เชื้อรา *Aspergillus* ที่สร้างแอฟลาทอกซินในพืชสมุนไพรตากแห้ง

Aflatoxin-producing *Aspergillus* in Sun-dried Medicinal Plant Materials

อัจฉรา พัฒนเดช

Augchara Patthanadech

Order Key 28662
BIB Key 176980

ว
เลขหมู่ QK625.M7 อ62 2543 ฉ.2
เลขทะเบียน
21 มิ.ย. 2543

วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Master of Science Thesis in Plant Pathology

Prince of Songkla University

2543

ชื่อวิทยานิพนธ์	เชื้อรา *Aspergillus* ที่สร้างแอฟลาทอกซินในพืชสมุนไพรตากแห้ง
ผู้เขียน	นางสาวอัจฉรา พัฒนเดช
สาขาวิชา	โรคพืชวิทยา

คณะกรรมการที่ปรึกษา	คณะกรรมการสอบ
....................................ประธานกรรมการ (รองศาสตราจารย์ ดร.วสันณ์ เพชรรัตน์)	....................................ประธานกรรมการ (รองศาสตราจารย์ ดร.วสันณ์ เพชรรัตน์)
....................................กรรมการ (ผู้ช่วยศาสตราจารย์เสมอใจ ชื่นจิตต์)	....................................กรรมการ (ผู้ช่วยศาสตราจารย์เสมอใจ ชื่นจิตต์)
....................................กรรมการ (อาจารย์สุทธิรักษ์ แซ่หลิม)	....................................กรรมการ (อาจารย์สุทธิรักษ์ แซ่หลิม)
	....................................กรรมการ (ผู้ช่วยศาสตราจารย์มานะ กาญจนมณีเสถียร)
	....................................กรรมการ (รองศาสตราจารย์ ดร. เสาวลักษณ์ พงษ์ไพจิตร)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา

....
(รองศาสตราจารย์ ดร. นพรัตน์ บำรุงรักษ์)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์	เชื้อรา *Aspergillus* ที่สร้างแอฟลาทอกซินในพืชสมุนไพรตากแห้ง
ผู้เขียน	นางสาวอัจฉรา พัฒนเดช
สาขาวิชา	โรคพืชวิทยา
ปีการศึกษา	2543

บทคัดย่อ

การศึกษาความหลากหลายของเชื้อรา *Aspergillus* และการวิเคราะห์หาปริมาณแอฟลาทอกซินในพืชสมุนไพรตากแห้งจำนวน 50 ชนิดจากร้านขายยาแผนไทยในจังหวัดสงขลา สามารถแยกเชื้อรา *Aspergillus* ได้จำนวน 288 ไอโซเลต จำแนกได้เป็น 25 ชนิด สามารถแยกเชื้อรา *A. niger* ได้มากที่สุด จำนวน 99 ไอโซเลต รองลงมา คือ *A. flavus* 84 ไอโซเลต *A. terreus* 33 ไอโซเลต *A. oryzae* 25 ไอโซเลต *A. nidulans* (*Emericella nidulans*) 10 ไอโซเลต *A. fumigatus* 9 ไอโซเลต *A. chevalieri* (*Eurotium chevalieri*) 8 ไอโซเลต และ *Aspergillus* ชนิดอื่น ๆ คือ *A. alliaceus, A. auricomus, A. carbonarius, A. carneus, A. clavatus, A. fischeri* (*Sartorya fumigata*), *A. janus, A. melleus, A. ochraceus, A. phoencis, A. sparsus, A. terricola, A. thomii, A. versicolor, A. wentii* และ *Aspergillus* sp.1-3 พบชนิดละ 1-2 ไอโซเลต และจากการแยกเชื้อโดยวิธี standard blotter plate ในพืชสมุนไพรจำนวน 50 ชนิด พบว่าสมุนไพรจำนวน 9 ชนิดไม่พบเชื้อรา *Aspergillus* คือ อบเชยเทศ โป๊ยกั๊ก ฟ้าทะลายโจร คำฝอย กานพลู กระวานขาว ผักชี ขมิ้นชัน และแสมสาร และพืชสมุนไพรที่พบเชื้อรา *Aspergillus* มากชนิดที่สุด คือ ระย่อม พบเชื้อรา *Aspergillus* จำนวน 9 ชนิด

การศึกษาความสามารถในการสร้างแอฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus* ในอาหาร coconut milk agar ทำโดยการสังเกตเม็ดสีเหลืองและการเรืองแสงของอาหารวุ้นภายใต้แสงอุลตราไวโอเลต พบว่ามีเฉพาะ *A. flavus* เท่านั้นที่สามารถสร้างแอฟลาทอกซินได้ โดยสามารถสร้างได้จำนวน 57 ไอโซเลต จากจำนวนที่แยกได้ทั้งหมด 84 ไอโซเลต

เมื่อนำเชื้อ *A. flavus* สายพันธุ์ที่เรืองแสงบนอาหารวุ้นมาเลี้ยงบน coconut milk broth และตรวจหาแอฟลาทอกซินด้วยวิธีการ ELISA พบว่า *A. flavus* มีการสร้างแอฟลาทอกซินในวันที่ 2 หลังจากบ่มเชื้อโดยปริมาณแอฟลาทอกซินเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ แล้วเริ่มคงตัวในวันที่ 3-4

และลดลงในวันที่ 5 และ 6 ส่วนสายพันธุ์ที่ไม่เรืองแสงบนอาหารวุ้น ไม่สามารถตรวจพบแอฟลาทอกซินตลอดระยะเวลา 6 วันที่ทำการศึกษา

ในการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *A. flavus* สายพันธุ์ที่สร้างแอฟลาทอกซินและไม่สร้างแอฟลาทอกซินภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ light microscope และกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดพบว่า *A. flavus* ทั้ง 2 สายพันธุ์มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่เหมือนกัน

การตรวจหาปริมาณแอฟลาทอกซิน B_1 ในพืชสมุนไพรโดยใช้วิธี ELISA พบว่าสามารถตรวจพบแอฟลาทอกซินได้ในพืชสมุนไพรทั้ง 50 ชนิดโดย พบพืชที่มีแอฟลาทอกซิน B_1 ปนเปื้อนมากกว่า 500 ppb อยู่ 4 ชนิด คือ แสมสาร พบแอฟลาทอกซินปนเปื้อนมีค่าเฉลี่ยสูงถึง 1,101.8 ppb รองลงมาคือ ฝาง (655.9 ppb) ขี้เหล็ก (583.0 ppb) และข้าวเย็นเหนือ (572.5 ppb) ตามลำดับ และสำหรับพืชสมุนไพรที่มีปริมาณแอฟลาทอกซินต่ำกว่า 20 ppb ตามมาตรฐานของ WHO ในประเทศสหรัฐอเมริกามีจำนวน 16 ชนิด คือ ข้าวเย็นใต้ เถาวัลย์เปรียง จันทน์ สะค้าน ขมิ้นอ้อย ไพล ดีปลี กระวานขาว ขมิ้นชัน หญ้าคา ทองพันชั่ง เปราะเทียนข้าวเปลือก จันทน์ขาว กระชาย และชะลูด

Thesis Title Aflatoxin-producing *Aspergillus* in Sun-dried Medicinal Plant Materials

Author Miss Augchara Patthanadech

Major Program Plant Pathology

Academic Year 2000

Abstract

Fifty sun-dried medicinal plants were obtained from traditional drug stores in Songkhla Province, Thailand, and examined for *Aspergillus* and aflatoxins. 288 isolates of *Aspergillus* were obtained by standard blotter plate and 25 species were identified. The most common species were *A. niger* with 99 isolates, *A. flavus* 84 isolates, *A. terreus* 33 isolates, *A. oryzae* 25 isolates, *A. nidulans* (*Emericella nidulans*) 10 isolates, *A. fumigatus* 9 isolates and *A. chevalieri* (*Eurotium chevalieri*) 8 isolates. The other species [*A. alliaceus, A. auricomus, A. carbonarius, A. carneus, A. clavatus, A. fischeri* (*Sartorya fumigata*), *A. janus, A. melleus, A. ochraceus, A. phoencis, A. sparsus, A. terricola, A. thomii, A. versicolor, A. wentii* and *Aspergillus* sp.1-3] each had 1-2 isolates. Of the 50 different plants examined, 9 had no trace of *Aspergillus,* namely *Cinnamomum zeylanicum, Illicium verum*, *Andrographis paniculata*, *Carthamus tinctorius*, *Eugenia caryophyllus*, *Elettaria cardamomum*, *Caesalpinia sappan*, *Coriandrum sativum*, *Curcuma longa* and *Cassia garrettiana*. The highest number of species (9) of *Aspergillus* was found on *Rauvolfia serpentina*

The ability of *Aspergillus* to form aflatoxins was determined in coconut milk agar by observing the intensity of blue fluorescence in agar surrounding the colonies under ultraviolet light and the yellow pigment under the colonies. The results showed that production of aflatoxin was limited to the one species, *A. flavus*, from which 84 isolates produced aflatoxin in 57 isolates (67.8%).

Aflatoxin B_1 production was confirmed by culturing fluorescence isolates of *A. flavus* in coconut milk broth and detected by ELISA technique. Aflatoxin B_1 showed increasing production after 2 days, stabilizing at 3-4 days, and then decreasing after 5-6 days. Aflatoxin B_1 could not be detected from non-fluorescence isolates.

The morphological characteristics of the aflatoxin-producing and non-producing strains of *A. flavus* were similar under light microscope and scanning electron microscope.

Using the ELISA technique, all medicinal plants sampled showed aflatoxins, with the highest contamination being found in *Cassia garrettiana* at 1,101.8 ppb, *Caesalpinia sappan* 655.9 ppb, *Cassia siamea* 583.0 ppb and *Smilax ferox* 572.5 ppb. Only 16 kinds of medicinal plant had levels of aflatoxin lower than WHO guidelines(20 ppb)-specifically *Smilax japonica*, *Derris scandens*, *Myristica fragrans*, *Piper* spp., *Curcuma zedoaria*, *Zingiber purpureum*, *Piper retrofractum*, *Elettaria cardamomum*, *Curcuma longa*, *Imperata cylindrica*, *Rhinacanthus nasutus*, *Kaempferia pulchra*, *Foeniculum vulgare*, *Diospyros decandra*, *Boesenbergia pandurata* and *Alyxia reinwardtii*.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยดีโดยได้รับความกรุณาจากรองศาสตราจารย์ ดร. วสันณ์ เพชรรัตน์ ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์เสมอใจ ชื่นจิตต์ และอาจารย์สุทธิรักษ์ แซ่หลิม กรรมการที่ปรึกษาที่กรุณาให้คำแนะนำ ช่วยเหลือในการศึกษาวิจัย ตลอดจนตรวจแก้ไขข้อบกพร่องของวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์มานะ กาญจนมณีเสถียร และ รองศาสตราจารย์ ดร. เสาวลักษณ์ พงษ์ไพจิตร กรรมการ ที่ให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขข้อบกพร่องเพิ่มเติม ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณในความกรุณาของคณาจารย์ทั้งห้าท่านเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ ดร. อมรา ชินภูติ และเจ้าหน้าที่กลุ่มงานวิจัยโรคเมล็ดพันธุ์และผลิตผลหลังเก็บเกี่ยว กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตรทุกท่านที่ให้คำแนะนำช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกในการตรวจหาปริมาณแอฟลาทอกซินในพืชสมุนไพรโดยใช้เทคนิค ELISA

ขอขอบคุณ Mr. David Patterson ที่ให้ความช่วยเหลือในการตรวจและแก้ไข abstract

ขอขอบพระคุณบุคลากรภาควิชาการจัดการศัตรูพืชทุกท่านที่กรุณาช่วยเหลือให้ความรู้และความสะดวกในการใช้อุปกรณ์ต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ ขอขอบคุณ คุณอภิญญา จันทรรังสี เจ้าหน้าที่ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ในการให้คำแนะนำในการเตรียมตัวอย่างเพื่อตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดและการถ่ายภาพตัวอย่างเป็นอย่างดี

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทยซึ่งร่วมจัดตั้งโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยและศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ รหัสโครงการ BRT 542074 และจากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จึงขอขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้ด้วย

กราบขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ พี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ ที่ให้กำลังใจและช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ ตลอดมา

อัจฉรา พัฒนเดช

สารบาญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
Abstract	(5)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบาญ	(8)
รายการตาราง	(9)
รายการภาพ	(10)
บทที่	
1. บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
การตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์	16
2. วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ	17
วัสดุ	17
อุปกรณ์	20
วิธีการ	21
3. ผลและวิจารณ์	26
4. สรุป	99
เอกสารอ้างอิง	102
ภาคผนวก	111
ประวัติผู้เขียน	116

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ชนิดและเปอร์เซ็นต์ของเชื้อรา *Aspergillus* ที่พบบนพืชสมุนไพรชนิดต่างๆ เมื่อตรวจหาด้วยวิธี standard blotter plate	28
2	แสดงจำนวนไอโซเลตของเชื้อราที่แยกได้จากพืชสมุนไพรจำนวน 50 ชนิด	32
3	ความสามารถในการสร้างสารพิษแอฟลาทอกซินในอาหาร coconut milk agar ของเชื้อรา *A. flavus* ไอโซเลตต่างๆ	86
4	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *A. flavus* สายพันธุ์ที่สร้างแอฟลาทอกซินและไม่สร้างแอฟลาทอกซิน	92
5	ปริมาณแอฟลาทอกซินในพืชสมุนไพรจำนวน 50 ชนิดที่สุ่มเก็บจากร้านค้า 4 ร้านในจังหวัดสงขลาและวิเคราะห์โดยวิธีการ ELISA	95
6	เปอร์เซ็นต์ความชื้นที่เป็นองค์ประกอบในพืชสมุนไพร	112

รายการภาพ

ภาพที่		หน้า
1	โครงสร้างแอฟลาทอกซินชนิดต่าง ๆ	6
2	การแยกเชื้อรา *Aspergillus* จากแห้วหมูโดยวิธี standard blotter plate หลังจากบ่มเชื้อ ที่อุณหภูมิ 21 °ซ เป็นเวลา 7 วัน	22
3	*Aspergillus alliaceus*	34
4	*Aspergillus auricomus*	36
5	*Aspergillus carbonarius*	38
6	*Aspergillus carneus*	40
7	*Aspergillus chevalieri*	42
8	*Aspergillus clavatus*	44
9	*Aspergillus fischeri*	46
10	*Aspergillus flavus*	48
11	*Aspergillus fumigatus*	51
12	*Aspergillus janus*	53
13	*Aspergillus melleus*	55
14	*Aspergillus nidulans*	57
15	*Aspergillus niger*	59
16	*Aspergillus ochraceus*	61
17	*Aspergillus oryzae*	63
18	*Aspergillus phoencis*	65
19	*Aspergillus sparsus*	67
20	*Aspergillus terreus*	69
21	*Aspergillus terricola*	71
22	*Aspergillus thomii*	73
23	*Aspergillus versicolor*	75
24	*Aspergillus wentii*	77

รายการภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
25	*Aspergillus* sp. (1)	79
26	*Aspergillus* sp. (2)	81
27	*Aspergillus* sp. (3)	83
28	กราฟปริมาณแอฟลาทอกซินใน coconut milk broth ที่ตรวจพบโดยวิธี ELISA	89
29	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *A. flavus* สายพันธุ์ที่สร้างและไม่สร้างแอฟลาทอกซิน	91

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

Aspergillus เป็นเชื้อราที่พบได้ทั่วไป เช่น ในดิน เศษซากพืช เมล็ดพันธุ์ และจัดเป็นเชื้อราในโรงเก็บที่สำคัญ สามารถเจริญได้ในสิ่งแวดล้อมทั่วโลก (Rippon, 1982) โดยเฉพาะในเขตร้อนชื้นเช่นประเทศไทยซึ่งมีสภาวะอากาศที่เหมาะสมแก่การดำเนินกิจกรรมและการเจริญ (พรรณกร อิ่มวิทยา, 2535; ชวเลิศ ตรีกรุณาสวัสดิ์, 2540) เชื้อรา *Aspergillus* มีประมาณ 150 ชนิด (species) (Klich and Pitt, 1988) สามารถก่อให้เกิดโรคได้กว้างขวาง โรคที่เกิดขึ้นเรียกว่า aspergillosis ทำให้เกิดอาการตั้งแต่เล็กน้อยจนถึงเป็นสาเหตุให้ผู้ป่วยตาย จากการตรวจสภาพศพ 16,219 รายในประเทศไทยพบว่าเชื้อราเป็นสาเหตุการตาย 1% เชื้อที่ก่อให้เกิดโรคสำคัญอันดับหนึ่งคือ *Aspergillus* (Parichtikanond *et al.*, 1983) และในสหรัฐอเมริกา *Aspergillus* เป็นสาเหตุการตายของโรคที่เกิดจากเชื้อราในอันดับที่สาม (Fraser *et al.*, 1979) โรคที่เกิดขึ้นอาจเกิดที่ปอด ระบบประสาท ผิวหนัง จมูก หู ตา เล็บ นอกจากนี้ *Aspergillus* บางสายพันธุ์สามารถสร้างสารพิษได้ เรียกว่า แอฟลาทอกซิน (aflatoxin) ซึ่งจัดเป็นสารพิษที่มีอันตรายร้ายแรงต่อมนุษย์มาก ทั้งเป็นพิษเฉียบพลันและเรื้อรัง สามารถก่อให้เกิดมะเร็งได้ทั้งในมนุษย์และสัตว์ที่บริโภคเอาสารพิษเหล่านี้เข้าไปแม้ในปริมาณเพียงเล็กน้อย สารพิษเหล่านี้มักปนเปื้อนอยู่ในผลิตภัณฑ์เกษตรที่นิยมบริโภค เช่น ถั่วลิสง และพริกไทยป่น เป็นต้น (อมรา สนิมทอง, 2539ข) ปัญหาการปนเปื้อนของแอฟลาทอกซินพบมากในเขตร้อนหรือร้อนชื้นเนื่องจากมีสภาวะอากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตแอฟลาทอกซินของเชื้อรา (FAO, 1982) ในประเทศไทยมีรายงานเกี่ยวกับแอฟลาทอกซินในปีพ.ศ. 2514 เมื่อนักวิทยาศาสตร์พบแอฟลาทอกซินในถั่วลิสงซึ่งเป็นสาเหตุของมะเร็งในตับ (Kurata, 1990) ปัญหาการปนเปื้อนของแอฟลาทอกซินได้รับความสนใจและดำเนินการหาทางแก้ไขมานานแล้ว เท่าที่ผ่านมาการศึกษาเกี่ยวกับการป้องกันสารพิษนี้ค่อนข้างเน้นหนักในพืชจำพวกข้าวโพด ข้าวสาลี ข้าวโอ๊ต ข้าวบาร์เล่ย์ ข้าว มะพร้าว ถั่วลิสง และข้าวฟ่าง (Bothast and Hesseltine, 1975) และจากรายงานในปีที่ผ่าน ๆ มา เชื้อราที่สร้างสารพิษและสารพิษที่เชื้อราผลิตขึ้นในชิ้นของพืช

สมุนไพรและในสมุนไพรบดละเอียดนับเป็นปัญหาใหญ่สำหรับนักเภสัชวิทยาและผู้ผลิตยา เนื่องจากมีประชาชนได้รับผลกระทบจากการใช้ยาในการรักษาโรคเป็นจำนวนมาก นอกจากนี้ยังพบว่าการพัฒนาการของเชื้อราและการปนเปื้อนของสารพิษที่เชื้อราผลิตขึ้นในพืชสมุนไพรระหว่างการเก็บรักษาซึ่งพืชสมุนไพรส่วนใหญ่เก็บไว้ในกระสอบป่านหรือผึ่งไว้บนพื้นในโรงเก็บจึงได้รับอิทธิพลจากสิ่งแวดล้อมโดยตรงรวมทั้งการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศนับเป็นปัจจัยสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการเจริญของเชื้อรา ความเสื่อมของพืชสมุนไพรในโรงเก็บ และการผลิตสารพิษของเชื้อรา (Roy and Chourasia, 1990b) ปัจจุบันพืชสมุนไพรกลับมาได้รับความนิยมอีกครั้ง และได้รับการสนับสนุนจากรัฐบาล มีการบรรจุแผนพัฒนาสมุนไพรไว้ในแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติฉบับที่ 6 (พ.ศ. 2530-2535) (ภูมิพิชญ์ สุชาวรรณ, 2535) กระทรวงสาธารณสุขมีนโยบายส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากสมุนไพรในงานสาธารณสุขมูลฐาน (พเยาว์ เหมือนวงศ์ญาติ, 2526) มีการรณรงค์ให้นำพืชสมุนไพรกลับมาใช้ทั้งเพื่อบำรุงรักษาสุขภาพ ป้องกันโรค และรักษาโรค ซึ่งในการใช้พืชสมุนไพรนั้น หากใช้ในรูปของสดมักไม่ค่อยมีปัญหา แต่สมุนไพรที่ใช้เป็นยารักษาโรคส่วนใหญ่จะใช้ในรูปของสมุนไพรตากแห้งเก็บไว้ แล้วจึงนำออกมาจำหน่าย หรือใช้ปรุงเป็นยารักษาโรค และในช่วงระหว่างการเก็บรักษาไว้นี่เองทำให้มีการปนเปื้อนของเชื้อรา และหากสภาพแวดล้อมเหมาะสมก็จะมีการสร้างสารพิษขึ้น อาจทำให้การรักษาโรคด้วยสมุนไพรให้ผลที่ไม่แน่นอน เชื้อราที่พบมากและสามารถสร้างสารพิษได้แก่ *Aspergillus* spp, *Penicillium* spp. และ *Fusarium* spp. (อมรา สนิมทอง, 2539ก) การศึกษาชนิดของเชื้อรา โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *Aspergillus* ในพืชสมุนไพรตากแห้ง รวมทั้งศึกษาความสามารถในการสร้างสารพิษของเชื้อรา จึงเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการป้องกันและหลีกเลี่ยงการบริโภคสมุนไพรที่มีแอฟลาทอกซินปะปนมา

การตรวจเอกสาร

1. พืชสมุนไพร

พืชสมุนไพรเป็นผลผลิตจากธรรมชาติที่มนุษย์รู้จักและนำมาใช้ประโยชน์เพื่อการรักษาโรคภัยไข้เจ็บตั้งแต่สมัยโบราณ ในเอเชียมีหลักฐานแสดงว่ามนุษย์รู้จักใช้พืชสมุนไพรมากกว่า 6,000 ปีมาแล้ว แต่หลังจากที่ความรู้ทางด้านวิทยาศาสตร์มีการพัฒนาก้าวหน้ามากขึ้น มีการสังเคราะห์และผลิตยาจากสารเคมีในรูปที่ใช้ประโยชน์ได้ง่าย สะดวกสบายในการใช้มากกว่าสมุนไพร ทำให้ความนิยมในการใช้ยาสมุนไพรลดลงไปเป็นอันมาก เป็นเหตุให้ความรู้ วิทยาการด้านสมุนไพรขาดการพัฒนา ไม่เจริญก้าวหน้าเท่าที่ควร

จากรายงานปี 2526 ทั่วโลกยอมรับว่า ยาที่ได้จากสมุนไพรให้คุณประโยชน์ดีกว่ายาที่ได้จากการสังเคราะห์ทางวิทยาศาสตร์ ในขณะนี้สมุนไพรกำลังเป็นพืชเศรษฐกิจ ประเทศไทยเป็นแหล่งทรัพยากรธรรมชาติอันอุดมสมบูรณ์ มีพืชต่าง ๆ ที่ใช้เป็นสมุนไพรได้อย่างมากมายนับหมื่นชนิด ต่างประเทศกำลังหาทางเข้ามาทำการลงทุนและคัดเลือกสมุนไพรไทยนำไปสกัดหาตัวยาเพื่อรักษาโรค (พเยาว์ เหมือนวงศ์ญาติ, 2526)

พืชสมุนไพร เป็นพันธุ์ไม้ต่าง ๆ ที่นำมาใช้ปรุงหรือประกอบเป็นยารักษาโรค ซึ่งแบ่งออกได้เป็น 5 ประเภท (ภูมิพิชญ์ สุชาวรรณ, 2535) คือ

1.1. ประเภทต้น ได้แก่ พืชที่เป็นต้น ทั้งต้นโต ต้นเล็ก ทั้งมีแก่น และไม่มีแก่น เช่น กระดังงา กะดังใบ กระถิน กระท้อน กาหลง เป็นต้น

1.2. ประเภทเถา ได้แก่ พืชที่มีลำต้นเป็นเถาเลื้อยหรือเครือ ทั้งเลื้อยไปตามต้นไม้ เลื้อยไปตามพื้นดินซึ่งข้อแตกต่างระหว่างเถาและเครืออยู่ที่เถามีดอกเพียงดอกเดียว ผลเป็นผลเดี่ยว มีมือเกาะ ส่วนเครือมีดอกเป็นกระจุก ไม่มีมือเกาะ พืชพวกนี้ได้แก่ กะทกรก กระพังโหม โคกกระออม ขมิ้นเครือ คัดเค้า ชะเอมจีน ชะลูดแดง เป็นต้น

1.3. ประเภทหัว ได้แก่ พืชที่มีลำต้นเป็นหัวหรือเหง้าอยู่ใต้ดิน เช่น กระทือ กระวาน กระเทียม คองดึง ขมิ้นชัน ขมิ้นอ้อย ขิง ข่า ข้าวเย็นเหนือ ข้าวเย็นใต้ ไพล เป็นต้น

1.4. ประเภทผัก ได้แก่ พืชที่มีลำต้นเล็กเตี้ย หรือมีลักษณะเลื้อยทอดยอดไปตามพื้นดิน หรือตามผิวน้ำ ซึ่งนิยมเรียกกันว่า ผัก เช่น ผักปลัง บัวบก ผักกาดนา ผักชี ผักหวาน เป็นต้น

1.5. ประเภทหญ้า ได้แก่ พืชที่เป็นต้นเป็นกอเล็ก ๆ ทั้งสูงทั้งต่ำ เช่น พยับเมฆ กะเม็ง ขลู่ หญ้าคา หญ้าพันงูเขียว หญ้าใต้ใบ เป็นต้น

2. เชื้อรา *Aspergillus*

Aspergillus เป็นเชื้อราที่พบได้ทั่วไป จัดเป็นเชื้อราจำพวก Mitosporic fungi และ perfect stage อยู่ใน Phylum Ascomycota เป็นเชื้อราชนิดที่เส้นใยมีผนังกั้น (septate hypha) ไม่มีสีหรือมีสีน้ำตาลอ่อนหรือสีอื่นตามบริเวณที่ขึ้น โคโลนีมีสีต่างกัน มีก้านชู (conidiophore) งอกจากเส้นใย ตำแหน่งที่ก้านชูงอกจากเส้นใยเรียกว่า foot cell ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่าเส้นใยและมีขอบเขตที่ชัดเจน ปลายของก้านชูพองออกเป็น เวสิเคิล (vesicle) บนเวสิเคิลมีอวัยวะสร้างสปอร์ (phialide) เป็นแบบชั้นเดียว (uniseriate) หรือสองชั้น (biseriate) อวัยวะสร้างสปอร์อาจเกาะรอบเวสิเคิลหรือเพียงบางส่วนของเวสิเคิล ปลายอวัยวะสร้างสปอร์เป็นที่เกิดของโคนิเดียมซึ่งมีเซลล์เดียว มักกลม โคนิเดียมอ่อนจะอยู่ปลายอวัยวะสร้างสปอร์ เมื่อโคนิเดียมอ่อนเกิดจะดันโคนิเดียมแก่ออกไป จึงปรากฏโคนิเดียมเป็นสาย (basipetal chain) ผิวของโคนิเดียมอาจเรียบหรือขรุขระคล้ายหนาม ซึ่งจากลักษณะดังกล่าวนี้สามารถนำมาใช้จำแนกสายพันธุ์ของเชื้อรา *Aspergillus* เช่น โดยอาศัยสีของโคโลนี รูปของเวสิเคิลที่กลมหรือเป็นรูปโดม มีอวัยวะสร้างสปอร์ชั้นเดียวหรือสองชั้น โคนิเดียมผิวเรียบหรือขรุขระ เป็นต้น (Raper and Fennell, 1977)

ปัจจัยสำคัญที่เกี่ยวกับการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus* (พรรณกร อิ่มวิทยา, 2535) ได้แก่

2.1. ความชื้น

Aspergillus แต่ละชนิดเจริญได้ในความชื้นสัมพัทธ์ที่แตกต่างกัน เช่น *A. flavus*, *A. niger*, *A. candidus* ต้องการความชื้นสัมพัทธ์ 80-90% *A. glaucus* และ *A. candidus* จะเริ่มเติบโตที่ความชื้นสัมพัทธ์ 70-75% ส่วน *A. echinulatus* และ *A. restrictus* จะเริ่มเติบโตที่ความชื้นสัมพัทธ์ 65% เป็นต้น

2.2. อุณหภูมิ

เชื้อ *Aspergillus* แต่ละชนิดจะสามารถเจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิที่แตกต่างกัน เช่น อุณหภูมิที่เหมาะแก่ *A. glaucus* อยู่ระหว่าง 10-20 °ซ อุณหภูมิที่ต่ำสุดที่เชื้อสามารถเจริญได้คือ 8 °ซ *A. flavus* อุณหภูมิต่ำสุดที่เชื้อสามารถเจริญได้คือ 6-8 °ซ ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 36-38 °ซ แต่ช่วงอุณหภูมิที่สูงที่สุดที่เชื้อสามารถเจริญได้คือ 44-46 °ซ สำหรับ *A. niger* ช่วงอุณหภูมิต่ำสุดที่เชื้อสามารถเจริญได้คือ 6-8 °ซ ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 35-37 °ซ และช่วง

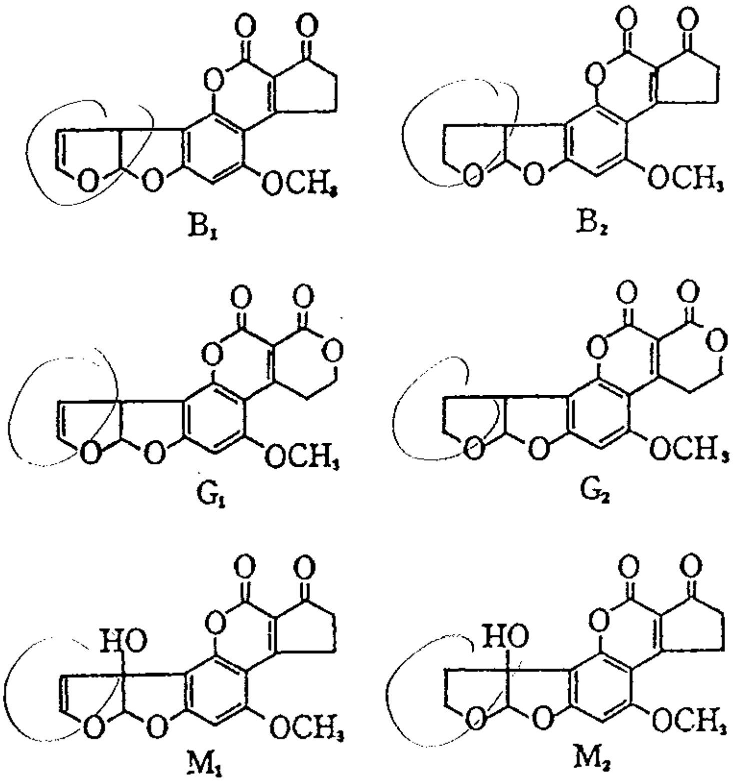
อุณหภูมิสูงสุดคือ 46-48 °ซ *A. fumigatus* ช่วงอุณหภูมิต่ำสุดที่เชื้อสามารถเจริญได้ คือ 25-40 °ซ ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 50-60 °ซ และช่วงอุณหภูมิสูงสุดคือ 70-80 °ซ

2.3. ส่วนประกอบของบรรยากาศ

ส่วนประกอบของบรรยากาศโดยเฉพาะออกซิเจนในอากาศมีผลต่อการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus* และจุลินทรีย์อื่น ๆ ระบบสูญญากาศจึงถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางในการเก็บรักษาเมล็ดพืชอาหารสัตว์ เมล็ดพืชที่มีความชื้นสูง และการถนอมอาหาร โดยเก็บในภาชนะที่ปิดมิดชิด (air tight)

3. แอฟลาทอกซิน

แอฟลาทอกซินจัดเป็น secondary metabolites ซึ่งถูกสร้างขึ้นโดยกลุ่มของเชื้อราที่สามารถผลิตสารพิษได้ เช่น *A. flavus* และ *A. parasiticus* สารพิษแอฟลาทอกซินเป็น heterocyclic compounds จัดอยู่ในกลุ่ม difranocoumarin (ธรรมศักดิ์ สมมาตย์, 2533; Cole and Cox, 1981) เป็นสารที่ไม่อิ่มตัว ตามธรรมชาติเป็นสารที่เฉื่อย (inert) แต่สามารถเปลี่ยนเป็นสารที่ไว (active) ได้ทั้งในและนอกร่างกาย ไม่ละลายในน้ำแต่ละลายใน polar solvents เช่น เมทานอล เอทานอล คลอโรฟอร์ม สามารถทนความร้อนได้สูงถึง 250 °ซ เรืองแสงภายใต้แสงอุลตราไวโอเลต ตามธรรมชาติสารพิษในกลุ่มแอฟลาทอกซินที่พบมีอยู่ 4 ชนิดคือ B_1, B_2, G_1 และ G_2 แต่สารพิษในกลุ่มนี้ยังมีอนุพันธ์อื่น ๆ ที่พบตามธรรมชาติซึ่งเป็นผลจากกระบวนการ metabolism ของจุลินทรีย์และสัตว์ เช่น M_1, M_2, P_1, P_2, Q_1 และ aflatoxicol เช่น พบแอฟลาทอกซินชนิด M_1 ในน้ำนมของวัวที่บริโภคอาหารที่มีแอฟลาทอกซินชนิด B_1 ปนเปื้อนอยู่ หรือถูกผลิตขึ้นเป็นครั้งคราวเนื่องจากการตอบสนองต่อสารเคมีในสิ่งแวดล้อม เช่น B_{2a}, G_{2a} และ D_1 และจากหลักการเรืองแสงนี้เองสามารถแบ่ง แอฟลาทอกซินออกได้เป็นกลุ่มที่เรืองแสงสีน้ำเงิน (B_1, B_2) และกลุ่มที่เรืองแสงสีเขียว (G_1,G_2) ความแตกต่างทางชีวเคมีของสารพิษ 4 ชนิดนี้มีผลเนื่องมาจากความแตกต่างทางโครงสร้างเคมี โดยพบว่าแอฟลาทอกซินชนิด B_1 และ G_1 มี double bond ที่ ring ที่ 1 ส่วนแอฟลาทอกซินชนิด B_2 และ G_2 ไม่มี และกลุ่มแอฟลาทอกซิน B จะแตกต่างจากกลุ่ม G โดยการที่มี lactone group ใน ring ที่ 5 ของกลุ่ม G (ภาพที่ 1) (ธรรมศักดิ์ สมมาตย์, 2533)



ภาพที่ 1 โครงสร้างแอฟลาทอกซินชนิดต่าง ๆ

แอฟลาทอกซินสามารถก่อให้เกิดมะเร็งได้ทั้งในมนุษย์และสัตว์ที่บริโภคเอาอาหารที่มีสารพิษเหล่านี้เข้าไปโดยจะชักนำให้เกิด mutagenic activity และทำลาย DNA (Subhkij, 1989) และพบว่าเป็นสารก่อมะเร็งในปลา หมู สัตว์เลี้ยง และสัตว์ทดลอง (พรรณกร อิ่มวิทยา, 2535 ; Chourasia and Roy, 1991) ทำให้คุณภาพของสัตว์เลี้ยงต่ำลง เกิดการกลายพันธุ์ และเป็นหมัน (อมรา สนิมทอง, 2539ข) รายงานฉบับแรกที่กล่าวถึงโรคซึ่งมีสาเหตุมาจากแอฟลาทอกซินซึ่งผลิตโดย *A. flavus* ที่เจริญบนถั่วลิสงคือ โรค turkey X disease ซึ่งพบในไก่งวงในประเทศอังกฤษที่บริโภคถั่วลิสงที่มีแอฟลาทอกซินปนเปื้อน (Sargeant *et al.*, 1961) แอฟลาทอกซินชนิด B_1 มีความเป็นพิษสูงที่สุด และสามารถตรวจพบได้มากที่สุด รองลงมาได้แก่ G_1, B_2 และ G_2 ตามลำดับ ความเป็นพิษของแอฟลาทอกซินเปลี่ยนแปลงตาม ชนิด อายุ น้ำหนัก เพศ และโภชนาการที่ได้รับ อวัยวะแรกที่ได้รับผลกระทบคือตับ ลักษณะเด่นที่ปรากฏคือ การเจริญช้าลง น้ำหนักลด กินอาหารน้อยลง สำหรับอาการอื่นที่ปรากฏร่วมเช่น มีไขมันแทรกในตับ, ท้องมาน, บวมน้ำ, ท่อน้ำดีเกิดการขยายตัวใหญ่ขึ้น และ โรคมะเร็งตับ ซึ่งอาการที่ปรากฏเหล่า

นี้ขึ้นอยู่กับชนิดของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ ด้วย (Cole and Cox, 1981) Suttajit และ Pichitpaja (1983) พบว่าแอฟลาทอกซินในปริมาณ 0.3 ppm สามารถก่อมะเร็งในตับสัตว์ทดลองได้ เช่น ในลูกเป็ด ปลาเทร้าท์ โดยแอฟลาทอกซินจะไปยับยั้งเอนไซม์ DNA-dependent RNA polymerase การสังเคราะห์ RNA และการสังเคราะห์โปรตีนในกระต่าย แอฟลาทอกซินที่ความเข้มข้นประมาณ 0.3-1.0 mg kg^{-1} สามารถทำให้เกิด chronic aflatoxicosis เช่น chronic hepatitis และ childhood cirrhosis แอฟลาทอกซินที่ความเข้มข้น 0.5-6 mg kg^{-1} ทำให้เกิด acute hepatitis, โรคหลับไหล (encephalopathy and fatty degeneration of the viscera, EFDV) และตาย (Thirayudh, 1983) สำหรับอันตรายที่เกิดขึ้นเนื่องจากแอฟลาทอกซินต่อคน คือ เป็นสารก่อมะเร็งในตับ (Yeo, 1983) กลุ่มอาการไรย์ (Tongtavuch, 1983) และโรคตับอักเสบ (พรรณกร อิ่มวิทยา, 2535) จากการทดลองในหนูพบว่าแอฟลาทอกซินสามารถส่งผ่านทางรกของแม่ไปสู่ตัวอ่อนได้ มีผลทำให้ตัวอ่อนมีการเจริญผิดปกติและอาจถึงตายได้ (Smitasiri and Khansuwan, 1983)

