สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การป้องกันการเจริญของเชื้อรา Aspergillus flavus และการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงโดยใช้เกลือ

นายกิตติศักดิ์ จิตต์อารี

นายทวีรัตน์ เกียรติสมภพ

นายวรสิทธิ์ ปานช้าง

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2535

วศ.
ก677ก
2535
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....
วัน,เดือน,ปี.....
b12525583

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

CONTROL OF *ASPERGILLUS FLAVUS* AND AFLATOXIN PRODUCTION IN PEANUT BY SALT

Mr.Kitisak Chitaree

Mr.Taweerat Kaitsompob

Mr.Worasith Panchang

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement for the Degree of Bachelor of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

1992

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การป้องกันการเจริญของเชื้อรา Aspergillus flavus และการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงโดยใช้เกลือ

โดย นายกิติศักดิ์ จิตต์อารี

นายทวีรัตน์ เกียรติสมภพ

นายวรสิทธิ์ ปานช้าง

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.ดุษฎี ธนะบริพัฒน์

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้นับโครงงานพิเศษ

ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต

(.....) หัวหน้าภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

(ผศ.เนาวรัตน์ ปานแย้ม)

คณะกรรมการสอบโครงงานพิเศษ

..... ประธานกรรมการ

(ผศ.เนาวรัตน์ ปานแย้ม)

..... กรรมการ

(ผศ.ดร.ดุษฎี ธนะบริพัฒน์)

..... กรรมการ

(อ.อรไท สุขเจริญ)

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การป้องกันการเจริญของเชื้อรา Aspergillus flavus และ การสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงโดยใช้เกลือ
นักศึกษา	นายกิติศักดิ์ จิตต์อารี
	นายทวีรัตน์ เกียรติสมภพ
	นายวรสิทธิ์ ปานช้าง
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.ดุษณี ธนะบริพัฒน์
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
ปีการศึกษา	2534

บทคัดย่อ

จากการศึกษาถึงการป้องกันการเจริญของเชื้อรา Aspergillus flavus และการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงโดยใช้เกลือบ่น ที่ระดับความเข้มข้น 20,40, 80, 120 และ 160 มิลลิกรัมต่อกรัมถั่วลิสง พบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อราในถั่วลิสงที่ไม่เติมเกลือบ่น เชื้อราจะสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน 11.25 และ 3.75 ไมโครกรัมต่อกรัม ในวันที่ 7 และ 14 ตามลำดับ และถั่วลิสงที่เติมเกลือที่ปริมาณความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อกรัมถั่วลิสง จะมีสารพิษอะฟลาทอกซินเพิ่มขึ้นเป็น 16.68 และ 6.90 ไมโครกรัมต่อกรัม ในวันที่ 7 และ 14 ตามลำดับ แต่ถ้าเติมเกลือที่ปริมาณความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อกรัมถั่วลิสง จะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ และการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน โดยในวันที่ 14 จะมีปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินเพียง 3.40 ไมโครกรัมต่อกรัม และที่ความเข้มข้นของเกลือ 80, 120 และ160 มิลลิกรัมต่อกรัมถั่วลิสงจะยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้อย่างสมบูรณ์ โดยปริมาณการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน จะลดลงตามความเข้มข้นของเกลือที่เพิ่มขึ้น แต่ถ้ามีความเข้มข้นของเกลือในปริมาณน้อยจะช่วยกระตุ้นให้มีการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้มากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	Control of *Aspergillus flavus* and aflatoxin production in peanut by salt
Name	Mr.Kitisak Chitaree Mr.Taweerat Kiatsompob Mr.Worasith Panchang
Special Project Advisor	Asst.Prof.Dr.Dusanee Thanaboripat
Department	Applied Biology
Academic Year	1991

Abstract

The use of various salt concentrations for controlling *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin production in peanut was investigated. When *A. flavus* was grown in peanut alone, aflatoxin was produced with the yield of 11.25 and 3.75 g/g at day 7 and 14 subsequently. Aflatoxin production was enhanced when the culture was added with 20 mg/g of salt and the yields were 16.68 and 6.90 g/g at day 7 and 14 respectively. The concentration of salt added to the culture at 40 mg/g could reduce the growth and aflatoxin production. Aflatoxin was produced only in day 14 with the yield of 3.4 g/g. However, no growth of *A. flavus* and aflatoxin production were detected when the cultures were addded with salt at concentrations of 80, 120 and 160 mg/g. The result indicated that the higher concentration of salt inhibited the growth and aflatoxin production whereas the lower concentration had the reverse effect.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้ สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความอนุเคราะห์จาก ผศ.ดร.ดุษณี ธนะบริพัฒน์ ผู้เป็นอาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์อรไท สุขเจริญ และอาจารย์ทุกท่านที่ได้สละเวลาอันมีค่าให้คำปรึกษา และชี้แนวทางที่เป็นประโยชน์ รวมทั้งให้ข้อคิดเห็น และข้อเสนอแนะ ที่เป็นประโยชน์ต่อโครงงานพิเศษนี้ ซึ่งผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้

ท้ายสุดนี้ ผู้เขียนขอขอบพระคุณ สถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร ภาควิชาสถิติประยุกต์ และเพื่อนนักศึกษา รวมทั้งท่านผู้มีอุปการะคุณที่มิอาจกล่าวนามได้ครบถ้วน ณ ที่นี้ ที่ได้ช่วยเหลือเป็นกำลังใจ กำลังความคิด ตลอดจนการให้ความร่วมมือในเรื่องต่างๆ เป็นอย่างดี

คณะผู้จัดทำ

มีนาคม 2535

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญรูป	จ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักเกณฑ์ที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 ประวัติของอะฟลาทอกซิน	3
2.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตอะฟลาทอกซิน	9
2.3 กระบวนการสังเคราะห์อะฟลาทอกซิน	18
2.4 การเปลี่ยนแปลงของอะฟลาทอกซิน	19
2.5 ผลของอะฟลาทอกซิน	20
2.6 อะฟลาทอกซินในถั่วลิสง	23
2.7 ปัจจัยที่มีผลต่อการเข้าทำลายของเชื้อราที่ผลิตอะฟลาทอกซินบนเมล็ดและฝักถั่วลิสง	27
2.8 วิธีการทำลายเมล็ดของเชื้อราที่สร้างอะฟลาทอกซินและการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น	28
2.9 กลไกการต้านทานต่อเชื้อราที่ผลิตอะฟลาทอกซิน	29
2.10 การป้องกันกำจัดเชื้อรา และสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน	33
2.11 การศึกษาการป้องกันการเจริญของเชื้อรา Aspergillus flavus และการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงโดยใช้เกลือ	40
บทที่ 3 ขั้นตอนการดำเนินงาน	42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เรื่อง หน้า

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ 50

4.1 ผลการศึกษาผลของการใช้เกลือ ต่อการเจริญของเชื้อ 50
Aspergillus flavus ในอาหาร malt extract agar

4.2 ผลการศึกษาผลของการใช้เกลือต่อการเจริญของเชื้อ 53
Aspergillus flavus ในถั่วลิสง

4.3 ผลการศึกษาผลของการยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซิน 56
ในถั่วลิสงโดยใช้เกลือ

4.4 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ 58

บทที่ 5 บทสรุปและข้อเสนอแนะ 62

ภาคผนวก 63

เอกสารอ้างอิง 69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2-1	แสดงน้ำหนักโมเลกุล และจุดหลอมตัวของอะฟลาทอกซิน B_1, B_2, G_1, G_2	6
2-2	ปริมาณอะฟลาทอกซินที่พบจากสารอาหาร ในประเทศไทย	8
2-3	มาตราฐาน ปริมาณอะฟลาทอกซินในอาหารของประเทศต่างๆ	23
4-1	ผลของการใช้เกลือต่อการเจริญของเชื้อ Aspergillus flavus บนอาหาร malt extract agar	51
4-2	ผลของการใช้เกลือต่อการเจริญบนถั่วลิสงของเชื้อ Aspergillus flavus	53
4-3	ผลการยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงโดยใช้เกลือ	57
4-4	ผลการวิเคราะห์โดย ANOVA สำหรับการยับยั้ง การสร้างอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงโดยใช้เกลือ	58
4-5	ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของอิทธิพลรวม โดยวิธี DMRT	59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2-1	แสดงสูตรโครงสร้างของอะฟลาทอกซินชนิดต่างๆ	5
2-2	แหล่งคาร์บอนของกลุ่มเมทิลจากกรดแอซิติค และกรดเมทไทโอนีน ในโมเลกุลของอะฟลาทอกซิน	10
2-3	การสังเคราะห์สารพิอะฟลาทอกซิน B_1	17
3-1	ตู้บ่ม (incubator)	48
3-2	เครื่องกลั่นระเหยระบบสูญญากาศ	48
3-3	เครื่อง HPLC ที่ใช้ในการทดลองรุ่น LC-6AD	49
3-4	เครื่องกรองที่ในการทดลองสำหรับ HPLC	49
4-1	แสดงผลการเจริญเติบโตของเชื้อ Aspergillus flavus บนอาหาร malt extract agar ที่มีเกลือป่นผสมอยู่	52
4-2	แสดงผลการเจริญเติบโตของเชื้อ Aspergillus flavus บนอาหาร malt extract agar ที่มี NaCl ผสมอยู่	52
4-3	แสดงการเจริญของเชื้อรา Aspergillus flavus บนถั่วลิสงที่มีเกลือป่นระดับต่างๆ กัน (สัปดาห์ที่ 1)	54
4-4	แสดงการเจริญของเชื้อรา Aspergillus flavus บนถั่วลิสงที่มีเกลือป่นระดับต่างๆ กัน (สัปดาห์ที่ 2)	54
4-5	แสดงการเจริญของเชื้อรา Aspergillus flavus บนถั่วลิสงที่มีเกลือป่นระดับต่างๆ กัน (สัปดาห์ที่ 3)	55
4-6	แสดงการเจริญของเชื้อรา Aspergillus flavus บนถั่วลิสงที่มีเกลือป่นระดับต่างๆ กัน (สัปดาห์ที่ 4)	55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

065

บทนำ

ดังที่ทราบแล้วว่า ปัญหาของถั่วลิสง คือ สารพิษที่มีอยู่ในเมล็ด ซึ่งสร้างโดยเชื้อราบางชนิด โดยเฉพาะกลุ่ม Aspergillus flavus สารพิษนี้มีชื่อว่าอะฟลาทอกซิน (affatoxins) เป็นสารที่ไม่ละลายน้ำ และทนความร้อนได้สูงถึง 260 °ซ. (ศรีสิทธิ์ 2515) ดังนั้น การนำเมล็ดถั่วลิสงที่มีสารพิษมาล้างทำความสะอาด หรือใช้ความร้อนในการหุงต้ม จะไม่ทำลายสารพิษนี้ได้ จากการสำรวจอาหารและเครื่องบริโภคในประเทศไทย พบว่า ถั่วลิสงมีเชื้อราขึ้นมากที่สุด และส่วนใหญ่เป็น Aspergillus flavus (Shank et al., 1972a) นอกจากนั้น เชื้อ A. flavus ที่แยกได้จากเมล็ดถั่วลิสงยังสามารถผลิตอะฟลาทอกซินได้ในปริมาณมากที่สุด (อุทัยวรรณ 2522) และมีหลายสายเชื้อที่สร้างสารพิษได้ (Schroeder and Boller, 1973)

เนื่องจากสารพิษอะฟลาทอกซินมีอันตรายต่อผู้บริโภคมาก จึงควรป้องกัน และกำจัดสารพิษนี้ ซึ่งวิธีลดหรือทำลายความเป็นพิษทำได้ทั้งทางเคมี ชีววิทยา และฟิสิกส์ แต่วิธีที่เหมาะสมสำหรับประเทศไทยนั้น น่าจะเป็นวิธีทางเคมี คือ การใช้สารเคมีมายับยั้งการเจริญของเชื้อรา โดยสารเคมีที่นำมาใช้ได้นั้น มีอยู่หลายชนิดเช่น กรดเบนโซอิค โซเดียมเบนโซเอท แอมโมเนีย แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ แต่มีสารเคมีอีกตัวหนึ่งคือ เกลือแกง ซึ่งเป็นสารเคมีที่มีอยู่มากมายในประเทศไทย และมีราคาถูก จึงควรที่จะมีการนำมาใช้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา ซึ่งถ้าประสบความสำเร็จก็จะทำให้ถั่วลิสงที่ผลิตได้ของประเทศไทย มีปริมาณของสารพิษอะฟลาทอกซินลดลง ทำให้มีความปลอดภัยต่อการบริโภค และสามารถส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศได้

วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1. ศึกษาถึงการเจริญของเชื้อรา Aspergillus flavus บนอาหาร malt extract agar ที่มีระดับความเข้มข้นของเกลือต่างๆ กัน

2. ศึกษาถึงการเจริญของเชื้อรา Aspergillus flavus ในถั่วลิสง ที่มีระดับความเข้มข้นของเกลือต่างๆ กัน และรวมถึงปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินที่เชื้อราสร้างขึ้นด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

1. สามารถทราบว่าที่ระดับความเข้มข้นของเกลือเท่าใดจะยับยั้งการเจริญของเชื้อรา Aspergillus flavus ได้ดี

2. สามารถทราบได้ว่าที่ระดับความเข้มข้นของเกลือเท่าใด จะทำให้เชื้อรา Aspergillus flavus สร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้น้อยที่สุด

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพื่อเป็นแนวทางในการนำเอาสารเคมีที่มีราคาถูก เช่น เกลือ มาใช้ประโยชน์ในการควบคุมการเจริญของเชื้อรา และการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน

2. สามารถเก็บรักษาถั่วลิสงให้มีคุณภาพดี เป็นระยะเวลานานได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

2.1 ประวัติของอะฟลาทอกซิน

สารพิษอะฟลาทอกซินถูกค้นพบเป็นครั้งแรกในปี ค.ศ.1960 เนื่องจากเกิดโรคระบาดของไก่งวงในประเทศอังกฤษ สาเหตุเพราะกินกากถั่วเหลือง ซึ่งสั่งเข้ามาจากนอกประเทศแล้วเกิดล้มตายนับแสนตัว แต่ก็ยังไม่ทราบว่าสาเหตุของโรคโดยแท้จริงว่าเกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ชนิดใด จึงเรียกโรคชนิดนี้ว่า Turkey X disease (Blount, 1961 และ Goldblatt, 1969) ภายหลังได้มีรายงานเกี่ยวกับโรคระบาดชนิดเดียวกันเกิดขึ้นกับเป็ดและไก่ฟ้า ในประเทศเคนยาและยูกานดา และโรคระบาดในปลาเทราท์ในประเทศสหรัฐอเมริกา จากการศึกษาค้นคว้าถึงสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคนี้ในประเทศอังกฤษ พบว่าโรค Turkey X disease นี้เกี่ยวข้องกับถั่วลิสง ซึ่งสั่งซื้อมาจากประเทศบราซิล เพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์ ภายหลังจากการนำเอาถั่วลิสงเหล่านี้ มาเลี้ยงกับเป็ดทดลองแล้ว ปรากฏว่าเกิดอาการเป็นพิษเช่นเดียวเป็ดและไก่งวงในระยะที่มีโรคระบาด คือ มีอาการซึม เบื่ออาหาร ปีกตก คอตก ขาอ่อน เพลีย และตายในที่สุด ผลจากการตรวจทางพยาธิวิทยาของอวัยวะต่างๆ พบว่า ตับเป็นอวัยวะที่ถูกทำลายมากที่สุด (ดุษณี, 2530)

Sargeant และคณะ (1961) ทำการสกัด และแยกสารพิษออกจากกากถั่วลิสงจากประเทศบราซิล พบว่าสามารถแยกเชื้อ Aspergillus flavus ซึ่งเป็นเชื้อราที่มีชีวิตอยู่ และสามารถสร้างสารพิษได้เมื่อนำไปเลี้ยงบนอาหารวุ้น สารพิษที่ถูกสร้างขึ้นจากเชื้อราชนิดนี้เป็นชนิดเดียวกับที่พบจากส่วนสกัดของถั่วลิสงที่เป็นพิษ ดังนั้นสารพิษที่ได้จากเชื้อรา จึงเรียกว่า อะฟลาทอกซิน (AFLATOXIN) ตามชื่อของเชื้อราที่สร้างนั่นเอง จากการศึกษาต่อๆ มาพบว่าสารพิษอะฟลาทอกซินนี้เป็นสารที่ก่อให้เกิดมะเร็งในสัตว์ การกินอาหารที่มีสารพิษชนิดนี้เข้าไปในระยะสั้นๆ ก็เพียงพอ ที่จะทำให้เกิดเนื้องอกได้ (ธีระยุทธ และชัยวัฒน์, 2524)

อะฟลาทอกซินเป็นกลุ่มของสารเคมีพวกบิส-ฟิวราโนคิวมาริน (bisfuranocoumarin) ที่มีสูตรโครงสร้างคล้ายคลึงกัน อะฟลาทอกซินเป็น secondary metabolite ที่เกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของเชื้อราบางชนิด อะฟลาทอกซินแบ่งเป็น 4 ชนิด ตามการเรืองแสง ภายใต้แสงอุลตราไวโอเลต (ultraviolet) และค่า R_f บนแผ่น thin layer chromatography คือ B_1, B_2,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

G_1 และ G_2 โดย B_1 และ B_2 จะเรืองแสงสีน้ำเงินภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต ส่น G_1 และ G_2 จะเรืองแสงสีเขียวภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต (Hartley, 1963)

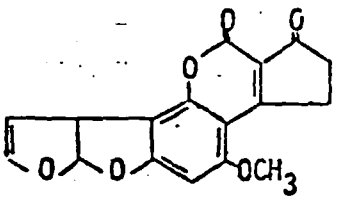
ศุภกิจและคณะ (2520) รายงานว่า อะฟลาทอกซินที่กำลังศึกษาอยู่ขณะนี้ มี 12 ชนิดคือ B_1, B_2, G_1, G_2, M_1, M_2, B_{2a}, G_{2a}, P_1, Q_1, R_o และ GM_1 แต่ที่พบในอาหารเลี้ยงเชื้อและอาหารทั่วไปมีเพียง B_1, B_2, G_1, G_2, M_1, M_2, B_{2a} และ G_{2a}

จากสูตรโครงสร้างของอะฟลาทอกซินต่างๆ ดังแสดงในรูปที่ 2-1 จะเห็นได้ว่า ชนิด B_1 แตกต่างจาก B_2 ตรงที่มีพันธะคู่ (double bond) ที่วงแหวนวงที่หนึ่ง ส่น B_1 และ G_1 แตกต่างกันตรงที่ B_1 ไม่มีกลุ่มแล็กโตน (lacone group) ในวงแหวนที่ห้า การที่อะฟลาทอกซินมีสูตรโครงสร้างทางเคมีแตกต่างกัน ทำให้ความรุนแรงของการเกิดพิษแตกต่างกันไปด้วย กล่าวคือการที่อะฟลาทอกซินมีพันธะคู่ ในวงแหวนที่หนึ่ง และไม่มีกลุ่มแล็กโตนที่วงแหวนที่ห้า จะทำให้เกิดการเป็นพิษอย่างเฉียบพลัน และมีผลทำให้เกิดมะเร็งที่ตับเพิ่มขึ้น ความเป็นพิษของอะฟลาทอกซินจะเรียงตามความรุนแรงได้ดังนี้ คือ B_1, G_1, B_2 และ G_2 ตามลำดับ

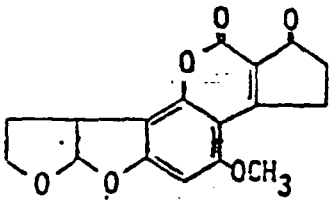
อะฟลาทอกซิน G_2 และ B_2 เป็น dihydroxderivative ของอะฟลาทอกซิน B_1 และ G_1 ส่น M_1 และ M_2 นั้น เป็น hydroxylated metabolite ของอะฟลาทอกซิน B_1 และ B_2 มักพบในน้ำนมและปัสสาวะของสัตว์ที่ได้รับอะฟลาทอกซิน B_1 และ B_2 เข้าไป อะฟลาทอกซิน B_{2a} และ G_{2a} เกิดจากการ hydration ของอะฟลาทอกซิน B_2 และ G_2 เช่น การทำปฏิกิริยาของอะฟลาทอกซิน B_2 และ G_2 กับ trifluorqacetic acid จะได้อะฟลาทอกซิน B_{2a} และ G_{2a} อะฟลาทอกซิน P_1, Q_1 และ R_o เป็น metabolite ของอะฟลาทอกซิน B_1 อะฟลาทอกซิน P_1 และ Q_1 อาจพบได้ในปัสสาวะของคนหรือสัตว์ ส่นอะฟลาทอกซิน R_o นั้นเกิดจากการเปลี่ยนแปลง B_1 โดยเซลล์ตับของร่างกาย

Wogan (1966) รายงานว่า น้ำหนักโมเลกุล และจุดหลอมตัวของอะฟลาทอกซิน B_1, B_2, G_1 และ G_2 มีค่าดังแสดงในตารางที่ 2-1

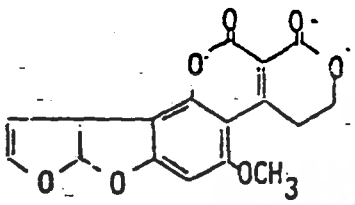
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



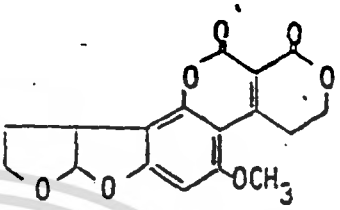
B_1 $C_{17}H_{12}O_6$



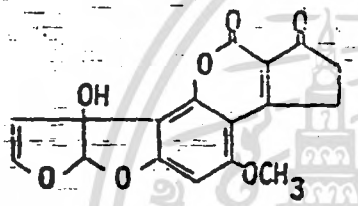
B_2 $C_{17}H_{14}O_6$



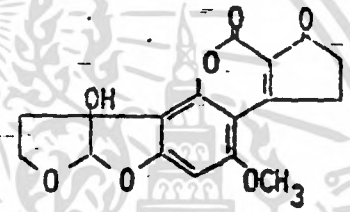
G_1 $C_{17}H_{12}O_7$



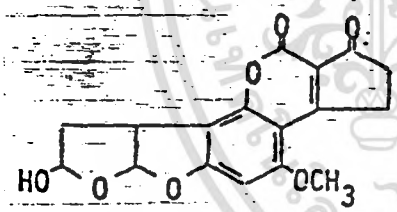
G_2 $C_{17}H_{14}O_7$



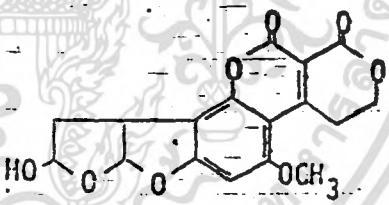
M_1 $C_{17}H_{12}O_7$



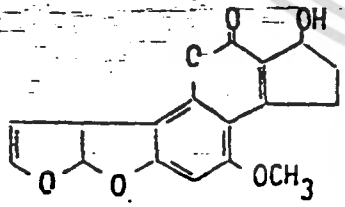
M_2 $C_{17}H_{14}O_7$



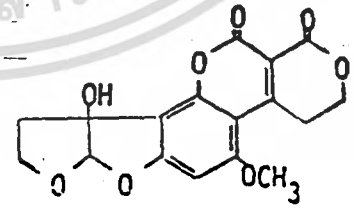
B_{2a} $C_{17}H_{14}O_7$



G_{2a} $C_{17}H_{14}O_8$



R_0 $C_{17}H_{16}O_6$



GM_1 $C_{17}H_{12}O_8$

รูปที่ 2-1 แสดงสูตรโครงสร้างของอะฟลาทอกซินชนิดต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Davis และ Diener (1983) ได้รายงานว่า เชื้อรา A. flavus เจริญได้ดี และพบมากในข้าวโพดนั้นสร้างอะฟลาทอกซิน B_1 ได้ส่วนมากและ B_2 เล็กน้อย ในขณะที่ A. parasiticus เป็นเชื้อที่ทำลายถั่วลิสงมาก และสามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้ครบทั้ง B_1, B_2, G_1 และ G_2 ที่เป็นเช่นนี้เพราะ เชื้อ A. parasiticus นี้ปรับตัวอยู่ในดินได้ดีในขณะที่ A. flavus แพร่กระจายได้ดีในอากาศ ดังนั้นสารพิษอะฟลาทอกซินที่พบในข้าวโพดส่วนใหญ่คือ B_1

