รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

“การยับยั้งเชื้อราก่อโรคขั้วหวีเน่า (crown rot) และ แอนแทรคโนส (anthracnose) ของสารสกัดจากขิง (*Zingiber officinale*) และข่า (*Alpinia galanga*) ในกล้วยหอมแบบ *in vitro* และ *in vivo*”

“Antifungal properties of extracts of *Zingiber officinale* and *Alpinia galangal* on fungal causing crown rot and anthracnose of banana *in vitro* and *in vivo*”

โดย

อาจารย์ ดร. ธนัท อมาตยกุล

คณะเทคโนโลยีและนวัตกรรมผลิตภัณฑ์การเกษตร

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ได้รับทุนสนับสนุนจาก

งบประมาณเงินรายได้คณะเทคโนโลยีและนวัตกรรมผลิตภัณฑ์การเกษตร

ประจำปีงบประมาณ 2554

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากขิงและข่าต่อการยับยั้งเชื้อราก่อโรคขั้วหวีเน่าในขั้วกล้วยหอม (และเพื่อศึกษาผลของกรรมวิธีการสกัดต่อความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคขั้วหวีเน่าในกล้วยหอม) สารสกัดถูกสกัดจากขิงและข่าด้วยวิธีการกลั่น (hydro-distillation) นอกจากนี้เอทธานอลก็ถูกใช้ในการสกัดสารสกัดจากขิงและข่าอีกด้วย (solvent extraction) สารสกัดที่ได้ถูกเก็บไว้ในขวดแก้วปิดสนิทที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อรอการทดสอบต่อไป เชื้อราก่อโรคขั้วหวีเน่าในกล้วยหอม (*Colletotrichum musae*) และ โรคแอนแทรคโนส (*Colletotrichum gloeosporioides* และ *Fusarium moniliforme*) ถูกซื้อมาจากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ เชื้อราจะถูก subculture ลงใน potato dextrose ager (PDA) และบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน ก่อนที่จะถูกนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C การทดสอบการยับยั้งเชื้อราก่อโรคขั้วหวีเน่าของสารกสกัดด้วยวิธีการกลั่น (น้ำมันหอมระเหย) และ สารสกัดด้วยเอทธานอลทำโดยการ spread น้ำมันหอมระเหย และ สารสกัดด้วยเอทธานอล (0.1 ml) ทั้งที่ผสม (อัตราส่วน 1:1) และไม่ผสม Tween 80 ลงบน PDA plate แล้ววางเชื้อราที่โตบน PDA (7 วัน) ขนาด 0.5 x 0.5 cm. ลงตรงกลาง plate พบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยเอทธานอล (ทั้งขิงและข่า) ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Colletotrichum gloeosporiodes* , *Colletotrichum musae* , *Fusarium moniliforme* ได้ ในขณะที่ น้ำมันหอมระเหยสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. gloeosporiodes* , *C. musae* , *F. moniliforme* ได้ และการทดสอบความเข้มข้นของสารสกัดที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราก่อโรคขั้วหวีเน่าโดยทำการทดสอบบน PDA และบนขั้วกล้วยหอม ทำโดยเจือจางสารสกัดโดยใช้น้ำมันพืชโดยทำการเจือจางที่ 1, 2, 4, 6, 8, 10 เท่า จากผลการทดลองสรุปได้ว่า ไอของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากวิธีกลั่น (hydro-distillation) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคขั้วหวีเน่าและแอนแทรคโทสเมื่อใช้ในความเจือจางที่น้อย (ความเข้มข้นสูง) และสามารถเจือจางสารสกัดจากขิงได้สูงสุดถึง 4 เท่า และสารสกัดจากข่าสามารถเจือจางได้มากที่สุดถึง 1 เท่าสำหรับการยับยั้งเชื้อราทั้ง 3 ชนิด (*in vitro*) และ การทดลองบนขั้วกล้วยสารสกัดจากขิงสามารถถูกเจือจางได้มากสุดถึง 10 เท่าสำหรับการยับยั้งเชื้อราทั้ง 3 ชนิด และสารสกัดจากข่าสามารถถูกเจือจางได้มากที่สุดถึง 4 เท่า (*in vivo*) แต่สารสกัดจากเอทธานอลนั้นไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา

คำสำคัญ : ข่า ขิง น้ำมันหอมระเหย การยับยั้งเชื้อรา โรคขั้วหวีเน่า กล้วยหอม

Abstract

The objective of this research was to test the effectiveness of antifungal properties of extracts of ginger (Zingiber officinale) and galanga (Alpinia galangal) on fungi causing crown rot and anthracnose of banana in vitro and in vivo. Two extraction methods were carried out including hydro-distillation and ethanol extraction (solvent extraction). The extracts were stored in closed containers at 4 $^{\circ}$C for further studies. *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* and *Fusarium moniliforme* were obtained from BIOTEC (National Science and Technology Development Agency, Thailand), then they were sub-cultured on PDA and incubated at room temperature for 7 days. The pre-cultures were then kept at 4 $^{\circ}$C for further studies. The extracts from both hydro-distillation (essential oil) and ethanol extraction were tested for antifungal property using spreading method. This method was carried out by mixing either essential oil or ethanol extract with or without 0.1% Tween 80. The mixture was then spreaded on the surface of PDA agar prior to sub-culturing with a piece of 0.5x0.5 cm^2 pre-cultured fungal (7 days). It was found that pure exthanol extracts (both ginger and galangal) could not inhibit *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* and *Fusarium moniliforme*. On the other hands, pure essential oil could inhibit those fungi. To study maximum dilution of essential oils, the oils were diluted at 1, 2, 4, 6, 8, 10 folds with vegetable oil. The essential oil of ginger can be dilute to the maximum to inhibit all 3 fungal strains at 4 folds, while the galangal oil can be diluted to the maximum at 1 fold (*in vitro*). For the *in vivo* study on banana tissue, the maximum dilution of ginger and galangal oils were 10 and 4 folds, respectively.

Keywords: galangal, ginger, essential oil, antifungal property, crown rot, banana

ประกาศคุณูปการ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ คณะเทคโนโลยีและนวัตกรรมผลิตภัณฑ์การเกษตร มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่ให้ทุนวิจัยและให้ความอนุเคราะห์สถานที่ รวมทั้งอุปกรณ์ในการทำวิจัยในครั้งนี้

นอกจากนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ของคณะเทคโนโลยีและนวัตกรรมผลิตภัณฑ์การเกษตร ที่ช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ในการทำงานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ธนัท อมาตยกุล

มิถุนายน 2555

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	i
Abstract	ii
ประกาศคุณูปการ	iii
สารบัญ	iv
บัญชีตาราง	vi
บัญชีภาพประกอบ	vii
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาของโครงการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	2
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 โรคขั้วหวีเน่าในกล้วยหอม	3
2.2 การป้องกันโรคขั้วหวีเน่าในกล้วยหอมด้วยสารเคมียับยั้งเชื้อรา	3
2.3 การใช้สารสกัดจากพืชวงศ์ขิงในการยับยั้งเชื้อรา	4
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	6
3.1 การวางแผนการทดลอง	6
3.2 การเตรียมสารสกัดจากขิงและข่า	6
3.2.1 การสกัดด้วยวิธีกลั่น (hydro-distillation)	6
3.2.2 การสกัดด้วยเอทธานอล	6
3.3 เชื้อรา	7
3.4 การทดสอบความเข้มข้นของสารสกัดที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราแบบ *in vitro*	7
3.5 ใการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อราของสารสกัดบนขั้วหวีกล้วย แบบ *in vivo*	8
3.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ (Statistical analysis)	8
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	9
4.1 การสกัดสารสกัดจากขิงและข่าด้วยวิธีกลั่น (hydro-distillation) และ การสกัดด้วยเอทธานอล ethanol	9
	หน้า
4.2 การทดสอบวิธีการทดลองเพื่อใช้ทดสอบการยับยั้งเชื้อราจากขิงและข่าแบบ *in vitro* ที่สกัดด้วยวิธีการกลั่น (hydro-distillation) และ การสกัดด้วยเอทธานอล (ethanol)	10

4.3 การหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดด้วยการกลั่น (hydro-distillation) ที่สามารถยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum musae*, *Fusarium moniliforme* แบบ *in vitro* 18
4.4 การทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides, Colletotrichum musae, Fusarium moniliforme* ด้วยสารสกัดจากขิงและข่าที่สกัดด้วยวิธีกลั่น (hydro-distillation) แบบ *in vivo* 19
บทที่ 5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ 21
5.1 สรุปผลการทดลอง 21
5.2 ข้อเสนอแนะ 22
บรรณานุกรม 23
ภาคผนวก 26
ประวัติโดยย่อของผู้วิจัย **63**

บัญชีตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1. แสดงปริมาณสาร (g/kg) ที่สกัดได้จากขิงและข่าด้วยวิธีการกลั่น (hydro-distillation) และการสกัดด้วยเอทธานอล (ethanol)	9
ตารางที่ 2 การทดสอบหาความเข้มข้นของสารสกัดจากขิงและข่าที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโต (% inhibition) ของเชื้อราก่อโรคขั้วหวีเน่าโดยทำการทดสอบบน PDA เป็นเวลา 7 วันที่อุณหภูมิห้อง (*in vitro*)	18
ตารางที่ 3 การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides, Colletotrichum musae, Fusarium moniliforme* ด้วยสารสกัดจากขิงและข่าที่สกัดด้วยวิธีกลั่น (hydro-distillation) แบบ *in vivo* เป็นเวลา 7 วันที่อุณหภูมิห้อง	20

บัญชีภาพประกอบ

หน้า

บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

รูปที่ 1 เชื้อรา *Colletotrichum musae* (a), *Colletotrichum gloeosporioides* (b), *Fusarium moniliforme* (c) ที่เลี้ยงบน PDA เป็นเวลา 7 วัน ที่ อุณหภูมิห้อง 11

รูปที่ 2 การทดสอบวิธีการทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *C. musae* จากสารสกัดของขิงและข่าแบบ *in vitro* ที่สกัดด้วยวิธีการกลั่น (hydro-distillation) และ การสกัดด้วยเอทธานอล (ethanol) และผสม Tween 80 a) สารสกัดจากขิงด้วยวิธีการกลั่น, b) สารสกัดจากข่าด้วยวิธีการกลั่น, c) สารสกัดจากขิงด้วยวิธีการสกัดด้วยเอทธานอล, d) สารสกัดจากข่าด้วยวิธีการสกัดด้วยเอทธานอล 12

รูปที่ 3 การทดสอบวิธีการทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum musae* จากสารสกัดของขิงและข่าแบบ *in vitro* ที่สกัดด้วยวิธีการกลั่น (hydro-distillation) และ การสกัดด้วยเอทธานอล (ethanol) โดยการกระจายบนผิวหน้า PDA และไม่ผสม Tween 80 a) สารสกัดจากขิงด้วยวิธีการกลั่น, b) สารสกัดจากข่าด้วยวิธีการกลั่น, c) สารสกัดจากขิงด้วยวิธีการสกัดด้วยเอทธานอล, d) สารสกัดจากข่าด้วยวิธีการสกัดด้วยเอทธานอล 14

รูปที่ 4 การทดสอบวิธีการทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* จากสารสกัดของขิงและข่าแบบ *in vitro* ที่สกัดด้วยวิธีการกลั่น (hydro-distillation) และ การสกัดด้วยเอทธานอล (ethanol) โดยการกระจายบนผิวหน้า PDA และไม่ผสม Tween 80 a) สารสกัดจากขิงด้วยวิธีการกลั่น, b) สารสกัดจากข่าด้วยวิธีการกลั่น, c) สารสกัดจากขิงด้วยวิธีการสกัดด้วยเอทธานอล, d) สารสกัดจากข่าด้วยวิธีการสกัดด้วยเอทธานอล 15

รูปที่ 5 การทดสอบวิธีการทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium moniliforme* จากสารสกัดของขิงและข่าแบบ *in vitro* ที่สกัดด้วยวิธีการกลั่น (hydro-distillation) และการสกัดด้วยเอทธานอล (ethanol) โดยการกระจายบนผิวหน้า PDA และไม่ผสม Tween 80 a) สารสกัดจากขิงด้วยวิธีการกลั่น, b) สารสกัดจากข่าด้วยวิธีการกลั่น, c) สารสกัดจากขิงด้วยวิธีการสกัดด้วยเอทธานอล, d) สารสกัดจากข่าด้วยวิธีการสกัดด้วยเอทธานอล 16

ภาคผนวก

รูปที่ 1 การทดสอบบน PDA ตัวอย่างควบคุม เชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7 27

รูปที่ 2 การทดสอบบน PDA ตัวอย่างควบคุม เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7 27

รูปที่ 3 การทดสอบบน PDA ตัวอย่างควบคุม เชื้อรา *F. moniliforme* วันที่ 7 28

รูปที่ 4 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 10 เท่า เชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7 28

รูปที่ 5 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 8 เท่า เชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7 29

หน้า

รูปที่ 6 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 6 เท่า เชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7 29
รูปที่ 7 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 4 เท่า เชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7 30
รูปที่ 8 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 2 เท่า เชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7 30
รูปที่ 9 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 1 เท่า เชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7 31
รูปที่ 10 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 10 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7 31
รูปที่ 11 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 8 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7 32
รูปที่ 12 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 6 เท่า เชื้อ *C. musae* วันที่ 7 32
รูปที่ 13 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 4 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7 33
รูปที่ 14 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 2 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7 33
รูปที่ 15 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 1 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7 34
รูปที่ 16 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 10 เท่า *F. moniliforme* วันที่ 7 34
รูปที่ 17 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 8 เท่า เชื้อรา *F. moniliforme* วันที่ 7 35
รูปที่ 18 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 6 เท่า เชื้อ *F. moniliforme* วันที่ 7 35
รูปที่ 19 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 4 เท่า เชื้อรา *F. moniliforme* วันที่ 7 36
รูปที่ 20 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 2 เท่า เชื้อ *F. moniliforme* วันที่ 7 36
รูปที่ 21 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 1 เท่า เชื้อ *F. moniliforme* วันที่ 7 37
รูปที่ 22 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 10 เท่า เชื้อรา *C .gloeosporiodes* วันที่ 7 37
รูปที่ 23 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 8 เท่า เชื้อรา *C.gloeosporiodes* วันที่ 7 38
รูปที่ 24 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 6 เท่า เชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7 38
รูปที่ 25 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 4 เท่า เชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7 39
รูปที่ 26 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 2 เท่า เชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7 39
รูปที่ 27 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 1 เท่า เชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7 40
รูปที่ 28 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 10 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7 40
รูปที่ 29 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 8 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7 41
รูปที่ 30 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 6 เท่า เชื้อ *C. musae* วันที่ 7 41

หน้า

รูปที่ 31 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 4 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7 42
รูปที่ 32 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 2 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7 42
รูปที่ 33 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 1 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7 43
รูปที่ 34 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 10 เท่า เชื้อรา *F. moniliforme* วันที่ 7 43
รูปที่ 35 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 8 เท่า เชื้อรา *F. moniliforme* วันที่ 7 44
รูปที่ 36 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 6 เท่า เชื้อ *F. moniliforme* วันที่ 7 44
รูปที่ 37 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 4 เท่า เชื้อรา *F. moniliforme* วันที่ 7 45
รูปที่ 38 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 2 เท่า เชื้อ *F. moniliforme* วันที่ 7 45
รูปที่ 39 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 1 เท่า เชื้อ *F. moniliforme* วันที่ 7 46
รูปที่ 40 การทดสอบบนขั้วกล้วยตัวอย่างควบคุม(น้ำกลั่น)กับเชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7 46
รูปที่ 41 การทดสอบบนขั้วกล้วยตัวอย่างควบคุม(น้ำกลั่น)กับเชื้อรา *C. musae* วันที่ 7 47
รูปที่ 42 การทดสอบบนขั้วกล้วยตัวอย่างควบคุม(น้ำกลั่น)กับเชื้อรา *F. moniliforme* วันที่ 7 47
รูปที่ 43 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดขิงเจือจาง 2 เท่า เชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7 48
รูปที่ 44 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดขิงเจือจาง 4 เท่า เชื้อรา *C.gloeosporiodes* วันที่ 7 48
รูปที่ 45 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดขิงเจือจาง 6 เท่า เชื้อรา *C.gloeosporiodes* วันที่ 7 49
รูปที่ 46 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดขิงเจือจาง 8 เท่า เชื้อรา *C.gloeosporiodes* วันที่ 7 49
รูปที่ 47 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดขิงเจือจาง 10 เท่า เชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7 50
รูปที่ 48 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดขิงเจือจาง 2 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7 50
รูปที่ 49 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดขิงเจือจาง 4 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7 51
รูปที่ 50 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดขิงเจือจาง 6 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7 51
รูปที่ 51 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดขิงเจือจาง 8 เท่า กับเชื้อรา *C. musae* วันที่ 7 52
รูปที่ 52 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดขิงเจือจาง 10 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7 52
รูปที่ 53 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดขิงเจือจาง 2 เท่า เชื้อรา *F. moniliforme* วันที่ 7 53
รูปที่ 54 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดขิงเจือจาง 4 เท่า เชื้อรา *F. moniliforme* วันที่ 7 53
รูปที่ 55 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดขิงเจือจาง 6 เท่า เชื้อรา *F. moniliforme* 54

หน้า

วันที่ 7
รูปที่ 56 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดขิงเจือจาง 8 เท่า เชื้อรา *F. moniliforme* วันที่ 7 54
รูปที่ 57 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดขิงเจือจาง 10 เท่า เชื้อรา *F. moniliforme* วันที่ 7 55
รูปที่ 58 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดข่าเจือจาง 2 เท่า เชื้อรา *C.gloeosporiodes* วันที่ 7 55
รูปที่ 59 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดข่าเจือจาง 4 เท่า เชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7 56
รูปที่ 60 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดข่าเจือจาง 6 เท่า เชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7 56
รูปที่ 61 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดข่าเจือจาง 8 เท่า กับเชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7 57
รูปที่ 62 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดข่าเจือจาง 10 เท่า เชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7 57
รูปที่ 63 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดข่าเจือจาง 2 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7 58
รูปที่ 64 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดข่าเจือจาง 4 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7 58
รูปที่ 65 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดข่าเจือจาง 6 เท่า กับเชื้อรา *C. musae* วันที่ 7 59
รูปที่ 66 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดข่าเจือจาง 8 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7 59
รูปที่ 67 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดข่าเจือจาง 10 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7 60
รูปที่ 68 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดข่าเจือจาง 2 เท่า เชื้อรา *F. moniliforme* วันที่ 7 60
รูปที่ 69 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดข่าเจือจาง 4 เท่า เชื้อรา *F. moniliforme* วันที่ 7 61
รูปที่ 70 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดข่าเจือจาง 6 เท่า เชื้อรา *F. moniliforme* วันที่ 7 61
รูปที่ 71 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดข่าเจือจาง 8 เท่า เชื้อรา *F. moniliforme* วันที่ 7 62
รูปที่ 72 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดข่าเจือจาง 10 เท่า เชื้อรา *F. moniliforme* วันที่ 7 62

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ที่มาของโครงการวิจัย

ประเทศไทยเป็นประเทศในแถบใกล้เส้นศูนย์สูตร มีสภาพภูมิอากาศร้อน และมีความชื้นในอากาศสูง เหมาะในการผลิตผลิตภัณฑ์การเกษตร ประเภทข้าว ยางพารา น้ำตาล และ อื่นๆ โดยประเทศไทยจัดเป็นผู้ส่งออกสินค้าเกษตรเป็นอันดับต้นๆของโลก ผลไม้เมืองร้อนเช่น กล้วยหอม เป็นอีกผลิตภัณฑ์การเกษตรอีกชนิดหนึ่งที่ประเทศไทยสามารถผลิตและส่งขายได้ ซึ่งประเทศไทยสามารถผลิตส่งขายต่างประเทศโดยเฉพาะประเทศญี่ปุ่นและจีน สำหรับสถิติการส่งออกนั้นประเทศไทยสามารถส่งออกกล้วยหอมในปริมาณที่เพิ่มขึ้นจาก 2,961 ตัน ในปี พ.ศ. 2550 เป็น 9,000 ตัน ในปี พ.ศ. 2552 ทำรายได้มูลค่า 45.98 ล้านบาท ในปี พ.ศ. 2550 และ 135 ล้านบาท ในปี พ.ศ. 2552 (ข้อมูลพื้นฐานเศรษฐกิจการเกษตร ปี 2552) อย่างไรก็ตามปัญหาอย่างหนึ่งของการผลิตกล้วยหอมส่งออกคือ การเกิดเชื้อราที่ขั้ว (ที่เรียกว่า crown rot) ของกล้วยหอมที่ถูกบรรจุในกล่องในระหว่างกระบวนการขนส่ง โดยเชื้อรานั้นอาจมาจากสวนซึ่งมักจะ infect กล้วยในระยะออกดอก และทำให้เกิดโรคขั้วหวีเน่า นอกจากนี้เชื้อรายังสามารถก่อโรคแอนแทรคโนส ซึ่งก่อให้เกิดจุดดำๆที่ผิวของกล้วยได้ เชื้อราในอากาศก็สามารถ infect ตรงบาดแผลของหวีกล้วยจากการตัดแต่งในระหว่างกระบวนการผลิต เป็นที่ทราบกันดีว่าผลไม้ยังมีกระบวนการหายใจหลังจากเก็บเกี่ยวโดยเฉพาะอย่างยิ่งผลไม้ที่จัดเป็นชนิด climacteric ซึ่งกล้วยหอมก็จัดเป็นผลไม้ชนิดนี้ ผลพลอยได้จากกระบวนการหายใจนี้คือความร้อนและน้ำ ปัจจัยทั้งสองชนิดนี้จะช่วยสร้างสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตให้กับเชื้อราในระหว่างกระบวนการขนส่งหากกระบวนการควบคุมอุณหภูมินั้นทำได้ไม่ดีพอ นอกจากนี้บริเวณขั้วของกล้วยหอมนั้นก็เป็นจุดที่มีความชื้นสูงอันเนื่องมาจากน้ำยางของกล้วยที่ซึมออกมาจากบาดแผลอันเนื่องมาจากการตัดแต่ง ซึ่งสิ่งนี้อาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งเสริมให้เกิดการเจริญของเชื้อราที่ขั้วของกล้วยหอมได้

การใช้สารเคมีในการยับยั้งเชื้อรานั้นเป็นวิธีการที่นิยมกระทำกันในอดีต โดยตัวอย่างสารเคมีที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราคือ Thiabendazole, Benomyl, Imazalil, fluconazole, itraconazole, amphoterisin B (de los Santos Garcia de Paredes and Romero Munoz, 2002; Zhang *et al*., 2006; Sabulal *et al*., 2006; Krauss and Johanson, 2000; สมศิริ แสงโชติ และ สุมิตรา แสงวนิชย์, 2549) สารเคมีเหล่านี้อาจตกค้างในผลไม้ซึ่งอาจเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคหรือกระจายสู่สิ่งแวดล้อม ผนวกกับแรงผลักดันของตลาดสินค้าอินทรีย์ที่หลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีการใช้สารยับยั้งเชื้อราจากธรรมชาติจึงมีความสำคัญเพิ่มขึ้นในปัจจุบัน

พืชวงศ์ขิง (Zingiberacae) เป็นพืชที่มีรากเป็นหัว (rhizome) หรือที่เรียกว่าเหง้า โดยพืชตระกูลนี้ประกอบด้วย ขิง (*Zingiber officinale* Roscoe) ข่า (*Alpinia galanga*) ขมิ้น (*Curcuma longa*) ซึ่งเป็นสมุนไพรที่นิยมใช้เพื่อเพิ่มกลิ่นและรสชาติให้กับอาหารไทย รวมทั้งยังเป็นพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ทางยา มีรายงานวิจัยพบว่าพืชตระกูลนี้มีสารทั้งที่เป็นน้ำมันหอมระเหยและโปรตีนที่มีความสามารถในการยับยั้งการ

เจริญเติบโตของเชื้อรา ซึ่งงานวิจัยโดยส่วนใหญ่จะทำการสกัดน้ำมันหอมระเหยโดยการกลั่น (hydro-distillation) แต่ก็มีอีกหลายงานวิจัยทำการสกัดสารโดยใช้ตัวทำละลาย เช่น เอทธานอล เมททานอล เฮ็กเซน อีเทอร์ คลอโรฟอร์ม ซึ่งวิธีการสกัดดังกล่าวก็ให้สารสกัดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราได้แตกต่างกัน แต่โดยส่วนมากแล้วสารสกัดเหล่านี้จะมีฤทธิ์ในการยับยั้งได้ดีหากใช้ในความเข้มข้นที่สูงประกอบกับการศึกษาส่วนใหญ่นั้นทำแบบ in vitro ซึ่งการที่จะนำสารสกัดที่ได้ไปใช้กับการยับยั้งเชื้อราที่ก่อโรคในผลไม้จริงๆนั้นยังไม่เคยมีรายงานวิจัยปรากฏ

ดังนั้นโครงการวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อทดสอบการใช้สารสกัดจากขิงและข่าที่สกัดโดยวิธีการต่างๆเพื่อลดอัตราการเกิดโรคขั้วหวีเน่าในกล้วยหอมที่เกิดจากเชื้อรา ทั้งนี้เพื่อเป็นการลดการใช้สารเคมีและเพิ่มการใช้ประโยชน์จากพืชเกษตร

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากขิงและข่าต่อการยับยั้งเชื้อราก่อโรคขั้วหวีเน่าและแอนแทรคโนสในกล้วยหอม ภายใต้สภาวะ *in vitro* และ *in vivo*
2. เพื่อศึกษาผลของกรรมวิธีการสกัดต่อความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคขั้วหวีเน่าและแอนแทรคโนสในกล้วยหอม

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 โรคขั้วหวีเน่าในกล้วยหอม

โรคขั้วหวีเน่า (Crown rot) ของกล้วยหอมนั้นมีลักษณะเกิดจากการติดเชื้อราที่รอยตัดของขั้วหวีทำให้เกิดสีดำคล้ำและทำให้ขั้วของกล้วยหลุดจากหวีได้ง่ายในขณะจับเมื่อผลของกล้วยหอมสุก (Anthony *et al.*, 2004) เชื้อราที่ถูกรายงานว่าเป็นสาเหตุหลักของโรคขั้วหวีเน่าคือ *Colletotrichum musae* อย่างไรก็ตามก็พบเชื้อราชนิดอื่นๆด้วยที่ก่อให้เกิดโรคนี้ เช่น *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium pallidoroseum*, *Nigrospora sphaerica* and *Botryodiplodia theobromae, Lasiodiploidia theobromae, Verticillium theobromae* (Krauss and Johanson, 2000; Anthony *et al*., 2004) โรคขั้วหวีเน่านี้มักจะพบในช่วงหน้าฝน ซึ่งอาจจะเกิดเนื่องจากน้ำฝนและลมช่วยในการแพร่กระจายสปอร์ของเชื้อรา ในกระบวนการหลังการเก็บเกี่ยวนั้นกล้วยจะถูกตัดที่ขั้วหวี ที่บริเวณพื้นผิวของรอยตัดจะเกิดมียางกล้วยไหลออกมา และสปอร์ของเชื้อราจะสามารถเข้าไปเจริญเติบโตได้ที่บริเวณนี้ นอกจากการติดเชื้อของเชื้อราที่บาดแผลแล้วกล้วยหอมยังสามารถติดเชื้อราได้ในระหว่างการพัฒนาของผลกล้วยจากสวน แต่โดยส่วนใหญ่แล้วการติดเชื้อประเภทนี้จะทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนส ซึ่งจะทำให้ผลกล้วยเกิดจุดสีดำและรอยช้ำในขณะที่สุก โรคแอนแทรคโนสนี้เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum musae* และ *Colletotrichum gloeosporioides* เชื้อราที่กล่าวมาข้างต้นนอกจากจะก่อโรคในพืชแล้วบางสายพันธุ์ยังสามารถสร้าง mycotoxin ได้อีกด้วย ยกตัวอย่างเช่น *Fusarium moniliforme* สร้าง moniliformin, fuminosins และ zearalenone (Nguefack *et al*., 2004) และ *Aspergillus flavus* สร้าง alflatoxin B1 (Srivastava *et al*., 2008)

2.2 การป้องกันโรคขั้วหวีเน่าในกล้วยหอมด้วยสารเคมียับยั้งเชื้อรา

วิธีการป้องกันโรคขั้วหวีเน่าในกล้วยหอมนั้นสามารถกระทำได้โดยการฉีดพ่นหรือการจุ่มขั้วหวีของกล้วยลงไปในสารเคมีที่มีส่วนผสมของ Thiabendazole (500 ppm), Benomyl (500 ppm), Imazalil (20 ppm), fluconazole, itraconazole, amphoterisin B (de los Santos Garcia de Paredes and Romero Munoz, 2002; Zhang *et al*., 2006; Sabulal *et al*., 2006; Krauss and Johanson, 2000) อย่างไรก็ตามสารเคมีเหล่านี้บางตัว เช่น Benomyl US Environmental Protection Agency ได้กล่าวเกี่ยวกับพิษวิทยาในมนุษย์ไว้ว่า Benomyl มีความสัมพันธ์กับการเกิดความเป็นพิษต่อตับ ทำให้ตาบอดและสมองไม่พัฒนา รวมทั้งยังอาจเป็น carcinogen และเป็นพิษต่อระบบสืบพันธุ์ Imazalil เป็นสารเคมีอีกชนิดหนึ่งที่ US Environmental Protection Agency ได้กล่าวไว้ว่าสารเคมีชนิดนี้เป็นสารที่มีแนวโน้มจะก่อให้เกิดมะเร็งได้ สารเคมีเหล่านี้อาจตกค้างในผลไม้ซึ่งอาจเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคหรือกระจายสู่สิ่งแวดล้อม

