รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

1. ชุดโครงการวิจัย: -

2. โครงการวิจัย: การจัดการโรคและสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตรหลังการเก็บเกี่ยวโดยไม่ใช้สารเคมี

กิจกรรม: -

กิจกรรมย่อย (ถ้ามี): -

3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย): การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดพืชในการควบคุมการเจริญของเชื้อ *Aspergillus flavus* และลดปริมาณสารแอฟลาทอกซิน

ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ): Efficiency of plant extracts to control growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus*

4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง:

นางสาวเนตรา สมบูรณ์แก้ว กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

ผู้ร่วมงาน:

นางสาวสุพี วนศิรากุล กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

นางสาวศุภรา อัคคะสาระกุล กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

5. บทคัดย่อ:

การทดลองนี้ศึกษาชนิดและกลไกทำงานของสารสกัดพืชสมุนไพร เพื่อควบคุมการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* และลดการผลิตสารแอฟาทอกซิน (AFB1) พืชที่ทดสอบ คือ กระเทียม และพืชตระกูลขิงข่า (Zingiberaceae) ได้แก่ ส่วนเหง้าหรือส่วนใต้ดินของ ข่า- *Alpinia galanga* (L.) กระชายดำ- *Kaempferia parviflora* ไพล- *Zingiber cassumunar* และปุดสิงห์- *Elettariopsis curtisii* บดตัวอย่างที่ทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และแช่ในเอธานอลเข้มข้น 95% เป็นเวลา 3 วัน นำสารละลายที่กรองและลดปริมาตรตัวทำละลายแล้วทดสอบควบคุมการเจริญของ *A. flavus* ในอาหาร YES แบบแข็งและแบบเหลว พบว่า สารสกัดหยาบกระเทียมไม่สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อราได้ สารสกัดหยาบข่าควบคุมการเจริญของ *A. flavus* ได้ดี

ที่สุด (ความเข้มข้นต่ำสุด 200 ppm) ขณะที่สารสกัดหยาบกระชายดำและไพลทำให้เชื้อราเจริญผิดปกติ มีลักษณะปรากฏและสัณฐานต่างไปจากชุดควบคุม และสารสกัดหยาบปุดสิงห์สามารถลดการเจริญของเชื้อราได้ แต่มีประสิทธิภาพน้อยกว่าสารสกัดหยาบชนิดอื่น จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณสาร AFB1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัดหยาบพืช พบว่าสารสกัดหยาบกระเทียมไม่สามารถลดการสร้างสารพิษได้ ขณะที่สารสารสกัดอื่นๆ สามารถลดการสร้างสาร AFB1 ได้ดีกว่ากรรมวิธีที่ไม่มีสารสกัดหยาบ เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบพืชในถั่วลิสง โดยเคลือบที่ผิวของถั่วลิสงและเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30°C) ความชื้นสัมพัทธ์ 80% เป็นเวลา 1 เดือน ไม่พบการเจริญของเชื้อราบนถั่วลิสงที่เคลือบด้วยสารสกัดหยาบข่า กระชายดำและปุดสิงห์ และพบการปนเปื้อนสาร AFB1 น้อยกว่าชุดควบคุม อย่างไรก็ตามลักษณะปรากฏของถั่วลิสงอาจไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

6. Abstract:

This study aimed to determine types and mechanism of medicinal plants to reduce growth and aflatoxin (AFB1) production of *Aspergillus flavus* in *in vitro* and in peanut grain. Garlic bulb (*Allium sativum* L.) and rhizomes of Zingiberaceae *viz*. galangal (*Alpinia galanga* L.), Kra Chai Dum (*Kaempferia parviflora*), Plai (*Zingiber cassumunar*) and Pud Sing (*Elettariopsis curtisii*) were freeze-dried, grinded and soaked in 95% ethanol for 3 days before being evaporated. *A. flavus* was grown in YES agar and broth with different concentrations of each plant extracts. Galangal at 200 ppm concentration completely inhibited growth of *A. flavus*. Extracts of Kra Chai Dum and Plai at concentration higher than 1,000 ppm could slow down *A. flavus* growth and affected on the fungi morphology whereas greater content of Pud Sing extract could control *A. flavus* growth. *In vitro*, all three extracts caused smaller AFB1 contents comparing to treatments without plant extracts. Garlic extract did not influence to inhibition of *A. flavus* growth and AFB1 production in this study. Extracts of galangal, Kra Chai Dum and Plai entirely prevented growth of *A. flavus* in peanut grains resulting to low contamination of AFB1. However, appearance of treated peanut grain could be unacceptable for consumers.

