การยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus flavus* โดยน้ำมันตะไคร้หอม

INHIBITION OF GROWTH AND AFLATOXIN PRODUCTION OF *Aspergillus flavus* BY CITRONELLA OIL

นฤมล มงคลธนวัฒน์
NARUMON MONGKONTANAWUT

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2545

ISBN 974-324-136-1

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus flavus* โดยน้ำมันตะไคร้หอม

INHIBITION OF GROWTH AND AFLATOXIN PRODUCTION OF *Aspergillus flavus* BY CITRONELLA OIL

นฤมล มงคลธนวัฒน์
NARUMON MONGKONTANAWUT

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 45634
วัน, เดือน, ปี 12 ก.พ. 2546

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ
บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ.2545

ISBN 974-324-136-1

INHIBITION OF GROWTH AND AFLATOXIN PRODUCTION OF *Aspergillus flavus* BY CITRONELLA OIL

NARUMON MONGKONTANAWUT

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2002

ISBN 974-324-136-1

COPYRIGHT 2002
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus flavus* โดยน้ำมันตะไคร้หอม
นักศึกษา	นางสาวนฤมล มงคลธนวัฒน์
รหัสประจำตัว	42065207
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
พ.ศ.	2545
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	รศ.ดร.ดุษณี ธนะบริพัฒน์
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม	ดร.เยาวพา สุวัตถิ

บทคัดย่อ

จากการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. flavus* โดยน้ำมันตะไคร้หอม โดยเพาะเลี้ยง *A. flavus* IMI 242684 บนอาหาร PDA และในเมล็ดข้าวโพด พบว่าน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ยับยั้งการเจริญของเชื้อราในอาหาร PDA ได้ และที่ความเข้มข้น 1.0 และ 2.0 เปอร์เซ็นต์ (v/w) สามารถยับยั้งการเจริญ การสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินและการสร้างสปอร์ในเมล็ดข้าวโพดได้ และจากการศึกษาการยับยั้งการเจริญของน้ำมันตะไคร้หอมต่อเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566, *A. flavus* S.156, *A. niger*, *A. flavus* M.113, *Penicillium* sp. และ *Fusarium* sp. บนอาหาร PDA พบว่าน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ (v/v) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 และ *A. niger* ในขณะที่ระดับความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ (v/v) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* M.113, *A. flavus* S.156, *Penicillium* sp. และ *Fusarium* sp.

Thesis Title	Inhibition of Growth and Aflatoxin Production of *Aspergillus flavus* by Citronella Oil
Student	Miss Narumon Mongkontanawut
Student ID	42065207
Degree	Master of Science
Programme	Biotechnology
Year	2002
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Dusanee Thanaboripat
Co - Thesis Advisor	Dr. Yaowapa Suvathi

ABSTRACT

The antifungal activity of citronella oil against growth and aflatoxin production of *A. flavus* was studied. *A. flavus* IMI 242684 was grown on the Potato Dextrose Agar (PDA) and maize grain. It was found that the fungal growth in PDA inhibited at concentration of 0.2 % (v/v). The growth , aflatoxin production and spore production in maize grain were inhibited by citronella oil at concentration of 1.0 and 2.0 % (v/w).

The growth inhibition of citronella oil against *A. parasiticus* IMI 102566, *A. flavus* S.156 , *A. niger* , *A. flavus* M.113 , *Penicillium* sp. and *Fusarium* sp. on PDA was investigated.The result showed that the growths of *A. parasiticus* IMI 102566 and *A. niger* were inhibited at 0.2 %(v/v) of citronella oil whereas the growths of *A. flavus* M.113, *A. flavus* S.156, *Penicillium* sp. and the *Fusarium* sp. were inhibited at 0.4 %(v/v) of citronella oil.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงได้ดี ด้วยคำแนะนำ ปรึกษาตลอดจนตรวจและแก้ไขรูปเล่มวิทยานิพนธ์จาก รศ.ดร.ดุษณี ธนะบริพัฒน์ ดร.เยาวพา สุวัตถิ ซึ่งเป็นอาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ และอาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความอนุเคราะห์และ ขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ ดร. อุ่นเรือน เพชราวัลย์ และ ผศ. วีนา ชูโชติ ที่สละเวลามาเป็นประธาน และกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ตลอดจนให้ข้อเสนอแนะที่ทำให้วิทยานิพนธ์นี้สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ คุณอัษฎา อิ่มเอิบ ที่ช่วยแนะนำในการทำวิจัยในครั้งนี้ คุณอรุณศรี วงศ์อุไร กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร ที่เอื้อเฟื้อเชื้อราที่ใช้ทดสอบ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่าน ที่อำนวยความสะดวก จนทำให้การทำวิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดาเป็นอย่างสูง ที่เป็นกำลังใจ และสนับสนุนทุนแก่ผู้วิจัยในครั้งนี้ด้วย และสุดท้ายขอขอบคุณ คุณพรทิพย์ ภูมิแกดำ คุณวิภาวี แบบประเสริฐ คุณมะลิวัลย์ คุตะโค ที่เอื้อเฟื้อเครื่องคอมพิวเตอร์สำหรับพิมพ์รูปเล่มวิทยานิพนธ์ และพี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้องๆ ทุกท่าน ที่ช่วยให้คำแนะนำและเป็นกำลังใจจนวิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

นฤมล มงคลธนวัฒน์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....II

กิตติกรรมประกาศ.....III

สารบัญ.....IV

สารบัญตาราง.....VIII

สารบัญภาพ.....XI

บทที่ 1 ความสำคัญและที่มาของวิทยานิพนธ์.....1

1.1 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....2

1.2 ขอบเขตของงานวิจัย.....2

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....3

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....4

2.1 ประวัติของสารพิษอะฟลาทอกซิน.....4

2.2 ชนิดและคุณสมบัติของสารพิษอะฟลาทอกซิน.....5

2.3 อันตรายจากสารพิษอะฟลาทอกซิน.....7

2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสารพิษอะฟลาทอกซิน.....9

2.4.1 ชนิดของเชื้อรา.....9

2.4.2 แหล่งอาหาร.....9

2.4.3 ปฏิกิริยาระหว่างเชื้อจุลินทรีย์ด้วยกัน.....9

2.4.4 สภาพแวดล้อม.....10

2.4.5 ปัจจัยอื่นๆ.....10

2.5 การป้องกันกำจัดเชื้อราและสารพิษอะฟลาทอกซิน.....10

2.5.1 วิธีทางชีววิทยา.....10

2.5.2 วิธีทางฟิสิกส์.....11

2.5.3 วิธีทางเคมี.....12

2.6 สมุนไพร.....20

2.6.1 น้ำมันหอมระเหย.....20

2.6.2 ตะไคร้หอม (Citronella Grass).....21

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

2.6.3 ประสิทธิภาพของน้ำมันตะไคร้หอมต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา..29

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....34
3.1 เชื้อจุลินทรีย์.....34
3.2 น้ำมันตะไคร้หอม.....34
3.3 อุปกรณ์และสารเคมี.....34
3.1.1 อุปกรณ์.....34
3.1.2 สารเคมีที่ใช้ในการสกัด.....35
3.4 การเตรียมเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684.....35
3.5 การเตรียมอาหาร PDA ผสมน้ำมันตะไคร้หอม.....36
3.6 การศึกษาผลของน้ำมันตะไคร้หอมต่อการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA.....36
3.7 การเตรียมสปอร์ของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684.....37
3.8 การหาความชื้นในเมล็ดข้าวโพด.....37
3.9 การศึกษาผลของน้ำมันตะไคร้หอมต่อการเจริญและการสร้างสารพิษของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพด.....37
3.9.1 การศึกษาผลของน้ำมันตะไคร้หอมต่อการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 โดยการนับสปอร์.....38
3.9.2 การสกัดสารพิษอะฟลาทอกซิน.....38
3.9.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินโดยใช้ HPLC.....39
3.10 การศึกษาผลของน้ำมันตะไคร้หอมต่อการเจริญของเชื้อราอื่นๆ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA.....39

บทที่ 4 ผลการทดลอง.....41
4.1 ผลของน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684.....41

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

4.1.1 ผลของน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA.....41

4.1.2 ผลของน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพด.....43

4.2 ผลของน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญของเชื้อราอื่นๆ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA.....49

4.2.1 ผลของน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA.....49

4.2.2 ผลของน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* M 113 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA.....51

4.2.3 ผลของน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* S.156 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA.....53

4.2.4 ผลของน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญของเชื้อรา *A. niger* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA.....55

4.2.5 ผลของน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA.....57

4.2.6 ผลของน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA.....59

4.3 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของน้ำมันตะไคร้หอมต่อการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684.....61

4.3.1 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของน้ำมันตะไคร้หอมต่อการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA.....61

4.3.2 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของน้ำมันตะไคร้หอมที่มีต่อจำนวนสปอร์ต่อกรัมของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพด.....64

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

4.3.3 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของน้ำมันตะไคร้หอมที่มีต่อการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพด.....67

4.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของน้ำมันตะไคร้หอมต่อการเจริญของเชื้อราอื่นๆ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA.....70

4.4.1 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของน้ำมันตะไคร้หอมต่อการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA.....70

4.4.2 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของน้ำมันตะไคร้หอมต่อการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* M.113 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA.....73

4.4.3 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของน้ำมันตะไคร้หอมต่อการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* S.156 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA.....76

4.4.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของน้ำมันตะไคร้หอมต่อการเจริญของเชื้อรา *A. niger* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA.....79

4.4.5 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของน้ำมันตะไคร้หอมต่อการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA.....83

4.4.6 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของน้ำมันตะไคร้หอมต่อการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA.....85

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและวิจารณ์.....88

บรรณานุกรม.....93

ภาคผนวก.....105

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 คุณลักษณะทางฟิสิกส์และทางเคมี.....25

2.2 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยในตะไคร้หอมพันธุ์ลังกาและพันธุ์ชวา.....26

4.1 ความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญ (เซนติเมตร) ของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เป็นกลุ่มควบคุมเปรียบเทียบกับการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆโดยใช้ช่วงเวลาบ่มเชื้อต่างกัน.....41

4.2 การเจริญของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพดที่เป็นกลุ่มควบคุม เปรียบเทียบกับการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้ช่วงเวลาบ่มเชื้อต่างกัน.....44

4.3 จำนวนสปอร์ต่อกรัมของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพดที่เป็นกลุ่มควบคุมเปรียบเทียบกับการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ โดยใช้ช่วงเวลาบ่มเชื้อต่างกัน.....45

4.4 ปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน (ไมโครกรัมต่อกรัม) ของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพดที่เป็นกลุ่มควบคุมเปรียบเทียบกับการเติมน้ำมันตะไคร้หอม ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้ช่วงเวลาบ่มเชื้อต่างกัน.....47

4.5 ความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญ (เซนติเมตร) ของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เป็นกลุ่มควบคุมเปรียบเทียบกับการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้ช่วงเวลาบ่มเชื้อต่างกัน.....49

4.6 ความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญ (เซนติเมตร) ของเชื้อรา *A. flavus* M.113 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เป็นกลุ่มควบคุมเปรียบเทียบกับการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้ช่วงเวลาบ่มเชื้อต่างกัน.....51

4.7 ความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญ (เซนติเมตร) ของเชื้อรา *A. flavus* S.156 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เป็นกลุ่มควบคุมเปรียบเทียบกับการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้ช่วงเวลาบ่มเชื้อต่างกัน.....53

4.8 ความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญ (เซนติเมตร) ของเชื้อรา *A. niger* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เป็นกลุ่มควบคุมเปรียบเทียบกับการเติมน้ำมันตะไคร้หอม ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้ช่วงเวลาบ่มเชื้อต่างกัน.....55

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

4.9 ความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญ (เซนติเมตร) ของเชื้อรา *Penicillium* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เป็นกลุ่มควบคุมเปรียบเทียบกับการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆโดยใช้ช่วงเวลาบ่มเชื้อต่างกัน.....57

4.10 ความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญ (เซนติเมตร) ของเชื้อรา *Fusarium* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เป็นกลุ่มควบคุมเปรียบเทียบกับการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้ช่วงเวลาบ่มเชื้อต่างกัน.....59

4.11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เป็นกลุ่มควบคุมเปรียบเทียบกับการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ.....61

4.12 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ.....62

4.13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนสปอร์ของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพดที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ.....64

4.14 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนสปอร์ต่อกรัมของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพดที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ.....65

4.15 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณอะฟลาทอกซินที่สร้างจากเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพดที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ.....67

4.16 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน (ไมโครกรัมต่อกรัม) ของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพดที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ.....68

4.17 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ.....70

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

4.18 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ.....71

4.19 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* M.113 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ.....73

4.20 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* M.113 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ.....74

4.21 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* S.156 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ.....76

4.22 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* S.156 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ.....77

4.23 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อรา *A. niger* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ.....79

4.24 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อรา *A. niger* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ.....80

4.25 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ.....82

4.26 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ.....83

4.27 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ 85

4.28 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ.....86

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

2.1 แสดงสูตรโครงสร้างของสารพิษอะฟลาทอกซินบางชนิด.....6

2.2 เมแทบอไลท์ของอะฟลาทอกซิน.....8

2.3 รูปร่างลักษณะตะไคร้หอม (*Cymbopogon winterianus* Jewitt).....22

2.4 สูตรโครงสร้างทางเคมีบางชนิดที่สำคัญของสารที่มีในสารสกัดตะไคร้หอม.....28

4.1 แสดงผลการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ซึ่งเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยบ่มเชื้อเป็นเวลา 28 วัน.....42

4.2 แสดงผลการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพดที่มีการเติมเติมน้ำมันตะไคร้หอมความเข้มข้นระดับต่างๆ โดยบ่มเชื้อเป็นเวลา 28 วัน.....46

4.3 ปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน (ไมโครกรัมต่อกรัม) ของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพดที่เป็นกลุ่มควบคุมเปรียบเทียบกับการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้เวลาบ่มเชื้อต่างๆ กัน.....48

4.4 แสดงผลการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยบ่มเชื้อเป็นเวลา 28 วัน.....50

4.5 แสดงผลการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. flavus* M.113 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยบ่มเชื้อเป็นเวลา 28 วัน.....52

4.6 แสดงผลการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. flavus* S.156 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยบ่มเชื้อเป็นเวลา 28 วัน.....54

4.7 แสดงผลการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. niger* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยบ่มเชื้อเป็นเวลา 28 วัน.....56

4.8 แสดงผลการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Penicillium* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยบ่มเชื้อเป็นเวลา 28 วัน.....58

4.9 แสดงผลการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Fusarium* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยบ่มเชื้อเป็นเวลา 28 วัน.....60

4.10 แสดงค่าเฉลี่ยความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญ (เซนติเมตร) ของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ 63

สารบัญภาพ(ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

4.11 แสดงค่าเฉลี่ยจำนวนสปอร์ต่อกรัม ของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพดที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ..... 66

4.12 ค่าเฉลี่ยการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน (ไมโครกรัมต่อกรัม) ของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพดที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ..... 69

4.13 แสดงค่าเฉลี่ยความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญ (เซนติเมตร) ของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ 72

4.14 แสดงค่าเฉลี่ยความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญ (เซนติเมตร) ของเชื้อรา *A. flavus* M.113 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ.....75

4.15 แสดงค่าเฉลี่ยความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญ (เซนติเมตร) ของเชื้อรา *A. flavus* S.156 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ.....78

4.16 แสดงค่าเฉลี่ยความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญ (เซนติเมตร) ของเชื้อรา *A. niger* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ.....81

4.17 แสดงค่าเฉลี่ยความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญ (เซนติเมตร) ของ *Penicillium* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ.....84

4.18 แสดงค่าเฉลี่ยความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญ (เซนติเมตร) ของเชื้อรา *Fusarium* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ.....87

บทที่ 1
ความสำคัญและที่มาของวิทยานิพนธ์

อะฟลาทอกซินเป็นสารพิษที่สร้างขึ้นโดยเชื้อราในกลุ่ม aflatoxigenic fungi ซึ่งสปอร์ของเชื้อราเหล่านี้ขึ้นอยู่ทั่วไปโดยเฉพาะในดิน สารพิษอะฟลาทอกซินที่สร้างขึ้นเหล่านี้ได้แก่อะฟลาทอกซิน B_1 , B_2 , G_1 G_2 , M_1 , M_2 , B_{2a} และ G_{2a} (WHO.1979 : 11 -12) อาหารและผลิตผลทางการเกษตรหลายชนิดมีการปนเปื้อนจากสารพิษเหล่านี้ได้แก่ เมล็ดธัญพืช ข้าวสาลี ข้าวโพด ถั่วลิสง เมล็ดฝ้าย มะพร้าวตากแห้ง นม ไข่ เนยแข็ง น้ำผลไม้ ข้าวฟ่าง ข้าวบาร์เล่ย์ (ทัศนีย์ จุฬามรกต และดวงจันทร์ สุประเสริฐ. 2540 ; ดวงจันทร์ สุประเสริฐ และทัศนีย์ จุฬามรกต. 2542 ; ทัศนีย์ จุฬามรกต และดวงจันทร์ สุประเสริฐ. 2543 ; Bullerman.1986) อะฟลาทอกซินมีความสำคัญทางด้านการเกษตร การแพทย์ สาธารณสุข และเศรษฐกิจ เนื่องจากมีผลทำให้เกิดมะเร็งกับสัตว์และมนุษย์ โดยทำให้เกิดอาการได้ทั้งแบบเฉียบพลันและแบบเรื้อรัง ดังนั้นจึงมีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับสารพิษอะฟลาทอกซินกันมาก ซึ่งการวิจัยส่วนใหญ่จะมุ่งถึงการควบคุมและกำจัดสารพิษอะฟลาทอกซินในผลผลิตทางการเกษตรโดยกรรมวิธีต่างๆ และเนื่องจากประเทศไทยมีสมุนไพรหลายชนิด มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและประโยชน์ด้านอื่นๆ แตกต่างกันออกไป ผลที่ได้จากการศึกษาวิจัยสมุนไพรหลายชนิด พบว่าสมุนไพรหลายชนิดมีอิทธิพลต่อเชื้อราที่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน คือสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ เช่น อบเชย กานพลู ไทม์ พลู กระวาน เทียนขาว(cumin) โป๊ยกั๊ก oregano พริกขี้หนู funnel มัสตาด ขิง พริกไทยดำ สะระแหน่ ดอกจันทน์ ยูคาลิปตัส rosemary กระเทียม หอม เปปเปอร์มินท์ โหระพา epazote แครอทและต้นหอมญี่ปุ่น (Suzuki *et al.* 1973 ; Bullerman *et al.* 1977 ; Morozumi.1978 ; Hitokoto *et al.*1978 ; Mabrouk and El-Shayeb.1980 ; Llewellyn *et al.*1981 ; Azzouz.1981 ; Tiwari.1983 ; Paster *et al.*1995 ; Montes-Belmont and Carvajal.1998 ; Yin and Cheng.1998 ; Fan and Chen.1999) นอกจากนี้จากการศึกษาถึงการป้องกันการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* และการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินในข้าวโดยใช้กระเทียม พลู และแครอท พบว่ากระเทียมและพลูที่ระดับความเข้มข้น 100,000 พีพีเอ็ม สามารถลดปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินจาก 5.94 เป็น 0.15 และ 0.06 ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ แต่ในแครอทนั้นที่ระดับความเข้มข้น 20,000 พีพีเอ็ม สามารถลดปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินได้มากที่สุดเหลือเพียง 0.03 ไมโครกรัมต่อกรัม และพบว่ากระเทียมจะเป็นสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา (Thanaboripat *et al.* 1997a :117-123)

การทดลองนี้เป็นการศึกษาโดยใช้สารสกัดจากน้ำมันตะไคร้หอม ในการควบคุมการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และในเมล็ดข้าวโพด

1.1 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.1.1 เพื่อศึกษาผลของน้ำมันตะไคร้หอมต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

1.1.2 เพื่อหาความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้หอมที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

1.1.3 เพื่อศึกษาผลของน้ำมันตะไคร้หอมต่อการยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพด

1.1.4 เพื่อหาความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้หอมที่เหมาะสมต่อการยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพด

1.1.5 เป็นแนวทางการนำสมุนไพรที่มีมากในประเทศไทยมาใช้ประโยชน์ได้มากขึ้น

1.2 ขอบเขตของงานวิจัย

1.2.1 ศึกษาหาความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้หอมที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

1.2.2 ศึกษาผลของน้ำมันตะไคร้หอมต่อการยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพด

1.2.3 ศึกษาผลของน้ำมันตะไคร้หอมต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราต่างๆ เช่น *A. parasiticus* IMI 102566 , *A. flavus* M. 113 , *A. flavus* S. 156 , *A. niger* , *Penicillium* sp. และ *Fusarium* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.3.1 เพื่อจะได้ทราบความเข้มข้นน้ำมันตะไคร้หอมที่เหมาะสมต่อการควบคุมการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อราในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และในเมล็ดข้าวโพด

1.3.2 เพื่อเป็นแนวทางในการนำน้ำมันตะไคร้หอมไปใช้ยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่สร้างสารพิษในผลผลิตทางการเกษตรต่อไป

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ประวัติของสารพิษอะฟลาทอกซิน

สารพิษอะฟลาทอกซิน (Aflatoxins) เป็น secondary metabolite ที่เชื้อรา *A. flavus* , *A. parasiticus* , *A. nomius* , *A. tamarii* และ *A. bombycis* (Kurtzman *et al.*1987 ; Goto *et al.*1996 ; Pittet.1998 ; Peterson *et al.* 2001) สร้างขึ้นในสภาพที่จำกัด ซึ่งทำให้เกิดการสะสมของ pyruvate และกรดอะมิโนบางตัวโดยกระบวนการ polyketide biosynthesis pathway และสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินแทนกรดไขมัน (ชนิกา เอี่ยมสุภาษิต และสมจินตนา ทุมแสน. 2542 :12-13) ซึ่งก่อให้เกิดความเจ็บป่วยในคนและสัตว์ที่บริโภคหรือได้รับสารนั้น สารพิษนี้ที่พบในสภาพธรรมชาติมี 4 ชนิดคือ B_1 B_2 G_1 และ G_2 นอกจากนี้ ยังพบ M_1 และ M_2 ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ B_1 และ B_2 ในน้ำนมของคนและสัตว์ที่บริโภคอาหารที่มีสารพิษนี้ปนเปื้อนอยู่ โดยแต่ละชนิดจะมีความเป็นพิษมากน้อยแตกต่างกัน อะฟลาทอกซิน B_1 จะมีความเป็นพิษสูงสุดและยังเป็นชนิดที่พบมากที่สุดด้วย รองลงมาคือ อะฟลาทอกซิน G_1 B_2 และ G_2 ตามลำดับ สารพิษอะฟลาทอกซินพบครั้งแรกที่ประเทศอังกฤษในปี คศ.1960 โดยเกิดโรคระบาดขึ้นในไก่งวงและตั้งชื่อโรคที่พบนั้นว่า Turkey X disease (Blount.1961:52) นอกจากนี้ยังพบการเกิดโรคระบาดเช่นนี้ในประเทศเคนยาและยูกานดา (Asplin and Carnaghan.1961 :1215 - 1218) จากการค้นคว้าถึงสาเหตุโรคพบว่าเกี่ยวข้องกับถั่วลิสงที่สั่งซื้อมาจากประเทศบราซิล ต่อมา Austwick and Ayerst (1963 : 55) ได้ทำการตรวจ ถั่วลิสงเหล่านี้ด้วยกล้องจุลทรรศน์และพบว่าเนื้อของถั่วลิสงเหล่านี้มีเชื้อราขึ้นอยู่เป็นจำนวนมากแต่เชื้อราพวกนี้ได้ตายหมดแล้ว อย่างไรก็ดี Sargeant *et al.*(1961:1096-1097)สามารถแยกเชื้อราที่ยังมีชีวิตอยู่จากเนื้อของถั่วลิสงที่เป็นพิษจากประเทศยูกานดา ซึ่งเชื้อ *A. flavus* สามารถสร้างสารพิษได้เมื่อนำมาเลี้ยงบนวุ้น สารพิษที่ถูกสร้างขึ้นจากเชื้อราบนวุ้นเป็นชนิดเดียวกับที่พบในสารสกัดจากถั่วลิสงที่เป็นพิษ ดังนั้นสารพิษที่ได้จากเชื้อราตัวนี้จึงเรียกว่าอะฟลาทอกซินตามชื่อของเชื้อราที่สร้างนั่นเอง โดย A ย่อมาจากชื่อ genus "*Aspergillus*" และ fla ย่อมาจากชื่อ "*flavus*"

2.2 ชนิดและคุณสมบัติของสารพิษอะฟลาทอกซิน

อะฟลาทอกซินเป็นสารเคมีพวกบิสฟูราโนคิวมาริน (bisfuranocoumarin) ที่มีอนุพันธ์ของ coumarin ต่อกับ bifuran ring มี 17 ชนิด คือ B_1 , B_2 , G_1 , G_2 ,B_{2a} , G_{2a} , M_1 , M_2 ,GM_1 ,GM_2 M_{2a} , GM_{2a} , B_3 , P_1 , Q_1 , aflatoxicol และ dihydroaflatoxicol (Betina .1984 :90) ที่แยกได้แต่เดิมมีเพียง B_1 , B_2 , G_1 และ G_2 (ภาพที่ 2.1) ชนิดอื่นๆ ส่วนใหญ่เป็นผลจากเมแทบอลิซึมของอะฟลาทอกซิน B_1 (นงนุช วนิตย์อนาคม. 2540 : 203 - 208)

ชื่อชนิดของสารพิษอะฟลาทอกซินตั้งขึ้นตามคุณสมบัติการเรืองแสงบนแผ่นโครมาโตร-กราฟีผิวบาง (Thin-layer chomatographic (TLC) plate) ภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต ความยาวคลื่น 365 -366 นาโนเมตร โดยอะฟลาทอกซิน B_1 และ B_2 เรืองแสงสีน้ำเงิน (Blue) และอะฟลาทอกซิน G_1 และ G_2 เรืองแสงสีเขียว (Green) (Hartley *et al.*1963 : 1056 -1058)

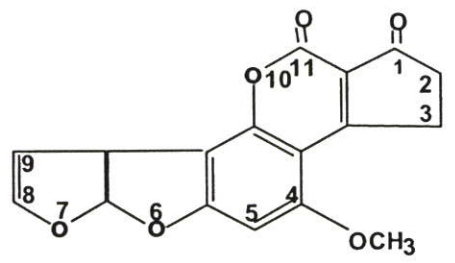
โครงสร้างของอะฟลาทอกซิน B_1 ประกอบด้วย Bifuran,Coumarin และCyclopentanone ring การที่อะฟลาทอกซิน B_1 มีพันธะคู่ที่ตำแหน่ง 8-9 ใน Bifuran ring ทำให้อะฟลาทอกซิน B_1 มีความเป็นพิษมากกว่าอะฟลาทอกซินชนิดอื่นเพราะพันธะคู่นี้สามารถถูกเปลี่ยนเป็น Epoxide ซึ่ง Epoxide จะจับกับโมเลกุล DNA, RNA และโปรตีนได้ง่าย

นอกจากนี้อะฟลาทอกซิน B_1 มี Cyclopentanone ring ติดกับ Coumarin ring การมี Cyclopentanone ring ทำให้สลายตัวช้ากว่าพวกที่มี Lactone ring ซึ่งพบในอะฟลาทอกซิน G_1 และ G_2 ดังนั้นอะฟลาทอกซินชนิดที่เป็นพิษมากที่สุด จึงเรียงลำดับจากอะฟลาทอกซิน B_1, G_1, B_2 และ G_2 พิจารณาจากพันธะคู่และ Lactone ring สารตัวใดมีพันธะคู่ ก็เป็นพิษมากกว่าตัวที่ไม่มี อะฟลาทอกซิน B_1 กับ G_1 จึงเป็นพิษมากกว่า B_2 กับ G_2 ส่วน Lactone ring นั้นจะถูกสลายง่ายกว่า ความเป็นพิษย่อมน้อยกว่า เพราะโครงสร้างถูกเปลี่ยนแปลงไปแล้ว เมื่อเปรียบเทียบความเป็นพิษอะฟลาทอกซินจะเป็นดังนี้ $B_1>G_1>B_2>G_2$ (วรนันท์ ศุภพิพัฒน์. 2538 : 175 - 177)

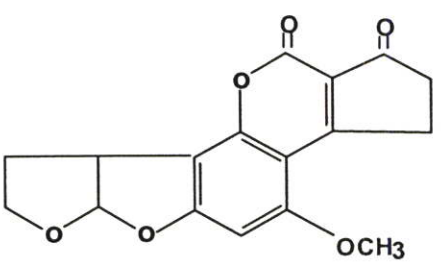
อะฟลาทอกซินมีคุณสมบัติที่สำคัญๆดังนี้ (สุกัญญา กองเงิน และคณะ. 2540 : 41 - 46)

1.การเรืองแสงภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต ขนาดคลื่น 365 นาโนเมตร จากคุณสมบัตินี้จะนำมาใช้ในการตรวจสอบ โดยอะฟลาทอกซินชนิด B จะเรืองแสงสีน้ำเงิน และ อะฟลาทอกซินชนิด G จะเรืองแสงสีเขียว

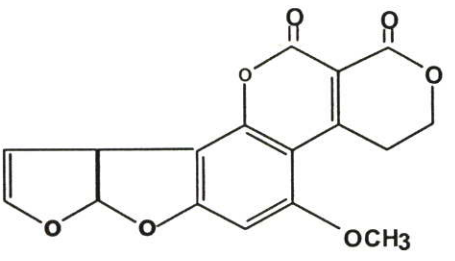
2.สารพิษนี้มีคุณสมบัติในการละลายได้ดีในไขมันและน้ำมัน ละลายได้บ้างในน้ำเกลือ



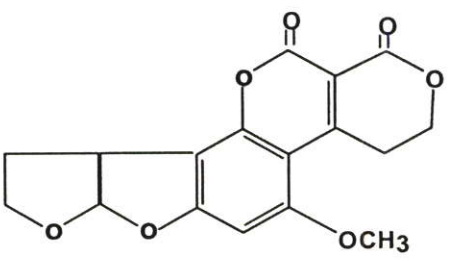
B_1



B_2



G_1



G_2

ภาพที่ 2.1 แสดงสูตรโครงสร้างของสารพิษอะฟลาทอกซินบางชนิด

3.ละลายได้ดีในตัวทำละลายหลายชนิด เช่น เมทานอล (Methanol) คลอโรฟอร์ม (Chloroform) อะซีโตน (Acetone) เบนซิน (Benzene)

