สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การควบคุมการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* โดยน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ ตะไคร้หอม และเสม็ดขาว

นฤวรรณ ดำดี
ชนัญชิภา แก้วพวง

ปพ.
ท281ก
2550

เลขหมู่ 83974
เลขทะเบียน
วัน,เดือน,ปี 23 ก.ย. 2551

b 11983152
i

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Control of growth and aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus* by essential oils from lemongrass, citronella and whitewood

Naruewan Damdee

Chananchipa Kaewpuang

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement

for the Degree of Bachelor of Science

Biotechnology Program

Department of Applied Biology, Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2007

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง การควบคุมการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. parasiticus* โดยน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ ตะไคร้หอมและเสม็ดขาว

นักศึกษา นางสาวนฤวรรณ ดำดี รหัส 47050133

นางสาวชนัญชิภา แก้วพวง รหัส 47050163

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร. ดุษณี ธนะบริพัฒน์

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ดร. เยาวพา สุวัตถิ

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้ทำโครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ		ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ	ผศ.ดร. พนา โลหะทรัพย์ทวี	
กรรมการ	รศ.ดร. ดุษณี ธนะบริพัฒน์	
กรรมการ	ดร. เยาวพา สุวัตถิ	

.....

(รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง)

หัวหน้าภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง	การควบคุมการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* โดยน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ ตะไคร้หอม และเสม็ดขาว
นักศึกษา	นางสาวนฤวรรณ ดำดี รหัส 47050133
	นางสาวชนัญชิภา แก้วพวง รหัส 47050163
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา	2550
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดร. ตุษณี ธนะบริพัฒน์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ดร. เยาวพา สุวัตถิ

บทคัดย่อ

จากการศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพร 3 ชนิด ได้แก่ ตะไคร้ ตะไคร้หอม และเสม็ดขาว ที่ความเข้มข้น 1, 2, 3, 4 และ 5 ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 28 วัน พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ตั้งแต่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2 เป็นต้นไป สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 7 และตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 4 และ 5 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ 100 เปอร์เซ็นต์ สำหรับเสม็ดขาวสามารถยับยั้งเชื้อราได้ตั้งแต่ความเข้มข้นที่ 3, 4 และ 5 โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเป็น 12.040, 16.219 และ 16.790 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อนำน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ความเข้มข้นร้อยละ 2 และ 3 และน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้หอมที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 และ 5 มาทดสอบการยับยั้งการสร้างสารอะฟลาทอกซิของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 บนปลายข้าว ที่บ่มไว้เป็นเวลา 7 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมปรากฏว่า ชุดควบคุมมีปริมาณอะฟลาทอกซิน ประมาณ 40 พีพีบี ในขณะที่ปลายข้าวที่มีการเติมน้ำมันหอมระเหยมีปริมาณอะฟลาทอกซิน ประมาณ 10 พีพีบี ถึง 20 พีพีบี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	Control of growth and aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus* by essential oils from lemongrass, citronella and whitewood
Name	Miss Naruewan Damdee ID 47050133
	Miss Chananchipa Kaewpuang ID 47050163
Department	Applied Biology
Program	Biotechnology
Academic Year	2007
Special Project Advisor	Assoc. Prof. Dr. Dusanee Thanaboripat
Special Project co-advisor	Dr. Yaowapha Suvathi

ABSTRACT

The effect of 3 essential oils from lemon grass, citronella and white wood at 1, 2, 3, 4 and 5% were tested for their inhibitory effect on *Aspergillus parasiticus* IMI 102566 on PDA for 28 days. The results showed that the essential oil of lemon grass at 2 to 5% (v/v) and essential oil of citronella at 4 and 5% completely inhibited the growth of *A. parasiticus* for 7 days whereas the essential oil of whitewood inhibited fungal growth at 3, 4 and 5% with diameters of inhibition zone of 12.404, 16.219 and 16.790 mm, respectively. The essential oils of lemon grass at 2 and 3% and of citronella at 4 and 5% were tested for the control of aflatoxin production by *A. parasiticus* IMI 102566 on rice when incubated for 7 days. The result showed that all concentrations of these essential oils reduced aflatoxin production by 25%- 50%.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้ได้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต และสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความกรุณาของ รศ. ดร. ดุษณี ธนะบริพัฒน์ อาจารย์ที่ปรึกษา ดร. เยาวพา สุวัตถิ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผศ. ดร. พนา โลหะทรัพย์ทวี ประธานกรรมการสอบโครงงานพิเศษ และผศ. สิทธิชัย เจริญเศรษฐศิลป์ ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ แก้ไข ตรวจสอบ ติดตามผลการดำเนินการทดลอง และให้ข้อคิดที่เป็นประโยชน์มาโดยตลอด คณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณอย่างสูงมา ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ทุกท่านที่ประสิทธิ์ประสาทความรู้และประสบการณ์ต่างๆ ทั้งในและนอกวิชาเรียนเพื่อประยุกต์ใช้ในการทำโครงงานพิเศษครั้งนี้

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่านที่ให้ความสะดวกในการเบิก - คืนอุปกรณ์สารเคมี และเครื่องมือต่างๆ พี่ปริญญาโททุกท่านที่ให้คำแนะนำและอำนวยความสะดวกในการทำโครงงานพิเศษนี้

ท้ายสุดนี้ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่ได้ให้การสนับสนุนอย่างเต็มที่ทั้งในด้านการเงินและเป็นกำลังใจมาโดยตลอด ตลอดจนขอขอบคุณเพื่อนๆทุกคนที่มีส่วนร่วมให้โครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากโครงงานพิเศษฉบับนี้ คณะผู้จัดทำขอมอบความดีแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

นฤวรรณ ดำดี
ชนัญชิภา แก้วพวง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูปภาพ	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ	2
1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 ประวัติของสารพิษอะฟลาทอกซิน	3
2.2 ชนิดของอะฟลาทอกซิน	4
2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างอะฟลาทอกซิน	4
2.4 โรคที่อาจเกิดจากการได้รับอะฟลาทอกซิน	6
2.5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารพิษในร่างกาย	6
2.6 ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดพิษของอะฟลาทอกซิน	7
2.7 การเกิดพิษจากอะฟลาทอกซินในสัตว์	8
2.8 การตรวจหาสารพิษอะฟลาทอกซิน	9
2.9 การกำหนดปริมาณอะฟลาทอกซินในอาหาร	10
2.10 การลดปริมาณเชื้อราและสารพิษอะฟลาทอกซิน	12
2.11 ผลกระทบจากอะฟลาทอกซิน	13
2.12 น้ำมันหอมระเหย	16
2.13 วิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพร	16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	18
3.1 จุลินทรีย์	18
3.2 อุปกรณ์ สารเคมี และอาหารเลี้ยงเชื้อ	18
3.3 น้ำมันหอมระเหยที่ใช้ในการทดลอง	19
3.4 วิธีการทดลอง	19
3.4.1 การเตรียมสารละลายสปอร์ของเชื้อรา *A. parasiticus*	19
3.4.2 การเตรียมสารละลายตัวอย่าง	19
3.4.3 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ ตะไคร้หอม และเสม็ดขาวที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus*	20
3.4.4 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน	20
3.4.5 การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์และการสกัดสารพิษจากตัวอย่าง	21
3.4.6 การวิเคราะห์สารพิษอะฟลาทอกซินโดยวิธี ELISA	22
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล	23
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	31
เอกสารอ้างอิง	32
ภาคผนวก ก	36
ภาคผนวก ข	40
ภาคผนวก ค	46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่

ตารางที่ 1 การกำหนดปริมาณอะฟลาทอกซินในกลุ่มประเทศประชาคมยุโรป และประเทศสหรัฐอเมริกา 11

ตารางที่ 2 แสดงผลการตรวจวิเคราะห์วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน ในประเทศไทย 15

ตารางที่ 3 ความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย(มิลลิเมตร) บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 บนอาหารPDA โดยน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 24

ตารางที่ 4 ความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย(มิลลิเมตร)บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 บนอาหารPDA โดยน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้หอมที่ระดับ ความเข้มข้นร้อยละ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 25

ตารางที่ 5 ความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย(มิลลิเมตร)บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 บนอาหารPDA โดยน้ำมันหอมระเหยจากเสม็ดขาวที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 26

ตารางที่ 6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวเส้นผ่านศูนย์กลาง (มิลลิเมตร) บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566บนอาหาร PDA ของน้ำมันหอมระเหย 3 ชนิดที่ความเข้มข้นต่างๆ 28

ตารางที่ 7 ตารางแสดงผลการเปรียบเทียบเชิงซ้อนรายคู่ของค่าเฉลี่ยความยาวเส้นผ่านศูนย์กลาง (มิลลิเมตร) บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 ของน้ำมันหอมระเหยทั้ง 3 ชนิดในทุกระดับความเข้มข้น 28

ตารางที่ ก-1 ความยาวเส้นผ่านศูนย์กลาง (มิลลิลิตรเมตร) บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 บนอาหาร PDA โดยน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ ตะไคร้หอมและเสม็ดขาวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ 37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปที่

รูปที่ 1 การสกัดน้ำมันหอมระเหยโดยการสกัดด้วย soxhlet extractor 17

รูปที่ 2 กราฟแสดงค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง(มิลลิเมตร)บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 บนอาหารPDA โดยน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 24

รูปที่ 3 กราฟแสดงค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง(มิลลิเมตร)บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 บนอาหารPDA โดยน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 25

รูปที่ 4 กราฟแสดงค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง(มิลลิเมตร)บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 บนอาหารPDA โดยน้ำมันหอมระเหยจากเสม็ดขาวที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 26

รูปที่ ข-1 ตะไคร้ 41

รูปที่ ข-2 ตะไคร้หอม 43

รูปที่ ข-3 เสม็ดขาว 45

รูปที่ ค-1 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 บนอาหาร PDA โดยน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ 47

รูปที่ ค-2 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 บนอาหาร PDA โดยน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ 48

รูปที่ ค-3 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 บนอาหาร PDA โดยน้ำมันหอมระเหยจากเสม็ดขาวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ 49

รูปที่ ค-4 ผลการตรวจสอบสารพิษโดยชุดตรวจสอบสารอะฟลาทอกซินสำเร็จรูป (DOA-Aflatoxin ELISA Test Kit) 50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ

อาหารจัดว่าเป็นหนึ่งในปัจจัยสี่ที่จำเป็นในการดำรงชีวิตของมนุษย์ ในปัจจุบันอาหารที่เรารับประทานนี้ได้มีวิวัฒนาการมาโดยตลอด ตั้งแต่อาหารพื้นบ้านที่เราได้มาจากธรรมชาติ ไม่ว่าจะเป็นพืชหรือสัตว์ สารพิษอะฟลาทอกซิน (aflatoxin) เป็นหนึ่งในสารพิษที่มักพบว่าปนเปื้อนอยู่ในอาหารเป็นประจำ อะฟลาทอกซินเป็นสารพิษที่ก่อให้เกิดมะเร็ง ผลิตจากเชื้อรา *Aspergillus parasiticus, Aspergillus flavus* ซึ่งเป็นเชื้อราที่พบได้ทั่วไปทั้งในดินและสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะภูมิภาคร้อนชื้น เช่น ในประเทศไทยซึ่งมีสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา ซึ่งอะฟลาทอกซินพบได้โดยทั่วไปในวัตถุดิบและอาหารสัตว์ อาทิเช่น กากถั่วเหลือง มันสำปะหลัง เมล็ดถั่วลิสง ข้าวโพด ข้าวโอ๊ต ข้าวสาลี มันสำปะหลัง หอม กระเทียม พริกแห้ง กุ้งแห้ง (กนกรัตน์, 2544) และมักพบปนเปื้อนอยู่ในวัตถุดิบทางการเกษตรที่ใช้เป็นอาหารของคนและสัตว์ *A. parasiticus* สามารถเจริญได้ตั้งแต่อุณหภูมิ 12-42 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิที่เหมาะสำหรับการสร้างสารพิษนั้นอยู่ที่ 12–40 องศาเซลเซียส ค่าพีเอช 2-8 (Robert และคณะ, 1996) อะฟลาทอกซินที่พบปนเปื้อนในอาหารสัตว์แบ่งเป็น 4 ชนิด ได้แก่ อะฟลาทอกซิน บี1 บี2 จี1 และ จี2 (B_1, B_2, G_1 และ G_2) โดยส่วนใหญ่แล้วจะพบอะฟลาทอกซิน บี1 มากที่สุด และเป็นชนิดที่มีความเป็นพิษและเป็นสารก่อมะเร็งที่รุนแรงที่สุด สารพิษอะฟลาทอกซินเมื่อบริโภคเข้าไปจะทำอันตรายต่อตับ ทำให้เนื้อตับมีไขมันสะสมมาก เซลล์ตับถูกทำลายจนอักเสบ มีเลือดออกในตับจนตับแข็ง หากได้รับสารพิษในปริมาณมากระดับหนึ่งก็จะเกิดมะเร็งตับซึ่งจะทำให้ถึงแก่ชีวิต อาการพิษเกิดจากการสะสมสารพิษในระยะเวลายาวนานจึงจะแสดงอาการ ความเป็นพิษจะมีมากหรือน้อยขึ้นกับปัจจัยหลายอย่างเช่น ภาวะของอาหารการกิน อายุ เพศ ฮอร์โมน การทำงานของเอนไซม์ต่างๆในตับและจำนวนสารพิษที่เข้าสู่ร่างกายแต่สำหรับเด็กมักเกิดความเป็นพิษอย่างเฉียบพลัน ถ้าได้รับอะฟลาทอกซินเข้าไปเด็กจะมีอาการชัก หมดสติ เกิดความผิดปกติของเซลล์ตับและเซลล์สมอง เด็กจะเสียชีวิตภายใน 2-3 วันเท่านั้น (ยุวดี, 2541) นอกจากนี้ยังมีผลต่อกระดูก สมอง ไต และระบบทางเดินอาหาร ลดการย่อยและดูดซึมของไขมัน คาร์โบไฮเดรตและโปรตีน ทำให้ซูบผอม ลดการเจริญเติบโต สำหรับความเป็นพิษของอะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนอยู่ในอาหารสัตว์นอกจากจะมีผลกระทบต่อสัตว์แล้วยังส่งผลให้เกิดความเป็นพิษกับคนได้อีก เพราะอะฟลาทอกซินเมื่อเข้าสู่ร่างกายแล้วลักษณะทางเคมีจะถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็นสารเมแทบอไลท์ (metabolite) อะฟลาทอกซินเอ็ม1 (M_1) ที่มีความเป็นพิษต่างๆรวมทั้งเป็นสารก่อมะเร็งคล้ายกับอะฟลาทอกซินบี 1 หากแต่มีความรุนแรงต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กว่าและถูกขับออกมาทางน้ำนมได้ (นพดลและเพชรรัตน์, 2549) กระทรวงสาธารณสุขได้มีประกาศฉบับที่ 98/2529 กำหนดให้มีการปนเปื้อนของสารพิษอะฟลาทอกซิน บี1 ในอาหารได้ไม่เกิน 20 พีพีบี (ppb) (20 ไมโครกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม) และในปัจจุบันได้มีการกำหนดค่าการปนเปื้อนให้ต่ำกว่า 15 พีพีบี

สมุนไพรไทยหลายชนิดมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ โดย Cobley และLeslies (1963) พบว่าในน้ำมันหอมระเหยของอบเชยมีสาระสำคัญที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ คือ ซินนามิกอัลดีไฮด์ (Cinnamic aldehyde) และมีการทดลองพบว่าการใช้สารซินนามิกอัลดีไฮด์ที่ความเข้มข้น 150 พีพีเอ็ม (ppm) สามารถยับยั้งการเจริญและการผลิตสารอะฟลาทอกซินของ *A. parasiticus* ได้ (Bullerman และคณะ, 1977) นอกจากนี้ในพริก สมุนไพร และผลไม้หลายชนิดมีส่วนประกอบของน้ำมันหอมระเหยซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ (Zaika, 1988) ส่วนในน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากผิวส้ม ผิวมะนาว และฝรั่งก็สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* และการผลิตอะฟลาทอกซิน (Azzouz, 1982)

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1. เพื่อศึกษาชนิดของน้ำมันหอมระเหยที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. parasiticus*

2. เพื่อศึกษาระดับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยในการควบคุมการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. parasiticus*

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

1. ทดสอบความสามารถในการควบคุมการเจริญ และการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. parasiticus* ของน้ำมันหอมระเหย 3 ชนิด คือ ตะไคร้ ตะไคร้หอม และเสม็ดขาว

2. ทดสอบความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมการเจริญ และการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. parasiticus*

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงชนิดของน้ำมันหอมระเหยที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. parasiticus*

2. ทราบถึงระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของน้ำมันหอมระเหยในการควบคุมการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. parasiticus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการที่เกี่ยวข้อง

2.1 ประวัติของสารพิษอะฟลาทอกซิน

ในปี ค.ศ. 1960 ได้เกิดโรคระบาดในไก่งวงครั้งแรกทางตอนใต้และทางตะวันออกของประเทศอังกฤษ ไก่งวงอายุระหว่าง 3 ถึง 6 สัปดาห์แสดงการเกิดพิษที่ตับชนิดเฉียบพลัน โดยแสดงอาการซึม เบื่ออาหาร ตัวสั่น และพบไก่งวงตายประมาณหนึ่งแสนตัวภายใน 1 สัปดาห์ มีการตรวจสอบหาสาเหตุที่เป็นปัญหาของโรคในสัตว์จากหลายพื้นที่ ซึ่งเกี่ยวข้องกับถั่วเหลืองในอาหารสัตว์ที่ซื้อมาจากประเทศบราซิลและยูกานดา ตรวจพบตับขยายใหญ่ มีสีซีด มีการตายของเซลล์ตับ และมีการเพิ่มจำนวนเซลล์บุท่อน้ำดี จึงรายงานการเกิดโรคระบาดและเรียกชื่อโรคว่าโรคเอ็กซ์ในไก่งวง (Turkey X disease) หลังจากนั้นได้มีรายงานการเกิดพิษที่ตับในไก่และเป็ดเช่นเดียวกับที่พบในไก่งวงในประเทศอังกฤษเช่นกัน โดยพบรอยโรคเนื้อตายและมีเลือดออกที่ตับชนิดเฉียบพลัน เซลล์บุท่อน้ำดีเพิ่มจำนวนมากขึ้นอย่างชัดเจน สัตว์แสดงอาการซึม เบื่ออาหารอย่างเฉียบพลัน ผอม ปีกตก คอตก ขาอ่อน อ่อนเพลียและตายในที่สุด ในเวลาต่อมา มีรายงานโรคระบาดเช่นเดียวกัน เกิดขึ้นกับเป็ดในประเทศเคนยาและยูกานดา และยังพบอาการและรอยโรคที่ตับในสัตว์ปีกชนิดอื่นๆเช่นเดียวกัน นอกจากนี้ได้พบในสัตว์หลายชนิดและสัตว์ทดลองที่ให้กินอาหารปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อราโดยตรงและให้ผลเช่นเดียวกัน ในปี ค.ศ. 1961 ได้มีการตรวจสอบถั่วลิสงจากประเทศบราซิลและประเทศยูกานดา พบเชื้อรา *A. flavus* ซึ่งสามารถสร้างสารพิษได้เมื่อนำไปเลี้ยงบนอาหารวุ้น และพบว่าเป็นสารพิษชนิดเดียวกันที่สามารถสกัดได้ด้วยวิธีทางเคมี และได้มีการตรวจสอบหาสาเหตุของโรคระบาด และพิสูจน์ได้ว่าเกิดจากสารพิษที่สร้างมาจากเชื้อรา *A. flavus* (อนงค์, 2546)

ในปี ค.ศ. 1962 มีการประชุมกลุ่มทำงานจาก 5 แห่งในประเทศอังกฤษ เรียกว่า กลุ่มทำงานวิจัยการเกิดพิษในถั่วเหลือง ประกอบด้วยผู้แทนจากสภาวิจัยทางเกษตร ผู้แทนจากสภาวิจัยทางการแพทย์ ผู้แทนจากกรมวิจัยวิทยาศาสตร์และอุตสาหกรรม ผู้แทนจากกรมเทคนิคสัมพันธ์ และผู้แทนจากกระทรวงเกษตร ประมงและอาหาร ได้ร่วมกันพิจารณาตั้งชื่อสารพิษจากเชื้อรานี้ว่า " อะ-ฟลา-ทอก-ซิน (A-fla-toxin) " โดยคำว่า " อะ (A) " มาจาก " *Aspergillus* " และคำว่า " ฟลา (fla) " มาจาก "*flavus* " สารนี้จัดเป็นสารพิษหรือทอกซิน (toxin) จึงนำมาเรียกรวมกันว่า " อะฟลาทอกซิน (Aflatoxin) " และโรคที่เกิดจากอะฟลาทอกซิน เรียกว่า อะฟลาทอกซินโคซิส (Aflatoxicosis) (อนงค์, 2546)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 ชนิดของอะฟลาทอกซิน

อะฟลาทอกซินเป็นสารพิษที่สร้างขึ้นจากเชื้อรา *Aspergillus parasiticus*, *A. flavus*, *A. nomius*, *A. bombycis*, *A. tamarii* (Wilson และPayne, 1994; Goto และคณะ, 1996; Peterson และคณะ, 2001) ซึ่งเป็นเชื้อราที่พบมากในเขตร้อนแถบศูนย์สูตรและเขตอบอุ่น ซึ่งมีความชื้นสูง พบได้ทั่วไป อะฟลาทอกซินที่พบในธรรมชาติมีอยู่ 4 ชนิด คือ บี1, บี2, จี1 และ จี2 ซึ่งมีสูตรโครงสร้างทางเคมีคล้ายกันกับ coumarin พบปนเปื้อนในผลิตผลทางการเกษตรจำพวกธัญพืช เช่น ข้าวโพด ถั่วลิสง ถั่วต่างๆ แม้กระทั่งในอาหารสำเร็จรูปและอาหารสัตว์ เมื่อส่องดูด้วยแสงอัลตราไวโอเลต อะฟลาทอกซินบี1 และ บี2 ให้แสงเรืองสีน้ำเงิน ส่วนอะฟลาทอกซิน จี1 และจี2 ให้แสงเรืองสีเขียว สารพิษนี้ทนความร้อนสูงถึง 260 องศาเซลเซียส หรือ 500 องศาฟาเรนไฮต์ โดยทั่วไปพบว่าอะฟลาทอกซินเกิดขึ้นภายในเวลา 48 ชั่วโมง ก่อนที่จะสังเกตเห็นการเจริญของเชื้อรา เมื่อเปรียบเทียบความเป็นพิษ ปรากฏว่าชนิด บี1 มีพิษร้ายแรงที่สุด และพบมากที่สุดด้วย (นงนุช, 2540)

2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างอะฟลาทอกซิน

ปัจจัยหลายชนิดมีผลต่อการต่อการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา (จักรพันธุ์, 2542 ; พรรณกร, 2538 ; นงนุช, 2540) ได้แก่

2.3.1 ชนิดของเชื้อรา

เชื้อราหลายสายพันธุ์ของ Aspergillus สามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้ตามธรรมชาติ เชื้อราที่สำคัญ ได้แก่ *A. parasiticus* มีตั้งแต่สายพันธุ์ที่สร้างอะฟลาทอกซิน และสายพันธุ์ที่ไม่สร้างอะฟลาทอกซิน บางสายพันธุ์มีความสามารถในการสร้างอะฟลาทอกซินได้หมดทุกตัว คือ บี1, บี2, จี1 และ จี2 บางสายพันธุ์สร้างเฉพาะ บี1 หรือ จี1

2.3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อรา

เชื้อราสามารถเจริญบนอาหารหรือเมล็ดพืชชนิดต่างๆ เช่น ข้าว ข้าวโพด ถั่วลิสง และสามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้ปริมาณแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับธาตุอาหารที่มีอยู่ในอาหารหรือเมล็ดพืชชนิดต่างๆ ได้แก่

2.3.2.1 ธาตุอาหารคาร์บอน ได้แก่ น้ำตาลชนิดต่างๆ เช่น ซูโครส กลูโคส ฟรักโทส ไซโลส ไรโบส มอลโตส เป็นต้น ซึ่งซูโครสทำให้เชื้อราสร้างอะฟลาทอกซินได้ดีที่สุด

2.3.2.2 ธาตุอาหารไนโตรเจน ได้แก่ เกลือแอมโมเนียมชนิดต่างๆ เช่น แอมโมเนียมซัลเฟต ทำให้เชื้อราสร้างอะฟลาทอกซินได้ดีมากกว่าเกลือแอมโมเนียมชนิดอื่นๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2.3 เกลือแร่ต่างๆ ได้แก่ สังกะสีไอออนที่มีในอาหารหรือจับตัวกับสารอื่นๆ ถ้ามีน้อยทำให้เชื้อราสร้างอะฟลาทอกซินได้น้อย เช่น ถั่วเหลืองมีปริมาณกรดไฟติก (phytic acid) มากและจับตัวกับสังกะสีไอออนได้มาก จึงมีสังกะสีไอออนเหลือบนเมล็ดถั่วเหลืองน้อย ทำให้สร้างอะฟลาทอกซินได้น้อยกว่าถั่วชนิดอื่นๆ

2.3.2.4 การเปลี่ยนแปลงของธาตุอาหารที่มีโมเลกุลใหญ่ให้ธาตุคาร์บอนและธาตุออกซิเจน ได้แก่ กรดแอซีติก และใช้เป็นสารเริ่มต้นที่จะให้ธาตุคาร์บอนและธาตุออกซิเจนในโมเลกุลของอะฟลาทอกซินเป็นส่วนใหญ่ ส่วนกรดแอมิโนเมไทโอนินจะให้ธาตุคาร์บอนของกลุ่มเมทิลในโมเลกุลของอะฟลาทอกซิน

2.3.3 ความชื้น

ความชื้นที่เหมาะสมมีผลต่อการเจริญและการสร้างสารพิษของเชื้อรา เช่น *A. flavus* ชอบความชื้นร้อยละ 18.0-19.5 และต้องมีอาหารที่เหมาะสม

2.3.4 อุณหภูมิ

อุณหภูมิที่ *Aspergillus* เจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 36-38 องศาเซลเซียส และเจริญได้บ้างที่อุณหภูมิ 6-8 องศาเซลเซียส หรือ 44-46 องศาเซลเซียส โดยทั่วไปที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เชื้อราสามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้สูงสุดระหว่างวันที่ 11-13 ของการเลี้ยงเชื้อรา ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เชื้อราสามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้สูงสุดระหว่างวันที่ 7-9 ของการเลี้ยงเชื้อรา และที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เชื้อราสามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้สูงสุดระหว่างวันที่ 5-7 ของการเลี้ยงเชื้อรา

2.3.5 การเจริญแข่งขันกันของจุลินทรีย์

ในธรรมชาติมักมีจุลินทรีย์หลายชนิด พบว่า ถ้ามี *A. niger* จะทำให้ *A. flavus* เจริญได้น้อย และการสร้างอะฟลาทอกซินลดลง และพบว่า *Flavobacterium aurantiacum* สามารถทำลายพิษของอะฟลาทอกซินได้ โดยการเปลี่ยนรูปโครงสร้างทางเคมีทำให้พิษหมดไป

2.3.6 ปริมาณแก๊สออกซิเจนและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์

ปริมาณแก๊สออกซิเจนมาก ทำให้สร้างอะฟลาทอกซินได้มาก และในทางตรงข้ามปริมาณแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์น้อย ทำให้สร้างอะฟลาทอกซินได้มาก นอกจากนี้แก๊สออกซิเจนร้อยละ 1 และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 20 สามารถลดการสร้างสปอร์ของเชื้อราได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 โรคที่อาจเกิดจากการได้รับอะฟลาทอกซิน

เมื่อมนุษย์ได้รับสารพิษอะฟลาทอกซินเข้าไปในร่างกาย จะเกิดอาการต่างๆ อาการที่เกิดขึ้นมีทั้งเรื้อรังและเฉียบพลัน ขึ้นอยู่กับปริมาณสารพิษที่ได้รับ (จักรพันธุ์, 2542) อาการเหล่านี้ได้แก่

2.4.1 โรคตับอักเสบและโรคตับแข็ง มีรายงานผู้ป่วยที่เป็นโรคตับอักเสบจากประเทศไต้หวัน ยูกันดา อินเดีย และเยอรมัน ซึ่งจากประวัติและการตรวจสอบอาหารที่ผู้ป่วยได้รับทำให้เชื่อว่าน่าจะมีสาเหตุมาจากสารพิษอะฟลาทอกซิน

2.4.2 โรคมะเร็งตับ มีการศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณอะฟลาทอกซินในอาหารประจำวันกับอัตราการเป็นมะเร็งตับในประเทศที่มีการเป็นมะเร็งสูง เช่น เคนยา สวิสเซอร์แลนด์ และไทย พบว่า ปริมาณสารพิษที่ได้รับมีความสัมพันธ์กับอัตราการเกิดมะเร็งตับ กลไกของการเกิดมะเร็งตับโดยสารอะฟลาทอกซินคือ การที่ร่างกายดูดซึมสารพิษเข้าไปในตับและถูกเปลี่ยนสภาพโดยเอนไซม์ในตับให้เป็นสารออกฤทธิ์ซึ่งสามารถรวมตัวกับยีนได้ ทำให้ยีนเกิดการเปลี่ยนแปลง เช่น เกิดการกลายพันธุ์ และไม่สามารถทำงานได้อย่างปกติ ต่อมาเซลล์นั้นก็จะเกิดการเปลี่ยนแปลงกลายเป็นเซลล์มะเร็งในที่สุด

2.4.3 โรคสมองอักเสบและภาวะมีไขมันแทรกในอวัยวะ (Reye's syndrome) พบในเด็กก่อนวัยเรียน สำหรับในประเทศไทยนั้นได้มีการศึกษาวิจัย พบว่า เด็กที่จังหวัดอุดรธานีมีอาการป่วยอย่างฉับพลัน และตายภายใน 48-72 ชั่วโมง เมื่อตรวจศพพบสมองบวม มีไขมันแทรกที่ตับและไต จึงให้ชื่อโรคนี้ว่า อุดร เอนเซฟาไลติส (Udorn Encephalitis) หรือโรคสมองอักเสบอุดร ซึ่งมีอาการเหมือนไข้หวัดธรรมดา หรืออาจจะมีอาการท้องเสียเล็กน้อย ต่อมาคนไข้เริ่มอาเจียนมาก ซึมลง มีอาการหอบ อาการอาจเป็นมากขึ้นจนถึงขั้นหมดสติได้ และเมื่อได้นำอาหาร (ข้าวเหนียวนึ่ง) ที่ผู้ป่วยรับประทานมาศึกษา พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อรา *A. flavus* และอะฟลาทอกซิน ซึ่งเมื่อนำไปทดสอบกับลิง ลิงจะมีอาการแบบเดียวกับผู้ป่วย และเชื่อว่าอะฟลาทอกซินเป็นสาเหตุหนึ่งของกลุ่มอาการนี้

2.5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารพิษในร่างกาย

2.5.1 การดูดซึมสารพิษเข้าสู่ร่างกาย

สารพิษถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้โดยส่วนใหญ่ผ่านทางผิวหนัง ทางปอดจากการหายใจ และทางเดินอาหารจากการกินเข้าไปโดยตรง ซึ่งต้องผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์ผิวหนัง เซลล์บุหลอดเลือดฝอยที่ผิวหนัง เซลล์บุถุงลมที่ปอดและเซลล์บุผิวของทางเดินอาหาร เพื่อเข้าสู่กระแสโลหิต จากนั้นสารพิษต้องผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์ในอวัยวะต่างๆ และออกฤทธิ์กับเซลล์จำเพาะหรือเซลล์เป้าหมายของอวัยวะที่ตอบสนองต่อการเกิดพิษ เช่น ในทางเดินอาหาร เอ็มเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(M cell) จะทำหน้าที่ในการดูดซึมสารพิษที่มีองค์ประกอบทางชีวเคมีเป็นเพปไทด์หรือโปรตีนเข้าสู่กระแสโลหิตและสู่ตับ ตับซึ่งมีคัฟเฟอร์เซลล์ (Kupffer) จะทำหน้าที่ดูดซึมและทำลายสารพิษก่อนจะผ่านเข้าไปยังเซลล์ตับ เป็นต้น (อนงค์, 2546)

2.5.2 การกระจายตัวของสารพิษ

หลังจากที่สารพิษถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสโลหิตแล้ว จะกระจายตัวไปตามกระแสโลหิตและไปสู่ส่วนต่างๆของร่างกายอย่างรวดเร็ว อัตราการแพร่กระจายของสารพิษไปยังอวัยวะใดอวัยวะหนึ่งขึ้นอยู่กับอัตราการไหลเวียนของโลหิตไปยังอวัยวะนั้น และอัตราของสารพิษผ่านผนังหลอดเลือดฝอยและผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของอวัยวะนั้น โดยปกติการกระจายตัวของสารพิษไปยังอวัยวะที่จำเพาะเจาะจง ส่วนใหญ่ขึ้นอยู่กับความสามารถของสารพิษในการผ่านเยื่อหุ้มเซลล์และความสามารถในการจับเกาะของสารพิษต่อเนื้อเยื่อ

