บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ผลการศึกษาวิธีวิเคราะห์

4.1.1 ผลการศึกษา Recovery ของการสกัดแอฟลาทอกซินมาตรฐาน

จากการทดลองใช้แอฟลาทอกซิน B_1 ปริมาณ 2 ไมโครกรัมใส่ลงใน PDB ปริมาตร 10 มิลลิลิตรแล้วสกัดด้วยคลอโรฟอร์มปริมาตร 10 มิลลิลิตร 3 ครั้งแล้วนำไปวิเคราะห์โดยทินเลเยอร์โครมาโตกราฟีและหาปริมาณตามวิธีในข้อ 3.2 พบว่าวัดปริมาณได้ 1.25 ไมโครกรัมหรือสกัดได้ 62.5 % ซึ่งคำนวนได้จาก

$$\% \text{ Recevery ของการสกัด} = \frac{\text{ปริมาณที่วัดได้}}{\text{ปริมาณสารที่ใช้จริง}} \times 100$$

$$= \frac{1.25}{2.00} \times 100$$

$$= 62.5$$

4.1.2 ผลการศึกษา Recovery ของการชะล้างแอฟลาทอกซินจากซิลิกา เจลด้วย เมธิลอัลกอฮอล์

จากการใช้สารละลายแอฟลาทอกซิน B_1 ปริมาณ 2 ไมโครกรัมหยดลงบนแผ่นซิลิกา เจลแล้วขูดซิลิกา เจล บริเวณที่เรืองแสงมาสกัดด้วยแอบโซลูท เมธิลอัลกอฮอล์สามครั้งตามวิธีในข้อ 3.2.4 ทำการหาปริมาณของแอฟลาทอกซิน B_1 ได้ผลดังตารางที่ 1 โดยค่าเฉลี่ย % Recovery ของการชะล้างเป็น 95

4.1.3 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกลูโคซามีนและออพติคัล เดนสิตี

เมื่อใช้กลูโคซามีนมาตรฐานปริมาณระหว่าง 0.02 กับ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำปฏิกิริยากับอะเซติลอะซีโตน และสารละลาย Ehrlich ตามวิธีของ Morgan - Elson (ที่ปรับปรุง) ดังข้อ 3.1.5 พบว่าปริมาณกลูโคซามีนมีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงกับออพติคัล เดนสิตี ดังรูปที่ 1

4.1.4 การเตรียมกราฟมาตรฐาน

จากการใช้แอฟลาทอกซิน บี$_1$ ปริมาณ 0.1 ถึง 1.2 ไมโครกรัม ละลายในแอบโซลูทเมธิลอัลกอฮอล์ แล้วนำไปวัดค่าการเรืองแสงสัมพัทธ์โดยฟลูโอโรมิเตอร์ได้ผลความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงดังรูปที่ 2

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 1 Recovery ของการชะล้างแอฟลาทอกซิน B_1 มาตรฐานจากซิลิกา เจล ด้วย เมธิลอัลกอฮอล์

การทดลองที่	ปริมาณแอฟลาทอกซิน B_1 (ไมโครกรัม) * ($\bar{X} \pm$ S.D.)**	% Recovery****
1	1.6 ± 0.1	80
2	2.1 ± 0.1	105
3	1.8 ± 0.1	90
4	2.0 ± 0.2	100
5	2.0 ± 0.1	100
1 – 5	1.9 ± 0.2 ***	$\bar{X} = 95$

* จากปริมาณที่ใช้ในการวิเคราะห์ 2.0 ไมโครกรัม

** n = 3

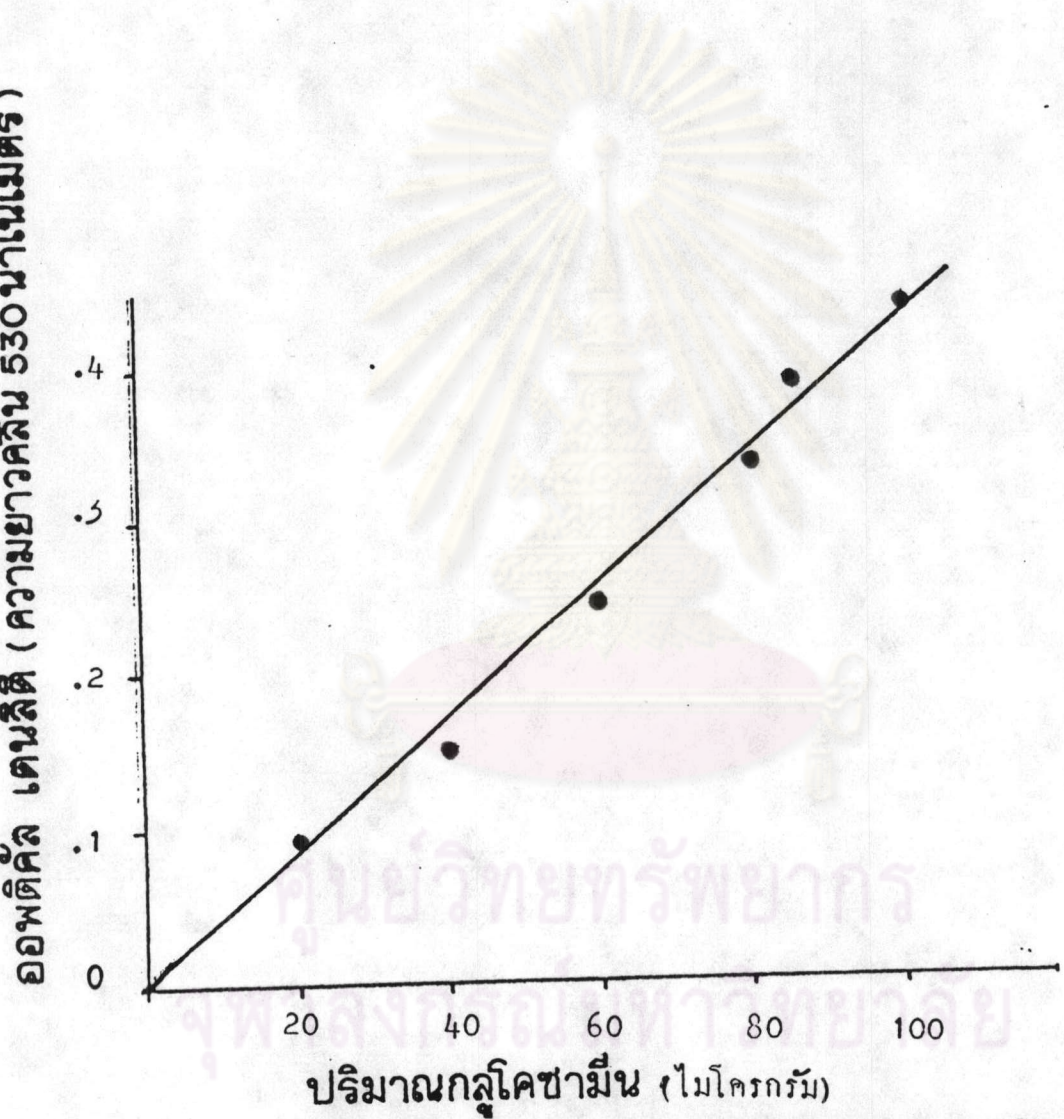
*** n = 5

**** การคำนวณค่า % Recovery ของวิธีวิเคราะห์

ให้ปริมาณแอฟลาทอกซิน B_1 2.0 ไมโครกรัม คิดเป็นร้อยละ 100

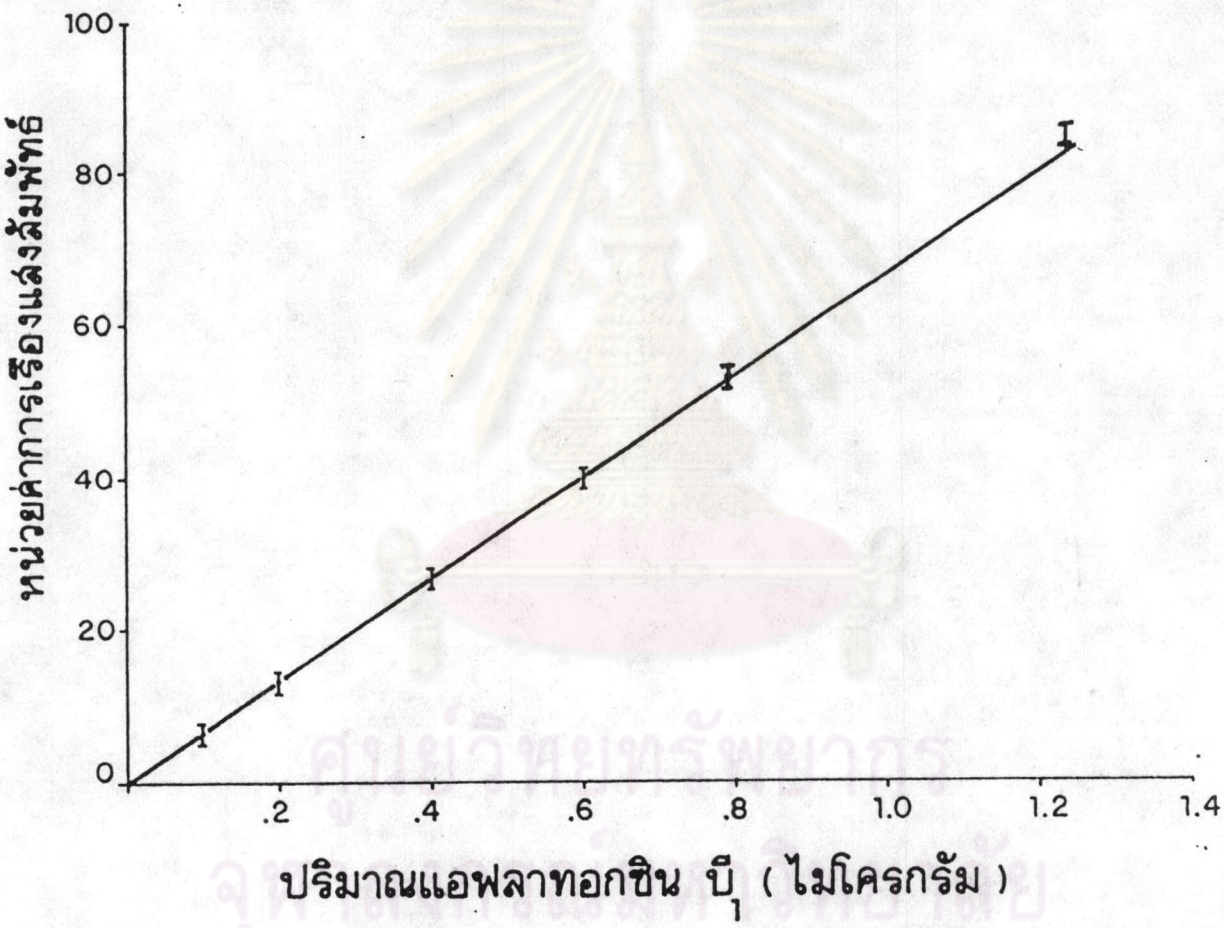
ถ้าปริมาณแอฟลาทอกซิน B_1 x ไมโครกรัม จะคิดเป็นร้อยละ $\frac{100 \text{ x}}{2}$

