7. นำส่วนใสที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary Evaporator ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนไม่มีแอลกอฮอล์เหลืออยู่ จะได้สารสกัดที่มีลักษณะข้นหนืด เก็บสารสกัดที่ได้ไว้ในบีกเกอร์ ห่อด้วยกระดาษฟอยล์ และนำไปเก็บไว้ในตู้เย็นเพื่อรอการทดสอบต่อไป

วิธีที่ 2 การสกัดใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย

1. ล้างและคัดเลือกเอาเฉพาะส่วนของสมุนไพรที่ต้องการใช้
2. นำไปบดด้วยเครื่องบดจนละเอียด
3. เติมน้ำกลั่นจนท่วมสมุนไพร
4. นำไปตีปั่นด้วยเครื่องตีปั่น
5. กรองเอากากสมุนไพรออกด้วยผ้าขาวบาง เก็บไว้เฉพาะส่วนใส
6. นำส่วนใสที่ได้ไปหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,600 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นแยกเก็บส่วนใสไว้
7. นำส่วนใสที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary Evaporator โดยใช้อุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียสจนได้สารสกัดที่มีลักษณะข้นหนืด นำสารสกัดที่ได้เก็บไว้ในบีกเกอร์และห่อไว้ด้วยกระดาษฟอยล์ จากนั้นนำไปเก็บไว้ในตู้เย็นเพื่อรอการทดสอบต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2 การเตรียมเชื้อตั้งต้น

การเพาะเชื้อตั้งต้นทำได้โดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่ผ่านไฟจนร้อนแดงและทิ้งไว้ให้เย็น เขี่ยสปอร์ของเชื้อรา *A. flavus* จากหลอดทดลองแล้วแตะลงที่จุดกึ่งกลางของจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร PDA อยู่ จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 5 วันจะได้โคโลนีเดี่ยวของเชื้อรา

3.3.3 การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของ *A. flavus* ของสมุนไพรในอาหารวุ้น

1. ปิเปตต์สารสกัดสมุนไพรที่ได้ ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่อุ่นจนร้อนเดือดตามปริมาตรที่กำหนด จากนั้นปรับให้อาหารมีค่า pH ประมาณ 3.80 - 4.00 ด้วยกรดทาทาริก

   ความเข้มข้น 20,000 พีพีเอ็ม หรือ 2% ใช้สารสกัด 2 มล. ผสมกับอาหาร PDA 98 มล.

   ความเข้มข้น 40,000 พีพีเอ็ม หรือ 4% ใช้สารสกัด 4 มล. ผสมกับอาหาร PDA 96 มล.

   ความเข้มข้น 60,000 พีพีเอ็ม หรือ 6% ใช้สารสกัด 6 มล. ผสมกับอาหาร PDA 94 มล.

   ความเข้มข้น 80,000 พีพีเอ็ม หรือ 8% ใช้สารสกัด 8 มล. ผสมกับอาหาร PDA 94 มล.

   ความเข้มข้น 100,000 พีพีเอ็ม หรือ 10% ใช้สารสกัด 10 มล. ผสมกับอาหาร PDA 90 มล.
2. นำอาหารที่ผสมสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆแล้วเทลงในจานเพาะเชื้อ รอจนอาหารแข็ง
3. ใช้ Cork Borer ที่จุ่มแอลกอฮอล์ 95% แล้วนำไปผ่านไฟ รอจนเย็น แล้วนำมากดที่บริเวณปลายของเส้นใยของเชื้อตั้งต้น จากนั้นให้ย้ายชิ้นวุ้นที่ได้ไปวางคว่ำบนอาหาร PDA ที่เตรียมไว้ด้วย Loop และ Needle ด้วยวิธีปลอดเชื้อ ทำความเข้มข้นอย่างละ 5 ซ้ำ
4. นำเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 วัน แล้วบันทึกผลโดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา จากนั้นจะนำไปเปรียบเทียบผลการทดลองด้วยวิธี DMRT และทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนตามแผนการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

