หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

ปัจจุบันประเทศไทยได้มี การเร่งพัฒนาเทคโนโลยี่ด้านต่างๆ และการส่งเสริมอุตสาหกรรมที่ใช้วัตถุดิบ ที่ได้จากผลผลิตการเกษตรมากขึ้น อุตสาหกรรมที่สำคัญมากอันหนึ่งก็คือ อุตสาหกรรมผลิตอาหารสัตว์ ปัจจุบันในประเทศไทยได้มีบริษัทที่ผลิตอาหารสัตว์อยู่หลายบริษัท ทั้งจำหน่ายในประเทศและส่งออกนอกประเทศ และปัญหาหนึ่งของอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ก็คือ การมีสารปนเปื้อนอยู่ในผลิตภัณฑ์อาหารสัตว์ สารปนเปื้อนนั้นอาจมีได้หลายชนิดเช่น สารเคมีที่ใช้กำจัดศัตรูพืช ซึ่งสารพวกนี้จะติดมากับเมล็ดธัญพืชที่ใช้เป็นวัตถุดิบ สารที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโต และปลดปล่อยสารลงปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์อาหารสัตว์ เนื่องจากการเก็บรักษาเมล็ดธัญพืชที่ใช้เป็นวัตถุดิบ หรือผลิตภัณฑ์อาหารสัตว์สำเร็จรูปไม่ดีพอ เมื่อได้รับความชื้น เชื้อจุลินทรีย์ก็จะสามารถเจริญเติบโต และปล่อยสารบางชนิดลงบนอาหารนั้น

เชื้อราเป็นจุลินทรีย์จำพวกหนึ่ง ที่ก่อให้เกิดปัญหาในผลิตภัณฑ์อาหารสัตว์ เนื่องจากสปอร์ของเชื้อรากระจายอยู่ทั่วไปในธรรมชาติ และพบว่าปนเปื้อนในผลผลิตการเกษตรที่นำมาเป็นอาหารสัตว์ เมื่อได้รับความชื้นสปอร์ของเชื้อราจะงอก และเจริญบนอาหารนั้น สายใยเชื้อราขณะที่มีการเจริญจะปลดปล่อยเอนไซม์บางชนิด มาย่อยสลายอาหารเพื่อการเจริญเติบโต และผลิตสารอินทรีย์บางชนิด ในช่วงของการเจริญในขั้นทุติยภูมิ (Secondary growth) แล้วปล่อยสารนั้นลงในอาหารที่เชื้อราเจริญอยู่ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของอาหารไปจากเดิม

สารอินทรีย์บางชนิดที่สร้างในช่วงทุติยภูมินี้ บางชนิดเป็นประโยชน์และบางชนิดเป็นโทษและมีพิษต่อคนและสัตว์ สารพิษเหล่านี้เรียกว่า พิษรา(Mycotoxin) สารพิษที่จะกล่าวต่อไปนี้ก็คือ แอฟลาทอกซิน(Aflatoxin) สารพิษของเชื้อราชนิดนี้ ได้มีการศึกษาค้นคว้าอย่างกว้างขวาง เพราะว่าแอฟลาทอกซินเป็นสารพิษ ที่ทำให้เกิดความเป็นพิษอย่างเฉียบพลัน(acute toxicity) และแบบสะสมที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดมะเร็งที่ตับได้อีกด้วย

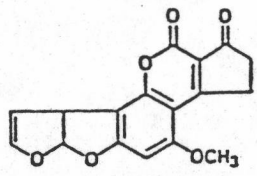
ในปีค.ศ. 1960 ได้มีโรคระบาดชนิดหนึ่งเกิดขึ้นในไก่งวง ซึ่งไม่ทราบสาเหตุของโรคว่าเกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ชนิดใด จึงตั้งชื่อโรคใหม่นี้ว่า Turkey X disease(Blount, 1961.) ภายหลังจากนั้นไม่นานได้มีรายงานว่า มีโรคระบาดชนิดเดียวกันขึ้นกับเป็ดและไก่ฟ้าในประเทศอังกฤษ และในระยะเวลาต่อมา Asplin และ Carnaghan(1961)รายงานว่าเกิดโรคระบาดชนิดนี้ขึ้นกับเป็ดในประเทศเคนยาและยูกานดา จากการศึกษาค้นคว้าถึงสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคนี้ ในประเทศอังกฤษพบว่าโรค Turkey X disease นี้เกี่ยว

ข้องกับถั่วลิสงซึ่งซื้อมาจากประเทศบราซิลเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์ ภายหลังจากการนำเอาถั่วลิสงเหล่านี้มาเลี้ยงกับเป็ดทดลอง ปรากฏว่าเกิดอาการเป็นพิษเช่นเดียวกัน กับเป็ดและไก่งวงในระยะที่มีโรคระบาดกล่าวคือ มีอาการซึม เบื่ออาหาร ปีกตก คอตก ขาอ่อนเพลียและตายในที่สุดผลการตรวจทางพยาธิวิทยาของอวัยวะต่างๆ พบว่าตับเป็นอวัยวะที่ถูกทำลายมากที่สุด

