



ใบรับรองวิทยานิพนธ์  
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ปริญญา

เทคโนโลยีชีวภาพ

เทคโนโลยีชีวภาพ

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของเชื้อราในถั่วลิสงด้วยสารสกัดสมุนไพร

Inhibition of Fungal Growth and Aflatoxin Production in Peanuts (*Arachis hypogaea* L.) by Herb Extracts

นามผู้วิจัย นางสาวกนกพร พูลผล

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

( รองศาสตราจารย์เพ็ญแข วันไชยธนวงศ์, Ph.D. )

หัวหน้าภาควิชา

( ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุทธิพันธุ์ แก้วสมพงษ์, Ph.D. )

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

( รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr. )

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

สิงสถิตี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของเชื้อราในถั่วลิสงด้วยสารสกัดสมุนไพร

Inhibition of Fungal Growth and Aflatoxin Production in Peanuts (*Arachis hypogaea* L.) by Herb Extracts

โดย

นางสาวกนกพร พูลผล

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

พ.ศ. 2555

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กนกพร พูลผล 2555: การยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของเชื้อราในถั่ว  
ลิสงด้วยสารสกัดสมุนไพร ปริญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) สาขา  
เทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก:  
รองศาสตราจารย์เพ็ญแข วันไชยธนวงศ์, Ph.D. 111 หน้า

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ เพื่อหาค่าฤทธิ์การยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ของสารสกัดพืชสมุนไพรไทย 10 ชนิด (กานพลู จิง  
ตะไคร้หอม พริกไทยดำ พริกหอม พลู ราชพฤกษ์ สีเสียดเทศ หม่อนและอบเชย) โดยใช้วิธี agar  
well diffusion นอกจากนี้ยังศึกษาผลของตัวทำละลาย (เฮกเซน คลอโรฟอร์ม เอทานอลและน้ำ)  
ต่อฤทธิ์การยับยั้งเชื้อราของสารสกัด ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบของพืช  
สมุนไพรทุกชนิดมีความสามารถในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อรา และประสิทธิภาพของสาร  
สกัดแปรตามชนิดของพืชสมุนไพรและตัวทำละลายที่ใช้ ที่ความเข้มข้น 4000 ppm สารสกัด  
กานพลู (คลอโรฟอร์ม และเอทานอล) สารสกัดพลู (เฮกเซน คลอโรฟอร์ม เอทานอล และน้ำ) สาร  
สกัดราชพฤกษ์ (น้ำ) และสารสกัดหม่อน (น้ำ) สามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อราทั้งสองชนิดได้  
อย่างสมบูรณ์ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดเฮกเซนของกานพลูมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราทั้งสองชนิดได้ดี  
ที่สุดด้วยค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อราได้ (minimum fungicidal concentration: MFC) เท่ากับ  
250 ppm ตามด้วยสารสกัดเอทานอลและน้ำของพลู (1000 ppm) สารสกัดเอทานอลของกานพลู  
สารสกัดเฮกเซนและคลอโรฟอร์มของพลู สารสกัดด้วยน้ำของราชพฤกษ์ (4000 ppm) ในขณะที่  
สารสกัดด้วยน้ำของหม่อนสามารถยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์เฉพาะ *A. flavus* TISTR 3366 (4000  
ppm) นอกจากนี้ยังศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 8 ชนิดนี้ในการยับยั้งการเติบโต  
ของเชื้อราและการผลิตอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงภายใต้สภาวะการเดิมเชื้อรา พบว่าสารสกัด  
สมุนไพรทั้งหมดสามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อราในถั่วลิสงได้ใกล้เคียงกับสารเคมี (captan และ carbendazim) การผลิตอะฟลาทอกซินจะอยู่ในช่วง 4.88–12.66 ppb ในระหว่างการเก็บรักษา  
32 วัน นอกจากนี้สารสกัดเหล่านี้ยังสามารถควบคุมเชื้อราและอะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์ถั่ว  
ลิสงป่น โดยเฉพาะสารสกัดเอทานอลของกานพลู สารสกัดเอทานอลและคลอโรฟอร์มของพลู  
และสารสกัดด้วยน้ำของราชพฤกษ์ เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงป่นเป็นเวลา 96 วัน พบปริมาณอะฟ  
ลาทอกซินอยู่ในช่วง 18.98–19.89 ppb ซึ่งเป็นค่าที่ต่ำกว่ามาตรฐาน (20 ppb)

Kanokporn Phoonpool 2012: Inhibition of Fungal Growth and Aflatoxin Production in Peanuts (*Arachishypogaea* L.) by Herb Extracts. Master of Science (Biotechnology), Major Field: Biotechnology, Department of Biotechnology. Thesis Advisor: Associate Professor Penkhae Wanchaitanawong, Ph.D. 111 pages.

The objective of the present study was to investigate the antifungal activity of 10 Thai herb extracts (clove, ginger, citronella, black pepper, betel, golden shower, gambir, mulberry and cinnamon) against *Aspergillus flavus* TISTR 3366 and *A. parasiticus* TISTR 3276 using agar well diffusion method. Effect of various solvents (hexane, chloroform, ethanol and water) on the antifungal activity was also evaluated. Results showed that all crude extracts of the plants demonstrated ability to inhibit the fungal growth and their efficacy depended on type of herb and solvent used. At concentration 4000 ppm, clove extracts (chloroform and ethanol), betel extracts (hexane, chloroform, ethanol and water), golden shower extract (water) and mulberry extract (water) could completely inhibit growth of tested fungi. Furthermore, hexane extract of clove was found to have the highest antifungal activity against test fungi with minimum fungicidal concentration (MFC) of 250 ppm followed by ethanol and water extracts of betel (1000 ppm), ethanol extract of clove, hexane and chloroform extracts of betel, water extract of golden shower (4000 ppm), respectively. While, water extract of mulberry could completely inhibit against only *A. flavus* TISTR 3366 (4000 ppm). In addition, the efficacy of 8 herb extracts for fungal growth and aflatoxin production in peanut were also studied. It was found that all herb extracts could inhibit growth of the fungi and aflatoxin production which was closed to systhetic chemical (captafol and carbendazim). Aflatoxin production was 4.88–12.66 ppb during 32 days storage. Moreover, these herb extracts could control fungal growth and aflatoxin production in peanut powder product, especially, ethanol extract of clove and betel, chloroform extract of betel and water extract of golden shower. The level of aflatoxin of 18.98–19.89 ppb in peanut powder product was observed for 96 days storage, which was lower than standard level (20 ppb).

---

Student' signature

---

Thesis Adivisor's signature

## กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. เพ็ญแข วันไชยธนวงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่ให้คำปรึกษาเสนอแนะแนวทางวิจัย ตลอดจนตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ และกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ณัฏฐภัทร จินดา ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ครุณี ศรีชนะ ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่กรุณาให้คำแนะนำเพิ่มเติมในการทำวิจัย ตลอดจนตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ได้ให้กำลังใจ และส่งเสริมการศึกษาของข้าพเจ้าด้วยดีตลอดมา ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพทุกท่าน ที่ได้สั่งสอนและมอบความรู้อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่ง รวมทั้งเจ้าหน้าที่ของภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพทุกท่าน ที่อำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยเป็นอย่างดีตลอดมา และขอขอบคุณสำหรับกำลังใจและความช่วยเหลือของเพื่อนๆ พี่ น้องในภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

กนกพร พูลผล  
พฤษภาคม 2555

## สารบัญ

|                                                                                                                                                        | หน้า |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| สารบัญ                                                                                                                                                 | (1)  |
| สารบัญตาราง                                                                                                                                            | (2)  |
| สารบัญภาพ                                                                                                                                              | (3)  |
| คำนำ                                                                                                                                                   | 1    |
| วัตถุประสงค์                                                                                                                                           | 3    |
| การตรวจเอกสาร                                                                                                                                          | 4    |
| อุปกรณ์และวิธีการ                                                                                                                                      | 30   |
| อุปกรณ์                                                                                                                                                | 30   |
| วิธีการ                                                                                                                                                | 32   |
| ผลและวิจารณ์                                                                                                                                           | 38   |
| สรุปและข้อเสนอแนะ                                                                                                                                      | 71   |
| สรุป                                                                                                                                                   | 71   |
| ข้อเสนอแนะ                                                                                                                                             | 72   |
| เอกสารและสิ่งอ้างอิง                                                                                                                                   | 73   |
| ภาคผนวก                                                                                                                                                | 95   |
| ภาคผนวก ก การอ่านผลของอะฟลาทอกซิน                                                                                                                      | 96   |
| ภาคผนวก ข ดัชนีการยับยั้งการเติบโตของเชื้อราด้วยสารสกัดสมุนไพร                                                                                         | 99   |
| ภาคผนวก ค ผลของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ <i>A. flavus</i> TISTR 3366 และ <i>A. parasiticus</i> TISTR 3276 ในถั่วลิสง | 106  |
| ประวัติการศึกษาและการทำงาน                                                                                                                             | 111  |

## สารบัญตาราง

| ตารางที่            |                                                                                                                                      | หน้า |
|---------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1                   | ผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรที่พบการปนเปื้อนของ <i>Aspergillus</i> spp.                                                                      | 11   |
| 2                   | ปริมาณอะฟลาทอกซินที่อนุญาตให้มีได้สูงสุด                                                                                             | 12   |
| 3                   | องค์ประกอบของพืชสมุนไพร                                                                                                              | 14   |
| 4                   | สมุนไพรและเครื่องเทศที่สามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อรา                                                                              | 23   |
| 5                   | พืชสมุนไพรที่ใช้ในการทดลอง                                                                                                           | 30   |
| 6                   | ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพรด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ                                                                            | 40   |
| 7                   | ค่า MFC ของสารสกัดสมุนไพรและสารเคมี                                                                                                  | 62   |
| <b>ตารางผนวกที่</b> |                                                                                                                                      |      |
| ข1                  | ดัชนีการยับยั้งการเติบโตของเชื้อราด้วยสารสกัดสมุนไพร                                                                                 | 100  |
| ค1                  | ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ <i>A. flavus</i> TISTR 3366 ในถั่วลิสงภายใต้สภาวะการเดิมเชื้อ      | 107  |
| ค2                  | ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ <i>A. parasiticus</i> TISTR 3276 ในถั่วลิสงภายใต้สภาวะการเดิมเชื้อ | 108  |
| ค3                  | ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งการเติบโตของ <i>Aspergillus</i> spp. ในผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงปนระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง         | 109  |
| ค4                  | ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อการผลิตอะฟลาทอกซินของ <i>Aspergillus</i> spp. ในผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงปนระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง          | 110  |

## สารบัญภาพ

| ภาพที่                                                                                                                                                               | หน้า |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1 ลักษณะของไซโตพลาสซึมกิมเมมเบรน                                                                                                                                     | 5    |
| 2 โครงสร้างโมเลกุลของอะพลาทอกซิน                                                                                                                                     | 7    |
| 3 การทดสอบการยับยั้งการเติบโตของ <i>A. flavus</i> TISTR 3366 ด้วยสารสกัดสมุนไพร ที่ระดับความเข้มข้น 4000 ppm                                                         | 33   |
| 4 การทดสอบการยับยั้งการเติบโตของ <i>A. flavus</i> TISTR 3366 ด้วยสารสกัดสมุนไพรที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ                                                              | 34   |
| 5 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพร ในการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะพลาทอกซินของ <i>A. flavus</i> TISTR 3366 ในถั่วลิสงภายใต้สภาวะการเดิมเชื้อ                   | 35   |
| 6 ผลของตัวทำละลายต่อประสิทธิภาพของสารสกัดกานพลูในการยับยั้งการเติบโตของ <i>A. flavus</i> TISTR 3366 และ <i>A. parasiticus</i> TISTR 3276 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ    | 41   |
| 7 ผลของตัวทำละลายต่อประสิทธิภาพของสารสกัดขิงในการยับยั้งการเติบโตของ <i>A. flavus</i> TISTR 3366 และ <i>A. parasiticus</i> TISTR 3276 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ       | 42   |
| 8 ผลของตัวทำละลายต่อประสิทธิภาพของสารสกัดตะไคร้หอมในการยับยั้งการเติบโตของ <i>A. flavus</i> TISTR 3366 และ <i>A. parasiticus</i> TISTR 3276 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ | 45   |
| 9 ผลของตัวทำละลายต่อประสิทธิภาพของสารสกัดพริกไทยดำในการยับยั้งการเติบโตของ <i>A. flavus</i> TISTR 3366 และ <i>A. parasiticus</i> TISTR 3276 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ | 46   |
| 10 ผลของตัวทำละลายต่อประสิทธิภาพของสารสกัดพริกหอมในการยับยั้งการเติบโตของ <i>A. flavus</i> TISTR 3366 และ <i>A. parasiticus</i> TISTR 3276 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ  | 49   |

## สารบัญภาพ (ต่อ)

| ภาพที่                                                                                                                                                               | หน้า |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 11 ผลของตัวทำลายต่อประสิทธิภาพของสารสกัดพลูในการยับยั้งการเติบโตของ <i>A. flavus</i> TISTR 3366 และ <i>A. parasiticus</i> TISTR 3276 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ        | 51   |
| 12 ผลของตัวทำลายต่อประสิทธิภาพของสารสกัดราชพฤกษ์ในการยับยั้งการเติบโตของ <i>A. flavus</i> TISTR 3366 และ <i>A. parasiticus</i> TISTR 3276 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ   | 53   |
| 13 ผลของตัวทำลายต่อประสิทธิภาพของสารสกัดสีเสียดเทศในการยับยั้งการเติบโตของ <i>A. flavus</i> TISTR 3366 และ <i>A. parasiticus</i> TISTR 3276 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ | 57   |
| 14 ผลของตัวทำลายต่อประสิทธิภาพของสารสกัดหม่อนในการยับยั้งการเติบโตของ <i>A. flavus</i> TISTR 3366 และ <i>A. parasiticus</i> TISTR 3276 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ      | 58   |
| 15 ผลของตัวทำลายต่อประสิทธิภาพของสารสกัดอบเชยในการยับยั้งการเติบโตของ <i>A. flavus</i> TISTR 3366 และ <i>A. parasiticus</i> TISTR 3276 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ      | 59   |
| 16 ผลของสารเคมีต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งการเติบโตของ <i>A. flavus</i> TISTR 3366 และ <i>A. parasiticus</i> TISTR 3276 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ                      | 60   |
| 17 ผลของสารสกัดสมุนไพรและสารเคมีต่อการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ <i>A. flavus</i> TISTR 3366 ในถั่วลิสงภายใต้สภาวะการเติมเชื้อ                         | 65   |
| 18 ผลของสารสกัดสมุนไพรและสารเคมีต่อการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ <i>A. parasiticus</i> TISTR 3276 ในถั่วลิสงภายใต้สภาวะการเติมเชื้อ                    | 66   |
| 19 ผลของสารสกัดกานพลูต่อการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ <i>Aspergillus</i> spp. ในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงป่นที่อุณหภูมิห้อง                        | 68   |
| 20 ผลของสารสกัดพลูต่อการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ <i>Aspergillus</i> spp. ในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงป่นที่อุณหภูมิห้อง                           | 68   |

## สารบัญภาพ (ต่อ)

| ภาพที่     |                                                                                                                                              | หน้า |
|------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 21         | ผลของสารสกัดราชพฤกษ์ต่อการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ <i>Aspergillus</i> spp. ในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงป่นที่อุณหภูมิห้อง | 69   |
| 22         | ผลของสารสกัดหม่อนต่อการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ <i>Aspergillus</i> spp. ในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงป่นที่อุณหภูมิห้อง    | 69   |
| ภาพผนวกที่ |                                                                                                                                              |      |
| ก1         | กราฟมาตรฐานอะฟลาทอกซิน                                                                                                                       | 198  |

## การยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของเชื้อรา ในถั่วลิสงด้วยสารสกัดสมุนไพร

### Inhibition of Fungal Growth and Aflatoxin Production in Peanuts (*Arachis hypogaea* L.) by Herb Extracts

#### คำนำ

อะฟลาทอกซินเป็นสารพิษที่ผลิตโดยเชื้อรา เช่น *Aspergillus flavus* และ *A. paraciticus* จัดเป็นสารเมแทบอลิท์ที่มีฤทธิ์ก่อมะเร็งและก่อกลายพันธุ์ในมนุษย์และสัตว์ โรคที่ตรวจพบในมนุษย์เนื่องมาจากอะฟลาทอกซิน ได้แก่ โรคมะเร็งตับ โรคตับอักเสบ โรคสมองอักเสบ อะฟลาทอกซินมักพบในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร ได้แก่ ถั่วลิสง ธัญพืช เครื่องเทศ ผลไม้และผลิตภัณฑ์ อะฟลาทอกซินนับเป็นอันตรายที่สำคัญและก่อให้เกิดความเสี่ยงในห่วงโซ่อาหารที่มีผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์และสัตว์ ในประเทศไทยวัตถุดิบอาหารสัตว์ทั้งที่ผลิตในประเทศและนำเข้าจากต่างประเทศมีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนของเชื้อราและสารพิษอะฟลาทอกซินสูง เนื่องจากสภาพแวดล้อม เช่น ความชื้น อุณหภูมิ ที่เอื้อต่อการเติบโตของเชื้อราและการผลิตสารพิษชนิดนี้ตั้งแต่กระบวนการผลิต การเก็บเกี่ยว และการเก็บรักษา จากรายงานของเขาวมาลย์ และคณะ (2540) พบว่าถั่วลิสงมีปริมาณอะฟลาทอกซินสูงถึง 200–1500 ppb เมื่อสัตว์บริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินเป็นประจำจะมีผลต่อสุขภาพของสัตว์และผลผลิต และยังเป็นอันตรายต่อมนุษย์ เนื่องจากสารพิษนี้สามารถถ่ายทอดสู่น้ำนมสัตว์ เนื้อสัตว์ และไข่ (Ramos and Hernandez, 1997) นอกจากนี้การปนเปื้อนของเชื้อราและอะฟลาทอกซินยังพบในผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ เช่น นมยูเอชที นมพาสเจอร์ไรส์ เนยถั่วลิสง ชอสถั่วเหลือง และข้าวหมาก (เกศรินทร์, 2552) ดังนั้นการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินจึงถือได้ว่าเป็นปัญหาสำคัญต่อความปลอดภัยของอาหารที่เกี่ยวข้องกับสุขภาพของผู้บริโภคโดยตรงและยังเป็นปัญหาที่ถูกนำมาใช้เป็นเครื่องกีดกันทางการค้าส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจของประเทศ หากผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรไม่ได้มาตรฐานตามข้อกำหนดก็จะถูกส่งคืน ในแต่ละประเทศจะมีค่ากำหนดมาตรฐานของปริมาณอะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์แตกต่างกัน โดยประเทศไทยตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 พ.ศ. 2529 กำหนดให้มีสารอะฟลาทอกซินได้ไม่เกิน 20 ppb หรือ 20 ไมโครกรัมต่อ 1 กิโลกรัมของอาหาร การป้องกันการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรมีหลายแนวทาง ได้แก่ การเก็บรักษาใน

สภาวะความชื้นสัมพัทธ์ต่ำกว่า 70 % การใช้สารต้านเชื้อรา (Coker *et al.*, 1984) สารอินทรีย์บางชนิด เช่น กรดโพรพิโอนิก (propionic acid), แอมโมเนีย (ammonia), คอปเปอร์ซัลเฟต (copper sulfate), กรดเบนโซอิก (benzoic acid) และสารสกัดจากพืชสมุนไพร (Gowda *et al.*, 2004)

ปัจจุบันมีรายงานเกี่ยวกับการใช้สมุนไพรหลายชนิดมาใช้ในการยับยั้งจุลินทรีย์ในอาหารหรือจุลินทรีย์ก่อโรคเพิ่มขึ้น เพื่อลดการใช้สารเคมีสังเคราะห์ เพราะสารเคมีอาจจะเกิดการสะสมในผลิตภัณฑ์และสิ่งแวดล้อม อันเป็นเหตุให้มนุษย์เสี่ยงต่ออันตรายที่เกิดจากสารพิษตกค้างของสารเคมีนั้น (Arora and Kaur, 1999) โดยพืชสมุนไพรและเครื่องเทศที่เป็นแหล่งสำคัญของสารต้านเชื้อรา ได้แก่ กระเทียม หัวหอม กานพลู พริก ข่า ขมิ้น มะนาว และตะไคร้ เป็นต้น (กมลชัย และคณะ, 2550; ศรีอยุธยา และคณะ, 2552; Thanaboripat *et al.*, 1997) สารสำคัญที่มีความสามารถในการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* ได้แก่ eugenol, chavicol และ eugenol acetate จากกานพลู (Joseph and Sujatha, 2011) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพรในการควบคุมเชื้อ *Aspergillus* spp. และลดการผลิตอะฟลาทอกซินในถั่วลิสง เพื่อเป็นแนวทางที่จะใช้ประโยชน์จากพืชสมุนไพรทดแทนสารเคมีสังเคราะห์ที่ใช้ในปัจจุบัน

## วัตถุประสงค์

1. ศึกษาผลของชนิดตัวทำลายต่อประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276
2. หาคความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อราได้ (minimum fungicidal concentration: MFC) ของสารสกัดสมุนไพร
3. ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ในถั่วลิสงภายใต้สภาวะการเดิมเชื้อ
4. ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ *Aspergillus* spp. ในผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงปนระหว่างการเก็บรักษา

## การตรวจเอกสาร

### 1. เชื้อราและอะฟลาทอกซิน

เชื้อราเป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่มีกปนเปื้อนในอาหารของมนุษย์และสัตว์ เชื้อราบางชนิดทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งทางเคมีและกายภาพ ทางด้านกลิ่น รส สี และลักษณะเนื้อสัมผัสที่เปลี่ยนไปจากเดิม แต่มีเชื้อราอีกหลายชนิดที่สร้างสารพิษได้ เช่น สารพิษอะฟลาทอกซิน ออกราทอกซิน ฟูโมนิซิน เป็นต้น แล้วปล่อยออกมาปะปนกับอาหารด้วย ส่งผลให้เป็นอันตรายต่อมนุษย์และสัตว์ได้ เชื้อราสำคัญที่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน ได้แก่ *A. flavus* และ *A. parasiticus* เชื้อราชนิดนี้จัดอยู่ในไฟลัม *Ascomycota*, sub division *Deuteromycotina*, class *Hyphomycetes* (Alexopoulos *et al.*, 1996) ลักษณะทั่วไปคือ เส้นใยที่เติบโตไม่มีสีหรือมีสีอ่อน เมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นสีเขียวและท้ายสุดจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้ม มีผนังกัน ก้านชูสปอร์หรือโคนิดิโอฟอร์ (conidiophores) มีลักษณะเป็นก้านยาว ตรง ส่วนมากไม่แตกกิ่งก้าน เมื่อเติบโตตรงปลายก้านชูจะโป่งออกเป็นกระเปาะเรียกว่า “เวสซิเคิล” (vesicle) และรอบๆ เวสซิเคิลจะเป็นที่เกิดของเซลล์ที่ทำให้กำเนิดสปอร์เรียกว่า phialide มีลักษณะคล้ายขวด ซึ่งอาจมีชั้นเดียวหรือสองชั้นก็ได้ ส่วนปลายมีโพรงโทพลาซึมที่มีผนังกันอยู่จะเปลี่ยนรูปร่างเป็นลักษณะเกือบกลม สร้างผนังล้อมรอบเป็นโคนิเดีย (conidi) โคนิเดียที่สร้างภายหลังจะอยู่ใน phialide และคันโคนิเดียอันแรกโผล่พ้นออกมาเรื่อยๆ จนต่อเป็นสายยาวคล้ายลูกโซ่ โคนิเดียส่วนมากมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดใหญ่ โดยทั่วไปผิวหน้ามีลักษณะคล้ายกำมะหยี่ มีการเติบโตเป็นวงแหวนและไม่จำกัดขนาด สามารถเติบโตได้รวดเร็ว มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (Webster, 1974) โครงสร้างพื้นฐานที่สำคัญของ *Aspergillus* sp. ประกอบด้วย

(1) ผนังเซลล์ (cell wall) จะล้อมรอบไซโทพลาซึม ทำหน้าที่ป้องกันแรงดันออสโมติก และแรงกลจากภายนอก ผนังเซลล์มีไคติน และกลูแคนเป็นองค์ประกอบ

(2) ไซโทพลาสติกเมมเบรน (cytoplasmic membrane) ประกอบด้วยไขมันและโปรตีนที่จัดเรียงต่อกันเป็น ไลโปโปรตีน เมมเบรนไซโทพลาสติกทำหน้าที่แบ่งกั้นระหว่างไซโทพลาซึม และสิ่งแวดล้อมภายนอก (ภาพที่ 1) รวมทั้งควบคุมการนำสารเข้า-ออกภายในเซลล์

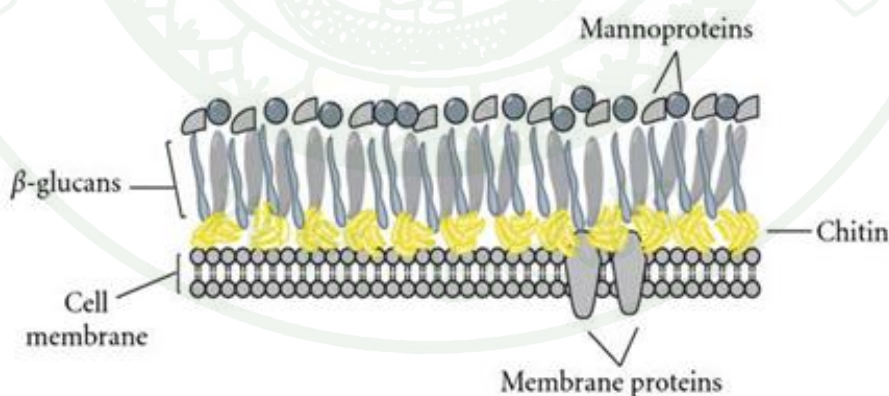
(3) ไซโทพลาซึม (cytoplasm) เป็นสารละลายคอลลอยด์ที่ประกอบด้วยโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และเกลืออนินทรีย์

(4) แกรนูลสะสมอาหาร (storage granules) เป็นที่เก็บสะสมอาหาร ซึ่งมี 2 ชนิด คือ ไกลโคเจนและไขมัน โดยไกลโคเจนจะพบมากที่สุดในเซลล์ทั่วไปและเซลล์ของโครงสร้างที่ใช้สืบพันธุ์ ส่วนไขมันจะพบมากในสปอร์และเป็นอาหารที่นำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอนในการเติบโตได้ดี โดยทั่วไปแล้วไกลโคเจนและไขมันจะพบมากในเซลล์ที่เจริญเต็มที่มากกว่าเซลล์ที่มีอายุน้อย

(5) นิวเคลียส (nucleus) เป็นองค์ประกอบที่ใหญ่ที่สุดในเซลล์ มีเส้นใยแบบมีผนังกัน (septate hypha) โดยแต่ละเซลล์จะมีผนังกันไว้ทำให้มีลักษณะเป็นห้องๆ ภายในแต่ละเซลล์อาจมีหนึ่งนิวเคลียสหรือหลายนิวเคลียส

(6) ออร์แกเนลล์ต่างๆ

- ไมโทคอนเดรีย (mitochondria)
- ไรโบโซม (ribosomes)
- เอ็นโดพลาสมิก เรติคูลัม (endoplasmic reticulum)

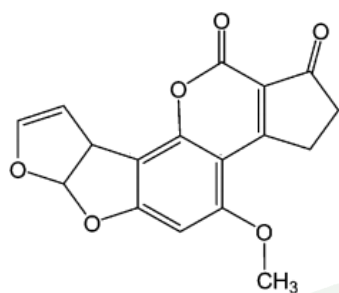
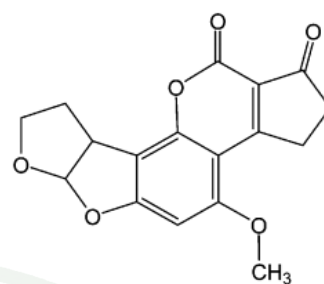
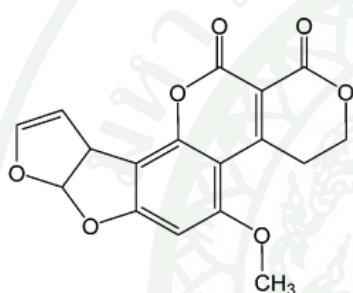
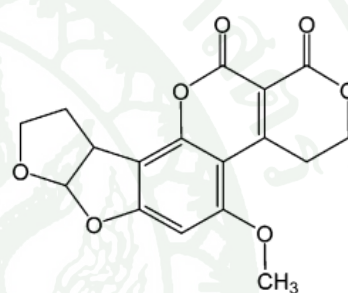
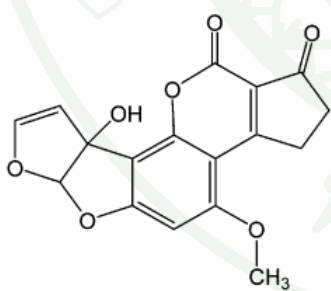
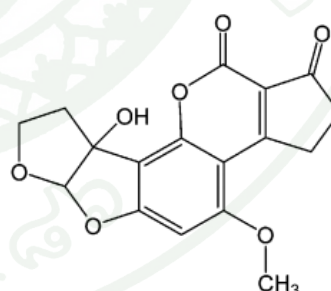


ภาพที่ 1 ลักษณะของไซโตพลาสซึมเมมเบรน

ที่มา: Vega and Kalkum (2012)

โดยทั่วไปเชื้อรา *Aspergillus* sp. อาศัยอยู่ในรูปของไมซีเลียมในชั้นเนื้อเยื่อพืชที่เจริญจากผนังรังไข่ไปเป็นผล (pericarp) หรือเปลือกหุ้ม (seed coat) ของเมล็ด เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม เชื้อราจะเติบโตและผลิตอะฟลาทอกซินสะสมอยู่ในส่วนต่างๆ ของเมล็ดพืช และจะสะสมมากที่สุดในส่วนของเอ็มบริโอของเมล็ดพืช ทำให้เกิดความเสียหายกับเมล็ดพันธุ์ในระยะต่อมา (Christensen and Kaufmann, 1974) โดยปกติเชื้อ *A. flavus* และ *A. parasiticus* จะเจริญสร้างเส้นใยและสปอร์เท่านั้น จนกระทั่งปริมาณธาตุอาหารรองบางชนิด เช่น ฟอสเฟต และไนโตรเจนถูกจำกัด มีผลให้การเติบโตของเส้นใยและการสร้างสปอร์ช้าลง เกิดการสะสมของไพรูเวต (pyruvate), มาโลเนต (malonate), อะซิเตท (acetate) และกรดอะมิโนทำให้เกิดการพัฒนาและกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์บางชนิดให้สร้างเมแทบอลิซึมชนิดทุติยภูมิ (secondary metabolites) ขึ้นใน *A. flavus* และ *A. parasiticus* กระบวนการสังเคราะห์พอลิไคไทด์ (polyketide biosynthesis pathway) นี้จะสังเคราะห์อะฟลาทอกซินขึ้นแทนการสังเคราะห์กรดไขมันตามปกติ (Nessbitt *et al.*, 1962)

อะฟลาทอกซินจัดเป็นสารเคมีอินทรีย์ที่เกิดขึ้นจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโมเลกุลหรือการเมแทบอลิซึมชนิดทุติยภูมิ มีคุณสมบัติละลายได้เล็กน้อยในน้ำและตัวทำละลายที่มีขี้ผึ้ง แต่ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น คลอโรฟอร์ม เบนซีน อะซิโตน เอทานอล และเมทานอล ไม่ละลายในเฮกเซน อีเทอร์และปิโตรเลียมอีเทอร์ สามารถทนต่อความร้อนได้สูงถึง 260 °C ฉะนั้น ความร้อนจากการหุงต้มทั่วไป จึงไม่สามารถทำลายสารพิษนี้ได้ อะฟลาทอกซินที่พบในธรรมชาติมี 4 ชนิด คือ อะฟลาทอกซิน B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> และ G<sub>2</sub> นอกจากนี้ยังพบอะฟลาทอกซิน M<sub>1</sub> และ M<sub>2</sub> ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของอะฟลาทอกซิน B<sub>1</sub> และ B<sub>2</sub> ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 2 โดยอะฟลาทอกซิน B<sub>1</sub> จะมีความเป็นพิษสูงสุด รองลงมาคือ อะฟลาทอกซิน G<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> และ G<sub>2</sub> ตามลำดับ (Goto and Manabe, 1989; Zheng *et al.*, 2005) ในปี 1988 องค์การ IARC (International Agency for Research on Cancer) ได้จัดให้อะฟลาทอกซิน B<sub>1</sub> เป็นสารก่อมะเร็ง (carcinogen) และยังเป็นสารก่อให้เกิดความผิดปกติในอวัยวะของทารก (teratogen) และสารก่อกลายพันธุ์ (mutagen) อีกด้วย (Bankole and Adebajo, 2003)

อะฟลาทอกซินชนิด B<sub>1</sub>อะฟลาทอกซินชนิด B<sub>2</sub>อะฟลาทอกซินชนิด G<sub>1</sub>อะฟลาทอกซินชนิด G<sub>2</sub>อะฟลาทอกซินชนิด M<sub>1</sub>อะฟลาทอกซินชนิด M<sub>2</sub>

**ภาพที่ 2** โครงสร้างโมเลกุลของอะฟลาทอกซิน

ที่มา: Coppock and Christian (2007)

การปนเปื้อนของเชื้อราและอะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรเป็นสิ่งที่หลีกเลี่ยงและคาดการณ์ได้ยากมาก เพราะเชื้อราที่ผลิตสารพิษชนิดนี้ส่วนใหญ่จะพบทั่วไปในสภาพแวดล้อมของประเทศไทย ที่มีความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย 73–75 % และอุณหภูมิเฉลี่ย 35–39.9 °C ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับฤดูกาล การปนเปื้อนของเชื้อราสามารถเกิดขึ้นได้ทุกสถานการณ์ตั้งแต่กระบวนการผลิต กระบวนการเก็บเกี่ยว กระบวนการเก็บรักษาตลอดจนกระบวนการขนส่ง โดยปัจจัยหลักที่ส่งเสริมการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของเชื้อ *Aspergillus* spp. ได้แก่

(1) ความชื้นของผลิตภัณฑ์และความชื้นของอากาศ โดยทั่วไปผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรมีค่าความชื้นในระดับที่ปลอดภัยแตกต่างกัน ขึ้นกับองค์ประกอบทางเคมีของพืชแต่ละชนิดที่แตกต่างกันด้วย ตัวอย่างเช่น ความชื้นในระดับที่ปลอดภัยของถั่วลิสงมีค่าเท่ากับ 7 % ซึ่งมีค่าต่ำกว่าถั่วเหลือง (8 %) เมล็ดฝ้าย (10 %) ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ข้าวสาลี (13 %) และข้าวเปลือก (14 %) เป็นต้น (สุดาทิพย์, 2550) ระหว่างการเก็บรักษาความชื้นภายในผลิตภัณฑ์นี้จะแปรเปลี่ยนตามความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศที่อยู่รอบๆ ถ้าความชื้นสัมพัทธ์สูงจะทำให้ผลิตภัณฑ์มีความชื้นสูงขึ้นด้วย ตามปกติเชื้อราจะเริ่มเติบโตเมื่อความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศสูงเกิน 65–70 % เชื้อราจะเติบโตได้ดียิ่งขึ้นเมื่อความชื้นสัมพัทธ์สูงขึ้น จากผลการวิจัยของ Dobson and Sweeney (1998) พบว่าความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ 85 % เหมาะสมต่อการเติบโตของเชื้อราและการผลิตอะฟลาทอกซิน และ Denizel *et al.* (1976) รายงานว่าที่ความชื้นสัมพัทธ์ 82 % เป็นความชื้นสัมพัทธ์ต่ำสุดที่เชื้อ *A. flavus* สามารถเติบโตและผลิตอะฟลาทอกซินได้ในถั่วพิสตาชิโอ

(2) อุณหภูมิในระหว่างการเก็บรักษาก็เป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลสูงต่อการผลิตอะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรเช่นกัน โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของเชื้อราคือ ช่วงอุณหภูมิ 29–35 °C ขณะที่อุณหภูมิที่สามารถผลิตอะฟลาทอกซินมากที่สุดคือ 24 °C (Schindler *et al.*, 1967)

(3) แหล่งอาหารสำหรับการเติบโตของเชื้อรา ในโตรเจนเป็นธาตุที่มีความสำคัญต่อการเติบโตของเชื้อรา ทั้งนี้ Ready *et al.* (1971) พบว่าการเพิ่มกรดแอสพาร์ติก (aspartic acid) ในสารอาหารสามารถกระตุ้นให้เชื้อราผลิตอะฟลาทอกซินเพิ่มขึ้น โดยแหล่งสารประกอบไนโตรเจนที่สำคัญคือ กลีโคแอลโมเนียมต่างๆ เช่น แอมโมเนียมซัลเฟต นอกจากนี้คาร์บอนยังเป็นอีกธาตุหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการเติบโต เช่น คาร์บอนจากซูโครสซึ่งช่วยให้เชื้อราสามารถผลิตสารอะฟลาทอกซินได้ดีที่สุด นอกจากนี้ยังมีฟรุกโตส ไซโรส และไรโบส (Lin and Deanesse, 1976) ส่วน

Puschase (1972) รายงานว่าธาตุสังกะสี ( $Zn^{++}$ ) และเกลือแร่บางชนิดยังมีส่วนช่วยให้เชื้อราสามารถผลิตอะฟลาทอกซินได้ดี

(4) ปริมาณก๊าซออกซิเจน ( $O_2$ ) และคาร์บอนไดออกไซด์ ( $CO_2$ ) มีผลต่อการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของเชื้อรา โดยเมื่อปริมาณก๊าซออกซิเจนเพิ่มขึ้นหรือก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ลดลง จะทำให้เชื้อรา *A. flavus* สามารถผลิตอะฟลาทอกซินได้มากขึ้น และหากเพิ่มปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ให้สูงถึง 100 % จะไม่พบเชื้อ *A. flavus* และอะฟลาทอกซิน ทั้งนี้ในที่ๆ มีก๊าซออกซิเจน 1 % และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 20 % สามารถลดการสร้างสปอร์ของเชื้อราได้ และในสภาพที่มีก๊าซออกซิเจน : ก๊าซไนโตรเจน : ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ในปริมาณ 21 : 19 : 80 จะไม่มีการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน (Landers *et al.*, 1967)

(5) ระยะเวลาในการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของเชื้อรา พบว่า *A. flavus* สามารถเติบโตและผลิตอะฟลาทอกซินได้มากและรวดเร็ว ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง ถึง 48 ชั่วโมง พรทิพย์ (2536) รายงานว่าเชื้อ *A. flavus* สามารถผลิตอะฟลาทอกซิน  $B_1$  เกิน 20 ppb ได้ภายใน 3 วัน และสามารถผลิตอะฟลาทอกซินได้สูงสุดภายใน 7-10 วัน

(6) แสงแดด มีอิทธิพลต่อการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซิน โดยในสภาพที่มีแสงเชื้อ *A. flavus* สามารถผลิตอะฟลาทอกซินได้น้อยกว่าในสภาพที่มืด (Joffe and Lisker, 1969; Shotwell, 1972)

## 2. การปนเปื้อนเชื้อราในถั่วลิสง

ถั่วลิสง (*Arachis hypogaea* L.) เป็นพืชน้ำมันชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของโลก เนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการสูงถือเป็นแหล่งอาหารประเภทไขมัน โปรตีนและคาร์โบไฮเดรต โดยในเมล็ดถั่วลิสงจะประกอบด้วยน้ำมัน 47-50 % ซึ่งมีปริมาณสูงกว่าพืชตระกูลถั่วชนิดอื่นๆ และยังเป็นแหล่งโปรตีนอันดับสามของโลก คิดเป็น 11 % ของโปรตีนทั้งหมด โดยมีโปรตีน 22-30 % และคาร์โบไฮเดรต 20 % (Jain, 2004) นอกจากนี้ถั่วลิสงยังเป็นแหล่งเกลือแร่และวิตามินที่สำคัญ เช่น แมกนีเซียม ทองแดง ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม สังกะสี วิตามินอี และโฟเลต (Higgs, 2003; Atasi *et al.*; 2009) การบริโภคถั่วลิสงเป็นประจำจะมีประโยชน์ในด้านการควบคุมความดันโลหิต ระบบภูมิคุ้มกัน ระบบการแข็งตัวของเลือด ป้องกันโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ

ช่วยลดระดับโคเลสเตอรอลในเลือด ลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจ ช่วยในการควบคุมระดับน้ำตาลเพื่อป้องกันการเป็นโรคเบาหวาน เพิ่มระดับวิตามินอีในกระแสเลือดซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ลดการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่และช่วยในการลดน้ำหนัก เพราะเส้นใยอาหารในถั่วจะทำให้รู้สึกอิ่มและไม่อยากรับประทานอาหาร นอกจากนี้เชื้อหุ้มเมล็ดของถั่วลิสงยังสามารถกระตุ้นกระดูกให้ผลิตเกล็ดเลือด (thrombocyte) เพิ่มสมรรถภาพในการหดตัวของเส้นเลือดฝอยและช่วยในการห้ามเลือดอีกด้วย (Alper and Mattes, 2002; Alper and Mattes, 2003; Hu and Stampfer, 1999)

การปนเปื้อนของเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรและวัตถุดิบที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น ข้าวโพด ถั่วลิสง พริก ลูกเดือย งาดำ จมูกข้าวสาลี กาแฟ มะพร้าวแห้ง ข้าวกล้อง ข้าวฟ่าง ข้าวสาลี ถั่วแดง เมล็ดฝ้าย รวมถึงผลิตภัณฑ์แปรรูปชนิดต่างๆ จากผลิตผลทางการเกษตร ดังแสดงไว้ในตารางที่ 1 โดยเฉพาะพบมากในถั่วลิสง เนื่องจากถั่วลิสงมีองค์ประกอบของโปรตีนและไขมันสูงจึงส่งเสริมการเติบโตของเชื้อราได้ดียิ่งขึ้น (Waranyoowat, 2001) โดยมากพบเชื้อ *A. flavus* และ *A. parasiticus* ซึ่งเชื้อราชนิดนี้สามารถผลิตสารพิษอะฟลาทอกซิน โดยสารพิษนี้ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ถึงแม้จะไม่มีเชื้อราปรากฏให้เห็นบนผลิตผลทางการเกษตรนั้นๆ เพราะตัวเชื้อราเองอาจถูกกำจัดออกไปโดยวิธีการต่างๆ หลังจากผลิตสารพิษทิ้งเอาไว้บนผลิตผลทางการเกษตรนั้นๆ ทำให้คุณภาพทางโภชนาการของอาหารลดลงและเกิดพิษทำอันตรายแก่ผู้บริโภคได้ จากรายงานการสำรวจการปนเปื้อนของเชื้อราและอะฟลาทอกซินในถั่วลิสง พบว่าถั่วลิสงมีการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินมากที่สุดคิดเป็น 50 % และปริมาณอะฟลาทอกซินที่พบสูงสุดเท่ากับ 1530 ppb (Waliyar and Reddy, 2009) ดวงจันทร์ และวนิดา (2547) ได้กล่าวถึงรายงานการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินในถั่วลิสง ระหว่างปี 2537–2545 พบว่าผลิตภัณฑ์ของถั่วลิสงมีการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินมากที่สุด 74 % ที่ระดับ 5.16–389.80 ppb และในถั่วลิสงดิบพบการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน 21 % โดยพบเกินค่ามาตรฐาน 11 % ค่าที่พบมากเป็นพิเศษคือ 3238.00 และ 1671.30 ppb นอกจากนี้สุกัลลักษณ์ (2548) ได้กล่าวถึงรายงานการสำรวจร้านก๋วยเตี๋ยวต้มยำ พบว่าในถั่วลิสงมีอะฟลาทอกซินปนเปื้อนอยู่ถึง 90 %

อะฟลาทอกซินที่มีการปนเปื้อนในผลิตผลทางการเกษตร อาหารมนุษย์ อาหารสัตว์ ไม่สามารถลดหรือทำลายพิษของอะฟลาทอกซินให้หมดอย่างสมบูรณ์ได้ การป้องกันหรือควบคุมเพื่อหลีกเลี่ยงอันตรายจากการปนเปื้อนสารพิษ จึงมีความจำเป็นและสำคัญยิ่ง โดยมีการกำหนดปริมาณอะฟลาทอกซินที่อนุญาตให้มีการปนเปื้อนสูงสุดในอาหาร เพื่อคุ้มครองสุขภาพและความปลอดภัยของผู้บริโภค ในปี 2540 องค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) ร่วมกับ

องค์การอนามัยโลก (WHO) ได้กำหนดให้มีการควบคุมระดับการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในอาหาร ซึ่งการกำหนดระดับการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินสูงสุดที่ยอมรับได้แตกต่างกันในแต่ละประเทศ (ตารางที่ 2) โดยบางประเทศมีการกำหนดรายละเอียดเพิ่มเติมเพื่อบังคับใช้ในประเทศ หรือกลุ่มประเทศของตน ตัวอย่างเช่น องค์การอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกา (USFDA) ได้กำหนดให้ระดับการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินสูงสุดที่ยอมรับได้ในอาหารไม่เกิน 20 ppb ในสหภาพยุโรป (EU) กำหนดให้มีอะฟลาทอกซิน B<sub>1</sub> ได้ไม่เกิน 2 ppb ในถั่วลิสงพร้อมบริโภค และไม่เกิน 8 ppb ในถั่วลิสงดิบสำหรับแปรรูป หรืออะฟลาทอกซินรวมไม่เกิน 4 ppb ในถั่วลิสงสำหรับแปรรูป (Schatzki and Ong, 2001) สำหรับประเทศไทยมีการกำหนดจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ให้มีอะฟลาทอกซินในอาหารทั่วไป (ซึ่งรวมถั่วลิสงพร้อมบริโภคด้วย) ได้ไม่เกิน 20 ppb

ตารางที่ 1 ผลกระทบต่อการเกษตรที่พบการปนเปื้อนของ *Aspergillus* spp.

| ผลิตภัณฑ์         | ประเทศ      | เชื้อรา                                  | เอกสารอ้างอิง                        |
|-------------------|-------------|------------------------------------------|--------------------------------------|
| ข้าว              | จีน         | <i>A. flavus</i>                         | Zhen-Zhen (1989)                     |
|                   | อินเดีย     | <i>A. flavus</i> , <i>A. parasiticus</i> | Jayaraman and Kalyanasundaram (1990) |
| ข้าวโพด           | จีน         | <i>A. flavus</i>                         | Zhen-Zhen (1989)                     |
|                   | อินเดีย     | <i>A. flavus</i>                         | Gaur and Siradhana (1989)            |
| ข้าวสาลี          | จีน         | <i>A. flavus</i>                         | Zhen-Zhen (1989)                     |
|                   | รัสเซีย     | <i>A. flavus</i>                         | L'Vova <i>et al.</i> (1993)          |
| ถั่วลิสง          | ซูดาน       | <i>A. flavus</i>                         | Elamin <i>et al.</i> (1988)          |
|                   | อียิปต์     | <i>A. flavus</i> , <i>A. niger</i>       | Moubasher <i>et al.</i> (1980)       |
|                   | แอฟริกาใต้  | <i>A. flavus</i> , <i>A. parasiticus</i> | Dutton and Westlake (1989)           |
| ถั่วเหลือง        | อาร์เจนตินา | <i>A. flavus</i> , <i>A. parasiticus</i> | Pinto <i>et al.</i> (1991)           |
| น้ำมันดอกทานตะวัน | จีน         | <i>A. flavus</i>                         | Zhen-Zhen (1989)                     |
|                   | รัสเซีย     | <i>A. flavus</i>                         | L'Vova <i>et al.</i> (1993)          |
| ลูกเดือย          | อินเดีย     | <i>A. flavus</i> , <i>A. parasiticus</i> | Mishra and Daradhiyar (1991)         |

ที่มา: Ismail (1997)

ตารางที่ 2 ปริมาณอะฟลาทอกซินที่อนุญาตให้มีได้สูงสุด

| ประเทศ         | ชนิดธัญพืช           | ปริมาณอะฟลาทอกซิน (ppb) |
|----------------|----------------------|-------------------------|
| แคนาดา         | ถั่วลิสง             | 15                      |
| โคลัมเบีย      | ถั่วลิสง             | 10                      |
| จีน            | ข้าวโพดและผลิตภัณฑ์  | 20                      |
|                | ถั่ว                 | 5                       |
| เช็กสโลวาเกีย  | ถั่วลิสง             | 5                       |
| ญี่ปุ่น        | ทุกชนิด              | 10                      |
| เดนมาร์ก       | ถั่วลิสงและผลิตภัณฑ์ | 10                      |
| ไทย            | ทุกชนิด              | 20                      |
| เนเธอร์แลนด์   | ทุกชนิด              | 5                       |
| บราซิล         | ถั่วลิสงบด           | 50                      |
| เบลเยียม       | อาหารสัตว์           | 40                      |
| โปรตุเกส       | ถั่วลิสง             | 0                       |
| ฝรั่งเศส       | ทุกชนิด              | 10                      |
| ฟินแลนด์       | ถั่วลิสงและผลิตภัณฑ์ | 5                       |
| ฟิลิปปินส์     | ทุกชนิด              | 20                      |
| มาเลเซีย       | ทุกชนิด              | 0                       |
| เยอรมัน        | ถั่วลิสงและผลิตภัณฑ์ | 10                      |
| สวิตเซอร์แลนด์ | ถั่วลิสงและผลิตภัณฑ์ | 5                       |
| สหรัฐอเมริกา   | ทุกชนิด              | 20                      |
| ออสเตรเลีย     | ถั่วลิสงและผลิตภัณฑ์ | 15                      |
| อังกฤษ         | ถั่ว ผลไม้           | 10                      |
| อิตาลี         | ถั่วลิสง             | 50                      |
| อินเดีย        | ถั่วลิสงบด           | 60                      |
| อิสราเอล       | ทุกชนิด              | 20                      |
| ฮ่องกง         | ถั่วลิสง             | 20                      |

ที่มา: คัดแปลงจาก Rodsom *et al.* (2001)

### 3. การยับยั้งการเติบโตของเชื้อราด้วยสารสกัดสมุนไพร

สารสกัดจากพืชสมุนไพรประกอบด้วยสารสำคัญหลายชนิดที่อยู่ในกลุ่มสารอินทรีย์ (ตารางที่ 3) โดยสารเหล่านี้เป็นสารเชิงซ้อนที่มีสะสมอยู่ในส่วนต่างๆ ของพืชสมุนไพร ซึ่งมีสมบัติด้านการยับยั้งการเติบโตของเชื้อรา และพืชสมุนไพรที่น่าสนใจที่สามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อรา ได้แก่

#### 3.1 กานพลู (*Syzygium aromaticum* L.)

กานพลูถือเป็นหนึ่งในเครื่องเทศที่สำคัญที่มีสรรพคุณทางยาและช่วยแต่งกลิ่นอาหาร ในน้ำมันหอมระเหยจากกานพลูประกอบด้วยสารหลายชนิด ได้แก่ eugenol, eugenol acetate และ chavicol ที่มีคุณสมบัติต้านแบคทีเรียและรา (Joseph and Sujatha, 2011) และมีฤทธิ์ยับยั้งการผลิโตะฟลาทอกซินของ *A. parasiticus* (Bullerman *et al.*, 1977) ทั้งนี้ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อราของน้ำมันหอมระเหยขึ้นอยู่กับความเข้มข้นและชนิดของเชื้อรา ตัวอย่างเช่น รายงานของ Pinto *et al.* (2009) พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากกานพลูที่ความเข้มข้น 1.25 ppm สามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus*, *A. fumigates* และ *A. niger* ได้อย่างสมบูรณ์ ในขณะที่ Bullerman *et al.* (1977) รายงานว่าน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้น 200 ppm สามารถยับยั้งการเติบโตและการผลิตสารอะฟลาทอกซินของ *A. parasiticus* ได้ Viuda-Martos *et al.* (2007) รายงานว่าที่ความเข้มข้น 0.33 ppm น้ำมันหอมระเหยสามารถยับยั้งเชื้อ *A. flavus* และ *A. niger* ได้ นอกจากนี้ น้ำมันหอมระเหยยังสามารถยับยั้งเชื้อ *M. gypseum*, *T. rubrum* และ *T. mentagrophytes* ได้ที่ความเข้มข้น 0.15, 0.20 และ 0.20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (Park *et al.*, 2007)

นอกจากนี้ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อรา ยังขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำละลาย ตัวอย่างเช่น จากรายงานของ Joseph and Sujatha (2011) พบว่าที่ความเข้มข้น 600 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดเอทานอลของกานพลูสามารถยับยั้งเชื้อ *A. flavus* และ *A. niger* ได้ และสามารถยับยั้งเชื้อ *Rhizopus* sp., *Paecilomyces* sp. และ *Penicillium* sp. ได้อีกด้วย จากนั้นนำสารสกัดกานพลูมาวิเคราะห์หาองค์ประกอบหลักที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อราด้วยวิธี Gas chromatography-Mass spectrometry (GC-MS) พบว่าองค์ประกอบหลักในสารสกัดจากกานพลูคือ eugenol, iso-eugenitol และ a-cubebene รายงานของ Pundir *et al.* (2010) ได้ศึกษาความสามารถของสารสกัดเอทานอลของกานพลูในการยับยั้งแบคทีเรียและราที่เกี่ยวข้องกับอาหาร พบว่าค่าความ

ตารางที่ 3 องค์ประกอบของพืชสมุนไพร

| พืช        | ชื่อสามัญ      | ชื่อวิทยาศาสตร์                      | วงศ์          | องค์ประกอบ                                                         | เอกสารอ้างอิง                   |
|------------|----------------|--------------------------------------|---------------|--------------------------------------------------------------------|---------------------------------|
| กานพลู     | Clove          | <i>Syzygium aromaticum</i> L.        | Myrtaceae     | eugenol, eugenyl acetate                                           | Prashar <i>et al.</i> (2006)    |
| ขิง        | Ginger         | <i>Zingiber officinale</i> Roscoe    | Zingiberaceae | glycolipids, gingerols, methygingerol                              | Chrubasik <i>et al.</i> (2005)  |
| ตะไคร้     | Citronella     | <i>Cymbopogon winterianus</i> Jowitt | Poaceae       | citronellal, geraniol, citronellol, hydroxyl citronellol, limonene | Saika <i>et al.</i> (2006)      |
| พริกไทยดำ  | black pepper   | <i>Piper nigrum</i> L.               | Piperaceae    | $\beta$ -caryophyllene, limonene, piperine                         | Ishikawa <i>et al.</i> (2008)   |
| พริกหอม    | sichuan pepper | <i>Zanthoxylum simulans</i>          | Rutaceae      | flavonoids, terpene, citronellal, citronellol, geraniol            | Shimoda <i>et al.</i> (1997)    |
| พลู        | Betel          | <i>Piper Betle</i> L.                | Piperaceae    | cavicol, carvacrol, eugenol, hydroxychavicol                       | Garg and Jain (1996)            |
| ราชพฤกษ์   | golden shower  | <i>Cassia fistula</i> L.             | Fabaceae      | fistucacidin, triterpenes                                          | Rani and Kalidhar (1998)        |
| สีเสียดเทศ | Gambir         | <i>Uncaria gambir</i>                | Rubiaceae     | acacatechin, epicatechin, phlobatannin, protocatchu tannis         | นพมาศ และนางลักขณ์ (2551)       |
| หม่อน      | mulberry       | <i>Morus alba</i> L.                 | Moraceae      | kuwanon C, mulberrofurin G, albanol B                              | Butt <i>et al.</i> (2008)       |
| อบเชย      | cinnamon       | <i>Cinnamomum zeylanicum</i> L.      | Lauraceae     | cinnamaldehyde, eugenol, O-methoxycinnamaldehyde                   | Paranagama <i>et al.</i> (2001) |

เข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและรา (minimum inhibitory concentration: MIC) อยู่ในช่วง 5–20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 10–20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และในรายงานของบัญญัติ (2518) รายงานว่าสารสกัดจากพริกที่สกัดด้วยน้ำที่ความเข้มข้น 30 % (โดยปริมาตร) สามารถยับยั้งเชื้อ *Aspergillus* spp. ได้ดี เช่นเดียวกับรายงานของ เกษม และจำรัส (2529) ที่สนับสนุนว่าสารสกัดหยาดจากพริกที่ความเข้มข้น 6000 ppm สามารถยับยั้งเชื้อ *Aspergillus* spp. ได้ 91.9 %

Gupta *et al.* (2009) พบว่าสารสกัดเอทานอล-น้ำจากพริก (50:50 โดยปริมาตร) สามารถยับยั้งการเติบโตของ *Aspergillus* sp. ด้วยค่า MIC เท่ากับ 8000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในทำนองเดียวกับ Al-Askar and Rashad (2010) พบว่าสารสกัดเอทานอล-น้ำ (20:80 โดยปริมาตร) จากพริกสามารถยับยั้งการเติบโตของ *Rhizotonia solani* อย่างสมบูรณ์ที่ความเข้มข้น 1 % (โดยปริมาตร)

### 3.2 จิง (*Zingiber officinale* Roscoe)

จิงเป็นทั้งสมุนไพรและเครื่องเทศที่มีคุณสมบัติเป็นสารกักตุนกลิ่น หิน นอกจากนี้จิงยังใช้ในการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ เนื่องจากมีคุณสมบัติด้านการยับยั้งการเติบโตของเชื้อรา ทั้งนี้เมื่อใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในการสกัดจิง พบว่าประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราก็แตกต่างกัน ตัวอย่างเช่น Ayodele *et al.* (2009) ได้ทดสอบความสามารถของสารสกัดจิงที่สกัดด้วยน้ำ พบว่าสารสกัดจิงสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* และ *A. niger* โดยมีค่าของบริเวณการยับยั้งเท่ากับ 10.50 มิลลิเมตร และ 10.03 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในรายงานวิจัยของ Tagoe *et al.* (2011) พบว่าสารสกัดเอทานอลสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus*, *A. niger* และ *Cladosporium herbarum* โดยมีค่าของบริเวณการยับยั้งเชื้อราทั้งสามชนิดเท่ากับ 14.00 มิลลิเมตร นอกจากนี้สร้อยสุดา และคณะ (2552) พบว่าสารสกัดเอทานอลของจิงที่ความเข้มข้น 5000 ppm สามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. niger* และ *A. brassicicola* โดยมีค่าของบริเวณการยับยั้งเท่ากับ 16.50 และ 11.30 มิลลิเมตร ตามลำดับ และสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราทั้งสองชนิดได้อย่างสมบูรณ์เป็นเวลา 8 ชั่วโมง Ficker *et al.* (2003) พบว่าสารสกัดเอทานอลของจิงสามารถยับยั้งการเติบโตของ *Candida albicans*, *Microsporum gypseum*, *Pseudallescheria boydii*, *Rhizopus* sp. และ *Trichophyton mentagrophytes* โดยมีค่าของบริเวณการยับยั้งเท่ากับ 11.50, 20.80, 12.20, 8.80 และ 18.20 มิลลิเมตร ตามลำดับ

ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากจิงจื้นกับความเข้มข้นและชนิดของเชื้อรา พบว่าความเข้มข้น 500 ppm สามารถลดการเติบโตของเชื้อ *A. flavus* ได้ 40 % (Nguefack *et al.*, 2004) ต่อมาในปี 2008 Bansod and Rai ได้ทดสอบความสามารถของน้ำมันหอมระเหยจิงจื้นกับเชื้อ *A. fumigatus* และ *A. niger* โดยใช้วิธี agar dilution และ micro dilution พบว่าน้ำมันหอมระเหยสามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อรา ที่ค่า MIC >2 และ >4 % (โดยปริมาตร) ตามลำดับ

### 3.3 ตะไคร้หอม (*Cymbopogon winterianus* Jowitt)

ตะไคร้หอมเป็นพืชสมุนไพรที่นิยมใช้ในการแต่งกลิ่นผลิตภัณฑ์ และยังมีสรรพคุณในทางด้านยาไทย ทางเภสัชวิทยา ทางคลินิก นอกจากนี้ยังพบว่าองค์ประกอบบางชนิดในน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้หอมสามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อรา ตัวอย่างเช่น Nakahara *et al.* (2003) ได้ศึกษาองค์ประกอบและประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้หอม พบว่าองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยคือ geraniol (35.7 %), trans-citral (22.7 %), cis-citral (14.2 %), geranyl acetate (9.7 %), citronellal (5.8 %) citronellol (4.6 %) และ linalool (1.3 %) และน้ำมันหอมระเหยตะไคร้หอมที่ความเข้มข้น 250 ppm สามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อ *A. candidus*, *A. flavus* และ *A. versicolor* ได้ เมื่อใช้สารประกอบในน้ำมันหอมระเหยตะไคร้หอม พบว่า citronellal และ linalool มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราได้ดีที่สุด ด้วยค่า MIC ในช่วง 14–56 ppm

Thanaboripat *et al.* (2004) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้หอมในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อรา พบว่าน้ำมันหอมระเหยเข้มข้น 0.2 % (โดยปริมาตร) สามารถยับยั้ง *A. parasiticus* IMI 102566 ได้ และที่ความเข้มข้น 0.4 % (โดยปริมาตร) สามารถยับยั้ง *A. flavus* IMI 242684, *A. flavus* M 113 และ *A. flavus* S 156 ได้ ในรายงานวิจัยของ Oliveira *et al.* (2011) พบว่าน้ำมันหอมระเหยสามารถยับยั้ง *C. albicans* ด้วยค่า MIC และค่า MFC เท่ากับ 625 และ 1250 ppm ตามลำดับ ต่อมา Pereira *et al.* (2011) รายงานว่าน้ำมันหอมระเหยสามารถยับยั้งการเติบโตของ *T. mentagrophytes* ด้วยค่า MIC เท่ากับ 312 ppm และค่า MFC เท่ากับ 2500 ppm นอกจากนี้ในงานวิจัยของ Lertsatitthanakorn *et al.* (2010) ได้ทดสอบความสามารถของน้ำมันหอมระเหยในการหาค่า MIC และความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้ในการทำลายแบคทีเรีย (minimum bactericidal concentration: MBC) *Propionibacterium acnes* ด้วยวิธี broth microdilution พบว่าน้ำมันหอมระเหยมีค่า MIC และ MBC เท่ากัน คือ 0.625 ppm

### 3.4 พริกไทยดำ (*Piper nigrum* L.)

พริกไทยดำเป็นเครื่องเทศและสมุนไพรที่ช่วยให้อาหารมีกลิ่นหอมและมีรสชาติเผ็ดร้อน มีสรรพคุณทางยา และมีคุณสมบัติในการต้านแบคทีเรียและรา โดยองค์ประกอบของสารที่สำคัญคือ  $\beta$ -caryophyllene, limonene, sabinene,  $\beta$ -bisabolene, piperine,  $\beta$ -pinene,  $\alpha$ -copaene, camphene,  $\delta$ -cadiene, tricyclene, eugenol, linalool,  $\alpha$ -humulene และ terpinolene (Ishikawa *et al.*, 2008) เมื่อ Singh *et al.* (2004) ได้ทดสอบสารสกัดพริกไทยดำต่อการยับยั้งการเติบโตของเชื้อราพบว่าสารสกัดอะซิโตนที่ความเข้มข้น 240 ppm สามารถยับยั้ง *A. ochraceus* และ *P. viridicatum* ได้อย่างสมบูรณ์ รองลงมาคือ *A. flavus* (75.0 %) และ *A. niger* (45.7 %) ตามลำดับ ในรายงานวิจัยของ Masood *et al.* (1994) พบว่าสารสกัดเอทานอลสามารถยับยั้ง *A. niger* และ *C. albicans* ด้วยความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ Keskin and Toroglu (2011) รายงานว่าที่ความเข้มข้น 30 ppm สารสกัดเมทานอลและเอทิลอะซิเตทสามารถยับยั้ง *Kluyveromyces marxianus* โดยมีค่าของบริเวณการยับยั้งเท่ากับ 10.0 และ 12.0 มิลลิเมตร ตามลำดับ นอกจากนี้ น้ำมันหอมระเหยจากพริกไทยดำสามารถยับยั้งการเติบโตของ *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *A. niger* และ *Penicillium* spp. ด้วยค่า MIC เท่ากับ 2.0, 0.8, 10.0 และ 5.0 ppm ตามลำดับ (Sasidharan and Menin, 2010)

### 3.5 พริกหอม (*Zanthoxylum simulans*)

พริกหอมเป็นเครื่องเทศที่มีสรรพคุณทางยาและช่วยแต่งกลิ่นอาหาร ในพริกหอมประกอบด้วยสารหลายชนิด ได้แก่  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ -sanshool, hydroxy sanshools, flavonoids, terpene alkaloids, benzophenthredine alkaloids และ pyranoquinoline alkaloids (Shimoda *et al.*, 1997) ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราของสารสกัดพริกหอม พบว่าสารสกัดพริกหอมที่ความเข้มข้น 20000 ppm สามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus*, *A. parasiticus* และ *A. ochraceus* ได้ (Azzouz, 1981) ในงานวิจัยของชัยวัฒน์ (2528) รายงานว่าสารสกัดเอทานอลจากพริกหอมมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Aspergillus* spp. ที่ใช้ทดสอบได้ทุกชนิด รองมาจากสารสกัดพลูและกานพลู นอกจากนี้สารสกัดพริกหอมสามารถยับยั้งแบคทีเรียที่ความเข้มข้น 5000 ppm (Shelef *et al.*, 1980) และยับยั้งเชื้อยีสต์ได้ที่ความเข้มข้น 100000 ppm (Conner and Beuchat, 1984)

### 3.6 พลุ (*Piper Betle* L.)

พลูเป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่งที่ถูกนำมาใช้ในการบำบัดรักษาโรคต่างๆ ในตำรายาไทย และใช้ป้องกันเชื้อโรค ในน้ำมันหอมระเหยของพลูประกอบด้วย chavicol, chavibetol, cineole, carvacrol, caryophyllene และ eugenol สารเหล่านี้มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ (Garg and Jain, 1996) ตัวอย่างเช่น ในรายงานของ Jangala (2011) พบว่าสารสกัดด้วยน้ำของพลูสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus*, *A. fumigates*, *A. niger* และ *Penicillium* spp. ได้ ด้วยค่า MIC ที่อยู่ในช่วง 60–120 ppm รวมทั้ง Nazmul *et al.* (2011) รายงานว่าสารสกัดพลูสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus*, *M. canis*, *T. mentagrophytes* และ *T. rubrum* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดย *T. rubrum* มีความไวต่อสารสกัดมากที่สุด โดยค่าของบริเวณการยับยั้งเท่ากับ 17.0 มิลลิเมตร รองลงมาคือ *M. canis* (12.0 มิลลิเมตร) *T. mentagrophytes* (12.0 มิลลิเมตร) และ *A. flavus* (11.0 มิลลิเมตร) ตามลำดับ

ชัยวัฒน์ (2528) นำพืชสมุนไพรและเครื่องเทศรวม 16 ชนิด มาทดสอบประสิทธิภาพที่ยับยั้งการเติบโตของราในสกุล *Aspergillus* sp. พบว่าสารสกัดเอทานอลจากพลูที่ความเข้มข้น 10000 ppm มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเชื้อรา ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Wanchaitanawong *et al.* (2005) พบว่าสารสกัดเอทานอลของพลูสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. niger*, *A. oryzae* และ *Penicillium* sp. ได้ดีกว่าสมุนไพรชนิดอื่น ด้วยความเข้มข้น 2.25, 1.50 และ 1.50 % (โดยปริมาตร) ตามลำดับ จากรายงานของ Srichana *et al.* (2009) พบว่าสารสกัดเอทานอลของพลูที่ความเข้มข้น 10000 ppm สามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 ได้อย่างสมบูรณ์ Lopez *et al.* (2003) พบว่าสารสกัดเอทานอลของพลูที่ MIC เท่ากับ 640 ppm สามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. niger* นอกจากนี้ Begum *et al.* (2007) รายงานว่าสารสกัดเอทานอลของพลูสามารถยับยั้งเชื้อ *Alternaria alternata*, *Curvularia lunata*, *F. equiseti*, *Macrophomina phaseolina*, *Botryodiplodia theobromae* และ *Colletotrichum corchri* ได้ 61, 57, 58, 49, 65 และ 58 % ตามลำดับ

ปิยะวดี (2550) ได้ทดสอบความสามารถของสารสกัดพลูที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด ได้แก่ อะซิโตน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตตและเมทานอลที่มีผลต่อการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* A748 ด้วยวิธี paper disc diffusion พบว่าสารสกัดพลูที่ได้จากตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิดที่ความเข้มข้น 500000 ppm สามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อรา โดยมีค่าของบริเวณการยับยั้งเท่ากับ 19.5, 21.0, 22.5 และ 12.5 มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยสารสกัดพลูจากอะซิโตน ไดคลอโรมีเทน และ

เอทิลอะซิเตทสามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อราในระดับที่ใกล้เคียงกับการใช้สารเคมี นอกจากนี้ Ali *et al.* (2010) ได้ศึกษาสารประกอบในพลูที่มีศักยภาพที่สามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อรา พบว่าสารประกอบ hydroxychavicol สามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus*, *A. fumigates*, *A. niger* และ *A. parasiticus* ด้วยค่า MFC เท่ากับ 125–500 ppm

### 3.7 ราชพฤกษ์ (*Cassia fistula* L.)

ราชพฤกษ์เป็นสมุนไพรไทยที่มีสรรพคุณทางยา ในสารสกัดราชพฤกษ์ประกอบด้วย fistucadin และ triterpenes ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อรา ตัวอย่างเช่น Bhalodia *et al.* (2011) ศึกษาความสามารถของสารสกัดดอกราชพฤกษ์ในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อรา พบว่าสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์จากดอกราชพฤกษ์สามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. niger* โดยมีค่าของบริเวณการยับยั้งเท่ากับ 20 มิลลิเมตร รองลงมาคือ *Pseudomonas aeruginosa* (19 มิลลิเมตร) และ *S. aureus* (17 มิลลิเมตร) ตามลำดับ เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Panda *et al.* (2010) พบว่าสารสกัดเอทานอลจากใบราชพฤกษ์สามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. fumigates* โดยมีค่าของบริเวณการยับยั้งเท่ากับ 12.0 มิลลิเมตร รองลงมาคือ *A. niger* (10.6 มิลลิเมตร) และ *A. flavus* (9.6 มิลลิเมตร) ตามลำดับ นอกจากนี้สารสกัดเมทานอลจากใบราชพฤกษ์ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ *T. rubrum*, *M. gypseum* และ *P. marneffei* ได้อย่างสมบูรณ์ (Phongpaichit *et al.*, 2004)

Sangetha *et al.* (2008) ได้ทดสอบส่วนต่างๆ ของราชพฤกษ์ ด้วยสารสกัดเมทานอล พบว่าสารสกัดจากลำต้นสามารถยับยั้ง *A. niger* ได้ดีที่สุด โดยมีค่าของบริเวณการยับยั้งเท่ากับ 13.0 มิลลิเมตร รองลงมาคือสารสกัดจากใบและดอก (12.0 มิลลิเมตร) และ Kumar *et al.* (2006) รายงานว่าสารสกัดเมทานอลจากฝักราชพฤกษ์สามารถยับยั้ง *A. niger* และ *C. albicans* ด้วยความเข้มข้น 1000 ppm

Duraipandiyan and Ignacimuthu (2007) ได้ทดสอบความสามารถของสารสกัดดอกราชพฤกษ์ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 5 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน คลอโรฟอร์ม เอทิลอะซิเตท เมทานอลและน้ำที่มีผลต่อการยับยั้งการเติบโตของเชื้อรา พบว่าสารสกัดดอกราชพฤกษ์จากตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด สามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. niger* ด้วยค่า MIC >1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ Priya *et al.* (2010) รายงานว่าสารสกัดเมทานอลจากเปลือกต้นราชพฤกษ์สามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. niger* โดยมีค่าของบริเวณการยับยั้งเท่ากับ 19.5 มิลลิเมตร รองลงมาคือสารสกัดด้วยน้ำ

(15.5 มิลลิเมตร) สารสกัดปีโตรเลียมอีเทอร์ (3.5 มิลลิเมตร) และสารสกัดคลอโรฟอร์ม (3.0 มิลลิเมตร) ตามลำดับ และ Ali *et al.* (2004) รายงานว่าที่ความเข้มข้น 26667 ppm สารสกัดเอทิลอะซิเตทและเมทานอลจากเปลือกต้นราชพฤกษ์สามารถยับยั้ง *A. flavus* โดยมีค่าของบริเวณการยับยั้งเท่ากับ 10.0 มิลลิเมตร

### 3.8 สีเสียดเทศ (*Uncaria gambir*)

สีเสียดเทศเป็นพืชสมุนไพรที่มีคุณสมบัติเป็น astringent และมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้ ตัวอย่างเช่น รายงานวิจัยของ Voravuthikunchai *et al.* (2004) ได้ศึกษาความสามารถของสารสกัดสีเสียดเทศด้วยน้ำในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* O157: H7 RIMD 0509952 โดยทดสอบด้วยวิธี paper disc diffusion พบว่าสารสกัดสีเสียดเทศด้วยน้ำสามารถยับยั้งเชื้อได้ ด้วยค่า MIC เท่ากับ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อมา Voravuthikunchai and Mitchell (2008) พบว่าสารสกัดเอทานอลและน้ำสามารถยับยั้งเชื้อ *Helicobacter pylori* โดยมีค่าของบริเวณการยับยั้งเท่ากับ 5.50 และ 4.95 มิลลิเมตร ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดสีเสียดเทศมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรียแกรมบวก เช่น *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* และ *B. subtilis* (Pambayun *et al.*, 2007)

### 3.9 หม่อน (*Morus alba* L.)

หม่อนเป็นสมุนไพรที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ อีกทั้งยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ ตัวอย่างเช่น Park *et al.* (2003) ได้ศึกษาสารประกอบในเปลือกกรากหม่อนที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ พบว่าสารประกอบ kuwanon G ในสารสกัดเมทานอลสามารถยับยั้งการเติบโตของ *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. sanguis* และ *Porphyromonas gingivalis* ด้วยค่า MIC เท่ากับ 8 ppm และสามารถยับยั้ง *Actinobacillus actinomycetemcomitans* และ *C. albicans* ด้วยค่า MIC เท่ากับ 1000 ppm นอกจากนี้ Sohn *et al.* (2004) รายงานว่าสารประกอบ mulberrofurin G และ albanol B ในเปลือกกรากหม่อนสามารถยับยั้ง *C. albicans* และ *S. cerevisiae* ด้วยค่า MIC > 60 ppm โดยสารประกอบ mulberrofurin G สามารถยับยั้ง *S. typhimurim*, *S. epidermis* และ *S. aureus* ด้วยค่า MIC เท่ากับ 7.50, 6.25 และ 5.00 ppm ตามลำดับ ในขณะที่สารประกอบ albanol B สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสามชนิด ด้วยค่า MIC เท่ากับ 5.00 ppm ในงานวิจัยของ Cheeptham and Towers (2002) รายงานว่าสารสกัดเอทานอลของใบหม่อนสามารถ

ยับยั้ง *E. coli*, *S. aureus* และ *S. aureus* โดยมีค่าของบริเวณการยับยั้งในช่วง 8–12 มิลลิเมตร Koppula *et al.* (2010) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดผลหม่อนที่สกัดด้วยเมทานอล และ คลอโรฟอร์มต่อการยับยั้งการเติบโตของ *Rhizoctonia solani*, *Biopolaris* spp., *Ustilago maydis* และ *A. alternate* ด้วยวิธี agar well diffusion พบว่าสารสกัดเมทานอลสามารถยับยั้งการเติบโตของ เชื้อราทุกชนิดได้ดีกว่าสารสกัดคลอโรฟอร์ม

### 3.10 อบเชย (*Cinnamomum zeylanicum* L.)

อบเชยเป็นทั้งสมุนไพรและเครื่องเทศที่นิยมนำมาใช้ในการประกอบอาหาร อีกทั้งยังมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ด้วย โดยสารสำคัญที่มีประสิทธิภาพคือ cinnamic aldehyde, *O*-methoxycynamaldehyde และ eugenol ตัวอย่างเช่น Gupta *et al.* (2008) ได้ศึกษาสารสกัดหยาบ อบเชยในการยับยั้งเชื้อรา พบว่าสารสกัดอบเชยสามารถยับยั้ง *Penicillium* sp. ได้ดีที่สุด ด้วยค่า MIC เท่ากับ 2000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือ *Alternaria* sp. (MIC 4000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) *Aspergillus* sp. และ *Rhizomucor* sp. (MIC 8000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ และ Mau *et al.* (2001) รายงานว่าสารสกัดอบเชยสามารถยับยั้ง *A. flavus*, *A. niger* และ *P. italicum* โดยมีค่าของ บริเวณการยับยั้งเท่ากับ 28.0, 28.0 และ 20.0 มิลลิเมตร ตามลำดับ เช่นเดียวกับ Jham *et al.* (2005) รายงานว่าที่ความเข้มข้น 300 และ 100 ppm สารสกัดอบเชยสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* และ *A. ruber* ได้ ตามลำดับ นอกจากนี้สารประกอบ *O*-methoxycynamaldehyde ที่แยกได้จาก อบเชย ที่ความเข้มข้น 100 ppm สามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อราทั้งสองชนิดได้ (Morozumi, 1978)

กัจฉนันท์ และคณะ (2553) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยอบเชยต่อการยับยั้งการเติบโตของ *A. niger*, *A. terreus*, *A. fumigates* และ *Aspergillus* sp. พบว่าน้ำมันหอมระเหย ที่ความเข้มข้น 100 ppm สามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. niger*, *A. terreus* และ *Aspergillus* sp. โดยมีค่าของบริเวณการยับยั้งเท่ากับ 72.70, 65.33 และ 78.25 มิลลิเมตร ตามลำดับ และที่ความเข้มข้น 30 ppm สามารถยับยั้ง *A. fumigates* ได้อย่างสมบูรณ์ ในงานวิจัยของ Thanaboripat *et al.* (2007) ได้ศึกษาความสามารถของน้ำมันหอมระเหยในการยับยั้ง *A. flavus* IMI 242684 ด้วยวิธี agar diffusion พบว่าน้ำมันหอมระเหยอบเชย ที่ความเข้มข้น 50 % (โดยปริมาตร) สามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* IMI 242684 ได้

นฤมล และมนตรี (2551) ได้ศึกษาคุณสมบัติของน้ำมันหอมระเหยจากอบเชยและกานพลูในอัตราส่วน 5:1 ในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อรา 5 ชนิด คือ *Cladosporium* sp., *Gliocephalotichum microchlamydosporum*, *A. niger*, *Penicillium* sp. และ *Colletotrichum gloeosporioides* ด้วยวิธี disc diffusion พบว่าที่ความเข้มข้น 150 ppm น้ำมันหอมระเหยสามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อราได้ทุกชนิด ยกเว้นเชื้อ *C. gloeosporioides* ที่ต้องใช้ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย 180 ppm

นอกจากนี้ยังมีพืชอีกหลายชนิดที่สามารถยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ (ตารางที่ 4) Satish *et al.* (2007) ได้ศึกษาความสามารถของสารสกัดหยาบจากพืช 52 ชนิด ในการยับยั้งการเติบโตของ *A. candidus*, *A. columnaris*, *A. flavipes*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. ochraceus* และ *A. tamari* พบว่าสารสกัดของ *Acacia nilotica*, *Achras zapota*, *Datura stramonium*, *Embllica officinalis*, *Eucalyptus globules*, *Lawsonia inermis*, *Mimusops elengi*, *Peltophorum pterocarpum*, *Polyalthia longifolia*, *Prosopis juliflora*, *Punica granatum* และ *Syggium cumini* ที่ความเข้มข้น 25 % (โดยปริมาตร) มีความสามารถในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อราที่ทดสอบนี้ได้ และมีการศึกษาผลของสารสกัดเอทานอลของใบมะกรูด และใบยาสูบต่อการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* พบว่าสารสกัดเอทานอลของใบมะกรูด และใบยาสูบ ที่ความเข้มข้น 10 และ 8 % (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ตามลำดับ สามารถยับยั้งเชื้อราที่ทดสอบได้ (Thanaboripat *et al.*, 2006) ในงานวิจัยของ Ubulom *et al.* (2011) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดเอทานอลและน้ำของเมล็ด *Picralima nitida* ต่อการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus*, *C. albicans* และ *M. canis* พบว่าที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดเอทานอลของเมล็ด *Picralima nitida* สามารถยับยั้งเชื้อราทั้งสามชนิดนี้ได้