เชื้อราที่ผลิตแอฟลาทอกซินสามารถพบได้ทั้งในแปลงปลูกและในระหว่างการเก็บรักษาหลังเก็บเกี่ยว ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตแอฟลาทอกซินของเชื้อรา ได้แก่ อุณหภูมิ และความชื้นระหว่างการเก็บรักษา สำหรับปัจจัยส่งเสริมอื่น ๆ ได้แก่ การงอกของเมล็ด การเข้าทำลายของแมลง วิธีการเก็บเกี่ยว และการทำให้แห้งหลังการเก็บเกี่ยว การปนเปื้อนของเชื้อรารวมทั้งแอฟลาทอกซินในถั่วลิสงสามารถเกิดขึ้นได้ตั้งแต่ระยะปลูก ระยะเก็บเกี่ยว ระยะตากแห้ง ระหว่างการขนส่ง และในระหว่างการเก็บรักษาก่อนถึงมือผู้บริโภค (ธรรมศักดิ์ สมมาตย์, 2533 ; Wilson *et al.*, 1977) ในข้าวโพดการปนเปื้อนของแอฟลาทอกซินก่อนการเก็บเกี่ยวเกิดขึ้นน้อย แต่จะมีการปนเปื้อนในระหว่างการเก็บในโรงเก็บในปริมาณสูงและเพิ่มมากขึ้นถ้าระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น และในข้าวโพดที่ถูกแมลงเข้าทำลายจะมีผลทำให้เกิดการปนเปื้อนของแอฟลาทอกซินเพิ่มมากขึ้น (Laprade and Manwiller, 1977) Northolt และ Bullerman (1982) กล่าวว่า ความชื้น อุณหภูมิ ความเป็น กรด-ด่าง และ สภาพบรรยากาศนับเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเจริญและการสร้างสารพิษของเชื้อรา ธรรมศักดิ์ สมมาตย์ (2533) กล่าวว่า ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อและการผลิตแอฟลาทอกซินมากที่สุด คือความชื้นและอุณหภูมิ นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นที่เกี่ยวข้องอีก ได้แก่ ปริมาณก๊าซออกซิเจน และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ลักษณะของเมล็ดซึ่งอาจเสียหายเนื่องจากปัจจัยทางกายภาพและชีวภาพ เช่น การทำลายของแมลง ระดับการปนเปื้อนของเชื้อในระยะเริ่มแรก และลักษณะทางพันธุกรรมที่แตกต่างกันในถั่วลิสง เป็นต้น

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการสร้างแอฟลาทอกซิน ได้แก่

3.1. เชื้อรา

ในประเทศไทยพบว่าเชื้อรา *A. flavus* มีความสามารถในการผลิตแอฟลาทอกซินได้แตกต่างกัน ศูนย์วิจัยการปรับปรุงคุณภาพข้าวโพด (2535) รายงานว่าได้ทำการแยกเชื้อรา *A. flavus* จากข้าวโพดจากแหล่งต่าง ๆ ได้เชื้อราจำนวน 150 ไอโซเลต และเมื่อศึกษาการสร้างแอฟลาทอกซิน พบว่าสามารถสร้างแอฟลาทอกซินได้ 53 ไอโซเลต คิดเป็น 35% อรุณศรี วงษ์อุไร และคณะ (2527) รายงานว่า *A. flavus* ที่แยกได้จากถั่วลิสงจำนวน 157 ไอโซเลต มีเพียง 56 ไอโซเลตเท่านั้นที่ผลิตสารพิษ แสดงว่าเชื้อ *A. flavus* มีความผันแปรในพันธุกรรมการผลิตสารพิษตามธรรมชาติ และกล่าวว่าปริมาณเชื้อ *A. flavus* ที่ปกคลุมเมล็ดไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณสารพิษที่ผลิตในถั่วลิสงนั้น

ธีรยุทธ กลิ่นสุคนธ์ และ ชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว (2524) รายงานว่า *A. flavus* ที่พบในประเทศไทยสามารถสร้างแอฟลาทอกซินได้ประมาณ 80% สอดคล้องกับ Glinsukon (1983) ซึ่งกล่าวว่าในประเทศไทย *A. flavus* ที่ได้จากแหล่งต่าง ๆ ในธรรมชาติประมาณ 84.6% สามารถผลิตแอฟลาทอกซินได้ โดยเฉพาะชนิด B_1 และ B_2

3.2. อาหารที่เชื้อราใช้ในการเจริญ

เชื้อราส่วนมากเจริญได้ดีบนเมล็ดธัญพืชหรือผลผลิตทางการเกษตร เช่น เมล็ดข้าว ข้าวโพด ถั่วลิสง จากการศึกษาเปรียบเทียบการสร้างแอฟลาทอกซินในอาหารที่มีส่วนประกอบของน้ำตาลชนิดต่าง ๆ พบว่า ซูโครสช่วยให้เชื้อราผลิตแอฟลาทอกซินได้ดีที่สุด (ปริศนา เหมสุจิ, 2524 ; Lin and Deanese, 1976) Northolt และ Bullerman (1982) กล่าวว่าความเป็นกรด-ด่างและองค์ประกอบของอาหารที่เชื้อราใช้ในการเจริญไม่มีอิทธิพลมากนักต่อการเจริญของเชื้อราแต่มีอิทธิพลต่อการผลิตสารพิษ Lee และคณะ (1966) ศึกษาผลของธาตุอาหารรองต่อการผลิตแอฟลาทอกซินและรายงานว่าอนุมูลสังกะสีและอนุมูลแคดเมียมมีผลกระตุ้นการสร้างแอฟลาทอกซิน โดยอนุมูลสังกะสีช่วยให้ *A. flavus* สร้างแอฟลาทอกซินได้มาก ถ้าปริมาณของเกลือแร่ชนิดนี้ในอาหารเลี้ยงเชื้อลดน้อยลงอาจเนื่องจากมีปริมาณน้อยหรือมีอยู่แต่จับตัวกับสารอื่น จะทำให้ปริมาณการสร้างแอฟลาทอกซินลดลงไป เช่นเดียวกับถั่วเหลืองซึ่งมีปริมาณอาหารสะสมในรูปกรดไฟติค (phytic acid) อยู่สูง สามารถจับตัวกับสังกะสีได้มาก จึงมักพบว่าแอฟลาทอกซินในถั่วเหลืองมีน้อยกว่าในถั่วชนิดอื่น ๆ (ปริศนา เหมสุจิ, 2524)

3.3. ปฏิกิริยาระหว่างเชื้อจุลินทรีย์

เชื้อจุลินทรีย์หลายชนิดที่ขึ้นปนเปื้อนกันจะมีผลกระทบต่อการเจริญและการสร้างสารพิษ Saner และ Burroughs (1980) รายงานว่า การแข่งขันของเชื้อรามีผลทำให้การผลิตแอฟลาทอกซินชนิด B_1 ลดลง โดยพบว่าข้าวโพดที่เก็บเกี่ยวขณะที่มีความชื้นสูงมีเชื้อรา *Fusarium* sp. และ *A. flavus* เจริญเป็นจำนวนมาก แต่ไม่มีการผลิตแอฟลาทอกซิน Boller และ Schroeder (1973, 1974) รายงานว่า *A. chevalieri* และ *A. candidus* ไปลดการผลิตแอฟลาทอกซินและเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายของเชื้อ *A. parasiticus* ในข้าว

3.4. วิธีเก็บเกี่ยวและการเก็บรักษา

วิธีการเก็บเกี่ยวและการเก็บรักษามีผลต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *A. flavus* เข้าทำลายเมล็ดข้าวโพดได้ง่ายเมื่อเมล็ดพืชมีแผล ซึ่งอาจเป็นแผลที่เกิดจากการเก็บเกี่ยว ขนย้าย ขนส่งและระหว่างการเก็บรักษา การเก็บผลผลิตไว้ในที่อับชื้นทำให้มีโอกาสที่เชื้อราจะขึ้นมีมากกว่าการเก็บไว้ในที่แห้ง ถ้าเก็บข้าวโพดที่สีแล้วแต่ยังคงมีความชื้นสูงไว้ในกระสอบ เชื้อรา *A. flavus* สามารถเจริญได้รวดเร็วมาก โดยเฉพาะในสภาพอากาศร้อนและความชื้นสัมพัทธ์สูง (ศูนย์วิจัยการปรับปรุงคุณภาพข้าวโพด, 2535)

3.5. สภาพแวดล้อม

ความชื้นเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดในการเจริญและการสร้างสารพิษ เชื้อราแต่ละชนิดต้องการความชื้นแตกต่างกัน ซึ่งความชื้นในผลิตผล (moisture content) แต่ละชนิดขึ้นอยู่กับความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศและส่วนประกอบทางเคมีและโครงสร้างของผลิตผลนั้น ส่วนอุณหภูมิมีส่วนเกี่ยวข้องโดยตรงกับความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ (ปริศนา เหมสุจิ, 2524) Chourasia และ Roy (1991) รายงานว่าการเก็บรักษาเมล็ดลำโพงและสะเดาซึ่งมีความชื้นในเมล็ดอยู่ระหว่าง 16-17.5% และ 16.5-20% ตามลำดับ ในโรงเก็บ พบมีการเจริญของ *A. flavus* และมีการสร้างแอฟลาทอกซิน ซึ่งความชื้นในระดับนี้นับว่าเหมาะสมสำหรับการเจริญของ *A. flavus* และการสร้างแอฟลาทอกซิน Saner และ Burroughs (1980) กล่าวว่า *A. flavus* สามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วและผลิตแอฟลาทอกซินได้ดีที่ความชื้นภายในที่เป็นองค์ประกอบประมาณ 17.5% และมี equilibrium relative humidity 86-87% Ashworth และคณะ (1965) ศึกษาการเจริญของ *A. flavus* และการผลิตแอฟลาทอกซินในถั่วลิสงพบว่าสิ่งที่เป็นปัจจัยหลักคือ ความชื้นที่เป็นองค์ประกอบ แต่อย่างไรก็ตามพบว่าการเกิดแอฟลาทอกซินในสภาพธรรมชาติในผลผลิตทางการเกษตรอุณหภูมิอาจเป็นปัจจัยสำคัญกว่าความชื้นที่เป็นองค์

ประกอบ ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศต่ำสุดที่ *A. flavus* จะสร้างแอฟลาทอกซินได้คือ 85% และระดับความชื้นที่เป็นองค์ประกอบในเมล็ดพืชอาหารที่ต่ำสุดที่ *A. flavus* จะเจริญได้ คือ ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ข้าวสาลี 18-18.5% ข้าวเปลือก 16.5% ข้าวสาร 17.5% ถั่วลิวสงและถั่วอื่น ๆ รวมทั้งเนื้อมะพร้าวแห้ง 9-10% *A. flavus* สามารถสร้างแอฟลาทอกซินได้ในช่วงอุณหภูมิ 12-42 °ซ แต่ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 25-32 °ซ ในช่วงอุณหภูมินี้เชื้อราจะสร้างแอฟลาทอกซินขึ้นภายใน 48 ชั่วโมง (ปริศนา เหมสุจิ, 2524)

Schroeder และ Hein (1967) ศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อการผลิตแอฟลาทอกซิน โดยทำการสกัดสารพิษหลังจากปลูกเชื้อ *A. flavus* แล้วเป็นเวลา 10 วัน พบว่าช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการผลิตแอฟลาทอกซินอยู่ระหว่าง 20-35 °ซ การผลิตแอฟลาทอกซินจะลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น แอฟลาทอกซินชนิด G จะผลิตได้มากกว่า B ที่อุณหภูมิต่ำ (แต่อยู่ในช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสม) และแอฟลาทอกซินชนิด G จะถูก metabolized รวดเร็วมากที่อุณหภูมิสูง Schindler และคณะ (1967) รายงานว่าการผลิตแอฟลาทอกซินไม่มีความสัมพันธ์กับอัตราการเจริญของ *A. flavus* ซึ่งแยกได้จากข้าวสาลีและถั่วลิสง เชื้อที่แยกได้จากข้าวสาลีพบว่าสามารถเจริญได้ดีที่สุดที่ 41 °ซ แต่ไม่ผลิตแอฟลาทอกซิน และพบว่าไม่มีการสร้างแอฟลาทอกซินที่อุณหภูมิ 2, 7, 41, 46 และ 52 °ซ การที่พบว่าไม่มีการสร้างแอฟลาทอกซินที่อุณหภูมิ 41 °ซ ทั้งที่เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญนี้ Chourasia และ Roy (1991) ได้สรุปว่าอาจมีสาเหตุเนื่องจากความแตกต่างของอุณหภูมิต่อกิจกรรมของเอนไซม์ โดยอุณหภูมิอาจมีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ในสายพันธุ์ (strains) ต่าง ๆ ของเชื้อรา Schindler และคณะ (1967) รายงานว่าอัตราการสร้างแอฟลาทอกซินชนิด B_1 และ G_1 ที่เปลี่ยนแปลงไปที่อุณหภูมิต่าง ๆ เป็นเครื่องบ่งชี้ว่าอุณหภูมิมีผลต่อการสร้างแอฟลาทอกซินของเชื้อรา นอกจากอิทธิพลของอุณหภูมิแล้ว ยังมีรายงานว่าแสงมีอิทธิพลต่อการงอก การเจริญของเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา Chourasia และ Roy (1991) รายงานว่าเชื้อราหลายชนิดมีการงอกและสร้างสปอร์อย่างรวดเร็วในที่มืดเมื่อเปรียบเทียบกับการเจริญโดยการให้แสง สำหรับการผลิตแอฟลาทอกซินพบว่าการผลิตแอฟลาทอกซิน B_1 เกิดขึ้นได้ดีในสภาพมืด และพบว่าแสงจากดวงอาทิตย์สามารถยับยั้งการสังเคราะห์แอฟลาทอกซินได้ ที่อุณหภูมิ 30 °ซ ความชื้นสัมพัทธ์ 96% และในสภาพมืดเป็นสภาพทางกายภาพที่เหมาะสมสำหรับการผลิตแอฟลาทอกซินในเมล็ดสะเดาและเมล็ดลำโพง โดยมีปัจจัยสำคัญอีกปัจจัยหนึ่งคือความชื้นที่มีอยู่ในเมล็ด Glinsukon (1983) รายงานว่า ปริมาณออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์จะมีผลต่อการงอก

ของสปอร์ การเจริญ การสร้างสปอร์ และการผลิตสารพิษของเชื้อรา โดยเมื่อปริมาณออกซิเจนลดลงและปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้นจะทำให้การผลิตแอฟลาทอกซินลดลง คาร์บอนไดออกไซด์ที่ 20% ของบรรยากาศ มีผลทำให้การเจริญของ *A. flavus* ลดลงมากกว่า 80% และทำให้การผลิตแอฟลาทอกซินลดลง การลดปริมาณออกซิเจนเหลือ 10% ของบรรยากาศมีผลทำให้การผลิตแอฟลาทอกซินลดลง และออกซิเจนที่ระดับ 1% หรือน้อยกว่าสามารถยับยั้งการเจริญและการผลิตสารพิษได้อย่างสมบรูณ์ (Northolt and Bullerman, 1982)

การลดความเป็นพิษของแอฟลาทอกซินสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การใช้รังสี การใช้ความร้อน การใช้กรดหรือเบสเข้มข้น การใช้ oxidizing agents หรือ bisulfite เป็นต้น Doyle และคณะ (1982) กล่าวว่า แอฟลาทอกซินชนิด B_1 ในถั่วลิสงหรือในน้ำมันข้าวโพด ไม่ถูกทำลายที่อุณหภูมิ 250 °ซ ปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลต่อการลดความเป็นพิษของแอฟลาทอกซินคือ ความชื้นที่เป็นองค์ประกอบ ซึ่งจากการศึกษาในเมล็ดปาล์มพบว่าการเพิ่มความชื้นที่เป็นองค์ประกอบในเมล็ดมีผลทำให้อัตราการเสื่อมสภาพของแอฟลาทอกซินเพิ่มขึ้น ที่อุณหภูมิและเวลาคงที่ เช่น ที่ความชื้นในเมล็ด 30% ที่ 100 °ซ นาน 2.5 ชั่วโมง มีผลทำให้สารพิษถูกทำลายประมาณ 85% แต่ที่ความชื้นในเมล็ด 6.6% ที่อุณหภูมิ 100 °ซ นาน 2.5 ชั่วโมง แอฟลาทอกซินถูกทำลายเพียง 50% เท่านั้น ในการศึกษาการใช้รังสีกับแอฟลาทอกซินพบว่าแอฟลาทอกซินจะตอบสนองต่อรังสีอุลตราไวโอเลต และถูกทำลายโดยรังสีแกมมา การลดความเป็นพิษของแอฟลาทอกซินโดยการใช้สารละลายกรดหรือเบสเข้มข้น พบว่า กรดเข้มข้นจะไป catalyze แอฟลาทอกซินเกิดเป็น hydroxy analog ของแอฟลาทอกซินชนิด B_2 หรือเรียกว่า B_{2a} ซึ่งในทางปฏิบัติมีการใช้แอมโมเนียลดความเป็นพิษในอาหารสัตว์หลายชนิด ในการใช้ oxidizing agents เพื่อลดความเป็นพิษของแอฟลาทอกซินนั้น พบว่า มีการใช้ hydrogen peroxide (H_2O_2) 1% ร่วมกับ riboflavin 0.5 mM ที่อุณหภูมิ 30 °ซ นาน 30 นาที สามารถลดปริมาณแอฟลาทอกซินชนิด M_1 ที่ปนเปื้อนในนมได้สูงถึง 98% และมีจุลินทรีย์หลายชนิดที่สามารถลดความเป็นพิษของแอฟลาทอกซินได้โดยการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของแอฟลาทอกซินชนิด B_1 เป็น aflatoxicol ซึ่งมีพิษน้อยกว่าแอฟลาทอกซินประมาณ 18 เท่า จุลินทรีย์ที่สามารถลดความเป็นพิษของแอฟลาทอกซินได้ ได้แก่ *Corynebacterium rubrum, A. niger, Trichoderma viride, Mucor alternans, Mucor ambiguus, Dactylium denroides, Mucor griseo-cyanus, Absidia repens, Helminthosporium sativum, Rhizopus arrhizus, Rhizopus oryzae, Rhizopus stolonifer* และ *Tetrahymena pyriformis* และพบว่าเส้นใยของเชื้อราที่สามารถผลิต

แอฟลาทอกซินได้สามารถทำให้โครงสร้างของแอฟลาทอกซินเปลี่ยนแปลงไปได้ อาจเนื่องมาจากเอนไซม์ peroxidase ที่เชื้อราผลิตขึ้น สำหรับคุณสมบัติของเส้นใยที่มีผลต่อการเสื่อมสภาพของแอฟลาทอกซินได้แก่ อายุของเส้นใย ซึ่งพบว่าเส้นใยที่มีอายุ 8-10 วันสามารถทำให้โครงสร้างของแอฟลาทอกซินเสื่อมสภาพได้ เส้นใยที่แตกหักหรือเป็นท่อนทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของแอฟลาทอกซินเพิ่มมากขึ้นและเส้นใยในปริมาณมากจะทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของแอฟลาทอกซินเพิ่มมากขึ้นเช่นกัน พบว่าอัตราการเสื่อมสภาพของแอฟลาทอกซินจะเพิ่มมากขึ้นเท่ากับปริมาณเส้นใยที่เพิ่มขึ้น สำหรับสายพันธุ์ของเชื้อรานั้นพบว่า เชื้อราที่สามารถผลิตแอฟลาทอกซินได้ในปริมาณมากจะทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของแอฟลาทอกซินได้มากเช่นกัน สภาพความเป็นกรด-ด่าง 5-6.5 ที่อุณหภูมิ 28 °ซ เป็นสภาพที่ก่อให้เกิดการเสื่อมสภาพของแอฟลาทอกซินสูงที่สุด (Doyle *et al*., 1982) Chourasia และ Roy (1991) กล่าวว่าการผลิตแอฟลาทอกซินในเมล็ดสะเดาและลำโพงสามารถป้องกันได้โดยการเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10 °ซ หรือสูงกว่า 40 °ซ ความชื้นสัมพัทธ์น้อยกว่า 75% ในบริเวณที่มีแสงส่องถึงและความชื้นที่เป็นองค์ประกอบในเมล็ดน้อยกว่า 14% เช่นเดียวกับ Schindler และคณะ (1967) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ของการผลิตแอฟลาทอกซินกับอัตราการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus* และอุณหภูมิ สรุปได้ว่า ถ้าการผลิตแอฟลาทอกซินของเชื้อ *A. flavus* บนอาหาร อาหารสัตว์และสินค้า (พืชผล) ชนิดอื่น ๆ เหมือนกับการผลิตบน wort media การป้องกันการเกิดแอฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนกับอาหารก็อาจสามารถกระทำได้โดยการเก็บไว้ที่อุณหภูมิที่ปลอดภัย คือ อุณหภูมิที่ไม่สามารถสร้างแอฟลาทอกซินได้ ซึ่งผลที่ได้นี้สามารถกำหนดช่วงอุณหภูมิที่เชื้อไม่สามารถสร้างแอฟลาทอกซินในโรงเก็บได้

การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับเชื้อราประเภทแซพโปรไฟท์และเชื้อราปรสิตในพืชสมุนไพร 6 ชนิด (*Abrus precatorius, Alysicarpus vaginalis, Asteracantha longifolia* [*Hygrophila longifolia*], *Cassia auriculata, Mullugo cerviana* และ *Rauvolfia serpentina*) ที่ใช้ในการรักษาโรคและได้รับความนิยมอย่างกว้างขวางในประเทศศรีลังกา พบว่าสามารถแยกเชื้อราได้ 12 ชนิด และพบ *A. flavus* ซึ่งเป็นเชื้อราที่สามารถสร้างสารพิษได้ในพืชสมุนไพรทั้ง 6 ชนิด สำหรับเชื้อราชนิดอื่นที่มีประสิทธิภาพในการสร้างสารพิษคือ *A. parasiticus, A. ochaceus, A. sulphureus* และ *Fusarium avenaceum* (*Gibberella avenaceum*) (Fernando and Abeywickrama, 1996) และจากการศึกษาเชื้อราจากพืชสมุนไพรในเอเชีย (Asian medicinal plants) 6 ชนิด (*Aerva lanata, Alysicarpus vaginalis, Tribulus terrestris, Adhatoda vasica,*

Centella asiatica และ *Cardiospermum halicacabum*) พบว่าเชื้อ *Aspergillus* spp. โดยเฉพาะ *A. niger* และ *A. flavus* ตรวจพบมากที่สุด และพบว่า *A. flavus* สามารถผลิตแอฟลาทอกซินชนิด B_1 ใน *Aerva lanata* ที่ระดับ 0.5 µg g^{-1} (Abeywickrama and Bean, 1991) มีการสุ่มเก็บตัวอย่างพืชสมุนไพรในโรงเก็บเป็นรายเดือนในเมือง Bhagalper มาทำการตรวจหาเชื้อรา พบว่าสามารถตรวจพบเชื้อราจำนวน 18 ชนิด พบมากที่สุดในเดือนสิงหาคมและน้อยที่สุดในเดือนพฤศจิกายน ทั้งนี้จำนวนเชื้อราที่พบจะมีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ สำหรับเชื้อราที่พบมากที่สุดคือ *A. flavus* และ *A. niger* (Dutta, 1989)

Roy และคณะ (1988) ศึกษาแอฟลาทอกซินที่เกิดขึ้นเองในธรรมชาติในพืชสมุนไพรบางชนิดซึ่งเก็บตัวอย่างมาจากโรงเก็บในเมืองพิหาร (Bihar) ประเทศอินเดีย 15 ตัวอย่าง พบแอฟลาทอกซิน 14 ตัวอย่าง พบมากที่สุดในเมล็ดพริกไทย (*Piper nigrum*)(1.20 µg g^{-1}) รองลงมาคือเมล็ด *Mucuna prurita* (1.16 µg g^{-1}) และระดับต่ำสุดที่ตรวจพบคือในเปลือกของ *Acacia catechu* (0.09 µg g^{-1}) และจาก *A. flavus* จำนวน 158 ไอโซเลตที่แยกได้จากตัวอย่างพืชสมุนไพร พบว่าเชื้อรา 49 ไอโซเลตสามารถสร้างแอฟลาทอกซินได้ สำหรับปริมาณแอฟลาทอกซินที่สร้างขึ้นอยู่ระหว่าง 0.86-5.24 µg ml^{-1} ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว และได้มีการสุ่มเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์จากพืชสมุนไพรจากแหล่งต่าง ๆ ในประเทศ Armenia มาตรวจหาสปอร์ของเชื้อรา จากทั้งหมด 152 ตัวอย่าง มี 11 ตัวอย่างที่พบสปอร์ของเชื้อรามากกว่า 102 สปอร์ต่อกรัมหรือต่อมิลลิลิตร ส่วนใหญ่ผลิตภัณฑ์ที่มีการปนเปื้อนมากจะพบในรูปที่ทำเป็นเม็ด เชื้อราที่พบมากที่สุดคือ *Aspergillus* และ *Penicillium* (Osipyan and Zakaryan, 1989)

Roy และ Chourasia (1990 (a,b)) ศึกษารากพืชสมุนไพรที่เก็บในโรงเก็บในประเทศอินเดีย 5 ชนิด จำนวน 44 ตัวอย่าง พบเชื้อรา *A. flavus, A. niger, A. ochraceus, Penicillium citrinum, Penicillium* spp., *Fusarium moniliforme* และ *Fusarium* spp. และตรวจพบการปนเปื้อนของสารพิษจำนวน 22 ตัวอย่าง นอกจากนั้นได้ศึกษาการผลิตแอฟลาทอกซินในเมล็ด *Piper longum* ในสภาพอุณหภูมิที่แตกต่างกัน พบว่าหลังจากปลูกเชื้อ 3 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 30 °ซ มีการผลิตแอฟลาทอกซินชนิด B_1 มากที่สุด (1.25 µg g^{-1}) และที่อุณหภูมิ 20, 25, 35 และ 40 °ซ การผลิตแอฟลาทอกซินจะอยู่ระหว่าง 0.22-1.00 µg g^{-1} และพบว่าที่อุณหภูมิ 15 °ซ การผลิตแอฟลาทอกซินเกิดขึ้นน้อยที่สุด (0.12-0.24 µg g^{-1}) Roy และ Kumari (1991) ตรวจหาสารพิษเนื่องจากเชื้อราที่ปนเปื้อนในเมล็ดพืชสมุนไพร 6 ชนิด จำนวน 36 ตัวอย่างพบว่ามีแอฟลาทอกซินชนิด B_1 ทั้ง 36 ตัวอย่าง

4. การตรวจสอบแอฟลาทอกซิน

Lin และ Deanese (1976) ศึกษาการสร้างแอฟลาทอกซินโดยใช้ coconut agar ซึ่งปรับให้มี pH 6.9 เป็นอาหารเพื่อตรวจหาแอฟลาทอกซิน พบว่าเชื้อราที่สร้างแอฟลาทอกซินเมื่อเจริญบนอาหารนี้จะเกิดการเรืองแสงสีน้ำเงิน หรือสีน้ำเงินปนเขียวขึ้นภายในวุ้นอาหารที่อยู่รอบ ๆ โคโลนี โดยไม่ต้องส่องดูการเรืองแสงภายใต้คลื่นอุลตราไวโอเลต ซึ่งช่วยให้สะดวกและรวดเร็วยิ่งขึ้น และเมื่อนำมาส่องด้วยแสงอุลตราไวโอเลต พบว่า ความเข้มของการเรืองแสงมีความสัมพันธ์กับปริมาณของแอฟลาทอกซิน

Bothast และ Hesseltine (1975) พัฒนาการตรวจสอบแอฟลาทอกซินในเมล็ดธัญพืชโดยใช้คุณสมบัติการเรืองแสงภายใต้แสงอุลตราไวโอเลต เรียกว่า BGYF test (bright greenish yellow fluorescence test) หรือ black light test ปัจจุบันเป็นวิธีการที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในประเทศสหรัฐอเมริกา เพื่อการตรวจหาแอฟลาทอกซิน เพราะเป็นวิธีการที่ง่าย ได้ผลดี และไม่สิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย (ฉายแสง แนคเลอร์ และคณะ, 2529) การตรวจสอบกระทำโดยนำเอาตัวอย่างที่ต้องการตรวจสอบ เช่น ข้าวโพด เมล็ดธัญพืช บดให้แตกมาส่องดูภายใต้แสงอุลตราไวโอเลต ที่ความยาวคลื่นแสง 365 นาโนเมตร เพื่อตรวจหาจุดสีเขียวเหลืองสะท้อนแสง ซึ่งวิธีการนี้ก็พบว่ามีการนำมาใช้ในประเทศไทย โดยบริษัทผู้ส่งออกข้าวโพดนิยมใช้เพื่อตรวจสอบคุณภาพเมล็ดก่อนรับซื้อจากเกษตรกร เนื่องจากรวดเร็วและแม่นยำพอสมควร (Prisnar, 1989) Marsh และคณะ (1969) กล่าวว่าจุดสีเขียวเหลืองสะท้อนแสงเกิดขึ้นเนื่องจากเอนไซม์ peroxidase ที่พบในพืช เช่น ในฝ้าย ข้าวโพด ทำปฏิกิริยากับกรด kojic ที่เชื้อราสร้างขึ้น ซึ่งการประเมินระดับของแอฟลาทอกซินที่ปรากฏ ทำได้โดยการนับจำนวนจุดเรืองแสงที่เกิดขึ้น หรือโดยน้ำหนักแห้งและต่อพื้นที่ของจุดเรืองแสงที่ปรากฏในตัวอย่าง และจากผลงานวิจัยของศูนย์วิจัยปรับปรุงคุณภาพข้าวโพด (2535) พบว่า เมื่อเกลี่ยข้าวโพดบนถาดขนาด 33x38 เซนติเมตร^2 แล้วนับจุดเรืองแสงได้ประมาณ 5 จุด เมื่อนำไปสกัดสารพิษพบว่ามีแอฟลาทอกซินต่ำกว่า 20 ppb แต่เมื่อนับจำนวนจุดเรืองแสงได้มากกว่า 5 จุดจะไม่สามารถประเมินค่าแอฟลาทอกซินได้ใกล้เคียงกับความเป็นจริง เนื่องจากความสัมพันธ์ของจำนวนจุดสีเขียวสะท้อนแสงกับปริมาณแอฟลาทอกซินที่วิเคราะห์ได้นั้นค่อนข้างแปรปรวน (Shotwell *et al.*, 1975) Shotwell และ Hesseltine (1981) กล่าวว่าการศึกษาปริมาณแอฟลาทอกซินในตัวอย่างกับจุดสีเขียวเหลืองสะท้อนแสงอาจให้ค่าจากไม่มีจนถึงมีในปริมาณสูงมาก นักวิจัยได้พยายามค้นคว้าวิจัยหาวิธี

หรือปรับปรุงวิธีการวิเคราะห์สารพิษให้ละเอียดและสะดวกมากขึ้น โดยทั่วไปเทคนิคในการตรวจสอบสารพิษในปัจจุบันมี 3 วิธีคือ

4.1. Chemical method เป็นวิธีการวิเคราะห์ทางเคมี มีวัตถุประสงค์ในการจำแนกและการตรวจหาปริมาณ มีหลายวิธีเช่น high performance liquid chromatography (HPLC), thin layer chromatography (TLC) และ gas chromatography (GS) เป็นต้น โดยมีหลักการคือ ทำการสกัดสารพิษออกจากตัวอย่างที่ต้องการตรวจสอบ และนำไปตรวจหาปริมาณสารพิษตามขั้นตอนของแต่ละวิธีการซึ่งอาจจะใช้ column หรือ plate ก็ได้ ซึ่งตัวอย่างที่นำมาตรวจสอบนั้นต้องมีการทำความสะอาดก่อน ผลที่ได้มีความเฉพาะเจาะจง แม่นยำสูง เหมาะสำหรับการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ซึ่งต้องมีการควบคุมคุณภาพ (Traisat, 1989) แต่ใช้เวลานาน ต้นทุนการวิเคราะห์ต่อตัวอย่างสูงมาก และวิเคราะห์ได้ครั้งละตัวอย่างเท่านั้น ศักดิ์สิทธิ์ การุณยะวานิช และคณะ (2526) กล่าวถึงวิธี mini column ซึ่งเป็นวิธีที่ง่าย ประหยัด และมีความแม่นยำ มาแทนวิธี TCL หรือ GLC ซึ่งวิธีนี้สามารถบอกปริมาณสารพิษได้ต่ำถึง 10 ppb

4.2. Biological method เป็นการตรวจหาเฉพาะทางด้านคุณภาพเท่านั้น โดยอาศัยสิ่งมีชีวิตที่อ่อนแอต่อสารพิษเป็นตัวตรวจสอบ แต่ความแม่นยำและความไวในการตรวจจับของวิธีนี้ต่ำมากเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการอื่น วิธีการทาง biological method เหมาะสำหรับใช้ในการตรวจสอบความเป็นพิษของสารหรือใช้ในการแยกสารพิษชนิดใหม่ของเชื้อรา สิ่งมีชีวิตที่ใช้ในการทดสอบเช่น ตัวอ่อนของไก่ ลูกเป็ด และแบคทีเรีย เป็นต้น

4.3. Immunological method เป็นวิธีการที่ผสมผสานกันระหว่าง chemical method และ biological method เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาเฉพาะเจาะจงระหว่างสารพิษจากเชื้อรา (antigen) และแอนติบอดี (antibody) ที่เฉพาะเจาะจงกับสารพิษชนิดนั้น ๆ immunoassay เป็นวิธีการที่ง่าย สะดวก รวดเร็ว ประหยัด และมีประสิทธิภาพสูง นอกจากนี้ยังสามารถตรวจสอบตัวอย่างได้หลายตัวอย่างพร้อม ๆ กัน ซึ่งวิธี immunological method นี้กำลังเป็นที่นิยมกันอย่างแพร่หลาย เช่น วิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) เป็นต้น

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาชนิดของเชื้อรา *Aspergillus* ในพืชสมุนไพรตากแห้ง
2. เพื่อศึกษาความสามารถในการสร้างสารแอฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus* ที่พบในพืชสมุนไพร
3. เพื่อศึกษาปริมาณแอฟลาทอกซินที่พบในพืชสมุนไพร

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุ

1. ตัวอย่างพืชสมุนไพร

พืชสมุนไพรที่ใช้ในการศึกษามีจำนวน 50 ชนิด ทุกชนิดเป็นส่วนประกอบของพืชที่ตากแห้ง เช่น ใบ ต้น ดอก ผล และจำหน่ายในร้านขายยาแผนไทยในจังหวัดสงขลาและเป็นพืชสมุนไพรที่มีความนิยมใช้สูงซึ่งเป็นข้อมูลที่ได้จากการสำรวจยอดขายจากร้านขายยาแผนโบราณ โดยมูลนิธิสาธารณสุขแห่งชาติและสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (2526) คือ

1. ข้าวเย็นเหนือ (*Smilax ferox* Wall.)
2. อบเชยเทศ (*Cinnamomum zeylanicum* Nees.)
3. ข้าวเย็นใต้ (*Smilax japonica* A. Gray)
4. โป๊ยกั๊ก (*Illicium verum* Hook. f.)
5. ฟ้าทะลายโจร (*Andrographis paniculata* (Burm) Wall.ex Nees)
6. เถาวัลย์เปรียง (*Derris scandens* Benth.)
7. คำฝอย (*Carthamus tinctorius* Linn.)
8. พริกไทย (*Piper nigrum* Linn.)
9. ขิง (*Zingiber officinalis* Rosc.)
10. มะขามแขก (*Cassia acutifolia* Delile)
11. จันทน์ (*Myristica fragrans* Houtt.)
12. สะค้าน (*Piper* spp.)
13. บอระเพ็ด (*Tinospora tuberculata* Beaumee. ; *Tinospora crispa* Miers.)
14. สมอไทย (*Terminalia chebula* Retz.)
15. เจตมูลเพลิง (*Plumbago indica* Linn.)
16. กานพลู (*Eugenia caryophyllus* Bullock & Harrison ;
    Syzygium aromaticum (Linn.) Merr& Perry)

17. ขมิ้นอ้อย (*Curcuma zedoaria* Rosc.)

18. เทียนขาว (*Cuminum cyminum* Linn.)

19. ไพล (*Zingiber purpureum* Rosc.)

20. ดีปลี (*Piper retrofractum* Vahl.)

21. กระวานขาว (*Elettaria cardamomum* Maton. ; *Amomum krervanh* Pierre)

22. ฝาง (*Caesalpinia sappan* Linn.)

23. ผักชี (*Coriandrum sativum* Linn.)

24. ขมิ้นชัน (*Curcuma longa* Linn.)

25. หญ้าคา (*Imperata cylindrica* (Linn.) Beauv.)

26. ทองพันชั่ง (*Rhinacanthus nasutus* (L.) Kurz.)

27. จันทน์แดง (*Dracaena lourieri* Gagnep.)

28. ช้าพลู (*Piper sarmentosum* Roxb.)

29. เปราะ (*Kaempferia pulchra* Ridl.)

30 ว่านน้ำ (*Acorus calamus* Linn.)

31. มะตูม (*Aegle marmelos* Corr.)

32. ขี้เหล็ก (*Cassia siamea* Britt. ; *Senna siamea* (Lam.) Irwin et Barneby)

33. แสมสาร (*Cassia garrettiana* Craib)

34. ชะเอมเทศ (*Glycyrrhiza glabra* Linn.)

35. พยับเมฆ (หญ้าหนวดแมว) (*Orthosiphon stamineus* Benth.)

36. มะกา (*Bridelia ovata* Decne)

37. เทียนข้าวเปลือก (*Foeniculum vulgare* Mill.)

38. แห้วหมู (*Cyperus rotundus* Linn.)

39. จันทน์ขาว (*Diospyros decandra* Lour.)

40. แสมทะเล (*Avicennia marina* (Forsk.) Vierh.)

41. บุนนาค (*Mesua ferrea* Linn.)

42. พิกุล (*Mimusops elengi* Linn.)

43. สารภี (*Ochrocarpus siamensis* T. And.)

