



## รายงานการวิจัย

การศึกษาสารสกัดยับยั้งจากพืชสมุนไพรท้องถิ่น 5 ชนิด ต่อการยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. ในมะม่วงน้ำดอกไม้

**The Study of Crude Extracts 5 Species of Local Medicinal Herbs on Inhibition *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc.**

นางสาวชนาวรรณ สุขเกษม

สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

ประจำปีงบประมาณ 2558

## รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษาสารสกัดยับยั้งจากพืชสมุนไพรท้องถิ่น 5 ชนิด ต่อการยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. ในมะม่วงน้ำดอกไม้

The Study of Crude Extracts 5 Species of Local Medicinal Herbs on Inhibition *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc.

นางสาวธนาวรรณ สุขเกษม	สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
นางสาวปอแก้ว พรหมเพชร	สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
นางสาวสมเพียร พักทอง	สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
นางสาวแสงจันทร์ สอนสว่าง	สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
นางสาวรุ่งนภา สนั่นดี	สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

ทุนอุดหนุนโดย งบประมาณแผ่นดินที่พิจารณาจากโดยผ่านความเห็นชอบจากสำนักงาน

คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ประจำปีงบประมาณ 2558

## กิตติกรรมประกาศ

รายงานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยคำแนะนำต่าง ๆ จากคณาจารย์ในมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ และความร่วมมือช่วยเหลืออย่างดียิ่งจากบุคคลหลายฝ่าย ขอขอบคุณคุณไทรรัตน์ เปี้ยถนอม ประธานกลุ่มปรับปรุงคุณภาพมะม่วงเพื่อการค้าและส่งออก จังหวัดเพชรบูรณ์ที่สละเวลาให้คำแนะนำ คำปรึกษา รวมถึงข้อเสนอแนะต่าง ๆ อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการดำเนินการวิจัยในครั้งนี้

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณคุณพ่อคุณแม่ที่ให้กำลังใจในการทำวิจัย ขอขอบคุณเพื่อน ๆ และพี่ ๆ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาชีววิทยา และนักศึกษาสาขาวิชาชีววิทยาที่ช่วยเหลือในระหว่างทำงานวิจัยเป็นอย่างสูง ที่ได้ให้ความกรุณาให้คำปรึกษาแนะนำให้แก่ผู้วิจัย จึงขอขอบพระคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ที่ได้ให้ทุนอุดหนุนการวิจัยครั้งนี้มา ณ ที่นี้ด้วย

ธนาวรรณ สุขเกษม และคณะ

กันยายน ๒๕๕๙

ชื่อเรื่อง การศึกษาสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรท้องถิ่น 5 ชนิด ต่อการยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. ในมะม่วงน้ำดอกไม้

ผู้วิจัย ธนาวรรณ สุขเกษม

### บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อทำการศึกษานิตของสมุนไพรท้องถิ่นที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. และเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสในมะม่วงน้ำดอกไม้ โดยทำการศึกษานิตของสารสกัดหยาบของสมุนไพรท้องถิ่น 5 ชนิด ได้แก่ ขิง สะเดา กะเพรา มะกรูด และตะไคร้ โดยใช้ น้ำกลั่น และ 95% เอทิลแอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลายที่ระดับความเข้มข้น 0 (ควบคุม) , 500 , 750 และ 1,000 ppm พบว่าผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากขิงด้วยตัวทำละลาย 95% เอทิลแอลกอฮอล์สามารถยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสในมะม่วงได้ดีที่สุดที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm โดยวิธี paper disc diffusion technique ได้เส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone มากที่สุด 4.2 มิลลิเมตร ส่วนใบกะเพราที่สกัดด้วยน้ำกลั่นยับยั้งได้น้อยที่สุด มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8 มิลลิเมตร เมื่อทำการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา โดยวิธี poisoned food technique (PFT) พบว่าสารสกัดหยาบจากขิงและมะกรูดที่ 1,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยราได้สูงสุด 76.08% และ 75.66% ตามลำดับ ซึ่งการใช้ 95% เอทิลแอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลายในการสกัดมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตได้ดีกว่าน้ำกลั่นซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

สารสกัดจากขิงมีค่า ED<sub>50</sub> เท่ากับ 251.356 ppm บ่งบอกถึงความเข้มข้นที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราได้ 50% ซึ่งดีกว่าสมุนไพรชนิดอื่นๆ ค่า MIC ของสารสกัดมะกรูด ขิง และตะไคร้ มีค่าเท่ากับ 0.1875 , 0.375 และ 0.75 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากสะเดา และกะเพรามีค่า MIC เท่ากับ 1.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ สารสกัดจากขิงที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราได้ 100% เช่นเดียวกับแมนโคแซบ โดยมีผลทำให้เส้นใยที่งอกมีความผิดปกติ และไม่พบการงอกของ germ tube

คำสำคัญ สารสกัดหยาบ / พืชสมุนไพรท้องถิ่น / การยับยั้ง / *Colletotrichum gloeosporioides* / มะม่วงน้ำดอกไม้

Title The study of crude extracts 5 species of local medicinal herbs on inhibition *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc.

Author Tanawan Sukkasem

### ABSTRACT

This research aims to study used the local medicinal herb extracts inhibition *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc and evaluated crude extract inhibited *C. gloeosporioides* cause of Num Dong Mai anthracnose disease. To study crude extracts 5 species of local herb as follows, ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) , neem (*Azadirachta indica* Juss. Var. *siamensis* Valetton) , holy basil (*Ocimum sanctum* Linn.) , kaffir lime (*Ciirus hystrix* SC.) and lemon grass (*Cymbopogon citratus* Stapf.). Distilled water and 95% ethyl alcohol were used as solvents to extract of local medicinal herbs at 0 (control) , 500 , 750 and 1,000 ppm was found that crude extracts from ginger that extracted with 95% ethyl alcohol solvent could inhibited *C. gloeosporioides* at 1,000 ppm gave the best efficacy by paper disc diffusion technique was found clear zone 4.2 mm. Extracts from leaves of holy basil with distilled water showed inhibited the least growth had clear zone was 0.8 mm. The efficiency inhibited of growth mycelium by poisoned food technique (PFT) was found that ginger extracts and kaffir lime at 1,000 ppm inhibited of growth mycelium effective the best about 76.08% and 75.66 respectively. 95% ethyl alcohol was the best solvent to inhibited growth mycelium found that was significantly different at 95% confidence more than distilled water.

Ginger extract showed  $ED_{50}$  251.356 ppm was concentrated to inhibited growth 50% better than another local herb. MIC of kaffir lime , ginger and lemon grass was found at 0.1875 , 0.375 and 0.75 mg/ml respectively. Extract of neem and holy basil had MIC was found at 1.5 mg/ml that was minimum concentration inhibited the growth. Extract from ginger at concentration of 1,000 ppm inhibited 100% spore germination as well as mancozep these extract cause abnormal of mycelium and not found germ tube germination.

**Keywords** Crude extract / local medicinal herbs / Inhibition / *Colletotrichum gloeosporioides* / Nam Dong Mai

## สารบัญเรื่อง

	หน้าที่	
กิตติกรรมประกาศ	ก	
บทคัดย่อไทย	ข	
บทคัดย่ออังกฤษ	ค	
สารบัญเรื่อง	ง	
สารบัญตาราง	ฉ	
สารบัญภาพ	ช	
<b>บทที่ 1</b>	<b>บทนำ</b>	
	ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
	วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
	ขอบเขตของโครงการวิจัย	3
	ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
	นิยามศัพท์เฉพาะ	4
<b>บทที่ 2</b>	<b>การทบทวนวรรณกรรม</b>	
	มะม่วง	5
	โรคแอนแทรกคโนส	8
	พืชสมุนไพรรักษา	12
	การสกัดด้วยตัวทำละลาย	18
	วิธีการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์	22
	งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	25
<b>บทที่ 3</b>	<b>วิธีการดำเนินการวิจัย</b>	
	พืชสมุนไพรรักษาที่ใช้ในการทดลอง	31
	สารเคมี	31
	วัสดุ และอุปกรณ์	31
	อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์	32
	เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ	32
	วิธีการทดลอง	32
	ระยะเวลา และสถานที่ทำการวิจัย	38

## สารบัญเรื่อง (ต่อ)

	หน้าที่
<b>บทที่ 4</b>	<b>ผลการวิจัย</b>
	ผลการศึกษาลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพร
	ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>
	ผลการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา
	ผลการศึกษาการหาค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) ของสารสกัด
	ผลการศึกษาการทดสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์
<b>บทที่ 5</b>	<b>สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ</b>
	การศึกษาลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพร
	การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ <i>Colletotrichum Gloeosporioides</i>
	การศึกษากฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา
	การศึกษาค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) ของสารสกัด
	การศึกษาค่าทดสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์
	ข้อเสนอแนะ
<b>บรรณานุกรม</b>	
<b>ภาคผนวก</b>	<b>ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ การเตรียมสารสกัด และสารเคมี</b>
	<b>ภาคผนวก ข วิธีการวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง</b>
	<b>ภาคผนวก ค การเตรียมซัสเฟรนชั้นของสปอร์รา และการคำนวณหาความเข้มข้นของเชื้อรา</b>
	<b>ภาคผนวก ง การวิเคราะห์หาค่า ED<sub>50</sub> โดยวิธี Probit Analysis</b>
	<b>ภาคผนวก จ ตาราง Probit</b>
	<b>ภาคผนวก ฉ ผลการวิเคราะห์ค่า Probit โดยโปรแกรม SPSS</b>
	<b>ภาคผนวก ช ภาพประกอบการทำวิจัย</b>
	<b>ภาคผนวก ฉ มคอ.3 รายวิชา ปฏิบัติการจุลชีววิทยา</b>
<b>ประวัติผู้วิจัย</b>	

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้าที่
2.1	คุณค่าทางโภชนาการของมะม่วงน้ำดอกไม้	6
3.1	สารสกัดจากพืชสมุนไพรที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ใช้ตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด	34
3.2	การเจือจางความเข้มข้นของสารสกัดพืชสมุนไพรให้มีความเข้มข้นลดลงทีละ 2 เท่า	37
4.1	สารสกัดจากพืชสมุนไพรที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ใช้ตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด	39
4.2	ผลการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพรท้องถิ่น	40
4.3	เปรียบเทียบขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ที่ถูกยับยั้งด้วยสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ	43
4.4	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ที่บ่มเชื้อบนอาหารที่ผสมสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรท้องถิ่นชนิดต่าง ๆ ด้วยน้ำกลั่น ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ	45
4.5	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ที่ บ่มเชื้อบนอาหารที่ผสมสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรท้องถิ่นชนิดต่าง ๆ ด้วย 95% เอทิลแอลกอฮอล์ ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ	47
4.6	เปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรท้องถิ่นชนิดต่าง ๆ	49
4.7	การเจือจางความเข้มข้นของสารสกัดพืชสมุนไพรให้มีความเข้มข้นลดลงทีละ 2 เท่า	56
4.8	หาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรท้องถิ่นด้วยเอทิลแอลกอฮอล์	57
4.9	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ที่ถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากสมุนไพรชนิดต่าง ๆ ในตัวทำละลายน้ำกลั่น	58
4.10	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ที่ถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากสมุนไพรชนิดต่าง ๆ ใน 95% เอทิลแอลกอฮอล์	61
จ-1	การแปลงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญไปเป็นค่าโพรบิท	88

## สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้าที่
2.1	ลักษณะทั่วไปของผลมะม่วง	5
2.2	ลักษณะสปอร์ของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	9
2.3	ลักษณะอาการของโรคแอนแทรคโนสที่มีสาเหตุจากเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	10
2.4	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของชิง	12
2.5	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของสะเดา	13
2.6	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกะเพรา	14
2.7	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมะกรูด	15
2.8	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของตะไคร้	17
2.9	วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายด้วยของเหลว 2 ชนิด	18
2.10	เครื่องมือสำหรับการสกัดแบบต่อเนื่อง	19
2.11	การกระจายตัวของตัวถูกละลายในการสกัดด้วยเครื่องมือ craig	20
2.12	เครื่องมือสกัดแบบ soxhlet extractor	21
2.13	การเกิดบริเวณใสรอบๆกระดาษที่มีสารยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ	22
3.1	การวาง paper disc ของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	35
3.2	การวางชิ้นวุ้นเส้นใยเชื้อราลงบนอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพร โดยวิธี poisoned food technique	36
4.1	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา <i>Colletotrichum Gloeosporioides</i>	41
4.2	ค่า ED <sub>50</sub> ของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรท้องถิ่นที่สกัดด้วยน้ำกลั่น	51
4.3	ค่า ED <sub>50</sub> ของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรท้องถิ่นที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์	54
4.4	ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบที่ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์ <i>Colletotrichum Gloeosporioides</i>	59
4.5	ลักษณะสปอร์ของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (Penz.) Sacc. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่ถูดยับยั้งด้วยสารสกัดหยาบจากสมุนไพรชนิดต่าง ๆ ที่ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย	60
4.6	ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบที่ใช้อัลกอฮอล์เป็นตัวทำละลายต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์ <i>Colletotrichum Gloeosporioides</i>	62

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้าที่
4.7	ลักษณะสปอร์ของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (Penz.) Sacc. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่ถูกย้อมยั้งด้วยสารสกัดหยาบจากสมุนไพรมินต์ต่าง ๆ ที่ใช้เอทานอล 95 % เป็นตัวทำละลาย	63
ข-1	ลักษณะบริเวณโซนใสที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา	80
ค-1	ลักษณะของ Hemacytometer	83
ค-2	ลักษณะสเกลของ Hemacytometer	84
ค-3	วิธีการสุ่มสเกลที่ใช้สำหรับนับจำนวนสปอร์ของเชื้อรา	84
ง-1	การหาค่า ED <sub>50</sub> ของสารสกัดจากขิงด้วยแอลกอฮอล์ที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้ 50 เปอร์เซ็นต์	87
ค-3	วิธีการสุ่มสเกลที่ใช้สำหรับนับจำนวนสปอร์ของเชื้อรา	84
จ-1	การเตรียมตัวอย่างสมุนไพรมินต์ 5 ชนิด	110
จ-2	ตัวอย่างผงสมุนไพรมินต์ 5 ชนิด	110
จ-3	การคัดขนาดของสมุนไพรมินต์โดยใช้ตะแกรงร่อนขนาด mesh 100	111
จ-4	วิธีการแช่ผงสมุนไพรมินต์โดยใช้ถุงชา	111
จ-5	ตัวอย่างสารสกัดจากมะกรูดในตัวทำละลายเอทานอล	112
จ-6	ตัวอย่างสารสกัดจากขิงในตัวทำละลายเอทานอล	112
จ-7	ตัวอย่างสารสกัดจากกะเพราในตัวทำละลายเอทานอล	112
จ-8	ตัวอย่างสารสกัดจากตะไคร้ในตัวทำละลายเอทานอล	113
จ-9	ตัวอย่างสารสกัดจากสะเดาในตัวทำละลายเอทานอล	113
จ-10	ตัวอย่างสารสกัดจากกะเพราในตัวทำละลายน้ำกลั่น	113
จ-11	ตัวอย่างสารสกัดจากมะกรูดในตัวทำละลายน้ำกลั่น	114
จ-12	การเตรียมตัวอย่างเชื้อราทดสอบ โดยวิธี swap test	114
จ-13	ตัวอย่างมะม่วงน้ำดอกไม้พันธุ์สีทอง เบอร์ 4	115
จ-14	ตัวอย่างโรคแอนแทรคโนสในมะม่วงน้ำดอกไม้สีทอง	115
จ-15	ลักษณะสปอร์ของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioidesc</i>	116
จ-16	ลักษณะสปอร์ของเชื้อราที่ถูกย้อมยั้งด้วยสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรมินต์	116
จ-17	การเตรียม paper disc สำหรับการทดสอบเชื้อ	117

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้าที่
จ-18	การวาง paper disc ทดสอบการยับยั้งเชื้อ	117
จ-19	การยับยั้งการเจริญของเชื้อราด้วยสารสกัดจากกะเพราในแอลกอฮอล์	118
จ-20	การยับยั้งการเจริญของเชื้อราด้วยสารสกัดจากขิงในแอลกอฮอล์	118
จ-21	การยับยั้งการเจริญของเชื้อราด้วยสารสกัดจากตะไคร้ในแอลกอฮอล์	119
จ-22	การยับยั้งการเจริญของเชื้อราด้วยสารสกัดจากมะกรูดในแอลกอฮอล์	119
จ-23	การยับยั้งการเจริญของเชื้อราด้วยสารสกัดจากสะเดาในแอลกอฮอล์	120
จ-24	การยับยั้งการเจริญของเชื้อราด้วยสารสกัดจากกะเพราในน้ำกลั่น	120
จ-25	การยับยั้งการเจริญของเชื้อราด้วยสารสกัดจากขิงในน้ำกลั่น	121
จ-26	การยับยั้งการเจริญของเชื้อราด้วยสารสกัดจากตะไคร้ในน้ำกลั่น	121
จ-27	การยับยั้งการเจริญของเชื้อราด้วยสารสกัดจากมะกรูดในน้ำกลั่น	122
จ-28	การยับยั้งการเจริญของเชื้อราด้วยสารสกัดจากสะเดาในน้ำกลั่น	122
จ-29	การทดสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์รา	123
จ-30	ตัวอย่างสารสกัดจากกะเพราในตัวทำละลายเอทานอล	123

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

มะม่วง (*Mangifera indica* Linn.) เป็นผลไม้เขตร้อนจัดที่คนนิยมบริโภค เนื่องจากมีรสชาติที่หวานหอม จัดอยู่ในวงศ์ Anacardiaceae ปลูกในทุกพื้นที่ของประเทศไทย เป็นไม้ผลที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่ง จึงมีการส่งเสริมให้ปลูกมะม่วงอย่างแพร่หลายยิ่งขึ้น เพื่อให้เพียงพอต่อการบริโภคภายใน ประเทศและส่งออกจำหน่ายไปยังต่างประเทศ โดยเฉพาะในพื้นที่ตำบลงมูลเหล็กที่มีการปลูกมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองเป็นจำนวนมาก มุ่งเน้นเพื่อการค้าและการส่งออกไปทางประเทศแถบเอเชีย ดังนั้นการผลิตมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองเพื่อการค้าจึงจำเป็นต้องผลิตให้มีคุณภาพปลอดจากเชื้อโรคตั้งแต่ขั้นตอนการเพาะปลูก การดูแลรักษา การเก็บเกี่ยวรวมถึงการขนส่ง ซึ่งจะมีอุปสรรคเนื่องจากหลายปัจจัย เช่น การทำลายของแมลงวันทอง ความเสียหายขณะเก็บเกี่ยว การขนส่งและบรรจุหีบห่อ ความผิดปกติทางสรีรวิทยา ของมะม่วงและความเสียหายภายหลังการเก็บเกี่ยว (พรประพา และสร้อยยา, 2553) และโรคเป็นปัญหาสำคัญ สำคัญที่จำกัดการผลิตและคุณภาพของผลผลิตโดย เฉพาะอย่างยิ่ง โรคแอนแทรกโนส (Anthracnose) ที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) เป็นโรคที่มีความสำคัญมากกับมะม่วง ทำความเสียหายต่อทั้งปริมาณและคุณภาพของ ผลผลิตมะม่วงเป็นอย่างมาก สามารถเข้าทำลายได้ เกือบทุกส่วน ของมะม่วงไม่ว่าจะเป็นต้นกล้า ยอดอ่อน ใบอ่อน ช่อดอก ดอก ผลอ่อนจนถึงผลแก่ และผลหลัง การเก็บเกี่ยวทำให้เกิดอาการเป็นจุดแผลบนใบ กิ่ง ผล และหากการเข้าทำลายของโรครุนแรงก็จะเกิดอาการ ใบแห้ง ใบบิดเบี้ยว และร่วงหล่น ช่อดอกแห้งไม่ติดผล ผลเน่าร่วง มะม่วงส่วนใหญ่ที่ปลูกเป็นการค้าส่วนมากอ่อนแอต่อโรคแอนแทรกโนส ซึ่งเกษตรกร จึงจำเป็นต้องใช้สารเคมีในการกำจัดและป้องกันเชื้อรา จึงส่งผลให้มะม่วงมีสารเคมีสะสม และมีราคาต่ำลงเนื่อง จากผลผลิตถูกทำลายจากเชื้อราทำให้เกิดการแพร่กระจายและระบาดไปยังต้นที่แข็งแรง ประกอบกับสารเคมีที่ใช้ ในการกำจัดและป้องกันอาจจะส่งผลกระทบต่อตัวเกษตรกรเอง ผู้บริโภค และส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในระยะยาว ดังนั้นการควบคุมเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคโดยใช้สิ่งมีชีวิตหรือสารสกัดทางชีวภาพมาควบคุม เรียกว่าชีววิธี จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่ น่าควรมานำประยุกต์ใช้กับมะม่วงน้ำดอกไม้สีทอง เพื่อช่วยลดปริมาณการใช้สารเคมี อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องมีการศึกษา ค้นคว้า สารสกัดจากพืชสมุนไพรท้องถิ่นเพื่อเป็นหนทางหนึ่งทางเลือกให้กับ

โรคแอนแทรกโนส (Anthracnose disease) ในมะม่วงเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ปรากฏโรคให้เห็นทั้งระยะก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว โดยเชื้อราสามารถติดไปกับ

ผลอ่อนในสภาพพักตัว และเจริญอย่างรวดเร็วเมื่อผลเริ่มสุก ทำให้เกิดจุดดำกระจายบนผล และขยายตัวออกกว้าง เมื่อผลมะม่วงสุกมาก และมีกลุ่มสปอร์สีชมพู หรือ สีส้ม เกิดบริเวณเนื้อเยื่อที่เน่าดำมาก ผลมะม่วงจะเหี่ยวและเน่าทั้งผลในเวลาต่อมา ปัจจุบันการควบคุมมักใช้สารเคมีในการป้องกันโรค โดยเฉพาะสารเคมีประเภทดูดซึมเช่น Carbendazime, Benomyl และ Thiabendazole แต่เริ่มมีข้อจำกัดในบางประเทศ เนื่องจากมีสารพิษตกค้างเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคให้ ซึ่งในประเทศที่พัฒนามีการออกมาตรการควบคุมการใช้สารเคมีบางชนิด เช่นประเทศญี่ปุ่น และสหรัฐอเมริกา1 ดังนั้นการใช้วิธีการอื่นแทนการใช้สารเคมีเพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสในมะม่วงจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจ และจำเป็น งานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาการใช้สารจากธรรมชาติที่ปลอดภัยเช่น การใช้สารสกัดจากเปลือกมังคุดเพื่อใช้ควบคุมเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสใน

มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้โดยลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายดังกล่าวดังนั้นผู้วิจัยจึงเล็งเห็นถึงความสำคัญในการเพิ่มประสิทธิภาพของการผลิตมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองและควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสทำให้วัตถุดิบเกิดความเสียหาย และราคาตกต่ำได้ จึงทำการศึกษาชนิดของสมุนไพรท้องถิ่นที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc และเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดที่ยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. ได้ดีที่สุด ซึ่งสามารถใช้ควบคุมโรคแอนแทรคโนสได้อย่างมีประสิทธิภาพและมีศักยภาพในการนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภคได้ ซึ่งข้อมูลที่ได้ในครั้งนี้จะเป็นประโยชน์ต่อตัวเกษตรกรในที่ทำให้ทราบชนิดของพืชสมุนไพรไทยที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนส เกษตรกรสามารถผลิตใช้ได้เองต่อไป

## 1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาชนิดของสมุนไพรท้องถิ่นที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc.
2. เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดที่ยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. ได้ดีที่สุด
3. เพื่อเผยแพร่องค์ความรู้ให้แก่เกษตรกร ในการใช้พืชสมุนไพรในท้องถิ่นกำจัดศัตรูพืช

## 1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

### 1. ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ศึกษาสารสกัดจากสมุนไพรท้องถิ่น จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ ขิง สะเดา ใบกระเพรา ใบมะกรูด และตะไคร้ ที่มีอายุการเก็บเกี่ยวประมาณ 45 วันหลังจากการเพาะปลูก

เชื้อที่นำมาทดสอบเป็นเชื้อราจากโรคพืชของมะม่วง คือ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. ที่เก็บจากมะม่วงน้ำดอกไม้พันธุ์สีทองที่เป็นโรคแอนแทรคโนส

2. ระยะเวลาที่ใช้ในการวิจัย คือ เดือนพฤศจิกายน 2557 – เดือนสิงหาคม 2558

3. ตัวแปรที่ใช้ในการค้นคว้า ได้แก่

3.1 ตัวแปรต้น

3.1.1 ชนิดของพืชสมุนไพรมะม่วง 5 ชนิด ได้แก่ ขิง สะเดา ใบกระเพรา ใบมะกรูด และ ตะไคร้

3.1.2 ความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพรมะม่วง 4 ระดับ คือ ความเข้มข้น 0, 500, 750 และ 1000 ppm

3.1.3 ชนิดของตัวทำละลาย ได้แก่ น้ำกลั่น และเอทานอล 95%

3.2 ตัวแปรตาม ได้แก่

3.2.1 ศึกษาปริมาณความชื้น และน้ำหนักแห้งของสารสกัดสมุนไพรมะม่วงในท้องถิ่นที่สกัดได้จากตัวทำละลายที่ต่างกัน

3.2.2 ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc ด้วยวิธี disc diffusion technique โดยการวัดขนาดของ clear zone ของ paper disc

3.2.3 ศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดที่ต่ำที่สุด (MIC) ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc แบบ in vitro

3.2.4 ศึกษาผลการทดสอบของสารสกัดจากพืชสมุนไพรมะม่วงต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์รา ด้วยวิธี spore germination test

#### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

จากการวิจัยประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ มีดังนี้

1. ทราบชนิดของพืชสมุนไพรมะม่วงท้องถิ่นที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งโรคแอนแทรคโนสได้
2. สามารถเปรียบเทียบปริมาณของสารสกัดหายากจากพืชสมุนไพรมะม่วงท้องถิ่นที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งโรคแอนแทรคโนสได้
3. เพื่อเผยแพร่ผลงานวิจัยในวารสาร และถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตสู่ชุมชนเพื่อสร้างรายได้เสริม
4. สามารถนำมาบูรณาการร่วมกับการเรียนการสอนในรายวิชา จุลชีววิทยา และจุลชีววิทยา อุตสาหกรรมต่อนักศึกษาหลักสูตรสาขาวิชาชีววิทยา

## 1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ

1. **โรคแอนแทรกโนส (Anthracnose)** หมายถึง เป็นโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราที่อยู่ในจีนัส *Colletotrichum* ทำให้ผลผลิตเน่าเสีย มีสีน้ำตาลเข้มชั้นเรื่อย ๆ ขยายออกเป็นวงกลมหรือวงรีซ้อนกันเป็นชั้น ๆ พบชัดเจนในระยะที่ผลเริ่มสุก พบสปอร์หรือ conidia สีส้มหรือสีชมพูเป็นหยดเหลวชั้นบริเวณแผล

2. **สมุนไพรท้องถิ่น (Local herb)** หมายถึง พืชที่สามารถเพาะปลูกและพบได้ในท้องถิ่น และนำมาใช้เป็นสมุนไพรในการประกอบอาหาร และรักษาโรค เช่น ขิง สะเดา ตะไคร้ ใบมะกรูด และใบกระเพรา

3. **มะม่วงน้ำดอกไม้ (Num Dong Mai mango)** หมายถึง เป็นผลไม้เขตร้อนที่สามารถรับประทานดิบหรือสุกได้ ผลมีขนาดใหญ่ เนื้อมาก เมล็ดเล็ก ผิวบาง สีเหลืองนวล เนื้อแน่น มีกลิ่นหอม เนื้อละเอียด มีเสี้ยนน้อย

4. **สารสกัดหยาบ (Crude extract)** หมายถึง สารที่สกัดได้จากการนำเอาพืชสมุนไพรมาบดให้ละเอียด แล้วนำไปแช่ในตัวทำละลาย แล้วกรองเอาส่วนที่เป็นของเหลวที่ได้จากการสกัด 2 ครั้ง มาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง evaporation ให้แห้ง

5. **ประสิทธิภาพการยับยั้ง (Inhibition coefficient)** หมายถึง ผลของการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรกโนส โดยอาศัยหลักการแพร่ของสารในแผ่นกระดาษกรองที่เป็นวงกลม โดยดูจากบริเวณ clear zone ที่สามารถยับยั้งไม่ให้เชื้อราเจริญเติบโตรอบแผ่นกระดาษกรองวงกลม

6. **เทคนิควงกระดาษกรอง (Paper disc technique)** หมายถึง เป็นกระดาษกรองวงกลมที่ถูกนำมาแช่ในสารสกัดสมุนไพรจำนวน 3 ซ้ำ แล้วนำไปทดสอบเพื่อดูว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดสมุนไพรบนกระดาษกรองสามารถยับยั้งเชื้อราได้ จากการสังเกตดู clear zone

7. **เทคนิคการแพร่ (Disc diffusion technique)** หมายถึง เป็นวิธีทดสอบการยับยั้งของเชื้อจุลินทรีย์ที่นิยมใช้มากในห้องปฏิบัติการ เนื่องจากเป็นวิธีที่ปฏิบัติง่าย สะดวก รวดเร็ว ให้ผลที่แน่นอนและถูกต้อง โดยใช้หลักการแพร่โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เติมลงบนกระดาษกรอง แล้วนำไปวางบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อที่เพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ที่ต้องการทดสอบไว้

8. **วิธีการทดสอบบนอาหารวุ้นที่ผสมกับสารสกัด (Poisoned food technique)** หมายถึง การทดสอบที่มีการผสมสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เพื่อให้อาหารเกิดความเป็นพิษในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อนำไปทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยรา

9. **MIC (Minimum Inhibition Concentration)** หมายถึง ปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่เราต้องการทดสอบได้ เป็นค่าที่นิยมใช้บ่งบอกถึงความไวของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

## บทที่ 2

### เอกสารและรายงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการศึกษา เรื่อง การศึกษาสารสกัดยับยั้งจากพืชสมุนไพรท้องถิ่น 5 ชนิด ต่อการยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. ในมะม่วงน้ำดอกไม้ ผู้วิจัยได้รวบรวมแนวคิด และหลักการต่าง ๆ จากเอกสารที่เกี่ยวข้องดังต่อไปนี้

- 2.1 มะม่วง
- 2.2 โรคแอนแทรคโนส
- 2.3 พืชสมุนไพรท้องถิ่น
- 2.4 การสกัดด้วยตัวทำละลาย
- 2.5 วิธีการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์
- 2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 มะม่วง (Mango)

##### 2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมะม่วง



ภาพที่ 2.1 ลักษณะทั่วไปของผลมะม่วง

วงศ์ (Family) : Anacardiaceae

จีนัส (Genus) : *Manifera*

สปีชีส์ (Species) : *Indica*

ชื่อสามัญ (Common name) : มะม่วงน้ำดอกไม้

ชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific name) : *Manifera Indica* Linn.

ลักษณะทั่วไป : ส่วนใหญ่เป็นพืชเมืองร้อน อาจเป็นไม้ยืนต้นหรือไม้พุ่ม ลักษณะเด่นของพืชในวงศ์นี้ คือ บริเวณรอบ ๆ รังไข่จะมีลักษณะคล้ายจาน (disc) มีน้ำยาง (resinous sap) อยู่ทุกส่วนของพืช ปกติรังไข่จะมีช่องว่างภายใน 1 ช่อง และมีผลเป็นแบบผลเดี่ยวเมล็ดเดี่ยวแข็ง (drupe) พืชที่อยู่ในวงศ์เดียวกับมะม่วง ได้แก่ มะม่วงหิมพานต์ มะปราง มะกอก และพิสตาคิโอนัท สมาชิกในวงศ์นี้มีจำนวน 82 สกุล และประมาณ 800 ชนิด

มะม่วงจัดอยู่ในวงศ์ Anacardiaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Mangifera indica* เป็นไม้ผลขนาดใหญ่ ปลูกได้ทุกภาคของประเทศไทย เก็บผลแก่อยู่ระหว่าง 90 - 115 วัน นับจากวันที่ดอกบาน และสามารถปลูกได้ตลอดทั้งปีโดยจะมีปริมาณผลิตผลมากในช่วงเดือนมีนาคมถึงเดือนมิถุนายน จากข้อมูลปี 2550 ประเทศไทยมีพื้นที่เพาะปลูกมะม่วงได้เกือบทั่วประเทศ และมีเนื้อที่การเพาะปลูกมะม่วงที่ให้ผลผลิตทั้งหมด 1,791,856 ไร่ ให้ผลผลิตทั้งหมด 2,218,262 ตัน โดยแหล่งผลิตที่สำคัญ 5 อันดับแรก คือ จันทบุรี เชียงใหม่ ฉะเชิงเทรา เลย พิจิตร (ศูนย์สารสนเทศ สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2551) เนื่องจากมะม่วงเป็นผลไม้ที่มีกลิ่นหอมและมีรสชาติค่อนข้างหวาน ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (soluble solids) อยู่ระหว่าง 15 ถึง 17 องศาบริกซ์ ค่าอัตราส่วนของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ต่อปริมาณกรด (brix acid ratio) มีค่าตั้งแต่ 20 ถึง 45 มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยเฉลี่ย 4.35 และมีวิตามินและแร่ธาตุหลากหลายชนิด ดังนั้นมะม่วงจึงเป็นสินค้าทางการเกษตรที่ได้รับความนิยมและมีปริมาณการส่งออกค่อนข้างสูง ทั้งในรูปแบบมะม่วงสดแช่แข็งและแปรรูป

### 2.1.2 คุณค่าทางโภชนาการของมะม่วงน้ำดอกไม้

ส่วนประกอบทางเคมีของมะม่วงดิบ 100 กรัม

#### ตารางที่ 2.1 คุณค่าทางโภชนาการของมะม่วงน้ำดอกไม้

องค์ประกอบ	มะม่วงน้ำดอกไม้ (100 กรัม)
โปรตีน	0.82 กรัม
ไขมัน	0.38 กรัม
ใยอาหาร	1.6 กรัม
น้ำตาล	13.7 กรัม
ปริมาณของแข็งที่ละลายได้	15 - 17 องศาบริกซ์
วิตามินซี	36 มิลลิกรัม
วิตามินเอ	54 ไมโครกรัม
โพแทสเซียม	168 มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	14 มิลลิกรัม
เบต้าแคโรทีน	873 ไมโครกรัม

จากที่กล่าวมาข้างต้นมะม่วงอุดมด้วยฟอสฟอรัส และแคลเซียม นอกจากนี้ยังมีวิตามินซี วิตามินเอ เบต้าแคโรทีนในปริมาณที่สูง ช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันให้แข็งแรง ป้องกันโรคต่าง ๆ โดยเฉพาะโรคเลือดออกตามไรฟัน โรคหวัด นอกจากนี้ยังมีวิตามินบี 1 ป้องกันโรคเหน็บชา และวิตามินบี 2 ป้องกันไขมันอุดตันในเส้นเลือด

### 2.1.3 มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ (กรมวิชาการเกษตร สำนักคุ้มครองพันธุ์พืชแห่งชาติ , 2544)

มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เป็นมะม่วงที่รับประทานได้ทั้งผลสุกและผลดิบ โดยผลสุกจะมีรสชาติหวานหอม มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว เนื้อมีสีเหลืองนวลอมส้ม ปริมาณเส้นใยน้อย เนื้อมาก เมล็ดลีบ มีเบต้าแคโรทีนสูง ผลดิบมีรสชาติเปรี้ยวแหลม เนื้อแน่น กรอบ เปรี้ยว ไม่มีเสี้ยน ผิวสีขาวอมเขียว (กรมวิชาการเกษตร, 2545)

ลักษณะทั่วไปของมะม่วงน้ำดอกไม้ มีดังนี้

2.1.3.1 ใบ มีลักษณะใบใหญ่ ใบหยักเป็นคลื่น ทรงพุ่มโปร่ง ยาวเรียวแหลม

2.1.3.2 ผล มีลักษณะค่อนข้างกลมยาว ขนาดปานกลาง ผลเฉลี่ยยาว 16 เซนติเมตร กว้าง 7.2 เซนติเมตร และหนา 6.9 เซนติเมตร มีน้ำหนักต่อผลเฉลี่ยประมาณ 330 – 350 กรัม ด้านขั้วผลอูมค้อย ๆ เรียวเล็กลงสู่ปลายผล ปลายผลแหลม มีจะงอยที่ปลายผลเล็กน้อย ผิวผลเรียบ สีผิวต้องสม่ำเสมอ

2.1.3.3 การออกดอก มีนิสัยออกดอกง่าย ดอก มีการติดผลปานกลาง เป็นพันธุ์ที่ค่อนข้างอ่อนแอต่อโรคแอนแทรกโนส อายุตั้งแต่แต่ดอกจนกระทั่งผลแก่ประมาณ 115 วัน

มะม่วงน้ำดอกไม้ได้รับความนิยมเป็นอย่างมากเนื่องจากเป็นพันธุ์ที่มีลักษณะตรงตามความต้องการของตลาดต่างประเทศ (ทวีศักดิ์ ชัยเรืองยศ, 2551) และเป็นไม้ผลพันธุ์หลักเพื่อการส่งออกและมีมูลค่าการส่งออกสูงเป็นอันดับที่ 5 ของประเทศ นอกจากนี้มะม่วงน้ำดอกไม้เป็นพันธุ์ที่ออกดอกง่าย ผลิตนอกฤดูได้ การส่งออกไปยังบางประเทศต้องผ่านการอบน้ำร้อนเพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ก่อน มะม่วงน้ำดอกไม้ที่ได้รับความนิยมในการบริโภคมากที่สุดมี 2 ชนิด ได้แก่ มะม่วงน้ำดอกไม้สีทอง และมะม่วงน้ำดอกไม้เบอร์ 4 (พรรณนีย์ วิชชาชู, 2555)

### 2.1.4 สรรพคุณทางยาของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้

2.1.4.1 ผลสดแก่ รับประทานแก้คลื่นไส้ อาเจียน วิงเวียน ระบายน้ำ หรือนำมาคั้นรับประทานเป็นยาขับปัสสาวะหรือร้อนใน แก้บิดถ่ายเป็นเลือด และใช้เป็นยาบำรุงกระเพาะอาหาร

2.1.4.2 เมล็ดสด หลังรับประทานแล้วล้างเมล็ดตามแห้ง ต้มเอาน้ำดื่มหรืออบเป็นผงรับประทานแก้ท้องอืดแน่น ขับพยาธิ หรือรับประทานสดโดยนำมาโรยเกลือรับประทานเพื่อขับปัสสาวะหรือแก้บวม น้ำ เนื้อในเมล็ดใช้แก้โรคท้องร่วง

2.1.4.3 ใบสด ใบสด 15 – 30 กรัม นำมาต้มในน้ำดื่ม แก้อาการไออักเสบเรื้อรัง ท้องอืดแน่น ขางตานขโมยในเด็ก หรือนำใบสด ๆ ตำพอกบริเวณที่เป็นแผลสด ใช้เป็นยาสมานแผลสดได้

2.1.4.4 เปลือกต้นไม้ ใช้เปลือกสดๆ มาต้มในน้ำดื่มรับประทานเป็นยาแก้โรคคอตีบ เยื่อปากอักเสบ จมูกอักเสบ แก้ไข้ตัวร้อน

2.1.4.5 **เปลือกผลดิบ** คั่วนำมารับประทานร่วมกับน้ำตาล แก้อาการปวดเมื่อยเมื่อยเมื่อมีประจำเดือน แก้ปวดท้องประจำเดือนได้

## 2.2 โรคแอนแทรคโนส (Anthracnose) (โรคและแมลงศัตรูพืช, มปป)

### 2.2.1 ความหมายและความสำคัญ

โรคแอนแทรคโนส มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และจัดเป็นโรคที่สำคัญที่สุดของมะม่วง ที่ปลูกในสภาพอากาศร้อนชื้นอย่างประเทศไทย เชื้อราก่อโรคแอนแทรคโนสสามารถสร้างส่วนขยายพันธุ์ขึ้นใหม่ และเข้าทำลายพืชได้ทุกระยะการเจริญของมะม่วงตลอดฤดูกาลปลูก จึงทำให้การควบคุมโรคเป็นไปอย่างยากลำบาก อาการของโรคเกิดได้กับส่วนต่างๆของพืชได้แก่ อาการใบจุด ใบและกิ่งแห้งตาย อาการทั้งหมดที่เกิดขึ้นนี้จะเป็นแหล่งสะสมเชื้อที่จะแพร่ระบาดเข้าทำลายผลมะม่วงที่กำลังพัฒนา โดยเชื้อจะอยู่ในระยะพักตัว จนกระทั่งมะม่วงแก่และถึงระยะเก็บเกี่ยว ต่อมาเมื่อผลใกล้สุก เชื้อจะเริ่มพัฒนาใหม่และทำลายผลมะม่วงก่อให้เกิดอาการผลเน่าเสีย ซึ่งจัดเป็นโรคที่สำคัญในระยะหลังการเก็บเกี่ยวของมะม่วง จึงเป็นอุปสรรคที่สำคัญในการส่งไปจำหน่ายทั้งตลาดภายในและต่างประเทศ โดยเฉพาะมะม่วงที่ใช้รับประทานแบบผลสุกและเปลือกบาง จะถูกเชื้อเข้าทำลายได้ง่าย เช่นพันธุ์น้ำดอกไม้ ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ได้รับความนิยมจากตลาดต่างประเทศ และมีมูลค่าการส่งออกมากที่สุดกว่าพันธุ์อื่น ๆ

### 2.2.2 ลักษณะอาการของโรค

ส่วนมากเชื้อราที่เข้าทำลายและพักตัวที่เปลือกผลไม้โดยส่วนใหญ่จะไม่แสดงอาการของโรคเกิดขึ้น ระยะหลังจากการเก็บเกี่ยวจะเริ่มปรากฏอาการของโรคในระยะบ่ม และผลสุก เรียกรวมการเข้าทำลายแบบนี้ว่า การเข้าทำลายแบบแฝง (latent infection) (นิพนธ์, 2542) ลักษณะอาการของโรคอาจเกิดขึ้นที่ใบอ่อนที่แตกออกมาใหม่ ปรากฏอาการจุดสีน้ำตาลเข้มขนาดเล็กจำนวนมาก แผลที่อยู่ใกล้กันอาจจะลุกลามติดกันทำให้เกิดแผลที่มีรูปร่างไม่แน่นอน แผลบางแผลอาจจะแฝงเข้าไปในเนื้อเยื่อของผลไม้ในช่วงระดับความลึกของผิวประมาณ 1 - 2 มิลลิเมตร (อังสุมา, 2530) เมื่อลมพัดบริเวณกลาง แผลอาจฉีกขาด ทำให้เกิดรูขึ้นบนใบ โรคที่เกิดรุนแรงจนกระทั่งกิ่งมะม่วงอาจจะแสดงอาการไหม้แห้งเป็นสีน้ำตาลเข้มตั้งแต่ปลายยอดลุกลามลงมาด้านล่าง ช่อดอกจะเห็นเป็นจุดสีน้ำตาลเข้มขนาดเล็ก หากมีการระบาดรุนแรงช่อดอกอาจจะแสดงอาการไหม้ดำเสียหายหมดทั้งช่อ สำหรับอาการบนผลอ่อนจะปรากฏแผลสีน้ำตาลเข้มขนาดเล็กบนผลอาการของโรคจะเด่นชัดขึ้นเมื่อผลเริ่มสุก แผลจะขยายใหญ่ขึ้นมีสีน้ำตาลเข้มหรือดำ เชื้อราจะเข้าทำลายเฉพาะผิวของผลเท่านั้น เมื่อแผลขยายใหญ่ปกคลุมผิวส่วนใหญ่ของผล เชื้อราอาจเข้าทำลายลึกเข้าไปในเนื้อผลประมาณ 5 มิลลิเมตร เมื่อผิวของผลเริ่มเน่าจะพบกลุ่มสปอร์มีลักษณะเป็นเหลวสีส้มหรือสีชมพูเกิดขึ้นบนผล เชื้อราจะสร้างสปอร์บนใบ หรือกิ่งที่แห้งตาย หรือบนพืชชนิดอื่น สปอร์แพร่กระจายโดยลมหรือฝนพัดพาไปเมื่อเชื้อราเข้าทำลายแผลจะเกิดขึ้นค่อนข้างรวดเร็ว แต่บนผลที่ยังไม่แก่เชื้อที่เข้าทำลายอาจจะไม่ทำให้ปรากฏอาการขึ้นบนผล เชื้อสามารถพักตัวอยู่ได้ภายในผลเป็นเดือน จนกระทั่งผลสุกแก่จึงจะแสดงอาการให้เห็น

### 2.2.3 เชื้อที่เป็นสาเหตุโรคแอนแทรคโนส

โรคแอนแทรคโนสเป็นโรคที่เกิดจากการถูกทำลายโดยเชื้อรา *Collectotrichum* sp. ที่มีลักษณะโดยทั่วไป คือ เชื้อราตระกูลนี้มีสร้างเส้นใยสีเทาขาวออกสีน้ำตาลเจริญอัดกันแน่นเป็นแผ่นหรือเป็นกระจุก สร้างสปอร์สีส้มถึงสีส้มอมชมพูเรียงตัวลักษณะคล้ายวงแหวนรอบโคโลนี ๆ มีรูปร่างไม่แน่นอน ความฟูของเส้นใยมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ เชื้อราจะสร้างสปอร์บน conidiophore บน fruiting body แบบ acevulus ซึ่งเมื่อเชื้อเจริญเติบโตในช่วงแรก ๆ เส้นใยจะออกสีขาว แต่เมื่อมันมีอายุมากขึ้นเส้นใยจะออกสีน้ำตาลออกเทาดำซึ่งขึ้นอยู่กับอายุของเชื้อที่เจริญเติบโต อาจพบในส่วนที่เป็น setae เชื้อราจะสร้าง appressoria ที่มีรูปทรงกระบอกปลายมนท้ายมน หรือรูปกลมรี ใสไม่มีสี อยู่แบบเซลล์เดี่ยว มีขนาด 6 – 20 x 4 – 12 ไมโครเมตร และมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ conidia ที่มีรูปทรงกระบอกปลายมน ที่มีขนาด 12 – 17 x 3.5 – 6 ไมโครเมตร (Sutton, 1992) ดังภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.2 ลักษณะสปอร์ของเชื้อรา *Collectotrichum gloeosporioides*

ที่มา : (<http://www.botany.hawaii.edu/faculty/gardner/biocontrol/Miconia/miconia.htm>)

### 2.2.4 การเข้าทำลายของโรคแอนแทรคโนส

เชื้อราจะสร้าง conidia เจริญอยู่บนใบ ช่อดอก และฐานรองดอก เป็นต้น จากนั้นเมื่อมันแห้งและร่วงหล่นก็จะใช้เป็นแหล่งของโรคต่อไป (Fitzell and Peak, 1984) แล้วเชื้อจะเข้าทำลายช่อดอก และอาจเกิดการฟักตัวเข้าไปอยู่ในผลดิบโดยไม่ขยายบริเวณ ไม่ก่อให้เกิดรอยแผลเน่าจนกว่าผลจะเริ่มสุกถึงจะเกิดอาการของโรคอย่างชัดเจน เชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสมักพบเสมอในแถบร้อนชื้น และกึ่งร้อนทำให้เกิดความเสียหายมากมาย และเป็นสาเหตุของโรคพืชหลายชนิด เช่น มะม่วง แอปเปิ้ล แพร์ ฝรั่ง รวมถึงพืชไร่และพืชสวน เช่น พริก กลัวย มะม่วง องุ่น มะละกอ และพืชวงศ์ถั่ว (อุตม และจรินทร์ , 2538) การเข้าทำลายของเชื้อรา *Collectotrichum* sp. แบ่งออกเป็น 2 กรณี คือ

2.2.4.1 Subcuticular intramural pathogen โดย spore จะงอกออกโดยสร้าง appressoria และเกิดการสะสมเม็ดสี melanin แล้วจึงแทงเส้นใยและแพร่กระจายอยู่ภายใต้ cuticle และในระหว่างนั้นการแทงของเส้นใยเข้าไปภายใน epidermis และชั้น mesophyll cell ทำให้เซลล์พืชตาย