Viuda-Martos *et al.* (2008) ได้ศึกษาน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้ม 4 ชนิด ได้แก่ เกรปฟรุต (grapefruit), มะนาว (lemon), ส้มจีน (mandarin) และส้ม (orange) กับเชื้อรา 4 สายพันธุ์ คือ *A. niger*, *A. flavus*, *P. chrysogenum* และ *P. verrucosum* พบว่าน้ำมันหอมระเหยของส้มมีความไวต่อ *A. niger* มากที่สุด และน้ำมันหอมระเหยของส้มจีนมีความไวต่อ *A. flavus* มากที่สุด ในขณะที่น้ำมันหอมระเหยของเกรปฟรุตมีความไวต่อ *P. chrysogenum* และ *P. verrucosum* มากที่สุด นอกจากนี้ยังมีการทดสอบความสามารถของน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้มต่อการยับยั้งการเติบโตของเชื้อรา โดยทดสอบด้วยวิธี disc diffusion พบว่าน้ำมันหอมระเหยของมะกรูดและมะนาวสามารถยับยั้ง *A. flavus* TISTR 3041, *A. paraciticus* TISTR 3276 และ *A. fumigates* TISTR 3018

ตารางที่ 4 สมุนไพรและเครื่องเทศที่สามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อรา

| พืช                                                                                                                                                                       | สารสกัด        | เชื้อรา                                                                                                                                                                         | เอกสารอ้างอิง                      |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| <i>Acacia nilotica</i>                                                                                                                                                    | สารสกัดหยาบ    | <i>A. flavus</i>                                                                                                                                                                | Mahesh and Satish (2008)           |
| <i>Acorus calamus</i> , <i>Alnus viridis</i> , <i>Fragaria virginiana</i>                                                                                                 | สารสกัดหยาบ    | <i>A. flavus</i>                                                                                                                                                                | Webster <i>et al.</i> (2008)       |
| <i>Azadirachta indica</i> , <i>Morinda lucida</i>                                                                                                                         | น้ำมันหอมระเหย | <i>A. flavus</i>                                                                                                                                                                | Bankole (1997)                     |
| <i>Bucida buccera</i> , <i>Breonadia salicina</i> ,<br><i>Harpephyllum caffrum</i> , <i>Olinia ventosa</i> ,<br><i>Vangueria infausta</i> ,<br><i>Xylothea kraussiana</i> | สารสกัดหยาบ    | <i>A. parasiticus</i> , <i>A. niger</i> , <i>C. gloeosporioides</i> ,<br><i>P. expansum</i> , <i>P. janthinellum</i> , <i>Trichoderma harzianum</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> | Mahlo <i>et al.</i> (2010)         |
| ไธม์                                                                                                                                                                      | น้ำมันหอมระเหย | <i>A. flavus</i>                                                                                                                                                                | Omidbeygi <i>et al.</i> (2007)     |
| <i>Datura metel</i> Linn. (White Thornapple)                                                                                                                              | สารสกัดหยาบ    | <i>A. flavus</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. fumigatus</i>                                                                                                                        | Dabur <i>et al.</i> (2004)         |
| <i>Euphorbia milli</i> , <i>Euphorbia pulcherrima</i>                                                                                                                     | สารสกัดผง      | <i>A. flavus</i> , <i>A. parasiticus</i>                                                                                                                                        | Murugan <i>et al.</i> (2007)       |
| ตะไคร้                                                                                                                                                                    | น้ำมันหอมระเหย | <i>A. niger</i> , <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Colletotrichum coccodes</i> , <i>C. herbarum</i> , <i>Rhizopus stolonifer</i>                                                    | Tzortzakakis and Economakis (2007) |
| <i>Lippia rugosa</i>                                                                                                                                                      | น้ำมันหอมระเหย | <i>A. flavus</i>                                                                                                                                                                | Tatsadjieu <i>et al.</i> (2009)    |
| <i>Lupinus albus</i> , <i>Ammi visnaga</i> ,<br><i>Xanthium pungens</i>                                                                                                   | สารสกัดหยาบ    | <i>A. flavus</i>                                                                                                                                                                | Mahmoud (1999)                     |

ตารางที่ 4 (ต่อ)

| พืช                                                         | สารสกัด        | เชื้อรา                                                                                                                                                 | เอกสารอ้างอิง                         |
|-------------------------------------------------------------|----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|
| Mahua ( <i>Madhuca indica</i> Gmel.)                        | น้ำมันหอมระเหย | <i>A. flavus</i>                                                                                                                                        | Sidhu <i>et al.</i> (2009)            |
| <i>Satureja hortensis</i> L.                                | น้ำมันหอมระเหย | <i>A. parasiticus</i>                                                                                                                                   | Razzaghi-Abyaneh <i>et al.</i> (2008) |
| <i>Vanasushava pedata</i> (Apiaceae)                        | น้ำมันหอมระเหย | <i>A. niger</i> , <i>A. flavus</i> , <i>C. albicans</i>                                                                                                 | Karuppusamy <i>et al.</i> (2009)      |
| <i>Zanthoxylum leprieurii</i> ,<br><i>Z. xanthoxyloides</i> | สารสกัดหยาบ    | <i>M. gypseum</i> , <i>T. rubrum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> ,<br><i>B. cinerea</i> , <i>A. flavus</i> , <i>Scopulariopsis</i><br><i>brevicaulis</i> | Ngane <i>et al.</i> (2000)            |

ด้วยค่า MFC เท่ากับ 1.13 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และยับยั้งการเติบโตของ *A. niger* TISTR 6275 ด้วยค่า MFC เท่ากับ 0.56 และ 2.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และยับยั้งการเติบโตของ *Penicillium* sp. ด้วยค่า MFC เท่ากับ 1.13 และ 2.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (เกศรินทร์, 2552)

Selvi *et al.* (2003) พบว่าที่ความเข้มข้น 500 ppm สารสกัดของ *Garcinia indica* สามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* ได้ รายงานการวิจัยของ Dikbas *et al.* (2008) พบว่าน้ำมันหอมระเหยของ *Satureja hortensis* สามารถลดการเติบโตของเส้นใยราได้ โดยเฉพาะที่ความเข้มข้น 25.00 ppm ซึ่งเชื้อรามีน้ำหนักแห้ง 0.30 กรัม ในขณะที่ความเข้มข้น 6.25 และ 12.50 ppm เชื้อรามีน้ำหนักแห้งเท่ากับ 1.73 และ 1.76 กรัม ตามลำดับ นอกจากนี้ Korukluoglu *et al.* (2008) รายงานว่าสารสกัดของมะกอก (olive) สามารถยับยั้งการเติบโตของ *Aspergillus* spp., *F. semitectum*, *P. citrinum*, *P. echinulatum*, *P. griseofulvum*, *P. italicum*, *P. roqueforti*, *R. oligosporus*, *Mucor racemosus*, *Neurospora crassa*

#### 4. กลไกการยับยั้งเชื้อราของสารสกัดสมุนไพรและน้ำมันหอมระเหย

คุณสมบัติของสารสกัดสมุนไพรและน้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งจุลินทรีย์มีการศึกษามาตั้งแต่อดีต แต่กลไกการเกิดปฏิกริยานั้นยังไม่ได้มีการศึกษามากนัก (Burt, 2004) สารประกอบกลุ่มต่างๆ ที่พบในสารสกัดสมุนไพรและน้ำมันหอมระเหยจะแสดงกิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ แต่จะไม่แสดงความจำเพาะเจาะจงต่อเซลล์ใดเซลล์หนึ่ง ในรายงานวิจัยของเกศรินทร์ (2552) พบว่าเมื่อน้ำมันหอมระเหยของผิวมะกรูด และมะนาวทำปฏิกริยากับจุลินทรีย์ โครงสร้างภายในของ *A. parasiticus* มีลักษณะโปร่ง และมีขนาดเส้นใยที่ใหญ่กว่าชุดควบคุม และพบว่าไม่มีการสร้างสปอร์ในขณะที่ชุดควบคุมพบการสร้างสปอร์ นอกจากนี้พื้นผิวผนังเซลล์ของไฮฟา (hyphae) เกิดลักษณะที่ผิดปกติโดยสังเกตได้จากผนังเซลล์ที่มีลักษณะหนาขึ้น และมีลักษณะไม่เรียบ ภายในเซลล์ที่มีลักษณะโปร่งกว่าเซลล์ชุดควบคุม แสดงว่าองค์ประกอบภายในเซลล์ถูกทำลาย ต่อมา Carmo *et al.* (2008) รายงานว่าน้ำมันหอมระเหยมีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อรา โดยมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานของ *Aspergillus* sp. รวมทั้งเชื้อราจะไม่มีการสร้างสปอร์

ในรายงานวิจัยหลายฉบับ แสดงให้เห็นความสัมพันธ์ของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดของพืชสมุนไพรต่อกิจกรรมการต้านเชื้อรา โดยสารหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group, -OH) ของสารประกอบฟีนอลิกจะไปเกาะจับกับเอนไซม์เป้าหมาย (target enzymes) จึงทำให้กิจกรรมการต้านเชื้อราเพิ่มขึ้น (Frag *et al.*, 1989; Nychas, 1995) และ Cowan (1999) พบว่าสารประกอบฟีนอลิกจะไปทำลายผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ และทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในจุลินทรีย์ โดยเข้าจับกับหมู่ซัลไฟไฮดริล (sulfhydryl group, -SH) ของเอนไซม์ นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกมีความสามารถที่ไปเปลี่ยนแปลงเยื่อหุ้มเซลล์ โดยเยื่อหุ้มเซลล์จะถูกทำลายไออนภายในเซลล์จะรั่วไหลออกมา เช่น  $K^+$  รั่วออกมาภายนอกทำให้สารประกอบฟีนอลิกที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อราสามารถแพร่ผ่านเข้าไปในเซลล์ได้มากขึ้น มีผลทำให้ชะงักการเติบโตของเซลล์ และทำให้เซลล์ตายในที่สุด (Brehm-Stecher *et al.*, 2003) และจากงานวิจัยของ Kurita *et al.* (1979) พบว่าสารระเหยแอลดีไฮด์ (volatile aldehydes) จากสมุนไพรยังสามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อราได้ โดยความสามารถของแอลดีไฮด์จะให้กลิ่นตรอนและจะเกิดปฏิกิริยากับหมู่ซัลไฟไฮดริลในซิสเทอีน (cysteine) หรือกลูตาไธโอน (glutathione)

จากรายงานการวิจัยของกลไกในการยับยั้งเชื้อราจากสารประกอบของพืช พบว่าสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารออกฤทธิ์ที่สำคัญในพืช เช่น acetocyringone, syringaldehyde และกรดไซแนปินิก (sinapinic acid) ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการผลิตอะฟลาทอกซิน B<sub>1</sub> จาก *A. flavus* สารประกอบนี้ไม่เพียงยับยั้งการผลิตอะฟลาทอกซิน B<sub>1</sub> แต่ยังลดการผลิตของกรดนอร์โซโลรีนิก (norsolorinic acid) โดยสารประกอบฟีนอลิกจะไปยับยั้งขั้นตอนในการผลิตอะฟลาทอกซิน B<sub>1</sub> มากกว่าหนึ่งขั้นตอน (Hua *et al.*, 1999)

## 5. การประยุกต์ใช้สารสกัดสมุนไพรในผลิตผลทางการเกษตร

ปัจจุบันพืชสมุนไพรหลายชนิดถูกนำมาใช้เป็นทั้งอาหารและยารักษาโรค และบางชนิดนำมาใช้ควบคุมจุลินทรีย์ เพื่อลดการใช้สารเคมี เนื่องจากสารเคมีเหล่านี้เป็นสารเคมีสังเคราะห์และเป็นสารที่มีพิษ เมื่อใช้หรือได้รับในระยะเวลานานๆ จะทำให้มีการสะสมสารพิษในร่างกายมนุษย์และสิ่งแวดล้อมจนเป็นอันตรายต่อชีวิตและสุขภาพของมนุษย์ ดังนั้นจึงมีการนำพืชสมุนไพรมาใช้ทดแทนสารเคมี โดยมีรายงานการวิจัยหลายฉบับ พบว่าสารสกัดสมุนไพรสามารถยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ *A. flavus* และ *A. parasiticus* ในผลิตผลทางการเกษตรได้ โดยงานวิจัยของ Sandosskumar *et al.* (2007) ได้ทดสอบความสามารถของสารสกัด

ของกระเทียมและหอมใหญ่ในระหว่างการเก็บถั่วลิสงนาน 5 วัน พบว่าสารสกัดของกระเทียมและหอมใหญ่สามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* ได้ 73 % และลดปริมาณอะฟลาทอกซิน B<sub>1</sub> ได้ 58.5 % ในงานวิจัยของกิตติพันธ์ และคณะ (2551) พบว่าที่ความเข้มข้น 50000 ppm สารสกัดเมทานอลของเปลือกมังคุดสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* และ *A. niger* ในเมล็ดถั่วเขียวได้ 64.07 และ 76.32 % ตามลำดับ และในงานวิจัยของสรอนงค์ (2552) พบว่าผงสารสกัดกานพลูสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus*, *A. niger* และ *Penicillium* spp. ได้อย่างสมบูรณ์ แต่การนำผงสารสกัดดังกล่าวมาคลุกเมล็ดถั่วเหลืองและเก็บรักษาไว้ พบว่าไม่สามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้

Saralamp *et al.* (1996) ได้ทดสอบผลของสารสกัดพลูต่อการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซิน พบว่าสารสกัดพลูเข้มข้น 6 % (โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก) สามารถยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ *A. flavus* ในระหว่างการเก็บรักษาข้าวโพดนาน 28 วัน ในทำนองเดียวกัน Sánchez *et al.* (2005) ได้ศึกษาความสามารถของต้นหางจระเข้สองชนิด (*Agave asperima* และ *Agave striat*) พบว่าสารสกัดต้นหางจระเข้ทั้งสองชนิดสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* และ *A. parasiticus* ในเมล็ดข้าวโพดด้วยค่า MIC เท่ากับ 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ น้ำมันหอมระเหยของโป๊ยกั๊กสามารถยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ *A. flavus* และ *A. parasiticus* ในเมล็ดข้าวโพดได้ (Bluma *et al.*, 2008; Bluma and Etcheverry, 2008) เช่นเดียวกับ Montes-Belmont and Carvajal (1998) ได้ศึกษาความสามารถของน้ำมันหอมระเหยจากพืช 11 ชนิดที่ด้านการเติบโตของ *A. flavus* พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากกานพลู อบเชย สารระเหย โหระพา ไธม์ และออริกาโน สามารถต้านการเกิดราในเมล็ดข้าวโพดได้

Reddy *et al.* (2009) ได้ศึกษาความสามารถของสารสกัดกานพลูในการควบคุมการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซิน พบว่าที่ความเข้มข้น 5 กรัมต่อกิโลกรัมของข้าว สารสกัดกานพลูสามารถยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซิน B<sub>1</sub> ของ *A. flavus* ในเมล็ดข้าวได้อย่างสมบูรณ์ ในขณะที่สารสกัดกระเทียม ขมิ้นและกะเพราสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* ได้ 65–78 % และยับยั้งการผลิตอะฟลาทอกซิน B<sub>1</sub> ได้ 72.2–85.7 % โดยในงานวิจัยของ Thanaboripat *et al.* (1997) พบว่าสารสกัดกระเทียม แครอท และกานพลูสามารถยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ *A. flavus* ในเมล็ดข้าวได้ ที่ความเข้มข้น 10, 2 และ 10 % (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ตามลำดับ นอกจากนี้สารสกัดอบเชย ไธม์ โป๊ยกั๊ก และสารระเหยยังสามารถยับยั้งการเติบโตและการผลิตสารพิษอะฟลาทอกซิน ออกราทอกซินและฟูโมนิซินในข้าวสาลีได้ (Soliman and Badeaa,

2002) ต่อมา ปอฟโฟไล และอูมา (2554) ได้ศึกษาชนิดของผงตัวกลางเพื่อใช้ร่วมกับสารสกัดจากพืชมะเขือเทศ ความเข้มข้น 1500 ppm ในการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus*, *A. niger* และ *Penicillium* spp. ในเมล็ดข้าว พบว่าสารสกัดจากพืชมะเขือเทศร่วมกับผง bentonite, kaolinite และ montmorillonite K-10 สามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อราทั้ง 3 ชนิดได้อย่างสมบูรณ์ ในขณะที่สารสกัดร่วมกับ montmorillonite KSF สามารถยับยั้งการเติบโตได้อย่างสมบูรณ์เฉพาะ *Penicillium* spp. เมื่อนำสารสกัดจากพืชมะเขือเทศมาคลุกเมล็ดข้าวและเก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน พบว่าเมล็ดที่คลุกด้วยผงสารสกัดร่วมกับ montmorillonite K-10 มีความงอกเฉลี่ยสูงสุด และต้นกล้าที่ได้มีน้ำหนักแห้งเฉลี่ยสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเก็บรักษาเมล็ดที่คลุกผงสารสกัดจากพืชมะเขือเทศร่วมกับ montmorillonite K-10 เป็นเวลา 90 วัน เปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่ได้คลุกผง (ชุดควบคุม) พบว่าระยะเวลาเก็บรักษาทำให้เมล็ดชุดควบคุมมีอัตราการงอกและน้ำหนักแห้งของต้นกล้าต่ำกว่าเมล็ดที่คลุกด้วยผงสารสกัด และถูกเชื้อราเข้าทำลายมากกว่าอีกด้วย

Bankole *et al.* (2005) ศึกษาความสามารถของน้ำมันหอมระเหยต่อการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* ในเมล็ดแตง (*Colocynthis citrullus* L.) พบว่าน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ที่ความเข้มข้น 0.1 % (โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก) และผงตะไคร้ 10 % (โดยน้ำหนัก) สามารถยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซิน ของ *A. flavus* ในเมล็ดแตงโม นอกจากนี้ Hegazy (2011) ได้ทำการทดลองในน้ำมันหอมระเหยและผงของตะไคร้ พบว่าน้ำมันหอมระเหยและผงของตะไคร้ สามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* NRRL 5096 ในเมล็ดแตงโม ด้วยค่า MIC เท่ากับ 0.1 % (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) และ 75 กรัม (โดยน้ำหนัก) ตามลำดับ ตรวจพบปริมาณอะฟลาทอกซิน 3.204 ppb ในเมล็ดแตงโม ซึ่งน้อยกว่าในชุดควบคุม (17.540 ppb)

Sidhu *et al.* (2009) พบว่าสารสกัดจากพืชมะเขือเทศ (*Pongamia pinnata*) สะเดา ตะไคร้หอม และมะระสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* ในเมล็ด maha ได้ โดยน้ำมันหอมระเหยของสะเดา สามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* ได้ 20.41 % และสารสกัดเมทานอลของมะระสามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อราได้ 36.26 % แต่เมื่อนำเอาสารสกัดมารวมกันจะทำประสิทธิภาพในการยับยั้งการเติบโตดีกว่าการใช้สารสกัดเพียงชนิดเดียว การผสมของสารสกัดเมทานอลของสะเดา และน้ำมันหอมระเหยพืชมะเขือเทศ สามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อราได้ 57.32 % อย่างไรก็ตามการผสมของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้หอม และสารสกัดเมทานอลของมะระสามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อราได้ 85.67 % เมื่อเทียบกับชุดควบคุม

Nwachukwu and Umechuruba (2001) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากโหระพา ใบชะพลู สะเดา และมะละกอ พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus*, *A. niger*, *B. theobromae* และ *F. moniliforme* ในเมล็ด African yam bean (*Sphenostylis stenocarpa*) โดยอัตราการงอกของ เมล็ด African yam bean ในสารสกัดสะเดาสูง 89.0 % รองลงมาคือสารสกัดใบชะพลู (82.5 %), สารสกัดมะละกอ (80.1 %) และสารสกัดโหระพา (66.0 %) ตามลำดับ และในปี 2010 Xing *et al.* พบว่าน้ำมันหอมระเหยอบเชย ที่ความเข้มข้น 1.0 และ 2.0 % (โดยปริมาตร) สามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* ในพุทราจีน (*Ziziphus jujuba* Mill cv.) และส้มจีน (*Shatang mandarin*) ได้ตามลำดับ

## อุปกรณ์และวิธีการ

### อุปกรณ์

#### 1. เชื้อจุลินทรีย์

*A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

#### 2. พืชสมุนไพร

พืชสมุนไพร 10 ชนิด ซื้อมาจากร้านลงเย็นถึง เขาวราช กรุงเทพฯ ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 พืชสมุนไพรที่ใช้ในการทดลอง

| พืช        | ชื่อวิทยาศาสตร์                      | ชื่อสามัญ      | ส่วนที่ใช้ |
|------------|--------------------------------------|----------------|------------|
| กานพลู     | <i>Syzygium aromaticum</i> L.        | clove          | ผล         |
| ขิง        | <i>Zingiber officinale</i> Roscoe    | ginger         | เหง้า      |
| ตะไคร้หอม  | <i>Cymbopogon winterianus</i> Jowitt | citronella     | ลำต้น      |
| พริกไทยดำ  | <i>Piper nigrum</i> L.               | black pepper   | ผล         |
| พริกหอม    | <i>Zanthoxylum simulans</i>          | sichuan pepper | ผล         |
| พลู        | <i>Piper Betle</i> L.                | betel          | ใบ         |
| ราชพฤกษ์   | <i>Cassia fistula</i> L.             | golden shower  | เนื้อไม้   |
| ลีเลียดเทศ | <i>Uncaria gambir</i>                | gambir         | เนื้อไม้   |
| หม่อน      | <i>Morus alba</i> L.                 | mulberry       | ใบ         |
| อบเชย      | <i>Cinnamomum zeylanicum</i> L.      | cinnamon       | เปลือกไม้  |

### 3. อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

- 3.1 อาหารแข็ง potato dextrose (PDA; Difco™)
- 3.2 95 % เอทานอล (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH; Univar, Australia)
- 3.3 เฮกเซน (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>; Lab-Scan, Thailand)
- 3.4 คลอโรฟอร์ม (CHCl<sub>3</sub>; Univar, Australia)
- 3.5 เมทานอล (CH<sub>3</sub>OH; Univar, Australia)
- 3.7 โซเดียมคลอไรด์ (NaCl; Univar, Australia)
- 3.8 Tween 80 (Labchem, Australia)
- 3.9 Captafol (Commercial grade)
- 3.10 Carbendazim (Commercial grade)
- 3.11 Mancozeb (Commercial grade)

### 4. เครื่องมือ

- 4.1 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อแบบไอน้ำ (Autoclave; Tomy, Model ES-315, Japan)
- 4.2 เครื่องบด (MX-T210GN, National, Taiwan)
- 4.3 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Model ED3202S, Sartorius, Germany)
- 4.4 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Model ED2248, Sartorius, Germany)
- 4.5 ชุดทดสอบ DOA-Aflatoxin ELISA test kit (Higher Enterprises CO., LTD., Thailand)
- 4.6 เครื่องบดแฮมเมอร์มิลล์ (Hammer mill; DCFH 48, SUE Heto, Denmark)
- 4.7 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven; Model UNE 200, Memmert, Germany)
- 4.8 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator; MMM-11, Incucell, Germany)
- 4.9 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar flow; HVS 60, Boss Tech, Thailand)
- 4.10 เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิได้แบบหมุนรอบ (Rotary shaker; INNOVA 2300, New Brunswick Scientific, USA)
- 4.11 เครื่องกลั่นระเหยระบบสุญญากาศ (Rotary vacuum evaporator; Büchi Rotavapor, R200, Switzerland)
- 4.12 ตะแกรงเหล็ก (Sieve; D-42759 HAAN, Germany)
- 4.13 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV-Vis Spectrophotometer; Gene Quant 1300, Sweden)

- 4.14 เวอร์เนียคาลิปเปอร์ (Vernier caliper; Mitutoyo, Taiwan)
- 4.15 เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixture; G-560E, Vortex-Genie, Australia)
- 4.16 เครื่องตีบดตัวอย่าง (Stomacher 80; Seward Laboratory Systems Inc, USA)
- 4.17 เครื่องแก้วและอุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์

## วิธีการ

### 1. การศึกษาผลของชนิดตัวทำละลายต่อประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276

#### 1.1 การเตรียมวัตถุดิบ

นำตัวอย่างพืชสมุนไพรมาล้างให้สะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำไปอบแห้งในตู้อบแห้งแบบลมร้อน ควบคุมอุณหภูมิที่ 50 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำพืชสมุนไพรที่ผ่านการอบแห้งไปบดให้มีขนาดเล็กด้วยเครื่องบด ร้อนผ่านตะแกรงเหล็ก 16 mesh เก็บใส่ถุงพลาสติก และเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C

#### 1.2 การเตรียมสารสกัดหยาบ (crude extracts) จากพืชสมุนไพร

นำตัวอย่างพืชสมุนไพร 20 กรัม (น้ำหนักแห้ง) จากข้อ 1.1 ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร แล้วเติมตัวทำละลาย (น้ำ เอทานอล คลอโรฟอร์ม และเฮกเซน) 100 มิลลิลิตร นำไปเขย่าที่ความเร็ว 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 และนำสารสกัดที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยระบบสูญญากาศที่อุณหภูมิ 40 °C และความดัน 100–150 มิลลิบาร์ จนปริมาตรเหลือ 1/4 ของทั้งหมด เติมน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร และระเหยน้ำออกที่ความดัน 75–50 มิลลิบาร์ จนมีปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 20 มิลลิลิตร สารสกัดหยาบที่ได้มีความเข้มข้น 20000 ppm และเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C

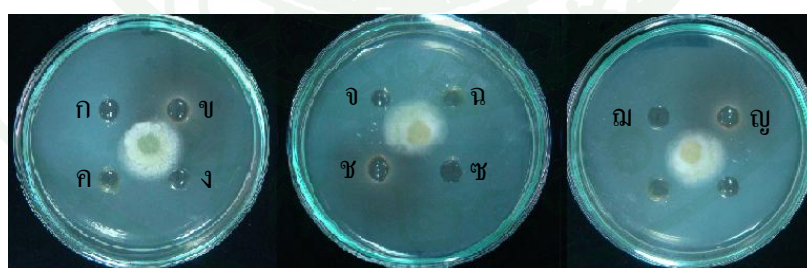
(Pattaratanawadee *et al.*, 2006)

### 1.3 การเตรียมกล้าเชื้อ

เพาะเลี้ยง *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นใช้ cork borer เบอร์ 4 (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร) ตัดเส้นใยของเชื้อราที่เพาะไว้ เพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อในการทดลองต่อไป

### 1.4 การทดสอบความสามารถของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรในการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276

การทดสอบความสามารถของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรในการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 โดยใช้เทคนิคประยุกต์ well assay (Rauha *et al.*, 2000) จะหั่นอาหาร PDA 4 หลุม ด้วย cork borer เบอร์ 4 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร โดยเจาะให้หลุมมีระยะห่างเท่ากันๆ หลังจากนั้นเติมสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิดที่ความเข้มข้น 4000 ppm ที่ผ่านการกรองด้วยกระดาษกรอง 0.45 ไมครอน ปริมาณ 100 ไมโครลิตรลงในหลุมทดสอบ จากนั้นนำกล้าเชื้อวางบนกึ่งกลางของอาหาร PDA ดังแสดงในภาพที่ 3 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 7 วัน และตรวจผลจากบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) การทดลองนี้ใช้น้ำกลั่นเป็นชุดควบคุม (control) และใช้สารเคมีเป็นตัวเปรียบเทียบ (positive control) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ



- |             |           |               |                 |
|-------------|-----------|---------------|-----------------|
| (ก) กานพลู  | (ข) ขิง   | (ค) ตะไคร้หอม | (ง) พริกไทยดำ   |
| (จ) พริกหอม | (ฉ) พลู   | (ช) ราชพฤกษ์  | (ซ) สี่เลียดเทศ |
| (ณ) หม่อน   | (ญ) อบเชย |               |                 |

ภาพที่ 3 การทดสอบการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 ด้วยสารสกัดสมุนไพร ที่ระดับความเข้มข้น 4000 ppm

## 2. การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อราได้ (Minimum fungicidal concentration: MFC)

การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อราได้ (MFC) ด้วยวิธี agar diffusion (Mann *et al.*, 2008) โดยเตรียมสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้น 156.25, 312.50, 625, 1250, 2500, 5000, 10000 และ 20000 ppm เติมสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่างๆ 2 มิลลิลิตร ลงในอาหาร PDA ที่มีปริมาตร 8 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 50 °C ผสมให้เข้ากัน แล้วเทลงในจานเพาะเชื้อ ทิ้งไว้ให้อาหารแข็ง ดังนั้นความเข้มข้นสุดท้ายของสารสกัดสมุนไพรจะเท่ากับ 31.25, 62.50, 125, 250, 500, 1000, 2000 และ 4000 ppm หลังจากนั้นนำกล้าเชื้อวางลงตรงกึ่งกลางจานเพาะเชื้อ ดังแสดงในภาพที่ 4 บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 7 วัน แล้ววัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อราที่เติบโตบนอาหาร และคำนวณค่าดัชนีการยับยั้ง การทดลองนี้ใช้น้ำกลั่นเป็นชุดควบคุมและใช้สารเคมีเป็นตัวเปรียบเทียบ โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ

การคำนวณค่าดัชนีการยับยั้งได้ดังนี้

$$\% \text{ ดัชนีการยับยั้ง} = \frac{D_{\text{Control}} - D_{\text{Extract}}}{D_{\text{Control}}} \times 100$$

โดย  $D_{\text{Control}}$  คือค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อราที่เติบโตบนอาหาร PDA ในชุดควบคุม  
 $D_{\text{Extract}}$  คือค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อราที่เติบโตบนอาหาร PDA ในสารสกัดสมุนไพรหรือสารเคมี



ภาพที่ 4 การทดสอบการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 ด้วยสารสกัดสมุนไพรที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

### 3. การประยุกต์ใช้สารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ในถั่วลิสง

3.1 การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ในถั่วลิสงภายใต้สภาวะการเดิมเชื้อ

เตรียมสารละลายสารเคลือบ ซึ่งประกอบด้วย 0.01 % (โดยปริมาตร) tween 80 ละลายในสารละลายสมุนไพรที่ค่า MFC แล้วนำถั่วลิสงแห้ง (20 กรัม) จุ่มลงในสารละลายสารเคลือบเป็นเวลา 2 นาที หลังจากนั้นนำไปทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 °C นาน 30 นาที นำถั่วลิสงที่เคลือบด้วยสารสกัดสมุนไพรวางลงในจานเพาะเชื้อ แล้วนำกล้าเชื้อราวางลงกึ่งกลางจานเพาะเชื้อ ดังแสดงในภาพที่ 5 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 32 วัน แล้วเก็บตัวอย่างมาหาปริมาณเชื้อราและการผลิตอะฟลาทอกซินของเชื้อราในถั่วลิสงทุกๆ 8 วัน การทดลองนี้ใช้ถั่วลิสงที่เคลือบด้วยน้ำกลั่นเป็นชุดควบคุมและสารเคมีเป็นตัวเปรียบเทียบ โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ



ภาพที่ 5 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพร ในการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ *A. flavus* TISTR 3366 ในถั่วลิสงภายใต้สภาวะการเดิมเชื้อ

3.2 การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ *Aspergillus* spp. ในผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงปนระหว่างการเก็บรักษา

นำถั่วลิสงแห้งไปอบที่อุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำถั่วลิสงสุกไปจุ่มในสารละลายสารเคลือบที่เตรียมไว้ตามข้อ 3.1 เป็นเวลา 2 นาที หลังจากนั้นนำไปทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 °C นาน 30 นาที และนำไปป่น แล้วเก็บผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงป่นไว้ในถุงซีปล็อกพลาสติกพอลิเอทิลีน (polyethylene) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 96 วัน แล้วสุ่มตัวอย่างนำมาหา

ปริมาณเชื้อราและการผลิตอะฟลาทอกซินในวันที่ 8, 16, 24, 32, 48, 64, 80 และ 96 การทดลองนี้ใช้ผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงปนที่เคลือบด้วยน้ำกลั่นเป็นชุดควบคุมและสารเคมีเป็นตัวเปรียบเทียบ โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ

#### 4. วิธีการวิเคราะห์

##### 4.1 การนับปริมาณของเชื้อรา โดยวิธี plate count

เก็บตัวอย่างถั่วลิสง 1 กรัม เติมน้ำละลาย 0.85 % (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) โซเดียมคลอไรด์ 9 มิลลิกรัมและนำไปปั่นด้วยเครื่องตีบดตัวอย่าง เป็นเวลา 1 นาที และนำสารละลายตัวอย่างมาทำการเจือจางให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสมในสารละลาย 0.85 % (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) โซเดียมคลอไรด์ จากนั้นเปิดสารละลายที่เจือจางแล้ว 0.1 มิลลิกรัม ลงบนผิวหน้าของอาหาร PDA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 3 วัน และนับจำนวนโคโลนีเชื้อราที่ขึ้นบนอาหาร PDA โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ

##### 4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซิน

นำตัวอย่างถั่วลิสงในแต่ละชุดการทดลองมา 5 กรัม แล้วปั่นด้วยเครื่องปั่นให้ละเอียด จากนั้นเติมน้ำละลายเมทานอลที่ความเข้มข้น 70 % (โดยปริมาตร) ในอัตราส่วนของตัวอย่างถั่วลิสงต่อสารละลายเมทานอลเท่ากับ 1:5 นำไปเขย่าที่ความเร็ว 300 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 จะได้สารละลายเมทานอลที่มีสารอะฟลาทอกซินละลายอยู่ แล้วเจือจางสารละลายตัวอย่างด้วย 0.01 M PBS-T ในอัตราส่วน 1:20 (โดยปริมาตร) หลังจากนั้นนำสารละลายตัวอย่างมาวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซินด้วยชุดทดสอบสำเร็จรูป (DOA-Aflatoxin ELISA Test Kit) โดยเติมน้ำอะฟลาทอกซินมาตรฐานปริมาณ 50 ไมโครลิตรที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.2, 0.5, 1.0 และ 2.0 ppb และเติมน้ำละลายตัวอย่าง ปริมาณ 50 ไมโครลิตร ลงในหลุมทดสอบที่เหลือ จากนั้นเติมเอนไซม์คอนจูเกตที่เจือจางแล้วลงในหลุมๆ ละ 50 ไมโครลิตร เขย่าเล็กน้อย แล้วเก็บในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที เทสารในหลุมทดสอบทิ้ง แล้วล้างหลุมทดสอบด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ 3 ครั้ง หลังจากล้างครั้งสุดท้าย ทิ้งหลุมทดสอบบนกระดาษซับแล้วเคาะให้แห้ง เติมน้ำซับสเตรท ปริมาณ 100 ไมโครลิตร ลงในหลุมทดสอบทุกหลุม แล้วเก็บในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 นาที แล้วหยุดปฏิกิริยาโดยเติม 0.5 M กรดฟอสฟอริก ปริมาณ 100

ไมโครลิตร อ่านค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร แล้วคำนวณค่าความเข้มข้นของสารพิษในตัวอย่าง ดังแสดงในภาคผนวก ก

#### 4.3 การวิเคราะห์ผลการทดลอง

ทำการประมวลผลทางสถิติด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (Statistical Package for the Social Science) มีการวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

#### 5. สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ

#### 6. ระยะเวลาในการทดลอง

การทดลองเริ่มตั้งแต่เดือนมกราคม 2552 สิ้นสุดเดือนพฤษภาคม 2554

## ผลและวิจารณ์

### 1. ประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276

การทดสอบประสิทธิภาพขั้นต้นของสารสกัดสมุนไพร 10 ชนิด ได้แก่ กานพลู จิง ตะไคร้ หอม พริกไทยดำ พริกหอม พลู ราชพฤกษ์ สีเสียดเทศ หม่อน และอบเชย ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด ได้แก่ น้ำ เอทานอล คลอโรฟอร์ม และเฮกเซน ในการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 โดยวิธี well assay ดังแสดงในตารางที่ 6 จะเห็นว่าสารสกัดของพืชสมุนไพรทุกชนิดสามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อราทั้งสองชนิดได้ ยกเว้นสารสกัดอบเชยด้วยน้ำ ดังนั้นจึงนำสารสกัดของสมุนไพรทั้ง 10 ชนิดที่สามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อราทั้งสองชนิดได้ มาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อราได้ (MFC)

#### 1.1 ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราของสารสกัดกานพลู

ประสิทธิภาพการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ของสารสกัดกานพลูด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่ระดับความเข้มข้น 31.25–4000 ppm ของสารสกัด ดังแสดงในภาพที่ 6 พบว่ากานพลูที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด สามารถยับยั้งการเติบโตเชื้อราทั้งสองชนิดได้ และประสิทธิภาพการยับยั้งจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้น จากผลการทดลองจะเห็นว่าสารสกัดเฮกเซนและเอทานอลสามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อราทั้งสองชนิดได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 250 และ 4000 ppm ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดคลอโรฟอร์มและน้ำที่ความเข้มข้น 4000 ppm สามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 ได้ 53.52 และ 25.03 % ตามลำดับ และยับยั้ง *A. parasiticus* TISTR 3276 ได้ 50.00 และ 26.30 % ตามลำดับ ในทำนองเดียวกัน จากรายงานของ Gupta et al. (2009) พบว่าสารสกัดเอทานอล-น้ำของกานพลู (50:50 โดยปริมาตร) สามารถยับยั้งการเติบโตของ *Aspergillus* sp. ด้วยค่า MIC เท่ากับ 8000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และจากรายงานของ Joseph and Sujatha (2011) พบว่าที่ความเข้มข้น 600 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดเอทานอลจากกานพลูสามารถยับยั้ง *A. flavus* ได้ นอกจากนี้จากผลการทดลองยังแสดงให้เห็นว่า *A. flavus* TISTR 3366 มีความไวต่อสารสกัดเฮกเซนมากกว่า *A. parasiticus* TISTR 3276 เมื่อเทียบกับตัวทำละลายอื่นๆ ตัวอย่างเช่น

ที่ระดับความเข้มข้น 125 ppm สารสกัดเฮกเซนสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 ได้ 91.30 % ในขณะที่เชื้อ *A. parasiticus* TISTR 3276 ถูกยับยั้งการเติบโตได้เพียง 46.51 %

สารสกัดเฮกเซนของกานพลูสามารถยับยั้ง *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MFC เท่ากับ 250 ppm ทั้งนี้เนื่องมาจากสารออกฤทธิ์ในสารสกัดกานพลูส่วนใหญ่ประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิก (ประมาณ 85 %) โดยเฉพาะ eugenol ซึ่งสารนี้สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว (Ruangrungsi, 1999) โดย eugenol จะมีบทบาทมากที่สุดในการขัดขวางกระบวนการละลายของไขมันที่เยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) เป็นผลให้บทบาทด้าน osmotic barrier ของเยื่อหุ้มเซลล์ลดลง ส่งผลให้สารภายในเซลล์ไหลออกสู่ภายนอก (Rose, 1968) และขัดขวางกระบวนการทำงานของเอนไซม์ โดยทำให้เอนไซม์และโปรตีนอื่นๆ เสียสภาพไป เซลล์จึงถูกทำลาย (Frazier, 1967) สอดคล้องกับงานของ Joseph and Sujatha (2011) พบว่าสารสกัดเอทานอลของกานพลูสามารถยับยั้ง *A. flavus* ที่ความเข้มข้น 600 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยองค์ประกอบหลักที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อราในสารสกัดจากกานพลูคือ eugenol ส่วนสารสกัดเอทานอลของกานพลูสามารถยับยั้ง *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ได้อย่างสมบูรณ์รองมาจากสารสกัดเฮกเซน โดยมีค่า MFC เท่ากับ 4000 ppm ทั้งนี้เนื่องจากสารออกฤทธิ์ eugenol acetate (7–9 %) ซึ่งสารนี้ละลายได้ดีในเอทานอล (Attokarah, 2011) โดย eugenol acetate จะมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราเช่นเดียวกับ eugenol

