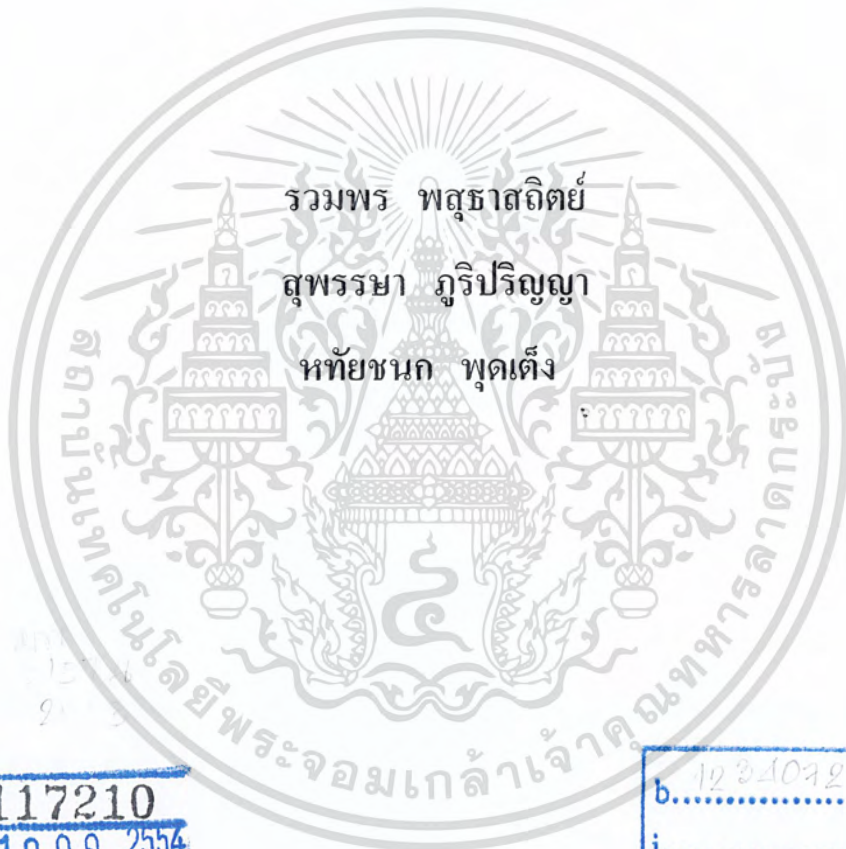


สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

นำม้นมะกรูดกับการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์



T117210



เลขหมู่  
เลขทะเบียน 117210  
ในเดือนปี 19 ก.ค. 2554

b. 12 340428  
i. ....

โครงการนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาจุลชีวะวิทยาอุตสาหกรรม

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2553

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# KAFFIR LIME OIL AND MICROBIAL INHIBITION



**A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF**

**THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF**

**SCIENCE IN INDUSTRIAL MICROBIOLOGY**

**FACULTY OF SCIENCE**

**KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

**ACADEMIC YEAR 2010**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ น้ำมันมะกรูดกับการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์  
Kaffir Lime Oil and Microbial Inhibition

ชื่อนักศึกษา รวมพร พสุธาสถิตย์  
สุพรรณยา ภูริปริญญา  
หทัยชนก พุดเต็ง

ปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต

สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้  
โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาจุล  
ชีววิทยาอุตสาหกรรม ประจำปีการศึกษา 2553

คณะกรรมการ		ลายมือชื่อ	:
ประธานกรรมการ	ผศ.ดร.สรวิญญา พันธุ์พฤกษ์		
กรรมการ	ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี		
กรรมการ	ผศ.ลินจง สุขคำภู		

### ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	น้ำมันมะกรูดกับการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์	
ชื่อนักศึกษา	รวมพร	พสุธาสถิตย์
	สุพรรณษา	ภูริปริญญา
	หทัยชนก	พุดเต็ง
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต	
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม	
ปีการศึกษา	พ .ศ.2553	
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.พนา	โลหะทรัพย์ทวี

### บทคัดย่อ

โครงการพิเศษนี้ได้ศึกษาวิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่แตกต่างกันทั้ง 3 วิธี (การบีบมือ การกลั่นและการสกัดด้วยตัวทำละลาย) โดยน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยการกลั่นและการบีบมือมีองค์ประกอบทางเคมีที่เหมือนกัน แต่องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายไม่พบสาร Limonene นอกจากนี้ยังมีการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliforme* และ *Alternaria alternata* ด้วยน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดได้ทั้ง 3 วิธี ทั้งในงานเพาะเลี้ยงและในพืช พบว่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุด (MIC) ของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยการบีบมือ การกลั่น และสกัดด้วยตัวทำละลาย ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. moniliforme* ในงานเพาะเลี้ยงมีค่า 0.6, 0.8 และ 0.6% โดยปริมาตรตามลำดับ แต่ค่า MIC ที่ทดสอบในพืชมีค่า 0.1% โดยปริมาตร เท่ากันทั้ง 3 วิธี ส่วนค่า MIC ของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยการบีบมือ การกลั่น และการสกัดด้วยตัวทำละลายที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. alternata* มีค่า 0.8, 0.8 และ 0.4% โดยปริมาตรตามลำดับ และมีค่า MIC ที่ทดสอบในพืชคือ 0.8, 0.8 และ 1% โดยปริมาตรตามลำดับ

**Title** Kaffir Lime Oil and Microbial Inhibition

**Student** Ruamphorn Phasuthasathit

Supansa Phuriparinya

Hathaichanok Pudteng

**Degree** Bachelor of Science

**Academic Year** 2010

**Advisor** Asst. Prof. Dr. Pana Lohasupthawee

### Abstract

Three different methods of kaffir lime oil extraction (expression, distillation and solvent extraction) were studied in this special project. The constituents of the kaffir lime oil extracted by expression and distillation were similar but that extracted by solvent had no limonene in its constituents. The inhibitory effects of kaffir lime oil extracted by three different methods were also tested against *Fusarium moniliforme* and *Alternaria alternata* both in vitro and in vivo. The minimum inhibitory concentration (MIC) of kaffir lime oil extracted by expression, distillation and solvent extraction against *F. moniliforme* in vitro were 0.6, 0.8 and 0.6%v/v, respectively, but the MIC for the in vivo test was 1%v/v in every kaffir lime oil extracted. The MIC of oil extracted by expression, distillation and solvent extraction against *A. alternata* in vitro were 0.8, 0.8 and 0.4%v/v, respectively, and the MIC for the in vivo test were 0.8, 0.8 and 1%v/v, respectively.

## กิตติกรรมประกาศ

การจัดทำโครงการพิเศษฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีเพราะได้รับความช่วยเหลือเป็นอย่างดีจาก ผศ.ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี ที่ได้ให้คำแนะนำที่ดีมาโดยตลอด เสียสละเวลาให้คำปรึกษาให้คำแนะนำในการแก้ปัญหาต่างๆ รวมทั้งเป็นผู้ตรวจสอบความถูกต้องของโครงการพิเศษฉบับนี้

ขอขอบคุณผศ.ลินจง สุขคำภู และผศ.ดร.สรัญญา พันธุ์พุกษ์ ที่ได้สละเวลามาเป็นกรรมการสอบโครงการพิเศษ ช่วยให้คำแนะนำที่ดี รวมถึงช่วยตรวจสอบความถูกต้องของโครงการพิเศษ

ขอขอบคุณพี่น้องวิทยุทุกท่านที่ให้คำแนะนำการใช้เครื่องมือ และจัดสรรเรื่องเครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมีต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อการทดลอง

ขอขอบคุณพี่ชั้น อัฐพร บุญเจริญ พี่ปริญาโท พี่ปริญาเอก และเพื่อนๆ ที่คอยให้คำปรึกษา เสนอแนะในสิ่งที่ผิดพลาด และคอยช่วยเหลือสนับสนุนในการทำโครงการครั้งนี้

นางสาวรวมพร พุทธาสติชัย

นางสาวสุพรรณษา ภูริปริญา

นางสาวหทัยชนก พุดเต็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ญ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	<b>1</b>
1.1. ความสำคัญและที่มาของโครงการพิเศษ	1
1.2. วัตถุประสงค์ของโครงการพิเศษ	2
1.3. ขอบเขตของโครงการพิเศษ	2
1.4. ขั้นตอนการทำงาน	2
1.5. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ</b>	<b>3</b>
2.1. น้ำมันหอมระเหย	3
2.1.1. การแบ่งกลุ่มน้ำมันหอมระเหย	3
2.1.2. การเรียกชื่อสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีต่างๆ	5
2.1.3. วิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหย	6
2.1.4. การใช้ประโยชน์จากน้ำมันหอมระเหย	10
2.2. มะกรูด	11
2.3. เชื้อจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้อง	16
2.3.1. <i>Fusarium moniliforme</i>	16
2.3.2. <i>Alternaria alternata</i>	19
2.4. Gas chromatography mass spectrophotometer	22
2.5. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
<b>บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย</b>	<b>29</b>
3.1. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	29
3.2. สมุนไพรที่ใช้ในการควบคุมเชื้อ	30
3.3. สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ	30
3.4. เชื้อราที่ใช้	30
3.5. การสกัดและการเตรียมน้ำมันหอมระเหย	30
3.5.1. วิธีการใช้มือบีบ	30
3.5.2. วิธีการสกัดด้วยไอน้ำ	30
3.5.3. วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย	31
3.6. การวิเคราะห์องค์ประกอบเคมี	31
3.7. การเตรียมเชื้อรา	31
3.8. การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราในงานเพาะเลี้ยง	32
3.8.1. การทดสอบหาระดับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้สมบูรณ์ในอาหาร PDA	32
3.8.2. การทดสอบหาผลของน้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูดว่าสามารถฆ่าเชื้อรา (fungicidal) หรือได้เพียงแค่ยับยั้งเชื้อรา (fungistatic)	33
3.9. การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราในพืช	33
3.9.1. การทดสอบการยับยั้งเชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i> ของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดบนชิ้นข้าวโพด	33
3.9.2. การทดสอบการยับยั้งเชื้อรา <i>Alternaria alternata</i> ของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดบนผลมะเขือเทศ	34
3.10. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ	35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

หน้า

<b>บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล</b>	<b>36</b>
4.1. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี	36
4.1.1. องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำ	35
4.1.2. องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลาย	38
4.1.3. องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือ	40
4.2. น้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดกับการยับยั้งเชื้อราในจานเพาะเลี้ยง	42
4.2.1. ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา <i>Alternaria alternata</i>	42
4.2.2. ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i>	44
4.2.3. ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา <i>Alternaria alternata</i>	46
4.2.4. ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i>	48
4.2.5. ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา <i>Alternaria alternata</i>	50
4.2.6. ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i>	52
4.2.7. การทดสอบหาคุณสมบัติของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สามารถฆ่าเชื้อรา (fungicidal) หรือได้เพียงแค่ยับยั้งเชื้อรา (fungistatic)	54
4.3. น้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดกับการยับยั้งเชื้อราในพืช	55
4.3.1. ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา <i>Alternaria alternata</i> บนมะเขือเทศ	55
4.3.2. ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i> บนข้าวโพด	57

## สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.3.3. ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา <i>Alternaria alternata</i> บนมะเขือเทศ	59
4.3.4. ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i> บนข้าวโพด	61
4.3.5. ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา <i>Alternaria alternata</i> บนมะเขือเทศ	63
4.3.6. ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i> บนข้าวโพด	65
<b>บทที่ 5 สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ</b>	<b>68</b>
<b>เอกสารอ้างอิง</b>	<b>72</b>
<b>ภาคผนวก</b>	<b>74</b>
ภาคผนวก ก. ข้อมูลไม่เป็นทางการ	74
ภาคผนวก ข. ข้อมูลการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม (SPSS)	80

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 เชื้อจุลินทรีย์ที่น้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สามารถยับยั้งได้	14
2.2 สารเคมีที่สำคัญที่พบในน้ำมันหอมระเหยจากมะกรูด	15
4.1 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำที่ระยะเวลาต่าง ๆ	36
4.2 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่ระยะเวลาต่าง ๆ	38
4.3 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือที่ระยะเวลาต่าง ๆ	40
4.4 ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำต่อการเจริญของเชื้อรา <i>Alternaria alternata</i> บนอาหาร PDA	43
4.5 ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำต่อการเจริญของเชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i> บนอาหาร PDA	45
4.6 ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่อการเจริญของเชื้อรา <i>Alternaria alternata</i> บนอาหาร PDA	47
4.7 ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่อการเจริญของเชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i> บนอาหาร PDA	49
4.8 ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือต่อการเจริญของเชื้อรา <i>Alternaria alternata</i> บนอาหาร PDA	51
4.9 ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือต่อการเจริญของเชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i> บนอาหาร PDA	53
4.10 การเจริญของเชื้อรา หลังจากถ่ายเชื้อราที่ถูกยับยั้งลงในอาหาร PDA เป็นเวลา 5 วัน	54
4.11 ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำต่อการเจริญของเชื้อรา <i>Alternaria alternata</i> บนมะเขือเทศ	56
4.12 ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่อการเจริญของเชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i> บนข้าวโพด	58
4.13 ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่อการเจริญของเชื้อรา <i>Alternaria alternata</i> บนมะเขือเทศ	60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.14 เข็มขึ้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่อการเจริญของความเชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i> บนข้าวโพด	62
4.15 ความเข็มขึ้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือต่อการเจริญของเชื้อรา <i>Alternaria alternata</i> บนมะเขือเทศ	64
4.16 ความเข็มขึ้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือต่อการเจริญของเชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i> บนข้าวโพด	66



## สารบัญญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ชุดกลั่นชนิด Clevenger	7
2.2 ชุดกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation)	7
2.3 ชุดการสกัดเย็น (separatory funnel)	8
2.4 เครื่องสกัดร็อน (Soxhlet)	9
2.5 ลักษณะของ <i>Fusarium moniliforme</i>	17
2.6 โรคพืชที่เกิดจาก <i>Fusarium moniliforme</i>	18
2.7 ลักษณะของ <i>Alternaria alternata</i>	20
2.8 โรคพืชที่เกิดจาก <i>Alternaria alternata</i>	21
2.9 ส่วนประกอบพื้นฐานของ Gas chromatography	23
2.10 ส่วนประกอบพื้นฐานของ Mass spectrometer	24
2.11 การแตกตัวด้วยอิเล็กตรอน	25
2.12 การแตกตัวด้วยสารเคมี	25
2.13 ผลลัพธ์จากการค้นหาฐานข้อมูล	26
4.1 โครมาโตแกรมของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำ	37
4.2 โครมาโตแกรมของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลาย	39
4.3 โครมาโตแกรมของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือ	41
4.4 การยับยั้งเชื้อรา <i>Alternaria alternata</i> ด้วยน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำ ความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร	42
4.5 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำกับ การเจริญของเชื้อรา <i>Alternaria alternata</i>	43
4.6 การยับยั้งเชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i> ด้วยน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำ ความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร	44
4.7 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำกับ การเจริญของเชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i>	45

## สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.8 การยับยั้งเชื้อรา <i>Alternaria alternata</i> ด้วยน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร	46
4.9 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายกับการเจริญของเชื้อรา <i>Alternaria alternata</i>	47
4.10 การยับยั้งเชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i> ด้วยน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร	48
4.11 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายกับการเจริญของเชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i>	49
4.12 การยับยั้งเชื้อรา <i>Alternaria alternata</i> ด้วยน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือ ความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร	50
4.13 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือกับการเจริญของเชื้อรา <i>Alternaria alternata</i>	51
4.14 การยับยั้งเชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i> ด้วยน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือ ความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร	52
4.15 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือกับการเจริญของเชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i>	53
4.16 การยับยั้งเชื้อรา <i>Alternaria alternata</i> ด้วยน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำ ความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร	55
4.17 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำกับการเจริญของเชื้อรา <i>Alternaria alternata</i>	56
4.18 การยับยั้งเชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i> ด้วยน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำ ความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร	57
4.19 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำกับการเจริญของเชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i>	58

## สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.20 การยับยั้งเชื้อรา <i>Alternaria alternata</i> ด้วยน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร	59
4.21 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลาย กับการเจริญของเชื้อรา <i>Alternaria alternata</i>	60
4.22 การยับยั้งเชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i> ด้วยน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำ ละลายความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร	61
4.23 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลาย กับการเจริญของเชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i>	62
4.24 การยับยั้งเชื้อรา <i>Alternaria alternata</i> ด้วยน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือ ความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร	63
4.25 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือกับ การเจริญของเชื้อรา <i>Alternaria alternata</i>	64
4.26 การยับยั้งเชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i> ด้วยน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือ ความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร	65
4.27 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือกับ การเจริญของเชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i>	66

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงการพิเศษ

เชื้อจุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กมีหลายสายพันธุ์ ปัจจุบันมีการนำมาใช้ประโยชน์ในหลายด้าน ทั้งในด้านอาหาร การแพทย์และการเกษตร ขณะเดียวกันเชื้อจุลินทรีย์บางสายพันธุ์ก็มีโทษมากมาย เช่น พวกจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารบูดเน่า พวกที่ก่อโรคในคน สัตว์และพืช ซึ่งส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจของประเทศ โดยเฉพาะทางด้านการเกษตรจะมีผลกระทบมากที่สุด เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม มีการส่งออกผลผลิตทางการเกษตรเป็นอันดับต้นๆของโลก เกษตรกรส่วนใหญ่จึงได้หาทางกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคนี้โดยใช้สารเคมี เช่น Benomyl, Copperoxychloride, Carboxin, Hymexzol และ Carbendazim ซึ่งสารเหล่านี้มีผลเป็นพิษต่อเกษตรกรและผู้บริโภค ทำให้เกษตรกรเริ่มตระหนักถึงผลที่ได้รับจากสารเคมีเหล่านี้ ปัจจุบันได้มีการนำเข้าของสารเคมีเหล่านี้มาจากต่างประเทศเป็นจำนวนมาก ด้วยเหตุนี้จึงทำให้นักวิทยาศาสตร์หลายคนเริ่มให้ความสนใจกับสิ่งที่ป็นธรรมชาติ รวมไปถึงความปลอดภัยของคนและสัตว์ โดยได้นำสารสกัดจากพืชสมุนไพรมาทดสอบกับเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในพืช ซึ่งมีงานวิจัยมาแล้วว่า สารสกัดจากสมุนไพรสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ เช่น น้ำมันสกัดจากโป๊ยก็ก็มีผลเข้มข้นต่ำสุดของการยับยั้ง (MIC) ของเชื้อ *Alternaria solani* เป็น 0.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, น้ำมันสกัดจากกานพลูสามารถยับยั้งเชื้อ *Aspergillus flavus* ในอาหาร PDA ได้ 87.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 500 ppm ( สิริธิชัย นวธาณานนท์, ชัชวรินทร์ แซ่ตัน และ นพพล พันธุ์ดี, 2549)

ดังนั้นการศึกษการยับยั้งการเจริญของเชื้อราด้วยสารสกัดน้ำมันหอมระเหยสมุนไพรจึงเป็นการค้นคว้าที่น่าสนใจอีกหัวข้อหนึ่ง เพื่อนำมาใช้เป็นข้อมูลในการป้องกันเชื้อราที่ก่อโรคในพืชได้ ในงานวิจัยนี้เราใช้น้ำมันสกัดจากผิวมะกรูดมาทดสอบ เนื่องจากมีงานวิจัยเกี่ยวกับมะกรูดว่าสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้หลายชนิด แต่ยังไม่มียงานวิจัยใดที่นำมาทดสอบกับเชื้อราที่ก่อโรคในพืช ส่วนเชื้อราที่นำมาทดสอบก็คือ *Fusarium moniliforme* และ *Alternaria alternata* ซึ่งเชื้อราทั้ง 2 ชนิดนี้เป็นราที่ก่อโรคในพืชเศรษฐกิจ ทำให้พืชเป็นโรคและเน่าตาย สามารถแพร่ระบาดได้ง่ายและรวดเร็วเมื่อมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม

## 1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการพิเศษ

1.2.1 ต้องการหาปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่น้อยที่สุดในการควบคุมเชื้อรา (Minimum Inhibitory Concentration, MIC)

1.2.2 ศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliforme* และ *Alternaria alternata* ด้วยน้ำมันสกัดจากผิวมะกรูดในระดับความเข้มข้นต่างๆในอาหาร PDA และพืชที่เชื้อราสามารถเข้าทำลายได้

1.2.3 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันสกัดจากผิวมะกรูด

1.2.4 ศึกษาถึงคุณสมบัติของน้ำมันสกัดจากผิวมะกรูดที่สามารถฆ่าเชื้อราได้หรือแค่เพียงยับยั้งเชื้อรา

## 1.3 ขอบเขตของโครงการพิเศษ

หาปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่น้อยที่สุดในการควบคุมเชื้อรา (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) โดยใช้ น้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูดนำมาทดสอบกับเชื้อรา *Fusarium moniliforme* และ *Alternaria alternata* ทดสอบหาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันสกัดจากผิวมะกรูด และทดสอบคุณสมบัติของน้ำมันหอมระเหยว่าสามารถฆ่าเชื้อราได้หรือแค่เพียงยับยั้งเชื้อรา

## 1.4 ขั้นตอนการทำงาน

1.4.1 สกัดน้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูด โดยวิธีทั้งหมด 3 วิธี คือ การใช้มือบีบ, การสกัดร้อน และการสกัดด้วยตัวทำละลาย

1.4.2 นำน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากผิวมะกรูดไปทำการศึกษาค้นคว้าองค์ประกอบทางเคมี

1.4.3 ทำการเจือจางน้ำมันหอมระเหยในระดับความเข้มข้นต่างๆ

1.4.4 ทำการทดสอบคุณสมบัติของน้ำมันหอมระเหยว่าสามารถฆ่าเชื้อราได้หรือแค่เพียงยับยั้งเชื้อรา

1.4.5 ทดสอบเชื้อราที่ถูกยับยั้งสามารถเจริญได้อีกหรือไม่

## 1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 เป็นแหล่งข้อมูลที่ใช้สำหรับการศึกษาและการวิจัย

1.5.2 สามารถนำไปประยุกต์เป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

## บทที่ 2

# ทฤษฎีและหลักการ

### 2.1 น้ำมันหอมระเหย

น้ำมันหอมระเหยเป็นน้ำมันที่พืชผลิตขึ้นตามธรรมชาติ เก็บไว้ตามส่วนต่าง ๆ เช่น กลีบดอก ใบ ผิวของผล เสร รากหรือเปลือกของลำต้น มีลักษณะเป็นน้ำมันที่มีอนุภาคเล็กมาก มีกลิ่นเฉพาะตัว ระเหยได้ที่อุณหภูมิปกติ (นิจศิริ และพยอม, 2534) เมื่อได้รับความร้อน อนุภาคเล็ก ๆ ของน้ำมันหอมระเหยเหล่านี้ระเหยออกมาเป็นกลุ่มไอรอบ ๆ ทำให้เราได้กลิ่นหอมอบอวลไปทั่ว น้ำมันหอมระเหยจัดเป็นสารประกอบทุติยภูมิ ที่พืชสร้างขึ้นมาจากกระบวนการเจริญเติบโต ซึ่งพบสารต่าง ๆ กันของพืช เช่น ดอก ใบ เป็นต้น และคุณภาพของน้ำมันหอมระเหยขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น ดิน ภูมิอากาศ อุณหภูมิ ปริมาณน้ำฝน ความสูงจากระดับน้ำทะเล การเก็บเกี่ยว เทคนิคและวิธีในการสกัด น้ำมันหอมระเหยช่วยดึงดูดแมลงให้มาผสมเกสรดอกไม้ ปกป้องการรุกรานจากศัตรู และรักษาความชุ่มชื้นแก่พืช สำหรับประโยชน์ต่อมนุษย์นั้น น้ำมันหอมระเหยมีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อโรค บรรเทาอาการอักเสบ หรือลดอาการบวม ลดอาการเครียด หรือกระตุ้นให้สดชื่น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิด

2.1.1 การแบ่งกลุ่มน้ำมันหอมระเหย (อุไรวรรณ และคณะ, 2547; พิมพร, 2547) แบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ การแบ่งกลุ่มของน้ำมันหอมระเหยตามองค์ประกอบทางเคมี และการแบ่งกลุ่มของน้ำมันหอมระเหยตามกลิ่นที่แสดงออก

การแบ่งกลุ่มของน้ำมันหอมระเหยตามองค์ประกอบทางเคมี

องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยมีอยู่มากมายหลายร้อยชนิด แบ่งออกเป็นกลุ่ม ๆ โดยในแต่ละกลุ่มจะออกฤทธิ์ในการบำบัดที่แตกต่างกัน และสามารถแยกสารเป็นกลุ่มได้ 7 กลุ่ม ดังนี้

1. กลุ่ม Alcohol สารในกลุ่มนี้มีคุณสมบัติ ฆ่าเชื้อโรค ต้านเชื้อไวรัส ยกระดับจิตใจ ได้แก่ Linalol, Citronellol, Geraniol, Borneol, Menthol, Nerol, Teppineol
2. กลุ่ม Aldehyde สารในกลุ่มนี้มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อโรค ตัวอย่างได้แก่ Citral, Citronellal, Neral, Geranial

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. กลุ่ม Ester สารในกลุ่มนี้มีคุณสมบัติ ระงับประสาท สงบอารมณ์ ลดอาการเกร็งของกล้ามเนื้อ ลดการอักเสบ และต้านเชื้อรา ได้แก่ Linalyl, Geranyl acetate, Bomyl acetate, Eugenyl, Lavendulyl acetate
4. กลุ่ม Ketone สารในกลุ่มนี้มีคุณสมบัติ ช่วยขยายหลอดเลือด ละลายเสมหะ เสริมสร้างเนื้อเยื่อ และลดการอักเสบ ได้แก่ Jasmone, Fenchone, Camphor, Carvone, Menthone
5. กลุ่ม Oxide สารกลุ่มนี้มีคุณสมบัติในการขับเสมหะ ละลายเสมหะที่สำคัญได้แก่ Cineol นอกจากนี้ก็มีสารที่มีคุณสมบัติฆ่าเชื้อแบคทีเรีย และการกระตุ้นระบบประสาท ได้แก่ Linalol oxide, Bisabolon oxide
6. กลุ่ม Phenol สารในกลุ่มนี้มีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย กระตุ้นระบบประสาท และภูมิคุ้มกันของร่างกาย ได้แก่ Eugenol, Thymol
7. กลุ่ม Terpene สารในกลุ่มนี้มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อและลดการอักเสบประกอบด้วย Camphene, Cadinene, Mycrene, Cedrene, Dipentene, Phellandrene, Caryophyllene, Terpinene, Sabinene สาร sesquiterpenes เช่น Chamazulene, Farnesol มีฤทธิ์ในการลดการอักเสบและต้านเชื้อแบคทีเรีย สาร Limonene มีคุณสมบัติต้านไวรัส สาร Pinene มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ เป็นต้น

โดยปกติน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิดจะมีสารประกอบทางเคมีตั้งแต่ 50 – 500 ชนิด องค์ประกอบทางเคมีแต่ละชนิดมีคุณสมบัติแตกต่างกันไป ดังที่กล่าวมาแล้ว แต่เมื่อนำมาผสมผสานกันอาจทำให้เกิดคุณสมบัติที่เป็นเอกลักษณ์ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชแต่ละชนิด ที่มีจุดเด่นความเหมือนและความแตกต่างในการบำบัดต่างกันไป