บทที่ 4
ผลการทดลอง

จากการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* บนอาหาร PDA โดยใช้สารสกัดจากสมุนไพร 3 ชนิดได้แก่ ใบมะกรูด ผลมะระขี้นก และใบยาสูบ พบว่า สารสกัดจากใบมะกรูดที่สกัดโดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย มีการเจริญของเชื้อราในชุดทดลองมากกว่าการเจริญของเชื้อราในชุดควบคุม (ตารางที่ 3) แสดงว่าสารสกัดจากมะกรูดที่ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายในการสกัดไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* ขณะที่สารสกัดจากใบมะกรูดที่ใช้เอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 95% เป็นตัวทำละลาย (ตารางที่ 4) มีมีการเจริญของเชื้อราในชุดทดลองน้อยกว่าชุดควบคุม แสดงว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา เมื่อนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลพบว่าค่า F ที่คำนวณได้มีค่ามากกว่าค่า F ที่ได้จากตาราง แสดงว่ามีอย่างน้อย 1 ระดับความเข้มข้นที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 5) ดังนั้นจึงทำการเปรียบเทียบขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีด้วยวิธี DMRT (ตารางที่ 6) พบว่าสามารถแบ่งระดับความแตกต่างออกเป็น 4 กลุ่มโดยระดับความเข้มข้นที่มีตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และพบว่าสารสกัดจากใบมะกรูดที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์ที่ระดับความเข้มข้น 10% มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้สูงสุด โดยสามารถลดขนาดโคโลนีของเชื้อราจาก 89.60 ม.ม.เหลือ 41.60 ม.ม.

เมื่อนำสารสกัดจากผลมะระขี้นกที่ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายมาศึกษา (ตารางที่ 7) พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 2% และ 4% จะมีการเจริญของเชื้อราในชุดทดลองน้อยกว่าชุดควบคุม แต่ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 6% ขึ้นไปมีการเจริญมากกว่าชุดควบคุม เมื่อทำการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ตารางที่ 8) พบว่าค่า F ที่คำนวณได้มีค่าสูงกว่าค่า F จากตาราง แสดงว่ามีอย่างน้อย 1 ระดับความเข้มข้นที่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อทำการเปรียบเทียบข้อมูลด้วยวิธี DMRT (ตารางที่ 9) พบว่าระดับความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราคือที่ระดับความเข้มข้น 2% ในขณะที่ความเข้มข้น 4% เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุม

การเจริญของเชื้อราในอาหารที่ผสมสารสกัดจากผลของมะระขี้นกที่ใช้แอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลาย พบว่ามีการเจริญน้อยกว่าในชุดควบคุมในทุกระดับความเข้มข้น (ตารางที่ 10) เมื่อทำการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ตารางที่ 11) พบว่ามีอย่างน้อย 1 ระดับความเข้มข้นที่มีความแตกต่างทางสถิติ เนื่องจากค่า F ที่คำนวณได้มีค่าสูงกว่าค่า F ที่เปิดจากตาราง เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT พบว่าสามารถแบ่งความแตกต่างออกเป็น 5 กลุ่ม โดยที่ระดับความเข้มข้น 6% และ 8% ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากผลมะระขี้นก 10% มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้สูงสุดโดยสามารถลดขนาดโคโลนีของเชื้อราได้จาก 89.60 ม.ม.เหลือ 53.80 ม.ม.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

43959

จากตารางที่ 13 พบว่าสารสกัดจากใบยาสูบที่สกัดด้วยน้ำกลั่นมีการเจริญของเชื้อราในชุดทดลองมากกว่าในชุดควบคุมทุกระดับความเข้มข้น ซึ่งแสดงว่าสารสกัดจากใบยาสูบซึ่งใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายในการสกัดไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา

จากตารางที่ 14 พบว่าการเจริญของเชื้อราในอาหารซึ่งผสมสารสกัดจากใบยาสูบที่สกัดโดยใช้แอลกอฮอล์ในชุดทดลองเจริญได้น้อยกว่าในชุดควบคุม แสดงว่าสารสกัดนี้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* เมื่อนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ตารางที่ 15) พบว่าค่า F ที่คำนวณได้มีค่ามากกว่าค่า F ที่ได้จากการเปิดตาราง แสดงว่ามีอย่างน้อย 1 ระดับความเข้มข้นที่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อทำการเปรียบเทียบความแตกต่างด้วยวิธี DMRT (ตารางที่ 16) พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ทุกระดับความเข้มข้น โดยที่ระดับความเข้มข้น 10% ของสารสกัดชนิดนี้สามารถลดขนาดโคโลนีของเชื้อรา *A. flavus* ลงจาก 87.00 ม.ม. เหลือเพียง 22.60 ม.ม.

ตารางที่ 3 แสดงเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของเชื้อรา *A. flavus* ที่เจริญในอาหาร PDA ซึ่งผสมสารสกัดจากใบมะกรูดที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย

ความเข้มข้น	เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา (ม.ม.)						
	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5	วันที่ 6	วันที่ 7
ชุดควบคุม	13.20	22.20	32.80	36.00	43.20	50.60	57.20
2%	17.00	28.40	40.80	54.20	66.40	80.00	84.40
4%	16.60	28.00	40.20	52.80	66.20	78.40	84.00
6%	16.40	27.20	40.00	51.80	63.80	75.00	83.00
8%	11.00	22.60	34.80	48.20	62.00	72.80	78.80
10%	10.40	19.80	32.60	45.60	60.00	72.00	77.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของโคโลนีของเชื้อราในอาหารที่ผสมสารสกัดจากใบมะกรูดสกัดโดยใช้เอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 95%

ความเข้มข้น	เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา (ม.ม.)						
	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5	วันที่ 6	วันที่ 7
ชุดควบคุม	20.20	33.00	50.60	60.80	74.00	84.40	89.60
2%	14.00	22.60	32.60	39.40	47.00	56.60	61.00
4%	12.60	20.80	31.20	38.60	47.60	56.00	60.60
6%	11.00	19.80	29.20	36.60	43.40	50.40	53.60
8%	9.20	17.40	25.80	33.00	40.60	48.20	53.40
10%	6.80	11.00	18.80	25.80	31.00	37.20	41.60

ตารางที่ 5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และ 0.01 เพื่อเปรียบเทียบการเจริญของ*A. flavus*ในอาหารที่ผสมสารสกัดจากมะกรูดที่สกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 95%

Source of Variation	Degree of Freedom	Sum of Square	Mean of Square	F - Value	Tabular F	
					5%	1%
Treatmant	5	6502.97	1300.59	154.53**	2.62	3.90
Error	24	202.00	8.42			
total	29	6704.97				

** แตกต่างกันทางสถิติที่ 1%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 แสดงการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *A. flavus* ในอาหาร PDA ซึ่งผสมสารสกัดจากใบมะกรูดที่สกัดโดยใช้แอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลายด้วยวิธี DMRT

ความเข้มข้นของสมุนไพร	เส้นผ่าศูนย์กลาง (ม.ม.)
0% (ชุดควบคุม)	89.60 a
2%	61.00 b
4%	60.60 b
6%	53.60 c
8%	53.40 c
10%	41.60 d

ตารางที่ 7 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของโคโลนีของเชื้อราในอาหารที่ผสมสารสกัดจากผลของมะระขี้นกที่สกัดโดยใช้น้ำกลั่น

ความเข้มข้น	เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา (ม.ม.)						
	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5	วันที่ 6	วันที่ 7
ชุดควบคุม	13.00	21.00	31.80	37.20	42.80	52.20	57.80
2%	15.20	22.60	27.80	33.60	36.80	44.60	50.80
4%	15.80	22.20	28.00	33.20	38.00	46.60	54.20
6%	17.00	25.20	34.60	41.20	44.80	55.20	59.60
8%	17.80	27.80	37.20	47.80	56.20	66.20	76.00
10%	18.40	28.00	39.00	50.80	60.60	68.00	77.60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และ 0.01 เพื่อเปรียบเทียบการเจริญของ *A. flavus* ในอาหารที่ผสมสารสกัดจากผลของมะระขี้นกที่สกัดด้วยน้ำกลั่น

