



## รายงานการวิจัย

การสำรวจปริมาณอะฟลาทอกซิน เอ็ม1 ในน้ำนม และ  
อะฟลาทอกซิน บี1 ในอาหารโคนม ในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์  
และชุมพร

Survey quantity of aflatoxins M1 in milk and aflatoxins B1  
in cow feed in Prachuapkhirikhan and Chumphon provinces

โดย

นายเทียมพบ ก้านเหลือง

นางดวงกมล แต่มช่วย

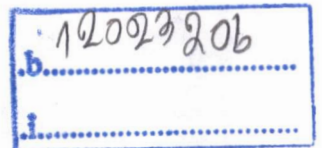
นางนงลักษณ์ เรืองวิเศษ

RCH  
SF  
206  
ทท53ก

เลขหมู่.....  
เลขทะเบียน..... 86404  
วัน,เดือน,ปี..... - 3 S.F. 2551

ที่ปรึกษา

นายสุเทพ เรืองวิเศษ



ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2549

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## รายละเอียดแบบรายงานโครงการวิจัย

### ชื่อโครงการวิจัย

การสำรวจปริมาณอะฟลาทอกซิน เอ็ม1 ในนํ้านม และอะฟลาทอกซิน บี1 ในอาหารโคนม  
ในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และชุมพร

Survey Quantity of Aflatoxins M1 in Milk and Aflatoxins B1 in Cow Feed in  
Prachuapkhirikhan and Chumphon Provinces

รายชื่อคณะผู้วิจัย พร้อมทั้งหน่วยงานที่สังกัด หมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ E-mail

แผนก/ภาควิชา	สาขาสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการผลิตสัตว์
กอง/คณะ	วิทยาเขตชุมพร
กรม/มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร
กระทรวง	ศึกษาธิการ
ที่อยู่	17/1 หมู่ 6 ตำบลชุมโค อำเภอปะทิว จังหวัดชุมพร 86160
โทรศัพท์	0-7750-6422
โทรสาร	0-7750-6410

### คณะผู้วิจัย

1. ผศ.ดร.สุเทพ เรืองวิเศษ ที่ปรึกษาโครงการ  
ภาควิชาสัตวแพทยสาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ถนน อังรีตุนังต์ เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330  
โทรศัพท์ 0-2218-9577-8

E-mail address : [Sutheprws@yahoo.com](mailto:Sutheprws@yahoo.com)

2. นายเทียมพบ ก้านเหลือง หัวหน้าโครงการ  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร  
ตำบล ชุมโค อำเภอปะทิว จังหวัดชุมพร 86160  
โทรศัพท์ 0-7750-6428 โทรสาร 0-7750-6434

E-mail address : [kkthiamp@kmitl.ac.th](mailto:kkthiamp@kmitl.ac.th)



## บทคัดย่อ

### การสำรวจปริมาณอะฟลาทอกซิน เอ็ม 1 ในนํ้านม และอะฟลาทอกซิน บี 1 ในอาหารโคนม ในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์และชุมพร

ดวงกมล แด้มช่วย<sup>1</sup> สุเทพ เรืองวิเศษ<sup>2</sup> นงลักษณ์ เรืองวิเศษ<sup>3</sup> เทียมพบ ก้านเหลือง<sup>1</sup>

<sup>1</sup>สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร

<sup>2</sup>ภาควิชาสัตวแพทยสาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<sup>3</sup>ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