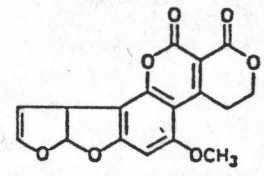
ต่อมาในปีเดียวกันนั้นเอง Sargeant และคณะ(1961a และb.) ได้นำถั่วลิสงที่มาจากประเทศบราซิล ทำการตรวจหาสารพิษด้วยการสกัด(extraction) แยก(isolation) และทำให้สารพิษบริสุทธิ์(purification) ขณะเดียวกันสามารถแยกเชื้อราหลายชนิด จากเนื้อของถั่วลิสงที่เป็นพิษจากประเทศยูกานดา เชื้อราชนิดหนึ่งชื่อ แอสเปอร์จิลลัส เฟลวัส (*Aspergillus flavus* Link) สามารถสร้างสารพิษได้เมื่อนำไปเลี้ยงบนวุ้น เขาได้สกัดสารพิษที่ถูกสร้างจากเชื้อราตัวนี้บนวุ้น และพบว่าเป็นชนิดเดียวกันกับ ที่พบจากส่วนสกัดของถั่วลิสง และได้ตั้งชื่อสารพิษที่ได้จากเชื้อราตัวนี้ว่า แอฟลาทอกซิน(Aflatoxin) ตามชื่อเชื้อราที่สร้างนั่นเอง และจากการค้นพบแอฟลาทอกซินเป็นต้นมา ทำให้มีการศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับแอฟลาทอกซินมา จนถึงปัจจุบันอย่างกว้างขวาง ซึ่งจะเห็นว่าเริ่มตั้งแต่ในปีค.ศ. 1960 ได้มีรายงานเป็นจำนวน 15 ฉบับ, ปีค.ศ. 1963 มีจำนวน 106 ฉบับ, ปีค.ศ. 1966 มีจำนวน 216 ฉบับ, และมากกว่า 400 ฉบับ ในปีค.ศ. 1970 (Moreau, 1979) ดังนั้นจึงขอกล่าวเกี่ยวกับลักษณะและคุณสมบัติที่สำคัญของแอฟลาทอกซินเพื่อความเข้าใจต่อไป

สูตรโครงสร้างทางเคมี (Chemical structure) ของแอฟลาทอกซิน

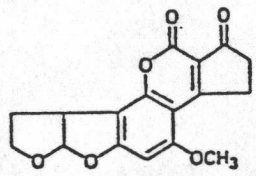
การศึกษาแอฟลาทอกซินพบว่ามีโครงสร้างอยู่สองแบบจากการตรวจสอบด้วย TLC (Thin Layer Chromagraphy) ซึ่งใช้ อะลูมินา(alumina) และสารละลายตัวพาคือ คลอโรฟอร์ม(Chloroform): คาร์บอนเททระคลอไรด์(Carbon tatrachloride): น้ำ(Water): เมทานอล(Methanol) ในอัตราส่วน 2: 2.5: 1: 3 เมื่อนำไปตรวจสอบการเรืองแสงอัลตราไวโอเลต พบว่าจะมีการเรืองแสง 2 แบบคือ เรืองแสงสีฟ้า ซึ่งได้แก่ กลุ่มแอฟลาทอกซิน บี และเอ็ม และเรืองแสงสีเขียว ซึ่งได้แก่ กลุ่มของแอฟลาทอกซิน จี สูตรโครงสร้างหลักของแอฟลาทอกซินเป็น คูมารินนิวเคลียส(coumarin nucleus)เชื่อมต่อกับ วงแหวนไบฟูแรน(bifuran ring)โดยในกลุ่มของแอฟลาทอกซิน บี และเอ็ม จะมี วงแหวนเพนตาโนน(pentanone ring) และในกลุ่มของแอฟลาทอกซิน จี จะมี วงแหวนแลคโตน(lactone ring) เชื่อมต่อกับโครงสร้างหลักตามลำดับ และสูตรโครงสร้างของแอฟลาทอกซินกลุ่มต่างๆ ได้แสดงดังรูปต่อไปนี้(Butler, 1974 และ Moreau, 1979.)



