สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานการวิจัย

เรื่อง

การสำรวจปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนพริกป่นในโรงอาหารของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

(Survey of aflatoxin contamination in chilli powder in canteens of King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang)

โดย

ผศ. ดร. อุ่นเรือน เพชราวัลย์

รศ. ดร. ดุษณี ธนะบริพัฒน์

RCH
TX
A07
C4
2553 1ก
เลขหมู่ ก.1
เลขทะเบียน 121166
วัน, เดือน, ปี 25 ส.ค. 2555

b 12408669

สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

งบประมาณเงินรายได้ ประจำปี พ.ศ. 2554

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

จากการสำรวจปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนพริกป่นในโรงอาหารสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในเดือนมกราคม พฤษภาคม และสิงหาคม 2554 รวมทั้งสิ้น 81 ตัวอย่าง วิเคราะห์ปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินโดยใช้ชุดตรวจสอบสารพิษอะฟลาทอกซินของกรมวิชาการเกษตร (DOA-Aflatoxin ELISA Test Kit) ผลการวิเคราะห์พบว่า พริกป่นที่เก็บจากร้านอาหารมีการปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซินทุกตัวอย่าง โดยตัวอย่างพริกป่นที่เก็บในเดือนสิงหาคม 2544 จากร้านอาหารอาคารพระเทพฯ มีค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินมากที่สุด เท่ากับ 10.13±0.87 พีพีบี ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับพริกป่นที่ใช้เป็นกลุ่มควบคุม ($p<0.05$) โดยค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินในกลุ่มควบคุม ของเดือนมกราคม พฤษภาคม และสิงหาคม 2554 มีค่าเท่ากับ 5.50 ± 0.68, 5.29 ± 0.78 และ 5.55 ± 1.90 พีพีบี ตามลำดับ

จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินในตัวอย่างพริกป่นที่เก็บในเดือนมกราคม พฤษภาคม และสิงหาคม 2554 พบว่าค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินในตัวอย่างพริกป่นที่เก็บในเดือนสิงหาคม 2554 มีค่ามากที่สุด เท่ากับ 8.59±1.56 พีพีบี รองลงมาคือเดือนพฤษภาคม 2554 พบว่าค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินในตัวอย่างพริกป่น เท่ากับ 7.64±0.99 พีพีบี และเดือนมกราคม 2554 ค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินในตัวอย่างพริกป่น เท่ากับ 7.55±1.14 พีพีบี ตามลำดับ อย่างไรก็ตามค่าการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในตัวอย่างพริกป่นที่เก็บจากโรงอาหารภายในสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังครั้งนี้ ผ่านมาตรฐานตามประกาศของกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 (พ.ศ. 2529) เรื่อง มาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน ที่กำหนดให้มีสารพิษอะฟลาทอกซินปนเปื้อนในอาหารได้ไม่เกิน 20 พีพีบี (ไมโครกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Abstract

Chilli powder in canteens of King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL) was surveyed for aflatoxin contamination during January, May and August, 2011. Eighty-one samples of chilli powder from various food stalls were collected during these three months and analysed for aflatoxin contents using DOA-Aflatoxin Test Kits. The results showed that all chilli powder collected from all food stalls in KMITL was contaminated with aflatoxin. Chilli powder collected in August, 2011 from food stalls at Prathep building contained the highest amount of aflatoxin (10.13±0.87 ppb) with significant difference from chilli powder used as control ($p<0.05$). The average of aflatoxin from control in January, May and August, 2011 was 5.50 ± 0.68, 5.29 ± 0.78 and 5.55 ± 1.90 ppb, respectively.

When the average of aflatoxin in chilli powder collected in the months of January, May and August, 2011 were compared, it was found that the average of aflatoxin in August, 2011 was the highest with the amount of 8.59±1.56 ppb, followed by May, 2011 with the amount of 7.64±0.99 ppb and January, 2011 with the amount of 7.55±1.14 ppb, respectively. However, the aflatoxin levels of all chilli powder samples did not exceed the legal limits (20 ppb or 20 ug/kg) according to the announcement of Ministry of Public Health in 1986.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง การสำรวจปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนพริกป่นในโรงอาหารของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติงบประมาณเงินรายได้ประจำปี พ.ศ. 2554 จากคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง คณะผู้วิจัยใคร่ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังในการสนับสนุนงบประมาณดังกล่าวทำให้โครงการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดีตามวัตถุประสงค์ นอกจากนี้คณะผู้วิจัยขอขอบคุณนางสาวดวงกมล เพชรทิพย์ และนางสาวจันทมาส จันทราช ที่ช่วยวิเคราะห์ปริมาณสารพิษ ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัยนี้ ทำให้โครงการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

คณะผู้วิจัย

12 ธันวาคม 2554

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย I

Abstract II

กิตติกรรมประกาศ III

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....2

1.2 ขอบเขตของการวิจัย.....2

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....2

บทที่ 2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....3

2.1 ประวัติของสารพิษอะฟลาทอกซิน 3

2.2 เชื้อราที่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน 3

2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างอะฟลาทอกซิน 4

2.4 ชนิดและคุณสมบัติของอะฟลาทอกซิน 6

2.5 ความเป็นพิษของอะฟลาทอกซิน 7

2.6 การปนเปื้อนของสารพิษอะฟลาทอกซิน 9

2.7 การควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อราและสารพิษอะฟลาทอกซิน.....12

2.8 การลดและทำลายพิษของอะฟลาทอกซิน 15

2.9 การตรวจหาสารพิษอะฟลาทอกซิน 16

2.10 พริกป่น.....17

2.11 จุลชีววิทยาของอาหารแห้ง.....18

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ.....20

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี 20

3.2 การเก็บตัวอย่างพริกป่น.....20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.3 การวิเคราะห์สารพิษอะฟลาทอกซิน.....21

3.4 การวางแผนการทดลองและการวิเคราะห์ทางสถิติ.....22

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์.....23

4.1 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินใน ตัวอย่างพริกป่นซึ่งเก็บ ณ สถานที่และช่วงเวลาต่างกัน.....23

4.2 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินในตัวอย่าง พริกป่นที่เก็บในเดือนมกราคม พฤษภาคม และสิงหาคม 2554.....25

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....27

เอกสารอ้างอิง.....28

ภาคผนวก.....33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

สารพิษอะฟลาทอกซิน (aflatoxin) เป็นสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) ที่สร้างโดยเชื้อรา ในกลุ่ม *Aspergillus* ได้แก่ *Aspergillus flavus, A. parasiticus, A. nomius, A. bombycis, A. tamarii* และ *A. pseudotamarii* (Kurtzman *et al.*, 1987; Ito *et al.*, 2001; Peterson *et al.*, 2001) อาหารและผลิตผลทางการเกษตรหลายชนิดที่มีการปนเปื้อนของเชื้อราและสารพิษจากเชื้อราเหล่านี้ เช่น ถั่วลิสง ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ข้าว ธัญพืช ปลาแห้ง กุ้ง รวมทั้งผลิตภัณฑ์นมและเนื้อสัตว์ต่างๆ (Thanaboripat and Sukchareon, 1997; Ellis *et al.*, 2000; Thanaboripat, 2003) นอกจากนี้ยังพบว่าเมล็ดพืชยังสามารถปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซินได้ทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว (Cotty, 1990) ซึ่งการปนเปื้อนของสารพิษอะฟลาทอกซินในพืชเศรษฐกิจเป็นปัญหาสำคัญในหลายๆประเทศทั่วโลก (Smith and Moss, 1985) อะฟลาทอกซินเป็นกลุ่มของสารพิษจากเชื้อรา แบ่งออกได้หลายชนิด โดยชนิดของอะฟลาทอก-ซินที่พบในผลิตผลทางการเกษตรและอาหาร ได้แก่ B_1, B_2, G_1, G_2, M_1 และ M_2 การบริโภคผลิตผลทางการเกษตรที่มีเชื้อราจะเป็นอันตรายต่อมนุษย์และสัตว์ได้ ถ้าหากว่าเชื้อรามีการสร้างสารพิษขึ้น (ดุษณี, 2546) โดยเฉพาะอะฟลาทอกซิน B_1 ซึ่งเป็นสารพิษที่มีความรุนแรงมากที่สุด คาดว่าสารพิษนี้เกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็งของมนุษย์และสัตว์ ซึ่งมีผลได้ทั้งอาการชนิดเฉียบพลันและเรื้อรัง โดยทำให้เกิดมะเร็งของตับและปอดด้วย (ไมตรี, 2528) นอกจากนี้ยังพบว่าไวรัสตับอักเสบ B และอะฟลาทอกซินจะมีปฏิกิริยาเสริมกันในการกระตุ้นให้เกิดมะเร็งตับ (Montesano *et al.*, 1997; Groopman and Thomas, 1999) ซึ่งสารพิษอะฟลาทอกซินนี้นอกจากจะเป็นสารที่ก่อให้เกิดมะเร็งแล้ว ยังเป็นสารที่ก่อให้เกิดการกลาย (Mutagen) อีกด้วย

อะฟลาทอกซินทนต่อความร้อนสูงถึง 250 องศาเซลเซียส ดังนั้นจึงไม่ถูกทำลายหรือเสื่อมสลายจากกรรมวิธีการหุงต้มทั่วๆ ไป ส่วนสภาวะที่เหมาะสมที่ทำให้เชื้อราสร้างอะฟลาทอกซินได้ดี คือ ภายใต้ความชื้น 18 - 30 % นอกจากนี้วัตถุดิบทางการเกษตรหรือเมล็ดพืชที่เสื่อมสภาพ แตกหัก หรือมีแผลเสียหายจากการทำลายของแมลง นก หรือหนู จัดเป็นแหล่งอาหารที่อุดมสมบูรณ์ของเชื้อรา *A. flavus* และ *A. parasiticus* ภูมิอากาศแบบร้อนชื้นทำให้เชื้อราเจริญเติบโต และสามารถสร้างสารพิษอะฟลา-ทอกซินได้ดี โดยสารพิษจะอยู่ภายในเมล็ดพืชหรือวัตถุดิบเหล่านั้น และไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ดังนั้นจึงมีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับสารพิษอะฟลาทอกซินกันมาก (Thanaboripat, 2002)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 พ.ศ. 2529 เรื่อง มาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน ได้กำหนดให้มีอะฟลาทอกซินปนเปื้อนได้ไม่เกิน 20 พีพีบี (ไมโครกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม) ประเทศไทยอยู่ในเขตภูมิอากาศแบบร้อนชื้น จึงมีความเสี่ยงสูงต่อการปนเปื้อนของสารพิษนี้ได้ โดยเฉพาะผลิตผลทางการเกษตร ซึ่งใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบสำหรับอาหารคนและอาหารสัตว์ (อนงค์, 2546) FAO และ WHO จึงมีการกำหนดปริมาณสูงสุดของอะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในอาหารและอาหารสัตว์ต้องไม่เกิน 20 พีพีบี (Krishnamurthy and Shashikala, 2006) ซึ่งสารพิษอะฟลาทอกซินจัดเป็นปัญหาทางสาธารณสุขอย่างหนึ่งที่ควรหาทางป้องกันและแก้ไข เนื่องจากไม่มีวิธีลดพิษหรือทำลายพิษของอะฟลาทอกซินในผลผลิตทางการเกษตรและอาหารได้หมดสิ้นอย่างสมบูรณ์ ดังนั้นการป้องกันจึงเป็นวิธีที่ดีที่สุดในปัจจุบัน

1.1 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.1.1 เพื่อสำรวจหาปริมาณการปนเปื้อนของสารพิษอะฟลาทอกซินในพริกป่นในโรงอาหารของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

1.1.2 เพื่อเป็นข้อมูลในการศึกษาหาแนวทางป้องกันการปนเปื้อนของสารพิษอะฟลาทอกซินในพริกป่น

1.2 ขอบเขตของการวิจัย

เป็นการสำรวจการปนเปื้อนของสารพิษอะฟลาทอกซินในพริกป่นบนโต๊ะอาหารในโรงอาหารต่างๆ ของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง โดยการเก็บตัวอย่างจำนวน 30 ตัวอย่าง ในช่วงเวลาต่างๆและนำมาวิเคราะห์ปริมาณโดยเทคนิค ELISA และตรวจสอบยืนยันด้วย HPLC

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.3.1 ทราบถึงปริมาณการปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซินในพริกป่น

1.3.2 ช่วยป้องกันอันตรายจากการรับประทานพริกป่นที่มีการปนเปื้อนของสารพิษอะฟลาทอกซิน

1.3.3 ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์สำหรับการคุ้มครองนักศึกษา อีกทั้งยังทำให้เกิดความตระหนักในการบริโภคพริกป่น

1.3.4 เป็นข้อมูลสำหรับกระตุ้นให้ร้านค้าต่างๆ มีการเก็บรักษาและการใช้พริกป่นที่ได้รับมาตรฐานเพื่อเป็นการคุ้มครองผู้บริโภคอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 ประวัติของสารพิษอะฟลาทอกซิน

ในปี ค.ศ. 1960 ได้เกิดโรคระบาดอย่างรุนแรงแก่ฟาร์มสัตว์เลี้ยงในประเทศอังกฤษ โดยให้ชื่อโรคระบาดนี้ว่า Turkey X disease เนื่องจากมีไก่งวงตายเป็นจำนวนมาก (Blount, 1961) และยังทำให้เกิดพิษแก่ลูกเป็ดและลูกวัวอีกด้วย สาเหตุเนื่องจากมีการนำกากถั่วลิสงมาใช้เป็นส่วนผสมของอาหารในปีเดียวกัน Sargeant และคณะ(1961a) ได้สกัดแยกและทำให้สารพิษบริสุทธิ์ จากถั่วลิสงที่ส่งมาจากประเทศบราซิล พบว่าเชื้อรา คือ *A. flavus* สามารถสร้างสารพิษได้ ซึ่งเป็นสารพิษชนิดเดียวกันกับสารพิษจากถั่วลิสงที่เป็นพิษ (Sargeant และคณะ,1961b) ดังนั้นสารพิษที่ได้จากเชื้อราตัวนี้จึงเรียกว่า อะฟลาทอกซิน (aflatoxin) เกิดจากการรวมคำ 3 คำเข้าด้วยกัน คือ *Aspergillus* (A-) *flavus* (-fla) และ toxin

