การย่อยสลายทางชีวภาพของเอ็นโดซัลแฟ่นโดยรา

นางสาวจุฑามาศ กิจจานุลักษ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม (สหสาขาวิชา)
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2549
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

BIODEGRADATION OF ENDOSULFAN BY FUNGI

Miss Juthamas Kijjanuluck

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science Program in Environmental Science

(Interdisciplinary Program)

Graduate School

Chulalongkorn University

Academic Year 2006

Copyright of Chulalongkorn University

492181

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การย่อยสลายทางชีวภาพของเอ็นโดซัลแฟนโดยรา
โดย	นางสาวจุฑามาศ กิจจานุลักษ์
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร. จิตรตรา เพียภูเขียว
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อลิสา วังใน

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ม.ร.ว. กัลยา ติงศภัทิย์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชาญวิทย์ โฆษิตานนท์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(อาจารย์ ดร. จิตรตรา เพียภูเขียว)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อลิสา วังใน)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. ประกิตติ์สิน สีหนนทน์)

..... กรรมการ
(นางสาวรัชนี สุวภาพ)

จุฑามาศ กิจจานุลักษ์ : การย่อยสลายทางชีวภาพของเอ็นโดซัลแฟนโดยรา (BIODEGRADATION OF ENDOSULFAN BY FUNGI) อ.ที่ปรึกษา:อาจารย์ ดร.จิตรตรา เพียภูเขียว, อ.ที่ปรึกษาร่วม: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อลิสา วังใน, 126 หน้า.

เอ็นโดซัลแฟน เป็นสารกำจัดแมลงศัตรูพืชในกลุ่มคลอรีนอินทรีย์ที่มีความเป็นพิษ และมีความคงทนสูงในสิ่งแวดล้อม เมื่อเกิดการปนเปื้อนหรือแพร่กระจาย ย่อมก่อให้เกิดภัยต่อมนุษย์ รวมถึงสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ในระบบนิเวศ งานวิจัยนี้ จึงเป็นการศึกษาถึงการคัดแยกราในธรรมชาติที่มีความสามารถในการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนให้อยู่ในรูปที่มีความเป็นพิษน้อยลง โดยราที่คัดแยกมาศึกษา ได้แก่ ราในดิน ราและเห็ดที่ขึ้นบนซากพืช และราเอนโดไฟต์ รวมทั้งสิ้น 64 ไอโซเลต ซึ่งผลการทดสอบความสามารถในการย่อยสลายขั้นปฐมภูมิด้วยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) พบว่า ภายหลังจากการบ่มเชื้อด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Czapek's Dox Medium เป็นเวลา 20 วัน ราไอโซเลต W2 ซึ่งเป็นราที่คัดแยกมาจากดอกเห็ดในอุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย จังหวัดเชียงใหม่ สามารถย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนให้เป็นเอ็นโดซัลแฟนไดออล ซึ่งเป็นสารเมทาโบไลท์ที่มีความเป็นพิษ และคงทนในสิ่งแวดล้อมน้อยลง จึงได้นำราไอโซเลต W2 มาทำการทดสอบการย่อยสลายขั้นทุติยภูมิต่อไป เป็นเวลา 30 วัน โดยวิธี Gas Chromatography (GC) ซึ่งพบว่า รา W2 สามารถย่อยสลายเอ็นซัลแฟนได้หมดในวันที่ 21 ของการบ่มเชื้อ ในขณะที่ทำให้เกิดการสร้างเอ็นโดซัลแฟนไดออลหลังจากวันที่ 3 ของการบ่มเชื้อ โดยผลทดสอบการย่อยสลายนั้น มีความสอดคล้องกับอัตราการเจริญเติบโตของรา ส่วนการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนของรา พบว่า ราไอโซเลต W2 มีอัตราการย่อยสลายสูงสุดในสภาวะที่อาหารเลี้ยงเชื้อมีความเข้มข้นของเอ็นโดซัลแฟน 50 มิลลิกรัมต่อลิตร มีกลูโคสเป็นองค์ประกอบ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7 โดยรา W2 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟน 98.88 เปอร์เซ็นต์ จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนที่ประมวลรหัสของตำแหน่ง Internal Transcribed Spacer (ITS) ของรา W2 พบว่า มีความคล้ายคลึงกับราในสกุล *Trametes* 93-95 เปอร์เซ็นต์

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
ปีการศึกษา 2549

ลายมือชื่อนิสิต.....จุฑามาศ กิจจานุลักษ์.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....จิตรตรา เพียภูเขียว.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....อลิสา วังใน.....