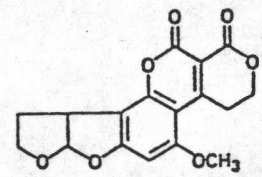
Aflatoxin B_1



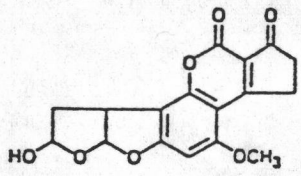
Aflatoxin G_1



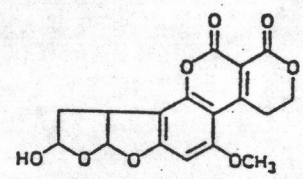
Aflatoxin B_2



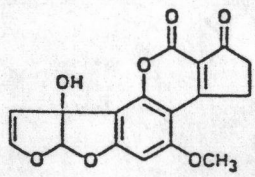
Aflatoxin G_2



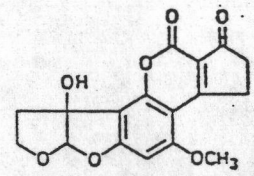
Aflatoxin B_{2a}



Aflatoxin G_{2a}



Aflatoxin M_1

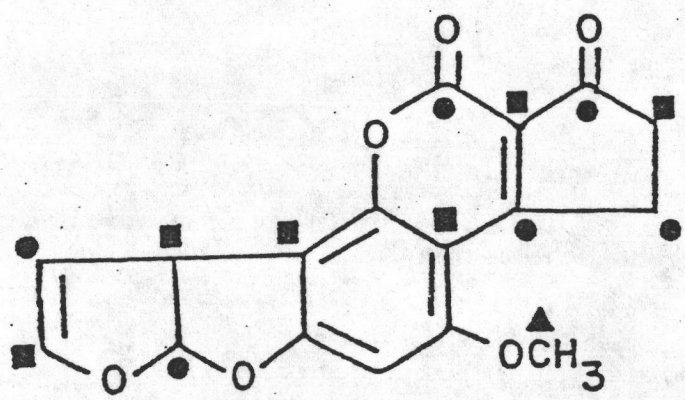


Aflatoxin M_2

โครงสร้างของแอฟลาทอกซินกลุ่มต่างๆ

ชีวสังเคราะห์แอฟลาทอกซิน (Biosynthesis of aflatoxin)

กระบวนการสังเคราะห์แอฟลาทอกซินจากเชื้อรานั้น ได้กระทำในอาหารสังเคราะห์โดยใช้สารกัมมันตภาพรังสีเกาะติดที่แหล่งอาหารคาร์บอนบางชนิด ในอาหารเลี้ยงเชื้อรา จากผลการทดลองพอจะสรุปได้ว่าธาตุอาหารคาร์บอนที่มีโมเลกุลใหญ่จะเปลี่ยนแปลงไปเป็นกรดอะซิติค(acetic acid) ซึ่งเชื้อราจะใช้เป็นสารเริ่มต้น ที่จะให้คาร์บอนและอ๊อกซิเจนในโมเลกุลของแอฟลาทอกซินเป็นส่วนใหญ่ นอกจากกรดอะซิติคแล้ว กรดอะมิโนเมทไทโอนีน (methionine) จะเป็นแหล่งอาหารคาร์บอนของ กลุ่มเมทธิล (methyl group) ในโมเลกุลของแอฟลาทอกซินอีกด้วย(Armbrecht และคณะ, 1963; Biollaz และคณะ, 1968; Mateles และ Adye, 1965 และ Davis และคณะ, 1967.) ที่แสดงดังรูป