2.2.4.2 Hemibiotroph โดย spore จะงอกออกมาโดยการสร้าง appressoria และเกิดการสะสม melanin จนกระทั่งเกิดการแทงผ่านเข้าไปทำลายเซลล์ชั้น epidermis และเกิดเป็น infection vesicles และ primary hyphae ขึ้นและทำลาย matrix โดยรอบ เป็น biotrophic stage ในเซลล์ epidermis และชั้น mesophyll cell ถัดไปหลังจากที่สามารถเข้าทำลายพืชโดยอาศัยได้ประมาณ 48 ชั่วโมง จึงจะสร้าง secondary necrotrophic hyphae ขึ้น และทำให้เซลล์พืชที่อาศัยโดยจะตายจากการสร้าง enzyme ต่าง ๆ ในการเข้าทำลาย (Perfect *et al.*, 1999)

การเข้าทำลายของเส้นใยเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคจะเจริญเข้าไปในช่องว่างระหว่างเซลล์ลึกลงไปจากเนื้อเยื่อผิวลึกลงไปไม่เกิน 2 เซนติเมตร และพักตัวจนกระทั่งผลไม้เริ่มสุกก็จะทำให้เกิดรอยแผลเป็นที่มีจุดสีดำกลมอยู่บริเวณผิวของผลไม้ (Verhoeff, 1974) เมื่อจุดดำที่เกิดจากเชื้อราขยายตัวมีขนาดใหญ่ขึ้นจะทำให้เนื้อเยื่อที่ติดกันเกิดการยุบตัวลง และจะมีการสร้างสปอร์ของเชื้อราที่มีเส้นใยสีส้มหรือสีส้มอมชมพู ขึ้นกระจายอยู่ที่บริเวณกลางแผลเนื่องจากเชื้อราสร้าง fruiting body (อุราภรณ์ และคณะ, 2546) ดังภาพที่ 2.3



ภาพที่ 2.3 ลักษณะอาการของโรคแอนแทรกโนสที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Collectotrichum gloeosporioides*

### 2.2.5 การแพร่ระบาดของโรคแอนแทรกโนส

สปอร์ของเชื้อรา *Collectotrichum* sp. สามารถแพร่กระจายได้ในสภาพที่มีอากาศชื้น อุณหภูมิสูง และแห้งแล้ง โดยอาศัยลมและฝนเป็นตัวช่วยแพร่กระจาย การงอกและการเจริญเติบโตของเชื้อราจะมีความไวสูงต่ออุณหภูมิและความชื้นภายในอากาศ ถ้ายิ่งมีความชื้นสัมพัทธ์สูง การงอกและการเจริญของเชื้อราก็จะมีมากตามไปด้วย ความชื้นสัมพัทธ์ที่มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา คือ 97.50 – 100 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้การเกิด appressoria formation จะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิและความชื้นเพิ่ม แต่

จะมีอาการของโรคเพิ่มขึ้นเมื่ออยู่ภายใต้ความชื้นสัมพัทธ์ 90 – 100 เปอร์เซ็นต์ที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส ในระยะที่เกิดการแตกยอดใหม่ การแทงช่อดอก และการติดผลอ่อนจะถูกทำลายได้ง่ายด้วยสปอร์ของเชื้อราจากใบที่เป็นโรคซึ่งจะไหลไปกับน้ำลงสู่ขั้วผล แล้วเกิดการแพร่กระจายไปทั่วผลทำให้ขั้วและผลเกิดผลเน่าขึ้น ในบางครั้งอาจพังกตัวบนผลและทำให้เน่าในระยะหลังเก็บเกี่ยว (นิพนธ์, 2542)

## 2.2.6 การจัดการระบบการควบคุมโรคแอนแทรคโนสในสวนมะม่วง (ปริญญา จันทศรี, มปป)

### 2.2.6.1 การจัดการภายในสวน

ต้องมีการตัดแต่งกิ่งและทรงพุ่มให้โปร่ง ช่วยให้ต้นมะม่วงจัดระบบการใช้แร่ธาตุอาหารได้ดี มีผลต่อการพัฒนาผลมะม่วง ให้มีลมสามารถพัดผ่านได้ดี เพราะต้นมะม่วงที่แตกกิ่งก้านหนาแน่นเป็นที่สะสมของโรคและแมลง เป็นอย่างดี แสงแดดส่องถึงทำให้บรรยากาศในพุ่มแห้ง ไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของเชื้อโรค มีการกำจัดวัชพืชในสวนให้สะอาด การตัดแต่งทรงพุ่มให้โปร่งเป็นวิธีที่ลดปริมาณการใช้สารเคมีได้ ถ้ากิ่งก้านและใบที่เป็นโรคควรนำไปฝังหรือเผาทำลายเพื่อไม่ให้แหล่งเชื้อในการแพร่ระบาดต่อไป

### 2.2.6.2 การใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดโรคพืช

สารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงประกอบด้วย 2 กลุ่มหลัก คือ

1) สารเคมีประเภทสัมผัสหรือชนิดไม่ดูดซึม ได้แก่ แมนโคเซ็บ กลุ่มสารประกอบทองแดงหรือคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ คอปเปอร์ซัลเฟต และ คอปเปอร์ออกไซด์คลอไรด์

2) สารเคมีประเภทดูดซึม ได้แก่ เบนโนมิล คาร์เบนดาซิม อะซ็อกซีซีสโตรบิน และ โพรคลอราซ ทั้งนี้ไม่ควรใช้สารเคมีชนิดเดียวอย่างต่อเนื่องหรือติดต่อกันเป็นเวลานาน รวมทั้งไม่ใช้ในอัตราที่สูงเกินกว่ากำหนด เพราะนอกจากจะเป็นการสิ้นเปลืองแล้วยังจะมีผลต่อการพัฒนาความต้านทานต่อสารเคมีของเชื้อก่อโรค และมีผลกระทบต่อคนและสัตว์ในเรื่องของพิษตกค้าง และยังทำลายกลุ่มจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ จึงมีความจำเป็นที่ต้องใช้ในอัตราที่กำหนดไว้อย่างเคร่งครัด ควรทำการศึกษาอย่างละเอียดก่อนการใช้ และควรมีการใช้สารจับใบเพื่อเสริมประสิทธิภาพ

ถ้าฉีดพ่นสารเคมีในฤดูฝนต้องผสมสารที่ช่วยในการจับใบเพื่อไม่ให้น้ำฝนชะล้างสารเคมีสู่พื้นดิน พ่นสารเคมีก่อนออกดอกเล็กน้อย และฉีดพ่นซ้ำอีกเป็นระยะ ๆ ช่วยลดการเกิดโรคทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวลงได้

## 2.3 พืชสมุนไพรท้องถิ่น (Local herb)

### 2.3.1 ชิง (Ginger)



ภาพที่ 2.4 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของชิง

ที่มา : (<http://webboard.edtguide.com/home.php>)

ชื่อไทย :	ชิง
ชื่อสามัญ :	Ginger
ชื่อวิทยาศาสตร์ :	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe.
ชื่อวงศ์ :	ZINGIBERACEAE
ชื่อสกุล :	<i>Zingiber</i>
ชื่ออื่น :	ชิงแกลง ชิงแดง (จันทบุรี) ชิงเผือก (เชียงใหม่) สะเอ (แม่ฮ่องสอน)

#### ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ชิงมีลักษณะเป็นเหง้าอยู่ใต้ดิน เป็นไม้ล้มลุก จัดเป็นพืชที่อยู่ในตระกูลเดียวกับข่า ขมิ้น และกระชาย ลักษณะเหง้าของชิงมีสีน้ำตาลแกมเหลืองอ่อน เนื้อภายในชิงมีสีเหลืองนวล มีกลิ่นเฉพาะตัว มีลำต้นเทียมมีความสูงประมาณ 1 เมตร ใบมีลักษณะเป็นใบเดี่ยว เรียงตัวสลับกัน ปลายเรียวแหลม แกมรูปใบหอก ไม่มีก้านใบ และมีช่อดอกสีเหลืองอ่อนแกมเขียวออกเป็นช่อแทงออกมาจากเหง้าใต้ดิน ยาวประมาณ 30 เซนติเมตร ใบประดับเรียงอัดกันแน่นเป็นรูปไข่เวียนสลับสีเขียวอ่อน

#### สรรพคุณทางยา

1. เหง้าแก่สด นิยมนำมาใช้เป็นยาขม แก้อาเจียน แก้ท้องอืดท้องเฟ้อ ขับลม แก้ไอ ขับเสมหะ มีฤทธิ์ต้านการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร ลดการจุกเสียด ลดความดันโลหิตได้
2. ส่วนลำต้น นำมาใช้ในการขับลม แก้อาการจุกเสียดแน่นท้อง แก้นิ่ว ช่วยย่อยอาหาร มีฤทธิ์ฆ่าพยาธิ แก้อาการท้องร่วงอย่างรุนแรง แก้อาการปวดท้องบิด และแก้อาการคลื่นเหียนอาเจียน

3. ใบ นำมาแก้อาการท้องเสีย ท้องอืด ท้องเฟ้อ แก้โรคลำไส้ ช่วยย่อยอาหาร มีฤทธิ์ฆ่าพยาธิ แก้โรคตา ขับลมในลำไส้ช่วยผายลมได้ดี

4. ดอก ทำให้มีความชุ่มชื้น แก้อาการเบื่ออาหาร บำรุงธาตุ แก้บิด แก้ท้องเสีย ช่วยย่อยอาหาร มีฤทธิ์ฆ่าพยาธิเช่นเดียวกับส่วนอื่น ๆ ของขิง

5. ผล นิยมนำมาแก้อาการไข้หวัด แก้อาการหายใจติดขัด

([http://www.rspg.or.th/plants\\_data/herbs/herbs\\_11\\_1.htm](http://www.rspg.or.th/plants_data/herbs/herbs_11_1.htm))

### 2.3.2 สะเดา (Nim)



ภาพที่ 2.5 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของสะเดา

ที่มา : (สารานุกรมเสรี วิกิพีเดีย)

ชื่อไทย : สะเดา

ชื่อสามัญ : Siamese neem tree , Nim , Margosa , Quinine

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Azadirachta indica* A. Juss. Var. *siamensis* Valetton

ชื่อวงศ์ : MELIACEAE

ชื่อสกุล : *Azadirachta*

ชื่ออื่น : สะเลียม (ภาคเหนือ) กะเดา (ภาคใต้) จะตัง สะเดาบ้าน

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

สะเดาเป็นไม้ยืนต้น ขนาดปานกลาง เจริญได้ดีในที่แล้ง มีเปลือกสีน้ำตาลแตกเป็นร่องลึกตามยาว ยอดอ่อนของสะเดามีสีน้ำตาลแดง ใบเป็นแบบใบประกอบแบบขนนก เรียงสลับเป็นรูปไข่ ปลายเรียวแหลม ขอบใบหยักเป็นใบเลื่อย แผ่นใบเรียบ สีเขียวเป็นมันวาว ดอกสะเดาจะออกเป็นลักษณะช่อแตกที่ปลายกิ่งมีสีขาวนวล กลีบดอกมีขนาดเล็ก 5 กลีบ ส่วนผลสดจะมีลักษณะเป็นทรงกลมรี เปลือกบาง เนื้อฉ่ำ เมล็ดแข็ง

### สรรพคุณทางยา

1. ดอก ยอดอ่อน ขนอ่อน นิยมนำมาใช้แก้พิษ แก้เลือดกำเดาไหล แก้ริดสีดวงในลำคอ บำรุงธาตุ ขับลมได้ดี และมีฤทธิ์ถ่ายพยาธิ แก้ปัสสาวะขัด
  2. ส่วนลำต้น เปลือกต้น เปลือกกราก นำมาแก้ไข้ แก้ท้องเดิน แก้อาการบิดมูกเลือด ช่วยเจริญอาหาร เป็นยาฝาดสมาน ทำให้อาเจียน แก้โรคผิวหนัง ส่วนยางใช้ดับพิษร้อน
  3. ใบ ผล ใช้เป็นยาฆ่าแมลง เหน็บ หมัด ไร บำรุงธาตุ ส่วนผลมีสารรสขมมีฤทธิ์ในการถ่ายพยาธิ ใช้ทำยากำจัดศัตรูพืชและเป็นยาฆ่าเชื้อ นอกจากนี้ยังเป็นยาช่วยระบาย แก้โรคหัวใจเต้นผิดปกติ
  4. น้ำมันจากเมล็ด นิยมนำมาใช้รักษาโรคผิวหนัง และใช้เป็นยาฆ่าแมลง
- ใบและเมล็ดจะมีสารชีวภาพ ได้แก่ Azadirachtin ซึ่งมีฤทธิ์เป็นสารฆ่าแมลง ส่วนในเมล็ดจะมีน้ำมันเป็นส่วนประกอบ เรียกว่า margosa oil ใช้เป็นสีย้อมผ้า และใช้เป็นยาฆ่าพยาธิได้อีกด้วย
- ([http://www.rspg.or.th/plants\\_data/herbs/herbs\\_09\\_15.htm](http://www.rspg.or.th/plants_data/herbs/herbs_09_15.htm))

### 2.3.3 กระเพรา (Holy basil)



ภาพที่ 2.6 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกะเพรา  
ที่มา : (มูลนิธิหมอชาวบ้าน)

ชื่อไทย :	กะเพรา
ชื่อสามัญ :	Holy Basil , Sacred basil
ชื่อวิทยาศาสตร์ :	<i>Ocimum tenuiflorum</i> L
ชื่อวงศ์ :	LAMIACEAE
ชื่อสกุล :	<i>Ocimum</i>
ชื่ออื่น :	กอมก้อดง , กอมก้อ (ภาคเหนือ) , กะเพราขาว , กะเพราแดง , กะเพราขน (ภาคกลาง) , อีตูไทย (ภาคอีสาน)

### ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

กะเพราเป็นเครื่องเทศที่นิยมมากถือเป็นราชาเครื่องเทศจัดเป็นพืชพื้นเมืองในเขตร้อน อยู่ในวงศ์เดียวกับวงศ์มินท์ แมงลัก โหระพา และสะระแหน่ เป็นพืชล้มลุก ทรงพุ่ม มีลักษณะลำต้นออกสีเขียว และมีขนปกคลุม มีกิ่งก้านสาขามาก ใบเดี่ยวมีสีเขียวหรือสีเขียวอมม่วง เป็นรูปรีกว้าง ๆ ปลายใบมนหรือแหลม โคนใบแหลม ขอบใบหยักแบบฟันเลื่อย มีเส้นใบ เรียงตัวสลับกัน มีกลิ่นแรงเฉพาะตัว ดอกช่อจะยาวมีสีม่วง ดอกย่อยมีสีออกชมพูแกมม่วง

### สรรพคุณทางยา

ใบและยอดทั้งแบบสดและแบบแห้ง มีน้ำมันหอมระเหย ที่มีสรรพคุณทางยาในการช่วยขับ แก้อาการท้องอืดท้องเฟ้อ อาการแน่นท้องจุกเสียด แก้อาการไอ และช่วยขับเหงื่อ มีฤทธิ์ในการ ขับถ่ายพยาธิ เป็นยาช่วยบำรุงน้ำมันในสตรีให้สมบูรณ์ เป็นยาอายุวัฒนะ และยังมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย และรา รักษาอาการของโรคกลากเกลื้อน หูด เป็นยาสมุนไพรที่ใช้ไล่แมลง และใช้เป็นส่วนประกอบของน้ำหอม สบู่ อาหาร เป็นต้น

([http://www.rspg.or.th/plants\\_data/herbs/herbs\\_11.htm](http://www.rspg.or.th/plants_data/herbs/herbs_11.htm))

### 2.3.4 มะกรูด (Kaffir lime)



ภาพที่ 2.7 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมะกรูด

ที่มา : (<http://www.xn--p3csfa0e.xn>)

ชื่อไทย :	กะเพรา
ชื่อสามัญ :	Kaffir lime , Leech lime , Mauritius papeda
ชื่อวิทยาศาสตร์ :	<i>Citrus hystrix</i> DC.
ชื่อวงศ์ :	RUTACEAE
ชื่อสกุล :	<i>Citrus</i>

ชื่ออื่น : มะขุน , มะขูด (ภาคเหนือ) , มะขู (แม่ฮ่องสอน) ,  
ส้มกรูด ส้มม่วงผี (ภาคใต้)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

มะกรูดเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก เป็นพืชตระกูลส้ม (Rutaceae) ที่ลำต้นและกิ่งมีหนามปกคลุม ใบมีลักษณะเป็นใบประกอบชนิดดรู๊ป มีใบย่อย 1 ใบ เป็นรูปไข่ เรียงสลับกัน ลักษณะใบเหมือนมี 2 ใบต่อกันตามแนวยาว และคอดเว้าตรงกลางใบ มีเส้นกลางใบ ใบสีเขียวผิวเรียบ เกือบเป็นมันวาว หนา และมีกลิ่นหอมเฉพาะตัวเพราะมีต่อมน้ำมันอยู่ ใบด้านบนมีสีเขียวเข้มกว่าด้านล่าง ดอกออกเป็นกระจุก มีสีขาว เกสรสีเหลือง มีกลิ่นหอม มีผลสีเขียวเข้มคล้ายมะนาวแต่ผิวด้านนอกของเปลือกจะมีลักษณะขรุขระ ผลอ่อนมีสีเขียวแก่ เมื่อผลสุกจะมีสีเหลือง มีรสเปรี้ยว เมล็ดกลมรีสีขาว

สรรพคุณทางยา

1. ราก นิยมนำมากระทุ้งพิษ ช่วยแก้ฝีที่เกิดภายใน และแก้เสมหะเป็นพิษได้
  2. ผล นิยมคั้นน้ำจากผลเพื่อใช้ในการปรุงแต่งกลิ่นในผลิตภัณฑ์อาหาร ใช้เป็นส่วนผสมของยาสระผมรักษารักแค อาการคัน ทำให้ผมสะอาด มีกลิ่นหอม ตกดำ และมันเงางาม
  3. ใบ มีน้ำมันหอมระเหยที่นำมาใช้ในการแปรรูปอาหาร เครื่องสำอาง และยาต่าง ๆ
  4. ผิวจากผล ปรุงเป็นยาใช้ในการขับลม ช่วยแก้อาการแน่นท้อง และเป็นยาบำรุงหัวใจ
- ([http://www.rspg.or.th/plants\\_data/herbs/herbs\\_08\\_6.htm](http://www.rspg.or.th/plants_data/herbs/herbs_08_6.htm))

### 2.3.5 ตะไคร้ (*Lemon grass*)



ภาพที่ 2.8 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของตะไคร้

ที่มา : (<http://www.banhealthy.com>)

ชื่อไทย :	ตะไคร้
ชื่อสามัญ :	Lemon grass , Lapine
ชื่อวิทยาศาสตร์ :	<i>Cymbopogon citratus</i> (DC. ex Nees) Stapf
ชื่อวงศ์ :	POACEAE
ชื่อสกุล :	<i>Cymbopogon</i>
ชื่ออื่น :	จะไคร้ (ภาคเหนือ) , คาหอม (แม่ฮ่องสอน) , อีตูไทย (ภาคอีสาน) , ไคร (ภาคใต้) , เซ็ดเกรย , เหลอะเกรย (สุรินทร์) , ห่อวตะโป (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน) , หัวสิงโต (เขมร-ปราจีนบุรี) , ตะไคร้แกง

#### ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ตะไคร้เป็นไม้ล้มลุก เป็นพืชในวงศ์หญ้าเช่นเดียวกับข้าว ข้าวโพด ข้าวสาลี ข้าวบาร์เลย์ และไผ่ มีกลิ่นหอมคล้ายมะนาว ใบแตกออกเป็นกอแน่น มีเส้นกลางใบ ใบมีลักษณะค่อนข้างแข็ง หยาบ กระจ่าง ขอบใบสาก กาบใบจะมีขนหยาบ ดอกมีลักษณะออกเป็นช่อยาวมีขนแบบช่อแยกแขนงเรียงตัวหลวม ๆ ผลเป็นธัญพืช

#### สรรพคุณทางยา

1. ส่วนลำต้น ใช้เป็นยารักษาอาการหอบหืด แก้ปวดท้อง ขับปัสสาวะ แก้อหิวาตกโรค แก้โรคนอนใน ใช้ดับกลิ่นคาวปลา ช่วยเจริญอาหาร เป็นยาขับลม บำรุงธาตุ และขับเหงื่อ ทำเป็นยาสำหรับนวดรักษาโรคได้ แก้ปัสสาวะเป็นเลือด แก้ปวดกระเพาะอาหาร แก้ปวดข้อ ปวดเมื่อย ลดการบวม น้ำ
2. หัว นิยมนำมาใช้เป็นยารักษาโรคกลากเกลื้อน แก้ท้องอืดท้องเฟ้อ อากรปัสสาวะผิดปกติ แก้อาการชัดเบา เป็นยาแก้ไอเจ็บ แก้กษรยางนอนหลับ ช่วยลดความดันสูง แก้ลม แก้อัมพฤกษ์อัมพาต

3. ราก ใช้เป็นยาแก้ไข้ แก้อาการเสียดท้อง แน่นท้อง ปวดท้อง แก้อาการท้องเสีย ขับปัสสาวะ รักษาเกลื้อน

4. ใบ ช่วยในการลดความดันโลหิตสูงได้ บรรเทาอาการไข้

([http://www.rspg.or.th/plants\\_data/herbs/herbs\\_12\\_2.htm](http://www.rspg.or.th/plants_data/herbs/herbs_12_2.htm))

## 2.4 การสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction)

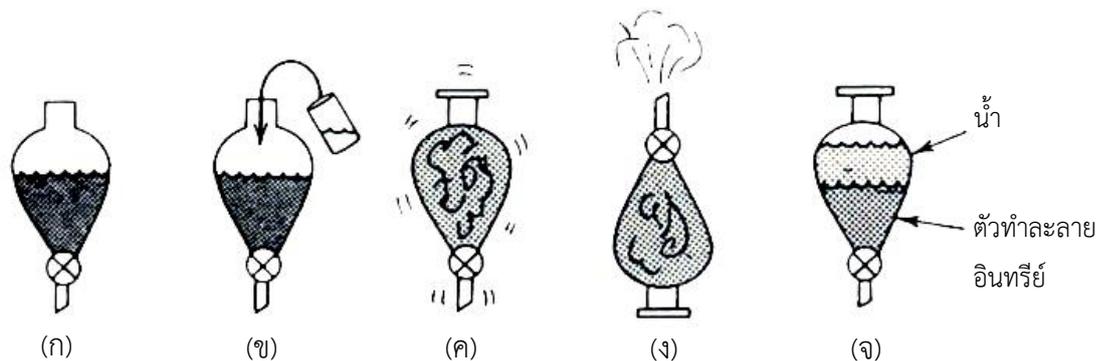
การสกัดสารจากสมุนไพรด้วยตัวทำละลายทำได้โดยใช้ตัวทำละลายที่เป็นของเหลวสกัดตัวถูกละลายออกจากสารละลาย ซึ่งมีชื่อเรียกอีกอย่างหนึ่งว่าเป็นวิธีการสกัดแบบ liquid-liquid extraction เป็นวิธีที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวาง การสกัดจะดีหรือไม่ดีขึ้นอยู่กับ การละลายของตัวถูกละลายในตัวทำละลาย เทคนิคการสกัดสาร ซึ่งการสกัดเทคนิคใดนั้นขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพของการสกัดหรือชนิดของตัวถูกละลาย และชนิดของตัวทำละลาย

### 2.4.1 เทคนิคในการสกัดด้วยตัวทำละลาย (ธวัชชัย ,2551)

วิธีการสกัดสารด้วยตัวทำละลายสำหรับการวิเคราะห์มีอยู่ 3 วิธี

#### (1) การสกัดแบบแบทช์ (Batch extraction)

เป็นเทคนิคที่ง่ายที่สุด เป็นการสกัดแบบ liquid-liquid extraction โดยการที่ให้ตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิดนี้ให้ผสมให้เข้ากันแต่ไม่ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วนำสารละลายที่มีตัวถูกละลายที่ต้องการนำไปแยกใส่ในกรวย (Separatory funnel) แล้วเติมตัวทำละลายอินทรีย์ตามลงไป ในกรวยแยก จากนั้นเขย่ากรวยแยก 2 – 3 นาที แล้วเปิดจุกเพื่อระบายความดัน ทำแบบนี้ 2 – 3 ครั้ง จนกระทั่งตัวถูกละลายกระจายตัวเข้าไปผสมในตัวทำละลาย แล้วจึงทำการตั้งกรวยแยกทิ้งไว้จนกว่าตัวทำละลายทั้งสองจะแยกชั้น ดังภาพที่ 2.9



ภาพที่ 2.9 วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายด้วยของเหลว 2 ชนิด

ที่มา : ธวัชชัย , 2551

(ก) เติมตัวถูกละลายในสารละลาย

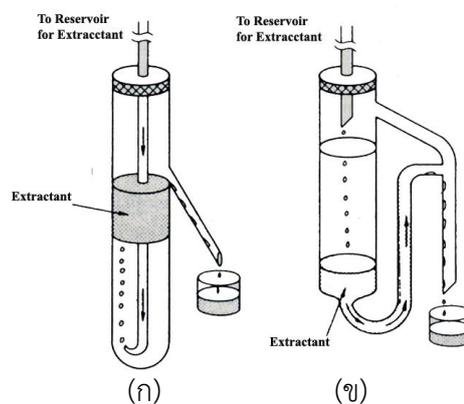
(ข) เติมตัวทำละลายอินทรีย์

(ค) ปิดจุกแล้วทำการเขย่า 2 – 3 นาที

- (ง) คว่ำกรวยแยกแล้วเปิดจุกระบายความดัน  
 (จ) ตั้งทิ้งไว้ให้ตัวทำละลายแยกเป็น 2 ชั้น

(2) การสกัดแบบต่อเนื่อง (Continuous extraction)

เป็นเทคนิคการสกัดสารที่ต้องทำหลาย ๆ ครั้งต่อเนื่อง เพื่อให้ได้สารที่ต้องการออกมาให้มากที่สุด เป็นเทคนิคที่ดัดแปลงมาจากการสกัดแบบเบทซ์ที่มีข้อผิดพลาดจากการถ่ายเทตัวทำละลาย ทำให้เสียเวลาและสิ้นเปลืองตัวทำละลาย ส่วนการสกัดแบบต่อเนื่องเป็นเทคนิคที่ใช้ตัวทำละลายน้อยลง สะดวกขึ้น และได้ผลดีมากกว่าเนื่องจากสามารถสกัดสารได้อย่างต่อเนื่อง ดังภาพที่ 2.10



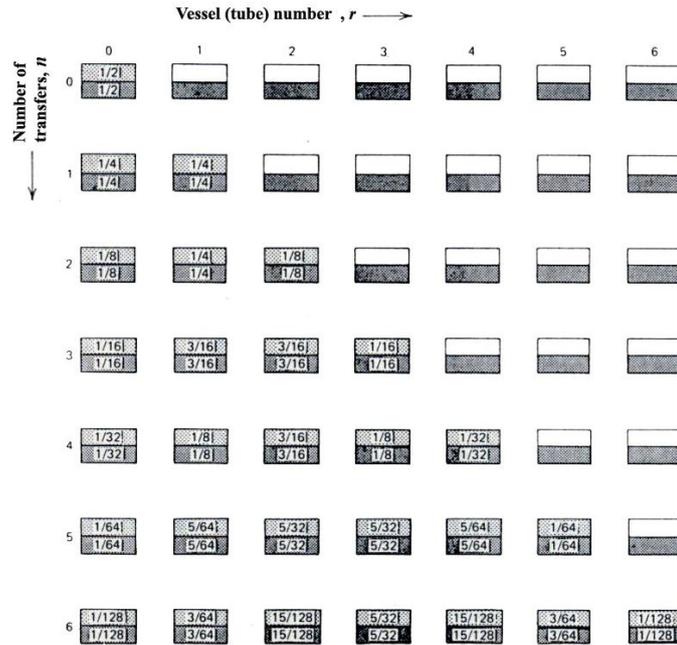
ภาพที่ 2.10 เครื่องมือสำหรับการสกัดแบบต่อเนื่อง

ที่มา : ธวัชชัย , 2551

- (ก) สำหรับตัวสกัดที่เบากว่าน้ำ  
 (ข) สำหรับตัวสกัดที่หนักกว่าน้ำ

(3) การสกัดแบบเคาน์เตอร์เคอร์เรนท์ (Counter current extraction)

เทคนิคนี้ใช้ในการแยกสารให้มีความบริสุทธิ์ให้มากขึ้นโดยเป็นการสกัดตัวถูกละลายออกจากสารผสม ที่มีอัตราส่วนของการกระจายใกล้เคียงกัน เครื่องมือที่ใช้มีชื่อว่า craig apparatus หลอดแก้ว craig 1 อัน สามารถทำการสกัดได้ 1 ครั้งแต่ถ้าต้องการสกัดหลาย ๆ ครั้งอย่างต่อเนื่องต้องนำ craig มาเรียงต่อกันเท่ากับจำนวนครั้งที่ต้องการสกัด จึงเรียกรวธีการสกัดแบบนี้ว่า continuous counter current extraction ดังภาพที่ 2.11



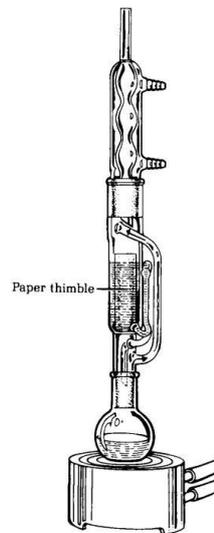
ภาพที่ 2.11 การกระจายตัวของตัวถูกละลายในการสกัดด้วยเครื่องมือ craig  
ที่มา : ธวัชชัย , 2551

#### 2.4.2 วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์

การสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์เป็นวิธีหนึ่งที่ใช้ในการแยกสารและทำให้สารบริสุทธิ์ เช่น การสกัดแยกสารประกอบบางชนิดจากธรรมชาติ เช่น ใบไม้ ดอกไม้ ซึ่งการใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมสามารถละลายสารที่ต้องการออกมาจากสารผสมได้ปริมาณที่ต้องการ วิธีการสกัดมี 3 วิธี ดังนี้

##### (1) Solid – liquid extraction

เป็นการสกัดที่ใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมละลายสารที่ต้องการออกจากสารละลายที่เป็นของเหลว ทำได้โดยแช่ของแข็งที่ต้องการสกัดในตัวทำละลายที่ต้องการเป็นเวลานานโดยใช้เครื่องมือสกัดแบบ soxhlet extractor ดังภาพที่ 2.12 นิยมใช้ในกรณีที่สารที่จะสกัดละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ โดยอาศัยหลักการให้ตัวทำละลายระเหยกลายเป็นไอแล้วกลั่นตัวเป็นของเหลวผ่านลงไปนในสาร จากนั้นตัวทำละลายจะไหลลงสู่ขวดรองรับ แล้วตัวทำละลายที่พาสารลงมาจะถูกระเหยกลับขึ้นไปทำซ้ำไปเรื่อย ๆ



ภาพที่ 2.12 เครื่องมือสกัดแบบ soxhlet extractor

ที่มา : [http://www.chemistry.sc.chula.ac.th/course\\_info](http://www.chemistry.sc.chula.ac.th/course_info)

### (2) Liquid – liquid extraction

เป็นวิธีการสกัดสารที่ต้องการด้วยตัวทำละลายที่เป็นของเหลว ซึ่งตัวทำละลายที่ดีสามารถสกัดสารที่ต้องการได้ดี ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารต้องกำจัดออกได้ง่าย ต้องไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการ ไม่ควรติดไฟ ไม่ควรมีพิษ และราคาไม่แพง ตัวทำละลายที่นิยมใช้ในการสกัดสาร ได้แก่ diethyl ether, dichloromethane, ethyl acetate และ 1-butanol ซึ่งเป็นสารที่แขวนลอยอยู่ในวัฏภาคน้ำไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกับน้ำ เมื่อตั้งทิ้งไว้จะเกิดการแยกชั้น สารที่ต้องการจะมีอยู่ในของผสมซึ่งละลายอยู่ในชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ และชั้นน้ำมากน้อยตามความสามารถในการละลายของมันในตัวทำละลายแต่ละชนิด

โดยทั่วไปการสกัดสารที่ต้องการให้ได้ปริมาณมากที่สุด จะใช้ปริมาณตัวทำละลายน้อยที่สุด แต่ถ้าใช้ตัวทำละลายที่สกัดในปริมาตรที่เท่า ๆ กัน และในการสกัดแต่ละครั้งใช้ตัวทำละลายปริมาณไม่มาก แต่ทำหลาย ๆ ครั้ง จะมีประสิทธิภาพของการสกัดสารสูงกว่าเมื่อเทียบกับการสกัดที่ใช้ตัวทำละลายปริมาณมากๆ แต่สกัดน้อยครั้ง

### (3) Acid - base extraction

การสกัดด้วยปฏิกิริยากรด เบส ซึ่งสารเหล่านี้ไม่แตกตัวและจะละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ แต่เมื่อมันทำปฏิกิริยากับกรดหรือเบสที่เหมาะสมก็จะเกิดเป็นเกลือ ทำให้สามารถแยกออกจากสารที่ไม่แตกตัวอื่น ๆ ได้ง่าย

## 2.5 วิธีการศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

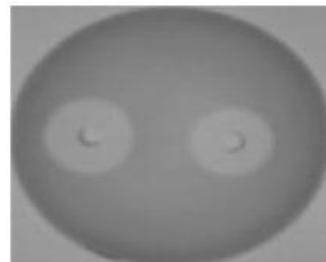
เป็นวิธีการวิเคราะห์ผลผลิตโดยวิธีการทางชีววิทยาซึ่งอาจทำโดยการใช้จุลินทรีย์ทดสอบเมื่อต้องการวิเคราะห์หาสารที่สามารถยับยั้งหรือกระตุ้นการเจริญของเชื้อทดสอบได้ หรืออาจจะมีวิเคราะห์โดยวิธีการใช้เอนไซม์ก็ได้

การวิเคราะห์ผลผลิตโดยวิธีทางชีววิทยา (สมใจ ศิริโชค, 2555)

โดยทั่วไปวิธีการวิเคราะห์ทางชีววิทยา สามารถแบ่งได้เป็น 6 วิธี ดังนี้ คือ

### 2.5.1 Diffusion assay

เป็นวิธีการวิเคราะห์ปริมาณผลผลิตโดยอาศัยหลักการแพร่ ซึ่งโดยทั่วไปนิยมใช้อาหารวุ้นผสมเชื้อทดลองลงในจานเพาะเชื้อ ตั้งทิ้งไว้ให้อาหารแข็ง จากนั้นจึงนำกระดาษกรองรูปวงกลม (paper disc) ดูดซับสารที่ต้องการวิเคราะห์วางลงบนอาหารวุ้น หรือเจาะรูอาหารวุ้นเป็นรูปทรงกระบอก แล้วใส่สารละลายที่ต้องการวิเคราะห์ลงไป สารที่ต้องการวิเคราะห์จะแพร่ออกไปตามแนวรัศมีรอบๆ บริเวณที่วางแผ่นกระดาษหรือบริเวณใส (clear zone) หรือบริเวณการเจริญ (growth zone) ของเชื้อทดสอบจะแปรตามปริมาณสารที่ต้องการวิเคราะห์



ภาพที่ 2.13 การเกิดบริเวณใสรอบๆ กระดาษที่มีสารยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ  
ที่มา : Talaro and Talaro, 1996 หน้า 611 (ซ้าย)

และการเกิดบริเวณการเจริญของเชื้อทดสอบรอบๆ กระดาษที่มีสารส่งเสริมการเจริญ  
ที่มา : Casida, 1964 หน้า 104 (ขวา)

การคำนวณหาความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์สามารถทำได้โดยการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างความเข้มข้นของสารบริสุทธิ์หรือสารอ้างอิงกับเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณใสหรือการเจริญของเชื้อทดสอบ ที่ได้จากการใช้สารบริสุทธิ์หรือสารอ้างอิงความเข้มข้นต่างๆ ในการยับยั้งหรือส่งเสริมการเจริญของเชื้อทดสอบ ภายใต้สภาวะเดียวกัน

เนื่องจากการวิเคราะห์ผลผลิตโดยวิธีนี้มีความคลาดเคลื่อนค่อนข้างสูง ดังนั้นเพื่อให้ได้ผลที่ถูกต้องและเชื่อถือได้ จึงควรทำการวิเคราะห์ตัวอย่างและสารอ้างอิงแต่ละความเข้มข้นหลายๆ ซ้ำๆ ในจานเพาะเชื้อหลายๆ จาน แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย โดยเฉพาะการวิเคราะห์ตัวอย่าง ควรมีสารอ้างอิงอย่างน้อยหนึ่งความเข้มข้นอยู่ในจานเพาะเชื้อทุก ๆ จาน เพราะขนาดของบริเวณใสหรือบริเวณการเจริญของเชื้อทดสอบในแต่ละจานแตกต่างกันมากกว่าในจานเดียวกัน

### 2.5.2 Turbidimetric assay

เป็นวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารที่มีผลยับยั้งหรือส่งเสริมการเจริญของเชื้อทดสอบได้ โดยการวัดความขุ่นของเชื้อทดสอบเชื้อเจริญในอาหารเหลวที่มีสารที่ต้องการวิเคราะห์ปริมาณต่าง ๆ กันอยู่ ด้วยโดยใช้เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์

การวิเคราะห์โดยวิธีนี้ในทางปฏิบัติจะใช้ตัวอย่างความเข้มข้นต่างๆใส่ลงในอาหารเหลวที่เหมาะสมจำนวนหลายซ้ำๆแล้วเติมทดสอบปริมาณเท่าๆกันลงในแต่ละหลอด บ่มที่อุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสม ซึ่งโดยทั่วไปจะวัดผลในช่วง maximum stationary phase ในกรณีที่ต้องการดูผลของสารส่งเสริมการเจริญต่อความสามารถในการเจริญของเชื้อทดสอบ แต่ถ้าต้องการดูผลของสารยับยั้งต่ออัตราการเจริญของเชื้อทดสอบ จะวัดผลในช่วง log phase

การคำนวณหาปริมาณสารที่ต้องการวิเคราะห์ สามารถทำได้โดยเปรียบเทียบค่า OD ที่ได้จากการวัดความขุ่นของเชื้อกับกราฟมาตรฐานที่ได้จากการพลอตระหว่างค่า OD กับความเข้มข้นของสารบริสุทธิ์หรือสารอ้างอิงที่สามารถยับยั้งหรือส่งเสริมการเจริญของเชื้อทดสอบได้ภายใต้สภาวะเดียวกัน ซึ่งโดยทั่วไปจะได้กราฟเส้นตรงเส้นตรง อย่างไรก็ตามในบางกรณีอาจจำเป็นต้องเปลี่ยนค่า OD หรือความเข้มข้นของสาร หรือทั้งสองอย่างให้อยู่ในรูป logarithm ก่อน เพื่อให้ได้ความสัมพันธ์เป็นกราฟเส้นตรง

การวิเคราะห์ปริมาณสารโดยวิธีวัดความขุ่นนี้ ตามปกติจะได้ผลดีในกรณีที่สารที่ต้องการวิเคราะห์ไม่ทำให้เกิดความขุ่นหรือสี และไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง pH หรือสมบัติอื่นๆของอาหารเลี้ยงเชื้อ สารที่ต้องการวิเคราะห์ควรละลายได้ดีในน้ำหรือตัวทำละลายที่รวมตัวกับน้ำได้ และตัวทำละลายที่ใช้ต้องไม่เป็นพิษต่อเชื้อทดสอบ ในกรณีที่เชื้อทดสอบเป็นพวก strictly aerobe จะต้องบ่มหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่า แต่ถ้าเชื้อทดสอบเป็นพวก anaerobe ก็จะต้องบ่มเชื้อในสภาพไร้อากาศ

### 2.5.3 End-point assay

เป็นวิธีการหาปริมาณสารจำนวนน้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบได้ ในกรณีที่เชื้อทดสอบมีลักษณะการเจริญเป็นแผ่นบนผิวหน้าอาหารเหลวหรือเจริญรวมตัวกันเป็นก้อนตกตะกอนอยู่กันตลอด ทำให้กระจายตัวได้ยาก และไม่สามารถวัดการเจริญโดยวิธีวัดความขุ่นได้ ก็จะสามารถวิเคราะห์ปริมาณสารที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อทดสอบในอาหารเหลวได้โดยวิธี end-point assay

การวัด end-point ทำได้โดยเจือจางตัวอย่างเป็นลำดับ ซึ่งโดยทั่วไปนิยมเจือจางชั้นละ 2 เท่าดังนี้  $1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64...$  จากนั้นจึงนำตัวอย่าง 1 มิลลิเมตรใส่ลงในหลอดทดสอบที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม เติมเชื้อทดสอบปริมาณเท่าๆกันลงในแต่ละหลอด บ่มเชื้อที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสม แล้วตรวจดูการเจริญของเชื้อทดสอบ หลอดที่เป็น end-point ได้แก่หลอดที่มีความเจือจางสูงสุดที่ยังคงสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบได้

ปริมาณสารที่ต้องการวิเคราะห์จะแปรผกผันกับค่าความเจือจางสูงสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อทดสอบได้ การวิเคราะห์โดยวิธีนี้มีประโยชน์มากในกรณีที่ผลผลิตที่วิเคราะห์เป็นสารชนิดใหม่ซึ่งยับยั้งไม่มี

สารอ้างอิงมาตรฐานเปรียบเทียบ การบอกปริมาณทำได้โดยใช้หน่วยความเจือจาง (dilution unit) ตัวอย่างเช่น ถ้า end-point เกิดขึ้นที่ความเจือจาง 1/64 แสดงว่ามีสาร 64 หน่วยความเจือจางต่อมิลลิลิตรของตัวอย่าง แต่ถ้ามีสารอ้างอิงมาตรฐาน ก็สามารถทำการทดสอบได้เช่นเดียวกับตัวอย่างเพื่อสร้างกราฟมาตรฐานเปรียบเทียบหาค่าปริมาณสารในตัวอย่างเป็นตัวอย่างเป็นหน่วยมาตรฐานได้เช่นเดียวกับการวิเคราะห์โดยวิธีอื่นๆ

#### 2.5.4 Metabolic assay

การวิเคราะห์ผลผลิตโดยวิธีนี้มีหลักการเช่นเดียวกับการวิเคราะห์โดยวิธีวัดความขุ่น แต่วัดผลของสารที่ต้องการวิเคราะห์ต่อการเปลี่ยนแปลงของสารบางอย่างในระหว่างการเจริญของเชื้อทดสอบ แทนที่จะวัดอัตราการเจริญหรือการเจริญสูงสุด ตัวอย่างเช่น การวัดปริมาณกรดหรือแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้น หรือปริมาณออกซิเจนที่ถูกใช้ไป เป็นต้น หลังจากนั้นจึงคำนวณหาปริมาณสารที่ต้องการวิเคราะห์โดยการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารอ้างอิงได้เช่นเดียวกับวิธีการอื่นๆ

#### 2.5.5 Enzymatic assay

เป็นวิธีการวิเคราะห์ที่ทำได้โดยการใช้เอนไซม์ทำปฏิกิริยากับผลผลิตที่ต้องการวิเคราะห์โดยตรง ทำให้เอนไซม์ที่สามารถวัดปริมาณได้ด้วยวิธีการง่ายๆ และสามารถคำนวณกลับไปเป็นปริมาณผลผลิตที่ต้องการวิเคราะห์ได้ เช่น การใช้เอนไซม์ glutamic acid decarboxylase ในการวิเคราะห์ปริมาณกรดกลูตามิก เอนไซม์จะเร่งปฏิกิริยาทำให้เกิดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ 1 โมล จากกรดกลูตามิก 1 โมล และถ้าควบคุมสภาวะให้เกิดปฏิกิริยาให้มี pH5 คาร์บอนไดออกไซด์จะละลายน้ำได้น้อยมาก ดังนั้นจึงสามารถวัดปริมาณแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นได้โดยใช้ Warburg respirometer และแปรผลกลับไปเป็นปริมาณกรดกลูตามิกได้

การวิเคราะห์โดยวิธีใช้เอนไซม์นี้มีข้อดีคือ ปฏิกิริยาความจำเพาะสูง สามารถแยกความแตกต่างของสารที่มีโครงสร้างทางเคมีใกล้เคียงกันมากได้ เช่น D-หรือ L-isomer และสามารถใช้ในการวิเคราะห์สารปริมาณน้อยๆ

เอนไซม์ที่ใช้ในการวิเคราะห์อาจเป็นเอนไซม์บริสุทธิ์ หรือเอนไซม์ที่ยังคงอยู่ภายในเซลล์จุลินทรีย์ก็ได้ อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์โดยวิธีนี้จะได้ผลดีเฉพาะในกรณีที่เลือกใช้เอนไซม์และสภาวะในการวิเคราะห์ที่เหมาะสม

#### 2.5.7 Minimum Inhibition Concentration (MIC)

เป็นวิธีการวิเคราะห์ปริมาณของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่มีผลต่อการยับยั้งของเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการทดสอบ โดยเป็นวิเคราะห์หาปริมาณความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในระดับต่ำที่สุด (ในหลอดทดลอง) ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ สามารถทำได้โดยการเจือจางสารสกัดให้มีความเข้มข้นลดลงครึ่งหนึ่งจนถึงระดับที่ไม่มีปริมาณของสารสกัดลงไปในหลอดที่มีเชื้อจุลินทรีย์ที่กำลังเจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อ

โดยปกติสารสกัดที่มีประสิทธิภาพ คือ สารสกัดที่มีความสามารถกระจายตัวใน body fluid โดยมีความเข้มข้นเป็น 2 – 10 เท่าของ MIC

## 2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

นิพนธ์ วิสารทานนท์ และคณะ ศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพของ Carbendazim และ Mancozeb ด้วย Fulvic acid เพื่อควบคุมโรคแอนแทรกคโนสบนใบและผลมะม่วงน้ำดอกไม้โดยวิธีการปลูกเชื้อ โดยใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อรา Mancozeb ที่อัตรา 150 , 300 และ 450 ppm ใช้ผสมเปรียบเทียบกับ Fulvic acid ที่อัตรา 150 , 300 และ 450 ppm ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) มีผลในการเพิ่มประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* การใช้ mancozeb อัตรา 300 ppm ผสมกับ fulvic acid 300 ppm มีผลในการเพิ่มประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้สูงสุด 100% ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราจะลดลงเมื่อลดความเข้มข้นของ mancozeb และ fulvic acid ต่ำกว่านี้ fulvic acid ที่ทุกอัตราไม่มีผลในการเร่งหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา สารป้องกันกำจัดเชื้อรา Carbendazim (1 กรัม/น้ำ 1 ลิตร) , mancozeb (3.5 มิลลิลิตร/น้ำ 1 ลิตร), fulvic acid (1 มิลลิลิตร/น้ำ 1 ลิตร) , Carbendazim+ fulvic acid (1 กรัม+ 1 มิลลิลิตร/น้ำ 1 ลิตร) และ mancozeb+ fulvic acid (3.5 มิลลิลิตร+ 1 มิลลิลิตร/น้ำ 1 ลิตร) ใช้ทดสอบกับใบและผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ก่อนปลูกด้วยเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุของโรคแอนแทรกคโนสมะม่วง ผลการทดสอบกับใบอ่อนบนยอดมะม่วงที่นำมาทดลองในห้องปฏิบัติการพบว่า สาร mancozeb และ mancozeb+ fulvic acid ให้ผลในการลดระดับป้องกันกำจัดโรคได้สูงสุด รองลงมา คือ fulvic acid , Carbendazim+ fulvic acid และ Carbendazim ตามลำดับ เมื่อใช้ทดสอบกับใบมะม่วงบนยอดอ่อนบนต้นมะม่วงในเรือนกระจกพบว่า mancozeb+ fulvic acid และ Carbendazim+ fulvic acid สามารถป้องกันอาการเกิดจุดบนใบเนื่องจากโรคแอนแทรกคโนสได้สูงสุด ส่วนการทดลองวิธีอื่น ๆ ไม่ได้ผลในการควบคุมโรค สารทั้งหมดเมื่อทดสอบกับผลมะม่วงน้ำดอกไม้ไม่มีประสิทธิภาพแตกต่างระหว่างการทดลอง 3 ครั้ง สาร mancozeb+ fulvic acid และ mancozeb ยังคงมีแนวโน้มให้ผลดีในการควบคุมโรคแอนแทรกคโนสบนผลมะม่วงที่ปลูกเชื้อ

