



ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยในตัวทำละลายต่างๆ ต่อการต้านเชื้อรา
บนไม้ยางพารา (*Hevea brasiliensis*)

The Effectiveness of Essential Oils in Various Solvents to Antifungal on
Rubberwood (*Hevea brasiliensis*)

มนชนก ตันติปาตีพันธ์

Monchanok Tuntipaleepun

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Master of Engineering in Chemical Engineering
Prince of Songkla University

2555

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยในตัวทำละลายต่างๆ ต่อการต้านเชื้อราบน
ไม้ยางพารา (*Hevea brasiliensis*)
ผู้เขียน นางสาวมนชนก ตันติปาณีพันธ์
สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กุลชนาฐ ประเสริฐสิทธิ์) (รองศาสตราจารย์ ดร.กัลยา ศรีสุวรรณ)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กุลชนาฐ ประเสริฐสิทธิ์)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ลือพงศ์ แก้วศรีจันทร์)

.....กรรมการ
(ดร.สินินาฏ จงคง)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วน
หนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี

.....
(ศาสตราจารย์ ดร.อมรรัตน์ พงศ์ดารา)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์	ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยในตัวทำละลายต่างๆ ต่อการต้านเชื้อราบนไม้ยางพารา (<i>Hevea brasiliensis</i>)
ผู้เขียน	นางสาวมนชนก ตันติปาณีพันธ์
สาขาวิชา	วิศวกรรมเคมี
ปีการศึกษา	2554

บทคัดย่อ

ไม้ยางพาราเป็นไม้เศรษฐกิจของไทยที่แปรรูปและส่งออกนํารายได้สู่ประเทศ แต่เนื่องจากไม้ดังกล่าวมีปริมาณเซลลูโลส แป้ง และความชื้นที่สูง ทำให้ถูกทำลายด้วยเชื้อราได้ง่าย งานวิจัยนี้จึงศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหย 3 ชนิด คือ น้ำมันโป๊ยกั๊ก น้ำมันอบเชย และน้ำมันกานพลู ซึ่งมีรายงานถึงการยับยั้งเชื้อราและแมลงต่างๆ เพื่อยับยั้งเชื้อราที่เกิดบนผิวไม้ยางพารา นอกจากนี้ ยังศึกษาผลของตัวทำละลายเมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ น้ำมันปาล์ม และสารละลาย PFAD ในการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราอีกด้วย

สำหรับผลของการทดลองในงานเพาะเชื้อพบว่า น้ำมันโป๊ยกั๊กในตัวทำละลายเมทิลแอลกอฮอล์มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเชื้อราผิวไม้ทั้ง *Penicillium sp.* และ *Aspergillus niger* โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อรา (MIC) เท่ากับ 50 และ 70 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ตามลำดับ แต่เมื่อนำเชื้อราดังกล่าวมาผสมกันพบว่าต้องใช้ความเข้มข้นที่สูงขึ้นในการยับยั้งเชื้อราผสมคือ 70 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร นอกจากนี้ ผลการผสมน้ำมันหอมระเหยที่อัตราส่วน 4:1:1 โดยปริมาตร ในเมทิลแอลกอฮอล์ สามารถจะยับยั้งเชื้อราแต่ละชนิดหรือเชื้อราผสมได้ แต่ปริมาณเชื้อราที่เจริญจะแตกต่างกันตามชนิดของเชื้อที่ทดสอบ

เมื่อนำไม้ยางพาราอบแห้งทำการจุ่มด้วยน้ำมันโป๊ยกั๊กที่ความเข้มข้น 60 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร พบว่า ไม้ยางพาราอบแห้งที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100 สามารถยับยั้งเชื้อรา *Penicillium sp.* ได้ 8 สัปดาห์ แต่ที่สภาวะปกติสามารถยับยั้งเชื้อราได้ถึง 11 สัปดาห์ อย่างไรก็ตาม เมื่อทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus niger* ต้องใช้ความเข้มข้นของน้ำมันโป๊ยกั๊กที่สูงถึง 70 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร จึงจะสามารถยับยั้งเชื้อราได้ 8 สัปดาห์ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100 และยับยั้งได้ 12 สัปดาห์ที่สภาวะปกติ ส่วนการป้องกันเชื้อราบนไม้ยางพาราทาสีนั้น พบว่า ใช้ความเข้มข้นที่ต่ำกว่าไม้ยางพาราอบแห้งมาก ทั้งนี้ เนื่องจากชนิดของเชื้อราที่ทดสอบ ผลขององค์ประกอบในสีบางชนิดสามารถที่จะยับยั้งเชื้อรา และพื้นผิวของไม้ยางพาราแต่ละชนิด

Thesis Title	The Effectiveness of Essential Oils in Various Solvents to Antifungal on Rubberwood (<i>Hevea brasiliensis</i>)
Author	Miss Monchanok Tuntipaleepun
Major Program	Chemical Engineering
Academic Year	2011

ABSTRACT

Rubberwood is the economical lumber which added revenue to the country. Due to the amount of cellulose and high humidity can cause damaged by molds. This research studied the effects of essential oils- anise oil, cinnamon oil and clove oil, which has been reported to inhibit molds and insects on the wood surface. In addition, methyl alcohol, ethyl alcohol, palm oil and palm fatty acid distillate (PFAD) solution were also investigated to enhance the mold as well.

For the experimental in petri-dishes, anise oil in methyl alcohol is the most effective in inhibiting surfaced-mold *Penicillium sp.* and *Aspergillus niger*. The minimal inhibitory concentrations (MICs) were 50 $\mu\text{l/ml}$ and 70 $\mu\text{l/ml}$, respectively. The higher concentration of anise oil was required to against of mixed-mold. However, the mixing essential oil at the ratio 4:1:1 (%v) in methyl alcohol has the ability to resist each mold or mixed-mold, but the growth rate was differed by the type of fungi.

The dried-rubberwood dipped with anise oil 60 $\mu\text{l/ml}$ at 100 %RH was inhibiting *Penicillium sp.* for 8 weeks and up to 11 weeks at ambient condition. The tests against *Aspergillus niger* were required higher concentration of anise oil at 80 $\mu\text{l/ml}$ to stored for 8 weeks at 100 %RH and more than 12 week at ambient condition. The durability of colored- rubberwood was much higher than dried-rubberwood. The lower concentration was needed to prevent molds, may be because of the species of molds tested, the ability to against molds of some component in paint and different surface of each rubberwood.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดีโดยความกรุณาจากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กุลชนาฐ ประเสริฐสิทธิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ให้คำปรึกษา ชี้แนะแนวทางในการแก้ปัญหา ตลอดจนตรวจแก้วิทยานิพนธ์ ผู้วิจัยใคร่ขอขอบพระคุณมา ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.กัลยา ศรีสุวรรณ ดร.สินินาฏ จงคง และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ลือพงศ์ แก้วศรีจันทร์ คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาสละเวลาในการสอบ เสนอแนะ และแก้ไขข้อบกพร่อง ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์ถูกต้องยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ บริษัท แพลน ครีเอชันส์ จำกัด อำเภอฮาดายาว จังหวัดตรัง ที่ให้ความอนุเคราะห์ไม่ยั้งพาราตัวอย่าง ภาควิชาจุลชีววิทยาสำหรับสายพันธุ์เชื้อรา และภาควิชาวิศวกรรมโยธาสำหรับสถานที่ในการทดลอง

ขอขอบพระคุณ บัณฑิตวิทยาลัย และ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ได้จัดสรรทุนอุดหนุนสนับสนุนการทำวิจัยและทุนสนับสนุนการศึกษา และขอขอบพระคุณบุคลากรในภาควิชาวิศวกรรมเคมีทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลืออำนวยความสะดวกในการทำวิจัยด้วยดี

ท้ายสุด ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และพี่ชายด้วยความเคารพรัก ที่ให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจในการศึกษามาโดยตลอด และขอขอบพระคุณ พี่ๆ เพื่อนๆ น้องๆ นักศึกษาปริญญาเอก ปริญญาโท และปริญญาตรี ภาควิชาวิศวกรรมเคมีทุกคนสำหรับกำลังใจและความช่วยเหลือต่างๆ ตลอดจนทุกท่านที่มีได้กล่าวนามมา ณ ที่นี้ ที่มีส่วนช่วยให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ขึ้นได้

มนชนก ตันติปาตีพันธ์

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
ABSTRACT	(4)
กิตติกรรมประกาศ	(5)
สารบัญ	(6)
รายการตาราง	(9)
รายการภาพประกอบ	(11)
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 บทนำต้นเรื่อง	1
1.2 วัตถุประสงค์	3
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
1.4 ขอบเขตงานวิจัย	4
บทที่ 2 ทฤษฎีและผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 ดินยางพารา	5
2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์	5
2.1.2 องค์ประกอบของไม้ยางพารา	9
2.1.3 มาตรฐานของไม้ยางพารา	9
2.2 ศัตรูทำลายไม้	10
2.2.1 แมลง	10
2.2.2 เพรียง	11
2.2.3 เชื้อรา	11
2.2.3.1 ประเภทของเชื้อราทำลายไม้	11
2.2.3.2 ปัจจัยในการเจริญเติบโตของเชื้อรา	13

เรื่อง	หน้า
2.3 น้ำมันหอมระเหย	15
2.3.1 ความสำคัญของน้ำมันหอมระเหย	15
2.3.2 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย	16
2.3.3 น้ำมันหอมระเหยกับการป้องกันศัตรูทำลายไม้	17
2.3.4 มาตรฐานไทยที่เกี่ยวข้องกับน้ำมันหอมระเหย	20
2.4 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อรา	21
2.4.1 การเลือกรูปแบบวิธีการทดสอบ	21
2.4.2 วิธีการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อราในห้องปฏิบัติการ	22
2.5 การรักษาไม้	23
2.5.1 น้ำยารักษาไม้	24
2.5.2 การอัดน้ำยาและอบน้ำยาไม้	25
2.6 ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	27
บทที่ 3 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการวิจัย	31
3.1 วัสดุ	31
3.2 อุปกรณ์	33
3.3 วิธีดำเนินการวิจัย	34
กิจกรรมที่ 1 การทดสอบการยับยั้งเชื้อราในงานเพาะเชื้อ	34
กิจกรรมที่ 2 การทดสอบการยับยั้งเชื้อราบนไม้ยางพาราตัวอย่าง	37
กิจกรรมที่ 3 การประยุกต์ใช้น้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งเชื้อรา	39
จากของเล่นไม้	
กิจกรรมที่ 4 วิเคราะห์และสรุปผลการทดลอง	39
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	41
กิจกรรมที่ 4.1 การทดสอบการยับยั้งเชื้อราในงานเพาะเชื้อ	41
กิจกรรมที่ 4.2 การทดสอบการยับยั้งเชื้อราบนไม้ยางพาราตัวอย่าง	52
4.2.1 การทดสอบการยับยั้งเชื้อราบนไม้ยางพาราอบแห้ง	52
4.2.2 การทดสอบการยับยั้งเชื้อราบนไม้ยางพาราทาสี	64
กิจกรรมที่ 4.3 การประยุกต์ใช้น้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งเชื้อรา	77
จากของเล่นไม้	

เรื่อง	หน้า
กิจกรรมที่ 4.4 ประเมินผลทางเศรษฐศาสตร์	78
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	80
5.1 สรุปผลการทดลอง	80
5.2 ข้อเสนอแนะ	81
บรรณานุกรม	82
ภาคผนวก	88
ภาคผนวก ก วิธีการวิเคราะห์	88
ภาคผนวก ข ผลการวิเคราะห์	96
ประวัติผู้เขียน	113

รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 พื้นที่ปลูกต้นยางพาราของประเทศไทยแบ่งตามภูมิภาค (หน่วย: ไร่)	7
2.2 องค์ประกอบทางเคมีของไม้ยางพารา	9
2.3 องค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยที่มีผลต่อการยับยั้งศัตรูทำลายไม้	17
4.1 วัตถุประสงค์และต้นทุนของน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิด	78
ข.1 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Penicillium sp.</i> บนจานเพาะเชื้อที่ป้องกันด้วยน้ำมันหอมระเหยที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน	100
ข.2 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Aspergillus niger</i> บนจานเพาะเชื้อที่ป้องกันด้วยน้ำมันหอมระเหยที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน	101
ข.3 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Penicillium sp</i> ผสมกับ <i>Aspergillus niger</i> อัตราส่วน 1:1 บนจานเพาะเชื้อที่ป้องกันด้วยน้ำมันหอมระเหยที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน	102
ข.4 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Penicillium sp.</i> บนจานเพาะเชื้อที่ป้องกันด้วยน้ำมันหอมระเหยผสม ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน	102
ข.5 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Aspergillus niger</i> บนจานเพาะเชื้อที่ป้องกันด้วยน้ำมันหอมระเหยผสม ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน	103
ข.6 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Penicillium sp</i> ผสมกับ <i>Aspergillus niger</i> อัตราส่วน 1:1 บนจานเพาะเชื้อที่ป้องกันด้วยน้ำมันหอมระเหยผสม ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน	103

ตารางที่	หน้า
ข.7 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Penicillium sp</i> บนไม้พาราอบแห้ง ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100	104
ข.8 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Penicillium sp</i> บนไม้พาราอบแห้ง ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์ สภาวะปกติ	105
ข.9 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Aspergillus niger</i> บนไม้พาราอบแห้ง ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100	106
ข.10 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Aspergillus niger</i> บนไม้พาราอบแห้ง ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์ สภาวะปกติ	107
ข.11 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Penicillium sp.</i> บนไม้พาราทาสี ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100	108
ข.12 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Penicillium sp.</i> บนไม้พาราทาสี ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์ สภาวะปกติ	109
ข.13 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Aspergillus niger</i> บนไม้พาราทาสี ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100	110
ข.14 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Aspergillus niger</i> บนไม้พาราทาสี ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์ สภาวะปกติ	111
ข.15 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อราบนของเล่นไม้บนจานเพาะเชื้อที่ป้องกันด้วยน้ำมันหอมระเหยที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน	112

รายการภาพประกอบ

ภาพประกอบที่	หน้า
2.1 ลักษณะลำต้น ใบ ดอก และเมล็ด ของต้นยางพารา	6
2.2 ลักษณะของปลวกสร้างจอมปลวก <i>Globitermes sulphureus</i> และปลวกทำรังใต้ผิวดิน <i>Coptotermes gestroi</i>	10
2.3 ลักษณะเพรียงทะเล <i>Lepas anatifera</i> (Goose Barnacles) และแมลงชีปะขาว	11
2.4 ลักษณะของราฟิวไม <i>Aspergillus niger</i> และ <i>Penicillium sp</i>	13
2.5 โครงสร้างของสารในกลุ่มเทอร์ปีน ซิทรัล และเบต้า-ไบซาโบลีน	16
2.6 โครงสร้างของสารในกลุ่มฟีนิล โพรพานอยด์ ซาฟรอล และคูมาริก แอซิด	16
2.7 ตำแหน่งและกลไกของเซลล์แบคทีเรียที่เสียดสภาพด้วยฤทธิ์ของ องค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหย	19
3.1 ลักษณะของไม้ยางพาราตัวอย่าง	31
3.2 ลักษณะของน้ำมันโป๊ยกั๊ก น้ำมันอบเชย และน้ำมันกานพลู	31
3.3 ลักษณะของเชื้อรา <i>Penicillium sp.</i> และ <i>Aspergillus niger</i>	32
3.4 ลักษณะของ PFAD ก่อนและหลังการละลายด้วยเอทิลแอลกอฮอล์	32
3.5 ลักษณะของสารละลายสปอร์เชื้อรา <i>Penicillium sp.</i> และ <i>Aspergillus niger</i> หลังจากเจือจางและปรับความเข้มข้น	34
3.6 ลักษณะของเชื้อราที่เกิดขึ้นบนผิวของของเล่นไม้	35
3.7 ลักษณะของน้ำมันอบเชย 30 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ น้ำมันปาล์ม หรือสารละลาย PFAD	35
3.8 ลักษณะของน้ำมันที่อัตราส่วน 2: 2: 2 ปรับปริมาตรด้วยเมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ น้ำมันปาล์ม หรือสารละลาย PFAD	37
3.9 ขนาดของไม้ยางพาราตัวอย่าง	38
3.10 ลักษณะของชุดทดสอบไม้ยางพาราตามมาตรฐาน ASTM D-4445	38

ภาพประกอบที่	หน้า
4.1 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Penicillium sp.</i> ในงานเพาะเชื้อ ปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายต่างๆ ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน	42
4.2 ไซท์ที่เกิดจากน้ำมันปาล์ม และสารละลาย PFAD ในตัวควบคุม	43
4.3 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Aspergillus niger</i> ในงานเพาะเชื้อ ปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายต่างๆ ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน	45
4.4 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อราผสมในงานเพาะเชื้อปรับปริมาตรด้วย เมทิลแอลกอฮอล์ ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน	47
4.5 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Penicillium sp.</i> ในงานเพาะเชื้อ ปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายต่างๆ ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน	48
4.6 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Aspergillus niger</i> ในงานเพาะเชื้อ ปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายต่างๆ ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน	49
4.7 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อราผสมในงานเพาะเชื้อที่อัตราส่วนต่างๆ ปรับปริมาตรด้วยเมทิลแอลกอฮอล์ ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน	50
4.8 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Penicillium sp.</i> บนไม้ยางพาราอบแห้ง ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100 และสภาวะปกติ	53
4.9 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Penicillium sp.</i> บนไม้ยางพาราอบแห้ง ควบคุม ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100	55
4.10 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Penicillium sp.</i> บนไม้ยางพาราอบแห้ง จุ่มด้วยน้ำมันโป๊ยกั๊ก 60 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศ ร้อยละ 100	55
4.11 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Penicillium sp.</i> บนไม้ยางพาราอบแห้ง ควบคุม ที่สภาวะปกติ	57

ภาพประกอบที่	หน้า
4.12 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Penicillium sp.</i> บนไม้ยางพาราอบแห้ง ที่ผ่านการจุ่มด้วยน้ำมัน โป๊ยกั๊ก 60 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ที่สภาวะปกติ	57
4.13 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Aspergillus niger</i> บนไม้ยางพาราอบแห้ง ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100 และสภาวะปกติ	59
4.14 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Aspergillus niger</i> บนไม้ยางพาราอบแห้งควบคุม ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100	61
4.15 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Aspergillus niger</i> บนไม้ยางพาราอบแห้งที่ผ่านการจุ่มด้วยน้ำมัน โป๊ยกั๊ก 80 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100	61
4.16 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Aspergillus niger</i> บนไม้ยางพาราอบแห้งควบคุม ที่สภาวะปกติ	63
4.17 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Aspergillus niger</i> บนไม้ยางพาราอบแห้งที่ผ่านการจุ่มด้วยน้ำมัน โป๊ยกั๊ก 80 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ที่สภาวะปกติ	63
4.18 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Penicillium sp.</i> บนไม้ยางพาราทาสี ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100 และสภาวะปกติ	65
4.19 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Penicillium sp.</i> บนไม้ยางพาราทาสีควบคุม ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100	67
4.20 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Penicillium sp.</i> บนไม้ยางพาราทาสีที่ผ่านการจุ่มด้วยน้ำมัน โป๊ยกั๊ก 45 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100	67
4.21 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Penicillium sp.</i> บนไม้ยางพาราทาสีควบคุม ที่สภาวะปกติ	69
4.22 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Penicillium sp.</i> บนไม้ยางพาราทาสีที่ผ่านการจุ่มด้วยน้ำมัน โป๊ยกั๊ก 45 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ที่สภาวะปกติ	69
4.23 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Aspergillus niger</i> บนไม้ยางพาราทาสี ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100 และสภาวะปกติ	71

ภาพประกอบที่	หน้า
4.24 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Aspergillus niger</i> บนไม้อย่างพาราทาสี ควบคุม ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100	73
4.25 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Aspergillus niger</i> บนไม้อย่างพาราทาสี ที่ผ่านการจุ่มด้วยน้ำมัน โป๊ยกั๊ก 70 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ความชื้นสัมพัทธ์ อากาศร้อยละ 100	73
4.26 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Aspergillus niger</i> บนไม้อย่างพาราทาสี ควบคุม ที่สภาวะปกติ	75
4.27 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Aspergillus niger</i> บนไม้อย่างพาราทาสี ที่ผ่านการจุ่มด้วยน้ำมัน โป๊ยกั๊ก 65 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ที่สภาวะปกติ	75
4.28 ลักษณะพื้นผิวของ ไม้อย่างพาราอบแห้งและไม้อย่างพาราทาสีจากกล้อง จุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) ที่กำลังขยาย 500 เท่า	76
4.29 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อราบนผิวของเลนไม้ ในงานเพาะเชื้อ ปรับปริมาตรด้วยเมทิลแอลกอฮอล์ ที่อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน	77
ก.1 ตำแหน่งของสเกลบนอุปกรณ์ตรวจนับสปอร์และบริเวณในการตรวจนับ	90
ข.1 กราฟแผนภูมิความชื้นสัมพัทธ์สำหรับช่วงอุณหภูมิ 10-120 องศาเซลเซียส และความดัน 1 atm	99

บทที่ 1

บทนำ

1.1 บทนำต้นเรื่อง

ไม้ยางพารา (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) เป็นไม้เศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย หลังจากต้นยางพาราอายุประมาณ 25-30 ปี ประสิทธิภาพการให้น้ำยางของต้นยางพาราจะลดลง ชาวสวนจะตัดต้นยางพาราเพื่อปลูกใหม่ทดแทน ส่วนไม้ยางพาราที่ตัดแล้วนั้นจะถูกส่งขายเพื่อแปรรูปต่อไป จากข้อมูลของศูนย์สารสนเทศการเกษตรพบว่า พื้นที่เพาะปลูกต้นยางพาราส่วนใหญ่อยู่บริเวณภาคใต้และภาคอีสาน โดยเฉพาะพื้นที่เพาะปลูกต้นยางพาราในภาคใต้มีประมาณ 11 ล้านไร่ คิดเป็นร้อยละ 85.3 ของพื้นที่ปลูกต้นยางพาราทั้งหมดของประเทศ และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกปี (ศูนย์สารสนเทศการเกษตร, 2552) เนื่องจากการปลูกต้นยางพาราเป็นจำนวนมากและไม้ดังกล่าวมีคุณลักษณะใกล้เคียงกับไม้สักหลายประการ เมื่อนำมาแปรรูปแล้วจะได้ไม้ที่มีลวดลายสวยงาม ย้อมสีได้ง่าย น้ำหนักเบา การหดตัวน้อย สามารถตกแต่งผิวได้ง่ายกว่าไม้ชนิดอื่นและมีราคาถูก (Ratnasingam *et al.*, 2010) จึงส่งผลให้เกิดการพัฒนาไม้ยางพาราเป็นไม้ยางพาราแปรรูปเพื่อใช้ในงานก่อสร้างหรืองานตกแต่งที่อยู่อาศัยอย่างแพร่หลายขึ้น โดยมีการนำไม้ยางพารามาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ไม้ยางพาราต่างๆ เช่น แก้ว ไม้ โต๊ะ ตู้ ภาชนะบรรจุ เป็นต้น อุตสาหกรรมแปรรูปไม้ยางพาราเป็นอุตสาหกรรมที่กำลังขยายตัวอย่างรวดเร็ว มีผลิตภัณฑ์ส่งออกทั้งในและต่างประเทศ จึงจำเป็นต้องมีการพัฒนาปรับปรุงคุณภาพเพื่อให้ตรงตามความต้องการของผู้บริโภค แต่เนื่องจากไม้ชนิดนี้มีความชื้นและปริมาณเซลลูโลส (แป้ง) สูง จึงทำให้เกิดปัญหาการทำลายไม้จากเชื้อรา การกัดกินของแมลง เช่น ปลวก มอด และด้วง ซึ่งเป็นปัญหาหลักของผู้ประกอบการอุตสาหกรรมประเภทนี้ส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อเศรษฐกิจได้

ปัจจุบันมีการนำสารเคมีหลายชนิดมาใช้ในการยืดอายุการใช้งาน กำจัดและป้องกันเชื้อราและแมลง ขึ้นกับลักษณะและคุณภาพของงานไม้แต่ละชนิด ที่นิยมใช้ได้แก่ สารประกอบโบรอน (Boron Complex) ครีโอโซต (Creosote) เพนตะคลอโรฟีนอล (Pentachlorophenol) และสารประกอบอะเซนิก (Arsenic Complex) เพราะมีราคาถูก ประสิทธิภาพสูง โดยเน้นการสร้างความเป็นพิษต่อศัตรูทำลายไม้โดยตรง (Sukkaew *et al.*, 2007) แต่สารเคมีเหล่านี้มีข้อจำกัดกับงานไม้บางประเภทที่เกี่ยวข้องกับสุขอนามัย เช่น ภาชนะบรรจุอาหาร ของเล่น

ไม้สำหรับเด็ก เป็นต้น การสัมผัสหรือรับประทานอาจมีการสะสมภายในร่างกาย ซึ่งอาจจะออกฤทธิ์เฉียบพลันหรือเรื้อรังต่อผู้บริโภคเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคมะเร็งได้ (Soliman *et al.*, 2002) องค์การทางด้านความปลอดภัยของอเมริกา The US Environmental Protection Agency (EPA) จึงประกาศให้อุตสาหกรรมไม้แปรรูปหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีในการรักษาไม้ (Yildiz *et al.*, 2004) ดังนั้น การนำสารจากธรรมชาติที่ไม่เป็นพิษ ปลอดภัยต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อมมาประยุกต์ใช้เป็นสารป้องกันเพื่อทดแทนสารเคมีดังกล่าวจึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่ควรพิจารณา

น้ำมันหอมระเหยเป็นสารอินทรีย์ที่พืชสร้างขึ้น มีกลิ่นหอมเนื่องจากระเหยง่าย โดยพืชจะมีเซลล์พิเศษ ต่อม หรือท่อ สร้างและเก็บน้ำมันหอมระเหย โดยสรรพคุณของน้ำมันหอมระเหยจะเด่นชัดและเป็นที่รู้จักในเรื่องของการบำบัดและผ่อนคลายความตึงเครียด กลิ่นหอมสามารถช่วยป้องกันและบรรเทาอาการเจ็บปวดได้ นอกจากนี้ จากรายงานการวิจัยพบว่า น้ำมันหอมระเหยจากพืชบางชนิดยังมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อราและแบคทีเรีย วิระพงษ์ และคณะ (2551) ใช้ น้ำมันอบเชย น้ำมันกานพลู น้ำมันยี่ห่วย น้ำมันส้ม น้ำมันขมิ้น และน้ำมันมะนาว ในการยับยั้งเชื้อรา *Botrytis cinerea* ของผลองุ่น Yang และคณะ (2007) ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหย 7 ชนิด ในการยับยั้งเชื้อราผิวไม้สนสีเหลืองทางใต้ ต่อมาในปี ค.ศ. 2009 Baimark และ Niamsa ทดสอบการยับยั้งเชื้อราบนยางแผ่นด้วยน้ำส้มควันไม้ที่ผลิตจากเปลือกมะพร้าว ใฝ่และใฝ่ยูคาลิปตัส นอกจากนี้ Al-Ja'fari และคณะ (2011) ยังทำการศึกษาลึกล่องค์ประกอบและฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราจากเหง้าและรากของ *Ferula hermonis* อีกด้วย น้ำมันหอมระเหยจึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่สามารถใช้เป็นสารป้องกันการทำลายจากเชื้อราได้

จากรายงานการวิจัยพบว่า ตัวทำละลายที่สามารถใช้ละลายน้ำมันหอมระเหยได้ มีหลายชนิด ซึ่งตัวทำละลายที่ดีจะต้องมีคุณสมบัติเฉื่อย ไม่ทำปฏิกิริยากับสารใดๆ สามารถกำจัดออกไปได้ง่าย และราคาถูก เช่น เมทิลแอลกอฮอล์ (Methyl Alcohol) เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl Alcohol) เป็นต้น โดยเมทิลแอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลายที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมไม้ เช่น อุตสาหกรรมสีทาไม้ น้ำยาเคลือบเงา เป็นต้น นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาการยับยั้งเชื้อรา ราหู และปลวก โดยใช้เมทิลแอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลายอีกด้วย (Matan and Matan, 2008) ส่วนของน้ำมันปาล์มซึ่งสกัดได้จากปาล์มน้ำมันที่เพาะปลูกได้ภายในประเทศ ทำให้มีราคาถูกกว่าน้ำมันชนิดอื่น Ekwenye and Ijeomah, (2005) ได้ทำการทดสอบการยับยั้งเชื้อราโดยใช้ น้ำมันปาล์มและน้ำมันสกัดจากเมล็ดปาล์ม ซึ่งน้ำมันที่ผ่านกระบวนการ โอลีโอเคมิคัล (Oleochemical) แล้วสามารถนำมาเป็นสารตัวเติมและสารฆ่าเชื้อได้ (Ong *et al.*, 1990)

เห็นได้ว่าน้ำมันหอมระเหยนั้นสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายด้าน นอกจากใช้บำบัดและผ่อนคลายความตึงเครียดแล้ว ยังสามารถที่จะนำไปประยุกต์เป็นสารป้องกัน

และยับยั้งศัตรูทำลายไม้ได้ ด้วยคุณสมบัติต่างๆ เหล่านี้ น้ำมันหอมระเหยจึงเหมาะที่จะนำไปพัฒนาใช้ในอุตสาหกรรมไม้ยางพาราเพื่อสุขอนามัยที่ดีของผู้บริโภคและเพื่อลดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมจากการใช้สารเคมี อีกทั้งเป็นการสนับสนุนการใช้วัสดุจากธรรมชาติให้เกิดประโยชน์สูงสุด ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยในตัวทำลายที่แตกต่างกัน ด้วยวิธีการจุ่ม (Dipping Treatment) ซึ่งเป็นวิธีการที่มีต้นทุนต่ำ สะดวกและใช้เวลาน้อย โดยจะพิจารณาจากค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ไม่เห็นการเจริญเติบโตของเชื้อรา (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) และอัตราส่วนที่เหมาะสม จากนั้นเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากพื้นที่การเจริญเติบโตของเชื้อราเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ได้อย่างเหมาะสมได้

1.2 วัตถุประสงค์

1. ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยและอัตราส่วนผสมของน้ำมัน โป๊ยกั๊ก น้ำมันอบเชย และน้ำมันกานพลู ในตัวทำลายเมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ น้ำมันปาล์ม หรือ Palm Fatty Acid Distillate (PFAD) ละลายด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ ต่อการยับยั้งเชื้อราผิวไม้
2. เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราผิวไม้บนไม้ยางพาราตัวอย่างในแต่ละสภาวะด้วยวิธีการจุ่ม และประเมินผลทางเศรษฐศาสตร์

1.3 ประโยชน์ที่ได้รับ

1. เป็นทางเลือกหนึ่งสำหรับสารป้องกันเชื้อราที่ได้จากธรรมชาติที่ไม่เป็นพิษต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม
2. เพิ่มมูลค่าให้กับไม้ยางพาราหลังจากผ่านการป้องกันด้วยน้ำมันหอมระเหยแล้ว
3. เป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาสารป้องกันเชื้อราจากธรรมชาติเพื่อประยุกต์ใช้ทางด้านอุตสาหกรรมไม้ยางพาราต่อไป

1.4 ขอบเขตการศึกษา

งานวิจัยนี้ศึกษาถึงประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยและอัตราส่วนผสมในตัวทำละลายต่างชนิดเพื่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราผิวไม้ยางพารา ซึ่งมีขอบเขตการวิจัยดังนี้

1. ศึกษาการป้องกันเชื้อราผิวไม้ด้วยน้ำมันโป๊ยกั๊ก น้ำมันอบเชย และน้ำมันกานพลู ในตัวทำละลายเมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ น้ำมันปาล์ม หรือสารละลาย PFAD
2. ศึกษาการป้องกันเชื้อราผิวไม้ด้วยอัตราส่วนผสมของน้ำมัน โป๊ยกั๊กต่อ น้ำมันอบเชยต่อน้ำมันกานพลู ที่อัตราส่วน 1:1:1 4:1:1 1:4:1 และ 1:1:4 โดยปริมาตร ในตัวทำละลายเมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ น้ำมันปาล์ม หรือ PFAD ละลายด้วยเอทิลแอลกอฮอล์
3. เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราผิวไม้บนไม้ยางพาราตัวอย่าง โดยพิจารณาจากปริมาณเชื้อราที่เกิดขึ้นในช่วงจำกัดของเวลา และประเมินผลทางเศรษฐศาสตร์ เพื่อนำไปใช้งานได้อย่างเหมาะสม

บทที่ 2

ทฤษฎีและผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ทฤษฎี

2.1 ต้นยางพารา

ต้นยางพารา (Para Rubber Wood หรือนิยมเรียก Rubberwood หรือ Parawood) บางครั้งเรียกอย่างย่อว่า ต้นยาง มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Hevea brasiliensis* Muell. Arg. มีถิ่นกำเนิดอยู่บริเวณลุ่มแม่น้ำแอมะซอน ประเทศบราซิล และประเทศเปรู ทวีปอเมริกาใต้ โดยชาวพื้นเมืองเรียกว่า คาอูทชุก (Caoutchouc) สำหรับการปลูกต้นยางพาราในประเทศไทยได้มีการปลูกครั้งแรกที่อำเภอกันตัง จังหวัดตรัง ในปี พ.ศ. 2425 โดยพระยารัษฎานุประดิษฐ์มหิศรภักดี (คอซิมบี๊ ณ ระนอง) และได้มีการขยายเมล็ดกล้าต้นยางพารานำไปปลูกในภูมิภาคต่างๆ ของประเทศไทย จนกระทั่งท่านพระยารัษฎานุประดิษฐ์มหิศรภักดีได้รับการยกย่องเป็น "บิดาแห่งยาง" (องค์การสวนยาง, 2555)

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

- ลำต้น ต้นยางพาราเป็นไม้ผลัดใบขนาดใหญ่ เปลือกนอกมีสีค่อนข้างคล้ำ แสดงในภาพประกอบที่ 2.1 (ก) ใต้เปลือกมีสีชมพูถึงสีแดงหรือสีม่วงอ่อน ความหนาของเปลือกประมาณ 6.5-15.0 มิลลิเมตร สีของเนื้อไม้เป็นสีขาว โดยส่วนแก่นและกระพี้แยกกันไม่เด่นชัด ลักษณะของเนื้อไม้หยาบปานกลาง เนื้อไม้มีเส้นตรง วงเจริญเติบโตไม่ปรากฏเด่นชัดทางด้านหน้าตัด ซึ่งขั้นตอนการกรีดยางนั้นจะเริ่มเมื่อต้นยางพารามีอายุได้ประมาณ 5-6 ปี (นันทชัย, 2540)
- ใบ เป็นใบประกอบ โดยทั่วไป 1 ก้านจะมีใบย่อย 3 ใบ ดังภาพประกอบที่ 2.1 (ข) แต่บางพันธุ์อาจจะมีถึง 4-5 ใบ ลักษณะใบจะเป็นสีเขียวมันเงาหรือจางมากน้อยขึ้นกับสายพันธุ์ ใบยาวประมาณ 10-20 เซนติเมตร ปกติต้นยางพาราจะผลัดใบปีละ 1 ครั้ง
- ดอก ออกตามปลายกิ่งหลังจากที่ต้นยางพาราผลัดใบ โดยออกพร้อมกับใบใหม่ที่แตกใหม่หรือหลังจากที่ต้นยางพาราแตกใบสมบูรณ์เต็มที่แล้ว ดอกมีลักษณะเป็นช่อ แต่ละช่อมีหลายกิ่ง ดอกตัวเมียจะเห็นได้ชัดเจนเพราะอยู่ตรงปลายสุดของกิ่งหรือช่อและเป็นดอกที่มีขนาดใหญ่กว่าดอกตัวผู้ประมาณเท่าตัว โคนกลีบมีสีเขียวเมื่อดอกบานจะเห็นรังไข่อยู่ภายในดอกเป็นสีเขียวอ่อน ตอนบนของรังไข่มีคัมสีขาว 3 คัม คือ พูรังไข่หรือเกสรตัวเมีย ส่วนดอกตัวผู้มีขนาดเล็ก

แต่มีจำนวนมากกว่า ดอกตัวผู้ประกอบด้วย กลีบดอกสีเหลือง 5 กลีบ ดังแสดงในภาพประกอบที่ 2.1 (ค) ดอกมีกลิ่นหอม

- ผล ต้นยางพาราเป็นพืชที่มีการผสมเกสรแบบเปิด (Open Pollinated) ดอกที่ผสมติดแล้วรังไข่จะขยายตัวออกช้าและจะโตเร็วขึ้นภายในระยะเวลา 2 เดือน ผลโตเต็มที่เมื่อมีอายุ 2.5-3 เดือน ผลยางมีลักษณะเป็นพู โดยปกติจะมี 3 พู แต่ละพูจะมีเมล็ดอยู่ภายใน ผลขณะอ่อนมีสีเขียวแก่แล้วจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ผลจะแตกและหล่นเมื่อแก่จัด

- เมล็ด เมล็ดยางพาราจะมีสีน้ำตาลลายขาวคล้ายเมล็ดละหุ่ง มีขนาดยาว 2-2.5 เซนติเมตร ยาว 1.5-2.5 เซนติเมตร น้ำหนัก 3.6 กรัม ดังแสดงในภาพประกอบที่ 2.1 (ง)



(ก)



(ข)



(ค)



(ง)

ภาพประกอบที่ 2.1 ลักษณะลำต้น (ก) ใบ (ข) ดอก (ค) และเมล็ด (ง) ของต้นยางพารา
ที่มา (ก) : www.biogang.net (4 มกราคม 2555)

(ข) : www.live-rubber.com (4 มกราคม 2555)

(ค) : www.gotoknow.org (4 มกราคม 2555)

(ง) : www.thaikasetsart.com (4 มกราคม 2555)

ชาวสวนนิยมปลูกต้นยางพาราอย่างแพร่หลาย เนื่องจากต้นยางพาราสามารถใช้ประโยชน์ได้ครบทุกส่วน (วิจิต, 2550) ดังตารางที่ 2.1 แสดงพื้นที่ปลูกต้นยางพาราในประเทศไทย โดยจะเห็นว่าเกือบทุกภูมิภาคของประเทศไทยมีแนวโน้มการปลูกต้นยางพาราเพิ่มขึ้นทุกปี

ตารางที่ 2.1 พื้นที่ปลูกต้นยางพาราของประเทศไทยแบ่งตามภูมิภาค (หน่วย: ไร่)

จังหวัด	พ.ศ. 2549	พ.ศ. 2550	พ.ศ. 2551
ภาคเหนือ			
เชียงราย	49,288	81,936	92,851
เพชรบูรณ์	9,254	10,954	23,569
น่าน	18,818	41,742	47,728
พะเยา	32,740	53,687	81,473
พิษณุโลก	14,531	67,820	145,328
อุทัยธานี	12,765	21,235	21,878
เชียงใหม่	8,716	20,516	32,927
กำแพงเพชร	28,798	32,215	32,784
สุโขทัย	13,558	18,685	19,906
รวม	188,468	348,790	498,444
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ			
นครพนม	82,324	105,876	140,517
บุรีรัมย์	137,632	174,720	178,331
มุกดาหาร	67,757	91,895	110,000
เลย	195,925	241,513	382,497
ศรีสะเกษ	105,965	157,229	176,096
สกลนคร	62,160	93,240	171,665
สุรินทร์	64,452	84,978	90,686
หนองคาย	425,216	531,520	637,824
หนองบัวลำภู	30,969	53,930	94,288
อุดรธานี	101,986	219,270	295,000
อุบลราชธานี	107,898	159,846	168,523
รวม	1,382,284	1,914,017	2,445,427

จังหวัด	พ.ศ. 2549	พ.ศ. 2550	พ.ศ. 2551
ภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียง			
กาญจนบุรี	69,218	79,347	97,206
จันทบุรี	364,786	369,750	463,799
ฉะเชิงเทรา	112,233	112,966	116,896
ชลบุรี	174,980	176,911	185,757
ตราด	216,117	223,077	250,031
ระยอง	602,547	616,956	701,732
ราชบุรี	12,264	12,559	14,077
สระแก้ว	13,671	15,426	18,511
ประจวบคีรีขันธ์	74,430	86,447	108,342
สุพรรณบุรี	-	800	1,200
ปทุมธานี	-	-	1,200
รวม	1,640,246	1,694,239	1,957,551
ภาคใต้			
กระบี่	602,147	610,147	625,231
ชุมพร	453,039	459,039	464,662
ตรัง	1,311,635	1,309,313	1,310,188
นครศรีธรรมราช	1,368,042	1,400,808	1,447,643
นราธิวาส	995,529	1,004,532	1,005,871
ปัตตานี	287,830	294,607	295,185
พังงา	650,427	658,427	757,025
พัทลุง	525,400	538,411	538,477
ภูเก็ต	105,256	101,985	91,787
ยะลา	1,026,563	1,046,438	1,046,872
สงขลา	1,418,927	1,444,012	1,444,302
สตูล	282,485	289,811	290,019
สุราษฎร์ธานี	1,807,643	1,830,161	1,871,907
รวม	10,834,923	10,987,691	11,189,169

ที่มา: ศูนย์สารสนเทศการเกษตร, 2552

2.1.2 องค์ประกอบของไม้ยางพารา

ไม้ยางพารามีคุณสมบัติใกล้เคียงกับไม้ใบกว้างทั่วไป โดยมีองค์ประกอบทางเคมีดังแสดงในตารางที่ 2.2 ทั้งนี้ขึ้นกับสายพันธุ์ของต้นยางพาราด้วย สันเกตว่าไม้ยางพารามีปริมาณเซลลูโลสซึ่งเป็นแหล่งอาหารของแมลงและเชื้อราที่สูง ทำให้ไม้ยางพาราถูกทำลายได้ง่าย ความคงทนจึงเป็นสิ่งที่ควรพิจารณาเป็นอันดับแรก

ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบทางเคมีของไม้ยางพารา

องค์ประกอบ	ร้อยละ โดยมวล
เซลลูโลส (Cellulose)	54.94
เพนโตซาน (Pentosan)	17.22
ลิกนิน (Lignin)	21.63
ขี้เถ้า (Ash)	0.62

