



การพัฒนาตำรับน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดเปลือกต้นมะขามป้อม (*Phyllanthus emblica* L.) สำหรับโรคติดเชื้อแคนดิดาในช่องปาก

กรทิพย์ ภัทรธนากร¹, จินนภา บุญเฉลียว^{1*}, ศุภกิจ ชัยเพชร¹, สุนทรทิพย์ สีแสด¹, สกุลรัตน์ รัตนาเกียรติ¹, พรพรรณ เหล่าวัชรสุวรรณ²

บทคัดย่อ

การพัฒนาตำรับน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดเปลือกต้นมะขามป้อม (*Phyllanthus emblica* L.)
สำหรับโรคติดเชื้อแคนดิดาในช่องปาก

กรทิพย์ ภัทรธนากร¹, จินนภา บุญเฉลียว^{1*}, ศุภกิจ ชัยเพชร¹, สุนทรทิพย์ สีแสด¹, สกุลรัตน์ รัตนาเกียรติ¹, พรพรรณ เหล่าวัชรสุวรรณ²

บทนำ: ตามภูมิปัญญาชาวบ้านได้มีการนำเปลือกต้นมะขามป้อมมารักษาแผลในช่องปาก โรคปากกัดเพ้า และนำมากวาดล้างรักษาผื่นในช่องปากของเด็ก และมีงานวิจัยที่ศึกษาถึงฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของ *Candida albicans* (*C. albicans*) จากสารสกัดหยาบจากใบและผลมะขามป้อม แต่ยังไม่มีการศึกษาในส่วนเปลือกต้นมะขามป้อม ซึ่งจากข้อมูลดังกล่าวเปลือกต้นมะขามป้อมน่าจะมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. albicans* ได้ **วิธีการทดลอง:** โดยนำเปลือกต้นมะขามป้อมมาสกัดด้วยน้ำกลั่น 50%เอทานอล และ 95%เอทานอล นำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวม ค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (MIC) และค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่น้อยที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (MFC) จากนั้นทำการพัฒนาตำรับน้ำยาบ้วนปากผสมสารสกัดเปลือกต้นมะขามป้อม ควบคุมคุณภาพและทดสอบความคงตัวของตำรับโดยใช้สภาวะเร่ง รวมถึงทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ของตำรับเทียบกับยา Ketoconazol **ผลการศึกษา:** สารสกัดเปลือกต้นมะขามป้อมที่สกัดด้วย 95% เอทานอล ได้ร้อยละผลผลิตสูงสุด (15.6%) และมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุด (31.65%) ค่า MIC ต่อเชื้อ *C. albicans* ของทุกสารสกัดมีค่าเท่ากันคือ 125 mg/ml และ MFC ในการฆ่าเชื้อ *C. albicans* ของสารสกัดที่สกัดด้วย 95% เอทานอล คือ 250 mg/ml ดังนั้นจึงใช้สารสกัดเปลือกต้นมะขามป้อมที่สกัดด้วย 95% เอทานอล ที่ความเข้มข้น 130 mg/ml ในการพัฒนาตำรับน้ำยาบ้วนปากทั้งหมด 14 ตำรับ ที่มีความแตกต่างกันในสัดส่วนของสารให้ความหวาน สารแต่งกลิ่น และตัวทำละลายร่วม หลังการทดสอบความคงตัวโดยผ่านสภาวะเร่งพบว่า ตำรับที่ 9 มีความคงตัวทั้งทางกายภาพและเคมีดีที่สุด และเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *C. albicans* กับ Ketoconazole พบว่า Ketoconazole มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *C. albicans* ได้มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) **สรุปผล:** แม้ว่าฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *C. albicans* ของตำรับน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดเปลือกต้นมะขามป้อมจะด้อยกว่า Ketoconazole แต่ยังคงมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้ ดังนั้นสูตรตำรับน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดเปลือกต้นมะขามป้อมตำรับที่ 9 จึงมีความเหมาะสมที่สุดในการนำมาพัฒนาตำรับต่อไป

คำสำคัญ: เปลือกต้นมะขามป้อม, *C. albicans*, น้ำยาบ้วนปาก

นิสิต คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

อาจารย์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

* ติดต่อผู้พิมพ์: jinnapar@gmail.com

Abstract

Development of mouthwash from *Phyllanthus emblica* L. bark extract for oral candidiasis