วัลยา กองแก้ว และกัลทิมา พิชัย ศึกษาการใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพร ควบคุมการเจริญของราเขียวในเห็ดโคนญี่ปุ่น โดยแยกเชื้อราเขียวจากก้อนเห็ดที่เป็นโรคได้ 4 ไอโซเลต ได้แก่ IT3, IT4, IT6 และ IT7 สกัดพืชสมุนไพร 5 ชนิด ได้แก่ เหง้าข่า ใบกะเพรา ใบมะกรูด ตะไคร้ และหอมแดง โดยทำการสกัดด้วยวิธีที่แตกต่างกัน 2 วิธี คือ การสกัดด้วยน้ำกลั่น และการสกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ทดสอบประสิทธิภาพในยับยั้งการเจริญของเชื้อราด้วยวิธี poisoned food technique ที่ความเข้มข้น 500, 1000, 1500, 2000, 2500 และ 3000 ppm ผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากเหง้าข่าที่สกัดด้วยน้ำกลั่นให้ผลการยับยั้งได้ดีที่สุดต่อทุกเชื้อทดสอบที่ความเข้มข้น 3000ppm โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา IT3 ที่ความเข้มข้น 500, 1000, 1500, 2000, 2500 และ 3000 ppm เท่ากับ 65.34, 64.38, 61.23, 63.21, 70.24 และ 71.22 ตามลำดับ ในขณะที่เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา IT4 เท่ากับ 27.57,

40.61, 41.72, 52.93, 42.36 และ 50.22 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามสารสกัดจากเหง้าข้าที่สกัดด้วยน้ำกลั่นไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา IT6 ในทุกความเข้มข้น ส่วนเชื้อรา IT7 เพอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใย เท่ากับ 62.82, 53.33, 61.26, 41.32, 58.05 และ 49.37 ตามลำดับ สารสกัดจากเหง้าข้าที่สกัดด้วยเอทานอลให้ผลการยับยั้งได้ดีที่สุดต่อทุกเชื้อทดสอบที่ความเข้มข้น 3000 ppm เช่นกัน เพอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา IT3 เท่ากับ 77.27, 81.29, 91.5, 98.13, 97.29 และ 97.02 ตามลำดับ เชื้อรา IT4 เพอร์เซ็นต์การเจริญยับยั้งของเส้นใย เท่ากับ 66.45, 68.3, 85.6, 91.94, 91.35 และ 92.64 ตามลำดับ เชื้อรา IT6 เพอร์เซ็นต์การเจริญยับยั้งของเส้นใยของสารสกัดที่ความเข้มข้น 500 ppm และ 1000 ppm ไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา IT6 ส่วนความเข้มข้นอื่นมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเท่ากับ 85.6, 91.94, 91.35 และ 92.64 ตามลำดับ เชื้อรา IT7 เพอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใย เท่ากับ 68.55, 69.73, 92.78, 94.84, 95.94 และ 95.16 ตามลำดับ

วิไลลักษณ์ บุญหลาย และคณะ ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเหง้าของกะทือ กระชายดำ ขิง ไพล และเปราะป่า ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ซึ่งสกัดด้วยวิธีสกัดเย็นและสกัดร้อน ด้วยตัวทำละลาย เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล 95% พบว่าวิธีสกัดร้อนให้เปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบสูงกว่าวิธีสกัดเย็น และการใช้เอทานอล 95% เป็นตัวทำละลาย พบว่าให้เปอร์เซ็นต์ผลได้สูงที่สุดในสารสกัดหยาบเปราะป่า คือ 25.40% รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากไพลและกระชายดำ (17.25 และ 10.95% ตามลำดับ) และเมื่อทดสอบประสิทธิภาพต่อการยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* พบว่าสารสกัดจากไพลที่ได้จากการสกัดร้อนด้วยเอทานอล 95% สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ดีที่สุดที่  $85.56 \pm 1.49\%$  ที่ความเข้มข้น 10,000 ppm และสารสกัดหยาบจากไพลที่ได้จากการสกัดเย็นที่ความเข้มข้น 3,000 ppm ขึ้นไป ในทุกตัวทำละลายมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้สมบูรณ์ 100% ซึ่งเท่ากับการใช้สารฆ่าเชื้อรา (carbendazim) จากการทดลองพบว่าสารสกัดจากไพลสามารถใช้ควบคุมโรคแอนแทรกคโนสได้อย่างมีประสิทธิภาพและมีศักยภาพในการนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภคได้

พรชนก จินดาวงษ์ และคณะ (2548) ศึกษาวิธีการทดสอบสารสกัดในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* จากผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดว่านน้ำ (*Acorus calamus* L.) ที่ความเข้มข้น 0 , 100 , 500 และ 1,000 ppm ในการยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* พบว่าอาหาร PDA ผสมสารสกัดที่ความเข้มข้น 1,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด คือ 77.11 เปอร์เซ็นต์ และจากการทดสอบโดยวิธี paper disc technique ไม่พบ clear zone การทดสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *C. Gloeosporioides* บนอาหาร water agar (WA) , water agar + rose Bengal (WA+RB) , potato dextrose agar (PDA) , potato dextrose agar + rose Bengal (PDA + RB) , microcentrifuge tube , multiwall plates , concave slide , slide culture และบนใบมะม่วง พบว่าสารสกัดว่านน้ำความเข้มข้น 1,000 ppm สามารถยับยั้งการงอกสปอร์ได้ดีที่สุด คือ 94.5 , 93.75 , 79.75 , 95.5 , 62.37 , 58.00 , 67.81 , 91.82

และ 69.67 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ผลการทดสอบพบว่าวิธีการต่าง ๆ สามารถนำมาใช้ในการทดสอบสารสกัดจากพืชในการควบคุมเชื้อรา *C. Gloeosporioides* ได้ ยกเว้น วิธี paper disc diffusion technique วิธีการตรวจสอบได้รวดเร็ว และประหยัด คือ การทดสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์ใน concave side

เนตรนภิส เขียวขำ และคณะ (2553) ศึกษาสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเมทานอลและอะซิโตนของชำ โดยนำมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุของโรคแอนแทรคโนสที่แยกได้จากพริก องุ่น มะม่วง และมังคุด สารสกัดทั้งสองชนิดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Cladosporium herbarum* ด้วยวิธี bioautography บนแผ่น thin layer chromatography เมื่อทดสอบปริมาณสารสกัดหยาบชำในการยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ซึ่งแสดงเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการงอกของสปอร์ (MIC) ด้วยวิธี microdilution bioassay สารสกัดหยาบจากอะซิโตน ยับยั้งการงอกของสปอร์ *C. gloeosporioides* ซึ่งแยกได้จากพริก องุ่น มะม่วง มังคุด มีค่า MIC เท่ากับ 2500 , 1250 , 2500 และ 625  $\mu\text{g/ml}$  ตามลำดับ ที่เวลา 24 ชั่วโมง พบว่าชำมีแนวโน้มในการพัฒนาเพื่อใช้เป็นสารควบคุมเชื้อราหลังการเก็บเกี่ยวต่อไปได้

กัลทิมา พิชัย (2555) ศึกษาการใช้สารสกัดพืชสมุนไพรบางชนิดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา สาเหตุโรคพืชที่สำคัญในพื้นที่สะลวง อ.แม่อริม จ.เชียงใหม่ เพื่อใช้สารสกัดจากพืชในการควบคุมการเจริญของเชื้อ *Colletotrichum* sp. ที่ก่อให้เกิดโรคแอนแทรคโนสในพริก ทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากพืช 12 ชนิด ได้แก่ กะเพรา กระเทียม ข่า ขมิ้น ดีปลี พลู พลุควา ฟ้าทะลายโจร มะกรูด ส้มป่อย สาระแหน่ และสาบเสือ โดยทำการสกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์และน้ำกลั่น ทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโดยวิธี poisoned food technique โดยผสมสารสกัดในอาหาร PDA ที่ความเข้มข้น 1,000 , 2,000 และ 3,000 ppm พบว่าสารสกัดจากชำให้ผลในการยับยั้งดีที่สุดที่สกัดด้วยเอทานอลที่เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 99.39 , 96.08 และ 95.13 ตามลำดับ และน้ำกลั่นที่เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 61.02 , 62.73 และ 63.09 ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้พบว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ค่าความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

A.Mukherjee และคณะ (2011) ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* โดยศึกษาผลกระทบต่อเจริญเติบโตของเชื้อราจากสารสกัดจากพืชบางชนิด เช่น ใบยาสูบ เมล็ดเคียวรา มะฮอกกานี ไม้หอมอินเดีย กระเทียม และขิง ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ (30% , 40% , 50% , 60% และ 70%) ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของ *C. gloeosporioides* ที่เป็นสาเหตุสำคัญของโรคแอนแทรคโนสในมะม่วง การเจริญเติบโตของเชื้อราจะเจริญตามแนวรัศมีและพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดจากพืชทุกชนิดจะทำให้เชื้อรา *C. gloeosporioides* ถูกยับยั้งเพิ่มขึ้น การเจริญเติบโตของเส้นใยของราจะถูกยับยั้งได้ดีที่สุด (74.35%) ที่มีการใช้สารสกัดจากกระเทียมที่ความเข้มข้น 70% สารสกัดจากกระเทียมที่ระดับความเข้มข้น 50% และ 60% จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งรองลงมาตามลำดับ

วชิรี ชัยภูมิ และกัลทิมา พิชัย. (2553) ศึกษาผลของสารสกัดจากพืชต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา คอลเลทโททริคัม โดยทำการสำรวจและคัดเลือกสมุนไพร ในโรงเรียนตำรวจตระเวนชายแดนรับป่าปอर्ट ต่าบลบ่อแก้ว อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่ ได้พืชสมุนไพรที่คัดเลือก จำนวน 16 ชนิด ได้แก่ ขมิ้น ข่า ไพล มะละกอ มะรุม และเจตมูลเพลิงแดง สกัดสมุนไพรโดยใช้ตัวทำละลาย น้ำกลั่น และเอทานอล 95% ทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดต่อการยับยั้งเชื้อรา โดยวิธีทดสอบบนอาหารวุ้นที่ผสมกับสารสกัดจากพืช (poisoned food technique) ใช้สารสกัดที่ความเข้มข้น 500 , 1,000 , 2,000 และ 4,000 ส่วนในล้านส่วน ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดสมุนไพร เหง้าไพล เหง้าขมิ้น เหง้าข่า และใบมะละกอที่สกัดด้วยน้ำกลั่นและเอทานอลมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราคอลเลทโททริคัม ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนสารสกัดใบมะรุมและรากเจตมูลเพลิงแดงที่สกัดด้วยน้ำกลั่นและเอทานอลมีฤทธิ์ยับยั้งแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 0.05 สารสกัดจากเหง้าไพล และขมิ้นที่สกัดด้วยน้ำกลั่นและเอทานอล สามารถยับยั้งเชื้อราได้ทุกความเข้มข้น สารสกัดจากเหง้า ไพล ขมิ้น ข่า รากเจตมูลเพลิงแดง ใบมะรุม และใบมะละกอ สามารถยับยั้งได้ดีจากมากไปน้อย ตามลำดับ

Prapassorn Bussaman. (2012). ศึกษาผลของสารสกัดยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* ซึ่งเป็นเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสในพืชผักผลไม้เมืองร้อนที่เข้าไปทำลายผักผลไม้ และทำให้ได้ผลผลิตที่ได้และคุณภาพของผลิตผลต่ำลง การใช้สารเคมีในการกำจัดเชื้อโรคเป็นวิธีการจัดการที่นิยมกันแต่ผลจากการกำจัดโรคพืชด้วยวิธีนี้มีผลทำให้เชื้อรามีการดื้อสารเคมีที่ใช้ในการกำจัด ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการศึกษาระดับห้องปฏิบัติการที่ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้สูงสุด สารสกัดยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ 100% รองลงมา คือ สารสกัดยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยของเชื้อราได้ 81.85% และการสกัดด้วยเอทานอลยับยั้งได้ 45.50% การยับยั้งการงอกของสปอร์ *C. gloeosporioides* ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด คือ สารสกัดยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราและยับยั้งการงอกของสปอร์ *C. gloeosporioides* ซึ่งจากผลดังกล่าวสามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นสารสกัดจากธรรมชาติที่ใช้ในการยับยั้งเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสในพืชได้

Rahul Ravneel Prasad และ Anamika. (2015) ศึกษาผลของสารสกัดจากใบพืชต่อการยับยั้ง *Colletotrichum gloeosporioides* ของโรคพืชในมะละกอหลังการเก็บเกี่ยว กิจกรรมการยับยั้งเชื้อราด้วยสารสกัดจากใบพืชที่สกัดด้วยน้ำกลั่นและเอทานอลแล้วนำมาทดสอบกับเชื้อโรคแอนแทรคโนสที่เป็นสาเหตุของโรคในมะละกอ (*Carica papaya* L.) หลังการเก็บเกี่ยวซึ่งมีสาเหตุมาจากเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* จากผลการทดลองพบว่าการสกัดใบพืชด้วยสารละลายเอทานอล ผลการรองใช้เป็นสาร

กำจัดโรคพืชที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตตามแนวรัศมีของ *C. gloeosporioides* รองลงมา ได้แก่ สารสกัดจากใบมะนาว ใบอะโวคาโด ใบย่านางไก่ ใบกระดุมทองเลื้อย และใบแห้วหมูสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ จากการศึกษาในครั้งนี้สารสกัดจากใบผักกาดหอมมีศักยภาพสูงในการเป็นสารสกัดที่สามารถยับยั้งและควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อ *C. gloeosporioides* ที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนสในมะละกอ

Anteneh Ademe และคณะ. (2013) ศึกษากิจกรรมการยับยั้งเชื้อราของสารสกัดจากพืชที่มีผลต่อโรคแอนแทรคโนสในมะละกอ โดยศึกษากิจกรรมการยับยั้งจากสารสกัดจากพืชทั้งหมด 19 ชนิดที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *C. gloeosporioides* ภายใต้ในห้องปฏิบัติการที่เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสในมะละกอ (*Carica papaya* L.) ในระหว่างที่มีการเก็บรักษา จากการสกัดผงการองด้วยสารละลายเอทิลอะซิเตตสามารถยับยั้งได้ดีที่สุด (เกิดบริเวณโซนใส 35.3 มิลลิเมตร) และสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ *C. gloeosporioides* ได้ 88.7 , 85.8 , 85.1 และ 84.6% ด้วยสารสกัดจากผักกาดหอม *Lantana viburnoides*, *Echinops* sp. และ *Ruta chalepensis* ตามลำดับ สารสกัดจากพืชทั้ง 4 ชนิดด้วยน้ำกลั่นสามารถควบคุมเชื้อโรคแอนแทรคโนสได้ในห้องปฏิบัติการภายใน 14 วัน และ *Echinops* sp. มีประสิทธิภาพในการลดสาเหตุของการเกิดโรคและปรับปรุงคุณภาพโดยรวมของมะละกอได้ดีขึ้น

ปราณี เริ่มกระโทก และคณะ. (2557) ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพรไทยในการควบคุมโรคเน่าดำของกล้วยไม้หวายเยี่ยสกุล โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดเอทานอลจากพืชสมุนไพร 5 ชนิด ได้แก่ ขิง เหง้าข่า กระเทียม ตะไคร้ ใบและเหง้าขมิ้นชัน ต่อการควบคุมเชื้อรา (*Butl.*) ในสภาพห้องปฏิบัติการ ผลการทดลองพบว่าสารสกัดตะไคร้ที่ความเข้มข้น 7,500 ppm ขิงความเข้มข้น 8,530 ppm เหง้าข่าความเข้มข้น 10,000 ppm ใบและเหง้าขมิ้นชันความเข้มข้น 20,000 ppm และกระเทียมความเข้มข้น 80,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ 100 เปอร์เซ็นต์ เทียบเท่ากับการใช้สารเคมีเมทาแลกซิลที่ความเข้มข้น 2,000 ppm

วรัญญา อาจจันทิก และคณะ. (2545). ศึกษาผลของสารสกัดจากใบพลูควาว (*Houttuynia cordata*) ต่อเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* โดยวิธี TLC – bioassay โดยส่วนของน้ำมันหอมระเหย สกัดโดยใช้วิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ ส่วนของสารที่ไม่มีขี้และสารมีขี้ สกัดโดยการแช่ในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนและเมทานอล ตามลำดับ ผลปรากฏว่าน้ำมันหอมระเหยสามารถยับยั้งเชื้อราได้ โดยมีแถบยับยั้งตรงกัน คือที่  $Rf_1$  0.17 – 0.30 และ  $Rf_2$  0.53 – 0.70 และจากการวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างโดยใช้แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ (GC-MS) พบว่าสารจากแถบยับยั้ง  $Rf_1$  คือ capric acid และสารจากแถบยับยั้ง  $Rf_2$  คือ capryl aldehyde ในส่วนของสารสกัดที่ไม่มีขี้และสารสกัดที่มีขี้ไม่สามารถยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *C. cladosporioides* ได้ ในขณะที่น้ำมันหอมระเหยสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยบนอาหารแข็ง potato dextrose agar และยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ด้วย และเมื่อนำเชื้อรา *C. gloeosporioides* มาเลี้ยงให้เจริญในอาหารเหลว potato dextrose broth ที่มีน้ำมันหอมระเหยเป็นส่วนประกอบ พบว่าน้ำมันหอมระเหยสามารถชะลอการเจริญของเชื้อได้ จากการตรวจดูด้วย

กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนไมโครสโคปแบบทรานสมิสชัน พบว่าน้ำมันหอมระเหยทำให้ออร์แกนเนลล์ภายในเซลล์มีลักษณะที่ผิดปกติจนไม่สามารถจำแนกได้ จากการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของน้ำมันหอมระเหย capryl aldehyde , capric acid และสารฆ่าเชื้อรา benomyl ต่อการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* พบว่ามีค่าความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 0.1000 , 0.0250 และ 0.0016 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

ธนัท อมาตยกุล. (2554). ศึกษาการยับยั้งเชื้อราโรคข้าวหิวเน่า (crown rot) และแอนแทรคโนส (anthracnose) ของสารสกัดจากขิง (*Zingiber officinale*) และข่า (*Alpinia galanga*) ในกล้วยหอมแบบ *in vitro* และ *in vivo* เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากขิงและข่าต่อการยับยั้งเชื้อราที่ก่อโรคข้าวหิวเน่าในข้าวกล้วยหอม สารสกัดจากขิงและข่าด้วยวิธีการกลั่น และมีการใช้เอทานอลในการสกัดด้วย สารสกัดที่ได้ถูกเก็บไว้ในขวดแก้วที่ปิดสนิทที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปทดสอบกับเชื้อราที่ก่อโรคข้าวหิวเน่าในกล้วยหอม (*Colletotrichum musae*) และโรคแอนแทรคโนส (*Colletotrichum gloeosporioides* และ *Fusarium moniliforme*) ที่เลี้ยงใน potato dextrose agar (PDA) และบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน ก่อนนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส การทดสอบการยับยั้งเชื้อราที่ก่อโรคข้าวหิวเน่าของสารสกัดด้วยวิธีการกลั่น (น้ำมันหอมระเหย) และสารสกัดด้วยเอทานอลโดยการ spread น้ำมันหอมระเหย และสารสกัดด้วยเอทานอล (0.1 ml) ทั้งที่ผสมอัตราส่วน 1 : 1 และไม่ผสม Tween 80 ลงบน PDA plate แล้ววางเชื้อราที่โตบน PDA เป็นเวลา 7 วัน ขนาด 0.5 x 0.5 เซนติเมตร ลงตรงกลาง plate พบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอล (ทั้งขิงและข่า) ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Colletotrichum musae* *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Fusarium moniliforme* ได้ และทดสอบความเข้มข้นของสารสกัดที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่ก่อโรคข้าวหิวเน่าโดยทำการทดสอบบน PDA และบนข้าวกล้วยหอม ทำโดยเจือจางสารสกัดโดยใช้น้ำมันพืช ทำการเจือจางที่ 1 , 2 , 3 , 6 , 8 และ 10 เท่า จากผลการทดลองสรุปว่าไอของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากวิธีการกลั่นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราที่ก่อโรคข้าวหิวเน่าและแอนแทรคโนสเมื่อใช้ในความเจือจางที่น้อย (ความเข้มข้นสูง) และสามารถเจือจางสารสกัดจากขิงได้สูงสุดถึง 4 เท่า และสารสกัดจากข่าสามารถเจือจางได้มากที่สุดถึง 1 เท่า สำหรับการยับยั้งเชื้อราทั้ง 3 ชนิด (*in vitro*) และการทดลองบนข้าวกล้วยหอมสารสกัดจากขิงสามารถถูกเจือจางได้มากที่สุดถึง 10 เท่า สำหรับการยับยั้งเชื้อราทั้ง 3 ชนิด และสารสกัดจากข่าสามารถถูกเจือจางได้มากที่สุดถึง 4 เท่า (*in vivo*) แต่สารสกัดจากเอทานอลนั้นไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา

## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินการวิจัย

- 3.1 พืชสมุนไพรที่ใช้ในการทดลอง
  - 3.1.1 จิง ใช้ส่วนที่เป็นเหง้า
  - 3.1.2 สะเดา ใช้ส่วนที่เป็นใบ
  - 3.1.3 กะเพรา ใช้ส่วนที่เป็นใบ
  - 3.1.4 มะกรูด ใช้ส่วนที่เป็นใบ
  - 3.1.5 ตะไคร้ ใช้ส่วนที่เป็นลำต้น
  
- 3.2 สารเคมี
  - 3.2.1 70% เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol; EtOH)
  - 3.2.2 95% เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol; EtOH)
  - 3.2.3 เมทานอล (Methanol)
  - 3.2.4 คลอโรฟอร์ม (Chloroform)
  - 3.2.5 เพปโตน (Peptone)
  - 3.2.6 พงวุ้น (Agar)
  - 3.2.7 เดรกโทส (Dextrose)
  - 3.2.8 แมนโคแซบ 80% wp (Mancozeb)
  - 3.2.9 แลคโตฟีโนล (lactophenol)
  
- 3.3 วัสดุ และอุปกรณ์
  - 3.3.1 เครื่องชั่งแบบละเอียด 4 ตำแหน่ง (4-digital balance)
  - 3.3.2 เครื่องปั่น (Blender)
  - 3.3.3 ตู้อบอุณหภูมิสูง (Hot air oven)
  - 3.3.4 เครื่องนับจำนวนโคโลนี
  - 3.3.5 ตู้ถ่ายเชื้อ (Laminar air-flow cabinet)
  - 3.3.6 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)
  - 3.3.7 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อโรค (Autoclave)
  - 3.3.8 เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator)
  - 3.3.9 กล้องจุลทรรศน์ (Light Microscope)
  - 3.3.10 เวอร์เนียคาลิปเปอร์ (Vernier caliper)
  - 3.3.11 เครื่องผสมสาร (vortex mixer)

- 3.3.12 ปิเปต (Pipette) ขนาด 10 มิลลิลิตร พร้อมจุกยาง
- 3.3.13 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 100 มิลลิลิตร
- 3.3.14 ปีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 250 , 500 มิลลิลิตร
- 3.3.15 กระบอกตวง (Graduated cylinder) ขนาด 250 , 500 มิลลิลิตร
- 3.3.16 จานเพาะเชื้อ (Petridish)
- 3.3.17 ไมโครปิเปต (Micropipette)
- 3.3.18 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol burner)
- 3.3.19 กระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman No.1)
- 3.3.20 คอร์กโบเรอ (Cork borer)
- 3.3.21 แฉกแกว่งรูปตัววี และแฉกแกว่งรูปตัว L (Spreader)
- 3.3.22 สไลด์และกระจกปิดสไลด์ (Slide and cover slide)
- 3.3.23 ถุงพลาสติก (Plastic bag) สำลี (Cotton wood) ยางรัด (Rubber band) ทิชชู (paper)
- 3.3.24 ผ้าขาวบางหรือถุงชา (Linen clothes) และถุงมือ (Gloves)
- 3.3.25 ฮีมาไซโตมิเตอร์ (Haemocytometer)
- 3.3.26 สไลด์หลุม (depression slide)

### 3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

- 3.4.1. สูตรอาหาร Potato dextrose agar (PDA)
- 3.4.2. สูตรอาหาร Potato dextrose Broth (PDB)

### 3.5 เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ

เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่เก็บได้จากธรรมชาติ

### 3.6 วิธีการทดลอง

ในการศึกษาสารสกัดสมุนไพรที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* ที่เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสในมะม่วงน้ำดอกไม้ โดยการศึกษาครั้งนี้จะดำเนินการวิจัยเป็น 7 ขั้นตอน คือ

ตอนที่ 1 การเตรียมตัวอย่าง

ตอนที่ 2 การสกัดสมุนไพรด้วยตัวทำละลาย

ตอนที่ 3 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides*

ตอนที่ 4 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา

ตอนที่ 5 การหาค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) ของสารสกัด

ตอนที่ 6 การทดสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์

ตอนที่ 7 การวิเคราะห์ข้อมูล

## ตอนที่ 1 การเตรียมตัวอย่าง

### การเตรียมตัวอย่างพืชสมุนไพร

ทำการคัดเลือกพืชสมุนไพรที่นำมาทดลองทั้งหมด 5 ชนิด ได้แก่ ชิง สะเดา ใบกระเพรา ใบมะกรูด และตะไคร้ ที่มีลักษณะสมบูรณ์แข็งแรง ไม่มีตำหนิ ไม่เป็นโรค นำไปล้างน้ำให้สะอาด ทิ้งให้สะเด็ดน้ำ ทำที่แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 - 3 ชั่วโมง จากนั้นนำสมุนไพรแห้งเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จนแห้งแล้วนำมาบดให้ละเอียด เก็บไว้ถุงซิปล็อกในที่แห้งเพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป

### การเตรียมสปอร์เชื้อราทดสอบ

นำเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่ได้มาจากเชื้อโรคที่ติดมากับผิวมะม่วงตามธรรมชาติ นำมาฆ่าเชื้อ และตัดเป็นชิ้นเนื้อขนาด 1 x 1 มิลลิเมตร นำมาวางการเพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA แล้วนำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 ± 2 องศาเซลเซียส จนกระทั่งเส้นใยของเชื้อราเจริญเติบโตจนเต็มจานเพาะเชื้อ

## ตอนที่ 2 การสกัดสมุนไพรด้วยตัวทำละลาย

เตรียมสารสกัดจากพืชสมุนไพร 5 ชนิด ได้แก่ ชิง สะเดา กะเพรา มะกรูด และตะไคร้ มาสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ น้ำกลั่น และเอทานอล 95% มีวิธีการเตรียม ดังนี้

- (1) ชั่งสารสกัดจากพืชสมุนไพรแห้งที่บดละเอียดแล้ว มาแช่ในตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิดที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ (ดังตารางที่ 3.1)
- (2) นำสารละลายที่มีสมุนไพรไปหมุนเหวี่ยงบนเครื่องเขย่า (150 rpm) เป็นเวลา 72 ชั่วโมง
- (3) จากนั้นนำสารละลายสมุนไพรที่ได้จากข้อ (2) ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 80,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที และนำมากรองสารละลายด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 1
- (4) นำสารละลายที่ได้ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ และนำไประเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแห้งแบบหมุน (rotary vacuum evaporator) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ที่ความเร็วรอบ 100 rpm เป็นเวลา 30 นาที จนเหลือสารสกัดหยากที่มีลักษณะเหนียวข้นสีดำ
- (5) ทำการบันทึกน้ำหนักของสารสกัดหยากที่ได้ และเก็บไว้ในขวด vial เพื่อนำไปทำการศึกษาฤทธิ์ของการยับยั้งเชื้อราต่อไป

ตารางที่ 3.1 สารสกัดจากพืชสมุนไพรที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ใช้ตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด

พืชสมุนไพร (ppm)	ชนิดตัวทำละลาย							
	น้ำกลั่น (W)				เอทานอล (E)			
	0	500	750	1000	0	500	750	1000
ชิง (T <sub>1</sub> )	T <sub>1</sub> W <sub>1</sub>	T <sub>1</sub> W <sub>2</sub>	T <sub>1</sub> W <sub>3</sub>	T <sub>1</sub> W <sub>4</sub>	T <sub>1</sub> E <sub>1</sub>	T <sub>1</sub> E <sub>2</sub>	T <sub>1</sub> E <sub>3</sub>	T <sub>1</sub> E <sub>4</sub>
สะเดา (T <sub>2</sub> )	T <sub>2</sub> W <sub>1</sub>	T <sub>2</sub> W <sub>2</sub>	T <sub>2</sub> W <sub>3</sub>	T <sub>2</sub> W <sub>4</sub>	T <sub>2</sub> E <sub>1</sub>	T <sub>2</sub> E <sub>2</sub>	T <sub>2</sub> E <sub>3</sub>	T <sub>2</sub> E <sub>4</sub>
กะเพรา (T <sub>3</sub> )	T <sub>3</sub> W <sub>1</sub>	T <sub>3</sub> W <sub>2</sub>	T <sub>3</sub> W <sub>3</sub>	T <sub>3</sub> W <sub>4</sub>	T <sub>3</sub> E <sub>1</sub>	T <sub>3</sub> E <sub>2</sub>	T <sub>3</sub> E <sub>3</sub>	T <sub>3</sub> E <sub>4</sub>
มะกรูด (T <sub>4</sub> )	T <sub>4</sub> W <sub>1</sub>	T <sub>4</sub> W <sub>2</sub>	T <sub>4</sub> W <sub>3</sub>	T <sub>4</sub> W <sub>4</sub>	T <sub>4</sub> E <sub>1</sub>	T <sub>4</sub> E <sub>2</sub>	T <sub>4</sub> E <sub>3</sub>	T <sub>4</sub> E <sub>4</sub>
ตะไคร้ (T <sub>5</sub> )	T <sub>5</sub> W <sub>1</sub>	T <sub>5</sub> W <sub>2</sub>	T <sub>5</sub> W <sub>3</sub>	T <sub>5</sub> W <sub>4</sub>	T <sub>5</sub> E <sub>1</sub>	T <sub>5</sub> E <sub>2</sub>	T <sub>5</sub> E <sub>3</sub>	T <sub>5</sub> E <sub>4</sub>

### ตอนที่ 3 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides*

ทำการศึกษารูปร่างทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light Microscope) ดังนี้

- (1) เตรียมอาหาร PDA โดยเทคนิคปลอดเชื้อ และทำการเทอาหารเลี้ยงเชื้อในจานเพาะเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว
- (2) ตัดชิ้นเนื้อวุ้นที่มีเส้นใยของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* เจริญ ขนาด 1 × 1 มิลลิเมตร ที่เลี้ยงบนจานอาหาร PDA
- (3) ใช้ปากคีบชิ้นเนื้อวุ้นที่มีเส้นใยของเชื้อรามาล้างต่อในขวดอาหาร PDB ทำการเขย่าตลอดเวลา และทำการบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 37 ± 2 องศาเซลเซียส จนเชื้อราที่เลี้ยงไว้เจริญเห็นได้ชัดเจน
- (4) จากนั้นนำเชื้อรามาส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์เพื่อดูลักษณะทางสัณฐานวิทยา
- (5) บันทึกผลจากการสังเกต

### ตอนที่ 4 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา

ก. ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา โดยวิธี paper disc diffusion technique

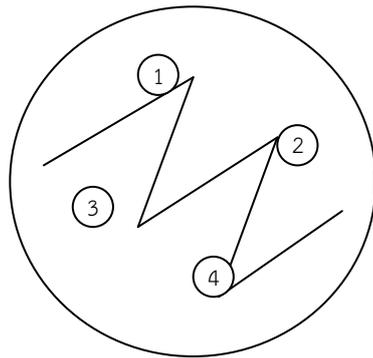
การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา โดยวิธี paper disc diffusion technique ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่ระดับต่าง ๆ

- (1) เตรียมสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด พืช ได้แก่ ชิง สะเดา ใบกระเพรา ใบมะกรูด และตะไคร้ ที่ความเข้มข้น 4 ระดับ คือ ความเข้มข้น 0, 500, 750 และ 1000 ppm ในตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด ดังตารางที่ 3.1

- (2) ปลูกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* บนอาหาร PDA (Potato Dextrose Agar) โดยวิธี spread plate ทำการบ่มเชื้อราที่อุณหภูมิ 37 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

(3) นำกระดาษกรองที่เจาะรูเป็นรูวงกลมเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ที่ฆ่าเชื้อแล้วมาจุ่มลงในสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรทั้ง 5 ชนิดที่สกัดจากตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ พักไว้ให้ตัวทำละลายระเหยออกไปให้หมด ทำการจุ่มทั้งหมด 3 ครั้ง

(4) นำ paper disc จากข้อ (3) มาวางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีเชื้อราเจริญเติบโตเต็มจานเพาะเชื้อ บ่มเชื้อราที่อุณหภูมิ  $37 \pm 2$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน โดยแต่ละจานเพาะเชื้อจะมี paper disc ที่จุ่มสารสกัดหยาบทั้ง 4 ความเข้มข้นของตัวอย่างพืชสมุนไพรแต่ละชนิด ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ (ดังภาพที่ 3.1)



หมายเลข 1	ความเข้มข้น 0 ppm (control)
หมายเลข 2	ความเข้มข้น 500 ppm
หมายเลข 3	ความเข้มข้น 750 ppm
หมายเลข 4	ความเข้มข้น 1,000 ppm

ภาพที่ 3.1 การวาง paper disc ของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

(5) สังเกตผลการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* โดยดูจาก clear zone รอบ ๆ แผ่นกระดาษกรองจะมีลักษณะเป็นวงใส ๆ รอบกระดาษกรอง

(6) บันทึกผลโดยการวัดขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณใส (clear zone) ในหน่วยมิลลิเมตร และคำนวณหาอัตราส่วนของ Inhibition zone (ดูจากภาคผนวก ข)

#### ข. ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา โดยวิธี poisoned food technique (PFT)

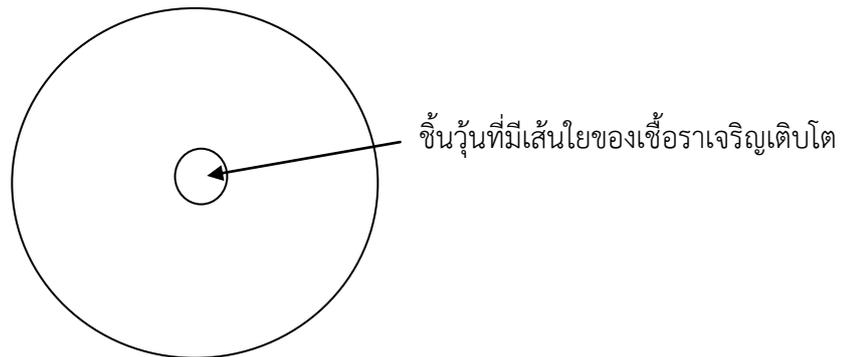
การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราในห้องปฏิบัติการ โดยวิธี poisoned food technique ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่ระดับต่าง ๆ โดยวิธี Singh and Tripathi, 1999

(1) เตรียมสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด พืช ได้แก่ ชิง สะเดา ใบกระเพรา ใบมะกรูด และตะไคร้ ที่ความเข้มข้น 4 ระดับ คือ ความเข้มข้น 0, 500, 750 และ 1000 ppm ในตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด ดังตารางที่ 3.1

(2) เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วผสมสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด ในข้อที่ (1) ลงในอาหาร PDA ให้เข้ากัน

(3) จากนั้นนำอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดยับยั้งจากพืชสมุนไพรแต่ละชนิดมาเทลงในจานเพาะเชื้อ ร่องบนผิวหน้าอาหารวุ้นแห้ง โดยใช้ชุดควบคุมเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ไม่มีการผสมสารสกัดยับยั้งจากพืชสมุนไพร

(4) นำชิ้นวุ้นในจานเพาะเชื้อที่มีเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่มีอายุ 7 วัน โดยการใช้ cork borer เจาะเส้นใยรอบโคโลนีเชื้อราที่เจริญบนอาหารวุ้นให้มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร วางบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัดยับยั้งจากพืชสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด นำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ  $37 \pm 2$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ (ดังภาพที่ 3.2)



ภาพที่ 3.2 การวางชิ้นวุ้นเส้นใยเชื้อราลงบนอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดยับยั้งจากพืชสมุนไพร โดยวิธี poisoned food technique

(6) บันทึกผลโดยการวัดขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของเส้นใยเชื้อราที่เจริญเติบโตทุก 24 ชั่วโมง จนครบ 7 วัน หรือจนกระทั่งเส้นใยของเชื้อราในชุดควบคุม (อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ไม่มีการผสมสารสกัดยับยั้งจากพืชสมุนไพร) ในหน่วยมิลลิเมตร และนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา (Percent Inhibition of Radial Growth; PIRG) (ดูจากภาคผนวก ข)

(7) จากนั้นนำค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา มาวิเคราะห์หาค่า Probit โดยใช้การเปรียบเทียบกับตาราง Probit แล้วนำค่า Probit ที่ได้มาสร้างกราฟ Dose response curve (DR. curve) ของสารสกัดพืชที่ใช้ทดลองหาค่าระดับการยับยั้ง 50% (Median Effective Dose : ED<sub>50</sub>) โดยลากเส้นตรงจากจุดที่ค่า Probit เท่ากับ 50 ขนานกับแกน X (ดูจากภาคผนวก ง)

### ตอนที่ 5 การหาค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) ของสารสกัด

นำสารสกัดจากพืชสมุนไพรทั้ง 5 ชนิดมาทำการทดลองเพื่อหาค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) ด้วยวิธี Broth dilution test โดยทำการทดลองดังนี้

- (1) เลี้ยงเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* บนอาหาร PDA เป็นอาหาร 14 วัน เพื่อใช้ส่วนของสปอร์รามาทำสปอร์แขวนลอย
- (2) เตรียมซัสเพนชันสปอร์ของเชื้อราที่บ่มเชื้อไว้ประมาณ 7 วัน โดยตรวจนับด้วย Haemocytometer ให้มีความเข้มข้น  $2.3 \times 10^6$  สปอร์ต่อมิลลิลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDB) (ดูภาคผนวก ค)
- (3) นำสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่สามารถยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ได้ดีที่สุดมาชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
- (4) นำสารสกัดจากพืชสมุนไพรจาก stock solution มาทำการเจือจางความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพรด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นลดลงเรื่อย ๆ ครั้งละ 2 เท่า (2-fold serial solution) ดังตารางที่ 3.2
- (5) นำสารสกัดที่เจือจางแล้วใส่ในหลอดทดลองหลอดละ 5 มิลลิลิตร จนครบความเข้มข้นที่เตรียมไว้
- (6) จากนั้นนำซัสเพนชันของสปอร์เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่เตรียมไว้ไปเปิดลงในหลอดทดลองที่มีสารสกัดที่เจือจางหลอดละ 50 ไมโครลิตร โดยเทคนิคปลอดเชื้อ (Aseptic technique)
- (7) นำหลอดทดลองไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 – 5 วัน
- (8) ทำการตรวจผลการยับยั้งของเชื้อราด้วยสารสกัดสมุนไพร โดยสังเกตดูหลอดทดลองที่มีความใสหลอดที่มีความใสแสดงว่าสารสกัดนั้นสามารถยับยั้งเชื้อราได้
- (9) หลอดทดลองที่ความเข้มข้นของสารสกัดต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้จะมีความใส แสดงว่าสารสกัดชนิดนั้นสามารถยับยั้งเชื้อราได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ความเข้มข้นนั้น

ตารางที่ 3.2 การเจือจางความเข้มข้นของสารสกัดพืชสมุนไพรให้มีความเข้มข้นลดลงทีละ 2 เท่า

หลอดที่	1	2	3	4	5	6
ความเข้มข้น (mg/ml)	0	1	0.5	0.25	0.125	0.062
ปริมาณของสารสกัด (ml)	0	5	2.5	1.25	1.125	0.5625
ปริมาณของน้ำกลั่น (ml)	5	0	2.5	3.75	4.875	4.4375
ปริมาณของเชื้อทดสอบ ( $\mu$ l)	50	50	50	50	50	50
สังเกตความใสของสารละลาย						

### ตอนที่ 6 การทดสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์

นำสารสกัดจากพืชสมุนไพรทั้ง 5 ชนิดมาทำการทดสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์ ด้วยวิธี spore germination test โดยทำการทดลองดังนี้

(1) เตรียมซัสเพนชันสปอร์ของเชื้อราที่บ่มเชื้อไว้ประมาณ 7 วัน โดยตรวจนับด้วย Haemocytometer ให้มีความเข้มข้น  $2.3 \times 10^6$  สปอร์ต่อมิลลิลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDB) ใช้หลักการเทียบกับการค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) ของสารสกัด

(2) นำสปอร์แขวนลอยของราที่เตรียมได้มาหยดลงบนสไลด์หลุมที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร

(3) นำสารสกัดจากพืชสมุนไพรทั้ง 5 ชนิดจาก stock solution ที่ความเข้มข้น 0 , 500 , 750 และ 1000 ppm หยดลงบนสไลด์หลุม (depression slide) ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตรให้เท่ากับสปอร์แขวนลอยผสมให้เข้ากัน

(4) นำสปอร์แขวนลอยที่ได้ไปบ่มในกล่องพลาสติกขึ้น ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาในการบ่ม ให้หยุดปฏิกิริยาด้วย lactophenol

(5) หลังจากนั้นนำสปอร์แขวนลอยไปตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยสังเกตการณ์งอกของสปอร์ และ germ tube โดยนับสปอร์จำนวน 5 สปอร์ต่อสไลด์ ทำทั้งหมด 5 ซ้ำ โดยเปรียบเทียบกับน้ำกลั่นและสารเคมีแมนโคเซบ (80wp) ที่ความเข้มข้น 1,600 ppm

### ตอนที่ 7 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data Analysis)

นำข้อมูลที่ได้จากการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่วัดขนาดจากบริเวณใส (clear zone) มาทำการวิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้สถิติทดสอบเปรียบเทียบความแปรปรวนทางเดียว (One Way Anova) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเส้นใยราของการทดลองโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $P < 0.05$ )

### 3.7 ระยะเวลา และสถานที่ทำการวิจัย

3.7.1 ระยะเวลาในการทำวิจัย คือ 8 เดือน ตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ 2557 ถึงกันยายน 2558

3.7.2 สถานที่ทำการทดลองและเก็บข้อมูลสำหรับการทดลองนี้ คือ ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาชีววิทยา อาคารสิรินธร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

## บทที่ 4

### ผลการวิจัย

จากการศึกษาสารสกัดยับยั้งจากพืชสมุนไพรท้องถิ่นต่อการยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. ในมะม่วงน้ำดอกไม้ โดยตัวอย่างพืชสมุนไพรที่ใช้ทั้งหมด 5 ชนิด ได้แก่ ขิง สะเดา กะเพรา มะกรูด และตะไคร้ ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิดมี 4 ระดับ คือ 0 (control) , 500 , 750 และ 1000 ppm และตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดยับยั้งพืชสมุนไพร 2 ชนิด ได้แก่ แอลกอฮอล์ และน้ำกลั่น โดยมีทริทเมนต์ ดังนี้

**ตารางที่ 4.1** สารสกัดจากพืชสมุนไพรที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ใช้ตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด

ความเข้มข้น (ppm) พืชสมุนไพร	ชนิดตัวทำละลาย							
	น้ำกลั่น (W)				เอทานอล (E)			
	0	500	750	1000	0	500	750	1000
ขิง (T <sub>1</sub> )	T <sub>1</sub> W <sub>1</sub>	T <sub>1</sub> W <sub>2</sub>	T <sub>1</sub> W <sub>3</sub>	T <sub>1</sub> W <sub>4</sub>	T <sub>1</sub> E <sub>1</sub>	T <sub>1</sub> E <sub>2</sub>	T <sub>1</sub> E <sub>3</sub>	T <sub>1</sub> E <sub>4</sub>
สะเดา (T <sub>2</sub> )	T <sub>2</sub> W <sub>1</sub>	T <sub>2</sub> W <sub>2</sub>	T <sub>2</sub> W <sub>3</sub>	T <sub>2</sub> W <sub>4</sub>	T <sub>2</sub> E <sub>1</sub>	T <sub>2</sub> E <sub>2</sub>	T <sub>2</sub> E <sub>3</sub>	T <sub>2</sub> E <sub>4</sub>
กะเพรา (T <sub>3</sub> )	T <sub>3</sub> W <sub>1</sub>	T <sub>3</sub> W <sub>2</sub>	T <sub>3</sub> W <sub>3</sub>	T <sub>3</sub> W <sub>4</sub>	T <sub>3</sub> E <sub>1</sub>	T <sub>3</sub> E <sub>2</sub>	T <sub>3</sub> E <sub>3</sub>	T <sub>3</sub> E <sub>4</sub>
มะกรูด (T <sub>4</sub> )	T <sub>4</sub> W <sub>1</sub>	T <sub>4</sub> W <sub>2</sub>	T <sub>4</sub> W <sub>3</sub>	T <sub>4</sub> W <sub>4</sub>	T <sub>4</sub> E <sub>1</sub>	T <sub>4</sub> E <sub>2</sub>	T <sub>4</sub> E <sub>3</sub>	T <sub>4</sub> E <sub>4</sub>
ตะไคร้ (T <sub>5</sub> )	T <sub>5</sub> W <sub>1</sub>	T <sub>5</sub> W <sub>2</sub>	T <sub>5</sub> W <sub>3</sub>	T <sub>5</sub> W <sub>4</sub>	T <sub>5</sub> E <sub>1</sub>	T <sub>5</sub> E <sub>2</sub>	T <sub>5</sub> E <sub>3</sub>	T <sub>5</sub> E <sub>4</sub>

จากการวางแผนการทดลองศึกษาสารสกัดยับยั้งจากพืชสมุนไพรท้องถิ่นที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. ในมะม่วงน้ำดอกไม้ มาทำการศึกษาลักษณะทางกายภาพของสารสกัดยับยั้งจากพืชสมุนไพร ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา การหาค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) ของสารสกัด และการทดสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา ได้ผลการทดลอง ดังต่อไปนี้

#### 4.1 ผลการศึกษาลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพร

จากการศึกษาลักษณะทางกายภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพรท้องถิ่น 5 ชนิด ได้แก่ ขิง สะเดา กะเพรา มะกรูด และตะไคร้ ในตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ แอลกอฮอล์ และน้ำ ที่ระดับความเข้มข้น 4 ระดับ ได้แก่ 0 (ชุดควบคุม) , 500 , 750 และ 1000 ppm โดยศึกษาลักษณะทางกายภาพของสมุนไพรอบแห้ง และสารสกัดในตัวทำละลาย น้ำหนักแห้ง (dry weight) และเปอร์เซ็นต์ความชื้น (% moisture) ได้ผลดังตารางที่ 4.2

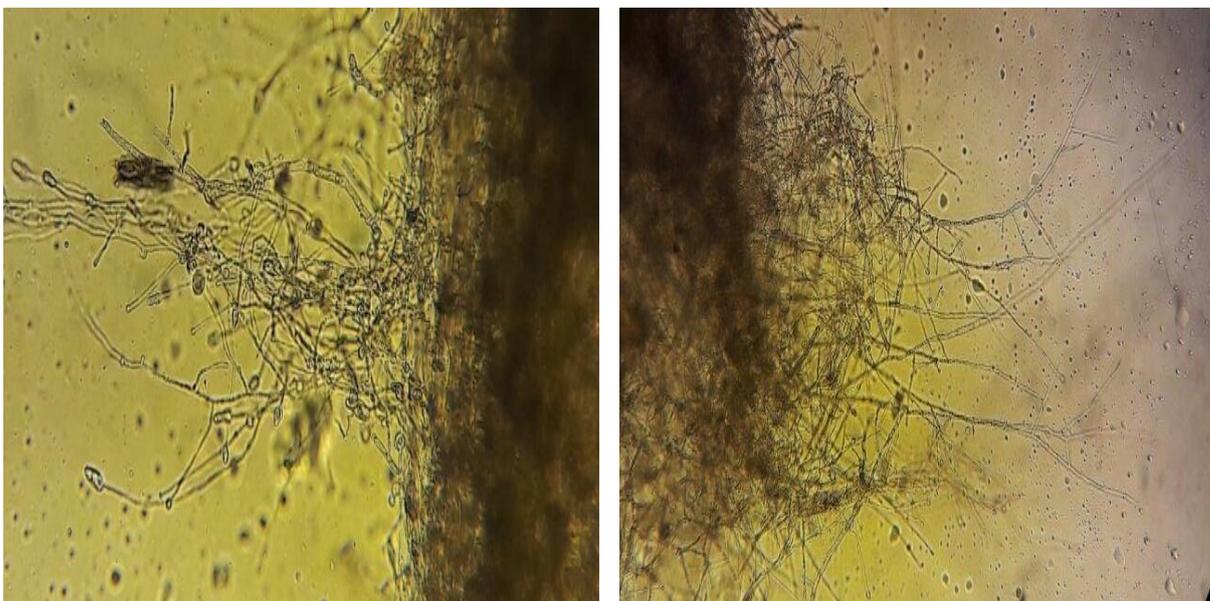
ตารางที่ 4.2 ผลการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพรท้องถิ่น