สารพิษอะฟลาทอกซินสามารถกระจายไปอยู่ตามส่วนต่างๆ ของร่างกายโดยกระจายอยู่ในของเหลวของร่างกาย เช่น พลาสมา ของเหลวที่อยู่ระหว่างเซลล์และที่อยู่ภายในเซลล์ ถ้าสารพิษกระจายตัวเข้าไปในเนื้อเยื่อได้รวดเร็ว ความเข้มข้นของสารพิษในกระแสโลหิตจะลดลงอย่างรวดเร็ว และถ้าสามารถละลายเข้าไปอยู่ในเซลล์ของเนื้อเยื่อได้จะมีการกระจายในร่างกายมาก แสดงว่าสารพิษนี้อยู่ในเนื้อเยื่อมากกว่าพลาสมา และมีการขับออกจากร่างกายได้ช้าเพราะมีปริมาณของสารนั้นในพลาสมาน้อย แต่ถ้าสารพิษมีการกระจายในร่างกายมากและละลายอยู่ในอวัยวะที่สามารถขับสารพิษออกได้ทำให้การขับออกได้เร็วด้วย นอกจากนี้สารพิษสามารถกระจายตัวผ่านรกไปสู่ลูกในท้องได้ (Esaki และKumagai, 2002)

2.5.3 การสะสมหรือตกค้างของสารพิษ

เมื่อสารพิษอะฟลาทอกซินเข้าสู่ร่างกายและกระจายตัวไปทั่วร่างกาย มีบางส่วนถูกเปลี่ยนแปลงหรือถูกขับออกได้บ้าง แต่บางส่วนมีการสะสมหรือตกค้างอยู่เป็นระยะเวลานานจนทำให้เกิดพิษได้ (นงนุช, 2540)

2.6 ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดพิษของอะฟลาทอกซิน

ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดพิษของอะฟลาทอกซิน (อนงค์, 2546) ได้แก่

2.6.1 สภาพของสารพิษ

การเกิดพิษจากสารพิษบริสุทธิ์จะมีความรุนแรงมากกว่าสารพิษที่มีสารอื่นเจือปนอยู่ ซึ่งทำให้การตอบสนองต่อการเกิดพิษลดลง เช่น สารที่ใช้จับกับสารพิษหรือเคลือบสารพิษหรือดูดซับสารพิษ ทำให้การดูดซึมสารพิษเข้าสู่ร่างกายลดลงและเกิดพิษลดลง นอกจากนี้ตัวทำละลายสารพิษจะมีผลทำให้เกิดพิษเพิ่มขึ้นหรือลดลงได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.2 ปริมาณสารพิษและอัตราการดูดซึม

สารพิษที่มีความเข้มข้นสูงและดูดซึมเข้าสู่ร่างกายอย่างรวดเร็ว จะมีพิษรุนแรงและก่อเกิดพิษได้มากกว่า เพราะสารพิษที่เข้าสู่ร่างกายทีละน้อยๆจะถูกตับเปลี่ยนแปลงเป็นสารที่ไม่เป็นพิษหรือมีพิษลดลงหรือละลายได้ในน้ำ และถูกขับออกไปก่อนที่จะทำให้เกิดพิษขึ้นได้ นอกจากนี้ถ้าได้รับสารพิษโดยการกิน สภาวะท้องว่างจะเกิดพิษได้รุนแรงมากกว่าสภาวะที่มีอาหารอยู่ในกระเพาะและลำไส้ เพราะมีการขับถ่ายสารพิษออกได้

2.6.3 ความไวต่อการรับพิษ

คนและสัตว์ชนิดต่างๆ พันธุกรรม เพศ อายุ ที่แตกต่างกันจะเกิดพิษได้แตกต่างกัน ซึ่งเกี่ยวข้องกับฮอร์โมน เอนไซม์และการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโมเลกุลของสารพิษในร่างกายที่แตกต่าง ทำให้เกิดการตอบสนองต่อสารพิษได้แตกต่างกัน เช่น ขณะท้องหรือให้นมลูกจะตอบสนองต่อสารพิษเพิ่มมากขึ้น

2.6.4 สภาวะของอาหาร

อาหารที่กินเข้าไปสามารถทำให้สารพิษเกิดพิษเพิ่มขึ้นหรือลดลงได้ โดยไปจับกับสารพิษทำให้มีผลต่อการดูดซึม การขับออกหรือมีผลต่อการแตกตัวของสารพิษ รวมทั้งการทำงานของเอนไซม์ภายในเซลล์ การตอบสนองต่อสารพิษจึงแตกต่างกัน เช่น อาหารที่มีโปรตีนสูงทำให้เกิดพิษลดลง

2.6.5 สภาวะสิ่งแวดล้อม

อุณหภูมิ ความกดดันอากาศ รังสี สารเคมี และสิ่งแวดล้อมทั่วไป มีผลต่อสภาวะความเครียด ทำให้การตอบสนองต่อสารพิษได้แตกต่างกัน เช่น อุณหภูมิสูงทำให้เครียดมาก และเกิดอาการเป็นพิษได้มากกว่า เป็นต้น

2.7 การเกิดพิษจากอะฟลาทอกซินในสัตว์

มีรายงานแสดงถึงการเกิดพิษในสัตว์หลายชนิด เช่น ลิง ม้า โค แกะ สุกร สุนัข สัตว์ปีกและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ปลาเทร้าท์ ปลาแซลมอน ปลาดุก กุ้ง ไก่ และนกกระทา รายงานต่างๆแสดงการเกิดพิษแบบเฉียบพลันหรือแบบเรื้อรังและแสดงรอยโรคที่ตับ จากการได้รับอะฟลาทอกซินในสัตว์เศรษฐกิจและสัตว์เลี้ยงแต่ละชนิดแตกต่างกัน สัตว์อายุน้อยมีความไวต่อการรับพิษมากกว่าสัตว์ที่โตเต็มวัย สัตว์ปีกมีความไวต่อการรับพิษมากกว่าสุกร โค กระบือ และแกะตามลำดับ เป็ดและไก่งวงมีความไวต่อการรับพิษมากกว่านกกระทาและไก่ตามลำดับ (Carnaghan, 1985)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเกิดพิษแบบเฉียบพลันในลูกเป็ดและไก่งวง จะแสดงอาการชักและตายในเวลา 2-3 วัน หลังจากได้รับสารพิษ พบลักษณะหัว คอ และขาบิดไปข้างหน้าและลำตัวแอ่นไปข้างหน้า มีจุดเลือดออกใต้ผิวหนังและอวัยวะภายใน ตับโตสีเหลืองซีด ไต ตับอ่อน และม้ามขยายใหญ่ มีบวมน้ำรอบๆหัวใจและน่อง พบเซลล์ตับตายมีการสะสมไขมันในเซลล์ตับ เซลล์บุท่อน้ำดีเพิ่มจำนวนมากขึ้น กรณีเกิดพิษแบบเรื้อรัง เซลล์ตับเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์มะเร็ง พบในลูกเป็ดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีอะฟลาทอกซิน 35 พีพีบี (ไมโครกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม) เป็นเวลา 14 เดือน ส่วนไก่มีความไวต่อการรับสารพิษน้อยกว่าลูกเป็ดและไก่งวง จึงแสดงสภาวะผอม ซึม เบื่ออาหาร และตายใน 3 สัปดาห์แรกของการทดลอง พบมีโรคทางพยาธิคล้ายกัน แต่ความรุนแรงน้อยกว่า มีการเพิ่มปริมาณของเยื่อใยเกี่ยวพัน เซลล์ตับโตขึ้นและไม่มีเซลล์ตับตาย (Carnaghan, 1985)

2.8 การตรวจหาสารพิษอะฟลาทอกซิน

การตรวจหาสารพิษอะฟลาทอกซินจากอาหารหรือวัตถุดิบทางการเกษตรหรือเมล็ดพืช อาหารสัตว์ อวัยวะหรือเนื้อเยื่อ สิ่งขับถ่าย และผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสัตว์ เช่น เนื้อ ตับ ไต ไข่ เลือดหรือซีรัม อุจจาระ เป็นต้น ซึ่งวิธีการตรวจหาสารพิษอะฟลาทอกซินมีขั้นตอนดังนี้ (Hirano, 1992)

2.8.1 การสกัดอะฟลาทอกซิน (Extraction)

ตัวอย่างแต่ละชนิดมีวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับส่วนประกอบในตัวอย่าง เช่น เมล็ดพืช อาหารสัตว์ เนื้อเยื่อสัตว์ ไข่ เลือดหรือซีรัม อุจจาระ เป็นต้น โดยใช้หลักการเดียวกัน คือ

2.8.1.1 สารเคมีที่ใช้สกัดสารพิษออกจากตัวอย่าง ได้แก่ คลอโรฟอร์ม หรือเมทานอล

2.8.1.2 การใช้เครื่องมือเขย่าหรือเครื่องอัลทราโซนิกส์เป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้สกัดสารพิษออกจากตัวอย่างให้ได้มากที่สุด

2.8.1.2 กรณีตัวอย่างแห้ง เช่น เมล็ดพืช อาหารสัตว์ เป็นต้น ให้เติมน้ำกลั่นหรือกรดเกลือ 1 เปอร์เซ็นต์ เพื่อให้ตัวอย่างชุ่มชื้นขึ้น

2.8.1.3 ชั่งน้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น เพื่อคำนวณย้อนกลับไปเทียบกับตัวอย่างทั้งหมดหรืออาหารทั้งหมดที่มีการปนเปื้อนสารพิษได้

2.8.1.4 กรองเอากากออก เช่น เมล็ดพืช อาหารสัตว์ เป็นต้น หรือทำการปั่นแยกเอากากตะกอนออก เช่น เลือดหรือซีรัม เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8.1.5 ดูดน้ำออกจากสารละลายที่สกัดสารพิษด้วยโซเดียมซัลเฟตชนิดปราศจากน้ำ

2.8.2 การทำสารละลายที่สกัดสารพิษได้ให้สะอาดบริสุทธิ์ขึ้น (Clean up)

ตัวอย่างที่สกัดด้วยสารละลายคลอโรฟอร์มหรือเมทานอล ประกอบด้วยสารพิษอะฟลาทอกซิน และสิ่งปนเปื้อนอื่นๆผสมกันอยู่ ขึ้นอยู่กับชนิดของตัวอย่าง เช่น สี ไขมัน เป็นต้น จึงต้องทำการล้างเอาสิ่งปนเปื้อนอื่นๆออกให้มากที่สุด เพื่อให้เหลือแต่อะฟลาทอกซินที่ต้องการตรวจหาให้มากที่สุดโดยใช้หลักการเดียวกัน คือ

2.8.2.1 ใช้ซิลิกาหรือฟลอริซิล เป็นสารจับสารพิษอะฟลาทอกซิน

2.8.2.2 ใช้โซเดียมซัลเฟตชนิดปราศจากน้ำ เป็นสารดูดน้ำออก

2.8.2.3 ใช้นอร์มอลเฮกเซนและไดเอททิลอีเทอร์ เป็นสารกำจัดสีและไขมัน

2.8.3 การวัดปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน

การตรวจวัดหาปริมาณอะฟลาทอกซินที่มีอยู่ในตัวอย่าง ซึ่งผ่านการสกัดและทำให้สารละลายสะอาดบริสุทธิ์ มีหลายวิธี คือ

2.8.3.1 วิธีทางเคมี ได้แก่ มินิคอลัมน์ (Mini Column) คอลัมน์โครมาโทกราฟี (Column Chromatography) ทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (Thin Layer Chromatography) แก๊สโครมาโทกราฟี (Gas Chromatography) ไฮเพรสเชอร์ลิควิดโครมาโทกราฟี (High Pressure Liquid Chromatography) เป็นต้น

2.8.3.2 วิธีทางอิมมูน ได้แก่ อีไลซา หรือเอนไซม์ลิงค์อิมมูโนซอร์เบนต์แอสเส (Elisa หรือ Enzyme Linked Immunosorbent Assay) อิมมูโนแอฟฟินิตีคอลัมน์ (Immuno Affinity Column) และเรดิโออิมมูโนแอสเส (Radioimmuno Assay)

2.9 การกำหนดปริมาณอะฟลาทอกซินในอาหาร

อะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในผลผลิตทางการเกษตร อาหารสัตว์ อาหารคน ไม่สามารถลดหรือทำลายพิษของอะฟลาทอกซินให้หมดอย่างสมบูรณ์ได้ การป้องกันหรือควบคุมเพื่อหลีกเลี่ยงอันตรายจากการปนเปื้อนสารพิษจึงมีความจำเป็นและสำคัญยิ่ง โดยมีการกำหนดปริมาณอะฟลาทอกซินที่อนุญาตให้มีปนเปื้อนสูงสุดในอาหารคนและอาหารสัตว์ จากการพิจารณาความรู้หรืองานวิจัยทางวิทยาศาสตร์ พื้นฐานสังคมและเศรษฐกิจของแต่ละประเทศเพื่อการคุ้มครองสุขอนามัยและความปลอดภัยของผู้บริโภคในประเทศของตนเป็นสำคัญ เพราะมีรายงานการเกิดโรคทั้งแบบเฉียบพลันและแบบเรื้อรังที่มีสาเหตุมาจากอะฟลาทอกซิน ทำให้ปริมาณที่แต่ละประเทศกำหนดขึ้นอยู่ในช่วงกว้างมาก ดังตารางที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 การกำหนดปริมาณอะฟลาทอกซินในกลุ่มประเทศประชาคมยุโรปและประเทศสหรัฐอเมริกา

ประเทศ	ปริมาณอะฟลาทอกซินในอาหาร (พีพีบี)*				
	บี1	รวม	ชนิดอาหาร	เอ็ม1	ชนิดอาหาร
เบลเยี่ยม	5	-	ทุกชนิด	0.1	น้ำนม
เดนมาร์ค	-	10	ถั่วลิสง	-	-
ฝรั่งเศส	-	10	ทุกชนิด	0.2	นมผงเด็กทารก
	-	5	เมล็ดธัญพืช น้ำมัน	-	-
	-	0.1	ถั่วบดเปียก	-	-
	-	5	อาหารเด็กทารก	-	-
เยอรมัน	2 หรือ	4	ถั่ว เมล็ดธัญพืช	0.05	น้ำนม
กรีก	1 หรือ	5	ถั่ว เมล็ดผลไม้แห้ง ข้าวโพด	-	-
ไอแลนด์	5 หรือ	30	ทุกชนิด	-	-
อิตาลี	-	50	ถั่วลิสง	-	-
ลักเซมเบอร์ก	5	-	ถั่วลิสง	-	-
เนเธอร์แลนด์	5	-	ทุกชนิด	0.05-0.2	น้ำนม เนยแข็ง
โปรตุเกส	25	-	ถั่วลิสง	-	-
	5	-	อาหารเด็กทารก	-	-
	20	-	อาหารอื่นๆ	-	-
สเปน	5	10	ทุกชนิด	-	-
อังกฤษ	-	10	ถั่ว ผลไม้	-	-
สหรัฐอเมริกา	-	20	ทุกชนิด	0.5	น้ำนม นมไร้ไขมัน

*ปริมาณอะฟลาทอกซินชนิดบี1 ชนิดบี1 จี1 จี2 (รวม) หน่วยเป็น ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม (พีพีบี)
(ที่มา : อนงค์, 2546)

สำหรับประเทศไทย ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 พ.ศ. 2529 เรื่อง มาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน ซึ่งประกาศในราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 103 ตอนที่ 23 ฉบับพิเศษ ลงวันที่ 16 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2529 ได้กำหนดให้มีอะฟลาทอกซินปนเปื้อนได้ไม่เกิน 20 พีพีบี (ไมโครกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม) และจากประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ พ.ศ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2537 ซึ่งประกาศในราชกิจจานุเบกษาฉบับประกาศทั่วไปเล่ม 112 ตอนพิเศษ ลงวันที่ 10 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2538 ได้กำหนดลักษณะของอาหารสัตว์เสื่อมคุณภาพ โดยมีปริมาณอะฟลาทอกซินในอาหารต่างๆดังนี้ (อนงค์, 2546)