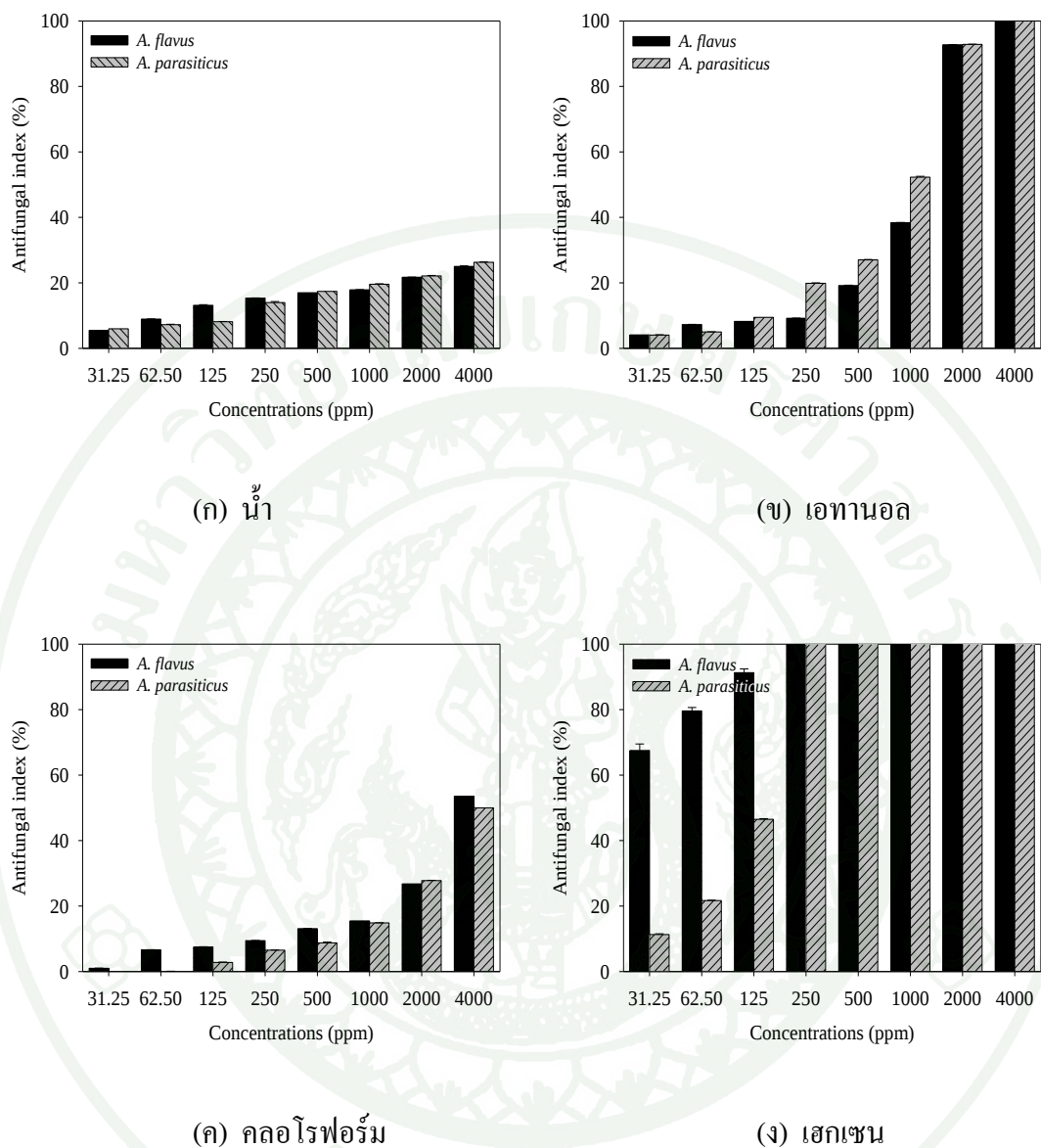
## 1.2 ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราของสารสกัดขิง

จากผลการทดลองดังแสดงในภาพที่ 7 จะเห็นว่าเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของสารสกัดขิง ดัชนีการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ก็เพิ่มขึ้นตามไปด้วย โดยสารสกัดด้วยน้ำสามารถยับยั้งเชื้อราทั้งสองชนิดได้ดีที่สุด รองลงมาคือสารสกัดเฮกเซน เอทานอล และกลอโรฟอร์ม ตัวอย่างเช่น ที่ระดับความเข้มข้น 4000 ppm สารสกัดด้วยน้ำสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ได้ 73.64 และ 70.63 % ตามลำดับ สารสกัดเฮกเซนสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ได้ 64.21 และ 67.40 % ตามลำดับ สารสกัดเอทานอลสามารถยับยั้ง *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ได้ 67.73 และ 55.22 % ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดกลอโรฟอร์มสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ได้ 30.69 และ 36.20 % ตามลำดับ จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็น

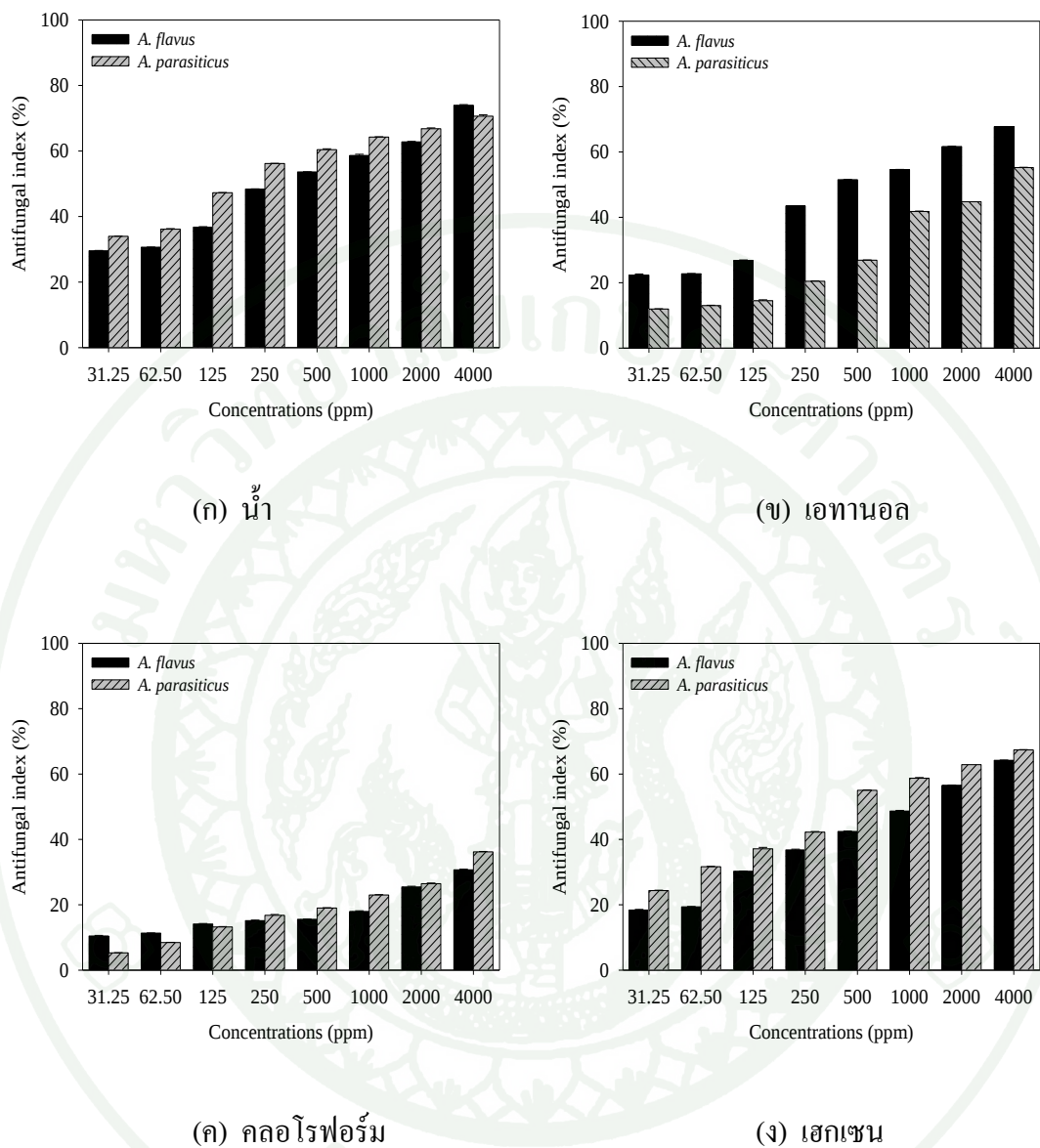
ตารางที่ 6 ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพรด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

| พืชสมุนไพร  | การยับยั้ง       |                       |                  |                       |                  |                       |                  |                       |
|-------------|------------------|-----------------------|------------------|-----------------------|------------------|-----------------------|------------------|-----------------------|
|             | น้ำ              |                       | เอทานอล          |                       | กลอโรฟอร์ม       |                       | เฮกเซน           |                       |
|             | <i>A. flavus</i> | <i>A. parasiticus</i> | <i>A. flavus</i> | <i>A. parasiticus</i> | <i>A. flavus</i> | <i>A. parasiticus</i> | <i>A. flavus</i> | <i>A. parasiticus</i> |
| Captafol    | +                | +                     | +                | +                     | +                | +                     | +                | +                     |
| Carbendazim | +                | +                     | +                | +                     | +                | +                     | +                | +                     |
| Mancozeb    | +                | +                     | +                | +                     | +                | +                     | +                | +                     |
| กานพลู      | +                | +                     | +                | +                     | +                | +                     | +                | +                     |
| จิง         | +                | +                     | +                | +                     | +                | +                     | +                | +                     |
| ตะไคร้หอม   | +                | +                     | +                | +                     | +                | +                     | +                | +                     |
| พริกไทยดำ   | +                | +                     | +                | +                     | +                | +                     | +                | +                     |
| พริกหอม     | +                | +                     | +                | +                     | +                | +                     | +                | +                     |
| พลู         | +                | +                     | +                | +                     | +                | +                     | +                | +                     |
| ราชพฤกษ์    | +                | +                     | +                | +                     | +                | +                     | +                | +                     |
| สีเสียดเทศ  | +                | +                     | +                | +                     | +                | +                     | +                | +                     |
| หม่อน       | +                | +                     | +                | +                     | +                | +                     | +                | +                     |
| อบเชย       | -                | -                     | +                | +                     | +                | +                     | +                | +                     |

หมายเหตุ – ไม่ยับยั้งการเติบโตของเชื้อรา  
 + ยับยั้งการเติบโตของเชื้อรา



ภาพที่ 6 ผลของตัวทำละลายต่อประสิทธิภาพของสารสกัดกานพลูในการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ



ภาพที่ 7 ผลของตัวทำละลายต่อประสิทธิภาพของสารสกัดขิงในการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ว่าสารสกัดด้วยน้ำ เอทานอลและเฮกเซนของชิงที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* ได้ดีกว่าน้ำมันหอมระเหยจากชิงที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน โดยน้ำมันหอมระเหยจากชิงสามารถลดการเติบโตของ *A. flavus* ได้เพียง 40 % (Nguetack *et al.*, 2004) นอกจากนี้ สารสกัดเอทานอลของชิงสามารถยับยั้งการเติบโตของ *C. albicans*, *M. gypseum*, *P. boydii*, *Rhizopus* sp. และ *T. mentagrophytes* (Ficker *et al.*, 2003) จากการทดลอง พบว่าสารสกัดชิงด้วยน้ำมีความสามารถในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อราทั้งสองชนิดได้มากกว่าสารสกัดชิงด้วยตัวทำละลายชนิดอื่นๆ เนื่องจากสารออกฤทธิ์ในสารสกัดชิงส่วนใหญ่ละลายอยู่ในสารละลายที่มีขี้ผึ้ง โดยสารออกฤทธิ์ส่วนใหญ่จะอยู่ในกลุ่มฟีนอลิก ซึ่งมีหมู่ไฮดรอกซิลอยู่ นั้นจะมีความว่องไวในการทำปฏิกิริยาโดยเฉพาะบริเวณเร่ง (active site) ของเอนไซม์ ซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างผนังเซลล์ของเส้นใยรา โดยสารออกฤทธิ์ต่างๆ ในสารสกัดชิงจะทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เสียหายและทำให้เกิดลักษณะทางสัณฐานของสปอร์ราที่เปลี่ยนแปลงไปจากปกติ อีกทั้งยังอาจจะเป็นสาเหตุให้เยื่อหุ้มเซลล์สูญเสียความสามารถในการเลือกผ่านของสารเข้าออกเซลล์อีกด้วย (Piper *et al.*, 2001) การที่ประสิทธิภาพของสารสกัดชิงด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ มีผลต่อการเติบโตของเชื้อราทั้งสองชนิดได้แตกต่างกัน อาจเนื่องมาจากสารออกฤทธิ์ในชิงถูกชะออกมาในตัวทำละลายที่ไม่เหมือนกันและในปริมาณที่แตกต่างกัน (วันดี, 2537)

นอกจากนี้ผลการทดลองยังแสดงให้เห็นว่า *A. flavus* TISTR 3366 มีความไวต่อสารสกัดเอทานอลมากกว่า *A. parasiticus* TISTR 3276 โดยจะเห็นได้จากค่าดัชนีการยับยั้ง ตัวอย่างเช่น ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm สารสกัดเอทานอลสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ได้ 51.52 และ 26.87 % ตามลำดับ

### 1.3 ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราของสารสกัดตะไคร้หอม

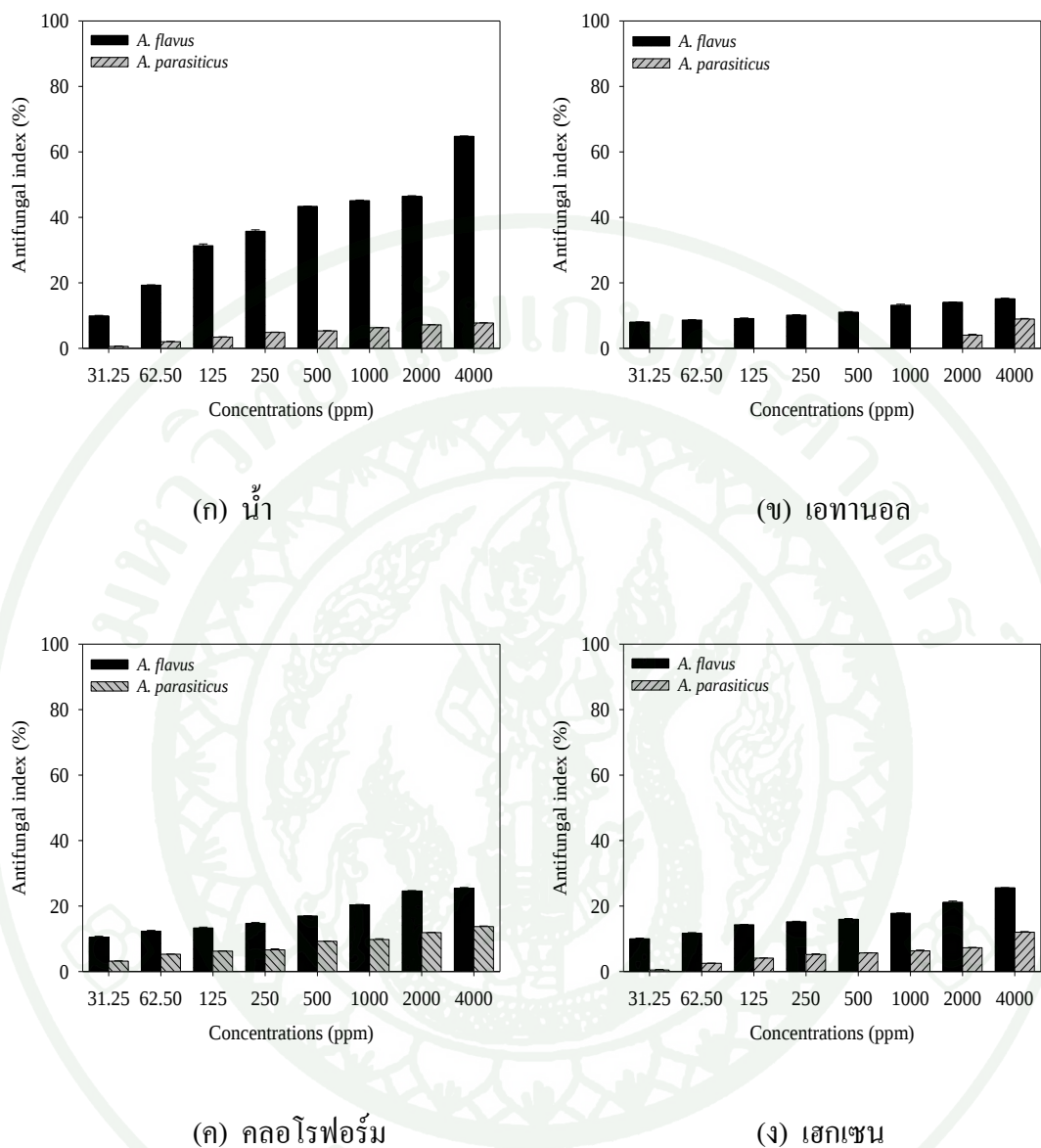
ประสิทธิภาพของสารสกัดตะไคร้หอมด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่สามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ดังแสดงในภาพที่ 8 พบว่า *A. flavus* TISTR 3366 มีความไวต่อสารสกัดตะไคร้หอมด้วยน้ำมากกว่า *A. parasiticus* TISTR 3276 เมื่อเทียบกับสารสกัดตะไคร้หอมด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ตัวอย่างเช่น ที่ระดับความเข้มข้น 4000 ppm สารสกัดด้วยน้ำสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 ได้ 64.75 % ในขณะที่ *A. parasiticus* TISTR 3276 ถูกยับยั้งการเติบโตได้เพียง 7.75 % ส่วนสารสกัดเอทานอล คลอโรฟอร์มและเฮกเซนมีดัชนีการยับยั้งการเติบโตของเชื้อราทั้งสองชนิด

ต่ำกว่า 26 % ในทำนองเดียวกันงานวิจัยของ Nakahara *et al.* (2003) พบว่าน้ำมันหอมระเหยตะไคร้หอมที่ความเข้มข้น 250 ppm สามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* ได้ แต่เมื่อใช้สารประกอบในน้ำมันหอมระเหยตะไคร้หอม พบว่า citronellal และ linalool มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราได้ดีที่สุด ด้วยค่า MIC ในช่วง 14–56 ppm นอกจากนี้ Thanaboripat *et al.* (2004) พบว่าน้ำมันหอมระเหยเข้มข้น 0.2 % (โดยปริมาตร) สามารถยับยั้ง *A. parasiticus* IMI 102566 ได้ และที่ความเข้มข้น 0.4 % (โดยปริมาตร) สามารถยับยั้ง *A. flavus* IMI 242684, *A. flavus* M 113 และ *A. flavus* S 156 ได้ การที่ประสิทธิภาพของสารสกัดตะไคร้หอมด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ มีผลต่อการยับยั้งการเติบโตของเชื้อราทั้งสองชนิดได้แตกต่างกัน อาจเนื่องจากสารออกฤทธิ์ในตะไคร้หอมสามารถละลายออกมาได้ในตัวทำละลายที่มีขั้ว ในขณะที่สารออกฤทธิ์ในสารสกัดตะไคร้หอมส่วนมากเป็นสารในกลุ่มเทอร์ปีน (terpenes) ซึ่งมีความสามารถในการทำลายและย่อยสลายโครงสร้างของไขมันที่ผนังเซลล์ ทำให้ผนังเซลล์เกิดความเสียหายจึงทำให้สารสกัดสามารถแพร่ผ่านเข้าไปภายในเซลล์ได้ ทำให้เชื้อหุ้มเซลล์ โปรตีนต่างๆ และสารประกอบอื่นๆ ภายในเซลล์แพร่ผ่านออกมาภายนอกหรือถูกทำลาย เกิดการรั่วไหลของไซโทพลาซึม และเซลล์แตกในที่สุด (Billerbeck *et al.*, 2001)

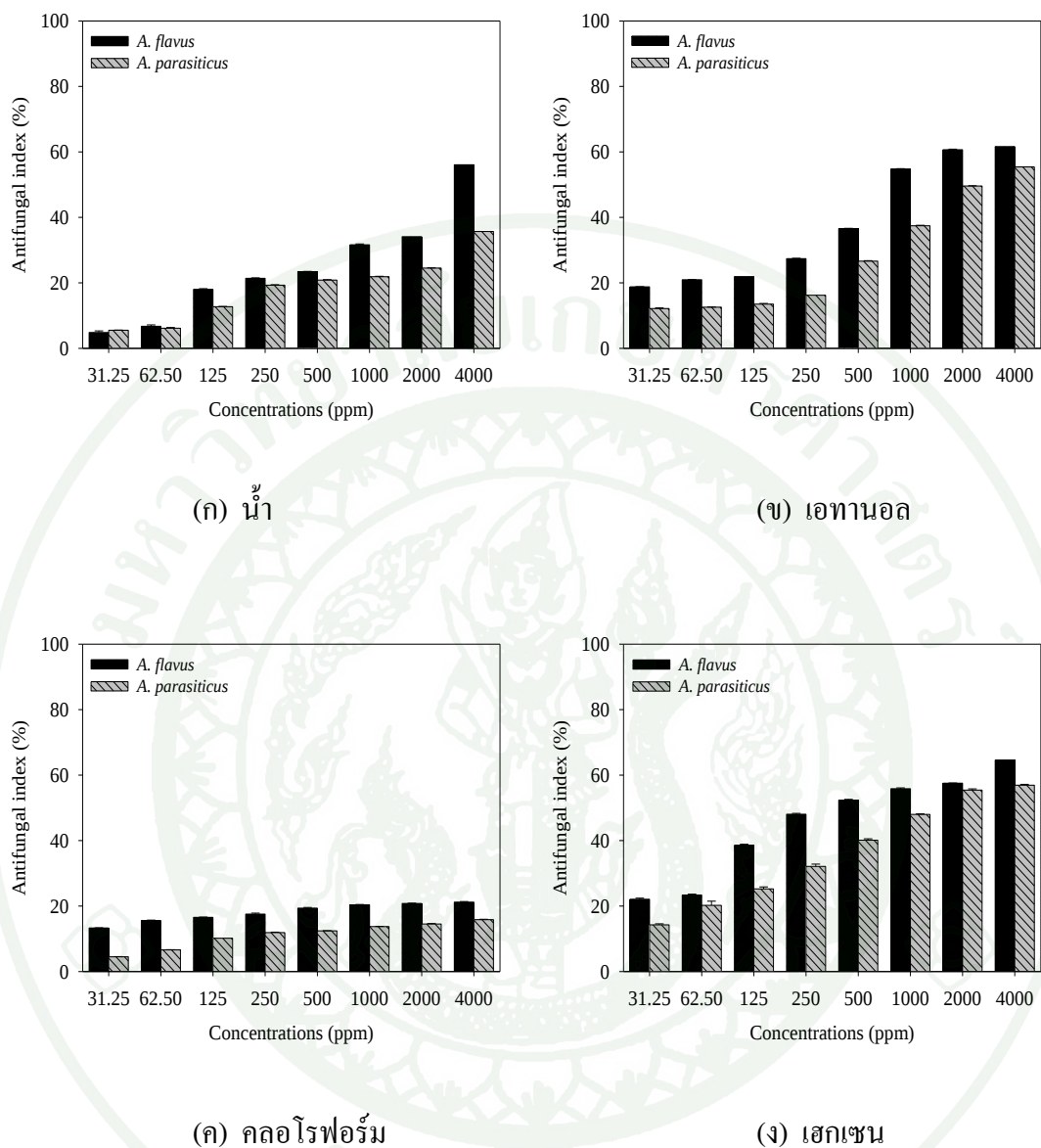
ในขณะที่ระดับความเข้มข้นต่ำและสูงของสารสกัดเอทานอล คลอโรฟอร์มและเฮกเซนมีความสามารถในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อราในระดับที่ไม่แตกต่างกัน ตัวอย่างเช่นที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 1000 ppm ของสารสกัดคลอโรฟอร์มสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. parasiticus* TISTR 3276 ได้ 9.25 และ 9.78 % ตามลำดับ แต่จากผลการทดลองนี้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำๆ ของสารสกัดเอทานอลไม่สามารถยับยั้ง *A. parasiticus* TISTR 3276 ได้ เนื่องจากสารออกฤทธิ์ที่ละลายอยู่ในสารสกัดตะไคร้หอมมีปริมาณน้อยเกินไป จึงไม่สามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อราได้

#### 1.4 ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราของสารสกัดพริกไทยดำ

ภาพที่ 9 แสดงผลของสารสกัดพริกไทยดำด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ต่อการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 จะเห็นว่าสารสกัดเฮกเซนของพริกไทยดำสามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อราทั้งสองชนิดได้ดีกว่าสารสกัดพริกไทยดำด้วยตัวทำละลายชนิดอื่นๆ โดยที่ระดับความเข้มข้น 4000 ppm สารสกัดเฮกเซนสามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อราทั้งสองชนิดได้ดีที่สุด โดยค่าดัชนีการยับยั้ง *A. flavus* TISTR 3366 และ



ภาพที่ 8 ผลของตัวทำละลายต่อประสิทธิภาพของสารสกัดตะไคร้หอมในการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ



ภาพที่ 9 ผลของตัวทำละลายต่อประสิทธิภาพของสารสกัดพริกไทยดำในการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

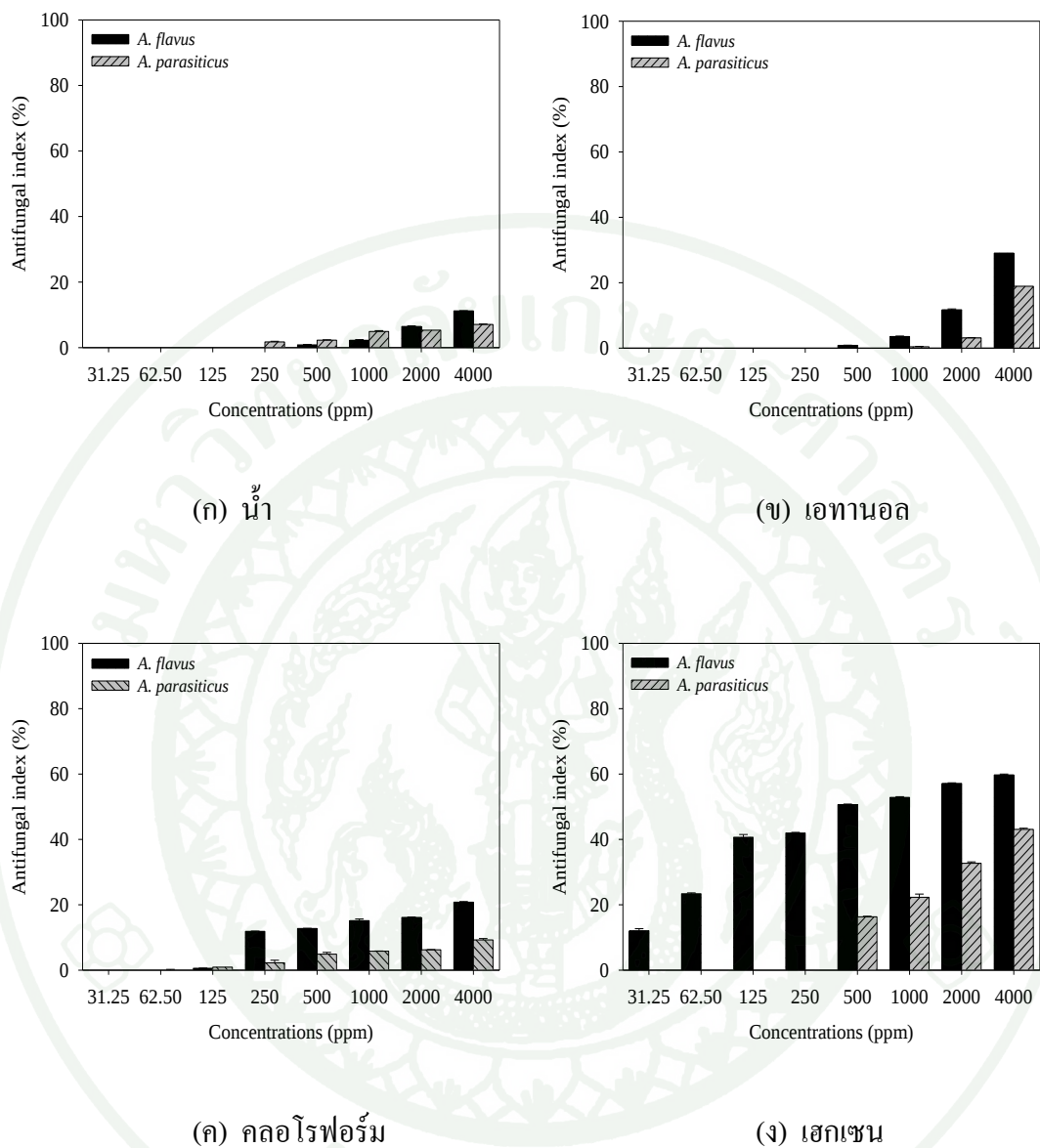
*A. parasiticus* TISTR 3276 เท่ากับ 64.55 และ 56.91 % ตามลำดับ รองลงมาคือสารสกัดเอทานอล สามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ได้ 61.64 และ 55.41 % ตามลำดับ สารสกัดด้วยน้ำสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ได้ 56.08 และ 35.68 % ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดคลอโรฟอร์ม สามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ได้ 21.22 และ 15.85 % ตามลำดับ ในทำนองเดียวกันกับการทดลองของ Singh *et al.* (2004) พบว่าสารสกัดอะซิโตนที่ความเข้มข้น 240 ppm สามารถยับยั้ง *A. flavus* ได้ 75.0 % นอกจากนี้รายงานวิจัยของ Masood *et al.* (1994) พบว่าสารสกัดเอทานอลของพริกไทยดำสามารถยับยั้ง *A. niger* และ *C. albicans* ด้วยความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และยังพบอีกว่าน้ำมันหอมระเหยจากพริกไทยดำสามารถยับยั้งการเติบโตของ *B. subtilis*, *S. cerevisiae*, *A. niger* และ *Penicillium* spp. ด้วยค่า MIC เท่ากับ 2.0, 0.8, 10.0 และ 5.0 ppm ตามลำดับ (Sasidharan and Menin, 2010) การที่สารสกัดเฮกเซนมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อราทั้งสองชนิดมากที่สุด เนื่องจากสารสกัดพริกไทยดำมีสารประกอบหลักคือ  $\beta$ -caryophyllene ที่มีศักยภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ (Liu *et al.*, 2007) นอกจากนี้ยังมีสารในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกที่สามารถออกฤทธิ์ในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อราได้ โดยมีผลต่อผนังเซลล์ของเชื้อรา

นอกจากนี้สารสกัดคลอโรฟอร์มที่ระดับความเข้มข้น 1000 และ 2000 ppm มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อราทั้งสองชนิดในระดับที่ไม่แตกต่างกัน ตัวอย่างเช่น ที่ระดับความเข้มข้น 1000 และ 2000 ppm ของสารสกัดคลอโรฟอร์มสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 ได้ 20.37 และ 20.79 % ตามลำดับ และยับยั้งการเติบโตของ *A. parasiticus* TISTR 3276 ได้ 13.74 และ 14.53 % ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้นของสารสกัดพริกไทยดำ ผลในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อราไม่มีความแตกต่างกัน อาจเนื่องจากสารออกฤทธิ์ที่ละลายอยู่ในสารสกัดพริกไทยดำมีปริมาณน้อย จึงทำให้ดัชนีการยับยั้งการเติบโตของเชื้อราไม่มีความแตกต่างกัน แม้ว่า จะเพิ่มระดับความเข้มข้นให้สูงขึ้นก็ตาม

### 1.5 ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราของสารสกัดพริกหอม

ผลของสารสกัดพริกหอมไม่สามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อราทั้งสองชนิดได้อย่างสมบูรณ์ ดังแสดงในภาพที่ 10 จะเห็นว่าสารสกัดเฮกเซนมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราทั้งสองชนิดสูงสุด โดยยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ด้วยค่า MIC เท่ากับ 31.25 และ 500 ppm ตามลำดับ รองลงมาคือสารสกัดคลอโรฟอร์ม (MIC 125 ppm) สารสกัดด้วยน้ำ (MIC 500 และ 250 ppm) และสารสกัดเอทานอล (MIC 500 และ 1000 ppm) เช่นเดียวกับงานวิจัยของชัยวัฒน์ (2528) รายงานว่าสารสกัดเอทานอลจากพริกหอมมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Aspergillus* spp. ที่ใช้ทดสอบได้ทุกชนิด และจากการทดลองของ Azzouz (1981) พบว่าสารสกัดพริกหอมที่ความเข้มข้น 20000 ppm สามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus*, *A. parasiticus* และ *A. ochraceus* ได้ การที่สารสกัดเฮกเซนมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อราได้สูงสุด เนื่องจากเฮกเซนเป็นตัวทำละลายที่มีสภาพมีขั้วน้อยสามารถละลายไขมันและน้ำมันหอมระเหยได้ปริมาณมาก (Houghton and Raman, 1998) ซึ่งสารสกัดในพริกหอมประกอบด้วยสารประกอบหลายชนิด เช่น สารประกอบฟีนอลิก สารกลุ่มเทอร์ปีนซึ่งมีความสามารถในการยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ โดยจะทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นในและเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอก ทำให้เกิดความเสียหายแก่ไซโทพลาซึม (Billerbeck *et al.*, 2001) จึงทำให้การสกัดพริกหอมด้วยเฮกเซนสามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อราได้มากที่สุด

นอกจากนี้จากการทดลองพบว่า *A. flavus* TISTR 3366 มีความไวต่อสารสกัดพริกหอมอีกด้วย โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารสกัดเฮกเซน ตัวอย่างเช่น ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm สามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 ได้ 41.95 % ในขณะที่ไม่สามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. parasiticus* TISTR 3276 ได้ โดยปกติสารสกัดสมุนไพรในตัวทำละลายที่มีขั้วมีความสามารถในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์น้อยกว่าสารสกัดสมุนไพรในตัวทำละลายอินทรีย์ (Zhang and Lewis, 1997) ตัวอย่างเช่น ที่ระดับความเข้มข้น 4000 ppm สารสกัดด้วยน้ำสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ได้ 11.22 และ 7.07 % ตามลำดับ ยิ่งกว่านี้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำๆ ของสกัดพริกหอมไม่สามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ได้ เนื่องจากสารออกฤทธิ์ที่ละลายอยู่ในสารสกัดพริกหอมมีปริมาณน้อย จึงทำให้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำๆ ของสารสกัดไม่สามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อราได้

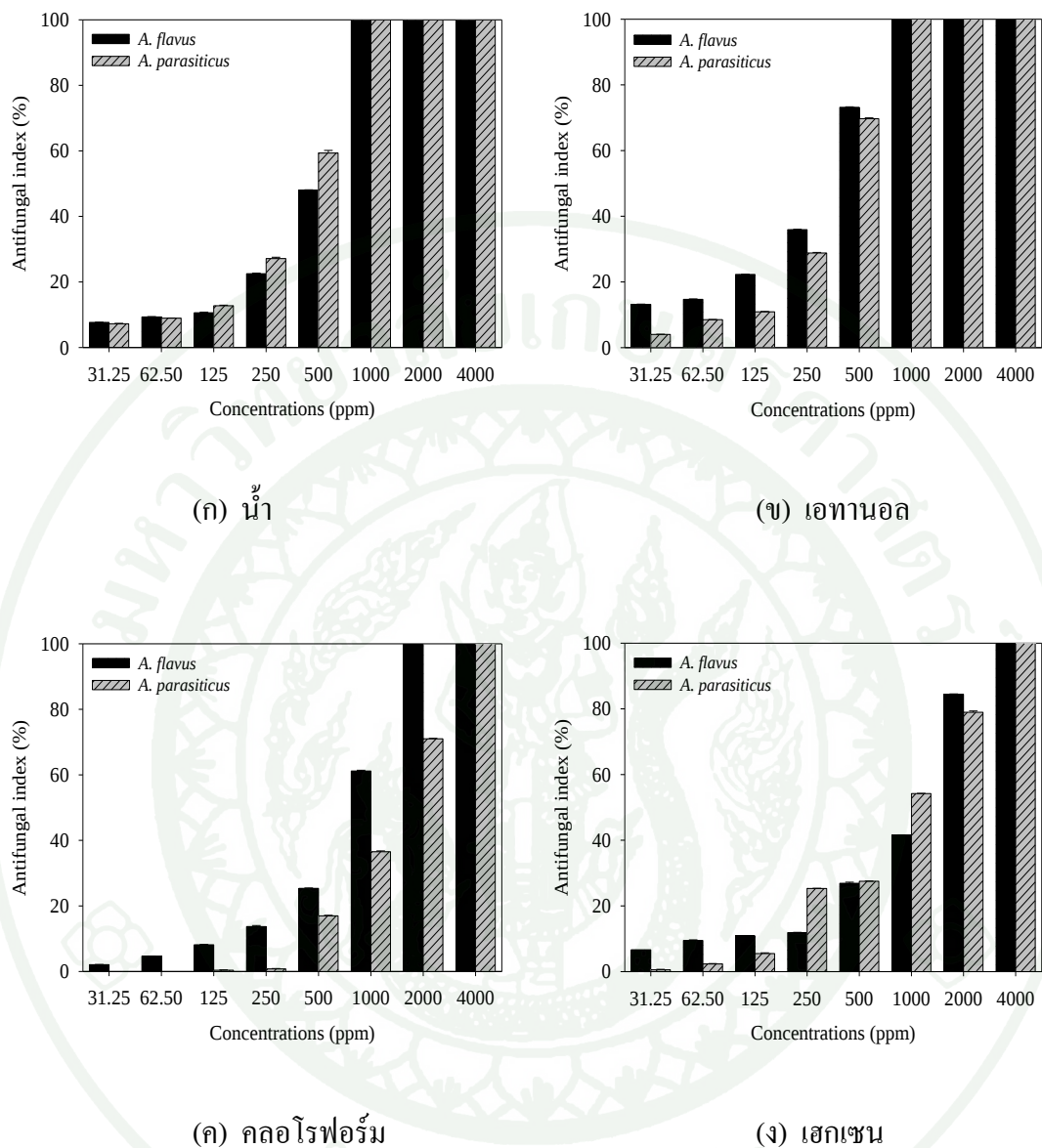


ภาพที่ 10 ผลของตัวทำละลายต่อประสิทธิภาพของสารสกัดพริกหอมในการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

## 1.6 ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราของสารสกัดพลู

ผลของสารสกัดพลูทั้งหมดที่นำมาทดสอบมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 เพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น แสดงดังภาพที่ 11 โดยที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน สารสกัดด้วยน้ำและเอทานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราทั้งสองชนิดได้ดีกว่าสารสกัดคลอโรฟอร์มและเฮกเซน ซึ่งสารสกัดด้วยน้ำและเอทานอลสามารถยับยั้งเชื้อราทั้งสองชนิดได้อย่างสมบูรณ์ด้วยค่า MFC เท่ากับ 1000 ppm ในขณะที่สารสกัดคลอโรฟอร์มและเฮกเซนสามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อราทั้งสองชนิดด้วยค่า MFC เท่ากับ 4000 ppm ทั้งนี้เนื่องจากสารประกอบสำคัญที่อยู่ในพลู ส่วนใหญ่ประกอบด้วย สารประกอบฟีนอลิก โดยเฉพาะ hydroxychavicol และ eugenol ซึ่ง hydroxychavicol ละลายออกมาได้ดีในตัวทำละลายที่มีขี้ (Jangala, 2011) ส่วน eugenol ละลายออกมาได้ดีในตัวทำละลายที่ไม่มีขี้ (Pin *et al.*, 2010) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ali *et al.* (2010) พบว่า hydroxychavicol ในพลู สามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus*, *A. fumigates*, *A. niger* และ *A. parasiticus* ด้วยค่า MFC เท่ากับ 125–500 ppm ซึ่ง hydroxychavicol จะไปทำปฏิกิริยากับ *Aspergillus* spp. โดยผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์จะถูกทำลาย ทำให้โปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ (membrane proteins) ถูกทำลายไปด้วย ส่งผลให้เชื้อราถูกทำลายในที่สุด ส่วน eugenol จะไปขัดขวางการสังเคราะห์ผนังเซลล์หรือไปเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของผนังเซลล์ เป็นผลให้ผนังเซลล์ผิดปกติและเกิดการรั่วไหลของไอออนต่างๆ ทำให้เซลล์สูญเสียองค์ประกอบภายในเซลล์ ส่งผลให้เชื้อราถูกทำลาย (Yen and Chang, 2008) นอกจากนี้ ในรายงานของ Srichana *et al.* (2009) พบว่าสารสกัดเอทานอลของพลูที่ความเข้มข้น 10000 ppm สามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 ได้อย่างสมบูรณ์ ในขณะที่ Jangala (2011) พบว่าสารสกัดพลูด้วยน้ำสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus*, *A. fumigates*, *A. niger* และ *Penicillium* spp. ได้ ด้วยค่า MIC ที่อยู่ในช่วง 60–120 ppm

