

# รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

## โครงการ

การประยุกต์ใช้น้ำมันหอมระเหยจากใบของต้นยูคาลิปตัสและเสม็ดขาว เพื่อเป็นส่วนผสมใน  
ผลิตภัณฑ์เพื่อการเกษตรและผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ

Applications of Eucalyptus Oil and Cajuput oil in Agricultural and Functional  
Health Products

โครงการวิจัยรหัส ว-ท(ด)129.57

## คณะผู้วิจัย

ดร.สุธีรา วิทยากาญจน์ ดร.อุดมลักษณ์ สุขอัฒตะ นางสาวประภัสสร รัถถาวร  
นายชัยพร สามพุ่มพวง นางสาวเกสรี่ กลิ่นสุคนธ์ และ นางสาวลลิตา คชารัตน์

## สังกัด

สถาบันคั้นคว่ำและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร  
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สนับสนุนโดยสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
ปีงบประมาณ 2557

## บทคัดย่อ

โครงการวิจัยนี้มุ่งเน้นการประยุกต์ใช้น้ำมันหอมระเหยจากยูคาลิปตัส (*Eucalyptus camaldulensis*) และเสม็ดขาว (*Mealaleuca cajuputi* Powell) ในการพัฒนาบรรจุภัณฑ์แอคทีฟที่มีคุณสมบัติต้านเชื้อราและสามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลไม้ โดยทำการศึกษาปริมาณและองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยทั้งสองชนิดพบว่า ใบยูคาลิปตัสมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยร้อยละ 1.50 และใบเสม็ดขาวมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยร้อยละ 1.63 (%v/w) จากการวิเคราะห์โดย GC-MS พบว่าองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัสคือ 1,8-Cineole และของน้ำมันหอมระเหยเสม็ดขาวคือ Terpinolene และ  $\gamma$ -Terpinene และจากการศึกษาพบว่า น้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัสและเสม็ดขาวมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราโรคพืชสาเหตุการเน่าเสียของผลไม้ที่สำคัญจำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Aspergillus niger*, *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Lasiodiplodia theobromae* ได้มากน้อยแตกต่างกัน การผสมน้ำมันหอมระเหยทั้งสองชนิดนี้เข้าด้วยกันส่งผลให้สามารถยับยั้งเชื้อราทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้ครอบคลุมมากขึ้น นอกจากนี้ยังทำการคัดเลือกน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกอบเชยซึ่งมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อราโรคพืชได้สูง มาช่วยเสริมฤทธิ์น้ำมันหอมระเหยใบยูคาลิปตัสผสมเสม็ดขาวในการต้านเชื้อราทั้ง 3 สายพันธุ์ ซึ่งเป็นอีกหนึ่งแนวทางที่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพของสูตรน้ำมันหอมระเหยที่จะนำไปใช้ประโยชน์ในด้านบรรจุภัณฑ์แอคทีฟ โดยพบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมของน้ำมันหอมระเหยระหว่างน้ำมันอบเชยและน้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ดขาว คือ 7 : 3 ที่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นจึงนำสูตรผสมของน้ำมันหอมระเหยที่ได้ไปใช้ในการพัฒนาถุงกระดาษเคลือบน้ำมันหอมระเหยและพัฒนาแผ่นป้องกันเชื้อราเพื่อยืดอายุการเก็บผลไม้ สำหรับการพัฒนาถุงกระดาษชั้นนี้ ถุงกระดาษจะถูกนำไปเคลือบด้วยสารเคลือบอิมัลชันของไขมันที่เติมน้ำมันหอมระเหยสูตรผสมในปริมาณต่างกัน 6 ระดับ คือ 0 2 4 6 8 และ 10% จากผลการทดลองพบว่าถุงกระดาษบรรจุมะม่วงที่เคลือบด้วยสารเคลือบสามารถควบคุมการเน่าเสียของผลมะม่วงได้ดีกว่ามะม่วงชุดควบคุมที่บรรจุในถุงที่ไม่ได้เคลือบ โดยสูตรสารเคลือบที่เติมน้ำมันหอมระเหยสูตรผสมที่ความเข้มข้น 8 % และเคลือบที่น้ำหนักสารเคลือบ 16 กรัมต่อตารางเมตร ก็เพียงพอที่จะยับยั้งการเกิดโรคจากเชื้อ *C. gloeosporioides* ในผลมะม่วงได้ สำหรับการศึกษการพัฒนาแผ่นกันเชื้อรา พบว่า แผ่นป้องกันเชื้อราที่มีการหยदन้ำมันหอมระเหยสูตรผสมในปริมาณ 232 มิลลิกรัมต่อลิตรของช่องว่างภายในกล่องบรรจุมะม่วง สามารถควบคุมการเน่าเสียของผลมะม่วงจากเชื้อรา 3 ชนิดหลังการบ่มเป็นเวลา 5 วัน ได้สูงกว่ามะม่วงชุดควบคุมที่ไม่มีการใช้แผ่นป้องกันเชื้อรา และ แผ่นป้องกันเชื้อราสามารถยับยั้งการเกิดโรคจากเชื้อ *A. niger* ได้สูงที่สุด

คำสำคัญ : ยูคาลิปตัส เสม็ดขาว น้ำมันหอมระเหย บรรจุภัณฑ์แอคทีฟ

## Abstract

This research project focused on the application of essential oils extracted from leaves of eucalyptus (*Eucalyptus camaldulensis*) and cajuput (*Mealaleuca cajuputi* Powell) for the development of active packaging with antifungal activity that can extend shelf-life of fresh fruit. The quantity and composition of both essential oils were examined. Essential oil content of eucalyptus leaf was 1.50%, and of cajuput-tree leaf was 1.63% (%v/w). The main component of eucalyptus oil was 1,8-Cineole and cajuput oil were Terpinolene and  $\gamma$ -Terpinene by GC-MS analysis. Essential oils from eucalyptus and cajuput leaves exhibited different antifungal activity against three fungi causing postharvest decay of fruits, including *Aspergillus niger*, *Colletotrichum gloeosporioides*, and *Lasiodiplodia theobromae*. The mixture of these two essential oils resulted in more antifungal efficiency on these three fungi. Moreover, cinnamon oil, which has high efficiency on antifungal of fungi causing plant disease, was selected to mix with eucalyptus and cajuput oil mixture to enhance synergistic effect against these three fungi species. This would be another way to increase the antifungal efficiency of essential oil used for active packaging applications. The optimal ratio of cinnamon oil to the mixture of eucalyptus and cajuput oil was 7 : 3 at a concentration of 100 mg/ml. Then, this essential oil formulation was used in the development of essential oil coated paper bag for fruit packaging and anti-fungal paper pad to extend the shelf-life of fruit. For the development of paper bag, the paper bag was coated with beeswax emulsion containing the essential oil at 6 different concentrations: 0, 2, 4, 6, 8, and 10%. The results show that the coated paper bags could restrain the spoilage of mango better than the uncoated paper bag. The beeswax emulsion containing the essential oil at 8% at coating weight of 16 g/m<sup>2</sup> was sufficient to inhibit the growth of *C. gloeosporioides* in mango. For the development of anti-fungal paper pad, mango box with the paper pad containing 232 mg of the essential oil per liter of mango box capacity could inhibit the spoilage of mango caused by those three fungi after 5 day storage better than the control box without the use of anti-fungal paper pad. The anti-fungal paper pad exhibited the highest antifungal activity against *A. niger*.

Key words: Eucalyptus, Cajuput tree, Essential oil, Active packaging

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	I
ABSTRACT	II
สารบัญ	III
สารบัญภาพ	V
สารบัญตาราง	VIII
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	<b>1</b>
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย	1
1.2 ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (literature review)	2
1.3 วัตถุประสงค์ของโครงการ	19
<b>บทที่ 2 วิธีวิจัย</b>	<b>20</b>
2.1 การศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัสและเสม็ดขาว	20
2.2 การคัดเลือกน้ำมันหอมระเหยที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราโรคพืช เพื่อใช้เป็นส่วนผสมในสูตรควบคุมการเสื่อมเสียของผลไม้	24
2.3 การศึกษาการเสริมฤทธิ์ร่วมกันในการของยับยั้งเชื้อราสาเหตุการเสื่อมเสียของผลไม้	26
2.4 การศึกษาการพัฒนากระดาษเคลือบน้ำมันหอมระเหยต้านเชื้อราเพื่อบรรจุภัณฑ์แอคทีฟ	29
2.5 การศึกษาการพัฒนาแผ่นป้องกันเชื้อรา	36

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
<b>บทที่ 3 ผลและวิจารณ์</b>	<b>41</b>
3.1 การศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัสและเสม็ดขาว	41
3.2 การคัดเลือกน้ำมันหอมระเหยที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราโรคพืช เพื่อใช้เป็นส่วนผสมในสูตรควบคุมการเสื่อมเสียของผลไม้	48
3.3 การศึกษาการเสริมฤทธิ์ร่วมกันในการของยับยั้งเชื้อราสาเหตุการเสื่อมเสียของผลไม้	50
3.4 การศึกษาการพัฒนากระดาษเคลือบน้ำมันหอมระเหยต้านเชื้อราเพื่อบรรจุภัณฑ์แอคทีฟ	57
3.5 การพัฒนาแผ่นป้องกันเชื้อรา และศึกษาการประยุกต์ใช้แผ่นป้องกันเชื้อราในการต้านการเจริญของเชื้อราในกล่องกระดาษบรรจุมะม่วง	73
<b>บทที่ 4 สรุปและเสนอแนะ</b>	<b>79</b>
<b>เอกสารอ้างอิง</b>	<b>81</b>
<b>ภาคผนวก</b>	<b>90</b>

## สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 ต้นและใบยูคาลิปตัส	2
ภาพที่ 2 เสม็ดขาว	7
ภาพที่ 3 ลักษณะต้น ใบ ดอก และเมล็ด เสม็ดขาว	7
ภาพที่ 4 (ก) โคลนินของเชื้อ <i>C. gloeosporioides</i> ที่เจริญบนอาหาร PDA และ (ข) โคลนินเดี่ยวของเชื้อ <i>C. gloeosporioides</i> ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า	16
ภาพที่ 5 (ก) โคลนินของเชื้อ <i>L. theobromae</i> ที่เจริญบนอาหาร PDA และ (ข) โคลนินเดี่ยวของเชื้อ <i>L. theobromae</i> ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า	17
ภาพที่ 6 (ก) โคลนินของเชื้อ <i>A. niger</i> ที่เจริญบนอาหาร PDA และ (ข) โคลนินเดี่ยวของเชื้อ <i>A. niger</i> ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า	19
ภาพที่ 7 การเตรียมตัวอย่างใบยูคาลิปตัสและใบเสม็ดขาวเพื่อใช้ในการสกัดและการกลั่นน้ำมันหอมระเหย	21
ภาพที่ 8 การกลั่นน้ำมันหอมระเหย ด้วยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ	22
ภาพที่ 9 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีต่อเชื้อรา ด้วยวิธี Contact assay	24
ภาพที่ 10 ขั้นตอนการกลั่นน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพร	25
ภาพที่ 11 การทดสอบการต้านเชื้อราของน้ำมันหอมระเหยโดยวิธี volatile assay	27
ภาพที่ 12 วิธีการเคลือบกระดาษห่อวัสดุด้วย coating rod	30
ภาพที่ 13 แท่งบาร์เคลือบกระดาษและเครื่องเคลือบกระดาษอัตโนมัติ	31
ภาพที่ 14 ขั้นตอนการเตรียมทำถุงกระดาษ	34
ภาพที่ 15 ลักษณะของถุงกระดาษสำหรับใส่ผลมะม่วงทดสอบ	35
ภาพที่ 16 ผลมะม่วงที่จุ่มแอลกอฮอล์ 70% แล้วผึ่งให้แห้ง	36
ภาพที่ 17 การปลุกเชื้อลงที่บาดแผลของผลมะม่วง และการใส่ถุงกระดาษเพื่อทดสอบการต้านเชื้อ	36
ภาพที่ 18 การทดสอบประสิทธิภาพในการต้านเชื้อราของสูตรผสมระหว่างน้ำมันเสม็ดขาวและยูคาลิปตัส และน้ำมันอบเชยด้วยวิธี modified micro atmosphere system	37
ภาพที่ 19 กระดาษที่ผ่านการหยดน้ำมันหอมระเหยมาบรรจุในเยื่อกระดาษห่อใบชา (tea sachet)	38
ภาพที่ 20 มะม่วงน้ำดอกไม้หลังผ่านการทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ	39
ภาพที่ 21 Total Ion Chromatogram (TIC) ของน้ำมันหอมระเหยใบยูคาลิปตัสที่ได้จากการกลั่นด้วยน้ำ	42
ภาพที่ 22 Total Ion Chromatogram (TIC) ของน้ำมันหอมระเหยใบเสม็ดขาวที่ได้จากการกลั่นด้วยน้ำ	42

## สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

- ภาพที่ 23 ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัส (ก), เสม็ดขาว (ข) และน้ำมันผสมระหว่างน้ำมันยูคาลิปตัส และเสม็ดขาว (ค) และชุดควบคุม (ง) ในการยับยั้งเชื้อรา *A. niger* ที่เจริญบนอาหาร PDA เมื่อทดสอบด้วยวิธี Contact assay โดยบ่มที่อุณหภูมิห้อง ( $30\pm 2$  องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7 วัน 45
- ภาพที่ 24 ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัส (ก), เสม็ดขาว (ข) และน้ำมันผสมระหว่างน้ำมันยูคาลิปตัส และเสม็ดขาว (ค) และชุดควบคุม (ง) ในการยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่เจริญบนอาหาร PDA เมื่อทดสอบด้วยวิธี Contact assay โดยบ่มที่อุณหภูมิห้อง ( $30\pm 2$  องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7 วัน 46
- ภาพที่ 25 ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัส (ก), เสม็ดขาว (ข) และน้ำมันผสมระหว่างน้ำมันยูคาลิปตัส และเสม็ดขาว (ค) และชุดควบคุม (ง) ในการยับยั้งเชื้อรา *L. theobromae* ที่เจริญบนอาหาร PDA เมื่อทดสอบด้วยวิธี Contact assay โดยบ่มที่อุณหภูมิห้อง ( $30\pm 2$  องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7 วัน 47
- ภาพที่ 26 ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยอบเชยในการยับยั้งเชื้อรา *A. Niger* (ก), *C. Gloeosporioides* (ข) และ *L. theobromae* (ค) ที่เจริญบนอาหาร PDA เมื่อทดสอบด้วยวิธี Contact assay โดยบ่มที่อุณหภูมิห้อง ( $30\pm 2$  องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7 วัน 49
- ภาพที่ 27 ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยอบเชย (ก) น้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ด (ข) และน้ำมันหอมระเหยสูตรผสม ระหว่างน้ำมันอบเชยและน้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ดที่อัตราส่วน 7: 3 (ค) ในการต้านเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* ที่เจริญบนอาหาร PDA เมื่อทดสอบด้วยวิธี Contact assay โดยบ่มที่อุณหภูมิห้อง ( $30\pm 2$  องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อชุดควบคุม (ง) 51
- ภาพที่ 28 ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยสูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชย และน้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ดอัตราส่วน 7: 3 ในการต้านเชื้อ *A. niger* (ก) *C. gloeosporioides* (ค) และ *L. theobromae* (จ) ด้วยวิธี volatile assay เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อชุดควบคุม *A. niger* (ข) *C. gloeosporioides* (ง) และ *L. theobromae* (ฉ) 53
- ภาพที่ 29 isobologram ของน้ำมันสูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและน้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ดในการต้านการเจริญของเชื้อรา *A. niger* (ก), *C. gloeosporioides* (ข) และ *L. theobromae* (ค) 56
- ภาพที่ 30 ลักษณะกระดาษหลังการทดสอบคุณสมบัติการดูดซึมน้ำ 68
- ภาพที่ 31 แสดงการทดสอบฤทธิ์ของแผ่นกระดาษทดสอบในการยับยั้งเชื้อรา เคลือบ 0% (ก), เคลือบ 2%(ข), เคลือบ 4% (ค), เคลือบ 6% (ง), เคลือบ 8% (จ), เคลือบ 10% (ฉ), ไม่เคลือบ (ช) 70

## สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

- ภาพที่ 32 ประสิทธิภาพของน้ำมันสูตรผสมระหว่างน้ำมันเมล็ดชาและยูคาลิปตัส และน้ำมันอบเชยในการต้านการเจริญของเชื้อรา (ก) *A. niger* (ข) *C. gloeosporiodes* และ (ค) *L. theobromae* เมื่อทดสอบด้วยวิธี modified micro atmosphere system เปรียบเทียบกับเชื้อชุดควบคุม (ง) *A. niger* (จ) *C. gloeosporiodes* และ (ฉ) *L. theobromae* 74
- ภาพที่ 33 การเก็บรักษามะม่วงในกล่องกระดาษ 76
- ภาพที่ 34 ประสิทธิภาพของแผ่นควบคุมการเสื่อมเสียของผลไม้ที่มีน้ำมันสูตรผสมระหว่างน้ำมันเมล็ดชาและยูคาลิปตัส และน้ำมันอบเชยในการต้านการเจริญของเชื้อรา *A. niger* (ก), *C. gloeosporiodes* (ข) และ *L. theobromae* (ค) เมื่อศึกษาการประยุกต์ใช้แผ่นป้องกันเชื้อราในการต้านการเจริญของเชื้อราในกล่องกระดาษบรรจุมะม่วงเปรียบเทียบกับเชื้อชุดควบคุม *A. niger* (ง) , *C. gloeosporiodes* (จ) และ *L. theobromae* (ฉ) หลังการทดสอบเป็นเวลา 5 วัน 78

## สารบัญตาราง

	หน้า	
ตารางที่ 1	องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันยูคาลิปตัสสายพันธุ์ต่างๆ	3
ตารางที่ 2	องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยเสม็ดขาว	9
ตารางที่ 3	ศักยภาพในการใช้โพลีเมอร์จากธรรมชาติและสารต้านเชื้อจุลินทรีย์ในการเคลือบกระดาษเพื่อเตรียมกระดาษที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์	11
ตารางที่ 4	เปอร์เซ็นต์ผลผลิตน้ำมันหอมระเหยของใบยูคาลิปตัสและเสม็ดขาวด้วยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ	41
ตารางที่ 5	องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยใบยูคาลิปตัสที่ได้จากการกลั่นด้วยน้ำ	42
ตารางที่ 6	องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยใบเสม็ดขาวที่ได้จากการกลั่นด้วยน้ำ	43
ตารางที่ 7	ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัส, เสม็ดขาว และน้ำมันผสมระหว่างน้ำมันยูคาลิปตัสและเสม็ดขาว ในการยับยั้งเชื้อราโรคพีซ เมื่อทดสอบด้วยวิธี Contact assay	44
ตารางที่ 8	เปอร์เซ็นต์ผลผลิต และประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพีซ เมื่อทดสอบด้วยวิธี Contact assay	48
ตารางที่ 9	ประสิทธิภาพการต้านเชื้อราของน้ำมันอบเชย น้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ด และสูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและน้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ดที่อัตราส่วนต่างๆ ด้วยวิธี contact assay	50
ตารางที่ 10	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันอบเชย น้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ด และสูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและน้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ดในการต้านเชื้อราก่อโรคพีซ	52
ตารางที่ 11	ค่า FIC <sub>index</sub> ของน้ำมันอบเชย น้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ด และสูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและน้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ดขาวที่อัตราส่วนต่างๆ	54
ตารางที่ 12	เปรียบเทียบคุณสมบัติของกระดาษห่อวัสดุตามแนว machine direction (MD) ที่เคลือบด้วยสารเคลือบและวิธีการเคลือบที่ต่างกัน	58
ตารางที่ 13	เปรียบเทียบคุณสมบัติของกระดาษห่อวัสดุตามแนว cross direction (CD) ที่เคลือบด้วยสารเคลือบและวิธีการเคลือบที่ต่างกัน	59
ตารางที่ 14	เปรียบเทียบคุณสมบัติของกระดาษห่อวัสดุตามแนว machine direction (MD) ที่เคลือบด้วยสารเคลือบต่างกันเป็นปัจจัยหลักอย่างเดียว	60
ตารางที่ 15	เปรียบเทียบคุณสมบัติของกระดาษห่อวัสดุตามแนว machine direction (MD) จากวิธีการเคลือบที่ต่างกันเป็นปัจจัยหลักอย่างเดียว	61
ตารางที่ 16	เปรียบเทียบคุณสมบัติของกระดาษห่อวัสดุตามแนว cross direction (CD) ที่เคลือบด้วยสารเคลือบต่างกันเป็นปัจจัยหลักอย่างเดียว	62

## สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางที่ 17 เปรียบเทียบคุณสมบัติของกระดาษห่อวัสดุตามแนว cross direction (CD) จากวิธีการเคลือบที่ต่างกันเป็นปัจจัยหลักอย่างเดียว	63
ตารางที่ 18 เปรียบเทียบการดูดซึมน้ำของกระดาษห่อวัสดุที่เคลือบด้วยสารเคลือบและวิธีการเคลือบที่ต่างกัน	64
ตารางที่ 19 เปรียบเทียบการดูดซึมน้ำของกระดาษห่อวัสดุที่เคลือบด้วยสารเคลือบต่างกันเป็นปัจจัยหลักอย่างเดียว	65
ตารางที่ 20 เปรียบเทียบการดูดซึมน้ำของกระดาษห่อวัสดุที่เคลือบด้วยวิธีการเคลือบที่ต่างกันเป็นปัจจัยหลักอย่างเดียว	65
ตารางที่ 21 เปรียบเทียบคุณสมบัติของกระดาษห่อวัสดุตามแนว machine direction (MD) ที่เคลือบด้วยน้ำมันสูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและน้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ดขาวที่ความเข้มข้นต่างกัน	66
ตารางที่ 22 เปรียบเทียบคุณสมบัติของกระดาษห่อวัสดุตามแนว cross direction (CD) ที่เคลือบด้วยน้ำมันสูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและน้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ดขาวที่ความเข้มข้นต่างกัน	67
ตารางที่ 23 เปรียบเทียบคุณสมบัติ ความหนา ความต้านทานแรงดันทะลุและค่าการดูดซึมน้ำของกระดาษห่อวัสดุที่เคลือบด้วยน้ำมันสูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและน้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ดขาวที่ความเข้มข้นต่างกัน	68
ตารางที่ 24 ประสิทธิภาพของกระดาษเคลือบสารในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา	69
ตารางที่ 25 ลักษณะผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่เก็บในบรรจุภัณฑ์แอคทีฟที่เคลือบด้วยสูตรเคลือบที่มีการเติมน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้นและระยะเวลาการเก็บที่ต่างกัน	71
ตารางที่ 26 ผลการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ต่อผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่เก็บในบรรจุภัณฑ์แอคทีฟที่เคลือบด้วยความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยและระยะเวลาที่ต่างกัน	72
ตารางที่ 27 ผลของแผ่นป้องกันเชื้อราอีตอายุการเสื่อมเสียของมะม่วงต่อขนาดแผลบนผลมะม่วง โดยการปลูก ราสาเหตุโรคแบบแยกสายพันธุ์ หลังบ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน	77

## บทที่ 1 บทนำ

### 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ยูคาลิปตัสและเสม็ดขาวเป็นพืชที่ปลูกได้ในประเทศไทย น้ำมันหอมระเหยและสารสกัดที่ได้จากพืชเหล่านี้มีการนำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น การใช้น้ำมันยูคาลิปตัส และเสม็ดขาวในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง การใช้ในเภสัชอุตสาหกรรมและการใช้ในสุนทรบำบัด นอกจากนี้ น้ำมันหอมระเหยและสารสกัดที่ได้จากยูคาลิปตัสและเสม็ดขาวนั้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิด เช่น น้ำมันหอมระเหยจากยูคาลิปตัสสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Trivedi and Hotchandani, 2004; Akin-Osanaiye et al., 2007) เชื้อราที่ก่อโรคหลังการเก็บเกี่ยวและเชื้อราในดิน ยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา และยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา (Ramezani et al., 2002) นอกจากนี้ น้ำมันเสม็ดขาวมีคุณสมบัติในการต้านเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิด เช่น *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus epidermis*, *Enterococcus faecium*, *Bacillus subtilis*, *Corynebacterium diphtheriae* และ *Corynebacterium minutissium* นอกจากนี้ยังยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium notatum*, *Aspergillus niger* เชื้อราที่ก่อโรคผิวหนังบางชนิดเช่น *Epidermophyton floccosum*, *Trichophyton rubrum* รวมทั้งเชื้อยีสต์ *Candida albican* เป็นต้น (Christop et al., 2000; อุไรวรรณ และคณะ, 2546; Pujiarti et al, 2012) ดังนั้นจะเห็นว่า น้ำมันหอมระเหยที่ได้จากพืชเหล่านี้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้หลากหลายชนิด ซึ่งในปัจจุบันความสนใจในการนำน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดจากธรรมชาติมาใช้ประโยชน์ในด้านบรรจุภัณฑ์แอคทีฟ (active packaging) มีเพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้เพื่อให้บรรจุภัณฑ์มีคุณสมบัติต้านเชื้อจุลินทรีย์และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลผลิตและอาหาร กระดาษก็ถือเป็นหนึ่งในวัสดุที่ที่สามารถนำมาผลิตเป็นบรรจุภัณฑ์ในรูปแบบต่างๆ เพื่อตอบสนองจุดประสงค์ของการใช้งานแต่ละประเภท และนอกจากนี้ยังพบว่า การใช้แผ่นปลดปล่อยไอระเหยจากน้ำมันหอมระเหยในบรรจุภัณฑ์ของการเกษตรเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา จะช่วยลดการใช้สารเคมีในการเก็บรักษาผลผลิตและยังช่วยให้ผู้บริโภคปลอดภัยจากสารเคมี ในที่นี้ น้ำมันเสม็ดขาวและยูคาลิปตัสจึงมีศักยภาพเพียงพอที่จะนำไปศึกษาการประยุกต์ใช้งานในด้านบรรจุภัณฑ์แอคทีฟ

โครงการวิจัยนี้มุ่งเน้นการวิจัยและพัฒนาบรรจุภัณฑ์ที่มีคุณสมบัติต้านเชื้อจุลินทรีย์และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลผลิตและอาหาร โดยใช้กระดาษเป็นวัสดุในการออกแบบภัณฑ์ในรูปแบบต่างๆ เพื่อตอบสนองจุดประสงค์ของการใช้งานแต่ละประเภท และมีการพัฒนาแผ่นปลดปล่อยไอระเหยจากน้ำมันหอมระเหยเพื่อใส่ในบรรจุภัณฑ์ของผลผลิตทางการเกษตรเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา ทั้งนี้เพื่อเป็นการลดการใช้สารเคมีในการเก็บรักษาผลผลิตและช่วยให้ผู้บริโภคปลอดภัยจากสารเคมี ในที่นี้ น้ำมันหอมระเหยจากใบเสม็ดขาวและยูคาลิปตัสมีศักยภาพเพียงพอที่จะนำไปศึกษาการประยุกต์ใช้งานในด้านบรรจุภัณฑ์แอคทีฟ โครงการวิจัยนี้จึงได้ทำการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพโดยการนำน้ำมันหอมระเหยจากเสม็ดขาวและยูคา

ลิปต์สมาใช้เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการผลิตกระดาษด้านเชื้อรา 2 ประเภท ได้แก่ กระดาษเคลือบ น้ำมันหอมระเหยและแผ่นปลดปล่อยไอระเหยเพื่อใช้ในภาชนะบรรจุ

## 1.2 ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (literature review)

### 1.2.1. ยูคาลิปตัส

ยูคาลิปตัส เป็นพรรณไม้ที่มีถิ่นกำเนิดในประเทศออสเตรเลีย เป็นไม้ยืนต้นที่จัดอยู่ในวงศ์ Myrtaceae มีหลายพันธุ์ พันธุ์ยูคาลิปตัสที่เหมาะสมในการปลูกในประเทศไทยได้แก่ *Eucalyptus sideroxylon*, *E. saligna*, *E. maculata*, *E. citriodora*, *E. grandis* และ *E. camendulensis* ซึ่งพันธุ์ยูคาลิปตัสที่นิยมปลูกในประเทศไทยได้แก่ พันธุ์ *E. camendulensis* ในปัจจุบันได้มีการส่งเสริมโครงการปลูกไม้ยูคาลิปตัสบนคันนา เพื่อเป็นกลยุทธ์ของการเพิ่มประสิทธิภาพในการใช้ดิน ซึ่งสามารถสร้างรายได้ให้กับเกษตรกรเพิ่มขึ้นจากการปลูกพืชเชิงเดี่ยว



ภาพที่ 1 ต้นและใบยูคาลิปตัส

ในปัจจุบันได้มีการส่งเสริมโครงการปลูกไม้ยูคาลิปตัสบนคันนาซึ่ง สามารถสร้างรายได้ให้กับเกษตรกรเพิ่มขึ้นจากการปลูกข้าวเชิงเดี่ยวประมาณ 2 – 3 เท่า ขณะที่การปลูกไม้ยูคาลิปตัสเป็นขอบเขตไร่มันสำปะหลัง จะช่วยให้เกษตรกรมีรายได้เพิ่มขึ้นประมาณ 1 – 2 เท่า ซึ่งขึ้นอยู่กับรายได้สุทธิของพืชทั้งสองชนิด ดังนั้นการปลูกไม้ยูคาลิปตัสในระบบวนเกษตรจึงนับว่าเป็นกลยุทธ์สำคัญของการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ที่ดิน ที่จะช่วยยกระดับรายได้และคุณภาพชีวิตของเกษตรกรให้ดียิ่งขึ้นต่อไป

ยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซิส (*Eucalyptus camaldulensis*) (ภาพที่ 1) สามารถเจริญเติบโตได้ในแทบทุกสภาพพื้นที่ และมีอัตราการเจริญเติบโตสูงจึงนิยมปลูกกันมากอย่างแพร่หลาย โดยยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซิส สามารถเจริญเติบโตได้ในทุกสภาพของดินแทบทุกประเภท ตั้งแต่ในที่ริมน้ำ ที่ราบน้ำท่วมบางระยะในรอบปี แม้แต่ดินที่เป็นทรายและมีความแห้งแล้งติดต่อกันเป็นเวลานานพื้นที่ดินเลวที่มีปริมาณน้ำฝนน้อยกว่า 650 มม.ต่อปีรวมทั้งพื้นที่ที่มีดินเค็ม ดินเปรี้ยว แต่จะไม่ทนทานต่อดินที่มีหินปูนสูง

### 1.2.1.1 น้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัส

ไม้ยูคาลิปตัสเป็นไม้โตเร็ว เนื้อไม้มีความเหมาะสมในการนำไปทำกระดาษ ส่วนใบและก้านอุดมด้วยน้ำมัน นอกจากนี้ยังนำไปสกัดเป็นน้ำมันยูคาลิปตัส ซึ่งน้ำมันยูคาลิปตัสนี้มีกลิ่นค่อนข้างเย็นมีประโยชน์มากต่อระบบทางเดินหายใจ ลดอาการปวดศีรษะจากความเหนื่อยล้า อาการหลอดลมอักเสบ หัวใจ ไอ ไซนัส และใช้บำบัดอาการติดเชื้อในคอให้ทุเลาลงได้ สามารถใช้ได้ดีกับผู้ป่วยที่เป็นไข้หวัดธรรมดาและไข้หวัดใหญ่ และในการบรรเทาอาการหลอดลมอักเสบไซนัส ไข้หวัด ไข้หวัดใหญ่ ปวดท้อง (Udeh *et al.*, 2001)

โดยน้ำมันยูคาลิปตัสที่นำมาใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลายในปัจจุบันเป็นน้ำมันที่ได้จากการกลั่นใบยูคาลิปตัสสายพันธุ์ *Eucalyptus globules* และ *E. citriodora* ซึ่งโดยส่วนใหญ่เป็นน้ำมันที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ ซึ่งองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันยูคาลิปตัส สายพันธุ์เหล่านี้จะมี องค์ประกอบของ cineole อยู่ระหว่าง 80-95% โดย British Pharmacopoeia กำหนดให้น้ำมันยูคาลิปตัสที่มีคุณภาพสูงซึ่งเป็นน้ำมันที่สามารถนำมาใช้ในทางเภสัชกรรมได้จะต้องมีสาร คือ 1,8-Cineole อย่างน้อย 70%

ในปัจจุบันมีการนำยูคาลิปตัสสายพันธุ์ *Eucalyptus camaldulensis*, Denhn มาปลูกเป็นจำนวนมากเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ที่ดินด้วยการปลูกไม้โตเร็วและเป็นการเพิ่มวัตถุดิบให้แก่อุตสาหกรรมไม้ภายในประเทศ อีกทั้งยังเป็นการเพิ่มรายได้ความเป็นอยู่ที่ดีขึ้นให้แก่เกษตรกรในชนบท สร้างสิ่งแวดล้อมที่ดีโดยรวมให้แก่ชุมชนและประเทศอีกด้วย จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัสคามาลดูเลนซิส พบว่าองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญ ได้แก่ 1,8-Cineole, p-cymene และ  $\gamma$ -terpinene (ทรรศนีย์ และคณะ, 2550)

### 1.2.1.2 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัส

น้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัสมีองค์ประกอบทางเคมีแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ สารองค์ประกอบทางเคมีของยูคาลิปตัสสายพันธุ์ต่างๆดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันยูคาลิปตัสสายพันธุ์ต่างๆ

สารองค์ประกอบ	<i>E. alba</i>	<i>E. camadulensis</i>	<i>E. citriodora</i>	<i>E. deglupta</i>	<i>E. urophylla</i>	<i>E. globulus</i>	<i>E. propinqua</i>	<i>E. saligna</i>
$\alpha$ -Thuyene	–	0.6	–	0.3	0.2	–	–	–
$\alpha$ -Pinene	4.3	5.4	2.3	1.2	10.1	9.3	20.3	5.6
Camphene	–	1.6	0.3	–	0.3	23.1	0.6	0.3
$\beta$ -Pinene	25.3	0.1	1.7	0.7	2.1	2.7	9.3	–
Myrcene	–	0.2	0.6	0.3	0.4	–	1.2	1.7
Limonene	4.6	5.4	–	2.6	6.4	5.1	3.2	10.1
1,8-Cineole	5.2	58.9	1.2	35.7	57.7	44.3	32.4	61.3
$\alpha$ -Phellandrene	–	–	–	7.2	1.2	–	–	2.3
$\beta$ -Ocimene	–	–	–	0.1	4.4	–	–	–
$\gamma$ -Terpinene	1.2	2.8	0.3	2.8	0.2	–	0.6	–

<i>p</i> -Cymene	7.4	2.1	–	–	–	1.6	6.3	7.2
<i>cis</i> -Linalool oxide	–	–	1.3	–	–	–	–	–
Citronellal	–	–	<b>72.7</b>	–	–	–	–	–
Linalool	0.4	–	0.1	–	2.5	0.3	0.2	–
Isopugegol	3.7	–	–	–	0.4	–	–	–
$\beta$ -Caryophyllene	4.3	–	2.6	0.2	–	–	2.2	–
Aromandendrene	1.7	2.1	–	1.3	–	1.3	0.3	–
$\beta$ -Terpineol	13.6	–	–	6.3	–	–	–	–
Terpin-4-ol	1.7	–	–	1.2	–	0.2	0.8	–
Myrtenal	0.2	3.5	–	–	–	–	–	–
$\alpha$ -Humulene	2.3	–	–	–	–	–	–	–
Cryptone	–	1.1	–	25.4	0.4	1.3	–	3.7
$\alpha$ -Terpineol	6.2	2.7	0.7	1.4	1.3	0.3	7.4	3.1
Borneol	–	1.3	–	–	0.4	–	–	2.1
$\alpha$ -Terpenyl acetate	–	2.1	1.5	–	–	1.2	3.1	–
Geranial	0.1	–	–	–	0.3	–	–	–
Carvacrol	–	0.1	–	1.3	0.2	–	–	–
Cuminaldehyde	–	1.3	–	–	–	–	–	–
Citronellol	2.3	–	6.3	–	–	0.1	1.6	–
Myrtenol	–	4.3	–	7.4	0.1	–	–	–
Geraniol	–	2.1	–	–	–	0.2	–	–
Citronellyl acetate	–	–	2.3	0.2	–	–	–	–
Globulol	2.4	1.6	–	3.1	4.4	7.3	2.6	0.3
Spathulenol	4.1	–	–	0.2	–	–	–	–
Eugenol	–	–	3.5	–	–	–	–	–
Methyleugenol	–	–	0.6	–	–	–	–	–
$\alpha$ -Eudesmol	2.7	–	–	–	–	–	–	–
$\beta$ -Eudesmol	4.6	–	–	–	–	–	–	–

ที่มา: Boukhatem et al. (2014)

### 1.2.1.3 ฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัส

#### ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์

จากรายงานวิจัยพบว่า น้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัสมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้หลายชนิด ได้แก่ เชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา และเชื้อราก่อโรคหลังการเก็บเกี่ยว รวมทั้งยังมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญและการงอกของสปอร์เชื้อราได้ พบว่า น้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัส *Eucalyptus citriodora* และสารองค์ประกอบหลักของน้ำมันนี้คือ สาร citronellal มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคพืช *Helminthosporium*

*oryzae* และเชื้อ *Rhizoctonia solani* ได้ดี สาร citronellal มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราทั้งสองชนิดได้ดีกว่าน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัส นอกจากนี้ น้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัส *Eucalyptus citriodora* มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Phytophthora cactorum*, *Cryphonectria parasitica*, *Fusarium circinatum* (Lee et al., 2008) *Fusarium oxysporum*, *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani* (Lee et al., 2007) และเชื้อ *Botrytis cinerea* (Tripathi et al., 2008) น้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัสมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆ ได้ดี โดย Trivedi and Hotchandani (2004) รายงานถึงประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัสในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* นอกจากนี้สารสกัดยูคาลิปตัสมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้หลายชนิดเช่นกัน โดยสารสกัดยูคาลิปตัสมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S.aureus*, *Salmonella Typhi*, *E.coli* ได้ดี (Akin-Osanaiye et al., 2007)

