สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานการวิจัย

การควบคุมการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินจากเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* ในข้าวโพดโดยเกลือชนิดต่าง ๆ

(CONTROL OF GROWTH AND AFLATOXIN PRODUCTION OF *Aspergillus parasiticus* IN CORN BY SALTS)

โดย

รศ.ดร. ดุษณี ธนะบริพัฒน์

ผศ. วรารัตน์ เรืองรัตนเมธี

กนกรัตน์ ป้องประทุม

T034402

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ และภาควิชาสถิติประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

RCH
SB
608
.M2
ว7335

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 34402
วัน, เดือน, ปี 1 พ.ย. 2542

การใช้งานเอกสารนี้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พ.ศ. 2541

บทคัดย่อ

จากการทดลองใช้เกลือโซเดียมคลอไรด์ แอมโมเนียมคาร์บอเนต และโซเดียมไบซัลไฟต์ ที่ความเข้มข้น 1, 2, 3, 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ในการควบคุมการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* ในเมล็ดข้าวโพด พบว่าเกลือทั้ง 3 ชนิด สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยยับยั้งได้นานถึง 28 วัน สำหรับการยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน พบว่าเกลือโซเดียมไบซัลไฟต์สามารถยับยั้งการสร้างสารพิษได้ดีที่สุดที่ทุกระดับความเข้มข้น โดยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ รองลงมาคือแอมโมเนียมคาร์บอเนตและโซเดียมคลอไรด์ ที่ระดับความเข้มข้น 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไปตามลำดับ และเมื่อนำเกลือทั้ง 3 ชนิดที่ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์มาควบคุมการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ในข้าวโพด พบว่าแอมโมเนียมคาร์บอเนตให้ผลการยับยั้งดีที่สุดที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป ในขณะที่โซเดียมไบซัลไฟต์ให้ผลในการยับยั้งที่ 3 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมคลอไรด์ให้ผลในการยับยั้งได้น้อยที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Abstract

Sodium chloride, ammonium carbonate and sodium bisulphite at concentrations of 1,2,3,4 and 5% were studied for the effects on growth and aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus* in corn. The results showed that these three salts gave similar inhibition on fungal growth in corn for 28 days without any significant difference. The best salt for inhibiting aflatoxin production was found to be sodium bisulphite at all concentrations and no significant differences were found between these concentrations. Ammonium carbonate and sodium chloride at concentrations of 2 and 3 % respectively or more were also able to inhibit the formation of aflatoxin. When these three salts at concentrations of 1, 2 and 3 % were used for controlling the growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus*, ammonium carbonate was found to be the best at concebtrations of 2 % or more. Sodium bisulphite at concentration of 3 % was able to control the growth and aflatoxin production whereas sodium chloride gave the least inhibition.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่อง การควบคุมการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินจากเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* ในข้าวโพดโดยเกลือชนิดต่าง ๆ ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติเงินงบประมาณสนับสนุนโครงการวิจัยประจำปีงบประมาณ 2540 จากบัญฑิตวิทยาลัยสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง คณะวิจัยจึงใคร่ขอแสดงความขอบคุณต่อสถาบันฯ ในการสนับสนุนเงินงบประมาณสำหรับโครงการวิจัยดังกล่าว ซึ่งเป็นผลให้คณะผู้วิจัยสามารถทำงานวิจัยนี้ได้สำเร็จสมความมุ่งหมายอันจะเป็นประโยชน์ต่อการวิจัยในด้านนี้ต่อไป นอกจากนี้คณะผู้วิจัยใคร่ขอความคุณสถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตรที่ได้ให้ความอนุเคราะห์เมล็ดพันธุ์ข้าวโพด สำนักงานพลังงานปรมาณูเพื่อสันติที่ให้ความอนุเคราะห์ในการฉายรังสีเมล็ดข้าวโพด และขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัยที่ช่วยประสานงาน ทำให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

คณะผู้วิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
Abstract	II
กิตติกรรมประกาศ	III
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 ประวัติของสารพิษอะฟลาทอกซิน	3
2.2 ชนิดและคุณสมบัติของสารพิษอะฟลาทอกซิน	4
2.3 เชื้อราที่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน	4
2.4 กระบวนการสังเคราะห์สารพิษอะฟลาทอกซิน	6
2.5 ผลของอะฟลาทอกซิน	8
2.6 การลดและการทำลายพิษของอะฟลาทอกซิน	10
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	16
3.1 จุลินทรีย์	16
3.2 อุปกรณ์และสารเคมี	16
3.3 ขั้นตอนการเตรียมสปอร์ของเชื้อรา	17
3.4 การหาความชื้นในเมล็ดข้าวโพด	18
3.5 การใช้เกลือที่ความเข้มข้นต่างๆ ในข้าวโพดเพื่อศึกษาการยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน	18
3.6 การศึกษาผลของเกลือต่อการเจริญโดยการนับสปอร์	19
3.7 การสกัดอะฟลาทอกซิน	19
3.8 การวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินโดยใช้ HPLC	20
บทที่ 4 ผลการทดลอง	21
4.1 ผลของเกลือต่อการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* ในข้าวโพด	21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
4.2 ผลของเกลือต่อการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* ในข้าวโพด	24
4.3 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของเกลือต่อการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* ในข้าวโพด	27
4.4 ผลของเกลือต่อการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ในข้าวโพด	35
4.5 ผลของเกลือต่อการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ในข้าวโพด	38
4.6 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของเกลือต่อการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ในข้าวโพด	41
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและวิจารณ์	49
เอกสารอ้างอิง	51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

อะฟลาทอกซินเป็นสารพิษที่สร้างขึ้นโดยเชื้อรา *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus nomius* ซึ่งสปอร์ของเชื้อราเหล่านี้ขึ้นอยู่ทั่วไปโดยเฉพาะในดิน สารพิษอะฟลาทอกซินที่สร้างขึ้นเหล่านี้ได้แก่อะฟลาทอกซิน B_1, B_2, G_1, G_2, M_1, M_2, B_{2a} และ G_{2a} อาหารและผลิตผลทางการเกษตรหลายชนิดที่มีการปนเปื้อนจากสารพิษเหล่านี้ได้แก่ ถั่วลิสง ข้าวโพด ข้าวฟ่าง และข้าว อะฟลาทอกซินมีความสำคัญทั้งทางด้านการเกษตร การแพทย์ สาธารณสุข และเศรษฐกิจ เนื่องจากว่ามีผลทำให้เกิดมะเร็งกับสัตว์และมนุษย์โดยทำให้เกิดอาการได้ทั้งแบบเฉียบพลันและแบบเรื้อรัง ดังนั้นจึงมีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับสารพิษอะฟลาทอกซินกันมาก ซึ่งการวิจัยส่วนใหญ่จะมุ่งถึงการควบคุมและกำจัดสารพิษอะฟลาทอกซินในผลผลิตทางการเกษตรโดยกรรมวิธีต่างๆ

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาการใช้เกลือ 3 ชนิดคือโซเดียมคลอไรด์ แอมโมเนียมคาร์บอเนต และโซเดียมไบซัลไฟต์ ในการควบคุมการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* ในข้าวโพด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. เพื่อศึกษาการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* 102566 ในข้าวโพด

2. เพื่อหาปริมาณเกลือบางชนิดที่เหมาะสมต่อการควบคุมการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* 102566 ในข้าวโพด

3. เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเกลือชนิดต่าง ๆ ในการควบคุมการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินในข้าวโพด

4. เพื่อศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการควบคุมการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินในข้าวโพด

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพื่อจะได้ทราบว่าเกลือชนิดใดที่มีความเหมาะสมต่อการควบคุมการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อราในข้าวโพด

2. เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาใช้ในการศึกษาด้านการป้องกันการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินในผลผลิตทางการเกษตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 ประวัติของสารพิษอะฟลาทอกซิน

สารพิษของเชื้อราที่มีการศึกษาค้นคว้ากันมากที่สุดคืออะฟลาทอกซิน (Aflatoxin) ทั้งนี้เป็นเพราะว่าอะฟลาทอกซินเป็นสารพิษที่ทำให้เกิดพิษอย่างเฉียบพลัน (acute toxicity) และยังทำให้เกิดมะเร็ง (carcinogenicity) ที่ตับได้อีกด้วยซึ่งอะฟลาทอกซินเป็นสารพิษที่เกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของเชื้อราบางชนิด พบครั้งแรกจากเชื้อ *Aspergillus flavus* Blount (1961) ได้รายงานไว้ในประเทศอังกฤษว่าในปี คศ. 1960 ได้เกิดโรคระบาดชนิดใหม่ขึ้นในไก่งวงโดยไม่ทราบสาเหตุของโรคและได้ตั้งชื่อโรคที่พบนี้ว่า Turkey x disease และในระยะเวลาต่อมาก็มีผู้รายงานโรคระบาดชนิดนี้เกิดกับเป็ดในประเทศเคนยาและยูกานดา จากการศึกษาค้นคว้าถึงสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคนี้ในประเทศอังกฤษพบว่าโรค Turkey x disease นี้เกี่ยวข้องกับถั่วลิสงที่สั่งซื้อมาจากประเทศ บราซิล ภายหลังจากการนำเอาถั่วลิสงเหล่านี้มาเลี้ยงกับเป็ดทดลองแล้วปรากฏว่าเกิดการเป็นพิษเช่นเดียวกับไก่งวงคือมีการเบื่ออาหาร ซึม ปีกตก คอตก ขาอ่อน เพลีย และตายในที่สุด ผลการตรวจทางพยาธิวิทยาของอวัยวะต่างๆ พบว่าตับเป็นอวัยวะที่ถูกทำลายมากที่สุด ต่อมาในปีเดียวกัน Sargeant และคณะ (1961a) ได้ทำการสกัด (extraction) แยก (isolation) และทำให้สารพิษบริสุทธิ์ (purification) จากถั่วลิสงเหล่านั้นที่นำมาจากประเทศบราซิล Sargeant และคณะ (1961b) สามารถแยกเชื้อราหลายชนิดที่ยังมีชีวิตอยู่จากเนื้อของถั่วลิสงที่เป็นพิษจากประเทศยูกานดา ซึ่งเชื้อ *Aspergillus flavus* สามารถสร้างสารพิษได้เมื่อนำไปเลี้ยงบนวุ้น สารพิษที่ถูกสร้างขึ้นจากเชื้อราบนวุ้นเป็นชนิดเดียวกันกับที่พบจากส่วนสกัดของถั่วลิสงที่เป็นพิษ ดังนั้นสารพิษที่ได้จากเชื้อราตัวนี้จึงเรียกว่าอะฟลาทอกซินตามชื่อของเชื้อราที่สร้างนั่นเอง

จากการตรวจหาสารพิษอะฟลาทอกซินในผลิตผลทางการเกษตรต่างๆทั้งที่ผ่านการแปรรูปและที่ยังไม่ผ่านการแปรรูปสามารถตรวจสอบพบอะฟลาทอกซินในผลิตผลหลายชนิด เช่น ถั่วลิสง ข้าวโพด ข้าวสาร มันสำปะหลัง หอม กระเทียม พริกแห้ง งา ถั่วเหลือง และถั่วอื่นๆ ในถั่วลิสงพบทั้งในถั่วลิสงดิบและถั่วลิสงคั่วที่ใช้ปรุงอาหาร เนยถั่วลิสง กากถั่ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลิสง และน้ำมันถั่วลิสง นอกจากนี้ยังพบในผัก ผลไม้และอาหารแห้งเช่น ปลาแห้ง กุ้งแห้ง และเนื้อมะพร้าวเป็นต้น (ปริศนา , 2534)

2.2 ชนิดและคุณสมบัติของสารพิษอะฟลาทอกซิน

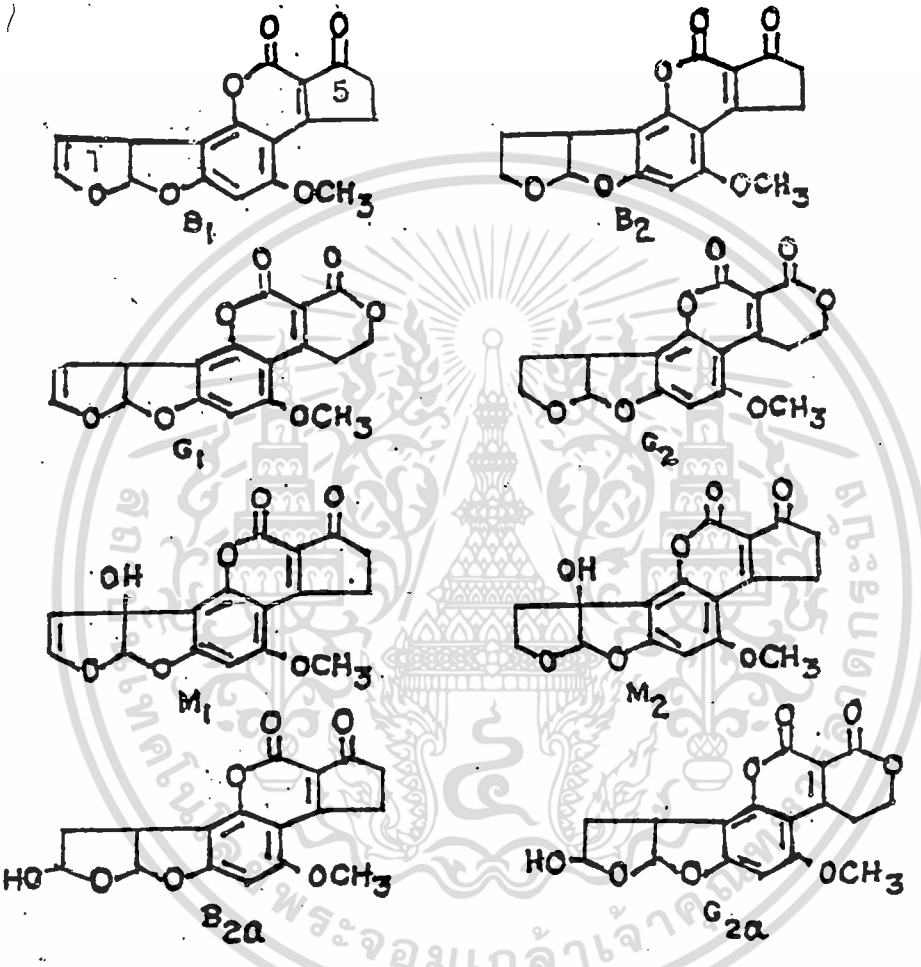
อะฟลาทอกซินเป็นกลุ่มของสารเคมีพวก bisfuranocoumarin ที่พบโดยทั่วไปจะเป็นอะฟลาทอกซิน B_1, B_2, G_1และ G_2 แต่ก็มีอะฟลาทอกซินอีกหลายชนิดในปริมาณเล็กน้อย ได้แก่อะฟลาทอกซิน M_1, M_2, B_{2a} และ G_{2a} (รูปที่ 1) ซึ่งเป็นสารเมแทโบไลท์ของอะฟลาทอกซิน B_1, B_2 , G_1และ G_2 ตามลำดับ อะฟลาทอกซิน M_1 และ M_2 พบมากในน้ำนมและปัสสาวะของสัตว์ที่ได้รับอะฟลาทอกซิน ส่วนอะฟลาทอกซิน B_{2a} และ G_{2a} พบได้ในอาหารทั่วๆไปและพบว่าเชื้อรา *A. flavus* ที่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซินในข้าวโพดส่วนมากจะสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน B_1 และมีส่วนน้อยที่สร้างอะฟลาทอกซิน B_2 (ธีรยุทธ และ ชัยวัฒน์, 2524)

