



ที่มาและความสำคัญ และวัตถุประสงค์



ที่มาและความสำคัญ

เราได้ศึกษาประโยชน์และคุณสมบัติของลิโมนีนที่ช่วยในการละลายโพลีโอสไตรีนที่พบในพืชตระกูลส้ม และค้นพบว่า ลิโมนีนสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ เราจึงเลือกศึกษา เชื้อราRhizopus sp. เพราะเมื่อบริโภคราชนิดนี้เข้าไปแล้วจะทำให้เกิดอาการท้องเสียได้ ซึ่งเชื้อราชนิดนี้สามารถพบได้ทั่วไปบนขนมปัง ผัก และผลไม้ เชื้อรา Rhizopus sp.บนขนมปัง ผู้จัดทำจึงได้เล็งเห็นถึงปัญหานี้ ดังนั้นเราจึงต้องการศึกษา เชื้อรา Rhizopus sp. และลิโมนีน โดยใช้เพลทและขนมปังที่มีลิโมนีนที่มีความเข้มข้นต่างกัน

วัตถุประสงค์

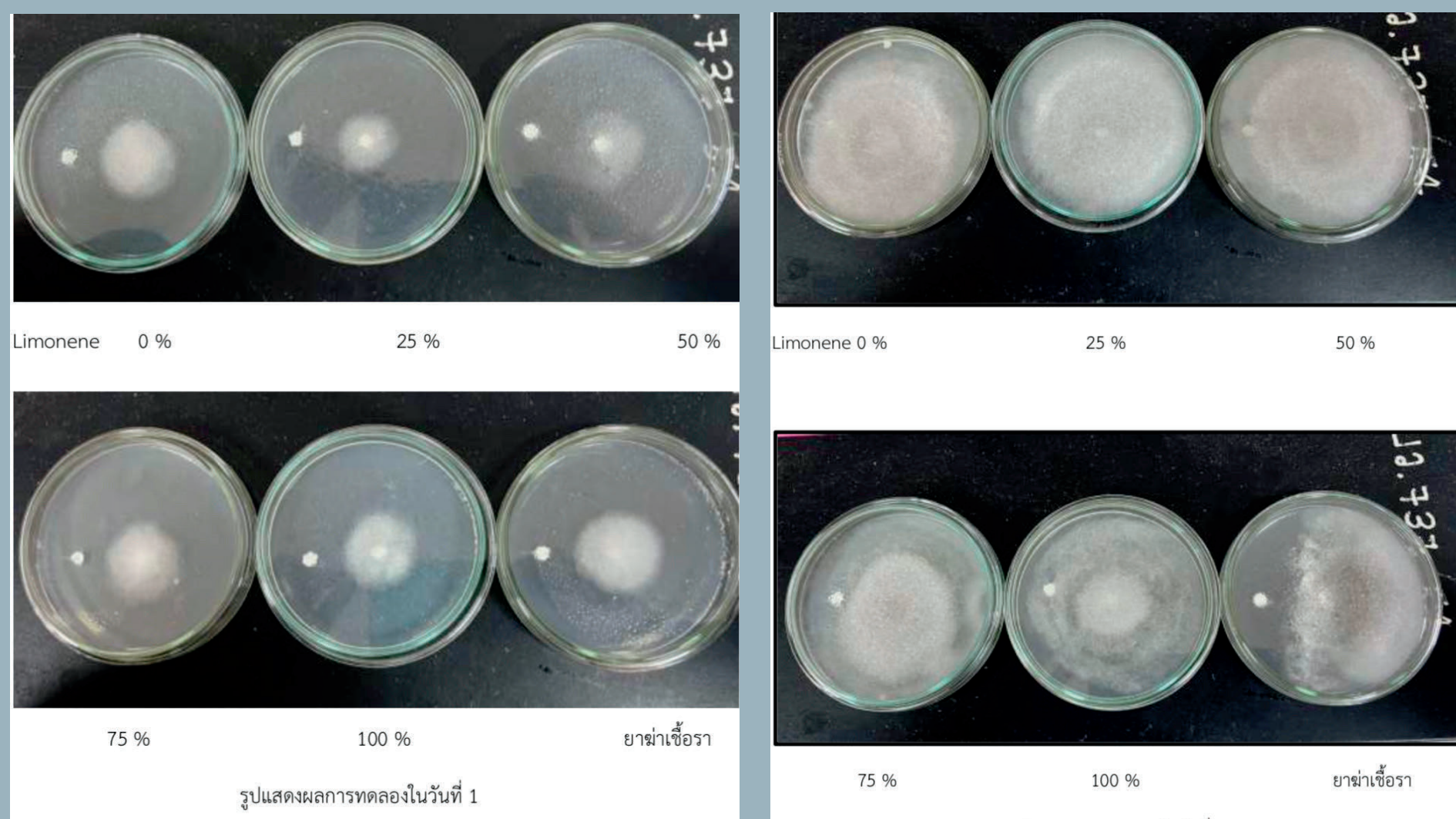
- 1 เพื่อศึกษาว่าLimoneneสามารถยับยั้งเชื้อรา Rhizopus sp. ได้
- 2 เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของLimonene ที่มีความเข้มข้นต่างๆ
- 3 เพื่อศึกษาLimonene กับการยับยั้งเชื้อราRhizopus sp.ที่ทำบนขนมปัง