ก. ประเภทวัตถุดิบ

กากถั่วเหลือง มีปริมาณอะฟลาทอกซินมากกว่า 50 พีพีบี

กากถั่วลิสง มีปริมาณอะฟลาทอกซินมากกว่า 500 พีพีบี

ปลาป่น มีปริมาณอะฟลาทอกซินมากกว่า 40 พีพีบี

รำข้าว เช่น รำละเอียด รำหยาบ รำสกัดน้ำมัน มีปริมาณอะฟลาทอกซินมากกว่า 50 พีพีบี

ข้าวโพดป่น ข้าวโพดเมล็ด มีปริมาณอะฟลาทอกซินมากกว่า 100 พีพีบี

ข. ประเภทวัตถุที่ผสมแล้ว

1) หัวอาหารสัตว์

หัวอาหารเป็ด มีปริมาณอะฟลาทอกซินมากกว่า 40 พีพีบี

หัวอาหารโค กระบือ มีปริมาณอะฟลาทอกซินมากกว่า 100 พีพีบี

หัวอาหารสุกร มีปริมาณอะฟลาทอกซินมากกว่า 50 พีพีบี

2) อาหารสำเร็จรูป

อาหารสำเร็จรูปไก่ไข่และไก่เนื้อ มีปริมาณอะฟลาทอกซินมากกว่า 100 พีพีบี

อาหารสำเร็จรูปเป็ด มีปริมาณอะฟลาทอกซินมากกว่า 30 พีพีบี

อาหารสำเร็จรูปสุกรสุกรแรกเกิดถึงน้ำหนัก 15 กิโลกรัม มีปริมาณอะฟลาทอกซินมากกว่า 50 พีพีบี

อาหารสำเร็จรูปสุกรน้ำหนัก 15 กิโลกรัมขึ้นไป มีปริมาณอะฟลาทอกซินมากกว่า 100 พีพีบี

อาหารสำเร็จรูปโคอายุไม่เกิน 1 ปี มีปริมาณอะฟลาทอกซินมากกว่า 100 พีพีบี

อาหารสำเร็จรูปอายุตั้งแต่ 1 ปีขึ้นไป มีปริมาณอะฟลาทอกซินมากกว่า 200 พีพีบี

2.10 การลดปริมาณเชื้อราและสารพิษอะฟลาทอกซิน

วัตถุดิบทางการเกษตรหรือเมล็ดพืชที่เสื่อมสภาพ แตกหัก มีแผลเสียหายจากแมลง นก หรือหนู จัดเป็นวัตถุดิบที่เป็นอาหารอุดมสมบูรณ์ของเชื้อรา *A. parasiticus* และ *A. flavus* ทำให้เชื้อราเจริญได้ดี และภายใต้อุณหภูมิร้อนชื้น มีความเหมาะสมให้เชื้อราสามารถสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้ดี ซึ่งสารพิษจะอยู่ภายในเนื้อเมล็ดพืชหรือวัตถุดิบ และไม่สามารถมองเห็นด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาเปล่าได้ การลดปริมาณเชื้อราจึงทำได้ง่ายกว่าการลดปริมาณของสารพิษอะฟลาทอกซิน แต่ปริมาณความเข้มข้นของสารพิษมีผลต่อการเกิดพิษในผู้บริโภคได้ ดังนั้น การลดปริมาณของเชื้อราและสารพิษอะฟลาทอกซินจึงเป็นประโยชน์ต่อการลดความสูญเสียด้านเศรษฐกิจของเกษตรกรผู้ผลิตและผู้เลี้ยงสัตว์ รวมทั้งลดอันตรายจากสารพิษที่มีต่อผู้บริโภคได้ การลดปริมาณเชื้อราและสารพิษอะฟลาทอกซิน (Ansher และคณะ, 1986) มีขั้นตอนดังนี้

2.10.1 คัดแยกเมล็ดพืชหรือผลิตผลทางการเกษตร โดยแยกเมล็ดพืชที่เสื่อมสภาพ แตกหัก มีแผลเสียหายออกจากเมล็ดดีด้วยวิธีทางกายภาพ โดยใช้เครื่องมือคัดแยกด้วยระบบไฟฟ้า เช่น Electronic sorting หรือ Zigzag separator เป็นต้น เพื่อลดการปนเปื้อนและแพร่กระจายของเชื้อราและสารพิษในผลผลิตกลุ่มเดียวกัน แล้วนำเมล็ดดีไปอบให้แห้งสนิท เก็บไว้ภายใต้สภาวะเหมาะสม สะอาด มีอากาศถ่ายเทได้ดี ภายใต้อุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ต่ำกว่าร้อยละ 50

2.10.2 นำเมล็ดที่แตกหักมีแผลเสียหายมาล้างทำความสะอาดเพื่อเอาเชื้อราออกและนำไปต้ม นึ่ง คั่วหรืออบให้แห้งสนิท หรือตากแดด เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์เหมาะสมเช่นเดียวกับข้อ 2.10.1

2.10.3 นำเมล็ดพืชที่มีการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินมาบดให้ละเอียดและสกัดเอาสารพิษออกด้วยสารเคมีอินทรีย์ เช่น เอทานอล เมทานอล ไอโซโพรพานอล คลอโรฟอร์ม เฮ็กเซน เบนซิน อะซีโตน น้ำเดือด เป็นต้น หลังจากสกัดแล้ว นำมาทำให้แห้งสนิทหรืออบแห้ง และเก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์เหมาะสมเช่นเดียวกับข้อ 2.10.1

2.10.4 เติมสารดูดซับสารพิษหรือสารจับสารพิษอะฟลาทอกซินลงในอาหาร กระเพาะลำไส้ หรือกระแสโลหิต ทำให้อะฟลาทอกซินไม่สามารถดูดซึมเข้าทำลายอวัยวะต่างๆในร่างกายได้ และขับถ่ายออกจากร่างกายมากับอุจจาระตามปกติ สารดูดซับที่ใช้ เช่น ผงถ่าน อัลตราคาร์บอนไดซ์ โซเดียมแคลเซียมอะลูมิโนซิลิเกตหรือผงดินเหนียว โซเดียมเบนโทไนต์ โอลิโกแซ็กคาไรด์หรือเอสเทอริไฟด์กลูโคแมนแนน ซึ่งสกัดมาจากผนังเซลล์ยีสต์ เป็นต้น

2.11 ผลกระทบจากอะฟลาทอกซิน

2.11.1 ผลกระทบต่อสุขอนามัยและความเสี่ยงอันตรายของผู้บริโภค

อะฟลาทอกซินเป็นสารพิษที่สร้างจากเชื้อรา *A. flavus* ซึ่งผลิตอะฟลาทอกซินบี1 และ บี2 และ *A. parasiticus* ซึ่งผลิตอะฟลาทอกซินบี1 บี2 จี1 และ จี2 กลุ่มเชื้อราเหล่านี้สร้างสปอร์ได้และมักพบปนเปื้อนในอาหารหลายชนิด เช่น ข้าวโพด ถั่วลิสง เมล็ดฝ้าย ข้าวฟ่าง มันสำปะหลัง ปลาป่น กระดูกป่น เป็นต้น เชื้อราสามารถทำลายคุณค่าทางโภชนาการของอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เช่น ไขมัน กรดอะมิโน วิตามิน แร่ธาตุต่างๆ รวมทั้งกลิ่น สีและรส ทำให้ลดความน่ารับประทานลงด้วย นอกจากนี้สปอร์ที่สูดดมเข้าไปก่ออันตรายได้เช่นกัน ซึ่งองค์การอนามัยโลกจัดให้อะฟลาทอกซินอยู่ในระดับก่อเกิดพิษรุนแรงที่สุด และก่อให้เกิดอันตรายต่อคนและสัตว์ทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรังจนถึงขั้นเป็นมะเร็งตับได้ (ศุภกิจ, 2540)

สารพิษที่ผ่านเข้าสู่ร่างกายไปตามกระแสโลหิตทำอันตรายต่ออวัยวะระบบการทำงานของร่างกาย สารพิษบางส่วนสามารถขับออกจากร่างกาย เช่น ปัสสาวะ อุจจาระ เหงื่อ น้ำลาย หรือในรูปผลิตภัณฑ์ เช่น น้ำนม ไข่ เลือด นอกจากนี้ สารพิษบางส่วนสามารถตกค้างหรือสะสมในอวัยวะเนื้อเยื่อซึ่งจัดเป็นผลิตภัณฑ์ เช่น ตับ ไต กล้ามเนื้อ เป็นต้น สิ่งเหล่านี้สามารถก่อปัญหาในวงจรห่วงโซ่อาหารของคน สัตว์ และพืชได้ ทำให้เกิดความเสี่ยงอันตรายต่อการบริโภคอาหารที่มาจากสิ่งปนเปื้อนสารพิษ คนและสัตว์ชนิดต่างๆ มีความไวต่อการเกิดพิษจากอะฟลาทอกซินแตกต่างกัน เช่น สัตว์น้ำและสัตว์ปีกมีความไวต่อการเกิดพิษมากกว่าสุกร โค กระบือ แพะ แกะ สัตว์ที่มีอายุน้อยมีความไวต่อการเกิดพิษมากกว่าสัตว์ที่โตเต็มวัยแล้ว คนมีความไวต่อการเกิดพิษน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับสัตว์ทดลอง จึงมักเกิดเป็นมะเร็งตับในสภาวะโรคเรื้อรัง สำหรับในสภาวะโรคเฉียบพลันจะขึ้นอยู่กับปริมาณและระยะเวลาที่ได้รับสารพิษเป็นสำคัญ นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโมเลกุลเพื่อสร้างและสลายของสารพิษหรือเมแทบอลิซึมและการเปลี่ยนแปลงปริมาณของสารพิษในร่างกายมีผลทำให้เกิดพิษเพิ่มขึ้นหรือลดลงได้ ร่างกายจึงมีการตอบสนองต่อสารพิษรุนแรงแตกต่างกัน ดังนั้น อะฟลาทอกซินจัดเป็นสารพิษจากเชื้อราที่อันตรายต่อสุขภาพอนามัย และจึงจัดเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่ต้องติดตามเฝ้าระวังอย่างต่อเนื่อง (Bintvihok และคณะ, 1997)

2.11.2 ผลกระทบต่อสภาวะเศรษฐกิจการค้าระหว่างประเทศ

ประเทศไทยอยู่ในเขตภูมิอากาศร้อนชื้น มีความเสี่ยงสูงต่อการการปนเปื้อนของสารพิษอะฟลาทอกซินในผลิตผลทางเกษตรกรรม (ตารางที่ 2) ซึ่งใช้เป็นวัตถุดิบนำมาประกอบเป็นอาหารคนและอาหารสัตว์ อะฟลาทอกซินที่ทำอันตรายต่อสุขอนามัยของผู้บริโภคและก่อปัญหาในวงจรห่วงโซ่อาหาร เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการสูญเสียทั้งคุณภาพและปริมาณของผลผลิตที่ได้จากพืชและสัตว์ อาหารที่มีโภชนาการเสื่อมสภาพ ผลผลิตลดต่ำลง มีผลทำให้เศรษฐกิจด้านเกษตรกรรม อุตสาหกรรม และการเลี้ยงสัตว์เสียหาย ส่งผลให้พาณิชยกรรม หรือการค้าขายลดต่ำลงด้วย นอกจากนี้สุขภาพสัตว์ที่เสื่อมโทรมถดถอยย่อมให้ผลผลิตลดลงทั้งปริมาณและคุณภาพและเกิดการตายได้ เช่น โคนมที่เจ็บป่วยจากการกินอาหารปนเปื้อนสารพิษ ให้น้ำนมลดลงและมีอะฟลาทอกซินชนิดเอ็ม1 ปนเปื้อนอยู่ ซึ่งมีอันตรายต่อผู้ปริโภคน้ำนม ก่อเกิดโรคมะเร็งตับได้ ในทำนองเดียวกัน ไก่ไข่ที่เจ็บป่วยให้ไข่ลดลง และมีอะฟลาทอกซินชนิดบี1 และเมแทบอไลท์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อื่นๆปนเปื้อนอยู่ ซึ่งมีอันตรายต่อผู้บริโภคไก่ไข่และเนื้อเยื่ออวัยวะของไก่ ก่อเกิดโรคมะเร็งตับได้ เป็นต้น สัตว์ที่เจ็บป่วยมีอันตรายรุนแรงถึงขั้นตายได้ในคราวเดียวกันด้วยจำนวนสัตว์มาก เพราะกินอาหารปนเปื้อนสารพิษร่วมกัน ทำให้ต้นทุนการผลิตสูงกว่าปกติ ดังนั้น ความสูญเสียทางเศรษฐกิจจึงมีความเกี่ยวข้องกันอย่างกว้างขวางทั้งทางตรงและทางอ้อม เช่น ค่าใช้จ่ายในการดูแลรักษาสัตว์ป่วย การสูญเสียสัตว์ตาย ค่าใช้จ่ายในการผลิตสัตว์ด้านอาหาร และการบำรุงอาหารเสริมต่างๆ รวมทั้งการทดสอบสุขภาพ เป็นต้น หากผลิตภัณฑ์ที่ได้จากเกษตรกรรมและการเลี้ยงสัตว์ลดลงทั้งคุณภาพและปริมาณ รวมทั้งประเทศผู้ค้าในตลาดโลกปัจจุบันมีการแข่งขันสูงขึ้นเป็นลำดับ โดยมีมาตรการกำหนดปริมาณอะฟลาทอกซินที่อนุญาตให้มีการปนเปื้อนสูงสุดในอาหารคนและอาหารสัตว์ เพื่อการคุ้มครองสุขอนามัยและความปลอดภัยของผู้บริโภคในแต่ละประเทศเป็นสำคัญ ดังนั้น อะฟลาทอกซินจึงมีผลต่อสภาวะและความมั่นคงทางเศรษฐกิจและการค้าระหว่างประเทศเป็นอย่างยิ่ง ควรจะต้องติดตาม ควบคุม ป้องกัน แก้ไขและปรับปรุงไม่ให้เกิดปัญหาผลผลิตมีคุณภาพเสื่อม ไม่ได้มาตรฐานและผลิตไม่เพียงพอต่อการบริโภคในประเทศ และส่งขายไปยังต่างประเทศด้วย (อนงค์, 2546)

ตารางที่ 2 แสดงผลการตรวจวิเคราะห์วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในประเทศไทย

ชนิดวัตถุดิบ	ระดับการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน (พีพีบี)
กากถั่วลิสง	229.51
กากมะพร้าว	139.33
ข้าวโพดป่น	83.10
ข้าวโพดเม็ด	64.80
กากปาล์ม	22.50
กากถั่วเหลือง	12.50
รำ	7.70
มันเส้น	3.47

(ที่มา : เปล่งศรี, 2540)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.12 น้ำมันหอมระเหย

เป็นน้ำมันที่ได้จากพืชโดยการกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) หรือการบีบ มีกลิ่นรสเฉพาะตัว ระเหยได้ง่ายในอุณหภูมิธรรมดา เบากว่าน้ำ มีคุณสมบัติในการฆ่าแมลง บรรเทาอาการอักเสบ คลายเครียด หรือกระตุ้นให้สดชื่น (นิจศิริ และพยอม, 2534)

จากรายงานของ Inouye และคณะ (1983) พบว่าในน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้มีสารสำคัญ คือ citral และ geraneol ที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย เช่น *Escherichai coli*, *Bacillus subtilis* และ *Shigella flexneri* ได้ และมีการทดลองพบว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ที่ความเข้มข้น 135 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Trichophyton rubrum* และ *T. mentagrophytes* ได้ (Wannissorn และคณะ, 1996) นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากเสม็ดขาวมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *A. niger* และเชื้อราทำลายไม้ (Cuong และคณะ, 1994)

2.13 วิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพร

2.13.1 การสกัดทั่วไป (Solvent Extraction)

เป็นการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมซึ่งเป็น volatile hydrocarbon มีขั้นตอนดังนี้ (วัลลภ และประณีต, 2547)

1. นำสมุนไพรมาล้างน้ำให้สะอาด แล้วหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ

2. บดสมุนไพรด้วยเครื่องบด และทำการสกัดโดยใช้เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 หรือน้ำกลั่น เป็นตัวทำละลาย

3. ใช้ผ้าขาวบางกรองเศษสมุนไพรออก จากนั้นนำเศษสมุนไพรที่กรองได้มาทำการสกัดด้วยวิธีเดิมจนสมุนไพรมีสีซีดลงจากเดิม

4. นำของเหลวที่กรองได้มาทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องสุญญากาศที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส

5. นำของเหลวในข้อ 4. มาสกัดน้ำมันหอมระเหยออกด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ที่อุณหภูมิ 40-60 องศาเซลเซียส ตั้งทิ้งไว้

6. เมื่อน้ำมันหอมระเหยเคลื่อนที่มาผสมกับปิโตรเลียมอีเทอร์ นำสารละลายมาผ่านเครื่องสุญญากาศที่อุณหภูมิ 40-60 องศาเซลเซียส เพื่อระเหยปิโตรเลียมอีเทอร์ออก

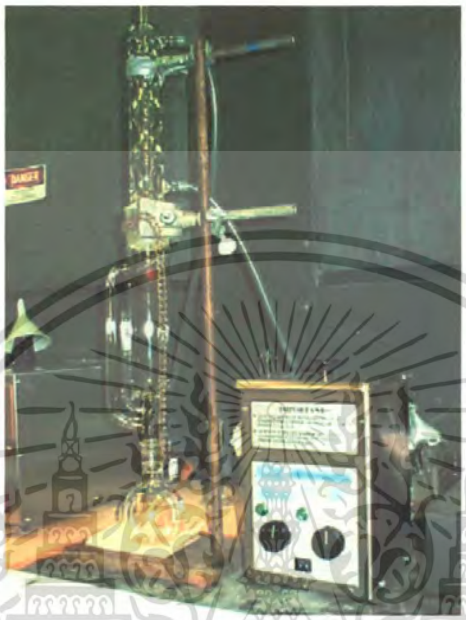
7. ชะล้างสารสกัดที่เหลืออยู่ก้นขวดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95

2.13.2 การสกัดด้วย Soxhlet extractor

เป็นวิธีการสกัดแบบต่อเนื่องโดยใช้ตัวทำละลายที่มีจุดเดือดต่ำ ทำใน Soxhlet extractor ดังรูปที่ 1 การสกัดทำได้โดยใช้ความร้อนทำให้ตัวทำละลายระเหยขึ้นไปแล้วกลั่นตัวกลับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลงมาอีกวนเวียนเรื่อยไปจนการสกัดสมบูรณ์ วิธีนี้จะประหยัดตัวทำละลายที่ใช้สกัด แต่ควรระวังความร้อนซึ่งอาจทำให้สารเคมีในพืชบางชนิดสลายตัว



รูปที่ 1 การสกัดน้ำมันหอมระเหยโดยการสกัดด้วย soxhlet extractor

(ที่มา : มัลลิกา, 2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 จุลินทรีย์

Aspergillus parasiticus IMI 102566 จาก International Mycological Institute, U.K.