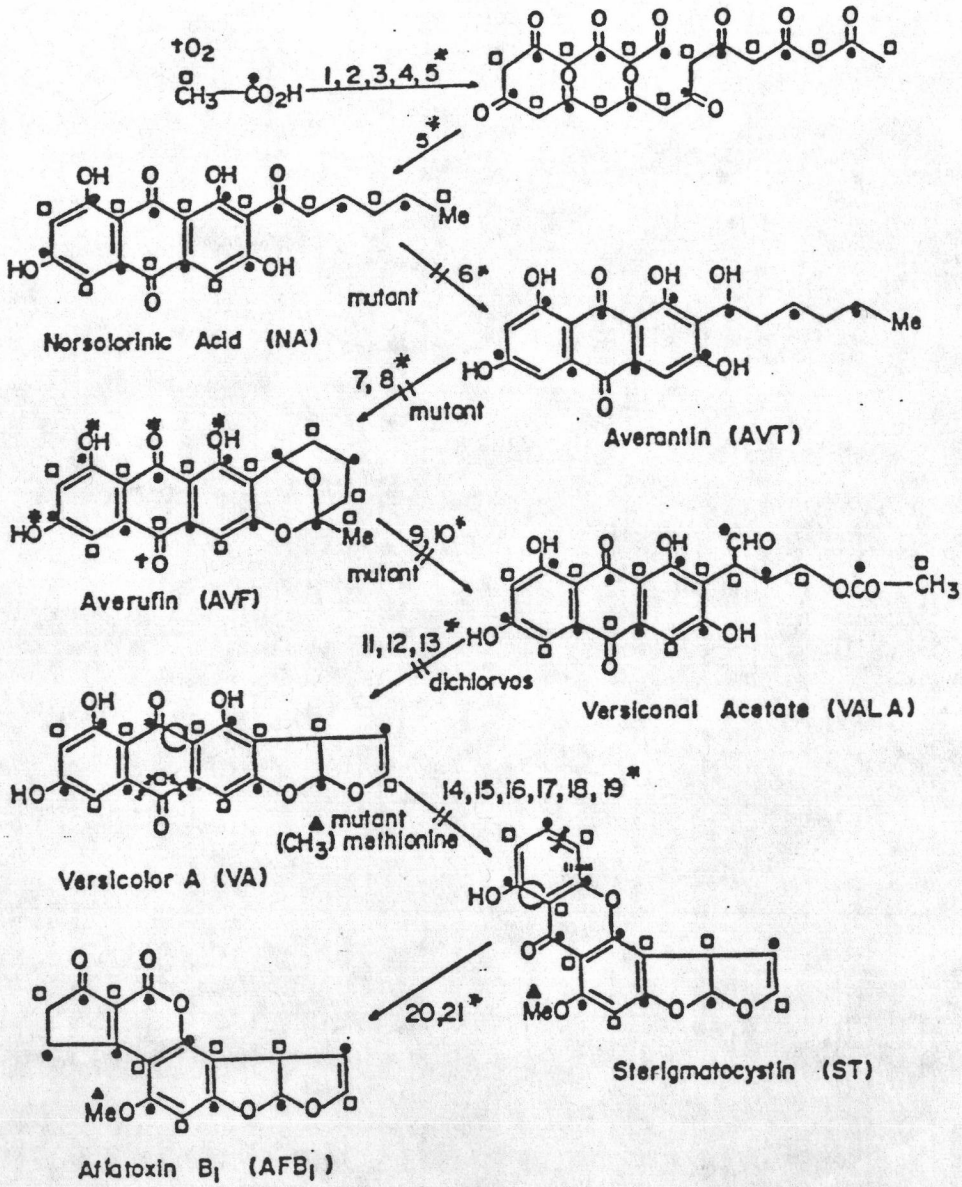


แสดงแอฟลาทอกซิน บี$_1$ ที่เกิดจากการใช้กรดอะซิติค(C^{14}-acetic acid) และกรดอะมิโนเมทไทโอนีน(C^{14}-methionine) กัมมันตภาพรังสี เป็นสารเริ่มต้นในอาหารสังเคราะห์(semisynthetic medium) ชนิดเหลวที่ใช้เลี้ยงเชื้อราแอสเปอร์จิลลัส เฟลวัส

CH_3COOH = acetic acid (C^{14} = $^{\bullet}C$ และ $^{\blacksquare}C$)

$CH_3SCH_2CH_2CH_2(NH_2)COOH$ = methionine (C^{14} = $^{\blacktriangle}C$)

แต่ถึงอย่างไรก็ตามนักวิทยาศาสตร์ยังศึกษาขั้นตอนของ ขบวนการสังเคราะห์แอฟลาทอกซินจนเป็นที่ทราบและเข้าใจ ซึ่งแสดงไว้ดังรูป



รูปแสดงขบวนการสังเคราะห์แอฟลาทอกซินบางขั้นตอน(Dutton, 1988 และ Floyd และคณะ, 1987.)

การเปลี่ยนแปลงของแอฟลาทอกซินภายในร่างกาย (Metabolism of Aflatoxin)

เมื่อร่างกายได้รับแอฟลาทอกซินเข้าไปแล้ว แอฟลาทอกซินจะมีการกระจายไปยังอวัยวะต่างๆของร่างกาย และร่างกายสามารถที่จะขับถ่ายแอฟลาทอกซินออกไปได้บางส่วน และบางส่วนจะเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างแอฟลาทอกซิน การเปลี่ยนแปลงจะเกิดที่ตับเป็นส่วนใหญ่ การเปลี่ยนแปลงนี้อาจแบ่งได้เป็น 2 ทางคือ