2.2 เชื้อราที่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน

เชื้อราที่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้แก่ *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. nomius* (ซึ่งคาดว่าเป็นสายพันธุ์ที่กลายมาจาก *A. flavus*), *A. tamarii* (Kurtzman และคณะ, 1987; Goto และคณะ, 1997) และ*A. bombycis* (Peterson และคณะ, 2001) นอกจากนี้ Ito และคณะ (2001) ยังพบว่าเชื้อรา *A. pseudotamarii* สามารถสร้างพิษอะฟลาทอกซินได้อีกด้วย โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ลักษณะพันธุกรรม รวมถึงลักษณะการสร้างสารพิษของเชื้อรา พบว่ามีความแตกต่างจาก *A. tamarii* จึงถือว่าเชื้อรา *A. pseudotamarii* เป็นเชื้อราชนิดใหม่ที่สามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้ สปอร์ของเชื้อราเหล่านี้พบอยู่ทั่วไปโดยเฉพาะในดิน (WHO, 1979) เชื้อราแต่ละสายพันธุ์จะมีการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินแตกต่างกันทั้งในด้านชนิดและปริมาณ และพบว่าความสามารถในการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อราจะลดลงเมื่อมีการถ่ายเชื้อ (subculture) บ่อยๆ (Torres และคณะ, 1980) และเชื้อราบางสายพันธุ์ไม่สามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้ เช่น *A. flavus columnaris* ATCC 44310 ที่ใช้ในการหมักซีอิ้ว หรือ *A. oryzae* และ *A. sojae* ที่ใช้ในการผลิตโคจิ (Wang และ Hesseltine, 1982) เป็นต้น

เชื้อรา *A. flavus* และ *A. parasiticus* จัดอยู่ใน sub-division Deuteromycotina, class Hyphomycetes (Alexopoulos และคณะ, 1996) โดยโคโลนีของเชื้อราเจริญได้ดีบนอาหาร Czapek's solution agar ที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส ผิวหน้าของโคโลนีมี conidial head ที่มีสีเขียวปนเหลือง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกิดขึ้นอย่างหนาแน่น ใต้โคโลนีของเชื้อรามีสีเหลืองอ่อน เมื่อนำไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่ามีการสร้าง sclerotium ที่มีสีน้ำตาลเข้มจนเกือบดำ รูปร่างค่อนข้างกลม ขนาดประมาณ 1.0 มิลลิเมตร ส่วนของ conidial head มีรูปร่างกลม หรืออาจแตกออกเป็นแฉกที่มีลักษณะหลวมๆ ตั้งแต่ 2 แฉกขึ้นไป ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 300-400 ไมโครเมตร ส่วนของ conidiophore ยาวประมาณ 700-800 ไมโครเมตร ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10-25 ไมโครเมตร ผนังขรุขระไม่มีสี หนา 1.0 ไมโครเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางของ vesicle มีขนาด 20-60 ไมโครเมตร รูปร่างค่อนข้างกลม มี sterigma แบบ 2 ชั้น conidia มีรูปร่างกลม ผนังขรุขระสีเขียวอ่อน ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3.5-4.5 ไมโครเมตร (อุทัยวรรณ, 2522) เมื่อศึกษาลักษณะของเชื้อราบนอาหารสูตรธรรมชาติ เช่น corn meal agar และ malt extract agar พบว่า เชื้อรามีลักษณะอื่นๆ ใกล้เคียงกับที่เลี้ยงบนอาหาร Czapek's solution agar แต่ conidiophore มีความผันแปรในด้านความยาวน้อยกว่า ซึ่ง เมื่อตรวจดูลักษณะต่างๆของเชื้อรา *A. flavus* และ *A. parasiticus* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ดังนั้นการจัดจำแนกเชื้อราทั้ง 2 ชนิดจึงต้องตรวจดูในระดับ DNA (Kurtzman และคณะ, 1987) ตัวอย่างลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราของ *A. flavus* ได้แสดงไว้ในรูปที่ 2.1

2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างอะฟลาทอกซิน

การสร้างอะฟลาทอกซินต้องอาศัยปัจจัยต่างๆ ดังนี้ (อนงค์, 2546) คือ

1) ชนิดของเชื้อรา เชื้อรา *Aspergillus* หลายสายพันธุ์ สามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้ตามธรรมชาติ แต่เชื้อราที่สำคัญและมีการศึกษามากที่สุด ได้แก่ *Aspergillus flavus* และ *A. parasiticus*

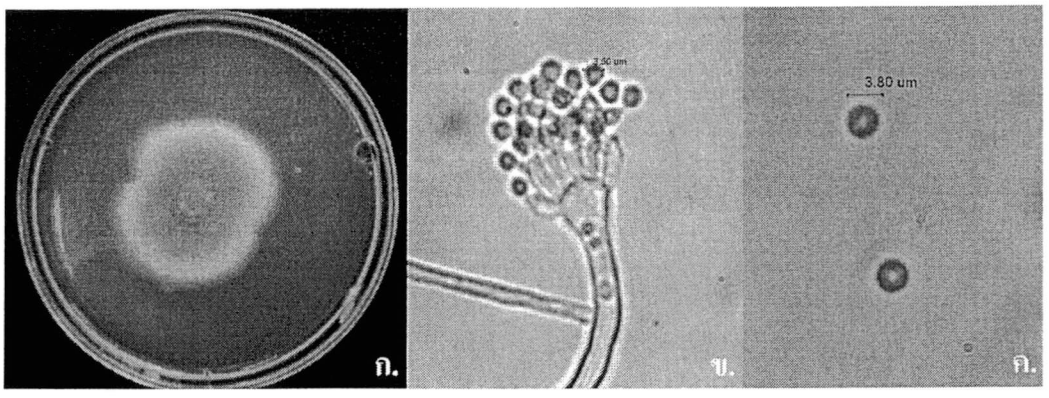
2) อาหารเลี้ยงเชื้อรา เชื้อราสามารถเจริญเติบโตบนอาหารหรือเมล็ดพืชชนิดต่างๆ และสามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้ในปริมาณที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับธาตุอาหารที่มีอยู่ในอาหารหรือเมล็ดพืชชนิดต่างๆ เช่น

ธาตุอาหารคาร์บอน ได้แก่ น้ำตาลชนิดต่างๆ เช่นซูโครส กลูโคส ฟรักโทส มอลโทส ไซโลส และไรโบส โดยซูโครสมีผลให้เชื้อราสร้างอะฟลาทอกซินได้ดีที่สุด

ธาตุอาหารไนโตรเจน ได้แก่ เกลือแอมโมเนียมชนิดต่างๆ โดยแอมโมเนียมซัลเฟตมีผลทำให้เชื้อราสร้างอะฟลาทอกซินได้ดีกว่าเกลือแอมโมเนียมชนิดอื่นๆ

เกลือแร่ต่างๆ ได้แก่ สังกะสีไอออนที่มีในอาหารหรือจับตัวกับสารอื่นๆ ถ้ามีน้อยจะทำให้เชื้อราสร้างอะฟลาทอกซินได้น้อย เช่น ในถั่วเหลืองจะมีปริมาณกรดไฟติก (phytic acid) มากและจับตัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.1 แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684

ก. โคโลนีของเชื้อราที่เจริญบนอาหารพีดีเอ อายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

ข. conidiophore และ phialide กำลังขยาย 1000 เท่า

ค. conidia กำลังขยาย 1000 เท่า

กับสังกะสีไอออนได้มาก จึงมีสังกะสีไอออนบนเมล็ดถั่วเหลืองน้อย มีผลทำให้เชื้อราใช้ถั่วเหลืองในการสร้างอะฟลาทอกซินได้น้อยกว่าถั่วชนิดอื่นๆ

3) ความชื้น ในอาหารที่มีความชื้นต่ำมีผลทำให้เชื้อราสร้างอะฟลาทอกซินได้น้อย ซึ่งเชื้อรา *Aspergillus* เจริญได้ดีที่ความชื้นประมาณ 16 – 21 % ทำนองเดียวกันในอากาศที่มีความชื้นต่ำทำให้เชื้อรามีการสร้างอะฟลาทอกซินได้น้อยเช่นกัน

4) อุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสมในการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน *A. flavus* เจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 36 - 38 องศาเซลเซียส และเจริญได้เล็กน้อยที่อุณหภูมิ 6 - 8 องศาเซลเซียส หรือ 44 - 46 องศาเซลเซียส แต่ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เชื้อราสามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้สูงสุดในการเจริญระหว่างวันที่ 11 ถึง 13 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เชื้อราสามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้สูงสุดในการเจริญระหว่างวันที่ 7 ถึง 9 และที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เชื้อราสามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้สูงสุดในการเจริญระหว่างวันที่ 5 ถึง 7 ดังนั้นประเทศไทยซึ่งอยู่ในเขตภูมิอากาศร้อนชื้นจึงมีความเหมาะสมต่อการสร้างอะฟลาทอกซินได้ดีในการเลี้ยงเชื้อราในการเจริญระหว่างวันที่ 7 ถึง 14

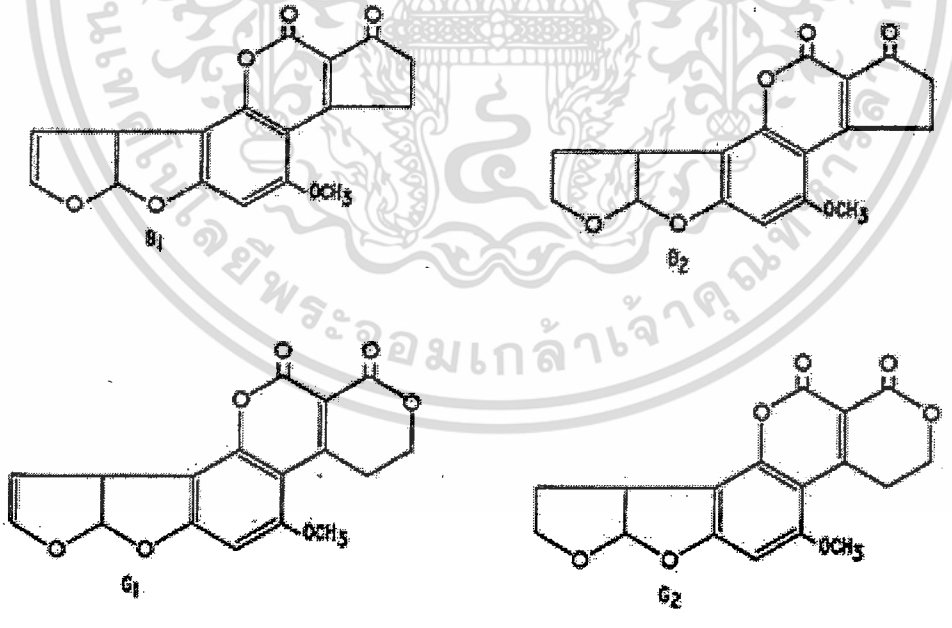
5) ปริมาณก๊าซออกซิเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ พบว่าปริมาณออกซิเจนมาก ทำให้เชื้อราสร้างอะฟลาทอกซินได้มาก นอกจากนี้ก๊าซออกซิเจน 1 % และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 20 % สามารถลดการสร้างสปอร์ของเชื้อราได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 ชนิดและคุณสมบัติของอะฟลาทอกซิน

อะฟลาทอกซินเป็นสารอินทรีย์ประเภท heterocyclic compound อยู่ในกลุ่มพวกบิสฟูราโนคิวมาริน(bisfuranocoumarin) ที่มีโครงสร้างคล้ายคลึงกัน อะฟลาทอกซินที่พบโดยทั่วไปตามธรรมชาติจะเป็นอะฟลาทอกซิน B_1, B_2, G_1 และ G_2 (รูปที่ 2.3) แต่ก็มีอะฟลาทอกซินอีกหลายชนิดในปริมาณน้อย ได้แก่ อะฟลาทอกซิน M_1, M_2, B_{2a} และ G_{2a} ซึ่งเป็นสารเมแทบอไลท์ของอะฟลาทอกซิน B_1, B_2, G_1 และ G_2 ตามลำดับ อะฟลาทอกซิน M_1 และ M_2 พบมากในน้ำนมและปัสสาวะของสัตว์ที่ได้รับอะฟลาทอกซิน ส่วนอะฟลาทอกซิน B_{2a} และ G_{2a} พบได้ในอาหารทั่วๆไป ความรุนแรงของการเกิดพิษจากอะฟลาทอกซินจะเป็นไปตามลำดับจากมากไปหาน้อย ดังนี้ B_1, G_1, B_2 และ G_2 (Bressac และคณะ, 1991; Hsu และคณะ, 1991) อะฟลาทอกซินที่มีความสำคัญและพบมากที่สุดคืออะฟลาทอกซินชนิด B_1 (นงนุช, 2540)

สูตรโครงสร้างของอะฟลาทอกซินทุกชนิดนั้น จะมีหมู่ methoxy และแต่ละชนิดจะมีความแตกต่างทางโครงสร้างเพียงเล็กน้อย คือ อะฟลาทอกซิน B_1 จะแตกต่างจาก B_2 ตรงที่มีพันธะคู่ (double bond) ที่วง (ring) ที่หนึ่ง ซึ่งเป็นพันธะทางเคมีที่ไม่อิ่มตัว (unsaturated bond) แต่ B_2 มีพันธะทางเคมีที่อิ่มตัว (saturated bond) อะฟลาทอกซิน B_1 จะเหมือนกับ G_1 คือจะมีพันธะคู่ในวงที่ 1 แต่จะแตกต่างกันตรงวงที่ 5 เพราะ B_1 เป็น five-membered ring แต่ G_1 เป็น six-membered ring ความเหมือนและแตกต่างกันของโครงสร้างเพียงเล็กน้อยจะมีความสำคัญในการแสดงความเป็นพิษ กล่าวคือ อะฟลาทอก-



รูปที่ 2.2 โครงสร้างโมเลกุลของอะฟลาทอกซินB1, B2, G1 และ G2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซินที่มีพันธะคู่ในวงที่หนึ่งและไม่มีกลุ่มแลคโตน (lactone group) ในวงที่ห้า ทำให้เกิดความเป็นพิษอย่างเฉียบพลันและเกิดมะเร็งในตับเพิ่มขึ้นด้วย (ธีรยุทธและชัยวัฒน์, 2524) การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโมเลกุลของอะฟลาทอกซิน ทำให้คุณสมบัติการเรืองแสงภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต ในช่วงความยาวคลื่น 256 - 365 นาโนเมตร บนแผ่นโครมาโทกราฟีผิวบาง (Thin-layer chromatographic (TLC) plate) เปลี่ยนแปลงไปด้วย เช่น การเชื่อมกับวงแหวนแลคโตน ในวงแหวนที่ 1 ได้อะฟลาทอกซินชนิด B เรืองแสงสีน้ำเงิน (blue fluorescence) และเมื่อเชื่อมกับวงแหวนแลคโตนในวงแหวนที่ 5 ได้อะฟลาทอกซินชนิด G เรืองแสงสีเขียว (green fluorescence) ความเข้มของแสงที่เรืองนี้เป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณความเข้มของอะฟลาทอกซิน ดังนั้นจึงมีการนำคุณสมบัติการเรืองแสงมาใช้เป็นวิธีทดสอบและตรวจหาปริมาณอะฟลาทอกซินและอะฟลาทอกซินเมแทบอไลท์ชนิด