การแบ่งกลุ่มของน้ำมันหอมระเหยตามกลิ่นที่แสดงออก สามารถแบ่งได้ดังนี้

1. กลิ่นส้ม (citrus) กลิ่นสดชื่นและสะอาด ได้แก่ Bergamot, Grapefruit, Lemon, Lime, Orange, Tangerine
2. กลิ่นดอกไม้ (floral) กลิ่นหวานกึ่งนุ่มนวล ได้แก่ Chamomile, Geranium, Jasmine, Lavender, Neroli, Rose, Ylang ylang
3. กลิ่นสมุนไพร (herbaceous) กลิ่นสีเขียวของใบไม้ ได้แก่ Basil, Clary sage, Thyme, Marjoram, Peppermint, Rosemary

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. กลิ่นการบูร (camphoraceous) กลิ่นเย็น ได้แก่ Peppermint, Cajuput, Tea tree, Rosemary, Eucalyptus
5. กลิ่นยางไม้ (resinous) ได้แก่ Benzoin, Frankincense, Myrrh
6. กลิ่นป่า (woody) กลิ่นของเปลือกไม้ เนื้อไม้และรากไม้ ได้แก่ Sandalwood, Cedarwood, Cypress, Juniper berry, Pine
7. กลิ่นพื้นดิน (earthy) กลิ่นยีสต์ รา สาหร่าย ได้แก่ Oakmoss, Patchouli, Vetiver

#### 2.1.2 การเรียกชื่อสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีต่าง ๆ (อุไรวรรณ และคณะ, 2547)

สารสกัดที่ได้จากการสกัดพืชด้วยตัวทำละลายหรือวิธีการต่าง ๆ นั้น มีชื่อเรียกแตกต่างกัน ได้แก่ pomades, concretes, absolutes, resinoids หรือ tincture (มินิษา, 2546)

1. Pomades ประกอบด้วยไขมัน (fat) ที่มีสารหอมอยู่ภายใน ซึ่งเตรียมโดยการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ไม่ระเหยที่อุณหภูมิปกติ เรียกว่า enfleurage ซึ่งจะมีทั้งแบบเย็น (cold enfleurage) และแบบร้อน (hot enfleurage หรือ maceration)
2. Concrete เตรียมจากการทำพืชสดมาแช่ในตัวทำละลายประเภทไม่มีขั้ว เช่น โทลูอิน (toluene) เฮกเซน (hexane) และปิโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether) แล้วจึงนำไประเหยตัวทำละลายออกจะเหลือทั้งส่วนที่ระเหยได้และระเหยไม่ได้ เช่น ขี้ผึ้ง (wax compound) ซึ่ง concrete จะละลายในเอทานอล (ethanol) ได้สมบูรณ์ ทำให้เป็นข้อจำกัดในการใช้ในอุตสาหกรรมน้ำหอม อย่างไรก็ตาม concrete สามารถนำไปใช้เป็นกลิ่นหอมในสบู่ได้
3. Absolutes เตรียมจากการนำเอา concrete มาละลายในเอทานอล เพื่อแยกสารพวกขี้ผึ้ง สารดังกล่าวจะตกตะกอนเมื่อนำไปแช่เย็นแล้วกรองออก หลังจากนั้นจึงระเหยเอทานอลออก ส่วนที่เหลือจะเรียกว่า absolute ซึ่งไม่มีขี้ผึ้งอยู่ ดังนั้น absolute จึงละลายในเอทานอลได้อย่างสมบูรณ์นำไปใช้ในอุตสาหกรรมน้ำหอมได้
4. Resonoids เตรียมได้จากการสกัดจากยางของพืช (plant exudates) เช่น balsam, oleo gum resins, natural oleo resin และ resinous products ด้วยตัวทำละลาย เช่น เมทานอล (methanol) เอทานอล หรือ โทลูอิน จะได้ผลผลิตจากการสกัด อยู่ในช่วงร้อยละ 50 – 95 ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่สกัดได้จะมีความหนืดสูง บางครั้งอาจนำมาเจือจาง

ด้วยพทาเลท (phthalate) หรือเบนซิลเบนโซเอท (benzyl benzoate) เพื่อปรับปรุงให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารมีลักษณะที่ไหลได้ resonoids ส่วนใหญ่ประกอบด้วยสารจำพวกไม่ระเหยและ resonoids compound ซึ่งสารเหล่านี้มีคุณสมบัติในการเป็น fixative

5. Tinctures ได้จากการสกัดวัตถุดิบจากธรรมชาติด้วยเอทานอล หรือเอทานอลผสมน้ำที่อุณหภูมิห้อง แต่ถ้าทำที่อุณหภูมิสูงกว่า 60 องศาเซลเซียส หรือต้มเดือด จะเรียกว่า infusion

2.1.3 วิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหย (นิรนาม, 2550 ; อุไรวรรณ และคณะ, 2547) แบ่งออกได้เป็น 5 วิธี คือ การสกัดโดยการกลั่น การสกัดด้วยตัวทำละลาย การสกัดด้วยไขมัน การบีบอัด และการสกัดด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวด

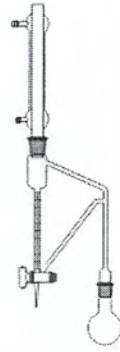
การสกัดโดยการกลั่น (distillation)

การกลั่นเป็นการแยกสารที่ระเหยง่าย ออกจากสารที่ระเหยยาก หรือไม่ระเหย โดยอาศัยความร้อนทำให้สารตัวอย่างเดือดจนกลายเป็นไอ แล้วทำการควบแน่นกลับมาเป็นของเหลว การกลั่นมีข้อดีว่าการสกัดโดยตรง เพราะปราศจากการปะปนกับสารที่ไม่ระเหย ส่วนข้อเสียคือได้สารระเหยที่มีความเข้มข้นน้อย แต่อย่างไรก็ตาม วิธีนี้เป็นวิธีที่นิยมมากที่สุดเนื่องจากทำได้ง่าย และค่าใช้จ่ายไม่สูง การกลั่นแบ่งออกได้ดังนี้

- การกลั่นด้วยน้ำ (water distillation)

วิธีนี้สามารถทำได้โดยใช้อุปกรณ์สำหรับการกลั่น เช่น หม้อกลั่น เครื่องควบแน่น และภาชนะรองรับน้ำมัน วิธีการคือ บรรจุพืชที่ต้องการสกัดน้ำมันหอมระเหยลงในหม้อกลั่น เติมน้ำพอท่วม แล้วต้มจนน้ำเดือด เมื่อน้ำเดือดระเหยเป็นไอ ไอน้ำจะพาน้ำมันหอมระเหยที่อยู่ในเนื้อเยื่อของพืชออกมาพร้อมกัน เมื่อผ่านเครื่องควบแน่น ไอน้ำและไอของน้ำมันหอมระเหยจะควบแน่นเป็นของเหลว ได้น้ำมันหอมระเหยและน้ำแยกชั้นจากกัน

การทำงานในระดับห้องปฏิบัติการสามารถใช้ชุดกลั่นขนาดเล็กที่เป็นเครื่องแก้ว ซึ่งเรียกว่า ชุดกลั่นชนิด Clevenger ดังรูปที่ 2.1



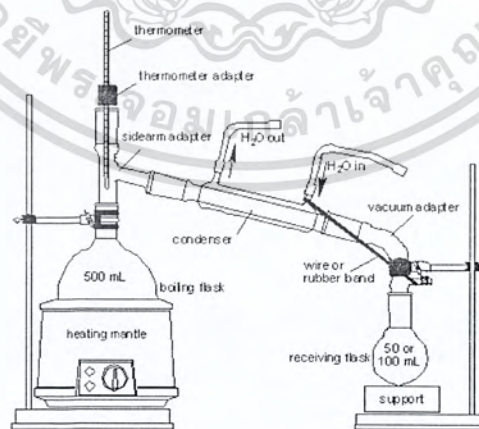
รูปที่ 2.1 ชุดกลั่นชนิด Clevenger

ที่มา : <http://www.glasscolabware.com/laboratory-glassware/products.php?p=cea247>

ข้อเสียของการกลั่นวิธีนี้คือ ตัวอย่างรับความร้อนได้ไม่สม่ำเสมอ โดยตรงกลางภาชนะ  
มักร้อนกว่าด้านข้าง จึงทำให้ตัวอย่างไหม้ และเกิดกลิ่นใหม่ปนมากับน้ำมันหอมระเหยได้  
อีกทั้งการกลั่นด้วยวิธีนี้ พี่จะต้องสัมผัสกับน้ำเดือดโดยตรงเป็นเวลานาน ทำให้  
องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย เกิดการเปลี่ยนแปลงไปบ้างบางส่วน

- การกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation)

กระบวนการกลั่นวิธีนี้ดำเนินการโดยบรรจุพืชลงบนตะแกรง แล้วให้ความร้อน  
จากไอน้ำที่ได้จากเครื่องกำเนิดไอน้ำผ่านไปยังพืชบนตะแกรง ไอน้ำจะนำน้ำมันหอม  
ระเหยในพืชระเหยออกมาอย่างรวดเร็ว ดังรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 ชุดกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation)

ที่มา : <http://www.uwlax.edu/faculty/koster/images/Image27.gif>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

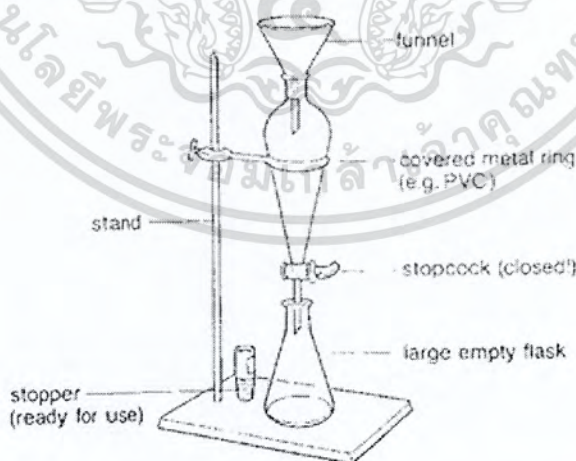
วิธีนี้มีข้อดี คือ เวลาที่ใช้ในการกลั่นจะสั้นกว่า ได้น้ำมันที่มีคุณภาพ และปริมาณมากกว่า แต่ไม่เหมาะกับพืชที่มีลักษณะบาง เช่น กลิบกฤษณา เพราะไอน้ำจะทำให้กลีบกุหลาบรวมตัวกันเป็นก้อน น้ำมันหอมระเหยที่อยู่ในกลีบกุหลาบไม่สามารถออกมาพร้อมกับไอน้ำได้ทั้งหมด ทำให้ได้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยมีปริมาณน้อยลงหรือไม่ได้เลย การกลั่นน้ำมันกุหลาบจึงควรใช้วิธีการกลั่นด้วยน้ำจึงจะเหมาะสมกว่า

### การสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction)

การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากดอกไม้ที่ไม่สามารถใช้วิธีกลั่นโดยใช้ไอน้ำได้ เนื่องจากองค์ประกอบของสารหอมระเหยในดอกไม้จะสลายตัว เมื่อถูกความร้อนสูง ดังนั้นจึงใช้ตัวทำละลายซึ่งเป็นสารไฮโดรคาร์บอนที่ระเหยได้ เช่น เฮกเซน เบนซีน หรือปิโตรเลียมอีเทอร์ สกัดน้ำมันหอมระเหยออกมา หลังจากนั้นทำการระเหยเอาตัวทำละลายออก จะได้หัวน้ำหอมชนิด concrete โดยการสกัดด้วยตัวทำละลายนี้มี 2 วิธี

#### - การสกัดเย็น

ดำเนินการ โดยคัดเลือกด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมกับน้ำมันหอมระเหยในพืช จากนั้นหมักพืชกับตัวทำละลายในภาชนะปิด เช่น ขวดรูปชมพู่ หมักทิ้งไว้ 7 วัน โดยทำการเขย่าบ่อย ๆ เมื่อครบกำหนดจึงค่อย ๆ รินเอาส่วนของเหลวออกแล้วนำไปแยกเอาตัวทำละลายออกด้วยกรวยแยก ดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 ชุดการสกัดเย็น (separatory funnel)

ที่มา : <http://firstyear.chem.usyd.edu.au/prelab/images/E28extractionimage1.gif>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## - การสกัดร่อน

สกัดโดยใช้เครื่อง Soxhlet ดังรูปที่ 2.4 เครื่องมือนี้ประกอบด้วย 3 ส่วนหลัก คือ ส่วนบรรจุตัวทำละลาย ส่วนรีฟลักซ์พลาสติก (reflux flask) เป็นส่วนที่สามารถทำให้ของไหลกลับลงสู่ส่วนแรกได้ และส่วนที่สาม คือ เครื่องควบแน่น วิธีนี้เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพดี และไม่สิ้นเปลืองตัวทำละลาย



รูปที่ 2.4 เครื่องสกัดร่อน (Soxhlet)

ที่มา : <http://www.amglassware.com/soxhlet%20setup%20large.jpg>

## การสกัดโดยใช้ไขมัน (enfleurage)

การสกัดโดยใช้ไขมันเป็นวิธีการสกัดแบบดั้งเดิม มักใช้กับดอกไม้กลีบบาง เช่น มะลิ ช่อนกลั่น โดยใช้ไขมันประเภทน้ำมันหมู่อัดลงบนถาดไม้ แล้วนำดอกไม้มาเกลี่ยทับเป็นชั้นบาง ๆ จนเต็มถาด ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง แล้วเปลี่ยนดอกไม้ชุดใหม่ ทำซ้ำเช่นนี้ประมาณ 7-10 ครั้ง ไขมันจะดูดซับสารหอมไว้ โดยเรียกไขมันที่ดูดซับสารหอมนี้ว่า pomade หลังจากนั้นใช้เอทานอลละลายสารหอมออกจากไขมัน แล้วนำไประเหยไล่เอทานอลออกภายใต้อุณหภูมิและความดันต่ำ จะได้หัวน้ำหอมชนิด concrete และหากนำส่วน concrete มาละลายในเอทานอลเพื่อนำสารประกอบจี๊ต้อออก นำไปแช่เย็นแล้วกรองแยกได้ส่วนที่เป็นไข จากนั้นจึงนำมาระเหยเอทานอลออก จะได้หัวน้ำหอมชนิด absolute ซึ่งจัดเป็นหัวน้ำหอมชนิดที่ดีและราคาแพงที่สุด

## การบีบอัด

วิธีนี้มักใช้กับเปลือกผลไม้ตระกูลส้ม เช่น ส้ม มะนาว มะกรูด น้ำมันหอมระเหยที่ได้จะมีกลิ่นและคุณภาพดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสกัดด้วยของไหลวิกฤติยิ่งยวด (Supercritical Fluid Extraction, SFE) (Dean, 2003 ; นิรินาม, 2550 ; อุไรวรรณ และคณะ, 2547)

วิธีนี้ใช้สกัดตัวอย่างทั้งของแข็ง กึ่งของแข็ง และของเหลว คุณสมบัติเด่นของการสกัดวิธีนี้คือ ละลายได้ดี กระจายตัวได้ดี มีความหนืดต่ำ และแรงตึงผิวต่ำ สถานะเหนือวิกฤต (supercritical point) เป็นเทคนิคใหม่ เหมาะสำหรับการสกัดสารที่ละลายตัวง่ายเมื่อถูกความร้อน แต่สูญเสียค่าใช้จ่ายมาก วิธีนี้จะได้น้ำมันหอมระเหยที่มีกลิ่นหอมมาก เพราะประสิทธิภาพการสกัดสูง

#### 2.1.4 การใช้ประโยชน์จากน้ำมันหอมระเหย (อุไรวรรณ และคณะ, 2547)

น้ำมันหอมระเหยได้ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง เช่น น้ำหอม ใช้ในการแต่งกลิ่นในเครื่องสำอางและในตำรับยา (วันดี, 2536) นอกจากนี้ น้ำมันหอมระเหยยังมีคุณสมบัติยับยั้งเป็นยาฆ่าเชื้อ ยาด้านแบคทีเรียและยาด้านเชื้อรา รวมทั้งช่วยบรรเทาอาการบวมหรืออักเสบ ป้องกันการอักเสบ ช่วยระงับความกังวล ทำให้จิตใจเบิกบาน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิด น้ำมันหอมระเหยสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายด้านดังนี้

- ด้านเครื่องบริโภค เช่น การใช้เป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอาง ผลิตภัณฑ์นม อาหารสำเร็จรูป อาหารกึ่งสำเร็จรูป ลูกอม เครื่องปรุงรส เป็นต้น
- ด้านเครื่องอุปโภค เช่น การใช้เป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอาง ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด น้ำหอม ผงซักฟอก ยาสีฟัน ยาระงับ รุข เทียน เป็นต้น
- ด้านการแพทย์ โดยใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ยาทางการแพทย์ เช่น ยาดม ยาทา ยาอม เป็นต้น
- ใช้เป็นสารป้องกัน และกำจัดศัตรูพืชและสัตว์
- ใช้ถนอมอาหาร สามารถเก็บให้คงคุณภาพได้นาน
- ใช้เป็นเคมีภัณฑ์ในอุตสาหกรรม
- ใช้ปรับอารมณ์และบำบัดโรค หรือที่เรียกว่า สุนทรบำบัด (Aromatherapy)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.2 มะกรูด

ชื่อภาษาไทย :	มะกรูด
ชื่อสามัญ :	Porcupine Orange, Kiffir Lime, Leech Lime, Mauritius papeda
ชื่อวิทยาศาสตร์ :	<i>Citrus hystrix</i> DC.
ชื่อวงศ์ :	RUTACEAE

มะกรูดมีการใช้ประโยชน์อย่างมาก เป็นได้ทั้งเครื่องเทศและยาสมุนไพร สามารถนำไปประกอบอาหารดับกลิ่นคาวและเป็นยารักษาโรค เช่น ช่วยแก้อาการท้องอืด แก้ปวดท้อง บำรุงโลหิตสตรี ขับเสมหะ ฯลฯ นอกจากการบริโภคเป็นอาหารและเป็นยารักษาโรคแล้ว ยังสามารถนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอางประเภทต่าง ๆ ได้อีกด้วย เช่น แชมพู ครีมนวด ครีมหมักผม เป็นต้น ส่วนต่าง ๆ ของมะกรูด สามารถเก็บรักษาไว้ในรูปของแห้ง คือ ใบมะกรูดแห้ง ผิวมะกรูดแห้ง หรือน้ำมันหอมระเหยที่สกัดด้วยวิธีต่าง ๆ ปัจจุบันความต้องการมะกรูดของตลาดทั้งในประเทศและต่างประเทศมีแนวโน้มที่สูงขึ้น เนื่องจากสรรพคุณของมะกรูดที่มีความหลากหลาย แต่เกษตรกรมักจะปลูกมะกรูดกันในลักษณะเป็นพืชผักสวนครัว หรือพืชรองเท่านั้น

การจำแนกทางวิทยาศาสตร์ (ที่มา : <http://en.wikipedia.org/wiki/Citrus>)

**Kingdom :** *Plantae*

**Division :** *Magnoliophyta*

**Class :** *Magnoliopsida*

**Subclass :** *Rosidae*

**Order :** *Sapindales*

**Family :** *Rutaceae*

**Genus :** *Citrus*

**Species :** *C. x*

### ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

1. มะกรูด เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง ลำต้นสูง 2 – 12 เมตร ลำต้นและกิ่ง มีหนามแหลม
2. ใบมะกรูด มีลักษณะเป็นรูปไข่กว้างถึงไข่แกมรี หรือขอบขนาน ขนาดของใบกว้าง 2 – 6 เซนติเมตร ยาว 3 – 15 เซนติเมตร ปลายใบมน โคนใบสอบหรือมน ขอบใบมน ก้านใบมีปีกเป็นแผ่นคล้ายใบคล้ายรูปกลมหรือรูปไข่หัวกลับแบ่งเป็น 2 ตอน ใบค่อนข้างหนา มีสีเขียวแก่แผ่น ใบมีต่อมน้ำมันใส มีกลิ่นหอม
3. ดอกมีสีขาว อยู่บริเวณซอกใบ มีกลิ่นหอม มีลักษณะเป็นทั้งดอกเดี่ยวและดอกช่อ มี 2-12 ดอก
  - กลีบเลี้ยง มี 4-5 กลีบ เป็นรูปไข่กว้าง ปลายแหลม
  - กลีบดอก มี 4-5 กลีบ กลีบหนา รูปไข่แกมรี ปลายมนแหลม ด้านนอกมีต่อมน้ำมัน กลีบร่วงง่าย
  - เกสรเพศผู้ มีจำนวนมาก ก้านเกสรสีขาว อับเรณูสีเหลืองอ่อน
  - เกสรเพศเมีย คล้ายรูปกระบอก สีเหลืองแกมเขียว ยอดเกสรกลม สีเหลืองแกมเขียว
  - รังไข่ ค่อนข้างกลม ส่วนบนกว้าง
4. เป็นผลเดี่ยวค่อนข้างกลม บางพันธุ์มีผิวขรุขระ มีจุดที่หัวผล เปลือกหนา สีเขียวเมื่อสุกมีสีเหลือง มีเมล็ดหลายเมล็ด โครงสร้างด้านในคล้ายพีชตระกูลส้ม ขนาดของผลประมาณ 3 – 7 เซนติเมตร

### แหล่งที่พบ

ไม่ทราบแหล่งกำเนิด แต่พบมากตามธรรมชาติในมาเลเซีย อินเดีย ศรีลังกา พม่า และแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้

### การนำมาใช้

การใช้มะกรูดระดม่น่าจะรู้จักกันมาตั้งแต่สมัยโบราณ วิธีการสระ บ้างก็ใช้ผลดิบผ่าแล้วบีบน้ำสระโดยตรง บ้างก็นำไปเผา หรือต้มก่อนสระ นอกจากนี้มะกรูดยังมีใช้ในพระราชพิธีสำคัญ เช่น พระราชพิธีโสกันต์ ซึ่งระบุนไว้ในพระราชพิธีสิบสองเดือนไว้ว่า จะต้องมีผลมะกรูด ใบมะกรูด และส้มป่อย ประกอบในพิธีด้วย เข้าใจว่าน่าจะใช้เพื่อการระดม่นั่นเอง และก็สามารถนำไปใช้ล้างพื้นได้ด้วย

น้ำมันมะกรูดมีรสเปรี้ยว กลิ่นฉุนเช่นเดียวกับใบ แต่ไม่ค่อยได้ประโยชน์กันมาก ทั้งนี้อาจจะเป็นเพราะหาได้ยากกว่า และได้ใช้น้อยกว่าเพราะมะกรูดมีเปลือกหนา ส่วนผิวมะกรูดนิยมนำมาประกอบอาหารบางชนิดด้วย ขณะที่มะนาวหาได้ง่ายกว่า น้ำมันมากกว่า และมีรสชาติที่ถูกปากมากกว่า อย่างไรก็ตาม มีอาหารบางชนิดที่นิยมนำน้ำมันมะกรูดเช่นกัน

นอกจากนี้ ในมะกรูดมีน้ำมันหอมระเหยอยู่มาก มีกลิ่นฉุนทั้งในใบและผล บางครั้งสามารถนำไปใช้ไล่แมลงบางชนิดได้

### การใช้ประโยชน์จากมะกรูด

1. ใช้ส่วนต่าง ๆ ของมะกรูด เป็นยาหรือส่วนผสมของยา ดังนี้
  - 1.1. ใบมะกรูด มีรสเปรี้ยว กลิ่นหอม แก้ไอ แก้อาเจียนเป็นเลือด แก้ไข้ใน ดับกลิ่นคาว
  - 1.2. ผลมะกรูด มีรสเปรี้ยว ขับเสมหะ แก้ น้ำลายเหนียว ขับเถาดานในท้อง แก้ระดูเสีย ฟอกโลหิต ขับระดู ขับลมในลำไส้
  - 1.3. ผิวมะกรูด มีรสปร่า กลิ่นหอมร้อน ขับลมในลำไส้ ขับระดู ขับผายลม
  - 1.4. น้ำมันลูกมะกรูด มีรสเปรี้ยว แก้ไอเสมหะ ฟอกโลหิต ขับระดู ขับลมในลำไส้
  - 1.5. ราก มีรสจืดเย็น แก้ไข้ ถอนพิษสำแดง แก้ลมจุกเสียด กระทุ้งพิษไข้ แก้พิษฝิภายใน แก้เสมหะ
2. ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องหอมและเครื่องสำอางต่าง ๆ
3. กรดซิตริกที่อยู่ในมะกรูด ช่วยขจัดคราบสบู่ที่หลงเหลืออยู่ ทำให้ผมหวีเรียบง่าย น้ำมันจากผิวมะกรูดช่วยให้ผมดกเป็นเงางาม
4. ใช้ปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร ดับกลิ่นคาวของอาหาร ใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องแกงต่างๆ

### ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์

#### 1. ประสิทธิภาพต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

ประสิทธิภาพต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของผิวมะกรูดจะอยู่ในรูปแบบของน้ำมันหอมระเหย ซึ่งผิวมะกรูดจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ ได้ดีกว่าใบมะกรูด (เนื่องจากมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่น้อยกว่าผิวมะกรูด) จุลินทรีย์ที่ถูกยับยั้งได้ง่าย คือ รา ดังนั้นจึงมีการนำน้ำมันหอมระเหยไปเป็นส่วนผสมในแชมพูสระผมเพื่อกำจัดรังแคที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา สำหรับจุลินทรีย์ที่ถูกยับยั้งด้วยน้ำมันผิวมะกรูดแสดงดังตารางที่ 2.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 เชื้อจุลินทรีย์ที่น้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูดสามารถยับยั้งได้

ส่วนประกอบที่นำมาใช้	เชื้อแบคทีเรีย	เชื้อรา
ใบมะกรูด	<i>E.coli</i> <i>Bacillus megaterium</i>	<i>Alternaria</i> <i>Cunninghamella</i> <i>Rhizopus</i> <i>Fusarium</i>
ผิวมะกรูด	<i>Salmonella tiphy</i> <i>Staphylococcus</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>E.coli</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Bacillus megaterium</i> <i>Proteus vulgaris</i> <i>Salmonella lexington</i>	<i>Alternaria</i> <i>Aspergillus</i> <i>Cunninghamella</i> <i>Rhizopus</i> <i>Fusarium</i> <i>Curvularia</i> <i>Mucor</i>

ที่มา : [www.khaokhonaturalfarm.com/thai/index](http://www.khaokhonaturalfarm.com/thai/index)

## 2. สารเคมีที่สำคัญ

สารเคมีที่สำคัญที่พบในมะกรูดจะอยู่ในส่วนของน้ำมันหอมระเหย ซึ่งมีทั้งในส่วนใบและเปลือกของผลที่เรียกว่าผิวมะกรูด โดยที่ผิวมะกรูดจะมีน้ำมันหอมระเหยร้อยละ 4 และใบจะมีน้ำมันหอมระเหยร้อยละ 0.08 สำหรับปริมาณของสารเคมีที่พบในใบและผิวมะกรูดที่แตกต่างกันแสดงดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 สารเคมีที่สำคัญที่พบในน้ำมันหอมระเหยจากมะกรูด