โครงการวิจัยนี้เป็นการศึกษาสภาพการปนเปื้อนของสารพิษอะฟลาทอกซินในฟาร์มโคนม จังหวัดประจวบคีรีขันธ์และชุมพร เพื่อหาความสัมพันธ์ของปริมาณอะฟลาทอกซิน บี 1 ในอาหารที่ใช้เลี้ยงโคนม และปริมาณอะฟลาทอกซิน เอ็ม 1 ในนํ้านม โดยทำการเก็บตัวอย่างอาหารโคนมและตัวอย่างนํ้านมจากฟาร์มโคนม ในพื้นที่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์และชุมพร จำนวน 241 ฟาร์ม เก็บตัวอย่างอาหารโคนมและนํ้านม จำนวน 2 ครั้ง แบ่งการเก็บตัวอย่างเป็น 2 ฤดูกาล คือฤดูร้อน ระหว่างเดือนมีนาคม – เมษายน 2549 และฤดูฝน ระหว่างเดือนมิถุนายน – กรกฎาคม 2549 สกัดและวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซิน บี 1 ออกจากอาหารโคนมด้วยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) อ่านผลด้วยเครื่อง Densitometer ส่วนตัวอย่างนํ้านมสกัดอะฟลาทอกซิน เอ็ม 1 ด้วย Sep - Pak C<sub>18</sub> Cartridge วิเคราะห์และอ่านผลด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ปริมาณอะฟลาทอกซิน เอ็ม 1 มีค่าต่ำสุดเท่ากับ 0.001 ppb และมีค่าสูงสุดเท่ากับ 0.477 ppb ผลการศึกษา % recovery ของ Aflatoxin M1 ที่เติมในนํ้านมที่ความเข้มข้น 0.05, 0.25 และ 0.5 ppb มีค่าเท่ากับ 86.31% (n = 6), 90.08% (n = 6) และ 92.09% (n = 7) ตามลำดับ

## ABSTRACT

### Survey Quantity of Aflatoxin M1 in Milk and Aflatoxin B1 in Cow Feed in Prachuapkhirikhan and Chumphon Provinces

Taemchuay D<sup>1</sup>., Ruangwises S<sup>2</sup>., Ruangwises N<sup>3</sup>., Kanloun T<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Chumphon campus.

<sup>2</sup>Department Veterinary Public Health, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University.

<sup>3</sup>Department Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Mahidol University.

This project was designed to study the contamination of aflatoxin in dairy farms in Prachuapkhirikhan and Chumphon provinces. The purpose of the project was to determine the relationship between the amounts of aflatoxin B1 in cow feed and the amounts of aflatoxin M1 in milk. Cow feed and milk samples were collected from 241 farms in Prachuapkhirikhan and Chumphon provinces. Samples from each farm were collected twice : Summer (March – April 2006) and Rainy season (June – July 2006). Cow feed samples were extracted and analyzed for determination of aflatoxin B1 using Thin Layer Chromatography (TLC) and Densitometer. Milk samples were extracted and analyzed for determination of aflatoxin M1 using Sep - Pak C<sub>18</sub> Cartridge and High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The minimum of Aflatoxin M1 was 0.001 ppb and the maximum of Aflatoxin M1 was 0.477 ppb. The percent recovery of Aflatoxin M1 added to the milk samples in the concentration 0.05, 0.25 and 0.5 ppb respectively was 86.31% (n = 6), 90.08% (n = 6) and 92.09% (n = 7) respectively.

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่สนับสนุนงบประมาณประจำปี พ.ศ.2549 และ ผศ.ดร. สุเทพ เรืองวิเศษ ที่ปรึกษาโครงการวิจัย ซึ่งให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่าง ๆ ทำให้งานวิจัยนี้ดำเนินไปได้อย่างต่อเนื่องและสำเร็จลุล่วงได้ดี

ขอขอบคุณ สหกรณ์โคนมชุมพร และกลุ่มผู้เลี้ยงโคนมชุมโค จังหวัดชุมพร และ สหกรณ์โคนม บ้านเนินดินแดง สหกรณ์โคนมห้วยสัตว์ใหญ่ สหกรณ์โคนมกุยบุรี สหกรณ์โคนมประจวบคีรีขันธ์ สหกรณ์โคนมอำเภอน้อย และสหกรณ์โคนมบางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ที่ให้ความร่วมมือในการเก็บตัวอย่าง และประสานงานกับเกษตรกรโคนม

ขอขอบคุณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร ที่ให้การสนับสนุนการวิจัยในครั้งนี้ให้เป็นไปได้ด้วยดี



## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ซ
สารบัญรูป	ฅ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	<b>1</b>
<b>บทที่ 2 เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b>	<b>4</b>
<b>บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย</b>	<b>14</b>
<b>บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล</b>	<b>16</b>
<b>บทที่ 5 อภิปรายผล สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ</b>	<b>29</b>
<b>รายการอ้างอิง</b>	<b>31</b>
<b>ภาคผนวก</b>	<b>33</b>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของอะฟลาทอกซิน	6
2	ระดับการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินสูงสุดที่ยอมให้มีได้ ของสารพิษเชื้อราในอาหารสัตว์น้ำนมและผลิตภัณฑ์จากนม	12
3	ข้อกำหนดลักษณะอาหารสัตว์เสื่อมคุณภาพ	13
4	ปริมาณ Aflatoxin M1 ในน้ำนมดิบแต่ละฟาร์มของสหกรณ์โคนมชุมพร	16
5	ปริมาณ Aflatoxin M1 ในน้ำนมดิบแต่ละฟาร์มของกลุ่มผู้เลี้ยงโคนมชุมโค	18
6	ปริมาณ Aflatoxin M1 ในน้ำนมดิบแต่ละฟาร์มของสหกรณ์โคนมเนินดินแดง	19
7	ปริมาณ Aflatoxin M1 ในน้ำนมดิบแต่ละฟาร์มของสหกรณ์โคนมห้วยสัตว์ใหญ่	21
8	ปริมาณ Aflatoxin M1 ในน้ำนมดิบแต่ละฟาร์มของสหกรณ์โคนมกุยบุรี	22
9	ปริมาณ Aflatoxin M1 ในน้ำนมดิบแต่ละฟาร์มของสหกรณ์โคนมประจวบฯ	24
10	ปริมาณ Aflatoxin M1 ในน้ำนมดิบแต่ละฟาร์มของสหกรณ์โคนมบางสะพาน	25
11	ปริมาณ Aflatoxin M1 ในน้ำนมดิบแต่ละฟาร์มของสหกรณ์โคนมอ่าวน้อย	27

## สารบัญรูป

### รูปที่

- 1 โครงสร้าง Aflatoxin B1, B2, G1, G2
- 2 โครงสร้าง Aflatoxin M1, M2

### หน้า

5

5



# บทที่ 1

## บทนำ

อะฟลาทอกซิน (Aflatoxins) เป็นสารพิษจากเชื้อรา (Mycotoxins) ที่ผลิตขึ้นโดยเชื้อรา *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus paraciticus* ซึ่งสามารถเจริญเติบโตได้ดีในพวกธัญพืชต่างๆ และ วัตถุประสงค์ที่ใช้เป็นอาหารสัตว์ เช่น ข้าวโพด ถั่วลิสง ถั่วเหลือง กากมะพร้าว รำข้าว และปลาป่น เป็นต้น ในธรรมชาติสามารถพบ อะฟลาทอกซิน บี1 บี2 จี1 และ จี2 (Aflatoxins B1, B2, G1 and G2) รวมถึง เมทาบอลไลท์ของอะฟลาทอกซินทั้งสี่ชนิด ได้แก่ อะฟลาทอกซิน เอ็ม1 เอ็ม2 พี1 และ คิว1 (Aflatoxins M1, M2, P1 and Q1) โดยพบการปนเปื้อนของ อะฟลาทอกซิน บี1 ในธัญพืชต่างๆและวัตถุประสงค์ที่ใช้เป็นอาหารสัตว์มากที่สุด ดังนั้นเมื่อโคนมกินอาหารที่มีการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซิน บี1 เข้าไปในร่างกาย จะถูกดูดซึมที่ลำไส้เล็ก และกระจายเข้าสู่ระบบหมุนเวียนโลหิตไปยังตับแล้วถูกเปลี่ยนแปลงทางเคมี ได้เป็นเมทาบอลไลท์อะฟลาทอกซิน เอ็ม1 และถูกขับออกมาทางน้ำนม

