บทที่ 3
ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การเก็บตัวอย่างยางแผ่นและการวิเคราะห์สภาพแวดล้อมจากที่เก็บตัวอย่าง

การสุ่มเก็บตัวอย่างยางแผ่นที่มีเชื้อราเจริญจากแหล่งผลิต โดยได้รับความเอื้อเฟื้อวัตถุดิบจากเกษตรกรชาวสวนยาง ที่อาศัยอยู่ในจังหวัดต่างๆ ในภาคใต้ สำหรับทางฝั่งทะเลตะวันออก ได้แก่ จังหวัดพัทลุง 4 แห่ง จังหวัดสงขลา 1 แห่ง และจังหวัดสุราษฎร์ธานี 1 แห่ง ทางฝั่งทะเลตะวันตก ได้แก่ จังหวัดพังงา 4 แห่ง จังหวัดตรัง 2 แห่ง จังหวัดภูเก็ต 1 แห่ง รวม 13 แห่ง ช่วงระยะเวลาที่เก็บตัวอย่างอยู่ในเดือนพฤศจิกายน 2548 ถึงมกราคม 2549 โดยส่วนใหญ่เป็นการเก็บตัวอย่างจากบ้านเกษตรกร ยกเว้น 2 แห่ง คือ จังหวัดพัทลุง (TC) และ จังหวัดสุราษฎร์ธานี (ST) เป็นการเก็บตัวอย่างจากโรงงานแปรรูปยางแผ่นที่รับซื้อยางมาจากเกษตรกร จากตัวอย่างยางแผ่นที่ได้บางตัวอย่าง จะเห็นว่ามีการเจริญของเชื้อราเป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 6) ขนาดยางแผ่นที่เก็บมีขนาดประมาณ 10x20 เซนติเมตร หรือน้ำหนักของตัวอย่างยางที่เก็บมีน้ำหนักมากกว่า 50-100 กรัม โดยยางแผ่นที่เก็บตัวอย่างจะมีอายุและลักษณะแตกต่างกัน เนื่องจากเกษตรกรมีการผลิตและการเก็บที่แตกต่างกัน (ภาพที่ 7) และการเก็บยางแผ่นก่อนจำหน่ายขึ้นอยู่กับราคาในตลาดยาง ถ้าหากมีราคาสูงเกษตรกรจะเก็บยางไว้ไม่นาน แต่ถ้าหากราคาต่ำเกษตรกรจะเก็บยางแผ่นไว้เพื่อรอให้มีราคาสูงจึงจะจำหน่ายยางที่ผลิตได้

จากการตรวจวัดสภาวะแวดล้อม คือ ความชื้น ความเร็วลม และปริมาณจุลินทรีย์ในอากาศบริเวณที่ทำการตากยางหรือที่เก็บยางแผ่น (ภาพที่ 7) ของสถานที่เก็บตัวอย่างยางแผ่น แสดงผลดังตารางที่ 3 พบว่า ความชื้นสัมพัทธ์มีค่าตั้งแต่ 52.1% ถึง 83.2% ซึ่งส่วนใหญ่ความชื้นสัมพัทธ์ที่ตรวจวัดได้ค่อนข้างต่ำ เนื่องจากช่วงระยะเวลาในการเก็บตัวอย่างเป็นช่วงปลายฤดูฝน อากาศค่อนข้างแห้ง ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ยตลอดปีของภาคใต้คือ 79-80% และในฤดูฝนทางภาคใต้ฝั่งตะวันออกและภาคใต้ฝั่งตะวันตกมีความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ยที่ 79% และ 84% ตามลำดับ (ฝ่ายอากาศประจำถิ่น กองภูมิอากาศ กรมอุตุนิยมวิทยา, 2551) ในขณะที่ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ยในเดือนที่ได้ทำการเก็บตัวอย่างของจังหวัดพัทลุง จังหวัดสงขลา จังหวัดสุราษฎร์ธานี จังหวัดภูเก็ต และจังหวัดตรัง มีค่าเท่ากับ 77.8, 88.7, 85.9, 77.3 และ 77.8% ตามลำดับ (กรมอุตุนิยมวิทยา, 2551) เป็นค่าความชื้นสัมพัทธ์ที่สูงกว่าค่าที่ได้ตรวจวัดในวันที่ทำการเก็บตัวอย่างยางแผ่น อย่างไรก็ตามก็สังเกตเห็นว่ามีเชื้อราที่เจริญอยู่บนตัวอย่างยางแผ่นที่ได้เก็บมาอย่างชัดเจน (ภาพที่ 6)

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

ภาพที่ 6 ลักษณะการเจริญของเชื้อราบนตัวอย่างยางแผ่นที่ใช้ในการทดลอง

ภาพที่ 7 ลักษณะการเก็บยางแผ่นของเกษตรกร

A = ยางแผ่นที่เก็บในที่มิดชิด B = ยางแผ่นที่เก็บในที่มีลมโกรก

นอกจากนี้ยังพบว่ามีอุณหภูมิในระหว่างการเก็บตัวอย่างยางแผ่นอยู่ในช่วง 28-31°C (ตารางที่ 3) และอุณหภูมิเฉลี่ยของเดือนที่ได้ทำการเก็บตัวอย่างของจังหวัดพัทลุง จังหวัดสงขลา จังหวัดสุราษฎร์ธานี จังหวัดภูเก็ต และจังหวัดตรัง คือ 27.7, 26.0, 26.4, 27.0 และ 26.7°C (กรมอุตุนิยมวิทยา, 2551) ขณะเก็บตัวอย่างเป็นสภาพบรรยากาศที่ค่อนข้างแห้ง และสถานที่ทำการเก็บตัวอย่างมีความเร็วลมไม่มาก ไม่มีกระแสลมอย่างต่อเนื่อง ลมพัดเป็นช่วงเท่านั้น การเก็บยางแผ่นของชาวบ้านส่วนใหญ่มักจะเก็บยางไว้ภายในบ้านที่ค่อนข้างมิดชิด เช่น อำเภอตะกั่วป่า จังหวัดพังงา (TK), อำเภอตะกั่วทุ่ง

จังหวัดพังงา (TT), อำเภอท้ายเหมือง จังหวัดพังงา (TM), อำเภอนาโยง จังหวัดตรัง (NY) และ อำเภอป่าบอน จังหวัดพัทลุง (PB) เป็นต้น จึงทำให้กระแสลมค่อนข้างอ่อน และบางส่วนก็จัดเก็บยางในโรงเก็บยางเป็นสัดส่วนแยกจากตัวบ้านของเกษตรกร ซึ่งทำให้มีโอกาสสัมผัสกับลมได้มากกว่ายางที่เก็บในที่มิดชิด (ภาพที่ 7) ซึ่งจะทำให้มีโอกาสการสัมผัสสปอร์เชื้อรามีเพิ่มมากขึ้น แต่ในที่มิดชิดเองนั่นหากบริเวณที่เก็บยางมีความชื้นสูงก็จะทำให้การเจริญของเชื้อรามีมากเช่นกัน ทั้งนี้การเจริญของเชื้อราบนยางแผ่นมีปัจจัยหลายอย่างที่จัดการควบคุมได้ยาก อย่างเช่นโรงเก็บยางแผ่นมีการเลี้ยงสัตว์ควบคู่ไปด้วย หรือการเก็บภายในบ้านที่มีบ่อน้ำอยู่ภายในห้องเก็บยางซึ่งบริเวณนั้นก็มีการใช้น้ำและทำให้พื้นเปียก ซึ่งส่งผลให้ในบริเวณเก็บยางมีความชื้นสูง จึงทำให้เชื้อราเจริญบนยางแผ่นได้ดี

ตารางที่ 3 ความชื้นสัมพันธ์ ความเร็วลม และอุณหภูมิของสถานที่เก็บตัวอย่างยางแผ่นจากแหล่งต่างๆ

แหล่งที่เก็บตัวอย่าง	รหัส	ความชื้นสัมพัทธ์ (%RH)	ความเร็วลม (Km/h)	อุณหภูมิ (°C)	วันและเวลา
1. ต.โคกชะงาย จ. พัทลุง	KJ	77.0	0.3-5.0	28.2	9/1/49, 17.40 น.
2. อ.เมืองพังงา จ. พังงา	MP	53.9	0.0-5.0	31.6	27/1/49, 13.00 น.
3. อ. เมืองตรัง จ. ตรัง	MT	72.3	0.0-2.8	28.2	14/1/49, 10.30 น.
4. อ.นาโยง จ. ตรัง	NY	62.8	0.0-2.1	32.4	14/1/49, 14.00 น.
5. อ.ป่าบอน จ. พัทลุง	PB	63.4	0.0	31.2	14/12/48, 15.00น.
6. ต. แพรกหา จ. พัทลุง	PR	73.8	0.7-2.5	28.5	9/1/49, 17.00 น.
7. อ.หาดใหญ่ จ. สงขลา	SR	83.2	0.0-1.2	26.9	18/11/48, 16.00น.
8. อ.เมือง จ. สุราษฎร์ธานี	ST	65.6	0.0-0.3	28.5	15/11/48, 16.00น.
9. บ. สยามอินโด จำกัด จ. พัทลุง	TC	73	0.0-3.9	28.9	29/12/48, 11.20น.
10. อ. ตะกั่วป่า จ. พังงา	TK	73.1	0.0-2.1	29.1	26/1/49, 18.15 น.
11. อ. ถลาง จ. ภูเก็ต	TL	52.1	0.0-1.4	32.7	27/1/49, 16.00 น.
12. อ.ท้ายเหมือง จ. พังงา	TM	68.3	0.3-1.4	27.5	27/1/49, 11.00 น.
13. อ. ตะกั่วทุ่ง จ. พังงา	TT	60.2	0.0-1.4	30.6	27/1/49, 12.50 น.

2. การวิเคราะห์คุณสมบัติและองค์ประกอบทางเคมีของยางแผ่น

2.1 ความชื้น

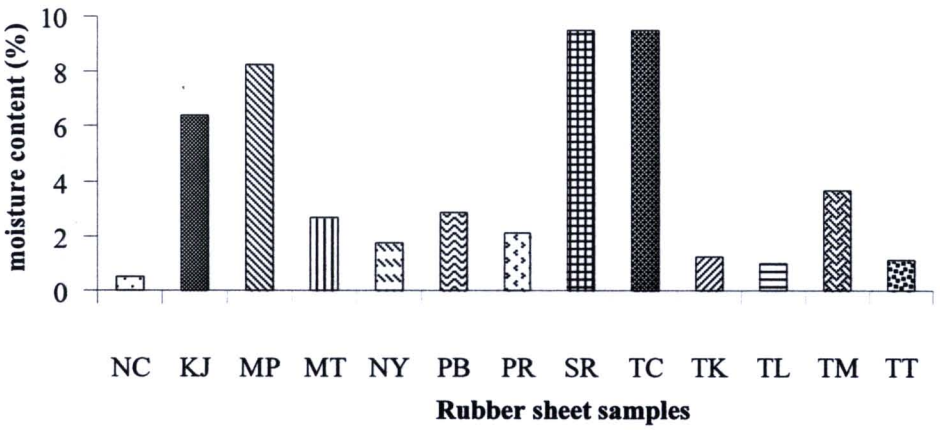
จากตัวอย่างยางแผ่นที่นำมาวิเคราะห์หาความชื้น พบว่ายางแผ่นที่มีการเจริญของเชื้อราจากแหล่งต่างๆ มีปริมาณความชื้นอยู่ในช่วงตั้งแต่ 1.0% ถึง 9.5% (ภาพที่ 8) ซึ่งมีค่าสูงกว่ายางแผ่นที่ไม่มีราเจริญที่เป็นยางแผ่นแห้งที่มีความชื้นเพียง 0.52% ส่วนยางแผ่นดิบที่ยังไม่แห้งสนิท (ตากไม่ถึง 1 วัน) มีความชื้นอยู่ที่ 18.52% จากค่าความชื้นที่วิเคราะห์ได้จากตัวอย่างยางแผ่น จะเห็นได้ว่าเชื้อราสามารถเจริญได้บนยางแผ่นที่มีความชื้นอยู่ในช่วงกว้าง

โดยทั่วไปเชื้อราสามารถเจริญบนเมล็ดพืชที่เก็บไว้และมีความชื้นประมาณ 13.5% (Fronzolin, *et al,* 1999) โดยที่ Abdullah และคณะ (2000) รายงานว่า ธัญพืชที่มีค่าน้ำอิสระ (a_w) 0.65โดยเก็บไว้อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65-98% ไม่พบการเจริญของเชื้อราในเวลา 2 เดือน ในส่วนของงานวิจัยของ Wicklow และคณะ (1998) ได้ศึกษาการเจริญของเชื้อราบนเมล็ดข้าวโพดภายใต้อุณหภูมิและความชื้นต่างๆ ก็พบว่าเมล็ดข้าวโพดที่มีความชื้นหลากหลายและมีค่าอยู่ระหว่าง 9.4 - 17.5% เก็บไว้เป็นเวลา 348-751 วัน พบว่ามีการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus, Fusarium* และ *Penillium* โดยที่ Block (1953 อ้างโดย Chang, *et al.*, 1995) รายงานว่าความชื้นต่ำสุดที่เชื้อราเจริญบนวัสดุพวกไม้สำลี และเนยแข็ง คือ ความชื้น 10% แต่ยางแผ่นมีความชื้นเพียง 1.0 - 9.5% เท่านั้นเชื้อราก็ยังสามารถเจริญเติบโตได้ ซึ่งสอดคล้องกับ Chang และคณะ (1995) ที่ได้ศึกษาถึงความชื้นของฝ้าติดเพดาน พบว่ามีความชื้น 2.2 - 5.8% ก็มีการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus* และ *Penillium* บนฝ้าเพดานได้ ดังนั้นวัตถุที่แม้จะมีความชื้นต่ำ เชื้อราก็ยังมีความสามารถเจริญบนวัตถุดิบนั้นได้ แต่ถ้าหากยางแผ่นแห้งและมีความชื้นต่ำถึง 0.52% จะไม่พบการเจริญของเชื้อราบนยางแผ่น ซึ่งงานวิจัยของ Pasanen และคณะ (2000) ได้รายงานว่าความชื้น 0.6% เป็นความชื้นที่ปลอดภัยจากความเสี่ยงที่จะมีการเจริญของเชื้อราบนวัสดุก่อสร้างพวกยิบซัม อย่างไรก็ตามปัจจัยแวดล้อมภายนอกอื่นๆ ก็มีผลต่อการเจริญของเชื้อราด้วย โดยเฉพาะอย่างยิ่งความชื้นสัมพัทธ์ในบรรยากาศ ซึ่งพื้นที่ในภาคใต้จะมีความชื้นสัมพัทธ์สูงเกือบตลอดปี

2.2 องค์ประกอบทางเคมี

ยางแผ่นที่มีการปนเปื้อนของเชื้อราเมื่อนำมาวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีได้แก่ ปริมาณโปรตีน น้ำตาลทั้งหมดและน้ำตาลรีดิวซ์ (ภาพที่ 9) พบว่ายางแผ่นมีปริมาณโปรตีนอยู่ในช่วง 0.032-1.225 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำตาลทั้งหมด 0.127-1.130 มิลลิกรัมต่อกรัม และ น้ำตาลรีดิวซ์อยู่ในช่วง 0.015-0.175 มิลลิกรัมต่อกรัม ยางแผ่นที่มีโปรตีนและน้ำตาลทั้งหมด ที่มีค่าสูงที่สุดคือ ตัวอย่างที่เก็บ

จากตำบลแพรกหา จังหวัดพัทลุง (PR) โดยพบโปรตีนและน้ำตาลในปริมาณ 1.225±0.018 มิลลิกรัมต่อกรัม และ 1.130±0.109 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ ยางแผ่นจากอำเภอนาโยงจังหวัดตรัง (NY) มีโปรตีนต่ำสุด (0.032±0.006 มิลลิกรัมต่อกรัม) ยางแผ่นจากอำเภอเมือง จังหวัดพังงา (MP) มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดต่ำสุดคือ 0.127 ± 0.046 มิลลิกรัมต่อกรัม และยางแผ่นจากตำบลโคกชะงาย จังหวัดพัทลุง (KJ) มีน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดที่ 0.175±0.008 มิลลิกรัมต่อกรัม



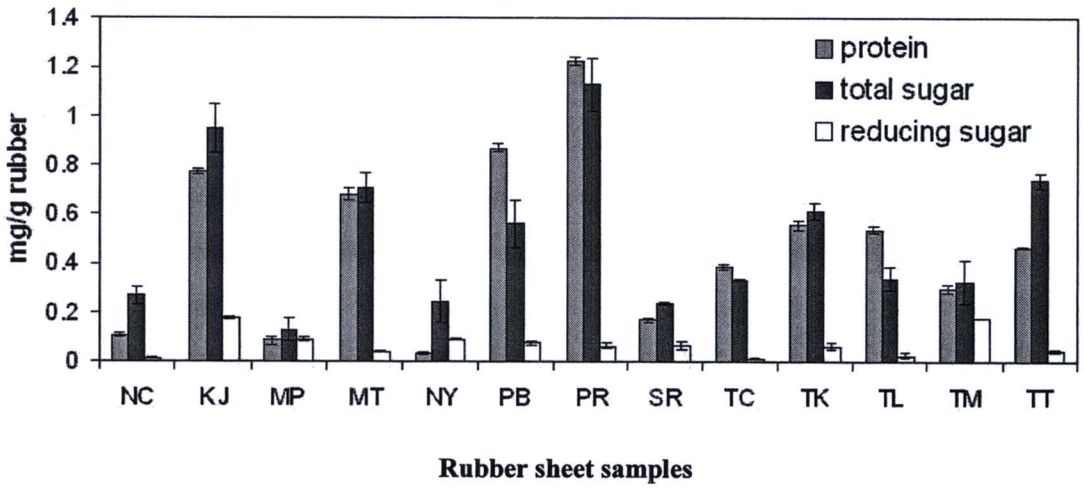
ภาพที่ 8 ปริมาณความชื้นของตัวอย่างยางแผ่นจากแหล่งต่าง ๆ

(NC) ยางแผ่นที่ไม่มีการปนเปื้อน
(KJ) ต.โคกชะงาย จ.พัทลุง
(MP) อ.เมืองพังงา จ.พังงา
(MT) อ.เมืองตรัง จ.ตรัง
(NY) อ.นาโยง จ.ตรัง
(PB) อ.ป่าบอน จ.พัทลุง
(PR) ต.แพรกหา จ.พัทลุง
(SR) หาดใหญ่ จ.สงขลา
(TC) บ.สยามอินโด จำกัด จ.พัทลุง
(TK) อ.ตะกั่วป่า จ.พังงา
(TL) อ.ถลาง จ.ภูเก็ต
(TM) อ.ท้ายเหมือง จ.พังงา และ
(TT) อ.ตะกั่วทุ่ง จ.พังงา

ดังจะเห็นว่าในการวิเคราะห์โปรตีนที่พบในยางแผ่นมีปริมาณอยู่ในช่วงใกล้เคียงกับการทดลองของ Yip และคณะ (1997 อ้างโดย ศรัญญา ตุกชูแสง (2548) ที่ได้วิเคราะห์โปรตีนในถุงมือยาง ซึ่งอยู่ในช่วง 0.02 - 1.290 มิลลิกรัมต่อกรัม แต่ศรัญญา ตุกชูแสง (2548) พบโปรตีนในถุงมือยางในช่วง 0.478 - 0.931 มิลลิกรัมต่อกรัม นุชนาฏ ณ ระนอง (2541) พบโปรตีน 0.220-1.620 มิลลิกรัมต่อกรัม ขณะที่ Alenius และคณะ (1994) พบโปรตีนในถุงมือยางอยู่ระหว่าง 0.003-0.337 มิลลิกรัมต่อกรัม

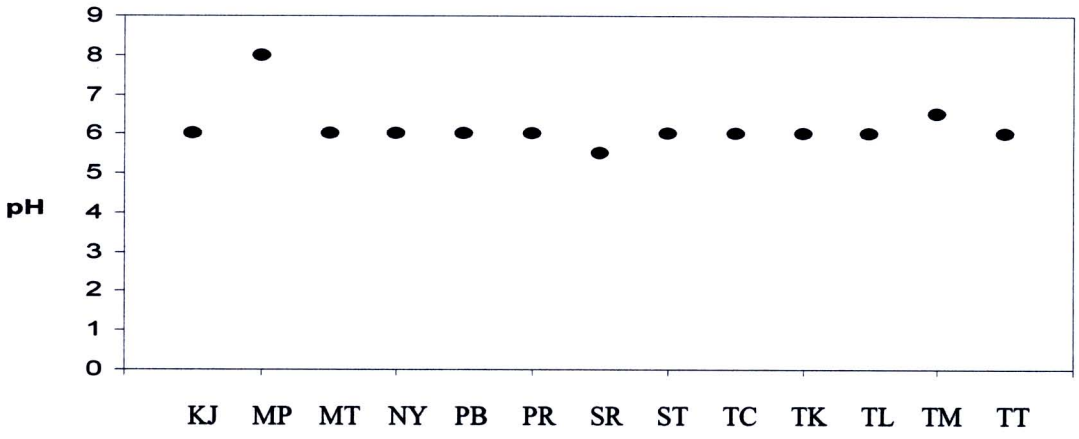
จากค่าโปรตีนของผลิตภัณฑ์ถุงมือที่ทำจากยางพาราจากงานวิจัยก่อนนี้ตรวจวัดได้ค่าที่ต่ำกว่าค่าปริมาณโปรตีนในการทดลองนี้ อาจเป็นเพราะถุงมือยางได้ผ่านกรรมวิธีในการกระบวนการผลิตเป็นถุงมือยาง จึงอาจมีผลทำให้โปรตีนสูญสลายไประหว่างการผลิตได้ เนื่องจากในกระบวนการผลิตถุงมือยางมีการเติมสารเคมีต่างๆ นอกจากนี้ยังมีการให้ความร้อน มีการล้าง (washing) การชะล้าง (leaching) และกระบวนการอบแห้ง (พรรณะ เตียงพานิช และคณะ, 2545; Huber and Terezhalmy, 2006) และในการกำจัดปริมาณโปรตีนจากยางพาราเพื่อการทำถุงมือนั้นมีความจำเป็นมากเพื่อการป้องกันการทำให้เกิดการแพ้โปรตีนจากถุงมือยางอีกด้วย

การเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา พบว่าอัตราส่วนของ C:N มีความสำคัญมากกว่าความเข้มข้นของคาร์บอน ซึ่ง *Paecilomyces liaciunus* มีมวลชีวภาพในอาหารที่มี C:N ที่ 10:1 – 40:1 มากกว่า ที่ C:N 80:1 และ 100:1 (Geo, *et al.*, 2007) สำหรับการหาองค์ประกอบทางเคมีในการทดลองนี้ พบว่ายางแผ่นมีปริมาณโปรตีนต่ำกว่าปริมาณน้ำตาล แต่ในบางตัวอย่างก็พบว่ามีปริมาณของโปรตีนสูงกว่าน้ำตาล อาจเป็นเพราะมีโปรตีนของเชื้อราที่เจริญอยู่บนยางแผ่นปะปนอยู่ด้วย นอกจากนี้ปัจจัยที่น่าจะส่งผลต่อปริมาณของโปรตีนและน้ำตาลทั้งหมด คือ องค์ประกอบของพันธุ์ยางที่ต่างกัน ทำให้องค์ประกอบทางชีวเคมีแตกต่างกันด้วย (นภาวรรณ เลขะวิพัฒน์ และคณะ, 2008) นอกจากนี้แหล่งที่ทำการปลูกต้นยางที่ต่างกัน การดูแลบำรุงต้นยางแต่และแห่งอาจจะไม่เหมือนกัน ก็อาจจะมีผลทำให้โปรตีน น้ำตาลทั้งหมด มีความแปรผันไปด้วย