สารเคมี	% สารเคมี	
	ใบมะกรูด	ผิวมะกรูด
Alpha - Pinene	0.2	2.5
Camphene	เล็กน้อย	0.2
Beta - Pinene	4.9	30.6
Sabinene	-	22.6
Myrcene	0.6	1.4
Limonene	0.6	29.2
1,8 - Cineol	-	1.3
Gamma - Terpinene	0.2	0.1
P - Cymene	0.1	0.1
Terpinolene	0.2	0.1
Trans- Sabinene hydrate	-	0.6
Citronella	65.4	4.2
Copaene	0.1	0.6
Linalool	2.9	0.5

ที่มา : [www.khaokhonaturalfarm.com/thai/index](http://www.khaokhonaturalfarm.com/thai/index)

### 3. กลไกการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

การที่มะกรูดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้นั้น เนื่องจากมีสารพวกเจอร์านีออล นิโรลิออล ไอโซฟูลิกอล ลินาลูล และเทอร์ปีนีนออลอยู่ด้วย ซึ่งมีรายงานว่าสารเหล่านี้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้เช่นกัน แต่กลไกในการยับยั้งยังไม่ทราบแน่ชัด

### 4. ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

น้ำมันใบมะกรูดมีฤทธิ์ไล่ยุงได้นาน 3 ชั่วโมง ด้านเชื้ออะมีบา มี d-limonene เป็นสารหลัก

ในน้ำมันผิวมะกรูดมีฤทธิ์ยับยั้งสารก่อมะเร็งในหนู

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 5. ความเป็นพิษ

มีรายงานทางการแพทย์ว่าพบผู้ป่วยที่มีอาการแพ้ ผลผลิตภัณฑ์ที่มีน้ำมันมะกรูดเป็นส่วนผสม น้ำมันผิวมะกรูดมีสาร oxypedamin ซึ่งมีผลทำให้เกิดอาการแพ้เมื่อโดนแสงแดด (photo toxicity) สาร d-limonene เมื่อถูกอากาศเป็นเวลานาน ก่อให้เกิดอาการแพ้ได้เช่นกัน

## 2.3 เชื้อจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้อง

### 2.3.1 *Fusarium moniliforme*

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Gibberella fujikuroi* (Sawada) Wollenw., (1931)

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่สามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่า อาจมีลักษณะที่แตกต่างกันไป ตามชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ การอธิบายลักษณะของเชื้อนี้จะสังเกตการเจริญของเชื้อบนอาหาร PDA บ่มที่ 25 องศาเซลเซียส พร้อมทั้งทำการเปิดปิดแสงไฟสลับกันไปครั้งละ 12 ชั่วโมง ในช่วงแรก โคลนินจะมีการเจริญอย่างรวดเร็ว และมีลักษณะเป็นจุดหรือแต้มสีขาวและม่วงอ่อน จากนั้นจะกลายเป็นไม่มีสี จนถึงสีม่วงเข้ม เมื่อมี sporodochia เจริญขึ้น โคลนินจะมีสีครีมจนถึงสีส้ม ดังรูปที่

### 2.5

เส้นใยที่พบได้แก่ Septate และ hyaline ความยาวของ conidiophores มีความยาวปานกลาง ซึ่งมีขนาดสั้นกว่าที่พบในเชื้อราชนิด *F.solani* แต่จะมีความยาวมากกว่าที่พบในเชื้อราชนิด *F.oxysporum* ซึ่งจะมีทั้งรูปแบบธรรมดาและแบบกิ่ง สปอร์กระจายตัวอยู่ทั่วไป และมีลักษณะบาง รูปร่างคล้ายเกี้ยว หรือเมล็ดถั่ว เมื่อวัดขนาดของเส้นใยชนิด 5 – septate ได้ 31 – 58 × 2.7 – 3.6 ไมโครเมตร septate มีรูปร่างคล้ายวงรีหรือกระบอก วัดขนาดได้ 7 – 10 × 2.5 – 3.2 ไมโครเมตร

(ที่มา : [http://www.doctorfungus.org/thefungi/Fusarium\\_moniliforme.php](http://www.doctorfungus.org/thefungi/Fusarium_moniliforme.php) )

## สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง



### รูปที่ 2.5 ลักษณะของ *Fusarium moniliforme*

ที่มา : [http://visualsunlimited.photoshelter.com/image/I00008SgG28xh\\_1g](http://visualsunlimited.photoshelter.com/image/I00008SgG28xh_1g)

การจำแนกทางวิทยาศาสตร์ (ที่มา : [http://en.wikipedia.org/wiki/Fusarium\\_moniliforme](http://en.wikipedia.org/wiki/Fusarium_moniliforme))

Kingdom: Fungi

Phylum : Ascomycota

Class : Sordariomycetes

Subclass : Hypocreomycetidae

Order : Hypocreales

Family : Nectriaceae

Genus : *Gibberella*

Species : *G. fujikuroi*

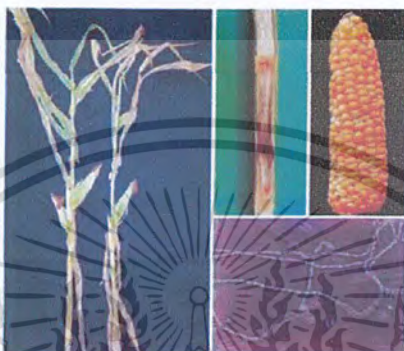
### โรคที่เกิดจาก *Fusarium moniliforme*

โรคต้นเน่าในข้าวโพด (<http://www.doa.go.th/fieldcroph/corn/pest/008.htm>)

โรคนี้อัพบระบาดทั่วไปในแหล่งที่มีการปลูกข้าวโพดมักพบระบาดในระยะที่ข้าวโพดออกดอก และมีอาการรุนแรงมากขึ้นเมื่อข้าวโพดติดฝัก อาการจะพบบริเวณราก และลำต้นส่วนล่าง ทำให้พืชตายก่อนแก่ ฝักเล็ก เมล็ดลีบ สภาพดินเป็นกรดดินร่วนปนทรายโรคจะรุนแรงมาก

### ลักษณะอาการ

สังเกตพบว่าใบต้นที่เป็นโรคสดสีเขียวอมเทาต่อมาจะไหม้แห้งตาย ลำต้นส่วนล่างไม่แข็งแรง จะมีลักษณะเป็นแผลสีน้ำตาลอ่อนถึงสีน้ำตาลเข้ม บริเวณแผลจะแห้งและยุบตัวลง ลำต้นแตกหรือฉีกบริเวณเหนือดิน ดังรูปที่ 2.6 เมื่อผ่าดูจะพบเส้นใยของเชื้อราสีขาวปกคลุม บริเวณภายในลำต้น (ไส้) จะมีลักษณะเป็นสีชมพูหรือม่วง ต่อมาลำต้นจะกลวงเนื่องจากถูกเชื้อราย่อยสลาย เมื่อถูกลมพัดต้นหักล้มได้ง่าย



รูปที่ 2.6 โรคพืชที่เกิดจาก *Fusarium moniliforme*

ที่มา : [http://kasetinfo.arda.or.th/north/plant/corn\\_disease\\_clip\\_image002\\_0005.jpg](http://kasetinfo.arda.or.th/north/plant/corn_disease_clip_image002_0005.jpg)

### การแพร่ระบาด

เชื้อราติดมากับเมล็ด อาศัยในดิน หรือเศษซากพืชที่เป็นโรคนี้ เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมประกอบกับในบริเวณรากและลำต้นของข้าวโพด ถูกแมลงทำลายทำให้เกิดแผล เชื้อโรคจะเข้าทำลายได้ง่ายขึ้น เชื้อโรคสามารถแพร่กระจายอยู่ในลำต้นทั้งที่ไม่แสดงอาการโรค (Anderson and White,1987) เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมแผลจะแตกสร้างสปอร์มากมายและสามารถแพร่กระจายไปตามลม จะมีการสร้างสปอร์ 2 ช่วง คือ สปอร์ขนาดใหญ่ (Macroconidia) และ สปอร์ขนาดเล็ก (Microconidia) ซึ่งจะพบสปอร์บนเส้นใยสีชมพูอมม่วงหรือชมพูอมส้ม เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม เชื้อที่ปลิวไปในอากาศสามารถเข้าทำลายข้าวโพดโดยตรงได้ทางรูเปิดตามธรรมชาติที่มีความชื้น เช่น บริเวณกาบใบหรือติดไปกับฝัก เมื่อถูกกะเทาะออกมา จะสามารถแพร่กระจายปนเปื้อนเมล็ดอื่นทั่วทั้งโรงเก็บ (Kucarek and Kommedahl,1966) เชื้อรานี้สร้างสารพิษ Fumonisin ซึ่งเป็นสาเหตุของมะเร็ง (Marasas et al,1984)

### 2.3.2 *Alternaria alternata*

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. (1912)

*Alternaria* สามารถแยกได้จากพืช ดิน อาหาร และสภาพอากาศในที่ร่ม เชื้อราชนิดนี้มีการผลิตเม็ดสีที่เหมือน melanin

ในปัจจุบันนี้ genus *Alternaria* ประกอบด้วยสายพันธุ์กว่า 50 สายพันธุ์ โดย *Alternaria alternata* เป็นสายพันธุ์ที่สามารถแยกได้จากการติดเชื้อในคน ผู้เชี่ยวชาญเฉพาะทางบางคนได้กล่าวว่า *Alternaria alternata* เป็นสายพันธุ์ที่มีความซับซ้อนมากกว่าสายพันธุ์อื่น ๆ

*Alternaria* ssp. เป็นเชื้อฉวยโอกาส โดยเฉพาะในผู้ป่วยมีการตอบสนองภูมิคุ้มกันต่ำ เช่น ผู้ป่วยปลูกถ่ายไขกระดูก เป็นต้น

ลักษณะทั่วไป *Alternaria alternata* จะมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ขนาดของโคโลนีมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 – 9 เซนติเมตร โดยบ่มที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วันบนอาหาร PDA ลักษณะโคโลนีแบน นุ่มเป็นปุย มีสีเทาอ่อน เส้นใยเป็นเส้นสั้น ในระยะเริ่มแรกผิวหน้ามีสีเทาขาว จะมีสีเข้มขึ้นในภายหลัง และเริ่มมีสีดำหรือสีเขียวน้ำตาล เนื่องจากการผลิตเม็ดสี

*Alternaria alternata* มีเส้นใยสีน้ำตาล Conidiophore มีผนังกันและมีสีน้ำตาลเช่นกัน โดยปกติจะผลิตเป็นลักษณะซิกแซก ซึ่งรองรับโคนิเดียร์ขนาดใหญ่ที่แตกกิ่งก้าน และเป็นเซลล์เดี่ยว (มีขนาด 7 - 10 × 23 - 34 ไมโครเมตร) ซึ่งมีผนังกันทั้งด้านตามขวางและตามยาว ดังรูปที่ 2.7 โคนิเดียร์เหล่านี้อาจสังเกตเห็นอยู่เดี่ยว ๆ หรือเป็นโซ่ มีรูปทรงไข่จนถึงทรงกระบอก สีเข้ม มีลายผิวเรียบหรือหยาบ ที่ปลายโคนิเดียร์มีทรงกลมและค่อย ๆ เรียวลงจนถึงปลาย จึงทำให้โคนิเดียร์มีลักษณะคล้ายถ้วย (ที่มา : <http://www.doctorfungus.org/thefungi/alternaria.php>)



รูปที่ 2.7 ลักษณะของ *Alternaria alternata*

ที่มา : [http://en.wikipedia.org/wiki/Alternaria\\_alternata](http://en.wikipedia.org/wiki/Alternaria_alternata)

การจำแนกทางวิทยาศาสตร์ (ที่มา : [http://en.wikipedia.org/wiki/Alternaria\\_alternata](http://en.wikipedia.org/wiki/Alternaria_alternata))

Kingdom: Fungi

Phylum : Ascomycota

Class : Dothideomycetes

Subclass : Pleosporomycetidae

Order : Pleosporales

Family : Pleosporaceae

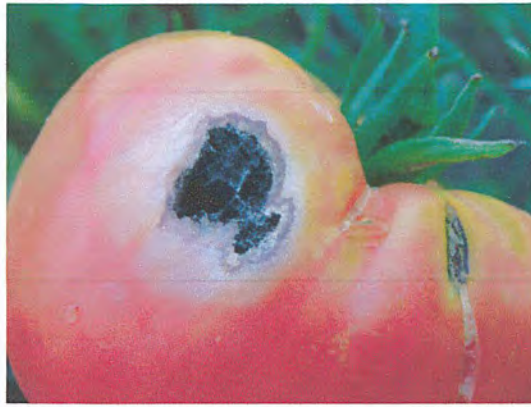
Genus : *Alternaria*

Species : *A. alternata*

โรคที่เกิดจากเชื้อ *Alternaria alternata*

ชื่อ โรคคือ Alternaria Stem Canker มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Alternaria alternata* หรือโรคใบจุดสีน้ำตาล (brown spot) ดังรูปที่ 2.8 พบในช่วงที่อากาศอบอุ่นและความชื้นปานกลาง ใบจะเป็นจุดสีน้ำตาลเป็นวงซ้อน ๆ กัน (สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชนเล่มที่ 15, 2553)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.8 โรคพืชที่เกิดจาก *Alternaria alternata*

ที่มา: <http://www.extension.umn.edu/gardeninfo/diagnostics/tomato/diseases/alternaria3.jpg>

### ลักษณะอาการ

จะระบาดในสภาพที่มีความชื้นสูง มีฝนหรือหมอก รอยแผลที่เกิดขึ้นบนต้นทำให้เชื้อเข้าต้นง่าย เชื้อจะอยู่ในดิน ได้ข้ามฤดูและแพร่ระบาดทางลมได้ง่าย แผลจะเห็นได้ทั้งผลสีเขียวและผลสุก สารพิษจากเชื้อจะซึมขึ้นส่วนบนและฆ่าเซลล์ระหว่างเส้นใบ

### การระบาดและการเข้าทำลายพืช

โดยธรรมชาติเชื้อ *Alternaria spp.* เกือบทุกชนิดเป็นทั้งพาราไซต์และแซฟโพรไฟท์ คืออาศัยเกาะกินเจริญเติบโตต่อไปได้บนซากพืชที่ปล่อยทิ้งไว้ตามดินแปลงปลูก และบางส่วนอาจไปอาศัยอยู่ในพืชถาวร บางชนิดเมื่อปลูกพืชลงใหม่ก็จะกลับมาก่อให้เกิดโรคได้อีก นอกจากนี้การระบาดข้ามฤดูปลูกที่สำคัญอีกวิธีหนึ่งก็คือ การที่เชื้อหรือ โคนิเดียมที่ติดปะปนอยู่กับเมล็ดพันธุ์พวกนี้ เมื่อนำไปเพาะ เมื่องอกเป็นต้น เชื้อก็จะงอกด้วยแล้วทำลายต้นที่อยู่ใกล้ทันที ส่วนการระบาดระหว่างต้น ในช่วงการปลูกส่วนใหญ่เกิดจากสปอร์ โคนิเดียม ซึ่งมีการสร้างขึ้นเป็นจำนวนมากตามบริเวณแผลที่ต้น กิ่ง ใบ เมื่อแก่ก็จะหลุดออกจากก้านปลิวไปตามลม น้ำ แมลง มนุษย์ สัตว์ และสิ่งที่เคลื่อนไหวได้ทุกชนิด ตลอดจนเครื่องมือเครื่องใช้ต่าง ๆ เมื่อตกลงบนพืช สภาพแวดล้อมเหมาะสมก็จะลอกเส้นใบ เจริญเติบโตเข้าไปภายในพืช โดยผ่านทางช่องเปิดธรรมชาติ เช่น สโตรมา การเข้าทำลายจะเป็นไปอย่างช้า ๆ หากพืชแข็งแรงเจริญเติบโตเป็นปกติ โดยจะใช้เวลาประมาณ 8-10 วัน แต่ถ้าพืชอ่อนแอ หรือมีแผลเกิดขึ้น เวลาอาจสั้นลง เหลือเพียง 4-5 วัน เชื้อรา *Alternaria alternata* จะพบระบาดเฉพาะระยะให้ผลผลิต และอาการของโรคจะเกิดมากเฉพาะที่ใบเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งจะเกิดกับบริเวณใบส่วนล่างของลำต้นหรือใบแก่มากกว่าใบอ่อน สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมที่

ก่อให้เกิดโรคคือ ที่อุณหภูมิ 20 – 30 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 80 ขึ้นไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.4 Gas chromatography mass spectrophotometer (GC-MS)

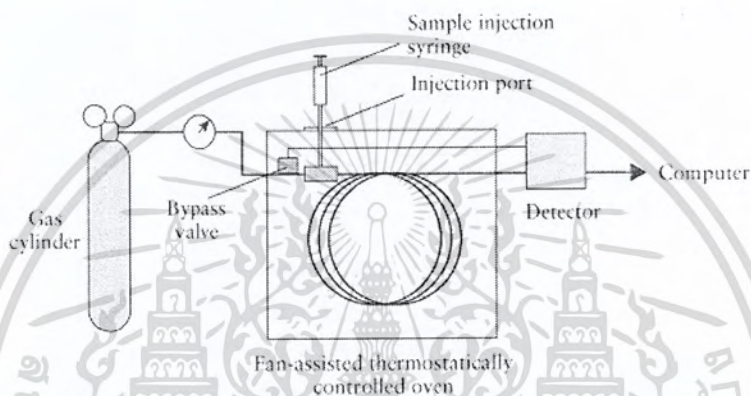
Gas chromatography mass spectrophotometer (GC-MS) เทคนิคนี้เริ่มเป็นที่นิยมนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายมากขึ้น เนื่องจากเป็นวิธีที่สามารถทำนายชนิดขององค์ประกอบที่มีอยู่ในสารได้อย่างค่อนข้างแม่นยำ โดยอาศัยการเปรียบเทียบลักษณะเฉพาะตัวของเลขมวล (mass number) ของสารตัวอย่างนั้น ๆ กับข้อมูลที่มีอยู่ นอกจากนี้เทคนิคนี้ยังมีความสามารถในการวิเคราะห์ได้ทั้งในเชิงปริมาณ (quantitative analysis) และเชิงคุณภาพ (qualitative analysis) (ที่มา : <http://blpd.dss.go.th/training/dwdocuments/outlinepdf/i005.pdf>) ได้อย่างถูกต้อง ซึ่งมีความจำเป็นต่องานวิเคราะห์ทดสอบอย่างมาก Mass Spectrometer (MS) เป็นเครื่องตรวจวัดที่ใช้ตรวจวัดองค์ประกอบที่มีอยู่ในสารตัวอย่าง โดยอาศัยกลไกคือโมเลกุลขององค์ประกอบที่ถูกแยกออกมาจากสารตัวอย่างโดยเครื่อง GC นั้นจะถูกทำให้แตกตัวเป็นประจุในสภาวะที่เป็นสุญญากาศ แล้วตรวจวัดออกมาเป็นเลขมวล (mass number) เทียบกับข้อมูลอ้างอิงแล้วแปลผลออกมาเป็นชื่อขององค์ประกอบนั้น ๆ ซึ่งนักวิทยาศาสตร์นักวิจัย และผู้เกี่ยวข้องจะต้องมีความรู้ ความเข้าใจ และมีทักษะ ในการใช้และการบำรุงรักษาเครื่องมือ เทคนิคการวิเคราะห์ตัวอย่าง รวมถึงการตรวจสอบสมรรถนะของเครื่องมือ จึงเป็นความจำเป็นที่ต้องฝึกอบรม เพื่อให้สามารถใช้เครื่องมือดังกล่าวในงานวิเคราะห์ทดสอบ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

หลักการการทำงานของเครื่อง GC-MS นั้นเริ่มจากนำตัวอย่างฉีดเข้าเครื่อง GC จากนั้นสารจะผ่านเข้าสู่คอลัมน์ที่อยู่ในเตา ถูกแยกเป็นองค์ประกอบต่าง ๆ จากนั้นองค์ประกอบใดที่ถูกแยกออกมาจากคอลัมน์ ก่อนก็จะผ่านเข้าไปในส่วนของเครื่อง MS ซึ่งมีสภาวะเป็นสุญญากาศก่อน แล้วเข้าไปเจอกับแหล่งประจุซึ่งจะทำให้โมเลกุลแตกตัวกลายเป็นประจุ จากนั้นประจุเหล่านี้ก็จะเดินทางผ่านเครื่องคัดเลือกและแยกแยะขนาดของประจุ (mass analyzer) เพื่อดูว่าประจุเหล่านั้นประกอบไปด้วยขนาดมวลเท่าใดบ้าง ก่อนที่จะเดินทางเข้าสู่เครื่องตรวจวัด (detector) เพื่อทำการตรวจหาปริมาณของประจุแล้วแปลผลออกมาเป็นปริมาณขององค์ประกอบแต่ละตัวที่มีอยู่ในสารตัวอย่าง

## Gas Chromatograph (GC)

ทำหน้าที่ในการแยกองค์ประกอบของสารที่สามารถระเหยกลายเป็นไอ (Volatile organic compounds) ได้เมื่อถูกความร้อน กลไกที่ใช้ในการแยกองค์ประกอบต่าง ๆ ในสารตัวอย่าง อาศัยหลักของความชอบที่แตกต่างกันขององค์ประกอบในตัวอย่างที่มีต่อเฟส 2 เฟส คือ เฟสคงที่ และเฟสเคลื่อนที่

องค์ประกอบที่สำคัญของเครื่อง GC สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ส่วน ดังรูปที่ 2.9 คือ



รูปที่ 2.9 ส่วนประกอบพื้นฐานของ Gas chromatography

ที่มา : <http://www.kmitl.ac.th/~konimit/SEMtheory.htm>

1.) Injector คือ ส่วนที่สารตัวอย่างจะถูกฉีดเข้าสู่เครื่องและระเหยเป็นไอก่อนที่จะเข้าสู่คอลัมน์ อุณหภูมิที่เหมาะสมของ injector ควรเป็นอุณหภูมิที่สูงพอที่จะทำให้สารตัวอย่างสามารถระเหยได้ แต่ต้องไม่ทำให้สารสลายตัว

2.) Oven คือ ส่วนที่ใช้สำหรับบรรจุคอลัมน์ และเป็นส่วนที่ควบคุมอุณหภูมิของคอลัมน์ให้เปลี่ยนไปตามความเหมาะสมกับสารที่ต้องการวิเคราะห์ซึ่งการควบคุมอุณหภูมิของเตา นั้นมี 2 แบบ คือ

2.1) Isocratic Temperature

2.2) Gradient Temperature

3.) Detector คือส่วนที่จะใช้สำหรับตรวจวัดองค์ประกอบที่มีอยู่ในสารตัวอย่างและดูว่าสาร

ตัวอย่างชนิดที่เราสนใจมีปริมาณอยู่เท่าใด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## Mass Spectrometer (MS)

เป็นเครื่องตรวจวัดที่ใช้ตรวจวัดองค์ประกอบที่มีอยู่ในสารตัวอย่างโดยอาศัยกลไก คือ โมเลกุลขององค์ประกอบที่ถูกแยกออกจากสารตัวอย่างโดยเครื่อง GC จะถูกทำให้แตกตัวเป็นประจุในสถานะสุญญากาศ แล้วตรวจวัดออกมาเป็นเลขมวล (Mass number) เทียบกับฐานข้อมูลอ้างอิง แล้วแปลผลออกมาเป็นชื่อขององค์ประกอบนั้นๆ ซึ่งมีส่วนประกอบพื้นฐานดังรูปที่ 2.10

### Mass spectrometer components



รูปที่ 2.10 ส่วนประกอบพื้นฐาน Mass spectrometer

ที่มา : <http://www.kmitl.ac.th/~konimit/SEMtheory.htm>

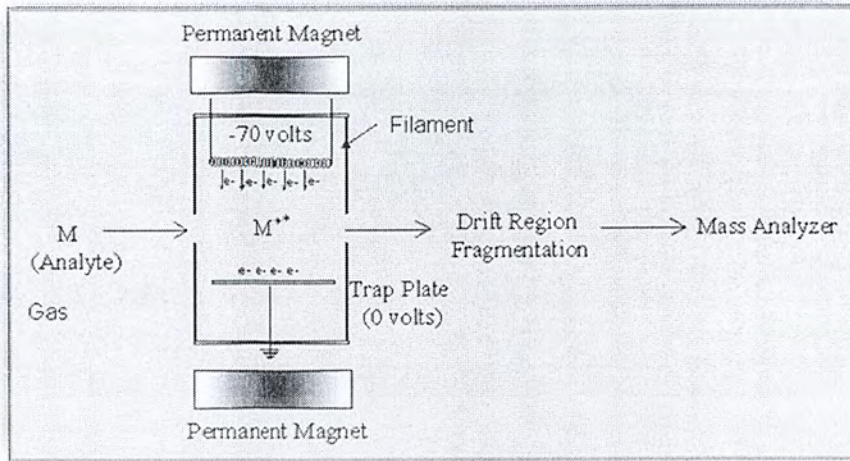
องค์ประกอบสำคัญของ MS แบ่งออกเป็น

1.) Ionization Source แบ่งออกเป็น 2 แบบคือ

Electron Ionization (EI) เป็นการทำให้สารเกิดการแตกเป็นส่วนเล็ก ๆ โดยใช้ลำอิเล็กตรอน ซึ่งบริเวณที่เกิดการแตกตัวเป็นประจุต้องมีความดันต่ำประมาณ  $10^{-8}$  Torr โดยอิเล็กตรอนจากไส้หลอดที่ร้อนจะถูกโฟกัสผ่านบริเวณนี้และถูกดึงเข้าหาตัวผลักแรงดันไฟฟ้า (Voltage repeller) ที่มีความต่างศักย์ 70 โวลต์ ซึ่งจะให้พลังงานกับอิเล็กตรอนเป็น 70 eV ทำให้องค์ประกอบที่ซับซ้อนของไอออนเกิดการแตกออก สามารถให้ข้อมูลเกี่ยวกับโครงสร้างและความอุดมสัมพัทธ์ (Relative abundance) ดังรูปที่ 2.11

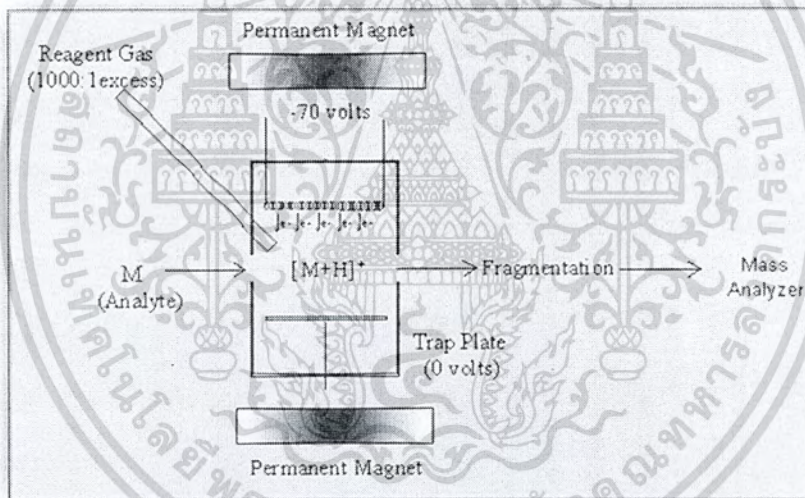
Chemical Ionization (CI) เป็นการทำให้สารเกิดการแตกเป็นส่วน ๆ ด้วยวิธีทางเคมีโดยผสมสารตัวอย่าง (ความดัน  $10^{-4}$  Torr) เข้ากับแก๊สที่ทำปฏิกิริยาด้วย (ความดัน 1 Torr) แล้วผ่านสารผสมเข้าไปในบริเวณที่เกิดการแตกตัวเป็นประจุ โดยการทำให้เกิดการแตกออก ด้วยการชนกับอิเล็กตรอนเช่นเดียวกัน ดังรูปที่ 2.12 แก๊สที่ใช้ได้แก่ Methane, Isobutane, Ammonia เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.11 การแตกตัวด้วยอิเล็กตรอน