อะฟลาทอกซิน เอ็ม1 เป็นสารที่ทนต่อความร้อน ความร้อนที่ใช้ในกระบวนการแปรรูปน้ำนมจึงไม่สามารถทำลาย อะฟลาทอกซิน เอ็ม1 ที่มีในน้ำนมได้ ดังนั้นในกระบวนการผลิตนม การทำให้นมเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogenization) การทำนมผง และการแปรรูปนมวิธีต่างๆ จึงทำให้สามารถตรวจพบอะฟลาทอกซิน เอ็ม1 ได้ทั้งในนมสดและผลิตภัณฑ์นมต่าง ๆ (Munksgaard *et al.*, 1987) ผู้บริโภคจึงอาจได้รับอันตรายจากการบริโภคนมและผลิตภัณฑ์นมที่ปนเปื้อนสารพิษชนิดนี้

การศึกษาทางพิษวิทยาแสดงให้เห็นว่าอะฟลาทอกซิน เอ็ม1 ทำให้เกิดมะเร็งที่ตับและลำไส้ใน สัตว์ทดลอง (cullen *et al.*, 1987) แม้ว่าจะได้รับการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซิน เอ็ม1 ในระดับต่ำ ก็อาจทำให้เกิดการสะสมอยู่ในร่างกายของผู้บริโภคจนถึงระดับที่ทำให้เกิดพิษได้ ด้วยเหตุนี้เองทำให้ประเทศต่างๆ ได้กำหนดค่ามาตรฐานเพื่อควบคุมปริมาณอะฟลาทอกซิน เอ็ม1 ในน้ำนมให้อยู่ในระดับที่ปลอดภัย ต่อผู้บริโภคโดยเฉพาะเด็กและทารก U.S. FDA กำหนดค่ามาตรฐานอะฟลาทอกซิน เอ็ม1 ในน้ำนม เท่ากับ 0.5 ppb (Wood, 1992) European Commission (EC) กำหนดมาตรฐานไว้ที่ 0.1 ppb แต่ อาจจะลดค่านี้อีกเนื่องจาก EC เชื่อว่าความเข้มข้นของอะฟลาทอกซิน เอ็ม1 ในน้ำนมที่ 0.1 ppb นี้ อาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพอนามัยของเด็กได้ (Donnelly, 1991) หลายประเทศในยุโรป เช่น เยอรมนี

ออสเตรเลีย เนเธอร์แลนด์ สวีเดน และสวิตเซอร์แลนด์ ได้กำหนดค่ามาตรฐานสำหรับอะฟลาทอกซิน เอ็ม1 ในน้ำมันที่ต่ำกว่าคือ 0.05 ppb (Van Egmond, 1989)

การกำหนดค่ามาตรฐานการปนเปื้อนโดยรัฐบาลของแต่ละประเทศมีความแตกต่างกันไป และเนื่องจากน้ำมันเป็นอาหารที่มนุษย์ทั่วโลกใช้บริโภคและมีการค้าระหว่างประเทศ ทำให้ต้องกำหนดค่ามาตรฐานสากลการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซิน เอ็ม1 ในน้ำมันและผลิตภัณฑ์นมเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค ดังนั้นคณะกรรมการ Codex ซึ่งเป็นผู้จัดทำค่ามาตรฐานสากลของวัตถุเจือปนและสารปนเปื้อนในอาหาร ได้เสนอไว้ว่าในน้ำมันควรมีระดับการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซิน เอ็ม1 ไม่เกิน 0.5 ppb (Codex, 2001) สำหรับประเทศไทยยังไม่มีกำหนดค่ามาตรฐานการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซิน เอ็ม1 ในน้ำมันไว้โดยเฉพาะ แต่อนุโลมให้ใช้ตามตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 18 พ.ศ. 2529 ที่กำหนดปริมาณการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินในอาหารไว้ไม่เกิน 20 ppb (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข, 2529) ซึ่งประกาศฉบับดังกล่าวของควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์ ได้กำหนดปริมาณอะฟลาทอกซินในอาหารโค โดยใช้ผลการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซินในอาหารโคที่มีจำหน่ายในประเทศ เนื่องจากทางกองฯ ยังไม่มีข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณอะฟลาทอกซิน บี1 ในอาหารโค และปริมาณอะฟลาทอกซิน เอ็ม1 ที่ถูกขับออกมาในน้ำมันที่ศึกษาในประเทศไทย ดังนั้นจึงยังไม่มีกำหนดมาตรฐานอะฟลาทอกซินในอาหารโคนมโดยเฉพาะ

จากการศึกษาของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา และกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ พบว่ามีการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซิน เอ็ม1 ในน้ำมันดิบที่เก็บจากสหกรณ์โคนม ระดับความเข้มข้น 0.15-0.80 ppb และยังตรวจพบอะฟลาทอกซิน เอ็ม1 ในนมพาสเจอร์ไรส์ที่จำหน่ายอยู่ในตลาด สูงถึง 6.56 ppb (อุมาและดวงจันทร์, 2537) แสดงให้เห็นว่าน้ำมันจากโคที่เลี้ยงในประเทศไทยมีอะฟลาทอกซิน เอ็ม1 ปนเปื้อนอยู่ในระดับที่สูงเมื่อเทียบกับค่ามาตรฐานของต่างประเทศ

การปนเปื้อนของอะฟลาทอกซิน เอ็ม1 ในน้ำมัน ก่อให้เกิดปัญหาทางสาธารณสุขเป็นอย่างมาก เนื่องจากการบริโภคน้ำมันที่มีการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซิน เอ็ม1 จะทำให้มีผลเสียต่อสุขภาพของผู้บริโภค โดยเฉพาะในกลุ่มทารกและเด็ก ซึ่งมีความต้านทานโรคและสิ่งแปลกปลอมน้อยกว่าผู้ใหญ่ และน้ำมันยังเป็นอาหารหลักที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง จึงนิยมบริโภคกันเป็นประจำ ทำให้ความต้องการในการบริโภคน้ำมันมีปริมาณสูงขึ้น ในเขตจังหวัดภาคใต้มีลักษณะภูมิอากาศที่มีฝนตกชุกเกือบตลอดทั้งปี ทำให้มีความชื้นในอากาศสูง ซึ่งเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราชนิดนี้ในวัตถุดิบอาหารสัตว์

เกษตรกรรมส่วนใหญ่ยังขาดความรู้ความเข้าใจในเรื่องสารพิษจากเชื้อรา จึงไม่ได้ให้ความสำคัญในเรื่องดังกล่าว จึงส่งผลให้วัตถุดิบอาหารสัตว์มีโอกาสเสี่ยงต่อการปนเปื้อนของสารพิษอะฟลาทอกซิน ปี 1 ในอาหารโคนมสูง ซึ่งสามารถขับออกมาเป็นอะฟลาทอกซิน เอ็ม 1 ในน้ำนมได้ ดังนั้นการควบคุมการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินเอ็ม 1 ในน้ำนมที่ดีที่สุด ก็คือ การควบคุมปริมาณอะฟลาทอกซิน ปี 1 ในวัตถุดิบและอาหารโคนม (FAO, 1997)

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร เป็นสถาบันการศึกษาในระดับอุดมศึกษาในเขตภาคใต้ตอนบน และได้จัดตั้งโรงงานแปรรูปน้ำนมพาสเจอร์ไรซ์ (โรงงานหลวงชุมพรเขตรอุดมศักดิ์) ซึ่งทำการผลิตน้ำนมพาสเจอร์ไรซ์สำหรับโครงการนมโรงเรียนให้กับนักเรียนและประชาชนในเขตภาคใต้ตอนบน (ชุมพร ระนอง สุราษฎร์ธานี) และจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ โดยรับซื้อน้ำนมดิบจากสหกรณ์โคนมในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์และจังหวัดชุมพร ดังนั้นจึงต้องทำการตรวจหาปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน เอ็ม 1 ในน้ำนม และปริมาณอะฟลาทอกซิน ปี 1 ในอาหารโคนม ว่ามีค่าเกินจากค่ามาตรฐานที่ Codex กำหนดไว้หรือไม่ และหาแนวทางในการควบคุมและป้องกันการปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซินทั้งในอาหารเลี้ยงโคนม และในน้ำนมให้อยู่ในระดับที่ปลอดภัย เพื่อป้องกันอันตรายแก่ผู้บริโภคนมและผลิตภัณฑ์นมได้