สารสกัดยูคาลิปตัสที่สกัดด้วย Methanol มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อราและยีสต์สาเหตุโรคผิวหนังได้หลายชนิด เช่น เชื้อแบคทีเรีย *Klebsiella* spp., *Salmonella Typhi*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus auerus* และ *Bacillus subtilis* (Ayepola and Adeniyi, 2008) เชื้อรา และยีสต์ เช่น *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Tricophyton rubrum*, *Tricophyton schoenleinii*, *Trico-phyton mentagrophytes*, *Epedermophyton floccosum* (Falahati et al., 2005) และ *Candida albicans* (Babayi et al., 2004) นอกจากนี้ น้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัสมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้ดีแล้ว ยังพบว่าไอระเหยของน้ำมันยูคาลิปตัสพันธุ์ *E. globules* มีประสิทธิภาพในการรักษาความสด และความหนาแน่นของผลสตรอบอรี่ และมะเขือเทศในระหว่างการเก็บรักษา และการขนส่งโดยไม่มีผลต่อรสหวาน ปริมาณกรด และปริมาณสารฟีนอลิกในผลไม้ทั้ง 2 ชนิด (Tzortzakis, 2007)

### ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

น้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัสมีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันได้ดี Fadel et al. (1999) ศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัส (*Eucalyptus camaldulensis* var. *brevirostris*) ที่ได้จากการกลั่นด้วยวิธี กลั่นด้วยกลั่นด้วยน้ำ (Hydrodistillation, HD) และ การสกัดแบบซูเปอร์คริติคอลลฟลูอิด (supercritical fluid extraction, SFE) พบว่าน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัสที่ได้จากการกลั่นทั้งสองวิธีมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันได้ดี เมื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการต้านออกซิเดชันกับองค์ประกอบทางเคมีของสาร พบว่า ปริมาณของสาร *p-Cymen-7-ol* และ *thymol* ที่พบในน้ำมันที่ได้จากการสกัดทั้งสองวิธีมีผลต่อคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชันของน้ำมันที่ได้ โดยพบปริมาณสาร *p-Cymen-7-ol* และ *thymol* ในน้ำมันที่ได้จากการสกัดด้วยวิธี SFE สูงกว่า HD ส่งผลให้น้ำมันที่ได้จากการสกัดด้วยวิธี SFE มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันได้ดีกว่าน้ำมันที่ได้จากการสกัดด้วยวิธี HD สาร *p-Cymen-7-ol* เป็นสารที่ค้นพบใหม่ในพืชสกุลยูคาลิปตัสซึ่งมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงเมื่อเปรียบเทียบกับสาร BHA (butylated hydroxyanisole) Okamura et al. (1993) พบว่าสารสกัดจากใบยูคาลิปตัส *Eucalyptus rostrata* มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

สูงสุดในจำนวน ยูคาลิปตัส จำนวน 16 สกุล (species) ที่ใช้ในการศึกษา โดยแทนนินและ acylated flavonol glycosides ที่เป็นสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ที่มีค่าสูงกว่าสารสังเคราะห์

## 1.2.2. เสม็ดขาว

เสม็ดขาวมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Mealaleuca cajuputi* Powell มีชื่อพ้อง คือ *M. leucadendron* (Linn.) Linn. Var *cajuputi* Roxb., *M. leucadendron* Linn. มีชื่อสามัญภาษาอังกฤษ ว่า cajuput tree, milk wood, paper wood, paper bark tree เป็นไม้ยืนต้นขนาดใหญ่ อาจสูงถึง 35 เมตร โดทางเส้นผ่าศูนย์กลางถึง 1.2 เมตร ดังแสดงในภาพที่ 2 เป็นพันธุ์ไม้ที่มีค่าทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่ง ในสกุล *Melaleuca* ซึ่งพันธุ์ไม้ในสกุลนี้มีประมาณ 250 ชนิด เสม็ดขาวเป็นพืชพื้นเมืองของประเทศออสเตรเลีย และพบว่ามีปลูกมากในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ สำหรับในประเทศไทย มีการสำรวจพบเพียงชนิดเดียว คือ ไม้เสม็ดขาว มีชื่อทางพฤกษศาสตร์ ว่า *Melaleuca cajuputi* Powell มีชื่อพื้นเมืองเรียกแตกต่างกันไปตามท้องถิ่น เช่น ภาคกลางเรียกว่า เสม็ด ภาคใต้ เรียก เม็ด หรือเหม็ด ชาวไทยอิสลาม เรียก กือแล ไม้เสม็ดขาวเป็นพันธุ์ไม้เด่นที่สามารถพบได้ทั่วไปในพื้นที่ภาคใต้และภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย เป็นที่รู้จักดีของประชาชนทั่วไป โดยเฉพาะประชาชนในจังหวัดที่มีพื้นที่ป่าพรุเป็นจำนวนมาก เช่น จังหวัดนราธิวาส นครศรีธรรมราช และ พัทลุง เป็นพันธุ์ไม้ที่สามารถเจริญเติบโตได้เร็ว และเป็นพันธุ์ไม้พื้นเมืองที่ประชาชนในท้องถิ่นได้นำส่วนต่างๆ มาใช้ประโยชน์ในการดำรงชีวิตประจำวันมานานแล้ว เช่น นำเนื้อไม้มาใช้สร้างที่พักอาศัย ทำฟืน เผาถ่าน รั้ว นั่งร้าน เสาค้ำ เสาเข็ม วงกบ คันเบ็ด ตกปลา ไม้ค้ำปลูกพืชไร่ ไม้หลักหมายแนวปลูกพืชสวน นำเปลือกมาทำฝาบ้าน มุงหลังคา อุดรูรั่วของเรือ ยัดฟูก หมอน ใช้ย้อมแห ทำขี้ได้จุดไฟ นำใบมาสกัดเอาน้ำมันหอมระเหย ใบเสม็ดขาวมีต่อมน้ำมันจำนวนมากซึ่งให้น้ำมันหอมระเหยที่มีกลิ่นหอมร้อนคล้ายการบูร เรียกว่า น้ำมันเซียว ซึ่งชาวบ้านนิยมนำใบเสม็ดมาเผาไฟเพื่อไล่แมลงและยุง ใช้ทำยาหม่อง ยาไล่แมลง ใบเสม็ดสามารถนำมาต้มเพื่อใช้ดื่มแทนน้ำชาและเพื่อช่วยรักษาโรคปวดเมื่อย ดีซ่าน โรคหอบ ถ่ายพยาธิ แก้ไอ

### 1.2.2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของเสม็ดขาว

ลำต้น เสม็ดขาวเป็นไม้ยืนต้นที่ไม่ผลัดใบ มีรูปร่างชีวิต (life form) ได้หลายรูปแบบ เช่น เป็นไม้พุ่มขนาดใหญ่ (large bush) เป็นไม้ยืนต้นที่สามารถแตกหน่อได้ดี (bushy coppiced tree) และเป็นไม้ยืนต้นขนาดใหญ่ (tall tree) ไม้เสม็ดขาวที่พบในประเทศไทยส่วนใหญ่มีขนาดเล็ก คือมีความสูงตั้งแต่ 5-25 เมตร มีความโตทางเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยประมาณ 20 เซนติเมตร แต่มีพบได้บ้างในบางพื้นที่ที่พบว่ามีความโตทางเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 50 เซนติเมตร เช่นในป่าพรุโต๊ะแดง จังหวัดนราธิวาส ส่วนในต่างประเทศ พบว่าบางต้นมีความสูงถึง 35 เมตร ต้นไม้เสม็ดขาวมีเรือนยอดทรงแคบรูปกรวยคว่ำ เปลือกนอกเป็นแผ่นบางๆ ซ้อนกันเป็นชั้นหนา มีสีขาถึงน้ำตาลเทา เปลือกชั้นในสีน้ำตาลอ่อน ลำต้นมักบิด ใบ ใบเดี่ยว เรียงเวียนสลับ แผ่นใบรูปหอก ยาว 5-10 เซนติเมตร กว้าง 1.5-4 เซนติเมตร ใบอ่อนมีขนสีขาวเป็นมัน ใบแก่ผิวใบเกลี้ยง สีเทาแกมเขียว ปลายใบแหลม ก้านใบยาว 0.5-1 เซนติเมตร ราก มีระบบรากเป็นรากฝอย ไม่มีรากแก้ว ดอก มีสีขา ออกดอก 1-3 ดอกตามง่ามใบ ออกดอกเกือบตลอดปี ผลและเมล็ด ผลมีขนาดกว้างประมาณ 4 มิลลิเมตร ยาวประมาณ 5 มิลลิเมตรคล้ายรูปถ้วย ผลเสม็ดขาว 1 ผล มีเมล็ดขนาดเล็กอยู่ภายในประมาณ 200 เมล็ด ผลสดจำนวน 1 กิโลกรัม ที่เก็บจากป่า

รวมทั้งกิ่งขนาดเล็ก เมื่อนำไปตากแดดแล้วแยกเอาเพียงเมล็ด ให้น้ำหนักเมล็ดได้ประมาณ 67 กรัม แต่ถ้าแยกเอากิ่งออกก่อนแล้วนำผลสดเพียงอย่างเดียวมาแยก พบว่าผลสดจำนวน 1 กิโลกรัม ให้เมล็ดได้ประมาณ 125 กรัม ซึ่งในทางปฏิบัติ การเก็บเมล็ดเสม็ดขาว จะทำการเก็บผลรวมทั้งกิ่งขนาดเล็ก เพราะจะเป็นการประหยัดทั้งเวลาและค่าใช้จ่าย ผลสดของไม้เสม็ดขาว ปริมาตร 1 ลิตร มีจำนวนผลประมาณ 11,300 ผลสดไม่รวมกิ่ง จำนวน 1 กิโลกรัม มีผลประมาณ 26,000 ผล เมล็ดเสม็ดขาว 1 กิโลกรัม มีจำนวนเมล็ดประมาณ 5-9 ล้านเมล็ด เก็บผลได้เกือบตลอดปีดังแสดงในภาพที่ 3 (โครงการศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทอง (งานป่าไม้) กรมป่าไม้, 2550)



ภาพที่ 2 เสม็ดขาว

(ที่มา : [http://med-aromaticplant.blogspot.com/2010\\_03\\_01\\_archive.html](http://med-aromaticplant.blogspot.com/2010_03_01_archive.html))



ภาพที่ 3 ลักษณะต้น ใบ ดอก และเมล็ด เสม็ดขาว

(ที่มา : <http://www.wildsingapore.com/wildfacts/plants/coastal/melaleuca/cajuputi.htm>)

## แหล่งกำเนิด การกระจายพันธุ์ตามธรรมชาติ และสภาพพื้นที่ที่เหมาะสม

ไม้เสม็ดขาวเป็นพันธุ์ไม้ที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาพแวดล้อมหลากหลาย ทั้งในสภาวะดิน เป็นกรดจัด ดินเค็ม สภาพน้ำท่วม และแห้งแล้ง ทนต่อไอน้ำเค็ม แต่จะสามารถเจริญเติบโตและกระจายพันธุ์ได้ดีมากในที่ลุ่มมีน้ำขังตามขอบพรุ สำหรับในพื้นที่แห้งแล้งมักมีรูปทรงของลำ ต้นแคระแกร็น คดงอ และมีขนาดเล็ก โดยส่วนใหญ่ในสภาพพื้นที่ป่าพรุชอบขึ้นเป็นไม้ชนิดเดียว (pure forest community) ส่วนในบริเวณป่าที่ไม่มีน้ำท่วมขังนั้น มักขึ้นปนกับพันธุ์ไม้ประเภทอื่น ไม้เสม็ดขาวเป็นพันธุ์ไม้ที่มีความสามารถพิเศษในการปรับตัวให้เจริญเติบโตได้ดี ในประเทศไทยพบการกระจายพันธุ์ในภาคใต้ ภาคตะวันออกเฉียงใต้ และตะวันตกเฉียงใต้ของประเทศ โดยส่วนใหญ่กระจายพันธุ์เป็นกลุ่มใหญ่อยู่อย่างหนาแน่นในป่าพรุเปลี่ยนสภาพ ทำให้บางครั้งเรียกป่าพรุเปลี่ยนสภาพนี้ว่า “ป่าเสม็ดขาว”

### ประโยชน์ของใบเสม็ดขาว

ชาวบ้านที่อาศัยอยู่ในชนบทได้นำ ใบไม้เสม็ดขาวมาต้ม เพื่อใช้ดื่มแทนน้ำชาเป็นการช่วยรักษาโรคปวดเมื่อย ดีซ่าน โรคหอบ ถ่ายพยาธิ แก้ไอ และดื่มช่วยให้หมดลูกของสตรีหลังคลอดบุตรเข้าอู่เร็ว และในต่างประเทศมีการนำ ใบมาสกัดเอาน้ำมันเขียวที่เรียกทางการค้าว่า cajuput oil หรือ Melaleuca oil ซึ่งจัดอยู่ในพวกน้ำมันที่ไม่มีพิษ ไม่ก่อให้เกิดอาการแพ้ นำ มาใช้เป็นสารผสมทำ ยาหอมอง ยาสระผม น้ำ หอม รวมทั้งมีสรรพคุณทางยาสามัญประจำ บ้านใช้รับประทานแก้ไอ หวัด ยาระบาย ยาผ่อนคลายกล้ามเนื้อ และยาถ่ายพยาธิ นอกจากนี้ยังพบว่า cajuputi oil นี้ มีสรรพคุณไล่ยุง และออกฤทธิ์ฆ่าแบคทีเรีย (รุ่งระวี, 2544) และออกฤทธิ์ฆ่าปลวกทำลายไม้ได้ดี (คิม และคณะ, 2544) น้ำมันเขียวที่ได้จากใบเสม็ดขาวให้คุณภาพดีและมีราคาสูงกว่าน้ำมันที่สกัดจากใบไม้ยูคาลิปตัส ปัจจุบันส่วนใหญ่มีการผลิต cajuput oil เพื่อการส่งออกจากประเทศเวียดนามและอินโดนีเซีย มีการส่งออกเล็กน้อยจากประเทศมาเลเซีย โดยส่วนใหญ่ผลิตจากไม้เสม็ดขาวที่มีชื่อทางพฤกษศาสตร์ว่า *Melaleuca cajuputi* subsp. *cajuputi* ซึ่งมีปริมาณ 1,8-cineole ในน้ำมันสูง ในขณะที่ไม้เสม็ดขาวที่พบในประเทศไทยชื่อพฤกษศาสตร์ ว่า *Melaleuca cajuputi* subsp. *cumingiana* (Turcz) Barlwe ซึ่งพบว่ามีปริมาณของสาร 1,8-cineole ค่อนข้างต่ำ (ทัศนีย์ และคณะ 2535; สุวรรณ, 2538) อย่างไรก็ตามองค์ประกอบและปริมาณน้ำมันในใบไม้เสม็ดขาวนั้น มีความผันแปรแตกต่างกันอย่างมากตามสภาพแวดล้อมของพื้นที่ที่มีการกระจายพันธุ์ และตามชนิด

#### 1.2.2.2 น้ำมันหอมระเหยเสม็ดขาว

น้ำมันหอมระเหยเสม็ด (Cajuput Oil) ได้จากเสม็ดชนิด *Melaleuca cajuputi* ซึ่งเป็นเสม็ดชนิดเดียวกับเสม็ดขาวที่พบในบ้านเรา ส่วนใหญ่จะมีสีเขียวอ่อนหรือเขียวอมเหลืองอันเป็นที่มาของชื่อ “น้ำมันเขียว” ใช้มากในอุตสาหกรรมยา เครื่องสำอาง อาหาร และอื่นๆ น้ำมันเสม็ดที่จำหน่ายอยู่ในท้องตลาดบ้านเราขณะนี้ เป็นน้ำมันที่นำเข้ามาจากต่างประเทศทั้งหมด ประเทศผู้ผลิตที่สำคัญ ได้แก่ อินโดนีเซีย เวียดนาม นิวคาลิโดเนีย และมาเลเซีย น้ำมันเสม็ดหรือน้ำมันเขียวจากเสม็ดขาว มีองค์ประกอบทางเคมีที่ค่อนข้างแตกต่างกันมาก ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ (subspecies และ chemotype) และแหล่งที่ปลูกโดยน้ำมันเสม็ด (Cajuput oil) ที่เป็นที่ต้องการของ

ตลาดและมีราคาสูงจะต้องมีปริมาณสารประกอบ 1,8-cineole สูง โดยแบ่งเป็น 3 เกรด คือ ถ้าปริมาณสารนี้อยู่ระหว่าง 55-65% จะจัดเป็นน้ำมันเกรด 1 มีราคาสูงสุด และราคาลดลงไปเมื่อปริมาณสารนี้อยู่ระหว่าง 20-55% และมีปริมาณต่ำกว่า 20% ตามลำดับ (Brophy *et al.*, 1989; Oyen and Xuan Dung, 1999) เนื่องจากน้ำมันเสม็ดมีราคาสูงกว่าน้ำมันยูคาลิปตัส บางครั้งจึงมีการผสมน้ำมันยูคาลิปตัสซึ่งมีปริมาณ 1,8-cineole สูงลงในน้ำมันเสม็ดเพื่อผลประโยชน์ในทางการค้าด้วย

น้ำมันหอมระเหยเสม็ดขาวมีองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันมาก ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ (subspecies และ chemotype) และ แหล่งปลูก โดยองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยเสม็ดขาวโดยส่วนใหญ่ประกอบด้วยสารสำคัญในกลุ่มโมโนเทอร์พีนส์ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยเสม็ดขาว

สายพันธุ์เสม็ดขาวและแหล่งเก็บ	องค์ประกอบหลัก	อ้างอิง
<i>Melaleuca cajuputi</i> Powell จังหวัดนราธิวาส ประเทศไทย	$\gamma$ -terpinene (22.84%) Terpinolene (24.74%), $\alpha$ -pinene (9.38%), $\alpha$ -terpinene (4.52%)	Brophy <i>et al.</i> (2002)
<i>Melaleuca cajuputi</i> , subspecies <i>cajuputi</i> ประเทศบราซิล	1,8-cineole (43.7%), $\alpha$ -terpineol (22.6%), viridiflorol (13.4%), Globulol (7.6%), $\alpha$ -pinene (2.8%)	Silva <i>et al.</i> , 2007
M. cajuputi subspecies <i>platyphylla</i> ประเทศบราซิล	1,8-cineole (41%), citronellol(13%), $\alpha$ -terpineol (7%), citronellal(7%), $\alpha$ -terpinyl acetate (3.5%)	Silva <i>et al.</i> , 2007
Pujiarti <i>et al.</i> (2011)	1,8-cineole (44.76–60.19%), $\alpha$ -terpineol (5.93–12.45%), d(+)-limonene (4.45–8.85%), and $\beta$ -caryophyllene (3.78–7.64%)	Pujiarti <i>et al.</i> (2011)

### ฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำมันหอมระเหยเสม็ด

#### ฤทธิ์ในการไล่แมลง

Brophy *et al.*, (2000) รายงานเกี่ยวกับฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยเสม็ดในการไล่ หรือฆ่าแมลง เช่น มด ยุง ปลวก เพลี้ยได้ดี KoKo และคณะ รายงานผลการทดสอบประสิทธิภาพของเสม็ดขาวในประเทศ พม่า และประเทศไทยในการไล่แมลง 2 ชนิดได้แก่ *Sitophilus zeamais* และ *Tribolium castaneum* โดยพบว่า น้ำมันหอมระเหยจากใบเสม็ดขาวมีคุณสมบัติในการไล่แมลงทั้งสองชนิด ได้ โดยสามารถไล่แมลงชนิดได้ 100 % *T. castaneum* เมื่อทำการทดสอบโดยวิธี การรม และการสัมผัสกับน้ำมันหอมระเหยโดยตรง

### ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์

นอกจากนี้ยังพบว่า น้ำมันเมล็ดมีคุณสมบัติในการต้านเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิด เช่น *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *S. capitis*, *S. epidermis*, *Enterococcus faecium*, *Bacillus subtilis*, *Corynebacterium diphtheriae* และ *C. minutissimum* นอกจากนี้ยังยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium notatum*, *Aspergillus niger* เชื้อราที่ก่อโรคผิวหนังบางชนิดเช่น *Epidermophyton floccosum* และ *Trichophyton rubrum* (Christop et al., 2000) เชื้อ *T. mentagrophytes* อุไรวรรณ และคณะ (2546) รวมทั้งเชื้อยีสต์ *Candida albican* (Christop et al., 2000) และมีรายงานถึงประสิทธิภาพการต้านเชื้อราของน้ำมันเมล็ดขาวจากจาวาประเทศอินโดนีเซียในการต้านการเจริญของเชื้อรา *Fomitopsis palustris* (IC50 0.12– 3.16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร), *Trametes versicolor* (IC50 0.01–0.06 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร), *Cladosporium cladosporioides* (IC50 0.03–0.49 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร), และ (IC50 0.06–0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) (Pujiarti et al, 2012)

### ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การศึกษาสมบัติการต้านออกซิเดชันของผลเมล็ดขาว โดย วนิดาและคณะ (2007) ได้สารสกัดหยาบเมื่อนำไปวิเคราะห์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดหยาบเมทานอล มีค่า EC<sub>50</sub> 0.03 ± 0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและมีสมบัติเป็นตัวรีดิวซ์ที่ดีที่สุด มีค่า EC<sub>50</sub> 0.26 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรซึ่งสารสกัดหยาบนี้มีสารประกอบฟีนอลิกรวมมากที่สุดด้วย คือ 168.0 ± 1.7 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด Pujiarti et al. (2012) รายงานถึงประสิทธิภาพของน้ำมันเมล็ดขาวที่ผลิตในประเทศอินโดนีเซียในการต้านออกซิเดชัน และต้านเอนไซม์ hyaluronidase พบว่า น้ำมันเมล็ดขาวที่ได้มีประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันได้ โดยมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (ค่า IC<sub>50</sub> เท่ากับ 7.71- 9.23 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ประสิทธิภาพในการต้านเอนไซม์ hyaluronidase (ค่า IC<sub>50</sub> 1.94- 3.03 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

ดังนั้นจะเห็นว่าน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากพืชเหล่านี้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้หลากหลายชนิด ซึ่งในปัจจุบันความสนใจในการนำน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดจากธรรมชาติมาใช้ประโยชน์ในด้านบรรจุภัณฑ์แอคทีฟ (active packaging) มีเพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้เพื่อให้บรรจุภัณฑ์มีคุณสมบัติต้านเชื้อจุลินทรีย์และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลผลิตและอาหาร กระดาษก็ถือเป็นหนึ่งในวัสดุที่นำมาผลิตเป็นบรรจุภัณฑ์ในรูปแบบต่างๆ เพื่อตอบสนองจุดประสงค์ของการทำงานแต่ละประเภท และนอกจากนี้ยังพบว่า การใช้แผ่นปลดปล่อยไอระเหยจากน้ำมันหอมระเหยในบรรจุภัณฑ์ของผลผลิตทางการเกษตรเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา จะช่วยลดการใช้สารเคมีในการเก็บรักษาผลผลิตและยังช่วยให้ผู้บริโภคปลอดภัยจากสารเคมี ในที่นี้น้ำมันเมล็ดขาวและยูคาลิปตัสจึงมีศักยภาพเพียงพอที่จะนำไปศึกษาการประยุกต์ใช้งานในด้านบรรจุภัณฑ์แอคทีฟ

#### 1.2.3. บรรจุภัณฑ์แอคทีฟ (active packaging)

บรรจุภัณฑ์แอคทีฟ (active packaging) ได้กลายมาเป็นหนึ่งในหัวข้อวิจัยหลักในงานวิจัยเกี่ยวกับบรรจุภัณฑ์อาหาร หนึ่งในคุณสมบัติที่น่าสนใจและสำคัญของบรรจุภัณฑ์แอคทีฟ คือคุณสมบัติการต้านเชื้อจุลินทรีย์ เนื่องจากบรรจุภัณฑ์ที่มีคุณสมบัตินี้จะสามารถใช้เป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการช่วยยืดอายุการเก็บรักษาผลผลิตและอาหารได้ การใส่สารที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ลงในอาหารโดยตรงนั้นสารซึ่งเป็นส่วนประกอบของอาหารอาจไป

ลดประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ของสารแอคทีฟได้ ทางแก้ที่ดีอีกทางหนึ่งคือการผสมสารที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ลงไปบนแผ่นฟิล์มหรือลงไปบนสารเคลือบซึ่งจะสามารถรักษาประสิทธิภาพและปริมาณของสารออกฤทธิ์ไว้ได้ บรรจุภัณฑ์ที่มีคุณสมบัติการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์สามารถเตรียมได้หลายวิธีเช่น การใส่ถุงบรรจุสารไปโอแอคทีฟลงในบรรจุภัณฑ์ การผสมสารสารไปโอแอคทีฟลงในบรรจุภัณฑ์โดยตรง การเคลือบบรรจุภัณฑ์ด้วยสารไปโอแอคทีฟ หรือโดยการเตรียมฟิล์มจากโพลิเมอร์ที่มีคุณสมบัติการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ เป็นต้น

โพลิเมอร์จากธรรมชาติ (biopolymer) เช่น สารโพลิแซคคาไรด์ โปรตีน หรือ ไขมัน สามารถนำมาใช้ในการเคลือบบรรจุภัณฑ์กระดาษได้ ตัวอย่างเช่นไขมัน ซึ่งได้แก่กรดไขมันสายยาว (long chain fatty acid) และไข (waxes) สามารถนำมาเตรียมเป็นแผ่นฟิล์มหรือใช้เป็นสารเคลือบได้เนื่องจากคุณสมบัติการไล่น้ำของไขมัน ไข (waxes) เป็นสารจำพวกไขมันที่มีประสิทธิภาพในการลดการแพร่ผ่านของไอน้ำได้ดี ดังนั้นไขจึงถูกใช้อย่างกว้างขวางในการเคลือบกระดาษหรือกล่องกระดาษสำหรับบรรจุภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่มเพื่อเพิ่มคุณสมบัติการกั้นน้ำของบรรจุภัณฑ์และยืดอายุการเก็บรักษาของอาหาร นอกจากนี้การเคลือบกระดาษด้วยโพลิเมอร์จากธรรมชาติยังเป็นวิธีที่มีศักยภาพวิธีหนึ่งในการเตรียมบรรจุภัณฑ์แอคทีฟต้านเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งสามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติและยังสามารถใช้วิธีการนี้ได้กับทั้งสารต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสารละลายและสารไม่ละลาย ซึ่งตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้โพลิเมอร์จากธรรมชาติและสารต้านเชื้อจุลินทรีย์ในการเคลือบกระดาษเพื่อเตรียมกระดาษที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้รวบรวมไว้ในตารางที่ 3 (Khwaldia et al., 2010) สารที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้ ได้แก่ กรดอินทรีย์ (เช่น sorbic acid, propionic acid และ benzoic acid), acid anhydrides, nisin, pediocin, lactin, เอนไซม์ (เช่น lysozyme, lactoperoxidase, chitinase และ glucoseoxidase) และ น้ำมันหอมระเหย (essential oils) เป็นต้น ซึ่งเมื่อไม่นานนี้ Rodriguez et al. (2007, 2008) ได้รายงานการเตรียมบรรจุภัณฑ์กระดาษแอคทีฟที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่มีผลทำให้อาหารเน่าเสียหลากหลายชนิด โดยการเคลือบกระดาษด้วย paraffin wax ที่มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยจากกานพลู อบเชย และ oregano ซึ่งกระดาษแอคทีฟนี้สามารถนำไปทำเป็นบรรจุภัณฑ์แอคทีฟสำหรับบรรจุสตรอเบอร์รี่ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้เป็นอย่างดี

**ตารางที่ 3** ศักยภาพในการใช้โพลิเมอร์จากธรรมชาติและสารต้านเชื้อจุลินทรีย์ในการเคลือบกระดาษเพื่อเตรียมกระดาษที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์

โพลิเมอร์ธรรมชาติที่ใช้สำหรับเคลือบ	สารไปโอแอคทีฟ	เชื้อจุลินทรีย์เป้าหมาย	เอกสารอ้างอิง
Modified starch	Cinnamaldehyde	<i>E. coli</i>	Arfa et al., 2007b
	Carvacrol	<i>B. cinerea</i>	

Soy protein isolate (SPI)	Carvacrol	<i>E. coli</i>	Arfa et al., 2007a
	Cinnamaldehyde	<i>E. coli</i> <i>B. cinerea</i>	Arfa et al., 2007b
Carboxymethyl cellulose	Sorbic acid	Mold spoilage	Ghosh et al., 1977
Chitosan	Lactic acid	<i>Bacillus subtilis</i>	Vartiainen et al., 2004
	Nisin	<i>L. monocytogenes</i> <i>E. coli</i>	Lee et al., 2003
Paraffin wax	Cinnamaldehyde-enriched cinnamon oil	Fungal Spoilage	Rodriguez et al., 2007
			Rodriguez et al., 2008

### งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Liu *et al.* (2002) ศึกษาการรวมไอระเหยของสารไทมอล ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตรในการต้านการเจริญของเชื้อรา *Monilinia fructicola* ซึ่งเป็นเชื้อราสาเหตุของการเน่าเสียภายหลังการเก็บเกี่ยวของผลแอปเปิ้ล และพลัม พบว่า สามารถลดปริมาณการงอกของสปอร์ของเชื้อราได้โดยมีการงอกของสปอร์เพียงร้อยละ 2 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการรวมด้วยไอระเหยของสารไทมอล ซึ่งมีการงอกของสปอร์ของเชื้อรา ร้อยละ 98 นอกจากนี้พบว่า การรวมด้วยสารไทมอลสามารถต้านการเจริญของเชื้อราชนิดนี้ได้

Sivakumar *et al.* (2002) ศึกษาการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวของเงาะโดยใช้สารซินนามัลดีไฮด์ (cinnamaldehyde) พบว่า สารซินนามัลดีไฮด์ปริมาณร้อยละ 30 ส่วนในล้านส่วน สามารถต้านการเจริญของเส้นใย และสปอร์ของเชื้อรา *Gliocephalotrichum microchlamydosporum*, *B. theobromae* และ *C. gloeosporioides* ซึ่งเป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของผลเงาะได้อย่างสมบูรณ์ และเมื่อใช้สารซินนามัลดีไฮด์ 30

ส่วนในล้านส่วน หยดลงบนกระดาษและใส่ลงบนภาชนะบรรจุเงาะในการบรรจุทางการค้าพบว่า สามารถลดอัตราการเกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยวของเงาะจากเชื้อราได้ และไม่มีผลต่อสี และคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของเงาะ เมื่อทำการเก็บที่อุณหภูมิ 13.5 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 95 เป็นเวลา 14 วัน

Serrano *et al.* (2005) ศึกษาการใช้สารต้านเชื้อราจากธรรมชาติ ได้แก่ ยูจีนอล ไทมอล เมนทอล และยูคาลิปทอลในการยืดอายุการเก็บรักษาผลเชอร์รี่ภายใต้สภาวะควบคุมบรรยากาศ พบว่า การเก็บผลเชอร์รี่ในภาชนะบรรจุภายใต้สภาวะควบคุมบรรยากาศร่วมกับการใช้สารยูจีนอล ไทมอล หรือ เมนทอล สามารถลดการเกิดการสูญเสียน้ำหนักของผล การเปลี่ยนแปลงสีผิวของผลและก้านขั้วผล และการเปลี่ยนแปลงของค่าความแน่นเนื้อของผลเชอร์รี่ได้ เมื่อทำการเก็บที่อุณหภูมิ 1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 เป็นระยะเวลา 16 วัน

Rodriguez *et al.* (2007) ศึกษาการผลิตกระดาษเคลือบน้ำมันอบเชยซึ่งมีประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของเชื้อ *C. albicans* และ *A. flavus* ได้ดีและ พบว่ากระดาษมีประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของเชื้อได้นาน 71 วัน และเมื่อนำกระดาษนี้ไปประยุกต์ใช้ในการเก็บรักษาผลสตรอเบอร์รี่ พบว่าไม่มีการเจริญของเชื้อราบนผลสตรอเบอร์รี่ที่เก็บรักษาด้วยกระดาษเคลือบน้ำมันอบเชยที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

Valero *et al.* (2006) ทำการศึกษาการเก็บผลองุ่นในสภาพดัดแปลงบรรยากาศโดยการเติมสารยูจีนอลร่วมกับสารไทมอลในการยืดอายุการเก็บรักษาผลองุ่นโดยการหดยาสารทั้ง 2 ชนิดในอัตรา ส่วน 1:2 ลงบนผ้าที่ผ่านการฆ่าเชื้อ นำไปใส่ลงในถุงบรรจุองุ่นซึ่งใช้ถุงพอลิพรอพิลีนที่ไม่เจาะรู ทำการเก็บที่อุณหภูมิ 1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 เป็นเวลา 56 วัน พบว่า การเก็บโดยการดัดแปลงบรรยากาศภายในภาชนะบรรจุด้วยน้ำมันหอมระเหยส่งผลให้การเน่าเสีย และการเจริญของเชื้อในองุ่นลดลงได้อย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้การเก็บด้วยวิธีนี้ยังสามารถลดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมี ปริมาณสารอาหารในองุ่นได้

Guillen *et al.* (2007) ทำการศึกษาการเก็บผลองุ่นในสภาพดัดแปลงบรรยากาศโดยการเติมสารยูจีนอลร่วมกับสารไทมอลและควาครอลในการลดการเน่าเสียขององุ่นภายในภาชนะบรรจุ อัตราส่วน 1:1:1 โดยหดยาสารลงบนผ้าและใส่ในฟิล์มพลาสติกชนิดพอลิเอสเตอร์ และพอลิพรอพิลีนที่เจาะรู ทำการเก็บที่อุณหภูมิ 1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 เป็นเวลา 56 วัน พบว่า การใช้ไอระเหยของสารยูจีนอลร่วมกับสารไทมอลและควาครอลในภาชนะบรรจุสามารถลดอัตราการเน่าเสียขององุ่นได้ นอกจากนี้ยังสามารถลดอัตราการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพขององุ่น ได้แก่ การนึ่มของผล และการเปลี่ยนแปลงของกรดและน้ำตาลในผลองุ่น เมื่อเปรียบเทียบกับองุ่นที่เก็บโดยไม่ใช้สารระเหยเหล่านี้

Martinez-Romero *et al.* (2007) ศึกษาการใช้ไอระเหยสารควาครอล ความเข้มข้น 0.05 0.2 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรของอากาศในภาชนะบรรจุ ในการต้านการเจริญของเชื้อรา *B. cinerea* โดยทดสอบในงานเพาะเชื้อ และบนผลองุ่นที่เก็บในกล่องใส พบว่า ไอระเหยของสารควาครอลในทุกความเข้มข้นสามารถต้านการเจริญของเชื้อรา *B. cinerea* ในอาหาร PDA ได้ และสามารถลดการเน่าเสียของผลองุ่นได้ เมื่อความเข้มข้นของสารเพิ่มสูงขึ้นความสามารถในการต้านการเน่าเสียของผลองุ่นจะแปรผันโดยตรงกับความ

เข้มข้นของสาร และพบว่าการใช้สารควาครอลที่ความเข้มข้นที่สูงจะสามารถลดอัตราการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของผลองุ่น ได้แก่ อัตราการหายใจ และอัตราการผลิตก๊าซเอทิลีนได้

#### 1.2.4. เชื้อจุลินทรีย์สาเหตุการเน่าเสียของผลไม้ที่สำคัญ

ในประเทศไทยมีรายงานเกี่ยวกับการเน่าเสียของผลไม้ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ภายหลังจากเก็บเกี่ยวว่า โดยส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*, *Lasiodiplodia theobromae* และ *Aspergillus niger* เป็นต้น

##### 1.2.4.1 เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.

รา *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. เป็นระยะ asexual stage ของ *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld. And von Schrenk. สามารถพบได้ทั่วไปในเขตร้อนชื้นและกึ่งร้อนทั่วโลก เป็นสาเหตุให้เกิดโรคแอนแทรคโนสกับส่วนที่อยู่เหนือดินของพืชอาศัย ได้แก่ใบ กิ่งอ่อน ดอก และผล มีกลุ่มพืชอาศัยกว้างทั้งพืชไร่ ผัก วัชพืช และไม้ยืนต้น รวมไม่ต่ำกว่า 197 ชนิด ประกอบด้วยพืชเศรษฐกิจที่สำคัญในเขตร้อน และเขตกึ่งร้อน เช่น อโวคาโด กัลยัย มะม่วงมะละกอ ยางพารา มันเทศ พริก เป็นต้น (Farr et al., 1989; Uhm et al., 2003) ราสามารถเข้าทำลายได้ทุกระยะการเจริญเติบโตของพืช แต่พบทำความเสียหายมากในผลิตผลหลังเก็บเกี่ยวที่เริ่มสุกซึ่งอยู่ระหว่างการขนส่งและเก็บรักษา (Tandon and Singh, 1968) Barnett and Hunter (1987) ได้จำแนกรา *C. gloeosporioides* ตามลักษณะทางอนุกรมวิธานไว้ดังนี้

Kingdom Fungi

Division Eumycota

Class Deuteromycetes

Order Melanconiales

Family Melanconiaceae

Genus *Colletotrichum*

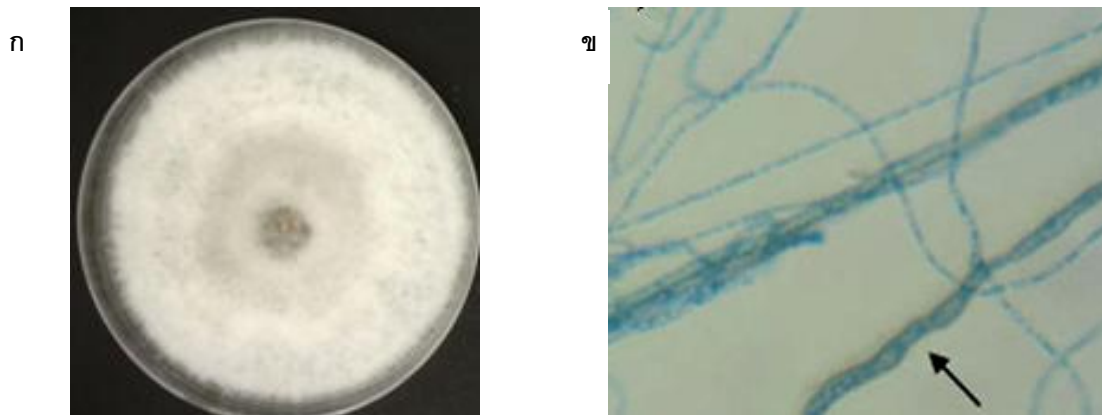
Species *C. gloeosporioides*

บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีลักษณะโคโลนีสีเทาอ่อนจนถึงเทาเข้ม กลม ขอบเรียบ ราชสร้างกลุ่มสปอร์ (spore mass) สีส้ม ถึงส้มอมชมพู มีลักษณะเป็นวงแหวน เส้นใยฟูเล็กน้อยแต่ละไอโซเลตอาจแตกต่างกันได้บ้างเล็กน้อยในเรื่องความหนาแน่น และสีของกลุ่มสปอร์ ราชสร้าง fruiting body เรียกว่า acervulus รูปร่าง cushion-shaped อาจมีหรือไม่มี setae เป็นที่เกิดของสปอร์โดยทั่วไปสปอร์มีรูปร่างทรงกระบอก ปลายมน ไส