พืชสมุนไพร	ลักษณะทางกายภาพของสมุนไพรอบแห้ง	ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดในตัวทำละลาย	Dry weight (g)	% moisture
ใบกะเพรา	เป็นผงละเอียด สีดำเข้ม	เป็นของเหลว สีดำเข้ม	0.81 -2.54	15.44 – 39.45
ขิง	เป็นผงหยาบ เหนียว สีน้ำตาลอ่อน	เป็นของเหลว สีน้ำตาลอ่อน	0.31 – 2.86	1.98 – 29.03
ใบสะเดา	เป็นผงละเอียด สีดำอ่อน	เป็นของเหลว สีเขียวเข้ม	1.90 – 2.41	6.69 – 25.65
ตะไคร้	มีลักษณะเป็นเส้นเล็กเล็ก ๆ หยาบมากกว่าขิง สีน้ำตาลอ่อน	เป็นของเหลว สีเหลืองอ่อน	0.41 – 2.51	7.81 – 23.55
ใบมะกรูด	เป็นผงละเอียดน้อยกว่าใบกะเพรา สีออกดำอ่อน	เป็นของเหลว สีเขียวเข้ม	1.79 – 2.80	14.85 – 25.45

จากการศึกษาลักษณะทางกายภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพร ในช่วงของการเตรียมตัวอย่างพืชสมุนไพรอบแห้งทั้ง 5 ชนิด จะมีตั้งแต่ลักษณะเป็นผงละเอียดจนถึงลักษณะเป็นเส้น ไม่ละเอียด มีสีออกดำเข้ม จนถึงสีน้ำตาลอ่อนขึ้นอยู่กับลักษณะของพืชสมุนไพรแต่ละชนิด (ดูภาคผนวก จ) สำหรับสารสกัดจากพืชสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด มีลักษณะเป็นของเหลว สีเหลืองอ่อนจนถึงสีดำเข้มขึ้นอยู่กับสีของพืชที่นำมาสกัด ส่วนค่าน้ำหนักแห้งของขิงมีค่าสูงสุด ส่วนใบสะเดามีน้ำหนักแห้งน้อยที่สุดเนื่องจากลักษณะของใบมีน้ำหนักน้อย ส่วนเปอร์เซ็นต์ความชื้นของใบกะเพรามีค่ามากที่สุด 39.45 % รองลงมา ได้แก่ ขิง มีเปอร์เซ็นต์ความชื้น 29.03 ส่วนตะไคร้จะมีเปอร์เซ็นต์ความชื้นน้อยที่สุด เท่ากับ 23.55 %

#### 4.2 ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *Colletotrichum Gloeosporioides*

จากการศึกษาลักษณะทางกายภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพرتองถိုင်น 5 ชนิด ในตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ แอลกอฮอล์ และน้ำ ที่ระดับความเข้มข้น 4 ระดับ ได้แก่ 0 (ชุดควบคุม) , 500 , 750 และ 1000 ppm ได้ผลดังตารางที่ 4.2



ภาพที่ 4.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Colletotrichum Gloeosporioides*

จากการศึกษาเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสในมะม่วงน้ำดอกไม้ โดยลักษณะอาการของโรคบนผลมะม่วงจะมีลักษณะแผลเป็นรูปกลมรี เนื้อยุบตัวลึก เกิดรอยแผลสีดำบริเวณรอบนอกและบริเวณใจกลางแผลจะมีเมือกของสปอร์ราออกสีน้ำตาลอ่อน เจริญเป็นวงซ้อนกันเป็นชั้น ๆ ขอบแผลไม่ชัดเจน เมื่อนำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าลักษณะของเส้นใยของเชื้อราจะมีลักษณะเป็นเส้นใยยาว ๆ เป็นจำนวนมาก พันกันไปมา มีการแตกแขนงของเส้นใย และมีปล้องเห็นได้อย่างชัดเจน มีการสร้างอับสปอร์ที่ภายในบรรจุ conidia ที่มีลักษณะเป็นรูปทรงกระบอกตรง หัวมนท้ายมนทั้งสองด้าน conidia จะอยู่เดี่ยว ๆ ใสไม่มีสี ไม่พบ setae แต่พบ sclerotia เจริญปะปนอยู่ (ธารทิพย์ และคณะ, 2548) (ดังภาพที่ 4.1)

#### 4.3 ผลการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา

การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา โดยวิธี paper disc diffusion technique และวิธี poisoned food technique (PFT) ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่ระดับต่าง ๆ

##### 4.3.1 ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา โดยวิธี paper disc diffusion technique

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรท้องถิ่น 5 ชนิด ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด ได้แก่ น้ำกลั่น และ 95% เอทิลแอลกอฮอล์ ในการยับยั้งการเจริญของโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่ป่มเชื้อเป็นเวลา 7 วัน โดยวิธี paper disc diffusion technique โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณโซนใส (clear zone) หรือบริเวณที่การเจริญของเส้นใยเชื้อราถูกยับยั้งด้วยสารสกัดหยาบชนิดต่าง ๆ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม ดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 เปรียบเทียบขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ที่ถูกยับยั้งด้วยสารสกัดหยาดจากพืชสมุนไพรทั้ง 5 ชนิดที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

Treatment (ppm)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone (มิลลิเมตร)											
	ตะไคร้		สะเดา		กะเพรา		มะกรูด		ขิง		mencozeb	
	H <sub>2</sub> O	EtOH	H <sub>2</sub> O	EtOH	H <sub>2</sub> O	EtOH	H <sub>2</sub> O	EtOH	H <sub>2</sub> O	EtOH	H <sub>2</sub> O	EtOH
0	0.00±0.00	0.70±0.10 <sup>j</sup>	0.00±0.00	0.70±0.10 <sup>j</sup>	0.00±0.00	0.70±0.10 <sup>j</sup>	0.00±0.00	0.70±0.10 <sup>j</sup>	0.00±0.00	0.70±0.10 <sup>j</sup>	5.80±0.26 <sup>a</sup>	6.03±0.21 <sup>a</sup>
500	0.00±0.00 <sup>h</sup>	1.10±0.26 <sup>hi</sup>	0.86±0.06 <sup>g</sup>	1.87±0.06 <sup>ef</sup>	0.00±0.00 <sup>h</sup>	0.90±0.10 <sup>ij</sup>	1.37±0.15 <sup>f</sup>	2.17±0.06 <sup>e</sup>	1.43 ±0.06 <sup>ef</sup>	2.63±0.25 <sup>d</sup>		
750	0.86±0.06 <sup>g</sup>	1.30±0.20 <sup>gh</sup>	1.50±0.2 <sup>ef</sup>	2.83±0.32 <sup>d</sup>	0.80±0.3 <sup>g</sup>	1.30±0.17 <sup>gh</sup>	1.70±0.20 <sup>de</sup>	2.90±0.20 <sup>d</sup>	1.90±0.1 <sup>d</sup>	3.50±0.20 <sup>c</sup>		
1,000	1.50±0.36 <sup>ef</sup>	1.73±0.21 <sup>ef</sup>	2.20±0.3 <sup>c</sup>	2.93±0.06 <sup>d</sup>	0.97±0.12 <sup>g</sup>	1.47±0.25 <sup>fg</sup>	2.33±0.15 <sup>c</sup>	3.37±0.21 <sup>c</sup>	2.83±0.06 <sup>b</sup>	4.23±0.25 <sup>b</sup>		

หมายเหตุ : แสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>a-h</sup> คือ ค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05)

จากการศึกษาผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราโดยเปรียบเทียบขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ที่ถูกยับยั้งด้วยสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในตัวทำละลายแต่ละชนิด (ดังตารางที่ 4.3) โดยผลการทดลองจะเกิดบริเวณโซนใสที่ไม่ชัดเจน แต่มีลักษณะที่การเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราถูกยับยั้งด้วยสารสกัดได้อย่างชัดเจน เมื่อนำมาคำนวณเปรียบเทียบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone พบว่าสารสกัดหยาบที่ใช้ตัวทำละลาย 95% เอทิลแอลกอฮอล์จะมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตได้ดีกว่าการใช้ น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายซึ่งสังเกตได้จากค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone มีค่ามากกว่าอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ สารสกัดหยาบจากขิงที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm ที่สกัดด้วย 95% เอทิลแอลกอฮอล์ จะมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางมากที่สุด  $4.23 \pm 0.25$  มิลลิเมตร รองลงมา คือ สารสกัดจากขิงที่สกัดด้วยน้ำกลั่นที่ความเข้มข้น 1000 ppm มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง  $2.83 \pm 0.06$  มิลลิเมตร ส่วนสารสกัดหยาบที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยน้อยที่สุด ได้แก่ สารสกัดหยาบที่ใช้ น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายที่สกัดจากกะเพรา ตะไคร้ และสะเดาที่ระดับความเข้มข้น 750 , 750 และ 500 ppm ตามลำดับ ซึ่งมีค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

แต่เมื่อพิจารณาระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา พบว่าสารสกัดหยาบจากตะไคร้ และกะเพราด้วยน้ำกลั่นที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ไม่สามารถยับยั้งเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรกโนสได้ ตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารจากพืชสมุนไพร ได้แก่ 95% เอทิลแอลกอฮอล์ ซึ่งมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรามากที่สุดที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm ได้แก่ ขิง รองลงมา ได้แก่ มะกรูด สะเดา และตะไคร้ วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone เท่ากับ  $4.23 \pm 0.25$  ,  $3.37 \pm 0.21$  ,  $2.93 \pm 0.06$  และ  $1.73 \pm 0.21$  มิลลิเมตร ตามลำดับ การสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ไม่ดีกว่าการใช้ตัวทำละลายเป็นแอลกอฮอล์ และเมื่อระดับความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้นจะมีผลทำให้การยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยได้ดีขึ้น สังเกตได้จากเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone มีค่ามากขึ้นตามระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่เข้มข้นขึ้น แต่เมื่อเทียบกับ mencozeb ที่ความเข้มข้น 1,600 ppm พบว่าสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรมีผลการยับยั้งน้อยกว่าทุกความเข้มข้น

#### 4.3.2 ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา โดยวิธี Poisoned Food Technique (PFT)

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาดจากสมุนไพรท้องถิ่น 5 ชนิด ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด ได้แก่ น้ำกลั่น และ 95% เอทิลแอลกอฮอล์ ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่บ่มเชื้อเป็นเวลา 7 วัน โดยวิธี Poisoned Food Technique (PFT) โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยเชื้อราที่ถูกยับยั้งเจริญเติบโตด้วยสารสกัดหยาดจากพืชสมุนไพรท้องถิ่นชนิดต่าง ๆ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา ดังตารางที่ 4.4 - 4.6

ตารางที่ 4.4 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่บ่มเชื้อบนอาหารที่ผสมสารสกัดหยาดจากพืชสมุนไพรท้องถิ่นชนิดต่าง ๆ ด้วยน้ำกลั่นที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ชุดที่	Treatment	เส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีของเส้นใยรา (มิลลิเมตร)	% การยับยั้งการเจริญเติบโต
1	น้ำกลั่น (Control)	8.93±0.06 <sup>i</sup>	0.00±0.00
2	T <sub>1</sub> W <sub>2</sub>	4.80±0.20 <sup>c</sup>	46.26±2.54 <sup>c</sup>
3	T <sub>1</sub> W <sub>3</sub>	4.17±0.40 <sup>b</sup>	53.34±4.76 <sup>b</sup>
4	T <sub>1</sub> W <sub>4</sub>	3.80±0.26 <sup>b</sup>	57.47±2.79 <sup>b</sup>
5	T <sub>2</sub> W <sub>2</sub>	7.00±0.10 <sup>g</sup>	21.64±1.23 <sup>h</sup>
6	T <sub>2</sub> W <sub>3</sub>	5.63±0.31 <sup>ef</sup>	36.95±3.12 <sup>f</sup>
7	T <sub>2</sub> W <sub>4</sub>	5.23±0.15 <sup>de</sup>	41.42±1.35 <sup>de</sup>
8	T <sub>3</sub> W <sub>2</sub>	7.70±0.26 <sup>h</sup>	13.82±2.41 <sup>i</sup>
9	T <sub>3</sub> W <sub>3</sub>	6.97±0.25 <sup>g</sup>	22.02±2.43 <sup>gh</sup>
10	T <sub>3</sub> W <sub>4</sub>	5.47±0.15 <sup>ef</sup>	38.81±1.69 <sup>ef</sup>
11	T <sub>4</sub> W <sub>2</sub>	5.73±0.31 <sup>f</sup>	35.82±3.38 <sup>f</sup>
12	T <sub>4</sub> W <sub>3</sub>	4.63±0.15 <sup>c</sup>	48.14±1.39 <sup>c</sup>
13	T <sub>4</sub> W <sub>4</sub>	4.17±0.15 <sup>b</sup>	53.36±1.50 <sup>b</sup>
14	T <sub>5</sub> W <sub>2</sub>	6.83±0.21 <sup>g</sup>	23.50±2.80 <sup>gh</sup>
15	T <sub>5</sub> W <sub>3</sub>	6.60±0.26 <sup>g</sup>	26.13±2.49 <sup>g</sup>
16	T <sub>5</sub> W <sub>4</sub>	4.93±0.21 <sup>cd</sup>	44.78±2.27 <sup>cd</sup>
17	Mencozeb	2.67±0.21 <sup>a</sup>	70.16±2.14 <sup>a</sup>

หมายเหตุ : แสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>a-j</sup> คือ ค่าที่แตกต่างภายในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )

$T_1W_2$ = ชিং 500 ppm	$T_1W_3$ = ชิง 750 ppm	$T_1W_4$ = ชิง 1000 ppm
$T_2W_2$ = สะเดา 500 ppm	$T_2W_3$ = สะเดา 750 ppm	$T_2W_4$ = สะเดา 1000 ppm
$T_3W_2$ = กะเพรา 500 ppm	$T_3W_3$ = กะเพรา 750 ppm	$T_3W_4$ = กะเพรา 1000 ppm
$T_4W_2$ = มะกรูด 500 ppm	$T_4W_3$ = มะกรูด 750 ppm	$T_4W_4$ = มะกรูด 1000 ppm
$T_5W_2$ = ตะไคร้ 500 ppm	$T_5W_3$ = ตะไคร้ 750 ppm	$T_5W_4$ = ตะไคร้ 1000 ppm

จากการศึกษาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราที่เลี้ยงบนอาหารที่เลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมกับสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรท้องถิ่นที่ใช้ตัวทำละลายเป็นน้ำกลั่นทั้ง 5 ชนิด โดยวิธี Poisoned Food Technique (PFT) (ดังตารางที่ 4.4) พบว่าสารสกัดจากมะกรูดที่ความเข้มข้น 1000 ppm และชิงที่ระดับความเข้มข้น 750 ppm , 1000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราสูงที่สุด เท่ากับ 53.36 % (1.50 มิลลิเมตร) , 53.34 % (4.17 มิลลิเมตร) และ 57.47 % (3.80 มิลลิเมตร) โดยมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ซึ่งมีอัตราการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่มีค่าใกล้เคียงกับสารเคมีที่ใช้ในเชิงการค้า คือ Mencozep ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 70.16% (2.67 มิลลิเมตร) เมื่อพิจารณาที่ระดับความเข้มข้น 1000 เท่ากัน สารสกัดจากมะกรูดจะมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งรองจากสารสกัดจากชิง โดยสามารถยับยั้งได้ 53.36% รองลงมา ได้แก่ สารสกัดจากตะไคร้ สารสกัดจากสะเดา และสารสกัดจากกะเพรา ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราได้ 44.78% , 41.42% และ 38.81% ตามลำดับ แต่ถ้าพิจารณาระดับความเข้มข้นที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราพบว่ายิ่งระดับความเข้มข้นของสารสกัดมาก เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญก็จะสูงตามไปด้วย ซึ่งสารสกัดที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตน้อยที่สุด ได้แก่ สารสกัดจากกะเพราที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm มีค่าเท่ากับ 13.82%

ตารางที่ 4.5 เปร้อ์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่ บ่มเชื้อบนอาหารที่ผสมสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรท้องถิ่นชนิดต่าง ๆ ด้วย 95% เอทิลแอลกอฮอล์ ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ชุดที่	Treatment	เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีของเส้นใยรา (มิลลิเมตร)	% การยับยั้ง การเจริญเติบโต
1	เอทิลแอลกอฮอล์ (Control)	7.67±0.15 <sup>h</sup>	0.00±0.00
2	T <sub>1</sub> E <sub>2</sub>	2.77±0.21 <sup>d</sup>	63.92±2.49 <sup>d</sup>
3	T <sub>1</sub> E <sub>3</sub>	2.37±0.06 <sup>c</sup>	69.13±0.27 <sup>c</sup>
4	T <sub>1</sub> E <sub>4</sub>	1.83±0.15 <sup>b</sup>	76.08±2.09 <sup>b</sup>
5	T <sub>2</sub> E <sub>2</sub>	4.63±0.15 <sup>g</sup>	39.56±1.73 <sup>h</sup>
6	T <sub>2</sub> E <sub>3</sub>	4.13±0.15 <sup>f</sup>	46.05±3.09 <sup>fg</sup>
7	T <sub>2</sub> E <sub>4</sub>	3.63±0.15 <sup>e</sup>	52.59±2.30 <sup>e</sup>
8	T <sub>3</sub> E <sub>2</sub>	4.83±0.15 <sup>g</sup>	36.95±1.74 <sup>h</sup>
9	T <sub>3</sub> E <sub>3</sub>	4.67±0.15 <sup>g</sup>	39.12±2.19 <sup>h</sup>
10	T <sub>3</sub> E <sub>4</sub>	3.80±0.10 <sup>e</sup>	50.42±1.86 <sup>e</sup>
11	T <sub>4</sub> E <sub>2</sub>	3.83±0.29 <sup>e</sup>	49.98±4.09 <sup>e</sup>
12	T <sub>4</sub> E <sub>3</sub>	2.77±0.15 <sup>d</sup>	63.92±1.51 <sup>d</sup>
13	T <sub>4</sub> E <sub>4</sub>	1.87±0.06 <sup>b</sup>	75.66±0.34 <sup>b</sup>
14	T <sub>5</sub> E <sub>2</sub>	4.27±0.25 <sup>f</sup>	44.31±3.85 <sup>g</sup>
15	T <sub>5</sub> E <sub>3</sub>	3.87±0.06 <sup>e</sup>	49.55±1.38 <sup>ef</sup>
16	T <sub>5</sub> E <sub>4</sub>	2.10±0.10 <sup>b</sup>	72.58±1.85 <sup>bc</sup>
17	Mencozeb	1.40±0.10 <sup>a</sup>	81.75±0.95 <sup>a</sup>

หมายเหตุ : แสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>a-j</sup> คือ ค่าที่แตกต่างภายในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05)

T<sub>1</sub>E<sub>2</sub> = ชิง 500 ppm

T<sub>1</sub>E<sub>3</sub> = ชิง 750 ppm

T<sub>1</sub>E<sub>4</sub> = ชิง 1000 ppm

T<sub>2</sub>E<sub>2</sub> = สะเดา 500 ppm

T<sub>2</sub>E<sub>3</sub> = สะเดา 750 ppm

T<sub>2</sub>E<sub>4</sub> = สะเดา 1000 ppm

T<sub>3</sub>E<sub>2</sub> = กะเพรา 500 ppm

T<sub>3</sub>E<sub>3</sub> = กะเพรา 750 ppm

T<sub>3</sub>E<sub>4</sub> = กะเพรา 1000 ppm

T<sub>4</sub>E<sub>2</sub> = มะกรูด 500 ppm

T<sub>4</sub>E<sub>3</sub> = มะกรูด 750 ppm

T<sub>4</sub>E<sub>4</sub> = มะกรูด 1000 ppm

T<sub>5</sub>E<sub>2</sub> = ตะไคร้ 500 ppm

T<sub>5</sub>E<sub>3</sub> = ตะไคร้ 750 ppm

T<sub>5</sub>E<sub>4</sub> = ตะไคร้ 1000 ppm

จากการศึกษาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราที่เลี้ยงบนอาหารที่เลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมกับสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรท้องถิ่นทั้ง 5 ชนิด ที่ใช้ตัวทำละลายเป็นแอลกอฮอล์ โดยวิธี Poisoned Food Technique (PFT) (ดังตารางที่ 4.5) พบว่าสารสกัดจากขิง และมะกรูดที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราสูงที่สุด เท่ากับ 76.08 % (1.83 มิลลิเมตร) และ 75.66% (1.87 มิลลิเมตร) ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และมีอัตราการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรามีค่าใกล้เคียงกับสารเคมีที่ใช้ในเชิงการค้า คือ Mencozep ที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ 81.75% จากการศึกษาครั้งนี้สารสกัดจากขิง สะเดา กะเพรา มะกรูด และตะไคร้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา 63.92 - 76.08% , 39.56 - 52.59% , 36.95 - 50.42% , 49.98 - 75.66% และ 44.31 - 72.58% ตามลำดับ ส่วนสารสกัดที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตน้อยที่สุด ได้แก่ สารสกัดจากกะเพราที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งได้เพียง 36.95% ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติกับสารสกัดจากสะเดาที่ความเข้มข้น 500 ppm และสารสกัดจากกะเพราที่ระดับความเข้มข้น 750 ppm ที่มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 39.56% , และ 39.12% ตามลำดับ

ตารางที่ 4.6 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวทำลายที่ใช้ในการสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรท้องถิ่น ชนิดต่าง ๆ

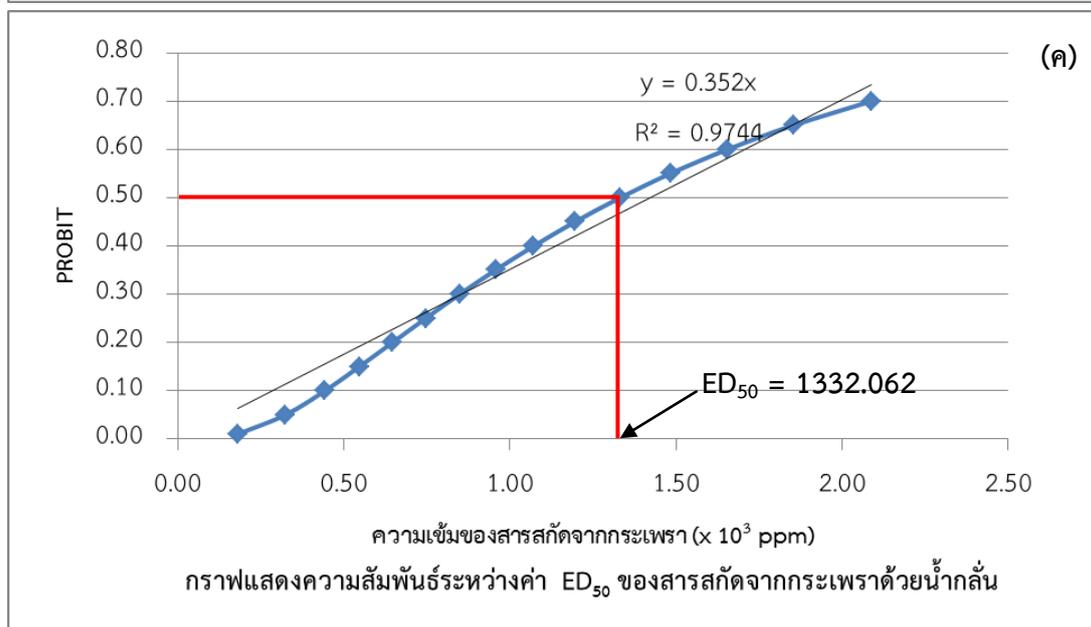
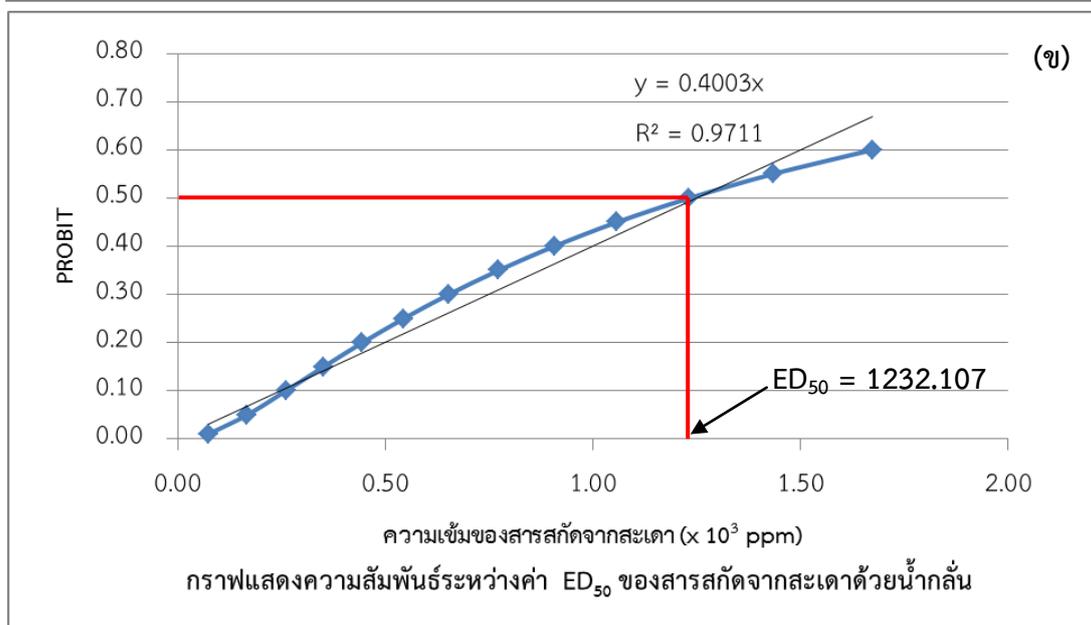
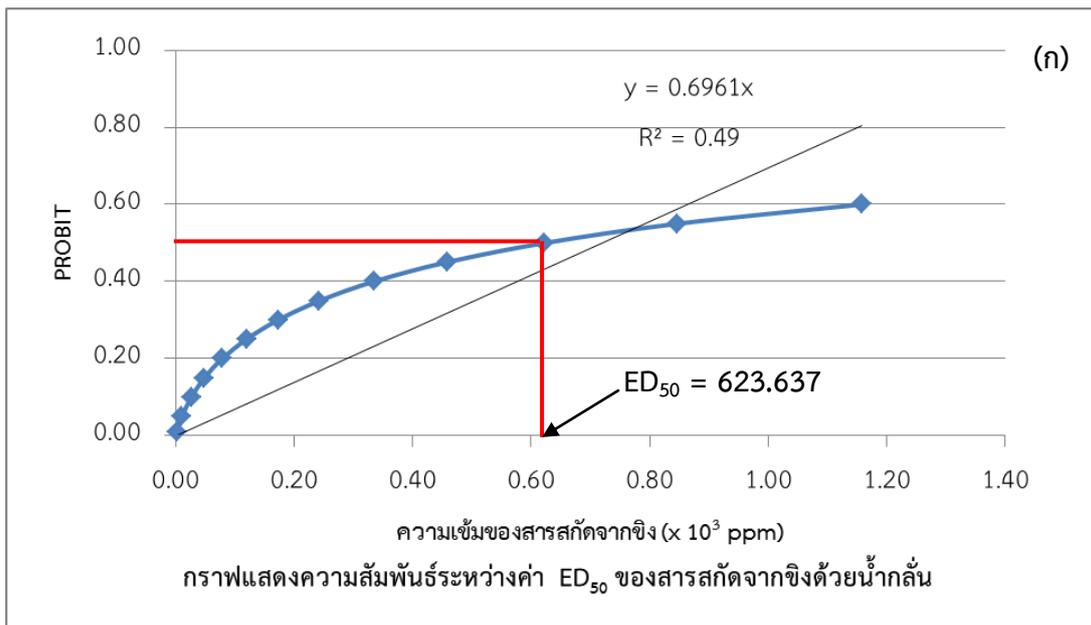
ชุดที่	Treatment	% การยับยั้งการเจริญเติบโต	
		Water	Alcohol
1	Negative Control	0.00±0.00	0.00±0.00
2	ขิง 500 ppm	46.26±2.54b	63.92±2.49a
3	ขิง 750 ppm	53.34±4.76b	69.13±0.27a
4	ขิง 1000 ppm	57.47±2.79b	76.08±2.09a
5	สะเดา 500 ppm	21.64±1.23b	39.56±1.73a
6	สะเดา 750 ppm	36.95±3.12	46.05±3.09a
7	ขิง 1000 ppm	41.42±1.35b	52.59±2.30a
8	กะเพรา 500 ppm	13.82±2.41b	36.95±1.74a
9	กะเพรา 750 ppm	22.02±2.43b	39.12±2.19a
10	กะเพรา 1000 ppm	38.81±1.69b	50.42±1.86a
11	มะกรูด 500 ppm	35.82±3.38b	49.98±4.09a
12	มะกรูด 750 ppm	48.14±1.39b	63.92±1.51a
13	มะกรูด 1000 ppm	53.36±1.50b	75.66±0.34a
14	ตะไคร้ 500 ppm	23.50±2.80b	44.31±3.85a
15	ตะไคร้ 750 ppm	26.13±2.49b	49.55±1.38a
16	ตะไคร้ 1000 ppm	44.78±2.27b	72.58±1.85a
17	Mencozeb (Positive Control)	70.16±2.14b	81.75±0.95a

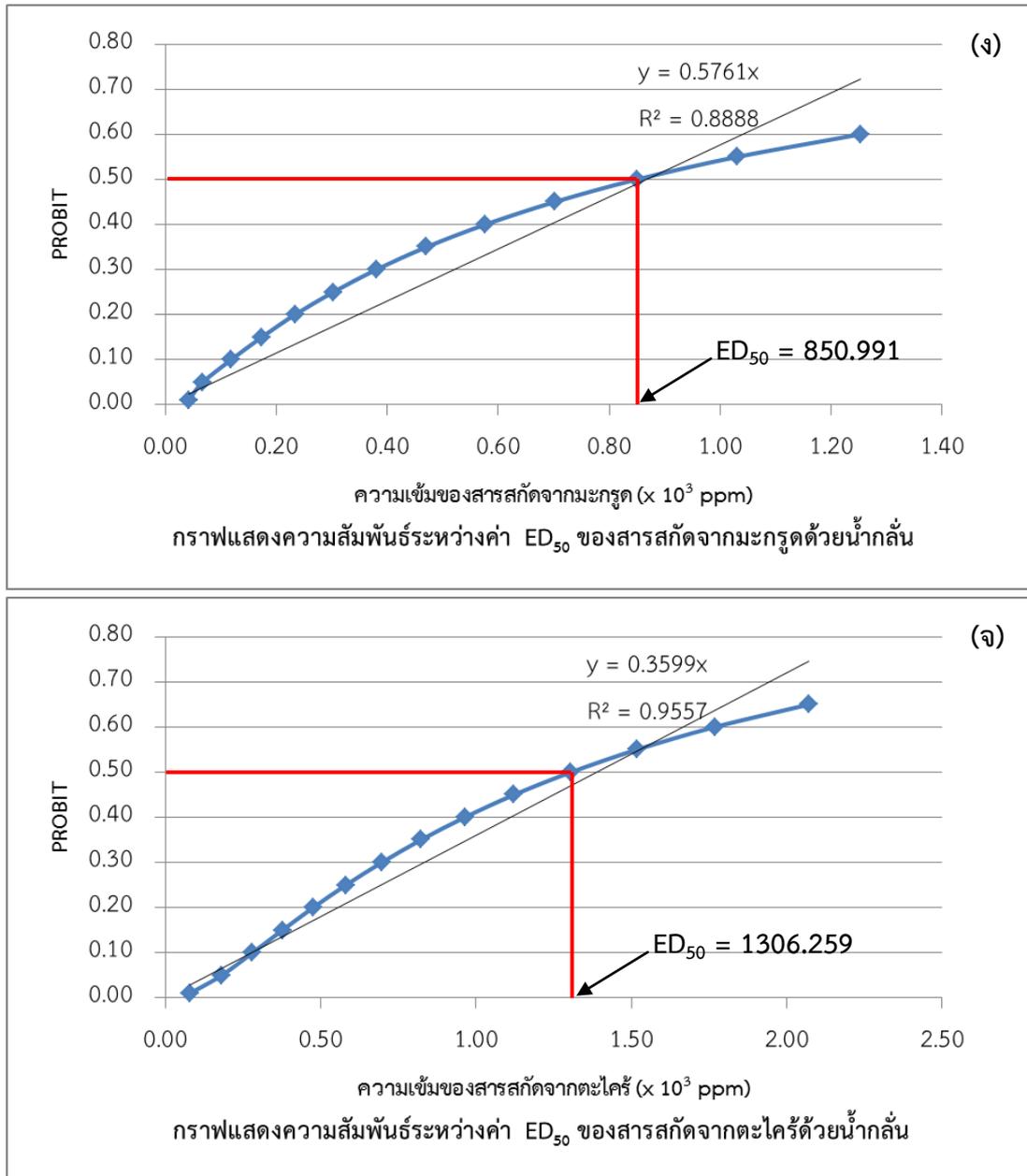
หมายเหตุ : แสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

a - b คือ ค่าที่แตกต่างภายในแถวเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )

เมื่อพิจารณาชนิดตัวทำลายที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยราในตารางที่ 4.6 ที่นำมาสกัดพืชสมุนไพร 2 ชนิด ได้แก่ น้ำกลั่น และ 95% เอทิลแอลกอฮอล์มาวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์การยับยั้งโดยวิธี independent-t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พบว่า สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยน้ำกลั่น และ 95% เอทิลแอลกอฮอล์ สามารถยับยั้งการสร้างเส้นใยของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ได้ทุกความเข้มข้น โดยสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรที่สกัดด้วย 95% เอทิลแอลกอฮอล์ จะสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยได้ดีกว่าการสกัดสมุนไพรด้วยน้ำกลั่นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากนั้นนำค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราที่สกัดด้วยน้ำกลั่นและ 95% เอทิลแอลกอฮอล์มาแปลงเป็นค่า Probit โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS จากนั้นจึงนำค่า Probit ของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรท้องถิ่นด้วยแอลกอฮอล์แต่ละชนิดมาเขียนกราฟระหว่างค่า Probit กับค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบในหน่วย ppm เพื่อนำมาหาค่า  $ED_{50}$  ของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ 50% ดังภาพที่ 4.2 และภาพที่ 4.3





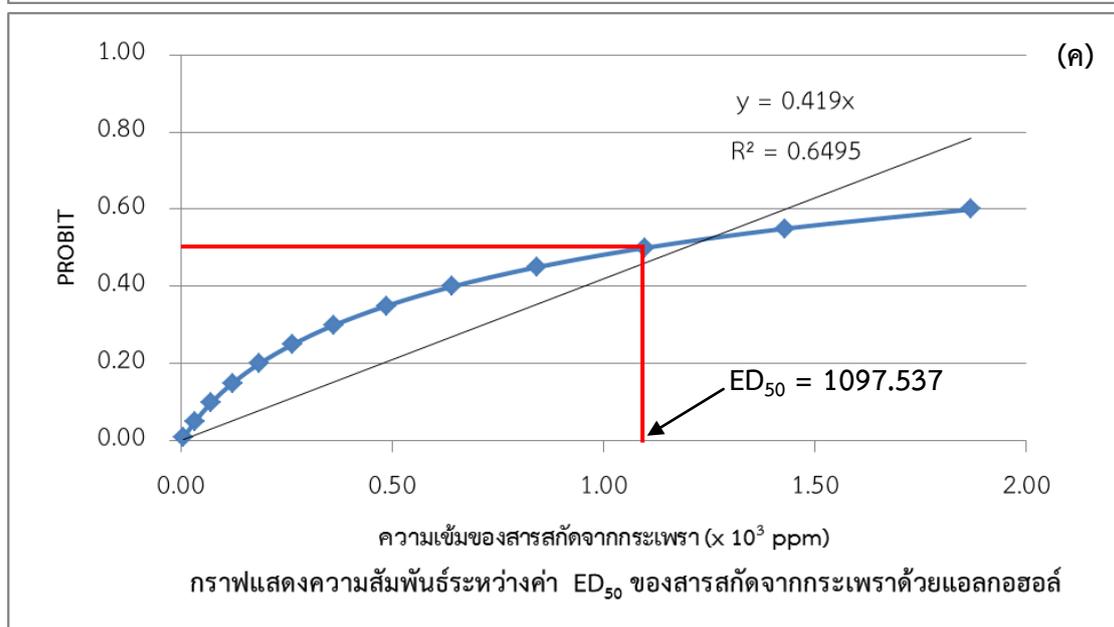
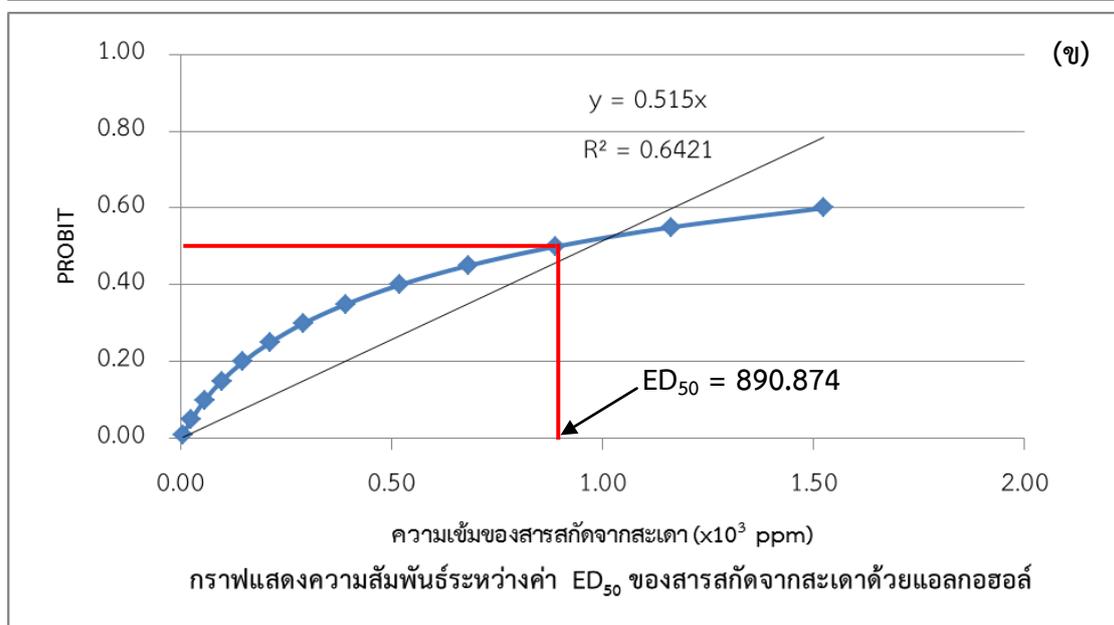
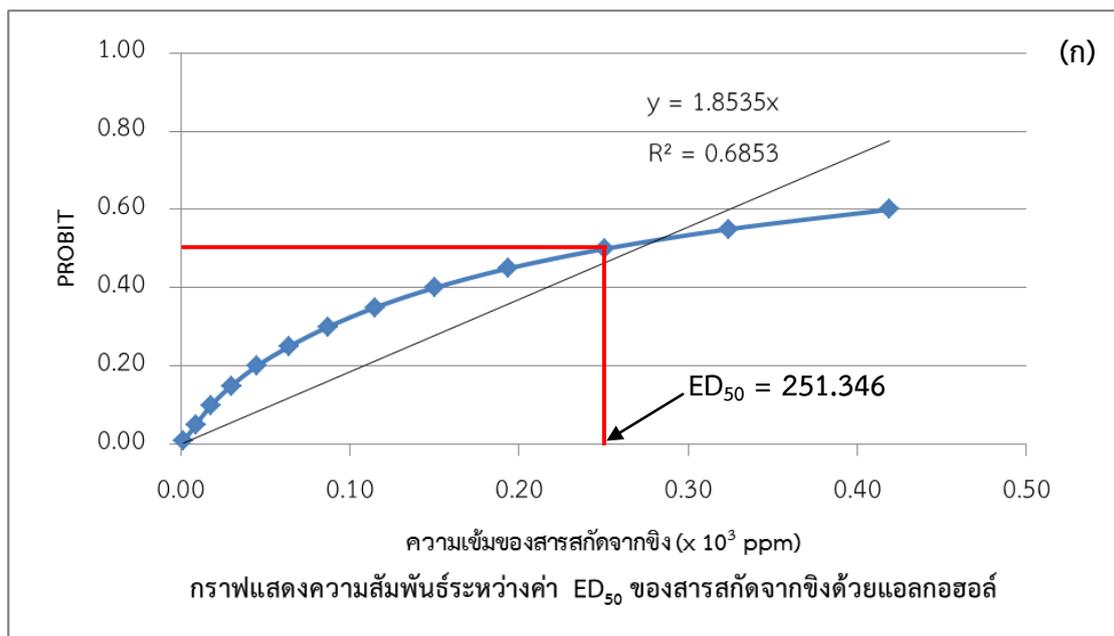
ภาพที่ 4.2 ค่า ED<sub>50</sub> ของสารสกัดยับยั้งจากพืชสมุนไพรท้องถิ่นที่สกัดด้วยน้ำกลั่น

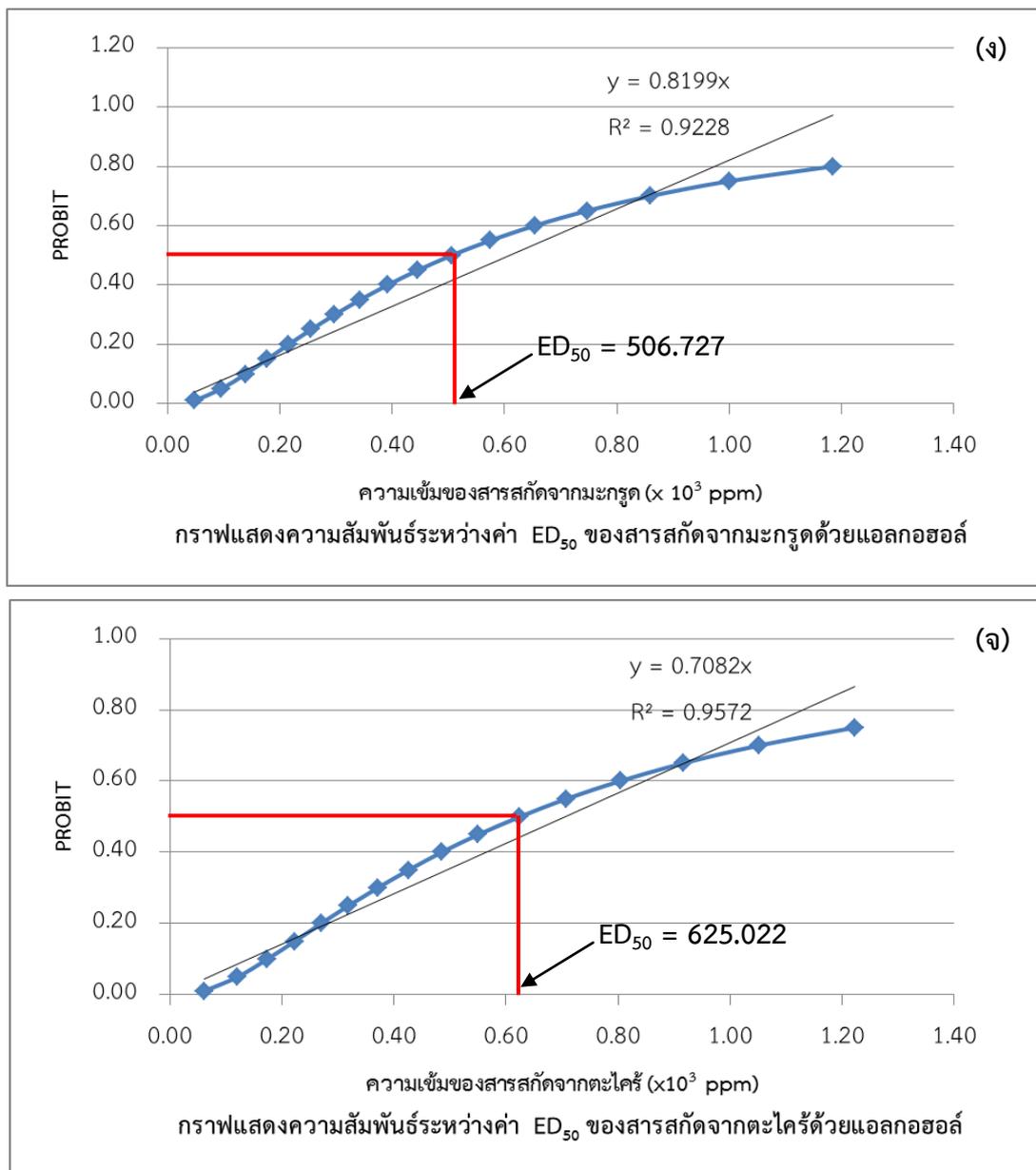
- (ก) สารสกัดยับยั้งจากขิง      (ข) สารสกัดยับยั้งจากสะเดา      (ค) สารสกัดจากกะเพรา  
 (ง) สารสกัดยับยั้งจากมะกรูด      (จ) สารสกัดยับยั้งจากตะไคร้

จากภาพที่ 4.2 เป็นกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า Probit กับความเข้มข้นของสารสกัดยับยั้งจากพืชสมุนไพรทั้ง 5 ชนิดที่สกัดด้วยน้ำกลั่น (Dose response curve) โดยพบว่าอัตราการตายของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรกซ์ คือ *Colletotrichum gloeosporioides* จะลดลงเมื่อใช้สารสกัดยับยั้งจากสมุนไพรที่มีความเข้มข้นสูงขึ้น ซึ่งจากกราฟ Dose response curve ข้างต้นสามารถนำมาคำนวณหาความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ 50% (Effective dose 50 ; ED<sub>50</sub>) โดยการเปรียบเทียบค่า ED<sub>50</sub> ของสารสกัดยับยั้งจากสมุนไพรชนิดต่าง ๆ พบว่า

สารสกัดจากขิง (ภาพที่ 4.2 (ก)) มีค่า  $ED_{50}$  ต่ำกว่าสารสกัดจากสมุนไพรชนิดอื่น ๆ เท่ากับ 623.637 ppm ส่วนสารสกัดจากกะเพราจะมีค่า  $ED_{50}$  สูงที่สุด รองมา ได้แก่ ตะไคร้ สะเดา และมะกรูด จะมีค่า  $ED_{50}$  เท่ากับ 1332.062 ppm , 1306.259 ppm , 1232.107 ppm และ 850.991 ppm ตามลำดับ

สารสกัดสมุนไพรที่มีค่า  $ED_{50}$  ต่ำแสดงว่ามีความปลอดภัยน้อยลง หรืออาจจะกล่าวอีกนัยหนึ่งว่าสารสกัดสมุนไพรที่มีค่า  $ED_{50}$  ต่ำจะมีความเป็นพิษมากขึ้นมีผลไปยับยั้งการเจริญของเส้นใย *Colletotrichum gloeosporioides* ได้มากที่สุด ซึ่งเมื่อพิจารณาจากค่า  $ED_{50}$  พบว่าสารสกัดจากขิงใช้ความเข้มข้นเพียงเล็กน้อยก็มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคแอนแทรคโนสได้ดีกว่าสารสกัดพืชสมุนไพรท้องถิ่นชนิดอื่น ๆ





ภาพที่ 4.3 ค่า ED<sub>50</sub> ของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรท้องถิ่นที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์

- (ก) สารสกัดหยาบจากขิง      (ข) สารสกัดหยาบจากสะเดา      (ค) สารสกัดจากกะเพรา  
(ง) สารสกัดหยาบจากมะกรูด      (จ) สารสกัดหยาบจากตะไคร้

จากภาพที่ 4.3 เป็นกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า Probit กับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรทั้ง 5 ชนิดที่สกัดด้วย 95% เอทิลแอลกอฮอล์ หรือเรียกว่า Dose response curve ซึ่งสามารถนำมาคำนวณหาความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ 50% (Effective dose 50 ; ED<sub>50</sub>) โดยการเปรียบเทียบค่า ED<sub>50</sub> ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรชนิดต่าง ๆ พบว่าสารสกัดจากขิง (ภาพที่ 4.3 (ก)) มีค่า ED<sub>50</sub> ต่ำกว่าสารสกัดจากสมุนไพรชนิดอื่น ๆ เท่ากับ 251.346 ppm ส่วนสารสกัดจากกะเพราจะมีค่า ED<sub>50</sub> สูงที่สุด รองมา ได้แก่ สะเดา ตะไคร้ และ