ผนวกกับแรงผลักดันของตลาดสินค้าอินทรีย์ที่หลีกเลี่ยงการใช้สารเคมี การใช้สารยับยั้งเชื้อราจากธรรมชาติจึงมีความสำคัญเพิ่มขึ้นในปัจจุบัน

2.3 การใช้สารสกัดจากพืชวงศ์ขิงในการยับยั้งเชื้อรา

มีผลงานวิจัยหลายฉบับรายงานว่าสารสกัดจากขิง (*Zingiber officinale* Roscoe) ข่า (*Alpinia galanga*) ข่าลิง (*Alpinia conchigera* Griff.) ขมิ้น (*Curcuma longa*) สามารถใช้ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราแบบ *in vitro* ทั้งที่เป็นเชื้อราที่ก่อโรคในพืชและเชื้อราประเภทอื่นๆ Utrakool *et al*. (2008) พบว่าสารที่สกัดจากขิงโดยใช้ 95% ethanol สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus niger* และ *Alternaria brassicicola* ที่ความเข้มข้น 5,000 ppm สารสกัดของขมิ้นและข่าที่สกัดด้วยเอทธานอล สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Tricophyton longifusus* ได้ 65 และ 60% ตามลำดับ (Khattak *et al*., 2005) น้ำมันหอมระเหยของทั้ง *Cinnamomum camphora* และ *Alpinia galanga* ให้ผลในการยับยั้งเชื้อ *Aspergillus flavus* และการสร้าง alflatoxin B1 ได้ดีกว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยเพียงชนิดเดียวเช่นในการทดลองของ Srivastata *et al*. (2008) ซึ่งผลการทดลองที่ได้นี้ขัดแย้งกับการทดลองของของ Ibrahim *et al*. (2009) ที่พบว่าน้ำมันหอมระเหยในข่าลิง (*Alpinia conchigera* Griff.) ให้ผลการยับยั้งเชื้อราที่ไม่ดี อย่างไรก็ตามเชื้อราที่ทดสอบนั้นเป็นเชื้อราที่ก่อโรคผิวหนัง นอกจากนี้ในการทดลองใช้สารสกัดจากข่า (สกัดด้วยเอทธานอล) สามารถเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคผิวหนัง โดยผู้ทดลองรายงานผลการทดลองเป็น IC_{50} ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 20-60 mg/mL (Trakranrungsie *et al*., 2008) นอกจากสารสกัดสารด้วยเอทธานอลแล้ว น้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการกลั่นขิง *Zingiber nimmonii* ก็สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus niger* ได้ดีเท่าๆกับการใช้ยาปฏิชีวนะ Streptomycin (Tagoe *et al*., 2011; Sabulal *et al*. 2006) Tripathi *et al*. (2004) รายงานว่าน้ำมันหอมระเหยของขิงสามารถยับยั้ง *Penicillium italicum* (เชื้อราบนผิวพืชตระกูลส้ม) ได้ 100% (5□g/L) ซึ่งให้ผลงานวิจัยที่สอดคล้องกับงานวิจัยของ Singh *et al*. (2008) ที่น้ำมันหอมระเหยที่สกัดด้วยการกลั่น (hydro-distillation) จากขิง *Zingiber officinale* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Fusarium moniliforme* ซึ่งเป็นเชื้อรากก่อโรคพืชได้ 100% (ใช้ในความเข้มข้นที่สูง) ในงานวิจัยของ Nguefack *et al*., 2004 พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการกลั่นแบบ hydro-distillation ให้ผลการยับยั้งเชื้อราดีกว่าสารสกัดจากเอทธานอล เมทธานอล คาร์บอน เตตตระคลอไรด์ และ ไอโซ๊อ็อกเทน ทั้งนี้คณะผู้ทำการวิจัยได้ใช้เครื่อง GC-MS วิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัดและพบว่าสารสกัดที่สกัดได้มี chemical profiles ที่แตกต่างกัน โดยน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการกลั่นนั้นจะพบ geranial ในปริมาณสูง ส่วนสารสกัดจากเอทธานอลจะพบ eugenol ในปริมาณสูง สารสกัดที่เหลือมีปริมาณของ zingerone ในปริมาณสูง สารเหล่านี้เป็นสารในกลุ่ม phenol ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ อย่างไรก็ตามงานวิจัยส่วนใหญ่นั้นทดลองแบบ in vitro Ali *et al*. (2008) บรรยายในบทความเรื่องคุณสมบัติทางเคมี, เภสัช และ ความเป็นพิษของขิงไว้ว่าสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราของสารสกัดจากขิงคือ [6]-, [8]-, [10]-gingerols โดย [6]-gingerol เป็นสารที่มีมากที่สุด สำหรับการจะ

นำสารสกัดหรือน้ำมันหอมระเหยของพืชวงศ์ขิงไปใช้ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา โดยเฉพาะเชื้อราที่ก่อโรคขั้วหวีเน่าในกล้วยหอมนั้นยังไม่มีรายงานปรากฏ ในสถานการณ์จริงนั้นการนำสารสกัดหรือน้ำมันหอมระเหยไปใช้อาจมีอุปสรรคทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราลดน้อยลงไป ดังนั้นโครงการวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อทดสอบการใช้สารสกัดจากขิงและข่าที่สกัดโดยวิธีการต่างๆเพื่อลดอัตราการเกิดโรคขั้วหวีเน่าในกล้วยหอมที่เกิดจากเชื้อรา

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การวางแผนการทดลอง

งานวิจัยนี้ถูกแบ่งออกเป็น 3 ส่วน โดยส่วนแรกวิจัยเกี่ยวกับการเตรียมสารสกัดจากขิงและข่า ในขั้นที่สองทำการศึกษาผลของสารสกัดจากขิงและข่าที่ถูกสกัดด้วยวิธีการกลั่นและการใช้เอทธานอลต่อความสามารถในการยับยั้งเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคขั้วหวีเน่าของกล้วยหอมในจานเพาะเชื้อ ทั้งนี้เพื่อเป็นการหาความเข้มข้นของสารสกัดที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อรา minimal Inhibition concentration (MIC) ของสารสกัดทั้งจากขิงและข่า ส่วนที่สามจะเป็นการนำสารสกัดที่ได้มาทดลองยับยั้งเชื้อราบนขั้วหวีของกล้วยโดยการใช้ความเข้มข้นตามที่ใช้ในขั้นตอนที่สองเพื่อเป็นการทดสอบว่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อราที่หาได้นั้นสามารถนำมาใช้ได้จริงๆหรือไม่

3.2 การเตรียมสารสกัดจากขิงและข่า

3.2.1 การสกัดด้วยวิธีกลั่น (hydro-distillation)

เหง้าของขิงหรือข่าแก่ที่ถูกซื้อมาจากตลาดจะถูกล้างด้วยน้ำให้สะอาดและหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ หนา 0.3 เซ็นติเมตร แล้วทำการสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีการกลั่น (hydro-distillation) โดยไม่ผ่านการอบแห้ง โดยใช้อัตราส่วนขิงต่อน้ำที่ 1 (กรัม):10 (มิลลิลิตร) น้ำมันหอมระเหยที่ได้จะถูกแยกจากน้ำและทำให้แห้งด้วยโซเดียมซัลเฟต (Singh *et al*., 2008; Kumar *et al*., 2010) น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จะถูกเก็บไว้ในขวดแก้วปิดสนิทที่อุณหภูมิ 4°C เพื่อรอการทดสอบต่อไป

3.2.2 การสกัดด้วยเอทธานอล

เหง้าของขิงหรือข่าแก่ที่ถูกซื้อมาจากตลาดจะถูกล้างด้วยน้ำให้สะอาดและหั่นเป็นชิ้นเล็กๆหนา 0.3 เซ็นติเมตร แล้วทำการสกัดด้วยเอทธานอล 95% ที่อัตราส่วนของขิงหรือข่าต่อเอทธานอล 1:5 w/v เป็นเวลา 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง โดยขิงหรือข่าจะถูกทำการสกัดจำนวน 3 ครั้ง จากนั้นสารสกัดที่ได้จะถูกนำไประเหยจนได้ของเหลวข้น (Trakranrungsie *et al*., 2008) น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จะถูกเก็บไว้ในขวดแก้วปิดสนิทที่อุณหภูมิ 4°C เพื่อรอการทดสอบต่อไป

3.3 เชื้อรา

เชื้อราประกอบด้วย *Colletotrichum musae, Colletotrichum gloeosporioides, Fusarium moniliforme* (เชื้อ 2 สายพันธุ์แรกเป็นเชื้อราก่อโรคขั้วหวีเน่าและแอนแทรคโนสของกล้วยหอม ส่วนเชื้อราอีก 1 สายพันธุ์เป็นเชื้อราที่สร้าง mycotoxin) จะถูกจัดซื้อจากศูนย์เก็บรักษาจุลินทรีย์ของกรมวิชาการเกษตร

หรือหน่วยงานอื่นๆ และเชื้อราจะถูก subculture ลงใน potato dextrose agar (PDA) slant และบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วันก่อนที่จะถูกนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4°C

3.4 การทดสอบความเข้มข้นของสารสกัดที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราแบบ *in vitro*

ความเข้มข้นของสารสกัดทั้งสองชนิดข้างต้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อรา MIC ถูกทดสอบด้วยวิธี Poisoned food bioassay ตามวิธีที่อธิบายโดย Tripathi *et al*. (2004) และ Anthony *et al*. (2004) 0.5 mL ของส่วนผสมของสารสกัดกับ 0.1% Tween-80 ถูกผสมกับ 9.5 mL ของอาหารเหลว PDA ที่อุณหภูมิ 45°C ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ถูกทำการฆ่าเชื้อไว้ล่วงหน้าแล้วจากนั้นทำการหมุนวนจานอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อให้ส่วนผสมเข้ากันดี เมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัวแล้วจึงถ่ายเชื้อราที่ได้เลี้ยงไว้บนอาหาร PDA ก่อนหน้า 7 วัน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 mm. ลงบนกลางจานอาหารที่มีส่วนผสมของสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆกัน ตัวอย่างที่ทดสอบกับน้ำกลั่นถูกใช้เป็นตัวอย่างควบคุม แล้วทำการบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อราถูกบันทึกและนำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราตามสูตรด้านล่าง

$$\%\, inhibition = \frac{a-b}{a} \times 100$$

โดย a คือ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อราในจานอาหารที่ไม่มีสารสกัด

b คือ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อราในจานอาหารที่มีสารสกัด

และ MIC คือความเข้มข้นที่เชื้อราไม่สามารถเจริญเติบโตได้

3.5 ใการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อราของสารสกัดบนขั้วหวีกล้วย แบบ *in vivo*

ตัดชิ้นส่วนของขั้วหวีของกล้วยหอมออกมาให้มีพื้นที่หน้าตัด 1.5 x 1.5 cm^2. นำชิ้นส่วนที่ได้ไปทำการล้างในน้ำกลั่นปลอดเชื้อ แล้วจึงนำไปทำการฆ่าเชื้อในแอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นนำชิ้นส่วนของขั้วหวีกล้วยไปล้างในน้ำกลั่นปลอดเชื้ออีก 3 ครั้งแล้วซับน้ำให้แห้งด้วยกระดาษกรอง No. 1 ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว นำชิ้นส่วนของขั้วหวีกล้วยไปจุ่มในสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆดังเช่นในการทดลองแรก ตัวอย่างที่ทดสอบกับน้ำกลั่นถูกใช้เป็นตัวอย่างควบคุม แล้วจึงซับสารสกัดส่วนเกินออกด้วยกระดาษกรอง No. 1 ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นนำชิ้นส่วนของเชื้อราที่เลี้ยงบน PDA (0.5 x 0.5 cm^2) ที่เลี้ยงไว้ก่อนหน้าเป็น

เวลา 7 วันวางลงบนชิ้นส่วนเนื้อเยื่อขั้วกล้วยหอมที่เตรียมไว้ แล้วจึงวางชิ้นส่วนไว้ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน การทดลองนี้ใช้ตัวอย่างขั้วหวีกล้วย 10 ซ้ำต่อความเข้มข้นของสารสกัด น้ำกลั่นถูกใช้แทนที่สารสกัดเพื่อเป็นตัวอย่างควบคุม

3.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ (Statistical analysis)

การทดลองถูกดำเนินการตามแผนการทดลองแบบ complete randomized design ผลของความสามารถในการยับยั้งเชื้อราของสารสกัดของขิงและข่าถูกวิเคราะห์ด้วย one way ANOVA ($p < 0.05$) โดยใช้ Tukey's HSD สำหรับ multiple comparison

บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 การสกัดสารสกัดจากขิงและข่าด้วยวิธีกลั่น (hydro-distillation) และ การสกัดด้วยเอทธานอล ethanol

สารสกัดจากขิงและข่าที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราถูกสกัดด้วยวิธีการกลั่น (hydro-distillation) และการสกัดด้วยเอทธานอล (ethanol) ซึ่งผลการสกัด (ตารางที่ 1) แสดงให้เห็นว่าการสกัดด้วยวิธีการกลั่นสามารถสกัดสารที่เป็นองค์ประกอบของขิงและข่าออกมาได้น้อยกว่า การสกัดสารด้วยเอทธานอล โดยวิธีการสกัดด้วยวิธีการกลั่นนั้นให้ค่าปริมาณสารสกัดต่อน้ำหนักของขิงและข่า 1 กิโลกรัมเท่ากับ 0.215 และ 0.060 g/kg ส่วนวิธีการสกัดด้วยเอทธานอลนั้นจะให้ปริมาณสารที่สกัดได้เท่ากับ 93.5 และ 96.2 g/kg จากขิงและข่าตามลำดับ ซึ่งคิดเป็นปริมาณที่มากกว่า 434 (ขิง) เท่า และ 1603 (ข่า) เท่า (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณสาร (g/kg) ที่สกัดได้จากขิงและข่าด้วยวิธีการกลั่น (hydro-distillation) และการสกัดด้วยเอทธานอล (ethanol)

วิธีการสกัด	ชนิด	ปริมาณสาร (g/kg)
การกลั่น	ขิง	0.215 ± 0.001
	ข่า	0.060 ± 0.000
เอทธานอล	ขิง	93.5 ± 4.5*
	ข่า	96.2 ± 5.7*

*ค่าที่คำนวณหลังจากผ่านการเพิ่มความเข้มข้นด้วย rotary evaporator แล้ว

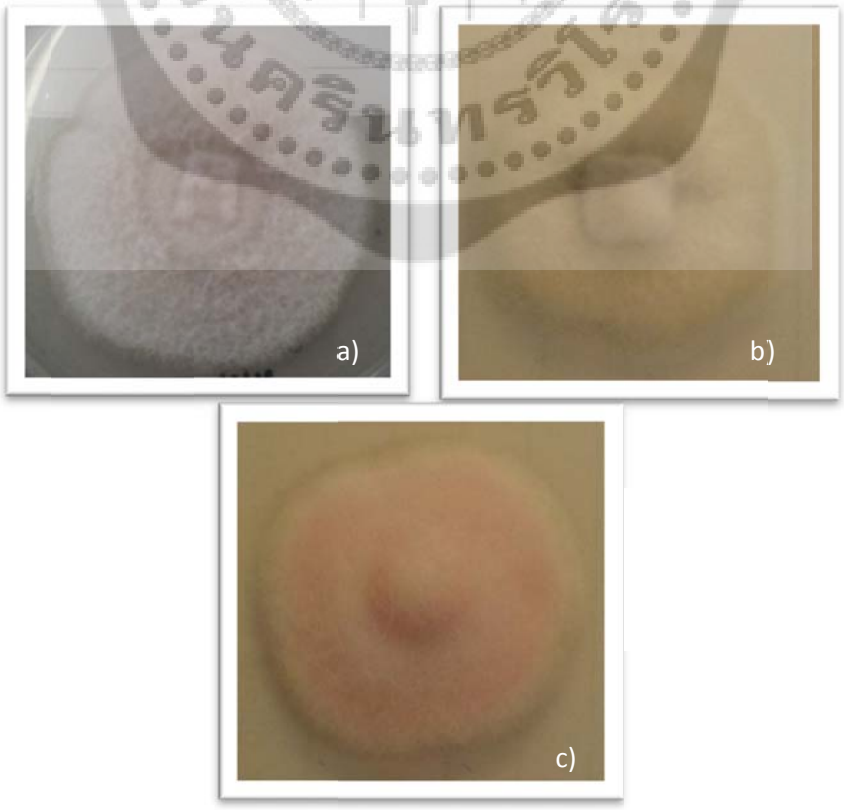
อย่างไรก็ตามหากคิดเป็นค่า yield แล้วน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากวิธีการกลั่นจะมีค่า yield อยู่ที่ 0.0215% (w/w) สำหรับขิง และ 0.0060% (w/w) สำหรับข่า ซึ่งถือได้ว่าประสิทธิภาพในการสกัดยังไม่ดี เมื่อเทียบกับการสกัดน้ำมันหอระเหยจากขิงในงานวิจัยอื่นด้วยวิธีการกลั่นทำให้ได้ค่า yield เท่ากับ 0.30 % (w/w) (Kamazeri *et al*., 2012) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความแตกต่างในกระบวนการกลั่น เช่น ระยะเวลา รวมทั้งความแตกต่างของสายพันธุ์ของขิงและข่า เช่นที่พบในงานวิจัยของ Salmon *et al*. (2012) ที่ขิงสายพันธุ์ต่างๆกันก็จะให้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยแตกต่างกันออกไปทั้งนี้มีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของกลิ่นของขิงสายพันธุ์นั้นๆ อย่างไรก็ตามปริมาณ yield ของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้ในการทดลองของ Salmon *et al*. (2012) (0.711 – 1.291% w/w) ก็ยังมีปริมาณมากกว่าที่พบในการงานวิจัยนี้

ทั้งนี้สารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีการกลั่นนี้จะมีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นส่วนที่มีคุณสมบัติในการระเหยได้และไม่มีขั้วซึ่งหรือน้ำมันหอมระเหย ซึ่งจะแยกออกจากส่วนที่เป็นน้ำในขั้นตอนของการควบแน่น

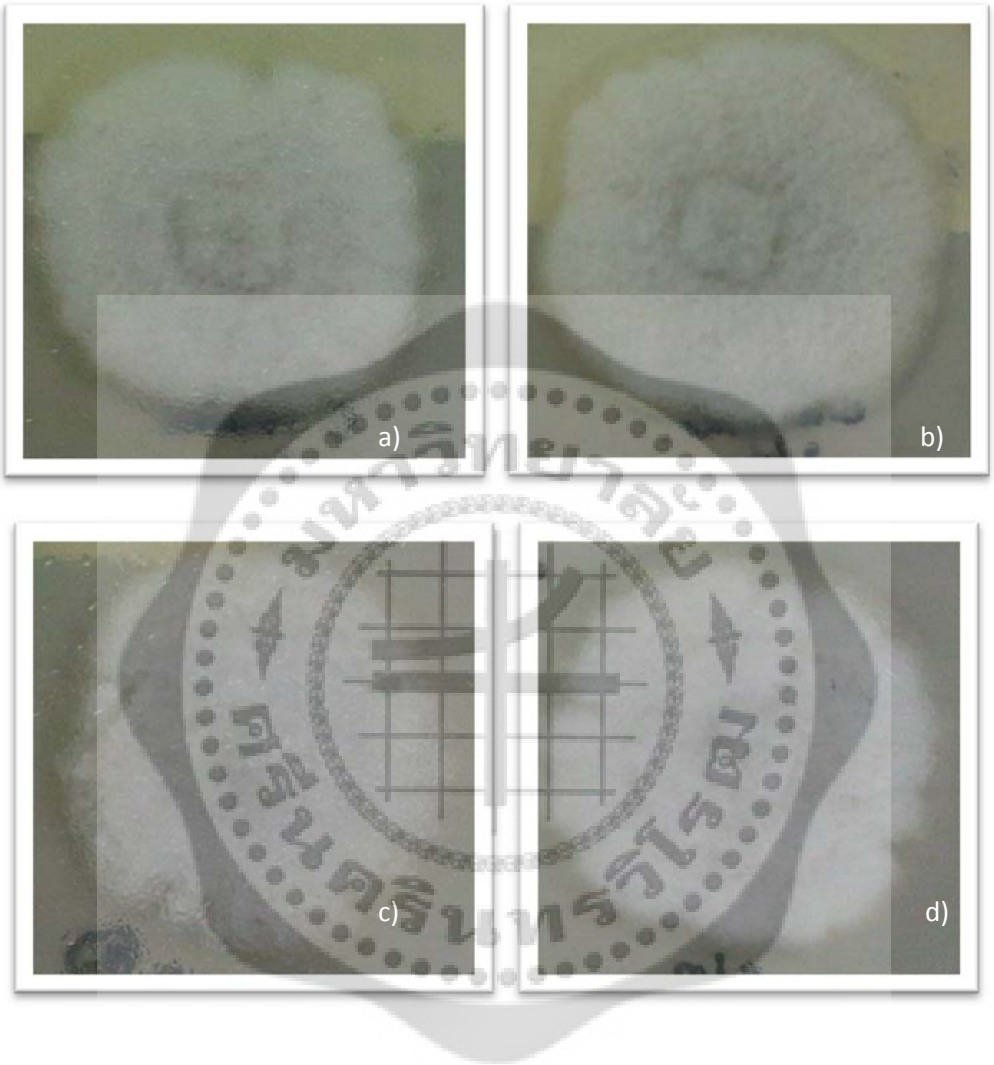
ของสารระเหยในชุดกลั่นแล้วแยกตัวจากส่วนที่เป็นน้ำในภาชนะรองรับ ซึ่งผิดกับการสกัดด้วยเอทธานอลซึ่งสารที่ถูกสกัดออกมาจะเป็นสารที่ละลายได้ดีในน้ำและเนื่องจากน้ำมันหอมระเหยบางส่วนก็สามารถละลายได้ในเอทธานอลดังนั้นในสารสกัดที่ยังไม่ผ่านการทำให้เข้มข้นขึ้นจะมีส่วนของทั้งน้ำมันหอมระเหยและสารที่ละลายได้ในน้ำอื่นๆ อย่างไรก็ดีองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากทั้ง 2 วิธีนี้จะแตกต่างกัน ดังรายงานในงานวิจัยของ Singh *et al.* (2008) อันเนื่องมากจากความแตกต่างในความสามารถของการสกัดทั้ง 2 วิธีนี้แตกต่างกัน และ หลักการในการสกัดของทั้ง 2 วิธีก็แต่ต่างกัน สำหรับสารสกัดที่สกัดด้วยเอทธานอลนั้นจำเป็นที่จะต้องถูกนำไปผ่านการทำให้เข้มข้นขึ้นด้วยเครื่อง rotary evaporator ซึ่งกระบวนการนี้น่าจะทำให้องค์ประกอบที่เป็นน้ำมันหอมระเหยนั้นลดลงหรืออาจหมดไปได้ ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราได้

4.2 การทดสอบวิธีการทดลองเพื่อใช้ทดสอบการยับยั้งเชื้อราจากขิงและข่าแบบ *in vitro* ที่สกัดด้วยวิธีการกลั่น (hydro-distillation) และ การสกัดด้วยเอทธานอล (ethanol)

เพื่อเป็นการทดสอบวิธีการทดลองเพื่อใช้ทดสอบการยับยั้งเชื้อราจากขิงและข่าแบบ *in vitro* วิธี Poisoned food bioassay ตามวิธีที่อธิบายโดย Tripathi *et al.* (2004) และ Anthony *et al.* (2004) ถูกใช้ในการทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum musae* โดยสารสกัดจากขิงและข่าจากการสกัดด้วยวิธีการกลั่นและเอทธานอลที่ไม่ผ่านการเจือจาง โดยการยับยั้งของเชื้อราถูกเปรียบเทียบจากการเจริญเติบโตของเชื้อราที่เลี้ยงใน PDA ที่ไม่ผ่านการผสมด้วยน้ำมันหอมระเหยและ Tween 80 รูปที่ 1

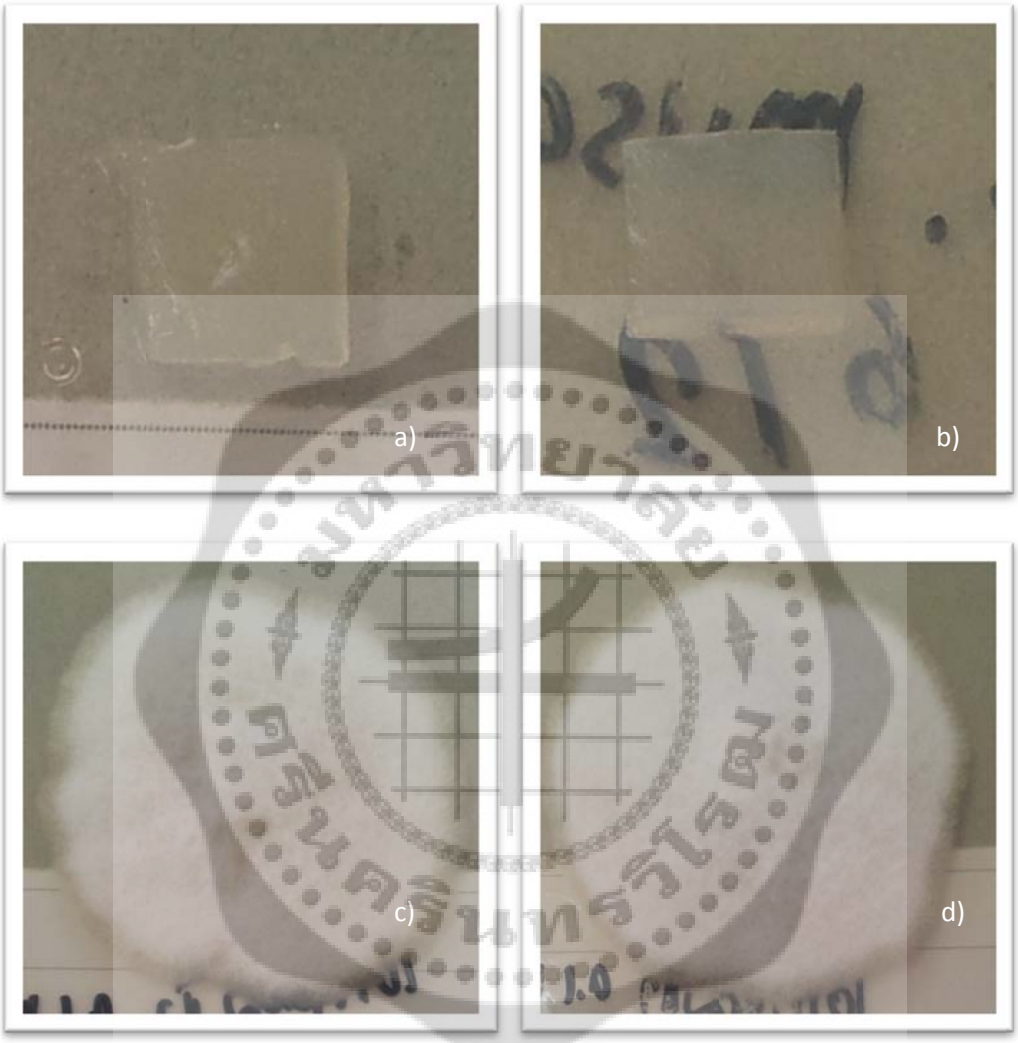


รูปที่ 1 เชื้อรา *Colletotrichum musae* (a), *Colletotrichum gloeosporioides* (b), *Fusarium moniliforme* (c) ที่เลี้ยงบน PDA เป็นเวลา 7 วัน ที่ อุณหภูมิห้อง