นอกจากนี้จากการทดลองยังแสดงให้เห็นว่า *A. flavus* TISTR 3366 มีความไวต่อสารสกัดคลอโรฟอร์มมากกว่า *A. parasiticus* TISTR 3276 ซึ่งจะเห็นได้จากค่าดัชนีการยับยั้งการเติบโตของเชื้อรา ตัวอย่างเช่น สารสกัดคลอโรฟอร์มสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 ได้อย่างสมบูรณ์ ที่ระดับความเข้มข้น 2000 ppm ในขณะที่ *A. parasiticus* TISTR 3276 ต้องใช้ความเข้มข้นของสารสกัดถึง 4000 ppm จึงจะสามารถยับยั้งการเติบโตได้อย่างสมบูรณ์ แต่ในกรณีของสารสกัดด้วยน้ำ เอทานอลและเฮกเซนที่ความเข้มข้นเดียวกันสามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อราทั้งสองชนิดในระดับที่ใกล้เคียงกัน

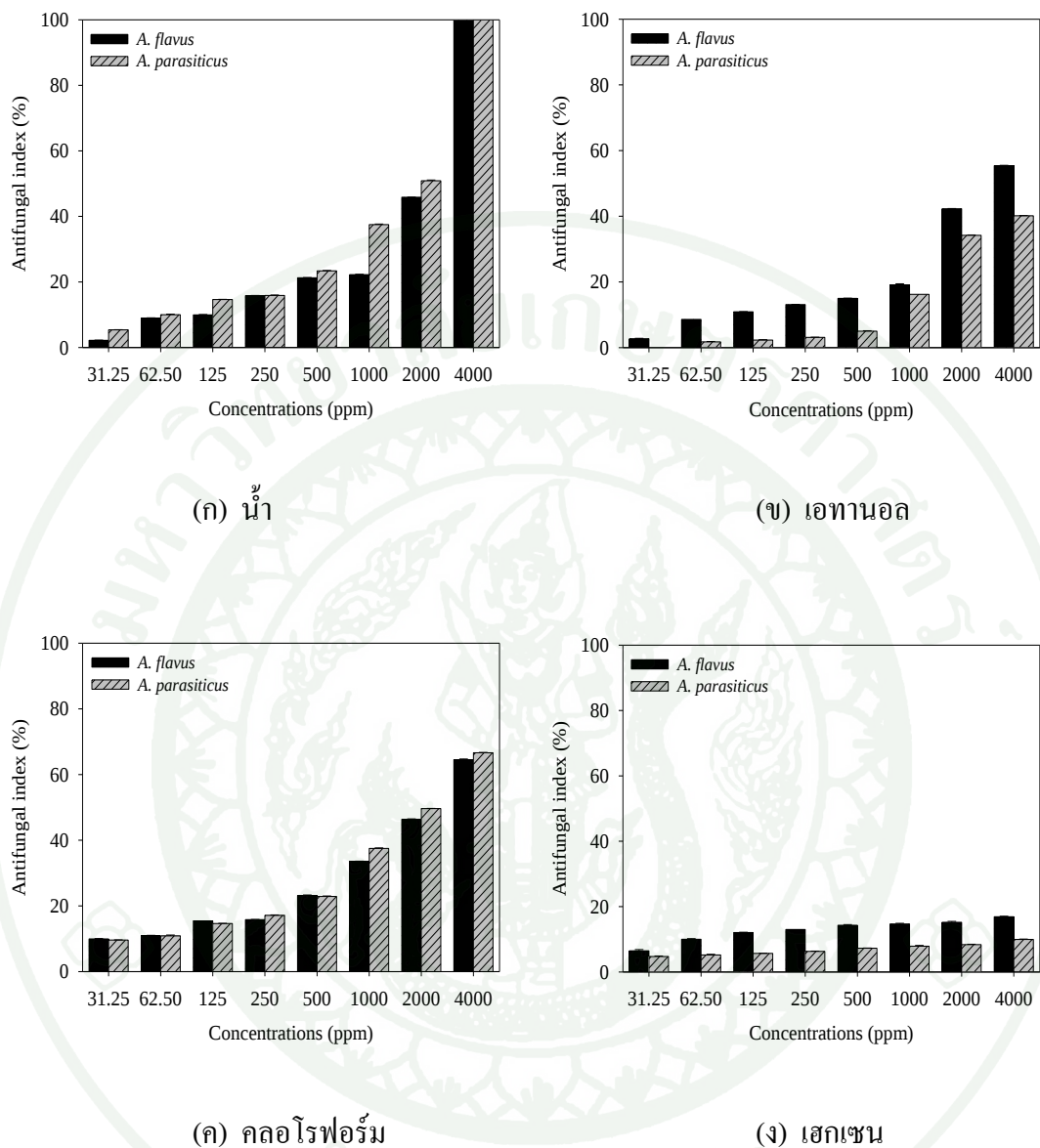


ภาพที่ 11 ผลของตัวทำละลายต่อประสิทธิภาพของสารสกัดพลูในการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

### 1.7 ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราของสารสกัดราชพฤกษ์

จากผลการทดลอง ประสิทธิภาพของสารสกัดราชพฤกษ์ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ต่อการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ดังแสดงในภาพที่ 12 จะเห็นว่าที่ระดับความเข้มข้น 4000 ppm (MFC 4000 ppm) สารสกัดด้วยน้ำสามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อราทั้งสองชนิดได้อย่างสมบูรณ์ รองลงมาคือสารสกัดคลอโรฟอร์ม เอทานอล และเฮกเซน โดยสารสกัดคลอโรฟอร์มสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ได้ 64.53 และ 66.63 % ตามลำดับ สารสกัดเอทานอลสามารถยับยั้ง *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ได้ 55.39 และ 40.14 % ตามลำดับ และสารสกัดเฮกเซนสามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อราทั้งสองชนิดได้ต่ำกว่า 17 % ในทำนองเดียวกันกับการทดลองของ Ali *et al.* (2004) พบว่าที่ความเข้มข้น 26667 ppm สารสกัดเอทิลอะซิเตตและเมทานอลจากเปลือกต้นราชพฤกษ์สามารถยับยั้ง *A. flavus* โดยมีค่าของบริเวณการยับยั้งเท่ากับ 10.0 มิลลิเมตร และ Panda *et al.* (2010) รายงานว่าสารสกัดเอทานอลจากใบราชพฤกษ์สามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. fumigates* โดยมีค่าของบริเวณการยับยั้งเท่ากับ 12.0 มิลลิเมตร รองลงมาคือ *A. niger* (10.6 มิลลิเมตร) และ *A. flavus* (9.6 มิลลิเมตร) ตามลำดับ นอกจากนี้ Priya *et al.* (2010) รายงานว่าสารสกัดเมทานอลจากเปลือกต้นราชพฤกษ์สามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. niger* โดยมีค่าของบริเวณการยับยั้งเท่ากับ 19.5 มิลลิเมตร รองลงมาคือสารสกัดด้วยน้ำ (15.5 มิลลิเมตร) สารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์ (3.5 มิลลิเมตร) และสารสกัดคลอโรฟอร์ม (3.0 มิลลิเมตร) ตามลำดับ

จากการทดลองพบว่าสารสกัดด้วยน้ำมีความสามารถในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อราทั้งสองชนิดได้มากกว่าสารสกัดราชพฤกษ์ด้วยตัวทำละลายชนิดอื่นๆ ทั้งนี้เนื่องจากสารประกอบสำคัญที่อยู่ในราชพฤกษ์ โดยเฉพาะ fistucacidin (3,4,7,8,4'-pentahydroxyflavan) โดยสารนี้จะละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้ว (Neelam *et al.*, 2011) fistucacidin มีความสามารถในการทำลายโครงสร้างที่ผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ ทำให้ผนังเซลล์เกิดรูรั่ว จึงทำให้เซลล์เกิดความเสียหาย (Phongpaichit *et al.*, 2004) นอกจากนี้จากการทดลองพบว่า ที่ระดับความเข้มข้นต่ำและสูงของสารสกัดเฮกเซนมีความสามารถในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อราในระดับที่ไม่แตกต่างกัน ตัวอย่างเช่น ที่ระดับความเข้มข้น 2000 และ 4000 ppm สารสกัดเฮกเซนสามารถยับยั้ง *A. flavus* TISTR 3366 ได้ 15.19 และ 16.88 %, *A. parasiticus* TISTR 3276 ถูกยับยั้งได้ 8.37 และ 9.95 % ตามลำดับ



ภาพที่ 12 ผลของตัวทำละลายต่อประสิทธิภาพของสารสกัดราพฤษในการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

### 1.8 ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราของสารสกัดสีเสียดเทศ

สารสกัดสีเสียดเทศด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 เพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ดังแสดงในภาพที่ 13 โดยที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน สารสกัดเอทานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อราทั้งสองชนิดได้ดีกว่าสารสกัดด้วยน้ำ คลอโรฟอร์มและเฮกเซน ซึ่งสังเกตได้จากค่าดัชนีการยับยั้ง ตัวอย่างเช่น ที่ระดับความเข้มข้น 4000 ppm สารสกัดเอทานอลสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ได้ 54.98 และ 46.89 % ตามลำดับ ในทำนองเดียวกัน รายงานของ Voravuthikunchai *et al.* (2004) พบว่าสารสกัดสีเสียดเทศด้วยน้ำสามารถยับยั้งการเติบโตของ *E. coli* O157: H7 RIMD 0509952 ด้วยค่า MIC เท่ากับ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งของแบคทีเรียแกรมบวก เช่น *S. mutans*, *S. aureus* และ *B. subtilis* (Pambayun *et al.*, 2007) สารสกัดเอทานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อราทั้งสองชนิดได้ดีที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากสารสำคัญที่มีฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ในสีเสียดเทศสามารถละลายออกมาได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้วปานกลาง (Zang *et al.*, 2007)

นอกจากนี้สารสกัดคลอโรฟอร์มมีแนวโน้มในการยับยั้งการเติบโตของ *A. parasiticus* TISTR 3276 ได้มากกว่า *A. flavus* TISTR 3366 จะเห็นได้จากค่าดัชนีการยับยั้ง ตัวอย่างเช่น ที่ระดับความเข้มข้น 4000 ppm สารสกัดคลอโรฟอร์มสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. parasiticus* TISTR 3276 และ *A. flavus* TISTR 3366 ได้ 47.79 และ 12.19 % ตามลำดับ ในขณะที่การเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดเฮกเซนและน้ำไม่ค่อยมีผลต่อความสามารถในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อราที่ใช้ในการทดสอบ ตัวอย่างเช่น ที่ระดับความเข้มข้น 2000 และ 4000 ppm สารสกัดเฮกเซนสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 ได้ 18.18 และ 19.09 % ตามลำดับ

### 1.9 ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราของสารสกัดหม่อน

จากผลการทดลองดังแสดงในภาพที่ 14 พบว่าสารสกัดด้วยน้ำของหม่อนมีความสามารถในการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 ได้อย่างสมบูรณ์ โดยมีค่า MFC เท่ากับ 1000 ppm และยังพบอีกว่า *A. flavus* TISTR 3366 มีความไวต่อสารสกัดด้วยน้ำมากกว่า *A. parasiticus* TISTR 3276 หากเทียบกับสารสกัดเอทานอล คลอโรฟอร์ม และเฮกเซน

ตัวอย่างเช่น ที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm สารสกัดด้วยน้ำสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 ได้อย่างสมบูรณ์ ในขณะที่ยับยั้งการเติบโตของ *A. parasiticus* TISTR 3276 ได้เพียง 23.53 % ในกรณีของสารสกัดเอทานอล ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm เป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่เชื้อ *A. parasiticus* TISTR 3276 เริ่มยับยั้งการเติบโต ในทำนองเดียวกัน จากรายงานของ Park *et al.* (2003) พบว่าสารประกอบ kuwanon G ในสารสกัดเมทานอลจากเปลือกกรากหม่อนสามารถยับยั้งการเติบโตของ *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. sanguis* และ *P. gingivalis* ด้วยค่า MIC เท่ากับ 8 ppm และสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. actinomycetemcomitans* และ *C. albicans* ด้วยค่า MIC เท่ากับ 1000 ppm นอกจากนี้ Sohn *et al.* (2004) รายงานว่าสารประกอบ mulberrofuran G และ albanol B ในเปลือกกรากหม่อนสามารถยับยั้ง *C. albicans* และ *S. cerevisiae* ด้วยค่า MIC > 60 ppm และสารประกอบ mulberrofuran G สามารถยับยั้ง *S. typhimurim*, *S. epidermis* และ *S. aureus* ด้วยค่า MIC เท่ากับ 7.5, 6.25 และ 5 ppm ตามลำดับ ในขณะที่สารประกอบ albanol B สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสามชนิด ด้วยค่า MIC เท่ากับ 5 ppm จากการทดลองพบว่า สารสกัดด้วยน้ำมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรามากที่สุด เนื่องจากสารประกอบสำคัญที่อยู่ในหม่อนโดยเฉพาะ kuwanon G ซึ่งสารนี้จะไปทำให้บริเวณพื้นผิวของผนังเซลล์เกิดลักษณะที่ผิดปกติ แล้วเกิดการรั่วไหลของไซโทพลาซึม ส่งผลให้ไปขัดขวางการเติบโตของเซลล์ จึงทำให้เซลล์หยุดการเติบโต (Park *et al.*, 2003)

นอกจากนี้จากผลการทดลองยังแสดงให้เห็นว่า *A. parasiticus* TISTR 3276 มีความไวต่อสารสกัดเฮกเซนมากกว่า *A. flavus* TISTR 3366 จะเห็นได้จากค่าดัชนีการยับยั้ง ตัวอย่างเช่น ที่ระดับความเข้มข้น 4000 ppm สารสกัดเฮกเซนสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. parasiticus* TISTR 3276 ได้ 41.27 % ในขณะที่ *A. flavus* TISTR 3366 ถูกยับยั้งการเติบโตได้ 13.30 %

#### 1.10 ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราของสารสกัดอบเชย

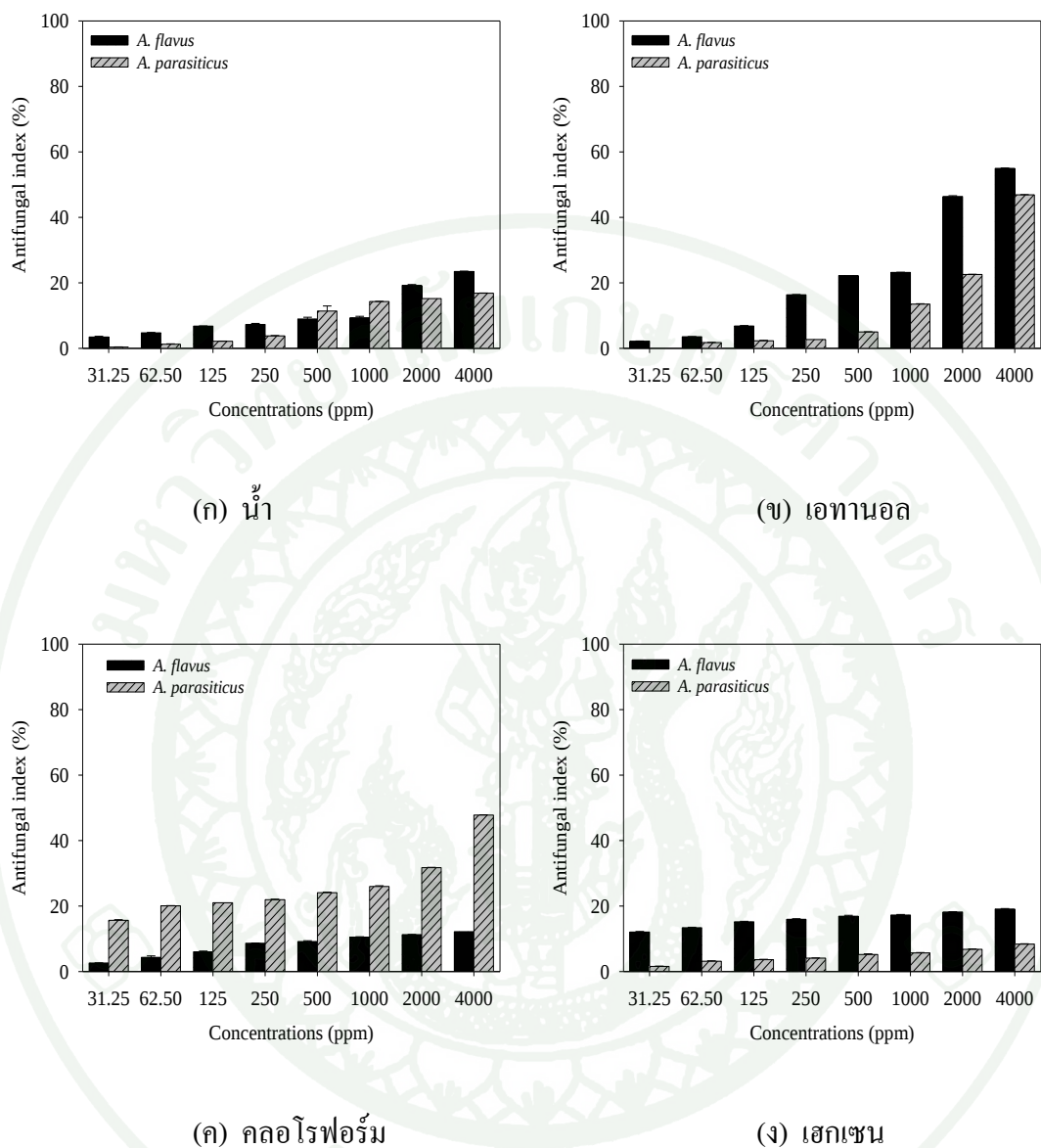
ภาพที่ 15 แสดงค่าดัชนีการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ของสารสกัดอบเชยด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ พบว่าสารสกัดเอทานอลและเฮกเซนมีแนวโน้มที่จะยับยั้ง *A. flavus* TISTR 3366 มากกว่า *A. parasiticus* TISTR 3276 ตัวอย่างเช่น ที่ระดับความเข้มข้น 4000 ppm สารสกัดเอทานอลสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ได้ 46.16 และ 20.27 % ตามลำดับ อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพในการยับยั้งการเติบโตของ *A. parasiticus* TISTR 3276 ในสารสกัดคลอโรฟอร์มมี

แนวโน้มที่จะยับยั้งเชื้อ *A. parasiticus* TISTR 3276 เมื่อเทียบกับสารสกัดเอทานอลและเฮกเซน ตัวอย่างเช่น ที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm สารสกัดกลีโอฟอรัมสามารถยับยั้ง *A. parasiticus* TISTR 3276 ได้ 29.05 % ในขณะที่สารสกัดเอทานอลและเฮกเซนสามารถยับยั้ง *A. parasiticus* TISTR 3276 ได้ 7.70 และ 9.95 % ตามลำดับ ในทำนองเดียวกันงานวิจัยของ Gupta *et al.* (2008) พบว่าสารสกัดเอทานอลของอบเชยสามารถยับยั้ง *Aspergillus* sp. ด้วยค่า MIC เท่ากับ 8000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และในงานวิจัยของ Jham *et al.* (2005) รายงานว่าที่ความเข้มข้น 300 และ 100 ppm สารสกัดเฮกเซนสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* และ *A. ruber* ได้ ตามลำดับ นอกจากนี้สารประกอบ *O*-methoxycynamaldehyde ที่แยกได้จากอบเชย ที่ความเข้มข้น 100 ppm สามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อราทั้งสองชนิดได้ (Morozumi, 1978)

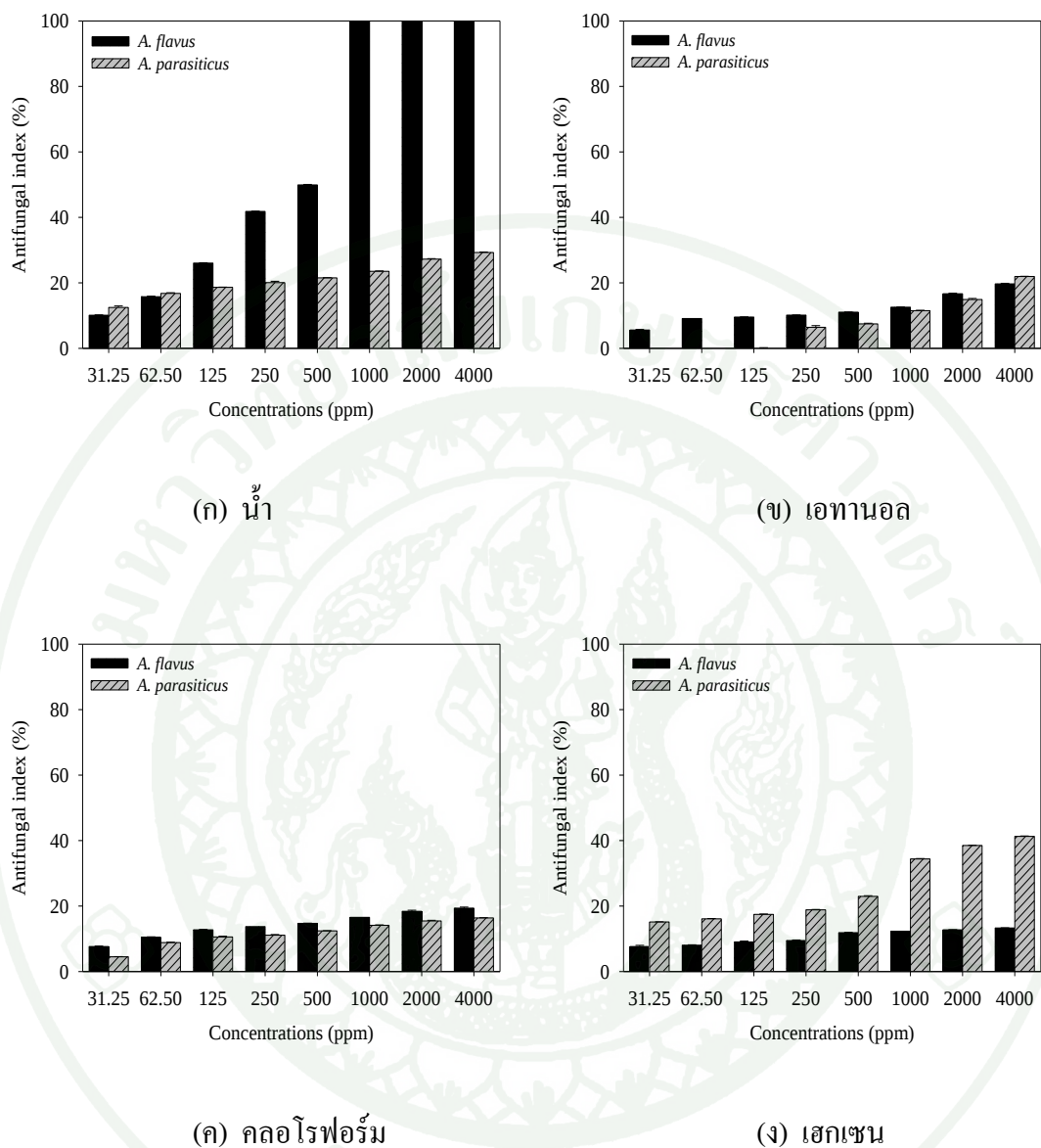
จากการศึกษาความสามารถของสารสกัดอบเชยด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อรา แสดงให้เห็นว่าเชื้อราจะมีความไวต่อสารสกัดอบเชยต่างกัน เนื่องจากพฤษเคมีที่เป็นองค์ประกอบหลักที่สามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อราในอบเชยมีอยู่มากมาย เช่น cinnamaldehyde, eugenol, *O*-methoxycynamaldehyde ซึ่งเชื้อราแต่ละชนิดจะมีความไวต่อสารแต่ละชนิดไม่เหมือนกัน

### 1.11 ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราของสารเคมี

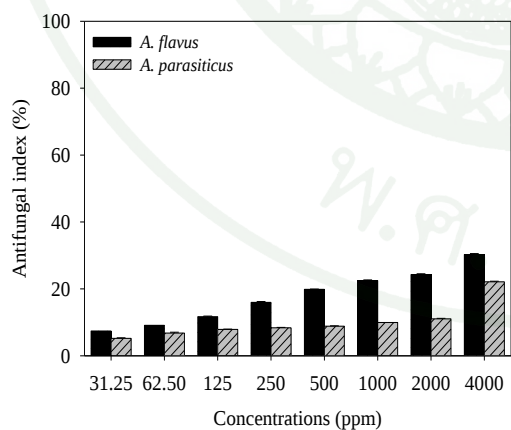
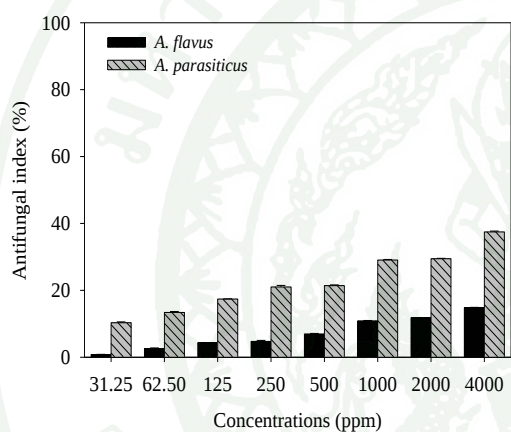
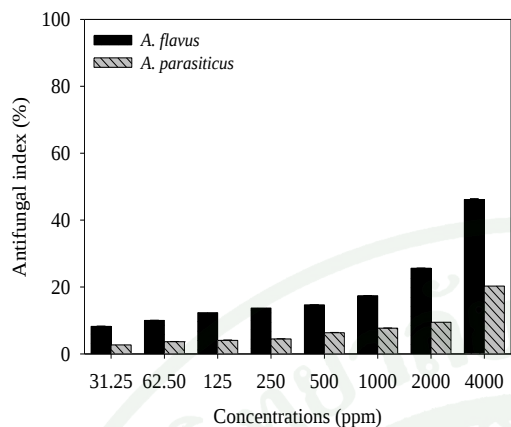
ภาพที่ 16 แสดงผลของสารเคมีที่ระดับความเข้มข้น 31.25–4000 ppm ต่อการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 พบว่า captafol ที่ระดับความเข้มข้น 4000 ppm และ carbendazim ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm สามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อราทั้งสองชนิดได้อย่างสมบูรณ์เช่นเดียวกับสารสกัดจากสมุนไพรทั้ง 4 ชนิดคือ กานพลู พลู ราชพฤกษ์ และหม่อน แต่ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน mancozeb สามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ได้เพียง 35.57 และ 47.62 % ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของชัยวัฒน์ (2528) ที่ว่าประสิทธิภาพของสารเคมีที่ใช้ในการยับยั้งการเติบโตของ *Aspergillus* spp. แตกต่างกัน โดย carbendazim มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเติบโตของ *Aspergillus* spp. ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ captafol และ mancozeb ตามลำดับ โดยกลไกการยับยั้งการเติบโตของ captafol คือจะไปยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรต กรดอะมิโนและกระบวนการเมแทบอลิซึมฟอสเฟต (phosphate metabolism) โดยผ่านกระบวนการ oxidize-enzyme หลายชนิดที่มีหมู่ซัลฟ์ไฮดริล (sulfhydryl group, -SH) เป็นผลทำให้ราถูกยับยั้งการเติบโต



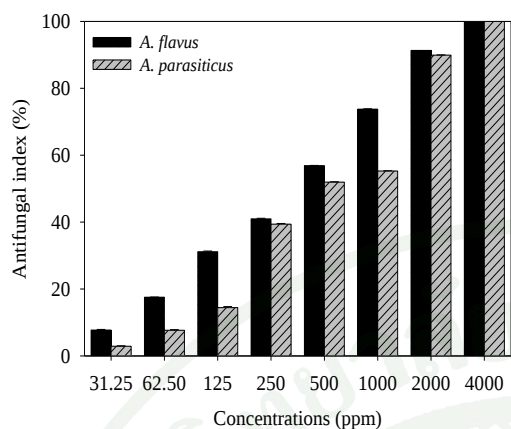
ภาพที่ 13 ผลของตัวทำละลายต่อประสิทธิภาพของสารสกัดสีเขียวในการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ



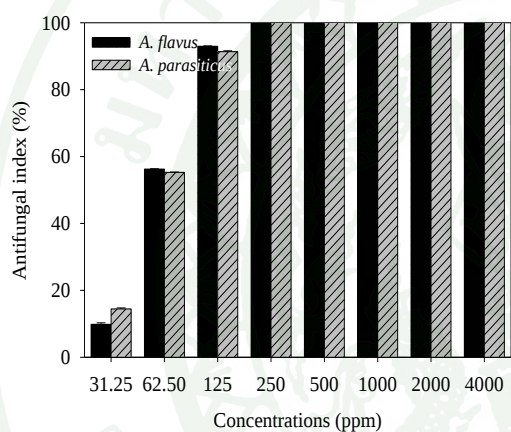
ภาพที่ 14 ผลของตัวทำละลายต่อประสิทธิภาพของสารสกัดหม่อนในการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ



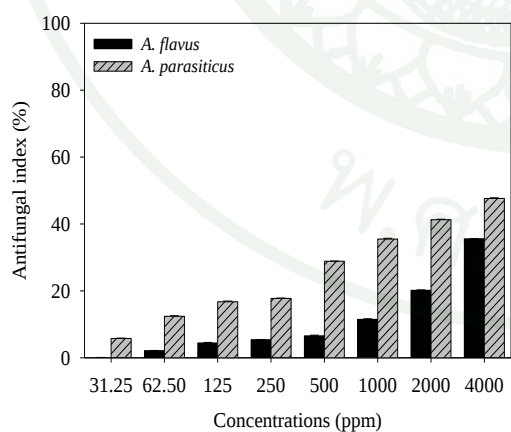
ภาพที่ 15 ผลของตัวทำละลายต่อประสิทธิภาพของสารสกัดอบเชยในการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ



(ก) captafol



(ข) carbendazim



(ค) mancozeb

ภาพที่ 16 ผลของสารเคมีต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

(ธรรมศักดิ์, 2526) ส่วน carbendazim จะไปมีผลต่อการสังเคราะห์ดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอของเชื้อรา โดยจะไปรบกวนกระบวนการสร้างเส้นใยสปินเดิล (spindle fiber) ทำให้โครมาติน (chromatin) ของราผิดปกติไป เป็นผลให้ราถูกยับยั้งการเติบโต (Davidse, 1973)

จากผลการทดลองประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 10 ชนิด ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด ได้แก่ น้ำ เอทานอล คลอโรฟอร์ม และเฮกเซน ต่อการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัด 31.25–4000 ppm จะเห็นว่าความสามารถในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อราในสารสกัดแต่ละตัวทำละลายแตกต่างกัน เนื่องจากสารออกฤทธิ์ที่มีอยู่ในพืชสมุนไพรแต่ละชนิดมีความสามารถในการละลายสารออกฤทธิ์ออกมาในตัวทำละลายได้แตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของสุตฤดี (2534) ที่กล่าวว่าสารที่ สารสกัดชนิดใดชนิดหนึ่งมีประสิทธิภาพยับยั้งการเติบโตของเชื้อราได้ และยับยั้งได้ดีกว่าสารสกัด ชนิดอื่น อาจเป็นเพราะปริมาณหรือชนิดของสารออกฤทธิ์ที่ได้จากสารสกัดด้วยตัวทำละลายแต่ละ ชนิดแตกต่างกันจึงมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อราแตกต่างกันไป

เมื่อเปรียบเทียบค่า MFC ของสารสกัดสมุนไพรและสารเคมีต่อการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ดังแสดงในตารางที่ 7 พบว่าสารสกัด เฮกเซนของกานพลูสามารถยับยั้งเชื้อราทั้งสองชนิดได้ดีเทียบเท่ากับสารเคมี carbendazim จะเห็น ได้จากค่า MFC ที่มีค่าเท่ากันคือ 250 ppm และสารสกัดเฮกเซนของกานพลูยังสามารถยับยั้งเชื้อรา ทั้งสองชนิดได้ดีกว่าสารเคมี captafol ในขณะที่สารสกัดเอทานอลของกานพลู สารสกัดคลอโรฟอร์ม และเฮกเซนของพลู สารสกัดด้วยน้ำของราชพฤกษ์สามารถยับยั้งเชื้อราทั้งสองชนิดได้ดีเทียบเท่ากับ สารเคมี captafol จะเห็นได้จากค่า MFC ที่มีค่าเท่ากันคือ 4000 ppm นอกจากนี้สารสกัดด้วยน้ำและ เอทานอลของพลู สารสกัดด้วยน้ำของหม่อนมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราได้ดีกว่า captafol โดยมีค่า MFC เท่ากับ 1000 ppm นอกจากนี้ *A. flavus* TISTR 3366 มีความไวต่อสารสกัดคลอโรฟอร์มของ พลูมากกว่า *A. parasiticus* TISTR 3276 ซึ่งจะเห็นได้จากค่าดัชนีการยับยั้งการเติบโตของเชื้อรา กล่าวคือสารสกัดคลอโรฟอร์มของพลูสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 ได้อย่าง สมบูรณ์ ที่ระดับความเข้มข้น 2000 ppm ในขณะที่ *A. parasiticus* TISTR 3276 ต้องใช้ความเข้มข้น ของสารสกัดถึง 4000 ppm จึงจะสามารถยับยั้งการเติบโตได้อย่างสมบูรณ์ และสารสกัดด้วยน้ำของ หม่อนมีความสามารถในการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 ได้อย่างสมบูรณ์เพียงชนิด เดียว ที่ความเข้มข้น 4000 ppm จากการทดลองนี้จะเห็นได้ว่าสารสกัดสมุนไพรที่กล่าวมานี้มี ศักยภาพในการยับยั้งเชื้อราได้เทียบเท่าหรือดีกว่าสารเคมี

พืชสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ได้อย่างสมบูรณ์คือ สารสกัดเอทานอลและเฮกเซนของกานพลู สารสกัดพลูด้วยตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด (น้ำ เอทานอล คลอโรฟอร์มและเฮกเซน) สารสกัดด้วยน้ำของราชพฤกษ์และหม่อน ดังนั้นจึงเลือกสารสกัดทั้งหมดนี้เพื่อศึกษาการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ในถั่วลิสงระหว่างการเก็บรักษาต่อไป

ตารางที่ 7 ค่า MFC ของสารสกัดสมุนไพรและสารเคมี

| สารสกัด     | MFC (ppm)                   |                                  |
|-------------|-----------------------------|----------------------------------|
|             | <i>A. flavus</i> TISTR 3366 | <i>A. parasiticus</i> TISTR 3276 |
| สารเคมี     |                             |                                  |
| captafol    | 1000                        | 1000                             |
| carbendazim | 250                         | 250                              |
| กานพลู      |                             |                                  |
| เอทานอล     | 4000                        | 4000                             |
| เฮกเซน      | 250                         | 250                              |
| พลู         |                             |                                  |
| น้ำ         | 1000                        | 1000                             |
| เอทานอล     | 1000                        | 1000                             |
| คลอโรฟอร์ม  | 2000                        | 4000                             |
| เฮกเซน      | 4000                        | 4000                             |
| ราชพฤกษ์    |                             |                                  |
| น้ำ         | 4000                        | 4000                             |
| หม่อน       |                             |                                  |
| น้ำ         | 1000                        | —                                |

## 2. ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ในเมล็ดถั่วลิสงภายใต้สภาวะการเดิมเชื้อ

ในการทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรเทียบกับสารเคมีที่ค่า MFC ต่อการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ในเมล็ดถั่วลิสงภายใต้สภาวะการเดิมเชื้อรา (7 log CFU/g) นาน 32 วัน ผลการทดลองดังแสดงในภาพที่ 17 และ 18

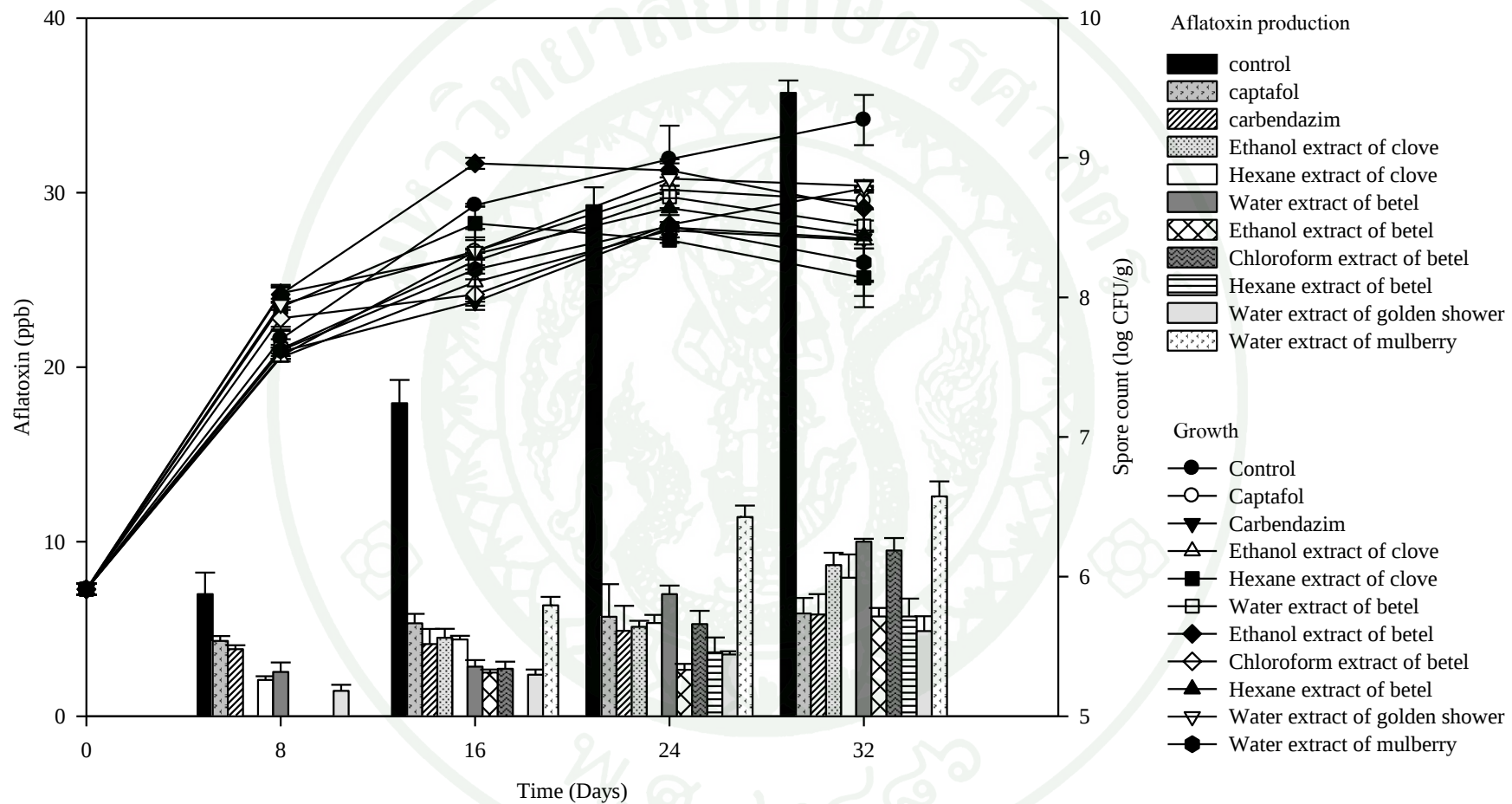
ผลของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 8 ชนิด และสารเคมีที่ค่า MFC ต่อการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ *A. flavus* TISTR 3366 ในเมล็ดถั่วลิสงภายใต้สภาวะการเดิมเชื้อ *A. flavus* TISTR 3366 ดังแสดงในภาพที่ 17 จะเห็นว่าในชุดควบคุมเชื้อ *A. flavus* TISTR 3366 สามารถเติบโตได้ดีในระหว่างการเก็บรักษา 32 วัน และมีปริมาณเชื้อสูงเท่ากับ 9.27 log CFU/g ขณะที่ในเมล็ดถั่วลิสงที่เคลือบด้วยสารสกัดสมุนไพรและสารเคมี พบว่า *A. flavus* TISTR 3366 เติบโตได้น้อยกว่าชุดควบคุม ณ วันที่ 32 ของการเก็บรักษา ปริมาณเชื้อ *A. flavus* TISTR 3366 ที่พบจะน้อยกว่าในชุดควบคุม 0.47–1.13 log CFU/g นอกจากนี้สารสกัดสมุนไพรทั้ง 8 ชนิด และสารเคมียังสามารถยับยั้งการผลิตอะฟลาทอกซินได้ดีกว่าชุดควบคุม 3–7 เท่า โดยสารสกัดสมุนไพรและสารเคมีเหล่านี้มีปริมาณอะฟลาทอกซินในช่วง 4.88–12.66 ppb