1. การเปลี่ยนแปลงเพื่อการกำจัดออกจากร่างกาย (metabolic route)
เมื่อแอฟลาทอกซิน บี$_1$ เข้าสู่ร่างกายแล้วแอฟลาทอกซิน บี$_1$ บางส่วนจะถูกกำจัดออกจากร่างกาย โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเลย แต่ส่วนใหญ่แล้วจะถูกเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไปเป็นแอฟลาทอกซินชนิดอื่นๆได้แก่ แอฟลาทอกซิน เอ็ม$_1$, พี$_1$ และ คิว$_1$ ส่วนน้อยที่เป็น แอฟลาทอกซิน บี$_{2a}$ และอาร์$_0$ ตามลำดับ สำหรับการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเกิดมากที่สุดในตับ โดยอาศัยเอนไซม์ที่เรียกว่า drug metabolizing enzymes ซึ่งจากการศึกษาของนักวิทยาศาสตร์หลายท่าน ที่ทำการทดลองกับสัตว์หลายชนิดพบว่า แอฟลาทอกซินจะถูกกำจัดออกจากร่างกายได้เกือบหมด ภายในเวลา 24 ชั่วโมง โดยจะไม่มีการสะสมเลย ถ้าได้รับแอฟลาทอกซินเข้าไปเพียงครั้งเดียวเท่านั้น แต่จะมีการสะสมได้ก็เป็นผลเนื่องมาจากที่ได้รับแอฟลาทอกซิน เข้าไปในร่างกายตลอดเวลา ลักษณะอันนี้ของแอฟลาทอกซินที่แตกต่างไปจากสารบางชนิด ซึ่งเมื่อเข้าสู่ร่างกายแล้ว จะไปสะสมอยู่ในส่วนต่างๆของร่างกายได้เลย (Dalezos และ Wogen, 1972; Dalezos และคณะ, 1973; Shank และ Wogen, 1965; Wogen, 1966 และ 1968; Wogen และ Friedman, 1965 และ Wogen และ Pgliaunga, 1974.)

2. การเปลี่ยนแปลงเพื่อที่จะทำปฏิกิริยากับส่วนประกอบทางชีวเคมีของเซลล์
(Activation route)
เมื่อแอฟลาทอกซิน บี$_1$ เข้าไปในร่างกาย และไปถึงที่ตับก็จะถูกเปลี่ยนแปลงโครงสร้างด้วยขบวนการที่คล้ายคลึงกับ การเปลี่ยนแปลงแอฟลาทอกซิน เพื่อการกำจัดออกจากร่างกายแต่จะพบว่า มีแอฟลาทอกซินเกิดขึ้นอีกชนิดหนึ่งคือ แอฟลาทอกซิน บี$_1$ อีป๊อกไซด์ (Aflatoxin B$_1$-2-3-oxide) จะจับตัวกับสารโมเลกุลใหญ่ (macromolecule) ในเซลล์ของตับได้เป็นอย่างดี จึงไม่พบว่ามีปริมาณมากพอที่จะแยกออกมาได้จากปัสสาวะ หรืออุจจาระ และจากการศึกษา แอฟลาทอกซิน บี$_1$ อีป๊อกไซด์ ทำให้พบว่าอาจเป็นไปได้ที่แอฟลาทอกซิน บี$_1$ อีป๊อกไซด์ เป็นตัวการสำคัญมากที่ทำให้เกิดพิษอย่างเฉียบพลัน และการเกิดมะเร็งโดยแอฟลาทอกซิน บี$_1$ (Garner และคณะ, 1971; Garner, 1973; Swenson และคณะ, 1973 และ 1974.)

ประวัติการศึกษาที่เกี่ยวข้อง

ในปี 1972 Shank และคณะ(1972a,b และ c) ได้ตรวจหาชนิดของเชื้อราที่ขึ้นปนเปื้อนอยู่ในผลผลิตการเกษตร และแหล่งอาหารประเภทโปรตีนบางชนิด ที่ใช้เป็นอาหารสำหรับคนได้แก่ ถั่วชนิดต่างๆ ข้าว ข้าวโพด งา แป้ง พริก ปลาแห้ง และกุ้งแห้ง เป็นต้น ซึ่งจากการทดลองพบว่านอกจาก *Aspergillus flavus* ที่สามารถสร้างแอฟลาทอกซินแล้วยังพบเชื้อรา *A. niger*, *A. glaucus*, *A. ochraceous*, *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp. และ *Fusarium* sp. ที่สามารถสร้างแอฟลาทอกซินได้อีกด้วย

ในระยะต่อมา ธีระยุทธ์ กลิ่นสุคนธ์ และคณะ(1976 และ 1979) ก็ได้ศึกษาเชื้อราที่สามารถสร้างแอฟลาทอกซิน ในผลผลิตการเกษตรที่เป็นอาหารสำหรับคนที่สุ่มตัวอย่างจากท้องตลาดในประเทศไทย ผลการศึกษาได้พบเชื้อราชนิดต่างๆ ที่คล้ายคลึงกับกลุ่มเชื้อราที่ Shank และคณะ ได้รายงานไว้ในปี 1972 คือเชื้อรา *A.niger*, *A. glaucus*, *A. ochraceous*, *A. wentii*, *A. ruber*, *A. ostianus*, *A. flavus var.* Link, *A. parasiticus*, *A. flavus var. columnaris*, *P. puberrulum*, *P. variable*, *P. frequentans*, *P. citrinum*, *Rhizopus* sp. และ *Fusarium* sp. ที่สามารถสร้างแอฟลาทอกซินได้ และยังได้รายงานว่าในกลุ่มของเชื้อราชนิดต่างๆที่คัดแยกได้พบว่า *A. flavus* เป็นเชื้อราสายพันธุ์ที่สามารถสร้างแอฟลาทอกซินได้สูงกว่าเชื้อราสายพันธุ์อื่นๆ