ตารางที่ 2-1 แสดงน้ำหนักโมเลกุลและจุดหลอมตัว ของอะฟลาทอกซิน B_1, B_2, G_1 และ G_2

ชนิดของอะฟลาทอกซิน	น้ำหนักโมเลกุล	จุดหลอมตัว ($^{\circ}$ ซ)
B_1	312	268-269
B_2	314	286-289
G_1	328	244-246
G_2	330	237-240

Glinsukol และคณะ (1976) ทำการตรวจเชื้อราที่ขึ้นอยู่บนอาหารในประเทศไทย พบว่า ถั่วลิสงมีเชื้อราพวก Aspergillus ขึ้นอยู่มากและพบว่า Aspergillus flavus และ Aspergillus parasiticus สามารถผลิตอะฟลาทอกซิน B_1, B_2, G_1 และG_2 ส่วน Aspergillus flavus var. columnaris สร้างได้เฉพาะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อะฟลาทอกซิน B_2 เท่านั้น อะฟลาทอกซินที่สร้างจากเชื้อราชนิดต่าง ๆ มีปริมาณ และชนิดแตกต่างไปตามชนิดของเชื้อรา แต่ทั้งนี้พบว่า Aspergillus flavus และ Aspergillus parasiticus สามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้มากกว่าเชื้อราชนิดอื่น

A. flavus บางสายเชื้อก็ไม่สามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้ จากรายงานในส่วนต่างๆ ของโลกพบว่าเชื้อ A. flavus สามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้แตกต่างกันออกไป จำนวนโดยประมาณ A. flavus ที่สร้างอะฟลาทอกซินได้เป็นดังนี้คือ อังกฤษ 75 เปอร์เซ็นต์ อาฟริกาใต้ 52 เปอร์เซ็นต์ อินเดีย 6 เปอร์เซ็นต์ อิสราเอล 71 เปอร์เซ็นต์ เนเธอแลนด์ 40 เปอร์เซ็นต์ และสหรัฐอเมริกา 86 เปอร์เซ็นต์ (ธีระยุทธและชัยวัฒน์, 2524) สำหรับประเทศไทย Glinsukol และคณะ (1976) ได้รายงานว่า พบจำนวน A. flavus ที่สามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้นั้นมีจำนวน 80 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจึงพบว่าในในบางครั้งตรวจพบเชื้อรา A. flavus เจริญบนอาหาร แต่ไม่พบอะฟลาทอกซินปะปนอยู่ด้วย

Shank และคณะ (1972a, b) ทำการตรวจอะฟลาทอกซินในอาหารชนิดต่างๆ ในประเทศไทยได้ผลดังตารางที่ 2-2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2-2 ปริมาณอะฟลาทอกซินที่พบจากสารอาหารในประเทศไทย

ชนิดอาหาร	จำนวนอาหารที่มีอะฟลาทอกซิน (%)	ปริมาณอะฟลาทอกซิน	
		ค่าเฉลี่ย	ค่าสูงสุด
ถั่วลิสง	49	1,530	12,256
ข้าวโพด	35	400	2,370
พริกแห้ง	11	125	966
กุ้งแห้ง, ปลาแห้ง	5	166	772
ถั่วเขียว	5	16	112
งา	3	1	10
หัวหอม, หัวกระเทียม	3	67	60
ข้าวชนิดต่างๆ	2	20	98

Kurtzman, Horn และ Hesseltine (1987) รายงานว่า A. nomuis เป็นเชื้อรา อีกสายเชื้อหนึ่งที่สามารถสร้าง อะฟลาทอกซินได้ โดยคาดว่า A. nomuis เป็นสายเชื้อที่กลายพันธุ์มาจาก A. flavus และ A. tamarii

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตอะฟลาทอกซิน

2.2.1 ชนิดของเชื้อรา

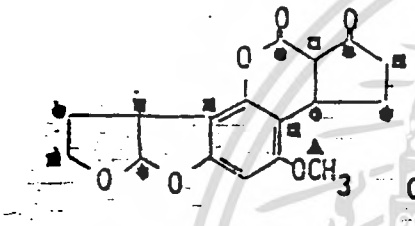
Glinsukol และคณะ (1976) รายงานว่า Aspergillus flavus และ Aspergillus parasiticus สามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้ดีกว่าเชื้อราชนิดอื่น ซึ่งการสร้างอะฟลาทอกซินมีความแตกต่างกันทั้งด้านปริมาณและชนิดของอะฟลาทอกซิน ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากเชื้อราต่างชนิดกัน

2.2.2 แหล่งอาหาร

Maggon และคณะ (1977) ได้อธิบายถึงการเจริญของเชื้อรา A. flavus และการสร้างอะฟลาทอกซินว่า โดยปกติแล้วเชื้อรานี้จะเจริญสร้างใยราและสปอร์เท่านั้น ตราบจนกระทั่งปริมาณของ ฟอสเฟต ไนโตรเจน หรือธาตุอาหารรองบางชนิดถูกจำกัดการเจริญจะช้าลงเกิดการสะสมของ pyruvate, malonate, acetate, amino acid ทำให้เกิดการพัฒนาและกระตุ้นในกิจกรรมของเอนไซม์บางชนิดให้สร้าง secondary metabolites ขึ้น ในเชื้อ A. flavus สายเชื้อที่สร้างสารพิษได้ พบว่ากระบวนการ polyketide biosynthesis pathway จะสังเคราะห์อะฟลาทอกซินขึ้นแทนการสังเคราะห์ fatty acid ปกติ

เมื่อศึกษาถึงกระบวนการสังเคราะห์อะฟลาทอกซินจากเชื้อราเมื่อเลี้ยงในอาหารกึ่งสังเคราะห์ (semisynthetic medium) โดยใช้สารกัมมันตภาพรังสีที่เป็นแหล่งอาหารชนิดต่างๆ พบว่าธาตุอาหารที่มีโมเลกุลใหญ่จะถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็นกรดแอซีติก ซึ่งใช้เป็นสารเริ่มต้นที่ให้คาร์บอนและออกซิเจนในโมเลกุลของอะฟลาทอกซินเป็นส่วนใหญ่ นอกจากกรดแอซีติกแล้ว กรดอะมิโนเมทไทโอนีน (methionine) จะเป็นแหล่งของคาร์บอนของกลุ่มเมทิล (methyl group) ในโมเลกุลของอะฟลาทอกซินอีกด้วย ดังรูปที่ 2-2 ดังนั้นการนำเชื้อรามาเลี้ยงบนอาหารชนิดต่างๆ กัน จะทำให้ปริมาณของอะฟลาทอกซินที่ถูกสร้างขึ้นแตกต่างกันออกไปด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



CH_3COOH Acetic acid C^{14} = ■ C, ● C

$CH_3SCH_2CH_2(NH_2)COOH$ Methionine C^{14} = ▲ C

รูปที่ 2-2 แหล่งคาร์บอนของกลุ่มเมทิล จากกรดแอซีติค และกรดเมทไทโอนีน ในโมเลกุลของอะฟลาทอกซิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2.1 แหล่งไนโตรเจน

ชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนมีความสำคัญต่อการสร้างอะฟลาทอกซินมาก Reddy และคณะ (1971) ได้รายงานว่าการเพิ่ม aspartic acid และ asparagine ในสารอาหารจะกระตุ้นให้เชื้อราสังเคราะห์อะฟลาทอกซินเพิ่มขึ้น Davis และ Diener (1983) ได้อธิบายสาเหตุที่ aspartate และ asparagine มีอิทธิพลต่อการสังเคราะห์อะฟลาทอกซินมากที่สุด เพราะ aspartate ถูกใช้เป็นองค์ประกอบของ tricarboxylic acid (TCA) intermediate และเป็นตัวให้ acetate เพื่อสร้าง secondary metabolite เมื่อศึกษาถึงกระบวนการสร้างอะฟลาทอกซินโดยใช้อาหารสังเคราะห์ พบว่าแหล่งอาหารไนโตรเจนที่ทำให้เชื้อราสร้างอะฟลาทอกซินได้ดีคือ เกลือ แอมโมเนียต่างๆ โดยเฉพาะแอมโมเนียมซัลเฟต แต่อย่างไรก็ตามการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อราที่ใช้เกลือแอมโมเนียมซัลเฟตนั้นยังสร้างได้น้อยกว่าเมื่อใช้ส่วนสกัดของข้าวโพด คือ casamino acid ส่วนสกัดของยีสต์ (yeast extract) และเป็บโตน (peptone) (ธีระยุทธ และชัยวัฒน์, 2524)

2.2.2.2 แหล่งคาร์บอน

การเพิ่มอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจน สัมพันธ์กับการสร้างอะฟลาทอกซิน เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของคาร์โบไฮเดรตจนถึงระดับหนึ่ง ทำให้เชื้อราสร้างสารพิษได้เพิ่มขึ้น Shih และ Marth (1974) ได้เลี้ยง A. parasiticus ในสารอาหาร พบว่า อะฟลาทอกซินถูกสร้างสูงสุดที่ความเข้มข้นของกลูโคส 30 เปอร์เซ็นต์ และแอมโมเนียมซัลเฟต 1 เปอร์เซ็นต์ แต่เชื้อราที่มีน้ำหนักแห้งของใยราสูงสุดที่ความเข้มข้นกลูโคส 10 เปอร์เซ็นต์ สำหรับธาตุอาหารที่เป็นแหล่งคาร์บอนให้แก่เชื้อรานั้น ได้แก่ น้ำตาลชนิดต่างๆ เช่น sucrose, fructose, xylose, ribose แต่พบว่า sucrose ช่วยทำให้เชื้อราสร้างอะฟลาทอกซินได้ดีที่สุด (ธีระยุทธ และชัยวัฒน์, 2524)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2.3 เกลือแร่

เกลือแร่ที่สำคัญที่ช่วยทำให้เชื้อราสร้างอะฟลาทอกซินได้ดี คือ สังกะสี (zn^{2+}) (Nesbitt et al, 1962) ถ้าขาดสังกะสีอะฟลาทอกซินจะถูกสร้างน้อยลง ทั้งนี้เนื่องจากสังกะสีไปกระตุ้นเอนไซม์ ในกระบวนการ glycolysis และกระตุ้นให้สะสม adenosinemono phosphate (AMP) เพิ่มขึ้น ซึ่ง AMP อาจเป็นสาเหตุให้ระงับการสังเคราะห์ไขมัน แต่กลับสร้างอะฟลาทอกซินแทน (Gupta et al, 1976; Davis and Diener, 1983) นอกจากนี้ Lillehoj และคณะ (1974) ได้ศึกษาอิทธิพลของแร่ธาตุอาหารรองที่มีต่อการเข้าทำลายของเชื้อ A. flavus และการสร้างสารอะฟลาทอกซินในข้าวโพด พบว่านอกจากสังกะสีแล้ว แมงกานีสและทองแดงก็กระตุ้นการสร้างอะฟลาทอกซินที่ส่วน germ ของข้าวโพดมากขึ้น

ในการศึกษาถึงส่วนใดของเมล็ดข้าวโพดที่มีเชื้อราเจริญได้ดีที่สุด พบว่าส่วน germ มีเชื้อราอยู่ 54-68 เปอร์เซ็นต์ ส่วนปลายสุดเมล็ด 48 เปอร์เซนต์ และพบน้อยที่สุดคือ ส่วน เอนโดสเปิร์ม 12-38 เปอร์เซ็นต์ (Fenell et al, 1973; Rambo et al, 1974; Jones et al, 1980)

2.2.3 ปฏิกิริยาระหว่างเชื้อจุลินทรีย์ด้วยกัน

บนอาหารทั่วไป มักมีเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิดขึ้นปะปนกัน และเชื้อเหล่านี้มีปฏิกิริยาต่อกัน ซึ่งเป็นผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารพิษของ A. flavus โดยแบ่งออกได้ดังนี้ คือ

2.2.3.1 ปฏิกิริยาของเชื้อที่ทำให้เชื้ออีกชนิดหนึ่งเจริญเติบโตได้น้อย เช่น ในถั่วลิสง พบว่าเชื้อ Bacillus, Rhizoctonia และหรือ A. niger ทำให้ A. flavus เจริญได้น้อย จึงมีการสร้างอะฟลาทอกซินได้น้อยลง (อรพิน, 2526) Boller และ Schroeder (1974) ศึกษาความสัมพันธ์ของ A. parasiticus และเชื้อรา A. chevalieri Thom and Church ที่เลี้ยงบนข้าวที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ในตัวอย่างที่ใส่เชื้อทั้งสองชนิดนี้ลงบนอาหารในเวลาเดียวกันพบว่ามีการสร้างอะฟลาทอกซินบนอาหารต่ำกว่าตัวอย่างอื่นๆ Hunter (1969) พบว่าเชื้อ A. flavus สร้างอะฟลาทอกซินเพิ่มขึ้น 24-117 เท่าเมื่อเลี้ยงเชื้อบนเมล็ดข้าวโพดที่ทำการฆ่าเชื้อแล้ว เมื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปรียบเทียบกับการเลี้ยงเชื้อบนเมล็ดข้าวโพดที่ไม่ได้ฆ่าเชื้อ ทำให้มีเชื้อราอื่นๆ ขึ้นมาแข่งขันด้วย Lillehoj และคณะ (1980c) ได้รายงานถึงความสามารถของเชื้อ A. flavus ที่มีเหนือ A. parasiticus ในการเข้าทำลายเมล็ดข้าวโพดและสร้างอะฟลาทอกซิน

2.2.3.2 ปฏิกิริยาที่ทำให้เชื้อจุลินทรีย์ อีกชนิดหนึ่งสร้างสารบางตัวไม่ได้ เช่น ในถั่วลิสง พบว่า เชื้อรา หรือบักเตรีบางชนิดผลิตสารอาหารบางอย่างออกมา ทำให้ยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อ A. flavus บนอาหารได้ (อรพิน, 2526) Sauer และ Burroughs (1989) ได้รายงานถึงการแข่งขันการเจริญของเชื้อราที่มีผลต่อการสร้างอะฟลาทอกซิน B_1 โดยพบว่าข้าวโพดที่เก็บไว้ในที่มีความชื้นสูง มีเชื้อรา Fusarium และ A. flavus เจริญเติบโตจำนวนมากแต่ไม่พบอะฟลาทอกซินเลย Wicklow และคณะ (1980) พบว่าเมื่อใส่ เชื้อ A. flavus ร่วมกับ A. niger หรือเชื้อรา Trichoderma viride บนเมล็ดข้าวโพดที่พึ่งทำการเก็บเกี่ยว และนำมาฆ่าเชื้อแล้ว จะไม่พบอะฟลาทอกซินเลย Lillehoj และคณะ (1982) พบว่า เมื่อปลูกเชื้อผสมระหว่าง A. flavus, Penicillium oxalicum และ Fusarium moniliforme ลงบนฝักข้าวโพดทำให้ปริมาณอะฟลาทอกซินปะปนลดลง

2.2.3.3 ปฏิกิริยาที่ไปทำลายสารบางอย่างซึ่งเชื้ออีกตัวหนึ่งสร้างขึ้นมาเช่น Flavobacterium aurantiacum สามารถทำลายพิษของอะฟลาทอกซินในอาหารได้โดยการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีทำให้พิษของอะฟลาทอกซินหมดไป (อรพิน, 2526)

2.2.4 สภาพแวดล้อม

2.2.4.1 ความชื้น

ความชื้นทั้งความชื้นสัมพัทธ์อากาศ และความชื้นภายในเมล็ดพืชเอง มีส่วนในการก่อให้เกิดเชื้อราเจริญและสร้างสารพิษมาก ทั้งนี้เพราะถ้าความชื้นสัมพัทธ์อากาศสูงจะเกิดการถ่ายเทความชื้นไปให้กับอาหารที่เชื้อราขึ้นอยู่ เป็นผลให้เชื้อราเจริญได้ดีและสร้างสารพิษได้มาก จากการศึกษาความต้องการความชื้นของ A. flavus และการสร้างอะฟลาทอกซินโดยการทดลองกับเมล็ดข้าวโพดที่สุกแก่แล้ว พบว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อราเจริญได้น้อยที่ความชื้นสัมพัทธ์อากาศต่ำกว่า 85 เปอร์เซนต์ แต่เมื่อความชื้นเพิ่มขึ้นเล็กน้อยประมาณ 86-87 เปอร์เซ็นต์ เชื้อราสามารถเจริญอย่างรวดเร็วและสร้างอะฟลาทอกซินได้ (Lopez และ Chirstensen, 1976; Sauer และ Burroughs, 1980) จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความชื้นสัมพัทธ์อากาศและความชื้นของเมล็ด พบว่า 85 เปอร์เซ็นต์ สมดุลย์กับความชื้นภายในเมล็ดที่ 17.0-17.4 เปอร์เซ็นต์ (Brockington และคณะ, 1949) โดยทั่วไปในไร่ข้าวโพดนั้น เชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคพืชจะเข้าทำลายเมื่อเมล็ดมีความชื้นสูงกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มเชื้อราหลักเหล่านี้ได้แก่ Alternaria, Helminthosporium, Fusarium และ Cladosporium แต่กลุ่มเชื้อราในโรงเก็บเข้าทำลายเมล็ดในช่วงความชื้น 13-18 เปอร์เซ็นต์ เชื้อราในกลุ่มนี้พบมากโดยทั่วไปมี 2 กลุ่ม คือ Aspergillus และกลุ่ม Penicillium ในกลุ่ม Aspergillus นั้มน A. glaucus ซึ่งเป็นเชื้อราที่ไม่สร้างอะฟลาทอกซินนั้นเจริญได้ดีและพบมากในเมล็ดที่มีความชื้น 12-15 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อความชื้นเมล็ดมากกว่า 15 เปอร์เซ็นต์ เชื้อรา A. flavus และ A. parasiticus สามารถเข้าทำลายมากกว่า Lillehoj และคณะ (1975a, b) ได้สำรวจข้าวโพดในแหล่งเกษตรกรรม ประเทศอเมริกา เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างการสะสมปริมาณอะฟลาทอกซิน ในตัวอย่างข้าวโพดที่ระดับความชื้นของเมล็ดต่างๆ กัน ซึ่งที่ระดับความชื้นของเมล็ด 15 เปอร์เซ็นต์ พบตัวอย่างข้าวโพดที่มีการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินมากกว่า 9 พีพีบี ถึง 64 เปอร์เซ็นต์ ของตัวอย่างทั้งหมด ในขณะที่ตัวอย่างที่มีความชื้นเมล็ด 21 เปอร์เซ็นต์ พบมีอะฟลาทอกซินปนเปื้อนมากกว่า 9 พีพีบี เพียง 25 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น และเมื่อได้ทดลองโดยการเพาะเชื้อ A. flavus ลงบนฝักข้าวโพดหลังจากออกไหมแล้ว 20 วัน โดยศึกษาใน 3 แหล่งเพาะปลูกที่มีสภาพอากาศแตกต่างกัน พบว่าเมื่อ 15 วัน หลังจากเพาะเชื้อในเมล็ดที่มีความชื้นอยู่ระหว่าง 46-65 เปอร์เซ็นต์ พบปริมาณอะฟลาทอกซินในปริมาณต่ำทั้งสามแหล่งเพาะปลูก และเมื่อเมล็ดถึงระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยาความชื้นเมล็ดอยู่ระหว่าง 23-43 เปอร์เซ็นต์ มีการสะสมอะฟลาทอกซินมากขึ้นทั้งสามแหล่งปลูก แต่พบมากที่สุดในแหล่งปลูกทางภาคใต้ซึ่งมีสภาพอากาศร้อน ส่วนแหล่งปลูกทางภาค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เหนืออากาศเย็นปริมาณสารพิษต่ำมาก แสดงว่านอกจากความชื้นแล้วมีอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมอื่นเข้ามาเกี่ยวข้องโดยเฉพาะอุณหภูมิ

Chang และ Markakis (1981) รายงานว่า เชื้อราจะสร้างอะฟลาทอกซินได้ดีในอาหารที่มีความชื้นประมาณ 25-31 เปอร์เซ็นต์ Diener และ Davis (1969) พบว่าเชื้อราที่เจริญบนเมล็ดธัญญพืชที่มีความชื้น 15 เปอร์เซ็นต์ และความชื้นสัมพัทธ์อากาศ 50 เปอร์เซ็นต์ จะมีการสร้างอะฟลาทอกซินน้อยมากและในอาหารที่มีความชื้น 8-10 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นสัมพัทธ์อากาศ 83 เปอร์เซ็นต์จะไม่มีการสร้างอะฟลาทอกซินเลย

2.2.4.2 อุณหภูมิและระยะเวลาในการเจริญเติบโตของเชื้อรา

อุณหภูมิเป็นตัวแปรที่สำคัญพอๆ กับความชื้นที่ควบคุมกระบวนการพัฒนาของเชื้อรา โดยทั่วไป เชื้อรา A. flavus สามารถเจริญได้ ตั้งแต่ช่วงอุณหภูมิ 6-46 องศาเซลเซียส โดยมีอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 36-38 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสร้างอะฟลาทอกซินนั้นอยู่ระหว่าง 25-35 องศาเซลเซียส (Lillehoj, 1983) West และคณะ (1973) ได้ทดลองเพิ่มอุณหภูมิจาก 15 องศาเซลเซียสขึ้นเป็น 28 องศาเซลเซียสภายในเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า การเพิ่มอุณหภูมิทำให้ปริมาณอะฟลาทอกซินเพิ่มขึ้น 4 เท่า เช่น เดียวกัน Shih และ Marth (1974) ศึกษาอุณหภูมิกับปริมาณการสร้างใยรา และการสังเคราะห์อะฟลาทอกซินพบว่าน้ำหนักแห้งของใยราสูงสุด 35 องศาเซลเซียส และปริมาณอะฟลาทอกซินสูงสุดที่ 25 องศาเซลเซียส ธีระยุทธ และชัยวัฒน์ (2524) รายงานระยะเวลาของแต่ละอุณหภูมิก็มีผลต่อเชื้อราในการสร้างอะฟลาทอกซินด้วยเช่นกัน กล่าวคือที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เชื้อราสร้างอะฟลาทอกซิน ได้สูงสุดระหว่างวันที่ 11-13 ของการเลี้ยงเชื้อรา และที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส เชื้อราจะสร้างอะฟลาทอกซินได้สูงสุดระหว่างวันที่ 7-9 และ 5-7 ตามลำดับ และได้ให้ข้อสังเกตว่า อุณหภูมิและความชื้นในบรรยากาศของประเทศไทยเหมาะสมต่อเชื้อราที่จะสร้างอะฟลาทอกซินได้เป็นอย่างดีในระยะเวลา 7-14 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

A. flavus จัดเป็นจุลินทรีย์ในพวก mesophilic ถ้าอุณหภูมิต่ำกว่าช่วงอุณหภูมิ 25-35 องศาเซลเซียสแล้ว เชื้อราจะสามารถเจริญได้ แต่การเจริญเติบโตจะช้าในช่วงแรก และจะขยายปริมาณมากขึ้นอย่างรวดเร็วในภายหลัง (นรสิงห์ 2530) Ceigler และคณะ (1971) รายงานว่า A. flavus ผลิตอะฟลาทอกซิน B ได้ที่อุณหภูมิ 11 และ 37 องศาเซลเซียส และจะผลิตอะฟลาทอกซิน G เมื่อมีอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส

2.2.4.3 แสง

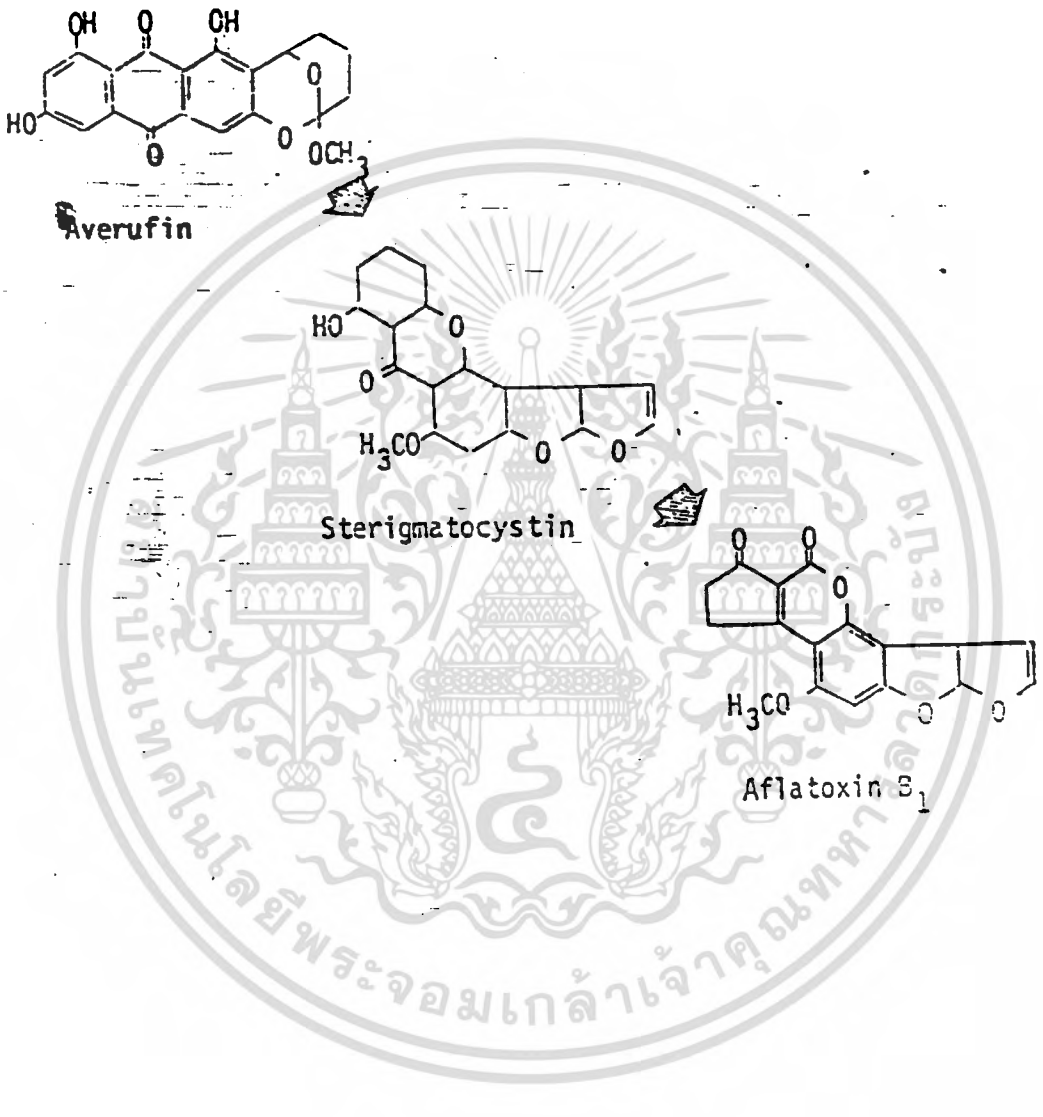
ในสภาพแปลงปลูกข้าวโพดนั้น แสงและอุณหภูมิมีความสัมพันธ์กันอย่างใกล้ชิด การศึกษาส่วนใหญ่มุ่งถึงอิทธิพลของอุณหภูมิมากกว่า การศึกษาอิทธิพลของแสงโดยตรงจึงมีน้อย แต่เป็นที่ทราบแล้วว่า แสงแดดมีผลทำลายการปะปนของอะฟลาทอกซิน Trione และ Leach (1969) พบว่าแสงมีอิทธิพลต่อกระบวนการ sporogenesis และ sporulation ในเชื้อราหลายชนิด และในเชื้อราที่สามารถสังเคราะห์อะฟลาทอกซินได้นั้น การให้แสงจะระงับการสร้าง sclerotium (Benett และคณะ, 1978) Joffee และ Lisker (1969) ได้ทดลองหาการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อ A. flavus ภายใต้สภาพแวดล้อมต่างๆ พบว่าในสภาพที่มีแสงจะมีปริมาณสารพิษน้อยกว่าที่มืดมาก

2.2.4.4 ปริมาณออกซิเจน และคาร์บอนไดออกไซด์

นอกจากความชื้น อุณหภูมิ และแสงแล้ว สัดส่วนของออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ก็มีผลต่อการเจริญ การสร้างสปอร์และการสร้างสารพิษของเชื้อราด้วย ถึงแม้ว่าเชื้อราในโรงเก็บส่วนใหญ่จะเป็นพวกที่ต้องการออกซิเจนสูงในการดำรงชีพ (aerobic fungi) แต่ก็สามารถทนทานต่อสภาพที่มีออกซิเจนต่ำ และมีคาร์บอนไดออกไซด์สูงได้ดีเช่น เชื้อ A. flavus จากการทดลองของ Landers และคณะ (1967) พบว่า ถ้าเพิ่มปริมาณของคาร์บอนไดออกไซด์จาก 0.03 ให้สูงถึง 20 เปอร์เซ็นต์ แล้วเชื้อรายังเจริญได้ดี แต่ไม่สามารถสร้างอะฟลาทอกซินในสภาพแวดล้อมเช่นนี้ได้ ขณะเดียวกันถ้าลดออกซิเจนลงเหลือเพียง 1 เปอร์เซ็นต์ เชื้อรายังคงเจริญเติบโตต่อไปได้บ้าง แต่การเกิดสปอร์และการสร้างสารพิษน้อยลง เช่นเดียวกับ ธีระยุทธ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง



รูปที่ 2-3 การสังเคราะห์สารพิษอะฟลาทอกซิน B_1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และชัยวัฒน์ (2524) ได้เลี้ยงเชื้อราบนอาหารพวกเมล็ดพืช พบว่า เชื้อราสร้างอะฟลาทอกซินเพิ่มขึ้นเป็น 3-15 เท่า ถ้าทำการเขย่าขวดแก้วที่ใช้เลี้ยงเชื้อราด้วย เนื่องจากทำให้ออกซิเจนเข้าไปแทนที่คาร์บอนไดออกไซด์ในขวดแก้วนั้น

Landers (1967) รายงานว่าในบรรยากาศที่มีออกซิเจน อะฟลาทอกซินจะถูกสร้างได้ดี แต่ในบรรยากาศที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 100 เปอร์เซ็นต์ จะไม่มีการสร้างอะฟลาทอกซินเลย แต่ถ้าหากว่าในบรรยากาศที่มีทั้ง คาร์บอนไดออกไซด์ และกรดฟอร์มิก พบว่า อะฟลาทอกซินจะถูกสร้างขึ้นในปริมาณเล็กน้อย (Clevstrom และคณะ 1983)

2.3 กระบวนการสังเคราะห์อะฟลาทอกซิน

Ceigler และคณะ (1971) รายงานว่าอะฟลาทอกซินผลิตมาจาก acetate ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเป็นวงได้เป็น cyclic polyketo acid ซึ่งมีคาร์บอน 20 ตัว ซึ่งสารประกอบนี้จะเปลี่ยนเป็น averufin ซึ่งจะเปลี่ยนเป็น versinocol และ sterigmatocystin และอะฟลาทอกซิน B_1 ในที่สุด ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2-3

จากการศึกษากระบวนการสังเคราะห์อะฟลาทอกซินจากเชื้อราในอาหารสังเคราะห์ที่ใช้สารก้มมันตภาพรังสีเป็นแหล่งอาหารชนิดต่างๆ พบว่า อาหารที่มีโมเลกุลใหญ่เปลี่ยนแปลงไปได้ acetic acid ซึ่งเป็นสารที่เป็นตัวให้คาร์บอนและออกซิเจนในโมเลกุลของอะฟลาทอกซินเป็นส่วนใหญ่โดยมีเมทไทโอนีน เป็นแหล่งของ methyl group ในโมเลกุลของอะฟลาทอกซิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 การเปลี่ยนแปลงอะฟลาทอกซินในร่างกาย

Shank และ Wogan (1975) ทำการศึกษาถึงการกระจายของอะฟลาทอกซินไปยังอวัยวะต่างๆ ของร่างกายและการขับออกนอกร่างกายโดยใช้ C^{14} labelled aflatoxin ฉีดเข้าไปในหนูพบว่า 80-90 เปอร์เซ็นต์ของอะฟล่าทอกซิน B_1 ถูกกำจัดออกนอกร่างกาย ภายในเวลา 24 ชั่วโมง โดยพบว่ากำจัดออกทางอุจจาระ 50-60 เปอร์เซ็นต์ และทางปัสสาวะเป็นการกำจัดอะฟลาทอกซินออกนอกร่างกายรองลงมา มีการสะสมอะฟลาทอกซินมากบริเวณตับและไต ส่วนอวัยวะอื่นๆ เช่น ม้าม ตับอ่อน หัวใจ และสมองมีการสะสมอะฟลาทอกซินน้อยกว่า 0.1 เปอร์เซ็นต์

Wogan (1966) รายงานว่ามีอะฟลาทอกซินเพียงส่วนน้อยที่ถูกขับออกมากับข้อมูล โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลง ส่วนใหญ่ที่ขับออกมาในมูลและปัสสาวะมีการเปลี่ยนแปลงแล้ว ซึ่งทำให้คุณสมบัติด้านการละลาย และโครมาโทกราฟี เปลี่ยนแปลงด้วย

De longh และคณะ (1964) พบว่าโคนมที่ได้รับอาหารที่มีอะฟลาทอกซินจะมีการกำจัดอะฟลาทอกซินออกทางน้ำนม ซึ่งสารที่ขับออกมานี้พบว่ามีความเป็นพิษต่อเป็ดซึ่งอาการเป็นพิษนี้เหมือนกับการเป็นพิษเนื่องจากอะฟลาทอกซินB_1

ธีระยุทธ และชัยวัฒน์ (2524) กล่าวว่า เมื่อร่างกายได้รับอะฟลาทอกซิน B_1 ร่างกายจะขับ อะฟลาทอกซินบางส่วนออกนอกร่างกาย โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลง ส่วนใหญ่ของอะฟลาทอกซิน B_1 จะถูกเปลี่ยนไปเป็น metabolite ของอะฟลาทอกซิน เช่น M_1, P_1, Q_1, B_2 และ R_0 การเปลี่ยนแปลงนี้เกิดขึ้นในตับโดยมีเอนไซม์ drug metabolizing ซึ่งมาจากส่วนของ endoplasmic reticulum มาเกี่ยวข้อง metabolite ของอะฟลาทอกซินเหล่านี้จะถูกขับออกนอกร่างกาย แต่อะฟลาทอกซิน B_1 อีปอกไซด์ (Aflatoxin B_1 -2 -3 oxide) ซึ่งเป็น metabolite ตัวหนึ่งของอะฟลาทอกซิน B_1 เป็นตัวที่มีบทบาทสำคัญจะรวมตัวกับสารโมเลกุลใหญ่ เช่น RNA, DNA หรือโปรตีนในเซลล์ของตับ ซึ่งทำให้เกิดการเป็นพิษและก่อให้เกิดมะเร็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 ผลของอะฟลาทอกซิน

อะฟลาทอกซินมีผลทำให้เกิดมะเร็งกับสัตว์ และมนุษย์ ซึ่งมีผลทำให้เกิดอาการได้ทั้งแบบเฉียบพลันและแบบเรื้อรัง กรณีของการเกิดพิษอย่างเฉียบพลันนั้นพบว่า จะทำให้เกิดการตายของเซลล์ (necrosis) ในตับเป็นส่วนใหญ่ นอกจากอะฟลาทอกซิน จะทำให้เกิดมะเร็งของตับ แล้วยังทำให้เกิดมะเร็งของปอดอีกด้วย (ไมตรี, 2528) จากการศึกษาถึงความเป็นพิษในสัตว์ต่างๆ พบว่า LD_{50} (Lethal dose5Ø) ของสัตว์ต่างๆ จะแตกต่างกันออกไปตั้งแต่ Ø.3-17.9 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัว (WHO, 1979) โดยพบว่าลูกเป็ดอายุ หนึ่งวันจะอ่อนแอต่อสารพิษนี้มากที่สุด และถ้าคนได้รับอาหารที่มีปริมาณอะฟลาทอกซินน้อยกว่า 5 นาโนกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัวต่อหนึ่งวัน จะไม่ทำให้เกิดมะเร็งในตับ แต่ถ้าได้รับปริมาณสูงกว่านั้นเป็นเวลานานๆ จะทำให้เป็นอันตราย จนกระทั่งเกิดมะเร็งในตับได้ (ธีระยุทธ และชัยวัฒน์, 2524) แต่ทั้งนี้ก็ขึ้นอยู่กับส่วนประกอบอื่นๆ เช่น อายุ เพศ สภาวะที่ได้รับอะฟลาทอกซิน กรรมพันธุ์ และระยะเวลาที่ได้รับอะฟลาทอกซิน เป็นต้น

2.5.1 ผลของอะฟลาทอกซิน B_1 ต่อการสังเคราะห์ DNA และ RNA

Friedman และ Wogan (1967) รายงานว่า อะฟลาทอกซินเมื่อถูกดูดซึมที่ตับมีการเปลี่ยนแปลงเป็น Epoxide ซึ่งจะรวมกับ RNA, DNA และทำให้เอนไซม์ DNA, RNA Polymerase ไม่สามารถทำงานได้ตามปกติ ทำให้การสร้าง DNA และ RNA ลดน้อยลง Clifford และ Rees (1966, 1967) และ Sporn และคณะ (1966) รายงานว่า อะฟลาทอกซิน B_1 ทำให้การสร้าง RNA และสัดส่วนของ DNA/RNA ลดลงอย่างรวดเร็ว และการลดต่ำลงนี้จะคงอยู่ตลอด 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นจะค่อยๆ กลับเข้าสู่สภาวะปกติในวันที่ 5 หลังจากได้รับอะฟลาทอกซิน Friedman และ Wogan (1966) รายงานว่า อะฟลาทอกซิน B_1 มีผลทำให้การสังเคราะห์ RNA ในอะฟลาทอกซินลดลงแต่การลดลงนี้จะกลับเข้าสู่สภาวะปกติในระยะเวลา 12 ชั่วโมง หลังจากได้รับ อะฟลาทอกซิน ครั้งเดียว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.2 ผลของอะฟลาทอกซินต่อการสังเคราะห์โปรตีน

Feigelson และ Greengard (1962) รายงานว่า อะฟลาทอกซิน เป็นตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ tryptophan pyrolase ทำให้ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนบางชนิดที่เซลล์ของตับ Wogan (1966) และ Shank และ Wogan (1965) รายงานว่า อะฟลาทอกซิน B_1 จะยับยั้งการสร้างโปรตีนภายในระยะเวลา 5 ชั่วโมงภายหลังจากได้รับอะฟลาทอกซินและจะกลับเข้าสู่สภาวะปกติในเวลา 12 ชั่วโมง

2.5.3 ผลของอะฟลาทอกซินต่อสัตว์ชนิดต่างๆ และคน

Asplin และ Carnaghan (1961) และ Carnaghan (1965) พบว่าไก่งวงและลูกเป็ดมีความต้านทานต่ออะฟลาทอกซินต่ำมากในกรณีที่เกิดการเป็นพิษ เนื่องจากอะฟลาทอกซินจะมีอาการชักและตาย จากการผ่าซากเพื่อดูอาการพบว่ามีจุดเลือดออกใต้ผิวหนังและอวัยวะภายใน เลือดมีลักษณะใสและแข็งตัวยากกว่าปกติมีอาการบวมน้ำรอบๆ หัวใจ ตับมีขนาดใหญ่กว่าปกติ สีซีดมีการตายของเซลล์ตับ (necrosis) มีการสะสมไขมันที่ตับเพิ่มขึ้น Carnaghan และคณะ (1963) พบว่า LD50 ของอะฟลาทอกซินสำหรับลูกเป็ดอายุ 1 วัน จนถึง 7 วัน น้ำหนักตัว 50 กรัม คือ B_1, B_2, G_1 และ G_2 เท่ากับ 18.2, 84.4, 39.2 และ 172.5 ไมโครกรัม

ในสุกรพบว่า เมื่อได้รับอะฟลาทอกซินในปริมาณสูงจะมีอาการผอมซูบหยาบ ขาหลังไม่มีกำลัง เวลายืนตัวโก่ง มีอาการโลหิตจางและตายภายใน 1-5 วัน จากการผ่าซากพบว่ามีจุดเลือดออกบริเวณใต้ผิวหนัง ตับสีซีด และมีการสะสมไขมันมากบริเวณตับ

ในโคและกระบือ พบว่าลูกโคกระบือแสดงอาการเป็นพิษเนื่องจากอะฟลาทอกซิน แต่สำหรับที่โตเต็มที่มักไม่แสดงอาการให้เห็นชัด อาการที่เห็นได้คือ น้ำหนักตัวลดลง ปริมาณน้ำนมลดลง แต่จำนวนเซลล์ต่อน้ำดีเพิ่มขึ้น ขนาดของตับขยายใหญ่ขึ้น มีอาการอักเสบของเส้นเลือดดำ hepatic vein และ central globular สำหรับแกะนั้นเป็นสัตว์ที่ทนทานต่อพิษของอะฟลาทอกซินได้ดีมาก ระดับอะฟลาทอกซินในอาหารปกติไม่สามารถก่อให้เกิดอาการเป็นพิษในแกะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Shank และคณะ (1972 a, b) ได้ศึกษาสาเหตุของโรค Udorn Encephalomalacia ในประเทศไทยพบว่า อาหารที่คนไทยบริโภคมีอะฟลาทอกซินอยู่สูง และจากการตรวจอาการของโรค Udorn Encephalomacia ซึ่งก่อให้เกิดการตาย มีอาการคล้ายกับเกิดพิษเนื่องจากอะฟลาทอกซิน แต่สาเหตุที่แน่นอนของโรคยังหาข้อยุติไม่ได้ เนื่องจากมีความคือแยกออกเป็น 2 ทาง คือ เกิดจากการเป็นพิษของอะฟลาทอกซินหรือเกิดเนื่องจากไวรัส

Smith และ Halminton (1969) พบว่าการเลี้ยงไก่ ด้วยอาหารที่มีอะฟลาทอกซินทำให้ อัตราการตายเพิ่มสูงขึ้น ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาการลดลงจาก 2.0-2.1 เป็น 2.3-2.4 น้ำหนักตัวเมื่ออายุส่งตลาดน้อยกว่าปกติ 204 กรัม และพบว่าเมื่อไก่ได้รับอะฟลาทอกซินมากกว่าระดับ 1.25 พีพีเอ็ม จะทำให้ตับ ตับอ่อนและม้ามมีขนาดใหญ่ขึ้น ส่วน Bursa of fabricius มีขนาดลดลง ปริมาณไขมันที่สะสมในตับเพิ่มสูงขึ้น Tung และคณะ (1975) พบว่าไก่ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีอะฟลาทอกซินมีอาการบวมน้ำ ไขมันสะสมในเซลล์ของตับ ตับมีขนาดใหญ่ขึ้น และจากการเจาะเลือดพบว่าปริมาณฮีโมโกลบินลดลง

Wyatt และคณะ (1975) รายงานว่า ไก่ที่ได้รับอะฟลาทอกซินจะทำให้ความสามารถในการทนต่ออากาศลดลง เพราะอะฟลาทอกซินจะทำให้เกิดน้ำตาลกลูโคสในเลือดต่ำ (Hypoglycemia) อุณหภูมิของร่างกายต่ำ (Hypothermia) และการสะสมไขมันในร่างกายลดต่ำลง Carnaghan และคณะ (1966) ทดลองเลี้ยงไก่ที่มีอาหารอะฟลาทอกซิน 1.5 พีพีเอ็ม พบว่าตับมีขนาดใหญ่ขึ้น การเจริญเติบโตลดต่ำลงกว่าปกติ ส่วน Arachibald และคณะ (1965) รายงานว่าการใช้อาหารที่มีกากถั่วลิสงที่ไม่ทราบปริมาณอะฟลาทอกซินเป็นองค์ประกอบเลี้ยงไก่ พบว่าในช่วง 2 สัปดาห์แรกไม่มีผลแตกต่าง แต่หลังจากนั้นการเจริญเติบโตลดลงต่ำกว่าปกติ และจากการดูอาการที่ตับพบว่า ตับมีสีซีด Gardiner (1962) ทดลองใช้กากถั่วลิสงแทนกากถั่วเหลืองในสูตรอาหารที่มีกากถั่วเหลือง 55 <u>เปอร์เซ็นต</u>ในระดับ 2/3, 1/3 และทั้งหมด พบว่าการเจริญเติบโตลดต่ำลงมาก อัตราการตายสูงขึ้นเล็กน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Goldbatt (1969) รวบรวมอาการที่พบในสัตว์ต่างๆ เมื่อได้รับอะฟลาทอกซินระดับต่างๆ ในอาหาร ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2-3

2.6 อะฟลาทอกซินในถั่วลิสง

ในบรรดาอาหารที่พบว่ามีปริมาณอะฟลาทอกซินมากที่สุด คือ ถั่วลิสง ซึ่งจากผลการสำรวจสารพิษในจังหวัดเชียงใหม่ พบว่าอาหารประเภทถั่วลิสงจะมีอะฟลาทอกซินอยู่ถึง 80 เปอร์เซ็นต์ โดยเป็นชนิด B_1 75-653 ส่วนในพันล้านส่วน และชนิด B_2 4-161 ส่วนในพันล้านส่วน (ปริมณฑ์ และสุภร, 2520) ทำให้ปัญหาสารพิษอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงเป็นปัญหาที่สำคัญอย่างมาก จนผู้บริโภคบางคนไม่กล้าบริโภคถั่วลิสง เพราะเกรงกลัวสารพิษชนิดนี้ทำให้การใช้กากถั่วลิสงเป็นอาหารสัตว์มีไม่มากเท่าที่ควร แม้ราคาจะถูกเพราะผู้เลี้ยงเกรงจะเป็นอันตรายต่อสัตว์ การส่งออกถั่วลิสงมีปัญหา เพราะประเทศผู้ซื้อจะรับซื้อก็ต่อเมื่อมีปริมาณสารพิษชนิดนี้ในปริมาณที่ต่ำ และไม่เกินเกณฑ์ที่กำหนด ดังตารางที่ 2-3 สำหรับในประเทศไทยกำหนดไว้ให้มีในอาหารได้ไม่เกิน 20 พีพีบี (อารันต์, 2528) ซึ่งในถั่วลิสงนั้น การเกิดอะฟลาทอกซิน อาจเกิดได้ทุกระยะ ตั้งแต่ก่อนที่จะถอนถั่วขึ้นจากแปลงไปจนถึงเมื่ออยู่ในมือผู้บริโภค ดังที่จะกล่าวต่อไปนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2-3 มาตราฐานปริมาณอะฟลาทอกซินในอาหาร ของประเทศต่างๆ