ที่มา : <http://www.kmitl.ac.th/~konimit/SEMtheory.htm>



รูปที่ 2.12 การแตกตัวด้วยสารเคมี

ที่มา : <http://www.kmitl.ac.th/~konimit/SEMtheory.htm>

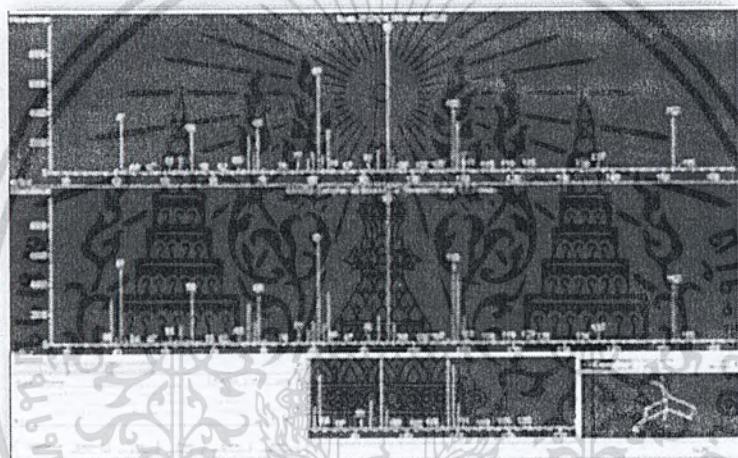
### Mass Analyzer

เป็นเครื่องวิเคราะห์ห้มวล มีหลายแบบ คือ Magnetic-sector analyzer, Electrostatic analyzer, Time-of-flight analyzer, Ion cyclotron resonance analyzer, Quadrupole mass spectrometer - Quadrupole Mass Spectrometer เป็นต้น ใช้หลักการวิเคราะห์ด้วยสนามแม่เหล็ก คือ เป็น Path-stability mass spectrometer ซึ่งมีแหล่งผลิตประจุ 2 ส่วน โดยส่วนแรกจะทำให้ตัวอย่างกลายเป็นประจุ และส่วนที่สองทำให้สารมาตรฐานกลายเป็นประจุ ถ้าประจุทั้งสองจะถูกบังคับให้ผ่านเอกซารันเป็นเอกซารันที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นานนักจะเดินทางไปไซปรัสประจักษ์นแดนการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เครื่องแยกประจุชุดเดียวกัน ดังนั้นประจุทั้งหมดจะได้รับอิทธิพลจากสนามแม่เหล็กในสถานะเดียวกัน แต่ถูกตรวจและวัดด้วยเครื่องตรวจวัดแยกกันซึ่งมีข้อดีคือทำให้สามารถวัดมวลได้อย่างถูกต้องแม่นยำ

### Detector

เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการตรวจวัดองค์ประกอบทางเคมีของสาร โดยจะทำการตรวจวัดแล้วนำมาผลที่ได้เทียบกับฐานข้อมูลอ้างอิง แล้วแปลผลออกมาเป็นชื่อขององค์ประกอบนั้น ๆ ดังแสดงรูปที่ 2.13 ซึ่งเครื่องตรวจวัดที่ใช้โดยทั่วไปมีหลายอย่าง คือ Faraday cup detector, Electron multiplier detector, Scintillation counter detector, Photographic plate detector



รูปที่ 2.13 ผลลัพธ์จากการค้นหาฐานข้อมูล

ที่มา : <http://www.kmitl.ac.th/~konimit/SEMtheory.htm>

### ข้อดีของ GC-MS

1. สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งแบบทั่วไปและแบบเฉพาะเจาะจงซึ่งให้ความไวสารตัวอย่างสูง
2. สามารถบ่งชี้ชนิดขององค์ประกอบที่มีอยู่ในสารตัวอย่างได้
3. สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งในเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพ

### ข้อเสียของ GC-MS

1. ราคาแพง และค่าใช้จ่ายในการบำรุงรักษาเครื่องสูง
2. ต้องใช้บุคลากรที่มีความชำนาญสูง

(ที่มา : <http://www.kmitl.ac.th/sisc/GC-MS/main.html>)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์เพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากงานวิจัยผลการยับยั้งของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดคือ *Bacillus cereus* ในข้าวหุงสุก โดย นวลจันทร์ ใจใส และสุภาพร ลำเลิศชน, 2007 ได้ทำการตรวจสอบฤทธิ์การต้าน *Bacillus cereus* ของน้ำมันหอมระเหย 12 ชนิด คือ น้ำมันกะเพรา น้ำมันกานพลู น้ำมันข่า น้ำมันขิง น้ำมันขมิ้นชัน น้ำมันตะไคร้ น้ำมันไพล น้ำมันพริกไทยดำ น้ำมันใบมะกรูด น้ำมันผิวมะกรูด น้ำมันโหระพา และน้ำมันลูกผักชี โดยผลการประเมินค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ (MBC) ด้วยวิธี microbroth dilution test แสดงให้เห็นว่าน้ำมันหอมระเหย 2 ชนิด คือ น้ำมันผิวมะกรูด และน้ำมันตะไคร้ มีฤทธิ์ต้าน *B.cereus* ได้ดี มีค่า MIC เท่ากับ 2% v/v การศึกษาการเสริมฤทธิ์ต้าน *B.cereus* ของสารผสมน้ำมันผิวมะกรูดและน้ำมันตะไคร้ พบว่า มีการต้านฤทธิ์กันในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B.cereus* ส่วนการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญต่อ *B.cereus* ของน้ำมันผิวมะกรูดในข้าวหุงสุก พบว่าน้ำมันผิวมะกรูดสามารถยับยั้งการเจริญ *B.cereus* ในข้าวหุงสุกได้ ทั้งที่อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หลังจากเก็บไว้ 5 และ 15 วัน ตามลำดับ โดยผลการศึกษาชี้แจงถึงความเป็นไปได้ที่จะใช้น้ำมันผิวมะกรูดเพื่อเป็นสารถนอมอาหาร ในอาหารประเภทข้าวต่อไป

นอกจากนี้ยังมีการค้นพบน้ำมันจากผิวและใบของมะกรูดมีฤทธิ์ไล่แมลง จากงานวิจัยของ คณะเภสัชศาสตร์ มศว. ซึ่งกำลังพัฒนาเป็นแคปซูลให้เกษตรกรนำไปใช้งานไล่แมลงและหนอน ลดการใช้สารเคมี โดยผศ.ดร. จุฬานีย์ หงษ์รัตนาวรกิจ รักษาการรองคณบดีฝ่ายพัฒนาระบบการศึกษา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (มศว.) เปิดเผยว่าจากการศึกษาน้ำมันบริเวณผิวของผิวมะกรูด และน้ำมันในใบมะกรูดพบว่ามีฤทธิ์ในการไล่แมลงและหนอนได้ จึงได้ให้นิสิตทำโครงการสกัดน้ำมันมะกรูดจากผิวและใบของมะกรูดออกมา จากนั้นจะทำเป็นไมโครเอ็นแคป คล้ายๆ เมล็ดบีช ใช้สำหรับผิวทรายเคลือบไว้บริเวณผิวซึ่งเป็นการหุ้มน้ำมันที่ได้จากผิวและใบมะกรูดอีกชั้นหนึ่ง น้ำมันมะกรูดจากใบนั้นจะสกัดยากกว่าน้ำมันในเปลือกผล แต่จุดเด่นของน้ำมันในใบนั้นมีกลิ่นมากกว่า ดังนั้นจึงต้องใช้น้ำมันมะกรูดทั้งที่เป็นส่วนเปลือกผลและใบร่วมกันเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพสูงสุด ผศ.ดร.จุฬานีย์ กล่าวว่า โครงการวิจัยนี้จะสามารถช่วยเกษตรกรที่ต้องฉีดสารเคมีเพื่อไล่แมลงและหนอนได้ โดยปกติแล้วเกษตรกรจะฉีดสารเคมีบ่อยมากเพื่อป้องกันผลผลิตของตัวเองจากพวกแมลง ซึ่งเป็นการเสี่ยงต่อชีวิตเนื่องจากฉีดสารเคมีแต่ละ

ครั้ง ต้องสูดดมสารเคมีเป็นจำนวนมากไม่น้อย แม้ว่าบางคนจะมีชุดเพื่อสวมใส่ขณะฉีดสารเคมีแล้วก็ตาม  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาม ขณะที่เกิดกัมมันต์ซึ่งขณะเกิดศาสตร์ มศว คิดค้นขึ้นนี้จะปลอดภัยจากสารเคมี อีกทั้งสะดวก  
 ในการใช้งาน เพราะทำเป็นแคปซูลเล็กๆ ภายในแคปซูลมีน้ำมันที่ช่วยไล่แมลงและหนอนให้กับ  
 เกษตรกรได้ เมื่อเกษตรกรนำแคปซูลน้ำมันมะกรูดไปใช้งานก็ให้โปรยไว้ได้ต้นไม้ที่ต้องการไล่  
 แมลง แคปซูลน้ำมันมะกรูดจะค่อยๆ ปล่อยน้ำมันออกมา



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินการวิจัย

#### 3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

- 3.1.1 บีกเกอร์
- 3.1.2 แท่งแก้ว
- 3.1.3 กระบอกตวง
- 3.1.4 เครื่องระเหยสารภายใต้สภาวะสุญญากาศ (Evaporator)
- 3.1.5 เครื่องสกัดไอน้ำ (Cravenger)
- 3.1.6 ขวดใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ (Duran)
- 3.1.7 เครื่องบีบมือ
- 3.1.8 เครื่องกรองภายใต้ความดันสุญญากาศ
- 3.1.9 มีด, เขียง
- 3.1.10 กรวยแยก (Separatory funnel)
- 3.1.11 เตาให้ความร้อน (Hot plate)
- 3.1.12 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)
- 3.1.13 ตูปลอดเชื้อ (Larmina)
- 3.1.14 เข็มเขี่ยเชื้อ (Needle)
- 3.1.15 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
- 3.1.16 ตู้บ่ม
- 3.1.17 จากเพาะเลี้ยงเชื้อ
- 3.1.18 ตะเกียงแอลกอฮอล์
- 3.1.19 ที่เจาะจุกก๊อ๊ก (Cock borer)
- 3.1.20 ปิเปต
- 3.1.21 ไมโครปิเปต
- 3.1.22 ไม้บรรทัด
- 3.1.23 กระบอกตวง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.1.24 ตู้อบลมร้อน
- 3.1.25 ขวดบรรจุสาร
- 3.1.26 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centifuge)
- 3.1.27 เครื่องปั่น (Homoginizer)

## 3.2 สมุนไพรที่ใช้ในการควบคุมเชื้อ

- 3.2.1 มะกรูด

## 3.3 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

- 3.3.1 PDA
- 3.3.2 Hexane
- 3.3.3 Ethanol
- 3.3.4 น้ำกลั่น
- 3.3.5 ข้าวโพด
- 3.3.6 ผลมะเขือเทศ

## 3.4 เชื้อราที่ใช้

- 3.4.1 *Fusarium moniliforme*
- 3.4.2 *Alternaria alternata*

## 3.5 การสกัดและการเตรียมน้ำมันหอมระเหย

- 3.5.1 วิธีการใช้มือบีบ

ล้างมะกรูดแล้วปอกเปลือก นำเปลือกมะกรูดใส่ลงในเครื่องมือที่ใช้สำหรับบีบ ทำการบีบจนได้ของเหลว นำของเหลวมาปั่นเหวี่ยงโดยใช้เครื่องปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกน้ำมันหอมระเหย บีบเปิดส่วนของน้ำมันหอมระเหยด้วยไมโครปิเปตใส่ขวดหุ้มฟลอยด์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ

- 3.5.2 วิธีการสกัดด้วยไอน้ำ

ล้างมะกรูดแล้วปอกเปลือก นำเปลือกมะกรูดหั่นเปลือกเป็นชิ้นเล็กๆใส่ลงในขวดก้นกลม เติมน้ำกลั่นให้ท่วมจากนั้นนำไปต่อเข้ากับเครื่องสกัดร้อน เมื่อเดือดจะเกิดการระเหยกระทบความเย็นในคอลัมน์ที่มีน้ำไหลผ่าน ทำให้เกิดการควบแน่นเป็นของเหลวที่แยกชั้นระหว่างน้ำมันและน้ำ

ไขส่วนที่เป็นน้ำมันเก็บใส่ขวดหุ้มฟลอยด์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.5.3 วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย

ล้างมะกรูดแล้วปอกเปลือก นำเปลือกมะกรูดหั่นเปลือกเป็นชิ้นเล็กๆ ใส่บีกเกอร์ เดิมเอทานอลให้ท่วมนำไปปั่นให้ละเอียดจากนั้นกรองแยก นำส่วนของเหลวไประเหยภายใต้สภาวะสุญญากาศโดยใช้เครื่องระเหยสารภายใต้สภาวะสุญญากาศ (Evaporator) เพื่อแยกเอทานอลออกจากสารละลาย นำส่วนของสารละลายที่เหลือใส่ลงในกรวยแยกแล้วเติม เฮกเซน เขย่าตั้งทิ้งไว้จนแยกชั้นระหว่างน้ำมันหอมระเหยกับน้ำ ไขส่วนที่เป็นน้ำออก จากนั้นนำส่วนน้ำมันหอมระเหยที่ผสมกับเฮกเซนไประเหยภายใต้สภาวะสุญญากาศ เพื่อแยกเฮกเซนออกจากน้ำมันหอมระเหย นำน้ำมันหอมระเหยที่ได้ใส่ขวดหุ้มฟลอยด์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ

### 3.6 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย จะใช้ตัวอย่างในการวิเคราะห์แต่ละครั้ง 1 ไมโครลิตร ฉีดเข้าเครื่อง GC-MS Hewlett – Packard 5971 โดยคอลัมน์ polydimethylsiloxano – DB – 5 (ที่ลึมหานา 30 มิลลิเมตร × 0.25 ไมโครเมตร) มีก๊าซตัวพาเป็นก๊าซฮีเลียม (อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที) ซึ่งมีการตั้งโปรแกรมอุณหภูมิดังนี้ เพิ่มอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส จนถึง 180 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสต่อนาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิจาก 180 องศาเซลเซียส จนถึง 280 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสต่อนาที สเปกตรัมของอนุภาคมวลต่อประจุถูกบันทึกโดยใช้แรงกระแทกทางไฟฟ้าที่ 70 eV.

### 3.7 การเตรียมเชื้อรา

ทำการเลี้ยงเชื้อราทั้งสองชนิด โดยใช้อาหารสำเร็จรูป PDA ฆ่าเชื้อแล้ว เทลงบนจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว รองอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว ใช้ที่เจาะจุกก๊อที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 มิลลิเมตร เจาะเชื้อราที่เจริญเติบโตอยู่โดยเจาะเฉพาะวงนอกสุดของจานเพาะเลี้ยงเชื้อ จากนั้นนำก้อนเชื้อราที่ถูกเจาะมาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยวางด้านที่มีเส้นใยของเชื้อราให้สัมผัสกับอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA นำเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 – 10 วัน เพื่อให้เชื้อราเจริญอย่างเต็มที่ เมื่อนำเชื้อราไปใช้ในการทดลองให้เลือกเชื้อราที่เจริญขึ้นเกือบเต็มจานเพาะเลี้ยง แล้วใช้ที่เจาะจุกก๊อที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 มิลลิเมตร เจาะเชื้อราเฉพาะวงนอกสุดของจานเพาะเลี้ยงเชื้อ แล้วนำไปทำการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.8 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราในจานเพาะเลี้ยง

3.8.1 การทดสอบหาระดับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้สมบูรณ์ในอาหาร PDA มีขั้นตอนดังนี้

1. เตรียมน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากผิวมะกรูดทั้ง 3 วิธี โดยนำแต่ละวิธีมาเจือจางให้มีความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 โดยการปิเปิดน้ำมันหอมระเหยที่ระดับความเข้มข้นต่างๆด้วยการเทียบอัตราส่วน แล้วนำไปผสมในอาหาร PDA ที่เตรียมไว้ให้ได้ 125 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันและนำไปเทลงจานอาหารเลี้ยงเชื้อให้ได้ 5 จานเท่า ๆ กันและตั้งที่ไว้ให้แห้ง
2. เตรียมชุดควบคุมโดยไม่ใส่น้ำมันหอมระเหยลงในอาหาร ใช้อาหาร PDA ปริมาตร 125 มิลลิลิตร เทลงจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 จานเท่า ๆ กันและตั้งที่ไว้ให้แห้ง
3. นำเชื้อราทั้ง 2 ชนิดที่เลี้ยงบนอาหาร PDA จนได้โคโลนีขนาดประมาณ 3 ใน 4 ส่วนของจาน มาทำการเจาะบริเวณขอบของโคโลนีด้วยที่เจาะจุกก๊อกรขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.7 เซนติเมตร จากนั้นใช้เข็มเขี่ยเชื้อเขี่ยก้อนขึ้นขึ้นมา แล้วนำไปวางบนจานอาหารที่ผสมน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่ความเข้มข้นต่างๆที่เตรียมไว้ในข้อ 1 และวางลงบนชุดควบคุมที่เตรียมไว้ในข้อ 2 โดยวางก้อนขึ้น 1 ชิ้นต่อ 1 จาน ที่บริเวณกลางจานเพาะเลี้ยง
4. นำจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน
5. ตรวจสอบการยับยั้งเชื้อราโดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเชื้อราที่เลี้ยงในจานที่ผสมน้ำมันหอมระเหยรวมทั้งในชุดควบคุมที่เตรียมไว้ สังเกตชุดที่มีระดับความเข้มข้นน้อยที่สุดที่ทำให้เชื้อไม่สามารถโตได้ที่ระดับความเข้มข้นนั้นคือ ค่าน้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้ (MIC)
6. นำผลที่วัดได้ไปคำนวณด้วยโปรแกรมทางสถิติ

หมายเหตุ ขั้นตอนทั้งหมดทำการปฏิบัติด้วยวิธีการปลอดเชื้อ (aseptic technique)

3.8.2 การทดสอบหาผลของน้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูดที่สามารถฆ่าเชื้อรา (fungicidal) หรือได้เพียงแค่ยับยั้งเชื้อรา (fungistatic)

1. นำเชื้อราที่ถูกลบยั้งจากน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้นน้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งได้เก็บไว้เป็นเวลา 12 วัน ถ่ายลงในจานอาหาร PDA
2. บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน
3. ตรวจสอบการเจริญของเชื้อ หากเชื้อมีการเจริญแสดงว่าคุณสมบัติของน้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูดสามารถยับยั้งได้เท่านั้น แต่ถ้าเชื้อไม่มีการเจริญแสดงว่าคุณสมบัติของน้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูดสามารถฆ่าเชื้อราให้ตายได้

หมายเหตุ ขั้นตอนทั้งหมดทำการปฏิบัติด้วยวิธีการปลอดเชื้อ (aseptic technique)

### 3.9 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราในพืช

3.9.1 การทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium moniliforme* ของน้ำมันหอมระเหยจากมะกรูดบนชิ้นข้าวโพด

1. เตรียมน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากผิวมะกรูดทั้ง 3 วิธี โดยนำแต่ละวิธีมาเจือจางด้วยเอปไซโททานอลที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0
2. ใช้มีดหั่นชิ้นข้าวโพดให้มีขนาดประมาณ 3×3×2 เซนติเมตร ล้างน้ำและฆ่าเชื้อด้วยสารละลายไฮเตอร์ 10% นาน 10 นาที จากนั้นล้างออกด้วยน้ำสะอาดให้สะอาด และทำการแบ่งชิ้นข้าวโพดออกเป็นแต่ละชุดความเข้มข้น โดยใช้ชิ้นข้าวโพด 5 ชิ้นต่อ 1 ชุดความเข้มข้น
3. นำเชื้อรา *Fusarium moniliforme* ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA มาทดสอบ โดยใช้ที่เจาะจุกก๊อกจุ่มแอลกอฮอล์ลงไปแล้ว นำไปเจาะก่อนบริเวณที่มีเชื้อราเจริญ จากนั้นใช้เข็มเจาะที่ลงไปจนร้อนแดงและเย็นแล้วเขี่ยก้อนวุ้นขึ้นมาวางบนชิ้นข้าวโพด
4. ปิเปิดน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดแต่ละความเข้มข้นที่เตรียมไว้ในข้อ 1 มาหยดลงบนก้อนเชื้อราที่อยู่บนชิ้นข้าวโพดในแต่ละชุดความเข้มข้น ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ต่อ 1 ตัวอย่าง
5. เตรียมชุดควบคุม โดยชุดแรกใช้เอปไซโททานอลมาหยดลงบนก้อนเชื้อราที่อยู่บนชิ้นข้าวโพดปริมาณ 200 ไมโครลิตร ต่อ 1 ตัวอย่าง จำนวน 5 ซ้ำ ส่วนชุดที่สอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไม้ใส่สารใดๆลงบนก้อนเชื้อราที่อยู่บนชิ้นข้าวโพดจำนวน 5 ซ้ำ และชุดที่สามใช้น้ำมันหอมระเหยความเข้มข้นร้อยละ 100 หยดลงบนก้อนเชื้อราที่อยู่บนชิ้นข้าวโพดจำนวน 5 ซ้ำ

6. เก็บชิ้นข้าวโพดที่ทดสอบลงในภาชนะปิด
7. บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน แล้วบันทึกผล

### 3.9.2 การทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria alternata* ของน้ำมันหอมระเหยจากมะกรูดบนผลมะเขือเทศ

1. เตรียมน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากผิวมะกรูดทั้ง 3 วิธี โดยนำแต่ละวิธีมาเจือจางด้วยแอปโซลูทเอทานอลที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0
2. ล้างผลมะเขือเทศด้วยน้ำและฆ่าเชื้อด้วยสารละลายไฮเตอร์ 10% นาน 10 นาที จากนั้นล้างออกด้วยน้ำสะอาดให้สะอาด และใช้มีดหั่นผลมะเขือเทศให้เป็นชิ้นขนาดประมาณ 3×3×3 เซนติเมตร แล้วทำให้เกิดแผลโดยใช้มีดเฉือนบางๆ โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร และทำการแบ่งกองผลมะเขือเทศออกเป็นแต่ละชุดความเข้มข้น โดยใช้มะเขือเทศ 5 ชิ้นต่อ 1 ชุดความเข้มข้น
3. นำเชื้อรา *Alternaria alternata* ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA มาทดสอบโดยใช้ที่เจาะจุกก๊อกรุ่นแอลกอฮอล์ลนไฟแล้ว นำไปเจาะก่อนวันบริเวณที่มีเชื้อราเจริญ จากนั้นใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่ลนไฟจนร้อนแดงและเย็นแล้วเขี่ยก่อนวันขึ้นมาวางบนชิ้นรอยเดือนของมะเขือเทศ
4. ปิเปิดน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดแต่ละความเข้มข้นที่เตรียมไว้ในข้อ 1 มาหยดลงบนก้อนเชื้อราที่อยู่บริเวณที่ถูกเดือนของมะเขือเทศ ในแต่ละชุดความเข้มข้นปริมาณ 200 ไมโครลิตร ต่อ 1 ตัวอย่าง
5. เตรียมชุดควบคุม โดยชุดแรกใช้ใช้แอปโซลูทเอทานอลมาหยดลงบนก้อนเชื้อราที่อยู่บนชิ้นมะเขือเทศปริมาตร 200 ไมโครลิตร ต่อ 1 ตัวอย่าง จำนวน 5 ซ้ำ ส่วนชุดที่สองไม่ใส่สารใดๆลงบนก้อนเชื้อราที่อยู่บนชิ้นข้าวโพดจำนวน 5 ซ้ำ และชุดที่สามใช้น้ำมันหอมระเหยความเข้มข้นร้อยละ 100 หยดลงบนก้อนเชื้อราที่อยู่บนชิ้นมะเขือเทศจำนวน 5 ซ้ำ
6. เก็บชิ้นมะเขือเทศที่ทดสอบลงในภาชนะปิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้เฉพาะเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

7. บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน แล้วบันทึกผล

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.10 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียว One – Way ANOVA ของข้อมูลผล  
การทดลองทางสถิติด้วยโปรแกรม Statistical Package for Social Science (SPSS)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4

### ผลการวิจัยและอภิปรายผล

#### 4.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูด โดยฉีดเข้าเครื่อง GC-MS Hewlett – Packard 5971 พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดด้วยวิธีต่าง ๆ มีองค์ประกอบทางเคมีต่าง ๆ ดังนี้

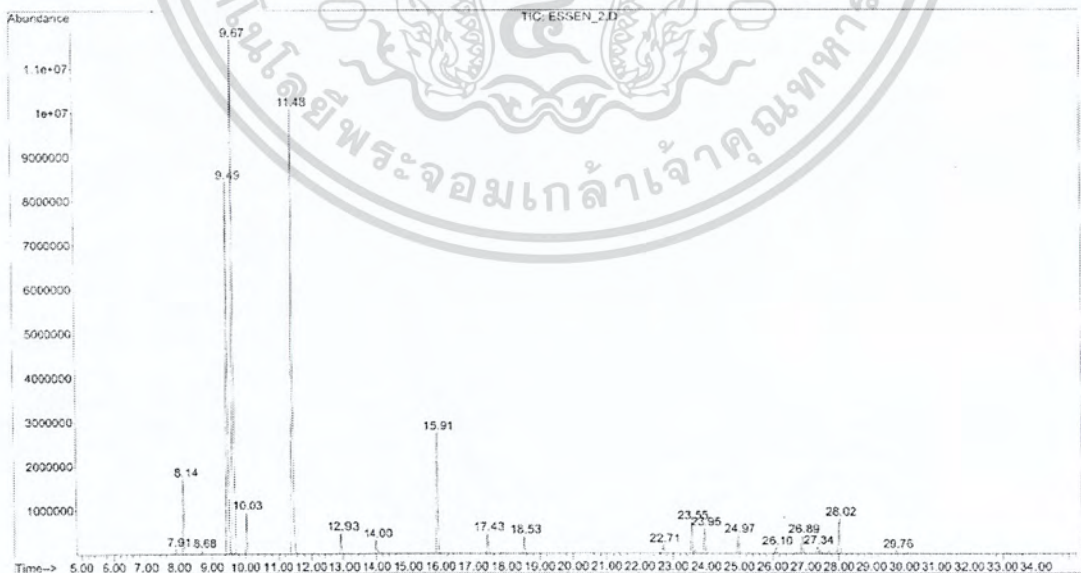
##### 4.1.1 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำ

จากการวิเคราะห์ด้วย GC-MS พบว่าองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำ มีองค์ประกอบดังตารางที่ 4.1 พบว่ามีปริมาณ L – Limonene ในน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดมากที่สุดคือ ร้อยละ 27.308 ที่ระยะเวลา 11,472 นาที ดังแสดงในโครมาโตแกรมรูปที่ 4.1 ตารางที่ 4.1 ปริมาณและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำที่ระยะเวลาต่าง ๆ