จากการศึกษาทดลองความเป็นพิษของอะฟลาทอกซิน ทั้ง 4 ชนิดคือ B_1, B_2, G_1 และ G_2 พบว่าอะฟลาทอกซิน B_1 เป็นชนิดที่มีความรุนแรงมากที่สุดและชนิด G_1, B_2 และ G_2 มีความรุนแรงน้อยลงมาตามลำดับดังนั้นในการศึกษาวิจัยส่วนใหญ่จึงมักเน้นหนักไปที่สารพิษอะฟลาทอกซินชนิด B_1 อะฟลาทอกซินทนความร้อนได้สูงถึงประมาณ 250 องศาเซลเซียสซึ่งเป็นจุดหลอมตัว ดังนั้นความร้อนจากกระบวนการหุงต้มหรือการอบนึ่งฆ่าเชื้อจึงไม่สามารถทำลายอะฟลาทอกซินได้แต่อาจลดความเป็นพิษได้บ้าง (ไมตรี,2531)

2.3 เชื้อราที่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน

เชื้อรากลุ่มที่สำคัญที่สามารถสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้แก่ *A. parasiticus*, *A. nomius* (คาดคะเนว่าเป็นสายพันธุ์ที่กลายพันธุ์มาจาก *A. flavus* และ *A. tamarii* (Kurtzman และคณะ, 1987)) และ *A. flavus* สปอร์ของเชื้อราเหล่านี้ขึ้นอยู่ทั่วไปโดยเฉพาะในดิน (WHO,1979) ถึงแม้ว่า *A. flavus* และ *A. parasiticus* จะเป็นเชื้อราที่มีความสามารถในการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1. สูตรโครงสร้างของอะฟลาทอกซินชนิดต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้แต่ก็มีบางสายพันธุ์ที่ไม่สามารถสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้ เช่น *A. flavus columnaris* ATCC 44310 ที่ใช้ในการหมักซีอิ๊ว (Keanjak, 1984)

เชื้อรา *A. flavus* เป็นเชื้อราพวก storage mold การเจริญและการสร้างสารพิษเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วภายใต้สภาพดินฟ้าอากาศของเขตร้อน ลักษณะรูปร่างของ *A. flavus* นั้นเป็นเส้นใยที่มีผนังกั้น ขนาดของโคโลนีใน Czapek's solution agar มีอายุ 10 วัน บ่มที่ 24-26 องศาเซลเซียส มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3-4 เซนติเมตร สปอร์จะงอกจากเส้นใยโดยตรง สปอร์ที่อายุยังน้อยจะมีสีเหลืองหรือค่อนข้างเหลืองเมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นสีเขียวและสุดท้ายจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้มที่เรียกว่า deep grape green ก้านชูสปอร์เป็นผนังหนาไม่มีสี ผิวหยาบ ความยาวปกติประมาณ 1 มิลลิเมตร แต่บางสายพันธุ์อาจจะมีความยาวถึง 2.2 เซนติเมตร vesicle จะมีลักษณะค่อนข้างกลมส่วนใหญ่จะมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 25-45 ไมครอน sterigma อาจเป็นแบบ uniserate หรือ biserate สปอร์มีลักษณะกลมหรือค่อนข้างกลมขนาด 3.0-6.0 ไมครอน ซึ่งจะถูกสร้างบนปลาย sterigma

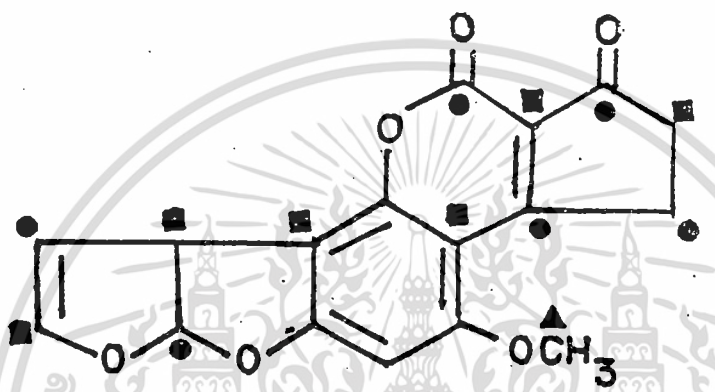
เชื้อราแต่ละสายพันธุ์จะมีการสร้างอะฟลาทอกซินได้แตกต่างกันทั้งในด้านชนิดและปริมาณ นอกจากนี้ Torres และคณะ (1980) ได้พบว่าความสามารถในการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินในเชื้อราจะลดลงเมื่อมีการถ่ายเชื้อ (subculture) บ่อยๆ

2.4 <u>กระบวนการสังเคราะห์อะฟลาทอกซิน</u>

Ceigler และคณะ (1971) รายงานว่าอะฟลาทอกซินมาจากแอซีเตตเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเป็นวงได้เป็น cyclic polyketo acid ที่มีคาร์บอน 20 ตัว และสารประกอบนี้จะเปลี่ยนเป็น averufin ซึ่งจะเปลี่ยนเป็น versinocal ,sterigmatocystin และสารพิษอะฟลาทอกซิน B_1 ในที่สุด

Davis และคณะ (1967) ได้ทำการศึกษากระบวนการสังเคราะห์อะฟลาทอกซินจากเชื้อราในอาหารสังเคราะห์ที่ใช้สารกัมมันตภาพรังสีเป็นแหล่งอาหารชนิดต่างๆพบว่าอาหารที่มีโมเลกุลใหญ่เปลี่ยนแปลงได้กรดแอซีติกซึ่งเป็นสารที่เป็นตัวให้คาร์บอนและออกซิเจนในโมเลกุลของอะฟลาทอกซินเป็นส่วนใหญ่โดยมีเมทไทโอนีนเป็นแหล่งของ methyl group ในโมเลกุลของอะฟลาทอกซินดังแสดงในรูปที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



$^{\bullet}CH_3{}^{\bullet}COOH$ = กรดแอซีติก (acetic acid) (C^{14} = $^{\bullet}C$ และ $^{\bullet}C$)

$^{\blacktriangle}CH_3SCH_2CH_2(NH_2)COOH$ = กรดอะมิโนเมทไทโอนีน (methionine) (C^{14} = $^{\blacktriangle}C$)

รูปที่ 2 อะฟลาทอกซิน B_1 ที่เกิดจากการใช้กรดแอซีติก (C^{14} - acetic acid)
และกรดอะมิโนเมทไทโอนีน (C^{14}-methionine) ที่มีกัมมันตภาพรังสี
เป็นสารเริ่มต้นในอาหารสังเคราะห์ ที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา *A. flavus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 ผลของอะฟลาทอกซิน

อะฟลาทอกซินมีผลทำให้เกิดมะเร็งในสัตว์และมนุษย์ซึ่งมีผลทำให้เกิดอาการได้ทั้งแบบเฉียบพลันและแบบเรื้อรัง กรณีของการเกิดพิษอย่างเฉียบพลันนั้นพบว่าจะทำให้เกิดการตายของเซลล์ (necrosis) ในตับเป็นส่วนใหญ่ นอกจากอะฟลาทอกซินจะทำให้เกิดมะเร็งของตับแล้วยังทำให้เกิดมะเร็งของปอดด้วย (ไมตรี, 2531) จากการศึกษาถึงความเป็นพิษในสัตว์ต่างๆพบว่า LD_{50} (Lethal dose 50) ของสัตว์ต่างๆจะแตกต่างกันออกไปตั้งแต่ 0.3-17.9 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัว (WHO, 1979) โดยพบว่าลูกเป็ดอายุหนึ่งวันจะอ่อนแอต่อสารพิษนี้มากที่สุดและถ้าคนได้รับอาหารที่มีปริมาณอะฟลาทอกซิน น้อยกว่า 5 นาโนกรัมของน้ำหนักตัวต่อวันจะไม่ทำให้เกิดมะเร็งในตับแต่ถ้าได้รับปริมาณสูงกว่านั้นเป็นเวลานานๆจะทำให้เป็นอันตรายจนทำให้เกิดมะเร็งในตับได้ (ธีรยุทธ และ ชัยวัฒน์, 2524) แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับส่วนประกอบอื่นๆด้วย เช่น อายุ เพศ สภาวะที่ได้รับอะฟลาทอกซิน กรรมพันธุ์ และระยะเวลาที่ได้รับอะฟลาทอกซิน เป็นต้น

ผลของอะฟลาทอกซิน B_1 ต่อการสังเคราะห์ DNA และ RNA

Friedman และ Wogan (1967) รายงานว่าอะฟลาทอกซินเมื่อถูกดูดซึมที่ตับจะมีการเปลี่ยนแปลงเป็นสารตัวกลางชนิด 2,3-epoxide ก่อน ซึ่งสารนี้มีความว่องมากสามารถจับตัวอย่างถาวรกับสารชีวโมเลกุลต่างๆรวมทั้งกรดนิวคลีอิกได้เป็นโมเลกุลที่ผิดไปจากธรรมชาติและมักจับกับเบสกวานีนของDNA สารพิษอะฟลาทอกซินจึงเป็นอันตรายต่อยีนโดยขัดขวางหน้าที่ทางชีวภาพของ DNA และทำให้เอนไซม์ DNA และ RNA Polymerase ไม่สามารถทำงานได้ตามปกติ ทำให้การสร้าง RNA และ DNA ลดน้อยลง นอกจากนี้ Friedman และ Wogan (1967) ยังรายงานว่าอะฟลาทอกซิน B_1 มีผลทำให้การสังเคราะห์ RNA ลดลงและจะกลับเข้าสู่สภาวะปกติภายใน 12 ชั่วโมงหลังจากได้รับอะฟลาทอกซินเพียงครั้งเดียว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของอะฟลาทอกซินต่อการสังเคราะห์โปรตีน

Feigelson และ Greengard (1962) รายงานว่าอะฟลาทอกซินเป็นตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ tryptophan pyrrolase ทำให้มีผลยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนบางชนิดที่เซลล์ของตับ Shank และ Wogan (1972) และ Wogan (1966) รายงานว่าอะฟลาทอกซิน B_1 จะยับยั้งการสร้างโปรตีนได้เล็กน้อยภายในระยะ 5 ชั่วโมงภายหลังจากได้รับอะฟลาทอกซิน และจะกลับเข้าสู่สภาพปกติภายในเวลา 12 ชั่วโมง

ผลของอะฟลาทอกซินต่อสัตว์ชนิดต่างๆ

เชื้อราและสารพิษที่เชื้อราผลิตขึ้นจะมีผลต่อคุณค่าทางอาหารของวัตถุดิบอาหารสัตว์และเมื่อสัตว์กินอาหารที่มีเชื้อราและสารพิษเข้าไปจะทำให้ความสมบูรณ์ลดลงและสุขภาพเสื่อมโทรม ตัวอย่างเช่นในข้าวโพดที่ถูกเชื้อราทำลายจะทำให้พลังงานในเมล็ดข้าวโพดสูญเสียไประหว่าง 5-25 เปอร์เซ็นต์ขึ้นกับสภาพแวดล้อมและชนิดของเชื้อราที่เข้าทำลาย ในบรรดาคุณค่าทางอาหารที่มีอยู่ในเมล็ดธัญพืช พบว่าไขมันจะถูกทำลายเป็นอันดับแรกเมื่อเชื้อราเริ่มเจริญเติบโต ต่อจากนั้นก็จะเป็นโปรตีนและคาร์โบไฮเดรต การเจริญเติบโตของเชื้อรายังมีผลต่อการทำลายกรดอะมิโนทุกชนิดโดยเฉพาะไลซีนและอาร์จินิน ระดับวิตามินในอาหาร ไขมันและวิตามินที่ดูดซึมได้ในลำไส้ นอกจากนี้ในอาหารสัตว์ที่มีเชื้อราเจริญอยู่จะทำให้ลดความน่ากินลงทำให้สัตว์กินอาหารได้น้อยลงและสารพิษที่เกิดขึ้นจากเชื้อราจะสร้างปัญหาให้กับตัวสัตว์อีกด้วย (ลีพัฒนาอาหารสัตว์, 2538)

สุกัญญา (2530) กล่าวว่าอะฟลาทอกซินทำให้เกิดความเป็นพิษได้ทั้งแบบเฉียบพลัน และเรื้อรังโดยความเป็นพิษจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับชนิด อายุ เพศ อาหารที่ได้รับ ปริมาณและระยะเวลาที่ได้รับสารพิษ ซึ่งพบว่าสัตว์ที่มีความต้านทานต่ออะฟลาทอกซินจากน้อยไปหามากคือ ลูกเป็ด ปลาเรนโบว์เทราท์ หนูตะเภา และไก่งวง สัตว์ที่ได้รับพิษในปริมาณมากโดยเฉพาะสัตว์ที่มีอายุน้อยจะตายอย่างรวดเร็ว ส่วนอาการเรื้อรังของสัตว์ที่ได้รับสารพิษโดยทั่วไปคืออัตราการเจริญเติบโตลดลง ประสิทธิภาพการใช้อาหารลดลง สัตว์ให้ผลผลิตลดลง และยังทำให้ความต้านทานต่อโรคและพยาธิน้อยลงด้วย นอกจากนี้ในสัตว์ที่มีอายุน้อยและสัตว์ที่กำลังเจริญเติบโตจะได้รับผลกระทบมากกว่าสัตว์ที่มีอายุมากหรือสัตว์ที่เจริญเต็มที่แล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 การลดและการทำลายพิษของอะฟลาทอกซิน

การศึกษาเกี่ยวกับวิธีการลดและการทำลายอะฟลาทอกซินทั้งในสภาพสารบริสุทธิ์และสภาพที่ปนเปื้อนในอาหารและวัสดุทางการเกษตร อาจแบ่งออกเป็นวิธีใหญ่ๆ ได้ 3 วิธี คือ วิธีทางฟิสิกส์ วิธีทางเคมีและวิธีทางชีวภาพ

วิธีทางฟิสิกส์

1. โดยการคัดเลือกเมล็ดพืชที่มีเชื้อราหรือมีลักษณะลีบเล็ก น้ำหนักเบาและเปลี่ยนสีออกแล้วทำลายเสีย เพราะเมล็ดที่มีลักษณะเลวมักมีอะฟลาทอกซินปนเปื้อนเสมอ (ไมตรี, 2531)

2. โดยการทำให้เจือจาง เป็นการนำวัตถุดิบที่มีสารพิษอะฟลาทอกซินไปผสมกับวัตถุดิบที่ปราศจากสารพิษอะฟลาทอกซินเพื่อลดระดับสารพิษในวัตถุดิบนั้นให้ลดลงจนอยู่ในระดับที่จะไม่ก่อให้เกิดผลเสียหายต่อสัตว์เลี้ยงที่จะบริโภค (สุกัญญา, 2530)

3. โดยการเพิ่มระดับโภชนะในอาหาร การให้อาหารที่มีโปรตีนและอาหารที่มีปริมาณไขมันสูงแก่สัตว์ พบว่าช่วยลดความเป็นพิษจากอะฟลาทอกซินลงได้ แต่จะทำให้ต้นทุนการผลิตอาหารสูงขึ้น (Smith และคณะ, 1971)

4. โดยการทำลายอะฟลาทอกซินในอาหารด้วยความร้อน อะฟลาทอกซินถูกทำลายได้ด้วยแสงและความร้อนในสภาวะต่างๆกัน ดังนั้นการใช้ความร้อนระหว่างการเตรียมอาหารอาจจะทำให้ปริมาณอะฟลาทอกซินลดลงไปได้บ้างตามสมควร ความพยายามที่จะใช้ความร้อนในรูปของการต้ม อบ คั่ว และนึ่งโดยใช้ความดันไม่ค่อยจะได้ผลต่อการทำลายอะฟลาทอกซินB_1 เท่าที่ควร อะฟลาทอกซินที่แยกมาจากอาหารจะคงสภาพเดิมอยู่จนกระทั่งใกล้จุดหลอมตัวที่อุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส (Feuell, 1966) การใช้ความร้อนโดยการนึ่งแต่ไม่มีความดันจะทำให้มีการทำลายอะฟลาทอกซินB_1 ได้คล้ายคลึงกันกับการใช้ความดันด้วยนั่นคือการนึ่งอาหารสัตว์ที่เป็นเมล็ดฝ้าย (ความชื้น 20 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งมีอะฟลาทอกซินB_1 144 ไมโครกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัมเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จะทำให้ปริมาณ อะฟลาทอกซินลดลงเหลือ 44 ไมโครกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม อย่างไรก็ดีการคั่วถั่วลิสงที่มีอะฟลาทอกซิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปะปนอยู่ที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลาหนึ่งชั่วโมงครึ่งจะทำให้ปริมาณอะฟลาทอกซินลดลงเหลือเพียง 20 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น (Cucullu และคณะ, 1966) ดังนั้นจึงพอสรุปได้ว่าอะฟลาทอกซินที่ปะปนอยู่ในอาหารอาจถูกทำลายไปได้บ้างตามสมควรแล้วแต่ระยะเวลาและอุณหภูมิของความร้อนที่ใช้