7. คำนำ:

สารแอฟลาทอกซิน B1 (aflatoxin B1; AFB1) เป็นสารพิษที่ถูกสร้างขึ้นโดยเชื้อรา A. flavus และ Aspergillus. parasiticus (Roebuck and Maxuitenko, 1994) โดยเชื้อราเหล่านี้สามารถเจริญเติบโตและผลิต AFB1 ในสภาพแวดล้อมที่มีอุณหภูมิและความชื้นสูง โดย A. flavas สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 35 องศา

เซลเซียส ที่ปริมาณน้ำอิสระ 0.95 ขณะที่สภาพแวดล้อมที่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของ A. parasiticus คือ 33 องศาเซลเซียส ที่ปริมาณน้ำอิสระ 0.99 (Hill et al., 1985) ซึ่งคล้ายคลึงกับสภาพอากาศของประเทศไทย ด้วยสภาพแวดล้อมดังกล่าวร่วมกับการขาดการเอาใจใส่จากผู้ผลิตทั้งก่อนและหลังการปลูก ก่อให้เกิดเชื้อราและการสะสม AFB1 ในผลิตผลเกษตรหลายประเภท โดยเฉพาะถั่ว ธัญพืช และผลไม้ตากแห้ง โดยมีรายงานทางการแพทย์พบว่า AFB1 ปริมาณ 1 ไมโครกรัม สามารถกระตุ้นให้เกิดมะเร็งตับได้ (Jackson, 1999) ดังนั้นองค์การอนามัยโลกจึงจัดให้สารพิษชนิดนี้เป็นสารก่อมะเร็งที่ร้ายแรงมากที่สุดประเภทหนึ่ง

มีการศึกษาเพื่อลดปริมาณเชื้อราสาเหตุและสาร AFB1 หลายวิธีการ โดยเฉพาะการใช้สารเคมี แต่สารเคมีเหล่านั้นอาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภค (Pal and Gardener, 2006) จึงมีการศึกษาการใช้สารสกัดจากธรรมชาติ เช่น พืชและจุลินทรีย์ และวิธีการทางกายภาพ เช่น การใช้ความร้อน ในการควบคุมการเกิดเชื้อราและลดปริมาณ AFB1 รายงานวิจัยหลายฉบับพบว่าพืชสมุนไพร (medicinal plants) หลายชนิดมีสารสำคัญที่กำจัดเชื้อราได้ เช่น สารสกัดจากกานพลู กระเทียม ข่า ตะไคร้ กระชายดำและกะเพรา (อมรา และคณะ, 2553; Reddy et al., 2009) โดยอมรา และคณะ (2553) รายงานว่าน้ำคั้นกระชายดำสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา A. flavus ได้ 83.33% และ ยับยั้งการผลิตสารแอฟลาทอกซิน 92.43% ขณะที่น้ำคั้นกะเพราสามารถชะลอการเจริญของเชื้อราได้ค่อนข้างต่ำ แต่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการสร้างสาร AFB1 ได้มากถึง 83.23% นอกจากนี้ยังมีผลการศึกษาโดย Yenchai et al. (2004) พบว่าสารสำคัญในเหง้ากระชายดำ คือ borneol, sylvestrene, 5,7-dimethoxyflavone (5,7 DMF) และฟลาโวนอยด์ 9 ชนิด เช่น สาร 5,7,4'-trimethoxyflavone และ 3,5,7,4' –tetramethoxyflavone เป็นต้น ซึ่งมีฤทธิ์ในการขยายหลอดเลือดแดง (ในหนูทดลอง) ต้านการอักเสบและต้านจุลินทรีย์ อย่างไรก็ตามการวิจัยที่ผ่านมามุ่งเน้นผลของสารออกฤทธิ์ในการรักษาหรือบรรเทาอาการเจ็บป่วยในสัตว์หรือมนุษย์ แต่ยังไม่มีผลการศึกษารายงานถึงชนิด ความเข้มข้น และกลไกการทำงานของสารสำคัญในกระชายดำและกะเพรา รวมถึงความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมการเจริญของเชื้อรา A. flavus และการทำลายสาร AFB1 ในผลิตผลเกษตร หากสามารถเข้าใจวิธีการทำงานของสารสำคัญจากสารสกัดพืช จะสามารถนำสารสำคัญเหล่านี้ไปพัฒนาเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ในการควบคุมเชื้อรา *A. flavus* และลดการปนเปื้อนสาร AFB1 ที่สามารถใช้ได้สะดวก รวดเร็วและเพิ่มความปลอดภัยให้แก่ผู้บริโภคอผู้บริโภค