ที่มา : นันทชัย, 2540

2.1.3 มาตรฐานของไม้ยางพารา

สำนักวิจัยการจัดการป่าไม้และผลิตผลป่าไม้ กรมป่าไม้ (หนังสือกรมป่าไม้ที่ กส. 0702/6679) ได้กำหนดมาตรฐานไม้ยางพาราที่ความชื้นเนื้อไม้ร้อยละ 12 ไว้ว่า ต้องมีความถ่วงจำเพาะ 0.7 และความแข็งแรงในการตัด การบีบ และการเนียน เท่ากับ 973 478 และ 162 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร ตามลำดับ สำหรับการหดตัว (Shrinkage) จะเกิดขึ้นเมื่อไม้เสียความชื้นหรือได้รับความชื้นเพิ่มตามลำดับ ในไม้ยางพาราเมื่อแห้งจะหดตัวน้อยกว่าปกติและหลังจากแห้งแล้วจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างน้อย โดยจุดหมาด (Fiber Saturation Point, FSP) หรือจุดที่เกิดการเปลี่ยนแปลงขนาดเนื่องจากการสูญเสียความชื้นของไม้ยางพาราเกิดขึ้นเมื่อความชื้นลดลงต่ำกว่าร้อยละ 21.3 (ที่มา : www.108wood.com, 10 มกราคม 2555) ไม้ยางพาราที่เหมาะสมสำหรับการทำเครื่องเรือน เช่น โต๊ะ เก้าอี้ จำเป็นต้องมีความคงทนและคงรูปขณะใช้งานเป็นคุณลักษณะที่ควรพิจารณา การเปลี่ยนแปลงของสภาวะอากาศและความชื้นอาจส่งผลให้เกิดการโค้ง บิดงอ ทั้งนี้เว้นแต่ว่าไม้ยางพาราจะได้รับการอบที่ถูกต้องและมีการเคลือบผิวเป็นพิเศษ

2.2 ศัตรูทำลายไม้ (สำนักวิจัยการจัดการป่าไม้และผลิตผลป่าไม้, 2547)

การดูแลรักษาไม้นั้นมีขั้นตอนไม่ยุ่งยาก เพียงเช็ดและทำความสะอาดอย่างสม่ำเสมอ เว้นแต่ว่าส่วนประกอบที่เป็นไม้จะถูกรบกวนด้วยศัตรูทำลายไม้ โดยแบ่งออกได้ดังนี้

2.2.1 แมลง (Insect)

แมลงที่เข้าทำลายไม้ทั้งในขณะยืนต้น หลังการตัดฟัน ขณะเก็บรอกการนำไปใช้ประโยชน์และระหว่างการใช้งานมี 2 ชนิด คือ

- ปลวก (Termite) เป็นแมลงที่เข้าทำลายไม้ที่สำคัญแบ่งเป็น 3 ชนิด คือ ปลวกไม้แห้ง (Drywood Termite) เป็นปลวกที่ไม่ต้องการความชื้นมาก อาศัยอยู่ในไม้ที่แห้ง เศษเหลือจากการกินเนื้อไม้มีลักษณะเป็นก้อนกลมร่วงอยู่บริเวณที่เข้าทำลาย ปลวกไม้ชื้น (Dampwood Termite) อาศัยในที่มีความชื้นสูงอยู่ตลอดเวลาหรืออาศัยอยู่ในส่วนของไม้ยืนต้นตาย และปลวกที่อาศัยอยู่ในดิน ได้แก่ ปลวกสร้างรังจอมปลวก (Mound Building Termite) (ภาพประกอบที่ 2.2 (ก)) ปลวกทำรังใต้ผิวดิน (Underground Nesting Termite) (ภาพประกอบที่ 2.2 (ข)) และปลวกทำรังเป็นกล่องแบบรังแตน (Carton Nest Building Termite) โดยปลวกที่ทำความเสียหายมากที่สุด คือปลวกที่อาศัยอยู่ในดิน



(ก)



(ข)

ภาพประกอบที่ 2.2 ลักษณะของปลวกสร้างจอมปลวก *Globitermes sulphureus* (ก)

และปลวกทำรังใต้ผิวดิน *Coptotermes gestroi* (ข)

ที่มา (ก), (ข) : www.termiteweb.com (3 มกราคม 2555)

- มอด (Powderpost Beetle) เป็นแมลงทำลายไม้มีอยู่ด้วยกันหลายชนิด แต่ที่พบในประเทศไทยและก่อความเสียหายมี 2 วงศ์ คือ วงศ์ Lyctidae เช่น มอดขี้คู้ย และวงศ์

Bostrichidae เช่น มอดเจาะไม้ และมอดไม้ไผ่ เป็นต้น โดยตัวอ่อนที่อาศัยอยู่ในไม้จะเป็นตัวกัดกินทำลายเนื้อไม้ ลักษณะการทำลายคล้ายรังผึ้งไปตามแนวยาวของตัวไม้ เมื่อใกล้ระยะดักแด้จะอยู่ชิดกับหน้าของไม้และหลังจากเป็นตัวเต็มวัยจะเจาะไม้ออกมาภายนอกเป็นรูกลม

2.2.2 เพรียง (Barnacle)

เพรียงเป็นศัตรูทำลายไม้ที่ใช้งานในน้ำ แบ่งออกเป็น 2 จำพวก คือ เพรียงทะเล (ภาพประกอบที่ 2.3 (ก)) เพรียงชนิดนี้อาศัยอยู่ในน้ำเค็ม น้ำกร่อย และป่าชายเลน เพรียงทะเลยังแบ่งตามลักษณะโครงสร้างเป็น 2 ประเภท คือ เพรียงพวกหอย และเพรียงพวกกิ่ง จำพวกที่สองคือ เพรียงน้ำจืด ซึ่งเป็นชื่อเรียกตัวอ่อนของแมลงชีปะขาว (ภาพประกอบที่ 2.3 (ข)) โดยจะพบการทำลายของเพรียงน้ำจืดได้ในไม้ที่จมอยู่ในน้ำหรือส่วนประกอบของบ้านเรือนหรือเรือที่อยู่ในน้ำจืด



ภาพประกอบที่ 2.3 ลักษณะเพรียงทะเล *Lepas anatifera* (Goose Barnacles) (ก)
และแมลงชีปะขาว (ข)

ที่มา (ก) : www.sciencephoto.com (3 มกราคม 2555)

(ข) : www.baannatura.com (3 มกราคม 2555)

2.2.3 เชื้อรา (Mold)

เป็นศัตรูทำลายไม้ที่ทำให้ไม้ผุ เสื่อมสภาพ และเกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจ การทำลายของเชื้อราแต่ละชนิดมีลักษณะแตกต่างกันเนื่องจากความต้องการอาหารแตกต่างกัน

2.2.3.1 ประเภทของเชื้อราทำลายไม้ แบ่งเป็น 3 ประเภทคือ

1) เชื้อราที่ทำให้ไม้ผุ (Decay Fungi) เป็นเชื้อราที่เข้าทำลายไม้แล้วทำให้เนื้อไม้ผุ เปื่อยยุ่ย แบ่งตามลักษณะที่ปรากฏบนไม้ภายหลังถูกทำลาย คือ

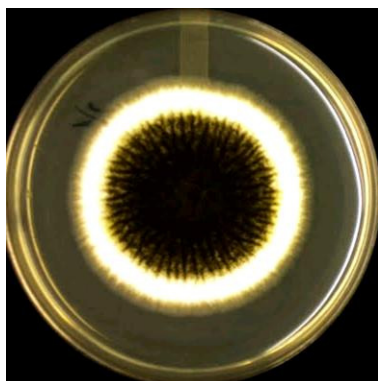
- ราฟุสีน้ำตาล (Brown Rot) อาหารของเชื้อราจำพวกนี้คือเซลลูโลส ซึ่งสะสมอยู่ตามผนังเซลล์ของไม้ เมื่อเชื้อราชนิดนี้เข้าทำลายไม้แล้วเนื้อไม้จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ยุบตัวลง และหักง่ายในทางขนานเสี้ยน เช่น ราฟุสีน้ำตาล *Monilinia fructicola* และราฟุสีน้ำตาล *Coniophora puteana* ลักษณะของเชื้อราทั้งสองสายพันธุ์

- ราฟุสีขาว (White Rot) ราจำพวกนี้จะย่อยสลายสารประกอบของเซลล์ในไม้ได้ทั้งลิกนินและเซลลูโลส ดังนั้นการทำลายในขั้นสุดท้ายพบว่าน้ำหนักของไม้อาจลดลงถึงร้อยละ 90 และมีคุณสมบัติฟอกสี เห็นได้จากไม้ที่ถูกทำลายจะมีสีขาวซีด เนื้อไม้ยุบเป็นเส้นใย มองเห็นเป็นหย่อมๆ หรือลายเส้นสีขาวสลับกับเนื้อไม้ที่ยังคงอยู่ เช่น ราฟุสีขาว *Trametes versicolor*

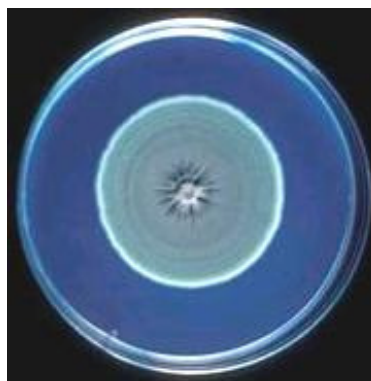
- ราฟุอ่อน (Soft Rot) มักเกิดกับไม้ที่อยู่ในที่ชื้นมากๆ หรือเปียกน้ำติดต่อกันเป็นเวลานาน เชื้อราจะทำลายรุนแรงบริเวณผิวนอกของไม้ มีการแตกขวางเสี้ยนคล้ายกับราฟุสีน้ำตาลแต่มีขนาดเล็กกว่า บางครั้งอาจพบว่าเข้าทำลายลึกถึงเนื้อไม้ ส่วนที่ถูกทำลายจะอ่อนนุ่ม ส่วนที่ไม่ถูกทำลายจะแข็ง ขอบเขตของการทำลายเห็นได้ชัดเจน ถ้านำไม้ไปทำให้เปียกส่วนที่ถูกทำลายจะเปื่อยยุ่ยสามารถใช้เล็บขูดออกได้ง่าย เช่น ราฟุอ่อน *Chaetomium globosum*

2) เชื้อราที่ทำให้ไม้เสียสี (Stain Fungi) เชื้อราประเภทนี้ไม่ทำให้ไม้ผุแต่ทำให้ไม้มีสีผิดปกติไปจากเดิม ส่วนใหญ่เป็นสีที่ไม่พึงปรารถนา เช่น น้ำเงิน เหลือง เขียว ดำ เป็นบริเวณกว้างหรือเป็นจุดกระจาย ซึ่งการเปลี่ยนสีของไม้เกิดขึ้นเพราะเม็ดสี (Pigment) ภายในเส้นใยของเชื้อรานั้นเอง เชื้อราเหล่านี้จะเข้าทำลายไม้หลังตัด โดยสปอร์จะปลิวมาตกลงบนไม้แล้วจึงเจริญเข้าไปในเนื้อไม้ ถ้าความชื้นในบรรยากาศสูงหรือความชื้นที่หน้าไม้ยังไม่แห้งเชื้อราจะสร้างสปอร์และเส้นใยขึ้นที่ผิวหน้าไม้ทำให้มองเห็นเป็นสีดำ แต่ถ้าความชื้นในบรรยากาศน้อยหรืออากาศแห้งซึ่งทำให้ผิวหน้าไม้แห้ง เส้นใยของเชื้อราจะเจริญเข้าไปในเนื้อไม้เพียงอย่างเดียวจึงทำให้คุณลักษณะไม้ภายนอกไม่มีเชื้อราเข้าทำลาย เมื่อไม้เข้าสู่กระบวนการแปรรูปจึงจะเห็นเป็นสีของเชื้อราที่เข้าทำลายไม้ เชื้อราเหล่านี้ยังสามารถเข้าทำลายได้ในระยะที่แปรรูปและอยู่ในระหว่างรอพักเข้าอบเพื่อให้ความชื้นลดลง ถึงแม้จะจุ่มสารเคมีป้องกันราแล้วก็ตามเพราะสารป้องกันสามารถป้องกันเชื้อราที่ตกลงบนผิวไม้เท่านั้น แต่ไม่สามารถป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อราที่อยู่ภายในได้ เช่น เชื้อรา *Ophiostoma ulmi* (Buisman) Nannf.

3) เชื้อราผิวไม้ (Mold Fungi) เชื้อราประเภทนี้เกิดบนผิวไม้เท่านั้น ไม่เจริญเติบโตเข้าไปในเนื้อไม้ ซึ่งสีต่างๆ เกิดจากสปอร์และเส้นใยของเชื้อรา ทำให้เสียสีเฉพาะผิวนอกสามารถปิดหรือขัดออกได้ มักเกิดกับไม้ที่ยังคงมีความชื้นอยู่และไม้ที่อยู่ในสภาพแวดล้อมที่เปียกหรืออับชื้นได้ เชื้อราประเภทนี้เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคของระบบทางเดินหายใจ เช่น เชื้อรา *Aspergillus niger* และเชื้อรา *Penicillium sp.* ลักษณะของเชื้อราแสดงในภาพประกอบที่ 2.4



(ก)



(ข)

ภาพประกอบที่ 2.4 ลักษณะของราฟิวไม้ *Aspergillus niger* (ก) และ *Penicillium sp.* (ข)

ที่มา (ก) : thunderhouse4-yuri.blogspot.com (25 ตุลาคม 2554)

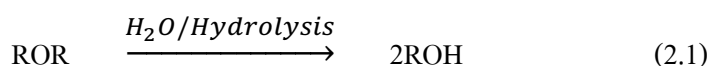
(ข) : www.invasive.org (25 ตุลาคม 2554)

2.2.3.1 ปัจจัยในการเจริญเติบโตของเชื้อรา (ที่มา : buranapagroup.com, 12 มกราคม 2555)

ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราสามารถแบ่งเป็นปัจจัยหลักและปัจจัยรอง ดังนี้

1) ปัจจัยหลักในการเจริญเติบโตของเชื้อรา

1.1) น้ำ (Water) เป็นสิ่งจำเป็นในกระบวนการของสิ่งมีชีวิตและการเจริญของเชื้อราเนื่องจากน้ำเป็นตัวกลางการกระจาย (Diffusion Medium) การแทรกซึมของเอนไซม์และการละลายสารอาหารต่างๆ นอกเส้นใย (Hyphae) รวมทั้งยังทำให้ผนังของสปอร์อ่อนนุ่มส่งผลต่อการเคลื่อนย้ายสารอาหารต่างๆ เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต นอกจากนี้ น้ำยังเป็นตัวย่อยสลายในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Reactant in Digestive Hydrolysis Reaction) ดังแสดงในสมการที่ (2.1)



เชื้อราเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิต น้ำจึงมีความสำคัญสำหรับกระบวนการทางชีวเคมีเพื่อการเจริญเติบโตอย่างมีประสิทธิภาพของเชื้อราจำเป็นต้องมีน้ำอิสระ (Free Water) อยู่ในช่องว่างลูเมน (Lumen) ของเซลล์ของเนื้อไม้

1.2) อุณหภูมิ (Temperature) ปฏิกริยาทางชีวเคมีไม่ว่าจะเป็นกระบวนการสร้างหรือกระบวนการสลายของเซลล์สิ่งมีชีวิตจะเป็นปฏิกริยาที่ซับซ้อนที่เกิดขึ้นพร้อมๆ กันกับปฏิกริยาทางเคมี ตัวอย่างเช่น กระบวนการหายใจ (Respiration) กระบวนการสังเคราะห์สารพวกโปรโตพลาสซึม (Protoplasm) อุณหภูมิสูงสุดในการเติบโตของเชื้อราประมาณ 42 องศาเซลเซียส อุณหภูมิปานกลางที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตจะอยู่ระหว่าง 20-35 องศาเซลเซียส และเชื้อราจะหยุดการเจริญเติบโตที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส

1.3) ออกซิเจน (Oxygen) เป็นปัจจัยสำคัญในการเจริญเติบโตของเชื้อราและจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด พลังงานที่เกิดขึ้นในกระบวนการเมแทบอลิซึม (Metabolism) นั้นได้มาจากกระบวนการหายใจ ซึ่งกระบวนการนี้เป็นอนุกรมทางปฏิกริยาเคมีที่ซับซ้อนและสมบูรณ์เมื่อมีการใช้อาหารและปลดปล่อยพลังงานออกมา โดยจะเกี่ยวกับการใช้ออกซิเจน (O_2) และปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และน้ำ (H_2O) สู่อากาศ การหายใจของจุลินทรีย์แบ่งเป็น 2 แบบ คือ

- การหายใจแบบใช้ออกซิเจน (Aerobic Respiration) เป็นการหายใจที่ใช้ ออกซิเจนที่บริสุทธิ์

- การหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic Respiration) หรือการหมัก (Fermentation) เป็นการหายใจที่ไม่ต้องใช้ออกซิเจน

เชื้อราที่ทำให้ไม้ผุและไม่เสียสีส่วนมากมีกระบวนการหายใจแบบใช้ออกซิเจน ดังนั้น จึงต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต

1.4) อาหาร (Food) เชื้อราต้องการอาหารเพื่อมาผลิตเป็นพลังงานและเจริญเติบโต การกินอาหารของเชื้อราจะใช้เอนไซม์ (Enzymes) เข้าย่อยทำให้โมเลกุลของอาหารแตกเป็นโมเลกุลเล็กๆ จากนั้นก็จะดูดซึมเข้าสู่เส้นใยของเชื้อรา อาหารที่เชื้อราต้องการที่มีอยู่ในเนื้อไม้ ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน น้ำตาล และแร่ธาตุอื่นๆ เช่น ไทอะมีน (Thiamine) นอกจากนี้ยังต้องการสารประกอบไนโตรเจน (Nitrogen Compound) ซึ่งปกติจะมีอยู่ในเนื้อไม้ ประมาณร้อยละ 0.03-1.01

2) ปัจจัยรองในการเจริญเติบโตของเชื้อรา

2.1) ความเข้มข้นกรด-ด่าง สภาพแวดล้อมที่เป็นกรดอ่อนช่วยให้เชื้อราทำลายไม้ได้ดีขึ้น pH ที่เหมาะสมคือ 4.5-5.5

2.2) แสงสว่าง (Light) แสงสว่างเป็นปัจจัยสำคัญที่ช่วยให้เชื้อราสร้างดอกเห็ด (Fruiting Bodies) แต่แสงสว่างไม่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของเชื้อราในระยะแรก ส่วนแสงอัลตราไวโอเล็ต (Ultraviolet, UV) จะเป็นพิษต่อเชื้อราส่วนมาก ดังนั้นในห้องปฏิบัติการจึง

นิยมใช้แสงอัลตราไวโอเล็ตในการทำความสะอาด ส่วนแสงเอกซ์-เรย์ (X-ray) ยังไม่ทราบแน่ชัดว่ามีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา

2.3 น้ำมันหอมระเหย

น้ำมันหอมระเหยเป็นสารอินทรีย์ที่มีองค์ประกอบซับซ้อน สกัดได้จากส่วนของเมล็ด ใบ ดอก ผล เปลือก ลำต้น เหง้า และราก เป็นต้น โดยทั่วไปมีลักษณะเป็นของเหลวใส ไม่มีสีหรือมีสีอ่อน มีกลิ่นเฉพาะตัว ระเหยง่ายที่อุณหภูมิห้องและดีขึ้นเมื่อได้รับความร้อน น้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิดจะมีคุณสมบัติแตกต่างกันขึ้นกับองค์ประกอบทางเคมีของพืชนั้นๆ (สิริลักษณ์, 2545)

2.3.1 ความสำคัญของน้ำมันหอมระเหย

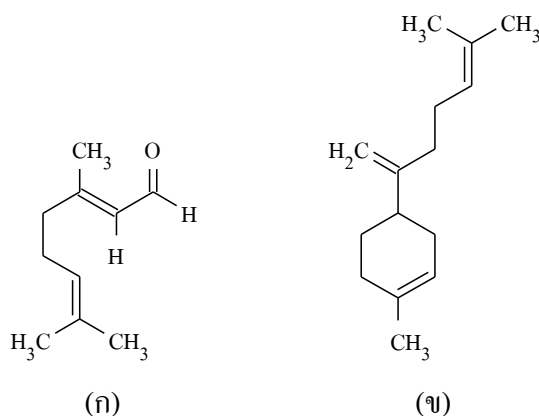
การใช้น้ำมันหอมระเหยมีมาตั้งแต่ 4000 ปีก่อนคริสตกาลในพิธีกรรมทางศาสนา โดยการเผาส่วนต่างๆ ของพืชสมุนไพร เช่น เนื้อไม้ ยางไม้ ทำให้เกิดกลิ่นหอมและรู้สึกผ่อนคลาย นอกจากนี้ยังมีการใช้น้ำมันหอมระเหยในการบำบัดโรค โดยศาสตร์ด้านนี้ได้ถูกบันทึกไว้ในจารึกของอียิปต์ ชาวอียิปต์จะใช้พืชสมุนไพรเพื่อทำน้ำมันนวด ยารักษาโรค ผลิตภัณฑ์บำรุงผิว น้ำหอม และเครื่องสำอาง รวมทั้งใช้ในการทำมัมมี่ ในประเทศไทยก็มีการใช้กลิ่นจากสมุนไพรเป็นยาหอม ยาต้ม อาหาร อบสมุนไพร หรือนำมาปรุงอาหารเป็นเวลานาน (สิริลักษณ์, 2545)

น้ำมันหอมระเหยเกี่ยวข้องกับชีวิตประจำวันอยู่เสมอ โดยประโยชน์ของน้ำมันหอมระเหยสามารถใช้แต่งกลิ่นอาหารในอุตสาหกรรมอาหารต่างๆ เช่น ชูปล ลูกกวาด เครื่องดื่มและผลิตภัณฑ์นม เป็นต้น น้ำมันหอมระเหยจากดอกไม้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมน้ำหอม เช่น น้ำมันกุหลาบ น้ำมันกระดังงา และน้ำมันมะลิ นอกจากนี้ ยังมีการนำน้ำมันหอมระเหยไปใช้ในอุตสาหกรรมยา เช่น น้ำมันกานพลู สามารถฆ่าเชื้อโรคได้ จึงผสมกับน้ำยาบ้วนปาก น้ำมันยูคาลิปตัส สามารถแก้หวัด คัดจมูก น้ำมันไพล แก้อาการปวดบวมและฟกช้ำ น้ำมันเปปเปอร์มินต์ ใช้ขับลมและแต่งกลิ่นยา น้ำมันหอมระเหยยังใช้ในสวดคนบำบัด (Aromatherapy) ซึ่งกำลังเป็นที่สนใจของนักธรรมชาติบำบัดอย่างมากในทุกวันนี้ ตัวอย่างของน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ ได้แก่ น้ำมันกระดังงา น้ำมันลาเวนเดอร์ น้ำมันคาโมมายล์ น้ำมันโหระพา และน้ำมันแฝกหอม ช่วยให้อารมณ์ดีและผ่อนคลาย ส่วนน้ำมันมะนาว น้ำมันยูคาลิปตัส น้ำมันเปปเปอร์มินต์ ช่วยทำให้รู้สึกกระปรี้กระเปร่า

2.3.2 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย (ที่มา : www.tistr.or.th, 15 มกราคม 2555)

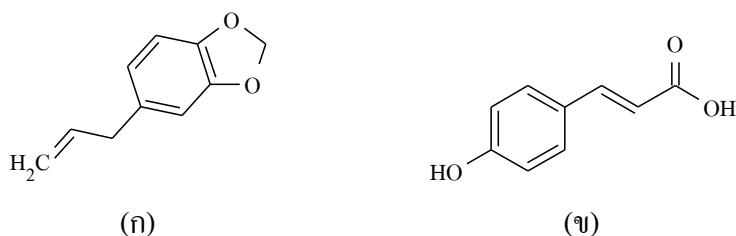
ประกอบด้วยองค์ประกอบสำคัญ 2 กลุ่ม คือ กลุ่มเทอร์ปีน (Terpene) และกลุ่มฟีนิลโพรพานอยด์ (Phenyl Propanoid)

- กลุ่มเทอร์ปีน พบมากในน้ำมันหอมระเหย เป็นพวกที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ได้แก่ โมโนเทอร์ปีน (Monoterpene, C-10) เช่น ลิโมนีน (Limonene) ซิตรัล (Citral) เมนทอล (Menthol) เป็นต้น และเซสควิเทอร์ปีน (Sesquiterpene, C-15) เช่น เบต้า-แคโรทีน (β -carotene) เบต้า-ไบซาโบลีน (β -bisabolene) ตัวอย่างโครงสร้างแสดงดังภาพประกอบที่ 2.5



ภาพประกอบที่ 2.5 โครงสร้างของสารในกลุ่มเทอร์ปีน ซิตรัล (ก) และเบต้า-ไบซาโบลีน (ข)

- กลุ่มฟีนิลโพรพานอยด์ (C1-C6) พบได้น้อยกว่าสารกลุ่มเทอร์ปีน ได้แก่ ยูจีนอล (Eugenol) อนีโธล (Anethole) ซาฟรอล (Safrole) และคูมาริก แอซิด (Coumaric Acid) ตัวอย่างโครงสร้างแสดงดังภาพประกอบที่ 2.6

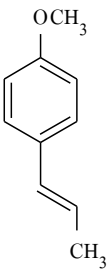
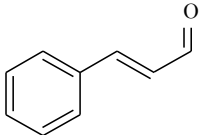
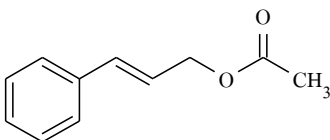
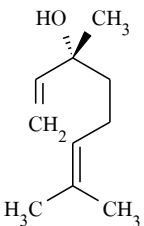
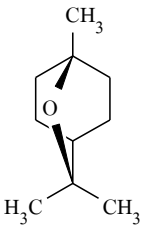


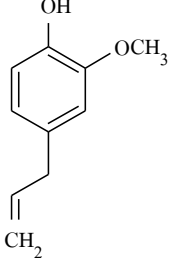
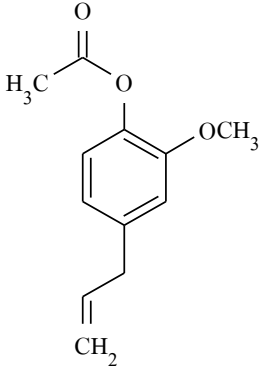
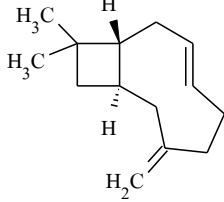
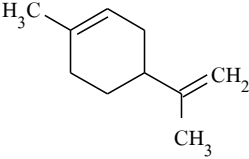
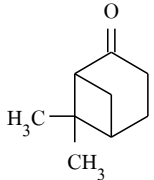
ภาพประกอบที่ 2.6 โครงสร้างของสารในกลุ่มฟีนิลโพรพานอยด์ ซาฟรอล (ก) และคูมาริก แอซิด (ข)

2.3.3 น้ำมันหอมระเหยกับการป้องกันศัตรูทำลายไม้

องค์ประกอบทางเคมีที่อยู่ในน้ำมันหอมระเหยบางชนิดยังมีคุณสมบัติ นอกเหนือจากการบำบัดด้วย และผ่อนคลายความตึงเครียดแล้ว ยังมีสรรพคุณอื่นๆ ที่เป็นประโยชน์ ด้วย เช่น น้ำมันตะไคร้หอม ประกอบด้วยสารซิโตรเนลลา (Citronella) ซึ่งสารนี้มีสรรพคุณในการ ไล่ยุงและแมลง ส่วนสารจีรานีโอล (Geraniol) มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ จึงมักจะเป็นส่วนผสมของสบู่ เพื่อฆ่าเชื้อโรค (สรจักร, 2553) นอกจากนี้ องค์ประกอบหลักและสูตร โมเลกุลของน้ำมันหอมระเหย ที่มีการรายงานถึงผลการขยับยั้งแมลง เชื้อรา และแบคทีเรีย แสดงดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 องค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยที่มีผลต่อการยับยั้งศัตรูทำลายไม้

น้ำมันหอมระเหย	องค์ประกอบหลัก	สูตร โมเลกุล	ร้อยละโดยน้ำหนัก
โป๊ยกั๊ก (Wang <i>et al.</i> , 2011)	ทรานส์-แอนิโธล (<i>Trans</i> -anethole)		89.5
อบเชย (Lin <i>et al.</i> , 2007)	ซินนามอลดีไฮด์ (Cinnamaldehyde)		53.4-95
	ซินนามิล อะซิเตต (Cinnamyl Acetate)		61.8
	ลินาลออล (Linalool)		73.9
ยูคาลิปตัส (De Vincenzi <i>et al.</i> , 2002)	ยูคาลิปทอล (Eucalyptol)		70-80

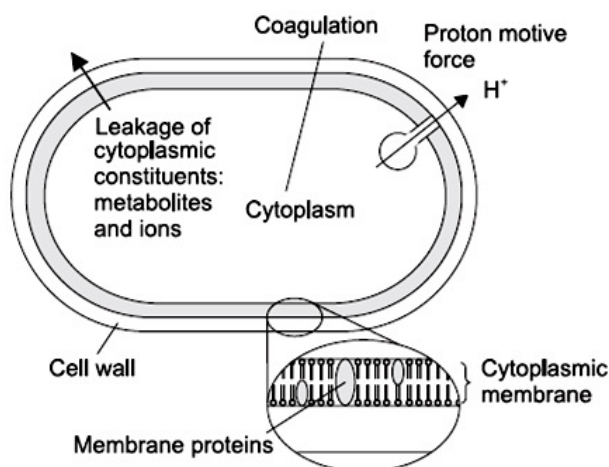
น้ำมันหอมระเหย	องค์ประกอบหลัก	สูตรโมเลกุล	ร้อยละโดยน้ำหนัก
กานพลู (Wenqiang <i>et al.</i> , 2007)	ยูจีนอล (Eugenol)		53.8
	ยูจีนอล อะซิเตต (Eugenol Acetate)		20.91
	คาริโอฟิลลิน (Caryophyllene)		17.7
มะนาว (Ramesh Yadav <i>et al.</i> , 2004)	ไลโมนีน (Limonene)		37
	เบตา-ไพเนน (β-pinene)		17

น้ำมันหอมระเหยชนิดหนึ่งๆ จะประกอบไปด้วยสารประมาณ 20-60 ชนิด โดยแต่ละชนิดก็มีความเข้มข้นที่แตกต่างกัน โดยจะระบุว่าเป็นองค์ประกอบหลักได้หรือไม่นั้นก็ต่อเมื่อความเข้มข้นของสารดังกล่าวมีประมาณร้อยละ 20-70 เทียบกับสารอื่น (Bakkali *et al.*, 2008)

ในปี 2006 Singh และคณะ ศึกษาผลของทรานส์-เอนิโทล ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic Compound) ที่มีสูงในน้ำมันโป๊ยกั๊ก สารดังกล่าวสามารถยับยั้งเชื้อ

ราได้ เช่น *Aspergillus niger* *Aspergillus flavus* *Fusarium graminearum* *Fusarium moniliforme* *Penicillium viridicatum* *Penicillium madriti* และ *Curvularia lunata* เป็นต้น ในน้ำมันอบเชยจะมีองค์ประกอบหลัก ได้แก่ ซินนามอลดีไฮด์ (Cinnamaldehyde) ลิ날ออล (Linalool) และซินนามิลอะซิเตต (Cinnamyl Acetate) ซึ่งสารเหล่านี้ Wang และคณะ (2005) ได้ทำการทดสอบฤทธิ์พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อราผู้สีขาวและราผู้สีน้ำตาลได้ ส่วนองค์ประกอบของน้ำมันกานพลูนั้นในปี 2007 Matan และ Matan ได้ทดสอบผลของสารยูจินอลซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักและมีปริมาณของฮูมูลิน (Humulene) และคาริโอฟิลลิน (Caryophyllene) เล็กน้อย เมื่อนำสารดังกล่าวไปทดสอบการป้องกันเชื้อราบนผิวไม้ *A. niger* *P. chrysogenum* และ *Penicillium sp.* พบว่า สารยูจินอลมีผลในการยับยั้งเชื้อราดังกล่าวได้

จากข้อมูลข้างต้นชี้ให้เห็นว่าองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิดมีบทบาทในการยับยั้งจุลินทรีย์ต่างกัน ในปี 2004 Burt อธิบายถึงกลไกในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารในน้ำมันหอมระเหยไว้ว่า ส่วนที่ไม่มีขั้ว (Hydrophobic) ของสารประกอบจะเป็นตำแหน่งที่จับพันธะกับไขมันบนผนังเซลล์ (Cell Wall) และไมโทคอนเดรีย (Mitochondria) ของแบคทีเรีย ซึ่งเป็นการทำลายโครงสร้างของไขมันและสลายผนังเซลล์ทำให้ไอออนต่างๆ สามารถผ่านเข้า-ออกได้ เป็นสาเหตุให้เซลล์เสียหาย โปรตีนในเนื้อเยื่อถูกทำลายและเซลล์ตายในที่สุด ภาพประกอบที่ 2.7 แสดงตำแหน่งและกลไกในเซลล์แบคทีเรียที่ถูกทำลายด้วยสารในน้ำมันหอมระเหย



ภาพประกอบที่ 2.7 ตำแหน่งและกลไกของเซลล์แบคทีเรียที่เสียหายด้วยฤทธิ์ขององค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหย

ที่มา : Burt, 2004

Burt ได้อธิบายผลของสารยูจินอลซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันกานพลูว่า หมู่ไฮดรอกซิลของยูจินอลสามารถจับพันธะกับโปรตีนได้ ซึ่งพันธะดังกล่าวมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในเชื้อ *E. aerogenes* และ Burt ยังได้อธิบายต่อไปถึงผลของซินนามอลดีไฮด์ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันอบเชยในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. typhimurium* ว่า สารประกอบนี้จะไม่มีการสลายเยื่อหุ้มเซลล์ (Cell Membrane) หรือทำลายแหล่งพลังงาน Adenosine Triphosphate (ATP) ภายในเซลล์ แต่หมู่แอลดีไฮด์บนโครงสร้างซินนามอลดีไฮด์จะเกิดพันธะกับโปรตีนและยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะมิโน แอซิด ดีคาร์บอกซิเลส (Amino Acid Decarboxylase) ของเชื้อ *E. aerogenes* ทำให้การทำงานของเอนไซม์ถูกรบกวน สำหรับทรานส์-เอนิโทลซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมัน โป๊ยกั๊ก จากรายงานการวิจัยของ Matan และคณะ ในปี 2008 และ 2011 รวมทั้งงานวิจัยของ Sagdic และ Özcan ในปี 2003 เกี่ยวกับการศึกษาการยับยั้งเชื้อรา *A. niger* โดยใช้มน้ำมัน โป๊ยกั๊กและสารระเหยของ *Foeniculum vulgare* ซึ่งมีปริมาณของทรานส์-เอนิโทลที่สูง พบว่า สารดังกล่าวสามารถป้องกันเชื้อราได้ถึงแม้ว่าจะใช้ปริมาณความเข้มข้นของสารที่ต่ำ

2.3.4 มาตรฐานไทยที่เกี่ยวข้องกับน้ำมันหอมระเหย (สิริลักษณ์, 2545)

ในปัจจุบันได้มีการนำพืชสมุนไพรไทยบางชนิดมากลั่นเป็นน้ำมันหอมระเหยและใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมเคมี และด้านเภสัชกรรม ดังนั้นเพื่อเป็นแนวทางในการผลิตน้ำมันหอมระเหยให้มีคุณภาพดีและเหมาะสม จึงมีการกำหนดมาตรฐานขึ้น โดยคณะกรรมการวิชาการคณะที่ 861 มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำมันหอมระเหย ได้กำหนดมาตรฐานไว้ 7 เรื่อง ดังนี้

- 1) มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำมันไพล (Phlai Oil) มาตรฐานเลขที่ มอก. 1679-2541
- 2) มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำมันดอกกานพลู (Clove Bud Oil) มาตรฐานเลขที่ มอก. 1680-2541
- 3) มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำมันตะไคร้ (Lemongrass Oil) มาตรฐานเลขที่ มอก. 1681-2541
- 4) มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำมันตะไคร้หอม (Citronella Oil) มาตรฐานเลขที่ มอก. 1682-2541
- 5) มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำมันผิวมะกรูด (Makrut Peel Oil) มาตรฐานเลขที่ มอก. 2078-2544

6) มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำมันใบมะกรูด (Makrut Leaf Oil)
มาตรฐานเลขที่ มอก. 2079-2544

7) มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำมันโหระพา (Basil Oil Thai Type)
มาตรฐานเลขที่ มอก. 2080-2544

2.4 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อรา (ประสาทพร, 2551)

The National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS) ประเทศสหรัฐอเมริกา ได้กำหนดวิธีการทดสอบหาความไวของเชื้อต่อสารป้องกันไว้เป็นมาตรฐาน ทำให้ได้ผลการทดสอบความไวต่อสารป้องกันที่เชื่อถือได้และทำให้การอ่านและแปลผลถูกต้อง

1) Minimal Inhibitory Concentration (MIC)

เป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารป้องกันที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ หน่วยที่ใช้โดยทั่วไปคือ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ($\mu\text{g/ml}$) หรือหน่วยสากล (International Unit, IU) ต่อมิลลิลิตร ค่า MIC นี้ สามารถใช้เปรียบเทียบเพื่อดูความไวของเชื้อหนึ่งๆ ต่อสารป้องกันหลายๆ ชนิด หรือความไวของเชื้อหลายๆ ชนิดต่อสารป้องกันหนึ่งๆ และรวมถึงเพื่อประเมินค่าอื่นที่เกี่ยวข้องกับสารป้องกัน ในการทดสอบเพื่อหาค่า MIC สารป้องกันควรได้รับการเจือจางให้มีความเข้มข้นลดลงทุก 2 เท่าไปเรื่อยๆ (2-fold Serial Dilution)

2) Minimal Lethal Concentration (MLC)

เป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารป้องกันที่สามารถฆ่าทำลายเชื้อได้ (หรือมีเชื้อเจริญไม่เกินกำหนด) หากเชื้อทดสอบเป็นแบคทีเรีย อาจใช้ค่าที่จำเพาะเจาะจงกว่าคือ Minimal Bactericidal Concentration (MBC) ถ้าเป็นเชื้อราอาจใช้คำว่า Minimal Fungicidal Concentration (MFC) สารป้องกันที่มีวิธีการออกฤทธิ์เป็นชนิดฆ่าทำลาย (Microbicidal) จะมีค่า MIC และ MLC เหมือนหรือใกล้เคียงกัน

2.4.1 การเลือกรูปแบบวิธีการทดสอบ

วิธีทดสอบความไวของเชื้อต่อสารป้องกันมีหลายวิธี หากเชื้อทดสอบเป็นแบคทีเรียและเชื้อราสามารถทำได้ทั้งอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว (Broth Medium) และอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดวุ้น (Agar Medium) โดยมีวิธีหลัก 2 รูปแบบ คือ แบบ Dilution Susceptibility Test และแบบ Agar Diffusion Test โดยการเลือกรูปแบบการทดสอบขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่างที่สำคัญ คือ

- ลักษณะของงาน เช่น งานวิจัย งานตรวจสอบในห้องปฏิบัติการที่ทำเป็นประจำหรือนานๆ ครั้ง และแต่ละครั้งมีจำนวนเชื้อที่ทดสอบน้อย จะนิยมใช้ Agar Diffusion Test ขณะที่งานที่ต้องการรู้ค่า MBC ของสารป้องกันนิยมใช้ Broth Dilution Test
- ชนิดของเชื้อทดสอบ เช่น เชื้อที่เจริญช้าหรือเลือกเฟ้นการใช้อาหารมากจะนิยมใช้วิธี Broth Dilution Test ขณะที่เชื้อซึ่งต้องเจริญบนเลือดหรือไม่ต้องการออกซิเจน (Anaerobe) มักใช้วิธี Agar Diffusion Test หรือเชื้อที่มีอัตราการเจริญไม่คงที่ควรเลือก Dilution Test
- จำนวนเชื้อทดสอบ เช่น มีจำนวนเชื้อมากจะใช้วิธี Agar Dilution Test
- ชนิดของสารป้องกัน เช่น ตัวยาแพร่กระจาย (Diffuse) ใน Agar Medium ไม่ดีจะนิยมหาค่า MIC ด้วยวิธี Dilution Test
- จำนวนของสารป้องกัน เช่น สารป้องกันหลายชนิดแต่มีเชื้อจำนวนน้อย จะนิยมใช้วิธี Agar Diffusion Test

2.4.2 วิธีการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อในห้องปฏิบัติการ (วลิ, 2550)

1) Dilution Susceptibility Test หรือ การทดสอบ MIC

การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Dilution Test เป็นการทดสอบในเชิงปริมาณเพราะสามารถทราบค่าความเข้มข้นของสารป้องกันที่ทำลายเชื้อได้ นิยมใช้ทดสอบเชื้อที่เจริญได้ช้า ใช้ยืนยันผลวิธี Diffusion ที่ให้ความไวปานกลางหรือดีเยี่ยมเพื่อว่าจะสามารถใช้สารป้องกันนั้นในความเข้มข้นที่สูงได้ และใช้ทดสอบความไวของเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้อากาศในการดำรงชีพ หลักการโดยทั่วไปของวิธีการทดสอบทั้งแบบ Broth และ Agar Dilution Susceptibility Test จะคล้ายคลึงกัน คือ เลียงเชื้อที่ต้องการทดสอบในอาหารเลียงเชื้อซึ่งมีสารป้องกันในปริมาณต่างๆ ผสมอยู่และสังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อในอาหารที่เลียง ตรวจสอบผลโดยการเจริญของเชื้อจากความขุ่นใสของอาหารเหลวหรือไม่มีการเจริญเติบโตบนวุ้น ค่าความเข้มข้นของสารป้องกันที่เชื้อไม่เจริญถือเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC)

1.1) Broth Dilution Test เป็นการทดสอบหาความไวของเชื้อที่ละเอียดวิธีหนึ่ง การทดสอบนี้จะทำให้ทราบค่า MIC และ MLC ของสารป้องกันนั้นๆ กับเชื้อทดสอบ หลักการคือ เลียงเชื้อที่ต้องการทดสอบในอาหารเลียงเชื้อเหลว ซึ่งมีสารป้องกันในปริมาณต่างๆ และสังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อ โดยสามารถแบ่งเป็น

- Broth Macrodilution Test จะทำในหลอดทดลองโดยทำการเจือจางสารป้องกันด้วยตัวทำละลายหรืออาหารเหลวในลักษณะลดลงทุกๆ 2 เท่า จนปริมาตรสุดท้ายที่อยู่ในหลอดเท่ากับ 0.5 มิลลิลิตร และต้องมีหลอดควบคุมที่ไม่มีสารป้องกันด้วย