ประเทศ	ผลิตผลทางการเกษตร	อาหารคน	อาหารสัตว์	ปริมาณจำกัดของอะฟลาทอกซิน (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
บราซิล	อาหารหถั่วลิสง		x	50 B_1
แคนาดา	ผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงต่างๆ	x		15 T_2
เดนมาร์ก	ถั่วลิสง และถั่วบราซิล	x		0
ฝรั่งเศส	อาหารทุกชนิด	x		5 B
เยอรมันตะวันตก	อาหารทุกชนิด	x		5 B หรือ 10 T
อินเดีย	อาหารถั่วลิสง	x		30 B
อิสราเอล	อาหารสัตว์ทุกชนิด		x	20 B
อิตาลี	ถั่วลิสงและผลิตภัณฑ์จาก ถั่วลิสง	x		50 B
ญี่ปุ่น	อาหารทุกชนิด	x		0
	อาหารถั่วลิสง		x	1000 B
มาเลเซีย	อาหารทุกชนิด	x		0
เนเธอร์แลนด์	ถั่วลิสงและผลิตภัณฑ์จากถั่วลิสง	x		0
นอร์เวย์	อาหารพวกเมล็ดน้ำมัน		x	600 B
โปแลนด์	อาหารทุกชนิด	x		0
	อาหารสัตว์ผสมทุกชนิด		x	0-200 B

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2-3 (ต่อ)

ประเทศ	ผลิตผลทางการเกษตร	อาหารคน	อาหารสัตว์	ปริมาณจำกัดของอะฟลาทอกซิน (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
สวีเดน	อาหารทุกชนิด	x		5 T
	อาหารถั่วลิสง		x	600 B
สหราชอาณาจักร	ถั่วลิสง	x		50 B
สหรัฐอเมริกา	ผลิตภัณฑ์ถั่วลิสง	x		15 T
	อาหารคนหรือสัตว์ทุกชนิด	x	x	20 T

1 = อะฟลาทอกซิน B_1 2 = อะฟลาทอกซิน ทั้งหมด

2.6.1 การเข้าทำลายเมล็ดถั่วลิสง โดยเชื้อราที่ผลิตอะฟลาทอกซิน

2.6.1.1 การเข้าทำลายในระหว่างการเก็บรักษา (Storage)

พัฒนา และมยุรี (2515) ทำการตรวจสอบเมล็ดถั่วลิสงแห้งโดยกล้องจุลทรรศน์ พบว่าไม่มีสปอร์ เส้นใย หรือ pycnidia ของเชื้อราติดมาเลย แต่เมื่อนำไปเพาะเชื้อกลับพบเชื้อ A. flavus และ A. niger เป็นส่วนใหญ่

Wilson และคณะ (1977) รายงานว่ามีการสะสมอะฟลาทอกซินบนเมล็ดของทุกพันธุ์ เมื่อเก็บไว้ในที่มีความชื้นสัมพัทธ์สูง (87-90%) อุณหภูมิ 23 °ซ เป็นเวลา 9-10 วัน เมล็ดที่ได้รับความเสียหาย (damage) มีการเข้าทำลายของเชื้อราได้มากกว่าเมล็ดดี นอกจากนั้น เมล็ดที่ยังไม่กะเทาะเปลือกมีปริมาณอะฟลาทอกซินน้อยกว่าเมล็ดที่กะเทาะเปลือกแล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.1.2 การเข้าทำลายในช่วงที่อยู่ในดินและระหว่างเก็บเกี่ยว

Zambettakis และคณะ (1977) รายงานว่าเมื่อทำการตรวจสอบการเข้าทำลายของเชื้อ A. flavus ในสภาพธรรมชาติบนฝักและเมล็ดถั่วลิสง หลังการเก็บเกี่ยว พบพันธุ์เชื้อราเข้าทำลายได้อย่างน้อย 10 พันธุ์ นอกจากนี้ยังพบว่าการเข้าทำลายบนฝักมีความสัมพันธ์กับการเข้าทำลายบนเมล็ด และมีความสัมพันธ์ระหว่างการทดสอบโดยการคลุกเชื้อกับการเข้าทำลายในสภาพธรรมชาติบนฝักและเมล็ด

Lisker และคณะ (1970) ทดลองคลุกเชื้อ A flavus ลงในดินที่ปลูกถั่วลิสง 4 พันธุ์เพื่อดูการเข้าทำลายของเชื้อรา พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างพวกที่คลุกเชื้อและไม่คลุกเชื้อ ซึ่งอาจจะเป็นเพราะในระยะฝักแก่ประชากรของ A. flavus ลดน้อยลง อย่างไรก็ตามไม่พบการเข้าทำลายของเชื้อราในพันธุ์ที่มีเปลือกหนาเลย

Lindsey (1970) ศึกษาการเข้าทำลายของ A. flavus บนเมล็ดถั่วลิสงที่ติดอยู่กับต้นในสภาพที่สามารถควบคุมชนิดของจุลินทรีย์ได้ (gnotobiotic condition) พบเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายของเชื้อราจากมากไปหาน้อยดังนี้คือ ฝักอ่อน เปลือกของฝักแก่ เยื่อหุ้มเมล็ด (seed coat) และคัพภะ (embryo) แต่เปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายของเชื้อ A. flavus บนฝักอ่อนและฝักแก่ อาจจะลดลงได้ ถ้ามีอิทธิพลของการเป็นปรปักษ์ต่อกัน (antagonistic effect) ของจุลินทรีย์ดิน (Wells et al, 1972)

Kushalappa (1977) นำเอาเปลือกถั่วลิสงที่บดมาแล้วมาเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกับ A. flavus พบว่ามีหลายเชื้อที่จำกัดการเจริญเติบโตของ A. flavus นอกจากนั้นเมื่อจุ่มฝักในน้ำยาไฮโปคลอไรด์ก่อนนำไปคลุกเชื้อ ปรากฏว่าเชื้อราขึ้นได้มากกว่าไม่จุ่ม จากการสังเกตนี้แสดงว่าบนฝักมีจุลินทรีย์ดินที่เป็นปรปักษ์ต่อ A. flavus ติดมาด้วย และจำกัดการเจริญเติบโตของเชื้อราที่ใช้ทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเข้าทำลายของเชื้อราที่ผลิตอะฟลาทอกซินบนเมล็ด และฝักถั่ว

Mixon และ Rogers (1975b) ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเข้าทำลายของเชื้อ A. flavus บนเมล็ดถั่วลิสงมีดังนี้

2.7.1 ความชื้นของเมล็ด (SEED MOISTURE) เชื้อจะขึ้นได้มากที่สุดเมื่อเมล็ดมีความชื้น 20 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเมล็ดแห้ง Zambettakis (1975) รายงานว่า ถ้าวางเมล็ดที่คลุกเชื้อแล้วบน VERMICULITE ที่ชื้นจะมีเชื้อราขึ้นน้อย เพราะเมล็ดดูดซึมน้ำเข้าไป 60-70 เปอร์เซ็นต์ ทำให้มีความชื้นสูงเกินไป แต่ถ้าวางไว้บนกระดาษกรองที่ชื้น เชื้อราจะเจริญเติบโตได้ดีกว่า

2.7.2 อุณหภูมิที่ใช้เก็บ (STORAGE TEMPERATURE) เมื่อเพิ่มอุณหภูมิที่เก็บจาก 0 °ซ เป็น 20 °ซ และ 30 °ซ ปรากฏว่าเชื้อราเจริญเติบโตได้ดีขึ้น และเชื้อรามีการเข้าทำลายเมล็ดมากขึ้น เมื่อเพิ่มระยะเวลาที่ใช้เก็บจาก 0 สัปดาห์ เป็น 6 สัปดาห์ และ 12 สัปดาห์

2.7.3 ระยะเวลาที่ใช้บ่ม (INCUBATION PERIOD) เมื่อบ่มไว้ 48 ชั่วโมง พันธุ์ไม่ต้านทาน มีเชื้อขึ้น 100 เปอร์เซ็นต์ แต่ในพันธุ์ต้านทานไม่มีความแตกต่างของเชื้อที่ขึ้นบนเมล็ด เมื่อใช้เวลาในการบ่มแตกต่างกัน

2.7.4 ความแก่ของเมล็ด (SEED MATURITY) เมล็ดที่อ่อนหรือแก่เกินไปจะมีเชื้อขึ้นได้ดีกว่าเมล็ดที่แก่พอดี แต่ Diener และคณะ (1965) พบว่าการเข้าทำลายของเชื้อราในดินจะเพิ่มมากขึ้น ตามการแก่ของเมล็ด โดยที่ฝักและเมล็ดอ่อนมีเชื้อขึ้นน้อยที่สุด

2.7.5 ระยะเวลาเก็บเกี่ยว (HARVESTING TIME) ถ้ามีการเก็บเกี่ยวช้าเกินไป อาจทำให้มีการเจริญของราได้

2.7.6 ความเสียหายของเมล็ดและฝักถั่วลิสง (POD AND SEED DAMAGE) เชื้อราจะขึ้นได้ดีบนเมล็ดที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดตลอด (ABRASION) หรือแช่ใน H_2SO_4 เป็นเวลา 5 นาที เมื่อทำการเด็ดฝัก และกะเทาะเมล็ดด้วยเครื่องเชื้อราจะขึ้นบนเมล็ดได้ดีกว่าทำด้วยมือ Diener และคณะ (1965) รายงานไว้ว่า เมล็ดและฝักที่มีแผลซึ่งเกิดจากไส้เดือนฝอย (NEMATODE) แมลง เชื้อรา หรือการแตกเนื่องจากเจริญเติบโต มีเชื้อรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขึ้นได้ดีกว่าเมล็ดและฝักดี Bockelee - Morwan และ Gillier (1974) พบเช่นกันว่าฝักที่แตกหรือถูกปลวกแทะมีปริมาณอะฟลาทอกซินสูง สมาน และคณะ (2515) พบ A. flavus พบในช่วงที่เก็บเดือนที่สองในพวกที่เก็บไว้ทั้งฝัก ส่วนพวกที่แกะเปลือกแล้วไม่พบเลย

2.8 วิธีการทำลายเมล็ดของเชื้อราที่สร้างอะฟลาทอกซินและการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น

Waliyar และ Abadie (1978) ศึกษากระบวนการแทงทะลุผ่าน (process of penetration) เยื่อหุ้มเมล็ดของถั่วลิสงโดยใยรา (mycelium) ของเชื้อราด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลกตรอน พบว่าในช่วงก่อนวันที่ 4 หลังจากปลูกเชื้อสปอร์จะเริ่มงอกในวันที่ 4 มีการแทงทะลุเข้าไปในเยื่อหุ้มเมล็ดตรงส่วนที่ central cavity ติดกับ protective layer ชั้นนอก ตรงจุดที่มีการสัมผัสระหว่าง spore tube กับ intracavity substance เริ่มมีการย่อยสลาย (lysis) และสารที่ถูกย่อยจะกระตุ้นให้เชื้อรารุกไปมากขึ้น (positive chemotactism) วันที่ 5 ใยราจริงมีการแทงทะลุเข้าไปมากยิ่งขึ้น intracavity substance สลายตัวและมีแนวโน้มที่จะหายไป วันที่ 6 เร่งกระบวนการเข้าทำลายไว้ขึ้น มีการแทงทะลุผ่านชั้น epidermis ที่อยู่ลึกลงไปจนถึง parenchyma นอกจากนั้นยังมีการสร้างใยราที่ผิวของเยื่อหุ้มเมล็ดมากมาย วันที่ 8 แทงทะลุเข้าไปจนถึงใบเลี้ยง (cotyledon) เมื่อได้รับธาตุอาหารจากเมล็ดเชื้อราจะมีการแบ่งเซลล์อย่างรวดเร็ว ทำให้ใยรากระจายทั่วไปที่ผิวของเยื่อหุ้มเมล็ดด้านนอก และในช่องระหว่างใบเลี้ยงในระยะนี้มีการสร้างอะฟลาทอกซิน B ด้วย

Lee และคณะ (1967) พบว่าหลังจากเชื้อราเข้าไปในใบเลี้ยงแล้ว จะมีการสร้างอะฟลาทอกซินในปริมาณมากที่สุดตรงส่วนที่เรียกว่า heart หรือ germ ส่วนที่พบอะฟลาทอกซินในปริมาณต่ำ คือที่ผิวของช่องกลวงภายในใบเลี้ยง ในช่องกลวงนี้ พบใยรามากมายที่แทงทะลุเข้าไปยังส่วนที่อยู่ลึกเข้าไป ทำให้มีการสะสมอะฟลาทอกซินภายในใบเลี้ยง เมื่อทำการล้างผิวของเมล็ด จึงไม่สามารถกำจัดสารพิษ ถึงแม้ว่าจะผ่าเมล็ดออกมาล้างก็ตาม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Cherry และคณะ (1978) รายงานว่า โปรตีนของเมล็ดที่ถูกเชื้อ A. flavus เข้าทำลายจะมีปริมาณต่ำกว่าปกติ เมื่อศึกษาด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟริซิส (electrophoresis) พบว่าโปรตีนจากเมล็ดที่เชื้อขึ้นมีพวกที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำเพิ่มมากขึ้น นอกจากนั้นยังพบความแตกต่างระหว่างรูปแบบของเอนไซม์ (enzyme pattern) จากเมล็ดที่เชื้อขึ้นและเมล็ดปกติ โดยศึกษาจากเอนไซม์ชนิดต่างๆ คือ esterase, leucine, aminopeptidase, gluconate and alcohol dehydrogenase และ alkaline และ acid phosphatase

2.9 กลไกการต้านทานต่อเชื้อราที่ผลิตอะฟลาทอกซิน (mechanism of resistance)

2.9.1 การต้านทานเนื่องจากสารเคมี (chemical resistance)

Nagarajam และคณะ (1972) ศึกษาในข้าวโพดลูกผสม 7 พันธุ์ พบว่าพันธุ์ opaque-2 มีปริมาณอะฟลาทอกซินต่ำ ในขณะที่พันธุ์ลูกผสม Deccan มีปริมาณสูงสุด เมื่อนำโปรตีนที่สกัดด้วย 5% NaCl จากพันธุ์ opaque-2 ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อสังเคราะห์ก่อนเลี้ยงเชื้อ ปรากฏว่ามีการยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซิน แต่ส่วนสกัดจากพันธุ์ Deccan ไม่มีผลในการยับยั้ง เมื่อแยกส่วนสกัดด้วย 5% NaCl ออกเป็นส่วน พบว่าส่วนที่ II (fraction II) เท่านั้นที่ยับยั้งการสร้างสารพิษ ซึ่งในพันธุ์ Deccan มีส่วนนี้ในปริมาณที่ต่ำกว่า opaque-2 นอกจากนั้นยังพบว่าส่วนที่ II นี้เป็นพวกโปรตีน มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ

Gypta และ Venkitasubramanian (1975) รายงานว่า ถ้านำถั่วเหลืองมานึ่งก่อนไปคลุกด้วยเชื้อราที่ผลิตอะฟลาทอกซิน จะมีการสร้างสารพิษนี้ได้มากกว่าไม่นึ่ง เนื่องจากตามปกติธาตุสังกะสี จะรวมอยู่กับกรด phytic เมื่อนำไปนึ่งกรด phytic จะถูกทำลาย ทำให้ธาตุสังกะสีถูกปลดปล่อยออกมา และธาตุสังกะสีนี้เป็นตัวกระตุ้น (stimulator) ในการสร้างอะฟลาทอกซิน เมื่อทำการทดลองเติมกรด phytic ลงในถั่วเหลืองที่นึ่งและไม่นึ่ง พบว่าการสร้างสารพิษของเชื้อรา จะลดลงตามปริมาณของกรด phytic ที่เติมลงไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Vidhyasekaran และคณะ (1972) ศึกษาถึงสารต้านทานในถั่วลิสง พบว่าเมื่อบ่มเชื้อราที่แยกได้จากฝักถั่วลิสง ในฝักถั่วลิสง จะมีการกระตุ้นให้สร้างสารต้านทานที่เรียกว่า phytoalexin เมื่อนำสารนี้มาทดสอบดูการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อราเหล่านี้ พบว่าฝักอ่อนกระตุ้นให้สร้างสารยับยั้งนี้ได้มากกว่าฝักแก่ และการสร้างสารนี้เป็นปฏิกิริยาร่วมระหว่างพืชและเชื้อรา นอกจากนั้นยังพบว่า phytoalexin ที่สร้างขึ้นมามีค่า Rf เท่ากันคือ 0.29 ซึ่งอาจจะเกิดจาก genotype ของพืชเท่านั้น ที่เป็นตัวบ่งถึงโครงสร้างทางเคมีของสารนี้ ส่วน genotype ของเชื้อราบ่งบอกถึงความสามารถในการทนทานต่อ phytoalexin เท่านั้น

Amaya-F และคณะ (1977) รายงานว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณทั้งหมดของสารประกอบอะมิโนที่ละลายน้ำ จากเยื่อหุ้มของเมล็ดถั่วลิสงกับความต้านทานต่อการเข้าทำลายของ A. flavus แสดงว่าพันธุ์ต้านทานมีปริมาณสารประกอบอะมิโนที่ละลายน้ำออกมาจากเยื่อหุ้มเมล็ดพืชเพื่อเป็นประโยชน์ต่อการงอกของสปอร์เชื้อราได้น้อยภายใต้สภาพที่มีความชื้นสูง ส่วนปริมาณของสารประกอบคาร์โบไฮเดรตจากเยื่อหุ้มเมล็ด ไม่มีความสัมพันธ์กับการต้านทานของเมล็ด แต่พบว่าพันธุ์ UF 73315 มีปริมาณ arabinose ซึ่งเป็น monosaccharide ส่วนใหญ่ของเมล็ดต่ำกว่าค่าเฉลี่ย (2.92 เปอร์เซ็นต์) พันธุ์นี้มีสารประกอบอะมิโนที่ละลายน้ำค่อนข้างต่ำ แต่แสดงอาการไม่ต้านทาน เนื่องจากโครงสร้างของเยื่อหุ้มเมล็ดอ่อนแอ จึงทำให้สารประกอบอะมิโนละลายน้ำออกมาที่เยื่อหุ้มเมล็ดได้ง่าย และเป็นประโยชน์ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา

ในปี คศ.1978 Souza และคณะ หาปริมาณสารประกอบอะมิโนที่ละลายน้ำในถั่วลิสงเกือบ 500 พันธุ์ พบว่ามีปริมาณอยู่ระหว่าง 24-419 equivalents ในรูปของกรด glutamic ต่อกรัมของเยื่อหุ้มเมล็ด (eq.GLU/g) เมื่อนำเมล็ดมาคลุกด้วยเชื้อ A. flavus NRRL 6108 ปรากฏว่ามี 4 พันธุ์ที่มีการเข้าทำลายของเชื้อราน้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ และทั้ง 4 พันธุ์นี้มีปริมาณสารประกอบอะมิโนที่ละลายน้ำต่ำด้วย ส่วนพันธุ์ที่มีสารประกอบอะมิโนที่ละลายน้ำในปริมาณสูง มีการเข้าทำลายของเชื้อรามาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาของ Carter (1973) เกี่ยวกับเปอร์เซ็นต์การงอกของถั่วลิสง พบว่าพันธุ์ที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดงมีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงกว่าพันธุ์ที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีขาว เนื่องจากพวกที่มีเม็ดสีแดง ในเยื่อหุ้มเมล็ดต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อราในดิน

Sanders และ Mixon (1978) รายงานว่าเปอร์เซ็นต์ที่เชื้อขึ้นมีความสัมพันธ์กับปริมาณของแทนนินที่สกัดจากเมล็ดทั้งหมด และที่สกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ด เมื่อนำส่วนสกัดของแทนนินจากเยื่อหุ้มเมล็ดมาผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA แล้วนำมาเลี้ยงเชื้อ A. parasiticus พบว่ามีการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา (Mixon and Sanders, 1979) โดยเมื่อผสมแทนนินลงไป 7.5 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก ต่อปริมาตร จะมีการยับยั้งถึง 80 เปอร์เซ็นต์

2.9.2 การต้านทานเชิงกล (mechanical resistance)

Pettit และคณะ (1977) ศึกษาทางด้านโครงสร้าง และสารประกอบชีวเคมีของเปลือกถั่วลิสง ด้วยกล้องจุลทรรศน์ และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน หลังจากย้อมด้วยสีทางด้าน histochemical พบว่า มีการสะสมแทนนิน และ callose อยู่มาก ฝักของพันธุ์ต่างๆ มีความแตกต่างกันในการสะสม lignin และ cellulose ที่ sclerenchyma band เนื้อเยื่อชั้นนอก (exocarp) ของเปลือกบางพันธุ์เซลล์ parenchyma มีการจัดเรียงตัวอัดกันแน่นมีผนังเซลล์หนา และยังมีการสะสม lignin ด้วย (lignification) เนื้อเยื่อชั้นกลาง (mesocarp) มี sclereid ที่อัดตัวแน่นและมีการเรียงตัวอยู่หลายระนาบ นอกจากนั้นยังมีผนังเซลที่หนา และมีการสะสม lignin มากมาย บางพันธุ์มีผิวของฝักประกอบด้วยเนื้อเยื่อที่คล้ายคอร์ก (cork) อยู่อย่างหนาแน่น ทำให้ผิวของฝักเรียบมีการสะสมของชั้นขี้ผึ้ง (wax) ที่ผิวของเนื้อเยื่อหุ้มเมล็ดอย่างหนาแน่น และมีลักษณะเป็นแผ่น (plate like) นอกจากนั้นชั้นที่คล้าย palisade มีการอัดกันแน่น และเป็นชั้นหนา เซลล์รูปกรวย (cone shape) ที่อยู่ใกล้ผิวของเยื่อหุ้มเมล็ดมีการจัดเรียงตัวที่แน่นกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Zambettakis และ Bockelee - Marvan (1976) ศึกษาผิวของเยื่อหุ้มเมล็ดถั่วลิสง 36 พันธุ์ ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่ามีความแตกต่างกันในด้านต่างๆ ดังนี้ ชั้นของ epidermis มีผิวนูนหรือเว้าต่างกัน การต่อเชื่อมกัน (adherence) ของเซลล์ในชั้น epidermis รูปร่างของ central cavity ลักษณะขอบของชั้น epidermis และการจัดเรียงเป็นชั้น (stratification) ของผิวชั้น epidermis จากการศึกษาสรุปได้ว่า ส่วนที่เชื้อ A. flavus จะแทงทะลุ (penetrate) เข้าไปได้มี 3 ทาง คือ

1. ส่วน central cavity ที่มีผนังเซลล์ที่บางกว่าส่วนอื่นๆ
2. ตรงส่วนต่อเชื่อมของเซลล์ ชั้น epidermis ซึ่งอาจมีบางส่วนต่อเชื่อมกันไม่สนิท
3. ที่ผิวของเยื่อหุ้มเมล็ดมีรอยแยก

Dleckert และ Dieebert (1977) ศึกษาโครงสร้างของเยื่อหุ้มเมล็ดด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่า ถั่วลิสงมีบริเวณส่วนกลาง (mid region) ซึ่งประกอบด้วยเซลล์ parenchyma ที่มีผนังเซลล์บาง มีการจัดเรียงตัวอย่างดี และอัดกันแน่น ทำให้เป็นเกราะ (barrier) ป้องกันไม่ให้เชื้อราแทรกเข้าไป ส่วนพันธุ์ไม่ต้านทานมีการจัดเรียงตัวไม่ดี ทำให้เกิดช่องว่าง (lacunae) ขนาดใหญ่อยู่ทั่วไป ใยราของเชื้อ A. parasiticus จึงแทรกอยู่ในช่องว่างนี้ได้ ส่วนพันธุ์ต้านทานพบใยราเฉพาะชั้นนอก (outer epidermis) เท่านั้นซึ่งเป็นชั้นที่มี cutin เคลือบอยู่ที่ผิวและมี macrosclereid หนาแน่น การที่ใยราไม่สามารถแทรกเข้าไปในบริเวณส่วนกลางได้อาจจะเกิดจากอิทธิพลของสารเชื่อมที่อยู่ภายในหรืออยู่ระหว่างผนังเซล ทนทานต่อการย่อยสลายของเอนไซม์จากใยราของเชื้อรา เนื่องจากบริเวณนี้มีการอัดแน่น ทำให้เยื่อหุ้มเมล็ดของพันธุ์ต้านทานบางกว่าพันธุ์ไม่ต้านทาน