ระยะเวลา (นาที)	องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณทั้งหมด (ร้อยละ)
7.894	Alpha – Thujene	0.173
8.132	Alpha – pinene	2.516
8.671	Camphene	0.156
9.647	Sabinene	17.774
9.648	Beta - pinene	25.299
10.025	Beta - Myrcene	1.219
11.266	Betacyanene	1.085
11.472	L - Limonene	27.308
12.459	Gamma – Terpinene	0.218
12.934	Linalool Oxide	0.547
13.997	Linalool	1.084

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระยะเวลา (นาที)	องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณทั้งหมด (ร้อยละ)
15.189	Limonene Oxide	0.197
15.923	Citronella	10.153
16.899	3- Cyclohexen -1- ol	2.327
17.428	Alpha Terpineol	3.302
18.54	Beta – Citronellol	3.053
22.365	Cyclohexanol	0.270
22.705	Cis -2,6- Dimethyl -2,6- Octadiene	0.784
23.547	Copaene	0.877
23.644	Nerol acetate	0.542
23.946	1H – Cyclopenta [1,3] cyclopropa [1,2] benzene	0.710
24.96	Trans – Caryophyllene	0.398
26.088	Alpha – Humulene	0.165
26.881	Germacrene	0.159
28.02	Delta – Cadinene	0.685



รูปที่ 4.1 โครมาโตแกรมของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

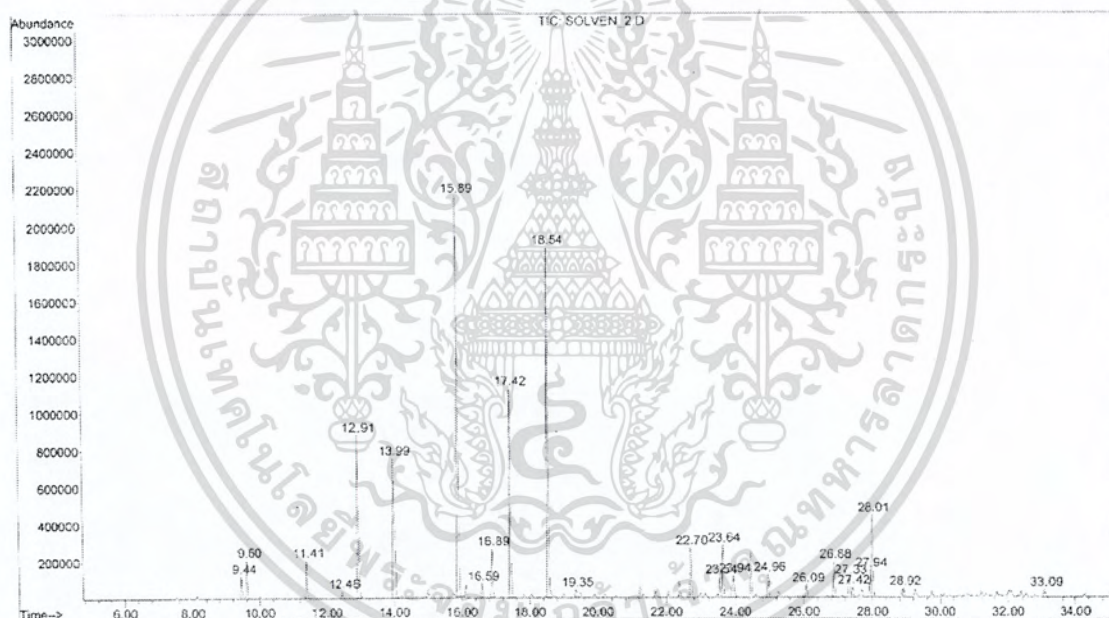
#### 4.1.2 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลาย

จากการวิเคราะห์ด้วย GC-MS พบว่าองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลาย มีองค์ประกอบดังตารางที่ 4.2 พบว่ามีปริมาณ Citronella ในน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดมากที่สุดคือ ร้อยละ 21.077 ที่ระยะเวลา 15.896 นาที ดังแสดงในโครมาโตแกรมรูปที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ปริมาณและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่ระยะเวลาต่าง ๆ

ระยะเวลา (นาที)	องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณทั้งหมด (ร้อยละ)
9.438	Sabinene	1.019
9.599	Beta - pinene	1.783
11.407	L - Limonene	1.812
12.459	Gamma – Terpinene	0.305
12.907	Trans - Sabinene	8.270
13.991	Linalool	10.232
15.896	Citronella	21.077
16.592	Borneol	0.729
16.889	3- Cyclohexen –1- ol	2.604
17.423	Alpha Terpineol	11.219
18.545	Beta – Citronellol	19.279
19.355	2,6- Octadien –1- ol	0.469
22.694	Cis –2,6– Dimethyl –2,6– Octadiene	2.642
23.536	Alpha – Copaene	1.193
23.639	2,6- Octadien –1- ol	2.743
23.935	1H – Cyclopenta [1,3] cyclopropa [1,2] benzene	1.788
24.961	Trans – Caryophyllene	1.296
26.088	Alpha – Humulene	0.662

ระยะเวลา (นาที)	องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณทั้งหมด (ร้อยละ)
26.887	Germacrene D	1.998
27.335	Germacrene B	1.226
27.421	Alpha – Muurolene	0.574
27.934	Gamma – Cadinene	1.553
28.009	Delta – Cadinene	4.456
28.921	Cyclohexanemethanol	0.547
33.092	1H – Cyclopropa [a] Naphthalene	0.523



รูปที่ 4.2 โครมาโตแกรมของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.1.3 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือ

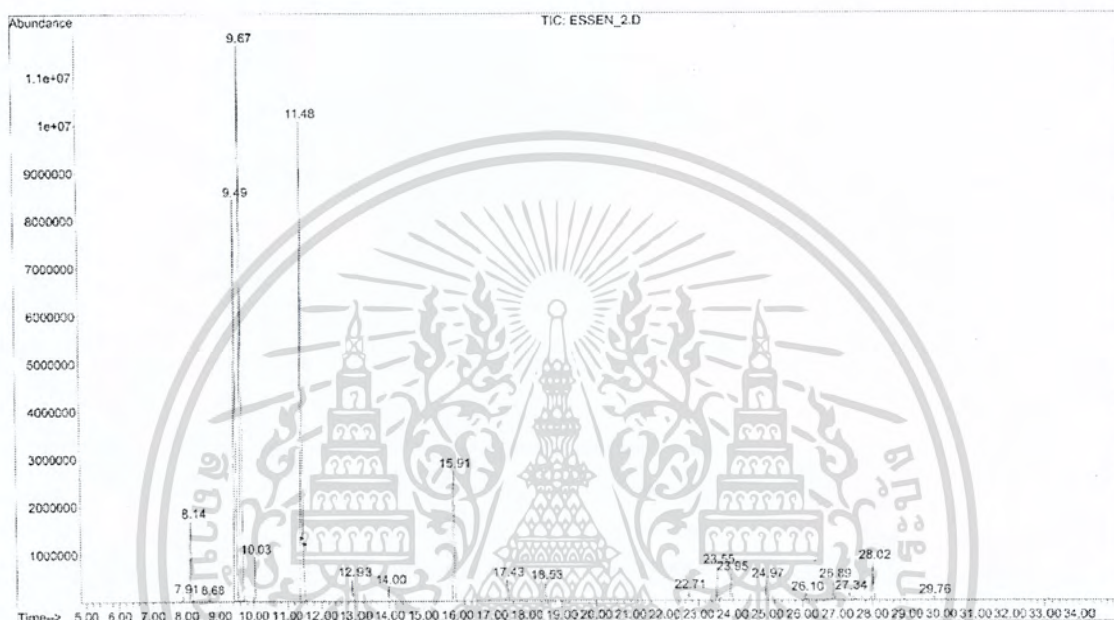
จากการวิเคราะห์ด้วย GC-MS พบว่าองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือ มีองค์ประกอบดังตารางที่ 4.3 พบว่า มีปริมาณ Beta - pinene ในน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดมากที่สุดคือ ร้อยละ 29.016 ที่ระยะเวลา 9.648 นาที ดังแสดงในโครมาโตแกรมรูปที่ 4.1

ตารางที่ 4.3 ปริมาณและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือที่ระยะเวลาต่าง ๆ

ระยะเวลา (นาที)	องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณทั้งหมด (ร้อยละ)
7.91	Alpha - Thujene	0.212
8.142	Alpha - pinene	3.092
8.682	Camphene	0.171
9.47	Sabinene	21.202
9.648	Beta - pinene	29.016
10.036	Beta - Myrcene	1.753
11.466	L - Limonene	27.605
12.928	Trans - Sabinene Hydrate	0.940
14.002	Linalool	0.721
15.907	Citronella	5.982
17.434	Alpha Terpineol	0.971
18.524	Beta - Citronellol	0.794
22.711	Cis -2,6- Dimethyl -2,6- Octadiene	0.382
23.552	Alpha - Copaene	1.533
23.951	1H - Cyclopenta [1,3] cyclopropano [1,2] benzene	1.285
24.966	Trans - Caryophyllene	0.914
26.099	Alpha - Humulene	0.286
26.892	Germacrene D	0.907

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระยะเวลา (นาที)	องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณทั้งหมด (ร้อยละ)
27.335	Bicyclogermacrene	0.337
28.02	Delta-Cadinene	1.754
29.757	Alphy – Amorphene	0.143



รูปที่ 4.3 โครมาโตแกรมของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือ

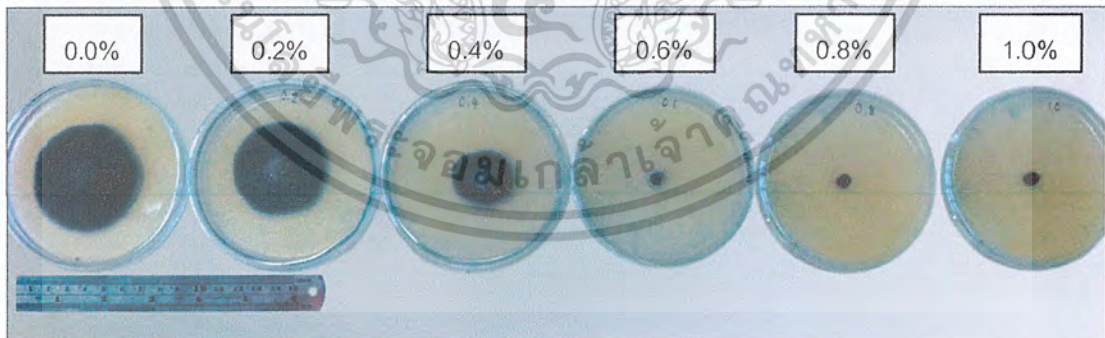
กราฟแสดงการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดทั้ง 3 วิธี พบว่าน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำและน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือ ที่ช่วงเวลา 8-11 นาที มีองค์ประกอบทางเคมีของ Camphene , Sabinene , 2- Beta - pinene , Beta – Myrcene , Benzene และ L - Limonene แต่ไม่พบในน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ซึ่งอาจเป็นผลมาจากสารละลายเอทานอลและสารละลายเฮกเซนในขณะทำการสกัด ได้สลายสารเหล่านี้จึงส่งผลต่อการยับยั้งเชื้อราในการทดลอง

## 4.2 น้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดกับการยับยั้งเชื้อราในจานเพาะเลี้ยง

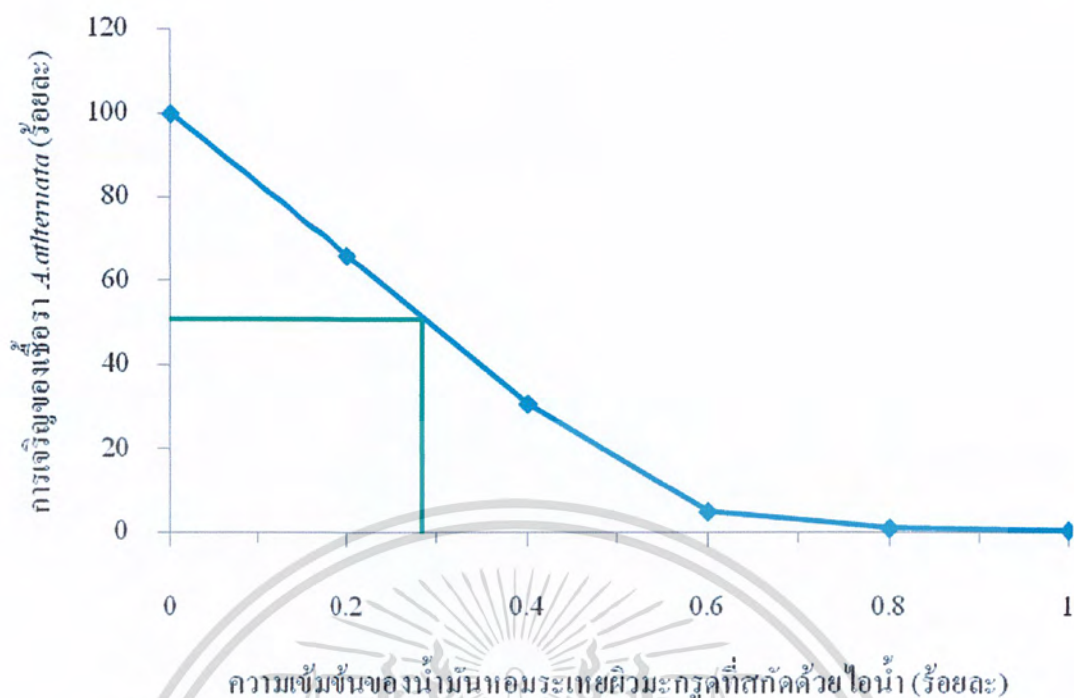
### 4.2.1 ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata* บนอาหาร PDA

เมื่อทำการวางก้อนวุ้นที่มีเชื้อรา *Alternaria alternata* ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร พบว่าน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดความเข้มข้นร้อยละ 0.8 เป็นต้นไปสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ (MIC) ซึ่งต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังแสดงในรูปที่ 4.4 และตารางที่ 4.4

เมื่อทราบระดับความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา สามารถหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดกับร้อยละของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA ดังแสดงในรูปที่ 4.5 จากจุดตัดแกน Y ความสามารถในการเจริญของเชื้อราร้อยละ 50 ทำให้ทราบว่าความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata* ได้ครึ่งหนึ่ง ( $IC_{50}$ ) คือร้อยละ 0.28



รูปที่ 4.4 การยับยั้งเชื้อรา *Alternaria alternata* ด้วยน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำ ความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร



รูปที่ 4.5 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำกับการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata*

ตารางที่ 4.4 ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำต่อการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata* บนอาหาร PDA

ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูด (ร้อยละ)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของเชื้อรา (เซนติเมตร)	ร้อยละของเชื้อราที่เจริญ
0.00	4.72 <sup>a</sup>	100
0.20	3.36 <sup>b</sup>	66.17
0.40	1.94 <sup>c</sup>	30.85
0.60	0.90 <sup>d</sup>	4.98
0.80	0.74 <sup>d</sup>	1.00
1.0	0.72 <sup>d</sup>	0.50

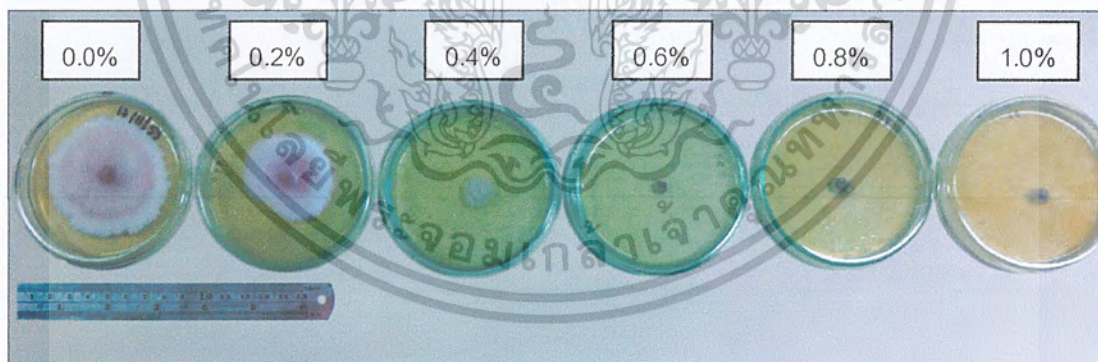
หมายเหตุ เส้นผ่านศูนย์กลางของก้อนเชื้อราเริ่มต้นมีขนาด 0.7 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

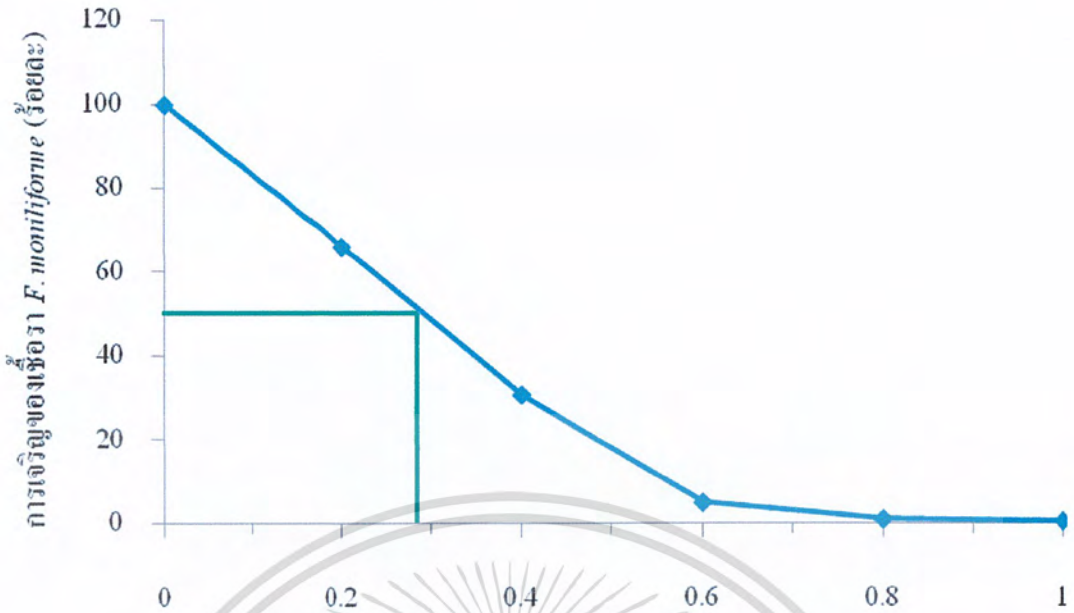
#### 4.2.2 ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของน้ำมันหอมระเหยมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliforme* บนอาหาร PDA

เมื่อทำการวางก้อนวุ้นที่มีเชื้อรา *Fusarium moniliforme* ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร พบว่าน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดความเข้มข้นร้อยละ 0.8 เป็นต้นไปสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ (MIC) ซึ่งต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังแสดงในรูปที่ 4.6 และตารางที่ 4.5

เมื่อทราบระดับความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา สามารถหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดกับร้อยละของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA ดังแสดงในรูปที่ 4.7 จากจุดตัดแกน Y ที่ความสามารถในการเจริญของเชื้อราร้อยละ 50 ทำให้ทราบว่าความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliforme* ได้ครึ่งหนึ่ง ( $IC_{50}$ ) คือร้อยละ 0.28



รูปที่ 4.6 การยับยั้งเชื้อรา *Fusarium moniliforme* ด้วยน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำ ความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร



ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำ (ร้อยละ)

รูปที่ 4.7 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำกับการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliforme*

ตารางที่ 4.5 ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำต่อการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliforme* บนอาหาร PDA

ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูด (ร้อยละ)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของเชื้อรา (เซนติเมตร)	ร้อยละของเชื้อราที่เจริญ
0.00	5.82 <sup>a</sup>	100
0.20	4.00 <sup>b</sup>	64.45
0.40	2.30 <sup>c</sup>	31.25
0.60	1.02 <sup>d</sup>	6.25
0.80	0.70 <sup>d</sup>	0
1.0	0.70 <sup>d</sup>	0

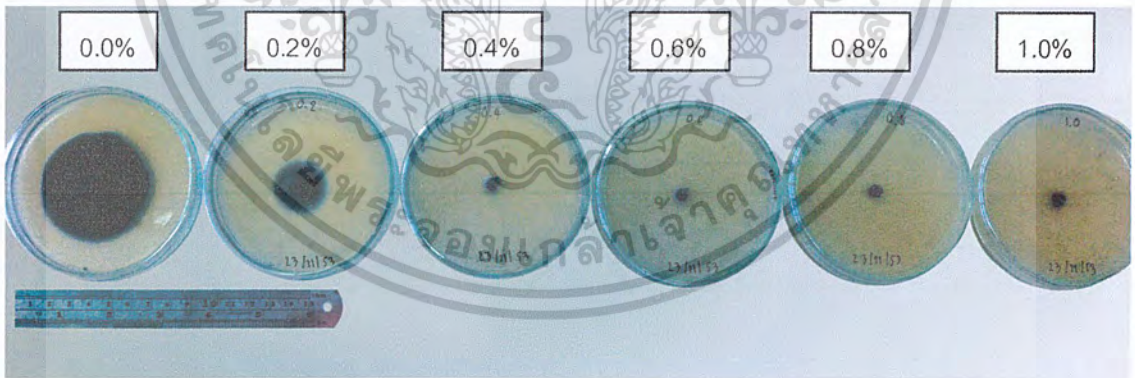
หมายเหตุ เส้นผ่านศูนย์กลางของก้อนเชื้อราเริ่มต้นมีขนาด 0.7 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

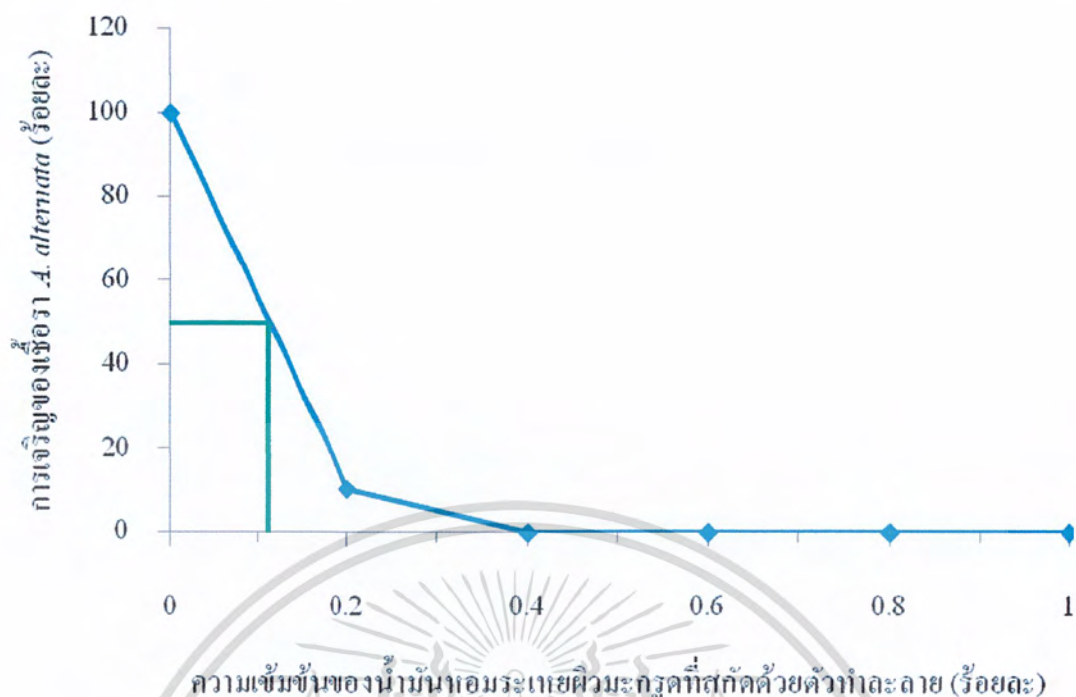
#### 4.2.3 ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของน้ำมันหอมระเหยมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata* บนอาหาร PDA

เมื่อทำการวางก้อนวุ้นที่มีเชื้อรา *Alternaria alternata* ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร พบว่าน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดความเข้มข้นร้อยละ 0.4 เป็นต้นไปสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ (MIC) ซึ่งต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังแสดงในรูปที่ 4.8 และตารางที่ 4.6

เมื่อทราบระดับความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา สามารถหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดกับร้อยละของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA ดังแสดงในรูปที่ 4.9 จากจุดตัดแกน Y ที่ความสามารถในการเจริญของเชื้อราร้อยละ 50 ทำให้ทราบว่าความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata* ได้ครึ่งหนึ่ง ( $IC_{50}$ ) คือร้อยละ 0.12



รูปที่ 4.8 การยับยั้งเชื้อรา *Alternaria alternata* ด้วยน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร



รูปที่ 4.9 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายกับการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata*

ตารางที่ 4.6 ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่อการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata* บนอาหาร PDA

ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูด (ร้อยละ)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของเชื้อรา (เซนติเมตร)	ร้อยละของเชื้อราที่เจริญ
0.00	5.48 <sup>a</sup>	100
0.20	1.20 <sup>b</sup>	10.46
0.40	0.70 <sup>c</sup>	0
0.60	0.70 <sup>c</sup>	0
0.80	0.70 <sup>c</sup>	0
1.0	0.70 <sup>c</sup>	0

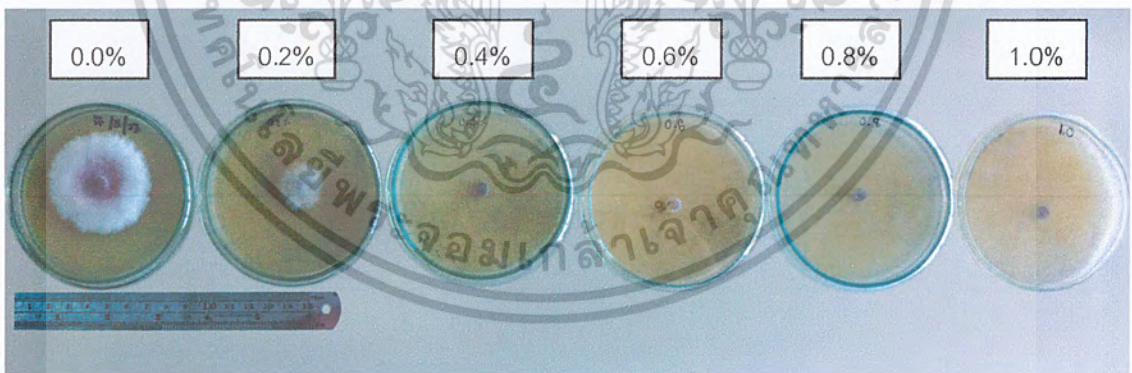
หมายเหตุ เส้นผ่านศูนย์กลางของก้อนเชื้อราเริ่มต้นมีขนาด 0.7 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