4.ไม่ละลายในสารบางชนิด เช่น เฮกเซน (Hexane) อีเทอร์ (Ether) และอื่นๆ จากคุณสมบัตินี้จะนำมาใช้ในการทำให้สารพิษที่ได้บริสุทธิ์

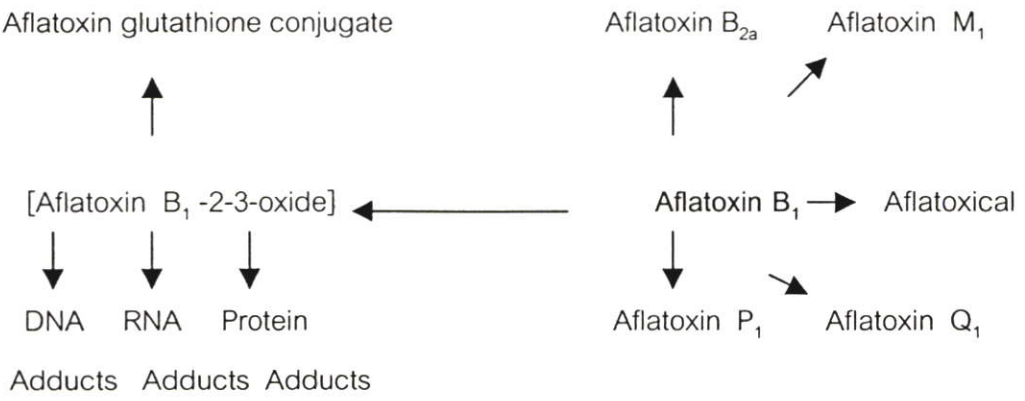
5.สารพิษนี้ถูกทำลายได้ง่ายด้วยสารละลายด่าง เช่น โซเดียมไฮโปคลอไรด์ (NaOCl) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) จึงนำมาใช้ในการทำความสะอาดภาชนะเครื่องแก้วที่ใช้ในการวิเคราะห์สารพิษ

6.จุดหลอมตัวของอะฟลาทอกซินอยู่ที่ 250 องศาเซลเซียส ดังนั้นการและอื่นๆ จากคุณสมบัตินี้จะนำมาใช้ในการสกัดสารพิษออกจากตัวอย่างที่ต้องการตรวจสอบใช้ความร้อนในรูปของการต้ม อบ คั่ว หรือนึ่ง จึงไม่สามารถทำลายสารพิษนี้ได้ อย่างไรก็ตามอะฟลาทอกซินก็สามารถถูกทำลายได้บ้างด้วยแสงและความร้อนในรูปต่าง ๆ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับระยะเวลาและอุณหภูมิ

2.3 อันตรายจากสารพิษอะฟลาทอกซิน

อะฟลาทอกซินจัดเป็นสารพิษ secondary metabolite เป็นสารที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์และสารก่อมะเร็ง เป็นพิษต่อตับ ทำให้เกิดตับอักเสบ ตับแข็ง เนื้องอกในตับ และมะเร็งที่ตับ มีพิษต่อคนและสัตว์โดยความเป็นพิษจะมากน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับปริมาณของสารพิษที่ได้รับ ความถี่ของการได้รับสารพิษเข้าสู่ร่างกาย อายุ เพศ ชนิดพันธุ์สัตว์และสภาวะการทำงานของเอนไซม์ในตับ (สุกัญญา กองเงิน และคณะ. 2540 : 41- 46)

เมื่อมีการบริโภคอาหารที่ปนเปื้อนด้วยสารพิษจากเชื้อราอะฟลาทอกซิน เช่น อะฟลาทอกซิน B_1 ถูกนำไปที่ตับที่มีเอนไซม์ต่างๆ สามารถทำปฏิกิริยากับอะฟลาทอกซิน B_1ได้เป็นสารใหม่ (Metabolite) ที่มีลักษณะโครงสร้างเปลี่ยนแปลงไปจากอะฟลาทอกซิน B_1 เมแทบอไลท์บางตัวอาจมีความเป็นพิษมากกว่าอะฟลาทอกซิน B_1 แต่บางตัวมีความเป็นพิษน้อยกว่าได้ ดังภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.2 เมแทบอไลท์ของอะฟลาทอกซิน (วรนันท์ ศุภพิพัฒน์. 2538 : 175-177)

จะเห็นได้ว่าเมแทบอไลท์ของอะฟลาทอกซิน B_1 มีความเป็นพิษน้อยกว่าตัวอะฟลาทอกซิน B_1 ยกเว้น Aflatoxin B_1 -2-3-oxide ซึ่งเป็นสารที่ไม่คงทน สลายง่าย จึงไม่สามารถแยกเป็นสารบริสุทธิ์ออกมาได้ แต่สารตัวนี้มีความไวมาก สามารถจับกับ DNA , RNA หรือ โปรตีนได้ การเกิดปฏิกิริยาแบบนี้ทำให้ DNA polymerase , RNA polymerase ที่เกาะอยู่กับ DNA ทำงานได้ไม่ดีเท่าที่ควร การสร้าง DNA หรือ RNA จึงลดลง เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงในส่วนของการลอกรหัส (Gene Transcription) และ การแปลรหัส (Transalation) จะเป็นผลต่อเนื่องถึงการสร้างโปรตีนด้วย

หากอะฟลาทอกซิน B_1 ที่บริโภคเข้าไปมีปริมาณไม่มากนัก และร่างกายมี Glutathione, Glucuronide และ Sulfate มากพอ Aflatoxin B_1 -2-3-oxide จะเชื่อมกับสารดังกล่าว ทำให้โมเลกุลมีขนาดใหญ่ขึ้น และละลายน้ำได้ดีขึ้น สามารถถูกกำจัดออกจากร่างกายได้ง่าย กระบวนการนี้ถือว่าเป็นกระบวนการกำจัดสารพิษในร่างกาย (วรนันท์ ศุภพิพัฒน์. 2538 : 175 - 177)

จากการตรวจสอบหาสารพิษอะฟลาทอกซินสามารถตรวจพบอะฟลาทอกซินในผลิตผล ซึ่งปริมาณอะฟลาทอกซินในประเทศไทยตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 98 พ.ศ.2529 เรื่องมาตราฐานที่มีสารปนเปื้อนข้อ 4 ได้กำหนดไม่ให้มีอะฟลาทอกซินปนเปื้อนในอาหารเกิน 20 ไมโครกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (อรุณศรี วงศ์อุไร. 2542 : 5 – 7)

2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสารพิษอะฟลาทอกซิน

2.4.1 **ชนิดของเชื้อรา** เชื้อราต่างชนิดกันจะสร้างอะฟลาทอกซินแตกต่างกันทั้งชนิดและปริมาณของอะฟลาทอกซิน Pitt (1989) พบว่า *A. parasiticus* จะผลิตอะฟลาทอกซิน B กับ G ส่วน *A. flavus* จะผลิตอะฟลาทอกซิน B เพียงอย่างเดียว และจากรายงานของ Criseo *et al.* (2001) ได้ศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมโดยเทคนิค PCR (Polymerase Chain Reaction) พบว่า *A. flavus* สายพันธุ์ที่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซินกับสายพันธุ์ที่ไม่สร้างสารพิษจะให้แถบของ DNA ที่แตกต่างกัน

2.4.2 **แหล่งอาหาร** Betina (1984) พบว่าในอาหารสังเคราะห์จะต้องมีปริมาณของไนโตรเจน กรดอะมิโน เช่น asparagine, aspartate, glycine, glutamine และ glutamate ปริมาณซูโครส และ กลูโคส ในปริมาณที่เหมาะสม จึงจะสามารถผลิตอะฟลาทอกซินได้สูงสุดและแร่ธาตุที่สำคัญที่ช่วยให้เชื้อราสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้ดี คือ Zn ถ้าปริมาณเกลือแร่นี้ลดลงปริมาณของอะฟลาทอกซินก็จะลดลงด้วย (สุกัญญา กองเงิน และคณะ. 2540 : 209)

2.4.3 **ปฏิกิริยาระหว่างเชื้อจุลินทรีย์ด้วยกัน** ในอาหารทั่วไปมักมีเชื้อจุลินทรีย์หลายๆ ชนิดขึ้นปะปนกันและเชื้อเหล่านี้มีปฏิกิริยาต่อกัน ซึ่งมีผลกระทบต่อการเจริญและการสร้างสารพิษของ *A. flavus* เช่น *Lactobacillus* sp. มีผลยับยั้งการงอกของสปอร์ของ *A. flavus* subsp. *parasiticus* ในอาหารเหลว (Gourama and Bullerman.1995 :1249 -1256) และจากการเพาะเลี้ยง *Streptococcus lactis* ร่วมกับ *A. parasiticus* ที่เจริญแล้วเป็นเวลา 3 วัน พบว่าในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยงจะสามารถลดอะฟลาทอกซินจาก 108.33 เป็น 94.18 และ 31.01 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และเมื่อเลี้ยง *S. lactis* 3 วัน ก่อนที่จะใส่สปอร์ของ *A. parasiticus* จะพบว่า *A. parasiticus* จะสามารถผลิตอะฟลาทอกซินเพียง 58.01 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากการเปรียบเทียบความสามารถในการลดการสร้างอะฟลาทอกซิน B_1 ของ *S. lactis* และ แลกติกแอซิดแบคทีเรียในโยเกิร์ต พบว่าที่อายุการเก็บ 7 วัน *S. lactis* สามารถลดอะฟลาทอกซิน B_1 จาก 50 เป็น 33.70 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่แลกติกแอซิดแบคทีเรียสามารถลดอะฟลาทอกซิน B_1 จาก 50 เป็น 37.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Thanaboripat *et al.*1997b : 117 – 123)

2.4.4 **สภาพแวดล้อม** จากการศึกษาต่างๆ พบว่าความชื้น อุณหภูมิมีผลต่อการเจริญของเชื้อราที่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน Al-Yahya (1999) ได้ศึกษาการเข้าทำลายของเชื้อราระหว่างการเก็บข้าวสาลีที่ความชื้นและอุณหภูมิต่างๆ กัน พบว่าจะมีการเข้าทำลายของเชื้อราเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ ที่ความชื้น 15 เปอร์เซ็นต์ , 4 องศาเซลเซียส ในขณะที่การทำลายเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วที่ความชื้น 24 เปอร์เซ็นต์ , 40 องศาเซลเซียส โดยมีระดับการเข้าทำลาย 30 เปอร์เซ็นต์ และยังพบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสร้างสารพิษอยู่ระหว่าง 25 – 35 องศาเซลเซียส และปริมาณความชื้นไม่ต่ำกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ (Moss. 1996 : 513 - 523)

2.4.5 **ปัจจัยอื่นๆ** ปัจจัยอื่นๆที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา เช่น วัสดุที่เชื้อราขึ้น การเข้าทำลายของแมลง ปริมาณวิตามินและแร่ธาตุปลีกย่อย (trace element) บางชนิด Prado *et al.* (1995) พบว่า อะลูมิเนียม เหล็ก สังกะสี ความเข้มข้น 40 -160 กรัมต่อกรัม จะยับยั้งการผลิตอะฟลาทอกซิน B_1 จาก *A. flavus* NRRL 6513 ในถั่วลิสงได้ และนิกเกิล 4 กรัมต่อกรัม กระตุ้นการสร้างสารพิษ แต่ที่ 1 กรัมต่อกรัม จะยับยั้งการสร้างสารพิษ และจากรายงานของ Praveen and Subramanyam (1999) พบว่า Ca^{2+} ความเข้มข้นมากกว่า 1 มิลลิลิตรต่อลิตร สามารถยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินจาก *A. parasiticus* NRRL 2999 ได้ ยังพบว่าเมล็ดพืชที่พ้นเวลาเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมจะช่วยให้เกิดการสร้างสารพิษได้มากขึ้น (กนกรัตน์ ป้องประทุม. 2540 : 21) และยังพบว่าการสุขาภิบาลเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อการปนเปื้อนของเชื้อราที่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน (Elangovan and Kalyanasundaram.1999 : 129 -133)

2.5 การป้องกันกำจัดเชื้อราและสารพิษอะฟลาทอกซิน

การศึกษาถึงการป้องกันกำจัดเชื้อราและสารพิษอะฟลาทอกซิน อาจแบ่งเป็นวิธีใหญ่ๆ ได้ 3 วิธี คือ วิธีทางชีววิทยา วิธีทางฟิสิกส์และวิธีทางเคมี

2.5.1 วิธีทางชีววิทยา

การควบคุมการกำจัดเชื้อราและอะฟลาทอกซินโดยทางชีววิทยา ทำได้โดยการนำเอาจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ คือ แบคทีเรีย ยีสต์ รา แอคติโนมัยสีท และอื่น ๆ มาทำการทดสอบความสามารถในการควบคุมการกำจัดเชื้อราและสารพิษอะฟลาทอกซินหรือเปลี่ยนรูปโครงสร้างของอะฟลาทอกซิน จะทำให้ความเป็นพิษลดลงหรือไม่เกิดความเป็นพิษต่อสัตว์อื่น ๆ สารสกัดจากโปรตีนจากแบคทีเรีย *Flavobacterium auranticun* สามารถทำลายสารพิษอะฟลาทอกซิน

B_1 ซึ่งส่วนที่คาดว่ามีประสิทธิภาพในการทำลายสารพิษคือเอนไซม์และที่พีเอช 8 จะช่วยในการทำลายสารพิษได้มากกว่าที่พีเอช 5 (Smiley and Draughon. 2000 : 415 - 418)

ดุษณี ธนะบริพัฒน์ และคณะ (2539) พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Rhizopus oligosporus* ร่วมกับ *A. parasiticus* ในถั่วเหลืองสามารถยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้

Gourama and Bullerman (1995) รายงานว่าการผสม *Lactobacillus* sp. ที่ได้จากหญ้าที่ใช้เป็นอาหารสัตว์จะช่วยลดการเจริญและยับยั้งการผลิตสารพิษอะฟลาทอกซินจากเชื้อรา *A. flavus* subsp. *parasiticus* ในอาหารเหลว โดยการเจริญของ *Lactobacillus* sp. นี้จะไปยับยั้งการงอกของสปอร์

Hua *et al.* (1999) พบว่ายีสต์สามารถลดการสะสมของ norsolorinic acid ซึ่งเป็นสารตัวกลางในการผลิตสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อ *A. flavus* papa 827 ได้

El-Nezami *et al.* (2000) ได้ศึกษาความสามารถในการกำจัดสารพิษอะฟลาทอกซิน B_1 ของเชื้อ *Lactobacillus rhamnosus* สายพันธุ์ GG และสายพันธุ์ LC- 705 โดยใช้ chicken intestinal loop technique และการรวมตัวกับอะฟลาทอกซิน B_1 พบว่าเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์สามารถกำจัดสารพิษอะฟลาทอกซินได้ และ *Lactobacillus rhamnosus* สายพันธุ์ GG เป็นสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด

2.5.2 วิธีทางฟิสิกส์

การฉายรังสี การใช้แสงอัลตราไวโอเล็ต สามารถทำลายสารพิษอะฟลาทอกซินได้ จากการทดลองของ อมรา ชินภูติ และประวัติ ตันบุญเอก (2543) ได้นำถั่วลิสงป่นและพริกป่นมารับแสงอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 245 นาโนเมตร พบว่าพริกป่นเมื่อรับแสงนาน 45 นาที ปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินลดลง 43.75 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ถั่วลิสงป่นลดได้ 56.31 เปอร์เซ็นต์ เมื่อรับแสงเป็นเวลา 90 นาที

การดูดซับเป็นการใช้สารที่มีคุณสมบัติในการดูดซับ (non – nutritive sorptive material) ได้แก่สารประกอบประเภทอะลูมิโนซิลิเกต (inert aluminosilicate compounds) ผสมลงในวัตถุดิบอาหาร สารประเภทนี้จะมีลักษณะโครงสร้างเป็นผลึกที่ประกอบด้วยโพรงจำนวนมากกระจายอยู่ระหว่างโมเลกุล มีความสามารถที่จะดูดซับสารพิษอะฟลาทอกซินเอาไว้ในโครงสร้างได้ และการสกัดด้วยตัวทำละลายโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ต่างๆ เช่น อะซิโตน แอลกอฮอล์ คลอโรฟอร์ม เบนซิน เฮกเซน และไอโซโพรพานอลในรูปสารบริสุทธิ์และสารผสมสามารถสกัดอะฟลาทอกซินจากผลิตผลการเกษตรได้ (กนกรัตน์ ป้องประทุม. 2540 : 22-23) และ

อมรา ชินภูติ (2543 : 34 - 40) กล่าวว่าถ้านำถั่วลิสงป่นที่ปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซินมาอบด้วยเครื่องไมโครเวฟ ที่ระดับความร้อนปานกลางเป็นเวลาประมาณ 5 – 7 นาที ช่วยลดปริมาณสารพิษได้ประมาณ 45 – 70 เปอร์เซ็นต์ และยังพบว่าการใช้โอโซนจะช่วยลดการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* และ *A. parasiticus* ได้ (Beuchat *et al.* 1999 : 202 - 205)

2.5.3 วิธีทางเคมี

เนื่องจากประเทศไทยมีสมุนไพรหลายชนิด มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและประโยชน์ด้านอื่นๆ แตกต่างกันออกไป ผลที่ได้จากการศึกษาวิจัยสมุนไพรหลายชนิด พบว่าสมุนไพรหลายชนิดมีอิทธิพลต่อเชื้อราที่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน คือสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้

ดุษณี ธนะบริพัฒน์ และคณะ (2532) ศึกษาผลของมะนาว หอม กระเทียม ขิง ที่ความเข้มข้น 20,000 , 40,000 , 60,000 , 80,000 และ 100,000 พีพีเอ็ม ต่อการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* 102566 บนอาหารแข็ง PDA พบว่ามะนาว กระเทียม ขิง ให้ผลแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและกระเทียมให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีที่สุด

ดุษณี ธนะบริพัฒน์ และคณะ (2543) รายงานว่าจากการศึกษาสารสกัดหยาบจากใบและก้านสะเดาที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าสารสกัดหยาบจากใบสะเดาที่ความเข้มข้น 6 และ 2 กรัมต่อ100 มิลลิลิตร และสารสกัดจากก้านสะเดาที่ความเข้มข้น 2 และ 4 กรัมต่อ100 มิลลิลิตร เป็นความเข้นข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* และ *A. parasiticus* ได้ตามลำดับ

Suzuki *et al.* (1973) รายงานว่า กระวาน อบเชย พริกหอม เทียนขาวมีคุณสมบัติลดความเป็นพิษของอะฟลาทอกซิน B_1 , B_2 , G_1 และ G_2 ของ *Aspergillus* sp. ได้ ส่วนพริกไทยดำลดความเป็นพิษของอะฟลาทอกซิน B_1 และ B_2 ได้ แต่มีผลน้อยต่ออะฟลาทอกซิน G_1 และ G_2 สำหรับลูกจันทน์นั้นพบว่าไม่มีผลต่ออะฟลาทอกซิน B_1 และ B_2 แต่มีผลต่ออะฟลาทอกซิน G_1 และ G_2

Bullerman *et al.* (1977) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของอบเชยและกานพลูที่มีผลต่อการเจริญและการสร้างสารพิษของ *A. parasiticus* โดยนำสารสกัดจากอบเชยและกานพลูซึ่งได้แก่ cinnamon oil, clove oil, cinnamic aldehyde และ eugenol ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อรา yeast extract sucrose พบว่า cinnamon oil และ clove oil ที่ระดับ 200 ถึง 250 พีพีเอ็ม, cinnamic aldehyde ที่ระดับ 150 พีพีเอ็ม และ eugenol ที่ระดับ 125 พีพีเอ็ม สามารถยับยั้งการเจริญของ *A. parasiticus* ได้ โดยประสิทธิภาพของน้ำมันจากพืชทั้งสองขึ้นอยู่

กับสาร cinnamic aldehyde (พบใน cinnamon oil) และ eugenol (พบใน clove oil) เป็นสารสำคัญ สำหรับประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างสารพิษนั้น พบว่าการสร้างสารพิษจะถูกยับยั้งในระยะแรก ๆ ซึ่งต่อมาภายหลังการสร้างสารพิษจะเพิ่มมากขึ้นจนเท่ากับตัวอย่างที่ไม่ใส่สารสกัด เมื่อใช้ cinnamic aldehyde ปริมาณมากกว่า 250 พีพีเอ็ม และ eugenol มากกว่า 200 พีพีเอ็ม พบว่ามีผลยับยั้งการเจริญของรานี้ได้อย่างสมบูรณ์ หรือมีการเจริญได้บ้างเล็กน้อย แต่จะไม่สร้างอะฟลาทอกซิน

Morozumi (1978) รายงานว่าสาร o-methyoxycinnamaldehyde ที่สกัดได้จากอบเชย มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษของ *Aspergillus* spp. ได้ โดยพบว่าที่ระดับความเข้มข้น 100 พีพีเอ็มสามารถยับยั้งการเจริญของ *A. parasiticus* และ *A. flavus* ได้อย่างสมบูรณ์ ที่ระดับความเข้มข้น 200 พีพีเอ็มยับยั้งการเจริญของ *A. ochraceus* และ *A. versicolor* ที่ระดับความเข้มข้น 6.25 พีพีเอ็มยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซิน B_1 ได้มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 25 พีพีเอ็มยับยั้งการสร้าง ochratoxin A และที่ระดับความเข้มข้น 50 พีพีเอ็มยับยั้งการสร้าง sterigmatocystin

Hitokoto *et al.* (1978) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของพืชสมุนไพร 13 ชนิด และเครื่องเทศ 7 ชนิดที่มีผลต่อการเจริญและการสร้างสารพิษของ *Aspergillus* spp. พบว่าจากตัวอย่างพืชที่ใช้ทดสอบ 20 ตัวอย่าง เปลือกของต้นอบเชย (cinnamon bark) สามารถยับยั้งการเจริญของ *A. parasiticus* , *A. flavus* , *A. ochraceus* และ *A. versicolor* ได้อย่างสมบูรณ์ ในขณะที่พืชทดสอบอื่น ๆ ยับยั้งการสร้างสารพิษเท่านั้น นอกจากนี้ยังพบว่าการสกัดสารที่มีผลต่อการเจริญของ *Aspergillus* นั้นสามารถทำได้โดยใช้น้ำร้อน คลอโรฟอร์มหรือเอทิลแอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลาย

Mabrouk and El – Shayeb (1980) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของเครื่องเทศ 6 ชนิด ได้แก่ กานพลู อบเชย ขิง พริกไทยดำ สะระแหน่และเทียนขาว ที่มีผลต่อการเจริญและการสร้างสารพิษของ *A. flavus* M 93 พบว่ากานพลูที่ระดับความเข้มข้นมากกว่า 1,000 พีพีเอ็ม สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการสร้างอะฟลาทอกซินได้อย่างสมบูรณ์ สำหรับสะระแหน่และเทียนขาว (ที่ระดับความเข้มข้น 50,000 และ 100,000 พีพีเอ็ม) ขิงและพริกไทยดำที่ระดับความเข้มข้น 100,000 พีพีเอ็ม สามารถยับยั้งการสร้างสารพิษของเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ นอกจากนี้ยังพบว่าอบเชยที่ระดับความเข้มข้นมากกว่า 100,000 พีพีเอ็ม สามารถยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้ สำหรับขิงนั้นพบว่าไม่สามารถยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้

Hitokoto *et al.* (1980) ได้นำเครื่องเทศ 29 ชนิดมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษของ *Aspergillus* spp. พบว่า กานพลู โป๊ยกั๊ก และพริกหอม สามารถยับยั้งการเจริญของราที่ใช้ทดสอบได้อย่างสมบูรณ์ ในขณะที่เครื่องเทศอื่น ๆ ส่วนใหญ่จะยับยั้งได้เฉพาะการสร้างสารพิษเท่านั้น นอกจากนี้ยังพบว่า eugenol ที่สกัดได้จากกานพลู และ thymol ที่สกัดได้จากไทม์สามารถยับยั้งการเจริญของ *A. flavus* และ *A. versicolor* ได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 400 พีพีเอ็มหรือน้อยกว่า ส่วน anethol ที่สกัดได้จากโป๊ยกั๊กสามารถยับยั้งเชื้อราที่ใช้ทดสอบได้ที่ระดับ 2,000 พีพีเอ็ม

Buchanan and Shepherd (1981) รายงานว่า thymol ที่ความเข้มข้น มากกว่า 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะยับยั้งการเจริญของ *A. parasiticus* ได้อย่างสมบูรณ์

Llewellyn *et al.* (1981) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของพืชสมุนไพรและเครื่องเทศบางชนิดที่มีผลต่อการสร้างเส้นใย สปอร์ และ อะฟลาทอกซินของ *Aspergillus* 3 ชนิด คือ *A. flavus* ATCC 15548, *A. flavus* NRRL 3251 และ *A. parasiticus* NRRL 2999 โดยนำเชื้อราทั้ง 3 ชนิดมาเลี้ยงบนอาหารที่ผสมผงพืชสมุนไพรและเครื่องเทศ พบว่าสมุนไพรที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์คือ กานพลู และอบเชย ส่วนไทม์และ oregano ยับยั้งการสร้างสารพิษ สำหรับขิงนั้นพบว่าไม่มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อรา

Azzouz (1981) ได้นำพืชสมุนไพรและเครื่องเทศ 16 ชนิด สารเคมีป้องกันกำจัดรา 3 ชนิด มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษของเชื้อรา พบว่า กานพลู อบเชย มัสตาด พริกหอม กระเทียมและ oregano ที่ระดับความเข้มข้น 20,000 พีพีเอ็ม มีผลยับยั้งการเจริญของ *A. flavus*, *A. parasiticus* และ *A. ochraceus* ได้ ซึ่งจากการวิเคราะห์สารเคมีในมัสตาดขาวพบว่าสาร allyl isothiocyanate เป็นองค์ประกอบสำคัญที่มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของราได้ สำหรับประสิทธิภาพของสารเคมีป้องกันกำจัดรานั้น พบว่า potassium sorbate ที่ระดับความเข้มข้น 3,000 พีพีเอ็ม ให้ผลในการยับยั้งการเจริญของราได้ดีที่สุด รองลงมาได้แก่ sodium benzoate และ calcium propionate ส่วนพืชสมุนไพรและเครื่องเทศอื่น ๆ ที่ใช้ทดลองมีผลในการยับยั้งการเจริญได้เพียงเล็กน้อย

Azzouz and Bullerman (1982) รายงานว่ากานพลู อบเชย พริกหอมและกระเทียม ที่ระดับความเข้มข้น 20,000 พีพีเอ็ม สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* NRRL A16900, *A. parasiticus* NRRL 2999 และ *A. ochraceus* NRRL 3174 ได้อย่างสมบูรณ์

Reiss (1982) ได้นำสาร cinnamon, cinnamon oil, eugenol และ cinnamic acid ที่สกัดได้จากเปลือกของต้นอบเชย (cinnamon bark) มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษของรา *Aspergillus* spp. โดยนำสารเหล่านี้ผสมลงในแป้งสาลีที่

ใช้ทำขนมปังเพื่อใช้เลี้ยงเชื้อรา พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 100 -10,000 พีพีเอ็ม ของสารที่นำมาทดสอบมีผลต่อการเจริญและการสร้างสารพิษของรา *A. versicolor*, *A. parasiticus* และ *A. ochraceus* โดยที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ จะกระตุ้นการเจริญของรา แต่ที่ระดับความเข้มข้นสูง ๆ จะมีผลยับยั้งการเจริญของราได้ สำหรับประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างสารพิษนั้น พบว่า cinnamon oil มีความเฉพาะเจาะจงในการยับยั้งการสร้าง aflatoxin M_1, sterigmatocystin และ ochratoxin A ในขณะที่ eugenol ยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซิน B_1 และ ochratoxin A ได้อย่างสมบูรณ์ ส่วน cinnamic acid ยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซิน B_1 , sterigmatocystin และ ochratoxin A

Tiwari *et al.* (1983) ได้ศึกษาผลของน้ำมันที่สกัดจากขิง อบเชย ดอกจันทน์ thymol ยูคาลิปตัส โป๊ยกั๊ก rosemary และorange bitter ที่มีผลต่อการเจริญและการสร้างอะฟลาทอกซิน B_1 ของ *A. parasiticus* พบว่าน้ำมันจากพืชที่ใช้ทดสอบทั้งหมดสามารถยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษของราได้ น้ำมันจากอบเชยและโป๊ยกั๊ก ที่ระดับความเข้มข้น 200 และ 300 พีพีเอ็ม มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษได้ดีที่สุด โดยที่ระดับความเข้มข้น 200 และ 300 พีพีเอ็ม สามารถยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษได้อย่างสมบูรณ์ ในขณะที่น้ำมันจากพืชอื่น ๆ มีผลยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซิน B_1 ได้เพียง 40 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น

Misra *et al.* (1988) ได้ทดสอบประสิทธิภาพน้ำมันจากใบตะไคร้ต่อการยับยั้งเชื้อราสกุล *Aspergillus* คือ *A. flavus*, *A. fumigatus* และ *A. parasiticus* ที่ความเข้มข้น 3000, 2000 และ 900 พีพีเอ็ม พบว่าสารประกอบเคมีที่มีผลต่อเชื้อรา คือ geraniol

Chatterjee (1990) ได้ศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อราด้วยน้ำมันหอมระเหยในเมล็ดข้าวโพดหลังการเก็บเกี่ยว พบว่าน้ำมันซุมเห็ดเทศ , กานพลู และ geranium 30 ไมโครกรัมต่อกรัม โป๊ยกั๊ก 40 ไมโครกรัมต่อกรัม และผักชี 50 ไมโครกรัมต่อกรัม สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *A. flavus* , *Curvularia pallescens* , *Chaetomium indicum* , *A. glaucus* , *A. niger* และ *A. sydowi* ได้

Mishra and Dubey (1990) ทดสอบน้ำมันจากใบพืชสด 9 สายพันธุ์เก็บจากเมืองพาราณสี ต่อเชื้อรา *A. flavus* ที่ความเข้มข้น 5,000 พีพีเอ็ม พบว่าน้ำมันจากกระวาน ยับยั้งได้ 100 เปอร์เซ็นต์ มะตูม หญ้าสาบแร้ง ข่า และ หญ้าเกล็ดปลา ยับยั้งได้ 85 เปอร์เซ็นต์ ขมิ้น ยับยั้งได้ 70 เปอร์เซ็นต์ โกฐจุฬาลำพา ยับยั้งได้ 66.66 เปอร์เซ็นต์ กระวานเทศ ยับยั้งได้ 60 เปอร์เซ็นต์ และ *Salvia plebeia* ยับยั้งได้ 54 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกระวานที่ระดับความเข้มข้น 3000 พีพีเอ็ม สามารถยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์

Ansari and Shrivastava (1991) ทดสอบผลของน้ำมันยูคาลิปตัสต่อการเจริญและการผลิตอะฟลาทอกซินโดย *A. flavus* โดยทดสอบที่ความเข้มข้น 0.05, 0.1 และ 0.2 มิลลิลิตรต่ออาหาร 50 มิลลิลิตร ในอาหารเหลว หลังจากเพาะเลี้ยง 6 วัน สามารถยับยั้งการเจริญและการสร้างอะฟลาทอกซิน อย่างไรก็ตามพบว่าหลังจาก 12 วัน จะผลิตอะฟลาทอกซินดีกว่ากลุ่มควบคุม

Gangrade *et al.* (1991) ได้ศึกษาผลการยับยั้งเชื้อรา *A. niger, A. flavus , Fusarium oxysporum* และ *Penicillium* sp. ของน้ำมันจากใบตะไคร้ เมล็ดโป๊ยกั๊ก และรากแฝกหอม การทดลองใช้ 4 ความเข้มข้น คือ อัตราส่วนของน้ำมันต่อ dimethyl sulphoxide 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10000 เปรียบเทียบกับน้ำมันหอมระเหยบริสุทธิ์ ใช้ cyclohexamide และ hamycin เป็นสารมาตรฐาน พบว่าน้ำมันหอมระเหยบริสุทธิ์สามารถยับยั้งได้ 70 – 80 เปอร์เซ็นต์ ที่อัตราส่วน 1:10 สามารถยับยั้งได้ 50 เปอร์เซ็นต์ แต่น้ำมันตะไคร้ที่อัตราส่วน 1:10000 ไม่แสดงผลยับยั้งต่อ *A. niger, F. oxysporum* และ *Penicillium* sp.