เซลล์เดี่ยว ขนาด 12-17 X 3.5-6 ไมครอน สร้าง appressorium รูปร่างค่อนข้างกลม หรือทรงกระบอก สีสน้ำตาล ขนาด 6-20 X 4-12 ไมครอน ดังภาพที่ 4 (Sutton, 1980; Barnett and Hunter, 1987)

เชื้อราในสปีชีส์นี้มีความแตกต่างกันถึง 9 พอร์ม ทั้งในด้านรูปร่าง การเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ พืชอาศัย และความสามารถในการก่อให้เกิดโรคเป็นเชื้อราที่มีความผันแปรค่อนข้างสูง สร้าง acervulus ซึ่งประกอบด้วย stomatic cell ซึ่งแต่ละเซลล์จะมีลักษณะยาวเรียวยาวและเล็กกลวงที่ส่วนปลาย (subbulate) หรือรูปร่างทรงกระบอก (cylindrical) อยู่ใต้ชั้น cuticle epidermis ของพืชอาศัย ภายใน acervulus มีการสร้าง conidiophore ไม่มีสี หรือมีสีน้ำตาล มีผนังกัน แยกแขนงบริเวณฐาน conidiogenous cell มีลักษณะเป็นเซลล์สั้น ๆ (phialic) รูปร่าง ทรงกระบอก ความยาวคงที่ ผนังเรียบไม่มีสี ให้กำเนิด conidium จากผนังเซลล์ด้านใน (enteroblastic) conidia รูปร่างทรงกระบอก หัวท้ายมน (cylindrical) ลักษณะตรง ไม่มีสี ไม่มีผนังกันขนาด 9-24 x 3-4.5 ไมครเมตร สร้าง appressorium รูปร่างคล้ายกระบอก (clavate) ไม่แตกกิ่งก้านสีน้ำตาลขนาด 6-20 x 4-12 ไมครเมตร (Sutton, 1980) ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA มีสีเทาและมีกลุ่มสปอร์สีส้มอมชมพูเจริญอยู่บนอาหาร เส้นใยไม่มากนักมีสีขาวอมเทา เจริญขึ้นอยู่บนอาหารเล็กน้อย โคโลนีเจริญเป็นวงแหวนซ้อนกันตรงกลาง จะมีกลุ่มของสปอร์เจริญอยู่มากกว่าบริเวณขอบโคโลนี (อังสุมา, 2530)

*C. gloeosporioides* เป็นเชื้อราที่สามารถพบได้ทั่วไปในภูมิภาคเขตร้อนชื้นและเขตกึ่งร้อน มีการกระจายตัวอยู่ทั่วไปในเขตต่าง ๆ ของโลก (Sutton, 1980) ซึ่งหลายประเทศในเขตร้อนมีผู้ศึกษาพบว่าเชื้อราชนิดนี้ทำให้เกิดผลเน่ากับไม้ผลหลายชนิด เช่น มะม่วงในประเทศแอฟริกาใต้ (Jacobs *et al.*, 1973) ฟิลิปปินส์ (Tricita and Quimio, 1974) เปอร์โตริโก มาเลเซีย สหรัฐอเมริกาอินเดีย ไทย (นิพนธ์, 2546) ออสเตรเลีย โดยเฉพาะทางตอนเหนือของ New South Weles (Fitzell, 1981) ทางตอนใต้ของ Queensland และเขตชายฝั่งที่มีฝนตกชุก (Muirhead, 1976) เป็นสาเหตุสำคัญในการทำให้ผลไม้เกิดการเน่าเสียทั้งก่อน และหลังการเก็บเกี่ยว ในระหว่างการเก็บรักษาและการขนส่ง (Dodd *et al.*, 1997) เชื้อชนิดนี้มีการเข้าทำลายแบบแฝง (latent infection) ตั้งแต่ผลไม้ยังเจริญอยู่ในแปลงโดยจะพักตัวอยู่ในผลจนกระทั่งผลไม้สุกหรือเก็บมาบ่มรักษาไว้ระยะเวลาหนึ่งเชื้อราจะพัฒนาและแสดงอาการออกมาทำให้ผลเน่า ลักษณะอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* เริ่มแรกจะเกิดแผลเป็นจุดเล็ก ๆ สีสน้ำตาลถึงดำ ต่อมาแผลจะขยายขนาดขึ้นและรวมกันเป็นแผลใหญ่สีดำ บริเวณกลางแผลจะยุบตัวลง เชื้อราสามารถก่อให้เกิดโรคได้ทุกส่วนของพืชที่อยู่เหนือดิน เช่น ใบ ดอก ช่อดอก ผล ก้านช่อดอก (Peterson, 1984) การเข้าทำลายแบบแฝง (latent infection) เชื้อราจะเข้าไปตั้งแต่ผลยังอ่อนอยู่เมื่อผลแก่และเริ่มสุกจะเริ่มแสดงอาการเป็นแผลจุดสีน้ำตาล การเข้าทำลายเชื้อราจะสร้าง infection hyphae ออกมาจาก appressoria แล้ว hyphae จะเจริญลงไประหว่างเซลล์ลึก 2-3 ชั้นของเซลล์ผิวผลแล้วพักตัวอยู่เช่นนั้นจนกระทั่งผลไม้สุกจึงแสดงอาการ (Simmonds, 1941; Verhoeff, 1974) เมื่อแผลเจริญลุกลามเชื้อราจะสร้าง fruiting body แบบ acervulus และสร้าง spore mass สีชมพูอมส้มบริเวณส่วนกลางของแผลที่ยุบตัวลง (Perdesimo, 1984) พบได้ทั่วไปโดยเฉพาะบริเวณที่มีฝนตกชุก



ภาพที่ 4 (ก) โคลนิจของเชื้อ *C. gloeosporioides* ที่เจริญบนอาหาร PDA และ (ข) โคลนิจของเชื้อ *C. gloeosporioides* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า (ที่มา : Benjaphorn *et al.*(2008))

#### 1.2.4.2 เชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae*

Kingdom Fungi

Division Amastigomycota

Class Deuteromycete

Order Sphaeropsidalel

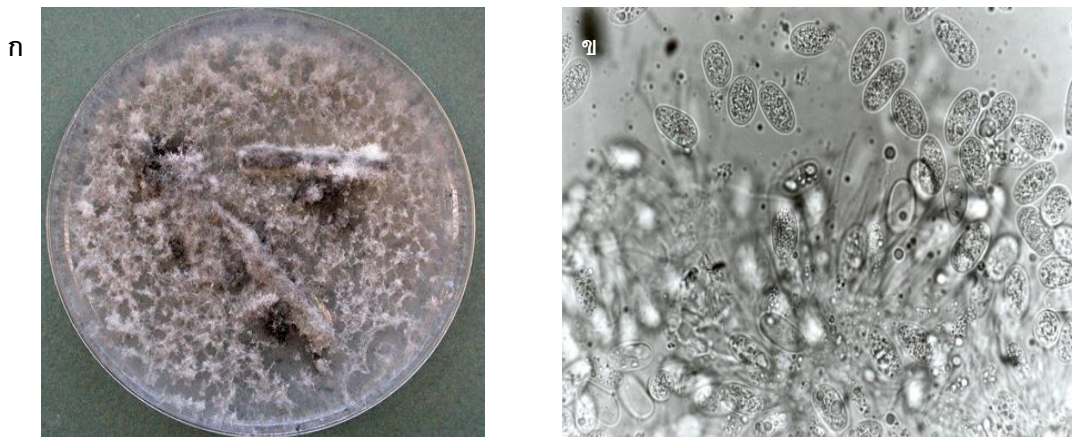
Family Sphaeropsidaceae

Genus *Lasiodiplodia*

Species *Lasiodiplodia theobromae*

Alexopoulos *et al.* (1962)

เชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* มีชื่อเรียกเดิมด้วยกันหลายชื่อ เช่น *Diplodia* sp. (Taubenhaus, 1915) *Botryodiplodia theobromae* Pat. (Cramer, 1979) เชื้อรา *L. theobromae* เป็นเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่พบได้ทั่วไปในเขตร้อนมีรายงานการพบครั้งแรกเมื่อปี 1892 บนฝักโกโก้ในประเทศ Ecuador โดย Patouillard เป็นสาเหตุการเน่าของผลไม้หลังการเก็บเกี่ยวหลายชนิด เช่น มะละกอ ฝรั่ง มะม่วง ส้ม มะพร้าว กล้วย เงาะ ทุเรียน มังคุด ลำไยน้อยหน่า อะโวคาโด ขนุน ทุเรียน (Nagarja *et al.*, 1971; Srivastava and Tandon, 1971; Vyas and Panwar, 1976; Sang *et al.*, 1985; Sangchote, 1987; Chana *et al.*, 1991; Farungsang *et al.*, 1994; Sangchote and Pongpisutha, 1995; Ploetz *et al.*, 2003) สำหรับพืชอาศัยอื่น ๆ ได้แก่ มะตูม ชิงไผ่น้อยหน่า เปปเปอร์มินต์ มะขามป้อม มะกอก อินทผาลัม ขนุนดง กระเจี๊ยบ บานชื่น กระเพรา ว่านหางจระเข้ พลับพลึง พุดซ้อน กระเช้าสีดา นางแย้มป่า และว่านตะขาบ (Shreemali, 1973; Varmar and Bilgrami, 1977)



ภาพที่ 5 (ก) โคลนิจของเชื้อ *L. theobromae* ที่เจริญบนอาหาร PDA และ (ข) โคนินเดี่ยวของเชื้อ *L. theobromae* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า  
(ที่มา: [www.mycology.adelaide.edu.au/virg09.html](http://www.mycology.adelaide.edu.au/virg09.html))

ลักษณะทั่วไปของเชื้อพบได้ในเขตร้อนและเขตกึ่งร้อน ลักษณะโคโลนิจบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) มีเส้นใยฟูสีเทาอ่อนถึงดำ เมื่ออายุ 3 วันโคโลนิจจะมีสีขาวปนเทาและมีการสร้าง fruiting body โดยอาจจะเกิดเดี่ยว ๆ หรือเกิดเป็นกลุ่ม เมื่ออายุ 6 วัน เส้นใยจะมีสีเทาปนเขียวและค่อยๆ เปลี่ยนเป็นสีดำ ลักษณะของเส้นใยเป็นแบบ septate hyphae (Perterson,1976) เชื้อสามารถเจริญและสร้าง pycnidium ได้ดีบนอาหาร corn meal agar ลักษณะของ pycnidium บนอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีสีเข้มจนเกือบดำ ขนาดประมาณ 133-220 ไมโครเมตร ส่วนบนของ pycnidium จะมี ostiole ยื่นออกมา ภายใน pycnidium มีการสร้าง pycnidiospore จำนวนมากขนาด 9.5 -13.5 x 17.75-25 ไมโครเมตร ในระยะแรก pycnidiospore จะมีสีใสเซลล์เดียว รูปไข่ยาวรีเมื่อแก่จะเป็นสีน้ำตาลเข้มและมี septate แบ่ง pycniospore ออกเป็นสองเซลล์ ผันงหนา (อังสุมา และสมศิริ, 2526) ดังภาพที่ 5 เชื้อชนิดนี้สามารถเจริญได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อหลายชนิด (Farrow,1954) Ekundayo and Haskin (1969) พบว่าเชื้อสามารถสร้าง pycnidium ได้ดีบนอาหารสังเคราะห์ (synthetic medium) รองลงมาคือ corn meal agar, yeast extract, peptone agar, potato dextrose agar และ malt extract agar ตามลำดับ เชื้อราชนิดนี้ต้องการแสงที่มีความเข้มแสง 15 แสงเทียนต่อเนื่องกันเป็นเวลา 4 วันในการกระตุ้นให้มีการสร้าง pycnidium อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญคือ 30 องศาเซลเซียส และจากการศึกษาของสมหวัง (2529) เชื้อสามารถสร้าง pycnidium ได้ดีที่สุดในอาหาร potato dextrose agar ที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส pH ที่เหมาะสมคือ 5 ในสภาพที่มีการให้แสงสลับมืดทุก 12 ชั่วโมง นอกจากนี้เชื้อยังสามารถใช้ D-glucose เป็นแหล่งคาร์บอน และ D-phenylalanine หรือ proteose peptone เป็นแหล่งไนโตรเจน

เชื้อสามารถปนเปื้อนอยู่บริเวณผิวผล ดิน หรือพืชอาศัยชนิดอื่น ๆ ที่ขึ้นอยู่ในบริเวณเดียวกัน เมื่อเชื้อเข้าสู่ผลจะทำลายเนื้อเยื่อภายในผลได้อย่างรวดเร็วเนื่องจากสามารถสร้างเอนไซม์ได้หลายชนิด Chakrabarti and Nandi (1978) พบว่า *L. theobromae* สามารถผลิตเอนไซม์ amylase, invertase, protopectinase และ protease เพื่อช่วยในการย่อย sucrose, pectin และ protein จากกล้วย Nagaraja *et al.* (1971) ได้ศึกษาเอนไซม์ของเชื้อนี้ที่แยกได้จากมะพร้าวพบว่าเชื้อสามารถผลิต protease, pectinase และ cellulase ได้ Adisa

and Fajola (1972) พบว่า *L. theobromae* สามารถผลิตเอนไซม์ pectin methyl esterases (PME) polygalacturonase (PG) เพื่อย่อยผลส้มทำให้เกิดอาการผลเน่าและ

#### 1.2.4.3 เชื้อรา *Aspergillus niger*

Kingdom Myceteae

Division Amastigomycota

Class Ascomycetes

Order Eurotiales

Family Eurotieceae

Genus *Aspergillus*

Species *Aspergillus niger*

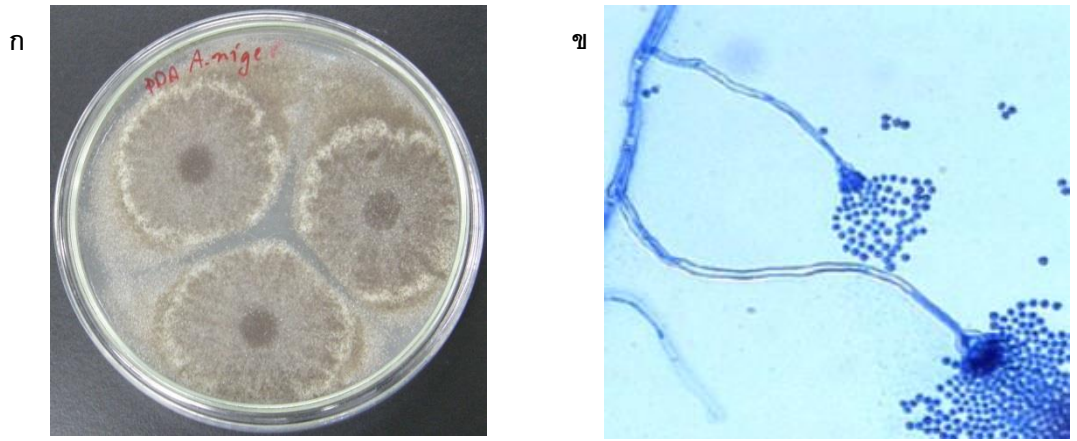
(Alexopoulos, 1962)

เชื้อ *Aspergillus* พบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1729 โดยนักชีววิทยาชาวอิตาลีชื่อ Pier Antonio Micheli เชื้อ *Aspergillus* มีมากกว่า 200 สปีชีส์ *Aspergillus* sp. พบได้ทั่วไปพบได้ทั่วไปทุกหนทุกแห่งทั่วโลก เช่น ในดิน น้ำหรือพืชพรรณธัญญาหาร บริเวณที่พบเชื้อมาก ได้แก่ บริเวณที่อุ่น ชื้น เช่น พื้นคอกสัตว์ ฝางแห้ง แหล่งให้น้ำและสิ่งที่กำลังเน่าเปื่อย เช่น ซากพืชซากสัตว์ที่เน่าเปื่อย รวมทั้งในอาหารต่างๆ เช่น ในผลไม้ ผัก แยม เนื้อสัตว์ ธัญพืช หญ้าแห้ง ไม้เนื้ออ่อน หรือแม้กระทั่งเสื้อผ้าที่เก็บไว้ในตู้ที่ชื้น โดยเฉพาะแถบโซนร้อน (tropical climate) เชื้อราชนิดนี้เจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วสร้างเยื่อใยได้ โคลนินบนอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีสีแตกต่างกัน โดยทั่วไปไมซีเลียมักจะไม่ค่อยมีสี สีที่พบมักจะเป็นสีสว่าง (bright) และจาง (pale) โดยพบว่าสีที่พบมักจะเป็นสีดำ เขียวน้ำเงิน และเขียวเหลืองเนื่องจากสามารถสร้างสปอร์ที่มีสีได้ *Aspergillus* (ออ.78/79/80)

ลักษณะพิเศษของ *Aspergillus niger* คือ สปอร์มีสีดำ จึงได้ชื่อว่าเป็น (Black Aspergilli) เป็นเชื้อที่พบได้ทั่วโลก และมีชนิดและสายพันธุ์จำนวนมาก ดังนั้นการแยกเป็นชนิดต่างๆ ให้ชัดเจนนั้นเป็นสิ่งที่ทำได้ยาก โคลนินสามารถกระจายได้รวดเร็ว โดยในเริ่มต้นมีการสร้างไมซีเลียสีขาว และจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองสว่าง (bright yellow) มีก้านชูอับสปอร์ (stalk) จะถูกสร้างขึ้นมาจากชั้นล่าง (substratum) มีความยาวตั้งแต่ 200 ไมครอน ไม่มีสี มีลักษณะราบเรียบ และจะแยกออกเมื่อถูกกระทบ head มีลักษณะเป็นทรงกลม และจะมีการแยกที่ผิวรอบนอก เวสิเคิลมีลักษณะกลม ไม่มีสีหรืออาจจะมีสีน้ำตาลเหลือง เกิดขึ้นเต็มพื้นผิว มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 50 ไมครอน phialides เกิดขึ้นจากเวสิเคิลโดยตรง (Smith, 1971) ดังภาพที่ 6

เชื้อรา *A.niger* สามารถก่อให้เกิดความเสียหายกับพืชผลทางเกษตรที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจหลายชนิดภายหลังการเก็บเกี่ยว ซึ่งส่งผลให้รายได้ของผลผลิตทางการเกษตรตกต่ำลง เชื้อรา *A.niger* ก่อให้เกิดอาการขั้วผลเน่า และอาการผลเน่ากับมะม่วง เงาะ องุ่น เป็นต้น และโรคราดำกับผักและผลไม้หลายชนิดที่เก็บรักษาไว้นานในที่อากาศชื้นและการถ่ายเทอากาศไม่ดี มักเกิดอาการเน่า โดยมีราสีดำขึ้นเป็นกลุ่ม

ระหว่างกลีบของพืช เช่น หัวหอมและกระเทียม เส้นใยของรามีหัวสีดำซึ่งจะฟุ้งกระจายได้ง่าย เมื่อมีการกระทบกระเทือนเนื้อเยื่อที่ราขึ้นจะเนาเปื่อยกินลึกเข้าไปทีละน้อย และขยายวงกว้างออกไปไม่มีขอบเขตจำกัด ส่วนมากเชื้อราจะเจริญเข้าไปทางแผลที่เกิดจากการตัดใบที่ยังไม่แห้งสนิท เพราะเก็บเกี่ยวก่อนแก่จัด เป็นช่องทางให้โรคเข้าทำลายได้โดยง่าย (นิตยา, 2542)



ภาพที่ 6 (ก) โคลนเชื้อของเชื้อ *A. niger* ที่เจริญบนอาหาร PDA และ (ข) โคลนเดี่ยวของเชื้อ *A. niger* ภายใต้อกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า  
(ที่มา : [www.cleanxcorp.com](http://www.cleanxcorp.com))

### 1.3 วัตถุประสงค์ของโครงการ

- 1.3.1 เพื่อพัฒนากระดาษที่มีคุณสมบัติต้านการเจริญของเชื้อราโดยวิธี bioactive coating ด้วยการเคลือบกระดาษด้วย wax formulation ที่มีส่วนผสมของ wax ได้แก่ paraffin wax และ bee wax กับน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากยูคาลิปตัสและเสมีดขาว ทั้งในรูปแบบสารสกัดเดี่ยว และ สารสกัดผสม
- 1.3.2 เพื่อพัฒนาแผ่นป้องกันเชื้อราที่สามารถปลดปล่อยไอระเหยของน้ำมันหอมระเหยจากยูคาลิปตัสและเสมีดขาวในการควบคุมการเจริญของเชื้อรา
- 1.3.3 เพื่อศึกษาการประยุกต์ใช้กระดาษเคลือบน้ำมันหอมระเหยและแผ่นปลดปล่อยไอระเหยป้องกันเชื้อราในการยืดอายุการเก็บรักษาผลไม้ภายหลังการเก็บเกี่ยว

## บทที่ 2 วิธีวิจัย

### 2.1 การศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัสและเสม็ดขาว

#### 2.1.1 วัตถุประสงค์และอุปกรณ์

##### วัตถุประสงค์

1.1 ใบยูคาลิปตัส *Eucalyptus camaldulensis* จากแปลงปลูกรวบรวมพันธุ์ กรมป่าไม้ อ.สตึก จ.บุรีรัมย์

1.2 ใบเสม็ดขาว *Melaleuca cajuputi* Powell จากเรือนบ่มเพาะ สถาบันผลิตผลเกษตรฯ)

##### สารเคมี และอาหารเลี้ยงเชื้อ

###### สารเคมี

- โซเดียมซัลเฟตแอนไฮไดรรัส (sodium sulphate anhydrous: analytical grade, Ajax Finechem, New Zealand)
- แอลกอฮอล์
- Dimethyl sulfoxide, Merck Schuchard, Germany
- Salt Resazurin

###### อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

- Potato Dextrose agar ; PDA (Difco, United States)
- Half Potato Dextrose agar ; 1/2 PDA (Difco, United States)
- Potato Dextrose broth ; PDB (Difco, United States)
- Malt Extract broth ; MEB(Difco, United States)
- Sabouraud Dextrose broth ; SDB (Merc, Germany)

##### เชื้อราสาเหตุโรคพืช

3.1 *Colletotrichum gloeosporioides*

3.2 *Aspergillus niger*

3.3 *Lasiodiplodia theobromae*

### 3.4 *Rhizopus stolonifer*

#### อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 4.1 เครื่องกลั่นน้ำมันหอมระเหย ชนิดกลั่นด้วยน้ำและไอน้ำ บริษัท NK supply จำกัด
- 4.2 เครื่อง Gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS): Shimazu Japan รุ่น QP5050A
- 4.3 หม้อนิ่งฆ่าเชื้อ
- 4.4 ตู้ถ่ายเชื้อจุลินทรีย์แบบ Larminar flow
- 4.5 จานเพาะเชื้อพลาสติกขนาด 9 เซนติเมตร
- 4.6 กล้องจุลทรรศน์ติดกล้องถ่ายภาพ

#### 2.1.2 วิธีการเตรียมตัวอย่าง

นำใบยูคาลิปตัส และใบเสมีดขาวมา ทำการตัดใบยูคาลิปตัสออกจากกิ่ง และล้างทำความสะอาด จากนั้นทำการเตรียมตัวอย่างสำหรับกลั่นน้ำมันหอมระเหยโดยตัดใบตัวอย่างเสมีดขาวเป็นชิ้นขนาดประมาณ 1 เซนติเมตร ดังแสดงในภาพที่ 7



ใบยูคาลิปตัส



ใบเสมีดขาว

ภาพที่ 7 การเตรียมตัวอย่างใบยูคาลิปตัสและใบเสมีดขาวเพื่อใช้ในการสกัดและการกลั่นน้ำมันหอมระเหย

#### 2.1.3 วิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบยูคาลิปตัส และใบเสมีดขาว

นำตัวอย่างใบยูคาลิปตัสและใบเสมีดขาวที่ผ่านการเตรียมตัวอย่าง จำนวนตัวอย่างละ 300 กรัม นำมาทำการกลั่นน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีการกลั่นด้วยน้ำและไอน้ำ โดยทำการใส่น้ำจำนวน 2 ลิตรลงในขวดก้นกลม นำตัวอย่างพืชวางลงบนตะแกรง ซึ่งตัวอย่างพืชจะไม่สัมผัสกับน้ำร้อนโดยตรง ดังแสดงในภาพที่ 8 ทำ

การกลั่นเป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง จำนวน 3 ซ้ำ จากนั้นนำน้ำมันหอมระเหยที่ได้มาแยกน้ำส่วนที่ปนอยู่ออก โดยใช้เกลือโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส หลังจากนั้นทำการวัดปริมาตรของน้ำมันที่ได้เพื่อใช้คำนวณหาเปอร์เซ็นต์น้ำมันหอมระเหยที่ได้ ทำการเก็บตัวอย่างในขวดแก้วสีชา และเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 8 การกลั่นน้ำมันหอมระเหย ด้วยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ

#### 2.1.4 วิธีการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัส และเสมีดขาว

นำน้ำมันหอมระเหยของยูคาลิปตัส และเสมีดที่เก็บเป็นตัวอย่างเบื้องต้น จำนวน 1 ตัวอย่าง ที่ทำการสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ โดยทำการเตรียมตัวอย่างน้ำมันยูคาลิปตัสที่ความเข้มข้น 2,000 ppm ในตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ จากนั้นนำสารที่ได้มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ด้วยเครื่องแกสโครมาโตกราฟีแมสสเปกโตรสโคปี (Shimadzu QP 5050A) โดยสภาวะการวิเคราะห์มีรายละเอียดดังนี้

##### น้ำมันยูคาลิปตัส

คอลัมน์ : คอลัมน์ DB-5 capillary ยาว 60 เมตรเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.25 มิลลิเมตรหนา 0.25

ไมโครเมตร (J&W, USA)

ปริมาณการฉีด : 1 ไมโครลิตร

อุณหภูมิ : Injector 240 °C

อุณหภูมิ : Detector 240 °C

Carrier gas : ฮีเลียม ปรับอัตราการไหล 1.2 mL/min

สภาวะในการฉีด : Column: เริ่มต้นที่ 60 °C คงที่ 3 นาที

เพิ่มอุณหภูมิจนถึง 240 °C ด้วยอัตรา 4 °C/นาที

## น้ำมันเมล็ดขาว

คอลัมน์ : คอลัมน์ DB-5 capillary ยาว 60 เมตรเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.25 มิลลิเมตรหนา 0.25 ไมโครเมตร (J&W, USA)

ปริมาณการฉีด : 1 ไมโครลิตร

อุณหภูมิ : Injector 250 °C

อุณหภูมิ : Detector: 250 °C

Carrier gas : ฮีเลียม ปรับอัตราการไหล 1.2 mL/min

สถานะในการฉีด : Column: เริ่มต้นที่ 80 °C คงที่ 2 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิไปที่ 150°C ด้วยอัตรา 3°C/นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิจนถึง 250°C ด้วยอัตรา 15°C/นาที

## 2.1.5 วิธีการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งเชื้อราที่เป็นสาเหตุของการเน่าของผลไม้

### 2.1.5.1 การเตรียมเชื้อรา

#### การเตรียมอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA)

ซึ่ง Potato Dextrose Agar (PDA) (Difco, United States) ตามที่กำหนด คือ 39 กรัม ต่อ น้ำ 1 ลิตร โดยเตรียมในปริมาณที่ต้องการ เติมน้ำกลั่น ต้มจนอาหารเลี้ยงเชื้อใส นำไปฆ่าเชื้อโดยผ่านหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อมีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส เทใส่จานเลี้ยงเชื้อปริมาตร 20 มิลลิลิตร/จาน

#### วิธีการเตรียมเชื้อราโรครีซ

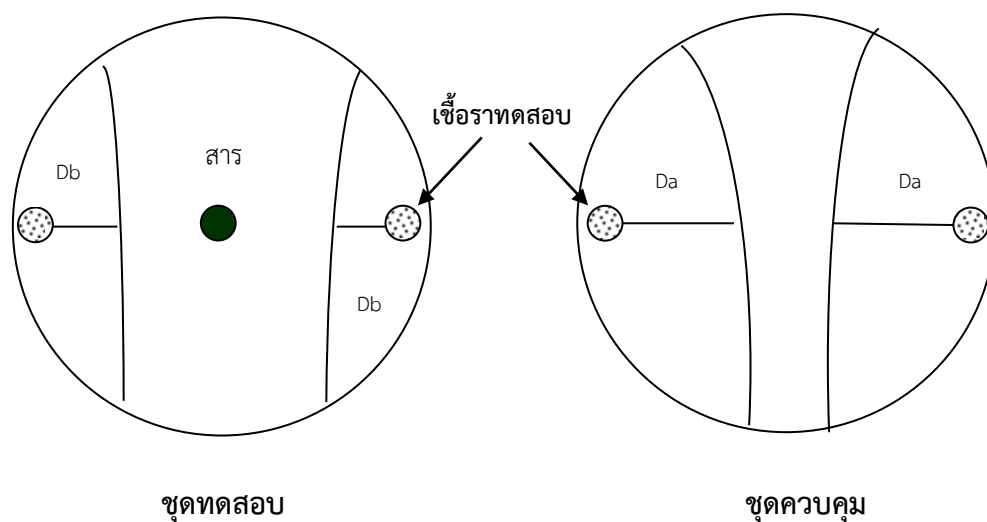
เพาะเลี้ยงเชื้อราโรครีซแต่ละสายพันธุ์ ได้แก่ *Aspergillus niger*, *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Lasiodiplodia theobromae* ซึ่งเป็นเชื้อราสาเหตุหลักของการเน่าเสียภายหลังการเก็บเกี่ยวของมะม่วงลงบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

### 2.1.5.2 วิธีการทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งเชื้อราโรครีซ

ทำการทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยที่มีต่อเชื้อรา ด้วยวิธี Contact assay (Alvarez-Castellanos *et al.*, 2001) ดังภาพที่ 9 โดยวางชิ้นส่วนของเชื้อราโรครีซสาเหตุการเสื่อมเสียของผลไม้ทั้ง 3 สายพันธุ์ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ที่เตรียมด้วยวิธีการในข้อ 4.2 ลงบนอาหารทดสอบ PDA ที่ด้านข้างของขอบจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ในทิศทางตรงข้ามกัน (วางชิ้นส่วนของเชื้อรา 2 ชิ้น/ต่อจาน) จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร เจาะชิ้นส่วนของอาหารเลี้ยงเชื้อที่บริเวณกลางจานเพาะเชื้อ และใช้หลอดหยดเชื้อหยดชิ้นส่วนของเชื้อราออก ใช้ปิเปตตุน้ำมันหอมระเหย จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ น้ำมันยูคาลิปตัส, น้ำมันเมล็ดขาว และน้ำมันผสมระหว่างน้ำมันยูคาลิปตัส และน้ำมันเมล็ดขาว (อัตราส่วน 50 : 50) ปริมาตร 30 µl หยดลงในหลุมที่เจาะไว้

นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน วัดผลโดยวัดระยะรัศมีของเชื้อราชุดควบคุม (เชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA เป็นระยะเวลา 7 วัน) เป็น Da และระยะรัศมีของเชื้อราที่ทำการทดสอบ เป็น Db นำมาคำนวณเป็นค่าการยับยั้งเชื้อรา (Antifungal Index)

$$\text{Antifungal Index} = (1 - (Db/Da)) \times 100$$



ภาพที่ 9 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีต่อเชื้อรา ด้วยวิธี Contact assay

## 2.2 การคัดเลือกน้ำมันหอมระเหยที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราโรคพืช เพื่อใช้เป็นส่วนผสมในสูตรควบคุมการเสื่อมเสียของผลไม้

### 2.2.1 การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรอื่นๆ

ในการคัดเลือกน้ำมันหอมระเหยเพื่อใช้เป็นส่วนผสมในสูตรร่วมกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเชื้อราเอนไต์เพื่อเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของน้ำยาควบคุมการเสื่อมเสียของผลไม้หลังการเก็บเกี่ยวครั้งนี้ ได้ใช้สมุนไพรไทยที่มีการรายงานถึงประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุการเสื่อมเสียของผลไม้หลังการเก็บเกี่ยวได้ดีจำนวน 4 ชนิด ได้แก่

1. โหระพา
2. ขิง
3. พริกไทย

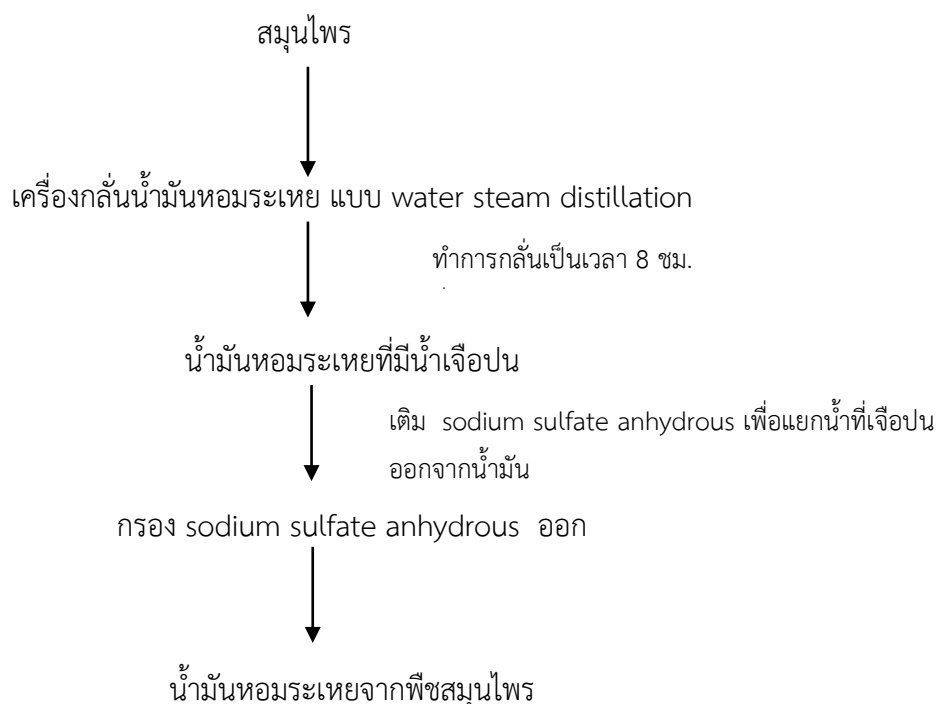
#### 4. อบเชย

ทำการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากพืชทั้ง 4 ชนิด นี้โดยการนำไปสกัดตามวิธีการของอุไรวรรณ และคณะ ในการศึกษาการออกฤทธิ์ของสารสกัดและน้ำมันพลูของอุไรวรรณและคณะนับจากปี พ.ศ. 2543 จนถึงปี พ.ศ. 2548 (อุไรวรรณและคณะ, 2543, 2545, 2546, 2547; อุดมลักษณ์และคณะ, 2544, 2546, 2547; เกศทิพย์และคณะ, 2545; ณิชากรและคณะ, 2548)

#### การเตรียมวัตถุดิบ

นำ อบเชย และเม็ตพริกไท (จากร้านง่วนสุน ตลาดเยาวราช) มาทำการบดให้มีขนาดเล็กลงสำหรับโหระพา และขิง (จากตลาดไท จ.ปทุมธานี) เตรียมโดยทำการล้างให้สะอาด ผึ่งให้น้ำแห้ง และนำมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ หั่นให้มีขนาดความกว้างประมาณ 0.5 ตัวอย่างของพืชสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด จะถูกนำไปสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีการ water distillation ดังแสดงในภาพที่ 10

นำตัวอย่างพืชสมุนไพร จำนวน 500 กรัม กลั่นด้วยวิธี water distillation เป็นเวลา 8 ชั่วโมง น้ำมันที่ได้จากการกลั่นจะมีน้ำปนอยู่บางส่วน ทำการแยกน้ำส่วนที่หลงเหลืออยู่โดยเติม sodium sulfate anhydrous จากนั้นนำไปกรอง sodium sulfate anhydrous ออกจะได้น้ำมันหอมระเหยบริสุทธิ์



ภาพที่ 10 ขั้นตอนการกลั่นน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพร

## 2.2.2 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุการเน่าเสียของผลไม้

ทำการทดสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ตามวิธีการทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งเชื้อราโรคพืชข้อ 2.1.5.2 คัดเลือกน้ำมันหอมระเหยที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราที่ทำการทดสอบทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้สูงที่สุด เพื่อนำไปหาอัตราส่วนผสมร่วมกับน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัสและเสม็ดขาว ตลอดจนระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการพัฒนาสูตรน้ำยาควบคุมการเน่าเสียของมะม่วงหลังการเก็บเกี่ยวต่อไป

## 2.3 การศึกษาการเสริมฤทธิ์ร่วมกันในการของยับยั้งเชื้อราสาเหตุการเสื่อมเสียของผลไม้

### 2.3.1 การเตรียมสารทดสอบ

นำน้ำมันหอมระเหยจากใบเสม็ดขาวและใบยูคาลิปตัสที่ผสมกันในอัตราส่วน 1:1 และนำไปผสมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชย ซึ่งจากการทดสอบเป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสูง ด้วยอัตราส่วนที่แตกต่างกัน 6 ระดับ ดังนี้

A : น้ำมันหอมระเหยจากใบเสม็ดขาวและใบยูคาลิปตัสที่ผสมกันในอัตราส่วน 1:1

B : น้ำมันหอมระเหยอบเชย

สาร A	สาร B
10	0
9	1
8	2
7	3
6	4
5	5
4	6
3	7
2	8
1	9
0	10
10	0

## 2.3.2 วิธีการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อราโรคพืชของน้ำมันหอมระเหย

### 2.3.2.1 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเพื่อพัฒนาถุงกระดาษยืดอายุการเก็บผลไม้

ทำการทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยที่มีต่อเชื้อรา ด้วยวิธี Contact assay (Alvarez-Castellanos *et al.*, 2001) ตามรายละเอียดในวิธีการทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งเชื้อราโรคพืชข้างต้น โดยอัตราส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถยับยั้งเชื้อราที่ทำการทดสอบได้ดีที่สุดจะถูกคัดเลือกเพื่อนำไปใช้เคลือบถุงกระดาษเพื่อยืดอายุการเก็บผลไม้ต่อไป