ภาพที่ 18 แสดงผลของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 8 ชนิด และสารเคมีที่ค่า MFC ต่อการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ *A. parasiticus* TISTR 3276 ในเมล็ดถั่วลิสงภายใต้สภาวะการเดิมเชื้อ *A. parasiticus* TISTR 3276 พบว่าเมล็ดถั่วลิสงมีการปนเปื้อน *A. parasiticus* TISTR 3276 เพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา จะเห็นว่าสารสกัดสมุนไพรและสารเคมีสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. parasiticus* TISTR 3276 ในเมล็ดถั่วลิสงได้ ณ วันที่ 32 ของการเก็บรักษา ปริมาณเชื้อ *A. parasiticus* TISTR 3276 ที่พบมีปริมาณต่ำกว่าชุดควบคุม 0.86–2.32 log CFU/g ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณของอะฟลาทอกซินที่ผลิตขึ้น โดยปริมาณอะฟลาทอกซินที่พบอยู่ในช่วง 5.00–12.00 ppb ซึ่งมีปริมาณอะฟลาทอกซินน้อยกว่าชุดควบคุม 3–7 เท่า

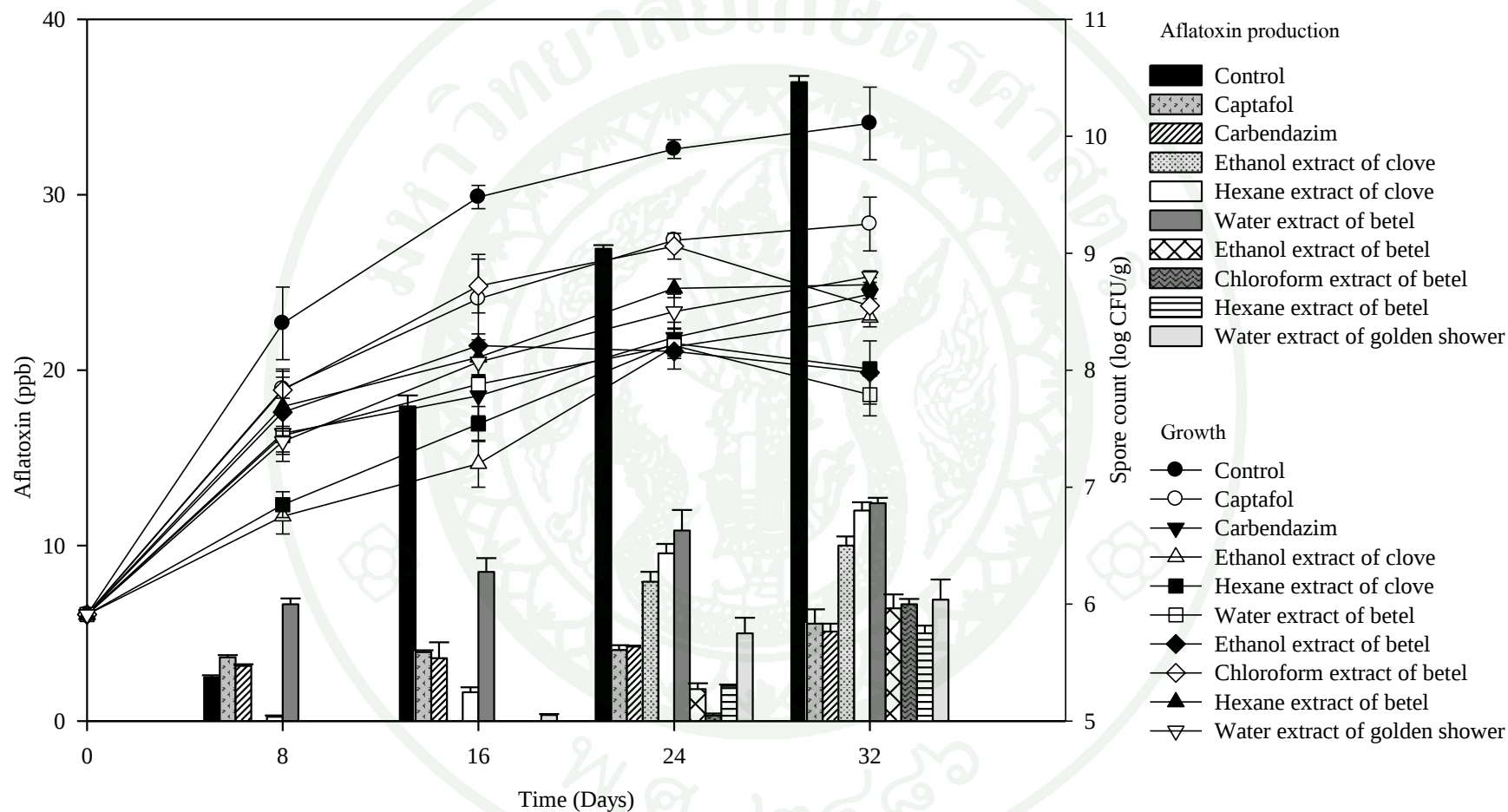
แต่อย่างไรก็ตามเมื่อใช้ระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น การผลิตอะฟลาทอกซินของเชื้อราเริ่มช้าลง ทั้งนี้อาจมีสาเหตุมาจากสารสกัดสมุนไพรเริ่มกลไกในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อรา ทำให้เชื้อราเริ่มอ่อนแอและตายในที่สุด ในขณะที่เชื้อราในชุดควบคุมมีการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินตามปกติ จากการทดลองของ Zaika and Buchanan (1987) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดสมุนไพรและสารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการผลิตอะฟลาทอกซิน ส่วนใหญ่จะเป็นการยับยั้งการเติบโตของเชื้อรามากกว่าการยับยั้งการผลิตอะฟลาทอกซิน แต่ผลจากการทดลองนี้พบว่า มีสารสกัดสมุนไพรบางชนิดที่ยับยั้งการผลิตอะฟลาทอกซินโดยเชื้อรายังสามารถเติบโตได้ดี เช่น ณ วันที่ 16 ของการเก็บ เมล็ดถั่วลิสงที่เคลือบด้วยสารสกัดเฮกเซนของพญามีปริมาณเชื้อ *A. flavus* TISTR 3366 เท่ากับ 8.31 log CFU/g แต่พบว่าไม่มีอะฟลาทอกซินปนเปื้อน ในทำนองเดียวกันกับรายงานของ Glinsukon *et al.* (1976) ศึกษาพบว่าปริมาณเชื้อ *A. flavus* ที่ขึ้นบนเมล็ดถั่วลิสงไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณอะฟลาทอกซินแต่การเก็บรักษามีผลทำให้การเติบโตของเชื้อราเพิ่มมากขึ้น และมีเพียง 80 % ของเชื้อราเท่านั้นที่สามารถผลิตอะฟลาทอกซินได้ บางครั้งเมื่อตรวจพบเชื้อ *A. flavus* แต่อาจไม่พบอะฟลาทอกซินปนเปื้อนอยู่ด้วย และ Singh and Hsieh (1977) รายงานว่า dicholovos สามารถยับยั้งการผลิตอะฟลาทอกซินได้โดยไม่ทำลายการเติบโตของเชื้อราเช่นเดียวกัน นอกจากนี้ Buchanan and Lewi (1984) ได้รายงานว่า caffeine สามารถยับยั้งได้ทั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของเชื้อรา โดย caffeine จะไปยับยั้งกระบวนการนำกลูโคสไปใช้ในการผลิตอะฟลาทอกซิน

นอกจากนี้รายงานของ จินดนา (2530) พบว่าบริเวณเยื่อหุ้มเมล็ดถั่วลิสงมีปริมาณอะฟลาทอกซินน้อยที่สุด เนื่องจากในส่วนนี้ของเยื่อหุ้มเมล็ดมีสารแทนนินอยู่มาก สารนี้จะไปยับยั้งการเติบโตของเชื้อ *A. flavus* โดยตรง ในขณะที่ส่วนของเมล็ดมีโปรตีนและกรดอะมิโนที่ส่งเสริมต่อการผลิตอะฟลาทอกซิน ดังนั้นการล้างผิวนอกของเมล็ดถั่วลิสงจึงไม่สามารถกำจัดสารพิษอะฟลาทอกซินออกไปได้

ดังนั้นสารสกัดพืชสมุนไพรทั้ง 8 ชนิดนี้จึงมีศักยภาพใช้เป็นสารต้านเชื้อราจากธรรมชาติเพื่อควบคุมการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ทดแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์ที่ใช้ในปัจจุบัน



ภาพที่ 17 ผลของสารสกัดสมุนไพรและสารเคมีต่อการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ *A. flavus* TISTR 3366 ในถั่วลิสงภายใต้สภาวะการเติมเชื้อ



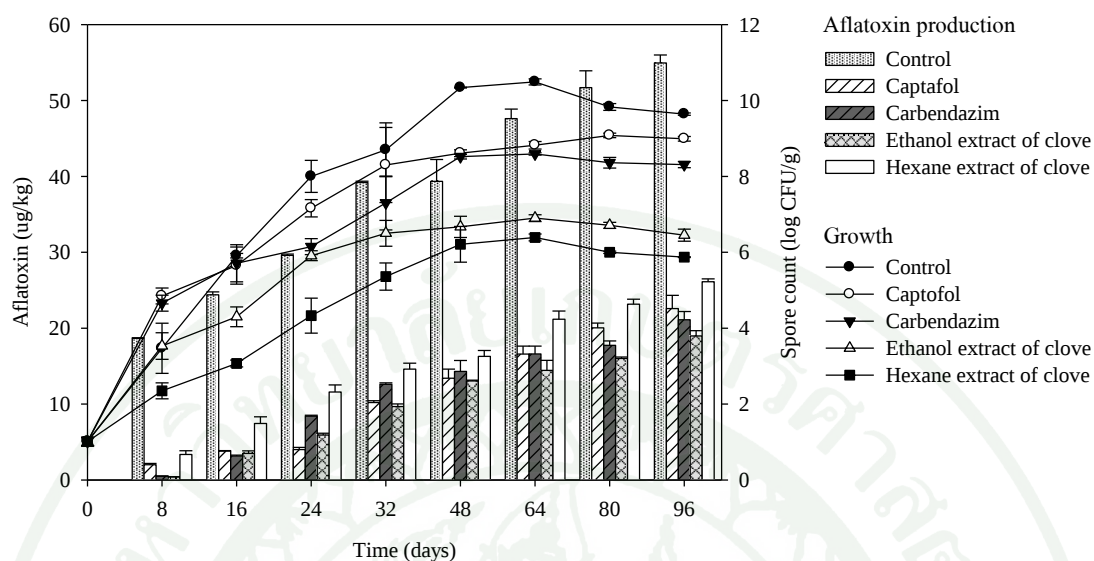
ภาพที่ 18 ผลของสารสกัดสมุนไพรและสารเคมีต่อการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ *A. parasiticus* TISTR 3276 ในถั่วลิสงภายใต้สภาวะการเติมเชื้อ

### 3. ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ *Aspergillus* spp. ในผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงป่นระหว่างการเก็บรักษา

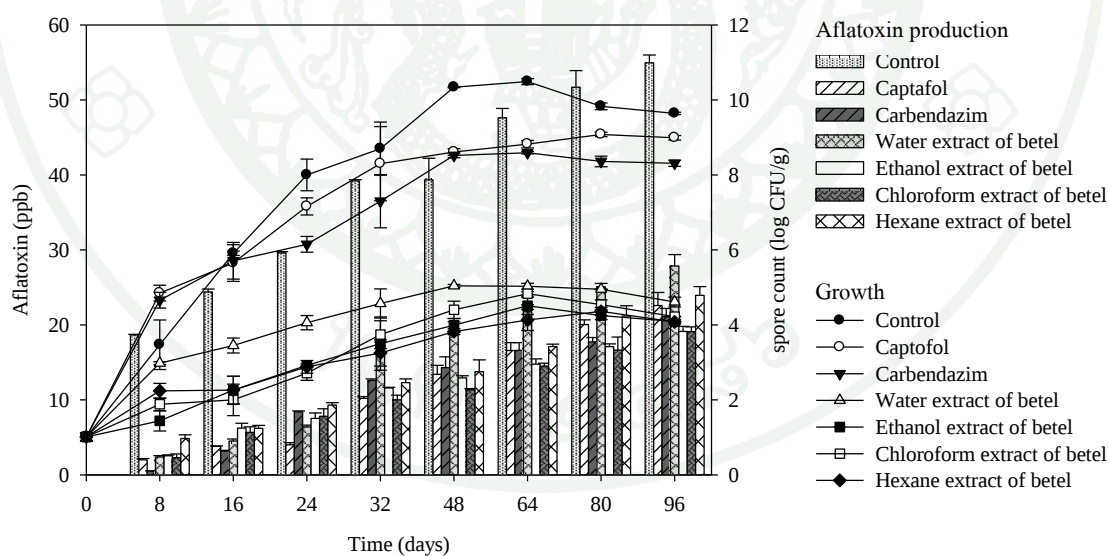
ผลการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรเทียบกับสารเคมีที่ค่า MFC ต่อการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ *Aspergillus* spp. ในผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงป่นระหว่างการเก็บรักษา 96 วัน ที่อุณหภูมิห้อง แสดงดังภาพที่ 19–22

ภาพที่ 19 แสดงศักยภาพของสารสกัดกานพลูต่อการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ *Aspergillus* spp. ในผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงป่น พบว่าการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ *Aspergillus* spp. ในผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงป่นมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา ณ วันที่ 96 จะเห็นว่าในชุดควบคุมมีปริมาณเชื้อสูงเท่ากับ 9.64 log CFU/g ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณของอะฟลาทอกซินที่ผลิตขึ้น โดยมีปริมาณอะฟลาทอกซินเท่ากับ 54.94 ppb ส่วนผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงป่นที่เคลือบด้วยสารสกัดเอทานอลและเฮกเซนของกานพลูมีปริมาณเชื้อเท่ากับ 6.45 และ 5.87 log CFU/g ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณเชื้อต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ ) และมีปริมาณอะฟลาทอกซินเท่ากับ 18.98 และ 26.13 ppb ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าชุดควบคุม 2–3 เท่า ในขณะที่ผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงป่นที่เคลือบด้วยสารสกัดด้วยน้ำ เอทานอล คลอโรฟอร์ม และเฮกเซนของกานพลูมีปริมาณเชื้อ *Aspergillus* spp. เท่ากับ 4.61, 4.09, 4.22 และ 4.08 log CFU/g ตามลำดับ และมีปริมาณอะฟลาทอกซินเท่ากับ 27.85, 19.13, 19.09 และ 23.94 ppb ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดกานพลูมีปริมาณเชื้อราและอะฟลาทอกซินน้อยกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ ) ดังแสดงในภาพที่ 20 ส่วนผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงป่นที่เคลือบด้วยสารสกัดราชพฤกษ์และหม่อนด้วยน้ำ ณ วันที่ 96 พบว่าผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงป่นมีปริมาณเชื้อราเท่ากับ 5.95 และ 5.80 log CFU/g ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณเชื้อต่ำกว่าชุดควบคุม 4 log CFU/g สอดคล้องกับปริมาณของอะฟลาทอกซินที่ผลิตขึ้น โดยมีปริมาณอะฟลาทอกซินเท่ากับ 19.89 ppb และ 30.78 ppb ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 21 และ 22

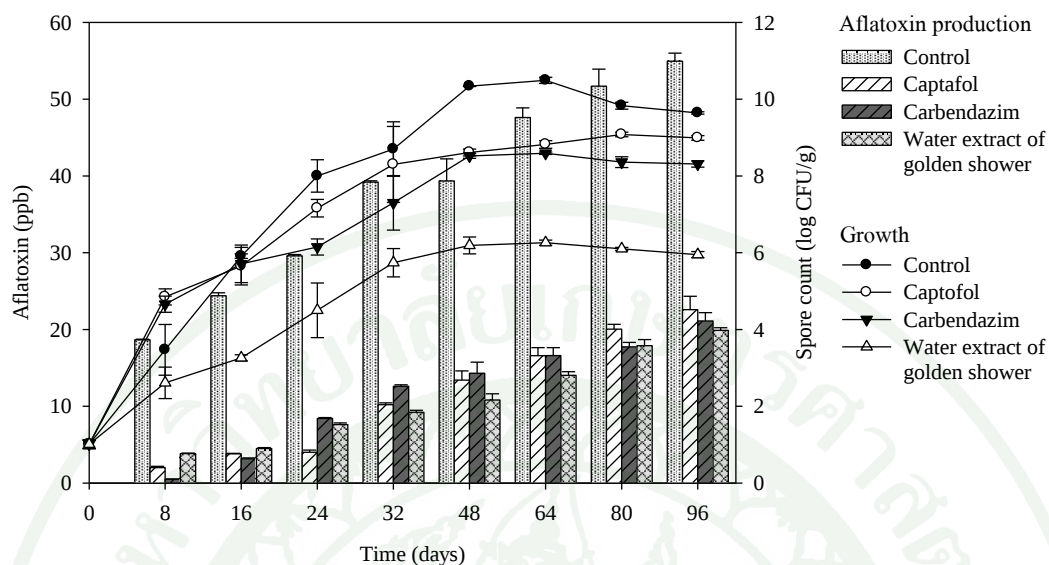
นอกจากนี้จะเห็นว่าสารสกัดสมุนไพรทุกชนิดสามารถยับยั้งเชื้อราที่ทดสอบได้ดีกว่าสารเคมี captafol และ carbendazim อย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ ) โดยผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงป่นที่เคลือบด้วยสารเคมีมีปริมาณเชื้อเท่ากับ 8.99 และ 8.31 log CFU/g ตามลำดับ และสารสกัดเอทานอลของกานพลู สารสกัดเอทานอลและคลอโรฟอร์มของพลู สารสกัดราชพฤกษ์ด้วยน้ำสามารถยับยั้งการผลิตอะฟลาทอกซินได้ดีกว่าหรือใกล้เคียงกับสารเคมี captafol และ carbendazim อย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ ) ซึ่งสารเคมี captafol และ carbendazim มีปริมาณอะฟลาทอกซินเท่า 22.58 และ 21.11 ppb ตามลำดับ



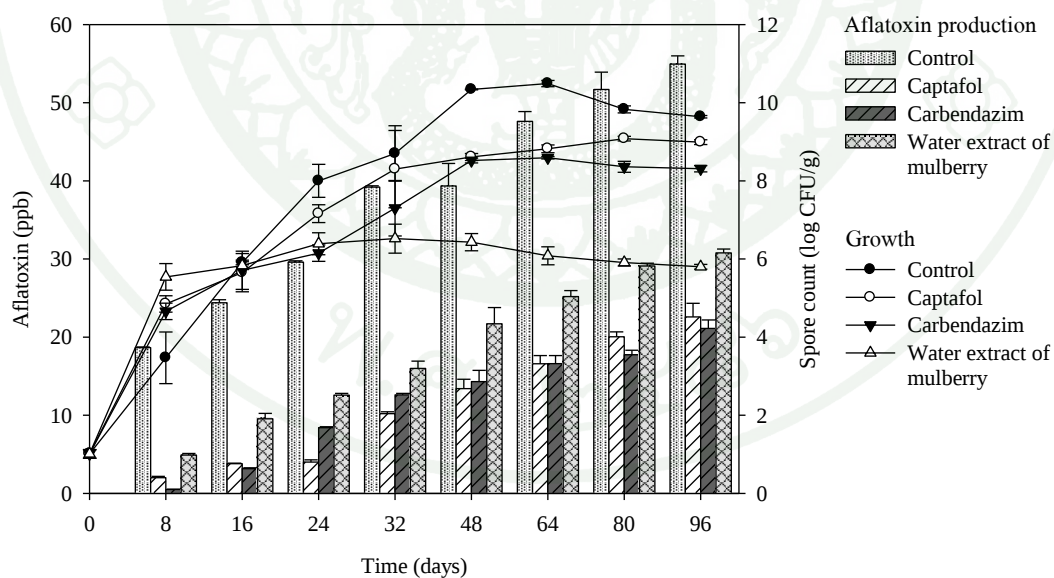
ภาพที่ 19 ผลของสารสกัดกานพลูต่อการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ *Aspergillus* spp. ในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงป่นที่อุณหภูมิห้อง



ภาพที่ 20 ผลของสารสกัดพลูต่อการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ *Aspergillus* spp. ในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงป่นที่อุณหภูมิห้อง



ภาพที่ 21 ผลของสารสกัดราชพฤกษ์ต่อการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ *Aspergillus* spp. ในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงป่นที่อุณหภูมิห้อง



ภาพที่ 22 ผลของสารสกัดหม่อนต่อการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ *Aspergillus* spp. ในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงป่นที่อุณหภูมิห้อง

จากการทดลองนี้ปริมาณอะฟลาทอกซินที่เพิ่มขึ้น อาจเนื่องมาจากเชื้อรามีการผลิตอะฟลาทอกซินในช่วงแรก จึงทำให้ยังมีการสะสมของสารพิษนี้ไว้ ดังนั้นหากมีการเก็บรักษาถั่วลิสงไว้ในสภาวะแห้ง โดยเก็บใส่ไว้ในถุงซีปล็อกพลาสติกและปิดให้มิดชิด อาจสามารถเก็บไว้ได้นานประมาณ 1–3 เดือน แต่อย่างไรก็ตามปริมาณอะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงป่นที่ทำการทดลองในครั้งนี้ พบว่ามีปริมาณอะฟลาทอกซินไม่เกินมาตรฐานกำหนดเช่นเดียวกับรายงานของพรทิพย์ (2536) ที่พบว่าเมื่อเก็บเมล็ดข้าวโพดนาน 14 วัน สารสกัดเฮกเซนของกานพลูที่ความเข้มข้น 200 และ 500 ppm สามารถควบคุมการผลิตอะฟลาทอกซิน B<sub>2</sub> ได้ โดยมีปริมาณอะฟลาทอกซิน B<sub>2</sub> เท่ากับ 19.17 และ 6.35 ppb ตามลำดับ

จากการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นว่าสารสกัดสมุนไพรสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ในอาหาร PDA ได้อย่างสมบูรณ์ ซึ่งอาหาร PDA เป็นอาหารที่เหมาะสมต่อการเติบโตของเชื้อรา แต่เมื่อนำมาทดลองในผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงป่นนี้ พบว่าไม่สามารถยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ อาจเนื่องจากหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้อง เช่น ผลปฏิกิริยาระหว่างองค์ประกอบของสารสกัดสมุนไพรกับองค์ประกอบในเมล็ดถั่วลิสง ซึ่งมีผลต่อการลดกิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกได้ละลายในส่วนที่เป็นไขมันของจุลินทรีย์ ทำให้กิจกรรมการยับยั้งในส่วน of ชั้นน้ำลดลง นอกจากนี้ไขมันยังเป็นตัวปกป้องเซลล์จุลินทรีย์จากปฏิกิริยาของสารประกอบฟีนอลิกอีกด้วย (Menon and Garg, 2001; Gill *et al.*, 2002) และอาจมีเชื้อราติดมาด้วยแล้วเติบโตอยู่ภายในเมล็ดถั่วลิสงก่อนที่จะนำมาเคลือบกับสารสกัดสมุนไพร ทำให้สารสกัดไม่สัมผัสกับเชื้อราโดยตรง หลังจากนั้นเชื้อราภายในที่ไม่ถูกทำลายเมื่อได้รับสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม ก็สามารถเติบโตและผลิตอะฟลาทอกซินได้ ซึ่งเมล็ดถั่วลิสงนี้เป็นแหล่งสารอาหารที่เหมาะสมต่อการเติบโตของเชื้อรา มีผลทำให้เซลล์ของเชื้อราต้านทานต่อสารสกัดสมุนไพรมากขึ้น ดังนั้นการนำสารสกัดสมุนไพรไปใช้จริงนั้น อาจจะต้องใช้ความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพรให้มากขึ้นจึงจะสามารถยับยั้งเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Morris *et al.* (1979) พบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์นั้น นอกจากจะขึ้นอยู่กับปัจจัยข้างต้นแล้ว ยังขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้ด้วย โดยสารสกัดที่มีความเข้มข้นสูงจะสามารถยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ได้ดีกว่าสารสกัดที่มีความเข้มข้นต่ำ

## สรุปและข้อเสนอแนะ

### สรุป

จากการศึกษาความสามารถของสารสกัดสมุนไพร 10 ชนิด ได้แก่ กานพลู จิง ตะไคร้หอม พริกไทยดำ พริกหอม พลู ราชพฤกษ์ สีเสียดเทศ หม่อน และอบเชยที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด (น้ำ เอทานอล คลอโรฟอร์ม และเฮกเซน) ในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อราที่ผลิตอะฟลาทอกซิน ได้แก่ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ด้วยวิธี agar diffusion พบว่า สารสกัดเอทานอลและเฮกเซนของกานพลู สารสกัดพลูด้วยตัวละลายทุกชนิด สารสกัดราชพฤกษ์ ด้วยน้ำสามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อราทดสอบได้ทุกชนิดอย่างสมบูรณ์ และสารสกัดหม่อนด้วยน้ำสามารถยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 ได้อย่างสมบูรณ์เพียงชนิดเดียว ดังนั้นจึงเลือกสารสกัดทั้ง 8 ชนิด มาศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของเชื้อราในถั่วลิสงระหว่างการเก็บรักษา

ผลการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ในเมล็ดถั่วลิสงภายใต้สภาวะการเดิมเชื้อรา พบว่าสารสกัดกานพลู พลู ราชพฤกษ์ และหม่อนสามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อราทั้งสองชนิดนี้ได้ใกล้เคียงกับสารเคมี captafol และ carbendazim อย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ ) และควบคุมการผลิตอะฟลาทอกซินได้ อยู่ในช่วง 4.88–12.66 ppb ในระหว่างการเก็บรักษา 32 วัน

การศึกษาความสามารถของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของเชื้อราในผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงป่นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 96 วัน พบว่าสารสกัดกานพลู พลู ราชพฤกษ์ และหม่อนสามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus* spp. ได้ดีกว่าสารเคมี captafol และ carbendazim อย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ ) โดยเฉพาะสารสกัดเอทานอลของกานพลู สารสกัดเอทานอลและคลอโรฟอร์มของพลู และสารสกัดราชพฤกษ์ด้วยน้ำ เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงป่นเป็นเวลา 96 วัน พบปริมาณอะฟลาทอกซินอยู่ในช่วง 18.98–19.89 ppb ซึ่งเป็นค่าที่ต่ำกว่ามาตรฐานกระทรวงสาธารณสุขกำหนดไว้ (20 ppb) แต่ก็มีความเป็นไปได้ในการนำสารสกัดสมุนไพรไปใช้ในทางปฏิบัติ ถ้ามีการปรับใช้อัตราความเข้มข้นที่สูงขึ้น ซึ่งอัตราที่ใช้ควรขึ้นกับความชื้นภายในเมล็ดด้วย ซึ่งจะสามารถยับยั้งการเพิ่มปริมาณของเชื้อราและสารพิษอะฟลาทอกซินได้

จากผลการวิจัยดังกล่าวแสดงให้เห็นถึงศักยภาพของสารสกัดสมุนไพรที่สามารถใช้  
ทดแทนสารเคมีทั้งด้านการป้องกันการเติบโตของ *A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus*  
TISTR 3276 และการผลิตอะฟลาทอกซินในผลิตผลทางการเกษตรระหว่างการเก็บรักษา

#### ข้อเสนอแนะ

การศึกษาขั้นต่อไป ควรหาชนิดและปริมาณสารออกฤทธิ์ในสารสกัดพืชสมุนไพร เพื่อให้  
สามารถควบคุมคุณภาพได้อย่างสม่ำเสมอ และศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตสารสกัดในระดับ  
อุตสาหกรรมรวมถึงการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค

## เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- กมลชัย ตรงวานิชนาม, อารินี ชัชวาลชลธีระ, ปาริยา อุดมกุศลศรี และวิทยา ปั่นสุวรรณ. 2550. ประสิทธิภาพในห้องปฏิบัติการของสมุนไพรไทยต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ที่ก่อสารพิษอะฟลาทอกซิน, น. 153–156. ใน **ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ ครั้งที่ 33**. โรงแรมโซฟิเทล เซ็นทารา แกรนด์, กรุงเทพฯ.
- กิตติพันธ์ สมนึก, จักรพงษ์ หรั่งเจริญ และมานพ นชะพงษ์. 2551. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกมังคุดในการควบคุมเชื้อ *Aspergillus* spp., น. 1–26. ใน **การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย**. คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.
- เกษม สร้อยทอง และจำรัส คุณณรงค์นันท์กุล. 2529. การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus* spp. ด้วยสารสกัดจากกานพลู. **วารสารโรคพืช**. 6(1–2): 1–6.
- เกศรินทร์ รามณี. 2552. การยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษแอฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus parasiticus* โดยสารสกัดจากพืชตระกูลส้ม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- จินตนา อุปติสสกุล. 2530. ปริมาณแทนนินในเยื่อหุ้มเมล็ดถั่วลิสงพันธุ์ต่างๆ กับการต้านสารพิษอะฟลาทอกซิน, น. 670–672. ใน **รายงานสัมมนาเรื่องงานวิจัยถั่วลิสง ครั้งที่ 6**. คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา และอุทยานแห่งชาติทะเลบัน, สตูล.
- ชัยวัฒน์ โตอนันต์. 2528. อิทธิพลของพืชสมุนไพรและเครื่องเทศบางชนิดที่มีผลต่อการเจริญของรา *Aspergillus*. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ดวงจันทร์ สุประเสริฐ และวนิดา ยุธยาติ. 2547. สารพิษอะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในถั่วลิสงและผลิตภัณฑ์ระหว่างปี พ.ศ. 2537–2545. **วารสารอาหาร**. 34 (1): 30–33.

ธรรมศักดิ์ สมมาตรย์. 2526. สารเคมีสำหรับป้องกันกำจัดและรักษาโรคพืช. ภาควิชาโรคพืช, คณะเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นพมาศ สุนทรเจริญนนท์ และนงลักษณ์ เรืองวิเศษ. 2551. วิเคราะห์ วิจัย คุณภาพเครื่องยาไทย. คอนเซพท์ เมดิคัล จำกัด, กรุงเทพฯ.

นฤมล มาแทน และมนตรี อีสระไกรสีล. 2551. การควบคุมการเจริญของเชื้อราบนผิวเงาะโดยการใช้น้ำมันหอมระเหยจากอบเชยและกานพลู. ว. วิทย. กษ. 39 (3) (พิเศษ): 441–447.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2518. ประสิทธิภาพของเครื่องเทศบางชนิดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปอพิไล พิพิธ และอุมา แสงคร้าม. 2554. การศึกษาผลของสารตัวกลางที่ใช้ร่วมกับสารสกัดกานพลูในการคลุกเมล็ดข้าวป้องกันเชื้อราในโรงเก็บ. ว. วิทย. กษ. 42: 1 (พิเศษ): 399–402.

ปิยะวดี เจริญวัฒนา. 2550. ประสิทธิภาพของสารสกัดพลูในการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus flavus*. ว. วิทย. กษ. 38: 6 (พิเศษ): 50–53.

พรทิพย์ ชมพภูมิ้ง. 2536. การใช้สารสกัดพืชสมุนไพรเครื่องเทศควบคุม *Aspergillus flavus* Link. และสารพิษอฟลาทอกซิน (aflatoxin) ในเมล็ดข้าวโพดภายใต้สภาพโรงเก็บ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยมหิดล.

ภัสจันท์ หิรัญ, อรพิน เกิดชูชื่น และณัฐฐา เลหากุลจิตต์. 2533. การยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus* spp. โดยน้ำมันหอมระเหยจากกานพลูและอบเชย. ว. วิทย. กษ. 41 (3/1) (พิเศษ): 21–24.

เขวามาลย์ คำเจริญ, สาโรช คำเจริญ, เชิดชัย รัตนเศรษฐกุล, ภาวดี ภักดี, วินัย ใจขาน, อรุณพงศ์ ศรีสถาพร, พรรณศรี สากิยะ, พิทักษ์ ศรีประยา, สมพงษ์ ฉายพุทธ และบุญดา ธรรมบุตร. 2540. รายงานการวิจัยเรื่อง ความปลอดภัยจากอาหารที่ผลิตจากถั่วลิสงในระบบที่ควบคุมการเกิดอะฟลาท็อกซิน (โครงการย่อยที่ 3). คณะเกษตรศาสตร์: มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

วันดี กฤษณพันธ์. 2537. สมุนไพรน้ำรู้. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

ศุภลักษณ์ กลั่นน่วม. 2548. เอกสารวิชาการเรื่อง สารพิษจากเชื้อรา (Mycotoxin). กลุ่มงานส่งเสริมและพัฒนาการบริการ อารักขาพืช ส่วนบริหารศัตรูพืช สำนักงานพัฒนาคุณภาพสินค้าเกษตร.

สร้อยสุดา อุดระกูล, ทรงศิลป์ พจน์ชนะชัย, นวลจันทร์ ภูคลัง, เดือนเต็ม ลอยมา, ชณิตรา โพธิ์เกษม และ ประภาพร สีใส. 2552. ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากขิง (*Zingiber officinale* Roscoe) และตะไคร้ (*Cymbopogon citratus* L.) ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus niger* ในเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดและ *Alternaria brassicicola* ในเมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลี. ว. วิทย. กษ. 40: 3 (พิเศษ): 313–316.

สุดฤดี ประเทืองวิทย. 2534. ความเป็นพิษของสารสกัดบอระเพ็ดต่อเชื้อโรคพืชบางชนิดในห้องปฏิบัติการ. ภาควิชาโรคพืช, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

สุดาทิพย์ แซ่ตัน. 2550. การลดความเสี่ยงจากการปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงดิบด้วยวิธีการคัดเลือกคุณภาพถั่วลิสงและโรงข่ายประสาทเทียม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สรอนงค์ อูยโต. 2552. การพัฒนาสารสกัดจากพืชเพื่อใช้ควบคุมเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ในโรงเก็บเมล็ดพันธุ์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

Alexopoulos, C.S., C.W. Mims and M. Blackwell. 1996. **Introductory Mycology**. 4<sup>th</sup> ed. Jonh Wiley & Sons Inc, New York.

Al-Askar, A.A. and Y.M. Rashad. 2010. Efficacy of some plant extracts against *Rhizoctonia solani* on pea. **J. Plant Prot. Res.** 50 (3): 239–243.

- Ali, I., F.G. Khan, K.A. Suri, B.D. Gupta, N.K. Satti, P. Dutt, F. Afrin, G.N. Qazi and I.A. Khan. 2010. *In vitro* antifungal activity of hydroxychavicol isolated from *Piper betle* L. **Ann. Clin. Microbiol. Antimicrobials** 7: 1–9.
- Ali, A.M., M.A. Sayeed, M.S.A. Bhuiyan, F.I. Sohel and M.S. Yeasmin. 2004. Antimicrobial screening of *Cassia fistula* and *Mesua ferrea*. **J. Med. Sci.** 4: 24–29.
- Alper, C.M. and R.D. Mattes. 2002. Effects of chronic peanut consumption on energy balance and hedonics. **Int. J. Obes.** 26:1129–1137.
- \_\_\_\_\_ and \_\_\_\_\_. 2003. Peanut consumption improves indices of cardiovascular disease risk in healthy adults. **J. Am. Coll. Nutr.** 22: 133–141.
- Arora, D.S. and J. Kaur. 1999. Antimicrobial activity of spices. **Int. J. Antimicrobial Agents.** 12(3): 257–262.
- Atasie, V.N., T.F. Akinhanmi and C.C. Ojiodu. 2009. Proximate analysis and physico-chemical properties of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). **Pak. J. Nutr.** 8 (2): 194–197.
- Attokarah, M. 2011. **Natural Food Flavors and Colorants.** IFT press, USA.
- Ayodele, S.M., E.M. Llondu and N.C. Onwubolu. 2009. Antifungal properties of some locally used spices in Nigeria against some rot fungi. **Afr. J. Plants Sci.** 3 (6): 139–141.
- Azzouz, M.A. 1981. **The Inhibitory Effects of Selected Herbs, Species and Other Plant Materials on Mycotoxigenic Mold.** Ph.D Thesis. University of Nebraska, USA.
- Bankole, S.A. 1997. Effect of essential oils from two Nigerian medicinal plants (*Azadirachta indica* and *Morinda lucida*) on growth and aflatoxin B<sub>1</sub> production in maize grain by a toxigenic *Aspergillus flavus*. **Lett. Appl. Microbiol.** 24: 190–192.

Bankole, S.A. and A. Adebajo. 2003. Mycotoxins in food in West Africa: current situation and possibilities of controlling it. **Afr. J. Biotechnol.** 2 (9): 254–263.

\_\_\_\_\_, A.O. Joda and J.S. Ashidi. 2005. The use of power and essential oil of *Cymbopogon citratus* against mould deterioration and aflatoxin contamination of ‘equasi’ melon seeds. **J. Basic Microbiol.** 45 (1): 20–30.

Bansod, S. and M. Rai. 2008. Antifungal activity of essential oils from Indian medicinal plants against human pathogenic *Aspergillus fumigates* and *A. niger*. **World J. Med. Sci.** 3 (2): 81–88.

Begum, J., M. Yusuf, J.U. Chowdhury, S. Khan and M.N. Anwar. 2007. Antifungal activity of forty higher plants against phytopathogenic fungi. **Bangladesh J. Microbiol.** 24 (1): 76–78.

Bhalodia, N.R., P.B. Nariya and V.J. Shukla. 2011. Antibacterial and antifungal activity from flower extracts of *Cassia fistula* L.: an ethnomedicinal plant. **Int. J. PharmTech Res.** 3 (1): 160–168.

Billerbeck, V.G., C.G. Roques, J.M. Bessiere, J.L. Fonvieille and R. Dargent. 2001. Effects of *Cymbopogon nardus* (L.) W. Watson essential oil on the growth and morphogenesis of *Aspergillus niger*. **Can. J. Microbiol.**, 47: 9–17.

Bluma, R.V., M.R. Amaiden and M. Etcheverry. 2008. Screening of Argentine plant extracts: impact on growth parameters and aflatoxin B<sub>1</sub> accumulation by *Aspergillus* Section *Flavi*. **Int. J. Food Microbiol.** 122: 114–125.

\_\_\_\_\_, and M.G. Etcheverry. 2008. Application of essential oils in maize grain: impact on *Aspergillus* section *Flavi* growth parameters and aflatoxin accumulation. **Food Microbiol.** 25: 324–334.

- Brehm-Stecher, F.B. and E.A. Johnson. 2003. Sensitization of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* to antibiotics by the sesquiterpenoids nerolidol, farnesol bisabolol and apritone. **Antimicrob. Agents Chemother.** 66: 3357–3360.
- Buchanan, R.L. and D.F. Lewis. 1984. Caffeine inhibition of aflatoxin production: probable site of action. **Appl. Environ. Microbiol.** 47: 1216–1220.
- Bullerman, L.B., F.Y. Lieu and S.A. Seier. 1977. Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oils, cinnamic aldehyde and eugenol. **J. Food Sci.** 42 (4): 1107–1109.
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. **Int. J. Food Microbiol.** 94: 223–253.
- Butt, M.S., A. Nazir, M.T. Sultan and K. Schroën. 2008. *Morus alba* L. nature's functional tonic. **Trends Food Sci. Technol.** 19: 505–512.
- Carmo, E.S., E.O. Lima and E.L. Souza. 2008. The potential of *Origanum vulgare* L. (lamiaceae) essential oil in inhibiting the growth of some food-related *Aspergillus* species. **Braz. J. Microbiol.** 39 (2): 362–367.
- Cheeptham, N. and G.H.N. Towers. 2002. Light-mediated activities of some Thai medicinal plants teas. **Fitoterapia** 73: 651–662.
- Christensen, C.M. and H.H. Kaufmann. 1974. Microflora, pp. 158–192. In C.M. Christensen and H.H. Kaufmann, eds. **Storage of Cereal Grain and Their Products.** American Association of Cereal Chemists, Inc., St. Paul, Minnesota.
- Chrubasik, S., M.H. Pittler and B.D. Roufogalis. 2005. Zingiberis rhizome: A comprehensive review on efficacy profiles. **Phytomedicine** 12: 684–701.

Coker, R.D., B.D. Jones, M.J. Nagler, G.A. Gilman, A.J. Wallbridge and S. Panigrahi. 1984.

**Mycotoxin Training Manual.** TDRI, London.

Conner, D.E. and L.R. Beuchat. 1984. Effects of essential oils from plants on growth of food spoilage yeasts. **J. Food Sci.** 49 (2): 429–434.

Coppock, R.W. and R.G. Christian. 2007. Aflatoxins, pp. 939–950. *In* R.C. Gupta, ed.

**Veterinary Toxicology (Basic and Clinical Principles).** Academic Press, New York.

Cowan, M.M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. **Clin. Microbiol. Rev.** 12: 564–582.