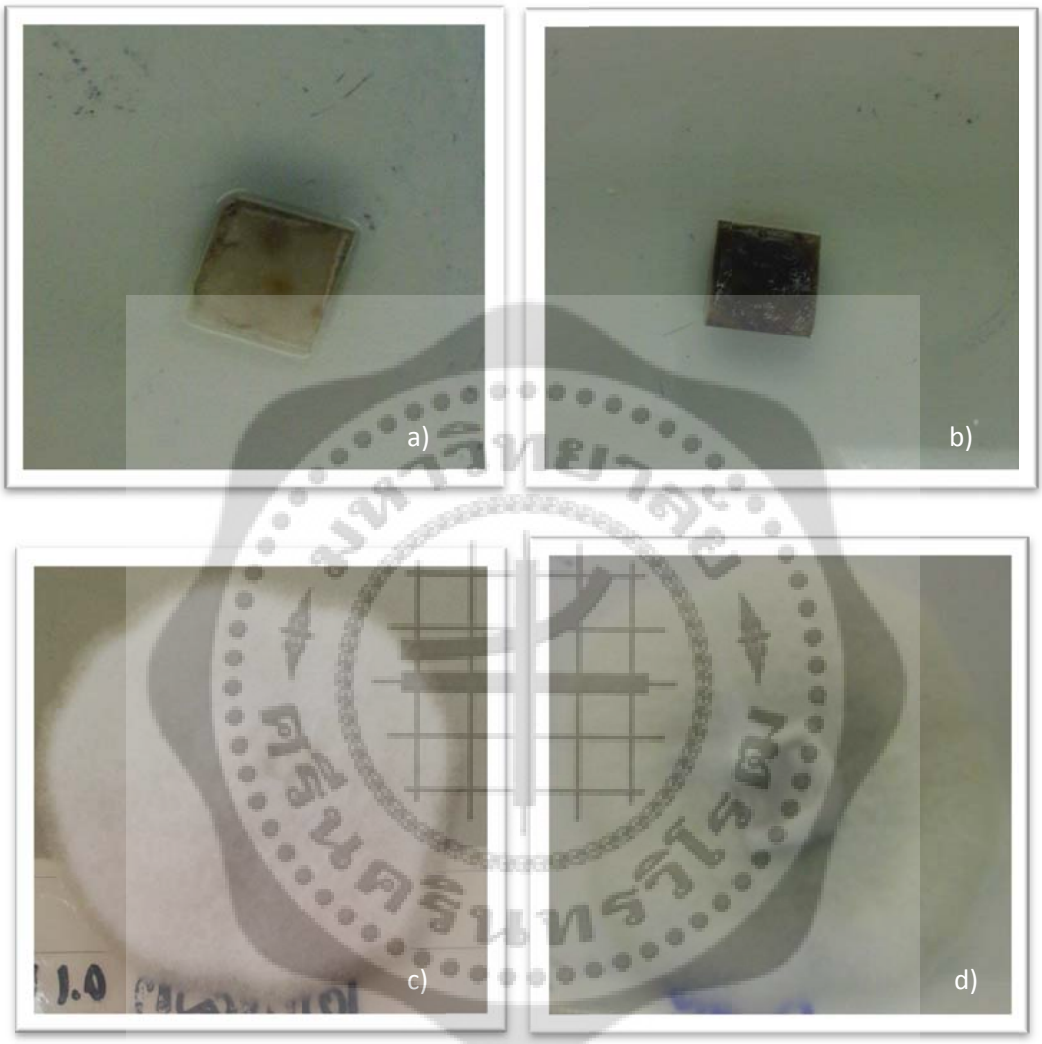


รูปที่ 2 การทดสอบวิธีการทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *C. musae* จากสารสกัดของขิงและข่าแบบ *in vitro* ที่สกัดด้วยวิธีการกลั่น (hydro-distillation) และ การสกัดด้วยเอทธานอล (ethanol) และผสม Tween 80 a) สารสกัดจากขิงด้วยวิธีการกลั่น, b) สารสกัดจากข่าด้วยวิธีการกลั่น, c) สารสกัดจากขิงด้วยวิธีการสกัดด้วยเอทธานอล, d) สารสกัดจากข่าด้วยวิธีการสกัดด้วยเอทธานอล

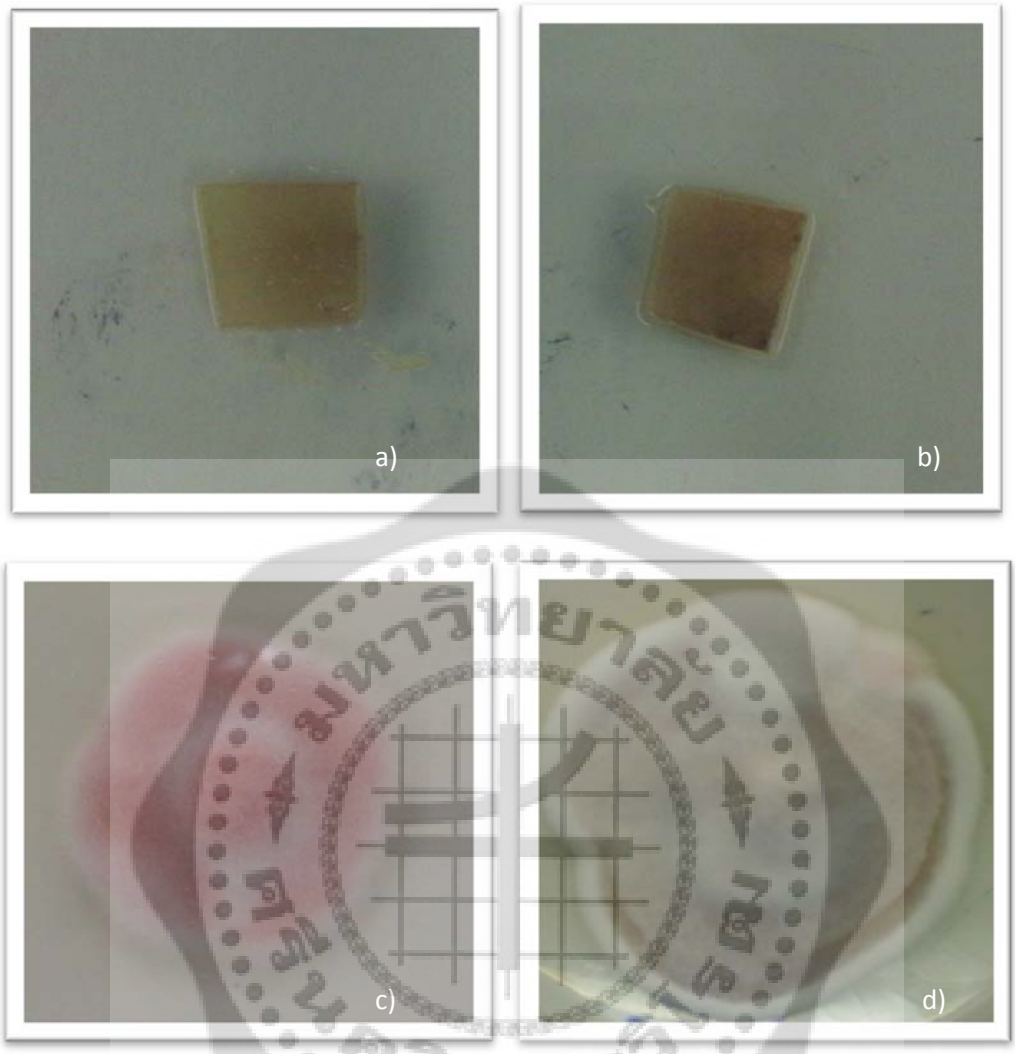
เมื่อเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างควบคุม (รูปที่ 1a) และตัวอย่างที่ผสมสารสกัดจากขิงและข่า (รูปที่ 2) จะเห็นได้ว่าสารสกัดจากทั้งขิงและข่าและทั้งที่สกัดด้วยวิธีการกลั่นและการสกัดด้วยเอทธานอล จะพบว่าสารสกัดที่ใช้ไม่สามารถยับยั้งเชื้อรา *C. musae* ได้แม้ว่าสารสกัดที่ใช้จะไม่ผ่านการเจือจางก็ตาม ซึ่งผลการทดลองที่ได้นี้อาจเนื่องมาจากความเข้มข้นของสารสกัดที่น้อยเกินไปหรืออาจจะเนื่องมาจากผลของสารอิมัลซิไฟเออร์ที่ใช้ (Tween 80) ดังนั้นเพื่อเป็นการทดสอบว่าผลการทดลองที่ได้นั้นเนื่องมาจากผลของ Tween 80 หรือไม่ สารสกัด (0.1 mL) ที่ไม่ผสม Tween 80 ถูกกระจายบนผิวหน้าด้วย spreader ทั้งนี้เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้ไม่ละลายในวุ้น นอกจากนี้ในการทดสอบ แบบ *in vivo* บนชิ้นเนื้อเยื่อของขั้วกล้วย สารสกัดก็จะถูกกระจายอยู่บนผิวหน้าเท่านั้น จึงเป็นการสมควรที่จะกระจายสารสกัดลงบนผิวหน้าของวุ้น



รูปที่ 3 การทดสอบวิธีการทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum musae* จากสารสกัดของขิงและข่าแบบ *in vitro* ที่สกัดด้วยวิธีการกลั่น (hydro-distillation) และ การสกัดด้วยเอทธานอล (ethanol) โดยการกระจายบนผิวหน้า PDA และไม่ผสม Tween 80 a) สารสกัดจากขิงด้วยวิธีการกลั่น, b) สารสกัดจากข่าด้วยวิธีการกลั่น, c) สารสกัดจากขิงด้วยวิธีการสกัดด้วยเอทธานอล, d) สารสกัดจากข่าด้วยวิธีการสกัดด้วยเอทธานอล



รูปที่ 4 การทดสอบวิธีการทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* จากสารสกัดของขิงและข่าแบบ *in vitro* ที่สกัดด้วยวิธีการกลั่น (hydro-distillation) และ การสกัดด้วยเอทธานอล (ethanol) โดยการกระจายบนผิวหน้า PDA และไม่ผสม Tween 80 a) สารสกัดจากขิงด้วยวิธีการกลั่น, b) สารสกัดจากข่าด้วยวิธีการกลั่น, c) สารสกัดจากขิงด้วยวิธีการสกัดด้วยเอทธานอล, d) สารสกัดจากข่าด้วยวิธีการสกัดด้วยเอทธานอล



รูปที่ 5 การทดสอบวิธีการทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium moniliforme* จากสารสกัดของขิงและข่าแบบ *in vitro* ที่สกัดด้วยวิธีการกลั่น (hydro-distillation) และ การสกัดด้วยเอทธานอล (ethanol) โดยการกระจายบนผิวหน้า PDA และไม่ผสม Tween 80 a) สารสกัดจากขิงด้วยวิธีการกลั่น, b) สารสกัดจากข่าด้วยวิธีการกลั่น, c) สารสกัดจากขิงด้วยวิธีการสกัดด้วยเอทธานอล, d) สารสกัดจากข่าด้วยวิธีการสกัดด้วยเอทธานอล

จากผลการทดลอง (รูปที่ 2-5) จะเห็ได้ว่า การผสม Tween 80 มีผลต่อฤทธิ์การยับยั้งเชื้อราทั้ง 3 ชนิดของสารสกัดด้วยวิธีการสกัดด้วยการกลั่น (น้ำมันหอมระเหย) จากทั้งขิงและข่า ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากน้ำมันหอมระเหยมีคุณสมบัติไม่มีขั้ว และ Tween 80 มีคุณสมบัติเป็นอิมัลซิไฟเออร์ ซึ่งหากอัตราส่วนของ Tween 80 และ น้ำมันหอมระเหยไม่สมดุลแล้ว Tween 80 ที่มีสัดส่วนมากกว่าน่าจะสร้างเปลือกห่อหุ้มเม็ดไขมันของน้ำมันหอมระเหยทำให้ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราลดลงไปได้

นอกจากนี้ผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าน้ำมันหอมระเหยที่ยับยั้งเชื้อรานั้นน่าจะอยู่ในรูปของไอน้ำมันหอมระเหยเนื่องจากเส้นใยของเชื้อราไม่ได้สัมผัสกับน้ำมันหอมระเหยโดยตรง แต่เส้นใยของเชื้อรากลับสลายไปจากก้อนชิ้นวุ้น ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ว่าน้ำมันหอมระเหยที่ถูกกระจายบนผิวหน้าของวุ้นระเหยกลายเป็นไอแล้วไปมีผลต่อเส้นใยของเชื้อรา สอดคล้องกับซึ่งงานวิจัยของ Inouye *et al*.(2006a) แสดงภาพที่ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของเชื้อรา *Trichophyton mentagrophytes* ที่ถูกยับยั้งการเจริญเติบโตด้วยไอของน้ำมันหอมระเหยให้ผลคลายคลึงกับที่พบในการศึกษานี้ คือเส้นใยของเชื้อราเกิดการย่อยสลาย(เกิดการแตกที่ผิวของเส้นใย) ซึ่งการย่อยสลายนั้นเกิดขึ้นตามระยะเวลาของการสัมผัสของไอน้ำมันหอมระเหยกับเส้นใยของเชื้อรา งานวิจัยของ Inouye *et al.* (2006b) ที่ทดสอบไอของน้ำมันหอมระเหย 72 ชนิดต่อการยับยั้งเชื้อรา *T. mentagrophytes* ที่ก่อโรคผิวหนังในคนได้ที่ความเข้มข้นต่างๆกันขึ้นกับชนิดของสารประกอบของน้ำมันหอมระเหย นอกจากนี้ Lopez *et al.* (2005) ได้ทดลองฤทธิ์การยับยั้งเชื้อเราและแบคทีเรียด้วยไอน้ำมันหอมระเหยจากอบเชย (*Cinnamon zeylanicum*) กานพลู (*Syzygium aromaticum*) และพบว่าไอของน้ำมันหอมระเหยสามารถยับยั้งเชื้อราได้ดีกว่าแบคทีเรีย ดังนั้นผลของการยับยั้งเชื้อราด้วยสารสกัดจากการกลั่น (น้ำมันหอมระเหย) จึงน่าจะเนื่องมาจากฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยจากขิงและข่า อย่างไรก็ตามสารสกัดที่สกัดด้วยเอทธานอลไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา

ดังนั้นวิธีการ spreading นี้จึงถูกใช้ในการศึกษาหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดที่สกัดด้วยการกลั่นเพียงอย่างเดียวที่สามารถยับยั้งเชื้อราทั้ง 3 ชนิดแบบ *in vitro* ในขั้นต่อไป

4.3 การหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดด้วยการกลั่น (hydro-distillation) ที่สามารถยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum musae*, *Fusarium moniliforme* แบบ *in vitro*

ตารางที่ 2 การทดสอบหาความเข้มข้นของสารสกัดจากขิงและข่าที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโต (% inhibition) ของเชื้อราก่อโรคขั้วหวีเน่าโดยทำการทดสอบบน PDA เป็นเวลา 7 วันที่อุณหภูมิห้อง (*in vitro*)

สมุนไพร	ความเจือจาง[1] (เท่า)	% inhibition[2]		
		C. gloeosporiodes	*C. musae*	*F. moniliforme*
ขิง	1	100.0^{a} ± 0.0	100.0^{a} ± 0.0	100.0^{a} ± 0.0
	2	100.0^{a} ± 0.0	100.0^{a} ± 0.0	100.0^{a} ± 0.0
	4	100.0^{a} ± 0.0	100.0^{a} ± 0.0	100.0^{a} ± 0.0
	6	72.7^{bc} ± 0.8	36.0^{c} ± 11.5	89.9^{a} ± 6.0
	8	67.6^{bc} ± 5.4	35.0^{c} ± 9.6	94.3^{a} ± 0.7
	10	65.4^{bc} ± 6.3	4.0^{d} ± 0.8	64.9^{b} ± 1.8
ข่า	1	100.0^{a} ± 0.0	100.0^{a} ± 0.0	100.0^{a} ± 0.0
	2	100.0^{a} ± 0.0	80.0^{b} ± 4.1	96.4^{a} ± 1.9
	4	83.0^{ab} ± 0.5	0.0^{d} ± 0.0	44.8^{c} ± 4.2
	6	83.0^{ab} ± 0.5	0.0^{d} ± 0.0	38.0^{c} ± 1.3
	8	53.8^{c} ± 14.3	0.0^{d} ± 0.0	23.6^{d} ± 0.4
	10	23.0^{d} ± 0.0	0.0^{d} ± 0.0	21.7^{d} ± 6.9

[1] เจือจางน้ำมันหอมระเหยโดยใช้น้ำมันพืช (น้ำมันพืชไม่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราทั้ง 3 ชนิด)
[2] ค่าเฉลี่ยในแถวเดียวกันที่มีตัวอัก superscript ต่างกันแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ $p<0.05$

จากตารางที่ 2 แสดงให้เห็นถึงความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้โดยทำการทดลองบน PDA (*in vitro*) และบันทึกผลการทดลองเป็นรูปถ่าย (แสดงไว้ในส่วนของภาคผนวก) จากนั้นทำการเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้ใช้สารสกัดจากขิงและข่าแล้วจึงนำมาคำนวณเป็นค่า %inhibition จะเห็นได้ว่าน้ำมันหอมระเหยจากขิงสามารถยับยั้งเชื้อราโดยเฉพาะ *Colletotrichum musae* ซึ่งเป็นเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคขั้วหวีเน่าได้ดีกว่าน้ำมันหอมระเหยจากข่า โดยสารสกัดจากขิงสามารถยับยั้งเชื้อ *C. musae*, *C. gloeosporioides*, *F. moniliforme* ได้ 100% ที่ความเจือจางสูงสุด 4 เท่า ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันหอมระเหยจากข่าแล้ว น้ำมันหอมระเหยจากข่าจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราทั้ง 3 ชนิดต่ำกว่าน้ำมันหอมระเหยจากขิง โดยที่มรเพียงน้ำมันหอมระเหยจากข่าที่เจือจาง 1 เท่าเท่านั้นที่สามารถยับยั้งเชื้อราทั้ง 3 ชนิดได้ 100% และหากเปรียบเทียบความทนทานของเชื้อราทั้ง 3 ชนิดจะเห็นได้ว่าเชื้อ C. musae มีความทนทานต่อน้ำมันหอมระเหยทั้งจากขิงและข่ามากกว่าเชื้อราชนิดอื่น (ให้ค่า % inhibition น้อย) ซึ่งผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าชนิดของน้ำมันหอมระเหยและความเข้มข้นมีผลต่อการยับยั้งเชื้อรา

ซึ่งผลการทดลองที่ได้อาจเป็นผลมาจากการเพิ่มอัตราส่วนของน้ำมันพืชที่ใช้ในการเจือจางให้สูงขึ้น ส่งผลให้ฤทธิ์ของสารสำคัญทั้งในขิงเช่น (6)-,(8)-,(10)-gingerols และข่า เช่น 1,8-cineole 17.9% β-bisabolene 13.9% β-sesquiphellandrene 6.8% และ β-elemene 4.0%. (Ibrahim *et al*., 2009) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราลดลงซึ่งเป็นไปตามงานวิจัยของ Singh *et al.* (2008) ที่กล่าวว่า น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากขิง *Zingiber officinale* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *F. moniliforme* ซึ่งเป็นเชื้อราก่อโรคพืชได้ 100% (โดยใช้ในความเข้มข้นที่สูง)

4.4 การทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides, Colletotrichum musae, Fusarium moniliforme* ด้วยสารสกัดจากขิงและข่าที่สกัดด้วยวิธีกลั่น (hydro-distillation) แบบ *in vivo*

ตารางที่ 3 แสดงผลการทดลองการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides, Colletotrichum musae, Fusarium moniliforme* ด้วยสารสกัดจากขิงและข่าที่สกัดด้วยวิธีกลั่น (hydro-distillation) แบบ *in vivo* ซึ่งสารสกัดจากขิง (น้ำมันหอมระเหย) นั้นสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราทั้ง 3 ชนิดได้เป็นอย่างดีโดยสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้แม้จะทำการเจือจาง 10 เท่า ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการจุ่มชิ้นเนื้อเยื่อของขั้วกล้วยกล้วยลงในสารสกัดทำให้มีปริมาณสารสกัดติดอยู่กับขั้วกล้วยมากกว่าในแบบ spreading เช่นที่ใช้ในการทดสอบแบบ *in vitro* สำหรับสารสกัดจากข่านั้นมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อราทั้ง 3 ชนิดต่ำกว่าสารสกัดจากขิง ซึ่งผลที่ได้นี้ก็สอดคล้องกับการทดลองแบบ *in vitro* ดังได้กล่าวมาแล้วข้างต้น สำหรับสารสกัดจากข่านั้นไม่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *C. musae* แต่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. gloeosporioides* กับ *F. moniliforme* ได้จนถึงความเจือจางที่ 4 เท่า

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าการทดสอบแบบ *in vivo* นั้นให้ผลที่ดีกว่าแบบ *in vitro* ทั้งนี้น่าจะเนื่องมาจากปริมาณของน้ำมันหอมระเหยที่ติดอยู่ที่ผิวหน้าของชิ้นเนื้อเยื่อขั้วกล้วยมีมากกว่าแบบบนขานอาหารเลี้ยงเชื้อ

ตารางที่ 3 การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides, Colletotrichum musae, Fusarium moniliforme* ด้วยสารสกัดจากขิงและข่าที่สกัดด้วยวิธีกลั่น (hydro-distillation) แบบ *in vivo* เป็นเวลา 7 วันที่อุณหภูมิห้อง

สารสกัด	ความเจือจาง	การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา		
	(เท่า)	*C. gloeosporioides*	*C. musae*	*F. moniliforme*
ขิง	2	ยับยั้ง	ยับยั้ง	ยับยั้ง
	4	ยับยั้ง	ยับยั้ง	ยับยั้ง

สารสกัด	ความเจือจาง (เท่า)	การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา		
		C. gloeosporioides	*C. musae*	*F. moniliforme*
	6	ยับยั้ง	ยับยั้ง	ยับยั้ง
	8	ยับยั้ง	ยับยั้ง	ยับยั้ง
	10	ยับยั้ง	ยับยั้ง	ยับยั้ง
ข่า	2	ยับยั้ง	ไม่ยับยั้ง	ยับยั้ง
	4	ยับยั้ง	ไม่ยับยั้ง	ยับยั้ง
	6	ไม่ยับยั้ง	ไม่ยับยั้ง	ไม่ยับยั้ง
	8	ไม่ยับยั้ง	ไม่ยับยั้ง	ไม่ยับยั้ง
	10	ไม่ยับยั้ง	ไม่ยับยั้ง	ไม่ยับยั้ง

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง และ ข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากขั้นตอนการเตรียมสารสกัดขิงและข่าด้วยวิธีการสกัดด้วยการกลั่น (Hydro-distillstion) และเอทธานอล (ethanol) พบว่าสารสกัดขิงและข่าที่สกัดด้วยการกลั่น (Hydro-distillstion) มีค่าปริมารสารเท่ากับ 0.215 ± 0.001 g/1kg และ 0.060 ± 0.000 g/1kg ตามลำดับ และ สารสกัดขิงและข่าที่สกัดด้วยเอทธานอล (ethanol) มีค่าเท่ากับ 93.5 ± 4.5 g/1kg และ 96.2 ± 5.7 g/1kg ตามลำดับ ถึงแม้ว่าสารสกัดจากขิงและข่าที่สกัดด้วยการกลั่น (Hydro-distillation) ได้ปริมาณสารสกัดน้อยกว่าการสกัดที่ใช้ Ethanol แต่สารสกัดที่ได้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราได้ดีกว่าสารสกัดจากขิงและข่าที่สกัดด้วยเอทธานอล และวิธีการประเมินการประเมินการยับยั้งเชื้อรา วิธีการทดลองที่เหมาะสมคือวิธีที่ไม่ผสมด้วย 0.1% ของ Tween 80 และจากการศึกษาผลของสารสกัดจากขิงและข่าที่ถูกสกัดด้วยวิธีการกลั่น (Hydro-distillation) และการใช้เอทธานอล (ethanol) ต่อความสามารถในการยับยั้งเชื้อราที่ก่อโรคขั้วหวีเน่าในจานเพาะเชื้อ พบว่าสารสกัดจากขิงและข่าที่สกัดด้วยการกลั่น (Hydro-distillation) เหมาะสมในการใช้ยับยั้งเชื้อราก่อโรคขั้วหวีเน่าในจานเพาะเชื้อ ซึ่งสารสกัดจากขิงและข่าที่ได้จะมีลักษณะเป็นน้ำมันหอมระเหยที่สามารถระเหยได้ง่ายในอุณหภูมิห้องจึงสามารถยับยั้ง หรือ สามารถทำให้เส้นใยของเชื้อรา *C. gloeosporiodes*, *C. musae*, *F. moniliforme* ที่เจริญอยู่บนชิ้นอาหารเลี้ยงเชื้อหายไปได้ โดยที่เชื้อราก่อโรคขั้วหวีเน่าไม่ต้องสัมผัสกับสารสกัดจากขิงและข่าโดยตรง และการทดสอบความเข้มข้นของสารสกัดที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราก่อโรคขั้วหวีเน่าโดยทำการทดสอบบน PDA พบว่า สารสกัดจากขิงที่สามายับยั้งเชื้อราก่อโรคขั้วหวีเน่า *C. gloeosporiodes*, *C. musae*, *F. moniliforme* สามารถเจือจางได้มากที่สุด 4 เท่า และสารสกัดจากข่าที่สามายับยั้งเชื้อราก่อโรคขั้วหวีเน่า *C. gloeosporiodes*, *C. musae*, *F. moniliforme* สามารถเจือจางได้มากที่สุดถึง 1 เท่า ยกเว้นเชื้อ *C. gloeosporiodes* ที่สามารถเจือจางสารสกัดได้จนถึง 2 เท่า และการทดสอบความเข้มข้นของสารสกัดที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราก่อโรคขั้วหวีเน่าโดยทำการทดสอบบนขั้วหวีกล้วยหอม พบว่า สารสกัดจากขิงสามายับยั้งเชื้อราก่อโรคขั้วหวีเน่าทั้ง 3 ชนิดได้แม้จะเจือจางจนถึง 10 เท่า และสารสกัดจากข่าที่สามายับยั้งเชื้อราก่อโรคขั้วหวีเน่า *C. gloeosporiodes* และ *F. moniliforme* สามารถเจือจางได้มากที่สุดถึง 4 เท่า ในขณะที่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อรา *C. musae* ได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาทดลองในครั้งนี้พบว่าน้ำมันหอมระเหยของขิงและข่าที่ความเข้มข้นสูงจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราได้ดี แต่ฤทธิ์ของสารยับยั้งเชื้อราในน้ำมันหอมระเหยสามารถระเหยได้ง่ายในสภาวะเปิด เช่นที่โล่งแจ้งจะทำให้ฤทธิ์ของสารยับยั้งเชื้อราในน้ำมันหอมมีความเข้มข้นลดลง จึงต้องใช้

น้ำมันหอมระเหยในสภาวะปิดหรือที่ๆอากาศถ่ายเทได้ไม่สะดวกเช่น กล่องปิดสนิท จึงเหมาะแก่การใช้ยับยั้งเชื้อราบนขั้วกล้วยหอมที่บรรจุกล่องปิดสนิทซึ่งเป็นสินค้าส่งออกสำคัญของไทย

บรรณานุกรม

"Benomyl Red Fact." Retrieved 8 December, 2010, from http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDs/factsheets/benomyl_fs.htm.

"Imazalil Red Fact." Retrieved 8 December, 2010, from http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDs/factsheets/2325fact.pdf.

ข้อมูลพื้นฐานเศรษฐกิจการเกษตร ปี 2552, สำนักงานสถิติการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

Ali, B. H., G. Blunden, et al. (2008). "Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): A review of recent research." Food and Chemical Toxicology 46.

Anthony, S., K. Abeywickrama, et al. (2004). "Fungal pathogens associated with banana fruit in Sri Lanka, and their treatment with essential oils." Mycopathologia 157: 91-97.

de los Santos Garcia de Paredes, B. and Romero Munoz, F. (2002). "Effect of different dungicides in the control of Colletotrichum acutatum, casual agent of anthracnose crown rot in strawberry plants." Crop Protection 21: 11-15.

Ibrahim, H., A. N. Aziz, et al. (2009). "Essential oils of *Alpinia conchigera* Griff. and their antimicrobial activities." Food Chemistry 113: 575-577.

Inouye, S., Y. Nishiyama, et al. (2006a). "The vapor activity of oregano, perilla, tea tree, lavender, clove, and geranium oils against a *Trichophyton mentagrophytes* in a closed box." Journal of Infection and Chemotherapy 12: 349-354.

Inouye, S., K. Ushida, et al. (2006b). "Vapor activity of 72 essential oils against a *Trichophyton mentagrophytes.*" Journal of Infection and Chemotherapy 12: 210-216.

Kamazeri, T. S. A. T., O. A. Samah et al. (2012). "Antimicrobial activity and essential oils of *Curcuma aeruginosa*, *Curcuma mangga*, and *Zingiber cassumunar* from Malaysia." Asian Pacific Journal of Tropical Medicine 202-209.

Khattak, S., S. Rehman, et al. (2005). "Biological effects of indigenous medicinal plants *Curcuma longa* and *Alpinia galanga*." Fitoterapia 76: 254-257.

Krauss, U. and A. Johanson (2000). "Recent advances in the control of crown rot of banana in the Windward Islands." Crop protection 19: 151-160.

Kumar, A., R. Shukla, et al. (2010). "Chemical composition, antifungal and antiaflatoxigenic activities of *Ocimum sanctum* L. essential oil and its safety assessment as plant based antimicrobial." Food and Chemical Toxicology 48: 539-543.