Buchanan และคณะ(1976) ศึกษาผลของสาร sodium acetate ต่อการเจริญและการสร้างแอฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. flavus* NRRl 2999 ในอาหารเหลวสังเคราะห์ พบว่า sodium acetate ที่ความเข้มข้น 0.6, 0.8 และ 1.0 ก.ใน 100 มล.ของอาหารเหลว สามารถยับยั้งการสร้างแอฟลาทอกซินได้ 70, 99 และ 100% ตามลำดับ

Bullerman และคณะ(1977) ศึกษาผลของ cinnamon, clove oil, cinnamic aldehyde และ eugennol ยับยั้งการเจริญและการสร้างแอฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. parasiticus* NRRL 2999 ในอาหารเหลวสังเคราะห์ พบว่าที่ความเข้มข้น 200-250 ppm. ของสาร cinnamon และ clove oil และที่ความเข้มข้น 150 และ 125 ppm. ของสาร cinnamic aldehyde และ eugennol สามารถยับยั้งการสร้างแอฟลาทอกซิน และที่ความเข้มข้น 250 ppm. ของ clove oil และที่ 200 ppm. ของ eugennol จะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้

Buchanan และคณะ(1978, 1983, 1984 และ 1987) ได้ศึกษาผลของสารอนุพันธ์ Methylxanthin คือ caffeine และ theophylline ต่อการเจริญและการสร้างแอฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. flavus* NRRL 2999 ในอาหารเหลวสังเคราะห์ ผลการทดลองพบว่าสาร caffeine ที่ความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 2.0 มก.ต่อมล. จะสามารถยับยั้งการสร้างแอฟลาทอกซินได้ 86, 96 และ 100% และสาร theophylline ความเข้มข้นที่ใช้ทดลองคือ 2.0, 4.0 และ 8.0 มก.ต่อมล. พบว่าที่ความเข้มข้นสูงมากๆ เท่านั้น จึงจะมีผลต่อการสร้างแอฟลาทอกซินและสามารถยับยั้งได้เพียง 54% เท่านั้น และผลของการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา ปรากฏว่าสารทั้งสองชนิด สามารถลดการเจริญลงได้เพียงเล็กน้อย ไม่สามารถยับยั้งได้โดยสมบูรณ์

Abdollahi และ Buchanan(1981a,b และ 1984) ศึกษาผลของสารพวกคาร์โบไฮเดรท (Carbohydrates) ชนิดต่างๆ ต่อการสร้างแอฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. parasiticus* ในอาหารเหลวสังเคราะห์ พบว่าน้ำตาลที่สามารถกระตุ้นให้มีการสังเคราะห์แอฟลาทอกซินได้แก่ ribose, xylose, glucose, fructose, sorbose, mannose, galactose, maltose, sucrose, raffinose และ glycerol แต่สารที่ไม่สามารถกระตุ้นให้ สังเคราะห์แอฟลาทอกซินได้แก่ lactose, lactic acid, sodium pyruvate, oleic acid, citric acid, sodium acetate, α-methyl-D-glucoside, 3-O-methyl-D-one, cAMP และ cGMP

Sim และคณะ(1985) ได้คัดแยกเชื้อราที่สามารถสร้างแอฟลาทอกซิน จากตัวอย่างประเภท กุ้งแห้ง, กะปิ, เนยถั่วลิสง, และกากถั่วลิสง จาก 33 ตัวอย่างพบว่าในตัวอย่างประเภท กุ้งแห้ง และกากถั่วลิสง จะมีเชื้อรา *Aspergillus sp.* และ *Penicillium sp.* เจริญปนเปื้อนเป็นส่วนใหญ่ แต่จะไม่พบเชื้อรา *Aspergillus sp.* ปนเปื้อนอยู่บนตัวอย่างประเภท กะปิ และ เนยถั่วลิสง และจาก 81 สายพันธุ์ของเชื้อรา *Aspergillus sp.* ที่คัดแยกได้ พบว่ามี 10 สายพันธุ์ที่สามารถสร้างแอฟลาทอกซินได้ซึ่งจะได้แก่เชื้อรา *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus parasiticus*

El-Gazzar และคณะ(1986) ศึกษาผลของ sodium chloride ต่อการสร้างแอฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999 ในอาหารเหลวสังเคราะห์ จากการทดลองเมื่อใช้ sodium chloride ที่มีความเข้มข้น 0, 2, 4, 6, 8 และ 10% และทดลองที่อุณหภูมิ 13 และ 28°C พบว่า sodium chloride ที่มีความเข้มข้น 10% ณ อุณหภูมิ 13°C สามารถลดปริมาณการสร้างแอฟลาทอกซินได้ดีกว่าที่อุณหภูมิ 28°C