มะกรูด จะมีค่า  $ED_{50}$  เท่ากับ 1097.537 ppm , 890.874 ppm , 625.022 ppm และ 506.727 ppm ตามลำดับ

สารสกัดสมุนไพรหยาบที่มีค่า  $ED_{50}$  ต่ำแสดงว่ามีความปลอดภัยน้อยลง หรืออาจจะกล่าวอีกนัยหนึ่งว่าสารสกัดสมุนไพรหยาบที่มีค่า  $ED_{50}$  ต่ำจะมีความเป็นพิษมากขึ้นมีผลไปยังการเจริญของเส้นใย *Colletotrichum gloeosporioides* ได้มากที่สุด ซึ่งเมื่อพิจารณาจากค่า  $ED_{50}$  พบว่าสารสกัดจากขิงใช้ความเข้มข้นเพียงเล็กน้อยก็มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคแอนแทรกคโนสได้ดีกว่าสารสกัดพืชสมุนไพรท้องถิ่นชนิดอื่น ๆ

แต่เมื่อมีการพิจารณาตัวทำลายที่นำมาใช้ในการสกัดพืชสมุนไพร พบว่าตัวทำลายที่เหมาะสมในการสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด คือ 95% เอทิลแอลกอฮอล์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* ได้ดีกว่าการใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำลาย ซึ่งสังเกตได้จากสารสกัดจากขิงด้วย 95% เอทิลแอลกอฮอล์ ( $ED_{50} = 251.346$ ) จะมีค่า  $ED_{50}$  ต่ำกว่าสารสกัดที่ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำลาย ( $ED_{50} = 251.346$ ) ซึ่งเป็นตัวบ่งบอกว่าการใช้สารสกัดจากขิงที่สกัดด้วย 95% เอทิลแอลกอฮอล์ ใช้ความเข้มข้นเพียงเล็กน้อยก็มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้ 50%

#### 4.4 ผลการศึกษาการหาค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) ของสารสกัด

นำสารสกัดจากพืชสมุนไพรทั้ง 5 ชนิดมาทำการทดลองเพื่อหาค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) ด้วยวิธี Broth macrodilution test โดยทำการเจือจางความเข้มข้นของสารสกัดให้มีความเข้มข้นจางลงทีละ 2 เท่า (2-fold serial dilution) ดังนี้

ตารางที่ 4.7 การเจือจางความเข้มข้นของสารสกัดพืชสมุนไพรให้มีความเข้มข้นลดลงทีละ 2 เท่า

หลอดที่	1	2	3	4	5	6
ความเข้มข้น (mg/ml)	0	1	0.5	0.25	0.125	0.062
ปริมาณของสารสกัด (ml)	0	5	2.5	1.25	1.125	0.5625
ปริมาณของน้ำกลั่น (ml)	5	0	2.5	3.75	4.875	4.4375
ปริมาณของเชื้อทดสอบ ( $\mu$ l)	50	50	50	50	50	50
สังเกตความใสของสารละลาย						

การทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพรท้องถิ่นด้วย 95% เอทิลแอลกอฮอล์ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ด้วยวิธี Broth dilution test ดังตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 หาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรท้องถิ่นด้วยเอทิลแอลกอฮอล์

พืชสมุนไพร	Minimum Inhibitory Concentration (MIC)				
	(mg/ml)				
ความเข้มข้น	ขิง	สะเดา	กะเพรา	มะกรูด	ตะไคร้
0	ใส	ใส	ใส	ใส	ใส
1.5	ใส	ใส	ใส	ใส	ใส
0.75	ใส	ขุ่นเล็กน้อย	ขุ่นเล็กน้อย	ใส	ใส
0.375	ใส	ขุ่น	ขุ่น มีเส้นใย	ใส	ขุ่นเล็กน้อย
0.1875	ใส มีเส้นใย	ขุ่น	ขุ่น มีเส้นใย	ใส	ขุ่น
0.09375	ขุ่น มีเส้นใย	ขุ่น มีเส้นใย	ขุ่น มีเส้นใย	ขุ่น	ขุ่น
0.04688	ขุ่น มีเส้นใย	ขุ่น มีเส้นใย	ขุ่น มีเส้นใย	ขุ่น มีเส้นใย	ขุ่น มีเส้นใย

จากตารางที่ 4.8 ศึกษาการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ด้วยวิธี Broth dilution test พบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของมะกรูดมีค่าต่ำที่สุด รองลงมาได้แก่ ขิง ตะไคร้ ซึ่งมีค่า MIC เท่ากับ 0.1875 , 0.375 และ 0.75 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ส่วนสารสกัดหยาบจากสะเดา และกะเพรามีค่า MIC เท่ากัน ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ โดยการสังเกตจากการที่สารละลายแขวนลอยของเซลล์มีความใส ไม่พบการเจริญเติบโตของเส้นใยเกิดขึ้น

#### 4.5 ผลการศึกษาการทดสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์

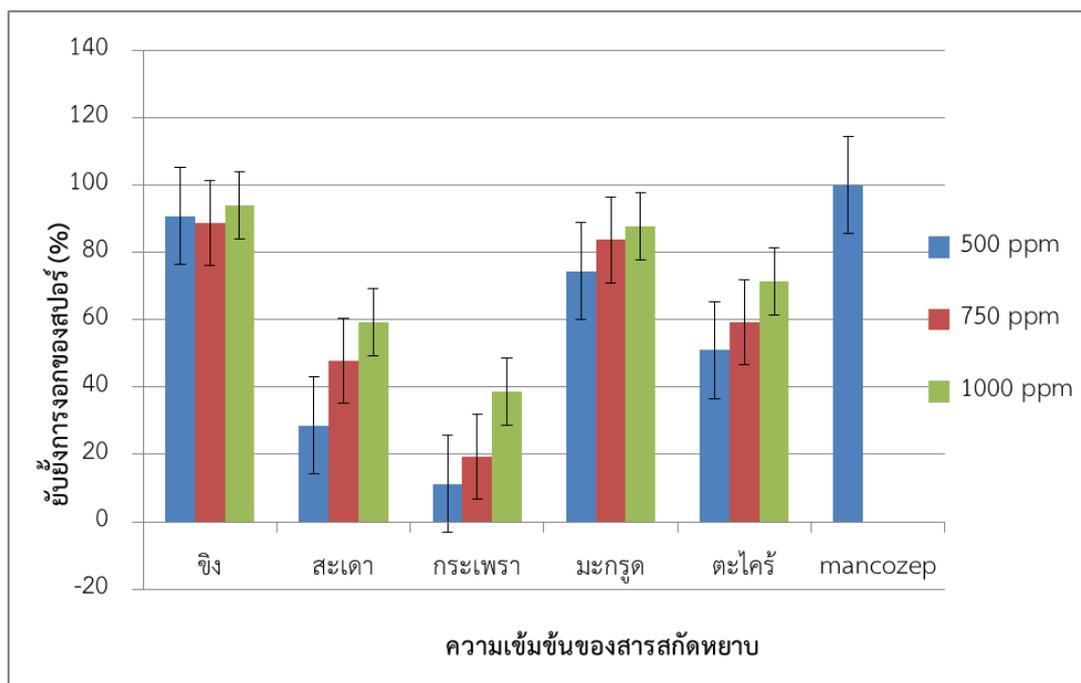
จากการศึกษาผลการยับยั้งการงอกของสปอร์จากสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรทั้ง 5 ชนิดที่ใช้ตัวทำละลายแตกต่างกัน โดยวิธี spore germination test เปรียบเทียบกับชุดควบคุมบวก (Positive control) คือ สารเคมีแมนโคแซบ (80wp) ที่ความเข้มข้น 1,600 ppm และชุดควบคุมลบ (Negative control) คือ น้ำกลั่น แล้วนำไปสังเกตลักษณะการเกิด germ tube การแตกของสปอร์รา ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ให้ผลตารางที่ 4.9 – 4.10 และภาพที่ 4.4 – 4.7

ตารางที่ 4.9 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่ถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาดจากสมุนไพรชนิดต่าง ๆ ในตัวทำละลายน้ำกลั่น

สารสกัด	ความเข้มข้น (ppm)	จำนวนสปอร์	% ยับยั้งการงอก	ลักษณะของ germ tube
Control		98.00±3.60 <sup>m</sup>	0.00±0.00	เจริญปกติ
แมนโคแซบ		0.00±0.00 <sup>a</sup>	100.00±0.00 <sup>a</sup>	ไม่พบการเกิด germ tube
ขิง	500	9.00±1.00 <sup>c</sup>	90.79±1.26 <sup>c</sup>	germ tube มีขนาดใหญ่ขึ้นและสั้น
	750	11.00±1.00 <sup>cd</sup>	88.78±0.79 <sup>cd</sup>	germ tube เป็นท่อนสั้น ๆ
	1000	6.00±1.00 <sup>b</sup>	93.90±0.80 <sup>b</sup>	ไม่พบการงอกของ germ tube
สะเดา	500	70.00±1.73 <sup>j</sup>	28.55±1.06 <sup>l</sup>	มีเส้นใยและการแตกของสปอร์
	750	51.00±1.00 <sup>h</sup>	47.90±2.67 <sup>j</sup>	germ tube โป่งพอง สปอร์ใหญ่
	1000	40.00±1.00 <sup>f</sup>	59.17±0.55 <sup>h</sup>	germ tube มีโป่งพองขึ้น และสั้นลง
กะเพรา	500	87.00±2.64 <sup>l</sup>	11.20±1.77 <sup>n</sup>	germ tube กระจุกตัว มีการแตกแขนง สปอร์ขนาดใหญ่
	750	79.00±1.73 <sup>k</sup>	19.30±3.73 <sup>m</sup>	germ tube แตกน้อยลง กระจุกตัวเป็นเส้นใย สปอร์ขนาดใหญ่
	1000	60.00±2.00 <sup>i</sup>	38.71±3.47 <sup>k</sup>	germ tube แตกแขนง กระจุกตัวเป็นเส้นใย
มะกรูด	500	25.00±1.00 <sup>f</sup>	74.49±0.26 <sup>f</sup>	เจริญช้ากว่าเล็กน้อยบริเวณปลาย germ tube โป่งพอง
	750	16.00±2.00 <sup>e</sup>	83.69±1.67 <sup>e</sup>	เส้นใยขนาดใหญ่ขึ้น โป่งพองเพิ่มมากขึ้น
	1000	12.00±1.00 <sup>cd</sup>	87.72±1.45 <sup>cd</sup>	germ tube งอกเล็กน้อย
ตะไคร้	500	48.00±1.00 <sup>g</sup>	51.00±0.83 <sup>i</sup>	germ tube ไม่แตกแขนง
	750	40.00±1.00 <sup>f</sup>	59.15±1.54 <sup>h</sup>	germ tube ไม่แตกแขนง
	1000	28.00±1.73 <sup>g</sup>	71.41±1.87 <sup>g</sup>	germ tube มีขนาดเล็ก บางลง

หมายเหตุ : แสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

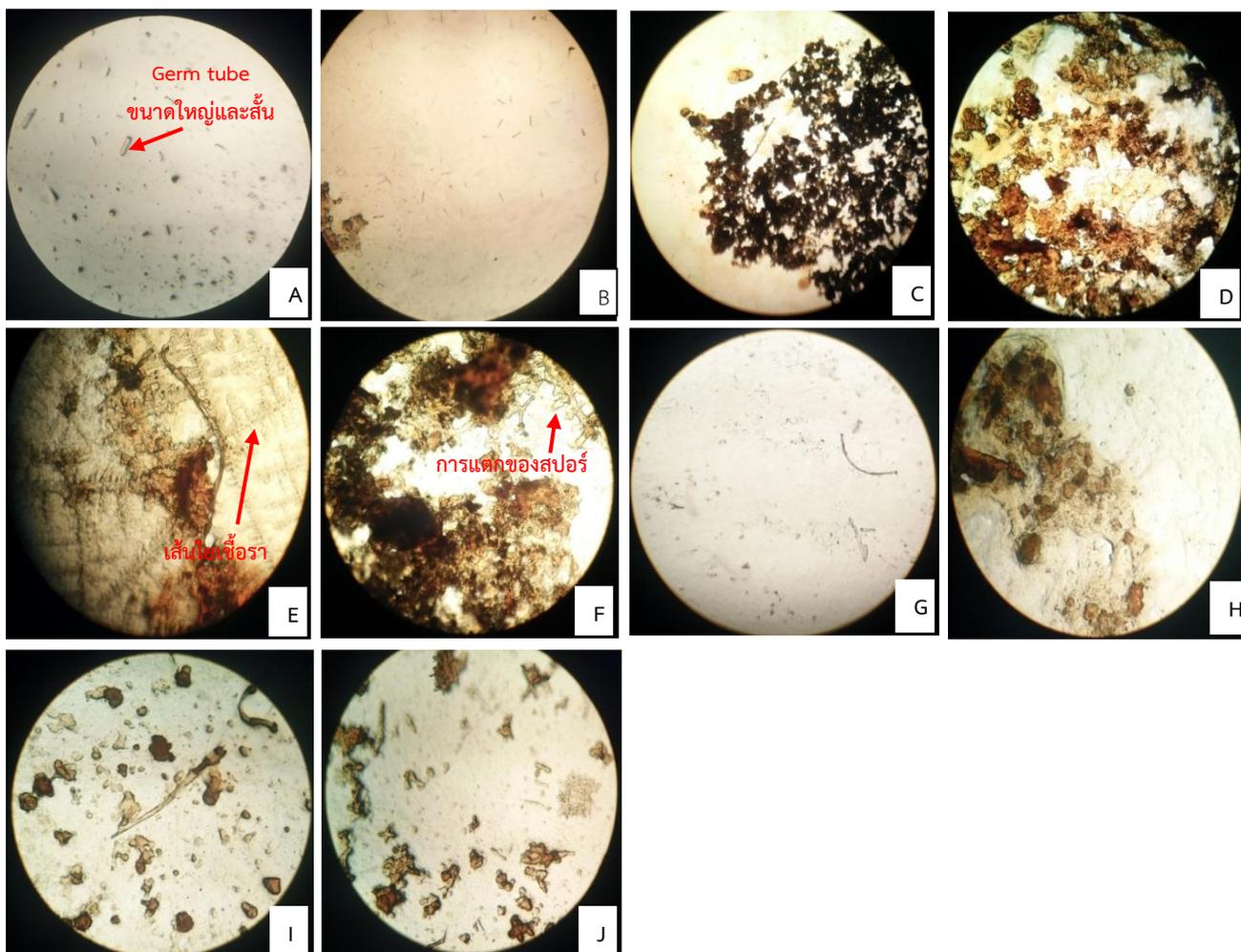
<sup>a-n</sup> คือ ค่าที่แตกต่างภายในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05)



ภาพที่ 4.4 ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบที่ใช้ น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์ *Colletotrichum gloeosporioides*

จากตารางที่ 4.9 เมื่อนำมาเขียนกราฟเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์ที่ความเข้มข้นของสารชนิดต่าง ๆ ดังภาพที่ 4.4 พบว่าสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด ที่ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ราได้ทุกความเข้มข้น โดยสารสกัดจากชิงสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ราได้ดีที่สุด 88.78 - 93.90% ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งใกล้เคียงกับสารเคมี mancozep ที่ใช้ในการกำจัดเชื้อราในทางการค้า รองลงมา ได้แก่ มะกรูด ตะไคร้ และสะเดา สามารถยับยั้งได้ 74.49 - 87.72% , 51 - 71.41% และ 28.55 - 59.17% ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากกะเพราสามารถยับยั้งการงอกได้ต่ำที่สุด 11.20 - 38.71%

และเมื่อนำสารแขวนลอยที่มีสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยายของภาพ 100 เท่า (ดังภาพที่ 4.5) เพื่อสังเกตลักษณะของ germ tube ของเชื้อราพบว่า สารสกัดจากชิงที่ความเข้มข้น 1000 ppm (ภาพที่ 4.5 B) ไม่มีการงอกของสปอร์ และลักษณะของ germ tube มีขนาดเล็ก และสั้น ทำให้ไม่สามารถสร้างเส้นใยเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตและสืบพันธุ์ได้ แต่ในความเข้มข้นของสารสกัดชิงที่ 500 ppm (ภาพที่ 4.5 A) มีผลทำให้ germ tube มีขนาดใหญ่ขึ้น และสั้น สำหรับสารสกัดหยาบจากกะเพรา (ภาพที่ 4.5 E - F) ลักษณะของเส้นใยยังมีการกระจุกตัว และสร้างเส้นใยได้ germ tube มีการแตกแขนง ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาการยับยั้งการเกิดสปอร์ที่สารสกัดหยาบจากกะเพรามีประสิทธิภาพในการยับยั้งต่ำที่สุด



ภาพที่ 4.5 ลักษณะสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (กำลังขยายของภาพ 100 เท่า) ที่ถูกยับยั้งด้วยสารสกัดหยาบจากสมุนไพรชนิดต่าง ๆ ที่ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย

A = สารสกัดจากขิงที่ความเข้มข้น 500 ppm

B = สารสกัดจากขิงที่ความเข้มข้น 1000 ppm

C = สารสกัดจากสะเดาที่ความเข้มข้น 500 ppm

D = สารสกัดจากสะเดาที่ความเข้มข้น 750 ppm

E = สารสกัดจากกะเพราที่ความเข้มข้น 500 ppm

F = สารสกัดจากกะเพราที่ความเข้มข้น 750 ppm

G = สารสกัดจากมะกรูดที่ความเข้มข้น 500 ppm

H = สารสกัดจากมะกรูดที่ความเข้มข้น 750 ppm

I = สารสกัดจากตะไคร้ที่ความเข้มข้น 500 ppm

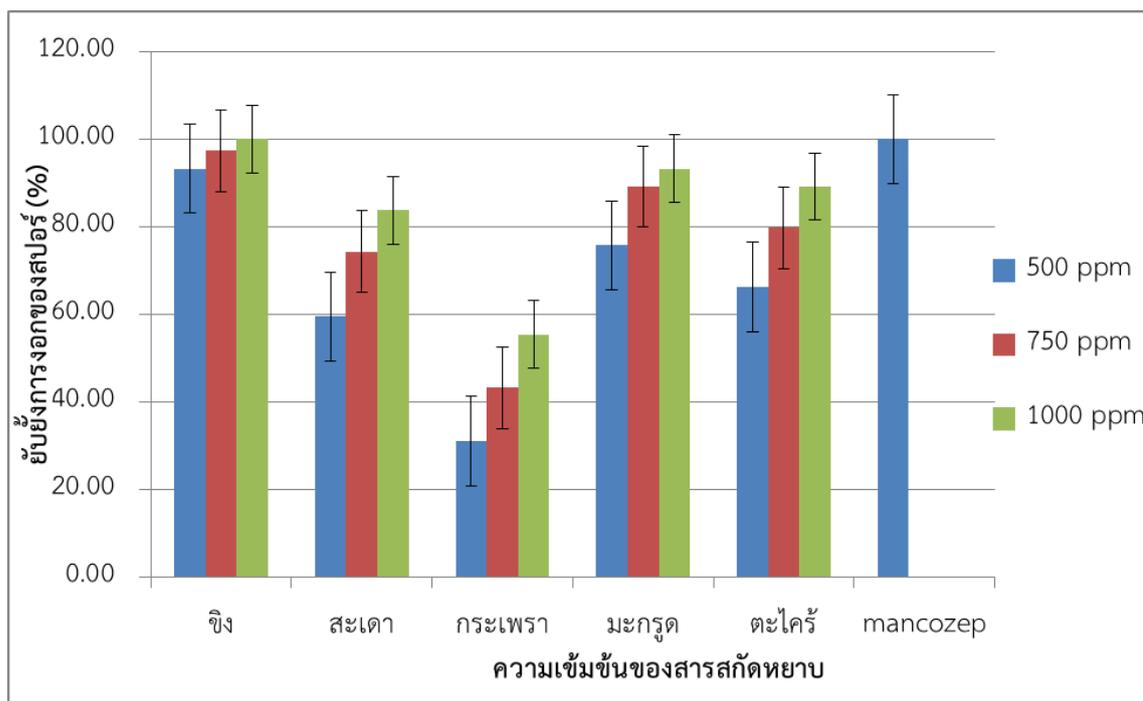
J = สารสกัดจากตะไคร้ที่ความเข้มข้น 1000 ppm

ตารางที่ 4.10 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่ถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากสมุนไพรชนิดต่าง ๆ ใน 95% เอทิลแอลกอฮอล์

สารสกัด	ความเข้มข้น (ppm)	จำนวนสปอร์	% ยับยั้งการงอก	ลักษณะของ germ tube
control		74.00±1.00 <sup>m</sup>	0.00±0.00	germ tube เจริญปกติ
แมนโคแซบ		0.00±0.00 <sup>a</sup>	100.00±0.00 <sup>a</sup>	ไม่พบการเกิด germ tube
ชิง	500	5.00±0.00 <sup>c</sup>	93.24±0.09 <sup>b</sup>	germ tube มีขนาดใหญ่ขึ้น สั้น และเกิดการโป่งพอง
	750	2.00±0.00 <sup>b</sup>	97.30±0.04 <sup>a</sup>	germ tube ขนาดเล็ก พบเล็กน้อย
	1000	0.00±0.00 <sup>a</sup>	100.00±0.00 <sup>a</sup>	ไม่พบสปอร์ และการงอกของ germ tube
สะเดา	500	30.00±1.00 <sup>i</sup>	59.46±1.17 <sup>h</sup>	เส้นใยเจริญแบบกระจุกตัว
	750	19.00±1.00 <sup>g</sup>	74.32±1.57 <sup>f</sup>	เส้นใยมีขนาดใหญ่และโป่งพอง ไม่มีการแตกแขนงของ germ tube
	1000	12.00±1.00 <sup>e</sup>	83.77±1.46 <sup>d</sup>	เส้นใย มีลักษณะเป็นท่อนสั้น ๆ
กะเพรา	500	51.00±1.00 <sup>l</sup>	31.06±2.28 <sup>k</sup>	สปอร์มีขนาดใหญ่ขึ้น germ tube แตกแขนงเป็นเส้นยาว ๆ
	750	42.00±2.00 <sup>k</sup>	43.23±3.18 <sup>j</sup>	germ tube แตกเล็กน้อย สปอร์มีขนาดใหญ่
	1000	33.00±1.00 <sup>j</sup>	55.41±0.75 <sup>i</sup>	germ tube เป็นท่อนสั้น ๆ สปอร์โป่งพองเล็กน้อย
มะกรูด	500	18.00±2.00 <sup>s</sup>	75.70±2.38 <sup>f</sup>	germ tube บาง สปอร์เกิดการโป่งพอง เป็นท่อนสั้น ๆ
	750	8.00±1.00 <sup>d</sup>	89.19±1.28 <sup>c</sup>	germ tube เป็นท่อนสั้น ๆ
	1000	5.00±1.00 <sup>c</sup>	93.23±1.41 <sup>b</sup>	ไม่เกิด germ tube
ตะไคร้	500	25.00±1.73 <sup>h</sup>	66.19±2.77 <sup>s</sup>	สปอร์มีขนาดใหญ่ germ tube แตกแขนง เส้นใยพันกัน
	750	15.00±1.00 <sup>f</sup>	79.73±1.23 <sup>e</sup>	germ tube เป็นท่อนสั้น ๆ ไม่แตกแขนง
	1000	8.00±1.00 <sup>d</sup>	89.18±1.44 <sup>c</sup>	germ tube ไม่มีการงอก

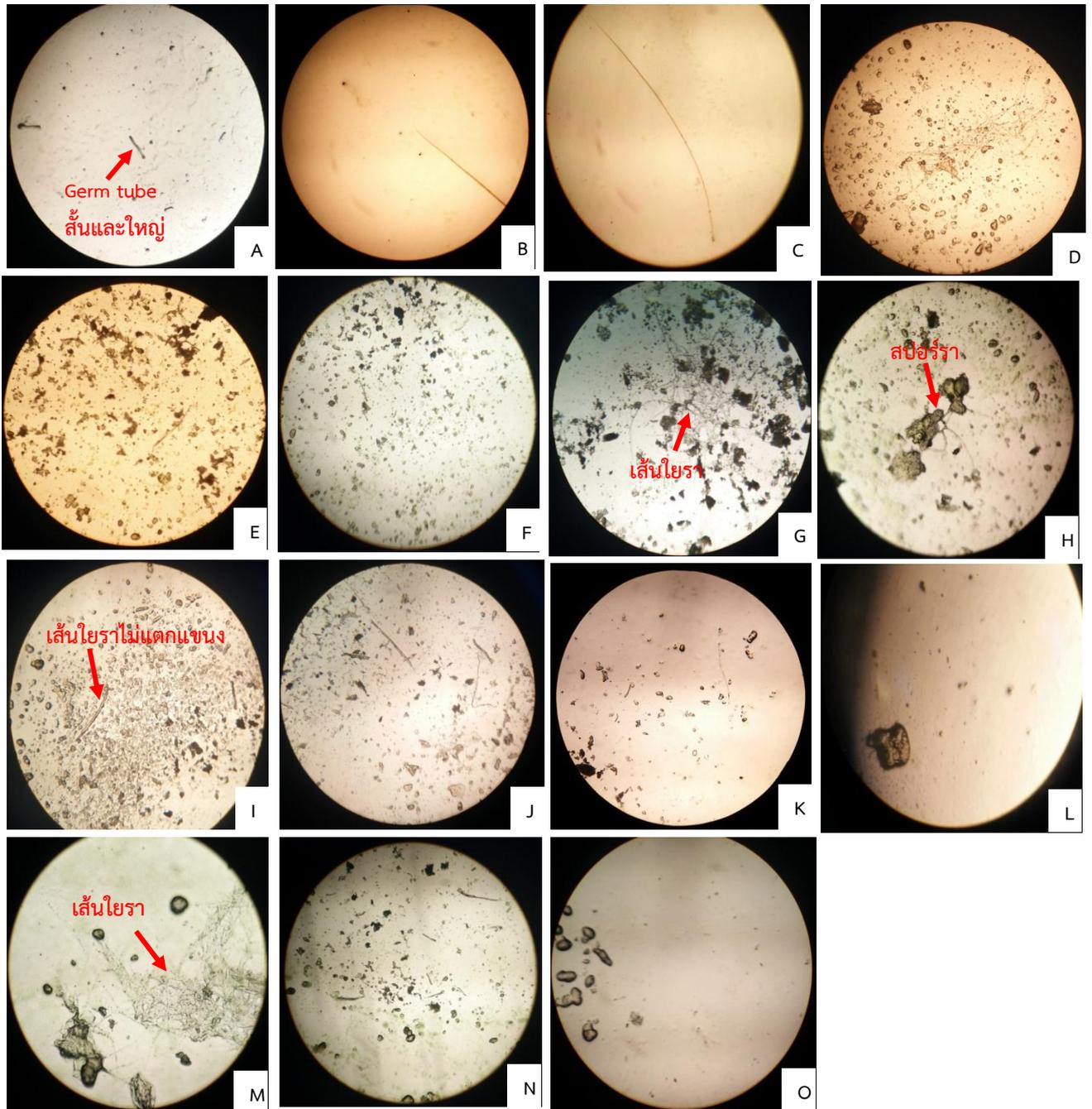
หมายเหตุ : แสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>a-m</sup> คือ ค่าที่แตกต่างภายในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05)



ภาพที่ 4.6 ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบที่ใช้แอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลายต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์ *Colletotrichum gloeosporioides*

จากตารางที่ 4.10 เป็นการศึกษาศักยภาพของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรที่ใช้ 95% เอทิลแอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลายในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา แล้วนำมาเขียนกราฟเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์ที่ความเข้มข้นของสารชนิดต่าง ๆ ดังภาพที่ 4.6 พบว่าสารสกัดหยาบจากขิงสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ดีที่สุดที่ระดับความเข้มข้น 750 และ 1000 ppm ซึ่งจะมีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับ mancozep ที่สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ 100% เช่นกัน รองลงมา ได้แก่ มะกรูด ตะไคร้ และสะเดา สามารถยับยั้งได้ 75.70 – 93.23% , 66.19 – 89.18% และ 59.46 – 83.77% ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากกะเพรายับยั้งการงอกได้ต่ำที่สุด 31.06 – 55.41% การใช้ตัวทำละลายในการสกัดเป็น 95% เอทิลแอลกอฮอล์สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ของเราได้ดีกว่าการใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย ดังนั้นตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรท้องถิ่น คือ 95% เอทิลแอลกอฮอล์



ภาพที่ 4.7 ลักษณะสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่ ถูกยับยั้งด้วยสารสกัดหยาดจากสมุนไพรชนิดต่าง ๆ ที่ใช้เอทานอล 95 % เป็นตัวทำละลาย

A = สารสกัดจากขิงที่ความเข้มข้น 500 ppm

B = สารสกัดจากขิงที่ความเข้มข้น 750 ppm

C = สารสกัดจากขิงที่ความเข้มข้น 1000 ppm

D = สารสกัดจากสะเดาที่ความเข้มข้น 500 ppm

E = สารสกัดจากสะเดาที่ความเข้มข้น 750 ppm

F = สารสกัดจากสะเดาที่ความเข้มข้น 1000 ppm

G = สารสกัดจากกะเพราที่ความเข้มข้น 500 ppm

H = สารสกัดจากกะเพราที่ความเข้มข้น 750 ppm

I = สารสกัดจากกะเพราที่ความเข้มข้น 1000 ppm      J = สารสกัดจากมะกรูดที่ความเข้มข้น 500 ppm  
 K = สารสกัดจากมะกรูดที่ความเข้มข้น 750 ppm      L = สารสกัดจากมะกรูดที่ความเข้มข้น 1000 ppm  
 M = สารสกัดจากตะไคร้ที่ความเข้มข้น 500 ppm      N = สารสกัดจากตะไคร้ที่ความเข้มข้น 750 ppm  
 O = สารสกัดจากตะไคร้ที่ความเข้มข้น 1000 ppm

จากนั้นนำสารแขวนลอยที่มีสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยายของภาพ 100 เท่า (ดังภาพที่ 4.7) เพื่อสังเกตลักษณะของ germ tube ของเชื้อราพบว่า สารสกัดจากขิงที่ความเข้มข้น 1000 ppm (ภาพที่ 4.7 C) ไม่มีการงอกของสปอร์ และ germ tube แต่ในความเข้มข้นของสารสกัดขิงที่ 500 ppm (ภาพที่ 4.7 A) ทำให้ germ tube มีขนาดใหญ่ขึ้นและสั้น ที่ความเข้มข้น 500 ppm ของสารสกัดหยาบจากสะเดา (ภาพที่ 4.7 D) สารสกัดหยาบจากกะเพรา (ภาพที่ 4.7 G) และสารสกัดหยาบจากตะไคร้ (ภาพที่ 4.7 M) พบว่าลักษณะของเส้นใยรายังมีการ กระจุกตัวและสร้างเส้นใยเป็นเส้นยาว ๆ ได้ germ tube มีการแตกแขนง เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้น ของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรจะทำให้การงอกสปอร์ถูกยับยั้ง germ tube แตกแขนงน้อยลง และ ขาดเป็นท่อน ๆ สั้น และมีการโป่งพองเป็นกระเปาะโดยจะพบได้ที่ความเข้มข้นของสารสกัดตั้งแต่ 750 ppm โดยสารสกัดหยาบจากกะเพราที่ความเข้มข้น 1000 ppm สปอร์มีการแตกออก และมีขนาดเล็ก ลง ไม่มีการแตกแขนงของเส้นใย germ tube หดสั้นลงเป็นท่อน ๆ

## บทที่ 5

### สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาสารสกัดยับยั้งการยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. ในมะม่วงน้ำดอกไม้ โดยตัวอย่างพืชสมุนไพรที่ใช้มีทั้งหมด 5 ชนิด ได้แก่ ขิง สะเดา กะเพรา มะกรูด และตะไคร้ ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิดมี 4 ระดับ คือ 0 (control) , 500 , 750 และ 1000 ppm และตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดยับยั้งพืชสมุนไพร 2 ชนิด ได้แก่ แอลกอฮอล์ และน้ำกลั่น โดยทำการศึกษาลักษณะทางกายภาพของพืชสมุนไพรและสารสกัดยับยั้ง ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา ฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราทั้ง 2 วิธี ได้แก่ วิธี paper disc diffusion technique และ poisoned food technique (PFT) การหาค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) ด้วยวิธี Broth dilution test และการทดสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา โดยวิธี spore germination test

#### 5.1 การศึกษาลักษณะทางกายภาพของสารสกัดยับยั้งจากพืชสมุนไพร

จากการศึกษาลักษณะทางกายภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด พบว่าพืชสมุนไพรที่ได้จากใบมะกรูด ใบกะเพรา และใบสะเดาจะมีลักษณะเป็นผงค่อนข้างละเอียด มีสีเข้ม ส่วนขิงและตะไคร้เมื่อนำมาอบและบดจนละเอียดจะยังคงมีลักษณะเป็นเส้น เนื้อสัมผัสไม่ละเอียด มีสีน้ำตาลอ่อน ขึ้นอยู่กับลักษณะของพืชสมุนไพรแต่ละชนิด สำหรับสารสกัดจากพืชสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด เมื่อนำไปแช่ในตัวทำละลายแต่ละชนิดนั้นสารสกัดที่ได้จะมีลักษณะเป็นของเหลวใส สีเหลืองอ่อนจนถึงสีดำเข้มขึ้นอยู่กับสีของพืชที่นำมาสกัด ส่วนค่าน้ำหนักแห้งของขิงมีค่าสูงสุด ส่วนใบสะเดามีน้ำหนักแห้งน้อยที่สุดเนื่องจากลักษณะของใบมีน้ำหนักน้อย ส่วนเปอร์เซ็นต์ความชื้นของใบกะเพราจะมีค่ามากที่สุด 39.45 % รองลงมา ได้แก่ ขิง มีเปอร์เซ็นต์ความชื้น 29.03 ส่วนตะไคร้จะมีเปอร์เซ็นต์ความชื้นน้อยที่สุด เท่ากับ 23.55 %

#### 5.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *Colletotrichum Gloeosporioides*

ลักษณะของเส้นใยของเชื้อรา *Colletotrichum Gloeosporioides* ที่เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสจะมีลักษณะเป็นเส้นใยยาว ๆ เป็นจำนวนมาก พันกันไปมา มีการแตกแขนงของเส้นใย และมีปล้องเห็นได้อย่างชัดเจน มี germ tube แตกออกมาชูอับสปอร์ ซึ่งมีการสร้างอับสปอร์ที่ภายในบรรจุ conidia ที่มีลักษณะเป็นรูปทรงกระบอกตรง หัวมนท้ายมนทั้งสองด้าน conidia จะอยู่เดี่ยว ๆ ใสไม่มีสี ไม่พบ setae แต่พบ sclerotia เจริญปะปนอยู่ (ฮารทิพย์ และคณะ, 2548) จากลักษณะทางสัณฐานดังกล่าวของเชื้อราจะมีลักษณะสอดคล้องกับ วราภรณ์ สุทธิสา และคณะ (2557) พบว่าลักษณะโคนิเดียของเชื้อ *Colletotrichum* sp. เป็นเซลล์เดี่ยว รูปไข่ถึงทรงกระบอก หัวท้ายมน มีขนาดระหว่าง 2.46 – 4.92 x 12.3 – 19.68  $\mu$

### 5.3 การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา

#### 5.3.1 ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา โดยวิธี paper disc diffusion technique

จากการศึกษาประสิทธิภาพของการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราโดยเปรียบเทียบขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของ clear zone ที่ถูกยับยั้งด้วยสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในตัวทำละลายแต่ละชนิด พบว่าสารสกัดหยาบที่ใช้ตัวทำละลายเป็น 95% เอทิลแอลกอฮอล์จะมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตได้ดีกว่าการใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายซึ่งสังเกตได้จากค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางของ clear zone มีค่ามากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สารสกัดหยาบจากขิงด้วย 95% เอทิลแอลกอฮอล์ที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ดีที่สุดมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลาง  $4.23 \pm 0.25$  มิลลิเมตร รองลงมา คือ สารสกัดจากขิงที่สกัดด้วยน้ำกลั่นที่ความเข้มข้นเดียวกันจะสามารถทำให้เกิด clear zone ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง  $2.83 \pm 0.06$  มิลลิเมตร ส่วนสารสกัดหยาบที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยน้อยที่สุด ได้แก่ สารสกัดหยาบที่ใช้ น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายที่สกัดจากกะเพรา ตะไคร้ และสะเดา ซึ่งมีค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางของ clear zone ระหว่าง  $0.80 \pm 0.30$  -  $0.97 \pm 0.12$  มิลลิเมตร ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

แต่เมื่อพิจารณาระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรกคโนสได้ ได้แก่ ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ของสารสกัดหยาบจากตะไคร้ และกะเพราที่ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายไม่พบการเกิด clear zone ตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการสกัดสารจากพืชสมุนไพร ได้แก่ 95% เอทิลแอลกอฮอล์ ซึ่งมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรามากที่สุดที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm ได้แก่ ขิง รองลงมา ได้แก่ มะกรูด สะเดา และตะไคร้ วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ clear zone เท่ากับ  $4.23 \pm 0.25$  ,  $3.37 \pm 0.21$  ,  $2.93 \pm 0.06$  และ  $1.73 \pm 0.21$  มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับงานวิจัยของศศิธร วุฒิวิณชัย และสุพจน์ ศุภนันธ (2548) ทำการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อโรคโดยวิธี paper disc agar diffusion จากสารสกัดจากเปลือกผลทับทิมและผลสมอพิเภก โดยก่อให้เกิดบริเวณยับยั้งได้ดีในทุกะดับความเข้มข้นตั้งแต่ 1,000 ppm ขึ้นไป ส่วนกะเพราจะยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราน้อยที่สุด เท่ากับ  $1.47 \pm 0.25$  มิลลิเมตร ส่วนการสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ไม่ดีเท่ากับการใช้ตัวทำละลายเป็นแอลกอฮอล์ และเมื่อระดับความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้นจะมีผลทำให้การยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยได้ดีขึ้น แต่เมื่อเทียบกับ mencozeb ที่ความเข้มข้น 1,600 ppm พบว่าสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรมีผลการยับยั้งน้อยกว่าทุกความเข้มข้น

### 5.3.2 ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา โดยวิธี poisoned food technique (PFT)

จากการศึกษาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา โดยวิธี Poisoned Food Technique (PFT) พบว่าสารสกัดจากขิงด้วยน้ำกลั่นที่ระดับความเข้มข้น 750 ppm และ 1000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยราได้สูงสุด เท่ากับ 53.34 % และ 57.47 % ตามลำดับ เช่นเดียวกับ สารสกัดจากมะกรูดที่ความเข้มข้น 1000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราได้ 53.36 % โดยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และมีอัตราการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราใกล้เคียงกับสารเคมีที่ใช้ในเชิงการค้า คือ Mencozeb ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 70.16% ส่วนสารสกัดที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโต น้อยที่สุด ได้แก่ สารสกัดจากกะเพราที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm มีค่าเท่ากับ 13.82% สารสกัดหยาบจากสมุนไพรที่ใช้ตัวทำละลายเป็นแอลกอฮอล์ที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้สูงที่สุด ได้แก่ สารสกัดจากขิง และมะกรูดที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% มีค่าเท่ากับ 76.08 % และ 75.66% ตามลำดับ และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราใกล้เคียงกับ Mencozeb ที่ยับยั้งเชื้อได้ 81.75% ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของวารารณ สุทธิสา และคณะ (2557) ที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากข่า ตะไคร้ และกระเทียมสามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรกโนสของมะม่วงได้ แต่ถ้าพิจารณาระดับความเข้มข้นที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราพบว่ายิ่งระดับความเข้มข้นของสารสกัดมากเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญก็สูงตามไปด้วย

เมื่อพิจารณาชนิดตัวทำละลายที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยราที่นำมาสกัดพืชสมุนไพร 2 ชนิด ได้แก่ น้ำกลั่น และ 95% เอทิลแอลกอฮอล์ พบว่าการใช้ 95% เอทิลแอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลายสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยได้ดีกว่าน้ำกลั่นซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของวัชร ชัยชมพู และกัลทิมา พิชัย (2553) ที่อธิบายว่าสารสกัดใบมะรุ้ม และรากเจตมูลเพลิงแดงที่สกัดด้วยน้ำกลั่น และเอทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 0.05 และสามารถยับยั้งเชื้อราได้ทุกความเข้มข้น กัลทิมา พิชัย (2555) พบว่าสารสกัดจากข่าที่ความเข้มข้น 1,000 ppm ที่สกัดด้วยเอทานอลมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่ดีที่สุด 99.39% และน้ำกลั่นสามารถยับยั้งได้ 61.02% ที่ความเข้มข้นเดียวกัน

จากนั้นนำค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา มาหา  $ED_{50}$  (Effective dose 50 ;  $ED_{50}$ ) ของสารสกัดเพื่อหาความเข้มข้นของสารสกัดที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ 50% พบว่าสารสกัดจากขิงที่สกัดด้วยน้ำกลั่น และ 95% เอทิลแอลกอฮอล์ มีค่า  $ED_{50}$  ต่ำกว่าสารสกัดจากสมุนไพรชนิดอื่น ๆ เท่ากับ 623.637 และ 251.346 ppm ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากกะเพราที่สกัดด้วยน้ำกลั่น และ 95% เอทิลแอลกอฮอล์ มีค่า  $ED_{50}$  สูงที่สุด เท่ากับ 1332.062 และ 1097.537 ppm ตามลำดับ สารสกัดสมุนไพรหยาบที่มีค่า  $ED_{50}$  ต่ำ แสดงว่ามีความปลอดภัยน้อย หรืออาจจะกล่าวอีกนัยหนึ่ง

ว่าสารสกัดสมุนไพรหยาบที่มีค่า  $ED_{50}$  ต่ำจะมีความเป็นพิษมากจึงมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใย *Colletotrichum gloeosporioides* ได้มากที่สุด ซึ่งเมื่อพิจารณาจากค่า  $ED_{50}$  พบว่าสารสกัดจากขิงที่ใช้ 95% เอทิลแอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลายใช้ความเข้มข้นเพียงเล็กน้อยก็มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคแอนแทรคโนสได้ 50% ซึ่งมีประสิทธิภาพดีกว่าสารสกัดพืชสมุนไพรท้องถิ่นชนิดอื่น ๆ เช่นเดียวกับงานวิจัยของวิไลลักษณ์ บุญหลาย และคณะ (2557) สารสกัดหยาบจากโพลที่ใช้เอทานอล 95% เป็นตัวทำละลายที่ความเข้มข้น 3,000 ppm ขึ้นไปมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้สมบูรณ์ 100%

#### 5.4 การศึกษาการหาค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) ของสารสกัด

การศึกษาเพื่อหาค่าความเข้มข้นระดับต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ด้วยวิธี Broth dilution test พบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดจากมะกรูดมีค่าต่ำที่สุด รองลงมา ได้แก่ ขิง ตะไคร้ ซึ่งมีค่า MIC เท่ากับ 0.1875 , 0.375 และ 0.75 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบจากสะเดา และกะเพรา มีค่า MIC เท่ากับ 1.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

#### 5.6 การศึกษาการทดสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรท้องถิ่นทั้ง 5 ชนิดต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์ที่ระดับความเข้มข้นของต่าง ๆ พบว่าสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ดีทุกความเข้มข้น โดยสารสกัดจากขิงที่สกัดด้วย 95% เอทิลแอลกอฮอล์ สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ดีที่สุดซึ่งจะมีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับ mancozep ที่สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ดี 100% เมื่อเทียบกับการใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย สารสกัดจากขิงสามารถยับยั้งการงอกได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 1000 ppm มีค่าเท่ากับ 93.90% ส่วนสารสกัดจากกะเพราด้วยน้ำกลั่น และ 95% เอทิลแอลกอฮอล์ สามารถยับยั้งการงอกได้ดีที่สุดที่ 11.20 – 38.71% และ 31.06 – 55.41% ตามลำดับ

สารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรที่สกัดด้วย 95% เอทิลแอลกอฮอล์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์ของเราได้ดีกว่าการใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย ดังนั้นตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรท้องถิ่น คือ 95% เอทิลแอลกอฮอล์สอดคล้องกับงานวิจัยของวิไลลักษณ์ บุญหลาย และคณะ (2557) ศึกษาวิธีการสกัดและตัวทำละลายในการสกัดพืชวงศ์ขิงเพื่อควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* พบว่าการใช้ เอทานอล 95% เป็นตัวทำละลายในการสกัดพืชวงศ์ขิงสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ดีที่สุดที่  $85.56 \pm 1.49\%$  ที่ความเข้มข้น 10,000 ppm

จากการศึกษาการยับยั้งการงอกของสปอร์ได้นำเชื้อราไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยายของภาพ 100 เท่า เพื่อสังเกตลักษณะของ germ tube ของเชื้อรา พบว่าสารสกัดจากขิงที่ใช้น้ำกลั่น

และ 95% เอทิลแอลกอฮอล์ เป็นตัวทำลายที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm ไม่มีการงอกของสปอร์ และลักษณะของ germ tube มีขนาดเล็ก และสั้น รูปร่างสปอร์ และ germ tube มีลักษณะผิดปกติจนทำให้ไม่สามารถสร้างเส้นใยเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตและสืบพันธุ์ได้ สำหรับสารสกัดหยาบจากกะเพรามีผลทำให้ลักษณะของเส้นใยยังมีการกระจุกตัวและสร้างเส้นใยได้ germ tube มีการแตกแขนง ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาการยับยั้งการเกิดสปอร์ที่สารสกัดหยาบจากกะเพรามีประสิทธิภาพในการยับยั้งต่ำที่สุด เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรจะทำให้การงอกสปอร์ถูกยับยั้ง germ tube แตกแขนงน้อยลง และขาดเป็นท่อน ๆ สั้น และมีการโป่งพองเป็นกระเปาะโดยจะพบได้ที่ความเข้มข้นของสารสกัดตั้งแต่ 750 ppm ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของพรพนา นาคสิงห์ (2550) ที่ศึกษาสารสกัดจากเปลือกทับทิมมีศักยภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์ และการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ทำให้การพัฒนาเป็น germ tube และเส้นใยมีอาการผิดปกติ เช่น สปอร์งอกผิดปกติ สปอร์มีขนาดใหญ่ขึ้น germ tube สั้นลง มีการโป่งพองเป็นกระเปาะแตกแขนง ขอบล้องเพิ่มขึ้น

## 5.7 ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาชนิดสมุนไพรในกลุ่มที่ให้น้ำมันหอมระเหยว่ามีผลต่อการยับยั้งเชื้อราหรือไม่
2. ควรมีการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในพืชสมุนไพรที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคแอนแทรกโนส
3. ควรศึกษากระบวนการนำสารสกัดสมุนไพรที่ได้ไปใช้ในการผลิตเป็นสารชีวภาพในการควบคุมศัตรูพืชอย่างง่าย เพื่อให้เกษตรกรนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์มากที่สุด
4. ควรศึกษาสายพันธุ์ของเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคพืชให้มีความหลากหลายมากกว่านี้
5. ควรนำข้อมูลที่ได้ไปต่อยอดในการผลิตในรูปแบบเชิงการค้า

## บรรณานุกรม

- กรมวิชาการเกษตร สำนักคุ้มครองพันธุ์พืชแห่งชาติ. (2544). *ฐานข้อมูลเชื้อพันธุ์พืช : มะม่วง*. กรุงเทพฯ. 142 หน้า.
- กัลทิมา พิชัย. (2555). *การศึกษาการใช้สารสกัดพืชสมุนไพรบางชนิดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่สำคัญในพื้นที่ลุ่ม อ.แมริม จ.เชียงใหม่ เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ท้องถิ่น*. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- คลินิกพืช. (มปป). *โรคและแมลงศัตรูพืช*. กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1. เชียงใหม่.
- ทวีศักดิ์ ชัยเรืองยศ. (2551). *การปลูกมะม่วงน้ำดอกไม้สีทอง*. เทคโนโลยีชาวบ้าน ปีที่ 20 ฉบับที่ 425. หน้า 20 – 21.
- ธารทิพย์ ภาสบุตร. (2540). *ผลของสารสกัดจากพืชบางชนิดที่มีต่อเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง*. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม.
- ธารทิพย์ ภาสบุตร กรรณิการ์ เพ็ญภักตร์ และชนิดิต์ ปล่องบรรจง. (2548). *รวบรวมและจัดจำแนกชนิดเชื้อราสกุล Colletotrichum สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของไม้ผลและพืชเศรษฐกิจ*. กลุ่มวิจัยโรคพืช. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรุงเทพฯ.
- ธนัท อมาตยกุล. (2554). *การยับยั้งเชื้อราโรคหัวเหิน (crown rot) และแอนแทรคโนส (anthracnose) ของสารสกัดจากขิง (Zingiber officinale) และข่า (Alpinia galanga) ในกล้วยหอมแบบ in vitro และ in vivo*. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ คณะเทคโนโลยีและนวัตกรรมผลิตภัณฑ์การเกษตร มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.
- ธวัชชัย ศรีวิบูลย์. (2551). *เทคนิคการแยก (Separation Techniques)*. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง.
- ปราณี เรืองกระโทก วรัญญู แก้วดวงตา พนิดา อริมัตสี และวราภรณ์ สุทธิสา. (2557). *ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพรไทยในการควบคุมโรคเน่าดำของกล้วยไม้หวายเอื้องสกุล*. วารสารแก่นเกษตร 42 ฉบับพิเศษ 1 : 578 – 582.
- ปริญญา จันท์ศรี. บทความ เรื่อง *การควบคุมโรคแอนแทรคโนสในสวนมะม่วง*. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. แหล่งที่มา [http://www.stri.cmu.ac.th/DB\\_Article/articleDetail.php?id=6](http://www.stri.cmu.ac.th/DB_Article/articleDetail.php?id=6) สืบค้นเมื่อวันที่ 11 กันยายน พ.ศ. 2557

- ปิ่นรส สู่ศิริรัตน์ และภัทรา พลับเจริญสุข. (2555). การใช้สารสกัดหยาดจากเปลือกกว่านทางจระเข้เพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนส และโรคข้าวผลเน่าในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ เขตอำเภอปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์. รายงานการวิจัย มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิต. 87 หน้า.
- พรชนก จินดาวงษ์ และคณะ. (2548). การคัดเลือกวิธีการทดสอบสารสกัดในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสหลังการเก็บเกี่ยวของมะม่วง. ในการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 43. หน้า 361 – 368. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- พรพนา นาคสิงห์. (2550). ผลการยับยั้งเชื้อราของส่วนสกัดเอทานอลจากเปลือกผลทับทิมต่อเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก. ปัญหาพิเศษ วิทยาศาสตร์บัณฑิต. สาขาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (กำแพงแสน) นครปฐม.
- พรรณนีย์ วิชชาชู. (2555). มะม่วงน้ำดอกไม้ส่งออก. หนังสือพิมพ์กสิกร. (พ.ย. ธ.ค. 2555). 85(6) : หน้า 64 – 70.
- นิพนธ์ วิสารทานนท์. (2542). โรคไม้ผลเขตร้อนและการป้องกันกำจัด. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ
- นิพนธ์ วิสารทานนท์ สกลวัฒน์ โอสิริ และจิตรรัตน์ มีศรี. (). การเพิ่มประสิทธิภาพของ Carbendazim และ Mancozeb ด้วย Fulvic acid เพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนใบและผลมะม่วงน้ำดอกไม้โดยวิธีการปลูกเชื้อ. ภาควิชาโรคพืช. คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ
- เนตรนภิส เขียวขำ บัณฑิต โสภณ และสมัคร แก้วสุกแสง. (2553). การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* จากผลไม้ 4 ชนิด ด้วยสารสกัดหยาดข่า. ว.วิจัย.เกษ. 41(3/1)(พิเศษ) : 437 – 440.
- รัตยา พงศ์พิสุทธา วรานันท์ วิญญรัตน์ โชติรส รอดเกตุ และเทพพนม แสงเพลิง. (2553). ความผันแปรทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Colletotrichum so.* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก. ว.วิจัย.เกษ. 41 : 1 (พิเศษ) : 318 – 321.
- วราภรณ์ สุทธิสา ภาณุวัฒน์ เทพคำราม วัชรกา กาญจนรัช และพนิดา อริมัตลี. (2557). ผลประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพรไทยในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum sp* สาเหตุของโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง. วารสารวิจัยแก่นเกษตร 42 ฉบับพิเศษ 1 : 665 - 670.
- วรัญญา อางจันทิก วิชชา สะอาดสุด อูราภรณ์ สะอาดสุด และดำรงส ทรัพย์เย็น. (2545). ผลของสารสกัดจากใบพลูควาดต่อเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง. ว.วิทย์.เกษ. 33 : 6(พิเศษ) : 87 - 90.