3.2 อุปกรณ์ สารเคมี และอาหารเลี้ยงเชื้อ

อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่

1. บีกเกอร์ (beaker)
2. หลอดทดลอง (test tube)
3. จานเพาะเชื้อ (petri dish)
4. ขวดเตรียมอาหาร (duran flask)
5. เข็มเขี่ย (needle)
6. ลูป (loop)
7. สำลี
8. กรวยแยก (separator funnel)
9. ผ้าขาวบาง
10. กระบอกตวง (cylinder)
11. ปากคีบ (forcep)
12. ตู้เขี่ยเชื้อ (larminar air flow)
13. ปิเปตต์ (pipette)
14. ชุดสไลด์นับเซลล์ (Haemacytometer)
15. เครื่องชั่ง (balance)
16. หม้ออังไอน้ำ (water bath)
17. หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave)
18. Cylinder cup ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร
19. ชุดตรวจสอบสารพิษสำเร็จรูป (DOA-Aflatoxin ELISA Test Kit)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

83974

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. น้ำเกลือ (normal saline)
2. เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์
3. เมทานอล 70 เปอร์เซ็นต์

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

Potato Dextrose Agar (PDA) จากบริษัท Scharlau

3.3 น้ำมันหอมระเหยที่ใช้ในการทดลอง

1. น้ำมันหอมระเหยสำเร็จรูปตะไคร้จากบริษัท ฮงฮวด จำกัด
2. น้ำมันหอมระเหยสำเร็จรูปตะไคร้หอมจากบริษัท ฮงฮวด จำกัด
3. น้ำมันหอมระเหยสำเร็จรูปเสม็ดขาวจากบริษัท ฮงฮวด จำกัด

(บริษัท ฮงฮวด จำกัด สำนักงานใหญ่ เลขที่ 41-45 ถนนจักรวรรดิ เขตสัมพันธวงศ์ กรุงเทพฯ 10110)

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การเตรียมสารละลายสปอร์ของเชื้อรา *A. parasiticus*

การเพาะเลี้ยงเชื้อเริ่มต้นทำโดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่ผ่านไฟจนร้อนแดงและทิ้งไว้ให้เย็น เขี่ยสปอร์ของเชื้อรา *A .parasiticus* จากหลอดทดลอง(slant) ลงใน culture bottle ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ 50 มิลลิลิตร เลี้ยงเชื้อราเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิห้องแล้วเตรียมสารละลายสปอร์ โดยใช้น้ำเกลือความเข้มข้น 0.09 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 0.018 กรัม ต่อน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร ที่ทำการฆ่าเชื้อแล้ว ใส่ลง culture bottle ที่มีเชื้อราอายุ 7 วัน ใช้ลูปเขี่ยให้หลุดออกจากผิวหน้าอาหาร นำสารละลายสปอร์ที่ได้ไปกรองด้วยชุดกรองสำลีที่ฆ่าเชื้อแล้วจากนั้นนำสารละลายที่กรองได้มานับจำนวนสปอร์ โดย haemacytometer ให้ได้จำนวนสปอร์ ประมาณ 10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

3.4.2 การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

สารสกัดจากสมุนไพรที่นำมาทดสอบ เป็นสารประเภทน้ำมันหอมระเหย ที่ผ่านการสกัดมาจากสมุนไพรได้แก่ ตะไคร้ ตะไคร้หอม และเสม็ดขาว ทำละลายด้วยสารละลายเอทานอล เพื่อให้ได้ความเข้มข้น ร้อยละ 1, 2, 3, 4, และ 5 โดยปริมาตร (v/v)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.3 การทดสอบประสิทธิภาพการของน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ ตะไคร้หอม และเสม็ดขาวที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus*

3.4.3.1 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ใส่จานเพาะเชื้อที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 14 เซนติเมตร โดยเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อในฟลาสก์ตามวิธีของ Lorian (1986) นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที จากนั้นรอให้อาหารอุ่นที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส เทอาหารเลี้ยงเชื้อ 25 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อ ทิ้งไว้ให้อาหารแข็ง ใช้ไมโครปิเปตต์ดูดสารละลายสปอร์ที่มีความเข้มข้น 10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร จำนวน 200 ไมโครลิตร ใส่ลงใน PDA ที่เตรียมไว้ในหลอดทดลองที่หลอมและทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส จำนวน 20 มิลลิลิตร ผสมอาหารเลี้ยงเชื้อและเชื้อราให้เข้ากัน เททับให้ทั่วพื้นหน้าของอาหารในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ ตั้งทิ้งไว้จนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว

3.4.3.2 นำ Cylinder cup ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยการอบที่อุณหภูมิ 195 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง วางลงบนจานเพาะเชื้อแต่ละจาน จานละ 5 cup ทำทั้งหมด 16 จาน

3.4.3.3 ใช้ไมโครปิเปตต์ขนาด 300 ไมโครลิตร ดูดน้ำมันหอมระเหยที่เตรียมไว้ที่ความเข้มข้นต่างๆมาหยดลงใน cylinder cup จนเต็ม ทำการทดลองน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิดทั้งหมด 5 ซ้ำ โดยทดลอง 1 จานต่อ 1 ซ้ำ

3.4.3.4 ทำชุดการทดลองควบคุมเช่นเดียวกับในข้อ 3.4.4.3 แต่เปลี่ยนจากน้ำมันหอมระเหยเป็นเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95

3.4.3.5 นำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7, 14, 21 และ 28 วัน

3.4.3.6 เมื่อครบกำหนดตรวจผลสังเกตบริเวณที่เกิดการยับยั้ง ทำการวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง

3.4.3.7 นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่ได้ด้วยวิธี Bonferroni Simultaneous test (สิทธิชัย, 2546)

3.4.4 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน

3.4.4.1 เตรียมอาหารแข็งคือ ปลายข้าวจำนวน 1,060 กรัม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที จากนั้นทิ้งให้ปลายข้าวเย็นลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.4.2 นำ Moisture can ไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง นำออกมาทำให้เย็นใน Desiccator แล้วชั่งหาน้ำหนัก นำกลับเข้าเตาอบแล้วทำตามขั้นตอนเดิม จนได้น้ำหนักคงที่

3.4.4.3 ชั่งปลายข้าวที่ต้องการหาความชื้นใส่ใน Moisture can ที่ทราบน้ำหนักแน่นอนให้ได้น้ำหนัก 2-5 กรัม บันทึกน้ำหนักของ Moisture can กับน้ำหนักปลายข้าวก่อนอบ จากนั้นนำไปอบ ทำเช่นเดียวกับการทดลองในข้อ 3.4.4.2 น้ำหนักที่หายไปจะเป็นน้ำหนักที่มีอยู่ในปลายข้าว จากนั้นนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นในปลายข้าว (AOAC, 1995) ดังนี้

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

เมื่อ P คือ เปอร์เซ็นต์ความชื้นในปลายข้าว

A คือ น้ำหนักของ Moisture can กับน้ำหนักของปลายข้าวก่อนอบ

B คือ น้ำหนักของ Moisture can กับน้ำหนักของปลายข้าวหลังอบ

C คือ น้ำหนักปลายข้าวก่อนอบ

เมื่อแทนค่าที่ได้ในสูตรเป็นดังนี้

$$P = \frac{(20.0254 - 19.7980)\times 100}{2.5159}$$

เพราะฉะนั้น ความชื้นเริ่มต้นในปลายข้าวเท่ากับ 9.0385 เปอร์เซ็นต์

3.4.4.4 ทำการปรับความชื้นของปลายข้าวให้เป็น 25 เปอร์เซ็นต์ โดยการเติมน้ำที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วลงไปจำนวน 167.1 มิลลิลิตร

3.4.4.5 เตรียมสารละลายสปอร์ของเชื้อรา *A. parasiticus* ให้มีความเข้มข้น 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร แล้วนำสารละลายสปอร์ของเชื้อรา 5 มิลลิลิตรมาใส่ลงในถุงพลาสติกที่มีปลายข้าวจำนวน 50 กรัม ทั้งหมด 20 ถุงซึ่งแต่ละถุงมีสารละลายของน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ที่ความเข้มข้น 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ และตะไคร้หอมที่ความเข้มข้น 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ และทำชุดควบคุมโดยใส่เฉพาะสารละลายสปอร์ของเชื้อรา บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน

3.4.5 การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์และการสกัดสารพิษจากตัวอย่าง

3.4.5.1 เตรียม washing buffer โดยนำ washing buffer ในขวดมาเจือจางเป็น 0.01 M PBS-T (Phosphate buffered saline tween 20) โดยเติมน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร

3.4.5.2 เตรียม enzyme conjugate โดยเติม conjugate buffer จำนวน 1 มิลลิลิตร ลงไปในหลอด enzyme conjugate 1 หลอด เขย่าเล็กน้อยให้เป็นเนื้อเดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.5.3 ทำการสกัดสารอะฟลาทอกซินออกจากตัวอย่างโดยบดตัวอย่างให้ละเอียด จากนั้นชั่งตัวอย่างจากแต่ละถุงจำนวน 20 กรัม ใส่ในฟลาสก์และเติม 100 มิลลิลิตร ของเมทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ ลงในฟลาสก์ทุกฟลาสก์ (อัตราส่วนของตัวอย่างต่อเมทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ = 1 : 5)

3.4.5.4 ปิดปากฟลาสก์ด้วยแผ่นพาราฟิล์ม แล้วนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 300 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที

3.4.5.5 นำสารสกัดที่ได้จากการเขย่ามาตั้งทิ้งไว้ประมาณ 5-10 นาที แล้วจึงนำส่วนใสมากรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 4 เก็บส่วนที่กรองได้ไว้ในแก้วที่ปิดสนิท สารสกัดที่กรองได้นี้จะมีความเข้มข้นเป็น 1 : 5 เท่า

3.4.6 การวิเคราะห์สารพิษอะฟลาทอกซินโดยวิธี ELISA

3.4.6.1 นำสารสกัดที่กรองได้มาทำการเจือจางเป็น 1 : 20 เท่า โดยใช้สารละลาย washing buffer (0.01 M PBS-T) ที่เตรียมไว้ในข้อ 3.4.5.1 โดยใช้ส่วนที่กรองได้ 1 มิลลิลิตร ผสมกับ washing buffer 3 มิลลิลิตร ทำการทดสอบสารพิษอะฟลาทอกซินโดยวิธี ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay (กรมวิชาการเกษตร, 2547) โดยหยดสารพิษอะฟลาทอกซินมาตรฐานระดับความเข้มข้น 0, 0.2, 0.5, 1 และ 2 ng/ml จำนวน 50 ไมโครลิตร ลงในหลุมทดสอบ และหยดสารสกัดตัวอย่างที่เจือจางแล้วจำนวน 50 ไมโครลิตร ลงในหลุมทดสอบที่เหลือ

3.4.6.2 หยด enzyme conjugate ที่เตรียมไว้ในข้อ 3.4.5.2 จำนวน 50 ไมโครลิตร ลงไปในหลุมทดสอบทุกหลุม เขย่าเล็กน้อย แล้วบ่มไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที

3.4.6.3 หลังจากครบเวลาการบ่มแล้วเทสารในหลุมทดสอบทิ้งโดยการคว่ำหลุม แล้วล้างหลุมทดสอบโดยเติม washing buffer ลงในหลุมให้เต็มทุกหลุม แล้วคว่ำทิ้ง ทำการล้างอย่างน้อย 3 ครั้ง คว่ำหลุมทดสอบบนกระดาษซับแล้วเคาะให้แห้ง

3.4.6.4 หยด substrate (A+B = 1 : 1) จำนวน 100 ไมโครลิตร ลงไปในหลุมทดสอบทุกหลุม แล้วบ่มไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที จะเกิดปฏิกิริยาเป็นสีฟ้าตามลำดับความเข้มข้นของสารพิษ ตัวอย่างที่มีสีฟ้าเข้มแสดงว่าไม่มีสารพิษอะฟลาทอกซิน หรือมีน้อย และตัวอย่างที่มีสีฟ้าเจือจางหรือสีขาว แสดงว่ามีสารพิษมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ ตะไคร้หอม และเสม็ดขาวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 บนอาหาร PDA

เมื่อศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ ตะไคร้หอม และเสม็ดขาวที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0(ชุดควบคุม), 1, 2, 3, 4 และ 5 ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* บนอาหารPDA โดยบ่มเป็นระยะเวลา 7, 14, 21 และ 28 วัน จากนั้นวัดผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา โดยวัดความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งการเจริญ พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์เป็นเวลา 7 วัน ตั้งแต่ความเข้มข้นร้อยละ 2, 3, 4, 5 และบริเวณยับยั้งลดลงเรื่อยๆในวันที่ 14, 21 และ 28 ตามลำดับ ปรากฏผลดังตารางที่ 3 และรูปที่ 2 สำหรับน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้หอมพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของ *A. parasiticus* ได้สมบูรณ์ตั้งแต่ความเข้มข้นร้อยละ4 และ 5 เป็นเวลา 7 วัน ดังปรากฏผลในตารางที่ 4 และรูปที่ 3 และจากการทดลองพบว่าผลการยับยั้งของน้ำมันหอมระเหยจากเสม็ดขาวสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ต่ำที่สุดคือ ยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ที่ความเข้มข้นร้อยละ 3, 4, และ 5 โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเป็น 12.040, 16.219 และ 16.790 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 5) โดยที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 และ 2 ไม่มีอิทธิพลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม(รูปที่ 4)

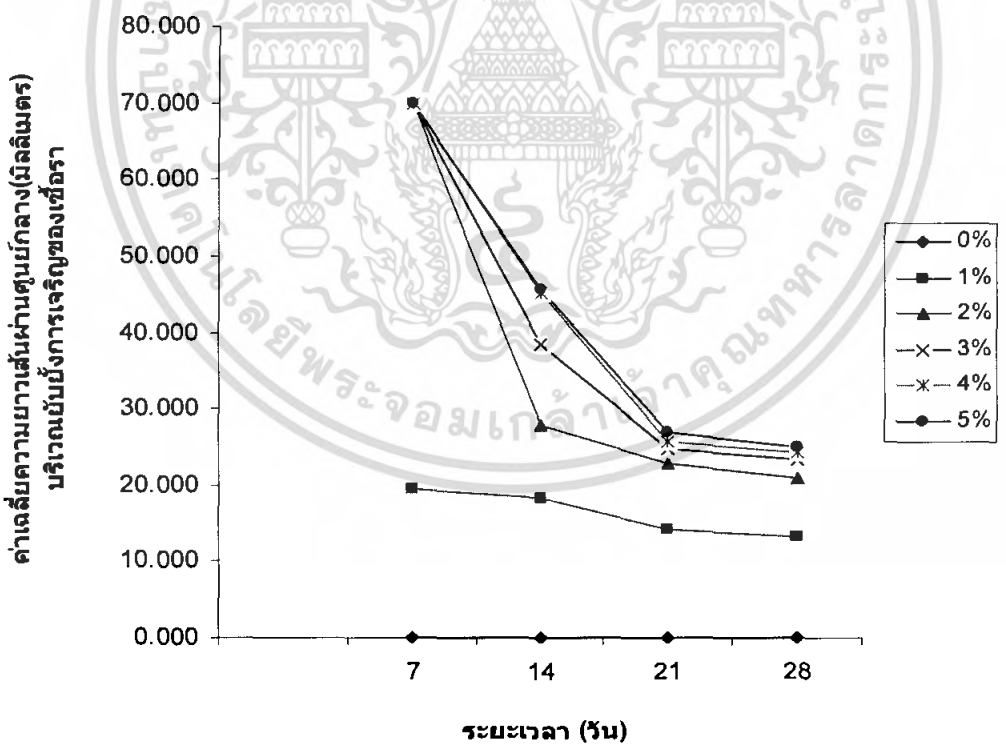
จากงานวิจัยของ Thanaboripat และคณะ (2007) ได้ศึกษาอิทธิพลของน้ำมันหอมระเหย 16 ชนิดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A.flavus* บนอาหาร Potato dextrose agar พบว่ามีน้ำมันหอมระเหย 3 ชนิดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้คือ ลาเวนเดอร์ อบเชย และเสม็ดขาว โดยพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากเสม็ดขาวมีอิทธิพลในการยับยั้งการเจริญได้สูงสุด และความเข้มข้นที่เหมาะสมคือระดับความเข้มข้นร้อยละ 1.5625