ภาพที่ 9 ปริมาณโปรตีน น้ำตาลทั้งหมด และ น้ำตาลรีดิวซ์ ของยางแผ่นจากแหล่งต่าง ๆ

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย



ภาพที่ 10 ค่าพีเอชของตัวอย่างยางแผ่นจากแหล่งต่าง ๆ

(NC) ยางแผ่นที่ไม่มีการปนเปื้อน
(KJ) ต.โคกชะงาย จ.พัทลุง
(MP) อ.เมืองพังงา จ.พังงา
(MT) อ.เมืองตรัง จ.ตรัง
(NY) อ.นาโยง จ.ตรัง
(PB) อ.ป่าบอน จ.พัทลุง
(PR) ต.แพรกหา จ.พัทลุง
(SR) อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา
(TC) บ.สยามอินโด จำกัด จ.พัทลุง
(TK) อ.ตะกั่วป่า จ.พังงา
(TL) อ.ถลาง จ.ภูเก็ต
(TM) อ.ท้ายเหมือง จ.พังงา
(TT) อ.ตะกั่วทุ่ง จ.พังงา

2.3 ค่าพีเอช (pH)

สำหรับค่าพีเอชที่ได้จากการวิเคราะห์ตัวอย่างยางแผ่นที่สุ่มเก็บมา พบว่า ยางแผ่นที่มีเชื้อราเจริญมีค่าพีเอชอยู่ระหว่าง 6-8 แต่ยางแผ่นโดยทั่วไป (มากกว่า 90% ของตัวอย่าง) มีค่าพีเอชเท่ากับ 6 (ภาพที่ 10) เมื่อเปรียบเทียบกับยางแผ่นที่ไม่มีการเจริญของเชื้อรา (NC) ซึ่งมีค่าพีเอช 5.5 ในขณะที่ยางแผ่นที่มีเชื้อราเจริญมากและมีสีน้ำตาลเข้มและยางเริ่มมีลักษณะเยิ้มมีค่าพีเอช 8 ซึ่งเป็นค่าที่ค่อนไปทางเบส อาจเป็นเพราะยางแผ่นมีอายุในการเก็บเป็นเวลานานที่อุณหภูมิห้องและมีสภาพที่ค่อนข้างอับชื้นทำให้มีการเจริญของเชื้อราเป็นจำนวนมาก แต่โดยเฉลี่ยแล้วยางแผ่นที่มีเชื้อราเจริญอยู่มากมีค่าพีเอช 6.5 ซึ่งค่าที่ได้เป็นค่าพีเอชที่สอดคล้องกันกับค่าพีเอช 6.5-6.8 ซึ่งเป็นช่วงการเจริญที่ดีที่สุดของเชื้อราในกลุ่ม xerophiles (Beuchat and Hocking,1990 อ้างโดย Guynot, *et al.*, 2002) นอกจากนี้ Lian และคณะ (2008) รายงานว่าช่วงของค่าพีเอชที่เชื้อราสามารถเจริญได้ดี โดยปกติอยู่ระหว่าง พีเอช 5-6 และ *Aspergillus fumigatus* จะเจริญได้อย่างรวดเร็วที่ค่าพีเอชอยู่ในช่วงพีเอช 6 ซึ่งพบว่าเชื้อราที่เจริญบนยาง

แผ่นส่วนใหญ่เจริญบนยางแผ่นที่มีค่าพีเอช 6 ซึ่งเป็นค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา (Harold, *et al.*, 1994)

3. การศึกษาชนิดของเชื้อราบนยางแผ่นและจากบริเวณที่ตากหรือเก็บยางแผ่น

จากการนับจำนวนเชื้อราจากตัวอย่างยางแผ่นทั้ง 13 แห่งในภาคใต้ พบว่า ปริมาณของเชื้อราที่พบบนยางแผ่นมีค่าอยู่ในช่วง $5x10^4$ - $9.05x10^6$ โคโลนี/กรัม โดยมีค่าเฉลี่ย $1.86x10^6$ โคโลนี/กรัม (ภาพที่ 11) ซึ่งตัวอย่างยางแผ่นที่มีปริมาณเชื้อรามากที่สุดได้จากอำเภอเมือง จังหวัดตรัง (MT) พบในปริมาณ $9.05x10^6$ โคโลนี/กรัม รองลงมาได้แก่ ตัวอย่างยางแผ่นจากอำเภอเมือง จังหวัดพังงา (MP) พบเชื้อรา $4.95x10^6$ โคโลนี/กรัม ในขณะเดียวกันยางแผ่นที่มีปริมาณเชื้อราน้อยที่สุดได้จาก อำเภอนาโยง (NY) ซึ่งอยู่ในจังหวัดตรังเช่นเดียวกัน โดยพบในปริมาณ $5x10^4$ โคโลนี/กรัม

ในขั้นตอนการแยกเชื้อรา เพื่อจัดจำแนกเชื้อรา ถ้าเป็นตัวอย่างเชื้อราที่แยกจากยางแผ่นแหล่งเดียวกันที่มีลักษณะโคโลนีและมีสีเหมือนกันจะจัดเป็นเชื้อราชนิดเดียวกัน ยกเว้นเมื่อเป็นเชื้อราที่แยกได้จากตัวอย่างแหล่งอื่น (ภาพที่12-13) พบว่ามีจำนวนของเชื้อราทั้งหมดที่แยกได้ 150 ไอโซเลต โดยพบว่ายางแผ่นปนเปื้อนเชื้อราจากบริษัทสยามอินโด จำกัด จังหวัดพัทลุง (TC) มีจำนวนไอโซเลตของเชื้อราที่แยกได้มากที่สุด 18.7% (ตารางที่ 4) แต่มีปริมาณของเชื้อที่ปนเปื้อนในตัวอย่างปานกลาง ($1.51x10^6$ โคโลนี/กรัม) ส่วนตัวอย่างยางแผ่นจากอำเภอเมือง จังหวัดตรัง (MT) ซึ่งพบว่ามีปริมาณเชื้อรามากที่สุด แต่มีจำนวนชนิดของเชื้อราที่แยกได้เพียง 9.3% ของเชื้อทั้งหมด

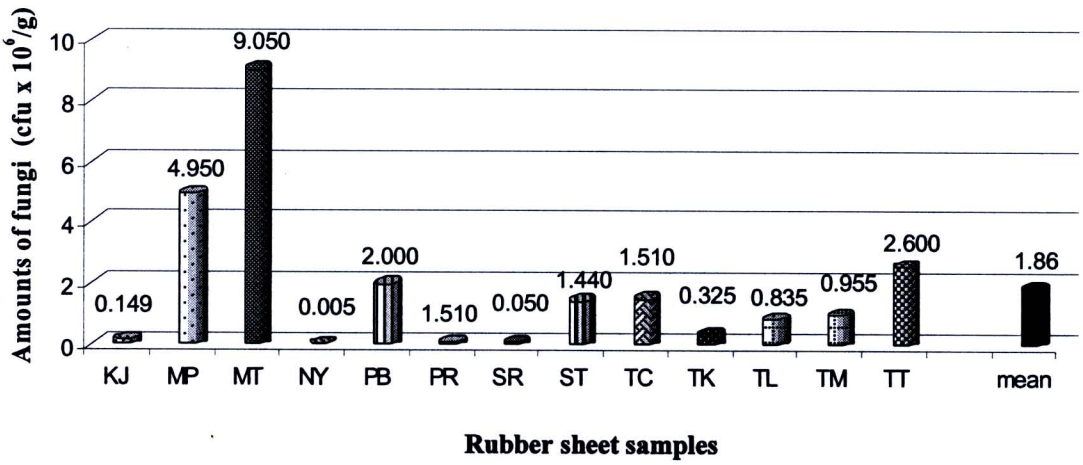
เมื่อพิจารณาความหลากหลายของเชื้อราโดยการใช้จำนวนไอโซเลตที่แยกได้เป็นตัวเปรียบเทียบ จะเห็นว่าตัวอย่างยางแผ่นจากบริษัทสยามอินโด จำกัด จังหวัดพัทลุง (TC) มีความหลากหลายของเชื้อมากที่สุด โดยที่ตัวอย่างยางแผ่นที่แยกจากอำเภอเมืองตรัง จังหวัดตรัง (MT) ที่เป็นสถานที่ที่พบปริมาณเชื้อมากที่สุด แต่กลับพบจำนวนไอโซเลตน้อยกว่าที่บริษัทสยามอินโด จำกัด จังหวัดพัทลุง (TC) ถึง 2 เท่า สำหรับตัวอย่างยางแผ่นจากอำเภอเมือง จังหวัดพังงา (MP) และ ตำบลโคกชะงาย อำเภอมือง จังหวัดพัทลุง (KJ) พบเพียง 4% แต่ยางแผ่นจากอำเภอเมือง จังหวัดพังงา (MP) มีจำนวนเชื้อ $4.95x10^6$ โคโลนี/กรัม ซึ่งเป็นสถานที่มีจำนวนเชื้อมากเป็นอันดับที่สอง (จากการแยกทั้งหมด 13 แหล่ง) แต่กลับมีจำนวนไอโซเลตเพียง 6 ไอโซเลต (4%) เท่านั้น (ตารางที่ 4)

ดังนั้นที่ อำเภอเมือง จังหวัดพังงา (MP) จึงมีความหลากหลายของเชื้อราที่น้อยมาก ซึ่งอาจเป็นผลเนื่องจากลักษณะของยางแผ่นที่มีค่าของพีเอชสูง (พีเอชเท่ากับ 8) มากกว่าพีเอชของยางแผ่นจากสถานที่อื่น (พีเอชเท่ากับ 6) และยังมีปริมาณของโปรตีนและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ต่ำที่สุดด้วย จึง

น่าจะเป็นปัจจัยที่ทำให้เกิดสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อราได้น้อยชนิดลง แต่ก็ยังคงมีจำนวนเชื้อราในปริมาณมาก

ตารางที่ 4 จำนวนชนิดเชื้อราที่แยกได้จากตัวอย่างยางแผ่นและอากาศจากแหล่งต่างๆ ที่เก็บตัวอย่าง

แหล่งที่เก็บตัวอย่าง	รหัส	จำนวนชนิดของเชื้อราที่แยกได้			
		ยางแผ่น		อากาศ	
		ชนิด	%	ชนิด	%.
1. ต.โคกชะงาย จ. พัทลุง	KJ	6	4	8	9.9
2. อ.เมืองพังงา จ. พังงา	MP	6	4	8	9.9
3. อ. เมืองตรัง จ. ตรัง	MT	14	9.3	3	3.7
4. อ.นาโยง จ. ตรัง	NY	7	4.7	3	3.7
5. อ.ป่าบอน จ. พัทลุง	PB	9	6	10	12.3
6. ต. แพรกหา จ. พัทลุง	PR	9	6	7	8.6
7. อ.หาดใหญ่ จ. สงขลา	SR	21	14	6	7.4
8. อ.เมือง จ. สุราษฎร์ธานี	ST	15	10	6	7.4
9. บ. สยามอินโด จำกัด จ. พัทลุง	TC	28	18.7	6	7.4
10.อ. ตะกั่วป่า จ. พังงา	TK	7	4.7	9	11.1
11.อ. ถลาง จ. ภูเก็ต	TL	9	6	5	6.2
12.อ.ท้ายเหมือง จ. พังงา	TM	8	5.3	5	6.2
13.อ. ตะกั่วทุ่ง จ. พังงา	TT	11	7.3	5	6.2
	รวม	150	100	81	100



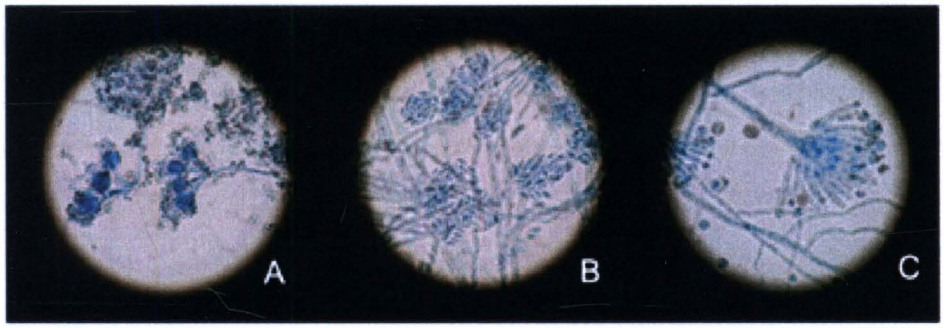
ภาพที่ 11 ปริมาณเชื้อราจากตัวอย่างยางแผ่นจากแหล่งต่าง ๆ

(KJ) ต.โคกชะงาย จ.พัทลุง
(MP) อ.เมืองพังงา จ.พังงา
(MT) อ.เมืองตรัง จ.ตรัง
(NY) อ.นาโยง จ.ตรัง
(PB) อ.ป่าบอน จ.พัทลุง
(PR) ต.แพรกหา จ.พัทลุง
(SR) อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา
(TC) บ.สยามอินโด จำกัด จ.พัทลุง
(TK) อ.ตะกั่วป่า จ.พังงา
(TL) อ.ถลาง จ.ภูเก็ต
(TM) อ.ท้ายเหมือง จ.พังงา
(TT) อ.ตะกั่วทุ่ง จ.พังงา
(mean) ปริมาณเฉลี่ยของเชื้อรา

ภาพที่ 12 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่แยกได้จากยางแผ่นที่ปนเปื้อนเชื้อรา

(TL3, TC413, MT06, TC209, NY05, SR9, NY03 = *Aspergillus* spp.), (TC212 = *Tritirachium* sp.), (SR2, TK3, MT05, TT03 = *Fusarium* sp.), (KJ1, TL01, PR02 = *Penicillium* sp.), (KJ4 = *Trichoderma* sp.), (SR12, MT_4 = *Rhizopus* spp.), (SR13 = *Mucor himalis*), (MT_3 = *Geotrichum* sp.), (TT013, PR05 = *Cladosporium* spp.) และ (TC127, NY10 = Unidentified)

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย



ภาพที่ 13 ลักษณะจุลสัณฐานภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของเชื้อราที่พบได้บ่อยบนยางแผ่น (400X)

(A) *Penicillium* sp. (B) *Fusarium* sp. และ (C) *Aspergillus* sp.

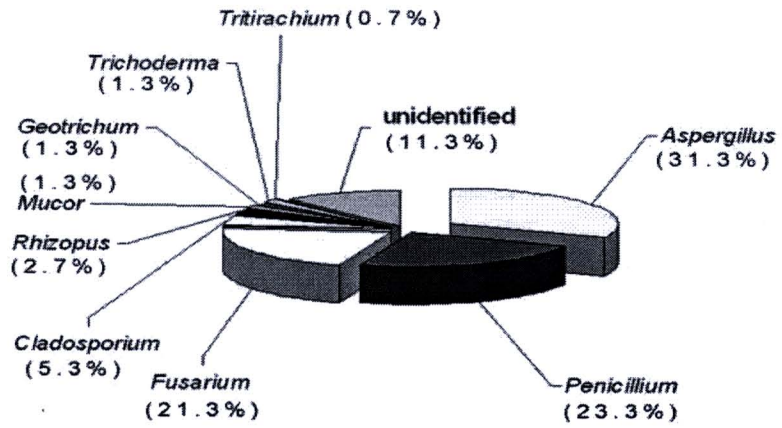
ปริมาณเชื้อราที่แยกได้จากยางแผ่น พบว่ามีมากกว่าปริมาณเชื้อราที่มีในรายงานที่แยกได้ จากเมล็ดข้าวโพด ($1.3x10^6$ โคโลนี/กรัม) ที่มีการบ่มไว้ที่ 30 องศาเซลเซียส ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 85% จำนวน 30 วัน (Franzolin, *et al.*, 1999) ซึ่งจะเห็นว่าการที่เชื้อราเจริญได้ดีบนยางแผ่นมีความชื้นในช่วง 1.0-9.5% ซึ่งเป็นค่าความชื้นที่ต่ำกว่า 13.5% ที่พบในกลุ่มของเมล็ดพันธุ์ธัญพืช และในเมล็ดข้าวโพด แสดงว่าในยางแผ่นน่าจะมีสารอาหารที่เหมาะกับการเจริญบนเชื้อรามากกว่าด้วย นอกจากนี้อาจจะเป็นไปได้ว่ายางแผ่นส่วนใหญ่ที่ชาวบ้านผลิตนั้นมีขนาดใหญ่และมีผิวหน้าเป็นร่องทำให้สปอร์ของเชื้อราเกาะและฝังตัวอยู่ได้ง่ายกว่าเมล็ดข้าวโพดที่มีขนาดเล็กกว่ามากและมีผิวเรียบลื่น นอกจากนี้ Somasheker *et al.* (2004) รายงานว่าพบเชื้อราในช่วงปริมาณ 0.3-2.6 x 10^3 โคโลนี/กรัม ในธัญพืชพวกข้าวโพด ข้าวฟ่าง ถั่วลิสง

ชนิดของเชื้อราที่แยกได้จากอากาศในบริเวณที่ตากยางแผ่นมีทั้งหมด 81 ไอโซเลต (ตารางที่ 4) โดยสถานที่ที่พบชนิดของเชื้อราในอากาศมากที่สุดคือ อำเภอป่าบอน จังหวัดพัทลุง (PB) มีเชื้อรา 10 ไอโซเลต และสถานที่ที่พบชนิดของเชื้อราน้อยที่สุดคือ อำเภอเมืองตรัง จังหวัดตรัง (MT) และ อำเภอนาโยง จังหวัดตรัง (NY) พบ 3 ไอโซเลต จะเห็นว่าชนิดของเชื้อราในอากาศ พบในปริมาณที่ไม่มากนัก หากเปรียบเทียบกับกระแสลมในตารางที่ 3 จะพบว่าแต่ละสถานที่จะมีความเร็วลมต่ำ ดังนั้นการกระจายของสปอร์ในอากาศจึงน้อยลง การตรวจชนิดเชื้อราในอากาศก็พบว่าเป็นเชื้อรากลุ่มเดียวกันกับที่พบในยางแผ่น (ภาพที่ 14-15)

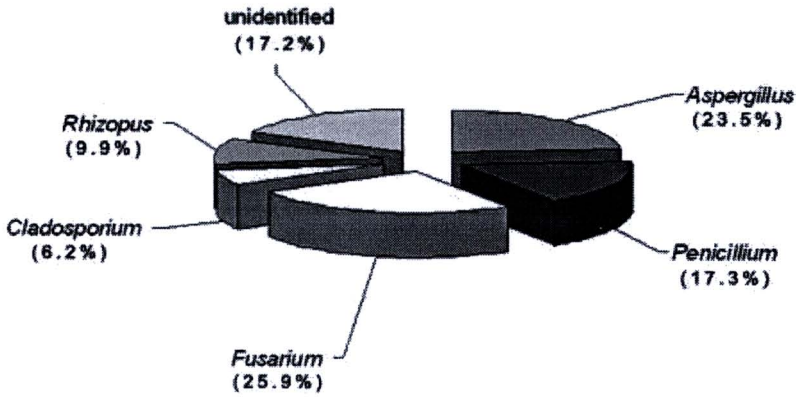
เมื่อนำเชื้อราที่แยกได้จากยางแผ่น 150 ไอโซเลท มาจัดจำแนก โดยพิจารณาลักษณะทางสัญฐานวิทยา และการสร้างสปอร์ พบว่าเป็นเชื้อรา 9 จีนัส โดยเชื้อราที่แยกได้มีลักษณะการเจริญในอาหาร PDA ดังแสดงในภาพที่ 12 โดยมีการกระจายตัวดังแสดงในภาพที่ 14 เชื้อราที่พบมากคือ *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. และ *Fusarium* spp. (ภาพที่ 13) และเชื้อราที่พบน้อยคือ *Cladosporium* spp.,

Rhizopus sp., *Mucor* sp., *Geotrichum* sp., *Trichoderma* sp. และ *Tritirachium* sp. นอกจากนี้ยังมีเชื้อรา ที่ไม่สร้างสปอร์ทำให้ไม่สามารถจำแนกชนิดได้ 11.3% สำหรับเชื้อราที่แยกได้จากอากาศ 81 ไอโซเลต จัดอยู่ใน 5 จีนัส ดังแสดงในภาพที่ 15 พบว่ามี *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., และ *Penicillium* spp. ในปริมาณมาก และมี *Rhizopus* sp. และ *Cladosporium* อยู่น้อย ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณเชื้อราที่พบในตัวอย่างยางแผ่น

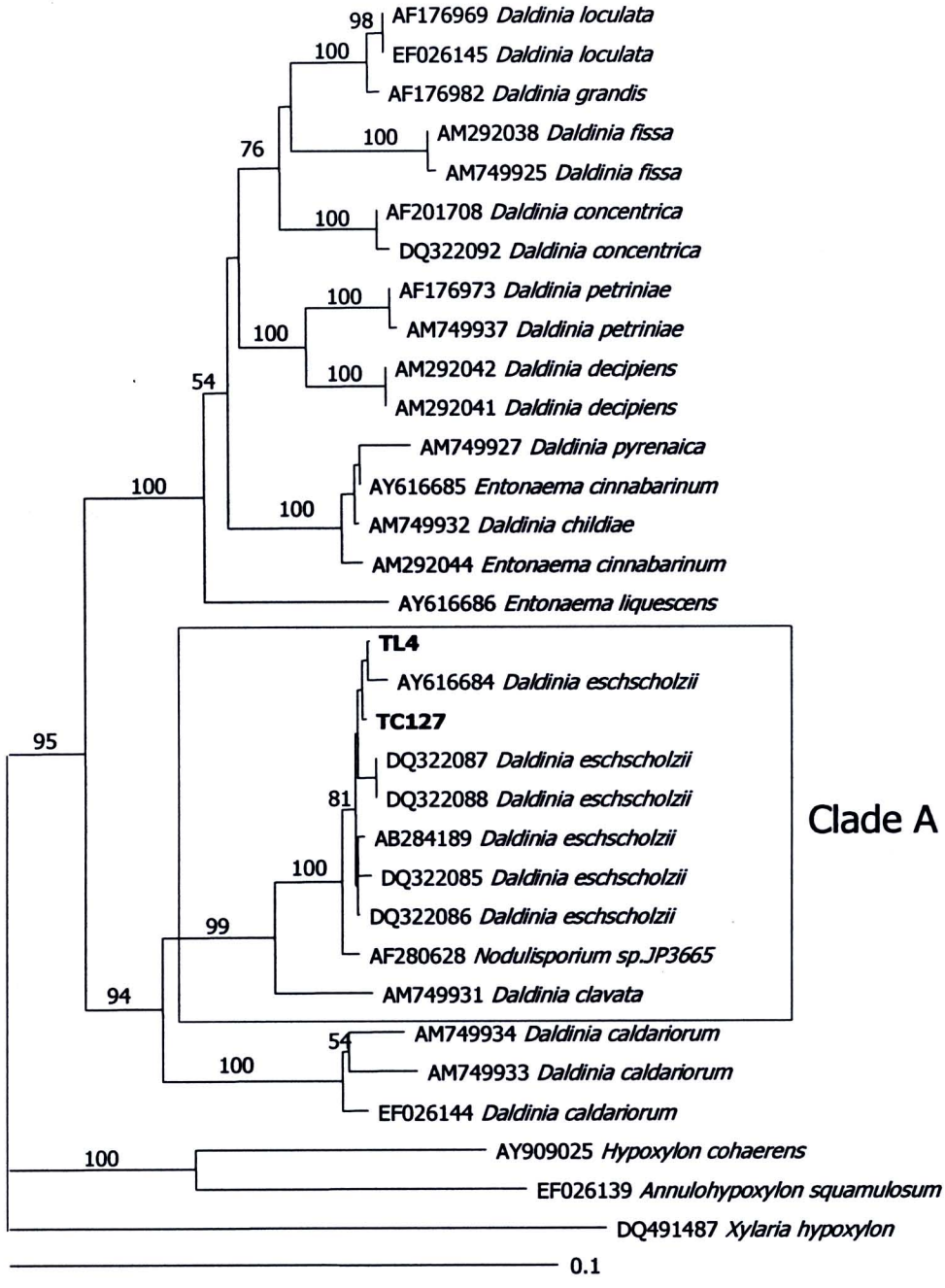
ในส่วนของเชื้อราที่ไม่สร้างสปอร์ คือเชื้อราไอโซเลต TL4, TC127 และ NY10 ทำให้ไม่สามารถจำแนกชนิดได้ จึงได้ส่งตัวอย่างเชื้อราเพื่อหาลำดับเบส ณ หน่วยบริการชีวภาพ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ เพื่อจำแนกโดยวิธีทางชีววิทยาโมเลกุล พบว่าเชื้อรา TL4 และ TC127 มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับเชื้อ *Daldinia eschscholzii* มี % sequence identity อยู่ที่ 100-99.5% (Clade A) (ภาพที่ 16) และเชื้อรา NY10 มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับเชื้อ Unidentified Basidiomycetes และ *Schizophyllum commune* อีกทั้งผลจาก Phylogenetic tree จาก branch length ที่สั้น โดยมี % sequence identity อยู่ที่ 99.6-99.2 % (Clade A) (ภาพที่ 17)