Lopez, P., C. Sanchez, et al. (2005). "Solid- and Vapor-Phase Antimicrobial Activities of Six Essential Oils: Susceptibility of Selected Foodborne Bacterial and Fungal Strains." Journal of Agricultural and Food Chemistry 53: 6939-6946.

Nguefack, J., V. Leth, et al. (2004). "Evaluation of five essential oils from aromatic plants of Cameroon for controlling food spoilage and mycotoxin producing fungi." International Journal of Food Microbiology 94: 329-334.

Salmon, C. N. A., Y. A. Bailey-Shaw, et al. (2012). "Characterisation of cultivars of Jamaican ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) by HPTLC and HPLC." Food Chemistry 131: 1517–1522.

Sabulal, B., M. Dan, et al. (2006). "Caryophyllene-rich rhizome oil of *Zingiber nimmonii* from South India: Chemical characterization and antimicrobial activity." Phytochemistry 67: 2469-2473.

Singh, G., L. P. S. Kapoor, et al. (2008). "Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of *Zingiber officinale*." Food and Chemical Toxicology 46: 3295-3302.

Srivastava, B., P. Singh, et al. (2008). "A novel combination of the essential oils of *Cinnamomum camphora* and *Alpinia galanga* in checking aflatoxin B_1 production by a toxigenic strain of *Aspergillus flavus*." World Journal of Microbiology and Biotechnology 24: 693-697.

Tagoe, D. N. A., H. D. Nyarko, et al. (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*." Research Journal of Medicinal Plant 5(3): 281-287.

Trakranrungsie, N., A. Chatchawanchonteera, et al. (2008). "Ethnoveterinary study for antidermatophytic activity of *Piper betle*, *Alpinia galanga* and *Allium ascalonicum* extracts *in vitro*." Research in Veternary Science 84: 80-84.

Tripathi, P., N. K. Dubey, et al. (2004). "Evaluation of some essential oils as botanical fungitixicants in management of post-harvest rotting of citrus fruits." World Journal of Microbiology and Biotechnology 20: 317-321.

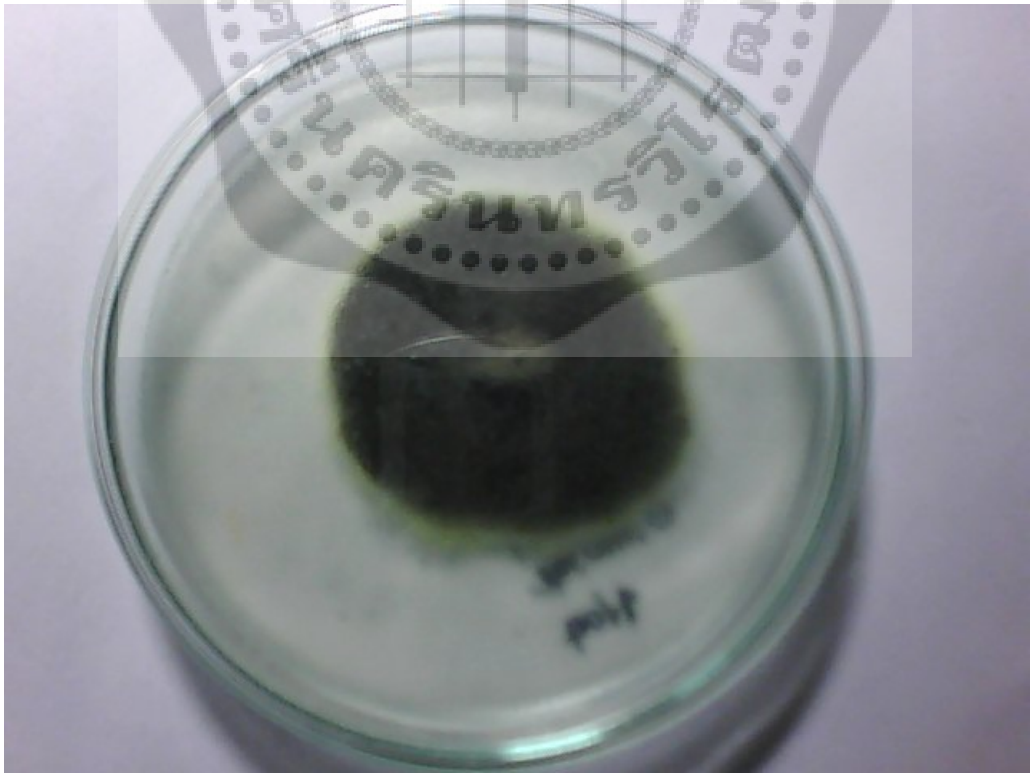
Utrakool, S., S. Photchanachai, et al. (2009). "Efficacy of crude extracted of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and lemon grass (*Cymbopogom citratus* L.) on the growth of *Aspergillus niger* in corn *and Alternaria brassicicola* in chinese mustard." Agricultural Science Journal 40(3): 313-316.

Zhang, J. D., Z. Xu, et al. (2006). "Antifungal activities and action mechanisms of compounds from *Tribulus terrestris* L." Journal of Ethnopharmacology 103: 76-84.

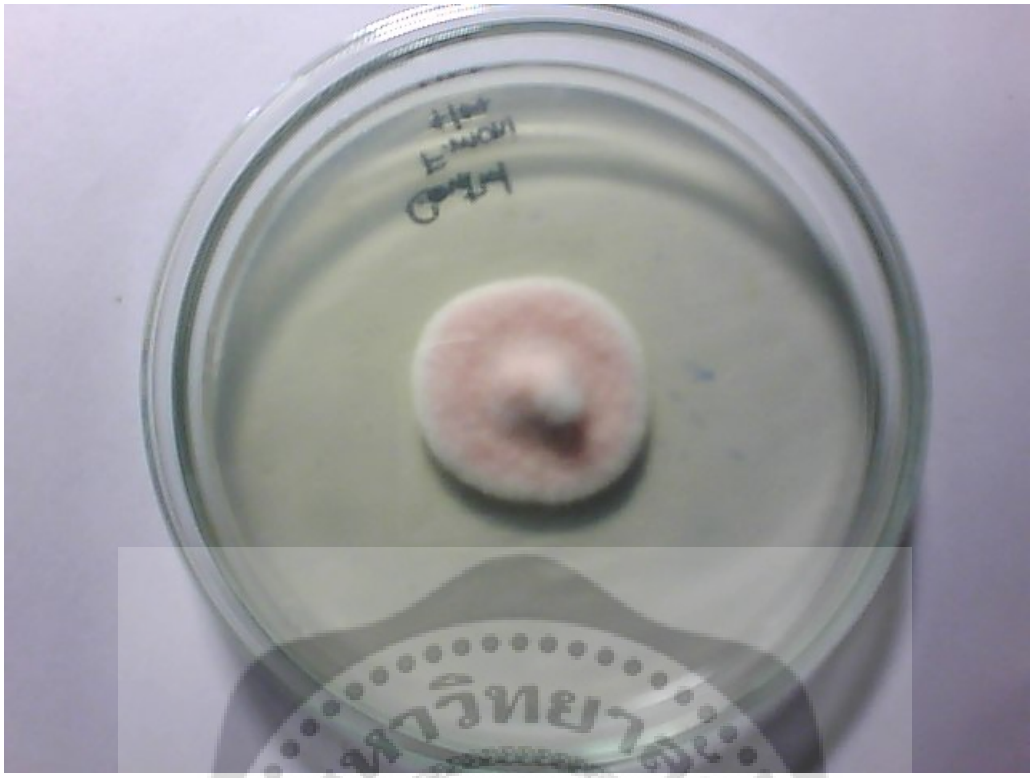
ภาคผนวก

ภาพประกอบข้อมูลการผลทดลอง

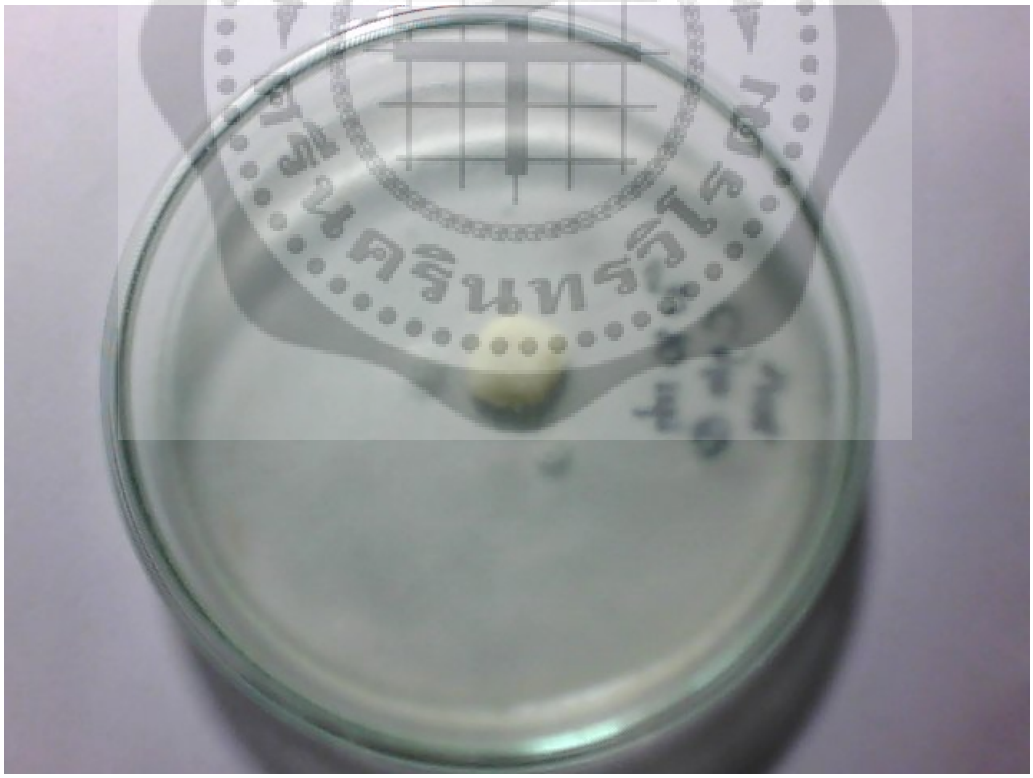
รูปที่ 1 การทดสอบบน PDA ตัวอย่างควบคุม เชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7



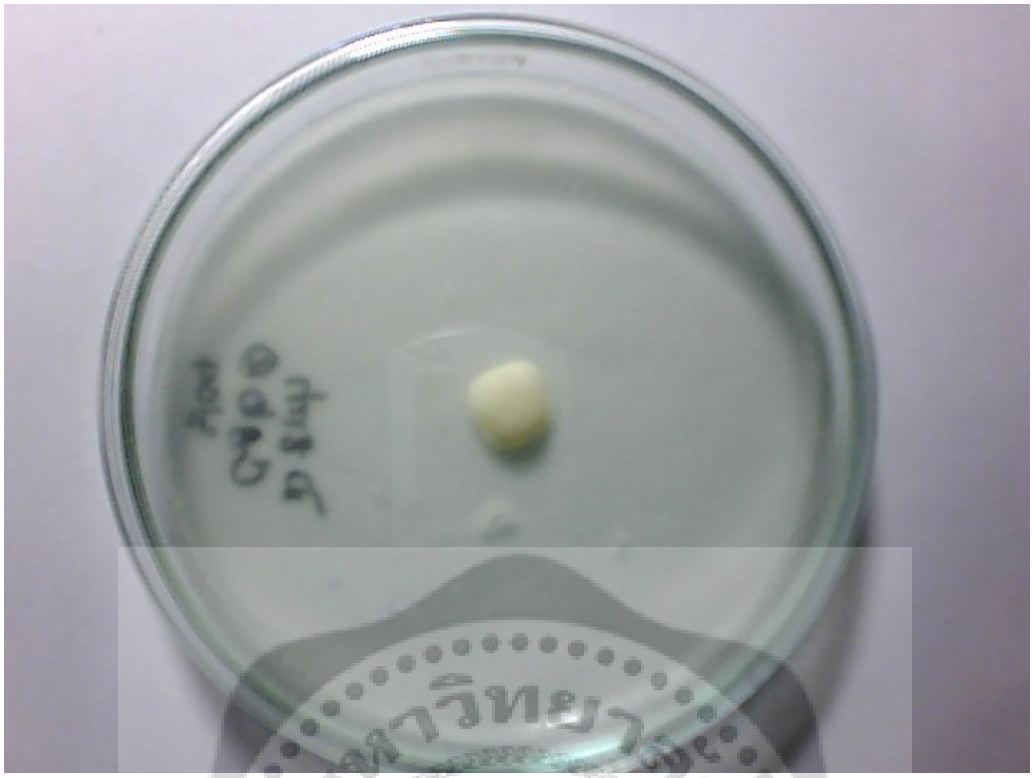
รูปที่ 2 การทดสอบบน PDA ตัวอย่างควบคุม เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7



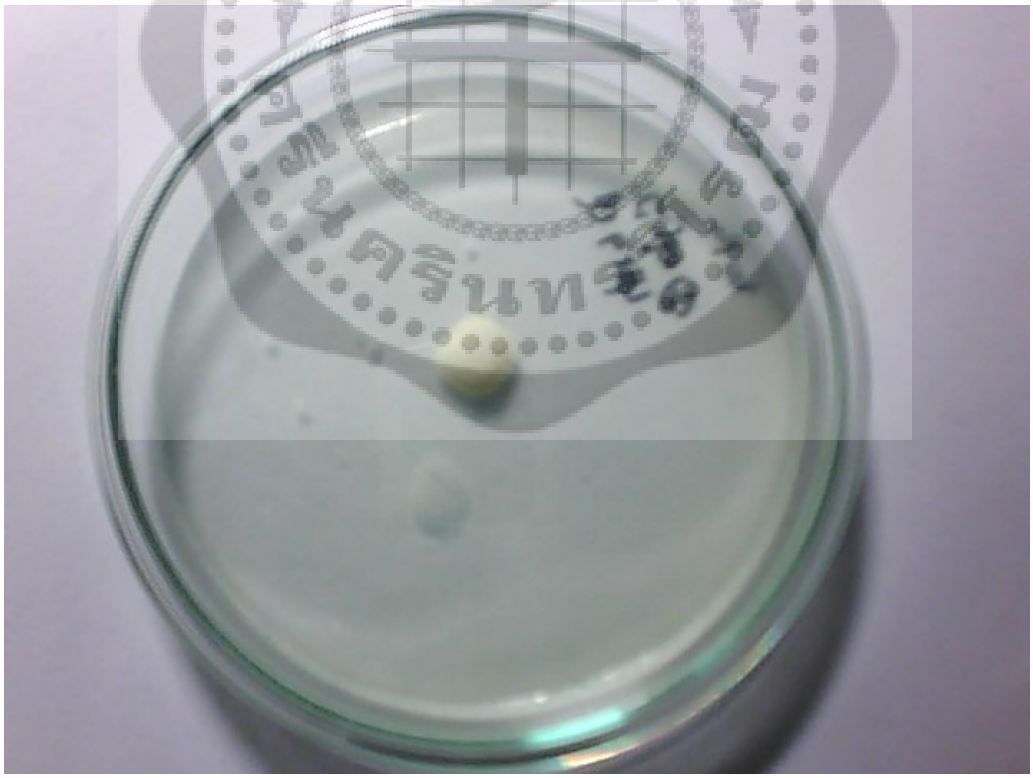
รูปที่ 3 การทดสอบบน PDA ตัวอย่างควบคุม เชื้อรา *F. moniliforme* วันที่ 7



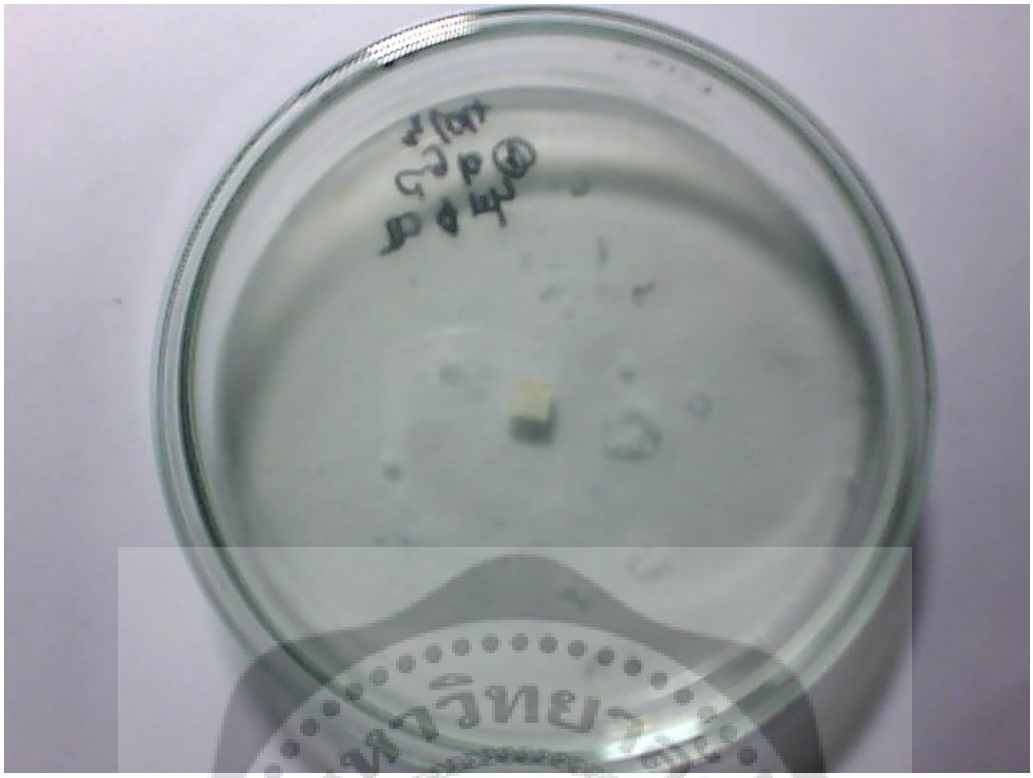
รูปที่ 4 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 10 เท่า เชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7



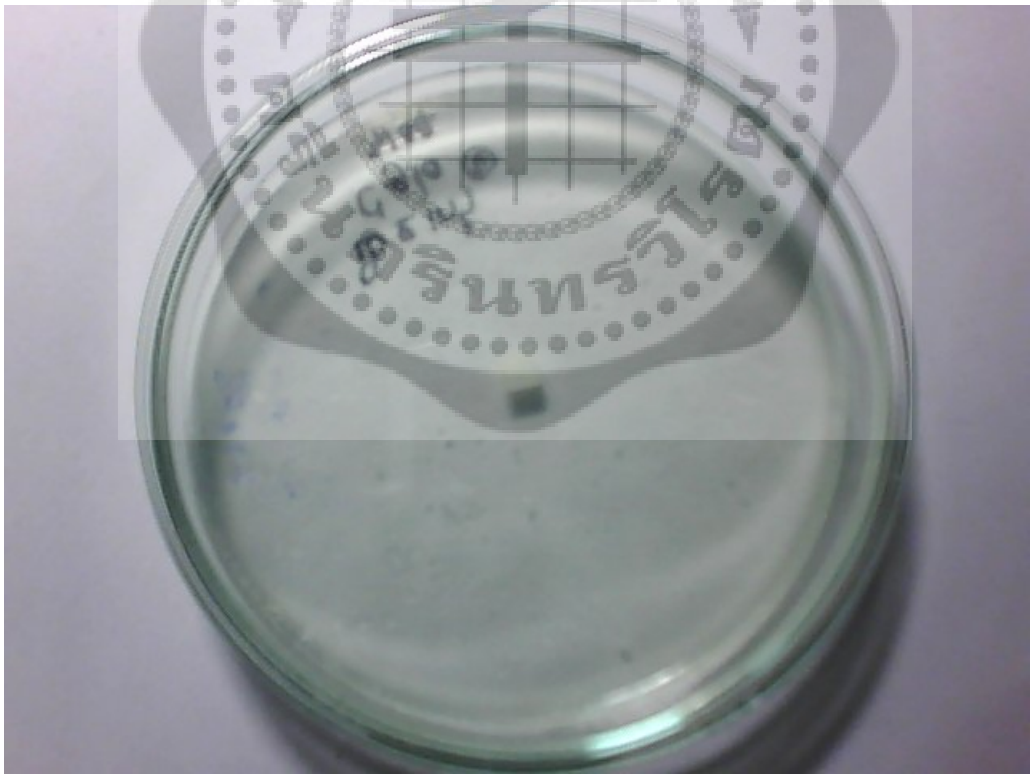
รูปที่ 5 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 8 เท่า เชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7



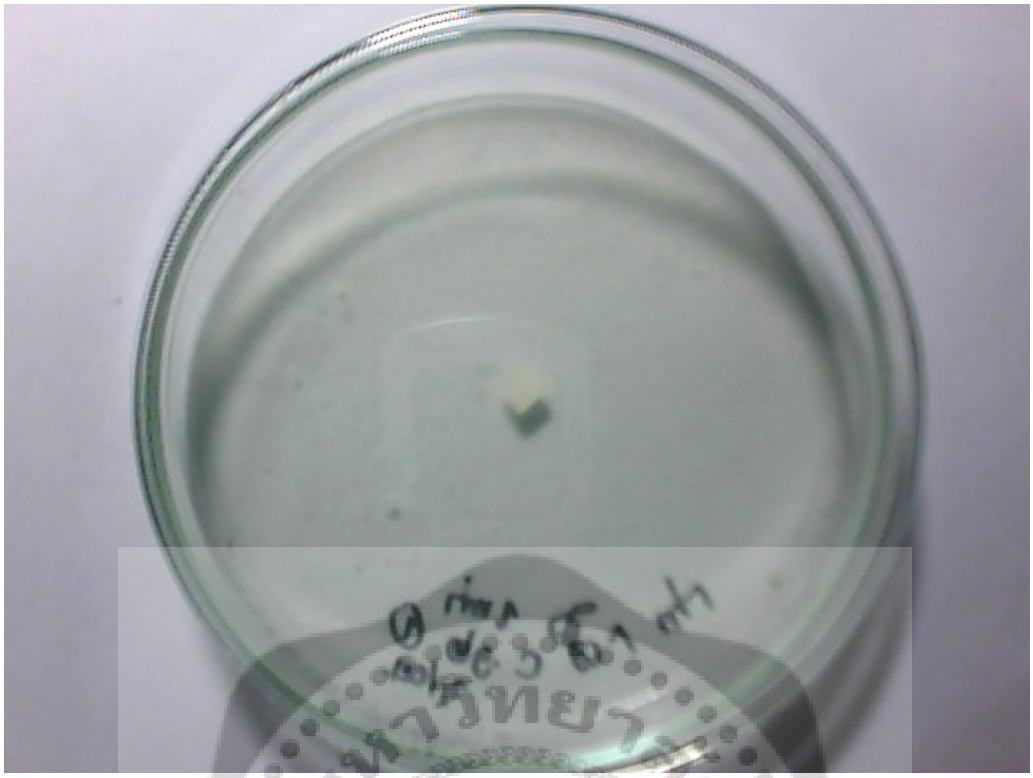
รูปที่ 6 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 6 เท่า เชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7



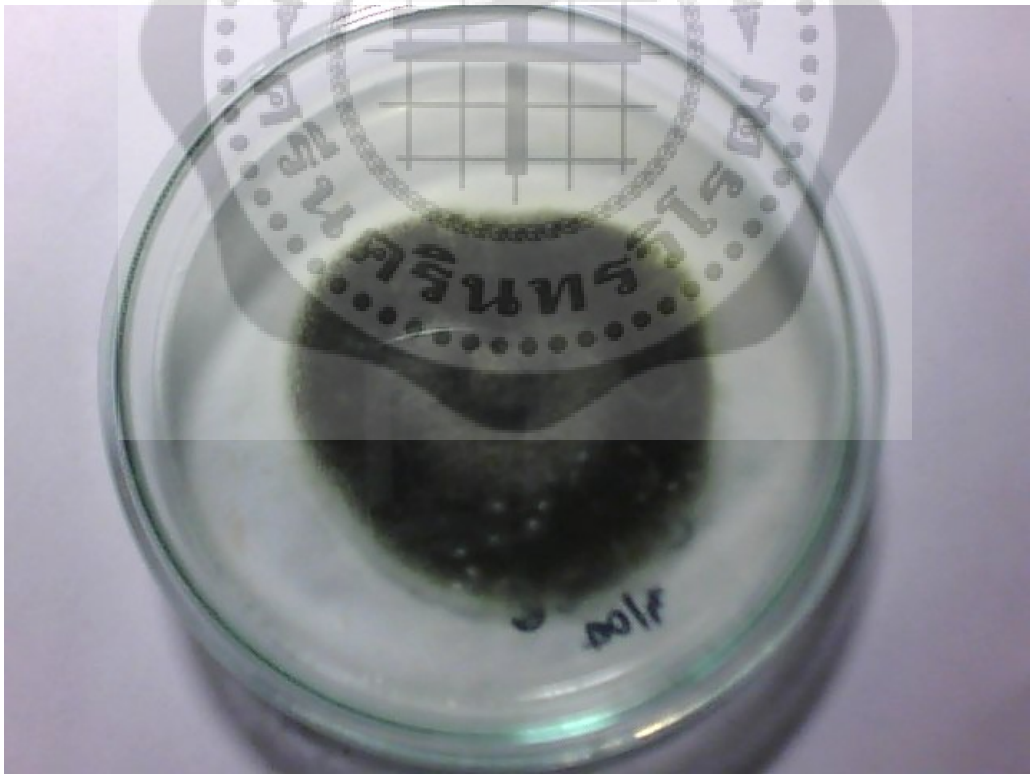
รูปที่ 7 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 4 เท่า เชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7



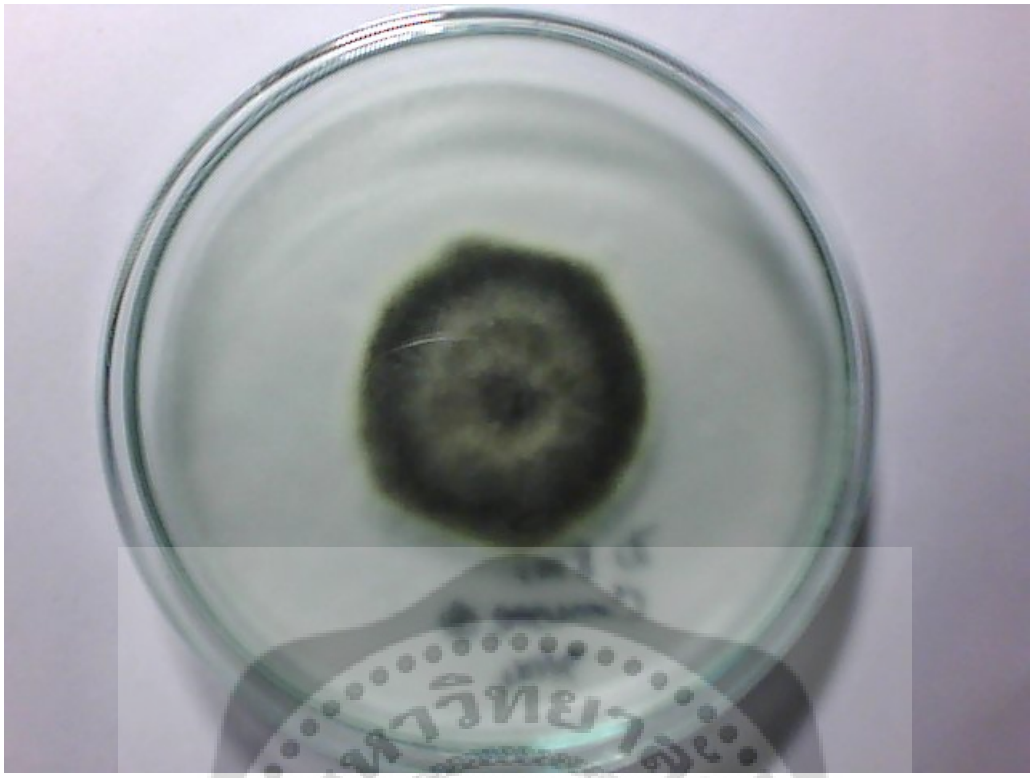
รูปที่ 8 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 2 เท่า เชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7