Kornthip Pattaratanakorn¹, Jinnapar Boonchalaew^{1*}, Supakit Chaipet¹, Sukontip Seesad¹, Sakulrat Rattanakit¹, Pornpun Laovachirasuwan²

Introduction: According to folk wisdom, the bark of *Phyllanthus emblica* L. has been used to treat oral ulcers, athlete's foot, and oral candidiasis in children. There are studies the antifungal activity against *Candida albicans* (*C. albicans*) of crude extracts from leaves and fruits of *Phyllanthus emblica* L.. However, there are no report about that of bark. So the bark of *Phyllanthus emblica* L. may be antifungal activity. **Methods:** The bark of *Phyllanthus emblica* L. was extracted using purified water, 50% ethanol,



and 95% ethanol. The total phenolics content, the minimal inhibitory concentration (MIC) value and minimal fungicidal concentration (MFC) value of bark extracts were investigated. The mouthwash from *Phyllanthus emblica* L. bark extracts were developed for oral candidiasis and compared the efficiency with ketoconazole. The physical and chemical properties of freshly prepared formulation and after freeze thaw cycling were observed. **Results:** The 95% ethanol extract was the highest percentage of yield (15.6%) and total phenolics content (31.65%). Moreover, the MIC value was 125 mg/ml for all of three extracts and the MFC value was 250 mg/ml in 95% ethanol extract. Thus, the bark extracts with 95% ethanol and 130 mg/ml of bark extract were used for developing the mouthwash formulation. The 14 formulas were prepared, which were different in the ratio of sweetener, favoring agent, and co-solvent. After freeze thaw cycling, the 9th formulation was the best of physical and chemical stability. Antifungal activity of ketoconazole against *C. albicans* was higher than all of mouthwash preparations statistically significant ($p < 0.05$). **Conclusion:** The mouthwash preparations still could be inhibited *C. albicans*. Thus, the 9th mouthwash formulation was the most appropriate formulation for developing in the future.

Keywords: *Phyllanthus emblica* L. bark, *C. albicans*, mouthwash

Student, Faculty of Pharmacy, Mahasarakham University, Mahasarakham, Thailand

Lecturer, Faculty of Pharmacy, Mahasarakham University, Mahasarakham, Thailand

* corresponding author: jinnapar@gmail.com

บทนำ

มะขามป้อมเป็นสมุนไพรที่ทราบกันมานานว่ามีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา โดยได้มีการศึกษาถึงฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราจากสารสกัดหยาบ (crude extract) จากใบมะขามป้อมโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย (Satish *et al.*, 2007) และการศึกษาสารสกัดจากผล *Phyllanthus emblica* L. (Boonyanit and Sroisiri, 2010) ซึ่งสกัดด้วย 95% เอทานอล ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อ *Candida albicans* (*C. albicans*) แต่ยังไม่มีการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อราจากเปลือกต้นมะขามป้อม โดยตามภูมิปัญญาชาวบ้านได้มีการนำเปลือกต้นมะขามป้อมมารักษาแผลในช่องปาก ลดการอักเสบ สมานแผล (Dweck, 2002) นอกจากนี้ยังมีการนำมาใช้รักษาปากกัดเท้า และนำมาควาดลิ้นรักษาฝ้าในช่องปากของเด็ก (สุภาภรณ์, 2548) ซึ่งจากข้อมูลดังกล่าวเปลือกต้นมะขามป้อมนับว่าเป็นสมุนไพรที่น่าจะมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ ซึ่งการติดเชื้อมะขามป้อมมักเกิดจากเชื้อ *C. albicans* เป็นส่วนใหญ่ สามารถพบได้ทั้งเด็กและผู้ใหญ่ การรักษาทำได้โดยการให้ยาต้านเชื้อรา ได้แก่ Amphotericin B, Flucytocine, Ketoconazole, Miconazole และ Nystatin เป็นต้น แต่การใช้ในการรักษาโรคต้องใช้เวลานาน และยาส่วนใหญ่มีผลข้างเคียงสูง เช่น Nephrotoxicity, Hepatitis, Anemia, Leukopenia และ Thrombopenia เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีราคาแพงอีกด้วย ประกอบกับปัญหาการแพทย์ปัจจุบันพบเชื้อดื้อยาอันเนื่องมาจากการใช้ยาปฏิชีวนะในการ