ต่อมา Raul Valcarcel และคณะ(1986) ทำการศึกษาคัดเลือก (select) สารยับยั้ง(inhibitor)ชนิดต่างๆ ที่มีผลต่อการเจริญ การสร้างสี(pigment) และการสร้างแอฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* NRRL 5862 ในอาหารเหลวสังเคราะห์ จากการทดลองใช้สารยับยั้งชนิดต่างๆ พบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของสาร benzoic acid 2-3 มก.ต่อมล. cinnamon 1 มก.ต่อมล. และ sodium acetate 5 มก.ต่อมล. จะเกิดพิษต่อเชื้อราทำให้ มีผลต่อการเจริญ การสร้างสี และการสร้างแอฟลาทอกซินของเชื้อราให้ลดลงได้ แต่ที่ความเข้มข้นของสาร benzoic acid 0.5-1 มก.ต่อมล. chlorox 5 มค.ล.ต่อมล. และ dimethyl sulfoxide 5 มค.ล.ต่อมล. จะไม่มีผลต่อเชื้อรา และเมื่อทดลองใช้สาร sodium benzoate ที่ความเข้มข้น 1, 2, 4 และ 8 มก.ต่อมล. เติมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อได้ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อราไปแล้วเป็นเวลา 2 วัน ซึ่งผลปรากฏว่าความเข้มข้นต่างๆที่ใช้ สามารถยับยั้งการเจริญ และการสร้างแอฟลาทอกซินของเชื้อราได้อย่างเฉียบพลัน

ขณะเดียวกัน Dusanee และ Smith(1986) ศึกษาอิทธิพลของสาร ethoxyquin, BHT(Butylated Hydroxytoluene) และ endox dry ต่อการสร้างแอฟลาทอกซินในอาหารสัตว์ ผลปรากฏว่าเมื่อใช้ ethoxyquin ลงในอาหารสัตว์พบว่ามีผลทำให้การสร้างแอฟลาทอกซิน บี$_1$ เพิ่มขึ้นถึง 2-4 เท่า ในขณะที่การสร้างแอฟลาทอกซิน จี$_1$ ลดลง สำหรับผลของ BHT จะไปยับยั้งการสร้างแอฟลาทอกซินได้ทั้งสองชนิด และ endox dry มีผลลดการสร้างแอฟลาทอกซินในอาหารสัตว์ได้ 20-40%

Dusanee และคณะ(1987) ได้ทำการศึกษาหาปริมาณของแอฟลาทอกซินของถั่วเหลืองที่เก็บไว้ ณ อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 28°C ที่มีความชื้นสัมพันธ์ 40, 60, 70, 80, 90 และ 98% พบว่าถั่วเหลืองที่เก็บไว้ ณ อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 28°C ที่มีความชื้นสัมพัทธ์ 98% ภายในสัปดาห์ที่ 2 จะพบว่ามีการสร้างแอฟลาทอกซิน 4.61 และ 5.25 มก.ต่อก.ของถั่วเหลืองตามลำดับ แต่ยังมีตัวอย่างอีก 286 ตัวอย่างที่ไม่พบแอฟลาทอกซิน และได้อธิบายว่าอาจเนื่องมาจากการขาดแคลนธาตุสังกะสีในถั่วเหลือง หรืออาจเนื่องจากไม่มีเชื้อราที่สามารถสร้างแอฟลาทอกซินปนเปื้อนอยู่

อรพิน ภมิภมร และ ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์(2525) ทำการศึกษาถึงชนิด และปริมาณเชื้อรา ที่เจริญในเมล็ดสายพันธุ์ถั่วลิสงทั้งพันธุ์พื้นเมือง และพันธุ์จากต่างประเทศ รวมทั้งหมด 177 สายพันธุ์ ใช้เป็นข้อมูลในการพิจารณาการผสมพันธุ์ถั่วลิสงให้ต้านทานต่อการเจริญของเชื้อราโดยเฉพาะอย่างยิ่ง *Aspergillus flavus* ปรากฏว่าชนิดของเชื้อราที่เจริญในถั่วลิสงส่วนใหญ่คือ *A. flavus*, *A. niger*, *A. ochraceous*, *A. oryzae*,

Rhizopus sp. และ *Fusarium* sp. และถั่วลิสงเกือบจะทุกสายพันธุ์ จะมีเชื้อรา *A. flavus* เจริญอยู่ในปริมาณที่แตกต่างกัน