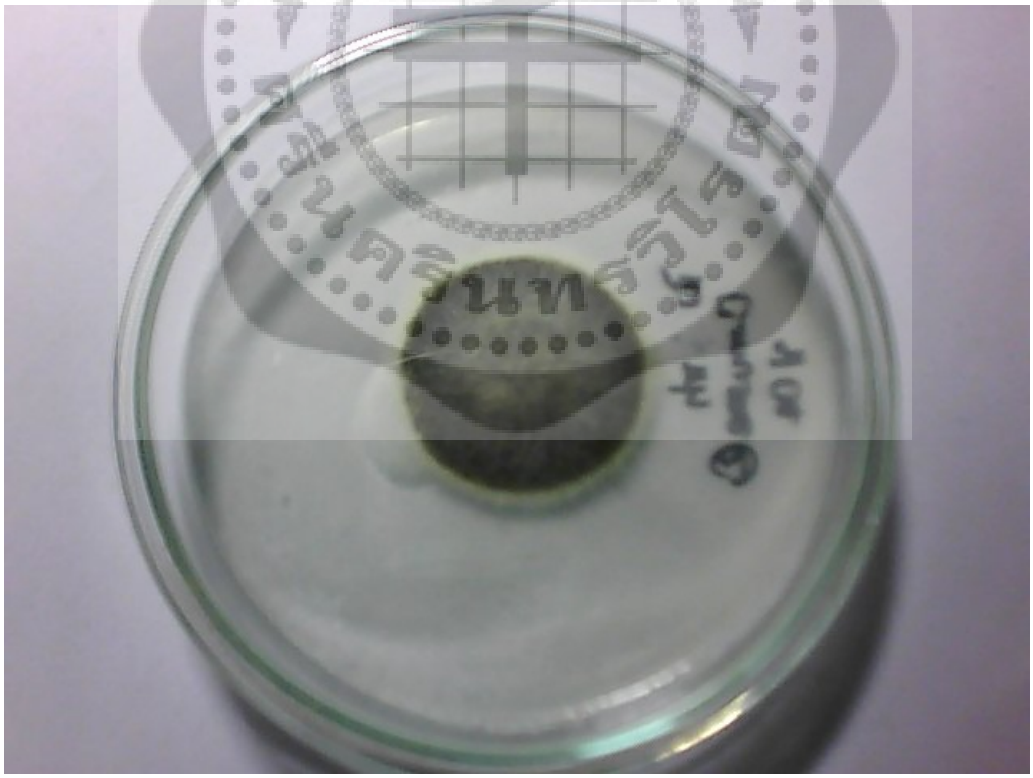
รูปที่ 9 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 1 เท่า เชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7



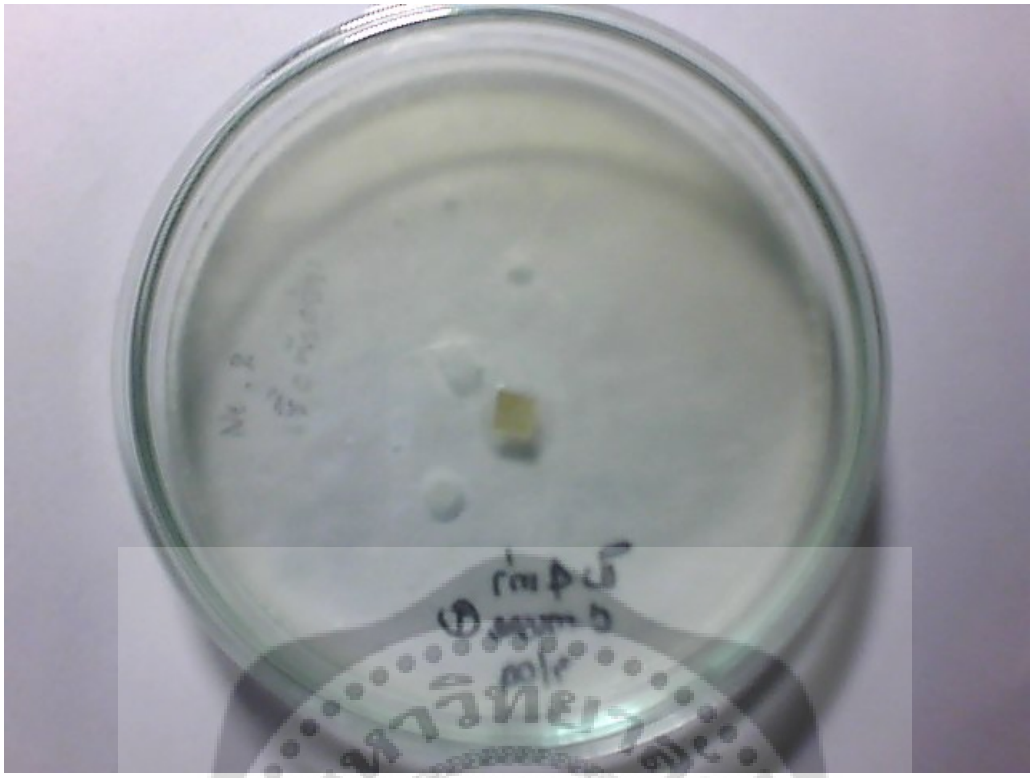
รูปที่ 10 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 10 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7



รูปที่ 11 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 8 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7

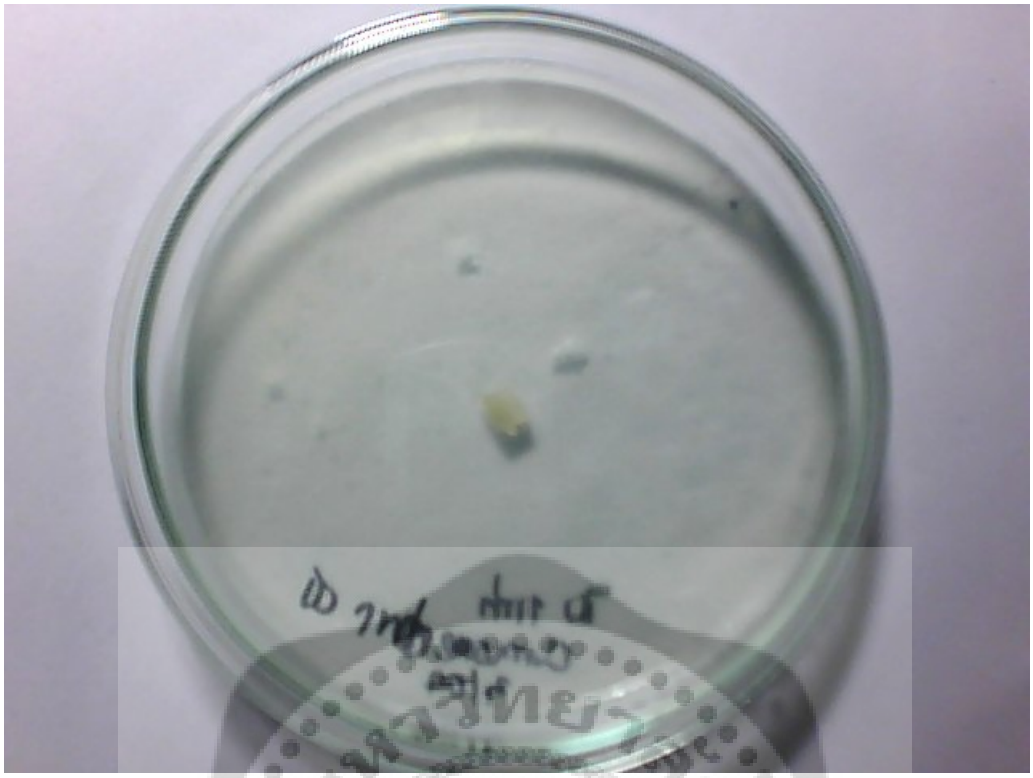


รูปที่ 12 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 6 เท่า เชื้อ *C. musae* วันที่ 7

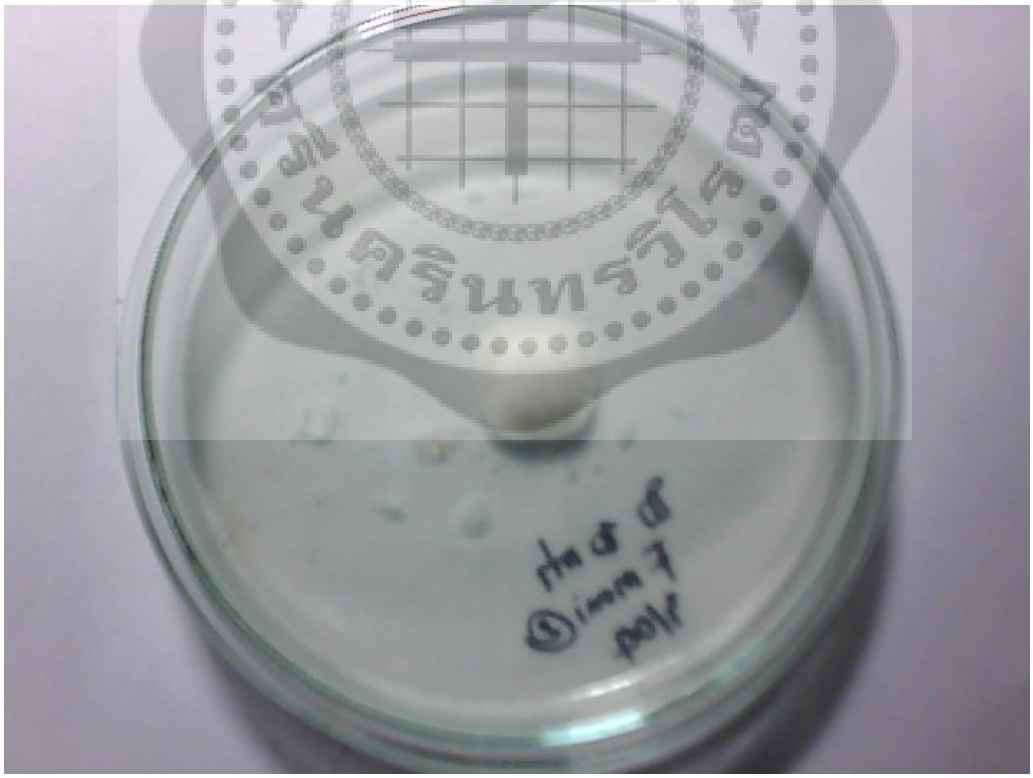


รูปที่ 13 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 4 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7

รูปที่ 14 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 2 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7

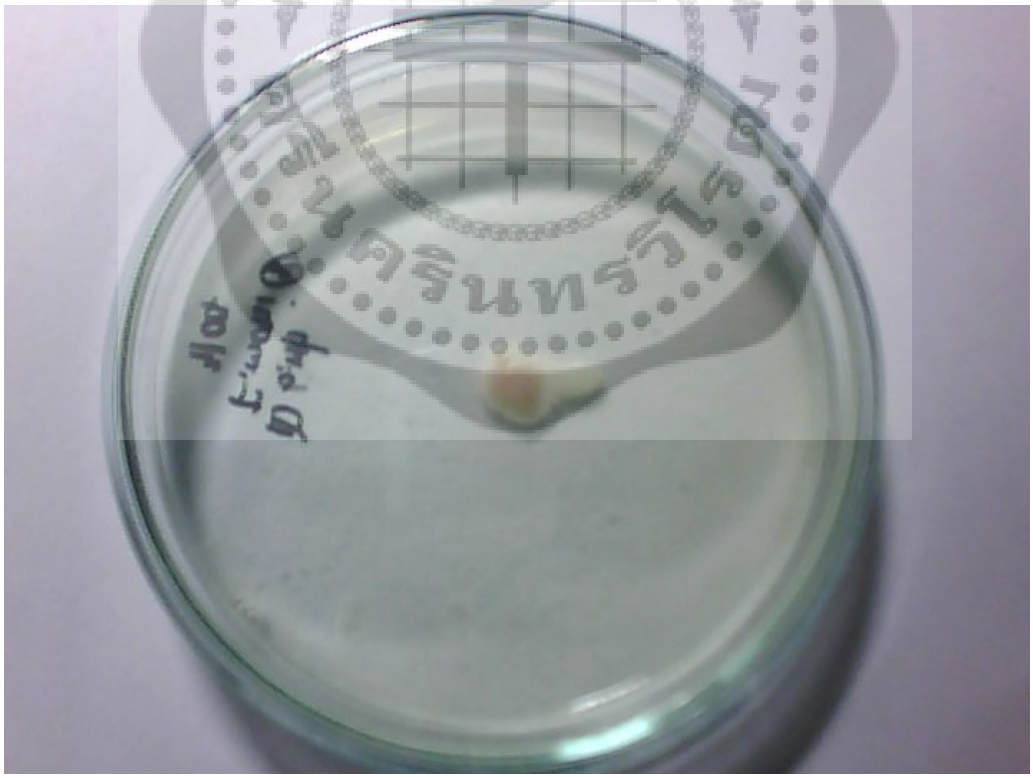


รูปที่ 15 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 1 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7

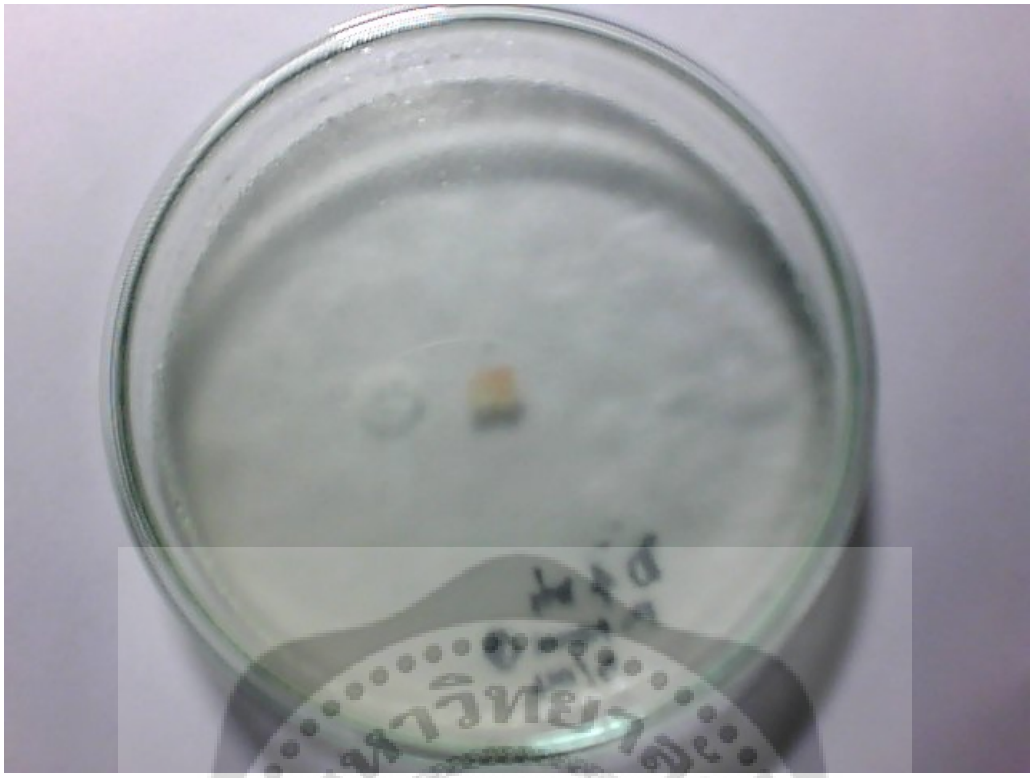


รูปที่ 16 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 10 เท่า *F. moniliforme* วันที่ 7

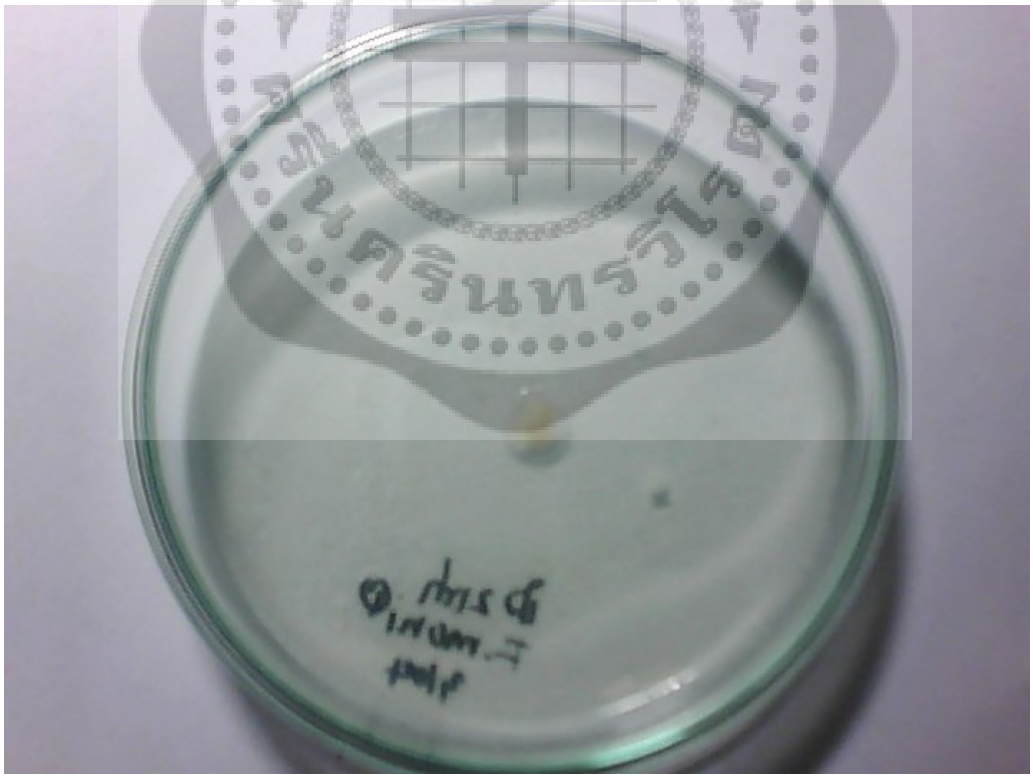
รูปที่ 17 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 8 เท่า เชื้อรา *F. moniliforme* วันที่ 7



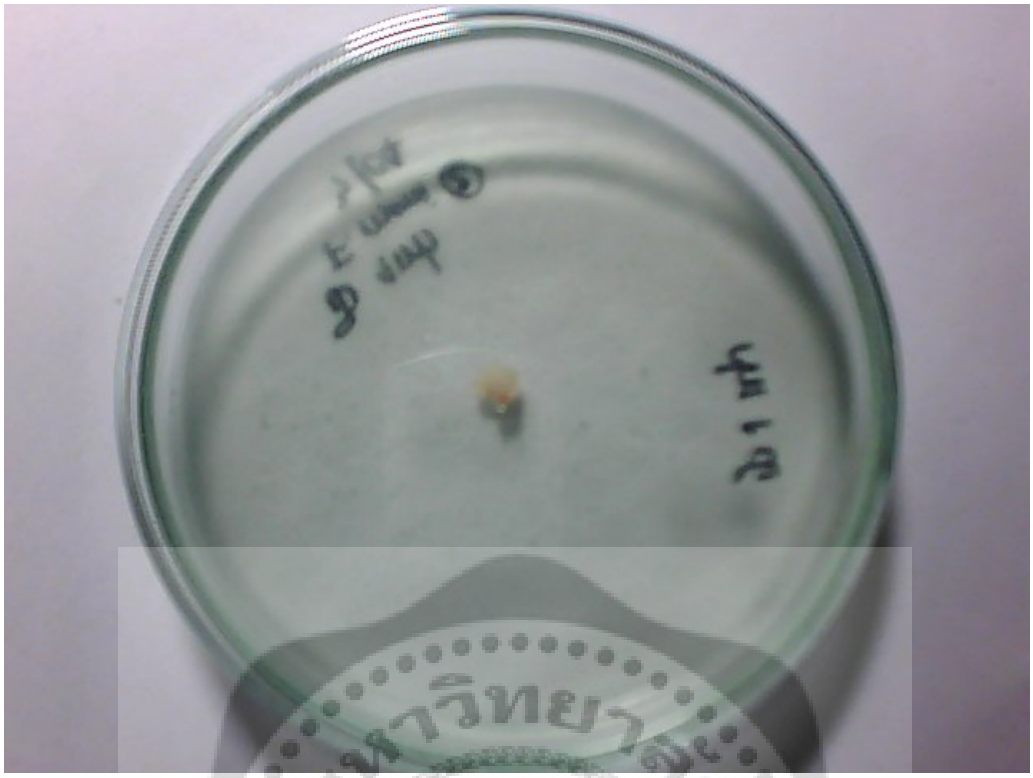
รูปที่ 18 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 6 เท่า เชื้อ *F. moniliforme* วันที่ 7



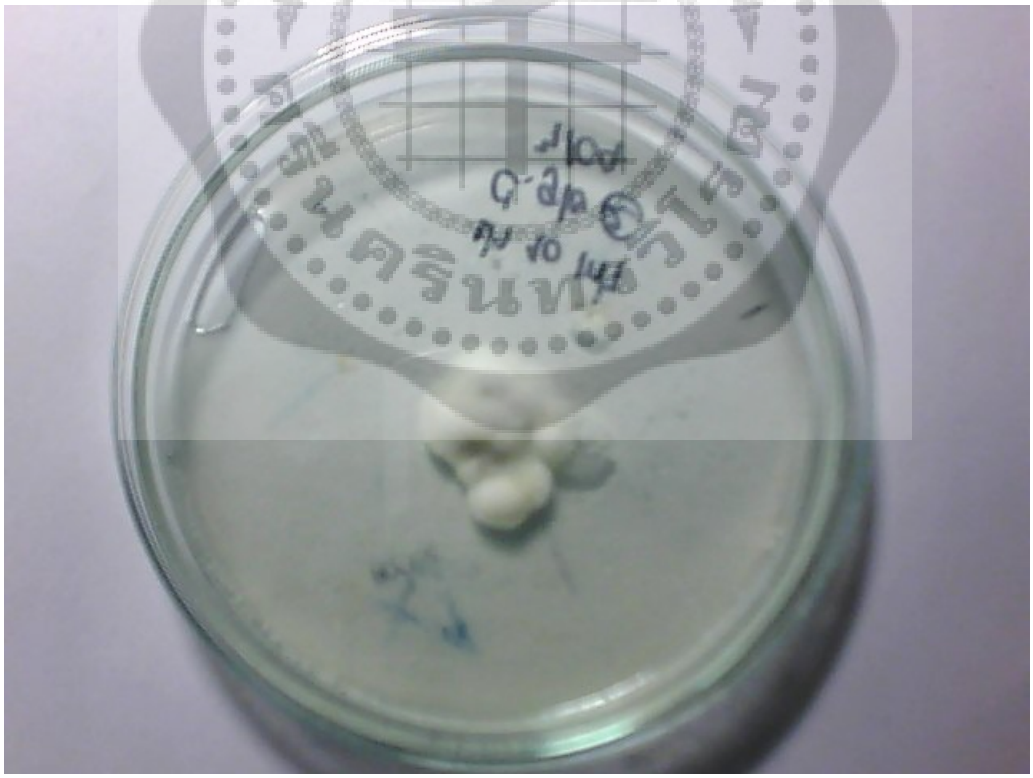
รูปที่ 19 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 4 เท่า เชื้อรา *F. moniliforme* วันที่ 7



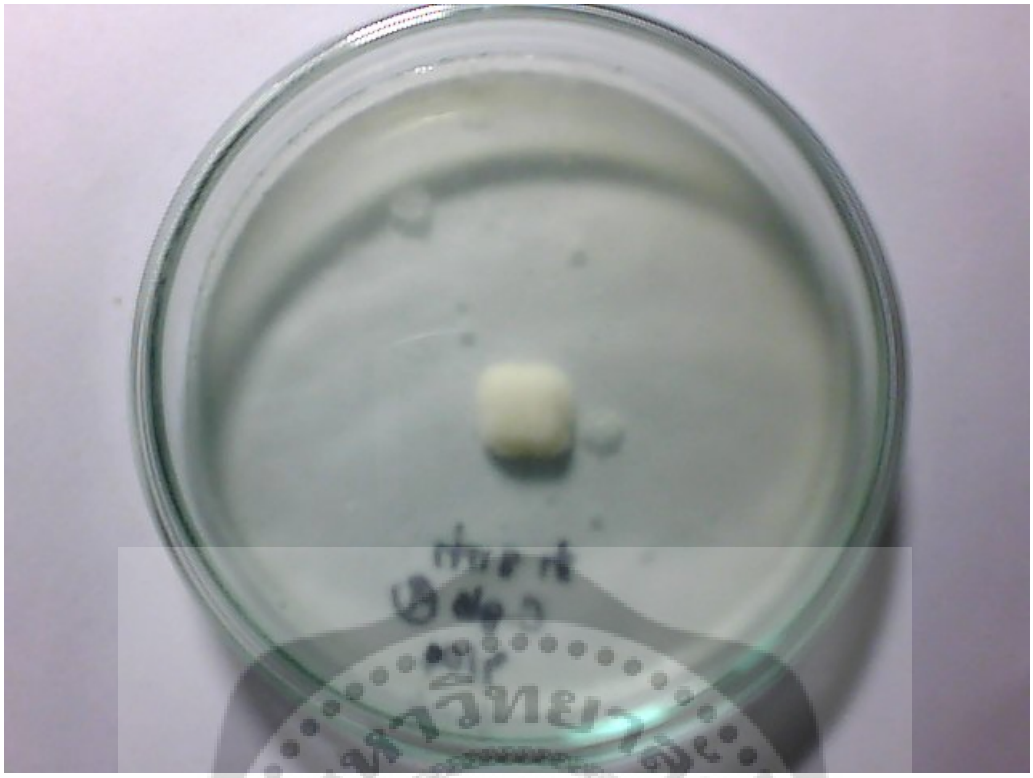
รูปที่ 20 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 2 เท่า เชื้อ *F. moniliforme* วันที่ 7



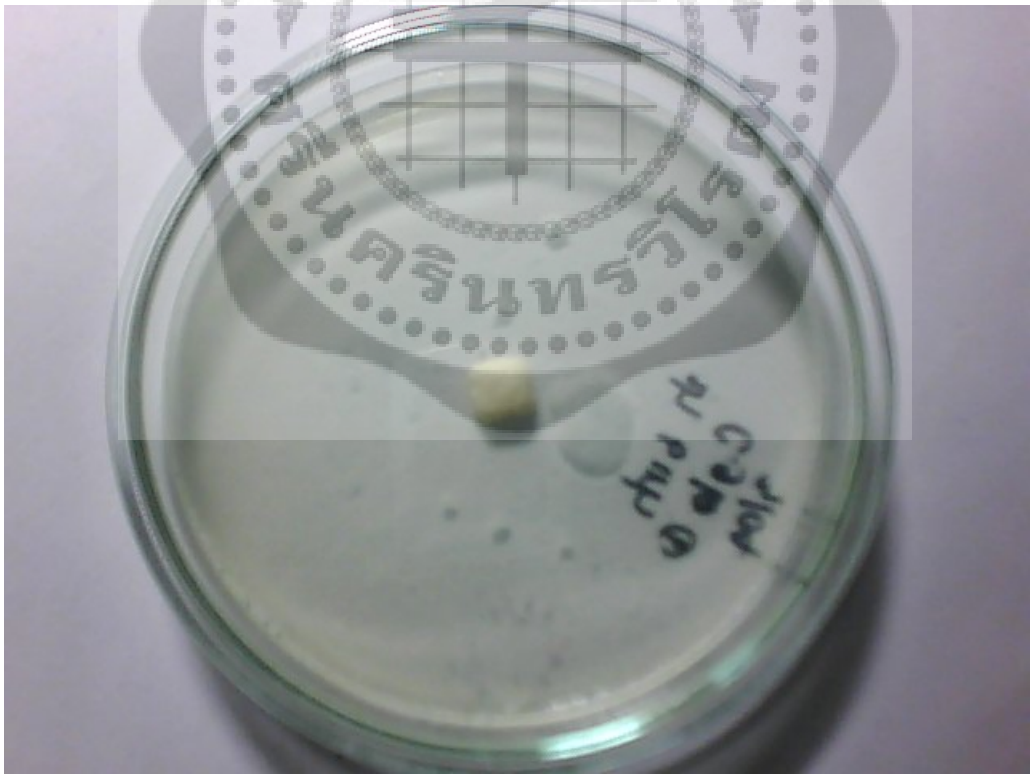
รูปที่ 21 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดขิงเจือจาง 1 เท่า เชื้อ *F. moniliforme* วันที่ 7



รูปที่ 22 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 10 เท่า เชื้อรา *C .gloeosporiodes* วันที่ 7

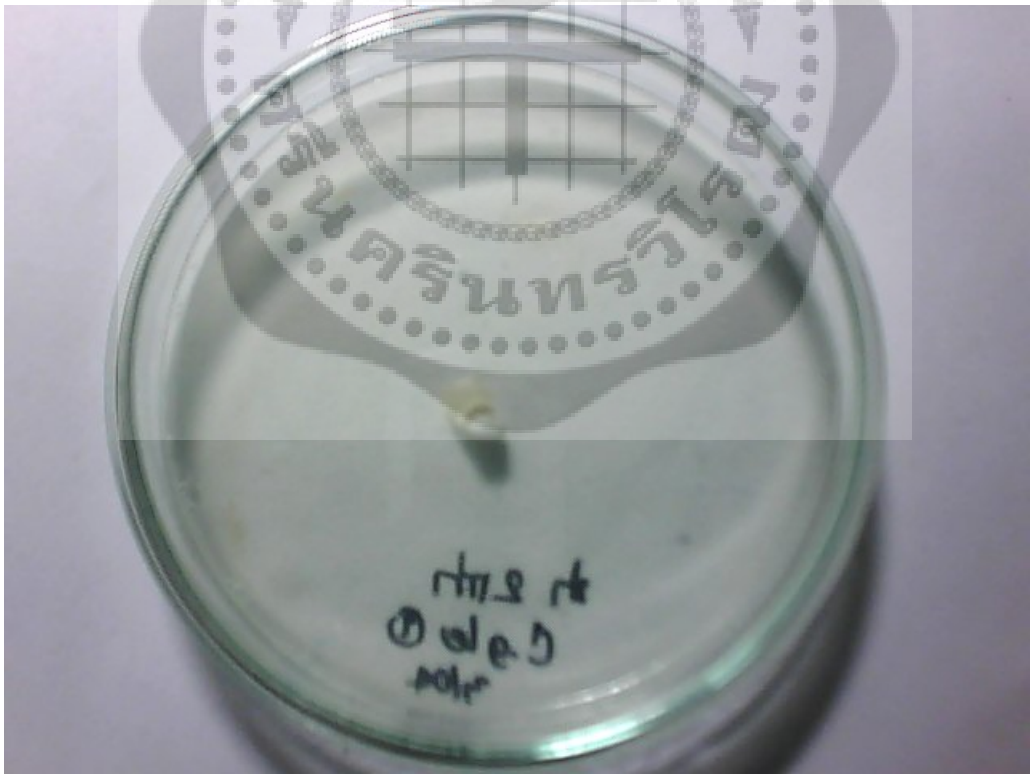


รูปที่ 23 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 8 เท่า เชื้อรา *C.gloeosporiodes* วันที่ 7