อะฟลาทอกซินมีคุณสมบัติ ดังนี้ (ไมตรี, 2531; WHO, 1979)

1) สามารถเรืองแสงภายใต้แสงอัลตราไวโอเลตที่ช่วงความยาวคลื่น 256-365 นาโนเมตร โดยอะฟลาทอกซิน B1 และ B2 เรืองแสงสีน้ำเงิน อะฟลาทอกซิน G_1 และ G_2 เรืองแสงสีเขียว

2) ละลายได้เล็กน้อยในน้ำและสารตัวทำละลายมีขั้ว ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์เคมีหลายชนิด เช่น เมทานอล เอทานอล อะซีโตนและคลอโรฟอร์ม แต่ไม่ละลายในเฮกเซน อีเทอร์ และปิโตรเลียมอีเทอร์

3) มีอุณหภูมิหลอมเหลวสูง (ตารางที่ 2.1) ดังนั้นการใช้ความร้อนในรูปของการต้ม อบ คั่ว นึ่ง หรือการใช้ความดันไอเพื่อทำลายอะฟลาทอกซิน จึงไม่ค่อยได้ผล

4) สามารถถูกทำลายได้โดยไฮโปคลอไรท์ แอมโมเนีย ด่างแก่ และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และเสื่อมสลายได้ภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต แสงแดด และรังสีแกมมา

2.5 ความเป็นพิษของอะฟลาทอกซิน

อะฟลาทอกซินไม่ได้เป็นสารก่อมะเร็งปฐมภูมิแต่จัดเป็นโปรมิวตาเจน (promutagen) และโปรทอกซิน (protoxin) คือจะต้องเกิดการเปลี่ยนแปลงในกระบวนการเมแทบอลิซึมก่อนจะเปลี่ยนเป็นสารที่มีพิษและออกฤทธิ์เป็นสารก่อกลายพันธุ์ กลไกการออกฤทธิ์ของอะฟลาทอกซินที่ทำให้เกิดมะเร็งตับเริ่มจากอะฟลาทอกซิน B_1 สามารถเข้าไปที่นิวเคลียส (nucleus) ของเซลล์ตับและรวมกับดีเอ็นเอ (DNA) ด้วยพันธะโควาเลนท์ (covalent bond) โดยจับกับดีเอ็นเอที่ไมโทคอนเดรีย (mitochondria) มากกว่าที่นิวเคลียสของเซลล์ตับและหยุดการสร้างดีเอ็นเอ จึงทำให้การสังเคราะห์โปรตีนลดลงและทำให้เซลล์ของเนื้อเยื่อตับตาย ต่อมามีการขยายตัวของนิวเคลียสและเกิดเป็นก้อนมะเร็งที่ตับ (นิธิยา และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของอะฟลาทอกซินชนิดต่างๆ (Reddy และ Farid, 2000)

ชนิดของอะฟลาทอกซิน	โครงสร้างโมเลกุล	มวลโมเลกุล	จุดหลอมเหลว
B_1	$C_{17}H_{12}O_6$	312	268-269
B_2	$C_{17}H_{14}O_6$	314	286-289
G_1	$C_{17}H_{12}O_7$	328	244-266
G_2	$C_{17}H_{14}O_7$	330	237-240
M_1	$C_{17}H_{12}O_7$	328	299
M_2	$C_{17}H_{14}O_7$	330	293
B_{2A}	$C_{17}H_{14}O_6$	330	240
G_{2A}	$C_{17}H_{14}O_8$	346	190

วิบูลย์, 2543) นอกจากนี้ผลการศึกษาในสัตว์ทดลองยังพบว่าอะฟลาทอกซินสามารถทำให้เกิดมะเร็งที่ปอด ไต และลำไส้ใหญ่ แต่ตับเป็นอวัยวะเป้าหมายที่ได้รับอะฟลาทอกซินไวที่สุด และทำให้เกิดมะเร็งที่เซลล์ตับ

เมื่อสารพิษอะฟลาทอกซินเข้าสู่ร่างกายและกระจายไปทั่วร่างกาย สารพิษบางส่วนถูกเปลี่ยนแปลงหรือถูกขับออกได้บ้าง แต่บางส่วนมีการสะสมหรือตกค้างอยู่เป็นระยะเวลานานจนทำให้เกิดพิษได้ (นงนุช, 2540) เมื่อคนหรือสัตว์ได้รับอะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในอาหาร และสารพิษเข้าสู่ร่างกายเกิดการเปลี่ยนแปลง (อนงค์, 2546) โดยโครงสร้างโมเลกุลของสารพิษจะถูกเปลี่ยนแปลงและได้เป็นสารพิษชนิดที่มีโครงสร้างโมเลกุลแตกต่างไปจากเดิมเป็น อะฟลาทอกซินเมแทบอไลท์ (aflatoxin metabolite) เช่น อะฟลาทอกซิน M1, M 2, P1, Q1, aflatoxicol, B2a, G2a, B 1-8,9-epoxide เป็นต้น ซึ่งตรวจพบสารพิษได้ในปัสสาวะ อุจจาระ น้ำนม ไข่ ตับ ไต กล้ามเนื้อ และผลิตภัณฑ์อื่นๆ

มีการวิจัยในสัตว์ปีกพวกเป็ด ไก่ นกกระทา กุ้งและสุกร โดยตรวจพบอะฟลาทอกซินในตับ ไต กล้ามเนื้อ และไข่ แสดงว่าสารพิษอะฟลาทอกซินและเมแทบอไลท์ที่ตกค้างในอวัยวะเนื้อเยื่อ และผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสัตว์ ซึ่งนำมาเป็นอาหารของคนมีความเสี่ยงและเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคได้

การออกฤทธิ์ของอะฟลาทอกซิน อะฟลาทอกซินออกฤทธิ์ทำลายตับซึ่งจัดเป็นอวัยวะเป้าหมาย สามารถทำให้เกิดพิษแบบเฉียบพลัน และเรื้อรัง ทั้งในคนและสัตว์โดยเฉพาะสัตว์เศรษฐกิจ ทำให้เกิดโรคตับอักเสบ ตับแข็ง ดีซ่าน และมะเร็งตับ ซึ่งในคนยังพบว่าทำให้เกิดโรคกลุ่มอาการไรย์ (Rye's syndrome) มักพบมีอาการทางสมองในเด็กอายุระหว่าง 1-7 ปี สำหรับในสัตว์จะมีอัตราการเจริญเติบโตลดลง อัตราการตายเพิ่มขึ้น ผลผลิตเนื้อ นม ไข่ลดลง คุณภาพ ขนาดและการฟักไข่ลดลง เปลือกไข่บางลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้อะฟลาทอกซินยังสามารถผ่านไปตามกระแสโลหิต และเกิดการสะสมในเนื้อเยื่ออวัยวะต่างๆ และผ่านไปสู่ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสัตว์ เมื่อคนบริโภคผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสัตว์ ก็จะได้รับอะฟลาทอกซินด้วย ในลูกเป็ดที่ได้รับสารอะฟลาทอกซิน กรณีเกิดพิษแบบเฉียบพลัน จะมีอาการชักและตายภายใน 2-3 วัน พบลักษณะหัว คอ และขาบิดไปข้างหน้า ลำตัวแอ่นไปข้างหน้า มีจุดเลือดออกใต้ผิวหนังและอวัยวะภายใน ตับโตสีเหลืองซีด ไต ตับอ่อนและม้าม ขยายใหญ่ มีอาการบวมน้ำรอบๆหัวใจและน่อง กรณีเกิดพิษแบบเรื้อรัง เซลล์ตับจะเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์มะเร็ง ซึ่งพบในลูกเป็ดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน (อภิษฐา, 2548)

2.6 การปนเปื้อนของสารพิษอะฟลาทอกซิน

อะฟลาทอกซินเป็นสารพิษที่ปนเปื้อนในอาหารและผลิตผลทางการเกษตรหลายชนิด เช่น ถั่วลิสง ข้าวโพด พริกแห้ง กระเทียม เต้าเจี้ยว เต้าหู้ยี้ เมล็ดฝ้าย ข้างฟ่าง ข้าวสาลี ปลายข้าว ถั่วลิสง ถั่วเหลือง มันสำปะหลัง ปลาป่น กระดูกป่น แยม น้ำมันพืช อื่นๆ(จักรพันธุ์, 2542; อนงค์, 2546) นอกจากนี้ยังพบการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินในนมสดยูเอชทีและนมสดพาสเจอร์ไรส์ซึ่งคาดว่าอาจปนเปื้อนมากับอาหารสัตว์ที่วัวกินเข้าไป (อะฟลาท็อกซิน, 2553) ประเทศไทยอยู่ในเขตภูมิอากาศแบบร้อนชื้น จึงมีความเสี่ยงสูงต่อการปนเปื้อนของสารพิษนี้ได้ โดยเฉพาะผลิตผลทางการเกษตร ซึ่งใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบสำหรับอาหารคนและอาหารสัตว์ และจากการตรวจหาอะฟลาทอกซิน B1 ในอาหารข้นโคนมด้วยวิธี TLC ในเขตภาคตะวันตกของประเทศไทย ระหว่างปี พ.ศ. 2549-2550 จำนวน 50 ตัวอย่าง ผลการตรวจพบอะฟลาทอกซินในตัวอย่าง 27 ตัวอย่าง โดยพบที่ระดับน้อยกว่า 20 พีพีบี จำนวน 14 ตัวอย่าง ระหว่าง 21-50 พีพีบี จำนวน 7 ตัวอย่าง และระหว่าง 51-100 พีพีบี จำนวน 4 ตัวอย่าง และที่ระดับ 101-150 พีพีบี จำนวน 2 ตัวอย่าง สรุปได้ว่าการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในอาหารข้นโคนมผ่านเกณฑ์มาตรฐาน 74 % (อรรฆพร และคณะ, 2551) ในการตรวจปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในชามก๋วยเตี๋ยวที่ขายในกรุงเทพฯ บริเวณต่างๆ 3 แห่ง พบว่าก๋วยเตี๋ยว 120 ชาม คิดเป็น 51 % มีการปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซินระหว่าง 0.01-17.3 พีพีบี (Promhirangul *et al.*, 1999) และจากการศึกษาของกานดาและคณะ(2552) พบว่าสมุนไพรที่นำมาแปรรูปมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์และสารพิษอะฟลาทอกซิน จากรายงานของอมรา (2544) พบการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินในเครื่องเทศและสมุนไพรหลายชนิด เช่นในมะขามแขก พบการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน 66.7-271 พีพีบีในถุงชง และ 264 พีพีบีในแคปซูล สำหรับการใช้โอโซนเป็นเวลา 60 นาที พบว่าสามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซินในพริกแดงได้ถึง 93 % (Inan *et al.*, 2007)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการสำรวจพริกป่นในร้านอาหารดาวเขียวย่านต่างๆในกรุงเทพฯ เมื่อวันที่ 25 และ 29 มกราคม 2542 พบว่าพริกป่นบนโต๊ะอาหารจากร้านต่างๆ 6 แห่ง มี 4 แห่งที่มีการปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซินในปริมาณ 4-12 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม(พีพีบี) (ฝ่ายบริการทดสอบ, 2553) และจากการสุ่มตัวอย่างถั่วลิสงบนโต๊ะอาหารจากร้านต่างๆ 6 แห่งในกรุงเทพฯ เมื่อวันที่ 9 กุมภาพันธ์ 2542 พบการปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซินในปริมาณตั้งแต่ 60-380 พีพีบี(สถาบันอาหาร, 2553) จากการวิเคราะห์ตัวอย่างเครื่องเทศของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ในระหว่างปี พ.ศ. 2535-2544 จากเครื่องเทศทั้งหมด 160 ตัวอย่าง พบว่ามีการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินเพียง 8 ตัวอย่าง ปริมาณที่พบอยู่ระหว่าง 6.59 -61.28 พีพีบี โดยพบในพริกทั้งเมล็ด 4 ตัวอย่าง พริกป่น 3 ตัวอย่าง และกระเทียมผง 1 ตัวอย่าง ซึ่งมีเพียงพริกทั้งเมล็ด 3 ตัวอย่างเท่านั้น ที่พบอะฟลาทอกซินเกินมาตรฐาน 20 พีพีบี ปริมาณที่พบ คือ 23.73, 30.70 และ 61.28 พีพีบี (ดวงจันทร์, 2553) และจากการศึกษาของอดิพล (2546) ในการสำรวจปริมาณการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบของน้ำพริกแกงที่จำหน่ายในตลาดขายส่งในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล พบว่า พริกชี้ฟ้าแห้ง พริกขี้หนู พริกชี้ฟ้าเขียว ตะไคร้ และกระชาย มีอะฟลาทอกซินปนเปื้อนต่ำกว่า 5 พีพีบี นอกจากนี้ยังตรวจพบว่าน้ำพริกแกงทุกตัวอย่างที่ตรวจสอบ ได้แก่ น้ำพริกแกงเผ็ด น้ำพริกแกงเขียวหวาน น้ำพริกแกงส้ม และน้ำพริกแกงมัสมั่น มีปริมาณการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินต่ำกว่า 20 พีพีบี

เนื่องจากสารพิษอะฟลาทอกซินรุนแรงมาก แม้ในปริมาณน้อย ก็สามารถทำให้เกิดอันตรายได้ หน่วยกำหนดปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน จึงมักกำหนดเป็นส่วนในพันล้านส่วน (ppb) หรือไมโครกรัมต่อกิโลกรัม บางครั้งอาจใช้เป็นส่วนในล้านส่วน (ppm) ปริมาณสูงสุดของอะฟลาทอกซินที่อนุญาติให้มีในผลิตผลทางเกษตร ในอาหารสัตว์และอาหารคนนั้น มีกำหนดแตกต่างกันไปในแต่ละประเทศ ดังตารางที่ 2.2 จากประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 พ.ศ. 2529 เรื่อง มาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน ซึ่งประกาศในราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 103 ตอนที่ 23 ฉบับพิเศษ ลงวันที่ 16 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2529 ได้กำหนดให้อาหารมีอะฟลาทอกซินปนเปื้อนได้ไม่เกิน 20 พีพีบี (ไมโครกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม)

จากประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ พ.ศ. 2537 ซึ่งประกาศในราชกิจจานุเบกษาฉบับประกาศทั่วไปเล่ม 112 ตอนพิเศษ ลงวันที่ 10 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2538 ได้กำหนดลักษณะของอาหารสัตว์เสื่อมคุณภาพ โดยมีปริมาณอะฟลาทอกซินในอาหารต่างๆ ดังนี้

1) ประเภทวัตถุดิบ

กากถั่วเหลือง มีปริมาณอะฟลาทอกซินมากกว่า 50 พีพีบี (ไมโครกรัมต่อ 1 กิโลกรัม) กาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 ค่ากำหนดปริมาณสารอะฟลาทอกซินต่ำสุดที่อนุญาตให้มีในอาหารต่างๆในบางประเทศ (อมรา 2547)

ชนิดของสาร	ประเทศ	ชนิดของอาหาร	ค่าต่ำสุดที่ยอมให้มีได้ (พีพีบี)
อะฟลาทอกซิน B1	ออสเตรเลีย	อาหารทุกชนิด	5
	ญี่ปุ่น	อาหารสัตว์ทุกชนิด	10
	ญี่ปุ่น	อาหารทุกชนิด	10-20
อะฟลาทอกซิน ทุกชนิด	ไทย	อาหารทุกชนิด	20
	อเมริกา	อาหารทุกชนิด	20
	อเมริกา	อาหารสัตว์ทุกชนิด	20-300
	นิวซีแลนด์	อาหารนำเข้าทุกชนิด	15
อะฟลาทอกซิน M1	อเมริกา	นม	0.5
	ไทย	นม	0
	ญี่ปุ่น	นม	0.5
	ประเทศอื่นๆ	นม	0.01-0.5

ถั่วลิสง มีปริมาณอะฟลาทอกซินมากกว่า 500 พีพีบี (ไมโครกรัมต่อ 1 กิโลกรัม) ปลาป่น มีปริมาณอะ-ฟลาทอกซินมากกว่า 40 พีพีบี (ไมโครกรัมต่อ 1 กิโลกรัม) รำข้าว รำละเอียด รำหยาบ รำสกัดน้ำมัน มีปริมาณอะฟลาทอกซินมากกว่า 50 พีพีบี (ไมโครกรัมต่อ 1 กิโลกรัม) ข้าวโพดป่นและข้าวโพดเมล็ด มีปริมาณอะฟลาทอกซินมากกว่า 100 พีพีบี (ไมโครกรัมต่อ 1 กิโลกรัม)

2) ประเภทวัตถุที่ผสมแล้ว

ก. หัวอาหารสุกร มีปริมาณอะฟลาทอกซินมากกว่า 50 พีพีบี (ไมโครกรัมต่อ 1 กิโลกรัม) หัวอาหารเป็ด มีปริมาณอะฟลาทอกซินมากกว่า 40 พีพีบี (ไมโครกรัมต่อ 1 กิโลกรัม) หัวอาหารโค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบือ มีปริมาณอะฟลาทอกซินมากกว่า 100 พีพีบี (ไมโครกรัมต่อ 1 กิโลกรัม) และหัวอาหารสุกร มีปริมาณอะฟลาทอกซินมากกว่า 50 พีพีบี (ไมโครกรัมต่อ 1 กิโลกรัม)

ข. อาหารสัตว์สำเร็จรูป อาหารสำเร็จรูปไก่ไข่และไก่เนื้อ มีปริมาณอะฟลาทอกซินมากกว่า 100 พีพีบี (ไมโครกรัมต่อ 1 กิโลกรัม) อาหารสำเร็จรูปเป็ด มีปริมาณอะฟลาทอกซินมากกว่า 30 พีพีบี (ไมโครกรัมต่อ 1 กิโลกรัม) อาหารสำเร็จรูปสุกรแรกเกิดถึงน้ำหนัก 15 กิโลกรัม มีปริมาณอะฟลาทอกซิน มากกว่า 50 พีพีบี (ไมโครกรัมต่อ 1 กิโลกรัม) อาหารสำเร็จรูปสุกรน้ำหนัก 15 กิโลกรัมขึ้นไป มีปริมาณอะฟลาทอกซิน มากกว่า 100 พีพีบี (ไมโครกรัมต่อ 1 กิโลกรัม) อาหารสำเร็จรูปโคอายุไม่เกิน 1 ปี มีปริมาณอะฟลาทอกซิน มากกว่า 100 พีพีบี (ไมโครกรัมต่อ 1 กิโลกรัม) และอาหารสำเร็จรูปโคอายุตั้งแต่ 1 ปีขึ้นไป มีปริมาณอะฟลาทอกซิน มากกว่า 200 พีพีบี (ไมโครกรัมต่อ 1 กิโลกรัม)

ประเทศไทยได้รับผลกระทบจากการปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซินของข้าวโพดและถั่วลิสงมาเป็นเวลานาน (Pitt *et al.*, 1993) ก่อนหน้านี้มีการศึกษาเชื้อราหลายชนิดที่แยกได้จากข้าวโพดจากท้องตลาด ซึ่งสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน เช่น *A. flavus, A. parasiticus* และ *A. nomius* ซึ่งพบในปริมาณน้อยมาก (Saito and Tsuruta, 1993) *A. flavus* ที่พบเป็นสายพันธุ์ที่ผิดปกติ (เรียกสายพันธุ์ SBG หรือ *A. flavus* Group II) คือผลิตทั้งสารพิษอะฟลาทอกซินชนิดB และG (Pitt *et al.*, 1993; Saito and Tsuruta, 1993) ซึ่งมีรายงานว่าพบในข้าวโพดและถั่วลิสง *A. flavus* ที่พบทั่วไป จะผลิตสารพิษอะฟลาทอกซินชนิด B เท่านั้น ในขณะที่ *A.parasiticus* และ *A. nomius* ผลิตสารพิษอะฟลาทอกซินชนิด B และG (Fernandez *et al.*, 2001; Saito and Tsuruta, 1993)

2.7 การควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อราและสารพิษอะฟลาทอกซิน

เนื่องจากไม่มีวิธีลดพิษหรือทำลายพิษของอะฟลาทอกซินในผลผลิตทางการเกษตรและอาหารได้หมดสิ้นอย่างสมบูรณ์ ดังนั้นการป้องกันจึงเป็นแนวทางที่ดีที่สุดในปัจจุบันในการแก้ปัญหาเกี่ยวกับการปนเปื้อนของเชื้อราและอะฟลาทอกซิน รวมทั้งต้องมีการพิจารณาหาวิธีลดการปนเปื้อนของเชื้อกรรมวิธีต่างๆ ในการควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อราและสารพิษอะฟลาทอกซิน ได้แก่

ก. วิธีทางกายภาพ

1) การคัดแยกเมล็ด (Physical separation) เช่น การคัดเลือกเมล็ดถั่วลิสงที่มีเชื้อราและสารพิษปนเปื้อนอยู่ออกไป วิธีการคัดแยกเมล็ดที่เสียออกไปนี้ อาจใช้วิธีทางกล เช่น ใช้เครื่องแยกไฟฟ้า (electronic sieving) หรือใช้วิธีการคัดแยกด้วยมือ (hand sorting) วิธีดังกล่าวนี้ในเมล็ดถั่วลิสงทำได้ดีกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในเมล็ดข้าวโพด เนื่องจากสามารถสังเกตเห็นเมล็ดที่มีเชื้อราขึ้นปะปนได้ชัดเจนกว่าโดยดูจากส่วนของเมล็ดที่ถูกทำลายและสีที่เปลี่ยนแปลงไป (ธรรมศักดิ์, 2540)

2) การใช้ความร้อน เช่น การใช้อุณหภูมิไอน้ำเดือด 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง สามารถลดปริมาณสารอะฟลาทอกซินได้ 66 % และถ้าใช้อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสจะให้ผลดียิ่งขึ้น (ธรรมศักดิ์, 2540)

3) การใช้รังสี (irradiation) วิธีนี้ใช้ได้ผลในพวกเมล็ดน้ำมัน มีการทดลองใช้รังสีแกมมา พบว่า สามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซินได้ถึง 90 % แต่วิธีนี้ยังไม่เป็นที่นิยมใช้กันเพราะอาจมีผลต่อคุณค่าทางอาหาร นอกจากนี้ยังเป็นวิธีที่ยุ่งยากและเสียค่าใช้จ่ายสูง (Anderson, 1983)

Inan และคณะ (2007) ศึกษาผลความเข้มข้นของก๊าซโอโซน (ozone) และเวลาในการให้ก๊าซต่อการลดปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน B_1 ในพริกไทยแดงบดละเอียดและพริกไทยแดงสับ พบว่า การใช้โอโซนที่ความเข้มข้น 80 และ 93 % เป็นเวลา 60 นาที สามารถลดปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน B_1 ในพริกไทยแดงบดละเอียดและพริกไทยแดงสับ นอกจากนี้ Giorni และคณะ (2008) ยังพบว่าที่ความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่มากกว่า 75 % และที่ค่า a_w 0.95 และ 0.92 สามารถยับยั้งการเจริญและการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. flavus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อสังเคราะห์และบนเมล็ดข้าวโพด เมื่อทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 วัน

ข. วิธีการทางชีววิทยา

การควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อราและสารพิษอะฟลาทอกซินโดยวิธีทางชีววิทยาเป็นการนำเอาจุลินทรีย์ต่างๆ เช่น แบคทีเรีย ยีสต์ รา แอคติโนมัยสีท และสาหร่าย หรืออื่นๆ มาใช้ในการควบคุมเชื้อราและสารพิษอะฟลาทอกซิน (Cieger *et al.*, 1966) หรือเปลี่ยนรูปโครงสร้างของอะฟลาทอกซินเพื่อทำให้ความเป็นพิษลดลงหรือไม่เกิดความเป็นพิษต่อสัตว์

Thanaboripat และคณะ (1997) พบว่าการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus lactis* ร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticuslactis* โดยการใส่เชื้อ *S. lactis* หลังจากที่ *A. parasiticus* เจริญแล้วเป็นเวลา 3 วัน พบว่าในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยงสารพิษอะฟลาทอกซินลดลงจาก 108.33 เป็น 94.18 และ 31.01 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเลี้ยง *S. lactic* เป็นเวลา 3 วันก่อนทำการใส่สปอร์ *A. parasiticus* พบว่า *A. parasiticus* สามารถผลิตอะฟลาทอกซินได้เพียง 58.01 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Thanaboripat และคณะ (2002) ทำการเพาะเลี้ยงเห็ดหลินจือ (*Ganogerma lucidum*) บนเมล็ดข้าวฟ่างเป็นเวลา 3 วันหรือมากกว่า ก่อนทำการปลูกเชื้อ *A. parasiticus* IMI 20256 พบว่า เส้นใยของเห็ดสามารถยับยั้งการเจริญและสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อราได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thanaboripat และคณะ (2007) ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากพืช 16 ชนิดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA จากการศึกษาพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากเสม็ดขาว (*Melaleuca cajuputi*) มีประสิทธิภาพดีที่สุด รองลงมาคือ น้ำมันหอมระเหยจากอบเชย (*Cinnamomum cassia*) และลาเวนเดอร์ (*Lavandula officinalis*) ตามลำดับ โดยใช้ความเข้มข้นที่ต่างกัน น้ำมันหอมระเหยจากเสม็ดขาวใช้ที่ความเข้มข้น 25 % (ปริมาตรต่อ ปริมาตร) อบเชยและลาเวนเดอร์ ใช้ที่ความเข้มข้น 50 % (ปริมาตรต่อปริมาตร) และพบว่าน้ำมันจากเสม็ดขาวใช้ที่ความเข้มข้น 25 % (ปริมาตรต่อปริมาตร) จะมีประสิทธิภาพในยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* IMI 242684 ได้อย่างสมบูรณ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นเวลา 28 วัน

ค. วิธีการทางเคมี

1) การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราบางชนิด เพื่อยับยั้งการเจริญของ *A. flavus* และ *A. parasiticus* เช่น ใช้สารเคมี thiabenazole หรือ benomyl ในอัตรา 10 พีพีเอ็ม ขึ้นไป หรือ captan ก็สามารถยับยั้งเชื้อได้ แต่ต้องใช้ในอัตราความเข้มข้นที่สูงกว่ามาก (Garcia และ Ilag, 1986; ทิพยวรรณ และธรรมศักดิ์, 2531) นอกจากนี้ยังมีการใช้สารเคมีอื่นๆ อีก เช่น mercuric chloride ($HgCl_2$) เป็นต้น การใช้สารเคมีในลักษณะนี้ไม่สามารถนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์บริโภคได้ เนื่องจากมีพิษตกค้างค่อนข้างสูง

2) การใช้สารเคมีเพื่อลดความเป็นพิษ เช่น การนำแอมโมเนียมาทดสอบเพื่อลดสารพิษอะฟลาทอกซินในข้าวโพด พบว่า แอมโมเนียสามารถลดปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินจากเดิมที่มีค่ามากกว่า 1,000 พีพีบีจนเหลือน้อยกว่า 10 พีพีบี การนำแอมโมเนียมาใช้อาจใช้ได้ทั้งในสภาพก๊าซและของเหลวและอาจจะใช้แอมโมเนียเดี่ยวๆหรือใช้ร่วมกับความร้อนก็ได้ (Anderson, 1983)

Chitaree และคณะ (1993) พบว่า ความเข้มข้นของเกลือที่ 80, 120 และ 160 มิลลิกรัมต่อกรัมสามารถยับยั้งการเจริญและการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. flavus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ขณะที่เกลือความเข้มข้นต่ำมีผลไปกระตุ้นให้เชื้อรามีการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินมากขึ้น