44. ระย่อม (*Rauvolfia serpentina* Benth. ex Kurz.)

45. อบเชยญวน (*Cinnamomum laureirii* Nees.)

46. เกสรบัวหลวง (*Nelumbo nucifera* Gaertn.)

47. มะขามป้อม (*Phyllanthus embrica* Linn.)

48. กระชาย (*Boesenbergia pandurata* Holtt. ;

Boesenbergia rotunda (Linn.) Mansf.)

49. ชะลูด (*Alyxia reinwardtii* Bl.)

50. เทียนดำ (*Nigella sativa* Linn.)

หมายเหตุ สมุนไพรลำดับที่ 1 เป็นสมุนไพรที่ได้รับความนิยมใช้สูงสุด สมุนไพรที่อยู่ลำดับถัดมาจะมีความนิยมใช้น้อยกว่าลดหลั่นกันมาโดยลำดับที่ 50 จะนิยมใช้น้อยที่สุดและชื่อวิทยาศาสตร์ได้จากหนังสือของ อรุณพร อิฐรัตน์ (2532ก,ข)

2. สารเคมี

Sucrose

Methanol

Agar

Malt extract

Peptone

Dextrose

$NaNO_3$

K_2HPO_4

$MgSO_4 \cdot 7H_2O$

KCl

$FeSO_4 \cdot 7H_2O$

Glutaraldehyde

3. ชุด ELISA test kit

ชุด ELISA test kit จากกองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร ซึ่งเป็นชุดตรวจสอบสำเร็จรูปประกอบด้วย

1. ถาด micro ELISA plate ที่เคลือบด้วยแอนติเจน (antigen)
2. สารพิษมาตรฐาน (standard aflatoxin B_1) จำนวน 6 ความเข้มข้น
3. Enzyme conjugate 1 vial
4. Substrate solution A และ B อย่างละ 1 ขวด
5. Stopping solution 1 ขวด
6. Conjugate buffer 1 ขวด
7. Washing buffer (PBS - T : phosphate buffered saline - tween 20) 1 ซอง

4. อาหารเลี้ยงเชื้อเตรียมเองตามสูตรในภาคผนวก ได้แก่

Czapek's solution agar (CA)

Malt extract agar (Blakeslee's formula, 1915) (MEA)

Water agar 0.3% (WA)

Coconut milk agar

อุปกรณ์

เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด (analytical balance)
ตู้อบเครื่องแก้ว (hot air oven)
หม้อนึ่งความดัน (autoclave)
ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air flow cabinet)
ไมโครปิเปตต์ (micro pipette)
กล้องจุลทรรศน์ แบบ light microscope
กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope)
กล้องสเตอริโอซูม (stereo zoom)
จานเลี้ยงเชื้อ (petri dish) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 และ 9 เซนติเมตร

เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง (pH meter)

เครื่องเขย่าสารเคมี (table rotary shaker)

เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่น ๆ ที่จำเป็น

วิธีการ

1. การเก็บตัวอย่างพืชสมุนไพร

ทำการเก็บตัวอย่างพืชสมุนไพรแต่ละชนิดโดยสุ่มเก็บจากร้านค้า 4 ร้าน ในจังหวัดสงขลา แต่ละตัวอย่างหนักประมาณ 25 กรัม นำมาเก็บในถุงพลาสติก รัดปากถุงด้วยยางเส้น และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 21±3 °ซ สำหรับไว้ศึกษาต่อไป

2. การแยกเชื้อ *Aspergillus* จากพืชสมุนไพร

ทำการแยกเชื้อ *Aspergillus* จากตัวอย่างพืชสมุนไพรที่สุ่มมา ด้วยวิธี standard blotter plate (Neergaard, 1979) (ภาพที่ 1) โดยนำชิ้นส่วนของพืชสมุนไพร ตัดเป็นชิ้นขนาดประมาณ 1 x 1 เซนติเมตร แช่ใน clorox 10% นาน 2 นาทีเพื่อฆ่าเชื้อบริเวณผิวที่ติดมา จากนั้นใช้ปากคีบจับชิ้นส่วนพืชมาล้างในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง แล้วย้ายลงไปวางในกระดาษกรองฆ่าเชื้อ เพื่อซับน้ำจากชิ้นส่วนพืช ย้ายชิ้นส่วนพืชลงในจานเพาะเชื้อ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ซึ่งภายในประกอบด้วยกระดาษฟางอบฆ่าเชื้อ 2 ชั้นและวางทับด้วยกระดาษกรองอบฆ่าเชื้อ 1 ชั้นให้อยู่ในสภาพชื้นอยู่ตลอดเวลา ทำพืชละ 25 ชิ้นต่อร้านค้าหนึ่งร้าน นำจานเพาะเชื้อไปบ่มเชื้อในสภาพมืด 12 ชั่วโมง และให้ได้รับแสง 12 ชั่วโมงติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 21 °ซโดยมีแหล่งกำเนิดแสงคือ หลอด black light (Philips TLD 36 W/08) ซึ่งมีความยาวคลื่นแสง 360 นาโนเมตร (near ultraviolet (NUV)) จากนั้นตรวจดูเชื้อรา *Aspergillus* ชนิดต่าง ๆ ในตัวอย่างทั้ง 25 ชิ้น นับจำนวนชิ้นของพืชสมุนไพรที่พบเชื้อรา *Aspergillus* บันทึกข้อมูลจำนวนและชนิดของเชื้อรา *Aspergillus* ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราแต่ละโคโลนีที่ขึ้นอยู่บนพืชสมุนไพร 1 ตัวอย่าง (25 ชิ้น) หากพบว่าเป็น *Aspergillus* ชนิดเดียวกันจะเก็บมาเพียง 1 โคโลนี โดยถือว่าเป็นไอโซเลตตัวแทนของ species ที่ได้จากตัวอย่างพืชสมุนไพร 1 ตัวอย่าง ทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์โดยวิธี direct isolation โดยทำการเขี่ยสปอร์ของเชื้อราจากบริเวณ conidial head ภายใต้กล้องสเตอริโอซูมลงในอาหารเลี้ยงจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร Czapek's agar

อยู่ เลี้ยงไว้ 7 วัน เขี่ยเชื้อราที่ได้มาตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ light microscope เก็บเชื้อลงในหลอดอาหารซึ่งภายในบรรจุอาหาร Czapek's agar จำนวน 5 มิลลิลิตร และเนื่องจากตัวอย่างพืชสมุนไพรแต่ละชนิดเก็บจาก 4 ร้าน ดังนั้นหากพบว่ามีเชื้อ *Aspergillus* ชนิดเดียวกันขึ้นอยู่บนตัวอย่างทั้ง 4 ร้านที่เก็บมาก็จะได้เชื้อราชนิดนั้นจำนวน 4 ไอโซเลตต่อพืชสมุนไพร 1 ชนิดสำหรับศึกษาต่อไป

ภาพที่ 2 การแยกเชื้อรา *Aspergillus* จากแห้วหมูโดยวิธี standard blotter plate หลังจากบ่มเชื้อไว้ 7 วัน ที่อุณหภูมิ 21 °ซ

3. การจำแนกเชื้อรา *Aspergillus*

ทำการศึกษาบนอาหาร 2 ชนิด คือ Czapek's agar (CA) และ malt extract agar (MEA) โดยนำเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้จากพืชสมุนไพรในแต่ละชนิดในข้อ 2 มาเตรียม inoculum โดยการเขี่ยเชื้อจากหลอด slant Czapek's agar ลงในหลอด 0.3% WA (water agar 0.3%) 3 มิลลิลิตร เพื่อลดการฟุ้งกระจายของสปอร์ จากนั้นเขี่ยสปอร์จากหลอด 0.3% WA ลงจานเลี้ยงเชื้อซึ่งบรรจุอาหาร CA และ MEA จานเลี้ยงเชื้อละ 20 มิลลิลิตร จานละ 3 จุดให้มีระยะห่างเท่า ๆ กัน จากนั้นนำไปเลี้ยง (incubate) ไว้ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ เป็นเวลา 10 วัน วัดขนาดโคโลนี ถ่ายรูปและศึกษาลักษณะต่าง ๆ เช่น ลักษณะ sterigma รูปร่างและขนาดของ vesicle ลักษณะและสีของโคโลนี รูปร่างและขนาดของสปอร์และอื่น ๆ ศึกษาเปรียบเทียบกับในหนังสืออ้างอิงที่ใช้ในการจำแนกเชื้อราในสกุล *Aspergillus* ซึ่งแต่งโดย Raper และ Fennell (1977) และ Klich และ Pitt (1988) และนำตัวอย่างเชื้อรา *Aspergillus* แต่ละชนิดที่จำแนกได้ไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด โดยมีวิธีการเตรียมดังนี้ คือ เลี้ยงเชื้อรา *Aspergillus* บนอาหาร Czapek's agar เป็นเวลา 4 วัน จากนั้นนำตัวอย่างเชื้อรามาตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาดประมาณ 0.5 x 0.5 เซนติเมตร และ fix ด้วย glutaraldehyde 3% ทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง จึงล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง แล้วนำตัวอย่างไป dehydrate โดยแช่ในแอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้น 50%, 70%, 80%, 90% เป็นเวลาครั้งละ 15 นาที ความเข้มข้นละ 2 ครั้ง และแช่ใน absolute alcohol เป็นเวลา 30 นาที ทำ 2 ครั้ง แล้วจึงนำตัวอย่างที่ได้ไปทำให้แห้งโดยกำจัดแอลกอฮอล์ออกจากตัวอย่าง (critical point dryer ; CPD) ติดตัวอย่างบน stub แล้วนำไปฉาบทอง จากนั้นจึงนำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน

4. การศึกษาความสามารถในการสร้างแอฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus*

4.1 ศึกษาในอาหารเลี้ยงเชื้อ coconut milk agar

เขี่ยเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้จากข้อ 2 ลงในหลอด 0.3% WA 3 มิลลิลิตร จากนั้นเขี่ยสปอร์จากหลอด 0.3% WA ลงในจานเลี้ยงเชื้อซึ่งมี coconut milk agar จำนวน 20 มิลลิลิตร จุดลงตรงกลางจานเลี้ยงเชื้อ 1 จุด บ่มเชื้อไว้ที่ 26 °ซ เป็นเวลานาน 4 วัน นำไปส่องดูการเรืองแสงภายใต้แสงอุลตราไวโอเลต ซึ่งถ้าเชื้อมีการสร้างแอฟลาทอกซิน อาหารในจานเลี้ยงเชื้อบริเวณที่มีแอฟลาทอกซินปนเปื้อนอยู่จะเกิดการเรืองแสงขึ้น

4.2. การศึกษาปริมาณแอฟลาทอกซินโดยเชื้อรา *A. flavus* ในอาหาร coconut milk broth โดยวิธี ELISA

นำเชื้อ *A. flavus* บริสุทธิ์ที่ได้จากการทดสอบบนอาหาร coconut milk agar ซึ่งสามารถเรืองแสงได้ และไม่สามารถเรืองแสงได้มาอย่างละ 2 ไอโซเลต มาเลี้ยงในอาหาร coconut milk broth จำนวน 100 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุใน flask ขนาด 250 มิลลิลิตร เขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที บ่มเชื้อไว้ 6 วัน ใช้พาสเจอร์ปิเปตดูดของเหลวในอาหาร coconut เหลวประมาณ 3 มิลลิลิตร ที่ระยะเวลา 0 และทุก ๆ 24 ชั่วโมงเป็นเวลา 6 วัน นำของเหลวที่ได้มาทดสอบหาปริมาณแอฟลาทอกซินโดยวิธีการ ELISA โดยใช้ชุด ELISA test kit จากกองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร โดยหยด AFB_1 Standard ความเข้มข้น 0, 5, 50, 100, 250 และ 500 ppb ปริมาณ 50 µl/หลุม ลงในหลุม 2 หลุมต่อความเข้มข้น หยดสารละลายจากตัวอย่างที่ต้องการตรวจสอบ ตัวอย่างละ 50 µl/หลุม ลงในหลุมที่เหลือ 2 หลุมต่อตัวอย่าง จากนั้นหยด enzyme conjugate ที่เจือจางแล้วลงในทุกหลุม ๆ ละ 50 µl/หลุม เขย่าเบา ๆ ให้เข้ากันแล้วเก็บในที่มืด ในสภาพอุณหภูมิห้อง นาน 15 นาที คว่ำเทสารในหลุมทิ้งแล้วล้างหลุมด้วย washing buffer จนล้นทุกหลุม โดยเริ่มจากหลุมล่างขึ้นข้างบนแล้ววางทิ้งไว้ 3 นาที เททิ้งและทำซ้ำอีก 2 ครั้ง หลังจากครั้งสุดท้ายคว่ำและสะบัดให้สะเด็ดน้ำ หยด substrate ที่เตรียมไว้ 100 µl/หลุม ทุกหลุมแล้วบ่มไว้ 5 นาที ในที่มืด อ่านค่าการปนเปื้อนสารพิษในตัวอย่าง โดยใช้ micro plate reader และวิเคราะห์หาปริมาณแอฟลาทอกซินด้วยเครื่องคอมพิวเตอร์โปรแกรม Kinetic calculation แบบ log/logic

5. การศึกษาเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *A. flavus* ระหว่างสายพันธุ์ที่สร้างแอฟลาทอกซินและไม่สร้างแอฟลาทอกซิน

เลี้ยงเชื้อ *A. flavus* บริสุทธิ์ สายพันธุ์ที่สร้างแอฟลาทอกซินและไม่สร้างแอฟลาทอกซินอย่างละ 2 ไอโซเลตบนอาหาร CA เป็นเวลา 4 และ 10 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ตัดชิ้นวุ้นเชื้อที่มีอายุ 4 วัน ไปผ่านขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างเช่นเดียวกันกับข้อ 3 จากนั้นนำตัวอย่างมาส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด เปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกัน ส่วนเชื้อที่มีอายุ 10 วันนำมาศึกษาลักษณะต่าง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ light microscope เพื่อศึกษาลักษณะต่าง ๆ ดังนี้คือ ขนาดโคโลนี, conidial head, vesicle, conidiophore, primary sterigma, secondary sterigma, conidium และ sclerotium เป็นต้น

6. การตรวจหาปริมาณแอฟลาทอกซินในพืชสมุนไพรโดยวิธี ELISA

ใช้ชุด ELISA test kit จากกองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร

วิธีการเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างพืชสมุนไพรในข้อ 1 มาทำให้ละเอียดโดยการหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปปั่นอีกครั้งในเครื่องปั่นเพื่อให้ละเอียดยิ่งขึ้น

วิธีการสกัด

ในการสกัดใช้ตัวอย่างปริมาณ 20 กรัมต่อ methanol 70% 100 มิลลิลิตร นำมาเขย่าด้วย shaker ที่ความเร็วรอบ 300 รอบต่อนาที นาน 30 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน 3-5 นาที จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง เก็บสารละลายที่ได้นำมาตรวจสอบ โดยวิธีการ ELISA เช่นเดียวกันกับในข้อ 4.2

บทที่ 3

ผลและวิจารณ์

1. ความหลากหลายของเชื้อรา *Aspergillus* ที่พบบนพืชสมุนไพร

เก็บตัวอย่างพืชสมุนไพรจำนวน 50 ชนิด โดยสุ่มเก็บจากร้านขายยาแผนไทย 4 ร้าน ในจังหวัดสงขลา ทำการแยกเชื้อรา *Aspergillus* . จากตัวอย่างพืชสมุนไพรที่สุ่มมา ด้วยวิธี standard blotter plate พบ *Aspergillus* หลายชนิดในปริมาณต่าง ๆ กัน (ตารางที่ 1) สมุนไพรที่ไม่พบเชื้อรา *Aspergillus* มี 9 ชนิด ได้แก่ อบเชยเทศ โป๊ยกั๊ก ฟ้าทะลายโจร คำฝอย กานพลู กระวานขาว ผักชี ขมิ้นชัน และแสมสาร พืชสมุนไพรที่พบเชื้อรา *Aspergillus* มากที่สุด คือ ระย่อม โดยพบเชื้อรา *Aspergillus* จำนวน 9 ชนิด รองลงมาคือ กระชาย พบเชื้อรา *Aspergillus* จำนวน 8 ชนิด พิกุล เทียนข้าวเปลือก และสารภี พบเชื้อรา *Aspergillus* จำนวน 6 ชนิด ส่วนเถาวัลย์เปรียง บอระเพ็ด ขมิ้นอ้อย เปราะ ว่านน้ำ มะตูม พยับเมฆ มะกา บุนนาค และเกสรบัวหลวงพบเชื้อรา *Aspergillus* จำนวน 5 ชนิด ข้าวเย็นเหนือ มะขามแขก เทียนขาว ชะเอมเทศ แห้วหมู จันทน์ขาว และเทียนดำ พบเชื้อรา *Aspergillus* จำนวน 4 ชนิด ข้าวเย็นใต้ หญ้าคา และช้าพลู พบเชื้อรา *Aspergillus* จำนวน 3 ชนิด ขิง จันทน์ สะค้าน เจตมูลเพลิง ฝาง ขี้เหล็ก แสมทะเล อบเชยญวน มะขามป้อม และชะลูดพบเชื้อรา *Aspergillus* จำนวน 2 ชนิด ส่วน พริกไทย สมอไทย ไพล ดีปลี ทองพันชั่ง และจันทน์แดงพบเชื้อรา *Aspergillus* จำนวน 1 ชนิด เชื้อรา *Aspergillus* ที่พบบนพืชสมุนไพรมากชนิดคือ *A. niger* โดยพบบนสมุนไพรจำนวน 35 ชนิด รองลงมาคือ *A. flavus* พบบนพืชสมุนไพร 30 ชนิด *A. terreus* พบบนพืชสมุนไพร 21 ชนิด (ตารางที่ 2) ปริมาณเชื้อราแต่ละชนิดที่พบบนพืชสมุนไพรก็แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของพืชสมุนไพร เช่น *A. niger* พบมากบนสมอไทยจำนวน 88% ของชิ้นตัวอย่างที่ทำการตรวจ รองลงมาคือแห้วหมูพบจำนวน 82% ส่วน *A. flavus* พบบนบอระเพ็ดจำนวน 100% รองลงมาคือเถาวัลย์เปรียงพบ 70% เป็นต้น (ตารางที่ 1)

จากการแยกเชื้อ *Aspergillus* บริสุทธิ์จำนวน 288 ไอโซเลต สามารถจำแนกออกได้เป็น 25 ชนิด คือ *A. alliaceus, A. auricomus, A. carbonarius, A. carneus, A. chevalieri, A. clavatus, A. fischeri, A. flavus, A. fumigatus, A. janus, A. melleus, A. nidulans, A. niger, A. ochraceus, A. oryzae, A. phoencis, A. sparsus,A. terreus, A. terricola, A. thomii, A. versicolor, A. wentii,*

และ *Aspergillus* sp.1-3 (ตารางที่ 2) โดย *Aspergillus* ที่แยกได้มากที่สุด คือ *A. niger* จำนวน 99 ไอโซเลต รองลงมาคือ *A. flavus* จำนวน 83 ไอโซเลต *A. terreus* 33 ไอโซเลต *A. oryzae* 25 ไอโซเลต *A. nidulans* 10 ไอโซเลต *A. fumigatus* 9 ไอโซเลต *A. chevalieri* 8 ไอโซเลต และสำหรับใน *Aspergillus* ชนิดอื่น ๆ ที่เหลือแยกได้ชนิดละ 1-2 ไอโซเลตเท่านั้น นอกจากนี้ยังพบ *Aspergillus* จำนวน 3 species มีการสืบพันธุ์แบบใช้เพศ จัดอยู่ในกลุ่ม Plectomycetes, Order Eurotiales, Family Trichocomaceae โดยพบว่าเชื้อราทั้ง 3 ชนิดนี้มีการสร้าง cleistothecium ได้แก่ *A. chevalieri* ระยะที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศมีชื่อเรียกว่า *Eurotium chevalieri*, *A. fischeri* ระยะที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศมีชื่อเรียกว่า *Sartorya fumigata* และ *A. nidulans* ระยะที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศมีชื่อเรียกว่า *Emericella nidulans*

ตารางที่ 1 ชนิดและเปอร์เซ็นต์ของเชื้อรา *Aspergillus* ที่พบบนพืชสมุนไพรชนิดต่างๆ เมื่อตรวจหาด้วยวิธี standard blotter plate

พืชสมุนไพร	ส่วนของพืชสมุนไพร	ชนิดของ *Aspergillus* (% ชิ้นสมุนไพรที่ตรวจพบเชื้อ)
1. ข้าวเย็นเหนือ	หัว	*A. flavus* (57%), *A. niger* (72%), *A. oryzae* (3%), *A. sparsus* (8%)
2. อบเชยเทศ	เปลือกลำต้น	ไม่มีเชื้อ *Aspergillus* เจริญ
3. ข้าวเย็นใต้	หัว	*A. chevalieri* (25%), *A. niger* (43%), *A. terreus* (2%)
4. โป๊ยกั๊ก	ดอก	ไม่มีเชื้อ *Aspergillus* เจริญ
5. ฟ้าทะลายโจร	ใบ, ลำต้น กิ่ง, ก้าน	ไม่มีเชื้อ *Aspergillus* เจริญ
6. เถาวัลย์เปรียง	เถา	*A. flavus* (70%), *A. janus* (21%), *A. niger* (54%), *A. oryzae* (5%), *A. terreus* (5%)
7. คำฝอย	ดอก	ไม่มีเชื้อ *Aspergillus* เจริญ
8. พริกไทย	ผล	*A. fumigatus* (2%)
9. ขิง	เหง้า	*A. flavus* (1%), *A. oryzae* (1%)
10. มะขามแขก	ใบ	*A. flavus* (9%), *A. fumigatus* (1%), *A. nidulans* (1%), *A. niger* (14%)
11. จันทน์	ดอก	*A. flavus* (19%), *A. niger* (78%)
12. สะค้าน	เถา	*A. flavus* (4%), *A. niger* (7%)
13. บอระเพ็ด	เถา (ลำต้น)	*A. flavus* (100%), *A. niger* (1%), *A. oryzae* (50%), *A. terreus* (21%), *A. versicolor* (2%)
14. สมอไทย	ผล	*A. niger* (88%)
15. เจตมูลเพลิง	กิ่ง, ก้าน, ใบ, ลำต้น	*A. niger* (62%), *A. wentii* (1%)
16. กานพลู	ก้านดอก	ไม่มีเชื้อ *Aspergillus* เจริญ

ตารางที่ 1 (ต่อ)

พืชสมุนไพร	ส่วนของพืชสมุนไพร	ชนิดของ *Aspergillus* (% ชิ้นสมุนไพรที่ตรวจพบเชื้อ)
17. ขมิ้นอ้อย	เหง้า	*A. clavatus* (1%), *A. flavus* (10%), *A. nidulans* (1%), *A. niger* (12%), *A. terreus* (1%)
18. เทียนขาว	เมล็ด	*A. fumigatus* (3%), *A. flavus* (2%), *A. niger* (12%), *A. terreus* (1%)
19. ไพล	เหง้า	*A. niger* (1%)
20. ดีปลี	ดอก	*A. flavus* (1%)
21. กระวานขาว	ลำต้น	ไม่มีเชื้อ *Aspergillus* เจริญ
22. ฝาง	ลำต้น	*A. chevalieri* (1%), *A. niger* (1%)
23. ผักชี	ผล	ไม่มีเชื้อ *Aspergillus* เจริญ
24. ขมิ้นชัน	หัว	ไม่มีเชื้อ *Aspergillus* เจริญ
25. หญ้าคา	ราก	*A. flavus* (10%), *A. niger* (53%), *A. terreus* (2%)
26. ทองพันชั่ง	ใบ	*A. fumigatus* (8%)
27. จันทน์แดง	ลำต้น	*A. flavus* (4%)
28. ช้าพลู	กิ่ง, ก้าน, ใบ, ลำต้น	*A. fumigatus* (20%), *A. niger* (22%), *A. oryzae* (12%)
29. เปราะ	ใบ, กิ่ง, ก้าน	*A. chevalieri* (4%), *A. flavus* (3%), *A. niger* (3%), *A. oryzae* (2%), *Aspergillus* sp.1 (1%)
30. ว่านน้ำ	เถา (ลำต้น)	*A. fumigatus* (16%), *A. flavus* (25%), *A. nidulans* (11%), *A. niger* (13%), *A. terreus* (55%)
31. มะตูม	ผล	*A. flavus* (20%), *A. nidulans* (8%), *A. niger* (53%), *A. oryzae* (13%), *A. terreus* (4%)
32. ขี้เหล็ก	เนื้อไม้	*A. niger* (3%), *A. oryzae* (2%)

ตารางที่ 1 (ต่อ)

พืชสมุนไพร	ส่วนของพืชสมุนไพร	ชนิดของ *Aspergillus* (% ชิ้นสมุนไพรที่ตรวจพบเชื้อ)
33. แสมสาร	ลำต้น, เปลือก	ไม่มีเชื้อ *Aspergillus* เจริญ
34. ชะเอมเทศ	เถา (ลำต้น)	*A. flavus* (37%), *A. niger* (38%), *A. terricola* (2%), *A. terreus* (7%)
35. พยับเมฆ	กิ่ง, ก้าน, ใบ, ลำต้น	*A. flavus* (7%), *A. fumigatus* (3%),*A. niger* (19%), *A. oryzae* (2%), *A. terreus* (6%)
36. มะกา	กิ่ง,ก้าน, ใบ	*A. flavus* (5%), *A. nidulans* (1%), *A. niger* (13%), *A. oryzae* (6%), *A. terreus* (3%)
37. เทียนข้าวเปลือก	เมล็ด	*A. carneus* (5%), *A. flavus* (8%), *A. nidulans* (2%), *A. niger* (7%), *A. oryzae* (4%), *A. terreus* (4%)
38. แห้วหมู	ต้น	*A. chevalieri* (2%), *A. flavus* (20%), *A. niger* (82%), *A. terreus* (61%)
39. จันทน์ขาว	เนื้อไม้	*A. flavus* (1%), *A. nidulans* (1%), *A. niger* (3%), *A. terreus* (1%),
40. แสมทะเล	เนื้อไม้	*A. terreus* (1%), *Aspergillus* sp. 2 (4%),
41. บุนนาค	ดอก	*A. chevalieri* (1%), *A. flavus* (23%), *A. fischeri* (4%), *A. fumigatus* (2%), *A. niger* (58%)
42. พิกุล	ดอก	*A. carbonarius* (1%), *A. flavus* (8%), *A. nidulans* (2%), *A. niger* (64%), *A. phoenicis* (2 %), *A. terreus* (21%)
43. สารภี	ดอก	*A. flavus*(13%), *A. niger*(59%), *A. ochraceus* (2%), *A. oryzae* (11%), *A. terreus* (11%), *A. versicolor* (4%)

ตารางที่ 1 (ต่อ)

พืชสมุนไพร	ส่วนของพืชสมุนไพร	ชนิดของ *Aspergillus* (% ชิ้นสมุนไพรที่ตรวจพบเชื้อ)
44. ระย่อม	ราก	*A. alliaceus* (1%), *A. chevalieri* (25%), *A. flavus* (54%), *A. janus* (22%), *A. niger* (35%), *A. oryzae* (16%), *A. terreus* (1%), *A. thomii* (1%), *A. versicolor* (4%)
45. อบเชยญวน	เปลือกลำต้น	*A. flavus* (9%), *A. niger* (31%)
46. เกสรบัวหลวง	เกสร	*A. auricomus* (1%), *A. flavus* (26%), *A. niger* (24%), *A. oryzae* (1%), *A. terreus* (8%)
47. มะขามป้อม	ผล	*A. niger* (52%), *A. chevalieri* (4%)
48. กระชาย	เหง้า	*A. flavus* (18%), *A. janus* (1%), *A. melleus* (2%), *A. nidulans* (1%), *A. niger*(35%), *A. oryzae* (27%), *A. terreus* (1%), *Aspergillus* sp. (2) (2%)
49. ชะลูด	ลำต้น	*A. flavus* (4%), *A. niger* (23%)
50. เทียนดำ	เมล็ด	*A. flavus* (2%), *A. niger* (13%), *A. oryzae* (2%), *A. terreus* (1%)

ตารางที่ 2 แสดงจำนวนไอโซเลตของเชื้อราที่แยกได้จากพืชสมุนไพรจำนวน 50 ชนิด

ชนิดเชื้อรา	จำนวนชนิดสมุนไพรที่พบ	จำนวนไอโซเลตเชื้อราที่แยกได้
A. alliaceus	1	1
A. auricomus	1	1
A. carbonarius	1	1
A. carneus	1	2
A.chevalieri (*Eurotium chevalieri*)	7	8
A. clavatus	1	1
A. fischeri (*Sartorya fumigata*)	1	1
A. flavus	30	84
A. fumigatus	8	9
A. janus	3	3
A. melleus	1	1
A. nidulans (*Emericella nidulans*)	9	10
A. niger	35	99
A. ochraceus	1	1
A. oryzae	15	25
A. phoenicis	1	1
A. sparsus	1	1
A. terreus	21	33
A. terricola	1	1
A. thomii	1	1
A. versicolor	2	2
A. wentii	1	1
Aspergillus sp. 1	1	1
Aspergillus sp. 2	1	1
Aspergillus. sp. 3	1	1

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราแต่ละชนิดมีดังนี้ คือ

1.1 *Aspergillus alliaceus* Thom & Church (ภาพที่ 3)

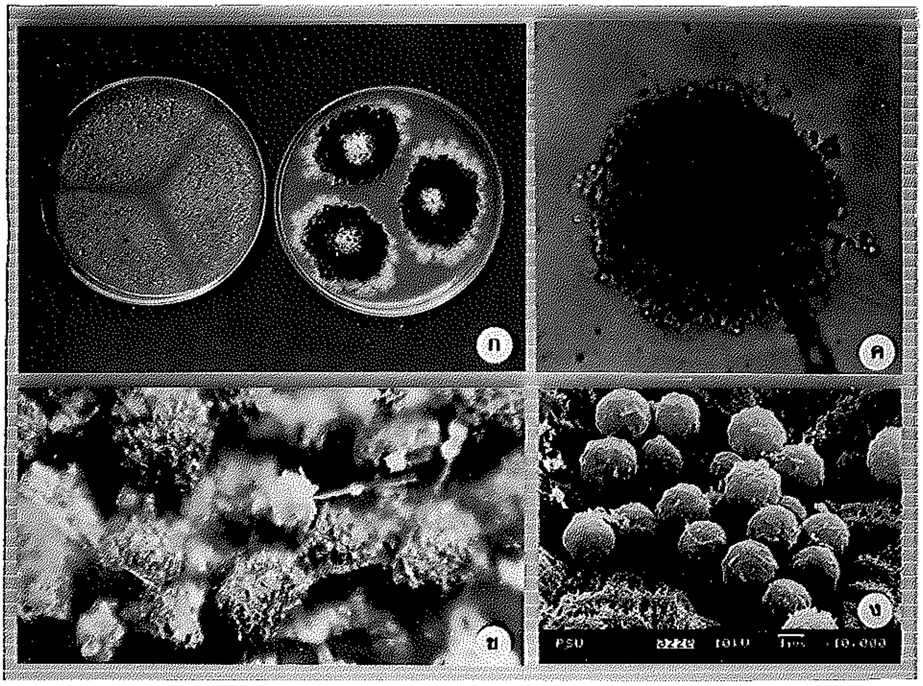
จัดอยู่ใน subgenus *Circumdati* section *Circumdati* (*Gam et al.*, 1985) และ *A. ochraceus* group (Raper and Fennell, 1977)

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.4 เซนติเมตร ในเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head ขณะยังอ่อนมีสีขาว รูปร่างกลม และกลายเป็นสีเหลืองน้ำตาลอ่อนเมื่อโตเต็มที่ ส่วนใหญ่เป็นแบบ radiate มีขนาด 94.8-147.4 x 73.7-158.0 μm (เฉลี่ย = 113.7 x 127.9 μm) conidiophore ใสไม่มีสี ผนังหนา ผิวเรียบ ยาว 579.2-989.8 μm (เฉลี่ย = 746.6 μm) กว้าง 7.5-10.0 μm (เฉลี่ย = 8.1 μm) vesicle รูปร่างกลม ใสไม่มีสี มีขนาด 20.0-37.5 x 20.0-37.5 μm (เฉลี่ย = 27.1 x 29.6 μm) sterigma บน vesicle เป็นแบบ biseriate primary sterigma มีขนาด 7.7-15.4 x 1.9-6.7 μm (เฉลี่ย = 11.5 x 4.0 μm) secondary sterigma มีขนาด 5.8-10.6 x 1.0-1.9 μm (เฉลี่ย = 7.7 x 1.8 μm) conidium กลม ใสไม่มีสี ผิวไม่เรียบ ขนาด 1.4-2.9 μm (เฉลี่ย = 2.1 μm) เส้นใยสีขาว มีการสร้าง conidium ในปริมาณน้อย มีการปลดปล่อยของเหลว (exudate) สีดำใส มีการสร้างเม็ด sclerotium มีรูปร่างค่อนข้างกลม ในระยะแรกมีสีขาวครีม ต่อมากลายเป็นสีดำในที่สุด มีขนาด 210.6-379.1 x 294.8-452.8 μm (เฉลี่ย = 294.0 x 365.9 μm)

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.6 เซนติเมตร เส้นใยสีขาว ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head แบบ loosely columnar ถึง radiate สีเหลืองเขียวถึงสีเขียวกระจายทั่วทั้งโคโลนีมีขนาด 73.7-158.0 x 84.2-147.4 μm (เฉลี่ย= 111.6 x 105.8 μm)

ลักษณะที่ได้สอดคล้องกับ *A. alliaceus* ที่ Klich และ Pitt (1988) และ Raper และ Fennell (1977) ได้รายงานไว้

พบในพืชสมุนไพรจำนวน 1 ชนิดคือ ระย่อม



ภาพที่ 3 *Aspergillus alliaceus*

ก โคโลนีบนอาหาร MEA และ CA (อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ)

ข Conidial head และ sclerotium (x 50)

ค Vesicle, sterigma และ conidium (x 400)

ง Conidium (x 10,000)

1.2 *Aspergillus auricomus* (Gueguen) Saito (ภาพที่ 4)

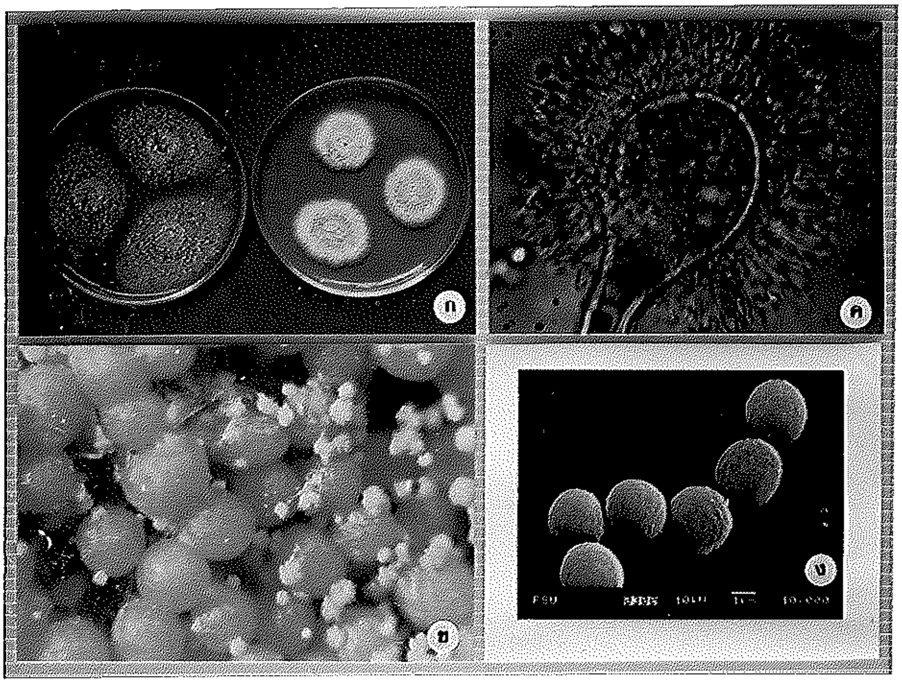
จัดอยู่ใน subgenus *Circumdati* section *Circumdati* (*Gam et al.*, 1985) และ *A. ochraceus* group (Raper and Fennell, 1977)

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.0 เซนติเมตร ในเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head ขณะยังอ่อนมีสีขาว รูปร่างกลม และค่อยเปลี่ยนไปเป็นสีเหลืองอ่อนเมื่อโตเต็มที่ ส่วนใหญ่เป็นแบบ radiate มีขนาด 168.5-242.2 x 189.5-273.8 µm (เฉลี่ย = 204.8 x 220.1 µm) conidiophore ใสไม่มีสี ผนังบาง ผิวเรียบ ยาว 315.9-526.5 µm (เฉลี่ย = 391.7 µm) กว้าง 5.8-9.6 µm (เฉลี่ย = 7.8 µm) vesicle รูปร่างกลม ใสไม่มีสี มีขนาด 18.2-30.7 x 18.2-36.5 µm (เฉลี่ย = 23.8 x 26.4 µm) sterigma บน vesicle เป็นแบบ biseriate primary sterigma มีขนาด 9.6-13.4 x 2.9-4.8 µm (เฉลี่ย = 11.1 x 3.5 µm) secondary sterigma มีขนาด 5.8-11.5 x 1.4-2.4 µm (เฉลี่ย = 8.7 x 1.9 µm) conidium กลม ใสไม่มีสี ผิวเรียบ ขนาด 1.9-3.8 µm (เฉลี่ย = 2.9 µm) เส้นใยสีขาว สร้างเม็ด sclerotium รูปร่างค่อนข้างกลม ในระยะแรกมีสีขาวครีม ต่อมากลายเป็นสีเหลืองทองในที่สุด มีขนาด 379.1-652.9 x 400.1-747.6 µm (เฉลี่ย = 533.0 x 590.5 µm)

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.3 เซนติเมตร เส้นใยสีขาว ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head แบบ radiate สีเนื้อเข้มกระจายทั่วทั้งโคโลนีมีขนาด 179.0-326.4 x 210.6-379.1 µm (เฉลี่ย = 239.0 x 275.9 µm)

ลักษณะที่ได้สอดคล้องกับ *A. auricomus* ที่ Klich และ Pitt (1988) และ Raper และ Fennell (1977) ได้รายงานไว้

พบในพืชสมุนไพรจำนวน 1 ชนิดคือ เกสรบัวหลวง



ภาพที่ 4 *Aspergillus auricomus*

ก โคโลนีบนอาหาร MEA และ CA (อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ)