4689068120 : MAJOR ENVIRONMENTAL SCIENCE
KEY WORD: BIODEGRADATION / ENDOSULFAN / FUNGI

JUTHAMAS KIJJANULUCK : BIODEGRADATION OF ENDOSULFAN BY FUNGI. THESIS ADVISOR : JITTRA PIAPUKIEW, Ph.D., THESIS CO-ADVISOR : ASST. PROF. ALISA VANGNAI, Ph.D., 126 pp.

Endosulfan is an organochlorine insecticide whose persistence and toxicity pose a serious environmental threat to humans and other living organisms in the ecosystem. This research investigates the isolation of natural fungi capable of biodegrading endosulfan into a less-toxic metabolite. Sixty-four isolates of soil fungi, white-rot fungi and endophytic fungi were screened for their degradation ability using thin layer chromatography (TLC) analysis as a qualitative measurement for the primary degradation test. It was found that after 20 days of incubation in Czapek's Dox medium, the fungus isolate W2, which was isolated from a basidiocarp from Doi Suthep-Pui National Park in Chiangmai Province, yielded positive results by transforming endosulfan into the less-toxic metabolite, endosulfan diol. The secondary degradation test, performed with a gas chromatography (GC) analysis as a quantitative measurement of endosulfan degradation for 30 days of incubation, indicated that endosulfan concentration decreased gradually after spiking into the medium with the fungus isolate W2. The disappearance of endosulfan occurred after 21 days of incubation, with the formation of endosulfan diol after 3 days of incubation. The result of degradation test related directly to the growth of the fungus. The optimum growing and degrading condition for the fungus isolate W2 were attained at 98.88 percent of degradation efficiency using a solution of 50 milligrams per liter of endosulfan and 2 percent glucose at pH 7. Morphological study and internal transcribed spacer (rRNA) gene sequencing analysis indicated that fungus isolate W2 revealed a high sequence similarity (93-95 percent) with the genus *Trametes*.

Field of study Environmental Science
Academic year 2006

Student's signature.....
Advisor's signature.....
Co-advisor's signature.....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงลงด้วยดี เนื่องจากได้รับความช่วยเหลือ และความกรุณาอย่างสูงจากบุคคลที่เกี่ยวข้องหลายท่าน

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. จิตรตรา เพียภูเขียว อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อลิสา วังใน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ ความเมตตา และกำลังใจ ตลอดจนให้ความช่วยเหลือ เพื่อให้การทำวิทยานิพนธ์ดำเนินไปอย่างเรียบร้อย ราบรื่น และสำเร็จ

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชาญวิทย์ โฆษิตานนท์ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร. ประกิตติ์สิน สีหนนทน์ และคุณรัชนี สุวภาพ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาสละเวลาอันมีค่าให้คำแนะนำ และข้อคิดเห็นต่างๆ เพื่อให้วิทยานิพนธ์นี้มีความถูกต้องสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ยงยุทธ จรรยารักษ์ ที่ให้แนวคิดอันเป็นประโยชน์ในการทำงานวิจัย ตลอดจนแรงสนับสนุน และกำลังใจเสมอมา

ขอขอบคุณ คุณสุณี พรรคประพันธุ์ คุณจรัสลักษณ์ เพชรวัง คุณบำรุงศักดิ์ ปุริโส คุณสุนัดดา โยมญาติ คุณณัฏยา สมจิตร และคุณวันทนี ทาทอง ที่ให้ความช่วยเหลือ และคำแนะนำเกี่ยวกับเทคนิควิธีการต่างๆ อันเป็นประโยชน์ในการทำการทดลองในห้องปฏิบัติการ

ขอขอบคุณ คุณเก็จกาญจน์ สมาธิวุฒิคุณ คุณกัญณฐา นาคภิบาล คุณอรุณวรรณ นุชพ่วง คุณศศิฌามนตร์ แสงสวัสดิ์ คุณวริษฐา ดุลยานุรักษ์ คุณสาม จันทรูปมัย คุณปาริฉัตร จิตรพันธ์ คุณอรรถพล เจรจาศิลป ตลอดจนเพื่อนๆ ที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาพฤกษศาสตร์ทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือ และความเอื้อเฟื้อในทุกๆ ด้าน เป็นอย่างดี