8. วิธีดำเนินการ:

การทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.ทดสอบการสกัดพืชตัวอย่างด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ตามชนิด polarity ได้แก่ เอธานอล เมธานอล ไดคลอโรมีเธน และเฮกเซน (ภาพที่ 1)

ภาพที่ 1 การเตรียมสารสกัดหยาบในตัวทำละลายต่างๆ

2. ทดสอบความเข้มข้นของสารสกัดหยาบในการควบคุมเชื้อราและสารพิษจากเชื้อรา วางแผนการทดลองแบบ CRD สารสกัดหยาบพืช 5 ชนิด ได้แก่ กระเทียม กระชายดำ ไพล ข่า และปุดสิงห์ และความเข้มข้น 12 ระดับ ได้แก่ 0 50 100 200 400 800 1,000 2,000 3,000 4,000 5,000 และ 6,000 ppm จำนวน 5 ซ้ำต่อกรรมวิธี

3. เปรียบเทียบลักษณะของเชื้อราที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมของสารสกัดหยาบชนิดต่างๆ หลังจากเก็บที่ 30°C เป็นเวลา 10 วัน และวิเคราะห์ปริมาณสารแอฟลาทอกซินด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ในวันที่ 14 ของการทดลอง

4. ทดสอบผลของสารสกัดหยาบต่อเอนไซม์ต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของเชื้อรา *A. flavus*

5. ทดสอบผลของสารสกัดหยาบชนิดต่างๆ ในการยับยั้งเชื้อ *A. flavus* และผลิต AFB1 ในเมล็ดถั่วลิสง วางแผนการทดลองแบบ CRD สารสกัดหยาบ 4 ชนิดได้แก่ กระชายดำ ไพล ข่า และปุดสิงห์ จำนวน 5 ซ้ำต่อกรรมวิธี เก็บรักษาที่ 30°C ความชื้นสัมพัทธ์ 80% เป็นเวลา 1 เดือน (ภาพที่ 2)

ภาพที่ 2 ทดสอบการยับยั้ง *A. flavus* และผลิตสารแอฟลาทอกซินในเมล็ดถั่วลิสง ด้วยสารสกัดหยาบกระชายดำ ไพล และข่า

6. วิเคราะห์สารประกอบสำคัญในสารสกัดหยาบแต่ละชนิด ด้วยวิธี GC-MS

- KPIs

ทราบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบในการควบคุมเชื้อราและสารพิษในถั่วลิสง และทราบสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ในการควบคุม

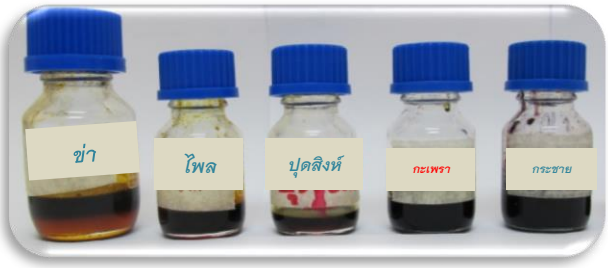
เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มต้นตุลาคม 2555 สิ้นสุดกันยายน 2558