### 2.3.2.2 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเพื่อพัฒนาแผ่นยืดอายุการเก็บผลไม้

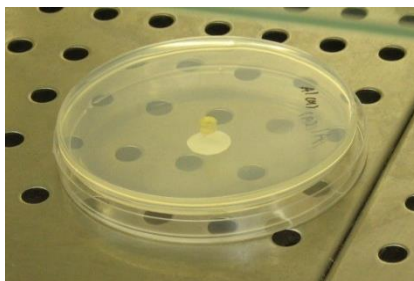
ทำการทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยที่มีต่อเชื้อรา ด้วยวิธี Volatile assay เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของไอระเหยของน้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งเชื้อรา ดัดแปลงจากวิธีของ Alvarez-Castellanos *et al.* (2001) โดยเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อตามวิธีการเตรียมอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อตัดเส้นใยเชื้อราตามวิธีการเตรียมเชื้อราโรคพืชข้างต้น นำมาวางลงบนผิวหน้าอาหารจุดกึ่งกลางจานเพาะเลี้ยง ทำการหยดน้ำมันหอมระเหยปริมาณ 10  $\mu$ l ลงบนกระดาษกรองเบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร ซึ่งวางบนฝาจานเพาะเชื้อ ประกบฝาและจานเพาะเชื้อเข้าด้วยกัน จากนั้นปิดด้วยฟิล์มพลาสติก ดังแสดงในภาพที่ 11 ทำการบ่มเชื้อโดยคว่ำจานเพาะเชื้อ และบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 7 วัน หรือเมื่อเชื้อราควบคุมเจริญเต็มจานเพาะเชื้อจึงทำการตรวจผล โดยวัดการเจริญของเส้นใยของเชื้อราเปรียบเทียบกับ การเจริญของเชื้อราในจานเพาะเชื้อที่ไม่มีน้ำมันหอมระเหยซึ่งใช้เป็นชุดควบคุมและนำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่าดัชนีการต้านเชื้อราจากสูตร (Hsu *et al.*, 2007)

$$AI = (1 - D_a / D_b) \times 100$$

โดยที่ AI คือ ดัชนีการต้านเชื้อรา

$D_a$  คือ ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราบนจานเพาะเชื้อทดสอบ

$D_b$  คือ ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราบนจานเพาะเชื้อควบคุม



ภาพที่ 11 การทดสอบการต้านเชื้อราของน้ำมันหอมระเหยโดยวิธี volatile assay

โดยอัตราส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถยับยั้งเชื้อราที่ทำการทดสอบได้ดีที่สุดจะถูกคัดเลือกเพื่อนำไปใช้พัฒนาแผ่นยืดอายุการเก็บผลไม้ต่อไป

### 2.3.3 ศึกษาประสิทธิภาพการเสริมฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยจากใบเสมีดขาวและใบยูคาลิปตัสที่ผสมกันในอัตราส่วน 1:1 และน้ำมันหอมระเหยอบเชยในการต้านการเจริญของเชื้อรา

ทำการประเมินประสิทธิภาพในการเสริมฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยจากใบเสมีดขาวและใบยูคาลิปตัสและน้ำมันหอมระเหยอบเชย ตามวิธีของ Davidson and Parish (1989) โดยการนำค่าความเข้มข้นต่ำสุด Minimum Inhibitory Concentration (MIC) ที่ได้จากการทดลองในข้อวิธีการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งข้างต้น มาทำการคำนวณหาค่า Fractional Inhibitory Concentration (FIC) ซึ่งหมายถึงความเข้มข้นของสารผสมน้ำมันหอมระเหยจากใบเสมีดขาวและใบยูคาลิปตัสและน้ำมันหอมระเหยอบเชยที่แสดงเป็นจำนวนเท่าของค่า MIC โดยคำนวณจากสูตร

$$\text{FIC น้ำมันเสมีดขาวและยูคาลิปตัส} = \frac{\text{MIC ของสูตรผสมน้ำมันเสมีดขาวและยูคาลิปตัสและน้ำมันอบเชย}}{\text{MIC ของ น้ำมันเสมีดขาวและยูคาลิปตัส}}$$

$$\text{FIC น้ำมันอบเชย} = \frac{\text{MIC ของสูตรผสมน้ำมันเสมีดขาวและยูคาลิปตัสและน้ำมันอบเชย}}{\text{MIC ของน้ำมันอบเชย}}$$

โดยที่ FIC น้ำมันเสมีดขาวและยูคาลิปตัส คือ ค่าความเข้มข้นของน้ำมันเสมีดขาวและยูคาลิปตัส ในสูตรผสมน้ำมันเสมีดขาวและยูคาลิปตัส และน้ำมันอบเชย ที่แสดงเป็นจำนวนเท่าของค่า MIC

FIC น้ำมันอบเชย คือ ค่าความเข้มข้นของน้ำมันอบเชยในสูตรผสมน้ำมันเสมีดขาวและยูคาลิปตัส และน้ำมันอบเชย ที่แสดงเป็นจำนวนเท่าของค่า MIC

ทำการประเมินประสิทธิภาพการเสริมฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยทั้งสองชนิดด้วยดัชนีชี้วัดที่เรียกว่า Fractional Inhibitory Concentration Index (FIC index) ดังแสดงในสูตร โดยนำค่า FIC น้ำมันเสมีดขาวและยูคาลิปตัส และ FICอบเชย ของสูตรผสมของน้ำมันเสมีดขาวและยูคาลิปตัส และอบเชยมาคำนวณหาค่า FIC index

$$\text{FIC index} = \text{FIC น้ำมันเสมีดขาวและยูคาลิปตัส} + \text{FIC น้ำมันอบเชย}$$

โดยที่ FIC index คือ ดัชนีชี้วัดประสิทธิภาพของสารผสมจำนวน 2 ชนิด แปลผลโดย

ค่า FIC index ค่าน้อยกว่า 1 หมายถึง เสริมฤทธิ์กัน (Synergism)

ค่าเท่ากับ 1 หมายถึง ฤทธิ์ไม่แตกต่างกัน (Additive)

ค่ามากกว่า 1 หมายถึง มีฤทธิ์ต้านกัน (Antagonistic) (Davidson and Parish ,1989)

จากนั้นนำค่า FIC ของน้ำมันเมล็ดข้าวและยูคาลิปตัส และ FIC ของน้ำมันอบเชย มาทำการสร้างกราฟ isobologram ในการต้านเชื้อราก่อโรคหลังการเก็บเกี่ยวทั้ง 3 ชนิด โดยกำหนดให้แกน X คือ ค่า FIC ของน้ำมันเมล็ดข้าวและยูคาลิปตัส และแกน Y คือ ค่า FIC ของน้ำมันอบเชย ทำการ plot กราฟ และสร้างเส้น แนวโน้มเพื่อหาสูตรผสมที่อยู่ในพื้นที่ของการเสริมฤทธิ์กันระหว่างน้ำมันทั้งสองชนิด นำข้อมูลที่ได้มาใช้ประเมินประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของเชื้อราของสูตรผสมน้ำมันเมล็ดข้าวและยูคาลิปตัส และน้ำมันอบเชยร่วมกับค่า FIC index เพื่อหาสูตรผสมที่เหมาะสมระหว่างน้ำมันเมล็ดข้าวและยูคาลิปตัส และน้ำมันอบเชยในการต้านเชื้อราก่อโรคหลังการเก็บเกี่ยวของมะม่วงทั้ง 3 ชนิด และนำมาใช้ในการทดลองต่อไป

## 2.4 การศึกษาการพัฒนากระดาษเคลือบน้ำมันหอมระเหยต้านเชื้อราเพื่อบรรจุภัณฑ์แอคทีฟ

### 2.4.1 การศึกษาเบื้องต้นเพื่อหาสูตรและวิธีการที่เหมาะสมในการเคลือบกระดาษด้วย paraffin wax และ bee wax

#### 2.4.1.1 การเตรียมแผ่นกระดาษห่อวัสดุ

นำกระดาษห่อวัสดุสีน้ำตาลอ่อนมาตัดให้มีหน้ากว้าง 30 ซม. สำหรับม้วนเข้าแกนกระดาษของเครื่องเคลือบกระดาษอัตโนมัติ และตัดกระดาษห่อวัสดุขนาด 30 x 35 ซม. ตัดแผ่นสแตนเลสสำหรับเคลือบกระดาษห่อวัสดุด้วยคันเคลือบกระดาษ (สแตนเลส) (coating rod)

#### 2.4.1.2 การเตรียมสารเคลือบกระดาษ

สารเคมีที่ใช้ในสูตรสารเคลือบกระดาษห่อวัสดุได้แก่ paraffin wax, bees wax, stearic acid, oleic acid และ triethanolamine (TEA) ดังต่อไปนี้

#### สูตร 1 สารเคลือบที่ใช้ paraffin wax มีดังนี้

- Paraffin wax 18.5% w/v
- Oleic acid 8.5% w/v
- TEA 5% w/v
- น้ำกลั่น 68% w/v

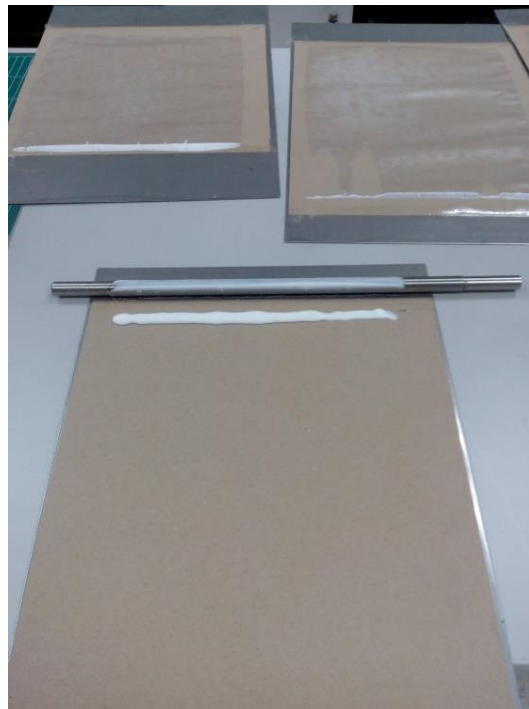
#### สูตร 2 สารเคลือบที่ใช้ bees wax มีดังนี้

- Bees wax 17 % w/v
- Stearic acid 7.5 % w/v
- TEA 4.5 % w/v
- น้ำกลั่น 71 % w/v

ขั้นตอนการเตรียมสารเคลือบ ซึ่งส่วนผสมให้ได้น้ำหนักตามสูตร สูตร 1 และ 2 จะเตรียมเหมือนกัน คือละลาย wax ที่อุณหภูมิ 60-70 °C เมื่อ wax หลอมละลายจนหมดให้เพิ่มอุณหภูมิขึ้นจนถึงช่วง 80-90 °C จากนั้นเติมกรดไขมันแต่ละชนิดตามสูตร เติมอย่างช้าๆ กวนเป็นเวลา 5 นาที แล้วเติม TEA กวนต่อไป 5 นาที สุดท้ายเติมน้ำกลั่นที่มีอุณหภูมิ 80-90 °C เติมอย่างช้าๆ และกวนต่อไปอีกเป็นเวลา 5 นาที กวนด้วยเครื่อง กวน 250 รอบต่อนาที ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เมื่อสารเคลือบเย็นตัวลงความหนืดจะอยู่ในช่วง 5000-5100 cP

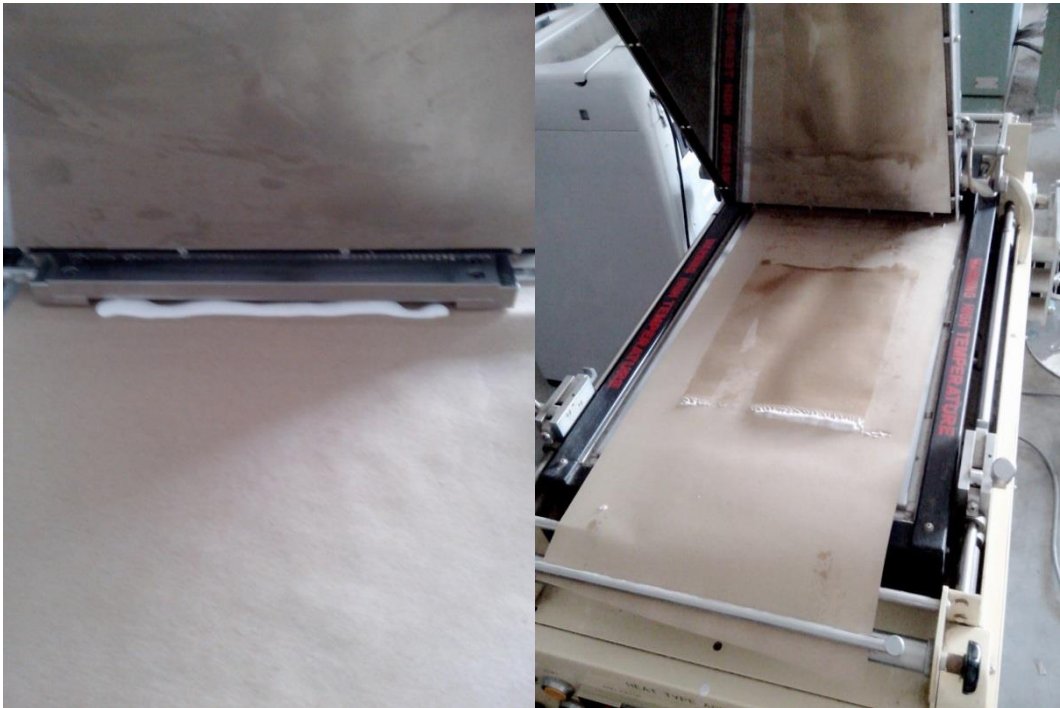
#### 2.4.1.3 วิธีการเคลือบกระดาษ

การเคลือบด้วยคั้นเคลือบกระดาษ (สแตนเลส) (coating rod, No 10) นำกระดาษห่อวัสดุที่เตรียมไว้ มายึดติดกับแผ่นสแตนเลสด้วยเทปใสสองด้านให้แผ่นกระดาษห่อวัสดุแนบกับแผ่นสแตนเลสตัววางนอนบน โต๊ะ จากนั้นเทสารเคลือบเป็นเส้นแนวขวางกระดาษ แล้วใช้ coating rod ปาดตั้งเข้าหาตัว 1 ครั้ง จะได้สารเคลือบที่เคลือบผิวกระดาษห่อวัสดุทั่วทั้งแผ่นและมีความหนาของสารเคลือบเท่ากับ 10 ไมครอน (ดังภาพที่ 12)



ภาพที่ 12 วิธีการเคลือบกระดาษห่อวัสดุด้วย coating rod

การเคลือบด้วยเครื่องเคลือบกระดาษอัตโนมัติ (Automatic Applicator Type Coater KRK 2228) โดยใช้แท่งบาร์เคลือบเบอร์ 10 (ดังภาพที่ 13) ซึ่งจะได้สารเคลือบที่มีความหนา 10 ไมครอนเคลือบบนผิวของกระดาษ อุณหภูมิที่ใช้เคลือบ คือ เคลือบที่อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิ 60 °C



ภาพที่ 13 แท่งบาร์เคลือบกระดาษและเครื่องเคลือบกระดาษอัตโนมัติ

#### 2.4.2 การทดสอบคุณสมบัติของกระดาษ

กระดาษห่อวัสดุที่เคลือบด้วย Paraffin wax และ Bees wax ทั้งวิธีการเคลือบด้วยแท่งขดลวดและเคลือบด้วยเครื่องเคลือบกระดาษอัตโนมัติ รวมทั้งกระดาษห่อวัสดุที่เคลือบด้วยสารเคลือบสูตร 2 ที่มีการเติมน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัสผสมเสม็ดขาวที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน ได้แก่ 0, 2, 4, 6, 8 และ 10% ของสารเคลือบสูตร 2 ที่เตรียมได้ ถูกนำไปทดสอบคุณสมบัติของกระดาษตามวิธีมาตรฐาน TAPPI โดยทดสอบตามแนว machine direction ของกระดาษ (MD) และตามแนว cross direction ของกระดาษ (CD) ได้แก่

1. น้ำหนักมาตรฐาน (TAPPI T410 om-88)
2. ความหนา (TAPPI T411 om-89)
3. Thickness Micrometer TM 500 No.9812163, Kumagai Riki Kogyo
4. ดัชนีความต้านทานแรงดึง (TAPPI T494 0m-88, Schopper Tensile Tester No.9804071, Kumagai Riki Kogyo)
5. ดัชนีความต้านทานแรงดันให้ขาดทะเล (TAPPI T403 om-91, Mullen Bursting Strength Tester, Kumagai Riki Kogyo)
6. ดัชนีความต้านทานแรงฉีกขาด (TAPPI T414 om-88, Tearing Strength Tester No.9812168, Kumagai Riki Kogyo)

7. ความต้านทานการหักพับ (TAPPI T543 om-00,2000, MIT Folding Endurance Tester No.9804076, Kumagai Riki Kogyo)
8. ความต้านทานการดูดซึมน้ำ (TAPPI T441 om-90, Gurley-Cobb Size Tester: No, 2075, Kumagai Riki Kogyo)

### 2.4.3 การพัฒนากระดาษเคลือบน้ำมันหอมระเหยต้านเชื้อราเพื่อเป็นบรรจุภัณฑ์แอคทีฟ

#### 2.4.3.1 วัตถุประสงค์และอุปกรณ์

##### วัตถุประสงค์

มะม่วงน้ำดอกไม้จากตลาดไท

##### สารเคมี

- สารเคลือบที่ใช้คือสารเคลือบสูตร 2 (Bees wax (17 % w/v) Stearic acid (7.5 % w/v) TEA (4.5 % w/v) และ น้ำกลั่น (71 % w/v))
- น้ำมันหอมระเหยสูตรผสมน้ำมันเสม็ดขาวและยูคาลิปตัสและน้ำมันอบเชย

##### เชื้อราโรคพืช

1. *Colletotrichum gloeosporioides*
2. *Aspergillus niger*
3. *Lasiodiplodia theobromae*

##### อุปกรณ์และเครื่องมือ

กระดาษห่อวัสดุสีน้ำตาล น้ำหนักมาตรฐาน 110 g/m<sup>2</sup>  
คันเคลือบกระดาษ (สแตนเลส) (coating rod, No 10)

#### 2.4.3.2 วิธีวิจัย

##### วิธีการเตรียมสารเคลือบผสมน้ำมันหอมระเหย

เตรียมสารเคลือบสูตร 2 ตามวิธีการเตรียมสารเคลือบกระดาษที่กล่าวมาแล้วข้างต้น จากนั้นเติมน้ำมันหอมระเหยสูตรผสมน้ำมันเสม็ดขาวและยูคาลิปตัสและน้ำมันอบเชยลงไป โดยแปรผันความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยสูตรผสม ดังนี้ 0, 2, 4, 6, 8 และ 10% (% ของสารเคลือบสูตร 2) กวนด้วยเครื่องกวน 250 รอบต่อนาที ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมาใช้เคลือบกระดาษที่จะใช้ศึกษา โดยวิธีการเคลือบด้วย coating rod กระดาษเคลือบที่ได้ถูกนำไปศึกษาคุณสมบัติของกระดาษตามข้อ 2.5.2 และศึกษาประสิทธิภาพในการต้านเชื้อราของกระดาษเคลือบ จากนั้นนำไปใช้เตรียมถุงใส่ผลมะม่วงต่อไป

##### วิธีการศึกษาประสิทธิภาพในการต้านเชื้อราของกระดาษเคลือบสูตรผสมน้ำมันเสม็ดขาวและยูคาลิปตัสและน้ำมันอบเชย

การเตรียมเชื้อรา

นำเชื้อรา ที่เจริญบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ตามวิธีการในข้อ 4.2 มาเจือจางด้วย การเติมน้ำกลั่นปราศจากเชื้อที่มี 0.01 % tween 20 ลงในหลอด แล้วใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่เผาไฟแล้วเขี่ยเชื้อให้สปอร์กระจาย นำสารแขวนลอยสปอร์ (spore suspension) ที่ได้ไปกรองผ่านสำลีปราศจากเชื้อ และนำไปนับสปอร์ด้วย Haemocytometer ให้มีความเข้มข้นของสปอร์เท่ากับ  $1.0 \times 10^6$  สปอร์ต่อมิลลิลิตร

#### การเตรียมแผ่นกระดาษทดสอบ

นำแผ่นกระดาษทดสอบตัดให้เป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 50 x 50 มม. นำไปฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนด้วยการนำไปฉายด้วยรังสี UV เป็นเวลา 2 นาที นำไปเก็บในจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

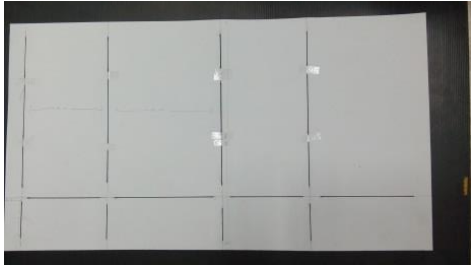
#### วิธีการทดสอบฤทธิ์ของแผ่นกระดาษทดสอบในการยับยั้งเชื้อรา

ทำการทดสอบฤทธิ์ของแผ่นกระดาษทดสอบที่มีต่อเชื้อรา โดยนำชิ้นกระดาษมาวางลงบนผิวหน้าอาหาร เพาะเชื้อลงบนกระดาษโดยการปิเปตสารแขวนลอยสปอร์ 0.5 มิลลิลิตร หยดลงบนกระดาษ กระจายสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราให้ทั่วกระดาษ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 วัน วัดผลโดยการสังเกตการเจริญของเชื้อราในกระดาษ หากพบว่าไม่มีเชื้อราขึ้นบนกระดาษภายใน 1 อาทิตย์ และมีการเจริญบนกระดาษเล็กน้อยหลังจากการบ่มเพาะเชื้อ 2 อาทิตย์ แสดงว่ากระดาษสามารถต้านทานเชื้อราได้โดยสมบูรณ์

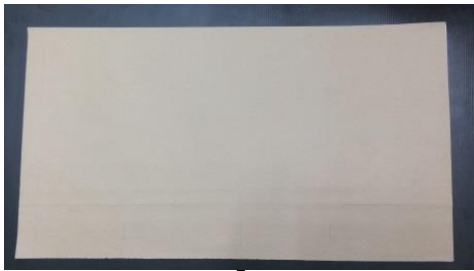
#### วิธีการทำถุงใส่ผลมะม่วง

นำกระดาษห่อวัสดุสีน้ำตาลมาตัดให้มีขนาดตามแบบร่าง และซีตรอยมาร์คไว้สำหรับพับเป็นถุงกระดาษก่อนจะนำไปเคลือบ จากนั้นนำกระดาษที่มีรอยมาร์คไปเคลือบด้วยสารเคลือบสูตร 2 ที่มีการเติมน้ำมันหอมระเหยจากยูคาลิปตัสและเสมีดขาวที่ความเข้มข้นต่างกัน ได้แก่ 0, 2, 4, 6, 8 และ 10% ของสารเคลือบสูตร 2 และกระดาษที่ไม่เคลือบ ผึ่งจนสารเคลือบแห้ง จากนั้นนำไปพับเป็นถุงกระดาษดัง

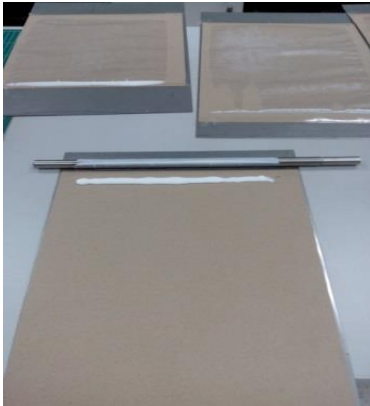
ภาพที่ 14 นำไปใส่ถุงพลาสติกเก็บไว้ในตู้เย็นเพื่อป้องกันการระเหยของน้ำมันหอมระเหย สำหรับทดสอบการต้านเชื้อราของบรรจุภัณฑ์ถุงกระดาษต่อไป



ต้นแบบร่างของถุ่กระดาษบรรจุผลมะม่วงน้ำดอกไม้



กระดาษที่ซีดรอยสำหรับพับเป็นถุ่



เคลือบกระดาษด้วยสารเคลือบสูตร 2 ที่มีการเติมน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้นต่างกัน ได้แก่ 0, 2, 4, 6, 8 และ 10%wt

ภาพที่ 14 ขั้นตอนการเตรียมทำถุ่กระดาษ



กว้าง 15 ซม.ยาว 20 ซม.สูง 31 ซม.



ลักษณะการใส่ผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้

### ภาพที่ 15 ลักษณะของถุงกระดาษสำหรับใส่ผลมะม่วงทดสอบ

#### วิธีการทดสอบการต้านเชื้อราของบรรจุภัณฑ์แอคทีฟเคลือบน้ำมันหอมระเหย

นำมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ที่ซื้อมาจากตลาดไทมาคัดเลือกผลมะม่วงที่ผิวมีตำหนิออก จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยแอลกอฮอล์ 70% โดยจุ่มทิ้งไว้เป็นเวลา 30 วินาที และจุ่มล้างด้วยน้ำกลั่นทันที 1 ครั้ง แล้วนำไปผึ่งให้แห้ง (ภาพที่ 16) เพื่อรอการเปิดปากแผลและปลูกเชื้อที่บาดแผลผลมะม่วง ใน 1 ผลจะปลูกเชื้อพร้อมกันทั้ง 3 เชื้อ เชื้อราที่ปลูกมี 3 เชื้อ ได้แก่ *Colletotrichum gloeosporioides* (C), *Aspergillus niger* (A) และ *Lasiodiplodia theobromae* (L) (ภาพที่ 17) หลังจากปลูกเชื้อแล้วนำผลมะม่วงใส่ถุงกระดาษ โดยใส่ 3 ผล ต่อ 1 ถุง เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิห้องประมาณ 25-28 องศาเซลเซียส วัดผลเปรียบเทียบกับการต้านเชื้อของสารเคลือบกระดาษสูตร 2 ที่มีน้ำมันหอมระเหยความเข้มข้นต่างกัน โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของรอยแผลที่เกิดจากเชื้อที่ระยะเวลาการเก็บ 3 5 และ 7 วัน



ภาพที่ 16 ผลมะม่วงที่จุ่มแอลกอฮอล์ 70% แล้วผึ่งให้แห้ง



ภาพที่ 17 การปลูกเชื้อลงในบาดแผลของผลมะม่วง และการใส่ถุงกระดาษเพื่อทดสอบการต้านเชื้อ

## 2.5 การศึกษาการพัฒนาแผ่นป้องกันเชื้อรา

### 2.5.1 การศึกษาประสิทธิภาพในการต้านเชื้อราของสูตรผสมน้ำมันเมล็ดข้าวและยูคาลิปตัสและน้ำมันอบเชยด้วยวิธี modified micro atmosphere system

ทำการทดสอบประสิทธิภาพการต้านการเจริญของเชื้อราของสูตรผสมน้ำมันเมล็ดข้าวและยูคาลิปตัสและน้ำมันอบเชย โดยดัดแปลงวิธี modified micro atmosphere system (Zoffoli *et al.*, 1999) ทำการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อโดยเทอาหาร PDA ปริมาตร 20 มิลลิลิตรลงในจานเพาะเชื้อพลาสติกทิ้งไว้จนอาหารแข็งตัว หยดสารละลายสปอร์ของเชื้อราทดสอบ จำนวน 10 ไมโครลิตร ลงบนจุดกึ่งกลางของจานเพาะเชื้อ นำจานเพาะเชื้อบรรจุลงในกล่องพลาสติกที่มีขนาด 25×17.5×9 เซนติเมตร โดยเปิดจานเพาะเชื้อ และนำแผ่นกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 ขนาด 6×8 เซนติเมตร ที่หยดสูตรผสมของน้ำมันเมล็ดข้าวและยูคา

ลิปตัสและน้ำมันอบเชย (ที่ผ่านการคัดเลือกจากข้อ 2.3) ในปริมาตร 101 มิลลิกรัม (25.9 มิลลิกรัมน้ำมันหอมระเหยต่อลิตรของช่องว่างภายในภาชนะ) มาวางด้านข้างจานเพาะเชื้อ ปิดฝากล่องและปิดทับด้วยเทปใส ดังแสดงในภาพที่ 18 ทำการบ่มเชื้อชุดทดสอบที่อุณหภูมิ  $28 \pm 2$  องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 7 วัน หรือเมื่อเชื้อราชุดควบคุมเจริญเต็มจานเพาะเชื้อ ตรวจสอบวัดผลโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีของเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อเปรียบเทียบกับผลการเจริญของเชื้อราในชุดควบคุม (ใช้กระดาษกรองที่หยดน้ำเปล่าลงบนกระดาษเป็นชุดควบคุมในการทดสอบ) และนำค่าที่ได้มาคำนวณหาดัชนีการต้านเชื้อรา ทำการวางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) ปัจจัยในการศึกษาคือ สูตรผสมของน้ำมันเสม็ดขาวและยูคาลิปตัสและอบเชย ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ



ภาพที่ 18 การทดสอบประสิทธิภาพในการต้านเชื้อราของสูตรผสมระหว่างน้ำมันเสม็ดขาวและยูคาลิปตัสและน้ำมันอบเชยด้วยวิธี modified micro atmosphere system

## 2.5.2 การผลิตแผ่นป้องกันเชื้อรา

เตรียมแผ่นป้องกันเชื้อราโดยใช้กระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 ตัดให้มีขนาด 8x6 เซนติเมตร หยดน้ำมันหอมระเหยสูตรผสมระหว่างน้ำมันเสม็ดขาวและยูคาลิปตัสและอบเชย ในอัตราส่วนที่ให้ประสิทธิภาพดีในการต้านเชื้อรา จากการทดสอบในข้อ 2.3 ซึ่งคัดเลือกสูตรผสมน้ำมันหอมระเหยระหว่างน้ำมันเสม็ดขาวและยูคาลิปตัสและอบเชย ในอัตราส่วน 3 : 7 ที่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร โดยปริมาตรของน้ำมันหอมระเหยที่นำมาหยดในกระดาษ และขึ้นอยู่กับขนาดของภาชนะบรรจุที่ใช้ โดยการกำหนดปริมาตร จะกำหนดโดยพิจารณาจากค่าเข้มข้นต่ำสุดที่ได้จากการทดสอบในข้อ 2.3 ซึ่งปริมาตรที่จะนำมาเตรียมแผ่นป้องกันเชื้อราจะต้องสูงกว่าค่า MICs ที่ได้จากการทดสอบ 9 เท่า ดังนั้นปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่จะนำมาเติมในแผ่นคือ 232 มิลลิกรัมต่อลิตรของช่องว่างภายในภาชนะ นำแผ่นกระดาษที่ผ่านการหยดน้ำมันหอมระเหยมาบรรจุในเยื่อกระดาษห่อใบชา (tea sachet) ดังแสดงในภาพที่ 19



ภาพที่ 19 กระดาษที่ผ่านการหยดน้ำมันหอมระเหยมาบรรจุในเยื่อกระดาษห่อใบชา (tea sachet)

### 2.5.3 การศึกษาการประยุกต์ใช้แผ่นป้องกันเชื้อราในการต้านการเจริญของเชื้อราในกล่องกระดาษบรรจุ มะม่วง

ในการทดสอบประสิทธิภาพของแผ่นป้องกันเชื้อราที่หยอดสูตรน้ำยาควบคุมการเสื่อมเสียของผลไม้ หลังการเก็บเกี่ยวในห้องปฏิบัติการได้ใช้มะม่วงน้ำดอกไม้จากตลาดไท จ.ปทุมธานี เป็นผลไม้ต้นแบบสำหรับการศึกษา โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ completely randomized design(CRD) ทำการทดลอง 5 ซ้ำ (ซ้ำละ 3 ลูก) แสดงรายละเอียดการจัดกรรมวิธีในการทดลองดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เพาะเชื้อราสาเหตุโรคพืช *Aspergillus niger* (A) และใช้แผ่นป้องกันเชื้อรา

กรรมวิธีที่ 2 เพาะเชื้อราสาเหตุโรคพืช *Colletotrichum gloeosporioides* (C) และใช้แผ่นป้องกันเชื้อรา

กรรมวิธีที่ 3 เพาะเชื้อราสาเหตุโรคพืช *Lasiodiplodia theobromae* (L) และใช้แผ่นป้องกันเชื้อรา

กรรมวิธีที่ 4 เพาะเชื้อราสาเหตุโรคพืช แบบแยกสายพันธุ์ และไม่ใช้แผ่นป้องกันเชื้อรา

กรรมวิธีที่ 5 ไม่ใช้แผ่นป้องกันเชื้อรา + ไม่เพาะเชื้อราโรคพืช

#### การเตรียมผลมะม่วง และน้ำยาควบคุมสำหรับการทดลอง

สำหรับแผ่นควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวของมะม่วงได้ใช้สูตรน้ำมันหอมระเหยเสม็ดขาวและยูคาลิปตัสที่ผสมกันในอัตราส่วน 1 : 1 จากนั้นนำมาผสมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยในอัตราส่วนที่เหมาะสมคือ 3 : 7 ที่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาใช้ในการทดสอบ การเตรียมผลมะม่วง โดยนำผลมะม่วง

น้ำดอกไม้มากัดให้มีขนาดสม่ำเสมอและแยกผลที่มีตำหนิออก จากนั้นนำไปล้างทำความสะอาดด้วยน้ำผสมน้ำยา ล้างภาชนะเพียงเล็กน้อยเพื่อล้างสิ่งสกปรกและลดความตึงผิว โดยระวังไม่ให้เกิดบาดแผลและรอยขีด นำไปล้างน้ำ สะอาด 2 ครั้ง หลังจากนั้นนำไปผึ่งให้แห้ง ตัดก้านผลออกโดยตัดก้านผลให้มีความยาวประมาณ 0.5 เซนติเมตร ปล่อยให้น้ำยางไหลออกจนแห้ง เมื่อจัดเตรียมผลมะม่วงแล้วจึงทำความสะอาดผิวบริเวณที่จะทำการปลูกเชื้อด้วย แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ นำผลมะม่วงที่เตรียมไว้มาใส่ในตระกร้า ดังแสดงในภาพที่ 20



ภาพที่ 20 มะม่วงน้ำดอกไม้อีกหลังจากการทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ

#### การกำหนดตำแหน่งปลูกเชื้อราและการทำแผล

กรรมวิธีที่ 1- 5 ทำการปลูกเชื้อ 3 ตำแหน่ง คือ จากบริเวณกึ่งกลางค่อนไปทางขั้วผล ตรงกลางผล และ จากบริเวณกึ่งกลางค่อนไปทางปลายผล ห่างกันประมาณ 3 เซนติเมตร ทำแผลบนผลมะม่วงทำโดยการใช้เข็ม เขี่ยเชื้อที่ลนไฟฆ่าเชื้อ กดลงตรงกลางบริเวณวงกลมที่กำหนดไว้สำหรับการปลูกเชื้อ ให้มีความลึกจากเปลือกผิว ประมาณ 0.5-1 มิลลิเมตร

#### การปลูกเชื้อราบนผลมะม่วง และวิธีการควบคุมโรค

นำมะม่วงที่เตรียมด้วยวิธีการในข้อ 10.1 มาทำการปลูกเชื้อราบนผลมะม่วงทำโดยการนำสารละลาย สปอร์ของเชื้อราโรคพืชที่มีความเข้มข้นของสปอร์เท่ากับ  $1.0 \times 10^6$  สปอร์ต่อมิลลิลิตร หยดลงบนรอยแผล ปริมาตร 20 ไมโครลิตร โดยกรรมวิธีที่ 1 จะนำสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราสาเหตุการเสื่อมเสียของมะม่วง *Aspergillus niger* กรรมวิธีที่ 2 *Colletotrichum gloeosporioides* และ กรรมวิธีที่ 3 *Lasiodiplodia theobromae* แล้วหยดลงบนรอยแผล 1 จุด/1 สายพันธุ์ ตั้งทิ้งไว้ให้สารละลายสปอร์ของราแห้งเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำมะม่วงวางลงในกล่องบรรจุผลไม้กระดาษ ขนาด  $22 \times 15 \times 7$  เซนติเมตร มีปริมาตรบรรจุ 2.31 ลิตร โดยทำการเตรียมแผ่นป้องกันเชื้อราตามวิธีการในข้อ 9.1 ปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่หยดลงในแผ่น ป้องกันเชื้อราที่นำมาใช้ในกล่องกระดาษ เมื่อบรรจุมะม่วงแล้วทำให้มีพื้นที่ว่างในภาชนะบรรจุโดยประมาณ เท่ากับ 1 ใน 3 ดังนั้นจึงหยดน้ำมันหอมระเหยลงบนแผ่นกระดาษในปริมาตร 178.6 มิลลิกรัมต่อแผ่น ทำการติด แผ่นป้องกันเชื้อราไว้ด้านบนฝากล่อง ตามแบบการทดสอบฤทธิ์ป้องกันเชื้อราของน้ำมันหอมระเหย และทำการ

ปิดฝากล่องให้สนิทโดยใช้เทปกาวใส นำไปบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 วัน ทำการสังเกตการเกิดโรคทุก 1, 3 และ 5 วัน

การตรวจผล ทำการตรวจวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผล 2 แนว ทั้งความกว้างและความยาวของแผล ที่เกิดจากการปลูกเชื้อรา นำค่าที่วัดได้มาหาค่าระดับการเกิดโรค โดยเปรียบเทียบกับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของผลมะม่วงที่ไม่ได้ควบคุมโรคโดยการแช่น้ำยา ทำการวัดทุก 2 วัน จนกระทั่งถึงวันที่ 5 หลังควบคุมโรค

ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วงโดยการปลูกราสาเหตุโรคแบบไม่ทำแผล

0 ไม่เกิดจุดแผล

1 เกิดจุดแผลขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางน้อยกว่า 1 มิลลิเมตร

2 เกิดจุดแผลขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1- 2 มิลลิเมตร

3 เกิดจุดแผลขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3- 10 มิลลิเมตร

4 เกิดจุดแผลขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 10 มิลลิเมตร

(ศิริรัตน์ และคณะ, 2549)