นั่นคือ % Recovery ของวิธีวิเคราะห์เท่ากับ 50 x



รูปที่ 1 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ ระหว่างปริมาณกลูโคซามีน และ OD (530 nm)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอฟลาทอกซิน B_1 มาตรฐาน และหน่วยค่าการเรืองแสงสัมพัทธ์

4.2 ผลการศึกษารูปแบบการเจริญของเชื้อ A. flavus ATCC 15546

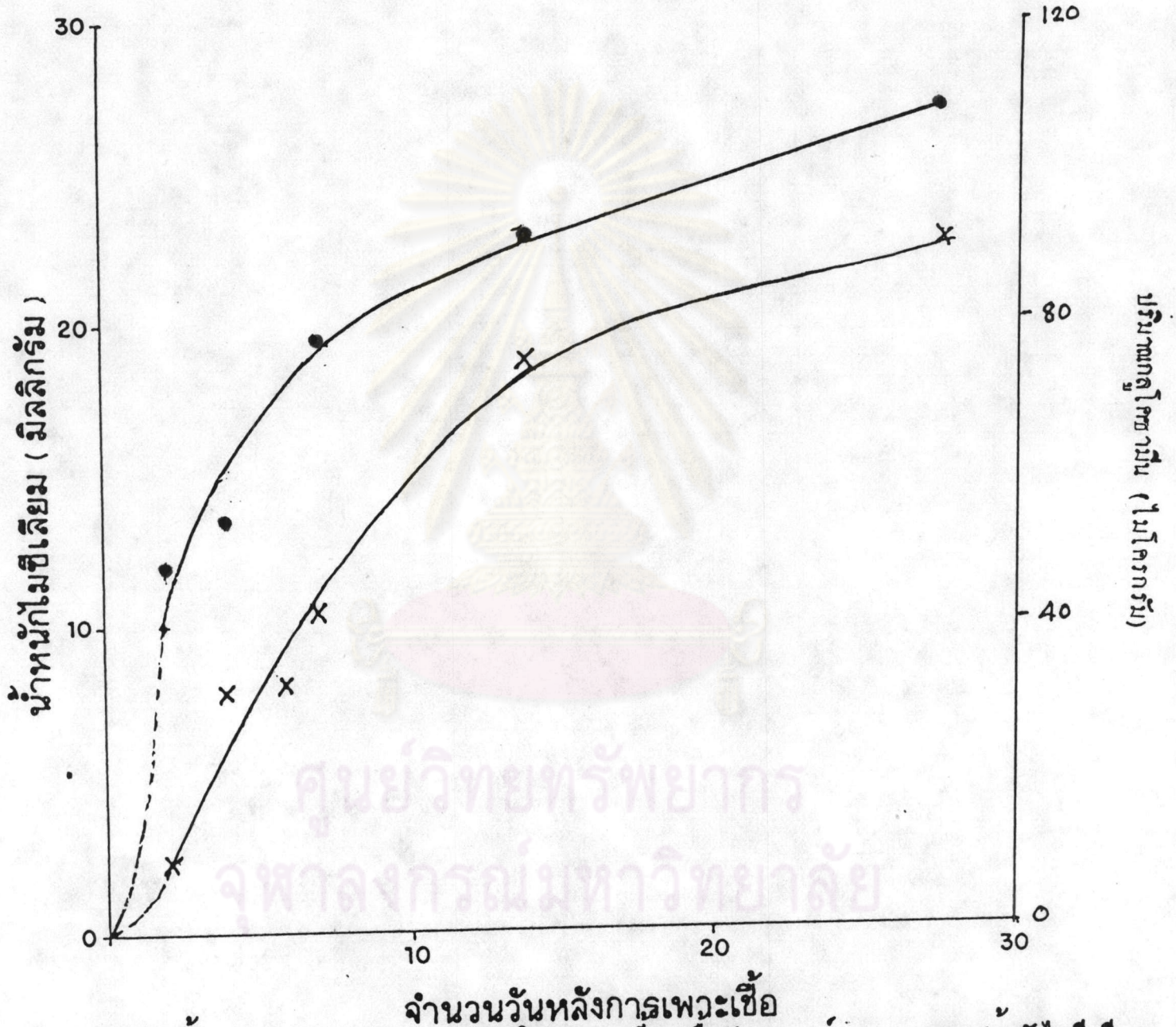
จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ A. flavus ATCC 15546 ให้เจริญใน Potato Dextrose Broth พบว่าเชื้อมีการเจริญอย่างรวดเร็วใน 7 วันแรกโดย มีช่วง Exponential phase อยู่ระหว่างวันที่ 2 และวันที่ 6 หลังการเพาะเชื้อ declined phase ระหว่างวันที่ 6 และวันที่ 7 และเข้าสู่ stationary phase หลังวันที่ 7 ไป แล้วมีการสร้างเส้นใยไมซีเลียมได้มากในวันที่ 28 หลังเพาะเชื้อเป็น 27 มิลลิกรัมต่อหลอดทดลอง (รูปที่ 3)

เนื่องจากปริมาณของกลูโคซามีนใช้แสดงการเจริญของเชื้อได้แน่นอนกว่าน้ำหนักแห้งของไมซีเลียม จึงได้วิเคราะห์หาปริมาณกลูโคซามีนควบคู่กันไปด้วย ผลการทดลองพบว่าปริมาณกลูโคซามีนเพิ่มขึ้นโดยมีรูปแบบสอดคล้องกับน้ำหนักแห้ง ของไมซีเลียม และได้ปริมาณมากที่สุดในเวลา 28 วันของการทดลอง เป็น 92 ไมโครกรัมต่อหลอดทดลอง (รูปที่ 3)

เมื่อวิเคราะห์หาปริมาณแอฟลาทอกซิน บี$_1$ จาก broth พบว่าเชื้อยลิตสารพิษนี้ได้อย่างรวดเร็วในระยะ early log phase และ stationary phase โดยมีปริมาณสูงสุดคือ 11.5 ไมโครกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร ของ PDB ในวันที่ 14 หลังจากเพาะเชื้อ หลังจากนั้นปริมาณแอฟลาทอกซินจะลดลงอย่างรวดเร็ว (รูปที่ 4)