Source of Variation	Degree of Freedom	Sum of Square	Mean of Square	F - Value	Tabular F	
					5%	1%
Treatmant	5	3231.87	646.37	293.81**	2.62	3.90
Error	24	52.80	2.20			
total	29	3284.67				

** แตกต่างกันทางสถิติที่ 1%

ตารางที่ 9 แสดงการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *A. flavus* ในอาหาร PDA ซึ่งผสมสารสกัดจากผลมะระขี้นกที่สกัดโดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายด้วยวิธี DMRT

ความเข้มข้นของสมุนไพร	เส้นผ่าศูนย์กลาง (ม.ม.)
10%	77.60 a
8%	76.00 b
6%	59.60 b
0% (ชุดควบคุม)	57.80 c
4%	54.20 c
2%	50.80 d

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของโคโลนีของเชื้อราในอาหารที่ผสมสารสกัดจากผลของมะระขี้นกที่สกัดโดยใช้แอลกอฮอล์เข้มข้น 95%

ความเข้มข้น	เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา (ม.ม.)						
	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5	วันที่ 6	วันที่ 7
ชุดควบคุม	20.20	32.60	50.60	60.80	74.00	84.40	89.60
2%	15.80	23.80	35.80	44.20	53.40	59.60	66.80
4%	15.40	22.80	34.60	40.20	47.60	53.40	63.00
6%	14.60	21.80	33.80	39.40	44.00	51.40	56.00
8%	13.20	21.60	32.80	37.80	42.80	50.40	55.80
10%	12.80	20.80	30.60	36.20	42.00	49.60	53.80

ตารางที่ 11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และ 0.01 เพื่อเปรียบเทียบการเจริญของ *A. flavus* ในอาหารที่ผสมสารสกัดจากผลของมะระขี้นกที่สกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์

Source of Variation	Degree of Freedom	Sum of Square	Mean of Square	F - Value	Tabular F	
					5%	1%
Treatmant	5	4496.57	899.31	388.19**	2.62	3.90
Error	24	55.60	2.32			
total	29	4552.17				

** แตกต่างกันทางสถิติที่ 1%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 12 แสดงการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *A. flavus* ในอาหาร PDA ซึ่งผสมสารสกัดจากผลของมะระขี้นกที่สกัดโดยใช้แอลกอฮอล์เข้มข้น 95% เป็นตัวทำละลายด้วยวิธี DMRT

ระดับความเข้มข้น	เส้นผ่าศูนย์กลาง (ม.ม.)
0% (ชุดควบคุม)	89.60 a
2%	66.80 b
4%	63.00 c
6%	56.00 d
8%	55.80 d
10%	53.80 e

ตารางที่ 13 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของโคโลนีของเชื้อราในอาหารที่ผสมสารสกัดจากใบยาสูบที่สกัดโดยใช้น้ำกลั่น

ความเข้มข้น	เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา (ม.ม.)						
	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5	วันที่ 6	วันที่ 7
ชุดควบคุม	13.20	21.80	36.20	48.80	62.00	71.80	80.00
2%	17.80	32.40	49.80	59.60	74.40	80.60	84.80
4%	16.80	29.80	48.00	60.00	73.40	80.00	84.40
6%	16.00	28.00	47.40	60.40	72.60	80.80	84.80
8%	15.20	26.40	45.60	56.00	70.00	80.20	84.40
10%	14.20	23.00	37.80	51.20	62.00	73.20	81.60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 14 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของโคโลนีของเชื้อราในอาหารที่ผสมสารสกัดจากใบยาสูบที่สกัดโดยใช้เอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 95%

	เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา (ม.ม.)						
	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5	วันที่ 6	วันที่ 7
ชุดควบคุม	25.20	39.00	50.80	66.20	79.40	84.20	87.00
2%	15.60	24.40	32.20	41.60	52.00	64.00	71.20
4%	5.00	12.20	17.00	25.40	31.40	42.80	50.20
6%	5.00	8.40	14.40	20.40	27.40	34.80	43.20
8%	5.00	5.00	10.80	18.40	24.60	28.40	32.00
10%	5.00	5.00	5.00	5.00	12.00	18.00	22.60