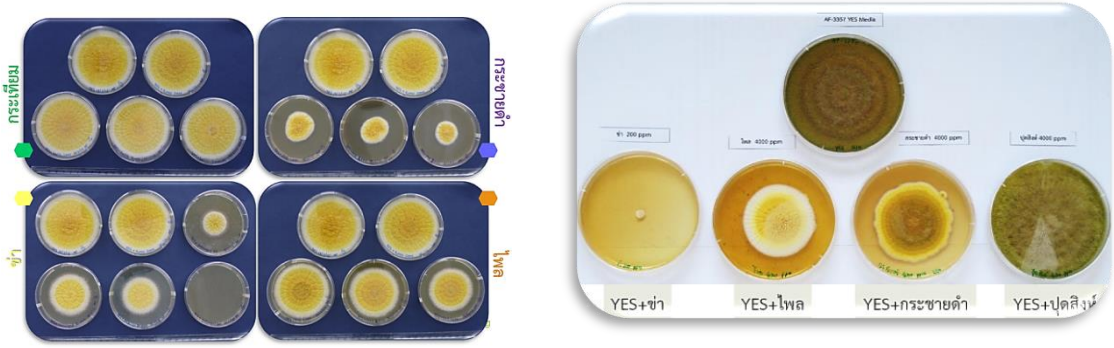
สถานที่ทำการวิจัย กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร

9. ผลการทดลองและวิจารณ์

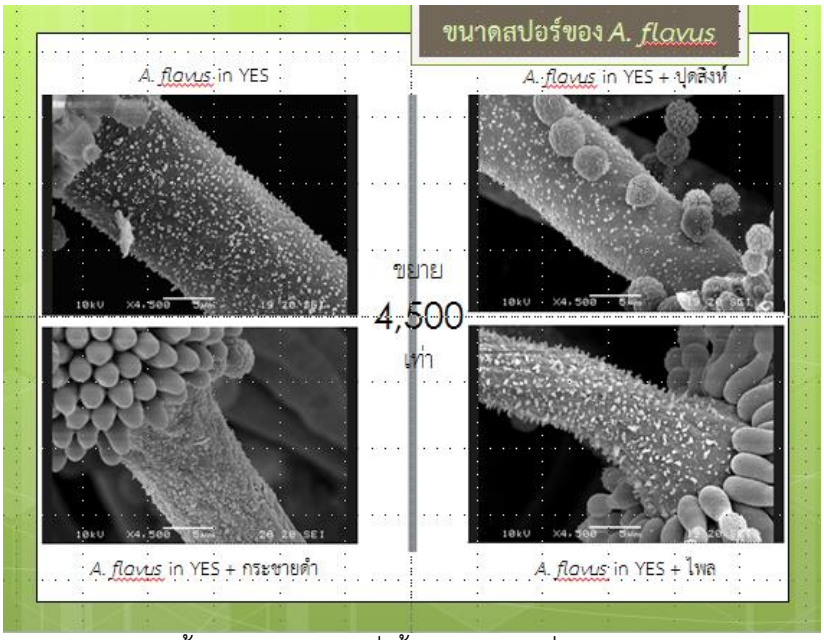
คัดเลือกตัวทำละลายเพื่อใช้สกัดสารสำคัญจากกะเพรา กระชายดำ ข่า และไพล โดยทดสอบตัวทำละลาย ได้แก่ ไดโคลโรมิเธน เฮกเซน เอธานอล และเมธานอล พบว่าสารสกัดหยาบจากเอธานอล (ภาพที่ 3) สามารถลดการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุได้ และยังมีความปลอดภัยมากกว่าตัวทำละลายอื่นๆ และพบว่าสารสกัดหยาบเอธานอลของพืชแต่ละชนิด เมื่อผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อราแล้ว สามารถลดการเจริญของเชื้อราได้ดี โดยสารสกัดหยาบข่าความเข้มข้น 200 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* ได้ 100% ส่วนสารสกัดกระชายดำและสารสกัดไพล สามารถลดการเจริญเติบโตของเชื้อรา แต่ที่ความเข้มข้นสูงกว่า 500 ppm โดยเฉพาะสารสกัดกระชายดำทำให้ลักษณะโคโลนีของเชื้อราผิดปกติไปจากชุดควบคุม และสารสกัดจากกะเพรามีผลต่อการยับยั้งเชื้อราได้น้อยที่สุด นอกจากนี้ทดสอบสารสกัดพืชเพิ่มเติม ได้แก่ ปุดสิงห์ (*Elettariopsis curtisii*) โดยทดสอบตัวทำละลาย ได้แก่ ไดโคลโรมิเธน เฮกเซน เอธานอล และเมธานอล พบว่าสารสกัดหยาบจากเอธานอล ไม่สามารถลดการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุได้ แต่ทำให้เส้นใยและสปอร์ผิดปกติไปจากเชื้อที่เลี้ยงในอาหารปกติ (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 3 สารสกัดต่างๆ ที่สกัดจากพืชด้วยเอธานอล