5. การฉายรังสี การใช้แสงอัลตราไวโอเล็ต (UV) ทั้งในห้องปฏิบัติการและแสงแดดสามารถทำลายอะฟลาทอกซินในสภาพบริสุทธิ์ได้ดีกว่าอะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนอยู่ในวัตถุดิบอาหาร การทำลายนี้ขึ้นอยู่กับชนิดและความหนาของตัวกลางที่ยอมให้แสงอัลตราไวโอเล็ตผ่าน รวมทั้งส่วนประกอบทางเคมีอื่นๆในอาหารด้วย ส่วนการใช้รังสีอื่นๆ เช่น รังสีเอ็กซ์และรังสีแกมมา ยังให้ผลที่ไม่แน่นอน

6. การดูดซับ เป็นการใช้สารที่มีคุณสมบัติในการดูดซับ (non - nutritive sorptive material) ได้แก่สารประกอบประเภทอะลูมิโนซิลิเกต (inert aluminosilicate compounds) ผสมลงในวัตถุดิบอาหาร สารประเภทนี้จะมีลักษณะโครงสร้างเป็นผลึกที่ประกอบด้วยโพรงจำนวนมากกระจายอยู่ระหว่างโมเลกุล มีความสามารถที่จะดูดซับสารพิษอะฟลาทอกซินเอาไว้ในโครงสร้างได้

ในประเทศไทยมีรายงานการใช้ดินฟอกสี (Fuller' s earth) ซึ่งเป็นสารประกอบซิลิเกตเชิงซ้อน (clay) ชนิดหนึ่งที่ประกอบด้วยแร่มอนท์โมริลโลไนท์เป็นส่วนใหญ่ ในการลดปริมาณอะฟลาทอกซินในน้ำมันถั่วลิสงและน้ำมันมะพร้าวโดยการใส่ดินฟอกสี0.3 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของน้ำมันแล้วกวนที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาที จะสามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซินในน้ำมันถั่วลิสงจาก 76 พีพีเอ็มเป็น 7.85 พีพีเอ็มและลดปริมาณอะฟลาทอกซินในน้ำมันมะพร้าวจาก 25 พีพีบีให้หมดไปได้ (สุมาลัย และสุภัทรา, 2525) โดยคุณสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของน้ำมันที่ผ่านกรรมวิธีแล้วเป็นไปตามมาตรฐานของกระทรวงสาธารณสุขที่ได้กำหนดไว้

7. การสกัดด้วยตัวทำละลาย การใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ต่างๆ เช่น อะซิโตน แอลกอฮอล์ คลอโรฟอร์ม เบนซิน เฮกเซน และไอโซโพรพานอลในรูปสารบริสุทธิ์และสารผสมสามารถสกัดอะฟลาทอกซินออกจากผลิตผลการเกษตรได้ดีแต่ไม่คุ้มค่าในทางอุตสาหกรรม นอกจากนี้มีการใช้เกลือแกงและสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ซึ่งพบว่าใช้ได้ดีในน้ำมันพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีทางเคมี

สารเคมีหลายชนิดใช้ได้ผลดีและมีประสิทธิภาพในการกำจัดสารพิษอะฟลาทอกซินรวมทั้งสามารถป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อราที่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้ด้วยเช่น โซเดียม-คลอไรด์ แอมโมเนีย กรดโพรพิโอนิก กรดเบนโซอิก สารฟีนอลลิก โซเดียมเบนโซเอต โซเดียมไฮโปคลอไรด์ โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ โซเดียมไบซัลไฟต์ ยาฆ่าแมลง บางชนิด เมทิลแซนทีน และ องค์ประกอบในสมุนไพรบางชนิด เครื่องเทศและพืชบางชนิดเป็นต้น Thanaboripat และคณะ (1992) ได้ทำการทดลองยับยั้งการเจริญและการสร้างอะฟลาทอกซินโดยใช้โซเดียมคลอไรด์ กรดโพรพิโอนิกและแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน กล่าวคือใช้โซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 40, 80 และ 120 มิลลิกรัมต่อกรัม แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.2, 0.5, 1 และ1.5 เปอร์เซ็นต์ กรดโพรพิโอนิกที่ความเข้มข้น 500, 1000 และ 1500 ไมโครกรัมต่อกรัม และการเติมแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์หลังจากที่เชื้อเจริญได้ 7 และ 14 วันที่ความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ทำการเลี้ยงเชื้อโดยถ่ายสปอร์ของ *Aspergillus flavus* ลงในข้าวโพดที่บรรจุในถุงพลาสติกจำนวน 20 กรัม ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเป็นจำนวน 10^6 สปอร์ต่อกรัมแล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 และ 14 วัน แล้วนำมาวิเคราะห์หาปริมาณการสร้างอะฟลาทอกซินโดยใช้ TLC พบว่าการใช้โซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 40 และ 80 มิลลิกรัมต่อกรัมสามารถยับยั้งการผลิตอะฟลาทอกซินได้เพียงอย่างเดียว ในขณะที่ความ เข้มข้น 120 มิลลิกรัมต่อกรัมสามารถยับยั้งได้ทั้งการเจริญของ *Aspergillus flavus* และการผลิตอะฟลาทอกซิน ภายหลังการบ่มเชื้อ 7 และ 14 วัน ส่วนการเติมกรดโพรพิโอนิกที่ความเข้มข้น 500, 1,000 และ 1,500 ไมโครกรัมต่อกรัมจะส่งเสริมการผลิตอะฟลาทอกซิน ในขณะที่ความเข้มข้น 2500 ไมโครกรัมต่อกรัมจะสามารถยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินได้ สำหรับการใช้แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ 0.2 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดการสร้างอะฟลาทอกซินในข้าวโพดได้ 45 ถึง 60 เปอร์เซ็นต์ ในเวลา 7 และ 14 วันตามลำดับ ในขณะที่ถ้าใช้ความเข้มข้นของแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เป็น 0.5, 1 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์จะสามารถยับยั้งการผลิตอะฟลาทอกซินได้อย่างสมบูรณ์ นอกจากนี้ยังพบว่าการเติมแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ภายหลังการเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus flavus* เป็นเวลา 7 และ 14 วันในระดับความเข้มข้นที่สูงนั้นตรวจพบว่ามีการสร้างอะฟลาทอกซินน้อยมาก

จากการทดลองของ Thanaboripat และคณะ (1992) แสดงให้เห็นว่าโซเดียม-คลอไรด์สามารถควบคุมการสร้างอะฟลาทอกซินได้ทุกระดับความเข้มข้นที่ใช้ คือที่ความเข้ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้น 40, 80 และ 120 มิลลิกรัมต่อกรัม โดยการเจริญของเชื้อราจะถูกยับยั้งและไม่พบอะฟลาทอกซินเลยที่ 120 มิลลิกรัมต่อกรัม (12 เปอร์เซ็นต์โซเดียมคลอไรด์) หลังจากที่บ่มไว้ 7 และ 14 วัน เมื่อความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์เป็น 40 และ 80 มิลลิกรัมต่อกรัม (4 และ 8 เปอร์เซ็นต์) ไม่มีผลยับยั้งการเจริญของ *Aspergillus flavus* หลังจากบ่มไว้ 7 และ 14 วันแต่สามารถลดปริมาณการสร้างอะฟลาทอกซินได้ 54 และ 41 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

El-Gazzar และคณะ (1986) พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์จะเพิ่มความสามารถในการลดปริมาณอะฟลาทอกซินและยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Aspergillus flavus* ได้มากขึ้นด้วย Mabrouk และ EL-Shayeb (1980) รายงานว่า ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่ 5 - 50 มิลลิกรัมต่อลิตร (0.0005 - 0.005 เปอร์เซ็นต์) จะกระตุ้นการสร้างอะฟลาทอกซินในอาหารเหลว นอกจากนี้ยังมีรายงานการทดลองอีกหลาย ฉบับได้รายงานว่าปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินที่เกิดจาก *A. parasiticus* หรือ *A. flavus* จะพบเป็นจำนวนน้อยมากในเนยแข็งที่มีระดับความเข้มข้นของเกลือ 2-7 เปอร์เซ็นต์ Shih และ Marth (1972) พบว่าการเจริญของ *A. parasiticus* และ *A. flavus* จะถูกยับยั้งอย่างสมบูรณ์ในอาหารที่มีโซเดียมคลอไรด์อยู่ 14 เปอร์เซ็นต์ Uraih และChipley (1976) รายงานว่าการเจริญของเชื้อราและการสร้างอะฟลาทอกซินจะถูกยับยั้งโดยโซเดียมคลอไรด์ 12 เปอร์เซ็นต์ในขณะที่โซเดียมคลอไรด์ 8 เปอร์เซ็นต์หรือต่ำกว่านั้นจะเป็นการกระตุ้น Kulik และ Haulin (1968) รายงานว่าโซเดียมคลอไรด์ 15 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งการเจริญของ*A. parasiticus* ได้ แต่โซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นต่ำ 1-3 กรัม ต่อ 100 มิลลิลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อจะกระตุ้นการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. parasiticus* และ *A. flavus* ได้ (El-Gazzar และคณะ, 1986) ซึ่งเป็นที่ยืนยันได้ว่าที่ระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่สูงจะมีผลต่อความต้องการน้ำในการเจริญและการสร้างสารพิษหรือโซเดียมไอออนจะมีผลกระทบต่อการส่งถ่ายไอออนในสิ่งมีชีวิต นอกจากนี้ยังพบว่าเกลือสามารถเข้าทำลายอะฟลาทอกซินได้โดยตรง (ปริมณฑ์ และคณะ, 2520)

สารเคมีอีกชนิดหนึ่งที่มีความสามารถในการลดความเป็นพิษของสารพิษอะฟลาทอกซินและใช้ได้ผลดีคือแอมโมเนีย โดยจะทำปฏิกิริยากับอะฟลาทอกซินB_1แล้วเกิด decarboxylation ได้โมเลกุลของอะฟลาทอกซินD_1 ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของอะฟลาทอกซินB_1 และมีความเป็นพิษน้อยลงมาก (Brekke และคณะ, 1977) ประสิทธิภาพของแอมโมเนียจะสูงขึ้นในเมล็ดที่มีความชื้นภายในเมล็ดและอุณหภูมิสูง โดยที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสสามารถลดปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน B_1 จาก 450 พีพีบี เหลือ 15 พีพีบี ภายใน 20 วัน แต่ที่อุณหภูมิ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

60 องศาเซลเซียส สามารถลดปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน B_1 เหลือ 10 พีพีบี ภายใน 2 วัน การใช้แอมโมเนียนั้นใช้ได้ทั้งในรูปก๊าซและสารละลายโดยอาจใช้ร่วมกับอุณหภูมิและความดันได้ Masri และคณะ (1969) พบว่าถั่วลิสงที่ปนเปื้อน อะฟลาทอกซินB_1 709 พีพีบี ความชื้น 9.6 และ 14.6 เปอร์เซ็นต์ ใช้แอมโมเนียในรูป anhydrous ที่ 200 องศาฟาเรนไฮท์ เวลา 60 นาที ความดัน 20 ปอนด์ต่อตารางนิ้วสามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซินB_1 ได้ 96.4 และ 97.6 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ นอกจากนี้ข้าวโพดที่ผ่านแอมโมเนียแล้วยังปลอดภัยเมื่อนำมาใช้เลี้ยงสัตว์ Norred (1979) พบว่าข้าวโพดที่ผ่านแอมโมเนียหรือแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์สามารถลดปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินได้และเมื่อนำมาเลี้ยงสัตว์ก็ไม่มีผลต่อสัตว์เลี้ยงไม่ว่าจะเป็นการเกิดโรค อัตราการเจริญเติบโต หรือจำนวนไข่ สำหรับปัจจัยจำกัดในการใช้ประโยชน์จากแอมโมเนียคือทำให้สีข้าวโพดเปลี่ยนไป โดยจะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีเหลืองปนน้ำตาลและจะเข้มขึ้นเรื่อยๆ โดยความเข้มข้นของสีจะขึ้นอยู่กับปริมาณของแอมโมเนียและความชื้นของเมล็ด นอกจากนี้ข้าวโพดที่ผ่านแอมโมเนียแล้วจะมีกลิ่นของแอมโมเนียอยู่ด้วย ถึงแม้จะทำการอบแห้งแล้วก็ตามแอมโมเนียสามารถนำไปใช้ได้ดีกับข้าวโพดที่บดแล้ว เนื่องจากแอมโมเนียสามารถทำปฏิกิริยากับสารพิษอะฟลาทอกซินได้อย่างรวดเร็ว ในการใช้ข้าวโพดเป็นอาหารสัตว์นี้หากนำแอมโมเนียมาใช้ทำปฏิกิริยากับข้าวโพดหลังจากบดแล้วจะทำให้สารพิษอะฟลาทอกซินหมดไป Thanaboripat และคณะ (1992) พบว่าการใช้แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ที่ 0.2, 0.5, 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินจาก *A. flavus* ได้ทั้งในวันที่ 7 และ 14 ของการเลี้ยงเชื้อและเมื่อมีการใช้แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับต่างๆในข้าวโพดภายหลังจากที่ได้ทำการเลี้ยงเชื้อ *A. flavus* ไปแล้ว 7 และ 14 วันพบว่าสามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซินได้เช่นกัน ปัจจุบันมีการใช้แอมโมเนียและสารประกอบแอมโมเนียในการลดปริมาณการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินในผลิตผลทางการเกษตรกันมาก เช่น ในอาหารสัตว์ เมล็ดฝ้าย ข้าวโพด แต่ะเมล็ดถั่ว

<u>วิธีทางชีวภาพ</u>

เป็นการทำลายโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ Ceigler และคณะ (1966) ได้ทำการหาเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เช่นยีสต์ รา แบคทีเรีย และสาหร่าย จำนวนมากกว่า 1,000 ชนิด ที่สามารถทำลายและเปลี่ยนแปลงโครงสร้างอะฟลาทอกซิน B_1 และ G_1 พบว่าเชื้อราบางชนิดสามารถเปลี่ยนแปลงโครงสร้างอะฟลาทอกซิน B_1 ไปเป็นสารเคมีตัวใหม่ได้ แต่พบว่ามีเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรียชนิดเดียวคือ *Flavobacterium aurantiacum* NRR ซึ่งสามารถทำลายอะฟลาทอกซินในอาหารเหลวได้โดยเปลี่ยนจากอะฟลาทอกซิน B_1 เป็นอะฟลาทอกซิน B_{2a} ซึ่งไม่เป็นพิษต่อสัตว์

วรพจน์ (2523) ใช้กรดซิตริกที่ได้จากการสกัดจาก *A. niger* ที่ความเข้มข้น 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์มาคลุกกับเมล็ดข้าวโพดที่มีความชื้น 23 เปอร์เซ็นต์พบว่ากรดซิตริกสามารถควบคุม *A. flavus* ได้เมื่อเทียบกับ control โดยพบเชื้อ *A. flavus* มีการเจริญต่ำกว่าใน control โดยเฉพาะเมื่อใช้กรดซิตริก 10 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ *A. niger* สามารถเจริญได้มากกว่าใน control เพราะกรดซิตริกเป็นกรดที่ *A. niger* สร้างได้ โดยจะไปกระตุ้นให้ *A. niger* เจริญได้ดี ขณะที่ไปยับยั้งการเจริญของ *A. flavus* เมื่อเชื้อ *A. flavus* ไม่เจริญก็มีผลให้ไม่พบอะฟลาทอก ซินด้วย