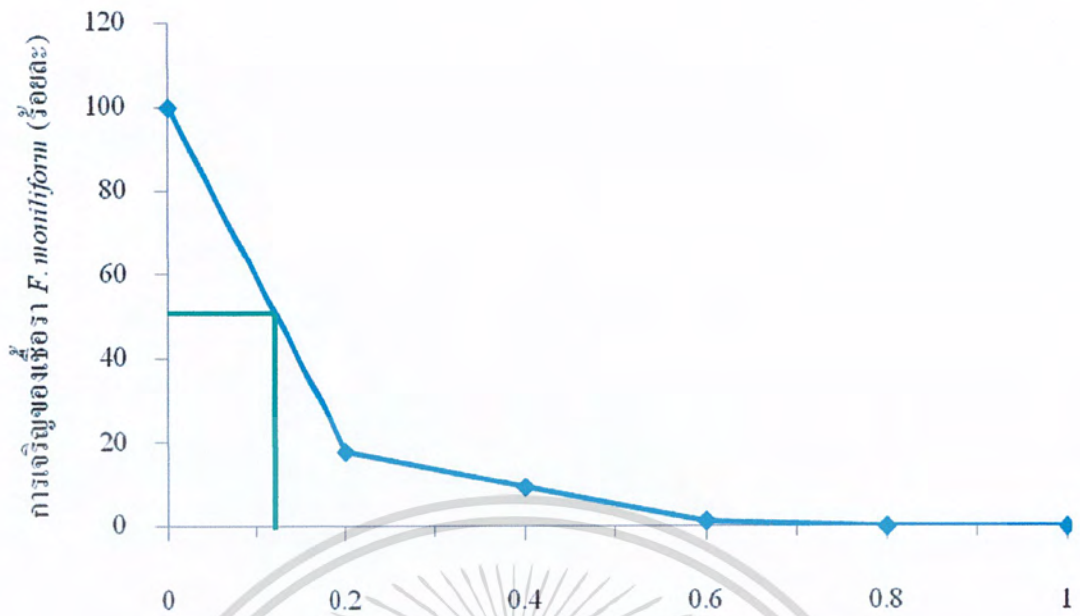
#### 4.2.4 ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของน้ำมันหอมระเหยมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliforme* บนอาหาร PDA

เมื่อทำการวางก้อนนุ่นที่มีเชื้อรา *Fusarium moniliforme* ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร พบว่าน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดความเข้มข้นร้อยละ 0.6 เป็นต้นไปสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ (MIC) ซึ่งต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังแสดงในรูปที่ 4.10 และตารางที่ 4.7

เมื่อทราบระดับความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา สามารถหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดกับร้อยละของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA ดังแสดงในรูปที่ 4.11 จากจุดตัดแกน Y ที่ความสามารถในการเจริญของเชื้อราร้อยละ 50 ทำให้ทราบว่าความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliforme* ได้ครึ่งหนึ่ง ( $IC_{50}$ ) คือร้อยละ 0.13



รูปที่ 4.10 การยับยั้งเชื้อรา *Fusarium moniliforme* ด้วยน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร



ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลาย (ร้อยละ)

รูปที่ 4.11 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายกับการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliforme*

ตารางที่ 4.7 ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่อการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliforme* บนอาหาร PDA

ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูด (ร้อยละ)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของเชื้อรา (เซนติเมตร)	ร้อยละของเชื้อราที่เจริญ
0.00	5.14 <sup>a</sup>	100
0.20	1.50 <sup>b</sup>	18.02
0.40	1.12 <sup>bc</sup>	9.46
0.60	0.76 <sup>c</sup>	1.35
0.80	0.70 <sup>c</sup>	0
1.0	0.70 <sup>c</sup>	0

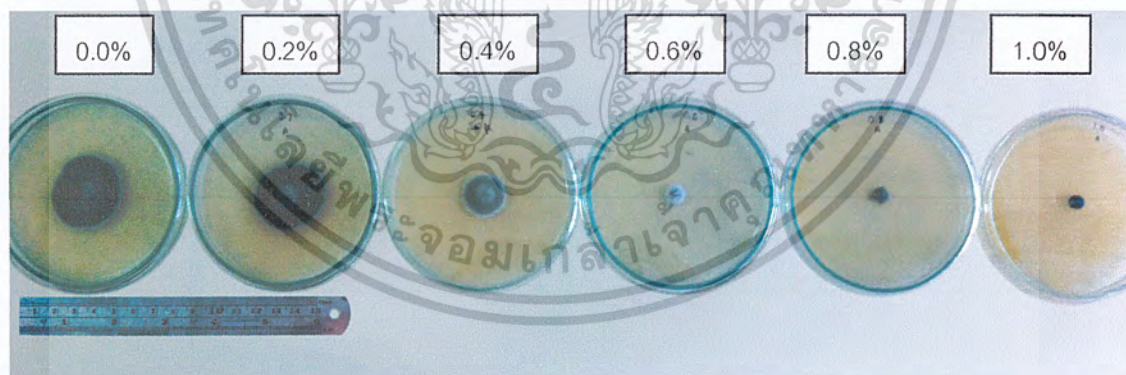
หมายเหตุ เส้นผ่านศูนย์กลางของก้อนเชื้อราเริ่มต้นมีขนาด 0.7 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

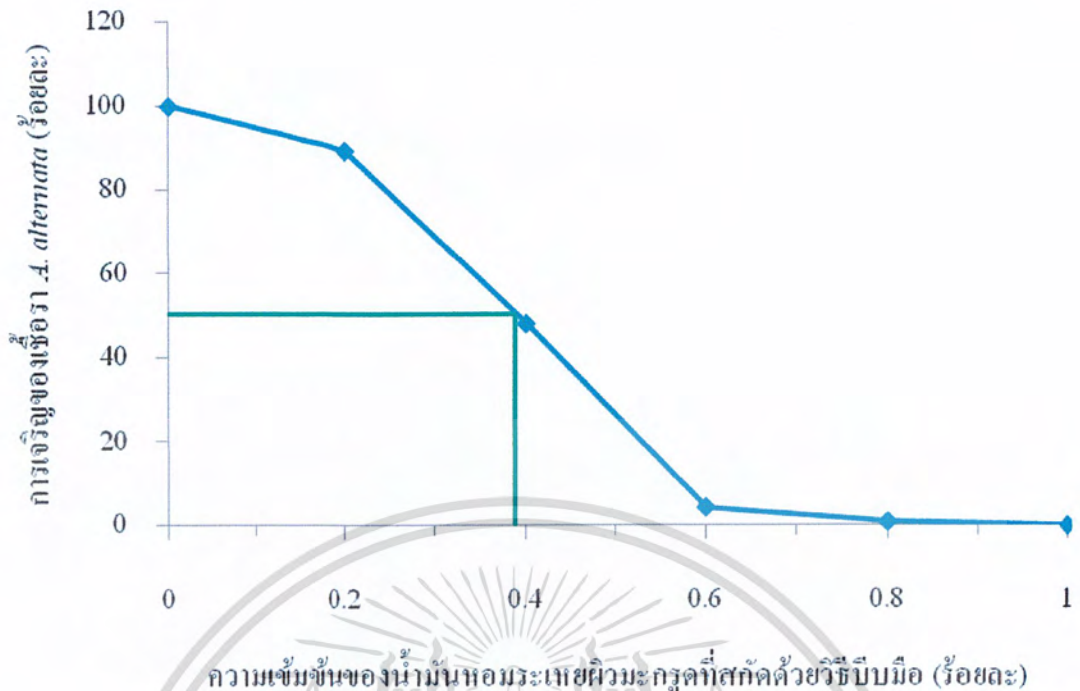
#### 4.2.5 ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของน้ำมันหอมระเหยมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata* บนอาหาร PDA

เมื่อทำการวางก้อนวุ้นที่มีเชื้อรา *Alternaria alternata* ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร พบว่าน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดความเข้มข้นร้อยละ 0.8 เป็นต้นไปสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ (MIC) ซึ่งต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังแสดงในรูปที่ 4.12 และตารางที่ 4.8

เมื่อทราบระดับความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา สามารถหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดกับร้อยละของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA ดังแสดงในรูปที่ 4.13 จากจุดตัดแกน Y ที่ความสามารถในการเจริญของเชื้อราร้อยละ 50 ทำให้ทราบว่าความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata* ได้ครึ่งหนึ่ง ( $IC_{50}$ ) คือร้อยละ 0.39



รูปที่ 4.12 การยับยั้งเชื้อรา *Alternaria alternata* ด้วยน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร



รูปที่ 4.13 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือกับการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata*

ตารางที่ 4.8 ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือต่อการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata* บนอาหาร PDA

ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูด (ร้อยละ)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของเชื้อรา (เซนติเมตร)	ร้อยละของเชื้อราที่เจริญ
0.00	2.98 <sup>a</sup>	100
0.20	2.74 <sup>a</sup>	89.47
0.40	1.80 <sup>b</sup>	48.25
0.60	0.80 <sup>c</sup>	4.39
0.80	0.72 <sup>c</sup>	0.88
1.0	0.70 <sup>c</sup>	0

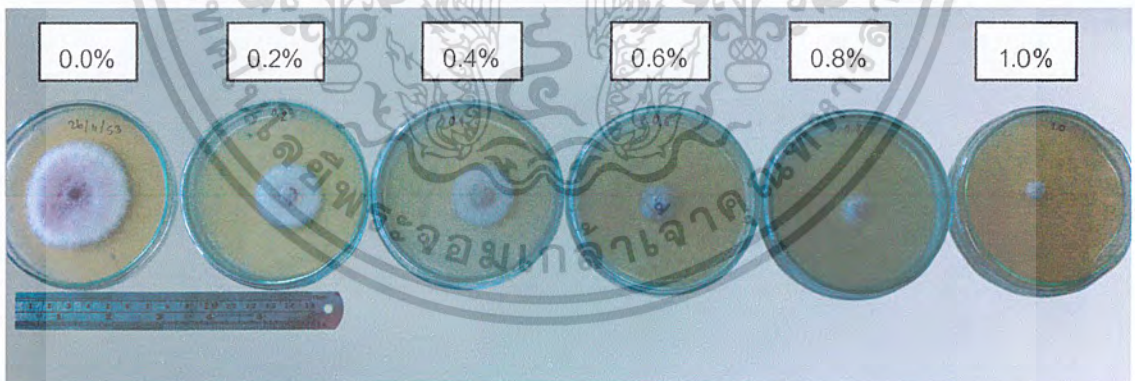
หมายเหตุ เส้นผ่านศูนย์กลางของก้อนเชื้อราเริ่มต้นมีขนาด 0.7 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

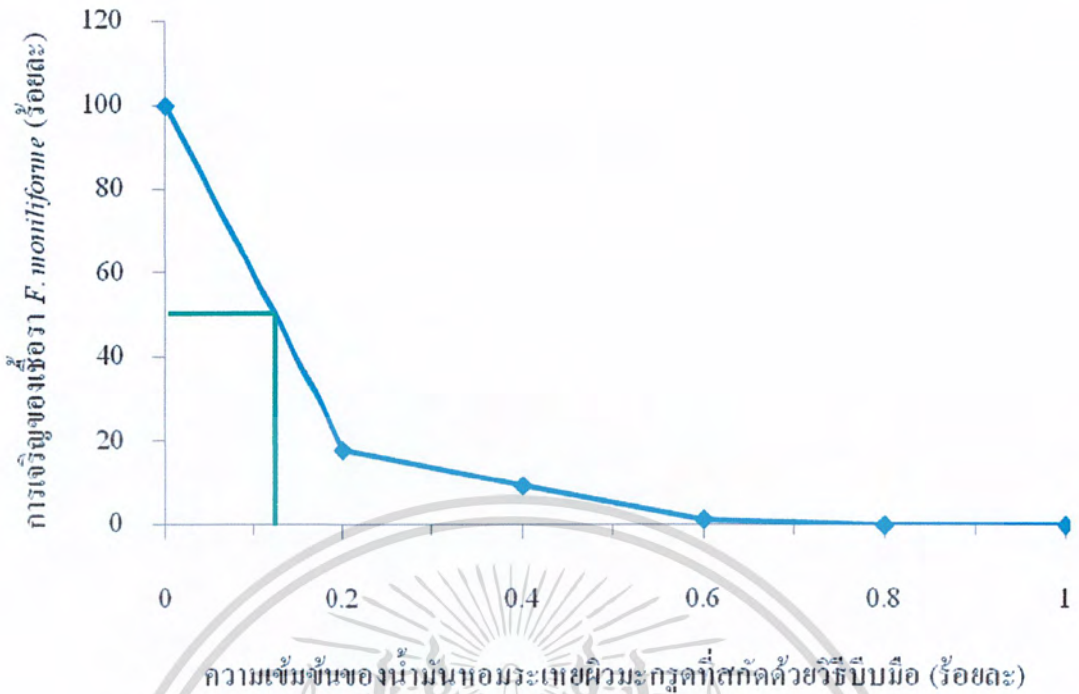
#### 4.2.6 ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของน้ำมันหอมระเหยมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliforme* บนอาหาร PDA

เมื่อทำการวางก้อนวุ้นที่มีเชื้อรา *Fusarium moniliforme* ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร พบว่าน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดความเข้มข้นร้อยละ 0.6 เป็นต้นไปสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ (MIC) ซึ่งต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังแสดงในรูปที่ 4.14 และตารางที่ 4.9

เมื่อทราบระดับความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา สามารถหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดกับร้อยละของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA ดังแสดงในรูปที่ 4.15 จากจุดตัดแกน Y ที่ความสามารถในการเจริญของเชื้อราร้อยละ 50 ทำให้ทราบว่าความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliforme* ได้ครึ่งหนึ่ง ( $IC_{50}$ ) คือร้อยละ 0.13



รูปที่ 4.14 การยับยั้งเชื้อรา *Fusarium moniliforme* ด้วยน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร



รูปที่ 4.15 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือกับการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliforme*

ตารางที่ 4.9 ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือต่อการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliforme* บนอาหาร PDA

ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูด (ร้อยละ)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของเชื้อรา (เซนติเมตร)	ร้อยละของเชื้อราที่เจริญ
0.00	5.14 <sup>a</sup>	100
0.20	1.50 <sup>b</sup>	18.02
0.40	1.12 <sup>bc</sup>	9.46
0.60	0.76 <sup>c</sup>	1.35
0.80	0.70 <sup>c</sup>	0
1.0	0.70 <sup>c</sup>	0

หมายเหตุ เส้นผ่านศูนย์กลางของก้อนเชื้อราเริ่มต้นมีขนาด 0.7 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.2.7 การทดสอบหาคุณสมบัติของน้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูดที่สามารถฆ่าเชื้อรา (fungicidal) หรือได้เพียงแค่ยับยั้งเชื้อรา (fungistatic)

จากการทดลอง หลังจากที่มีการนำเชื้อรา *Fusarium moniliforme* และ *Alternaria alternata* ไปเลี้ยงในอาหารที่ผสมน้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูดที่ความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญ (MIC) เป็นเวลา 12 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แล้วนำไปถ่ายลงบนอาหาร PDA ปกติ บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน พบว่าเชื้อราสามารถเจริญได้ ดังตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.10 การเจริญของเชื้อรา หลังจากถ่ายเชื้อราที่ถูกยับยั้งลงในอาหาร PDA เป็นเวลา 5 วัน

ชนิดของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูด	เชื้อที่ทดสอบ	ผลหลังจากการถ่ายเชื้อลงใน PDA เป็นเวลา 5 วัน
สกัดด้วยไอน้ำ	<i>Alternaria alternata</i> (MIC ที่ร้อยละ 0.6)	เจริญ
	<i>Fusarium moniliforme</i> (MIC ที่ร้อยละ 0.6)	เจริญ
สกัดด้วยตัวทำละลาย	<i>Alternaria alternata</i> (MIC ที่ร้อยละ 0.4)	เจริญ
	<i>Fusarium moniliforme</i> (MIC ที่ร้อยละ 0.6)	เจริญ
สกัดด้วยวิธีบีบมือ	<i>Alternaria alternata</i> (MIC ที่ร้อยละ 0.6)	เจริญ
	<i>Fusarium moniliforme</i> (MIC ที่ร้อยละ 0.6)	เจริญ

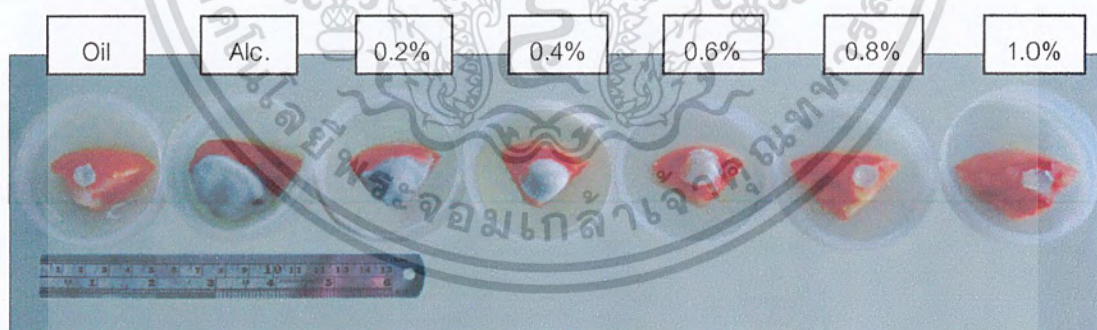
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 4.3 น้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดกับการยับยั้งเชื้อราในพืช

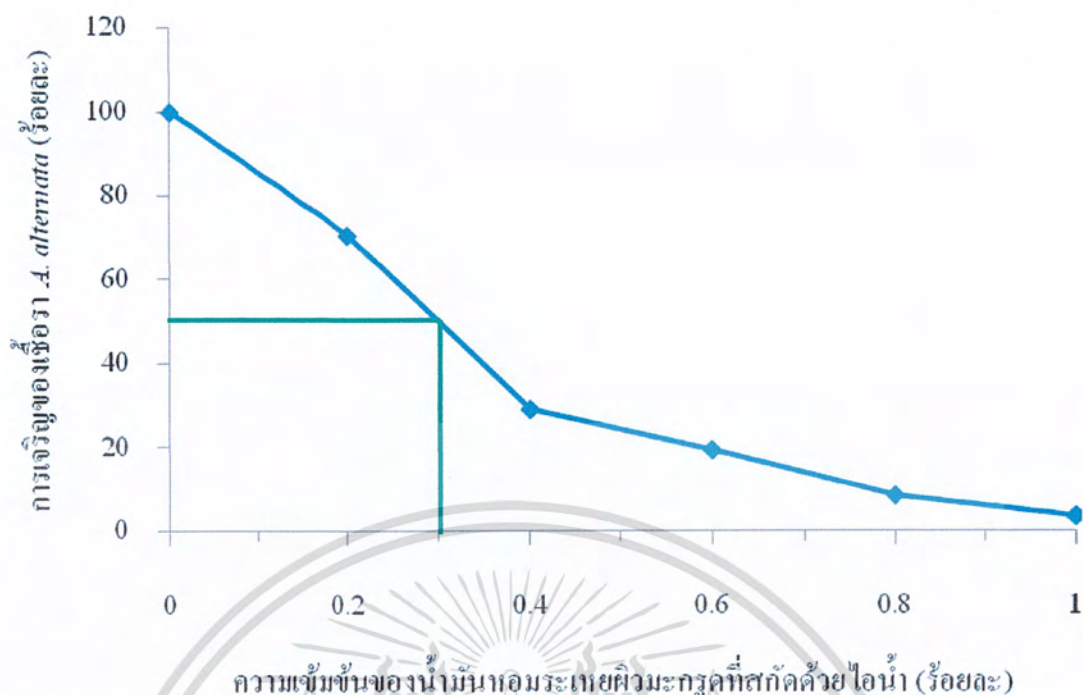
#### 4.3.1 ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata* บนผลมะเขือเทศ

เมื่อทำการวางก้อนวุ้นที่มีเชื้อรา *Alternaria alternata* ลงบนผลมะเขือเทศที่หยดน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตรปริมาณ 200 ไมโครลิตรต่อชิ้น พบว่าน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดความเข้มข้นร้อยละ 1.0 เป็นต้นไปสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ (MIC) ซึ่งต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังแสดงในรูปที่ 4.16 และตารางที่ 4.11

เมื่อทราบระดับความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา สามารถหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดกับร้อยละของเชื้อราที่เจริญบนผลมะเขือเทศ ดังแสดงในรูปที่ 4.17 จากจุดตัดแกน Y ที่ความสามารถในการเจริญของเชื้อราร้อยละ 50 ทำให้ทราบว่าความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata* ได้ครึ่งหนึ่ง ( $IC_{50}$ ) คือร้อยละ 0.30



รูปที่ 4.16 การยับยั้งเชื้อรา *Alternaria alternata* ด้วยน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร



รูปที่ 4.17 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำกับการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata*

ตารางที่ 4.11 ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำต่อการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata* บนผลมะเขือเทศ

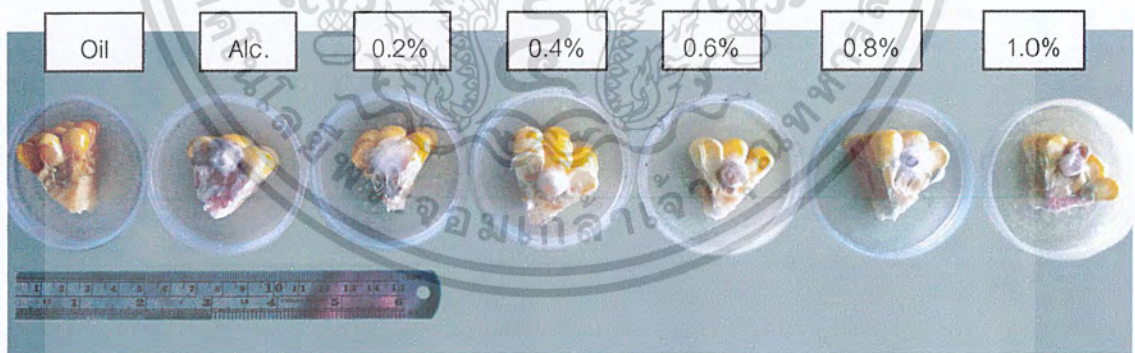
ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูด (ร้อยละ)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของเชื้อรา (เซนติเมตร)	ร้อยละของเชื้อราที่เจริญ
Ethanol	2.34 <sup>a</sup>	100
0.20	1.86 <sup>b</sup>	70.73
0.40	1.18 <sup>c</sup>	29.27
0.60	1.02 <sup>cd</sup>	19.51
0.80	0.84 <sup>d</sup>	8.54
1.0	0.76 <sup>d</sup>	3.66
น้ำมันผิวมะกรูดร้อยละ 100	0.70 <sup>d</sup>	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

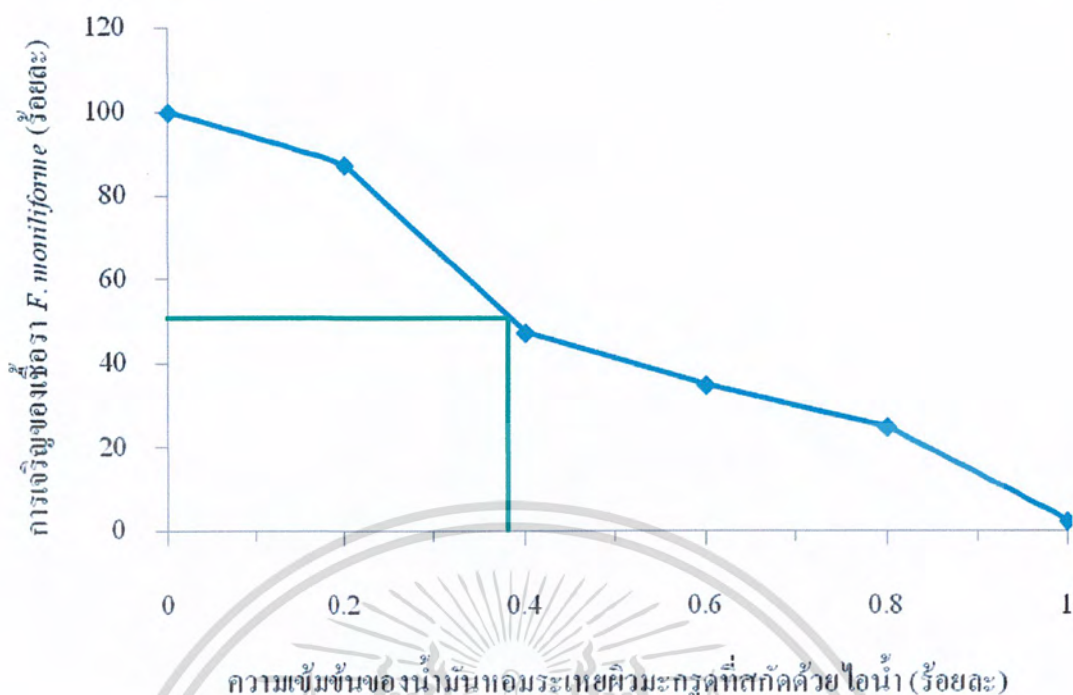
#### 4.3.2 ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของน้ำมันหอมระเหยมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliforme* บนชิ้นข้าวโพด

เมื่อทำการวางก้อนวุ้นที่มีเชื้อรา *Fusarium moniliforme* ลงบนชิ้นข้าวโพดที่หยดน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร ปริมาณ 200 ไมโครลิตรต่อชิ้น พบว่าน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดความเข้มข้นร้อยละ 1.0 เป็นต้นไปสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ (MIC) ซึ่งต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังแสดงในรูปที่ 4.18 และตารางที่ 4.12

เมื่อทราบระดับความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา สามารถหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดกับร้อยละของเชื้อราที่เจริญบนชิ้นข้าวโพด ดังแสดงในรูปที่ 4.19 จากจุดตัดแกน Y ที่ความสามารถในการเจริญของเชื้อราร้อยละ 50 ทำให้ทราบว่าความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliforme* ได้ครึ่งหนึ่ง ( $IC_{50}$ ) คือร้อยละ 0.38



รูปที่ 4.18 การยับยั้งเชื้อรา *Fusarium moniliforme* ด้วยน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร



รูปที่ 4.19 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำกับ

การเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliforme*

ตารางที่ 4.12 ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่อการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliforme* บนชิ้นข้าวโพด

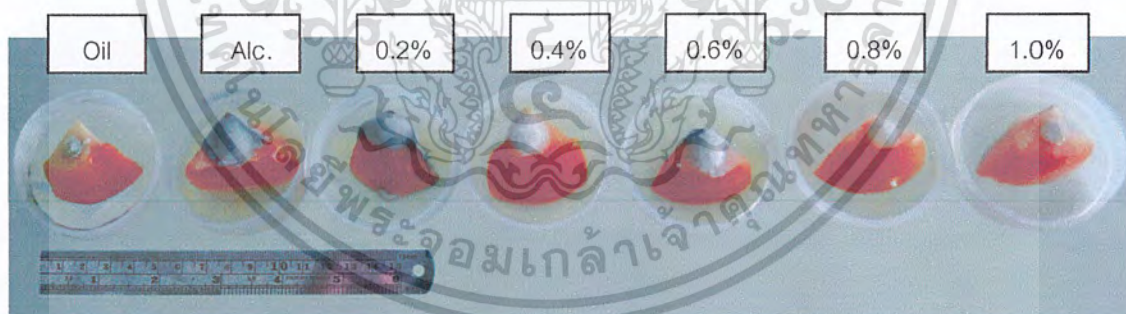
ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูด (ร้อยละ)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของเชื้อรา (เซนติเมตร)	ร้อยละของเชื้อราที่เจริญ
Ethanol	1.50 <sup>a</sup>	100
0.20	1.40 <sup>a</sup>	87.50
0.40	1.08 <sup>b</sup>	47.50
0.60	0.98 <sup>bc</sup>	35.00
0.80	0.90 <sup>cd</sup>	25.00
1.0	0.72 <sup>de</sup>	2.5
น้ำมันผิวมะกรูดร้อยละ 100	0.70 <sup>c</sup>	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