- Broth Microdilution Test ทำใน Microtiter Plate 96-well โดยเจือจางสารป้องกันด้วยตัวทำละลาย มีหลุมควบคุมเป็นตัวทำละลายที่ไม่มีสารป้องกัน ในแต่ละหลุมจะมีปริมาตร 50 ไมโครลิตร

1.2) Agar Dilution Test เป็นการทดสอบหาความไวของเชื้อแบบปริมาณวิเคราะห์ โดยมีหลักการคล้ายคลึงกับ Broth Dilution Method ต่างกันเพียงชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่านั้น กล่าวคือ ทำการทดสอบโดยการเจือจางสารป้องกันในอาหารร่วนและถ่ายเชื้อลงบนผิวของอาหารร่วน ข้อดีคือ สามารถทำการทดสอบเชื้อหลายชนิดบนอาหารเลี้ยงเชื้อจานเดียวกันได้ วิธีนี้สามารถหาค่า MIC ได้ แต่ไม่สามารถหาค่า MLC ได้ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารป้องกันที่ไม่พบการเจริญของเชื้อคือ MIC

2) Agar Diffusion Test

วิธีที่ใช้กันแพร่หลายที่สุดคือ Disc Diffusion Method (Kirby-bauer) เนื่องจากสะดวก ประหยัด และใช้เวลาน้อยกว่าวิธีอื่น วิธีนี้เป็นการทดสอบเชิงคุณภาพ สามารถบอกผลได้ว่าเชื้อมีความไวต่อการทดสอบหรือไม่ แต่ไม่อาจทราบค่า MIC หรือ MLC ได้ ไม่เหมาะสำหรับเชื้อที่เจริญช้าและเชื้อที่ไม่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีพ หลักการคือ การทำให้สารป้องกันที่มีในแผ่นกระดาษกรอง (Paper Disc) ที่เตรียมไว้ซึมเข้าไปในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้กระจายเชื้อ (Spread) ไว้ในจำนวนที่เหมาะสมแล้วนำไปเพาะเลี้ยงให้เชื้อเจริญเติบโต แปลผลการทดสอบโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition Zone ซึ่งจะเป็นวงกลมใสไม่มีเชื้อรอบๆ แผ่น ความสามารถในการยับยั้งเชื้อแปรผันตามขนาดของ Inhibition Zone วิธีการนี้มักใช้ทดสอบสารป้องกันเพียงความเข้มข้นเดียวและใช้ตรวจฤทธิ์การต้านเชื้อของสารป้องกันเบื้องต้น โดยนอกจากขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดังกล่าวจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความไวของเชื้อที่ทดสอบแล้ว ยังอาจขึ้นกับขนาดโมเลกุลของสารป้องกัน ภาวะความเป็นกรด-ด่าง และส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อตลอดจนระยะเวลาในการเพาะเชื้อ

2.5 การรักษาไม้ (Preservative-treated Wood)

ไม้เป็นวัสดุจากธรรมชาติ ดังนั้นย่อมชำรุดเสียหายตามสภาพแวดล้อม และเสียหายจากแมลงและเชื้อราได้ เพื่อป้องกันความเสียหายดังกล่าว จึงจำเป็นต้องมีวิธีการดูแลรักษาเนื้อไม้เพื่อยืดอายุการใช้งาน

2.5.1 น้ำยารักษาไม้

สารเคมีหลายชนิดสามารถใช้ป้องกันรักษาเนื้อไม้ได้ สารเหล่านี้อาจใช้เพียงชนิดเดียวหรือร่วมกับสารอื่นและมีหลายชนิดที่เป็นผลพลอยได้จากโรงงานอุตสาหกรรม แต่ในบรรดาสารเคมีเหล่านี้มีเพียงไม่กี่ชนิดเท่านั้นที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันรักษาไม้และไม่ก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม คุณสมบัติที่สำคัญของน้ำยารักษาไม้ (ทรงกลด, 2553) ได้แก่

- ปลอดภัยหรือเป็นอันตรายต่อผู้น้อยที่สุด
- มีประสิทธิภาพสูง ต้องเป็นพิษกับศัตรูทำลายไม้
- คงทนอยู่ในเนื้อไม้ได้นาน
- ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่อเนื้อไม้ เช่น สี ความแข็ง
- ค่าใช้จ่ายไม่สูง คู่กับความต้องการรักษาเนื้อไม้

น้ำยารักษาเนื้อไม้ที่ประกอบด้วยสารหลายชนิด มีฤทธิ์ป้องกันเชื้อราและแมลงได้ดีกว่าน้ำยาที่มีสารป้องกันเพียงชนิดเดียว ทั้งนี้เพราะเชื้อราและแมลงบางชนิดมีความต้านทานต่อสารเคมีบางอย่าง โดยสามารถแบ่งน้ำยารักษาไม้ออกเป็น 3 ประเภท ดังนี้

1) ประเภทน้ำมัน (Tar-oil Preservative) มีฤทธิ์ทำลายศัตรูทำลายไม้สูงและคงทนอยู่ในเนื้อไม้ได้นาน แต่ทำให้ไม้เปลี่ยนสี มีกลิ่นฉุน ไม่สามารถทาสีหรือน้ำยาเคลือบเงาได้ ไม่เหมาะสำหรับการอาบน้ำยาสำหรับไม้ที่ใช้ในการก่อสร้างที่อยู่อาศัย สำนักงาน และภาชนะบรรจุอาหาร อย่างไรก็ตาม น้ำยาประเภทนี้เหมาะกับการใช้ประโยชน์กลางแจ้ง เช่น เสาไฟฟ้า เสาโทรศัพท รั้ว และคอกปศุสัตว์ น้ำมันที่สำคัญ ได้แก่ ครีโอโซต (Creosote) เป็นน้ำยาที่เป็นผลพลอยได้จากถ่านหิน น้ำมันปิโตรเลียม และแก๊สหุงต้ม

2) ประเภทเกลือเคมีละลายน้ำ (Water-borne Preservative) น้ำยาประกอบด้วยสารเคมีละลายน้ำได้หลายชนิดทั้งชนิดสารเคมีตัวเดียวและชนิดผสมกัน จำแนกได้ 4 ประเภท คือ

- กลุ่มที่ใช้งานภายนอกหรือใช้กับงานไม้ที่อยู่นอกอาคาร น้ำยากลุ่มนี้มักมีส่วนผสมของเกลือโครเมต ซึ่งเป็นตัวช่วยให้สารตัวอื่นๆ เกาะแน่นไม้ไม่ถูกชะล้าง ได้แก่ แอซิดคอปเปอร์โครเมต (Acid Copper Chromate, ACC) แอมโมเนียคัลคอปเปอร์อาร์เซเนต (Ammoniacal Copper Arsenate, ACA) โครเมตคอปเปอร์อาร์เซเนต (Chromated Copper Arsenate, CCA) คอปเปอร์โครมโบรอน (Copper Chrome Boron, CCB) ฟลูออโรโครมอาร์เซเนตฟีนอล (Fluor Chrome Arsenate Phenol, FCAP)

- กลุ่มที่ใช้อาบน้ำยาไม้สดตามวิธีการจุ่มแล้วหมัก มักเป็นพวกเกลือ ได้แก่ สารประกอบโบรอน โซเดียมฟลูออไรด์ โบรอนฟลูออไรด์ของแอมโมเนียม และส่วนผสมของโบรอน

ฟลูออไรด์อะเซนิค (Boron Fluoride Arsenic, BFCA) ไม้ที่อบด้วยน้ำยาชนิดนี้จะต้องมีความชื้นและความเข้มข้นสูงหรือผสมสารบางอย่างให้มีลักษณะชั้นเพื่อติดกับเนื้อไม้ได้ดี

- กลุ่มที่ใช้ในที่ร่มหรือไม้ที่ใช้ในอาคาร น้ำยาใช้อบผิวไม้บริเวณผิว (Surface Treatment) โดยวิธีการทาหรือพ่น น้ำยาที่ใช้กับวิธีนี้จะต้องมีความเป็นพิษสูงและไม่ระเหยง่ายเพื่อจะได้ป้องกันไม้เป็นระยะเวลานานสำหรับใช้ทำลังบรรจุผลไม้

3) ประเภทเกลือเคมีละลายในสารละลายอื่น น้ำยาป้องกันประเภทนี้ประกอบด้วยสารเคมีอย่างน้อย 1 ชนิด ละลายอยู่ในสารละลายอื่นที่ไม่ใช่น้ำ สารเคมีที่นิยมใช้กันมากที่สุดคือ Tributyltin oxide (TBTO) และ Metallic Napthenate

2.5.2 การอัดน้ำยาและอบน้ำยาไม้ (Dean R. Prestemon, 1994) และ (ทรงกลด, 2553)

วิธีที่สามารถยืดอายุการใช้งานไม้คือ การอัดน้ำยาและอบน้ำยา ไม้ที่ผ่านวิธีดังกล่าวแล้วจะมีความทนทานสูงกว่าไม้ธรรมชาติถึงหลายเท่าตัว โดยสามารถแบ่งตามวิธีการป้อนน้ำยาเข้าสู่ไม้ออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่

1) การรักษาแบบใช้ความดัน (Pressure Process) เป็นวิธีการที่ใช้ความดันสูงกว่าอัดสารป้องกันเข้าสู่เนื้อไม้ เรียกว่า การอัดน้ำยาไม้ เป็นการอบน้ำยาโดยใช้เครื่องจักรที่มีฝาปิดสามารถต้านทานต่อแรงอัดได้สูง เรียกว่า ถังอัดน้ำยา ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 1.8-2.7 เมตร ยาว 4.5 เมตรขึ้นไป แบ่งเป็น

- วิธีการแบบเต็มเซลล์ (Full-cell Process) เป็นวิธีที่ให้ไม้ซึมสารป้องกันให้ได้มากที่สุดในช่วงที่ใช้ความดันจึงทำให้ความเข้มข้นของสารป้องกันบนไม้สูงด้วย โดยจะให้น้ำยาเข้าไปจนเต็มช่องว่างของเซลล์เนื้อไม้และซึมไปตามผนังเซลล์ การอัดน้ำยาแบบนี้จะเหมาะกับการอัดน้ำยาประเภทเกลือเคมีละลายน้ำ เช่น สารเคมีจำพวกบอเรต หรือ โบรอน

- วิธีการแบบไม่เต็มเซลล์ (Empty-cell Process) น้ำยาจะเข้าไปในเนื้อไม้พอควรเพียงให้น้ำยาซึมเข้าไปในผนังเซลล์ส่วนในช่องเซลล์ของเนื้อไม้ยังคงว่างอยู่ วิธีการนี้เหมาะกับการอัดน้ำยาประเภทน้ำมันเพราะตัวยาจะเข้าไปในเนื้อไม้ได้ดี

- วิธีการแบบความดันผันผวน (Fluctuation Pressure Process) เป็นวิธีที่ตรงข้ามกับวิธีการแบบเต็มเซลล์และไม่เต็มเซลล์ ความดันภายในถังจะเปลี่ยนแปลงระหว่างความดันค่าหนึ่งและสุญญากาศภายในไม่กี่วินาที แต่วิธีการนี้จำเป็นต้องมีอุปกรณ์พิเศษจึงทำให้ต้นทุนสูง

2) การรักษาแบบไม่ใช้ความดัน (Non-pressure Process) การนำกระบวนการแปร โดยไม่ใช้ความดันไปใช้สำหรับบางการใช้งาน ซึ่งน้ำยาจะซึมเข้าไปในไม้ปริมาณเล็กน้อยเพียงใดขึ้นกับชนิดและความแข็งของเนื้อไม้ แบ่งออกเป็น

- การทาและการพ่น (Brush and Spray Treatments) เป็นวิธีการรักษาที่มักใช้ในงานไม้ในปัจจุบัน โดยมีการพัฒนาเทคโนโลยีในการพ่นสารป้องกันไปยังผิวของไม้ น้ำยาจะซึมเข้าไปในไม้ได้บ้างในทางพอร์ (Pore) มักใช้งานร่วมกับน้ำยาประเภทน้ำมันหรือเกลือเคมีละลายในสารละลายอื่นเพราะติดผิวไม้ได้ดีกว่าพวกละลายในน้ำ แต่การซึมของน้ำยาในวิธีการนี้ก็ยังไม่เหมาะในการรักษาไม้ระยะยาวจึงจำเป็นต้องทาหรือฉีดพ่นทับอย่างน้อย 2-3 ชั้น

- การจุ่ม (Dipping) วิธีการแช่ไม้ในสารป้องกันเป็นเวลาไม่นาน (วินาทีหรือนาที) คล้ายกับการทาและการฉีดพ่น การอาบน้ำยาไม้ประเภทนี้ใช้สำหรับไม้ที่ใช้งานชั่วคราว ไม้ที่ใช้งานในที่ร่มและไม้ที่ต้องการทาสีหรือน้ำมันชักเงาทับอีกครั้งหนึ่ง ไม้ที่อาบน้ำยาจะต้องเป็นไม้แห้งเช่นเดียวกับวิธีแรก วิธีการนี้ น้ำยาจะซึมเข้าไปในเนื้อไม้ได้ดีกว่าและไม่จำเป็นต้องใช้แรงงานคนมากแต่ต้องการอุปกรณ์และปริมาณของสารป้องกันที่สูง ไม้ที่จุ่มน้ำยาอย่างดีแล้วจะใช้งานได้นานถึง 2-4 ปี

- การแช่ (Steeping) เป็นการแช่ไม้แห้งหรือไม้สดในถังผสมระหว่างน้ำและสารป้องกันเป็นเวลานาน (วันหรือสัปดาห์) การแช่ไม้สดจะใช้เฉพาะกับน้ำยาประเภทเกลือเคมีละลายในน้ำเท่านั้นและน้ำยาก็จะต้องมีความเข้มข้นสูงกว่าน้ำยาที่ใช้กับไม้แห้ง ส่วนไม้แห้งจะใช้น้ำยาประเภทใดก็ได้แล้วแต่ความเหมาะสม น้ำยาจะซึมเข้าไปในไม้ได้ดีและเร็วมากในช่วงแรก ยิ่งแช่นานเท่าใดประสิทธิภาพก็จะดีขึ้นด้วย โดยวิธีนี้เหมาะสำหรับการรักษาไม้ที่นำไปใช้ทำเสา

- การแช่ในน้ำยาร้อนและน้ำยาเย็น (Hot and Cold Bath, Hot and Cold Open Tank, Thermal Process หรือ Open Tank Process) วิธีนี้เป็นการรักษาไม้โดยการต้มไม้ในถังเปิดที่บรรจุน้ำยาเรียบร้อยแล้วต้มให้ร้อน จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้องและแช่ในน้ำยาเย็นประมาณ 1-12 ชั่วโมง น้ำยาที่ใช้ส่วนใหญ่จะเป็นประเภทน้ำมัน เช่น ครีโอลอสต เพราะสามารถต้มได้ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ส่วนน้ำยาพวกเกลือเคมีละลายน้ำไม่เป็นที่นิยมเพราะหากต้มที่อุณหภูมิสูงเกิน 600 องศาเซลเซียส จะทำให้ตัวบางชนิดสลายตัวหรือตกตะกอน

- กรรมวิธีบูเชอริ (Boucherie Process) เรียกตามชื่อผู้คิดค้นคือ ดร. บูเชอริ ชาวฝรั่งเศส วิธีการนี้เป็นการอาบน้ำยาไม้ก่อนกลมหั้วเปลือกที่ตัดใหม่ ๆ อุปกรณ์ที่ใช้ประกอบด้วย ถังหรือถังบรรจุน้ำยา ท่อปล่อยน้ำยา สายยาง และที่สำหรับสวมเข้ากับโคนท่อนไม้ (Cap) น้ำยาที่ใช้เป็นประเภทเกลือเคมีละลายน้ำเท่านั้น ทำโดยตั้งถังบรรจุน้ำยาให้สูงจากพื้นดินประมาณ 5 เมตร แล้วปล่อยให้น้ำยาลงตามท่อมายังส่วนที่สวมเข้ากับโคนท่อนไม้ โดยวางให้ด้านโคนสูงกว่าด้านปลายเล็กน้อย อาศัยน้ำหนักของน้ำยาดันตัวน้ำยาเข้าสู่เนื้อไม้เพื่อแทนที่น้ำเลี้ยงในท่อนไม้ ท่อนไม้ที่นำมาอาบน้ำยาคควรมีประมาณ 1.5-2 เมตร ถ้าหากไม้มีความยาวมากอาจต้องใช้แรงดันช่วยอัดน้ำยา

2.6 ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการนำผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติมาประยุกต์ใช้ในการป้องกันเชื้อราและแมลงสามารถสรุปเป็นข้อมูลประกอบการวิจัย มีดังนี้

1) น้ำมันหอมระเหยกับการป้องกันเชื้อรา

Soliman และคณะ (2002) ศึกษาผลของน้ำมันจากพืชสมุนไพร 12 ชนิด เพื่อใช้ในการต้านเชื้อรา *Aspergillus flavus* *A. parasiticus* *A. ochraceus* และ *Fusarium moniliforme* โดยน้ำมันอบเชย (Cinnamon) และน้ำมันไทม์ (Thyme) ความเข้มข้น ≤ 500 ppm น้ำมันดาวเรือง (Marigold) ความเข้มข้น ≤ 2000 ppm น้ำมันสะระแห่น (Spearmint) น้ำมันโหระพา (Basil) และน้ำมันควอสซัม (Quyssum) ความเข้มข้น 3000 ppm สามารถยับยั้งเชื้อราทุกชนิดได้สมบูรณ์ ส่วนน้ำมันยี่ห่วย (Caraway) ความเข้มข้น 2000 ppm สามารถต้านเชื้อรา *A. flavus* *A. parasiticus* และความเข้มข้น 3000 ppm ต้านเชื้อรา *A. ochraceus* *F. moniliforme* ซึ่งเชื้อราทั้งสี่ชนิดนี้สามารถยับยั้งด้วยน้ำมันโป๊ยกั๊ก (Anise) ที่ความเข้มข้น ≤ 500 ppm อย่างไรก็ตาม น้ำมันคาโมมายล์ (Chamomile) และน้ำมันฮาซานบูล (Hazanbul) ที่ทุกความเข้มข้นสามารถยับยั้งเชื้อราได้เพียงบางส่วนเท่านั้น ผลดังกล่าวบ่งชี้ว่า เชื้อราที่มีความไวต่อน้ำมันหอมระเหยทั้ง 12 ชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำมันไทม์และน้ำมันอบเชย ผลการทดลองยังแสดงอีกว่าน้ำมันไทม์ น้ำมันอบเชย น้ำมันโป๊ยกั๊ก และน้ำมันสะระแห่นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราและสามารถนำไปพัฒนาใช้กับการรักษาข้าวสาลีได้

ภัสจันท์ และคณะ (2553) ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันกานพลู และน้ำมันอบเชยที่สกัดโดยการต้มกลั่น ในการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus niger* *Aspergillus terreus* *Aspergillus fumigatus* และ *Aspergillus sp.* ซึ่งในน้ำมันกานพลูมีสารสำคัญ คือ ยูจีนอล (ร้อยละ 72.87) ทรานส์-คาร์ไอโพลีน (ร้อยละ 22.55) α -ฮูมูลิน (ร้อยละ 2.59) ไอโซยูจีนอล (ร้อยละ 0.3) และ คาร์ไอโพลีน ออกไซค์ (ร้อยละ 0.26) และน้ำมันอบเชยมีสารสำคัญ คือ เมทิลซินนามेट (ร้อยละ 60.02) ทรานส์-ซินนามอลดีไฮด์ (ร้อยละ 22.83) 1,8-ซินีออล (ร้อยละ 1.99) ไลมอนีน (ร้อยละ 0.30) ไพนีน (ร้อยละ 0.06) และแคมเฟิน (ร้อยละ 0.59) เมื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus spp.* พบว่าน้ำมันอบเชยสามารถยับยั้งเชื้อราได้ใกล้เคียงกับน้ำมันกานพลู โดยความเข้มข้นของน้ำมันอบเชย 100 ppm สามารถยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus niger* *Aspergillus terreus* และ *Aspergillus sp.* ได้ที่ค่า Clear Zone เท่ากับ 72.7 65.33 และ 78.25 มิลลิเมตร ตามลำดับ สำหรับน้ำมันอบเชย ความเข้มข้น 30 ppm มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* ได้ดีโดยไม่มีการเจริญของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

Prasertsit และคณะ (2551) ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำส้มควันไม้จากกะลามะพร้าวเพื่อเป็นสารตัวเติมในผลิตภัณฑ์ยาง ทำการทดลองโดยใช้น้ำส้มควันไม้ที่ความเข้มข้นต่างๆ กันในยางแท่งและยางแผ่น จากผลการทดลองพบว่า น้ำส้มควันไม้เพิ่มประสิทธิภาพต่างๆ ของยาง และยังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราอีกด้วย

Caccioni และคณะ (1998) ศึกษาผลการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium digitatum* และ *Penicillium italicum* ของสารระเหยจากผลไม้จำพวกส้ม วิเคราะห์องค์ประกอบด้วย Gas Chromatography (GC) และ Gas Chromatography/Mass Spectroscopy (GC/MS) และระบุประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราของสารทดสอบจากอัตราการลดลงของเชื้อรา ผลการทดสอบพบว่า การยับยั้งเชื้อราจะสัมพันธ์กับสาร โมโนเทอร์ปีนมากกว่าสาร ไลโมนีนหรือซีควิเทอร์ปีนในองค์ประกอบของน้ำมัน โดยน้ำมันซิเทรจซึ่งมีการรายงานองค์ประกอบไว้ก่อนหน้านี้น้ำมันมะนาวสามารถยับยั้งได้ดีที่สุด นอกจากนี้ เชื้อรา *P. digitatum* ยังพบว่ามีแนวโน้มไวต่อการยับยั้งกว่าเชื้อรา *P. italicum*

2) การป้องกันเชื้อราบนไม้อบแห้ง

Matan และ Matan (2008) ศึกษาการยับยั้งเชื้อราที่พบบนไม้ยางพารา (*Aspergillus niger Penicillium chrysogenum* และ *Penicillium sp.*) ด้วยน้ำมันโป๊ยกั๊ก (Anise) น้ำมันมะนาว (Lime) และน้ำมันส้มเขียวหวาน (Tangerine) ใช้วิธีผสมในอาหารเหลว (Broth Dilution Method) เพื่อวัดค่า MIC และ MFC ซึ่งใช้ความเข้มข้น 20-200 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ผลของน้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งเชื้อราพิจารณาจากวิธีการรักษาไม้ยางพาราโดยวิธีการจุ่มและใช้ความดัน ค่า MIC และค่า MFC ของแต่ละงานเพาะเชื้อแทนสถานะทดสอบ พบว่าน้ำมันโป๊ยกั๊กให้ผลการยับยั้งดีที่สุด ค่า MIC และค่า MFC ในการต้านเชื้อรา *A. Niger* และ *Penicillium sp.* เท่ากับ 40 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร และเชื้อรา *P. Chrysogenum* เท่ากับ 60 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ส่วนน้ำมันมะนาวและน้ำมันส้มเขียวหวานสามารถยับยั้งเชื้อราได้เช่นกัน แต่ใช้ความเข้มข้นที่สูงกว่าประมาณ 100-180 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร น้ำมันหอมระเหยทั้งหมดที่ค่า MIC และ MFC ดังกล่าวสามารถป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อราบนไม้ยางพาราอย่างน้อย 12 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100

Matan และ Matan (2007) ศึกษาการยับยั้งเชื้อราที่พบบนไม้ยางพารา (*Aspergillus niger Penicillium chrysogenum* และ *Penicillium sp.*) โดยใช้น้ำมันอบเชยและน้ำมันกานพลูและอัตราส่วนผสม 1:1 1:3 1:5 1:7 3:1 5:1 และ 7:1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ความเข้มข้น

10-100 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร อัตราส่วนที่สูงกว่าของน้ำมันอบเชย (3:1 5:1 และ 7:1) สามารถยับยั้งเชื้อราได้ดีกว่าอัตราส่วนที่ต่ำของน้ำมันอบเชย (1:1 1:3 1:5 และ 1:7) หรือน้ำมันอบเชยและน้ำมันกานพลูเพียงอย่างเดียว ค่า MIC สำหรับเชื้อราทุกชนิดที่อัตราส่วนผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและน้ำมันกานพลู 5:1 เท่ากับ 50 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร อัตราส่วนดังกล่าวยังนำไปทดสอบกับไม้ยางพาราตัวอย่างที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100 พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อราทุกชนิดเป็นเวลา 12 สัปดาห์ภายใต้สภาวะทดสอบ

วิระพงษ์ และคณะ (2550) ประสิทธิภาพของสารธรรมชาติในการป้องกันเชื้อราที่บริเวณผิวของไม้ยางพาราและปลวก โดยใช้สาร 2 กลุ่มคือ กลุ่มสารสกัดจากใบจีเหล็ก ใบสะเดา ใบฟ้าทะลายโจร และเถาอบระพีติศ และกลุ่มสารสกัดน้ำมันหอมระเหย 4 ชนิดคือ น้ำมันยูคาลิปตัส น้ำมันเมล็ดงา น้ำมันจากไม้ซีดาร์ และน้ำมันจากใบสะระแหน่ นำสารทั้ง 2 กลุ่มมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งและทำลายเชื้อรา 4 ชนิด คือ *Aspergillus niger* *Penicillium chrysogenum* *Penicillium sp.* และ *Trametes versicolor* พบว่า น้ำมันใบสะระแหน่และน้ำมันยูคาลิปตัสมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อราได้เป็นดีที่ความเข้มข้น 300-600 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร น้ำมันที่ความเข้มข้นดังกล่าวมาทดสอบการยับยั้งเชื้อราบนไม้ยางพาราพบว่า สามารถป้องกันได้นานถึง 30 วัน นอกจากนี้ ผลการทดสอบการกัดกินของปลวกพบว่า น้ำมันหอมระเหยทั้งสองชนิดสามารถป้องกันและมีประสิทธิภาพสูงถึงร้อยละ 99.9 เมื่อนำใบชาไปเก็บในภาชนะบรรจุไม้ยางพาราที่ผ่านการอบด้วยน้ำมันหอมระเหยทั้งสองชนิดแล้วนำไปทดสอบความชอบทางด้านประสาทสัมผัส โดยใช้ Hedonic Scale พบว่า ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบต่อสีและความรู้สึกหลังดื่มชาไม่แตกต่างจากน้ำชาที่ได้จากใบชาที่เก็บไว้ในกล่องที่ไม่ได้อาบด้วยน้ำมันหอมระเหย ($P < 0.05$) ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่า น้ำมันใบสะระแหน่และน้ำมันยูคาลิปตัสสามารถนำมาใช้ในการป้องกันเชื้อราและปลวกบนไม้ยางพารารวมถึงบรรจุภัณฑ์ไม้ที่ใช้ใส่ใบชาโดยไม่ทำให้ใบชาเกิดการเปลี่ยนแปลง

Yang และคณะ (2007) ศึกษาผลการยับยั้งเชื้อราจากสารสกัดธรรมชาติโดยใช้ น้ำมันจากพืช 7 ชนิดคือ อัจวาน (Ajowan) เมล็ดผักชีลาว (Dill Weed) เจอร์เรเนียม (Egyptian Geranium) ตะไคร้ (Lemongrass) โรสแมรี่ (Rosemary) ทีทรี (Tea tree) และ ไธม์ (Thyme) ในการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus niger* *Trichoderma viride* และ *Penicillium chrysogenum* ที่ขึ้นบนไม้สนสีเหลืองทางใต้ (Southern Yellow Pine, SYP) ด้วยวิธีการจุ่มและอบไอน้ำ พบว่าน้ำมันไธม์และน้ำมันเจอร์เรเนียม สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราทุกชนิดเป็นเวลา 20 สัปดาห์ เช่นเดียวกับน้ำมันเมล็ดผักชีลาว เมื่อเปรียบเทียบการทดลองเพาะเชื้อรา 2 ประเภท-จานเพาะเชื้อและไม้ทดสอบ ให้ผล

ที่คล้ายคลึงกันสำหรับน้ำมันไธม์ ซึ่งเป็นการยืนยันคุณสมบัติของน้ำมันหอมระเหยสำหรับการปกป้องผิวไม้ทั้งการจุ่มหรืออบไอน้ำ

นฤตวรรัช และอุบลวรรณ (2552) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการปรับปรุงคุณภาพไม้ยางพารา ก่อนเข้าสู่การแปรรูป โดยทดสอบคุณสมบัติสารที่ทำการด้วยความดันเข้าสู่เนื้อไม้ รวมถึงสภาวะที่เหมาะสมในการอบไม้ยางพาราที่ผ่านการอัดน้ำยาแล้ว ให้มีคุณสมบัติทางกายภาพดีขึ้นด้วย จากการทดลองยับยั้งเชื้อราพบว่า ไม้ยางพาราที่ผ่านการอัดด้วยน้ำส้มสายชูที่มีความเข้มข้นร้อยละ 25 โดยปริมาตร ภายใต้อุณหภูมิ 80 psi เป็นเวลา 1 ชั่วโมง สามารถยับยั้งเชื้อราในไม้ได้เป็นอย่างดี

2) การป้องกันเชื้อราบนไม้ทาสี

Matan (2008) ศึกษาการต้านเชื้อราในสีน้ำผสมด้วยน้ำมันอบเชย น้ำมันกานพลู น้ำมันตะไคร้หอม น้ำมันโป๊ยกั๊ก น้ำมันส้ม น้ำมันขมิ้น น้ำมันลูกจันทน์เทศ เป็นต้น ในการต้านราจุขาว (*Trametes versicolor*) ที่พบในไม้ยางพารา ใช้วิธี Agar dilution method เพื่อพิจารณาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อรา (MIC) โดยผสมกับน้ำมันหอมระเหยที่อัตราส่วน 1:1 1:2 และ 1:4 จากการทดลองพบว่า น้ำมันอบเชย น้ำมันกานพลู และน้ำมันโป๊ยกั๊ก มีประสิทธิภาพสูงสุดที่อัตราส่วน 1:4 การหุงของเชื้อรา *T. versicolor* บนไม้ยางพาราทดสอบตาม ASTM D1413-05b หลังจากทำการทดสอบเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100 แล้วพิจารณาน้ำหนักที่หายไปเฉลี่ยของแต่ละตัวอย่าง ผลการทดลองบ่งชี้ว่า ไม้ยางพาราที่ผ่านการป้องกันด้วยสีน้ำผสมน้ำมันหอมระเหยดังกล่าวที่อัตราส่วน 1:4 สามารถยับยั้งเชื้อราได้ดีมาก ซึ่งอาจเป็นเพราะสีน้ำผสมน้ำมันหอมระเหยมีศักยภาพในการป้องกันไม้ยางพาราจากการเข้าทำลายของเชื้อรา *T. versicolor* ได้

Hochmannova และ Vytrasova (2010) ศึกษาองค์ประกอบหลักของสีทาภายใน คือ ไทเทเนียมไดออกไซด์แบบรูไทน์ (Rutile Titaniumdioxide, TiO) และสารตัวเติมพิเศษอื่นๆ เช่น ซิงค์ออกไซด์ (Nano Zinc oxide, ZnO) และไทเทเนียมไดออกไซด์แบบอนาเทสตา (Anatase Titaniumdioxide) ใช้วิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อในวุ้นเพื่อทดสอบการต้านเชื้อจุลินทรีย์ (แบคทีเรีย : *Escherichia coli* *Staphylococcus aureus* และ *Pseudomonas aeruginosa* และเชื้อรา *Aspergillus niger* และ *Penicillium chrysogenum*) จากการทดลองพบว่า ZnO เป็นสารที่สามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ด้วย นอกจากนี้ยังทำการทดสอบความแตกต่างทางสถิติระหว่างตัวควบคุมและ ZnO โดยวิธี Rank-sum

บทที่ 3

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุ

3.1.1 ไม้ยางพาราอบแห้งและไม้ยางพาราทาสี ได้รับความอนุเคราะห์จาก บริษัท แพลนทอยส์ จำกัด ตั้งอยู่ที่ ต.ทุ่งกระปือ อ.ย่านตาขาว จ.ตรัง ความชื้นของไม้ยางอบแห้งร้อยละ 16 ± 2 และความชื้นของไม้ยางพาราทาสีร้อยละ 10 ± 2 ดังภาพประกอบที่ 3.1



ภาพประกอบที่ 3.1 ลักษณะของไม้ยางพาราตัวอย่าง

3.1.2 น้ำมันโป๊ยกั๊ก น้ำมันอบเชย และน้ำมันกานพลู ลักษณะดังภาพประกอบที่ 3.2 จากบริษัท ลาฟิส ทรอปิคัลสไปา โพรดักส์ จำกัด ตั้งอยู่ที่ แขวงลุมพินี เขตปทุมวัน จ. กรุงเทพมหานคร



(ก)



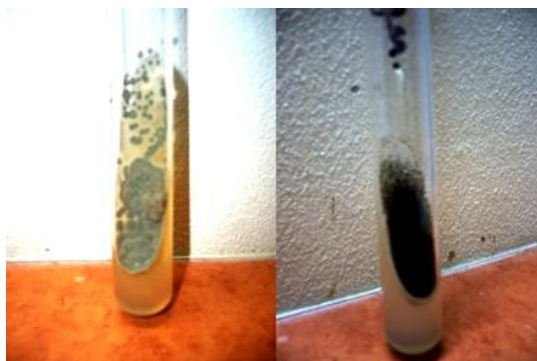
(ข)



(ค)

ภาพประกอบที่ 3.2 ลักษณะของน้ำมัน โป๊ยกั๊ก (ก) น้ำมันอบเชย (ข) และน้ำมันกานพลู (ค)

3.1.3 เชื้อราฟิวไม้อ่ายพันธุ์ *Penicillium sp.* และ *Aspergillus niger* ได้รับความอนุเคราะห์จากภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ เพาะด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Potato Dextrose Agar (PDA) เป็นเวลา 10 วัน ดังภาพประกอบที่ 3.3



ภาพประกอบที่ 3.3 ลักษณะของเชื้อราสายพันธุ์ *Penicillium sp.* และ *Aspergillus niger*

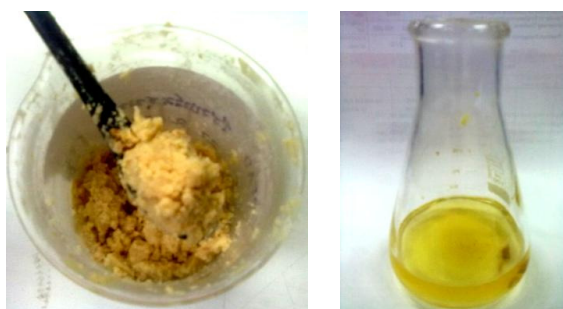
3.1.4 สารเคมีที่ใช้เป็นตัวทำละลาย มีดังนี้

1) เมทิลแอลกอฮอล์ (Methyl Alcohol) จากบริษัทยูนิวาร์ (UNIVAR) เกรดการค้า

2) เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl Alcohol) จากบริษัทยูนิวาร์ (UNIVAR) เกรดการค้า

3) น้ำมันปาล์ม (Palm oil) ที่ผ่านกระบวนการกลั่นแล้ว เกรดการค้า

4) ส่วนสกัดกรดไขมันปาล์ม (Palm Fatty Acid Distillate, PFAD) จากบริษัทชุมพรอุตสาหกรรมน้ำมันปาล์ม จำกัด วันที่ 22 มิถุนายน 2554 ถึงที่ 1/3 ปริมาณกรดไขมันอิสระร้อยละ 91.48 (ภาคผนวก ก.5) ละลายด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ด้วยอัตราส่วน 1:10 (w/v) ถ้า PFAD ละลายได้น้อยสามารถให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60-65 องศาเซลเซียส ดังในภาพประกอบที่ 3.4



ภาพประกอบที่ 3.4 ลักษณะของ PFAD ก่อนและหลังการละลายด้วยเอทิลแอลกอฮอล์

5) อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว (Nutrient Broth) จากบริษัท แลป-สแกน อะนาไลติคัล ไซน์ (Lab-Scan Analytical Science)

3.2 อุปกรณ์

3.2.1 อุปกรณ์ในขั้นตอนการหาความเข้มข้นของสปอร์เชื้อรา

- 1) อุปกรณ์ตรวจนับสปอร์ (Haemocytometer)
- 2) เข็มเขี่ยเชื้อ
- 3) หลอดหยด
- 4) บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิเมตร
- 5) ขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร และ 1000 มิลลิลิตร
- 6) กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light Microscope)

3.2.2 อุปกรณ์ในขั้นตอนการทดสอบในงานเพาะเชื้อ

- 1) งานเพาะเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร
- 2) บีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิเมตร และ 250 มิลลิลิตร
- 3) ขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร และ 250 มิลลิลิตร
- 4) ไมโครปิเปตขนาด 10-100 ไมโครลิตร
- 5) ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร
- 6) กระจกตวงขนาด 10 มิลลิลิตร และ 100 มิลลิลิตร
- 7) เตาไฟฟ้า (Heater)
- 8) ตู้บ่ม (Incubator)

3.2.3 อุปกรณ์ในขั้นตอนการทดสอบบนไม้อย่างพาราตัวอย่าง

- 1) บีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร
- 2) กระจกตวง 100 มิลลิลิตร
- 3) ปิเปตขนาด 10 มิลลิลิตร
- 4) นาฬิกาจับเวลา
- 5) เครื่องวัดความชื้นสัมพัทธ์ไม้
- 6) เครื่องวัดความชื้นสัมพัทธ์อากาศแบบกระดาษเปียก-กระดาษแห้ง
- 7) ภาชนะเก็บความชื้น
- 8) กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron

Microscopy; SEM, FEI Quanta 400) เพื่อสังเกตพื้นที่ผิวของไม้อย่างพาราตัวอย่าง

3.3 วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาประสิทธิภาพและอัตราส่วนผสมของน้ำมัน โป๊ยกั๊ก น้ำมันอบเชย และน้ำมันกานพลู ปรับปริมาณด้วยตัวทำละลายต่างๆ มีกิจกรรม 4 ขั้นตอนคือ

กิจกรรมที่ 1 ทดสอบการยับยั้งเชื้อราในจานเพาะเชื้อ

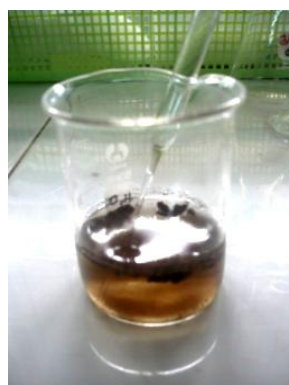
1.1 การเตรียมเชื้อรา

1) เชื้อราแต่ละชนิด

เชื้อราผิวไม้คือ *Penicillium sp.* และ *Aspergillus niger* เก็บเชื้อราโดยเทสารละลายน้ำเกลือ (โซเดียมคลอไรด์ 8.0 กรัม ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ผสมทวิน 80 โดยจากการทดลองเบื้องต้นพบว่า ที่อัตราส่วนดังกล่าวไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา) ให้ท่วมผิวหน้าของเชื้อรา แล้วใช้เข็มเย็บเชื้อเย้าย้ายเชื้อราแต่ละสายพันธุ์ นับจำนวนสปอร์ของเชื้อราด้วยอุปกรณ์นับจำนวนสปอร์ (Haemocytometer) จากนั้นเจือจางสปอร์ด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 10^7 สปอร์/มิลลิลิตร (ภาคผนวก ก.2) ดังแสดงในภาพประกอบที่ 3.5



(ก)



(ข)

ภาพประกอบที่ 3.5 ลักษณะของสารละลายสปอร์เชื้อรา *Penicillium sp.* (ก)

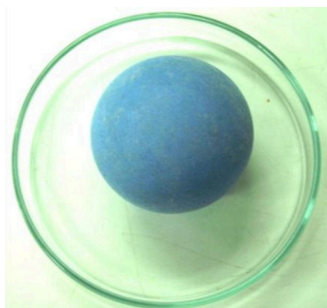
และ *Aspergillus niger* (ข) หลังจากเจือจางและปรับความเข้มข้น

2) เชื้อราผสม

เชื้อราผิวไม้ *Penicillium sp.* และ *Aspergillus niger* ในขั้นตอนที่ 1) ที่ความเข้มข้น 10^7 สปอร์/มิลลิลิตร นำมาผสมกันในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร

3) เชื้อราจากของเล่นไม้

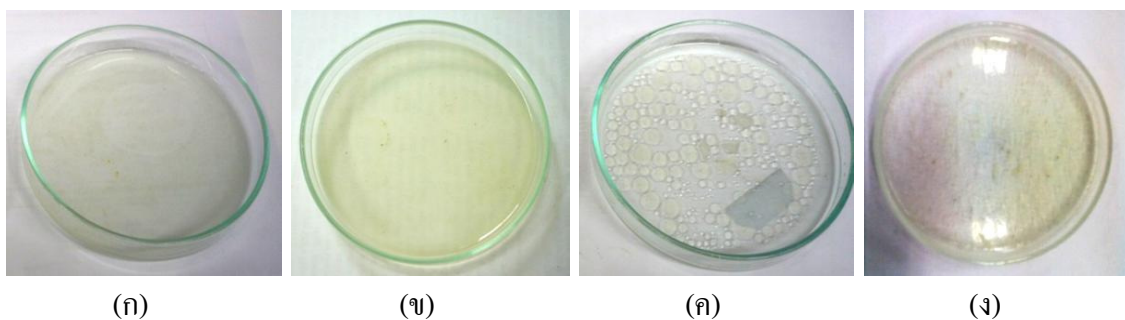
เชื้อราจากของเล่นไม้ เป็นเชื้อราผิวไม้ มีสีขาว ลักษณะแสดงดังภาพประกอบที่ 3.6 เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Nutrient Agar เป็นเวลา 10 วัน จากนั้นเก็บและปรับความเข้มข้นของสารละลายสปอร์ให้เท่ากับ 10^7 สปอร์/มิลลิลิตร



ภาพประกอบที่ 3.6 ลักษณะของเชื้อราที่เกิดขึ้นบนผิวของของเล่นไม้

1.2 การทดสอบเชื้อราในงานเพาะเชื้อ

1) ความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราแต่ละชนิด (Minimal Inhibitory Concentration, MIC)



ภาพประกอบที่ 3.7 ลักษณะของน้ำมันอบเชย 30 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย เมทิลแอลกอฮอล์ (ก) เอทิลแอลกอฮอล์ (ข) น้ำมันปาล์ม (ค) หรือสารละลาย PFAD (ง)