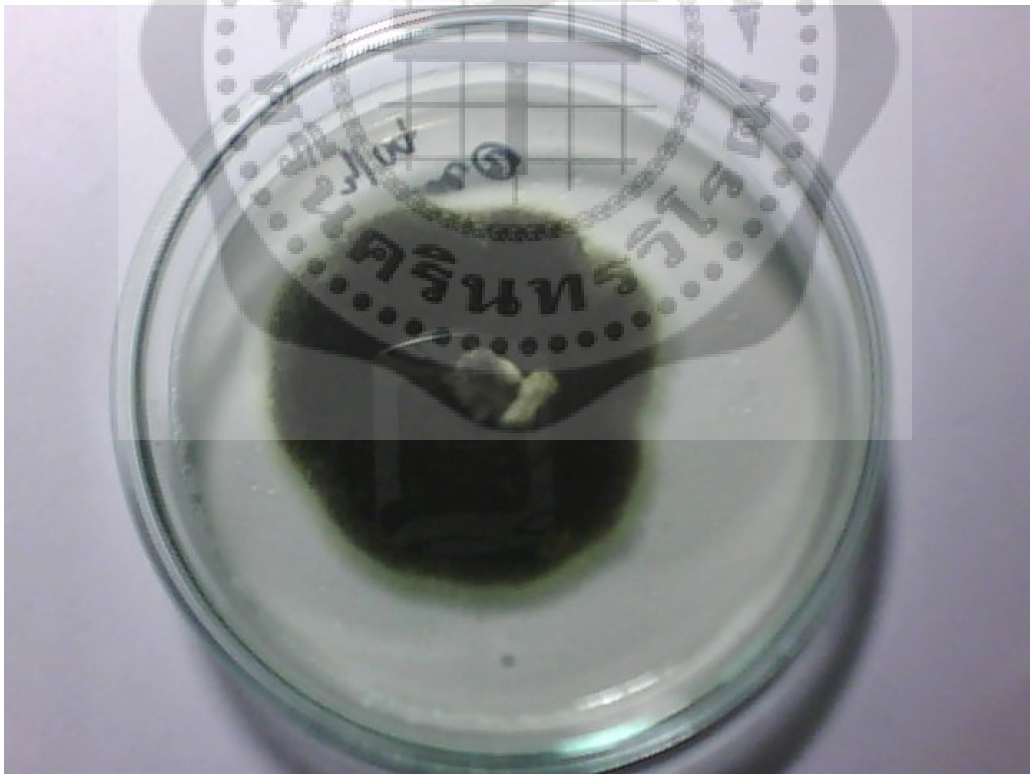
รูปที่ 24 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 6 เท่า เชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7

รูปที่ 25 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 4 เท่า เชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7

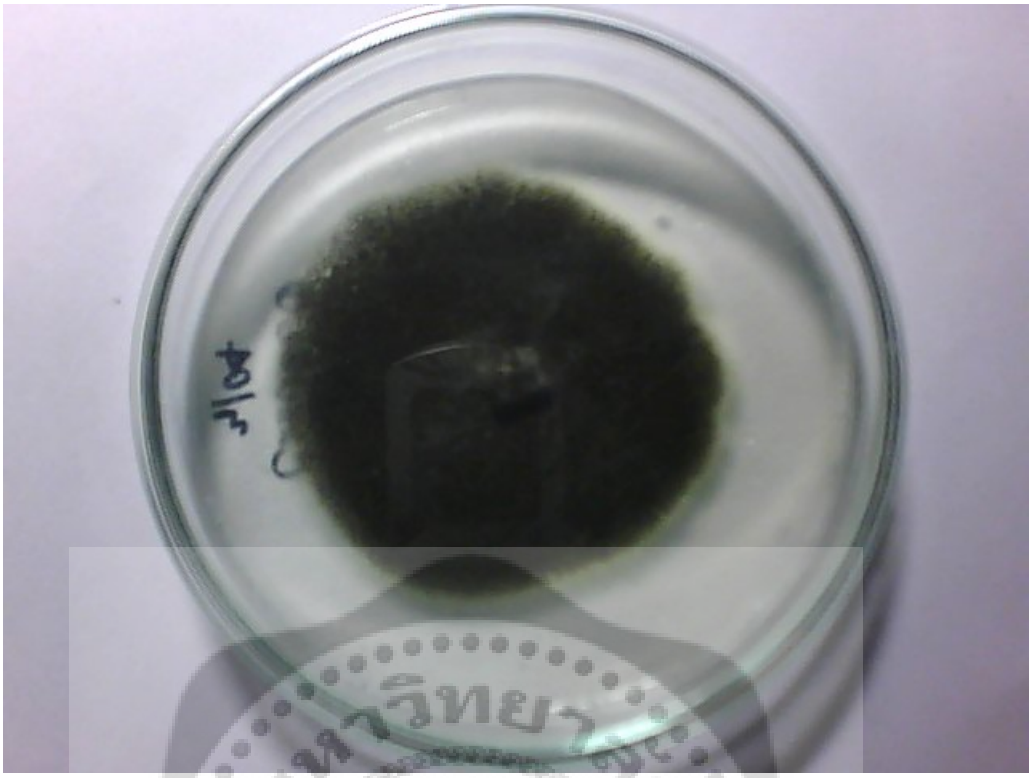


รูปที่ 26 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 2 เท่า เชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7

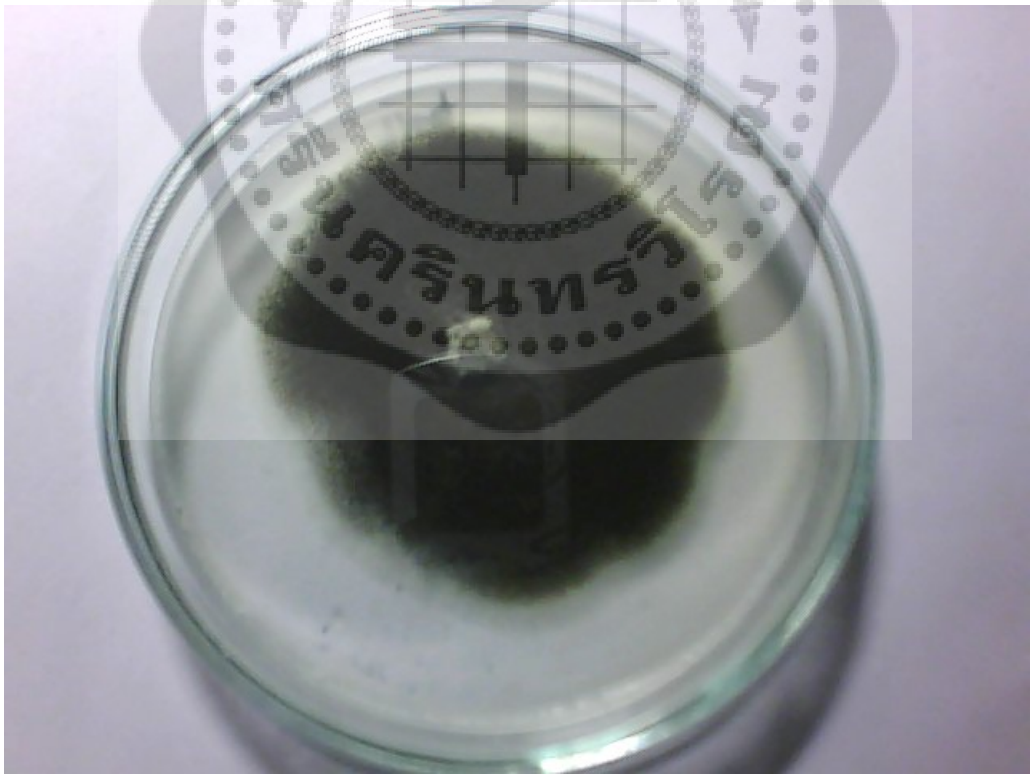
รูปที่ 27 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 1 เท่า เชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7



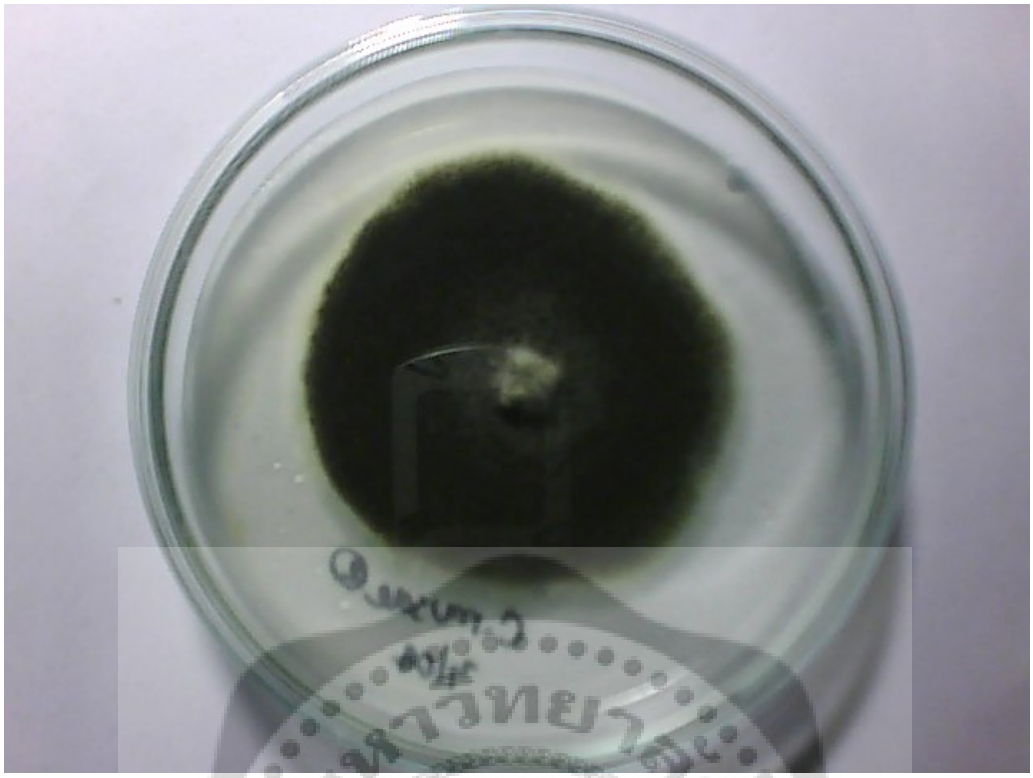
รูปที่ 28 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 10 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7



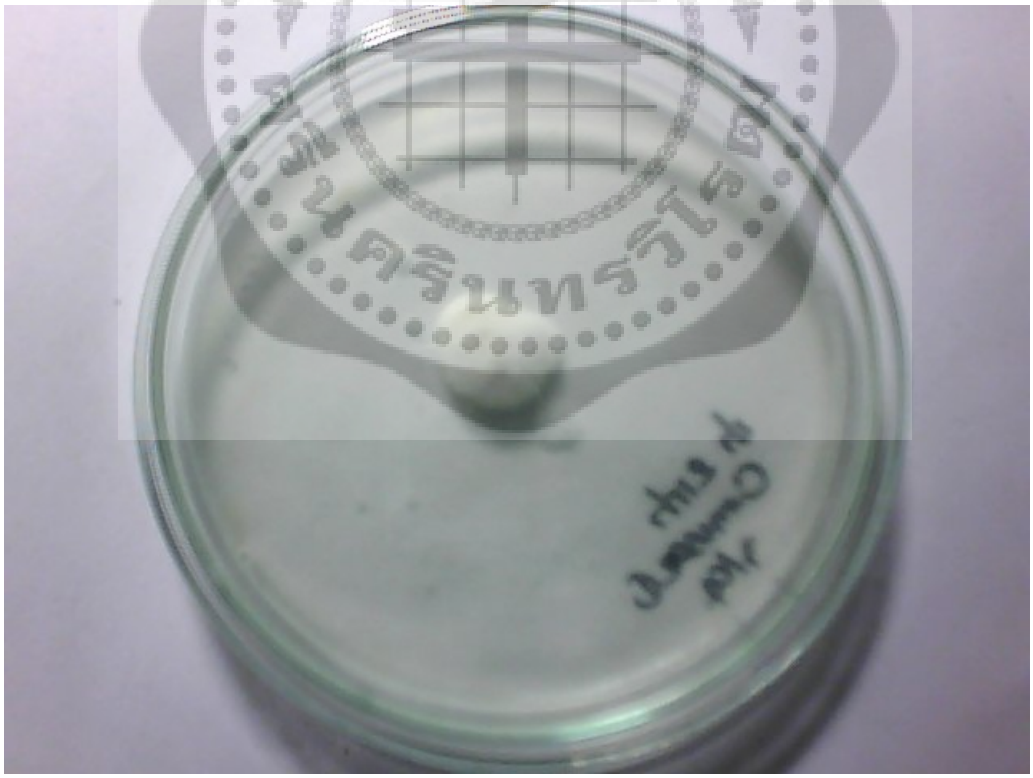
รูปที่ 29 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 8 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7



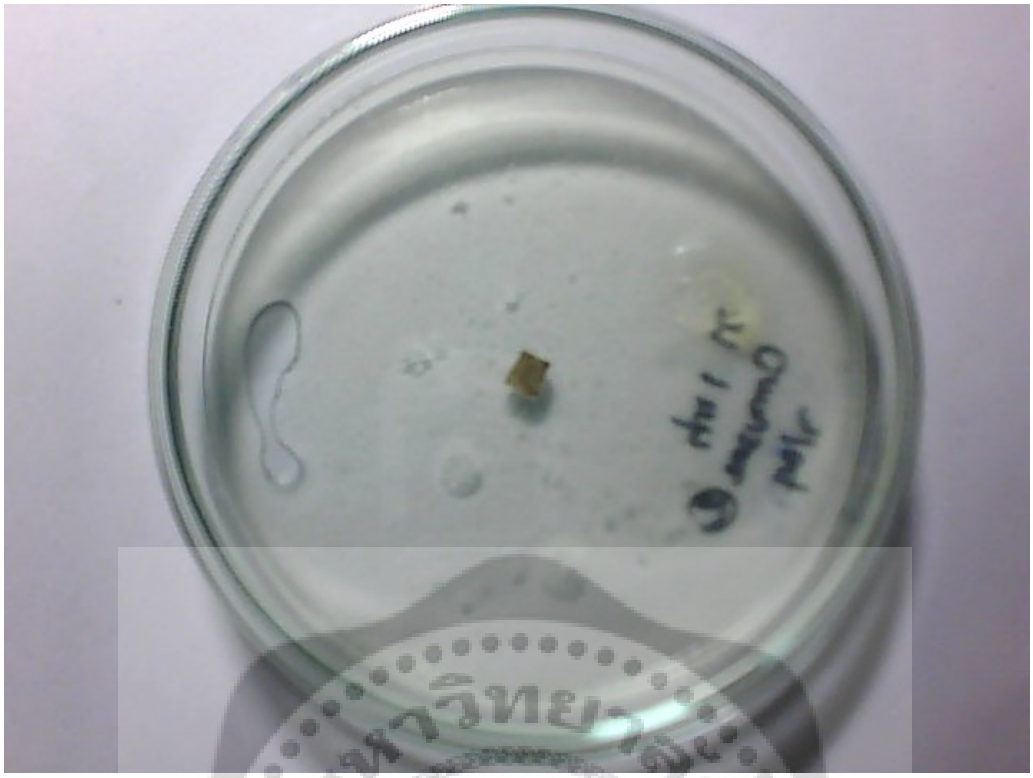
รูปที่ 30 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 6 เท่า เชื้อ *C. musae* วันที่ 7



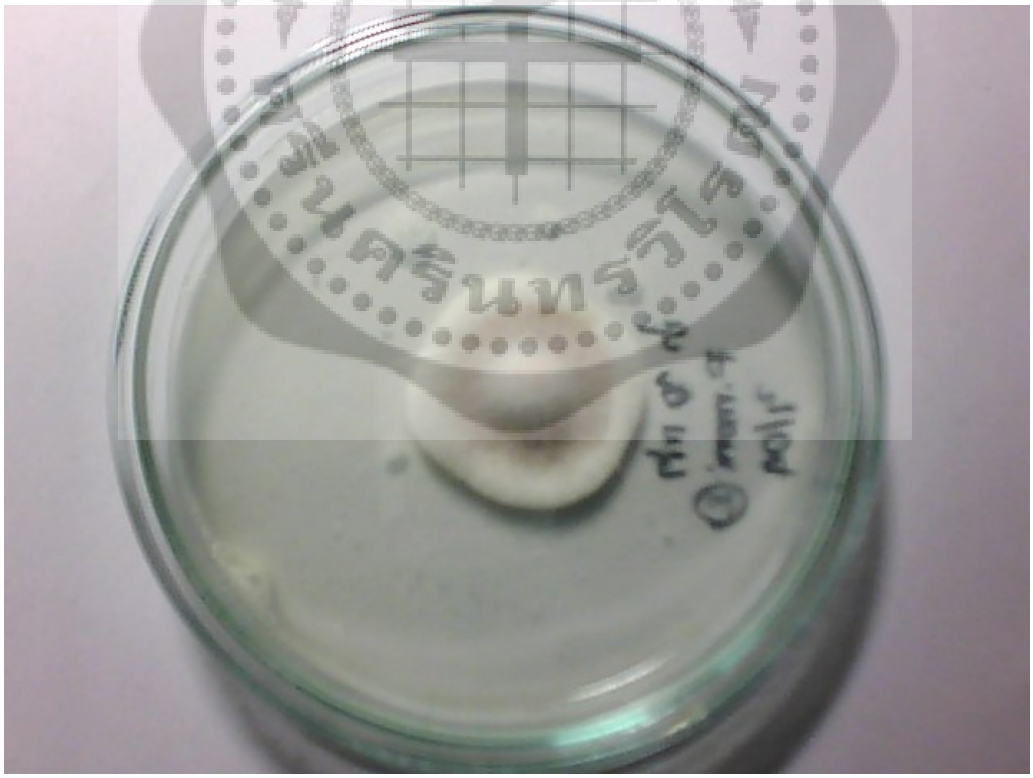
รูปที่ 31 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 4 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7



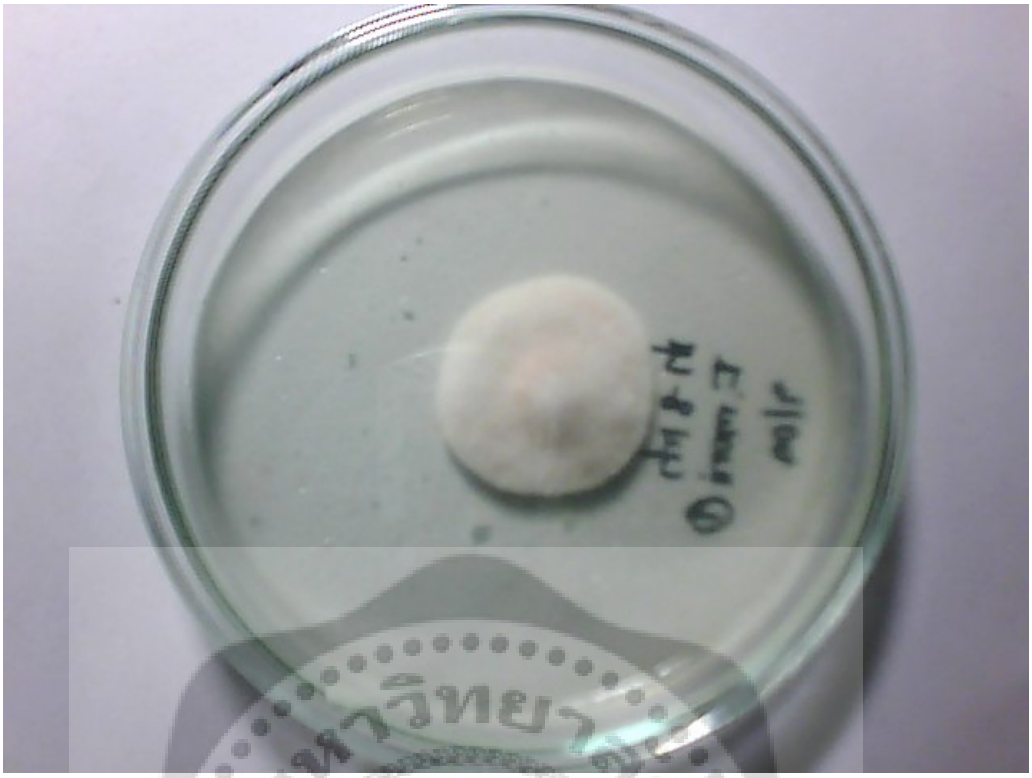
รูปที่ 32 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 2 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7



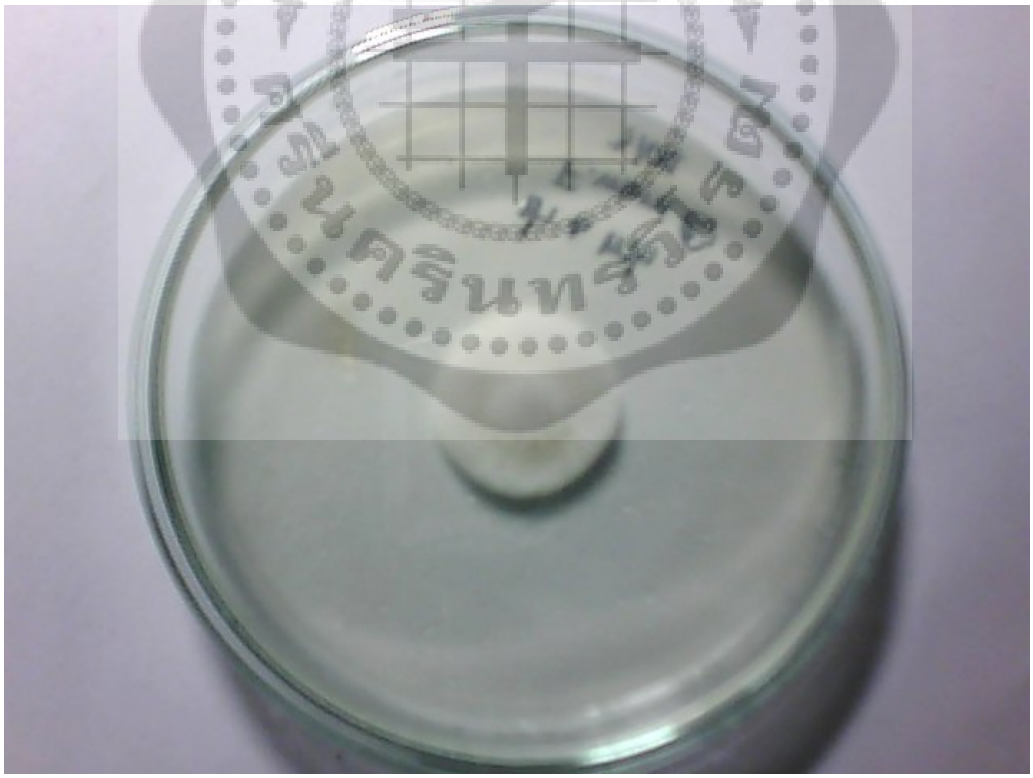
รูปที่ 33 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 1 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7



รูปที่ 34 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 10 เท่า เชื้อรา *F. moniliforme* วันที่ 7

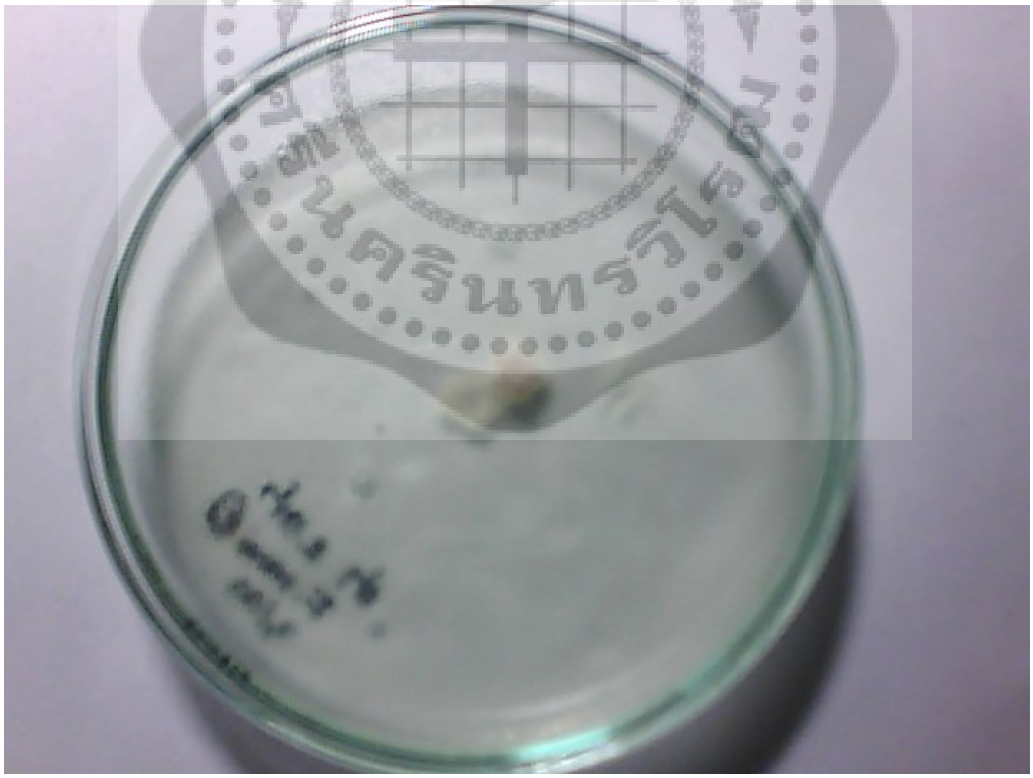


รูปที่ 35 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 8 เท่า เชื้อรา *F. moniliforme* วันที่ 7



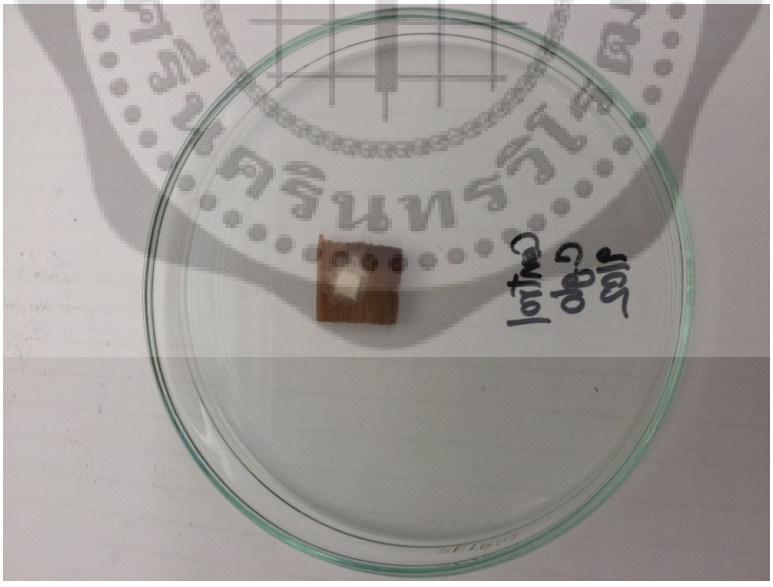
รูปที่ 36 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 6 เท่า เชื้อ *F. moniliforme* วันที่ 7

รูปที่ 37 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 4 เท่า เชื้อรา *F. moniliforme* วันที่ 7