Masood and Ranjan (1991) ศึกษาผลของสารสกัดจากใบพืช 4 ชนิดคือ prickly poppy (*Argemone mexican*) หญ้าแห้วหมู (*Cyperus rotundus*) น้ำนมราชสีห์ (*Euphorloia hirta*) และ หญ้าต่มตือก (*Solanum migrum*) ต่อการเจริญและการสร้างอะฟลาทอกซินโดย *A. flavus* ในอาหารเหลว พบว่าพืชทั้งหมดสามารถยับยั้งการผลิตอะฟลาทอกซินและพบว่าการผลิตสารพิษอะฟลาทอกซินไม่ได้แปรผันตามการเจริญของเชื้อรา

Kumar and Prasad (1992) ทดสอบสารสกัดฟ้าทะลายโจรความเข้มข้น 3, 5, 8 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการเจริญและการผลิตอะฟลาทอกซินของเชื้อ *A. flavus* ในอาหารเหลว พบว่าสารสกัดความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินและการเจริญของเชื้อราดีที่สุด ซึ่งการเจริญและการสร้างสารพิษจะให้ผลที่สอดคล้องกัน คือปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินจะแปรผันตามการเจริญของเชื้อรา

Patkar *et al.* (1993) ทดสอบการยับยั้งของน้ำมันอบเชย กานพลู อัลมอนด์ และ cardamom ต่อการผลิตอะฟลาทอกซิน B_1 ของเชื้อ *A. flavus* ในอาหารเหลว yeast extract sucrose พบว่าน้ำมันอบเชยความเข้มข้น 0.5 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร และน้ำมันกานพลู 1 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตรสามารถยับยั้งการเจริญและการผลิตอะฟลาทอกซิน B_1 ส่วน อัลมอนด์ และ cardamom ความเข้มข้น 1.25 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตรมีผลยับยั้งการเจริญ แต่น้ำมันอัลมอนด์ความเข้มข้น 0.75 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตรและน้ำมัน cardamom ความเข้มข้น 0.25 และ 0.5 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตรจะกระตุ้นการผลิตอะฟลาทอกซิน B_1 ตามลำดับ

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

Sinha *et al.* (1993) ศึกษาผลของน้ำมันกานพลูและอบเชยที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญและการสร้างอะฟลาทอกซินของ *A. flavus* ในอาหารเหลว พบว่าปริมาณอะฟลาทอกซินในอาหารเหลวลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อทดสอบด้วยน้ำมันที่มีความเข้มข้นมากกว่า 100 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร

Mahmoud (1994) ศึกษาผลของสารประกอบน้ำมันหอมระเหย 20 ชนิดต่อการเจริญและการผลิตอะฟลาทอกซิน พบว่าน้ำมันหอมระเหย 5 ชนิด ได้แก่ geraniol , nerol , citronellol, cinnamaldehyde และ thymol สามารถยับยั้งการเจริญและการสร้างอะฟลาทอกซินได้ ความเข้มข้นน้อยสุดของ geraniol , nerol และ citronellol ที่สามารถยับยั้งการเจริญคือ 500 พีพีเอ็ม ในขณะที่ thymol และ cinnamaldehyde จะสามารถยับยั้งการเจริญที่ความเข้มข้นต่ำคือ 250 และ 200 พีพีเอ็มตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่า citral , citronellol และ eugenol จะสามารถป้องกันการเจริญและการสร้างอะฟลาทอกซินได้ที่เวลา 8 วัน แต่ที่เวลา 15 วัน จะไม่สามารถยับยั้งได้และเกิดการผลิตสารพิษได้มากกว่ากลุ่มควบคุม

Prasad *et al.*(1994) รายงานว่าสารสกัดจากใบบุก (*Amorphophallus cumpanulatus*) ที่ความเข้มข้นมากกว่า 4.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการผลิตอะฟลาทอกซินจาก *A. flavus* ได้อย่างสมบูรณ์ และยับยั้งการเจริญได้มากที่สุดที่ความเข้มข้น 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Masood (1994) พบว่า capsanthin และ capsaicin ซึ่งเป็นสารให้สีในพริกหยวก (*Capsicum annum*) สามารถยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินในอาหารเหลวได้ โดย capsanthin ความเข้มข้น 0.2 , 0.6 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ capsaicin ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการสร้างสารพิษได้ 4 วันของการเพาะเลี้ยง

Paster *et al.* (1995) ได้ทดสอบน้ำมันหอมระเหยจาก oregano และไทม์ ต่อการเจริญของเชื้อ *A. flavus* , *A. niger* และ *A. ochraceus* ในเมล็ดข้าวสาลีเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยจาก oregano ที่ 2 ไมโครลิตรต่อลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใย และความเข้มข้น 2 – 2.5 ไมโครลิตรต่อลิตรสามารถกำจัดสปอร์ได้ ส่วนน้ำมันหอมระเหยจากไทม์ที่ความเข้มข้น 4 ไมโครลิตรต่อลิตรสามารถควบคุมการเจริญของเชื้อราที่ใช้ทดสอบได้ และ ที่ความเข้มข้น 3 ไมโครลิตรต่อลิตร เป็นพิษต่อสปอร์

Bankole (1997) พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากใบสะเดาอินเดีย (*Azadirachta indica*) และเมล็ดยอ (*Morinda lucida*) สามารถยับยั้งการเจริญของ *A. flavus* เมื่อเพาะเลี้ยง 8 วัน ในอาหารเหลวซึ่งมีส่วนประกอบด้วยซูโครส แมกนีเซียม ซัลเฟต-7-ไฮเดรต โพแทสเซียมไนเตรต yeast extract พบว่าการยับยั้งเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย และน้ำมันจาก

ใบของสะเดาอินเดียยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินอย่างสมบูรณ์ที่ความเข้มข้น 500 และ 1000 พีพีเอ็ม ในขณะที่น้ำมันจากเมล็ดยอยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ที่ความเข้มข้น 1000 พีพีเอ็ม

Yin and Cheng (1998) ได้ศึกษาผลการยับยั้งการเจริญของ *A. niger* และ *A. flavus* จากสารสกัดหัวกระเทียม ต้นกระเทียม ต้นหอม พริกชี้ฟ้า ขิง ผักชีและโหระพา พบว่าสารสกัดจากหัวกระเทียม ต้นกระเทียม และต้นหอมให้ผลการยับยั้งเชื้อราทั้งสอง และสารสกัดจากหัวกระเทียมให้ผลยับยั้งเชื้อราดีที่สุด

Montes-Belmont and Carvajal (1998) ได้ทำการศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากพืช 11 ชนิด ต่อการเจริญของ *A. flavus* ในเมล็ดข้าวโพด พบว่าส่วนประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหย 8 ชนิดคือน้ำมันหอมระเหยของอบเชย เปปเปอร์มินท์ โหระพา origanum , *epazote* กานพลูและไทม์ สามารถป้องกันการปนเปื้อนในเมล็ดข้าวโพดได้และ thymol และ *0* -methoxycinnamaldehyde ที่ได้จากไทม์ origanum และอบเชย จะลดการปนเปื้อนในเมล็ดข้าวโพดได้อย่างมีนัยสำคัญ ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยที่เหมาะสมในการป้องกันเชื้อราในเมล็ดข้าวโพดจะอยู่ในช่วง 3 – 8 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าอบเชยมีประสิทธิภาพในการควบคุมมากที่สุด

Hulin *et al.*(1998) ได้ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากพืชชนิดต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ยีสต์ และราหลายชนิดพบว่าสารประกอบในน้ำมันหอมระเหยจะมีผลต่อการเจริญของ *Escherichia coli* 0157:H7 และ *Listeria monocytogenes* นอกจากนี้ยังมีผลทำให้การสร้างสปอร์ของ *Clostridium botulinum* ลดลง ทำให้การสร้างสารพิษของ *Staphylococcus aureus* ลดลง มีผลต่อการเจริญของเชื้อยีสต์ ทำให้การสร้างสปอร์และเส้นใยของ *A. flavus* ลดลง และการสร้างสารพิษของเชื้อ *A. ochraceus* ลดลง

Norton (1999) พบว่าสาร anthocyanidins ความเข้มข้น 0.1 – 3.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน B_1 ได้

Fan and Chen (1999) ศึกษาผลการยับยั้งการเจริญและการผลิตสารพิษอะฟลาทอกซินของ *A. flavus* และ *A. parasiticus* โดยสารสกัดต้นหอมญี่ปุ่น พบว่าจำนวนสปอร์ที่มีชีวิตเหลืออยู่ของ *A. flavus* และ *A. parasiticus* ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารสกัดและระยะเวลาที่ได้รับสารสกัด การเจริญของเส้นใยของเชื้อราทั้ง 2 สายพันธุ์ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว yeast extract-sucrose จะถูกยับยั้งอย่างสมบูรณ์ด้วยสารสกัดต้นหอมญี่ปุ่นที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในเวลา 30 วันของการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และยังสามารถยับยั้งการผลิตสารพิษอะฟลาทอกซินด้วย ที่ความเข้มข้นของสารสกัด 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าจะมีการผลิตสารพิษอะฟลาทอกซินในปริมาณเล็กน้อยหลังจากเพาะเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา

2 สัปดาห์ สารสกัดต้นหอมญี่ปุ่นแสดงผลการยับยั้งต่อเชื้อราที่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน 2 สายพันธุ์ที่ใช้ทดสอบนี้ได้ดีกว่าวัตถุกันเสียพวกซอร์เบต และ โพรพิโอเนต มีความเข้มข้นเท่ากันที่ พีเอช ใกล้ 6.5

Jayashree and Subramanyam (1999) ได้ทดสอบการยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินโดยเชื้อ *A. parasiticus NRRL 2999* โดยใช้ eugenol ที่พบในกานพลู กระเพรา และพืชสมุนไพรอื่น พบว่าที่ความเข้มข้น 0.75 มิลลิโมลต่อลิตร จะยับยั้งการผลิตสารพิษอะฟลาทอกซินแต่ไม่ยับยั้งการเจริญ เมื่อให้เชื้อราเจริญที่ eugenol ความเข้มข้น 0.45 มิลลิโมลต่อลิตร เป็นเวลา 3 วัน พบว่า ประสิทธิภาพของ polysubstrate monooxygenase จะลดลงในช่วง idiophase ประสิทธิภาพของเอนไซม์ในการกำจัดอนุมูลอิสระ การย่อยสลายไขมันและการควบคุมค่า redox potential จะลดลง จากผลที่ได้นี้ทำให้ทราบว่าการยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของ eugenol จะเกี่ยวข้องกับการยับยั้งการสังเคราะห์อะฟลาทอกซินช่วง tertiary step

Mahmoud (1999) ได้ศึกษาผลของสารสกัดจาก lupin (*Lupinus albus*),visnaga (*Ammi visnaga*) และ noogora burr (*Xanthium pungens*) ที่ความเข้มข้น 2, 4, 6, 8, 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในการยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน โดย *A. flavus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าสารสกัดจากพืชทั้งหมดสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใย และการเกิดสารพิษได้ และสารสกัดจากพืชจะมีผลต่ออะฟลาทอกซิน B_1 มากกว่า B_2

Carpinella *et al.* (1999) รายงานว่าสารสกัดจากเลี่ยน (*Melia azedarach*) ที่เก็บจากอาร์เจนตินาจะแสดงผลยับยั้งเชื้อรา *A. flavus* , *Fusarium moniliforme* , *Microsporum canis* และ *Candida albicans*

Singh (1999) รายงานว่าการทดสอบสารสกัดจากใบพืช 10 ชนิด ในการควบคุมเชื้อราที่ปนเปื้อนในระหว่างการเพาะเลี้ยงเห็ด *Pleulotus florida* พบว่าสารสกัดจากแมงลักคา (*Hyptis suaveolens*) จะให้ผลการควบคุมดีที่สุด ตามด้วยสารสกัดจาก *Adenocalymma alleces* และมะตูม (*Aegle marmelos*)

Rachmawati *et al.* (1999) ได้ทดสอบสารสกัดจาก sambiloto ในอาหารสัตว์ที่ความเข้มข้น 0.04 0.08 และ 0.16 เปอร์เซ็นต์ ต่อการยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อ *A. flavus* พบว่าที่ความเข้มข้นของสารสกัด 0.16 เปอร์เซ็นต์สามารถลดการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินที่เวลา 5 วัน แต่ที่เวลา 10 วันจะให้ผลไม่แตกต่างทางสถิติ

Gardini *et al.* (2001) รายงานว่า trans-2-hexenol สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* G32 ได้และผลการยับยั้งการเจริญจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้น a_w และอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยง

2.6 สมุนไพร

"สมุนไพร" ตามพระราชบัญญัติยา หมายถึงยาที่ได้จากพืช สัตว์ และแร่ธาตุ ซึ่งยังมิได้ผสม หรือแปรสภาพ เช่น พืชก็ยังเป็นส่วนของราก ลำต้น ใบ ดอก ผล เป็นต้น(นิจศิริ เรืองรังสี และ พยอม ตันติวัฒน์. 2534 :1)

การเก็บพืชสมุนไพรในช่วงเวลาต่าง ๆ กัน อาจจะให้ผลในการรักษาต่างกันออกไปและพืชสมุนไพรชนิดเดียวกันที่ปลูกกันคนละท้องถิ่นอาจให้ผลการรักษาต่างกันได้ ซึ่งในปัจจุบันในวงการศึกษาก็ยอมรับว่าการที่รักษาด้วยพืชสมุนไพรไม่ได้ผลในบางครั้งนั้นอาจเนื่องมาจากสมุนไพรที่ใช้แตกต่างกันตามพันธุ์ (genetic) ท้องที่ (environment) และฤดูกาลที่เก็บเกี่ยว (ontogeny) จากการพัฒนาทางด้านวิทยาศาสตร์ การสกัดและแยกสารเคมีบริสุทธิ์ได้จากพืช ทำให้นักวิทยาศาสตร์เชื่อว่าสารเคมีเหล่านี้เองที่เป็นตัวกำหนดสรรพคุณของพืชสมุนไพรนั้น ๆ

สารเคมีที่แยกได้จากพืชนั้น นักวิทยาศาสตร์ได้จำแนกออกเป็น 2 พวกใหญ่ ๆ คือ primary metabolite และ secondary metabolite จากการศึกษาสามารถนำมาใช้เป็นยาสมุนไพร ซึ่งอาจจำแนกออกเป็น 9 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ

1. คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate)
2. แอลคาลอยด์ (alkaloid)
3. ไกลโคไซด์ (glycoside)
4. น้ำมันระเหย (volatile oil)
5. ไขมัน (lipid)
6. เรซิน (resin)
7. วิตามิน (vitamin)
8. สเตอรอยด์ (steroid)
9. ยาปฏิชีวนะ (antibiotic)

2.6.1 น้ำมันหอมระเหย

อาจจะเรียกว่า ethereal oil หรือ essential oil พบได้ในส่วนต่างๆของพืช เช่น ดอก ใบ ผล กลีบเลี้ยง เป็นต้น น้ำมันหอมระเหยประกอบด้วยส่วนประกอบทางเคมีที่สลับซับซ้อน แบ่งน้ำมันหอมระเหยตามชนิดขององค์ประกอบใหญ่ๆได้ดังนี้ (วันดี กฤษณพันธ์และคณะ. 2536 : 45 - 47)

1. Hydrocarbon volatile oil ได้แก่น้ำมันหอมระเหยที่มีไฮโดรคาร์บอนเป็นองค์ประกอบหลัก เช่น p- cymene ซึ่งพบได้ในน้ำมันจากลูกผักชี และ อบเชย
2. Alcohol volatile oil ได้แก่น้ำมันหอมระเหยที่มีแอลกอฮอล์เป็นองค์ประกอบหลัก เช่น menthol ซึ่งได้จากน้ำมันจากสะระแหน่
3. Aldehyde volatile oil ได้แก่น้ำมันหอมระเหยที่มีอัลดีไฮด์เป็นองค์ประกอบหลัก เช่น citronellal ซึ่งพบในน้ำมันตะไคร้หอม
4. Ketone volatile oil ได้แก่น้ำมันหอมระเหยที่มีสารจำพวก ketones เป็นองค์ประกอบหลัก เช่น น้ำมันจากการบูร และสะระแหน่
5. Phenol volatile oil ได้แก่น้ำมันหอมระเหยที่มีสารจำพวก phenol เป็นองค์ประกอบหลัก เช่น thymol และ eugenol ที่พบในกานพลู ไทม์
6. Phenolic ether volatile oil ได้แก่น้ำมันหอมระเหยที่มีสารจำพวก phenol ether เป็นองค์ประกอบหลัก เช่น น้ำมันโป๊ยกั๊ก
7. Oxide volatile oil ได้แก่น้ำมันหอมระเหยที่มีสารจำพวก oxide เป็นองค์ประกอบหลัก เช่น น้ำมันยูคาลิบตัส
8. Ester volatile oil ได้แก่น้ำมันหอมระเหยที่มีสารจำพวก ester เป็นองค์ประกอบหลัก เช่น น้ำมันมัสตาด

2.6.2 **ตะไคร้หอม** (Citronella Grass)

ตะไคร้หอมเป็นพืชล้มลุกที่ขึ้นง่าย ใบเลี้ยงเดี่ยว (ภาพที่ 2.3) เจริญเติบโตด้วยการแตกหน่อ คล้ายตะไคร้แกง แต่ใบจะใหญ่และบางกว่า สีของใบจะมีสีม่วงปนแดง จะออกดอกในฤดูหนาว ดอกออกเป็นช่อยาวใหญ่ สีของช่อดอกมีสีน้ำตาลแดงคล้ำ และปลูกแพร่หลายในประเทศไทย มีน้ำมันหอมระเหยที่มีชื่อสามัญว่า Citronella มีสารประกอบหลักคือ citronellol, geraniol (Singh *et al.* 1989 : 727- 733) มีน้ำมันหอมระเหยอยู่ที่ส่วนใบและลำต้น สามารถนำไปสกัดทำยาป้องกันกำจัดแมลง ตะไคร้หอมที่นิยมปลูกมี 2 ชนิดคือ พันธุ์ลังกา (*Cymbopogon nardus* Rendle) และ พันธุ์ชวา (*Cymbopogon winterianus* Jewitt)

ภาพที่ 2.3 รูปร่างลักษณะตะไคร้หอม (*Cymbopogon winterianus* Jewitt)

พันธุ์ลังกา

ชื่อวิทยาศาสตร์(Scientific name): *Cymbopogon nardus* (Linn) Rendle

ชื่อสามัญ(Common name): Citronella Grass

ชื่อวงศ์ (Family name): Garmineae

ชื่ออื่น ๆ (Other name): จะไคมะขูด ตะไครมะขูด ตะไคร้แดง Lenabatu

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

เป็นพืชล้มลุก มีอายุหลายปี มีเหง้า ลำต้นตั้งตรง ออกเป็นกอ ใบรูปยาวแคบ เกลี้ยง มีกลิ่นหอม ตรงรอยต่อระหว่างใบกับกาบมีแผ่นรูปไข่ปลายตัดยื่นออกมา มีขน กาบหุ้มติดทน กาบล่างสุดเกยซ้อนกัน เมื่อแห้งจะม้วนขึ้น ดอกเป็นช่อขนาดใหญ่ มีใบประดับลักษณะคล้ายกาบ ช่อดอกแยกเป็นหลายแขนง แต่ละแขนงมีช่อดอกย่อยออกเป็นคู่ ช่อหนึ่งมีก้านและอีกช่อหนึ่งไม่มีก้านซึ่งมีรูปขอบขนานแกมรูปหอก ใบประดับช่อย่อยใบนอกหยักมีเส้นเห็นได้ชัด ด้านนอกแบนเล็กน้อย ขอบแผ่ออกเป็นปีกแคบ ๆ และขอบด้านบนสาก ใบประดับในรูปเรือ ใบประดับทั้งสองใบนี้มีความยาวไล่เลี่ยกัน รูปไข่กลับหรือรูปรี ปลายแหลมมีเส้นตามยาว 1 – 3 เส้น ขอบบนมีขน กลีบหุ้มดอกมี 2 กลีบ กลีบนอกรูปขอบขนาน เนื้อบาง ขอบมีขน ไม่มีเส้นลาย กลีบใบรูปยาว แคบ มีขนแข็งและปลายแหลม ปลูกมากในเกาะลังกา ขยายพันธุ์ด้วยการแยกเหง้าปลูก (วินัย ปิติยนต์ . 2540 : 78 - 84)

สรรพคุณทางยา (นันทวัน บุณยะประภัศร และ อรนุช โชคชัยเจริญพร. 2541 : 72 - 75)

ราก แก้ริดสีดวงในปาก ทำให้แท้งบุตร

เหง้า บีบมดลูกอย่างแรง หญิงมีครรภ์รับประทานทำให้แท้งบุตรได้ ขับประจำเดือน ขับปัสสาวะ ขับระดูขาว แก้ปากเปื่อยเหม็น ขับลมในลำไส้ แก้ปวดท้องจุกแน่น

ต้น แก้ริดสีดวงในปาก แก้ปากแตกระแหง หญิงมีครรภ์รับประทานทำให้แท้งบุตรได้ ขับโลหิต ระดู บีบรัดมดลูก ขับลมในลำไส้ แก้แน่นท้อง

น้ำมันจากใบและต้น ช่วยไล่ยุง

ไม่ระบุส่วนที่ใช้ แก้ริดสีดวงในปาก (แผลในปาก) ทำให้แท้งบุตรได้ ขับฟอกโลหิตระดู แก้โรคในอก บำรุงไฟธาตุ แก้อาเจียน แก้ริดสีดวงตา ขับลมในลำไส้ แก้แน่น ลดอาการเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบขับเหงื่อ แก้ไข้

พันธุ์ชวา

ชื่อวิทยาศาสตร์(Scientific name): *Cymbopogon winterianus* Jowitt (*Andropogon nardus* Java de Jong)

ชื่อสามัญ(Common name): Citronella Grass

ชื่อวงศ์ (Family name): Garmineae

ชื่ออื่นๆ (Other name) : Mahapengiri

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

คล้ายกับ *Cymbopogon nardus* (Linn) Rendle แต่ต่างกันที่ รากออกตื้นๆ ลำต้นสูง ปลูกมากในเกาะชวา และในประเทศไทย (วินัย ปิติยนต์ . 2540 : 78 - 84)

สรรพคุณทางยา (นันทวัน บุณยะประภัศร และ อรนุช โชคชัยเจริญพร. 2541 : 72 - 75)

ราก แก้ริดสีดวงในปาก ทำให้แท้งบุตร

เหง้า บีบมดลูกอย่างแรง ขับประจำเดือน ขับปัสสาวะ แก้ปากเปื่อย ขับลมในลำไส้ แก้ปวดท้องจุกแน่น

ต้น แก้ริดสีดวงในปาก แก้ปากแตกระแหง ขับโลหิต ขับลมในลำไส้

น้ำมันจากใบและลำต้น ไล่ยุง

น้ำมันตะไคร้หอม

หมายถึง น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากใบตะไคร้หอมสดหรือที่ทำให้แห้งหมาดโดยการกลั่นด้วยไอน้ำ

ลักษณะทั่วไป

เป็นของเหลวใส มีสีเหลืองอ่อนหรือสีเหลืองปนน้ำตาลอ่อน ปราศจากตะกอนและสารแขวนลอย ไม่มีการแยกชั้นของน้ำ มีกลิ่นเฉพาะตัว คุณลักษณะทางฟิสิกส์และเคมีดังแสดงในตารางที่ 2.1 (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2541 : 1-2)

ตารางที่ 2.1 คุณลักษณะทางฟิสิกส์และทางเคมี

รายการที่	คุณลักษณะ	เกณฑ์ที่กำหนด	
		น้ำมันตะไคร้หอมชวา	น้ำมันตะไคร้หอมลังกา
1	อัตราส่วนการละลายระหว่างน้ำมันตะไคร้หอม : เอทานอล ร้อยละ 80 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 20 องศา-เซลเซียส	1 : 2	1 : 2
2	ความหนาแน่นสัมพัทธ์ ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส	0.880 ถึง .895	0.894 ถึง 0.910
3	Optical rotation ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส	-5 ถึง +2	-18 ถึง 09
4	ดัชนีหักเหที่อุณหภูมิ 20 องศา-เซลเซียส	1.466 0 ถึง 1.473 0	1.479 0 ถึง 1.487 0
5	ค่าเอสเตอร์ (คำนวณเป็น geraniol)	ไม่น้อยกว่า 250	157 ถึง 200
6	ความหนาแน่นสัมพัทธ์	ไม่น้อยกว่า 127	18 ถึง 55

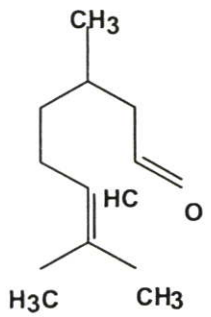
ตะไคร้หอมพันธุ์ลังกาและพันธุ์ชวา มีองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันตะไคร้หอมแตกต่างกันดังตารางที่ 2.2 จึงทำให้มีลักษณะกลิ่นเฉพาะพันธุ์ (วินัย ปิติยนต์ . 2540 : 78 - 84) และสูตรโครงสร้างทางเคมีบางชนิดของสารสกัดตะไคร้หอมแสดงดังภาพที่ 2.4

ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยในตะไคร้หอมพันธุ์ลังกาและพันธุ์ชวา (วินัย ปิติยนต์ . 2540 : 78 - 84)

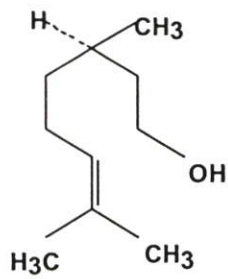
ชนิดของสารเคมี	ปริมาณเฉลี่ย (เปอร์เซ็นต์)	
	พันธุ์ลังกา	พันธุ์ชวา
1. Tricycline	1.6	-
2. α-Pinene	2.6	-
3. Camphene	8.0	-
4. β–Pinene	trace	-
5. Sabinene	trace	-
6. Myrcene	0.3	-
7. Car-3- ene	trace	-
8. α–Phellandrene	0.8	-
9. Limonene	9.7	1.3
10. Cis-ocimene	1.4	-
11. P- cynene	trace	-
12. Terpinene	0.7	-
13. 1-Hexanol	0.1	-
14. Methyl heptanone	0.2	trace
15. Citronellal	5.2	32.7
16. Camphor	0.5	trace
17. Bourbonene	1.0	trace
18. Linalool	1.2	1.5
19. Linaryl acetate	0.8	2.0
20. α–terpineol	trace	-
21. β–Caryophellene	3.2	2.1
22. 4-Terpineol	0.7	trace
23. Menthol	trace	-
24.Citronellyl acetate	1.9	3

ตารางที่ 2.2 (ต่อ)

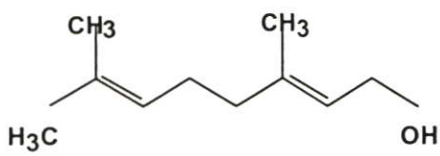
25.1-Borneol	6.6	trace
26.Geranyl formate	4.2	2.5
27.Citronellol,Geranyl acetate	8.4	15.9
28.Nerol	0.9	7.7
29.Geraniol	18.0	23.9
30.Geranyl butyrate	1.5	-
31.Nerolidol	0.3	-
32.Metyl euginol	1.7	trace
33.Elemol	1.7	6.0
34.Methyl iso – euginol ; euginol	7.2	2.3
35.Unidentified compounds	1.5	1.4
36.Farnesol	trace	0.6



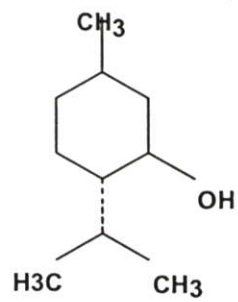
Citronellal



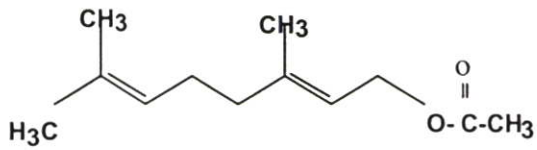
Citronellol



Geraniol



Menthol



Geraniol acetate

ภาพที่ 2.4 สูตรโครงสร้างทางเคมีบางชนิดที่สำคัญของสารที่มีในสารสกัดจากตะไคร้หอม (วินัย ปิติยนต์. 2540 : 78 - 84)