ใช้วิธีผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว (Broth dilution method) โดยการเตรียม น้ำมันโป๊ยกั๊ก น้ำมันอบเชย และน้ำมันกานพลู ในช่วงความเข้มข้น 30-110 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ในงานเพาะเชื้อ (Matan and Matan, 2008) เติมตัวทำละลายเมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์

น้ำมันปาล์ม หรือสารละลาย PFAD ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เติมหอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว 5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมหสารละลายสปอร์เชื้อราที่ความเข้มข้น 10^7 สปอร์/มิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ดังภาพประกอบที่ 3.7

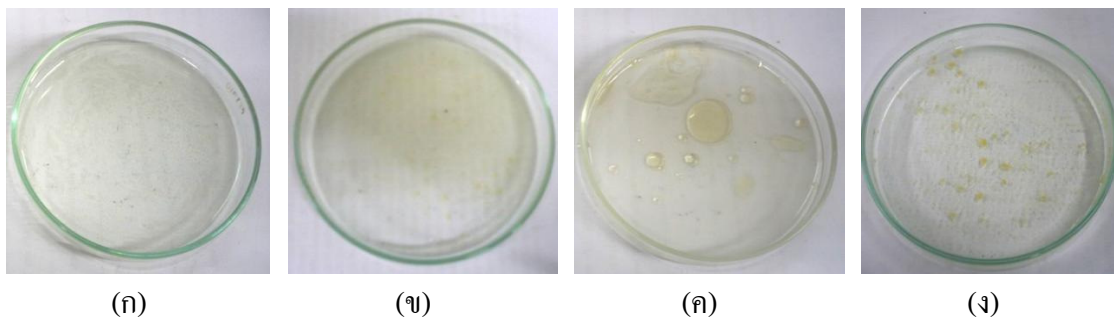
ตัวควบคุมในการทดลองคือ ตัวทำละลายแต่ละชนิดที่ไม่มีการเติมน้ำมันหอมระเหยใดๆ ทำการบ่มเลี้ยงเชื้อในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน เขย่าเพื่อให้ น้ำมันกระจายบนจานเพาะเชื้ออย่างทั่วถึง ทำการทดลองซ้ำสองครั้ง พิจารณาค่า MIC จากงานเพาะเชื้อที่ไม่เห็นการเจริญเติบโตของเชื้อรา (ค่า MIC ใช้พิจารณาต่อไปในกิจกรรมที่ 2) และบันทึกผลร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อราในแต่ละความเข้มข้น

2) ความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราผสม

เตรียมความเข้มข้น 30-110 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ของน้ำมัน โป๊ยก็๊ก น้ำมัน อบเชย และน้ำมันกานพลู ในจานเพาะเชื้อ เติมด้วยตัวทำละลายเมทิลแอลกอฮอล์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เติมหอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว 5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมหสารละลายสปอร์เชื้อราผสมที่เตรียมไว้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ตัวควบคุมในการทดลองคือ เมทิลแอลกอฮอล์ที่ไม่มีการเติมน้ำมันหอมระเหยใดๆ ทำการบ่มเลี้ยงเชื้อราในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน เขย่าเพื่อให้ น้ำมันกระจายบนจานเพาะเชื้ออย่างทั่วถึง ทำการทดลองซ้ำสองครั้ง พิจารณาค่า MIC จากงานเพาะเชื้อที่ไม่เห็นการเจริญเติบโตของเชื้อรา และบันทึกผลร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อราในแต่ละความเข้มข้น

3) อัตราส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งเชื้อราแต่ละชนิด

เตรียมอัตราส่วนผสมของน้ำมัน โป๊ยก็๊กต่อน้ำมันอบเชยต่อน้ำมันกานพลู ที่ 1:1:1 4:1:1 1:4:1 และ 1:1:4 โดยปริมาตร เติมด้วยตัวทำละลายเมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ น้ำมันปาล์ม หรือสารละลาย PFAD 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เติมหอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว 5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมหสารละลายสปอร์เชื้อราที่ความเข้มข้น 10^7 สปอร์/มิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร (Matan and Matan, 2007) ดังภาพประกอบที่ 3.8 ตัวควบคุมในการทดลองคือ ตัวทำละลายแต่ละชนิดที่ไม่เติมน้ำมันหอมระเหยใดๆ ทำการบ่มเลี้ยงเชื้อในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน เขย่าเพื่อให้ น้ำมันกระจายบนจานเพาะเชื้ออย่างทั่วถึง ทำการทดลองซ้ำสองครั้ง พิจารณาค่าอัตราส่วนที่เหมาะสม (Suitable) จากงานเพาะเชื้อที่ไม่เห็นการเจริญเติบโตของเชื้อรา และบันทึกผลร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อราในแต่ละอัตราส่วน



ภาพประกอบที่ 3.8 ลักษณะของน้ำมันที่อัตราส่วน 1:1:1 ปรับปริมาณด้วยเมทิลแอลกอฮอล์ (ก) เมทิลแอลกอฮอล์ (ข) น้ำมันปาล์ม (ค) หรือสารละลาย PFAD (ง)

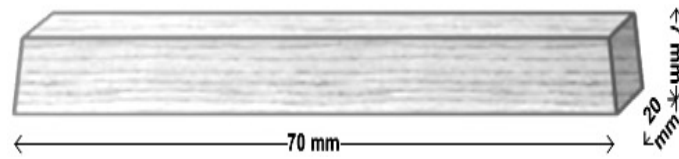
4) อัตราส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งเชื้อราผสม

เตรียมอัตราส่วนผสมของน้ำมัน ไปยักก็ต่อน้ำมันอบเชยต่อน้ำมันกานพลู ที่อัตราส่วน 1:1:1 4:1:1 1:4:1 และ 1:1:4 โดยปริมาตร ลงในจานเพาะเชื้อ เติมตัวทำละลาย เมทิลแอลกอฮอล์ 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติมอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว 5 มิลลิลิตร และ สารละลายสปอร์เชื้อราผสมที่ความเข้มข้น 10^7 สปอร์/มิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ตัวควบคุมในการทดลองคือ เมทิลแอลกอฮอล์ที่ไม่เติมน้ำมันหอมระเหยใดๆ ทำการบ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียส ในตู้บ่มเป็นเวลา 5 วัน เขย่าเพื่อให้น้ำมันกระจายบนจานเพาะเชื้อ ทำการทดลองซ้ำสองครั้ง อัตราส่วนที่เหมาะสม (Suitable) พิจารณาจากจานเพาะเชื้อที่ไม่เห็นการเจริญเติบโตของเชื้อรา และบันทึกผลร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อราในแต่ละอัตราส่วน

กิจกรรมที่ 2 ทดสอบการยับยั้งเชื้อราบนไม้อย่างพาราตัวอย่าง

2.1 การเตรียมไม้อย่างพาราตัวอย่าง

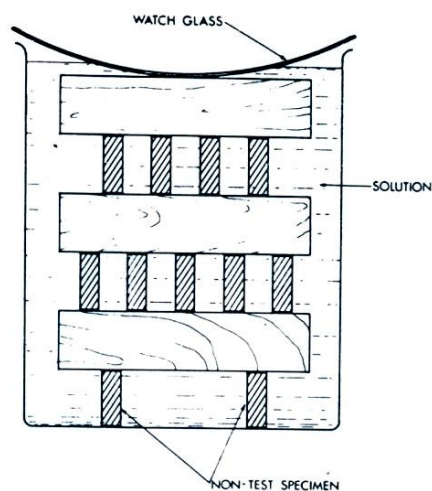
ไม้อย่างพาราอบแห้งและไม้อย่างพาราทาสี ตัดให้มีขนาด ความกว้าง \times ความยาว \times ความหนา เท่ากับ 7 มิลลิเมตร \times 20 มิลลิเมตร \times 70 มิลลิเมตร (Yang *et al.*, 2007) ดังภาพประกอบที่ 3.9



ภาพประกอบที่ 3.9 ขนาดของไม้ยางพาราตัวอย่าง

2.2 การทดสอบเชื้อราบนไม้ยางพาราตัวอย่าง

การทดสอบตามมาตรฐาน ASTM D-4445 (American Society for Testing and Materials, 1998) โดยจัดอุปกรณ์ดังภาพประกอบที่ 3.10 สุ่มไม้ยางพาราตัวอย่างทั้งไม้ยางพาราอบแห้งและไม้ยางพาราทาสี แล้วนำไปจุ่ม (Dipping) ในสารป้องกันเชื้อรา (ความเข้มข้นของสารป้องกันมาจากค่า MIC ในกิจกรรมที่ 1 ± 5 และ 10 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร) เป็นเวลา 15 วินาที จากนั้นเก็บไม้ยางพาราตัวอย่างที่ผ่านการจุ่มสารป้องกันแล้วไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ก่อนนำไปทดสอบเชื้อรา



ภาพประกอบที่ 3.10 ลักษณะของชุดทดสอบไม้ยางพาราตามมาตรฐาน ASTM D-4445

ที่มา : American Society for Testing and Materials, 1998

ไม้ยางพาราตัวอย่างที่ผ่านการจุ่มสารป้องกันแล้ว สเปรย์ด้วยสารละลายสปอร์เชื้อราแต่ละชนิด (10^7 สปอร์/มิลลิลิตร) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วทำการเพาะเลี้ยงเชื้อต่อไปที่อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียส ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ (Relative Humidity, RH) 100 และ

สภาวะปกติ (ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 75-80, ภาคผนวก ก.6) เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทำการทดลองซ้ำสองครั้ง บันทึกผลร้อยละการเจริญเติบโตบนไม้ยางพาราตัวอย่างทุกๆ 1 สัปดาห์

กิจกรรมที่ 3 ประยุกต์ใช้น้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราบนของเล่นไม้

ความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราบนผิวของของเล่นไม้

น้ำมันไพลก็๊ก น้ำมันอบเชย และน้ำมันกานพลู เตรียมในช่วงความเข้มข้นระหว่าง 30-110 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อ ปรับด้วยตัวทำละลายเมทิลแอลกอฮอล์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เติมหาอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว 5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายสปอร์เชื้อราจากของเล่นไม้ที่เตรียมไว้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ตัวควบคุมในการทดลองคือ ตัวทำละลายแต่ละชนิดที่ไม่มีการเติมน้ำมันหอมระเหยใดๆ บ่มเลี้ยงเชื้อราที่อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 วัน เขย่าเพื่อให้น้ำมันกระจายบนจานเพาะเชื้ออย่างทั่วถึง ทำการทดลองซ้ำสองครั้ง พิจารณาค่า MIC จากจานเพาะเชื้อที่ไม่เห็นการเจริญเติบโตของเชื้อรา และบันทึกผลร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อราในแต่ละความเข้มข้น

กิจกรรมที่ 4 วิเคราะห์และสรุปผลการทดลอง

3.1 คำนวณร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา จากสมการ (3.1)

$$\text{ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา} = \frac{\text{พื้นที่การเจริญของเชื้อรา}}{\text{พื้นที่ตัวอย่าง}} \times 100 \quad (3.1)$$

กรณี คำนวณการเจริญเติบโตของเชื้อราในจานเพาะเชื้อ พื้นที่ตัวอย่างคือ พื้นที่ผิวหน้าของจานเพาะเชื้อ

กรณี คำนวณการเจริญเติบโตของเชื้อราบนไม้ยางพาราตัวอย่าง พื้นที่ตัวอย่างคือ พื้นที่ผิวของไม้ยางพาราตัวอย่าง

3.2 ระบุการเจริญเติบโตของเชื้อรา

กำหนดสเกลเพื่อระบุการเจริญเติบโตของเชื้อราจาก 0-5 โดย 0 คือไม่มีเชื้อราเกิดขึ้นบนพื้นที่ตัวอย่าง 1 = ร้อยละ 20 ของพื้นที่ตัวอย่าง 2 = ร้อยละ 40 ของพื้นที่ตัวอย่าง 3 = ร้อยละ 60 ของพื้นที่ตัวอย่าง 4 = ร้อยละ 80 ของพื้นที่ตัวอย่าง 5 = ร้อยละ 100 ของพื้นที่ตัวอย่าง

3.3 สถิติ

คำนวณทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS for Windows 13.0 วิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA) ตามวิธีของ Duncan's Multiple Range Test ที่ค่าความเชื่อมั่น $P < 0.05$

3.4 ประเมินผลทางเศรษฐศาสตร์

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

การยับยั้งเชื้อราด้วยน้ำมันหอมระเหย 3 ชนิด ในตัวทำละลายต่างชนิดกัน แบ่งออกเป็น 4 กิจกรรมหลัก คือ การทดสอบการยับยั้งเชื้อราในจานเพาะเชื้อ การทดสอบเชื้อราบนไม้ยางพาราตัวอย่าง การทดสอบเชื้อราจากของเล่นไม้ และการวิเคราะห์เชิงเศรษฐศาสตร์ โดยผลการทดลองและวิจารณ์ผลแสดงดังนี้

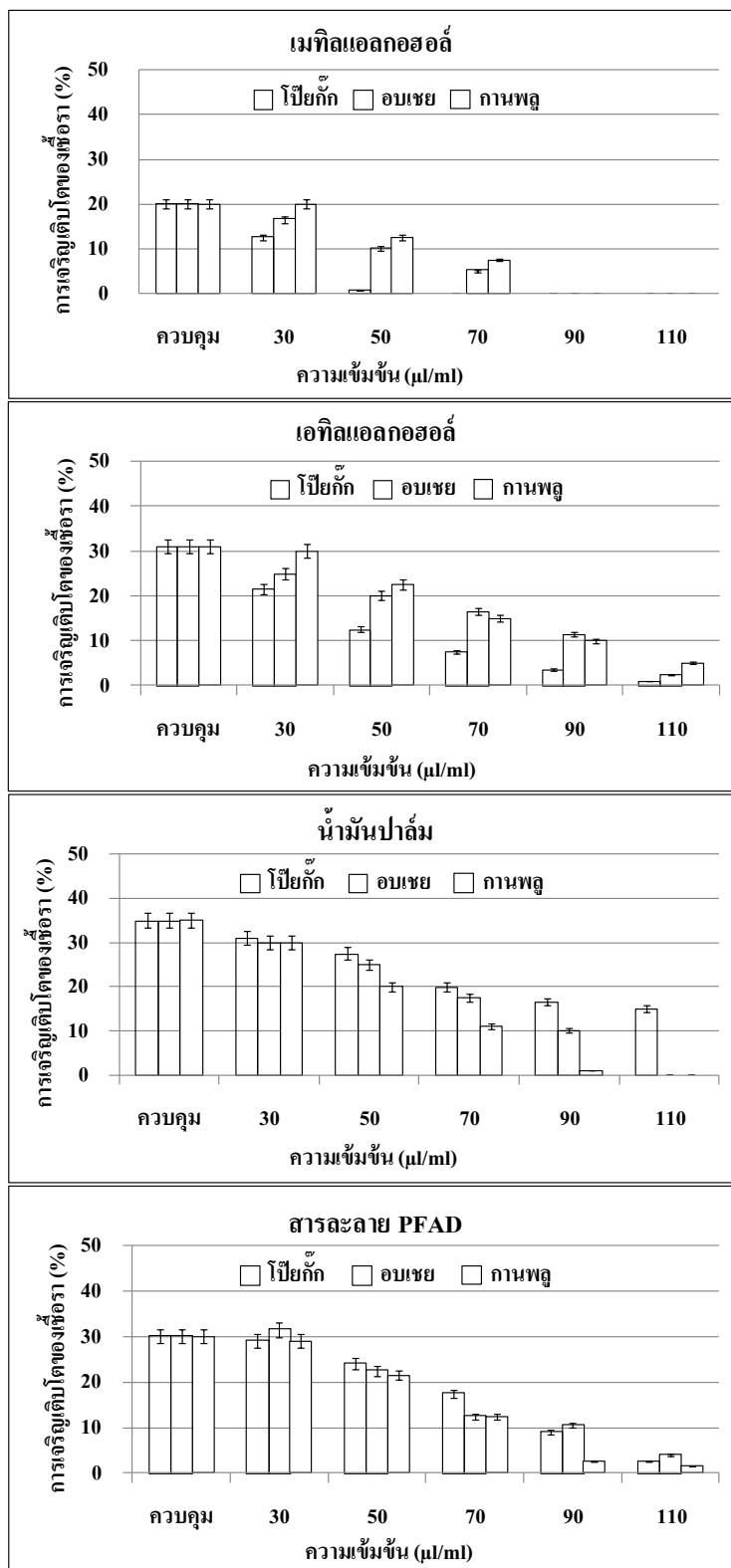
กิจกรรมที่ 4.1 การทดสอบการยับยั้งเชื้อราในจานเพาะเชื้อ

ศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อราสายพันธุ์ *Penicillium sp.* และ *Aspergillus niger* เมื่อยับยั้งด้วยน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้นและอัตราส่วนผสมต่างๆ พร้อมทั้งศึกษาผลของตัวทำละลาย โดยทดสอบในจานเพาะเชื้อระดับปฏิบัติการในสถานะควบคุม สามารถแบ่งผลการทดลองได้ดังนี้

การทดลองที่ 4.1.1 ความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราแต่ละชนิด (MIC)

- เชื้อรา *Penicillium sp.*

การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันโป๊ยกั๊ก น้ำมันอบเชย และน้ำมันกานพลู ช่วงความเข้มข้นระหว่าง 30-110 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ในตัวทำละลายเมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ น้ำมันปาล์ม หรือสารละลาย PFAD เพื่อยับยั้งเชื้อรา *Penicillium sp.* ที่อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน ผลการทดลองแสดงดังภาพประกอบที่ 4.1



ภาพประกอบที่ 4.1 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Penicillium sp.* ในงานเพาะเชื้อปรับปริมาตร ด้วยตัวทำละลายต่างๆ ที่อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

ภาพประกอบที่ 4.1 แสดงร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Penicillium sp.* ในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน จากการทดลองพบว่า น้ำมันหอมระเหยทุกชนิดในทุกตัวทำละลายสามารถลดการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ ทั้งนี้ ขึ้นกับปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยด้วยความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อราลดลง เมื่อพิจารณาร้อยละการเจริญของเชื้อราในควบคุม จะเห็นว่าไนเมทิลแอลกอฮอล์สามารถลดการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ดีที่สุด นั่นคือ เมื่อผ่านไป 5 วันมีการเจริญของเชื้อราเพียงร้อยละ 20 ของพื้นที่จานเพาะเชื้อ ในขณะที่ตัวทำละลายอื่นๆ มีการเจริญของเชื้อรามากกว่าร้อยละ 30 ของพื้นที่จานเพาะเชื้อ อย่างไรก็ตาม แม้ว่าจานเพาะเชื้อที่ผสมด้วยน้ำมันปาล์มหรือสารละลาย PFAD จะสามารถยับยั้งเชื้อราได้ทั้งบางความเข้มข้น แต่ตัวทำละลายดังกล่าวจะเกิดไข ดังแสดงในภาพประกอบที่ 4.2 เนื่องจากน้ำมันปาล์มและ PFAD มีส่วนประกอบของกรดไขมันอิ่มตัว (Saturated Fatty Acid, SFA) เป็นส่วนใหญ่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรดปาล์มมิติก (C 16:0, ร้อยละ 44.3) (Scholtz *et al.*, 2004) จึงทำให้น้ำมันปาล์มมีจุดหลอมเหลวสูงและแข็งตัวเกิดเป็นไขได้ง่าย ด้วยเหตุนี้จึงไม่เหมาะสมที่จะเป็นตัวทำละลายในการทดลองต่อไป



(ก)



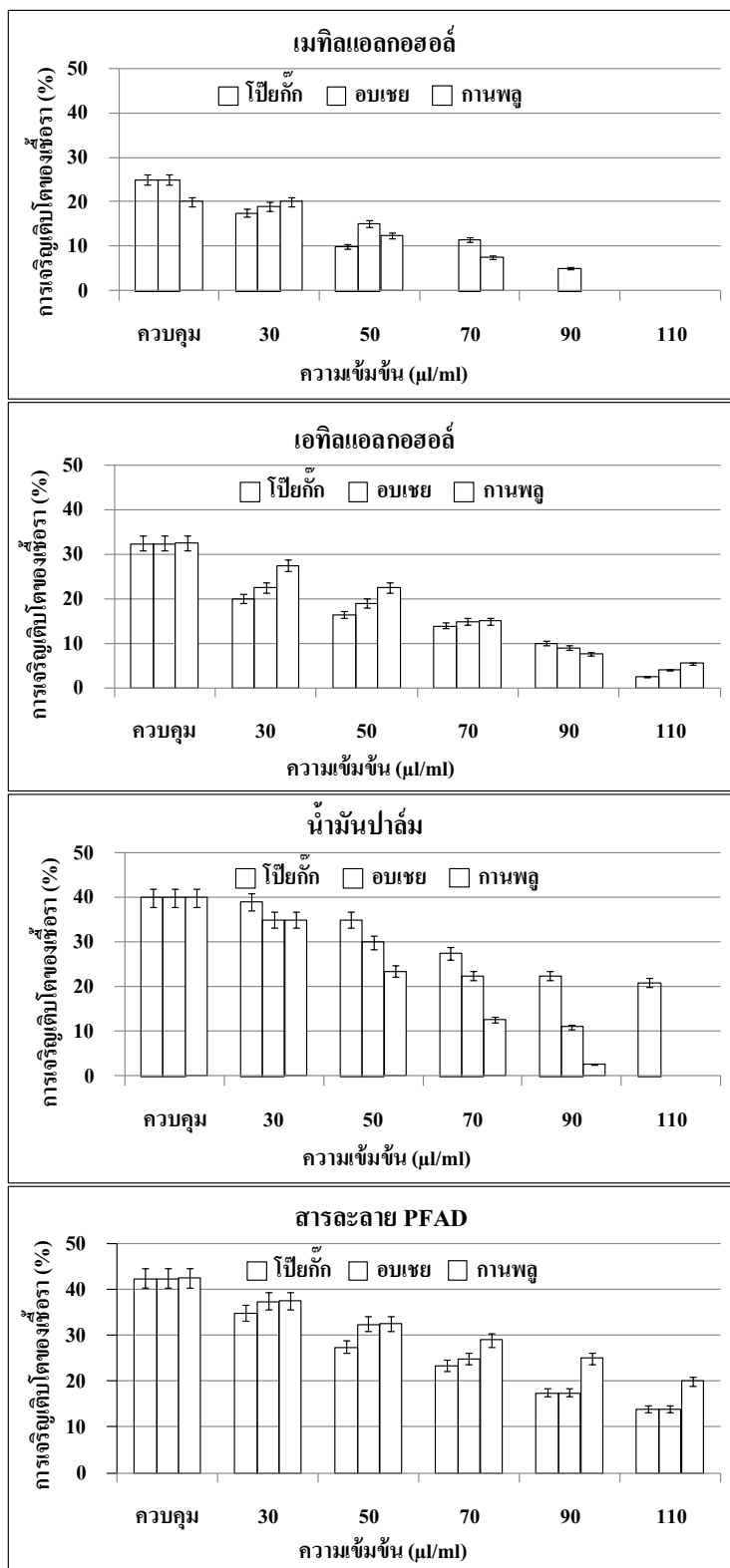
(ข)

ภาพประกอบที่ 4.2 ไขที่เกิดจากน้ำมันปาล์ม (ก) และสารละลาย PFAD (ข) ในตัวควบคุม

จากการศึกษาผลของน้ำมัน โป๊ยกั๊ก น้ำมันอบเชย และน้ำมันกานพลู ในตัวทำละลายเมทิลแอลกอฮอล์ ซึ่งให้เห็นว่าน้ำมันหอมระเหยทั้งสามชนิดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium sp.* โดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำมัน โป๊ยกั๊กซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อราได้ดีที่สุด โดยค่า MIC ในการยับยั้งเชื้อราดังกล่าว คือ 50 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ซึ่งองค์ประกอบที่คาดว่าจะมีผลในการยับยั้งเชื้อราของน้ำมัน โป๊ยกั๊กคือทรานส์-แอนิโทล (Trans-anethole) ตามรายงานการศึกษาพบว่าสารดังกล่าวสามารถยับยั้งเชื้อราบริเวณก้านใบของต้นปาล์มได้ (Matan *et al.*, 2011) ค่า MIC ของน้ำมัน โป๊ยกั๊กนี้จะนำไปใช้ทดสอบกับไม้อย่างพาราตัวอย่างในกิจกรรมที่ 2 ต่อไป ส่วนน้ำมันอบเชยและน้ำมันกานพลูก็สามารถที่จะยับยั้งเชื้อรา *Penicillium sp.* ได้เช่นกัน แต่ต้องใช้ความเข้มข้นที่สูงกว่า โดยค่า MIC ของน้ำมันทั้งสองชนิดเท่ากับ 90 ไมโครลิตร/มิลลิลิตรในตัวทำละลายเมทิลแอลกอฮอล์

- เชื้อรา *Aspergillus niger*

การยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus niger* โดยใช้ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยและปริมาตรของตัวทำละลาย ในสถานะการทดลองเดียวกันกับการทดสอบเชื้อรา *Penicillium sp.* โดยผลการทดลองแสดงดังภาพประกอบที่ 4.3



ภาพประกอบที่ 4.3 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus niger* ในงานเพาะเชื้อปรับ ปริมาตรด้วยตัวทำละลายต่างๆ ที่อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

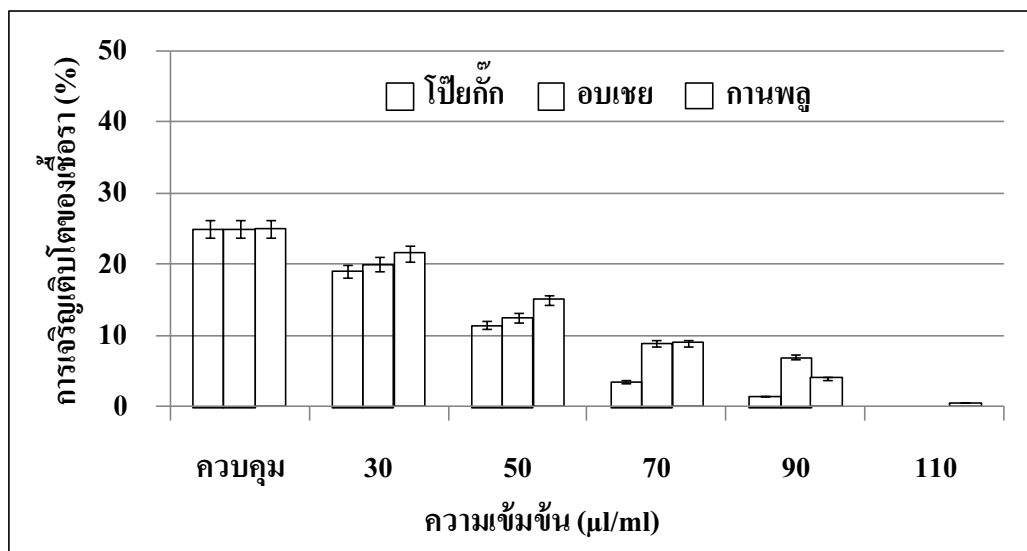
ภาพประกอบที่ 4.3 แสดงร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus niger* ในงานเพาะเชื้อเป็นเวลา 5 วัน จากผลการทดลองพบว่า น้ำมันหอมระเหยทุกชนิดสามารถลดการเจริญของเชื้อราได้เช่นเดียวกันกับผลที่เกิดกับการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium sp.* เห็นได้ชัดเจนในตัวทำละลายเมทิลแอลกอฮอล์และเอทิลแอลกอฮอล์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในตัวทำละลายเมทิลแอลกอฮอล์สามารถยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus niger* ได้ที่ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยต่างๆ ใดๆก็ตาม ถึงแม้ว่าน้ำมันกานพลูในตัวทำละลายน้ำมันปาล์มที่ความเข้มข้น 110 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร หรือน้ำมันอบเชยที่ความเข้มข้น 90 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร จะสามารถยับยั้งเชื้อราได้ แต่ตัวทำละลายดังกล่าวก็ยังก่อให้เกิดไขขึ้นเช่นเดียวกันกับสารละลาย PFAD

การเจริญเติบโตของเชื้อราในงานเพาะเชื้อของน้ำมัน โป๊ยกั๊กในเมทิลแอลกอฮอล์แสดงประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus niger* ได้ดีที่สุด ค่า MIC เท่ากับ 70 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร โดยค่า MIC ดังกล่าวนี้นำไปทดสอบกับไมยงพาราตัวอย่างในกิจกรรมที่ 2 ต่อไป ส่วนน้ำมันอบเชยและน้ำมันกานพลูมีค่า MIC เท่ากับ 110 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร และ 90 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบค่า MIC ในการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium sp.* และ *Aspergillus niger* พบว่า ค่าความเข้มข้นในการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus niger* จะสูงกว่าค่าความเข้มข้นในการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium sp.* เนื่องจากเชื้อรา *Penicillium sp.* มีความไวต่อสารในน้ำมันหอมระเหยได้มากกว่า ดังนั้น ความเข้มข้นที่ใช้ในการยับยั้งเชื้อราดังกล่าวจึงต้องการปริมาณที่น้อยกว่าซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Singh และคณะ ในปี 2006 ที่ศึกษาน้ำมันและส่วนสกัดของ *Foeniculum vulgare* ในการยับยั้งเชื้อราสกุล *Aspergillus* และ *Penicillium*

การทดลองที่ 4.1.2 ความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราผสม

การทดสอบเชื้อราผสมระหว่างของเชื้อรา *Penicillium sp.* และ *Aspergillus niger* ที่อัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร ในตัวทำละลายเมทิลแอลกอฮอล์เท่านั้น เนื่องจากมีประสิทธิภาพดีที่สุดในการทดสอบเชื้อราแต่ละชนิด ที่อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน ผลแสดงดังภาพประกอบที่ 4.4



ภาพประกอบที่ 4.4 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อราผสมในจานเพาะเชื้อ ปรับปริมาณด้วย เมทิลแอลกอฮอล์ ที่อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

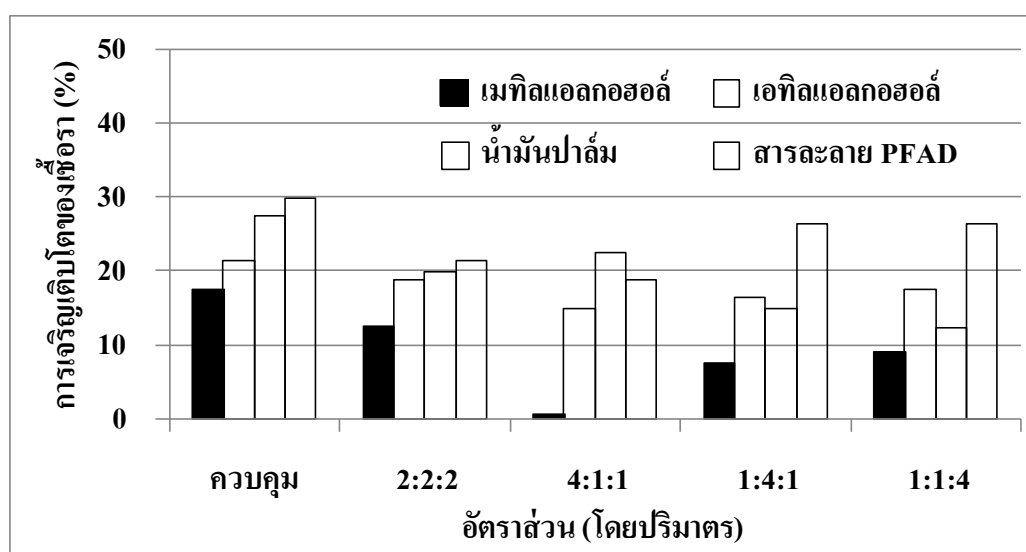
จากภาพประกอบที่ 4.4 แสดงให้เห็นว่า แม้จะมีการผสมเชื้อราเข้าด้วยกันแต่น้ำมันหอมระเหยทุกชนิดก็ยังสามารถยับยั้งเชื้อราได้ โดยประสิทธิภาพของน้ำมันโป๊ยกั๊กยังคงสูงที่สุด ค่า MIC ที่ใช้ในการยับยั้งเชื้อราผสมมีค่าเท่ากับ 70 ไมโครลิตร/มิลลิเมตร เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองนี้กับการทดสอบเชื้อราแต่ละชนิด พบว่า ค่าความเข้มข้นที่ใช้ในการยับยั้งเชื้อราผสมนั้นจะเท่ากับค่าความเข้มข้นในการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus niger* (น้ำมันโป๊ยกั๊กสามารถยับยั้งเชื้อรา *Penicillium sp.* ที่ความเข้มข้น 50 ไมโครลิตร/มิลลิเมตร และยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus niger* ที่ความเข้มข้น 70 ไมโครลิตร/มิลลิเมตร) ทั้งนี้ ขึ้นกับสถานะและชนิดของน้ำมันหอมระเหยที่ทำการทดสอบด้วย นอกจากนี้ น้ำมันอบเชยและน้ำมันกานพลูก็สามารถยับยั้งเชื้อราผสมได้ ที่ความเข้มข้น 110 ไมโครลิตร/มิลลิเมตร และความเข้มข้น 90 ไมโครลิตร/มิลลิเมตร ตามลำดับ

ผลการทดลองดังกล่าวบ่งชี้ได้ว่า การผสมเชื้อราทั้งสองสายพันธุ์เข้าด้วยกันนั้น จะทำให้ต้องใช้ความเข้มข้นของน้ำมันโป๊ยกั๊กที่อาจจะเท่ากับหรือมากกว่าค่าความเข้มข้นในการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus niger* ซึ่งเป็นเชื้อราที่มีความไวต่อการยับยั้งน้อยกว่า

การทดลองที่ 4.1.3 อัตราส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งเชื้อราแต่ละชนิด

- เชื้อรา *Penicillium sp.*

การศึกษาอัตราส่วนผสมระหว่างน้ำมันโป๊ยกั๊ก: น้ำมันอบเชย: น้ำมันกานพลู ที่ 1:1:1 4:1:1 1:4:1 และ 1:1:4 โดยปริมาตร ในตัวทำละลายเมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ น้ำมันปาล์ม หรือสารละลาย PFAD ในการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium sp.* ที่อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน ผลการทดลองแสดงดังภาพประกอบที่ 4.5



ภาพประกอบที่ 4.5 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Penicillium sp.* ในจานเพาะเชื้อ ปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายต่างๆ ที่อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

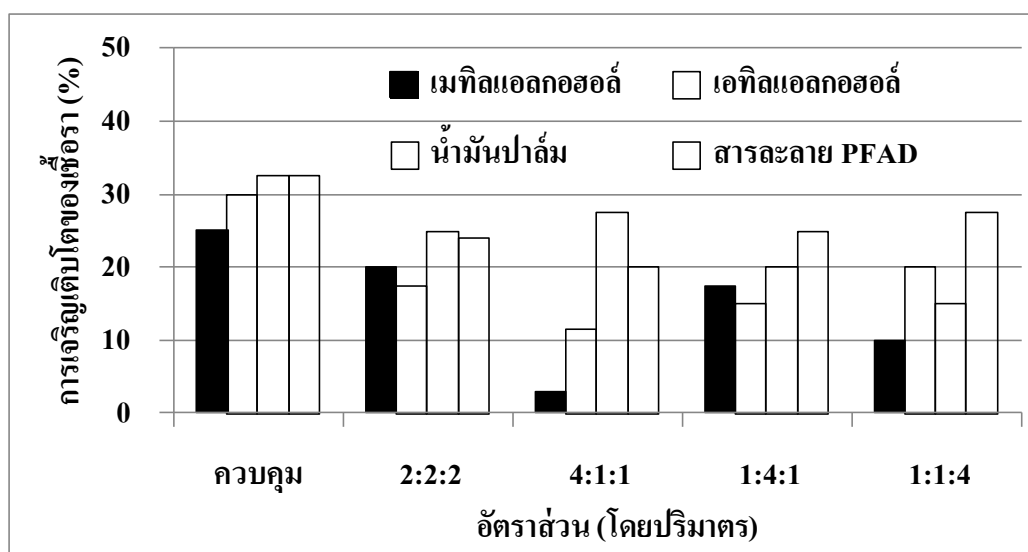
จากการทดลองพบว่า ในตัวทำละลายเมทิลแอลกอฮอล์ควบคุมสามารถลดการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Penicillium sp.* ได้ดีที่สุด เมื่อเวลาผ่านไป 5 วัน พบการเจริญของเชื้อราประมาณร้อยละ 17.5 ของพื้นที่จานเพาะเชื้อ อย่างไรก็ตาม ตัวทำละลายน้ำมันปาล์มและสารละลาย PFAD ยังเกิดไขเหมือนกับขั้นตอนการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อราแต่ละชนิด

จากภาพประกอบที่ 4.5 จะเห็นว่า ที่อัตราส่วน 4:1:1 ในเมทิลแอลกอฮอล์แสดงประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราได้เด่นชัดกว่าที่อัตราส่วนอื่นๆ ซึ่งมีร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อราเท่ากับ 0.5 ของพื้นที่จานเพาะเชื้อ โดยอัตราส่วนดังกล่าวเป็นอัตราส่วนที่มีความเข้มข้นของน้ำมันโป๊ยกั๊ก 40 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร หรือประมาณร้อยละ 67 โดยปริมาตร ซึ่งเพียงพอที่จะยับยั้งเชื้อรา *Penicillium sp.* ได้ อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบกับ การทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium sp.*

ด้วยน้ำมันโป๊ยกั๊ก ซึ่งมีค่า MIC เท่ากับ 50 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร (การทดลองที่ 4.1.1) พบว่า ค่าความเข้มข้นที่ใช้ในการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium sp.* ด้วยอัตราส่วนผสมน้ำมันหอมระเหยนั้นจะต่ำกว่าค่า MIC อาจเป็นผลเนื่องมาจากองค์ประกอบของน้ำมันอบเชยและน้ำมันกานพลูในการช่วยเสริมประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราได้ทำให้ใช้ความเข้มข้นของน้ำมันโป๊ยกั๊กลดลง อีกทั้ง น้ำมันโป๊ยกั๊กยังมีประสิทธิภาพสูงและราคาถูกที่สุด การผสมน้ำมันที่อัตราส่วน 4:1:1 จึงสามารถที่จะนำไปพัฒนาในทางอุตสาหกรรมไม่ได้ แต่อาจยึดอายุการรักษาไม้ได้น้อยกว่าการป้องกันด้วยน้ำมันโป๊ยกั๊กเพียงอย่างเดียว

- เชื้อรา *Aspergillus niger*

การยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus niger* ด้วยอัตราส่วนผสมระหว่างน้ำมันโป๊ยกั๊ก: น้ำมันอบเชย: น้ำมันกานพลู ที่ 1:1:1 4:1:1 1:4:1 และ 1:1:4 โดยปริมาตร ในตัวทำละลาย เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ น้ำมันปาล์ม หรือสารละลาย PFAD ที่อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน ผลการทดลองแสดงดังภาพประกอบที่ 4.6



ภาพประกอบที่ 4.6 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus niger* ในจานเพาะเชื้อ ปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายต่างๆ ที่อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

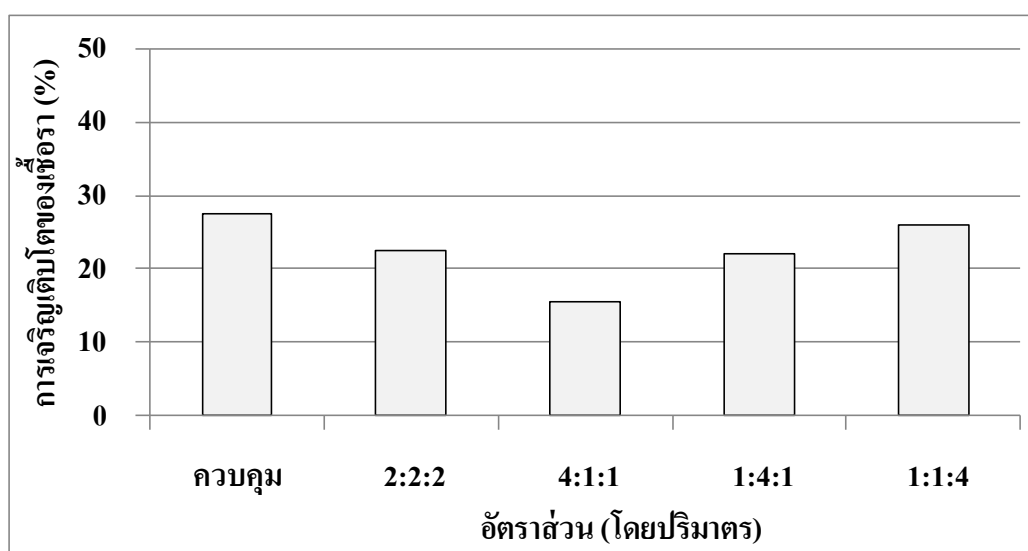
ผลการทดลองการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus niger* ด้วยอัตราส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยทั้งสามชนิดเป็นไปในการทำงานเหมือนกันกับการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium sp.* นั่นคือ ที่อัตราส่วนผสมน้ำมันหอมระเหย 4:1:1 ในเมทิลแอลกอฮอล์ยังคงแสดงประสิทธิภาพสูงสุดในการ

ยับยั้งเชื้อรา เนื่องจากมีปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันโป๊ยกั๊กที่สูงกว่าอัตราส่วนอื่นๆ หลังผ่านไป 5 วัน การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus niger* เท่ากับร้อยละ 3 ของพื้นที่งานเพาะเชื้อ ส่วนในน้ำมันมันปาล์มและสารละลาย PFAD สามารถลดการเติบโตของเชื้อราได้เล็กน้อยและเกิดไขเหมือนการทดลองที่ผ่านมา

เมื่อเปรียบเทียบร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus niger* และเชื้อรา *Penicillium sp.* ที่อัตราส่วน 4:1:1 (ภาพประกอบที่ 4.5 และ 4.6 ตามลำดับ) ในตัวทำละลายเมทิลแอลกอฮอล์ จะเห็นว่า เชื้อรา *Aspergillus niger* มีอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่าเชื้อรา *Penicillium sp.* เล็กน้อย เนื่องจากความไวต่อการยับยั้งของสารที่แตกต่างกัน (Matan and Matan, 2007) ซึ่งจำเป็นต้องใช้ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยและอัตราส่วนที่สูงขึ้นเพื่อยับยั้งเชื้อราทั้งสองชนิดอย่างสมบูรณ์