ข Conidial head และ sclerotium (x 50)

ค Vesicle, sterigma และ conidium (x 900)

ง Conidium (x 10,000)

1.3 *Aspergillus carbonarius* (Bainier) Thom (ภาพที่ 5)

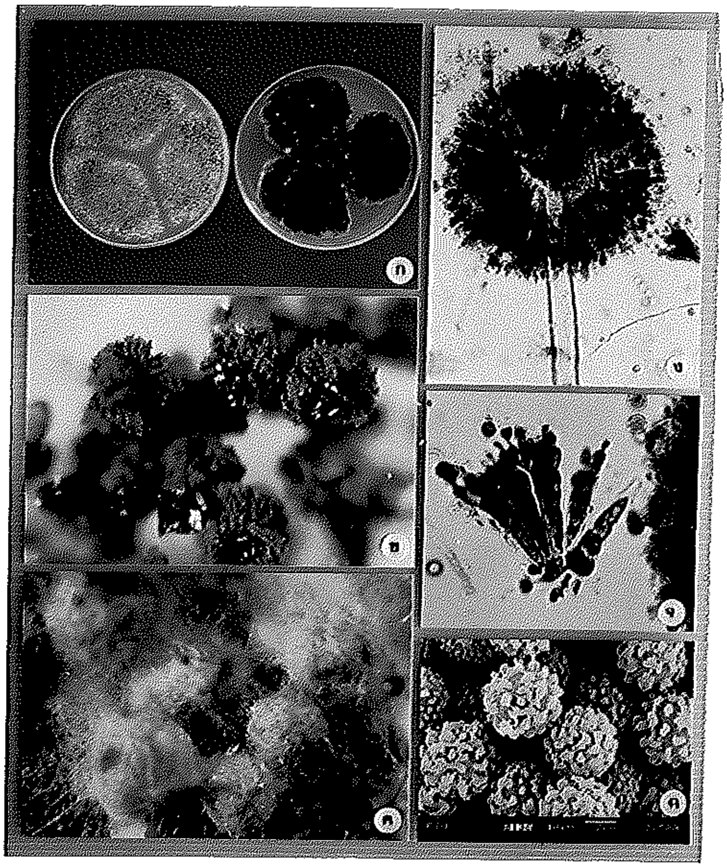
จัดอยู่ใน subgenus *Circumdati* section *Nigri* (*Gam et al.*, 1985) และ *A. niger* group (Raper and Fennell, 1977)

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.0 เซนติเมตร ในเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head ขณะยังอ่อนมีสีน้ำตาลอ่อน รูปร่างกลม และค่อยเปลี่ยนไปเป็นสีดำเมื่อโตเต็มที่ ส่วนใหญ่เป็นแบบ radiate มีขนาด 284.9-621.6 x 336.7-569.8 µm (เฉลี่ย = 468.8 x 484.3 µm) conidiophore สีน้ำตาลอ่อนใส ผนังหนา ผิวเรียบ ยาว 1761.2-2849.0 µm (เฉลี่ย = 2147.3 µm) กว้าง 17.5-30.0 µm (เฉลี่ย = 23.4 µm) vesicle รูปร่างกลม สีน้ำตาลอ่อนใส มีขนาด 62.5-80.0 x 62.5-75.0 µm (เฉลี่ย = 70.8 x 67.5 µm) sterigma บน vesicle เป็นแบบ biseriate primary sterigma มีขนาด 37.5-60.0 x 7.5-12.5 µm (เฉลี่ย = 49.0 x 10.5 µm) secondary sterigma มีขนาด 12.5-17.5 x 5.0-7.5 µm (เฉลี่ย = 15.5 x 5.5 µm) conidium กลม สีน้ำตาลแดงใส ผิวไม่เรียบ ขนาด 5.0-10.0 µm (เฉลี่ย = 7.1 µm) เส้นใยสีขาวและกลายเป็นสีเหลืองอ่อนเมื่ออายุมากขึ้น สร้างเม็ด sclerotium รูปร่างค่อนข้างกลม ในระยะแรกมีสีขาวครีม ต่อมากลายเป็นสีน้ำตาลเข้ม และสีดำในที่สุด มีขนาด 673.4-1191.4 x 725.2-1165.5 µm (เฉลี่ย = 964.8 x 954.0 µm)

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.9 เซนติเมตร เส้นใยสีขาว ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head แบบ radiate สีดำเข้มกระจายทั่วทั้งโคโลนีมีขนาด 388.5-647.5 x 388.5-569.8 µm (เฉลี่ย = 474.0 x 492.1 µm)

ลักษณะที่ได้สอดคล้องกับ *A. carbonarius* ที่ Klich และ Pitt (1988) และ Raper และ Fennell (1977) ได้รายงานไว้

พบในพืชสมุนไพรจำนวน 1 ชนิดคือ พิกุล



ภาพที่ 5 *Aspergillus carbonarius*

ก โคโลนีบนอาหาร MEA และ CA (อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ)

ข Conidial head (x 50)

ค Sclerotium (x 10)

ง Vesicle, sterigma และ conidium (x 150)

จ Sterigma และ conidium (x 500)

ฉ Conidium (x 7,500)

1.4 *Aspergillus carneus* (V. Tiegh.) Blochwitz (ภาพที่ 6)

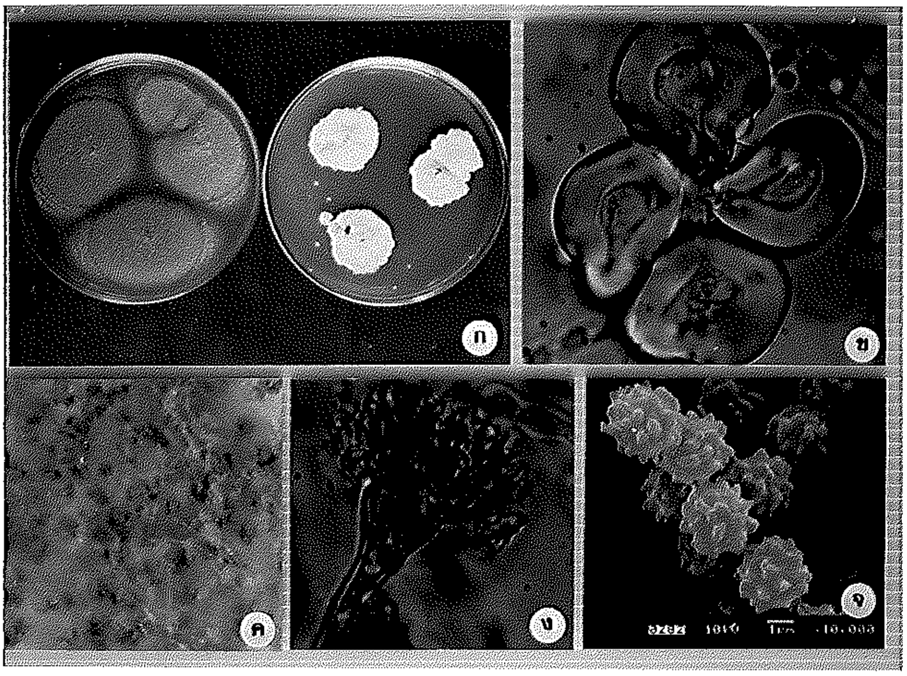
จัดอยู่ใน subgenus *Nidulantes* section *Flavipedes* (*Gam et al.*, 1985) และ *A. flavipes* group (Raper and Fennell, 1977)

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.2 เซนติเมตร ในเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head ขณะยังอ่อนมีสีขาว รูปร่างกลม และค่อยเปลี่ยนไปเป็นสีน้ำตาลอ่อนและสีน้ำตาลอ่อนขุ่นเมื่อโตเต็มที่ ส่วนใหญ่เป็นแบบ radiate และ loosely columnar มีขนาด 42.1-94.8 x 42.1-84.2 µm (เฉลี่ย = 64.2 x 62.1 µm) conidiophore สีน้ำตาลใส ผิวเรียบ ยาว 294.8-537.0 µm (เฉลี่ย = 393.8 µm) กว้าง 2.5-8.8 µm (เฉลี่ย = 5.6 µm) vesicle รูปร่างค่อนข้างกลม มีขนาด 10.0-20.0 x 12.5-25.0 µm (เฉลี่ย = 15.5 x 19.2 µm) sterigma บน vesicle เป็นแบบ biseriate primary sterigma มีขนาด 4.8-6.7 x 1.0-1.9 µm (เฉลี่ย = 5.2 x 1.8 µm) secondary sterigma มีขนาด 4.8-6.7 x 1.0-1.9 µm (เฉลี่ย = 5.8 x 1.8 µm) conidium กลม ใสไม่มีสี ผิวเรียบ ขนาด 1.9-5.8 µm (เฉลี่ย = 2.9 µm) เส้นใยสีขาวและบางส่วนพัฒนาเปลี่ยนไปเป็นสีน้ำตาล มีการสร้าง conidium น้อย พบการสร้าง aerial mycelium เป็นปุย ฟูในปริมาณมาก ไม่มีการสร้างเม็ด sclerotium มีการสร้าง hulle cell รูปร่าง irregula มีขนาด 12.5-20.0 x 45.0-92.5 µm (เฉลี่ย = 17.5 x 63.5 µm)

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.5 เซนติเมตร เส้นใยสีขาว มีการสร้าง aerial mycelium พบการสร้าง hulle cell ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head แบบ radiate สีเขียวฟ้าเข้มกระจายทั่วทั้งโคโลนี มีขนาด 73.7-131.6 x 79.0-136.9 µm (เฉลี่ย = 100.6 x 103.2 µm)

ลักษณะที่ได้สอดคล้องกับ *A. carneus* ที่ Klich และ Pitt (1988) และ Raper และ Fennell (1977) ได้รายงานไว้

พบในพืชสมุนไพรจำนวน 1 ชนิดคือ เทียนข้าวเปลือก



ภาพที่ 6 *Aspergillus carneus*

ก โคโลนีบนอาหาร MEA และ CA (อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ)

ข Hulle cell (x 400)

ค Conidial head (x 50)

ง Vesicle, sterigma และ conidium (x 700)

จ Conidium (x 10,000)

1.5 *Aspergillus chevalieri* (Mangin) Thom & Church (Teleomorph, *Eurotium chevalieri* Mangin) (ภาพที่ 7)

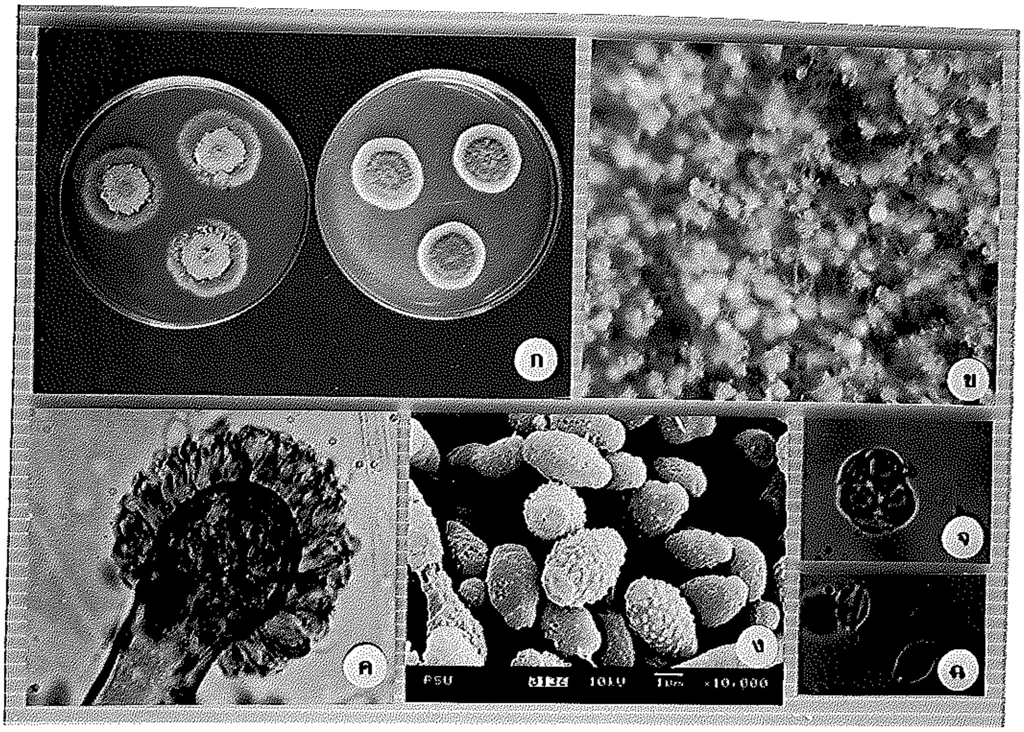
จัดอยู่ใน subgenus *Aspergillus* section *Aspergillus* (*Gam et al.*, 1985) และ *A. glaucus* group (Raper and Fennell, 1977)

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA 20% sucrose มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.3 เซนติเมตร ในเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head มีสีเขียวดำเหลือง เมื่อโตเต็มที่ ส่วนใหญ่เป็นแบบ radiate มีขนาด 126.4-210.6 x 126.4-200.1 µm (เฉลี่ย = 162.2 x 156.9 µm) conidiophore ใสไม่มีสี ผนังบาง เรียบ ยาว 189.5-494.9 µm (เฉลี่ย = 295.9 µm) กว้าง 5.0-10.0 µm (เฉลี่ย = 7.2 µm) vesicle ค่อนข้างกลม สีน้ำตาลอ่อนใส มีขนาด 10.0-20.0 x 10.0-27.5 µm (เฉลี่ย = 14.6 x 16.0 µm) sterigma บน vesicle เป็นแบบ uniseriate primary sterigma มีขนาด 5.0-7.5 x 2.5-5.0 µm (เฉลี่ย = 6.2 x 2.8 µm) conidium ยาวรี ใสไม่มีสี ผิวไม่เรียบ ขนาด 1.0-2.9 µm (เฉลี่ย = 2.0 µm) เส้นใยสีขาว ไม่มีการสร้างเม็ด sclerotium สร้าง cleistothecium รูปร่างกลม สีเหลืองทอง เปลือย มีขนาด 84.2-126.4 x 63.2-115.8 µm (เฉลี่ย = 92.7 x 88.4 µm) สร้าง ascus มีรูปร่างกลม มีขนาด 7.5-10.0 x 7.5-10.0 µm (เฉลี่ย = 8.8 x 8.8 µm) ภายใน ascus มี ascospore รูปร่างคล้ายดาวเสาร์ มีขนาด 2.9-4.8 x 2.9-4.8 µm (เฉลี่ย = 4.0 x 3.8 µm) ด้านใต้ของอาหารเลี้ยงเชื้อ บริเวณกลางโคโลนีซึ่งเป็น perfect stage มีสีน้ำตาลเข้ม ส่วนบริเวณรอบนอกซึ่งเป็นส่วนของเส้นใยและ conidium มีสีเขียวขุ่นเหลือง

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.9 เซนติเมตร เส้นใยสีขาว ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head ส่วนใหญ่เป็น perfect stage มีสีเหลืองทองเปลือย เมื่อมีอายุมากขึ้นจะกลายเป็นสีน้ำตาล สำหรับ conidial head เป็นแบบ radiate มีขนาด 73.7-147.4 x 73.7-136.9 µm (เฉลี่ย = 108.5 x 105.3 µm) ไม่มีการสร้าง aerial mycelium

ลักษณะที่ได้ส่วนใหญ่สอดคล้องกับ *A. chevalieri* ที่ Klich และ Pitt (1988) และ Raper และ Fennell (1977) ได้รายงานไว้ แต่มีลักษณะที่แตกต่างกันคือ Klich และ Pitt (1988) รายงานว่า ascospore มีขนาด 4.5-5.0 (- 7) x 3.5-4.0 µm และแตกต่างกับ Raper และ Fennell (1977) คือความยาวของ conidiophore ยาว 700.0-850.0 µm ขนาด conidium 4.5-5.5 µm

พบในพืชสมุนไพรจำนวน 7 ชนิดคือ ข้าวเย็นใต้ ฝาง เปราะ แห้วหมู บุนนาค ระย่อม และมะขามป้อม



ภาพที่ 7 *Aspergillus chevalieri*

ก โคโลนีบนอาหาร MEAและ CA(อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ)

ข Conidial head และ cleistothecia (x 25)

ค Vesicle, sterigma และ conidium (x 1400)

ง Conidium (x 10,000)

จ Ascus (x 750)

ฉ Ascospore (x 750)

1.6 *Aspergillus clavatus* Desm. (ภาพที่ 8)

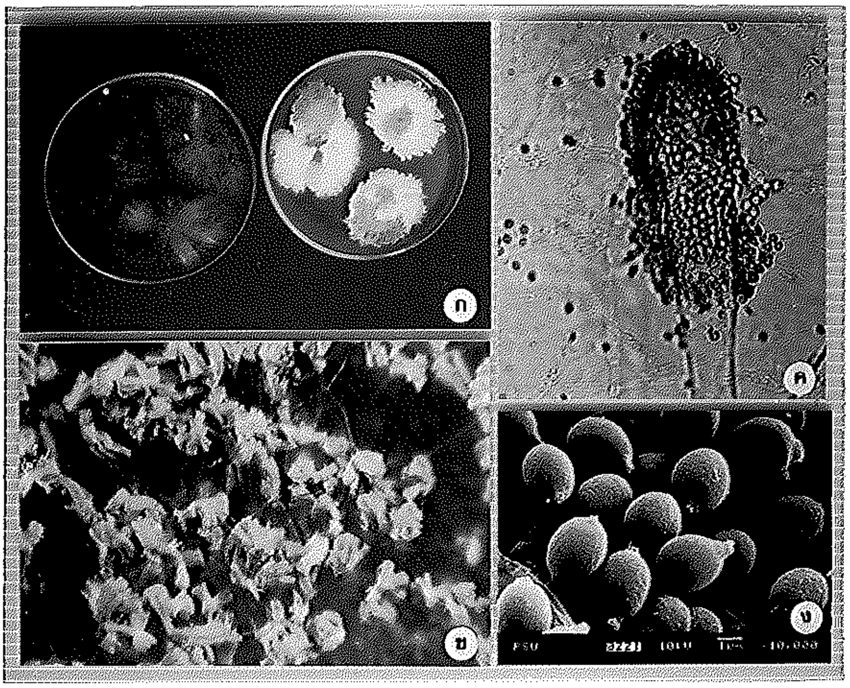
จัดอยู่ใน subgenus *Clavati* section *Clavati* (*Gam et al.*, 1985) และ *A. clavatus* group (Raper and Fennell, 1977)

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.6 เซนติเมตร ในเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head สีฟ้าเขียวอ่อนถึงสีฟ้าเขียวเหลือง ส่วนใหญ่เป็นแบบ radiate มีขนาด 105.3-158.0 x 94.8-179.0 µm (เฉลี่ย = 136.9 x 134.8 µm) conidiophore ใสไม่มีสี ผิวเรียบ ยาว 284.3-1010.9 µm (เฉลี่ย = 558.1 µm) กว้าง 10.0-25.0 µm (เฉลี่ย = 15.9 µm) vesicle รูปร่างแบบกระบอง ใสไม่มีสี มีขนาด 15.0-30.0 x 45.0-85.0 µm (เฉลี่ย = 20.5 x 64.8 µm) sterigma บน vesicle เป็นแบบ uniseriate primary sterigma มีขนาด 4.8-7.7 x 2.9-3.8 µm (เฉลี่ย = 5.8 x 3.0 µm) conidium รูปร่างรีถึงรูปไข่ ใสไม่มีสี ผิวเรียบ ขนาด 1.9-3.8 µm (เฉลี่ย = 2.9 µm) เส้นใยสีขาว ไม่สร้างเม็ด sclerotium มีการสร้าง aerial mycelium เล็กน้อย

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.7 เซนติเมตร เส้นใยสีขาว ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head แบบ radiate สีฟ้าเขียวกระจายทั่วทั้งโคโลนีมีขนาด 129.5-233.1 x 103.6-155.4 µm (เฉลี่ย = 199.4 x 142.4 µm)

ลักษณะที่ได้สอดคล้องกับ *A. clavatus* ที่ Klich และ Pitt (1988) ได้รายงานไว้ แต่ตามรายงานของ Raper และ Fennell (1977) มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับ *A. clavato-nanica* มากกว่า แต่จะแตกต่างกัน คือ ขนาด conidial head อาจมีขนาดใหญ่ถึง 145.0-360.0 x 120.0-180.0 µm vesicle มีขนาด 22.0-125.0 x 5.0-22.0 µm ขนาด primary sterigma 3.0-6.5 x 2.0-3.0 µm และขนาด conidium 3.8-5.0 x 2.8-3.5 µm

พบในพืชสมุนไพรจำนวน 1 ชนิดคือ ขมิ้นอ้อย



ภาพที่ 8 *Aspergillus clavatus*

ก โคโลนีบนอาหาร MEA และ CA (อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ)

ข Conidial head (x 50)

ค Vesicle, sterigma และ conidium (x 500)

ง Conidium (x 10,000)

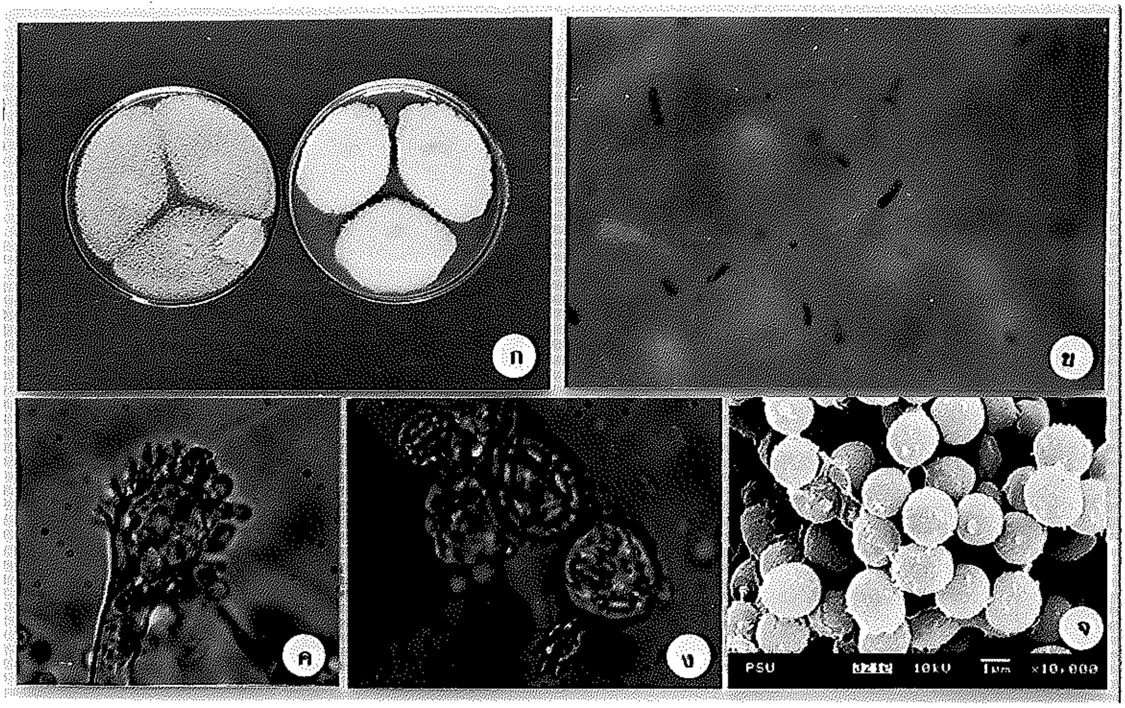
1.7 *Aspergillus fischeri* Wehmer (Teleomorph, *Sartorya fumigata* Vuillemin) (ภาพที่ 9)

จัดอยู่ใน subgenus *Fumigati* section *Fumigati* (*Gam et al.*, 1985) และ *A. fumigatus* group (Raper and Fennell, 1977)

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.1 เซนติเมตร ในเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head ขณะยังอ่อนมีสีขาวอมเขียว รูปร่างกลม และค่อยเปลี่ยนไปเป็นสีเขียวเข้มถึงเขียวดำเมื่อโตเต็มที่ มีขนาดเล็กมาก เป็นแบบ columnar มีขนาด 63.2-94.8 x 63.2-94.8 μm (เฉลี่ย = 73.7 x 78.4 μm) conidiophore ใสไม่มีสี ผนังบาง ผิวเรียบ ยาว 102.5-240.0 μm (เฉลี่ย = 182.6 μm) กว้าง 2.5-6.2 μm (เฉลี่ย = 4.8 μm) vesicle ส่วนใหญ่มีรูปร่างแบบ hemisphere พบรูปร่างยาวรีเล็กน้อย ใสไม่มีสี มีขนาด 5.8-10.5 x 8.6-17.3 μm (เฉลี่ย = 8.2 x 11.8 μm) sterigma บน vesicle เป็นแบบ uniseriate primary sterigma มีขนาด 1.0-3.4 x 4.8-7.7 μm (เฉลี่ย = 2.1 x 5.7 μm) conidium กลม รี ใสไม่มีสี ผิวเรียบ มีขนาด 1.9-3.8 μm (เฉลี่ย = 2.8 μm) เส้นใยสีขาว ไม่สร้างเม็ด sclerotium สร้าง ascospore ในถุง ascus ascospore มีรูปร่างคล้าย lenticel มี equatorium crests 2 อัน มีสีเขียวใส มีขนาด 3.8-4.8 x 3.8-8.6 μm (เฉลี่ย = 4.0 x 5.8 μm) ascus มีรูปร่างกลม ใส มีขนาด 10.0-12.5 x 10.0-12.5 μm (เฉลี่ย = 12.0 x 12.0 μm) ไม่พบการสร้าง hulle cell

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.7 เซนติเมตร เส้นใยสีขาว ผิวหน้าส่วนใหญ่เป็น perfect stage มีสีขาวครีม conidial head เป็นแบบ columnar ถึง loosely columnar สีเขียวเข้ม พบเพียงเล็กน้อย มีขนาด 31.6-42.1 x 31.6-42.1 μm (เฉลี่ย = 41.2 x 41.1 μm)

พบในพืชสมุนไพรจำนวน 1 ชนิดคือ บุนนาค



ภาพที่ 9 *Aspergillus fischeri*

ก โคโลนีบนอาหาร MEA และ CA (อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ)

ข Conidial head (x 50)

ค Vesicle, sterigma และ conidium (x 900)

ง Ascus และ ascospore (x 1,000)

จ Conidium (x 10,000)

1.8 *Aspergillus flavus* Link (ภาพที่ 10)

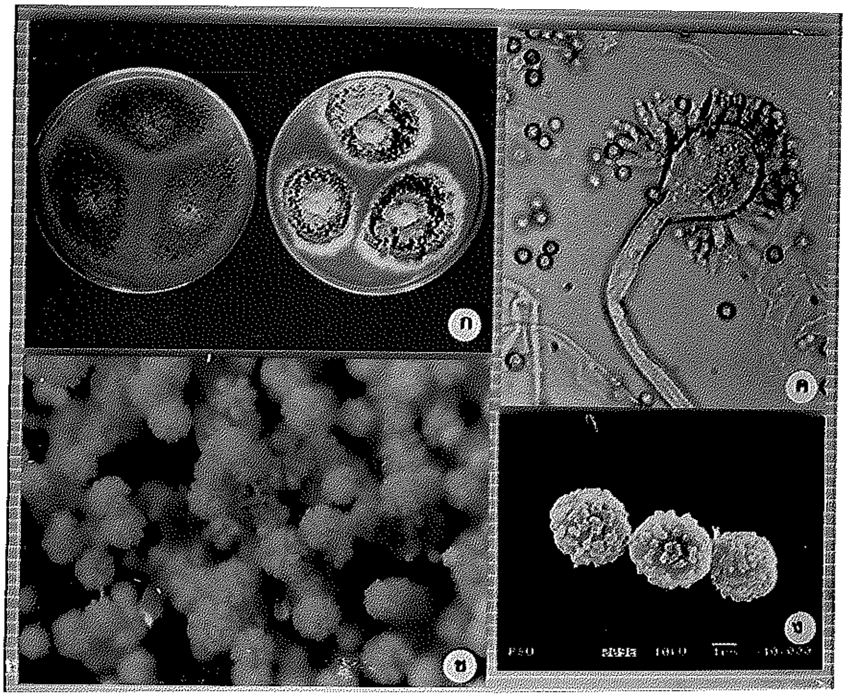
จัดอยู่ใน subgenus *Circumdati* section *Flavi* (*Gam et al.*, 1985) และ *A. flavus* group (Raper and Fennell, 1977)

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.9 เซนติเมตร ในเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head ขณะยังอ่อนมีสีเหลือง รูปร่างกลม และค่อยๆ เปลี่ยนไปเป็นสีเขียวอมเหลืองเมื่อโตเต็มที่ ส่วนใหญ่เป็นแบบ radiate มีบางส่วนเป็นแบบ split divergent มีขนาด 259.0-466.2 x 259.0-326.6 µm (เฉลี่ย = 326.3 x 297.8 µm) conidiophore ใสไม่มีสี ผนังหนา ผิวไม่เรียบ ยาว 431.7-842.4 µm (เฉลี่ย = 591.8 µm) กว้าง 10.0-12.5 µm (เฉลี่ย = 10.2 µm) vesicle ค่อนข้างกลม ใสไม่มีสี มีขนาด 25.0-47.5 x 25.0-37.5 µm (เฉลี่ย = 33.2 x 31.8 µm) sterigma บน vesicle เป็นแบบ biseriate primary sterigma มีขนาด 5.8-14.4 x 1.9-2.9 µm (เฉลี่ย = 10.9 x 2.6 µm) secondary sterigma มีขนาด 5.8-11.5 x 2.9-3.8 µm (เฉลี่ย = 7.6 x 3.4 µm) conidium กลม ใสไม่มีสี ผิวไม่เรียบ ขนาด 2.9-4.8 µm (เฉลี่ย = 3.9 µm) เส้นใยสีขาว มีการปลดปล่อยของเหลว (exudate) สีน้ำตาลอ่อน สร้างเม็ด sclerotium มีรูปร่างค่อนข้างกลม ในระยะแรกมีสีขาวครีม ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มและสีดำในที่สุด มีขนาด 431.7-1126.7 x 400.1-716.0 µm (เฉลี่ย = 681.0 x 587.9 µm)

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.2 เซนติเมตร เส้นใยสีขาว ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head แบบ radiate สีเขียวเข้มกระจายทั่วทั้งโคโลนีมีขนาด 233.1-543.9 x 155.4-388.5 µm (เฉลี่ย = 341.9 x 286.2 µm)

ลักษณะที่ได้สอดคล้องกับ *A. flavus* ที่ Klich และ Pitt (1988) และ Raper และ Fennell (1977) ได้รายงานไว้

พบในพืชสมุนไพรจำนวน 30 ชนิดคือ ข้าวเย็นเหนือ เถาวัลย์เปรียง ขิง มะขามแขก จันทน์ สะค้าน บอระเพ็ด ขมิ้นอ้อย เทียนขาว ดีปลี หญ้าคา จันทน์แดง เปราะ ว่านน้ำ มะตูม ชะเอมเทศ พยับเมฆ มะกา เทียนข้าวเปลือก แห้วหมู จันทน์ขาว บุนนาค พิกุล สารภี ระย่อม อบเชยญวน เกสรบัวหลวง กระชาย ชะลูด และเทียนดำ



ภาพที่ 10 *Aspergillus flavus*

ก โคโลนีบนอาหาร MEA และ CA (อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ)

ข Conidial head (x 20)

ค Vesicle, sterigma และ conidium (x 400)

ง Conidium (x 10,000)

1.9 *Aspergillus fumigatus* Fresenius (ภาพที่ 11)

จัดอยู่ใน subgenus *Fumigati* section *Fumigati* (*Gam et al.*, 1985) และ *A. fumigatus* group (Raper and Fennell, 1977)

สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

กลุ่มที่ 1. โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.2 เซนติเมตร ในเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head พัฒนาจากสีเขียวเข้มดำและกลายเป็นสีน้ำตาลแดงอ่อนและน้ำตาลครีม มีรูปร่างแบบ columnar ขนาด 110.6-168.5 x 36.9-63.2 µm (เฉลี่ย = 140.0 x 48.4 µm) conidiophore ใสไม่มีสี ผิวเรียบ ยาว 130.0-165.0 µm (เฉลี่ย = 152.2 µm) กว้าง 5.8-8.6 µm (เฉลี่ย = 7.5 µm) vesicle รูปร่าง flask shape ขณะยังอ่อนใสไม่มีสี และเมื่อมีอายุมากขึ้นจะกลายเป็นสีน้ำตาลแดงใส มีขนาด 12.5-19.2 x 12.5-21.1 µm (เฉลี่ย = 16.6 x 17.0 µm) พบว่ามีบาง head มีลักษณะเป็น nodding เล็กน้อย sterigma บน vesicle เป็นแบบ uniseriate primary sterigma มีขนาด 3.8-8.6 x 1.0-2.9 µm (เฉลี่ย = 5.3 x 1.9 µm) conidium กลม ใสไม่มีสี ผิวไม่เรียบ ขนาด 1.9-2.9 µm (เฉลี่ย = 2.4 µm) ไม่สร้างเม็ด sclerotium และ perfect stage

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.2 เซนติเมตร เส้นใยสีขาว ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head แบบ loosely columnar สีเขียวเข้มกระจายทั่วทั้งโคโลนีมีขนาด 168.5-305.4 x 42.1-63.2 µm (เฉลี่ย = 215.9 x 50.0 µm)

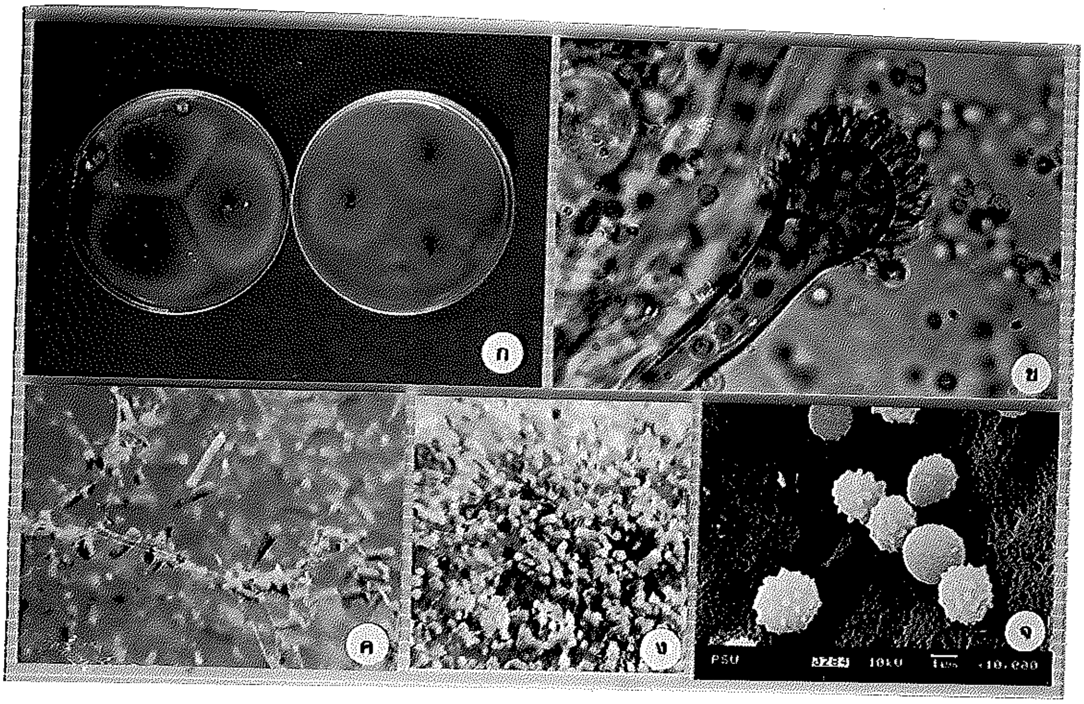
กลุ่มที่ 2 โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.8 เซนติเมตรในเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head พัฒนาจากสีเขียวเข้มดำและกลายเป็นสีน้ำตาลแดงอ่อนและสีน้ำตาลครีม มีรูปร่างแบบ columnar ขนาด 73.7-100.0 x 36.9-63.2 µm (เฉลี่ย = 83.7 x 49.0 µm) สำหรับลักษณะอื่นๆ ที่เหลือมีลักษณะและขนาดเดียวกันกับเชื้อราในกลุ่มที่ 1

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.8 เซนติเมตร เส้นใยสีขาว ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head แบบ loosely columnar สีเขียวเข้มกระจายทั่วทั้งโคโลนีมีขนาด 73.7-136.9 x 31.6-47.4 µm (เฉลี่ย = 97.9 x 37.9 µm)

สำหรับลักษณะของทั้ง 2 กลุ่มที่กล่าวมานั้นมีความแตกต่างกันเฉพาะขนาด conidial head ซึ่งตามเกณฑ์การจำแนกแล้ว ขนาด conidial head จะเปลี่ยนแปลงไปตามสายพันธุ์คืออาจมีขนาดใหญ่ถึง 400 x 500 µm

ลักษณะที่ได้สอดคล้องกับ *A. fumigatus* ที่ Klich และ Pitt (1988) และ Raper และ Fennell (1977) ได้รายงานไว้

พบในพืชสมุนไพรจำนวน 9 ชนิดคือ ข้าวเย็นใต้ พริกไทย มะขามแขก เทียนขาว ทองพันชั่ง ช้าพลู ว่านน้ำ พยับเมฆ และบุนนาค



ภาพที่ 11 *Aspergillus fumigatus*

ก โคโลนีบนอาหาร MEA และ CA (อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ)

ข Vesicle, sterigma และ conidium (x 900)

ค Conidial head กลุ่มที่ 1 เป็นรูปทรงกระบอกยาว (x 50)

ง Conidial head กลุ่มที่ 2 เป็นรูปทรงกระอกสั้น ๆ (x 50)

จ Conidium (x 10,000)

1.10 *Aspergillus janus* Raper & Thom (ภาพที่ 12)