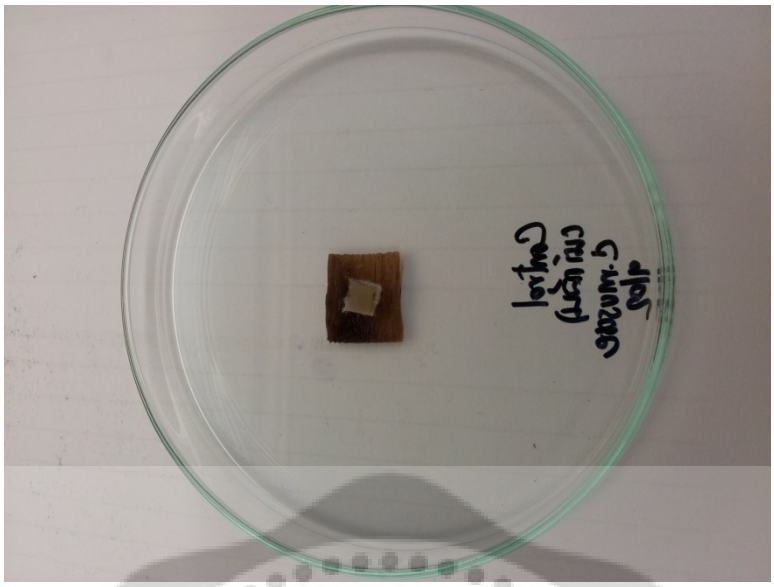


รูปที่ 38 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 2 เท่า เชื้อ *F. moniliforme* วันที่ 7

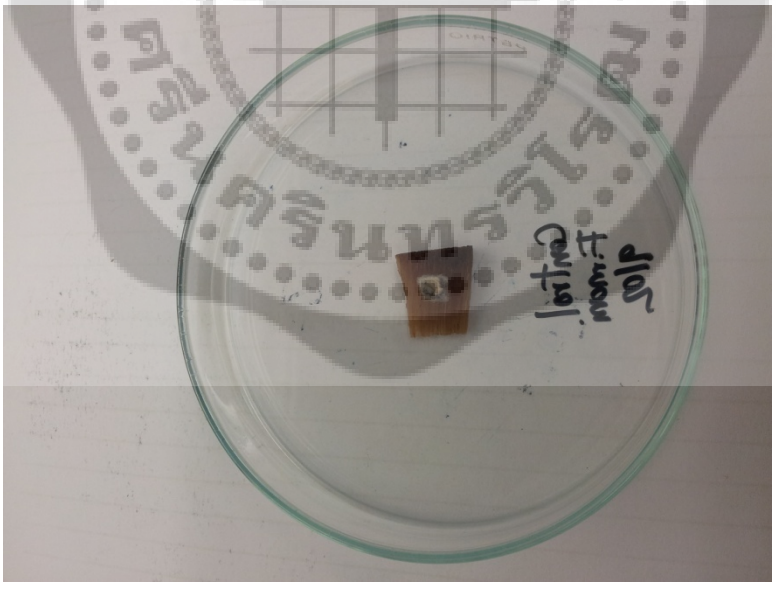
รูปที่ 39 การทดสอบบน PDA ใช้สารสกัดข่าเจือจาง 1 เท่า เชื้อ *F. moniliforme* วันที่ 7



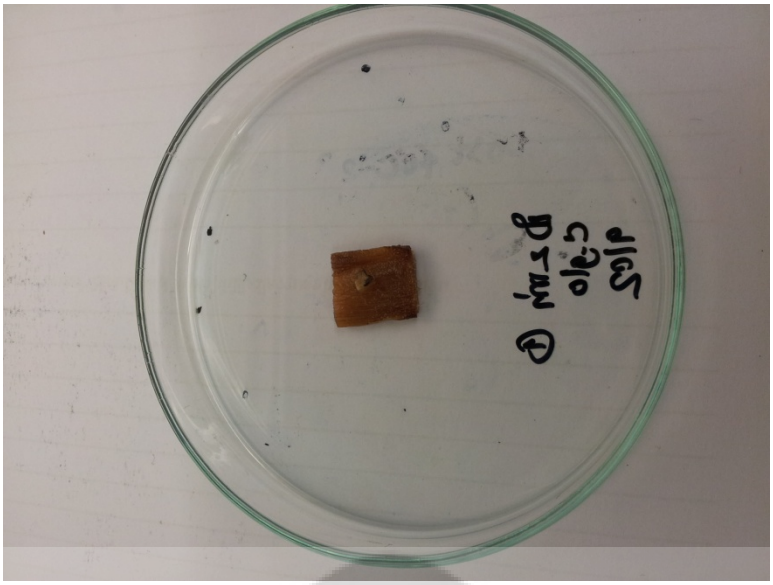
รูปที่ 40 การทดสอบบนขั้วกล้วยตัวอย่างควบคุม(น้ำกลั่น)กับเชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7



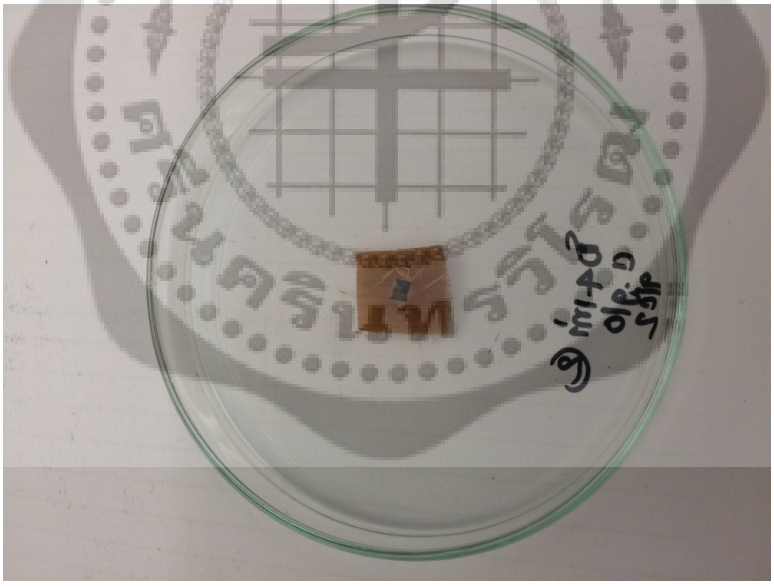
รูปที่ 41 การทดสอบบนขั้วกล้วยตัวอย่างควบคุม(น้ำกลั่น)กับเชื้อรา *C. musae* วันที่ 7



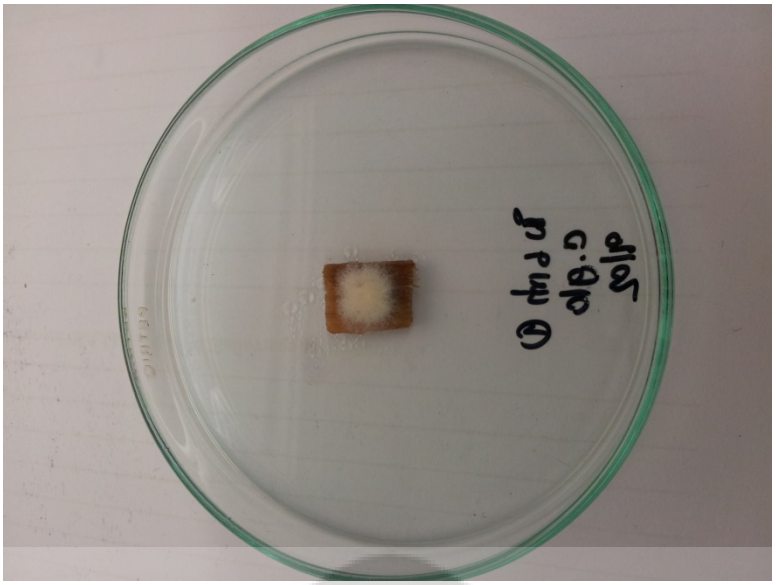
รูปที่ 42 การทดสอบบนขั้วกล้วยตัวอย่างควบคุม(น้ำกลั่น)กับเชื้อรา *F. moniliforme* วันที่ 7



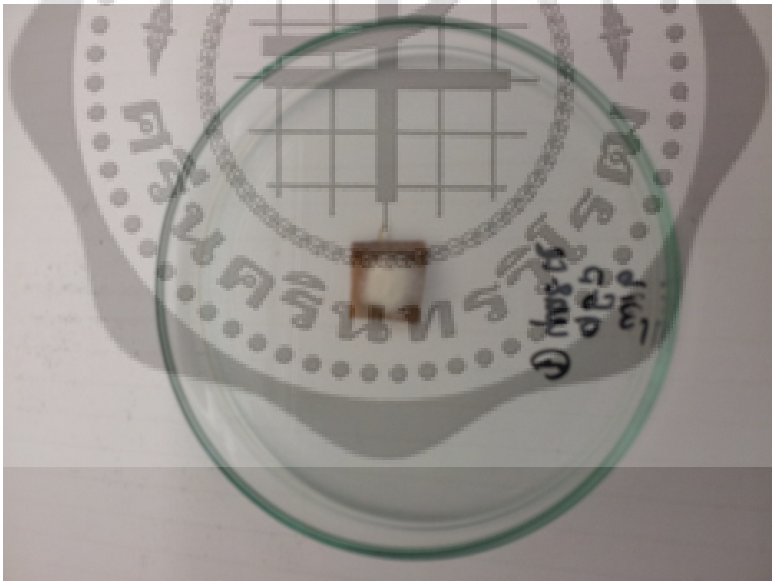
รูปที่ 43 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดขิงเจือจาง 2 เท่า เชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7



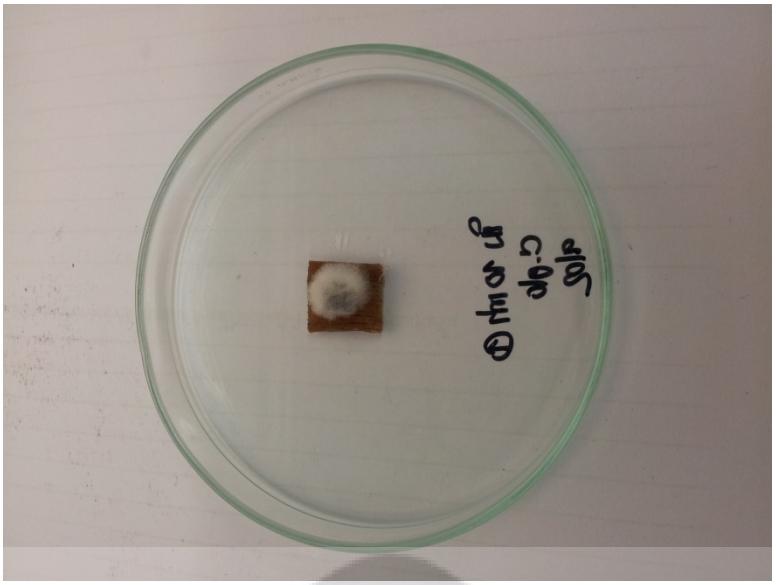
รูปที่ 44 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดขิงเจือจาง 4 เท่า เชื้อรา *C.gloeosporiodes* วันที่ 7



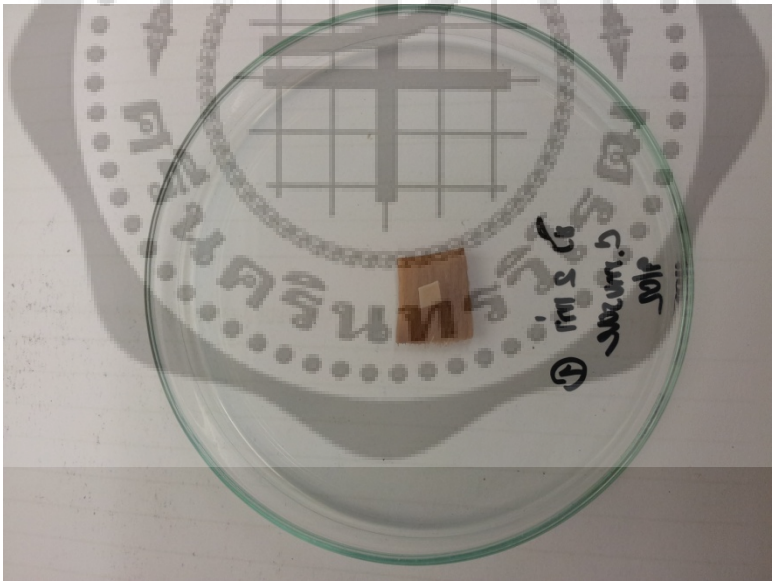
รูปที่ 45 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดขิงเจือจาง 6 เท่า เชื้อรา *C.gloeosporiodes* วันที่ 7



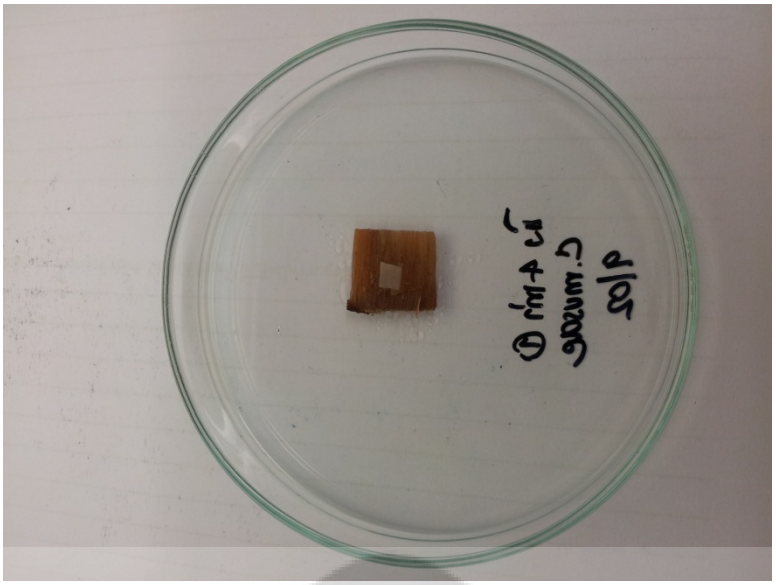
รูปที่ 46 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดขิงเจือจาง 8 เท่า เชื้อรา *C.gloeosporiodes* วันที่ 7



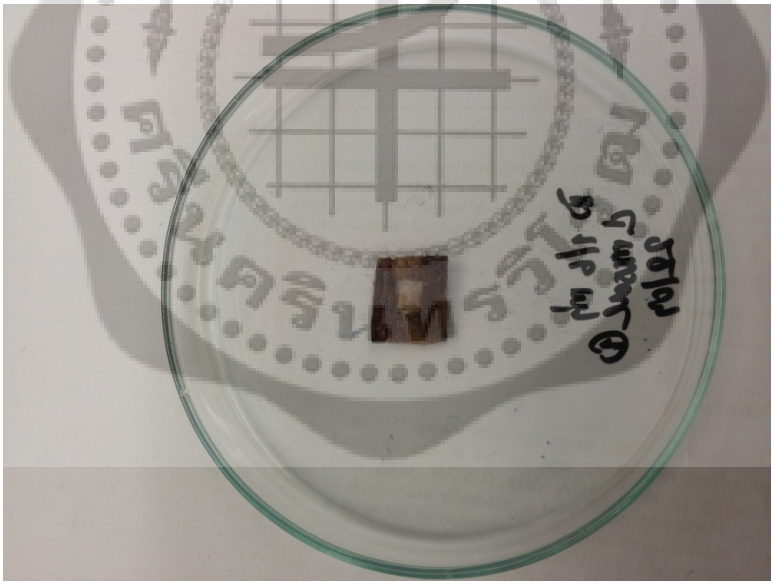
รูปที่ 47 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดขิงเจือจาง 10 เท่า เชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7



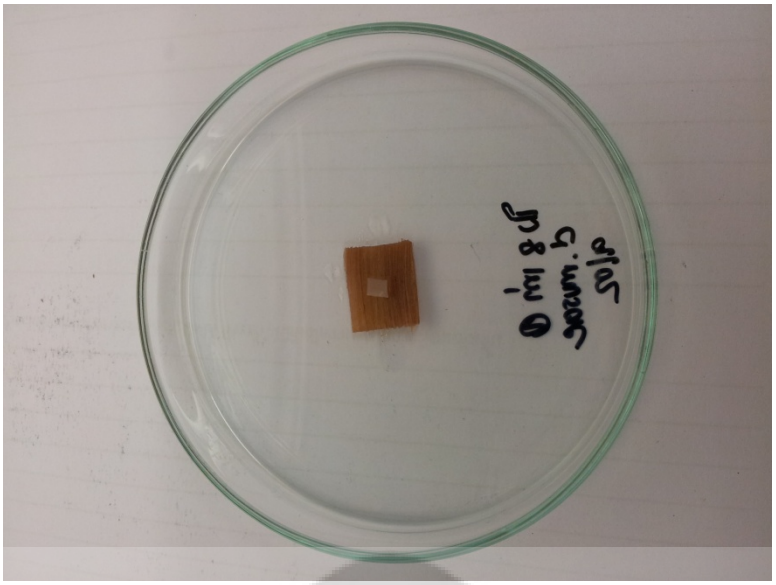
รูปที่ 48 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดขิงเจือจาง 2 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7



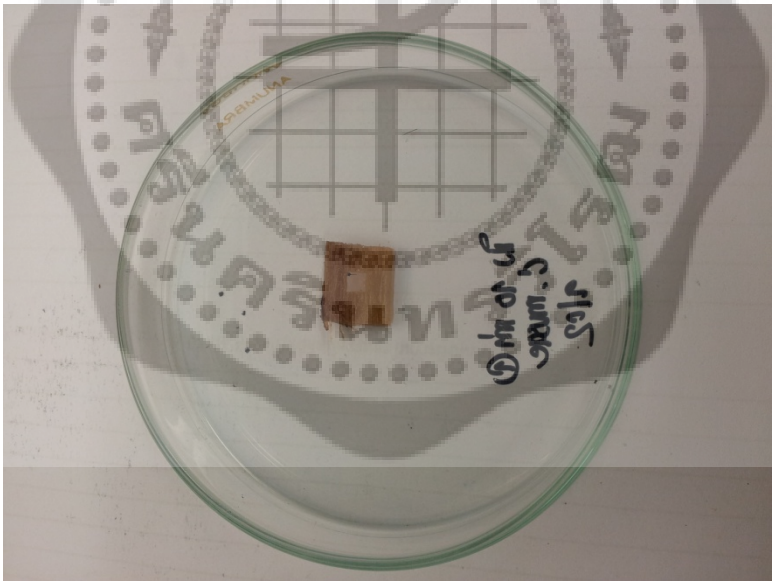
รูปที่ 49 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดขิงเจือจาง 4 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7



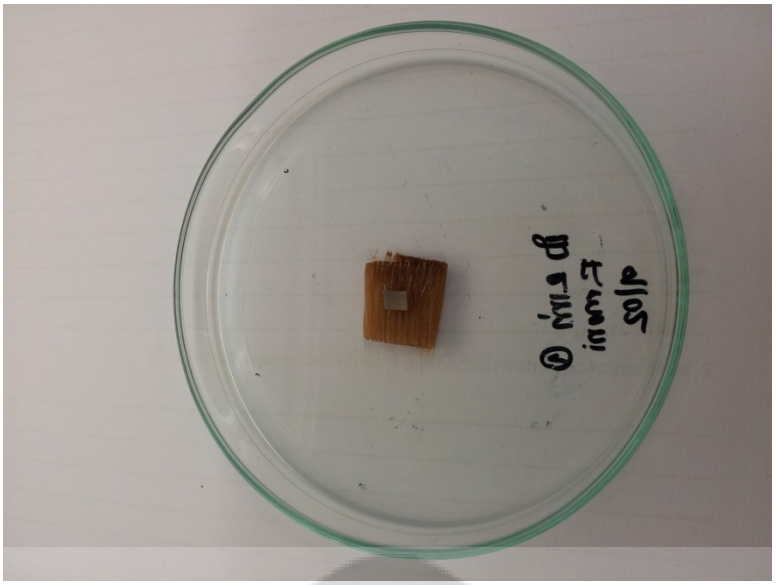
รูปที่ 50 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดขิงเจือจาง 6 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7



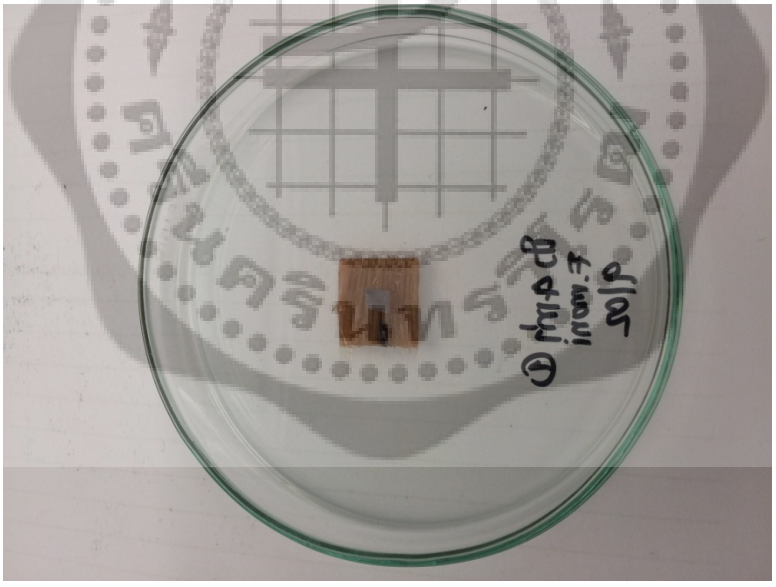
รูปที่ 51 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดขิงเจือจาง 8 เท่า กับเชื้อรา *C. musae* วันที่ 7



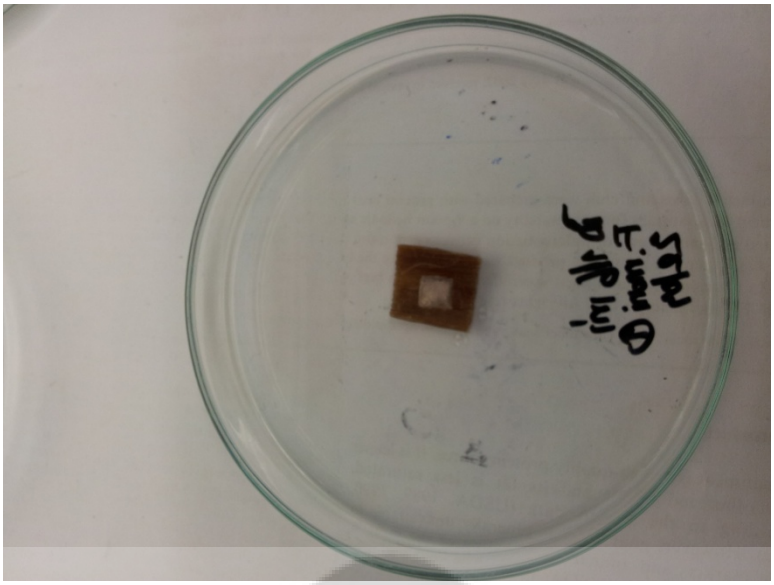
รูปที่ 52 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดขิงเจือจาง 10 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7



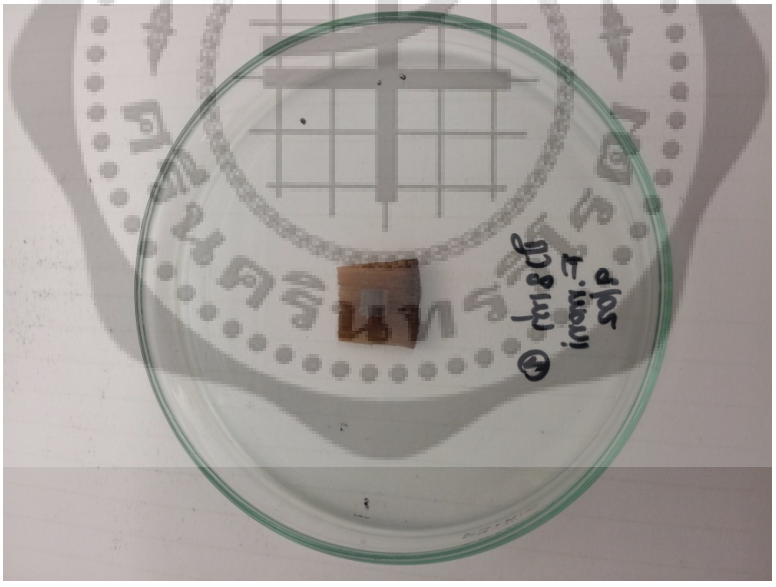
รูปที่ 53 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดขิงเจือจาง 2 เท่า เชื้อรา *F. moniliforme* วันที่ 7



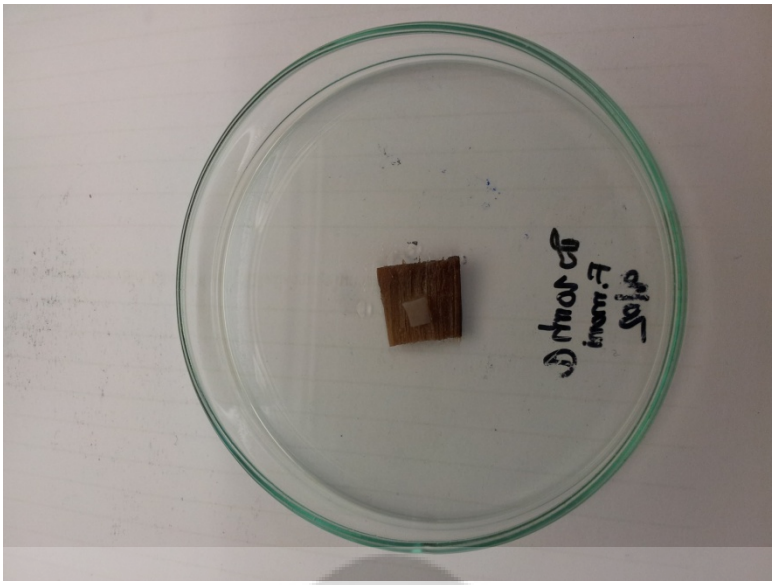
รูปที่ 54 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดขิงเจือจาง 4 เท่า เชื้อรา *F. moniliforme* วันที่ 7



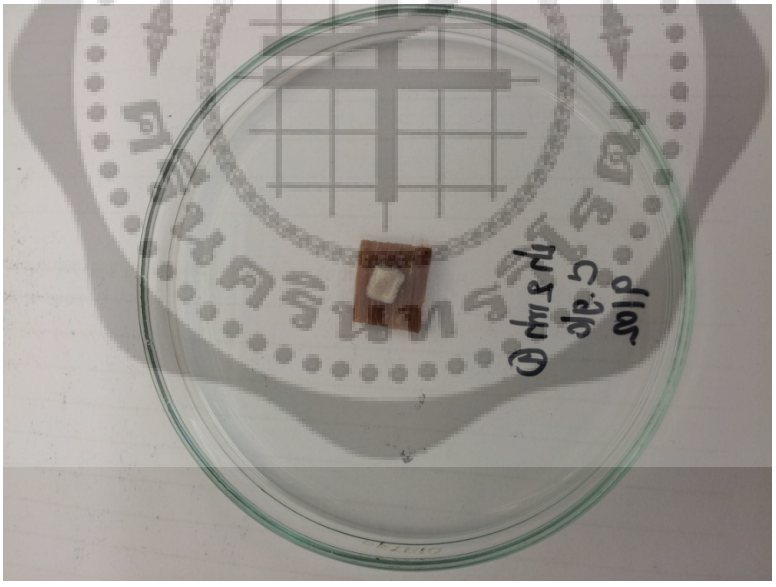
รูปที่ 55 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดขิงเจือจาง 6 เท่า เชื้อรา *F. moniliforme* วันที่ 7



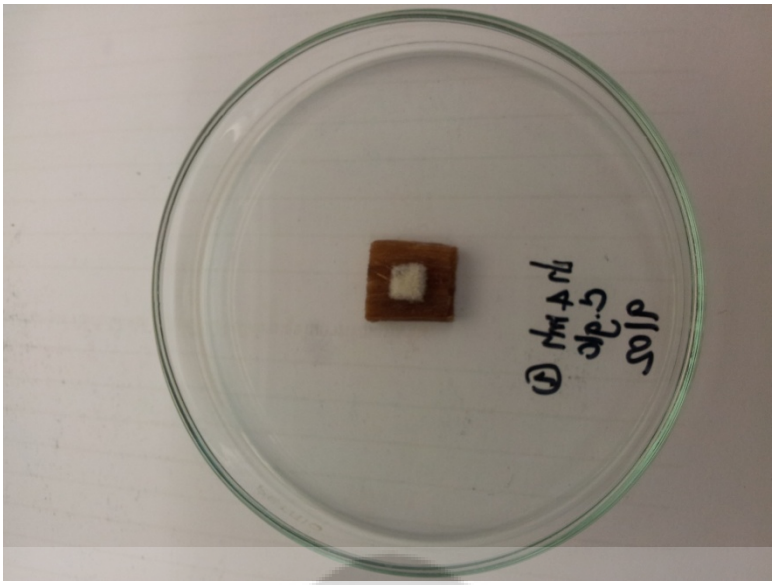
รูปที่ 56 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดขิงเจือจาง 8 เท่า เชื้อรา *F. moniliforme* วันที่ 7