### บทที่ 3 ผลและวิจารณ์

#### 3.1 การศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัสและเสม็ดขาว

ผลการกลั่นน้ำมันหอมระเหยใบบูคาลิปตัสที่เก็บจากแหล่งเก็บจังหวัดกาญจนบุรี และใบเสม็ดขาวที่เก็บจากบริเวณหน้าสถาบันผลิตผลเกษตรฯ ม.เกษตรศาสตร์ มาทำการกลั่นด้วยน้ำ แสดงดังตารางที่ 4 ซึ่งพบว่าใบเสม็ดขาวมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยสูงกว่า ใบยูคาลิปตัสเล็กน้อย

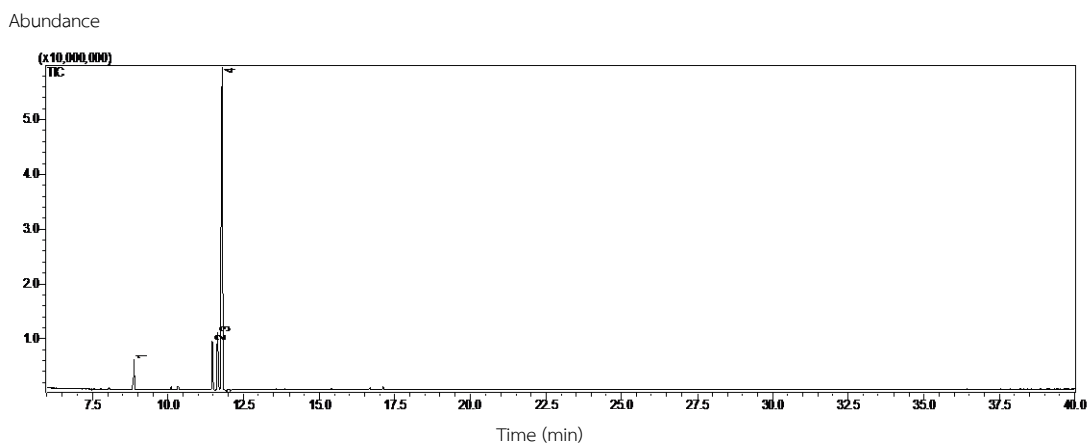
ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์ผลผลิตน้ำมันหอมระเหยของใบบูคาลิปตัสและเสม็ดขาวด้วยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ

ชนิดพืช	ผลผลิตน้ำมันหอมระเหย
ยูคาลิปตัส	1.52± 0.25
เสม็ดขาว	1.63± 0.65

จากนั้นน้ำมันหอมระเหยจากใบบูคาลิปตัสและเสม็ดขาวที่สกัดได้ถูกนำไปทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี โดยทำการเตรียมตัวอย่างน้ำมันยูคาลิปตัสที่ความเข้มข้น 2,000 ppm ในตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ แล้วทำการฉีควิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Chromatograph - Mass Spectrometer (GC-MS) [รุ่น QP 5050A บริษัท Shimadzu ประเทศญี่ปุ่น] ทำการตรวจชนิดองค์ประกอบที่แยกได้ โดยรายงานในรูปของ Total Ion Chromatogram (TIC) แล้วเปรียบเทียบกับแมสสเปคโตรแกรมขององค์ประกอบที่แยกได้แต่ละชนิดกับแมสสเปคโตรแกรมจากการฉีควิเคราะห์เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน และแมสสเปคโตรแกรมของสารมาตรฐานที่มีอยู่ในฐานข้อมูล (WILEY 7 และ NIST 12, 21 database)

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากใบบูคาลิปตัสที่ได้จากการกลั่นด้วยน้ำ ดังแสดงในตารางที่ 5 และภาพที่ 21 พบว่าองค์ประกอบทางเคมีหลักในน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัสได้แก่ 1,8-Cineole รองลงมาได้แก่สาร Limonene และ p-Cymene ตามลำดับ

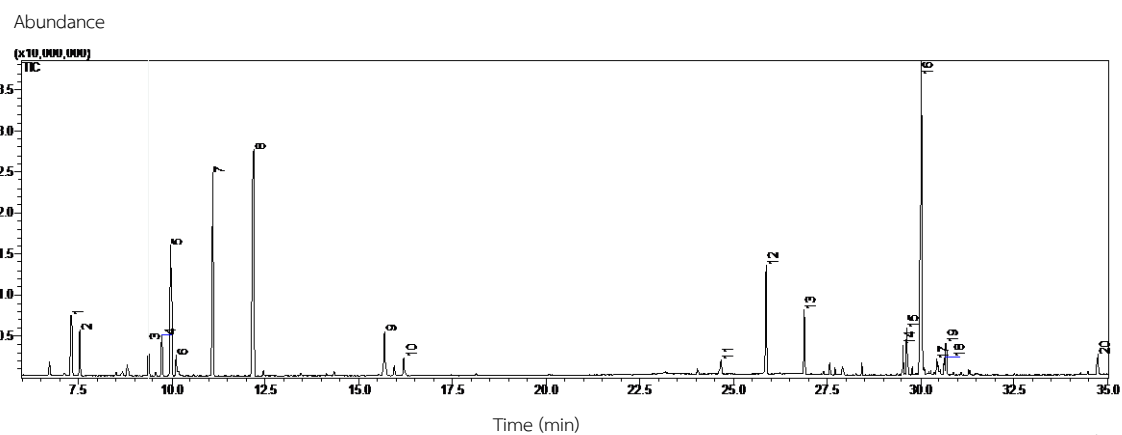
ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากใบเสม็ดขาวที่ได้จากการกลั่นด้วยน้ำ ดังแสดงในตารางที่ 6 และภาพที่ 22 พบว่าองค์ประกอบทางเคมีหลักในน้ำมันหอมระเหยใบเสม็ดขาว ได้แก่ Terpinolene รองลงมาได้แก่สาร  $\gamma$ -Terpinene และ (E)-Caryophyllene ตามลำดับ



ภาพที่ 21 Total Ion Chromatogram (TIC) ของน้ำมันหอมระเหยใบยูคาลิปตัสที่ได้จากการกลั่นด้วยน้ำ

ตารางที่ 5 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยใบยูคาลิปตัสที่ได้จากการกลั่นด้วยน้ำ

ลำดับที่	Retention time	% Peak area	Possible compound
1	8.867	3.67	$\alpha$ -Pinene
2	11.482	7.62	p-Cymene
3	11.639	11.47	Limonene
4	11.802	77.24	1,8-Cineole



ภาพที่ 22 Total Ion Chromatogram (TIC) ของน้ำมันหอมระเหยใบเสม็ดขาวที่ได้จากการกลั่นด้วยน้ำ

ตารางที่ 6 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยใบเสม็ดขาวที่ได้จากการกลั่นด้วยน้ำ

ลำดับที่	Retention time	% Peak area	Possible compound
1	7.322	3.74	$\alpha$ -Thujene
2	7.549	3.06	$\alpha$ -Pinene
3	9.382	2.28	$\alpha$ -Phellandrene
4	9.741	2.71	$\alpha$ -Terpinene
5	9.983	8.58	p-Cymene
6	10.130	1.17	Limonene
7	11.103	14.48	$\gamma$ -Terpinene
8	12.185	16.74	Terpinolene
9	15.698	3.17	Terpinene-4-ol
10	16.214	1.28	$\alpha$ -Terpineol
11	24.672	0.99	$\beta$ -Elemene
12	25.884	7.66	(E)-Caryophyllene
13	26.906	3.56	$\alpha$ -Humulene
14	29.534	1.26	spathulenol
15	29.644	2.38	(-)-Caryophyllene oxide
16	30.022	23.43	Unidentified
17	30.441	0.75	$\delta$ -Cadinenol
18	30.646	0.82	$\alpha$ -Cadineol
19	30.692	1.25	Unidentified
20	34.739	0.96	Unidentified

จากนั้นได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งเชื้อราที่เป็นสาเหตุของการเน่าของผลไม้ โดยทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหย จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ น้ำมันยูคาลิปตัส, น้ำมันเสม็ดขาว และน้ำมันผสมระหว่างน้ำมันยูคาลิปตัส และน้ำมันเสม็ดขาว (อัตราส่วน 50 : 50) ในการยับยั้งเชื้อราโรคพืช 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Aspergillus niger*, *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Lasiodiplodia theobromae* ด้วยวิธี Contact assay พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากยูคาลิปตัส, เสม็ดขาว และน้ำมันผสมของทั้งสองชนิด มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ทำการทดสอบทั้ง 3 สายพันธุ์ ดังแสดงใน ตารางที่ 7 และ ภาพที่ 23 ถึง ภาพที่ 25 โดยพบว่า น้ำมันเสม็ดขาวมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *A. niger* ได้สูงกว่าน้ำมันยูคาลิปตัส โดยมีค่าการยับยั้งเท่ากับ 23.74 % และพบว่าเมื่อทำการผสมน้ำมันทั้งสองชนิดนี้เข้าด้วยกันในอัตราส่วน 1: 1 ส่งผลให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *A. niger* ได้สูงขึ้น โดยมีค่าการยับยั้งเท่ากับ 39.52 % เกิดขึ้นจากการองค์ประกอบทางเคมีที่หลากหลาย และการทำปฏิกิริยาของสารองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยทั้งสองชนิดในน้ำมันผสมที่ส่งผลดีต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรานี้ (Stević et al., 2014) ทั้งนี้ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ

ราที่ขึ้นของน้ำมันผสมไม่ได้มีอิทธิพลมาจากสารองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยเพียงชนิดเดียว แต่สารองค์ประกอบย่อยชนิดต่าง ๆ นั้นจะออกฤทธิ์ร่วมกับสารองค์ประกอบหลักส่งผลให้สารผสมมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อได้ดีขึ้น (Sahaf and Moharramiour, 2008)

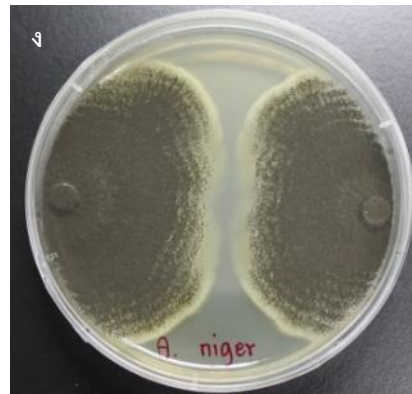
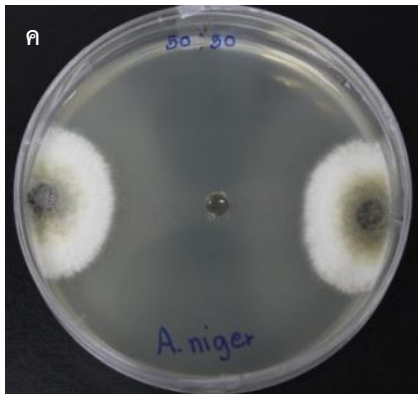
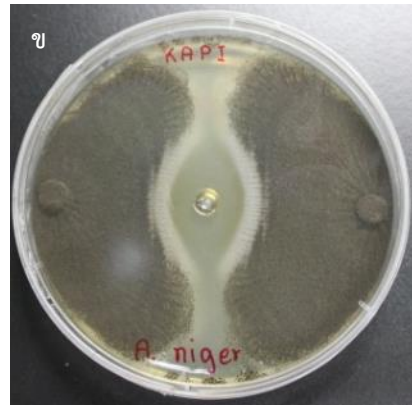
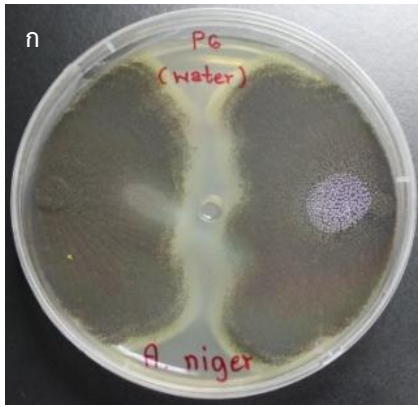
ในขณะที่น้ำมันยูคาลิปตัสมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *C.gloeosporioides* ได้สูงกว่าน้ำมันเสม็ดขาว โดยมีค่าการยับยั้งเท่ากับ 54.37 % แต่อย่างไรก็ตาม พบว่าเมื่อผสมน้ำมันทั้งสองชนิดนี้เข้าด้วยกันส่งผลให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งต่ำกว่าน้ำมันยูคาลิปตัส เพียงชนิดเดียว โดยมีค่าการยับยั้งเท่ากับ 25.00% ทั้งนี้เกิดขึ้นเนื่องจาก เชื้อรา *C.gloeosporioides* ถูกยับยั้งโดยน้ำมันยูคาลิปตัสได้ดีกว่าน้ำมันเสม็ดขาว โดยมีรายงานว่า สาร 1,8-ceneol ซึ่งเป็นสารองค์ประกอบหลักในน้ำมันยูคาลิปตัสมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อ *C.gloeosporioides* (Hong et al., 2015) ส่งผลให้ น้ำมันผสมระหว่างน้ำมันยูคาลิปตัส และน้ำมันเสม็ดขาว (อัตราส่วน 50 : 50) มีปริมาณสาร 1,8-ceneol ในอัตราส่วนที่น้อยลง จึงยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C.gloeosporioides* ได้น้อยกว่าการใช้ น้ำมันยูคาลิปตัสเพียงชนิดเดียว สำหรับการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา *L. theobromae* พบว่า น้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัสมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราชนิดนี้ได้สูงกว่าน้ำมันเสม็ดขาว โดยมีค่าการยับยั้งเท่ากับ 57.55% และเมื่อทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันผสม พบว่า ผลการทดลองที่ได้มีแนวโน้มไปในทางเดียวกันกับ เชื้อ *C. gloeosporioides* คือ การผสมน้ำมันทั้งสองชนิดเข้าด้วยกันส่งผลให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งต่ำกว่าน้ำมันยูคาลิปตัส เพียงชนิดเดียว โดยมีค่าการยับยั้งเท่ากับ 26.60% แต่อย่างไรก็ตาม น้ำมันผสมระหว่างยูคาลิปตัสและเสม็ดขาวมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราโรคพืชทั้ง 3 ชนิดได้ดี และดีมากสำหรับเชื้อ *A. niger* ซึ่งเป็นเชื้อราโรคพืชที่ก่อให้เกิดความเสียหายกับผลิตผลทางการเกษตรในวงกว้าง ทางโครงการจึงนำน้ำมันสูตรผสมนี้ไปทำการศึกษาการเสริมประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรากับน้ำมันหอมระเหยชนิดอื่นต่อไป

**ตารางที่ 7** ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัส, เสม็ดขาว และน้ำมันผสมระหว่างน้ำมันยูคาลิปตัสและเสม็ดขาว ในการยับยั้งเชื้อราโรคพืช เมื่อทดสอบด้วยวิธี Contact assay

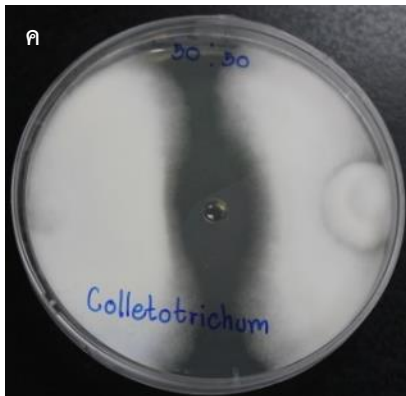
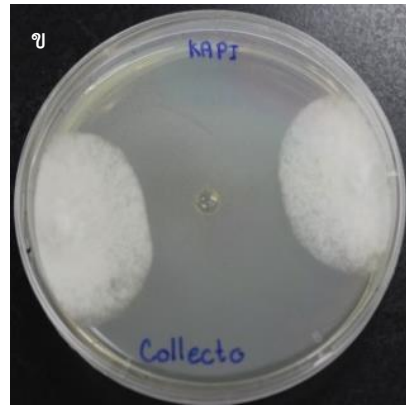
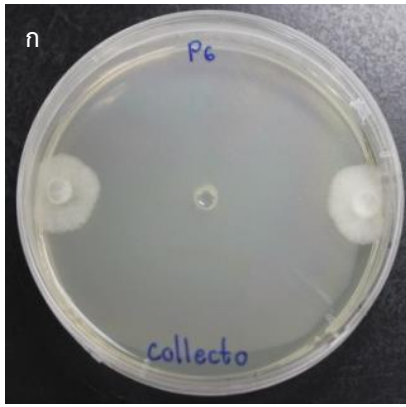
น้ำมันหอมระเหย	Antifungal Index <sup>1</sup> (%)		
	A	C	L
ยูคาลิปตัส	7.07 <sup>c</sup>	54.37 <sup>a</sup>	57.55 <sup>a</sup>
เสม็ดขาว	23.74 <sup>b</sup>	21.00 <sup>c</sup>	5.15 <sup>c</sup>
ยูคาลิปตัส : เสม็ดขาว	39.52 <sup>a</sup>	25.00 <sup>b</sup>	26.60 <sup>b</sup>

หมายเหตุ <sup>1</sup> ค่าเฉลี่ยดัชนีการต้านเชื้อรา (n=3)

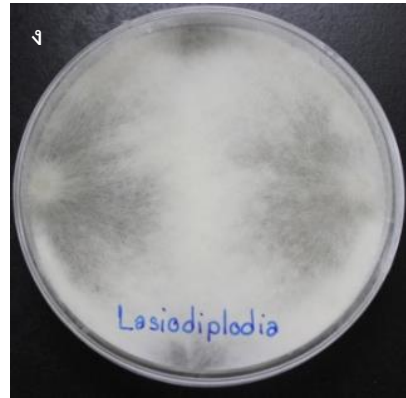
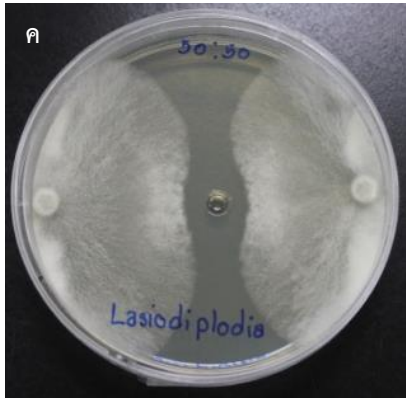
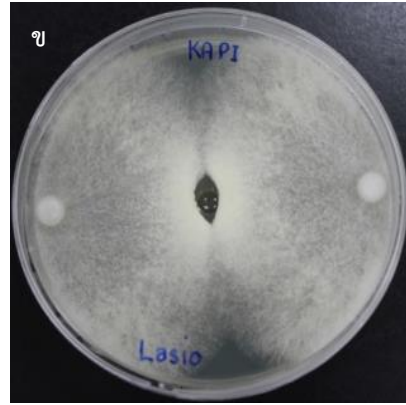
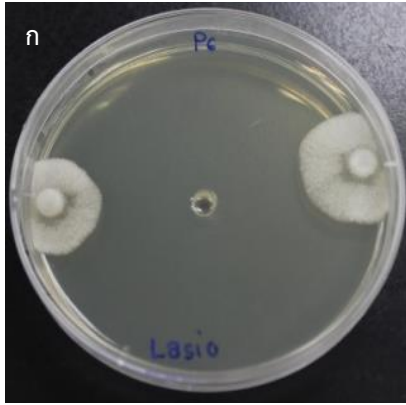
a,b,c,...,i ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์แสดงถึงสิ่งทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)  
A = *Aspergillus niger*, C = *Colletotrichum gloeosporioides* และ L = *Lasiodiplodia theobromae*



ภาพที่ 23 ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัส (ก), เสม็ดขาว (ข) และน้ำมันผสมระหว่างน้ำมันยูคาลิปตัส และเสม็ดขาว (ค) และชุดควบคุม (ง) ในการยับยั้งเชื้อรา *A. niger* ที่เจริญบนอาหาร PDA เมื่อทดสอบด้วยวิธี Contact assay โดยบ่มที่อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 2$  องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7 วัน



ภาพที่ 24 ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัส (ก), เสม็ดขาว (ข) และน้ำมันผสมระหว่างน้ำมันยูคาลิปตัส และเสม็ดขาว (ค) และชุดควบคุม (ง) ในการยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่เจริญบนอาหาร PDA เมื่อทดสอบด้วยวิธี Contact assay โดยบ่มที่อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 2$  องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7 วัน



ภาพที่ 25 ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัส (ก), เสม็ดขาว (ข) และน้ำมันผสมระหว่างน้ำมันยูคาลิปตัส และเสม็ดขาว (ค) และชุดควบคุม (ง) ในการยับยั้งเชื้อรา *L. theobromae* ที่เจริญบนอาหาร PDA เมื่อทดสอบด้วยวิธี Contact assay โดยบ่มที่อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 2$  องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7 วัน

### 3.2 การคัดเลือกน้ำมันหอมระเหยที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราโรคพืช เพื่อใช้เป็นส่วนผสมในสูตรควบคุมการเสื่อมเสียของผลไม้

ในการคัดเลือกน้ำมันหอมระเหยเพื่อใช้เป็นส่วนผสมร่วมกับน้ำมันยูคาลิปตัส และน้ำมันเสม็ดขาว ทั้งนี้เพื่อเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของน้ำยาควบคุมการเน่าเสียของผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว ได้ใช้สมุนไพรไทยที่มีการรายงานถึงประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุการเสื่อมเสียของผลไม้หลังการเก็บเกี่ยวได้ดีจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ โหระพา, ชิง, พริกไทย และอบเชย โดยนำมากลั่นน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีต้ม (Water Distillation) พบว่า น้ำมันหอมระเหยที่ได้มีลักษณะสีเหลืองใส และการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดพริกไทยให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตของน้ำมันหอมระเหยสูงที่สุด คือ 1.91 % รองลงมาได้แก่ อบเชย โหระพา และชิง โดยมีเปอร์เซ็นต์ผลผลิตของน้ำมันหอมระเหยเท่ากับ 1.47, 0.26 และ 0.25 % ตามลำดับ

**ตารางที่ 8** เปอร์เซ็นต์ผลผลิต และประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืช เมื่อทดสอบด้วยวิธี Contact assay

น้ำมันหอมระเหย	เปอร์เซ็นต์ผลผลิต	Antifungal Index <sup>1</sup> (%)		
		A	C	L
โหระพา	0.26 <sup>c</sup>	28.45 <sup>b</sup>	19.53 <sup>c</sup>	0.00 <sup>c</sup>
ชิง	0.25 <sup>c</sup>	18.43 <sup>c</sup>	11.45 <sup>d</sup>	0.00 <sup>c</sup>
พริกไทย	1.91 <sup>a</sup>	1.49 <sup>d</sup>	23.94 <sup>b</sup>	23.13 <sup>b</sup>
อบเชย	1.47 <sup>b</sup>	54.31 <sup>a</sup>	41.50 <sup>a</sup>	29.82 <sup>a</sup>

หมายเหตุ <sup>1</sup> ค่าเฉลี่ยดัชนีการต้านเชื้อรา (n=3)

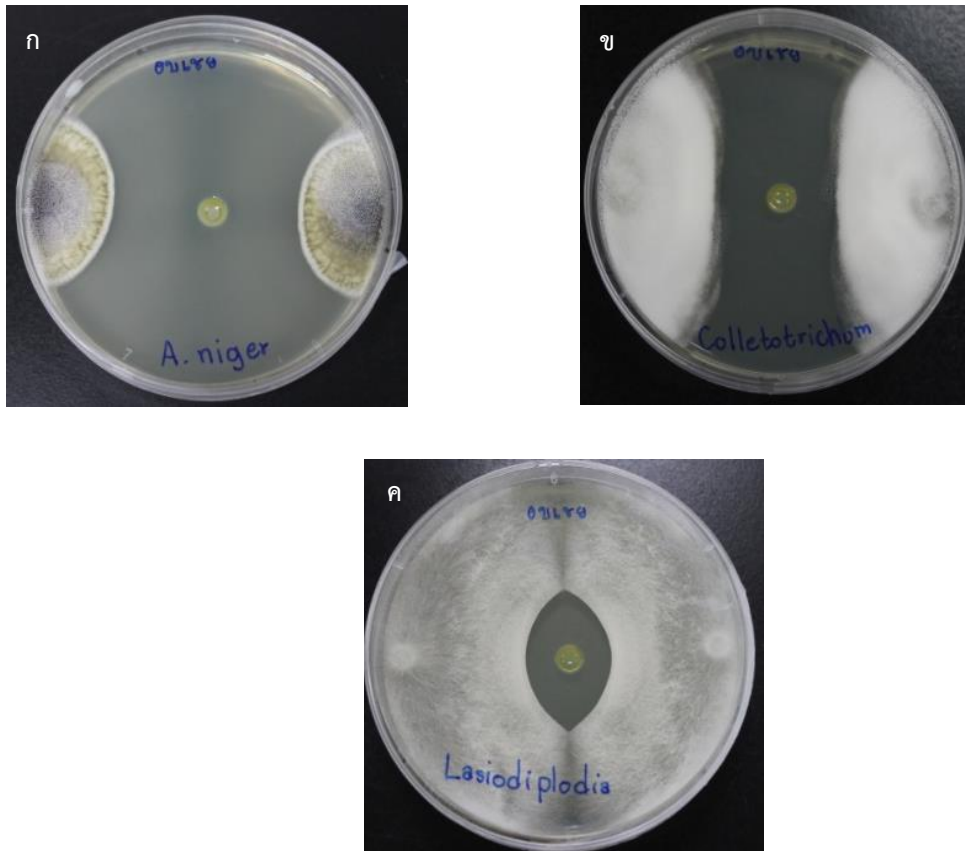
a,b,c,.....,i ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์แสดงถึงสิ่งทดลองมีความแตกต่างกันทาง สถิติอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05) โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

A = *Aspergillus niger*, C = *Colletotrichum gloeosporioides* และ L = *Lasiodiplodia*

*theobromae* ที่เจริญบนอาหาร PDA เมื่อทดสอบด้วยวิธี Contact assay โดยบ่มที่อุณหภูมิห้อง (30±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7 วัน

น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากสมุนไพรไทยทั้ง 4 ชนิด ถูกนำไปทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุการเสื่อมเสียของผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว ทั้ง 3 สายพันธุ์ ด้วยวิธี Contact assay พบว่า น้ำมันหอมระเหยทั้ง 4 ชนิด มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราที่ทำการทดสอบทุกสายพันธุ์ โดยมีความแตกต่างกันแต่ละชนิดของน้ำมันหอมระเหย ดังแสดงในตารางที่ 8 และภาพที่ 26 และพบว่า น้ำมันหอมระเหยจากอบเชยมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราที่ทำการทดสอบทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้สูงที่สุด โดยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. niger* ได้สูงที่สุด โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ

54.31 % รองลงมาได้แก่ เชื้อ *C. gloeosporioides*, และ *L. theobromae* โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 41.50 และ 29.82 % ตามลำดับ



ภาพที่ 26 ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยอบเชยในการยับยั้งเชื้อรา *A. Niger* (ก), *C. gloeosporioides* (ข) และ *L. theobromae* (ค) ที่เจริญบนอาหาร PDA เมื่อทดสอบด้วยวิธี Contact assay โดยบ่มที่อุณหภูมิห้อง ( $30\pm 2$  องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7 วัน

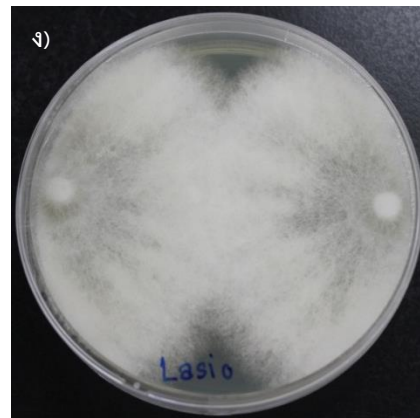
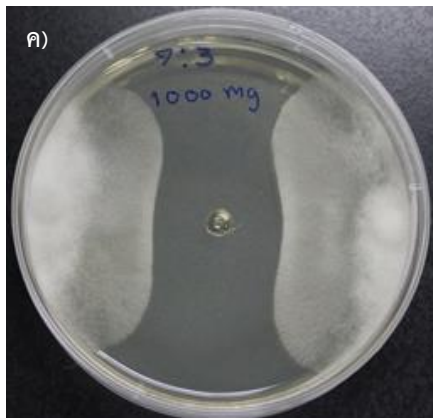
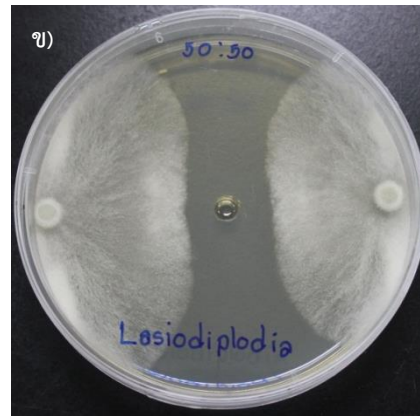
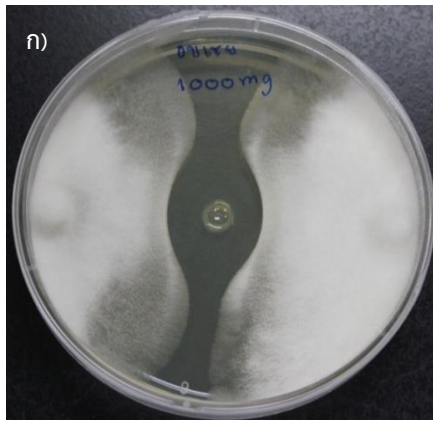
### 3.3 การศึกษาการเสริมฤทธิ์ร่วมกันในการของยับยั้งเชื้อราสาเหตุการเสื่อมเสียของผลไม้

จากการศึกษาการเสริมฤทธิ์ร่วมกันของน้ำมันหอมระเหยจากใบเสมีดขาวและใบยูคาลิปตัสที่ผสมกันในอัตราส่วน 1:1 และนำไปผสมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยในอัตราส่วนที่ต่างกัน 11 ระดับความเข้มข้น เพื่อยับยั้งเชื้อราสาเหตุการเน่าเสียของผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ เชื้อรา *Aspergillus niger*, *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Lasiodiplodia theobromae* ซึ่งจากการทดสอบ ด้วยวิธี contact assay เพื่อการพัฒนาอุปกรณ์อายุการเก็บผลไม้ต่อไป พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากใบเสมีดขาวและใบยูคาลิปตัสที่ผสมกันในอัตราส่วน 1:1 และนำไปผสมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยในอัตราส่วนที่ต่างกันส่งผลให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราที่ทำการทดสอบได้แตกต่างกัน และในน้ำมันสูตรผสมที่มีอัตราส่วนของน้ำมันอบเชยเพิ่มขึ้นพบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตามพบว่า ส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยใบเสมีดขาวและใบยูคาลิปตัสร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยในอัตราส่วน 3 : 7 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้สูงสุด ดังแสดงในตารางที่ 9 และ ภาพที่ 21

ตารางที่ 9 ประสิทธิภาพการต้านเชื้อราของน้ำมันอบเชย น้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสมีด และสูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและน้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสมีดที่อัตราส่วนต่างๆด้วยวิธี contact assay

อัตราส่วน		Antifungal index (%)*		
น้ำมันอบเชย	น้ำมันยูคาลิปตัส	<i>A. niger</i>	<i>C. gloeosporioides</i>	<i>L. theobromae</i>
	ผสมน้ำมันเสมีด			
10	0	16.99	46.29	34.27
9	1	17.96	46.19	33.65
8	2	17.48	40.48	31.73
7	3	18.45	47.62	39.50
6	4	16.50	40.48	29.81
5	5	15.05	40.48	28.49
4	6	15.05	39.05	33.17
3	7	13.11	41.43	36.54
2	8	12.62	42.38	37.02
1	9	13.59	42.86	36.54
0	10	12.62	43.67	27.88

\*ค่าเฉลี่ยจากการทดสอบ 3 ซ้ำ



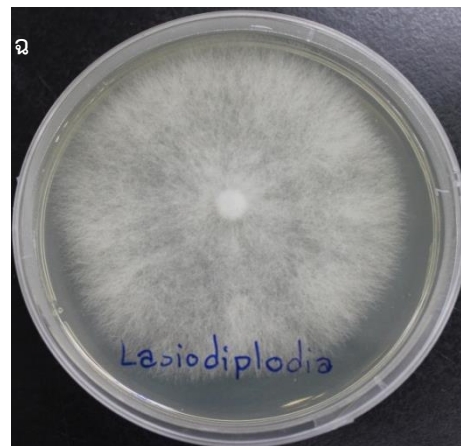
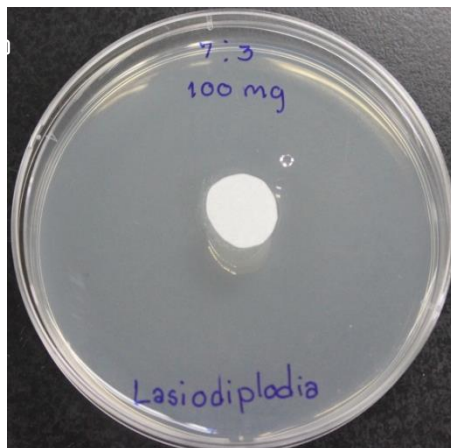
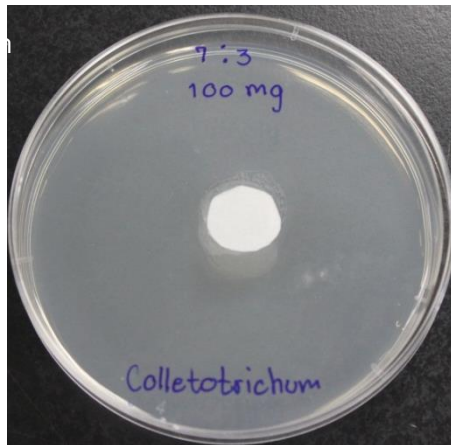
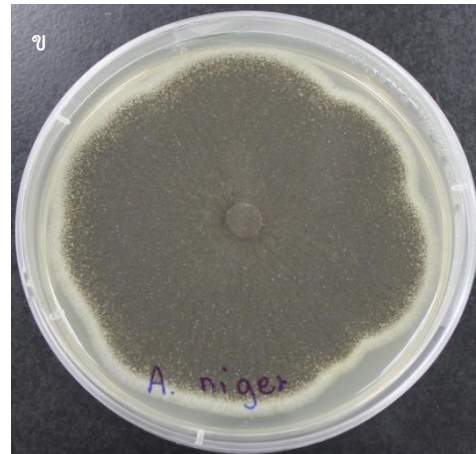
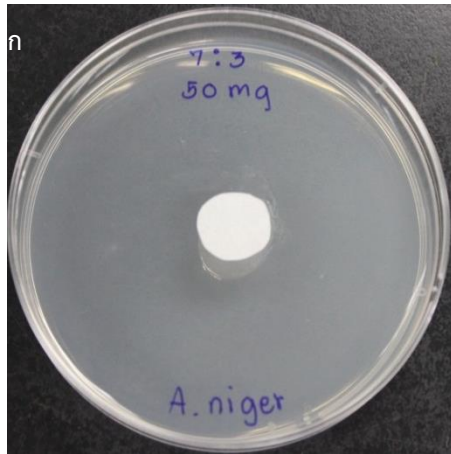
ภาพที่ 27 ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยอบเชย (ก) น้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเมล็ด (ข) และน้ำมันหอมระเหยสูตรผสม ระหว่างน้ำมันอบเชยและน้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเมล็ดที่อัตราส่วน 7: 3 (ค) ในการต้านเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* ที่เจริญบนอาหาร PDA เมื่อทดสอบด้วยวิธี Contact assay โดยบ่มที่อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 2$  องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อชุดควบคุม (ง)

จากการทดสอบหาอัตราส่วนที่เหมาะสมของน้ำมันหอมระเหยระหว่างน้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเมล็ด และอบเชยเพื่อนำไปใช้ในการพัฒนาถุงกระดาษยืดอายุการเก็บผลไม้ต่อไป พบว่า ส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยใบเสม็ดขาวและใบยูคาลิปตัสร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยในอัตราส่วน 3 : 7 เป็นอัตราส่วนที่จะถูกนำไปใช้ในการศึกษาต่อไป

จากการหาอัตราส่วนที่เหมาะสมของน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเมล็ด และอบเชยเพื่อนำไปใช้ในการพัฒนาแผ่นป้องกันเชื้อราเพื่อยืดอายุการเก็บผลไม้ โดยทำการทดสอบด้วยวิธี Volatile assay พบว่า อัตราส่วนผสมระหว่างน้ำมันอบเชย น้ำมันยูคาลิปตัส ผสมน้ำมันเมล็ด 10:0, 9:1, 8:2 และ 7:3 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้สูงที่สุด และมีประสิทธิภาพในระดับเดียวกัน โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อรา เท่ากับ *A. niger*, *C. gloeosporioides* และ *L. theobromae* เท่ากับ 50,100 และ 100 mg/mL ดังแสดงในตารางที่ 10 และภาพที่ 28

**ตารางที่ 10** ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันอบเชย น้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเมล็ด และสูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและน้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเมล็ดในการต้านเชื้อราก่อโรคพืช

อัตราส่วน		Minimum Inhibitory Concentration (MIC (mg/mL))		
น้ำมันอบเชย	น้ำมันยูคาลิปตัส ผสม น้ำมันเมล็ด	<i>A. niger</i>	<i>C. gloeosporioides</i>	<i>L. theobromae</i>
10	0	50	100	100
9	1	50	100	100
8	2	50	100	100
7	3	50	100	100
6	4	100	200	200
5	5	200	200	200
4	6	400	200	200
3	7	800	200	400
2	8	1000	400	400
1	9	1000	800	400
0	10	1000	1000	1000



ภาพที่ 28 ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยสูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชย และน้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมัน เสม์ดอัตราส่วน 7: 3 ในการต้านเชื้อ *A. niger* (ก) *C. gloeosporiodes* (ค) และ *L. theobromae* (จ) ด้วย วิธี volatile assay เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อชุดควบคุม *A. niger* (ข) *C. gloeosporiodes* (ง) และ *L. theobromae* (ฉ)

จากการศึกษาการเสริมฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยสูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชย และน้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ดในการต้านเชื้อรา โดยใช้ดัชนีชี้วัดที่เรียกว่า Fractional Inhibitory Concentration Index (FIC<sub>Index</sub>) ซึ่งได้จากการนำค่า MICs มาทำการคำนวณและแปลผลโดย เมื่อค่า FIC<sub>Index</sub> มีค่าน้อยกว่า 1 หมายถึงเสริมฤทธิ์กัน มีค่าเท่ากับ 1 หมายถึง มีฤทธิ์ไม่แตกต่างจากการใช้สารเพียงชนิดเดียว และมีค่ามากกว่า 1 หมายถึง มีฤทธิ์ต้านกัน ควบคู่กับการใช้กราฟ isobolograms สามารถนำมาใช้อธิบายประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ร่วมกันของสารได้ โดยการออกฤทธิ์ของสารอยู่ในบริเวณอยู่ใต้เส้นแนวโน้ม หมายถึง สารมีประสิทธิภาพเสริมฤทธิ์กัน อยู่เสมอเส้นแนวโน้ม หมายถึง มีฤทธิ์ไม่แตกต่างจากการใช้สารเพียงชนิดเดียว และการออกฤทธิ์ของสารอยู่ในบริเวณอยู่เหนือเส้นแนวโน้มมีค่ามากกว่า 1 หมายถึง สารมีฤทธิ์ต้านกัน ค่า FIC<sub>Index</sub> และภาพ isobolograms ของสารสกัดจากน้ำมันหอมระเหยอบเชย และน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ด และสูตรผสมระหว่างน้ำมันหอมระเหยอบเชย และน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ด ในอัตราส่วนต่างๆ ในการต้านเชื้อราสาเหตุการเสื่อมเสียของมะม่วงหลังการเก็บเกี่ยวทั้ง 3 สายพันธุ์ ดังแสดงในตารางที่ 11 และ ภาพที่ 29

**ตารางที่ 11** ค่า FIC<sub>index</sub> ของน้ำมันอบเชย น้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ด และสูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและน้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ดชาวที่อัตราส่วนต่างๆ

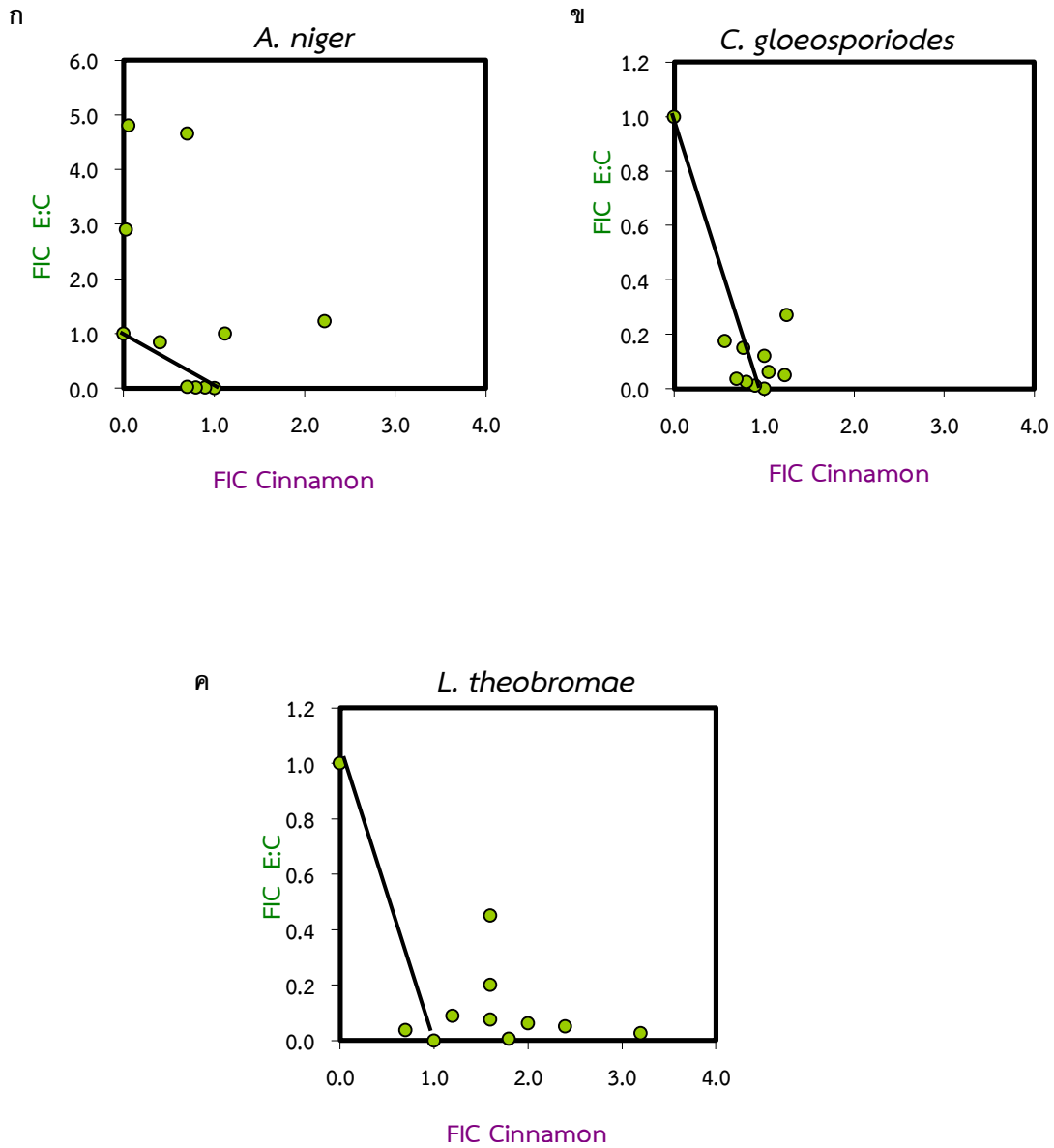
อัตราส่วน		ค่า Fraction Inhibitory Concentration Index (FIC <sub>index</sub> )		
น้ำมันอบเชย	น้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ด	<i>A. niger</i>	<i>C. gloeosporioides</i>	<i>L. theobromae</i>
10	0	1.00	1.00	1.00
9	1	0.91	0.91	1.81
8	2	0.81	0.82	3.23
7	3	0.72	0.73	0.74
6	4	1.24	1.28	2.45
5	5	2.10	1.10	2.06
4	6	3.44	0.92	1.68
3	7	5.36	0.74	1.29
2	8	4.80	1.12	1.80
1	9	2.90	1.52	2.05
0	10	1.00	1.00	1.00

หมายเหตุ <sup>1</sup>ค่า FIC<sub>Index</sub> ค่าน้อยกว่า 1 หมายถึง เสริมฤทธิ์กัน ค่าเท่ากับ 1 หมายถึง มีฤทธิ์ไม่แตกต่างจากการใช้น้ำมัน หรือสารสกัดชนิดเดียว และค่ามากกว่า 1 หมายถึง มีฤทธิ์ต้านกัน

จากการศึกษาพบว่า ค่า  $FIC_{Index}$  ของน้ำมันอบเชย น้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ด และสูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและน้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ดอัตราส่วนต่างๆ ในการต้านเชื้อราทั้ง 3 สายพันธุ์ มีค่าระหว่าง 0.72 – 5.36 สูตรผสมของน้ำมันอบเชย น้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ดมีการเสริมฤทธิ์กัน และมีฤทธิ์ต้านกัน แตกต่างกันตามแต่ละชนิดของเชื้อรา และอัตราส่วนผสม โดยพบว่า สูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชย น้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ด ในอัตราส่วน 9 : 1, 8 : 2 และ 7 : 3 มีการเสริมฤทธิ์กันในการต้านเชื้อรา *A.niger* และ *C. gloeosporioides* ขณะที่สูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชย น้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ด ในอัตราส่วน 7 : 3 มีการเสริมฤทธิ์กันในการต้านเชื้อรา *L. Theobromae* เมื่อพิจารณาผลการทดลองที่ได้พบว่า ส่วนผสมระหว่างน้ำมันอบเชย น้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ด ในอัตราส่วน 7 : 3 มีค่า  $FIC_{Index}$  ต่ำกว่า 1 ในทุกเชื้อราที่ทำการทดสอบ

เมื่อพิจารณาจากกราฟ isobolograms ของน้ำมันอบเชย น้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ด และสูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและน้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ดที่อัตราส่วนต่างๆ ในการต้านเชื้อราก่อโรคทั้ง 3 สายพันธุ์ ดังภาพที่ 29 จะพบว่าประสิทธิภาพของน้ำมันอบเชย น้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ด ในอัตราส่วน 7 : 3 จะอยู่ในบริเวณใต้เส้นแนวโน้มกราฟ isobolograms ซึ่งเป็นบริเวณที่สารมีการออกฤทธิ์แบบเสริม ฤทธิ์กัน ในการต้านการเจริญของเชื้อราระหว่างน้ำมันอบเชย น้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ด ผลที่ได้จากการทดสอบสอดคล้องกับรายงานของ Arivudainamb และคณะ (2011) ซึ่งพบว่าประสิทธิภาพในการเสริมฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์จะขึ้นกับปริมาณ สัดส่วนของสารที่นำมาใช้ผสมทั้งสองชนิด นอกจากนี้การใช้สารร่วมกันในสัดส่วนที่พอเหมาะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของเชื้อโดยใช้สารผสมในปริมาณที่น้อยลง รวมทั้งลดปริมาณการใช้สารชนิดใดชนิดหนึ่งลงได้

จากการทดสอบ พบว่า การเสริมฤทธิ์กันในการต้านเชื้อราก่อโรคลงการเก็บเกี่ยวของมะม่วง จะเกิดขึ้นเมื่อเพิ่มอัตราส่วนของน้ำมันอบเชย พบว่า การใช้ส่วนผสมระหว่างสูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและน้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ดมีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อราได้ดีกว่าการใช้ น้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ด เพียงอย่างเดียว โดยสูตรผสมที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการต้านการเจริญของเชื้อรา คือ 7 : 3 โดยค่าความเข้มข้นต่ำสุดของการต้านการเจริญของเชื้อราทั้ง 3 ชนิด ได้คือ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพที่ 29 isobologram ของน้ำมันสูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและน้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ดในการต้านการเจริญของเชื้อรา *A. niger* (ก) , *C. gloeosporioides* (ข) และ *L. theobromae* (ค)

### 3.4 การศึกษาการพัฒนากระดาษเคลือบน้ำมันหอมระเหยด้านเชื้อราเพื่อบรรจุภัณฑ์แอคทีฟ

ในขั้นแรกเราทำการศึกษาเบื้องต้นเพื่อหาสูตรและวิธีการที่เหมาะสมในการเคลือบกระดาษด้วย paraffin wax และ bee wax ซึ่งทดลองโดยการเคลือบกระดาษห่อวัสดุด้วย paraffin wax กับ beeswax ด้วยวิธีการเคลือบกระดาษที่ต่างกัน 2 วิธี คือ วิธีการเคลือบด้วย coating rod และ เคลือบด้วยเครื่องเคลือบกระดาษอัตโนมัติ จากนั้นวัดค่าคุณสมบัติทางกายภาพของกระดาษห่อวัสดุก่อนและหลังเคลือบตามแนว machine direction ของกระดาษ (MD) และตามแนว cross direction ของกระดาษ (CD) พบว่าคุณสมบัติความแข็งแรงของกระดาษห่อวัสดุด้าน ดัชนีความต้านทานแรงดึง และความต้านทานการหักพับ ตามแนว MD ของกระดาษให้ค่าคุณสมบัติดังกล่าวสูงกว่าค่าตามแนว CD ของกระดาษ (ตารางที่ 12 และ ตารางที่ 13) ซึ่งค่าที่ได้มีความแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัดเจนนั่นคือ กระดาษห่อวัสดุตามแนว MD จะมีความต้านทานแรงดึงและต้านทานแรงหักพับมากกว่ากระดาษห่อวัสดุตามแนว CD และเมื่อพิจารณาคุณสมบัติทางกายภาพของกระดาษห่อวัสดุตามแนว MD โดยเปรียบเทียบระหว่างกระดาษเคลือบกับกระดาษที่ไม่เคลือบ (ตารางที่ 12) พบว่า ค่าดัชนีความต้านทานแรงดันทะลุ ค่าดัชนีความต้านทานแรงฉีกขาด และ ค่าความต้านทานแรงหักพับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนค่าที่มีความแตกต่างกัน คือ น้ำหนักมาตรฐาน ค่าความหนา และค่าดัชนีความต้านทานแรงดึง พบว่ากระดาษห่อวัสดุที่ผ่านการเคลือบผิวค่าดัชนีความต้านทานแรงดึงจะลดลง นอกจากนี้ จากค่าคุณสมบัติกระดาษห่อวัสดุในตารางที่ 12 พบว่า กระดาษห่อวัสดุที่เคลือบด้วยสารเคลือบที่ต่างกันและวิธีการเคลือบที่ต่างกันไม่มีผลต่อคุณสมบัติของกระดาษห่อวัสดุตามแนว MD

จากการศึกษาผลของสารเคลือบและวิธีการเคลือบที่ต่างกันต่อคุณสมบัติของกระดาษห่อวัสดุตามแนว cross direction (CD) พบว่าค่าคุณสมบัติกระดาษห่อวัสดุที่เคลือบด้วยสารเคลือบและวิธีการเคลือบที่ต่างกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกัน แต่จะแตกต่างจากกระดาษห่อวัสดุที่ไม่เคลือบ คือ น้ำหนักมาตรฐาน ความหนา และค่าดัชนีความต้านทานแรงดึง ซึ่งกระดาษห่อวัสดุที่เคลือบสารจะมีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น ความหนาที่เพิ่มขึ้น แต่ความต้านทานแรงดึงจะลดลง เช่นเดียวกับกรณีของสมบัติตามแนว MD

ตารางที่ 12 เปรียบเทียบคุณสมบัติของกระดาษห่อวัสดุตามแนว machine direction (MD) ที่เคลือบด้วยสารเคลือบและวิธีการเคลือบที่ต่างกัน

Treatment	Properties					
	Basic Weigh, (g/m <sup>2</sup> )	Thickness, (mm)	Tensile index, (Nm./g.)	Burst index, (kPa.m <sup>2</sup> /g)	Tearing index, (mN.m <sup>2</sup> /g.)	Folding resistance, (times)
control	113.83 <sup>b</sup>	0.174 <sup>b</sup>	64.52 <sup>a</sup>	2.48 <sup>a</sup>	8.67 <sup>a</sup>	124.7 <sup>a</sup>
P+CR	126.43 <sup>a</sup>	0.187 <sup>a</sup>	60.86 <sup>ab</sup>	2.59 <sup>a</sup>	8.63 <sup>a</sup>	148.0 <sup>a</sup>
P+RT <sup>1</sup>	124.90 <sup>a</sup>	0.187 <sup>a</sup>	56.18 <sup>c</sup>	2.47 <sup>a</sup>	8.72 <sup>a</sup>	139.0 <sup>a</sup>
P+HT <sup>1</sup>	125.63 <sup>a</sup>	0.185 <sup>a</sup>	59.31 <sup>bc</sup>	2.41 <sup>a</sup>	8.73 <sup>a</sup>	112.7 <sup>a</sup>
B+CR	126.40 <sup>a</sup>	0.189 <sup>a</sup>	58.79 <sup>bc</sup>	2.22 <sup>a</sup>	8.23 <sup>a</sup>	113.0 <sup>a</sup>
B+RT <sup>1</sup>	125.97 <sup>a</sup>	0.188 <sup>a</sup>	57.24 <sup>bc</sup>	2.42 <sup>a</sup>	8.68 <sup>a</sup>	99.3 <sup>a</sup>
B+HT <sup>1</sup>	124.23 <sup>a</sup>	0.183 <sup>ab</sup>	59.11 <sup>bc</sup>	2.42 <sup>a</sup>	8.59 <sup>a</sup>	120.3 <sup>a</sup>
R <sup>2</sup>	0.685	0.535	0.626	0.251	0.161	0.239

In a columns; means followed by the same letters are not differeng (p<0.05)

Note: <sup>1/</sup> เคลือบด้วย Automatic Applicator Type Coater KRK 2228

Paraffin (P), Beeswax (B), Coating rods (CR), Room temperature (RT), Heat temperature (HT)

ตารางที่ 13 เปรียบเทียบคุณสมบัติของกระดาษห่อวัสดุตามแนว cross direction (CD) ที่เคลือบด้วยสารเคลือบและวิธีการเคลือบที่ต่างกัน

Treatment	Properties					
	Basic Weigh, (g/m <sup>2</sup> )	Thickness, (mm)	Tensile index, (Nm./g.)	Burst index, (kPa.m <sup>2</sup> /g)	Tearing index, (mN.m <sup>2</sup> /g.)	Folding resistance, (times)
control	113.07 <sup>b</sup>	0.174 <sup>b</sup>	26.02 <sup>a</sup>	2.49 <sup>a</sup>	8.55 <sup>a</sup>	27.7 <sup>a</sup>
P+CR	125.87 <sup>a</sup>	0.189 <sup>a</sup>	22.08 <sup>b</sup>	2.35 <sup>a</sup>	7.86 <sup>a</sup>	23.3 <sup>a</sup>
P+RT <sup>1</sup>	126.03 <sup>a</sup>	0.187 <sup>a</sup>	22.68 <sup>b</sup>	2.33 <sup>a</sup>	8.19 <sup>a</sup>	31.3 <sup>a</sup>
P+HT <sup>1</sup>	125.63 <sup>a</sup>	0.186 <sup>a</sup>	21.17 <sup>b</sup>	2.34 <sup>a</sup>	7.67 <sup>a</sup>	22.7 <sup>a</sup>
B+CR	125.13 <sup>a</sup>	0.187 <sup>a</sup>	21.78 <sup>b</sup>	2.21 <sup>a</sup>	7.71 <sup>a</sup>	30 <sup>a</sup>
B+RT <sup>1</sup>	127.23 <sup>a</sup>	0.191 <sup>a</sup>	21.58 <sup>b</sup>	2.29 <sup>a</sup>	8.24 <sup>a</sup>	22.7 <sup>a</sup>
B+HT <sup>1</sup>	123.57 <sup>a</sup>	0.188 <sup>a</sup>	22.36 <sup>b</sup>	2.28 <sup>a</sup>	8.29 <sup>a</sup>	32.3 <sup>a</sup>
R <sup>2</sup>	0.847	0.851	0.585	0.301	0.327	0.437

In a columns; means followed by the same letters are not differeng (p<0.05)

Note: <sup>1/</sup> เคลือบด้วย Automatic Applicator Type Coater KRK 2228

Paraffin (P), Beeswax (B), Coating rods (CR), Room temperature (RT), Heat temperature (HT)

เพื่อพิสูจน์ผลทดลองว่าสารเคลือบต่างกันไม่มีผลต่อคุณสมบัติของกระดาษห่อวัสดุตามแนว MD จึงเปรียบเทียบคุณสมบัติกระดาษห่อวัสดุโดยพิจารณาจากสารเคลือบเพียงอย่างเดียวเป็นหลักกับกระดาษห่อวัสดุที่ไม่ได้เคลือบ พบว่า สารเคลือบทั้ง 2 ชนิดให้ค่าคุณสมบัติกระดาษที่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนกระดาษห่อวัสดุที่เคลือบและกระดาษห่อวัสดุที่ไม่เคลือบก็มีค่าสมบัติของกระดาษด้านดัชนีความต้านทานแรงดันทะลุ ดัชนีความต้านทานแรงฉีกขาด และความต้านทานแรงหักพับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 14) ซึ่งสอดคล้องกับค่าสมบัติกระดาษห่อวัสดุจากที่แสดงไว้ในตารางที่ 12 นอกจากนี้ น้ำหนักมาตรฐาน ค่าความหนา และค่าดัชนีความต้านทานแรงดึงก็ยังสอดคล้องกับตารางที่ 12 คือ น้ำหนักกระดาษห่อวัสดุเพิ่มขึ้น ความหนาของกระดาษห่อวัสดุเพิ่มขึ้น และค่าดัชนีความต้านทานแรงดึงลดลง เมื่อกระดาษห่อวัสดุถูกเคลือบผิวด้วย paraffin wax และ bees wax และให้ค่าคุณสมบัติของกระดาษระหว่างการเคลือบด้วย paraffin wax กับการเคลือบด้วย bees wax ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอีกด้วย

ตารางที่ 14 เปรียบเทียบคุณสมบัติของกระดาษห่อวัสดุตามแนว machine direction (MD) ที่เคลือบด้วยสารเคลือบต่างกันเป็นปัจจัยหลักอย่างเดียว

Additives	Properties					
	Basic Weigh, (g/m <sup>2</sup> )	Thickness, (mm)	Tensile index, (Nm./g.)	Burst index, (kPa.m <sup>2</sup> /g)	Tearing index, (mN.m <sup>2</sup> /g.)	Folding resistance, (times)
control	113.83 <sup>b</sup>	0.175 <sup>b</sup>	64.52 <sup>a</sup>	2.48 <sup>a</sup>	8.67 <sup>a</sup>	124.67 <sup>a</sup>
Paraffin wax	125.53 <sup>a</sup>	0.187 <sup>a</sup>	58.78 <sup>b</sup>	2.49 <sup>a</sup>	8.7 <sup>a</sup>	133.22 <sup>a</sup>
Bees wax	125.66 <sup>a</sup>	0.187 <sup>a</sup>	58.38 <sup>b</sup>	2.35 <sup>a</sup>	8.5 <sup>a</sup>	110.89 <sup>a</sup>
R <sup>2</sup>	0.664	0.449	0.435	0.103	0.054	0.109

In a columns; means followed by the same letters are not differeng (p<0.05)

และเพื่อพิสูจน์ว่าวิธีการเคลือบที่ต่างกันไม่มีผลต่อคุณสมบัติของกระดาษตามแนว MD จึงเปรียบเทียบคุณสมบัติกระดาษห่อวัสดุโดยพิจารณาจากวิธีการเคลือบเพียงอย่างเดียวเป็นหลักกับกระดาษห่อวัสดุที่ไม่เคลือบสารเคลือบ วิธีการเคลือบได้แก่ เคลือบด้วย coating rod และ เคลือบด้วยเครื่องเคลือบอัตโนมัติที่อุณหภูมิห้อง และเคลือบด้วยเครื่องเคลือบอัตโนมัติที่อุณหภูมิ 60 °C พบว่าค่าคุณสมบัติกระดาษห่อวัสดุไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติดังแสดงในตารางที่ 15

ตารางที่ 15 เปรียบเทียบคุณสมบัติของกระดาษห่อวัสดุตามแนว machine direction (MD) จากวิธีการเคลือบที่ต่างกันเป็นปัจจัยหลักอย่างเดียว

Coat Medtod	Properties					
	Basic Weigh, (g/m <sup>2</sup> )	Thickness, (mm)	Tensile index, (Nm./g.)	Burst index, (kPa.m <sup>2</sup> /g)	Tearing index, (mN.m <sup>2</sup> /g.)	Folding resistance, (times)
control	113.83 <sup>b</sup>	0.175 <sup>b</sup>	64.52 <sup>a</sup>	2.48 <sup>a</sup>	8.67 <sup>a</sup>	124.7 <sup>a</sup>
Coating Rod	126.42 <sup>a</sup>	0.189 <sup>a</sup>	59.82 <sup>b</sup>	2.40 <sup>a</sup>	8.43 <sup>a</sup>	130.5 <sup>a</sup>
*RT <sup>1</sup>	125.43 <sup>a</sup>	0.186 <sup>a</sup>	56.71 <sup>b</sup>	2.45 <sup>a</sup>	8.70 <sup>a</sup>	119.2 <sup>a</sup>
*HT <sup>1</sup>	124.93 <sup>a</sup>	0.184 <sup>a</sup>	59.21 <sup>b</sup>	2.42 <sup>a</sup>	8.66 <sup>a</sup>	116.5 <sup>a</sup>
R <sup>2</sup>	0.677	0.519	0.587	0.016	0.080	0.033

In a columns; means followed by the same letters are not differeng (p<0.05)

Note: <sup>1/</sup> เคลือบด้วยเครื่อง Automatic Applicator Type Coater KRK 2228

\*Room temperature (RT), Heat temperature (HT)

เมื่อพิจารณาผลของสารเคลือบต่อคุณสมบัติกระดาษห่อวัสดุตามแนว CD (ตารางที่ 16) พบว่า คุณสมบัติของกระดาษห่อวัสดุที่เคลือบด้วยสารต่างกันและกระดาษห่อวัสดุที่ไม่เคลือบสารให้ค่าคุณสมบัติกระดาษด้านดัชนีความต้านทานแรงดันทะลุ ดัชนีความต้านทานแรงฉีกขาด และความต้านทานการหักพับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนค่าคุณสมบัติที่แตกต่างกันได้แก่ น้ำหนักมาตรฐาน ความหนา และค่าดัชนีความต้านทานแรงดึง ส่วนสารเคลือบต่างชนิดกันไม่มีผลต่อคุณสมบัติของกระดาษห่อวัสดุที่ได้

ตารางที่ 16 เปรียบเทียบคุณสมบัติของกระดาษห่อวัสดุตามแนว cross direction (CD) ที่เคลือบด้วยสารเคลือบต่างกันเป็นปัจจัยหลักอย่างเดียว

Additives	Properties					
	Basic Weigh, (g/m <sup>2</sup> )	Thickness, (mm)	Tensile index, (Nm./g.)	Burst index, (kPa.m <sup>2</sup> /g)	Tearing index, (mN.m <sup>2</sup> /g.)	Folding resistance, (times)
control	133.07 <sup>b</sup>	0.174 <sup>b</sup>	26.02 <sup>a</sup>	2.49 <sup>a</sup>	8.55 <sup>a</sup>	27.67 <sup>a</sup>
Paraffin wax	125.84 <sup>a</sup>	0.187 <sup>a</sup>	21.98 <sup>b</sup>	2.34 <sup>ab</sup>	7.91 <sup>a</sup>	25.78 <sup>a</sup>
Bees wax	125.31 <sup>a</sup>	0.189 <sup>a</sup>	21.9 <sup>b</sup>	2.26 <sup>b</sup>	8.08 <sup>a</sup>	28.33 <sup>a</sup>
R <sup>2</sup>	0.806	0.789	0.530	0.276	0.155	0.041

In a columns; means followed by the same letters are not differeng (p<0.05)

เมื่อพิจารณาผลของวิธีการเคลือบกระดาษต่อคุณสมบัติทางกายภาพของกระดาษห่อวัสดุตาม CD (ตารางที่ 17) พบว่าคุณสมบัติกระดาษห่อวัสดุที่เคลือบด้วยวิธีการเคลือบที่ต่างกันและกระดาษห่อวัสดุที่ไม่เคลือบ ให้ค่าคุณสมบัติกระดาษไม่แตกต่างกันทางสถิติ ได้แก่ ค่าดัชนีความต้านทานแรงดันทะลุ ค่าดัชนีความต้านทานแรงฉีกขาด ค่าความต้านทานการหักพับ แต่ค่าคุณสมบัติที่แตกต่างกันได้แก่ น้ำหนักมาตรฐาน ความหนา และค่าดัชนีความต้านทานแรงดึง ส่วนวิธีการเคลือบไม่มีผลต่อคุณสมบัติของกระดาษห่อวัสดุที่ได้

ตารางที่ 17 เปรียบเทียบคุณสมบัติของกระดาษห่อวัสดุตามแนว cross direction (CD) จากวิธีการเคลือบที่ต่างกันเป็นปัจจัยหลักอย่างเดียว

Coat Medtod	Properties					
	Basic Weigh, (g/m <sup>2</sup> )	Thickness, (mm)	Tensile index, (Nm./g.)	Burst index, (kPa.m <sup>2</sup> /g)	Tearing index, (Mn.m <sup>2</sup> /g.)	Folding resistance, (times)
control	113.07 <sup>b</sup>	0.174 <sup>b</sup>	26.02 <sup>a</sup>	2.49 <sup>a</sup>	8.55 <sup>a</sup>	27.7 <sup>a</sup>
Coating Rod	125.50 <sup>a</sup>	0.188 <sup>a</sup>	21.93 <sup>b</sup>	2.28 <sup>a</sup>	7.79 <sup>a</sup>	26.7 <sup>a</sup>
*RT <sup>1</sup>	126.63 <sup>a</sup>	0.189 <sup>a</sup>	22.13 <sup>b</sup>	2.31 <sup>a</sup>	8.22 <sup>a</sup>	27 <sup>a</sup>
*HT <sup>1</sup>	124.60 <sup>a</sup>	0.187 <sup>a</sup>	21.77 <sup>b</sup>	2.31 <sup>a</sup>	7.98 <sup>a</sup>	27.5 <sup>a</sup>
R <sup>2</sup>	0.829	0.789	0.535	0.214	0.225	0.004

In a columns; means followed by the same letters are not differeng (p<0.05)

Note: <sup>1/</sup> เคลือบด้วยเครื่อง Automatic Applicator Type Coater KRK 2228

\*Room temperature (RT), Heat temperature (HT)

สำหรับการทดสอบการดูดซึมน้ำของกระดาษห่อวัสดุที่ใช้สารเคลือบต่างกันและวิธีการเคลือบต่างกันด้วยวิธี Cobb test ที่เวลาทดสอบ 15 วินาที ผลการทดสอบพบว่า กระดาษห่อวัสดุที่ดูดซึมน้ำน้อยที่สุดคือกระดาษห่อวัสดุที่เคลือบด้วย paraffin wax ที่ใช้แห้งขดลวดเคลือบ ส่วนกระดาษห่อวัสดุที่ดูดซึมน้ำมากที่สุดคือกระดาษห่อวัสดุที่ไม่เคลือบสารเคลือบ (ตารางที่ 18) นั้นแสดงให้เห็นว่าการเคลือบกระดาษด้วย wax ไม่ว่าจะ paraffin wax หรือ beeswax จะช่วยเพิ่มความสามารถในการกั้นน้ำให้แก่กระดาษ และยังพบอีกว่ากระดาษห่อวัสดุที่เคลือบด้วย paraffin wax มีการดูดซึมน้ำน้อยกว่ากระดาษห่อวัสดุที่เคลือบด้วย beeswax (ตารางที่ 19)

ตารางที่ 18 เปรียบเทียบการดูดซึมน้ำของกระดาษห่อวัสดุที่เคลือบด้วยสารเคลือบและวิธีการเคลือบที่ต่างกัน

Treatment	Water absorptiveness (g/m <sup>2</sup> )
control	13.7 <sup>c</sup>
P+CR	0.15 <sup>a</sup>
P+RT <sup>1</sup>	0.28 <sup>a</sup>
P+HT <sup>1</sup>	2.84 <sup>b</sup>
B+CR	4.82 <sup>b</sup>
B+RT <sup>1</sup>	4.38 <sup>b</sup>
B+HT <sup>1</sup>	3.75 <sup>b</sup>
R <sup>2</sup>	0.953

In a columns; means followed by the same letters are not differeng (p<0.05)

Note: <sup>1/</sup> เคลือบด้วย Automatic Applicator Type Coater KRK 2228

Paraffin (P), Beeswax (B), Coating rods (CR), Room temperature (RT), Heat temperature (HT)

และเมื่อพิจารณาสารเคลือบเป็นปัจจัยหลักอย่างเดียว พบว่า กระดาษห่อวัสดุที่เคลือบด้วย paraffin wax มีการดูดซึมน้ำน้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ 1.09 กรัมต่อตารางเมตร (ตารางที่ 19) ส่วนกระดาษห่อวัสดุที่ดูดซึมน้ำมากที่สุดคือกระดาษห่อวัสดุที่ไม่เคลือบสารเคลือบ

**ตารางที่ 19** เปรียบเทียบการดูดซึมน้ำของกระดาษห่อวัสดุที่เคลือบด้วยสารเคลือบต่างกันเป็นปัจจัยหลักอย่างเดียว

Additives	Water absorptiveness (g/m <sup>2</sup> )
control	13.7 <sup>c</sup>
Paraffin wax	1.09 <sup>a</sup>
Bees wax	4.32 <sup>b</sup>
R <sup>2</sup>	0.913

In a columns; means followed by the same letters are not differeng (p<0.05)

**ตารางที่ 20** เปรียบเทียบการดูดซึมน้ำของกระดาษห่อวัสดุที่เคลือบด้วยวิธีการเคลือบที่ต่างกันเป็นปัจจัยหลักอย่างเดียว

Coat Medtod	Water absorptiveness (g/m <sup>2</sup> )
control	13.7 <sup>b</sup>
Coating Rod	2.49 <sup>a</sup>
*RT <sup>1</sup>	2.32 <sup>a</sup>
*HT <sup>1</sup>	3.3 <sup>a</sup>
R <sup>2</sup>	0.802

In a columns; means followed by the same letters are not differeng (p<0.05)

Note: <sup>1/</sup> เคลือบด้วยเครื่อง Automatic Applicator Type Coater KRK 2228

\*Room temperature (RT), Heat temperature (HT)

เมื่อพิจารณาวิธีการเคลือบเป็นปัจจัยหลักอย่างเดียว พบว่าวิธีการเคลือบไม่มีผลต่อการดูดซึมน้ำของกระดาษห่อวัสดุ ซึ่งปริมาณการดูดซึมน้ำไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติของแต่ละวิธีการเคลือบ แต่ปริมาณการดูดซึมน้ำของกระดาษเคลือบทั้งหมดจะแตกต่างกันทางสถิติกับกระดาษห่อวัสดุที่ไม่เคลือบสารเคลือบใดๆ (ตารางที่ 20)

จากที่ได้ทำการศึกษาเบื้องต้นและได้วิธีการที่เหมาะสมในการเคลือบกระดาษแล้ว เราจึงทำการศึกษาการพัฒนากระดาษเคลือบน้ำมันหอมระเหยต้านเชื้อราเพื่อเป็นบรรจุภัณฑ์แอคทีฟ สำหรับการศึกษาการผลิตกระดาษเคลือบน้ำมันหอมระเหยต้านเชื้อราเพื่อเป็นบรรจุภัณฑ์แอคทีฟนั้น เราเลือกที่จะศึกษาโดยการใช้กระดาษเคลือบน้ำมันหอมระเหยเป็นบรรจุภัณฑ์สำหรับเก็บหรือบรรจุผลไม้ ในที่นี้เลือกใช้มะม่วงน้ำดอกไม้ในการศึกษา โดยเลือกสูตรสารเคลือบโดยใช้สูตร 2 ซึ่งมี beeswax เป็นตัวกลาง ในการเป็นสารเคลือบ เนื่องจากเราทำการทดสอบกับผลไม้ซึ่งเป็นสินค้าสำหรับบริโภค การใช้สูตรเคลือบโดยมี beeswax เป็นตัวกลาง จึงเป็นมิตรต่อผู้บริโภคมากกว่า โดยในการศึกษานี้กระดาษจะถูกเคลือบด้วยสารเคลือบสูตร 2 ที่มีการเติมน้ำมันสูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและน้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ดขาวที่ความเข้มข้นต่างกัน 6 ระดับ คือ 0 2 4 6 8 และ 10% ดังรายละเอียดในบทที่ 2 วิจัย จากนั้นกระดาษเคลือบที่ผลิตได้จะถูกนำมาทดสอบคุณสมบัติของกระดาษทางกายภาพของกระดาษตามแนว machine direction ของกระดาษ (MD) และตามแนว cross direction ของกระดาษ (CD) พบว่าคุณสมบัติของกระดาษตามแนว MD จะมีความแข็งแรงของกระดาษมากกว่าตามแนว CD (ตารางที่ 21 และ ตารางที่ 22) ได้แก่ ค่าดัชนีความต้านทานแรงดึง ดัชนีความต้านทานแรงฉีกขาด และ ค่าความต้านทานแรงหักพับ สำหรับค่าที่แนวกระดาษไม่มีผลต่อการวัดคุณสมบัติของกระดาษได้แก่ น้ำหนักมาตรฐาน ความหนาของกระดาษ ดัชนีความต้านทานแรงดันทะลุและค่าการดูดซึมน้ำ เปรียบเทียบคุณสมบัติทางกายภาพของกระดาษตามแนว MD (ตารางที่ 21) พบว่ากระดาษที่เติมน้ำมันหอมระเหยเพิ่มขึ้นมีผลทำให้คุณสมบัติดัชนีความต้านทานแรงดึง และดัชนีการต้านทานการหักพับลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนค่าดัชนีความต้านทานแรงฉีกขาดไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

**ตารางที่ 21** เปรียบเทียบคุณสมบัติของกระดาษห่อวัสดุตามแนว machine direction (MD) ที่เคลือบด้วยน้ำมันสูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและน้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ดขาวที่ความเข้มข้นต่างกัน

Treatment	Properties			
	Basic Weight, (g/m <sup>2</sup> )	Tensile index, (Nm./g.)	Tearing index, (mN.m <sup>2</sup> /g.)	Folding resistance, (times)
control	113.83 <sup>d</sup>	64.52 <sup>a</sup>	8.67 <sup>a</sup>	124.67 <sup>a</sup>
0%	137.33 <sup>a</sup>	61.57 <sup>b</sup>	9.38 <sup>a</sup>	67.33 <sup>b</sup>
2%	136.23 <sup>ab</sup>	60.79 <sup>b</sup>	8.1 <sup>a</sup>	68 <sup>b</sup>
4%	131.2 <sup>c</sup>	61.28 <sup>b</sup>	8.95 <sup>a</sup>	49.67 <sup>bc</sup>
6%	132.33 <sup>bc</sup>	60.28 <sup>b</sup>	8.91 <sup>a</sup>	64 <sup>b</sup>
8%	130.53 <sup>c</sup>	54.44 <sup>c</sup>	9.54 <sup>a</sup>	42.67 <sup>c</sup>
10%	132.33 <sup>bc</sup>	59.97 <sup>b</sup>	8.71 <sup>a</sup>	38.33 <sup>c</sup>
R <sup>2</sup>	0.934	0.863	0.285	0.915

In a columns; means followed by the same letters are not differeng ( $p < 0.05$ )

เปรียบเทียบคุณสมบัติทางกายภาพของกระดาษตามแนว CD (ตารางที่ 22) พบว่ากระดาษที่เติมน้ำมันหอมระเหยเพิ่มขึ้นมีผลทำให้คุณสมบัติทางเชิงกลลดลง ได้แก่ ดัชนีความต้านทานแรงดึง ดัชนีความต้านทานแรงฉีกขาด และค่าการต้านทานการหักพับซึ่งค่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ จากการทดสอบกระดาษจะเห็นได้ว่ากระดาษที่เคลือบด้วย beeswax และเติมน้ำมันหอมระเหยมีผลทำให้กระดาษตามแนว CD มีความแข็งแรงลดลงในทิศทางตรงกันข้ามกับการเติมน้ำมันหอมระเหย

**ตารางที่ 22** เปรียบเทียบคุณสมบัติของกระดาษห่อวัสดุตามแนว cross direction (CD) ที่เคลือบด้วยน้ำมันสูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและน้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเมล็ดข้าวที่ความเข้มข้นต่างกัน