จินตนา และคณะ (2533) ใช้ยีสต์ *Candida* sp. และ *Torulopsis candida* ความเข้มข้น 0.7 และ 1.8 x 10^7 โคโลนีต่อมิลลิลิตร คลุกเมล็ดข้าวโพดที่มีความชื้นเริ่มต้น 21 เปอร์เซ็นต์ พบว่า *Candida* sp. และ *Torulopsis candida* มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *A. flavus* และอะฟลาทอกซินได้ พบเชื้อรา *A. flavus* มากที่สุดใน control รองลงมาได้แก่เมล็ดคลุก *T. candida* ร่วมกับ *A. flavus* และเมล็ดคลุก *Candida* sp. ร่วมกับ *A. flavus* พบน้อยที่สุด เนื่องจาก *T. candida* ไม่สร้าง true mycelium จึงไม่สามารถกระจายตัวครอบคลุมพื้นผิวเมล็ดได้ดีเท่า *Candida* sp. (Pitt และ Hocking, 1985) จากการตรวจยีสต์บนเมล็ดพบว่าช่วง 3 - 5 วันยีสต์จะมีการเพิ่มปริมาณตัวเองขึ้นโดย *Candida* sp. มีปริมาณมากกว่า *T. candida* จึงสามารถครอบคลุมพื้นที่และป้องกันการเจริญของ *A. flavus* ได้มากกว่า แต่ที่เวลา 10 วัน พบ *A. flavus* 100 เปอร์เซ็นต์ ในเมล็ดทั้ง 2 ชุด ทั้งนี้เนื่องจากที่เวลา 10 วัน ปริมาณยีสต์บนเมล็ดข้าวโพดจะลดลงจากเดิมมากทำให้ไม่มีการแข่งขันในการใช้อาหารทำให้ *A. flavus* สามารถเจริญเติบโตได้มากเนื่องจากเมื่อเวลา 10 วันความชื้นของเมล็ดลดต่ำลงถึง 17 เปอร์เซ็นต์ ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ ซึ่งต้องการความชื้น 23 เปอร์เซ็นต์ แต่ตรงกันข้ามกับ *A. flavus* ซึ่งต้องการความชื้น 18 เปอร์เซ็นต์เจริญได้ดี (Christensen และ Kaufman, 1974) และจากการตรวจปริมาณอะฟลาทอกซินบนเมล็ดข้าวโพดพบว่าเมล็ดที่คลุก *Candida* sp. มีปริมาณอะฟลาทอกซินน้อยกว่าเมล็ดที่คลุกด้วย *T. candida* และ control เนื่องจาก *Candida* sp. สามารถใช้แหล่งอาหารต่างๆ ได้มากชนิด ทำให้สามารถแข่งขันในการใช้อาหารและเจริญได้ และสร้าง true mycelium ช่วยในการแพร่กระจายคลุมพื้นที่ผิวเมล็ดดีขึ้น (อรรณพ, 2532) และจากการทดลองจะเห็นว่า *Candida* sp. สามารถใช้ควบคุม *A. flavus* ได้ไม่เกิน 5 วัน เนื่องจากในวันที่ 10 ความชื้นเมล็ดต่ำมากจนยีสต์ไม่สามารถเพิ่มปริมาณได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 จุลินทรีย์

Aspergillus parasiticus IMI 102566 และ *Aspersillus flavas* Link จาก International Mycological Institute ประเทศอังกฤษ

3.2 อุปกรณ์และสารเคมี

อุปกรณ์

1. Haemacytometer
2. เครื่องกลั่นระเหยระบบสุญญากาศ (rotary evaporator)
3. ปั๊มสุญญากาศ (vacuum pump)
4. กรวยแยก (separatory funnel)
5. เครื่องHPLC(Shimadsu)ประกอบกับUV Spectophotometric detector SPD-6A
6. sep-pak silica gel cartridge column chromatography
7. ฟลาสก์ก้นกลมขนาด 250 มล.
8. ฟลาสก์รูปชมพู่ขนาด 250 มล.
9. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
10. ตู้บ่มเชื้อ
11. เครื่องกรอง millipore

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

สารเคมี

1.สารเคมีที่ใช้ยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซิน

1.1 โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)

1.2 แอมโมเนียมคาร์บอเนต $(NH_4)_2CO_3$

1.3 โซเดียมไบซัลไฟต์ ($NaHSO_3$)

2.สารเคมีที่ใช้ในการสกัด

2.1 เมทานอล

2.2 คลอโรฟอร์ม

2.3 แอมโมเนียมซัลเฟต

2.4 เฮกเซน

2.5 เบนซิน

2.6 กรดแอซีติก

2.7 เอทิลอีเทอร์

2.8 ไดคลอโรมีเทน

2.9 อะซีโตน

3.3 ขั้นตอนการเตรียมสปอร์ของเชื้อรา

3.3.1. เขี่ยเชื้อจาก stock culture ลงใน PDA slant ให้เชื้อมีการเจริญ 7 วัน

3.3.2. หลังจากนั้นนำมาถ่ายเชื้อลงในฟลาสก์ขนาด 500 มล. ที่มีอาหาร PDA ประมาณ 200 มล. ให้เชื้อมีการเจริญ 7 วันที่อุณหภูมิห้อง

3.3.3. ทำสารละลายสปอร์ โดยใช้น้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วเทลงในอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วหยด tween 80 0.1 เปอร์เซ็นต์ลงไป 1-2 หยด ใช้ loop เขี่ยสปอร์ให้หลุดออกจากอาหารให้หมด แล้วกรองสารละลายที่ได้โดยใช้ชุดกรองที่ฆ่าเชื้อแล้ว

3.3.4. สารละลายสปอร์ที่ได้จะนำมาทำการนับโดยใช้ Haemacytometer ให้มีความเข้มข้นของสปอร์ 10^8 สปอร์ต่อมล. นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °ซ. เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

34402

3.4 การหาความชื้นในเมล็ดข้าวโพด

ใช้ข้าวโพดหวานพิเศษพันธุ์ฮาวายเอียนซูการ์ซุปเปอร์สวีทซึ่งได้มาจากสถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร นำมาวิเคราะห์หาความชื้นโดยวิธีของ Pomeranz และคณะ(1987) ดังนี้

3.4.1. อบกระทงที่ 180 ° ซ. เป็นเวลา 2 ชั่วโมงทิ้งไว้ให้เย็นใน desiccator แล้วนำมาชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง ทำอย่างน้อย 3 ซ้ำจนกระทั่งน้ำหนักคงที่ บันทึกค่าที่ได้ทั้งหมดไว้

3.4.2. ใส่ข้าวโพดลงไป 2 กรัมในแต่ละกระทง บันทึกค่าที่ชั่งข้าวโพดพร้อมกับกระทง แล้วนำไปอบที่ 105 ° ซ. เป็นเวลา 1 ชม. แล้วทิ้งให้เย็นใน desiccator

3.4.3. ชั่งน้ำหนักข้าวโพดและกระทงอีกครั้ง

3.4.4. วิเคราะห์หาความชื้นได้จากสูตรคำนวน ดังนี้

เปอร์เซ็นต์ความชื้นที่มีอยู่ในข้าวโพด =

$$\frac{(\text{นน. ข้าวโพดและกระทงครั้งที่ 1}) - (\text{นน.ข้าวโพดและกระทงครั้งที่ 2}) \times 100}{\text{นน.ข้าวโพดจริง}}$$

3.5 การใช้สารเคมีที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในข้าวโพดเพื่อศึกษาการยับยั้งการเจริญและการสร้างอะฟลาทอกซินของ *Aspergillus parasiticus* 102566 ในเมล็ดข้าวโพด

1. เตรียมข้าวโพดบรรจุถุง ๆ ละ 50 กรัม นำไปฆ่าเชื้อโดยใช้รังสีแกมมา

2. ใส่สารละลายสปอร์ของเชื้อรา ลงในถุงข้าวโพด เพื่อให้ปริมาณเชื้อเริ่มต้นในแต่ละตัวอย่างเป็น 10^6 เซลล์ต่อกรัม

3. เติมสารแต่ละชนิดให้มีความเข้มข้น0,1,2,3,4 และ 5 เปอร์เซนต์ระดับความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ

4. นำแต่ละถุงไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

5. หลังจากนั้นทำการเก็บตัวอย่างในวันที่ 7, 14, 21 และ 28 เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซินและปริมาณสปอร์ของเชื้อราในข้าวโพด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6 การศึกษาผลเกลือต่อการเจริญของเชื้อราโดยการนับสปอร์

นำตัวอย่างถุงข้าวโพดที่ได้ทำการถ่ายเชื้อและการเติมสารเคมีได้แก่โซเดียม-คลอไรด์ แอมโมเนียมคาร์บอเนต และโซเดียมไบซัลไฟต์ที่ความเข้มข้น 0, 1, 2, 3; 4 และ 5 เปอร์เซนต์ และทำการวิเคราะห์ดังนี้

1. นำตัวอย่างข้าวโพดมาทำspore suspensionโดยใช้น้ำกลั่นฆ่าเชื้อแล้วและ tween 80 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ แล้วกรองเส้นใยออกด้วยสำลีโดยใช้ชุดกรองที่ฆ่าเชื้อแล้ว

2. นำ spore suspension ที่ได้มานับจำนวนโดยใช้ haemacytometer

3.7 การสกัดอะฟลาทอกซิน

การสกัดอะฟลาทอกซินโดยประยุกต์จากวิธี sep pak method และวิธี rapid method (Seitz และ Mohr, 1974)

1. นำข้าวโพดที่ต้องการสกัดมา 50 กรัม ใส่ลงในเครื่องบด (blender) เติม เมทานอล 100 มล. เขย่าเป็นเวลา 1-2 นาที

2. กรองด้วยกระดาษวัทแมนเบอร์ 1 จะได้สารละลายเมทานอลที่มีอะฟลาทอกซินละลายอยู่

3. แบ่งสารละลายเมทานอลที่มีอะฟลาทอกซินละลายอยู่มา 40 มิลลิลิตร ใส่กรวยแยก เติมแอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2 SO_4$) 20 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 80 มิลลิลิตร อุ่นที่ 40-50 องศาเซลเซียส แล้วเติมเฮกเซน 40 มิลลิลิตร

4. เขย่า แล้วทิ้งไว้จนแยกชั้น แยกชั้นเฮกเซนออกจากสารละลายของเมทานอลและแอมโมเนียมซัลเฟต

5. เติมคลอโรฟอร์มลงในสารละลายที่เหลือจำนวน 50 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วแยกชั้นคลอโรฟอร์มออกมา ทำซ้ำอีกครั้ง

6. นำสารละลายคลอโรฟอร์มที่มีอะฟลาทอกซินละลายอยู่มาระเหยภายใต้สุญญากาศจนแห้ง

7. เติมส่วนผสมของคลอโรฟอร์มกับเฮกเซนในอัตราส่วน 3 ต่อ 7 ลงไป 10 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. นำสารละลายที่ได้มาผ่าน Sep-Pak Siliga gel Cartridge Column Chromatography หลังจากนั้นทำการล้างคอลัมน์โดยใช้ เฮกเซน 10 มิลลิลิตร แล้วใช้ส่วนผสมของเบนซินกับแอซีติกในอัตราส่วน 95.5 ต่อ 4.5 จำนวน 10 มิลลิลิตร ล้างผ่านครั้งสุดท้ายด้วยส่วนผสมของเอทิลอีเทอร์กับเฮกเซนในอัตราส่วน 60 ต่อ 40 จำนวน 10 มิลลิลิตร

9. หลังจากนั้นชะล้างอะฟลาทอกซินออก โดยใช้สารละลายไดคลอโรมีเทนกับอะซิโตน (9 : 1) 15 มิลลิลิตร ล้างผ่านคอลัมน์

10. นำสารที่ได้ไประเหยภายใต้สุญญากาศจนแห้งแล้วนำไปวิเคราะห์หาอะฟลาทอกซินต่อไป

3.8 <u>การวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินโดยใช้ HPLC (High Performance Liquid Chromatography)</u>

นำเมทานอล 1 มิลลิลิตร ละลายอะฟลาทอกซินที่อยู่ในขวดตัวอย่างแล้วกรองผ่าน membrane filter (millipore) 0.45 ไมโครเมตรใส่ในขวดเล็ก (vial) แล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง HPLC (Shimadzu) ใช้ UV spectrophotometric detector SPD-6A 365 นาโนเมตร Absorbance 0.02 ใช้คอลัมน์ reverse phase C_{18} ขนาด 4.9 x 25 ซม. flow rate ใช้ 1 มิลลิลิตรต่อนาที mobile phase ใช้อัตราส่วนของเมทานอล:น้ำ:กรดแอซีติก(30:63:7) บันทึกโครมาโทรแกรมของอะฟลาทอกซิน B_1 และ G_1 ประมาณนาทีที่ 12 และ 20 แล้วใช้ data module model G - R 64 Chromatopac เป็น integrator คำนวนค่าที่วัดได้เปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานโดยดูจาก peak area และ retention time

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ผลของเกลือต่อการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* 102566 ในข้าวโพด

จากการทดลองพบว่าเกลือทั้งสามชนิดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* 102566 ในเมล็ดข้าวโพดได้ทุกระดับความเข้มข้นที่ใช้เมื่อพิจารณาลักษณะการเจริญเป็นเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา (ตารางที่ 1) พบว่าการใช้โซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ในวันที่ 7 และ 14 แต่ในวันที่ 21 และ 28 พบว่ามีการเจริฐได้ไม่ต่างจากชุดควบคุม การใช้โซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 2 เปอร์เซนต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้อย่างดีทุกช่วงเวลา ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ ในวันที่ 7 และ 14 และมีการเจริญน้อยมากในวันที่ 21 และ 28 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม แต่การใช้ที่ระดับความเข้มข้น 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ทุกช่วงเวลา

การใช้แอมโมเนียมคาร์บอเนตที่ระดับความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเหมือนกับการใช้โซเดียมคลอไรด์ แต่ที่ระดับความเข้มข้น 2,3,4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญได้อย่างสมบูรณ์ ทุกช่วงเวลา ส่วนการใช้โซเดียมไบซัลไฟต์ที่ระดับความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งการเจริญได้อย่างสมบูรณ์ ในวันที่ 7 อย่างไรก็ตามในวันที่ 14, 21 และ 28 พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญได้ดีโดยมีเชื้อราเจริญไม่มากนักเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และการใช้ที่ระดับความเข้มข้น 2,3,4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญได้อย่างสมบูรณ์ทุกช่วงเวลา

สำหรับเชื้อราที่เจริญขึ้นนั้นไม่ว่าจะใช้เกลือชนิดใดพบจำนวนสปอร์ต่อกรัมของเชื้อราน้อยกว่าชุดควบคุมทุกช่วงเวลา(ตารางที่ 2) เมื่อเปรียบเทียบตารางที่ 1 และ 2 จะพบว่าเมื่อเชื้อราเจริญมากขึ้นจำนวนสปอร์ต่อกรัมของเชื้อราก็มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 การเจริญของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* 102566 ในข้าวโพดที่เติมโซเดียมคลอไรด์ แอมโมเนียมคาร์บอเนตและโซเดียมไบซัลไฟต์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

สารเคมี	ความเข้มข้น(%)	เวลาบ่มเชื้อ (วัน)			
		7	14	21	28
ชุดควบคุม	0	4	5	5	5
โซเดียม-คลอไรด์	1	3	4	5	5
	2	1	2	3	4
	3	0	0	1	1
	4	0	0	0	0
	5	0	0	0	0
แอมโมเนียม-คาร์บอเนต	1	3	4	5	5
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
	4	0	0	0	0
	5	0	0	0	0
โซเดียม-ไบซัลไฟต์	1	0	1	2	3
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
	4	0	0	0	0
	5	0	0	0	0