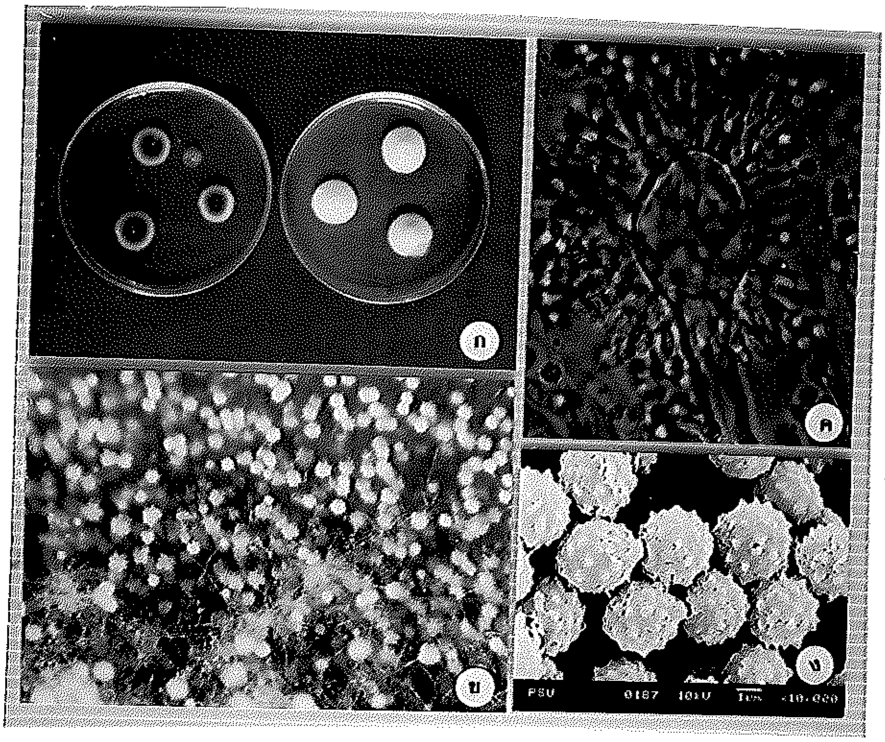
จัดอยู่ใน subgenus *Nidulantes* section *Versicolores* (*Gam et al.*, 1985) และ *A. versicolor* group (Raper and Fennell, 1977)

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.4 เซนติเมตร ในเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head ขณะยังอ่อนมีสีขาว จากนั้นพัฒนาไปเป็นสีเขียวฟ้า และมีสีเข้มขึ้นเรื่อยๆ จนในที่สุดกลายเป็นสีเขียวฟ้าดำ และมี conidial head พัฒนาจากสีขาวกลายเป็นสีขาวครีมและพัฒนาต่อไปจนกลายเป็นสีน้ำตาลอ่อนในที่สุด ส่วนใหญ่เป็นแบบ radiate มีขนาด 63.2-94.8 x 63.2-105.3 μm (เฉลี่ย = 80.0 x 85.3 μm) conidiophore ใสไม่มีสี ผนังบาง ผิวเรียบ ยาว 315.9-631.8 μm (เฉลี่ย = 462.4 μm) กว้าง 3.8-6.7 μm (เฉลี่ย = 5.3 μm) บริเวณรอยต่อระหว่าง conidiophore และ vesicle มีรอยคอดอย่างชัดเจน จากนั้น conidiophore โป่งออก vesicle มีรูปร่างรีถึงกลม ใสไม่มีสี มีขนาด 8.6-10.6 x 10.6-14.4 μm (เฉลี่ย = 9.3 x 11.6 μm) และพบมี vesicle รูปกระบองถึงรูปไข่ในกลุ่มที่มี conidial head สีเขียว sterigma บน vesicle เป็นแบบ biseriate primary sterigma มีขนาด 4.8-7.7 x 1.0-2.9 μm (เฉลี่ย = 5.7 x 1.9μm) secondary sterigma มีขนาด 6.7-11.5 x 1.4-2.4 μm (เฉลี่ย = 8.9 x 1.9 μm) conidium กลม ใสไม่มีสี ผิวไม่เรียบ ขนาด 2.9-4.8 μm (เฉลี่ย = 3.5 μm) เส้นใยสีขาว มีการสร้าง aerial mycelium ไม่มีการสร้างเม็ด sclerotium

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.4 เซนติเมตร เส้นใยสีขาว มีการสร้าง aerial mycelium ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head แบบ radiate สีเขียวฟ้ากระจายทั่วทั้งโคโลนีมีขนาด 84.2-210.6 x 94.8-179.0 μm (เฉลี่ย = 134.8 x 125.3 μm)

ลักษณะที่ได้สอดคล้องกับ *A. janus* ที่ Klich และ Pitt (1988) และ Raper และ Fennell (1977) ได้รายงานไว้

พบในพืชสมุนไพรจำนวน 3 ชนิดคือ เถาวัลย์เปรียง ระย่อม และกระชาย



ภาพที่ 12 *Aspergillus janus*

ก โคโลนีบนอาหาร MEA และ CA (อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ)

ข Conidial head (x 50)

ค Vesicle, sterigma และ conidium (x 900)

ง Conidium (x 10,000)

1.11 *Aspergillus melleus* Yukawa (ภาพที่ 13)

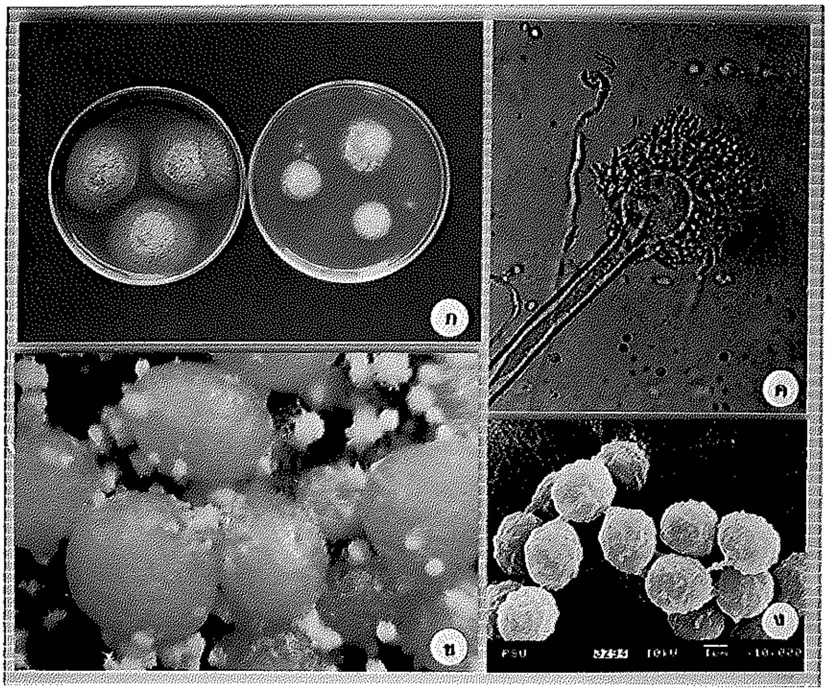
จัดอยู่ใน subgenus *Circumdati* section *Circumdati* (*Gam et al.*, 1985) และ *A. ochraceus* group (Raper and Fennell, 1977)

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.6 เซนติเมตร ในเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head ขณะยังอ่อนมีสีขาว รูปร่างกลม และค่อยเปลี่ยนไปเป็นสีเนื้อ และกลายเป็นสีเนื้อน้ำตาลอ่อน (saffron) เมื่อโตเต็มที่ ส่วนใหญ่เป็นแบบ radiate มีขนาด 136.9-221.1 x 147.4-210.6 µm (เฉลี่ย = 175.3 x 182.2 µm) conidiophore ใสไม่มีสี ผิวเรียบ ยาว 210.6-484.4 µm (เฉลี่ย = 306.0 µm) กว้าง 5.8-10.6 µm (เฉลี่ย = 7.2 µm) vesicle รูปร่างกลม ใสไม่มีสี มีขนาด 22.5-40.0 x 25.0-37.5 µm (เฉลี่ย = 31.0 x 29.5 µm) sterigma บน vesicle เป็นแบบ biseriate primary sterigma มีขนาด 4.8-12.5 x 1.9-2.9 µm (เฉลี่ย = 6.8 x 2.3 µm) secondary sterigma มีขนาด 7.7-14.4 x 1.0-3.8 µm (เฉลี่ย = 10.4 x 2.5 µm) conidium กลม ใสไม่มีสี ผิวเรียบ ขนาด 1.9-2.9 µm (เฉลี่ย = 2.5 µm) เส้นใยสีขาว มีการสร้าง aerial mycelium เล็กน้อย มีการสร้างเม็ด sclerotium มีรูปร่างค่อนข้างกลม ในระยะแรกมีสีขาวครีม ต่อมากลายเป็นสีเนื้อน้ำตาลอ่อนในที่สุด มีขนาด 388.5-699.3 x 362.6-569.8 µm (เฉลี่ย = 505.1 x 476.6 µm)

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.1 เซนติเมตร เส้นใยสีขาว ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head แบบ radiate สีเนื้อเข้มกระจายทั่วทั้งโคโลนี

ลักษณะที่ได้สอดคล้องกับ *A. melleus* ที่ Klich และ Pitt (1988) และ Raper และ Fennell (1977) ได้รายงานไว้

พบในพืชสมุนไพรจำนวน 1 ชนิดคือ กระชาย



ภาพที่ 13 *Aspergillus melleus*

ก โคโลนีบนอาหาร MEA และ CA (อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ)

ข Conidial head และ sclerotium (x 50)

ค Vesicle, sterigma และ conidium (x 400)

ง Conidium (x 10,000)

1.12 *Aspergillus nidulans* (Eidam) Wint. (Teleomorph, *Emericella nidulans* (Eidam) Vuill.) (ภาพที่ 14)

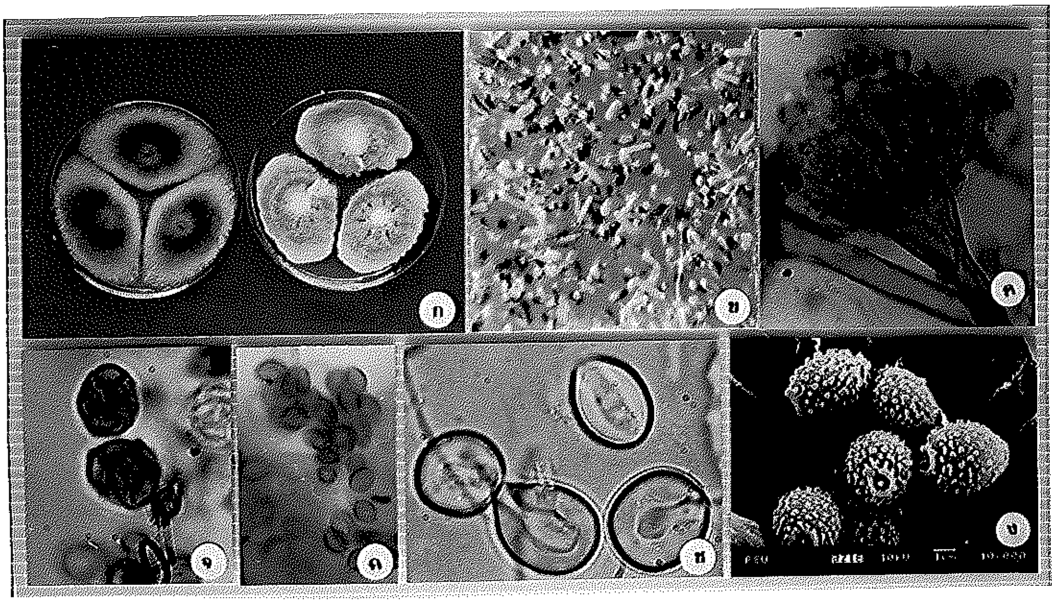
จัดอยู่ใน subgenus *Nidulantes* section *Nidulantes* (*Gam et al.*, 1985) และ *A. nidulands* group (Raper and Fennell, 1977)

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.8 เซนติเมตร ในเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head ขณะยังอ่อนมีสีเขียวขาว รูปร่างกลม และค่อยเปลี่ยนไปเป็นสีเหลือง และน้ำตาลเหลืองเมื่อโตเต็มที่ ส่วนใหญ่เป็นแบบ columnar มีขนาด 79.0-158.0 x 31.6-52.7 µm (เฉลี่ย = 125.3 x 37.4 µm) conidiophore สีน้ำตาลอ่อนใส ผนังค่อนข้างหนา ผิวเรียบ ยาว 82.5-175.0 µm (เฉลี่ย = 126.0 µm) กว้าง 3.8-5.8 µm (เฉลี่ย = 4.5 µm) vesicle กลมและ flask shape ใสไม่มีสี มีขนาด 10.0-12.5 x 7.5-15.0 µm (เฉลี่ย = 11.8 x 12.0 µm) sterigma บน vesicle เป็นแบบ biseriate primary sterigma มีขนาด 3.8-6.7 x 1.9-2.9 µm (เฉลี่ย = 5.2 x 2.7 µm) secondary sterigma มีขนาด 3.8-7.7 x 1.9-2.9µm (เฉลี่ย = 5.6 x 2.2 µm) conidium กลม ใสไม่มีสี ผิวไม่เรียบ ขนาด 1.9-3.8 µm (เฉลี่ย = 3.1 µm) เส้นใยสีขาว ไม่มีการสร้างเม็ด sclerotium มีการสร้างระยะสืบพันธุ์แบบใช้เพศรูปร่างกลม (cleistothecium) สีขาวครีมในระยะแรก ต่อมากลายเป็นสีน้ำตาลแดง มีขนาด 105.3-158.0 x 126.4-210.6 µm (เฉลี่ย = 134.8 x 159.0 µm) hulle cell มีลักษณะกลม สีเขียวใส มีขนาด 10.0-20.0 x 8.8-17.5 µm (เฉลี่ย = 13.5 x 12.2 µm) ascus มีสีน้ำตาลแดง ผิวเรียบ ผนังบาง มีขนาด 7.7-9.6 x 8.6-10.6 µm (เฉลี่ย = 8.3 x 9.5 µm) ภายใน ascus ประกอบด้วย ascospore สีม่วงแดง ผนังเรียบ มีรูปร่างแบบ lenticular มี equatorial crests 2 เส้น กว้างประมาณ 1 µm ascospore มีขนาด 2.9-5.8 x 1.9-3.8 µm (เฉลี่ย = 4.3 x 3.0 µm)

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.3 เซนติเมตร เส้นใยสีขาว ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head แบบ columnar สีเขียวเข้มกระจายทั่วทั้งโคโลนีมีขนาด 73.7-147.4 x 47.4-94.8 µm (เฉลี่ย = 113.2 x 69.5 µm)

ลักษณะที่ได้สอดคล้องกับ *A. nidulans* ที่ Klich และ Pitt (1988) และ Raper และ Fennell (1977) ได้รายงานไว้

พบในพืชสมุนไพรจำนวน 8 ชนิดคือ มะขามแขก ขมิ้นอ้อย ว่านน้ำ มะตูม มะกา จันทน์ขาว พิกุล และกระชาย



ภาพที่ 14 *Aspergillus nidulans*

ก โคโลนีบนอาหาร MEA และ CA (อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ)

ข Conidial head (x 50)

ค Vesicle, sterigma และ conidium (x 900)

ง Conidium (x 10,000)

จ Ascus (x 900)

ฉ Ascospore (x 900)

ช Hulle cell (x 900)

1.13 *Aspergillus niger* V. Tiegh. (ภาพที่ 15)

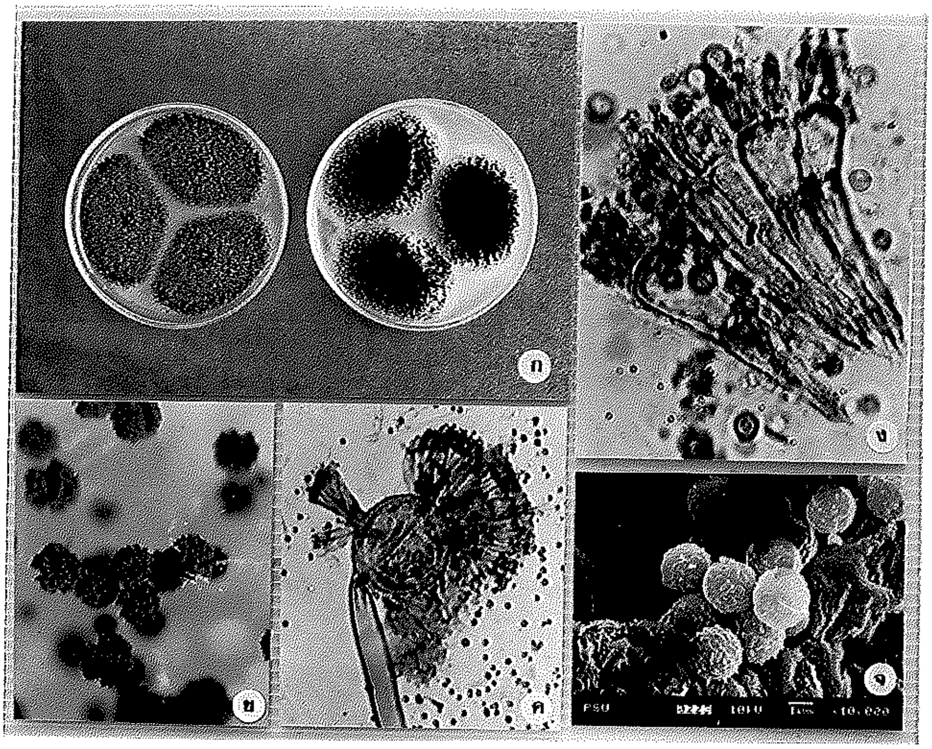
จัดอยู่ใน subgenus *Circumdati* section *Nigri* (*Gam et al.*, 1985) และ *A. niger* group (Raper and Fennell, 1977)

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.0 เซนติเมตร ในเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head ขณะยังอ่อนมีสีขาว รูปร่างกลม และค่อยเปลี่ยนไปเป็นสีครีม น้ำตาลอ่อนและสีน้ำตาลดำเมื่อโตเต็มที่ ส่วนใหญ่เป็นแบบ radiate มีบางส่วนแตกออกและอยู่รวมกันเป็น column หลวมๆ มีขนาด 233.1-310.8 x 207.2-284.9 µm (เฉลี่ย = 264.2 x 256.4 µm) conidiophore สีน้ำตาล ผนังหนา ผิวเรียบ ยาว 932.4-2201.5 µm (เฉลี่ย = 1345.0 µm) กว้าง 15.0-20.0 µm (เฉลี่ย = 16.8 µm) vesicle กลม สีน้ำตาลใส มีขนาด 37.5-72.5 x 37.5-72.5 µm (เฉลี่ย = 56.6 x 58.0 µm) sterigma บน vesicle เป็นแบบ biseriate primary sterigma มีขนาด 12.5-33.6 x 1.9-5.8 µm (เฉลี่ย = 24.1 x 4.1 µm) secondary sterigma มีขนาด 7.7-11.5 x 1.9-3.8 µm (เฉลี่ย = 8.9 x 3.1 µm) conidium กลม สีน้ำตาลใส ผิวไม่เรียบ ขนาด 1.9-4.8 µm (เฉลี่ย = 3.5 µm) เส้นใยสีขาว มีการสร้างเม็ด sclerotium มีรูปร่างค่อนข้างกลม ในระยะแรกมีสีขาว ต่อมากลายเป็นสีครีม และสีครีมอมดำในที่สุด มีขนาด 842.4-1316.2 x 831.9-1179.4 µm (เฉลี่ย = 983.1 x 976.4 µm)

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.2 เซนติเมตร เส้นใยสีขาว ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head แบบ radiate สีน้ำตาลดำกระจายทั่วทั้งโคโลนีมีขนาด 259.0-518.0 x 259.0-518.0 µm (เฉลี่ย = 365.2 x 380.7 µm)

ลักษณะที่ได้สอดคล้องกับ *A. niger* ที่ Klich และ Pitt (1988) และ Raper และ Fennell (1977) ได้รายงานไว้

พบในพืชสมุนไพรจำนวน 35 ชนิด คือ ข้าวเย็นเหนือ ข้าวเย็นใต้ เถาวัลย์เปรียง มะขามแขก จันทน์ สะค้าน บอระเพ็ด สมอไทย เจตมูลเพลิง ขมิ้นอ้อย เทียนขาว ไพล ฝาง หญ้าคา ช้าพลู เปราะ ว่านน้ำ มะตูม ขี้เหล็ก ชะเอมเทศ พยับเมฆ มะกา เทียนข้าวเปลือก แห้วหมู จันทน์ขาว บุนนาค พิกุล สารภี ระย่อม อบเชยญวน เกสรบัวหลวง มะขามป้อม กระชาย ชะลูด และเทียนดำ



ภาพที่ 15 *Aspergillus niger*

ก โคโลนีบนอาหาร MEA และ CA (อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ)

ข Conidial head (x 50)

ค Vesicle, sterigma และ conidium (x 900)

ง Sterigma และ conidium (x 900)

จ Conidium (x 10,000)

1.14 *Aspergillus ochraceus* Wilhelm (ภาพที่ 16)

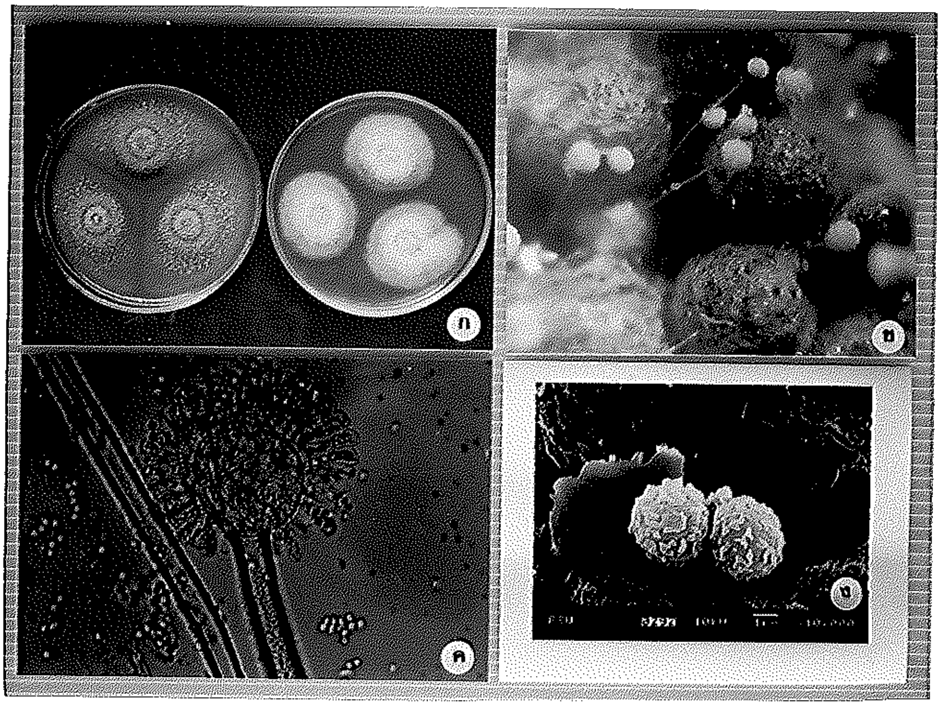
จัดอยู่ใน subgenus *Circumdati* section *Circumdati* (Gam *et al.*, 1985) และ *A. ochraceus* group (Raper and Fennell, 1977)

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.8 เซนติเมตร ในเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head ขณะยังอ่อนมีสีเนื้อ รูปร่างกลม ต่อมาเปลี่ยนไปเป็นสีเนื้อเข้ม และพัฒนาไปเป็นสีเนื้อผสมกับสีน้ำตาลอ่อน (saffron) เมื่อโตเต็มที่ ส่วนใหญ่เป็นแบบ splitting into divergent และ compact columns มีขนาด 147.4-273.8 x 168.5-326.4 µm (เฉลี่ย = 203.2 x 230.6 µm) conidiophore ใสไม่มีสี ผิวไม่เรียบ ยาว 684.4-1495.3 µm (เฉลี่ย = 969.8 µm) กว้าง 7.5-20.0 µm (เฉลี่ย = 11.3 µm) vesicle มีรูปร่างหลายแบบ มีทั้งรูปกลม รี flask shape ใสไม่มีสี มีขนาด 25.0-47.5 x 25.0-45.0 µm (เฉลี่ย = 37.0 x 36.6 µm) sterigma บน vesicle เป็นแบบ biseriate primary sterigma มีขนาด 5.8-14.4 x 2.9-3.8 µm (เฉลี่ย = 9.9 x 3.6 µm) secondary sterigma มีขนาด 9.6-13.4 x 1.0-1.9 µm (เฉลี่ย = 10.8 x 1.8 µm) conidium กลม ใสไม่มีสี ผิวเรียบ ขนาด 1.9-2.9 µm (เฉลี่ย = 2.5 µm) เส้นใยสีขาว มีการสร้าง aerial mycelium เล็กน้อย มีการสร้างเม็ด sclerotium รูปร่างค่อนข้างกลม ในระยะแรกมีสีขาวครีม ต่อมากลายเป็นสีม่วงอ่อนในที่สุด มีขนาด 725.2-1579.9 x 569.8-1165.5 µm (เฉลี่ย = 979.5 x 878.2 µm)

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.6 เซนติเมตร เส้นใยสีขาว ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head แบบ radiate สีเนื้ออ่อนกระจายทั่วทั้งโคโลนีมีขนาด 136.9-231.7 x 168.5-242.0 µm (เฉลี่ย = 173.7 x 200.1 µm)

ลักษณะที่ได้ส่วนใหญ่สอดคล้องกับ *A. ochraceus* ที่ Klich และ Pitt (1988) และ Raper และ Fennell (1977) ได้รายงานไว้ แต่มีลักษณะที่แตกต่างกันคือ Raper และ Fennell (1977) รายงานไว้ว่า primary sterigmata ส่วนใหญ่มีขนาด 15-20 x 5-6 µm และอาจพบยาวถึง 25 µm พบการกระจายตัวของเม็ด sclerotium หนาแน่น

พบในพืชสมุนไพรจำนวน 1 ชนิดคือ สารภี



ภาพที่ 16 *Aspergillus ochraceus*

ก โคโลนีบนอาหาร MEA และ CA (อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ)

ข Conidial head และ sclerotium (x 50)

ค Vesicle, sterigma และ conidium (x 400)

ง Conidium (x 10,000)

1.15 *Aspergillus oryzae* (Ahlburg) Cohn (ภาพที่ 17)

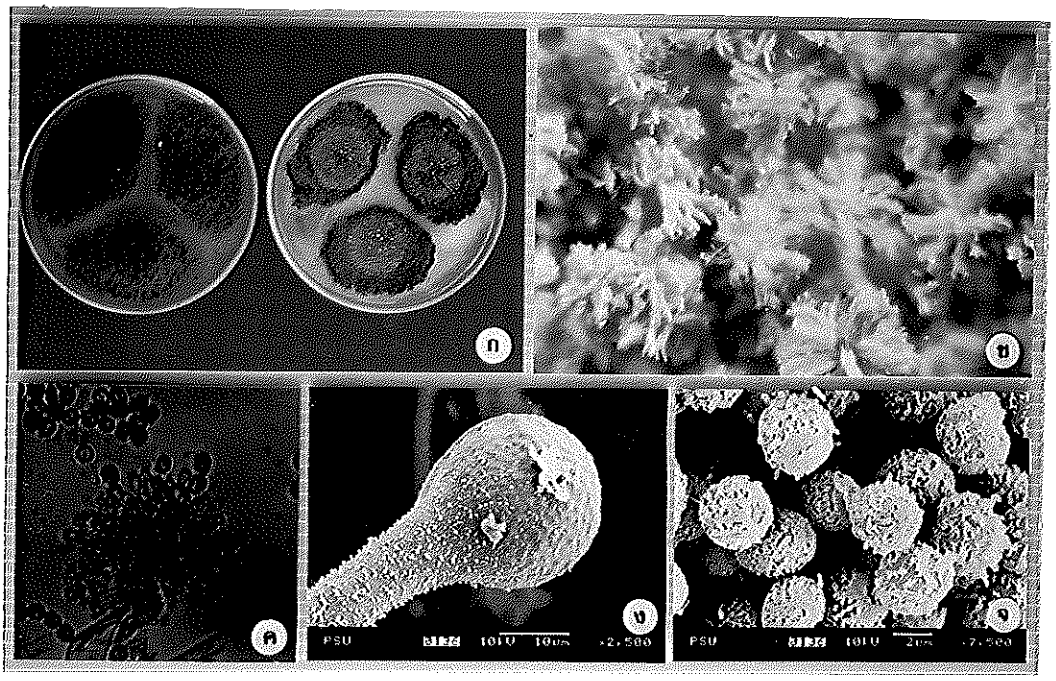
จัดอยู่ใน subgenus *Circumdati* section *Flavi* (*Gam et al.*, 1985) และ *A. flavus* group (Raper and Fennell, 1977)

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.8 เซนติเมตร ในเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head ขณะยังอ่อนมีรูปร่างกลม ต่อมาจะเปลี่ยนเป็น radiate มีสีเขียวเหลืองอมน้ำตาล มีขนาด 310.8-725.2 x 310.8-621.6 µm (เฉลี่ย = 442.9 x 404.0 µm) conidiophore ใสไม่มีสี ผนังบาง เรียบ ยาว 777.0-1450.4 µm (เฉลี่ย = 1191.4 µm) กว้าง 5.0-10.0 µm (เฉลี่ย = 7.75 µm) vesicle กลม ใสไม่มีสี มีขนาด 17.5-37.5 x 17.5-32.5 µm (เฉลี่ย = 26.0 x 27.5 µm) sterigma บน vesicle มีทั้งเป็นแบบ uniseriate และ biseriate ซึ่งสามารถตรวจพบได้ในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน แบบ uniseriate primary sterigma มีขนาด 5.8-11.5 x 2.9-4.8 µm (เฉลี่ย = 8.8 x3.9 µm) และแบบ biseriate primary sterigma มีขนาด 7.7-14.4 x 1.9-4.8 µm (เฉลี่ย = 9.9 x 3.6 µm) secondary sterigma มีขนาด 6.7-12.5 x 1.9-4.8 µm (เฉลี่ย = 10.0 x 3.3µm) conidium กลม ใสไม่มีสี ผิวไม่เรียบ ขนาด 4.8-7.7 µm (เฉลี่ย = 5.9 µm) เส้นใยสีขาว ไม่สร้างเม็ด sclerotium

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.8 เซนติเมตร เส้นใยสีขาว ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head แบบ radiate สีเขียวเข้มกระจายทั่วทั้งโคโลนีมีขนาด 388.5-777.0 x 336.7-621.6 µm (เฉลี่ย = 499.9 x 462.3 µm)

ลักษณะที่ได้สอดคล้องกับ *A. oryzae* ที่ Klich และ Pitt (1988) และ Raper และ Fennell (1977) ได้รายงานไว้

พบในพืชสมุนไพรจำนวน 15 ชนิด คือ ข้าวเย็นเหนือ เถาวัลย์เปรียง ขิง บอระเพ็ด เปราะ มะตูม ขี้เหล็ก พยับเมฆ มะกา เทียนข้าวเปลือก สารภี ระย่อม เกสรบัวหลวง กระชาย และเทียนดำ



ภาพที่ 17 *Aspergillus oryzae*

ก โคโลนีบนอาหาร MEA และ CA (อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ)

ข Conidial head (x 50)

ค Vesicle, sterigma และ conidium (x 400)

ง Vesicle (x 2,500)

จ Conidium (x 10,000)

1.16 *Aspergillus phoenicis* (Cda.) Thom (ภาพที่ 18)

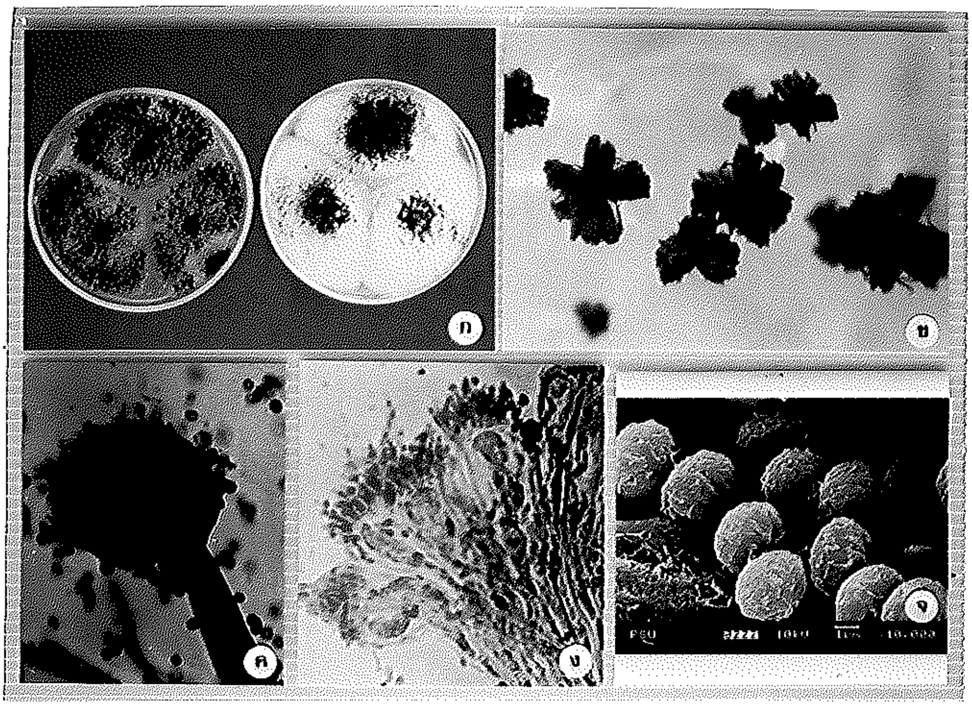
จัดอยู่ใน subgenus *Circumdati* section *Nigri* (*Gam et al.*, 1985) และ *A. niger* group (Raper and Fennell, 1977)

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.8 เซนติเมตร ในเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head ขณะยังอ่อนมีสีน้ำตาลอ่อน รูปร่างกลม และค่อยเปลี่ยนไปเป็นสีน้ำตาลเข้มถึงดำเมื่อโตเต็มที่ ส่วนใหญ่เป็นแบบ radiate มีขนาด 259.0-466.2 x 310.8-466.2 µm (เฉลี่ย = 391.1 x 387.2 µm) conidiophore สีน้ำตาลใส ผนังหนา ผิวเรียบ ยาว 906.5-2072.0 µm (เฉลี่ย = 1582.2 µm) กว้าง 12.5-22.5 µm (เฉลี่ย = 14.5 µm) vesicle รูปร่างค่อนข้างกลม สีน้ำตาลใส มีขนาด 37.5-70.0 x 47.5-72.5 µm (เฉลี่ย = 53.0 x 58.5 µm) sterigma บน vesicle เป็นแบบ biseriate primary sterigma มีขนาดใหญ่มาก 9.6-19.2 x 76.8-111.4 µm (เฉลี่ย = 14.0 x 91.7 µm) secondary sterigma มีขนาด 1.9-3.8 x 6.7-9.6 µm (เฉลี่ย = 2.8 x 8.0 µm) conidium ยาวรี, รูปไข่ สีน้ำตาลใส ผิวไม่เรียบ ขนาด 2.9-5.8 µm (เฉลี่ย = 3.9 µm) เส้นใยสีขาว มีการสร้าง aerial mycelium ไม่มีการสร้างเม็ด sclerotium

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.4 เซนติเมตร เส้นใยสีขาว ไม่สร้าง aerial mycelium ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head แบบ radiate สีน้ำตาลเข้มดำกระจายทั่วทั้งโคโลนีมีขนาด 310.8-543.9 x 207.2-569.8 µm (เฉลี่ย = 411.8 x 388.5 µm)

ลักษณะที่ได้สอดคล้องกับ *A. phoenicis* ที่ Raper และ Fennell (1977) ได้รายงานไว้

พบในพืชสมุนไพร 1 ชนิดคือ พิกุล



ภาพที่ 18 *Aspergillus phoenicis*

ก โคโลนีบนอาหาร MEA และ CA (อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ)

ข Conidial head (x 50)

ค Vesicle, sterigma และ conidium (x 400)

ง Sterigma และ conidium (x 400)

จ Conidium (x 10,000)

1.17 *Aspergillus sparsus* Raper & Thom (ภาพที่ 19)

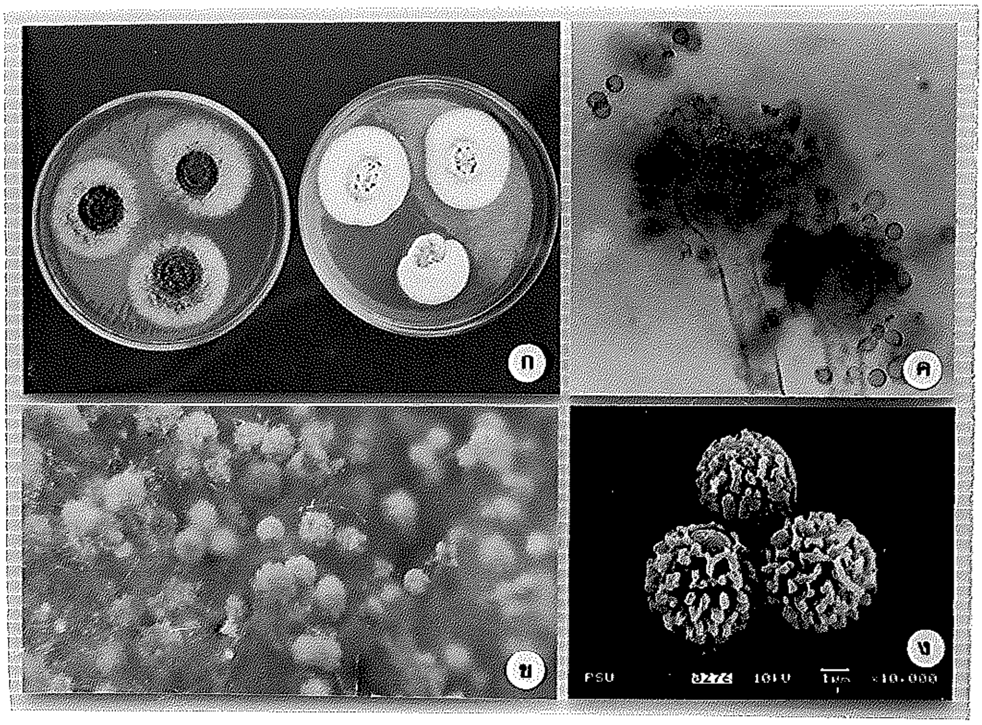
จัดอยู่ใน subgenus *Circumdati* section *Sparsi* (*Gam et al.*, 1985) และ *A. sparsus* group (Raper and Fennell, 1977)

