



### สรุปผลการทดลอง

1. จากการวิจัยครั้งนี้ได้สัมผัสตัวอย่างอาหารสัตว์ 10 ประเภทคือ ข้าวโพดปนหยาบ ปลายข้าว รำละเอียด กากถั่วเหลือง ปลายป่น กระจินป่น ถั่วเหลือง ถังลิสง ข้าวโพดปนละเอียด และมะพร้าวแห้ง ทำการทดลองให้ความชื้นในตัวอย่างที่สัมผัสมา เมื่อให้ความชื้นในปริมาณ 5-12 % (ป.ต่อนน.) ไม่สามารถทำให้เชื้อราที่ปนเปื้อนในอาหารสัตว์สามารถงอกและเจริญขึ้นได้ แต่เมื่อมีความชื้นสูงตั้งแต่ 15 % (ป.ต่อนน.) ขึ้นไปจะสามารถทำให้เชื้อรางอกและเจริญได้

2. ผลจากการแยกเชื้อราในการทดลองครั้งนี้ สามารถแยกเชื้อราได้ 98 สายพันธุ์ คือได้จาก ข้าวโพดปนหยาบ 9 สายพันธุ์ ปลายข้าว 9 สายพันธุ์ รำละเอียด 9 สายพันธุ์ กากถั่วเหลือง 4 สายพันธุ์ ปลายป่น 4 สายพันธุ์ กระจินป่น 9 สายพันธุ์ ถั่วเหลือง 5 สายพันธุ์ ถังลิสง 7 สายพันธุ์ ข้าวโพดปนละเอียด 33 สายพันธุ์ และมะพร้าวแห้ง 8 สายพันธุ์

3. จากเชื้อราทั้ง 98 สายพันธุ์ที่แยกได้นี้ เมื่อทำการตรวจโดยการคัดแยก 2 ขั้นตอนคือ วิธีการเรืองแสงอัลตราไวโอเลตบนอาหารวันสกัด จากวัสดุการเกษตรชนิดต่างๆ จากนั้นคัดเชื้อราที่ให้ผลเรืองแสง กับแสงอัลตราไวโอเลตบนอาหารวันสกัด จากวัสดุการเกษตรตั้งแต่ 3 ชนิดขึ้นไป มาตรวจสอบการสร้างแอฟลาทอกซิน โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวมาตรฐาน เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นสกัด และตรวจหาแอฟลาทอกซินด้วยวิธี TLC เปรียบเทียบค่า Rf กับแอฟลาทอกซิน บี มาตรฐาน ผลที่ได้พบเชื้อรา 9 สายพันธุ์ จากเชื้อราทั้งหมดที่แยกได้ สามารถสร้างแอฟลาทอกซินคือเชื้อราสกุล *Aspergillus* W79, *Fonsecaea* W49 และ *Cervularia* W91 ซึ่งทั้ง 3 สกกลนี้ยังไม่เคยมีรายงานว่าสามารถสร้างแอฟลาทอกซินได้ และสกุล *Rhizopus* W26, *Penicillium* W36, *Aspergillus* W45, *Fusarium* W78, *Aspergillus* W79 และ *Aspergillus* W83 ที่เคยมีรายงานว่าสามารถสร้างแอฟลาทอกซินได้ทั้ง 6 สกกล

และเมื่อศึกษาเปรียบเทียบความสามารถในการสร้างแอฟลาทอกซินของเชื้อราทั้ง 9 สกกล พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* W83 เป็นสกกลที่สามารถสร้างแอฟลาทอกซิน บี ได้สูงกว่าอีก 8 สกกล โดยจะเริ่มสร้างแอฟลาทอกซิน บี ในวันที่ 3 และสูงสุดในวันที่ 10 ดังนั้นเชื้อรา *Aspergillus* W83 ถูกนำมาใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

4. ผลของการศึกษาเปรียบเทียบการสร้างแอฟลาทอกซิน บี ของเชื้อรา *Aspergillus* W83 เมื่อเลือกใช้วัสดุการเกษตร 5 ชนิด คือ ถังลิสง, ข้าวโพด,

มะพร้าว, ปลายข้าว และถั่วเหลือง เป็นตัวแทนของวัสดุการเกษตรพบว่า ถั่วเหลืองเป็นวัสดุที่เชื้อราเจริญแล้วสามารถสร้างแอฟลาทอกซิน บี<sub>1</sub> ได้สูงกว่าอาหารประเภทอื่น และถั่วเหลืองทำให้เชื้อราสร้างแอฟลาทอกซิน บี<sub>1</sub> ได้ต่ำสุด และการเพาะเลี้ยงเชื้อราบนอาหารแห้งจากวัสดุการเกษตรที่นิ่งมาเชื้อ จะทำให้เชื้อราสร้างแอฟลาทอกซิน บี<sub>1</sub> ได้สูงกว่าการเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลว

5. การศึกษาผลของสารคาเฟอีน, โซเดียมเบนโซเอท และสารผสมทั้งสอง ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา *Aspergillus* W83 ในอาหารเหลวมาตรฐาน พบว่าการใช้คาเฟอีนและโซเดียมเบนโซเอท โดยลำพังเพียงสารเดียว สามารถยืดเวลาการงอกของสปอร์ และเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ลดลงได้ ตามปริมาณที่เพิ่มขึ้นของสารทั้งสอง และพบว่าเมื่อใช้สารคาเฟอีนตั้งแต่ 0.5-1.5 มก.ต่อมล. และ 2.0-2.4 มก.ต่อมล. ในช่วงเวลาที่ 9 และ 14 ตามลำดับ ผลของการยับยั้งเมื่อมีปริมาณสารเพิ่มขึ้น จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ที่ลดลง เมื่อนำค่าเปอร์เซ็นต์การงอกไปเขียนกราฟ จะได้ลักษณะเส้นกราฟเป็นเส้นตรง และในการใช้สารโซเดียมเบนโซเอทก็มีผลที่เหมือนกันคือ เมื่อใช้สารตั้งแต่ 0.1-0.4 มก.ต่อมล. และที่ 0.5-1.0 มก.ต่อมล. เปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ ในช่วงเวลาที่ 15 และ 51 ตามลำดับ ผลของการยับยั้งเมื่อมีปริมาณสารเพิ่มขึ้น จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ที่ลดลง เมื่อนำค่าเปอร์เซ็นต์การงอกไปเขียนกราฟ จะได้ลักษณะเส้นกราฟเป็นเส้นตรง

6. การใช้สาร คาเฟอีน โซเดียมเบนโซเอท และสารผสมทั้งสอง ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Aspergillus* W83 ในอาหารเหลว พบว่าเมื่อเติมลงในอาหารหลังจากเลี้ยงเชื้อ 1 วัน มีผลทำให้การเจริญของเส้นใยเชื้อรา ในระยะ log phase ลดลงจากการเจริญตามปกติ ทุกความเข้มข้นของสารทั้งสอง และเมื่อใช้โซเดียมเบนโซเอท ปริมาณ 0.7 มก.ต่อมล. ทำให้เชื้อราหยุดการเจริญ และการใช้สารผสมทั้งสองจะให้ผลในลักษณะเดียวกัน แต่สามารถลดการเจริญได้ดีกว่าการใช้สารเพียงสารเดียว

7. เมื่อเติมสารคาเฟอีน โซเดียมเบนโซเอท และสารผสมทั้งสอง ในอาหารเหลว เพื่อยับยั้งการสร้างแอฟลาทอกซิน บี<sub>1</sub> ของเชื้อรา *Aspergillus* W83 พบว่าปริมาณคาเฟอีน 0.5, 1.0 และ 1.5 มก.ต่อมล. สามารถยืดเวลาการสร้างได้ 1, 3 และ 6 วัน ตามลำดับ และสามารถลดปริมาณการสร้างแอฟลาทอกซิน บี<sub>1</sub> ได้ 61.16%, 70.66% และ 91.71% ตามลำดับ และปริมาณคาเฟอีนตั้งแต่ 2.0 มก.ต่อมล. ขึ้นไป จะไม่พบว่ามี การสร้างแอฟลาทอกซิน บี<sub>1</sub> จนสิ้นสุดการทดลอง และปริมาณโซเดียมเบนโซเอท 0.05, 0.075, 0.1, 0.25, 0.3, 0.4 และ 0.5 มก.ต่อมล. สามารถลดปริมาณการสร้างแอฟลาทอกซิน บี<sub>1</sub> ได้ 91.04%, 94.17%, 99.81%, 98.43%, 98.84%, 99.32% และ 99.27% ตามลำดับ และสามารถยืดเวลาการสร้างได้ 1, 3, และ 6 วัน ของความเข้มข้น 0.05, 0.075 และ 0.1 มก.ต่อมล. ตามลำดับ ที่ 0.25-0.5 มก.ต่อมล.