พงศ์สวาท นิยมค้า(2528) ใช้สารป้องกันเชื้อราคือ กรดเบนโซอิค และ กรดโพรพิออนนิคต่อ การเจริญ และการสร้างแอฟลาทอกซินของ *Aspergillus flavus* เมื่อใช้กรดเบนโซอิค และกรดโพรพิออนนิคที่ความเข้มข้น 40 และ 50 มก.ตามลำดับ เติมลงใน 100 มล. ของอาหารเหลวมันฝรั่ง สามารถยับยั้งการสร้างแอฟลาทอกซิน บี$_1$ ได้สมบรูณ์ เมื่อใช้กรดเบนโซอิคผสมกับกรดโพรพิออนนิคในอัตราส่วน 1:1 (20:20 มก.) ใน100 มล.ของอาหารเหลวมันฝรั่งจะสามารถยับยั้งการสร้างแอฟลาทอกซิน บี$_1$ ได้สมบรูณ์ และเมื่อใช้กรดเบนโซอิค และกรดโพรพิออนนิค คลุกเคล้ากับเมล็ดถั่วลิสงและข้าวโพดก่อนทำการเพาะเชื้อที่ติดมากับเมล็ด พบว่ากรดเบนโซอิคปริมาณ 300 มก.ต่อ 100 ก.ของนน. ถั่วลิสง สามารถยับยั้งการงอกและการเจริญของสปอร์เชื้อราได้ประมาณ 50% การใช้สารและอัตราส่วนเดียวกันในข้าวโพดคือปริมาณ 300 มก.ต่อ 100 ก. สามารถยับยั้งการงอกและการเจริญของสปอร์เชื้อราได้สมบรูณ์เช่นเดียวกัน กรดโพรพิออนนิคปริมาณ 400 มก. ต่อ 100 ก.ของนน.เมล็ดถั่วลิสงและข้าวโพดสามารถยับยั้งการงอกและการเจริญของเชื้อราได้สมบรูณ์

ดังนั้นจะเห็นได้ว่าแอฟลาทอกซินก่อปัญหา ทำให้ผลผลิตการเกษตรเกิดความเสียหายเป็นจำนวนมาก และตั้งแต่ที่ได้มีการค้นพบแอฟลาทอกซินเป็นต้นมา ได้มีการวิจัยสำรวจหาแอฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในผลผลิตการเกษตรชนิดต่างๆซึ่งปรากฏว่าสามารถพบแอฟลาทอกซินปนเปื้อนอยู่ในผลผลิตการเกษตรหลายชนิดอยู่เสมอ และทำให้เป็นที่สนใจให้มีการศึกษาถึงการกำจัดแอฟลาทอกซินในผลผลิตการเกษตร ทั้งแบบการกำจัดที่ต้นเหตุ และการกำจัดที่ปลายเหตุ แต่ถึงอย่างไรก็ตามในปัจจุบันยังไม่มีวิธีการใด ที่สามารถกำจัด หรือทำลายแอฟลาทอกซินออกได้อย่างมีประสิทธิภาพ หรือวิธีการยับยั้งที่ให้ผลเป็นที่น่าพอใจ ที่สามารถจะนำมาใช้ได้อย่างปลอดภัยต่อคน และสัตว์ ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้จึงเป็นการทดลองหนึ่งที่ศึกษาถึงการใช้สารบางชนิด มายับยั้งการสร้างแอฟลาทอกซิน แบบการกำจัดที่ต้นเหตุ ในผลผลิตการเกษตรที่ใช้เป็นอาหารสัตว์

วัตถุประสงค์ในการวิจัย

1. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความชื้น กับการงอกของสปอร์ ที่ปนเปื้อนบนวัสดุการเกษตรที่ใช้เป็นอาหาร(ในประเทศของเราที่มีความชื้นสูง)

2. สำรวจหาเชื้อราที่สามารถสร้างแอฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนอยู่ ในผลผลิตทางการเกษตรที่นำมาเป็นอาหารสัตว์

3. แยกเชื้อราที่ปนเปื้อน แล้วจำแนกสกุล และคัดเลือกสายพันธุ์ ที่สามารถสร้างแอฟลาทอกซิน

4. ศึกษาเปรียบเทียบการสร้างแอฟลาทอกซิน ของเชื้อราที่แยกได้ กับอาหารสังเคราะห์ และสารอาหารเริ่มต้นจากวัสดุการเกษตรชนิดต่างๆ และศึกษาสภาวะของการเลี้ยงเชื้อราที่สร้างแอฟลาทอกซินในปริมาณสูง

5. ศึกษาผลการยับยั้งของสาร คาเฟอิน(caffeine) และโซเดียมเบนโซเอท (sodium benzoate) ที่มีผลต่อการงอกของสปอร์ การเจริญของเส้นใย และการสร้างแอฟลาทอกซินของเชื้อราสายพันธุ์ที่คัดแยกได้