การทดลองที่ 4.1.4 อัตราส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งเชื้อราผสม

ผลการศึกษาการผสมของน้ำมัน โป๊ยกั๊ก: น้ำมันอบเชย: น้ำมันกานพลู ที่อัตราส่วน 1:1:1 4:1:1 1:4:1 และ 1:1:4 โดยปริมาตร ในตัวทำละลายเมทิลแอลกอฮอล์ทำนั้น เนื่องจากให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราดีที่สุดในการทดลองที่ 4.1.3 ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium sp.* ผสมกับเชื้อรา *Aspergillus niger* แสดงดังภาพประกอบที่ 4.7



ภาพประกอบที่ 4.7 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อราผสมในงานเพาะเชื้อที่อัตราส่วนต่างๆ ปรับปริมาณด้วยเมทิลแอลกอฮอล์ ที่อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

ผลจากภาพประกอบที่ 4.7 พบว่า การเจริญเติบโตของเชื้อราผสมที่อัตราส่วนของน้ำมันหอมระเหยต่างๆ ยังคงลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับตัวควบคุม (เมทิลแอลกอฮอล์เพียงอย่างเดียว) ที่อัตราส่วน 4:1:1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราดีที่สุด เนื่องจากมีปริมาณของความเข้มข้นของน้ำมัน โป๊ยกั๊กสูงสุด อย่างไรก็ตาม ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อราผสมที่อัตราส่วนดังกล่าวค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดสอบกับเชื้อราแต่ละชนิดภายในสถานะเดียวกัน (การทดลองที่ 4.1.3) ซึ่งอาจขึ้นกับความไวของเชื้อรา ดังนั้น การที่จะยับยั้งเชื้อราผสมได้จึงจำเป็นต้องใช้ปริมาณความเข้มข้นและอัตราส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยให้เท่ากับหรือสูงกว่าเชื้อรา *Aspergillus niger*

สรุปผลการทดลองการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราในจานเพาะเชื้อ

การทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium sp.* และเชื้อรา *Aspergillus niger* ผลการทดลองปรากฏว่า น้ำมัน โป๊ยกั๊ก ในตัวทำละลายเมทิลแอลกอฮอล์สามารถยับยั้งเชื้อราได้ดีที่สุด ด้วยค่า MIC เท่ากับ 50 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร และ 70 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อราทั้งสองชนิดมาผสมกันในอัตราส่วน 1: 1 และทำการทดสอบที่สถานะเดียวกัน พบว่า น้ำมัน โป๊ยกั๊ก ในเมทิลแอลกอฮอล์ยังเป็นตัวยับยั้งที่ดีที่สุดที่ค่าความเข้มข้น 70 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร

เมื่อผสมน้ำมัน โป๊ยกั๊ก น้ำมันอบเชย และน้ำมันกานพลู ด้วยอัตราส่วนและตัวทำละลายต่างๆ พบว่า น้ำมันหอมระเหยผสมในเมทิลแอลกอฮอล์ที่อัตราส่วน 4: 1: 1 สามารถยับยั้งเชื้อราทั้งสองชนิดได้ดีที่สุดในทำนองเดียวกัน เมื่อทำการทดสอบการยับยั้งเชื้อราผสมที่อัตราส่วน 4: 1: 1 ในเมทิลแอลกอฮอล์ ยังคงเป็นอัตราส่วนที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้ดีที่สุด

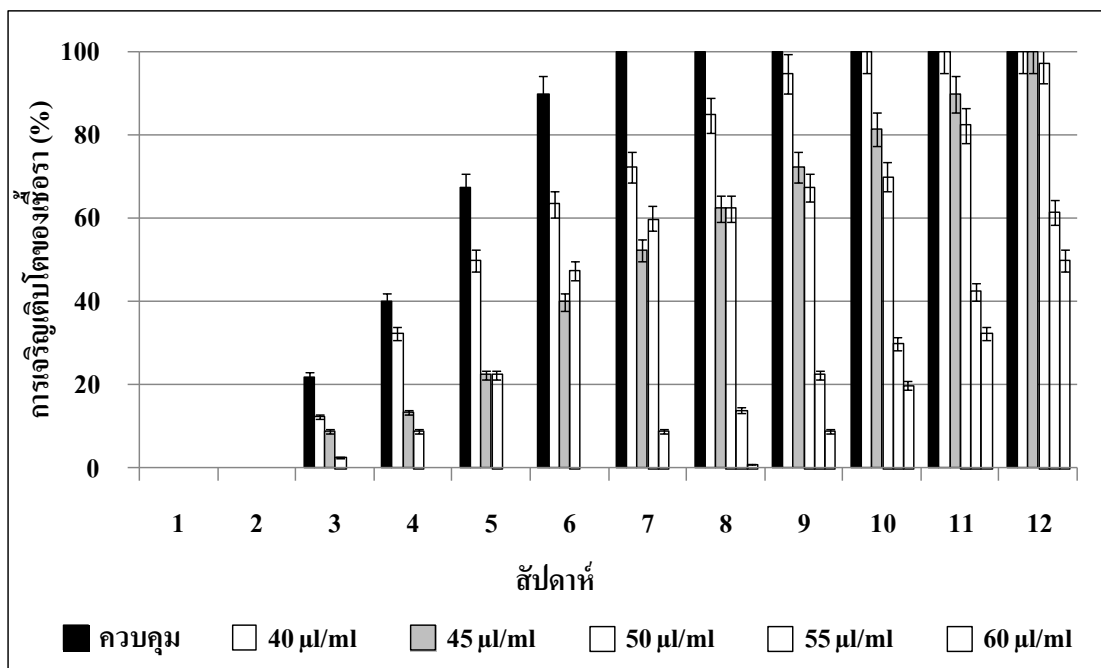
กิจกรรมที่ 4.2 การทดสอบการยับยั้งเชื้อราบนไม้อย่างพาราตัวอย่าง

การยับยั้งเชื้อราผิวไม้นบนไม้อย่างพาราตัวอย่าง คือ ไม้อย่างพาราอบแห้ง (ความชื้นไม่ร้อยละ 16 ± 2) และไม้อย่างพาราทาสี (ความชื้นไม่ร้อยละ 10 ± 2) ด้วยการจุ่มตามมาตรฐาน ASTM D-4445 โดยใช้น้ำมันโป๊ยกั๊กในตัวทำละลายเมทิลแอลกอฮอล์ ที่ค่าความเข้มข้น MIC จากกิจกรรมที่ 1 ± 5 และ 10 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร นั่นคือ ความเข้มข้นที่ใช้ในการทดสอบเชื้อรา *Penicillium sp.* คือ 40 45 50 55 และ 60 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร และความเข้มข้นในการทดสอบเชื้อรา *Aspergillus niger* คือ 60 65 70 75 และ 80 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร การทดสอบยังแบ่งเป็นที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100 และสภาวะปกติ (ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 76) ผลการทดลองเป็นดังนี้

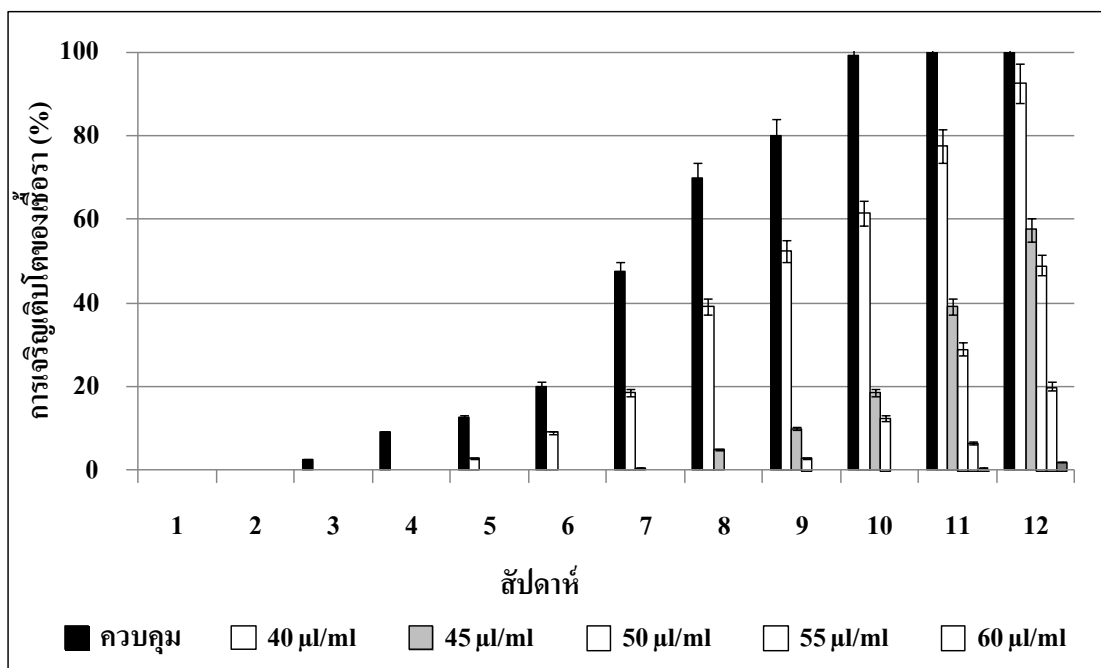
การทดลองที่ 4.2.1 การทดสอบการยับยั้งเชื้อราบนไม้อย่างพาราอบแห้ง

- เชื้อรา *Penicillium sp.*

การทดสอบการยับยั้งเชื้อราผิวไม้อย่างพาราอบแห้งที่ *Penicillium sp.* บนไม้อย่างพาราอบแห้งที่อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา แสดงดังภาพประกอบที่ 4.8



(ก)



(ข)

ภาพประกอบที่ 4.8 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Penicillium sp.* บนไม้ยางพาราอบแห้ง ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100 (ก) และสภาวะปกติ (ข)

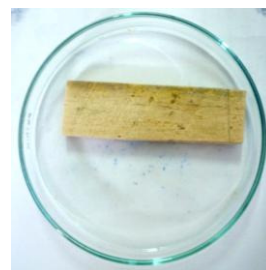
ภาพประกอบที่ 4.8 (ก) แสดง ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อราบนไม้ยางพาราอบแห้งที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100 พบว่าในช่วง 2 สัปดาห์แรก ยังไม่ปรากฏการเจริญของเชื้อรา *Penicillium sp.* บนไม้ยางพาราอบแห้งควบคุม แต่เชื้อราจะเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและเจริญสมบูรณ์เต็มพื้นที่ผิวไม้ยางพาราเมื่อเวลาผ่านไป 7 สัปดาห์ โดยลักษณะการเจริญของเชื้อราบนไม้ยางพาราอบแห้งควบคุมแสดงดังภาพประกอบที่ 4.9 ที่ความเข้มข้นของน้ำมันโป๊ยกั๊ก 40 45 และ 50 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร สามารถที่จะยับยั้งเชื้อราได้ 2-3 สัปดาห์เท่านั้น ซึ่งอาจเป็นเพราะความเข้มข้นของน้ำมันโป๊ยกั๊กมีค่าต่ำเกินไปจึงไม่สามารถป้องกันเชื้อราได้ อย่างไรก็ตาม ไม้ยางพาราที่ผ่านการจุ่มด้วยน้ำมันโป๊ยกั๊กที่ความเข้มข้น 60 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อราได้นานถึง 8 สัปดาห์ และเมื่อเวลาผ่านไป 12 สัปดาห์ พบการเจริญของเชื้อราเพียงร้อยละ 50 ของพื้นที่ผิวไม้ โดยลักษณะการเจริญของเชื้อราบนไม้ยางพาราอบแห้งที่ผ่านการจุ่มด้วยความเข้มข้นดังกล่าว แสดงดังภาพประกอบที่ 4.10



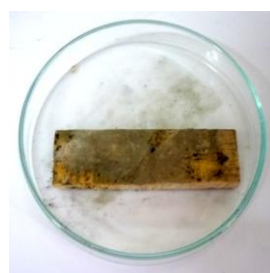
สัปดาห์ที่ 1-2



สัปดาห์ที่ 3-4



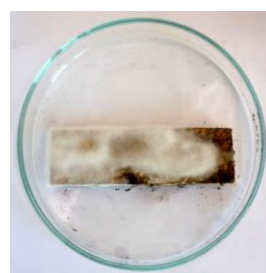
สัปดาห์ที่ 5-6



สัปดาห์ที่ 7-8

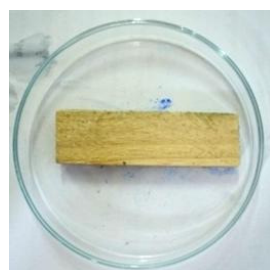


สัปดาห์ที่ 9-10



สัปดาห์ที่ 11-12

ภาพประกอบที่ 4.9 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Penicillium sp.*
บนไม้ยางพาราอบแห้งควบคุม ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100



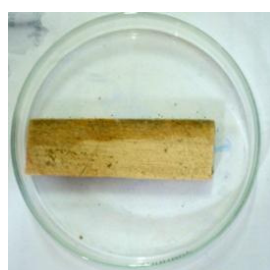
สัปดาห์ที่ 1-2



สัปดาห์ที่ 3-4



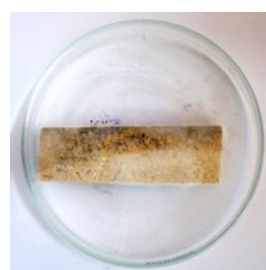
สัปดาห์ที่ 5-6



สัปดาห์ที่ 7-8



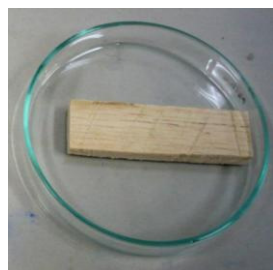
สัปดาห์ที่ 9-10



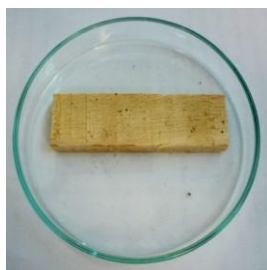
สัปดาห์ที่ 11-12

ภาพประกอบที่ 4.10 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Penicillium sp.* บนไม้ยางพาราอบแห้งที่
ผ่านการจุ่มด้วยน้ำมัน โป๊ยกั๊ก 60 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100

ภาพประกอบที่ 4.8 (ข) แสดงร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Penicillium sp.* บนไม้ยางพาราอบแห้งที่สภาวะปกติ ซึ่งมีความชื้นสัมพัทธ์อากาศประมาณร้อยละ 76 จากผลการทดลองพบว่า เชื้อราทดสอบจะเริ่มเจริญเติบโตบนผิวไม้ยางพาราอบแห้งควบคุมเมื่อเวลาผ่านไป 3 สัปดาห์ คิดเป็นร้อยละ 3 ของพื้นที่ผิวไม้ และเจริญสมบูรณ์เต็มพื้นที่ผิวของไม้เมื่อผ่านไป 10 สัปดาห์ การเพิ่มความเข้มข้นของน้ำมัน โป๊ยก๊ากให้สูงขึ้นส่งผลให้สามารถป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อราได้นานขึ้น โดยสังเกตว่าที่ความเข้มข้นของน้ำมัน โป๊ยก๊าก 60 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร สามารถป้องกันเชื้อราได้นานถึง 11 สัปดาห์ และที่ 12 สัปดาห์ มีเชื้อราเจริญเพียงร้อยละ 2 ของพื้นที่ผิวไม้ ซึ่งเป็นการยืดอายุการใช้งานของไม้ยางพาราจากเดิมเพียง 3 สัปดาห์ (ตัวควบคุม) ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Penicillium sp.* บน ไม้ยางพาราอบแห้งควบคุม และ ไม้ยางพาราอบแห้งที่ผ่านการจุ่มด้วยน้ำมัน โป๊ยก๊ากที่ความเข้มข้น 60 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร แสดงดังภาพประกอบที่ 4.11 และภาพประกอบที่ 4.12 ตามลำดับ



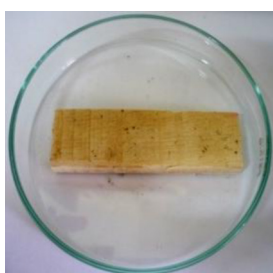
สัปดาห์ที่ 1-2



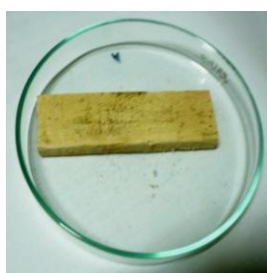
สัปดาห์ที่ 3-4



สัปดาห์ที่ 5-6



สัปดาห์ที่ 7-8



สัปดาห์ที่ 9-10



สัปดาห์ที่ 11-12

ภาพประกอบที่ 4.11 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Penicillium sp.*
บนไม้ยางพาราอบแห้งควบคุม ที่สภาวะปกติ



สัปดาห์ที่ 1-2



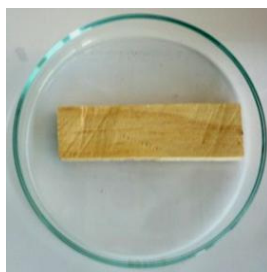
สัปดาห์ที่ 3-4



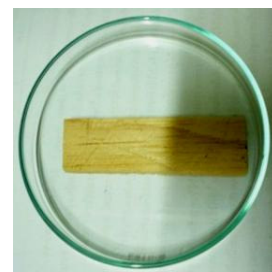
สัปดาห์ที่ 5-6



สัปดาห์ที่ 7-8



สัปดาห์ที่ 9-10



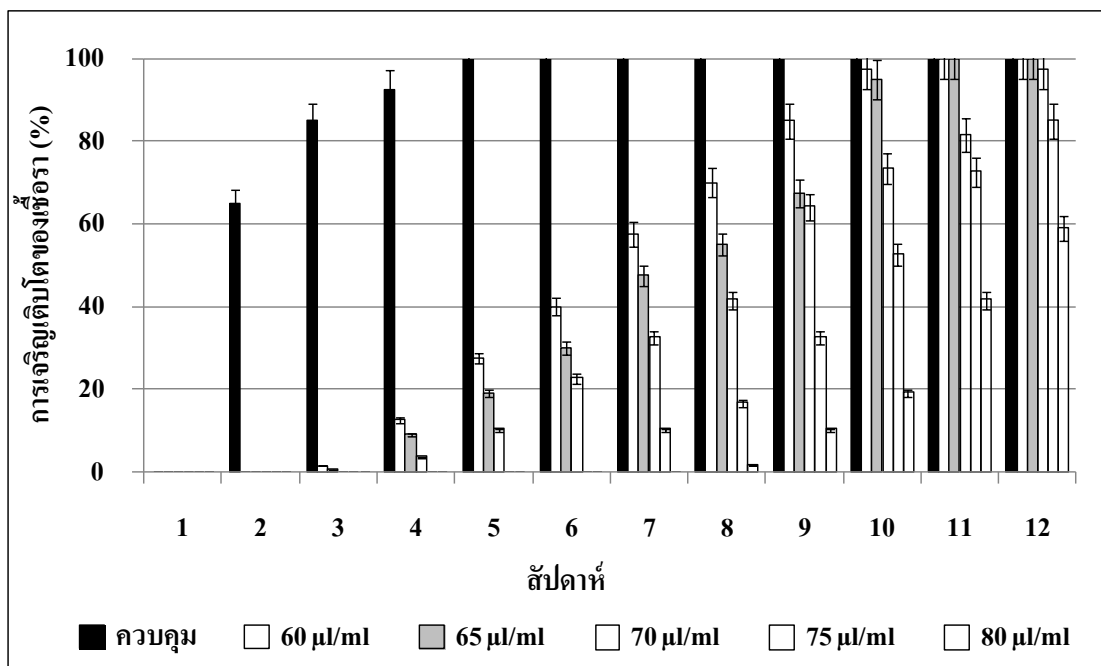
สัปดาห์ที่ 11-12

ภาพประกอบที่ 4.12 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Penicillium sp.* บนไม้ยางพาราอบแห้งที่
ผ่านการจุ่มด้วยน้ำมัน โป๊ยกั๊ก 60 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ที่สภาวะปกติ

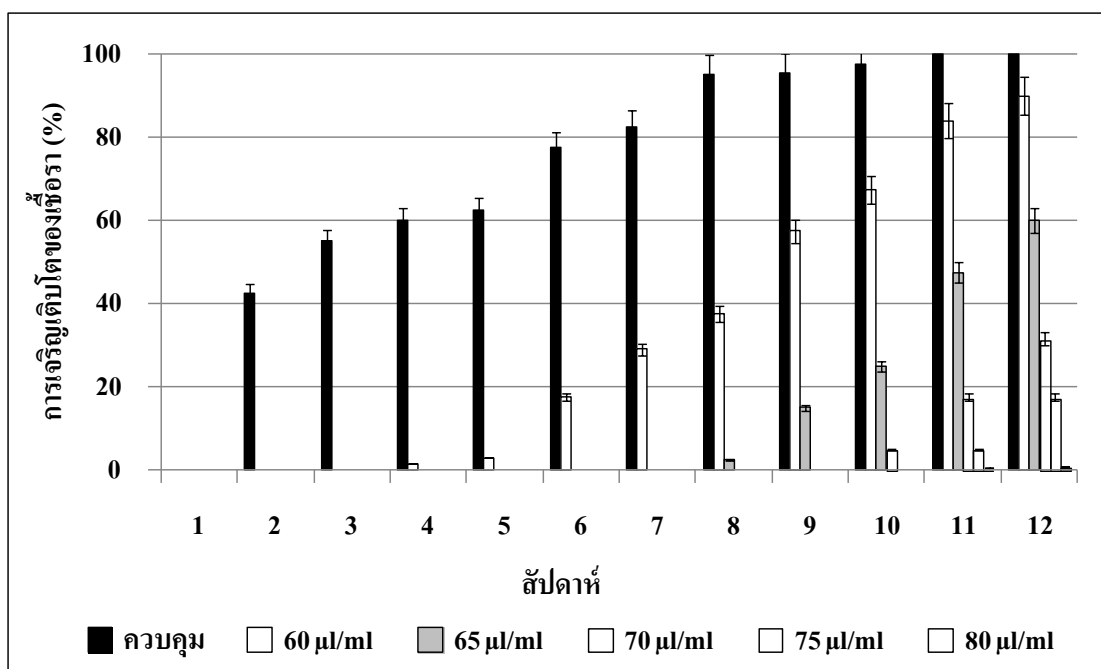
เมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อราบนไม้อย่างพาราอบแห้งตัวอย่างที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100 และสภาวะปกติ จะเห็นว่า แม้อ้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อราเท่ากับ 100 เหมือนกันแต่ความหนาแน่นของเชื้อราแตกต่างกัน โดยเชื้อรา *Penicillium sp.* ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100 จะมีความหนาแน่นของเชื้อรามากกว่าที่สภาวะปกติ บ่งชี้ได้ว่าความชื้นสัมพัทธ์ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา เนื่องจากเชื้อราเป็นสิ่งมีชีวิตที่อาศัยน้ำในการสลายสารอาหารและย่อยสลายในปฏิกิริยาต่างๆ รวมถึงกระบวนการเมตาบอลิซึม

- เชื้อรา *Aspergillus niger*

การทดสอบการเจริญเติบโตของเชื้อราผิวไม้ *Aspergillus niger* บนไม้อย่างพาราอบแห้ง ที่อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100 และสภาวะปกติ ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อราแสดงดังภาพประกอบที่ 4.13



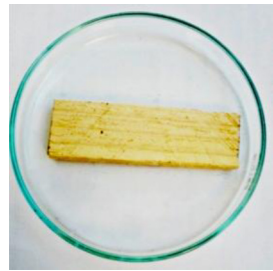
(ก)



(ข)

ภาพประกอบที่ 4.13 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus niger* บนไม้ยางพาราอบแห้ง ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100 (ก) และสภาวะปกติ (ข)

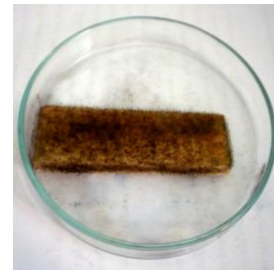
ร้อยละการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus niger* บนไม้อย่างพาราอบแห้งที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100 แสดงดังภาพประกอบที่ 4.13 (ก) เชื้อราบนไม้อย่างพาราอบแห้งควบคุมจะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในช่วง 2-4 สัปดาห์แรกและภายใน 5 สัปดาห์เชื้อราเจริญถึงร้อยละ 100 ของพื้นที่ผิวไม้ ที่ความเข้มข้นของน้ำมัน โป๊ยกั๊ก 60 และ 65 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อราได้ในระยะเวลาที่เท่ากันคือเพียง 3 สัปดาห์ เนื่องจากความเข้มข้นของน้ำมัน โป๊ยกั๊กอาจจะน้อยเกินไปจึงไม่สามารถป้องกันไม้อย่างพาราจากเชื้อราได้ อย่างไรก็ตาม ไม้อย่างพาราอบแห้งที่จุ่มด้วยน้ำมัน โป๊ยกั๊กในช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบไม่สามารถที่จะยับยั้งเชื้อราได้ถึง 12 สัปดาห์ เป็นผลมาจากความไวต่อการยับยั้งเชื้อราและความชื้นสัมพัทธ์ที่สูงขึ้นจะทำให้เชื้อราเจริญได้ดีกว่า โดยที่ความเข้มข้นน้ำมัน โป๊ยกั๊ก 80 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus niger* ได้ 9 สัปดาห์ และเมื่อเวลาผ่านไป 12 สัปดาห์ มีเชื้อราเจริญเติบโตร้อยละ 59 ของพื้นที่ผิวไม้ ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อราบนไม้อย่างพาราควบคุมและไม้อย่างพาราที่ผ่านการป้องกันด้วยน้ำมัน โป๊ยกั๊ก 80 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร แสดงดังภาพประกอบที่ 4.14 และภาพประกอบที่ 4.15 ตามลำดับ



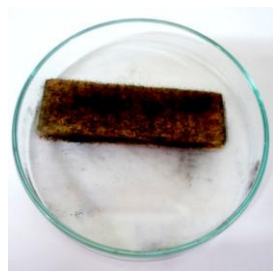
สัปดาห์ที่ 1-2



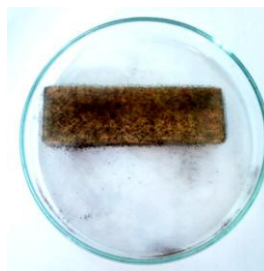
สัปดาห์ที่ 3-4



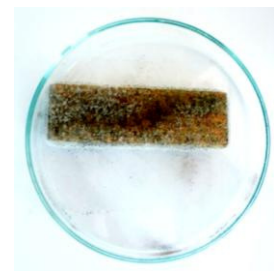
สัปดาห์ที่ 5-6



สัปดาห์ที่ 7-8



สัปดาห์ที่ 9-10

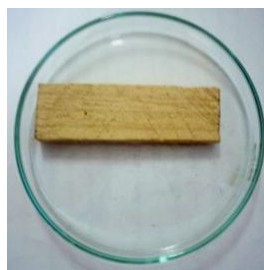


สัปดาห์ที่ 11-12

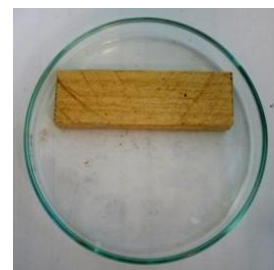
ภาพประกอบที่ 4.14 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus niger* บนไม้ยางพาราอบแห้งควบคุม ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100



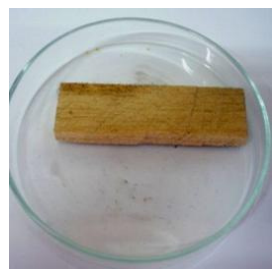
สัปดาห์ที่ 1-2



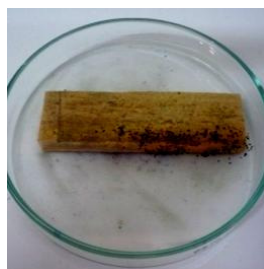
สัปดาห์ที่ 3-4



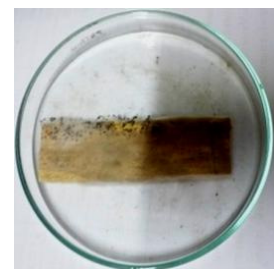
สัปดาห์ที่ 5-6



สัปดาห์ที่ 7-8



สัปดาห์ที่ 9-10



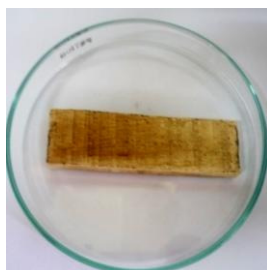
สัปดาห์ที่ 11-12

ภาพประกอบที่ 4.15 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus niger* บนไม้ยางพาราอบแห้งที่ผ่านการจุ่มด้วยน้ำมัน โป๊ยกั๊ก 80 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100

ภาพประกอบที่ 4.13 (ข) แสดง ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อราที่สภาวะปกติ บนไม้อย่างพาราอบแห้งควบคุม จากผลการทดลองพบว่า เชื้อรา *Aspergillus niger* เจริญอย่างรวดเร็ว ในช่วง 2-8 สัปดาห์แรก และเจริญเต็มพื้นที่ผิวไม้อย่างพาราตัวอย่าง เมื่อเวลาผ่านไป 8 สัปดาห์ ลักษณะการเจริญของเชื้อราบนไม้อย่างพาราอบแห้งตัวอย่างแสดงดังภาพประกอบที่ 4.16 จะเห็นว่า ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา มีแนวโน้มลดลงหากเพิ่มความเข้มข้นของน้ำมัน โป๊ยกั๊กขึ้น การจุ่มไม้อย่างพาราอบแห้งด้วยน้ำมัน โป๊ยกั๊กที่ความเข้มข้น 80 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร สามารถป้องกัน และยับยั้งเชื้อราดังกล่าวได้นานถึง 12 สัปดาห์ นอกจากนี้ ผู้วิจัยได้ใช้ระยะเวลาการเก็บผลการทดลองอีก 4 สัปดาห์ ผลปรากฏว่าที่เวลา 14 สัปดาห์ มีเชื้อราเจริญเพิ่มขึ้นประมาณร้อยละ 10 ของพื้นที่ผิวไม้ ซึ่งลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus niger* ในช่วงเวลาการทดสอบแสดง ดังภาพประกอบที่ 4.17 อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบความหนาแน่นของเชื้อราบนไม้อย่างพาราอบแห้ง ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100 กับสภาวะปกติ (ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 76) พบว่า เชื้อรา *Aspergillus niger* ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100 ยังมีความหนาแน่นของเชื้อราสูงกว่า



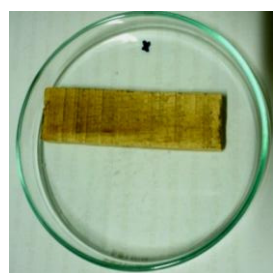
สัปดาห์ที่ 1-2



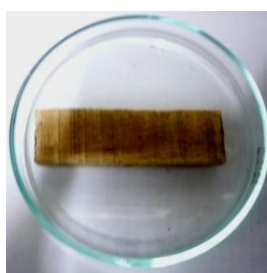
สัปดาห์ที่ 3-4



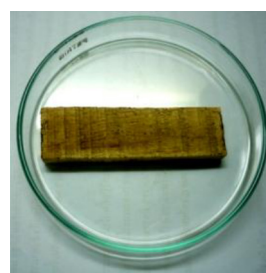
สัปดาห์ที่ 5-6



สัปดาห์ที่ 7-8



สัปดาห์ที่ 9-10



สัปดาห์ที่ 11-12

ภาพประกอบที่ 4.16 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus niger* บนไม้ยางพาราอบแห้งควบคุม ที่สภาวะปกติ



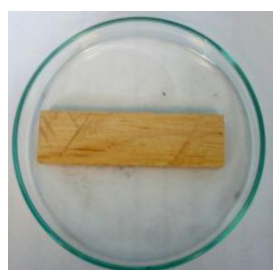
สัปดาห์ที่ 1-2



สัปดาห์ที่ 3-4



สัปดาห์ที่ 5-6



สัปดาห์ที่ 7-8



สัปดาห์ที่ 9-10



สัปดาห์ที่ 11-12

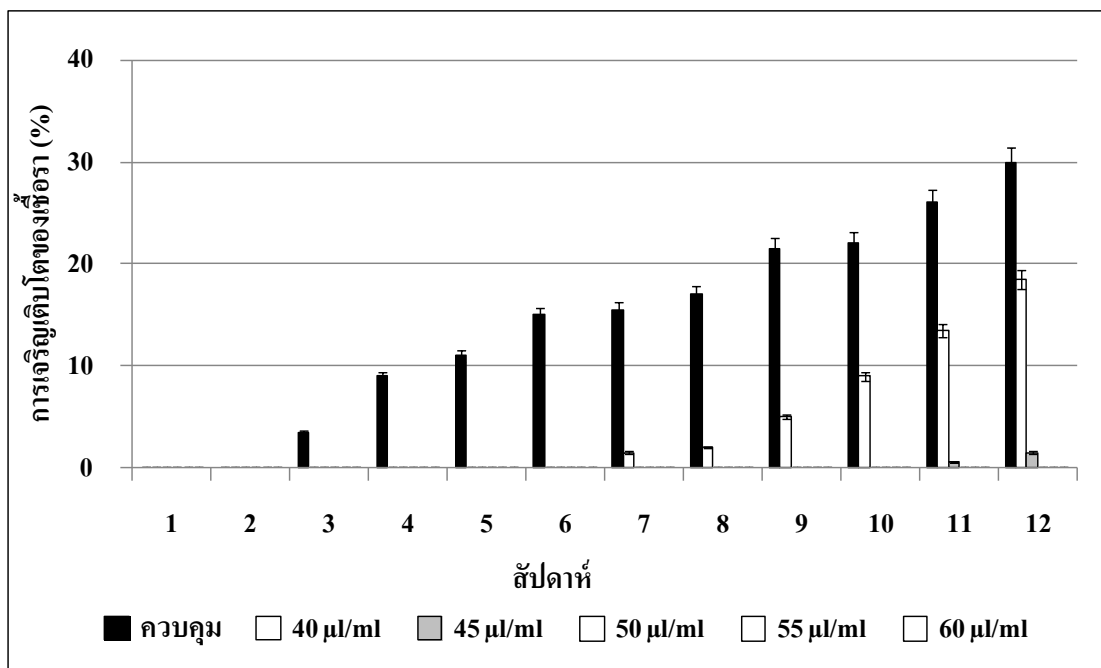
ภาพประกอบที่ 4.17 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus niger* บนไม้ยางพาราอบแห้งที่ผ่านการจุ่มด้วยน้ำมันโป๊ยกั๊ก 80 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ที่สภาวะปกติ

การทดลองที่ 4.2.2 การทดสอบการยับยั้งเชื้อราบนไม้อย่างพาราทาสี

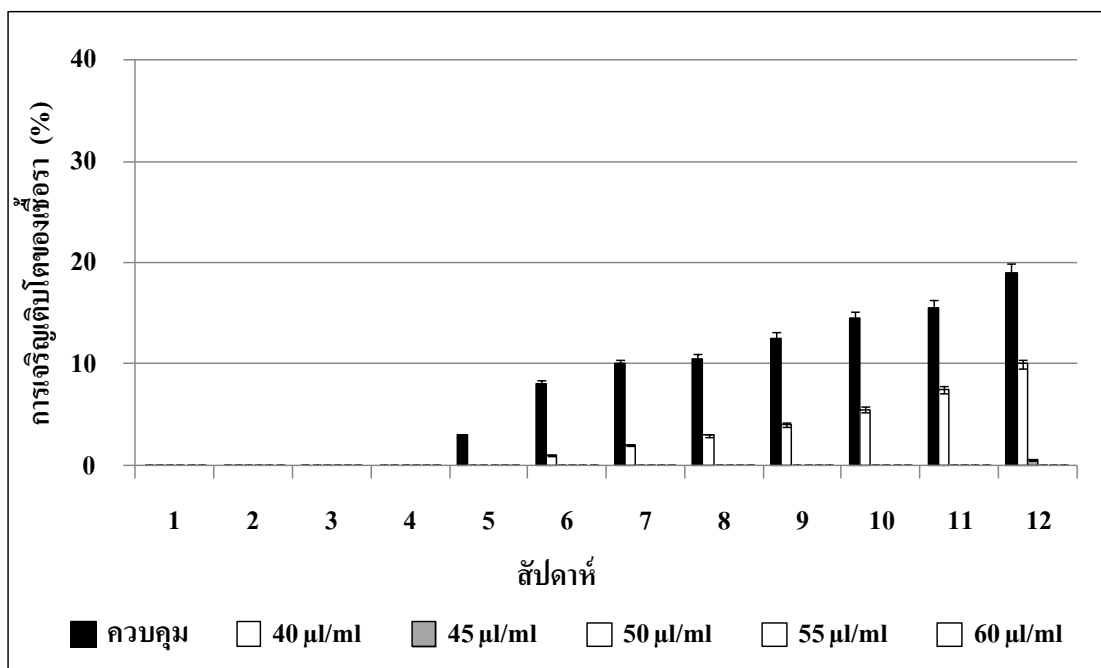
ทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium sp.* และ *Aspergillus niger* บนไม้อย่างพาราทาสี โดยใช้ความเข้มข้น ตัวทำลาย และสภาวะทดสอบเกี่ยวกับการทดลองบนไม้อย่างพาราออบแห้ง ผลการทดลองแสดงดังต่อไปนี้

- เชื้อรา *Penicillium sp.*

การศึกษาผลการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium sp.* บนไม้อย่างพาราทาสีที่ผ่านการจุ่มด้วยน้ำมันโป๊ยกั๊กในช่วงความเข้มข้น 40-60 ไมโครลิตร/มิลลิลิตรในตัวทำลายเมทิลแอลกอฮอล์ อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียส ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100 และสภาวะปกติ (ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 76) เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Penicillium sp.* บนไม้อย่างพาราทาสี แสดงดังภาพประกอบที่ 4.18



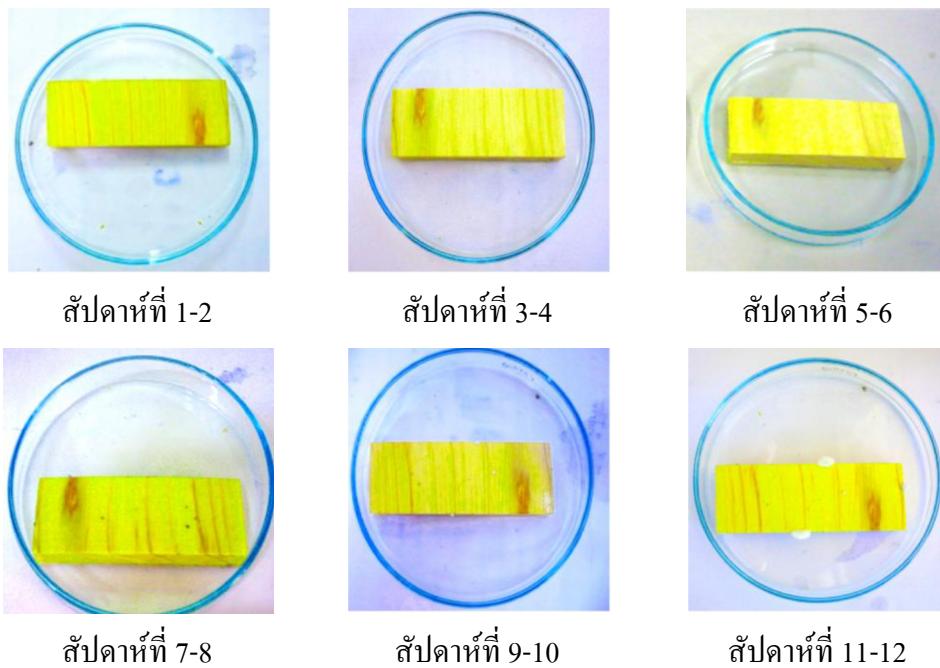
(ก)



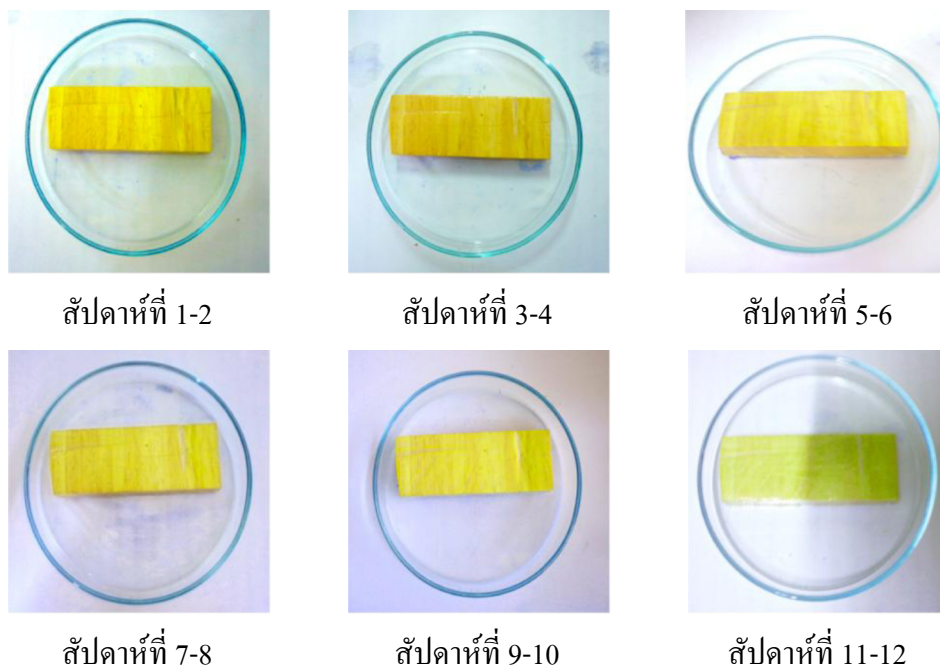
(ข)

ภาพประกอบที่ 4.18 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Penicillium sp.* บนไม้ยางพาราทาสี ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100 (ก) และสภาวะปกติ (ข)

