การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากประยงค์และกานพลูต่อการยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus flavus* IMI 242684 และ *Aspergillus parasiticus* IMI 102566 ในข้าวโพด

Efficacy of Plant Extracts from Chinese Rice Flower and Clove on Growth Inhibition and Aflatoxin Production of *Aspergillus flavus* IMI 242684 and *Aspergillus parasiticus* IMI 102566 in Maize

ดวงกมล สิริประภาขจรกิจ[1*] ดุษณี ธนะบริพัฒน์[1] และ จำรูญ เล้าสินวัฒนา[2]
Duangkamol Siripraphakachonkit[1*], Dusanee Thanaboripat[1] and Jumroon Laosinwattana[2]
[1] คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
[2] คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

จากการทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากประยงค์ (*Aglaia odorata* Lour.) และกานพลู (*Syzygium aromaticum*) ที่ระดับความเข้มข้น 10,000 พีพีเอ็ม 15,000 พีพีเอ็ม 20,000 พีพีเอ็ม และ 25,000 พีพีเอ็ม ต่อการยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินจากเชื้อรา *Aspergillus flavus* IMI 242684 และ *A. parasiticus* IMI 102566 ในเมล็ดข้าวโพดที่ผ่านการฆ่าเชื้อและไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ ระยะเวลาในการบ่ม 7, 14, 21 และ 28 วัน พบว่ามีปัจจัยร่วมกันระหว่างสารสกัด ระดับความเข้มข้น และระยะเวลาบ่ม โดยสารสกัดจากกานพลูทุกระดับความเข้มข้นและประยงค์ที่ระดับความเข้มข้น 20,000 พีพีเอ็ม และ 25,000 พีพีเอ็ม ในทุกระยะเวลาบ่ม สามารถยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 และ *A. parasiticus* IMI 102566 ในเมล็ดข้าวโพดที่ผ่านการฆ่าเชื้อและไม่ผ่านการฆ่าเชื้อได้อย่างสมบูรณ์ เป็นระยะเวลา 28 วัน ในขณะที่สารสกัดจากประยงค์ ที่ระดับความเข้มข้น 10,000 และ 15,000 พีพีเอ็ม สามารถยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้อย่างสมบูรณ์ ในเมล็ดข้าวโพดที่ผ่านการฆ่าเชื้อและไม่ผ่านการฆ่าเชื้อเป็นระยะเวลา 7-14 วัน

คำสำคัญ : อะฟลาทอกซิน, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, ข้าวโพดอาหารสัตว์, กานพลู, ประยงค์

---

* E-mail address : s-duangkamol@hotmail.com โทรศัพท์: 061-384-9758

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Abstract

The plant extracts from Chinese rice flower (*Aglaia odorata* Lour.) and Clove (*Syzygium aromaticum*) at four concentrations of 10,000 ppm, 15,000 ppm, 20,000 ppm and 25,000 ppm were tested for the inhibition of growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* IMI 242684 and *A. parasiticus* IMI 102566 in sterile and non-sterile maize grains at incubation period of 7, 14, 21 and 28 days. The result showed that there was an interaction between extracts, concentrations and incubation times. Clove extract at all concentrations and Chinese rice flower extract at concentrations of 20,000 ppm and 25,000 ppm completely inhibited the growth and aflatoxin production of *A. flavus* IMI 242684 and *A. parasiticus* IMI 102566 in both sterile and non-sterile maize grains incubated for 28 days. Chinese rice flower extract at 10,000 ppm and 15,000 ppm completely inhibited the growth and aflatoxin production of *A. flavus* IMI 242684 and *A. parasiticus* IMI 102566 in both sterile and non-sterile maize grains incubated of 7-14 days.

Keywords: aflatoxin, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, maize grain, Clove, Chinese rice flower

1. บทนำ

ปัจจุบันปัญหาการปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซินในผลิตผลทางการเกษตรได้เกิดขึ้นทั่วโลก เช่น ประเทศบราซิล [1] อาร์เจนตินา [2] และอินโดนีเซีย [3] สำหรับผลการสำรวจในประเทศไทยพบว่าถั่วลิสงและข้าวโพดอาหารสัตว์มีการปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซิน โดยเริ่มพบการปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซินได้ในทุกระยะ ตั้งแต่กระบวนการผลิตไปจนถึงกระบวนการค้าขาย [4-6] โดยอะฟลาทอกซินเป็นสารพิษที่สร้างขึ้นจากเชื้อรา *Aspergillus flavus* และ *A. parasiticus* เป็นส่วนใหญ่ [7] อะฟลาทอกซินมีความเป็นพิษต่อมนุษย์และสัตว์ [8] เพราะเป็นสาเหตุของอาการตับวายอย่างเฉียบพลัน ตับแข็ง เนื้องอก [9] และเป็นสารก่อมะเร็ง [10] ปัญหาการปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซินส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจ สุขภาพ และเกษตรกรรม โดยพบการปนเปื้อนของสารพิษอะฟลาทอกซินในผลผลิตทางการเกษตรและผลิตภัณฑ์อาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่งในธัญพืช [11-13] และอาหารสัตว์ [14-15] นอกจากนี้ในน้ำนมมารดาก็พบว่ามีการปนเปื้อนของสารพิษอะฟลาทอกซินด้วย [16] ผลิตผลทางการเกษตรที่พบการปนเปื้อนของสารอะฟลาทอกซินมาก ได้แก่ ข้าวโพด ถั่วลิสง และเครื่องเทศ [17-18] เป็นต้น ข้าวโพดเป็นหนึ่งในธัญพืชหลักในหลายๆประเทศที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในรูปของอาหาร อาหารสัตว์ และอุตสาหกรรมเมล็ดพืช ปัญหาการเจริญของเชื้อราที่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซินมีผลทำให้ระบบเศรษฐกิจเสียหาย [19] ในประเทศอินเดียพบว่ามีการปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซินในข้าวโพดและเครื่องเทศ [20] โดยมีการปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อราในเมล็ดข้าวโพด โดยเกิดขึ้นตั้งแต่ข้าวโพดเริ่มมีการเจริญเติบโตไปจนกระทั่งกระบวนการเก็บเกี่ยว การเก็บรักษา การขนส่ง และกระบวนการผลิต [21] วิธีการป้องกันหรือทำลายสารพิษอะฟลาทอกซินโดยทั่วไปจะเป็นวิธีทางเคมี เช่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การใช้กรดแก่หรือด่างแก่ และวิธีทางกายภาพ เช่น การใช้วิธีการคัดแยกเมล็ดพืชหรือการใช้รังสี [22] เป็นต้น สำหรับงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืช 2 ชนิด ได้แก่ ประยงค์และกานพลูที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน ซึ่งอาจเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะนำมาใช้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรซึ่งปลอดภัยกว่าการใช้สารเคมีและยังช่วยรักษาสิ่งแวดล้อมอีกด้วย