ต้านเชื้อจุลชีพ และมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ของสารสกัดเปลือกต้นมะขามป้อมและพัฒนาตำรับน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดเปลือกต้นมะขามป้อม เปรียบเทียบประสิทธิภาพกับยา Ketoconazole

วิธีดำเนินการวิจัย

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

สารสกัดเปลือกต้นมะขามป้อม, Ketoconazole, 70% Sorbitol solutions, Glycerin, Propylene glycol, Benzoic acid, Peppermint oil, Sabouraud Dextrose Agar (SDA), Gallic acid, Folin-Ciocalteu's reagent, Sodium carbonate, UV-Visible spectrophotometer

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมสารสกัดเปลือกต้นมะขามป้อม

นำเปลือกต้นมะขามป้อมสด มาล้างให้สะอาด สับเป็นชิ้นเล็ก ๆ นำไปอบแห้งในที่อุณหภูมิ 40 °C นาน 72 ชั่วโมง บดผ่านร่อนเบอร์ 40 จะได้ผงละเอียดของเปลือกต้นมะขามป้อม สกัดผงเปลือกต้นมะขามป้อมด้วยน้ำกลั่น, 50% เอทานอล และ 95% เอทานอล โดยใช้วิธีหมัก (Maceration) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วทำให้แห้งโดยใช้เครื่อง Freeze dryer



2. การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวม (Total phenolics) ในสารสกัดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu

นำสารละลายมาตรฐาน Gallic acid ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มาผสมกับ Folin-Ciocalteu's reagent และสารละลาย Sodium carbonate ในอัตราส่วน 1 : 5 : 4 นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm และทำการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดเปลือกต้นมะขามป้อมที่สกัดได้

3. วิธีการทดสอบผลการยับยั้งการเจริญของ *C. albicans*

เตรียม stock solution ของสารสกัดเปลือกต้นมะขามป้อมให้ได้ความเข้มข้นเป็น 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.63, 7.81, 3.9 และ 1.95 mg/ml ตามลำดับ จากนั้นใส่สารสกัดเปลือกต้นมะขามป้อมที่เตรียมไว้ในหลุมที่ 1-10 หลุมละ 500 μ l ตามลำดับ และใส่เชื้อที่เตรียมไว้ (ความเข้มข้นของเชื้อ = 10^6 cfu/ml) ในหลุมที่ 1-11 หลุมละ 500 μ l จะได้ความเข้มข้นสุดท้ายในหลุมที่ 1-10 เป็น 500, 250, 125,

62.5, 31.25, 15.63, 7.81, 3.9, 1.95 และ 0.98 mg/ml ตามลำดับ โดยหลุมที่ 11 ใส่ Ketoconazole 500 μ l เป็นหลุม positive control และหลุมที่ 12 ใส่ Broth 1000 μ l เป็นหลุม negative control แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 2 วัน จึงอ่านผลความเข้มข้นของสารสกัดที่น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (MIC) แล้วบันทึกผล จากนั้นนำหลุมตั้งแต่ MIC ไปเพาะเลี้ยงบน Sabouraud Dextrose Agar (SDA) ที่อุณหภูมิห้องนาน 2 วัน อ่านผลค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่น้อยที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (MFC)

4. การตั้งตำรับน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดเปลือกต้นมะขามป้อม

ทำให้ผงยาเปียกด้วยสารช่วยเปียก เติมน้ำแต่งรสหวาน ลงไปที่ละน้อย แล้วคนให้สารผสมเป็นเนื้อเดียวกัน เติมน้ำแต่งกลิ่น และสารถนอม เติมน้ำให้ครบปริมาตรที่ต้องการ โดยมีส่วนประกอบในแต่ละตำรับแตกต่างกัน ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงส่วนประกอบของตำรับน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดเปลือกต้นมะขามป้อม