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.0 เซนติเมตร ในเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head ขณะยังอ่อนมีสีเหลืองเขียว รูปร่างกลม และค่อยเปลี่ยนไปเป็นสีเขียวเข้มเหลืองเมื่อโตเต็มที่ เป็นแบบ radiate มีขนาด 126.4-210.6 x 126.4-179.0 μm (เฉลี่ย = 166.4 x 152.7 μm) มีการสร้าง conidium น้อย ส่วนใหญ่เส้นใย สร้าง aerial mycelium สีขาว conidiophore ใสไม่มีสี ผนังหนา ผิวเรียบ ยาว 631.8-874.0 μm (เฉลี่ย = 755.0 μm) กว้าง 11.2-17.5 μm (เฉลี่ย = 14.5 μm) vesicle รูปร่างกลม สีน้ำตาลแดงใส มีขนาด 25.0-40.0 x 27.5-40.0 μm (เฉลี่ย = 32.8 x 34.8 μm) บริเวณรอยต่อระหว่าง vesicle และ conidophore มีรอยคอดยาวเห็นได้ชัดเจน sterigma บน vesicle เป็นแบบ biseriate primary sterigma มีขนาด 10.0-15.0 x 1.0-1.9 μm (เฉลี่ย = 11.8 x 1.2 μm) secondary sterigma มีขนาด 10.0-17.5 x 1.0-1.9 μm (เฉลี่ย = 12.8 x 1.7 μm) conidium กลม สีเขียวใส ผิวไม่เรียบ ขนาด 3.8-4.8 μm (เฉลี่ย = 4.1 μm) เส้นใยสีขาว ไม่สร้างเม็ด sclerotium

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.5 เซนติเมตร เส้นใยสีขาว ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head แบบ radiate สีเขียวเข้มเหลือง (เขียวเข้มถึงเขียวดำอมเหลือง) กระจายทั่วทั้งโคโลนีมีขนาด 210.6-505.4 x 263.2-484.4 μm (เฉลี่ย = 342.2 x 364.3 μm)

ลักษณะที่พบส่วนใหญ่สอดคล้องกับ *A. sparsus* ที่ Klich และ Pitt (1988) และ Raper และ Fennell (1977) ได้รายงานไว้ แต่มีลักษณะที่แตกต่างกันคือ Klich และ Pitt (1988) รายงานไว้ว่า secondary sterigma มีขนาด 6.0-8.0 x 2.5-3.5 μm และขนาด conidium 3.0-3.5 μm ส่วน Raper และ Fennell (1977) รายงานไว้ว่า conidiophore ยาว 1.0-1.5 มิลลิเมตร และ secondary sterigma มีขนาด 6.0-8.0 x 2.5-3.5 μm

พบในพืชสมุนไพรจำนวน 1 ชนิดคือ ข้าวเย็นเหนือ



ภาพที่ 19 *Aspergillus sparsus*

ก โคโลนีบนอาหาร MEA และ CA (อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ)

ข Conidial head (x 50)

ค Vesicle, sterigma และ conidium (x 400)

ง Conidium (x 10,000)

1.18 *Aspergillus terreus* Thom (ภาพที่ 20)

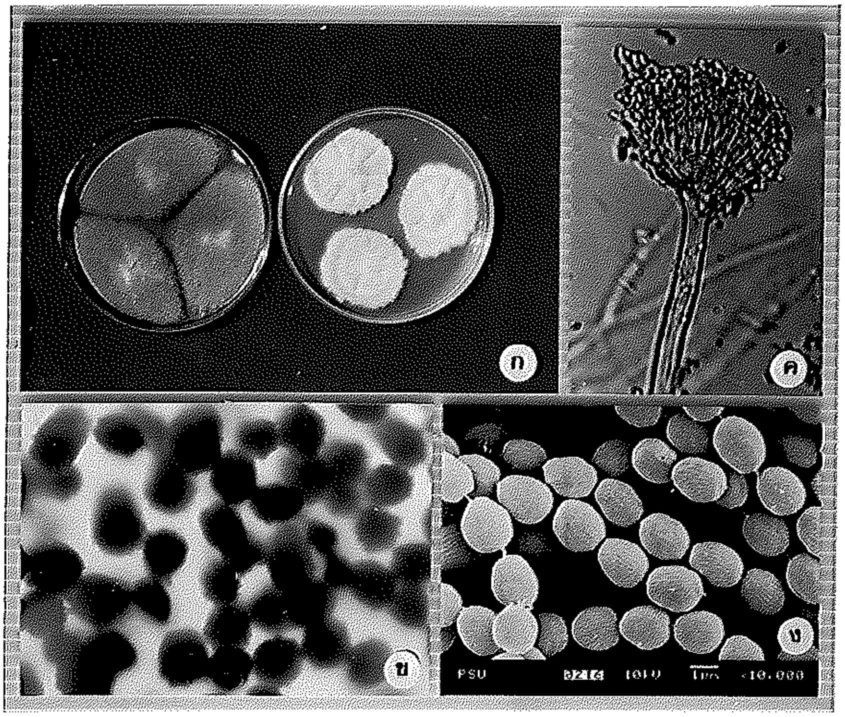
จัดอยู่ใน subgenus *Nidulantes* section *Terrei* (*Gam et al.*, 1985) และ *A. terreus* group (Raper and Fennell, 1977)

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.6 เซนติเมตร ในเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ ' ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head ขณะยังอ่อนมีสีขาว รูปร่างกลม และค่อยเปลี่ยนไปเป็นสีน้ำตาลอ่อน (cinnamon) เมื่อโตเต็มที่ ส่วนใหญ่เป็นแบบ columnar มีขนาด 42.1-63.2 x 94.8-131.6 µm (เฉลี่ย = 52.1 x 103.2 µm) conidiophore ใสไม่มีสี ผนังค่อนข้างหนา ผิวเรียบ ยาว 137.5-300.0 µm (เฉลี่ย = 216.4 µm) กว้าง 4.8-6.7 µm (เฉลี่ย = 5.5 µm) vesicle มีรูปร่างแบบ subglobose ถึงกลม ใสไม่มีสี มีขนาด 12.5-18.2 x 9.6-16.3 µm (เฉลี่ย = 14.4 x 14.1 µm) sterigma บน vesicle เป็นแบบ biseriate primary sterigma มีขนาด 6.7-13.4 x 1.9-2.9 µm (เฉลี่ย = 10.6 x 2.5 µm) secondary sterigma มีขนาด 4.8-9.6 x 1.0-2.9 µm (เฉลี่ย = 6.3 x 1.6 µm) conidium รูปร่างยาวรี ใสไม่มีสี ผิวเรียบ ขนาด 1.9-3.8 µm (เฉลี่ย = 2.7 µm) เส้นใยสีขาว

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.6 เซนติเมตร เส้นใยสีขาว ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head แบบ columnar สีน้ำตาลอ่อนกระจายทั่วทั้งโคโลนีมีขนาด 105.3-147.4 x 52.6-73.7 µm (เฉลี่ย = 122.1 x 67.4 µm)

ลักษณะที่ได้สอดคล้องกับ *A. terreus* ที่ Klich และ Pitt (1988) และ Raper และ Fennell (1977) ได้รายงานไว้

พบในพืชสมุนไพรจำนวน 21 ชนิดคือ ข้าวเย็นใต้ เถาวัลย์เปรียง บอระเพ็ด ขมิ้นอ้อย เทียนขาว หญ้าคา ว่านน้ำ มะตูม ชะเอมเทศ พยับเมฆ มะกา เทียนข้าวเปลือก แห้วหมู จันทน์ขาว แสมทะเล พิกุล สารภี ระย่อม เกสรบัวหลวง กระชาย และเทียนดำ



ภาพที่ 20 *Aspergillus terreus*

ก โคโลนีบนอาหาร MEA และ CA (อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26 ± 1 °ซ)

ข Conidial head (x 50)

ค Vesicle, sterigma และ conidium (x 400)

ง Conidium (x 10,000)

1.19 *Aspergillus terricola* Marchal (ภาพที่ 21)

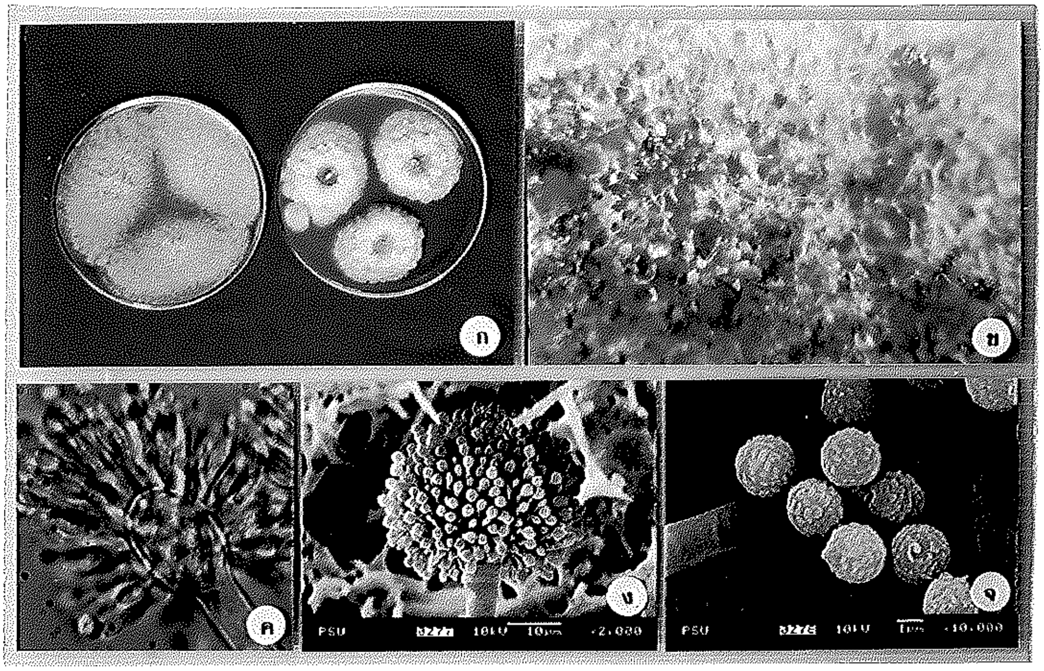
จัดอยู่ใน subgenus *Circumdati* section *Wentii* (*Gam et al.*, 1985) และ *A. wentii* group (Raper and Fennell, 1977)

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.9 เซนติเมตร ในเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head โดยในระยะแรก (1-10 วัน) มีการสร้าง aerial mycelium เป็นปุยสีขาว สร้างสปอร์เล็กน้อย conidial head ขณะยังอ่อนมีสีขาว รูปร่างกลม และค่อยเปลี่ยนไปเป็นสีน้ำตาลอ่อน สีเนื้อ และกลายเป็นสีเนื้อเทาเมื่อโตเต็มที่ ส่วนใหญ่เป็นแบบ radiate มีขนาด 31.6-52.7 x 42.1-52.7 μm (เฉลี่ย = 43.2 x 44.8 μm) conidiophore สีน้ำตาลใส ผิวเรียบ ยาว 45.0-112.5 μm (เฉลี่ย = 85.4 μm) กว้าง 2.9-5.3 μm (เฉลี่ย = 4.3 μm) vesicle รูปร่างกลม พบมีรูปร่างแบบ hemisphere บ้างเล็กน้อย ใสไม่มีสี มีขนาด 7.7-12.5 x 7.7-12.5 μm (เฉลี่ย = 9.1 x 9.6 μm) sterigma บน vesicle เป็นแบบ biseriate primary sterigma มีขนาด 3.8-5.8 x 1.9-3.8 μm (เฉลี่ย = 4.6 x 2.8 μm) secondary sterigma มีขนาด 4.8-5.8 x 1.4-2.9 μm (เฉลี่ย = 5.5 x 2.2 μm) conidium กลม ใสไม่มีสี ผิวไม่เรียบ ขนาด 3.8-4.8 μm (เฉลี่ย = 4.2 μm) เส้นใยสีขาว ไม่มีการสร้างเม็ด sclerotium

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.4 เซนติเมตร เส้นใยสีขาว ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidiuml head แบบ radiate สีฟ้าเทาแบบ radiate กระจายทั่วทั้งโคโลนีมีขนาด 73.7-105.3 x 84.2-115.8 μm (เฉลี่ย = 95.8 x 99.5 μm) เชื้อราสามารถเจริญเร็วกว่าที่เลี้ยงใน CA หลังจาก 10 วันจึงจะเริ่มมีการสร้าง aerial mycelium

ลักษณะที่พบส่วนใหญ่สอดคล้องกับ *A. terricola* ที่ Raper และ Fennell (1977) ได้รายงานไว้ แต่มีลักษณะที่แตกต่างกันคือ Raper และ Fennell (1977) ได้รายงานว่า conidiophore ยาว 300.0-600.0 x 6.0-8.0 μm และ primary sterigmata มีขนาด 7.5-9.0 x 4.5-6.0 μm ส่วน secondary sterigma มีขนาด 7.0-10.0 x 3.3-4.5 μm

พบในพืชสมุนไพรจำนวน 1 ชนิดคือ ชะเอมเทศ



ภาพที่ 21 *Aspergillus terricola*

ก โคโลนีบนอาหาร MEA และ CA (อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ)

ข Conidial head (x 50)

ค Vesicle, sterigma และ conidium (x 900)

ง Conidial head (x 2,000)

จ Conidium (x 10,000)

1.20 *Aspergillus thomii* Smith (ภาพที่ 22)

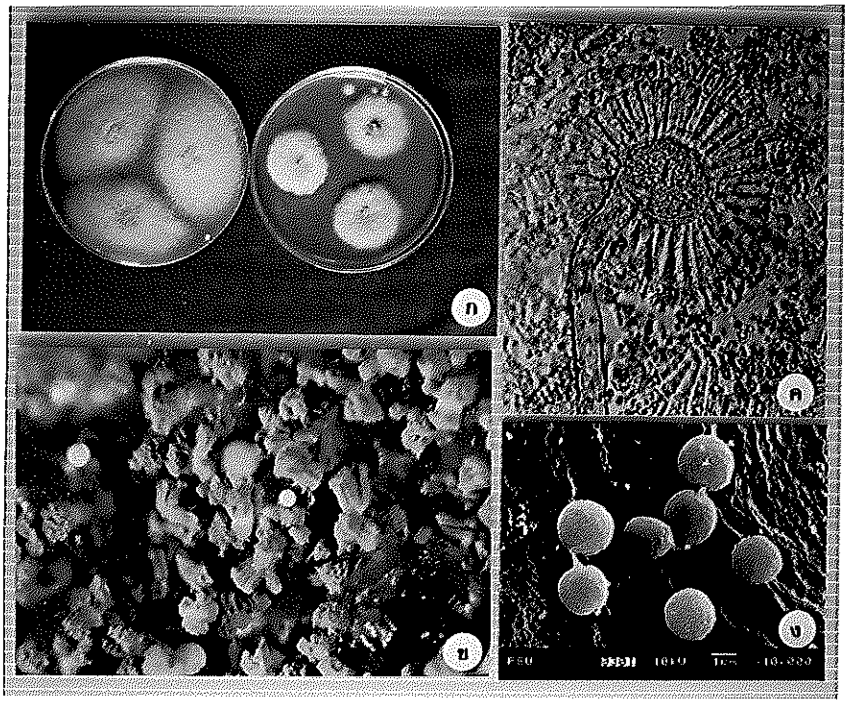
จัดอยู่ใน subgenus *Circumdati* section *Wentii* (*Gam et al.*, 1985) และ *A. wentii* group (Raper and Fennell, 1977)

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.3 เซนติเมตร ในเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head ขณะยังอ่อนมีสีขาว รูปร่างกลม และค่อยเปลี่ยนไปเป็นสีเนื้อน้ำตาลอ่อน และสีน้ำตาลอ่อนขุ่นเมื่อโตเต็มที่ ส่วนใหญ่เป็นแบบ radiate มีขนาด 181.3-233.1 x 194.2-259.0 µm (เฉลี่ย = 211.1 x 222.7 µm) conidiophore สีเหลืองใส ผนังค่อนข้างหนา ผิวไม่เรียบ ยาว 337.0-758.2 µm (เฉลี่ย = 576.1 µm) กว้าง 7.7-11.5 µm (เฉลี่ย = 9.2 µm) vesicle รูปร่างกลมและรูปรี ใส ไม่มีสี มีขนาด 25.0-38.4 x 25.9-38.4 µm (เฉลี่ย = 33.4 x 33.8 µm) sterigma บน vesicle เป็นแบบ biseriate primary sterigma มีขนาด 15.4-22.1 x 3.8-5.8 µm (เฉลี่ย = 17.2 x 4.9 µm) secondary sterigma มีขนาด 9.6-11.5 x 1.4-1.9 µm (เฉลี่ย = 10.4 x 1.8 µm) conidium กลม ใสไม่มีสี มีขนาด 1.9-3.8 µm (เฉลี่ย = 2.7 µm) เส้นใยสีขาว มีการสร้าง aerial mycelium ไม่มีการสร้างเม็ด sclerotium

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.1 เซนติเมตร เส้นใยสีขาว ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head แบบ spitting ถึง loose conidial column สีน้ำตาลเหลืองอ่อนกระจายทั่วทั้งโคโลนีมีขนาด 147.4-242.2 x 115.8-284.3 µm (เฉลี่ย = 198.0 x 208.5 µm)

ลักษณะที่ได้ส่วนใหญ่สอดคล้องกับ *A. thomii* ที่ Klich และ Pitt (1988) และ Raper และ Fennell (1977) ได้รายงานไว้ แต่มีลักษณะที่แตกต่างกันดังนี้คือ Klich และ Pitt (1988) รายงานไว้ว่า secondary sterigma กว้าง (3-) 4.0-6.0 µm และ Raper และ Fennell (1977) รายงานไว้ว่า secondary sterigmata มีขนาด 6.0-8.0 x 3.0 µm และ conidium ส่วนใหญ่จะมีขนาด 4.5-5.0 µm แต่อาจพบมีขนาดตั้งแต่ 4.0-6.0 µm

พบในพืชสมุนไพรจำนวน 1 ชนิดคือ ระย่อม



ภาพที่ 22 *Aspergillus thomii*

ก โคโลนีบนอาหาร MEA และ CA (อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ)

ข Conidial head (x 50)

ค Vesicle, sterigma และ conidium (x 400)

ง Conidium (x 10,000)

1.21 *Aspergillus versicolor* (Vuill.) Tiraboschi (ภาพที่ 23)

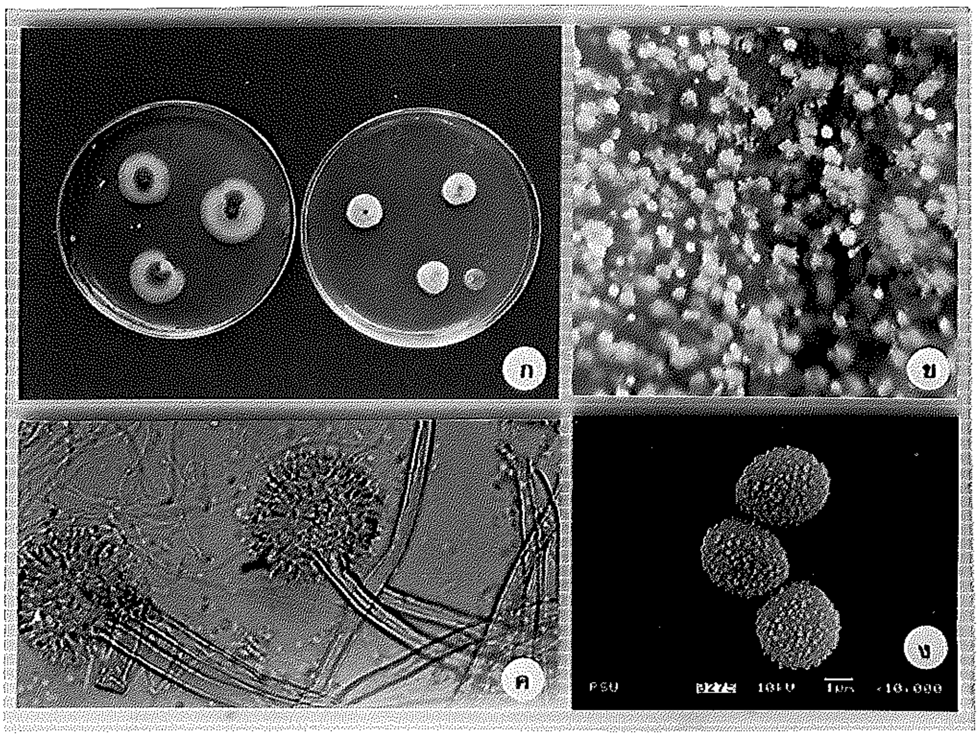
จัดอยู่ใน subgenus *Nidulantes* section *Versicolores* (*Gam et al.*, 1985) และ *A. versicolor* group (Raper and Fennell, 1977)

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.2 เซนติเมตร ในเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head ที่อายุ 0-15 วัน โคโลนีส่วนใหญ่เป็นเส้นใย มีการสร้าง conidial head เล็กน้อย ลักษณะโคโลนีขณะยังอ่อนเป็นสีขาวจากนั้นกลายเป็นสีชมพูแดงเมื่ออายุมากขึ้น มีลักษณะคล้ายกำมะหยี่ conidial head ขณะยังอ่อนมีสีขาว รูปร่างกลม และค่อยเปลี่ยนไปเป็นสี peach และพัฒนาต่อไปกลายเป็นสีเขียวเหลืองเมื่อโตเต็มที่ ส่วนใหญ่เป็นแบบ radiate มีขนาด 63.2-94.8 x 63.2-105.3 µm (เฉลี่ย = 76.9 x 83.2 µm) conidiophore ใสไม่มีสี ผนังบาง ผิวเรียบ ยาว 347.5-600.2 µm (เฉลี่ย = 423.1 µm) กว้าง 4.8-7.7 µm (เฉลี่ย = 5.9 µm) vesicle รูปร่างแบบ flask shape ใสไม่มีสี มีขนาด 9.6-14.4 x 14.4-16.3 µm (เฉลี่ย = 13.1 x 15.6 µm) sterigma บน vesicle เป็นแบบ biseriate primary sterigma มีขนาด 3.8-6.7 x 1.9-2.9 µm (เฉลี่ย = 5.2 x 2.4 µm) secondary sterigma มีขนาด 4.8-9.6 x 1.0-2.9 µm (เฉลี่ย = 7.0 x 1.9 µm) conidium กลม ใสไม่มีสี ผิวเรียบ ขนาด 1.9-2.9 µm (เฉลี่ย = 2.4 µm) เส้นใยสีขาว มีการปลดปล่อยของเหลว (exudate) สีชมพูแดงอ่อนใส ไม่มีการสร้างเม็ด sclerotium มีการสร้าง hulle cell สีเขียวใส มีขนาด 9.1-15.4 x 8.6-15.4 x 1.4-2.9 µm (เฉลี่ย = 12.0 x 10.9 x 2.4 µm)

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.1 เซนติเมตร เส้นใยสีขาว ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head แบบ radiate สีเขียวอ่อนฟ้ากระจายทั่วทั้งโคโลนี มีขนาด 84.2-158.0 x 105.3-210.6 µm (เฉลี่ย = 119.0 x 154.8 µm)

ลักษณะที่ได้สอดคล้องกับ *A. versicolor* ที่ Klich และ Pitt (1988) และ Raper และ Fennell (1977) ได้รายงานเอาไว้

พบในพืชสมุนไพรจำนวน 3 ชนิดคือ บอระเพ็ด สารภี และระย่อม



ภาพที่ 23 *Aspergillus versicolor*

ก โคโลนีบนอาหาร MEA และ CA (อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ)

ข Conidial head (x 50)

ค Vesicle, sterigma และ conidium (x 400)

ง Conidium (x 10,000)

1.22 *Aspergillus wentii* Wehmer (ภาพที่ 24)

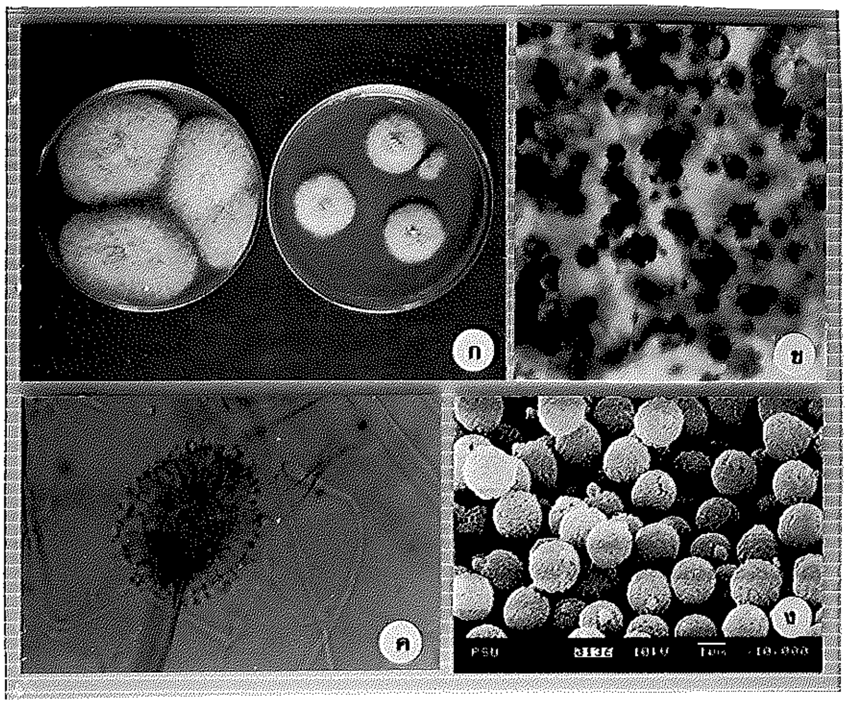
จัดอยู่ใน subgenus *Circumdati* section *Wentii* (*Gam et al.*, 1985) และ *A. wentii* group (Raper and Fennell, 1977)

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.4 เซนติเมตร ในเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head ขณะยังอ่อนมีสีขาวขุ่น รูปร่างกลม และค่อยเปลี่ยนไปเป็นสีเนื้ออ่อนเมื่อโตเต็มที่ ส่วนใหญ่เป็นแบบ radiate มีขนาด 115.8-189.5 x 115.8-189.5 µm (เฉลี่ย = 153.2 x 156.4 µm) conidiophore สีน้ำตาลเหลืองอ่อนใส ผิวไม่เรียบ มีเม็ดเล็กๆ (granule) เกาะอยู่ ยาว 463.3-737.1 µm (เฉลี่ย = 557.0 µm) กว้าง 5.8-9.6 µm (เฉลี่ย = 6.9 µm) vesicle ค่อนข้างกลม ใส ไม่มีสี มีขนาด 17.3-26.9 x 17.3-25.0 µm (เฉลี่ย = 22.2 x 21.5 µm) sterigma บน vesicle เป็นแบบ biseriate primary sterigma มีขนาด 5.8-7.7 x 1.9-2.9 µm (เฉลี่ย = 6.9 x 2.5µm) secondary sterigma มีขนาด 4.8-10.6 x 1.4-2.4 µm (เฉลี่ย = 7.3 x 1.7 µm) conidium กลม ใส ไม่มีสี ผิวเรียบ ขนาด 1.4-3.8 µm (เฉลี่ย = 2.3 µm) เส้นใยสีขาว มีการสร้าง aerial mycelium ปริมาณมาก มากกว่าการสร้างสปอร์ ไม่มีการสร้างเม็ด sclerotium

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.4 เซนติเมตร เส้นใยสีขาว ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head แบบ splitting columnar สีเนื้อกระจายทั่วทั้งโคโลนีมีขนาด 94.8-337.0 x 136.9-200.1 µm (เฉลี่ย = 254.8 x 168.0 µm)

ลักษณะที่ได้ส่วนใหญ่สอดคล้องกับ *A. wentii* ที่ Klich และ Pitt (1988) และ Raper และ Fennell (1977) ได้รายงานไว้ แต่มีลักษณะที่แตกต่างกันคือ Klich และ Pitt (1988) รายงานไว้ว่า primary sterigma มีขนาด 10.0-20.0 x 3.0-7.0 µm และ Raper และ Fennell (1977) รายงานไว้ว่า โคโลนีมีขนาด 2.0-3.5 เซนติเมตร conidiophore กว้าง 10.0-25.0 µm primary sterigmata มีขนาด 10.0-20.0 x 3.0-5.0 µm และ conidium มีขนาด4.0-6.0 µm

พบในพืชสมุนไพรจำนวน 1 ชนิดคือ เจตมูลเพลิง



ภาพที่ 24 *Aspergillus wentii*

ก โคโลนีบนอาหาร MEA และ CA (อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ)

ข Conidial head (x 50)

ค Vesicle, sterigma และ conidium (x 400)

ง Conidium (x 10,000)

1.23 *Aspergillus.* sp. 1 (ภาพที่ 25)

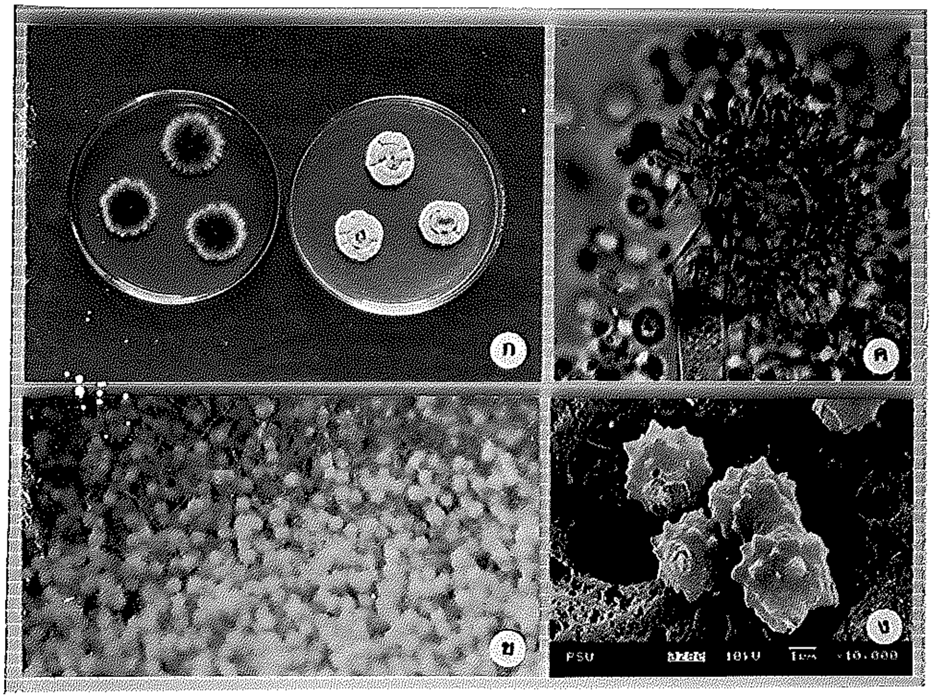
จัดอยู่ใน subgenus *Nidulantes* section *Versicolores* (*Gam et al.*, 1985) และ *A. versicolor* group (Raper and Fennell, 1977)

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.8 เซนติเมตร ในเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head เป็นแบบ radiate มี 2 สีคือ สีน้ำตาลและสีฟ้าเขียว สีน้ำตาลมีขนาด 63.2-105.3 x 63.2-94.8 µm (เฉลี่ย = 82.1 x 81.1 µm) และสีฟ้าเขียว มีขนาด 52.6-73.7 x 52.6-73.7 µm (เฉลี่ย = 65.8 x 65.8 µm) conidiophore ใสไม่มีสี ผนังหนา ผิวเรียบ ยาว 379.1-589.7 µm (เฉลี่ย = 483.5 µm) กว้าง 3.8-7.7 µm (เฉลี่ย = 6.1 µm) vesicle มีรูปร่างรีถึงรูปไข่ ใสไม่มีสี มีขนาด 8.6-11.5 x 11.5-16.3 µm (เฉลี่ย = 10.2 x 13.5 µm) sterigma บน vesicle เป็นแบบ biseriate primary sterigma มีขนาด 4.3-6.7 x 2.9-3.8 µm (เฉลี่ย = 5.3 x 3.1 µm) secondary sterigma มีขนาด 3.8-7.7 x 1.9-2.9 µm (เฉลี่ย = 5.7 x 2.2 µm) conidium กลม สีเขียวใส ผิวไม่เรียบ ขนาด 1.9-3.8 µm (เฉลี่ย = 2.9 µm) เส้นใยสีขาว มีการปลดปล่อยของเหลว (exudate) สีน้ำตาลเข้มใส ไม่มีการสร้างเม็ด sclerotium

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.6 เซนติเมตร เส้นใยสีขาว ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head แบบ radiate สีเขียวน้ำเงินกระจายทั่วทั้งโคโลนี มีขนาด 84.2-136.9 x 73.7-126.4 µm (เฉลี่ย = 90.6 x 89.5 µm)

ลักษณะที่ได้สอดคล้องกับ *A. versicolor* group ที่ Klich และ Pitt (1988) และ Raper และ Fennell (1977) ได้รายงานเอาไว้ แต่ยังไม่สามารถจำแนกได้เนื่องจากลักษณะส่วนใหญ่ไม่สอดคล้องกับแต่ละชนิดที่บรรยายไว้

พบในพืชสมุนไพรจำนวน 1 ชนิดคือ เปราะ



ภาพที่ 25 *Aspergillus* sp.1

ก โคโลนีบนอาหาร MEA และ CA (อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ)

ข Conidial head (x 50)

ค Vesicle, sterigma และ conidium (x 900)

ง Conidium (x 10,000)

1.24 *Aspergillus* sp.2 (ภาพที่ 26)

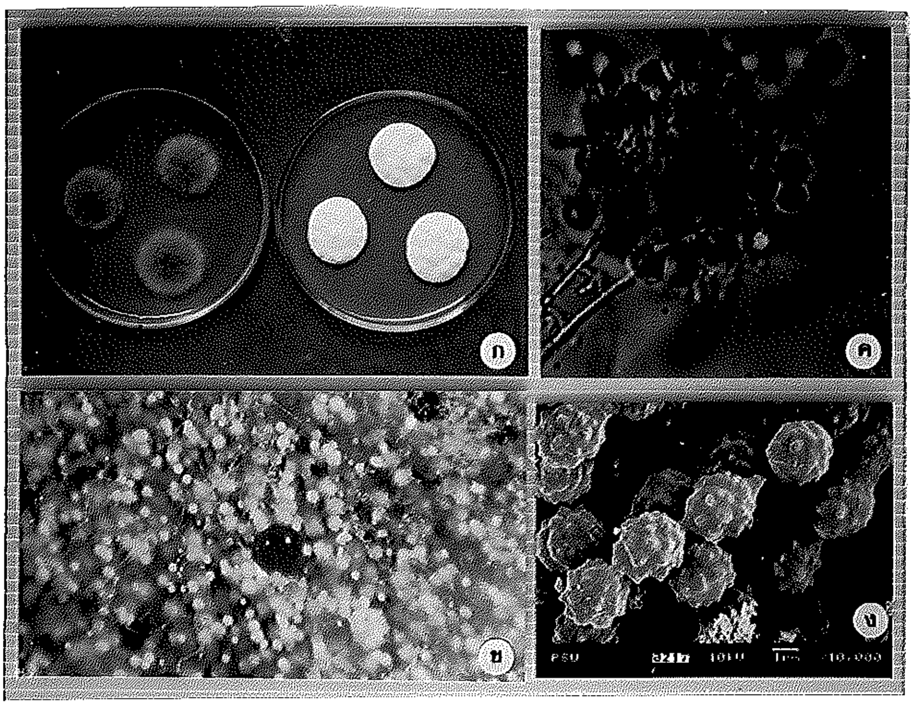
จัดอยู่ใน subgenus *Nidulantes* section *Versicolores* (Gam *et al.*, 1985) และ *A. versicolor* group *A.janus* series (Raper and Fennell, 1977)

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.4 เซนติเมตร ในเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head ขณะยังอ่อนมีสีขาว รูปร่างกลม และค่อยๆเปลี่ยนไปเป็นสีเขียวฟ้าเมื่อโตเต็มที่ ส่วนใหญ่เป็นแบบ radiate มีขนาด 73.7-105.3 x 84.2-115.8 μm (เฉลี่ย = 86.3 x 101.1 μm) conidiophore ใสไม่มีสี ผนังบาง ผิวไม่เรียบ ยาว 252.7-337.0 μm (เฉลี่ย = 279.5 μm) กว้าง 3.8-5.8 μm (เฉลี่ย = 4.7 μm) vesicle ยาวรี ใสไม่มีสี มีขนาด 9.6-13.4 x 12.5-16.3 μm (เฉลี่ย = 10.9 x 13.9 μm) sterigma บน vesicle เป็นแบบ biseriate primary sterigma มีขนาด 3.8-4.8 x 1.9-2.9 μm (เฉลี่ย = 4.0 x 2.3 μm) secondary sterigma มีขนาด 4.8-9.6 x 1.0-2.9 μm (เฉลี่ย = 7.0 x 1.7 μm) conidium กลม ใสไม่มีสี ผิวไม่เรียบ ขนาด 1.9-2.9 μm (เฉลี่ย = 2.8 μm) เส้นใยสีขาว โคโลนีมีลักษณะฟูนูนขึ้นเมื่อเจริญเต็มที่ มีการปลดปล่อยของเหลว (exudate) สีส้มแดงอ่อนใส ไม่มีการสร้างเม็ด sclerotium

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.4 เซนติเมตร เส้นใยสีขาว ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head แบบ radiate โดยในหนึ่งหัวมี 2 สีคือ สีเขียวฟ้าอยู่บริเวณส่วนปลายและสีขาวอยู่บริเวณส่วนโคนติดกับ conidiophore กระจายทั่วทั้งโคโลนีมีขนาด 63.2-168.5 x 115.8-210.6 μm (เฉลี่ย = 125.3 x 147.4 μm)

ลักษณะที่ได้สอดคล้องกับ *A. allahabadii* ที่ Raper และ Fennell (1977) ได้รายงานไว้ แต่เมื่อศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดปรากฏว่า conidium ผิวไม่เรียบ ซึ่งแตกต่างกับ *A. allahabadii* ตามที่ Raper และ Fennell (1977)รายงานไว้

พบในพืชสมุนไพรจำนวน 1 ชนิดคือ แสมทะเล



ภาพที่ 26 *Aspergillus* sp.2

ก โคโลนีบนอาหาร MEA และ CA (อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ)

ข Conidial head (x 50)

ค Vesicle, sterigma และ conidium (x 900)