2. วิธีการทดลอง

2.1 การเตรียมสารละลายสปอร์ของเชื้อรา *Aspergillus flavus* IMI 242684 และ *A. parasiticus* IMI 102566

เขี่ยเชื้อราลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Potato dextrose agar slant) ให้เชื้อมีการเจริญ 10-14 วัน บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และนำมาทำสารละลายสปอร์โดยการปิเปต 10 มิลลิลิตรของสารละลายทวีน 80 (tween 80) ที่ความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นใช้ลวดเขี่ยเชื้อเขี่ยสปอร์ให้หลุดออกจากผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วกรองสารละลายที่ได้ผ่านชุดกรองสำลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว [23] ทำการนับสารละลายสปอร์โดยใช้สไลด์นับเซลล์ (haemacytometer) โดยมีจำนวนสปอร์เริ่มต้นเท่ากับ 10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

2.2 การเตรียมสารสกัดจากพืช (crude extract)

เตรียมสารสกัดจากพืชสมุนไพร โดยนำประยงค์ (ใบ) และกานพลู (ดอก) นำมาอบแห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จนกระทั่งแห้ง และบดสมุนไพรให้มีขนาดเล็กด้วยเครื่องปั่น จากนั้นนำมาแช่ในเอทานอล ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ [24] ในอัตราส่วนพืช 1 กรัมต่อเอทานอล 10 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 3-7 วัน จากนั้นนำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และนำเศษพืชที่เหลือจากการกรองไปสกัดซ้ำ และนำของเหลวที่กรองได้มาระเหยเอทานอลออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ (vacuum rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส จนได้สารสกัดหยาบ (crude extract) เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

2.3 การหาความชื้นในเมล็ดข้าวโพด

นำภาชนะ (moisture can) มาอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น (desiccator) นำมาชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งความละเอียด 4 ตำแหน่ง ชั่งอย่างน้อย 3 ครั้ง จนกระทั่งน้ำหนักคงที่ และบันทึกน้ำหนักภาชนะไว้ จากนั้นนำข้าวโพด 5 กรัม ใส่ในภาชนะ และบันทึกน้ำหนักของข้าวโพดพร้อมกับภาชนะ แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น และนำมาชั่งน้ำหนักข้าวโพดพร้อมภาชนะอีกครั้งเพื่อนำมาวิเคราะห์หาความชื้น [25] ดังนี้

$$P = \frac{(A - B)x\ 100}{C}$$

เมื่อ P คือเปอร์เซ็นต์ความชื้นในข้าวโพด
A คือน้ำหนักของภาชนะกับน้ำหนักของข้าวโพดก่อนอบ
B คือน้ำหนักของภาชนะกับน้ำหนักของข้าวโพดหลังอบ
C คือน้ำหนักข้าวโพดก่อนอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืช

วางแผนการทดลองแบบ 2 x 4 x 4 factorial in CRD จำนวน 4 ซ้ำ ประกอบด้วย 3 ปัจจัย ปัจจัยแรกคือ ชนิดของสารสกัดจากพืช 2 ชนิด ได้แก่ ประยงค์ และกานพลู ปัจจัยที่สองคือ ระดับความเข้มข้นของสารสกัด 4 ระดับ ได้แก่ 10,000 พีพีเอ็ม 15,000 พีพีเอ็ม 20,000 พีพีเอ็ม และ 25,000 พีพีเอ็ม และปัจจัยที่สาม คือ ระยะเวลาในการบ่มเชื้อรา 7, 14, 21 และ 28 วัน

ชั่งเมล็ดข้าวโพดใส่ลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 125 มิลลิลิตร ขวดละ 25 กรัม โดยแบ่งออกเป็น 2 ชุด ชุดแรกนำไปฆ่าเชื้อโดยการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว และทิ้งไว้จนเย็น และชุดที่สองเป็นเมล็ดข้าวโพดที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ วัดความชื้นของเมล็ดข้าวโพดและปรับความชื้นเริ่มต้นในเมล็ดข้าวโพดทั้ง 2 ชุด ให้ได้ความชื้นเริ่มต้นที่ 25 เปอร์เซ็นต์ โดยการเติมน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ จากนั้นนำสารสกัดจากพืชที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 4 มิลลิลิตรต่อฟลาสก์ มาสเปรย์ให้ทั่วเมล็ดข้าวโพดคลุกเคล้าให้เข้ากัน และนำไปคลุกกับสารละลายสปอร์ของเชื้อราที่ระดับความเข้มข้น 10^6 สปอร์ต่อกรัม โดยมีชุดควบคุมที่หนึ่งคือ ข้าวโพดที่ใส่สารละลายสปอร์แต่ไม่ใส่สารสกัดจากพืช และชุดควบคุมที่สองคือ ข้าวโพดที่ไม่ใส่สารละลายสปอร์และไม่ใส่สารสกัดจากพืช และนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เก็บตัวอย่างที่ระยะเวลา 7, 14, 21 และ 28 วัน เพื่อนับจำนวนสปอร์ของเชื้อราและตรวจหาความเข้มข้นของสารพิษอะฟลาทอกซินในเมล็ดข้าวโพดด้วยเครื่องโครมาโทกราฟฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography, HPLC)

2.5 การทดสอบการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อราในเมล็ดข้าวโพดอาหารสัตว์ด้วยเทคนิค spread plate