ภาพประกอบที่ 4.18 (ก) แสดงร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100 เชื้อราที่เจริญบนไม้ยางพาราทาสีควบคุมมีปริมาณเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่ทดสอบ โดยเชื้อราจะเริ่มเจริญเมื่อเวลาผ่านไป 3 สัปดาห์และเมื่อครบ 12 สัปดาห์ พบการเจริญของเชื้อราคิดเป็นร้อยละ 30 ของพื้นที่ผิวไม้ตัวอย่าง เมื่อป้องกันด้วยน้ำมัน โปียก๊อคความเข้มข้น 40 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อราได้ 8 สัปดาห์ เมื่อป้องกันไม้ยางพาราด้วยน้ำมัน โปียก๊อค 45 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร สามารถป้องกันเชื้อราได้ยาวนานถึง 12 สัปดาห์ ผู้วิจัยยังศึกษาระยะเวลาการสังเกตผลอีก 4 สัปดาห์ พบว่าที่ระยะเวลา 14 สัปดาห์ ความเข้มข้นดังกล่าวจะมีเชื้อราเจริญเพิ่มขึ้นเท่ากับร้อยละ 10 ของพื้นที่ผิวไม้ และที่ความเข้มข้นของน้ำมัน โปียก๊อค 50 ไมโครลิตร/มิลลิลิตรสามารถที่จะยับยั้งเชื้อรา *Penicillium sp.* ได้ถึง 16 สัปดาห์ ซึ่งลักษณะการเจริญของเชื้อราบนไม้ยางพาราทาสีควบคุมและที่ป้องกันด้วยน้ำมัน โปียก๊อค 45 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ดังแสดงในภาพประกอบที่ 4.19 และภาพประกอบที่ 4.20 ตามลำดับ

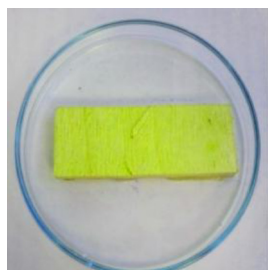


ภาพประกอบที่ 4.19 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Penicillium sp.* บนไม้ยางพาราทาสีควบคุม ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100

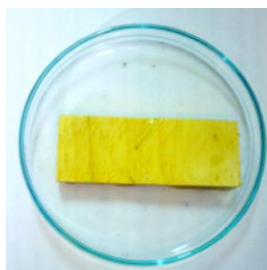


ภาพประกอบที่ 4.20 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Penicillium sp.* บนไม้ยางพาราทาสี ที่ผ่านการจุ่มด้วยน้ำมัน โป๊ยกั๊ก 45 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100

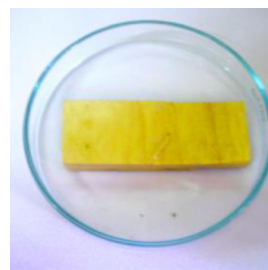
ภาพประกอบที่ 4.18 (ข) แสดงการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Penicillium sp.* บนไม้อย่างพาราทาสี ที่สภาวะปกติ โดยมีความชื้นสัมพัทธ์อากาศประมาณร้อยละ 76 จากการทดลองพบว่า ไม้อย่างพาราทาสีควบคุมจะเริ่มมีเชื้อราเจริญเมื่อผ่านไป 5 สัปดาห์ และมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นจนผ่านไป 12 สัปดาห์ จะมีการเจริญเติบโตของเชื้อราประมาณร้อยละ 19 ของพื้นที่ผิวไม้ ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อราบนไม้อย่างพาราทาสีควบคุม ดังแสดงในภาพประกอบที่ 4.21 แนวโน้มการเจริญของเชื้อราบนตัวควบคุมจะคล้ายกับที่ความเข้มข้น 40 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ซึ่งสามารถป้องกันเชื้อราได้ 5 สัปดาห์ เป็นผลเนื่องจากความเข้มข้นของน้ำมัน โป๊ยกั๊กที่ต่ำเกินไปทำให้ไม่สามารถยับยั้งเชื้อราได้ ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราที่ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 45 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร สามารถป้องกันเชื้อราได้ 12 สัปดาห์ เมื่อสังเกตผลที่ระยะเวลา 14 สัปดาห์ ปรากฏว่ามีการเจริญของเชื้อราเพียงเล็กน้อยประมาณร้อยละ 1-2 ของพื้นที่ผิวไม้ ลักษณะการเจริญของเชื้อราบนไม้อย่างพาราทาสีดังกล่าว แสดงดังภาพประกอบที่ 4.22



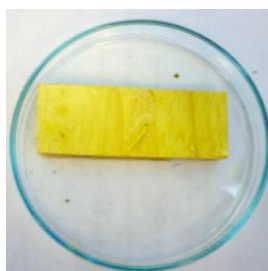
สัปดาห์ที่ 1-2



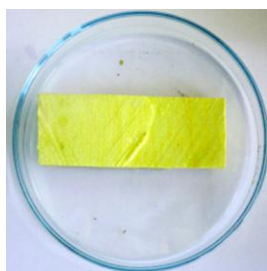
สัปดาห์ที่ 3-4



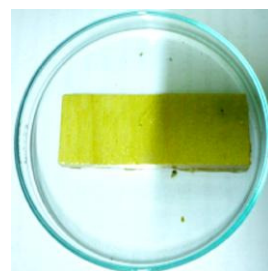
สัปดาห์ที่ 5-6



สัปดาห์ที่ 7-8

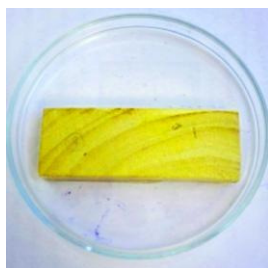


สัปดาห์ที่ 9-10

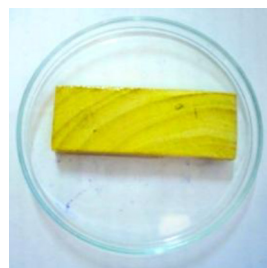


สัปดาห์ที่ 11-12

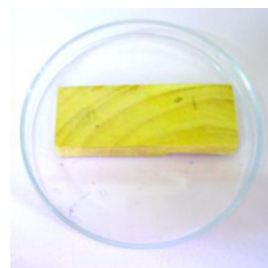
ภาพประกอบที่ 4.21 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Penicillium sp.*
บนไม้ยางพาราทาสีควบคุม ที่สภาวะปกติ



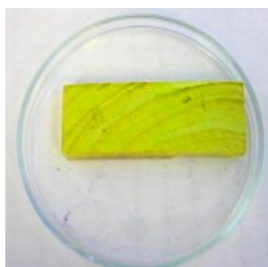
สัปดาห์ที่ 1-2



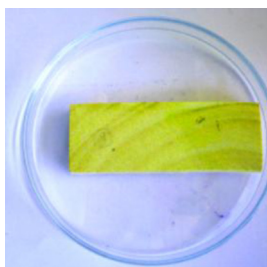
สัปดาห์ที่ 3-4



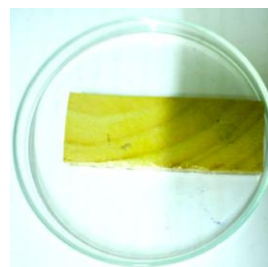
สัปดาห์ที่ 5-6



สัปดาห์ที่ 7-8



สัปดาห์ที่ 9-10

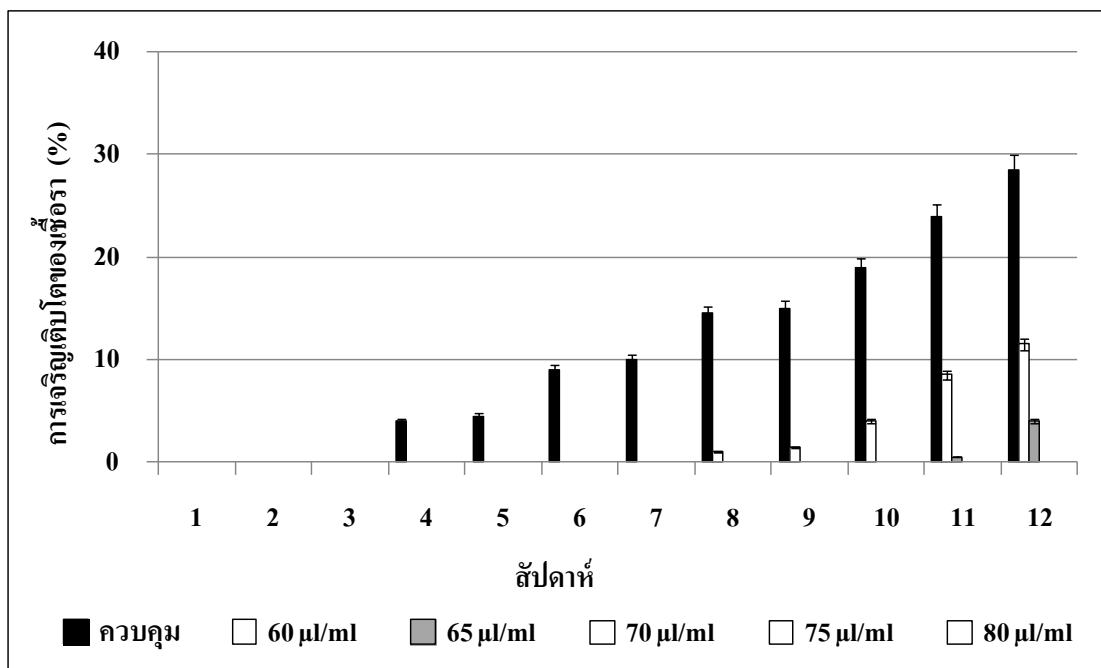


สัปดาห์ที่ 11-12

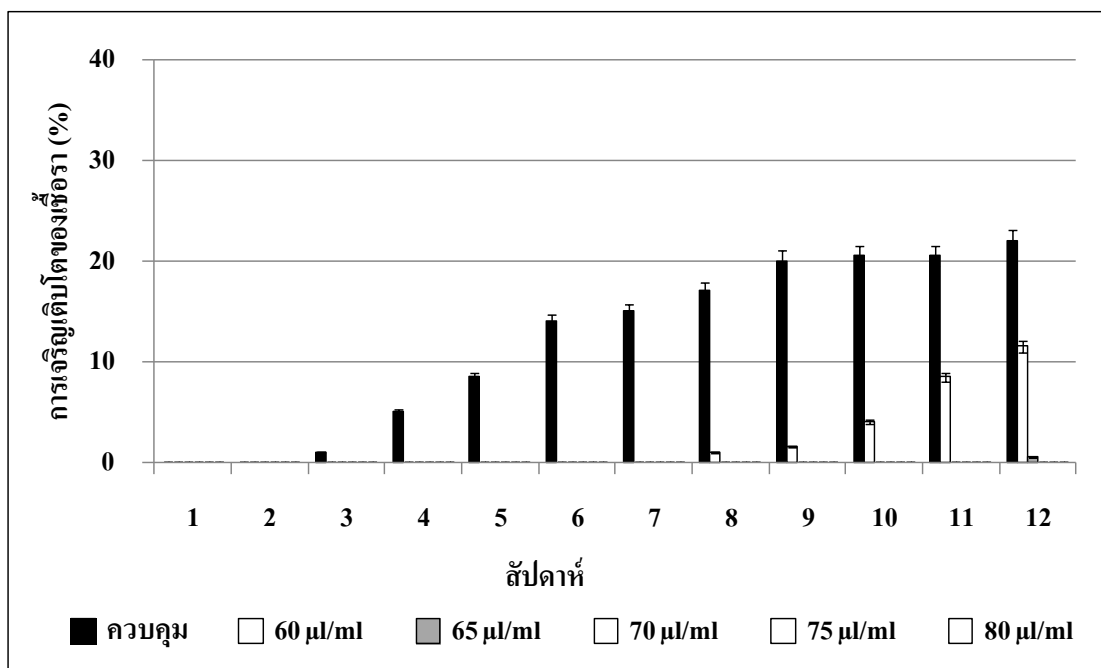
ภาพประกอบที่ 4.22 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Penicillium sp.* บนไม้ยางพาราทาสี
ที่ผ่านการจุ่มด้วยน้ำมัน โป๊ยกั๊ก 45 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ที่สภาวะปกติ

- เชื้อรา *Aspergillus niger*

การยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus niger* บนไม้ยางพาราทาสี ช่วงความเข้มข้น 60-80 ไมโครลิตร/มิลลิลิตรในตัวทำละลายเมทิลแอลกอฮอล์ อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียส ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100 และสภาวะปกติ (ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 76) เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus niger* บนไม้ยางพาราทาสี แสดงดังภาพประกอบที่ 4.23



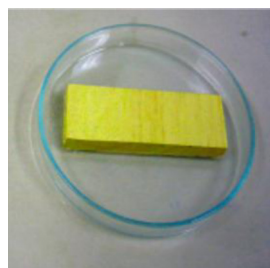
(ก)



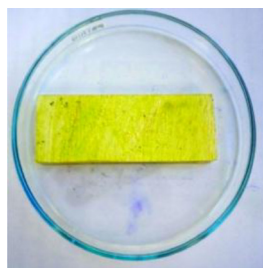
(ข)

ภาพประกอบที่ 4.23 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus niger* บนไม้ยางพาราทาสี ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100 (ก) และสภาวะปกติ (ข)

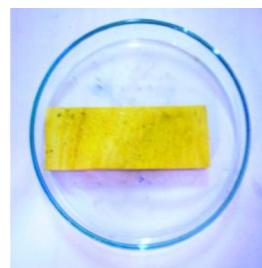
ภาพประกอบที่ 4.23 (ก) แสดงร้อยละการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus niger* บนไม้อย่างพาราทาสี ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100 พื้นที่การเจริญของเชื้อราบนไม้อย่างพาราทาสีควบคุมจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลา โดยจะมีการเจริญเติบโตเท่ากับร้อยละ 28.5 ของพื้นที่ผิวไม้เมื่อผ่านไป 12 สัปดาห์ น้ำมันโป๊ยกั๊กที่ความเข้มข้น 60 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อราได้ 8 สัปดาห์ หลังจากนั้นประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจะลดลง เนื่องจากทรานส์-เอนิโทลเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่สามารถสลายตัวได้ตามธรรมชาติ จึงทำให้เชื้อราสามารถเจริญบนไม้ได้ อย่างไรก็ตาม ที่ความเข้มข้น 70 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร เป็นความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้ในระยะเวลา 12 สัปดาห์ แต่เมื่อสังเกตผลที่ 14 สัปดาห์ มีการเจริญของเชื้อราเพิ่มขึ้นเล็กน้อยประมาณร้อยละ 3 ของพื้นที่ผิวไม้อย่างพารา โดยลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus niger* บนไม้อย่างพาราทาสีควบคุมและไม้อย่างพาราทาสีที่ผ่านการป้องกันด้วยน้ำมัน โป๊ยกั๊กความเข้มข้น 70 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ดังแสดงในภาพประกอบที่ 4.24 และภาพประกอบที่ 4.25 ตามลำดับ



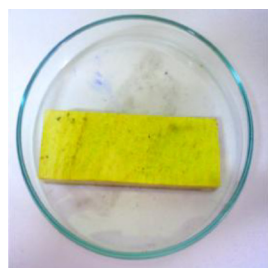
สัปดาห์ที่ 1-2



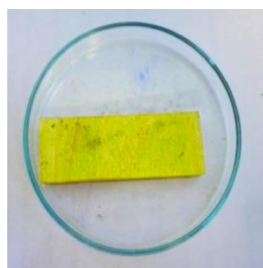
สัปดาห์ที่ 3-4



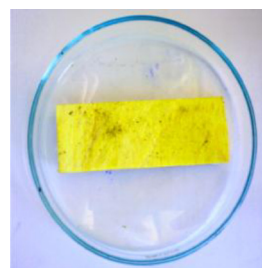
สัปดาห์ที่ 5-6



สัปดาห์ที่ 7-8

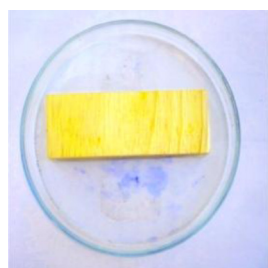


สัปดาห์ที่ 9-10

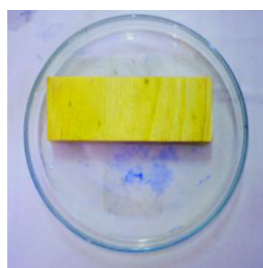


สัปดาห์ที่ 11-12

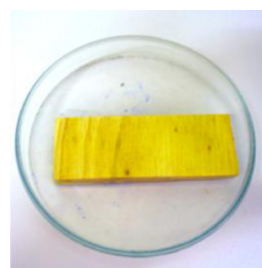
ภาพประกอบที่ 4.24 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus niger* บนไม้ยางพาราทาสีควบคุม ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100



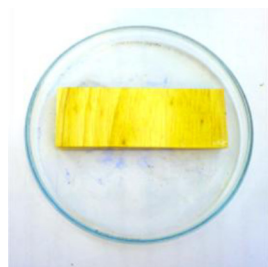
สัปดาห์ที่ 1-2



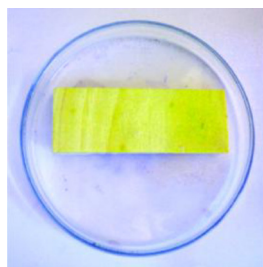
สัปดาห์ที่ 3-4



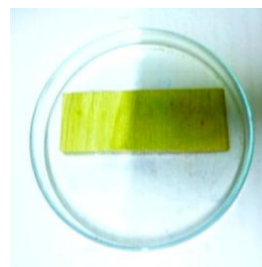
สัปดาห์ที่ 5-6



สัปดาห์ที่ 7-8



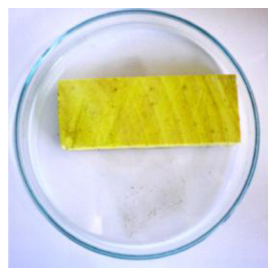
สัปดาห์ที่ 9-10



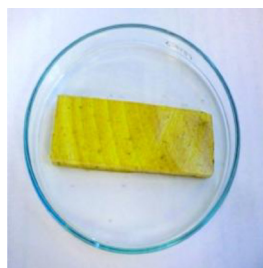
สัปดาห์ที่ 11-12

ภาพประกอบที่ 4.25 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus niger* บนไม้ยางพาราทาสีที่ผ่านการจุ่มด้วยน้ำมันโป๊ยกั๊ก 70 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100

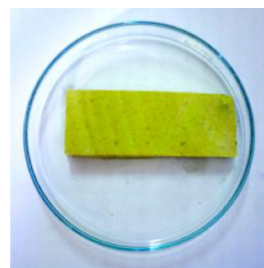
ผลการเจริญเติบโตของเชื้อราบนไม้อย่างพาราทาสีที่สภาวะปกติ แสดงดังภาพประกอบที่ 4.23 (ข) เชื้อรา *Aspergillus niger* บนไม้อย่างพาราทาสีควบคุมจะเจริญเพิ่มขึ้นสัมพันธ์กับเวลา จนเมื่อผ่านไป 12 สัปดาห์ มีการเจริญของเชื้อราร้อยละ 22 ของพื้นที่ผิวไม้ ซึ่งน้อยกว่าปริมาณเชื้อราที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100 ไม้อย่างพาราทาสีที่จุ่มด้วยน้ำมันโป๊ยกั๊กที่ความเข้มข้น 65 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ไม่ปรากฏเชื้อราเมื่อผ่านไป 12 สัปดาห์ ความเข้มข้นดังกล่าวจึงเป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อราบนไม้อย่างพาราได้ อย่างไรก็ตาม เมื่อเวลาผ่านไป 14 สัปดาห์ พบการเจริญของเชื้อราเพียงเล็กน้อย ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus niger* บนไม้อย่างพาราทาสีที่สภาวะปกติและเมื่อป้องกันด้วยน้ำมันโป๊ยกั๊กที่ความเข้มข้น 65 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ดังแสดงในภาพประกอบที่ 4.26 และภาพประกอบที่ 4.27 ตามลำดับ



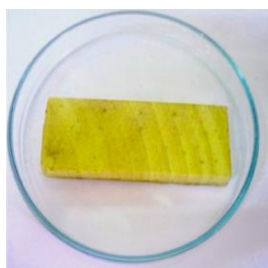
สัปดาห์ที่ 1-2



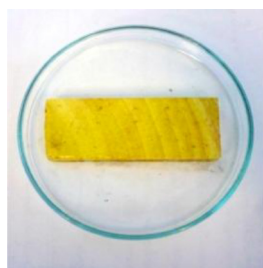
สัปดาห์ที่ 3-4



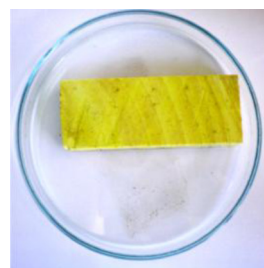
สัปดาห์ที่ 5-6



สัปดาห์ที่ 7-8

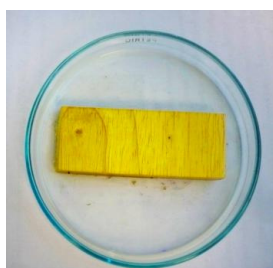


สัปดาห์ที่ 9-10

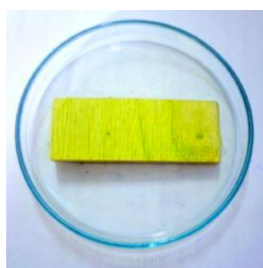


สัปดาห์ที่ 11-12

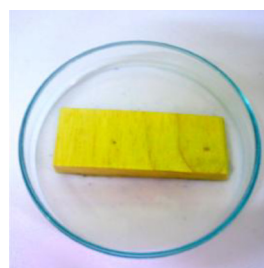
ภาพประกอบที่ 4.26 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus niger* บนไม้ยางพาราทาสีควบคุม ที่สภาวะปกติ



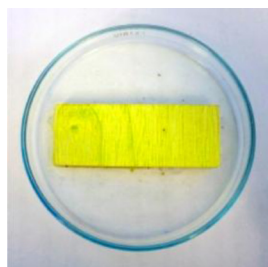
สัปดาห์ที่ 1-2



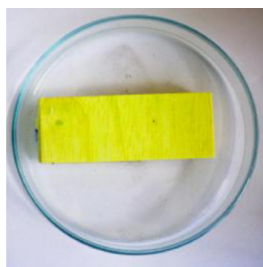
สัปดาห์ที่ 3-4



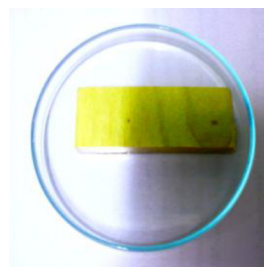
สัปดาห์ที่ 5-6



สัปดาห์ที่ 7-8



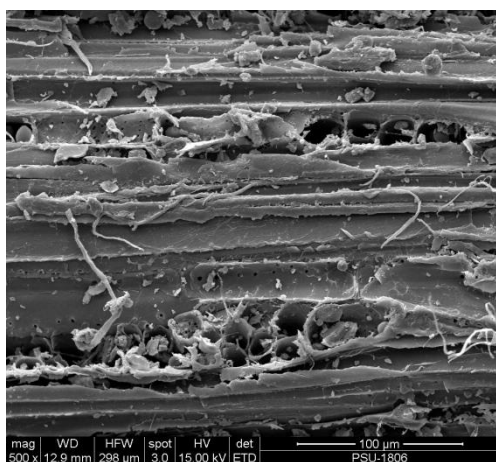
สัปดาห์ที่ 9-10



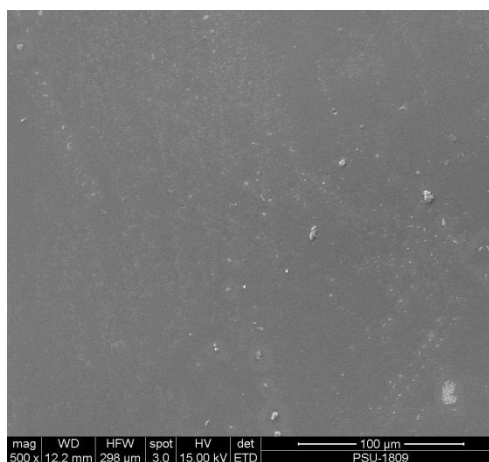
สัปดาห์ที่ 11-12

ภาพประกอบที่ 4.27 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus niger* บนไม้ยางพาราทาสีที่ผ่านการจุ่มด้วยน้ำมันโป๊ยกั๊ก 65 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ที่สภาวะปกติ

เมื่อเปรียบเทียบร้อยละการเจริญของเชื้อราบนไม้ยางพาราอบแห้งและไม้ยางพาราทาสีที่สภาวะเดียวกัน จะสังเกตว่า ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อราทั้งสองชนิดบนไม้ยางพาราทาสีจะต่ำกว่ามาก ผลดังกล่าวเกิดจากความแตกต่างของความชื้นในไม้เริ่มต้น ซึ่งไม้ยางพาราทาสีจะมีความชื้นในไม้น้อยกว่าไม้ยางพาราอบแห้งทำให้เชื้อราเจริญได้น้อยกว่า อีกทั้งองค์ประกอบในสีที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อรา ตามการรายงานการวิจัยของ Hochmannova และ Vytrasova (2010) ซึ่งศึกษาองค์ประกอบของเม็ดสี เช่น ซิงค์ออกไซด์ (ZnO) และไทเทเนียมออกไซด์ (TiO₂) ต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ *Eschreichia coli* *Staphylococcus aureus* และ *Pseudomonas aeruginosa* พบว่า องค์ประกอบดังกล่าวสามารถป้องกันจุลินทรีย์ได้ การทาสีไม้จึงช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา นอกจากนี้ เชื้อราที่ทำการทดสอบเป็นเชื้อราผิวไม้ การทาสีซึ่งเป็นการเคลือบผิวไม้ทำให้เชื้อราไม่สามารถย่อยเซลลูโลส แป้ง และแร่ธาตุจากไม้ จึงเป็นเหตุให้เชื้อราเจริญเติบโตได้ช้า โดยลักษณะพื้นผิวที่แตกต่างกันของไม้ยางพาราอบแห้งและไม้ยางพาราทาสีจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) แสดงดังภาพประกอบที่ 4.28



(ก)



(ข)

ภาพประกอบที่ 4.28 ลักษณะพื้นผิวของไม้ยางพาราอบแห้ง (ก) และไม้ยางพาราทาสี (ข)

จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) ที่กำลังขยาย 500 เท่า

สรุปผลการทดลองการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราบนไม้ยางพาราตัวอย่าง

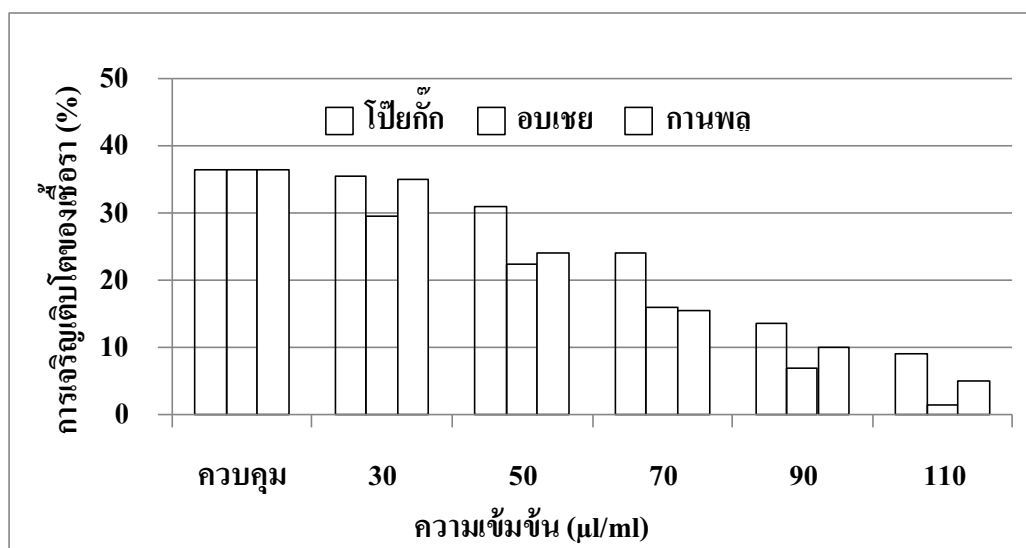
ไม้ยางพาราอบแห้งที่จุ่มด้วยน้ำมัน โป๊ยกั๊กเพื่อทดสอบการป้องกันเชื้อรา *Penicillium sp.* พบว่าที่ความเข้มข้น 60 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100 สามารถยับยั้งได้ 8 สัปดาห์ และสามารถยับยั้งเชื้อราชนิดนี้ได้ยาวนานกว่า 11 สัปดาห์เมื่อทดสอบที่

สภาวะปกติ (ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 76) นอกจากนี้ หากนำไม้อย่างพาราอบแห้งไปทดสอบ การป้องกันเชื้อรา *Aspergillus niger* ด้วยน้ำมัน โป๊ยกั๊กที่ความเข้มข้น 80 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100 พบว่า สามารถป้องกันเชื้อราได้ 8 สัปดาห์และที่สภาวะปกติ สามารถป้องกันเชื้อราได้ถึง 12 สัปดาห์

สำหรับการป้องกันเชื้อรา *Penicillium sp.* บนไม้อย่างพาราทาสี พบว่าที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100 และสภาวะปกติ สามารถยับยั้งเชื้อราได้ 12 สัปดาห์ เมื่อจุ่มไม้อย่างพารา ด้วยน้ำมัน โป๊ยกั๊กความเข้มข้น 45 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร แต่เมื่อจุ่มไม้ด้วยน้ำมัน โป๊ยกั๊กที่ความเข้มข้น 70 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus niger* ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศ ร้อยละ 100 ได้ประมาณ 13 สัปดาห์ ส่วนที่สภาวะปกตินั้นจะใช้ความเข้มข้นของน้ำมัน โป๊ยกั๊กที่ น้อยกว่า คือที่ 65 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อราได้ 12 สัปดาห์

กิจกรรมที่ 4.3 การประยุกต์น้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราบนของเล่นไม้

เชื้อราบนของเล่นไม้พบกระจายบริเวณที่ผิวของของเล่น มีสีขาว โดยทดสอบ ยับยั้งเชื้อราดังกล่าวโดยใช้ น้ำมัน โป๊ยกั๊ก น้ำมันอบเชย และน้ำมันกานพลู ในตัวทำละลาย เมทิลแอลกอฮอล์เนื่องจากให้ประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเชื้อราในการทดสอบที่ผ่านมา ที่ อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน ผลการทดลองดังแสดงในภาพประกอบที่ 4.29



ภาพประกอบที่ 4.29 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อราบนผิวของเล่นไม้ ในงานเพาะเชื้อ ปรับปริมาตรด้วยเมทิลแอลกอฮอล์ ที่อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

การศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยทั้งสามชนิดในการยับยั้งเชื้อราจากของเล่นไม้ พบว่า น้ำมันอบเชยที่ความเข้มข้น 110 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อราดังกล่าวได้ ซึ่งผลการทดลองแตกต่างจากการทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium sp.* หรือ *Aspergillus niger* ที่น้ำมัน โป๊ยกั๊กจะเป็นตัวยับยั้งที่ดีที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อราเป็นคนละชนิดกัน ซึ่งแต่ละชนิดมีความจำเพาะต่อสารในน้ำมันหอมระเหยที่แตกต่างกัน ส่งผลให้น้ำมันหอมระเหยซึ่งมีองค์ประกอบทางเคมีหลากหลายจึงมีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราได้แตกต่างกัน

กิจกรรมที่ 4.4 การประเมินผลทางเศรษฐศาสตร์

ต้นทุนการผลิตสารป้องกันด้วยน้ำมัน โป๊ยกั๊ก โดยคำนวณการผลิตในระดับปฏิบัติการที่ความเข้มข้น 80 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเชื้อรา *Penicillium sp.* และ *Aspergillus niger* ได้ ทำการจุ่มสารป้องกันซ้ำ 2 ครั้ง แต่แต่ละครั้งจะทำให้เสียสารป้องกันครั้งละ 1 มิลลิลิตร วัสดุดิบและราคาต้นทุนสารแต่ละชนิด แสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 วัสดุดิบและราคาต้นทุนสารแต่ละชนิด

วัสดุดิบ	ราคาต่อหน่วย (บาท/มิลลิลิตร)	ใช้จริง (มิลลิลิตร)	คิดเป็น (บาท)
น้ำมัน โป๊ยกั๊ก ^a	6.78	0.07	0.47
น้ำมันอบเชย ^a	17.98	0.07	1.26
น้ำมันกานพลู ^a	6.46	0.07	0.45
เมทิลแอลกอฮอล์ ^b	0.11	0.93	0.10
บอแรกซ์ ^{b*}	0.80	0.5	0.40

ข้อมูลวันที่ 4 กุมภาพันธ์ 2555

ที่มา a : www.botanicessence.com

b : www.boracarethai.com

* เกรดการค้า

ไม้ยางพาราแปรรูปตัวอย่างขนาด $0.7 \times 2 \times 7 = 9.8$ ลูกบาศก์เซนติเมตร (พื้นที่ผิว 40.6 ตารางเซนติเมตร) โดยต้นทุนการผลิตสารป้องกันในการจุ่มครั้งแรกคิดเป็น 0.57 บาทต่อ

ไม้ขนาด 9.8 ลูกบาศก์เซนติเมตร หรือประมาณ 0.06 บาทต่อลูกบาศก์เซนติเมตร จุ่มครั้งที่ 2 ในสารละลายเดิมคิดเป็น 0.03 บาทต่อลูกบาศก์เซนติเมตร

สารป้องกันไม้ชนิดบอแรกซ์เชิงพาณิชย์ผสมน้ำใช้ในอัตราส่วน 1:1 จุ่มครั้งที่ 1 คิดเป็น 0.40 บาทต่อไม้ขนาด 9.8 ลูกบาศก์เซนติเมตร หรือคิดเป็นราคา 0.04 บาทต่อลูกบาศก์เซนติเมตร จุ่มครั้งที่ 2 ในสารละลายเดิมเป็นราคา 0.02 บาทต่อลูกบาศก์เซนติเมตร

เมื่อเปรียบเทียบเชิงเศรษฐศาสตร์ พบว่าราคาของสารป้องกันจากน้ำมัน โป๊ยกั๊ก สูงกว่าบอแรกซ์ประมาณ 0.01-0.02 บาทต่อลูกบาศก์เซนติเมตร แต่น้ำมัน โป๊ยกั๊กก็มีความปลอดภัยต่อการใช้งานกว่า อีกทั้งยังไม่เป็นพิษต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อมด้วย

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

- การยับยั้งเชื้อราบนจานเพาะเชื้อด้วยน้ำมัน โป๊ยกั๊กความเข้มข้น 50 และ 70 ไมโครลิตร/มิลลิลิตรในเมทิลแอลกอฮอล์สามารถยับยั้งเชื้อรา *Penicillium sp.* และ *Aspergillus niger* ได้ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อราดังกล่าวมาผสมกันพบว่าต้องใช้น้ำมัน โป๊ยกั๊กความเข้มข้น 70 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ในตัวทำละลายเดียวกันเพื่อยับยั้งเชื้อราผสม ซึ่งสารทรานส์-เอนิโทล เป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมัน โป๊ยกั๊กมีผลต่อการยับยั้งเชื้อราทั้งสองชนิดได้ดีที่สุด
- การผสมน้ำมันหอมระเหยในอัตราส่วน 4:1:1 โดยปริมาตร ในตัวทำละลาย เมทิลแอลกอฮอล์ สามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งเชื้อรา *Penicillium sp.* และ *Aspergillus niger* ใดๆก็ตาม เมื่อผสมเชื้อราดังกล่าวแล้วทดสอบด้วยน้ำมันผสม พบว่าที่อัตราส่วนในตัวทำละลายดังกล่าวยังสามารถลดการเจริญของเชื้อราได้
- น้ำมันอบเชยที่ความเข้มข้น 110 ไมโครลิตร/มิลลิลิตรในเมทิลแอลกอฮอล์ สามารถยับยั้งเชื้อราจากของเล่นไม้ได้ดีที่สุด โดยน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิดมีความจำเพาะต่อเชื้อราแตกต่างกัน
- ไม้ยางพาราทาบอบแห้งที่จุ่มด้วยน้ำมัน โป๊ยกั๊ก 60 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ในเมทิลแอลกอฮอล์สามารถยับยั้งเชื้อรา *Penicillium sp.* ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100 ได้ 8 สัปดาห์ และที่สภาวะปกติ (ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 76) ได้ 11 สัปดาห์ อย่างไรก็ตาม ต้องใช้ความเข้มข้นที่สูงขึ้นเป็น 80 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ในการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus niger* ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100 ซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อราได้ 8 สัปดาห์ และที่สภาวะปกติสามารถยับยั้งได้ถึง 12 สัปดาห์ เนื่องจากความชื้นที่สูงขึ้นส่งผลให้เชื้อราสามารถสลายและย่อยสลายอาหารได้ง่ายกว่า
- ไม้ยางพาราทาบที่จุ่มด้วยน้ำมัน โป๊ยกั๊ก 45 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อรา *Penicillium sp.* ได้ 12 สัปดาห์ ทั้งที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100 และสภาวะปกติ และ เมื่อบ่มไม้ยางพาราทาบด้วยน้ำมัน โป๊ยกั๊ก 70 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus niger* ที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100 ได้ 13 สัปดาห์ (ยี่ดระยะเวลาสังเกตผล) ส่วนที่สภาวะปกตินั้น ใช้ความเข้มข้นเพียง 65 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ในการยับยั้งเชื้อรา 12 สัปดาห์ โดยองค์ประกอบของสีเช่น ZnO และ TiO₂ ยังมีผลช่วยในการยับยั้งเชื้อได้อีกด้วย

- สารป้องกันจากน้ำมัน โป๊ยกั๊กนี้สามารถยับยั้งเชื้อราผิวไม้ที่ทดสอบ มีความปลอดภัยหรือเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคน้อยกว่าสารเคมีที่ใช้ในปัจจุบัน อีกทั้ง ยังไม่ก่อให้เกิดความเปลี่ยนแปลงต่อสีของเนื้อไม้ด้วย

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ในอนาคตอาจจะมีการพัฒนาไซท์ที่เกิดจากน้ำมันปาล์มหรือ PFAD เคลือบวัสดุเพื่อป้องกันเชื้อรา ซึ่งมีรายงานถึงการนำไซท์ของพืชตระกูลปาล์ม *Copernicia cerifera* ที่มีองค์ประกอบของโปรตีนมาใช้ในการยับยั้งเชื้อรา (Cruz *et al.*, 2002)
2. เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศที่มีทรัพยากรป่าไม้อุดมสมบูรณ์ ซึ่งมีการแปรรูปและส่งออกไม้หลากหลายชนิด จึงควรมีการศึกษาการป้องกันเชื้อราไม้หรือแมลงด้วยน้ำมันหอมระเหยในไม้ชนิดอื่น เช่น ไม้ยูคาลิปตัส ไม้สน เป็นต้น
3. ถึงแม้ว่าการป้องกันรักษาไม้ด้วยวิธีการจุ่มจะเป็นวิธีการที่สะดวก รวดเร็ว ใช้ระยะเวลาสั้น แต่วิธีการนี้จำเป็นต้องใช้ปริมาณของสารป้องกันที่สูง จึงอาจเปลี่ยนจากวิธีการนี้เป็นวิธีการอื่น เช่น การฉีดพ่น หรือการทา เพื่อลดปัญหาดังกล่าว
4. น้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราที่แตกต่างกัน ซึ่งควรศึกษาเพิ่มเติมถึงพืชสมุนไพรชนิดอื่นเพื่อนำมาประยุกต์ใช้ประโยชน์ให้ได้ประสิทธิภาพสูงสุด

บรรณานุกรม

- กระทรวงอุตสาหกรรม. 2552. ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม ฉบับที่ 4046 (2552) เรื่อง กำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมไม้ยางพาราแปรรูป มาตรฐานเลขที่ มอก. 2423-2552. 26 พฤษภาคม 2551.
- การใช้ประโยชน์ไม้ชั้นพื้นฐาน. 2547. สำนักวิจัยการจัดการป่าไม้และผลิตผลป่าไม้, กรมป่าไม้.
- จำเป็น อ่อนทอง. 2547. การเตรียมสารละลายปฐมภูมิของโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต. คู่มือการวิเคราะห์ดินและพืช. ภาควิชาธรณีศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 6-7.
- รัชชัย เอกสันติ, ยุพิน ศาลางาม, วนิตา แสงทอง, อุไรวรรณ สวัสดิ์ และ กมลวรรณ ดีเลิศ. 2555. ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเชื้อรากับเวลา. จุลชีววิทยาในทางสาธารณสุข. 21-22.
- นฤตวรรษ สัญญาโณ และ อุบลวรรณ มะเดื่อ. 2552. แนวทางการอบไม้ยางพาราเพื่อลดปัญหาเชื้อรา มด มอด. วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเคมี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- นันทชัย พงศ์พัฒนานุรักษ์. 2540. ความต้านทานของไม้ยางพาราอบน้ำยาต่อการเข้าทำลายของปลวกใต้ดิน. วนศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวนผลิตภัณฑ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ประสาทพร บริสุทธิ์เพ็ชร, พิทัย กาญจนบุตร และสาธิต พรตระกูลพิพัฒน์. 2551. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อของสมุนไพรในห้องปฏิบัติการ. การประชุมวิชาการสัตวแพทย์ มข. ครั้งที่ 9. 11-12 มิถุนายน 2551, คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- พื้นที่ปลูกยางพาราของประเทศไทย. 2552. สถิติการเกษตรของประเทศไทยปี 2551, ศูนย์สารสนเทศการเกษตร, สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

- ภัสจันท์ หิรัญ, อรพิน เกิดชูชื่น และณัฐรา เลหากุลจิตต์. 2553. การยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus spp.* โดยน้ำมันหอมระเหยกานพลูและอบเชย. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, ฉบับพิเศษที่ 41 (3/1), 21-24.
- วลี ลือประเสริฐ. มกราคม, 2550. มงกุฏของราชินีผลไม้เปลือกสีเข้มโดดเด่นนามมังกุด. Herb for health magazine. 7(73).
- วีระพงษ์ วรประโยชน์, วราศรี แสงกระจ่าง, นิภาพร ศิริสมบัติ และนฤมล มาแทน. 2550. การป้องกันเชื้อราและปลวกบนไม้ยางพาราโดยใช้สารธรรมชาติ.
- สรจักร ศิริบริรักษ์. 2553. ตะไคร้กับตะไคร้หอม. หมออนามัย, ปีที่ 19, ฉบับที่ 4 (มกราคม-กุมภาพันธ์, 2553), 42-48.
- สิริลักษณ์ มาลาเนียม. 2545. น้ำมันหอมระเหยสารสกัดจากพืชสมุนไพรไทย. สมอ สาร, ปีที่ 28, ฉบับที่ 325 (กรกฎาคม 2545), 3-6.
- สุภายิต ชุกกลิ่น. 2547. การผลิตไบโอดีเซลจากเมล็ดยางพารา. วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเคมี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่.
- Al-ja'fari, A.-H. Vila, R. Freixa, B. Tomi, F. Casanova, J. Costa, J. and Cañigueral, S. 2011. Composition and antifungal activity of the essential oil from the rhizome and roots of *Ferula hermonis*. Phytochemistry. 72, 1406-1413.
- American Society for Testing and Materials, 1998. Standard test method for fungicides for controlling sapstain and mold on unseasoned lumber (laboratory method), ASTM Standard D4445-91, West Conshohocken, PA, 497-500.
- Baimark, Y. and Niamsa, N. 2009. Study on wood vinegars for use as coagulating and antifungal agents on the production of natural rubber sheets. Biomass and Bioenergy. 33, 994-998.
- Bakkali, F. Averbeck, S. Averbeck, D. and Idaomar, M. 2008. Biological effect of essential oils-a review. Food and Chemical Toxicology. 46, 446-475.

- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *International Journal of Food Microbiology*. 94, 223-253.
- Caccioni, D. R. L. Guizzardi, M. Biondi, D. M. Renda, A. and Ruberto G. 1998. Relationship between volatile components of citrus fruit essential oils and antimicrobial action on *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*. *International Journal of Food Microbiology*. 43, 73-79.
- Cruz, M. A. L. Gomez, V. M. Fernandes, K. V. S. Machado, O. L. T. and Xavier-Filho, J. 2002. Identification and partial characterization of a chitinase and a β -1, 3-glucanase from *Copernicia cerifera* wax. *Plant Physiology and Biochemistry*. 40, 11-16.
- De Vincenzi, M. Silano, M. De Vincenzia, A. Maialetti, F. and Scazzocchio, B. 2002. Constituents of aromatic plants: eucalyptol. *Fitoterapia*. 73, 269-275.
- Ekwenye, U. N. and Ijeomah, C. A. 2005. Antimicrobial effects of palm kernel oil and palm oil. *KMITL Science Journal*. 5, 502-505.
- Hochmannova, L. and Vytrasova, J. 2010. Photocatalytic and antimicrobial effects of interior paints. *Progress in Organic Coatings*. 67, 1-5.
- Leite de Souza, E. de Oliveira Lima, E. Reinaldo de Luna Freire, K. and Paiva de Sousa, C. 2005. Inhibitory action of some essential oils and phytochemicals on the growth of various moulds isolated from foods. *Brazilian Archives of Biology Technology*. 48(2), 245-250.
- Lin, K.-H. Yeh, S.-Y. Lin, M.-Y. Shih, M.-C. Yang, K.-T. and Hwang, S.-Y. 2007. Major chemotypes and antioxidative activity of the leaf essential oils of *Cinnamomum osmophloeum* Kaneh. from a clonal orchard. *Food Chemistry*. 105, 133-139.

- Matan, N. and Matan, N. 2007. Effect of combined cinnamon and clove oil against major moulds identified from rubberwood (*Hevea brasiliensis*). *Walailak Journal of Science and Technology*. 4, 165-174.
- Matan, N. 2008. Application of water colour paint incorporated with essential oils against *Trametes versicolor* on rubberwood. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, Abstract of the World Congress on Medicinal and Aromatic Plants
- Matan, N. and Matan, N. 2008. Antifungal activities of anise oil, lime oil, and tangerine oil against molds on rubberwood (*Hevea brasiliensis*). *International Biodeterioration and Biodegradation*. 62, 75-78.
- Matan, N. Woraprayote, W. Saengkrajung, W. Sirisombat, N. and Matan, N. 2009. Durability of rubber (*Hevea brasiliensis*) treated with peppermint oil, eucalyptus oil and their main components. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 63, 621-625.
- Matan, N. Saengkrajang, W. and Matan, N. 2011 Antifungal activities of essential oils applied by dip-treatment on areca palm (*Areca catechu*) leaf sheath and persistence of their potency upon storage. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 65, 212-216.
- Ong, A. S. H. Kifli, H. Hassan, H. and Chow, C. S. 1990. Palm oil as oleochemical raw materials. *World Conference on Oleochemicals into the 21st Century* (Oct. 8-12, 1990 : Kuala Lumpur, Malasia).
- Prasertsit, K. Rattanawan, N. and Ratanapisit, J. 2011. Effects of wood vinegar as an additive for natural rubber products. *Songklanakarin Journal Science and Technology*. 33 (4), 425-430.
- Prestemon, D. R. 1994. Selection and use of preservative-treated wood, *Wood use*.

- Ramesh Yadav, A. Chauhan, A. S. Rekha, M. N. Rao, L. J. M. and Ramteke, R. S. 2004. Flavour quality of dehydrated lime [*Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle]. Food Chemistry. 85, 59-62.
- Ratnasingam, J. Grohmann, R. and Scholz, F. 2010. Drying quality of rubber: an industrial perspective. European Journal of Wood and Wood Products. 68, 115-116.
- Sagdiç, O. and Özcan, M. 2003. Antibacterial activity of Turkish spice hydrosols. Food Control. 14, 141-143.
- Scholtz, S. C. Pieters, M. Oosthuizen, W. Jerling, J. C. Bosman, M. J. C. and Vorster, H. H. 2004. The effect of red palm olein and refined palm olein on lipids and haemostatic factors in hyperfibrinogaemic subjects. Thrombosis Research. 113, 13-25.
- Singh, G. Maurya, S. De Lampasona, M. P. and Catalan, C. 2006. Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of *Foeniculum vulgare* volatile oil and its acetone extract. Food Control. 17, 745-752.
- Soliman, K. M. and Badaea, R. I. 2002. Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. Food and Chemical Toxicology. 40, 1669-1675.
- Sukkaew, P. Nunraksa, S. and Matan, N. 2007. Determination of boron in rubberwood lumber by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES). 33rd Congress on Science and Technology of Thailand. Thailand, October 2, 2007.
- Wang, G.-W. Hu, W.-T. H. Huang, B.-K. and Qin, L.-P. 2011. *Illicium verum*: A review on its botany, traditional use, chemistry and pharmacology. Journal of Ethnopharmacology. 136, 10-20.
- Wang, S. Y. Chen, P. F. and Chang, S. T. 2005. Antifungal activities of essential oils and their constituents from indigenous cinnamon (*Cinnamomum osophloeum*) leaves against wood decay fungi. Biosource Technologies. 96, 813-818.

Wenqiang, G. Shufen, L. Ruixiang, Y. Shaokun, T. and Can, Q. 2007. Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods. *Food Chemistry*. 101, 1558-1564.

Yang, V. W. and Clausen, C. A. 2007. Antifungal effect of essential oils on southern yellow pine. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 59, 302-306.

Yildiz, U. C. Temiz, A. T. Gezer, E. D. and Yildiz, S. 2004. Effects of the wood preservatives on mechanical properties of yellow pine (*Pinus sylvestris* L.) wood. *Building and Environment*. 39, 1071-1075.

กลสมบัติน้ำมันยางพารา. [Available online: 20 ธันวาคม 2554]. www.108wood.com

ทรงกลด จารุสมบัติ. 2553. การรักษาเนื้อไม้. [Available online: 27 ธันวาคม 2554]. www.baannatura.com

ประวัติยางพารา. องค์การสวนยาง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. [Available Online: 3 มกราคม 2555]. www.reothai.co.th

ปัจจัยในการเจริญเติบโตของเชื้อรา. [Available online: 20 ธันวาคม 2554]. buranapagroup.com

วิจิต สุวรรณปรีชา. 2550. ส่วนวิชาการเกษตร, สำนักงานกองทุนสงเคราะห์การทำสวนยาง. ไม้ยางพาราทดแทนไม้ป่าจากธรรมชาติ. [Available online: 25 ธันวาคม 2554]. www.rubber.co.th

องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหย. ฝ่ายเภสัชและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ, ฐานข้อมูลน้ำมันหอมระเหยและพืชหอมไทย. [Available online: 29 ธันวาคม 2554]. www.tistr.or.th

ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์

1. การเก็บเชื้อราในน้ำกลั่น

สารเคมี

1. เชื้อราสายพันธุ์ *Penicillium sp.*
2. เชื้อราสายพันธุ์ *Aspergillus niger*
3. โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)
4. ทวิน80 (Tween80)
5. น้ำกลั่น

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งน้ำหนักไฟฟ้า ความละเอียดทศนิยม 3 ตำแหน่ง
2. เข็มเขี่ยเชื้อ
3. ขวดปรับปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร

วิธีการวิเคราะห์

1. เตรียมสารละลายน้ำเกลือ โดยชั่งโซเดียมคลอไรด์ 8.0 กรัม ในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร และทวิน80 ซึ่งเป็นอิมัลซิไฟเออร์ (Emulsifier) ร้อยละ 0.1 โดยปริมาตร นำไปฆ่าเชื้อ
2. เทสารละลายน้ำเกลือ 5 มิลลิลิตร ที่เย็นแล้วลงบนหน้าของเชื้อราแต่ละชนิด จากนั้นใช้เข็มเขี่ยเชื้อย้ายเชื้อราลงในน้ำกลั่น จะได้สารละลายสปอร์ของเชื้อรา

2. การวิเคราะห์และคำนวณหาความเข้มข้นของเชื้อรา

สารเคมี

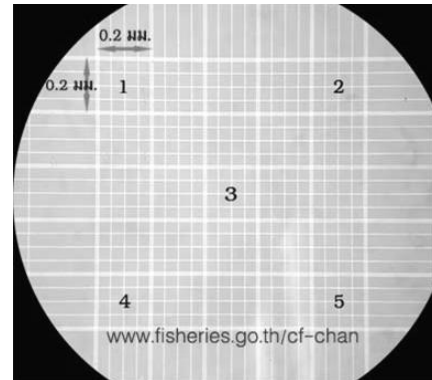
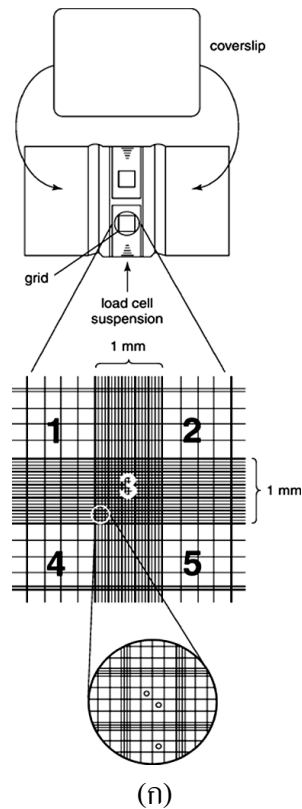
1. น้ำกลั่น

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์นับสปอร์และกระจกปิดสไลด์ (Haemocytometer and Cover Slip)
2. กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light Microscope)
3. หลอดหยด

วิธีการวิเคราะห์และคำนวณ

1. ใช้หลอดหยดหยดสารละลายสปอร์ของเชื้อลงบนสเกลของอุปกรณ์ตรวจนับสปอร์ข้างละ 1 หยด ตำแหน่งของสเกลบนอุปกรณ์นับสปอร์แสดงในภาพประกอบที่ ก.1(ก) จากนั้นใช้กระจกปิดสไลด์ปิดทับเบาๆ หากหยดพอดีจะไม่มีเชื้อเหลือล้นออกมาจากสไลด์
2. นำสไลด์ไปตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ นับจำนวนสปอร์แล้วนำไปคำนวณหาความเข้มข้น



(ก)

(ข)

ภาพประกอบที่ ก.1 ตำแหน่งของสเกลบนอุปกรณ์ตรวจนับสปอร์ (ก)
และบริเวณในการตรวจนับ (ข)

ที่มา (ก) : homepages.gac.edu (20 ธันวาคม 2554)

(ข) : www.fisheries.go.th (20 ธันวาคม 2554)

สเกลภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า ตำแหน่งกลางตาราง (ภาพประกอบที่ ก.1(ข)) ช่อง 1 2 3 4 และ 5 มีความกว้างและยาวด้านละ 0.2 มิลลิเมตร และความลึกในแต่ละช่องคือ 0.1 มิลลิเมตร ดังนั้น ปริมาตรน้ำในช่องใดๆ เท่ากับ ความกว้าง × ความยาว × ความลึก หรือ $0.2 \times 0.2 \times 0.1$ ลูกบาศก์มิลลิเมตร หรือ $0.02 \times 0.02 \times 0.01$ ลูกบาศก์เซนติเมตร ซึ่งเท่ากับ 0.000004 ลูกบาศก์เซนติเมตร หรือ 0.000004 มิลลิลิตร

ดังนั้น หากเลือกนับสปอร์ที่ช่อง 1 2 3 4 และ 5 ความเข้มข้นสปอร์จะคำนวณได้จาก

$$\text{ความเข้มข้นสปอร์} = \text{ค่าเฉลี่ยสปอร์ 5 ช่อง} \times \frac{1}{4} \times 10^6 \text{ สปอร์/มิลลิลิตร}$$

3. การเตรียมสารละลายปฐมภูมิของโพแทสเซียมไฮโดรเจนพธาลเตต (จำเป็น, 2547)

สารเคมี

1. โพแทสเซียมไฮโดรเจนพธาลเตต
2. น้ำกลั่น

อุปกรณ์

1. ขวดปรับปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร
2. เครื่องชั่งน้ำหนักไฟฟ้า ความละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีการวิเคราะห์

1. อบโพแทสเซียมไฮโดรเจนพธาลเตตที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง
2. เตรียมโพแทสเซียมไฮโดรเจนพธาลเตต (มวลโมเลกุล = 204.23 กรัม/โมล) ความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ โดยชั่งสาร 4.0846 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตร

4. การหาความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

สารเคมี

1. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์
2. สารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต (Potassium Hydrogen Phthalate, KHP) 0.02 โมลาร์
3. น้ำกลั่น
4. ฟีนอล์ฟทาไลน์อินดิเคเตอร์

อุปกรณ์

1. บีเปตขนาด 5 มิลลิลิตร
2. บิวเรตขนาด 50 มิลลิลิตร
3. ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
4. กระจกตวงขนาด 10 มิลลิลิตร

วิธีการวิเคราะห์และคำนวณ

1. บีเปตสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 5 มิลลิลิตรใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร
2. หยดฟีนอล์ฟทาไลน์อินดิเคเตอร์ 2 หยด ทำให้สารละลายเป็นสีชมพู จากนั้นไทเทรตกับสารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลตความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ จนสารละลายเปลี่ยนจากสีชมพูกลายเป็นใส

คำนวณความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์จากสูตร

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

- โดย C_1 คือ ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์
 C_2 คือ ความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต 0.02 โมลาร์
 V_1 คือ ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์
 V_2 คือ ปริมาตรของสารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต

5. การวิเคราะห์ร้อยละของกรดไขมันอิสระ (% Free Fatty Acid, %FFA) (A.O.A.C. Ca 5a-40, 1990)

สารเคมี

1. ส่วนสกัดกรดไขมันปาล์มตัวอย่าง (Palm Fatty Acid Distillate, PFAD)
2. เอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 95
3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มิลลิลิตร
4. ฟีนอล์ฟทาลีนอินดิเคเตอร์

อุปกรณ์

1. ขวดปรับปริมาตร
2. ขวดรูปชมพู่
3. บิวเรต
4. หลอดหยด
5. เครื่องชั่งน้ำหนักไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีการวิเคราะห์และคำนวณ

1. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอน 1-10 กรัม ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. เตรียมเอทิลแอลกอฮอล์ปรับให้เป็นกลาง โดยเติมฟีนอล์ฟทาลีน 5 หยด และปรับให้เป็นกลางด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล หยดตามที่ละหยดพร้อมทั้งเขย่าอย่างแรงจนได้สีชมพูถาวร
3. เติมเอทิลแอลกอฮอล์ที่เป็นกลางดังกล่าว 50 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่าง เขย่าอย่างแรงเพื่อให้ตัวอย่างละลายในแอลกอฮอล์ ถ้าตัวอย่างละลายได้น้อยสามารถทำได้โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60-65 องศาเซลเซียส
4. ไทเทรตตัวอย่างด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล ขณะไทเทรตต้องเขย่าอย่างแรงจนกระทั่งได้สีชมพูคงที่ประมาณ 1 นาที

5. จำนวนปริมาณกรดไขมันอิสระจาก

$$\text{กรดไขมันอิสระในรูปกรดปาล์มมิติก} = \frac{\text{ปริมาณที่ใช้ (มิลลิลิตร)} \times \text{ความเข้มข้นต่าง (นอร์มอล)} \times \text{MWกรดปาล์มมิติก}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

6. การหาความชื้นสัมพัทธ์อากาศจากเครื่องวัดความชื้นสัมพัทธ์อากาศแบบกระดาษเปียก-กระดาษแห้ง

สารเคมี

1. น้ำกลั่น

อุปกรณ์

1. เครื่องวัดความชื้นสัมพัทธ์อากาศแบบกระดาษเปียก-กระดาษแห้ง
2. สำลี

วิธีการวิเคราะห์และคำนวณ

1. อ่านค่าอุณหภูมิห้องแล้วอ้างอิงเป็นค่าอุณหภูมิที่กระดาษแห้ง
2. นำสำลีชุบน้ำพอหมาดๆ หุ้มกระดาษเปียก อ่านค่าอุณหภูมิอ้างอิงเป็นค่าอุณหภูมิที่กระดาษเปียก
3. นำค่าดังกล่าวไปอ่านกราฟแผนภูมิความชื้นสัมพัทธ์สำหรับอากาศในช่วงอุณหภูมิ 10-120 องศาเซลเซียส และความดัน 1 atm

ภาคผนวก ข

ผลการวิเคราะห์

1. ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

คำนวณความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์โดยไทเทรตกับสารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟทาเลต (Potassium Hydrogen Phthalate, KHP) 0.02 โมลาร์

ครั้งที่ 1	ปริมาตรของสารละลาย KHP	41.0	มิลลิลิตร
ดังนั้น	ความเข้มข้นของสารละลาย NaOH	=	$\frac{0.02 \text{ โมลาร์} \times 41.0 \text{ มิลลิลิตร}}{5 \text{ มิลลิลิตร}}$
		=	0.164 โมลาร์
หรือ		=	0.164 นอร์มอล

ครั้งที่ 2	ปริมาตรของสารละลาย KHP	40.5	มิลลิลิตร
ดังนั้น	ความเข้มข้นของสารละลาย NaOH	=	$\frac{0.02 \text{ โมลาร์} \times 40.5 \text{ มิลลิลิตร}}{5 \text{ มิลลิลิตร}}$
		=	0.162 โมลาร์
หรือ		=	0.162 นอร์มอล

ดังนั้น	ความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลาย NaOH	=	$\frac{0.164 \text{ นอร์มอล} + 0.162 \text{ นอร์มอล}}{2}$
		=	0.163 นอร์มอล

2. การวิเคราะห์ร้อยละของกรดไขมันอิสระ (%FFA)

วิเคราะห์กรดไขมันอิสระใน PFAD โดยไทเทรตกับสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 0.163 นอร์มอล

ครั้งที่ 1	น้ำหนัก PFAD	1.000	กรัม
	ปริมาตรสารละลาย NaOH ที่ใช้	22.00	มิลลิลิตร
ดังนั้น ร้อยละกรดไขมันอิสระ	=	$\frac{22.00 \text{ มิลลิลิตร} \times 0.163 \text{ นอร์มอล} \times 25.6}{1.000 \text{ กรัม}}$	
	=	91.8016	

ครั้งที่ 2	น้ำหนัก PFAD	1.008	กรัม
	ปริมาตรสารละลาย NaOH ที่ใช้	22.05	มิลลิลิตร
ดังนั้น ร้อยละกรดไขมันอิสระ	=	$\frac{22.05 \text{ มิลลิลิตร} \times 0.163 \text{ นอร์มอล} \times 25.6}{1.008 \text{ กรัม}}$	
	=	91.2800	

ครั้งที่ 3	น้ำหนัก PFAD	1.005	กรัม
	ปริมาตรสารละลาย NaOH ที่ใช้	22.0	มิลลิลิตร
ดังนั้น ร้อยละกรดไขมันอิสระ	=	$\frac{22.00 \text{ มิลลิลิตร} \times 0.163 \text{ นอร์มอล} \times 25.6}{1.005 \text{ กรัม}}$	
	=	91.3449	

ฉะนั้น ร้อยละของกรดไขมันอิสระ	=	$\frac{91.8016 + 91.2800 + 91.3449}{3}$	
	=	91.4755	

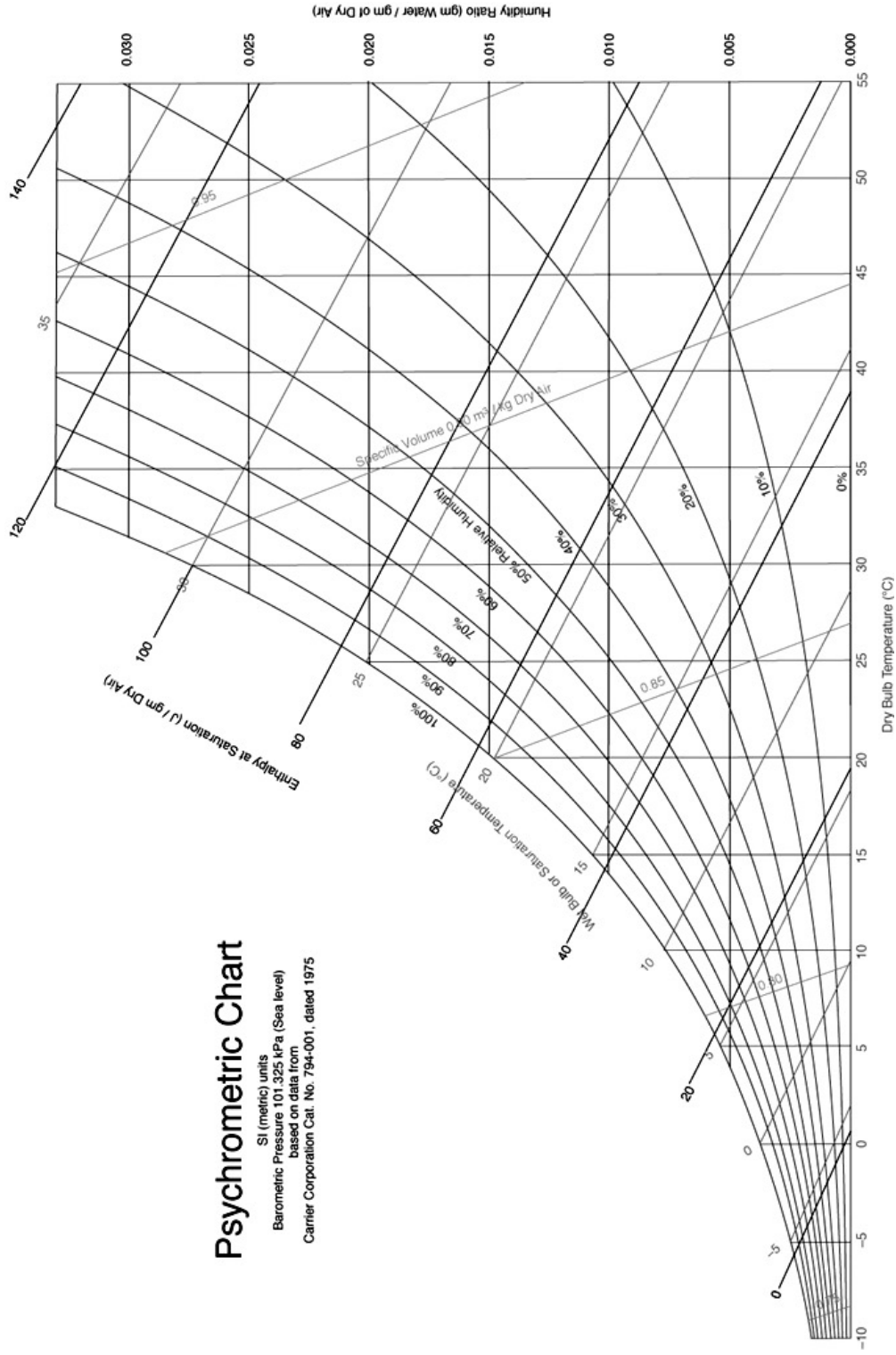
3. การวิเคราะห์หาความชื้นสัมพัทธ์อากาศจากเครื่องวัดความชื้นสัมพัทธ์อากาศแบบกระดาษเปียก-กระดาษแห้ง

การหาความชื้นสัมพัทธ์อากาศโดยอาศัยอุณหภูมิที่กระดาษเปียกและกระดาษแห้ง จากกราฟแผนภูมิความชื้นสัมพัทธ์สำหรับอากาศในช่วงอุณหภูมิ 10-120 องศาเซลเซียส และความดัน 1 atm

ตำแหน่งที่กระดาษเปียก อ่านค่าอุณหภูมิได้ 26.8 องศาเซลเซียส

ตำแหน่งที่กระดาษแห้ง อ่านค่าอุณหภูมิได้ 29.5 องศาเซลเซียส

ดังนั้น ความชื้นสัมพัทธ์ที่อุณหภูมิ 29.5 องศาเซลเซียส ประมาณร้อยละ 76



ภาพประกอบที่ ข.1 กราฟแผนภูมิความสัมพันธ์สัมพัทธ์สำหรับช่วงอุณหภูมิ 10-120 องศาเซลเซียส และความดัน 1 atm

ตารางที่ ข.1 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Penicillium sp.* บนจานเพาะเชื้อที่ป้องกันด้วยน้ำมันหอมระเหยที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

น้ำมันหอมระเหย	ตัวทำละลาย	ร้อยละการเจริญเติบโต					
		ควบคุม	30 µl/ml	50 µl/ml	70 µl/ml	90 µl/ml	110 µl/ml
น้ำมัน โป๊ยกั๊ก	เมทิลแอลกอฮอล์	20.0±0.0 ^a	12.5±3.5 ^b	0.5±0.7 ^c	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^c
น้ำมันอบเชย		20.0±0.0 ^a	16.5±2.1 ^b	10.0±0.0 ^c	5.0±0.0 ^d	0.0±0.0 ^e	0.0±0.0 ^e
น้ำมันกานพลู		20.0±0.0 ^a	20.0±0.0 ^a	12.5±3.5 ^b	7.5±3.5 ^c	0.0±0.0 ^d	0.0±0.0 ^d

น้ำมัน โป๊ยกั๊ก	เอทิลแอลกอฮอล์	31.0±1.4 ^a	21.5±2.1 ^b	12.5±3.5 ^c	7.5±3.5 ^{cd}	3.5±2.1 ^{de}	1.0±1.4 ^e
น้ำมันอบเชย		31.0±1.4 ^a	25.0±0.0 ^b	20.0±0.0 ^c	16.5±2.1 ^c	11.5±2.1 ^d	2.5±3.5 ^e
น้ำมันกานพลู		31.0±1.4 ^a	30.0±0.0 ^a	22.5±3.5 ^b	15.0±0.0 ^c	10.0±0.0 ^d	5.0±0.0 ^e

น้ำมัน โป๊ยกั๊ก	น้ำมันปาล์ม	35.0±0.0 ^{*a}	31.0±1.4 ^{*ab}	27.5±3.5 ^{*b}	20.0±0.0 ^{*c}	16.5±2.1 ^{*cd}	15.0±0.0 ^{*d}
น้ำมันอบเชย		35.0±0.0 ^{*a}	30.0±0.0 ^{*b}	25.0±0.0 ^{*c}	17.5±3.5 ^{*d}	10.0±0.0 ^{*e}	0.0±0.0 ^{*f}
น้ำมันกานพลู		35.0±0.0 ^{*a}	30.0±0.0 ^{*b}	20.0±0.0 ^{*c}	11.0±1.4 ^{*d}	1.0±1.4 ^{*e}	0.0±0.0 ^{*e}

น้ำมัน โป๊ยกั๊ก	PFAD	30.0±0.0 ^{*a}	29.0±1.4 ^{*ab}	24.0±1.4 ^{*b}	17.5±3.5 ^{*c}	9.0±1.4 ^{*d}	2.5±3.5 ^{*c}
น้ำมันอบเชย		30.0±0.0 ^{*a}	31.5±2.1 ^{*ab}	22.5±3.5 ^{*b}	12.5±3.5 ^{*c}	10.5±3.5 ^{*c}	4.0±5.6 ^{*c}
น้ำมันกานพลู		30.0±0.0 ^{*a}	29.0±1.4 ^{*a}	21.5±2.1 ^{*b}	12.5±3.5 ^{*c}	2.5±3.5 ^{*d}	1.5±2.1 ^{*d}

ค่าตั้งปรากฏ คือ ค่าเฉลี่ย ($n = 2$) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

อักษรที่เหมือนกันในแต่ละแถว หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญตามวิธี One-Way

ANOVA และ Duncan's Multiple Range Test ที่ความเชื่อมั่น $P < 0.05$

ค่าที่ขีดเส้นใต้ คือ ค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้

* เกิดไข

ตารางที่ ข.2 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus niger* บนจานเพาะเชื้อที่ป้องกันด้วยน้ำมันหอมระเหยที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

น้ำมันหอมระเหย	ตัวทำละลาย	ร้อยละการเจริญเติบโต					
		ควบคุม	30 µl/ml	50 µl/ml	70 µl/ml	90 µl/ml	110 µl/ml
น้ำมัน โป๊ยกั๊ก	เมทิลแอลกอฮอล์	25.0±0.0 ^a	17.5±3.5 ^b	10.0±0.0 ^c	<u>0.0±0.0^d</u>	0.0±0.0 ^d	0.0±0.0 ^d
น้ำมันอบเชย		25.0±0.0 ^a	19.0±1.4 ^b	15.0±0.0 ^c	11.5±2.1 ^d	5.0±0.0 ^e	<u>0.0±0.0^f</u>
น้ำมันกานพลู		25.0±0.0 ^a	19.0±1.4 ^b	15.0±0.0 ^c	9.0±1.4 ^d	<u>0.0±0.0^e</u>	0.0±0.0 ^e

น้ำมัน โป๊ยกั๊ก	เอทิลแอลกอฮอล์	32.5±3.5 ^a	20.0±0.0 ^b	16.5±2.1 ^{bc}	14.0±1.4 ^{cd}	10.0±0.0 ^d	<u>2.5±3.5^e</u>
น้ำมันอบเชย		32.5±3.5 ^a	22.5±3.5 ^b	19.0±1.4 ^{bc}	15.0±0.0 ^c	9.0±1.4 ^d	4.0±1.4 ^d
น้ำมันกานพลู		32.5±3.5 ^a	27.5±3.5 ^{ab}	22.5±3.5 ^{bc}	15.0±0.0 ^{cd}	7.5±3.5 ^{de}	5.5±3.5 ^e

น้ำมัน โป๊ยกั๊ก	น้ำมันปาล์ม	40.0±0.0* ^a	39.0±1.4* ^a	35.0±0.0* ^a	27.5±3.5* ^b	22.5±3.5* ^{bc}	21.0±1.4* ^c
น้ำมันอบเชย		40.0±0.0* ^a	35.0±0.0* ^b	30.0±0.0* ^c	22.5±2.5* ^d	11.0±1.0* ^e	<u>0.0±0.0*^f</u>
น้ำมันกานพลู		40.0±0.0* ^a	35.0±0.0* ^a	23.5±0.7* ^b	12.5±3.5* ^c	<u>2.5±3.5*^d</u>	0.0±0.0* ^d

น้ำมัน โป๊ยกั๊ก	PFAD	42.5±3.5* ^a	35.0±7.0* ^{ab}	27.5±3.5* ^{bc}	23.5±2.1* ^{bcd}	17.5±3.5* ^{cd}	14.0±5.6* ^d
น้ำมันอบเชย		42.5±3.5* ^a	37.5±3.5* ^{ab}	32.5±3.5* ^{bc}	25.0±0.0* ^{cd}	17.5±3.5* ^{de}	14.0±5.6* ^e
น้ำมันกานพลู		42.5±3.5* ^a	37.5±3.5* ^{ab}	32.5±3.5* ^{bc}	29.0±1.4* ^{cd}	25.0±0.0* ^{de}	20.0±0.0* ^e

ค่าตั้งปรากฏ คือ ค่าเฉลี่ย ($n = 2$) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

อักษรที่เหมือนกันในแต่ละแถว หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญตามวิธี One-Way

ANOVA และ Duncan's Multiple Range Test ที่ความเชื่อมั่น $P < 0.05$

ค่าที่ขีดเส้นใต้ คือ ค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้

* เกิดไข

ตารางที่ ข.3 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Penicillium sp* ผสมกับ *Aspergillus niger* อัตราส่วน 1:1 บนงานเพาะเชื้อที่ป้องกันด้วยน้ำมันหอมระเหยที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

น้ำมันหอมระเหย	ตัวทำละลาย	ร้อยละการเจริญเติบโต					
		ควบคุม	30 µl/ml	50 µl/ml	70 µl/ml	90 µl/ml	110 µl/ml
น้ำมัน โป๊ยกั๊ก	เมทิลแอลกอฮอล์	25.0±0.0 ^a	19.0±1.4 ^b	11.5±2.1 ^c	3.5±0.7 ^d	1.5±2.1 ^d	0.0±0.0 ^d
น้ำมันอบเชย		25.0±0.0 ^a	20.0±0.0 ^b	12.5±3.5 ^c	9.0±1.4 ^c	5.0±0.0 ^d	0.0±0.0 ^c
น้ำมันกานพลู		25.0±0.0 ^a	21.5±2.1 ^b	15.0±0.0 ^c	9.0±1.4 ^d	4.0±1.4 ^c	0.5±0.7 ^c

ค่าตั้งปรากฏ คือ ค่าเฉลี่ย ($n = 2$) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

อักษรที่เหมือนกันในแต่ละแถว หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญตามวิธี One-Way ANOVA และ Duncan's Multiple Range Test ที่ความเชื่อมั่น $P < 0.05$

ค่าที่ขีดเส้นใต้ คือ ค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้

ตารางที่ ข.4 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Penicillium sp* บนงานเพาะเชื้อที่ป้องกันด้วยน้ำมันหอมระเหยผสม ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

การทดลองที่	ตัวทำละลาย	ร้อยละการเจริญเติบโต				
		ควบคุม	1:1:1	4:1:1	1:4:1	1:1:4
1	เมทิลแอลกอฮอล์	17.5±3.5 ^a	12.5±3.5 ^{ab}	0.5±0.7 ^c	7.5±3.5 ^{bc}	9.0±1.4 ^b
2	เอทิลแอลกอฮอล์	21.5±2.1 ^a	19.0±1.4 ^c	15.0±0.0 ^b	16.5±2.1 ^{ab}	17.5±3.5 ^{ab}
3	น้ำมันปาล์ม	27.5±2.5 ^{*a}	20.0±0.0 ^{*bc}	22.5±3.5 ^{*ab}	15.0±0.0 ^{*cd}	12.5±3.5 ^{*d}
4	PFAD	30.0±0.0 ^{*a}	21.5±2.1 ^{*b}	19.0±1.4 ^{*b}	26.5±2.1 ^{*a}	26.5±2.1 ^{*a}

ค่าตั้งปรากฏ คือ ค่าเฉลี่ย ($n = 2$) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

อักษรที่เหมือนกันในแต่ละแถว หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญตามวิธี One-Way ANOVA และ Duncan's Multiple Range Test ที่ความเชื่อมั่น $P < 0.05$

ค่าที่ขีดเส้นใต้ คือ ค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้

* เกิดไข

ตารางที่ ข.5 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus niger* บนจานเพาะเชื้อที่ป้องกันด้วยน้ำมันหอมระเหยผสม ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

การทดลองที่	ตัวทำละลาย	ร้อยละการเจริญเติบโต				
		ควบคุม	1:1:1	4:1:1	1:4:1	1:1:4
1	เมทิลแอลกอฮอล์	25.0±0.0 ^a	20.0±0.0 ^b	3.0±1.4 ^d	17.5±3.5 ^b	10.0±0.0 ^c
2	เอทิลแอลกอฮอล์	30.0±0.0 ^a	17.5±3.5 ^{bc}	11.5±2.1 ^d	15.0±0.0 ^{cd}	20.0±0.0 ^b
3	น้ำมันปาล์ม	32.5±3.5* ^a	25.0±0.0* ^{bc}	27.5±3.5* ^{ab}	20.0±0.0* ^{cd}	15.0±0.0* ^d
4	PFAD	32.5±3.5* ^a	24.0±1.4* ^{bc}	20.0±0.0* ^c	25.0±0.0* ^{bc}	27.5±3.5* ^{ab}

ค่าดังปรากฏ คือ ค่าเฉลี่ย ($n = 2$) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

อักษรที่เหมือนกันในแต่ละแถว หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญตามวิธี One-Way ANOVA และ Duncan's Multiple Range Test ที่ความเชื่อมั่น $P < 0.05$

ค่าที่ขีดเส้นใต้ คือ ค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้

* เกิดไข

ตารางที่ ข.6 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Penicillium sp* ผสมกับ *Aspergillus niger* อัตราส่วน 1:1 บนจานเพาะเชื้อที่ป้องกันด้วยน้ำมันหอมระเหยผสม ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

การทดลองที่	ตัวทำละลาย	ร้อยละการเจริญเติบโต				
		ควบคุม	1:1:1	4:1:1	1:4:1	1:1:4
1	เมทิลแอลกอฮอล์	27.5±3.5 ^a	22.5±3.5 ^{ab}	15.5±0.7 ^b	22.0±2.8 ^{ab}	26.0±1.4 ^a

ค่าดังปรากฏ คือ ค่าเฉลี่ย ($n = 2$) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

อักษรที่เหมือนกันในแต่ละแถว หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญตามวิธี One-Way ANOVA และ Duncan's Multiple Range Test ที่ความเชื่อมั่น $P < 0.05$

ค่าที่ขีดเส้นใต้ คือ ค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้

ตารางที่ ข.7 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Penicillium sp* บนไม้พาราอบแห้ง ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100

สัปดาห์ ที่	ร้อยละการเจริญเติบโต					
	ควบคุม	40 µl/ml	45 µl/ml	50 µl/ml	55 µl/ml	60 µl/ml
1	0.0±0.0 ^f	0.0±0.0 ^h	0.0±0.0 ^j	0.0±0.0 ⁱ	0.0±0.0 ^g	0.0±0.0 ^e
2	0.0±0.0 ^f	0.0±0.0 ^h	0.0±0.0 ^j	0.0±0.0 ⁱ	0.0±0.0 ^g	0.0±0.0 ^e
3	22.0±2.8 ^e	12.5±3.5 ^g	9.0±1.4 ⁱ	2.5±3.5 ⁱ	0.0±0.0 ^g	0.0±0.0 ^e
4	40.0±0.0 ^d	32.5±3.5 ^f	13.5±2.1 ⁱ	9.0±1.4 ^h	0.0±0.0 ^g	0.0±0.0 ^e
5	67.5±3.5 ^c	50.0±0.0 ^e	22.5±3.5 ^h	22.5±3.5 ^g	0.0±0.0 ^g	0.0±0.0 ^e
6	90.0±0.0 ^b	63.5±3.5 ^d	40.0±0.0 ^g	47.5±3.5 ^f	0.0±0.0 ^g	0.0±0.0 ^e
7	100.0±0.0 ^a	72.5±3.5 ^c	52.5±3.5 ^f	60.0±0.0 ^e	9.0±1.4 ^f	0.0±0.0 ^e
8	100.0±0.0 ^a	85.0±7.1 ^b	62.5±3.5 ^e	62.5±3.5 ^{de}	14.0±1.4 ^e	1.0±1.4 ^e
9	100.0±0.0 ^a	95.0±7.1 ^a	72.5±3.5 ^d	67.5±3.5 ^{cd}	22.5±3.5 ^d	9.0±1.4 ^d
10	100.0±0.0 ^a	100.0±0.0 ^a	81.5±2.1 ^c	70.0±0.0 ^c	30.0±0.0 ^c	20.0±0.0 ^c
11	100.0±0.0 ^a	100.0±0.0 ^a	90.0±0.0 ^b	82.5±3.5 ^b	42.5±3.5 ^b	32.5±3.5 ^b
12	100.0±0.0 ^a	100.0±0.0 ^a	100.0±0.0 ^a	97.5±3.5 ^a	61.5±2.1 ^a	50.0±0.0 ^a

ค่าตั้งปรากฏ คือ ค่าเฉลี่ย ($n = 2$) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

อักษรที่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญตามวิธี One-Way

ANOVA และ Duncan's Multiple Range Test ที่ความเชื่อมั่น $P < 0.05$

ค่าที่แรเงา คือ ระยะเวลาที่ไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อรา

ตารางที่ ข.8 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Penicillium sp* บนไม้พาราอบแห้ง ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์ สภาวะปกติ

สัปดาห์ ที่	ร้อยละการเจริญเติบโต					
	ควบคุม	40 µl/ml	45 µl/ml	50 µl/ml	55 µl/ml	60 µl/ml
1	0.0±0.0 ^g	0.0±0.0 ^h	0.0±0.0 ^f	0.0±0.0 ^d	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^b
2	0.0±0.0 ^g	0.0±0.0 ^h	0.0±0.0 ^f	0.0±0.0 ^d	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^b
3	2.5±3.5 ^g	0.0±0.0 ^h	0.0±0.0 ^f	0.0±0.0 ^d	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^b
4	9.0±1.4 ^f	0.0±0.0 ^h	0.0±0.0 ^f	0.0±0.0 ^d	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^b
5	12.5±3.5 ^f	3.0±2.8 ^h	0.0±0.0 ^f	0.0±0.0 ^d	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^b
6	20.0±0.0 ^e	9.0±1.4 ^g	0.0±0.0 ^f	0.0±0.0 ^d	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^b
7	47.5±3.5 ^d	18.5±2.1 ^f	0.5±0.7 ^f	0.0±0.0 ^d	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^b
8	70.0±0.0 ^c	39.0±1.4 ^e	5.0±0.0 ^e	0.0±0.0 ^d	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^b
9	80.0±0.0 ^b	52.5±3.5 ^d	10.0±0.0 ^d	3.0±2.8 ^d	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^b
10	99.0±1.4 ^a	61.5±2.1 ^c	18.5±2.1 ^c	12.5±3.5 ^c	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^b
11	100.0±0.0 ^a	77.5±3.5 ^b	39.0±1.4 ^b	29.0±1.4 ^b	6.5±2.1 ^b	0.5±0.5 ^b
12	100.0±0.0 ^a	92.5±3.5 ^a	57.5±3.5 ^a	49.0±1.4 ^a	20.0±0.0 ^a	2.0±1.4 ^a