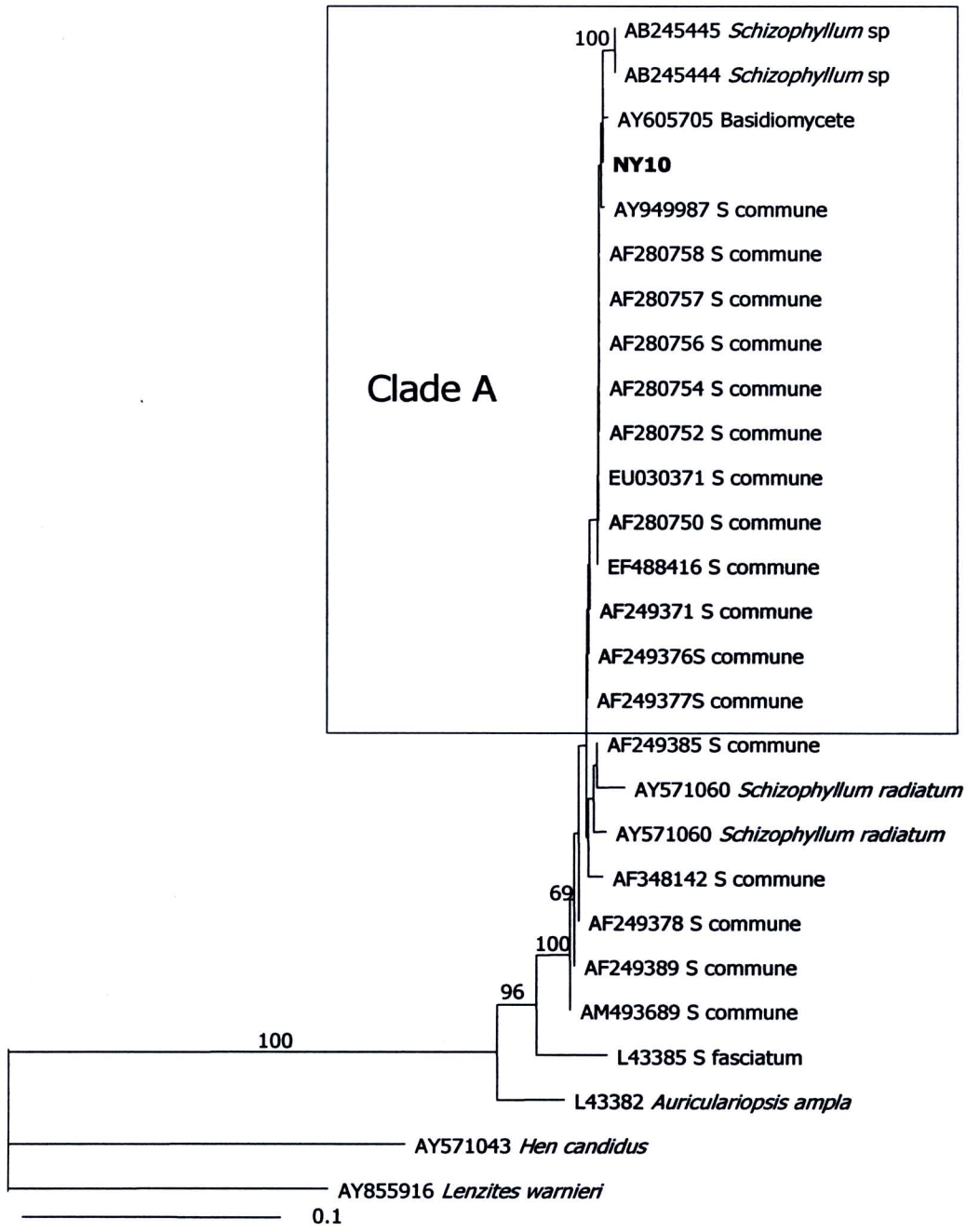
ภาพที่ 14 ชนิดของเชื้อรา (150 ไอโซเลต) ที่แยกได้จากยางแผ่นที่ปนเปื้อน



ภาพที่ 15 ชนิดของเชื้อรา (81 ไอโซเลต) ที่แยกได้จากอากาศจากแหล่งที่เก็บตัวอย่างยางแผ่น



ภาพที่ 16 แผนภูมิกิ่งไม้ของเชื้อราที่ไม่สร้างสปอร์ : *Daldinia eschscholzii* (TL4 และ TC127)



ภาพที่ 17 แผนภูมิกิ่งไม้ของเชื้อราที่ไม่สร้างสปอร์ : *Schizophyllum commune* (NY10)

จากเชื้อรา 150 ไอโซเลตนั้น ได้ทำการเลือกมา 27 ไอโซเลต (*Aspergillus* spp. 10 ไอโซเลต, *Penicillum* spp. 6 ไอโซเลต, *Fusarium* spp. 4 ไอโซเลต, *Cladosporium* spp. 3 ไอโซเลต, *Rhizopus* spp. 2 ไอโซเลต, *Mucor* sp. 1 ไอโซเลต และ *Geotrichum* sp. 1 ไอโซเลต) จากแต่ละแหล่งโดยที่เป็นเชื้อที่มีลักษณะที่เหมือนกันกับเชื้อที่แยกได้จากแหล่งอื่น และมีการพบมากกว่า 1 แหล่ง เพื่อทำการศึกษาในขั้นตอนการทดสอบกับสารยับยั้งเชื้อราในขั้นต่อไป ซึ่งเชื้อทั้ง 27 ไอโซเลตนี้ มีลักษณะทางสัณฐานของโคโลนี ดังแสดงในตารางที่ 5

จากการทดลองนี้พบว่าเชื้อราที่แยกได้เป็นเชื้อราที่พบได้บ่อยในสภาพแวดล้อมทั่วไปและยังจัดเป็นกลุ่มของเชื้อ xerophilic fungi ซึ่งเป็นเชื้อราที่สามารถเจริญได้บนวัตถุที่มีความชื้นไม่สูงมากนักและมีค่าน้ำอิสระต่ำ (Gock *et al.*, 1997) และยางแผ่นที่มีค่าพีเอชเฉลี่ยที่ 6.5 ซึ่งเป็นค่าพีเอชที่เชื้อราในกลุ่มนี้สามารถเจริญได้ดี

Abellana และคณะ (1997 อ้างโดย Guynot และคณะ (2001) ยังกล่าวว่า *Aspergillus* และ *Penicillium* เป็นเชื้อราที่พบมากโดยทั่วไปและเป็นเชื้อราที่สำคัญที่ทำให้ผลิตภัณฑ์ขนมอบเกิดความเสียหาย เชื้อราเหล่านี้ก็เป็นเชื้อราในจีนัสเดียวกันกับเชื้อราที่แยกได้จากยางแผ่นในการศึกษาครั้งนี้ โดยพบเชื้อรา *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. และ *Fusarium* spp. เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งLinos และ Steinbüche (2001) ได้รายงานไว้ว่า *Aspergillus, Fusarium, Penicillium* และ *Trichoderma* เป็นเชื้อที่สามารถเจริญบนยางแผ่นและทำให้แผ่นยางธรรมชาติเกิดความเสียหาย นอกจากนี้ Borel *et al.* (1982) ได้ ศึกษาการย่อยสลายยางธรรมชาติโดยตรวจวัดปริมาณน้ำหนักของโพลีไอโซพรีนที่ลดลงเนื่องจากการใช้เป็นแหล่งคาร์บอนของเชื้อรา *Fusarium* และ *Cladosporium* และ Kalinenko (1938 อ้างโดย Rook (1955) รายงานว่า *Aspergillus oryzae* และ *Penicillium* สามารถใช้ยางเป็นแหล่งอาหารในการเจริญได้

งานวิจัยของ Khosravi และคณะ (2008) รายงานว่าพบ *Aspergillus* 56%, *Mucor* 17%, *Penicillium* 15%, *Fusarium* 6%, *Cladosporium* 2% โดยแยกจาก barely, corn seed, dried bread, bran, straw, hay, cotton meal และ mixed feed นอกจากนี้ Somasheker *et al.* (2004) ได้แยกเชื้อราจากข้าวโพด ข้าวฟ่าง ข้าว ถั่วลิสง เมล็ดกาแฟ เมล็ดฝ้าย พริก กากถั่วลิสง และอาหารไก่พบเชื้อรา *Aspergillus flavus, A. glaucus, A. ochraceus, A. niger, Penicillium, Rhizopus, Mucor, Alternaria* และ *Cladosporium* เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Abdel-Mallek และคณะ (1993) พบเชื้อรา *Aspergillus, Penicillium* และ *Fusarium* จากเมล็ดข้าวโพด และเมล็ดทานตะวันในอียิปต์ และ พบว่า 67% *Aspergillus* ที่แยกได้ เป็นสายพันธุ์ที่สร้างสารพิษ เช่น *A. candidus, A. terreus* และ *A. ustus* และงานวิจัยของ Esuruoso (1970) พบว่า *A. fumigatus, A. flavus* และ *A. aculeatus* เป็นชื้อราที่แยกจาก

ยางพาราแผ่นที่ปนเปื้อนเชื้อราในภาคตะวันตกของประเทศไนจีเรีย และรายงานการวิจัยก่อนหน้านี้ก็พบว่า *Aspergillus, Penicillium* และ *Fusarium* เป็นสาเหตุของการเจริญบนยางแผ่นในประเทศที่มีการผลิตยางแผ่น ดังนั้นจึงยืนยันได้ว่า *Aspergillus* เป็นเชื้อราที่มีการเจริญเด่นมากกว่าเชื้อราในสายพันธุ์อื่นในสิ่งแวดล้อม รวมทั้งในยางแผ่น หากพิจารณาจากพฤติกรรมของสปอร์ของเชื้อราในอากาศ ซึ่งมีปัจจัยหลายอย่างที่มีผลในการส่งเสริมการแพร่กระจายเช่น อิทธิพลของลม แรงโน้มถ่วงและปริมาณน้ำฝน และแรงที่กระทำต่อสปอร์ เช่น ขนาด รูปร่าง และคุณสมบัติของผิวหน้าของตัวสปอร์เอง และธรรมชาติของตัววัตถุที่สปอร์จะเข้าไปเกาะอยู่ จะพบว่าสปอร์ที่มีขนาดใหญ่กว่าจะสามารถเกาะติดกับวัตถุได้ดีกว่าสปอร์เชื้อราที่มีขนาดเล็ก นอกจากนี้ยังมีอิทธิพลของความเข้มข้นของสปอร์ในอากาศบริเวณนั้นก็มีผลต่อการปนเปื้อนด้วย นอกจากนี้ยังเกี่ยวข้องกับฤดูกาล วัน และ เวลา ด้วย เช่น ในช่วงกลางวัน สปอร์ของ *Cladosporium* และ *Alternaria* จะโดดเด่นมาก การที่ฝนตก จะช่วยกำจัดสปอร์เชื้อรา แต่จะไปกระตุ้นให้มีการปลดปล่อยหรือการกระจายของสปอร์ โดยเฉพาะ ascospore ซึ่งเป็นกลุ่มที่เป็นสปอร์สาเหตุของโรคพืชและก่อให้เกิดอาการแพ้ในผู้ป่วยโรคหอบหืดที่ได้รับสปอร์เชื้อราในอากาศ (Webster, 1996)

ดังนั้นเชื้อราที่พบบนยางแผ่นมีแนวโน้มว่ามาจากเชื้อราในอากาศ เนื่องจากมีลักษณะและชนิดของเชื้อราที่ซ้ำกันโดยเชื้อราที่พบในวัตถุดิบทั่วไปนั้นส่วนใหญ่มีการปนเปื้อนและการเจริญของเชื้อราที่มีอยู่ในอากาศภายในบริเวณนั้น (Chang *et al.*, 1995)

นอกจากนี้ในการศึกษาครั้งนี้ยังพบว่ามียีสต์เจริญบนยางแผ่น จากตัวอย่างยางแผ่น 13 แหล่งที่เก็บมี 12 แหล่งที่พบยีสต์ 31 ไอโซเลต เมื่อจัดจำแนกโดย API 20c AUX พบว่าเป็นยีสต์ 7 ชนิด คือ *Pichia ohmeri* จากยางแผ่น 9 แหล่ง *Candida ciferrii* จาก 5 แหล่ง และ *Trichosporon asahii* จาก 4 แหล่ง นอกจากนี้พบ *Candida parapsilosis, Candida pelliculosa, Rhodotorula mucilaginosa* และ *Crytococcus* โดยตัวอย่างยางแผ่นจากอำเภอถลางจะมีความหลากหลายของยีสต์มากที่สุด โดยพบยีสต์ 5 ชนิด (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 5 ลักษณะสัณฐานวิทยาของโคโลนีเชื้อราที่พบบ่อยบนยางแผ่น

สายพันธุ์	ลักษณะของโคโลนี		การเจริญ	สกุล
	ผิวด้านบน	ด้านล่าง		
KJ1	powdery yellow	yellow	s	*Penicillium* sp.
MT04	velvetty cream brown to green	cream brown	s	*Cladosporium* sp.
MT05	cottony white to purple	purple	f	*Fusarium* sp.
MT06	granular cream to yellow	cream	f	*Aspergillus ochraceus*
MT_3	wrinkle white (wet)	white	f	*Geotrichum* sp.
MT_4	cottony cream brown	cream brown	vf	*Rhizopus* sp.
NY03	granular dark green	green	f	*Aspergillus* sp.
NY05	granular white	white	s	*Aspergillus candidus*
PB02	powdery green	brown to black	s	*Penicillium* sp.
PB03	granular green to orange	orange	s	*Aspergillus* sp.
PR02	powdery green to yellow	yellow	s	*Penicillium* sp.
PR05	velvetty dark brown	dark brown	s	*Cladosporium* sp.
SR2	velvetty pink to red	red	f	*Fusarium* sp.
SR9	big granular dark green	green	f	*Aspergillus* sp.
SR12	cottony white and black	yellow	vf	*Rhizopus* sp.
SR13	cottony cream to yellow	cream to yellow	f	*Mucor himalis*
ST01	powdery light green	yellow	s	*Penicillium* sp.
TC209	small granular green	white to green	f	*Aspergillus* sp.
TC211	granular green	brown	s	*Aspergillus* sp.
TC413	granular brown	brown	s	*Aspergillus terreus*
TK3	powdery brown to yellow	brown	f	*Fusarium* sp.
TL01	powdery green	white	s	*Penicillium* sp.
TL3	granular black	yellow	f	*Aspergillus niger*
TM012	granular green	pink	s	*Aspergillus* sp.
TT03	velvetty brown	brown	f	*Fusarium* sp.
TT04	powdery green	yellow	s	*Penicillium* sp.
TT013	velvety Green	dark green	s	*Cladosporium* sp.

s = เจริญช้า, f = เจริญเร็ว, vf = เจริญเร็วมาก

ตารางที่ 6 ยีสต์ที่แยกได้จากยางแผ่นจำแนกชนิดด้วย API 20c AUX Kit

ลำดับ	รหัส	species	เปอร์เซนต์
1.	SR-1	*Candida ciferrii*	99.9
2.	SR-2	*Trichosporon asahii*	99.9
3.	SR-3	*Candida parapsilosis*	92.9
4.	SR-4	*Pichia ohmeri*	98.6
5.	TC-1	*Pichia ohmeri*	86.7
6.	TC-2	*Candida ciferrii*	99.9
7.	PR-1	*Pichia ohmeri*	98.6
8.	PR-2	*Candida ciferrii*	99.9
9.	KJ-1	*Pichia ohmeri*	97.6
10.	PB-1	*Pichia ohmeri*	98.6
11.	MT-1	*Pichia ohmeri*	94.7
12.	MT-2	*Pichia ohmeri*	99.9
13.	MT-3	*Pichia ohmeri*	99.9
14.	NY-1	*Pichia ohmeri*	99.9
15.	TK-1	*Pichia ohmeri*	89.6
16.	TM-1	*Trichosporon asahii*	92.0
17.	TM-2	*Pichia ohmeri*	99.9
18.	TM-3	*Crytococcus humicolus*	64.2
19.	TT-1	*Pichia ohmeri*	99.9
20.	TT-2	*Trichosporon asahii*	92.0
21.	TT-3	*Trichosporon asahii*	96.3
22.	TT-4	*Trichosporon asahii*	92.0
23.	TT-5	*Candida pelliculosa*	99.7
24.	TT-6	*Candida ciferrii*	99.9
25.	TT-7	*Candida parapsilosis*	99.9
26.	TL-1	*Trichosporon asahii*	96.3
27.	TL-2	*Rhodotorula mucilaginosa 2*	99.9
28.	TL-3	*Rhodotorula mucilaginosa 2*	99.9

29.	TL-4	*Pichia ohmeri*	99.9
30.	MP-1	*Candida ciferrii*	99.9
31.	MP-2	*Pichia ohmeri*	98.6

4. การศึกษาชนิดของกรดที่ใช้ในการตกตะกอนยางต่อการเจริญของเชื้อราบนแผ่นยาง

เมื่อนำน้ำยางมาตกตะกอนทำเป็นยางแผ่นด้วยกรดทั้ง 5 ชนิด คือกรดฟอร์มิก กรดอะซิติก กรดแลกติก กรดกำมะถันและกรดฟอสฟอริก ทำการทดลองที่สหกรณ์ตำบลพิจิตร จำกัด พบว่า กรดฟอร์มิกให้ผลการตกตะกอนที่ดีกว่ากรดชนิดอื่น และใช้เวลาในการตกตะกอนให้น้ำยางเป็นแผ่นน้อยกว่ากรดชนิดอื่น คือ ใช้เวลาเพียง 1 ชั่วโมง 30 นาที ในขณะที่กรดอะซิติกใช้เวลาในการตกตะกอน 2 ชั่วโมง 30 นาที สำหรับกรดอีก 3 ชนิดที่เหลือคือ กรดแลกติก กรดกำมะถัน และกรดฟอสฟอริก ต้องใช้เวลาในการตกตะกอนยางข้ามคืนจึงจะทำให้น้ำยางจับตัวกัน และ เมื่อทำการรีดเป็นแผ่นแล้ว พบว่า ยางแผ่นที่ตกตะกอนด้วยกรดแลกติก กรดกำมะถัน และกรดฟอสฟอริกมีสีคล้ำกว่ายางแผ่นที่ตกตะกอนด้วยกรดฟอร์มิก และกรดอะซิก เมื่อทิ้งไว้ข้ามคืนพบว่ามีสีคล้ำมากและมีกลิ่นเหม็นเหมือนก๊าซไข่เน่า ทำให้คุณภาพยางแผ่นไม่ดี เพราะทำให้ยางแผ่นพองเนื่องจากเกิดฟองอากาศภายในยางแผ่น เมื่อนำยางแผ่นที่ตกตะกอนด้วยกรดแต่ละชนิดมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (ตารางที่ 7) พบว่ายางแผ่นที่ตกตะกอนด้วยกรดฟอร์มิกมีปริมาณโปรตีนน้อยที่สุดคือ 0.352 มิลลิกรัม/กรัม และความชื้นร้อยละ 11.79 ดังนั้นกรดที่เหมาะสมในการนำมาตกตะกอนยางคือกรดฟอร์มิก

สำหรับการสังเกตุการเจริญของเชื้อราบนยางแผ่นที่ตกตะกอนด้วยกรดชนิดต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 8 พบว่ายางแผ่นที่ตกตะกอนด้วยกรดอะซิติก เริ่มมีการเจริญของเชื้อราในวันที่ 5 กรดแลกติก กรดฟอร์มิก และกรดซัลฟูริก มีการเจริญของเชื้อราในวันที่ 4 และกรดฟอสฟอริกมีการเจริญของเชื้อราในวันที่ 3

5. การศึกษาผลของการล้างยางแผ่นต่อการเจริญของเชื้อราบนยางแผ่น

การศึกษาการล้างยางแผ่นที่รีดเสร็จใหม่ ใช้ยางแผ่นที่ผลิตโดยสหกรณ์ตำบลพิจิตร แล้วนำมาล้างแบบฤหรือเขย่า แล้ววิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน น้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และความชื้น ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 9 พบว่ายางแผ่นที่ไม่ล้างน้ำ มีปริมาณโปรตีนและน้ำตาลทั้งหมด คือ 1.184, และ 1.211 มิลลิกรัม/กรัม ตามลำดับ เมื่อเทียบกับการล้างแบบสหกรณ์ตำบลพิจิตร จำกัด ที่มีปริมาณโปรตีนและน้ำตาลทั้งหมด ที่มีค่าเท่ากับ 1.225 และ1.400 มิลลิกรัม/กรัม จะเห็นว่าปริมาณโปรตีนและน้ำตาลทั้งหมดมีค่าสูงกว่าการไม่ล้างและการล้างในสภาวะอื่น น่าจะเป็นผลมาจากการที่ใช้น้ำบ่อในการล้าง