นำเมล็ดข้าวโพดที่เก็บตัวอย่างในวันต่างๆ จากการทดลองในข้อ 2.4 มาเติมสารละลาย tween 80 ความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ (ผ่านการฆ่าเชื้อ) ปริมาตร 45 มิลลิลิตร กรองเส้นใยออกด้วยชุดกรองสำลีที่ปลอดเชื้อ นำสารละลายสปอร์ที่ได้มาทำการเจือจางลงระดับละ 10 เท่า จนถึงระดับที่เหมาะสม ปิเปตต์สารละลายตัวอย่างที่ทำเจือจางแล้ว ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) ทำการทดลองจำนวน 4 ซ้ำ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน โดยไม่ต้องคว่ำจานเพาะเชื้อ ทำการตรวจนับปริมาณเชื้อรา โดยนับจำนวนโคโลนีในจานอาหารที่มีจำนวนเซลล์ 30-300 โคโลนี คำนวณหาค่าโคโลนีของเชื้อราในตัวอย่าง 1 กรัม โดยมีหน่วยเป็นโคโลนีต่อกรัม (CFU/g; Colony Forming Unit/g) [26]

2.6 การวิเคราะห์ปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินในเมล็ดข้าวโพดอาหารสัตว์

2.6.1 การสกัดสารอะฟลาทอกซิน

การสกัดสารพิษอะฟลาทอกซิน ดัดแปลงมาจากวิธี Sep Pak Method และวิธี Rapid Method [27] โดยนำตัวอย่างข้าวโพดจากการทดลองข้างต้น มาใส่ลงในเครื่องปั่น เติมเมทานอล 50 มิลลิลิตร ปั่นเป็นเวลา 1-2 นาที กรองผ่านกระดาษกรองวัทแมน เบอร์ 1 จะได้สารละลายเมทานอลที่มีสารพิษอะฟลาทอกซินละลายอยู่ แบ่งสารละลายเมทานอลที่มีสารพิษอะฟลาทอกซินละลายอยู่มาปริมาตร 40 มิลลิลิตร ใส่ลงในกรวยแยก เติมแอมโมเนียมซัลเฟตเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 80 มิลลิลิตร (อุ่นที่ 40-50 องศาเซลเซียส) แล้วเติมเฮกเซน 40 มิลลิลิตร เขย่าและตั้งทิ้งไว้ให้เกิดการแยกชั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากนั้นแยกชั้นเฮกเซนออกจากสารละลายเมทานอลและแอมโมเนียมซัลเฟต จากนั้นเติมคลอโรฟอร์มลงในสารละลายที่เหลือ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วแยกชั้นคลอโรฟอร์มออกมา (เติมคลอโรฟอร์มลงไปแล้วทำซ้ำอีกครั้ง) นำสารละลายชั้นคลอโรฟอร์มที่มีสารอะฟลาทอกซินละลายอยู่มาระเหยด้วยเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ เติมส่วนผสมของคลอโรฟอร์มกับเฮกเซนในอัตราส่วน 3 ต่อ 7 ลงไป 10 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้มาผ่าน Lichrolut Column Chromatography ล้างคอลัมน์ด้วยเฮกเซน 10 มิลลิลิตร และใช้ส่วนผสมของเบนซีนกับกรดแอซิติก ในอัตราส่วน 95.5 ต่อ 4.5 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และล้างผ่านคอลัมน์ครั้งสุดท้ายด้วยส่วนผสมของเอทิลอีเทอร์กับเฮกเซน ในอัตราส่วน 60 ต่อ 40 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จากนั้นชะสารอะฟลาทอกซินออกจากคอลัมน์ โดยใช้ไดคลอโรมีเทนกับอะซิโตน ในอัตราส่วน 9 ต่อ 1 ปริมาตร 15 มิลลิลิตร นำสารที่ได้ไประเหยด้วยเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศจนแห้ง และนำไปวิเคราะห์สารอะฟลาทอกซินด้วยเครื่องโครมาโทกราฟฟีของเหลวสมรรถนะสูงต่อไป

2.6.2 การวิเคราะห์หาความเข้มข้นของสารอะฟลาทอกซินในเมล็ดข้าวโพดอาหารสัตว์โดยใช้เครื่อง HPLC

นำเมทานอล ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ละลายสารอะฟลาทอกซินที่อยู่ในขวดตัวอย่าง จากนั้นนำมากรองผ่าน membrane filter (Millipore) 0.45 ไมครอน เก็บไว้ในขวด vial แล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง HPLC โดยใช้ UV spectrophotometric detecter SPD เป็นเครื่องวัดสัญญาณที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร และใช้คอลัมน์ชนิด reverse phase C18 ขนาด 4.9 x 25 เซนติเมตร เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ใช้อัตราส่วนโดยปริมาตรของเมทานอลต่อน้ำต่อกรดแอซีติก (50:45:5) อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ฉีดสารตัวอย่างครั้งละ 10 ไมโครลิตร [28] บันทึกโครมาโทแกรม (chromatogram) คำนวณหาความเข้มข้นของสารอะฟลาทอกซินในข้าวโพด โดยนำค่าที่ได้จากพื้นที่ใต้พีก (peak area) และค่า Retention time ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารอะฟลาทอกซิน

2.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลจากการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (3 way ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธีของทูกีย์ (Tukey's Multiple Comparison test) ที่ระดับนัยสำคัญ 5% ($P \leq 0.05$) [29]

3. ผลการทดลอง

3.1 ผลการยับยั้งการสร้างสปอร์และการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพด

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืช 2 ชนิด คือ ประยงค์และกานพลู ที่ระดับความเข้มข้น 10,000 พีพีเอ็ม 15,000 พีพีเอ็ม 20,000 พีพีเอ็ม และ 25,000 พีพีเอ็ม และระยะเวลาบ่ม 7, 14, 21 และ 28 วัน ต่อการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพดที่ผ่านการฆ่าเชื้อและไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ ปรากฏผลการทดลองดังตารางที่ 1 และ 2 พบว่า มีปัจจัยร่วมกันระหว่างสารสกัด ระดับความเข้มข้น และระยะเวลาในการบ่ม โดยในเมล็ดข้าวโพดที่ผ่านการฆ่าเชื้อพบว่าสารสกัดจากกานพลูในทุกระดับความเข้มข้น และประยงค์ที่ระดับความเข้มข้น 20,000 พีพีเอ็ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และ 25,000 พีพีเอ็ม มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ได้อย่างสมบูรณ์ เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อราเป็นเวลา 28 วัน ส่วนสารสกัดจากประยงค์ที่ระดับความเข้มข้น 10,000 พีพีเอ็ม และ 15,000 พีพีเอ็ม เกิดการเจริญของเชื้อรา นับจำนวนเฉลี่ยของสปอร์ได้ 6.74×10^4 และ 5.26×10^2 โคโลนีต่อกรัม ตามลำดับ เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 28 วัน (ตารางที่ 1) สำหรับเมล็ดข้าวโพดที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ พบว่าสกัดจากกานพลูในทุกระดับความเข้มข้น และประยงค์ที่ระดับความเข้มข้น 20,000 พีพีเอ็ม และ 25,000 พีพีเอ็ม มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ได้อย่างสมบูรณ์ เป็นเวลา 28 วัน ส่วนสารสกัดจากประยงค์ที่ระดับความเข้มข้น 10,000 พีพีเอ็ม และ 15,000 พีพีเอ็ม เกิดการเจริญของเชื้อรา นับจำนวนเฉลี่ยของสปอร์ได้ 6.91×10^2 และ 4.37×10^1 โคโลนีต่อกรัม ตามลำดับ เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อราเป็นเวลา 21 วันขึ้นไป (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1. ผลการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Aspergillus flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพดที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยสารสกัดจากพืชที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

สารสกัด	ความเข้มข้น (ppm)	ค่าเฉลี่ยจำนวนสปอร์ (โคโลนีต่อกรัม) ระยะเวลาบ่ม (วัน)			
		7	14	21	28
ประยงค์	10,000	0.00 ± 0.000^c (**)	32.6 ± 0.727^c (2.23%)	$1.14 \times 10^2 \pm 5.910^c$ (5.18%)	$6.74 \times 10^4 \pm 6.480^a$ (0.01%)
	15,000	0.00 ± 0.000^c (**)	0.00 ± 0.000^c (**)	26.1 ± 1.115^c (4.27%)	$5.26 \times 10^2 \pm 9.030^b$ (1.72%)
	20,000	0.00 ± 0.000^c (**)	0.00 ± 0.000^c (**)	0.00 ± 0.000^c (**)	0.00 ± 0.000^c (**)
	25,000	0.00 ± 0.000^c (**)	0.00 ± 0.000^c (**)	0.00 ± 0.000^c (**)	0.00 ± 0.000^c (**)
กานพลู	10,000	0.00 ± 0.000^c (**)	0.00 ± 0.000^c (**)	0.00 ± 0.000^c (**)	0.00 ± 0.000^c (**)
	15,000	0.00 ± 0.000^c (**)	0.00 ± 0.000^c (**)	0.00 ± 0.000^c (**)	0.00 ± 0.000^c (**)
	20,000	0.00 ± 0.000^c (**)	0.00 ± 0.000^c (**)	0.00 ± 0.000^c (**)	0.00 ± 0.000^c (**)
	25,000	0.00 ± 0.000^c (**)	0.00 ± 0.000^c (**)	0.00 ± 0.000^c (**)	0.00 ± 0.000^c (**)
ชุดควบคุม 1		5.28×10^8	4.45×10^9	3.72×10^{10}	1.36×10^{11}
ชุดควบคุม 2		0.00	0.00	0.00	0.00

* ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

** ไม่สามารถหาค่าสัมประสิทธิ์ของความผันแปร (C.V.) ได้ เนื่องจากค่าเฉลี่ยมีค่าเท่ากับศูนย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2. ผลการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Aspergillus flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพดที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยสารสกัดจากพืชที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

สารสกัด	ความเข้มข้น (ppm)	ค่าเฉลี่ยจำนวนสปอร์ (โคโลนีต่อกรัม) ระยะเวลาบ่ม (วัน)			
		7	14	21	28
ประยงค์	10,000	0.00 ± 0.000^{c} (**)	24.0 ± 2.450^{c} (10.21%)	$6.91 \times 10^{2} \pm 8.060^{b}$ (1.17%)	$1.35 \times 10^{4} \pm 6.060^{a}$ (0.04%)
	15,000	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)	43.7 ± 1.480^{c} (3.39%)	$2.04 \times 10^{2} \pm 3.650^{b}$ (1.79%)
	20,000	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)
	25,000	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)
กานพลู	10,000	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)
	15,000	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)
	20,000	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)
	25,000	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)
ชุดควบคุม 1		1.92×10^{8}	2.15×10^{10}	4.47×10^{11}	5.40×10^{11}
ชุดควบคุม 2		0.00	0.00	0.00	0.00

* ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

** ไม่สามารถหาค่าสัมประสิทธิ์ของความผันแปร (C.V.) ได้ เนื่องจากค่าเฉลี่ยมีค่าเท่ากับศูนย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3. ผลการยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพดที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยสารสกัดจากพืชที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

สารสกัด	ความเข้มข้น (ppm)	ค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน (ไมโครกรัมต่อกรัม) ระยะเวลาบ่ม (วัน)			
		7	14	21	28
ประยงค์	10,000	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.13±0.017^{c} (13.08%)	2.08±0.063^{a} (3.03%)
	15,000	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.29±0.032^{b} (11.03%)
	20,000	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)
	25,000	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)
กานพลู	10,000	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)
	15,000	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)
	20,000	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)
	25,000	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)
ชุดควบคุม 1		2.44	13.78	58.14	87.90
ชุดควบคุม 2		0.00	0.00	0.00	0.00

* ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

** ไม่สามารถหาค่าสัมประสิทธิ์ของความผันแปร (C.V.) ได้ เนื่องจากค่าเฉลี่ยมีค่าเท่ากับศูนย์

เมื่อเปรียบเทียบผลการยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินจากเชื้อ *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพดที่ผ่านการฆ่าเชื้อและไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ โดยสารสกัดจากพืชทั้ง 2 ชนิดปรากฏผลการทดลองดังตารางที่ 3 และ 4 พบว่าในเมล็ดข้าวโพดที่ผ่านการฆ่าเชื้อ สารสกัดจากกานพลูในทุกระดับความเข้มข้นและประยงค์ที่ระดับความเข้มข้น 20,000 พีพีเอ็ม และ 25,000 พีพีเอ็ม มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้อย่างสมบูรณ์ เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อราเป็นเวลา 28 วัน สำหรับสารสกัดจากประยงค์ที่ระดับความเข้มข้น 10,000 พีพีเอ็ม ที่ระยะเวลาบ่ม 21 และ 28 วัน เกิดการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน โดยมีค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินเท่ากับ 0.31 และ 2.08 ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ และที่ระดับความเข้มข้น 15,000 พีพีเอ็ม ที่ระยะเวลาบ่ม 28 วัน เกิดการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน โดยมีค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินเท่ากับ 0.29 ไมโครกรัมต่อกรัม (ตารางที่ 3) และในเมล็ดข้าวโพดที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ พบว่าสารสกัดจากกานพลูในทุกระดับความเข้มข้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และประยงค์ที่ระดับความเข้มข้น 20,000 พีพีเอ็ม และ 25,000 พีพีเอ็ม มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้อย่างสมบูรณ์ เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อราเป็นเวลา 28 วัน สำหรับสารสกัดจากประยงค์ที่ระดับความเข้มข้น 10,000 พีพีเอ็ม ระยะเวลาบ่ม 21 และ 28 วัน เกิดการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน โดยมีค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินเท่ากับ 0.15 และ 2.13 ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ และที่ระดับความเข้มข้น 15,000 พีพีเอ็ม ที่ระยะเวลาบ่ม 28 วัน เกิดการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน โดยมีค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินเท่ากับ 0.25 ไมโครกรัมต่อกรัม (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4. ผลการยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพดที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยสารสกัดจากพืชที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

สารสกัด	ความเข้มข้น (ppm)	ค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน (ไมโครกรัมต่อกรัม)			
		ระยะเวลาบ่ม (วัน)			
		7	14	21	28
ประยงค์	10,000	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.15±0.039^{c} (26.00%)	2.13±0.076^{a} (3.57%)
	15,000	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.25±0.031^{b} (12.40%)
	20,000	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)
	25,000	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)
กานพลู	10,000	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)
	15,000	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)
	20,000	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)
	25,000	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)
ชุดควบคุม 1		3.08	14.18	60.77	93.99
ชุดควบคุม 2		0.00	0.00	0.00	0.00

* ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

** ไม่สามารถหาค่าสัมประสิทธิ์ของความผันแปร (C.V.) ได้ เนื่องจากค่าเฉลี่ยมีค่าเท่ากับศูนย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 ผลการยับยั้งการสร้างสปอร์และการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* IMI 102566 ในเมล็ดข้าวโพด

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืช 2 ชนิด คือ ประยงค์และกานพลู ที่ระดับความเข้มข้น 10,000 พีพีเอ็ม 15,000 พีพีเอ็ม 20,000 พีพีเอ็ม และ 25,000 พีพีเอ็ม และระยะเวลาบ่ม 7, 14, 21 และ 28 วัน ต่อการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 ในเมล็ดข้าวโพดที่ผ่านการฆ่าเชื้อและไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ ปรากฏผลการทดลองดังตารางที่ 5 และ 6 พบว่ามีปัจจัยร่วมกันระหว่างสารสกัด ระดับความเข้มข้น และระยะเวลาบ่ม โดยในเมล็ดข้าวโพดที่ผ่านการฆ่าเชื้อ พบว่าสารสกัดจากกานพลูในทุกระดับความเข้มข้น และประยงค์ที่ระดับความเข้มข้น 20,000 พีพีเอ็ม และ 25,000 พีพีเอ็ม มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 ได้อย่างสมบูรณ์ เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อราเป็นเวลา 28 วัน สำหรับสารสกัดจากประยงค์ที่ระดับความเข้มข้น 10,000 พีพีเอ็ม และ 15,000 พีพีเอ็ม เกิดการเจริญของเชื้อรา เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อราเป็นเวลา 21 วันขึ้นไป โดยนับจำนวนเฉลี่ยของสปอร์ได้ 3.19×10^4 และ 2.85×10^2 โคโลนีต่อกรัม ตามลำดับ ในวันที่ 28 (ตารางที่ 5) และในเมล็ดข้าวโพดที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ พบว่าสารสกัดจากกานพลูในทุกระดับความเข้มข้น และประยงค์ที่ระดับความเข้มข้น 20,000 พีพีเอ็ม และ 25,000 พีพีเอ็ม มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 ได้อย่างสมบูรณ์ เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อราเป็นเวลา 28 วัน ส่วนสารสกัดจากประยงค์ที่ระดับความเข้มข้น 10,000 พีพีเอ็ม ระยะเวลาบ่ม 21 และ 28 วัน เกิดการเจริญของเชื้อรา นับจำนวนเฉลี่ยของสปอร์ได้ 5.49×10^2 และ 3.66×10^4 โคโลนีต่อกรัม ตามลำดับ และที่ระดับความเข้มข้น 15,000 พีพีเอ็ม ระยะเวลาบ่ม 21 และ 28 วันเกิดการเจริญของเชื้อรา นับจำนวนเฉลี่ยของสปอร์ได้ 3.24×10^1 และ 2.23×10^2 โคโลนีต่อกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

เมื่อเปรียบเทียบผลการยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินจากเชื้อ *A. parasiticus* IMI 102566 ในเมล็ดข้าวโพดที่ผ่านการฆ่าเชื้อและไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ โดยสารสกัดจากพืชทั้ง 2 ชนิด ปรากฏผลการทดลองดังตารางที่ 3.7 และ 3.8 พบว่าในเมล็ดข้าวโพดที่ผ่านการฆ่าเชื้อ สารสกัดจากกานพลูในทุกระดับความเข้มข้น และประยงค์ที่ระดับความเข้มข้น 20,000 พีพีเอ็ม และ 25,000 พีพีเอ็ม มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้อย่างสมบูรณ์ เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อราเป็นเวลา 28 วัน ส่วนสารสกัดจากประยงค์ที่ระดับความเข้มข้น 10,000 พีพีเอ็ม ระยะเวลาบ่ม 21 และ 28 วัน เกิดการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน โดยมีค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินเท่ากับ 0.08 และ 0.89 ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ และที่ระดับความเข้มข้น 15,000 พีพีเอ็ม ที่ระยะเวลาบ่ม 28 วัน เกิดการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน โดยมีค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินเท่ากับ 0.14 ไมโครกรัมต่อกรัม (ตารางที่ 7) และในเมล็ดข้าวโพดที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ พบว่าสารสกัดจากกานพลูในทุกระดับความเข้มข้น และประยงค์ที่ระดับความเข้มข้น 20,000 พีพีเอ็ม และ 25,000 พีพีเอ็ม มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้อย่างสมบูรณ์ เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อราเป็นเวลา 28 วัน สำหรับสารสกัดจากประยงค์ที่ระดับความเข้มข้น 10,000 พีพีเอ็ม ระยะเวลาบ่ม 21 และ 28 วัน เกิดการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน โดยมีค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินเท่ากับ 0.19 และ 1.82 ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ และที่ระดับความเข้มข้น 15,000 พีพีเอ็ม ที่ระยะเวลาบ่ม 28 วัน เกิดการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน โดยมีค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินเท่ากับ 0.13 ไมโครกรัมต่อกรัม (ตารางที่ 8)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5. ผลการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* IMI 102566 ในเมล็ดข้าวโพดที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยสารสกัดจากพืชที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

สารสกัด	ความเข้มข้น (ppm)	ค่าเฉลี่ยจำนวนสปอร์ (โคโลนีต่อกรัม) ระยะเวลาบ่ม (วัน)			
		7	14	21	28
ประยงค์	10,000	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)	$1.53 \times 10^{2} \pm 4.790^{bc}$ (3.13%)	$3.19 \times 10^{4} \pm 3.740^{a}$ (0.01%)
	15,000	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)	42.5 ± 1.140^{c} (2.68%)	$2.85 \times 10^{2} \pm 6.950^{b}$ (2.44%)
	20,000	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)
	25,000	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)
กานพลู	10,000	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)
	15,000	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)
	20,000	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)
	25,000	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)	0.00 ± 0.000^{c} (**)
ชุดควบคุม 1		4.72×10^{8}	2.56×10^{10}	5.89×10^{10}	3.28×10^{11}
ชุดควบคุม 2		0.00	0.00	0.00	0.00

* ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

** ไม่สามารถหาค่าสัมประสิทธิ์ของความผันแปร (C.V.) ได้ เนื่องจากค่าเฉลี่ยมีค่าเท่ากับศูนย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6. ผลการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* IMI 102566 ในเมล็ดข้าวโพดที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยสารสกัดจากพืชที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

สารสกัด	ความเข้มข้น (ppm)	ค่าเฉลี่ยจำนวนสปอร์ (โคโลนีต่อกรัม) ระยะเวลาบ่ม (วัน)			
		7	14	21	28
ประยงค์	10,000	0.00 ± 0.000^{d} (**)	0.00 ± 0.000^{d} (**)	$5.49 \times 10^{2} \pm 3.650^{b}$ (0.66%)	$3.66 \times 10^{4} \pm 4.030^{a}$ (0.01%)
	15,000	0.00 ± 0.000^{d} (**)	0.00 ± 0.000^{d} (**)	32.4 ± 0.877^{cd} (2.71%)	$2.23 \times 10^{2} \pm 4.030^{c}$ (1.81%)
	20,000	0.00 ± 0.000^{d} (**)	0.00 ± 0.000^{d} (**)	0.00 ± 0.000^{d} (**)	0.00 ± 0.000^{d} (**)
	25,000	0.00 ± 0.000^{d} (**)	0.00 ± 0.000^{d} (**)	0.00 ± 0.000^{d} (**)	0.00 ± 0.000^{d} (**)
กานพลู	10,000	0.00 ± 0.000^{d} (**)	0.00 ± 0.000^{d} (**)	0.00 ± 0.000^{d} (**)	0.00 ± 0.000^{d} (**)
	15,000	0.00 ± 0.000^{d} (**)	0.00 ± 0.000^{d} (**)	0.00 ± 0.000^{d} (**)	0.00 ± 0.000^{d} (**)
	20,000	0.00 ± 0.000^{d} (**)	0.00 ± 0.000^{d} (**)	0.00 ± 0.000^{d} (**)	0.00 ± 0.000^{d} (**)
	25,000	0.00 ± 0.000^{d} (**)	0.00 ± 0.000^{d} (**)	0.00 ± 0.000^{d} (**)	0.00 ± 0.000^{d} (**)
ชุดควบคุม 1		5.44×10^{8}	3.56×10^{9}	3.87×10^{10}	1.75×10^{11}
ชุดควบคุม 2		0.00	0.00	0.00	0.00

* ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

** ไม่สามารถหาค่าสัมประสิทธิ์ของความผันแปร (C.V.) ได้ เนื่องจากค่าเฉลี่ยมีค่าเท่ากับศูนย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7. ผลการยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* IMI 102566 ในเมล็ดข้าวโพดที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยสารสกัดจากพืชที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

สารสกัด	ความเข้มข้น (ppm)	ค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ระยะเวลาบ่ม (วัน)			
		7	14	21	28
ประยงค์	10,000	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.08±0.008^{c} (10.00%)	0.89±0.031^{a} (3.48%)
	15,000	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.14±0.022^{b} (15.71%)
	20,000	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)
	25,000	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)
กานพลู	10,000	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)
	15,000	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)
	20,000	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)
	25,000	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)
ชุดควบคุม 1		1.47	11.82	46.67	82.19
ชุดควบคุม 2		0.00	0.00	0.00	0.00

* ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

** ไม่สามารถหาค่าสัมประสิทธิ์ของความผันแปร (C.V.) ได้ เนื่องจากค่าเฉลี่ยมีค่าเท่ากับศูนย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8. ผลการยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* IMI 102566 ในเมล็ดข้าวโพดที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยสารสกัดจากพืชที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

สารสกัด	ความเข้มข้น (ppm)	ค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)			
		ระยะเวลาบ่ม (วัน)			
		7	14	21	28
ประยงค์	10,000	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.19±0.017^{b} (8.95%)	1.82±0.036^{a} (1.98%)
	15,000	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.13±0.029^{c} (22.31%)
	20,000	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)
	25,000	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)
กานพลู	10,000	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)
	15,000	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)
	20,000	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)
	25,000	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)	0.00±0.000^{d} (**)
ชุดควบคุม 1		3.01	13.06	47.12	82.81
ชุดควบคุม 2		0.00	0.00	0.00	0.00

* ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

** ไม่สามารถหาค่าสัมประสิทธิ์ของความผันแปร (C.V.) ได้ เนื่องจากค่าเฉลี่ยมีค่าเท่ากับศูนย์

4. สรุปผลการทดลองและวิจารณ์

จากผลการทดลอง พบว่ามีปัจจัยร่วมกันระหว่างสารสกัด ระดับความเข้มข้น และระยะเวลาบ่ม โดยสารสกัดกานพลูในทุกระดับความเข้มข้น และสารสกัดจากประยงค์ที่ระดับความเข้มข้น 20,000 และ 25,000 พีพีเอ็ม ในทุกระยะเวลาการบ่ม มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus flavus* IMI 242684 และ *A. parasiticus* IMI 102566 ในเมล็ดข้าวโพดที่ผ่านการฆ่าเชื้อและไม่ผ่านการฆ่าเชื้อได้อย่างสมบูรณ์ ส่วนสารสกัดจากประยงค์ที่ระดับความเข้มข้น 10,000 และ 15,000 พีพีเอ็ม สามารถยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อราทั้งสองได้อย่างสมบูรณ์ ที่ระยะเวลาบ่มน้อยกว่า 21 วัน เท่านั้น จากผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการรายงานของ Salmeron และ Pozo [30] ที่ศึกษาผลของสารสกัดกานพลู ที่ระดับความเข้มข้น 2,500 พีพีเอ็ม 5,000 พีพีเอ็ม และ 10,000 พีพีเอ็ม ต่อการยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. flavus* และ *A. parasiticus* ในอาหารเหลวที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4, 7, 10, 14 และ 21 วัน พบว่าสารสกัดจากกานพลูที่ระดับความเข้มข้น 5,000 พีพีเอ็ม สามารถยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อราทั้ง 2 ชนิดได้ นอกจากนี้ Hitokoto และคณะ [31] ได้ทำการศึกษาสารสกัด eugenol ซึ่งสกัดได้จากกานพลู ที่ระดับความเข้มข้น 4,000 พีพีเอ็ม พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus* sp. ได้อย่างสมบูรณ์ ในขณะที่ความเข้มข้นต่ำกว่านี้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ แต่ไม่สามารถยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน และ Engelmeier และคณะ [32] ได้ทดลองการสกัดแยกสารกลุ่ม flavaglines จากใบประยงค์ (*Aglaia odorata*), *A. elaeagnoidea* และ *A. edulis* เมื่อนำมาศึกษาความเป็นพิษต่อเชื้อรา 3 ชนิด คือ *Magnaporthe grisea*, *Fusarium avenaceum* และ *Alternaria citri* ด้วยวิธี microdilution technique ร่วมกับ digital image analysis เพื่อทดสอบความสามารถในการงอกเป็นเส้นใย (germ tube) พบว่าสาร rocaglaol ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของสารกลุ่ม benzofuran มีฤทธิ์สูงที่สุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *M. grisea* และประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราชนิดนี้ยังสูงกว่าสารเคมีป้องกันและกำจัดเชื้อราที่ใช้ในเชิงการค้า คือ สาร blasticidin S และ benlate อีกด้วย และ Zaika และคณะ [33] ได้รายงานว่า เมื่อการเจริญของเชื้อราถูกยับยั้ง ผลที่ตามมาคือจะไม่มีการสร้างหรือมีปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินลดลง โดยสารเคมีหรือสารสกัดต่างๆ ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก็จะเป็นการยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินตามไปด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ดร. เยาวพา สุวัตถิ กลุ่มวิจัยชีววิเคราะห์ สถาบันวิจัยและพัฒนาองค์การเภสัชกรรม ที่กรุณาให้คำแนะนำวิธีการทดสอบ และขอบพระคุณ อาจารย์สุจิตรา สุคนธมัต อาจารย์ประจำสาขาวิชาสถิติ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่กรุณาให้คำแนะนำทางด้านการออกแบบการทดลองในเชิงสถิติ

เอกสารอ้างอิง (References)

[1] Gloria, E.M., Fonseca, H. and Souza, I.M., 1997. Occurrence of mycotoxins in maize delivered to the food industry in Brasil. *Trop. Sci.*, 37, 107-110.

[2] Solovey, M.M., Somoza, C., Cano, G., Pacin, A. and Resnik, S., 1999. A survey of fumonisins, deoxyvalenol, zearalenone and aflatoxins contamination in corn-based food products in Argentina. *Food Add. Cont.*, 16(8), 325-329.

[3] Ali, N.S., Yamashita, A. and Yoshizawa, T., 1998. Natural co-occurrence of aflatoxins and *Fusarium* mycotoxins (fumonisins, deoxynivalenol, nivalenol and zearalenone) in corn from Indonesia. *Food Add. Cont*., 15(4), 377-384.

[4] Asanuma, K., and Vayuparp, S., 1985. Contamination of aflatoxin on maize kernels in Thailand. Proceedings of 21st of the Japanese Association of Mycotoxicology, Japan, pp. 17.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[5] Goto, T., Kawasugi, S., Tsuruta, 0., Okazaki, H., Siriacha, P., Buangsuwon, D., and Manabe, M., 1986. Aflatoxin contamination of maize in Thailand and aflatoxin contamination of maize harvested in the rainy seasons of 1984 and 1985. Proceedings of 24th of the Japanese Association of Mycotoxicology, Japan, pp. 53

[6] Siriacha, P., Wongurai, A., Tanboon-Ek, P., and Buangsuwon, D., 1983. Incidence of aflatoxin in maize. Proceedings of 6th ASEAN Annual Workshop on Grain Postharvest Technology, Puncak Pass, Indonesia, pp. 341-348

[7] Frisvad, J.C., Neilsen, K.F. and Samson, R.A., 2006. Recommendations concerning the chronic problem of misidentification of mycotoxigenic fungi associated with foods and feeds: Advances in Food Mycology, Springer, New York.