ความหลากหลายขององค์ประกอบทางเคมีของตะไคร้หอมทั้งสองพันธุ์ ทำให้เกิดความแตกต่างกันในการนำไปใช้ประโยชน์ เช่น พันธุ์ลังกานำไปทำน้ำหอม สบู่ น้ำยาดับกลิ่น น้ำยาพ่นหอมและน้ำยาทำความสะอาด สำหรับน้ำมันจากพันธุ์ชวาซึ่งมีปริมาณของ citronellal มาก จึงสกัดเอา citronellal และอนุพันธ์ของ citronellal ตัวอื่นๆ ที่มีประโยชน์ เช่น citronellol, citronellol ester, hydroxy citronellal หรือเปลี่ยนเป็น menthol โดยการสังเคราะห์ขึ้นมาจาก citronellal ก็ได้ (วินัย ปิติยนต์. 2540 : 81) ปริมาณและคุณภาพของน้ำมันหอม ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น อุณหภูมิ ปริมาณน้ำฝน การเก็บเกี่ยว ตลอดจนเทคนิคและวิธีการสกัด

2.6.3 ประสิทธิภาพของน้ำมันตะไคร้หอมต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา

ตะไคร้หอมเป็นพืชสมุนไพรที่อยู่ในกลุ่มไล่ยุง หรือไล่แมลง น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากตะไคร้หอมสามารถทาป้องกันยุง เนื่องจากในน้ำมันหอมระเหยมีองค์ประกอบของ geraniol 57.6 – 61 เปอร์เซ็นต์ citronella 7.7 – 14.2 เปอร์เซ็นต์ eugenol และอื่นๆ (สุนทรี. 2536 : 181) ซึ่งมีการทดลองพบว่าสารสกัดจากตะไคร้หอมทำให้ปริมาณไข่และหนอนเจาะสมอฝ้ายลดลง (อมรา ไตรศิริ และสำรวย ปลูกงาม. 2539 : 64) มีการนำน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้หอมมาใช้ป้องกันกำจัดแมลงในโรงเก็บเมล็ดธัญพืช เช่น ข้าว ข้าวสาลี ข้าวโพด เป็นต้น โดยนำเมล็ดธัญพืชเหล่านั้นมารมควันด้วยน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากตะไคร้หอมสามารถป้องกันมอดข้าวได้ และน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากตะไคร้หอมยังทำให้ประชากรของ *Sitopplitlus oryzae* ลดลง 35.69 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (Singh *et al.* 1989 :727 – 733) นอกจากนี้ Sweelan (1989) พบว่าสาร geraniol มีฤทธิ์ยับยั้ง *A. flavus* และ *A. fumigatus* และการงอกของสปอร์

Dikshit and Husain (1984) คัดเลือกน้ำมันจากพืช 28 ชนิด พบว่าน้ำมันจาก ผักชีลาว โกฐจุฬาลำพา ตะไคร้ ตะไคร้หอม แห้วหมู *Melissa officinalis* จันทร์หอม ผักชีล้อม และแฟกหอม มีผลยับยั้งเชื้อรา *Microsporum gypseum* , *Trichophyton equinum* และ *T. rubrum*

Kala *et al.* (1984) พบว่าน้ำมันจากขิง ตะไคร้หอม และสะระแหน่ สามารถยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินโดย *A. parasiticus* น้ำมันจากสะระแหน่ยับยั้งได้ 90 เปอร์เซ็นต์ ส่วนตะไคร้หอมยับยั้งได้ 80 เปอร์เซ็นต์ จึงเป็นไปได้ที่จะใช้น้ำมันพวกนี้ในการควบคุมเชื้อราและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินในการเก็บรักษาเมล็ดพืช

Closete *et al.* (1985) ได้ทดสอบสารประกอบที่มีประสิทธิภาพต้านเชื้อราและยีสต์ ประกอบด้วยกรดแอซีติก การบูร ตะไคร้หอม โซเดียมคลอไรด์ lauryl ether sulphate และเปรียบเทียบประสิทธิภาพของส่วนประกอบที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราต่อเชื้อ *Torulopsis glabrata* พบว่ากรดแอซีติก การบูร และน้ำมันตะไคร้หอมให้ผลดีที่สุด

Raghavaiah and Jayaramaiah (1987) ได้ทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราของน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ palmarosa grass geranium ตะไคร้หอม และยูคาลิปตัสที่ความเข้มข้น 1, 5, 10, 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ต่อ *Beauveria bassiana* พบว่าน้ำมันจาก geranium แสดงประสิทธิภาพการยับยั้งดีที่สุด โดยยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ 26.3 มิลลิเมตร และการงอกของสปอร์ 79.7 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่าประสิทธิภาพการยับยั้งของน้ำมันทุกชนิดจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น

Thakur *et al.* (1989) ทดสอบน้ำมันหอมระเหย 6 ชนิดคือ eugenol, thymol, linalool, methyl chavicol, citronellal และ geraniol สกัดจากโหระพา ตะไคร้หอม และ ตะไคร้ ต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืช พบว่าที่ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ eugenol สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Sclerotium rolfsii, Rhizoctonia* spp. และ *Alternaria alternata* thymol ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. solani* และ *Corticium rolfsii* linalool ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. solani* และน้ำมัน citronellal ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. rolfsii* ส่วนน้ำมัน geraniol สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. solani, C. rolfsii* และ *Fusarium solani* ได้ดี

Banerjee *et al.*(1989) ได้ทดสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Sclerotium rolfsii, Rhizoctonia oryzae* และ *Sclerotuum hydvophyllum* โดยนำ sclerotia มาแช่ด้วยน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากพืชความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ และนำมาเลี้ยงรวมกับข้าวสาลีที่ฆ่าเชื้อแล้วพบว่าน้ำมันจากสะเดาอินเดียและตะไคร้หอมจะยับยั้งการงอกของเชื้อรา 3 ชนิดนี้ดีที่สุด

Lemos *et al.* (1992) พบว่าเปล้าน้อยและตะไคร้หอม มีผลต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ แกรมบวก และ *Candida albicans* และน้ำมันตะไคร้หอมแสดงผลยับยั้งเชื้อราอย่างเห็นได้ชัด

Kole *et al.* (1993) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันตะไคร้หอม 4 สายพันธุ์ คือ Java-I,Java-II, Guatemala และ Burma ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria solani, Drechslera oryzae, Rhynchospurium sativum, R. oryzae* f. sp. *sativum* , *Sclerotium rolfsii* และ *Fusarium oxysporum* พบว่าน้ำมันตะไคร้หอมทั้ง 4 สายพันธุ์สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อ *F. oxysporum* ได้เหมือนกัน แต่การยับยั้งเชื้ออื่นแตกต่างกันตามสายพันธุ์ ผลที่ได้นี้แสดงให้เห็นว่าความแตกต่างทางพันธุกรรมของตะไคร้หอมมีผลต่อประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา

Chandravadana and Nidiry (1994) พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากขี้เหล็ก (*Pelargonium graveolens*) ซึ่งมีสารประกอบหลักของน้ำมัน คือ geraniol และ citronella ซึ่งที่ความเข้มข้น 250 พีพีเอ็ม สามารถยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่เป็นสาเหตุโรคแอนแทรกโนส (anthracnose) ในผลมะม่วง ส้ม และมะละกอได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมากกว่าน้ำมัน geranium ที่ยับยั้งได้เพียง 60 เปอร์เซ็นต์ ส่วน linalool ซึ่งเป็น isomer ของ geraniol มีประสิทธิภาพยับยั้งน้อยเพียง 8 เปอร์เซ็นต์

Pattnaik *et al.*(1996) ได้ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อของน้ำมันหอมระเหยจากมะตูม ageratum ตะไคร้หอม ยูคาลิปตัส geranium ตะไคร้ ส้ม palmarosa patchouli และสะระแหน่ ต่อจุลินทรีย์ 22 สายพันธุ์ ซึ่งประกอบด้วยแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ เชื้อรา 12 สายพันธุ์ คือ *Alternaria citri, Aspergillus fumigatus A. oryzae, Candida albicans, Cryptococcus neoformans, Fusarium oxysporum, F. solani, Helminthosporium compactum, Macrophomina phaseolina, Sderotium rolfsii, Sporothrix schenckii* และ *Trichophyton mentagrophytes* ทดสอบโดยวิธี disc diffussion method พบว่า น้ำมันจากตะไคร้ ยูคาลิปตัส สะระแหน่และส้ม มีผลต่อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบทั้งหมด 22 สายพันธุ์ และน้ำมัน 7 ชนิดคือมะตูม ตะไคร้หอม geranium ตะไคร้ ส้ม palmorosa , patchouli ยูคาลิปตัส และ สะระแหน่ สามารถยับยั้งเชื้อรา 11 สายพันธุ์ ageratum ยับยั้งเชื้อราเพียง 4 สายพันธุ์ ความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันยูคาลิปตัส ตะไคร้ palmarosa และสะระแหน่ที่สามารถยับยั้งแบคทีเรีย 18 สายพันธุ์ อยู่ในช่วง 0.16 ถึงมากกว่า 20 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อรา 12 สายพันธุ์ อยู่ในช่วง 0.25 – 10 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร

Pattnaik (1999) ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อราของน้ำมันหอมระเหยจากพืชสกุลตะไคร้โดยทดสอบกับยีสต์ 3 สายพันธุ์ และเชื้อรา 9 สายพันธุ์ พบว่าน้ำมันจากตะไคร้สายพันธุ์ CV.RRLB – 16, CV. CKP-25 , RRLB. 77 และ RRLB – 69E ตะไคร้หอมสายพันธุ์ RRLB – 15 และ RRLB – 18 แสดงผลยับยั้งเชื้อราแตกต่างกันตามสายพันธุ์ของตะไคร้หอม จากการวิเคราะห์ส่วนประกอบของน้ำมัน พบว่าส่วนประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันมีผลต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา

Aggarwal *et al.* (2000) ได้ศึกษาฤทธิ์ของน้ำมันตะไคร้หอมและกุหลาบต่อแบคทีเรียและเชื้อรา ซึ่งในน้ำมันจะพบปริมาณของ citronellal , geraniol และอนุพันธ์ citronellol ในปริมาณสูง ซึ่งสารประกอบเหล่านี้จะมีผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย คือ *Bacillus subtilis, Enterobacter aerogenes , Enterococcus faecalis , Klebsiella pneumoniae ,*

Pseudomonas aeruginosa , *Staphyroccus aureus* , *S. epidermidis* , *Streptococcus mutans* , *Yersinia enterocolitica* , *Salmonella typhi* , *Escherichia coli* และ *Mycobacterium smegmatis* และเชื้อรา *Microsporum gypseum* , *A. niger* , *Trichophyton rubrum* , *Sporothrix schenckii* , *Candida albicans*

Dawson – Andoh *et al.* (2000) ทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราของน้ำมันหอมระเหย ceylon , citronella จากตะไคร้หอม cedarleaf จากสนเทศ และ geranium จากขี้เหล็ก ต่อเชื้อรา 4 สายพันธุ์ คือ *Ophiostoma piceae, Aureobasidium pullulans, Alternaria alternata* และ *Gliocladium viride* รวมทั้งความสามารถในการควบคุมเชื้อรา *Gliocladium roseum* โดยชีววิธี พบว่าน้ำมัน geranium และ citronella ยับยั้งการเจริญของเชื้อราทุกสายพันธุ์ที่ความเข้มข้น 2.5 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้น *O.piceae* และ *G. viride* น้ำมัน Cedarleaf ทุกความเข้มข้นยับยั้ง *O. piceae* และยับยั้ง *A. alternata* ที่ความเข้มข้นสูงเท่านั้น

Delespaul *et al.* (2000) ทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ในอาหารแข็งและอาหารเหลว และเปรียบเทียบไอระเหยโดยใช้เทคนิค micro – atmosphere method เชื้อราที่ใช้ทดสอบจะเป็นสายพันธุ์ที่ย่อยเซลลูโลสได้ จากการทดสอบน้ำมัน 35 ชนิด พบว่าน้ำมันที่มีประสิทธิภาพคือ *Chenopodium ambrosioider* var. *anthelminticum* ตะไคร้ ตะไคร้หอม กานพลู และ *Pimenta racemosa* จากการใช้วิธี micro - atmosphere method ไอระเหยของตะไคร้หอมและตะไคร้มีผลต่อเชื้อราดีที่สุด

Chao *et al.* (2000) ได้ศึกษาผลการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหย 40 ชนิดต่อแบคทีเรียแกรมบวก 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Bacillus cereus* , *Micrococcus luteus* , *Staphylococcus aureus* และ *Enterococcus faecalis* และแบคทีเรียแกรมลบ 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Alcaligenes faecalis* , *Enterobacter cloacae* , *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* เชื้อรา 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Aspergillus niger* และ *Rhizopus oligosporus* และเชื้อยีสต์ 1 สายพันธุ์ คือ *Candida albicans* โดยวิธี disc assay method และไวรัส 2 สายพันธุ์ คือ ฝาจ T_7 และ S_A จากการทดสอบพบว่าน้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบและพบว่าไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Pseudomonas aeruginosa* มีเพียงน้ำมันอบเชย และ tea tree แสดงผลยับยั้งจุลินทรีย์และไวรัสทั้งหมดที่ทดสอบ น้ำมัน coriander มีผลยับยั้งสูงต่อแบคทีเรียแกรมบวกและเชื้อรา น้ำมันตะไคร้ และ roman chamomile แสดงผลยับยั้งสูงต่อ ไวรัสทั้ง 2 สายพันธุ์ ที่ใช้ทดสอบ น้ำมัน angelica และ pine ยับยั้งแบคทีเรีย แต่ไม่มีผลต่อเชื้อราเลย น้ำมันที่มีผลยับยั้งสูงและ

มีช่วงกว้างคือน้ำมันอบเชย ตะไคร้, savory, roman chamomile, rosewood, spearmint และ tea tree

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 เชื้อจุลินทรีย์

3.1.1 *A. flavus* IMI 242684 และ *A. parasiticus* IMI 102566 จาก International Mycological Institute ประเทศอังกฤษ

3.1.2 *A. flavus* M.113 และ *A. flavus* S.156 จากกองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร

3.1.3 *A. niger*, *Penicillium* sp. และ *Fusarium* sp. จากภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.2 น้ำมันตะไคร้หอม

บริษัทอุตสาหกรรมเครื่องหอมไทย-จีน จำกัด
510/3-4 ซ. งามวงศ์วาน 25 ถ.งามวงศ์วาน อ.เมือง นนทบุรี 11000

3.3 อุปกรณ์และสารเคมี

3.3.1 อุปกรณ์

3.3.1.1 จานเพาะเชื้อ

3.3.1.2 cork borer

3.3.1.3 ลวดเขี่ยเชื้อ

3.3.1.4 เข็มเขี่ยเชื้อ

3.3.1.5 Haemacytometer

3.3.1.6 เครื่องกลั่นระเหยระบบสุญญากาศ (rotary evaporator) (ยี่ห้อ Buchi)

3.3.1.7 ปั๊มสุญญากาศ (vaccum pump)

3.3.1.8 กรวยแยก (separatory funnel)

3.3.1.9 Lichrolut Column Chromatography

3.3.1.10 เครื่อง High Pressure Liquid Chromatography (HPLC, Shimazu) ประกอบกับ Spectophotometric detector SPD-6A

3.3.1.11 ฟลาสก์ก้นกลมขนาด 250 มิลลิลิตร

3.3.1.12 ฟลาสก์รูปชมพู่ขนาด 125 และ 250 มิลลิลิตร

3.3.1.13 เครื่องกรอง millipore

3.3.1.14 เครื่องชั่ง

3.3.2 สารเคมีที่ใช้ในการสกัด

3.3.2.1 เมทานอล (Merck)

3.3.2.2 คลอโรฟอร์ม (Merck)

3.3.2.3 แอมโมเนียมซัลเฟต (Merck)

3.3.2.4 เฮกเซน (Asia Pacific Specialty Chemicals Limited.)

3.3.2.5 เบนซิน (Merck)

3.3.2.6 กรดแอซีติก (Merck)

3.3.2.7 เอทิลอีเทอร์(Asia Pacific Specialty Chemicals Limited.)

3.3.2.8 ไดคลอโรมีเทน (Merck)

3.3.2.9 อะซีโตน (Merck)

3.4 การเตรียมเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684

ใช้ลูป (loop) เขี่ยสปอร์ของเชื้อรา *A. flavus* ใน PDA slant ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน นำไปใส่ในสารละลาย Semisolid suspension (ที่ประกอบด้วย ผงวุ้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ tween 80 0.05 เปอร์เซ็นต์ และน้ำกลั่น 99.5 เปอร์เซ็นต์ โดยนำส่วนผสมต่างๆ มาผสมกันแล้วนำมาใส่ลงในขวดเล็กจำนวน 0.2-0.4 มิลลิลิตร และนึ่งฆ่าเชื้อที่ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที) และใช้ลูปแตะวุ้นใน Semisolid suspension ถ่ายลงในอาหาร PDA ในจานเพาะเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิห้องจนเชื้อราเจริญและสร้างโคโลนีเป็นเวลา 5 วัน

3.5 การเตรียมอาหาร PDA ผสมน้ำมันตะไคร้หอม

เตรียมอาหาร PDA ขวดละ 100 มล. ทำให้ปลอดเชื้อโดยการนึ่งภายใต้ความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำมาผสมน้ำมันตะไคร้หอม ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ก่อนทำการทดลอง

3.6 การศึกษาผลของน้ำมันตะไคร้หอมต่อการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design) โดยมีความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้หอม 0.0 (กลุ่มควบคุม), 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1 เปอร์เซ็นต์ เป็น ทรีทเม็นท์ และใช้ช่วงเวลาบ่มเชื้อ ช่วงละ 7 วันเป็นบล็อก คือหลังจากเพาะเชื้อ 7, 14, 21 และ 28 วัน ตามลำดับ เริ่มทดลองโดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนี นำชิ้นวุ้นที่ได้ไปเพาะลงตรงกลางจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร PDA ที่เติมน้ำมันตะไคร้-หอมที่ความเข้มข้นต่างๆ ความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 28 วัน ตรวจผลหลังจากเพาะเชื้อ 7,14 , 21 และ 28 วัน โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อรา แล้วนำค่าที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีทเม็นท์ด้วยวิธี Duncan ' s Multiple Range Test (DMRT) (อารันต์ พัฒโนทัย. 2528 ; สุรพล อุปดิสสกุล. 2536)

3.7 การเตรียมสปอร์ของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684

เขี่ยเชื้อจาก stock culture ลงใน PDA slant ให้เชื้อมีการเจริญ 7 วัน หลังจากนั้นนำมาถ่ายเชื้อลงในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่มีอาหาร PDA 200 มิลลิลิตร ให้เชื้อมีการเจริญ 7 วันที่อุณหภูมิห้อง ทำสารละลายสปอร์โดยใช้น้ำกลั่นผสม tween 80 ที่ฆ่าเชื้อแล้วเทลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ใช้ลูปเขี่ยสปอร์ให้หลุดออกจากอาหารให้หมดแล้วกรองสารละลายที่ได้ผ่านสำลีโดยใช้ชุดกรองที่ฆ่าเชื้อแล้วสารละลายสปอร์ที่ได้จะนำมาทำการนับโดยใช้ Haemacytometer ให้มีความเข้มข้นของ สปอร์ 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

3.8 การหาความชื้นในเมล็ดข้าวโพด

นำเมล็ดข้าวโพดมาวิเคราะห์หาความชื้นโดยวิธีของ Pomeranz and Meloan (1994 : 234) มีวิธีการ ดังนี้

อบภาชนะที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมงทิ้งไว้ให้เย็นในเดซิกเคเตอร์ แล้วนำมาชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง ทำอย่างน้อย 3 ซ้ำจนกระทั่งน้ำหนักคงที่ บันทึกค่าที่ได้ทั้งหมดไว้ ใส่ข้าวโพดลงไป 5 กรัมในแต่ละภาชนะ บันทึกค่าที่ชั่งข้าวโพดพร้อมกับภาชนะแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วทิ้งให้เย็นในเดซิก-เคเตอร์ ชั่งน้ำหนักข้าวโพดและภาชนะอีกครั้ง และวิเคราะห์หาความชื้นได้จากสูตรคำนวณ ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้นที่มีอยู่ในข้าวโพด} = \frac{(\text{น้ำหนักข้าวโพดและภาชนะครั้งที่ 1}) - (\text{น้ำหนักข้าวโพดและภาชนะครั้งที่ 2}) \times 100}{\text{น้ำหนักข้าวโพดจริง}}$$

3.9 การศึกษาผลของน้ำมันตะไคร้หอมต่อการเจริญและการสร้างสารพิษของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพด

ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design) โดยมีความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้หอม 0 (กลุ่มควบคุม) , 1 , 2, 3, 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์เป็นทรีทเม็นท์ และใช้ช่วงเวลาบ่มเชื้อ คือหลังจากเพาะเชื้อ 3, 5, 7,14, 21 และ 28 วันเป็นบล็อก เริ่มทดลองโดยเตรียมข้าวโพดบรรจุถุง ๆ ละ 50 กรัม นำไปฆ่าเชื้อภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ปรับความชื้นให้เป็น 22-23 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธีของ Ramakrishna *et al.* (1996 : 53 - 63) ดังสูตร

$$V = \frac{W(Y-A)}{100-Y} - I$$

V คือ ปริมาณน้ำที่ใช้ปรับความชื้น (มิลลิลิตร)

W คือ น้ำหนักของข้าวโพด (กรัม)

Y คือ ความชื้นที่ต้องการ (23 เปอร์เซ็นต์)

A คือ ความชื้นในเมล็ดข้าวโพด (เปอร์เซ็นต์)

I คือ ปริมาณสปอร์เชื้อรา (มิลลิลิตร)

ใส่สารละลายสปอร์ของเชื้อรา *A. flavus* (ที่เตรียมจากข้อ 3.7)ลงในข้าวโพด เพื่อให้ปริมาณเชื้อเริ่มต้นเป็น 10^6 สปอร์ต่อกรัม เติมน้ำมันตะไคร้หอมตามความเข้มข้นที่ต้องการ ในแต่ละระดับความเข้มข้น ทำการทดลอง 4 ซ้ำ นำแต่ละถุงไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เก็บตัวอย่างในวันที่ 3, 5, 7, 14, 21 และ 28 เพื่อนับปริมาณสปอร์ของเชื้อราและวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซิน

3.9.1 การศึกษาผลของน้ำมันตะไคร้หอมต่อการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* IMI 24268 โดยการนับสปอร์

นำตัวอย่างข้าวโพดที่ได้ทำการถ่ายเชื้อ *A. flavus* IMI 242684 และเติมน้ำมันตะไคร้-หอมที่ความเข้มข้น 0 ถึง 5 เปอร์เซ็นต์ มาทำ spore suspension โดยใช้น้ำกลั่นและ tween 80 ที่ฆ่าเชื้อแล้ว กรองเส้นใยออกด้วยสำลีโดยใช้ชุดกรองที่ฆ่าเชื้อ และนำ spore suspension ที่ได้มานับจำนวนโดยใช้ Haemacytometer แล้วนำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีทเม็นท์ด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (อารันต์ พัฒโนทัย. 2528 ; สุรพล อุปดิสสกุล. 2536)

3.9.2 การสกัดสารพิษอะฟลาทอกซิน

การสกัดอะฟลาทอกซินโดยประยุกต์จากวิธี Sep Pak method และวิธี Rapid method (Seitz and Mohr. 1974 : 179 -183)

นำข้าวโพดที่ต้องการสกัดมา 50 กรัม ใส่ลงในเครื่องบด (blender) เติมเมทานอล 100 มล. เขย่าเป็นเวลา 1-2 นาที กรองด้วยกระดาษวัทแมนเบอร์ 1 จะได้สารละลายเมทานอลที่มีอะฟลาทอกซินละลายอยู่ นำสารละลายเมทานอลที่มีอะฟลาทอกซินละลายอยู่มา 40 มิลลิลิตร ใส่กรวยแยก เติมแอมโมเนียมซัลเฟต $(NH_4)_2SO_4$ 20 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 80 มิลลิลิตร อุ่นที่ 40 - 50 องศาเซลเซียส แล้วเติมเฮกเซน 40 มิลลิลิตร เขย่า แล้วทิ้งไว้จนแยกชั้น โดยแยกชั้น เฮกเซนออกจากสารละลายของเมทานอลและแอมโมเนียมซัลเฟต เติมคลอโรฟอร์มลง

ในสารละลายที่เหลือจำนวน 50 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วแยกชั้นคลอโรฟอร์มออกมา ทำซ้ำอีกครั้ง นำสารละลายคลอโรฟอร์มที่มีอะฟลาทอกซินละลายอยู่มาระเหยภายใต้สุญญากาศจนแห้ง เติมส่วนผสมของคลอโรฟอร์มกับเฮกเซนในอัตราส่วน 3 ต่อ 7 ลงไป 10 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้มาผ่าน Lichrolut Column Chromatography หลังจากนั้นทำการล้างคอลัมน์โดยใช้เฮกเซน 10 มิลลิลิตร แล้วใช้ส่วนผสมของเบนซินกับกรดแอซีติกในอัตราส่วน 95.5 ต่อ 4.5 จำนวน 10 มิลลิลิตร ล้างครั้งสุดท้ายด้วยส่วนผสมของเอทิลอีเทอร์กับเฮกเซนในอัตราส่วน 60 ต่อ 40 จำนวน 10 มิลลิลิตร หลังจากนั้น ชะล้างอะฟลาทอกซินออกโดยใช้สารละลายไดคลอโรมีเทนกับอะซิโตน 9 ต่อ 1 จำนวน 15 มิลลิลิตร นำสารที่ได้ไประเหยภายใต้สุญญากาศจนแห้งแล้วนำไปวิเคราะห์หาอะฟลาทอกซินต่อไป

3.9.3 การวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินโดยใช้ HPLC

นำเมทานอล 1 มิลลิลิตร ละลายอะฟลาทอกซินที่อยู่ในขวดตัวอย่างแล้วกรองแผ่น membrane filter (millipore) 0.45 ไมโครเมตร ใส่ในขวดเล็ก (vial) แล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง HPLC (Shimadzu) ใช้ UV spectrophotometric detector SPD-6A 365 นาโนเมตร Absorbance 0.02 ใช้คอลัมน์ reverse phase C_{18} ขนาด 4.9 x 25 ซม. Flow rate 1 มิลลิลิตรต่อนาที mobile phase ใช้อัตราส่วนของเมทานอล : น้ำ : กรดแอซีติก (30:63:7) บันทึกโครมาโทรแกรมของอะฟลาทอกซิน แล้วใช้ data module model G–R 64 Chromatopac เป็น integrator คำนวนค่าที่วัดได้เปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานจาก peak area และ retention time

3.10 การศึกษาผลของน้ำมันตะไคร้หอมต่อการเจริญของเชื้อราอื่นๆ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design) โดยมีความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้หอม 0.0 (กลุ่มควบคุม) , 0.2 , 0.4 , 0.6, 0.8 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์เป็นทรีทเม็นท์ และใช้ช่วงเวลาบ่มเชื้อ ช่วงละ 7 วันเป็นบล็อก คือหลังจากเพาะเชื้อ 7, 14, 21 และ 28 วันตามลำดับ เริ่มทดลองโดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 , *A. flavus* M. 113 , *A. flavus* S. 156 , *A. niger* , *Penicillium* sp. และ *Fusarium* sp. ที่มีอายุ 5 วัน

นำชิ้นวุ้นที่ได้ไปเพาะลงตรงกลางจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร PDA ที่เติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ความเข้มข้นต่างๆ ความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 28 วัน ตรวจผลหลังจากเพาะเชื้อ 7 ,14 , 21 และ 28 วัน โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อรา แล้วนำค่าที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีทเม็นท์ด้วยวิธี Duncan ' s Multiple Range Test (DMRT) (อารันต์ พัฒโนทัย. 2528 ; สุรพล อุปดิสสกุล. 2536)

บทที่ 4
ผลการทดลอง

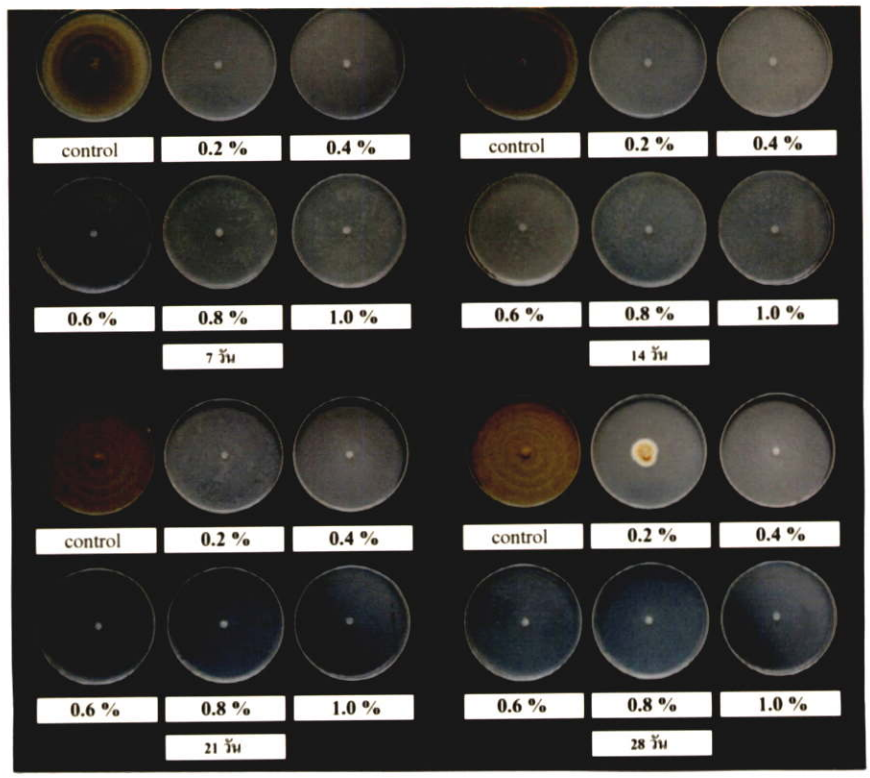
4.1 ผลของน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684

4.1.1 ผลของน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

จากการศึกษาการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ซึ่งเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ คือ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ แล้ววัด การเจริญของเชื้อราโดยวัดความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อราดังตารางที่ 4.1 พบว่าที่ความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้หอมทุกระดับความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยที่ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้จนถึงเวลา 21 วัน ส่วนที่ความเข้มข้นระดับอื่นๆ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์จนถึงเวลา 28 วัน และพบว่าระดับความเข้มข้น 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ จะยับยั้ง การเจริญของเชื้อราได้ดีกว่า 0.2 เปอร์เซ็นต์ ดังภาพที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญ (เซนติเมตร) ของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เป็นกลุ่มควบคุมเปรียบเทียบกับการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้ช่วงเวลาบ่มเชื้อต่างกัน