ภาพที่ 4 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. flavus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมด้วยสารสกัดหยาบกระเทียม กระชายดำ ข่า ไพล และปุดสิงห์

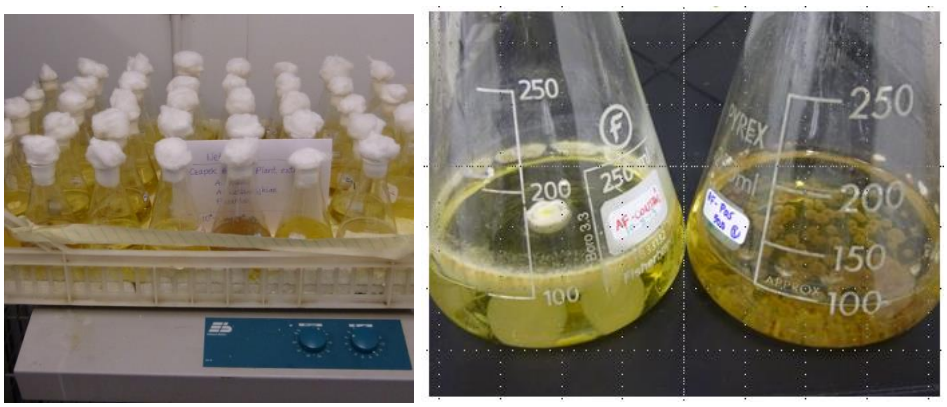


ภาพที่ 5 ลักษณะของเส้นใยเชื้อรา *A. flavus* ที่เลี้ยงในอาหารที่ผสมด้วยสารสกัดหยาบปุดสิงห์ กระชายดำ และไพล ภายใต้กล้องกำลังขยาย 4,500 เท่า

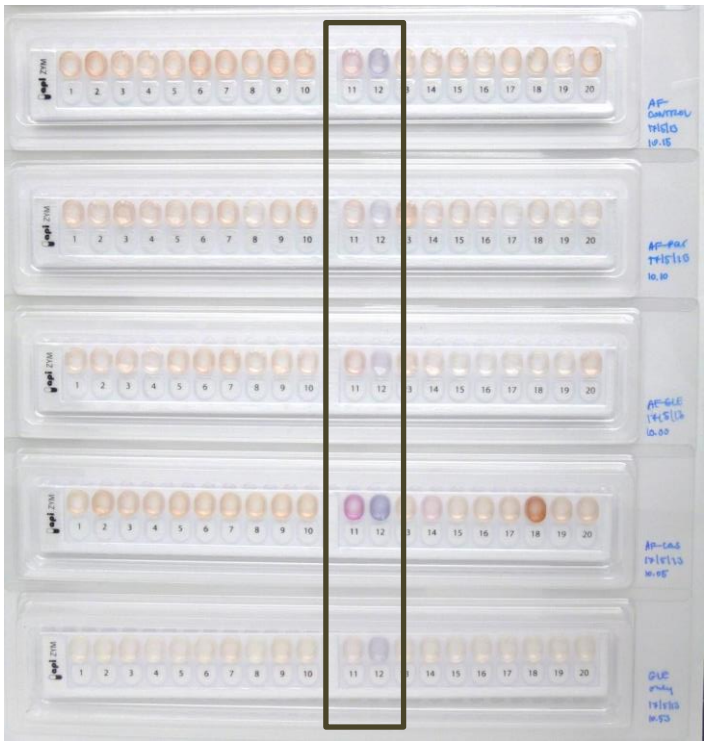
เชื้อราที่เลี้ยงในอาหาร YES ที่ผสมสารสกัดหยาบกระชายดำ ไพลและปุดสิงห์มีขนาดและลักษณะของก้านชูสปอร์เล็กกว่าและมีพื้นผิวต่างจากลักษณะของเชื้อราในอาหาร YES ที่ไม่มีสารสกัดหยาบพืช (ภาพที่ 5) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบพืชมีผลต่อการเจริญของเชื้อรา *A. flavus*