Glueck และคณะ (1977) ศึกษาเยื่อหุ้มเมล็ดถั่วลิสงเกี่ยวกับการแตกของเมล็ด ขณะทำการตากแห้ง และกะเทาะเปลือก พบว่าเยื่อหุ้มของพันธุ์ที่เมล็ดไม่ค่อยแตก มีการอัดตัวกันแน่นน้อยกว่า และมีการยืดหยุ่น (flexible) มากกว่าพันธุ์ที่เมล็ดแตกง่าย ปัจจัยที่ทำให้เยื่อหุ้มเมล็ดทนทานต่อการแตกจะต้องมี parenchyma ชั้นใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่บาง parenchyma ชั้นกลางไม่อัดแน่น และมี sclerenchyma ชั้นนอกที่มีผนังเซลล์หนา

LaPrade (1974) ศึกษาถั่วลิสง 165 สายพันธุ์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่ามีการสะสมของสารคล้ายขี้ผึ้ง (wax like) ที่ผิวของเยื่อหุ้มเมล็ด สายพันธุ์ต้านทานมากกว่าสายพันธุ์ไม่ต้านทาน เมื่อสกัดขี้ผึ้งออกจากเยื่อหุ้มเมล็ดปรากฏว่าเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายของเชื้อ A. flavus มากขึ้น และส่วนสกัดของขี้ผึ้งไม่มีผลในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา LaPrade และคณะ (1973) ทำการทดลองได้ผลเช่นเดียวกัน เมื่อทำการแทงเยื่อหุ้มเมล็ดของพันธุ์ต้านทานด้วยเข็มหรือถูด้วยผง carborundum ก่อนเพาะเชื้อลงบนเมล็ด ปรากฏว่าสูญเสียความต้านทานไป นอกจากนั้นเมื่อแช่เมล็ดใน 1.0% 2, 3, 5 - trophey1 -2H - tertrazolium chloride (T.Z.C) พบว่ามีจุดสีแดงเกิดขึ้นที่ใบเลี้ยงของพันธุ์ไม่ต้านทานเท่านั้น แสดงว่าเยื่อหุ้มเมล็ดของพันธุ์ต้านทานไม่ซึมซาบ (permeable) เหมือนพันธุ์ไม่ต้านทาน (Laprade และ Bartz, 1972) Carter (1973) พบว่าเยื่อหุ้มเมล็ดช่วยป้องกัน การเข้าทำลายของเชื้อราก่อนที่เมล็ดจะงอก ถ้าเอาเยื่อหุ้มเมล็ดออกจะงอกเพียง 10 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น

Ketring และคณะ (1976) รายงานว่า พันธุ์ถั่วลิสงที่ต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อ A. flavus มีเยื่อหุ้มเมล็ดที่มีอัตราการดูดน้ำช้ากว่าพันธุ์ไม่ต้านทานในสภาพที่มีความชื้นสูง เมื่อทำให้เมล็ดแห้งปรากฏว่าพันธุ์ต้านทานจะลดความชื้นลงมาอยู่มาอยู่ในระดับที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราได้เร็วกว่าพันธุ์ไม่ต้านทาน จากการหาปริมาณโปรตีน และไขมัน พบว่า ไม่มีความสัมพันธ์กับลักษณะทั้งสองของเยื่อหุ้มเมล็ด

2.10 การป้องกันกำจัดเชื้อรา และสารพิษอะฟลาทอกซิน

การป้องกันกำจัดเชื้อรา และสารพิษอะฟลาทอกซิน มีหลายวิธี เช่น การควบคุมการกำจัดโดยทางชีววิทยา (biological means), การควบคุมการกำจัดโดยทางฟิสิกส์ (physical means) และการควบคุมกำจัดโดยใช้สารเคมี (chemical means) เป็นต้น (รณภพ, 2530)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.10.1 การควบคุมทางชีววิทยา

การควบคุมการกำจัดเชื้อรา และอะฟลาทอกซินโดยทางชีววิทยา ทำได้โดยการนำเอาจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ คือ แบคทีเรีย ยีสต์ รา แอคติโนมัยสีท และอื่นๆ ประมาณ 1,000 ชนิด มาทำการทดสอบความสามารถในการควบคุมการกำจัดเชื้อรา และสารพิษอะฟลาทอกซิน หรือเปลี่ยนรูปโครงสร้างของอะฟลาทอกซินทำให้ความเป็นพิษลดลง หรือไม่เกิดเป็นพิษต่อสัตว์อื่นๆ จากการทดสอบพบว่า แบคทีเรีย Flavobacterium aurenticum (NRRL B-184) สามารถเปลี่ยนรูปโครงสร้างของสารพิษอะฟลาทอกซิน B_1 เป็นชนิด B_{2a} ซึ่งเป็นอะฟลาทอกซินที่ไม่เป็นพิษต่อสัตว์ นอกจากนี้ยังได้มีการสกัดสารพิษอะฟลาทอกซินจากอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเชื้อ A. flavus ที่สามารถสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้ร่วมกับเชื้อ Flavobacterium auranticum แล้วนำสารพิษอะฟลาทอกซินที่ได้นี้ไปผสมกับอาหารใช้เลี้ยงลูกเป็ดเป็นผลปรากฏว่าลูกเป็ดไม่มีอาการถูกพิษของสารอะฟลาทอกซินเลย (Ciegler, 1966) El-Gendy และ Marth (1981) รายงานว่า Lactobacillus casei เมื่อใช้เลี้ยงร่วมกับเชื้อรา A. parasiticus ในอาหาร mineral salts glucose broth บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 วัน พบว่า Lactobacillus casei สามารถช่วยลดปริมาณสารอะฟลาทอกซินได้ โดยเปรียบเทียบกับอาหารที่เลี้ยงเฉพาะ A. parasiticus เพียงอย่างเดียว Mabrouk และคณะ (1985) รายงานว่าสาหร่ายทะเลบางชนิด เช่นน Sargassum despiense, Turbinaria decurense, Dilophus ligulatus และ Padina gavonia ทำให้เชื้อราสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้น้อยลงเช่นกัน

Sauer และ Burroughs (1980) ได้รายงานถึงการแข่งขันการเจริญของเชื้อราต่อการสร้างอะฟลาทอกซิน B_1 โดยข้าวโพดที่เก็บไว้ในขณะที่มีความชื้นสูง จะพบว่ามีเชื้อรา Fusarium และ A. flavus เจริญเติบโตเป็นจำนวนมากแต่ไม่พบอะฟลาทอกซินเลย Wicklow และคณะ (1980) พบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อรา A. flavus ร่วมกับเชื้อรา A. niger หรือเชื้อรา Trichoderma viride บนเมล็ดข้าวโพดที่พึ่งทำการเก็บเกี่ยวและนำมาทำการฆ่าเชื้อแล้ว จะไม่พบอะฟลาทอกซินเลย Lillehoj และคณะ (1982) รายงานว่า เมื่อเลี้ยงเชื้อระหว่าง A. flavus, Penicillium

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

oxalicum และ Fusalium moniliforms ลงบนฝักข้าวโพด จะทำให้ปริมาณอะฟลาทอกซินปะปนลดลง

Djion และ Hesseltine (1979) ได้รายงานว่า การนำผลผลิตที่ปนเปื้อนเชื้อรา A. falvus และ A. parasiticus มาใช้ทำเทมเป้ (Tempeh) ซึ่งเป็นอาหารพื้นเมืองของชาวอินโดนีเซีย โดยใช้เชื้อรา Rhizopus oligosporus ปรากฏว่าสามารถลดการเจริญและการสร้างสปอร์ของ A. flavus และ A. parasiticus ได้รวมทั้งลดปริมาณอะฟลาทอกซินได้ด้วย นอกจากนี้ Wang และคณะ (1981) ได้พบว่า R. oligosporus ยังมีผลต่อแบคทีเรียแกรมบวก รวมทั้ง Clostridium botulinum, Bacillus subtillis และ Staphylococous aurlus

2.10.2 การควบคุมทางฟิสิกส์

Hunter (1969), Christensen และ Kaufman (1974) รายงานว่าการทำให้เมล็ดข้าวโพดมีความชื้นภายในเมล็ด 14% และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ต่ำกว่า 75% จะสามารถเก็บข้าวโพดนั้นได้นานหลายเดือนถึงหนึ่งปี นอกจากนี้ยังมีรายงายว่าอะฟลาทอกซินจะเปลี่ยนรูปได้เมื่อถูกแสง ทำให้มีความเป็นพิษน้อยลง และสารพิษอะฟลาทอกซินยังไวต่อแสงอัลตราไวโอเลตด้วย

อะฟลาทอกซินมีความเสถียรต่อความร้อนค่อนข้างมาก Coones และคณะ (1966) ได้รายงานว่าได้ทำการฆ่าเชื้อเมล็ดถั่วที่ยังไม่ได้กะเทาะเปลือกที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จะสามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซินจาก 7,000 เหลือเพียง 350 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม

2.10.3 การควบคุมทางเคมี

สารเคมีหลายชนิดใช้ได้ผลดี และมีประสิทธิภาพในการกำจัดสารพิษอะฟลาทอกซิน รวมทั้งสามารถป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อราที่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้ด้วย Buchanan และ Ayres (1976) พบว่า pH 4.5 และความเข้มข้นของโซเดียมอะซิเตตมากว่า 1.0 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตรของอาหาร สามารถหยุดการเจริญและการผลิต สารพิษอะฟลาทอกซิน โดยเชื้อ A. parasiticus ได้อย่างสมบูรณ์ ในขณะที่ความเข้มข้นระหว่าง 0.6 และ 0.8 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตรของอาหาร สามารถหยุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเจริญและลดปริมาณสารอะฟลาทอกซินได้เพียงบางส่วน Uraih และ Chipley (1976) รายงานว่า ที่ระดับความเข้มข้นต่ำๆ ของโซเดียมอะซิเตต (2 กรัม หรือน้อยกว่า ต่อ 100 มิลลิลิตรของอาหาร) จะลดการเจริญเติบโตของ A. flavus NRRL 3145 แต่กลับเพิ่มการสร้างอะฟลาทอกซินได้อย่างมีนัยสำคัญ และที่ 4 กรัมหรือมากกว่าต่อ 100 มิลลิลิตรของอาหารจะสามารถหยุดการเจริญของ A. falvus NRRL 3145 ได้อย่างสมบูรณ์ Resul และคณะ (1986) รายงานว่าที่ pH 5.5 และความเข้มข้นสูงสุดของกรดแอซีติกในการทดลอง จะเพิ่มการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินขึ้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ และที่ pH 4.5 จะลดการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินลง 0.25 เปอร์เซ็นต์

กรดโพรพิโอนิก และอนุพันธ์ของกรดโพรพิโอนิก มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งเชื้อรา แต่จะมีผลเล็กน้อย หรือไม่มีผลต่อเชื้อยีสต์ จึงสามารถนำมาใช้ในการยับยั้งเชื้อราในอุตสาหกรรมขนมปังได้ Vandegraft และคณะ (1975) รายงานว่ากรดโพรพิโอนิก 1% มีประสิทธิภาพในการป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อรา และการผลิตสารพิษโดย A. flavus, A. ochraceus และ Penicillium viridicatum ในข้าวโพดที่มีเชื้อราเหล่านี้อยู่ และนำมาเก็บไว้เป็นเวลา 29 สัปดาห์ ในขณะที่ A. flavus จะเจริญเติบโตได้ดีมากในข้าวโพดที่ไม่ได้ใส่สารเคมีนี้ไว้ การเจริญเติบโตของ A. flavus และ A. parasiticus จะถูกยับยั้งอย่างสมบูรณ์ เมื่อมีโซเดียมโพรพิโอเนตความเข้มข้น 1,000 หรือ 8,000 พีพีเอ็ม ที่ pH 5 และ 7 จะสามารถยับยั้งได้เพียงบางส่วน

Buchanan และ Ayres (1976) รายงานว่ากรดโพรพิโอนิก 0.1 เปอร์เซ็นต์ก็สามารถยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน โดย A. parasiticus ได้เพียงบางส่วน ส่วนที่มีความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ จะสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและการสารพิษอะฟลาทอกซินได้อย่างสมบูรณ์ Gosh และ Hagsiblom (1985) สังเกตว่าระดับความเข้มข้นของกรดโพรพิโอนิกที่ระดับต่ำๆ นั้น จะไม่มีผลกระตุ้นการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน โดยพบว่า 0.05% ของกรดโพรพิโอนิก จะมีผลเพียงเล็กน้อย ต่อการเจริญเติบโตของ a. flavus แต่ปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินที่สร้างได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะลดลงถึง 50 เปอร์เซ็นต์ ในอาหาร chemical defined liquid medium และเมื่อใช้กรดโพรพิโอนิก ร่วมกับกรดแอซีติก จะมีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราได้สูงขึ้น เนื่องจากสารเคมีทั้ง 2 ชนิด มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราเหมือนกันแต่มีข้อแตกต่าง คือ กรดโพรพิโอนิก มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อได้เร็วกว่ากรดแอซีติก แต่มีอัตราการระเหยเป็นไอเร็วกว่า 2 เท่า ซึ่งควบคุมเชื้อได้ในช่วงเวลาสั้นกว่า ดังนั้นการรวมเอาสารเคมี 2 ชนิด ที่มีคุณสมบัติต่างกันเข้าด้วยกัน จะทำให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น จากการทดลอง พบว่า การใช้สารเคมีทั้ง 2 ตัว ผสมกันในอัตราส่วน 0.25% โดยน้ำหนักเมล็ด จะใช้ได้ผลดีและทำให้ข้าวโพดมีกลิ่นเล็กน้อย (ประวัติ, 2528) สำหรับกรดโพรพิโอนิกนี้ใช้ยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้เพราะว่า กรดโพรพิโอนิกสามารถแตกตัวให้กลุ่ม carboxy group ที่มีผลในการยับยั้งและฆ่าเชื้อรา (Bland, 1984)

Abdollahj และคณะ ได้รายงานว่ากรดแล็กติกไม่เหนี่ยวนำหรือสนับสนุนการสังเคราะห์อะฟลาทอกซิน เมื่อมีอยู่ในอาหาร Buchanan และ Ayres (1977) ได้รายงานว่า กรดแล็กติกในขณะที่มีกลูโคสอยู่จะกระตุ้นการสังเคราะห์อะฟลาทอกซินขึ้น El-Gazzar (-) พบว่า A. parasiticus จะเจริญและสร้างอะฟลาทอกซินในปริมาณมาก เมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อราประกอบด้วย กรดแลคติค 2% และเชื้อรายังสามารถผลิตอะฟลาทอกซินได้มากขึ้น ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีพีเอชระหว่าง 3.5 ถึง 4.5 ด้วย

Uraih (1977) รายงานว่า กรดเบนโซอิค และโซเดียมเบนโซเอต จะสามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซิน B_1 และ G_1 ซึ่งผลิตโดย A. falvus และพบว่าการลดปริมาณอะฟลาทอกซิน จะเป็นสัดส่วนกับการเพิ่มปริมาณกรดเบนโซอิค หรือโซเดียมเบนโซดเอต ในการศึกษาครั้งแรกนั้น Chipley (1976) พบว่า กรดเบนโซอิกหรือโซเดียมเบนโซเอต 0.2 กรัม ใน 100 มิลลิลิตรของอาหาร จะสามรถลดทั้งการเจริญของใยรา และการผลิตสารพิษอะฟลาทอกซิน โดย A.flavus และกรดเบนโซอิก หรือโซเดียมเบนโซเอต 0.4 กรัม ใน 100 มิลลิลิตรของอาหาร จะสามารถยับยั้งการเจริญของ A. flavus ได้ นอกจากนี้การยับยั้งโดยกรดเบนโซอิกหรือโซเดียมเบนโซเอต จะดีขึ้นเมื่อค่าพีเอชต่ำลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารเคมีอีกชนิดหนึ่งที่มีความสามารถในการลดความเป็นพิษของสารพิษอะฟลาทอกซิน และใช้ได้ผลดี คือ แอมโมเนีย โดยจะทำปฏิกิริยากับอะฟลาทอกซิน B_1 ทำให้เกิดการเปิดของ lactone ring ในโมเลกุลอะฟลาทอกซิน B_1 แล้วเกิด decarboxylation ได้โมเลกุลของอะฟลาทอกซิน D_1 และมีความเป็นพิษน้อยลงมาก (Brekke, 1977) ประสิทธิภาพของแอมโมเนีย จะสูงขึ้นในเมล็ดที่มีความชื้นภายในเมล็ดและความชื้นสูง โดยที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ลดปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน B_1 จาก 150 พีพีบีเหลือ 15 พีพีบี ภายใน 20 วัน แต่ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ลดปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน B_1 เหลือ 10 พีพีบี ภายใน 2 วัน การใช้แอมโมเนีย นั้นใช้ได้ทั้งรูปก๊าซและสารละลาย โดยอาจใช้ร่วมกับอุณหภูมิและความดันได้ Kasri(1976) รายงานว่าถั่วลิสงที่ปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน B_1 709 พีพีบี ความชื้น 9.6 และ 14.6 เปอร์เซ็นต์ ใช้แอมโมเนียในรูป anhydrous ที่ 200 องศาฟาเรนไฮท์ เวลา 60 นาที ความดัน 20 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว พบว่าลดปริมาณอะฟลาทอกซิน B_1 ได้ 96.5 และ 97.6 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ นอกจากนี้ข้าวโพดที่ผ่านแอมโมเนียแล้วยังปลอดภัย เมื่อนำมาใช้เลี้ยงสัตว์ Norred (1980) พบว่า ข้าวโพดที่ผ่านแอมโมเนียไฮดรอกไซด์ สามารถลดปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินได้ และเมื่อนำมาเลี้ยงสัตว์ก็ไม่มีผลต่อสัตว์เลี้ยง ไม่ว่าจะเป็นการเกิดโรค อัตราการเจริญเติบโตหรือจำนวนไข่ สำหรับข้อจำกัดในการใช้ประโยชน์โดยแอมโมเนีย คือทำให้สีข้าวโพดเปลี่ยนไปโดยจะเปลี่ยนจากสีเหลือง เป็นเหลืองปนน้ำตาล และจะเข้มขึ้นเรื่อยๆ โดยความเข้มข้นของสีจะขึ้นอยู่กับปริมาณของแอมโมเนียที่ใช้ และความชื้นของเมล็ด นอกจากนี้ข้าวโพดที่ผ่านแอมโมเนียแล้ว จะมีกลิ่นของแอมโมเนียติดอยู่ด้วย ถึงแม้จะทำการอบแห้งแล้วก็ตาม แอมโมเนียสามารถนำไปใช้ได้ดีกว่าข้าวโพดที่บดแล้ว เนื่องจากแอมโมเนียสามารถทำปฏิกิริยากับสารพิษอะฟลาทอกซินได้อย่างรวดเร็ว ในการใช้ข้าวโพดเป็นอาหารสัตว์นี้หากนำแอมโมเนียมาใช้ทำปฏิกิริยากับข้าวโพดหลังจากบดแล้ว จะทำให้สารพิษอะฟลาทอกซินหมดไป ส่วนค่าใช้จ่ายจะตกประมาณ 12 สตางค์ต่อกิโลกรัม (เฉพาะค่าแอมโมเนีย) ปัจจุบันโรงงานอาหารสัตว์จะกว้านซื้อเฉพาะข้าวโพดคุณภาพดี เพื่อนำไปเป็นอาหารสัตว์ โดยให้ราคาสูงกว่าท้องตลาด ดังนั้นข้าวโพดที่ส่งเข้าไซโลจึงมีคุณภาพต่ำกว่า หากโรงงานอาหารสตว์มามารถนำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการใช้แอมโมเนียนี้ไปใช้ได้ ก็สามารถรับซื้อข้าวโพดคุณภาพต่ำลงได้ ส่วนข้าวโพดที่มีคุณภาพดีก็สามารถนำส่งไซโล จะช่วยให้คุณภาพของข้าวโพดส่งออกดีขึ้น เป็นการลดปัญหาอะฟลาทอกซินได้อีกขั้นหนึ่ง (ประวัติ, 2528)

โซเดียมคลอไรด์ ที่มีความเข้มข้นต่ำ 1-3 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ของอาหารเลี้ยงเชื้อ จะกระตุ้นการสร้างอะฟลาทอกซิน โดย A. flavus และ A. parasiticus (El-Gazzar et al, 1986) เมื่อใช้โซเดียมคลอไรด์ 15 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) จะไม่พบการสร้างอะฟลาทอกซินเลย และในขณะเดียวกันการเจริญเติบโตของเชื้อราก็จะลดลงด้วย นอกจากนี้เกลือสามารถเข้าทำลายอะฟลาทอกซินได้โดยตรง (ปริมณฑ์ และคณะ, 2520) พวกเกลือต่างๆ เช่น โซเดียมคลอไรด์ โพแทสเซียมคลอไรด์ และโซเดียมไนไตรต้า ที่ความเข้มข้นต่ำๆ จะช่วยส่งเสริมการสร้างอะฟลาทอกซิน ที่มีความเข้มข้นสูงจึงจะมีผลยับยั้งได้แต่ต้องใช้ปริมาณมากๆ

นอกจากนี้ยังมีสารเคมีอีกหลายชนิดที่มีการทดสอบแล้วว่ามีประสิทธิภาพในการลดความเป็นพิษของอะฟลาทอกซินได้ เช่น โซเดียมไบซัลไฟต์ 1 เปอร์เซ็นต์ ใช้คลุกดับ้มล็ดข้าวโพด ที่มีความชื้นภายในเมล็ด 26 เปอร์เซ็นต์ สามารถควบคุมเชื้อราในโรงเก็บได้นาน 30 วัน แต่มีข้อเสียคือทำให้สีของเมล็ดข้าวโพดเปลี่ยนไป แคลเซียมโพรพิโอเนต และโซเดียมโพรพิโอเนตใช้ได้ผลดีกับเมล็ดข้าวโพดที่มีความชื้นสูง แต่มีข้อเสียคือให้ผลในการทำลายเชื้อราในโรงเก็บช้า และมีประสิทธิภาพต่ำที่ความชื้นภายในเมล็ด 18 เปอร์เซ็นต์ (ประวัติ, 2528 ; Rachapetayakom, 1971 ; Sauer and Burroughs, 1974) เนื่องจาก แคลเซียมและโซเดียมโพรพิโอเนตแตกตัวให้คาร์บอเนตไอออน ซึ่งไม่สามารถฆ่าเชื้อราได้ แต่ถ้าอยู่ในสภาพที่มีความชื้นสูง และพีเอชต่ำ จะสามารถฆ่าเชื้อราได้ (Bland, 1984) โซเดียมแอซีเตต สามารถใช้ควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์หลายชนิด และในอุตสาหกรรมได้มีการนำมาใช้เป็นตัวควบคุมจุลินทรีย์ในแป้งมานานแล้ว แต่จากการทดสอบพบว่าประสิทธิภาพในการป้องกันการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินอยู่ในเกณฑ์ต่ำมากไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์เท่าที่ควร (ประวัติ, 2528)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สมุนไพรต่างๆ ในเมืองไทยก็มีประสิทธิภาพในการลดการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้ เช่น กระเทียม ที่ใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารประจำวัน ก็มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโต และการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อรา A. flavus นอกจากนี้พบว่ากระเทียมสามารถทำลายและยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา ที่เป็นสาเหตุของโรคในมนุษย์ได้หลายชนิด ในห้องปฏิบัติการใช้น้ำสกัดกระเทียมผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อรา A. falvus พบว่า หากเพิ่มความเข้มข้นของน้ำสกัดกระเทียมเชื้อราจะสร้างอะฟลาทอกซินได้น้อยลง ในขณะที่การเจริญเติบโตไม่เปลี่ยนแปลง แต่เมื่อความเข้มข้นของน้ำสกัดกระเทียม ที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อเพิ่มขึ้นถึง 0.83 - 1.3 มิลลิกรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลูกบาศก์เมตร จะไม่การเจริญเติบโตของ A. flavus เลยรวมทั้งไม่มีสารพิษอะฟลาทอกซินปะปนอยู่เลย