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 ความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย(มิลลิเมตร) บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 บนอาหารPDA โดยน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5

ระดับความเข้มข้น (ร้อยละ)	ระยะเวลาการบ่ม (วัน)			
	7	14	21	28
ชุดควบคุม	0.000	0.000	0.000	0.000
1	19.570	18.284	14.070	13.106
2	>70.000	27.788	22.836	20.974
3	>70.000	38.408	24.672	23.238
4	>70.000	45.154	25.786	24.356
5	>70.000	45.756	26.892	25.102

หมายเหตุ ผลการทดลองทำการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางรวมcupที่มีขนาด 0.6000 มิลลิเมตร



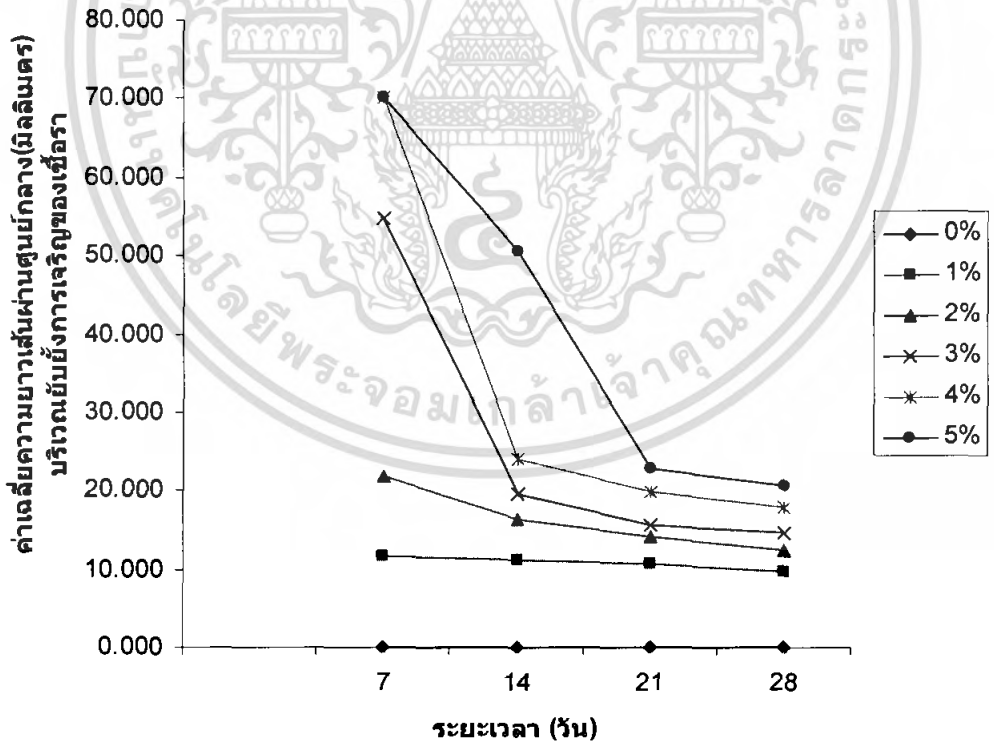
รูปที่ 2 กราฟแสดงค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง(มิลลิเมตร)บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 บนอาหารPDA โดยน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 ความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย(มิลลิเมตร)บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 บนอาหารPDA โดยน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5

ระดับความเข้มข้น (ร้อยละ)	ระยะเวลาการบ่ม (วัน)			
	7	14	21	28
ชุดควบคุม	0.000	0.000	0.000	0.000
1	11.706	11.212	10.734	9.982
2	21.880	16.310	14.118	12.374
3	54.788	19.652	15.586	14.538
4	>70.000	24.080	19.818	17.866
5	>70.000	50.544	22.826	20.464

หมายเหตุ ผลการทดลองทำการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางรวมcupที่มีขนาด 0.6000 มิลลิเมตร



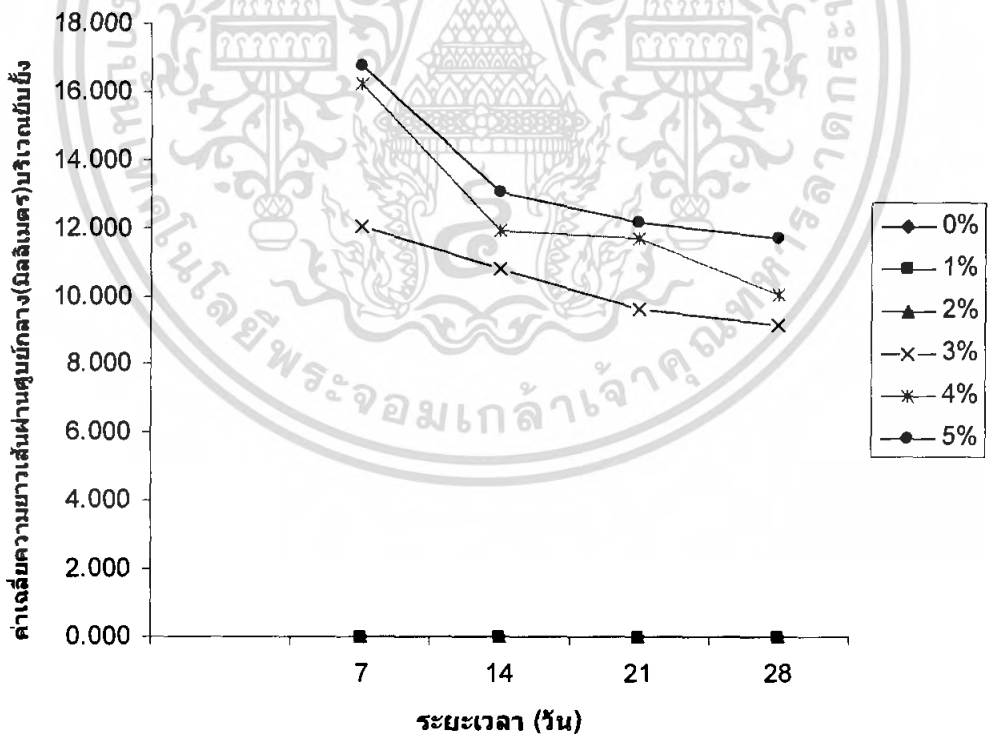
รูปที่ 3 กราฟแสดงค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง(มิลลิเมตร)บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 บนอาหารPDA โดยน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้หอม ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 ความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย(มิลลิเมตร)บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 บนอาหารPDA โดยน้ำมันหอมระเหยจากเสม็ดขาวที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5

ระดับความเข้มข้น (ร้อยละ)	ระยะเวลาการบ่ม (วัน)			
	7	14	21	28
ชุดควบคุม	0.000	0.000	0.000	0.000
1	0.000	0.000	0.000	0.000
2	0.000	0.000	0.000	0.000
3	12.040	10.814	9.630	9.134
4	16.219	11.926	11.686	10.026
5	16.790	13.020	12.142	11.702

หมายเหตุ ผลการทดลองทำการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางรวม cup ที่มีขนาด 0.6000 มิลลิเมตร



รูปที่ 4 กราฟแสดงค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง(มิลลิเมตร)บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 บนอาหารPDA โดยน้ำมันหอมระเหยจากเสม็ดขาวที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ ตะไคร้หอม และเสม็ดขาวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasitics* IMI 102566 บนอาหาร PDA

จากการศึกษาชนิดของน้ำมันหอมระเหย ระดับความเข้มข้น และระยะเวลาในการบ่มที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* โดยทำการทดลองแบบแฟกทอเรียล ขนาด 3x5x4 ในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (3x5x4 Factorial Experiment in Completely Randomized Design) และนำข้อมูลมาวิเคราะห์หาความแปรปรวนได้ผลดังตารางที่ 6 พบว่า ชนิดของน้ำมันหอมระเหย ระดับความเข้มข้น และระยะเวลาในการบ่ม มีอิทธิพลร่วมกันในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* โดยเห็นได้จากค่า P-value ของอิทธิพลร่วมระหว่าง 3 ปัจจัยมีค่าน้อยกว่า 0.05 (P-value < 0.05) ดังนั้นจึงทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเชิงซ้อนรายคู่ (Multiple Comparison) ต่อไป เพื่อหา 2 ระดับที่แตกต่างกันด้วยวิธีของ Bonferroni Simultaneous test ได้ผลดังตารางที่ 7 พบว่าสามารถแบ่งชนิดของน้ำมันหอมระเหย ระดับความเข้มข้น และระยะเวลาในการบ่ม ตามความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* ออกเป็น 6 กลุ่ม โดยที่น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2, 3, 4 และ 5 ที่มีระยะเวลาในการบ่ม 7 วัน และน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 4 และ 5 ที่มีระยะเวลาในการบ่ม 7 วัน สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 3 ที่มีระยะเวลาในการบ่ม 7 วัน น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 5 ที่มีระยะเวลาในการบ่ม 14 วัน น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 5 ที่มีระยะเวลาในการบ่ม 14 วันและน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 4 ที่มีระยะเวลาในการบ่ม 14 วัน โดยให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวเส้นผ่านศูนย์กลาง(มิลลิเมตร)บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566บนอาหาร PDA ของน้ำมันหอมระเหย 3 ชนิด ที่ความเข้มข้นต่างๆ

แหล่งของความแปรปรวน	df	SS	MS	F_{cal}	P-value
ชนิดของน้ำมันหอมระเหย (A)	2	33069.3	16534.6	842.64	0.000
ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย (B)	5	47996.1	9599.2	489.20	0.000
ระยะเวลาในการบ่ม (C)	3	22866.5	7622.2	388.44	0.000
อิทธิพลร่วมระหว่าง A*B	10	10030.8	1003.1	51.12	0.000
อิทธิพลร่วมระหว่าง B*C	6	9625.9	1604.3	81.76	0.000
อิทธิพลร่วมระหว่าง A*C	15	12415.6	827.7	42.18	0.000
อิทธิพลร่วมระหว่าง A*B*C	30	7905.4	263.5	13.43	0.000
ความคลาดเคลื่อนจากการทดลอง	288	5651.3	19.6		
รวม	359	149560.8			

ตารางที่ 7 ตารางแสดงผลการเปรียบเทียบเชิงซ้อนรายคู่ของค่าเฉลี่ยความยาวเส้นผ่านศูนย์กลาง (มิลลิเมตร)บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 ของน้ำมันหอมระเหยทั้ง 3 ชนิดในทุกระดับความเข้มข้น

Treatment			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของinhibition zone รอบๆ cylinder cup (มม.)*
ชนิดของน้ำมันหอมระเหย	ระดับความเข้มข้น	ระยะเวลาในการบ่ม(วัน)	
ตะไคร้	2	7	70.000[a]
ตะไคร้	3	7	
ตะไคร้	4	7	
ตะไคร้	5	7	
ตะไคร้หอม	4	7	
ตะไคร้หอม	5	7	
ตะไคร้หอม	3	7	54.790[b]
ตะไคร้	5	14	53.100[b]
ตะไคร้หอม	5	14	50.450[b]
ตะไคร้	4	14	45.960[b]
ตะไคร้	3	14	38.410[c]
ตะไคร้	2	14	27.790[c]
ตะไคร้	5	21	26.786[d]
ตะไคร้	4	21	26.492[d]
ตะไคร้	5	28	25.156[d]
ตะไคร้	3	21	24.670[d]
ตะไคร้	4	28	24.302[d]
ตะไคร้หอม	5	14	24.080[d]
ตะไคร้	3	28	23.240[d]
ตะไคร้	2	21	22.840[d]
ตะไคร้หอม	5	21	22.826[d]
ตะไคร้หอม	2	7	21.280[d]
ตะไคร้	2	28	20.970[d]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 (ต่อ)

Treatment			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของinhibition zone รอบๆ cylinder cup โดยเฉลี่ย(มม.)*
ชนิดของน้ำมันหอมระเหย	ระดับความเข้มข้น	ระยะเวลาในการบ่ม(วัน)	
ตะไคร้หอม	5	28	20.464^{a}
ตะไคร้หอม	4	21	19.818^{ab}
ตะไคร้	1	7	19.810^{ab}
ตะไคร้หอม	3	14	19.652^{abc}
ตะไคร้หอม	4	28	17.866^{abcd}
ตะไคร้หอม	1	14	17.660^{abcd}
เสม็ดขาว	5	7	16.790^{bcd}
ตะไคร้หอม	2	14	16.310^{bcd}
เสม็ดขาว	4	7	16.196^{cde}
ตะไคร้หอม	3	21	15.586^{cdef}
เสม็ดขาว	5	14	15.300^{cdef}
ตะไคร้หอม	3	28	14.538^{cdef}
ตะไคร้หอม	2	21	14.118^{def}
ตะไคร้	1	21	14.707^{cdef}
เสม็ดขาว	5	21	13.212^{def}
ตะไคร้	1	28	13.110^{def}
เสม็ดขาว	4	14	12.486^{efg}
ตะไคร้หอม	2	28	12.274^{efg}
ตะไคร้หอม	1	7	12.256^{fg}
เสม็ดขาว	3	7	12.004^{efg}
เสม็ดขาว	5	28	11.702^{efg}
เสม็ดขาว	4	21	11.586^{efg}
ตะไคร้หอม	1	14	10.886^{efg}
เสม็ดขาว	3	14	10.874^{g}
ตะไคร้หอม	1	21	10.370^{g}
เสม็ดขาว	4	28	10.026^{g}
ตะไคร้หอม	3	28	9.782^{g}
เสม็ดขาว	1	21	9.630^{g}
เสม็ดขาว	3	28	8.908^{g}
ตะไคร้	0	7	0.000^{f}
ตะไคร้	0	14	
ตะไคร้	0	21	
ตะไคร้	0	28	
ตะไคร้หอม	0	7	
ตะไคร้หอม	0	14	
ตะไคร้หอม	0	21	
ตะไคร้หอม	0	28	
เสม็ดขาว	0	7	
เสม็ดขาว	0	14	
เสม็ดขาว	0	21	
เสม็ดขาว	0	28	
เสม็ดขาว	1	7	
เสม็ดขาว	1	14	
เสม็ดขาว	1	21	
เสม็ดขาว	1	28	
เสม็ดขาว	2	7	
เสม็ดขาว	2	14	
เสม็ดขาว	2	21	
เสม็ดขาว	2	28	

หมายเหตุ

- ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ inhibition zone รอบๆ cylinder cup ที่มีตัวอักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รวีวรรณ (2543) ได้ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการกลั่นด้วยความร้อนจากพืช 6 ชนิด ได้แก่ โป๊ยกั๊ก ผักแขยง มะกรูด ไพล ยูคาลิปตัส และตะไคร้ และสารเคมี 2 ชนิดคือ คาร์บอกซินและคาร์เบนดาซิม ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ซึ่งเป็นสาเหตุโรครากเน่า โคนเน่าในพืชเศรษฐกิจหลายชนิด โดยทดสอบบนอาหาร Potato dextrose agar ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.1, 0.2, 0.5 และ 1 พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากโป๊ยกั๊ก ไพล ตะไคร้ และคาร์บอกซินในทุกระดับความเข้มข้น สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และน้ำมันหอมระเหยจากผักแขยง มะกรูด และยูคาลิปตัสสามารถยับยั้งเชื้อราได้ 100 เปอร์เซ็นต์ตั้งแต่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.5 และ 1 เป็นต้นไปตามลำดับ ส่วนเบนดาซิมในระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.5 และ 1 ยับยั้งเชื้อราได้ 0.00, 16.25, 37.50 และ 59.72 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

4.3 ผลการศึกษาอิทธิพลของน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้และตะไคร้หอมต่อการยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 บนปลายข้าว