ขอขอบคุณ คุณมธุรส แสงไพโรจน์ คุณวิษา สอนใจ คุณภัทรวรรณ เลิศสุชาตวนิช คุณจิรวรรณ ออตยะกุล คุณบัญชาการ วินัยพานิช คุณสุทธิชาน์ นิลฤทธิ์ และเพื่อนๆ สหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อมทุกท่านที่ได้ร่วมเรียนรู้ ช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจ

ขอขอบคุณ คุณเกศินี โพธิ์เจริญ กัลยาณมิตรผู้พร้อมให้ความช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจให้ตลอดมา

ตลอดจนขอขอบคุณทุกๆ ท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือ แต่ไม่สามารถเอ่ยนามมาได้ ณ ที่นี้

กราบขอบพระคุณ บิดามารดา ผู้มอบปัญญา ความรัก ความเอื้ออาทร พลังชีวิต และกำลังใจที่ยิ่งใหญ่ตลอดมา ขอบคุณพี่ชายและพี่สาวที่อยู่เคียงข้างเสมอ

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ
กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ
สารบัญ ..... ช
สารบัญตาราง ..... ฎ
สารบัญภาพ ..... ฎ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย 2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย 3
1.4 สมมติฐานของการวิจัย 3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4
2.1 สารกำจัดศัตรูพืช 4
2.2 สารกำจัดแมลงศัตรูพืช 5
2.3 เอ็นโดซัลแฟน 9
2.3.1 สมบัติทางกายภาพและเคมี 9
2.3.2 ชื่อทางการค้า 10
2.3.3 ลักษณะที่นำมาใช้ 11
2.3.4 การใช้ประโยชน์ทางการเกษตร 11
2.3.5 ความเป็นพิษ 12
2.3.6 การตกค้างปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม 13
2.3.7 ผลกระทบที่มีต่อสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศ 14
2.3.8 เหตุการณ์สำคัญที่เกี่ยวข้อง 16
2.3.9 การสลายตัวในสิ่งแวดล้อม 17
2.4 ราในธรรมชาติ 20
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 23

หน้า

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย..... 29
3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย..... 29
3.1.1 เครื่องแก้ว..... 29
3.1.2 เครื่องมือ..... 29
3.1.3 วัสดุอุปกรณ์อื่นๆ..... 31
3.2 สารเคมีสำหรับการวิจัย..... 31
3.2.1 สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ..... 31
3.2.2 เอ็นโดซัลแฟนและสารเมทาโบไลท์มาตรฐาน..... 32
3.2.3 สารเคมีสำหรับการศึกษาด้านพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุล..... 32
3.2.4 สารเคมีอื่นๆ..... 33
3.3 วิธีดำเนินการวิจัย..... 34
3.3.1 การเก็บตัวอย่างราจากแหล่งต่างๆ..... 34
3.3.1.1 ราในดิน..... 34
3.3.1.2 ราที่ขึ้นบนซากพืช..... 34
3.3.1.3 ราเอนโดไฟต์..... 34
3.3.2 การแยกเส้นใยราจากตัวอย่าง..... 34
3.3.2.1 การแยกราในดิน..... 34
3.3.2.2 การแยกราที่ขึ้นบนซากพืช..... 35
3.3.2.3 การแยกราเอนไฟต์จากพืช..... 36
3.3.3 การศึกษาความสามารถในการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนของราที่คัดแยกได้..... 37
3.3.3.1 การทดสอบความสามารถในการย่อยสลายขั้นปฐมภูมิ (Primary degradation test)..... 37
3.3.3.2 การทดสอบความสามารถในการย่อยสลายขั้นทุติยภูมิ (Secondary degradation test)..... 39
3.3.4 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนของรา ที่คัดเลือกได้..... 41
3.3.4.1 การกำหนดสภาวะต่างๆ ในการทดสอบการย่อยสลาย..... 41
3.3.4.1.1 ความเข้มข้นของเอ็นโดซัลแฟน..... 41
3.3.4.1.2 ปริมาณแหล่งอาหารคาร์บอน..... 41