[8] CAST, 1989. Mycotoxins, Economic and Health Risks. Council for Agricultural Science and Technology, Task Force Report, 116, pp. 28-35

[9] Stoloff, L., Rodricks, J.V., Hesseltine, C.W. and Mehlman M.A., 1997. Mycotoxin in Human and Animal Health. Pathotox Publisher, Park forest South III.

[10] Eaton, D.L. and Groopman, J.D., 1994. The Toxicology of Aflatoxins, Human Health, Veterinary and Agricultural Significance: Academic Press, San Diego.

[11] Blesa, J., Soriano, J.M., Molto, J.C. and Manes, J., 2004. Limited survey for the presence of aflatoxins in foods from local market and supermarkets in Valencia. *Food Add. Cont*., 21, 165-171.

[12] Pietri, A., Bertuzzi, T., Pallaroni, L. and Piva, J., 2004. Occurrence of mycotoxins and ergosterol in maize harvested over 5 year in northern Italy. *Food Add. Cont.*, 21, 479-487.

[13] Abbas, H.K., Cartwright, R.D., Xie, W. and Shier, W.T., 2006. Aflatoxin and fumonisin contamination of corn (maize, *Zea mays*) hybrids in Arkansas. *Crop. Prot.*, 25, 1-9.

[14] Dalcero, A., Magnoli, C., Luna, M., Ancasi, G., Reynoso, M.M., Chiacchiera, S., Miazzo, R. and Palacio, G., 1998. Mycoflora and naturally occurring mycotoxins in poultry feeds in Argentina. *Mycopathologia*, 141, 37-43.

[15] Sassahara, M., Pontes Netto, D. and Yanaka, E.K., 2005. Aflatoxin occurrence in food stuff supplied to dairy cattle and aflatoxin M1 in raw milk in the north of Parma state. *Food Chem. Toxicol.*, 43, 981-984.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[16] ดุษณี ธนะบริพัฒน์ และ อรไท สุขเจริญ. 2540.การสำรวจหาสารพิษอะฟลาทอกซินในน้ำนมมารดา. *วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง*, 5(2), 1-5. [Dusanee Thanaboripat and Orathai Sukcharoen. 1997. Survey of aflatoxin in milk of mothers. Journal of Science Ladkrabang, 5(2), 1-5. (in Thai)]

[17] Jelinek, C.F. Pohland, A.E. and Wood, G., 1989. Worldwide occurrence of mycotoxins in food and feeds. *J. Assoc. Off. Anal Chem.*, 72, 223-230.

[18] Vasanthi, S. and Bhat, R.V., 1998. Mycotoxin in foods-occurrence, health and economic significance and food control measures. *Indian J. Med. Res.*, 108, 212-224.

[19] Oyebangi, A.O. and Efiuvwevwere, B.J.O., 1999. Growth of spoilage mold and aflatoxin B1 production in naturally contaminated or artificially inoculated maize as influenced by moisture content under ambient tropical condition. *Inter Biodeter. Biodegr.*, 44, 209-217.

[20] Bhat, R.V., Vasanthi, S., Rao, S.B., Rao, N.R., Rao, S.V., Nagaraja, K.V., Bai, N.R., Prasad, K., Vanchinathan, S., Roy, R., Saha, S., Mukherjee, A., Ghosh, P.K., Toteja, G.S. and Saxena, B.N., 1997. Aflatoxin B1 contamination in maize samples collected from different geographical regions of India - a multicentre study. *Food Add. Cont.*, 14(2), 151-156.

[21] Bradburn, N., Blunden, G., Coker, RD. and Jewers, K., 1993. Aflatoxin contamination in Maize. *Trop. Sci.*, 33, 418-428.

[22] Marth, E.H. and Doyle, M.P., 1979. Update on mold degradation of aflatoxin. *Food Technol.*, 33, 81-87.

[23] Nguefack, J., Leth, V., Zollo, A.P.H. and Mathur, S.B., 2004. Evaluation of five essential oils from aromatic plants of Cameroon for controlling food spoilage and mycotoxin producing fungi. *Int. J. Food Microbiol.*, 94, 329-334.

[24] Kumar, T., Rungseevijitprapa, W., Chaiyasut, C. and Suttajit, M., 2011. Screening of steroid 5 α-reductase inhibitory activity and total phenolic content of Thai plants. *J. Med. Plants Res.*, 5(7), 1265-1271.

[25] AOAC., 1995. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist: 16th ed. The Association of Official Analytical Chemist, Arlington.

[26] Pitt, J.I. and Hocking, A.D., 1989. *Aspergillus* and related telemorphs. Fungi and Food Spoilage, 3rd ed. Springer, London, England.

[27] Seitz, L. M. and Mohr, H.E., 1974. A new method for quantitation of aflatoxin in corn. *Cereal Chem.*, 54, 179-183.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[28] Thanaboripat, D., Nontabenjawan, K., Leesin, K., Teerapiannont, D., Sukcharoen, O. and Ruangrattanamatec, R., 1997. Inhibitory effect of garlic, clove and carrot on growth of *Aspergillus flavus* and aflatoxin production. *J. Forestry. Res.*, 8(1), 39-42.

[29] Montgomery, D.C., 2001. Design and Analysis of Experiments. 5th ed. John Wiley & Sons, Inc., New York.

[30] Salmeron, J. and Pozo, R., 1991. Effect of cinnamin (*Cinnamonum zeylanicum*) and clove (*Euginia caryophyllus*) on growth and toxigenesis of *Aspergillus flavus*: *Mycobiologie-Aliment-Nut*, 9(1), 83-87.

[31] Hitokoto, H., Morozumi, S., Nauka, T., Sakai, S. and Ueno, I., 1980. Inhibitory effect of spices on growth and toxin production by toxigenic fungi. *App. Environ. Microbiol*., 39, 818-822.

[32] Engelmeier, D., Hadacek, F., Pacher, T., Vajrodaya S. and Greger, H., 2000. Cyclopenta benzofurans from *Aglaia* species with pronounced antifungal activity against rice blast fungus (*Pyricularia grisea*). *J. Agric. Food. Chem.*, 48, 1400-1404.

[33] Zaika, L.L. and Buchanan, R.L., 1987. Review of compounds affecting the biosynthesis or bioregulation of aflatoxin. *J. Food Prot*., 50, 691-708.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้