หมายเหตุ 0 = ไม่มีการเจริญของใยรา

1 = มีการเจริญของใยราน้อยมาก

2 = 1/4ของเมล็ดข้าวโพดถูกปกคลุมด้วยใยราและสปอร์รา

3 = 1/2ของเมล็ดข้าวโพดถูกปกคลุมด้วยใยราและสปอร์รา

4 = 3/4ของเมล็ดข้าวโพดถูกปกคลุมด้วยใยราและสปอร์รา

5 = เมล็ดข้าวโพดทั้งหมดถูกปกคลุมด้วยใยราและสปอร์รา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 จำนวนสปอร์(ต่อกรัม)ของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* 102566 ในข้าวโพดที่เติมโซเดียมคลอไรด์ แอมโมเนียมคาร์บอเนต และ โซเดียมไบซัลไฟต์ที่ความเข้มข้นต่างๆ

สารเคมี	ความเข้มข้น (%)	เวลาบ่มเชื้อ (วัน)			
		7	14	21	28
ชุดควบคุม	0	6.05×10^7	6.95×10^7	8.39×10^7	2.59×10^8
โซเดียม-คลอไรด์	1	3.05×10^7	6.35×10^7	8.26×10^7	1.80×10^8
	2	8.80×10^6	2.70×10^7	3.10×10^7	3.54×10^7
	3	0	0	3.70×10^6	5.30×10^7
	4	0	0	0	0
	5	0	0	0	0
แอมโมเนียม-คาร์บอเนต	1	3.54×10^6	2.75×10^7	8.29×10^7	1.66×10^8
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
	4	0	0	0	0
	5	0	0	0	0
โซเดียม-ไบซัลไฟต์	1	0	3.22×10^6	1.39×10^7	1.90×10^7
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
	4	0	0	0	0
	5	0	0	0	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลของเกลือมีต่อการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* ในข้าวโพด

จากการทดลองในตารางที่ 3 และรูปที่ 3 พบว่าเมื่อใช้โซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ สามารถกระตุ้นให้เชื้อรา *Aspergillus parasiticus* 102566 สร้างอะฟลาทอกซินได้มากกว่าชุดควบคุม โดยมีปริมาณอะฟลาทอกซินรวมเท่ากับ 908.7, 322.9, 305.6 และ 328.7 ไมโครกรัมในวันที่ 7,14,21 และ 28 ตามลำดับ แต่ที่ระดับความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ มีการกระตุ้นน้อยลง ยกเว้นในวันที่ 21 การใช้โซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญได้อย่างสมบูรณ์ในวันที่ 7 และ 14 จึงไม่พบอะฟลาทอกซินเลย อย่างไรก็ตามในวันที่ 21 และ 28 เชื้อราสามารถสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้เพียงเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม กล่าวคือพบอะฟลาทอกซินรวมเท่ากับ 61.0 และ 78.7 ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ ส่วนการใช้โซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินได้อย่างสมบูรณ์ ทุกช่วงเวลาเนื่องจากไม่มีการเจริญของเชื้อรา

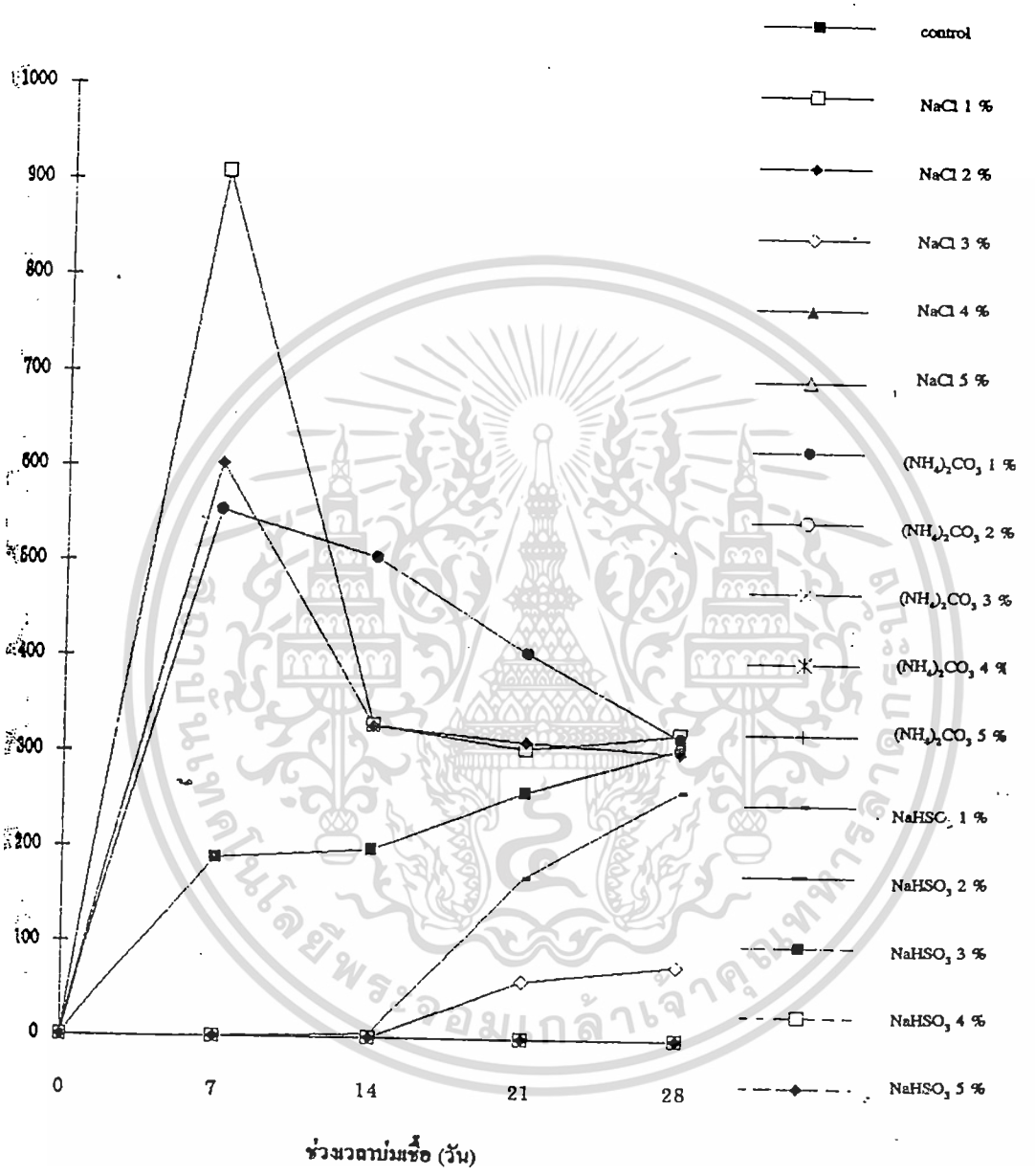
การใช้แอมโมเนียมคาร์บอเนตที่ระดับความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ กระตุ้นให้เชื้อราสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้มากกว่าชุดควบคุม โดยในวันที่ 7,14,21และ 28 พบอะฟลาทอกซินรวมเท่ากับ 553.9, 504.8, 406.1 และ 318.4 ไมโครกรัมต่อกรัมตามลำดับ ส่วนการใช้โซเดียมไบซัลไฟต์ 1 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินได้ โดยพบอะฟลาทอกซินในวันที่ 14,21 และ 28 เพียง 3.60,171.0 และ 262.4 ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ และการใช้แอมโมเนียมคาร์บอเนตและโซเดียมไบซัลไฟต์ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 2 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไปไม่พบอะฟลาทอกซินเลย ทุกช่วงเวลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 ปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน(ไมโครกรัมต่อกรัม)ของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* 102566 ในข้าวโพดที่เติมโซเดียมคลอไรด์ แอมโมเนียมคาร์บอเนต และโซเดียมไบซัลไฟต์ที่ความเข้มข้นต่างๆ

สารเคมี	ความเข้มข้น	เวลาที่ทำการเลี้ยงเชื้อ (วัน)											
		7			14			21			28		
	(%)	B_1	G_1	รวม	B_1	G_1	รวม	B_1	G_1	รวม	B_1	G_1	รวม
ชุดควบคุม	0	25.00	164.3	189.3	25.6	173.2	198.8	38.22	221.6	259.8	40.7	267.1	307.8
โซเดียม–	1	103.1	8.5.6	908.7	72.2	250.7	322.9	68.8	236.8	305.6	38.2	290.5	328.7
คลอไรด์	2	62.6	540.2	602.8	42.8	285.8	328.6	40.3	272.6	312.9	37.4	265.3	302.7
	3	0	0	0	0	0	0	4.6	56.4	61.0	4.1	74.5	78.7
	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
แอมโมเนียม–	1	43.2	510.7	553.9	25.8	479	504.8	34.7	371.4	406.1	28.8	289.6	318.4
คาร์บอเนต	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
โซเดียม –	1	0	0	0	1.0	2.6	3.6	6.6	164.4	171.0	19.1	243.3	262.4
ไบซัลไฟต์	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3 แสดงปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน(ไมโครกรัมต่อกรัม) ของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* 102566 ในข้าวโพดที่เติมโซเดียมคลอไรด์ แอมโมเนียมคาร์บอเนต และโซเดียมไบซัลไฟต์ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของเกลือต่อการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา*Aspergillus parasiticus*

จากผลการทดลองนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ Analysis of Variance และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Student-Newman-Keuls test (SNK) ณ ระดับนัยสำคัญ 5 เปอร์เซ็นต์(Cocharan และ Cox,1957 และ จรัญ,2519)

การวิเคราะห์ผลทางสถิติของเกลือที่มีต่อจำนวนสปอร์ต่อกรัมของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* 102566 ใน ข้าวโพด

เมื่อนำผลการทดลองในตารางที่ 2 มาวิเคราะห์ความแปรปรวนดังตารางที่ 4 พบว่าปัจจัยทั้งสองคือชนิดของเกลือและระดับความเข้มข้นที่ใช้ไม่มีอิทธิพลร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญและจำนวนสปอร์ต่อกรัมที่ได้จากการใช้เกลือทั้งสามชนิดไม่แตกต่างกัน แต่จำนวนสปอร์ต่อกรัมที่พบจากการใช้ความเข้มข้นต่างระดับกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ SNK ดังตารางที่ 5 และรูปที่ 4 แล้วพบว่าจำนวนสปอร์ต่อกรัมน้อยกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญไม่ว่าจะใช้ความเข้มข้นระดับใด โดยที่ความเข้มข้น 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสรุปได้เช่นเดียวกับที่ความเข้มข้น 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ แต่ที่ความเข้มข้น 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลการยับยั้งได้ต่ำกว่าที่ความเข้มข้น 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ นั่นคือการใช้ความเข้มข้นสูงขึ้นทำให้จำนวนสปอร์ต่อกรัมลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนสปอร์ของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* 102566 ในข้าวโพดที่มีการเติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ กรดเบนโซอิก และ โซเดียมเบนโซเอต ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

SOV	DF	SS	MS	F
block (r)	3	343.5649	114.5216	7.6300
treatment	17	1514.8737	89.1102	1.8300
a	2	54.8978	27.4489	1.8300^{ns}
b	5	1343.8321	268.7664	17.9000**
a x b	10	116.1439	11.6144	0.7700^{ns}
error	51	765.9249	15.0181	
total	71	2624.3636		

r จำนวนช่วงเวลาบ่มเชื้อ

a ชนิดของสารเคมี

b ระดับความเข้มข้นที่ใช้

** ความแตกต่างมีนัยสำคัญยิ่ง

ns ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

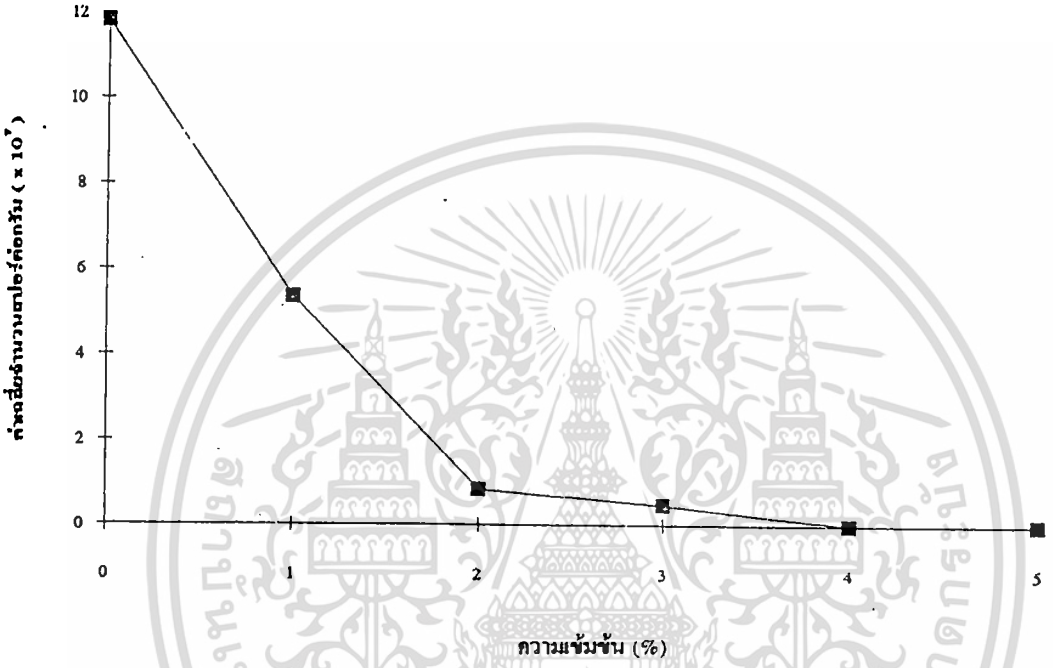
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนสปอร์ต่อกรัมของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* 102566 ในข้าวโพดที่มีการเติมเกลือที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

ความเข้มข้น(%)	ค่าเฉลี่ย
0	1.1823×10^{8d}
1	5.3655×10^{7c}
2	8.5167×10^{6b}
3	4.7250×10^{6b}
4	0.0000^{a}
5	0.0000^{a}

หมายเหตุ ในแต่ละ column ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อใช้ SNK ณ ระดับนัยสำคัญ 5 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4 ค่าเฉลี่ยจำนวนสปอร์ต่อกรัมของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* 102566 ในข้าวโพดที่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ แอมโมเนียมคาร์บอเนต และโซเดียมไบซัลไฟต์ ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ผลทางสถิติของสารเคมีที่มีต่อการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* ในข้าวโพด

เมื่อนำผลการทดลองในตารางที่ 3 มาวิเคราะห์ความแปรปรวนดังตารางที่ 6 พบว่าปัจจัยทั้งสองคือชนิดของเกลือและระดับความเข้มข้นที่ใช้มีอิทธิพลร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งซึ่งหมายความว่าเกลือจะมีอิทธิพลมากน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นที่ใช้เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ความเข้มข้นระดับต่างๆของเกลือแต่ละชนิดโดยใช้ SNK ดังตารางที่ 7 และรูปที่ 5 พบว่าการใช้ โซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ มีการกระตุ้นให้เชื้อราสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินมากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ โดยการใช้โซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น3,4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยในกลุ่มดังกล่าวให้ผลการยับยั้งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนการใช้แอมโมเนียมคาร์บอเนต 1 เปอร์เซ็นต์ กระตุ้นให้เชื้อราสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินมากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ แต่ที่ระดับความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไปสามารถยับยั้งได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยในกลุ่มดังกล่าวให้ผลการยับยั้งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนการใช้โซเดียมไบซัลไฟต์ที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป สามารถยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยในกลุ่มดังกล่าวให้ผลการยับยั้งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณอะฟลาทอกซินที่สร้างจากเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* 102566 ในข้าวโพดที่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ แอมโมเนียมคาร์บอเนต และโซเดียมไบซัลไฟต์ ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