Dabur, R., H. Singh, A.K. Chhillar, M. Ali and G.L. Sharma. 2004. Antifungal potential of Indian medicinal plant. **Fitoterapia.** 75: 389–391.

Davidse, L.C. 1973. Antimitotic activity of methyl benzimidazole-2-yl carbamate (MBC) in *Aspergillus nidulans*. **Pestic. Biochem. Physiol.** 3: 317–325.

Denizel, T, E.J. Rolfe and B. Jarvis. 1976. Moisture-equilibrium relative humidity relationships in pistachio nuts with particular regard to control of aflatoxin formation. **J. Sci. Food Agric.** 27: 1027–1034.

Dikbas, N., R. Kotan, F. Dadasoglu and F. Sahin. 2008. Control of *Aspergillus flavus* with essential oil and methanol extract of *Satureja hortensis*. **Int. J. Food Microbiol.** 124: 179–182.

Dobson, D.W. and M.J. Sweeney. 1998. Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. **Int. J. Food Microbiol.** 43: 141–158.

- Duraipandiyan, V. and S. Ignacimuthu. 2007. Antibacterial and antifungal activity of *Cassia fistula* L.: an ethnomedicinal plant. **J. Ethnopharmacol.** 112: 590–594.
- Farag, R.S., Z.Y. Daw, F.M. Hawedi and G.S.A. El-Baroty. 1989. Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oil. **J. Food Protect.** 52: 665–667.
- Ficker, C.E., M.L. Smith, S. Susiarti, D.J. Leaman, Ç. Irawati and J.T. Arnason. 2003. Inhibition of human pathogenic fungi by members of Zingiberaceae used by the Kenyah (Indonesian Borneo). **J. Ethnopharmacol.** 85: 289–293.
- Frazier, W.C. 1967. **Food Microbiology.** McGraw-Hill Book Co., Inc., New York.
- Garg, S.C. and R. Jain. 1996. Chavivol rich essential oil *Piper betle* L., cultivar sugar bangla. **Euro. Cosmetics** 5: 27–28.
- Gill, A.O., P. Delaquis, P. Russo and R.A. Holley. 2002. Evaluation of antilisterial action of cilantro oil on vacuum packed ham. **Int. Food Microbiol.** 73: 83–92.
- Glinsukon, T., W. Thamavit and M. Ruchirawat. 1976. Studies on the population of toxigenic fungi market foods and foodstuffs. I. Mycoflora contamination. **J. Sci. Soc.** 2: 176.
- Goto, T. and M. Manabe. 1989. Methods for the analysis of aflatoxins in groundnuts and other agricultural commodities, pp. 173–181. In L.D. Swindale, ed. **Aflatoxin Contamination of Groundnuts.** ICRISAT Center, India.
- Gowda, N.K.S., V. Malathi and R.U. Saganthi. 2004. Effect of some chemical and herbal compounds on growth of *Aspergillus parasiticus* and aflatoxin production. **Animal Feed Sci. Technol.** 116: 281–291.

- Gupta, C., A.P. Garg, R.C. Uniyal and A. Kumari. 2008. Comparative analysis of the antimicrobial activity of cinnamon oil and cinnamon extract on some food-borne microbes. **Afr. J. Microbiol. Res.** 2 (9): 247–251.
- \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ and S. Gupta. 2009. Comparison of antimicrobial activities of clove oil & its extract on some food borne microbes. **Int. J. Microbiol.** 7 (1)
- Hegazy, E.M. 2011. Effect of powder and essential oil of lemon grass on aflatoxins production in dried water melon seed. **Life Sci. J.** 8 (3): 516–522.
- Higgs, J. 2003. The beneficial role of peanuts in the diet-part 2. **Nutr. Food Sci.** 33(2): 56–64.
- Houghton, P.J. and A. Raman. 1998. **Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts.** Chapman and Hall, London.
- Hu, F.B. and M.J. Stampfer. 1999. Nut consumption and risk of coronary heart disease: a review of epidemiologic evidence. **Curr. Athero-scler. Rep.** 1: 204–209.
- Hua, S.S.T., O.K. Grosjean and J.L. Baker. 1999. Inhibition of aflatoxin biosynthesis by phenolic compounds. **Lett. Appl. Microbiol.** 29 (5): 289–291.
- Ishikawa, T., T. Ohmori, I. Murakoshi, C. Palanuvej and N. Ruangrunsi. 2008. Constituents of white and black pepper oils: a potential in olfactory stimulation. **J. Health Res.** 22 (2): 101–103.
- Ismail, Y.S. 1997. Aflatoxin in food and feed: occurrence, legislation and inactivation by physical methods. **Food Chem.** 59: 57–67.
- Jain, A.K. 2004. Cloning and structural analysis of a cDNA clone encoding glycinin (*Gly-I*) seed storage protein of peanut. **Electronic J. Biotechnol.** 7 (3).

- Jangala, J.B. 2011. *In vitro* evaluation of a herbal soap formulation as an antifungal agent. **J. Pharmacol.** 1 (3)
- Jham, G.N., O.D. Dhingra, C.M. Jardim and V.M.M. Valente. 2005. Identification of the major fungitoxin component of cinnamon bark oil. **Fitopatol. Bras.** 30 (4): 404–408.
- Joffe, A.Z. and N. Lisker. 1969. Effect of light, temperature and pH value on aflatoxin production in vitro. **Appl. Microbiol.** 18: 517–518.
- Joseph, B. and S. Sujatha. 2011. Bioactive compounds and its autochthonous microbial activities of extract and clove oil (*Syzygium aromaticum* L.) on some food borne pathogens. **Asian J. Biological. Sci.** 4 (1): 35–43.
- Karuppusamy, S., G. Muthuraja and K.M. Rajasekaran. 2009. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil from fruits of *Vanasushava pedata* (apiaceae). **Advances Biological Res.** 3 (5–6): 196–200.
- Keskin D. and S. Toroglu. 2011. Studies on antimicrobial activities of solvent extracts of different spices. **J. Environ. Biol.** 32: 251–256.
- Koppula, S., K. Ammani, V. Bobbarala and P.V. Bramhachari. 2010. Inhibition of plant pathogenic fungi by ethnobotanically selected plant extracts. **J. Pharmacy Res.** 3 (9): 2334–2336.
- Korukluoglu, M., Y. Sahan and A. Yigit. 2008. Antifungal properties of olive leaf extracts and their phenolic compounds. **J. Food Safety** 28: 76–87.
- Kumar, V.P., N.S. Chauhan, H. Padh and M. Rajani. 2006. Search for antibacterial and antifungal agents from selected Indian medicinal plants. **J. Ethnopharmacol.** 107: 182–188.

- Kurita, N., M. Miyaji, R. Kurane, Y. Takahara and K. Ichihara. 1979. Antifungal activity and molecular orbital energies of aldehyde compounds from oils of higher plants. **Agr. Biol. Chem.** 43: 2365–2371.
- Landers, K.E., N.D. Davis and U.L. Diener. 1967. Influence of atmospheric gases on growth, sporulation and production of free fatty acids and aflatoxin by *Aspergillus flavus* in peanuts. **Phytopathol.** 57: 1086–1090.
- Lertsatitthanakorn, P., S. taweechaisupapong, C. Arunyanart, C. Aromdee and W. Khunkitti. 2010. Effect of citronella oil on time kill profile, leakage and morphological changes of *Propionibacterium acnes*. **J. Essential Res.** 22: 270–274.
- Lin, M.T. and J.C. Deane. 1976. Coconut-agar medium for rapid detection of aflatoxin production by *Aspergillus spp.* **Phytopathol.** 66: 1466–1469.
- Liu, L., G. Song and Y. Hu. 2007. GC-MS analysis of the essential oils of *Piper nigrum* L. and *Piper longum* L. **Chromatogr.** 66: 785–790.
- Lopez, C.M., S. Nitisinprasert, P. Wanchaitanawong and N. Poovardom. 2003. Antimicrobial activity of medicinal plant extracts against foodborne spoilage and pathogenic microorganisms. **Kasetsart J. (Nat. Sci.)** 37: 460–467.
- Mahesh, B. and S. Satish. 2008. Antimicrobial activity of some important medicinal plant against plant and human pathogens. **World J. Agr. Sci.** 4 (S): 839–843.
- Mahlo, S.M., L.J. McGaw and J.N. Eloff. 2010. Antifungal activity of leaf extracts from South African trees against plant pathogens. **Crop Protection** 29: 1529–1533.
- Mahmoud, A.L.E. 1999. Inhibition of growth and aflatoxin biosynthesis of *Aspergillus flavus* by extracts of some Egyptian plants. **Lett. Appl. Microbiol.** 29: 334–336.

- Mann, A., A. Banson and L.C. Clifford. 2008. An antifungal property of crude plant extract from *Anogeissus leiocarpus* and *Terminalia avicennioides*. **Tanzania J. Health Res.** 10 (1): 34–38.
- Masood, A., J.V.V. Dogra and A.K. Jha. 1994. The influence of colouring and pungent agents of red chilli (*Capsicum annum*) on growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus*. **Lett. Appl. Microbiol.** 18: 184–186.
- Mau, J.L., C.P. Chen and P.C. Hsieh. 2001. Antimicrobial effect of extract from Chinese chive, cinnamon and corni fructus. **J. Agr. Food Chem.** 49: 183–188.
- Menon, V.K. and R.S. Garg. 2001. Inhibitory effect of clove oil on *Listeria monocytogenes* in meat and cheese. **Food Microbiol.** 18: 647–650.
- Montes-Belmont, R. and M. Carvajal. 1998. Control of *Aspergillus flavus* in maize with plant essential oils and their components. **J. Food Prot.** 61 (5): 616–619.
- Morozumi, S. 1978. Isolation, purification and antibiotic activity of o-methoxy cinnamaldehyde from cinnamon. **Appl. Environ. Microbiol.** 36: 577–583.
- Morris, J.A., A. Khettry and E.W. Seitz. 1979. Antimicrobial activity of aroma chemicals and essential oils. **J. Amer. Oils Chem. Soc.** 56: 595–603.
- Murugan, S., R. Anand, P. Uma-Devi, N. Vidhya and K.A. Rajesh. 2007. Efficacy of *Euphorbia milli* and *Euphorbia pulcherrima* on aflatoxin producing fungi (*Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*). **Afr. J. Biotechnol.** 6 (6): 718–719.
- Nakahara, K., N.S. Alzoreky, T. Yoshihashi, H.T.T. Nguyen and G. Trakoon. 2003. Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Cymbopogon nardus* (Citronella grass). **JPN. Agric. Res. Q.** 37: 249–252.

- Nazmul, M.H.M., I. Salmah, A. Syahid and A.A. Mahmood. 2011. *In-vitro* screening of antifungal activity of plants in Malaysia. **Biomedical Res.** 22 (1): 28–30.
- Neelam, C., B. Ranjan, S. Komal and C. Nootan. 2011. Review on *Cassia fistula*. **Int. J. Res. Ayurveda Pharmacy** 2 (2): 426–430.
- Nessbitt, B.F., J.O. Kelly, K. Sargeant and A. Sheriden. 1962. Toxin metabolites of *Aspergillus flavus*. **Nature** 195: 1062–1063.
- Ngane, A.N., L. Biyiti, P.H.A. Zollo and Ph. Bouchet. 2000. Evaluation of antifungal activity of extracts of two Cameroonian rutaceae: *Zanthoxylum leprieurii* Guill. et Perr. and *Zanthoxylum xanthoxyloides* Waterm. **J. Ethnopharmacol.** 70: 335–342.
- Nguefack, J., V. Leth and P.H.A. Zollo. 2004. Evaluation of five essential oils from aromatic plants of Cameroon for controlling food spoilage and mycotoxin producing fungi. **Int. J. Food Microbiol.** 94: 329–334.
- Nwachukwu, E.O. and C.I. Umechuruba. 2001. Antifungal activities of some leaf extracts on seed-borne fungi of African yam bean seeds, seed germination and seedling emergence. **J. Appl. Sci. Environ. Mgt.** 5 (1): 29–32.
- Nychas, G.J.E. 1995. Natural antimicrobial from plants, pp 58–89. In Gould, G.W., ed. **New Methods of Food Preservations**. Blakie Academic and Professional, Glasgow.
- Oliveira, W.A., F.A. Pereira, G.C.D.G. Luna, I.O. Lima, P.A. Wanderley, R.B. Lima and E.O. Lima. 2011. Antifungal activity of *Cymbopogon winterianus* jowitt ex bor against *Candida albicans*. **Braz. J. Microbiol.** 42 (2): 433–441.

- Omidbeygi, M., M. Barzegar, Z. Hamidi and H. Naghdibadi. 2007. Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste. **Food Control** 18: 1518–1523.
- Pambayun, R., M. Gardjito, S. Sudarmadji and K.P. Kuswanto. 2007. Phenolic content and antibacterial properties of various extracts of gambir (*Uncaria gambir* Roxb). **Majalah Farmasi. Indonesia** 18 (3): 141–146.
- Panda, S.K., S. Brahma and S.K. Dutta. 2010. Selective antifungal action of crude extracts of *Cassia fistula* L.: A preliminary study on *Candida* and *Aspergillus* species. **Malaysian J. Microbiol.** 6 (1): 62–68.
- Paranagama, P.A., S. Wimalasena, G.S. Jayatilake, A.L. Jayawardena, U.M. Senanayake and A.M. Mubarak. 2001. A comparison of essential oil constituents of bark, leaf, root and fruit of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Blum) grown in Sri Lanka. **J. Nat. Sci. Foundation Sri Lanka** 29 (3&4): 147–153.
- Park, K.M., J.S. You, H.Y. Lee, N.I. Baek and J.K. Hwang. 2003. Kuwanon G: an antibacterial agent from the root bark of *Morus alba* against oral pathogens. **J. Ethnopharmacol.** 84: 181–185.
- Park, M.J., K.S. Gwak, I. Yang, W.S. Choi, H.J. Jo, J.W. Chang, E.B. Jeung and I.G. Choi. 2007. Antifungal activities of the essential oils in *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. Et perry and *Leptospermum petersonii* bailey and their constituents against various dermatophytes. **J. Microbiol.** 45 (5): 460–465.
- Pattaratanawadee, E., C. Rachtanapun, P. Wanchaitanawong and W. Mahakarnchanakul. 2006. Antimicrobial activity of spice extracts against pathogenic and spoilage microorganisms. **Kasetsart J. (Nat. Sci.)** 40 (5): 159–165.

- Pereira, F.O., P.A. Wanderley, F.A.C. Viana, R.B. Lima, F.B. Sousa, S.G. Santos and E.O. Lima. 2011. Effects of *Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor essential oil on the growth and morphogenesis of *Trichophyton mentagrophytes*. **Braz. J. Pharm.** 41 (1).
- Phongpaichit, S., N. Pujenjob, V. Rukachaisirikul and M. Ongsakul. 2004. Antifungal activity from leaf extracts of *Cassia alata* L., *Cassia fistula* L. and *Cassia tora* L. **Songklanarin J. Sci. Technol.** 26 (5): 741–748.
- Pin, K.Y., A.L. Chuah, A.A. Rashih, M.P. Mazura, J. Fadzureena, S. Vimala and M.A. Rasadah. 2010. Antioxidant and anti-inflammatory activities of extracts of betel leaves (*Piper betle*) from solvents with different polarities. **J. Tropical Forrest Sci.** 22 (4): 448–455.
- Pinto, E., L. Vale-Silva, C. Cavaleiro and L. Salgueiro. 2009. Antifungal activity of the clove essential oil from *Syzygium aromaticum* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. **J. Medical. Microbiol.** 58: 1454–1462.
- Piper, P., C.O. Calderon, K. Hatzixanthi and M. Mollapour. 2001. Weak acid adaptation: the stress response that confers yeasts with resistance to organic acid food preservatives. **Microbiol.** 147: 2635–2642.
- Prashar, A., I.C. Locke and C.S. Evans. 2006. Cytotoxicity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil and its major components to human skin cells. **Cell Prolif.** 39: 241–248.
- Priya, S., Z. Afsar, S. Khanam and Bhuvaneshwari. 2010. Studies on antifungal activity of different extracts of *Cassia fistula* and bioactivity guided isolation and identification of antifungal agent. **Int. J. Pharm. World Res.** 1 (2): 1–19.
- Pundir, R.K., P. Jain and C. Sharma. 2010. Antimicrobial activity of ethanolic extracts of *Zyzygium aromaticum* and *Allium sativum* against food associated bacteria and fungi. **Ethnobotanical Leaflets** 14: 344–360.

- Purchase, J.F.H. 1972. Aflatoxin contamination in food of animal origin. **Cosmet Toxicol.** 10 : 513–544.
- Ramos, A.J. and E. Hernandez. 1997. Prevention of aflatoxicosis in farm animals by means of hydrated sodium calcium aluminosilicate addition to feed stuffs: a review. **Anim. Feed Sci. Technol.** 65: 197–206.
- Rani, M. and S.B. Kalidhar. 1998. A new anthraquinone derivative from *Cassia fistula* Linn. Pods. **Indian J. Chem.** 37: 1314–1315.
- Rauha, J., S. Remes, M. Heinonen, A. Hopia, M. Kahkonen, T. Kujala, K. Pihlaja, H. Vuorela and P. Vuorela. 2000. Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. **Int. J. Food Microbiol.** 56: 3–12.
- Razzaghi-Abyaneh, M., M. Shams-Ghahfarokhi, T. Yoshinari, M.B. Rezaee, K. Jaimand, H. Nagasawa and S. Sakuda. 2008. Inhibitory effects of *Satureisia hortensis* L. essential oil on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. **Int. J. Food Microbiol.** 123: 228–233.
- Reddy, K.R.N., C.S. Reddy and K. Muralidharan. 2009. Potential of botanicals and biocontrol agents on growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus* infecting rice grains. **Food Control** 20: 173–178.
- Reddy, T.V., L. Viswanathan and T.A. Venkitasubramanian. 1971. High aflatoxin production on a chemically defined medium. **Appl. Microbiol.** 22: 393–396.
- Rodsom, T., K. Taluengchitr, W. Sungthong and E. Namwon. 2001. **Solving the Problem Aflatoxin Contamination in Milk Follows Project Solving Aflatoxin Complete in Food and Feed.** Feed Quality Control Division, Department of livestock development. Bangkok.

Rose, A.E. 1968. **Chemical Microbiology**. Butterworths, London.

Ruangrungsi, N. 1999. **Spices**. 3<sup>th</sup> ed. Chulalongkorn university printing house, Bangkok.

Saika, R.C., A. Sarma, T.C. Sarma and P.K. Baruah. 2006. Comparative study of essential oils from leaf and inflorescence of Java citronella (*Cymbopogon winterianus* Jowitt). **J. Essent. Oil Bear. Plants** 9: 85–87.

Sánchez, E., N. Heredia and S. García. 2005. Inhibition of growth and mycotoxin production of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* by extracts of *Agave* species. **Int. J. Food Microbiol.** 98: 271–279.

Sandosskumar, R., M. Karthikeyan, S. Mathiyazhagan, M. Mohankumar, G. Chandrasekar and R. Velazhahan. 2007. Inhibition of *Aspergillus flavus* growth and detoxification of aflatoxin B<sub>1</sub> by the medicinal plant zimmu (*Allium sativum* L. × *Allium cepa* L.). **World J. Microbiol. Biotechnol.** 23: 1007–1014.

Sangetha, S.N., Z. Zuraini, S. Sasidharan and S. Suryani. 2008. Antimicrobial activities of *Cassia surattensis* and *Cassia fistula*. **J. Molecular Bio. Biotechnol.** 1: 1–4

Saralamp, P., W. Chuakul, R. Tamsiririrkkul and T. Clayton. 1996. **Medicinal Plants in Thailand**. Amarin Printing and Publishing Public Co., Ltd, Bangkok.

Sasidharan, I. and A.N. Menin. 2010. Comparative chemical composition and antimicrobial activity of berry and leaf essential oils of *Piper nigrum* L. **Int. J. Biol. Med. Res.** 1 (4): 215–218.

Satish, S., D.C. Mohana, M.P. Raghavendra and K.A. Raveesha. 2007. Antifungal activity of some plant extracts against important seed borne pathogens of *Aspergillus* sp. **J. Agr. Technol.** 3 (1): 109–119.

- Schatzki, T.F. and M.S. Ong. 2001. Dependence of aflatoxin in almonds on the type and amount of insect damage. **J. Agr. Food Chem.** 49: 4513–4519.
- Schindler, A.F., J.G. Palmer and W.V. Eisenberg. 1967. Aflatoxin production by *Aspergillus flavus* as related to various temperatures. **Appl. Microbiol.** 15 (5): 1006–1009.
- Selvi, A.T., G.S. Joseph and G.K. Jayaprakasha. 2003. Inhibition of growth and aflatoxin production in *Aspergillus flavus* by *Garcinia indica* extract and its antioxidant activity. **Food Microbiol.** 20: 455–460.
- Shelef, L.A., O.A. Naglik and D.W. Bogen. 1980. Sensitivity of some common-food borne bacteria to the spice sage, rosemary and all spice. **J. Food Sci.** 45: 1042–1044.
- Shimoda, M., Y. Wu, S. Nonaka and Y. Osajima. 1997. Cluster analysis of GC data on oxygenated terpenes of young leaf and green fruit samples of Japanese pepper (*Xanthoxylum piperitum* DC). **J. Agr. Food Chem.** 45: 1325–1328.
- Shotwell, O.L. 1972. How good are our assay methods, pp. 30–33. In G. L. Berg (ed.) **Farm Technol.** Willoughby, Ohio.
- Sidhu, O.P., H. Chandra and H.M. Behl. 2009. Occurrence of aflatoxins in mahua (*Madhuca indica* Gmel.) seed: synergistic effect of plant extracts on inhibition of *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin production. **Food Chemical Toxicol.** 47: 774–777.
- Singh, G., P. Marimuthu, C. Catalan and M.P. deLampasona. 2004. Chemical, antioxidant and antifungal activities of volatile oil of black pepper and its acetone extract. **J. Sci. Food Agr.** 84 (14): 1878–1884.
- Singh, R. and D.P.H. Hsieh. 1977. Aflatoxin biosynthetic pathway; elucidation by using blocked mutants of *Aspergillus parasiticus*. **Arch. Biochem. Biophys.** 178: 285–292.

- Sohn, H.Y., K.H. Son, C.S. Kwon, G.S. Kwon, S.S. Kang. 2004. Antimicrobial and cytotoxic activity of 18 prenylated flavonoids isolated from medicinal plants: *Morus alba* L., *Morus mongolica* Schneider, *Broussnetia papyrifera* (L.) Vent, *Sophora flavescens* Ait and *Echinosophora koreensis* Nakai. **Phytomedicine**. 11: 666–672.
- Soliman, K.M. and R.I. Badeaa. 2002. Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. **Food Chem. Toxicol.** 40: 1669–1675.
- Srichana, D., A. Phumruang and B. Chongkid. 2009. Inhibition effect of betel leaf extract on the growth of *Aspergillus flavus* and *Fusarium verticillioides*. **Thammasat Int. Sci. Technol.** 14 (3): 74–77.
- Tagoe, D.N.A., H.D. Nyarko and R. Akpaka. 2011. A comparison of the antifungal properties of onion (*Allium cepa*), ginger (*Zingiber officinale*) and garlic (*Allium sativum*) against *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* and *Cladosporium herbarum*. **Res. J. Med. Plant** 5 (3): 281–287.
- Tatsadjieu, N.L., P.M.J. Dongmo, M.B. Ngassoum, F.X. Etoa and C.M.F. Mbofung. 2009. Investigations on the essential oil of *Lippia rugosa* from Cameroon for its potential use as antifungal agent against *Aspergillus flavus* Link ex. Fries. **J. Food Control** 20: 161–166.
- Thanaboripat, D., K. Nontabenjawan, K. Leesin, D. Teerapiannont, O. Sukcharoen and V. Ruangrattanametee. 1997. Inhibitory effect of garlic, clove and carrot on growth of *Aspergillus flavus* and aflatoxin production. **J. Forestry Res.** 8 (1): 39–42.
- \_\_\_\_\_, N. Monkontanawut, Y. Suvathi and V. Ruangrattanametee. 2004. Inhibition of aflatoxin production and growth of *Aspergillus flavus* by citronella oil. **KMITL Sci. Tech. J.** 49 (1): 1–8.

- Thanaboripat, D., S. Chareonsettasilp, K. Pandeeand and K. Udomwongsup. 2006. Inhibitory effect of kaffir lime, bitter cucumber and tobacco extracts on the growth of *Aspergillus flavus*. **KMITL Sci. Tech. J.** 6(1): 18–24.
- \_\_\_\_\_, Y. Suvathi, P. Srilohasin, S. Sripakdee, O. Patthanawanitchai and S. Charoensettasilp. 2007. Inhibitory effect of essential oils on the growth of *Aspergillus flavus*. **KMITL Sci. Tech. J.** 7 (1): 1–7.
- Tzortzakakis, N.G. and C. D. Economakis. 2007. Antifungal activity of lemongrass (*Cymbopogon citratus* L.) essential oil against key postharvest pathogens. **Innovative Food Sci. Emerging Technologies** 8: 253–258.
- Ubulom, P., E. Akpabio, C. Ejikeme-Udobi and R. Mbon. 2011. Antifungal activity of aqueous and ethanolic extracts of *Picralima nitida* seeds on *Aspergillus flavus*, *Candida albicans* and *Microsporum canis*. **Res. Pharm. Biotechnol.** 3 (5): 57–60.
- Vega, K. and M. Kalkum. 2012. Review article: Chitin, chitinase responses and invasive fungal infections. **Int. J. Microbiol.** doi: 10.1155/2012/920459.
- Viuda-Martos, M., Y. Ruiz-Navajas, J. Fernández-López and J.A. Pérez-Álvarez. 2007. Antifungal activities of thyme, clove and oregano essential oils. **J. Food Safety** 27: 91–101.
- \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ and \_\_\_\_\_. 2008. Antifungal activity of lemon (*Citrus lemon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. **Food Control** 19: 1130–1138.
- Voravuthikunchai, S., A. Lortheeranuwat, W. Jeeju, T. Sririrak, S. Phongpaichit and T. Supawita. 2004. Effective medicinal plants against enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7. **J. Ethnopharmacol.** 94: 49–54.

- Voravuthikunchai, S. and H. Mitchell. 2008. Inhibitory and killing activities of medicinal plants against multiple antibiotic-resistant *Helicobacter pylori*. **J. Health Sci.** 54 (1): 81–88.
- Waliyar, F. and S.V. Reddy. 2009. ***Aspergillus flavus* seed infection and aflatoxin estimation by elisa and aflatoxin management options in groundnut.** ICRISAT, India.
- Wanchaitanawong, P., P. Chaungwanit, N. Poovarodom and S. Nitisinprasert. 2005. *In vitro* antifungal activity of Thai herb and spice extracts against food spoilage fungi. **Kasetsart J. (Nat. Sci.)** 39 (3): 400–405.
- Waranyoowat, A. 2001. **Soybean, peanut and castor oil plants.** Choti Wong Publishing Public Co., Ltd, Bangkok.
- Webster, D., P. Taschereau, R.J. Belland, C. Sand and R.P. Rennie. 2008. Antifungal activity of medicinal plants extracts; preliminary screening studies. **J. Ethnopharmacol.** 115: 140–146.
- Webster, J. 1974. **Introduction of Fungi.** Cambridge University Press, London.
- Xing, Y., X. Li, Q. Xu, J. Yun and Y. Lu. 2010. Antifungal activities of cinnamon oil against *Rhizopus nigricans*, *Aspergillus flavus* and *Penicillium expansum* *in vitro* and *in vivo* fruit test. **Int. J. Food Sci. Technol.** 45: 1837–1842.
- Yen, T.B. and S.T. Chang. 2008. Synergistic effects of cinnamaldehyde in combination with eugenol against wood decay fungi. **Bioresource Technol.** 99: 232–236.
- Zaika, L.L. and R.L. Buchanan. 1987. Review of compounds affecting the biosynthesis or bioregulation of aflatoxin. **J. Food. Prot.** 50: 691–708.

Zang, S., H. Bi and C. Liu. 2007. Extraction of bio-active components from *Rhodiola sachalinensis* under ultra high hydrostatic pressure. **Separation Purification Technol.** 57: 277–282.

Zhang, Y. and K. Lewis. 1997. Fabatins: new antimicrobial plant peptides. **FEMS Microbiol. Lett.** 149: 59–64.

Zheng, Z., C.W. Humphrey, R.S. King and J.L. Richard. 2005. Validation of an ELISA test kit for the detection of total aflatoxins in grain and grain products by comparison with HPLC. **Mycopathologia** 159: 255–263.





วัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ของสารพิษมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นมาสร้างเป็นกราฟมาตรฐาน (Standard curve) แบบ semi-logarithmic ดังแสดงไว้ในภาพผนวกที่ ก1 โดยให้ค่าการดูดกลืนแสงเป็นแกน Y และค่าความเข้มข้นของสารพิษมาตรฐานเป็นแกน X ค่าปริมาณสารพิษจากตัวอย่างสามารถอ่านได้จากกราฟมาตรฐาน และเนื่องจากการเตรียมตัวอย่างถูกเจือจางไป 20 เท่า ดังนั้นค่าที่ได้ต้องคูณด้วย 20

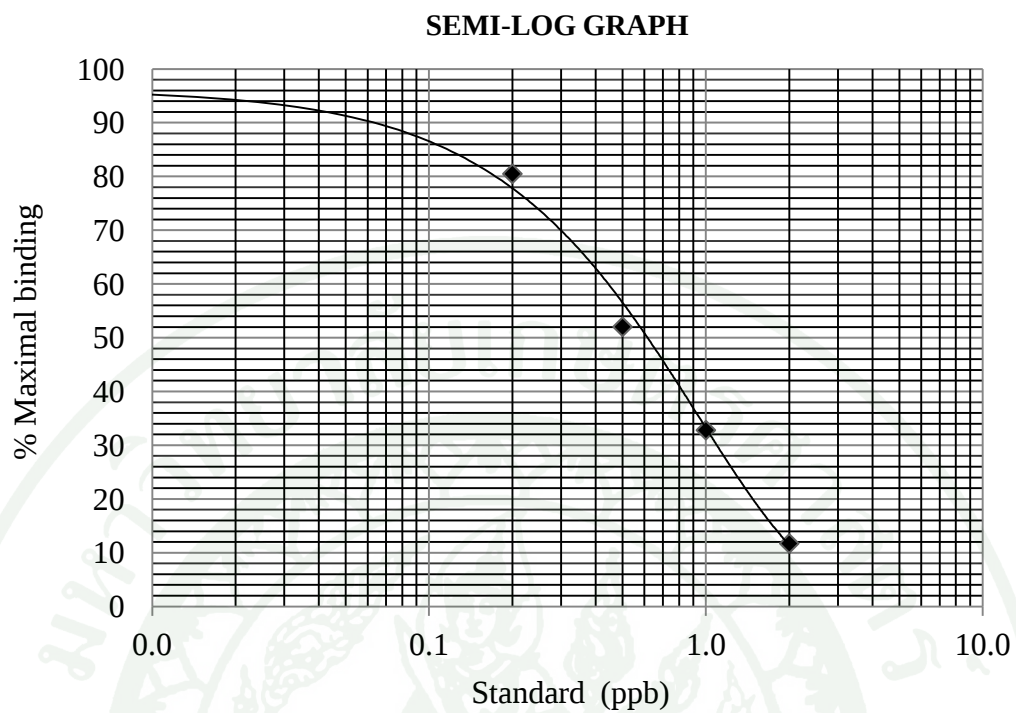
### ขั้นตอนการคำนวณมีดังนี้

1. คำนวณค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง หรือสารพิษมาตรฐานที่ระดับต่างๆ (B) และค่าการดูดกลืนแสงของสารพิษมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 0 ppb ( $B_0$ )

2. คำนวณหาค่า % การดูดกลืนแสง (% Maximal binding) ของสารพิษมาตรฐานแต่ละตัว และของตัวอย่าง ดังนี้

$$\% \text{ Maximal binding} = \frac{B}{B_0} \times 100$$

3. นำค่า % การดูดกลืนแสง ( $B/B_0$ ) ของสารพิษมาตรฐานทุกความเข้มข้นมาพล็อตกราฟบนกระดาษ semi-logarithmic โดยให้ค่าการดูดกลืนแสงเป็นแกน Y และให้ค่าความเข้มข้นของสารพิษมาตรฐาน นำค่า % การดูดกลืนแสง ( $B/B_0$ ) ของแต่ละตัวอย่างมาพล็อตลงบนกระดาษกราฟมาตรฐาน บนแกน Y แล้วลากเส้นตรงขนานแกน X มาตัดเส้นกราฟมาตรฐาน ลากเส้นตรงจากจุดตัดลงมาที่แกน X ค่าที่อ่านได้บนแกน X แล้วนำค่าที่ได้ไปคูณด้วย 20 ก็จะได้ค่าความเข้มข้นของสารพิษในตัวอย่าง



ภาพผนวกที่ ก1 กราฟมาตรฐานอะฟลาทอกซิน



ตารางผนวกที่ ข1 ดัชนีการยับยั้งการเติบโตของเชื้อราด้วยสารสกัดสมุนไพร

| สารสกัด       | เชื้อรา               | ความเข้มข้นของสารสกัด (ppm) |            |            |             |             |             |             |             |
|---------------|-----------------------|-----------------------------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|               |                       | 31.25                       | 62.50      | 125        | 250         | 500         | 1000        | 2000        | 4000        |
| Captafol      | <i>A. flavus</i>      | 7.71±0.21                   | 17.54±0.06 | 31.15±0.20 | 40.98±0.17  | 56.88±0.06  | 73.77±0.10  | 91.31±0.06  | 100.00±0.00 |
|               | <i>A. parasiticus</i> | 2.89±0.15                   | 7.65±0.20  | 14.43±0.32 | 39.39±0.20  | 51.95±0.12  | 55.27±0.10  | 89.90±0.10  | 100.00±0.00 |
| Carbendazim   | <i>A. flavus</i>      | 9.84±0.44                   | 56.23±0.12 | 92.95±0.12 | 100.00±0.00 | 100.00±0.00 | 100.00±0.00 | 100.00±0.00 | 100.00±0.00 |
|               | <i>A. parasiticus</i> | 14.43±0.32                  | 55.27±0.10 | 91.34±0.26 | 100.00±0.00 | 100.00±0.00 | 100.00±0.00 | 100.00±0.00 | 100.00±0.00 |
| Mancozeb      | <i>A. flavus</i>      | 0.00±0.10                   | 2.13±0.06  | 4.43±0.15  | 5.40±0.06   | 6.56±0.20   | 11.48±0.20  | 20.16±0.15  | 35.57±0.06  |
|               | <i>A. parasiticus</i> | 5.77±0.12                   | 12.41±0.15 | 16.74±0.21 | 17.75±0.10  | 28.86±0.06  | 35.50±0.23  | 41.27±0.15  | 47.62±0.21  |
| กานพลู<br>น้ำ | <i>A. flavus</i>      | 5.49±0.00                   | 8.94±0.06  | 13.15±0.20 | 15.33±0.06  | 16.99±0.00  | 17.88±0.06  | 21.71±0.06  | 25.03±0.15  |
|               | <i>A. parasiticus</i> | 5.97±0.00                   | 7.24±0.10  | 8.13±0.06  | 13.98±0.31  | 17.41±0.00  | 19.57±0.15  | 22.11±0.15  | 26.30±0.10  |
| เอทานอล       | <i>A. flavus</i>      | 4.11±0.00                   | 7.26±0.06  | 8.22±0.00  | 9.18±0.06   | 19.18±0.10  | 38.36±0.10  | 92.74±0.06  | 100.00±0.00 |
|               | <i>A. parasiticus</i> | 4.05±0.10                   | 5.00±0.06  | 9.46±0.00  | 19.86±0.15  | 27.03±0.10  | 52.30±0.25  | 92.84±0.06  | 100.00±0.00 |
| คลอโรฟอร์ม    | <i>A. flavus</i>      | 0.99±0.06                   | 6.62±0.06  | 7.46±0.12  | 9.44±0.06   | 13.10±0.06  | 15.49±0.00  | 26.76±0.00  | 53.52±0.00  |
|               | <i>A. parasiticus</i> | —                           | 0.00±0.10  | 2.78±0.10  | 6.53±0.06   | 8.75±0.23   | 14.86±0.06  | 27.78±0.10  | 50.00±0.00  |
| เฮกเซน        | <i>A. flavus</i>      | 67.53±1.97                  | 79.61±1.03 | 91.30±1.15 | 100.00±0.00 | 100.00±0.00 | 100.00±0.00 | 100.00±0.00 | 100.00±0.00 |
|               | <i>A. parasiticus</i> | 11.29±0.25                  | 21.69±0.12 | 46.51±0.20 | 100.00±0.00 | 100.00±0.00 | 100.00±0.00 | 100.00±0.00 | 100.00±0.00 |

ตารางผนวกที่ ข1 (ต่อ)

| สารสกัด          | เชื้อรา               | ความเข้มข้นของสารสกัด (ppm) |            |            |            |            |            |            |            |
|------------------|-----------------------|-----------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
|                  |                       | 31.25                       | 62.50      | 125        | 250        | 500        | 1000       | 2000       | 4000       |
| ขิง<br>น้ำ       | <i>A. flavus</i>      | 29.56±0.10                  | 30.63±0.06 | 36.75±0.15 | 48.39±0.06 | 53.60±0.06 | 58.65±0.36 | 62.79±0.15 | 73.97±0.20 |
|                  | <i>A. parasiticus</i> | 33.97±0.06                  | 36.14±0.17 | 47.25±0.06 | 56.19±0.06 | 60.41±0.26 | 64.24±0.10 | 66.79±0.26 | 70.63±0.40 |
| เอทานอล          | <i>A. flavus</i>      | 22.27±0.42                  | 22.73±0.10 | 26.82±0.15 | 43.48±0.06 | 51.52±0.10 | 54.55±0.10 | 61.67±0.06 | 67.73±0.06 |
|                  | <i>A. parasiticus</i> | 11.94±0.10                  | 12.99±0.12 | 14.48±0.29 | 20.45±0.12 | 26.87±0.10 | 41.79±0.10 | 44.78±0.00 | 55.22±0.10 |
| กลอโรฟอร์ม       | <i>A. flavus</i>      | 10.47±0.15                  | 11.32±0.06 | 14.14±0.12 | 15.13±0.17 | 15.56±0.06 | 17.96±0.20 | 25.46±0.21 | 30.69±0.20 |
|                  | <i>A. parasiticus</i> | 5.28±0.06                   | 8.45±0.06  | 13.21±0.12 | 16.78±0.26 | 19.02±0.06 | 22.99±0.12 | 26.46±0.21 | 36.20±0.12 |
| เฮกเซน           | <i>A. flavus</i>      | 18.39±0.21                  | 19.38±0.10 | 30.27±0.06 | 36.78±0.23 | 42.43±0.15 | 48.66±0.21 | 56.58±0.06 | 64.21±0.06 |
|                  | <i>A. parasiticus</i> | 24.35±0.10                  | 31.64±0.12 | 37.14±0.40 | 42.23±0.17 | 55.02±0.12 | 58.73±0.20 | 62.86±0.00 | 67.40±0.06 |
| ตะไคร้หอม<br>น้ำ | <i>A. flavus</i>      | 9.91±0.15                   | 19.28±0.12 | 31.33±0.55 | 35.74±0.46 | 43.37±0.06 | 45.11±0.17 | 46.45±0.17 | 64.75±0.12 |
|                  | <i>A. parasiticus</i> | 0.57±0.15                   | 2.01±0.12  | 3.44±0.06  | 4.88±0.06  | 5.31±0.10  | 6.31±0.06  | 7.17±0.06  | 7.75±0.06  |
| เอทานอล          | <i>A. flavus</i>      | 8.03±0.06                   | 8.64±0.12  | 9.09±0.17  | 10.15±0.15 | 11.06±0.15 | 13.18±0.31 | 14.09±0.06 | 15.15±0.17 |
|                  | <i>A. parasiticus</i> | —                           | —          | —          | —          | —          | —          | 4.03±0.25  | 8.96±0.17  |
| กลอโรฟอร์ม       | <i>A. flavus</i>      | 10.47±0.31                  | 12.31±0.26 | 13.30±0.25 | 14.71±0.25 | 16.97±0.06 | 20.37±0.12 | 24.61±0.12 | 25.46±0.21 |
|                  | <i>A. parasiticus</i> | 3.17±0.12                   | 5.28±0.06  | 6.21±0.10  | 6.61±0.32  | 9.25±0.06  | 9.78±0.23  | 11.89±0.06 | 13.74±0.15 |
| เฮกเซน           | <i>A. flavus</i>      | 10.00±0.21                  | 11.69±0.20 | 14.29±0.10 | 15.19±0.15 | 15.97±0.23 | 17.79±0.12 | 21.17±0.35 | 25.58±0.06 |
|                  | <i>A. parasiticus</i> | 0.47±0.17                   | 2.53±0.06  | 4.11±0.06  | 5.21±0.20  | 5.69±0.06  | 6.32±0.25  | 7.27±0.12  | 12.01±0.21 |