จากนั้น เลี้ยง *A. flavus* ในอาหารเหลว Czapek yeast extract broth ที่ผสมสารสกัดกระชายดำ ไพล ข่า ที่ความเข้มข้นต่างๆ บ่มที่ 25°C นาน 6 วัน เพื่อตรวจสอบเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของ *A. flavus*

(ภาพที่ 4) เช่น Esterase, lipase, acid phosphatase, β-glucosidase and N-acetyl-β-D-glucosaminidase ด้วยชุดทดสอบ API ZYM System (ภาพที่ 6)



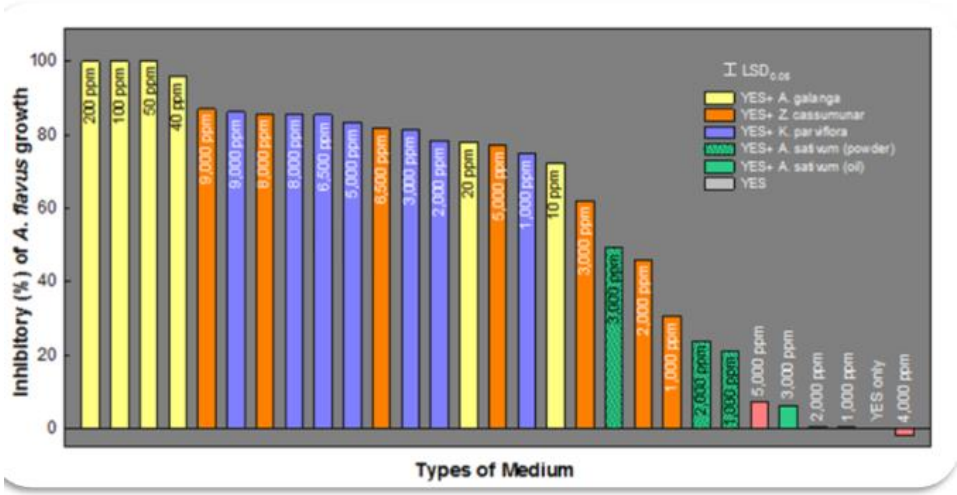
ภาพที่ 6 การเลี้ยง *A. flavus* ในอาหารเหลว Czapek yeast extract broth ที่ผสมสารสกัดหยาบพืช ที่ความเข้มข้นต่างๆ บ่มที่ 25°C นาน 6 วัน



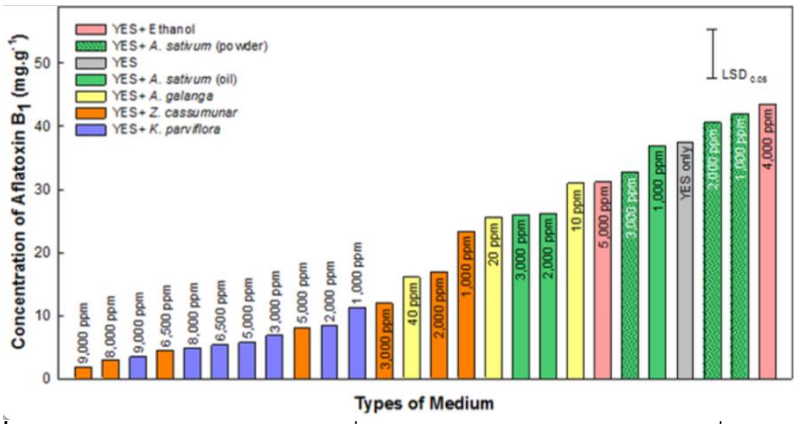
ภาพที่ 7 การทดสอบด้วยชุดทดสอบ API ZYM System

จากการทดสอบ (ภาพที่ 7) พบว่าสารสกัดหยาบพืชชนิดต่างๆ ทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ 2-naphtyl phosphate (ช่องที่ 11) และ Naphlol-AS-Bl-phosphate (ช่องที่ 12) อยู่ที่ระดับ 1-2 ซึ่งน้อยกว่ากลุ่มควบคุม