ส่วนประกอบ	หน้าที่ในตำรับ	ตำรับที่													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
สารสกัดเปลือกต้นมะขามป้อม (g)	สารสำคัญ	3.25	3.25	3.25	3.25	3.25	3.25	3.25	3.25	3.25	3.25	3.25	3.25	3.25	3.25
Glycerin (ml)	สารช่วยเปียก, ตัวทำละลายร่วม	6	6	6	6	6	10	-	-	-	-	5	8	6	2
Propylene glycol (ml)	สารช่วยเปียก, ตัวทำละลายร่วม	-	-	-	-	-	-	10	8	6	2	5	2	4	8
70% Sorbitol (ml)	สารให้ความหวาน	10	8	6	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Syrup (ml)	สารให้ความหวาน	4	6	8	4	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Peppermint oil (ml)	สารแต่งกลิ่น	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Peppermint spirit (ml)	สารแต่งกลิ่น	-	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Sodium benzoate (g)	สารกันเสีย	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025
น้ำกลั่น qs. to (ml)	ตัวทำละลายร่วม	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25

5. การประเมินน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดเปลือกต้นมะขามป้อม

ทดสอบความคงตัวของตำรับโดยใช้สภาวะเร่ง โดยเก็บผลิตภัณฑ์ที่ 45 °C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และอุณหภูมิ 5 °C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ทำซ้ำ 6 รอบ โดยการศึกษาความคงตัวของกายภาพคือ สี กลิ่น รสชาติ จำนวนรอบที่เขย่าให้ตะกอนกระจายตัว, ความคงตัวของเคมีคือ pH ปริมาณร้อยละฟีนอลิกรวม และความสามารถในการยับยั้งการเจริญของ *C. albicans*

โดยจะประเมินหลังจากเตรียมตำรับเสร็จใหม่ๆ เปรียบเทียบกับตำรับหลังผ่านการทดสอบความคงตัวโดยใช้สภาวะเร่ง

ผลการศึกษาวิจัย

1. การสกัดเปลือกต้นมะขามป้อม

สารสกัดที่ได้มีลักษณะเป็นผงละเอียดสีน้ำตาลเข้ม โดยการสกัดด้วย 95% เอทานอล ให้ร้อยละของผลผลิตสูงสุดคือ 15.60% รองลงมาคือ 50% เอทานอล (14.18%) และน้ำ (7.64%) ตามลำดับ



2. การวิเคราะห์หาปริมาณร้อยละฟีนอลิกรวมด้วยวิธี

Folin-Ciocalteu

สารสกัดเปลือกต้นมะขามป้อมที่ความเข้มข้น 0.125 mg/ml ที่สกัดด้วย 95% เอทานอล ให้ปริมาณร้อยละฟีนอลิกรวมสูงสุด คือ 31.41% รองลงมาคือสารสกัด 50% เอทานอล (26.42%) และน้ำ (26.42%) ตามลำดับ

3. การศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *C. albicans*

ค่า MIC ของสารสกัดทุกชนิดคือ 125 mg/ml และเมื่อนำหลอดทดลองตั้งแต่ MIC ขึ้นไป ไปทำการ spread บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ SDA พบว่าที่ความเข้มข้น 125 mg/ml มีเชื้อขึ้นจำนวน 32 โคลน และที่ความเข้มข้น 250 mg/ml มีเชื้อขึ้นจำนวน 4 โคลน ดังนั้นค่า MFC เท่ากับ 250 mg/ml

ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่า สารที่พบในเปลือกต้นมะขามป้อม ซึ่งคาดว่ามียุทธิต้านเชื้อราคือ สารกลุ่มฟีนอลิก (Arif *et al.*, 2009) และพบว่าปริมาณของฟีนอลิกรวมในสารสกัดเปลือกต้นมะขามป้อมมีความสัมพันธ์กับประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *C. albicans*

4. การพัฒนาสูตรตำรับและการทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์