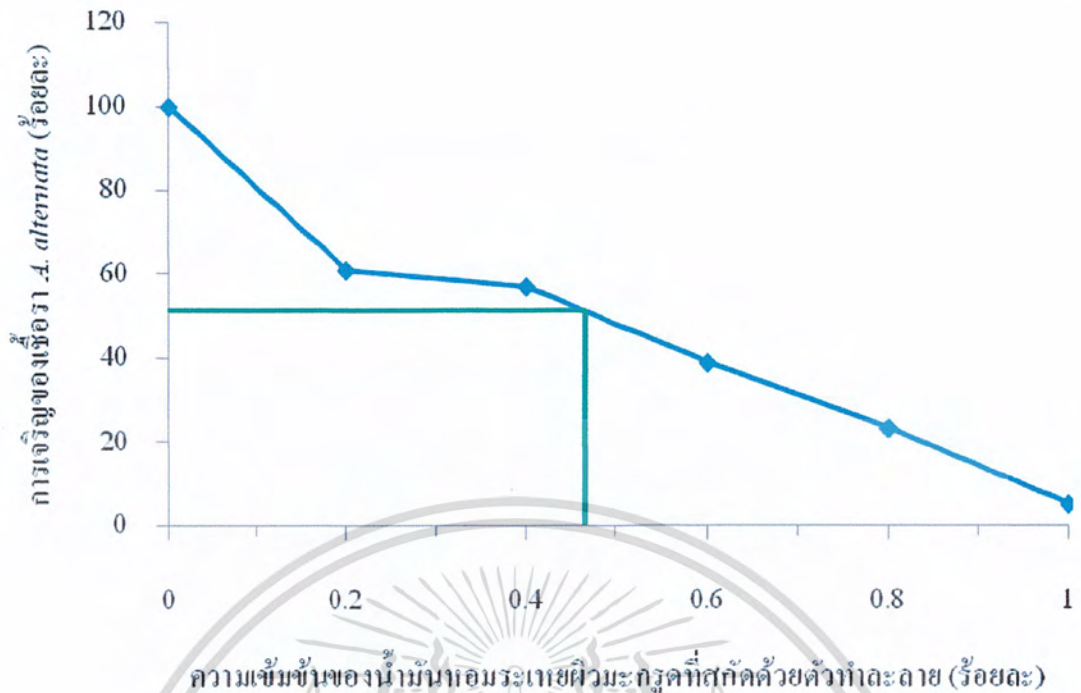
#### 4.3.3 ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของน้ำมันหอมระเหยมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata* บนผลมะเขือเทศ

เมื่อทำการวางก้อนวุ้นที่มีเชื้อรา *Alternaria alternata* ลงบนผลมะเขือเทศที่หยดน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร ปริมาณ 200 ไมโครลิตรต่อชิ้น พบว่าน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดความเข้มข้นร้อยละ 1.0 เป็นต้นไปสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ (MIC) ซึ่งต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังแสดงในรูปที่ 4.20 และตารางที่ 4.13

เมื่อทราบระดับความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา สามารถหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดกับร้อยละของเชื้อราที่เจริญบนผลมะเขือเทศ ดังแสดงในรูปที่ 4.21 จากจุดตัดแกน Y ที่ความสามารถในการเจริญของเชื้อราร้อยละ 50 ทำให้ทราบว่าความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata* ได้ครึ่งหนึ่ง ( $IC_{50}$ ) คือร้อยละ 0.46



รูปที่ 4.20 การยับยั้งเชื้อรา *Alternaria alternata* ด้วยน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร



รูปที่ 4.21 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายกับการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata*

ตารางที่ 4.13 ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่อการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata* บนผลมะเจือเทศ

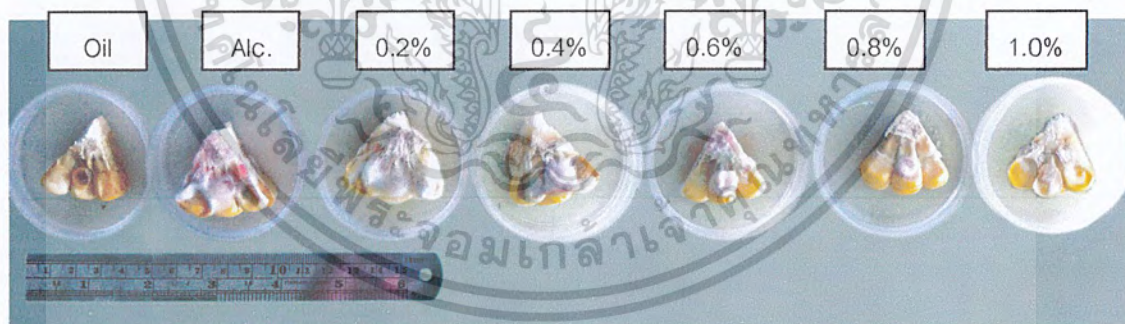
ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูด (ร้อยละ)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของเชื้อรา (เซนติเมตร)	ร้อยละของเชื้อราที่เจริญ
Ethanol	2.24 <sup>a</sup>	100
0.20	1.64 <sup>b</sup>	61.04
0.40	1.58 <sup>b</sup>	57.14
0.60	1.30 <sup>bc</sup>	38.96
0.80	1.06 <sup>cd</sup>	23.38
1.0	0.78 <sup>d</sup>	5.19
น้ำมันผิวมะกรูดร้อยละ 100	0.70 <sup>d</sup>	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

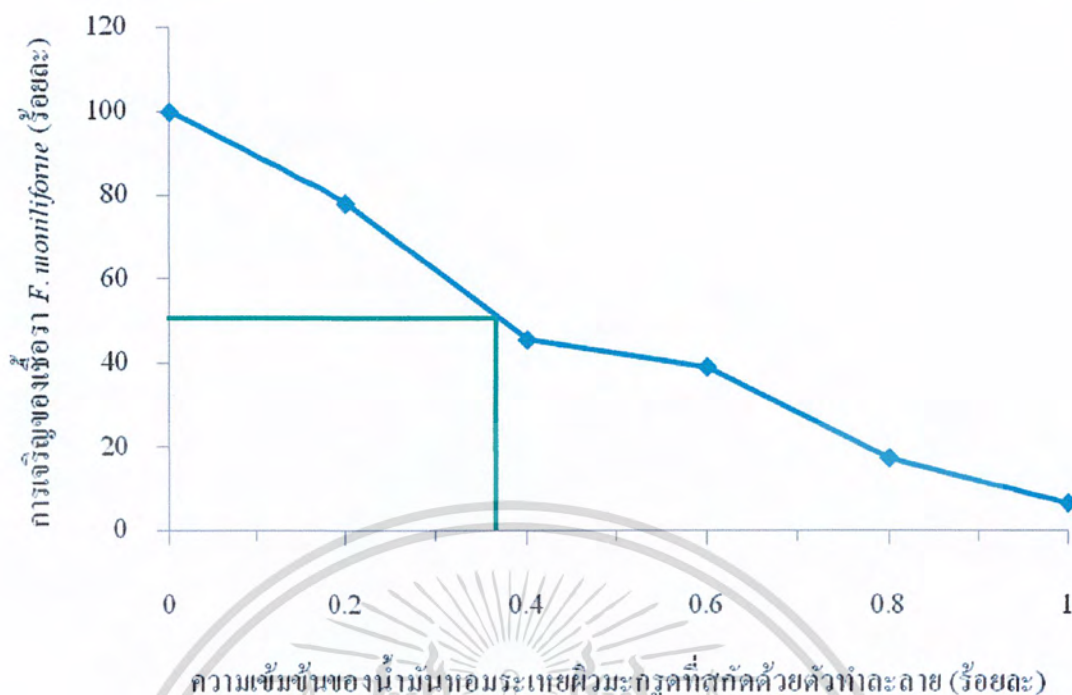
#### 4.3.4 ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของน้ำมันหอมระเหยมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliforme* บนชิ้นข้าวโพด

เมื่อทำการวางก้อนวุ้นที่มีเชื้อรา *Fusarium moniliforme* ลงบนชิ้นข้าวโพดที่หยดน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร ปริมาณ 200 ไมโครลิตรต่อชิ้น พบว่าน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดความเข้มข้นร้อยละ 1.0 เป็นต้นไปสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ (MIC) ซึ่งต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังแสดงในรูปที่ 4.22 และตารางที่ 4.14

เมื่อทราบระดับความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา สามารถหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดกับร้อยละของเชื้อราที่เจริญบนชิ้นข้าวโพดดังแสดงในรูปที่ 4.23 จากจุดตัดแกน Y ที่ความสามารถในการเจริญของเชื้อราร้อยละ 50 ทำให้ทราบว่าความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliforme* ได้ครึ่งหนึ่ง ( $IC_{50}$ ) คือร้อยละ 0.36



รูปที่ 4.22 ยับยั้งเชื้อรา *Fusarium moniliforme* ด้วยน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร



รูปที่ 4.23 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำน้าหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายกับการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliforme*

ตารางที่ 4.14 ความเข้มข้นของน้ำน้าหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่อการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliforme* บนชิ้นข้าวโพด

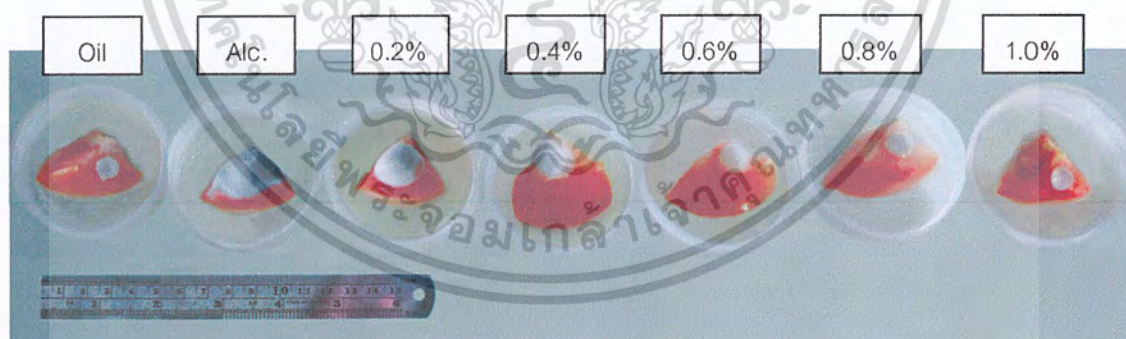
ความเข้มข้นของน้ำน้าหอมระเหยผิวมะกรูด (ร้อยละ)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของเชื้อรา (เซนติเมตร)	ร้อยละของเชื้อราที่เจริญ
Ethanol	1.62 <sup>a</sup>	100
0.20	1.42 <sup>a</sup>	78.26
0.40	1.12 <sup>b</sup>	45.65
0.60	1.06 <sup>bc</sup>	39.13
0.80	0.86 <sup>cd</sup>	17.39
1.0	0.76 <sup>d</sup>	6.52
น้ำน้าผิวมะกรูดร้อยละ 100	0.70 <sup>d</sup>	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

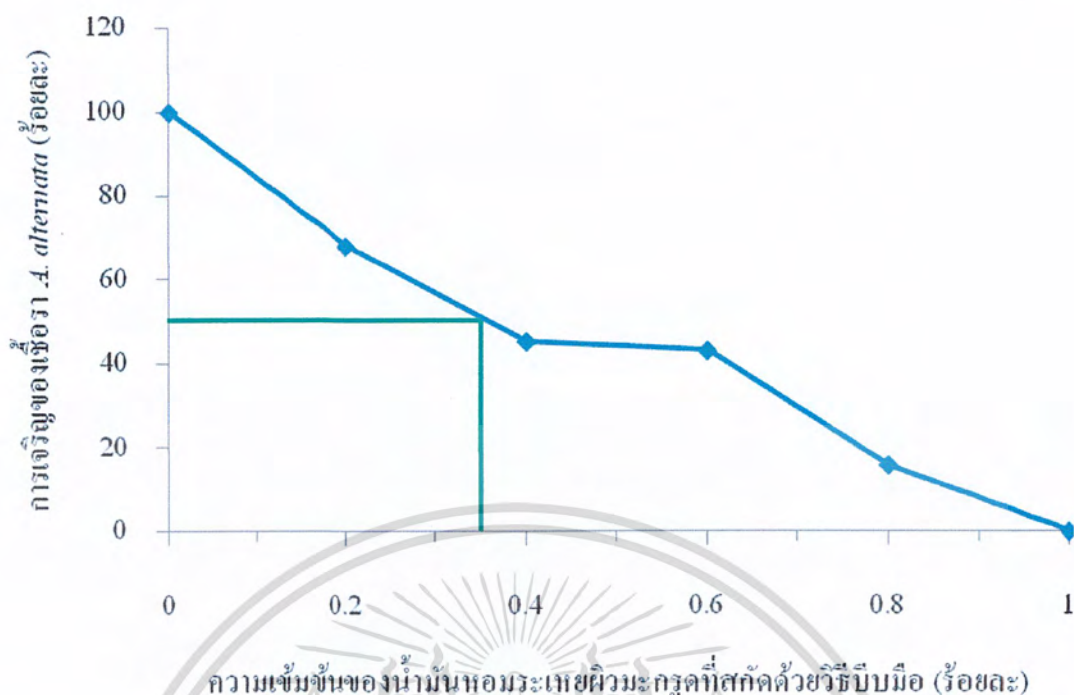
#### 4.3.5 ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของน้ำมันหอมระเหยมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata* บนผลมะเขือเทศ

เมื่อทำการวางก้อนปูนที่มีเชื้อรา *Alternaria alternata* ลงบนผลมะเขือเทศที่หยดน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร ปริมาณ 200 ไมโครลิตรต่อชิ้น พบว่าน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดความเข้มข้นร้อยละ 1.0 เป็นต้นไปสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ (MIC) ซึ่งต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังแสดงในรูปที่ 4.24 และตารางที่ 4.15

เมื่อทราบระดับความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา สามารถหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดกับร้อยละของเชื้อราที่เจริญบนผลมะเขือเทศ ดังแสดงในรูปที่ 4.25 จากจุดตัดแกน Y ที่ความสามารถในการเจริญของเชื้อราร้อยละ 50 ทำให้ทราบว่าความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata* ได้ครึ่งหนึ่ง ( $IC_{50}$ ) คือร้อยละ 0.35



รูปที่ 4.24 การยับยั้งเชื้อรา *Alternaria alternata* ด้วยน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร



รูปที่ 4.25 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือกับการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata*

ตารางที่ 4.15 ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือต่อการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata* บนผลมะเขือเทศ

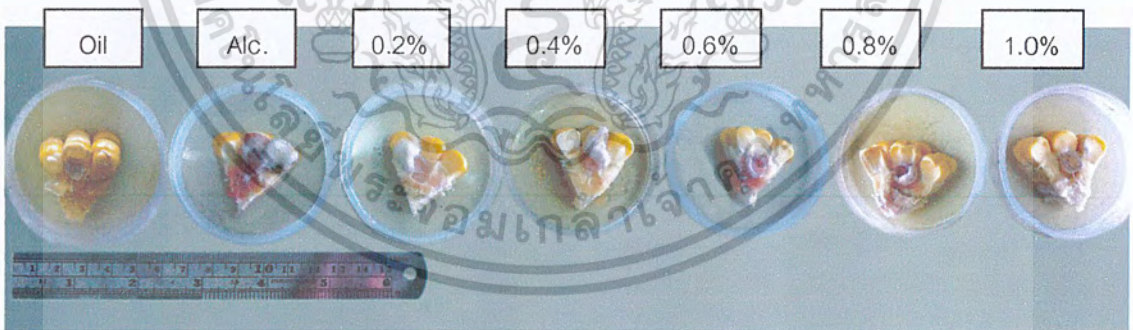
ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูด (ร้อยละ)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของเชื้อรา (เซนติเมตร)	ร้อยละของเชื้อราที่เจริญ
Ethanol	1.58 <sup>a</sup>	100
0.20	1.30 <sup>b</sup>	68.18
0.40	1.10 <sup>b</sup>	45.45
0.60	1.08 <sup>b</sup>	43.18
0.80	0.84 <sup>c</sup>	15.91
1.0	0.70 <sup>c</sup>	0
น้ำมันผิวมะกรูดร้อยละ 100	0.70 <sup>c</sup>	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

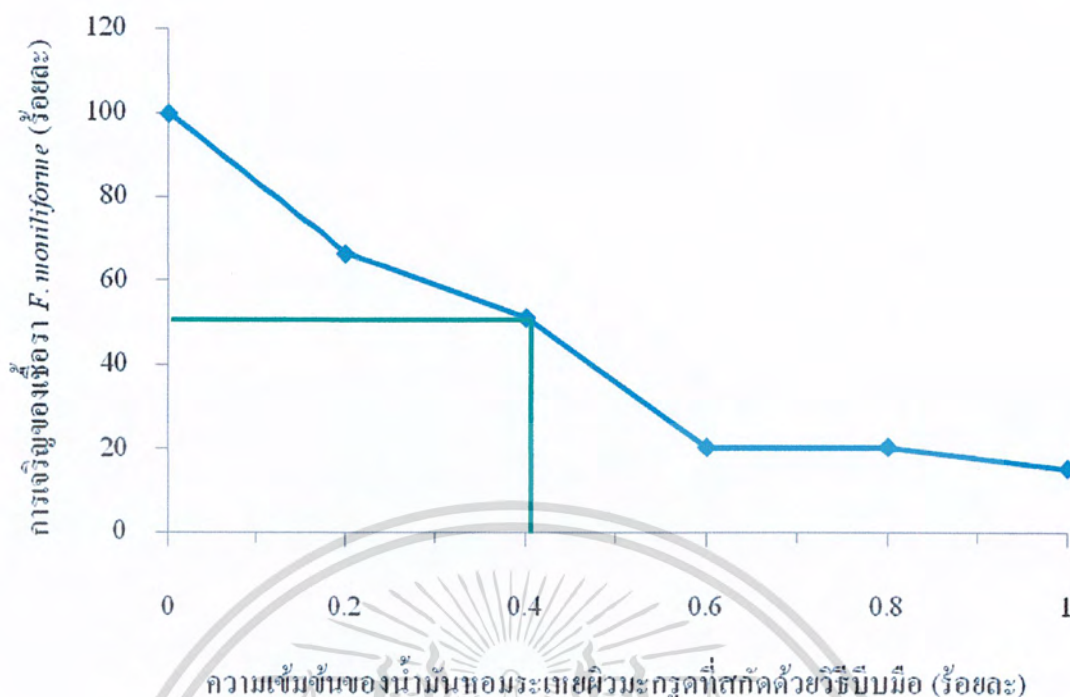
#### 4.3.6 ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของน้ำมันหอมระเหยมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliforme* บนชิ้นข้าวโพด

เมื่อทำการวางก้อนวุ้นที่มีเชื้อรา *Fusarium moniliforme* ลงบนชิ้นข้าวโพดที่หยคน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร ปริมาณ 200 ไมโครลิตรต่อชิ้น พบว่าน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดความเข้มข้นร้อยละ 1.0 เป็นต้นไปสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ (MIC) ซึ่งต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังแสดงในรูปที่ 4.26 และตารางที่ 4.16

เมื่อทราบระดับความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา สามารถหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดกับร้อยละของเชื้อราที่เจริญบนชิ้นข้าวโพดดังแสดงในรูปที่ 4.27 จากจุดตัดแกน Y ที่ความสามารถในการเจริญของเชื้อราร้อยละ 50 ทำให้ทราบว่าความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliforme* ได้ครึ่งหนึ่ง ( $IC_{50}$ ) คือร้อยละ 0.40



รูปที่ 4.26 การยับยั้งเชื้อรา *Fusarium moniliforme* ด้วยน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร



รูปที่ 4.27 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือกับการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliforme*

ตารางที่ 4.16 ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือต่อการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliforme* บนชิ้นข้าวโพด

ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูด (ร้อยละ)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของเชื้อรา (เซนติเมตร)	ร้อยละของเชื้อราที่เจริญ
Ethanol	1.48 <sup>a</sup>	100
0.20	1.22 <sup>b</sup>	66.67
0.40	1.10 <sup>b</sup>	51.28
0.60	0.86 <sup>c</sup>	20.51
0.80	0.86 <sup>c</sup>	20.51
1.0	0.82 <sup>c</sup>	15.38
น้ำมันผิวมะกรูดร้อยละ 100	0.70 <sup>c</sup>	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## อภิปรายผล

การทดลองในงานเพาะเลี้ยงและในพืชพบว่า การทดลองหาความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata* บนอาหาร PDA พบว่าน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราได้ดีกว่าน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำและวิธีบีบมือ

แต่การทดลองในพืชพบว่า น้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราได้น้อยกว่าน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำและวิธีบีบมือ เนื่องจากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายไม่พบสาร L - Limonene ซึ่งอาจเป็นผลมาจากตัวทำละลายที่ใช้ในขณะที่ทำการสกัดได้สลายสารนี้ นอกจากนี้จากงานวิจัยของ Chutia M. และคณะ(2009) ได้ทำการทดลองนำน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการกลั่นเปลือกผลไม้ *Citrus recitulate Blanco* ทำการวิเคราะห์ GC และ GC - MS พบว่าสารประกอบส่วนใหญ่คือ L - Limonene ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราได้ดี จึงทำให้ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายลดลง

เมื่อนำการทดลองในงานเพาะเลี้ยงและในพืชมาเปรียบเทียบกัน จะเห็นได้ว่าผลการทดลองไม่สอดคล้องกัน ผลการทดลองในงานเพาะเลี้ยงน้ำมันหอมระเหยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดี ในขณะที่ผลการทดลองในพืชน้ำมันหอมระเหยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้น้อย เนื่องจากในขั้นตอนการทดลองในงานเพาะเลี้ยง น้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายจะกระจายตัวในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ดีกว่าน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดชนิดอื่น ๆ จึงทำให้มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราได้ดีกว่า ซึ่งจะแสดงให้เห็นได้ว่าการทดลองในงานเพาะเลี้ยงเกิดข้อผิดพลาด แตกต่างจากการทดลองในพืชที่ไม่เกิดข้อผิดพลาด จึงมีความน่าเชื่อถือมากกว่าการทดลองในงานเพาะเลี้ยง

## บทที่ 5

### สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีต่างๆ ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata* และ *Fusarium moniliform* ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA เพื่อหาระดับความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อราทั้ง 2 ชนิดนี้ได้อย่างสมบูรณ์ (MIC) พบว่า

#### 1. การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata*

การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata* โดยใช้ น้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีต่างๆ พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากการสกัดด้วยตัวทำละลายมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.4 โดยปริมาตรต่อปริมาตร รองลงมาคือ น้ำมันหอมระเหยจากการสกัดด้วยไอน้ำ และที่สกัดด้วยวิธีบีบมีมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราได้เท่ากับที่ความเข้มข้นที่ร้อยละ 0.8 โดยปริมาตรต่อปริมาตรเมื่อนำระดับความเข้มข้นต่างๆ ของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรามาหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันกับร้อยละของเชื้อราที่สามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อหาระดับความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ร้อยละ 50 พบว่า น้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำ สกัดด้วยวิธีบีบ และสกัดด้วยตัวทำละลาย สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ร้อยละ 50 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.28, 0.39 และ 0.12 ตามลำดับ

เมื่อนำเชื้อราที่ถูกยับยั้งนี้ไปถ่ายลงในอาหาร PDA แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน ปรากฏว่าเชื้อรายังเจริญได้ จึงสรุปได้ว่า น้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูดมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Alternaria alternata*

#### 2. การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliform*

การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliform* โดยใช้ น้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีต่างๆ พบว่า น้ำมันหอมระเหยที่สกัดด้วยตัวทำละลาย และสกัดด้วยวิธีบีบมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราได้ดีเท่ากับที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.6 โดยปริมาตรต่อปริมาตร รองลงมาคือ น้ำมันหอมระเหยจากการสกัดด้วยไอน้ำมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราได้ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.8 โดยปริมาตรต่อปริมาตร

เมื่อนำระดับความเข้มข้นต่างๆ ของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา มาหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันกับร้อยละของเชื้อราที่สามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อหาระดับความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ร้อยละ 50 พบว่า น้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำ สกัดด้วยวิธีบีบ และสกัดด้วยตัวทำละลาย สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ร้อยละ 50 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.28, 0.13 และ 0.13 ตามลำดับ

เมื่อนำเชื้อราที่ถูกยับยั้งที่ความเข้มข้นต่ำสุดไปถ่ายลงในอาหาร PDA แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน ปรากฏว่าเชื้อรายังเจริญได้ จึงสรุปได้ว่าน้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูดมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliform*

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำ สกัดด้วยตัวทำละลาย และที่สกัดด้วยวิธีบีบมือ พบว่ามีส่วนประกอบที่สำคัญคือ L - Limonene

นอกจากนี้ได้นำการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata* และ *Fusarium moniliform* ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีต่างๆ มาทดสอบบนพืชที่เชื้อราแต่ละชนิดสามารถก่อโรคในพืชชนิดนั้นได้เป็นเวลา 5 วัน จากผลการทดลอง พบว่า

#### 1. การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata* บนผลมะเขือเทศ

การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata* โดยใช้น้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีต่างๆ พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากการสกัดด้วยไอน้ำ และสกัดด้วยวิธีการบีบมือมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราที่อยู่บนชิ้นมะเขือเทศได้ดีที่สุดเท่าที่ ความเข้มข้นร้อยละ 0.8 โดยปริมาตรต่อปริมาตร รองลงมาคือ น้ำมันหอมระเหยจากการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร เมื่อนำระดับความเข้มข้นต่างๆ ของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา มาหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันกับร้อยละของเชื้อราที่สามารถเจริญบนชิ้นมะเขือเทศ เพื่อหาระดับความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ร้อยละ 50 พบว่า น้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำ สกัดด้วยตัวทำละลาย และสกัดด้วยวิธีบีบ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ร้อยละ 50 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.30, 0.46 และ 0.35 ตามลำดับ

#### 2. การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliform* บนชิ้นข้าวโพด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliform* โดยใช้น้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูด ที่สกัดด้วยวิธีต่างๆ พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากการสกัดด้วยไอน้ำ สกัดด้วยตัวทำละลาย และสกัดด้วยวิธีบีบมือมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราที่อยู่บนชิ้นข้าวโพดได้ดีที่สุดเท่ากันทั้ง 3 วิธี ที่ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ คือร้อยละ 1.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร เมื่อนำระดับความเข้มข้นต่างๆ ของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรามาหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันกับร้อยละของเชื้อราที่สามารถเจริญบนชิ้นข้าวโพด เพื่อหาระดับความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ร้อยละ 50 พบว่า น้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำ สกัดด้วยตัวทำละลาย และสกัดด้วยวิธีบีบสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ร้อยละ 50 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.38, 0.36 และ 0.40 ตามลำดับ