- วัชรีย์ ชัยชมพู และกัลทิมา พิชัย. (2553). ผลของสารสกัดจากพืชต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราคอลลีเทโททริคัม. วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก ปีที่ 3 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม - ธันวาคม 2553.
- วัลยา กองแก้ว และกัลทิมา พิชัย. (2553). การใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรควบคุมการเจริญของราเขียว (*Trichoderma* spp.) ในเห็ดโคนญี่ปุ่น. วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก ปีที่ 3 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม - ธันวาคม 2553.
- วิไลลักษณ์ บุญหลาย ปวีณา รัตนเสนา และประภัสสร บุขหมั่น. (2557). วิธีการสกัดและตัวทำละลายที่แตกต่างกันในสารสกัดพืชวงศ์ขิง เพื่อการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยมหาสารคามวิจัย ครั้งที่ 9 มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.
- สมใจ ศิริโชค. (2555). จุลินทรีย์อุตสาหกรรม. ศูนย์สื่อเสริมกรุงเทพ, กรุงเทพฯ 352 หน้า.
- ศูนย์บริหารศัตรูพืช. (2555). สรุปรายงาน การฝึกอบรมการผลิตขยายเชื้อราบีวเวอเรีย และสารสกัดจากพืช. กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- ศูนย์สารสนเทศทางการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. (2551). สรุปสถานการณ์มะม่วงปี 2549 - 2551. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ.
- ศศิธร วุฒิวนิชย์ และสุพจน์ ศุภนันธ. (2548). ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญของ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ. วารสารวิทยาศาสตร์ กำแพงแสน ปีที่ 3 ฉบับที่ 2. หน้า 11 - 27.
- อุราภรณ์ สอาดสุด, วิสา สอาดสุด และโสภณ สิงห์แก้ว. (2546). การประเมินความเสียหายในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้หลังการเก็บเกี่ยว. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร ปีที่ 34 ฉบับที่ 4 - 6(พิเศษ). หน้า 37 - 40.
- อังสุมา ชัยสมบัติ. (2530). โรคภายหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะม่วงที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. และการควบคุม. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ไอลดา ใจสมัค และกาญจน์ คุ้มทรัพย์. (2514). ประสิทธิภาพการสกัดเอทานอลจากพืชสมุนไพรกำจัดเพลี้ยแป้งแฉักเปียดเลย์. วารสารแก่นเกษตร 42 ฉบับพิเศษ. หน้า 524 - 529.
- Anteneh Ademe, Amare Ayalew and Kebede Woldetsadlk. (2013). Evaluation of antifungal activity of plant extract against Papaya Anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*). Journal of Plant Pathol Microb. Vol 4 Issue 10 : 1 - 4.
- Casida, L. E. (1964). *Industrial Microbiology*. New York : John Wiley & Sons.
- Finney, D.J. (1971). *Probit Analysis*. Cambridge University Press, Cambridge.

- Fitzell R. D., Peak C. M., and Darnell R.E. (1984). *A model for estimating infection levels of anthracnose disease of mango*. Annals of applied biology. Vol.104. Issue 3. Pages 451 – 458.
- Jatistienr, C. and Jatisatienr, A. (1999). *The Fungicidal Properties of Extracts of Clove (Eugenia caryophyllus Spreng.) and Sweet Flag (Acorus calamus Linn.)* Acta Hort : 87-93.
- Mohana, D.C. and Raveesha, K.A. (2007). *Anti-fungal evaluation of some plant extracts against some plant pathogenic field and storage fungi*. Journal of Agricultural Technology. 4(1): 119 – 137.
- Mukherjee, A., Khandker, S., Siam R. and Sonia B. Shahid. (2011). *Efficacy of some plant extracts on the mycelial growth of colletotrichum gloeosporioides*. J. Bangladesh Agrill. Univ. 9(1) : 43 – 47.
- Prapassorn Bussaman, Piyarat Namsena, Paweena Rattanasena and Angsuman Chandrapatya. (2012). *Effect of crude leaf extracts on Colletotrichum gloeosporioides (Penz.) Sacc.* Psyche Vol.2012. 6 pages.
- Rahul Ravneel Prasad and Anamika. (2015). *Effect of plant leaf extract against Colletotrichum gloeosporioides (Penz) Sac. Causing Post-Harvest Disease of Payaya*. Journal of Agricultural Science. Vol. 7 NO. 5 : 195 – 198.
- Singh, J. and Tripathi, N.N. (1999). *Inhibition of storage fungi of blackgram (Vigna mungo) by some essential oils*. Flavour and Fragrance Journal 14 : 1-4.
- Sutton. B.C. (1992). *The genus Glomerella and anamorph Colletotrichum In : Colletotrichum : Biology. Pathology and Control*. CAB Int., Wallingford. UK. pp. 1 – 26.
- Talaro, K. and A. Talaro. (1996). *Foundation in Microbiology*. 2<sup>nd</sup> ed. Chicago : Wm. C. Brown Publishers.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก  
การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ การเตรียมสารสกัด และสารเคมี  
(Microbial media crude extraction and chemical solution)

1. อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides*

1.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารสูตร PDA (Potato Dextrose Agar) ประกอบด้วย

Potato	200.0	กรัม
Dextrose	20.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1000.0	มิลลิลิตร

(1) ปอกเปลือกมันฝรั่งและหั่นเนื้อมันฝรั่งเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ ขนาดประมาณ 1 เซนติเมตร นำไปล้างน้ำหนักให้ได้ตามสูตร แล้วต้มในน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร จนเดือดนาน ประมาณ 10-15 นาที และกรองเอาเฉพาะส่วนที่เป็นน้ำมันฝรั่งผ่านผ้าขาว

(2) ชั่งส่วนผสมที่เหลือให้ได้น้ำหนักตามสูตร ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ละลายส่วนผสมทั้งหมดด้วยการให้ความร้อน

(3) ปรับปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร ใส่ลงใน flask

(4) นำอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย Autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว

1.2 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารสูตร PDB (Potato Dextrose Broth) ประกอบด้วย

Potato	200.0	กรัม
Dextrose	20.0	กรัม
น้ำกลั่น	1000.0	มิลลิลิตร

(1) ปอกเปลือกมันฝรั่งและหั่นเนื้อมันฝรั่งเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ ขนาดประมาณ 1 เซนติเมตร นำไปล้างน้ำหนักให้ได้ตามสูตร แล้วต้มในน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร จนเดือดนาน ประมาณ 10-15 นาที และกรองเอาเฉพาะส่วนที่เป็นน้ำมันฝรั่งผ่านผ้าขาว

(2) ชั่งส่วนผสมที่เหลือให้ได้น้ำหนักตามสูตร ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ละลายส่วนผสมทั้งหมดด้วยการให้ความร้อน

(3) ปรับปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB ด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร ใส่ลงใน flask

(4) นำอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB ไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย Autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว

### 1.3 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

#### สารละลายเปปโตน (peptone solution) 0.1%

ชั่งผงเปปโตน จำนวน 0.1 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย Autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว

## 2. การเตรียมสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพร

### 2.1 การเตรียมสารสกัดจากพืชสมุนไพร

#### ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm (mg/L)

$$\text{หนึ่งในล้านส่วน (part per million; ppm)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวถูกละลาย (มิลลิกรัม)}}{\text{ปริมาตรสารละลาย (ลิตร)}}$$

นำตัวอย่างผงสมุนไพรอบแห้งในแต่ละชนิดมาทำมาแช่ในน้ำกลั่นในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน โดยมีวิธีการเตรียม ดังนี้

ตัวอย่าง การเตรียมสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้น 500 ppm ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากค่าจำกัดความของความเข้มข้น

$$\begin{array}{rclcl} 500 \text{ ppm} & = & 500 \text{ มิลลิกรัม} / 1000 \text{ มิลลิลิตร} & & \\ \text{สารสกัดสมุนไพรปริมาตร } 1000 \text{ มิลลิลิตร} & & \text{ซึ่งน้ำหนักผงสมุนไพรอบแห้ง } 500 \text{ มิลลิกรัม} & & \\ \text{ถ้าสารสกัดสมุนไพรปริมาตร } 100 \text{ มิลลิลิตร} & & \text{ต้องชั่งน้ำหนักผงสมุนไพรอบแห้ง } 500 \times 100 & & \\ & & & & \underline{1000} \\ & & & & = 50 \text{ มิลลิกรัม} \end{array}$$

ดังนั้น ถ้าต้องการเตรียมสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้น 500 ppm ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต้องชั่งผงสมุนไพรอบแห้ง 50 มิลลิกรัม มาละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร

## 2.2 การเตรียมสารสกัดจากพืชสมุนไพร

ที่ระดับความเข้มข้น 750 ppm (mg/L)

$$\text{หนึ่งในล้านส่วน (part per million; ppm)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวถูกละลาย (มิลลิกรัม)}}{\text{ปริมาตรสารละลาย (ลิตร)}}$$

**ตัวอย่าง** การเตรียมสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้น 750 ppm ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากค่าจำกัดความของความเข้มข้น

$$\begin{array}{rclcl} 750 \text{ ppm} & = & 750 \text{ มิลลิกรัม} / 1000 \text{ มิลลิลิตร} & & \\ \text{สารสกัดสมุนไพรปริมาตร } 1000 \text{ มิลลิลิตร} & & \text{ซึ่งน้ำหนักผงสมุนไพรอบแห้ง } 750 \text{ มิลลิกรัม} & & \\ \text{ถ้าสารสกัดสมุนไพรปริมาตร } 100 \text{ มิลลิลิตร} & & \text{ต้องชั่งน้ำหนักผงสมุนไพรอบแห้ง } 750 \times 100 & & \\ & & & & \frac{1000}{1000} \\ & & & & = 75 \text{ มิลลิกรัม} \end{array}$$

ดังนั้น ถ้าต้องการเตรียมสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้น 750 ppm ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต้องชั่งผงสมุนไพรอบแห้ง 75 มิลลิกรัม มาละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร

## 2.3 การเตรียมสารสกัดจากพืชสมุนไพร

ที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm (mg/L)

$$\text{หนึ่งในล้านส่วน (part per million; ppm)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวถูกละลาย (มิลลิกรัม)}}{\text{ปริมาตรสารละลาย (ลิตร)}}$$

**ตัวอย่าง** การเตรียมสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้น 1000 ppm ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากค่าจำกัดความของความเข้มข้น

$$\begin{array}{rclcl} 1000 \text{ ppm} & = & 1000 \text{ มิลลิกรัม} / 1000 \text{ มิลลิลิตร} & & \\ \text{สารสกัดสมุนไพรปริมาตร } 1000 \text{ มิลลิลิตร} & & \text{ซึ่งน้ำหนักผงสมุนไพรอบแห้ง } 1000 \text{ มิลลิกรัม} & & \\ \text{ถ้าสารสกัดสมุนไพรปริมาตร } 100 \text{ มิลลิลิตร} & & \text{ต้องชั่งน้ำหนักผงสมุนไพรอบแห้ง } 1000 \times 100 & & \\ & & & & \frac{1000}{1000} \\ & & & & = 100 \text{ มิลลิกรัม} \end{array}$$

ดังนั้น ถ้าต้องการเตรียมสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้น 1000 ppm ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต้องชั่งผงสมุนไพรอบแห้ง 100 มิลลิกรัม มาละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร

### 3. การเตรียมสารเคมี

#### 3.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

##### 70 % เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethylalcohol ; EtOH)

- (1) ตวงเอทิลแอลกอฮอล์ 95% ตามสูตรที่คำนวณข้างล่าง
  - (2) แล้วนำมาปรับด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร ใส่ลงในปิ๊กเกอร์
- สูตรที่ใช้ในการคำนวณหาปริมาตร 95% Ethylalcohol

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

กำหนดให้	$C_1$	=	ความเข้มข้นของสารตั้งต้น
	$V_1$	=	ปริมาตรของสารตั้งต้น
	$C_2$	=	ความเข้มข้นของสารที่ต้องการเตรียม
	$V_2$	=	ปริมาตรสารที่ต้องการเตรียม

**ตัวอย่าง** การเตรียม 70% Ethylalcohol จาก 95% Ethylalcohol ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

$$\begin{aligned} C_1V_1 &= C_2V_2 \\ 95 (V_1) &= 70 (1000) \\ V_1 &= 70000 / 95 \\ V_1 &= 736.84 \end{aligned}$$

ดังนั้นต้องตวง 95% Ethylalcohol ปริมาตร 736.84 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

#### 3.2 การเตรียมสารเคมีทำลายสปอร์เชื้อรา

##### แมนโคแซบ 80% wp (mancozeb)

- (1) ชั่ง mancozeb มา 160 มิลลิกรัม
- (2) แล้วนำมาปรับด้วยน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร ใส่ลงในปิ๊กเกอร์
- (3) คนสารละลายให้เข้ากัน จากนั้นนำมากรองด้วยกระดาษกรอง แล้วเก็บสารละลายไว้ในขวดสีชาเพื่อนำไปทำการทดลองต่อไป

ตัวอย่าง การเตรียมสารเคมี mancozeb ที่ความเข้มข้น 1600 ppm ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

จากคำจำกัดความของความเข้มข้น

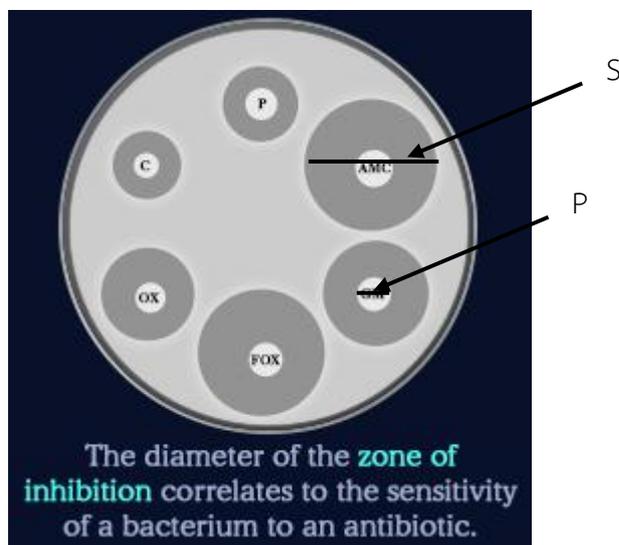
$$\begin{array}{rcl}
 1600 \text{ ppm} & = & 1600 \text{ มิลลิกรัม} / 1000 \text{ มิลลิลิตร} \\
 \text{สารเคมี mancozeb ปริมาตร } 1000 \text{ มิลลิลิตร} & \text{ซึ่งน้ำหนัก mancozeb} & 1600 \text{ มิลลิกรัม} \\
 \text{ถ้าสารเคมี mancozeb ปริมาตร } 100 \text{ มิลลิลิตร} & \text{ต้องชั่งน้ำหนัก mancozeb} & \frac{1600 \times 100}{1000} \\
 & & = 160 \text{ มิลลิกรัม}
 \end{array}$$

ดังนั้น ถ้าต้องการเตรียมสารเคมี mancozeb ที่ความเข้มข้น 1600 ppm ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต้องชั่ง mancozeb 160 มิลลิกรัม มาละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ภาคผนวก ข  
วิธีการวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง  
(% Inhibition Analysis)

1. การวัดขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณใส (Clear zone diameter)

จากการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา โดยวิธี paper disc diffusion technique ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่ระดับต่าง ๆ ซึ่งผลจากสารสกัดที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราจะสังเกตได้จากการวัดขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณใส หรือ clear zone ดังสูตรการหาขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ clear zone



ภาพที่ ข-1 ลักษณะบริเวณโซนใสที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา

สูตรในการหาขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของ clear zone

$$\text{ขนาดของ clear zone (มิลลิเมตร)} = S - P$$

S คือ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ paper disc และเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณโซนใสของเชื้อ (มิลลิเมตร)

P คือ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ paper disc = 0.5 มิลลิเมตร

## 2. การหาอัตราส่วนของ Inhibition zone

จากการวัดขนาดของโซนใสของสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพรที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรกคโนสในมะม่วง สามารถนำมาคำนวณหาอัตราส่วนของ Inhibition zone ดังต่อไปนี้

สูตรในการคำนวณหาอัตราส่วนของ Inhibition zone

$$\text{อัตราส่วนของ Inhibition zone} = \frac{\text{ขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใสของเชื้อ}}{\text{ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ negative control}}$$

## 3. การวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา (PIRG)

จากการศึกษาการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา โดยวิธี poisoned food technique (PFT) โดยวิธี Singh and Tripathi, 1999 บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารสกัดจากพืชสมุนไพรผสมอยู่ โดยสังเกตโคโลนีของเชื้อราที่เกิดขึ้นหลังจากที่มีการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ  $37 \pm 2$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ทำการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเส้นใยของเชื้อราที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากพืชสมุนไพรเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ไม่มีการผสมสารสกัด) แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา ดังสูตร ต่อไปนี้

สูตรในการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา (PIRG)

$$\% \text{ การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา} = \frac{(C - T)}{C} \times 100$$

C คือ ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อในชุดควบคุม (มิลลิเมตร)

T คือ ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพร (มิลลิเมตร)

**ตัวอย่าง** จากการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่ใช้สารสกัดจากขิงที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ที่สกัดด้วยเอทานอล ( $T_1E_2$ ) มีเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราเท่ากับ 5.8 เซนติเมตร เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเท่ากับ 8.9 เซนติเมตร นำมาคำนวณหา % การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา จากสูตรดังกล่าว

$$\begin{aligned} \% \text{ การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา} &= [(8.9 - 5.8) / 8.9] \times 100 \\ &= 34.83 \end{aligned}$$

ดังนั้น สารสกัดจากขิงที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ที่สกัดด้วยเอทานอล (T<sub>1</sub>E<sub>2</sub>) มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา เท่ากับ 34.83

#### 4. การวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*

จากการศึกษาการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา ด้วยวิธี spore germination test ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว PDB บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน มานับจำนวนสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แล้วจากนั้นนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์ดังสูตร ต่อไปนี้

สูตรในการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา

$$\% \text{ การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา} = [(A - B) / A] \times 100$$

A คือ ค่าเฉลี่ยของจำนวนสปอร์เชื้อราที่งอกบนอาหารเลี้ยงเชื้อราชุดเปรียบเทียบ

B คือ ค่าเฉลี่ยของจำนวนสปอร์เชื้อราที่งอกบนอาหารเลี้ยงเชื้อราที่มีการผสมสารสกัดจากพืชสมุนไพร

**ตัวอย่าง** ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ของสารสกัดขิงที่สกัดด้วยเอทานอล (T<sub>1</sub>E<sub>2</sub>) มีจำนวนสปอร์ที่งอกของเชื้อรา เท่ากับ 65 สปอร์ ส่วนจำนวนสปอร์ของเชื้อราในชุดควบคุม เท่ากับ 100 สปอร์ นำมาคำนวณหา % การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา จากสูตรดังกล่าว

$$\begin{aligned} \% \text{ การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา} &= [(100 - 65) / 100] \times 100 \\ &= 35 \end{aligned}$$

ดังนั้น สารสกัดจากขิงที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ที่สกัดด้วยเอทานอล (T<sub>1</sub>E<sub>2</sub>) มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา เท่ากับ 35

## ภาคผนวก ค

### การเตรียมซัสเพนชันของสปอร์รา และการคำนวณหาความเข้มข้นของเชื้อรา

(Spore suspension preparation and concentration calculate of spore cell)

#### 1. การเตรียมซัสเพนชันของสปอร์รา *Colletotrichum gloeosporioides* (อ้างอิงจาก ศูนย์บริหารศัตรูพืช)

(1) เชื้อเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* จากตัวอย่างมะม่วงที่มีเชื้อโรคแอนแทรคโนส ปนเปื้อนลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

(2) จากนั้นดูดเชื้อราที่เลี้ยงในอาหาร PDB ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มาเพาะเลี้ยงในอาหาร PDA โดยวิธีการ pour plate บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลาต่ออีก 7 วัน

(3) เมื่อมีโคโลนีของเชื้อราเกิดขึ้นบนจานเพาะเชื้อก็เชื้อเชื้อลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเหลว PDB แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 – 7 วัน และเติม tween 20 จำนวน 1 หยด เพื่อให้สปอร์เชื้อรากระจายตัว หลังจากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่อง vortex

(4) จากนั้นดูดเชื้อราจากอาหารเหลว PDB จำนวน 1 หยดลงบน Hemacytometer (ดังภาพที่ ค-1) ทิ้งไว้ 1 นาที ปิดทับด้วย cover glass



ภาพที่ ค-1 ลักษณะของ Hemacytometer

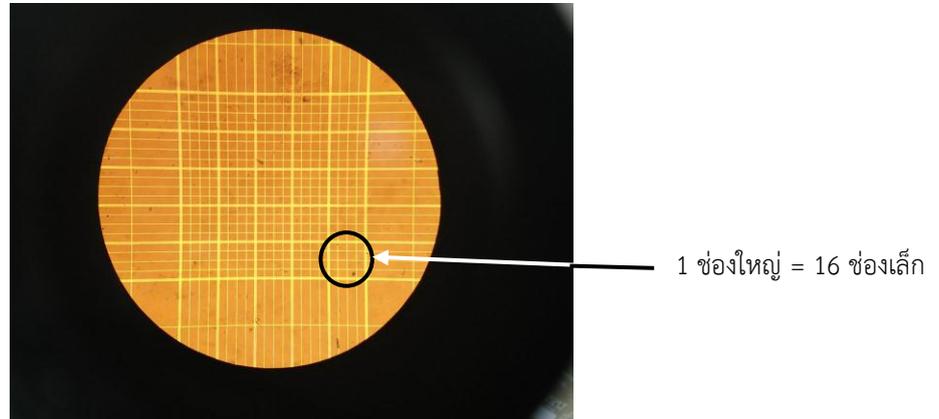
(5) นำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง เพื่อทำการตรวจนับสปอร์ของเชื้อราเพื่อนำเอาซัสเพนชันที่ทราบความเข้มข้นของเชื้อราจากการนับภายใต้กล้องไปทำการทดลองหาค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) ของสารสกัดต่อไป

(6) ในกรณีตัวอย่างของสปอร์ราที่มีจำนวนสปอร์ ดังนี้

(6.1) ถ้าจำนวนสปอร์ของเชื้อราน้อยกว่า 10 ให้ทำการดูดตัวอย่างจากหลอดที่มีความเข้มข้นมากกว่า หากไม่มีให้เลี้ยงเชื้อราในอาหาร PDB ต่ออีก

(6.2) แต่ถ้าจำนวนสปอร์ของเชื้อรามากกว่า 50 ให้ทำการเจือจางตัวอย่างของสปอร์ราให้มีความเข้มข้นที่น้อยกว่า

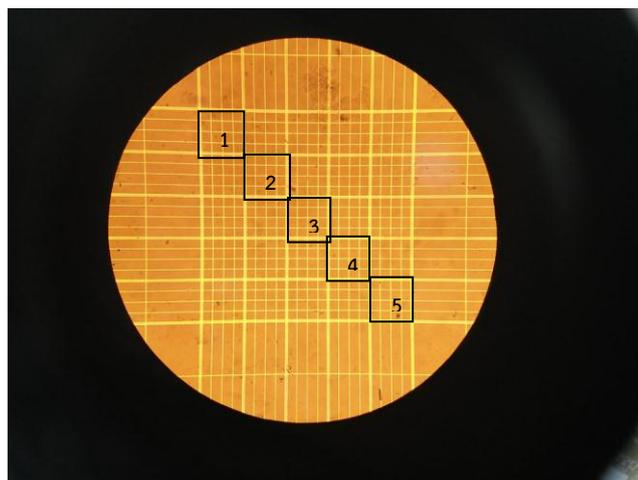
(6.3) จำนวนสปอร์ของเชื้อราที่นิยมนำมาใช้ในการหาความเข้มข้นของเชื้อราที่ยอมรับได้ คือ 10 – 50 สปอร์ต่อ 1 สเกลใหญ่ หรือมีค่าเท่ากับ 16 ช่องเล็ก (ดังภาพที่ ค-2)



ภาพที่ ค-2 ลักษณะสเกลของ Hemacytometer

## 2. วิธีการนับจำนวนเซลล์ใน Hemacytometer

- (1) การนับสปอร์ของเชื้อราใช้กำลังขยายของ objective len ที่ 40X
- (2) ตัวอย่างสปอร์ของเชื้อราที่นำมาับจำนวนควรเจือจางให้มีจำนวนสปอร์อยู่ระหว่าง 10 – 50 สปอร์ใน 1 ช่องใหญ่ (16 ช่องเล็ก)
- (3) นับจำนวนสปอร์ของเชื้อราบนช่องสี่เหลี่ยมเล็ก โดยสุ่มนับจำนวน 5 ช่องในแนวทแยงของ Hemacytometer (ดังภาพที่ ค-3)
- (4) ทำการนับจำนวนเซลล์ของสปอร์เชื้อราทั้ง 2 ด้านของ Hemacytometer (ถ้าสุ่มนับจำนวนเซลล์ 5 ช่อง ผลที่ได้ให้นำมาคูณกับ 5 แต่ถ้าสุ่มนับจำนวน 10 ช่อง ผลที่ได้ต้องคูณ 2.5)



ภาพที่ ค-3 วิธีการสุ่มสเกลที่ใช้สำหรับนับจำนวนสปอร์ของเชื้อรา

(5) จากนั้นนำจำนวนสปอร์ของเชื้อราที่นับได้ทั้ง 5 ช่องไปคำนวณหาความเข้มข้นของสปอร์เชื้อราต่อไป

### 3. การคำนวณหาความเข้มข้นของสปอร์เชื้อรา

เมื่อนับจำนวนสปอร์ของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วยวิธีการสุ่มจำนวน 5 ช่อง ทั้ง 2 ด้านของ Hemacytometer นำมาคำนวณหาความหนาแน่นหรือความเข้มข้นของสปอร์เชื้อรา ในหน่วยโคนิตี/มิลลิลิตร

$$\text{ความเข้มข้นของสปอร์เชื้อรา} = \text{ค่าเฉลี่ยของจำนวนสปอร์ที่นับได้} \times \text{ค่าคงที่} \times \text{ความเข้มข้นที่ใช้ นับ}$$

$$\text{ถ้าสุ่มนับจำนวนเซลล์} \quad 5 \quad \text{ช่อง ค่าคงที่} = 5 \times 10^5$$

$$\text{แต่ถ้าสุ่มนับจำนวน} \quad 10 \quad \text{ช่อง ค่าคงที่} = 2.5 \times 10^5$$

**ตัวอย่าง** จำนวนสปอร์ของเชื้อราที่นับได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์จาก Hemacytometer จำนวน 5 ช่อง มีค่าเฉลี่ยของจำนวนสปอร์ที่นับได้ทั้ง 5 ช่อง มีค่าเท่ากับ 23 สปอร์ ที่ระดับความเข้มข้นที่ใช้ นับสปอร์เชื้อรา คือ  $10^0$  สามารถคำนวณหาความเข้มข้นของสปอร์เชื้อรา จากสูตรดังกล่าว ได้ดังนี้

$$\begin{aligned} \text{ความเข้มข้นของสปอร์เชื้อรา} &= (23/5) \times 2.5 \times 10^5 \times 10^0 \\ &= 23 \times 10^5 = 2.3 \times 10^6 \text{ โคนิตีต่อมิลลิลิตร} \end{aligned}$$

ดังนั้น ความเข้มข้นของสปอร์เชื้อรามีค่าเท่ากับ  $2.3 \times 10^6$  โคนิตีต่อมิลลิลิตร

## ภาคผนวก ง

### การวิเคราะห์หาค่า ED<sub>50</sub> โดยวิธี Probit Analysis

#### การวิเคราะห์หาค่า Median Effective Dose : ED<sub>50</sub>

การวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรที่มีผลทำให้เชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคพืชมีอัตราการตายเป็นจำนวนครึ่งหนึ่ง (Median Effective Dose : ED<sub>50</sub>) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ใช้หน่วยเป็น ppm (part per million) , มิลลิกรัม/ลิตร , มิลลิกรัม/กรัม วิธีการหาค่า ED<sub>50</sub> โดยวิธี Probit Analysis ตามวิธีของ Finney, 1971 มีหลักการ ดังนี้

1. นำค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา มาแปลงเป็นค่า Probit โดยการใส่โปรแกรมสำเร็จทางสถิติ SPSS
2. จากนั้นนำค่า Probit ที่แปลงได้ในแต่ละความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรมาเขียนกราฟ แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า Probit กับความเข้มข้นของสารสกัดที่มีหน่วยเป็น ppm
3. สร้างกราฟ โดยใช้แกน Y แทนค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของค่า Probit และแกน X แทนค่า log ของความเข้มข้นที่มีหน่วยเป็น ppm กราฟที่ได้ คือ Dosage response curve (DR. curve) ของสารสกัดพืชที่ใช้ทดลองหาค่าระดับการยับยั้ง 50% (Median Effective Dose : ED<sub>50</sub>)
4. จากนั้นลากเส้นตรงจากจุดที่ค่า Probit เท่ากับ 50 ขนานกับแกน X ลากให้ผ่านจุดตัดที่เส้นกราฟแล้วลากเส้นตรงจากจุดตัดที่เส้นกราฟลงมาตั้งฉากกับแกน X
5. จุดตัดบนแกน X เป็นค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบของพืชที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราได้ 50% (ED<sub>50</sub>)

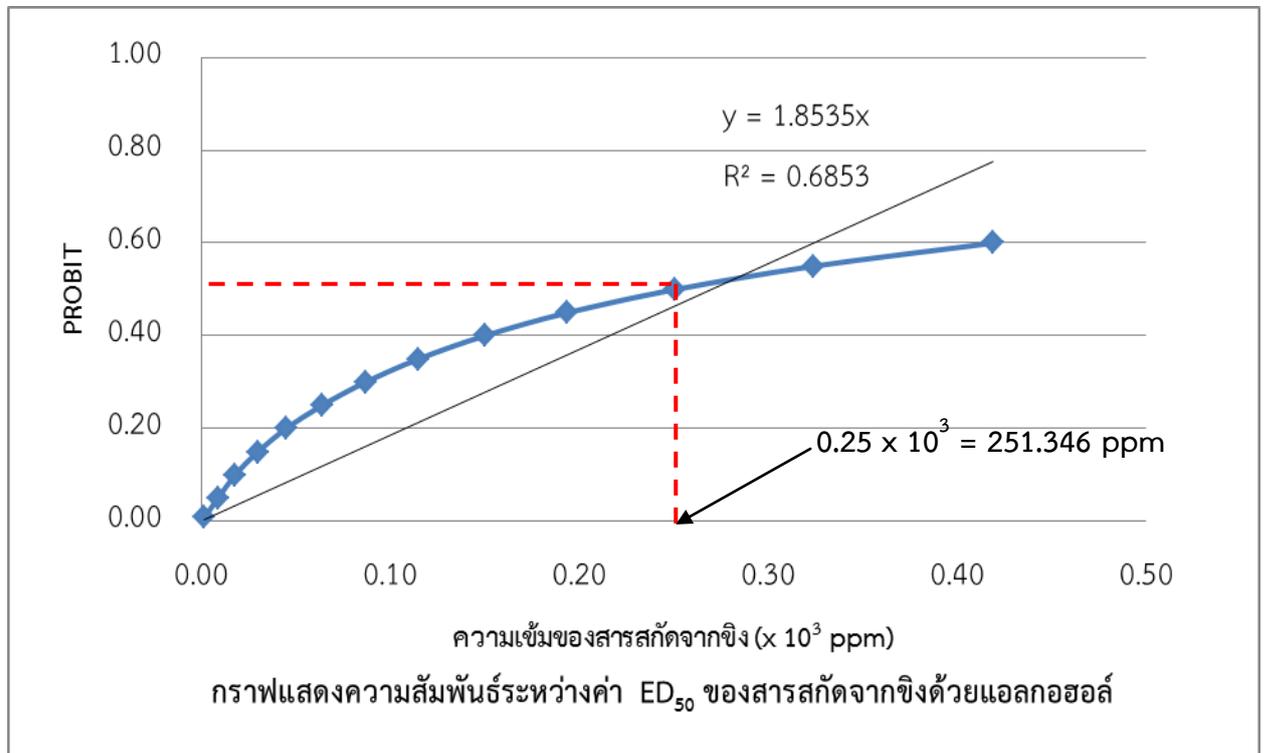
ค่า ED<sub>50</sub> เป็นค่าที่แสดงถึงปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดหยาบของพืชที่สามารถทำให้เชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคถูกยับยั้งได้ 50 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (ชุดที่ไม่มีสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพร)

ดังนั้น หากค่า ED<sub>50</sub> ที่มีค่าตัวเลขที่สูง แสดงว่าสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรมีอันตรายน้อยกว่า จึงจำเป็นต้องใช้สารในปริมาณที่มากจึงจะทำให้เชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคถูกยับยั้ง ในขณะที่ค่า ED<sub>50</sub> มีค่าตัวเลขต่ำ จะแสดงว่าสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรนั้นมีความเป็นพิษที่รุนแรงกว่าถึงจะได้รับเพียงเล็กน้อยก็จะทำให้เชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคถูกยับยั้งได้ 50 เปอร์เซ็นต์

#### **ตัวอย่าง** การแปลงค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราเป็นค่า Probit

จากการทดลองการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราด้วยสารสกัดขิงด้วยแอลกอฮอล์ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ได้แก่ 0 ppm , 500 ppm , 750 ppm และ 1,000 ppm พบว่าสารสกัดขิงที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์สามารถวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีของเส้นใยเชื้อราได้ 8.10 , 4.80 , 3.23 และ 2.37 มิลลิเมตร เมื่อนำมาคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา มีค่าเท่ากับ 0 , 40.71 , 60.08 และ 70.78 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากนั้นนำค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งมาแปลงเป็นค่า Probit ตาม

Probit โดยการใช้โปรแกรมสำเร็จทางสถิติ SPSS แล้วนำมาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า Probit และความเข้มข้นของสารสกัดจากขิงที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์ เพื่อนำมาหาค่า  $ED_{50}$  ดังภาพที่ ง-1



ภาพที่ ง-1 การหาค่า  $ED_{50}$  ของสารสกัดจากขิงด้วยแอลกอฮอล์ที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้ 50 เปอร์เซ็นต์

ดังนั้นจากการพลอตกราฟแล้วหาจุดตัดแกน X ข้างต้น จะแสดงปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากขิงด้วยแอลกอฮอล์ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราได้ 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากตารางที่ ง-1 จุดตัดแกน X คือ ค่า  $ED_{50}$  ซึ่งมีค่าเท่ากับ 251.346 ppm เป็นความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 50%

ภาคผนวก จ  
 ตาราง Probit

ตารางที่ จ-1 การแปลงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญไปเป็นค่าโพรบิท

Transformation of the Sigmoid Dosage Mortality Curve to a Straight Line. (C. I. Bliss.)

	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1	2	3	4	5
0	...	1.9098	2.1218	2.2522	2.3479	2.4242	2.4879	2.5427	2.5911	2.6344					
1	2.6737	2.7096	2.7429	2.7738	2.8027	2.8299	2.8556	2.8799	2.9031	2.9251					
2	2.9463	2.9665	2.9859	3.0046	3.0226	3.0400	3.0569	3.0732	3.0890	3.1043					
3	3.1192	3.1337	3.1478	3.1616	3.1750	3.1881	3.2009	3.2134	3.2256	3.2376					
4	3.2493	3.2608	3.2721	3.2831	3.2940	3.3046	3.3151	3.3253	3.3354	3.3454					
5	3.3551	3.3648	3.3742	3.3836	3.3928	3.4018	3.4107	3.4195	3.4282	3.4368	9	18	27	36	45
6	3.4452	3.4536	3.4618	3.4699	3.4780	3.4859	3.4937	3.5015	3.5091	3.5167	8	16	24	32	40
7	3.5242	3.5316	3.5389	3.5462	3.5534	3.5605	3.5675	3.5745	3.5813	3.5882	7	14	21	28	36
8	3.5949	3.6016	3.6083	3.6148	3.6213	3.6278	3.6342	3.6405	3.6468	3.6531	6	13	19	26	32
9	3.6592	3.6654	3.6715	3.6775	3.6835	3.6894	3.6953	3.7012	3.7070	3.7127	6	12	18	24	30
10	3.7184	3.7241	3.7298	3.7354	3.7409	3.7464	3.7519	3.7574	3.7628	3.7681	6	11	17	22	28
11	3.7735	3.7788	3.7840	3.7893	3.7945	3.7996	3.8048	3.8099	3.8150	3.8200	5	10	16	21	26
12	3.8250	3.8300	3.8350	3.8399	3.8448	3.8497	3.8545	3.8593	3.8641	3.8689	5	10	15	20	24
13	3.8736	3.8783	3.8830	3.8877	3.8923	3.8969	3.9015	3.9061	3.9107	3.9152	5	9	14	18	23
14	3.9197	3.9242	3.9286	3.9331	3.9375	3.9419	3.9463	3.9506	3.9550	3.9593	4	9	13	18	22
15	3.9636	3.9678	3.9721	3.9763	3.9806	3.9848	3.9890	3.9931	3.9973	4.0014	4	8	13	17	21
16	4.0055	4.0096	4.0137	4.0178	4.0218	4.0259	4.0299	4.0339	4.0379	4.0419	4	8	12	16	20
17	4.0458	4.0498	4.0537	4.0576	4.0615	4.0654	4.0693	4.0731	4.0770	4.0808	4	8	12	16	19
18	4.0846	4.0884	4.0922	4.0960	4.0998	4.1035	4.1073	4.1110	4.1147	4.1184	4	8	11	15	19
19	4.1221	4.1258	4.1295	4.1331	4.1367	4.1404	4.1440	4.1476	4.1512	4.1548	4	7	11	15	18
20	4.1584	4.1619	4.1655	4.1690	4.1726	4.1761	4.1796	4.1831	4.1866	4.1901	4	7	11	14	18
21	4.1936	4.1970	4.2005	4.2039	4.2074	4.2108	4.2142	4.2176	4.2210	4.2244	3	7	10	14	17
22	4.2278	4.2312	4.2345	4.2379	4.2412	4.2446	4.2479	4.2512	4.2546	4.2579	3	7	10	13	17
23	4.2612	4.2644	4.2677	4.2710	4.2743	4.2775	4.2808	4.2840	4.2872	4.2905	3	7	10	13	16
24	4.2937	4.2969	4.3001	4.3033	4.3065	4.3097	4.3129	4.3160	4.3192	4.3224	3	6	10	13	16
25	4.3255	4.3287	4.3318	4.3349	4.3380	4.3412	4.3443	4.3474	4.3505	4.3536	3	6	9	12	16
26	4.3567	4.3597	4.3628	4.3659	4.3689	4.3720	4.3750	4.3781	4.3811	4.3842	3	6	9	12	15
27	4.3872	4.3902	4.3932	4.3962	4.3992	4.4022	4.4052	4.4082	4.4112	4.4142	3	6	9	12	15
28	4.4172	4.4201	4.4231	4.4260	4.4290	4.4319	4.4349	4.4378	4.4408	4.4437	3	6	9	12	15
29	4.4466	4.4495	4.4524	4.4554	4.4583	4.4612	4.4641	4.4670	4.4698	4.4727	3	6	9	12	14
30	4.4756	4.4785	4.4813	4.4842	4.4871	4.4899	4.4928	4.4956	4.4985	4.5013	3	6	9	11	14
31	4.5041	4.5070	4.5098	4.5126	4.5155	4.5183	4.5211	4.5239	4.5267	4.5295	3	6	8	11	14
32	4.5323	4.5351	4.5379	4.5407	4.5435	4.5462	4.5490	4.5518	4.5546	4.5573	3	6	8	11	14
33	4.5601	4.5628	4.5656	4.5684	4.5711	4.5739	4.5766	4.5793	4.5821	4.5848	3	5	8	11	14
34	4.5875	4.5903	4.5930	4.5957	4.5984	4.6011	4.6039	4.6066	4.6093	4.6120	3	5	8	11	14
35	4.6147	4.6174	4.6201	4.6228	4.6255	4.6281	4.6308	4.6335	4.6362	4.6389	3	5	8	11	13
36	4.6415	4.6442	4.6469	4.6495	4.6522	4.6549	4.6575	4.6602	4.6628	4.6655	3	5	8	11	13
37	4.6681	4.6708	4.6734	4.6761	4.6787	4.6814	4.6840	4.6866	4.6893	4.6919	3	5	8	11	13
38	4.6945	4.6971	4.6998	4.7024	4.7050	4.7076	4.7102	4.7129	4.7155	4.7181	3	5	8	10	13
39	4.7207	4.7233	4.7259	4.7285	4.7311	4.7337	4.7363	4.7389	4.7415	4.7441	3	5	8	10	13
40	4.7467	4.7492	4.7518	4.7544	4.7570	4.7596	4.7622	4.7647	4.7673	4.7699	3	5	8	10	13
41	4.7725	4.7750	4.7776	4.7802	4.7827	4.7853	4.7879	4.7904	4.7930	4.7955	3	5	8	10	13
42	4.7981	4.8007	4.8032	4.8058	4.8083	4.8109	4.8134	4.8160	4.8185	4.8211	3	5	8	10	13
43	4.8236	4.8262	4.8287	4.8313	4.8338	4.8363	4.8389	4.8414	4.8440	4.8465	3	5	8	10	13
44	4.8490	4.8516	4.8541	4.8566	4.8592	4.8617	4.8642	4.8668	4.8693	4.8718	3	5	8	10	13

For more detail see values for 95-100.

The probit corresponding to a given percentage is the normal deviate (increased by 5 to avoid negative values) for which the probability (single tail) equals this percentage (see Tables I and II).