3.3.4.1.3 ค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ.....41
3.3.4.2 การทดสอบในสภาวะต่างๆ ที่กำหนด..... 41
3.3.5 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของราที่คัดเลือกได้
ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วยเทคนิค slide culture.....43
3.3.6 การบ่งชี้ชนิดของราที่คัดเลือกได้โดยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์
ของยีนที่ประมวลรหัสของตำแหน่ง ITS (Internal Transcribed Spacer).....43
3.3.6.1 การสกัดจีโนมิก DNA ของรา..... 43
3.3.6.2 การเพิ่มจำนวน DNA ของราที่ตำแหน่ง ITS ด้วยวิธี Polymerase
Chain Reaction (PCR)..... 44
บทที่ 4 ผลการวิจัย..... 47
4.1 การเก็บตัวอย่างราจากแหล่งต่างๆ.....47
4.1.1 ราในดิน..... 47
4.1.2 ราที่ขึ้นบนซากพืช.....47
4.1.3 ราเอนโดไฟต์.....47
4.2 การแยกเส้นใยจากราตัวอย่าง.....48
4.2.1 การแยกราในดิน..... 48
4.2.2 การแยกราที่ขึ้นบนซากพืช.....53
4.2.3 การแยกราเอนโดไฟต์จากพืช.....63
4.3 การศึกษาความสามารถในการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนของราที่แยกได้..... 68
4.3.1 การทดสอบความสามารถในการย่อยสลายขั้นปฐมภูมิ
(Primary degradation test).....68
4.3.2 การทดสอบความสามารถในการย่อยสลายขั้นทุติยภูมิ
(Secondary degradation test).....72
4.4 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนของราที่แยกได้.....75
4.5 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของราที่คัดเลือกได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์
ด้วยเทคนิค slide culture..... 84
4.6 การบ่งชี้ชนิดของราที่คัดเลือกได้โดยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน
ที่ประมวลรหัสของตำแหน่ง ITS (Internal Transcribed Spacer).....85
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย..... 87

หน้า

บทที่ 6 อภิปรายผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ..... 90
รายการอ้างอิง..... 93
ภาคผนวก..... 101
ภาคผนวก ก..... 102
ภาคผนวก ข..... 105
ภาคผนวก ค..... 108
ภาคผนวก ง..... 111
ภาคผนวก จ..... 112
ภาคผนวก ฉ..... 115
ภาคผนวก ช..... 117
ภาคผนวก ซ..... 124
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์..... 126

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 สารกำจัดแมลงบางชนิดในกลุ่มคลอรีนอินทรีย์.....6
ตารางที่ 2.2 สารกำจัดแมลงบางชนิดในกลุ่มฟอสเฟตอินทรีย์.....7
ตารางที่ 2.3 สารกำจัดแมลงบางชนิดในกลุ่มคาร์บาเมต..... 8
ตารางที่ 2.4 ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการเจริญและการย่อยสลายของจุลินทรีย์..... 20
ตารางที่ 3.1 สภาวะต่างๆ ของอาหารเลี้ยงเชื้อ Czapek's Dox Medium ที่นำมาทดสอบ..... 42
ตารางที่ 3.2 ส่วนประกอบของสารที่ใช้ทำปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction (PCR).....45
ตารางที่ 4.1 ลักษณะและอัตราการเจริญของราที่แยกได้จากตัวอย่างดินในเวลา 7 วัน.....48
ตารางที่ 4.2 ลักษณะและอัตราการเจริญของราที่แยกได้จากตัวอย่างกิ่งไม้ผุและเห็ด
ในเวลา 7 วัน.....53
ตารางที่ 4.3 ลักษณะและอัตราการเจริญของราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากพืช ในเวลา 7 วัน..... 63
ตารางที่ 4.4 ประสิทธิภาพในการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนของราไอโซเลต W2
ภายหลังจากการบ่มเชื้อเป็นเวลา 30 วัน.....80
ตารางที่ ค.1 ค่าความเป็นกรด-ด่างเฉลี่ยของอาหารเลี้ยงเชื้อ ณ วันที่ 20 ของการบ่มเชื้อ..... 108
ตารางที่ ฉ.1 เปอร์เซ็นต์โดยเฉลี่ยของเอ็นโดซัลแฟน และเอ็นโดซัลแฟนไดออลในระหว่าง
การบ่มเชื้อ เป็นเวลา 30 วัน ในชุดทดลองที่ใส่เชื้อทดสอบ.....116
ตารางที่ ซ.1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติแสดงความแตกต่างของอัตราการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟน
ระหว่างสภาวะที่มีปริมาณกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อ 0.5% และ 2%..... 124
ตารางที่ ซ.2 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติแสดงความแปรปรวนของอัตราการย่อยสลาย
เอ็นโดซัลแฟนในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5 6 และ 7..... 125