ตัวแปรที่ต้องการศึกษา

- *ตัวแปรต้น ความเข้มข้นของลิโมนีน
- *ตัวแปรตาม การแพร่กระจายของเชื้อราที่เกิดขึ้น
- *ตัวแปรควบคุม 1.อาหารเลี้ยงเชื้อ(PDA)
2.ชนิดของรา
3.ชนิดของลิโมนีน
4.ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของกระดาษกรอง
5.ระยะเวลาในการบ่ม/เพาะ เชื้อรา

ผลการทดลอง

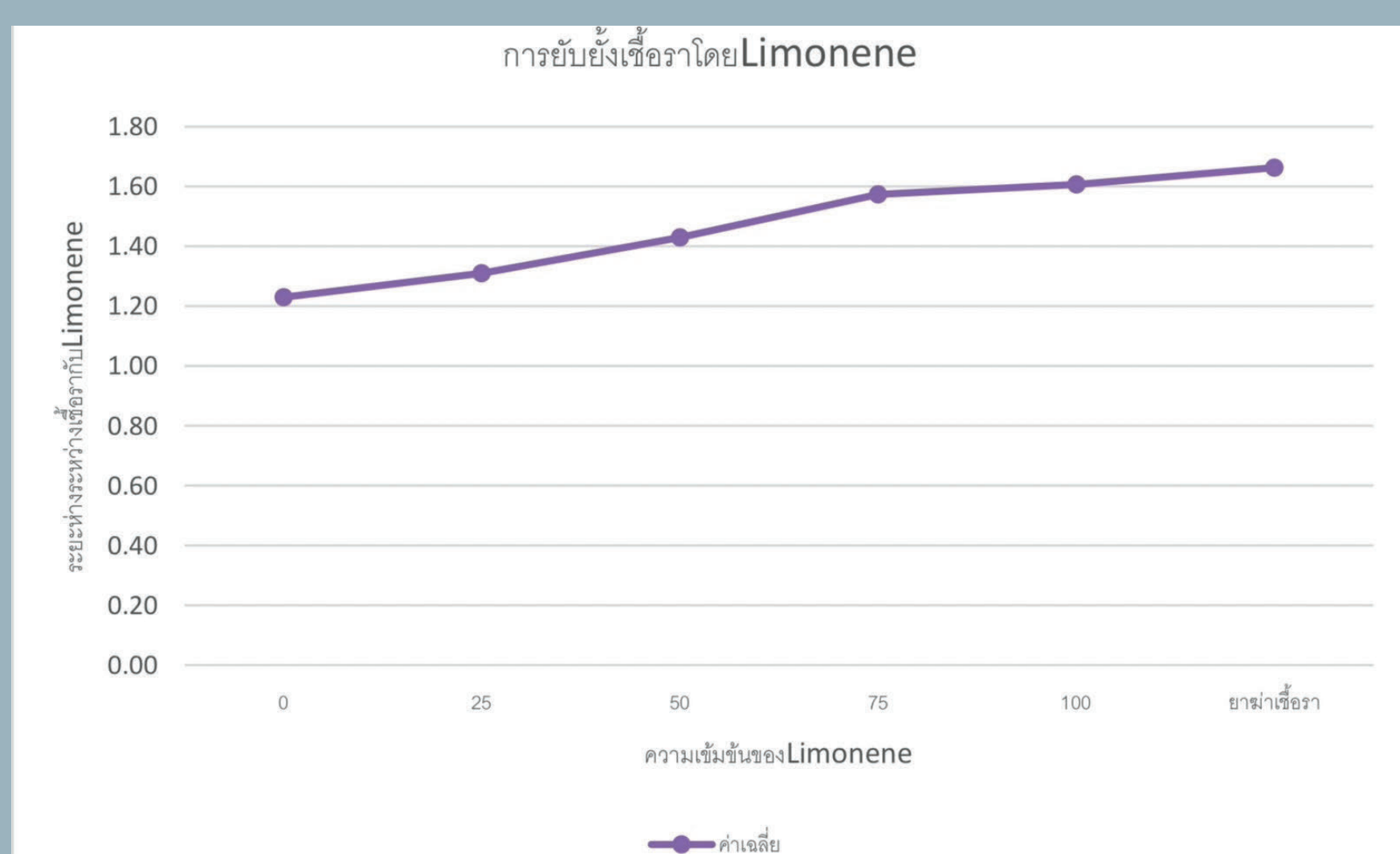
ตอนที่ 1



ภาพแสดงผลการทดลองในวันที่ 8-9 กรกฎาคม พ.ศ. 2566

ลำดับเพลท	ความเข้มข้นของ Limonene					ยาฆ่าเชื้อรา
	0	25	50	75	100	
1	1.21	1.23	1.4	1.54	1.61	1.67
2	1.25	1.34	1.43	1.6	1.59	1.65
3	-	1.36	1.46	1.58	1.62	1.67
ค่าเฉลี่ย	1.23	1.31	1.43	1.57	1.61	1.66

ตารางที่ 1 การหาค่าเฉลี่ยของระยะห่างระหว่างสารยับยั้งและเชื้อรา เมื่อผ่านไป 1 วัน



กราฟที่ 1 กราฟแสดงระยะห่างระหว่างเชื้อราและ สารยับยั้ง เมื่อเวลาผ่านไป 1 วัน

ตอนที่ 2

วันที่	การเกิดเชื้อราบนขนมปัง		
	ไม่ผสมลิโมนีน	ผสมลิโมนีน	ปนลิโมนีน
1	-	-	-
2	-	-	-
3	-	-	-
4	-	-	-
5	-	-	-
6	-	-	-
7	-	-	-
8	-	-	-
9	-	-	-
10	-	-	-
11	-	-	-
12	-	-	-
13	-	-	-
14	+	-	-
15	+	-	-
16	+	-	-
17	+	-	-
18	+	-	-
19	+	-	-
20	+	-	-
21	+	-	-