นอกจากนี้ยังมีสารเคมีอื่นๆ อีกหลายชนิดที่สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อราที่สร้างสารพิษ อะฟลาทอกซิน รวมทั้งควบคุมปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินได้ด้วย เช่น สารพีนอลลิก ซึ่งเป็น antioxidant ใช้ในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในอาหาร ยาฆ่าแมลงบางชนิด เมทิลเซนทีน และองค์ประกอบในสมุนไพรเครื่องเทศ และพืชบางชนิด เป็นต้น

2.11 การศึกษาการป้องกันการเจริญของเชื้อรา Aspergillus flavus และการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงโดยใช้เกลือ

เนื่องจากผลผลิตถั่วลิสงของประเทศไทยมักประสบปัญหาเกี่ยวกับสารพิษอะฟลาทอกซิน ดังนั้นโครงงานพิเศษ นี้จึงได้ทำการศึกษาการยับยั้งการเจริญ และการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินโดยใช้เกลือป่น ซึ่งมีอยู่มากในประเทศไทย และมีราคาถูก โดยได้ศึกษาถึงการใช้ความเข้มข้นของเกลือที่ระดับต่างๆ กัน ว่าจะมีการเจริญ และการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินเป็นอย่างไร โดยมีขั้นตอนในการศึกษาทดลองดังต่อไปนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. การศึกษาผลการใช้เหลือต่อการเจริญของเชื้อในอาหาร malt extract agar กับเกลือที่ความเข้มข้น 20, 40, 80 120 และ 160 มก./ก.อาหาร โดยใช้เกลือ 2 ชนิด คือ เกลือป่น กับโซเดียมคลอไรด์
2. การศึกษาผลของเกลือต่อการเจริญและการสร้างอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงที่มีความเข้มข้นของเกลือระดับต่างๆ กัน โดยมีขั้นตอนคือ
   2.1 การเตรียมสปอร์ของเชื้อรา
   2.2 การหาความชื้นในถั่วลิสง
   2.3 การเพาะเลี้ยงเชื้อในถั่วลิสงที่มีความเข้มข้นของเกลือที่ระดับต่างๆ กัน
   2.4 การสกัดและวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซินที่ได้
   2.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

ขั้นตอนการทำงาน

อุปกรณ์และวิธีการ

1. เชื้อจุลินทรีย์ Aspergillus flavus 102566

2. อุปกรณ์และสารเคมี

อุปกรณ์

1. ตู้บ่ม (Incubator)
2. กล้องจุลทรรศน์
3. Haemacytometer
4. กรวยแยก (Separatory funnel)
5. เครื่องกลั่นระเหยระบบสุญญากาศ (Rotary evaporator)
6. ปั๊มสุญญากาศ (Vacuum pump)
7. กระดาษกรองวัทแมน เบอร์ 1
8. เครื่องเขย่า (Shaker)
9. Syringe ขนาด 5,10 มล.
10. เครื่องชั่ง
11. ฟลาสต์ ขนาด 250 มล.
12. HPLC (Shimadzu) LC-6AD injector
13. UV Spectrophotometric detector SPD-6A 365 nm Absorbance 0.02
14. Column Reverse phase C_{18}
15. Integrator (DATA MODULE MODEL C-R6A Chromatopac)

สารเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.สารเคมีที่ใช้ยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซิน

1.1 โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)

1.2 เกลือป่นจากตลาด

2.สารเคมีที่ใช้ในการสกัด

2.1 เมทานอล (methanol)

2.2 คลอโรฟอร์ม (chloroform)

2.3 เฮกเซน (n-hexane)

2.4 อะซีโตน (acetone)

2.5 เบนซีน (benzene)

2.6 กรดแอซิติก (acetic acid)

2.7 เอทิลอีเทอร์ (ethyl ether)

2.8 เมทิลีนไดคลอไรด์ (CH_2Cl_2)

2.9 Standard aflatxin B_1,G_1

3.การทดลอง

3.1 การเตรียมสปอร์ของเชื้อรา A. flavus 102566

3.1.1 เขี่ยเชื้อราจาก stock culture ลงในหลอดอาหาร Malt Extract Agar Slant เลี้ยงใช้เชื้อมีการเจริญ 7 วัน

3.1.2 นำ หลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ มาทำ spore suspension โดยใช้ tween 80 (0.1%) ใช้ loop เขี่ยสปอร์ให้ออกจากหลอดอาหาร

3.1.3 นำมากรองเอาใยราออกด้วยสำลีโดยใช้กรวยแก้ว

3.1.4 spore suspension ที่ได้ นำมานับจำนวนโดยใช้ Haemacytometer และนำไปเก็บไว้ในตู้เย็น อุณหภูมิ 5 °ซ.

3.2 การหาความชื้นในถั่วลิสง

ใช้ถั่วลิสงที่เป็นสายพันธุ์เดียวกัน ปลูกอยู่ทั่วไปในประเทศไทย และไม่เป็นสายพันธุ์ที่ต้านทานเชื้อรา ซึ่งคือสายพันธุ์ ขอนแก่น-60 โดยมีวิธีดังต่อไปนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.1 อบจานเพาะเชื้อที่ 180 °ซ เป็นเวลา 2 ชม. ทิ้งไว้ให้เย็นใน เดซิกเคเตอร์ แล้วนำมาชั่งด้วยเครื่องชั่งละเอียด ทำอย่างน้อย 3 ซ้ำ บันทึกค่าที่ได้ทั้งหมดไว้

3.2.2 ใส่ถั่วลิสงลงไป ประมาณ 1-5 กรัม ในแต่ละจาน ทิ้งให้เย็นใน เดซิกเคเตอร์

3.2.3 ชั่งน้ำหนักถั่วลิสง และจานเพาะเชื้ออีกครั้ง

3.2.4 วิเคราะห์หาความชื้นได้จาก สูตรคำนวณ ดังนี้

$$X = \frac{W(y-a)}{100-y}$$

เมื่อ X = ปริมาณน้ำที่ต้องเติม

W = นน.ของเมล็ดที่ต้องการหาความชื้น

y = ความชื้นที่ต้องการ

a = ความชื้นเริ่มต้นของเมล็ด

3.3 การใส่เชื้อแบบ point inoculation ลงในจานเพาะเชื้อมีขั้นตอนดังนี้ คือ

3.3.1 เตรียม semisolid suspension โดยใช้ วุ้นผง 0.2% ผสมกับ 0.05% tween 80 น้ำ 99.5% ผสมให้เข้ากันโดยใช้ความร้อน แล้วบิเปตต์อาหาร 0.2-0.4 มล. ใส่ลงในขวดขนาดเล็กปิดฝาเกลียว แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

3.3.2 ถ่ายสปอร์ของเชื้อรา Aspergillus flavus 102566 ลงใน suspension ที่เตรียมได้

3.3.3 ใช้ loop ถ่ายเชื้อราจากข้อ 3.3.2 มาใส่จานเพาะเชื้อที่มีอาหาร malt extract agar ผสมกับเกลือที่มีความเข้มข้นต่างๆ กัน

3.4 ศึกษาผลของการใช้เกลือต่อการเจริญของเชื้อรา Aspergillus flavus 102566 ในอาหาร malt extract agar ผสมกับเกลือที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ชนิดของเกลือที่ใช้มี 2 ชนิด คือ โซเดียมคลอไรด์ และ เกลือป่นจากตลาด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้นของเกลือที่ใช้ คือ 20,40,80,120,160 มิลลิกรัมต่อกรัมของอาหาร

วิธีการมีดังนี้

3.4.1 เตรียมอาหาร malt extract agar แล้วทำการผสมเกลือบ่นจากตลาด และ โซเดียมคลอไรด์ ลงไปในอาหารโดยให้มีความเข้มข้นของเกลือบ่นและโซเดียมคลอไรด์ 20,40,80,120 และ 160 มิลลิกรัมต่อกรัมอาหาร แล้วทำการถ่ายอาหารในจานเพาะเชื้อของเกลือแต่ละชนิด ความเข้มข้นละ 4 ซ้ำ และทำจานคุมโดยไม่ต้องมีการเติมเกลือลงในอาหาร

3.4.2 ทำการถ่ายเชื้อ Aspergillus flavus ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อแบบ point inoculation

3.4.3 นำไปบ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน

3.4.4 ทำการวัดการเจริญของเชื้อรา โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ โคโลนีของเชื้อราทุกวันเป็นเวลา 7 วัน

3.5 ศึกษาผลของเกลือต่อการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน ในถั่วลิสงที่มีระดับความเข้มข้นของเกลือต่างกัน

วิธีการ

3.5.1 นำถั่วลิสงมาหาความชื้นเริ่มต้น ดังวิธีการที่กล่าวมาแล้วข้างต้น

3.5.2 ทำการปรับความชื้นของถั่วลิสงให้ได้ 23% โดยใช้น้ำกลั่น

3.5.3 นำถั่วที่ปรับความชื้นแล้วไปบ่มที่ 4 °ซ 7 วัน โดยมีการเขย่าถั่วลิสงทุกวันเพื่อให้ถั่วมีความชื้นคงที่

3.5.4 นำถั่วที่ได้มาชั่งให้ได้ถุงละ 50 กรัม หลังจากนั้นชั่งเกลือบ่นมาใส่ในถั่วลิสงโดยให้มีระดับความเข้มข้นของเกลือ 0,20,40,80,120 และ 160 มิลลิกรัมต่อกรัมของถั่วลิสง ตามลำดับทำการทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

3.5.5 ใส่ spore suspension ของเชื้อรา Aspergillus flavus 102566 ความเข้มข้นสปอร์ 10^5 สปอร์ต่อ มล. ลงในตัวอย่างถุงละ 1 มล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.5 ทำการจัดการสังเกตเจริญของเชื้อรา ในถั่วลิสงทุกๆ 7 วัน โดยมีการบันทึกผลดังนี้คือ

1 = มีการเจริญน้อยมาก

2 = 1/4 ของเมล็ดถั่วลิสงถูกปกคลุมด้วยใยราและสปอร์

3 = 1/3 ของเมล็ดถั่วลิสงถูกปกคลุมด้วยใยราและสปอร์

4 = 3/4 ของเมล็ดถั่วลิสงถูกปกคลุมด้วยใยราและสปอร์

5 = เมล็ดพืชทั้งหมดถูกปกคลุมด้วยใยราและสปอร์

3.5.6 เก็บตัวอย่างทุก 7 วัน นำมาสกัดและวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซิน

3.6 การสกัดอะฟลาทอกซิน

การสกัดอะฟลาทอกซิน โดยวิธี Sep Pak method

1. นำถั่วลิสงที่ต้องการสกัดมา 50 กรัม ใส่ลงในฟลาสก์ 250 มล. เติมคลอโรฟอร์ม 150 มล. น้ำ 25 มล. เขย่าที่ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที

2. กรองด้วยกระดาษกรองวัทแมนเบอร์ 1 โดยใช้ celite เป็นตัวช่วยกรอง จะได้สารละลายของ คลอโรฟอร์มและน้ำที่มีอะฟลาทอกซินละลายอยู่

3. นำสารละลายที่ได้ใส่ในกรวยแยก เขย่า ทิ้งไว้จนแยกชั้นของคลอโรฟอร์ม ออกมา ชั้นที่เหลืออยู่ทำการสกัดซ้ำด้วย คลอโรฟอร์ม 50 มล. อีกครั้ง

4. นำสารละลายคลอโรฟอร์มที่ได้มาทำการระเหย ด้วยเครื่องกลั่นระเหย ภายใต้สุญญากาศจนแห้ง

5. เติมส่วนผสมของ คลอโรฟอร์มกับเฮกเซนในอัตราส่วน 3 ต่อ 7 ลงไป 10 มล.

6. นำสารละลายที่ได้มาผ่าน Sep-Pak Siliga gel Cartridge Column Chromatography หลังจากนั้นทำการล้าง คอลัมน์ โดยใช้ เฮกเซน 10 มล. แล้วส่วนผสมของเบนซินกับแอซีติก (ในอัตราส่วน 95.5:45) 10 มล. ล้างผ่านครั้งสุดท้ายใช้ส่วนผสมของ เอทิลอีเทอร์กับเฮกเซน (อัตราส่วน 60:40) 10 มล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. หลังจากนั้นชะล้างอะฟลาทอกซินออกโดยใช้ CH_2Cl_2 กับ Acetone (9+1) 15 มล. ล้างผ่าน คอลัมน์

8. นำสารที่ได้ไปทำการระเหยโดยใช้เครื่องกลั่นระเหยภายใต้สูญญากาศจนแห้งแล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซินต่อไป

3.7 การวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง High Performance Liquid Chromatography

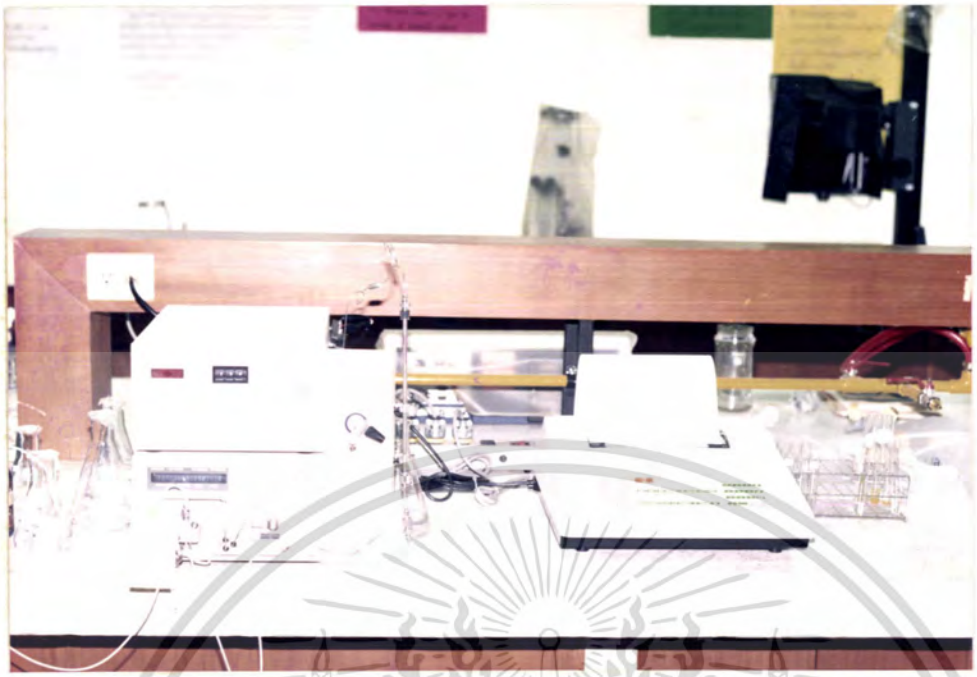
นำ เมทานอล 1 มล. ละลายอะฟลาทอกซิน ที่อยู่ในขวดตัวอย่าง แล้วกรองผ่าน membrane filter (millipore) Ø.45 ไมโครเมตร ใส่ในขวดแก้วเล็ก (vial) นำไปฉีดเข้าเครื่อง HPLC (Shimadzu) UV Spectrophotometric detertor SPD-6A 365 nm Absorbance Ø.Ø2 ใช้คอลัมน์ reverse phase C 18 4.9x25 cm flow rate ใช้ 1 มิลลิลิตรต่อนาที mobile prase ใช้อัตราส่วนของเมททานอล:น้ำ:กรดแอซีติก(6:2:2) บันทึกโครมาโทแกรม ของ อะฟลาทอกซิน ชนิด B1 G1 ประมาณนาทีที่ 8.Ø6,9.74,11.73,14.57 ตามลำดับ แล้วใช้ data module model G-R6A Chromatopac เป็น integrator คำนวณค่าที่วัดได้เปรียบเทียบกับค่า Standard ทั้ง 4 ชนิด โดยดูจาก peak area และ retention time

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 3-1 ตู้บ่ม (incubator)

รูปที่ 3-2 เครื่องกลั่นระเหยระบบสูญญากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3-3 เครื่อง HPLC ที่ใช้ในการทดลองรุ่น LC-6AD

รูปที่ 3-4 เครื่องกรองที่ในการทดลองสำหรับ HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ผลการศึกษาผลของการใช้เกลือต่อการเจริญของเชื้อ Aspergillus flavus ในอาหาร malt extract agar

จากการศึกษาเจริญของเชื้อ Aspergillus flavus บนอาหาร malt extract agar โดยมีระดับความเข้มข้นของเกลือ NaCl และ เกลือปุ่น ที่ความเข้มข้น 20,40,30120 และ 160 มิลลิกรัมต่อกรัม พบว่าที่เกลือ NaCl และเกลือปุ่นที่ความเข้มข้น 160 มิลลิกรัมต่อกรัม จะมีการเจริญของเชื้อ Aspergillus flavus น้อยที่สุด เมื่อวัดเส้นผ่าศูนย์กลางครบ 7 วัน โดยวันที่ 7 วัดเส้นผ่าศูนย์กลางได้ 8 มิลลิเมตร ส่วนอาหารที่ไม่ได้ใส่เกลือ จะมีการเจริญของเชื้อ Aspergillus flavus มากที่สุด เมื่อวัดเส้นผ่าศูนย์กลาง ครบ 7 วัน โดยวันที่ 7 วัดเส้นผ่าศูนย์กลางได้ 75 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4-1) ที่ความเข้มข้นของเกลือ NaCl และเกลือปุ่น 20 และ 40 มิลลิกรัมต่อกรัม มีการเจริญของเชื้อได้ดีเมื่อเทียบกับ (control) โดยในวันที่ 7 วัดเส้นผ่าศูนย์กลางได้ 90 และ 82 มิลลิเมตร 90, และ 85 มิลลิเมตรตามลำดับ ที่ความเข้มข้นของเกลือ NaCl และเกลือปุ่น 80 และ 120 มิลลิกรัมต่อกรัม พบว่าจะมีการเจริญของเชื้อ ปานกลางโดยในวันที่ 7 วัดเส้นผ่าศูนย์กลางได้ 50 และ 26 มิลลิเมตร,
49 และ 22 มิลลิเมตรตามลำดับ

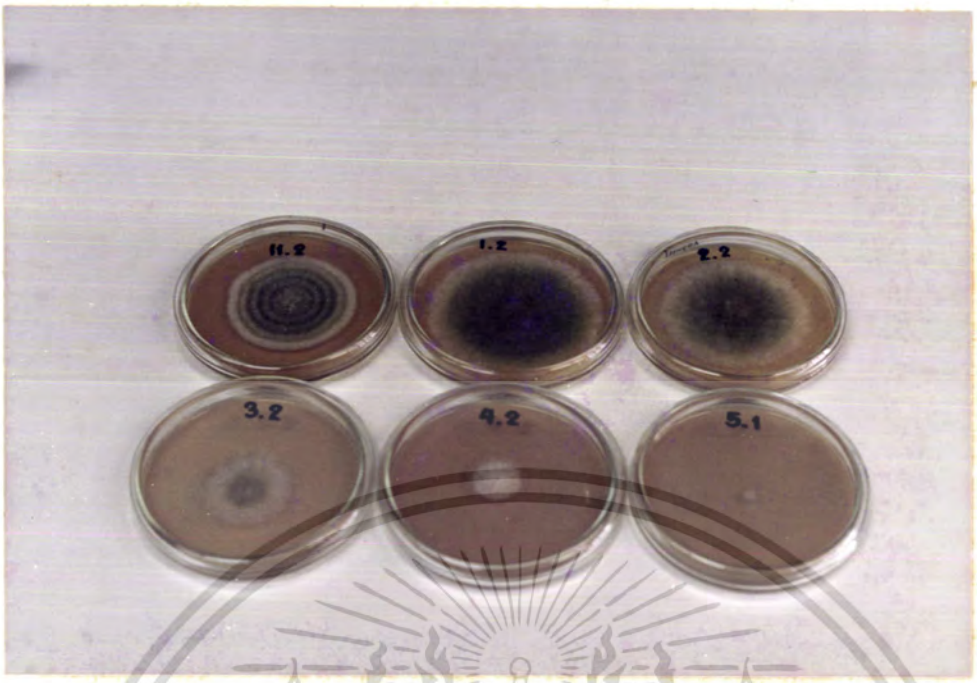
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4-1 ผลของการใช้เกลือต่อการเจริญของเชื้อ Aspergillus flavus บนอาหาร malt extract agar

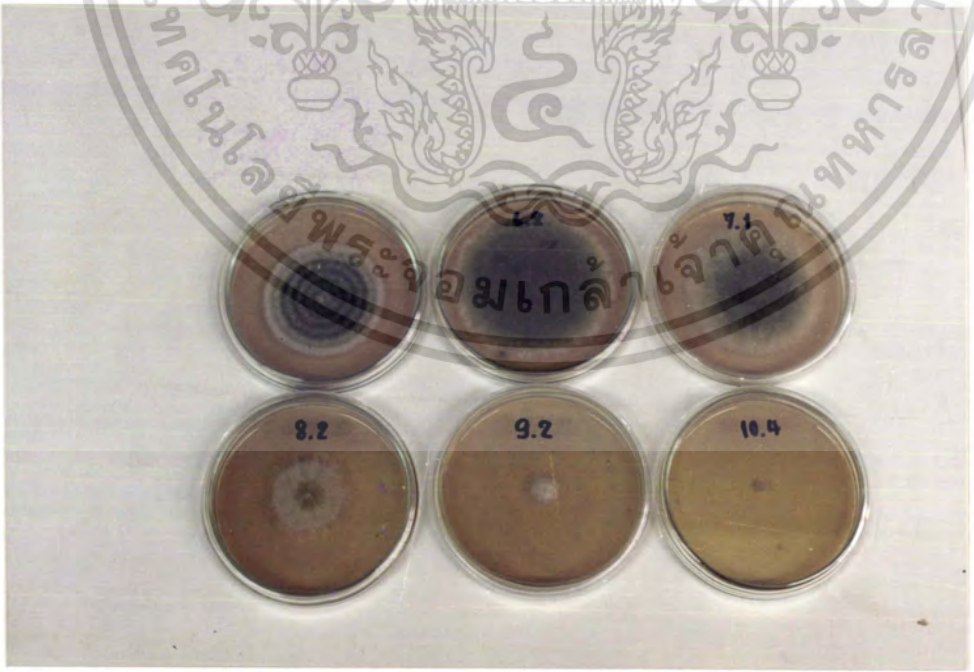
	เส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนี (มิลลิเมตร)						
วันที่ ความเข้มข้น	1	2	3	4	5	6	7
control(ไม่ใส่เกลือ, NaCl)	9	19	30	40	51	62	75
NaCl 20 มก.ต่อกรัม	9	20	43	55	70	76	90
NaCl 40 มก.ต่อกรัม	7	22	37	47	61	73	82
NaCl 80 มก.ต่อกรัม	-	12	21	27	36	41	50
NaCl 120 มก.ต่อกรัม	-	5	12	16	21	25	26
NaCl 160 มก.ต่อกรัม	-	-	-	-	6	7	8
เกลือป่น 20 มก.ต่อกรัม	9	25	42	53	71	83	90
เกลือป่น 40 มก.ต่อกรัม	7	21	36	47	61	77	85
เกลือป่น 80 มก.ต่อกรัม	-	11	22	27	34	42	49
เกลือป่น 120 มก.ต่อกรัม	-	5	9	12	17	18	22
เกลือป่น 160 มก.ต่อกรัม	-	-	-	-	5	6	8

หมายเหตุ - หมายถึง ไม่มีการเจริญของเชื้อรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4-1 แสดงผลการเจริญเติบโตของเชื้อ Aspergillus flavus บนอาหาร malt extract agar ที่มีเกลือป่นผสมอยู่



รูปที่ 4-2 แสดงผลการเจริญเติบโตของเชื้อ Aspergillus flavus บนอาหาร malt extract agar ที่มี NaCl ผสมอยู่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การศึกษาผลของการใช้เกลือต่อการเจริญของเชื้อ Aspergillus flavus ในถั่วลิสง