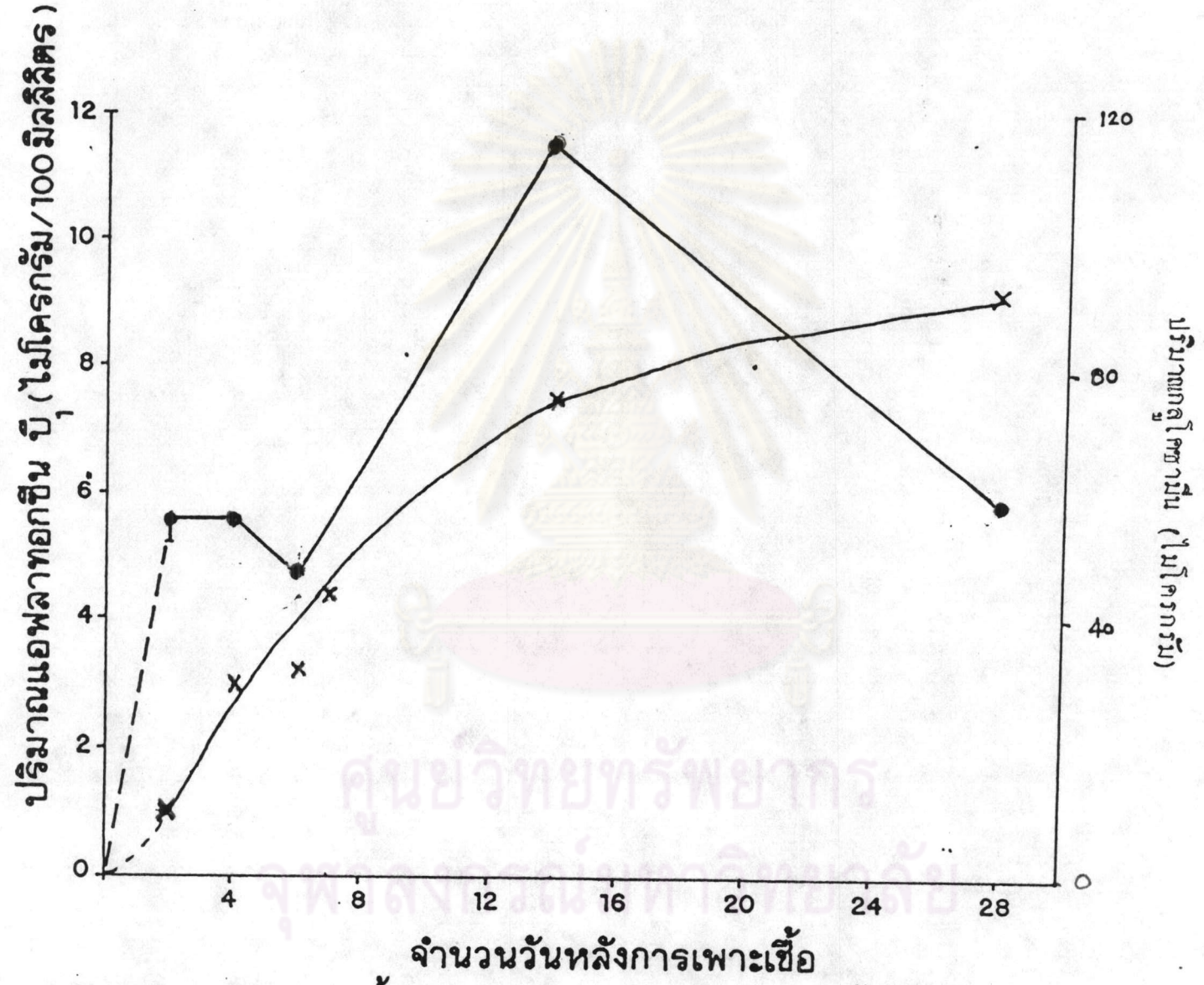
ส่วนปริมาณแอฟลาทอกซิน บี$_1$ ในไมซีเลียมนั้นน้อยกว่าปริมาณที่เชื้อราปล่อยออกมาใน PDB โดยตลอดระยะเวลาการเจริญของเชื้อ โดยเฉลี่ยแล้วมีปริมาณประมาณ 30 % ของที่วิเคราะห์ได้จากใน PDB (รูปที่ 5)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



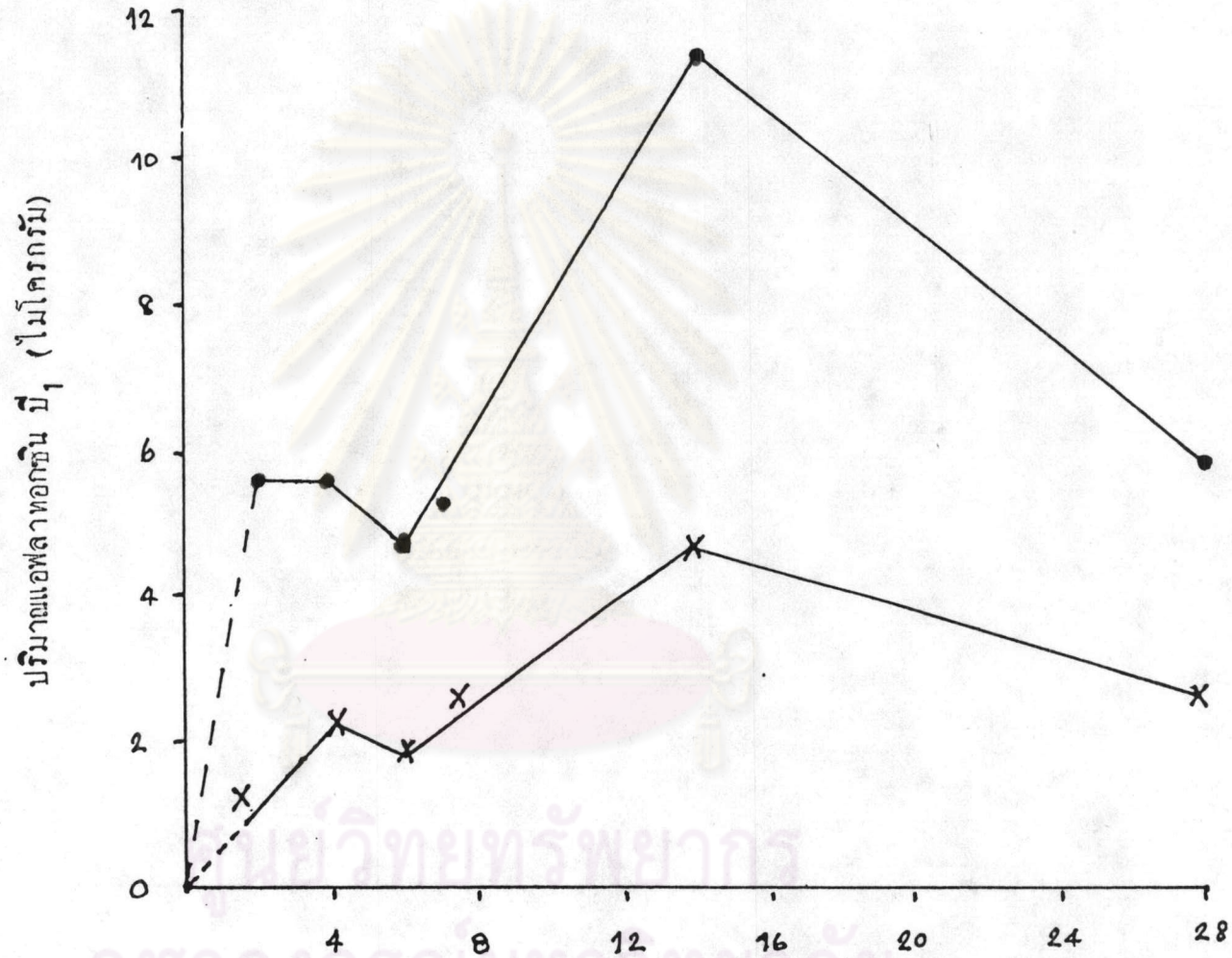
รูปที่ 3 การเจริญของเชื้อ A. flavus ATCC 15546 ในอาหารเลี่ยงเชื้อสังเคราะห์ (●—● แสดงน้ำหนักไมซีเลียม ; ×—× แสดงปริมาณกลูโคซามีน)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4 การผลิตแอฟลาทอกซิน บี1 โดยเชื้อ A. flavus ATCC 15546 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสังเคราะห์ (●—● แสดงปริมาณแอฟลาทอกซิน , ×—× แสดงปริมาณกลูโคซามีน)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 5 ปริมาณแอฟลาทอกซิน B_1 ที่สกัดได้จาก PDB (●—●) และจากไมซีเลียม (X—X)

4.3 ผลของ เบนโซ เอตและโพรพิออน เนตต่อการ เจริญของ เชื้อ A. flavus ATCC 15546ในอาหาร เลี้ยง เชื้อสัง เคราะห์

4.3.1 ผลของ เบนโซ เอต

จากการทดลองใช้กรด เบนโซอิคช่วงความ เข้มข้น 4 ถึง 100 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตรของ PDB ในการ เพาะ เลี้ยง เชื้อ A. flavus ATCC 15546 ใน Potato Dextrose Broth ตามวิธีในข้อ 3.3 เพื่อศึกษาผลของกรดชนิดนี้ต่อการ เจริญของ เชื้อดังกล่าว ได้ผลดังตารางที่ 2 และรูปที่ 6 คือความสามารถยับยั้ง เพิ่มตามปริมาณกรดและที่ ความ เข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตรของ PDB สามารถยับยั้งการ เจริญของ เชื้อได้สมบูรณ์

4.3.2 ผลของโพรพิออน เนต

จากการทดลองใช้กรดโพรพิออนนิดช่วงความ เข้มข้น 5 ถึง 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในการ เพาะ เลี้ยง เชื้อ A. flavus ATCC 15546 ใน Potato Dextrose Broth ตามวิธีในข้อ 3.3 เพื่อศึกษาผลของกรดชนิดนี้ต่อการ เจริญของ เชื้อดังกล่าว ได้ผลดังตารางที่ 3 และรูปที่ 7 คือ เมื่อ เพิ่มปริมาณกรด ความสามารถยับยั้งจะ เพิ่มตามไปด้วย และการยับยั้งสมบูรณ์ที่ความ เข้มข้นของกรด เป็น 50 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ของอาหาร เลี้ยง เชื้อ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2 ผลของกรดเบนโซอิคต่อการเจริญของเชื้อ A. flavus ATCC 15546 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสังเคราะห์

ความเข้มข้นของกรดเบนโซอิค (มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ)	ปริมาณกลูโคซามีนโดยเฉลี่ย * (ไมโครกรัม)	เปอร์เซนต์ยับยั้งการเจริญ
0 (Positive control)	42	0
4	28	33
5	31	26
10	21	50
20	13	69
30	4	90
40	0	100
50	0	100
100	0	100