ช่วงเวลาบ่มเชื้อ (วัน)	ความเข้มข้นน้ำมัน (เปอร์เซ็นต์)					
	กลุ่มควบคุม	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
7	9.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
14	9.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
21	9.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
28	9.00	2.06	0.00	0.00	0.00	0.00



ภาพที่ 4.1 แสดงผลการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยบ่มเชื้อเป็นเวลา 28 วัน

4.1.2 ผลของน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพด

4.1.2.1 ผลของน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพด

จากการศึกษาผลของน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 1, 2, 3, 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ต่อการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพด พบว่าน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นสูงสามารถยับยั้งการเจริญและยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อราได้ดีกว่าความเข้มข้นต่ำ ดังตารางที่ 4.2 ตารางที่ 4.3 และ ภาพที่ 4.2 ซึ่งพบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราและยับยั้งการสร้างสปอร์ได้จนถึงเวลา 3 วัน ระดับความเข้มข้น 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราและยับยั้งการสร้างสปอร์ได้จนถึงเวลา 7 วัน ส่วนระดับความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราและยับยั้งการสร้างสปอร์ได้จนถึงเวลา 14 วัน และที่ระดับความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราและยับยั้งการสร้างสปอร์ได้อย่างสมบูรณ์จนถึงเวลา 28 วัน จากการเปรียบเทียบตารางที่ 4.2 และตารางที่ 4.3 จะพบว่าเมื่อเชื้อราเจริญมากขึ้นจำนวนสปอร์ต่อกรัมของเชื้อราก็เพิ่มขึ้นด้วย

4.1.2.2 ผลของน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพด

จากการศึกษาผลของน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ 1, 2 ,3 ,4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ต่อการยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินในเมล็ดข้าวโพด ดังตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.3 พบว่าน้ำมันตะไคร้หอมทุกระดับความเข้มข้นสามารถยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้ดีกว่ากลุ่มควบคุม ที่ระดับความเข้มข้นของน้ำมัน 1 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งการสร้างสารพิษได้จนถึงเวลา 3 วัน ที่ระดับความเข้มข้นน้ำมัน 2 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งการสร้างสารพิษได้จนถึงเวลา 5 วัน ที่ระดับความเข้มข้นของน้ำมัน 3 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการสร้างสารพิษได้จนถึงเวลา 7 วัน ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการสร้างสารพิษได้จนถึงเวลา 21 วัน และที่ระดับความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งการสร้าง

สารพิษได้อย่างสมบูรณ์จนถึงเวลา 28 วัน ซึ่งพบว่าน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นสูงมีผลยับยั้งการสร้างสารพิษได้ดีกว่าระดับความเข้มข้นต่ำ

ตารางที่ 4.2 การเจริญของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพดที่เป็นกลุ่มควบคุมเปรียบเทียบกับการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้ช่วงเวลาบ่มเชื้อต่างกัน

ช่วงเวลาบ่มเชื้อ(วัน)	ความเข้มข้นน้ำมัน (เปอร์เซ็นต์)					
	กลุ่มควบคุม	1	2	3	4	5
3	3	0	0	0	0	0
5	4	1	0	0	0	0
7	5	1	0	0	0	0
14	5	3	1	1	0	0
21	5	5	4	2	1	0
28	5	5	5	3	2	0

หมายเหตุ 0 หมายถึง ไม่มีการเจริญของเส้นใย

1 หมายถึง มีการเจริญของเส้นใยน้อยมาก

2 หมายถึง 1/4 ของเมล็ดข้าวโพดถูกปกคลุมด้วยเส้นใยและสปอร์ของเชื้อรา

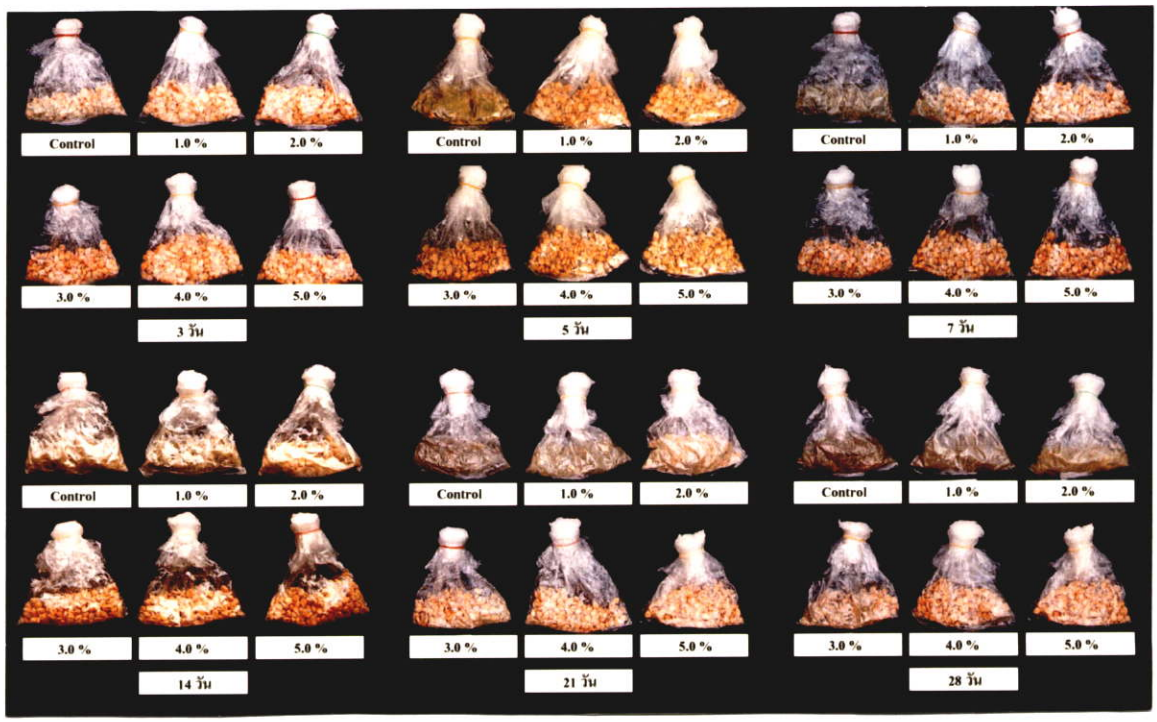
3 หมายถึง 1/2 ของเมล็ดข้าวโพดถูกปกคลุมด้วยเส้นใยและสปอร์ของเชื้อรา

4 หมายถึง 3/4 ของเมล็ดข้าวโพดถูกปกคลุมด้วยเส้นใยและสปอร์ของเชื้อรา

5 หมายถึง เมล็ดข้าวโพดทั้งหมดถูกปกคลุมด้วยเส้นใยและสปอร์ของเชื้อรา

ตารางที่ 4.3 จำนวนสปอร์ต่อกรัมของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพดที่เป็นกลุ่มควบคุม เปรียบเทียบกับการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ โดยใช้ช่วงเวลาบ่มเชื้อต่างกัน

ช่วงเวลาบ่มเชื้อ(วัน)	ความเข้มข้นน้ำมัน (เปอร์เซ็นต์)					
	กลุ่มควบคุม	1	2	3	4	5
3	6.50×10^{8}	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5	8.60×10^{8}	6.00×10^{7}	0.00	0.00	0.00	0.00
7	1.40×10^{9}	1.70×10^{8}	0.00	0.00	0.00	0.00
14	2.40×10^{9}	7.60×10^{8}	1.42×10^{8}	2.60×10^{7}	0.00	0.00
21	3.02×10^{9}	1.48×10^{9}	2.32×10^{8}	2.12×10^{8}	2.60×10^{7}	0.00
28	5.98×10^{9}	2.86×10^{9}	1.95×10^{9}	3.84×10^{8}	1.64×10^{8}	0.00



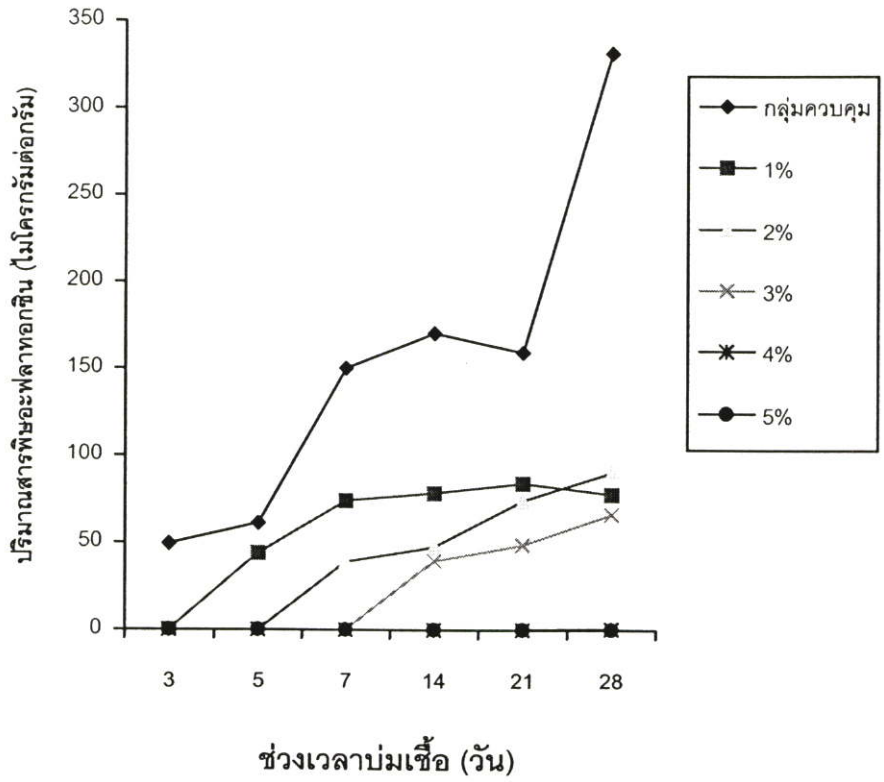
ภาพที่ 4.2 แสดงผลการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพดที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ โดยบ่มเชื้อเป็นเวลา 28 วัน

ตารางที่ 4.4 ปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน (ไมโครกรัมต่อกรัม) ของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพดที่เป็นกลุ่มควบคุมเปรียบเทียบกับการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้ช่วงเวลาบ่มเชื้อต่างกัน

ช่วงเวลาบ่มเชื้อ(วัน)	ความเข้มข้นน้ำมัน (เปอร์เซ็นต์)																	
	กลุ่มควบคุม			1			2			3			4			5		
	B_1	B_2	รวม	B_1	B_2	รวม	B_1	B_2	รวม	B_1	B_2	รวม	B_1	B_2	รวม	B_1	B_2	รวม
3	0.42	48.42	49.24	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5	16.25	44.98	61.24	9.07	34.60	43.67	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7	93.09	56.98	150.08	29.73	44.57	74.30	3.55	35.31	38.85	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
14	40.51	129.93	170.44	21.21	57.37	78.58	10.02	37.65	47.68	0.24	39.17	39.41	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
21	55.38	104.11	159.48	23.59	60.14	83.73	26.66	47.16	73.82	4.77	43.71	48.47	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
28	165.51	166.76	332.27	32.97	44.91	77.88	32.78	57.59	90.37	14.02	52.09	66.11	0.67	0.00	0.67	0.00	0.00	0.00

หมายเหตุ B_1 คือ อะฟลาทอกซินชนิด B_1

B_2 คือ อะฟลาทอกซินชนิด B_2



ภาพที่ 4.3 ปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน (ไมโครกรัมต่อกรัม) ของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพดที่เป็นกลุ่มควบคุมเปรียบเทียบกับการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ โดยใช้ช่วงเวลาบ่มเชื้อต่างๆกัน

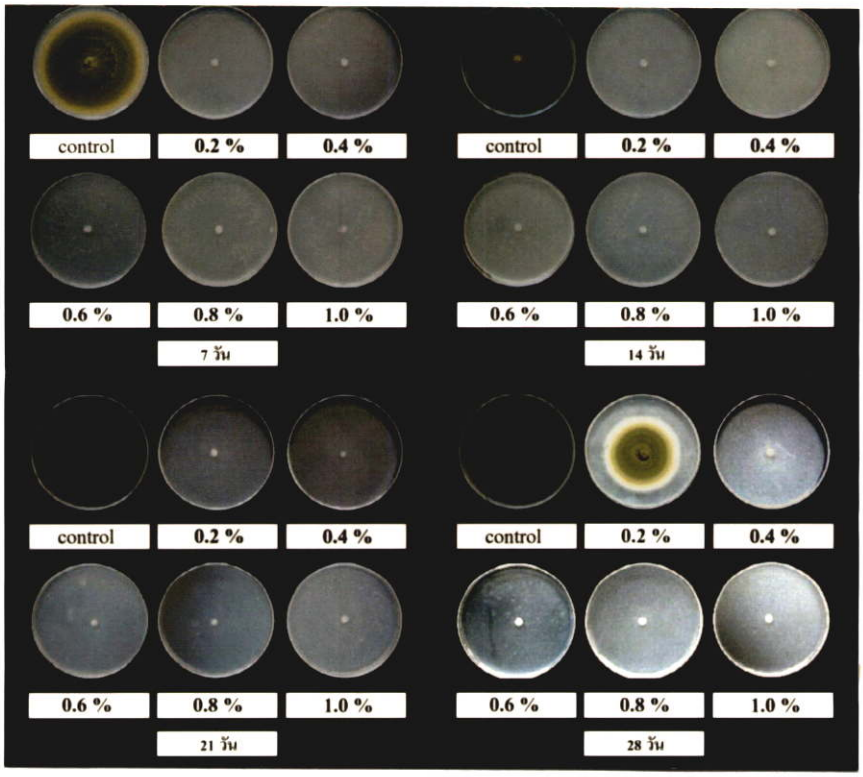
4.2 ผลของน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญของเชื้อราอื่นๆ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

4.2.1 ผลของน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

จากการศึกษาการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ซึ่งเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ คือ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ แล้ววัดการเจริญของเชื้อราโดยวัดความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อราดังตารางที่ 4.5 พบว่าที่ความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้หอมทุกระดับความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่าที่ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้จนถึงเวลา 21 วัน ส่วนที่ความเข้มข้นอื่นๆ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์จนถึง 28 วัน และพบว่าระดับความเข้มข้น 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ จะยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีกว่า 0.2 เปอร์เซ็นต์ ดังภาพที่ 4.4

ตารางที่ 4.5 ความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญ (เซนติเมตร) ของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เป็นกลุ่มควบคุมเปรียบเทียบกับการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้ช่วงเวลาบ่มเชื้อต่างกัน

ช่วงเวลาบ่มเชื้อ (วัน)	ความเข้มข้นน้ำมัน (เปอร์เซ็นต์)					
	กลุ่มควบคุม	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
7	9.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
14	9.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
21	9.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
28	9.00	6.18	0.00	0.00	0.00	0.00



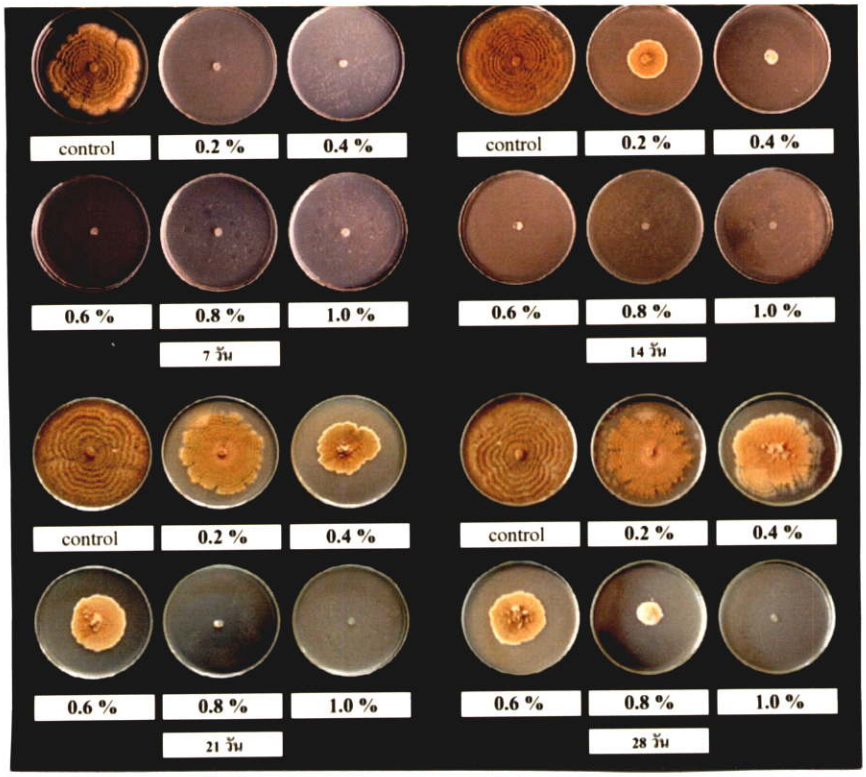
ภาพที่ 4.4 แสดงผลการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยบ่มเชื้อเป็นเวลา 28 วัน

4.2.2 ผลของน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* M.113 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

จากการศึกษาการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* M.113 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ซึ่งเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ คือ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ แล้ววัดการเจริญของเชื้อราโดยวัดความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อราดังตารางที่ 4.6 พบว่าที่ความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้หอม 0.2 , 0.4 และ 0.6 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้จนถึงเวลา 7 วัน และที่ระดับความเข้มข้น 0.8 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ จนถึงเวลา 14 วัน และ 1.0 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์จนถึงเวลา 28 วัน ดังภาพ 4.5 จะเห็นว่าระดับความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้หอมที่สูงจะมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีกว่าระดับความเข้มข้นต่ำ

ตารางที่ 4.6 ความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญ (เซนติเมตร) ของเชื้อรา *A. flavus* M.113 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เป็นกลุ่มควบคุมเปรียบเทียบกับการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้ช่วงเวลาบ่มเชื้อต่างกัน

ช่วงเวลาบ่มเชื้อ (วัน)	ความเข้มข้นน้ำมัน (เปอร์เซ็นต์)					
	กลุ่มควบคุม	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
7	6.39	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
14	8.97	1.87	0.62	0.57	0.00	0.00
21	9.00	5.05	2.64	2.57	0.13	0.00
28	9.00	7.22	4.81	4.23	0.58	0.00



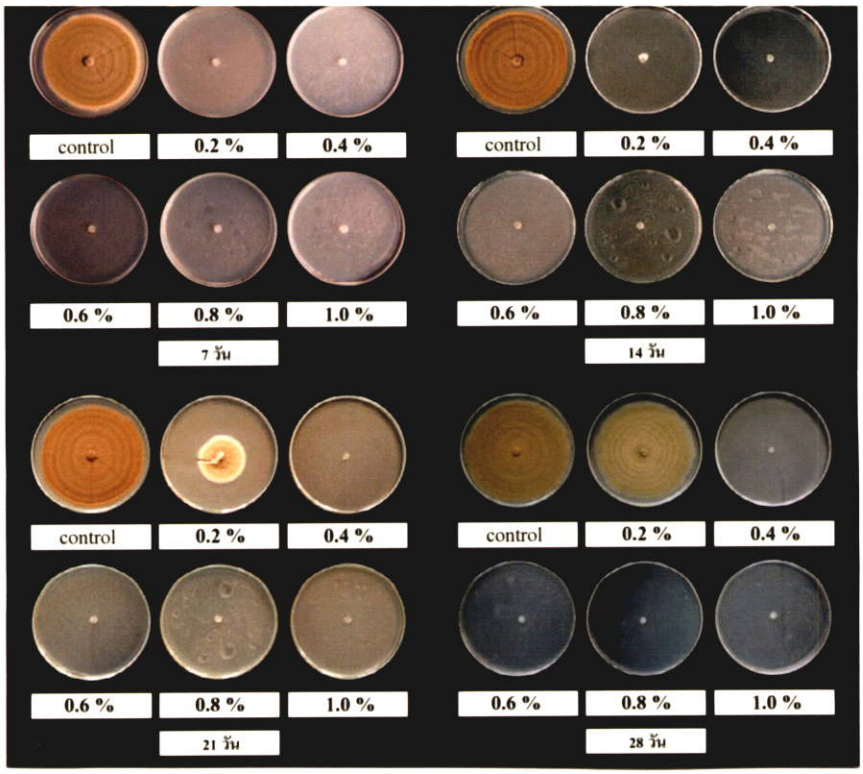
ภาพที่ 4.5 แสดงผลการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. flavus* M.113 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยบ่มเชื้อเป็นเวลา 28 วัน

4.2.3 ผลของน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* S.156 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

จากการศึกษาการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* S.156 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ซึ่งเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ คือ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ แล้ววัดการเจริญของเชื้อราโดยวัดความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อราดังตารางที่ 4.7 พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้หอม 0.2 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้จนถึงเวลา 7 วัน และที่ระดับความเข้มข้นอื่นๆ มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์จนถึงเวลา 28 วัน และพบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.4 ,0.6 , 0.8 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ จะยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีกว่า 0.2 เปอร์เซ็นต์ ดังภาพที่ 4.6

ตารางที่ 4.7 ความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญ (เซนติเมตร) ของเชื้อรา *A. flavus* S.156 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เป็นกลุ่มควบคุมเปรียบเทียบกับการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้ช่วงเวลาบ่มเชื้อต่างกัน

ช่วงเวลาบ่มเชื้อ (วัน)	ความเข้มข้นน้ำมัน (เปอร์เซ็นต์)					
	กลุ่มควบคุม	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
7	8.37	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
14	8.89	0.28	0.00	0.00	0.00	0.00
21	9.00	1.78	0.00	0.00	0.00	0.00
28	9.00	2.91	0.00	0.00	0.00	0.00



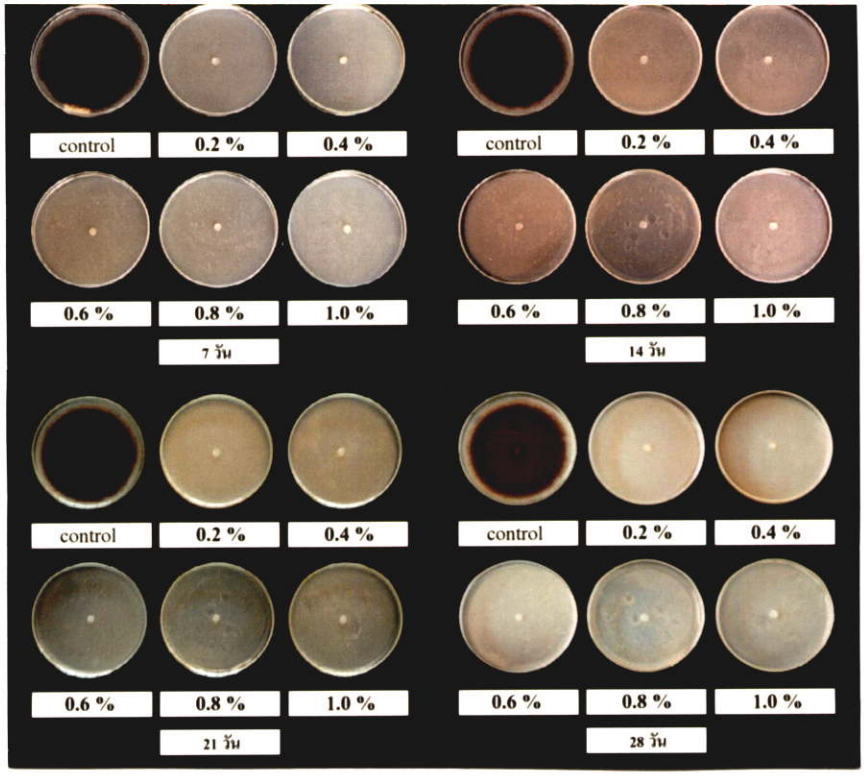
ภาพที่ 4.6 แสดงผลการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. flavus* S.156 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยบ่มเชื้อเป็นเวลา 28 วัน

4.2.4 ผลของน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญของเชื้อรา *A. niger* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

จากการศึกษาการเจริญของเชื้อรา *A. niger* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ซึ่งเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ คือ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ แล้ววัดการเจริญของเชื้อราโดยวัดความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อราดังตารางที่ 4.8 พบว่าที่ความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้หอมทุกระดับความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์จนถึงเวลา 28 วันเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ดังภาพที่ 4.7

ตารางที่ 4.8 ความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญ (เซนติเมตร) ของเชื้อรา *A. niger* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เป็นกลุ่มควบคุมเปรียบเทียบกับการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้ช่วงเวลาบ่มเชื้อต่างกัน

ช่วงเวลาบ่มเชื้อ (วัน)	ความเข้มข้นน้ำมัน (เปอร์เซ็นต์)					
	กลุ่มควบคุม	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
7	7.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
14	8.77	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
21	9.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
28	9.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00



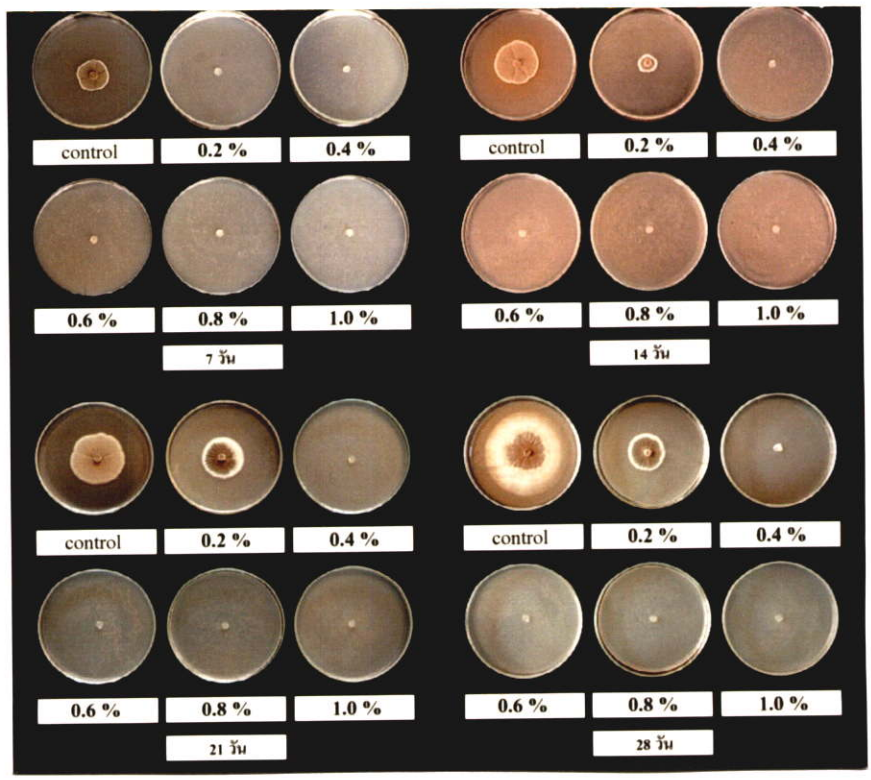
ภาพที่ 4.7 แสดงผลการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. niger* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยบ่มเชื้อเป็นเวลา 28 วัน

4.2.5 ผลของน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญของเชื้อรา *Penicilium* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

จากการศึกษาการเจริญของเชื้อรา *Penicilium* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ซึ่งเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ คือ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ แล้ววัดการเจริญของเชื้อราโดยวัดความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อราดังตารางที่ 4.9 พบว่าที่ความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้หอม 0.2 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้จนถึงเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้จนถึงเวลา 21 วัน และที่ระดับความเข้มข้นอื่นๆ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์จนถึงเวลา 28 วัน และพบว่าระดับความเข้มข้น 0.4, 0.6 , 0.8 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ จะยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีกว่า 0.2 เปอร์เซ็นต์ ดังภาพที่ 4.8

ตารางที่ 4.9 ความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญ (เซนติเมตร) ของเชื้อรา *Penicilium* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เป็นกลุ่มควบคุมเปรียบเทียบกับการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้ช่วงเวลาบ่มเชื้อต่างกัน

ช่วงเวลาบ่มเชื้อ (วัน)	ความเข้มข้นน้ำมัน (เปอร์เซ็นต์)					
	กลุ่มควบคุม	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
7	2.38	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
14	3.57	0.69	0.00	0.00	0.00	0.00
21	4.98	1.68	0.00	0.00	0.00	0.00
28	6.00	3.42	0.27	0.00	0.00	0.00



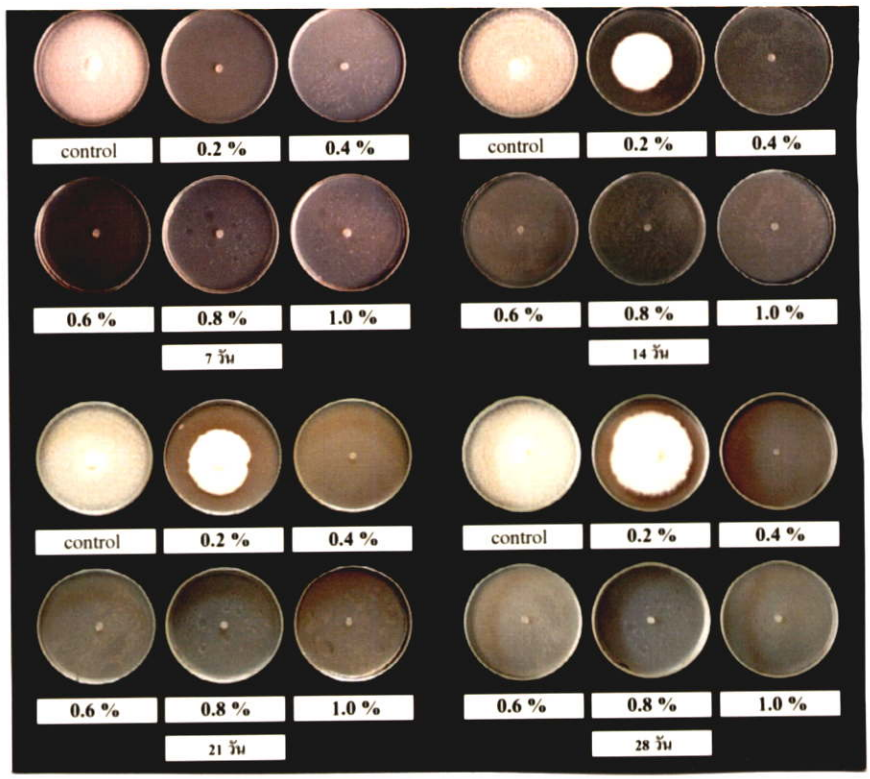
ภาพที่ 4.8 แสดงผลการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Penicillium* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยบ่มเชื้อเป็นเวลา 28 วัน