Thanaboripat และคณะ (1996) ศึกษาประสิทธิภาพของสารถนอมอาหาร benzoic acid, sodium benzoate และ potassium metasulfite ที่ระดับความเข้มข้น 2.0, 6.0 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมในการยับยั้งการเจริญและการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. flavus* โดยทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีการเขย่า เป็นเวลา 6 วัน จากการทดลองพบว่า sodium benzoate ที่ความเข้มข้น 10.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมสามารถลดการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้ 13 และ 35 % ตามลำดับ benzoic acid ที่ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมสามารถลดการเจริญและการสร้าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารพิษอะฟลาทอกซินได้ 72 และ 87 % ตามลำดับ ที่ความเข้มข้น 6.0 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สามารถยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ ขณะที่ potassium metasulfite ที่ความเข้มข้น 2.0, 6.0 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมสามารถยับยั้งการเจริญและการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. flavus* ได้อย่างสมบูรณ์

ในการป้องกันการปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซินในฤดูกาลเก็บเกี่ยว เมื่อเก็บเกี่ยวเมล็ดพืชใหม่ๆมาแล้ว สามารถเตรียมเมล็ดพืชให้ปลอดจากเชื้อราและป้องกันไม่ให้เกิดสารพิษอะฟลาทอกซินด้วยวิธีการที่ง่าย แต่ต้องใช้เวลาในการเตรียม (อภิษฐา, 2548) ดังนี้

1) คัดเลือกเมล็ดพืชที่ผ่านการเพาะปลูกให้ปลอดภัยจากแมลง นกหรือหนูที่จะมาทำลายเมล็ดพืช รวมถึงกระบวนการเก็บเกี่ยว การขนส่ง การบรรจุผลิตภัณฑ์ และการเก็บรักษาผลผลิตให้สะอาด ปลอดภัย ถูกสุขอนามัย รวมทั้งมีอากาศถ่ายเทอย่างสม่ำเสมอ

2) ป้องกันเมล็ดพืชไม่ให้เสื่อมสภาพหรือแตกหัก เปลือกกะเทาะเสียหาย โดยคัดเลือกเมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพดี สด ใหม่ คัดแยกเมล็ดที่เสื่อมสภาพหรือแตกหักเสียหายออก

3) นำเมล็ดพืชนั้นๆมาล้างหรือเอาฝุ่นผงออก นำเมล็ดพันธุ์พืชที่ผ่านการคัดเลือก มาตาก ผึ่งแดด สักสองสามครั้ง ให้ความชื้นลดลง แล้วเก็บไว้ในขวดโหล ภาชนะที่ปิดสนิท เก็บในสถานที่สะอาด มีอากาศถ่ายเทดี

4) รักษาความสะอาด กำจัดและทำลายแหล่งปนเปื้อนสารพิษ เช่น ถ้วยข้าว ถ้วยอาหาร อุปกรณ์ผสมอาหาร ภาชนะใส่อาหารสัตว์ นำอาหารนกเก่าๆทิ้งไป ให้อาหารที่ใหม่สด และสะอาด

2.8 การลดและทำลายพิษของอะฟลาทอกซิน

จากการศึกษาของ เกศรา (2527) พบว่า สารพิษอะฟลาทอกซินจะลดลง 70-80 % ถ้าคลุกและอบถั่วลิสงด้วยสารละลายแอมโมเนียความเข้มข้น 1 % เป็นเวลา 6-16 วัน แต่ข้อเสียคือ ถั่วลิสงจะมีสีคล้ำ ไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค นอกจากนี้การลดปริมาณของสารพิษอะฟลาทอกซินในน้ำมันถั่วลิสงให้ต่ำกว่า 20 พีพีบี สามารถทำได้โดยใช้ดินฟอกสีดูดสารพิษนี้ เมื่อกวนดินฟอกสี 0.3 % (โดยน้ำหนัก) ที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที สามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซินจาก 76 พีพีบี เป็น 7.85 พีพีบี คุณสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของน้ำมันถั่วลิสงซึ่งผ่านกรรมวิธีนี้แล้วจะมีมาตรฐานตามที่กระทรวงสาธารณสุขกำหนดไว้ การลดปริมาณอะฟลาทอกซินโดยวิธีนี้ได้ผลดี ไม่ยุ่งยาก อุปกรณ์ที่ใช้ก็มีเพียงถังกวนซึ่งสร้างขึ้นได้เองและเครื่องกรองที่มีอยู่ในโรงงานผลิตน้ำมันถั่วลิสงแล้ว ค่าใช้จ่ายก็ไม่สูงนักโดยโรงงานผลิตน้ำมันถั่วลิสงได้นำกรรมวิธีนี้ไปใช้แล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดินเหนียวสเมกไทต์ (smactite clay mineral) เหมาะที่จะนำมาใช้ดูดซับสารพิษอะฟลาทอกซิน B_1 มีความสามารถในการแลกเปลี่ยนแคทไอออนสูง มีขนาดอนุภาคที่เล็ก และสามารถเข้าสู่พื้นที่ระหว่างชั้นได้ ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้ทำให้ดินเหนียวชนิดนี้มีความสามารถในการจับกับอะฟลาทอกซิน B_1 ได้สูงกว่าดินเหนียวชนิดอื่น(คมกริชและคณะ, 2547)

ทิพย์วรรณ และธรรมศักดิ์ (2531) พบว่า propionic acid และ sodium bisulfite ที่ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็มมีผลต่อการลดสารพิษอะฟลาทอกซินได้ดี

2.9 การตรวจหาสารพิษอะฟลาทอกซิน

การตรวจหาสารพิษอะฟลาทอกซินจากอาหารหรือวัตถุดิบทางการเกษตรหรือเมล็ดพืช อาหารสัตว์ อวัยวะหรือเนื้อเยื่อ สิ่งขับถ่าย และผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสัตว์ เช่น เนื้อ ตับ ไต ไข่ เลือดหรือซีรัม อุจจาระ เป็นต้น ซึ่งวิธีการตรวจหาสารพิษอะฟลาทอกซินมีขั้นตอนดังนี้ (Smith and Moss, 1985; Hirano, 1992)

2.9.1 การสกัดอะฟลาทอกซิน (Extraction) ตัวอย่างแต่ละชนิดจะมีวิธีการสกัดที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของตัวอย่างต่างๆ เช่น เมล็ดพืช อาหารสัตว์ เนื้อเยื่อสัตว์ ไข่ เลือดหรือซีรัม อุจจาระ เป็นต้น โดยใช้หลักการเดียวกัน คือ

1) สารเคมีที่ใช้สกัดสารพิษออกจากตัวอย่าง ได้แก่ คลอโรฟอร์ม หรือเมทานอล

2) การใช้เครื่องเขย่าหรือเครื่อง ultrasonic เป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้สารพิษถูกสกัดออกจากตัวอย่างให้ได้มากที่สุด

3) กรณีตัวอย่างแห้ง เช่น เมล็ดพืช อาหารสัตว์ ให้เติมน้ำกลั่นหรือกรดเกลือ 1 % เพื่อให้ตัวอย่างชุ่มชื้นขึ้น

4) ชั่งน้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น เพื่อคำนวณย้อนกลับไปเทียบกับตัวอย่างทั้งหมดหรืออาหารทั้งหมดที่มีการปนเปื้อนสารพิษได้

5) กรองเอากากออก เช่น เมล็ดพืช อาหารสัตว์ หรือทำการปั่นแยกเอากากตะกอนออก เช่น เลือดหรือซีรัม เป็นต้น

6) ดูดน้ำออกจากสารละลายที่สกัดสารพิษด้วย anhydrous sodium sulfate

2.9.2 การทำสารละลายที่สกัดสารพิษได้ให้ปราศจากสิ่งปนเปื้อน (Clean up)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ตัวอย่างที่สกัดด้วยสารละลายคลอโรฟอร์มหรือเมทานอล ประกอบด้วยสารพิษอะฟลาทอกซิน และสิ่งปนเปื้อนอื่นๆ ของตัวอย่าง ผสมกันอยู่ เช่น สี ไขมัน จึงต้องทำการล้างเอาสิ่งปนเปื้อนอื่นๆ ออกให้มากที่สุด เพื่อให้เหลือแต่อะฟลาทอกซินที่ต้องการตรวจหา โดยใช้หลักการเดียวกัน คือ

1) ใช้ซิลิกาหรือ florisil เป็นสารจับสารพิษอะฟลาทอกซิน

2) ใช้ anhydrous sodium sulfate เป็นสารดูดน้ำออก

3 ใช้ n hexane และ diethyl ether เป็นสารกำจัดสีและไขมัน

2.9.3 การวัดปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน

การตรวจวัดหาปริมาณอะฟลาทอกซินที่มีอยู่ในตัวอย่างซึ่งผ่านการสกัดและทำให้สารละลายปราศจากสิ่งปนเปื้อนแล้ว มีหลายวิธี คือ

1) วิธีทางเคมี ได้แก่ มินิคอลัมน์ (Mini Column) คอลัมน์โครมาโทกราฟี (Column Chromatography) ทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (Thin Layer Chromatography) แก๊สโครมาโทกราฟี (Gas Chromatography) ไฮเพรสเชอร์ลิควิดโครมาโทกราฟี (High Pressure Liquid Chromatography) เป็นต้น

2) วิธีทางอิมมูน ได้แก่ ELISA หรือ Enzyme Linked Immunosorbent Assay อิมมูโนแอฟฟินิตีคอลัมน์ (Immuno-Affinity Column) และเรดิโออิมมูโนแอสเส (Radioimmuno Assay)

ในโรงงานอาหารสัตว์บางแห่งอาจใช้วิธีตรวจหาอะฟลาทอกซินโดยการฉายแสงอัลตราไวโอเลต(UV) บนเมล็ด และคัดเลือกเมล็ดที่เรืองแสงสีเขียวหรือสีฟ้าออก ในกรณีนี้ใช้ได้เฉพาะเมล็ดที่มีการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในปริมาณสูง และอยู่ที่ผิวเมล็ดเท่านั้น (จักรพันธุ์, 2542) นอกจากนี้การฉายแสงอัลตราไวโอเลตยังช่วยลดความเข้มข้นของอะฟลาทอกซินและทำลายอะฟลาทอกซินในน้ำนมได้

2.10 พริกป่น

พริกที่นิยมนำมาผลิตเป็นการค้ามีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Capsicum* spp. อยู่ในวงศ์ Solanaceae มีชื่อสามัญ ได้แก่ พริกขี้หนู (bird chilli), พริกชี้ฟ้า (Chilli Spur Pepper), พริกหวาน (Sweet Pepper) และพริกหยวก (Green Pepper) ในพริกนั้นมีสารที่สำคัญคือ Capsaicin หรือ 8-methyl-n-vanillyl-6-noneamide มีสูตรทางเคมี $C_{18}H_{23}NO_3$ น้ำหนักโมเลกุล 305.46 มีจุดหลอมเหลวที่ 65 องศาเซลเซียส ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น ละลายน้ำได้เล็กน้อย ละลายได้ดีในไขมัน น้ำมัน และแอลกอฮอล์ และยังมีคุณสมบัติทนความร้อน ความเย็นได้ดี (จิราภา, 2552) มีฤทธิ์ระคายเคืองต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดยทำให้ประสาทรับความรู้สึกที่เนื้อเยื่อไหม้ กระตุ้นการผลิตเมือกออกมาป้องกันการระคายเคือง และกระตุ้นการหลั่งน้ำย่อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
121166

พืชจำพวกพริกจะผลิตสารนี้ออกมาเพื่อป้องกันการถูกบริโภคจากสัตว์กินพืช โดยสารนี้จะพบได้มากในบริเวณรกพริก (บริเวณที่เมล็ดพริกเกาะอยู่) โดย Capsaicin จะพบในพริกมากที่สุด คือ 97 % และให้รสเผ็ดมากที่สุด และยังพบสารประกอบอื่นที่มีสูตรใกล้เคียงได้แก่ capsorubin, zeaxanthin, lutein, neoxanthin, cryptoxanthin, violaxanthin และ beta-carotene (Parry ,1962)

พริกป่น คือ พริกแห้งที่มีสีแดง ไม่มีกลิ่นอับและเหม็นหื่น ผ่านการบดจนมีขนาดเล็กและผ่านการแร่งด้วยตะแกรงร่อนเบอร์ 20 เมช เพื่อให้มีขนาดเล็กเท่าๆ กัน (วิชัย, 2531) เพื่อให้ผลิตภัณฑ์พริกป่นมีคุณภาพตามความต้องการของผู้บริโภคส่วนใหญ่ และเพื่อยกระดับคุณภาพพริกป่น สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมจึงได้กำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสากรรมพริกป่น (มอก. 457-2526) โดยคุณลักษณะที่ต้องการคือ

1) ต้องเป็นผงแห้ง ไม่จับตัวเป็นก้อน
2) ต้องมีสี กลิ่น และรสตามธรรมชาติของพริก ไม่มีกลิ่นหื่น กลิ่นอับ หรือกลิ่นแปลกปลอม
3) ต้องไม่มีรา แมลง ชิ้นส่วนแมลง หรือมูลสัตว์ที่สังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า
4) เมื่อตรวจดูด้วยแว่นขยาย 10 เท่า ต้องไม่พบสิ่งแปลกปลอม
5) ห้ามใช้วัตถุเจือปนในอาหาร ต่อไปนี้ คือ สีสังเคราะห์ วัตถุกันเสีย
6) ความชื้นไม่เกินร้อยละ 11
7) เถ้าทั้งหมด ไม่เกินร้อยละ 8 ของน้ำหนักอบแห้ง
8) เถ้าที่ไม่ละลายในกรด ไม่เกินร้อยละ 1.25 ของน้ำหนักอบแห้ง
9) ส่วนที่ไม่ระเหยที่สกัดได้ด้วยอีเทอร์ ไม่น้อยกว่าร้อยละ 15 ของน้ำหนักอบแห้ง
10) กาก ไม่เกินร้อยละ 28 ของน้ำหนักอบแห้ง
11) อะฟลาทอกซินไม่เกินร้อยละ 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมของตัวอย่าง
12) มีจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน 5×10^5 โคโลนีต่อกรัม
13) มีเชื้อราและยิสต์ไม่เกิน 1×10^2 โคโลนีต่อกรัม
14) โคลิฟอร์มโดยวิธี MPN ของตัวอย่าง น้อยกว่า 3 กรัม
15) คลอสตริเดียมเพอร์ฟริงเจนส์ ใน 0.01 กรัม ของตัวอย่างต้องไม่พบ