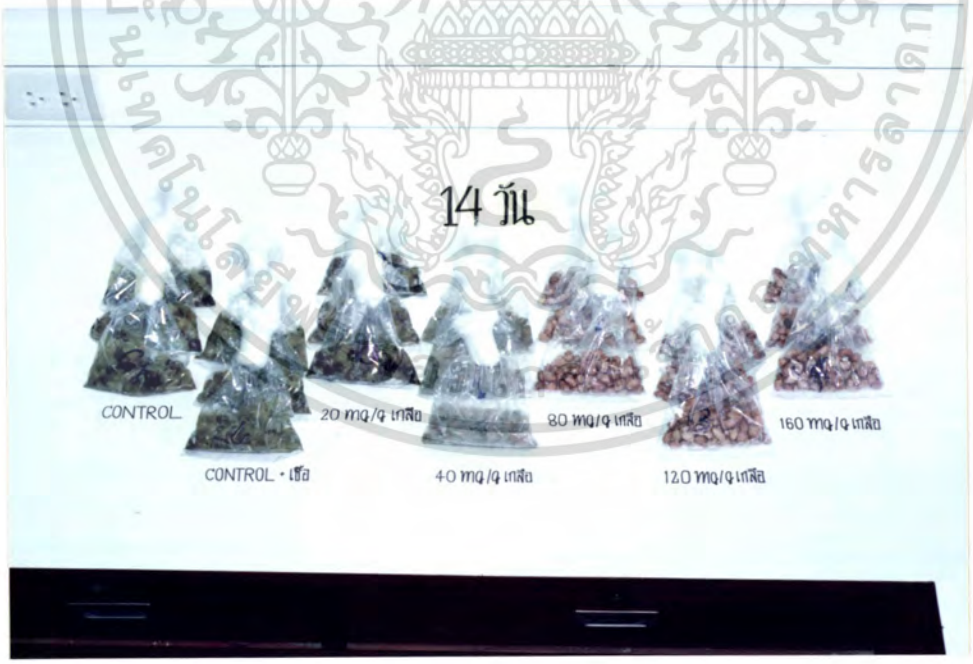
จากการศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อ Aspergillus flavus ในถั่วลิสง ที่มีระดับความเข้มข้นของเกลือ 20,40,80,120 และ 160 มิลลิกรัมต่อกรัม โดยการสังเกตการเจริญของใยราของเชื้อรา Aspergillus flavus บนเมล็ดถั่วลิสง โดยการสังเกตทุกๆ 1 สัปดาห์ พบว่าในสัปดาห์ที่ 1 จะมีการเจริญของเชื้อที่ระดับความเข้มข้นเกลือ 20 และ 40 มิลลิกรัมต่อกรัม และที่ถั่วที่ไม่ได้ใส่เกลือ(ควบคุม) โดยที่ระดับเกลือ 40 มิลลิกรัมต่อกรัมจะทำให้มีการเจริญของเชื้อ เพียงสามในสี่ส่วนของเมล็ดถั่วลิสง ในขณะที่ระดับ 20 มิลลิกรัมต่อกรัมจะมีการเจริญของเชื้อทั่วทั้งเมล็ดเหมือนกับถั่วที่ไม่ได้ใส่เกลือ และผลของสัปดาห์ที่ 2,3 และ 4 จะมีการเจริญของเชื้อราที่ระดับเกลือ 20,40 มิลลิกรัมต่อกรัมเท่านั้น ส่วนที่ระดับ 80, 120 และ 160 มิลลิกรัมต่อกรัมจะไม่มีการเจริญของเชื้อรา แสดงว่าที่ระดับของเกลือ 80,120 และ 160 มิลลิกรัมต่อกรัม จะยั้บยั้งการเจริญของเชื้อ Aspergillus flavus ได้เป็นอย่างดี ดังแสดงในตารางที่ 4-2

ตารางที่ 4-2 ผลของการใช้เกลือต่อการเจริญบนถั่วลิสงของเชื้อ Aspergillus flavus

สัปดาห์ที่	1	2	3	4
ถั่วลิสง (ไม่มีเกลือ)	5	5	5	5
ถั่วลิสง+เชื้อ+เกลือ 20 มก.ต่อกรัม	5	5	5	5
ถั่วลิสง+เชื้อ+เกลือ 40 มก.ต่อกรัม	4	5	5	5
ถั่วลิสง+เชื้อ+เกลือ 80 มก.ต่อกรัม	0	0	0	0
ถั่วลิสง+เชื้อ+เกลือ 120 มก.ต่อกรัม	0	0	0	0
ถั่วลิสง+เชื้อ+เกลือ 160 มก.ต่อกรัม	0	0	0	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4-3 แสดงการเจริญของเชื้อรา Aspergillus flavus บนถั่วลิสงที่มีเกลือป่นระดับต่างๆ กัน (สัปดาห์ที่ 1)



รูปที่ 4-4 แสดงการเจริญของเชื้อรา Aspergillus flavus บนถั่วลิสงที่มีเกลือป่นระดับต่างๆ กัน (สัปดาห์ที่ 2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4-5 แสดงการเจริญของเชื้อรา Aspergillus flavus บนถั่วลิสงที่มีเกลือป่นระดับต่างๆ กัน (สัปดาห์ที่ 3)

รูปที่ 4-6 แสดงการเจริญของเชื้อรา Aspergillus flavus บนถั่วลิสงที่มีเกลือป่นระดับต่างๆ กัน (สัปดาห์ที่ 4)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ 0 = ไม่มีการเจริญของใยราเชื้อรา

1 = มีการเจริญน้อยมาก

2 = 1/4 ของถั่วลิสงถูกปกคลุมด้วยใยรา และสปอร์ของเชื้อรา Aspergillus flavus

3 = 1/2 ของถั่วลิสงถูกปกคลุมด้วยใยรา และสปอร์ของเชื้อรา Aspergillus flavus

4 = 3/4 ของถั่วลิสงถูกปกคลุมด้วยใยรา และสปอร์ของเชื้อรา Aspergillus flavus

5 = เมล็ดถั่วลิสงทั้งหมดถูกปกคลุมด้วยใยรา และสปอร์ของเชื้อรา Aspergillus flavus

4.3 ผลการศึกษาผลการยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงโดยใช้เกลือ

จากการศึกษาถึงการใช้เกลือป่น เพื่อยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินในถั่วลิสง พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของเกลือ 20 มิลลิกรัมต่อกรัมของถั่วลิสง จะกระตุ้นให้เกิดการสร้างอะฟลาทอกซิน B_1 โดยมีปริมาณอะฟลาทอกซิน B_1 เท่ากับ 16.68 ไมโครกรัมต่อกรัมในขณะที่ control มีประมาณอะฟลาทอกซิน B_1 เท่ากับ 7.28 และที่ความเข้มข้น 40,80,120 และ 160 มิลลิกรัมต่อกรัมของถั่วลิสงจะไม่มีการเจริญและการสร้างอะฟลาทอกซินเลยในวันที่ 7 สำหรับวันที่ 14 ที่ระดับความเข้มข้นเกลือ 20 มิลลิกรัมต่อกรัมอาหาร ปริมาณอะฟลาทอกซินจะลดลงจาก 16.68 เป็น 6.90 ไมโครกรัมต่อกรัม (ลดลง 41.34%) และถั่วลิสงที่ไม่มีเกลือก็จะลดลงจาก 7.28 เป็น 3.75 ไมโครกรัมต่อกรัม (ลดลง 51.58%) และในสัปดาห์นี้ที่ระดับความเข้มข้นเกลือ 40 มิลลิกรัมต่อกรัม จะมีการเจริญของ Aspergillus flavus และมีปริมาณอะฟลาทอกซิน 3.40 ไมโครกรัมต่อกรัม ส่วนที่ระดับความเข้มข้นเกลือ 80,120 และ 160 มิลลิกรัมต่อกรัม จะไม่มีการเจริญของเชื้อ Aspergillus flavus เลยและไม่มีการสร้างอะฟลาทอกซิน ผลดังแสดงในตารางที่ 4-3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปได้ว่าการใช้เกลือที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อกรัม จะกระตุ้นให้เกิดการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินเพิ่มมากขึ้น ส่วนที่ความเข้มข้นของเกลือ 30,120 และ 160 มิลลิกรัมจะไม่พบการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินเลย

ตารางที่ 4-3 ผลการยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงโดยใช้เกลือ

ปริมาณอะฟลาทอกซิน(เฉลี่ย) ไมโครกรัมต่อกรัม	B_1	G_1	TOTAL B_1+G_1
วันที่ 7			
ถั่วลิสง	0	0	0
ถั่วลิสง + A.flavus	7.28	3.98	11.25
ถั่วลิสง + A.flavus + เกลือ 20 มก.ต่อกรัม	16.68	0	16.68
ถั่วลิสง + A.flavus + เกลือ 40 มก.ต่อกรัม	0	0	0
ถั่วลิสง + A.flavus + เกลือ 80 มก.ต่อกรัม	0	0	0
ถั่วลิสง + A.flavus + เกลือ 120 มก.ต่อกรัม	0	0	0
ถั่วลิสง + A.flavus + เกลือ 160 มก.ต่อกรัม	0	0	0
วันที่ 14			
ถั่วลิสง	0	0	0
ถั่วลิสง + A.flavus	3.75	0	3.75
ถั่วลิสง + A.flavus + เกลือ 20 มก.ต่อกรัม	6.90	0	6.90
ถั่วลิสง + A.flavus + เกลือ 40 มก.ต่อกรัม	3.40	0	3.40
ถั่วลิสง + A.flavus + เกลือ 80 มก.ต่อกรัม	0	0	0
ถั่วลิสง + A.flavus + เกลือ 120 มก.ต่อกรัม	0	0	0
ถั่วลิสง + A.flavus + เกลือ 160 มก.ต่อกรัม	0	0	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

เมื่อนำค่าที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ จะพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติของอิทธิพลทั้ง 3 อย่างคือ ระดับความเข้มข้นของเกลือ (a) , อายุการเก็บ (b) และอิทธิพลร่วม (interaction) ระหว่างระดับความเข้มข้นของเกลือกับอายุการเก็บดังแสดงไว้ในตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ที่ 4-4 และเพื่อให้การสรุปผลการทดลองละเอียดมากขึ้นโครงงานพิเศษนี้ จึงได้เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของอิทธิพลร่วม (interaction) และแสดงผลไว้ในตารางที่ 4-5

ตารางที่ 4-4 ผลการวิเคราะห์โดย ANOVA สำหรับการยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงโดยใช้เกลือ

SV	DF	SS	MS	F
TREATMENT(T)	13	904.010139	69.539241	809.67 **
a (a)	6	724.392215	120.732036	1405.72 **
b (b)	1	21.071500	21.071500	245.34 **
ERROR	28	2.404819	0.085886	307.67 **
TOTAL	41	906.414980		

** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

หมายเหตุ a หมายถึง ความเข้มข้นของเกลือ

b หมายถึง จำนวนวันที่ใช้เพาะเลี้ยงเชื้อรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4-5 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของอิทธิพลร่วม โดยวิธี DMRT

a (a)	b1	b2	a-MEAN	DIFF
a1	0.000 c	0.000 d	0.000	0.000 ns
a2	7.278 b	3.754 b	5.516	3.524 **
a3	16.684 a	6.897 a	11.791	9.787 **
a4	0.000 c	3.395 c	1.698	-3.395 **
a5	0.000 c	0.000 d	0.000	0.000 ns
a6	0.000 c	0.000 d	0.000	0.000 ns
a7	0.000 c	0.000 d	0.000	0.000 ns
b-MEAN	3.423	2.007	2.715	1.416

** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

a_1 = ถั่วลิสงไม่มีเชื้อ

a_2 = ถั่วลิสง + เชื้อ A.flavus

a_3 = ความเข้มข้นของเกลือ 20 มิลลิกรัมต่อกรัมถั่วลิสง

a_4 = ความเข้มข้นของเกลือ 40 มิลลิกรัมต่อกรัมถั่วลิสง

a_5 = ความเข้มข้นของเกลือ 80 มิลลิกรัมต่อกรัมถั่วลิสง

a_6 = ความเข้มข้นของเกลือ 120 มิลลิกรัมต่อกรัมถั่วลิสง

a_7 = ความเข้มข้นของเกลือ 160 มิลลิกรัมต่อกรัมถั่วลิสง

จากตารางจะเห็นว่า ที่อายุการเก็บ 7 วัน ระดับความเข้มข้นเกลือที่ 20 มิลลิกรัมต่อกรัมถั่วลิสง ให้ค่าเฉลี่ยปริมาณอะฟลาทอกซินสูงสุด 16.68 ไมโครกรัมต่อกรัม และต่างจากที่ระดับความเข้มข้นของเกลืออื่นๆ ทั้งหมด ที่ระดับความเข้มข้นของเกลือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็น 0 ที่อายุการเก็บ 14 วัน ระดับความเข้มข้นเกลือ 20 มิลลิกรัมต่อกรัมถั่วลิสง ยังให้ปริมาณอะฟลาทอกซิน ที่สูงอยู่โดยสูงกว่าที่ระดับความเข้มข้นเกลือ 0 และ 40 มิลลิกรัมต่อกรัมถั่วลิสง ตามลำดับ มีข้อสังเกตคือที่ 7 วันระดับความเข้มข้นเกลือ 40 มิลลิกรัมต่อกรัมถั่วลิสง มีปริมาณอะฟลาทอกซินเท่ากับ 0 แต่ที่ 14 วันมีอะฟลาทอกซิน 3.4 ไมโครกรัมต่อกรัม แสดงให้เห็นว่า ที่ระดับความเข้มข้นเกลือตั้งแต่ 40 มิลลิกรัมต่อกรัมถั่วลิสง จะเริ่มมีการยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซิน โดยที่ระดับความเข้มข้นเกลือ มิลลิกรัมต่อกรัมถั่วลิสง จะมีการสร้างอะฟลาทอกซินเพียงเล็กน้อย และที่ระดับความเข้มข้นเกลือ 80,120 และ 160 มิลลิกรัมต่อกรัมถั่วลิสง ตามลำดับจะไม่มีการสร้างอะฟลาทอกซินเลย

จากผลการทดลองและตารางผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า เมื่อใช้ถั่วลิสงที่แกะเปลือกออกแล้ว มีความชื้นของถั่วลิสงเริ่มต้น 23 เปอร์เซ็นต์ ทดลองกับเกลือป่น ที่ระดับความเข้มข้น 20,40,80,120 และ 160 มิลลิกรัมต่อกรัมถั่วลิสง (2,4,8,12 และ 16 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบอัตราการเจริญและปริมาณการสร้างอะฟลาทอกซินของ A.flavus ในสภาวะที่ไม่ใส่และใส่เกลือที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน จะพบว่าอัตราการเจริญของ A.flavus และปริมาณอะฟลาทอกซินที่ถูกสร้างจะลดลงตามความเข้มข้นเกลือที่เพิ่มขึ้น ยกเว้นที่ระดับความเข้มข้นเกลือ 20 มิลลิกรัมต่อกรัมถั่วลิสง ปริมาณอะฟลาทอกซินจะมีมากกว่าที่ระดับอื่นๆ โดยจะช่วยกระตุ้นให้มีการเจริญและสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อ A. flavus ได้ และที่ระดับความเข้มข้นเกลือ 40,80,120 และ 160 มิลลิกรัมต่อกรัมถั่วลิสงสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อและการสร้างอะฟลาทอกซินได้ ดังที่ Bullerman (1969) ได้รายงานว่า การใช้เกลือโซเดียมคลอไรด์ หากใช้ในปริมาณต่ำ 1-3 กรัมต่ออาหาร 100 มิลลิลิตร (1-3%) จะช่วยกระตุ้นการสร้างอะฟลาทอกซินให้สูงขึ้นได้ Shih และ Marth (1972) พบว่าการเจริญของเชื้อ A.flavus และ A.parasiticus จะถูกยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ 14% เชื้อราสายเชื้อ Apergillus sp จะสามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้ในปริมาณต่ำในอาหารพวกซาลามิ (Salami) ซึ่งประกอบด้วยโซเดียมคลอไรด์ 2.2% เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 20 °ซ และในพวกแฮมซึ่งเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 ซ EL.Gazzar (1986) รายงานว่าการใช้อาหารที่ประกอบด้วยโซเดียมคลอไรด์ 10% บ่มที่อุณหภูมิ 13 °ซ โซเดียมจะมีผลในการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพิ่มระยะ LAG PHASE ของการเจริญ A.parasiticus การเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์จะมีผลในการลดการสะสมของปริมาณอะฟลาทอกซิน และทำให้ระยะ LAG PHASE ของการเจริญเพิ่มขึ้น Rusul (1986) ศึกษาอิทธิพลของโพแทสเซียมคลอไรด์ และส่วนผสมของโพแทสเซียมคลอไรด์ กับโซเดียมคลอไรด์ต่อการเจริญ และการสร้างอะฟลาทอกซินของ A.parasiticus พบว่าปริมาณอะฟลาทอกซินจะลดลง เมื่อความเข้มข้นของโพแทสเซียมคลอไรด์ กับส่วนผสมของโพแทสเซียมคลอไรด์ และโซเดียมคลอไรด์เพิ่มขึ้น แต่กลับมีผลทำให้ปริมาณการเจริญเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากพบว่าปริมาณใยรา (น้ำหนักแห้ง) เพิ่มขึ้น แต่สารเคมีทั้ง 2 ชนิดนี้ ก็จะมีผลในการเพิ่มระยะ LAG PHASE ของ A. parasiticus ตามปริมาณความเข้มข้นของสารเคมีที่เพิ่มขึ้น

สรุปได้ว่า เกลือจะสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างอะฟลาทอกซินของ A.flavus ได้เนื่องจาก เกลือสามารถแตกตัวให้โซเดียมอิออน ทำให้สภาวะสมดุลอิออนของเซลล์ถูกทำลาย รวมทั้งทำให้สภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเปลี่ยนแปลงไป ระยะ LAG PHASE ของการเจริญยาวนานขึ้น การเจริญเติบโตและการสร้างอะฟลาทอกซิน ของ A.flavus ลดน้อยลง ตามปริมาณความเข้มข้นของเกลือที่เพิ่มขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

จากการทดลองพบว่า เกลือจะมีผลในการยับยั้งการเจริญและการสร้างอะฟลาทอกซินได้ แต่ระดับความเข้มข้นของเกลือจะต้องมีปริมาณสูง คือตั้งแต่ 80 มิลลิกรัมต่อกรัมอาหารขึ้นไป จึงจะมีการยับยั้งได้อย่างสมบรูณ์ และถ้าระดับความเข้มข้นของเกลือต่ำคือ 20 มิลลิกรัมต่อกรัมอาหารจะช่วยกระตุ้นให้มีการเจริญและการสร้างอะฟลาทอกซินได้สูงขึ้น สำหรับในความเข้มข้นปานกลาง คือ 40 มิลลิกรัมต่อกรัมอาหาร จะช่วยชะลอการเจริญของเชื้อ A. flavus ไให้มีการเจริญและการสร้างอะฟลาทอกซินได้น้อยลง ดังนั้นผลการทดลองนี้ จึงอาจเป็นแนวทางในการนำไปใช้อย่างจริงจัง ผู้ทำการทดลองคิดว่า ควรจะต้องมีการทำการทดลองเกี่ยวกับการใช้เกลือยับยั้งการเจริญ และการสร้างอะฟลาทอกซินอีก โดยอาจจะทำการเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของเกลือให้มีช่วงความเข้มข้นของเกลือใกล้เคียงกัน ซึ่งในการทดลองนี้มีระดับความเข้มข้นของเกลือห่างกัน ซึ่งเมื่อนำไปใช้ในระดับอุตสาหกรรม อาจเป็นการสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายเพิ่มขึ้น จึงควรมีการทดลองเพื่อหาระดับความเข้มข้นของเกลือที่เหมาะสมยิ่งขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ malt extract agar

มีส่วนผสมดังนี้คือ

Malt Extract	30	กรัม
Mycological Peptone	5	กรัม
วุ้น	15	กรัม
น้ำ	1000	มิลลิลิตร

ปรับสภาพความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 5.4

2. วิธีการใส่เชื้อแบบ point inoculation ลงในจานอาหาร

1. เตรียม semisolid suspension โดยมีส่วนผสมดังนี้คือ

วุ้น	0.2	เปอร์เซ็นต์
tween 80	0.05	เปอร์เซ็นต์
น้ำ	99.75	เปอร์เซ็นต์

นำส่วนผสมต่างๆ มาผสมกันแล้ว นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ ที่ 121 °ซ 15-20 นาที แล้ว นำส่วนผสมต่างๆ ที่ผสมกันแล้ว 0.2-0.4 มล. มาใส่ลงในขวดขนาดเล็ก ปิดฝาเกลียว แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °ซ 15-20 นาที

2. ถ่ายสปอร์ของเชื้อรา A. flavus ลงใน suspersion ที่เตรียมได้

3. ใช้ loop ถ่ายเชื้อจากข้อ 2 มาใส่จานเพาะเชื้อ (อาหารในจานเพาะเชื้อแต่ละจานควรมีปริมาตรเท่ากัน)

3. การเตรียม diluent เพื่อใช้ทำ spore suspersion

เตรียมโดยผสม Tween 80 0.1 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °ซ 15-20 นาที

4. ตาราง F

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หน่วยเปอร์เซ็นต์ของการแจกแจงแบบ F