SOV	DF	SS	MS	F
block (r)	3	22215.9480	7405.316	0.9000
treatment	17	1964545.7000	115559.7400	14.1152
a	2	203472.1410	101736.0710	12.4300
b	5	124657.3920	248131.4780	30.3100
a x b	10	520386.1190	52038.6120	6.3600**
error	51	417534.3090	8189.9470	
total	71	2404265.910		

r จำนวนช่วงเวลาบ่มเชื้อ

a ชนิดของสารเคมี

b ระดับความเข้มข้นที่ใช้

** ความแตกต่างมีนัยสำคัญยิ่ง

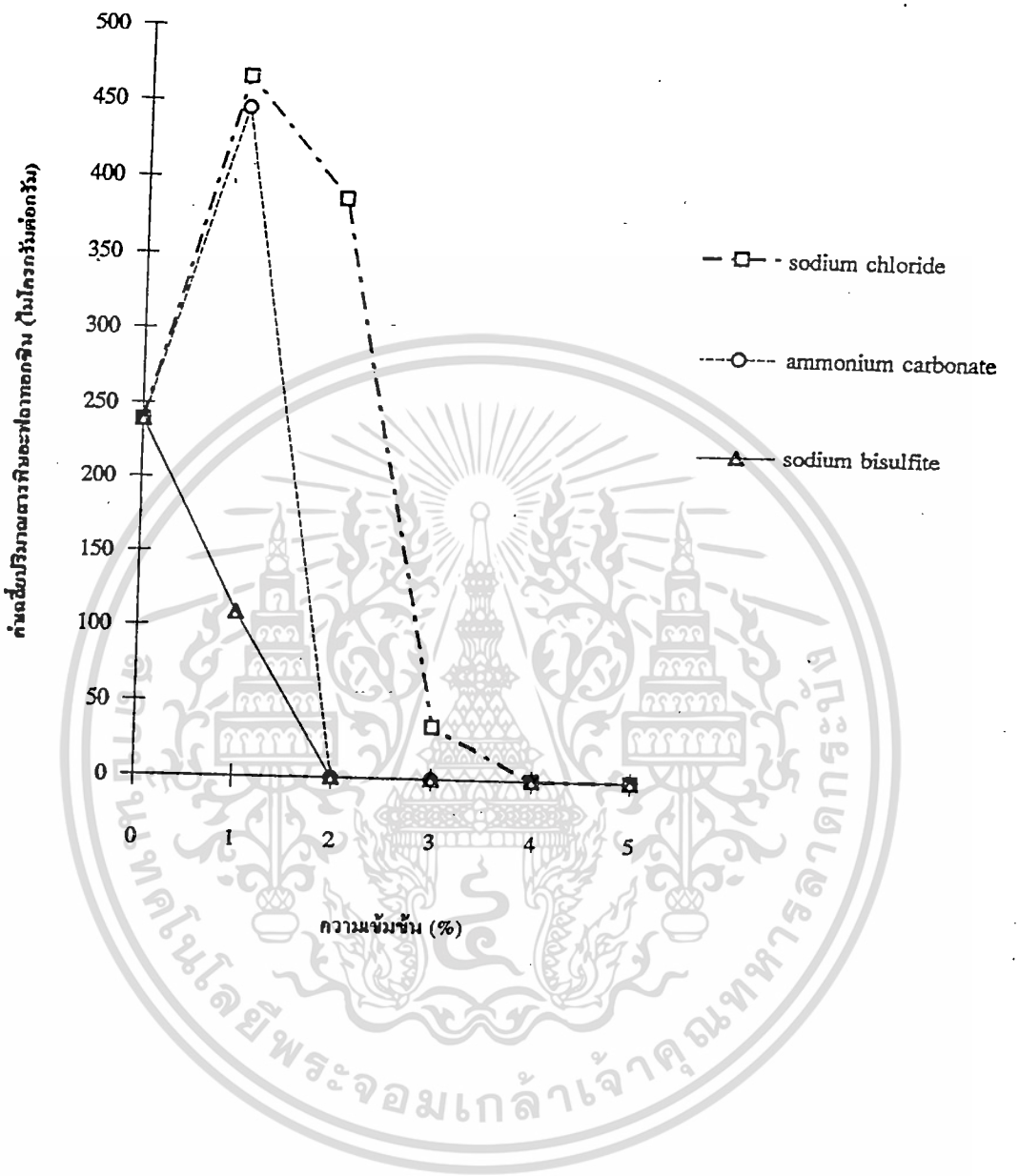
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ที่ 7 ค่าเฉลี่ยของการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน (ไมโครกรัมต่อกรัม)ของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* 102566 ในข้าวโพดที่มีการเติม โซเดียมคลอไรด์ แอมโมเนียมคาร์บอเนต และโซเดียมไบซัลไฟต์ โดยเปรียบเทียบที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

ความเข้มข้น(%)	โซเดียมคลอไรด์	แอมโมเนียมคาร์บอเนต	โซเดียมไบซัลไฟต์
0	238.9250 [b]	238.9250 [b]	238.9250 [b]
1	466.4750 [c]	445.8000 [c]	109.2500 [a]
2	386.7500 [c]	0.0000 [a]	0.0000 [a]
3	34.9250 [a]	0.0000 [a]	0.0000 [a]
4	0.0000 [a]	0.0000 [a]	0.0000 [a]
5	0.0000 [a]	0.0000 [a]	0.0000 [a]

หมายเหตุ ในแต่ละ column ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อใช้ SNK 5 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 5 ค่าเฉลี่ยการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน(ไมโครกรัมต่อกรัม)ของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* 102566 ในข้าวโพด ที่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ แอมโมเนียมคาร์บอเนต และโซเดียมไบซัลไฟต์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ผลของเกลือต่อการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* Link ในข้าวโพด

จากการทดลองใช้เกลือทั้งสามชนิดใน เชื้อรา *Aspergillus parasiticus* 102566 พบว่าใช้ได้ผลดีดังนั้นจึงได้ทำการทดลองใช้เกลือดังกล่าวกับเชื้อ *Aspergillus flavus* Link พบว่าเกลือทั้งสามชนิดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* Link ในข้าวโพดได้ทุกระดับความเข้มข้นที่ใช้เมื่อพิจารณาลักษณะการเจริญเป็นเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา (ตารางที่ 8) การใช้โซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ในวันที่ 7 และ 14 แต่ในวันที่ 21 และ 28 พบว่ามีการเจริญได้ไม่ต่างจากชุดควบคุม การใช้โซเดียม-คลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ จนถึงวันที่ 21 ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีทุกช่วงเวลา โดยมีการเจริญไม่มากนักเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

การใช้แอมโมเนียมคาร์บอเนตที่ระดับความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีจนถึงวันที่ 21 แต่ในวันที่ 28 พบว่ามีการเจริญได้ไม่ต่างจากชุดควบคุม การใช้ที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ จนถึงวันที่ 21 อย่างไรก็ตามในวันที่ 28 เชื้อรามีการเจริญเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ส่วนที่ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ ทุกช่วงเวลา

การใช้โซเดียมไบซัลไฟต์ที่ระดับความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีจนถึงวันที่ 28 และการใช้ที่ระดับความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญได้อย่างสมบูรณ์ ในวันที่ 7 อย่างไรก็ตามในวันที่ 14,21 และ 28 พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญได้ดี โดยมีเชื้อราเจริญไม่มากนักเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ส่วนการใช้ที่ระดับความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญได้อย่างสมบูรณ์ทุกช่วงเวลา

สำหรับเชื้อราที่เจริญขึ้นนั้นไม่ว่าจะใช้เกลือชนิดใดพบจำนวนสปอร์ต่อกรัมของเชื้อราน้อยกว่าชุดควบคุมทุกช่วงเวลา(ตารางที่ 9) เมื่อเปรียบเทียบตารางที่ 8 และ 9 จะพบว่าเมื่อเชื้อราเจริญมากขึ้นจำนวนสปอร์ต่อกรัมของเชื้อราก็มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 การเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* Link ในข้าวโพดที่เติมโซเดียมคลอไรด์ แอมโมเนียมคาร์บอเนตและโซเดียมไบซัลไฟต์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

สารเคมี	ความเข้มข้น(%)	เวลาบ่มเชื้อ (วัน)							
		7		14		21		28	
		A. flavus	การปนเปื้อน	*A. flavus*	การปนเปื้อน	*A. flavus*	การปนเปื้อน	*A. flavus*	การปนเปื้อน
ข้าวโพด	0	0	++/ab	0	+++/abc	0	+++/abc	0	+++/abc
ชุดควบคุม	0	4	-	5	-	5	-	5	-
โซเดียม-คลอไรด์	1	3	-	4	-	5	-	5	-
	2	2	++/b	3	+/abc	4	+/abc	5	+/c
	3	1	+++/b	1	++/b	2	++/b	3	+/b
แอมโมเนียม-คาร์บอเนต	1	2	+/c	3	-	4	-	5	-
	2	0	-	0	-	0	-	1	-
	3	0	-	0	-	0	-	0	-
โซเดียม-ไบซัลไฟต์	1	2	++/bc	3	++/bc	4	+/abc	4	+/abc
	2	0	++/bc	1	++/bc	1	++/bc	1	++/bc
	3	0	-	0	-	0	+/b	0	+/b

หมายเหตุ 0 = ไม่มีการเจริญของใยรา

1 = มีการเจริญของใยราน้อยมาก

2 = 1/4ของเมล็ดข้าวโพดถูกปกคลุมด้วยใยราและสปอร์รา

3 = 1/2ของเมล็ดข้าวโพดถูกปกคลุมด้วยใยราและสปอร์รา

4 = 3/4ของเมล็ดข้าวโพดถูกปกคลุมด้วยใยราและสปอร์รา

5 = เมล็ดข้าวโพดทั้งหมดถูกปกคลุมด้วยใยราและสปอร์รา

- = ไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ + = มีการปนเปื้อนน้อยมาก

++ = 1/3 ของข้าวโพดมีการปนเปื้อน +++ = 1/2 ของข้าวโพดมีการปนเปื้อน

a = ใยราสีขาว b = ใยรามีสปอร์มีเทา-ดำ c = ใยรามีสปอร์สีเหลือง-ส้ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 จำนวนสปอร์(ต่อกรัม)ของเชื้อรา *Aspergillus flavus* Link ในข้าวโพดที่เติมโซเดียมคลอไรด์ แอมโมเนียมคาร์บอเนต และ โซเดียมไบซัลไฟต์ที่ความเข้มข้นต่างๆ

สารเคมี	ความเข้มข้น (%)	เวลาบ่มเชื้อ (วัน)			
		7	14	21	28
ชุดควบคุม	0	1.50×10^{10}	1.70×10^{10}	1.96×10^{10}	2.25×10^{10}
โซเดียม-คลอไรด์	1	1.15×10^{10}	1.65×10^{10}	1.82×10^{10}	2.80×10^{10}
	2	8.50×10^{9}	1.40×10^{10}	1.64×10^{10}	1.80×10^{10}
	3	4.70×10^{9}	5.30×10^{9}	9.50×10^{9}	1.22×10^{10}
แอมโมเนียม-คาร์บอเนต	1	5.90×10^{9}	1.06×10^{10}	1.27×10^{10}	1.82×10^{10}
	2	0	0	0	3.00×10^{9}
	3	0	0	0	0
โซเดียม-ไบซัลไฟต์	1	9.25×10^{9}	1.20×10^{10}	1.52×10^{10}	1.90×10^{10}
	2	0	6.12×10^{9}	7.00×10^{9}	7.57×10^{9}
	3	0	0	0	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 ผลของเกลือต่อการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus flavus* Linkในข้าวโพด

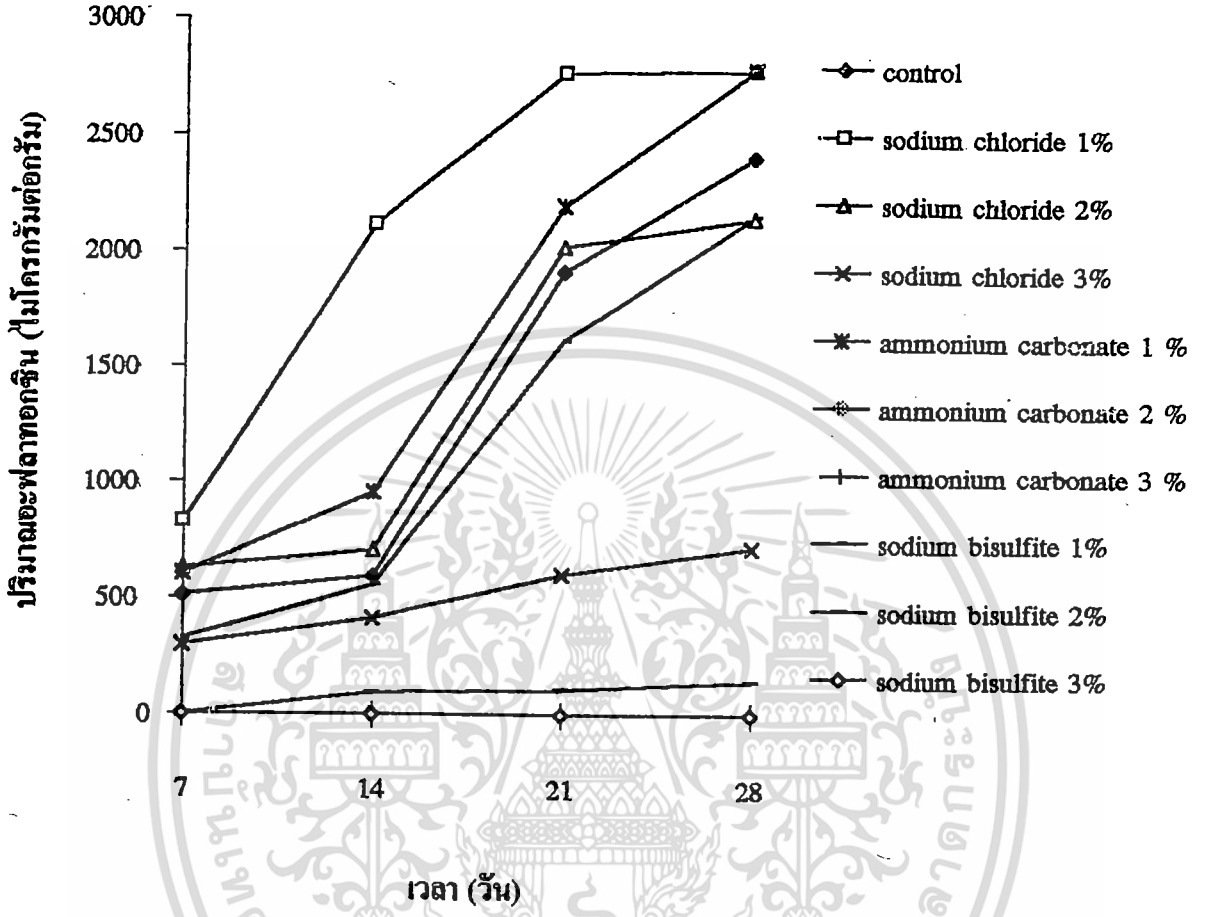
จากการทดลองในตารางที่ 10 และรูปที่ 5 พบว่าเมื่อใช้โซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ สามารถกระตุ้นให้เชื้อรา *Aspergillus flavus* Link สร้างอะฟลาทอกซินได้มากกว่าชุดควบคุม โดยมีปริมาณอะฟลาทอกซินรวมเท่ากับ 823.9, 2109.1, 2765.1 และ 2778.5 ไมโครกรัมต่อกรัมในวันที่ 7,14,21 และ 28 ตามลำดับ แต่ที่ระดับความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ มีการกระตุ้นน้อยลง การใช้โซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญได้ดี โดยมีปริมาณอะฟลาทอกซินรวมเท่ากับ 296.3, 413.8, 604.6 และ 720.8 ไมโครกรัมต่อกรัม ในวันที่ 7,14,21 และ 28 ตามลำดับ