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 2.1 สูตรโครงสร้างทางเคมีของเอ็นโดซัลแฟน..... 9
ภาพที่ 2.2 วิถีการย่อยสลายของเอ็นโดซัลแฟนในดินและน้ำ.....18
ภาพที่ 3.1 การวัดระยะทางเพื่อคำนวณค่า R_f (Retention factor).....39
ภาพที่ 4.1 ลักษณะโคโลนีของราดินที่คัดแยกได้จากแหล่งต่างๆ บนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน..... 51
ภาพที่ 4.2 ลักษณะของเห็ดและกิ่งไม้ผุที่นำมาแยกเนื้อเยื่อ และลักษณะโคโลนีของรา ที่คัดแยกได้บนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน.....55
ภาพที่ 4.3 ลักษณะการเจริญบนอาหาร Poly-R agar clearance และ Tannic acid agar ของราที่คัดแยกได้จากเห็ดและกิ่งไม้ผุ เป็นเวลา 7 วัน.....59
ภาพที่ 4.4 ลักษณะโคโลนีของราเอนโดไฟต์ที่คัดแยกได้จากพืชในแหล่งต่างๆ บนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน.....66
ภาพที่ 4.5 ผลทดสอบการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนของราที่แยกได้ โดยวิธี Thin Layer Chromatography ภายหลังจากการบ่มเชื้อเป็นเวลา 20 วัน.....69
ภาพที่ 4.6 ผลการทดสอบการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนของราไอโซเลต W2 โดยวิธี Thin Layer Chromatography ภายหลังจากการบ่มเชื้อเป็นเวลา 21 วัน.....71
ภาพที่ 4.7 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเฉลี่ยของเอ็นโดซัลแฟน และเอ็นโดซัลแฟนไดออล กับระยะเวลาการบ่มเชื้อเป็นเวลา 30 วัน..... 73
ภาพที่ 4.8 น้ำหนักแห้งเฉลี่ยของราไอโซเลต W2 ในระหว่างการบ่มเชื้อเป็นเวลา 30 วัน..... 74
ภาพที่ 4.9 ค่าความเป็นกรด-ด่างเฉลี่ยในอาหารเลี้ยงเชื้อ Czapek's Dox Medium ในระหว่างการบ่มเชื้อเป็นเวลา 30 วัน..... 74
ภาพที่ 4.10 อัตราการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนต่อน้ำหนักแห้งของรา W2 ในสภาวะที่ อาหารเลี้ยงเชื้อมีเอ็นโดซัลแฟนเข้มข้น 50 มก./ล. กลูโคส 0.5% และ pH 5..... 76
ภาพที่ 4.11 อัตราการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนต่อน้ำหนักแห้งของรา W2 ในสภาวะที่ อาหารเลี้ยงเชื้อมีเอ็นโดซัลแฟนเข้มข้น 50 มก./ล. กลูโคส 0.5% และ pH 6..... 76
ภาพที่ 4.12 อัตราการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนต่อน้ำหนักแห้งของรา W2 ในสภาวะที่ อาหารเลี้ยงเชื้อมีเอ็นโดซัลแฟนเข้มข้น 50 มก./ล. กลูโคส 0.5% และ pH 7..... 77

ภาพที่ 4.13 อัตราการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนต่อน้ำหนักแห้งของรา W2 ในสภาวะที่อาหารเลี้ยงเชื้อมีเอ็นโดซัลแฟนเข้มข้น 50 มก./ลิตร กลูโคส 2% และ pH 5..... 77
ภาพที่ 4.14 อัตราการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนต่อน้ำหนักแห้งของรา W2 ในสภาวะที่อาหารเลี้ยงเชื้อมีเอ็นโดซัลแฟนเข้มข้น 50 มก./ลิตร กลูโคส 2% และ pH 6..... 78
ภาพที่ 4.15 อัตราการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนต่อน้ำหนักแห้งของรา W2 ในสภาวะที่อาหารเลี้ยงเชื้อมีเอ็นโดซัลแฟนเข้มข้น 50 มก./ลิตร กลูโคส 2% และ pH 7..... 78
ภาพที่ 4.16 การเปรียบเทียบอัตราการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟน ระหว่างปริมาณความเข้มข้นของกลูโคส 0.5% และ 2% ที่ pH 5..... 81
ภาพที่ 4.17 การเปรียบเทียบอัตราการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟน ระหว่างปริมาณความเข้มข้นของกลูโคส 0.5% และ 2% ที่ pH 6..... 82
ภาพที่ 4.18 การเปรียบเทียบอัตราการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟน ระหว่างปริมาณความเข้มข้นของกลูโคส 0.5% และ 2% ที่ค่า pH 7..... 82
ภาพที่ 4.19 การเปรียบเทียบอัตราการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟน ระหว่างค่า pH 5 6 และ 7 ที่ปริมาณความเข้มข้นของกลูโคส 0.5% 83
ภาพที่ 4.20 การเปรียบเทียบอัตราการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟน ระหว่างค่า pH 5 6 และ 7 ที่ปริมาณความเข้มข้นของกลูโคส 2%..... 83
ภาพที่ 4.21 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา W2 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แสดงเส้นใยชนิดที่มีผนังกั้น (septate hypha)..... 84
ภาพที่ 4.22 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา W2 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แสดงสปอร์แบบไม่อาศัยเพศชนิด arthospore..... 84
ภาพที่ ง.1 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานเอ็นโดซัลแฟน..... 111
ภาพที่ ง.2 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานเอ็นโดซัลแฟนไดออล..... 111
ภาพที่ จ.1 กราฟมาตรฐานของอัลฟาเอ็นโดซัลแฟน..... 112
ภาพที่ จ.2 กราฟมาตรฐานของเบตาเอ็นโดซัลแฟน..... 113
ภาพที่ จ.3 กราฟมาตรฐานของเอ็นโดซัลแฟนไดออล..... 114
ภาพที่ ฉ.1 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์โดยเฉลี่ยของเอ็นโดซัลแฟนและเอ็นโดซัลแฟนไดออลกับระยะเวลาการบ่มเชื้อ..... 115
ภาพที่ ช.1-1 น้ำหนักแห้งของรา W2 ที่บ่มในสภาวะที่มีเอ็นโดซัลแฟน 200 มก./ล. กลูโคส 0.5% และ pH เท่ากับ 4 5 6 และ 7 เป็นเวลา 30 วัน..... 117