เมื่อจัดลำดับประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบรวมถึงความเข้มข้นต่างๆ พบว่าสารสกัดหยาบข่ามีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการยับยั้งการเจริญของ *A. flavus* ตามมาด้วยกระชายดำ ไพล ปุดสิงห์ และ กระเทียม ตามลำดับ (ภาพที่ 8) ขณะที่สารสกัดหยาบกระชายดำและไพลมีประสิทธิภาพยับยั้งการผลิต AFB1 ได้ดีกว่ากรรมวิธีอื่น (ภาพที่ 9)

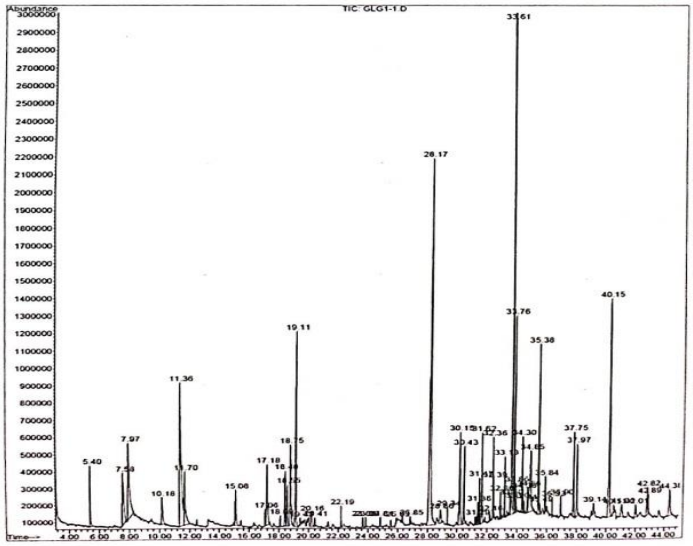


ภาพที่ 8 ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบกระชายดำ ไพล ข่า ปุดสิงห์ และ กระเทียมในการยับยั้งการเจริญของ *A.flavus*



ภาพที่ 9 ปริมาณสารแอฟลาทอกซินที่ *A. flavus* ผลิตในอาหาร YES ที่ผสมสารสกัดหยาบกระชายดำ ไพล ข่า ปุดสิงห์ และ กระเทียม

ทำการวิเคราะห์ชนิดของสารสำคัญในสารสกัดหยาบ โดยวิธี GC-MS (ภาพที่ 10) พบว่าในสารสกัดหยาบข่าที่สกัดด้วย 95% เอธานอล ประกอบด้วย 1'-acetoxychavicol acetate, 1'-acetoxyeugenol acetate, 1, 8-cineole, beta-caryophyllene, beta-bisabolene และ beta-selinene เป็นกลุ่มสารสำคัญ ซึ่งมีรายงานว่าเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์



ภาพที่ 10 ผลวิเคราะห์สารสำคัญในสารสกัดหยาบด้วยวิธี GC-MS

เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบในการลดการปนเปื้อน *A. flavus* ในถั่วลิสงพบว่าสารสกัดหยาบข่า ไพล และกระชายดำสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *A. flavus* ในถั่วลิสงที่ผสมเชื้อราชนิดนี้ไว้ได้ อย่างไรก็ตามสารสกัดหยาบพืชทั้ง 3 ชนิด ทำให้ลักษณะปรากฏและกลิ่นของถั่วลิสงเปลี่ยนไป ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค (ภาพที่ 11) จึงทดลองนำกากพืชที่เหลือจากการสกัดจากการทดลองที่ผ่านมา แปรรูปเป็นเยื่อกระดาษ โดยผสมสารสกัดหยาบพืชและเยื่อกระดาษเข้าด้วยกันก่อนขึ้นรูปเป็นแผ่นกระดาษ และขณะนี้กำลังทดสอบใช้กระดาษในการควบคุมเชื้อรา *A. flavus* (ภาพที่ 12)

ภาพที่ 11 ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบข่า กระชายดำ ไพล ในการควบคุมเชื้อ *A. flavus* ในถั่วลิสง