ตารางที่ 15 การวิเคราะห์ความแปรปรวนที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และ 0.01 เพื่อเปรียบเทียบการเจริญของ *A. flavus* ในอาหารที่ผสมสารสกัดจากใบยาสูบที่สกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 95%

Source of Variation	Degree of Freedom	Sum of Square	Mean of Square	F - Value	Tabular F	
					5%	1%
Treatmant	5	14665.37	2933.07	519.13**	2.62	3.90
Error	24	135.60	5.65			
total	29	14800.97				

** แตกต่างกันทางสถิติที่ 1%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 16 แสดงการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *A. flavus* ในอาหาร PDA ซึ่งผสมสารสกัดจากใบยาสูบที่สกัดโดยใช้แอลกอฮอล์เข้มข้น 95% เป็นตัวทำละลาย ด้วยวิธี DMRT

ระดับความเข้มข้น	เส้นผ่าศูนย์กลาง (ม.ม.)
0% (ชุดควบคุม)	87.00 a
2%	71.20 b
4%	50.20 c
6%	43.20 d
8%	32.00 e
10%	22.60 f

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลและข้อเสนอแนะ

จากการทดลองใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิดคือน้ำและเอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 95% สกัดสารจากสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ใบมะกรูด ผลมะระขี้นก และใบยาสูบในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* โดยทำการทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 2% 4% 6% 8% และ 10% พบว่าสารสกัดที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญสูงที่สุดคือสารสกัดจากใบยาสูบที่ใช้แอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลาย โดยความเข้มข้นของสารสกัดที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดระดับความเข้มข้น 10% รองลงมาคือ 8% 6% 4% และ 2% ตามลำดับ เช่นเดียวกับสารสกัดจากใบมะกรูดและผลของมะระขี้นกซึ่งสกัดโดยใช้แอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลาย คือ มีประสิทธิภาพสูงสุดที่ 10% 8% 6% 4% และ 2% ตามลำดับ

สำหรับการใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายในการสกัดสารจากใบยาสูบและใบมะกรูด พบว่า สมุนไพรทั้ง 2 ชนิดไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *A. flavus* แต่มีผลในการส่งเสริมการเจริญ สำหรับสารสกัดจากผลของมะระขี้นกที่ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายในการสกัดนั้น พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 2% สามารถชะลอการเจริญของเชื้อราได้เล็กน้อย ในขณะที่ระดับความเข้มข้น 4% ขึ้นไปจะไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราชนิดนี้แต่อย่างใด

ในการทดลองนี้ได้ทำการทดสอบคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* ของสารสกัดจากสมุนไพร 3 ชนิดคือ ใบยาสูบ ใบมะกรูด และผลมะระขี้นก โดยใช้น้ำกลั่นและเอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 95% เป็นตัวทำละลายในการสกัด และพบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งได้ดีพบสมควร การทดลองในอนาคตจึงควรทดลองเปลี่ยนส่วนสำคัญของพืชสมุนไพร เช่น ใช้ใบสดของยาสูบ หรือใช้ผิวของเปลือกมะกรูด เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถทดลองเปลี่ยนตัวทำละลายในการสกัด เพื่อทดสอบหาตัวทำละลายที่ดีที่สุดในการสกัดสารจากสมุนไพรเหล่านี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

โกวิท นนทเบญจวรรณ,ขวัญเรือน หลีสิน, เดชพล ธีระเพียรนนท์. 2536. การป้องกันการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* และการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินในข้าวโดยสมุนไพรบางชนิด. โครงงานพิเศษระดับปริญญาตรีภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ขวัญชัย สมบัติศิริ. 2539. ประสิทธิภาพของสารอีเอ็มผสมกับสารสกัดสะเดาที่มีต่อแมลงศัตรูพืช. Kasetsart Journal. เล่ม 30. น.104-109.