$\alpha = .01$

Degrees of Freedom

ν_2 \ ν_1	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	4052	4999.5	5403	5625	5764	5859	5928	5982	6022
2	98.50	99.00	99.17	99.25	99.30	99.33	99.36	99.37	99.39
3	34.12	30.82	29.46	28.71	28.24	27.91	27.67	27.49	27.35
4	21.20	18.00	16.69	15.98	15.52	15.21	14.98	14.80	14.66
5	16.26	13.27	12.06	11.39	10.97	10.67	10.46	10.29	10.16
6	13.75	10.92	9.78	9.15	8.75	8.47	8.26	8.10	7.98
7	12.25	9.55	8.45	7.85	7.46	7.19	6.99	6.84	6.72
8	11.26	8.65	7.59	7.01	6.63	6.37	6.18	6.03	5.91
9	10.56	8.02	6.99	6.42	6.06	5.80	5.61	5.47	5.35
10	10.04	7.56	6.55	5.99	5.64	5.39	5.20	5.06	4.94
11	9.65	7.21	6.22	5.67	5.32	5.07	4.89	4.74	4.63
12	9.33	6.93	5.95	5.41	5.06	4.82	4.64	4.50	4.39
13	9.07	6.70	5.74	5.21	4.86	4.62	4.44	4.30	4.19
14	8.86	6.51	5.56	5.04	4.69	4.46	4.28	4.14	4.03
15	8.68	6.36	5.42	4.89	4.56	4.32	4.14	4.00	3.89
16	8.53	6.23	5.29	4.77	4.44	4.20	4.03	3.89	3.78
17	8.40	6.11	5.18	4.67	4.34	4.10	3.93	3.79	3.68
18	8.29	6.01	5.09	4.58	4.25	4.01	3.84	3.71	3.60
19	8.18	5.93	5.01	4.50	4.17	3.94	3.77	3.63	3.52
20	8.10	5.85	4.94	4.43	4.10	3.87	3.70	3.56	3.46
21	8.02	5.78	4.87	4.37	4.04	3.81	3.64	3.51	3.40
22	7.95	5.72	4.82	4.31	3.99	3.76	3.59	3.45	3.35
23	7.88	5.66	4.76	4.26	3.94	3.71	3.54	3.41	3.30
24	7.82	5.61	4.72	4.22	3.90	3.67	3.50	3.36	3.26
25	7.77	5.57	4.68	4.18	3.85	3.63	3.46	3.32	3.22
26	7.72	5.53	4.64	4.14	3.82	3.59	3.42	3.29	3.18
27	7.68	5.49	4.60	4.11	3.78	3.56	3.39	3.26	3.15
28	7.64	5.45	4.57	4.07	3.75	3.53	3.36	3.23	3.12
29	7.60	5.42	4.54	4.04	3.73	3.50	3.33	3.20	3.09
30	7.56	5.39	4.51	4.02	3.70	3.47	3.30	3.17	3.07
40	7.31	5.18	4.31	3.83	3.51	3.29	3.12	2.99	2.89
60	7.08	4.98	4.13	3.65	3.34	3.12	2.95	2.82	2.72
120	6.85	4.79	3.95	3.48	3.17	2.96	2.79	2.66	2.56
∞	6.63	4.61	3.78	3.32	3.02	2.80	2.64	2.51	2.41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10	12	15	20	24	30	40	60	120	∞	ν_1 / ν_2
6056	6106	6157	6209	6235	6261	6287	6313	6339	6366	1
99.40	99.42	99.43	99.45	99.46	99.47	99.47	99.48	99.49	99.50	2
27.23	27.05	26.87	26.69	26.60	26.50	26.41	26.32	26.22	26.13	3
14.55	14.37	14.20	14.02	13.93	13.84	13.75	13.65	13.56	13.46	4
10.05	9.89	9.72	9.55	9.47	9.38	9.29	9.20	9.11	9.02	5
7.87	7.72	7.56	7.40	7.31	7.23	7.14	7.06	6.97	6.88	6
6.62	6.47	6.31	6.16	6.07	5.99	5.91	5.82	5.74	5.65	7
5.81	5.67	5.52	5.36	5.28	5.20	5.12	5.03	4.95	4.86	8
5.26	5.11	4.96	4.81	4.73	4.65	4.57	4.48	4.40	4.31	9
4.85	4.71	4.56	4.41	4.33	4.25	4.17	4.08	4.00	3.91	10
4.54	4.40	4.25	4.10	4.02	3.94	3.86	3.78	3.69	3.60	11
4.30	4.16	4.01	3.86	3.78	3.70	3.62	3.54	3.45	3.36	12
4.10	3.96	3.82	3.66	3.59	3.51	3.43	3.34	3.25	3.17	13
3.94	3.80	3.66	3.51	3.43	3.35	3.27	3.18	3.09	3.00	14
3.80	3.67	3.52	3.37	3.29	3.21	3.13	3.05	2.96	2.87	15
3.69	3.55	3.41	3.26	3.18	3.10	3.02	2.93	2.84	2.75	16
3.59	3.46	3.31	3.16	3.08	3.00	2.92	2.83	2.75	2.65	17
3.51	3.37	3.23	3.08	3.00	2.92	2.84	2.75	2.66	2.57	18
3.43	3.30	3.15	3.00	2.92	2.84	2.76	2.67	2.58	2.49	19
3.37	3.23	3.09	2.94	2.86	2.78	2.69	2.61	2.52	2.42	20
3.31	3.17	3.03	2.88	2.80	2.72	2.64	2.55	2.46	2.36	21
3.26	3.12	2.98	2.83	2.75	2.67	2.58	2.50	2.40	2.31	22
3.21	3.07	2.93	2.78	2.70	2.62	2.54	2.45	2.35	2.26	23
3.17	3.03	2.89	2.74	2.66	2.58	2.49	2.40	2.31	2.21	24
3.13	2.99	2.85	2.70	2.62	2.54	2.45	2.36	2.27	2.17	25
3.09	2.96	2.81	2.66	2.58	2.50	2.42	2.33	2.23	2.13	26
3.06	2.93	2.78	2.63	2.55	2.47	2.38	2.29	2.20	2.10	27
3.03	2.90	2.75	2.60	2.52	2.44	2.35	2.26	2.17	2.06	28
3.00	2.87	2.73	2.57	2.49	2.41	2.33	2.23	2.14	2.03	29
2.98	2.84	2.70	2.55	2.47	2.39	2.30	2.21	2.11	2.01	30
2.80	2.66	2.52	2.37	2.29	2.20	2.11	2.02	1.92	1.80	40
2.63	2.50	2.35	2.20	2.12	2.03	1.94	1.84	1.73	1.60	60
2.47	2.34	2.19	2.03	1.95	1.86	1.76	1.66	1.53	1.38	120
2.32	2.18	2.04	1.88	1.79	1.70	1.59	1.47	1.32	1.00	∞

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หน่วยเปอร์เซ็นต์ของการแจกแจงแบบ F

$\alpha = .05$

Degrees of Freedom

ν_2 \ ν_1	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	161.4	199.5	215.7	224.6	230.2	234.0	236.8	238.9	240.5
2	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38
3	10.13	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81
4	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.00
5	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77
6	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10
7	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68
8	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39
9	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18
10	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02
11	4.84	3.98	3.59	3.36	3.20	3.09	3.01	2.95	2.90
12	4.75	3.89	3.49	3.26	3.11	3.00	2.91	2.85	2.80
13	4.67	3.81	3.41	3.18	3.03	2.92	2.83	2.77	2.71
14	4.60	3.74	3.34	3.11	2.96	2.85	2.76	2.70	2.65
15	4.54	3.68	3.29	3.06	2.90	2.79	2.71	2.64	2.59
16	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.74	2.66	2.59	2.54
17	4.45	3.59	3.20	2.96	2.81	2.70	2.61	2.55	2.49
18	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.66	2.58	2.51	2.46
19	4.38	3.52	3.13	2.90	2.74	2.63	2.54	2.48	2.42
20	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.51	2.45	2.39
21	4.32	3.47	3.07	2.84	2.68	2.57	2.49	2.42	2.37
22	4.30	3.44	3.05	2.82	2.66	2.55	2.46	2.40	2.34
23	4.28	3.42	3.03	2.80	2.64	2.53	2.44	2.37	2.32
24	4.26	3.40	3.01	2.78	2.62	2.51	2.42	2.36	2.30
25	4.24	3.39	2.99	2.76	2.60	2.49	2.40	2.34	2.28
26	4.23	3.37	2.98	2.74	2.59	2.47	2.39	2.32	2.27
27	4.21	3.35	2.96	2.73	2.57	2.46	2.37	2.31	2.25
28	4.20	3.34	2.95	2.71	2.56	2.45	2.36	2.29	2.24
29	4.18	3.33	2.93	2.70	2.55	2.43	2.35	2.28	2.22
30	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.33	2.27	2.21
40	4.08	3.23	2.84	2.61	2.45	2.34	2.25	2.18	2.12
60	4.00	3.15	2.76	2.53	2.37	2.25	2.17	2.10	2.04
120	3.92	3.07	2.68	2.45	2.29	2.17	2.09	2.02	1.96
∞	3.84	3.00	2.60	2.37	2.21	2.10	2.01	1.94	1.88

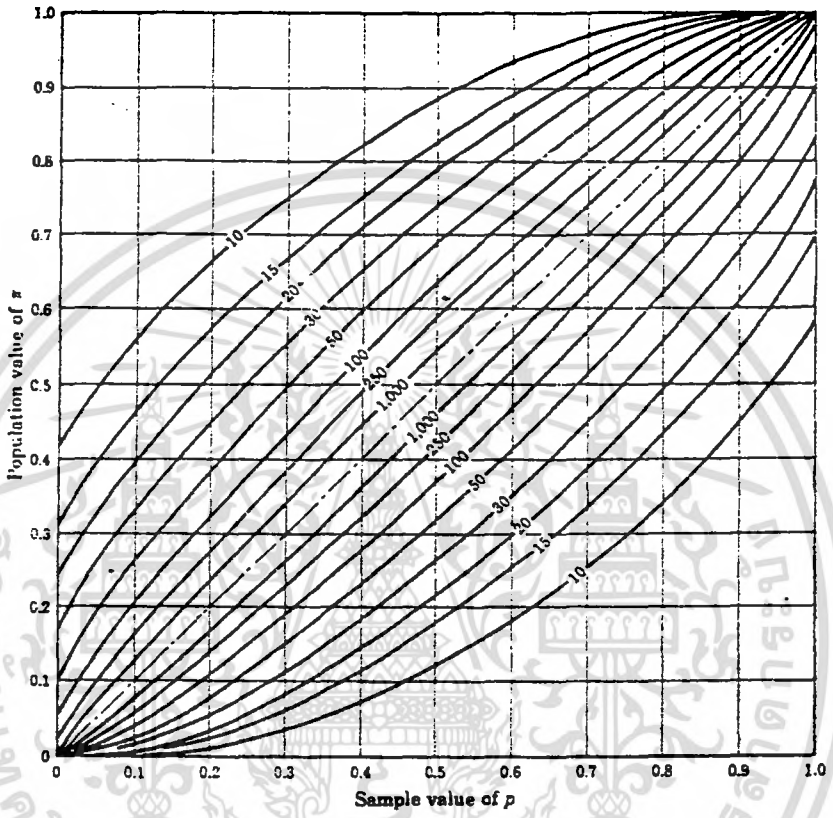
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 (ต่อ)

10	12	15	20	24	30	40	60	120	∞	ν_2 \ ν_1
241.9	243.9	245.9	248.0	249.1	250.1	251.1	252.2	253.3	254.3	1
19.40	19.41	19.43	19.45	19.45	19.46	19.47	19.48	19.49	19.50	2
8.79	8.74	8.70	8.66	8.64	8.62	8.59	8.57	8.55	8.53	3
5.96	5.91	5.86	5.80	5.77	5.75	5.72	5.69	5.66	5.63	4
4.74	4.68	4.62	4.56	4.53	4.50	4.46	4.43	4.40	4.36	5
4.06	4.00	3.94	3.87	3.84	3.81	3.77	3.74	3.70	3.67	6
3.64	3.57	3.51	3.44	3.41	3.38	3.34	3.30	3.27	3.23	7
3.35	3.28	3.22	3.15	3.12	3.08	3.04	3.01	2.97	2.93	8
3.14	3.07	3.01	2.94	2.90	2.86	2.83	2.79	2.75	2.71	9
2.98	2.91	2.85	2.77	2.74	2.70	2.66	2.62	2.58	2.54	10
2.85	2.79	2.72	2.65	2.61	2.57	2.53	2.49	2.45	2.40	11
2.75	2.69	2.62	2.54	2.51	2.47	2.43	2.38	2.34	2.30	12
2.67	2.60	2.53	2.46	2.42	2.38	2.34	2.30	2.25	2.21	13
2.60	2.53	2.46	2.39	2.35	2.31	2.27	2.22	2.18	2.13	14
2.54	2.48	2.40	2.33	2.29	2.25	2.20	2.16	2.11	2.07	15
2.49	2.42	2.35	2.28	2.24	2.19	2.15	2.11	2.06	2.01	16
2.45	2.38	2.31	2.23	2.19	2.15	2.10	2.06	2.01	1.96	17
2.41	2.34	2.27	2.19	2.15	2.11	2.06	2.02	1.97	1.92	18
2.38	2.31	2.23	2.16	2.11	2.07	2.03	1.98	1.93	1.88	19
2.35	2.28	2.20	2.12	2.08	2.04	1.99	1.95	1.90	1.84	20
2.32	2.25	2.18	2.10	2.05	2.01	1.96	1.92	1.87	1.81	21
2.30	2.23	2.15	2.07	2.03	1.98	1.94	1.89	1.84	1.78	22
2.27	2.20	2.13	2.05	2.01	1.96	1.91	1.86	1.81	1.76	23
2.25	2.18	2.11	2.03	1.98	1.94	1.89	1.84	1.79	1.73	24
2.24	2.16	2.09	2.01	1.96	1.92	1.87	1.82	1.77	1.71	25
2.22	2.15	2.07	1.99	1.95	1.90	1.85	1.80	1.75	1.69	26
2.20	2.13	2.06	1.97	1.93	1.88	1.84	1.79	1.73	1.67	27
2.19	2.12	2.04	1.96	1.91	1.87	1.82	1.77	1.71	1.65	28
2.18	2.10	2.03	1.94	1.90	1.85	1.81	1.75	1.70	1.64	29
2.16	2.09	2.01	1.93	1.89	1.84	1.79	1.74	1.68	1.62	30
2.08	2.00	1.92	1.84	1.79	1.74	1.69	1.64	1.58	1.51	40
1.99	1.92	1.84	1.75	1.70	1.65	1.59	1.53	1.47	1.39	60
1.91	1.83	1.75	1.66	1.61	1.55	1.50	1.43	1.35	1.25	120
1.83	1.75	1.67	1.57	1.52	1.46	1.39	1.32	1.22	1.00	∞

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แนวล้อมรอบความเชื่อมั่นสำหรับอัตรา (ส่วนสัมประสิทธิ์ความเชื่อมั่น .99)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ดุษณี เดโชวิบูลย์ "การวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินในอาหารสัตว์" จุลสาร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เนื่องในงานพระจอมเกล้าลาดกระบังนิทรรศน์'30 2530

ธีระยุทธ กลิ่นสุคนธ์ และชัววัฒน์ ต่อสกุลแก้ว "อะฟลาทอกซิน (สารพิษจากเชื้อราที่ทำให้เกิดมะเร็งในตับ)" สำนักพิมพ์ ดร. สกล พงศกร, กรุงเทพฯ. 2524

นรสิงห์ ตระกูล "เชื้อราบ่อนทำลายเศรษฐกิจ" แก่นเกษตร, 5(6), (2520) 269

ประวัติ ต้นบุญเอก, ดารา พวงสุวรรณ และกัญจนา พุทธสมัย "การศึกษาสารเคมี ที่มีคุณสมบัติในการป้องกันกำจัดสารพิษ อะฟลาทอกซิน" กลุ่มงานวิจัยโรคพืชผลิตผลทางการเกษตร กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ 2528

ปริมณฑ์ กาจนัษฐิติ และสุภร พันธุ์สิทธิกุล "การยับยั้งสารพิษประเภทอะฟลาทอกซิน" วารสารวิทยาศาสตร์, 31 (2520) 64-67

พัฒนา มัณฑจิตร และมยุรี อัจฉราวัจฉละ "การตรวจสอบเชื้อราที่สำคัญที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ของพืชตระกูลถั่วบางชนิดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ" รายงานประจำปี พ.ศ. 2525. สำนักงานวิจัยเกษตรภาคตะวันออกเฉียงเหนือ สำนักปลัดทบวงเกษตรและสหกรณ์ 2515

ไมตรี สุทธิจิตต์ "สารพิษและสารอันตรายจากธรรมชาติ" วารสารวิทยาศาสตร์, 39 (2528) 207-222

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รณภพ บรรเจิดเชิดชู "เชื้อราในโรงเก็บ สารพิษอะฟลาทอกซินและการควบคุมด่วยสารเคมีบนเมล็ดข้าวโพด" วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพ. 2530

สมาน แก้วบุญเรือน ทวี เก่าศิริ ลัดดา มณีรัตน์ และมยุรี อัจฉราวัจฉละ "อิทธิพลของความชื้น อุณหภูมิ และระยะเวลาเก็บที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของชนิดเชื้อราและความงอกของเมล็ดถั่วลิสง" นายงานประจำปี พ.ศ.2515. สำนักงานวิจัยเกษตรภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. สำนักงานปลัดกระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2515

อรพิน ถิรวัฒน์ "สารพิษจากเชื้อรา" ก้าวหน้า. 2, (2526) 35-40

Amay-F, J.; C.T. Young; A.C. Mixon; and A.J. Norden. "Soluble amino and carbohydrate compounds in the testae of six experimental peanut lines with various degree of Aspergillus flavus resis tance". J. Agric. Food Chem. 25(3) (1977) : 661-663

Asplin, F.D. and R.B.A. Carnaghan The toxicity of certain groundnut meal for poultry with special reference to their effect on duckling and chickens. Vet. Rec. 13 (1961) 73, 1215-1218

Benett, J.W., F.A. Fernholz and L.S. Lee. Effect of hight on aflatoxins, and sclerotia in Aspergillus flavus and A. parasiticus . Mycologia., 76, (1987) 104-116

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Blout, W.P. "Turkey X disease." Turkey, 9,(1961) 52.

Bockelee-Morvan, A. Gillier, and P. Gilier. "Trial of the elimination of aflatoxin in groundnuts by physical methods". Oleagineux. 29 (1) (1974) : 513-516

Buchanan R.L., Ayres J.C. "Effect of sodium acetate on growth and alftoxin production by A. parasiticus NRRL 2999". J Food Sci., 41, (1976) 128-132

Carter, J.B.H. "The influence of the testa, damage and seed dressing on the emergence of groundnut (Arachis hypogaea)." Ann. Appl. Biol. 74 (1973) : 315-323

Ceigler, A., S. Kadis and S.J.Ajl. "Microbial toxins Vol.6 Fungal toxins". Academic Press, New York. 165 p. 1971

Ceigler, A., E.B. Lillehoj, R.E. Peterson and H.H. Hall "Microbial detoxification of aflatoxin". Appl. Microbilo., 14, (1966) 934-939

Cherry, J.P.: L.R. Beuchat; and P.E. Koohler. "Soluble proteins and enzymes as indicators of change in peanuts infected with Aspergillus flavus". J. Agric. Food. (1978) 242-245

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Clifford, J.T. and K.R. Lees "Aflatoxin : A site of action in rat liver cell." Nature, 209 (1966) 312-313

Clifford, J.T. and K.R. Leess (1967) "The action of afloxin B_1 on rat liver." Biochem. J., 102, (1967) 65-75

Davis, N.D. and U.L. Diener "Some characteristics of toxigenic and nontoxigenic isolates of A. flavus and A. parasiticus", pp.1-5. 1983

Dienor, U.L.; C.R. Jackson; W.E. Cooper; R.J. Stipes; and H.P. Davis. "Invasion of peanut pods in the soil by Aspergillus flavus". Plant Disease Reporter. 49(11) (1965) 193-935.

El-Gazzar, F.E., Rusul, G. and Marth, E.H. "Growth and aflatoxin production by A. parasiticus in the presence of sodium chloride". J Food Prot, 49, (1986):461-466

Fennell, D.I., R.J. Bothast, E.B. Lillehoj and R.E. Peterson "Bright greenish-yellow fluorescence and associated fungi in white corn naturally contaminated with aflatoxin". Cereal Chem, 50, (1973) 404-414

Feigleson, P. and O. Greengard "Regulation of liver tryptohan pyrrolase activity". J. Biol. Chem., 237, (1962) 1908

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Friedman, M.A. and G.N. Wogan "Effect of aflatoxin B_1 on RNA polymerase activity and incorporation of cytidine into RNA of rate nucli". Fed. Proc., 26, (1967)358

Glinsukol, T.,W. Thamavit and M, Ruchirawut "Studies on the population of toxigenic fungi in market foods and foodstuff. I. Mycoflora contamination". J. Sci. Thailand, 2, (1976) 176

Glueck, J.A.; L.E. Clark; and O.D. Smith. "Testa comparisons of four peanut cultivars. Crop Science. 17(5) (1977)777-782

Goldblatt, "Aflatoxin : Scientific background, Control and Implication". New York : Academic Press Inc. 1969

Gupta, S.K., K.K. Maggon and T.A. Venkitasubramanian "Effect of Zinc on adenine nucleotide pools in relation to aflatoxin biosynthesis in A. parasiticus" Appl. Environ. Microbiol., 32,(1976) 753-756.

Gupta, S.K. and T.A. Venkitasubranian. "Production of aflatoxin on soybeans". Applied Microbiology. 29(6) (1975) 834-836

Hartley, R.D., B.F. Nesbitt and J.O. Kelly "Toxic metabolite of A. flavus". Natura., 198.(1963) 1056

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Joffee, A.Z. and N. Lisker "Effects of light, Temperature and pH value on aflatoxin production in vitro". Appl. Microbiol., 18 (1969) 517-518

Jone, R.K., H.E. Duncan, G.A. Payne and K.J. Leonard "Factors influencing infection by A. flavus in silk inoculated corn" Plant Dis., 64 (1980) 859-863

Ketring, D.L., C.R. Benedict, and M. Yeager. 1976. "Growing season and location effects on water uptake and drying rates of peanut seeds from genotypos resistant and susceptible to invasion by Aspergillus flavus" Agron. J. 68(4) (1976) 661-665

Kurtzman, C.P., B.W. Horn and C.W. Hesseltine "Aspergillus nomius, a new aflatoxin producing species related to A. flavus and A. tamarii." Antonie Van Leeuwenhock, 53(3) (1987) 147-158

Landers, K.E., N.D.Davis and U.L. Diener ("Influence of atmospheric gases on growth sporulation and production of free fatty acids and aflatoxin by A. flavus in peanuts". Phytopathology, 57 (1967) 1086-1090

Lee, L.S.; L.Y. Yatsu; and L.A. Goldblatt. Aflatoxin contmination: Electron microscopic evidence of mold penetration". J. Amer. Oil Chem. Soc. 17 (1967) 331-332

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lillehoj, E.B., W.J. Garcia and M. Lambrow "A. flavus infection and aflatoxin production in corn : influence of trace elements". Appl. Microbiiol., 28 (1974) 739-767

Lillehoj, E.B., W.F. Kwolek, W.D. Guthrie, D. Barry, W.W. McMillian and N.W. Widstrom "Aflatoxin accumulation in preharvest maize kernels : Interaction of three fungi species, European corn borer and two hybrids". Plant Soil., 65 (1982) 95-102

Lillehoj, E.B. "Effect of environmental and cultural factors on aflatoxin contamination of developing corn kernels". 27-34. 1983

Lillehoj, E.B. "Aflatoxin - producing fungi in preharvest corn : inoculum source in insects and soil" J. Environ. Qual., 9 (1980c) 691-694

Lillehoj, "Aflatoxin occurrence in 1973 corn at harvest. I.A. limited survey in the southeastern U.S". Cereal Chem., 52, (1975a) 603-661

Lillehoj, "Aflatoxin production in A. flavus inoculated ears of corn grown at diverse location. Crop. Sci., 15 (1945b) 267-276

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lindsey, D.L. 1970 :Effect of Aspergillus flavus on peanuts grow under grotobiotic conditions". Phytopathology. 60 (1970) 208-211

Lisker, N., A.Z. Joffe and Z.R. Frank. "Penetration pods of various peanuts varieties". Oleagineux. 25(60)(1970) 347-348

Lopez, L.C. and C.M. Christensen "Effect of moisture content and temperature in invasion of stored con by A. flavus". Phytopath., 57 (1967) 588-590

Maggon. K.K., S.K. Gupta and T.A. Venkitasubramanian (1977) "Biosynthesis of aflatoxins". Bacteriol. Rev., 41 (1977) 822-855

Mixon, A.C. and K.M. Rogers. "Peanut accessions resistant to seed infection by Aspergillus flavus". Agrow. J. 65 (1973a) 560-562

Nagarajan, V. and R.V. Bhat. "Factor responsible for variental differences in aflatoxin production in maize". J. Agric. Food Chem. 20(4) (1972) 911-914

Rambo, G.M., J. Tuite and R.W. Caldwel "A. flavus and aflatoxin in preharvest corn from Indiana in 1971 and 1972". Cereal Chem., 51 (1974) 600-604

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Rusul G., El-Gazzar F.E., Marth E.H. "Growth and aflatoxin production by A. parasiticus in a medium containing potassium chloride or a mixture of potassium chloride and sodium". J. Food Prot., 49 (1986) 880-885.

Sargeant, K. "Toxicity associated with certain samples of groundnuts". Nature, 192 (1961) 1096-1097

Sauer, D.B. and R. Burroughs "Efficacy of various chemicals as grain mold inhibitors". 17 (1974) 557-567.

Shih, C.N. and E.H Marth "Some cultural conditions that control biosynthesis of aflatoxin by A. parasiticus". Appl. Microbiol., 27 (1974) 452-456

Vandegraft E.E., Hesseltine C.W., Shotwell O.L. "Grain preservatives:Effect on aflatoxin and ochratoxin production". Cereal Chem., 52 (1957) 79-84

Wang, H.L. and C.W. Hesseltine "Use of microbial cultures : legume and cereal products". Food Technol., 35(1) (1981) 79

West, S., R.D. Wyatt and P.B. Hamilton "Improved yield of aflatoxin by incremental increases of temperature". Appl. Microbiol., 25,(1973):1018-1019

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Wyatt, R.D., P. Thaxton and P.B. Halminton (1975) "Interaction of aflatoxicosis with heat strees. Poultry Sci., 54,(1975) :1065-1070

Zambettakis, Ch. and A. Bochlee-Horvan. "Research on the structure of the groundnut seed coat and its influence on the interation of Aspergillus flavus". Oleagineux. 31(5) (1976) 219-228

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้