4.2.6 ผลของน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* sp.ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

จากการศึกษาการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ซึ่งเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ คือ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ แล้ววัดการเจริญของเชื้อราโดยวัดความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อราดังตารางที่ 4.10 พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของน้ำมัน 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์จนถึงเวลา 28 วัน และพบว่าระดับความเข้มข้น 0.4 , 0.6 , 0.8 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ จะยับยั้งการเจริญได้ดีกว่า 0.2 เปอร์เซ็นต์ ดังภาพที่ 4.9

ตารางที่ 4.10 ความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญ (เซนติเมตร) ของเชื้อรา *Fusarium* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เป็นกลุ่มควบคุมเปรียบเทียบกับการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความ เข้มข้นต่างๆ โดยใช้ช่วงเวลาบ่มเชื้อต่างกัน

ช่วงเวลาบ่มเชื้อ (วัน)	ความเข้มข้นน้ำมัน (เปอร์เซ็นต์)					
	กลุ่มควบคุม	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
7	8.68	0.38	0.00	0.00	0.00	0.00
14	8.82	1.76	0.00	0.00	0.00	0.00
21	8.89	4.89	0.00	0.00	0.00	0.00
28	8.94	7.97	0.00	0.00	0.00	0.00



ภาพที่ 4.9 แสดงผลการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Fusarium* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยบ่มเชื้อเป็นเวลา 28 วัน

4.3 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของน้ำมันตะไคร้หอมต่อการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684

นำผลการทดลองมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละทรีทเม็นท์โดยใช้ Duncan's Multiple Range test (DMRT) ณ ระดับนัยสำคัญ 5 เปอร์เซ็นต์ (อารันต์ พัฒโนทัย. 2528 ; สุรพล อุปดิสสกุล. 2536)

4.3.1 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของน้ำมันตะไคร้หอมต่อการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

เมื่อนำผลการทดลองในตารางที่ 4.1 มาวิเคราะห์ความแปรปรวนดังตารางที่ 4.11 สรุปได้ว่าความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับต่างๆ มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อร *A. flavus* IMI 242684 ในอาหาร PDA แตกต่างกันอย่างน้อย 2 ระดับอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง จากนั้นมาวิเคราะห์หาความแตกต่างของระดับความเข้มข้นน้ำมันโดยใช้วิธี DMRT ดังตารางที่ 4.12 และภาพที่ 4.10 พบว่าน้ำมันตะไคร้หอมทุกระดับความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในอาหาร PDA ได้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญและดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา คือ ระดับความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์

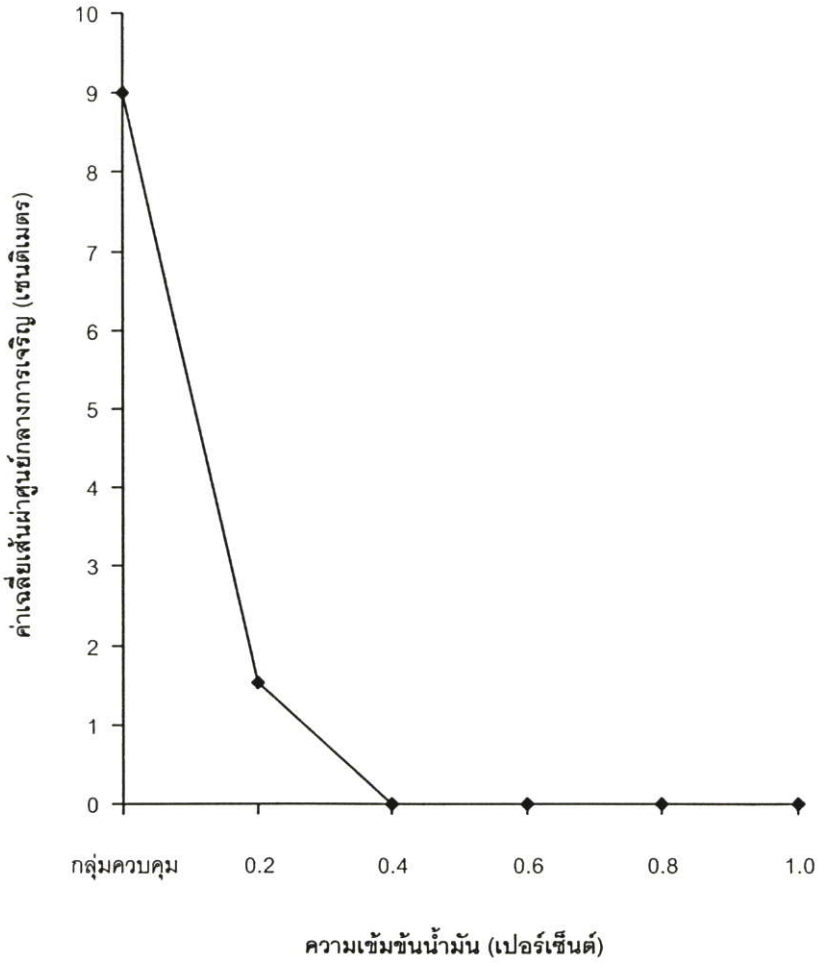
ตารางที่ 4.11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เป็นกลุ่มควบคุมเปรียบเทียบกับการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

แหล่งความแปรปรวน	*df*	*SS*	*MS*	*F*
ช่วงเวลาบ่มเชื้อ	3	0.5304	0.1768	
ความเข้มข้นน้ำมันตะไคร้หอม	5	264.7041	52.9408	299.4108 **
ความคลาดเคลื่อน	15	2.6522	0.1768	
ผลรวม	23	267.8868		

ตารางที่ 4.12 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอม ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นน้ำมัน (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญ (เซนติเมตร)
กลุ่มควบคุม	9.00 [a]
0.2	0.52 [b]
0.4	0.00 [b]
0.6	0.00 [b]
0.8	0.00 [b]
1.0	0.00 [b]

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเดียวกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อใช้ DMRT ณ ระดับนัยสำคัญ 5 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 4.10 แสดงค่าเฉลี่ยความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญ (เซนติเมตร) ของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

4.3.2 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของน้ำมันตะไคร้หอมที่มีต่อจำนวนสปอร์ต่อกรัมของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพด

เมื่อนำผลการทดลองในตารางที่ 4.3 มาวิเคราะห์ความแปรปรวนดังตารางที่ 4.13 สรุปได้ว่าระดับความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับต่างๆ มีผลยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพด แตกต่างกันอย่างน้อย 2 ระดับอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง จากนั้นมาวิเคราะห์หาความแตกต่างของระดับความเข้มข้นน้ำมันโดยใช้วิธี DMRT ดังตารางที่ 4.14 และภาพที่ 4.11 พบว่าน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้น 2 , 3 , 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพดได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญและดีกว่าระดับความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์และกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญและระดับความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ให้ผลในการยับยั้งการสร้างสปอร์ดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นระดับความเข้มข้นของน้ำมันต่ำสุดที่เหมาะสมในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อราคือ 2 เปอร์เซ็นต์

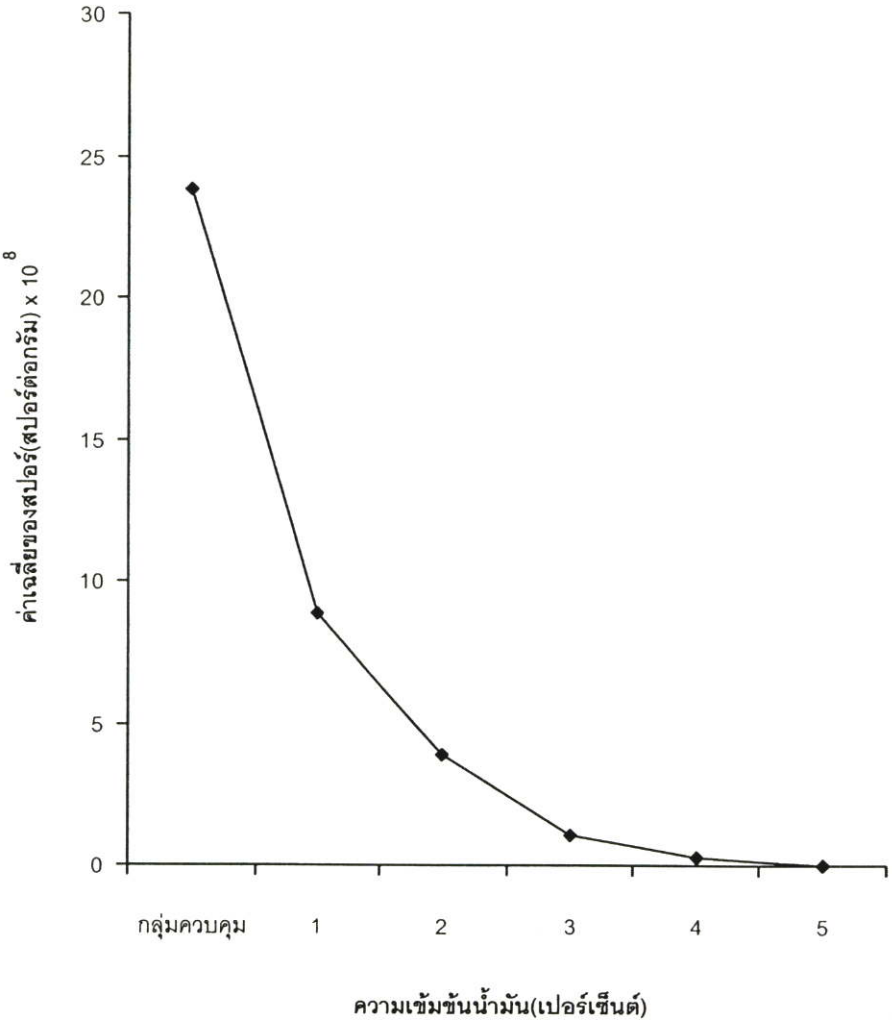
ตารางที่ 4.13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนสปอร์ของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพดที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

แหล่งความแปรปรวน	*df*	*SS*	*MS*	*F*
ช่วงเวลาบ่มเชื้อ	5	0.5420×10^{20}	0.1082×10^{20}	
ความเข้มข้นน้ำมันตะไคร้หอม	5	1.0127×10^{20}	0.2025×10^{20}	8.2932**
ความคลาดเคลื่อน	25	0.6106×10^{20}	0.0244×10^{20}	
ผลรวม	35	2.1644×10^{20}		

ตารางที่ 4.14 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนสปอร์ต่อกรัมของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพดที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

ความเข้มข้นน้ำมัน (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ยของสปอร์(สปอร์ต่อกรัม)
กลุ่มควบคุม	2.3850×10^{9} [a]
1	8.8833×10^{8} [b]
2	3.8775×10^{8} [c]
3	1.0367×10^{8} [c]
4	0.3167×10^{8} [c]
5	0.0000 [c]

หมายเหตุ ในแต่ละ column ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อใช้ DMRT ณ ระดับนัยสำคัญ 5 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 4.11 แสดงค่าเฉลี่ยจำนวนสปอร์ต่อกรัมของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพดที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

4.3.3 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของน้ำมันตะไคร้หอมที่มีต่อการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพด

เมื่อนำผลการทดลองดังตารางที่ 4.4 มาวิเคราะห์ความแปรปรวนดังตารางที่ 4.15 พบว่าความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้หอมมีผลต่อการยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพดแตกต่างกันอย่างน้อย 2 ระดับอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง จากนั้นมาวิเคราะห์หาความแตกต่างของระดับความเข้มข้นน้ำมันโดยใช้วิธี DMRT ดังตารางที่ 4.16 และภาพที่ 4.12 พบว่าน้ำมันตะไคร้หอมทุกระดับความเข้มข้นสามารถยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญและดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่เหมาะสมในการยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อราคือระดับความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์

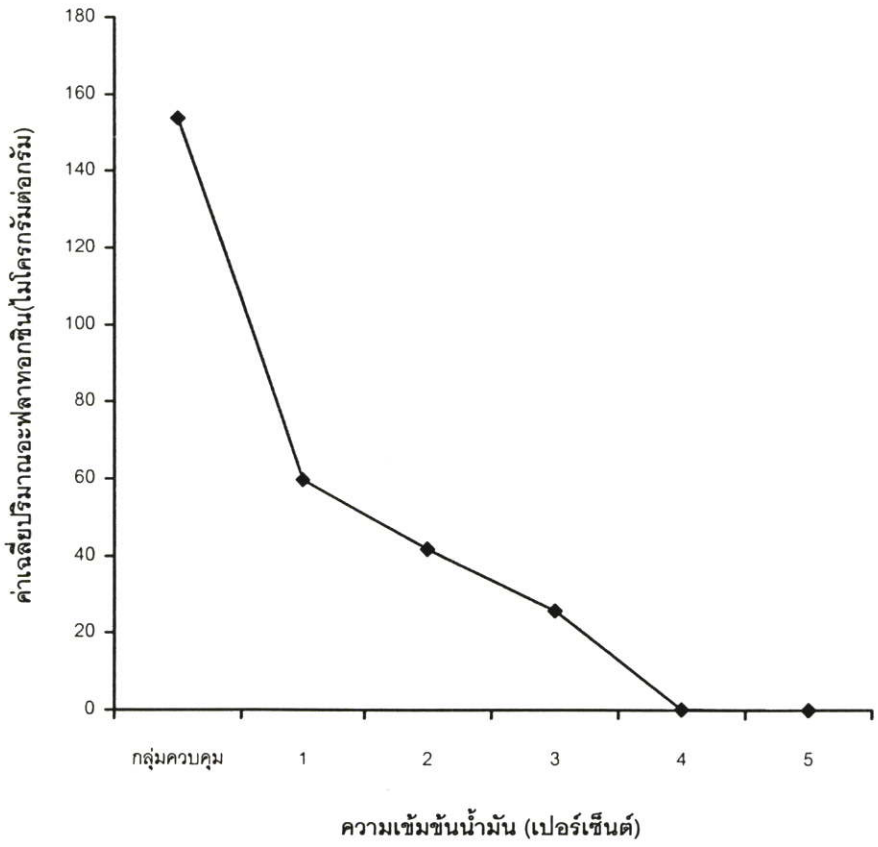
ตารางที่ 4.15 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินที่สร้างจากเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพด ที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

แหล่งความแปรปรวน	*df*	*SS*	*MS*	*F*
ช่วงเวลาบ่มเชื้อ	5	29530.4791	5906.0958	
ความเข้มข้นน้ำมันตะไคร้หอม	5	98731.7139	19746.3428	12.7598 **
ความคลาดเคลื่อน	25	38688.4393	1547.5376	
ผลรวม	35	166950.6324		

ตารางที่ 4.16 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน (ไมโครกรัมต่อกรัม) ของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพดที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

ความเข้มข้นน้ำมัน(เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ยปริมาณอะฟลาทอกซิน(ไมโครกรัมต่อกรัม)
กลุ่มควบคุม	153.79 [a]
1	59.69 [b]
2	41.79 [b]
3	25.67 [b]
4	0.11 [b]
5	0.00 [b]

หมายเหตุ ในแต่ละ column ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อใช้ DMRT ณ ระดับนัยสำคัญ 5 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 4.12 ค่าเฉลี่ยการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน (ไมโครกรัมต่อกรัม) ของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพดที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

4.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของน้ำมันตะไคร้หอมต่อการเจริญของเชื้อราอื่นๆ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

4.4.1 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของน้ำมันตะไคร้หอมต่อการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

เมื่อนำผลการทดลองในตารางที่ 4.5 มาวิเคราะห์ความแปรปรวนดังตารางที่ 4.17 พบว่าความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับต่างๆ มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA แตกต่างกันอย่างน้อย 2 ระดับอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง จากนั้นมาวิเคราะห์หาความแตกต่างของระดับความเข้มข้นน้ำมันโดยใช้วิธี DMRT ดังตารางที่ 4.18 และภาพที่ 4.13 พบว่าน้ำมันตะไคร้หอมทุกระดับความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญและดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นระดับความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้หอมต่ำสุดที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราคือ 0.2 เปอร์เซ็นต์

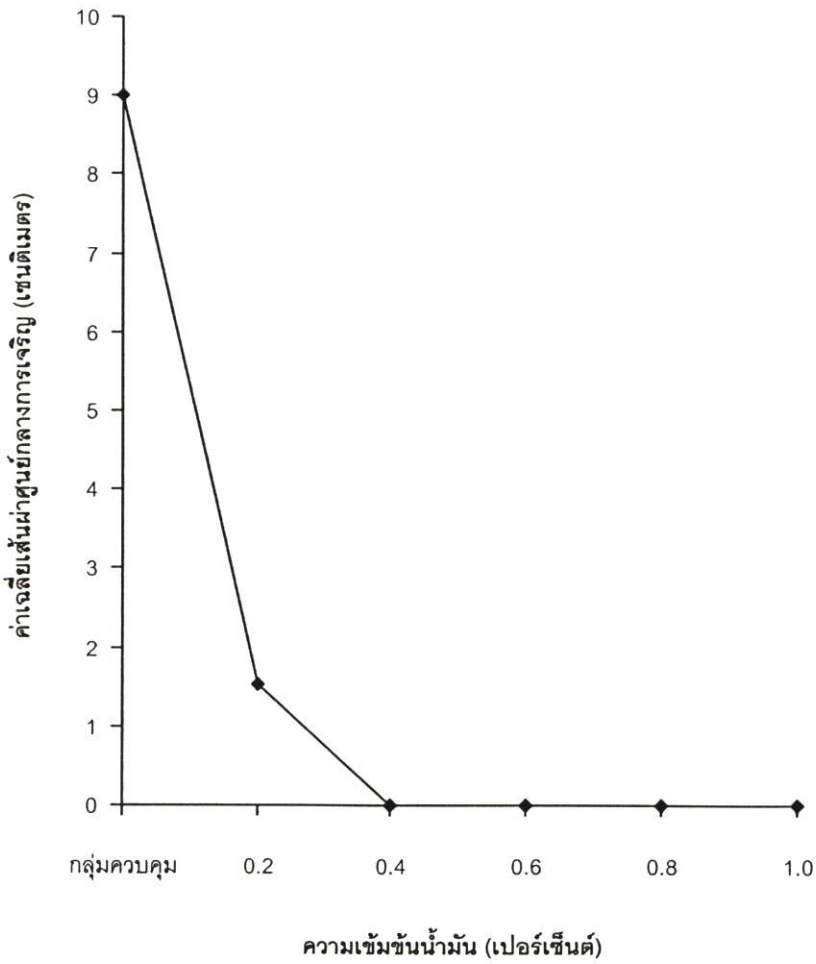
ตารางที่ 4.17 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

แหล่งความแปรปรวน	*df*	*SS*	*MS*	*F*
ช่วงเวลาบ่มเชื้อ	3	4.7740	1.5913	
ความเข้มข้นน้ำมันตะไคร้หอม	5	259.4168	51.8833	32.6033**
ความคลาดเคลื่อน	15	23.8702	1.5913	
ผลรวม	23	288.0611		

ตารางที่ 4.18 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นน้ำมัน(เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญ (เซนติเมตร)
กลุ่มควบคุม	9.00 [a]
0.2	1.55 [b]
0.4	0.00 [b]
0.6	0.00 [b]
0.8	0.00 [b]
1.0	0.00 [b]

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเดียวกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อใช้ DMRT ณ ระดับนัยสำคัญ 5 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 4.13 แสดงค่าเฉลี่ยความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญ (เซนติเมตร) ของเชื้อรา *A. parasiticus* IMI 102566 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

4.4.2 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของน้ำมันตะไคร้หอมต่อการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* M.113 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

เมื่อนำผลการทดลองในตารางที่ 4.6 มาวิเคราะห์ความแปรปรวนดังตารางที่ 4.19 พบว่าความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับต่างๆ มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* M.113 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA แตกต่างกันอย่างน้อย 2 ระดับอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง จากนั้นมาวิเคราะห์หาความแตกต่างของระดับความเข้มข้นน้ำมันโดยใช้วิธี DMRT ดังตารางที่ 4.20 และภาพที่ 4.14 พบว่าน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้น 0.4 , 0.6 , 0.8 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* M.113 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และระดับความเข้มข้น 0.2 และ 0.4 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งระดับความเข้มข้นของน้ำมันในกลุ่ม 0.4 , 0.6 , 0.8 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญดีกว่าระดับความเข้มข้น 0.2 และ 0.4 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ และระดับความแข้มข้น 0.2 และ 0.4 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นระดับความเข้มข้นของน้ำมันต่ำสุดที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา คือระดับความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์

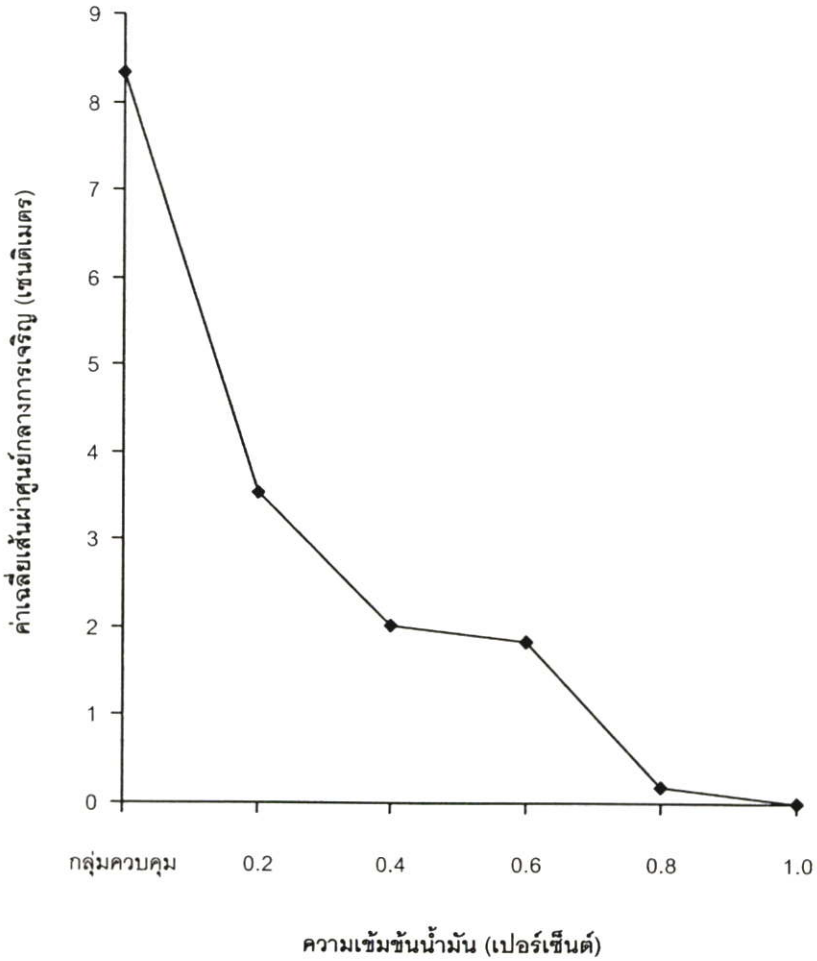
ตารางที่ 4.19 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* M.113 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

แหล่งความแปรปรวน	*df*	*SS*	*MS*	*F*
ช่วงเวลาบ่มเชื้อ	3	35.9767	11.9922	
ความเข้มข้นน้ำมันตะไคร้หอม	5	189.4816	37.8963	22.0314**
ความคลาดเคลื่อน	15	25.8015	1.7201	
ผลรวม	23	251.2598		

ตารางที่ 4.20 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* M.113 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอม ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นน้ำมัน(เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญ (เซนติเมตร)
กลุ่มควบคุม	8.34 [a]
0.2	3.53 [b]
0.4	2.02 [bc]
0.6	1.84 [c]
0.8	0.18 [c]
1.0	0.00 [c]

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเดียวกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อใช้ DMRT ณ ระดับนัยสำคัญ 5 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 4.14 แสดงค่าเฉลี่ยความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญ (เซนติเมตร) ของเชื้อรา *A. flavus* M.113 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

4.4.3 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของน้ำมันตะไคร้หอมต่อการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* S.156 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

เมื่อนำผลการทดลองในตารางที่ 4.7 มาวิเคราะห์ความแปรปรวนดังตารางที่ 4.21 คือ ความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับต่างๆ มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* S.156 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA แตกต่างกันอย่างน้อย 2 ระดับอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง จากนั้นมาวิเคราะห์หาความแตกต่างของระดับความเข้มข้นน้ำมันโดยใช้วิธี DMRT ดังตารางที่ 4.22 และภาพที่ 4.15 พบว่าน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้น 0.4 , 0.6 , 0.8 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* S.156 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญและดีกว่าระดับความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์และกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ และระดับความเข้มข้น 0.2 เปอรเซ็นต์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นระดับความเข้มข้นของน้ำมันต่ำสุดที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราคือ 0.4 เปอร์เซ็นต์

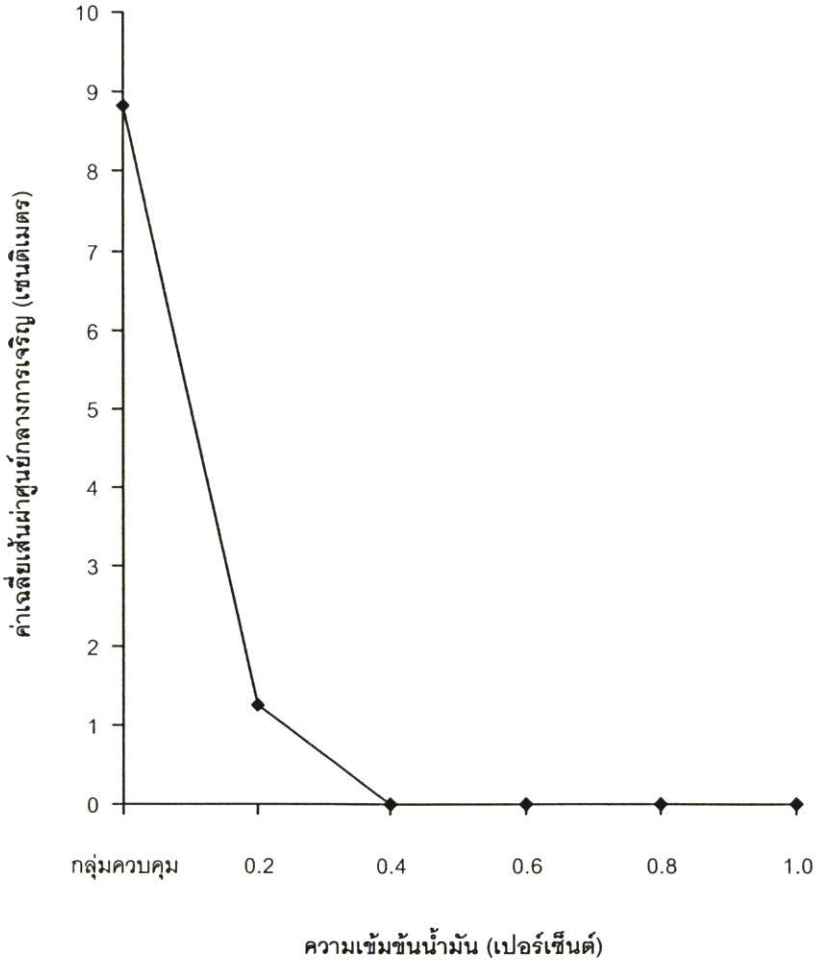
ตารางที่ 4.21 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* S.156 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

แหล่งความแปรปรวน	*df*	*SS*	*MS*	*F*
ช่วงเวลาบ่มเชื้อ	3	1.2691	0.4230	
ความเข้มข้นน้ำมันตะไคร้หอม	5	249.5479	49.9095	164.0069**
ความคลาดเคลื่อน	15	4.5647	0.3043	
ผลรวม	23	255.3818		

ตารางที่ 4.22 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* S.156 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นน้ำมัน(เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญ (เซนติเมตร)
กลุ่มควบคุม	8.82 [a]
0.2	1.25 [b]
0.4	0.00 [c]
0.6	0.00 [c]
0.8	0.00 [c]
1.0	0.00 [c]

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเดียวกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อใช้ DMRT ณ ระดับนัยสำคัญ 5 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 4.15 แสดงค่าเฉลี่ยความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญ (เซนติเมตร) ของเชื้อรา *A. flavus* S.156 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

4.4.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของน้ำมันตะไคร้หอมต่อการเจริญของเชื้อรา *A. niger* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

เมื่อนำผลการทดลองในตารางที่ 4.8 มาวิเคราะห์ความแปรปรวนดังตารางที่ 4.23 พบว่าความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับต่างๆ มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. niger* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA แตกต่างกันอย่างน้อย 2 ระดับอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง จากนั้นมาวิเคราะห์หาความแตกต่างของระดับความเข้มข้นน้ำมันโดยใช้วิธี DMRT ดังตารางที่ 4.24 และภาพที่ 4.16 พบว่าน้ำมันตะไคร้หอมทุกระดับความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. niger* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญและดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา คือ 0.2 เปอร์เซ็นต์