ดุษณี ธนะบริพัฒน์, นวลพรรณ ณ ระนอง และฤหทัย พีระปกรณ์. 2532. ผลของสมุนไพรบางชนิดต่อการเจริญของเชื้อราที่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน. วารสารวิทยาศาสตร์ มศว, ปีที่ 5, ฉบับที่ 1. น. 33-39

ดุษณี ธนะบริพัฒน์, พะนอ รวยสูงเนิน, สายชล นุชน้อง และเหมือนหมาย จันทราพันธกุล. 2539. การยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินในระหว่างการผลิตเทมเป้. วารสารวิทยาศาสตร์ มศว., ปีที่ 12, ฉบับที่ 2. น.8-15

ดุษณี ธนะบริพัฒน์, วัฒนะ เชื้อน้อย, อุเทน เพชรรัตน์, วรารัตน์ เรืองรัตนเมธี และกฤษณา ไกรสินธุ์. 2543. การควบคุมเชื้อราที่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซินโดยสะเดา. วารสารองค์การเภสัชกรรม, ปีที่ 27, ฉบับที่ 1. น. 41-50

ธรรมศักดิ์ สมมาตย์. 2533. สารพิษอะฟลาทอกซินในถั่วลิสง. รายงานการสัมมนาถั่วลิสงแห่งชาติครั้งที่ 9. ภาควิชาโรคพืช, คณะเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. น.113

ปรีชา ช. พงษ์ภมร. 2532. ตำราแพทย์แผนโบราณ, อำนวยสาส์น, กรุงเทพ. น.433

ปิยนาถ บรรเทิงสุข, สำเนียง อภิสันติยาดม, นพมาศ นามแดง. 2543. การใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรบางชนิดเพื่อควบคุมเชื้อรา *Botrydiprodia threobromae* ในผลมะม่วง. รายงานผลการวิจัย, สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

พืชมีพิษ, ยาสูบ. http://203.157.48.7/poisonplant/view/name.asp?ID201

ภูมิพิชญ์ สุชาวรรณ. มปป. พืชสมุนไพรใช้เป็นยา, เล่ม 7. บริษัทอักษราพิพัฒน์จำกัด, กรุงเทพฯ. น.46-47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยาขับเสมหะแก้ไอ , มะกรูด. กระทรวงสาธารณสุข.
http://www.moph.go.th/gpo/herbal/group9/group091.htm

สถาบันวิจัยพืชไร่. 2543. กลยุทธ์การควบคุมสารอะฟลาทอกซินในข้าวโพด. รายงานวิจัยประจำ ปี 2543, ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์, กรมวิชาการเกษตร. น.70

สมุนไพรน่ารู้ , มะระขี้นก. กระทรวงสาธารณสุข.
http://www.dmsc.moph.go.th/webroot/plant/herb/body_herb.htm

Champ,B.R., Highley,E., Hocking,A.D., and Pitt,J.I. 1991. Fungi and Mycotoxins in Stored Products : Proceeding of an International Conference. Bangkok, Thailand. pp.80-85

Citrus histrix. http://www.nature-helps.com/intopage/neder/Colie.htm

Cliver, Dean O.1990. Foodborne diseases. Academic Press Limited, London. pp.149-154

Cole,Richard J. 1986. Modern Methods in the Analysis and Structural Elucidation of Mycotoxins. Academic Press Limited, London, United Kingdom. pp.52-71

Dusanee Thanaboripat, Kittima Kraipeerapun, Chadin Pattanaphongsak, Sineenat Srisanan and Sunee Nanasombat. 1997. Detoxication of Aflatoxin by *Streptococcus lactis* and Lactic Acid Bacteria in Commercial Yogert. Kasetsart Journal. Vol. 31, No.1, pp.117-123

Dusanee Thanaboripat, Kowit Nantabenjawan, KwanRuen Leesin, Detchpol Teerapiannont, Oratai Sukcharoen and Rararat Ruangrattanamatee. 1997. Inhibitory Effect of Galic, Clove and Carrot on Growth of *Aspergillus flavus* and Aflatoxin Production. Journal of Forestry Research. Vol.8, No.1. pp.39-42