เมื่อศึกษาอิทธิพลของน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2 และ 3 และตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 4 และ 5 ต่อการยับยั้งอะฟลาทอกซินที่ผลิตโดยเชื้อรา *A. parasiticus* บนอาหารปลายข้าวที่บ่มไว้เป็นระยะเวลา 7 วัน จากนั้นทำการวัดผลการยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินโดยใช้ชุดทดสอบอะฟลาทอกซินบี 1 (ELISA Test kit) อ่านผลโดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของสารตัวอย่าง ถ้ามีสีฟ้าเข้มคือไม่มีอะฟลาทอกซินหรือมีในปริมาณน้อย หากมีสีฟ้าจางหรือสีขาวคือมีอะฟลาทอกซินในปริมาณมาก ซึ่งในสารละลายมาตรฐานได้กำหนดการอ่านค่าสีของสารละลายเป็น 5 ระดับเรียงตามความเข้มของสีเรียงจากเข้มมากไปเข้มน้อยคือ สีฟ้าเข้ม 0 พีพีบี, 4 พีพีบี, 10 พีพีบี, 20 พีพีบี และ สีขาว40 พีพีบี

เมื่อทำการทดสอบแล้วพบว่าชุดควบคุมมีระดับอะฟลาทอกซินบี 1 ประมาณ 40 พีพีบี (สีขาว) ในขณะที่น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้และตะไคร้หอมเมื่อสังเกตสีของสารละลายตัวอย่างพบว่ามีระดับอะฟลาทอกซินบี 1 ไม่แตกต่างกันคือ อยู่ในช่วง 10 – 20 พีพีบี แสดงว่าน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้และตะไคร้หอมสามารถยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินได้ในระดับหนึ่ง

จากงานวิจัยของ Thanaboripat และคณะ (2004) พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus flavus* IMI 242684 บนอาหาร PDA และเมล็ดข้าวโพดได้ 28 วัน และยับยั้งการสร้างสปอร์และสารพิษอะฟลาทอกซินได้ตั้งแต่ความเข้มข้นร้อยละ 1 ขึ้นไป และน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.2 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 10256 ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 บนอาหาร PDA ของน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ ตะไคร้หอมและเสม็ดขาว สรุปได้ว่าน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2, 3, 4 และ 5 และน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 4 และ 5 ที่มีระยะเวลาในการบ่ม 7 วัน มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 ได้อย่างสมบูรณ์ ในขณะที่น้ำมันหอมระเหยจากเสม็ดขาวมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราต่ำสุด

เมื่อนำน้ำมันหอมระเหยความเข้มข้นที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 มาศึกษาการยับยั้งอะฟลาทอกซินบนปลายข้าว พบว่าในชุดควบคุมมีอะฟลาทอกซินประมาณ 40 ส่วนในพันส่วน ในขณะที่ตัวอย่างที่มีการเติมน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 และ 3 และตะไคร้หอมที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 และ 5 พบว่ามีสารพิษอยู่ระหว่าง 10 – 20 ส่วนในพันส่วน แสดงว่าน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้และตะไคร้หอมมีผลในการยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินได้ประมาณร้อยละ 25 – 50 อย่างไรก็ตามการอ่านค่าปริมาณของอะฟลาทอกซินนี้เป็นการอ่านค่าจากการสังเกตสีจึงเป็นการประมาณค่าปริมาณอะฟลาทอกซินซึ่งเป็นค่าที่ไม่ชัดเจนว่าบอกถึงปริมาณอะฟลาทอกซินที่มีอยู่จริงไม่ได้

ข้อเสนอแนะ

1. ในการอ่านค่าปริมาณสารพิษควรใช้เครื่องมือที่สามารถวัดปริมาณสารพิษในตัวอย่างได้
2. ศึกษาหาความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินได้อย่างสมบูรณ์
3. ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สามารถใช้กับผลผลิตทางการเกษตร
4. ศึกษาวิธีการหรือความเข้มข้นที่ทำให้มีการยับยั้งการเจริญของเชื้อราและการสร้างสารพิษได้เป็นระยะเวลาที่นาน
5. ทดสอบความเป็นพิษของตะไคร้หอม
6. วิจัยและพัฒนาเพื่อให้น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้สามารถใช้กับอาหารที่มีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนจากเชื้อราที่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กนกรัตน์ ป้องประทุม. 2544. อาหารกับสารอะฟลาทอกซิน. [online]. Available : http://www.gpo.or.th/rdi/html/kanokrat.html

กรมวิชาการเกษตร. 2547. คู่มือการใช้ชุดตรวจสอบสารอะฟลาทอกซินสำเร็จรูป. กลุ่มงานวิจัย และพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและ แปรรูปผลิตผลเกษตร

จักรพันธุ์ ปัญจะสุวรรณ. 2542. พิษภัยในอาหาร. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์

นพดล มีมาก และเพชรรัตน์ ศักดินันท์. 2549. อะฟลาทอกซินในอาหารโคนมจากภาคตะวันตกของประเทศไทย. [Online]. Available : http://www.dld.go.th/niah/Publishing/eJournal/v1n2_sep49

นงนุช วณิตย์ธนาคม. 2540. วิทยาเชื้อราการแพทย์. เชียงใหม่ : โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

นิจศิริ เรืองรังษี และพยอม ตันติวัฒน์. 2534. พืชสมุนไพร. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์

เปล่งศรี อิงคนินันท์. 2540. สารพิษจากเชื้อรา : ผลกระทบต่อสุขภาพสัตว์. กรุงเทพฯ : ตีรณสาร

พรรณกร อิ่มวิทยา. 2538. เชื้อราก่อโรคในคน. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : ดอกหญ้า

มัลลิกา ชมนาวัง. 2547. วิธีการสกัดสารสำคัญจากพืช. [Online]. Available : http://www.oknation.net/blog/buzz

ยุวดี สมิทธิวาส. 2541. สารพิษอะฟลาทอกซิน. [Online]. Available : http://www.elib-online.com/doctors/aflatoxin.html

รวีวรรณ เดื่อมขันมณี. 2543. ผลของน้ำมันหอมระเหยต่อเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* Sacc. [Online]. Available : http://dcms.thailis.or.th/object/45/html_metadata/45_38.html

วัลลภ วีชะรังสรรค์ และ ประณีต โอปณะโสภิต. 2547. ภาพรวมของอนุมูลอิสระและการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากพืชในหลอดทดลอง. 2004. ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ องครักษ์ นครนายก.

สิทธิชัย เจริญเศรษฐศิลป์. 2546. การวางแผนการทดลอง. พิมพ์ครั้งที่ 1. ภาควิชาสถิติประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

สีวิกา แสงธาราทิพย์. 2545. ความรู้เรื่องพืชไล่ยุง [Online]. Available : http://dhf.ddc.moph.go.th/Old/cymbo.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุรัตน์วดี จิวะจินดา. 2547. สมุนไพรกันยุงตะไคร้หอม. [Online]. Available : http://elib-online.com/doctors/citronella.html

ศิรินันท์ ทับทิมเทศ. 2545. พันธุ์ไม้ในสวนพฤกษศาสตร์. [Online]. Available : http://www.dnp.go.th/Pattani_botany

ศุภกิจ อังศุภากร. 2540. สารพิษจากเชื้อรา. กรุงเทพฯ : ตีรณสาร

อนงค์ บิณฑวิหค. 2546. สารพิษจากเชื้อรา : อะฟลาทอกซิน. กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Ansher, S.S., Bueding, E. and Dolan, P. 1986. Biochemical effects of dithtolthiones. *Food Chem Toxicol, 24*, 405-415.

AOAC. 1995 Official Methods of Analysis. *Association of Official Analytical Chemists.* Washington, D.C.

Azzouz, M.A. 1982. The inhibitory effects of selected herbs, species and other plant materials on mycotoxigenic molds. *Food Science Technology*. 14 : 11-12.

Bintvihok, A., Kiatipattanasakul, W. and Doi, K. 1997. Acute of aflatoxin B1 in three species of domestic fowls. *J Toxicol Pathol, 10*, 149-152.

Bullerman, L.B., Lieu, F.Y. and Seirer, S.A. 1977. Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oil, cinnamic aldehyde and eugenol. *J Food Sci.* 42(4) : 1107-1109, 1116.

Carnaghan, B.A. 1985. Hepatic tumors in ducks fed a low level of toxic groundnut meal. *Nature.*, 208.

Cobley, L.M. and Leslies, B.F. 1963. An Introduction to the Botany of Tropical Crops. London : Longmans Green

Cuong, D.N., Xuyen, T.T., Mot O., Stransky, K., Presslova, J., Jedlickova, Z. and Sery, V. 1994. Antibacterial properties of vietnamese cajuput oil. *J Essent. Oil Res, 6*, 63-67.

Esaki, H. and Kumagai, S. 2002. Glutathione-S-transferase activity toward aflatoxin epoxide in livers of mastomya and oter rodents. *Toxicon,* 40, 941-945.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Goto, T., Wicklow, D.T. and Ito, Y. 1996. Aflatoxin and cyclopiazonic acid production by a sclerotium producing *Apergillus tamarii* strain, *Appl. Env. Microbiol.*, 4036-4038

Haginiwa, J., Hasada, M. and Morishita, I. 1998. Properties of essential oil components of aromatics and their phamacological effect on mouse intestine. *Pharmacological studies on crude drugs*, 83, 624.

Hirano, K., Adachi, Y., Bintvihok, A., Ishibashi, S. and Kumazawa, N.H. 1992. An improved method for extraction and clean up of aflatoxin B1 from liver. *J Vet Med Sci, 54*, 567-569.

Inouye, S., Goi, H., Miyauchi, K., Muraki, S., Ogihara, M. and Iwanami, Y. 1983. Inhibitory effect of volatile constituents of plants on the proliferation of bacteria-antibacteria activity. *J Antibact Antifungal Agents , 11(11)*, 609-615.

Lorian, V. 1986. Antibiotics in laboratory medicine. *National Committee of Laboratory Safety and Standards (NCLSS)*. Amsterdam. The Netherlands.

Peterson, S.W., Ito, Y., Horn, B.W. and Goto, T. 2001. *Aspergillus bombycis*, a new aflatoxigenic and genetic variation in its sibling species, *A. nomius. Mycologia, 93*, 689-703

Robert, T.A., Baird-Parker, A.G. and Tompkin, R.B. 1996. Microorganism in Foods. London. : James & James

Scriven, R. and Meloan, C.E. 1995. Determining the active component in 1,3,3-trimethyl-2-oxabicyclo [2,2,2] octane (cineole) that repels the American cockroach. *Ohio J Sci , 843*, 85-88.

Sugiura, M., Ishizuka, T. and Neishi, M. 2002. Flying insect repellents containing essential oils. Patent. *Jpn Kokai Tokkyo Koho JP 173*, 404, 324-325.

Thanaboripat, D., Suvathi, Y., Srilohasin, P., Sripakdee, S., Patthanawanitchai, O. and Charoensettasilp, S. 2007. Inhibitory effect of essential oils on the growth of *Aspergillus flavus, KMITL Sci Tech J, 7(1)*, 1-5.

Thanaboripat, D., Suvathi, Y., Mongkontanawat, N. and Ruangrattanamatec, V. 2004. Inhibition of Aflatoxin Production and Growth of *Aspergillus flavus* by Citronella oil [Online]. Available : www.kmitl.ac.th/ejkmitl/vol4no1/InhibitionAflatoxin.pdf

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Wannissorn, B., Jarikasem, S. and Soontorntanasart, T. 1996. Antifungal activity of lemon grass oil and lemon grass oil cream. *Phytotherapy Res, 10*, 551-554.

Wilson, D.M. and Payne, G.A. 1994. *Factors affecting Aspergillus flavus group infection and aflatoxin contamination of crops*. Sandiego : Acedemic Press.

Zaika, L.L. 1988. Spices and herbs : their antimicrobial activity and its determination. *J Food Safety, 9*, 134-138.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-1 ความยาวเส้นผ่านศูนย์กลาง (มิลลิเมตร) บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 บนอาหาร PDA โดยน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ ตะไคร้หอม และเสม็ดขาวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ชนิดของน้ำมันหอมระเหย	ระยะเวลาการบ่ม(วัน)	ซ้ำ	ระดับความเข้มข้น (ร้อยละ)				
			1.0	2.0	3.0	4.0	5.0
ตะไคร้	7	1	18.09	70.00	70.00	70.00	70.00
		2	28.27	70.00	70.00	70.00	70.00
		3	16.91	70.00	70.00	70.00	70.00
		4	18.90	70.00	70.00	70.00	70.00
		5	16.90	70.00	70.00	70.00	70.00
	14	1	17.04	29.10	25.33	47.16	31.43
		2	24.84	31.61	26.53	37.55	51.98
		3	15.87	33.30	42.60	44.08	47.55
		4	17.29	28.51	32.14	35.98	64.52
		5	13.28	16.42	65.44	65.04	70.00
	21	1	11.14	25.83	23.64	25.51	25.60
		2	19.53	25.00	21.30	27.16	27.57
		3	13.21	15.89	23.87	25.77	26.37
		4	13.60	24.00	25.88	26.85	27.07
		5	12.87	23.46	28.67	27.17	27.32
	28	1	10.74	23.59	22.57	25.31	25.87
		2	18.25	22.67	20.19	23.02	23.31
		3	12.78	13.94	22.68	23.74	24.93
		4	12.55	22.59	23.78	24.98	25.58
		5	11.21	22.08	26.97	24.46	26.09

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-1 (ต่อ)

ชนิดของน้ำมันหอมระเหย	ระยะเวลาการบ่ม(วัน)	ซ้ำ	ระดับความเข้มข้น (ร้อยละ)				
			1.0	2.0	3.0	4.0	5.0
ตะไคร้หอม	7	1	13.03	17.74	70.00	70.00	70.00
		2	14.04	16.15	70.00	70.00	70.00
		3	10.55	16.38	70.00	70.00	70.00
		4	10.86	31.43	27.64	70.00	70.00
		5	12.80	24.68	36.30	70.00	70.00
	14	1	10.67	17.55	21.01	25.42	57.04
		2	11.92	16.28	19.20	22.20	43.26
		3	10.72	15.44	19.20	25.17	46.04
		4	10.26	17.33	19.20	23.13	44.36
		5	10.86	14.95	19.65	24.48	62.02
	21	1	10.55	14.33	15.94	20.78	22.52
		2	10.14	13.94	15.62	18.61	23.95
		3	9.94	15.19	15.17	19.78	21.13
		4	9.45	13.73	15.90	19.72	23.94
		5	11.77	13.40	15.30	20.20	22.59
	28	1	9.36	12.52	14.31	18.35	19.70
		2	11.21	12.36	14.06	17.69	21.81
		3	9.03	11.28	14.51	18.23	20.16
		4	8.93	12.75	14.86	17.85	19.25
		5	10.38	12.46	14.95	17.21	21.40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-1 (ต่อ)

ชนิดของน้ำมันหอมระเหย	ระยะเวลาการบ่ม(วัน)	ซ้ำ	ระดับความเข้มข้น (ร้อยละ)				
			1.0	2.0	3.0	4.0	5.0
เสม็ดขาว	7	1	0.00	0.00	14.30	15.07	17.73
		2	0.00	0.00	12.62	18.60	16.11
		3	0.00	0.00	11.48	18.48	22.28
		4	0.00	0.00	11.00	14.11	14.90
		5	0.00	0.00	10.62	14.72	12.95
	14	1	0.00	0.00	11.56	12.50	15.54
		2	0.00	0.00	11.89	13.23	14.85
		3	0.00	0.00	11.56	12.34	20.11
		4	0.00	0.00	11.88	11.98	13.74
		5	0.00	0.00	7.48	12.38	12.27
	21	1	0.00	0.00	10.73	11.09	14.20
		2	0.00	0.00	10.86	11.13	12.43
		3	0.00	0.00	10.16	12.53	16.18
		4	0.00	0.00	9.31	11.74	12.17
		5	0.00	0.00	7.09	11.44	11.08
	28	1	0.00	0.00	10.18	8.57	9.50
		2	0.00	0.00	9.96	10.32	11.20
		3	0.00	0.00	10.37	11.25	15.19
		4	0.00	0.00	6.01	10.96	11.99
		5	0.00	0.00	8.02	9.03	10.63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สมุนไพรที่ใช้ในการทำโครงงานพิเศษ