ตารางผนวกที่ ข1 (ต่อ)

| สารสกัด          | เชื้อรา               | ความเข้มข้นของสารสกัด (ppm) |            |            |            |            |            |            |            |
|------------------|-----------------------|-----------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
|                  |                       | 31.25                       | 62.50      | 125        | 250        | 500        | 1000       | 2000       | 4000       |
| พริกไทยดำ<br>น้ำ | <i>A. flavus</i>      | 4.83±0.50                   | 6.73±0.42  | 18.01±0.20 | 21.38±0.15 | 23.43±0.06 | 31.63±0.25 | 34.11±0.00 | 56.08±0.00 |
|                  | <i>A. parasiticus</i> | 5.51±0.06                   | 6.13±0.23  | 12.71±0.10 | 19.30±0.12 | 20.83±0.15 | 21.90±0.10 | 24.50±0.06 | 35.68±0.00 |
| เอทานอล          | <i>A. flavus</i>      | 18.77±0.06                  | 20.96±0.06 | 21.92±0.00 | 27.40±0.10 | 36.58±0.06 | 54.79±0.10 | 60.68±0.15 | 61.64±0.00 |
|                  | <i>A. parasiticus</i> | 12.16±0.20                  | 12.57±0.06 | 13.51±0.20 | 16.22±0.00 | 26.62±0.15 | 37.43±0.15 | 49.59±0.06 | 55.41±0.00 |
| กลอโรฟอร์ม       | <i>A. flavus</i>      | 13.30±0.06                  | 15.56±0.15 | 16.55±0.10 | 17.54±0.31 | 19.38±0.20 | 20.37±0.12 | 20.79±0.10 | 21.22±0.15 |
|                  | <i>A. parasiticus</i> | 4.49±0.06                   | 6.61±0.06  | 10.17±0.00 | 11.89±0.15 | 12.42±0.06 | 13.74±0.06 | 14.53±0.12 | 15.85±0.12 |
| เฮกเซน           | <i>A. flavus</i>      | 22.08±0.35                  | 23.38±0.26 | 38.57±0.31 | 48.05±0.26 | 52.34±0.25 | 55.84±0.26 | 57.53±0.06 | 64.55±0.06 |
|                  | <i>A. parasiticus</i> | 14.26±0.32                  | 20.21±1.27 | 25.26±0.57 | 32.10±0.70 | 40.12±0.42 | 47.99±0.17 | 55.42±0.36 | 56.91±0.26 |
| พริกหอม<br>น้ำ   | <i>A. flavus</i>      | —                           | —          | —          | —          | 0.84±0.12  | 2.24±0.21  | 6.45±0.21  | 11.22±0.06 |
|                  | <i>A. parasiticus</i> | —                           | —          | —          | 1.73±0.21  | 2.27±0.12  | 4.93±0.25  | 5.33±0.00  | 7.07±0.15  |
| เอทานอล          | <i>A. flavus</i>      | —                           | —          | —          | —          | 0.82±0.06  | 3.55±0.12  | 11.73±0.25 | 29.06±0.00 |
|                  | <i>A. parasiticus</i> | —                           | —          | —          | —          | —          | 0.41±0.12  | 3.11±0.06  | 18.92±0.00 |
| กลอโรฟอร์ม       | <i>A. flavus</i>      | —                           | —          | 0.57±0.06  | 11.88±0.06 | 12.73±0.06 | 15.13±0.52 | 16.12±0.15 | 20.79±0.20 |
|                  | <i>A. parasiticus</i> | —                           | 0.00±0.23  | 0.92±0.00  | 2.25±0.78  | 4.89±0.53  | 5.81±0.06  | 6.21±0.10  | 9.25±0.42  |
| เฮกเซน           | <i>A. flavus</i>      | 12.08±0.60                  | 23.38±0.26 | 40.65±0.86 | 41.95±0.21 | 50.65±0.17 | 52.86±0.21 | 57.14±0.17 | 59.74±0.26 |
|                  | <i>A. parasiticus</i> | —                           | —          | —          | —          | 16.34±0.15 | 22.29±0.99 | 32.69±0.42 | 43.09±0.32 |

ตารางผนวกที่ ข1 (ต่อ)

| สารสกัด     | เชื้อรา               | ความเข้มข้นของสารสกัด (ppm) |            |            |            |            |             |             |             |
|-------------|-----------------------|-----------------------------|------------|------------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|
|             |                       | 31.25                       | 62.50      | 125        | 250        | 500        | 1000        | 2000        | 4000        |
| พืชน้ำ      | <i>A. flavus</i>      | 7.66±0.06                   | 9.32±0.10  | 10.60±0.20 | 22.52±0.15 | 48.06±0.06 | 100.00±0.00 | 100.00±0.00 | 100.00±0.00 |
|             | <i>A. parasiticus</i> | 7.24±0.10                   | 8.94±0.06  | 12.75±0.15 | 27.15±0.38 | 59.34±0.78 | 100.00±0.00 | 100.00±0.00 | 100.00±0.00 |
| เอทานอล     | <i>A. flavus</i>      | 13.18±0.06                  | 14.70±0.12 | 22.27±0.06 | 35.91±0.12 | 73.18±0.12 | 100.00±0.00 | 100.00±0.00 | 100.00±0.00 |
|             | <i>A. parasiticus</i> | 4.03±0.06                   | 8.51±0.06  | 10.90±0.12 | 28.81±0.15 | 69.70±0.25 | 100.00±0.00 | 100.00±0.00 | 100.00±0.00 |
| กลอโรฟอร์ม  | <i>A. flavus</i>      | 2.07±0.06                   | 4.66±0.06  | 8.15±0.10  | 13.71±0.31 | 25.36±0.12 | 61.19±0.20  | 100.00±0.00 | 100.00±0.00 |
|             | <i>A. parasiticus</i> | 0.00±0.00                   | 0.00±0.00  | 0.38±0.10  | 0.77±0.12  | 16.99±0.17 | 36.53±0.25  | 71.01±0.12  | 100.00±0.00 |
| เฮกเซน      | <i>A. flavus</i>      | 6.65±0.00                   | 9.48±0.20  | 10.89±0.10 | 11.88±0.06 | 26.87±0.35 | 41.58±0.06  | 84.44±0.10  | 100.00±0.00 |
|             | <i>A. parasiticus</i> | 0.55±0.15                   | 2.34±0.10  | 5.50±0.21  | 25.31±0.06 | 27.51±0.06 | 54.20±0.06  | 78.95±0.40  | 100.00±0.00 |
| ราชพฤกษ์น้ำ | <i>A. flavus</i>      | 2.18±0.06                   | 9.00±0.06  | 9.96±0.10  | 15.83±0.06 | 21.28±0.06 | 22.24±0.10  | 45.84±0.06  | 100.00±0.00 |
|             | <i>A. parasiticus</i> | 5.38±0.06                   | 10.00±0.17 | 14.63±0.06 | 15.88±0.15 | 23.38±0.12 | 37.50±0.17  | 50.88±0.21  | 100.00±0.00 |
| เอทานอล     | <i>A. flavus</i>      | 2.73±0.12                   | 8.59±0.00  | 10.91±0.06 | 13.10±0.06 | 15.01±0.06 | 19.10±0.32  | 42.29±0.06  | 55.39±0.12  |
|             | <i>A. parasiticus</i> | 0.00±0.00                   | 1.76±0.12  | 2.30±0.12  | 3.11±0.06  | 5.00±0.15  | 16.22±0.00  | 34.19±0.12  | 40.14±0.06  |
| กลอโรฟอร์ม  | <i>A. flavus</i>      | 9.96±0.10                   | 10.91±0.15 | 15.42±0.00 | 15.83±0.06 | 23.19±0.15 | 33.56±0.06  | 46.38±0.12  | 64.53±0.20  |
|             | <i>A. parasiticus</i> | 9.63±0.06                   | 10.88±0.25 | 14.63±0.06 | 17.13±0.12 | 22.88±0.15 | 37.50±0.17  | 49.63±0.06  | 66.63±0.12  |
| เฮกเซน      | <i>A. flavus</i>      | 6.49±0.36                   | 10.00±0.21 | 12.08±0.06 | 12.99±0.00 | 14.29±0.20 | 14.68±0.20  | 15.19±0.29  | 16.88±0.17  |
|             | <i>A. parasiticus</i> | 4.74±0.15                   | 5.21±0.20  | 5.69±0.06  | 6.32±0.06  | 7.27±0.06  | 7.90±0.21   | 8.37±0.10   | 9.95±0.10   |

ตารางผนวกที่ ข1 (ต่อ)

| สารสกัด    | เชื้อรา               | ความเข้มข้นของสารสกัด (ppm) |            |            |            |            |             |             |             |
|------------|-----------------------|-----------------------------|------------|------------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|
|            |                       | 31.25                       | 62.50      | 125        | 250        | 500        | 1000        | 2000        | 4000        |
| สีเสียดเทศ |                       |                             |            |            |            |            |             |             |             |
|            | น้ำ                   |                             |            |            |            |            |             |             |             |
|            | <i>A. flavus</i>      | 3.46±0.21                   | 4.74±0.12  | 6.79±0.06  | 7.31±0.29  | 8.97±0.53  | 9.36±0.42   | 19.23±0.26  | 23.46±0.12  |
|            | <i>A. parasiticus</i> | 0.38±0.06                   | 1.27±0.10  | 2.15±0.06  | 3.80±0.10  | 11.39±1.56 | 14.30±0.06  | 15.19±0.00  | 16.84±0.06  |
| เอทานอล    | <i>A. flavus</i>      | 2.18±0.06                   | 3.55±0.06  | 6.82±0.15  | 16.37±0.06 | 22.24±0.00 | 23.19±0.06  | 46.38±0.23  | 54.98±0.10  |
|            | <i>A. parasiticus</i> | 0.00±0.00                   | 1.76±0.06  | 2.30±0.15  | 2.70±0.00  | 5.00±0.06  | 13.51±0.10  | 22.57±0.06  | 46.89±0.06  |
| กลอโรฟอร์ม | <i>A. flavus</i>      | 2.62±0.06                   | 4.33±0.46  | 6.03±0.21  | 8.65±0.06  | 9.17±0.23  | 10.48±0.15  | 11.27±0.06  | 12.19±0.00  |
|            | <i>A. parasiticus</i> | 15.66±0.20                  | 20.08±0.06 | 21.02±0.00 | 21.95±0.15 | 24.10±0.15 | 25.97±0.25  | 31.73±0.10  | 47.79±0.10  |
| เฮกเซน     | <i>A. flavus</i>      | 12.08±0.15                  | 13.38±0.15 | 15.19±0.15 | 15.97±0.15 | 16.88±0.30 | 17.27±0.15  | 18.18±0.10  | 19.09±0.15  |
|            | <i>A. parasiticus</i> | 1.58±0.06                   | 3.16±0.12  | 3.63±0.10  | 4.11±0.06  | 5.21±0.20  | 5.69±0.12   | 6.79±0.10   | 8.37±0.10   |
| หม่อน      |                       |                             |            |            |            |            |             |             |             |
|            | น้ำ                   |                             |            |            |            |            |             |             |             |
|            | <i>A. flavus</i>      | 10.11±0.12                  | 15.77±0.17 | 26.03±0.12 | 41.81±0.10 | 49.92±0.15 | 100.00±0.00 | 100.00±0.00 | 100.00±0.00 |
|            | <i>A. parasiticus</i> | 12.48±0.46                  | 16.79±0.20 | 18.65±0.06 | 20.09±0.38 | 21.52±0.06 | 23.53±0.12  | 27.26±0.12  | 29.27±0.15  |
| เอทานอล    | <i>A. flavus</i>      | 5.61±0.15                   | 9.09±0.00  | 9.55±0.06  | 10.15±0.06 | 11.06±0.06 | 12.58±0.06  | 16.67±0.17  | 19.70±0.17  |
|            | <i>A. parasiticus</i> | —                           | —          | 0.00±0.20  | 6.42±0.51  | 7.46±0.20  | 11.49±0.12  | 14.93±0.30  | 21.94±0.06  |
| กลอโรฟอร์ม | <i>A. flavus</i>      | 7.64±0.15                   | 10.47±0.12 | 12.73±0.15 | 13.72±0.00 | 14.71±0.06 | 16.55±0.00  | 18.39±0.35  | 19.38±0.30  |
|            | <i>A. parasiticus</i> | 4.49±0.06                   | 8.85±0.10  | 10.57±0.23 | 11.10±0.21 | 12.42±0.06 | 14.13±0.10  | 15.46±0.20  | 16.38±0.06  |
| เฮกเซน     | <i>A. flavus</i>      | 7.64±0.35                   | 8.06±0.10  | 9.05±0.25  | 9.48±0.17  | 11.88±0.06 | 12.31±0.00  | 12.73±0.06  | 13.30±0.06  |
|            | <i>A. parasiticus</i> | 15.13±0.06                  | 16.09±0.10 | 17.47±0.10 | 18.84±0.10 | 22.97±0.20 | 34.39±0.12  | 38.51±0.06  | 41.27±0.12  |

ตารางผนวกที่ ข1 (ต่อ)

| สารสกัด    | เชื้อรา               | ความเข้มข้นของสารสกัด (ppm) |            |            |            |            |            |            |            |
|------------|-----------------------|-----------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
|            |                       | 31.25                       | 62.50      | 125        | 250        | 500        | 1000       | 2000       | 4000       |
| อบเชย      |                       |                             |            |            |            |            |            |            |            |
| เอทานอล    | <i>A. flavus</i>      | 8.22±0.10                   | 10.00±0.06 | 12.33±0.00 | 13.70±0.00 | 14.66±0.06 | 17.40±0.06 | 25.62±0.06 | 46.16±0.25 |
|            | <i>A. parasiticus</i> | 2.70±0.00                   | 3.65±0.06  | 4.05±0.10  | 4.46±0.06  | 6.35±0.06  | 7.70±0.06  | 9.46±0.00  | 20.27±0.00 |
| คลอโรฟอร์ม | <i>A. flavus</i>      | 0.79±0.06                   | 2.62±0.15  | 4.33±0.00  | 4.72±0.31  | 6.95±0.17  | 10.88±0.10 | 11.80±0.06 | 14.81±0.10 |
|            | <i>A. parasiticus</i> | 10.31±0.26                  | 13.39±0.29 | 17.40±0.06 | 21.02±0.44 | 21.42±0.21 | 29.05±0.17 | 29.45±0.12 | 37.48±0.23 |
| เฮกเซน     | <i>A. flavus</i>      | 7.40±0.00                   | 9.09±0.00  | 11.69±0.17 | 15.97±0.25 | 19.87±0.06 | 22.47±0.21 | 24.29±0.21 | 30.26±0.29 |
|            | <i>A. parasiticus</i> | 5.21±0.17                   | 6.79±0.26  | 7.90±0.06  | 8.37±0.10  | 8.85±0.12  | 9.95±0.00  | 11.06±0.12 | 22.12±0.15 |

หมายเหตุ <sup>a</sup> ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation)

– ไม่ยับยั้งการเติบโตของเชื้อรา

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก ค

ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ  
*A. flavus* TISTR 3366 และ *A. parasiticus* TISTR 3276 ในถั่วลิสง

พ.ศ. ๒๕๕๖

ตารางผนวกที่ ค1 ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ *A. flavus* TISTR 3366 ในถั่วลิสงภายใต้สภาวะการเดิมเชื้อ

| สารสกัด           | ความเข้มข้น (ppm) | ปริมาณเชื้อรา (log CFU/g) $\pm$ S.D. <sup>a</sup> |                                |                                |                                | ปริมาณอะฟลาทอกซิน (ppb) $\pm$ S.D. <sup>a</sup> |                               |                               |                               |
|-------------------|-------------------|---------------------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
|                   |                   | 8 days                                            | 16 days                        | 24 days                        | 32 days                        | 8 days                                          | 16 days                       | 24 days                       | 32 days                       |
| ชุดควบคุม         | —                 | 7.70 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>                      | 8.66 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>   | 8.99 $\pm$ 0.24 <sup>c</sup>   | 9.27 $\pm$ 0.18 <sup>d</sup>   | 7.00 $\pm$ 1.23 <sup>c</sup>                    | 17.94 $\pm$ 1.33 <sup>c</sup> | 29.28 $\pm$ 1.03 <sup>c</sup> | 35.72 $\pm$ 0.71 <sup>c</sup> |
| Captafol          | 4000              | 7.58 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>                      | 8.33 $\pm$ 0.16 <sup>cd</sup>  | 8.77 $\pm$ 0.03 <sup>cde</sup> | 8.69 $\pm$ 0.06 <sup>bc</sup>  | 4.32 $\pm$ 0.28 <sup>d</sup>                    | 5.33 $\pm$ 0.54 <sup>cd</sup> | 5.70 $\pm$ 1.87 <sup>bc</sup> | 5.89 $\pm$ 0.89 <sup>a</sup>  |
| Carbendazim       | 250               | 7.61 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>                      | 7.97 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>   | 8.50 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>  | 8.42 $\pm$ 0.41 <sup>abc</sup> | 3.84 $\pm$ 0.23 <sup>d</sup>                    | 4.14 $\pm$ 0.86 <sup>c</sup>  | 4.90 $\pm$ 1.43 <sup>bc</sup> | 5.83 $\pm$ 1.17 <sup>a</sup>  |
| กานพลูด้วยเอทานอล | 4000              | 7.57 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>                      | 8.11 $\pm$ 0.12 <sup>abc</sup> | 8.48 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>   | 8.41 $\pm$ 0.06 <sup>abc</sup> | 0.00 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>                    | 4.50 $\pm$ 0.51 <sup>c</sup>  | 5.12 $\pm$ 0.35 <sup>bc</sup> | 8.66 $\pm$ 0.71 <sup>bc</sup> |
| กานพลูด้วยเฮกเซน  | 250               | 7.93 $\pm$ 0.16 <sup>bc</sup>                     | 8.53 $\pm$ 0.12 <sup>de</sup>  | 8.41 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>   | 8.14 $\pm$ 0.21 <sup>a</sup>   | 2.08 $\pm$ 0.21 <sup>bc</sup>                   | 4.40 $\pm$ 0.21 <sup>c</sup>  | 5.34 $\pm$ 0.47 <sup>bc</sup> | 7.94 $\pm$ 1.33 <sup>b</sup>  |
| พลูคาวน้ำ         | 1000              | 7.63 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>                      | 8.26 $\pm$ 0.06 <sup>bc</sup>  | 8.72 $\pm$ 0.08 <sup>bcd</sup> | 8.51 $\pm$ 0.04 <sup>abc</sup> | 2.54 $\pm$ 0.54 <sup>c</sup>                    | 2.84 $\pm$ 0.38 <sup>b</sup>  | 7.00 $\pm$ 0.49 <sup>c</sup>  | 10.00 $\pm$ 0.17 <sup>c</sup> |
| พลูคาวเอทานอล     | 1000              | 8.02 $\pm$ 0.06 <sup>c</sup>                      | 8.96 $\pm$ 0.04 <sup>f</sup>   | 8.91 $\pm$ 0.05 <sup>de</sup>  | 8.64 $\pm$ 0.16 <sup>bc</sup>  | 0.00 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>                    | 2.50 $\pm$ 0.18 <sup>b</sup>  | 2.66 $\pm$ 0.34 <sup>a</sup>  | 5.72 $\pm$ 0.49 <sup>a</sup>  |
| พลูคาวคลอโรฟอร์ม  | 4000              | 7.85 $\pm$ 0.06 <sup>bc</sup>                     | 8.02 $\pm$ 0.11 <sup>ab</sup>  | 8.52 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>  | 8.78 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>   | 0.00 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>                    | 2.72 $\pm$ 0.41 <sup>b</sup>  | 5.28 $\pm$ 0.76 <sup>bc</sup> | 9.50 $\pm$ 0.71 <sup>bc</sup> |
| พลูคาวเอกเซน      | 4000              | 8.03 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>                      | 8.31 $\pm$ 0.04 <sup>cd</sup>  | 8.64 $\pm$ 0.13 <sup>abc</sup> | 8.44 $\pm$ 0.33 <sup>abc</sup> | 0.00 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>                    | 0.00 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>  | 3.66 $\pm$ 0.85 <sup>ab</sup> | 5.72 $\pm$ 1.02 <sup>a</sup>  |
| ราชพฤกษ์ด้วยน้ำ   | 4000              | 7.95 $\pm$ 0.02 <sup>bc</sup>                     | 8.33 $\pm$ 0.01 <sup>cd</sup>  | 8.85 $\pm$ 0.14 <sup>cde</sup> | 8.80 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>   | 1.46 $\pm$ 0.34 <sup>b</sup>                    | 2.38 $\pm$ 0.30 <sup>b</sup>  | 3.54 $\pm$ 0.18 <sup>ab</sup> | 4.88 $\pm$ 0.85 <sup>a</sup>  |
| หม่อนด้วยน้ำ      | 1000              | 7.62 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>                      | 8.20 $\pm$ 0.23 <sup>abc</sup> | 8.51 $\pm$ 0.08 <sup>ab</sup>  | 8.25 $\pm$ 0.13 <sup>ab</sup>  | 0.00 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>                    | 6.36 $\pm$ 0.48 <sup>d</sup>  | 11.42 $\pm$ 0.65 <sup>d</sup> | 12.66 $\pm$ 0.86 <sup>d</sup> |

หมายเหตุ <sup>a</sup> ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation)

<sup>1/</sup> วิเคราะห์ทางสถิติเปรียบเทียบตามแนวดิ่งโดยตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางผนวกที่ ค2 ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งการเติบโตและการผลิตอะฟลาทอกซินของ *A. parasiticus* TISTR 3276 ในถั่วลิสงภายใต้สภาวะการเดิมเชื้อ

| สารสกัด           | ความเข้มข้น (ppm) | ปริมาณเชื้อรา (log CFU/g) $\pm$ S.D. <sup>a</sup> |                               |                               |                               | ปริมาณอะฟลาทอกซิน (ppb) $\pm$ S.D. <sup>a</sup> |                               |                               |                               |
|-------------------|-------------------|---------------------------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
|                   |                   | 8 days                                            | 16 days                       | 24 days                       | 32 days                       | 8 days                                          | 16 days                       | 24 days                       | 32 days                       |
| ชุดควบคุม         | —                 | 8.40 $\pm$ 0.31 <sup>c</sup>                      | 9.48 $\pm$ 0.10 <sup>f</sup>  | 9.89 $\pm$ 0.08 <sup>c</sup>  | 10.11 $\pm$ 0.31 <sup>d</sup> | 2.50 $\pm$ 0.11 <sup>b</sup>                    | 17.94 $\pm$ 0.62 <sup>c</sup> | 26.92 $\pm$ 0.21 <sup>g</sup> | 36.42 $\pm$ 0.35 <sup>c</sup> |
| Captafol          | 4000              | 7.84 $\pm$ 0.17 <sup>b</sup>                      | 8.61 $\pm$ 0.38 <sup>de</sup> | 9.11 $\pm$ 0.02 <sup>d</sup>  | 9.25 $\pm$ 0.23 <sup>c</sup>  | 3.63 $\pm$ 0.13 <sup>d</sup>                    | 3.93 $\pm$ 0.10 <sup>c</sup>  | 4.05 $\pm$ 0.27 <sup>c</sup>  | 5.55 $\pm$ 0.82 <sup>ab</sup> |
| Carbendazim       | 250               | 7.46 $\pm$ 0.18 <sup>b</sup>                      | 7.78 $\pm$ 0.17 <sup>bc</sup> | 8.28 $\pm$ 0.04 <sup>ab</sup> | 8.65 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>  | 3.14 $\pm$ 0.10 <sup>c</sup>                    | 3.58 $\pm$ 0.91 <sup>c</sup>  | 4.24 $\pm$ 0.06 <sup>c</sup>  | 5.10 $\pm$ 0.45 <sup>a</sup>  |
| กานพลูด้วยเอทานอล | 4000              | 6.75 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>                      | 7.20 $\pm$ 0.20 <sup>a</sup>  | 8.20 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>  | 8.45 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>  | 0.00 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>                    | 0.00 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>  | 7.94 $\pm$ 0.57 <sup>d</sup>  | 10.00 $\pm$ 0.52 <sup>c</sup> |
| กานพลูด้วยเฮกเซน  | 250               | 6.85 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>                      | 7.54 $\pm$ 0.15 <sup>ab</sup> | 8.23 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>  | 8.01 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>  | 0.24 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>                    | 1.64 $\pm$ 0.28 <sup>b</sup>  | 9.56 $\pm$ 0.54 <sup>c</sup>  | 12.00 $\pm$ 0.47 <sup>d</sup> |
| พลูคาวน้ำ         | 1000              | 7.44 $\pm$ 0.22 <sup>b</sup>                      | 7.88 $\pm$ 0.08 <sup>bc</sup> | 8.21 $\pm$ 0.20 <sup>a</sup>  | 7.79 $\pm$ 0.18 <sup>a</sup>  | 6.66 $\pm$ 0.33 <sup>c</sup>                    | 8.50 $\pm$ 0.79 <sup>d</sup>  | 10.86 $\pm$ 1.17 <sup>f</sup> | 12.42 $\pm$ 0.30 <sup>d</sup> |
| พลูคาวเอทานอล     | 1000              | 7.64 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>                      | 8.21 $\pm$ 0.10 <sup>cd</sup> | 8.16 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>  | 7.98 $\pm$ 0.27 <sup>a</sup>  | 0.00 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>                    | 0.00 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>  | 1.82 $\pm$ 0.33 <sup>b</sup>  | 6.42 $\pm$ 0.80 <sup>ab</sup> |
| พลูคาวคลอโรฟอร์ม  | 4000              | 7.83 $\pm$ 0.16 <sup>b</sup>                      | 8.72 $\pm$ 0.23 <sup>c</sup>  | 9.06 $\pm$ 0.11 <sup>d</sup>  | 8.55 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>  | 0.00 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>                    | 0.00 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>  | 0.32 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>  | 6.66 $\pm$ 0.30 <sup>b</sup>  |
| พลูคาวเอเคเซน     | 4000              | 7.69 $\pm$ 0.25 <sup>b</sup>                      | 8.11 $\pm$ 0.15 <sup>c</sup>  | 8.70 $\pm$ 0.08 <sup>c</sup>  | 8.73 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>  | 0.00 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>                    | 0.00 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>  | 2.00 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>  | 5.00 $\pm$ 0.44 <sup>a</sup>  |
| ราชพฤกษ์ด้วยน้ำ   | 4000              | 7.39 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>                      | 8.07 $\pm$ 0.13 <sup>c</sup>  | 8.50 $\pm$ 0.15 <sup>bc</sup> | 8.80 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>  | 0.00 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>                    | 0.34 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>  | 5.00 $\pm$ 0.89 <sup>c</sup>  | 6.92 $\pm$ 1.15 <sup>b</sup>  |

หมายเหตุ <sup>a</sup> ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation)

<sup>1/</sup> วิเคราะห์ทางสถิติเปรียบเทียบตามแนวตั้งโดยตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางผนวกที่ ค3 ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งการเติบโตของ *Aspergillus* spp. ในผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงป่นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

| สารสกัด           | ความเข้มข้น (ppm) | ปริมาณเชื้อรา (log CFU/g) $\pm$ S.D. <sup>a</sup> |                               |                               |                              |                               |                               |                               |                              |
|-------------------|-------------------|---------------------------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
|                   |                   | 8 วัน                                             | 16 วัน                        | 24 วัน                        | 32 วัน                       | 48 วัน                        | 64 วัน                        | 80 วัน                        | 96 วัน                       |
| ชุดควบคุม         | —                 | 3.47 $\pm$ 0.66 <sup>d</sup>                      | 5.91 $\pm$ 0.06 <sup>c</sup>  | 8.00 $\pm$ 0.42 <sup>c</sup>  | 8.70 $\pm$ 0.82 <sup>c</sup> | 10.34 $\pm$ 0.01 <sup>f</sup> | 10.49 $\pm$ 0.08 <sup>g</sup> | 9.83 $\pm$ 0.09 <sup>h</sup>  | 9.64 $\pm$ 0.03 <sup>g</sup> |
| Captafol          | 4000              | 4.85 $\pm$ 0.11 <sup>ef</sup>                     | 5.65 $\pm$ 0.34 <sup>c</sup>  | 7.16 $\pm$ 1.09 <sup>de</sup> | 8.30 $\pm$ 0.41 <sup>c</sup> | 8.61 $\pm$ 0.09 <sup>c</sup>  | 8.82 $\pm$ 0.10 <sup>f</sup>  | 9.08 $\pm$ 0.06 <sup>g</sup>  | 8.99 $\pm$ 0.06 <sup>f</sup> |
| Carbendazim       | 250               | 4.66 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>                      | 5.71 $\pm$ 0.12 <sup>c</sup>  | 6.15 $\pm$ 0.06 <sup>cd</sup> | 7.30 $\pm$ 0.05 <sup>d</sup> | 8.52 $\pm$ 0.06 <sup>c</sup>  | 8.59 $\pm$ 0.03 <sup>f</sup>  | 8.36 $\pm$ 0.14 <sup>f</sup>  | 8.31 $\pm$ 0.08 <sup>c</sup> |
| กานพลูด้วยเอทานอล | 4000              | 3.53 $\pm$ 0.41 <sup>d</sup>                      | 4.30 $\pm$ 0.08 <sup>d</sup>  | 5.91 $\pm$ 0.08 <sup>c</sup>  | 6.50 $\pm$ 0.08 <sup>d</sup> | 6.67 $\pm$ 0.28 <sup>d</sup>  | 6.90 $\pm$ 0.09 <sup>e</sup>  | 6.71 $\pm$ 0.08 <sup>e</sup>  | 6.45 $\pm$ 0.16 <sup>d</sup> |
| กานพลูด้วยเฮกเซน  | 250               | 2.35 $\pm$ 0.21 <sup>bc</sup>                     | 3.07 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>  | 4.33 $\pm$ 0.46 <sup>b</sup>  | 5.36 $\pm$ 0.36 <sup>c</sup> | 6.21 $\pm$ 0.47 <sup>d</sup>  | 6.39 $\pm$ 0.09 <sup>d</sup>  | 6.00 $\pm$ 0.03 <sup>d</sup>  | 5.87 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup> |
| พลูค้ายน้ำ        | 1000              | 2.98 $\pm$ 0.20 <sup>cd</sup>                     | 3.45 $\pm$ 0.16 <sup>c</sup>  | 4.06 $\pm$ 0.25 <sup>b</sup>  | 4.57 $\pm$ 0.19 <sup>b</sup> | 5.04 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>  | 5.03 $\pm$ 0.08 <sup>c</sup>  | 4.95 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>  | 4.61 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup> |
| พลูค้ายเอทานอล    | 1000              | 1.44 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>                      | 2.26 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>  | 2.92 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>  | 3.50 $\pm$ 0.19 <sup>a</sup> | 3.99 $\pm$ 0.18 <sup>ab</sup> | 4.51 $\pm$ 0.23 <sup>b</sup>  | 4.25 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>  | 4.09 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup> |
| พลูค้ายคลอโรฟอร์ม | 4000              | 1.88 $\pm$ 0.13 <sup>ab</sup>                     | 2.00 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>  | 2.71 $\pm$ 0.28 <sup>a</sup>  | 3.74 $\pm$ 0.19 <sup>a</sup> | 4.40 $\pm$ 0.23 <sup>b</sup>  | 4.83 $\pm$ 0.06 <sup>bc</sup> | 4.54 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>  | 4.22 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup> |
| พลูค้ายเอคเซน     | 4000              | 2.24 $\pm$ 0.28 <sup>bc</sup>                     | 2.26 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>  | 2.88 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>  | 3.25 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup> | 3.82 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>  | 4.13 $\pm$ 0.28 <sup>a</sup>  | 4.36 $\pm$ 0.11 <sup>ab</sup> | 4.08 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup> |
| ราชพฤกษ์ค้ายน้ำ   | 4000              | 2.61 $\pm$ 0.41 <sup>bc</sup>                     | 3.26 $\pm$ 0.08 <sup>bc</sup> | 4.50 $\pm$ 0.71 <sup>b</sup>  | 5.74 $\pm$ 0.37 <sup>c</sup> | 6.19 $\pm$ 0.22 <sup>d</sup>  | 6.26 $\pm$ 0.07 <sup>d</sup>  | 6.10 $\pm$ 0.04 <sup>d</sup>  | 5.95 $\pm$ 0.08 <sup>c</sup> |
| หม่อนค้ายน้ำ      | 1000              | 5.54 $\pm$ 0.34 <sup>f</sup>                      | 5.83 $\pm$ 0.10 <sup>c</sup>  | 6.39 $\pm$ 0.28 <sup>cd</sup> | 6.52 $\pm$ 0.04 <sup>d</sup> | 6.43 $\pm$ 0.22 <sup>d</sup>  | 6.08 $\pm$ 0.23 <sup>d</sup>  | 5.91 $\pm$ 0.09 <sup>d</sup>  | 5.80 $\pm$ 0.06 <sup>c</sup> |

หมายเหตุ <sup>a</sup> ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation)

<sup>1/</sup> วิเคราะห์ทางสถิติเปรียบเทียบตามแนวตั้งโดยตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 4 ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อการผลิตอะฟลาทอกซินของ *Aspergillus* spp. ในผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงป่นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

| สารสกัด           | ความเข้มข้น (ppm) | ปริมาณอะฟลาทอกซิน (ppb) $\pm$ S.D. <sup>a</sup> |                               |                               |                               |                                 |                                |                                |                                |
|-------------------|-------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
|                   |                   | 8 วัน                                           | 16 วัน                        | 24 วัน                        | 32 วัน                        | 48 วัน                          | 64 วัน                         | 80 วัน                         | 96 วัน                         |
| ชุดควบคุม         | —                 | 18.66 $\pm$ 0.08 <sup>c</sup>                   | 24.40 $\pm$ 0.38 <sup>f</sup> | 29.60 $\pm$ 0.17 <sup>f</sup> | 39.20 $\pm$ 0.17 <sup>f</sup> | 39.35 $\pm$ 2.88 <sup>e</sup>   | 47.61 $\pm$ 1.26 <sup>f</sup>  | 51.70 $\pm$ 2.21 <sup>g</sup>  | 54.94 $\pm$ 1.05 <sup>g</sup>  |
| Captafol          | 4000              | 2.00 $\pm$ 0.18 <sup>b</sup>                    | 3.80 $\pm$ 0.07 <sup>ab</sup> | 4.00 $\pm$ 0.30 <sup>a</sup>  | 10.20 $\pm$ 0.24 <sup>a</sup> | 13.41 $\pm$ 1.20 <sup>abc</sup> | 16.58 $\pm$ 1.06 <sup>bc</sup> | 20.04 $\pm$ 0.63 <sup>bc</sup> | 22.58 $\pm$ 1.75 <sup>bc</sup> |
| Carbendazim       | 250               | 0.50 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>                    | 3.16 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>  | 8.40 $\pm$ 0.13 <sup>cd</sup> | 12.60 $\pm$ 0.20 <sup>b</sup> | 14.30 $\pm$ 1.44 <sup>bc</sup>  | 16.60 $\pm$ 1.03 <sup>bc</sup> | 17.74 $\pm$ 0.57 <sup>ab</sup> | 21.11 $\pm$ 1.08 <sup>ab</sup> |
| กานพลูด้วยเอทานอล | 4000              | 0.40 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>                    | 3.50 $\pm$ 0.34 <sup>ab</sup> | 5.92 $\pm$ 0.23 <sup>b</sup>  | 9.67 $\pm$ 0.34 <sup>a</sup>  | 13.05 $\pm$ 0.10 <sup>abc</sup> | 14.43 $\pm$ 1.33 <sup>ab</sup> | 16.01 $\pm$ 0.19 <sup>a</sup>  | 18.98 $\pm$ 0.69 <sup>a</sup>  |
| กานพลูด้วยเฮกเซน  | 250               | 3.36 $\pm$ 0.49 <sup>c</sup>                    | 7.45 $\pm$ 0.88 <sup>d</sup>  | 11.60 $\pm$ 0.92 <sup>e</sup> | 14.60 $\pm$ 0.79 <sup>c</sup> | 16.29 $\pm$ 0.78 <sup>c</sup>   | 21.18 $\pm$ 1.08 <sup>d</sup>  | 23.16 $\pm$ 0.66 <sup>de</sup> | 26.13 $\pm$ 0.37 <sup>de</sup> |
| พลูค้ายน้ำ        | 1000              | 2.40 $\pm$ 0.16 <sup>b</sup>                    | 4.52 $\pm$ 0.27 <sup>b</sup>  | 6.40 $\pm$ 0.23 <sup>b</sup>  | 17.20 $\pm$ 0.51 <sup>c</sup> | 19.92 $\pm$ 0.49 <sup>d</sup>   | 21.75 $\pm$ 0.93 <sup>d</sup>  | 25.08 $\pm$ 0.45 <sup>f</sup>  | 27.85 $\pm$ 1.53 <sup>e</sup>  |
| พลูค้ายเอทานอล    | 1000              | 2.55 $\pm$ 0.11 <sup>b</sup>                    | 6.24 $\pm$ 0.64 <sup>c</sup>  | 7.53 $\pm$ 0.72 <sup>c</sup>  | 11.60 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup> | 12.93 $\pm$ 0.28 <sup>ab</sup>  | 14.76 $\pm$ 0.71 <sup>ab</sup> | 17.10 $\pm$ 0.36 <sup>a</sup>  | 19.13 $\pm$ 0.67 <sup>a</sup>  |
| พลูค้ายคลอโรฟอร์ม | 4000              | 2.30 $\pm$ 0.49 <sup>b</sup>                    | 5.66 $\pm$ 0.75 <sup>c</sup>  | 7.82 $\pm$ 0.99 <sup>c</sup>  | 10.00 $\pm$ 0.62 <sup>a</sup> | 11.34 $\pm$ 0.16 <sup>ab</sup>  | 14.50 $\pm$ 0.40 <sup>ab</sup> | 16.63 $\pm$ 1.76 <sup>a</sup>  | 19.09 $\pm$ 0.64 <sup>a</sup>  |
| พลูค้ายเฮกเซน     | 4000              | 4.86 $\pm$ 0.49 <sup>d</sup>                    | 6.21 $\pm$ 0.38 <sup>c</sup>  | 9.30 $\pm$ 0.33 <sup>d</sup>  | 12.30 $\pm$ 0.49 <sup>b</sup> | 13.76 $\pm$ 1.57 <sup>abc</sup> | 17.11 $\pm$ 0.33 <sup>c</sup>  | 21.17 $\pm$ 1.38 <sup>cd</sup> | 23.94 $\pm$ 1.16 <sup>cd</sup> |
| ราชพฤกษ์ด้วยน้ำ   | 4000              | 3.84 $\pm$ 0.06 <sup>c</sup>                    | 4.50 $\pm$ 0.11 <sup>b</sup>  | 7.62 $\pm$ 0.21 <sup>d</sup>  | 9.22 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>  | 10.81 $\pm$ 0.81 <sup>a</sup>   | 14.03 $\pm$ 0.48 <sup>a</sup>  | 17.90 $\pm$ 0.79 <sup>ab</sup> | 19.89 $\pm$ 0.34 <sup>ab</sup> |
| หม่อนด้วยน้ำ      | 1000              | 4.90 $\pm$ 0.20 <sup>d</sup>                    | 9.55 $\pm$ 0.69 <sup>c</sup>  | 12.58 $\pm$ 0.21 <sup>c</sup> | 16.00 $\pm$ 0.92 <sup>d</sup> | 21.71 $\pm$ 2.07 <sup>d</sup>   | 25.19 $\pm$ 0.76 <sup>c</sup>  | 29.10 $\pm$ 0.35 <sup>f</sup>  | 30.78 $\pm$ 0.49 <sup>f</sup>  |

หมายเหตุ <sup>a</sup> ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation)

<sup>1/</sup> วิเคราะห์ทางสถิติเปรียบเทียบตามแนวดิ่งโดยตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

## ประวัติการศึกษาและการทำงาน

|                                |                                                                   |
|--------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| ชื่อ –นามสกุล                  | นางสาวกนกพร พูลผล                                                 |
| วัน เดือน ปี ที่เกิด           | วันที่ 24 ธันวาคม 2527                                            |
| สถานที่เกิด                    | นครศรีธรรมราช                                                     |
| ประวัติการศึกษา                | วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพอุตสาหกรรม)<br>มหาวิทยาลัยรังสิต |
| สถานที่ทำงานปัจจุบัน           | –                                                                 |
| ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ | –                                                                 |
| ทุนการศึกษาที่ได้รับ           | –                                                                 |