Dusanee Thanaboripat, Thawatchai Premsri, Nirapol Punbusayakul and Oratai Sukcharoen. 1996. Effect of Food Preservatives on Growth and Aflatoxin Production of *Aspergillus flavus* in Liquid Medium. ASEAN Food Journal. Vol.11, No.2. pp.61-64

Eaton,David L., Groopman, John D. 1994. The toxicology of Aflatoxins : Human health, veterinary, and Agricultural Significance. Academic Press Limited, London, United Kingdom

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Gqaleni,Nceba, Smith,John E., Lacey,John, and Gettinby,George. 1997. Effect of Temperature, Water Activity, and Incubation Time on Production of Aflatoxins and Cyclopiazonic Acid by an Isolate of *Aspergillus flavus* in Surface Agar Culture. Applied and Environmental Microbiology, Vol.63, No.3. pp.1048-1053

Hinda,John I. D. The use of tobacco. Cumberland University. http://medicolegal.tripod.com/hinds 1882.htm

Kittisak Chitaree, Taweerat Kiatsompob, Worasith Panchang and Dusanee Thanaboripat. 2536. Effect of salt Concentrations on Aflatoxin Production in Peanut by *Aspergillus flavus*. Kasetsart Journal. Vol.27, No.3. pp.354-357

Mellon,Jay E., Cotty,Peter J., Godshall,Mary An, Roberts,Earl. 1995. Demonstration of aflatoxin activity in a cotton seed coat xylan. Applied and Environmental Microbiology. Vol.61, No.12, pp.4409-4412.

Potapov, M.V. and Patarinchik, N.H. 1979. Organic Chemistry, Mir Publisher, Moscow. pp. 169

Sargeant, K. 1961. Toxicity associated with certain samples of groundnuts. Nature, 192. pp.1096-1097

Thomas,C.G.A. 1993. Medical Microbiology, University Press, Cambridge, Great Britain

U.S. Food & Drug Administration Center for Food Safety & Applied Nutrition. 1992. Aflatoxin : Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural toxin handbook. http://vm.cfsan.fda.gov/mow/chap41.html

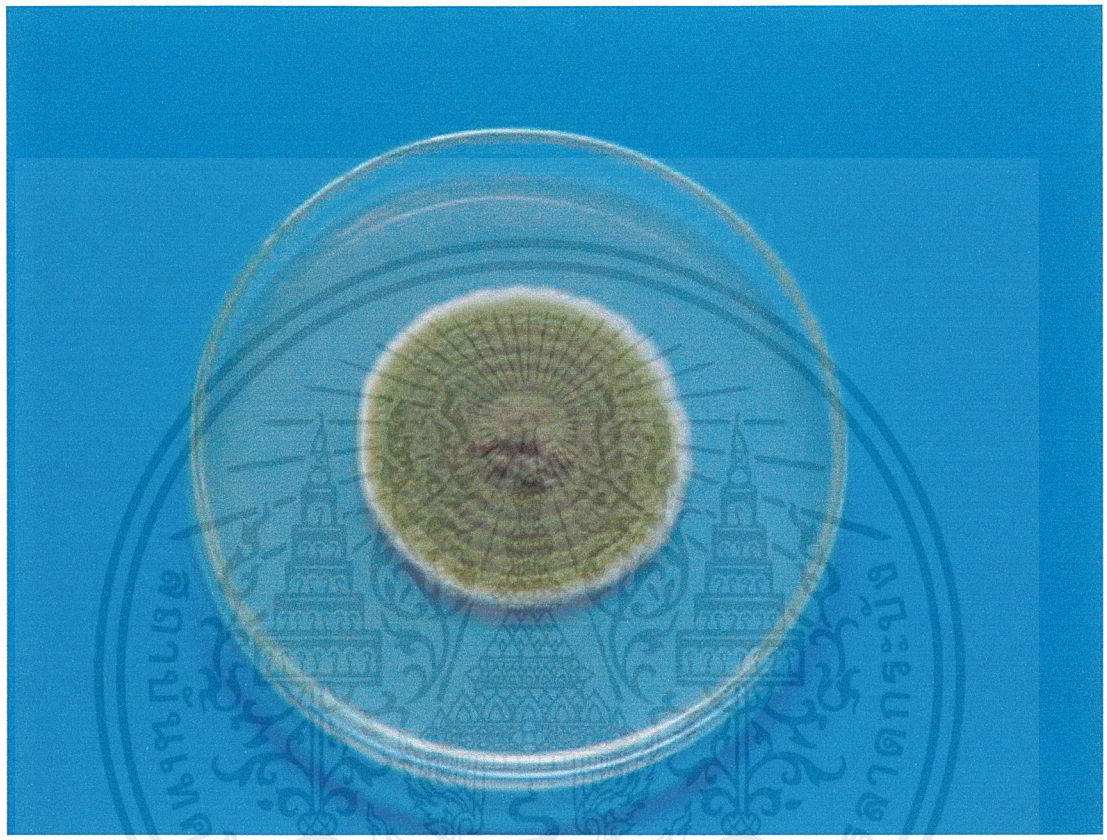
Yabe,Kimiko, Nakamara,Miki and Hamasaki,Takashi. 1999. Enzymatic formation of G-group aflatoxins and biosynthetic relationship between G-and B-group Aflatoxin. Applied and Environmental Microbiology, Vol.65, No.9, pp 3867-3872