ตารางที่ 2 การสังเกตราบนขนมปังที่เกิดขึ้นในระยะเวลา 3 สัปดาห์

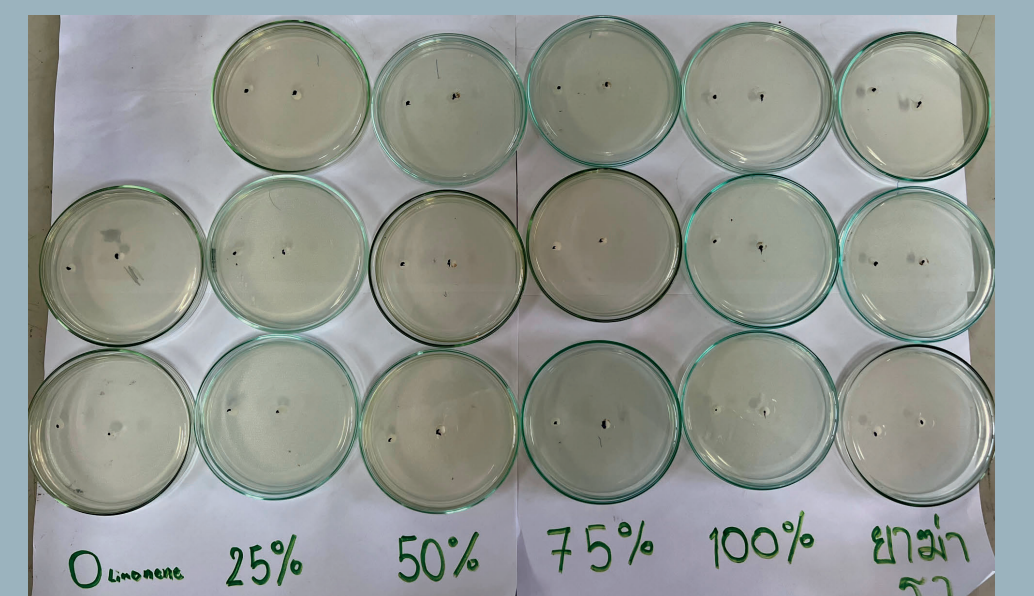
วิธีการทดลอง

ตอนที่ 1 ทดสอบความเข้มข้นของลิโมนีนในการยับยั้งเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

- 1.นำมันฝรั่งที่หั่นไปต้มในน้ำเดือดประมาณ 30 นาทีนำมากรองเอาแต่น้ำมันฝรั่ง และ เติมน้ำกลั่นเพื่อปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร
- 2.เติมผงวุ้น 16 กรัม และน้ำตาลกลูโคส 20 กรัม แล้วคนให้ละลาย
- 3.นำมาสกัดด้วยผ้าขาวบางขนาดต่างๆ และนำสำลีอุดปากขวด แล้วนำแผ่นพอลิมาปิดทับให้สนิท
- 4.นำไปอบด้วยเครื่องอบความดัน(Autoclave)พร้อมด้วยเพลทกระดาษกรองเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 1 ซม. เพื่อฆ่าเชื้อ 30 นาที



- 5.นำLimonene มาเจือจางด้วย DMSO ให้มีความเข้มข้นที่ 25 50 75 และ 100% (v/v)
- 6.นำกระดาษกรองจุ่มสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา Rhizopus sp. มาวางตรงกลางผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยวางไว้ในระยะห่าง 4.5 ซม.จากกระดาษกรองที่จุ่มลิโมนีนใน ความเข้มข้นต่างๆ และจากกระดาษกรองที่จุ่มยาฆ่าเชื้อรา และจุ่ม DMSO
- 7.บันทึกผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา Rhizopus sp. และความหนาแน่นของเชื้อราที่เกิดขึ้น เป็นเวลา 2 วัน ทุกๆ 24 ชั่วโมง