* n = 2

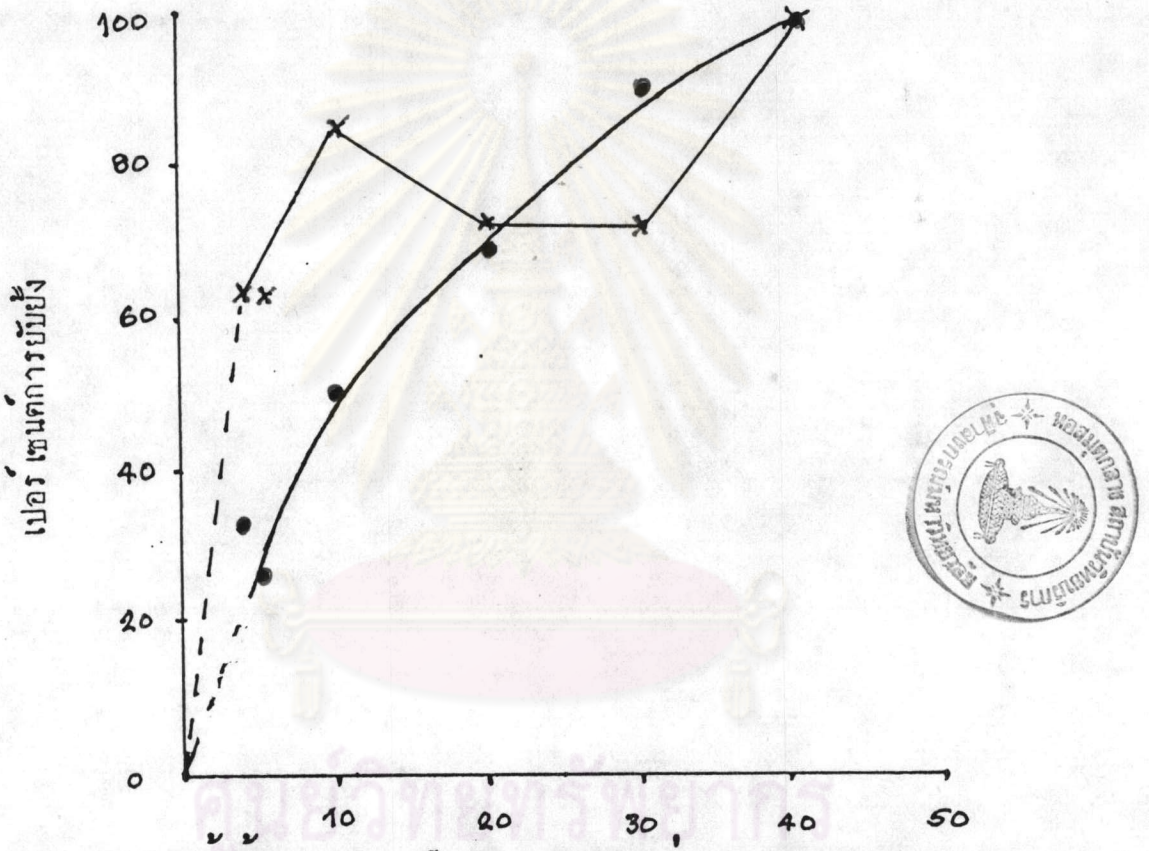
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3 ผลของกรดโพรพิออนนิคต่อการเจริญของเชื้อ A. flavus ATCC 15546 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสังเคราะห์

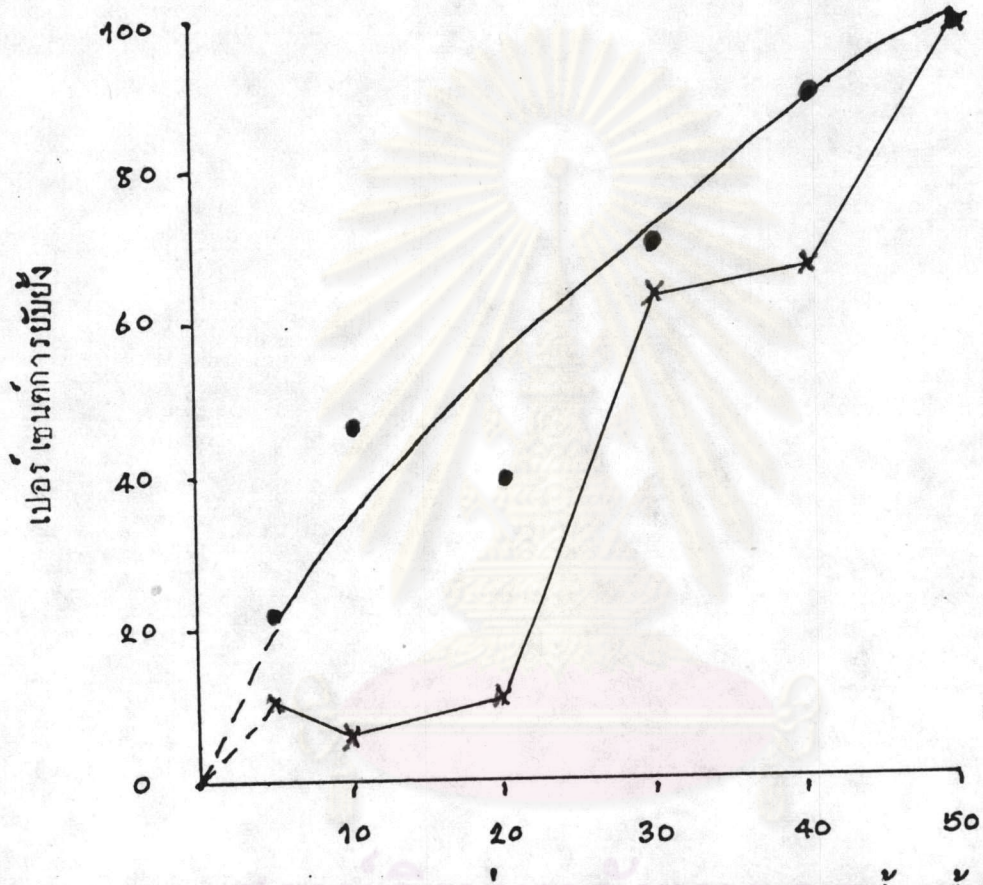
ความเข้มข้นของกรดโพรพิออนนิค (มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ)	ปริมาณกลูโคซามีนโดยเฉลี่ย (ไมโครกรัม) *	เปอร์เซนต์ยับยั้งการเจริญ
0 (Positive control)	42	0
5	33	23
10	23	46
20	25	40
30	12	71
40	4	89
50	0	100
100	0	100

* n = 2

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 6 ผลของกรดเบนโซอิคต่อการเจริญ (●——●) และการผลิตแอฟลาทอกซิน B_1 (×——×) ของเชื้อ A. flavus ATCC 15546 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสังเคราะห์



รูปที่ 2 ผลของกรดโพรพิออนนิคต่อการ เจริญ (●—●) และการผลิตแอฟลาทอกซิน บี$_1$ (×—×) ของ เชื้อ A. flavus ATCC 15546 ในอาหาร เลี้ยง เชื้อสัง เคราะห์

4.3.3 ผลของส่วนผสมระหว่าง เบนโซ เอทและโพรพิออน เนทต่อการเจริญของ เชื้อ A. flavus ATCC 15546 ในอาหาร เลี้ยงเชื้อสัง เคราะห์

เมื่อทดลองใช้ส่วนผสมของกรด เบนโซอิคและกรดโพรพิออนนิค ในช่วงความ เข้มข้นของกรดทั้งสองระหว่าง 10 ถึง 30 และ 10 ถึง 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ พบว่าส่วนผสมดังกล่าวออกฤทธิ์ต่อการ เจริญของ เชื้อ A. flavus ATCC 15546 ดังตารางที่ 4 และรูปที่ 8, 9 และ 10 สรุปได้ว่าเมื่อปริมาณกรด เพิ่มขึ้นการออกฤทธิ์ยับยั้งก็จะ เพิ่มมากขึ้น ที่อัตราส่วนกรด เบนโซอิคต่อกรดโพรพิออนนิค 20 ต่อ 20 ขึ้นไปสามารถยับยั้งการ เจริญของ เชื้อได้อย่างสมบูรณ์ และเมื่อ เปรียบเทียบกับการใช้กรดดังกล่าว เพียงชนิด เดียวพบว่า การใช้ส่วนผสมของกรดทั้งสองออกฤทธิ์ยับยั้งการ เจริญได้มากกว่า

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

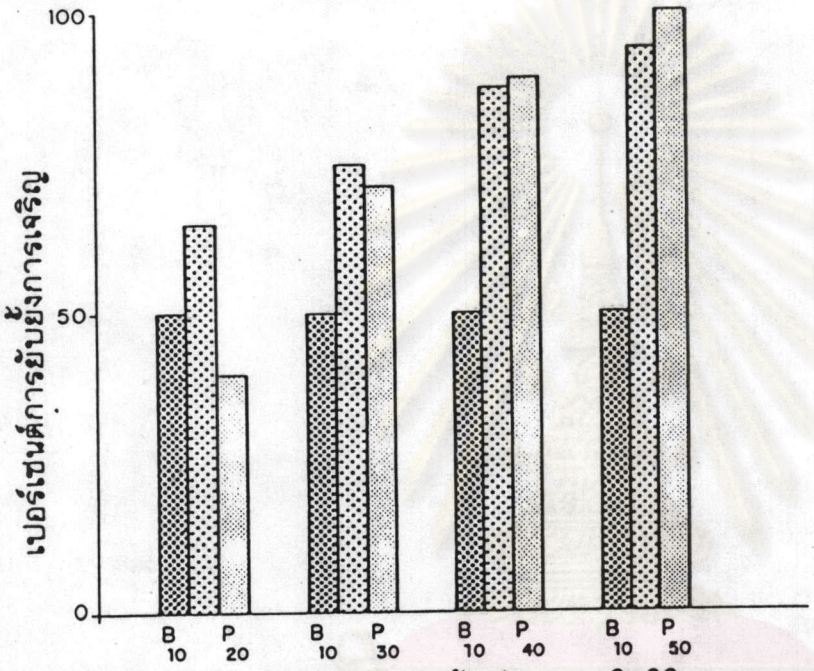
I16584524

ตารางที่ 4 ผลของส่วนผสมระหว่างกรดเบนโซอิคและกรดโพรพิออนนิคต่อการเจริญของเชื้อ A. flavus ATCC 15546 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสังเคราะห์