ง Conidium (x 10,000)

1.25 *Aspergillus* sp.3 (ภาพที่ 27)

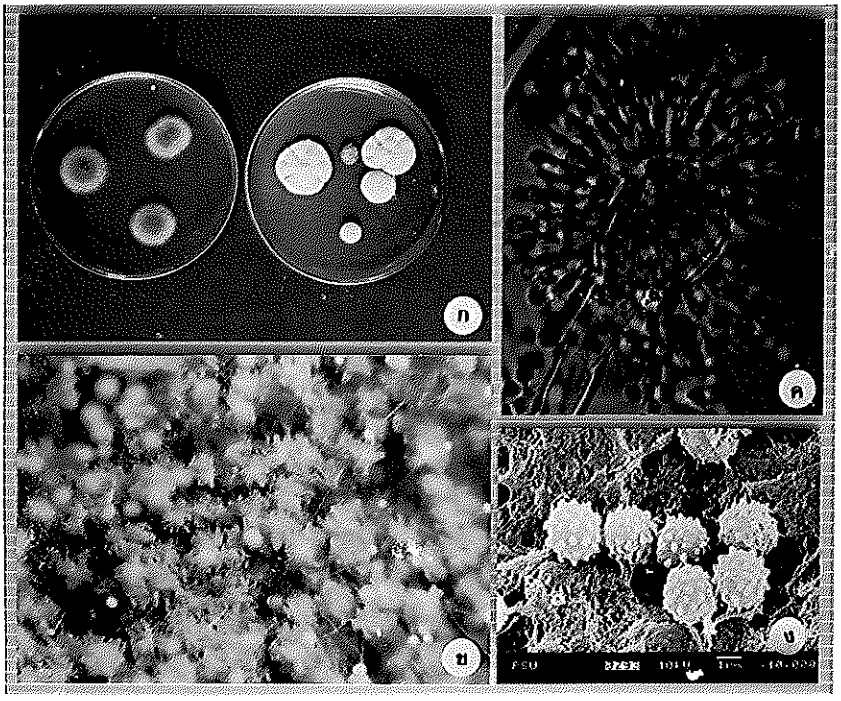
จัดอยู่ใน subgenus *Nidulantes* section *Versicolores* (Gam *et al.*, 1985) และ *A. versicolor* group (Raper and Fennell, 1977)

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.4 เซนติเมตร ในเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head ขณะยังอ่อนมีสีขาว รูปร่างกลม และค่อยเปลี่ยนไปเป็นสีเหลืองทอง และกลายเป็นสีเหลืองดำอ่อนเมื่อโตเต็มที่ ส่วนใหญ่เป็นแบบ radiate มีขนาด 42.1-84.2 x 42.1-84.2 µm (เฉลี่ย = 65.8 x 67.4 µm) conidiophore ใส ไม่มีสี ผนังบาง ผิวเรียบ ยาว 294.8-431.7 µm (เฉลี่ย = 374.3 µm) กว้าง 4.8-6.7 µm (เฉลี่ย = 5.3 µm) vesicle รูป flask shapeใสไม่มีสี มีขนาด 8.6-16.3 x 11.5-19.2 µm (เฉลี่ย = 12.6 x 15.4 µm) sterigma บน vesicle เป็นแบบ biseriate primary sterigma มีขนาด 2.9-5.8 x 1.9-3.8 µm (เฉลี่ย = 4.4 x 2.6 µm) secondary sterigma มีขนาด 2.9-6.7 x 1.4-2.9 µm (เฉลี่ย = 4.6 x 1.9 µm) conidium กลม ใสไม่มีสี ผิวเรียบ ขนาด 1.9-3.4 µm (เฉลี่ย = 2.6 µm) เส้นใยสีขาว มีการสร้าง aerial mycelium เล็กน้อย โคโลนีมีลักษณะคล้ายกำมะหยี่มีการปลดปล่อยของเหลว (exudate) สีน้ำตาลอ่อน

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.9 เซนติเมตร เส้นใยสีขาว ผิวหน้าของโคโลนีมีกลุ่ม conidial head แบบ radiate สีเขียวกระจายทั่วทั้งโคโลนีมีขนาด 105.3-168.5 x 126.4-147.4 µm (เฉลี่ย = 125.3 x 130.6 µm)

ลักษณะที่ได้สอดคล้องกับ *A. versicolor* group ที่ Raper และ Fennell (1977) ได้รายงานไว้ แต่ยังไม่สามารถจำแนกได้เนื่องจากลักษณะส่วนใหญ่ไม่สอดคล้องกับแต่ละชนิดที่บรรยายไว้

พบในพืชสมุนไพรจำนวน 1 ชนิดคือ กระชาย



ภาพที่ 27 *Aspergillus* sp.3

ก โคโลนีบนอาหาร MEA และ CA (อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 26±1 °ซ)

ข Conidial head (x 50)

ค Vesicle, sterigma และ conidium (x 900)

ง Conidium (x 10,000)

2. ความสามารถในการสร้างแอฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ coconut milk agar

จากการทดสอบความสามารถในการสร้างแอฟลาทอกซินในอาหารเลี้ยงเชื้อ coconut milk agar ของเชื้อรา *Aspergillus* ทั้ง 25 ชนิด จำนวน 288 ไอโซเลต โดยสังเกตจากการเรืองแสงภายใต้แสงอุลตราไวโอเลต พบว่า มีเพียง *A. flavus* ชนิดเดียวเท่านั้นที่สามารถสร้างแอฟลาทอกซินได้ ซึ่งแบ่งได้เป็น 3 ระดับ คือเรืองแสงมาก กลาง และน้อย (ตารางที่ 3) นอกจากนั้นยังสังเกตได้จากเม็ดสีเหลือง (yellow pigment) ที่ปรากฏในอาหาร coconut milk agar รอบโคโลนี ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Lin และ Deanese (1976) ซึ่งกล่าวไว้ว่า เฉพาะเชื้อรา *Aspergillus* ที่สร้างแอฟลาทอกซินเท่านั้นที่สร้างเม็ดสีเหลืองบน coconut agar จึงสามารถใช้ลักษณะเม็ดสีในอาหารชนิดนี้ พิจารณาหาไอโซเลตของเชื้อราที่สร้างแอฟลาทอกซินได้ โดยจานเลี้ยงเชื้อที่มีการเรืองแสงมาก จะปรากฏเม็ดสีเหลืองในอาหารเลี้ยงเชื้อ coconut milk agar ชัดเจน และปรากฏเม็ดสีเหลืองประปรายในการเรืองแสงระดับปานกลางซึ่งเมื่อนำมาส่องดูภายใต้แสงอุลตราไวโอเลตจะเห็นการเรืองแสงชัดเจนแต่น้อยกว่าในแบบที่ 1 ส่วนการเรืองแสงในระดับน้อย จะไม่พบเม็ดสีเหลืองในอาหาร แต่เมื่อนำมาส่องดูภายใต้แสงอุลตราไวโอเลต สามารถเกิดการเรืองแสงได้บริเวณขอบโคโลนี ซึ่งเม็ดสีเหลืองใน coconut milk agar เริ่มสังเกตเห็นด้วยตาเปล่าได้หลังจากบ่มเชื้อไว้ 2 วัน เช่นเดียวกับรายงานของ Arseculeratne และคณะ (1969)

สำหรับเชื้อรา *A. flavus* ที่แยกได้ทั้งหมดจำนวน 84 ไอโซเลต พบว่าเรืองแสง 57 ไอโซเลต คิดเป็น 67.8% โดยมีไอโซเลตที่สามารถเรืองแสงได้มากจำนวน 14 ไอโซเลต คิดเป็น 16.7% เป็นเชื้อที่แยกได้จากระย่อมจำนวน 3 ไอโซเลต กระชาย 2 ไอโซเลต และเถาวัลย์เปรียง สะค้าน ขมิ้นอ้อย ดีปลี หญ้าคา มะกา แห้วหมู บุนนาค และพิกุล อย่างละ 1 ไอโซเลต ไอโซเลตที่สามารถเรืองแสงได้ปานกลางจำนวน 22 ไอโซเลต คิดเป็น 26.2% เรืองแสงน้อยจำนวน 21 ไอโซเลต คิดเป็น 25.0% และไม่เรืองแสงจำนวน 27 ไอโซเลต คิดเป็น 32.1% (ตารางที่ 3) จะเห็นได้ว่าเชื้อรา *A. flavus* ที่แยกได้ไม่สามารถผลิตแอฟลาทอกซินได้ทุกไอโซเลต สอดคล้องกับรายงานของ Glinsukon (1983) ซึ่งกล่าวถึงการศึกษาเชื้อรา *A. flavus* ในประเทศอิสราเอล พบว่า *A. flavus* ที่สามารถผลิตแอฟลาทอกซินได้ 71.2% จาก 330 ไอโซเลต ในประเทศสหรัฐอเมริกา *A. flavus* ที่แยกได้จากถั่วลิสงสามารถผลิตแอฟลาทอกซินได้ 94% จาก 284 ไอโซเลต และในประเทศไทย *A. flavus* ที่แยกมาจากวัสดุ

ธรรมชาติสามารถผลิตแอฟลาทอกซินได้ 84.6% และจากการทดลองของ Roy และคณะ (1988) ทำการแยกเชื้อราจากพืชสมุนไพรได้เชื้อรา *A. flavus* จำนวน 158 ไอโซเลต พบว่า มี 49 ไอโซเลตที่สามารถผลิตแอฟลาทอกซินได้ และปริมาณแอฟลาทอกซินที่ผลิตได้ในแต่ละไอโซเลตมีปริมาณไม่เท่ากัน โดยอยู่ระหว่าง 0.86-5.24 $\mu g\ ml^{-1}$ ซึ่งจากข้อมูลเหล่านี้จะเห็นได้ว่าปริมาณ *A. flavus* ที่ตรวจพบมิได้เป็นตัวบ่งชี้ถึงปริมาณแอฟลาทอกซินเสมอไป บางครั้ง *A. flavus* ที่เจริญอยู่อาจเป็นสายพันธุ์ที่ไม่สามารถผลิตแอฟลาทอกซินก็ได้ เช่นเดียวกับรายงานของอรุณศรี วงษ์อุไร และคณะ (2527) กล่าวว่าเชื้อ *A. flavus* มีความแปรผันในพันธุกรรมการผลิตแอฟลทอกซินตามธรรมชาติและกล่าวว่าปริมาณเชื้อ *A. flavus* ที่ปกคลุมเมล็ดไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณแอฟลาทอกซินที่ผลิตขึ้นในถั่วลิสงนั้น ๆ และนอกจาก *A. flavus* แล้วยังมีรายงานว่าเชื้อราชนิดอื่นที่สามารถสร้างแอฟลาทอกซินได้แต่ไม่พบในการแยกเชื้อในครั้งนี้ เช่น *A. parasiticus, A. nomius, A. ruber* เป็นต้น

ตารางที่ 3 ความสามารถในการสร้างแอฟลาทอกซินในอาหาร coconut milk agar
ของเชื้อรา *A. flavus* ไอโซเลตต่างๆ

พืช	จำนวนไอโซเลตที่แยกได้	ปริมาณแอฟลาทอกซินที่สร้าง			
		มาก	ปานกลาง	น้อย	ไม่สร้าง
1. ข้าวเย็นเหนือ	3	-	1	1	1
2. เถาวัลย์เปรียง	4	1	-	2	1
3. ขิง	1	-	1	-	-
4. มะขามแขก	3	-	1	1	1
5. จันทน์	4	-	1	-	3
6. สะค้าน	1	1	-	-	-
7. บอระเพ็ด	7	-	3	1	3
8. ขมิ้นอ้อย	4	1	1	1	1
.9 เทียนขาว	2	-	-	1	1
10. ดีปลี	2	1	-	-	1
11. หญ้าคา	3	1	-	2	-
12. จันทน์แดง	1	-	1	-	-
13. เปราะ	3	-	2	-	1
14. ว่านน้ำ	1	-	-	-	1
15. มะตูม	2	-	-	2	-
16. ชะเอมเทศ	5	-	3	-	2
17. พยับเมฆ	3	-	-	2	1
18. มะกา	2	1	-	1	-
19. เทียนข้าวเปลือก	2	-	-	1	1
20. แห้วหมู	6	1	-	3	2
21. จันทน์ขาว	1	-	-	-	1
22. บุนนาค	3	1	1		1
23. พิกุล	4	1	3	-	-

ตารางที่ 3 (ต่อ)

พืช	จำนวนไอโซเลตที่แยกได้	ปริมาณแอฟลาทอกซินที่สร้าง			
		มาก	ปานกลาง	น้อย	ไม่สร้าง
24. สารภี	3	-	1	-	2
25. ระย่อม	4	3	-	1	-
26. อบเชยญวณ	1	-	-	-	1
27. เกสรบัวหลวง	2	-	1	-	1
28. กระชาย	4	2	-	1	1
29. ชะลูด	1	-	-	1	-
30. เทียนดำ	2	-	2	-	-
รวม	84	14	22	21	27

หมายเหตุ

มาก คือ มีเม็ดสีเหลืองชัดเจน และส่องดูใต้แสงอุลตราไวโอเลตเห็นการเรืองแสงชัดเจน

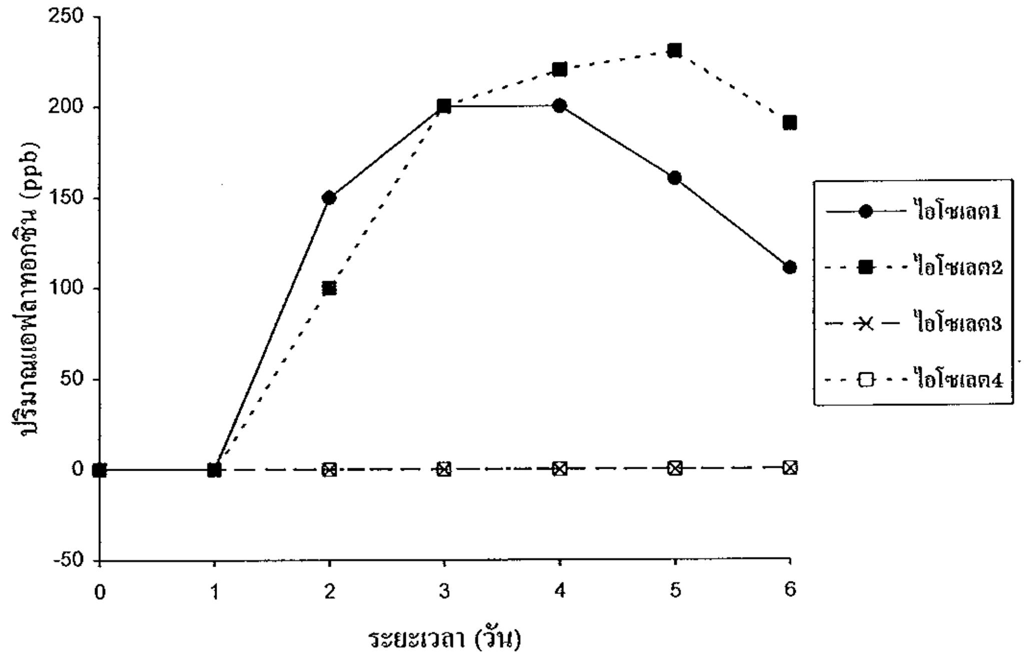
ปานกลาง คือ มีเม็ดสีเหลืองน้อยกว่า 50% ของพื้นที่โคโลนี และส่องดูใต้แสงอุลตราไวโอเลตเห็นการเรืองแสงชัดเจนแต่น้อยกว่าแบบมาก

น้อย คือ ไม่มีเม็ดสีเหลือง ส่องดูใต้แสงอุลตราไวโอเลตเห็นการเรืองแสงชัดเจนบริเวณขอบโคโลนีเท่านั้น

3. การศึกษาปริมาณแอฟลาทอกซินโดยเชื้อรา *A. flavus* ในอาหาร coconut milk broth โดยวิธี ELISA

เมื่อบ่มเชื้อ *A. flavus* จำนวน 4 ไอโซเลตโดยแบ่งเป็น ไอโซเลตที่เรืองแสงได้ 2 ไอโซเลต (ไอโซเลตที่ 1 และ 2) และไอโซเลตที่ไม่เรืองแสงจำนวน 2 ไอโซเลต (ไอโซเลตที่ 3 และ 4) ใน coconut milk broth จำนวน 100 มิลลิลิตรใน flask ขนาด 250 มิลลิลิตรบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ดูดของเหลวมาตรวจสอบโดยวิธี ELISA ปรากฏว่า หลังจากบ่มเชื้อไว้ 1 วัน *A. flavus* ทั้ง 4 ไอโซเลตยังไม่มีการสร้างแอฟลาทอกซิน แต่พบว่าในวันที่ 2 ในไอโซเลตที่ 1 และ 2 มีการสร้างแอฟลาทอกซินในปริมาณ 150 และ 100 ppb ตามลำดับ และพบว่า ไอโซเลตที่ 1 สามารถสังเกตเห็นเม็ดสีเหลืองได้ชัดเจน แต่ในไอโซเลตที่ 2 มีเม็ดสีเหลืองในปริมาณเล็กน้อยเท่านั้น ในวันที่ 3 และ 4 ไอโซเลตที่ 1 มีปริมาณแอฟลาทอกซินที่ค่อนข้างคงที่ คือ 200 ppb หลังจากนั้นในวันที่ 5 และ 6 ปริมาณแอฟลาทอกซินลดลงเหลือ 160 และ 110 ppb ตามลำดับ แต่ในไอโซเลตที่ 2 ในวันที่ 3, 4 และ 5 มีปริมาณแอฟลาทอกซินเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ คือ 200 220 และ 230 ppb ตามลำดับ และพบว่าสามารถสังเกตเห็นเม็ดสีเหลืองได้อย่างชัดเจนในวันที่ 3 หลังจากนั้นปริมาณแอฟลาทอกซินลดลงในวันที่ 6 คือมีปริมาณ 190 ppb สำหรับในไอโซเลตที่ 3 และ 4 นั้น เมื่อนำของเหลวมาทดสอบโดยใช้เทคนิค ELISA ไม่สามารถพบแอฟลาทอกซินได้ (ภาพที่ 28) ดังนั้นอาจสรุปได้ว่า *A. flavus* ที่ไม่ทำให้เกิดการเรืองแสงในอาหาร coconut milk agar ได้ เป็นไอโซเลตที่ไม่สามารถสร้างแอฟลาทอกซินได้ สำหรับในการลดลงของปริมาณแอฟลาทอกซินที่พบในวันที่ 5 และ 6 นั้นอาจมีสิ่งที่ไปรบกวนได้แก่ การผลิตกรดโดยสายพันธุ์ *A. flavus* ระหว่างการเจริญ subsequent hydroxylation ของแอฟลาทอกซิน หรือการปลดปล่อยเอนไซม์ที่สามารถไปลดคุณภาพหรือเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของแอฟลาทอกซินให้กลายเป็นสารประกอบที่ไม่เรืองแสงได้ (Chourasia and Roy, 1991) หรืออาจเนื่องมาจากสารเคมีที่ไปมีผลต่อโครงสร้าง (chemical breakdown) และพบว่าการเสื่อมคุณภาพของแอฟลาทอกซินเป็นกลไกที่ไม่เฉพาะเจาะจง (nonspecific mechanisism) ไม่มีความสัมพันธ์กันระหว่างความเข้มข้นของแอฟลาทอกซินและอัตราการเสื่อมคุณภาพ Ciegler *et al.* (1966) แสดงให้เห็นว่า peroxidized methyl esters ในน้ำมันถั่วเหลืองสามารถลดคุณภาพ (degrade) แอฟลาทอกซินได้ในห้องปฏิบัติการ โดยแอฟลาทอกซินจะถูกทำให้เสื่อมคุณภาพได้มากในอาหารที่เชื้อราเจริญมีองค์ประกอบของกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวอยู่ในปริมาณมาก มีการศึกษาเปรียบเทียบการเสื่อมคุณภาพของแอฟลาทอกซินในมะพร้าวกับถั่วลิสง พบว่า

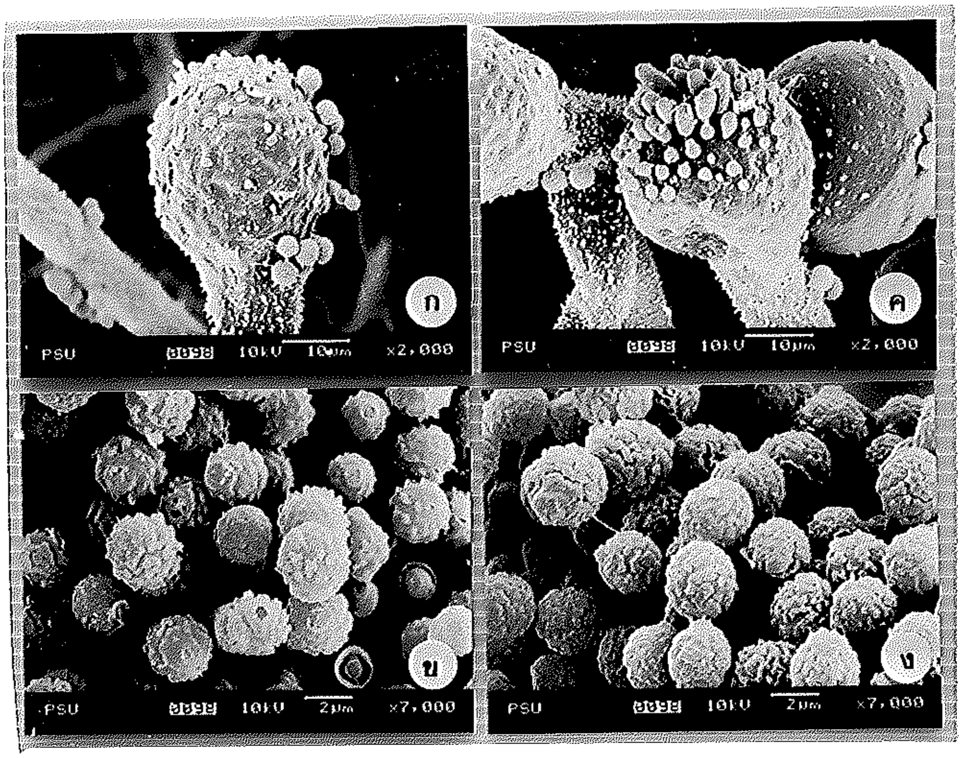
ในมะพร้าวมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวในปริมาณน้อยกว่าในถั่วลิสง เช่น oleic acid ที่เป็นองค์ประกอบของไขมันในมะพร้าว 5.0-8.2% และในถั่วลิสง 40.0-64.0% โดยน้ำหนัก และ linoleic acid เป็นองค์ประกอบของไขมันในมะพร้าว 1.0-2.6% และในถั่วลิสง 18.0-38.0% โดยน้ำหนัก ดังนั้นจะเห็นได้ว่าในมะพร้าวซึ่งมีองค์ประกอบของกรดไขมันไม่อิ่มตัวในปริมาณน้อย ทำให้มีการเสื่อมคุณภาพของแอฟลาทอกซินในปริมาณน้อย ทำให้เกิด peroxidized esters ได้ในปริมาณต่ำกว่าในถั่วลิสง



ภาพที่ 28 กราฟปริมาณแอฟลาทอกซินใน coconut milk broth ที่ตรวจพบโดยวิธี ELISA

4. การศึกษาเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *A. flavus* ระหว่างสายพันธุ์ที่สร้างแอฟลาทอกซินและไม่สร้างแอฟลาทอกซิน

ในการศึกษาเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *A. flavus* ระหว่างสายพันธุ์ที่สร้างแอฟลาทอกซินและไม่สร้างแอฟลาทอกซินจำนวน 4 สายพันธุ์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ light microscope และกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดพบว่า เชื้อราทั้ง 4 สายพันธุ์มีลักษณะที่คล้ายคลึงกัน คือ *A. flavus* สายพันธุ์ที่สร้างแอฟลาทอกซิน และไม่สร้างแอฟลาทอกซินที่อายุ 10 วัน มีขนาดโคโลนี ขนาด conidial head ความกว้างและยาวของ conidiophore ขนาด vesicle sterigma ทั้ง primary sterigma และ secondary sterigma conidium มีขนาดใกล้เคียงกัน ยกเว้นเม็ด sclerotium มีขนาดแตกต่างกันคือ *A. flavus* สายพันธุ์ที่สร้างแอฟลาทอกซินทั้งไอโซเลตที่ 1 และ 2 มีขนาดเล็กกว่าเม็ด sclerotium สายพันธุ์ที่ไม่สร้างแอฟลาทอกซินในไอโซเลตที่ 3 และ 4 ดังนี้ คือ ไอโซเลตที่ 1 เม็ด sclerotium มีขนาดเฉลี่ย 562.6 x 618.3 μm และ ไอโซเลตที่ 2 มีขนาดเฉลี่ย 656.8 x 798.2μm ส่วนไอโซเลตที่ 3 เม็ด sclerotium มีขนาดเฉลี่ย 1,133.8 x 1,256.2 μm และในไอโซเลตที่ 4 มีขนาด เฉลี่ย 1,117.2 x 1,372.7 μm ตามลำดับ (ตารางที่ 4) นอกจากนี้ยังพบว่า *A. flavus* สายพันธุ์ที่ไม่สร้างแอฟลาทอกซินมีการสร้างเม็ด sclerotium ในปริมาณน้อยและช้ากว่า *A. flavus* สายพันธุ์ที่สร้างแอฟลาทอกซิน สอดคล้องกับรายงานของ Cotty และ Cardwell (1999) กล่าวว่าส่วนใหญ่ *A. flavus* ที่สร้างแอฟลาทอกซินสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 สายพันธุ์คือ สายพันธุ์ S จะสร้างเม็ด sclerotium ขนาดเล็ก และสร้างแอฟลาทอกซินในปริมาณสูงและ สายพันธุ์ L มีการสร้างเม็ด sclerotium ในปริมาณน้อย มีขนาดใหญ่ และมีการสร้างแอฟลาทอกซินในปริมาณน้อย และเมื่อเปรียบเทียบโดยดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดพบว่าเชื้อราทั้ง 4 สายพันธุ์ มีลักษณะเหมือนกันคือ conidiophore มีผิวไม่เรียบ sterigmata ทั้ง primary sterigma และ secondary sterigma มีผิวเรียบ conidium ผิวไม่เรียบ ซึ่งจากลักษณะดังกล่าวข้างต้นนี้อาจกล่าวได้ว่าเชื้อราทั้ง 2 สายพันธุ์นี้มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ไม่แตกต่างกัน (ภาพที่ 29) สอดคล้องกับการทดลองของ Rambo และ Bean (1974 อ้างโดย Roy and Chourasia, 1990a) และ Ciegler (1977 อ้างโดย Roy and Chourasia, 1990a) ชี้ให้เห็นว่า *A. flavus* ในไอโซเลตที่สามารถสร้างแอฟลาทอกซินได้แตกต่างกับไอโซเลตที่ไม่สามารถสร้างแอฟลาทอกซินได้เฉพาะรูปแบบของ metabolism ของเชื้อราเท่านั้น แต่อัตราการเจริญและลักษณะทางสัณฐานวิทยาจะเหมือนกัน



ภาพที่ 29 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *A. flavus* สายพันธุ์ที่สร้างและไม่สร้างแอฟลาทอกซิน

ก-ข *A. flavus* สายพันธุ์ที่สร้างแอฟลาทอกซิน ไอโซเลตที่ 1

ค-ง *A. flavus* สายพันธุ์ที่ไม่สร้างแอฟลาทอกซิน ไอโซเลตที่ 3

ตารางที่ 4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *A. flavus* สายพันธุ์ที่สร้างแอฟลาทอกซินและไม่สร้างแอฟลาทอกซิน

ขนาด	สายพันธุ์ที่สร้างแอฟลาทอกซิน		สายพันธุ์ที่ไม่สร้างแอฟลาทอกซิน	
	ไอโซเลตที่ 1	ไอโซเลตที่ 2	ไอโซเลตที่ 3	ไอโซเลตที่ 4
โคโลนีที่อายุ 10 วัน - CA	10.3 ซ.ม.	10.1 ซ.ม.	9.8 ซ.ม.	9.9 ซ.ม.
- MEA	11.6 ซ.ม.	10.8 ซ.ม.	10.7 ซ.ม.	11.8 ซ.ม.
Conidial head	168.5-294.8 x 179.0-400.1 µm (เฉลี่ย 225.6 x 239.2µm)	233.1-362.6 x 233.1-414.4 µm (เฉลี่ย 305.6 x 310.8 µm)	147.4-442.3 x 126.4-368.6 µm (เฉลี่ย 251.1 x 248.2µm)	233.1-414.4 x 207.2-388.5 µm (เฉลี่ย 303.7 x 282.5 µm)
Conidiophore - กว้าง	10.0-17.5 µm (เฉลี่ย 12.2 µm)	7.5-15.0 µm (เฉลี่ย 11.6 µm)	10.0-20.0 µm (เฉลี่ย 13.5 µm)	7.5-17.5 µm (เฉลี่ย 11.5 µm)
- ยาว	473.8 - 895.0 µm (เฉลี่ย 703.9 µm)	494.9-789.8 µm (เฉลี่ย 632.8 µm)	568.6 - 1,716.4 µm (เฉลี่ย 865.8 µm)	610.7-705.5 µm (เฉลี่ย 675.0 µm)
Vesicle	20.0-47.5 x 22.5-45.0 µm (เฉลี่ย 34.5 x 37.4µm)	32.5-47.5 x 32.5-50.0 µm (เฉลี่ย 38.5 x 42.2 µm)	22.5-75.0 x 25.5-72.5 µm (เฉลี่ย 32.5 x 37.6 µm)	35.0-50.0 x 40.0-52.5 µm (เฉลี่ย 44.5 x 47.2 µm)
Primary sterigma	11.5-23.0 x 4.8-8.6 µm (เฉลี่ย 18.9 x 6.3 µm)	6.7-10.6 x 2.9-5.8 µm (เฉลี่ย 8.0 x 4.3 µm)	11.5-21.1 x 3.8-8.6 µm (เฉลี่ย 16.4 x 6.4 µm)	12.5-22.1 x 3.8-6.7 µm (เฉลี่ย 17.9 x 5.3 µm)
Secondary sterigma	7.7-12.5 x 2.9-4.8 µm (เฉลี่ย 9.4 x 3.6 µm)	5.8-7.7 x 1.9-2.7 µm) (เฉลี่ย 7.1 x 2.5 µm)	5.8-10.6 x 2.9-4.8 µm (เฉลี่ย 7.7 x 3.2 µm)	6.7-9.6 x 2.9-3.8 µm (เฉลี่ย 8.2 x 3.3 µm)
Conidium	2.9-3.8 µm (เฉลี่ย 3.5 µm)	2.9-3.8 µm (เฉลี่ย 3.6 µm)	2.9-4.8 µm (เฉลี่ย 3.7 µm)	2.9-3.8 µm (เฉลี่ย 3.8 µm)
Sclerotium	347.5-842.4 x 379.1-947.7 µm (เฉลี่ย 562.6 x 618.3 µm)	518.0-854.7 x 569.8-1,010.1 µm (เฉลี่ย 656.8 x 798.2µm)	880.6-1,424.5 x 828.8-2,020.2 µm (เฉลี่ย 1133.8 x 1256.2 µm)	854.7-1,787.1 x 725.2-2,149.7 µm (เฉลี่ย 1117.2 x 1372.7 µm)

5. การตรวจหาปริมาณแอฟลาทอกซินในพืชสมุนไพร โดยใช้วิธี ELISA

จากการตรวจหาปริมาณแอฟลาทอกซินพืชสมุนไพรจำนวน 50 ชนิด โดยใช้เทคนิค ELISA พบแอฟลาทอกซินได้ในพืชสมุนไพรทั้ง 50 ชนิด (ตารางที่ 5) โดยพืชที่มีปริมาณแอฟลาทอกซินปนเปื้อนมากกว่า 500 ppb อยู่ 4 ชนิดคือ แสมสารพบแอฟลาทอกซินปนเปื้อนมีค่าเฉลี่ยสูงถึง 1,101.8 ppb รองลงมาคือ ฝาง (655.9 ppb) ขี้เหล็ก (583.0 ppb) และข้าวเย็นเหนือ (572.5 ppb) ตามลำดับ และปริมาณแอฟลาทอกซินบนพืชชนิดเดียวกันแต่เก็บจากที่ต่างกัน มีปริมาณแอฟลาทอกซินแตกต่างกัน เช่น แสมสารจากร้านที่ 1 มีปริมาณสูงถึง 2,000 ppb ซึ่งสูงกว่าค่ามาตรฐานซึ่งกำหนดโดยองค์การอนามัยโลก (WHO) ถึง 100 เท่า และจากร้านที่ 2, 4 และ 3 มี 1,400, 696 และ 346 ppb ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าในพืชสมุนไพรชนิดเดียวกัน มีปริมาณแอฟลาทอกซินแตกต่างกัน ซึ่งการปนเปื้อนของแอฟลาทอกซินอาจเกิดขึ้นตั้งแต่แปลงปลูก และในระหว่างการเก็บรักษาหลังเก็บเกี่ยว ซึ่งในการเก็บรักษาของแต่ละร้านจะแตกต่างกัน บางร้านเก็บในกล่องแต่ไม่มีฝาปิด ทำให้ชิ้นสมุนไพรได้รับความชื้นและเหมาะสมต่อการเจริญและการสร้างแอฟลาทอกซินของเชื้อรา และพบว่ามีพืชสมุนไพรจำนวน 16 ชนิดที่มีค่าเฉลี่ยของสารพิษแอฟลาทอกซินต่ำกว่า 20 ppb ซึ่งเป็นปริมาณแอฟลาทอกซินที่จัดว่าเป็นระดับมาตรฐานที่ไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ตามมาตรฐานของ WHO ในประเทศสหรัฐอเมริกา (Kurata, 1990) คือ ข้าวเย็นใต้ เถาวัลย์เปรียง จันทน์ สะค้าน ขมิ้นอ้อย ไพล ดีปลี กระวานขาว ขมิ้นชัน หญ้าคา ทองพันชั่ง เปราะ เทียนข้าวเปลือก จันทน์ขาว กระชาย และชะลูด

A. flavus ที่แยกได้จากพืชสมุนไพรบางชนิด เช่น กระชาย เถาวัลย์เปรียง สะค้าน ขมิ้นอ้อย ดีปลี หญ้าคา เป็นต้น เมื่อนำมาทดสอบบน coconut milk agar พบว่าบางไอโซเลตสามารถสร้างแอฟลาทอกซินได้สูง แต่ปริมาณแอฟลาทอกซินที่ได้จากการตรวจหาโดยวิธีการ ELISA ที่พบในตัวอย่างต่ำมาก คือ ต่ำกว่า 20 ppb ในขณะเดียวกันพืชสมุนไพรจำนวน 20 ชนิดที่ไม่สามารถตรวจพบ *A. flavus* ด้วยวิธีการ standard blotter plate แต่สามารถตรวจพบแอฟลาทอกซินด้วยวิธีการ ELISA ได้ในปริมาณสูง เช่น กานพลู คำฝอย แสมสาร อาจเนื่องมาจากว่าในชิ้นสมุนไพรเหล่านั้นมี *A. flavus* ปะปนอยู่แต่ไม่สามารถตรวจพบได้โดยวิธี standard blotter plate ได้เนื่องจากในการทำ standard blotter plate นั้นเราได้ทำการสุ่มมาเพียงเล็กน้อยประมาณ 1 กรัม จึงอาจไม่มีชิ้นที่มีเชื้อราปนเปื้อนอยู่ก็ได้ ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าแม้ว่าเราสามารถตรวจพบ *A. flavus* ได้ในปริมาณสูง แต่อาจมีปริมาณแอฟลาทอกซินต่ำก็ได้ เช่น

เถาวัลย์เปรียงพบ *A. flavus* สูงถึง 70% แต่มีปริมาณแอฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนอยู่เพียง 3.6 ppb ซึ่งต่ำกว่ามาตรฐานที่ WHO กำหนด สำหรับการผลิตแอฟลาทอกซินของ *A. flavus* อาจขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของสารอาหารที่เชื้อราเจริญ เช่นเดียวกับการทดลองของ Arseculeratne และคณะ (1969) พบว่า *A. flavus* สามารถผลิตแอฟลาทอกซินในอาหารต่างชนิดกันได้ในปริมาณแตกต่างกัน เช่น สามารถผลิตแอฟลาทอกซินบนมะพร้าวได้มากกว่าบนถั่วลิสง อาจเนื่องมาจากองค์ประกอบของ neutral fat ในเนื้อมะพร้าวที่เจริญเต็มที่แล้ว ดังนั้นปริมาณ *A. flavus* ที่ตรวจพบมิได้บ่งชี้ถึงปริมาณแอฟลาทอกซินที่มีอยู่ในตัวอย่างนั้น ๆ เสมอไป

ในการตรวจด้วย coconut milk agar และการตรวจโดยเทคนิค ELISA สามารถตรวจหาได้เฉพาะแอฟลาทอกซินชนิด B_1 เท่านั้น แต่จากการทดลองในครั้งนี้ยังพบเชื้อรา *Aspergillus* หลายชนิดที่มีรายงานว่าสามารถสร้างสารพิษชนิดอื่นได้อีก เช่น *A. ochraceus* สามารถสร้าง ochratoxins ได้ซึ่งสามารถทำอันตรายต่อไตและอวัยวะอื่น ๆ เช่น ตับ ได้ โดยไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ใน TCA cycle ทำให้ไมโตคอนเดรียเกิด degenerate และทำให้เซลล์เกิด degeneration ได้ β-nitropropionic acid เป็นสารพิษที่ผลิตโดย *A. flavus*, *A. oryzae* และ *A. wentii* สามารถทำให้หนูที่ได้รับสารนี้ 160-240 mg kg^{-1} ตายภายใน 24 ชั่วโมงได้ นอกจากนี้แล้วยังมีเชื้อราชนิดอื่นอีกหลายชนิดที่สามารถผลิตแอฟลาทอกซินชนิด B_1 ได้ เช่น *Penicillium* (Cole and Cox, 1981) และเชื้อราชนิดอื่น ๆ ที่สามารถสร้างสารพิษได้ เช่น *Fusarium* ซึ่งสามารถตรวจพบได้ในพืชสมุนไพรเช่นกัน ดังนั้นในสมุนไพรนอกจากมีแอฟลาทอกซินชนิด B_1 แล้วคาดว่าน่าจะมีสารพิษชนิดอื่น ๆ อีกหลายชนิดที่ยังไม่ได้ทำการศึกษาปนเปื้อนอยู่ด้วย ซึ่งอาจมีผลต่อสุขภาพของผู้บริโภคได้