และไม่มีการเปลี่ยนน้ำในการล้างแต่ละครั้ง ทำให้ยังคงพบปริมาณโปรตีนและน้ำตาลสูง สำหรับยางแผ่นที่พบปริมาณโปรตีนน้อยคือยางแผ่นที่ล้างแบบเขย่า การล้างแบบเขย่า 5 น้ำ ทำให้ยางแผ่นมีปริมาณโปรตีนน้อยที่สุด จำนวนการเขย่าและการถูแต่ละน้ำ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ การล้างแบบเขย่าจะพบน้ำตาลทั้งหมดน้อยกว่าการล้างแบบถู และการเขย่า 5 น้ำ พบว่ายางแผ่นมีมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดน้อยที่สุด คือ 0.226 มิลลิกรัม/กรัม

ยางแผ่นสดมีความชื้นอยู่ในช่วง 18.21-22.96% ยางแผ่นที่ไม่ได้ล้างน้ำมีความชื้น 13.25% (ตารางที่ 9) ซึ่งเป็นความชื้นที่ต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับยางแผ่นสดที่ล้างแบบถูและแบบเขย่า และการล้างแบบเขย่าจะมีความชื้นที่สูงกว่าการล้างแบบถู เมื่อนำมาตากไว้ที่อุณหภูมิห้องในโรงเรือนที่มีความชื้นสัมพัทธ์ 65% แล้วสังเกตการเจริญของเชื้อราบนยางแผ่น (ตารางที่ 10) ของสภาวะการล้างต่างๆ นั้น พบว่ายางแผ่นที่สภาวะการล้างแบบสหกรณ์ตำบลพิจิตร การล้าง แบบถู 1 น้ำ และ การล้างแบบถู 3 น้ำ เชื้อราสามารถเจริญได้ในวันที่ 2 และจะมีปริมาณที่เพิ่มขึ้นเป็นลำดับ ในขณะที่การล้างแบบเขย่า 5 น้ำ เชื้อราจะเจริญได้ช้ากว่า และเจริญได้น้อย การล้างแบบถูและเขย่านั้นพบว่าโดยรวมแล้วการล้างแบบเขย่าจะมีการเจริญของเชื้อได้น้อยกว่าการล้างแบบถู และส่วนใหญ่แล้วการล้างโดยการเขย่าที่ 3-5 น้ำ จะมีการเจริญของเชื้อราน้อยกว่าการล้างแบบถูและเขย่าที่ 1 น้ำ

เมื่อทำการเพาะเชื้อรา *Aspergillus niger* บนยางแผ่นที่ล้างแบบต่างๆกันแล้วเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีความชื้นสัมพัทธ์ 79 และ 90% พบว่ามีเชื้อราจะเจริญบนยางแผ่นที่เก็บไว้ในที่มีความชื้น 90% เร็วกว่าในที่มีความชื้น79% และยางแผ่นที่มีการล้างแบบเขย่า 3 น้ำและ 5 น้ำ เชื้อราเจริญได้ช้ากว่าการล้างแบบถูหรือการล้างแบบของสหกรณ์ (ตารางที่ 11) เมื่อนำยางที่ล้างโดยวิธีต่างๆ กันไปอบตามวิธีการอบยางของสหกรณ์ตำบลพิจิตร จำกัด แล้วนำยางแผ่นที่อบแห้งมาเพาะเชื้อรา *Aspergillus niger* แล้วเก็บในที่มีความชื้นสัมพัทธ์ 79 และ 90% เชื้อราจะเจริญได้น้อยบนยางแผ่นที่มีการล้างทั้งแบบถูหรือแบบเขย่า และ แม้จะมีความชื้นสัมพัทธ์สูงก็มีเชื้อราเจริญบนยางแผ่นได้น้อย (ตารางที่ 12)

ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า การล้างยางแผ่นและ ความสะอาดของน้ำที่ใช้ล้างและความชื้นสัมพัทธ์ในบริเวณที่เก็บยางมีผลต่อการเจริญของเชื้อราบนยางแผ่น น้ำที่ใช้ต้องเป็นน้ำสะอาด การล้างแบบถูและเขย่าจะดีกว่าการล้างแบบแช่ และหากเก็บยางแผ่นไว้ในที่มีความชื้นสูงเชื้อราก็จะเจริญได้ดีกว่าในที่ที่มีความชื้นต่ำ

ตารางที่ 7 องค์ประกอบทางเคมี (ปริมาณโปรตีน น้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์) และความชื้นของยางแผ่นที่ตกตะกอนด้วยกรดชนิดต่างๆ

ชนิดของกรดที่ใช้ตกตะกอนยาง	องค์ประกอบทางเคมี			
	โปรตีน (mg/g)	น้ำตาลทั้งหมด (mg/g)	น้ำตาลรีดิวซ์ (mg/g)	ความชื้น (%)
กรดฟอร์มิก	0.352±0.045^{a}	0.831±0.119^{c}	0.300±0.011^{e}	11.79±0.37^{a}
กรดอะซิติก	0.712±0.016^{e}	0.799±0.082^{c}	0.215±0.011^{d}	20.83±0.65^{b}
กรดฟอสฟอริก	0.651±0.037^{d}	0.543±0.069^{b}	0.104±0.025^{b}	23.28±0.79^{c}
กรดแลคติก	0.598±0.012^{c}	0.542±0.028^{b}	0.130±0.007^{c}	21.03±0.48^{b}
กรดซัลฟูริก	0.414±0.010^{b}	0.237±0.002^{ab}	0.032±0.001^{a}	21.18±0.50^{b}

สถิติวิธี ANOVA เปรียบเทียบแบบDuncan แนวคอลัมน์ วิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตารางที่ 8 การเจริญของเชื้อราบนยางแผ่นตากที่ตกตะกอนด้วยกรดชนิดต่างๆ แล้วเก็บที่อุณหภูมิห้อง ความชื้นสัมพัทธ์ 65%

ชนิดของกรด	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5	วันที่ 6	วันที่ 7
ฟอร์มิก	-	-	-	+	+	+	+
อะซิติก	-	-	-	-	+	+	+
แลกติก	-	-	-	+	+	+	+
ฟอสฟอริก	-	-	+	+	+	++	++
ซัลฟูริก	-	-	-	+	+	++	++

หมายเหตุ - ไม่พบการเจริญ + พบการเจริญน้อย

++ พบการเจริญปานกลาง +++ พบการเจริญมาก

(การทดลองนี้สังเกตการเจริญของเชื้อราโดยที่ไม่ได้เพาะเชื้อ *Aspergillus niger* ลงบนแผ่นยาง)

ตารางที่ 9 องค์ประกอบทางเคมี (โปรตีน น้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์) และความชื้นของยางแผ่นสดต่อสภาวะการล้างที่ต่างกัน

ตัวอย่างยางแผ่น	องค์ประกอบทางเคมี			
	โปรตีน (mg/g)	น้ำตาลทั้งหมด (mg/g)	น้ำตาลรีดิวซ์ (mg/g)	ความชื้น (%)
ไม่ล้าง	1.184±0.065 ^{cd}	1.211±0.336^{cd}	0.643±0.009^{e}	13.25±1.51^{a}
1 น้ำ(น้ำบ่อสหกรณ์)	1.225±0.095 ^{d}	1.400±0.320^{d}	0.593±0.018^{d}	21.87±0.48^{cd}
ถู 1 น้ำ	1.106±0.048 ^{cd}	1.200±0.192^{cd}	0.604±0.012^{d}	18.92±0.62^{b}
ถู 3 น้ำ	1.074±0.067 ^{bc}	0.995±0.185^{c}	0.646±0.001^{e}	21.49±0.55^{cd}
ถู 5 น้ำ	1.132±0.078^{cd}	1.322±0.014^{cd}	0.591±0.010^{d}	19.86±0.83^{bc}
เขย่า 1 น้ำ	0.892±0.050^{a}	0.382±0.038^{ab}	0.554±0.004^{c}	22.96±2.55^{d}
เขย่า 3 น้ำ	0.972±0.077^{ab}	0.602±0.042^{b}	0.516±0.012^{b}	21.41±0.69^{cd}
เขย่า 5 น้ำ	0.942±0.018^{a}	0.226±0.055^{a}	0.446± 0.002^{a}	18.21±0.29^{b}

สถิติวิธี ANOVA เปรียบเทียบแบบDuncan แนวคอลัมน์ วิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตารางที่ 10 การเจริญของเชื้อราบนยางแผ่นตากที่ล้างแบบต่างๆ แล้วเก็บที่อุณหภูมิห้อง ความชื้นสัมพัทธ์ 65%

ตัวอย่างยางแผ่น	วันที่1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5	วันที่ 6	วันที่ 7
ไม่ล้าง	-	+	+	+	+	+	++
1 น้ำบ่อ(สหกรณ์)	-	+	+	++	++	++	++
ล้าง 1 น้ำ (ถู)	-	+	+	+	++	++	++
ล้าง 3 น้ำ (ถู)	-	+	+	+	++	++	++
ล้าง 5 น้ำ (ถู)	-	-	+	+	++	++	++
ล้าง 1 น้ำ (เขย่า)	-	-	+	+	+	++	++
ล้าง 3 น้ำ (เขย่า)	-	-	+	+	+	++	++
ล้าง 5 น้ำ (เขย่า)	-	-	-	+	+	+	+

หมายเหตุ: - ไม่พบการเจริญ + พบการเจริญน้อย

++ พบการเจริญปานกลาง +++ พบการเจริญมาก

(การทดลองนี้สังเกตการเจริญของเชื้อรา โดยไม่ได้เพาะเชื้อ *Aspergillus niger* บนแผ่นยาง)

ตารางที่ 11 การเจริญของเชื้อรา *Aspergillus niger* บนยางแผ่นตากที่ล้างแบบต่างๆ แล้วเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสที่ความชื้นสัมพัทธ์ต่างกัน

ตัวอย่างยางแผ่น	ความชื้น (%)	ความชื้นสัมพัทธ์	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5	วันที่ 6	วันที่ 7
ไม่ล้าง	4.93	79%RH	-	++	++	++	+++	+++	+++
		90%RH	+	++	++	++	+++	+++	+++
สหกรณ์พิจิตร	6.26	79%RH	-	++	++	+++	+++	+++	+++
		90%RH	+	++	++	+++	+++	+++	+++
ล้าง 1 น้ำ ถู)	5.1	79%RH	-	++	++	++	+++	+++	+++
		90%RH	+	++	++	++	+++	+++	+++
ล้าง 3 (ถู)	5.84	79%RH	-	+	++	++	+++	+++	+++
		90%RH	-	+	++	+++	+++	+++	+++
ล้าง 5 น้ำ(ถู)	5.81	79%RH	-	+	++	++	+++	+++	+++
		90%RH	-	+	++	++	+++	+++	+++
ล้าง 1 น้ำเขย่า)	5.99	79%RH	-	+	++	++	+++	+++	+++
		90%RH	-	+	++	++	+++	+++	+++
ล้าง 3 (เขย่า)	4.85	79%RH	-	+	+	++	++	++	+++
		90%RH	-	+	++	++	++	++	+++
ล้าง 5 น้ำ (เขย่า)	5.94	79%RH	-	+	+	+	++	++	++
		90%RH	-	+	+	++	++	++	++

หมายเหตุ: - ไม่พบการเจริญ + พบการเจริญน้อย
++ พบการเจริญปานกลาง +++ พบการเจริญมาก

ตารางที่ 12 การเจริญของเชื้อรา *Aspergillus niger* บนยางแผ่นอบที่ล้างแบบต่างๆ แล้วเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสที่ความชื้นสัมพัทธ์ต่างกัน

ตัวอย่างยางแผ่น	ความชื้น (%)	ความชื้นสัมพัทธ์	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5	วันที่ 6	วันที่ 7
ไม่ล้าง	0.81	79%RH	-	+	+	+	++	++	++
		90%RH	-	+	+	++	++	+++	+++
สหกรณ์พิจิตร	0.73	79%RH	-	+	+	+	++	++	++
		90%RH	-	+	+	++	++	+++	+++
ล้าง 1 น้ำ ถู)	0.65	79%RH	-	-	+	+	+	+	+
		90%RH	-	+	+	+	++	++	++
ล้าง 3 (ถู)	0.81	79%RH	-	-	+	+	+	+	++
		90%RH	-	-	+	+	+	+	++
ล้าง 5 น้ำ(ถู)	0.82	79%RH	-	-	-	+	+	+	+
		90%RH	-	-	+	+	++	++	++
ล้าง 1 น้ำเขย่า)	0.55	79%RH	-	-	+	+	+	+	+
		90%RH	-	-	+	+	+	++	++
ล้าง 3 (เขย่า)	0.58	79%RH	-	-	-	+	+	+	+
		90%RH	-	-	+	++	++	++	++
ล้าง 5 น้ำ (เขย่า)	0.92	79%RH	-	-	+	+	+	+	+
		90%RH	-	-	+	+	+	+	+

หมายเหตุ: - ไม่พบการเจริญ + พบการเจริญน้อย
++ พบการเจริญปานกลาง +++ พบการเจริญมาก

6. การศึกษาผลของสารยับยั้งต่อการเจริญของเชื้อราที่แยกได้จากยางแผ่น

6.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราเบื้องต้น

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราเบื้องต้นของสารยับยั้งเชื้อราทั้ง 13 ชนิด กับเชื้อราที่แยกได้จากยางแผ่นจำนวน 27 ไอโซเลตซึ่งเป็นเชื้อราที่พบบ่อยบนยางแผ่น ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 13 และ 14 พบว่าสารที่ยับยั้งเชื้อราที่แยกได้จากยางแผ่นได้ดี คือ โปแตสเซียมซอร์เบต โปแตสเซียมเบนโซเอต โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ กรดอะซิติก และน้ำส้มควันไม้จากไม้ไผ่ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ในระดับของวงใสที่ ++ ซึ่งสารทั้ง 5 ชนิดนี้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีที่ความเข้มข้นสูงสุดของสารแต่ละชนิดที่ใช้ในการทดสอบดังตารางที่ 13 และภาพที่ 18-20 โดยที่โปแตสเซียมซอร์เบต โปแตสเซียมเบนโซเอต โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ยับยั้งเชื้อราได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 10% (w/v) กรดอะซิติกยับยั้งได้ดีที่ความเข้มข้น 10% (v/v) และน้ำส้มควันไม้ยับยั้งได้ดีที่ความเข้มข้น 100% (v/v) ส่วนงานวิจัยของ Guynot และคณะ (2005b) พบว่าการใช้โปแตสเซียมซอร์เบตที่ความเข้มข้น 0.3% (w/v) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราในกลุ่ม xerophilic ได้ ที่ค่าน้ำอิสระ 0.8-0.9 ซึ่งจะเห็นว่าความเข้มข้นของสารเคมีที่ใช้ทดสอบในการศึกษานี้มีค่าสูงกว่างานวิจัยของ Guynot และคณะ (2005b) ถึง 33.3 เท่า ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่สูงมาก

นอกจากนี้การเจริญของเชื้อราแต่ละชนิดมีระยะเวลาไม่เท่ากัน การอ่านผลจึงทำการตรวจที่ชั่วโมงการยับยั้งที่เหมาะสมของอัตราการเจริญของเชื้อราชนิดนั้น จากผลการทดลองพบว่าเชื้อราที่มีความไวต่อสารยับยั้งเชื้อรามากที่สุดคือ เชื้อ *Rhizopus* spp. ซึ่งเชื้อราชนิดนี้จะมีการเจริญรวดเร็วมากเพื่อให้ได้ความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีของเชื้อราขนาด 20 มิลลิเมตร ใช้เวลาเพียง 6 ชั่วโมง ในขณะที่เชื้อราชนิดอื่นใช้เวลาในการเจริญประมาณ 3 วัน ดังนั้นในการตรวจผลของเชื้อ *Rhizopus* spp. จึงต้องลดระยะเวลาในการตรวจผลเป็นที่ชั่วโมงที่ 12 และ 24 และในขณะที่เชื้อรา *Cladosporium* ซึ่งโตช้าต้องใช้ระยะเวลานานถึง 216-240 ชั่วโมง (9-10วัน) ในการตรวจผล แต่ถึงแม้จะใช้เวลาในการตรวจสอบฤทธิ์ของสารยับยั้งมากกว่าเชื้อราไอโซเลตอื่น แต่ก็พบว่าการยับยั้งจะมีประสิทธิภาพที่ความเข้มข้นสูงสุดของสารยับยั้งที่ใช้ทดสอบเช่นกัน สำหรับน้ำส้มควันไม้ แคลเซียมโพรพิโอเนต สารโซเดียมไนเตรต และ แคลเซียมไฮดรอกไซด์นั้น พบว่ามีประสิทธิภาพต่ำต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่แยกได้จากยางแผ่น Droby *et al.* (2003) รายงานว่าแคลเซียมโพรพิออเนต ยับยั้งการเจริญของเส้นใยของ *B. cinerea* ที่ความเข้มข้น 5% (w/v)

ได้ทำการทดลองซ้ำ โดยใช้สารยับยั้งที่ดี 5 ชนิด ดังกล่าวกับเชื้อราคือ *Aspergillus* 3 ไอโซเลต *Penicillium* 2 ไอโซเลต *Fusarium* 2 ไอโซเลต *Cladosporium* 1 ไอโซเลต และ *Rhizopus* 1 ไอโซเลต

ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 14 พบว่า โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ ยับยั้งเชื้อราได้ดีที่สุด รองลงมาคือ โปตัสเซียมซอร์เบต และพบว่า *Aspergillus* SR9 มีความต้านทานสารยับยั้งได้หลายชนิด

ตารางที่ 13 ผลของสารยับยั้งเชื้อรา 13 ชนิดที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญของเชื้อรา 27 ชนิดที่แยกได้จากยางแผ่น

ชนิดของสารยับยั้ง	ความเข้มข้นที่ใช้	ชนิดของเชื้อราตามตารางที่ 5																			
		KJ1		MT04		MT05		MT06		MT_3		MT_4		NY03		NY05		PB02		PB03	
		48h	72h	96h	120	48h	72h	48h	72h	48h	72h	24h	48h	72h	96h	48h	72h	48h	72h	120h	144h
1. กรดอะซิติก	1% v/v	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	+	±	+	+	+	+
	5% v/v	++	++	±	-	±	-	+	±	-	-	+	±	+	±	+	+	++	++	++	++
	10% v/v	++	++	+	±	++	±	++	±	±	±	++	+	++	+	+	+	++	++	++	++
2. แอมโมเนียมไบคาร์บอเนต	1% w/v	±	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	±	±	+	+	+	+
	5% w/v	±	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	±	±	+	+	+	+
	10% w/v	±	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	±	±	±	+	+	+	+
3. แคลเซียมไฮดรอกไซด์	1% w/v	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	±	-	+	±	-	-
	5% w/v	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	±	-	+	±	-	-
	10% w/v	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	±	-	+	+	-	-
4. แคลเซียมโพรพิโอเนต	1% w/v	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	±	-	++	+	-	-
	5% w/v	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	±	-	++	+	-	-
	10% w/v	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	+	-	±	-	++	+	-	-
5. โปแตสเซียมซอร์เบต	1% w/v	++	++	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++	-	-
	5% w/v	++	++	++	++	-	-	-	-	+	±	+	±	±	-	±	±	++	++	±	±
	10% w/v	++	++	++	++	-	-	±	±	+	±	++	+	+	-	+	+	++	++	+	+

- ไม่ยับยั้ง, ± ยับยั้งเล็กน้อย (วงใสน้อยกว่า 1.0 มม.), + ยับยั้งปานกลาง (วงใส 1.0-3.5 มม.), ++ ยับยั้งมาก (วงใสมากกว่า 3.5 มม.)

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ตารางที่ 13 (ต่อ)

ชนิดของสารยับยั้ง	ความเข้มข้นที่ใช้	ชนิดของเชื้อราตามตารางที่ 5																			
		KJ1		MT04		MT05		MT06		MT_3		MT_4		NY03		NY05		PB02		PB03	
		48h	72h	96h	120	48h	72h	48h	72h	48h	72h	24h	48h	72h	96h	48h	72h	48h	72h	120h	144h
6. โปแตสเซียมเบนโซเอต	1% w/v	+	+	-	-	-	-	-	-	++	++	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
	5% w/v	++	++	++	+	-	-	-	-	++	++	±	-	-	-	-	-	++	++	-	-
	10% w/v	++	++	++	+	-	-	-	-	++	++	±	-	-	-	-	-	++	++	±	±
7. น้ำส้มควันไม้ (ไม้ไผ่)	10% v/v	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	30% v/v	++	+	±	-	±	-	-	-	-	-	-	-	±	-	+	+	+	+	+	+
	100% v/v	++	++	+	±	+	±	+	±	±	±	+	±	+	±	+	+	+	+	++	++
8. น้ำส้มควันไม้ (ไม้ยูคาลิปตัส)	10% v/v	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	+	+	±	-
	30% v/v	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	±	+	+	+	+
	100% v/v	++	+	+	±	+	±	±	±	±	±	+	-	±	-	+	+	+	+	++	+
9. น้ำส้มควันไม้ (ไม้กระถิน)	10% v/v	±	±	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	+	+	+	+
	30% v/v	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	+	+	++	+	+	+
	100% v/v	++	++	+	±	±	-	±	±	±	±	±	-	±	-	+	+	++	++	++	+
10. โซเดียมอะซิเตต	1% w/v	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
	5% w/v	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
	10% w/v	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-

- ไม่ยับยั้ง, ± ยับยั้งเล็กน้อย (วงใสน้อยกว่า 1.0 มม.), + ยับยั้งปานกลาง (วงใส 1.0-3.5 มม.), ++ ยับยั้งมาก (วงใสมากกว่า 3.5 มม.)

ตารางที่ 13 (ต่อ)

ชนิดของสารยับยั้ง	ความเข้มข้นที่ใช้	ชนิดของเชื้อราตามตารางที่ 5																			
		KJ1		MT04		MT05		MT06		MT_3		MT_4		NY03		NY05		PB02		PB03	
		48h	72h	96h	120	48h	72h	48h	72h	48h	72h	24h	48h	96h	120	48h	72h	48h	72h	48h	72h
11. โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์	1% w/v	++	++	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++	++	++	++	++	+	+
	5% w/v	++	++	++	+	++	++	++	+	+	-	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++
	10% w/v	++	++	++	+	++	++	++	++	+	±	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++
12. โซเดียมไนเตรต	1% w/v	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	+	+	-	-
	5% w/v	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	+	+	-	-
	10% w/v	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	+	+	-	-
13. พาราไนโตรฟีนอล	1% v/v	++	++	++	++	+	+	++	+	++	++	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++
	5% v/v	++	++	++	++	+	+	++	++	++	++	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++

- ไม่ยับยั้ง, ± ยับยั้งเล็กน้อย (วงใสน้อยกว่า 1.0 มม.), + ยับยั้งปานกลาง (วงใส 1.0-3.5 มม.), ++ ยับยั้งมาก (วงใสมากกว่า 3.5 มม.)