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

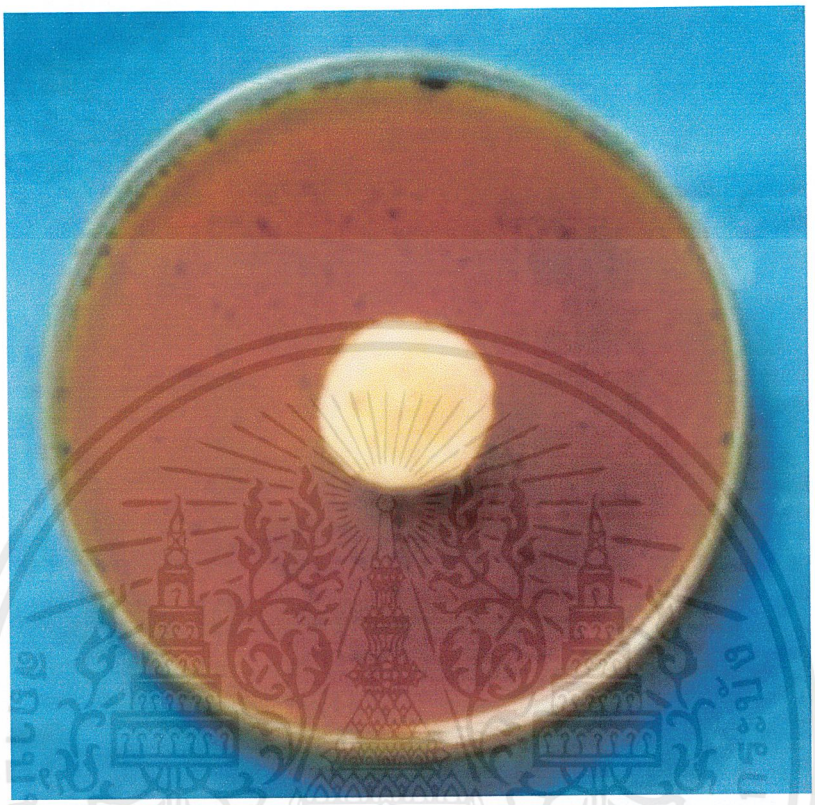
รูปที่ 5 การเจริญของ *A. flavus* ในอาหาร PDA ผสมสารสกัดจากใบมะกรูด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 6 การเจริญของ *A. flavus* ในอาหาร PDA ผสมสารสกัดจากผลมะระขี้นก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 7 การเจริญของ *A. flavus* ในอาหาร PDA ผสมสารสกัดจากใบยาสูบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้