Treatment	Properties			
	Basic Weight, (g/m <sup>2</sup> )	Tensile index, (Nm./g.)	Tearing index, (mN.m <sup>2</sup> /g.)	Folding resistance, (times)
control	113.07 <sup>d</sup>	26.02 <sup>a</sup>	8.55 <sup>a</sup>	27.67 <sup>a</sup>
0%	137.33 <sup>a</sup>	20.15 <sup>bc</sup>	7.11 <sup>b</sup>	16.67 <sup>b</sup>
2%	136.23 <sup>ab</sup>	20.96 <sup>b</sup>	6.15 <sup>c</sup>	15 <sup>bc</sup>
4%	131.2 <sup>c</sup>	20.76 <sup>b</sup>	6.68 <sup>bc</sup>	13.33 <sup>bc</sup>
6%	132.33 <sup>bc</sup>	20.59 <sup>b</sup>	6.45 <sup>bc</sup>	13.67 <sup>bc</sup>
8%	130.53 <sup>c</sup>	18.71 <sup>d</sup>	6.49 <sup>bc</sup>	10.67 <sup>c</sup>
10%	132.23 <sup>bc</sup>	18.95 <sup>cd</sup>	6.3 <sup>bc</sup>	11.67 <sup>c</sup>
R <sup>2</sup>	0.938	0.932	0.808	0.888

In a columns; means followed by the same letters are not different (p<0.05)

เปรียบเทียบคุณสมบัติทางด้านความหนา ดัชนีความต้านทานแรงดันทะลุ และการดูดซึมน้ำของกระดาษ (ตารางที่ 23) พบว่าในด้านความหนาของกระดาษกระดาษที่เคลือบด้วย beeswax ที่เติมน้ำมันหอมระเหยจะมีความหนาเพิ่มขึ้น ส่วนใหญ่ค่าความหนาที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนค่าดัชนีความต้านทานแรงดันทะลุ ส่วนใหญ่ค่าที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติยกเว้นกระดาษที่เติมน้ำมันหอมระเหย 10% ซึ่งให้ค่าดัชนีความต้านทานแรงดันทะลุต่ำที่สุด คือมีค่าเท่ากับ 2.04 kPa.m<sup>2</sup>/g สำหรับค่าการดูดซึมน้ำการเติมน้ำมันหอมระเหยเพิ่มขึ้นมีผลทำให้กระดาษที่เคลือบมีการต้านทานการดูดซึมน้ำมากขึ้น จากตารางที่ 23 จะพบว่าการเติมน้ำมันหอมระเหยที่ 4, 6, 8 และ 10% มีค่าการดูดซึมน้ำไม่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ และจะเห็นได้ว่าการเติมน้ำมันหอมระเหยในสูตรเคลือบจะส่งเสริมด้านการดูดซึมน้ำเพิ่มขึ้นอีกด้วย ลักษณะกระดาษหลังจากการทดสอบค่าการดูดซึมน้ำดูได้จากภาพที่ 30 กระดาษที่ไม่เคลือบจะดูดซึมน้ำเป็นสีขาวขุ่นส่วนกระดาษที่เติมน้ำมันหอมระเหยที่ 10% ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง

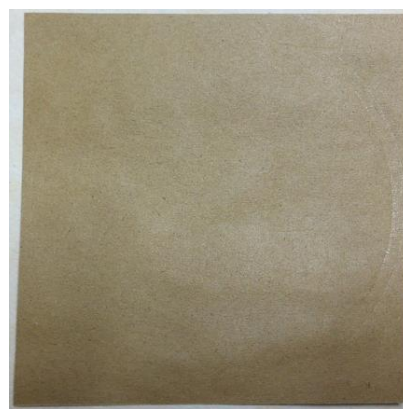
ตารางที่ 23 เปรียบเทียบคุณสมบัติ ความหนา ความต้านทานแรงดันทะลุและค่าการดูดซึมน้ำของกระดาษห่อวัสดุที่เคลือบด้วยน้ำมันสูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและน้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเมล็ดข้าวที่ความเข้มข้นต่างกัน

Treatment	Properties		
	Thickness, (mm)	Burst index, (kPa.m <sup>2</sup> /g)	Water absorptiveness (g/m <sup>2</sup> )
control	0.174 <sup>c</sup>	2.48 <sup>a</sup>	13.7 <sup>c</sup>
0%	0.199 <sup>ab</sup>	2.43 <sup>a</sup>	9.13 <sup>b</sup>
2%	0.204 <sup>a</sup>	2.45 <sup>a</sup>	8.11 <sup>b</sup>
4%	0.196 <sup>b</sup>	2.45 <sup>a</sup>	2.24 <sup>a</sup>
6%	0.202 <sup>a</sup>	2.25 <sup>ab</sup>	2.64 <sup>a</sup>
8%	0.202 <sup>ab</sup>	2.25 <sup>ab</sup>	1.41 <sup>a</sup>
10%	0.204 <sup>a</sup>	2.04 <sup>b</sup>	0.68 <sup>a</sup>
R <sup>2</sup>	0.921	0.631	0.963

In a columns; means followed by the same letters are not different (p<0.05)



สูตรเคลือบกระดาษไม่เติมน้ำมันหอมระเหย



สูตรเคลือบกระดาษเติมน้ำมันหอมระเหย 10%

ภาพที่ 30 ลักษณะกระดาษหลังการทดสอบคุณสมบัติการดูดซึมน้ำ

สำหรับการศึกษาประสิทธิภาพในการต้านเชื้อราของกระดาษเคลือบน้ำมันสูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและน้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเมล็ดข้าว นั้น จากการทดสอบฤทธิ์ของแผ่นกระดาษเคลือบ beeswax ที่มีการเติมน้ำมันสูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและน้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเมล็ดข้าว ในปริมาณที่แตกต่างกัน 6 ระดับ คือ 0 2 4 6 8 10% และกระดาษที่ไม่เคลือบ beeswax ที่มีต่อเชื้อรา โดยนำชิ้นกระดาษที่เพาะเชื้อวางลงบนผิวหน้าอาหาร และวัดผลโดยการสังเกตการเจริญของเชื้อราในกระดาษ พบว่า กระดาษเคลือบ

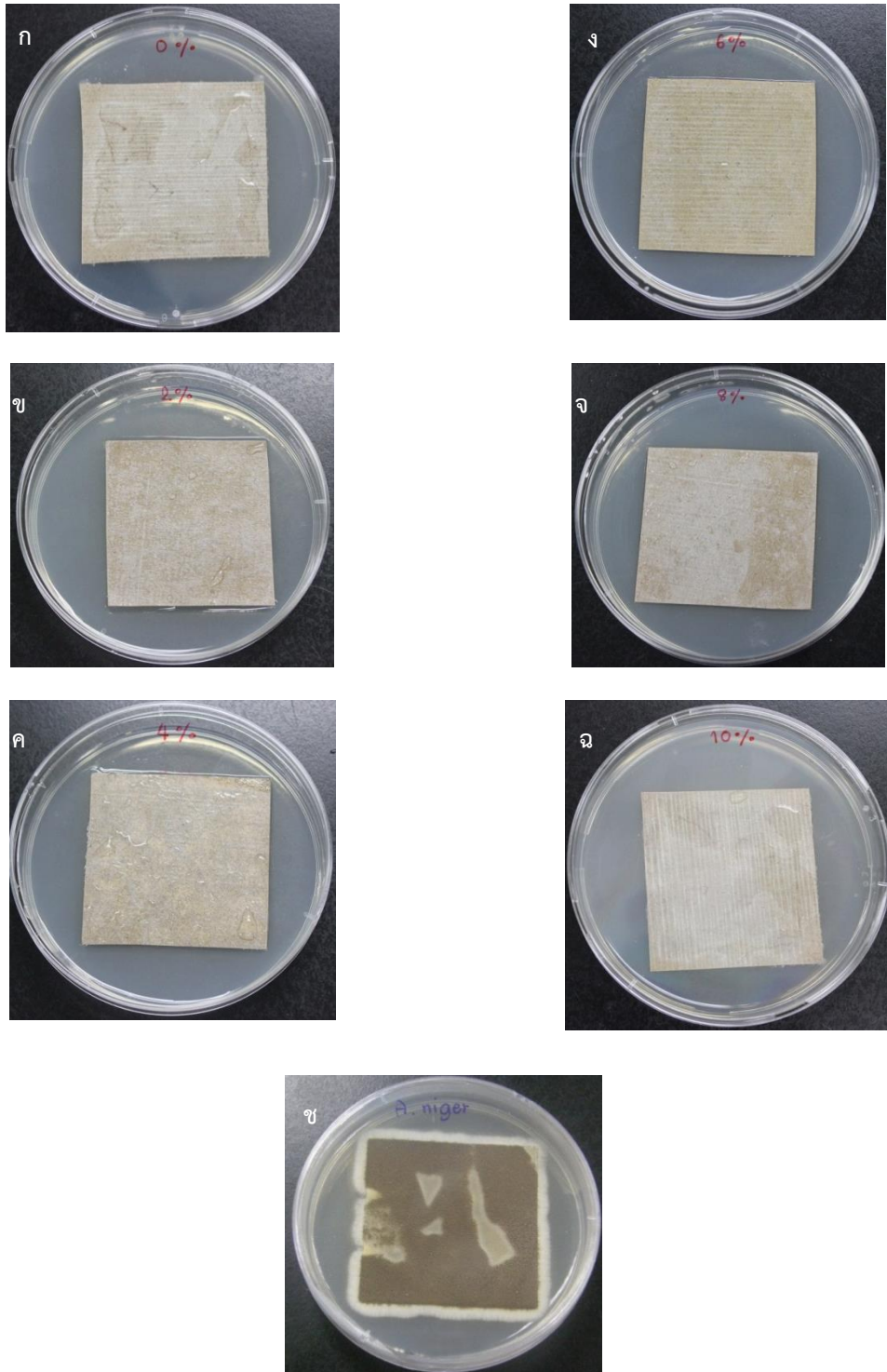
beeswax ที่มีการเคลือบสูตรผสมน้ำมันอบเชยและน้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเมล็ดขาวในปริมาณที่แตกต่างกัน 6 ระดับ คือ 0 2 4 6 8 10% สามารถต้านการเจริญของเชื้อราบนกระดาษได้ ไม่มีเชื้อราขึ้นบนกระดาษภายใน 2 อาทิตย์ แสดงว่ากระดาษสามารถต้านทานเชื้อราได้โดยสมบูรณ์ เมื่อเปรียบเทียบกับกระดาษที่ไม่มีการเคลือบ wax ที่มีการเจริญของเชื้อราคลุมผิวหน้ากระดาษทั้งแผ่น ดังแสดงในตารางที่ 24 และภาพที่ 31 แต่อย่างไรก็ตาม จากผลการทดลองที่ได้พบว่าในกระดาษที่เคลือบ beeswax และกระดาษที่เคลือบ beeswax ที่มีน้ำมันสูตรผสมในปริมาณต่างกัน มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อราได้ไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเกิดจากการที่เชื้อไม่สามารถเจริญบนแผ่นกระดาษได้เนื่องจากเชื้อราไม่สามารถที่จะเจริญและแทรกซึมเข้าสู่กระดาษเนื่องจาก beeswax ที่เคลือบไว้

ตารางที่ 24 ประสิทธิภาพของกระดาษเคลือบสารในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา

ชนิดกระดาษ	การยับยั้งของกระดาษชนิดต่างๆ		
	<i>A. niger</i>	<i>C. gloeosporioides</i>	<i>L. theobromae</i>
ไม่เคลือบ	-	-	-
เคลือบ 0 %	+	+	+
เคลือบ 2 %	+	+	+
เคลือบ 4 %	+	+	+
เคลือบ 6 %	+	+	+
เคลือบ 8 %	+	+	+
เคลือบ 10 %	+	+	+

หมายเหตุ

- ไม่ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา












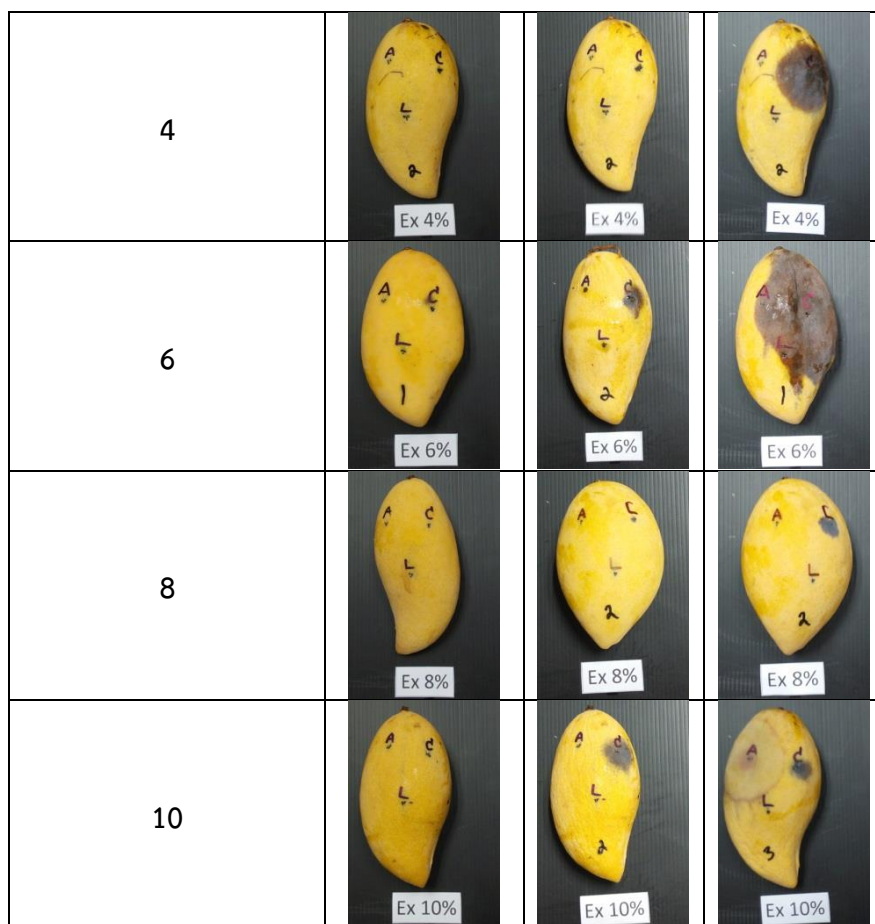
ภาพที่ 31 แสดงการทดสอบฤทธิ์ของแผ่นกระดาษทดสอบในการยับยั้งเชื้อรา เคลือบ 0% (ก), เคลือบ 2% (ข), เคลือบ 4% (ค), เคลือบ 6% (ง), เคลือบ 8% (จ), เคลือบ 10% (ฉ), ไม่เคลือบ (ช)

การทดสอบการต้านเชื้อราของบรรจุภัณฑ์แอคทีฟที่เคลือบน้ำมันสูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและน้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเมล็ดขาวนั้น ได้ใช้มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เป็นผลไม้ที่ใส่ทดสอบ ในที่นี้จะใช้เชื้อรา 3 ชนิด ได้แก่ *Colletotrichum gloeosporioides*, *Aspergillus niger* และ *Lasiodiplodia theobromae* ใน

การศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราของบรรจุภัณฑ์แอกทีฟเคลือบน้ำมันหอมระเหย โดยด้านในบรรจุภัณฑ์จะเคลือบด้วยสูตรเคลือบ bees wax ที่มีการเติมน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้นต่างกัน และมีการบรรจุมะม่วงไว้ข้างในถุงบรรจุภัณฑ์แอกทีฟ โดยวิธีการทดสอบได้อธิบายรายละเอียดไว้ในบทที่ 2 วิธีวิจัย ตารางที่ 25 แสดงลักษณะผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่เก็บในบรรจุภัณฑ์แอกทีฟที่เวลาเก็บ 3 5 และ 7 วัน จากการทดลองพบว่า ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ของบรรจุภัณฑ์แอกทีฟที่เคลือบด้วย beeswax เติมน้ำมันสูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและน้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ดขาว พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้น 8 และ 10% มีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีที่สุด เนื่องจากระดับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยที่ 8 และ 10% บาดแผลการเข้าทำลายของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ทำลายไม่ทั้งหมดของผลมะม่วง ยังสามารถวัดเส้นผ่านศูนย์กลางความกว้างของบาดแผลได้ ดังนั้นระดับความเข้มข้นนี้มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ได้ จากตารางที่ 26 ชี้ให้เห็นว่าบาดแผลที่เกิดจากเชื้อรามีความกว้างของเส้นผ่านศูนย์กลางมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยเพิ่มขึ้น คือ ใน 3 และ 5 วัน สำหรับการทดลองนี้สังเกตเห็นได้ว่าน้ำมันหอมระเหยที่เพิ่มขึ้นมีแนวโน้มในการต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ได้

ตารางที่ 25 ลักษณะผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่เก็บในบรรจุภัณฑ์แอกทีฟที่เคลือบด้วยสูตรเคลือบที่มีการเติมน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้นและระยะเวลาการเก็บที่ต่างกัน

ความเข้มข้น น้ำมันหอมระเหย (%)	ระยะเวลา (วัน)		
	3	5	7
C1 ถุงกระดาษที่ไม่เคลือบ			
0			
2			



ตารางที่ 26 ผลการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ต่อผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่เก็บในบรรจุภัณฑ์แอคทีฟที่เคลือบด้วยความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยและระยะเวลาที่ต่างกัน

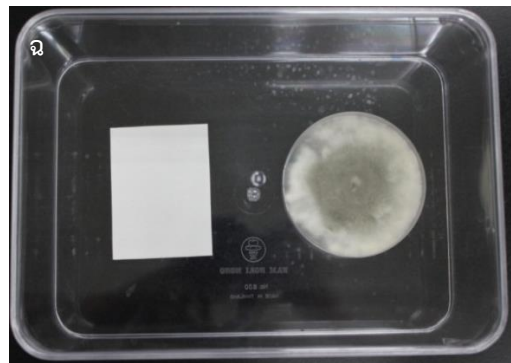
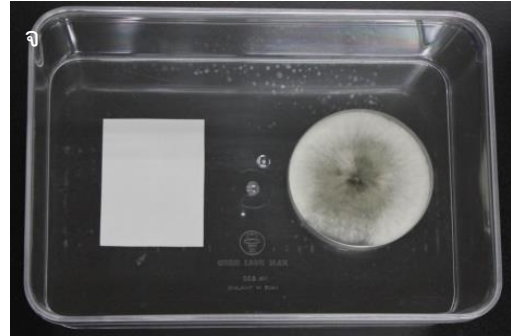
ความเข้มข้น น้ำมันหอมระเหย (%)	เส้นผ่านศูนย์กลางของแผล (mm)		
	3 วัน	5 วัน	7 วัน
C1*	11.22	32.11	เชื้อเจริญเต็มผล
0	5.67	32.67	เชื้อเจริญเต็มผล
2	9.22	29.44	เชื้อเจริญเต็มผล
4	8.78	24.67	เชื้อเจริญเต็มผล
6	8.44	33.00	เชื้อเจริญเต็มผล
8	5.22	17.22	33.00
10	6.00	23.33	49.33

C1\* ถูกกระดาษที่ไม่เคลือบ

สำหรับผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus niger* และ *Lasiodiplodia theobromae* ของบรรจุภัณฑ์แอคทีฟที่เคลือบน้ำมันสูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและน้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ดขาวนั้น พบว่าความกว้างเส้นผ่านศูนย์กลางบาดแผลของผลมะม่วงที่วัดได้เปลี่ยนแปลงไม่มาก รวมถึงถูกระดาษที่ไม่เคลือบสารด้วย ซึ่งอาจจะสันนิษฐานได้ว่าการปลูกเชื้อรา *Aspergillus niger* และ *Lasiodiplodia theobromae* ในผลมะม่วงไม่ติดเชื่อทำให้ไม่สามารถวัดความเปลี่ยนแปลงได้ ดังภาพในตารางที่ 25

### 3.5 การพัฒนาแผ่นป้องกันเชื้อรา และศึกษาการประยุกต์ใช้แผ่นป้องกันเชื้อราในการต้านการเจริญของเชื้อราในกล่องกระดาษบรรจุมะม่วง

จากการทดสอบสภาพจำลองในการใช้ไอระเหยของน้ำมันหอมระเหยสูตรผสมน้ำมันเสม็ดขาวและยูคาลิปตัสและน้ำมันอบเชย ในการต้านเชื้อราสาเหตุการเน่าเสียของผลไม้เพื่อพัฒนาแผ่นป้องกันเชื้อราโดยดัดแปลงวิธี modified micro atmosphere system เพื่อจำลองสภาพในการใช้ไอระเหยจากน้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุการเน่าเสียของมะม่วง ทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *A. niger*, *C. gloeosporioides* และ *L. theobromae* โดยนำงานเพาะเชื้อบรรจุลงในกล่องพลาสติกที่มีขนาด 25×17.5×9 เซนติเมตร และนำแผ่นกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 ขนาด 6×8 เซนติเมตร ที่หยดสูตรผสมของน้ำมันเสม็ดขาวและยูคาลิปตัสและน้ำมันอบเชยในอัตราส่วน 7: 3 ในปริมาตร 101 มิลลิกรัม (25.9 มิลลิกรัม น้ำมันหอมระเหยต่อลิตรของช่องว่างภายในภาชนะ) มาวางด้านข้างงานเพาะเชื้อ ปิดฝากล่องและปิดทับด้วยเทปใส และทำการบ่มเป็นระยะเวลา 7 วัน ทำการตรวจวัดการเจริญเปรียบเทียบกับเชื้อราในชุดควบคุม พบว่า น้ำมันสูตรผสมระหว่างน้ำมันเสม็ดขาวและยูคาลิปตัสและน้ำมันอบเชยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุการเน่าเสียของมะม่วงได้ทุกทั้ง 3 สายพันธุ์ และสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในภาพที่ 32 จึงมีความเป็นไปได้ในการจะนำไปพัฒนาเป็นแผ่นกันเชื้อราเพื่อต้านเชื้อราและยืดอายุการเก็บของผลไม้



น้ำมันสูตรผสม 7:3

ชุดควบคุม

ภาพที่ 32 ประสิทธิภาพของน้ำมันสูตรผสมระหว่างน้ำมันเมล็ดข้าวและยูคาลิปตัส และน้ำมันอบเชยในการต้านการเจริญของเชื้อรา (ก) *A. niger* (ข) *C. gloeosporioides* และ (ค) *L. theobromae* เมื่อทดสอบด้วยวิธี modified micro atmosphere system เปรียบเทียบกับเชื้อชุดควบคุม (ง) *A. niger* (จ) *C. gloeosporioides* และ (ฉ) *L. theobromae*

เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพในการต้านเชื้อราของน้ำมันเมล็ดข้าวผสมยูคาลิปตัส และน้ำมันอบเชยสูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและเมล็ดข้าวและยูคาลิปตัส รวมถึงการศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดในการต้านการเจริญของเชื้อราของน้ำมันเมล็ดข้าวผสมยูคาลิปตัส และน้ำมันอบเชย สูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและเมล็ดข้าวและยูคาลิปตัสที่ผ่านมา พบว่า สูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชย และเมล็ดข้าวและยูคาลิปตัสที่ในอัตราส่วน 7:3 มีความเหมาะสมในการนำมาใช้พัฒนาแผ่นป้องกันเชื้อรา โดยความเข้มข้นต่ำสุดของสูตรผสมในการต้านการเจริญของเชื้อร่าก่อโรคหลังการเก็บเกี่ยวของมะม่วงทั้ง 3 ชนิด คือ 232 มิลลิกรัมต่อลิตรของช่องว่างภายในภาชนะ ดังนั้นในการผลิตกระดาษป้องกันเชื้อราจึงเติมน้ำมันหอมระเหยในช่วงความเข้มข้นที่ได้จากการหาค่า MICs ณ ความเข้มข้นที่มากกว่าค่า MICs ได้ ซึ่งการกำหนดความเข้มข้นของสารต้านเชื้อราควรคำนึง

สมบัติของสารต้านเชื้อราด้วย เช่น หากผลิตกระดาษปลดปล่อยไอระเหยเพื่อป้องกันการเน่าเสียของอาหาร ความเข้มข้นของสารที่ใส่จะต้องมีปริมาณที่ไม่ส่งผลกระทบต่อกลิ่นรส หรือรสชาติของอาหาร และอยู่ในระดับที่ผู้บริโภคยอมรับได้ และไม่มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของอาหาร นอกจากนี้ยังต้องคำนึงถึงกระบวนการที่ใช้ในการผลิตกระดาษต้านเชื้อรา เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยมักก่อให้เกิดปัจจัยต่างๆ เช่น แสง อุณหภูมิ ภาชนะบรรจุ เป็นต้น ดังนั้นสถานะในการผลิต รวมถึงสถานะการเก็บรักษาควรมีความเหมาะสม และไม่มีปัจจัยดังกล่าวข้างต้นมาเกี่ยวข้องของมากเกินไป จนอาจส่งผลกระทบต่อปริมาณสารต้านเชื้อราได้ ดังนั้นการผลิตแผ่นป้องกันเชื้อราจึงจำเป็นต้องรักษาระดับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยให้เพียงพอต่อการต้านเชื้อราตลอดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์อาหาร และจากการทดสอบประสิทธิภาพน้ำมันหอมระเหยในกล่องบรรจุ ซึ่งคัดเลือกสูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและเสมีดขาวและยูคาลิปตัส ในอัตราส่วน 7 : 3 ที่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัม โดยปริมาตรของน้ำมันหอมระเหยที่นำมาหยดในกระดาษ และขึ้นอยู่กับขนาดของภาชนะบรรจุที่ใช้ โดยการกำหนดปริมาตร จะกำหนดโดยพิจารณาจากค่าเข้มข้นต่ำสุดที่ได้จากการทดสอบประสิทธิภาพน้ำมันหอมระเหยในกล่องบรรจุ ซึ่งปริมาตรที่จะนำมาเตรียมแผ่นป้องกันเชื้อราจะต้องสูงกว่าค่า MICs ที่ได้จากการทดสอบ 9 เท่า ดังนั้นปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่จะนำมาเติมในแผ่นคือ 232 มิลลิกรัมต่อลิตรของช่องว่างภายในภาชนะ ซึ่งพบว่าที่ความเข้มข้นระดับนี้สามารถฆ่าเชื้อราทดสอบได้ ดังนั้นจึงทำการผลิตแผ่นป้องกันเชื้อราโดยใช้ระดับความเข้มข้น 232 มิลลิกรัมต่อลิตรของช่องว่างภายในภาชนะ การเตรียมกระดาษป้องกันเชื้อราทำโดยเตรียมจากกระดาษกรอง whatman No. 1 ขนาด 8x6 เซนติเมตร หยดสูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและเสมีดขาวและยูคาลิปตัสในอัตราส่วน 7 : 3 หลังจากนั้นนำแผ่นกระดาษที่ผ่านการหยดน้ำมันหอมระเหยมาบรรจุในเยื่อกระดาษห่อใบชา (tea sachet)

ในการทดสอบประสิทธิภาพของแผ่นป้องกันเชื้อราที่หยดสูตรนี้ยาควบคุมการเสื่อมเสียของผลไม้ หลังการเก็บเกี่ยวในห้องปฏิบัติการได้ใช้มะม่วงน้ำดอกไม้จากตลาดไท จ.ปทุมธานี เป็นผลไม้ต้นแบบสำหรับการศึกษา โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ completely randomized design(CRD) ทำการทดลอง 5 ซ้ำ (ซ้ำละ 3 ลูก) แสดงรายละเอียดการจักรกรรมวิธีในการทดลองดังนี้

- กรรมวิธีที่ 1 เพาะเชื้อราโรคฟิช *Aspergillus niger* (A) และใช้แผ่นป้องกันเชื้อรา
- กรรมวิธีที่ 2 เพาะเชื้อราโรคฟิช *Colletotrichum gloeosporioides*(C) และใช้แผ่นป้องกันเชื้อรา
- กรรมวิธีที่ 3 เพาะเชื้อราโรคฟิช *Lasiodiplodia theobromae* (L) และใช้แผ่นป้องกันเชื้อรา
- กรรมวิธีที่ 4 เพาะเชื้อราโรคฟิช แบบแยกสายพันธุ์ และไม่ใช้แผ่นป้องกันเชื้อรา
- กรรมวิธีที่ 5 ไม่ใช้แผ่นป้องกันเชื้อรา + ไม่เพาะเชื้อราโรคฟิช

ทำการทดสอบโดยนำมะม่วงมาทำการปลูกเชื้อราบนผลมะม่วงทำโดยการนำสารละลายสปอร์ของเชื้อราโรคฟิชที่หยอดลงบนรอยแผล โดยกรรมวิธีที่ 1 จะนำสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราสาเหตุการเสื่อมเสียของมะม่วง *Aspergillus niger* กรรมวิธีที่ 2 *Colletotrichum gloeosporioides* และ กรรมวิธีที่ 3 *Lasiodiplodia theobromae* แล้วหยอดลงบนรอยแผล 1 จุด/1 สายพันธุ์ จากนั้นนำมะม่วงวางลงในกล่องบรรจุผลไม้กระดาษ ขนาด 22x15x7 เซนติเมตร มีปริมาตรบรรจุ 2.31 ลิตร โดยทำการเตรียมแผ่นป้องกันเชื้อราตามวิธีการในวิธีวิจัย ปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่หยดลงในแผ่นป้องกันเชื้อราที่นำมาใช้ในกล่องกระดาษ เมื่อบรรจุมะม่วงแล้ว ทำให้มีพื้นที่ว่างในภาชนะบรรจุโดยประมาณเท่ากับ 1 ใน 3 ดังนั้นจึงหยดน้ำมันหอมระเหยลงบนแผ่นกระดาษในปริมาตร 178.6 มิลลิกรัมต่อแผ่น ทำการติดแผ่นป้องกันเชื้อราไว้ด้านบนฝากล่อง และทำการปิดฝากล่องให้สนิท โดยใช้เทปกาวใส และหุ้มกล่องด้วยฟิล์มใสเพื่อป้องกันไอระเหยของน้ำมันหอมระเหยออกด้านนอกกล่อง ดังแสดงในภาพที่ 33 จากนั้นนำไปบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 วัน ทำการสังเกตการเกิดโรคทุก 1, 3 และ 5 วัน

ค่าที่วัดได้มาหาค่าระดับการเกิดโรค โดยเปรียบเทียบกับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของผลมะม่วงที่ไม่ได้ควบคุมโรค

จากการทดลอง พบว่า มะม่วงที่มีการใช้แผ่นป้องกันเชื้อราควบคุมการเน่าเสียของผลมะม่วงจากเชื้อรา 3 ชนิดหลังการบ่มเป็นเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิห้อง มีระดับการเกิดโรคต่ำกว่า มะม่วงที่ไม่มีการใช้แผ่นป้องกันเชื้อรา อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % และพบว่าหลังการเพาะเชื้อและบ่มเป็นเวลา 3 วัน แผ่นป้องกันเชื้อราสามารถยับยั้งการเกิดโรคจากเชื้อ *Aspergillus niger* ได้สูงที่สุด รองลงมาคือ *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Lasiodiplodia theobromae* และเมื่อทำการบ่มจนครบ 5 วัน พบว่า ผลการทดลองที่ได้มีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน ดังแสดงในตารางที่ 27 และภาพที่ 34

จากผลการทดลองถึงแม้แผ่นป้องกันเชื้อรามีประสิทธิภาพในการยืดอายุการเน่าเสียของมะม่วงให้นานได้มากขึ้น แต่พบว่า ไอของน้ำมันหอมระเหยสูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและเสม็ดขาวและยูคาลิปตัสส่งผลให้ผิวของมะม่วงมีการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ทั้งนี้อาจเป็นเพราะไอระเหยของน้ำมันอบเชยส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีผิวของผลมะม่วงจากสีเหลืองเป็นสีน้ำตาล ดังนั้นการใช้ประโยชน์ของน้ำมันหอมระเหยสูตรผสมของน้ำมันหอมระเหย อบเชย ยูคาลิปตัส และเสม็ดขาวในรูปแบบของแผ่นป้องกันเชื้อราจึงไม่เหมาะสมในเก็บรักษาผลมะม่วงสุก



ภาพที่ 33 การเก็บรักษามะม่วงในกล่องกระดาษ

ตารางที่ 27 ผลของแผ่นป้องกันเชื้อราอายุการเสื่อมเสียของมะม่วงต่อขนาดแผลบนผลมะม่วง โดยการปลูกราสาเหตุโรคแบบแยกสายพันธุ์ หลังบ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน

กรรมวิธีควบคุม	การใช้แผ่นป้องกันเชื้อรา	<sup>1</sup> ระดับการเกิดโรค			
		วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 3	วันที่ 5
มะม่วงที่เพาะเชื้อ A	ใช้	0	0	1.60 <sup>f</sup>	2.20 <sup>d</sup>
มะม่วงที่เพาะเชื้อ A	ไม่ใช้	0	0	3.20 <sup>c</sup>	4.00 <sup>a</sup>
มะม่วงที่เพาะเชื้อ C	ใช้	0	0	2.00 <sup>e</sup>	2.60 <sup>c</sup>
มะม่วงที่เพาะเชื้อ C	ไม่ใช้	0	0	3.60 <sup>b</sup>	4.00 <sup>a</sup>
มะม่วงที่เพาะเชื้อ L	ใช้	0	0	2.40 <sup>d</sup>	2.80 <sup>b</sup>
มะม่วงที่เพาะเชื้อ L	ไม่ใช้	0	0	3.80 <sup>a</sup>	4.00 <sup>a</sup>

หมายเหตุ <sup>1</sup> ค่าเฉลี่ยรอยแผลโรค (n=20)

0 ไม่เกิดจุดแผล

1 เกิดจุดแผลขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางน้อยกว่า 1 มิลลิเมตร

2 เกิดจุดแผลขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1- 2 มิลลิเมตร

3 เกิดจุดแผลขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3- 10 มิลลิเมตร

4 เกิดจุดแผลขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 10 มิลลิเมตร

a,b,c,.....,i ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์แสดงถึงสิ่งทดลองมีความแตกต่างกันทาง สถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

A = *Aspergillus niger*, C = *Colletotrichum gloeosporioides*,

L = *Lasiodiplodia theobromae*, R = *Rhizopus stolonifer*



ภาพที่ 34 ประสิทธิภาพของแผ่นควบคุมการเสื่อมเสียของผลไม้ที่มีน้ำมันสูตรผสมระหว่างน้ำมันเมล็ดขาวและยูคาลิปตัส และน้ำมันอบเชยในการต้านการเจริญของเชื้อรา *A. niger* (ก), *C. gloeosporioides* (ข) และ *L. theobromae* (ค) เมื่อศึกษาการประยุกต์ใช้แผ่นป้องกันเชื้อราในการต้านการเจริญของเชื้อราในกล่องกระดาษบรรจุมะม่วงเปรียบเทียบกับเชื้อชุดควบคุม *A. niger* (ง) , *C. gloeosporioides* (จ) และ *L. theobromae* (ฉ) หลังการทดสอบเป็นเวลา 5 วัน

## บทที่ 4 สรุปและเสนอแนะ

ผลจากการกลั่นน้ำมันหอมระเหยจากใบยูคาลิปตัส และเสม็ดขาว โดยการกลั่นด้วยน้ำ พบว่า ใบยูคาลิปตัส มีปริมาณน้ำมันหอมระเหยร้อยละ 1.50 (%v/w) และใบเสม็ดขาวมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยร้อยละ 1.63 (%v/w) และจากการวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากใบยูคาลิปตัส และเสม็ดขาว ด้วยเครื่อง GC-MS พบว่า องค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัสคือ 1,8-Cineole และ องค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยเสม็ดขาวคือ Terpinolene และ  $\gamma$ -Terpinene

น้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัส และเสม็ดขาวมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชของผลไม้ที่สำคัญ จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Aspergillus niger*, *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Lasiodiplodia theobromae* ได้มากน้อยแตกต่างกัน การผสมน้ำมันหอมระเหยทั้งสองชนิดนี้เข้าด้วยกันส่งผลให้สามารถยับยั้งเชื้อราทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้ครอบคลุมมากขึ้น นอกจากนี้การคัดเลือกน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรอบเชย ที่มีรายงานความสามารถในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้สูงมาทำการศึกษาหาอัตราส่วนที่เหมาะสมร่วมกับน้ำมันหอมระเหยสูตรผสมระหว่างน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัส และเสม็ดขาว ซึ่งเป็นอีกหนึ่งแนวทางที่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพของสูตรน้ำยาที่จะนำไปใช้ประโยชน์ในด้านบรรจุภัณฑ์แอคทีฟ (active packaging) ได้เพิ่มมากขึ้นอีกทางหนึ่งด้วย

น้ำมันอบเชยสามารถเสริมฤทธิ์น้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ดในการต้านเชื้อราก่อโรคหลังการเก็บเกี่ยวของมะม่วง และอัตราส่วนที่เหมาะสมของน้ำมันหอมระเหยระหว่างน้ำมันอบเชย และยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ด เพื่อนำไปใช้ในการพัฒนาถุงกระดาษ และแผ่นป้องกันเชื้อราเพื่อยืดอายุการเก็บผลไม้คือ 7 : 3 ที่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สำหรับการพัฒนาถุงกระดาษเคลือบน้ำมันหอมระเหยเพื่อยืดอายุการเก็บผลไม้ นั้น จากการศึกษาเบื้องต้นเพื่อหาสูตรและวิธีการที่เหมาะสมในการเคลือบกระดาษด้วย paraffin wax และ beeswax เพื่อนำมาใช้กับการผลิตกระดาษเคลือบน้ำมันหอมระเหยต้านเชื้อราเพื่อบรรจุภัณฑ์แอคทีฟ พบว่าการเตรียมสารเคลือบประเภท wax เพื่อให้สะดวกต่อการใช้งานที่อุณหภูมิห้องคือการเตรียมในลักษณะเป็นสาร emulsion โดยจากการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของกระดาษที่เคลือบด้วย paraffin wax และ beeswax พบว่าการเคลือบกระดาษด้วย paraffin wax และ beeswax ให้ค่าคุณสมบัติด้านความแข็งแรงของกระดาษไม่แตกต่างกัน แต่คุณสมบัติด้านการกั้นน้ำของกระดาษแตกต่างกัน โดยการเคลือบกระดาษด้วย paraffin wax จะให้กระดาษที่มีความสามารถในการกั้นน้ำได้ดีกว่ากระดาษที่เคลือบด้วย beeswax และหากเปรียบเทียบระหว่างกระดาษก่อนและหลังเคลือบจะพบว่า กระดาษหลังเคลือบจะมีค่าความต้านทานแรงดึงลดลง น้ำหนักมาตรฐานและความหนาเพิ่มขึ้น คุณสมบัติการกั้นน้ำดีขึ้นมากหลังเคลือบ แต่ค่าดัชนีความต้านทานแรงดันทะลุ ค่าดัชนีความต้านทานแรงฉีกขาด และ ค่าความต้านทานแรงหักพับไม่มีความแตกต่างระหว่างกระดาษก่อนและหลังเคลือบ นอกจากนี้หากเปรียบเทียบการเคลือบด้วยวิธีการเคลือบที่ต่างกัน ได้แก่