ตารางที่ 13 (ต่อ)

ชนิดของสารยับยั้ง	ความเข้มข้นที่ใช้	ชนิดของเชื้อราตามตารางที่ 5																			
		PR02		PR05		SR2		SR9		SR12		SR13		ST01		TC209		TC211		TC413	
		72h	96h	216h	240h	48h	72h	48h	72h	12h	24h	48h	72h	48h	72h	48h	72h	96h	120h	48h	72h
1. กรดอะซิติก	1% v/v	-	-	++	++	N	N	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	±	±	-	-
	5% v/v	++	+	++	++	N	N	-	-	+	±	±	-	+	+	-	-	+	+	+	±
	10% v/v	++	++	++	++	N	N	+	-	++	+	+	+	++	+	±	-	++	++	++	++
2. แอมโมเนียมไบคาร์บอเนต	1% w/v	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5% w/v	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	±	±	-	-	-	-
	10% w/v	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	±	+	±	-	-	±	-
3. แคลเซียมไฮดรอกไซด์	1% w/v	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	-	-	-	-
	5% w/v	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	±	±	-	-	±	-
	10% w/v	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	±	±	-	-	+	+
4. แคลเซียมโพรพิโอเนต	1% w/v	±	-	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5% w/v	+	±	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10% w/v	+	+	±	±	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
5. โปแตสเซียมซอร์เบต	1% w/v	±	-	++	++	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	±	-
	5% w/v	+	±	++	++	+	+	++	++	++	+	±	-	++	++	+	-	+	+	+	±
	10% w/v	+	±	++	++	++	++	++	++	+++	+++	++	++	++	++	+	±	++	++	+	±

- ไม่ยับยั้ง, ± ยับยั้งเล็กน้อย (วงใสน้อยกว่า 1.0 มม.), + ยับยั้งปานกลาง (วงใส 1.0-3.5 มม.), ++ ยับยั้งมาก (วงใสมากกว่า 3.5 มม.)

ตารางที่ 13 (ต่อ)

ชนิดของสารยับยั้ง	ความเข้มข้นที่ใช้	ชนิดของเชื้อราตามตารางที่ 5																			
		PR02		PR05		SR2		SR9		SR12		SR13		ST01		TC209		TC211		TC413	
		72h	96h	216h	240h	48h	72h	48h	72h	12h	24h	48h	72h	48h	72h	48h	72h	96h	120h	48h	72h
6. โปแตสเซียมเบนโซเอต	1% w/v	±	-	++	++	-	-	-	-	-	-	++	++	±	±	-	-	-	-	±	-
	5% w/v	±	-	++	++	+	-	+	±	++	-	++	++	+	+	+	+	-	-	±	-
	10% w/v	±	-	++	++	+	+	+	+	+++	-	++	++	++	++	+	+	±	±	+	±
7. น้ำส้มควันไม้ (ไม้ไผ่)	10% v/v	-	-	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
	30% v/v	+	-	+	+	±	-	-	-	±	-	±	-	+	+	-	-	+	+	±	-
	100% v/v	++	+	+	+	++	+	+	±	++	±	++	+	++	++	+	+	++	++	++	+
8. น้ำส้มควันไม้ (ไม้ยูคาลิปตัส)	10% v/v	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-
	30% v/v	±	-	±	±	±	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	±	±	+	-
	100% v/v	++	+	+	±	+	+	±	-	+	±	±	-	+	±	±	-	+	+	+	+
9. น้ำส้มควันไม้ (ไม้กระถิน)	10% v/v	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-
	30% v/v	±	-	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-
	100% v/v	+	+	+	±	+	±	±	-	+	±	±	-	+	+	±	-	-	-	+	+
10. โซเดียมอะซิเตต	1% w/v	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5% w/v	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10% w/v	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-

- ไม่ยับยั้ง, ± ยับยั้งเล็กน้อย (วงใสน้อยกว่า 1.0 มม.), + ยับยั้งปานกลาง (วงใส 1.0-3.5 มม.), ++ ยับยั้งมาก (วงใสมากกว่า 3.5 มม.)

ตารางที่ 13 (ต่อ)

ชนิดของสารยับยั้ง	ความเข้มข้นที่ใช้	ชนิดของเชื้อราตามตารางที่ 5																			
		PR02		PR05		SR2		SR9		SR12		SR13		ST01		TC209		TC211		TC413	
		72h	96h	216h	240h	48h	72h	48h	72h	12h	24h	72h	96h	48h	72h	48h	72h	48h	72h	48h	72h
11. โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์	1% w/v	+	+	++	++	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	++	++	-	-
	5% w/v	++	++	++	++	+	+	++	++	++	++	++	+	±	-	+	+	++	++	++	+
	10% w/v	++	++	++	++	++	++	++	++	+++	+++	++	+	+	±	+	+	++	++	++	+
12. โซเดียมไนเตรต	1% w/v	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5% w/v	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10% w/v	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13. พาราไนโตรฟีนอล	1% v/v	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	-	-	++	++	+	+	++	++	+	+
	5% v/v	++	++	++	++	+++	++	++	++	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

- ไม่ยับยั้ง, ± ยับยั้งเล็กน้อย (วงใสน้อยกว่า 1.0 มม.), + ยับยั้งปานกลาง (วงใส 1.0-3.5 มม.), ++ ยับยั้งมาก (วงใสมากกว่า 3.5 มม.)

ตารางที่ 13 (ต่อ)

ชนิดของสารยับยั้ง	ความเข้มข้นที่ใช้	ชนิดของเชื้อราตามตารางที่ 5													
		TK3		TL01		TL3		TM012		TT03		TT04		TT013	
		48h	72h	96h	120	48h	72h	48h	72h	48h	72h	48h	72h	72h	96h
1. กรดอะซิติก	1% v/v	-	-	+	+	±	-	-	-	±	-	±	±	±	±
	5% v/v	±	-	++	++	+	+	++	++	+	+	++	++	++	+
	10% v/v	++	+	++	++	++	+	++	++	+	+	++	++	++	++
2. แอมโมเนียมไบคาร์บอเนต	1% w/v	-	-	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5% w/v	-	-	+	±	-	-	-	-	±	-	±	±	±	±
	10% w/v	-	-	+	±	±	-	-	-	±	±	±	±	±	±
3. แคลเซียมไฮดรอกไซด์	1% w/v	-	-	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5% w/v	-	-	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10% w/v	-	-	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4. แคลเซียมโพรพิโอเนต	1% w/v	-	-	++	++	±	±	-	-	-	-	±	-	±	-
	5% w/v	-	-	++	++	+	±	-	-	-	-	+	+	+	+
	10% w/v	-	-	++	++	+	+	-	-	±	-	+	+	+	+
5. โปแตสเซียมซอร์เบต	1% w/v	-	-	++	++	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+
	5% w/v	-	-	++	++	+	+	+	+	++	++	++	++	++	++
	10% w/v	-	-	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++

- ไม่ยับยั้ง, ± ยับยั้งเล็กน้อย (วงใสน้อยกว่า 1.0 มม.), + ยับยั้งปานกลาง (วงใส 1.0-3.5 มม.), ++ ยับยั้งมาก (วงใสมากกว่า 3.5 มม.)

ตารางที่ 13 (ต่อ)

ชนิดของสารยับยั้ง	ความเข้มข้นที่ใช้	ชนิดของเชื้อราตามตารางที่ 5													
		TK3		TL01		TL3		TM012		TT03		TT04		TT013	
		48h	72h	96h	120	48h	72h	48h	72h	48h	72h	48h	72h	72h	96h
6. โปแตสเซียมเบนโซเอต	1% w/v	-	-	++	++	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
	5% w/v	-	-	++	++	++	+	-	-	+	-	+	-	+	-
	10% w/v	-	-	++	++	++	++	+	-	+	-	++	+	+	-
7. น้ำส้มควันไม้ (ไม้ไผ่)	10% v/v	-	-	+	+	-	-	-	-	±	-	±	±	-	-
	30% v/v	±	-	+	+	±	-	+	±	+	-	+	+	+	±
	100% v/v	+	±	++	++	+	±	++	+	+	+	++	++	++	+
8. น้ำส้มควันไม้ (ไม้ยูคาลิปตัส)	10% v/v	-	-	+	±	-	-	-	-	-	-	±	±	-	-
	30% v/v	-	-	+	+	-	-	+	+	±	-	+	+	±	-
	100% v/v	+	-	++	+	+	±	++	++	+	±	++	++	+	±
9. น้ำส้มควันไม้ (ไม้กระถิน)	10% v/v	-	-	+	+	±	-	-	-	-	-	±	±	±	-
	30% v/v	-	-	+	+	±	-	+	+	+	-	+	+	±	-
	100% v/v	±	-	++	++	+	±	++	+	+	±	++	++	+	±
10. โซเดียมอะซิเตต	1% w/v	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5% w/v	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10% w/v	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- ไม่ยับยั้ง, ± ยับยั้งเล็กน้อย (วงใสน้อยกว่า 1.0 มม.), + ยับยั้งปานกลาง (วงใส 1.0-3.5 มม.), ++ ยับยั้งมาก (วงใสมากกว่า 3.5 มม.)

ตารางที่ 13 (ต่อ)

ชนิดของสารยับยั้ง	ความเข้มข้นที่ใช้	ชนิดของเชื้อราตามตารางที่ 5													
		TK3		TL01		TL3		TM012		TT03		TT04		TT013	
		48h	72h	96h	120	48h	72h	48h	72h	48h	72h	48h	72h	72h	96h
11. โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์	1% w/v	-	-	++	++	±	-	++	++	±	-	++	++	+	±
	5% w/v	+	+	++	++	++	++	++	++	+	+	++	++	++	++
	10% w/v	++	++	++	++	++	++	++	++	+	+	++	++	++	++
12. โซเดียมไนเตรต	1% w/v	-	-	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5% w/v	-	-	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10% w/v	-	-	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13. พาราไนโตรฟีนอล	1% v/v	++	++	++	++	-	-	++	++	++	++	++	++	++	++
	5% v/v	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

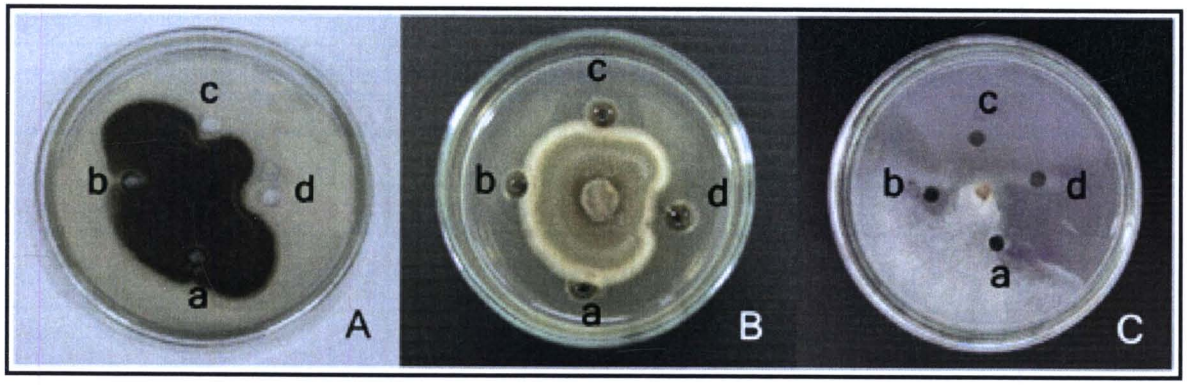
- ไม่ยับยั้ง, ± ยับยั้งเล็กน้อย (วงใสน้อยกว่า 1.0 มม.), + ยับยั้งปานกลาง (วงใส 1.0-3.5 มม.), ++ ยับยั้งมาก (วงใสมากกว่า 3.5 มม.)

ตารางที่ 14 ผลของชนิดและความเข้มข้นสารยับยั้งเชื้อราที่มีฤทธิ์ยับยั้งดีต่อการเจริญของเชื้อราที่แยกได้จากยางแผ่น

ชนิดของสารยับยั้ง	ความเข้มข้นที่ใช้	MT05*		TT03*		SR9*		TL3*		TM012*		TC211*		PR02*		TT04*		PR05*		SR12*	
		48h	72h	48h	72h	48h	72h	48h	72h	48h	72h	96h	120h	72h	96h	48h	72h	216h	240h	12h	24h
กรดอะซิติก	1% (v/v)	-	-	±	-	-	-	-	-	±	-	±	±	-	-	±	±	++	++	-	-
	5% (v/v)	±	-	+	+	-	-	++	++	+	+	+	+	++	+	++	++	++	++	+	±
	10% (v/v)	++	±	+	+	+	-	++	++	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+
โซเดียมเมตาไบซัลไฟท์	1% (w/v)	-	-	±	-	+	+	++	++	+	+	++	++	+	+	++	++	++	++	+	+
	5% (w/v)	++	++	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	10% (w/v)	++	++	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+++	+++
โปแตสเซียมซอร์เบต	1% (w/v)	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	±	-	+	+	++	++	+	-
	5% (w/v)	-	-	++	++	++	++	+	+	++	++	+	+	+	±	++	++	++	++	++	+
	10% (w/v)	-	-	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	+	±	++	++	++	++	+++	+++
โปแตสเซียมเบนโซเอต	1% (w/v)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	+	-	++	++	-	-
	5% (w/v)	-	-	+	-	+	±	++	+	-	-	-	-	±	-	+	-	++	++	++	-
	10% (w/v)	-	-	+	-	+	+	++	++	+	-	±	+	±	-	++	+	++	++	+++	-
น้ำส้มควันไม้ (ไม้ไผ่)	10% (v/v)	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	±	±	-	-
	30% (v/v)	±	-	+	-	-	-	±	-	+	±	+	+	+	-	+	+	+	+	±	-
	100% (v/v)	+	±	+	+	+	±	+	±	++	+	++	++	++	+	++	++	+	+	++	±

* ชนิดของเชื้อราตามตารางที่ 5

- ไม่ยับยั้ง, ± ยับยั้งเล็กน้อย (วงใสน้อยกว่า 1.0 มม.), + ยับยั้งปานกลาง (วงใส 1.0-3.5 มม.), ++ ยับยั้งมาก (วงใสมากกว่า 3.5 มม.)



ภาพที่ 18 ผลของสารยับยั้งต่อการเจริญของเชื้อราโดยวิธี hyphal extension inhibition

(A) ผลของโปแตสเซียมเบนโซเอตต่อการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus niger*

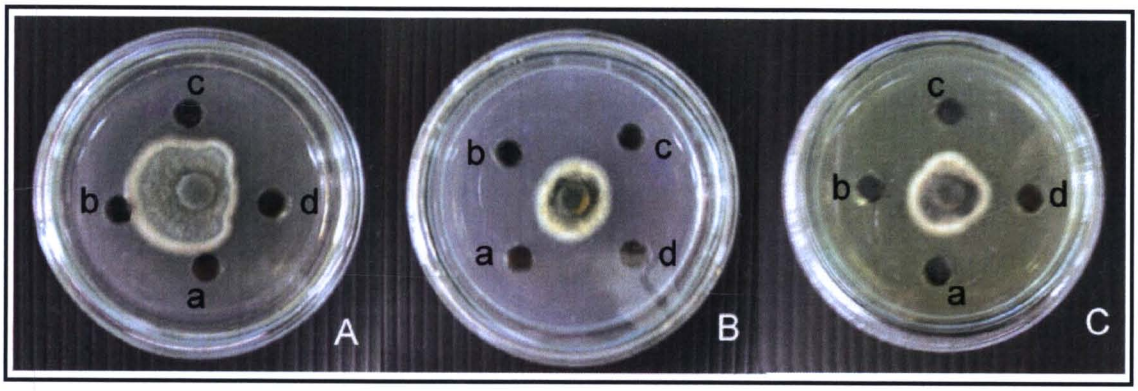
(a, b, c, d = 0%,1%, 5%, 10% (w/v))

(B) ผลของน้ำส้มควันไม้ไผ่ต่อการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus* sp.

(a, b, c, d = 0%, 10%, 30% and 100% (v/v))

(C) ผลของโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ต่อการเจริญของเชื้อรา *Rhizopus* sp.

(a, b, c, d = 0%, 1%, 5%, 10% (w/v))



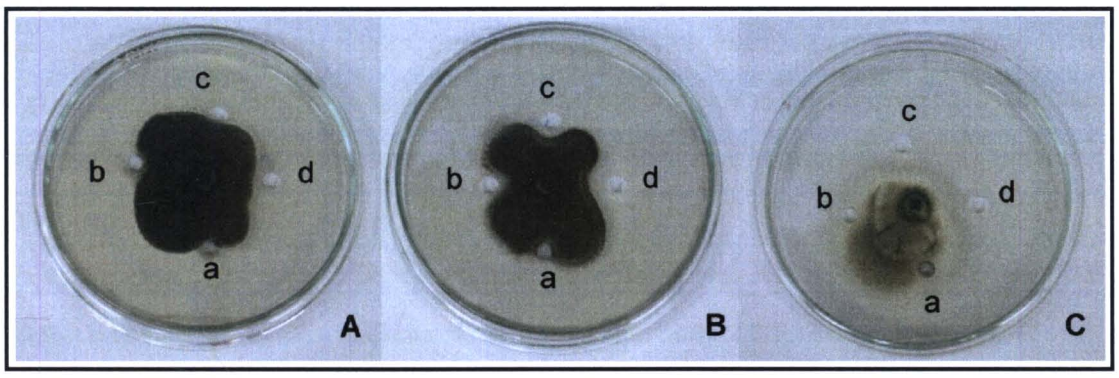
ภาพที่ 19 ผลของสารยับยั้งเชื้อราต่อยั้งการเจริญของ *Aspergillus* (PB03)

(A) น้ำส้มควันไม้ (a, b, c, d = 0%, 10%, 30% and 100% (v/v))

(B) โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ (a, b, c, d = 0%,1%, 5%, 10% (w/v))

(C) พาราไนโตรฟีนอล (a, b, c, d = 0%, 1%, 5%, 10% (w/v))

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย



ภาพที่ 20 ผลของสารยับยั้งเชื้อราต่อการเจริญของ *Aspergillus* (TL03)

(A) แคลเซียมโพรพิออเนต (a, b, c, d = 0%,1%, 5%, 10% (w/v))

(B) โปแตสเซียมซอร์เบต (a, b, c, d = 0%, 10%, 30% and 100% (v/v))

(C) พาราไนโตรฟีนอล (a, b, c, d = 0%, 1%, 5%, 10% (w/v))

6.2 การทดสอบหา minimal inhibitory concentration (MIC) และ minimal fungicidal concentration (MFC)

นำสารเคมีที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ในระดับของวงใสที่กว้างที่สุด และสามารถยับยั้งเชื้อราได้หลายชนิดจากวิธี hyphal extension-inhibition assay ดังการทดลองเบื้องต้น ได้แก่ โปแตสเซียมซอร์เบต โปแตสเซียมเบนโซเอต โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ กรดอะซิติก และน้ำส้มควันไม้จากไม้ไผ่ มาทดสอบหาค่า MIC โดยดัดแปลงวิธี broth dilution จาก CLSI standard M38-A (CLSI/NCCLS, 2002) ได้ผลของค่า MIC ต่อเชื้อรา *Aspergillus* spp. ทั้ง 10 ไอโซเลต ซึ่งเป็นเชื้อเชื้อที่พบมากกว่า 1 แหล่ง ดังแสดงในภาพที่ 21 (ตารางที่ 24 ในภาคผนวก) พบว่าโปแตสเซียมซอร์เบตมีค่า MIC ที่ความเข้มข้น 10% โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ความเข้มข้น 5% โปแตสเซียมเบนโซเอต 10% กรดอะซิติกความเข้มข้น 0.313% น้ำส้มควันไม้จากไม้ไผ่ความเข้มข้น 6.25% พาราไนโตรฟีนอลความเข้มข้น 0.156 % แอมโฟเทอริซินบี ความเข้มข้น >0.8 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และพบว่าเชื้อ *Aspergillus* ที่ให้ค่า MIC สูงที่สุดคือ ไอโซเลต SR9 เมื่อทดสอบหาค่า MFC เพื่อศึกษาถึงความสามารถของสารยับยั้ง ในการทำลายสปอร์ของเชื้อราที่แยกได้จากยางแผ่น โดยการนำสารละลายที่ได้จากการทดสอบ MIC ที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้มา spread บนอาหารวุ้น PDA และสังเกตการเจริญของเชื้อรา สำหรับเชื้อรา *Aspergillus* spp. ทั้ง 10 ไอโซเลต ที่ทดสอบกับสารยับยั้งเชื้อรา พบว่าค่า MFC สูงสุดของโปแตสเซียมซอร์เบตมีค่าที่ความเข้มข้น >10% โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ และ โปแตสเซียมเบนโซเอตที่ความเข้มข้นมีค่า MFC ที่ความเข้มข้น 10% กรดอะซิติกความเข้มข้น 0.625% น้ำส้มควันไม้ไผ่ความเข้มข้น 25% พาราไนโตรฟีนอลความเข้มข้น 0.156% และแอมโฟเทอริซินบี มีค่า >0.8 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยเชื้อราที่ให้ค่า MFC สูงที่สุดคือ

Aspergillus SR9 เช่นเดียวกับค่า MIC พบว่า *Aspergillus* SR9 จะสร้างสปอร์ที่มีขนาดใหญ่ (ภาพที่ 22) แต่อย่างไรก็ตามเชื้อ *Aspergillus* NY05 มีค่า MFC ของสารโปแตสเซียมเบนโซเอตและกรดอะซิติกที่สูงกว่าไอโซเลต SR9 Masoka *et al.* (2007) พบว่า *Aspergillus* เป็นจีนัสที่ทนทานต่อสารยับยั้งเชื้อรา

Pateraki และคณะ (2007) ได้ใช้โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ ในการควบคุมการงอกและการเจริญเติบโตของ *Aspergillus carbonarius* ที่แยกได้จากผลองุ่น พบว่าโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ความเข้มข้นมากกว่า 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ โดยโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์มีผลการยับยั้งการผลิตพลังงานภายในเซลล์ การสังเคราะห์โปรตีน การสังเคราะห์ DNA และเยื่อหุ้มเซลล์ (Mills *et al,* 2004)

Combina *et al.* (1999) รายงานว่าโซเดียมเบนโซเอต และโปแตสเซียมซอร์เบต สามารถยับยังการเจริญของ *A. alteruata* ที่ความเข้มข้นมากกว่า 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม Joseph และ Akinyosoye (1997) ได้รายงานการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโดยใช้สารโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์และโปแตสเซียมเบนโซเอตใน African soft cheese ที่ความเข้มข้น 0.2% และ 0.8% พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus, M. racemosus, Rhizopus, Penicillium, Brettaromyces* และ *Rhodotorula* ได้ ในส่วนของหลักการทำงานของกรดอ่อนที่ใช้ถนอมอาหาร เนื่องจากมีการส่งผ่านของกรดที่ไม่แตกตัวเข้าสู่เยื่อหุ้มเซลล์พลาสมาเมมเบรน ทำให้เกิดการสะสมของ protons และ anions ที่ไม่สามารถข้ามกลับเข้าสู่พลาสมาเมมเบรน (Brul and Coote, 1999 อ้างโดย Mills *et al.*, 2004) นอกจากนี้ Lind และคณะ (2005) มีการทดสอบการใช้กรดอินทรีย์คือ กรดอะซิติกในการยับยั้งเชื้อรา *A. fumigatus, A.roqueforti, A. nidulans, P. commune* และ *F. sporotrichoides* พบว่าต้องใช้ความเข้มข้น > 500 mM หรือ 3% จึงยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่พีเอช 7 ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่สูง Kang และคณะ (2003) รายงานว่ากรดอะซิติกที่ความเข้มข้น 50 mM (0.3%) ก็ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Colletotrichum* sp. โดยกรดอะซิติกมีผลในการยับยั้งกระบวนการหายใจมากกว่าการเข้าทำลายโครงสร้างของเซลล์

การยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Fusarium* spp. จำนวน 4 ไอโซเลต พบว่ามีค่า MIC ของโปแตสเซียมซอร์เบต 0.625%, โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ 0.156% โปแตสเซียมเบนโซเอต 2.5 % กรดอะซิติก 0.156% น้ำส้มควันไม้จากไม้ไผ่มีค่า MIC เท่ากันหมดทั้ง 4 ไอโซเลต คือ 1.563% ส่วนสารที่ใช้เปรียบเทียบคือ พาราไนโตรฟีนอลมีค่า MIC เท่ากับ 0.039% และพบว่า MFC ที่สูงสุดของสารแต่ละชนิด โดยโปแตสเซียมซอร์เบตมีค่า MFC เท่ากับ 1.25%, โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ 0.156%, โปแตสเซียมเบนโซเอต 2.5%, กรดอะซิติก 0.156%, น้ำส้มควันไม้ไผ่ 3.125% ส่วนสารที่ใช้เปรียบเทียบคือ พาราไนโตรฟีนอลมีค่า MFC เท่ากับ 0.078% และ แอมโฟเทอริซินบี 0.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่ง *Fusarium* MT05 เป็นเชื้อที่มีความคงทนต่อสารยับยั้งมากที่สุดในเชื้อรากลุ่มนี้ (ภาพที่ 23 และตารางที่ 26 ในภาคผนวก)) โดยที่ค่า MIC ในงานวิจัยนี้มีค่าต่ำกว่าในงานวิจัย

ของ Mecteau และคณะ (2002) และ Mills และคณะ (2004) ได้รายงานว่า เกลือของโซเดียมเบนโซเอต โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ โปแตสเซียมซอร์เบต ที่ความเข้มข้น 0.2 M (ประมาณ 3%) สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการงอกของสปอร์ของ *F. sambucinum*

สำหรับ *Penicillium* spp. 6 ไอโซเลตที่แยกได้จากตัวอย่างยางแผ่นเมื่อนำมาทดสอบความไวต่อสารยับยั้งเชื้อราทั้ง 7 ชนิด ได้ผลดังภาพที่ 24 (ตารางที่ 25 ในภาคผนวก) พิจารณาค่าที่สูงที่สุด พบว่าค่า MIC และ MFC ของโปแตสเซียมซอร์เบตที่ความเข้มข้น 1.25% และ 2.5% ตามลำดับ โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ที่ความเข้มข้น 0.156% และ 0.313% โปแตสเซียมเบนโซเอตที่ความเข้มข้น 5 % กรดอะซิติกที่ความเข้มข้น 0.156% น้ำส้มควันไม้จากไม้ไผ่ที่ความเข้มข้น 3.125% พาราไนโตรฟีนอลที่ความเข้มข้น 0.078% และ 0.313% และ แอมโฟเทอริซินบีที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นของค่า MFC ที่ทำลายเชื้อ *Penicillium* พบว่า ส่วนใหญ่มีค่าเท่ากับ MIC และ *Penicillium* ที่คงทนต่อสารยับยั้งได้สูงที่สุดคือ ไอโซเลต TT04

ในส่วนของ *Cladosporium* spp. จำนวน 3 ไอโซเลต พบว่าโปแตสเซียมซอร์เบตมีค่า MIC สูงสุดที่ 1.25% โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ และโปแตสเซียมเบนโซเอตมีค่า MIC ต่อเชื้อราที่ใช้ทดสอบเท่ากันทั้ง 3 ไอโซเลต คือ 0.313% และ 1.25% ตามลำดับ ส่วนกรดอะซิติกมีค่า MIC เท่ากับ 0.313% น้ำส้มควันไม้จากไม้ไผ่ 6.25% ในขณะที่ค่า MIC ของพาราไนโตรฟีนอลเป็น 0.039% และแอมโฟเทอริซินบีเป็น 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และโดยส่วนใหญ่ *Cladosporium* ที่นำมาทดสอบจะมีค่า MIC และค่า MFC ต่อสารยับยั้งทั้งสามชนิดอยู่ในความเข้มข้นที่เท่ากัน (ภาพที่ 25 และตารางที่ 27 ในภาคผนวก))

สำหรับค่า MIC และ MFC ของสารเคมีต่อเชื้อรา *Rhizopus* spp., *Mucor* sp. และ *Geotrichum* sp. พบว่าโปแตสเซียมซอร์เบต มีค่า MIC 1.25% และค่า MFC 2.5% (ภาพที่ 26 และตารางที่ 28 ในภาคผนวก)) โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ มีค่า MIC ต่อ *Rhizopus* spp. และ *Mucor* sp. เท่ากับ 0.313% ค่า MFC เท่ากับ 0.625% สำหรับ *Geotrichum* sp. และ *Mucor* sp. สารโปแตสเซียมเบนโซเอตให้ค่า MIC เท่ากับ 1.25% ค่า MIC ของกรดอะซิติกต่อ *Rhizopus* spp. และ *Geotrichum* sp. เท่ากับ 0.313% แต่น้ำส้มควันไม้ไผ่เมื่อทดสอบกับ *Rhizopus* spp., *Mucor* sp. และ *Geotrichum* sp. มีค่า MIC เท่ากับ 3.125%

Kartal และคณะ (2004) ได้ศึกษาผลการยับยั้งเชื้อรา *Fomitopsis palustris* และ *Trametes versicolor* ด้วยน้ำส้มควันไม้จากไม้สนพิกุล (*Cryptomeria japonica*) กระถินเทพา (*Acacia mangium*) พบว่า ที่ความเข้มข้น 0.1% สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้งสองชนิดได้ 48.50% และ 58.50% เมื่อเปรียบเทียบแล้วความเข้มข้นจากน้ำส้มควันไม้ไผ่ในการศึกษาครั้งนี้มีค่า MIC 6.25% แต่สามารถยับยั้งการเจริญได้ 100% นอกจากนี้มีรายงานการสกัดสารยับยั้งเชื้อราจากพืชธรรมชาติ โดย Chamundeeswari และคณะ (2004) พบว่าสารสกัดจากรากของมะฝ่อ (*Trewia*

polycarpa) ต่อเชื้อ *A. niger,* และ *Penicillum* sp. มีค่า MIC อยู่ที่ความเข้มข้น 0.25 และ 0.313 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ Chandrasekaran และ Venkatesalu (2004) รายงานว่าสารสกัดจากเมล็ดหว้ามี ค่า MIC ต่อเชื้อ *A. fumigatus* และ *M. gypseum* คือ 0.125 และ 0.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร หรือ 0.0125 และ 0.025% ตามลำดับ และค่า MFC ต่อเชื้อ *Candida albicans*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *Rhizopus* sp. and *Trichophyton rubrum* โดยสารที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์มีค่าความเข้มข้นอยู่ที่ 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (0.05%) และสารสกัดด้วยน้ำมีค่า MFC อยู่ในช่วง 0.125 และ 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร คิดเป็น 0.0125 และ 0.05% ตามลำดับ จะเห็นว่าสารสกัดจากธรรมชาติดังรายงานข้างต้นมีค่า MIC และ MFC ต่ำกว่าค่า MIC และ MFC ของน้ำส้มควันไม้ไผ่ซึ่งเป็นสารจากธรรมชาติเช่นกัน

Vagefi และคณะ (2008) ได้รายงานผลการศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. ustus* ที่แยกได้จากปอดของผู้ป่วยที่ให้ยาต้านเชื้อรา พบว่าแอมโฟเทอริซินบี มีค่า MIC เท่ากับ 0.001 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง Masoka *et al.* (2007) รายงานว่าค่า MIC ต่อเชื้อ *A. fumigatus* ต่อสารแอมโฟเทอริซินบี มีค่า MIC 0.02 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และยังพบว่า *Aspergillus* เป็นจีนัสที่ทนทานต่อสารยับยั้งเชื้อราที่สกัดจากพืช โดยมีค่า MIC เฉลี่ยที่ความเข้มข้น 0.34 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

เมื่อพิจารณาผลการยับยั้งของสารยับยั้งเชื้อราแต่ละชนิดต่อเชื้อราที่แยกได้จากยางแผ่นจำนวน 27 ไอโซเลต ได้ช่วงการยับยั้งของค่า MIC และ MFC ดังตารางที่ 15 และตารางที่ 16 ความสามารถในการทนของสารยับยั้งเชื้อราทั้ง 5 ชนิดของเชื้อแต่ละจีนัส พบว่าค่า MIC และ MFC ของสารยับยั้งโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ต่อเชื้อ *Aspergillus* มีค่า <0.0195-5% และ 0.0195-10% ตามลำดับ เทียบกับเชื้อในจีนัสอื่นแล้ว แม้ว่าจะมีความสามารถในการยับยั้งในช่วงกว้างกว่า แต่ก็มีเชื้อที่มีความไวต่อสารยับยั้งที่สุดเช่นกัน เนื่องจากเชื้อรา *Aspergillus* ที่พบมีความหลากหลายมาก ดังนั้นแต่ละไอโซเลตก็มีความสามารถในการคงทนต่อสารยับยั้งได้แตกต่างกัน โดยที่กรดอะซิติกและโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญได้ดี (ภาพที่ 21) สำหรับเชื้อ *Aspergillus* SR9 ลักษณะของสปอร์นั้นมีความหนามากและยังมีผิวขรุขระ ขนาดใหญ่กว่า เชื้อราไอโซเลตอื่น จึงอาจเป็นผลให้มีสภาพในการทนต่อสารยับยั้งเชื้อราได้ดี (ภาพที่ 22) สำหรับเชื้อรา *Fusarium* นั้นมีค่า MIC และ MFC ของกรดอะซิติกและโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์เท่ากันคือ 0.078-0.156 % (ตารางที่ 15) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับ *Fusarium* แต่ละไอโซเลตก็พบว่ามีความไวต่อสารทั้งสองชนิดนี้เป็นอย่างดี (ภาพที่ 23) ดังจะเห็นว่าผลการยับยั้งของสารยับยั้งเชื้อราอยู่ในช่วงที่ค่อนข้างกว้าง แต่ก็พบว่าโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์มีค่า MIC ต่ำกว่าสารยับยั้งชนิดอื่นต่อเชื้อส่วนใหญ่ ส่วนกรดอะซิติกที่มีช่วงการยับยั้งที่แคบกว่าสารยับยั้งชนิดอื่น และจะเห็นว่าน้ำส้มควันไม้มีช่วงของค่า MIC และ MFC ของการยับยั้งเชื้อราที่เท่ากันแต่ก็เป็นค่าที่สูง สำหรับโปแตสเซียมซอร์เบตและโปแตสเซียมเบนโซเอต มีช่วงการยับยั้งที่กว้างกว่ากรดอะซิติก เนื่องจากการที่ใช้ปริมาณสปอร์

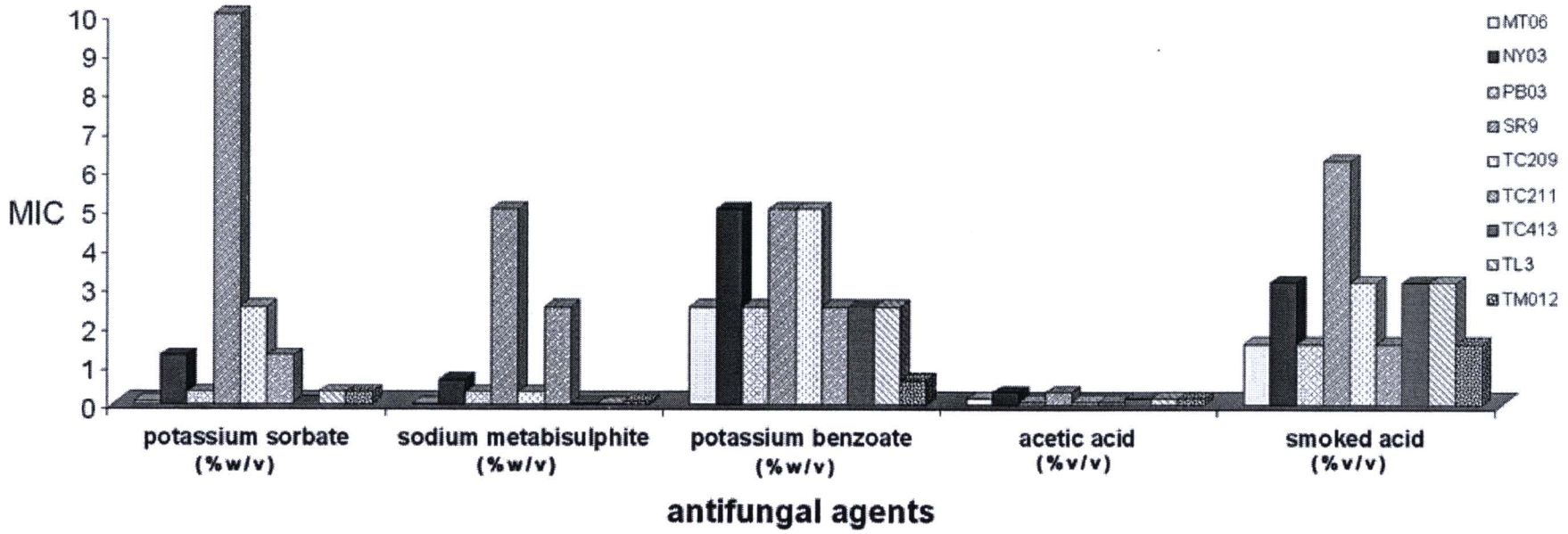
เริ่มต้นในความเข้มข้นสูงคือ 1-5x10^6 สปอร์/มิลลิลิตร จึงมีส่วนในการทำให้ค่า MIC ของสารยับยั้งเชื้อราในงานวิจัยนี้มีค่าสูงด้วย จากรายงานการวิจัยของ Lass-Flörl และคณะ (2003) ซึ่งศึกษาผลของแอมโฟเทอริซินบีต่อสปอร์ของ *A. flavus* ที่ความเข้มข้นสปอร์ 1-5x10^3, 1-5x10^4 และ 1-5x10^5 โคโลนี/มิลลิลิตร มีค่า MIC 1.25, 5 และ 7.5 มิลลิกรัม/ลิตร ที่เวลา 48 ชั่วโมง ดังจะเห็นว่าเมื่อปริมาณความเข้มข้นเริ่มต้นสปอร์สูงขึ้น ทำให้ค่า MIC สูงตามไปด้วย อิทธิพลของปริมาณสปอร์มีผลเกี่ยวข้องกับประสิทธิภาพในการยับยั้งของสาร ถึงแม้ว่าแอมโฟเทอริซินบี มีผลการขัดขวาง ergosterol ในเยื่อหุ้มเซลล์โดยตรงมากกว่าไปมีผลกับระบบของเอนไซม์ แต่การที่มีปริมาณความเข้มข้นสปอร์สูงมีผลทำให้กลไกในการยับยั้งของแอมโฟเทอริซินบีอ่อนกำลังลง

Widmer และคณะ (2006) รายงานว่า ค่า MIC ของแอมโฟเทอริซินบีต่อ *Aspergillus* spp. มีช่วงอยู่ระหว่าง 0.125-16 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ค่า MIC และ MFC ต่อ *F. solani* ระหว่าง 1.0-8.0 และ 4 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร *Rhizopus* spp. มีค่า MIC และ MFC เท่ากับ 0.06 และ 16.0 ไมโครกรัมต/มิลลิลิตร Serrano, *et al.* (2003) รายงานว่า ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อในกลุ่ม *Aspergillus* ของแอมโฟเทอริซินบีพบว่ามีค่า MIC อยู่ในช่วง 0.06-2.0 มิลลิกรัม/ลิตร ที่ 72 ชั่วโมง Therese และคณะ (2006) รายงานว่า แอมโฟเทอริซินบี มีช่วง MIC ระหว่าง 0.0625-0.25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ต่อเชื้อ *A. niger, A. flavus, A. terreus, Penicillium* sp. และ *Fusarium* sp. นอกจากนี้ Leon และคณะ (2005) ได้รายงานว่าแอมโฟเทอริซินบี ความเข้มข้นระหว่าง 0.01 และ 0.05 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ *A. fumigatus* ที่เลี้ยงในเซลล์ไตของมนุษย์ จะเห็นได้ว่าในงานวิจัยดังกล่าวค่า MIC ของแอมโฟเทอริซินบี ต่อ *Aspergillus* ที่ก่อโรคในคนมีค่าต่ำ แสดงว่าเชื้อราจากเชื้อราที่แยกได้จากยางแผ่นจะมีความสามารถในการทนทานต่อสารยับยั้งเชื้อราได้มากกว่าเชื้อราในงานวิจัยก่อนหน้านี้ ดังนั้นหากมีการฟุ้งกระจายของสปอร์เชื้อราในบรรยากาศเกษตรกรที่มีสภาวะเสี่ยงต่อการติดเชื้อได้ง่าย เช่นผู้ที่มีความบกพร่องในระบบภูมิคุ้มกันหรือเป็นโรคหอบหืด เมื่อสปอร์ของเชื้อราเหล่านี้เข้าสู่ร่างกายจะก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพเกษตรกรเป็นอย่างมาก (Webster, 1996)

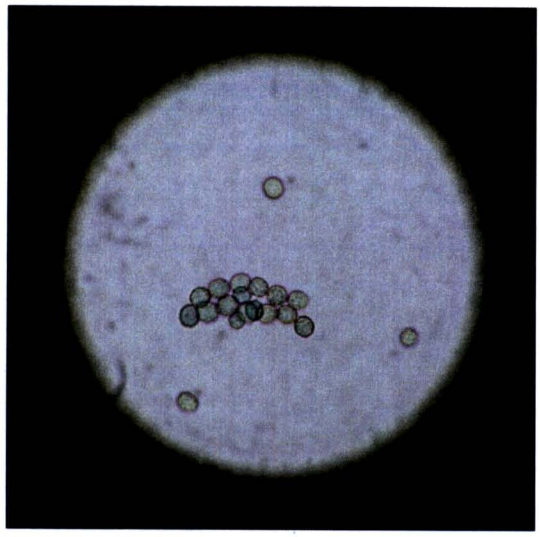
Rajabi และคณะ (2005) รายงานค่า MIC ของพาราไนโตรฟีนอล 2,880 μM ต่อ *Mycobacterium tuberculosis* สำหรับสารพาราไนโตรฟีนอลเป็นสารในกลุ่มฟีนอลซึ่งมีผลรบกวนต่อเยื่อหุ้มเซลล์หรือมีผลยับยั้งการงอกของสปอร์ (Ejechi *et al.*, 1999) จึงทำให้มีค่า MIC ที่ต่ำกว่าสารยับยั้งในกลุ่มอื่นมาก และเคยเป็นสารที่มีการแนะนำใช้เป็นสารยับยั้งเชื้อราในยางแผ่นในอดีต แต่เนื่องจากเป็นสารที่เป็นพิษระดับ 6 ซึ่งเป็นสารที่อันตรายมากต่อสิ่งมีชีวิตและมีผลต่อสุขภาพของเกษตรกรผู้ผลิตยางแผ่น จึงไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นสารยับยั้งเชื้อราบนยางแผ่น

ผลการทดลองพบว่า เชื้อรา *Aspergillus*, *Penicillium* และ *Fusarium* เป็นเชื้อที่พบได้ทั่วไปบนยางแผ่น และมีความคงทนต่อสารยับยั้งเชื้อราที่ความสามารถในการยับยั้งเชื้อราได้ดี คือ กรดอะซิติกและโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ ดังนั้นจึงเลือกเชื้อราเหล่านี้เพื่อนำไปทดสอบในการทดลองต่อไป

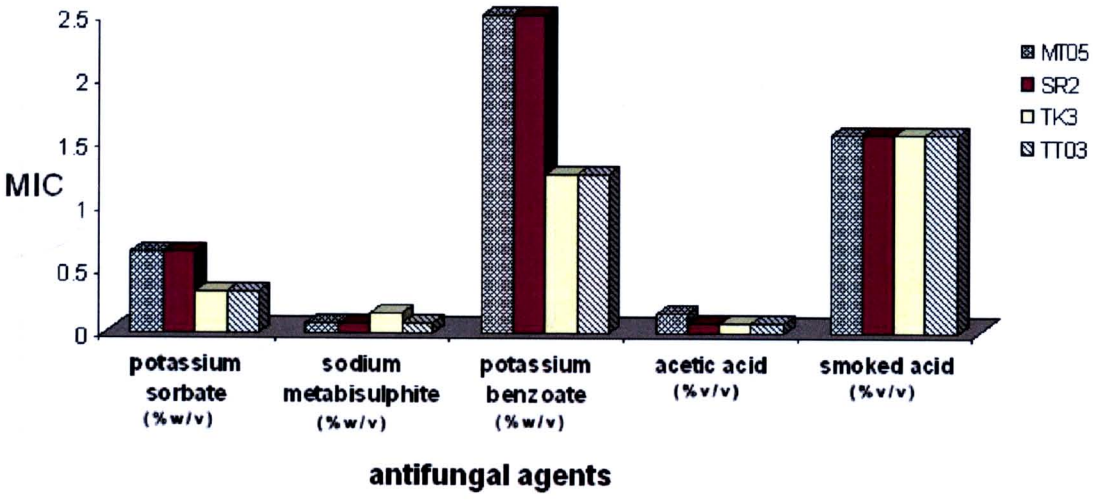
ส่วนน้ำส้มควันไม้ไผ่แม้ว่าจะใช้ความเข้มข้นในการยับยั้งสูงแต่ก็เป็นสารที่ปลอดภัยและมีผลในการยับยั้งได้ในระดับดีและเกษตรกรนำมาใช้ในการป้องกันเชื้อราอย่างแพร่หลายจึงได้นำมาทดสอบในขั้นต่อไปด้วย



ภาพที่ 21 ค่า MIC ของสารยับยั้งเชื้อรา 5 ชนิดต่อ *Aspergillus* spp. ที่แยกได้จากยางแผ่น

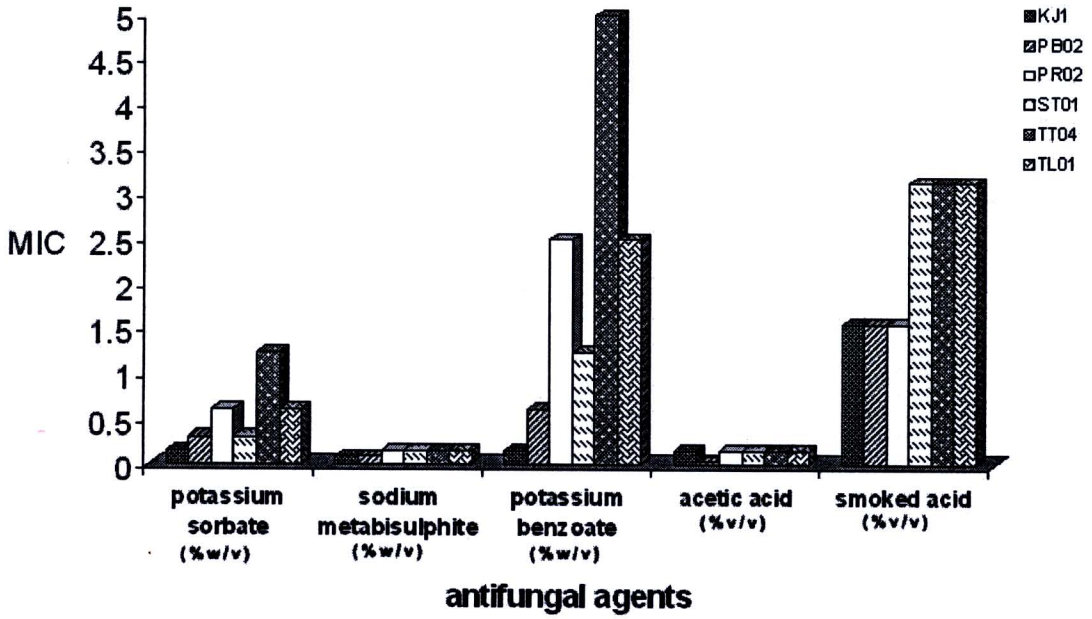


ภาพที่ 22 ลักษณะของ สปอร์ของเชื้อรา *Aspergilllus* (SR9) (400X)