ตารางที่ จ-1 การแปลงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญไปเป็นค่าโพรบิท (ต่อ)

	๐.๐	๐.1	๐.2	๐.3	๐.4	๐.5	๐.6	๐.7	๐.8	๐.9	1	2	3	4	5
45	4.8743	4.8769	4.8794	4.8819	4.8844	4.8870	4.8895	4.8920	4.8945	4.8970	3	5	8	10	13
46	4.8996	4.9021	4.9046	4.9071	4.9096	4.9122	4.9147	4.9172	4.9197	4.9222	3	5	8	10	13
47	4.9247	4.9272	4.9298	4.9323	4.9348	4.9373	4.9398	4.9423	4.9448	4.9473	3	5	8	10	13
48	4.9498	4.9524	4.9549	4.9574	4.9599	4.9624	4.9649	4.9674	4.9699	4.9724	3	5	8	10	13
49	4.9749	4.9774	4.9799	4.9825	4.9850	4.9875	4.9900	4.9925	4.9950	4.9975	3	5	8	10	13
50	5.0000	5.0025	5.0050	5.0075	5.0100	5.0125	5.0150	5.0175	5.0201	5.0226	3	5	8	10	13
51	5.0251	5.0276	5.0301	5.0326	5.0351	5.0376	5.0401	5.0426	5.0451	5.0476	3	5	8	10	13
52	5.0502	5.0527	5.0552	5.0577	5.0602	5.0627	5.0652	5.0677	5.0702	5.0728	3	5	8	10	13
53	5.0753	5.0778	5.0803	5.0828	5.0853	5.0878	5.0904	5.0929	5.0954	5.0979	3	5	8	10	13
54	5.1004	5.1030	5.1055	5.1080	5.1105	5.1130	5.1156	5.1181	5.1206	5.1231	3	5	8	10	13
55	5.1257	5.1282	5.1307	5.1332	5.1358	5.1383	5.1408	5.1434	5.1459	5.1484	3	5	8	10	13
56	5.1510	5.1535	5.1560	5.1586	5.1611	5.1637	5.1662	5.1687	5.1713	5.1738	3	5	8	10	13
57	5.1764	5.1789	5.1815	5.1840	5.1866	5.1891	5.1917	5.1942	5.1968	5.1993	3	5	8	10	13
58	5.2019	5.2045	5.2070	5.2096	5.2121	5.2147	5.2173	5.2198	5.2224	5.2250	3	5	8	10	13
59	5.2275	5.2301	5.2327	5.2353	5.2378	5.2404	5.2430	5.2456	5.2482	5.2508	3	5	8	10	13
60	5.2533	5.2559	5.2585	5.2611	5.2637	5.2663	5.2689	5.2715	5.2741	5.2767	3	5	8	10	13
61	5.2793	5.2819	5.2845	5.2871	5.2898	5.2924	5.2950	5.2976	5.3002	5.3029	3	5	8	10	13
62	5.3055	5.3081	5.3107	5.3134	5.3160	5.3186	5.3213	5.3239	5.3266	5.3292	3	5	8	11	13
63	5.3319	5.3345	5.3371	5.3398	5.3425	5.3451	5.3478	5.3505	5.3531	5.3558	3	5	8	11	13
64	5.3585	5.3611	5.3638	5.3665	5.3692	5.3719	5.3745	5.3772	5.3799	5.3826	3	5	8	11	13
65	5.3853	5.3880	5.3907	5.3934	5.3961	5.3989	5.4016	5.4043	5.4070	5.4097	3	5	8	11	14
66	5.4125	5.4152	5.4179	5.4207	5.4234	5.4261	5.4289	5.4316	5.4344	5.4372	3	5	8	11	14
67	5.4399	5.4427	5.4454	5.4482	5.4510	5.4538	5.4565	5.4593	5.4621	5.4649	3	6	8	11	14
68	5.4677	5.4705	5.4733	5.4761	5.4789	5.4817	5.4845	5.4874	5.4902	5.4930	3	6	8	11	14
69	5.4959	5.4987	5.5015	5.5044	5.5072	5.5101	5.5129	5.5158	5.5187	5.5215	3	6	9	11	14
70	5.5244	5.5273	5.5302	5.5330	5.5359	5.5388	5.5417	5.5446	5.5476	5.5505	3	6	9	12	14
71	5.5534	5.5563	5.5592	5.5622	5.5651	5.5681	5.5710	5.5740	5.5769	5.5799	3	6	9	12	15
72	5.5828	5.5858	5.5888	5.5918	5.5948	5.5978	5.6008	5.6038	5.6068	5.6098	3	6	9	12	15
73	5.6128	5.6158	5.6189	5.6219	5.6250	5.6280	5.6311	5.6341	5.6372	5.6403	3	6	9	12	15
74	5.6433	5.6464	5.6495	5.6526	5.6557	5.6588	5.6620	5.6651	5.6682	5.6713	3	6	9	12	16
75	5.6745	5.6776	5.6808	5.6840	5.6871	5.6903	5.6935	5.6967	5.6999	5.7031	3	6	10	13	16
76	5.7063	5.7095	5.7128	5.7160	5.7192	5.7225	5.7257	5.7290	5.7323	5.7356	3	7	10	13	16
77	5.7388	5.7421	5.7454	5.7488	5.7521	5.7554	5.7588	5.7621	5.7655	5.7688	3	7	10	13	17
78	5.7722	5.7756	5.7790	5.7824	5.7858	5.7892	5.7926	5.7961	5.7995	5.8030	3	7	10	14	17
79	5.8064	5.8099	5.8134	5.8169	5.8204	5.8239	5.8274	5.8310	5.8345	5.8381	4	7	11	14	18
80	5.8416	5.8452	5.8488	5.8524	5.8560	5.8596	5.8633	5.8669	5.8705	5.8742	4	7	11	14	18
81	5.8779	5.8816	5.8853	5.8890	5.8927	5.8965	5.9002	5.9040	5.9078	5.9116	4	7	11	15	19
82	5.9154	5.9192	5.9230	5.9269	5.9307	5.9346	5.9385	5.9424	5.9463	5.9502	4	8	12	15	19
83	5.9542	5.9581	5.9621	5.9661	5.9701	5.9741	5.9782	5.9822	5.9863	5.9904	4	8	12	16	20
84	5.9945	5.9986	6.0027	6.0069	6.0110	6.0152	6.0194	6.0237	6.0279	6.0322	4	8	13	17	21
85	6.0364	6.0407	6.0450	6.0494	6.0537	6.0581	6.0625	6.0669	6.0714	6.0758	4	9	13	18	22
86	6.0803	6.0848	6.0893	6.0939	6.0985	6.1031	6.1077	6.1123	6.1170	6.1217	5	9	14	18	23
87	6.1264	6.1311	6.1359	6.1407	6.1455	6.1503	6.1552	6.1601	6.1650	6.1700	5	10	15	19	24
88	6.1750	6.1800	6.1850	6.1901	6.1952	6.2004	6.2055	6.2107	6.2160	6.2212	5	10	15	21	26
89	6.2265	6.2319	6.2372	6.2426	6.2481	6.2536	6.2591	6.2646	6.2702	6.2759	5	11	16	22	27

Continued on next page.

ตารางที่ จ-1 การแปลงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญไปเป็นค่าโพรบิท (ต่อ)

	๐·๐๐	๐·๐๑	๐·๐๒	๐·๐๓	๐·๐๔	๐·๐๕	๐·๐๖	๐·๐๗	๐·๐๘	๐·๐๙	1	2	3	4	5
90	6·2816	6·2๖13	6·293๐	6·2988	6·3๐47	6·31๐6	6·3165	6·3225	6·3285	6·3346	6	12	18	24	๓
91	6·34๐8	6·3469	6·3532	6·3595	6·3658	6·3722	6·3787	6·3852	6·3917	6·3984	6	13	19	26	๓
92	6·4๐51	6·4118	6·4187	6·4255	6·4325	6·4395	6·4466	6·4538	6·4611	6·4684	7	14	21	28	๓
93	6·4758	6·4833	6·49๐9	6·4985	6·5๐63	6·5141	6·522๐	6·53๐1	6·5382	6·5464	8	16	24	31	๓
94	6·5548	6·5632	6·5718	6·58๐5	6·5893	6·5982	6·6๐72	6·6164	6·6258	6·6352	9	18	27	36	4
95	6·6449	6·6546	6·6646	6·6747	6·6849	6·6954	6·7๐6๐	6·7169	6·7279	6·7392					
	97	1๐๐	1๐1	1๐2	1๐5	1๐6	1๐9	11๐	113	115					
96	6·75๐7	6·7624	6·7744	6·7866	6·7991	6·8119	6·825๐	6·8384	6·8522	6·8663					
	117	12๐	122	125	128	131	134	138	141	145					
97	6·88๐8	6·8957	6·911๐	6·9268	6·9431	6·96๐๐	6·9774	6·9954	7·๐141	7·๐335					
	149	153	158	163	169	174	18๐	187	194	2๐2					
98·๐	7·๐537	7·๐558	7·๐579	7·๐6๐๐	7·๐621	7·๐642	7·๐663	7·๐684	7·๐7๐6	7·๐727	2	4	6	8	11
98·1	7·๐749	7·๐77๐	7·๐792	7·๐814	7·๐836	7·๐858	7·๐88๐	7·๐9๐2	7·๐924	7·๐947	2	4	7	9	11
98·2	7·๐969	7·๐992	7·1๐15	7·1๐38	7·1๐61	7·1๐84	7·11๐7	7·113๐	7·1154	7·1177	2	5	7	9	12
98·3	7·12๐1	7·1224	7·1248	7·1272	7·1297	7·1321	7·1345	7·137๐	7·1394	7·1419	2	5	7	10	12
98·4	7·1444	7·1469	7·1494	7·152๐	7·1545	7·1571	7·1596	7·1622	7·1648	7·1675	3	5	8	10	13
98·5	7·17๐1	7·1727	7·1754	7·1781	7·18๐8	7·1835	7·1862	7·189๐	7·1917	7·1945	3	5	8	11	14
98·6	7·1973	7·2๐๐1	7·2๐29	7·2๐58	7·2๐86	7·2115	7·2144	7·2173	7·22๐3	7·2232	3	6	9	12	14
98·7	7·2262	7·2292	7·2322	7·2353	7·2383	7·2414	7·2445	7·2476	7·25๐8	7·2539	3	6	9	12	15
98·8	7·2571	7·26๐3	7·2636	7·2668	7·27๐1	7·2734	7·2768	7·28๐1	7·2835	7·2869	3	7	10	13	17
98·9	7·29๐4	7·2938	7·2973	7·3๐๐9	7·3๐44	7·3๐8๐	7·3116	7·3152	7·3189	7·3226	4	7	11	14	18
99·๐	7·3263	7·33๐1	7·3339	7·3378	7·3416	7·3455	7·3495	7·3535	7·3575	7·3615	4	8	12	16	๒๐
99·1	7·3656	7·3698	7·3739	7·3781	7·3824	7·3867	7·3911	7·3954	7·3999	7·4๐44	4	9	13	17	22
99·2	7·4๐89	7·4135	7·4181	7·4228	7·4276	7·4324	7·4372	7·4422	7·4471	7·4522	5	10	14	19	24
99·3	7·4573	7·4624	7·4677	7·473๐	7·4783	7·4838	7·4893	7·4949	7·5๐๐6	7·5๐63	5	11	16	22	27
99·4	7·5121	7·5181	7·5241	7·53๐2	7·5364	7·5427	7·5491	7·5556	7·5622	7·569๐	6	13	19	25	32
99·5	7·5758	7·5828	7·5899	7·5972	7·6๐45	7·6121	7·6197	7·6276	7·6356	7·6437					
99·6	7·6521	7·66๐6	7·66๙3	7·6783	7·6874	7·6968	7·7๐65	7·7164	7·7266	7·737๐					
99·7	7·7478	7·7589	7·77๐3	7·7822	7·7944	7·8๐7๐	7·82๐2	7·8338	7·848๐	7·8627					
99·8	7·8782	7·8943	7·9112	7·929๐	7·9478	7·9677	7·9889	8·๐115	8·๐357	8·๐618					
99·9	8·๐9๐2	8·1214	8·1559	8·1947	8·2389	8·29๐5	8·3528	8·4316	8·54๐1	8·719๐					

ภาคผนวก จ  
ผลการวิเคราะห์ค่า Probit โดยโปรแกรม SPSS

1. สารสกัดจากขิงด้วยแอลกอฮอล์

Parameter Estimates

	Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
PROBIT <sup>a</sup>	conc	1.138	.356	3.196	.001	.440	1.837
	Intercept	-2.733	1.017	-2.688	.007	-3.749	-1.716

a. PROBIT model:  $PROBIT(p) = \text{Intercept} + BX$  (Covariates X are transformed using the base 10.000 logarithm.)

Chi-Square Tests

	Chi-Square	df <sup>b</sup>	Sig.
PROBIT Pearson Goodness-of-Fit Test	1.461	7	.984 <sup>a</sup>

a. Since the significance level is greater than .150, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

b. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

## Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for conc			95% Confidence Limits for log(conc) <sup>a</sup>		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT .010	2.275	.000	20.277	.357	-3.600	1.307
.020	3.948	.001	28.552	.596	-2.981	1.456
.030	5.601	.003	35.478	.748	-2.589	1.550
.040	7.287	.005	41.776	.863	-2.293	1.621
.050	9.026	.009	47.716	.956	-2.053	1.679
.060	10.830	.014	53.434	1.035	-1.848	1.728
.070	12.706	.021	59.009	1.104	-1.669	1.771
.080	14.659	.031	64.495	1.166	-1.509	1.810
.090	16.696	.043	69.926	1.223	-1.363	1.845
.100	18.820	.059	75.330	1.275	-1.228	1.877
.150	30.897	.213	102.541	1.490	-.672	2.011
.200	45.817	.588	131.057	1.661	-.230	2.117
.250	64.244	1.408	161.811	1.808	.149	2.209
.300	87.028	3.083	195.602	1.940	.489	2.291
.350	115.298	6.368	233.284	2.062	.804	2.368
.400	150.572	12.668	275.898	2.178	1.103	2.441
.450	194.938	24.621	324.813	2.290	1.391	2.512
.500	251.346	47.282	381.978	2.400	1.675	2.582
.550	324.077	90.544	450.474	2.511	1.957	2.654
.600	419.567	174.049	536.229	2.623	2.241	2.729
.650	547.925	334.367	656.694	2.739	2.524	2.817
.700	725.911	589.047	918.352	2.861	2.770	2.963
.750	983.366	811.084	1764.666	2.993	2.909	3.247
.800	1378.848	1033.194	4093.518	3.140	3.014	3.612
.850	2044.706	1336.548	11188.658	3.311	3.126	4.049
.900	3356.852	1830.737	40017.960	3.526	3.263	4.602
.910	3783.850	1974.017	54477.168	3.578	3.295	4.736
.920	4309.499	2142.047	76175.670	3.634	3.331	4.882
.940	5833.358	2589.344	166316.079	3.766	3.413	5.221
.950	6999.082	2901.622	266133.228	3.845	3.463	5.425
.990	27773.867	6846.374	9353903.537	4.444	3.835	6.971

a. Logarithm base = 10.

## 2. สารสกัดจากสะเดาด้วยแอลกอฮอล์

Parameter Estimates

	Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
PROBIT <sup>a</sup>	conc	1.086	.341	3.185	.001	.418	1.754
	Intercept	-3.203	.976	-3.283	.001	-4.178	-2.227

a. PROBIT model:  $\text{PROBIT}(p) = \text{Intercept} + BX$  (Covariates X are transformed using the base 10.000 logarithm.)

Chi-Square Tests

	Chi-Square	df <sup>b</sup>	Sig.
PROBIT Pearson Goodness-of-Fit Test	1.535	7	.981 <sup>a</sup>

a. Since the significance level is greater than .150, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

b. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

## Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for conc			95% Confidence Limits for log(conc) <sup>a</sup>		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT .010	6.414	.003	39.014	.807	-2.479	1.591
.020	11.434	.015	55.843	1.058	-1.827	1.747
.030	16.501	.039	70.118	1.218	-1.413	1.846
.040	21.745	.079	83.221	1.337	-1.101	1.920
.050	27.216	.142	95.672	1.435	-.848	1.981
.060	32.946	.233	107.733	1.518	-.632	2.032
.070	38.953	.360	119.558	1.591	-.443	2.078
.080	45.256	.532	131.250	1.656	-.274	2.118
.090	51.870	.758	142.879	1.715	-.120	2.155
.100	58.809	1.050	154.500	1.769	.021	2.189
.150	98.904	4.046	213.696	1.995	.607	2.330
.200	149.501	11.809	276.866	2.175	1.072	2.442
.250	213.098	29.549	346.338	2.329	1.471	2.540
.300	292.967	67.144	424.687	2.467	1.827	2.628
.350	393.476	142.793	516.115	2.595	2.155	2.713
.400	520.561	287.265	631.655	2.716	2.458	2.800
.450	682.459	523.976	828.035	2.834	2.719	2.918
.500	890.874	747.336	1369.109	2.950	2.874	3.136
.550	1162.938	923.610	2612.517	3.066	2.965	3.417
.600	1524.618	1110.936	5193.439	3.183	3.046	3.715
.650	2017.041	1332.542	10660.377	3.305	3.125	4.028
.700	2709.031	1607.889	22833.824	3.433	3.206	4.359
.750	3724.374	1965.102	52056.377	3.571	3.293	4.716
.800	5308.713	2453.748	130492.200	3.725	3.390	5.116
.850	8024.544	3175.580	381260.698	3.904	3.502	5.581
.900	13495.400	4389.038	1470506.214	4.130	3.642	6.167
.910	15300.828	4745.428	2037524.748	4.185	3.676	6.309
.940	24089.960	6291.511	6625246.214	4.382	3.799	6.821
.950	29161.109	7083.912	10883708.587	4.465	3.850	7.037
.990	123734.922	17364.037	465664819.072	5.092	4.240	8.668

a. Logarithm base = 10.

## 3. สารสกัดจากกระเพราด้วยแอลกอฮอล์

Parameter Estimates

	Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
PROBIT <sup>a</sup>	conc	1.094	.343	3.192	.001	.422	1.766
	Intercept	-3.326	.981	-3.389	.001	-4.308	-2.345

a. PROBIT model:  $\text{PROBIT}(p) = \text{Intercept} + BX$  (Covariates X are transformed using the base 10.000 logarithm.)

Chi-Square Tests

		Chi-Square	df <sup>b</sup>	Sig.
PROBIT	Pearson Goodness-of-Fit Test	3.486	7	.837 <sup>a</sup>

a. Since the significance level is less than .150, a heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

b. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

## Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for conc			95% Confidence Limits for log(conc) <sup>b</sup>		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT <sup>a</sup> .010	8.202	.007	45.380	.914	-2.186	1.657
.020	14.558	.029	64.803	1.163	-1.541	1.812
.030	20.951	.074	81.250	1.321	-1.131	1.910
.040	27.551	.150	96.330	1.440	-.823	1.984
.050	34.425	.267	110.645	1.537	-.573	2.044
.060	41.611	.437	124.503	1.619	-.360	2.095
.070	49.137	.672	138.083	1.691	-.173	2.140
.080	57.023	.987	151.503	1.756	-.006	2.180
.090	65.290	1.401	164.846	1.815	.147	2.217
.100	73.954	1.934	178.176	1.869	.287	2.251
.150	123.886	7.342	246.049	2.093	.866	2.391
.200	186.681	21.158	318.532	2.271	1.325	2.503
.250	265.383	52.320	398.559	2.424	1.719	2.600
.300	363.973	117.372	489.914	2.561	2.070	2.690
.350	487.754	244.907	601.029	2.688	2.389	2.779
.400	643.927	466.813	769.316	2.809	2.669	2.886
.450	842.467	707.339	1203.336	2.926	2.850	3.080
.500	1097.537	886.551	2244.585	3.040	2.948	3.351
.550	1429.833	1065.861	4364.802	3.155	3.028	3.640
.600	1870.690	1271.265	8673.531	3.272	3.104	3.938
.650	2469.664	1518.650	17714.367	3.393	3.181	4.248
.700	3309.557	1827.572	37680.703	3.520	3.262	4.576
.750	4539.053	2228.808	85200.797	3.657	3.348	4.930
.800	6452.662	2777.500	211546.277	3.810	3.444	5.325
.850	9723.336	3587.146	611080.274	3.988	3.555	5.786
.900	16288.309	4945.897	2322961.308	4.212	3.694	6.366
.910	18449.876	5344.476	3207365.246	4.266	3.728	6.506
.940	28948.511	7071.488	10296813.508	4.462	3.850	7.013
.950	34991.916	7955.480	16824364.877	4.544	3.901	7.226
.990	146864.410	19379.968	691014738.639	5.167	4.287	8.839

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

## 4. สารสกัดจากมะกรูดด้วยแอลกอฮอล์

Parameter Estimates

	Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
PROBIT <sup>a</sup>	conc	2.282	.352	6.493	.000	1.593	2.971
	Intercept	-6.173	1.003	-6.157	.000	-7.176	-5.171

a. PROBIT model:  $\text{PROBIT}(p) = \text{Intercept} + BX$  (Covariates X are transformed using the base 10.000 logarithm.)

Chi-Square Tests

		Chi-Square	df <sup>b</sup>	Sig.
PROBIT	Pearson Goodness-of-Fit Test	1.843	7	.968 <sup>a</sup>

a. Since the significance level is greater than .150, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

b. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

## Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for conc			95% Confidence Limits for log(conc) <sup>a</sup>		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT .010	48.473	15.141	90.659	1.686	1.180	1.957
.020	63.818	22.440	112.041	1.805	1.351	2.049
.030	75.984	28.800	128.161	1.881	1.459	2.108
.040	86.641	34.745	141.805	1.938	1.541	2.152
.050	96.404	40.474	153.972	1.984	1.607	2.187
.060	105.575	46.088	165.151	2.024	1.664	2.218
.070	114.332	51.646	175.624	2.058	1.713	2.245
.080	122.787	57.188	185.567	2.089	1.757	2.268
.090	131.019	62.742	195.101	2.117	1.798	2.290
.100	139.082	68.328	204.313	2.143	1.835	2.310
.150	178.102	97.244	247.377	2.251	1.988	2.393
.200	216.783	128.679	288.096	2.336	2.110	2.460
.250	256.597	163.565	328.469	2.409	2.214	2.516
.300	298.546	202.780	369.714	2.475	2.307	2.568
.350	343.517	247.296	412.823	2.536	2.393	2.616
.400	392.439	298.250	458.818	2.594	2.475	2.662
.450	446.392	356.970	508.975	2.650	2.553	2.707
.500	506.727	424.895	565.199	2.705	2.628	2.752
.550	575.216	503.152	630.867	2.760	2.702	2.800
.600	654.298	591.249	712.808	2.816	2.772	2.853
.650	747.478	685.789	823.744	2.874	2.836	2.916
.700	860.073	785.105	979.823	2.935	2.895	2.991
.750	1000.681	895.308	1198.972	3.000	2.952	3.079
.800	1184.467	1028.065	1513.206	3.074	3.012	3.180
.850	1441.712	1202.370	1993.909	3.159	3.080	3.300
.900	1846.184	1459.817	2829.906	3.266	3.164	3.452
.910	1959.812	1529.427	3080.505	3.292	3.185	3.489
.940	2432.120	1808.939	4188.605	3.386	3.257	3.622
.950	2663.500	1940.992	4767.809	3.425	3.288	3.678
.990	5297.170	3301.497	12725.762	3.724	3.519	4.105

a. Logarithm base = 10.

## 5. สารสกัดจากตะไคร้ด้วยแอลกอฮอล์

Parameter Estimates

	Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
PROBIT <sup>a</sup>	conc	2.316	.347	6.676	.000	1.636	2.996
	Intercept	-6.476	.991	-6.534	.000	-7.467	-5.485

a. PROBIT model:  $\text{PROBIT}(p) = \text{Intercept} + BX$  (Covariates X are transformed using the base 10.000 logarithm.)

Chi-Square Tests

		Chi-Square	df <sup>b</sup>	Sig.
PROBIT	Pearson Goodness-of-Fit Test	12.965	7	.073 <sup>a</sup>

a. Since the significance level is less than .150, a heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

b. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

## Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for conc			95% Confidence Limits for log(conc) <sup>b</sup>		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT <sup>a</sup> .010	61.885	6.301	138.225	1.792	.799	2.141
.020	81.147	10.621	166.118	1.909	1.026	2.220
.030	96.369	14.791	186.691	1.984	1.170	2.271
.040	109.675	18.974	203.849	2.040	1.278	2.309
.050	121.842	23.233	218.977	2.086	1.366	2.340
.060	133.255	27.601	232.748	2.125	1.441	2.367
.070	144.139	32.101	245.546	2.159	1.507	2.390
.080	154.637	36.747	257.614	2.189	1.565	2.411
.090	164.846	41.552	269.115	2.217	1.619	2.430
.100	174.838	46.526	280.167	2.243	1.668	2.447
.150	223.078	74.264	331.151	2.348	1.871	2.520
.200	270.744	107.589	378.572	2.433	2.032	2.578
.250	319.677	147.702	425.119	2.505	2.169	2.629
.300	371.113	196.021	472.501	2.570	2.292	2.674
.350	426.136	254.225	522.293	2.630	2.405	2.718
.400	485.873	324.153	576.525	2.687	2.511	2.761
.450	551.628	407.280	638.686	2.742	2.610	2.805
.500	625.022	502.922	716.168	2.796	2.702	2.855
.550	708.181	604.511	824.986	2.850	2.781	2.916
.600	804.022	701.486	989.563	2.905	2.846	2.995
.650	916.731	792.969	1232.085	2.962	2.899	3.091
.700	1052.650	886.921	1579.210	3.022	2.948	3.198
.750	1222.022	992.004	2082.674	3.087	2.997	3.319
.800	1442.884	1118.092	2848.623	3.159	3.048	3.455
.850	1751.192	1281.204	4117.231	3.243	3.108	3.615
.900	2234.363	1516.793	6561.291	3.349	3.181	3.817
.910	2369.804	1579.502	7344.856	3.375	3.199	3.866
.940	2931.611	1827.620	11049.199	3.467	3.262	4.043
.950	3206.231	1942.995	13123.836	3.506	3.288	4.118
.990	6312.518	3081.032	48343.027	3.800	3.489	4.684

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

## 6. สารสกัดจากขิงต้วยน้ำ

Parameter Estimates

	Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
PROBIT <sup>a</sup>	conc	.942	.340	2.775	.006	.277	1.608
	Intercept	-2.634	.971	-2.712	.007	-3.605	-1.663

a. PROBIT model:  $\text{PROBIT}(p) = \text{Intercept} + BX$  (Covariates X are transformed using the base 10.000 logarithm.)

Chi-Square Tests

		Chi-Square	df <sup>b</sup>	Sig.
PROBIT	Pearson Goodness-of-Fit Test	2.997	7	.885 <sup>a</sup>

a. Since the significance level is greater than .150, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

b. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

## Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for conc			95% Confidence Limits for log(conc) <sup>a</sup>		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT .010	2.121	.000	23.784	.326	-5.762	1.376
.020	4.128	.000	35.162	.616	-4.777	1.546
.030	6.299	.000	45.065	.799	-4.153	1.654
.040	8.656	.000	54.318	.937	-3.683	1.735
.050	11.210	.001	63.231	1.050	-3.301	1.801
.060	13.969	.001	71.963	1.145	-2.976	1.857
.070	16.943	.002	80.610	1.229	-2.690	1.906
.080	20.138	.004	89.233	1.304	-2.435	1.951
.090	23.565	.006	97.878	1.372	-2.203	1.991
.100	27.233	.010	106.576	1.435	-1.989	2.028
.150	49.566	.079	151.682	1.695	-1.104	2.181
.200	79.781	.397	200.945	1.902	-.402	2.303
.250	120.016	1.588	256.026	2.079	.201	2.408
.300	173.179	5.512	318.696	2.238	.741	2.503
.350	243.261	17.421	391.321	2.386	1.241	2.593
.400	335.821	51.666	477.801	2.526	1.713	2.679
.450	458.769	145.962	587.353	2.662	2.164	2.769
.500	623.637	381.213	765.740	2.795	2.581	2.884
.550	847.753	692.254	1435.801	2.928	2.840	3.157
.600	1158.125	898.239	3842.832	3.064	2.953	3.585
.650	1598.788	1109.615	11264.458	3.204	3.045	4.052
.700	2245.779	1368.194	35454.179	3.351	3.136	4.550
.750	3240.596	1706.443	122821.339	3.511	3.232	5.089
.800	4874.906	2176.535	491264.697	3.688	3.338	5.691
.850	7846.557	2885.332	2476364.320	3.895	3.460	6.394
.900	14281.413	4108.307	18980017.183	4.155	3.614	7.278
.910	16504.079	4473.739	31044521.923	4.218	3.651	7.492
.940	27840.940	6085.929	183902238.515	4.445	3.784	8.265
.950	34694.990	6926.872	388883287.159	4.540	3.841	8.590
.990	183397.068	18420.360	112417833012.107	5.263	4.265	11.051

a. Logarithm base = 10.

## 7. สารสกัดจากสะเดาด้วยน้ำ

Parameter Estimates

	Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
PROBIT <sup>a</sup>	conc	1.905	.360	5.289	.000	1.199	2.611
	Intercept	-5.888	1.034	-5.694	.000	-6.923	-4.854

a. PROBIT model:  $\text{PROBIT}(p) = \text{Intercept} + BX$  (Covariates X are transformed using the base 10.000 logarithm.)

Chi-Square Tests

		Chi-Square	df <sup>b</sup>	Sig.
PROBIT	Pearson Goodness-of-Fit Test	2.889	7	.895 <sup>a</sup>

a. Since the significance level is greater than .150, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

b. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

## Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for conc			95% Confidence Limits for log(conc) <sup>a</sup>		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT .010	74.067	19.013	138.776	1.870	1.279	2.142
.020	102.968	32.056	176.669	2.013	1.506	2.247
.030	126.906	44.644	205.952	2.103	1.650	2.314
.040	148.516	57.268	231.172	2.172	1.758	2.364
.050	168.780	70.119	253.978	2.227	1.846	2.405
.060	188.191	83.295	275.184	2.275	1.921	2.440
.070	207.040	96.861	295.260	2.316	1.986	2.470
.080	225.514	110.860	314.508	2.353	2.045	2.498
.090	243.742	125.328	333.134	2.387	2.098	2.523
.100	261.821	140.295	351.290	2.418	2.147	2.546
.150	352.094	223.446	438.333	2.547	2.349	2.642
.200	445.563	322.219	524.662	2.649	2.508	2.720
.250	545.295	437.857	616.695	2.737	2.641	2.790
.300	653.745	567.024	725.161	2.815	2.754	2.860
.350	773.404	695.788	872.561	2.888	2.842	2.941
.400	907.141	813.054	1080.794	2.958	2.910	3.034
.450	1058.505	926.329	1356.656	3.025	2.967	3.132
.500	1232.107	1044.563	1710.838	3.091	3.019	3.233
.550	1434.180	1173.529	2165.502	3.157	3.069	3.336
.600	1673.485	1318.319	2756.794	3.224	3.120	3.440
.650	1962.864	1485.031	3542.246	3.293	3.172	3.549
.700	2322.141	1682.275	4616.944	3.366	3.226	3.664
.750	2783.976	1923.526	6148.753	3.445	3.284	3.789
.800	3407.118	2232.084	8463.415	3.532	3.349	3.928
.850	4311.591	2653.700	12287.352	3.635	3.424	4.089
.900	5798.182	3297.802	19649.584	3.763	3.518	4.293
.910	6228.246	3475.344	22010.046	3.794	3.541	4.343
.940	8066.719	4200.221	33171.986	3.907	3.623	4.521
.950	8994.497	4548.644	39425.212	3.954	3.658	4.596
.990	20496.060	8307.702	145693.373	4.312	3.919	5.163

a. Logarithm base = 10.

## 8. สารสกัดจากกระเพราด้วยน้ำ

Parameter Estimates

	Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
PROBIT <sup>a</sup>	conc	2.686	.391	6.872	.000	1.920	3.452
	Intercept	-8.393	1.126	-7.450	.000	-9.519	-7.266

a. PROBIT model:  $\text{PROBIT}(p) = \text{Intercept} + BX$  (Covariates X are transformed using the base 10.000 logarithm.)

Chi-Square Tests

		Chi-Square	df <sup>b</sup>	Sig.
PROBIT	Pearson Goodness-of-Fit Test	4.310	7	.743 <sup>a</sup>

a. Since the significance level is greater than .150, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

b. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

## Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for conc			95% Confidence Limits for log(conc) <sup>a</sup>		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT .010	181.322	101.713	250.913	2.258	2.007	2.400
.020	229.053	140.844	301.373	2.360	2.149	2.479
.030	265.659	173.098	338.635	2.424	2.238	2.530
.040	297.004	202.094	369.762	2.473	2.306	2.568
.050	325.209	229.179	397.264	2.512	2.360	2.599
.060	351.317	255.023	422.362	2.546	2.407	2.626
.070	375.927	280.016	445.756	2.575	2.447	2.649
.080	399.421	304.405	467.893	2.601	2.483	2.670
.090	422.061	328.358	489.079	2.625	2.516	2.689
.100	444.034	351.993	509.539	2.647	2.547	2.707
.150	547.862	467.620	606.021	2.739	2.670	2.782
.200	647.437	580.549	702.163	2.811	2.764	2.846
.250	747.169	687.703	809.725	2.873	2.837	2.908
.300	849.759	785.356	938.252	2.929	2.895	2.972
.350	957.356	876.320	1090.056	2.981	2.943	3.037
.400	1072.028	965.808	1265.277	3.030	2.985	3.102
.450	1196.030	1057.574	1466.410	3.078	3.024	3.166
.500	1332.062	1154.345	1698.556	3.125	3.062	3.230
.550	1483.565	1258.638	1969.534	3.171	3.100	3.294
.600	1655.170	1373.320	2290.775	3.219	3.138	3.360
.650	1853.425	1502.113	2679.271	3.268	3.177	3.428
.700	2088.108	1650.325	3161.367	3.320	3.218	3.500
.750	2374.814	1826.171	3780.516	3.376	3.262	3.578
.800	2740.633	2043.588	4614.874	3.438	3.310	3.664
.850	3238.749	2329.326	5823.971	3.510	3.367	3.765
.900	3996.061	2745.559	7807.070	3.602	3.439	3.892
.910	4204.099	2856.682	8379.955	3.624	3.456	3.923
.940	5050.678	3296.978	10825.567	3.703	3.518	4.034
.950	5456.140	3501.906	12057.923	3.737	3.544	4.081
.990	9785.848	5523.928	27269.882	3.991	3.742	4.436

a. Logarithm base = 10.

## 9. สารสกัดจากมะกรูดด้วยน้ำ

Parameter Estimates

	Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
PROBIT <sup>a</sup>	conc	1.505	.343	4.389	.000	.833	2.177
	Intercept	-4.409	.982	-4.492	.000	-5.391	-3.428

a. PROBIT model:  $\text{PROBIT}(p) = \text{Intercept} + BX$  (Covariates X are transformed using the base 10.000 logarithm.)

Chi-Square Tests

		Chi-Square	df <sup>b</sup>	Sig.
PROBIT	Pearson Goodness-of-Fit Test	1.701	7	.975 <sup>a</sup>

a. Since the significance level is greater than .150, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

b. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

## Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for conc			95% Confidence Limits for log(conc) <sup>a</sup>		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT .010	24.218	1.552	69.517	1.384	.191	1.842
.020	36.751	3.295	92.817	1.565	.518	1.968
.030	47.885	5.312	111.513	1.680	.725	2.047
.040	58.432	7.607	128.031	1.767	.881	2.107
.050	68.702	10.187	143.264	1.837	1.008	2.156
.060	78.855	13.062	157.659	1.897	1.116	2.198
.070	88.983	16.242	171.474	1.949	1.211	2.234
.080	99.151	19.740	184.876	1.996	1.295	2.267
.090	109.405	23.570	197.982	2.039	1.372	2.297
.100	119.777	27.748	210.875	2.078	1.443	2.324
.150	174.280	54.502	273.988	2.241	1.736	2.438
.200	234.798	93.091	337.765	2.371	1.969	2.529
.250	303.213	147.110	404.866	2.482	2.168	2.607
.300	381.485	221.263	477.731	2.581	2.345	2.679
.350	471.945	321.220	559.956	2.674	2.507	2.748
.400	577.542	451.467	659.779	2.762	2.655	2.819
.450	702.145	604.212	803.132	2.846	2.781	2.905
.500	850.991	749.347	1046.849	2.930	2.875	3.020
.550	1031.390	883.911	1434.660	3.013	2.946	3.157
.600	1253.909	1026.384	2012.793	3.098	3.011	3.304
.650	1534.469	1189.428	2876.331	3.186	3.075	3.459
.700	1898.333	1384.735	4204.123	3.278	3.141	3.624
.750	2388.372	1628.542	6344.288	3.378	3.212	3.802
.800	3084.293	1948.445	10044.371	3.489	3.290	4.002
.850	4155.298	2399.230	17175.770	3.619	3.380	4.235
.900	6046.102	3114.882	33762.058	3.781	3.493	4.528
.910	6619.334	3317.300	39752.105	3.821	3.521	4.599
.940	9183.810	4164.301	71756.570	3.963	3.620	4.856
.950	10540.913	4582.223	92014.292	4.023	3.661	4.964
.990	29902.650	9439.017	604292.180	4.476	3.975	5.781

a. Logarithm base = 10.

## 10. สารสกัดจากตะไคร้ด้วยน้ำ

Parameter Estimates

	Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
PROBIT <sup>a</sup>	conc	1.923	.361	5.325	.000	1.215	2.631
	Intercept	-5.992	1.037	-5.779	.000	-7.028	-4.955

a. PROBIT model:  $\text{PROBIT}(p) = \text{Intercept} + BX$  (Covariates X are transformed using the base 10.000 logarithm.)

Chi-Square Tests

		Chi-Square	df <sup>b</sup>	Sig.
PROBIT	Pearson Goodness-of-Fit Test	9.546	7	.216 <sup>a</sup>

a. Since the significance level is greater than .150, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

b. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

## Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for conc			95% Confidence Limits for log(conc) <sup>a</sup>		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT .010	80.568	22.016	147.205	1.906	1.343	2.168
.020	111.670	36.865	187.083	2.048	1.567	2.272
.030	137.367	51.116	217.865	2.138	1.709	2.338
.040	160.527	65.353	244.356	2.206	1.815	2.388
.050	182.217	79.800	268.299	2.261	1.902	2.429
.060	202.972	94.575	290.555	2.307	1.976	2.463
.070	223.107	109.751	311.621	2.349	2.040	2.494
.080	242.825	125.379	331.816	2.385	2.098	2.521
.090	262.266	141.500	351.359	2.419	2.151	2.546
.100	281.535	158.145	370.410	2.450	2.199	2.569
.150	377.581	250.119	461.859	2.577	2.398	2.665
.200	476.790	358.289	553.113	2.678	2.554	2.743
.250	582.434	482.772	652.219	2.765	2.684	2.814
.300	697.114	616.393	774.213	2.843	2.790	2.889
.350	823.446	742.495	944.847	2.916	2.871	2.975
.400	964.430	857.787	1178.858	2.984	2.933	3.071
.450	1123.768	972.370	1481.280	3.051	2.988	3.171
.500	1306.259	1093.632	1865.475	3.116	3.039	3.271
.550	1518.385	1226.582	2355.893	3.181	3.089	3.372
.600	1769.244	1376.112	2991.066	3.248	3.139	3.476
.650	2072.159	1548.354	3831.738	3.316	3.190	3.583
.700	2447.680	1752.095	4977.891	3.389	3.244	3.697
.750	2929.622	2001.149	6605.507	3.467	3.301	3.820
.800	3578.753	2319.428	9055.078	3.554	3.365	3.957
.850	4519.057	2753.869	13083.434	3.655	3.440	4.117
.900	6060.754	3416.665	20796.066	3.783	3.534	4.318
.910	6506.038	3599.190	23260.050	3.813	3.556	4.367
.940	8406.620	4343.750	34869.928	3.925	3.638	4.542
.950	9364.172	4701.293	41350.437	3.971	3.672	4.616
.990	21178.468	8548.340	150234.030	4.326	3.932	5.177

a. Logarithm base = 10

ภาคผนวก ช  
ภาพประกอบการทำวิจัย



ภาพที่ จ-1 การเตรียมตัวอย่างสมุนไพรสด 5 ชนิด



ภาพที่ จ-2 ตัวอย่างผงสมุนไพรอบแห้ง 5 ชนิด



ภาพที่ จ-3 การคัดขนาดของสมุนไพรแห้งโดยใช้ตะแกรงร่อนขนาด mesh 100



ภาพที่ จ-4 วิธีการแช่ผงสมุนไพรโดยใช้ถุงชา



ภาพที่ จ-5 ตัวอย่างสารสกัดจากมะม่วงคุดในตัวทำละลายเอทานอล



ภาพที่ จ-6 ตัวอย่างสารสกัดจากมังคุดในตัวทำละลายเอทานอล



ภาพที่ จ-7 ตัวอย่างสารสกัดจากมังคุดในตัวทำละลายเอทานอล



ภาพที่ จ-8 ตัวอย่างสารสกัดจากตะไคร้ในตัวทำละลายเอทานอล



ภาพที่ จ-9 ตัวอย่างสารสกัดจากขิงระเหในตัวทำละลายเอทานอล



ภาพที่ จ-10 ตัวอย่างสารสกัดจากขิงระเหในตัวทำละลายน้ำกลั่น



ภาพที่ จ-11 ตัวอย่างสารสกัดจากมะกรูดในตัวทำละลายน้ำกลั่น



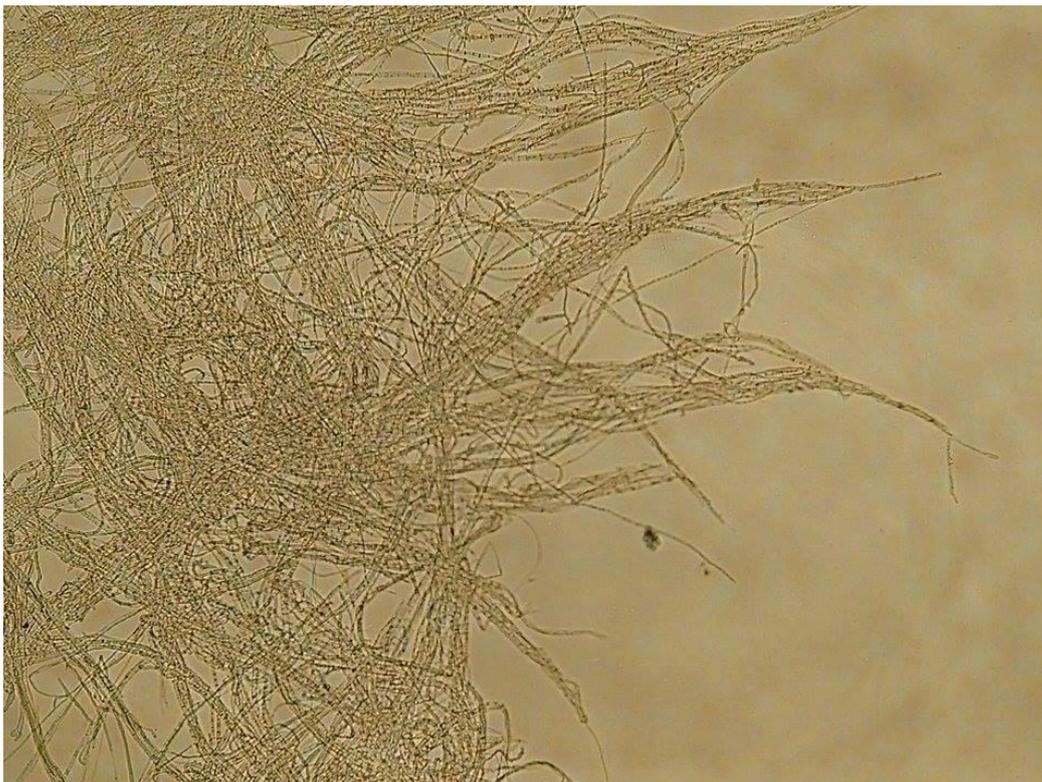
ภาพที่ จ-12 การเตรียมตัวอย่างเชื้อราทดสอบ โดยวิธี swap test



ภาพที่ จ-13 ตัวอย่างมะม่วงน้ำดอกไม้พันธุ์สีทอง เบอร์ 4



ภาพที่ จ-14 ตัวอย่างโรคแอนแทรกนอสในมะม่วงน้ำดอกไม้สีทอง



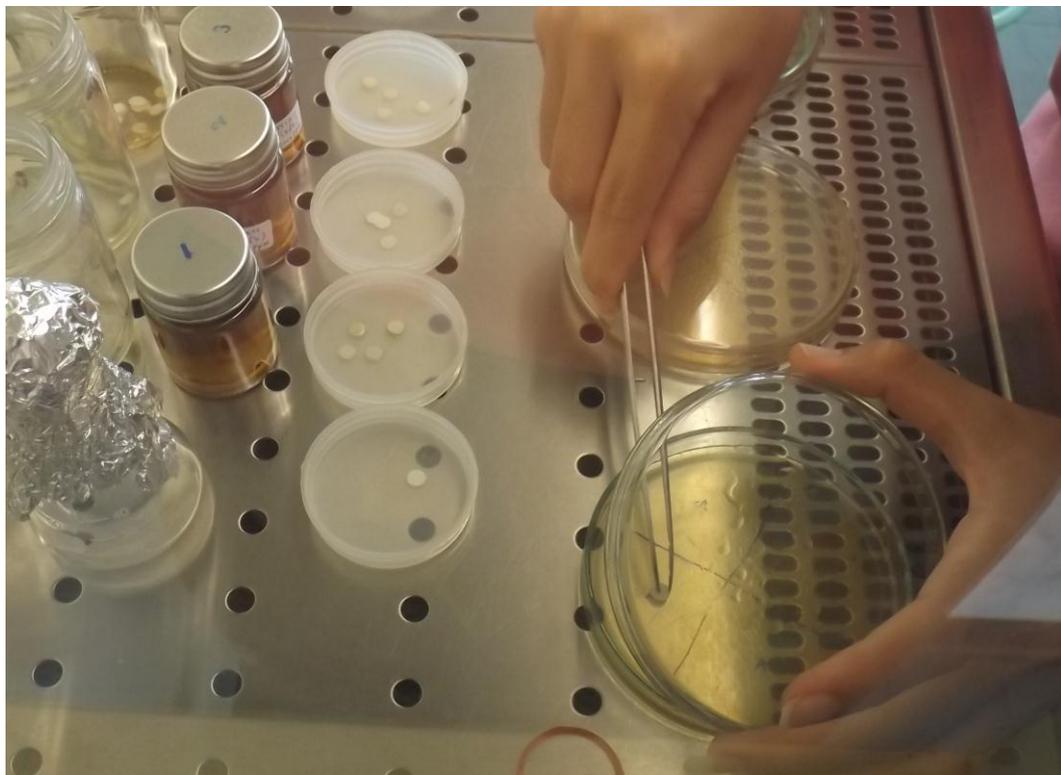
ภาพที่ จ-15 ลักษณะสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*



ภาพที่ จ-16 ลักษณะสปอร์ของเชื้อราที่ถูกย้อมยั้งด้วยสารสก็ดหยาบจากพืชสมุนไพรร



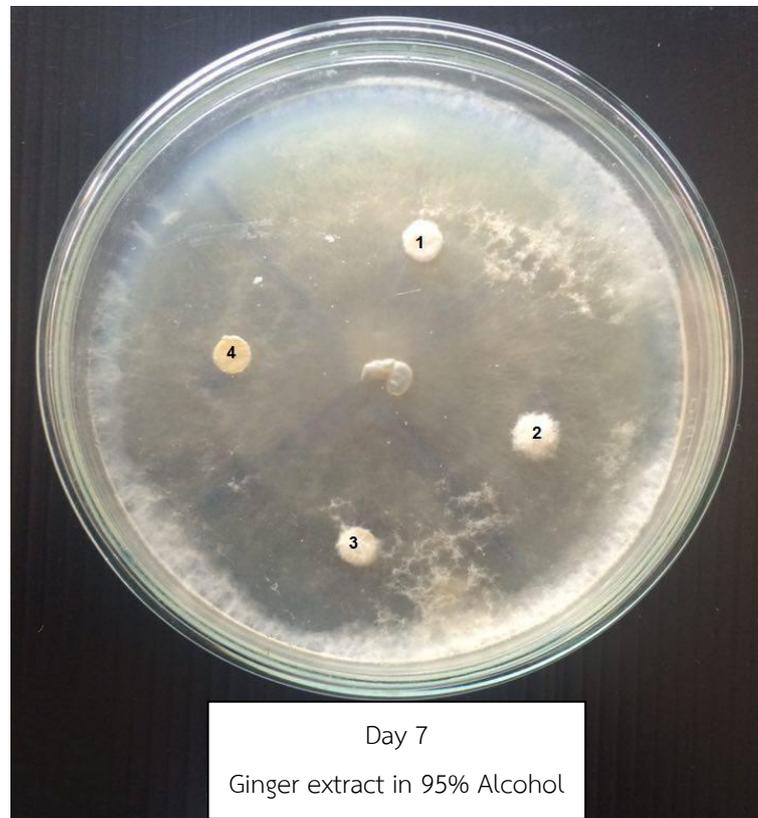
ภาพที่ จ-17 การเตรียม paper disc สำหรับการทดสอบเชื้อ



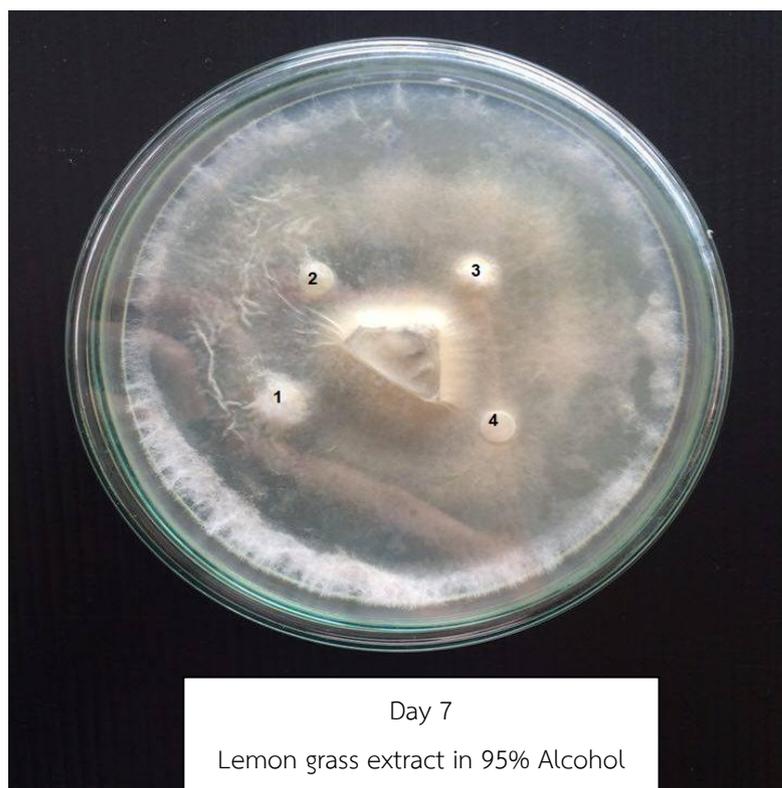
ภาพที่ จ-18 การวาง paper disc ทดสอบการยับยั้งเชื้อ