จากผลการทดลองทั้งหมดทำให้ทราบว่าน้ำมันหอมระเหยมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria alternata* และ *Fusarium moniliform* ได้ ถึงแม้ว่าจะมีราคาสูงกว่าสารเคมีที่มีขายตามท้องตลาด ตามรายงานของ อาภัสสร ปะลาวัณ (2551) ว่าใช้สารเคมีสังเคราะห์ในการฆ่าเชื้อรา 10 ชนิด ทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ความเข้มข้นเพียง 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ก็สามารถยับยั้งรสปิของเชื้อราบางชนิดได้อย่างสมบูรณ์ แต่อย่างไรก็ตามสารเคมีสังเคราะห์ส่วนใหญ่เป็นสารก่อมะเร็ง มีความเป็นพิษสูง และใช้เวลานานในการย่อยสลาย ทำให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม มีผลข้างเคียงต่อมนุษย์และสัตว์ การใช้น้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืช แทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์จึงเป็นทางเลือกที่ดีอีกทางเลือกหนึ่งที่จะช่วยลดสารพิษในสิ่งแวดล้อมและลดอันตรายที่เกิดจากการบริโภคสารฆ่าเชื้อราดังกล่าว

## ข้อเสนอแนะ

การใช้น้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งเชื้อราแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจเป็นอย่างยิ่ง เพื่อคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น แต่การนำไปใช้จริงควรมีการทดลองความสามารถของน้ำมันหอมระเหยต่างๆ ในสภาพจริงก่อน เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยมีคุณสมบัติระเหยง่าย สลายตัวเร็วเมื่อถูกแสง รวมไปถึงปัจจัยที่มีต่อคุณภาพของน้ำมันหอมระเหยเมื่อเก็บไว้ในสภาพจริง เช่น อุณหภูมิ ความชื้น ฯลฯ เพื่อให้ น้ำมันหอมระเหยเกิดประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเชื้อราได้ดีที่สุด



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เอกสารอ้างอิง

- นวลจันทร์ ใจใส และ สุภาพร ล้าเลิศชน, 2007. ผลการยับยั้งของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดต่อ *Bacillus cereus* ในข้าวหุงสุก. วารสารมหาวิทยาลัยนเรศวร 15 (3), 195-203
- ภัทรพล สงเคราะห์, ญาดา ชพานนท์ และบัณฑิต จันทร์ศรี., 2526. การศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านราของสารเคมีในเปลือกมังคุด. วารสารสงขลานครินทร์ 5, 341-342
- วีระพงษ์ วรประโยชน์ และคณะ. 2552. การใช้น้ำมันหอมระเหยในการควบคุมเชื้อราสีเทาในผลองุ่น. สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์
- อภัสสร ปะลาวัน. 2551. การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราโรคพืชโดยน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพมหานคร
- อุไรวรรณ และคณะ. 2547. การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Alternari solani* โดยสารสกัดจากพืชสมุนไพร. โครงการพิเศษวิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- Chutia M. et al. 2009. Antifungal activity and chemical composition of *Citrus reticulata* Blanco essential oil against phytopathogens from North East India. Food Science and Technology. 42, 777-780
- [online]. Available : [http://en.wikipedia.org/wiki/Alternaria\\_alternata](http://en.wikipedia.org/wiki/Alternaria_alternata)
- [online]. Available : <http://en.wikipedia.org/wiki/Citrus>
- [online]. Available : [http://en.wikipedia.org/wiki/Fusarium\\_moniliforme](http://en.wikipedia.org/wiki/Fusarium_moniliforme)
- [online]. Available : [http://en.wikipedia.org/wiki/Fusarium\\_solani\\_f.sp.\\_pisi](http://en.wikipedia.org/wiki/Fusarium_solani_f.sp._pisi)
- [online]. Available : [http://visualsunlimited.photoshelter.com/image/I00008SgG28xh\\_lg](http://visualsunlimited.photoshelter.com/image/I00008SgG28xh_lg)
- [online]. Available : <http://www.apsnet.org/publications/imageresources/Pages/phyto31.aspx>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

[online]. Available : [http://www.ciriscience.org/ph\\_76-](http://www.ciriscience.org/ph_76-)

Filamentous\_fungus\_Fusarium\_sp.\_Copyright\_Dennis\_Kunkel\_Microscopy

[online]. Available : <http://www.doctorfungus.org/thefungi/alternaria.php>

[online]. Available : [http://www.doctorfungus.org/thefungi/Fusarium\\_moniliforme.php](http://www.doctorfungus.org/thefungi/Fusarium_moniliforme.php)

[online]. Available : [http://www.doctorfungus.org/thefungi/Fusarium\\_solani.php](http://www.doctorfungus.org/thefungi/Fusarium_solani.php)

[online]. Available : <http://www.kmitl.ac.th/~konimit/SEMtheory.htm>

[online]. Available : <http://www.kmitl.ac.th/sisc/GC-MS/main.html>

[online]. Available : [http://www.organicproductthailand.com/thai/index.php?option=com\\_content](http://www.organicproductthailand.com/thai/index.php?option=com_content)

&view=article&id=94:2009-04-25-08-25-0 2&catid=35:2008-08-30-09-

28-44&Itemid=59

[online]. Available : <http://www.organicthailand.com/product-th-690030-2352014>

[online]. Available : <http://www.virtualmuseum.ca/Exhibitions/Mushroom/English/Species>

/alterspore.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก

## ภาคผนวก ก.

ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อราด้วยน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดสกัดด้วยวิธีต่าง ๆ

บนPDA (In vitro)

ตารางที่ 1 ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา

*Alternaria alternata* บนอาหาร PDA

ตัวอย่าง	เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร)					
	ความเข้มข้นร้อยละ					
	0.0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
1	5.6	2.9	1.9	0.7	0.7	0.7
2	4.9	3.2	2.3	1.2	0.9	0.7
3	5.5	3.7	2.1	0.8	0.7	0.7
4	3.5	3.5	0.9	1.1	0.7	0.7
5	4.1	3.5	2.5	0.7	0.7	0.8
เฉลี่ย	4.72	3.36	1.94	0.9	0.74	0.72

ตารางที่ 2 ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา

*Fusarium moniliform* บนอาหาร PDA

ตัวอย่าง	เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร)					
	ความเข้มข้นร้อยละ					
	0.0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
1	6.1	4.2	2.5	0.7	0.7	0.7
2	5.9	3.5	2.1	0.7	0.7	0.7
3	4.9	3.7	1.9	0.7	0.7	0.7
4	6.3	4.8	2.8	0.7	0.7	0.7
5	5.9	3.8	2.2	0.7	0.7	0.7
เฉลี่ย	5.62	4.0	2.3	0.7	0.7	0.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata* บนอาหาร PDA

ตัวอย่าง	เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร)					
	ความเข้มข้นร้อยละ					
	0.0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
1	5.2	1.7	0.7	0.7	0.7	0.7
2	5.5	1.1	0.7	0.7	0.7	0.7
3	4.8	1.8	0.7	0.7	0.7	0.7
4	6.0	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7
5	5.9	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7
เฉลี่ย	5.48	1.2	0.7	0.7	0.7	0.7

ตารางที่ 4 ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliform* บนอาหาร PDA

ตัวอย่าง	เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร)					
	ความเข้มข้นร้อยละ					
	0.0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
1	3.9	2.1	1.1	0.7	0.7	0.7
2	5.4	1.1	1.4	0.7	0.7	0.7
3	6.1	1.3	1.2	1.0	0.7	0.7
4	5.5	1.5	0.8	0.7	0.7	0.7
5	4.8	1.5	1.1	0.7	0.7	0.7
เฉลี่ย	5.14	1.5	1.12	0.76	0.7	0.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata* บนอาหาร PDA

ตัวอย่าง	เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร)					
	ความเข้มข้นร้อยละ					
	0.0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
1	2.5	3.3	1.5	0.7	0.8	0.7
2	2.9	2.4	2.0	0.8	0.7	0.7
3	3.0	3.2	1.8	0.9	0.7	0.7
4	3.1	1.9	1.6	0.7	0.7	0.7
5	3.4	2.9	2.1	0.9	0.7	0.7
เฉลี่ย	2.98	2.74	1.8	0.8	0.72	0.7

ตารางที่ 6 ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliform* บนอาหาร PDA

ตัวอย่าง	เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร)					
	ความเข้มข้นร้อยละ					
	0.0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
1	3.6	2.0	1.2	1.3	1.2	1.1
2	5.3	1.2	0.8	1.3	1.0	0.8
3	5.9	2.4	1.2	1.0	0.7	0.7
4	5.7	1.2	3.8	1.1	0.7	0.7
5	4.0	2.6	0.7	1.5	0.7	0.7
เฉลี่ย	4.9	1.88	1.54	1.24	0.86	0.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อราด้วยน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีต่าง ๆ บนพืช (In vivo)

ตารางที่ 7 ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา

*Alternaria alternata* บนมะเขือเทศ

ตัวอย่าง	เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร)						
	Control		ความเข้มข้นร้อยละ				
	Oil	Ethanol	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
1	0.7	2.5	1.6	1.1	0.8	1.0	0.7
2	0.7	2.5	2.4	1.2	0.9	0.7	0.7
3	0.7	2.1	2.4	0.9	1.1	1.1	0.7
4	0.7	2.3	1.3	1.2	1.1	0.7	0.7
5	0.7	2.3	1.6	1.5	1.2	0.7	1.0
เฉลี่ย	0.7	2.34	1.86	1.18	1.02	0.84	0.76

ตารางที่ 8 ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliform* บนข้าวโพด

ตัวอย่าง	เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร)						
	Control		ความเข้มข้นร้อยละ				
	Oil	Alcohol	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
1	0.7	1.5	1.4	1.1	1.0	0.9	0.9
2	0.7	1.8	1.3	1.1	0.8	0.8	0.8
3	0.7	1.3	1.4	1.0	1.2	1.0	0.7
4	0.7	1.4	1.4	1.2	1.0	0.8	0.9
5	0.7	1.5	1.5	1.0	0.9	1.0	0.8
เฉลี่ย	0.7	1.5	1.4	1.08	0.98	0.9	0.82

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata* บนมะเขือเทศ

ตัวอย่าง	เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร)						
	Control		ความเข้มข้นร้อยละ				
	Oil	Alcohol	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
1	0.7	2.2	1.4	1.6	0.7	0.7	0.7
2	0.7	2.3	2.0	0.8	0.7	1.3	0.8
3	0.7	2.2	1.3	2.2	1.7	1.1	1.0
4	0.7	2.2	2.1	1.6	1.5	1.5	0.7
5	0.7	2.3	1.4	1.7	1.9	0.7	0.7
เฉลี่ย	0.7	2.22	1.64	1.58	1.3	1.06	0.78

ตารางที่ 10 ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliform* บนข้าวโพด

ตัวอย่าง	เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร)						
	Control		ความเข้มข้นร้อยละ				
	Oil	Alcohol	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
1	0.7	1.6	1.7	1.3	1.0	0.9	0.7
2	0.7	1.7	1.8	1.2	1.0	1.0	0.9
3	0.7	1.5	1.2	1.0	0.8	0.9	0.7
4	0.7	1.5	1.3	1.0	1.3	0.7	0.8
5	0.7	1.8	1.1	1.1	1.2	0.8	0.7
เฉลี่ย	0.7	1.62	1.42	1.12	1.06	0.86	0.76

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 11 ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata* บนมะเขือเทศ

ตัวอย่าง	เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร)						
	Control		ความเข้มข้นร้อยละ				
	Oil	Alcohol	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
1	0.7	1.6	1.2	0.8	1.0	1.1	0.7
2	0.7	1.7	1.4	1.1	0.8	0.7	0.7
3	0.7	1.5	1.4	1.6	1.4	0.7	0.7
4	0.7	1.5	1.2	1.0	1.2	0.7	0.7
5	0.7	1.6	1.3	0.9	1.1	1.0	0.7
เฉลี่ย	0.7	1.56	1.3	1.08	1.02	0.84	0.7

ตารางที่ 12 ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium moniliform* บนข้าวโพด

ตัวอย่าง	เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร)						
	Control		ความเข้มข้นร้อยละ				
	Oil	Alcohol	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
1	0.7	1.5	1.0	0.8	0.9	0.9	0.8
2	0.7	1.6	1.7	1.6	0.9	0.8	0.7
3	0.7	1.5	1.2	1.2	0.8	0.9	0.7
4	0.7	1.4	1.0	0.9	0.8	0.9	0.9
5	0.7	1.4	1.2	1.0	0.9	0.8	0.9
เฉลี่ย	0.7	1.48	1.5	1.12	0.76	0.7	0.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ข.

## ข้อมูลการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม

## Statistical Package for Social Science (SPSS)

ผลการเปรียบเทียบทางสถิติของการทดสอบการยับยั้งเชื้อราของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีต่างๆ บน PDA (In vitro)

ตารางที่ 1 ผลการเปรียบเทียบทางสถิติของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ทดสอบการยับยั้ง *Alternaria alternata* บนอาหาร PDA

## Oneway

## Descriptives

Diameter

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
.00	5	4.7200	.90664	.40546	3.5943	5.8457	3.50	5.60
.20	5	3.3600	.31305	.14000	2.9713	3.7487	2.90	3.70
.40	5	1.9400	.62290	.27857	1.1666	2.7134	.90	2.50
.60	5	.9000	.23452	.10488	.6088	1.1912	.70	1.20
.80	5	.7400	.08944	.04000	.6289	.8511	.70	.90
1.00	5	.7200	.04472	.02000	.6645	.7755	.70	.80
Total	30	2.0633	1.59536	.29127	1.4676	2.6590	.70	5.60

## ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	68.318	5	13.664	59.710	.000
Within Groups	5.492	24	.229		
Total	73.810	29			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## Post Hoc Tests Homogeneous Subsets

Diameter

Duncan<sup>a</sup>

Conc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
1.00	5	.7200			
.80	5	.7400			
.60	5	.9000			
.40	5		1.9400		
.20	5			3.3600	
.00	5				4.7200
Sig.		.581	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 ผลการเปรียบเทียบทางสถิติของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ทดสอบการยับยั้ง *Fusarium moniliform* บนอาหาร PDA

## Oneway

### Descriptives

Diameter

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					.00	5		
.20	5	4.0000	.51478	.23022	3.3608	4.6392	3.50	4.80
.40	5	2.3000	.35355	.15811	1.8610	2.7390	1.90	2.80
.60	5	1.0200	.71554	.32000	.1315	1.9085	.70	2.30
.80	5	.7000	.00000	.00000	.7000	.7000	.70	.70
1.00	5	.7000	.00000	.00000	.7000	.7000	.70	.70
Total	30	2.4233	1.98715	.36280	1.6813	3.1653	.70	6.30

### ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	109.738	5	21.948	110.289	.000
Within Groups	4.776	24	.199		
Total	114.514	29			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## Post Hoc Tests Homogeneous Subsets

### Diameter

Duncan<sup>a</sup>

Conc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
1.00	5	.7000			
.80	5	.7000			
.60	5	1.0200			
.40	5		2.3000		
.20	5			4.0000	
.00	5				5.8200
Sig.		.295	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 ผลการเปรียบเทียบทางสถิติของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ทดสอบการยับยั้ง *Alternaria alternata* บนอาหาร PDA

## Oneway

### Descriptives

Diameter

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					.00	5		
.20	5	1.2000	.52915	.23664	.5430	1.8570	.70	1.80
.40	5	.7000	.00000	.00000	.7000	.7000	.70	.70
.60	5	.7000	.00000	.00000	.7000	.7000	.70	.70
.80	5	.7000	.00000	.00000	.7000	.7000	.70	.70
1.00	5	.7000	.00000	.00000	.7000	.7000	.70	.70
Total	30	1.5800	1.80390	.32935	.9064	2.2536	.70	6.00

### ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	92.260	5	18.452	210.080	.000
Within Groups	2.108	24	.088		
Total	94.368	29			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## Post Hoc Tests Homogeneous Subsets

### Diameter

Duncan<sup>a</sup>

Conc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
.40	5	.7000		
.60	5	.7000		
.80	5	.7000		
1.00	5	.7000		
.20	5		1.2000	
.00	5			5.4800
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 ผลการเปรียบเทียบทางสถิติของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ทดสอบการยับยั้ง *Fusarium moniliform* บนอาหาร PDA

#### Descriptives

Diameter

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					.00	5		
.20	5	1.5000	.37417	.16733	1.0354	1.9646	1.10	2.10
.40	5	1.1200	.21679	.09695	.8508	1.3892	.80	1.40
.60	5	.7600	.13416	.06000	.5934	.9266	.70	1.00
.80	5	.7000	.00000	.00000	.7000	.7000	.70	.70
1.00	5	.7000	.00000	.00000	.7000	.7000	.70	.70
Total	30	1.6533	1.65044	.30133	1.0370	2.2696	.70	6.10

#### ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	75.403	5	15.081	100.761	.000
Within Groups	3.592	24	.150		
Total	78.995	29			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## Post Hoc Tests

### Homogeneous Subsets

Diameter

Duncan<sup>a</sup>

Conc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
.80	5	.7000		
1.00	5	.7000		
.60	5	.7600		
.40	5	1.1200	1.1200	
.20	5		1.5000	
.00	5			5.1400
Sig.		.128	.133	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 ผลการเปรียบเทียบทางสถิติของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ทดสอบการยับยั้ง *Alternaria alternata* บนอาหาร PDA

## Oneway

### Descriptives

Diameter

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					.00	5		
.20	5	2.7400	.58566	.26192	2.0128	3.4672	1.90	3.30
.40	5	1.8000	.25495	.11402	1.4834	2.1166	1.50	2.10
.60	5	.8000	.10000	.04472	.6758	.9242	.70	.90
.80	5	.7200	.04472	.02000	.6645	.7755	.70	.80
1.00	5	.7000	.00000	.00000	.7000	.7000	.70	.70
Total	30	1.6233	1.00745	.18393	1.2471	1.9995	.70	3.40

### ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	27.326	5	5.465	62.222	.000
Within Groups	2.108	24	.088		
Total	29.434	29			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## Post Hoc Tests Homogeneous Subsets

Diameter

Duncan<sup>a</sup>

Conc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1.00	5	.7000		
.80	5	.7200		
.60	5	.8000		
.40	5		1.8000	
.20	5			2.7400
.00	5			2.9800
Sig.		.620	1.000	.213

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 ผลการเปรียบเทียบทางสถิติของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ทดสอบการยับยั้ง *Fusarium moniliform* บนอาหาร PDA

## Oneway

### Descriptives

Diameter

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					.00	5		
.20	5	1.8800	.65727	.29394	1.0639	2.6961	1.20	2.60
.40	5	1.5400	1.28374	.57411	-.0540	3.1340	.70	3.80
.60	5	1.2400	.19494	.08718	-.9980	1.4820	1.00	1.50
.80	5	.8600	.23022	.10296	.5741	1.1459	.70	1.20
1.00	5	.8000	.17321	.07746	.5849	1.0151	.70	1.10
Total	30	1.8700	1.57964	.28840	1.2802	2.4598	.70	5.90

### ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	59.259	5	11.852	21.707	.000
Within Groups	13.104	24	.546		
Total	72.363	29			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## Post Hoc Tests Homogeneous Subsets

### Diameter

Duncan<sup>a</sup>

Conc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1.00	5	.8000		
.80	5	.8600	.8600	
.60	5	1.2400	1.2400	
.40	5	1.5400	1.5400	
.20	5		1.8800	
.00	5			4.9000
Sig.		.160	.055	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการเปรียบเทียบทางสถิติของการทดสอบการยับยั้งเชื้อราของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัด  
ด้วยวิธีต่าง ๆ บนพืช (In vivo)

ตารางที่ 7 ผลการเปรียบเทียบทางสถิติของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำที่ความ  
เข้มข้นต่าง ๆ ที่ทดสอบการยับยั้ง *Alternaria alternata* บนมะเขือเทศ

### Oneway

#### Descriptives

Diameter

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
.20	5	1.8600	.50794	.22716	1.2293	2.4907	1.30	2.40
.40	5	1.1800	.21679	.09695	.9108	1.4492	.90	1.50
.60	5	1.0200	.16432	.07348	.8160	1.2240	.80	1.20
.80	5	.8400	.19494	.08718	.5980	1.0820	.70	1.10
1.00	5	.7600	.13416	.06000	.5934	.9266	.70	1.00
Alc.	5	2.3400	.16733	.07483	2.1322	2.5478	2.10	2.50
Oil	5	.7000	.00000	.00000	.7000	.7000	.70	.70
Total	35	1.2429	.62558	.10574	1.0280	1.4577	.70	2.50

#### ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11.642	6	1.940	32.649	.000
Within Groups	1.664	28	.059		
Total	13.306	34			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## Post Hoc Tests Homogeneous Subsets

### Diameter

Duncan<sup>a</sup>

Conc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Oil	5	.7000			
1.00	5	.7600			
.80	5	.8400			
.60	5	1.0200	1.0200		
.40	5		1.1800		
.20	5			1.8600	
Alc.	5				2.3400
Sig.		.066	.308	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 ผลการเปรียบเทียบทางสถิติของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยไอน้ำที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ทดสอบการยับยั้ง *Fusarium moniliform* บนข้าวโพด

## Oneway

### Descriptives

Diameter

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					.20	5		
.40	5	1.0800	.08367	.03742	.9761	1.1839	1.00	1.20
.60	5	.9800	.14832	.06633	.7958	1.1642	.80	1.20
.80	5	.9000	.10000	.04472	.7758	1.0242	.80	1.00
1.00	5	.8200	.08367	.03742	.7161	.9239	.70	.90
Alc.	5	1.5000	.18708	.08367	1.2677	1.7323	1.30	1.80
Oil	5	.7000	.00000	.00000	.7000	.7000	.70	.70
Total	35	1.0543	.29639	.05010	.9525	1.1561	.70	1.80

### ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.643	6	.440	35.853	.000
Within Groups	.344	28	.012		
Total	2.987	34			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## Post Hoc Tests Homogeneous Subsets

### Diameter

Duncan<sup>a</sup>

Conc	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
Oil	5	.7000				
1.00	5	.8200	.8200			
.80	5		.9000	.9000		
.60	5			.9800	.9800	
.40	5				1.0800	
.20	5					1.4000
Alc.	5					1.5000
Sig.		.098	.263	.263	.165	.165

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 ผลการเปรียบเทียบทางสถิติของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ทดสอบการยับยั้ง *Alternaria alternata* บนมะเขือเทศ

## Oneway

### Descriptives

Diameter

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					.20	5		
.40	5	1.5800	.50200	.22450	.9567	2.2033	.80	2.20
.60	5	1.3000	.56569	.25298	.5976	2.0024	.70	1.90
.80	5	1.0600	.35777	.16000	.6158	1.5042	.70	1.50
1.00	5	.7800	.13038	.05831	.6181	.9419	.70	1.00
Alc.	5	2.2400	.05477	.02449	2.1720	2.3080	2.20	2.30
Oil	5	.7000	.00000	.00000	.7000	.7000	.70	.70
Total	35	1.3286	.60028	.10147	1.1224	1.5348	.70	2.30

### ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8.799	6	1.467	11.896	.000
Within Groups	3.452	28	.123		
Total	12.251	34			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## Post Hoc Tests Homogeneous Subsets

### Diameter

Duncan<sup>a</sup>

Conc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Oil	5	.7000			
1.00	5	.7800			
.80	5	1.0600	1.0600		
.60	5		1.3000	1.3000	
.40	5			1.5800	
.20	5			1.6400	
Alc.	5				2.2400
Sig.		.136	.289	.159	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10 ผลการเปรียบเทียบทางสถิติของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ทดสอบการยับยั้ง *Fusarium moniliform* บนข้าวโพด

## Oneway

### Descriptives

Diameter

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					.20	5		
.40	5	1.1200	.13038	.05831	.9581	1.2819	1.00	1.30
.60	5	1.0600	.19494	.08718	.8180	1.3020	.80	1.30
.80	5	.8600	.11402	.05099	.7184	1.0016	.70	1.00
1.00	5	.7600	.08944	.04000	.6489	.8711	.70	.90
Alc.	5	1.6200	.13038	.05831	1.4581	1.7819	1.50	1.80
Oil	5	.7000	.00000	.00000	.7000	.7000	.70	.70
Total	35	1.0771	.35487	.05998	.9552	1.1990	.70	1.80

### ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.522	6	.587	21.625	.000
Within Groups	.760	28	.027		
Total	4.282	34			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## Post Hoc Tests Homogeneous Subsets

### Diameter

Duncan<sup>a</sup>

Conc	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Oil	5	.7000			
1.00	5	.7600			
.80	5	.8600	.8600		
.60	5		1.0600	1.0600	
.40	5			1.1200	
.20	5				1.4200
Alc.	5				1.6200
Sig.		.157	.065	.569	.065

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 11 ผลการเปรียบเทียบทางสถิติของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ทดสอบการยับยั้ง *Alternaria alternata* บนมะเขือเทศ

## Oneway

### Descriptives

Diameter

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
.20	5	1.3000	.10000	.04472	1.1758	1.4242	1.20	1.40
.40	5	1.0800	.31145	.13928	.6933	1.4667	.80	1.60
.60	5	1.1000	.22361	.10000	.8224	1.3776	.80	1.40
.80	5	.8400	.19494	.08718	.5980	1.0820	.70	1.10
1.00	5	.7000	.00000	.00000	.7000	.7000	.70	.70
Alc.	5	1.5800	.08367	.03742	1.4761	1.6839	1.50	1.70
Oil	5	.7000	.00000	.00000	.7000	.7000	.70	.70
Total	35	1.0429	.34238	.05787	.9252	1.1605	.70	1.70

### ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.178	6	.530	18.353	.000
Within Groups	.808	28	.029		
Total	3.986	34			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## Post Hoc Tests Homogeneous Subsets

### Diameter

Duncan<sup>a</sup>

Conc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Oil	5	.7000		
1.00	5	.7000		
.80	5	.8400		
.40	5		1.0800	
.60	5		1.1000	
.20	5		1.3000	
Alc.	5			1.5800
Sig.		.229	.062	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 12 ผลการเปรียบเทียบทางสถิติของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดด้วยวิธีบีบมือที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ทดสอบการยับยั้ง *Fusarium moniliform* บนข้าวโพด

## Oneway

### Descriptives

Diameter

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
.20	5	1.2200	.28636	.12806	.8644	1.5756	1.00	1.70
.40	5	1.1000	.31623	.14142	.7074	1.4926	.80	1.60
.60	5	.8600	.05477	.02449	.7920	.9280	.80	.90
.80	5	.8600	.05477	.02449	.7920	.9280	.80	.90
1.00	5	.8200	.10954	.04899	.6840	.9560	.70	.90
Oil	5	1.4800	.08367	.03742	1.3761	1.5839	1.40	1.60
3.00	5	.7000	.00000	.00000	.7000	.7000	.70	.70
Total	35	1.0057	.30092	.05087	.9023	1.1091	.70	1.70

### ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.251	6	.375	12.686	.000
Within Groups	.828	28	.030		
Total	3.079	34			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## Post Hoc Tests Homogeneous Subsets

### Diameter

Duncan<sup>a</sup>

Conc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Oil	5	.7000		
1.00	5	.8200		
.80	5	.8600		
.60	5	.8600		
.40	5		1.1000	
.20	5		1.2200	
Alc.	5			1.4800
Sig.		.190	.279	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้