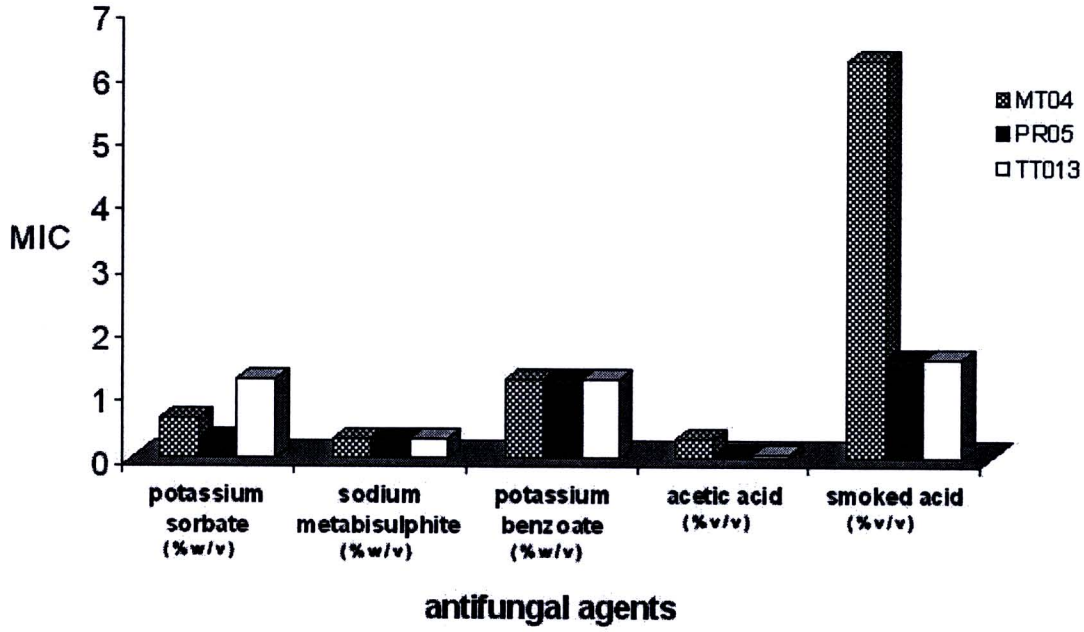


ภาพที่ 23 ค่า MIC ของสารยับยั้งเชื้อรา 5 ชนิดต่อ *Fusarium* spp. ที่แยกได้จากยางแผ่น

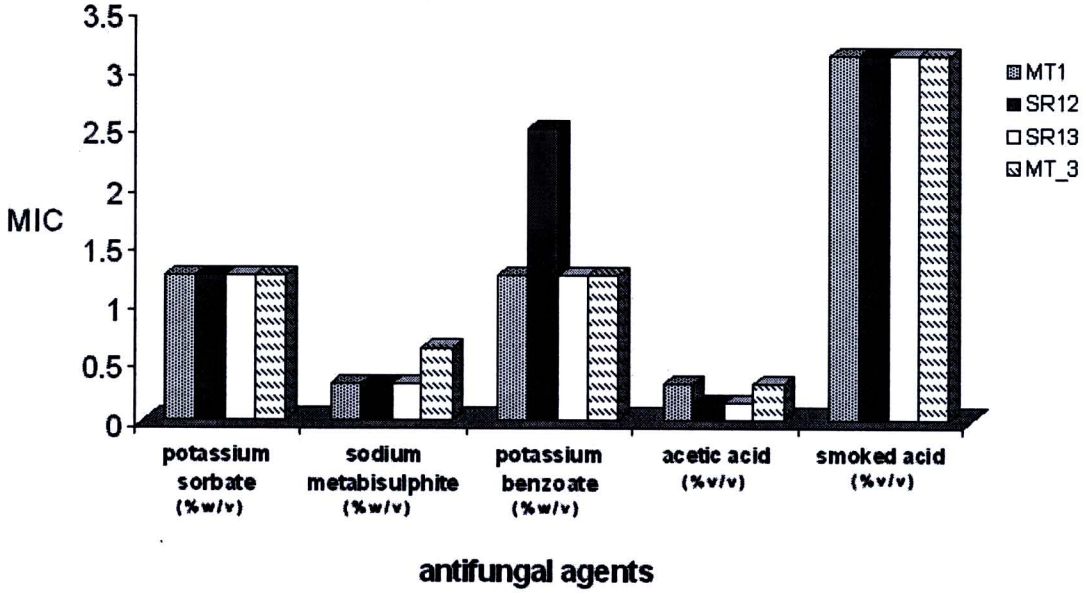
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย



ภาพที่ 24 ค่า MIC ของสารยับยั้งเชื้อรา 5 ชนิดต่อ *Penicillium* spp. ที่แยกได้จากยางแผ่น



ภาพที่ 25 ค่า MIC ของสารยับยั้งเชื้อรา 5 ชนิดต่อ *Cladosporium* spp. ที่แยกได้จากยางแผ่น



ภาพที่ 26 ค่า MIC ของสารยับยั้งเชื้อรา 5 ชนิดต่อ *Rhizopus* spp. (MT1 และ SR12), *Mucor* sp. (SR13) และ *Geotrichum* sp.(MT_3) ที่แยกได้จากยางแผ่น

ตารางที่ 15 ช่วงของค่า MIC และ MFC ของสารยับยั้งการเจริญของเชื้อราต่อเชื้อราที่พบบ่อยบนยางแผ่น

สายพันธุ์รา (n)	MIC/MFC	กรดอะซิติก (% v/v)	โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ (% w/v)	โพแทสเซียมซอร์เบต (% w/v)	โพแทสเซียมเบนโซเอต (% w/v)	น้ำส้มควันไม้ (ไม้ไผ่) (% v/v)	พาราไนโตรฟีนอล (% v/v)	แอมโฟเทอริซินบี (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)
Aspergillus spp.	MIC	0.078-0.313	<0.0195-5	0.078-10	0.625-10	1.563-25	0.0195-0.156	0.0125->0.8
(10)	MFC	0.078-0.625	0.0195-10	0.039->10	0.625-10	1.563-25	0.0195-0.156	0.025->0.8
Penicillium spp.	MIC	0.039-0.156	0.0078-0.156	0.156-0.625	0.156-5	1.563-3.125	0.0093-0.078	0.025-0.1
(6)	MFC	0.156-0.313	0.078-0.313	0.156-2.5	0.313-5	1.563-3.125	0.0093-0.078	0.05-0.1
Fusarium spp.	MIC	0.078-0.156	0.078-0.156	0.313-0.625	1.25-2.5	1.563	0.039	0.025-0.2
(4)	MFC	0.078-0.156	0.078-0.156	0.313-1.25	1.25-2.5	1.563-3.125	0.039	0.025-0.2
Cladosporium spp.	MIC	0.078-0.313	0.313	0.313-1.25	1.25	1.563-6.25	0.0195-0.039	0.1
(3)	MFC	0.156-0.625	0.313-0.625	0.625-1.25	1.25-2.5	1.563-6.25	0.039	0.2-0.4
Rhizopus spp.	MIC	0.156-0.313	0.313	1.25	1.25-2.5	3.125	0.039-0.078	0.2
(2)	MFC	0.313	0.625	2.5	1.25-2.5	3.125	0.078-0.156	0.2-0.4
Mucor sp.	MIC	0.156	0.313	1.25	1.25	3.125	0.039	0.05
(1)	MFC	0.156	0.313	1.25	1.25	3.125	0.039	0.1
Geotrichum sp.	MIC	0.313	0.625	1.25	1.25	3.125	0.039	0.2
(1)	MFC	0.313	0.625	1.25	1.25	3.125	0.039	0.2

ตารางที่ 16 ช่วงของค่า MIC และ MFC ต่อเชื้อราที่แยกได้จากยางแผ่น

ชนิดของสารยับยั้งเชื้อรา	ช่วงของ MIC	ช่วงของ MFC
Acetic acid (%v/v)	0.039-0.313	0.078-0.625
Sodium metabisulphite (%w/v)	<0.0195-5	0.0195-10
Potassium sorbate (%w/v)	0.039-10	0.039->10
Potassium benzoate (%w/v)	0.156-10	0.313-10
Smoked acid (%v/v)	1.563-25	1.563-25
p-Nitrophenol (%v/v)	0.0093-0.156	0.0093-0.156
Amphotericin B (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	0.0125- >0.8	0.025- >0.8

7. การศึกษาการเจริญของเชื้อราบนยางแผ่น

7.1 ผลของอุณหภูมิต่อการเจริญของเชื้อรา

นำสปอร์ของเชื้อรา *Aspergillus* (SR9), *Penicillium* (TT04) และ *Fusarium* (MT05) ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 1-5x10^6 สปอร์/มิลลิลิตร เพาะลงบนยางแผ่นดิบขนาด 5x5 เซนติเมตร ที่ตากแล้วประมาณ 1 วัน แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 25, 37, 45 และ 65 องศาเซลเซียส เมื่อตรวจวัดที่ความชื้นสัมพัทธ์บรรยากาศของแต่ละตู้บ่มพบว่ามีความชื้นสัมพัทธ์ 85%, 62.7%, 50.8% และ 25.8% ตามลำดับ สังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อรา พบว่าที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เชื้อราทั้ง 3 ชนิด สามารถเจริญบนยางแผ่นได้ตั้งแต่วันที่ 2 ของการเพาะเชื้อ สำหรับที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีเพียง *Aspergillus* (SR9) เท่านั้นที่มีการเจริญ นอกจากนี้ ที่อุณหภูมิ 45 และ 65 องศาเซลเซียส ไม่พบการเจริญของเชื้อราทั้งสามชนิด (ตารางที่ 17)

ในงานวิจัยของ Mitchell และคณะ (2003) พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *A. carbonarius* คือช่วงระหว่าง 25 และ 35 องศาเซลเซียสซึ่งผลการเจริญเติบโตของเชื้อรานี้ตรงกับการเข้าทำลายและมีการเจริญได้สูงที่สุดของกลุ่ม *Aspergillus* ที่พบในองุ่น อย่างไรก็ตาม Lian และคณะ (2007) พบว่า *A. fumigatus* ซึ่งเป็นเชื้อราที่ชอบอุณหภูมิสูง (thermophilic fungus) เลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ก็มีการเจริญได้ดี ในขณะที่ Davis และคณะ (1975) รายงานว่า *A. fumigatus* สามารถเจริญได้ที่ 50 องศาเซลเซียส

Deacon (1997) รายงานว่า *Fusarium* ซึ่งเป็นเชื้อราที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง (mesophilic fungi) อุณหภูมิสูงสุดที่มีการเจริญคือ 40 องศาเซลเซียส สามารถพบการเจริญบนวัตถุที่เชื้อราเกาะได้ภายใน 2-3 วัน ส่วน *A. fumigatus* มีอุณหภูมิสูงสุดที่เจริญได้คือ 52-55 องศาเซลเซียส และมีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญคือที่ 37-40 องศาเซลเซียส

เมื่อพิจารณาผลการทดลองนี้พบว่า ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นั้นเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อราและความชื้นสัมพัทธ์ที่วัดได้ในตู้บ่มยังพบว่าเป็นความชื้นสัมพัทธ์ที่สูงมาก คือ 85% ดังนั้นจึงส่งผลให้เชื้อราทั้ง 3 ชนิดนี้สามารถเจริญบนยางแผ่นได้ไม่ต่างจากการเจริญบนสับสเตรตอื่น สำหรับที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นั้น ความชื้นสัมพัทธ์ในตู้บ่มวัดได้ 62.7% แม้ว่าเป็นความชื้นที่ค่อนข้างแห้ง แต่ก็ยังพอมีความชื้นในอากาศให้เชื้อรา *Aspergillus* เจริญได้ ซึ่งต่างจากอุณหภูมิที่ 45 และ 65 องศาเซลเซียส ทั้งสองอุณหภูมินี้เป็นอุณหภูมิที่ค่อนข้างสูงไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อราที่เป็นเชื้อราที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง และยังมีความชื้นสัมพัทธ์บรรยากาศที่ต่ำมากโดยวัดความชื้นสัมพัทธ์ของตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 45 และ 65 องศาเซลเซียส ได้ที่ 50.8% และ 25.8% ตามลำดับ จึงส่งผลให้เชื้อราไม่สามารถเจริญเติบโตได้ อย่างไรก็ตามอุณหภูมิก็เป็นปัจจัยที่มีผลอย่างชัดเจนต่อการเจริญของเชื้อรา (Chew *et al.*, 2001)

ตารางที่ 17 ผลของอุณหภูมิต่อการเจริญของเชื้อรา 3 ชนิดบนยางแผ่นตากที่ความชื้นสัมพัทธ์ต่างๆ

ชนิดของเชื้อรา	25 °C (85%RH)				37°C (62.7%RH)				45°C (50.8%RH)				65°C (25.8% RH)			
	2d	3d	4d	7d	2d	3d	4d	7d	2d	3d	4d	7d	2d	3d	4d	7d
Penicillium (TT04)	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fusarium (MT05)	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aspergillus (SR09)	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

d = วัน , - = ไม่พบการเจริญ, + = พบการเจริญจากการสังเกต

7.2 ผลของอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ต่อการเจริญของเชื้อรา

นำสปอร์ของเชื้อรา *Aspergillus* (SR9), *Penicillium* (TT04) และ *Fusarium* (MT05) เพาะลงบนยางแผ่นดิบที่ตากแล้ว 1 วัน ที่อุณหภูมิ 25, 37 และ 45 องศาเซลเซียส และควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ที่ 57%, 67%, 80% และ 90% แล้วสังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อรา (ตารางที่ 18 และภาพที่ 27) พบว่า ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 57 และ 67% สังเกตเห็นการเจริญของเชื้อราในวันที่ 5 แต่ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 80 และ 90% จะเห็นการเจริญของเชื้อราในวันที่ 3 และที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส การเจริญของเชื้อราทั้งสามชนิดไม่ดีเท่าที่ 25 องศาเซลเซียส สำหรับที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ทุกความชื้นสัมพัทธ์ที่ทดสอบ เริ่มมีการเจริญของเชื้อราในวันที่ 7 แต่เชื้อราสามารถเจริญได้เพียงเล็กน้อย สังเกตเห็นเป็นเส้นใยบางเท่านั้น

อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อราที่แยกได้จากยางแผ่น ดังผลการทดลองในข้อ 7.1 (ตารางที่ 17) แต่เมื่อศึกษาผลของอุณหภูมิร่วมกับความชื้น

สัมพัทธ์ต่อการเจริญของเชื้อรา ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90% ไม่ได้มีการเจริญเติบโตของเชื้อราเร็วขึ้นแต่อย่างใด อาจเนื่องจากเชื้อราสามารถเจริญได้ดีในช่วงความชื้นสัมพัทธ์ที่กว้างตั้งแต่ 60-90% ดังนั้นที่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญจึงไม่เห็นความแตกต่างของความชื้นสัมพัทธ์ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Pardo และคณะ (2005) ที่พบว่า *A. ochraceus* เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 80-90% แต่ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 90% ไม่มีการเจริญของเชื้อรา *A. ochraceus* และได้ให้เหตุผลว่าที่อุณหภูมิต่ำหรือสูงเกินไปจะมีผลมากกว่าความชื้นสัมพัทธ์ ดังนั้นที่อุณหภูมิ 45°ซ แม้จะความชื้นสัมพัทธ์ที่สูง 90%เชื้อรา ก็เจริญได้ไม่ดีเนื่องจากอุณหภูมิไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา

การควบคุมการเจริญของเชื้อราที่ความชื้นสัมพัทธ์ต่ำกว่า 65% จะทำให้ลดความเสี่ยงต่อการเจริญของเชื้อราได้ (BCCDC Laborarory Services, 2003) แต่จากผลการทดลองนี้พบว่า ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 57% และ 67% แม้ว่าจะเป็นความชื้นสัมพัทธ์ที่ต่ำแล้ว เชื้อราทั้ง *Aspergillus*, *Penicillium* และ *Fusarium* ยังสามารถเจริญได้ได้เล็กน้อยบนยางแผ่นที่ 25 และ 37 องศาเซลเซียส งานวิจัยของ Pardo และคณะ (2005) ศึกษาการเจริญของ *A. ochraceus* บนผลเบอร์รี่ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 80, 90 และ 100% และที่อุณหภูมิ 10, 20 และ 30 องศาเซลเซียส เมื่อพิจารณาเฉพาะผลของความชื้นสัมพัทธ์อย่างเดียว พบว่าที่ความชื้นสัมพัทธ์ 90-100% มีการเจริญของเชื้อราอย่างชัดเจน มากกว่าผลเบอร์รี่ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 80% แต่ถ้าพิจารณารวมทั้งอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์พบว่า *A. ochraceus* เจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 80 และ 90% ส่วนที่ความชื้นสัมพัทธ์ 100% นั้นเชื้อราเจริญได้ดีทั้งที่ 20 และ 30 องศาเซลเซียส ส่วนที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ไม่พบการเจริญของเชื้อราอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนในการวิจัยนี้ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 67%, 80% และ 90% เป็นความชื้นสัมพัทธ์ที่เชื้อราเจริญได้ โดยเฉพาะที่ความชื้นสัมพัทธ์ที่ 90% เป็นความชื้นสัมพันธ์ที่เชื้อราเจริญได้ดีที่สุด

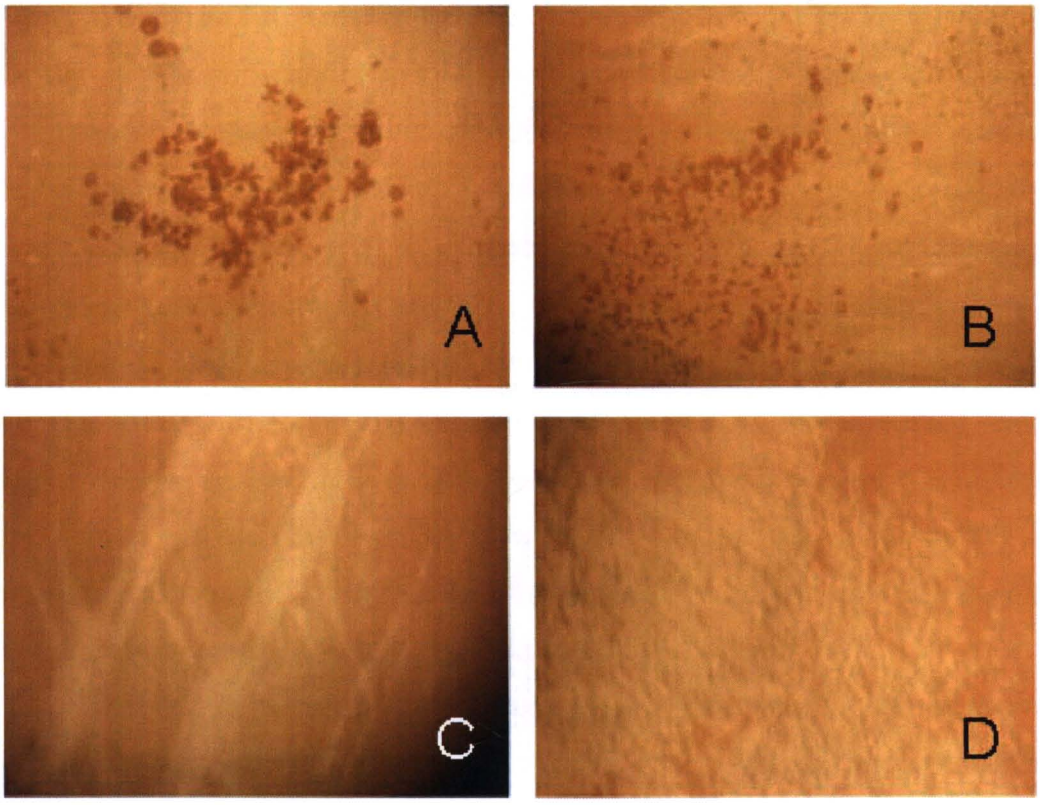
ในส่วนของงานวิจัยของ Coppock และ Cookson (1951) พบว่าที่ความชื้นสัมพัทธ์ 70% สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราบนอิฐ ไม้ ไม้ที่ทาสีแล้ว และภาพที่ทาด้วยสีกาวน้ำ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับยางแผ่นแล้ว ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 70% ก็ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ ทั้งนี้อาจเนื่องจากสารอาหาร เช่น โปรตีนและน้ำตาล ที่มีในยางแผ่นมีเพียงพอที่เชื้อราจะใช้เป็นอาหารในการเจริญได้ ในขณะที่อิฐ ไม้ หรือไม้ที่ทาสีแล้ว มีสารอาหารที่ต่ำกว่าหรือไม่มีเลย

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

ตารางที่ 18 ผลของอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ต่อการเจริญของเชื้อรา 3 ชนิด บนยางแผ่น

อุณหภูมิ	ความชื้นสัมพัทธ์ (%RH)	*Aspergillus* (SR09)				*Penicillium* (TT04)				*Fusarium* (MT05)				ชุดควบคุมที่ไม่เติมเชื้อรา			
		1d	3d	5d	7d	1d	3d	5d	7d	1d	3d	5d	7d	1d	3d	5d	7d
25°C	57%	-	-	±	±	-	-	±	±	-	-	+	+	-	-	-	-
	67%	-	-	±	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
	80%	-	+	+	+	-	±	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-
	90%	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-
37°C	57%	-	-	±	±	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-
	67%	-	-	±	±	-	-	±	±	-	-	+	±	-	-	-	-
	80%	-	±	±	±	-	-	±	+	-	±	+	+	-	-	-	-
	90%	-	+	+	+	-	-	±	+	-	+	+	+	-	-	-	-
45°C	57%	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	-
	67%	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	-
	80%	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	-
	90%	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	-
positive control at room (28.4°C,75.2%RH)		-	±	+	+	-	±	±	+	-	±	+	+				

d = วัน , - = ไม่พบการเจริญ, ± = พบการเจริญเล็กน้อย, + = พบการเจริญมาก



ภาพที่ 27 ลักษณะการเจริญของเชื้อราบนยางแผ่นส่องด้วยกล้องสเตอริโอในวันที่ 7

A และ B = *Aspergillus*, C = *Fusarium* และ D = *Penicillium*

8. ปัจจัยที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อราของสารเคมีบนยางแผ่น