ความเข้มข้นของกรดที่ใช้* (มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ)	ปริมาณกลูโคซามีนโดยเฉลี่ย (ไมโครกรัม)**	เปอร์เซนต์ยับยั้งการเจริญ	Effect
0 (Positive control)	52	0	-
B10 P20	18	65	-
B10 P30	13	74	-
B10 P40	7	87	-
B10 P50	3	93	-
B20 P10	16	69	-
B20 P20	0	100	static
B20 P30	0	100	cidal
B20 P40	0	100	cidal
B30 P10	14	72	-
B30 P20	0	100	static
B30 P30	0	100	cidal
B30 P40	0	100	cidal

* B = ความเข้มข้นของกรดเบนโซอิค ; P = ความเข้มข้นของกรดโพรพิออนนิค

** n = 2



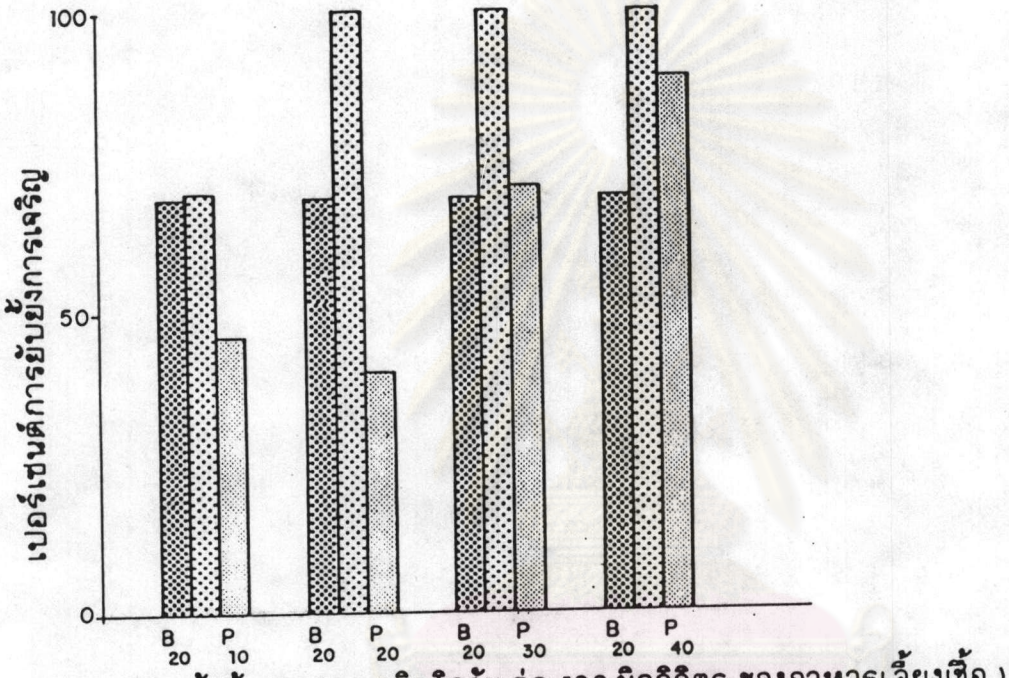
ความเข้มข้นของกรด (มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร ของอาหารเลี้ยงเชื้อ)

▨ กรดเบนโซอิค (B)

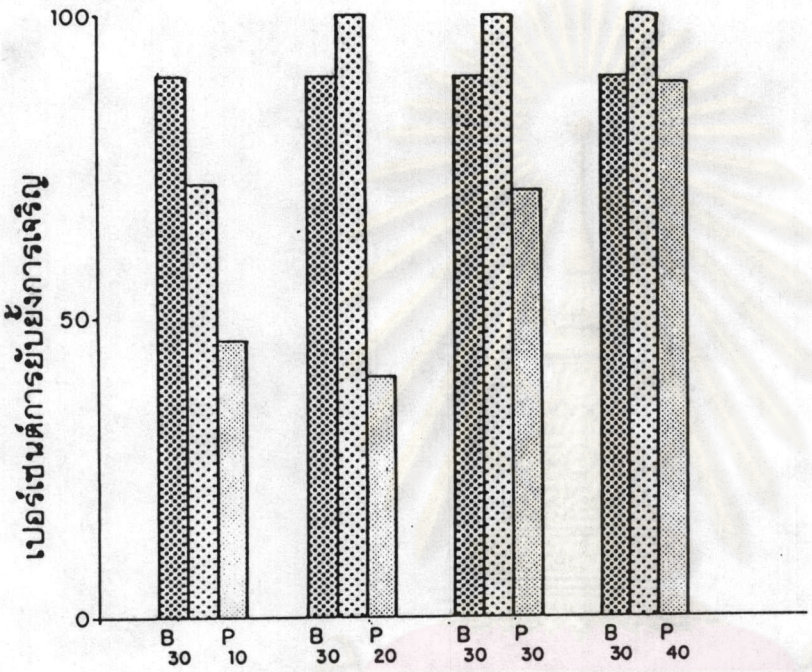
▨ กรดเบนโซอิคผสมกับกรดโพรพิออนนิค

□ กรดโพรพิออนนิค (P)

รูปที่ 8 ผลของกรดเบนโซอิค ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร ของอาหารเลี้ยงเชื้อ กับกรดโพรพิออนนิค ช่วงความเข้มข้น 20 ถึง 50 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร ของอาหารเลี้ยงเชื้อ ต่อการเจริญของเชื้อ A.flavus ATCC 15546 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสังเคราะห์



รูปที่ 9 ผลของกรดเบนโซอิค ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ของอาหารเลี้ยงเชื้อกับกรดโพรพิออนนิคช่วงความเข้มข้น 10 ถึง 40 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ของอาหารเลี้ยงเชื้อ ต่อการเจริญของเชื้อ A. flavus ATCC 15546 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสังเคราะห์



รูปที่-10 ผลของกรดเบนโซอิค ความเข้มข้น 30 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร ของอาหารเลี้ยงเชื้อ กับกรดโพรพิออนนิค ช่วงความเข้มข้น 10 ถึง 40 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร ของอาหารเลี้ยงเชื้อ ต่อการเจริญของเชื้อ A.flavus ATCC 15546 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสังเคราะห์

4.4 ผลของ เบนโซ เอทและโพรพิออน เนทต่อการผลิตแอฟลาทอกซิน บี$_1$ ของ เชื้อ A. flavus ATCC 15546 ในอาหาร เลี้ยง เชื้อสัง เคราะห์

4.4.1 ผลของ เบนโซ เอท

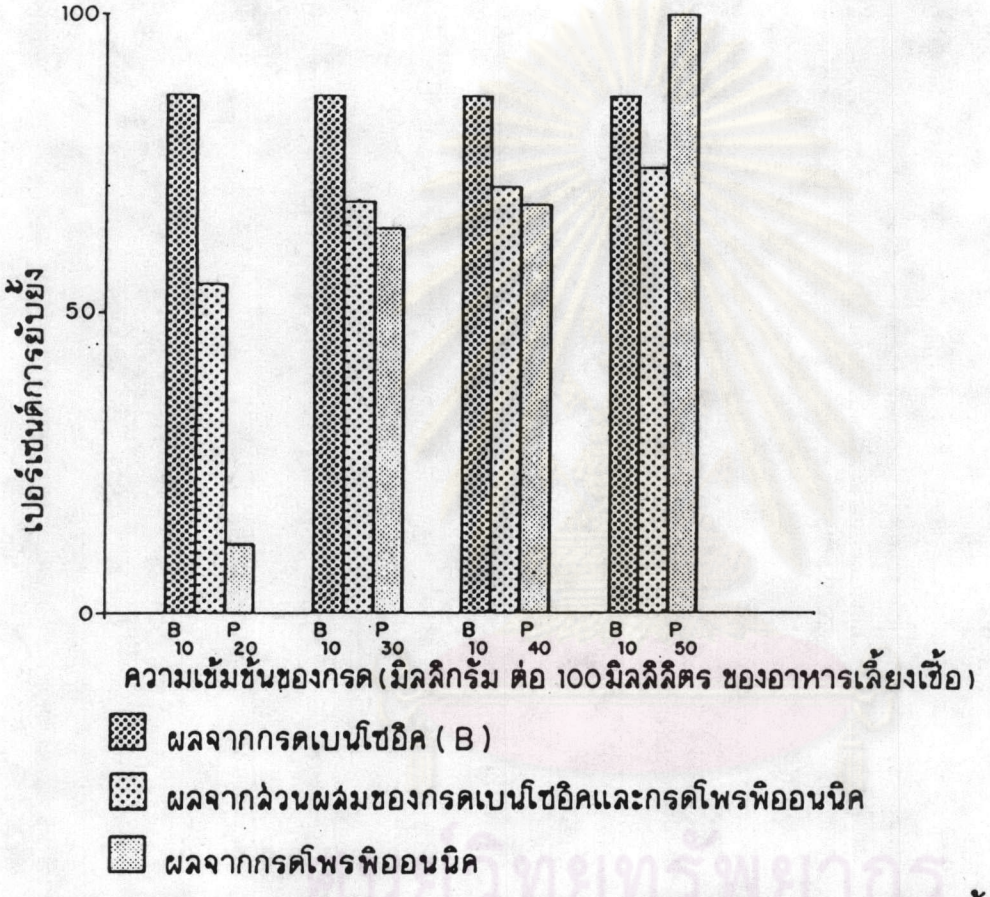
กรด เบนโซอิคที่ความ เข้มข้น 4 ถึง 100 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ของ PDB ให้ผลการยับยั้งการผลิตแอฟลาทอกซิน บี$_1$ ดังรูปที่ 6 คือในช่วงความ เข้มข้นต่ำๆ (4–5 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ของอาหาร เลี้ยง เชื้อ) การยับยั้งได้ผลประมาณ 60 % เมื่อ เพิ่มปริมาณกรด เป็น 10–30 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตรของอาหาร เลี้ยง เชื้อ การยับยั้งจะ เพิ่มตามไปด้วย และที่ความ เข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ของอาหาร เลี้ยง เชื้อ สามารถยับยั้งได้สมบูรณ์