เคลือบด้วยขดลวด เคลือบด้วยเครื่องเคลือบอัตโนมัติที่อุณหภูมิห้อง และเคลือบด้วยเครื่องเคลือบอัตโนมัติที่อุณหภูมิ 60 °C พบว่า วิธีการเคลือบกระดาษที่ต่างกันก็ไม่มีผลต่อคุณสมบัติของกระดาษ เหมือนกับการเคลือบด้วยสารเคลือบที่ต่างกัน ดังนั้นในการศึกษาการพัฒนากระดาษเคลือบน้ำมันหอมระเหยเพื่อยืดอายุผลไม้เราจึงเลือกใช้วิธีการเคลือบด้วยขดลวด และเลือกสูตรสารเคลือบโดยใช้สูตร 2 ซึ่งมี beeswax เป็นตัวกลาง ในการเป็นสารเคลือบ เนื่องจากเราทำการทดสอบกับผลไม้ซึ่งเป็นสินค้าสำหรับบริโภค การใช้สูตรเคลือบโดยมี beeswax เป็นตัวกลาง จึงเป็นมิตรต่อผู้บริโภคมากกว่า โดยในการศึกษานี้กระดาษจะถูกเคลือบด้วยสารเคลือบสูตร 2 ที่มีการเติมน้ำมันสูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและน้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ดขาวที่ความเข้มข้นต่างกัน 6 ระดับ คือ 0 2 4 6 8 และ 10% พบว่า กระดาษห่อวัสดุสีน้ำตาลเมื่อนำมาเคลือบด้วยสาร beeswax ที่มีการเติมน้ำมันหอมระเหยสูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและน้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ดขาว จะทำให้คุณสมบัติเชิงกลของกระดาษ ได้แก่ ดัชนีความต้านทานแรงดึง ดัชนีความต้านทานแรงฉีกขาด ดัชนีความต้านทานแรงดันทะลุ และการต้านทานการหักพับ ลดลงเพียงเล็กน้อย ทั้งในแนว MD และ CD ของกระดาษ แต่ยังคงมีความแข็งแรงเพียงพอที่สามารถนำมาพัฒนาเป็นถุงบรรจุภัณฑ์แอคทีฟเพื่อเก็บรักษามะม่วงหลังการเก็บเกี่ยวได้ นอกจากนี้การเติมน้ำมันหอมระเหยสูตรผสมลงไปในสารเคลือบสูตร 2 (Beeswax) ทำให้ความสามารถในการต้านทานการดูดซึมน้ำของกระดาษดีขึ้น

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพในการต้านเชื้อราพบว่าแผ่นกระดาษเคลือบ beeswax และกระดาษที่เคลือบ beeswax ที่มีการเติมน้ำมันสูตรผสมในปริมาณต่างกัน 6 ระดับ คือ 0 2 4 6 8 10% มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อราได้ไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเกิดจากการที่เชื้อไม่สามารถเจริญบนแผ่นกระดาษได้เนื่องจากเชื้อราไม่สามารถที่จะเจริญและแทรกซึมเข้าสู่กระดาษเนื่องจาก wax ที่เคลือบไว้

จากการศึกษาการใช้ถุงบรรจุภัณฑ์แอคทีฟเพื่อเก็บรักษามะม่วงน้ำดอกไม้ พบว่ากระดาษที่เคลือบด้วยสารเคลือบ beeswax ที่เติมน้ำมันหอมระเหยสูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและน้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ดขาวที่ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย 8 และ 10% สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้

สำหรับการศึกษาการพัฒนาแผ่นกันเชื้อรา พบว่า จากการศึกษาสภาพจำลองในการใช้ไอรระเหยจากน้ำมันหอมระเหยสูตรผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและน้ำมันยูคาลิปตัสผสมน้ำมันเสม็ดขาวในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุการเน่าเสียของมะม่วง ทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Aspergillus niger*, *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Lasiodiplodia theobromae* พบว่ามีความเป็นไปได้ในการที่จะใช้แผ่นกันเชื้อราเพื่อยืดอายุการเก็บของผลไม้ เนื่องจากสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุการเน่าเสียของมะม่วงได้ทุกทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และในสภาวะการเก็บมะม่วงในกระบรรจุกระดาษเพื่อจำลองสภาวะจริง แผ่นป้องกันเชื้อราสามารถควบคุมการเน่าเสียของผลมะม่วงจากเชื้อรา 3 ชนิดหลังการบ่มเป็นเวลา 5 วัน ได้สูงกว่ามะม่วงชุดควบคุมที่ไม่มีการใช้แผ่นป้องกันเชื้อรา และ แผ่นป้องกันเชื้อราสามารถยับยั้งการเกิดโรคจากเชื้อ *Aspergillus niger* ได้สูงที่สุด

## เอกสารอ้างอิง

- เกศทิพย์ กรี่เงิน, ขจีจรัส ภิรมย์ธรรมศิริ และอุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์. 2545. ผลของสารสกัดจากใบพลูต่อการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus niger* V.Tiegh. และ *Aspergillus japonicus* Saito. บนผ้าฝ้ายและผ้าใยผสมฝ้าย/พอลิเอสเตอร์. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 40. สาขาเกษตรกรรมศาสตร์. หน้า 272-280.
- ณิชากร เจริญกุล อุดมลักษณ์ สุขอัติตะ ประภัสสร รักถาวร สิริพร ศิริวรรณ และอุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์. 2548. การพัฒนาเจลทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดพลู (*Piper betle* Linn.). การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 43. สาขาอุตสาหกรรมเกษตร. หน้า 363-370.
- ทรงศนีย์ พัฒนเสรี และ ชูจิตร อนันต์โชค. 2550. ประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซิส, น. 93-107. ใน วรกิจ สุนทรปุระ และ สุธี วิสุทธิเทพกุล, บรรณาธิการ. รายงานผลงานวิจัยประจำปี พ.ศ. 2550 เล่ม 2. สำนักวิจัยการจัดการป่าไม้และผลิตผลป่าไม้ กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ.
- ทรงศนีย์ พัฒนเสรี, วรินทร ขวศิริ และ ชูจิตร อนันต์โชค. 2550. น้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซิส, น. 109-118. ใน วรกิจ สุนทรปุระ และ สุธี วิสุทธิเทพกุล, บรรณาธิการ. รายงานผลงานวิจัยประจำปี พ.ศ. 2550 เล่ม 2. สำนักวิจัยการจัดการป่าไม้และผลิตผลป่าไม้ กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ.
- ทศวรรณ ศรีวะอุไร. 2547. การคัดเลือกจุลินทรีย์ผิวพืชเพื่อการควบคุมรา *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) สาเหตุโรคผลเน่าหลังการเก็บเกี่ยวของเงาะพันธุ์โรงเรียน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- นิตยา กันหลง. 2542. โรคสำคัญของพืชสกุลหอมกระเทียมในประเทศไทย. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 97 หน้า.
- นิพนธ์ วิสารทานนท์, 2546, โรคไม้ผลเขตร้อนและการป้องกันกำจัด, คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, 172 หน้า.
- อังศุมา ชยสมบัติ และ สมศิริ แสงโชติ. 2526. โรคผลเน่าของเงาะที่เกิดจากเชื้อรา *Botryodiplodia theobromae* Pat. ใน รายงานการประชุมวิชาการครั้งที่ 21 สาขาพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ :408-415.
- อังศุมา ชยสมบัติ. 2530. โรคหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะม่วงที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum loeosporioides* (Penz.) Sacc. และการควบคุม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท ภาควิชาโรคพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อุดมลักษณ์ สุขอัครตะ, วิชัย หฤทัยธนาสันต์ , งามผ่อง คงคาทิพย์ และอุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์. 2544. การออกฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อราบางชนิดของสารสกัดพลูที่ได้จากตัวทำลายเอทานอลและเอทานอลผสมกรด. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 39. สาขาวิทยาศาสตร์. หน้า 197-202.

อุดมลักษณ์ สุขอัครตะ, วิชัย หฤทัยธนาสันต์, งามผ่อง คงคาทิพย์, อนุวัตร แจ่มชัด, และอุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์. 2546. การพัฒนากระดาษฟางข้าวเคลือบน้ำมันพลูเพื่อยืดอายุการเก็บทุเรียนกวน. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 41. สาขาอุตสาหกรรมเกษตร. หน้า 251-258.

อุดมลักษณ์ สุขอัครตะ, อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์, ณิชากร เจริญกุล, ประภัสสร รักถาวร และ สิริพร ศิริวรรณ. 2547. ประสิทธิภาพของสารสกัดพลูและน้ำมันพลูในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังบางชนิด. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42. สาขาวิทยาศาสตร์. หน้า 299-301.

อุดมลักษณ์ สุขอัครตะ; วิชัย หฤทัยธนาสันต์; อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์ . 2548. การศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรบางชนิดในการยับยั้งเชื้อราที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียในผลิตภัณฑ์ขนมอบ. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 43 : สาขาสัตว สาขาอุตสาหกรรมเกษตร. หน้า 634-640.

อุดมลักษณ์ สุขอัครตะ; อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์; วุฒินันท์ คงทัด; วิชัย หฤทัยธนาสันต์; สุภานิดา บัวบาน. 2549. การพัฒนากระดาษฟางข้าวเคลือบน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรเพื่อยืดอายุการเก็บผลไม้กวน. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44 : สาขาอุตสาหกรรมเกษตร สาขาเศรษฐศาสตร์ สาขาบริหารธุรกิจ. หน้า 446-453.

อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์, สุภานิดา บัวบาน, นวลอนงค์ นาคคง, สุวรรณกมลรัตน์, อุไร สุวรรณวงศ์ และงามผ่องคงคาทิพย์. 2543. ผลของสารสกัดจากพืชที่มีต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus niger*. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 38. สาขาพืช. หน้า 333-337.

อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์, งามผ่อง คงคาทิพย์, อุดมลักษณ์ สุขอัครตะ, สุภานิดา บัวบาน, นวลอนงค์ นาคคง และ สุวรรณกมลรัตน์ 2543. การออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราบางชนิดของสารสกัดจากพลู. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 38. สาขาวิทยาศาสตร์. หน้า 515-522.

อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์, ประภัสสร รักถาวร และ อุดมลักษณ์ สุขอัครตะ. 2545. ผลของสารช่วยละลายที่มีต่อการออกฤทธิ์ของสารสกัดพลูและน้ำมันพลูต่อเชื้อราบางชนิด. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 40. สาขาวิทยาศาสตร์. หน้า 220-227.

อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์, อุดมลักษณ์ สุขอัครตะ, ประภัสสร รักถาวร, ยุพา มงคลสุข, สุดประสงค์ สุวรรณเลิศ และ นคร เหลืองประเสริฐ. 2546. การออกฤทธิ์ต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของน้ำมันพลู น้ำมันทีรี่ และ

น้ำมันเมล็ดขาว. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 41. สาขาวิทยาศาสตร์. หน้า 245-252.

อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์, ยุพา มงคลสุข, งามผ่อง คงคาทิพย์, อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ, วิภารัตน์ รัตนะ และ ประภัสสร รักถาวร. 2547. การออกฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดพลูในประเทศไทย. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42. สาขาวิทยาศาสตร์. หน้า 291-297.

Anonymous. xxxx. *Aspergillus niger*. Available source; : [www.cleanxcorp.com](http://www.cleanxcorp.com)

Anonymous. 2009. Content & Category. Available source; <http://www.halalthailand.com/healthy/subindex.php?page=content&category=&subcategory=&id=41>

Anonymous. 2009. *Lasiodiplodia theobromae*. Available source: [www.mycology.adelaide.edu.au/virg09.html](http://www.mycology.adelaide.edu.au/virg09.html).

Adisa VA, Fajola AO (1982). Post harvest fruit rots of three species of citrus in southwestern Nigeria. Indian Phytopathol. 35:595-603.

Akin-Osanaiye, B. C., Agbaji, A. S. & Dakare, M. A. (2007). Antimicrobial activity of oils and Extracts of *Cymbopogon citrates*, *Eucalyptus citriodora* and *Eucalyptus camaldulensis*. J. Med. Sci., 7: 694- 697.

Alexopoulos, S. C.J. 1962. Introductory Mycology. 2nd ed. John Wiley, New York.

Alvarez-Castellanos, P.P., C.D. Bishop and M.J. Pascual-Villalobos. 2001. Antifungal activity of the essential oils of flowerheads of garland chrysanthemum (*Chrysanthemum coronarium*) against agricultural pathogens. Phytochemistry 57 (1): 99-102.

Arfa, A. B., Chakrabandhu, Y., Presiozi-Belloy, L., Chalier, P., Gontard, N. 2007a. Coating papers with soy protein isolates as inclusion matrix of carvacrol. Food Res. Int. 40, 22-32.

Arfa, A. B., Presiozi-Belloy, L., Chalier, P., Gontard, N. 2007b. Antimicrobial paper based on a soy protein isolate or modified starch coating including carvacrol and cinnamaldehyde. J. Agric. Food. Chem. 55, 2155-2162.

Ayepola, O. O. and Adeniyi, B. A. (2008). The antibacterial activity of leaf extracts of *Eucalyptus camaldulensis* (Myrtaceae). J. of applied Sciences Research , 4(11):1410-1413.

- Babayi, H., I. Kolo, J.I. Okogun and U.J.J. Ijah. 2004. The antimicrobial activities of methanolic extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Terminalia catappa* against some pathogenic microorganisms. *Biokemistri*. 16 :106-11.
- Barnett, L. and B. B. Hunter. 1987. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. 4th ed. Macmillan Publishing Com., New York. 218 p.
- Benjaphorn P, Chutima K and Skorn M (2008). Antifungal Potential of Extracellular Metabolites Produced by *Streptomyces hygroscopicus* against Phytopathogenic Fungi. *In. J. Biol. Sci.* Vol.4(5): p. 330–337.
- Brophy, J.J., D.J. Boland and E.V. Lassak. 1989. Leaf Essential Oils of *Melaleuca* and *Leptospermum* Species from Tropical Australia. In *Tree for the Tropics: Growing Australia Multipurpose Trees and Shrubs in Developing Countries*. Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra, Monograph No. 10, p. 193-203.
- Brophy, J.J., Goldsack, R.J., Bean, A.R., Forster, P.I., Lepschi, B.J., 2000. Leaf essential oils of the genus *Leptospermum* (Myrtaceae) in eastern Australia. Part 6. *Leptospermum polygalifolium* and its allies. *Flavour and Fragrance J.* 15, 271–277.
- Boukhatem, M. N., F. M. Amine, A. Kameli, F. Saidi, K.Walid, S. B. Mohamed. 2014. Quality assessment of the essential oil from *Eucalyptus globulus* Labill of Blida (Algeria) origin. *International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy*. 36: 303-315.
- Chakrabarti, N. and B. Nandi. 1976. Qualitative estimation of enzyme in *Botryodiplodia theobromae* in culture. *Indian Phytopath.* 29: 431-432.
- Chana, C., Sangchote, S. and N. Farungsang. 1991. Control of rambutan and durian fruit rot after harvest, final report. Bangkok, Thailand, National Research Council. (in Thai)
- Christoph, F., Kaulfers, P.-M., Stahl-Biskup, E., 2000. A comparative study of the in vitro antimicrobial activity of tea tree oils s.l. with special reference to the activity of b-triketones. *Planta Medica* 66, 556–560.
- Cimanga, K., Kambu, K., Tona, L., Apers, S., De Bruyne, T., Hermans, N., Totte , J., Pieters, L., Vlietinck, A.J., 2002. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *J. Ethnopharm.* 79, 213–220.

- Dodd, J. C., D. Prusky and P. Jeffries. 1997. Fruit disease, pp. 257-280 *In* R. B. Litz ed. The Mango: Botany, Production and Uses. CAB International, Wallingford.
- Ekundayo, J. A. and R. H. Haskin. 1969. Pycnium production by *Botryodiplodia theobromae*, the relation of light to the induction of pycnidia. *Can. J. Bot.* 47: 1153-1156.
- Fadel, H., F. Marx, A. El-Sawy and A.El- Ghorab. 1999. Effect of extraction techniques on the chemical composition and antioxidant activity of *Eucalyptus camaldulensis* var. *brevirostris* leaf oils. *Z. Lebensm Unters Forsch A.* 208(3): 212-216.
- Falahati, M., N.O. Tabrizib and F. Jahaniani, 2005. Anti dermatophyte activities of *Eucalyptus camaldulensis* in comparison with Griseofulvin. *Iranian Journal Pharmacology & Therapeutics.* 4: 80-83
- Farr, D., G. F. Bills, G. P. Chamuris and A. Y. Rossman. 1989. *Fungi on Plants and Plant Products in the United States.* The American Phytopathology Society, St. Pual, Minnesota. 1252 p.
- Farrow, W. M. 1954. Tropical soil fungi. *Mycologia* 46: 632-646.
- Farungsang, U., S. sangchote and N. Farungsang. 1994. Rambutan postharvest disease in Thailand. *In* Johnson, G. I. and Highley, E., ed., *Development of Postharvest Handling Technology for Tropical Fruits: a Work Shop Held in Bangkok, Thailand, 16-18 July 1992.* ACIAR Proceedings No 58, 51-59.
- Fitzell, R. D., C. M. Peak and R. E. Darnell. 1981. A model for estimating infection levels of anthranose disease of mango. *Ann. Appl. Biol.* 140: 451-458.
- Ghosh, K. G., Srivatsava, A. N., Nirmala, N., Sharma, T. R., 1977. Development and application of fungistatic wrappers in food preservation. Part II. Wrappers made by coating process. *J. Food Sci. Technol.* 14, 261-264.
- Guillén, F., J. Zapata, D. Martínez-Romero, S. Castillo, M. Serrano and D. Valero. 2007. Improvement of the overall quality of table grapes stored under modified atmosphere packaging in combination with natural antimicrobial compounds. *J. Food Sci.* 72 (3): 185-190.

- Hong, J. K., H.J.Yang, H. Jung, D. J. Yoon, M. K. Sang and Y.-C. Jeun. 2015 Application of Volatile Antifungal Plant Essential Oils for Controlling Pepper Fruit Anthracnose by *Colletotrichum gloeosporioides*. The Plant Pathology Journal. 31-269-277
- Jacob, C.T., H.T. Brodrick, H. D. Swarts and N. J. Mulder. 1973. Control of postharvest decay of mango in South Africa. Plant Dis. Repr. 57: 173-176.
- Khwaldia, K., Arab-Tehrany, E., Desobry, S., 2010. Biopolymer coatings on paper packaging materials. Comprehensive Review in Food Science and Food Safety. 9, 82-91.
- Lee, C. H., An, D. S., Park, H. J., Lee, D. S., 2003. Wide-spectrum antimicrobial packaging materials incorporating nisin and chitosan in the coating. Packag. Technol. Sci. 16, 99-106.
- Lee, S.O., Choi, G.J., Jang, K.S., Lim, H.K., Cho, K.Y., Kim, J.-C., 2007. Antifungal activity of five plant essential oils as fumigant against postharvest and soilborne plant pathogenic fungi. Plant Pathol. J. 23, 97–102
- Lee, Y.S. J. Kim, S.C. Shin, S.G. Lee, I.K. Park. 2008. Antifungal activity of Myrtaceae essential oils and their components against three phytopathogenic fungi. Flavour and Fragrance Journal. 23, 23–28.
- Liu, W.T., C.L. Chu and T. Zhou. 2002. Thymol and acetic acid vapors reduce postharvest brown rot of apricot and plums. Hortic. Sci. 37: 151-156.
- Martínez-Romero, D., F. Guillén, J. Valverde, G. Bailén, P. Zapata, M. Serrano, S. Castillo and D. Valero. 2007. Influence of carvacrol on survival of *Botrytis cinerea* inoculated in table grapes. Int. J. Food Microbiol. 115 (2): 144-148.
- Muirhead, I. F. 1976. Post-harvest control of mango anthracnose with benomyl and hot water. Aust. J. exp. Agric. Anim. Husb. 16: 600-603.
- Nagaraja Rao, K. S., K. R. Sreekantiah and T. N. Ramachandra Rao. 1971. Postharvest infection of coconut kernel by *Botryodiplodia theobromae* and note on the hydrolytic enzyme secreted by the fungus. Indian Phytopath. 24: 815-819.
- Okamura, H.; Mimura, A.; Yakou, Y.; Niwano, M.; Takahara, Y. (1993). Antioxidant activity of tannins and flavonoids in *Eucalyptus rostrata*. Phytochemistry, 33, 557-561

- Oyen, L.P.A. and Nguyen Xuan Dung (ed.). 1999. Plant Resources of South-East Asia, No.19 Essential-oil plants. Prosea Foundation, Bogor, Indonesia. 126-135, 215-216 pp.
- Perdesimo, A. N., L. L. Ilag and S. Sangchot. 1984. Postharvest Pathology of Mango, pp. 53-62 In D. E. Mandoza, J. R. and R. H. B. Will ed. Mango: Fruit and Development, Postharvest Physiology and Marketing in ASEAN. ASEAN Food Handling, Bureau, Kuala Lumpur, Malasia.
- Peterson, R. A. 1984. Mango Disease: The Queensland experience. paper present at the First Austraria Mango research Work shop.
- Ploetz R.C. 2003. Diseases of Atemoya, Cherimoya, Soursop, Sugar Apple and Related Fruit Crops. University of Florida, Tropical Research and Education Center, Homestead, Florida, USA.
- Ramezani, H., H.P. Singh, D.R. Batish, R.K. Kohli, and J.S. Dargan., Fungicidal effect of volatile oil from *Eucalyptus Citriodora* and its major constituent citronellal. New Zealand Plant Protection 55:327-330.
- Rodriguez, A., Battle, R., Nerin, C., 2007. The use of natural essential oils as antimicrobial solutions in paper packaging. Part II. Prog. Org. Coat. 60, 33-38.
- Rodriguez, A., Nerin, C., Battle, R., 2008. New cinnamon-based active paper packaging against *Rhizopusstolonifer* Food Spoilage. J. Agric. Food Chem. 56, 6364-6369.
- Sangchote, C. Chuaiprasit and C. Chintana. 1985. Fruit rot of guava cause by *Botryodiplodia theobromae*. KURDI Annual Reporth 1984 -1945. Kasetsart University, Bangkok, Thailand(in Thai).
- Sangchote, S. 1987. Postharvest disease of mango fruits and their lossed. Kasetsart. (Natural Science) 21: 81-85.
- Sangchote, 1991. *Botryodiplodia* stem end rot of mangoe and its control. Acta Hort. 291:296-303.
- Serrano, M., D. Martinez-Romero, S. Castillo, F. Guillein and D. Valero. 2005. The use of natural antifungal compounds improves the beneficial effect of MAP in sweet cherry storage. Innov. Food Sci. Emerg. Technol. 6 (1): 115-123.

- Simmon, J. H. 1941. Latent infection in tropical fruit discussed in relation to the part played by species of *Gloeosporium* and *Colletotrichum*. Proc. R. Soc. Queensl 52: 92-120.
- Sahaf, B.Z., S Moharramipour. 2008. Fumigant toxicity of *Carum copticum* and *Vitex pseudo-negundo* essential oil against eggs, larvae and adults of *Callosobruchus maculatus*. Journal of pest science 81: 213-220
- Sherry, E., Boeck, H., Warnke, P.H., 2001. Topical application of a new formulation of eucalyptus oil phytochemical clears methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. Am. J. Infect. Control 29, 346.
- Smith, J.E. and J.C. Galbraith. 1971. Biochemical and physiological aspects of differentiation in the fungi. Advanc. Microbiol. Physiol: 5, 45-134.
- Srivastava, M. P. and R. N.Tandon. 1971. Effect of certain fungicides and an antibiotic against four isolate of *Botryodiplodia theobromae*. Indian Phytopath. 26: 56-62.
- Stevic, T., T.Beric, K. Savikin, M. Sokovic, D. GoCevac, I. Dimkic, S. Stankovic. 2014. Antifungal activity of selected essential oils against fungi isolated from medicinal plant. Industrial Crops and Products. 55: 116-122
- Sutton, B. C. 1980. The Coelomycetes Imperfecti with Pycnidia Acervuli and Stromata. Commonwealth Mycological Institute, Kew. 696 p.
- Tripathi, P., Dubey, N.K., Shukla, A.K., 2008. Use of some essential oils as postharvest botanical fungicides in the management of grey mould of grapes caused by *Botrytis cinerea*. World J. Microbiol. Biotech. 24, 39-46.
- Tandon, J. W. and B.B. Singh. 1968. Control of mango anthracnose (*C. gloeosporioides*) by fungicides. Indian Phytopathology 21: 212-216.
- Taubenhaus. 1915. The probable non-validity of the genera *Botryodiplodia*, *Diplodiella*, *Chaetodiplodia* and *Lasiodiplodia*. American. Journal of Botany. 2 : 324-331.
- Tricita, H.Q. and A. J. Quimio. 1974. Pathogenicity of mango anthracnose. Philippines Agriculturist 58: 323-329.

- Tripathi, P., Dubey, N.K., Shukla, A.K., 2008. Use of some essential oils as postharvest botanical fungicides in the management of grey mould of grapes caused by *Botrytis cinerea*. *World J. Microbiol. Biotech.* 24, 39–46.
- Trivedi, N.A., Hotchandani, S.C., 2004. A study of the antimicrobial activity of oil of *Eucalyptus*. *Indian J. Pharmacol.* 36, 93–94.
- Tzortzakis, N.G., 2007. Maintaining postharvest quality of fresh produce with volatile compounds. *Innovative Food Sci. Emerging Technol.* 8, 111–116.
- Uhm, K. H., I. P. Ahn, S. Kim and Y. H. Lee. 2003. Calcium/calmodulin-dependent signaling for penetration development in *Colletotrichm gloeosporioides*. *Phytopathology* 93: 82-87.
- Vatiainen, J., Motion, R., Kulonen, H., Ratto, M., Skytta, E., Ahvenainen, R., 2004. Chitosan-coated paper: effects of nisin and different acids on the antimicrobial activity. *J. Appl. Polym. Sci.* 94, 986-993.
- Valero, D., J.M. Valverde, D. Martínez -Romero, F. Guillén, S. Castillo and M. Serrano. 2006. The combination of modified atmosphere packaging with eugenol or thymol to maintain quality, safety and functional properties of table grapes. *Postharvest Biol. Technol.* 41: 317-327.
- Verhoeff, K. 1974. Latent infection by fungi. *Ann. Rev. Phytopath.* 12: 99-110.
- Vyas, N. L. and K. S. Panwar. 1976. Some new postharvest disease of fruits. *Indian Phytopath.* 29: 94-95.

ภาคผนวก  
วิธีการวิเคราะห์คุณสมบัติเชิงกลของกระดาษ

การปรับสภาพแผ่นเยื่อทดสอบ (Conditioning)

ตามวิธีมาตรฐานของ TAPPI T 402 om-93

เครื่องมือ

เครื่องควบคุมปริมาณความชื้นสัมพัทธ์

อุปกรณ์ในการวัดขนาดและตัดขนาดตัวอย่างแผ่นเยื่อ

วิธีการทดลอง

1. เปิดเครื่องควบคุมความชื้นสัมพัทธ์และอุณหภูมิโดยต้องปรับให้ได้ความชื้นและอุณหภูมิตามมาตรฐานได้แก่ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ  $50.0 \pm 2.0$  อุณหภูมิ  $23.0 \pm 1.0$  องศาเซลเซียส
2. ตัดตัวอย่างสำหรับทดสอบตามขนาดและจำนวนที่ต้องการ
3. นำแผ่นเยื่อมาผึ่งไว้ในห้องควบคุมสภาวะอย่างน้อย 24 ชั่วโมง

## น้ำหนักมาตรฐานของแผ่นเยื่อทดสอบ (Basis Weight)

ตามวิธีมาตรฐานของ TAPPI T 410 om-88

### เครื่องมือ

เครื่องชั่งความละเอียด 0.01 กรัม

### วิธีการทดลอง

ชั่งน้ำหนักแผ่นเยื่อทดสอบใช้เครื่องชั่งความละเอียด 0.01 กรัม

### การคำนวณ

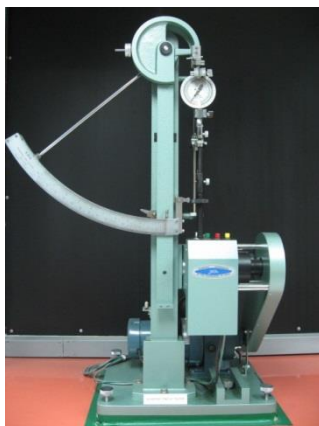
$$\text{น้ำหนักมาตรฐานของแผ่นเยื่อ (g/m}^2\text{)} = \frac{\text{น้ำหนักของแผ่นเยื่อ(g)}}{\text{พื้นที่ของแผ่นเยื่อ (m}^2\text{)}}$$

## ดัชนีความต้านทานต่อแรงดึง (Tensile Index)

ตามวิธีของ TAPPI T 404

### เครื่องมือ

เครื่องทดสอบความต้านทานแรงดึงของกระดาษ (Schopper Tensile Tester, Kumagai Riki Kogyo)



### วิธีการทดลอง

1. ตัดชิ้นกระดาษทดสอบขนาดกว้าง 15 มิลลิเมตรยาว 150 มิลลิเมตร
2. นำชิ้นกระดาษมาทดสอบโดยหนีบปลายของชิ้นทดสอบกับที่ยึดกระดาษที่อยู่ด้านบนของเครื่องทดสอบซึ่งจะต้องทำการล็อกให้ที่ยึดกระดาษอยู่กับที่ก่อนจึงหนีบกระดาษ
3. ตั้งเครื่องมือให้เข็มอ่านค่าแรงดึงอยู่ที่เลข 0 ระยะห่างระหว่างที่ยึดกระดาษทั้งสองตัวเท่ากับ 10 เซนติเมตรคลายล็อกที่ยึดกระดาษด้านบนให้เป็นอิสระ
4. สอดปลายกระดาษแถบที่ 1 เข้ามาที่ยึดกระดาษตัวล่างและหนีบให้แน่น
5. เปิดเครื่องทดสอบมอเตอร์จะดึงที่ยึดกระดาษตัวล่างลงมาเรื่อยๆจนกระทั่งกระดาษขาดเข็มชี้ค่าตัวเลขของแรงดึงและการยึดตัวจะอยู่กับที่จากนั้นปิดเครื่องและอ่านค่าความต้านทานที่ได้เป็นกิโลกรัม
6. ทำซ้ำอีกครั้งกับชิ้นตัวอย่างที่เหลือ

### การคำนวณ

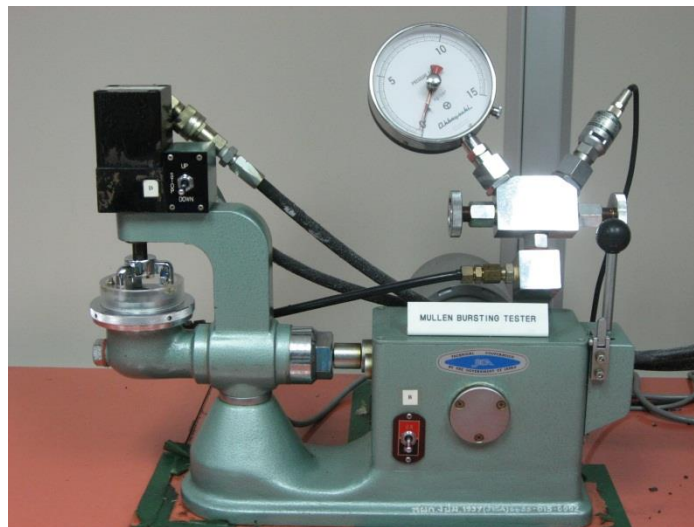
$$\text{ดัชนีความต้านทานแรงดึง (Tensile Index)} = \frac{653.8 \times \text{แรงที่ใช้ดึงตัวอย่าง (kg)}}{\text{น้ำหนักมาตรฐาน (g/m}^2\text{)}} \\ (\text{N.m/g})$$

## ดัชนีความต้านทานแรงดันให้ขาดทะเล (Burst Index)

ตามวิธีมาตรฐานของ TAPPI T 403 om-97

### เครื่องมือ

เครื่องทดสอบความต้านทานแรงดันทะเล (Mullen bursting strength tester, Kumagai Riki Kogyo)



### วิธีการทดลอง

1. ตัดชิ้นทดสอบขนาดสี่เหลี่ยมจัตุรัสกว้าง 10 เซนติเมตรปรับสภาพตามวิธีข้างต้น
2. สอดแผ่นกระดาษเข้าไประหว่างวงแหวนดันตัวหนีบลมมาหนีบกระดาษ
3. ดันคันโยกไปทางซ้ายลมจะถูกดันเข้ามาจนกระดาษแตกคันโยกกลับไปทางขวาเอากระดาษออกจากที่ยึดทำการทดสอบซ้ำจนครบ

### การคำนวณ

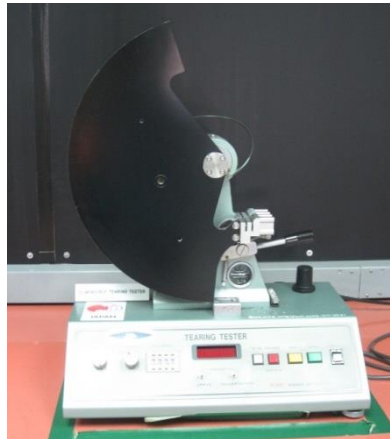
$$\begin{array}{l} \text{ดัชนีความต้านทานแรงดันทะเล (Burst Index)} \\ \text{(kPa.m}^2\text{/g)} \end{array} = \frac{\text{ความต้านทานแรงดันทะเล(kPa)}}{\text{น้ำหนักมาตรฐาน(g/m}^2\text{)}}$$

## ดัชนีความต้านทานต่อแรงฉีกขาด (Tear Index)

ตามวิธีมาตรฐาน TAPPI T414 om-88

### เครื่องมือ

เครื่องวัดความต้านทานแรงฉีกขาด (Tearing Strength Tester, Kumagai Riki Kogyo)



### วิธีการทดลอง

1. ตัดชิ้นทดสอบขนาดกว้าง 6.3 เซนติเมตรยาว 10 เซนติเมตรปรับสภาวะของชิ้นทดสอบตามวิธีข้างต้น
2. เปิดเครื่องทดสอบทิ้งไว้ประมาณ 30 นาทีปล่อยให้ลูกตุ้มเหวี่ยงและทำการปรับค่าให้เป็น 0 (adj.zero)
3. ดันลูกตุ้มกลับเข้าที่ในสภาพเครื่องพร้อมใช้นำแผ่นเยื่อมาหนีบกับที่ยึดกระดาษกดใบมีดกรีดนำร่อง กดปุ่มคลายลอคให้ลูกตุ้มเคลื่อนตัวอิสระที่ยึดกระดาษจะเคลื่อนตามทำให้เกิดแรงฉีกกระดาษจะฉีกออกจากกัน
4. ลูกตุ้มจะแกว่งไปมาอย่างอิสระทำการหยุดลูกตุ้มด้วยความระมัดระวังอ่านค่าจากเครื่องในหน่วยมิลลินิวตัน
5. ทำการทดสอบซ้ำในตัวอย่างถัดไป

### การคำนวณ

$$\begin{aligned} \text{ดัชนีต้านทานแรงฉีกขาด (Tear Index)} &= \frac{9.807 \times \text{แรงในการฉีกขาด (g)}}{\text{น้ำหนักมาตรฐานของแผ่นเยื่อ (g/m}^2\text{)}} \\ (\text{mN.m/g}) & \end{aligned}$$

## ความต้านทานการหักพับของกระดาษ (Folding Endurance)

ตามวิธีมาตรฐานของ (TAPPI T543 om-00,2000)

### เครื่องมือ

เครื่องทดสอบความต้านทานการหักพับของกระดาษ



### วิธีการทดลอง

1. ตัดชิ้นทดสอบขนาดกว้าง 15 มิลลิเมตรยาว 150 มิลลิเมตรทำการปรับสภาวะชิ้นทดสอบ
2. สอดชิ้นทดสอบกับที่หนีบกระดาษด้านบนหมุนล้อคให้แน่น
3. กดตุ้มน้ำหนักที่ 1 กิโลกรัมหมุนปุ่มล้อคไว้สอดปลายกระดาษกับที่หนีบด้านล่างหมุนปุ่มล้อค
4. คลายล้อคตุ้มน้ำหนักด้านบนกดปุ่มทดสอบกระดาษจะถูกพับไปมาทางซ้ายและขวาจนขาดบันทึกจำนวนครั้งที่พับ

## ค่าการดูดซึมน้ำ (Cobb Test)

ตามวิธีมาตรฐานของ (TAPPI T491)

### เครื่องมือ

อุปกรณ์ Cobb Test



### วิธีการทดลอง

ชั่งน้ำหนักกระดาษเริ่มต้น ( $12.5 \times 12.5 \text{ cm}^2$ ), การใช้อุปกรณ์ cobb test โดยเทน้ำปริมาตร 100 ml ลงในอุปกรณ์ทดสอบ วางกระดาษโดยเอาด้านที่เคลือบผิวเป็นด้านที่สัมผัสกับน้ำ ปิดฝาชุดทดสอบให้แน่นแล้วคว่ำชุดทดสอบอย่างรวดเร็ว จับเวลา หลังจากนั้นรีบพลิกชุดทดสอบขึ้นอย่างรวดเร็วเปิดฝาเอากระดาษออก นำกระดาษด้านที่เปียกน้ำไปซับกับกระดาษซับที่เตรียมไว้โดยใช้ลูกกลิ้งช่วยในการรีดน้ำออก นำไปชั่งน้ำหนัก ค่าการดูดซึมน้ำในหน่วย กรัม/ตารางเมตร หาได้จากสูตร

$$\text{ค่าการดูดซึมน้ำ (g/m}^2\text{)} = (\text{น้ำหนักหลังทดสอบ} - \text{น้ำหนักเริ่มต้น}) / \text{น้ำหนักเริ่มต้น} \times 100$$