ตารางที่ 5 ปริมาณแอฟลาทอกซินในพืชสมุนไพรจำนวน 50 ชนิดที่สุ่มเก็บจากร้านค้า 4 ร้าน ในจังหวัดสงขลาและวิเคราะห์โดยวิธีการ ELISA

ชื่อ	ปริมาณแอฟลาทอกซิน (ppb)				
	ร้านที่ 1	ร้านที่ 2	ร้านที่ 3	ร้านที่ 4	เฉลี่ย
1. ข้าวเย็นเหนือ	696.0	620.0	459.0	515.0	572.5
2. อบเชยเทศ	17.2	38.3	79.2	182.8	79.4
3. ข้าวเย็นใต้	2.4	49.7	12.0	2.6	16.7
4. โป๊ยกั๊ก	106.7	27.2	98.6	22.0	63.6
5. ฟ้าทะลายโจร	30.4	58.0	70.1	41.7	50.0
6. เถาวัลย์เปรียง	2.5	1.8	3.6	6.7	3.6
7. คำฝอย	99.4	42.7	48.2	76.6	66.7
8. พริกไทย	33.6	21.3	18.2	27.9	25.2
9. ขิง	22.3	20.7	29.0	24.1	24.0
10. มะขามแขก	328.0	476.0	322.0	403.0	382.2
11. จันทน์	10.6	20.1	8.5	11.7	12.7
12. สะค้าน	9.5	15.9	6.7	8.0	10.0
13. บอระเพ็ด	26.2	38.1	11.6	17.4	23.3
14. สมอไทย	181.6	91.6	181.6	206.0	165.2
15. เจตมูลเพลิง	267.0	165.1	48.2	148.5	157.2
16. กานพลู	257.0	252.0	209.0	157.9	219.0
17. ขมิ้นอ้อย	4.6	7.4	7.8	4.9	6.2
18. เทียนขาว	94.4	49.6	43.4	117.2	76.2
19. ไพล	16.8	8.8	33.2	20.0	19.7
20. ดีปลี	13.9	15.9	17.0	16.5	15.8
21. กระวานขาว	6.8	7.5	6.4	8.4	7.3
22. ฝาง	1,770.0	450.0	274.0	100.4	655.9

ตารางที่ 5 (ต่อ)

ชื่อ	ปริมาณแอฟลาทอกซิน (ppb)				
	ร้านที่ 1	ร้านที่ 2	ร้านที่ 3	ร้านที่ 4	เฉลี่ย
23. ลูกผักชี	39.1	50.9	21.3	75.5	46.7
24. ขมิ้นชัน	0.5	8.6	27.3	11.6	12.0
25. หญ้าคา	12.9	5.6	7.4	15.9	10.4
26. ทองพันชั่ง	9.1	8.0	8.4	10.3	9.0
27. จันทน์แดง	24.1	16.8	16.2	31.0	22.0
28. ช้าพลู	27.5	25.1	28.9	40.4	30.5
29. เปราะ	2.7	3.4	4.4	2.6	3.3
30. ว่านน้ำ	30.6	76.8	27.2	60.8	48.8
31. มะตูม	360.0	130.8	287.0	212.0	247.4
32. ขี้เหล็ก	661.0	417.0	558.0	696.0	583.0
33. แสมสาร	2,000.0	1,400.0	346.0	661.0	1101.8
34. ชะเอมเทศ	76.3	106.5	56.9	47.6	71.8
35. พยับเมฆ	31.6	30.7	22.9	22.6	27.0
36. มะกา	40.9	151.8	31.3	92.0	79.0
37. เทียนข้าวเปลือก	24.6	10.3	9.1	15.6	14.9
38. แห้วหมู	183.0	494.0	111.8	558.0	336.7
39. จันทน์ขาว	5.8	2.5	3.7	3.2	3.8
40. แสมทะเล	19.6	26.3	29.1	8.1	20.8
41. บุนนาค	250.0	182.0	357.0	357.0	286.5
42. พิกุล	403.0	180.7	176.7	22.0	195.6
43. สารภี	106.9	401.0	747.0	29.7	321.2
44. ระย่อม	111.8	236.0	30.3	73.6	112.9
45. อบเชยญวน	437.0	93.8	175.5	558.0	316.1

ตารางที่ 5 (ต่อ)

ชื่อ	ปริมาณแอฟลาทอกซิน (ppb)				
	ร้านที่ 1	ร้านที่ 2	ร้านที่ 3	ร้านที่ 4	เฉลี่ย
46. เกสรบัวหลวง	298.0	374.0	348.0	348.0	342.0
47. มะขามป้อม	361.0	193.4	68.5	217.0	210.0
48. กระชาย	6.0	5.3	2.4	3.9	4.4
49. ชะลูด	3.2	3.6	7.4	3.1	4.3
50. เทียนดำ	198.1	58.2	97.0	95.5	112.2

บทที่ 4

สรุป

จากการเก็บตัวอย่างพืชสมุนไพรจำนวน 50 ชนิดจากร้านขายยาแผนไทย ในจังหวัดสงขลา เพื่อศึกษาความหลากหลายของเชื้อรา *Aspergillus* และวิเคราะห์หาปริมาณแอฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในพืชสมุนไพร สามารถแยกเชื้อรา *Aspergillus* ได้จำนวน 288 ไอโซเลต และสามารถจำแนกเชื้อราได้จำนวน 25 ชนิด คือ *A. alliaceus, A. auricomus, A. carbonarius, A. carneus, A. chevalieri* (*Eurotium chevalieri*), *A. clavatus, A. fischeri* (*Sartorya fumigata*), *A. flavus, A. fumigatus, A. janus, A. melleus, A. nidulans* (*Emericella nidulans*), *A. niger, A. ochraceus, A. oryzae, A. phoencis, A. sparsus, A. terreus, A. terricola, A. thomii, A. versicolor, A. wentii*, และ *Aspergillus* sp.1-3 และพบว่าสามารถแยกเชื้อรา *A. niger* ได้มากที่สุด จำนวน 99 ไอโซเลต รองลงมาคือ *A. flavus* จำนวน 84 ไอโซเลต *A. terreus* 33 ไอโซเลต *A. oryzae* 25 ไอโซเลต *A. nidulans* 10 ไอโซเลต *A. fumigatus* 9 ไอโซเลต *A. chevalieri* 8 ไอโซเลต และสำหรับใน *Aspergillus* ชนิดอื่นๆ ที่เหลือ พบชนิดละ 1-2 ไอโซเลตเท่านั้น และจากการศึกษาในพืชสมุนไพรจำนวน 50 ชนิด พบว่ามีสมุนไพรจำนวน 9 ชนิดที่ไม่มีเชื้อรา *Aspergillus* เจริญบนชิ้นสมุนไพร คือ อบเชยเทศ โป๊ยกั๊ก ฟ้าทะลายโจร คำฝอย กานพลู กระวานขาว ผักชี ขมิ้นชัน และแสมสาร และสำหรับในพืชสมุนไพรที่พบเชื้อรา *Aspergillus* มากที่สุด คือ ระย่อม พบเชื้อรา *Aspergillus* จำนวน 9 ชนิด รองลงมาคือ กระชาย พบเชื้อรา *Aspergillus* จำนวน 8 ชนิด พิกุล เทียนข้าวเปลือก และสารภี พบเชื้อรา *Aspergillus* จำนวน 6 ชนิด เถาวัลย์เปรียง บอระเพ็ด ขมิ้นอ้อย เปราะ ว่านน้ำ มะตูม พยับเมฆ มะกา บุนนาค และเกสรบัวหลวงพบเชื้อรา *Aspergillus* จำนวน 5 ชนิด ข้าวเย็นเหนือ มะขามแขก เทียนขาว ชะเอมเทศ แห้วหมู จันทน์ขาว และเทียนดำ พบเชื้อรา *Aspergillus* จำนวน 4 ชนิด ข้าวเย็นใต้ หญ้าคา ช้าพลู พบเชื้อรา *Aspergillus* จำนวน 3 ชนิด ขิง จันทน์ สะค้าน เจตมูลเพลิง ฝาง ขี้เหล็ก แสมทะเล อบเชยญวน มะขามป้อม และชะลูดพบเชื้อรา *Aspergillus* จำนวน 2 ชนิด และพริกไทย สมอไทย ไพล ดีปลี ทองพันชั่ง และจันทน์แดงพบเชื้อรา *Aspergillus* จำนวน 1 ชนิด เชื้อรา *Aspergillus* ที่พบบนพืชสมุนไพรมากชนิดคือ *A. niger* โดยพบบนสมุนไพรจำนวน 35 ชนิด รองลงมาคือ *A. flavus* พบบนพืช

สมุนไพร 30 ชนิด *A. terreus* พบบนพืชสมุนไพร 21 ชนิด ปริมาณเชื้อราแต่ละชนิดที่พบบนพืชสมุนไพรแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของพืชสมุนไพร เช่น *A. niger* พบมากบนสมอไทย จำนวน 88% ของชิ้นตัวอย่างที่ทำการตรวจ รองลงมาคือแห้วหมูพบจำนวน 82% ส่วน *A. flavus* พบบนบอระเพ็ดจำนวน 100% รองลงมาคือเถาวัลย์เปรียงพบ 70% เป็นต้น

การศึกษาความสามารถในการสร้างแอฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ coconut milk agar พบว่ามีเฉพาะ *A. flavus* เท่านั้นที่สามารถสร้างแอฟลาทอกซินได้ สำหรับ *A. flavus* ที่แยกได้ทั้งหมดจำนวน 84 ไอโซเลต พบว่า เรืองแสง 56 ไอโซเลต คิดเป็น 67.8% ไอโซเลตที่สามารถเรืองแสงได้มากจำนวน 14 ไอโซเลต คิดเป็น 16.7% ซึ่งแยกได้จากระย่อมจำนวน 3 ไอโซเลต กระชาย 2 ไอโซเลต และเถาวัลย์เปรียง สะค้าน ขมิ้นอ้อย ดีปลี หญ้าคา มะกา แห้วหมู บุนนาค และพิกุล อย่างละ 1 ไอโซเลต และไอโซเลตที่สามารถเรืองแสงได้ปานกลางจำนวน 22 ไอโซเลต คิดเป็น 26.2% เรืองแสงน้อยจำนวน 21 ไอโซเลต คิดเป็น 25.0% และไม่เรืองแสงจำนวน 27 ไอโซเลต คิดเป็น 32.1% และในการศึกษาปริมาณแอฟลาทอกซินที่สร้างโดยเชื้อรา *A. flavus* ในอาหาร coconut milk broth โดยวิธีการ ELISA นั้น ในวันที่ 1 พบว่า เชื้อรา *A. flavus* ทั้ง 4 ไอโซเลตยังไม่มีการสร้างแอฟลาทอกซิน แต่ในวันที่ 2 ไอโซเลตที่ 1 สามารถสังเกตเห็นเม็ดสีเหลืองได้ชัดเจน และในไอโซเลตที่ 2 มีเม็ดสีเหลืองในปริมาณเล็กน้อย เมื่อนำไปทดสอบโดยใช้เทคนิค ELISA พบว่ามีปริมาณแอฟลาทอกซิน 150 และ 100 ppb ตามลำดับ ในวันที่ 3 และ 4 ไอโซเลตที่ 1 มีปริมาณแอฟลาทอกซินที่ค่อนข้างคงที่ คือ 200 ppb หลังจากนั้นในวันที่ 5 และ 6 ปริมาณแอฟลาทอกซินลดลงเหลือ 160 และ 110 ppb ตามลำดับ แต่ในไอโซเลตที่ 2 ในวันที่ 3, 4 และ 5 มีปริมาณแอฟลาทอกซินเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ คือ 200, 220 และ 230 ppb ตามลำดับ และพบว่าสามารถสังเกตเห็นเม็ดสีเหลืองได้อย่างชัดเจนในวันที่ 3 หลังจากนั้นปริมาณแอฟลาทอกซินลดลงในวันที่ 6 คือมีปริมาณ 190 ppb สำหรับในไอโซเลตที่ 3 และ 4 นั้นเมื่อนำมาตรวจโดยใช้เทคนิค ELISA ไม่พบแอฟลาทอกซิน

สำหรับการศึกษาเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *A. flavus* ระหว่างสายพันธุ์ที่สร้างแอฟลาทอกซินและไม่สร้างแอฟลาทอกซินภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ light microscope และกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด พบว่า เชื้อราทั้ง 2 สายพันธุ์มีลักษณะที่คล้ายคลึงกัน

ในการตรวจหาปริมาณแอฟลาทอกซินในพืชสมุนไพรโดยใช้เทคนิค ELISA พบว่าสามารถตรวจพบแอฟลาทอกซินได้ในพืชสมุนไพรทั้ง 50 ชนิด โดยพบพืชที่มีแอฟลาทอกซินปนเปื้อนมากกว่า 500 ppb อยู่ 4 ชนิด คือ แสมสาร พบแอฟลาทอกซินปนเปื้อนมีค่าเฉลี่ยสูงถึง 1,101.8 ppb รองลงมาคือ ฝาง (655.9 ppb) ขี้เหล็ก (583.0 ppb) และข้าวเย็นเหนือ (572.5 ppb) ตามลำดับ และสำหรับปริมาณแอฟลาทอกซินที่พบว่ามีปริมาณที่ต่ำกว่า 20 ppb (Kurats, 1990) ซึ่งเป็นระดับมาตรฐานที่ไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ตามมาตรฐานของ WHO ในประเทศสหรัฐอเมริกามีพืชสมุนไพรจำนวน 16 ชนิด คือ ข้าวเย็นใต้ เถาวัลย์เปรียง จันทน์ สะค้าน ขมิ้นอ้อย ไพล ดีปลี กระวานขาว ขมิ้นชัน หญ้าคา ทองพันชั่ง เปราะ เทียนข้าวเปลือก จันทน์ขาว กระชาย และชะลูด

ข้อเสนอแนะ

ในการเลือกบริโภคสมุนไพร ทั้งในการบริโภคเพื่อบำรุงสุขภาพ หรือบริโภคเพื่อรักษาโรค ควรเลือกบริโภคพืชสมุนไพรสดจะให้ผลการรักษาตามคุณสมบัติของพืชสมุนไพรนั้น ๆ ที่แน่นอนกว่าการบริโภคพืชสมุนไพรตากแห้ง เนื่องจากในพืชสมุนไพรสด ปริมาณสารต่างๆ ในพืชสมุนไพรส่วนใหญ่ยังคงอยู่ และโอกาสการปนเปื้อนของสารพิษเนื่องจากเชื้อราน้อยกว่าการบริโภคพืชสมุนไพรตากแห้ง แต่หากว่ามีความจำเป็นต้องบริโภคพืชสมุนไพรตากแห้ง ไม่สามารถหลีกเลี่ยงได้ ในการเลือกซื้อพืชสมุนไพรที่นำมาบริโภคควรเลือกซื้อสมุนไพรที่ยังมีลักษณะที่ยังใหม่อยู่ ชิ้นส่วนยังคงสภาพเดิม ไม่แตกหักเป็นผง ไม่จับตัวเป็นก้อน ไม่มีสิ่งแปลกปลอม หรือมีแมลงเข้าทำลาย และควรเลือกซื้อในร้านที่มีการจัดการที่ดี เช่น มีการเก็บรักษาในภาชนะที่ปิดมิดชิด สามารถป้องกันความชื้นจากภายนอกได้ สะอาด เป็นต้น และทางรัฐบาลควรให้ความรู้กับประชาชนในการเลือกบริโภคพืชสมุนไพร และควรมีการตรวจสอบทั้งชนิดของเชื้อราและปริมาณสารพิษต่าง ๆ ที่เชื้อราสร้างขึ้นและมีผลกระทบต่อสุขภาพอนามัยของผู้บริโภค ไม่ควรตรวจสอบเฉพาะชนิด และปริมาณของเชื้อราเพียงอย่างเดียว เนื่องจากว่าปริมาณของเชื้อราที่ตรวจพบอาจไม่มีความสัมพันธ์กับการสร้างสารพิษของเชื้อราได้ เช่นเดียวกับการทดลองพบว่า ปริมาณเชื้อรา *A. flavus* ที่พบไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณแอฟลาทอกซินในพืชสมุนไพร เช่น ในแสมสารจากร้านที่ 1 ตรวจไม่พบ *A. flavus* แต่เมื่อนำมาตรวจหาปริมาณแอฟลาทอกซินพบสูงถึง 2,000 ppb เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

ฉายแสง แนคเลอร์, M. Nagler, อรุณศรี วงษ์อุไร และ ดารา พวงสุวรรณ. 2529. ศึกษาและปรับปรุงการตรวจหาสารแอฟลาทอกซินโดยวิธี BGYF. รายงานผลการวิจัย พ.ศ. 2529 กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ หน้า 141 - 154.

ชวเลิศ ตรีกรุณาสวัสดิ์. 2540. สารสกัดจากราเพื่อยับยั้งการสังเคราะห์แอฟลาทอกซิน. ข่าวสารโรคพืชและจุลชีววิทยา 7 : 39 - 41.

ธรรมศักดิ์ สมมาตย์. 2533. สารพิษแอฟลาทอกซินในถั่วลิสง. รายงานการสัมมนาถั่วลิสงแห่งชาติ ครั้งที่ 9 ณ โครงการชลประทานลำพระเพลิง จ. นครราชสีมา 7 - 11 พฤษภาคม 2533 หน้า 113 - 134.

ธีรยุทธ กลิ่นสุคนธ์ และ ชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว. 2524. แอฟลาทอกซิน (สารพิษจากเชื้อราที่ทำให้เกิดมะเร็งของตับ). กรุงเทพฯ : ภาควิชาสรีรวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

ประวัติ ตันบุญเอก, อมรา สนิมทอง, ชวเลิศ ตรีกรุณาสวัสดิ์, กัญจนา พุทธสมัย, อรุณศรี วงศ์อุไร และ ศุภรัตน์ โฆษิตเจริญกุล. 2541. ชุดเครื่องมือ ELISA TEST KIT สำหรับการตรวจวิเคราะห์สารพิษแอฟลาทอกซิน B_1. กรุงเทพฯ : กลุ่มงานวิจัยโรคพืชผลิตผลเกษตร กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ 34 หน้า.

ปริศนา เหมสุจิ. 2524. สารพิษจากเชื้อราในเมล็ดพืชอาหาร. การสัมมนาเรื่องวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวของข้าว พืชไร่และพืชสวน ณ สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ บางเขน กรุงเทพฯ 19 - 20 พฤศจิกายน 2524. หน้า 80 - 93.

พเยาว์ เหมือนวงศ์ญาติ. 2526. คู่มือการใช้สมุนไพร. กรุงเทพฯ : เมดิคัล มีเดีย.

พรรณกร อิ่มวิทยา. 2535. เชื้อราก่อโรคในคน. กรุงเทพฯ : สารมวลชน จำกัด.

ภูมิพิชญ์ สุชาวรรณ. 2535. พืชสมุนไพรใช้เป็นยา เล่ม 1. กรุงเทพฯ : อักษราพิพัฒน์.

ศักดิ์สิทธิ์ การุณยะวานิช, ทัศนีย์ จุฑามรกต และ เกษร นันทจิตต์. 2526. มินิคอลัมน์พลาสติกสำหรับตรวจแอฟลาทอกซิน. รายงานการสัมมนาเรื่องงานวิจัยถั่วลิสง ครั้งที่ 2 ณ ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ จ. นครสวรรค์ 11-13 กุมภาพันธ์ 2526. หน้า 113 - 132.

ศูนย์วิจัยการปรับปรุงคุณภาพข้าวโพด. 2535. การป้องกันสารพิษแอฟลาทอกซินในข้าวโพดของประเทศไทย. กรุงเทพฯ : กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ร่วมกับ องค์กรความร่วมมือระหว่างประเทศแห่งประเทศญี่ปุ่น (JICA).

สถาบันวิจัยสาธารณสุข- มูลนิธิสาธารณสุขแห่งชาติ และสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. 2526. ระบบยาสมุนไพรและยาแผนโบราณ *ใน* ระบบยาของไทย หน้า 823 - 824. กรุงเทพฯ.

สำนักงานคณะกรรมการสาธารณสุขมูลฐาน. 2537. ยาไทยสำหรับงานสาธารณสุขมูลฐาน. สำนักงานปลัดกระทรวง สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข.

อมรา สนิมทอง. 2539ก. การตรวจสอบสารพิษในอาหารและในผลิตผลเกษตรโดยวิธีทาง IMMUNOASSAY. เอกสารประกอบการบรรยาย วิชาพิษวิทยาของอาหาร คณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยรามคำแหง วันที่ 12 กุมภาพันธ์ 2539

อมรา สนิมทอง. 2539ข. ชุด ELISA TEST KIT สำหรับตรวจสอบสารพิษแอฟลาทอกซิน. ข่าวสารกองโรคพืชและจุลชีววิทยา 6 : 43 - 44.

อรุณพร อิฐรัตน์. 2532ก. สมุนไพรไทย-เทศ เล่ม 1. ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

อรุณพร อิฐรัตน์. 2532ข. สมุนไพรไทย-เทศ เล่ม 2. ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

อรุณศรี วงษ์อุไร, ปริศนา เหมสุจิ และดารา พวงสุวรรณ. 2527. การศึกษาจำนวนประชากรของเชื้อราที่สร้างแอฟลาทอกซินในถั่วลิสง. รายงานการสัมมนาเรื่องงานวิจัยถั่วลิสง ครั้งที่ 3 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน 19-21 เมษายน 2527 หน้า 28 - 113.

Abeywickrama, K. and Bean, G.A. 1991. Toxigenic *Aspergillus flavus* and aflatoxins in Sri Lanka medicinal plant material. Mycopathol. 113 : 187 - 190.

Arseculeratne, S.N., De Silva, L.M., Wijesundera, S. and Bandunatha, C.H.S.R. 1969. Coconut as a medium for the experimental production of aflatoxin. Appl. Microbiol. 18 : 88 - 94.

Ashworth, L.J.,Jr., Schroeder, H.W. and Langley, B.C. 1965. Aflatoxins : Environmental factors governing occurrence in Spanish peanuts. Sci. 148 : 1228 - 1229.

Bhumibhamorn, O. and Vibulsresth, P. 1983. Variation on the fungi attacking local and exotic peanut *In* Proceedings of the Workshop on Mycotoxins in Thailand Mahidol University and Ministry of Public Health, January 13 - 14 pp. 74 - 76.

Boller, R.A. and Schroeder, H.W. 1973. Influence of *Aspergillus chevalieri* on production of aflatoxin in rice by *Aspergillus parasiticus* . Phytopath. 63 : 1507 - 1510.

Boller, R.A. and Schroeder, H.W. 1974. Influence of *Aspergillus candidus* on production of aflatoxin in rice by *Aspergillus parasiticus* . Phytopath. 64 : 121 - 123.

Bothast, R.J. and Hesseltine, C.W. 1975. Bright greenish - yellow fluorescence and aflatoxin in agricultural commodities. Appl. Microbiol. 28 : 337 - 338.

Brackett, R.E. and Marth, E.H. 1982. Fate of aflatoxin M_1 in parmesan and mozzarella cheese. J. Food Prot. 45 : 597 - 600.

Chourasia, H.K. and Roy, A.K. 1991. Effect of temperature, relative humidity and light on aflatoxin B_1 production in neem and datura seeds. J. Pharmaco. 29 : 197 - 202.

Cole, R.J. and Cox, R.H. 1981. Handbook of Toxic Fungal Metabolites. NewYork. : Academic Press. 937 pp.

Cotty, P.J. and Cardwell, K.F. 1999. Divergence of west african and north american communities of *Aspergillus* section *Flavi.* Appl. and Environ. Microbiol. 65 : 2264 - 2266.

Doyle, M.P., Applebaum, R.S., Brackett, R.E. and Marth, E.H. 1982. Physical, chemical and biological degradation of mycotoxins in foods and agricultural commodities. J. Food Prot. 45 : 964 - 971.

Dutta, G.R. 1989. Seasonal variation of mycoflora with *Strychnos nux - vomica* L. seed under storage. Indian J. Appl. and Pure Biol. 4 : 133 - 135.

FAO. 1982. Mycotoxin Surveillance. FAO Food and Nutrition Paper 21. Rome. 68 pp.

Fernando, L. and Abeywickrama, K. 1996. Isolation of toxigenic fungi from commercially available medicinal plant material. J. National Sci. Council of Sri Lanka 24 : 1 - 7.

Fraser, D.W. Ward, J.L., Ajello, L. and Pilkaytis, B.D. 1979. Aspergillosis and other systemic mycoses, the growing problem. JAMA 242 : 1631 - 1635.

Gam, W. Christensen, M., Onions, A.H., Pitt, J.I. and Samson, R.A. 1985. Infrageneric Taxa of *Aspergillus*. *In* Advances in *Penicillium* and *Aspergillus* Systematics. Edited by Samson, R.A. and Pitt, J.I. New York. Plenum Press. pp. 55 - 62.

Glinsukon, T. 1983. Occurrences of mycotoxins *In* Mycotoxins : Proceedings of the Regional Workshop on Mycotoxins. Government of Thailand in cooperation with UNESCO. Mahidol University, Bangkok. March 23 -26, 1983. pp. 32 - 51.

Klich, M.A. and Pitt, J.I. 1988. A Laboratory Guide to Common *Aspergillus* Species and Their Teleomorphs. New South Wales. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization. 116 pp.

Kurata, H. 1990. Mycotoxins and mycotoxicoses : overview. *In* Microbial Toxins in Foods and Feeds. Editted by Pohland, A. E., Dowell, V.R.Jr. and Richard, J.L. New York. Plenum Press. pp. 1 - 32.

Laprade, J.C. and Manwiller, A. 1977. Relation of insect damage, vector and hybrid reaction to aflatoxin B_1 recovery from field corn. Phytopath. 67 : 544 - 547.

Lee, E.G., Townsley, P.M. and Walden, C.C. 1966. Effect of bivalent metals on the production of aflatoxin in submerged cultures. J. Food Sci. 31 : 432 - 436.

Lestari, R., Mangestuti, A. and Wahjo, D. 1983. The elimination of aflatoxin contaminations in medicinal herbs *In* Mycotoxins : Proceedings of the Regional Workshop on Mycotoxins Government of Thailand in cooperation with UNESCO. Mahidol University, Bangkok. March 23 - 26, 1983. pp. 296 - 301.

Lin, M.T. and Deanese, J.C. 1976. Coconut - agar medium for rapid detection of aflatoxin production by *Aspergillus* spp. Phytopath. 66 : 1466 - 1469.

Marsh, P.B., Simpson, M.E., Ferrett, R.J., Merola, G.V., Dosono, J., Craig, G.O., Trucksess, M.W. and Work, P.S. 1969. Mechanism of formation of a fluorescence in cotton fiber associated with aflatoxins in the seeds at harvest. Agric. Food Chem. 17 : 468 - 472.

Neergaard, P. 1979. Seed Pathology. London : Macmillan Press. 839 pp.

Northolt, M.D. and Bullerman, L.B. 1982. Prevention of mold growth and toxin production through control of environmental conditions. J. Food Protect. 45 : 519 - 526.

Osipyan, L.L. and Zakaryan, A.A. 1989. Contamination of non - sterile vegetable medicinal substances by micromycetes. Biologichesskii Zhurnal Armenii 42 : 483 - 485.

Parichtikanond, P., Manonukul,J. and Chantarakul, N. 1983. Systemic fungal infection : a study of 165 autopsies. Siriraj Hosp. Gaz. 35 : 867 - 872.

Prisnar, S. 1989. Bright greenish - yellow fluorescence test for aflatoxin estimation. Mycotoxin prevention and control in foodgrains edited by Simple, R.L., Frio A.S., Hicks, P.A. and Lozare, J.V. A collaborative publication of the UNDP/FAO Regional Network Inter - Country Cooperation on Postharvest Technology and Quality Control of Foodgrains (REGNET) and the ASEAN Grain Postharvest Programme, Bangkok, Thailand. 31 July - 12 August 1989. pp. 86 - 87.

Raper, K.B. and Fennell, D.I. 1977. The Genus *Aspergillus*. Baltimore : Williams & Wilkins Company .686 pp.

Rippon, J.W. 1982. Medical Mycology. Philadelphia :W.B. Saunders Com. pp. 565 - 594.

Roy, A.K. and Chourasia, H.K. 1990a. Mycotoxin incidence in root drugs. Int. J. Crude Drug Res. 28 : 157 - 160.

Roy, A.K. and Chourasia, H.K. 1990b. Aflatoxin production on *Piper longum* fruits under different temperatures. Int. J. Crude Drug Res. 28 : 233 - 235.

Roy, A.K. and Kumari,V. 1991. Aflatoxin and citrinin in seeds of some medicinal plants under storage. International J. Pharmaco. 29 : 62 - 65.

Roy, A.K., Sinha, K.K. and Chourasia, H.K. 1988. Aflatoxin contamination of some common drug plants. Appl. and Environ.Microbiol. 54 : 842 - 843.

Saner, D.B. and Burroughs, R. 1980. Fungal growth aflatoxin production and moisture equilibration in mixtures of wet and dry corn. Phytopath. 70 : 506 - 512.

Sargeant, K., Sheridan, A., O'Kelly, J. and Carnaghan, R.B.A. 1961. Toxicity associated with certain samples of groundnuts. Nature 192 : 1096 - 1097.

Schindler, A.F., John, G.P. and Eisenberg, W.V. 1967. Aflatoxin production by *Aspergillus flavus* as relate to various temperature. Appl. Microbiol. 15 : 1006 - 1009.

Schroeder, H.W. and Hein, H.,Jr. 1967. Aflatoxins : Production of the toxins in vitro in relationship to temperature. Appl. Microbiol. 15 : 441 - 445.

Shotwell, O.L. and Hesseltine, C.W. 1981. Use of bright greenish - yellow fluorescence as a presumptive test aflatoxins in corn. Cereal Chem. 58 : 124 - 127.

Shotwell, O.L., Goulden, M.L., Jepson, A.M., Kwolex, W.F. and Hesseltine, C.W. 1975. Aflatoxin occurrence in some white corn under loan, 1971, III Association with bright greenish - yellow fluorescence in corn. Cereal Chem. 52 : 670 - 677.

Smitasiri,Y. and Khansuwan, U. 1983. Interruption of pregnancy in rats by aflatoxins B_1 *In* Mycotoxins : Proceedings of the Regional Workshop on Mycotoxins. Government of Thailand in cooperation with UNESCO . Mahidol University, Bangkok. March 23 - 26, 1983. pp. 167 - 172.

Srikumlaithong, S. and Munsakul, S. 1983. Study on aflatoxin in crude vegetable oil and its detoxification *In* Proceedings of the Workshop on Mycotoxins in Thailand. Mahidol University and Ministry of Public Health. January 13 - 14 , 1983. pp. 70 - 73.

Subhkij, A. 1989. Mycotoxins and human health risks; An Overview. Mycotoxin prevention and control in foodgrains edited by Simple, R.L., Frio A.S., Hicks, P.A. and Lozare, J.V. A collaborative publication of the UNDP/FAO Regional Network Inter - Country Cooperation on Postharvest Technology and Quality Control of Foodgrains (REGNET) and the ASEAN Grain Postharvest Programme, Bangkok, Thailand. 31 July - 12 August 1989. pp. 8 - 24.

Suttajit, M. and Pichitpaja, N. 1983. Effects of aflatoxin B_1 on erythropoiesis *In* Mycotoxins : Proceedings of the Regional Workshop on Mycotoxins. Government of Thailand in cooperation with UNESCO. Mahidol University, Bangkok. March 23 -26, 1983. pp. 303 - 310.

Tongtavuch, A. 1983. Human mycotoxicosis *In* Mycotoxins : Proceedings of the Regional Workshop on Mycotoxins. Government of Thailand in cooperation with UNESCO. Mahidol University, Bangkok. March 23 -26, 1983. pp. 64 - 95.

Traisat, H. 1989. Overview of analytical methods for mycotoxin contamination in maize and peanuts sampling, sample handling and preparation in grains and cereals in mycotoxin preventation and control in foodgrains edited by Simple, R.L., Frio, A.S., Hicks, P.A. and Lozare, J.V. A collaborative publication of the UNDP/FAO Regional Network Inter - Country Cooperation on Postharvest Technology and Quality Control of Foodgrains (REGNET) and the ASEAN Grain Postharvest Programme, Bangkok, Thailand. 31 July - 12 August 1989. pp. 59 - 82.

Wilson, D.M., Mixon, A.C. and Troeger, J.M. 1977. Aflatoxin contamination of peanuts resistant to seed invasion by *Aspergillus flavus* . Phytopath. 67 : 922 - 924.

Yeo , H.S. 1983. Mycotoxins in Malaysia *In* Mycotoxins : Proceedings of the Regional Workshop on Mycotoxins. Government of Thailand in Cooperation with UNESCO. Mahidol University, Bangkok. March 23 -26, 1983. pp. 143 - 147.

ภาคผนวก

ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์ความชื้นที่เป็นองค์ประกอบในพืชสมุนไพร

ชื่อ	% ความชื้นที่เป็นองค์ประกอบในพืชสมุนไพร				
	ร้านที่ 1	ร้านที่ 2	ร้านที่ 3	ร้านที่ 4	เฉลี่ย
1. ข้าวเย็นเหนือ	9.0	7.6	8.0	8.0	8.2
2. อบเชยเทศ	9.4	9.6	9.2	9.8	9.5
3. ข้าวเย็นใต้	8.3	7.8	8.2	8.2	8.1
4. โป๊ยกั๊ก	10.9	10.6	10.6	11.0	10.8
5. ฟ้าทะลายโจร	10.4	8.7	6.5	7.7	8.3
6. เถาวัลย์เปรียง	8.0	8.5	7.8	8.3	8.2
7. คำฝอย	10.2	10.7	12.0	9.8	10.7
8. พริกไทย	8.9	8.9	8.5	8.8	8.8
9. ขิง	8.1	9.6	8.9	8.5	8.8
10. มะขามแขก	7.2	5.6	7.2	6.3	6.6
11. จันทน์	11.4	13.4	10.0	9.5	11.1
12. สะค้าน	8.0	7.8	8.6	7.7	8.0
13. บอระเพ็ด	5.1	7.1	7.3	6.4	6.5
14. สมอไทย	9.0	9.8	7.8	9.3	9.0
15. เจตมูลเพลิง	13.4	10.1	13.2	9.7	11.6
16. กานพลู	17.3	15.6	15.8	14.4	15.8
17. ขมิ้นอ้อย	9.5	9.4	12.7	10.7	10.6
18. เทียนขาว	8.7	9.2	7.9	8.3	8.5
19. ไพล	7.8	8.0	8.0	8.0	8.0
20. ดีปลี	9.8	10.2	10.1	8.8	9.7
21. กระวานขาว	8.4	8.1	8.4	9.5	8.6
22. ฝาง	8.7	7.8	8.0	7.2	7.9

ตารางที่ 6 (ต่อ)

ชื่อ	% ความชื้นที่เป็นองค์ประกอบในพืชสมุนไพร				
	ร้านที่ 1	ร้านที่ 2	ร้านที่ 3	ร้านที่ 4	เฉลี่ย
23. ลูกผักชี	8.3	7.2	7.0	6.0	7.1
24. ขมิ้นชัน	10.6	11.6	10.4	10.8	10.8
25. หญ้าคา	6.8	10.4	10.0	10.8	10.8
26. ทองพันชั่ง	8.4	8.0	7.1	7.3	7.7
27. จันทน์แดง	7.0	7.1	6.6	6.4	6.8
28. ช้าพลู	8.4	9.1	8.4	9.2	8.8
29. เปราะ	8.7	8.0	7.6	7.8	8.0
30. ว่านน้ำ	10.1	10.8	10.1	11.0	10.5
31. มะตูม	9.8	9.6	9.4	9.6	9.6
32. ขี้เหล็ก	8.7	8.4	8.0	8.9	8.5
33. แสมสาร	8.5	8.4	8.4	7.8	8.3
34. ชะเอมเทศ	7.3	6.6	7.1	8.4	7.4
35. พยับเมฆ	5.3	7.3	7.3	6.2	6.5
36. มะกา	7.6	6.6	7.1	6.4	6.9
37. เทียนข้าวเปลือก	8.5	8.9	7.6	8.2	8.3
38. แห้วหมู	8.4	9.5	9.0	8.6	8.9
39. จันทน์ขาว	7.4	8.0	8.2	8.2	8.0
40. แสมทะเล	10.2	8.8	8.6	11.6	9.8
41. บุนนาค	8.2	7.7	7.8	6.8	7.6
42. พิกุล	9.2	9.0	8.8	9.4	9.1
43. สารภี	7.2	7.8	7.4	6.4	7.2
44. ระย่อม	7.6	8.2	8.2	7.8	8.0
45. อบเชยญวน	10.2	10.0	9.5	9.6	9.8

ตารางที่ 6 (ต่อ)

ชื่อ	% ความชื้นที่เป็นองค์ประกอบในพืชสมุนไพร				
	ร้านที่ 1	ร้านที่ 2	ร้านที่ 3	ร้านที่ 4	เฉลี่ย
46. เกสรบัวหลวง	5.6	8.4	8.0	7.2	7.3
47. มะขามป้อม	6.8	6.3	6.4	6.6	6.5
48. กระชาย	8.3	8.4	8.0	8.0	8.2
49. ชะลูด	6.7	7.4	6.8	7.2	7.0
50. เทียนดำ	4.2	4.3	4.4	4.4	4.3

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Czapek's solution agar (CA)

$NaNO_3$	3.0	กรัม
K_2HPO_4	1.0	กรัม
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.5	กรัม
KCl	0.5	กรัม
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0.01	กรัม
Sucrose	30.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Distilled water	1,000.0	มิลลิลิตร

2. Malt extract agar (Blakeslee's formula, 1915) (MEA)

Malt extract	20.0	กรัม
Peptone	1.0	กรัม
Dextrose	20.0	กรัม
Agar	20.0	กรัม
Distilled water	1,000.0	มิลลิลิตร

3. Water agar 0.3 % (WA)

Agar	0.3	กรัม
Distilled water	100.0	มิลลิลิตร

4. Coconut milk agar

Coconut : Distilled water	1 : 3	(w/w) (ปั่น 1-2 นาที แล้วบีบเอาเฉพาะน้ำ)
Agar		1.0 %

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นางสาวอัจฉรา พัฒนเดช

วัน เดือน ปีเกิด 27 มิถุนายน 2519

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เกษตรศาสตร์)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2541