หน้า

ภาพที่ ช.1-2 น้ำหนักแห้งของรา W2 ที่บ่มในสภาวะที่มีเอ็นโดซัลแฟน 200 มก./ล.
กลูโคส 2% และ pH เท่ากับ 4 5 6 และ 7 เป็นเวลา 30 วัน.....117
ภาพที่ ช.1-3 น้ำหนักแห้งของรา W2 ที่บ่มในสภาวะที่มีเอ็นโดซัลแฟน 100 มก./ล.
กลูโคส 0.5% และ pH เท่ากับ 4 5 6 และ 7 เป็นเวลา 30 วัน.....118
ภาพที่ ช.1-4 น้ำหนักแห้งของรา W2 ที่บ่มในสภาวะที่มีเอ็นโดซัลแฟน 100 มก./ล.
กลูโคส 2% และ pH เท่ากับ 4 5 6 และ 7 เป็นเวลา 30 วัน.....118
ภาพที่ ช.1-5 น้ำหนักแห้งของรา W2 ที่บ่มในสภาวะที่มีเอ็นโดซัลแฟน 50 มก./ล.
กลูโคส 0.5% และ 2% ค่า pH เท่ากับ 4 เป็นเวลา 30 วัน.....119
ภาพที่ ช.2-1 ค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการบ่มรา W2 ในสภาวะที่มีเอ็นโดซัลแฟน
200 มก./ล. กลูโคส 0.5% และ pH เท่ากับ 4 5 6 และ 7 เป็นเวลา 30 วัน..... 120
ภาพที่ ช.2-2 ค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการบ่มรา W2 ในสภาวะที่มีเอ็นโดซัลแฟน
200 มก./ล. กลูโคส 2% และ pH เท่ากับ 4 5 6 และ 7 เป็นเวลา 30 วัน.....120
ภาพที่ ช.2-3 ค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการบ่มรา W2 ในสภาวะที่มีเอ็นโดซัลแฟน
100 มก./ล. กลูโคส 0.5% และ pH เท่ากับ 4 5 6 และ 7 เป็นเวลา 30 วัน.....121
ภาพที่ ช.2-4 ค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการบ่มรา W2 ในสภาวะที่มีเอ็นโดซัลแฟน
100 มก./ล. กลูโคส 2% และ pH เท่ากับ 4 5 6 และ 7 เป็นเวลา 30 วัน.....121
ภาพที่ ช.2-5 ค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการบ่มรา W2 ในสภาวะที่มีเอ็นโดซัลแฟน
50 มก./ล. กลูโคส 0.5% และ 2% และ pH เท่ากับ 4 เป็นเวลา 30 วัน.....122
ภาพที่ ช.3 ผลทดสอบการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนของราไอโซเลต W2 ในสภาวะต่างๆ ที่กำหนด
ด้วยวิธี TLC ภายหลัง 30 วันของการบ่มเชื้อ.....123