ผลการพัฒนาสูตรตำรับน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดเปลือกต้นมะขามป้อมและการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของตำรับ ทั้งหลังจากเตรียมตำรับเสร็จใหม่ๆ และหลังผ่านการทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่ง พบว่าทั้งตำรับที่ 9 และตำรับที่ 10 มีความคล้ายคลึงกันทั้งทางด้านกายภาพคือ ตำรับมีสีน้ำตาลเข้ม มีกลิ่นหอมเย็นของ peppermint รสชาติหวาน ขม ผาด และจำนวนรอบในการเขย่าให้ตะกอนก้นตัวเพียง 1 รอบไม่เปลี่ยนแปลง ส่วนความคงตัวของเคมี พบว่าปริมาณร้อยละฟีนอลิกรวมของตำรับที่ 9 และ 10 หลังเตรียมเสร็จใหม่ๆ มีค่าเท่ากับ $31.12 \pm 0.13\%$ และ $31.23 \pm 0.07\%$ โดยหลังผ่านสภาวะเร่งมีค่าเท่ากับ $21.02 \pm 0.18\%$ และ $21.21 \pm 0.14\%$ ตามลำดับ นอกจากนี้ตำรับที่ 9 มีการเปลี่ยนแปลงของค่า pH น้อยกว่าตำรับที่ 10 และทั้งสองตำรับยังคงมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของ *C. albicans* แต่ขั้นตอนในการตั้งตำรับของตำรับที่ 9 สามารถเตรียมได้ง่ายกว่าตำรับที่ 10 เนื่องจากสูตรตำรับที่ 9 มีปริมาณ propylene glycol มากกว่า ซึ่งทำหน้าที่เป็นสารช่วยเปียกและช่วยละลาย ทำให้สารสกัดละลายได้ง่ายกว่า ไม่จับตัวกันเป็นก้อนเหนียว นอกจากนี้การเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของ *C. albicans* ระหว่างตำรับน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดเปลือกต้นมะขามป้อมกับ Ketoconazole พบว่าฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *C. albicans* ของตำรับน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดเปลือกต้นมะขามป้อมดีกว่า Ketoconazole แต่ยังคงมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้ ดังนั้น

สูตรตำรับน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดเปลือกต้นมะขามป้อมตำรับที่ 9 จึงมีความเหมาะสมที่สุดในการนำมาใช้และการพัฒนาตำรับต่อไป

อภิปรายผลและสรุป

จากผลการศึกษา ผู้วิจัยจึงเลือกใช้สารสกัดเปลือกต้นมะขามป้อมที่สกัดด้วย 95% เอทานอล ในการตั้งตำรับน้ำยาบ้วนปาก โดยใช้ความเข้มข้นของตำรับเป็น 130 mg/ml ซึ่งมากกว่า MIC (125 mg/ml) ผลการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของตำรับน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดเปลือกต้นมะขามป้อมหลังเตรียมตำรับเสร็จใหม่ๆ และหลังผ่านการทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่งพบว่า ตำรับที่ 9 มีความคงตัวทั้งทางกายภาพและเคมีดีที่สุด และเมื่อนำไปเปรียบเทียบกับฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *C. albicans* ระหว่างตำรับน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดเปลือกต้นมะขามป้อมกับ Ketoconazole พบว่า Ketoconazole มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *C. albicans* ได้มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่ตำรับน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดเปลือกต้นมะขามป้อมยังสามารถมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้ ดังนั้นสูตรตำรับน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดเปลือกต้นมะขามป้อมตำรับที่ 9 จึงมีความเหมาะสมที่สุดในการนำมาพัฒนาตำรับต่อไป

References

- สุภาภรณ์ ปิติพร. มะขามป้อม สมุนไพรที่ไม่ควรมองข้าม. [ออนไลน์]. 2548. [วันที่อ้างถึง 28 สิงหาคม 2554]. ที่มา: <http://www.doctor.or.th/node/1901>
- Arif T, Bhosale JD, Kumar N. *et al.* Natural products antifungal agents derived from plants. *J Asian Nat Prod Res.* 2009. 11(7): 621–638.
- Boonyanit T and Sroisiri T. Effect of *Phyllanthus emblica* Linn. on *candida* adhesion to oral epithelium and denture acrylic. *Asian Pac J Trop Med.* 2011;41:5.
- Dweck AC and Mitchell D. *Embllica officinalis* [Syn: *Phyllanthus Emblica*] or Amla: the Ayurvedic wonder. London, Chesham chemicals Ltd. 2002.
- Satish S, Mohana DC, Ranhavendra MP and Raveesha KA. Antifungal activity of some plant extracts against important seed borne pathogens of *Aspergillus* sp. *J Agr Tech.* 2007. 3(1): 109-119.