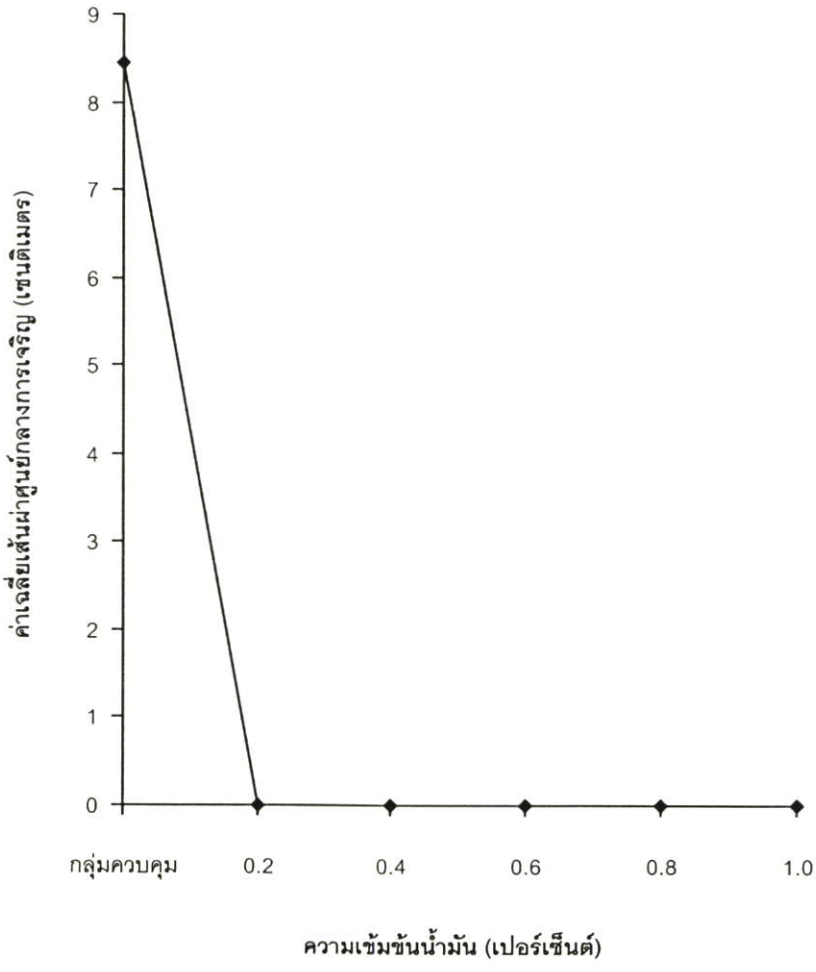
ตารางที่ 4.23 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อรา *A. niger* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

แหล่งความแปรปรวน	*df*	*SS*	*MS*	*F*
ช่วงเวลาบ่มเชื้อ	3	0.4422	0.1474	
ความเข้มข้นน้ำมันตะไคร้หอม	5	238.3605	47.6721	323.4116**
ความคลาดเคลื่อน	15	2.2110	0.1474	
ผลรวม	23	241.0138		

ตารางที่ 4.24 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อรา *A. niger* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นน้ำมันตะไคร้หอม(เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญ (เซนติเมตร)
กลุ่มควบคุม	8.46 [a]
0.2	0.00 [b]
0.4	0.00 [b]
0.6	0.00 [b]
0.8	0.00 [b]
1.0	0.00 [b]

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเดียวกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อใช้ DMRT ณ ระดับนัยสำคัญ 5 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 4.16 แสดงค่าเฉลี่ยความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญ (เซนติเมตร) ของเชื้อรา *A. niger* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

4.4.5 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของน้ำมันตะไคร้หอมต่อการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

เมื่อนำผลการทดลองในตารางที่ 4.9 มาวิเคราะห์ความแปรปรวนดังตารางที่ 4.25 พบว่า ความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับต่างๆ มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA แตกต่างกันอย่างน้อย 2 ระดับอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง จากนั้นมาทำการวิเคราะห์หาความแตกต่างของระดับความเข้มข้นน้ำมันโดยใช้วิธี DMRT ดังตารางที่ 4.26 และภาพที่ 4.17 พบว่าน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้น 0.2 , 0.4 , 0.6 , 0.8 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญและดีกว่าระดับความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ และระดับความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นระดับความเข้มข้นของน้ำมันต่ำสุดที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา คือ 0.4 เปอร์เซ็นต์

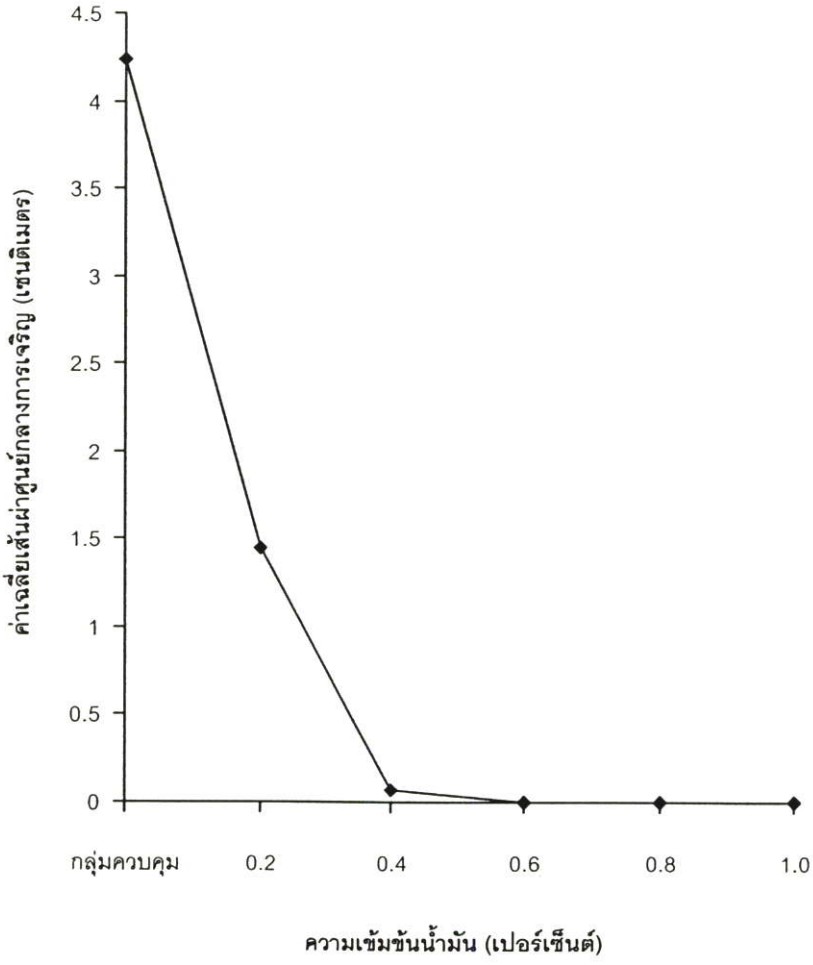
ตารางที่ 4.25 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

แหล่งความแปรปรวน	*df*	*SS*	*MS*	*F*
ช่วงเวลาบ่มเชื้อ	3	4.9952	1.6650	
ความเข้มข้นน้ำมันตะไคร้หอม	5	58.0944	11.6189	18.8781**
ความคลาดเคลื่อน	15	9.2320	0.6154	
ผลรวม	23	72.3217		

ตารางที่ 4.26 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อรา *Penicilium* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นน้ำมัน (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญ (เซนติเมตร)
กลุ่มควบคุม	4.24 [a]
0.2	1.45 [b]
0.4	0.07 [c]
0.6	0.00 [c]
0.8	0.00 [c]
1.0	0.00 [c]

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเดียวกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อใช้ DMRT ณ ระดับนัยสำคัญ 5 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 4.17 แสดงค่าเฉลี่ยความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญ (เซนติเมตร) ของเชื้อรา *Penicillium* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

4.4.6 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของน้ำมันตะไคร้หอมต่อการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

เมื่อนำผลการทดลองในตารางที่ 4.10 มาวิเคราะห์ความแปรปรวนดังตารางที่ 4.27 พบว่าความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับต่างๆ มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA แตกต่างกันอย่างน้อย 2 ระดับอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง จากนั้นมาวิเคราะห์หาความแตกต่างของระดับความเข้มข้นน้ำมันโดยใช้วิธี DMRT ดังตารางที่ 4.28 และภาพที่ 4.18 พบว่าน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้น 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญและดีกว่าระดับความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์และกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญและระดับความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา คือ 0.4 เปอร์เซ็นต์

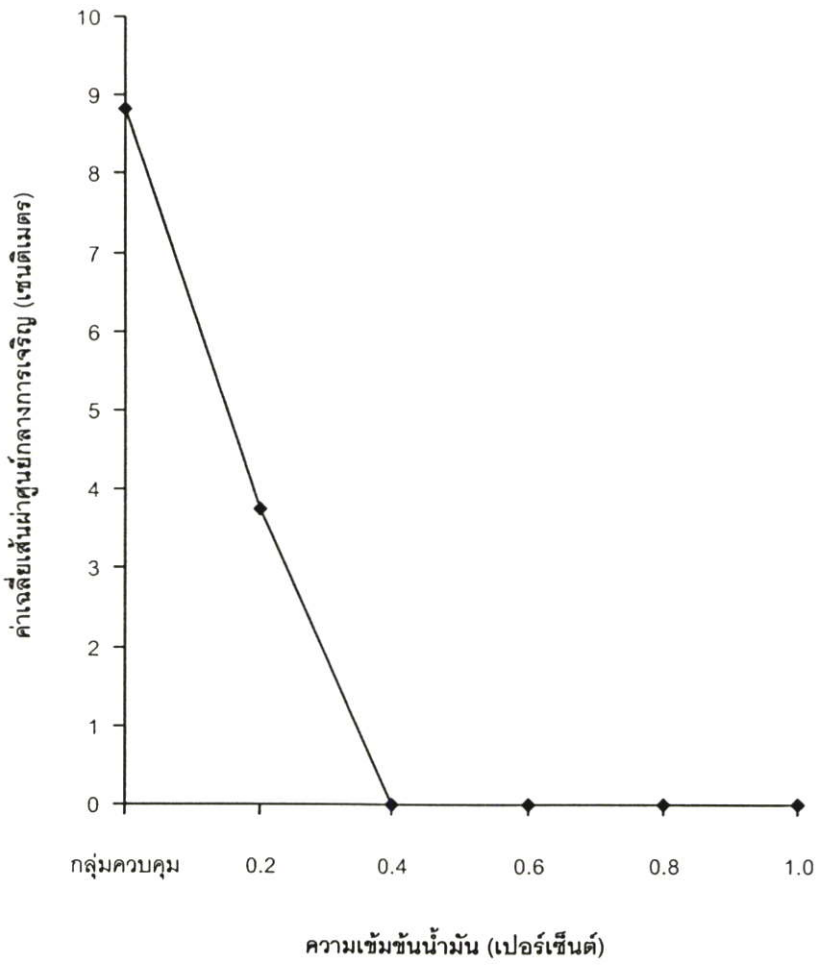
ตารางที่ 4.27 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

แหล่งความแปรปรวน	*df*	*SS*	*MS*	*F*
ช่วงเวลาบ่มเชื้อ	3	6.0854	2.0284	
ความเข้มข้นน้ำมันตะไคร้หอม	5	262.9912	52.5982	27.8253**
ความคลาดเคลื่อน	15	28.3544	1.8902	
ผลรวม	23	297.4311		

ตารางที่ 4.28 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีการเติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นน้ำมัน (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญ (เซนติเมตร)
กลุ่มควบคุม	8.84 [a]
0.2	3.76 [b]
0.4	0.00 [c]
0.6	0.00 [c]
0.8	0.00 [c]
1.0	0.00 [c]

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเดียวกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อใช้ DMRT ณ ระดับนัยสำคัญ 5 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 4.18 แสดงค่าเฉลี่ยความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญ (เซนติเมตร) ของเชื้อรา *Fusarium* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เติมน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและวิจารณ์

จากการศึกษาถึงผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในอาหาร PDA โดยใช้น้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้น 0.0 (กลุ่มควบคุม), 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ สรุปได้ว่าน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อรา แตกต่างกันอย่างน้อย 2 ระดับอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง และเมื่อวิเคราะห์หาความแตกต่างของระดับความเข้มข้นน้ำมัน พบว่าน้ำมันตะไคร้หอมทุกระดับความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญและดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราคือ 0.2 เปอร์เซ็นต์

ในการศึกษาถึงผลการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพดโดยใช้น้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลุ่มควบคุม), 1, 2 , 3 ,4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ สรุปได้ว่าน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ มีผลยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อราแตกต่างกันอย่างน้อย 2 ระดับอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง และเมื่อวิเคราะห์หาความแตกต่างของระดับความเข้มข้นน้ำมันพบว่าน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้น 2, 3, 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อราในเมล็ดข้าวโพดได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญและดีกว่าระดับความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์และกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ และระดับความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อราดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่เหมาะสมในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อราคือ 2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อราของน้ำมันตะไคร้หอมสามารถอธิบายได้ดังกรณีการทดลองของ Inouye *et al.* (1998 : 403 - 410) พบว่าไอระเหยของสารประกอบของน้ำมัน citron, lavender และไทม์ที่มีคุณสมบัติยับยั้งการสร้างสปอร์ จะเป็นสาเหตุทำให้ปลายเส้นใยของเชื้อรา *Rhizopus oryzae* ม้วนงอ และมีผลทำให้การสร้าง conidiophore ของเชื้อรา *A. fumigatus* ไม่สมบูรณ์จึงส่งผลถึงการสร้างสปอร์ของเชื้อราด้วย ซึ่งจากการศึกษาของ Greene – McDowelle *et al.* (1999 : 883 - 893) ถึงการยับยั้งการเจริญของสารประกอบ alcohol และ terpenes ต่อเชื้อรา *A. parasiticus* พบว่าสาเหตุที่ทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญของเชื้อราคือสารระเหยที่ออกฤทธิ์จะมีผลต่อการพัฒนาโครงสร้างของสปอร์ เป็นเหตุทำให้เกิด conidiophore ที่ไม่สมบูรณ์ และการเจริญเป็นเส้นใยผิดปกติไป

การศึกษาถึงผลการยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ในเมล็ดข้าวโพดโดยใช้น้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลุ่มควบคุม), 1, 2, 3,

4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ สรุปได้ว่าน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ มีผลยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อราแตกต่างกันอย่างน้อย 2 ระดับอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง และเมื่อวิเคราะห์หาความแตกต่างของระดับความเข้มข้นน้ำมัน พบว่าน้ำมันตะไคร้หอมทุกระดับความเข้มข้น สามารถยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อราในเมล็ดข้าวโพดได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญและดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่เหมาะสมในการยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อราคือ 1 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อพิจารณาถึงค่าเฉลี่ยอะฟลาทอกซินที่ได้พบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินแปรตามระดับความเข้มข้นของน้ำมัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Sinha *et al.* (1993 : 665 - 667) ถึงการยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของ *A. flavus* ในอาหารเหลวและในเมล็ดข้าวโพดของน้ำมันกานพลูและน้ำมันอบเชยโดยพบว่าระดับความเข้มข้นของน้ำมันสูงจะยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษได้ดีกว่าความเข้มข้นต่ำ

จากการศึกษาผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสายพันธุ์อื่นๆ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยใช้น้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้น 0.0 (กลุ่มควบคุม), 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ พบว่าน้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับต่างๆ มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อราทุกสายพันธุ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ได้แตกต่างกันอย่างน้อย 2 ระดับอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง และเมื่อวิเคราะห์หาความแตกต่างของระดับความเข้มข้นน้ำมัน ได้ผลดังนี้

-น้ำมันตะไคร้หอมทุกระดับความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา*A. parasiticus* IMI 102566 ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญและดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราคือ 0.2 เปอร์เซ็นต์

-น้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้น 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* M.113 ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญและ ระดับความเข้มข้น 0.2 และ 0.4 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งระดับความเข้มข้นของน้ำมันในกลุ่ม 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราดีกว่าระดับความเข้มข้น 0.2 และ 0.4 เปอร์เซ็นต์และกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ และระดับความเข้มข้น 0.2 และ 0.4 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราคือ 0.4 เปอร์เซ็นต์

-น้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้น 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* S.156 ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญและดีกว่าระดับความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์และกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ และระดับความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์

สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราคือ 0.4 เปอร์เซ็นต์

- น้ำมันตะไคร้หอมทุกระดับความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. niger* ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญและดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราคือ 0.2 เปอร์เซ็นต์

- น้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้น 0.4 , 0.6 ,0.8 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* sp. ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญและดีกว่าระดับความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์และกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ และระดับความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราคือ 0.4 เปอร์เซ็นต์

- น้ำมันตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้น 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* sp. ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญและดีกว่าระดับความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์และกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ และระดับความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราคือ 0.4 เปอร์เซ็นต์

ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโดยน้ำมันตะไคร้หอมนี้อาจเนื่องมาจากสารประกอบหลักหรือสารออกฤทธิ์ที่พบในน้ำมัน เช่น geraniol , citronellal , citronellol , limonene และสารประกอบอื่นๆ ซึ่ง Smid and Gorris (1999 : 285 – 308) กล่าวว่าการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ขึ้นกับหมู่ฟังก์ชันที่จำเพาะของน้ำมันหอมระเหย นอกจากนี้ Misra *et al.* (1987 : 332 - 334) รายงานว่าประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อราของน้ำมันหอมระเหยขึ้นกับสารประกอบที่มีคุณสมบัติยับยั้งในน้ำมันนั้นๆ และจากการศึกษาพบว่าสารประกอบเหล่านี้มีคุณสมบัติยับยั้งเชื้อรา Rao and Singh (1994 : 16 -20) พบว่า geraniol มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญเป็นเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคอ้อยคือ *Collectotrichum falcatum* และ *Ceratocystis paradoxa* ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Cruz *et al.* (1993 : 92-94) พบว่าประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับปริมาณของ geraniol ถ้าปริมาณ geraniol สูงจะยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดี นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากพืชในสกุล *Cymbopogon* sp. มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Candida albicans* , *A. niger* และ *Sporothrix schenckii* ซึ่งพบว่าประสิทธิภาพการยับยั้งขึ้นกับปริมาณ geraniol เช่นกัน (Dharmendra-Saikia *et al.* 2001 :1264 -1266) และ Mehmood *et al.* (1997 : 10 -13) พบว่าประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. และ *Cladosporium* sp. ขึ้นกับปริมาณ

eugenol , citral และ geraniol ในขณะที่ Inouye *et al.* (2001 : 68 - 72) รายงานว่าน้ำมันที่มี geranyl acetate และ geraniol เป็นองค์ประกอบมีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของเชื้อรา Kedzia *et al.* (1994 : 5 -11) กล่าวว่า citronellol และ citronellal เป็นสารประกอบที่มีผลมากที่สุดในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus, Streptococcus faecalis, Candida albicans, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae* และ *Pseudomonas aeruginosa* Garg and Dengre (1992 : 125 -127) รายงานว่าน้ำมันจากใบ buddleia ที่ประกอบด้วย citronellol 16.7 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus* sp., *Curvularia prasadii, Trichoderma viride, T. rubrum* และยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Salmonella* spp. และ *Shigella shiga* ในขณะที่ Hmamouchi *et al.* (1990 : 278 - 289) พบว่าประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์พวก *A. niger, Zygorrhynchus* sp., *Escherichia coli, Bacillus megaterium, Staphyloccus aureus, Candida albicans* และ *Saccharomyces cerevisiae* ขึ้นกับความเข้มข้นของปริมาณ citronellol และอนุพันธ์ และยังพบว่า geraniol และ citronellol แสดงผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Cryptococcus neoformans* (Viollon and Chanmont.1994 : 151 – 153) Tsao – Rong *et al.* (2000 : 113 –121) พบว่าสาร monoterpenoids คือ eugenol, citronellol, geraniol, citral และ citronellal จะยับยั้งการสร้างสปอร์และการงอกของเส้นใยของเชื้อรา *Botrytis cinerea* และ *Monilinia fructicola* ในขณะที่ Oh *et al.* (1993 : 790 – 794) พบว่า limonene และ geraniol แสดงคุณสมบัติยับยั้งการเจริญเป็นเส้นใยของเชื้อราดีที่สุดเช่นกัน นอกจากนี้ Gundidza *et al.* (1993 : 361 -364) พบว่า limonene มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Salmonella pullorum, Micrococcus luteus, Proteus vulgaris* และเชื้อรา *A. flavus , A. niger , A. ochraceus* และ *A. parasiticus* ส่วนน้ำมันที่มี citronellal และอนุพันธ์ของ citronellal เป็นส่วนประกอบมีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของเชื้อราและแบคทีเรีย (Hmamouchi *et al.*1990 : 278 - 289) นอกจากนี้ยังพบว่าสารประกอบที่พบในน้ำมันตะไคร้หอมมีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของเชื้อราและแบคทีเรียอีกหลายชนิด (Onawunmi.1989 ; Taira *et al.* 1994 ; Lis – Balchin and Deans. 1997 ; Tzakon *et al.* 1998)

กลไกในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราอาจเกิดจากสารประกอบของน้ำมันเข้าทำปฏิกิริยากับผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ ส่งผลให้กระบวนการลำเลียงสารอาหารและน้ำของจุลินทรีย์หยุดชะงักและเซลล์หยุดการเจริญในที่สุด (Guerzoni *et al.* 1994 : 1051 - 1056) เช่น ในการศึกษาของ Adegoke *et al.* (2000 : 147 –150) พบว่าน้ำมันพวก monoterpenes คือ terpinene และ limonene เป็นสาเหตุทำให้ผนังเซลล์ของ *Candida tropicalis* เสียหาย นอกจากนี้ Walter

et al. (1991: 671 – 676) ยังพบว่าการเพิ่มความดันไอจะช่วยให้สารประกอบน้ำมันเกิดการถ่ายโอนมวลสารและแทรกซึมผ่านเข้าไปในผนังเซลล์ได้ดี ซึ่งสอดคล้องกับ Caccioni *et al.* (1997 : 21 – 84) ที่พบว่าการเพิ่มอุณหภูมิมีผลทำให้โมเลกุลของสารประกอบที่มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เช่น esters, aldehydes, terpenes, alcohol และ hydrocarbon ทำงานได้ดี ทำให้มีพิษต่อเซลล์มากขึ้น นอกจากนี้ยังขึ้นกับคุณสมบัติของผนังเซลล์ที่จะยอมให้สารประกอบเหล่านี้ผ่านไปได้มากน้อยเพียงใด (Sikkema *et al.*1995 : 201 - 222) Farag *et al.* (1989 : 665 – 667) กล่าวว่าประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยไม่เพียงแต่ขึ้นอยู่กับสารประกอบเท่านั้นยังขึ้นกับสูตรโครงสร้างทางเคมีของสารประกอบเหล่านั้นด้วย ซึ่งประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสูตรโครงสร้างทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยเรียงได้ตามลำดับดังนี้ phenols > alcohol > aldehydes > ketones > ethers > hydrocarbones (Faid *et al.* 1996 : 657 – 664) และ Nidiry (1998 : 628 – 631) พบว่าประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญต่อเชื้อราของ geraniol และ citronellol ขึ้นกับตำแหน่งหมู่ฟังก์ชัน OH ในสูตรโครงสร้างทางเคมี โดยพบว่า primary alcoholic group จะมีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุด จากการทดลองในครั้งนี้พบว่าประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญจะลดลงเมื่อเพิ่มช่วงเวลาบ่มเชื้อ สามารถอธิบายได้ว่าเมื่อเพิ่มเวลาทำให้สารออกฤทธิ์เกิดการเสื่อมสลายเมื่อสัมผัสกับสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม ส่งผลทำให้ผนังเซลล์ของเชื้อราทำงานได้ตามปกติ

จากการทดลองเป็นการศึกษาเบื้องต้นที่แสดงให้เห็นว่าน้ำมันตะไคร้หอมสามารถยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อราในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และเมล็ดข้าวโพดของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ได้และยังสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสายพันธุ์อื่นๆ อีก แต่ในการนำไปใช้จริงในโรงเก็บ ต้องคำนึงถึงปัจจัยหลายปัจจัย เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยมีโครงสร้างที่ซับซ้อนและคุณสมบัติของน้ำมันจะผันแปรตามฤดูกาลเก็บ จะต้องมีการศึกษาถึงคุณสมบัติของสารประกอบในน้ำมันดังกล่าวภายใต้สภาวะแวดล้อมที่จะนำไปใช้จริง รวมถึงกลิ่นของน้ำมันเองจะเป็นที่ยอมรับของสัตว์ที่บริโภคหรือไม่ อีกทั้งควรศึกษาผลกระทบต่อสัตว์ก่อน เนื่องจากมีรายงานว่าไอระเหยของน้ำมันตะไคร้หอมมีพิษกับนก โดยมีผลกดระบบประสาทส่วนกลาง และเมื่อทดสอบกับแมวพบว่าทำให้แมวอารมณ์แปรปรวน ตลอดจนเกิดการทรงตัวที่ผิดปกติ (Willis. 2000 : 1) นอกจากนี้ควรมีการศึกษาถึงผลของน้ำมันนี้ในผลิตผลทางการเกษตรอื่นๆ อีก อาจทำการศึกษาเป็นระยะเวลานานขึ้น เพื่อพิจารณาหาระยะเวลาที่น้ำมันสามารถยับยั้งได้นานที่สุด ตลอดจนการคำนวณต้นทุนในการนำไปปฏิบัติว่าคุมทุนหรือไม่ ซึ่งจะต้องมีการศึกษาต่อไปก่อนนำไปปฏิบัติจริง

บรรณานุกรม

กนกรัตน์ ป้องประทุม. 2540. การควบคุมการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน ของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* 102566 ในเมล็ดข้าวโพดโดยสารเคมีบางชนิด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ.

ชณิกา เอี่ยมสุภาษิต และ สมจินตนา ทุมแสน. 2542. "การเกิดสารพิษอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงและแนวทางแก้ไข." **ข่าวสารสถาบันวิจัยพืชไร่** มกราคม - มีนาคม :12 -13.

ดุษณี ธนะบริพัฒน์ และคณะ. 2532. "ผลของสมุนไพรบางชนิดต่อการเจริญของเชื้อราที่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน" **วารสารวิทยาศาสตร์ มศว**. 5(1) : 33 – 39.

ดุษณี ธนะบริพัฒน์ และคณะ. 2539. "การยับยั้งการสร้างสารพิษในระหว่างการผลิตเทมเป้" **วารสารวิทยาศาสตร์ มศว.** 12(2) : 8 -15.

ดุษณี ธนะบริพัฒน์ และคณะ. 2543. "การควบคุมเชื้อราที่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซินโดยสะเดา." **วารสารองค์การเภสัชกรรม** 27(1) : 41 - 49.

ดวงจันทร์ สุประเสริฐ และ ทัศนีย์ จุฬามรกต. 2542. "สารพิษจากเชื้อราที่ตรวจพบในข้าวฟ่างที่จำหน่ายในประเทศไทย." **อาหาร** 29(3) : 187 -192.

นิจศิริ เรืองรังษี และพยอม ตันติวัฒน์. 2534. **พืชสมุนไพร**. กรุงเทพฯ.โอ.เอส.พริ้นติ้ง เฮาส์.

นันทวัน บุณยะประภัศร และ อรนุช โชคชัยเจริญพร. 2541. **สมุนไพรไม้พื้นบ้าน**. พิมพ์ครั้งที่1. กรุงเทพฯ. บริษัทประชาชนจำกัด.

นงนุช วณิตย์ธนาคม. 2540. **วิทยาเชื้อราการแพทย์**. คณะแพทย์ศาสตร์ .มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ทัศนีย์ จุฬามรกต และ ดวงจันทร์ สุประเสริฐ. 2540. "สารพิษจากเชื้อราที่ตรวจพบในข้าวบาร์เลย์ที่จำหน่ายในประเทศไทย." **แก่นเกษตร** 27(3) : 124 -128.

ทัศนีย์ จุฬามรกต และ ดวงจันทร์ สุประเสริฐ. 2543. "สารพิษจากเชื้อราที่ตรวจพบในเมล็ดธัญพืชที่ใช้ทำผลิตภัณฑ์ R.C." **อาหาร** 30(2) : 107-114.

วรนันท์ ศุภพิพัฒน์. 2538. **อาหาร โภชนาการและสารพิษ**. กรุงเทพฯ. แสงการพิมพ์.

วันดี กฤษณพันธ์และคณะ. 2536. **เภสัชวินิจฉัย-ยาและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เล่ม 1**. กรุงเทพฯ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

วินัย ปิติยนต์. 2540. " ตะไคร้หอม (Citronella grass)." **ข่าวสารวัตถุมีพิษ** 24(2) :78 - 84.

สุกัญญา กองเงินและคณะ. 2540. **อะฟลาทอกซินในถั่วลิสง**. กรุงเทพฯ : กรมวิชาการเกษตร.

สุนทรี สิงหบุศรา. 2536. **สรรพคุณสมุนไพร 200 ชนิด**. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ. ไอ.เอส.พริ้นติ้งเฮาส์.

สุรพล อุปดิสสกุล. 2536. **สถิติ การวางแผนการทดลอง เล่ม** 1. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพ. สหมิตรออฟเซท.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2541. **มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำมันตะไคร้หอม**. กระทรวงอุตสาหกรรม. กรุงเทพฯ.

อรุณศรี วงศ์อุไร. 2542. "อันตรายจากเชื้อราในถั่วลิสง." **ข่าวสารโรคพืชและจุลชีววิทยา** 9 (2) : 5 – 7.

อมรา ชินภูติ. 2543 . "สารพิษ "อะฟลาทอกซิน" ในผลิตผลเกษตร และวิธีการลดสารพิษสารพิษก่อนบริโภค" **ข่าวสารโรคพืชและจุลชีววิทยา** 10(2) : 34 - 40.

อมรา ชินภูติ และ ประวัติ ตันบุญเอก. 2543. การวิเคราะห์การปนเปื้อนของสารพิษอะฟลาทอก-ซินในผลิตผลเกษตรโดยวิธี ELISA และวิธีลดปริมาณสารพิษ. น.110 ใน **การประชุมวิชาการกองโรคพืชและจุลชีววิทยา**. ปี 2543. 8-10 มีนาคม 2543 ณ โรงแรมลองบีช, เพชรบุรี.

อมรา ไตรศิริ และ สำรวย ปลูกงาม. 2539. **การใช้สารสกัดจากตะไคร้หอมในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูฝ้าย**. รายงานผลการวิจัยประจำปี ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์. นครสวรรค์.

อารันต์ พัฒโนทัย. 2528. **สถิติเพื่อการวิจัย** 2. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

Adegoke, G.O. et.al. 2000. "Inhibition of food spoilage yeasts and aflatoxigenic moulds by monoterpenes of the spice *aflamonum danielli*." **Flavour and Fragrance J.** 15 (3) : 147 - 150.

Aggrawal, K.K. et.al. 2000. "Antimicrobial activity spectra of *Polargonium graveolens L.* and *Cymbopogon winterianus* Jowitt oil constituents and acyl derivation." J. Med. Aromatic Plant Sci. 22 (1 B) : 544 - 548.