การใช้แอมโมเนียมคาร์บอเนตที่ระดับความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ กระตุ้นให้เชื้อราสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้มากกว่าชุดควบคุม โดยในวันที่ 7,14,21 และ 28 พบอะฟลาทอกซินรวมเท่ากับ 602.1, 955.1, 2191.4 และ 2780.1 ไมโครกรัมต่อกรัมตามลำดับ ส่วนที่ความเข้มข้น 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้อย่างสมบูรณ์ ทุกช่วงเวลา เนื่องจากไม่มีการเจริญของเชื้อรา การใช้โซเดียมไบซัลไฟต์ 1 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินได้ ดีทุกช่วงเวลาโดยพบอะฟลาทอกซินในวันที่ 7,14,21 และ 28 เพียง 323.5, 554.5,1612.7 และ 2151.8 ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ และการใช้ที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ในวันที่ 7 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ทุกช่วงเวลาไม่พบอะฟลาทอกซินเลยเนื่องจากไม่มีการเจริญของเชื้อราและพบเพียงเล็กน้อยเมื่อใช้ที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 7,14 และ 28 ในปริมาณเท่ากับ 91.6,104.6 และ 142.1 ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10 ปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน(ไมโครกรัมต่อกรัม)ของเชื้อรา *Aspergillus flavus* Link ในข้าวโพดที่เติมโซเดียมคลอไรด์ แอมโมเนียมคาร์บอเนต และโซเดียมไบซัลไฟต์ที่ความเข้มข้นต่างๆ

เกลือ	ความเข้มข้น (%)	ช่วงเวลาที่เลี้ยงเชื้อ(วัน)											
		7			14			21			28		
		B_1	G_1	รวม	B_1	G_1	รวม	B_1	G_1	รวม	B_1	G_1	รวม
ชุดควบคุม	0	267.9	244.2	**512.1**	297.5	294.4	**591.9**	1113.6	795.5	**1909.1**	1397.3	1011.1	**2408.4**
โซเดียม-	1	549.7	274.2	**823.9**	1029.6	1079.5	**2109.1**	2308.6	456.5	**2765.1**	1502.1	1276.4	**2778.5**
คลอไรด์	2	442.5	183.3	**625.9**	407.0	296.9	**703.9**	1660.2	355.6	**2015.8**	1246.2	897.0	**2143.2**
	3	203.1	93.2	**296.3**	236.0	177.8	**413.8**	398.0	206.6	**604.6**	222.1	498.7	**720.8**
แอมโมเนียม-	1	453.8	148.3	**602.1**	502.9	452.1	**955.1**	1281.7	909.7	**2191.4**	1591.4	1188.7	**2780.1**
คาร์บอเนต	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
โซเดียม-	1	224.1	99.4	**323.5**	372.9	181.1	**554.5**	1309.9	302.8	**1612.7**	1503.8	654.3	**2151.8**
ไบซัลไฟต์	2	-	-	-	60.5	31.1	**91.6**	65.0	39.5	**104.6**	95.5	46.6	**142.1**
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-



รูปที่ 5 การสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน (ไมโครกรัมต่อกรัม) ของเชื้อรา *A. flavus* Link ในข้าวโพดที่เป็นชุดควบคุมเปรียบเทียบกับการผสมเกลือที่ความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของเกลือต่อการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus flavus* Link

จากผลการทดลองนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ Analysis of Variance และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Student-Newman-Keuls test (SNK) ณ ระดับนัยสำคัญ 5 เปอร์เซ็นต์ (Cocharan และ Cox,1957)

การวิเคราะห์ผลทางสถิติของเกลือที่มีต่อจำนวนสปอร์ต่อกรัมของเชื้อรา *Aspergillus flavus* Link ในข้าวโพด

เมื่อนำผลการทดลองในตารางที่ 9 มาวิเคราะห์ความแปรปรวนดังตารางที่ 11 พบว่าปัจจัยทั้งสองคือชนิดของเกลือและระดับความเข้มข้นที่ใช้มีอิทธิพลร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งซึ่งหมายความว่าเกลือจะมีอิทธิพลมากน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นที่ใช้เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ความเข้มข้นระดับต่างๆของเกลือแต่ละชนิดโดยใช้ SNK ดังตารางที่ 12 และรูปที่ 6 พบว่าการใช้ โซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น1 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไปสามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยการใช้โซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด รองลงมาคือที่ความเข้มข้น 2 และ 1 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และการใช้แอมโมเนียมคาร์บอเนต ให้ผลยับยั้งการสร้างสปอร์ได้อย่างมีนัยสำคัญทุกความเข้มข้น โดยที่ความเข้มข้น 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ให้ผลการยับยั้งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญและยับยั้งได้ดีกว่าที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการใช้โซเดียมไบซัลไฟต์ให้ผลเหมือนกับการใช้โซเดียมคลอไรด์กล่าวคือสามารถยับยั้งได้ทุกระดับความเข้มข้นโดยที่ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด รองลงมาคือที่ความเข้มข้น 2 และ 1 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนสปอร์ของเชื้อรา *Aspergillus flavus* Link ในข้าวโพดที่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ แอมโมเนียมคาร์บอเนต และ โซเดียมไบซัลไฟต์ ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

SOV	DF	SS	MS	F
block (r)	3	297.7586	99.2529	30.0200
treatment	11	839.5351	839.5351	253.9400
a	2	188.2532	188.2532	56.9400
b	3	615.0391	615.0391	186.0400
a x b	6	36.2428	36.2428	10.9600**
error	33	3.3059	3.3059	
total	47			

r จำนวนช่วงเวลาบ่มเชื้อ

a ชนิดของสารเคมี

b ระดับความเข้มข้นที่ใช้

** ความแตกต่างมีนัยสำคัญยิ่ง

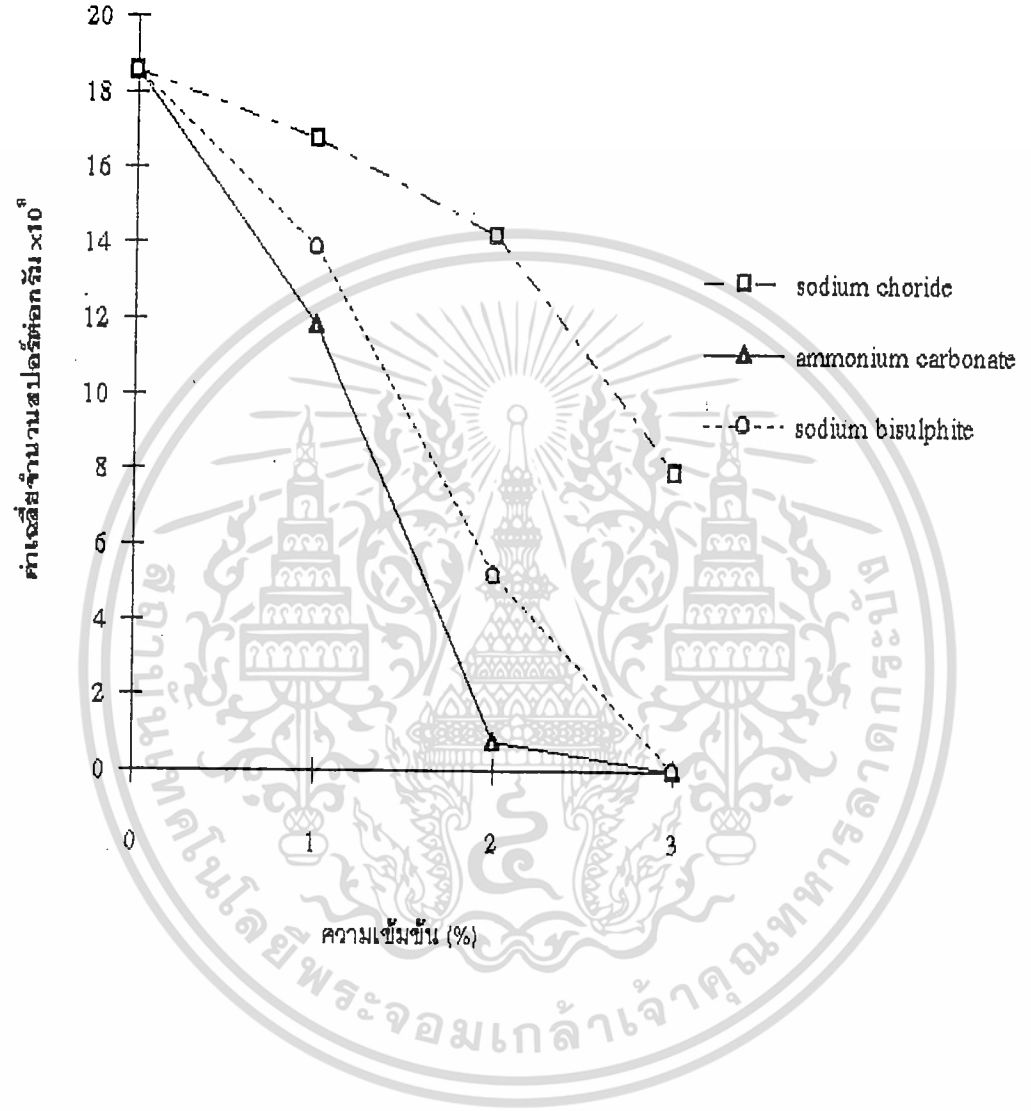
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 12 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนสปอร์ต่อกรัม (10^9) ของเชื้อรา *Aspergillus flavus* Link ในข้าวโพดที่มีการเติมเกลือที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

ความเข้มข้น(%)	โซเดียมคลอไรด์	แอมโมเนียมคาร์บอเนต	โซเดียมไบซัลไฟต์
0	18.5250[d]	18.5250[c]	18.5250[d]
1	16.7500[c]	11.8225[b]	13.8625[c]
2	14.2250[b]	0.7500[a]	5.1725[b]
3	7.9250[a]	0.0000[a]	0.0000[a]

หมายเหตุ ในแต่ละ column ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อใช้ SNK 5 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 6 ค่าเฉลี่ยจำนวนสปอร์ต่อกรัมของเชื้อรา *Aspergillus flavus* Link ในข้าวโพดที่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ แอมโมเนียมคาร์บอเนต และโซเดียมไบซัลไฟต์ ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ผลทางสถิติของสารเคมีที่มีต่อการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus flavus* Link ในข้าวโพด

เมื่อนำผลการทดลองในตารางที่ 10 มาวิเคราะห์ความแปรปรวนดังตารางที่ 13 พบว่าปัจจัยทั้งสองคือชนิดของเกลือและระดับความเข้มข้นที่ใช้มีอิทธิพลร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งซึ่งหมายความว่าเกลือจะมีอิทธิพลมากน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นที่ใช้เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ความเข้มข้นระดับต่างๆของเกลือแต่ละชนิดโดยใช้ SNK ดังตารางที่ 14 และรูปที่ 7 พบว่าการใช้ โซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ กระตุ้นให้เชื้อราสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินมากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม แต่การใช้โซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้อย่างมีนัยสำคัญ การใช้แอมโมเนียมคาร์บอเนต 1 เปอร์เซ็นต์ กระตุ้นให้เชื้อราสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินมากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน แต่ที่ระดับความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไปสามารถยับยั้งได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยในกลุ่มดังกล่าวให้ผลการยับยั้งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนการใช้โซเดียมไบซัลไฟต์ที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลการยับยั้งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับชุดควบคุม แต่ที่ระดับความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไปสามารถยับยั้งได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยในกลุ่มดังกล่าวให้ผลการยับยั้งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณอะฟลาทอกซินที่สร้างจากเชื้อรา *Aspergillus flavus* Link ในข้าวโพดที่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ แอมโมเนียมคาร์บอเนต และโซเดียมไบซัลไฟต์ ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

SOV	DF	SS	MS	F
block (r)	3	10817142.6100	3605714.2000	16.1300
treatment	11	24726318.5800	8515337.5100	38.0800
a	2	4449191.0700	2224595.5300	9.9500
b	3	17467324.3500	5822441.4500	26.0400
a x b	6	2809803.1600	468300.5300	2.0900**
error	33	7377445.0100	223558.9400	
total		42920906.2000		

r จำนวนช่วงเวลาบ่มเชื้อ

a ชนิดของสารเคมี

b ระดับความเข้มข้นที่ใช้

** ความแตกต่างมีนัยสำคัญยิ่ง

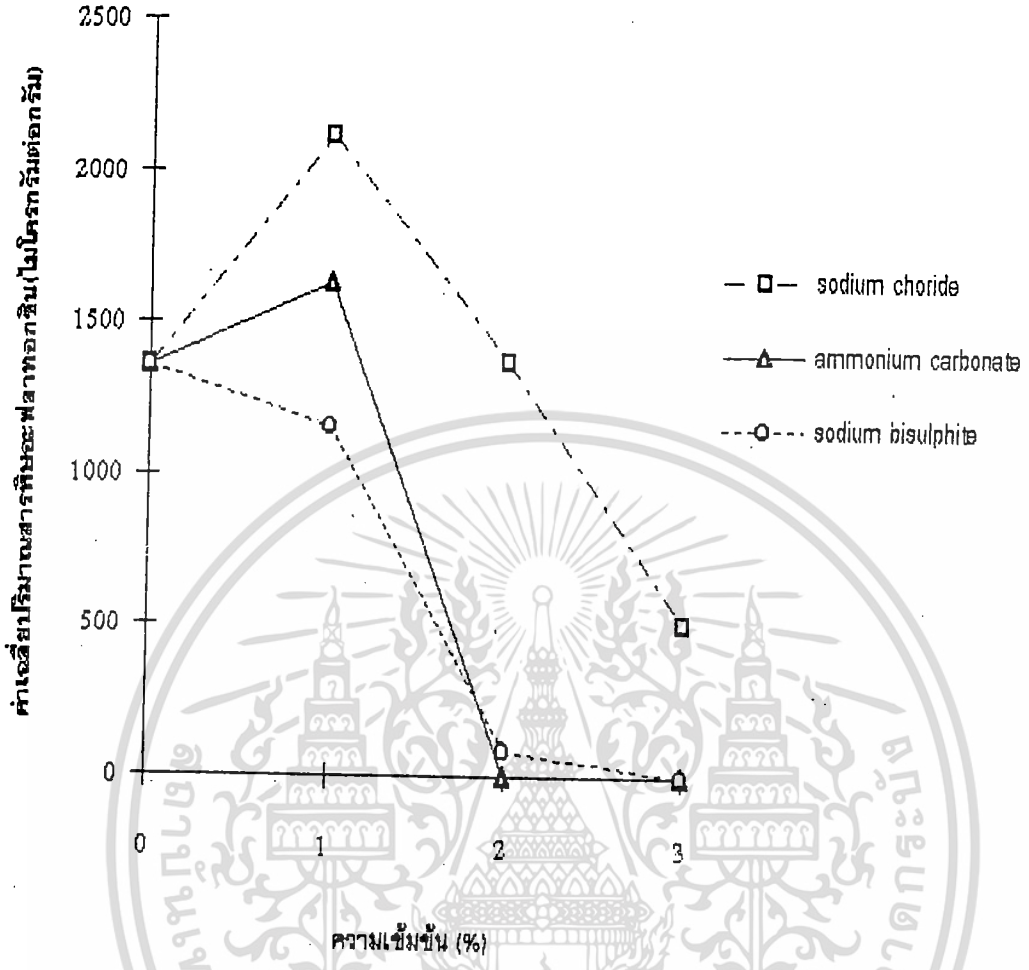
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ที่ 14 ค่าเฉลี่ยของการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน (ไมโครกรัมต่อกรัม)ของเชื้อรา *Aspergillus flavus* Link ในข้าวโพดที่มีการเติม โซเดียมคลอไรด์ แอมโมเนียมคาร์บอเนต และโซเดียมไบซัลไฟต์ โดยเปรียบเทียบที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

ความเข้มข้น(%)	โซเดียมคลอไรด์	แอมโมเนียมคาร์บอเนต	โซเดียมไบซัลไฟต์
0	1355.3750 [b]	1355.3750 [b]	1355.3750 [b]
1	2119.1500 [c]	445.8000 [c]	1160.6250 [b]
2	1372.2000 [b]	0.0000 [a]	84.5750 [a]
3	508.8750 [a]	0.0000 [a]	0.0000 [a]
4	0.0000 [a]	0.0000 [a]	0.0000 [a]
5	0.0000 [a]	0.0000 [a]	0.0000 [a]