ค่าตั้งปรากฏ คือ ค่าเฉลี่ย ($n = 2$) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

อักษรที่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญตามวิธี One-Way ANOVA และ Duncan's Multiple Range Test ที่ความเชื่อมั่น $P < 0.05$

ค่าที่แรเงา คือ ระยะเวลาที่ไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อรา

ตารางที่ ข.9 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus niger* บนไม้พาราอบแห้ง ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100

สัปดาห์ ที่	ร้อยละการเจริญเติบโต					
	ควบคุม	60 µl/ml	65 µl/ml	70 µl/ml	75 µl/ml	80 µl/ml
1	0.0±0.0 ^d	0.0±0.0 ^h	0.0±0.0 ^f	0.0±0.0 ⁱ	0.0±0.0 ^g	0.0±0.0 ^c
2	65.0±7.1 ^c	0.0±0.0 ^h	0.0±0.0 ^f	0.0±0.0 ⁱ	0.0±0.0 ^g	0.0±0.0 ^c
3	85.0±7.1 ^b	1.5±2.1 ^h	0.5±0.7 ^f	0.0±0.0 ⁱ	0.0±0.0 ^g	0.0±0.0 ^c
4	92.5±3.5 ^a	12.5±3.5 ^g	9.0±1.4 ^{ef}	3.5±2.1 ⁱ	0.0±0.0 ^g	0.0±0.0 ^c
5	100.0±0.0 ^a	27.5±3.5 ^f	19.0±1.4 ^{de}	10.0±0.0 ^h	0.0±0.0 ^g	0.0±0.0 ^c
6	100.0±0.0 ^a	40.0±0.0 ^e	30.0±0.0 ^{cd}	22.5±3.5 ^g	0.0±0.0 ^g	0.0±0.0 ^c
7	100.0±0.0 ^a	57.5±3.5 ^d	47.5±3.5 ^c	32.5±3.5 ^f	10.0±0.0 ^f	0.0±0.0 ^c
8	100.0±0.0 ^a	70.0±0.0 ^c	55.0±7.1 ^{bc}	41.5±2.1 ^e	16.5±2.1 ^e	1.5±2.1 ^c
9	100.0±0.0 ^a	85.0±7.1 ^b	67.5±3.5 ^b	64.0±5.7 ^d	32.5±3.5 ^d	10.0±0.0 ^d
10	100.0±0.0 ^a	97.5±3.5 ^a	95.0±7.0 ^a	73.5±3.5 ^c	52.5±3.5 ^c	19.0±1.4 ^c
11	100.0±0.0 ^a	100.0±0.0 ^a	100.0±0.0 ^a	81.5±2.1 ^b	72.5±3.5 ^b	41.5±2.1 ^b
12	100.0±0.0 ^a	100.0±0.0 ^a	100.0±0.0 ^a	97.5±3.5 ^a	85.0±7.1 ^a	59.0±1.4 ^a

ค่าตั้งปรากฏ คือ ค่าเฉลี่ย ($n = 2$) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

อักษรที่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญตามวิธี One-Way ANOVA และ Duncan's Multiple Range Test ที่ความเชื่อมั่น $P < 0.05$

ค่าที่แรเงา คือ ระยะเวลาที่ไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อรา

ตารางที่ ข.10 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus niger* บนไม้พาราอบแห้ง ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์ สภาวะปกติ

สัปดาห์ ที่	ร้อยละการเจริญเติบโต					
	ควบคุม	60 µl/ml	65 µl/ml	70 µl/ml	75 µl/ml	80 µl/ml
1	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^h	0.0±0.0 ^f	0.0±0.0 ^d	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^a
2	42.5±3.5 ^d	0.0±0.0 ^h	0.0±0.0 ^f	0.0±0.0 ^d	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^a
3	55.0±7.1 ^c	0.0±0.0 ^h	0.0±0.0 ^f	0.0±0.0 ^d	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^a
4	60.0±7.1 ^c	1.5±2.1 ^h	0.0±0.0 ^f	0.0±0.0 ^d	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^a
5	62.5±3.5 ^c	3.0±2.8 ^h	0.0±0.0 ^f	0.0±0.0 ^d	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^a
6	77.5±3.5 ^b	17.5±3.5 ^g	0.0±0.0 ^f	0.0±0.0 ^d	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^a
7	82.5±3.5 ^b	29.0±1.4 ^f	0.0±0.0 ^f	0.0±0.0 ^d	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^a
8	95.0±7.1 ^a	37.5±3.5 ^e	2.5±3.5 ^e	0.0±0.0 ^d	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^a
9	95.5±3.5 ^a	57.5±3.5 ^d	15.0±7.1 ^d	0.0±0.0 ^d	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^a
10	97.5±3.5 ^a	67.4±3.5 ^c	25.0±7.1 ^c	5.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^a
11	100.0±0.0 ^a	84.0±1.4 ^b	47.5±3.5 ^b	17.5±3.5 ^b	5.0±0.0 ^b	0.5±0.0 ^a
12	100.0±0.0 ^a	90.0±0.0 ^a	60.0±0.0 ^a	31.5±4.9 ^a	17.5±3.5 ^a	1.0±0.0 ^a

ค่าตั้งปรากฏ คือ ค่าเฉลี่ย ($n = 2$) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

อักษรที่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญตามวิธี One-Way

ANOVA และ Duncan's Multiple Range Test ที่ความเชื่อมั่น $P < 0.05$

ค่าที่แรเงา คือ ระยะเวลาที่ไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อรา

ตารางที่ ข.11 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Penicillium sp.* บนไม้พาราทาสี ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100

สัปดาห์ ที่	ร้อยละการเจริญเติบโต					
	ควบคุม	40 µl/ml	45 µl/ml	50 µl/ml	55 µl/ml	60 µl/ml
1	0.0±0.0 ^g	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
2	0.0±0.0 ^g	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
3	3.5±2.1 ^f	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
4	9.0±1.4 ^e	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
5	11.0±1.4 ^e	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
6	15.0±0.0 ^d	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
7	15.5±0.7 ^d	1.5±2.1 ^c	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
8	17.0±1.4 ^d	2.0±1.4 ^c	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
9	21.5±2.1 ^c	5.0±0.0 ^d	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
10	22.0±2.8 ^c	9.0±1.4 ^c	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
11	26.0±1.4 ^b	13.5±2.1 ^b	0.5±0.7 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
12	30.0±0.0 ^a	18.5±2.1 ^a	1.5±2.1 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a

ค่าตั้งปรากฏ คือ ค่าเฉลี่ย ($n = 2$) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

อักษรที่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญตามวิธี One-Way ANOVA และ Duncan's Multiple Range Test ที่ความเชื่อมั่น $P < 0.05$

ค่าที่แรเงา คือ ระยะเวลาที่ไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อรา

ตารางที่ ข.12 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Penicillium sp.* บนไม้พาราทาสี ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์ สภาวะปกติ

สัปดาห์ ที่	ร้อยละการเจริญเติบโต					
	ควบคุม	40 µl/ml	45 µl/ml	50 µl/ml	55 µl/ml	60 µl/ml
1	0.0±0.0 ^f	0.0±0.0 ^g	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
2	0.0±0.0 ^f	0.0±0.0 ^g	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
3	0.0±0.0 ^f	0.0±0.0 ^g	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
4	0.0±0.0 ^f	0.0±0.0 ^g	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
5	3.0±2.8 ^f	0.0±0.0 ^g	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
6	8.0±2.8 ^c	1.0±1.4 ^{fg}	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
7	10.0±0.0 ^{de}	2.0±1.4 ^{cf}	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
8	10.5±0.7 ^{de}	3.0±0.0 ^{de}	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
9	12.5±0.7 ^{cd}	4.0±1.4 ^{cd}	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
10	14.5±0.7 ^{bc}	5.5±0.7 ^c	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
11	15.5±0.7 ^b	7.5±0.7 ^b	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
12	19.0±1.4 ^a	10.0±0.0 ^a	0.50±0.7 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a

ค่าตั้งปรากฏ คือ ค่าเฉลี่ย ($n = 2$) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

อักษรที่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญตามวิธี One-Way ANOVA และ Duncan's Multiple Range Test ที่ความเชื่อมั่น $P < 0.05$

ค่าที่แรเงา คือ ระยะเวลาที่ไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อรา

ตารางที่ ข.13 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus niger* บนไม้พาราทาสี ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ความชื้นสัมพัทธ์อากาศร้อยละ 100

สัปดาห์ ที่	ร้อยละการเจริญเติบโต					
	ควบคุม	60 µl/ml	65 µl/ml	70 µl/ml	75 µl/ml	80 µl/ml
1	0.0±0.0 ^g	0.0±0.0 ^d	0.0±0.0 ^b	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
2	0.0±0.0 ^g	0.0±0.0 ^d	0.0±0.0 ^b	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
3	0.0±0.0 ^g	0.0±0.0 ^d	0.0±0.0 ^b	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
4	4.0±1.4 ^f	0.0±0.0 ^d	0.0±0.0 ^b	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
5	4.5±0.7 ^f	0.0±0.0 ^d	0.0±0.0 ^b	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
6	9.0±1.4 ^c	0.0±0.0 ^d	0.0±0.0 ^b	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
7	10.0±0.0 ^e	0.0±0.0 ^d	0.0±0.0 ^b	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
8	14.5±0.7 ^d	1.0±1.4 ^d	0.0±0.0 ^b	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
9	15.0±0.0 ^d	1.5±2.1 ^{cd}	0.0±0.0 ^b	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
10	19.0±1.4 ^c	4.0±1.4 ^c	0.0±0.0 ^b	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
11	24.0±1.4 ^b	8.5±2.1 ^b	0.5±0.7 ^b	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
12	28.5±2.1 ^a	11.5±2.1 ^a	4.0±1.4 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a

ค่าตั้งปรากฏ คือ ค่าเฉลี่ย ($n = 2$) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

อักษรที่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญตามวิธี One-Way ANOVA และ Duncan's Multiple Range Test ที่ความเชื่อมั่น $P < 0.05$

ค่าที่แรเงา คือ ระยะเวลาที่ไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อรา

ตารางที่ ข.14 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus niger* บนไม้พาราทาสี ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์ สภาวะปกติ

สัปดาห์ ที่	ร้อยละการเจริญเติบโต					
	ควบคุม	60 µl/ml	65 µl/ml	70 µl/ml	75 µl/ml	80 µl/ml
1	0.0±0.0 ^f	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
2	0.0±0.0 ^f	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
3	1.0±1.4 ^f	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
4	5.0±2.8 ^e	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
5	8.5±2.1 ^d	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
6	14.0±1.4 ^c	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
7	15.0±0.0 ^{bc}	1.5±2.1 ^c	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
8	17.0±0.0 ^b	3.5±2.1 ^d	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
9	20.0±0.0 ^a	7.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
10	20.5±0.7 ^a	10.0±0.0 ^b	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
11	20.5±0.7 ^a	12.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
12	22.0±0.0 ^a	12.5±0.7 ^a	0.5±0.7 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a

ค่าตั้งปรากฏ คือ ค่าเฉลี่ย ($n = 2$) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

อักษรที่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญตามวิธี One-Way ANOVA และ Duncan's Multiple Range Test ที่ความเชื่อมั่น $P < 0.05$

ค่าที่แรเงา คือ ระยะเวลาที่ไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อรา

ตารางที่ ข.15 ร้อยละการเจริญเติบโตของเชื้อราบนของเล่นไม้บนจานเพาะเชื้อที่ป้องกันด้วยน้ำมันหอมระเหยที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

น้ำมันหอมระเหย	ตัวทำละลาย	ร้อยละการเจริญเติบโต					
		ควบคุม	30 µl/ml	50 µl/ml	70 µl/ml	90 µl/ml	110 µl/ml
น้ำมัน โป๊ยกั๊ก	เมทิลแอลกอฮอล์	36.5±2.1 ^a	35.5±0.7 ^a	31.0±1.4 ^b	24.0±1.4 ^c	13.5±2.1 ^d	9.0±1.4 ^e
น้ำมันอบเชย		36.5±2.1 ^a	29.5±0.7 ^b	22.5±3.5 ^c	16.0±1.4 ^d	7.0±1.4 ^e	1.5±2.1 ^f
น้ำมันกานพลู		36.5±2.1 ^a	35.0±0.0 ^a	24.0±0.7 ^b	15.5±1.4 ^c	10.0±1.4 ^d	5.0±1.4 ^e

ค่าดังกล่าว คือ ค่าเฉลี่ย ($n = 2$) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

อักษรที่เหมือนกันในแต่ละแถว หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญตามวิธี One-Way ANOVA และ Duncan's Multiple Range Test ที่ความเชื่อมั่น $P < 0.05$

ค่าที่ขีดเส้นใต้ คือ ค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้

1. Introduction

Rubberwood is the most economically lumber in southern of Thailand. After plantation of rubber trees for 25-30 years when latex production becomes uneconomical, these woods are cut down for replanting annually [1]. Unlike other woods that are cut down for the sole purpose of producing furniture, rubberwood is used only after it completes its latex producing cycle and dies. This wood is therefore eco-friendly in the sense that we are now using what was going as waste. Although rubberwood has many good features and low cost [2], it contains high moisture content and starch. The effect will be easily destroyed from molds and termites. Failure to control it can result in tremendous economic and resource losses.

In recent year, rubberwood is impregnated with various preservatives such as boron, pentachlorophenol, creosote and inorganic arsenicals to against insect borers and fungi because of relatively low treatment cost [3] [4], but these chemicals are not appropriate for many applications in health, for example indoor furniture, food packaging, children's toys and kitchenware. The US Environmental Protection Agency (EPA) has announced a voluntary decision by the wood industry to phase out toxic wood preservatives [5]. Subsequently, developing the alternatively non-hazardous preservatives from natural products such as essential oils is needed.

Many plant essential oils and their volatile constituents have been reported to possess potent antifungal activities [6]. Number of reports that have been indicated for resistance to mold growth on wood i.e., Matan and Matan (2008) with the use of lime oil, tangerine oil and anise oil to prevent mold on rubberwood [1], Yang and Clausen (2007) have used thyme, rosemary, lemongrass as inhibitor to antifungal on southern yellow pine [7] and Cheng et al. (2008) have reported the effects of cinnamaldehyde and eugenol on wood-rot fungi [4].

From research reviews, the solvents that appropriate to this application were methanol or palm oil. Methanol is usually used in wood industry as a color solvent, furthermore, Matan and Matan (2009) have used methanol as a solvent in antifungal probation [8]. Ekwenye and

Ijeomah (2005) have applied palm oil for the treatment of various microorganisms [9]. In addition, palm oil, which through the process from oleochemicals just can be used as an additives and biocides [10].

In this research, the objective is to determine the minimal inhibitory concentration of anise oil, cinnamon oil, clove oil and optimum mixing with different ratios in methanol or palm oil to against molds *Penicillium sp.* and *Aspergillus niger* on the surface of rubberwood at 30 ± 1 °C for 5 days.

2. Materials

2.1 Essential Oils and Chemicals

Essential oils derived by steam distillation (anise oil, cinnamon oil and clove oil) were purchased by Lapis tropical spa product co., Ltd., Bangkok, Thailand. Nutrient broth was obtained from Lab-Scan Analytical Science. Methanol was an analytical grade. Palm oil was a commercial grade.

2.2 Cultures

Two fungal strains (*Penicillium sp.* and *Aspergillus niger*) were obtained from Department of Microbiology, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Songkhla, Thailand.

3. Experimental

3.1 Preparation of Fungal Strains

Two surface fungi on rubberwood *Penicillium sp.* and *Aspergillus niger* were grown on potato dextrose agar (PDA) from Department of Microbiology, Prince of Songkla University, Songkhla, Thailand. Spores of remaining test fungi were collected by flooding the surface of plates with sterile saline solution (NaCl, 8.0 g/l_{water}) 5 ml. After counting the spores with haemocytometer, microspores standardized to concentration of 10^7 spores/ml by dilution with sterile water before use (10 μ l of a standardized suspension 10^7 spores/ml) [8] [11].

3.2 Minimal Inhibitory Concentration (MIC) of Essential Oils

The antifungal effect and MIC of anise oil, cinnamon oil and clove oil were considered. Natural essential oils were performed by broth dilution method [1] [11]. Each essential oil at

concentration of 30-110 $\mu\text{l/ml}$ was mixed with methanol or palm oil 1 ml, added nutrient broth 5 ml and fungal strains (10^7 spores/ml) 1 ml, shaking until the oil throughout the broth [8]. The control derived from methanol or palm oil without any essential oil. Plates were incubated at 30 ± 1 °C for 5 days. The lowest concentration that does not have visible growth was regarded as the MIC.

3.3 The Optimum Ratio of Mixing Essential Oils

The broth dilution method was applied to determine the optimum mixing ratio of essential oils [11]. Preparing mixture of essential oils between anise oil: cinnamon oil: clove oil were 2: 2: 2, 4: 1: 1, 1: 4: 1 and 1: 1: 4 (%v). Then, poured methanol or palm oil 1 ml and nutrient broth 5 ml. Fungal strain (*Penicillium sp.* or *Aspergillus niger*) at concentration 10^7 spores/ml 1 ml was added into plates and shake until the oil throughout the broth [11]. The control was obtained from methanol or palm oil without any essential oil. All experiments were incubated at 30 ± 1 °C for 5 days. The optimum ratio of mixing was determined by the tests that does not have visible growth of any fungi.

4. Results and Discussion

4.1 Minimal Inhibitory Concentration of Essential Oils

Inhibition of fungi by using anise oil, cinnamon oil and clove oil in methanol or palm oil were determined by the broth dilution method of the concentration 30-110 $\mu\text{l/ml}$ at 30 ± 1 °C for 5 days. The results are shown in Table 1. All essential oils exhibited the fungistatic activities against the mold, especially in methanol solvent. Anise oil was the strongest inhibitor to anti-molds *Penicillium sp.* and *Aspergillus niger*. To prevent growth of these molds, higher concentrations of cinnamon oil and clove oil were needed. However every essential oil in methanol was carried out to prevent molds better than in palm oil. Moreover, palm oil solvent, anise oil at MIC >110 $\mu\text{l/ml}$ for both *Penicillium sp.* and *Aspergillus niger* and clove oil at MIC 90 $\mu\text{l/ml}$ for *Aspergillus niger* have occurred in the wax that not appropriate to be an antifungal solvent and inconvenient to get rid of. The MICs of anise oil in methanol against *Penicillium sp.* and *Aspergillus niger* were 50 $\mu\text{l/ml}$ and 70 $\mu\text{l/ml}$, respectively. These MICs will further examine with rubberwood.

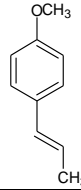
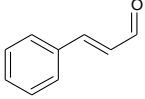
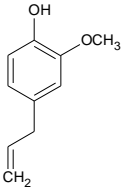
Table 1. The MICs of essential oils in methanol or palm oil at 30 ± 1 °C for 5 days

Essential oil	Solvent	MIC ($\mu\text{l/ml}$)	
		<i>Penicillium sp.</i>	<i>A. niger</i>
Anise		50	70
Cinnamon	Methanol	90	110
Clove		90	90
Anise		$> 110^*$	$> 110^*$
Cinnamon	Palm oil	110	110
Clove		90	90*

* wax

The effect of anise oil, cinnamon oil and clove oil as natural preservative were reported by Soliman and Badeaa (2002) [12] and Matan and Matan (2007), (2008). The main component of each essential oil was reported in Table 2. *Trans-anethole* was believed to be the main inhibitory component of anise oil. *A. niger* has been reported to be completely inhibited by the volatile oil of *Foeniculum vulgare*, which was rich in *trans-anethole*, even in relatively low dose of oil [13]. Cinnamon oil is reported to consist of several components such as cinnamaldehyde, geraniol and linalool [14] [11]. The main component of clove oil is eugenol with small amounts of caryophyllene and humulene [11]. These constituents of cinnamon and clove oil were noticed to be capable of inhibiting growth of termites and insects.

Table 2. The main components of each essential oil

Essential oil	Component	Structure	% w
Anise oil	<i>Trans-anethole</i>		85
Cinnamon oil	Cinnamaldehyde		75
Clove oil	Eugenol		78

An important characteristic of each essential oil is its polarity group, which is thought to bind to

proteins and prevent the reaction of molds and fungi [15]. Compounds containing hydroxyl group plus a system of delocalized electrons in the phenolic ring structure have high activity. The aldehyde group of vanillin is believed responsible in part its antimicrobial activity and this may also be true for cinnamaldehyde which do not have any free hydroxyl group [16]. For these reasons we believe it is the ability to inhibit the growth of fungi and insects.

4.2 The Optimum Ratio of Mixing Essential Oils

The mixture of anise oil: cinnamon oil: clove oil at ratios 2: 2: 2, 4: 1: 1, 1: 4: 1 and 1: 1: 4 in methanol or palm oil at 30±1 °C for 5 days were investigated. The results are shown in Table 3. The Combination ratio at 4: 1: 1 (%v) in methanol was performed the best mixing condition in *Penicillium sp.* and *Aspergillus niger*. However, every ratio in palm oil was unable to resist any molds and also have wax as well as to the essential oil tests. It's indicating that three essential oils are not supported each other. Higher concentration of anise oil is presented the retard of molds growth compared with other. That is anise oil, which contains *trans*-anethole as the main component has the most ability to resist mold [1] [11]. The inhibitory components are shown in Table 2. and described as above. These results were according to the MIC of former essential oils tests.

Table 3. The optimum ratio of mixing essential oils at 30±1 °C for 5 days

Ratio (%v)			Solvent	<i>Penicillium sp.</i>	<i>A. niger</i>
Anise	Cinnamon	Clove			
2	2	2	Methanol	✓	✓
4	1	1		✗	✗
1	4	1		✓	✓
1	1	4		✓	✓
2	2	2	Palm oil	✓*	✓*
4	1	1		✓*	✓*
1	4	1		✓*	✓*
1	1	4		✓*	✓*

✓ visible molds growth, ✗ no visible molds growth, * wax

5. Conclusions

The antifungal activity of anise oil, cinnamon oil, clove oil and their mixture in methanol or palm oil were researched. Anise oil in methanol was showed the greatest inhibitor. The MICs to against *Penicillium sp.* and *Aspergillus niger* were 50 µl/ml and 70 µl/ml, respectively at 30±1 °C for 5 days. The optimum ratio of mixing was 4: 1: 1 (%v) at 30±1 °C for 5 days. From the researches indicated that the main component in each essential oil is believed to inhibit the growth of fungi. These MICs will be examined with rubberwood at 30±1 °C, 100% Relative humidity or ambient air for 12 weeks.

6. Acknowledgements

The author gratefully acknowledges the financial support from the Graduate School of Prince of Songkla University, Graduate School of Engineering Scholarship, Faculty of Engineering, Prince of Songkla University, Songkhla, Thailand and various useful comments from anonymous reviewers.

References

- [1] N. Matan, N. Matan, Antifungal activities of anise oil, lime oil, and tangerine oil against molds on rubberwood (*Hevea brasiliensis*), *Int. Biodeterio. Biodegrad.* 62 (2008) 75-78.
- [2] J. Ratnasingam, R. Grohmann, F. Scholz, Drying quality of rubber: an industrial perspective, *Eur. J. Wood Prod.* 68 (2010) 115-116.
- [3] P. Sukkaew, S. Nunraksa, N. Matan, Determination of boron in rubberwood lumber by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES), *33rd Congress on Science and Technology of Thailand, October 2 (2007)*.
- [4] S. S. Cheng, J. Y. Lui, E. H. Chang, S. T. Chang, Antifungal activity of cinnamaldehyde and eugenol congeners against wood-rot fungi, *Bio. Source Tech.* 99 (2008) 5145-5149.
- [5] U. C. Yildiz, A. T. Temiz, E. D. Gezer, S. Yildiz, Effects of the wood preservatives on mechanical properties of yellow pine (*Pinus sylvestris* L.) wood, *Build Environ* 39 (2004) 1071-1075.
- [6] S. Siripornvisal, W. Rungprom, S. Sawatdikara, Antifungal activity of essential oils derived from some medicinal plants against gray mold (*Botrytis cinerea*), *As. J. Food Ag-Ind. Special issue (2009)* 229-233.
- [7] V. W. Yang, C. A. Clausen, Antifungal effect of essential oils on southern yellow pine, *Int. Biodeterio. Biodegrad.* 59 (2007) 302-306.

TIChE International Conference 2011
November 10 – 11, 2011 at Hatyai, Songkhla THAILAND

- [8] N. Matan, W. Woraprayote, W. Saengkrajung, N. Sirisombat, N. Matan, Durability of rubber (*Hevea brasiliensis*) treated with peppermint oil, eucalyptus oil and their main components, *Int. Biodeterio. Biodegrad.* 63 (2009) 621-625.
- [9] U. N. Ekwenye and C. A. Ijeomah, Antimicrobial effects of palm kernel oil and palm oil, *KMITL Sci. J.* 5 (2005) 502-505.
- [10] A. S. H. Ong, H. Kifli, C. S. Chow, Palm oil as oleochemical raw materials, *World Conference on Oleochemicals Into the 21st Century Kuala Lumpur, Malaysia, October 8-12 (1990)*.
- [11] N. Matan, N. Matan, Effect of combined Cinnamon and Clove oil against major moulds identified from rubberwood (*Hevea brasiliensis*), *Walailak J. Sci. & Tech.* 4 (2007) 165-174.
- [12] K. M. Soliman, R. I. Badeaa, Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi, *Food Chem. Toxicol.* 40 (2002) 1669-1675.
- [13] G. Singh, S. Maurya, M. P. de Lampasona, C. Catalan, Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of *Foeniculum vulgare* volatile oil and its acetone extract, *Food control*, 17 (2006) 745-752.
- [14] S. Y. Wang, P. F. Chen, S. T. Chang, Antifungal activities of essential oils and their constituents from indigenous cinnamon (*Cinnamomum osophloeum*) leaves against wood decay fungi, *Bio. Source Tech.* 96 (2005) 813-818.
- [15] S. Burt, Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review, *Int. J. Food Microbiol.* 94 (2004) 223-253.
- [16] R. A. Holley, D. Patel, Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials, *Food Microbio.* 22 (2005) 273-292.

TIChE International Conference 2011
November 10 – 11, 2011 at Hatyai, Songkhla THAILAND

THAILAND CHEMICAL ENGINEERING AND APPLIED CHEMISTRY CONFERENCE (TIChE) INTERNATIONAL CONFERENCE 2011

SOCIALLY RESPONSIBLE/ENVIRONMENTALLY ACCOUNTABLE



ENERGY TECHNOLOGY

CATALYST AND REACTION ENGINEERING

ENVIRONMENTAL AND SAFETY TECHNOLOGY

FOOD AND BIOCHEMICAL ENGINEERING

MATERIAL SCIENCE AND ENGINEERING

FUNDAMENTAL OF CHEMICAL ENGINEERING AND APPLIED CHEMISTRY

POLYMER AND PETROCHEMICAL TECHNOLOGY

PROCESS AND CONTROL ENGINEERING

SEPARATION AND PURIFICATION TECHNOLOGY

PALM TECHNOLOGY

NOVEMBER 10 - 11, 2011

**THE 60TH ANNIVERSARY OF HIS MAJESTY THE KING'S
ACCESSION TO THE THRONE INTERNATIONAL CONVENTION CENTER,
PRINCE OF SONGKLA UNIVERSITY,
HATYAI SONGKHLA, THAILAND**

ORGANIZED BY :
THE THAI INSTITUTE OF CHEMICAL ENGINEERING AND APPLIED CHEMISTRY
DEPARTMENT OF CHEMICAL ENGINEERING, FACULTY OF ENGINEERING, PRINCE OF SONGKLA UNIVERSITY (PSU)
NATIONAL RESEARCH UNIVERSITY - PALM TECHNOLOGY CLUSTER

The Effectiveness of Essential Oils in Various Solvents to Antifungal on Rubberwood (*Hevea brasiliensis*)

Monchanok Tuntipaleepun¹, Kulchanat Prasertsit^{1*}

¹ Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering,
Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112
*e-mail: kulchanat.k@psu.ac.th

Abstract – This research was aimed to study the efficiency of essential oils and optimum mixing to prevent molds (*Penicillium sp.* and *Aspergillus niger*) identified on the rubberwood surfaces. Anise oil, cinnamon oil and clove oil in methanol or palm oil were used in this experiment due to their less toxicity and suitable for many applications, especially related to health. The broth dilution method was applied to determine the minimal inhibitory concentration. By working with the concentration of essential oils between 30-110 µl/ml and mixture of anise oil: cinnamon oil: clove oil 2: 2: 2, 4: 1: 1, 1: 4: 1 and 1: 1: 4 (%v). From the experimental found that anise oil in methanol was the strongest inhibitor to antifungal. The minimal inhibitory concentration of *Penicillium sp.* and *Aspergillus niger* were 50 µl/ml and 70 µl/ml, respectively at 30±1 °C for 5 days. The optimum combination ratio was 4: 1: 1 for both *Penicillium sp.* and *Aspergillus niger* at 30±1 °C for 5 days. These were further examined with rubberwood at 30±1 °C, 100% relative humidity or ambient air for 12 weeks.

Keyword: Rubberwood, Anise oil, Cinnamon oil, Clove oil, Antifungal

1. Introduction

Rubberwood is the most economically lumber in southern of Thailand. After plantation of rubber trees for 25-30 years when latex production becomes uneconomical, these woods are cut down for replanting annually [1]. Unlike other woods that are cut down for the sole purpose of producing furniture, rubberwood is used only after it completes its latex producing cycle and dies. This wood is therefore eco-friendly in the sense that we are now using what was going as waste. Although rubberwood has many good features and low cost [2], it contains high moisture content and starch. The effect will be easily destroyed from molds and termites. Failure to control it can result in tremendous economic and resource losses.

In recent year, rubberwood is impregnated with various preservatives such as boron, pentachlorophenol, creosote and inorganic arsenicals to against insect borers and fungi because of relatively low treatment cost [3] [4], but these chemicals are not appropriate for many applications in health, for example indoor furniture, food packaging, children's toys and kitchenware. The US Environmental Protection Agency (EPA) has announced a voluntary decision by the wood industry to phase out toxic wood preservatives [5]. Subsequently, developing the alternatively non-hazardous preservatives from natural products such as essential oils is needed.

Many plant essential oils and their volatile constituents have been reported to possess potent antifungal activities [6]. Number of reports that have been indicated for resistance to mold growth on wood i.e., Matan and Matan (2008) with the use of lime oil, tangerine oil and anise oil to prevent mold on rubberwood [1], Yang and Clausen (2007) have used thyme, rosemary, lemongrass as inhibitor to antifungal on southern yellow pine [7] and Cheng et al. (2008) have reported the effects of cinnamaldehyde and eugenol on wood-rot fungi [4].

From research reviews, the solvents that appropriate to this application were methanol or palm oil. Methanol is usually used in wood industry as a color solvent, furthermore, Matan and Matan (2009) have used methanol as a solvent in antifungal probation [8]. Ekwenye and

Ijeomah (2005) have applied palm oil for the treatment of various microorganisms [9]. In addition, palm oil, which through the process from oleochemicals just can be used as an additives and biocides [10].

In this research, the objective is to determine the minimal inhibitory concentration of anise oil, cinnamon oil, clove oil and optimum mixing with different ratios in methanol or palm oil to against molds *Penicillium sp.* and *Aspergillus niger* on the surface of rubberwood at 30 ± 1 °C for 5 days.

2. Materials

2.1 Essential Oils and Chemicals

Essential oils derived by steam distillation (anise oil, cinnamon oil and clove oil) were purchased by Lapis tropical spa product co., Ltd., Bangkok, Thailand. Nutrient broth was obtained from Lab-Scan Analytical Science. Methanol was an analytical grade. Palm oil was a commercial grade.

2.2 Cultures

Two fungal strains (*Penicillium sp.* and *Aspergillus niger*) were obtained from Department of Microbiology, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Songkhla, Thailand.

3. Experimental

3.1 Preparation of Fungal Strains

Two surface fungi on rubberwood *Penicillium sp.* and *Aspergillus niger* were grown on potato dextrose agar (PDA) from Department of Microbiology, Prince of Songkla University, Songkhla, Thailand. Spores of remaining test fungi were collected by flooding the surface of plates with sterile saline solution (NaCl, 8.0 g/l_{water}) 5 ml. After counting the spores with haemocytometer, microspores standardized to concentration of 10^7 spores/ml by dilution with sterile water before use (10 μ l of a standardized suspension 10^7 spores/ml) [8] [11].

3.2 Minimal Inhibitory Concentration (MIC) of Essential Oils

The antifungal effect and MIC of anise oil, cinnamon oil and clove oil were considered. Natural essential oils were performed by broth dilution method [1] [11]. Each essential oil at

concentration of 30-110 $\mu\text{l/ml}$ was mixed with methanol or palm oil 1 ml, added nutrient broth 5 ml and fungal strains (10^7 spores/ml) 1 ml, shaking until the oil throughout the broth [8]. The control derived from methanol or palm oil without any essential oil. Plates were incubated at 30 ± 1 °C for 5 days. The lowest concentration that does not have visible growth was regarded as the MIC.

3.3 The Optimum Ratio of Mixing Essential Oils

The broth dilution method was applied to determine the optimum mixing ratio of essential oils [11]. Preparing mixture of essential oils between anise oil: cinnamon oil: clove oil were 2: 2: 2, 4: 1: 1, 1: 4: 1 and 1: 1: 4 (%v). Then, poured methanol or palm oil 1 ml and nutrient broth 5 ml. Fungal strain (*Penicillium sp.* or *Aspergillus niger*) at concentration 10^7 spores/ml 1 ml was added into plates and shake until the oil throughout the broth [11]. The control was obtained from methanol or palm oil without any essential oil. All experiments were incubated at 30 ± 1 °C for 5 days. The optimum ratio of mixing was determined by the tests that does not have visible growth of any fungi.

4. Results and Discussion

4.1 Minimal Inhibitory Concentration of Essential Oils

Inhibition of fungi by using anise oil, cinnamon oil and clove oil in methanol or palm oil were determined by the broth dilution method of the concentration 30-110 $\mu\text{l/ml}$ at 30 ± 1 °C for 5 days. The results are shown in Table 1. All essential oils exhibited the fungistatic activities against the mold, especially in methanol solvent. Anise oil was the strongest inhibitor to anti-molds *Penicillium sp.* and *Aspergillus niger*. To prevent growth of these molds, higher concentrations of cinnamon oil and clove oil were needed. However every essential oil in methanol was carried out to prevent molds better than in palm oil. Moreover, palm oil solvent, anise oil at MIC >110 $\mu\text{l/ml}$ for both *Penicillium sp.* and *Aspergillus niger* and clove oil at MIC 90 $\mu\text{l/ml}$ for *Aspergillus niger* have occurred in the wax that not appropriate to be an antifungal solvent and inconvenient to get rid of. The MICs of anise oil in methanol against *Penicillium sp.* and *Aspergillus niger* were 50 $\mu\text{l/ml}$ and 70 $\mu\text{l/ml}$, respectively. These MICs will further examine with rubberwood.

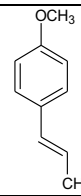
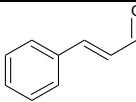
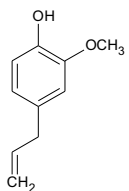
Table 1. The MICs of essential oils in methanol or palm oil at 30 ± 1 °C for 5 days

Essential oil	Solvent	MIC ($\mu\text{l/ml}$)	
		<i>Penicillium sp.</i>	<i>A. niger</i>
Anise		50	70
Cinnamon	Methanol	90	110
Clove		90	90
Anise		$> 110^*$	$> 110^*$
Cinnamon	Palm oil	110	110
Clove		90	90*

* wax

The effect of anise oil, cinnamon oil and clove oil as natural preservative were reported by Soliman and Badeaa (2002) [12] and Matan and Matan (2007), (2008). The main component of each essential oil was reported in Table 2. *Trans*-anethole was believed to be the main inhibitory component of anise oil. *A. niger* has been reported to be completely inhibited by the volatile oil of *Foeniculum vulgare*, which was rich in *trans*-anethole, even in relatively low dose of oil [13]. Cinnamon oil is reported to consist of several components such as cinnamaldehyde, geraniol and linalool [14] [11]. The main component of clove oil is eugenol with small amounts of caryophyllene and humulene [11]. These constituents of cinnamon and clove oil were noticed to be capable of inhibiting growth of termites and insects.

Table 2. The main components of each essential oil

Essential oil	Component	Structure	% w
Anise oil	<i>Trans</i> -anethole		85
Cinnamon oil	Cinnamaldehyde		75
Clove oil	Eugenol		78

An important characteristic of each essential oil is its polarity group, which is thought to bind to

proteins and prevent the reaction of molds and fungi [15]. Compounds containing hydroxyl group plus a system of delocalized electrons in the phenolic ring structure have high activity. The aldehyde group of vanillin is believed responsible in part its antimicrobial activity and this may also be true for cinnamaldehyde which do not have any free hydroxyl group [16]. For these reasons we believe it is the ability to inhibit the growth of fungi and insects.

4.2 The Optimum Ratio of Mixing Essential Oils

The mixture of anise oil: cinnamon oil: clove oil at ratios 2: 2: 2, 4: 1: 1, 1: 4: 1 and 1: 1: 4 in methanol or palm oil at 30±1 °C for 5 days were investigated. The results are shown in Table 3. The Combination ratio at 4: 1: 1 (%v) in methanol was performed the best mixing condition in *Penicillium sp.* and *Aspergillus niger*. However, every ratio in palm oil was unable to resist any molds and also have wax as well as to the essential oil tests. It's indicating that three essential oils are not supported each other. Higher concentration of anise oil is presented the retard of molds growth compared with other. That is anise oil, which contains *trans*-anethole as the main component has the most ability to resist mold [1] [11]. The inhibitory components are shown in Table 2. and described as above. These results were according to the MIC of former essential oils tests.

Table 3. The optimum ratio of mixing essential oils at 30±1 °C for 5 days

Ratio (%v)			Solvent	<i>Penicillium sp.</i>	<i>A. niger</i>
Anise	Cinnamon	Clove			
2	2	2	Methanol	✓	✓
4	1	1		✗	✗
1	4	1		✓	✓
1	1	4		✓	✓
2	2	2	Palm oil	✓*	✓*
4	1	1		✓*	✓*
1	4	1		✓*	✓*
1	1	4		✓*	✓*

✓ visible molds growth, ✗ no visible molds growth, * wax

5. Conclusions

The antifungal activity of anise oil, cinnamon oil, clove oil and their mixture in methanol or palm oil were researched. Anise oil in methanol was showed the greatest inhibitor. The MICs to against *Penicillium sp.* and *Aspergillus niger* were 50 µl/ml and 70 µl/ml, respectively at 30±1 °C for 5 days. The optimum ratio of mixing was 4: 1: 1 (%v) at 30±1 °C for 5 days. From the researches indicated that the main component in each essential oil is believed to inhibit the growth of fungi. These MICs will be examined with rubberwood at 30±1 °C, 100% Relative humidity or ambient air for 12 weeks.

6. Acknowledgements

The author gratefully acknowledges the financial support from the Graduate School of Prince of Songkla University, Graduate School of Engineering Scholarship, Faculty of Engineering, Prince of Songkla University, Songkhla, Thailand and various useful comments from anonymous reviewers.

References

- [1] N. Matan, N. Matan, Antifungal activities of anise oil, lime oil, and tangerine oil against molds on rubberwood (*Hevea brasiliensis*), *Int. Biodeterio. Biodegrad.* 62 (2008) 75-78.
- [2] J. Ratnasingam, R. Grohmann, F. Scholz, Drying quality of rubber: an industrial perspective, *Eur. J. Wood Prod.* 68 (2010) 115-116.
- [3] P. Sukkaew, S. Nunraksa, N. Matan, Determination of boron in rubberwood lumber by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES), *33rd Congress on Science and Technology of Thailand, October 2 (2007)*.
- [4] S. S. Cheng, J. Y. Lui, E. H. Chang, S. T. Chang, Antifungal activity of cinnamaldehyde and eugenol congeners against wood-rot fungi, *Bio. Source Tech.* 99 (2008) 5145-5149.
- [5] U. C. Yildiz, A. T. Temiz, E. D. Gezer, S. Yildiz, Effects of the wood preservatives on mechanical properties of yellow pine (*Pinus sylvestris* L.) wood, *Build Environ* 39 (2004) 1071-1075.
- [6] S. Siripornvisal, W. Rungprom, S. Sawatdikara, Antifungal activity of essential oils derived from some medicinal plants against gray mold (*Botrytis cinerea*), *As. J. Food Ag-Ind. Special issue (2009)* 229-233.
- [7] V. W. Yang, C. A. Clausen, Antifungal effect of essential oils on southern yellow pine, *Int. Biodeterio. Biodegrad.* 59 (2007) 302-306.

TIChE International Conference 2011
November 10 – 11, 2011 at Hatyai, Songkhla THAILAND

- [8] N. Matan, W. Woraprayote, W. Saengkrajung, N. Sirisombat, N. Matan, Durability of rubber (*Hevea brasiliensis*) treated with peppermint oil, eucalyptus oil and their main components, *Int. Biodeterio. Biodegrad.* 63 (2009) 621-625.
- [9] U. N. Ekwenye and C. A. Ijeomah, Antimicrobial effects of palm kernel oil and palm oil, *KMITL Sci. J.* 5 (2005) 502-505.
- [10] A. S. H. Ong, H. Kifli, C. S. Chow, Palm oil as oleochemical raw materials, *World Conference on Oleochemicals Into the 21st Century Kuala Lumpur, Malaysia, October 8-12 (1990)*.
- [11] N. Matan, N. Matan, Effect of combined Cinnamon and Clove oil against major moulds identified from rubberwood (*Hevea brasiliensis*), *Walailak J. Sci. & Tech.* 4 (2007) 165-174.
- [12] K. M. Soliman, R. I. Badeaa, Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi, *Food Chem. Toxicol.* 40 (2002) 1669-1675.
- [13] G. Singh, S. Maurya, M. P. de Lampasona, C. Catalan, Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of *Foeniculum vulgare* volatile oil and its acetone extract, *Food control*, 17 (2006) 745-752.
- [14] S. Y. Wang, P. F. Chen, S. T. Chang, Antifungal activities of essential oils and their constituents from indigenous cinnamon (*Cinnamomum osophloeum*) leaves against wood decay fungi, *Bio. Source Tech.* 96 (2005) 813-818.
- [15] S. Burt, Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review, *Int. J. Food Microbiol.* 94 (2004) 223-253.
- [16] R. A. Holley, D. Patel, Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials, *Food Microbio.* 22 (2005) 273-292.