ภาพที่ จ-19 การยับยั้งการเจริญของเชื้อราด้วยสารสกัดจากกะเพราในแอลกอฮอล์



ภาพที่ จ-20 การยับยั้งการเจริญของเชื้อราด้วยสารสกัดจากขิงในแอลกอฮอล์



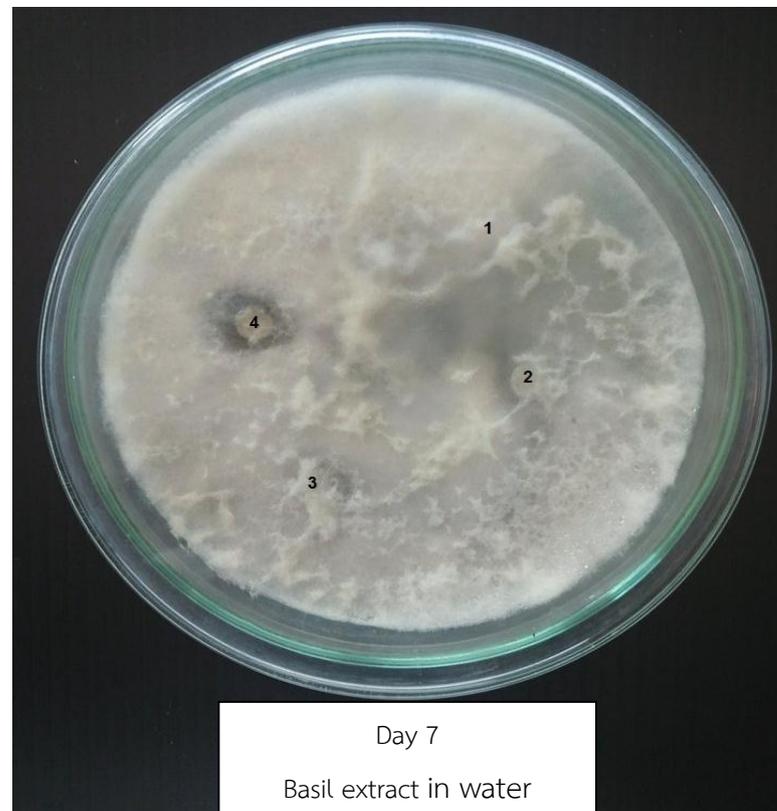
ภาพที่ จ-21 การยับยั้งการเจริญของเชื้อราด้วยสารสกัดจากตะไคร้ในแอลกอฮอล์



ภาพที่ จ-22 การยับยั้งการเจริญของเชื้อราด้วยสารสกัดจากมะกรูดในแอลกอฮอล์



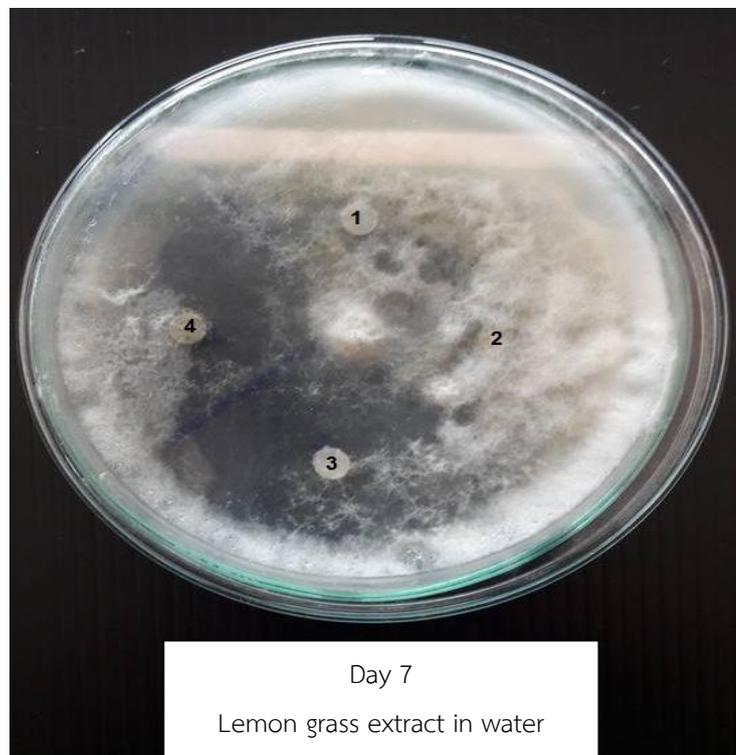
ภาพที่ จ-23 การยับยั้งการเจริญของเชื้อราด้วยสารสกัดจากสะเดาในแอลกอฮอล์



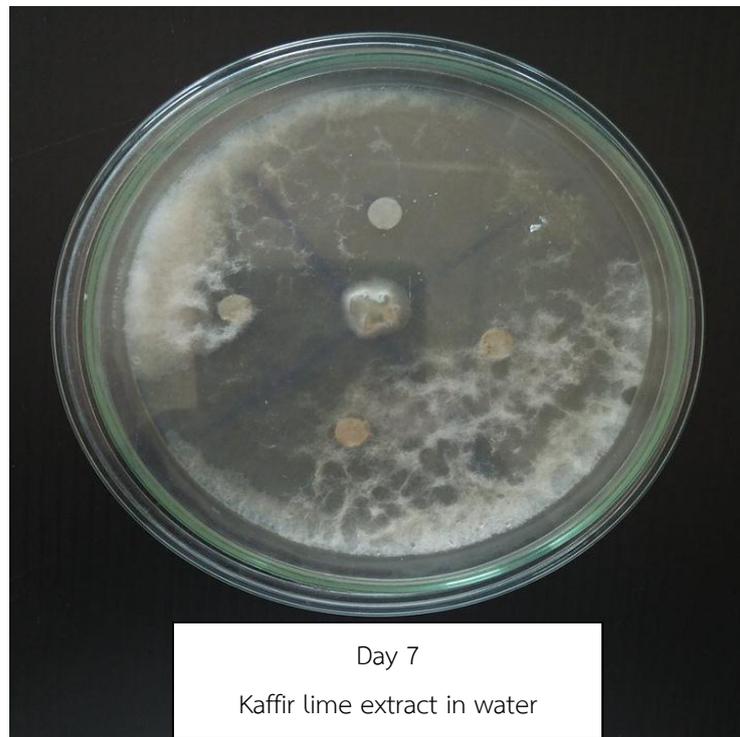
ภาพที่ จ-24 การยับยั้งการเจริญของเชื้อราด้วยสารสกัดจากกะเพราในน้ำกลั่น



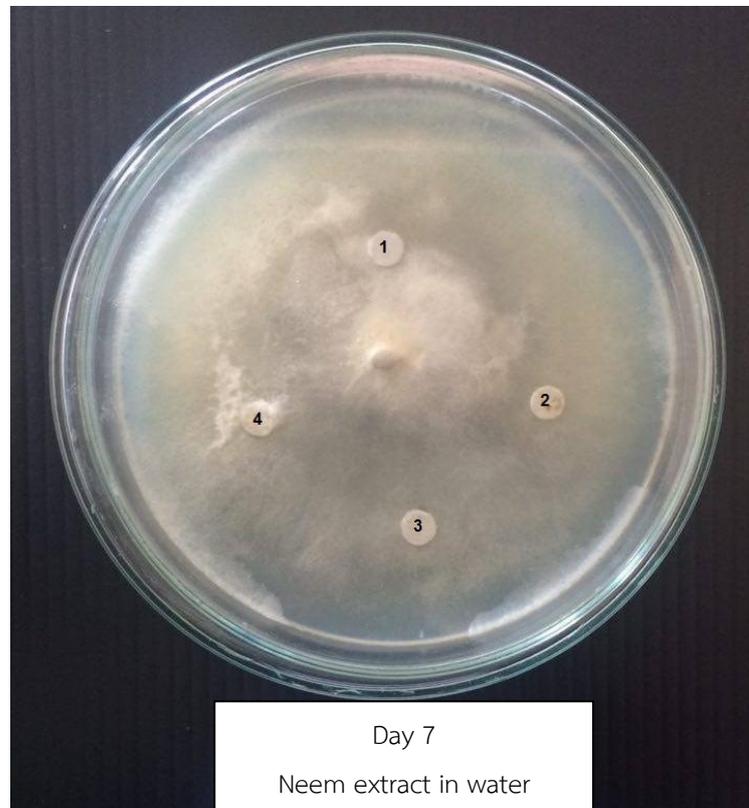
ภาพที่ จ-25 การยับยั้งการเจริญของเชื้อราด้วยสารสกัดจากขิงในน้ำกลั่น



ภาพที่ จ-26 การยับยั้งการเจริญของเชื้อราด้วยสารสกัดจากตะไคร้ในน้ำกลั่น



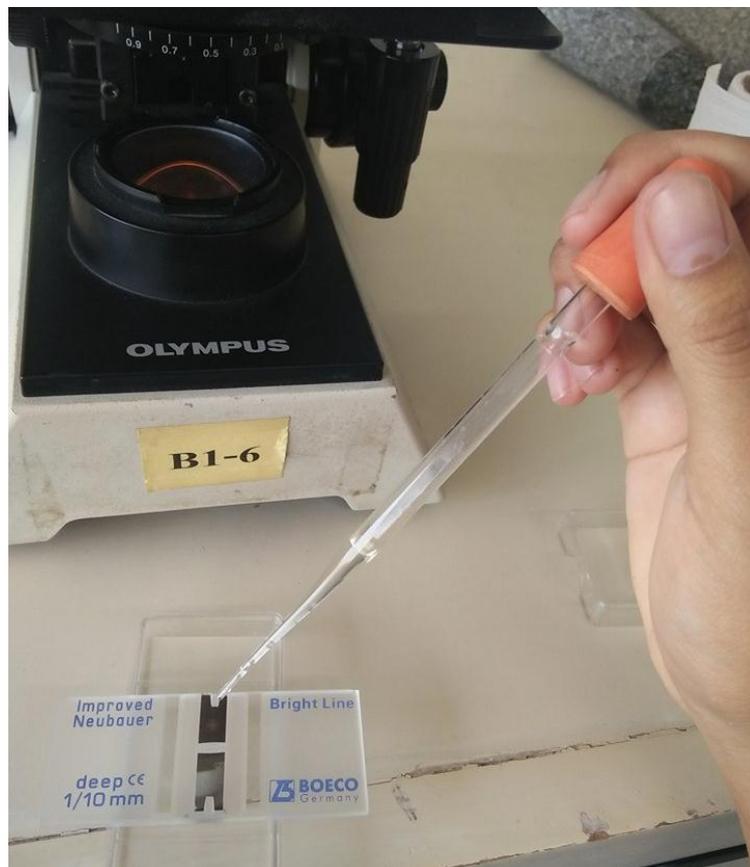
ภาพที่ จ-27 การยับยั้งการเจริญของเชื้อราด้วยสารสกัดจากมะกรูดในน้ำกลั่น



ภาพที่ จ-28 การยับยั้งการเจริญของเชื้อราด้วยสารสกัดจากสะเดาในน้ำกลั่น



ภาพที่ จ-29 การทดสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์รา



ภาพที่ จ-30 ตัวอย่างสารสกัดจากกะเพราในตัวทำละลายเอทานอล



## รายละเอียดของรายวิชา (มคอ.3)

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

หลักสูตรสาขาวิชาชีววิทยา

### หมวดที่ 1 ข้อมูลโดยทั่วไป

1. รหัสและชื่อรายวิชา BIOL502 ปฏิบัติการจุลชีววิทยา (Microbial Laboratory)
2. จำนวนหน่วยกิต 1 หน่วยกิต 1 (0-3-2)
3. หลักสูตรและประเภทของรายวิชา วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาชีววิทยา และวิชาเฉพาะด้านเอกบังคับ
4. อาจารย์ผู้รับผิดชอบรายวิชาและอาจารย์ผู้สอน อาจารย์ธนาวรรณ สุขเกษม
5. ภาคการศึกษา/ชั้นปีที่เรียน ระดับปริญญาตรี
6. รายวิชาที่ต้องเรียนมาก่อน (Pre-requisites) (ถ้ามี) BIOL101 ชีววิทยาเบื้องต้น BIOL102 ปฏิบัติการชีววิทยาเบื้องต้น
7. รายวิชาที่ต้องเรียนพร้อมกัน (Co-requisites) (ถ้ามี) ไม่มี
8. สถานที่เรียน คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์
9. วันที่จัดทำรายละเอียดของรายวิชา หรือวันที่มีการปรับปรุงครั้งล่าสุด วันที่ 28 ธันวาคม 2558

### หมวดที่ 2 จุดมุ่งหมายและวัตถุประสงค์

1. จุดมุ่งหมายของรายวิชา <ol style="list-style-type: none"><li>1. มีความรู้ความเข้าใจพื้นฐานเทคนิคในห้องปฏิบัติการ</li><li>2. มีความรู้ความเข้าใจเทคนิคการปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา เช่น เทคนิคปลอดเชื้อ การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ การนับจำนวนจุลินทรีย์ การแยกเชื้อบริสุทธิ์ การย้อมสีจุลินทรีย์ การศึกษาจุลินทรีย์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์</li><li>3. เพื่อให้นักศึกษาสามารถในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสามารถเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ได้</li><li>4. เพื่อให้นักศึกษาสามารถวินิจฉัยจุลินทรีย์เบื้องต้นได้</li><li>5. เพื่อให้ นักศึกษาวิเคราะห์คุณภาพของน้ำโดยใช้แบคทีเรียได้</li></ol>
---

## 2. วัตถุประสงค์ในการพัฒนา/ปรับปรุงรายวิชา

เพื่อให้สอดคล้องกับสาระวิชาในกรอบมาตรฐานหลักสูตรกลุ่มวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ สอดคล้องกับอัตลักษณ์และลักษณะที่พึงประสงค์ของนักศึกษาตามมาตรฐานผลการเรียนรู้ของหมวดวิชาเฉพาะและเปิดโอกาสให้แต่ละหลักสูตรได้เลือกเรียนวิชาในกลุ่มวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์มากขึ้น

### หมวดที่ 3 ลักษณะและการดำเนินการ

#### 1. คำอธิบายของรายวิชา

ศึกษาความรู้พื้นฐานของจุลชีววิทยา เปรียบเทียบเซลล์โพรคาริโอตและยูคาริโอต การจำแนกประเภท สัณฐานวิทยา สรีรวิทยา การเจริญเติบโต การสืบพันธุ์ การควบคุม ความสัมพันธ์ของจุลินทรีย์ต่ออาหาร น้ำ ดิน อากาศ อุตสาหกรรม การสุขาภิบาลโรคติดต่อและภูมิคุ้มกัน ภาคสนาม

Study basic knowledge of microbiology. Compare of prokaryote and eukaryote cell. Classification, morphology, physiology, growth, reproduction, control, microorganisms relationship to food, industry, water, soil, air, sanitation disease and resistance. Field study.

#### 2. จำนวนชั่วโมงที่ใช้ต่อภาคการศึกษา

หน่วยกิต	ชั่วโมงต่อภาคการศึกษา			
	ทฤษฎี	ปฏิบัติ	ศึกษาด้วยตนเอง	สอนเสริม
1(0-2-3)	0 x 15 = 0	3 x 15 = 45	2 x 15 = 30	-

#### 3. จำนวนชั่วโมงต่อสัปดาห์ที่อาจารย์ให้คำปรึกษาและแนะนำทางวิชาการแก่นักศึกษาเป็นรายบุคคล

- อาจารย์ประจำรายวิชาประกาศเวลาให้คำปรึกษาที่หน้าห้องทำงาน
- อาจารย์จัดเวลาให้คำปรึกษาเป็นรายบุคคล/กลุ่มตามความต้องการ 1 ชั่วโมงต่อสัปดาห์

#### ตารางการให้คำปรึกษาและแนะนำทางวิชาการแก่นักศึกษาเป็นรายบุคคล

วัน-เวลา ให้คำปรึกษา	สถานที่	หมายเลขโทรศัพท์	E-mail	รวมจำนวน ชั่วโมงต่อ สัปดาห์ที่ให้ คำปรึกษา
ทุกวันพุธ	อาคารสิรินธร ชั้น 4 ห้อง 408	056-717100 ต่อ 2710	Porkaewp@hotmail.com	1

## หมวดที่ 4 การพัฒนาผลการเรียนรู้ของนักศึกษา

1. ทักษะด้านคุณธรรม จริยธรรม		
1.1 ผลการเรียนรู้	1.2 กลยุทธ์/วิธีการสอน	1.3 กลยุทธ์/วิธีการประเมินผล
1. [o] มีความซื่อสัตย์ สุจริต	1. กำหนดให้มีวัฒนธรรมองค์กรเพื่อปลูกฝังความมีระเบียบวินัย เคารพในกฎระเบียบของมหาวิทยาลัย เช่น การเข้าชั้นเรียนตรงเวลา มีความซื่อสัตย์ไม่ทุจริตในการสอบหรือการลอกการบ้าน	1 ประเมินจากการตรงเวลาของนักศึกษาในการเข้าชั้นเรียน การส่งงานที่ได้รับมอบหมายตามกำหนดเวลา และการร่วมกิจกรรม
2. [●] มีระเบียบวินัย	2. ให้ความสำคัญในวินัย เช่น การตรงต่อเวลา การแต่งกาย การมีวินัยในห้องเรียน	2 ประเมินจากการมีวินัย และพร้อมเพรียงของนักศึกษาในการเข้าร่วมกิจกรรม
3. [o] มีจิตสำนึก และตระหนักในการปฏิบัติตามจรรยาบรรณทางวิชาการ และวิชาชีพ	3. สอดแทรกเรื่องการประพฤติตนที่เหมาะสม เช่น ไม่ส่งเสียงดัง ไม่รับประทานอาหารในห้องเรียน	3. สังเกตพฤติกรรมของนักศึกษาในการปฏิบัติ
4. [o] เคารพสิทธิ และความคิดเห็นของผู้อื่น	4. สอดแทรกเรื่องการเคารพกฎระเบียบและข้อบังคับต่างๆ	4. สังเกตพฤติกรรมของนักศึกษาในการปฏิบัติ
5. [o] มีจิตสาธารณะ	5. ปลูกฝังจิตสำนึก สอดแทรกธรรมะปฏิบัติตามจรรยาบรรณทางวิชาการ	5. สังเกตพฤติกรรมของนักศึกษาในการปฏิบัติ
2. ความรู้		
2.1 ผลการเรียนรู้	2.2 กลยุทธ์/วิธีการสอน	2.3 กลยุทธ์/วิธีการประเมินผล
1. [o] มีความรู้ในหลักการ และทฤษฎีทางด้านจุลชีววิทยา	1. จัดการเรียนการสอนที่มีลักษณะยึดผู้เรียนเป็นสำคัญโดยจัดกิจกรรมในลักษณะการบรรยาย ค้นคว้า เน้นทฤษฎี และกฎเกณฑ์ต่าง ๆ ในเชิงวิเคราะห์	1. ประเมินด้วยการสอบย่อย สอบปฏิบัติการ สอบกลางภาคการศึกษาและสอบปลายภาคการศึกษา
2. [●] มีความรู้พื้นฐานทางจุลชีววิทยาที่จะนำมาอธิบายหลักการและทฤษฎีในศาสตร์เฉพาะ	2. ภาคปฏิบัติ วิธีสอนโดยการสาธิต และการทดลอง	2. ประเมินจากการปฏิบัติกิจกรรมต่างๆ ของรายวิชา เช่น การนำเสนอ รายงาน โครงการวิจัย
3. [o] สามารถติดตามความก้าวหน้าทางวิชาการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งด้านจุลชีววิทยา	3. ภาคทฤษฎี วิธีสอนโดยการบรรยาย	3. การสอบข้อเขียน
4. [o] มีความรอบรู้ในศาสตร์ต่าง ที่จะนำไปใช้ในชีวิตประจำวัน	4. อภิปราย การสาธิต และการทดลอง	4. ประเมินโดย หักคะแนนจากการนำเสนอ การรายงานผลการทดลอง
3. ทักษะทางปัญญา		
3.1 ผลการเรียนรู้	3.2 กลยุทธ์/วิธีการสอน	3.3 กลยุทธ์/วิธีการประเมินผล
1. [●] สามารถคิดวิเคราะห์อย่างเป็นระบบ และมีเหตุ	1. การทำรายงาน และการนำเสนอ	1. ประเมินตามสภาพจริงจากผลงาน และการปฏิบัติของนักศึกษา

มีผลตามหลักการทางวิทยาศาสตร์		
2. [o] นำความรู้ทางวิทยาศาสตร์ และคณิตศาสตร์ ไปประยุกต์กับสถานการณ์ต่างๆ ได้อย่างถูกต้อง และเหมาะสม	2. การเรียนรู้ด้วยตนเองจากการปฏิบัติทดลอง	2. ประเมินผลการดำเนิน จากการรายงานผลการทดลอง และการแก้ปัญหา
3. [o] มีความใฝ่รู้ สามารถวิเคราะห์ และสังเคราะห์ ความรู้ จากแหล่งข้อมูลต่างๆ ที่หลากหลายได้อย่างถูกต้อง และสร้างสรรค์เพื่อนำไปสู่การสร้างนวัตกรรม	3. การฝึกให้นักศึกษามีโอกาสปฏิบัติจริง	3. ประเมินผลการดำเนิน จากการรายงานผลการทดลอง และการแก้ปัญหา
<b>4. ทักษะความสัมพันธ์ระหว่างบุคคล และความรับผิดชอบ</b>		
<b>4.1 ผลการเรียนรู้</b>	<b>4.2 กลยุทธ์/วิธีการสอน</b>	<b>4.3 กลยุทธ์/วิธีการประเมินผล</b>
1. [●] มีภาวะผู้นำ โดยสามารถทำงานร่วมกับผู้อื่น ในฐานะผู้นำ และสมาชิกที่ดี	1. จัดกิจกรรมให้การทำงานเป็นกลุ่ม โดยหมุนเวียนการเป็นผู้นำ และการทำงานที่ต้องประสานกับผู้อื่น	1. ประเมินจากพฤติกรรม และการแสดงออกของนักศึกษาในการนำเสนอรายงานในชั้นเรียน
2. [o] มีความรับผิดชอบ ต่อสังคม และองค์กร รวมทั้งพัฒนาตนเองและพัฒนางาน	2. ปลุกฝังให้มีการรับผิดชอบต่อหน้าที่ที่ได้รับมอบหมายในงานกลุ่ม	2. สังเกตจากพฤติกรรมที่แสดงออกจากการร่วมกิจกรรมต่าง ๆ
3. [o] สามารถปรับตัวเข้ากับสถานการณ์ และวัฒนธรรมขององค์กร	3. ฝึกการยอมรับความคิดเห็น การมีส่วนร่วมในการทำกิจกรรมกลุ่ม	3. ประเมินจากการสังเกตพฤติกรรมการระดมความคิด
<b>5. ทักษะการวิเคราะห์เชิงตัวเลข การสื่อสาร และการใช้เทคโนโลยีสารสนเทศ</b>		
<b>5.1 ผลการเรียนรู้</b>	<b>5.2 กลยุทธ์/วิธีการสอน</b>	<b>5.3 กลยุทธ์/วิธีการประเมินผล</b>
1. [●] สามารถประยุกต์ความรู้ทางจุลชีววิทยา เพื่อการวิเคราะห์ ประมวลผล การแก้ปัญหา และนำเสนอข้อมูลได้อย่างเหมาะสม	1. จัดกิจกรรมการเรียนการสอนด้วยการวิเคราะห์สถานการณ์จำลอง และเสมือนจริง	1. ประเมินจากเทคนิค และการใช้เทคโนโลยีในการนำเสนอ
2. [o] มีทักษะในการสื่อสารภาษาไทยได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมทั้งการเลือกใช้รูปแบบการสื่อสารได้อย่างเหมาะสม	2. การนำเสนอการแก้ปัญหาที่เหมาะสม ประยุกต์ใช้เทคโนโลยีสารสนเทศที่หลากหลายสถานการณ์	2. ประเมินจากความสามารถในการอภิปราย นำเสนอต่อชั้นเรียน
3. [o] มีทักษะและความรู้ภาษาอังกฤษ หรือภาษาต่างประเทศอื่น เพื่อการค้นคว้า ได้อย่างเหมาะสม และจำเป็น	3. มอบหมายงานให้อ่านบทความภาษาอังกฤษ	3. ประเมินผลจากรายงานผลการอ่านและการแปล
4. [o] สามารถใช้เทคโนโลยีสารสนเทศ ในการสืบค้น และเก็บรวบรวมข้อมูลได้อย่างมีประสิทธิภาพ และเหมาะสมกับสถานการณ์	4. มอบหมายงานให้ค้นคว้าองค์ความรู้จากแหล่งข้อมูลต่างๆ นำมาเขียนในรายงาน	4. ประเมินจากรายงานผลการทดลอง ที่แสดงแหล่งข้อมูลที่ค้นคว้า

## หมวดที่ 5 แผนการสอนและการประเมินผล

### 1. แผนการสอน (ป. = ปฏิบัติ, ศ. = ศึกษาด้วยตนเอง ,)

สัปดาห์ ที่	หัวข้อ/รายละเอียด	ชั่วโมง สอนต่อ สัปดาห์		กิจกรรม การสอน	สื่อที่ใช้ ในการสอน	ผู้สอน
		ป.	ศ.			
1	<b>ปฐมนิเทศการเรียนรู้ (Pre-school)</b> - แนะนำการเรียนและการประเมินผล - แนะนำแหล่งเรียนรู้และเอกสารการค้นคว้า - วิเคราะห์ความรู้พื้นฐานผู้เรียน - วิเคราะห์รูปแบบการเรียนรู้ผู้เรียน	3	2	- บรรยายประกอบ สื่อการสอน - อภิปรายซักถาม	-Power point -คลิป์วิดีโอ -เอกสารประกอบการ บรรยาย -หนังสือ	อ.ธนาวรรณ สุขเกษม
2	<b>ปฏิบัติการบทที่ 1 บทนำ</b> - ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับปฏิบัติการจุลชีววิทยา - วิธีการปฏิบัติที่ถูกต้องในการทำปฏิบัติการด้าน จุลชีววิทยา	3	2	- บรรยายประกอบสื่อ การสอน - อภิปรายซักถาม	-Power point -คลิป์วิดีโอ -เอกสารประกอบการ บรรยาย -หนังสือ	อ.ธนาวรรณ สุขเกษม
3	<b>ปฏิบัติการบทที่ 2 อุปกรณ์และเครื่องมือ</b> - อุปกรณ์ที่เกี่ยวข้องในการทำปฏิบัติการจุล ชีววิทยา	3	2	- บรรยายประกอบสื่อ การสอน - อภิปรายซักถาม - แบบฝึกหัด - ทดสอบย่อยครั้งที่ 1	-Power point -คลิป์วิดีโอ -เอกสารประกอบการ บรรยาย -หนังสือ	อ.ธนาวรรณ สุขเกษม
4	<b>ปฏิบัติการบทที่ 3 การใช้กล้องจุลทรรศน์</b>	3	2	- บรรยายประกอบสื่อ การสอน - อภิปรายซักถาม	-Power point -คลิป์วิดีโอ -เอกสารประกอบการ บรรยาย -หนังสือ	อ.ธนาวรรณ สุขเกษม

สัปดาห์ที่	หัวข้อ/รายละเอียด	ชั่วโมงสอนต่อสัปดาห์		กิจกรรมการสอน	สื่อที่ใช้ในการสอน	ผู้สอน
		ป.	ศ.			
5	ปฏิบัติการบทที่ 4 เทคนิคการถ่ายเชื่อบริสุทธิ์	3	2	- บรรยายประกอบสื่อการสอน - อภิปรายซักถาม	-Power point -คลิป์วิดีโอ -เอกสารประกอบการบรรยาย -หนังสือ	อ.ธนาวรรณ สุขเกษม
6	ปฏิบัติการบทที่ 5 การย้อมสีโครงสร้างของแบคทีเรียบางชนิด	3	2	- บรรยายประกอบสื่อการสอน - อภิปรายซักถาม	-Power point -คลิป์วิดีโอ -เอกสารประกอบการบรรยาย -หนังสือ	อ.ธนาวรรณ สุขเกษม
7	ปฏิบัติการบทที่ 6 การเตรียมอุปกรณ์สำหรับการปฏิบัติการทางด้านจุลชีววิทยา	3	2	- บรรยายประกอบสื่อการสอน - อภิปรายซักถาม	-Power point -คลิป์วิดีโอ -เอกสารประกอบการบรรยาย -หนังสือ	อ.ธนาวรรณ สุขเกษม
8	ปฏิบัติการบทที่ 7 อาหารเลี้ยงเชื้อและการทำให้ปราศจากเชื้อ	3	2	- บรรยายประกอบสื่อการสอน - อภิปรายซักถาม	-Power point -คลิป์วิดีโอ -เอกสารประกอบการบรรยาย -หนังสือ	อ.ธนาวรรณ สุขเกษม
9	ปฏิบัติการบทที่ 7 อาหารเลี้ยงเชื้อและการทำให้ปราศจากเชื้อ (ต่อ)	3	3	- บรรยายประกอบสื่อการสอน - อภิปรายซักถาม - ทดสอบกลางภาค	-Power point -คลิป์วิดีโอ -เอกสารประกอบการบรรยาย -หนังสือ	อ.ธนาวรรณ สุขเกษม
10	ปฏิบัติการบทที่ 8 แหล่งอาศัยของจุลินทรีย์	3	2	- บรรยายประกอบสื่อการสอน - อภิปรายซักถาม	-Power point -คลิป์วิดีโอ -เอกสารประกอบการบรรยาย -หนังสือ	อ.ธนาวรรณ สุขเกษม

สัปดาห์ที่	หัวข้อ/รายละเอียด	ชั่วโมงสอนต่อสัปดาห์		กิจกรรมการสอน	สื่อที่ใช้ในการสอน	ผู้สอน
		ป.	ศ.			
11	ปฏิบัติการบทที่ 9 เทคนิคการตรวจนับจุลินทรีย์	3	2	- บรรยายประกอบสื่อการสอน - อภิปรายซักถาม	-Power point -คลิปวีดีโอ -เอกสารการบรรยาย -หนังสือ	อ.ธนาวรรณ สุขเกษม
12	ปฏิบัติการบทที่ 10 เทคนิคการแยกเชื้อบริสุทธิ์	3	2	- บรรยายประกอบสื่อการสอน - อภิปรายซักถาม - ทดสอบย่อยครั้งที่ 2	-Power point -คลิปวีดีโอ -เอกสารการบรรยาย -หนังสือ	อ.ธนาวรรณ สุขเกษม
13	ปฏิบัติการบทที่ 11 การตรวจสอบการเจริญของจุลินทรีย์โดยการวัดความขุ่น	3	2	- บรรยายประกอบสื่อการสอน - อภิปรายซักถาม	-Power point -คลิปวีดีโอ -เอกสารการบรรยาย -หนังสือ	อ.ธนาวรรณ สุขเกษม
14	ปฏิบัติการบทที่ 12 การกำจัดและการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์	3	2	- บรรยายประกอบสื่อการสอน - บูรณาการร่วมกับงานวิจัยเรื่อง “การศึกษาสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรท้องถิ่น 5 ชนิด ต่อการยับยั้งเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (Penz.) Sacc. ในมะม่วงน้ำดอกไม้” - อภิปรายซักถาม	-Power point -คลิปวีดีโอ -เอกสารการบรรยาย -หนังสือ	อ.ธนาวรรณ สุขเกษม
15	ปฏิบัติการบทที่ 13 การตรวจคุณภาพน้ำดื่มทางจุลชีววิทยา	3	2	- บรรยายประกอบสื่อการสอน - อภิปรายซักถาม	-Power point -คลิปวีดีโอ -เอกสารการบรรยาย -หนังสือ	อ.ธนาวรรณ สุขเกษม
16	- สอบปลายภาค					

2. แผนการประเมินผลการเรียนรู้					
กิจกรรม ที่	การเรียนรู้ ด้าน	ผลการเรียนรู้	วิธีการประเมิน	สัปดาห์ ที่ ประเมิน	สัดส่วนของ การประเมิน
1	คุณธรรม จริยธรรม	1. [●] มีความเสียสละ และซื่อสัตย์สุจริต 2. [o] มีวินัยตรงต่อเวลา และมีความ รับผิดชอบทั้งต่อตนเอง วิชาชีพและสังคม 3. [o] เคารพสิทธิและรับฟังความคิดเห็น ของผู้อื่นรวมทั้งเคารพในคุณค่าและ ศักดิ์ศรีของความเป็นมนุษย์ 4. [●] เคารพกฎระเบียบและข้อบังคับต่าง ๆ ขององค์กรและสังคม 5. [o] มีจรรยาบรรณทางวิชาการและ วิชาชีพ	1. ประเมินจากการตรงเวลาของ นักศึกษาในการเข้าชั้นเรียน การส่ง งานที่ได้รับมอบหมายตาม กำหนดเวลา และการร่วมกิจกรรม 2. ประเมินจากการมีวินัย และพร้อม เพียรของนักศึกษาในการเข้าร่วม กิจกรรม 3. ประเมินจากการกระทำทุจริตใน การสอบ และความรับผิดชอบต่อ หน้าที่ที่ได้รับมอบหมาย 4. ประเมินจากความร่วมมือในการ แต่งกายที่ถูกระเบียบ i.	1-15	10%
2	ความรู้	1. [●] มีความรู้ ในหลักการ และทฤษฎี ทางด้าน จุลชีววิทยา 2. [o] มีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับหลักการ และทฤษฎีของเครื่องมือวิทยาศาสตร์ 3. [o] มีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับสิ่งมีชีวิต รวมทั้งกฎระเบียบข้อบังคับที่เกี่ยวข้อง	1. ประเมินด้วยการสอบย่อย สอบ ปฏิบัติการ สอบกลางภาคการศึกษา และสอบปลายภาคการศึกษา 2. ประเมินจากการปฏิบัติกิจกรรม ต่างๆ ของรายวิชา เช่น การนำเสนอ รายงาน โครงการวิจัย 3. ประเมินจากการแก้ปัญหาที่ได้รับ มอบหมาย	- 8,10,16 -6,12 - 4, 12 - 14	70%
3	ทักษะทางปัญญา	1. [o] มีทักษะในการจัดการประมวล ความคิดอย่างเป็นระบบ 2. [●] สามารถนำความรู้ ความเข้าใจ เกี่ยวกับหลักการและทฤษฎีที่สำคัญทาง ชีววิทยามาใช้แก้ปัญหาทางวิทยาศาสตร์ได้ อย่างเป็นระบบ 3. [o] มีมีทักษะในการทำปฏิบัติการด้วย วิธีมาตรฐานที่ทันสมัย 4. [o] มีสมรรถนะในการวางแผนการทำ วิจัย ออกแบบปฏิบัติการ รวมถึงเลือกใช้ เครื่องมือ เทคนิคที่เหมาะสมเป็นปัจจุบัน	1. ประเมินตามสภาพจริงจากผลงาน และการปฏิบัติของนักศึกษา 2. ประเมินจากการนำเสนอรายงาน หน้าชั้นเรียน การทดสอบ การ สัมภาษณ์ การทดลอง	-14	10%

กิจกรรม ที่	การเรียนรู้ ด้าน	ผลการเรียนรู้	วิธีการประเมิน	สัปดาห์ ที่ ประเมิน	สัดส่วนของ การประเมิน
4	ทักษะ ความสัมพันธ์ ระหว่างบุคคลและ ความรับผิดชอบ	1. [o] สามารถสื่อสารกับบุคคลอื่นได้อย่าง มีประสิทธิภาพ 2. [●] สามารถทำงานร่วมกับผู้อื่นและ เคารพในความแตกต่าง และการปฏิบัติต่อ ผู้อื่นอย่างเป็นกัลยาณมิตร 3. [o] มีความรับผิดชอบในการทำงาน สามารถทำงานเป็นทีม และมีส่วนร่วมใน ภารกิจกรรรม การเรียน การแสวงหาความรู้	1. ประเมินจากพฤติกรรม และกา แสดงออกของนักศึกษาในการ นำเสนอรายงานในชั้นเรียน 2. สังเกตจากพฤติกรรมที่แสดงออก จากการร่วมกิจกรรมต่าง ๆ	1-15	5%
5	ทักษะการวิเคราะห์ เชิงตัวเลข การ สื่อสาร และการใช้ เทคโนโลยี สารสนเทศ	1. [●] สามารถนำเสนอผลงาน รายงาน โดยใช้เทคโนโลยีสารสนเทศ คณิตศาสตร์ และสถิติพื้นฐาน 2. [o] สามารถใช้ภาษา เทคโนโลยี สารสนเทศ คณิตศาสตร์และสถิติพื้นฐาน ในการสื่อสารการเรียนรู้ และการจัด กิจกรรมอย่างมีประสิทธิภาพ 3. [o] สามารถค้นคว้าความรู้โดยใช้ เทคโนโลยีสารสนเทศและนำมา ประยุกต์ใช้ในกิจกรรมการเรียนการสอน	1. ประเมินจากเทคนิค และการใช้ เทคโนโลยีในการนำเสนอ 2. ประเมินจากความสามารถในการ อภิปราย นำเสนอต่อชั้นเรียน	1-15	5%

### หมวดที่ 6 ทรัพยากรประกอบการเรียนการสอน

<p><b>1. ตำราและเอกสารหลัก</b></p> <p>ธีรพร กงบังเกิด. (2546). <b>จุลชีววิทยาทางอาหาร</b>. พิษณุโลก: คณะเกษตรศาสตร์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร.</p> <p>นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ. (2544). <b>จุลชีววิทยาทั่วไป</b> (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพฯ: เท็กซ์ แอนด์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชัน จำกัด.</p> <p>บุญส่ง แสงอ่อน. (2547). <b>หลักจุลชีววิทยาทางอาหารภาคปฏิบัติ</b>. พิษณุโลก: คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร.</p> <p>ภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร. (2545). <b>คู่มือปฏิบัติการจุลชีววิทยาทั่วไป</b>. พิษณุโลก: คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร.</p>
<p><b>2. เอกสารและข้อมูลสำคัญ</b></p> <p>Tortora, G. J., Funke, B. R., Case, C. L. (2006). <b>Microbiology : an introduction. United States of America: Pearson Benjamin Cummings.</b></p>
<p><b>3. เอกสารและข้อมูลแนะนำ</b></p> <p>เว็บไซต์ที่เกี่ยวข้องกับหัวข้อในประมวลรายวิชา เช่น Wikipedia คำอธิบายศัพท์</p>

## หมวดที่ 7 การประเมินและปรับปรุงการดำเนินการของรายวิชา

<p><b>1. กลยุทธ์การประเมินประสิทธิผลของรายวิชาโดยนักศึกษา</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1.1 การสนทนากลุ่มระหว่างผู้สอนและผู้เรียน</li> <li>1.2 การสังเกตการณ์จากพฤติกรรมของผู้เรียน</li> <li>1.3 แบบประเมินผู้สอนและแบบประเมินรายวิชา</li> <li>1.4 ข้อเสนอแนะผ่านเว็บไซต์ที่อาจารย์ผู้สอนได้จัดทำเป็นช่องทางการสื่อสารกับนักศึกษา</li> </ol>
<p><b>2. กลยุทธ์การประเมินการสอน</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>2.1 สังเกตการสอนของผู้ร่วมทีมการสอน</li> <li>2.2 ผลการสอบ</li> <li>2.3 การทวนสอบผลประเมินการเรียนรู้</li> <li>2.4 การตอบสนองและการมีส่วนร่วมในการทำกิจกรรม</li> </ol>
<p><b>3. การปรับปรุงการสอน</b></p> <p>หลังจากผลการประเมินการสอนในข้อ 2 จึงมีการปรับปรุงการสอนโดยการจัดกิจกรรมในการระดมสมองและหาข้อมูลเพิ่มเติมในการปรับปรุงการสอน ดังนี้</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>3.1 สัมมนาการจัดการเรียนการสอน</li> <li>3.2 การวิจัยในและนอกชั้นเรียน</li> <li>3.3 วัสดุการสอนที่มีความหลากหลาย</li> </ol>
<p><b>4. การทวนสอบมาตรฐานผลสัมฤทธิ์ของนักศึกษาในรายวิชา</b></p> <p>ในระหว่างกระบวนการสอนรายวิชา มีการทวนสอบผลสัมฤทธิ์ในรายหัวข้อ ตามที่คาดหวังจากการเรียนรู้ในวิชา ได้จากการสอบถามนักศึกษา หรือการสุ่มตรวจผลงานของนักศึกษา รวมถึงพิจารณาจากผลการทดสอบย่อย และหลังการออกผลการเรียนรายวิชา มีการทวนสอบผลสัมฤทธิ์โดยรวมในวิชาได้ ดังนี้</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>4.1 การทวนสอบการให้คะแนนจากการสุ่มตรวจผลงานของนักศึกษาโดยอาจารย์อื่น หรือผู้ทรงคุณวุฒิ ที่ไม่ใช่อาจารย์ประจำหลักสูตร</li> <li>4.2 ทวนสอบจากการประเมินพฤติกรรมของผู้เรียน (ลักษณะนิสัย ได้แก่ การเข้าเรียน และการสังเกตพฤติกรรม) โดยอาจารย์ผู้รับผิดชอบรายวิชา</li> <li>4.3 มีการตั้งคณะกรรมการในสาขาวิชาตรวจสอบผลการประเมินการเรียนรู้ของนักศึกษา โดยตรวจสอบข้อสอบ รายงานวิธีการให้คะแนนสอบและการให้คะแนนพฤติกรรม รวมถึงประเมินผลการเรียน</li> </ol>
<p><b>5. การดำเนินการทบทวนและการวางแผนปรับปรุงประสิทธิผลของรายวิชา</b></p> <p>จากผลการประเมิน และทวนสอบผลสัมฤทธิ์ประสิทธิผลรายวิชา ได้มีการวางแผนการปรับปรุงการสอน และรายละเอียดวิชาเพื่อให้เกิดคุณภาพมากขึ้น ดังนี้</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>5.1 ปรับปรุงรายวิชาทุก 3 ปีหรือตามข้อเสนอแนะและผลการทวนสอบมาตรฐานผลสัมฤทธิ์ตามข้อ 4</li> <li>5.2 เปลี่ยนหรือสลับอาจารย์ผู้สอน เพื่อให้นักศึกษามีมุมมองในเรื่องการประยุกต์ความรู้กับปัญหาที่มาจากงานวิจัยของอาจารย์หรืออุตสาหกรรมต่าง ๆ</li> <li>5.3 นำผลประเมินจากนักศึกษามาปรับปรุงแก้ไขในการสอน</li> </ol>



ภาคผนวก ซ  
ประวัตินักวิจัย

1. ชื่อ-นามสกุล

นางสาวธนาวรรณ สุขเกษม  
Miss Tanawan Sukkasem

2. หมายเลขบัตรประจำตัวประชาชน

5670700001447

3. ตำแหน่งปัจจุบัน

อาจารย์

4. ตำแหน่งทางวิชาการ

-

5. หน่วยงานและสถานที่ติดต่อได้สะดวก

โปรแกรมวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี  
มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ อ.เมือง จ. เพชรบูรณ์ 76000  
โทรศัพท์ 056-717100 ต่อ 1410, 086-3152221 E-mail : tan\_awan@hotmail.com

6. ประวัติการศึกษา

กศ.บ. (ธุรกิจการเกษตร)	มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมมาธิราช
บช.บ. (บัญชี)	มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์
วท.บ. (เทคโนโลยีชีวภาพทางอุตสาหกรรมเกษตร)	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
วทม. (อุตสาหกรรมเกษตร)	มหาวิทยาลัยนเรศวร

7. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม เทคโนโลยีชีวภาพ การใช้ประโยชน์จากของเสีย อาหาร และโภชนาการ  
สุขภาพ

8. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัย

- วิทยานิพนธ์ เรื่อง “การศึกษาวิธีการยืดอายุการเก็บรักษาส้มโอตัดแต่งโดยใช้ฟิล์มห่อหุ้มและสารเคลือบผิว”
- โครงการวิจัย เรื่อง “การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อกระบวนการผลิตเอนไซม์ Xylanase โดยใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร”
- ทุนวิจัยเพื่อพัฒนา เรื่อง ข้าวหอมมะลิเสริมสมุนไพรไทยพื้นบ้านภายในท้องถิ่น
- ทุนวิจัยภายในมหาวิทยาลัย ปี 2553 เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์ข้าวแตนเคลือบสาหร่ายสไปรูลิน่าเพื่อสุขภาพ

- ทุนวิจัย วช. ปี 2553 เรื่อง การศึกษาระบบนิเวศบริเวณสวนรุกขชาติผาเมืองเพื่อใช้เป็นฐานข้อมูลในการรักษาระบบนิเวศให้สมดุล เหมาะสมกับการใช้เป็นแหล่งศึกษาความหลากหลายของชีวภาพในชุมชน
- ทุนวิจัยในชั้นเรียน เรื่อง ความพึงพอใจของนักศึกษาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหารในระดับชั้นปีที่ 3 ที่มีต่อรูปแบบการจัดกิจกรรมการเรียนการสอนที่เน้นผู้เรียนเป็นสำคัญในรายวิชา วิศวกรรมอาหาร 1
- ทุนวิจัย สกอ. ปี 2556 โครงการชุด เรื่อง ความหลากหลายชนิดของเห็ดในป่าชุมชนพัฒนารพวงษ์จังหวัดเพชรบูรณ์และแนวทางการนำมาใช้ประโยชน์
- ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ปี 2556 เรื่อง สารสกัดเพคตินจากกะหล่ำปลี (*Brassica oleracea* L. var *capitata* L.) ภูทับเบิก ตำบลวังบาล อำเภอหล่มเก่า จังหวัดเพชรบูรณ์
- ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ปี 2557 เรื่อง การประเมินคุณค่าทางโภชนาการของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากเปลือกสัปรดที่เหลือทิ้ง ที่หมักโดยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 และ *Gluconobacter oxydans* TISTR 402
- ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ปี 2558 หัวหน้าโครงการวิจัย เรื่อง การศึกษาสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรท้องถิ่น 5 ชนิด ต่อการยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. ในมะม่วงน้ำดอกไม้
- ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ปี 2558 ผู้ร่วมวิจัยแผนงานวิจัย เรื่อง การพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวมะม่วงน้ำดอกไม้และปรับปรุงคุณภาพเพื่อเพิ่มศักยภาพการส่งออก
- ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ปี 2559 หัวหน้าโครงการวิจัย เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากมะขาม (*Tamarindus indica* L.) และแนวทางการสร้างมูลค่าเพิ่มเชิงพาณิชย์
- ทุนวิจัย สกอ. ปี 2559 หัวหน้าโครงการวิจัย เรื่อง ความหลากหลายชนิดของแมลงกินได้ และพฤติกรรมการบริโภคอาหารที่ปรุงจากแมลงกินได้ตามภูมิปัญญาท้องถิ่น
- ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ปี 2559 ผู้ร่วมวิจัย โครงการวิจัย เรื่อง การส่งเสริมการจัดทำคาร์บอนฟุตพริ้นท์ในจังหวัดเพชรบูรณ์ เพื่อมุ่งสู่การเป็นเมืองคาร์บอนต่ำ

## 9. ประสบการณ์ในการเผยแพร่ผลงานวิจัยและทางวิชาการ

- ชนาวรรณ สุขเกษม. 2552. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ข้าวแตนเคลือบสาหร่ายสไปรูulina เพื่อสุขภาพ. วารสารเพชรบูรณ์วิจัย. ปีที่ 2 หน้า 40 – 48. เพชรบูรณ์.
- ชนาวรรณ สุขเกษม. 2558. การประเมินคุณค่าทางโภชนาการของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากเปลือกสัปรดที่เหลือทิ้งที่หมักโดยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 และ *Gluconobacter oxydans* TISTR 402. การประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ครั้งที่ 2 “งานวิจัยเพื่อพัฒนาท้องถิ่น”, หน้า 41, เพชรบูรณ์.