รูปที่ ข-1 ตะไคร้
(ที่มา : สีวิกา, 2545)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cymbopogon citrates* Stapf.
ชื่อสามัญ Lemon grass, Lapine, ตะไคร้
วงศ์ Gramineae
ชื่อท้องถิ่น คาหอม, ไคร, จะไคร, เชิดเกรย, หัวสิงไค, เหลอะเกรย
ส่วนที่ใช้ ต้นและใบ
ลักษณะพืช เป็นไม้ล้มลุกจะขึ้นเป็นกอใหญ่ สูงประมาณ 1 เมตร ลักษณะของลำต้น ตั้งตรง แข็ง เกลี้ยง และตามปล้อง (กาบของโคนต้น) มักมีไขปกคลุมอยู่ ความสูงวัดจากโคนถึงกาบใบ ประมาณ 30 เซนติเมตร ใบเดี่ยว แตกออกเป็นกอ รูปขอบขนานปลายใบแหลม ยาว 30-60 เซนติเมตร กว้างประมาณ 1-2 เซนติเมตร ผิวใบด้านบนระคายมือเล็กน้อย ส่วนด้านล่างจะเรียบ ขอบใบเรียบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประโยชน์ ทั้งต้น ใช้เป็นยารักษาโรคหืด แก้ปวดท้อง ขับปัสสาวะ และแก้อหิวาตกโรค และยังใช้ร่วมกับสมุนไพรอื่น รักษาโรคได้ เช่น บำรุงธาตุ เจริญอาหาร และขับเหงื่อ ใบสดๆ ช่วยลดความดันโลหิตสูง แก้ไข้ ราก ใช้เป็นยาแก้ไขปวดท้องและท้องเสีย ต้นใช้เป็นยาขับลม แก้เบื่ออาหาร แก้โรคทางเดินปัสสาวะ นิ่ว เป็นยาบำรุงธาตุไฟ ให้เจริญ และนอกจากนี้ยังใช้ดับกลิ่นคาวด้วยน้ำมัน มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา และมีกลิ่นไล่สนุขและแมว

สารออกฤทธิ์ สารเคมีในน้ำมันหอมระเหย คือ citral, citronellal, citronellol, geraniol, dipentene limonene และ myrcene สามารถต้านเชื้อรา *Trichophyton mentagrophytes*, *T. rubrum*, *Epidermophyton floccosum* และ *Microsporum gypseum* (Haginiwa และคณะ, 1998)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ ข-2 ตะไคร้หอม
(ที่มา : สุรัตน์วดี, 2547)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cymbopogon nardus* Rendle.
ชื่อสามัญ Citronella grass, ตะไคร้หอม
วงศ์ Gramineae
ชื่อท้องถิ่น จะไคมะขูด, ตะไครมะขูด, ตะไคร้แดง
ส่วนที่ใช้ ใบและก้านใบ
ลักษณะพืช พืชล้มลุก อายุหลายปี มีเหง้า ลำต้นตั้งตรง สูง 2 เมตร ออกเป็นกอ ใบเกลี้ยง รูปยาวแคบ กว้าง 5-20 มม. ยาวได้ถึง 1 เมตร มีกลิ่นหอม ตรงรอยต่อระหว่างใบกับกาบ มีแผ่นรูปไข่ปลายตัดยื่นออกมา ยาวประมาณ 2 มม. มีขนกาบหุ้มติดทน กาบล่างสุดเกยซ้อนกัน เมื่อแห้งจะม้วนขึ้น ดอกออกเป็นช่อขนาดใหญ่ยาวได้ถึง 80 ซม. มีใบประดับ ลักษณะคล้ายกาบ ยาวประมาณ 25 มม. รองรับอยู่ ช่อดอกแยกเป็นหลายแขนง แต่ละแขนงมีช่อย่อย 4-5 ช่อ ผลแห้งไม่แตก ตะไคร้หอมมีลักษณะส่วนใหญ่คล้ายกับตะไคร้กอ ต่างกันที่กลิ่น ต้นและใบยาวกว่าตะไคร้กอมาก แผ่นใบกว้างยาวและนิ่มกว่าเล็กน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประโยชน์ แก้ริดสีดวงในปาก (คือปากแตกระแหง เป็นแผลในปาก) สตรีมีครรภ์รับประทาน ทำให้แท้ง บีบรัดมดลูก ขับลมในลำไส้ แก้แน่น ตะไคร้หอมได้ถูกนำมาใช้ไล่แมลง อย่างแพร่หลายนานมาแล้ว โดยละลายน้ำมันตะไคร้หอม 7 ส่วน ผสมในแอลกอฮอล์ (70%) 93 ส่วน ฉีดพ่นหรือตำใบสดหมักในแอลกอฮอล์ใน อัตราส่วน หรือใช้ใบตะไคร้หอม มัดแล้วทุบให้ช้ำวางไว้ตามมุมห้องหรือใต้เตียง

สารออกฤทธิ์ สารเคมีในน้ำมันหอมระเหย คือ citranellol, camphor, cineol, eugenol และ linalool มีฤทธิ์ในการไล่ยุงและแมลง (Sugiura และคณะ, 2002)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ ข-3 เสม็ดขาว
(ที่มา : ศิรินันท์, 2545)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Melaleuca leucadendra* Linn.

ชื่อสามัญ Cajuput Tree, Whitewood, เสม็ดขาว

วงศ์ Myrtaceae

ชื่อท้องถิ่น กือแล, เม็ด, เหม็ด, เสม็ด

ส่วนที่ใช้ ใบ

ลักษณะพืช ไม้ต้น สูง 5-25 เมตร เปลือกสีขาวนวล เป็นแผ่นบาง ๆ เรียงซ้อนกันเป็นปึกหนา นุ่ม เปลือกชั้นในบาง สีน้ำตาลยอดอ่อน กิ่งอ่อน และใบอ่อน มีขนสีขาวเป็นมัน คล้ายเส้นไหม แผ่นใบ รูปหอก กว้าง 1.5-4 เซนติเมตร ยาว 5-10 เซนติเมตร ปลายใบและโคนใบแหลม มีเส้นแยกออกจากโคนใบ 3-5 เส้น ขนานกันและไปจรดกันที่ปลายใบ ดอก เล็ก สีขาว ออก 1-3 ดอกตามง่ามใบ ส่วนใหญ่ใบลดรูปลงทำให้มองดูคล้ายช่อแบบหางกระรอกที่ปลายกิ่ง ผล รูปถ้วย ปลายปิด หรือหมอน ขนาดเล็ก แป้น กว้างยาวประมาณ 4 มิลลิเมตร

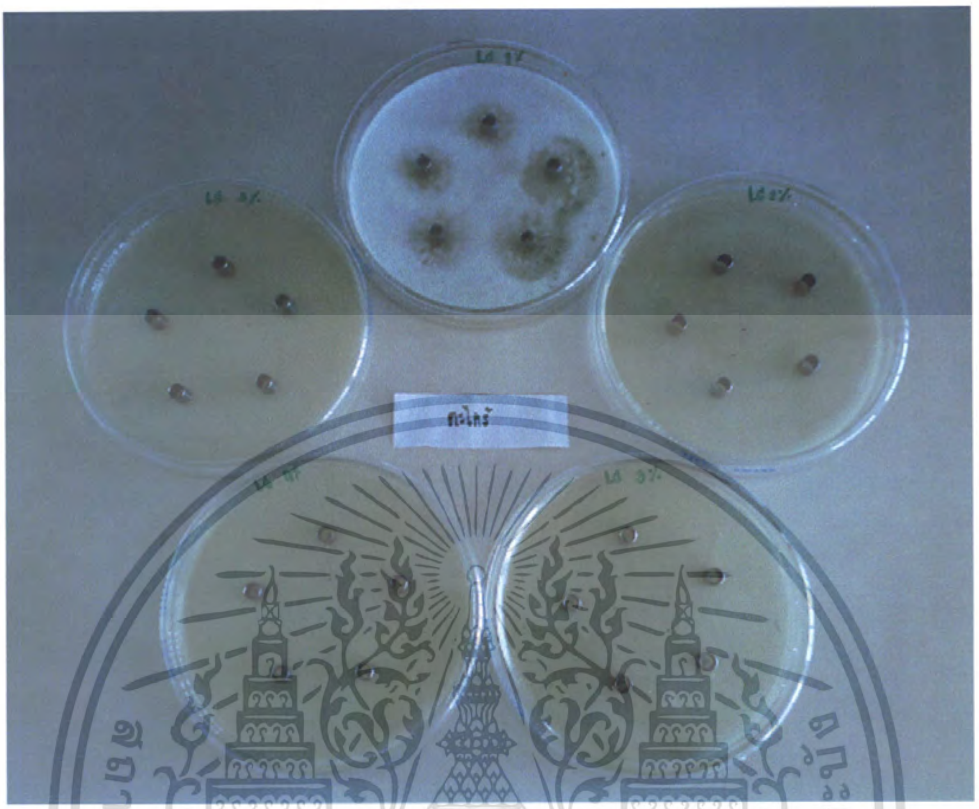
ประโยชน์ เนื้อไม้ใช้ทำเสาเข็ม เสารั้ว สร้างบ้าน และเผาถ่านได้ดี เปลือกต้นใช้มุงหลังคา ทำฝาบ้านชั่วคราว และใช้ห่อก้อนไต้สำหรับใช้จุดไฟ ใบนำมาสกัดทำน้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ไล่ยุง และใช้ทาเพื่อฆ่าหมัดและเหาได้อีกด้วย

สารออกฤทธิ์ สารเคมีในน้ำมันหอมระเหย คือ methyl eugenol มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Aspergillus niger* และมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtiles* (Scriven and Meloan, 1995)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

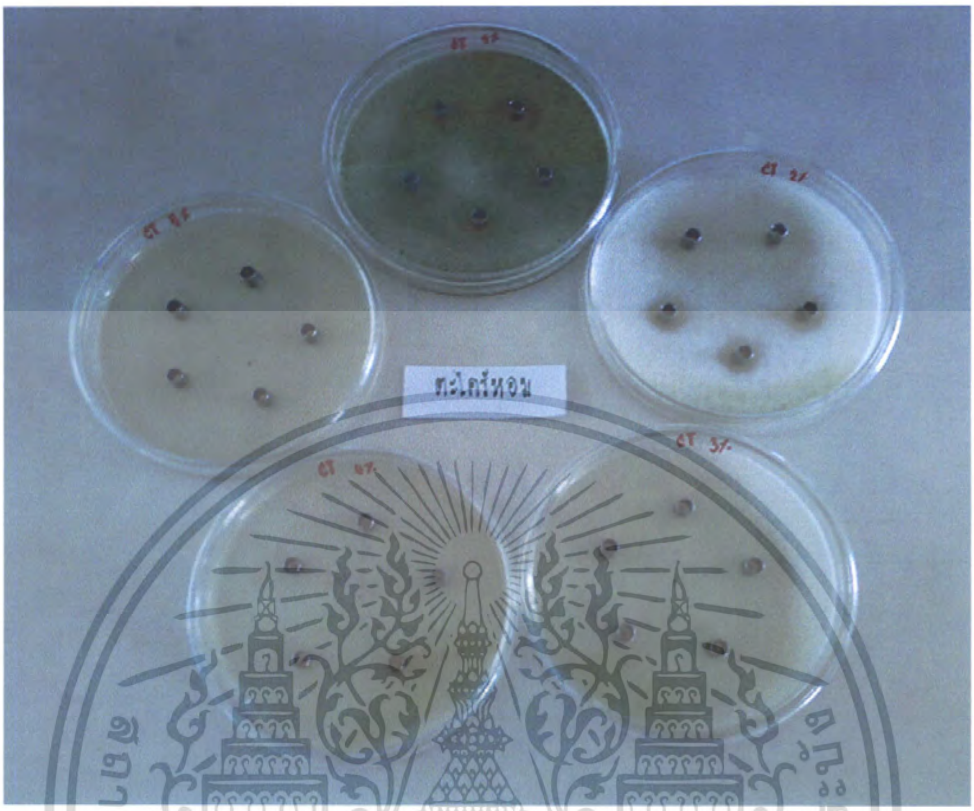
ภาคผนวก ค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



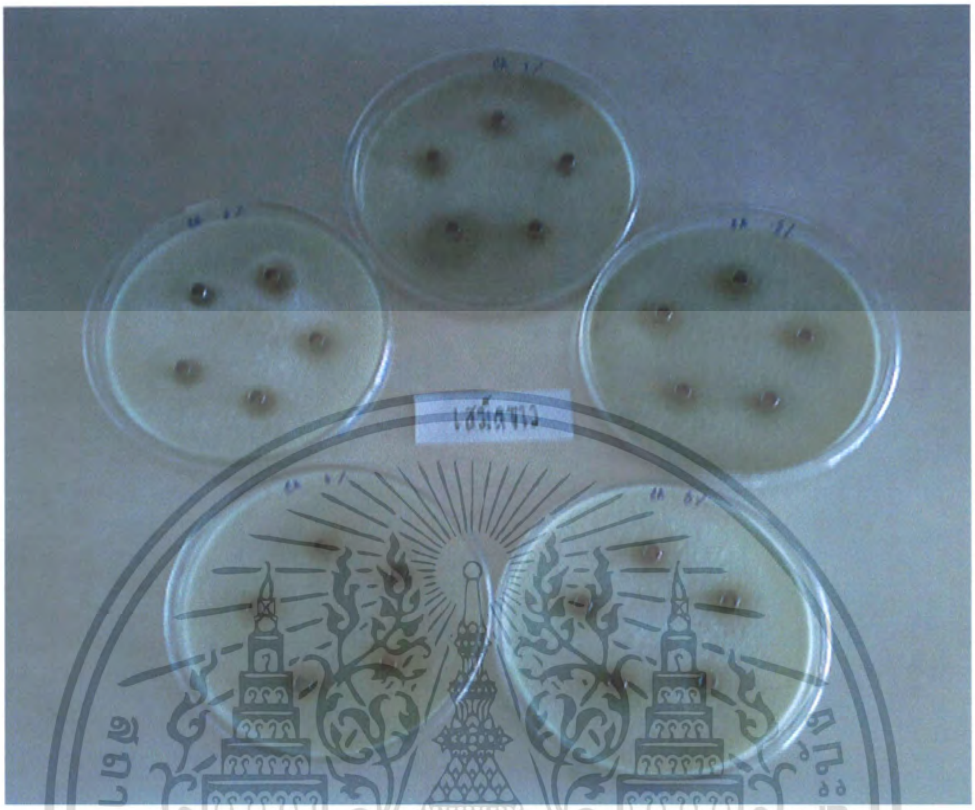
รูปที่ ค-1 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 บนอาหาร PDA โดยน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



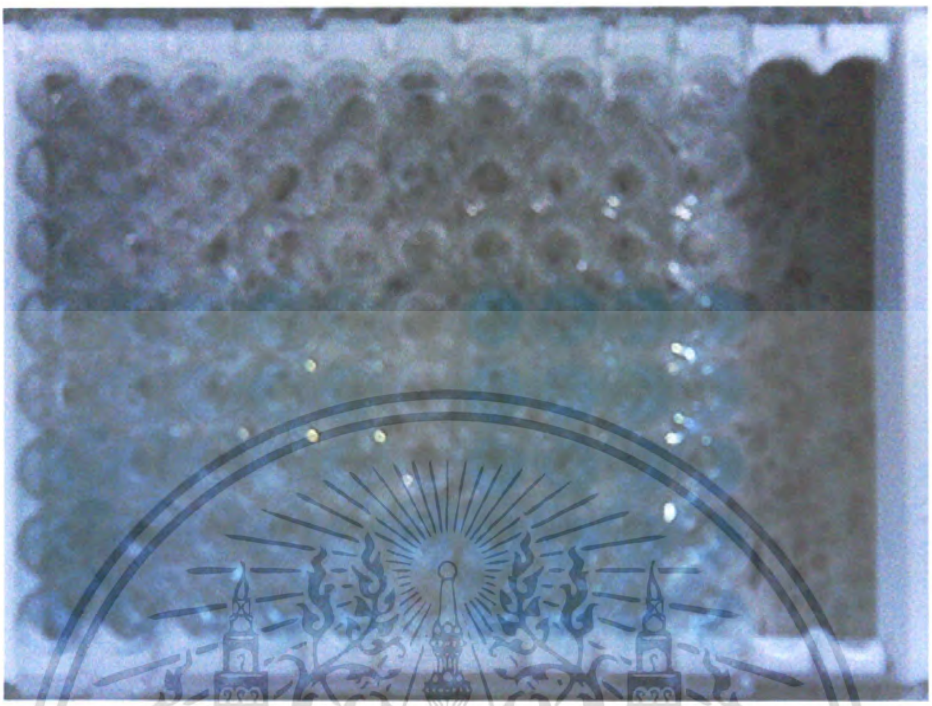
รูปที่ ค-2 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 บนอาหาร PDA โดยน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ค-3 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 บนอาหาร PDA โดยน้ำมันหอมระเหยจากเสม็ดขาวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ค-4 ผลการตรวจสอบสารพิษโดยชุดตรวจสอบสารอะฟลาทอกซินสำเร็จรูป (DOA-Aflatoxin ELISA Test Kit)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้