2.10 จุลชีววิทยาของอาหารแห้ง

จุลชีววิทยาที่เกี่ยวข้องกับจุลนทรีย์ในขั้นตอนการทำแห้งเริ่มตั้งแต่ช่วงก่อนที่จะรับเข้าสู่ขั้นตอนการแปรรูป ระหว่างการทำแห้งและภายหลังการทำแห้ง(วราวุฒิ, 2538)ได้แบ่งไว้ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1) ช่วงก่อนที่จะรับเข้าขั้นตอนการแปรรูป ในช่วงนี้จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับอาหารหรือวัตถุดิบที่ใช้เตรียมอาหาร ซึ่งช่วงก่อนที่จะถูกรับเข้าสู่ขั้นตอนกระบวนการแปรรูปด้วยการทำแห้ง อาจมีการเจริญต่อไปในช่วงระหว่างขั้นตอนการผลิตก่อนการทำแห้ง นอกจากนี้ยังอาจมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์เพิ่มเติมจากเครื่องมือที่ใช้และคนงานที่เกี่ยวข้อง และพบว่าชนิดของจำนวนจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหารแห้งต่างๆ จะขึ้นอยู่กับการคัดเลือก และการแยกชนิดของอาหาร

2) ช่วงระหว่างกระบวนการทำแห้ง ความร้อนที่ใช้ในระหว่างการทำแห้ง ช่วยลดจำนวนจุลินทรีย์ แต่ผลของความร้อนขึ้นอยู่กับชนิดและจำนวนจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน รวมทั้งกระบวนการที่ใช้ทำแห้ง ซึ่งตามปกติเชื้อยีสต์ทั้งหมดและแบคทีเรียส่วนใหญ่ จะถูกทำลายด้วยความร้อนที่ใช้ แต่สปอร์แบคทีเรียและเชื้อรา รวมทั้งเซลล์ปกติของแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการต้านทานต่อความร้อนสามารถมีชีวิตรอดจากความร้อนที่ใช้ นอกจากนี้แล้วความร้อนที่ไม่เหมาะสมในระหว่างการทำแห้งก็อาจเกื้อหนุนต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เหล่านั้น

3) ช่วงภายหลังกระบวนการทำแห้ง ถ้ากระบวนการทำแห้งและสภาพการเก็บรักษาภายหลังจากการทำแห้งอยู่ในเกณฑ์ที่ดีเพียงพอ มีผลทำให้มีจุลินทรีย์เจริญในอาหารแห้งที่ผ่านกระบวนการทำแห้งลดลงอย่างช้า ๆ ส่วนจุลินทรีย์ที่สามารถต้านทานต่อการทำแห้งจะมีชีวิตรอดได้ สำหรับจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติที่ต้านทานต่อการเก็บรักษาในสภาพแห้ง ไดแก่ สปอร์แบคทีเรียและเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่

1. บีกเกอร์ (beaker)
2. หลอดทดลอง (test tube)
3. ฟลาสก์ (flask)
4. แผ่นพาราฟิน
5. กระดาษกรองวัทแมน เบอร์ 4
6. กรวยกรอง
7. micropipette
8. เครื่องปั่น
9. เครื่องเขย่า
10. เครื่องชั่ง (balance)
11. microtitre plate reader
12. ชุดตรวจสอบสารพิษสำเร็จรูป (DOA-Aflatoxin ELISA Test Kit)(กรมวิชาการเกษตร)

3.1.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. น้ำเกลือ (normal saline)
2. เอทานอล 95 %
3. เมทานอล 70 %

3.2 การเก็บตัวอย่างพริกป่น

เก็บตัวอย่างพริกป่นจากร้านอาหารภายในบริเวณคณะต่างๆของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง โดยสุ่มเก็บตัวอย่างละ 20-50 กรัม ในเดือนมกราคม พฤษภาคม และสิงหาคม 2554 จำนวนตัวอย่างที่เก็บทั้งหมด 78 ตัวอย่าง และใช้ตัวอย่างพริกป่น 3 ตัวอย่างที่บรรจุซองขาย เป็นกลุ่มควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 การวิเคราะห์สารพิษอะฟลาทอกซิน

นำตัวอย่างพริกป่นที่เก็บจากร้านค้ามาทำการสกัดสารพิษและตรวจวัดปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินในพริกป่น โดยเทคนิค ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) โดยใช้ใช้ชุดตรวจสอบสารพิษสำเร็จรูป (DOA-Aflatoxin ELISA Test Kit) จากกรมวิชาการเกษตร (อมรา, 2551)

3.3.1 การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์

3.3.1.1 เตรียม washing buffer โดยนำวอชชิ่งบัฟเฟอร์มาทำการเจือจางเป็น 0.001M PBS-T โดยเติมน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร

3.3.1.2 เตรียมเอนไซม์คอนจูเกต โดยเติมเอนไซม์คอนจูเกต 1 มิลลิลิตร ลงไปในหลอดเอนไซม์คอนจูเกต 1 หลอด เขย่าเล็กน้อย

3.3.2 การสกัดสารพิษจากตัวอย่าง

3.3.2.1 บดตัวอย่างให้ละเอียด

3.3.2.2 ชั่งตัวอย่าง จำนวน 20 กรัม ใส่ในฟลาสก์และเติมเมทานอลความเข้มข้น 70% จำนวน 100 มิลลิลิตร ลงในฟลาสก์ทุกฟลาสก์ (อัตราส่วนของตัวอย่างต่อเมทานอลความเข้มข้น70% เท่ากับ 1:5)

3.3.2.3 ปิดปากฟลาสก์ด้วยแผ่นพาราฟิล์ม แล้วนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 300 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที

3.3.2.4 นำสารสกัดที่ได้จากการเขย่ามาตั้งทิ้งไว้ประมาณ 5-10 นาที แล้วจึงนำส่วนใสมากรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 4 แล้วเก็บส่วนที่กรองได้ไว้ในแก้วที่ปิดสนิท สารสกัดที่กรองได้จะมีความเข้มข้นเป็น 1:5 เท่า

3.3.3 การวิเคราะห์สารพิษอะฟลาทอกซินโดยวิธี ELISA

3.3.3.1 นำสารสกัดที่กรองได้มาทำการเจือจางเป็น 1:20 เท่า โดยใช้สารละลาย washing buffer (0.001M PBS-T) ที่เตรียมไว้ โดยผสมส่วนที่กรองได้ 1 มิลลิลิตร ผสมกับ washing buffer 3 มิลลิลิตร

3.3.3.2 ทำการทดสอบสารพิษโดยวิธี ELISA โดยหยดสารพิษอะฟลาทอกซินมาตรฐานระดับความเข้มข้น 0.0, 4.0, 10.0, 20.0 และ 40.0 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร(พีพีบี) จำนวน 50 ไมโครลิตร ลงในหลุมทดสอบ แล้วหยดสารสกัดตัวอย่างที่เจือจางแล้ว จำนวน 50 ไมโครลิตร ลงในหลุมทดสอบที่เหลือ

3.3.3.3 หยดเอนไซม์คอนจูเกตที่เตรียมไว้ จำนวน 50 ไมโครลิตร ลงไปในหลุมทดสอบทุกหลุม เขย่าเล็กน้อย แล้วบ่มไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.3.4 หลังจากครบเวลาการบ่มแล้ว เทสารในหลุมทดสอบทิ้ง โดยการคว่ำหลุมทดสอบ แล้วล้างโดยเติม washing buffer ลงในหลุมให้เต็มทุกหลุมแล้วคว่ำทิ้ง ล้างอย่างน้อย 3 ครั้ง คว่ำหลุมทดสอบและเคาะให้แห้ง

3.3.3.5 หยด substrate solution จำนวน 100 ไมโครลิตร ลงไปในหลุมทดสอบ แล้วบ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 10 นาที หยุดปฏิกิริยาด้วยการหยด stopping solution หลุมละ 100 ไมโครลิตรทุกหลุม อ่านค่าความเข้มสีของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นโดยวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance value) ด้วยเครื่องอ่าน Micro ELISA Reader ความยาวคลื่นที่ 450 นาโนเมตร

3.4 การวางแผนการทดลองและการวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินโดยวิธีดันแคน (Duncan's new multiple range test) และกำหนด significance level = 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินในตัวอย่างพริกป่นซึ่งเก็บ ณ สถานที่และช่วงเวลาต่างกัน

จากการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน (พีพีบี) ในตัวอย่างพริกป่นซึ่งเก็บจากร้านอาหารภายในบริเวณคณะต่างๆ ของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง โดยเก็บตัวอย่างในเดือนมกราคม พฤษภาคม และสิงหาคม 2554 จำนวนตัวอย่างที่เก็บเท่ากับ 27 ตัวอย่างในแต่ละเดือน รายละเอียดดังตารางผนวกที่ ก-1 และ ก-2 ผลการสำรวจพบว่าปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน (พีพีบี) ในตัวอย่างพริกป่นที่เก็บจากสถานที่และเดือนที่ต่างกันนั้น มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังตารางผนวกที่ ก-3 ดังนั้นจึงทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินในตัวอย่างพริกป่น โดยวิธีดันแคน (Duncan's new multiple range test) และกำหนดระดับ significance level = 0.05 (ตารางผนวกที่ ก-4 และตารางที่ 4.1) พบว่าตัวอย่างพริกป่นที่เก็บจากร้านอาหารภายในอาคารสมเด็จพระเทพฯ ในเดือนสิงหาคม 2554 มีค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษอะฟลา-ทอกซินมากที่สุดในกลุ่มตัวอย่าง ซึ่งมีค่าเท่ากับ 10.13 ± 0.87 พีพีบี และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มควบคุม โดยค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน (พีพีบี) ในกลุ่มควบคุมเดือนมกราคม พฤษภาคม และสิงหาคม มีค่าเท่ากับ 5.50 ± 0.68, 5.29 ± 0.78 และ5.55 ± 1.90 พีพีบี ตามลำดับ

สำหรับค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินในตัวอย่างพริกป่นที่เก็บในเดือนสิงหาคม จากร้านอาหารภายในคณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม (9.57±0.98 พีพีบี) คณะเทคโนโลยีการเกษตร (9.13±0.53 พีพีบี) คณะวิศวกรรมศาสตร์ (9.48±0.40 พีพีบี) และคณะสถาปัตยกรรมศาสตร์ (8.87±0.23 พีพีบี) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษอะฟลา-ทอกซินในตัวอย่างพริกป่นจากร้านอาหารภายในอาคารพระเทพฯ ในเดือนสิงหาคม 2554 (10.13 ± 0.87 พีพีบี) ซึ่งเป็นปริมาณที่มากกว่าร้านอาหารอื่นๆที่เก็บในเดือนมกราคม และเดือนพฤษภาคม 2554 (ตารางที่ 4.1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณสารอะฟลาทอกซิน (พีพีบี) ระหว่างสถานที่ กับเดือนที่เก็บตัวอย่างพริกป่น

สถานที่เก็บตัวอย่าง	เดือนที่เก็บตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ยปริมาณสารอะฟลาทอกซิน (พีพีบี)*
1. คณะวิทยาศาสตร์	มกราคม 2554	8.16 ± 0.07^{bcdef}
	พฤษภาคม 2554	7.47 ± 0.20^{def}
	สิงหาคม 2554	8.14 ± 0.73^{bcdef}
2. คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม	มกราคม 2554	8.13 ± 0.52^{bcdef}
	พฤษภาคม 2554	7.40 ± 0.20^{def}
	สิงหาคม 2554	9.57 ± 0.98^{ab}
3. คณะเทคโนโลยีการเกษตร	มกราคม 2554	7.76 ± 1.02^{cdef}
	พฤษภาคม 2554	7.47 ± 0.33^{def}
	สิงหาคม 2554	9.13 ± 0.53^{abc}
4. คณะวิศวกรรมศาสตร์	มกราคม 2554	7.84 ± 1.06^{cdef}
	พฤษภาคม 2554	7.97 ± 0.33^{bcdef}
	สิงหาคม 2554	9.48 ± 0.40^{ab}
5. คณะสถาปัตยกรรมศาสตร์	มกราคม 2554	6.66 ± 0.86^{fg}
	พฤษภาคม 2554	8.45 ± 0.22^{bcde}
	สิงหาคม 2554	8.87 ± 0.23^{abcd}
6. คณะเทคโนโลยีสารสนเทศ	มกราคม 2554	7.24 ± 0.31^{ef}
	พฤษภาคม 2554	8.47 ± 0.53^{bcde}
	สิงหาคม 2554	7.97 ± 0.59^{bcdef}
7. อาคารพระเทพฯ	มกราคม 2554	8.49 ± 0.40^{bcde}
	พฤษภาคม 2554	8.2 ± 0.64^{bcdef}
	สิงหาคม 2554	10.13 ± 0.87^{a}
8. สถาบันฯ (ข้างคณะวิทยาศาสตร์)	มกราคม 2554	8.16 ± 0.62^{bcdef}
	พฤษภาคม 2554	8.01 ± 0.65^{bcdef}
	สิงหาคม 2554	8.47 ± 1.48^{bcde}
9. กลุ่มควบคุม	มกราคม 2554	5.50 ± 0.68^{g}
	พฤษภาคม 2554	5.29 ± 0.78^{g}
	สิงหาคม 2554	5.55 ± 1.90^{g}

*ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยปริมาณสารอะฟลาทอกซิน (พีพีบี/กรัม) ถ้าเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินในตัวอย่างพริกป่นที่เก็บในเดือนมกราคม พฤษภาคม และสิงหาคม 2554

จากการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน (พีพีบี) ในตัวอย่างพริกป่นที่เก็บในเดือนมกราคม พฤษภาคม และสิงหาคม 2554 พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รายละเอียดดังตารางที่ ก-5 จากนั้นทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินในตัวอย่างพริกป่นที่เก็บในเดือนดังกล่าวข้างต้น ผลการเปรียบเทียบดังตารางผนวกที่ ก-6 และตารางที่ 4.2 สรุปได้ดังนี้ ค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินที่พบในตัวอย่างพริกป่นที่เก็บในเดือนสิงหาคม 2554 (8.59±1.56 พีพีบี) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินที่พบในตัวอย่างพริกป่นที่เก็บในเดือนมกราคม 2554 (7.55±1.14 พีพีบี) และเดือนพฤษภาคม 2554 (7.64±0.99 พีพีบี) ส่วนปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินในตัวอย่างพริกป่นที่เก็บในเดือนมกราคม ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินในตัวอย่างพริกป่นที่เก็บในเดือนพฤษภาคม 2554 โดยในเดือนสิงหาคมจะพบปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินในตัวอย่างพริกป่นมากที่สุด รองลงมาคือเดือนพฤษภาคม และเดือนมกราคม ตามลำดับ

ตารางที่ 4.2 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณสารอะฟลาทอกซิน (พีพีบี) ในตัวอย่างพริกป่น ที่เก็บในเดือนมกราคม เดือนพฤษภาคม และเดือนสิงหาคม 2554