Al – Yahya, S.1999."Change of fungal infection during wheat storage at differen condition." **J. Agric. Sci.** 7(2) : 531 – 545.

Ansari, A.A. and Shrivastava, A.K. 1991. "The effect of eucalyptus oil on growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus*." **Lett. Appl. Microbiol.** 13 : 75 – 77.

Asplin, F.D. and Carnaghan, R.B.A. 1961. "The toxicity of certain groundnut meals for poultry with special reference to their effect on ducklings and chickens." **Vet. Rec.** 73 : 1215 -1218.

Austwick, P.K.C. and Ayerst, G. 1963 . "Biosynthesis of Aflatoxins." **Chem. Ind.** 2 : 55.

Azzouz, M. A.1981. "The inhibitory effects of selected herbs species and other plant materials on mycotoxigenic molds." **Dissertation Abstracts International**,B42 (3)995 :153.

Azzouz, M.A. and Bullerman, L. B.1982. "Comparative antimycotic effect of selected herbs, species, plant components and commercial antifungal agents." **J. Food Prot.** 45 : 1298 -1301.

Banerjee, S. et.al. 1989. "Sensitivity of three sclerotial rice pathogens to plant oils." **I. Rice Researh Newsletter.** 14 (6) : 23.

Bankole, S.A. 1997. "Effect of essential oils from two Nigerian medicinal plants (*Azadirachta indica* and *Morinda incida*) on growth and aflatoxin B_1 production in maize grain by a toxigenic *Aspergillus flavus*." **Lett. Appl Microbiol** 24 : 190 – 192.

Betina, V.1984. **Mycotoxins. Production, Isolation, Separation and Purification.** Amsterdam. Netherlands. Elsevier Science Publishers.

Beuchat, L.R et.al. 1999. " Inactivation of aflatoxigenic Aspergilli by treatment with ozone." **Lett. Appl. Microbiol.** 29 : 202 - 205.

Blount, W.P. 1961. "Turkey-X disease." **J.Brit.Turkey Fed.** 9 : 52.

Buchanan, R.L. and Shepherd, A.J.1981. "Inhibition of *Aspergillus parasiticus* by thymol." **J. Food Sci.** 46 : 976 - 977.

Bullerman, L.B. et.al.1977. "Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oils ,cinnamic aldehyde and eugenol." **J. Food Sci.** 42 : 1107 - 1109.

Bullerman ,L.B. 1986. " Mycotoxins and food safety." **Food Technol.** 40 : 59 – 66.

Caccioni, D.R.L. 1997. "Antifungal activity of natural compounds in relation to their vapour pressure." **Sci. Aliment** 17 : 21 - 84.

Carpinella, M.C. et.al.1999. "Antifungal activity of *Malia azedarach* fruit extract." **Fitoterapia** 70(3) : 296 – 298.

Chandravadana, M.V. and Nidiry, E.S.J.1994. "Antifungal activity of essential oil of *Pelargonium graveolens* and its constituents against *colletotrichum gloeosporioides*." **Indian J. Experimental Biol.** 32(12) : 908 – 909.

Chao, S.C. et.al. 2000. "Screening for inhibitory activity of essential oil on selected bacteria, fungi and viruses." **J. Essent. Oil Res.** 12(5) : 639 – 649.

Chatterjee, D. 1990. " Inhibition of fungal growth and infection in maize grains by spice oils." **Lett. Appl. Microbiol.** 11 : 148 - 151.

Closete, F.de. et. al. 1985. "Study of the in vitro activity of an original association of medicaments against *Torulopsis glabrata*." **Bulletin de.la Societe Francaise de Mycologie Medicale.** 14 (2) : 251- 254.

Criseo, G. et.al. 2001. "Differentiation of aflatoxin producing and non-producing strains of *Aspergillus flavus* group." **Lett. Appl. Microbiol.** 33 : 291 - 295.

Cruz, T. et.al. 1993. "Chemical compositon and antimicrobial activity of the essential oils of different samples of *Thymus baeticus* Boiss." **Phytotherapy Res.** 7 (1) : 92 - 94.

Dawson – Andoh, B.E. et. al. 2000. " Inhibitory and compatibility effects of essential oils an sapstain and biological control fungi." **J. Essent. Oil Res.** 12(4) : 509-515.

Delespaul, Q. et.al. 2000. "The antifungal activity of essential oil as determined by different screening methods." **J. Essent. Oil Res.** 12(2) : 256 – 266.

Dharmendra - Saikia et.al. 2001. "Comparative antifungal activity of essential oils and constituents from three distinct genotypes of *Cymbopogon* spp." **Current Sci.** 80 (10) : 1264 - 1266.

Dikshit, A and Husain, A.1984. "Antifungal action of some essential oils agianst animal pathogens." **Fitoterapia** 55(3) : 171 –176.

El-Nezami, H. et.al. 2000. "Ability of *Lactobacillus* and *Propionibacterium* strains to remove aflatoxin B_1 from the chicken duodenum." **J. Food Prot.** 63(4) : 549 - 552.

Elangovan, T.V.P. and Kalyanasundaram.1999. "Prevalence of aflatoxin B_1 in rice bran and some associated factor." **Indian Phytopath.** 52(2) :129 –133.

Faid, M. et.al.1996. "Chemical composition and antimicrobial activities of two aromatic plant : *Origanum majorana* L. and *O. compactum* Benth." **J. Essent. Oil Res.** 8 : 657 - 664.

Fan, J.J. and Chen, J.H.1999. "Inhibition of aflatoxin-producting fungi by welsh onion extracts." **J. Food Prot.**62(4) : 414 - 417.

Farag, R.S. et.al. 1989. "Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. " **J. Food Prot.** 52 : 665 - 667.

Gangrade, S.K. et.al. 1991. "In vitro antifungal effect of essential oils." **Indian Perfumer** 35 (1) : 46 – 48.

Gardini, F. et.al. 2001. " Effect of trans - 2 - hexenal on the growth of *Aspergillus flavus* in relation to its concentration, temperature and water activity." **Lett. Appl. Microbiol.** 33 : 50 - 55.

Garg, S.C and Dengre, S.L. 1992. "Composition of essential oil from the leaves of *Buddleia asiatica Loui.* " **Flavour and Fragrance J.** 7(31) :125 - 27.

Goto, T. et.al. 1996. "Aflatoxin and cyclopiazonic production by a sclerotium - producing *Aspergillus tamarii* strain." **Appl. Env. Microbiol.** 62 : 4036 – 4038.

Gourama, H. and Bullerman, L.B. 1995. "Inhibition of growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* by *Lactobacillus* species." **J. Food Prot.** 58(11) : 1249-1256.

Greene – McDowelle, D.M. 1999. "The effect of selected cotton- leaf volatiles on growth , development and aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus*." **Toxicon.** 37 : 883 – 893.

Guerzoni, M.E. et.al. 1994. " Influence of some selected ions on system water activity and on ethanol vapour pressure and its inhibitory action on *Saccharomyces cerevisiae*." **Can. J. Microbiol.** 40 : 1051 - 1056.

Gundidza, M. et.al. 1993. "The essential oil of *Heteropyxis natalensis Haru* : its antimicrobial activities and phytoconstituents." **J. Sci. Food Agri.** 63 (3) : 361 - 364.

Hartley, R.D. et.al. 1963. " Toxic metabolites of *Aspergillus flavus*. " **Nature (London)** 198 : 1056 – 1058.

Hitokoto, H. et.al.1978. "Inhibitory effects of condiments and herbal drugs on the growth and toxin production of toxigenic fungi." **Mycologia** 66 : 161-167.

Hitokoto, H. S. et.al.1980. "Inhibitory effects of spices on growth and toxin production of toxigenic fungi." **Appl. Env. Microbiol.** 39 : 813 - 822.

Hmamouchi, M. et.al. 1990. "Elucidation of the antibacterial and antifungal properties of the essential oils of Eucalyptus." **Plantes Medicinales et. Phytotherapie** 24 (4) : 278 - 289.

Hua et.al. 1999. "Interaction of Saprophytic Yeasts with a nor Mutant of *Aspergillus flavus*." **Appl. Environ. Microbiol.** 4 : 2738 - 2740.

Hulin,V. et.al. 1998. "Antimicrobial properties of essential oils and flavour compounds." **Sciences des aliments.**18(6) : 563 - 582.

Inouye, S. et.al.1998. " Antisporulating and respiration inhibitory effects of essential oils on filamentous fungi. " **Mycoses** 41 (9 -10) : 403 - 410.

Inouye, S. et..al. 2001. " Volatile aroma constituents of three Labiatae herbs growing wild in the KaraKoram - Himalaya district and their antifungal activity by vapor contact." **J. Essent. Oil Res.** 13(1) : 68 - 72.

Jayashree, T. and Subramanyam, C.1999. "Antiaflatoxingenic activity of eugenol is due to inhibition of lipid peroxidation." **Lett. Appl.Microbiol.** 28 :179 -183.

Kala, P.K. et.al. 1984. "Effect of some essential oils on growth and aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus* in stored grains." **Pesticides** 18(6) : 43 – 44.

Kedzia, B. et.al. 1994. "Composition and antimicrobial characteristics of *Ol. Melissac* and components." **Herba - Polonica** 40 (1-2) : 5 - 11.

Kole, C. et.al. 1993. "Antifungal efficacy of oil and its genetic variability in citronella." **Crop Res. Hisar** 6(3) : 509 – 512.

Kumar, S. and Prasad, G. 1992. "Efficacy of medical plant (*Andrographis puniculata*) extract on aflatoxin production and growth of *Aspergillus flavus*." **Lett. Appl. Microbiol** 15 : 131 – 132.

Kurtzman,C.P. et.al.1987. "*Aspergillus nomius*, a new aflatoxin producing species relate to *Aspergillus flavus* and *Aspergillus tamarii*." **Antonie van leeuw.** 53 : 147-158.

Lemos, T.L.G. et.al. 1992. "Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil from Brazilian plants." **Fitoterapia.** 63(3) : 266 - 268.

Lis - Balchin, M. and Deans, S.G. 1997. " Bioactivity of selected plant essential oils against *Listeria monocytogenes*." **J. Appl. Microbiol.** 82 (6) : 759 - 762.

Llewellyn, G.C. et.al. 1981. "Potential mold growth, aflatoxin production and antimycotic activity of selected natural spices and herbs." **J. Assoc. Off. Anal. Chem.** 64 : 955 - 960.

Mabrouk, S.S. and El-Shayeb, N.M.A.1980. "Inhibition of aflatoxin formation by some spices." **Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuschung Und Forschung** 171(5) : 344 - 347.

Mahmoud, A-L.E. 1994. "Antifungal action and antiaflatoxigenic properties of some essential oil constituents." **Lett. Appl. Microbil** 19 : 110 – 113.

Mahmoud,A -L.E.1999. "Inhibition of growth and aflatoxin biosynthesis of *Aspergillus flavus* by extracts of some Egyptian plants." **Lett. Appl. Microbiol.**29(5) : 334 – 336.

Masood, A. and Ranjan, K.S. 1991. "The effect of aqueous plant extracts on growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus*." **Lett. Appl. Microbil.** 13 : 32 – 34.

Masood, A. et.al.1994. "The influence of colouring and pungent agent of red Chilli (*Capsicum annum*) on growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus*." **Lett. Appl. Microbiol.** 18 : 184 - 186.

Mehmood, Z. et.al. 1997. " Antifungal activity of some essential oils and their major constituents." **Indian J. Nat. Pro.** 13 (2) : 10 - 13.

Misra, N. et.al. 1987. "Efficancy of essential oil of *Cinnamon tamala* Nees and Eidam against *Aspergillus flavus* NRRL 3251 and *A. parasiticus* NRRL 2999 producing mycotoxins in stored seed of ground nuts." **Indian Perfumer** 31 (4) : 332 - 334.

Misra, N. et.al. 1988. " Antifungal efficacy of essential oil of *cymbopogon martinii* (lemon grass) against *aspergilli*." **Int. J. Crude Drug Res.** 26(2) : 73 – 76.

Mishra, A.K. and Dubey, N.K. 1990. "Fungitoxicity of essential oil of *Amomum subulatum* against *Aspergillus flavus*." **Economic Botany** 44(4) : 530 – 533.

Montes - Belmont, R.and Carvajal, M.1998. "Control of *Aspergillus flavus* in maize with plant essential oils and their component." **J. Food Prot.** 61(5) : 616 - 619.

Morozumi,S. 1978. "Isolation, purification, and antibiotic activity of o-methoxy-cinnamaldehyde from cinnamon." **Appl. Env. Microbiol.** 36 : 577-583.

Moss, M.O. 1996. " Mycotoxin." **Mycoloigical Res.** 100 : 513 – 523.

Nidiry, E.S.J. 1998. "Structure fungitoxicity relationships of the monoterpenoids of the essential oils of the monoterpenoids of the essential oils of peppermint (*Mentha piperita*) and scented geranium (*Polargonium graveolens*)." **J. Essent. Oil Res.** 10 (6) : 625 - 631.

Norton, R.A.1999. " Inhibition of aflatoxin B_1 biosynthesis in *Aspergillus flavus* by anthocyanidins and related flavonoids." **J. Agric. Food Chem.** 47 : 1230 - 1235.

Oh, K. et.al. 1993. " Automatic evaluation of antifungal volatile compounds on the basis of the dynamic growth process of a single hypha." **Appl. Microbiol. Biotech.** 38 (6) : 790 - 794.

Onawunmi, O. 1989. " Evaluation of the antifungal activity of Lemon grass oil." **Int. J. Crude Drug Res.** 27(2) : 121 - 126.

Paster, N. et.al. 1995. "Antifungal activity of oregano and thyme essential oils applied as fumigants against fungi attacking stored grain." **J. Food Prot.** 58(1) : 81 - 85.

Patkar, K.L, et.al.1993. "Effect of spice essential oils on growth and aflatoxin B_1 production by *Aspergillus flavus*." **Lett. Appl. Microbiol.** 17 : 49 – 51.

Pattnaik, S. et.al. 1996. "Antibacterial and antifungal activity of ten essential oils in vitro." **Microbios** 86(349) : 237 – 246.

Pattnaik, S. et. al. 1999. " Antifungal activity of essential oils from *Cymbopogon* inter and intraspecific differences." **Cytobios** 97(386) : 153 -159.

Peterson, S.W. et.al. 2001. " *Aspergillus bombycis*, a new aflatoxigenic species and genetic variation in its sibling species,*A. nomius* ." **Mycologia** 93(4) : 689 - 703.

Pitt,J.I. 1989. **Field Studies on *Aspergillus flavus* and aflatoxins in Australian groundnuts. In "Aflatoxin Contamination of Groundnuts"** (D. Mc Donald and V.K. Mehan, cds), pp. 223 - 236 ICRISAT, Patancheru, India

Pittet, A.1998. " Natural occurrence of mycotoxins in food and feeds an updated review." **Revue de Medeuim Veterinaire** 149 : 479 – 492.

Pomeranz,Y. and Meloan, C.E. 1994. **Food Analysis:Theory and Practice**.3 rd ed. New York.Chapman and Hall.

Prado, G. et al. 1995. Influencia de metais na producao de aflatoxina B_1 em amendoim(*Arachis hypogaea* L.). **Ciencia e Tecnologia de Alimentos** 15 : 294 - 297.

Prasad, G. et.al. 1994. "Inhibition in aflatoxin biosysthesis by the extract of *Amorphophallus campumlatus* (ol) and calcium oxalate." **Lett. Appl microbiol.** 18 : 203 – 205.

Praveen RAO, J. and Subramanyam, C. 1999. "Requirement of Ca^{2+} for aflatoxin production : inhibitory effect of Ca^{2+} channel blockers on aflatoxin production by *Aspergillus. parasiticus* NRRL 2999." **Lett. Appl. Microbiol.** 28 : 85 – 88.

Rachmawati, S. et.al.1999. " Sambiloto(*Andrographis puniculata* Nees) for reducting aflatoxin contamination in commercial chicken feed." **J. Ilmu Turnak dan Veteriner** 4(1) : 65 -70.

Raghavaiah, G. and Jayaramaiah, M. 1987. "Antifungal activity of some essential oils against the white muscardine fungus *Beanveria bassiana* (Bals.)." **Vuill. Indian Perfumer.** 31(4) : 328 -331.

Ramakrishma, N. et.al. 1996. "*Aspergillus flavus* colonization and aflatoxin B_1 formation in barley grain during interaction with other fungi." **Mycopathologia** 136 : 53 - 63.

Rao, G.P. and Singh, S.B. 1994. "Efficacy of geraniol extracted from the essential oil of *Zanthoxylum alatum* as a fungitoxicant and insect repellent." **Sugar Cane** 4 : 16 - 20.

Reiss, 1982 . " Studies on the effect of the components of cinnamon bark on the growth of molds on bread and the formation of mycotoxins." **Getride, Mehl Brd.** 36(2) : 50 – 53.

Sargeant, K. et al.1961. "Toxicity associated with certain samples of groundnuts." **Nature** 192 :1096 – 1097.

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

Smid, E. J. and Gorris, L. G. M.1999. " Secondary plant metabolites as control agents of postharvest Penicillium rot on tulip bulbs. " **Postharvest Biol. Technol.** 6 : 285 – 308.

Sikkema, J. et.al. 1995. "Mechaisms of membrane toxicity of hydrocarbons." **Microbiology Review** 59 : 201 - 222.

Singh, A.K. 1999. "Efficacy of some plant leaf extracts against weed fungi coming up during cultivation of oyster mushroom on sugarcane bagasse. **Indian Phytopathol.** 52(2) : 179 – 181.

Singh, D. et.al. 1989. "Reproduction redardant and fumigant properties in essential oil against rice weevil (Coleoptera : Curculionidae) in stored wheat." **J. Econ. Ent.** 82 (3) : 727 – 733.

Sinha, K.K. et.al. 1993. "The effect of clove and cinnamon oils on growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus*." **Lett. Appl. Microbiol.** 16 : 114 –117.

Smiley, R.D. and Draughon, F.A. 2000. "Preliminary evidence that degradation of aflatoxin B_1 by *Flavobacterium aurantiacum* is enzymatic." **J. Food Prot.** 63 (3) :415 - 418.

Suzuki, I. J. Dainuis, B. and Kilbuck,J.H. 1973. "A modified method of aflatoxin determination in spice." **J. Food Sci.** 38 : 949 - 950.

Sweelan, M.E. 1989. **The potential use of some ornamental plants for nematode control in Egypt.** Bulletin of Faculty of Agriculture, University of cairo. 40(2) : 67 – 74.

Taira, S. et.al. 1994. " Synthesis and fungicidal activity of new 1, 3, 2 - oxazaphospholidine 2 - sulfides." **J. Pesticide Sci.**19 (4) : 299 - 304.

Thakur, R.N. et.al. 1989. "In vitro studies on antifungal activities of some aromatic oils." **Indian Perfumer** 33(4) : 257 – 260.

Thanaboripat,D. et.al. 1997a. "Inhibitory effect of garlic , clove and carrot on growth of *Aspergillus flavus* and aflatoxin production." **J. Forestry Research** 8(1) : 39 - 42.

Thanaboripat, D. et.al. 1997b. "Detoxification of aflatoxin by *Streptococcus lactis* and lactic acid bacteria in commercial yoghurt." **Kasetsart J. (Nat.Sci.)** 31 : 117-123.

Tiwari, R. et.al. 1983. "Inhibition of growth and aflatoxin B_1 production of *Aspergillus parasiticus* by spice oils." **J. Food Sci. Technol.** 20 : 131-132.

Tsao - Rong et.al. 2000. " Antifungal uctivity of monoterpenoids against postharvest pathogens *Botrytis cinera* and *Monilinia fructicola.*" **J. Essent. Oil Res.** 12 (1) : 113 - 121.

Tzakon, O. et.al.1998. "Chemical Composition and Antibacterial Properties of *Thymus longicanlis* subsp. Chanbadii oils Three Chemotypes in the Same Population." **J. Essent. oil Res.** 10 : 97 - 99.

Walter, U. et.al. 1991. "Degradation of pyrene by *Rhodococcus* sp.UW1. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 34 : 671 - 676.

WHO. 1979. **Enviromental Health Criteria II: Mycotoxins.** World Health Organization.Geneva.

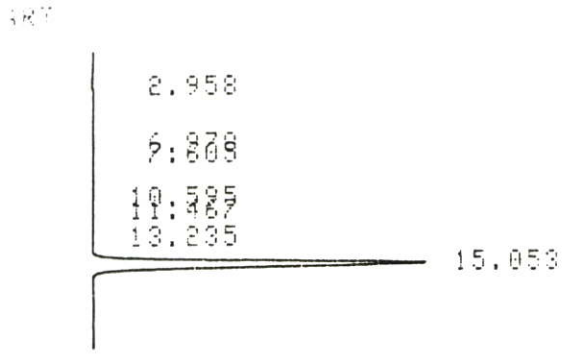
Willis, G.A. 2000. **Citronella oil.** [online]. Available: http://www.exoticbird.com/gillian/citronella.html

Viollon, C. and Chunmont, P. 1994. " Anfifungal properties of essential oils and their main upon component *Cryptococcus neoformans*." **Mycopathol.** 128 (3) : 151 - 153.

Yin, M.C. and Cheng, W.S. 1998. " Inhibition of *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus* by some herbs and spices." **J. Food Prot.** 61(1) :123 –125.

ภาคผนวก

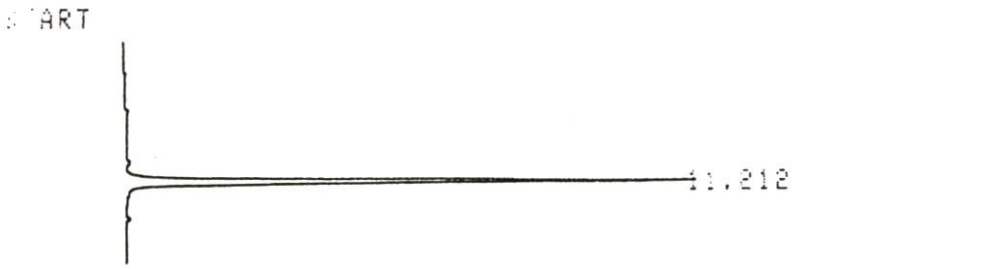
ภาคผนวก ก.



CHROMATOPAC C-R5A FILE 0
SAMPLE NO 0 METHOD 0041
REPORT NO 4250

PKNO	TIME	AREA	MK	IDNO	CONC	NAME
1	2.958	5931			0.0605	
2	6.978	26374			0.2691	
3	7.605	5665			0.0578	
4	10.595	31474			0.3211	
5	11.467	28273			0.2885	
6	13.235	19336			0.1973	
7	15.053	9683333			98.8056	
	TOTAL	9800385			100	

ภาพที่ ก-1 โครมาโทรแกรมของสารพิษอะฟลาทอกซิน B_1

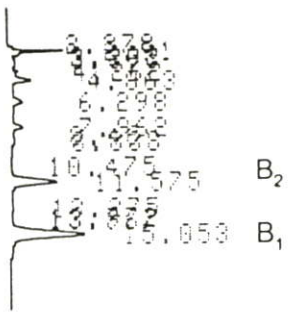


CHROMATOPAC C-R6A FILE NO. 0
SAMPLE NO. 0 METHOD 0041
REPORT NO. 4321

PKNO	TIME	AREA	MK	IDNO	CONC	NAME
1	11.212	309457			100	
	TOTAL	309457			100	

ภาพที่ ก-2 โครมาโทรแกรมของสารพิษอะฟลาทอกซิน B_2

START



CHROMATOPAC C-R6A FILE 0
SAMPLE NO 0 METHOD 41
REPORT NO 4474

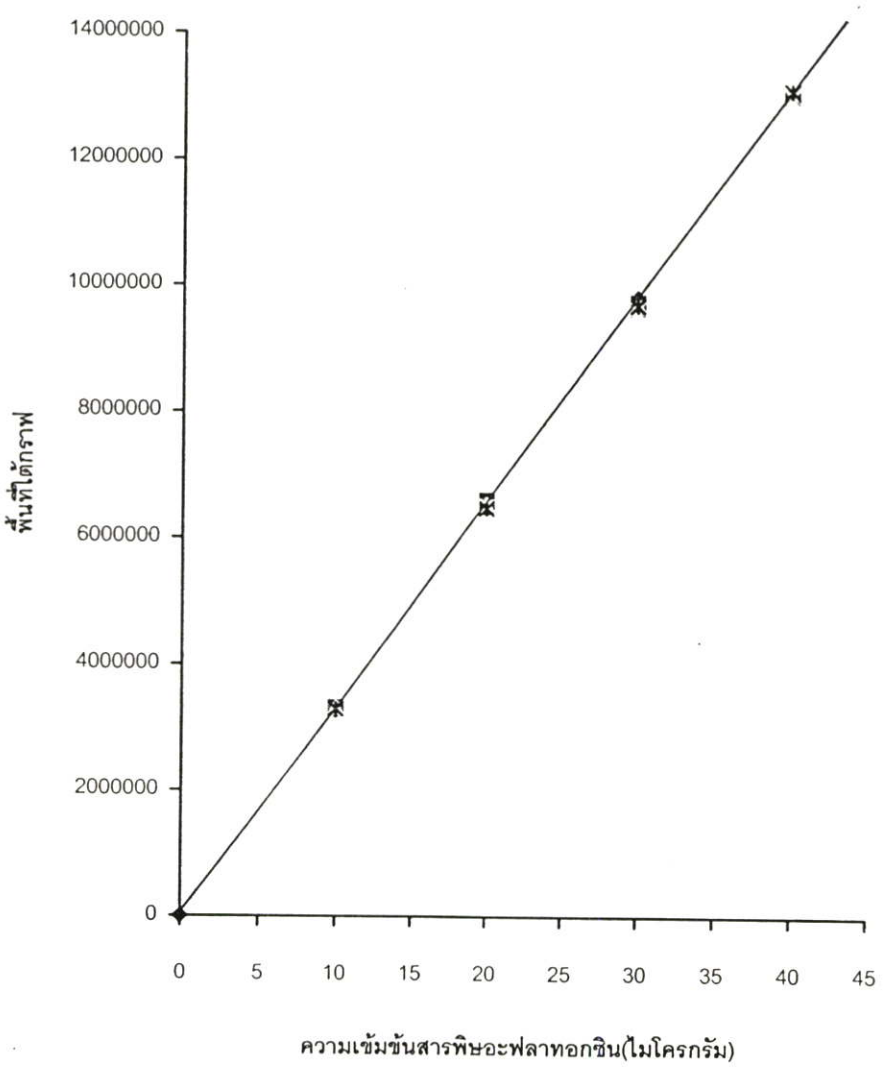
PKNO	TIME	AREA	MK	IDNO	CONC	NAME
1	2.91	29016			8.3159	
2	3.232	2641	V		0.8023	
3	3.393	1333	V		0.4051	
4	4.262	3398			1.0324	
5	4.863	23258	V		7.0663	
6	6.298	17959			5.4563	
7	7.962	19323			5.871	
8	8.838	8199	V		2.4912	
9	11.575	72769			22.1092	
10	13.275	2578			0.7832	
11	15.053	148660	V		45.167	
	TOTAL	329135			100	

ภาพที่ ก-3 โครมาโทรแกรมของสารตัวอย่าง

ภาคผนวก ข.

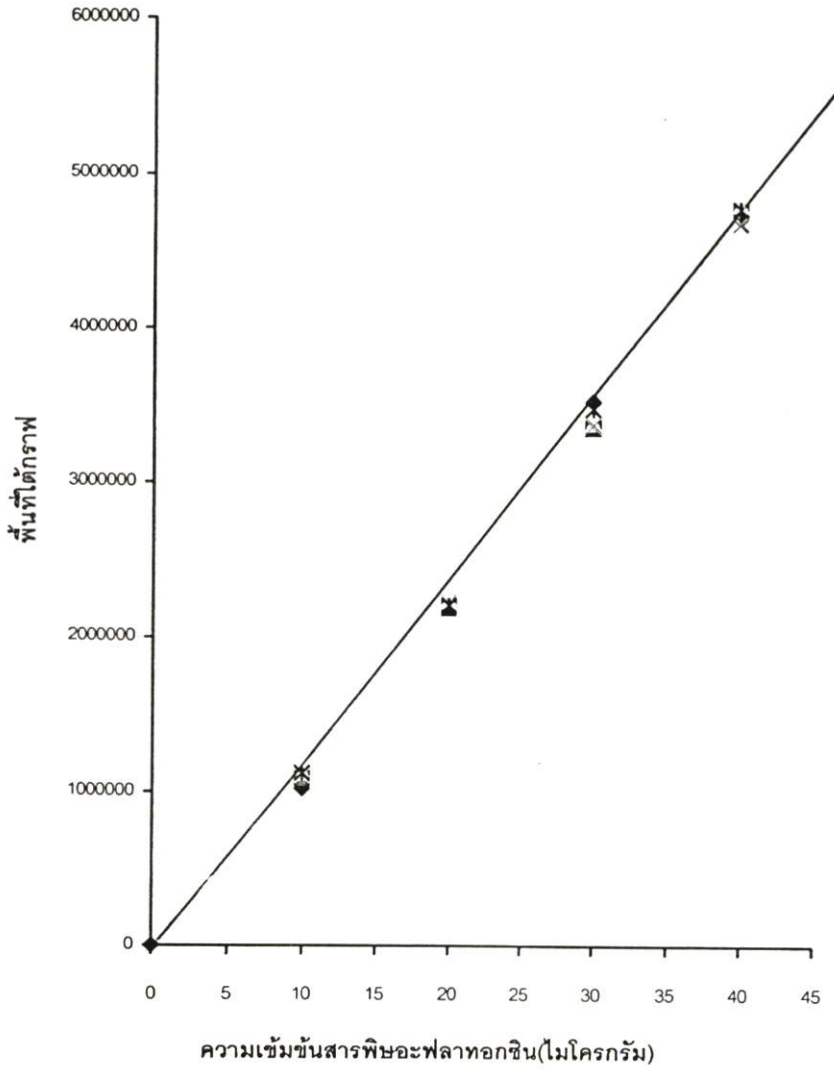
กราฟมาตราฐานของสารพิษอะฟลาทอกซิน

r = 0.9999



ภาพที่ ข-1 กราฟมาตราฐานสารพิษอะฟลาทอกซิน B_1

r = 0.9988



ภาพที่ ข-2 กราฟมาตราฐานสารพิษอะฟลาทอกซิน B_2

ประวัติผู้เขียน

นางสาว นฤมล มงคลธนวัฒน์ เกิดเมื่อวันที่ 31 มีนาคม พ.ศ. 2518 ที่จังหวัดชลบุรี สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ปีการศึกษา 2540