ภาพที่ 12 (ก /ข) เยื่อจากก้านข่าและเหง้าข่าที่เหลือจากการสกัด (ค) กระดาษที่ได้จากกากข่า

10. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ:

สารสกัดหยาบกระเทียม ไพล กระชายดำ ปุดสิงห์ และข่า ที่สกัดด้วยเอธานอล 95% มีประสิทธิภาพในการลดอัตราการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* รวมถึงลดการสร้างสารแอฟลาทอกซินได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast Extract Sucrose (YES) ทั้งแบบอาหารแข็งและอาหารเหลว และพบว่าสารสกัดพืชในการทดลองนี้ทำให้ลักษณะสัณฐานของ *A. flavus* มีการเจริญที่ปกติเมื่อเทียบกับเชื้อราที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่มีสารสกัดพืชผสม นอกจากนี้สารสกัดหยาบพืชนี้ทำให้ *A. flavus* ผลิตเอนไซม์ที่จำเป็นในการสังเคราะห์สารแอฟลาทอกซินได้น้อยลง เมื่อนำสารสกัดหยาบพืชเคลือบถั่วลิสงเพื่อควบคุมการเจริญของเชื้อ *A. flavus* พบว่าไม่มีเชื้อราปรากฏบนถั่วลิสงหลังจากเคลือบเป็นเวลา 1 เดือน อย่างไรก็ตามสารสกัดหยาบทำให้ถั่วลิสงมีสีและกลิ่นเปลี่ยนแปลงไป อาจไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

11. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์:

ใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับนักวิจัยที่เกี่ยวข้องและผู้สนใจทั่วไป และสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำไปประยุกต์ใช้กับงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

12. คำขอบคุณ (ถ้ามี) :

ขอขอบคุณเจ้าหน้าห้องปฏิบัติการทดลองสารพิษจากเชื้อรา กวป. ทุกท่านที่สนับสนุนการดำเนินงาน และขอขอบคุณ ดร.อมรา ชินภูติ สำหรับข้อแนะนำที่เป็นประโยชน์ต่อการดำเนินการวิจัยในครั้งนี้

13. เอกสารอ้างอิง:

อมรา ชินภูติ ศุภรา อัคคะสาระกุล และชวเลิศ ตรีกรุณาสวัสดิ์. 2553. การใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรในการควบคุมและลดปริมาณสารแอฟลาทอกซินในเมล็ดข้าวโพดและถั่วลิสง. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มประจำปี 2552. สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร. 218-230.

Hills, R.A., Wilson, D.M., McMillan, W.W., Widstrom, N.W., Cole, R.J., Sanders, T.H. and Blankenship, P.D. 1985. Ecology of the Aspergillus flavus group and aflatoxin formation in maize and groundnut. In: J. Lacey. (Ed.) Trichothecenes and other Mycotoxins. John Wiley and Sons Inc., Chichester, pp. 79–86.

Jackson, P.E. 1999. Aflatoxin and liver cancer. Best Practice and Research Clinical Gastroenterology

13 (4) : 545-555.

Oonmetta-aree, J., SuZuki, T., Gasaluck, P. and Eumkeb, G. 2006. Antimicrobial properties and action of galangal (Alpinia galangal Linn.) on Staphylococcus aureus. LWT 39 : 1214-1220.

Pal, K.P. and Gardener, B.M. 2006. Biological control of plant pathogens. The Plant Health Instructor. DOI.10.1094/PHI-2006-117-02.

Reddy KRN, Reddy CS, Muralidharan K 2009. Potential of botanicals and biocontrol agents on growth and aflatoxin production by Aspergillus flavus infecting rice grains. Food Control 20(2) : 173-178.

Roebuck, B. D , and Maxuitenko, Y. Y. 1994. Biochemical mechanismsand biological implications of the toxicity of aflatoxins as related to aflatoxin carcinogenesis. In The Toxicology of Aflatoxins: Human Health,Veterinary, and Agricultural Significance. Eaton, D. L. and Groopman, J. D. (Eds.) Academic Press, San Diego. pp. 27-44.

Yenchai, C., Prasanphen. K., Doodee. S. 2004. Bioactive flavonoids from Kaempferia Parvifor. Fitoterapia 75(1) : 89-92.