8.1 ผลความเข้มข้นของสารยับยั้งต่อการเจริญของเชื้อรา

เมื่อนำยางแผ่นที่ตากแล้วเป็นเวลา 1 วัน มาจุ่มในสารเคมีที่เลือกความเข้มข้นจากค่า MIC ในผลการทดลองข้อ 6.2 (โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์, กรดอะซิติก และ น้ำส้มควันไม้จากไม้ไผ่ ที่ความเข้มข้นของ MIC สูงสุด คือ 5% (w/v) 0.313% (v/v) และ 6.25% (v/v) ตามลำดับ) โดยใช้สารความเข้มข้นเป็น 1 เท่า 2 เท่า และ 4 เท่าของ MIC ของสารแต่ละชนิดแล้วเพาะเชื้อรา *Aspergillus* (SR9), *Penicillium* (TT04) และ *Fusarium* (MT05) บนยางแผ่นโดยใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 1-5x10^6 สปอร์/มิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร นำยางแผ่นไปเก็บไว้ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 80% และที่ความชื้นสัมพัทธ์บรรยากาศห้อง (เฉลี่ย 70.7%) บ่มที่อุณหภูมิห้อง พบว่าเชื้อราทั้งสามชนิดไม่สามารถเจริญบนแผ่นยางที่จุ่มด้วยสารโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์เป็นเวลา 7 วัน ผลการทดลองดังตารางที่ 19 และตารางที่ 20 เมื่อเปรียบเทียบการชุดควบคุมที่มีการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus* (SR09) ได้ตั้งแต่วันที่ 3 และในวันที่ 2 ในเชื้อรา *Fusarium* (MT05) สำหรับเชื้อ *Penicillium* (TT04) นั้นในชุดทดสอบทุกชุดไม่พบการเจริญของเชื้อราบนยางแผ่นเลย จนถึงวันที่ 7 และมีการเจริญเพียงเล็กน้อยเท่านั้นในชุดควบคุม

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าการใช้โซเดียมเมตาไบซัลไฟท์ที่ความเข้มข้น 5% ชุบยางแผ่นก็ยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้งสามชนิดได้ทั้งที่เก็บยางแผ่นไว้ที่ความชื้นสัมพัทธ์ห้อง (70.7%) และที่ 80% ในขณะที่ กรดอะซิติกและน้ำส้มควันไม้ยับยั้งการเจริญของ *Aspergillus* และ *Fusarium* ได้เฉพาะช่วงต้นของการเก็บรักษาเท่านั้นที่ ความชื้นสัมพัทธ์ 80% อย่างไรก็ตามที่ความชื้นสัมพัทธ์ห้อง (70.7%) พบว่ากรดอะซิติก 0.625 % (v/v) และน้ำส้มควันไม้ 25 % (v/v) ก็สามารถยับยั้งการเจริญของ *Fusarium* MT05 บนยางแผ่นได้

Joseph และ Akinyosoye (1996) รายงานว่ามีการใช้โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ ที่ความเข้มข้น 0.8% เป็นสารถนอมอาหารใน African soft cheese สามารถยับยั้ง *A. flavus, Mucor cacemosus*, *Rhizopus* sp., *Penicillium* sp., *Brettaromyces* sp. และ *Rhodotorula* sp. จากงานวิจัยนี้พบว่าสารโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ต้องใช้ในปริมาณที่มากกว่าคือความเข้มข้น 5% แต่เนื่องจากเป็นการป้องกันเชื้อราในยางแผ่น ดังนั้นความเข้มข้นที่สูงในระดับนี้จึงไม่เป็นผลต่อความปลอดภัยในระดับเข้มงวดอย่างการควบคุมปริมาณสารโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ในอาหาร

แม้ว่าโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ที่ความเข้มข้น 5% w/v (1 MIC) จะสามารถยับยั้งการเจริญเชื้อราได้ แต่เมื่อมีการทดลองซ้ำ พบว่าสภาพบรรยากาศในช่วงที่ทำการทดลองมีความชื้นสัมพัทธ์สูง (มากกว่า 80% ขึ้นไป) จะไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราบนยางแผ่นได้ และพบว่าที่ความเข้มข้น 10% w/v (2 MIC) มีประสิทธิภาพมากกว่าที่ความเข้มข้น 5% w/v ที่ความชื้นสัมพัทธ์สูงเพราะยังสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ ดังนั้นโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ความเข้มข้น 10% w/v น่าจะเป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ที่สุด สำหรับกรดอะซิติกความเข้มข้นตั้งแต่ 0.625% v/v สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* (MT05) ได้ และน้ำส้มควันไม้จากไม้ไผ่ความเข้มข้น 25% v/v สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ ที่ความชื้นสัมพัทธ์ห้อง

นอกจากโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์จะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราบนยางแผ่นได้แล้ว ยังพบว่ายางแผ่นที่ผ่านการชุบด้วยสารโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์มีสีขาวใส มากกว่ายางแผ่นที่ชุบด้วยกรดอะซิติกและน้ำส้มควันไม้ (ภาพที่ 28)เนื่องจากโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์มีฤทธิ์ในการฟอกสีของยางด้วย เช่นเดียวกับที่มีรายงานวิจัย Aubourg และคณะ (2007) ได้ศึกษาการป้องกันการเกิดสีคล้ำในกุ้งโดยใช้สารโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ ความเข้มข้น 0.5% ทำให้กุ้งมีสีขาวขึ้น แต่ Brennan และคณะ (1999) รายงาน การฟอกสีเห็ดโดยใช้โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ความเข้มข้น 0.1 - 0.4% เปรียบเทียบกับเห็ดที่แช่ในน้ำ พบว่ามีระดับความขาวไม่ความแตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม ในงานวิจัยนี้พบว่าระหว่างชุดควบคุมที่จุ่มน้ำ กับที่จุ่มสารโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ให้สีของยางแผ่นแตกต่างกัน ดังภาพที่ 28 โดยยางแผ่นที่ชุบกับโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ 5, 10 และ 20% (w/v) มีผลของระดับความขาวไม่แตกต่างกัน

ตารางที่ 19 การเจริญของ *Aspergillus*, *Penicillium* และ *Fusarium* บนยางแผ่นที่จุ่มด้วยสารยับยั้งเชื้อราที่ความเข้มข้นต่างกันที่ความชื้นสัมพัทธ์ 80%

ชนิดของสารยับยั้ง	ความเข้มข้น	*Aspergillus* (SR09)							*Penicillium* (TT04)							*Fusarium* (MT05)							Negative control *						
		1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d	1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d	1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d	1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d
กรดอะซิติก	0.313%	-	-	±	±	±	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	0.626%	-	-	±	±	±	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	1.252%	-	-	±	±	±	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
โซเดียมเมตาไบ	5%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ซัลไฟท์	10%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	15%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
น้ำส้มควันไม้	6.25%	-	-	±	±	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	±	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
(ไม้ไผ่)	12.5%	-	-	±	±	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	±	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	25%	-	-	±	±	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	±	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Positive control **		-	-	±	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	±	-	±	±	+	+	+	+							

d = วัน , - = ไม่พบการเจริญ, ± = พบการเจริญเล็กน้อย, + = พบการเจริญมาก

* แผ่นยางที่ไม่มีการจุ่มน้ำ สารยับยั้ง และไม่มีการหยดเชื้อรา

** แผ่นยางที่จุ่มน้ำและมีการหยดเชื้อรา

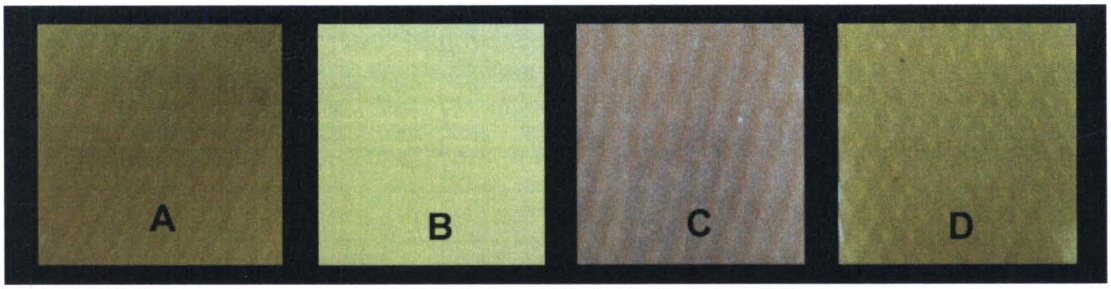
ตารางที่ 20 การเจริญของ *Aspergillus*, *Penicillium* และ *Fusarium* บนยางแผ่นที่จุ่มด้วยสารยับยั้งเชื้อราที่ความเข้มข้นต่างกันที่ความชื้นสัมพัทธ์ห้อง (70.7%)

ชนิดของสารยับยั้ง	ความเข้มข้น	*Aspergillus* (SR09)							*Penicillium* (TT04)							*Fusarium* (MT05)							Negative control *						
		1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d	1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d	1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d	1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d
กรดอะซิติก	0.313%	-	-	±	±	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	±	-	-	-	-	-	-	-
	0.626%	-	-	±	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1.252%	-	-	±	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
โซเดียมเมตาไบ	5%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ซัลไฟท์	10%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	15%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
น้ำส้มควันไม้	6.25%	-	-	±	±	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
(ไม้ไผ่)	12.5%	-	-	±	±	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	±	-	-	-	-	-	-	-
	25%	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Positive control **		-	-	±	±	+	+	+	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	±	+	+	+							

d = วัน , - = ไม่พบการเจริญ, ± = พบการเจริญเล็กน้อย, + = พบการเจริญมาก

* แผ่นยางที่ไม่มีการจุ่มน้ำ สารยับยั้ง และไม่มีการหยดเชื้อรา

**แผ่นยางที่จุ่มน้ำและมีการหยดเชื้อรา



ภาพที่ 28 การเปรียบเทียบสีของยางแผ่นเมื่อชุบสารยับยั้งเชื้อรา

A = ชุดควบคุม (น้ำ), B = โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์

C = น้ำส้มควันไม้ไผ่, D = กรดอะซิติก

ผลการทดลองที่ผ่านมา พบว่าโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ที่ความเข้มข้น 10% เป็นสารที่มีประสิทธิภาพที่ดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราบนยางแผ่น จึงได้ศึกษาถึงประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราในสภาพการทำยางแผ่นที่สหกรณ์ตำบลพิจิตร จำกัด โดยนำยางแผ่นมาจุ่มหรือแช่ในสารยับยั้งโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ที่ความเข้มข้น 10% (w/v) จากนั้นนำย่างแผ่นที่ได้ไปตากไว้ในสภาวะธรรมชาติ แล้วสังเกตการเจริญของเชื้อราเป็นระยะเวลา 30 วัน โดยเปรียบเทียบผลการทดลองกับชุดของยางแผ่นที่แช่สารทางการค้าในท้องตลาดคือไฮโปฮิปโป (Hipo Hippo®) และยางแผ่นที่แช่น้ำสะอาด

ขณะทำการทดลองพบว่าสภาวะธรรมชาติมีอุณหภูมิเฉลี่ยเท่ากับ 29.22 องศาเซลเซียส มีความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย 73.4%RH เมื่อสังเกตการเจริญของเชื้อราบนยางแผ่น(ตารางที่ 21)พบว่ายางแผ่นที่จุ่มหรือแช่สารโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ที่ความเข้มข้น 10% (w/v) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีกว่ายางแผ่นที่แช่สารไฮโปฮิปโป และน้ำสะอาด กล่าวคือยางแผ่นที่จุ่มหรือแช่สารโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ที่ความเข้มข้น 10% (w/v) จะเริ่มสังเกตเห็นการเจริญของเชื้อราในวันที่ 5 ขณะที่ยางแผ่นที่แช่สารไฮโปฮิปโป และชุดควบคุมจะมีการเจริญในวันที่ 4 เมื่อนำยางแผ่นทั้งหมดไปเก็บไว้ในกล่องที่มีความชื้นสัมพัทธ์ 80% พบว่ายางแผ่นที่จุ่มหรือแช่สารโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ 10% ไม่พบการเจริญของเชื้อราหลังจากเก็บไว้เป็นเวลา 30 วัน ส่วนยางแผ่นที่แช่สารไฮโปฮิปโป และน้ำสะอาด พบการเจริญของเชื้อราตั้งแต่วันที่ 2 วัน (ตารางที่ 22) และยางแผ่นที่ชุบสารโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ 10% (w/v) จะมีสีขาวใสกว่ายางแผ่นปกติและยางแผ่นรมควัน (ภาพที่ 28)

Hervieux และคณะ (2002) รายงานว่าการจุ่มมะเขือเทศในโปแตสเซียมซอร์เบต โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ ความเข้มข้น 0.2 M (ประมาณ 3%) 10 นาที แม้จะเพาะ *Helminthosporium solani* บนผลมะเขือเทศ ก็สามารถลดการเกิดคราบสีเงินบนผลมะเขือเทศได้ 80 และ 60% ตามลำดับ ในวันที่ 4 Brennan และคณะ (1999) รายงานว่าค่า MICของโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ ความเข้มข้น 2 กรัม/ลิตร (0.2%) ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Pseudomonas* ภายใน 9 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C

Aharoni และคณะ (1997) รายงานว่าโซเดียมไบคาร์บอเนตที่ความเข้มข้น 2 % ลดการเจริญของเส้นใยของ *Alternaria alternate*, *Fusarium* spp. และ *Rhizopus stolonifer* บนผลเมลอน ซึ่งมีการเคลือบด้วยแว็กซ์โดยเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน และที่ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน ซึ่งการที่สามารถยับยั้งได้นานถึง 14 วันเนื่องจากเก็บไว้ในที่อุณหภูมิต่ำถึง 3 องศาเซลเซียส ในขณะที่งานวิจัยนี้เก็บยางแผ่นไว้ที่อุณหภูมิห้องซึ่งมีค่าสูงกว่าและเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรามากกว่า ยิ่งไปกว่านั้นผลเมลอนมีการเคลือบด้วยแว็กซ์จึงทำให้โอกาสยึดเกาะและเข้าทำลายบนผลเมลอนของเชื้อราในอากาศลดลงด้วยซึ่งต่างจากการเก็บยางแผ่นในงานวิจัยนี้ที่ไม่มีการห่อหุ้มยางแผ่นแต่อย่างใด จึงทำให้ยังพบการเจริญของเชื้อราได้

8.2 ผลของการเติมสารยับยั้งในระหว่างการทำยางแผ่น

การศึกษาการเติมสารยับยั้งการเจริญของเชื้อราในขั้นตอนการตกตะกอนยางได้ทำการทดลองที่สหกรณ์ตำบลพิจิตร จำกัด โดยใช้สารเคมีสามชนิดที่ยับยั้งเชื้อราได้ดี คือ โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ กรดอะซิติก และน้ำส้มควันไม้ (ไม้ยูคาลิปตัส) (ตารางที่ 23) พบว่า ในวันที่ 7 กรดอะซิติกและสารโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ที่ความเข้มข้น 2 MIC สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราบนยางแผ่นได้ ในขณะที่น้ำส้มควันไม้ยูคาลิปตัส ความเข้มข้น 100%(v/v) 88.4 มิลลิลิตร ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ แต่จำนวนวันที่ศึกษาการเจริญของเชื้อพบว่า ในวันที่ 3 ไม่พบเชื้อราเจริญบนยางแผ่นที่ตกตะกอนด้วยสารยับยั้งเชื้อราทั้ง 3 ชนิด เมื่อสังเกตระยะเวลาในการใช้ในการตกตะกอนยางเพื่อทำให้น้ำยางจับตัวเป็นก้อนแล้วนำไปรีดเป็นแผ่นได้ พบว่ากรดอะซิติก ทำให้น้ำยางจับตัวเป็นก้อนได้เร็วที่สุด โดยที่ความเข้มข้น 1 MIC และ 2 MIC ทำให้น้ำยางตกตะกอนเวลา 20 นาที และ 15 นาที ตามลำดับ ซึ่งเป็นเวลาที่เร็วมาก และใช้ปริมาณกรดในปริมาณที่สูงมาก โดยที่ 1 MIC และ 2 MIC ใช้กรดปริมาณ 20.8 และ 41.7 มิลลิลิตร ตามลำดับ

ในขณะที่ สารโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ และน้ำส้มควันไม้ ต้องดองไว้หนึ่งคืนก่อน (ประมาณ 20 ชั่วโมง) ยางจึงตกตะกอน แล้วจึงนำมาทำเป็นแผ่นได้ จะเห็นว่าการใช้สารโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ และน้ำส้มควันไม้ ใช้เวลาในการตกตะกอนนานมาก ยางแผ่นที่ได้จากการตกตะกอนด้วยโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ มีสีอ่อนกว่า เมื่อตกตะกอนด้วยกรดฟอร์มิกหรือกรดอะซิติก นอกจากนี้น้ำส้มควันไม้ที่ใช้มีสีน้ำตาลเมื่อกวนผสมกับน้ำยางไม่เข้ากันดีพอ น้ำส้มควันไม้จึงทำให้ลักษณะของยางแผ่นที่ตกตะกอนมีลักษณะของสีน้ำตาลเป็นจุดด่างทั่วแผ่นยาง ทำให้เป็นยางแผ่นที่ไม่สวย

สำหรับกรดอะซิติกที่ใช้ในการตกตะกอนยาง ที่ความเป็นกรดทั้งหมดที่ร้อยละ 5 เมื่อทดลองเติมน้ำกรดไปที่ 1 เท่าของการตกตะกอนกรดใช้ปริมาณ 3.9 มิลลิลิตร และ 2 เท่าของการตกตะกอน ใช้กรดปริมาณ 7.8 มิลลิลิตร พบว่าที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 2 เท่าของการตกตะกอนสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราบนยางแผ่นได้ที่เวลา 7 วัน (ตารางที่ 23) ในขณะที่การตกตะกอน

โดยการใช้กรดฟอร์มิกพบว่ามีเชื้อราเจริญตั้งแต่วันที่ 3 และการใช้สารโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ 5%(w/v) [1MIC] และน้ำส้มควันไม้ 100%(w/v) มีการเจริญของเชื้อราบนยางแผ่นเพียงเล็กน้อยในวันที่ 7 วัน

ดังนั้นสารยับยั้งที่เหมาะสมในการเติมลงไปในขั้นตอนการตกตะกอนน้ำยางเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อรา คือ กรดอะซิติกที่มีความเข้มข้นเป็น 2 เท่าของการตกตะกอน และโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ 5% ก็สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้

ตารางที่ 21 ประสิทธิภาพของสารยับยั้งเชื้อราบนยางแผ่นโดยการไม่เพาะสปอร์ของเชื้อราที่ความชื้นสัมพัทธ์ห้องและอุณหภูมิห้อง

สารยับยั้งเชื้อรา	วิธีการ	Natural infect								
		1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d	15d	30d
โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์	จุ่ม	-	-	-	-	±	±	±	+	+
[2MIC=10%]	แช่ 15 นาที	-	-	-	-	±	±	±	+	+
Hipo Hippo®	แช่ 15 นาที	-	-	-	±	±	±	±	+	+
ชุดควบคุม (จุ่มน้ำ)		-	-	-	±	±	±	±	+	+

d = วัน , - = ไม่พบการเจริญ, ± = พบการเจริญเล็กน้อย, + = พบการเจริญมาก

ตารางที่ 22 ประสิทธิภาพของสารยับยั้งเชื้อราบนยางแผ่นโดยการไม่เพาะสปอร์ของเชื้อราที่ความชื้นสัมพัทธ์ 80% และอุณหภูมิห้อง

สารยับยั้งเชื้อรา	วิธีการ	Natural infect								
		1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d	15d	30d
โซเดียมเมตาไบซัลไฟท์	จุ่ม	-	-	-	-	-	-	-	-	-
[2MIC=10%]	แช่ 15 นาที	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hipo Hippo®	แช่ 15 นาที	-	±	±	+	+	+	+	+	+
ชุดควบคุม (จุ่มน้ำ)		-	±	+	+	+	+	+	+	+

d = วัน , - = ไม่พบการเจริญ, ± = พบการเจริญเล็กน้อย, + = พบการเจริญมาก

ตารางที่ 23 การเจริญของเชื้อราบนยางแผ่นที่ใช้สารผสมในน้ำยางขณะตกตะกอนยางที่ความเข้มข้นต่างกัน ที่สภาวะ Natural infection ภายใน 7 วัน

สาร	ความเข้มข้น	จำนวนวัน		
		3	7	30
กรดอะซิติก	3.9 ml (1 เท่าของการตกตะกอน)	-	±	+
	7.8 ml (2เท่าของการตกตะกอน)	-	-	+
	0.313%(v/v) (MIC)	-	-	±
	0.626%(v/v) (2MIC)	-	-	-
โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์	5%(w/v) (MIC)	-	±	±
	10%(w/v) (2MIC)	-	-	±
น้ำส้มควันไม้	100%(v/v)	-	±	+
กรดฟอร์มิก	3.4 ml (1 เท่าของการตกตะกอน)	+	+	+

หมายเหตุ: - ไม่พบการเจริญ, ± พบการเจริญเล็กน้อย, + พบการเจริญอย่างเห็นได้ชัด

1 เท่าของการตกตะกอน ใช้กรดอะซิตริก ปริมาณ 3.9 มิลลิลิตรและปรับปริมาตรน้ำ 88.4 มิลลิลิตร

2 เท่าของการตกตะกอน ใช้กรดอะซิตริก ปริมาณ 7.8 มิลลิลิตรและปรับปริมาตรน้ำ 88.4 มิลลิลิตร

9 . ผลของการรมควัน ต่อการเจริญของเชื้อราบนแผ่นยาง

ยางแผ่นที่นำไปรมควันพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีเนื่องจากยางแผ่นที่ทำการรมควันแล้วจะแห้งและมีสารจากควันไม้ซึ่งเป็นเป็นสารประกอบที่มีสารหลายชนิดรวมกันอยู่ ได้แก่ กรดฟอร์มิก กรดอะซิติก กรดโปรปิออนิก กรดบิวไทริก ฟีนอล แอลกอฮอล์ และสารประกอบอื่นๆ ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ เมื่อนำยางแผ่นของสหกรณ์ตำบลพิจิตรไปรมควันที่ 50-60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา1-4 วัน เปรียบเทียบกับยางแผ่นที่ไม่ได้รมควัน จะเห็นว่ายางแผ่นที่ไม่ได้รมควันมีการเจริญของเชื้อราบนยางแผ่นอย่างชัดเจน (ภาพที่ 29)

เมื่อนำยางแผ่นที่จุ่มหรือแช่สารโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ 10% (w/v) และยางแผ่นที่จุ่มน้ำสะอาด ที่ตากไว้เป็นระยะ 2 วัน นำไปรมควัน พบว่ายางแผ่นที่จุ่มหรือแช่สารโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ที่ความเข้มข้น 10% (w/v) ให้ลักษณะของยางแผ่นเปลี่ยนแปลงไป กล่าวคือยางแผ่นมีลักษณะบวม เป็นตุ่ม คล้ายกับมีฟองอากาศอยู่ภายในแผ่นยาง ซึ่งเป็นลักษณะที่เรียกว่า ยางพองตัว (ภาพที่ 30)

ภาพที่ 29 ยางแผ่นที่เก็บไว้เป็นระยะเวลา 7 วัน ในกล่องควบคุมความชื้น 80%RH

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

ภาพที่ 30 ยางแผ่นที่จุ่มหรือแช่สารโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ที่ความเข้มข้น 10% ที่ผ่านการรมควัน