เดือนที่เก็บตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ยปริมาณสารอะฟลาทอกซิน (พีพีบี)*
มกราคม 2554	7.55±1.14[b]
พฤษภาคม 2554	7.64±0.99[b]
สิงหาคม 2554	8.59±1.56[a]

*ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยปริมาณสารอะฟลาทอกซิน (พีพีบี/กรัม) ถ้าเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการสำรวจปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินในอาหารแห้ง เขตภาคใต้ตอนบน โดยวิธี DOA-Aflatoxin ELISA Test Kit พบว่าตัวอย่าง 11 % ไม่ผ่านมาตรฐาน โดยมีปริมาณอะฟลาทอกซินสูงกว่า 20 พีพีบี (ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม) ได้แก่ ถั่วลิสง ถั่วลิสงป่น พริกแห้ง พริกป่นและแกงไตปลา ในปริมาณ 31-170, 22-45, 23-75, 21-55 และ 21 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ โดยเฉพาะในกรณีตัวอย่างถั่วลิสงป่นและพริกป่น มากกว่า 80 และ 50 % ที่มีการปนเปื้อนจากสารพิษนี้ ซึ่งถั่วและพริกที่ค้างอยู่ในภาชนะเป็นเวลาหลายวัน อาจส่งผลต่อการเจริญของเชื้อราและการสร้างอะฟลาทอกซินได้(กนกวรรณและนิรันดร์, 2550) นอกจากนี้ยังมีรายงานการปนเปื้อนสารอะฟลาทอกซินในพริกป่นบรรจุซองขายในซองสำเร็จรูป 2 ยี่ห้อยอดนิยม ได้แก่ "ไร่ทิพย์" และ "ข้าวทอง" พร้อมด้วยพริกป่นในห้างอีก 5 ยี่ห้อ ได้แก่ ตราเจเจ ตราบางช้าง ตรามือที่ 1 ตรานักรบและตราศาลาแม่บ้าน รวมทั้งพริกป่นแบบแบ่งขายในตลาดสด โดยส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์ที่สถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล พบว่าเกือบทุกตัวอย่างมีการปนเปื้อนสารอะฟลาทอกซิน แต่ปนเปื้อนในปริมาณน้อยกว่าที่ อย.กำหนดไว้ที่ไม่เกิน 20 ไมโครกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ซึ่งรายงานนี้สอดคล้องกับผลการวิเคาะห์สารพิษอะฟลาทอกซินในพริกป่นในสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ตรวจพบอะฟลาทอกซินในทุกตัวอย่าง คิดเป็น 100 % แต่ปริมาณที่ตรวจพบน้อยกว่ามาตรฐานที่อย. กำหนด โดยอยู่ในช่วง 6.66-10.13 พีพีบี(ไมโครกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม) และจากการศึกษาของ Reddy และคณะ (2002) พบว่าการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินทั้งในพริกป่นที่มีคุณภาพต่ำ (low-grade)ที่ขายในตลาดทั่วไป และพริกป่นคุณภาพดี (superior grade) ที่ขายในซูเปอร์มาร์เกตในประเทศอินเดีย จะมีการปนเปื้อนสูงมากกว่า 30 พีพีบี (ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม)

ผลิตภัณฑ์ที่มี water activity ต่ำ เช่น ธัญพืชต่าง ๆ จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องคำนึงถึงสารพิษจากเชื้อราที่ปนเปื้อนในธัญพืช ซึ่งอาจมีตั้งแต่ในแปลงปลูกจนถึงช่วงของการเก็บรักษา โดยทั่วไปแล้วเชื้อราที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารพิษ ได้แก่ *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* และ*Claviceps* สำหรับสารพิษจากเชื้อราดังกล่าวหลายชนิด มีดั้งนี้ aflatoxin, ochratoxins, penicillic acid, patulin , ergot, zearalenone, citrinin, T-2 toxin ซึ่งแม้ว่าอาหารแห้งจะเป็นกรรมวิธีหนึ่งในการถนอมอาหารที่สะดวก แต่โอกาสที่จะเกิดการเสื่อมเสียของอาหารดังกล่าวยังคงมีอยู่ ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องควบคุมรักษาความสะอาดของแต่ละขั้นตอนการผลิต โดยเฉพาะขั้นตอนการรับวัตถุดิบที่ใช้ทำอาหารแห้งเพื่อลดปริมาณจุลนทรีย์ตั้งแต่จุดเริ่มต้นเป็นสำคัญ ซึ่งจะทำให้อาหารแห้งนั้นมีอายุการเก็บรักษาที่ยาวนานและปลอดภัยต่อผู้บริโภค(วราวุฒิ, 2538)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการสำรวจพบปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินในพริกป่นในสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังในทุกตัวอย่าง แม้ว่าจะป็นปริมาณที่น้อยกว่าที่กำหนดก็ตาม ในการบริโภคพริกป่นควรเพิ่มความระมัดระวังให้มากขึ้น เพราะถึงแม้ว่าปริมาณสารพิษจะมีไม่มากก็ตาม แต่เป็นสารพิษที่เป็นอันตรายและเป็นสารก่อมะเร็ง ดังนั้นในการบริโภคพริกป่น ควรรับประทานถั่วหรือพริกที่คั่วใหม่ๆ หรือหลีกเลี่ยงการรับประทาน หากเป็นไปได้

คำแนะนำ

1. ควรเก็บพริกป่นในที่แห้งสนิท (ความชื้นต่ำกว่า 12 % และไม่ควรเกิน 14%) เพื่อไม่ให้เชื้อราเจริญได้ และในกรณีต้องการใช้ ให้ใช้ช้อนกลางตักเสมอเพื่อลดการปนเปื้อนจากเชื้ออื่นๆ

2. ไม่ควรซื้อพริกป่นมาเก็บไว้ในปริมาณมาก

3. ควรเลือกซื้อพริกป่นจากแหล่งผลิตที่ได้มาตรฐาน เพราะมีปริมาณการปนเปื้อนต่ำกว่าพริกป่นทั่วๆไป รวมทั้งตรวจสอบวันผลิตทุกครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กนกวรรณ เทพเลื่อน และนิรันดร์ แร่กาสินธุ์. 2550. ปริมาณอฟลาทอกซินในอาหารแห้งเขตภาคใต้ ปี 2550. [Online] Available: www.dmsc.moph.go.th/webroot/suratthani/File/%E2%A4%C3% A7% A1%D2%C3%CA%D3%A4%D1%AD/%BB%C3%D4%C1%D2%B3%CD%BF%C5%D2% B7%CD%A1%AB%D4%B9%E3%B9%CD%D2%CB%D2%C3%E1%CB%E9%A7.pdf

กานดา หวังชัย ศรัณยา เพ่งผล และจำนงค์ อุทัยบุตร 2552. ผลของโอโซนในการลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์และสารอะฟลาทอกซินในมะขามแขก วาราสรวิทยาศาสตร์เกษตร 1 (พิเศษ), 237-240.

เกศรา นุตาลัย. 2527. งานวิจัยเกี่ยวกับแอลฟลาทอกซินในถั่วลิสง รายงานความก้าวหน้าปี 2526. รายงานการสัมมนาเรื่อง งานวิจัยถั่วลิสง ครั้งที่ 3 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน 19-21 เมษายน 2527.

คมกริช พิมพ์ภักดี , บัณฑิตย์ เต็งเจริญกุล และพนารัตน์ ขัติยนนท์ 2547. การศึกษาประสิทธิภาพของสารดูดซับ (commercial adsorbents) ในการดูดซับสารอะฟลาทอกซิน B_1. 1(2): 40-43.

จักรพันธุ์ ปัญจะสุวรรณ. 2542. พิษภัยในอาหาร. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ

จิราภา จอมไธสง. 2552. เรื่องของพริก. [Online] Available: http://www. agriman. doae.go.th/ home /news 3/ news3_1/vagetable/0004eb_.%5B1%5D.doc.

ดวงจันทร์ สุประเสริฐ 2553. สารอฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในเครื่องเทศ. [Online] Available: http://webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_food/a_fd_4_00t.asp?info_id=57

ดุษณี ธนะบริพัฒน์ 2546. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. โครงการตำรา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กทม.

ทิพย์วรรณ จตุมานัสศิริ และธรรมศักดิ์ สมมาตย์. 2531. การควบคุมเชื้อและการลดสารพิษแอฟลาทอกซินด้วยสารเคมีในถั่วลิสงป่น. รายงานการสัมมนาเรื่องงานวิจัยถั่วลิสง ครั้งที่ 7 ณ โรงแรมซีบรีซ พัทยา ชลบุรี 16-18 มีนาคม 2531.

ธรรมศักดิ์ สมมาตย์. 2540. โรคถั่วลิสง (Peanut diseases). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

ธีระยุทธ กลิ่นสุคนธ์ และ ชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว. 2524. สารพิษของเชื้อราภับปัญหาในวงการปศุสัตว์. วารสารสัตวแพทย์ 1(3), 211-223.

นงนุช วณิตย์ธนาคม. 2540. วิทยาเชื้อราการแพทย์. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่.

นิธิยา รัตนาปนนท์ และวิบูลย์ รัตนาปนนท์. 2543. สารพิษในอาหาร. โอเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ.

ฝ่ายบริการทดสอบ 2553. สารพิษในพริกป่น บ่อเกิดของมะเร็ง. [Online] Available: www.nfi.or.th/

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

publication/thairath/thairath17.html

ไมตรี สุทธิจิตต์ 2528. สารพิษและสารอันตรายจากธรรมชาติ วารสารวิทยาศาสตร์ 39:207-222.

วราวุฒิ ครูส่ง. 2538. จุลชีววิทยาในกระบวนการแปรรูปอาหาร. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร. คณะเทคโนโลยีการเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรงเทพ ฯ.

วิชัย หฤทัยธนาสันติ. 2531. การผลิตพริกแห้งและพริกป่นที่มีคุณภาพดี. ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์. คณะอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรงเทพฯ.

สถาบันอาหาร 2553. ระวัง ถั่วลิสงป่น. [Online] Available: www.nfi.or.th/publication/ thairath/ thairath15.html

อดิพล ดิลกพิมล 2546. ราและอะฟลาทอกซินในน้ำพริกแกงและเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบ วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กทม.

อนงค์ บิณฑวิหค. 2546. สารพิษจากเชื้อรา : อะฟลาทอกซิน. การเกิดสารพิษจากเชื้อรา อะฟลาทอกซิน. (พิมพ์ครั้งที่ 1). จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อภิษฐา ช่างสุพรรณ. 2548. อันตรายของเชื้อราในเมล็ดพืช ที่เป็นอาหารนกเขา. [Online].Avalible: http://nokkhao.com/afla.html.

อรรฆพร มณีกุล ประพฤกษ์ ตั้งมั่นคง ศศิธร นาคทอง และ สุเจตน์ ชื่นชม 2551. วารสารมหาวิทยาลัยนเรศวร 16(3), 189-193.

อมรา ชินภูติ 2544. จุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์จากสมุนไพร ข่าวสารโรคพืชและจุลชีววิทยา 11(3), 27-38.

อมรา ชินภูติ. 2547. ปัญหาสารพิษ Aflatoxin ในถั่วลิสงและการวิเคราะห์สารพิษ Aflatoxin ในถั่วลิสง. เอกสารประกอบการฝึกอบรมการถ่ายทอดเทคโนโลยีการแปรรูปถั่วลิสงปลอดสารพิษ Aflatoxin. (หน้า 14-31). สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อมรา ชินภูติ ศุภรา อัคคะสาระกุล และ ชวเลิศ ตรีกรุณาสวัสดิ์ . 2551. การควบคุมการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* และยับยั้งการสร้างสารแอฟลาทอกซินในข้าวโพดโดยใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพร. กลุ่มวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว.สำนักวิจัยและพัฒนาการวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร.

อะฟลาทอกซิน 2553. อะฟลาทอกซิน: สารปนเปื้อนในอาหาร. [Online] Available: http://mochikung.212café.com/archive/2008-09-06/aflatoxin-aspergillus-flavus-asp-par...

อุทัยวรรณ แสงวนิช. 2522. การตรวจหา *Aspergillus* ที่สร้าง aflatoxin ในการผลิตผลเกษตร วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Alexopoulos, C.J. *et al.* 1996. Introductory mycology. 4th ed. Jonh Wiley and Sons, New York.

Anderson, R.A. 1983. Detoxification of aflatoxin-contaminated corn. (Diener, U. L., Asquith, R. L. and Dickens, J. W. eds.). Aflatoxin and *Aspergillus flavus* in corn. So. Coop. Ser. Bull. 279. Alabama.

Bressac, J. P. *et al.* 1991. Selective G to T mutation of *p*53 gene in hepatocellular carcinoma from southern Africa. Nature 350, 429-430

Chitaree, T., Kiatsompob, W., Panchang, W. and Thanaboripat, D. 1993. Effect of salt concentration on aflatoxin in peanut by *Aspergillus flavus*. Journal of Kasetsart 27, 354-367.

Ciegler, A. *et al.* 1966. Microbial detoxification of aflatoxin. Applied Microbiology 14, 934-939.

Cotty, P.J. 1900. Effect of atoxigenic strains of *Aspergillus flavus* on aflatoxin contamination of developing cottonseed. Plant Disease 74, 233-235.

Ellis, R.W., Clements, M., Tibbetts, A. and Winfree, R. 2000. Reduction of bioavailability of 20 ug/kg aflatoxin in trout feed containing clay. Aquaculture, 183, 179-188.

Fernandez, P. V., Patriarca, A., Locani, O. and Vaamonde, G. 2001. Natural co-occurrence of aflatoxin and cyclopiazonic acid in peanuts grown in Argentina. Food Additives and Contaminants 18, 1017-1020.

Garcia, R. P. and Ilag, L. L. 1986. Aflatoxin in the Philippines. In Batan, E. L. ed. Aflatoxin in Maize. A Proceeding of the Workshop. Mexico.

Giorni, P., Battilani, P., Pietri, A, and Magan, N. 2008. Effect of a_w and CO_2 level on *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin production in high moisture maize post harvest. International Journal of Food Microbiology 122, 109-113.

Goto, T., Y., Peterson, S.W. and Wicklow, D.T. 1997. Mycotoxin production ability of *Aspergillus tamarii.* Mycotoxins 44, 17-20.

Groopmann, J. D. and Thomas, W. K. 1999. CRC Critical Reviews in Toxicology, Chapter 19, pp. 13-124.