หมายเหตุ ในแต่ละ column ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อใช้ SNK 5 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 7 ค่าเฉลี่ยการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน(ไมโครกรัมต่อกรัม)ของเชื้อรา *Aspergillus flavus* Link ในข้าวโพดที่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ แอมโมเนียมคาร์บอเนต และโซเดียมไบซัลไฟต์ ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและวิจารณ์

ในการศึกษาถึงผลของการยับยั้งการเจรอญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* 102566 ในข้าวโพดโดยใช้เกลือ พบว่าเมื่อใช้เวลาบ่มเชื้อ 28 วัน การเจริญเป็นเส้นใยและจำนวนสปอร์ต่อกรัมของเชื้อราในอาหารที่มีการเติมเกลือทั้ง 3 ชนิดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่การใช้ความเข้มข้นมากขึ้นทำให้จำนวนสปอร์ต่อกรัมลดลง โดยที่ความเข้มข้น 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เช่นเดียวกับที่ความเข้มข้น 4 และ 5เปอร์เซ็นต์ ส่วนในด้านการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรานั้นการใช้โซเดียมไบซัลไฟต์มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้ดีที่สุด รองลงมาคือแอมโมเนียมคาร์บอเนตและโซเดียมคลอไรด์ ตามลำดับ ซึ่งมีช่วงเวลาในการยับยั้งนานถึง 28 วัน โดยโซเดียมไบซัลไฟต์ที่ทุกระดับความเข้มข้นสามารถยับยั้งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ สำหรับแอมโมเนียมคาร์บอเนตและโซเดียมคลอไรด์ให้ผลสรุปทำนองเดียวกันแต่เริ่มที่ความเข้มข้น 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของประวัติ (2528) ที่พบว่าการใช้โซเดียมไบซัลไฟต์ที่ระดับความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป สามารถยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อราในเมล็ดข้าวโพดได้ เนื่องจากโซเดียมไบซัลไฟต์มีการแตกตัวให้กรดกำมะถันซึ่งจะไปทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ของเชื้อราทำให้เอนไซม์ทำงานไม่เป็นปกติ เป็นสาเหตุให้การเจริญเติบโตของเชื้อราถูกยับยั้งหรือถูกทำลายไป(ศิวาพร,2529) นอกจากนี้โซเดียมไบซัลไฟต์ยังสามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซินได้โดยไปทำปฏิกิริยากับวงแลคโตนของอะฟลาทอกซินโดยมีการเติมกรดซัลโฟนิกที่ตำแหน่งที่ 4 ของวงแลคโตนทำให้เปลี่ยนสภาพอะฟลาทอกซิน B_1 ไปอยู่ในรูปอื่นที่เป็นพิษน้อยลงได้แก่อะฟลาทอกซินB_2(Doyle และ Marth,1978 และ Moerck และคณะ ,1980) จากการทดลองของ O-aryakul(1958) ที่ได้ทดลองใช้แอมโมเนียมคาร์บอเนตที่ระดับความเข้มข้น 1,2 และ 3 เปอร์เซ็นต์เพื่อลดปริมาณอะฟลาทอกซินในถั่วพบว่าสามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซินลงได้เนื่องจากคาร์บอเนตไอออนสามารถเปลี่ยนเป็น free carboxyl group ทำให้มีความสามารถในการฆ่าเชื้อราได้(Bland,1984) นอกจากนี้ Montville และ Pel-Ling(1991) ได้ทำการทดลองยับยั้งการเจริญของเชื้อรากลุ่มที่สามารถสร้างสารพิษได้โดยการใช้แอมโมเนียมไบคาร์บอเนต 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของ *Aspergillus ochraceus*,*Fusarium graminearium* และ *Penicillium griseofulvum* ในเมล็ดข้าวโพดได้ โดยพบว่าที่ความเข้มข้นสูงขึ้นสามารถยับยั้งการเจริญได้ดีขึ้น ส่วนการใช้โซเดียม-คลอไรด์สามารถยับยั้งการเจริญและการสร้างอะฟลาทอกซินได้เนื่องจากการใช้โซเดียมคลอไรด์ที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระดับความเข้มข้นสูงมีผลต่อความต้องการน้ำในการเจริญและการสร้างอะฟลาทอกซิน โดยโซเดียมคลอไรด์จะไปดึงน้ำออกจากเซลล์ของเชื้อราทำให้เกิดภาวะ osmotic shock ทำให้เชื้อราหยุดการเจริญเติบโตหรือตายและโซเดียมไอออนมีผลต่อการส่งถ่ายไอออนของเซลล์โดยทำให้สูญเสียสภาวะสมดุลของไอออนระหว่างภายในและภายนอกเซลล์ของเชื้อรา(ปริมณฑ์ และสุภร,2520)

ในการทดลองครั้งนี้พบว่ามีการกระตุ้นให้เชื้อรา *Aspergillus parasiticus* 102566 สร้างสารพิษอะฟลาทอกซินมากขึ้นเมื่อใช้แอมโมเนียมคาร์บอเนตที่ระดับความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ และใช้โซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ โดยแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญนั้นสอดคล้องกับการทดลองของ Chitaree และคณะ (1993),Uraih และ Chipley(1976) และ El-Gazzar และคณะ(1986) ที่พบว่าการใช้โซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 1-3 เปอร์เซ็นต์ จะกระตุ้นให้เชื้อราสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้มากขึ้น โดยตั้งสมมติฐานว่าโซเดียมไอออนมีผลไปกระตุ้นให้มีการสร้างอะฟลาทอกซินมากขึ้นและอาจสันนิษฐานได้ว่าคลอไรด์ไอออนมีผลการะตุ้นการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อราด้วยเช่นกัน เนื่องจากมีรายงานว่าการใช้แมงกานีสคลอไรด์ โคบอลท์คลอไรด์ และแคลเซียมคลอไรด์สามารถกระตุ้นให้เชื้อรา *Aspergillus flavus* สร้างสารพิษอะฟลาทอกซินในอาหารเหลวมากขึ้นเมื่อใช้สารดังกล่าวที่ระดับความเข้มข้นต่ำคือประมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ ของอาหารเลี้ยงเชื้อ(Mabrouk และ El-Shayeb,1980) นอกจากนี้คณะผู้วิจัยได้ทดลองใช้เกลือดังกล่าวกับเชื้อรา *Aspergillus flavus* Link พบว่าแอมโมเนียมคาร์บอเนตให้ผลการยับยั้งดีที่สุดที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป ในขณะที่โซเดียมไบซัลไฟต์ ให้ผลการยับยั้งที่ 3 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมคลอไรด์ให้ผลการยับยั้งน้อยที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

จินตนา ชะนะ "สารพิษจากเชื้อราและการป้องกันกำจัดในข้าวโพดและธัญพืชอื่นๆ (Mycotoxins and Their Controls in Corn and Other Cereals)." รายงานผลการวิจัยประจำปี 2533. (2533) : 40-45.

ธีรยุทธ กลิ่นสุคนธ์ และ ชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว. อะฟลาทอกซิน (สารพิษจากเชื้อราที่ทำให้เกิดมะเร็งในตับ) กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยมหิดล, 2524.

ประวัติ ตันบุญเอก. "การศึกษาสารเคมีที่มีคุณสมบัติในการป้องกันกำจัดสารพิษอะฟลาทอกซิน." กสิกร ปีที่ 58 ฉบับที่ 5 (2528) : 391 - 394.

ปริมณฑ์ กาจนัษฐิติ และ สุภร พันธุ์สิทธิกุล. "การยับยั้งสารพิษประเภทแอฟฟลาทอกซิน." วารสารวิทยาศาสตร์ ปีที่ 31 (2520) : 64-67.

ปริศนา สิริอาชา. การตรวจสอบแอฟฟลาทอกซินอย่างรวดเร็ว. กรุงเทพฯ:กรมวิชาการเกษตร, 2534.

ไมตรี สุทธจิตต์. สารพิษรอบตัวเรา. เชียงใหม่: ภาควิชาเคมี คณะแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2531.

ลีพัฒน เอาหารสัตว์. "เชื้อราในอาหารสัตว์." Veterinary news ฉบับที่ 12 (2538) : 10-17.

ศิวาพร ศิวเวชช. วัตถุเจือปนอาหารเล่ม 1. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2529.

สุกัญญา จัตตุพรพงษ์. วัตถุดิบอาหารสัตว์:การใช้และการตรวจสอบคุณภาพ. นครปฐม: ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมการเลี้ยงสุกรแห่งชาติ, 2530.

สุมาลัย ศรีกำไลทอง และ สุภัทรา มั่นสกุล. การทำลายพิษของแอฟฟลาทอกซินในน้ำมันถั่วลิสงในขั้นห้องปฏิบัติการ. กรุงเทพฯ : สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2523.

สุมาลัย ศรีกำไลทองและ สุภัทรา มั่นสกุล. การศึกษาปริมาณแอฟฟลาทอกซินในน้ำมันพืชธรรมชาติและการกำจัดสารพิษ. กรุงเทพฯ : สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2525.

อรรณพ องค์สกุล. การคัดเลือกจุลินทรีย์เพื่อควบคุมเชื้อรา *Aspergillus flavus* Link. ที่สร้างอะฟลาทอกซินในข้าวโพด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2532.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วรพจน์ สุนทรสุข. การปรับปรุงสายพันธุ์เชื้อรา *A. niger* เพื่อผลิตกรดมะนาวและเอนไซม์กลูโคอะไมเลส. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2533.

Bland, B. "Monoprop. mold killer : Maintains Quality in Feed stuffs." Technical Bulletin., no. 2 (1984) PP. 52.

Blount, W.P. "Turkey X Disease." J. Brit. Turkey fed. , no. 9 (1961) PP. 52.

Brekke ,O.L. ,Stringfellow,A.C. and A.J. Peplinski. "Aflatoxin Inactivation in Corn by Ammonia Gas; Laboraty Trials." J. Agric. Food Chem. , no. 26 (1978) PP. 1343-1389.

Ceigler, A. and others. "Microbial Detoxification of Aflatoxin." Appl. Microbial. , no. 14 (1966) PP. 934 - 939.

Ceigler, A., Kidis S. and S.J. Aji. Microbial Toxin : Fungi Toxin Vol.6. New York : Academic Press , 1971 .

Chitaree,K. and others. "Effect of Salt Concentrations on Aflatoxin Production in Peanut by *A. flavus*." Kasetsart J. (Nat. Sci.) , no. 27 (1993) PP. 354-357.

Christensen, C.M. and H.H. Kaufman. In C.M. Christensen (ed.) Storage of Cereal Grain and Their Product. 2nd ed.: American Association of Cereal Chemistry,Inc. Microflora : St. Paul Minnesota, 1974.

Cucullu, A.F. and others. "Determination of Aflatoxins in Individual Peanuts and Peanut Sections." J. Am. Oil.Chemists' Soc. , no. 43 (1966) PP. 89.

Cucullu , A.F. and others. "Ammoniation of Aflatoxin B: Isolation and Characterization of A Product with Molecular Weight 206." J. Agric. Food Chem. no. 24 (1976) PP. 408-410.

Davis, N.D., U.L. Diener and V.P. Agnihotri. "Production of Aflatoxins B_1 and G_1 in Chemically Defined Media." Mycopathol. Mycol. Appl. , no. 31 (1967) PP. 251.

Doyle, M. P., and E.H.Marth. "Aflatoxin is Degraded at Different Temperature and pH Values by Mycelia of *Aspergillus parasiticus*." European J. Appl. Mycobiol. Biotechnol. , no. 6 (1978) PP. 95-100.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

El-Gazzar , F.E., Rusul , G. and E.H. Marth . "Growth and Aflatoxin Production by *Aspergillus parasiticus* in the Presence of Sodium Chloride." J.Food .Prot. no.49 (1986) PP.461-466.

Feigelson, P. and O. Greengard. "Regulation of Liver Tryptophan Pyrrolase Activity." J. Biol. Chem., no. 237 (1962) PP. 1908.

Feuell, A.J. "Aflatoxin in Groundnuts : IX Problems of Detoxication." Trop. Sci. , no. 8 (1966) PP. 61.

Friedman,M.A. and G.N. Wogan. "Effect of Aflatoxin B_1 on RNA Polymerase Activity and Incorperation of Cytidine into RNA of Rat Nuclei." Fed. proc. , no. 26 (1967) PP. 358.

Keanjak, A. Improved Aspergillus Mutants of Sauce Production : International Congress of Culture Collections. Bankok : Postersession abstract, 1984.

Kulik, M.M. and R.T. Hanlin "Osmophilic Strains of *Aspergillus* species." Mycologia. no.60 (1968) PP.961-964.

Kurtzman, C.P. , Horn, B. and W. Hesseltine. "*Aspergillus nomius* , A New Aflatoxin Producing Species Related to *Aspergillus flavus* and *Aspergillus tamarii*." Antnie van Leeuw. , no. 53 (1987) PP. 147-158.

Mabrouk ,S.S. and N.M.A. EI-Shayeb. "Effect of Some Salts on Aflatoxin Formation by *Aspergillus flavus.*" Chem. Microbiol.Technol .Lebensm. , no.6 (1980) PP. 183-185.

Masri,M.S.,Vix,H.L.E and L.A.Goldblatt."Process for Detoxifying Substances Contaminate with Aflatoxin."U.S.Patent , no.3 (Feb.1969) PP. 429, 709.

Norred,W.P. "Effect of Ammoniation on Toxicity of Corn Artificially Contaminated with Aflatoxin B_1."Toxicol .App. Pharmacol. , no.51 (1979) PP. 411-416.

O-aryakul, N. Detoxification of Aflatoxin Contaminated Peanuts by Chemicals Method: M.S.Thesis. Chiang Mai : Chiang Mai University.1985.

Pitt, J.I. and A.D. Hocking. "Fungi and Food Spoilage." Academic Press. Austraila , (1985) PP. 413

Pomeranz, Y. and Clifton E.Mcloan. Theory and practice. 1987.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sargeant, K. and others. "The Assay of a Toxic Principle in Certain Groundnut Meal." Vet. Rec. no.73 (1961a) PP. 1291.

Sargeant, K. and others. "Toxicity Associated with Certain Samples of Groundnut." Nature, no.192 (1961b) PP. 1096 - 1097.

Seitz,L.M. and H.E. Mohr. "A New Method for Quantitation of Aflatoxin in Corn." Cereal chem. , no.54 (1977) PP.179-183.

Shank, R.C. and C.N. Wogan. "Dietary Aflatoxins and Human Liver Cancer II : Aflatoxin in Market Foods and Foodstuffs of Thailand and Hong Kong." Fd. Cosmet. Toxical. , no. 10 (1972) PP. 61-69.

Shank, R.C. and others. "Dietary Aflatoxins and Human Liver Cancer III : Field Survey of Rural Thai Families for Ingested Aflatoxins." Fd. Cosmet. Toxicol., no. 10 (1972) PP. 71.

Shih,C.N. and E.H, Marth . "Production of Aflatoxin in A Medium Fortified with Sodium Chloride." J. Dairy Sci . 55 (1972): PP 1415-1419.

Smith, J.W. and P.B. Hamilton. "Aflatoxicosis in Broiler Chickens." Poultry Sci.. no. 49 vol.1 (1971) PP. 207 - 215.

Thanaboripat, D. and others. "Effect of Sodium Chloride, Propionic Acid and Ammonium Hydroxide on Growth of *A. flavus* on Corn and Aflatoxin Production." ASEAN Food J. , no.7 vol.1 (1992) PP.24-29.

Torres, J. and others. " Morphological Changes in Strains of *Aspergillus flavus* Link Ex Fries and *Aspergillus parasiticus* Spears Related with Aflatoxin Production." Mycopathologia , no. 72 vol. 3 (1980) PP. 171-174.

Uraih, N. and J.R. Chipley. "Effects of Various Acids and Salts on Growth and Aflatoxin Production by *Aspergillus flavus* NRRL 3145."Microbios. , no.17 (1976) PP. 51-59.

WHO .Environmental Health Criteria II : Mycotoxins. World Health Organnization, Geneva. 1979.

Wogan, G.N. "Chemical Nature and Biological Effect of Aflatoxins."Bacteriol. Rev. , no. 30 (1966) PP. 460.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้