4.4.2 ผลของโพรพิออน เนท

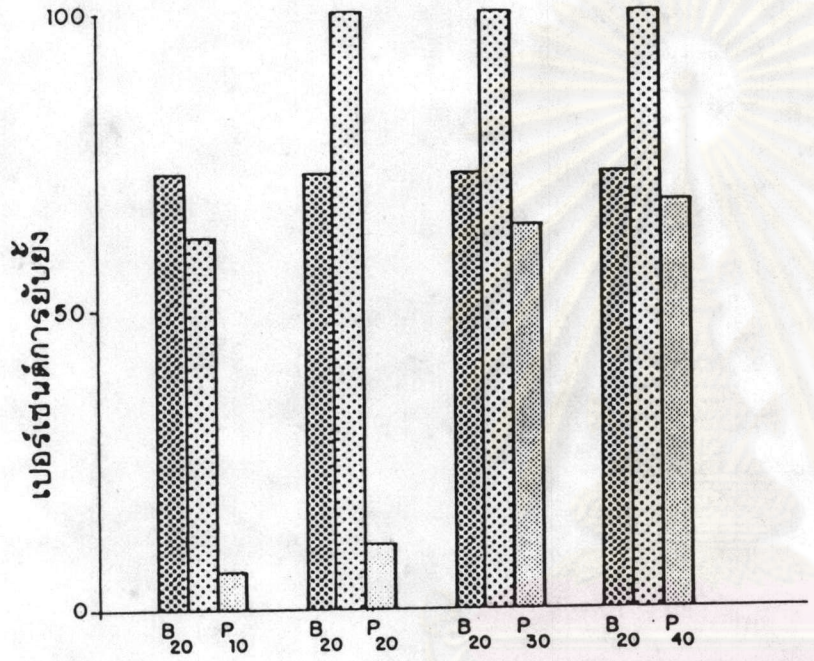
เมื่อใช้กรดโพรพิออนนิคช่วงความ เข้มข้น 5 ถึง 100 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตรของ PDB ให้ผลการยับยั้งการผลิตแอฟลาทอกซิน บี$_1$ ดังรูปที่ 7 คือการยับยั้ง เพิ่มตามปริมาณกรดที่ เพิ่มขึ้น และยับยั้งได้สมบูรณ์ที่ความ เข้มข้นของกรดนี้ เป็น 50มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตรของ PDB

4.4.3 ผลของส่วนผสมระหว่าง เบนโซ เอทและโพรพิออน เนทต่อการผลิตแอฟลาทอกซิน บี$_1$ ของ เชื้อ A. flavus ATCC 15546 ในอาหารสัง เคราะห์

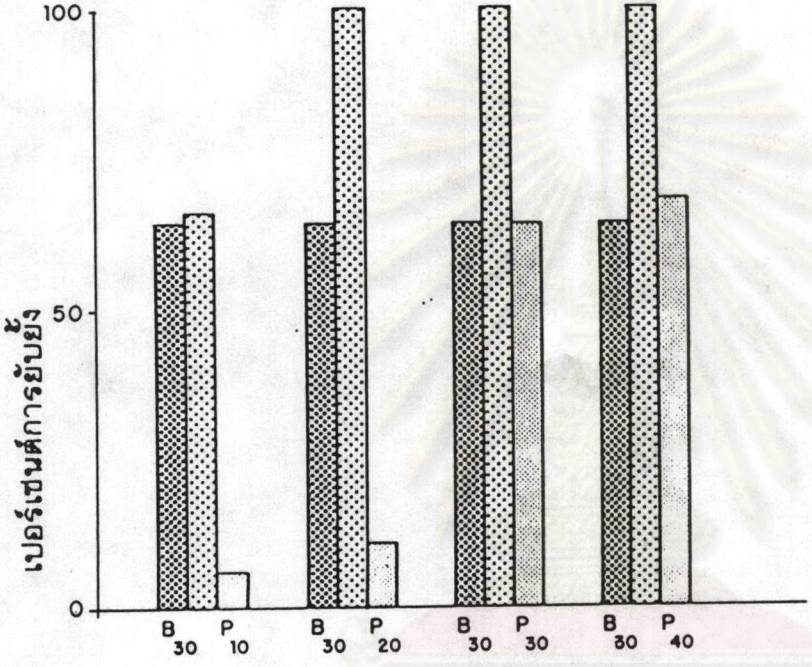
เมื่อใช้กรด เบนโซอิคและกรดโพรพิออนนิค ช่วงความ เข้มข้นระหว่าง 10 ถึง 30 และ 10 ถึง 40 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ของอาหาร เลี้ยง เชื้อในการ เพาะ เลี้ยง เชื้อ A. flavus ATCC 15546ใน Potato Dextrose Broth ตามวิธีในข้อ 3.6 ได้ผลดังรูปที่ 11, 12 และ 13 สรุปได้ว่า เมื่อใช้ในรูปของส่วนผสม กรดทั้งสองชนิดออกฤทธิ์ เสริมแรงกันในการยับยั้งการผลิตแอฟลาทอกซิน บี$_1$ ของ เชื้อดังกล่าว โดย เห็นผลชัด เจนตั้งแต่อัตราส่วนของกรด เบนโซอิคต่อกรดโพรพิออนนิคตั้งแต่ 20 ต่อ 20 ขึ้นไป



รูปที่ 11 ผลของกรดเบนโซอิค ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ของอาหารเลี้ยงเชื้อผสมกับกรดโพรพิออนนิคช่วงความเข้มข้น 20 ถึง 50 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการผลิตแอฟลาทอกซิน บี$_1$ ของเชื้อ A. flavus ATCC 15546 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสังเคราะห์



รูปที่ 12 ผลของกรดเบนโซอิค ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อผสมกับกรดโพรพิออนนิค ช่วงความเข้มข้น 10 ถึง 40 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ ต่อการผลิตแอฟลาทอกซิน B_1 ของเชื้อ A.flavus ATCC 15546 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสังเคราะห์



รูปที่ 13 ผลของกรดเบนโซอิค ความเข้มข้น 30 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร ของอาหารเลี้ยงเชื้อผสมกับกรดโพรพิออนนิค ช่วงความเข้มข้น 10 ถึง 40 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร ของอาหารเลี้ยงเชื้อ ต่อการผลิตแอฟลาทอกซิน B_1 ของเชื้อ A. flavus ATCC 15546 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสังเคราะห์

4.5 ผลของ เบนโซ เอตและโพรพิออน เนตต่อการ เจริญของ เชื้อ A. flavus ATCC 15546บน เมล็ดถั่วลิสง

4.5.1 ผลของ เบนโซ เอต

กรด เบนโซอิค ปริมาณ 10 ถึง 300 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของ เมล็ดถั่วลิสงแสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งการ เจริญของ เชื้อราบน เมล็ดถั่วลิสง เพิ่มขึ้นตามความ เข้มข้นของกรดที่ เพิ่มขึ้น ที่ปริมาณกรดนี้ เป็น 100 มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม ถั่วลิสง ซึ่ง เป็นระดับอนุญาตตามมาตรฐานสากล ชลอการ เจริญของ เชื้อได้ เป็น 4 เท่า ของ positive control ซึ่งไม่มีกรดนี้อยู่ด้วยในการทดลอง และ เชื้อ เจริญได้ เต็มที่ (ตารางที่ 5)

4.5.2 ผลของโพรพิออน เนต

กรดโพรพิออนนิคปริมาณ 10 ถึง 400 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมถั่วลิสง แสดงประสิทธิภาพการยับยั้งการ เจริญของ เชื้อราบน เมล็ดถั่วลิสง เพิ่มขึ้นตามปริมาณของกรดที่ เพิ่มขึ้นในทำนอง เดียวกับกรด เบนโซอิค ที่ปริมาณกรดโพรพิออนนิค 400 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมถั่วลิสงซึ่ง เป็นระดับอนุญาตตามมาตรฐานสากล สามารถระงับการ เจริญของ เชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ (ตารางที่ 6)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5 ผลของกรดเบนโซอิคต่อการเจริญของเชื้อ A. flavus ATCC 15546 บนเมล็ดถั่วลิสง