ตอนที่ 2 ทดสอบลิโมนีนที่ความเข้มข้น100% ในการยับยั้งเชื้อราบนขนมปัง

- 1.นำแป้งเค้ก 100กรัม ผสมกับน้ำตาลทราย 80กรัม ใส่เกลือ1/2ช้อนชาใส่ส่วนผสมเบเกอรี่ 30กรัม ผสมส่วนผสมให้เข้ากัน
- 2.ใส่ยีสต์ 7กรัม แล้วใช้ไข่ไก่2ฟอง นมข้นจืด150mlและน้ำแข็ง100กรัม แล้วคนผสมให้เนื้อแป้งเป็นเนื้อเดียวกัน
- 3.นวดแป้ง15นาทีแล้วใส่เนยสด 15กรัม นวดแป้งต่ออีก25นาที นำมาพัก35นาที โดยใส่ในภาชนะ แล้วนำถุงพลาสติกมาคลุมไว้ แบ่งนำมาผสมลิโมนีน100% (v/v)
- 4.ตัดแบ่งเป็นก้อน ก้อนละ60กรัม ปั้นแป้งที่ตัดเป็นลูกกลมๆแล้วนำมาขึ้นรูปด้วยภาชนะ
- 5.ทานมข้นจืดเพื่ออบ นำไปอบด้วยเตาอุณหภูมิ175องศาเซลเซียส เวลา18นาที
- 6.นำขนมปังที่ยังไม่ได้ใส่ลิโมนีนมาหั่นให้เท่ากันแล้วพ่นลิโมนีน 1 ml.
7. นำเชื้อราที่ละลายน้ำมาหยดบริเวณกลางขนมปัง
- 8.บันทึกผลการทดลอง ทุก 24 ชม.



สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองสามารถสรุปผลความเข้มข้นที่ดีที่สุดในการยับยั้งเชื้อราได้ คือ 75% และ 100% (v/v) โดยมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับยาฆ่าเชื้อราที่สามารถยับยั้งสปอร์ของเชื้อราได้จึงสามารถนำมาใช้แทนกันได้

และเมื่อนำไปทดสอบบนขนมปังจะพบว่าวิธีการผสมและพ่นไม่มีความแตกต่างกันในเรื่องการยับยั้งเชื้อราซึ่งหมายความว่าความร้อนไม่ทำให้สารลิโมนีนระเหยออกไปจนไม่สามารถยับยั้งเชื้อราได้และที่เราไม่ได้ใส่ลิโมนีนจะสังเกตเห็นได้ว่ามีราขึ้นในวันที่14

อภิปรายผลการทดลอง

จากการทดลองในตอนที่ 1 ในการทดสอบหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการใช้Limoneneในการยับยั้งเชื้อรา Rhizopus sp. เราได้ทดลองโดยใช้ความเข้มข้นของLimoneneที่25% 50% 75% 100% (v/v)ของLimonene จึงพบว่าLimoneneสามารถยับยั้งเชื้อรา Rhizopus sp. ได้ดีตั้งแต่ความเข้มข้น 75 % ขึ้นไป และดีที่สุดที่ 100% (v/v) โดยดูจากผลการทดลองที่สปอร์ของเชื้อราไม่เข้าใกล้Limoneneที่ความเข้มข้น75% 100% (v/v)ของLimonene ในวันที่ 2 และเชื้อราห่างจากลิโมนีนมากในวันที่ 1 เทียบเท่าได้กับยาฆ่าเชื้อรา

จากผลงานวิจัยของ สายสมร ลาลอง และ พงษ์นรินทร์ ยอดสิงห์ เรื่องการใช้น้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทยในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่พบแผ่นยางพารา พบได้ว่าสารLimoneneในผิวมะกรูดสามารถยับยั้งสปอร์ของเชื้อราได้ซึ่งตรงกับผลการทดลองที่เราได้ทำ

จากการทดลองในตอนที่ 2 ในการทดสอบบนขนมปังโดยใช้ความเข้มข้นของลิโมนีน100% (v/v) และเปรียบเทียบกับไม่ใส่ลิโมนีน พบว่าลิโมนีนสามารถทนความร้อนจากการอบขนมปังได้ และขนมปังที่มีลิโมนีนสามารถยับยั้งสปอร์เชื้อราได้ ทำให้ราไม่ขึ้น จึงทำให้วิธีการผสมหรือพ่นไม่มีความแตกต่างกัน