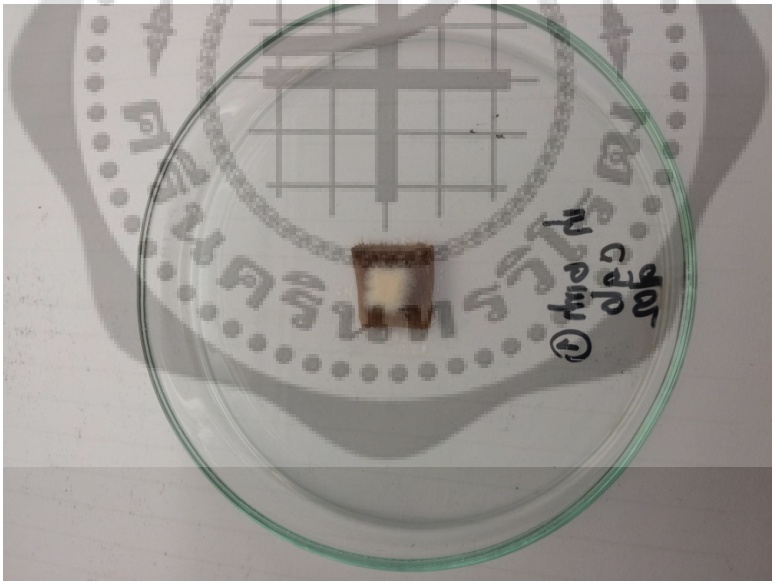
รูปที่ 57 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดขิงเจือจาง 10 เท่า เชื้อรา *F. moniliforme* วันที่ 7



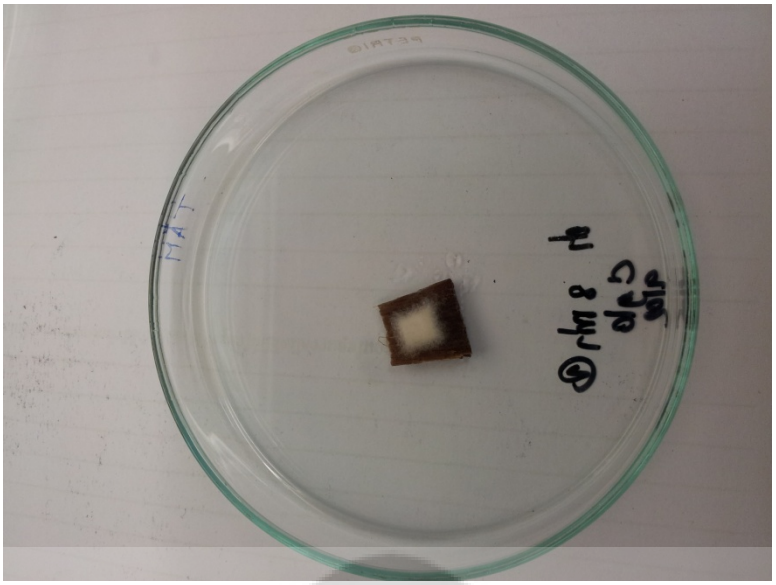
รูปที่ 58 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดข่าเจือจาง 2 เท่า เชื้อรา *C.gloeosporiodes* วันที่ 7



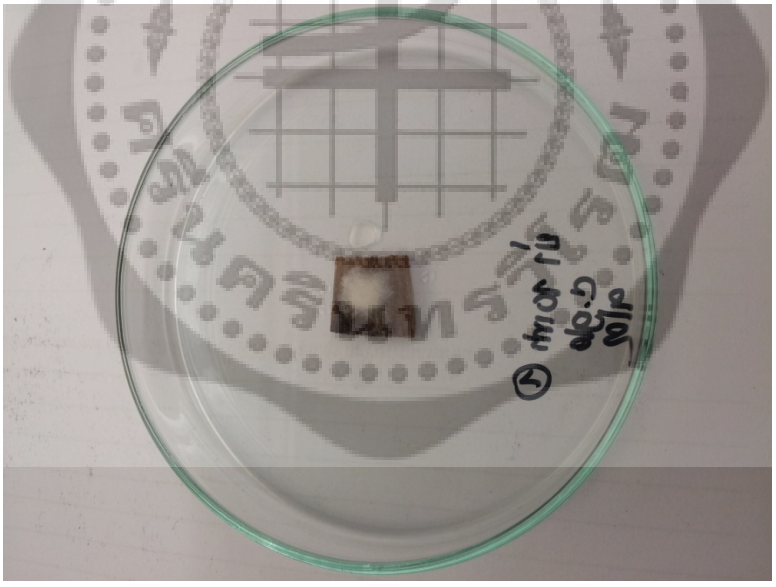
รูปที่ 59 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดข่าเจือจาง 4 เท่า เชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7



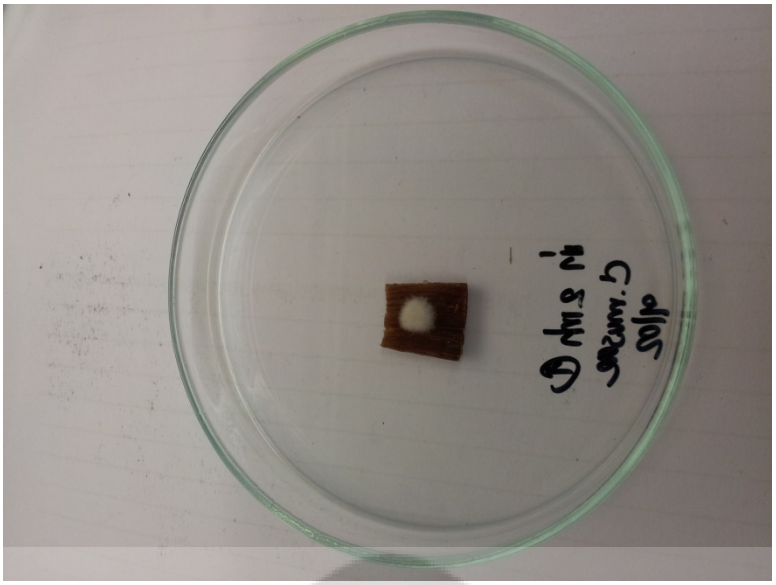
รูปที่ 60 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดข่าเจือจาง 6 เท่า เชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7



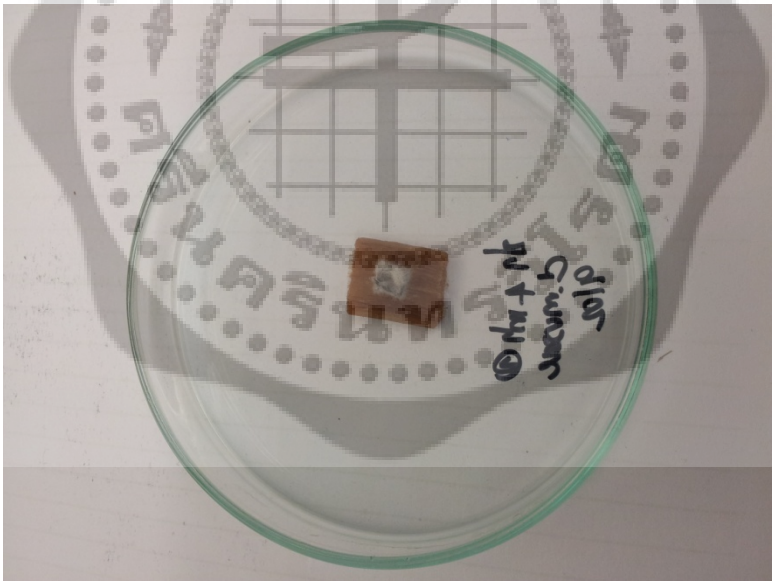
รูปที่ 61 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดข่าเจือจาง 8 เท่า กับเชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7



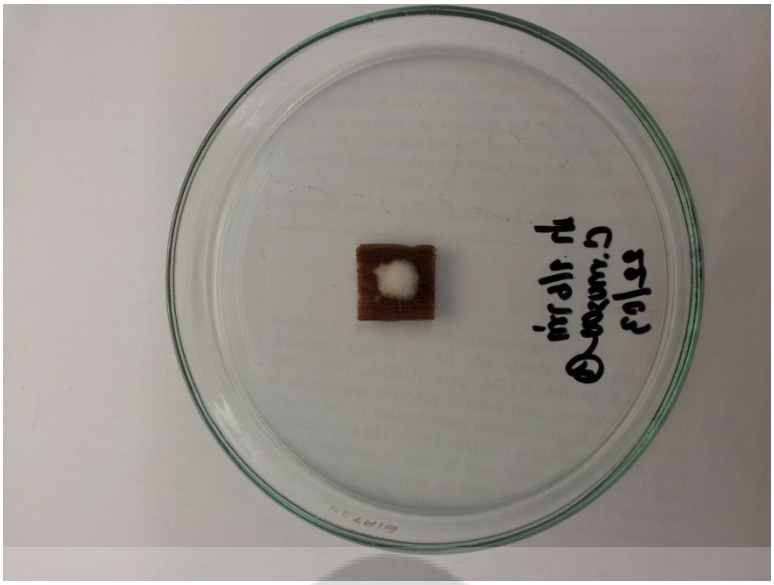
รูปที่ 62 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดข่าเจือจาง 10 เท่า เชื้อรา *C. gloeosporiodes* วันที่ 7



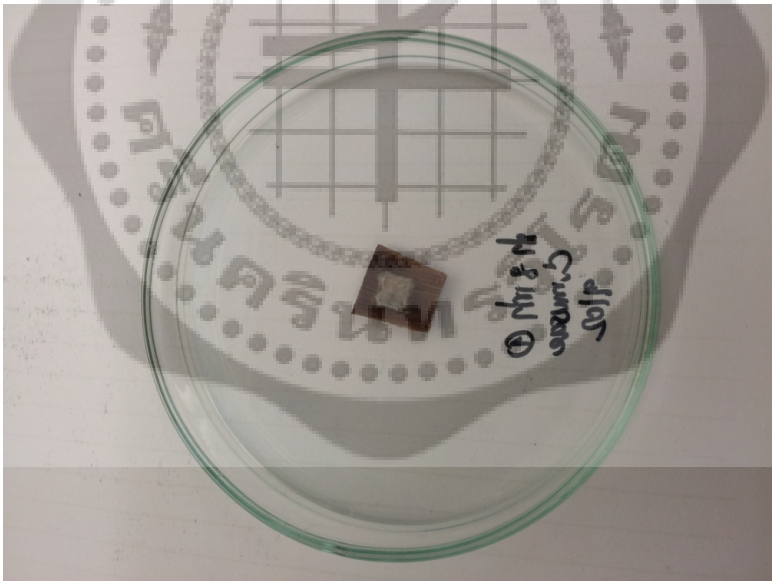
รูปที่ 63 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดข่าเจือจาง 2 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7



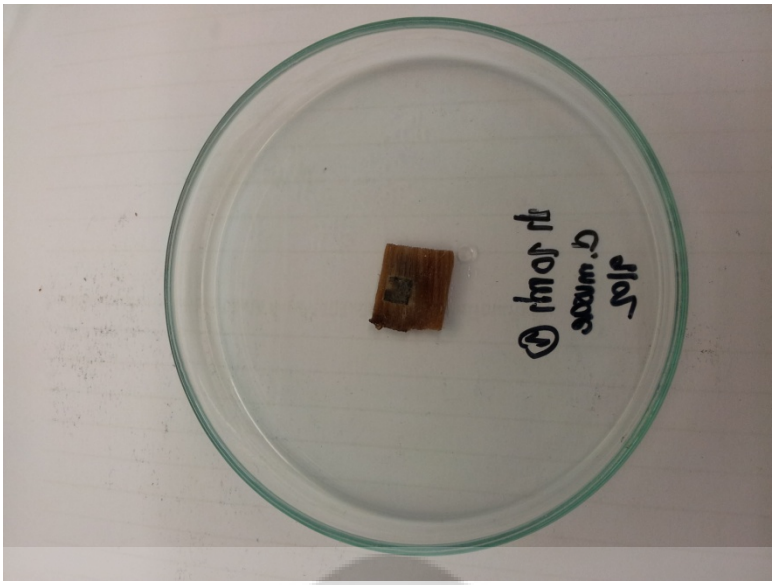
รูปที่ 64 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดข่าเจือจาง 4 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7



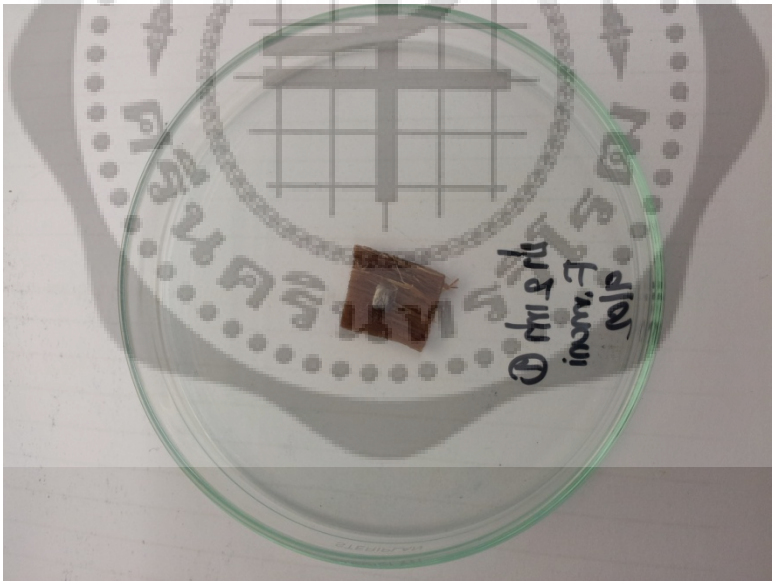
รูปที่ 65 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดข่าเจือจาง 6 เท่า กับเชื้อรา *C. musae* วันที่ 7



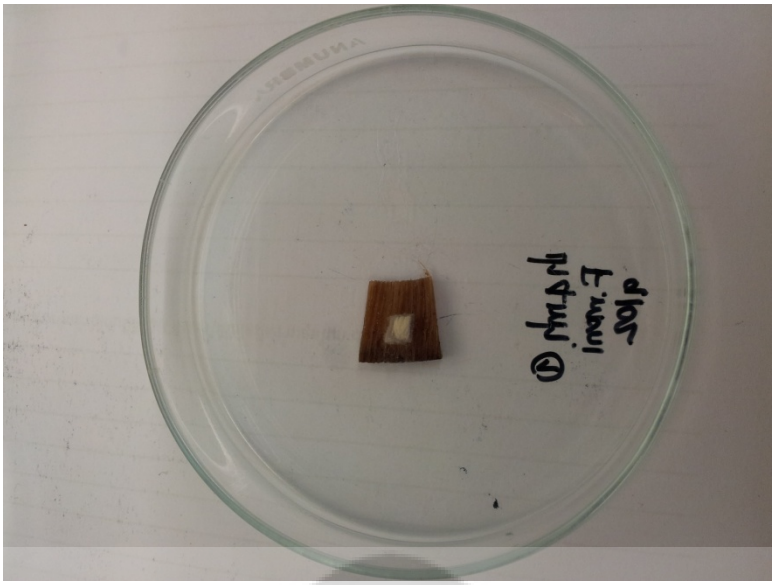
รูปที่ 66 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดข่าเจือจาง 8 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7



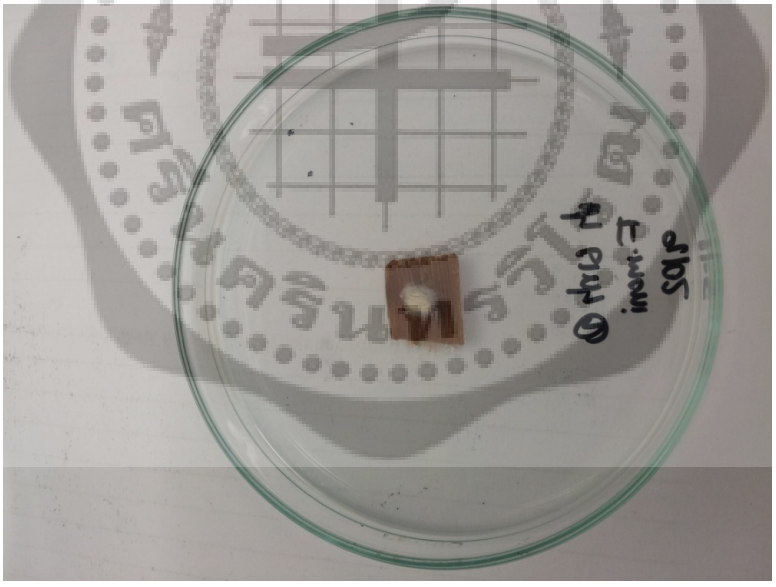
รูปที่ 67 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดข่าเจือจาง 10 เท่า เชื้อรา *C. musae* วันที่ 7



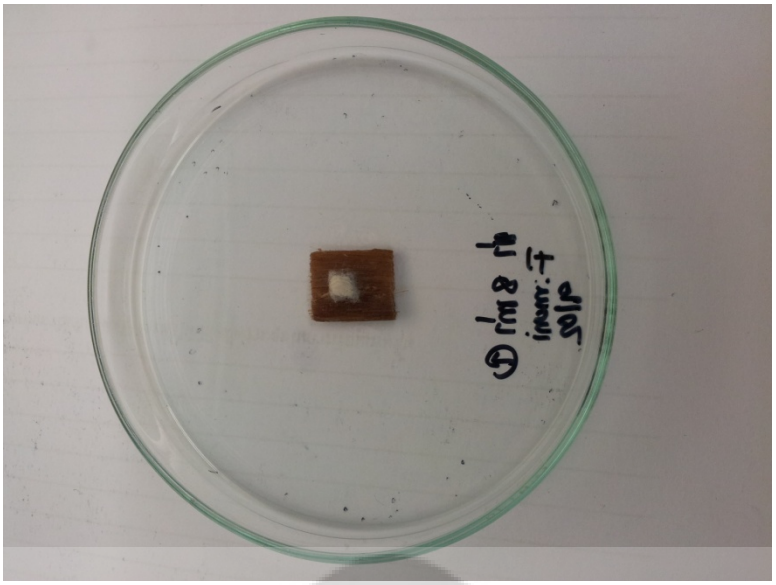
รูปที่ 68 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดข่าเจือจาง 2 เท่า เชื้อรา *F. moniliforme* วันที่ 7



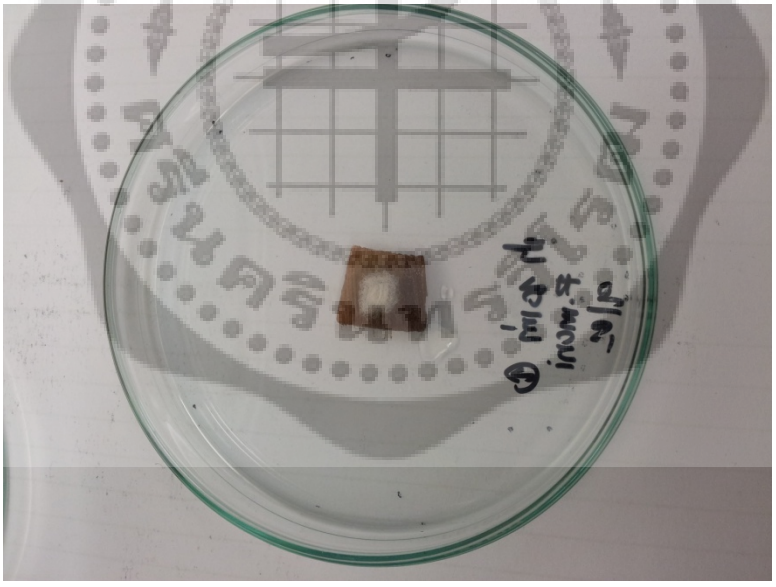
รูปที่ 69 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดข่าเจือจาง 4 เท่า เชื้อรา *F. moniliforme* วันที่ 7



รูปที่ 70 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดข่าเจือจาง 6 เท่า เชื้อรา *F. moniliforme* วันที่ 7



รูปที่ 71 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดข่าเจือจาง 8 เท่า เชื้อรา *F. moniliforme* วันที่ 7



รูปที่ 72 การทดสอบบนขั้วกล้วยใช้สารสกัดข่าเจือจาง 10 เท่า เชื้อรา *F. moniliforme* วันที่ 7

ประวัติย่อของผู้วิจัย

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นายธนัท อมาตยกุล
ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mr. Thanut AMATAYAKUL

2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3 1017 00191 25 3

3. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์ประจำคณะเทคโนโลยีและนวัตกรรมผลิตภัณฑ์การเกษตร

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร

4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก คณะเทคโนโลยีและนวัตกรรมผลิตภัณฑ์การเกษตร

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร
114 ถนนสุขุมวิท 23

เขตวัฒนา กรุงเทพฯ 10110

โทร/แฟกซ์:

0-2649-5000 ต่อ 5812, 081453-8578
มือถือ 084-773-3271 อีเมล์ tanut@swu.ac.th, marnpong@hotmail.com

5. ประวัติการศึกษา

- วท.บ.(เทคโนโลยีชีวภาพ) มหาวิทยาลัยมหิดล
- M. App. Sc. (Food Science and Technology) , University of Western Sydney, Australia
- Ph.D. (Food Science) , Victoria University, Australia

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

นมและผลิตภัณฑ์นม การแปรรูปอาหาร การตรวจวัดลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหาร การวิเคราะห์อาหารทางเคมีและจุลินทรีย์

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละผลงานวิจัย

- ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย : ชื่อแผนงานวิจัย -

- หัวหน้าโครงการวิจัย : ชื่อโครงการวิจัย

(1) ชื่อโครงการ: การพัฒนาไส้อั่วผสมบุกไขมันต่ำ
(รหัสโครงการ I352A03011)
ชื่อแหล่งทุน: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ฝ่ายอุตสาหกรรม โครงการโครงงานอุตสาหกรรมสำหรับปริญญาตรี (IRPUS) ประจำปี 2552

(2) ชื่อโครงการ: การศึกษาผลของการลดขนาดเมล็ดข้าวเหนียวต่อการผลิตสาโท
(รหัสโครงการ I351A03012)
ชื่อแหล่งทุน: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ฝ่ายอุตสาหกรรม โครงการโครงงานอุตสาหกรรมสำหรับปริญญาตรี (IRPUS) ประจำปี 2551

(3) ชื่อโครงการ: การศึกษา การศึกษาผลของการใช้น้ำเวย์ที่ได้จากกระบวนการผลิตเนยแข็งต่อกระบวนการหมัก และการอยู่รอดของเชื้อ probiotic ในโยเกิร์ตที่ผลิตจากนมถั่วเหลือง
(รหัสโครงการ I351A03013)
ชื่อแหล่งทุน: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ฝ่ายอุตสาหกรรม โครงการโครงงานอุตสาหกรรมสำหรับปริญญาตรี (IRPUS) ประจำปี 2551

(4) ชื่อโครงการ: การพัฒนาผลิตภัณฑ์กัมมี่เยลลี่วิตามินสูงจากฝรั่ง
(รหัสโครงการ I350A03009)
ชื่อแหล่งทุน: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ฝ่ายอุตสาหกรรม โครงการโครงงานอุตสาหกรรมสำหรับปริญญาตรี (IRPUS) ประจำปี 2550

(5) ชื่อโครงการ: การปรับปรุงกระบวนการลดอุณหภูมิผลิตภัณฑ์กล้วยหอมอินทรีย์เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาในระหว่างกระบวนการหลังการขนส่งของสหกรณ์การเกษตรท่ายาง จังหวัดเพชรบุรี
(รหัสโครงการ I24903067)
ชื่อแหล่งทุน: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ฝ่ายอุตสาหกรรม โครงการโครงงานอุตสาหกรรมสำหรับปริญญาตรี (IRPUS) ประจำปี 2549

- งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว : ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และแหล่งทุน (อาจมากกว่า 1 เรื่อง)

วารสารวิชาการระดับนานาชาติ

(1) Wasinee Phiromruk, Amnat Jarerat, Pairoj Luangpituksa and Thanut Amatayakul (2009). Production of fermented milk high in activity of angiotensin converting enzyme inhibition by extending fermentation time and protease addition. Asian Journal of Food and Agro-Industry, 2(04): 167-174.

(2) Amatayakul, T., Zisu, B., Sherkat, F. and Shah, N.P. (2005). Physical characteristics of set yogurts as affected by co-culturing with non-EPS and EPS starter cultures and supplementation with WPC. The Australian Journal of Dairy Technology. 60 (3): 34-39.

(3) Amatayakul, T., Halmos, A.L., Sherkat, F. and Shah, N.P. (2006). Physical characteristics of yoghurts made using exopolysaccharide-producing starter cultures and varying casein to whey protein ratios. International Dairy Journal. 16(1): 40-51.

(4) Amatayakul, T., Sherkat, F. and Shah, N.P. (2006). Physical characteristics of set yoghurt made with altered casein to whey protein ratios and EPS-producing starter cultures at 9 and 14% total solids. Food Hydrocolloids. 20(2-3): 314-324.

(5) Amatayakul, T., Sherkat, F. and Shah, N. (2006). Syneresis in set yogurt as affected by EPS starter cultures and levels of solids. International Journal of Dairy Technology, Volume 59, Issue 3: 216-221.

วารสารวิชาการระดับชาติ

(1) Sitthipong Chotpattarasumon, Sutchai Ruenchit, Pitiporn Ritthiruangdej and Thanut Amatayakul (2009) Influence of size reduction of waxy rice kernel on Sato production and its volatile compounds. Submitted for KKU Research Journal 15(5): 393-403.

งานประชุมวิชาการระดับนานาชาติ

(1) Bumrungrat Rongtong, Rossarin Hensawang, Pitiporn Ritthiruangdej and Thanut Amatayakul (2010) Development of probiotic yogurt jelly. **A poster presentation** at Food Innovation Asia 2010, Indigenous Food Research and Development to Global Market, BITEC, Bangkok, THAILAND, June 17-18 2010

(2) Thanut Amatayakul, Daranee Bunsuwan, Jitisak Srinak, and Pitiporn Ritthiruangdej (2010) Physical and sensory characteristics of reduced fat spicy-Thai sausage (Sai Uaa) made by partial replacement of meat and fat with konjac gel and hydrated egg white. **An oral presentation** at Food Innovation Asia 2010, Indigenous Food Research and Development to Global Market, BITEC, Bangkok, THAILAND, June 17-18 2010

(2) Sitthipong Chotpattarasumon, Sutchai Ruenchit, Pitiporn Ritthiruangdej and Thanut Amatayakul (2009) Influence of size reduction of waxy rice kernel on Sato production and its volatile compounds **An oral presentation** at The 3rd international conference on Fermentation Technology for Value Added Agricultural Products, Thailand. 26-28 August, 2009

(3) Wasinee Phiromruk, Amnat Jarerat, Pairoj Luanpitaksa and Thanut Amatayakul (2009) Production of fermented milk high in activity of angiotensin converting enzyme inhibitor. **A poster presentation** at The 2nd Biochemistry and molecular biology for reginal sustainable development, Faculty of Science, Kon Kaen University. 7-8 May, 2009

(4) Theerapong Meepian,Sasiwimon, Ploysasri and Thanut Amatayakul (2009) Effects of using liquid whey in probiotic soy yogurt production. **A poster presentation** at Food Innovation Asia 2009, BITEC, Thailand. 18-19 June, 2009

(5) Kheeraya Dhanapukkhawat and Thanut Amatayakul (2007) Factors Affecting Gel Characteristic of Thai Fish Cake (Tod Mun Pla Krai) **A poster presentation** at Food Innovation Asia 2007, BITEC, Thailand.14-15 June, 2007

(6) Amatayakul, T, Sherkat, F, and Shah, NP. (2004) Effects of varying casein to whey protein ratios and types of starter cultures on physical properties of set yoghurt made at low and high total solids. **An oral presentation** at Seventh International Hydrocolloids Conference, 29 August - 1 September, Melbourne.

(7) T. Amatayakul, F. Sherkat, N. P. Shah (2004) Investigating physical properties of yoghurts made by varying casein to whey protein ratios and using EPS starter cultures during storage periods. **A poster presentation** at Institute of Food Technologists (IFT) Annual Convention, 12-16 July, Las Vegas, Nv., USA.

(8) Amatayakul, T, Sherkat, F. and Shah, NP. (2004) Microstructure of set yoghurt made by vatying casein to whey protein ratios and EPS starter culture. A **poster presentation** at 37th Annual AIFST Convention, 25-28 July, Brisbane.

(9) Amatayakul, T, Sherkat, F and Shah, NP. (2003) Improving physical properties of yoghurt by whey protein and exopolysaccharide producing starter cultures. **A poster presentation** at Food for Life, 24-27 August, Melbourne.

งานประชุมวิชาการระดับชาติ

(1) **Thanut Amatayakul** and Pitiporn Ritthiruangdej **(2011)**. "Principal Component Analysis of Sai Uaa made by partial replacement of pork meat and fat by konjac gel and egg white." SWU conference 5, Srinakharinvirot University, March 17-18, 2011. (Oral Presentation)