ความเข้มข้นของกรดเบนโซอิค (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมถั่วลิสง)	การเจริญของเชื้อเมื่อครบ 1 เดือน*	น้ำหนักถั่วลิสงที่เหลือโดยเฉลี่ย (กรัม)**	เปอร์เซนต์การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักถั่วลิสง ***
0 (+ ve control)	HS	2.85	71
10	HS	6.44	35
20	HS	6.95	30
30	HS	7.54	24
40	HS	7.78	22
50	HS	7.93	20
100	HS	8.15	18
200	S	8.40	16
300	S	9.26	7

* จำแนกการเจริญออกเป็น

S (Susceptible) = เชื้อเจริญ 31–50 % ของเมล็ดแบบหนาแน่น

HS (Highly susceptible) = เชื้อเจริญ > 50 % ของเมล็ดแบบหนาแน่น

** น้ำหนักถั่วลิสงตั้งต้น 10.0 กรัม , n = 2

*** คิดเทียบจากน้ำหนักถั่วลิสงใน negative control (ไม่ได้เติมเชื้อราหรือกรดเบนโซอิคลงไปในการทดลอง) เป็น 10.0 กรัม เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

ตารางที่ 6 ผลของกรดโพรพิออนนิคต่อการเจริญของเชื้อ A. flavus ATCC 15546 บนเมล็ดถั่วลิสง

ความเข้มข้นของกรดโพรพิออนนิค (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมถั่วลิสง)	การเจริญของเชื้อเมื่อครบ 1 เดือน*	น้ำหนักถั่วลิสงที่เหลือโดยเฉลี่ย (กรัม)**	เปอร์เซนต์การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักถั่วลิสง ***
0 (+ ve control)	HS	2.8	71
10	HS	7.2	27
20	HS	7.4	25
30	HS	8.0	20
40	HS	8.2	17
50	HS	8.4	15
100	S	8.9	11
200	MR	9.0	10
300	R	9.7	2
400	NG	10.0	0

* จำแนกการเจริญออกเป็น

NG (No growth) = ไม่พบการเจริญของเชื้อ

R (Resistant) = เชื้อเจริญ < 15 % ของเมล็ดแบบกระจัดกระจาย

MR (Moderately resistant) = เชื้อเจริญ 16–30 % ของเมล็ดแบบคอนข้างหนาแน่น

S (Susceptible) = เชื้อเจริญ 31–50 % ของเมล็ดแบบหนาแน่น

HS (Highly susceptible) = เชื้อเจริญ > 50 % ของเมล็ดแบบหนาแน่น

** น้ำหนักถั่วลิสงตั้งต้น 10.0 กรัม ; n = 2

*** คิดเทียบจากน้ำหนักถั่วลิสงใน negative control (ไม่ได้เติมเชื้อราหรือกรดลงไปในการทดลอง) เป็น 10.0 กรัม เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

4.5.3 ผลของส่วนผสมของ เบนโซ เอทและโพรพิออน เนต

เมื่อใช้ส่วนผสมของกรดทั้งสองในอัตราส่วนต่าง ๆ กัน สามารถยับยั้งการ เจริญของ เชื้อราบน เมล็ดถั่วลิสงได้มากขึ้นตามปริมาณกรดที่ เพิ่มขึ้น และกรดทั้งสองออกฤทธิ์เสริมแรงกันด้วย ที่ส่วนผสม เป็น 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมถั่วลิสงของกรด เบนโซอิคและกรดโพรพิออนนิคตามลำดับสามารถยับยั้งการ เจริญของ เชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ (ตารางที่ 7)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 7 ผลของส่วนผสมของกรดเบนโซอิคและกรดโพรพิออนนิคต่อการเจริญของเชื้อ *A.flavus* ATCC 15546 บนเมล็ดถั่วลิสง

ความเข้มข้นของกรด * (มิลลิกรัมต่อ100กรัมถั่วลิสง)	การเจริญของเชื้อเมื่อครบ 1 เดือน**	น้ำหนักถั่วลิสงที่เหลือโดยเฉลี่ย(กรัม)***	เปอร์เซนต์การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักถั่วลิสง ****
0 (+ *ve* control)	HS	2.8	71
B10 P10	HS	6.6	34
B10 P20	HS	7.1	29
B10 P30	HS	8.1	19
B20 P10	HS	7.0	29
B20 P20	HS	8.4	15
B20 P30	HS	8.7	12
B30 P10	HS	8.3	16
B30 P20	HS	8.4	15
B30 P30	S	8.7	12
B100 P100	MR	8.8	11
B100 P200	MR	9.1	9
B100 P300	MR	9.6	3
B200 P100	MR	8.9	10
B200 P200	R	9.7	2
B200 P300	NG	10.0	0
B300 P100	MR	9.0	10
B300 P200	R	9.9	0
B300 P300	NG	10.0	0

* B = กรดเบนโซอิค ; P = กรดโพรพิออนนิค ** จำแนกตามตารางที่ 6

*** น้ำหนักถั่วลิสงตั้งต้น 10.0 กรัม, n = 2

**** คิดเทียบจากน้ำหนักถั่วลิสงใน negative control (ไม่ได้เติมเชื้อราหรือกรดลงไปในการทดลอง) เป็น 10.0 กรัมเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.6 ผลของ เบนโซ เอทและโพรพิออน เนทต่อการ เจริญของ เชื้อ A. flavus ATCC 15546บน เมล็ดข้าวโพด

4.6.1 ผลของ เบนโซ เอท

ปริมาณกรด เบนโซอิคที่ใช้ 10 ถึง 300 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ข้าวโพดแสดงประสิทธิภาพการยับยั้งการ เจริญของ เชื้อราบน เมล็ดข้าวโพดได้ เพิ่มขึ้นตามความ เข้มข้นของกรดที่ เพิ่มขึ้น พบว่ามีการยับยั้งการ เจริญได้อย่างสมบูรณ์ที่ความ เข้มข้นของกรด เบนโซอิค เป็น 300 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมข้าวโพด (ตารางที่ 8)

4.6.2 ผลของโพรพิออน เนท

ปริมาณกรดโพรพิออนนิคที่ใช้ 10 ถึง 300 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ข้าวโพดแสดงประสิทธิภาพยับยั้งการ เจริญของ เชื้อราบน เมล็ดข้าวโพดได้ เพิ่มขึ้นตามความ เข้มข้นของกรดที่ เพิ่มขึ้น กล่าวคือการ เจริญของ เชื้อลดลงตามลำดับ เมื่อ เพิ่มปริมาณกรดนี้ ในการทดลองแต่ที่ความ เข้มข้นของกรดโพรพิออนนิค เป็น 300 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ข้าวโพด ยังพบการ เจริญของ เชื้ออยู่บ้าง เล็กน้อย (ตารางที่ 9)

4.6.3 ผลของส่วนผสมของ เบนโซ เอทและโพรพิออน เนท

เมื่อปริมาณกรดทั้งสองชนิด เพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพการยับยั้งการ เจริญของ เชื้อราบน เมล็ดข้าวโพด เพิ่มขึ้นตามลำดับ พบว่าการยับยั้งของ เชื้อราจะสมบูรณ์ตั้งแต่ส่วนผสม เป็น 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมข้าวโพดในกรณีกรด เบนโซอิคและกรดโพรพิออนนิคตามลำดับขึ้นไป สังเกตได้ว่าน้ำหนักของ เมล็ดข้าวโพดคงที่และข้าวโพดมีขนาดสมบูรณ์ตลอดเวลาที่มีการยับยั้งการ เจริญอย่าง เต็มที่ (ตารางที่ 10)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 8 ผลของกรดเบนโซอิคต่อการเจริญของเชื้อ A.flavus ATCC 15546 บนเม็ดข้าวโพด

ความเข้มข้นของกรด (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมข้าวโพด)	การเจริญของเชื้อเมื่อครบ 1 เดือน*	น้ำหนักข้าวโพดที่เหลือโดยเฉลี่ย (กรัม)**	เปอร์เซนต์การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักข้าวโพด***
0 (+ ve control)	+	3.5	72
10	+	4.6	64
20	+	6.4	50
30	+	7.1	45
100	+	8.3	35
200	+	10.6	17
300	-	11.0	14

* + = มีการเจริญของเชื้อ ; - = ไม่พบการเจริญของเชื้อ

** น้ำหนักข้าวโพดตั้งต้น 10.0 กรัม ; n = 2

*** เทียบกับ negative control (ไม่ได้เติมเชื้อราหรือกรดลงไปในการทดลอง) เป็น 12.7 กรัม เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 9 ผลของกรดโพรพิออนนิคต่อการเจริญของเชื้อ A.flavus ATCC 15546 บนเมล็ดข้าวโพด

ความเข้มข้นของกรด (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมข้าวโพด)	การเจริญของเชื้อเมื่อครบ 1 เดือน *	น้ำหนักข้าวโพดที่เหลือโดยเฉลี่ย (กรัม) **	เปอร์เซนต์การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักข้าวโพด ***
0 (+ ve control)	+	3.5	92
10	+	3.5	92
20	+	4.5	81
30	+	7.1	56
100	+	7.3	54
200	+	7.8	49
300	+	9.2	35

* + = มีการเจริญของเชื้อ

** น้ำหนักข้าวโพดตั้งต้น 10.0 กรัม ; n = 2

*** เทียบจาก negative control (ไม่ได้เติมเชื้อราหรือกรดลงไปในการทดลอง) เป็น 12.7 กรัม เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 10 ผลของส่วนผสมของกรดเบนโซอิคและกรดโพรพิออนนิคต่อการเจริญของเชื้อ *A.flavus* ATCC 15546 บนเมล็ดข้าวโพด