Hirano, K., Adachi, Y., Bintvihok, A., Ishibashi, S. and Kumazawa, N.H. 1992. An improved method for extraction and clean up of aflatoxin B1 from liver. Journal of Veterinary Medical Science 54, 567-569.

Hsu, I.C. *et al.*1991. Mutational hotspot in the p53 gene in human hepatocellular carcinomas. Nature.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

350, 427-428.

Inan, F., Pala, M. and Doymaz, I. 2007. Use of ozone in detoxification of aflatoxin B1 in red pepper. Journal of Stored Products Research 43, 425-429.

Ito, Y. *et al.* 2001. *Aspergillus pseudotamarii*, a new aflatoxin producing species in *Aspergillus* section *Flavi*. Mycological Research 105(2), 233-239.

Krishnamurthy, Y. L. and Shashikala, J. 2006. Inhibition of aflatoxin B1 production of *Aspergillus flavus*, isolated from soybean seeds by certain natural plant products. Letters in Applied Microbiology 43, 469-474.

Kurtzman, C. P. *et al* .1987. *Aspergillus nomius*, a new aflatoxin producing species related to *Aspergillus flavus* and *Aspergillus tamarii*. Antonie van Leeuwenhoek 53, 147-158.

Montesano, R. Hainaut, P. and Wild, C. P. 1997. Hepatocellular carcinoms : From gene to public health. Review Journal of Natural Cancer Institute 89, 1844-1851.

Parry , J.W. 1962. Spices; Their Morphology, Histology and chemistry. Food Trade Pr., London. 226.

Peterson, S. W. *et al.* 2001. *Aspergillus bombycis*, a new aflatoxigenic species and genetic variation in its sibling species, *A. nomius*. Mycologia, 93, 689-703.

Pitt, J.I., Hocking, A.D., Bhudhasamai, K., Miscamble, B.F., Wheeler, K.A., and Tanboon-Ek, P. 1993. The normal mycoflora of commodities from Thailand.1. Nuts and oilseeds. Food Microbiology 20, 211–226.

Promhirangul, P., Srianujata, S., Charoenkiatkul, S. and Kusamran, W. 1999. Study of Aflatoxin Content in Noodle Dishes sold in Three Areas of Bangkok. M.Sc. Thesis, Graduate School, Mahidol University, Bangkok.

Reddy, S.V and Farid, W. 2000. Properties of aflatoxin and it producing fungi. [Online]. Available: www.wikipedia.com

Reddy, D. V. R., Thirumala-Devi, K., Reddy, S. V., Waliyar, F., Mayo, M. A., Devi, K. R., Ortiz, R. and Lenne, J. M. 2002. Estimation of aflatoxin levels in selected foods and feeds in India. Food Safety Management in Developing Countries. Proceedings of the International Workshop. Edited by E. Hank, E. Boutrif, P. Fabre and M. Pineiro, CIRAD-FAO, Montpellier, France.

Saito, M. and Tsuruta, O. 1993. A new variety of *A. flavus* from tropical soil in Thailand and its aflatoxin productivity. Association of Mycotoxicology 37, 31-36.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sargeant, K. *et al.* 1961a. The assay of a toxic principle in certain groundnut meals. Veterinary Record 73, 1219

Sargeant, K. *et al.* 1961b. Toxicity associated with certain sample of groundnut. Nature 192, 1096

Smith, J. E. and Moss, M. O. 1985. Mycotoxins. Formation, Analysis and Significance. John Wiley & Sons, Chichester.

Thanaboripat, D. 2002. Importance of aflatoxins. KMITL Science Journal 2(1), 38-45.

Thanaboripat, D. 2003. Mycotoxins: Occurrence and control in foods. In The International Review of Food Science and Technology, November 2003, pp.130-133.

Thanaboripat, D. and Sukchareon, O. 1997. Survey of aflatoxin in human breast milk. Journal of KMITL 5,1-5.

Thanaboripat, D., Im-erb, A. and Ruangrattanametee, V. 2002. Effect of Ling Zhi mushroom on aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus*. In Biological Control and Biotechnology. pp. 22-30. Heilongjiang Science and Technology Press, China.

Thanaboripat. D., Kraipeerapun, K., Pattanaphongsak, C., Srisana, S. and Nanasombat, S. 1997. Detoxification of anatoxin by *Streptococcus lactis* and lactic acid bacteria in commercialyoghurt. Kasetsart J. (Nat. Sci.) 31,117-123.

Thanaboripat, D., Premsi, T., Punbusayakul, N. and Suhcharoen, O. 1996. Effect of food preservative on growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* in liquid medium. ASEAN Food Journal 11(2), 61-64.

Thanaboripat, D., Suvathi, Y., Srilohasin, P., Sripakdee, S., Patthanawanitchai, O. and Charoensettasilp, S. 2007. Inhibitory effect of essential oils on the growth of *Aspergillus flavus*. KMITL Science and Technology Journal 7(1), 1-7.

Torres, J. *et al.* 1980. Morphological changes in strains of *Aspergillus flavus* Link Exfries and *Aspergillus parasiticus* Spears related with aflatoxin production. Mycopathol 72(3), 171-174

Wang, H.L. and Hesseltine, C.W. 1982. Prescott and Dunn Industrial Microbiology. 4th ed. Connecticus, Westport.

WHO, 1979. Environmental Health Criteria II: Mycotoxins. World Health Organization, Geneva.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ข้อมูลดิบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ ก-1 ปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน (พีพีบี)ในตัวอย่างพริกป่นซึ่งเก็บจากร้านอาหารภายในสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง โดยเก็บตัวอย่างในเดือนมกราคม พฤษภาคม และสิงหาคม 2554

สถานที่เก็บตัวอย่าง	จำนวนซ้ำ	ปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน(พีพีบี)		
		มกราคม	พฤษภาคม	สิงหาคม
คณะวิทยาศาสตร์ 1=ลำดับที่ 1 2=ลำดับที่ 2 3=ลำดับที่ 3	1	8.08	7.69	7.48
	2	8.19	7.41	8.01
	3	8.20	7.30	8.92
คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม 1=ลำดับที่ 4 2=ลำดับที่ 5 3=ลำดับที่ 6	1	7.29	7.69	9.96
	2	9.32	7.04	9.60
	3	7.79	7.46	9.16
คณะเทคโนโลยีการเกษตร 1=ลำดับที่ 7 2=ลำดับที่ 8 3=ลำดับที่ 9	1	7.88	7.17	9.28
	2	7.31	8.20	8.20
	3	8.08	7.03	9.92
คณะวิศวกรรมศาสตร์ 1=ลำดับที่ 10 2=ลำดับที่ 11 3=ลำดับที่ 12	1	8.53	8.11	11.14
	2	7.19	8.55	7.41
	3	7.81	7.24	9.90
คณะสถาปัตยกรรมศาสตร์ 1=ลำดับที่ 13 2=ลำดับที่ 14 3=ลำดับที่ 15	1	6.66	8.15	9.00
	2	7.16	8.55	8.60
	3	6.15	8.66	9.02

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ ก-1 (ต่อ)

สถานที่เก็บตัวอย่าง	ซ้ำที่	ปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน(พีพีบี)		
		มกราคม	พฤษภาคม	สิงหาคม
คณะเทคโนโลยีสารสนเทศ	1	9.04	8.06	6.08
1=ลำดับที่ 16	2	5.52	8.68	8.15
2=ลำดับที่ 17	3	7.15	8.67	9.69
3=ลำดับที่ 18				
อาคารพระเทพฯ	1	9.52	8.53	10.92
1=ลำดับที่ 19	2	7.86	8.39	9.37
2=ลำดับที่ 20	3	8.08	7.68	10.10
3=ลำดับที่ 21				
สถาบันฯ (ข้างคณะวิทยาศาสตร์)	1	8.76	8.39	8.18
1=ลำดับที่ 22	2	8.11	7.81	7.60
2=ลำดับที่ 23	3	7.62	7.82	9.64
3=ลำดับที่ 24				
กลุ่มควบคุม	1	5.56	5.37	5.69
1=ลำดับที่ 25	2	5.42	5.18	5.40
2=ลำดับที่ 26	3	5.51	5.32	5.56
3=ลำดับที่ 27				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ ก-2 แสดงลำดับที่ของร้าน สถานที่ และชื่อร้านที่เก็บตัวอย่างตัวอย่างพริกป่นภายในสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ลำดับที่ร้านค้า	สถานที่	ชื่อร้านค้า
1	วิทยาศาสตร์	ร้าน 2 อาหารปักษ์ใต้
2	วิทยาศาสตร์	ร้าน 3 ก๋วยเตี๋ยว
3	วิทยาศาสตร์	ร้าน 4 อาหารตามสั่ง
4	ครุศาสตร์อุตสาหกรรม	ข้าวมันไก่
5	ครุศาสตร์อุตสาหกรรม	อิสลามรสเด็ด
6	ครุศาสตร์อุตสาหกรรม	ร้านตามสั่ง
7	เทคโนโลยีการเกษตร ตึก L	อาหารตามสั่ง ชาชง
8	อุตสาหกรรมเกษตร	ก๋วยเตี๋ยวเรือ
9	เทคโนโลยีการเกษตร ตึก L	ร้านคุณยาย
10	วิศวกรรมศาสตร์	ก๋วยเตี๋ยวเนื้อ (โรงอาหาร 2)
11	วิศวกรรมศาสตร์	ก๋วยเตี๋ยวน่องไก่ตุ๋น (โรงอาหารติดแอร์1)
12	วิศวกรรมศาสตร์	ร้าน 3 (โรงอาหาร 3)
13	สถาปัตยกรรมศาสตร์	ครัวพี่หมู
14	สถาปัตยกรรมศาสตร์	ครัววาปี
15	อุตสาหกรรมเกษตร	ครัวสุพรรณ
16	เทคโนโลยีสารสนเทศ	ร้าน 2
17	เทคโนโลยีสารสนเทศ	ร้าน 3
18	สถาบัน (ข้างคณะวิทยาศาสตร์)	ก๋วยเตี๋ยวต้มยำป้าเฉื่อย
19	อาคารพระเทพฯ	ร้านป้าแมว
20	อาคารพระเทพฯ	ร้านป้าเอ๋
21	หอพักในสถาบัน	ร้านยายศรีก๋วยเตี๋ยวยิ้ม
22	สถาบัน (ข้างคณะวิทยาศาสตร์)	บะหมี่เกี๊ยว
23	สถาบัน (ข้างคณะวิทยาศาสตร์)	ก๋วยเตี๋ยวเรือ
24	สถาบัน (ข้างคณะวิทยาศาสตร์)	ก๋วยเตี๋ยวต้มยำ
25	พริกป่นไร่ทิพย์	ตลาดสดหัวตะเข้ (ถุง)
26	พริกป่นไร่ทิพย์	TOP สาขาลาดกระบัง
27	พริกป่นไร่ทิพย์	ตลาดสดทับยาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ ก-3 ตารางวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน(พีพีบี)ในตัวอย่างพริกป่น ซึ่งเก็บจากร้านอาหารภายในสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง โดยเก็บตัวอย่างในเดือนมกราคม พฤษภาคม และสิงหาคม 2554 คำนวณโดยใช้โปรแกรม SPSS 17.0

ตารางวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน **(ANOVA)**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	105.425	26	4.055	6.122	.000
Within Groups	35.766	54	.662		
Total	141.191	80			

ตารางผนวกที่ ก-4 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน(พีพีบี) ในสถานที่และเดือนที่เก็บตัวอย่างต่างกัน คำนวณโดยวิธี Duncan's new multiple range test คำนวณโดยใช้โปรแกรม SPSS 17.0

Duncan[a] Aflatoxin

Place-time	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
1. ContMay	3	5.2900						
2. ContJan	3	5.4967						
3. ContAug	3	5.5500						
4. ArcJan	3	6.6567	6.6567					
5. ITJan	3		7.2367	7.2367				
6. IDMay	3		7.3967	7.3967	7.3967			
7. AgrMay	3		7.4667	7.4667	7.4667			
8. SciMay	3		7.4667	7.4667	7.4667			
9. AgrJan	3		7.7567	7.7567	7.7567	7.7567		
10. EngJan	3		7.8433	7.8433	7.8433	7.8433		
11. EngMay	3		7.9667	7.9667	7.9667	7.9667	7.9667	
12. ITAug	3		7.9733	7.9733	7.9733	7.9733	7.9733	
13. KmSciMay	3		8.0067	8.0067	8.0067	8.0067	8.0067	
14. IDJan	3		8.1333	8.1333	8.1333	8.1333	8.1333	
15. SciAug	3		8.1367	8.1367	8.1367	8.1367	8.1367	
16. SciJan	3		8.1567	8.1567	8.1567	8.1567	8.1567	
17. KmSciJan	3		8.1633	8.1633	8.1633	8.1633	8.1633	
18. PraMay	3		8.2000	8.2000	8.2000	8.2000	8.2000	
19. ArcMay	3			8.4533	8.4533	8.4533	8.4533	
20. ITMay	3			8.4700	8.4700	8.4700	8.4700	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ ก-4 (ต่อ)

Place-time	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
21. KmSciAug	3			8.4733	8.4733	8.4733	8.4733	
22. PraJan	3			8.4867	8.4867	8.4867	8.4867	
23. ArcAug	3				8.8733	8.8733	8.8733	8.8733
24. AgrAug	3					9.1333	9.1333	9.1333
25. EngAug	3						9.4833	9.4833
26. IDAug	3						9.5733	9.5733
27. PraAug	3							10.1300
Sig.		.064	.060	.130	.074	.094	.051	.097

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางผนวกที่ ก-5 ตารางวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน(พีพีบี)ในตัวอย่างพริกป่น ที่เก็บในเดือนมกราคม เดือนพฤษภาคม และเดือนสิงหาคม 2554 คำนวณโดยใช้โปรแกรม SPSS 17.0

ตารางวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (ANOVA)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	18.116	2	9.058	5.741	.005
Within Groups	123.075	78	1.578		
Total	141.191	80			

ตารางผนวกที่ ก-6 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน(พีพีบี)ในตัวอย่างพริกป่น ที่เก็บในเดือนมกราคม เดือนพฤษภาคม และเดือนสิงหาคม 2554 โดยวิธี Duncan's new multiple range test คำนวณโดยใช้โปรแกรม SPSS 17.0

Duncan[a]

Month	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Jan	27	7.5478	
May	27	7.6352	
Aug	27		8.5919
Sig.		.799	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

[a] uses Harmonic Mean Sample Size = 27.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้