ยีสต์เวลาได้ 9 วัน และปริมาณโซเดียมเบนโซเอตตั้งแต่ 0.7 มก.ต่อมล. ขึ้นไป จะไม่พบว่ามีการสร้างแอฟลาทอกซิน บี<sub>1</sub> จนสิ้นสุดการทดลอง และการใช้สารผสมทั้งสองจะให้ผลที่ดีกว่าการใช้สารเพียงสารเดียว เช่นที่ 0.5:0.25 สามารถยีสต์เวลาสร้างแอฟลาทอกซิน บี<sub>1</sub> ได้ 11 วัน และลดได้ 99.37%

8. การใช้สารคาเฟอีน โซเดียมเบนโซเอต และสารผสมทั้งสอง ในอาหารเมล็ดถั่วลิสงที่หนึ่งฆ่าเชื้อ คาเฟอีนปริมาณ 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.2 และ 2.4 มก.ต่อก. สามารถลดการสร้างแอฟลาทอกซิน บี<sub>1</sub> ได้ 13.21%, 26.15%, 33.16%, 45.60%, 90.35% และ 94.38% ตามลำดับ โดยที่ 0.5-2.0 มก.ต่อก. ไม่สามารถยีสต์เวลาการสร้างแอฟลาทอกซิน บี<sub>1</sub> ได้ และที่ 2.2-2.4 มก.ต่อก. ยีสต์เวลาได้เพียง 1 วัน และการใช้โซเดียมเบนโซเอตปริมาณ 0.25, 0.3, 0.4, 0.5, 0.7, 0.75, 1.0 และ 2.0 มก.ต่อก. สามารถลดปริมาณการสร้างแอฟลาทอกซิน บี<sub>1</sub> ได้ 35.11%, 39.85%, 58.37%, 59.49%, 79.60%, 81.58%, 90.28% และ 97.04% ตามลำดับ และที่ 0.5-0.7 มก.ต่อก. ยีสต์เวลาการสร้างได้ 3 วัน และที่ 0.75-2.0 มก.ต่อก. ยีสต์เวลาได้ 6 วัน และการใช้สารผสมทั้งสองจะให้ผลที่ดีกว่าการใช้สารเพียงตัวเดียว เช่นที่ 0.5:0.75 มก.ต่อก. ลดการสร้างแอฟลาทอกซิน บี<sub>1</sub> ได้ 93.55% และยีสต์เวลาการสร้างได้ 12 วัน

#### ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากการทำวิจัยครั้งนี้ เพื่อนำผลการทดลองไปใช้ในการลดปริมาณการสร้างแอฟลาทอกซิน จึงขอเสนอแนะดังนี้

1. เชื้อราที่ปนเปื้อนมากับวัสดุการเกษตร ที่นำมาเป็นอาหารสัตว์ต้องระวังความชื้น ถ้ามีความชื้นสูงเกินกว่า 12% เชื้อราจะสามารถเจริญและสร้างแอฟลาทอกซินได้ ดังนั้นการเก็บรักษาวัสดุการเกษตรควรทำให้แห้งเสียก่อน อาจใช้วิธีตากแห้งหรืออบแห้ง เพื่อป้องกันการเจริญและสร้างแอฟลาทอกซินของเชื้อรา แล้วจึงนำไปเก็บไว้ในที่แห้ง และอากาศถ่ายเทได้สะดวก และควรหลีกเลี่ยงการใช้ถั่วลิสงและข้าวโพด เป็นองค์ประกอบอาหารสัตว์ เพราะถั่วลิสงเป็นวัสดุการเกษตรที่เชื้อราเจริญ และสร้างแอฟลาทอกซินได้ปริมาณที่สูง

2. ผลจากการวิจัยใช้สารคาเฟอีน และโซเดียมเบนโซเอต ในอัตราส่วนของสารผสมทั้งสองที่ปริมาณต่ำ สามารถยีสต์เวลาการงอกของสปอร์ และการสร้างแอฟลาทอกซิน ทำให้สามารถนำสารทั้งสองมาใช้กับอาหารสัตว์ได้ โดยที่พยายามหาวิธีการสกัดคาเฟอีนออกจากสิ่งเหลือทิ้งของผลกาแฟในโรงงานผลิตกาแฟ ด้วยวิธีง่ายๆ และราคาถูก ก็จะได้คาเฟอีนมาใช้กับอาหารสัตว์ในราคาถูก และคุ้มทุน

3. ทำการวิจัยหาสารชนิดอื่นๆ ที่มาจากธรรมชาติ ซึ่งสามารถยับยั้งการสร้างแอฟลาทอกซินได้ผลดี และมีความปลอดภัยต่อคนและสัตว์