ความเข้มข้นของกรด* (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมข้าวโพด)	การเจริญของเชื้อเมื่อครบ 1 เดือน**	น้ำหนักข้าวโพดที่เหลือโดยเฉลี่ย (กรัม)***	เปอร์เซนต์การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักข้าวโพด****
0 (+ *ve* control)	+	3.5	92
B10 P10	+	5.4	73
B10 B20	+	6.8	59
B10 B30	+	7.6	51
B20 P10	+	7.9	48
B20 P20	+	8.0	46
B20 P30	+	9.3	33
B30 P10	+	8.2	44
B30 P20	+	9.0	36
B30 P30	+	10.1	26
B100 P100	+	10.0	26
B100 P200	-	11.1	15
B100 P300	-	12.2	4
B200 P100	-	11.3	14
B200 P200	-	12.7	0
B200 P300	-	11.4	13
B300 P100	-	11.4	13
B300 P200	-	11.4	13
B300 P300	-	12.1	6

* B = กรดเบนโซอิค ; P = กรดโพรพิออนนิค

** + = มีการเจริญของเชื้อ ; - = ไม่พบการเจริญของเชื้อ

*** น้ำหนักข้าวโพดตั้งต้น 10.0 กรัม ; n = 2

**** เทียบจาก negative control (ไม่ได้เติมเชื้อราหรือกรดในการทดลอง) เป็น 12.7 กรัมเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

4.7 ผลกระทบของ เบนโซ เอทและโพรพิออน เนทต่อการผลิตแอฟลาทอกซิน B_1 จาก $[1-^{14}C]$ อะซี เททใน เชื้อ A. flavus ATCC 15546

4.7.1 ผลของ เบนโซ เอท

เมื่อทดลองใช้กรด เบนโซอิคช่วงความ เข้มข้น 10 ถึง 100 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตรของ PDB เพื่อศึกษาผลของกรดนี้ต่อการผลิตแอฟลาทอกซิน B_1 จาก $[1-^{14}C]$ อะซี เททโดย เชื้อ A. flavus ATCC 15546 ตามวิธีในข้อ 3.9 พบว่า การยับยั้งการผลิตสารพิษ เพิ่มตามปริมาณกรด และที่ 100 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ของ PDB กรด เบนโซอิคยับยั้งการผลิตแอฟลาทอกซินได้ 96 % (ตารางที่ 11)

4.7.2 ผลของโพรพิออน เนท

จากการใช้กรดโพรพิออนนิคช่วงความ เข้มข้น 10 ถึง 100 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตรของ PDB เพื่อศึกษาผลของกรดนี้ต่อการผลิตแอฟลาทอกซิน B_1 จาก $[1-^{14}C]$ อะซี เททโดย เชื้อ A. flavus ATCC 15546 ตามวิธีในข้อ 3.9 พบว่า เมื่อปริมาณกรด เพิ่มขึ้น เปอร์ เซนต์การยับยั้งการผลิตสารพิษก็ เพิ่มตามไปด้วย เมื่อความ เข้มข้นของกรด เป็น 100 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตรของ PDB สามารถยับยั้งการผลิต แอฟลาทอกซิน B_1 ได้ 89 % (ตารางที่ 12)

4.7.3 ผลของส่วนผสมของ เบนโซ เอทและโพรพิออน เนท

เมื่อใช้กรด เบนโซอิคและกรดโพรพิออนนิคผสมกันในช่วงความ เข้มข้น ของกรดทั้งสอง เป็น 10 ถึง 30 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตรของ PDB ในการ เพาะ เลี้ยง เชื้อ A. flavus ATCC 15546 ตามวิธีในข้อ 3.9 ผลที่ได้คือที่ความ เข้มข้นของกรด ทั้ง 2 ชนิด เป็น 10 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตรของ PDB สามารถยับยั้งการผลิตแอฟลา ทอกซิน B_1 ได้ เพียง 53 % และ เมื่อ เพิ่มปริมาณกรดทั้งสอง เป็น 30 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตรของ PDB สามารถยับยั้งการผลิตแอฟลาทอกซิน B_1 ได้อย่างมีประสิทธิภาพถึง 93 % (ตารางที่ 13)

ตารางที่ 11 ผลของกรดเบนโซอิคต่อการผลิตแอฟลาทอกซิน $บี_1$ จาก $[1-^{14}C]$ อะซีเตท ในเชื้อ *A.flavus* ATCC 15546

ความเข้มข้นของกรด (มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ)	แอฟลาทอกซิน $บี_1$ จากไมซีเลียมทั้งหมด ที่นับปริมาณรังสีได้โดยเฉลี่ย (dpm) *	เปอร์เซนต์การยับยั้งการผลิตแอฟลาทอกซิน $บี_1$
0 (+ *ve* control)	6424	0
10	940	85
20	739	88
30	559	91
40	540	91
50	393	93
100	246	96

* n = 2

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 12 ผลของกรดโพรพิออนนิคต่อการผลิตแอฟลาทอกซิน B_1 จาก $[1-^{14}C]$ อะซีเตท ในเชื้อ A.flavus ATCC 15546

ความเข้มข้นของกรด (มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ)	แอฟลาทอกซิน B_1 จากไมซีเลียมทั้งหมด ที่นับปริมาณรังสีได้โดยเฉลี่ย (dpm) *	เปอร์เซนต์การยับยั้งการผลิตแอฟลาทอกซิน B_1
0 (+ ve control)	6424	0
10	4596	28
20	2577	59
30	2519	60
40	2271	64
50	1209	81
100	705	89

* n = 2

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

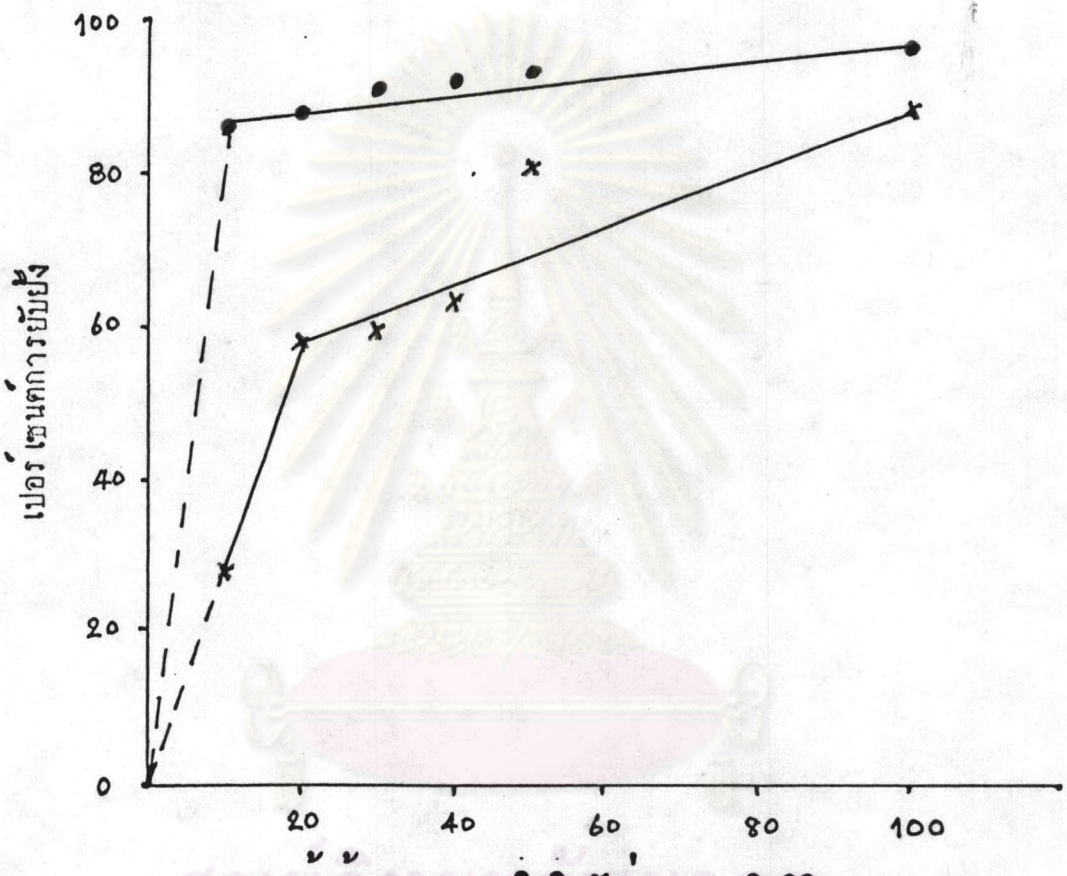
ตารางที่ 13 ผลของส่วนผสมของกรดเบนโซอิคและกรดโพรพิออนนิคต่อการผลิตแอฟลาทอกซิน B_1 จาก $[1\text{-}^{14}C]$ อะซีเตท ในเชื้อ A.flavus ATCC 15546

ความเข้มข้นของกรด* (มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ)	แอฟลาทอกซิน B_1 จากไมซีเลียมทั้งหมด ที่นับปริมาณรังสีได้โดยเฉลี่ย (dpm)**	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการผลิตแอฟลาทอกซิน B_1
0 (+ ve control)	6424	0
B10 P10	3012	53
B20 P20	2492	61
B30 P30	400	93

* B = กรดเบนโซอิค ; P = กรดโพรพิออนนิ

** n = 2

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 14 ผลของกรดเบนโซอิค (●—●) และกรดโพรพิออนนิค (X—X) ต่อการผลิตแอฟลาทอกซิน บี$_1$ จาก [1-^{14}C] อะซีเตทในไมซีเลียมของเชื้อ A. flavus ATCC 15546