การวิจัยครั้งนี้ จะทำการศึกษาสภาพการปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซินในฟาร์มโคนมจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และจังหวัดชุมพร โดยศึกษาหาปริมาณอะฟลาทอกซิน ปี 1 ในอาหารที่ใช้เลี้ยงโคนม และปริมาณอะฟลาทอกซิน เอ็ม 1 ในน้ำนม ซึ่งผลการศึกษาที่ได้จะมีความสำคัญอย่างยิ่งในการนำไปเป็นข้อมูลเบื้องต้น สำหรับการกำหนดมาตรฐานอะฟลาทอกซินในอาหารโคนม และการศึกษาหาแนวทางการควบคุมการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน ในอาหารโคนม และในน้ำนม มิให้เกิดจากค่ามาตรฐานที่ Codex กำหนดไว้

## บทที่ 2

### เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 อะฟลาทอกซินบี 1 และเอ็ม1 (Aflatoxin B1 and Aflatoxin M1)

อะฟลาทอกซินเป็นสารพิษที่ผลิตโดยเชื้อรา *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus paraciticus* สปอร์ของเชื้อราสามารถแพร่กระจายได้ในอากาศและดินโดยแมลง นก และสัตว์ฟันแทะ เชื้อราจะเจริญเติบโตและผลิตอะฟลาทอกซินได้ภายใน 24-48 ชั่วโมง (Yoshizawa, 1991) สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา ประกอบด้วยสภาพที่มีความชื้นมากกว่า 13% ความชื้นสัมพัทธ์อากาศมากกว่า 70% อุณหภูมิมากกว่า 13 °C ความเป็นกรด - ด่างของอาหารประมาณ 4-5 มีปริมาณออกซิเจนและอาหารอย่างเพียงพอ (Mahanna, 1999) อะฟลาทอกซินที่พบตามธรรมชาติมี 4 ชนิดคือ อะฟลาทอกซิน บี1 บี2 จี1 และจี2 (Aflatoxins B1, B2, G1 and G2) เมื่อเปรียบเทียบอะฟลาทอกซินทั้ง 4 ชนิดนี้แล้วพบว่าอะฟลาทอกซิน บี1 เป็นสารพิษที่เชื้อราผลิตได้มากที่สุด มีปริมาณการปนเปื้อนสูงที่สุดและมีความรุนแรงในการทำให้เกิดพิษสูง

อะฟลาทอกซิน บี1 เป็นสารพิษที่ทนความร้อนได้ถึง 269 °C ดังนั้นกระบวนการแปรรูปอาหารไม่สามารถทำลายได้ทั้งหมด (Applebaum *et al.*, 1982) อะฟลาทอกซิน บี1 ที่เข้าไปในร่างกายจะถูกดูดซึมที่ลำไส้เล็กและกระจายเข้าสู่ระบบหมุนเวียนโลหิตไปยังตับ แล้วถูกเปลี่ยนแปลงทางเคมีได้เป็นเมทาบอลไลท์หลายชนิด เช่น อะฟลาทอกซิน เอ็ม1 พี1 และคิว1 (Aflatoxins M1, P2 and Q1) อะฟลาทอกซิน บี1 มีความเป็นพิษรุนแรงต่อตับ ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ของเซลล์ ความผิดปกติทางพันธุกรรมกดภูมิคุ้มกัน และเป็นสารก่อมะเร็ง มีข้อมูลที่แสดงความสัมพันธ์เชิงระบาดวิทยาระหว่างการได้รับอะฟลาทอกซินในอาหารกับการเกิดมะเร็งในมนุษย์ (Coulome, 1994 ; Cullen, 1994) สถาบันวิจัยมะเร็งนานาชาติ (International Agency for Research on Cancer, IARC) จึงได้จัดให้อะฟลาทอกซิน บี1 เป็นสารก่อมะเร็งในกลุ่ม 1A คือเป็นสารก่อมะเร็งในมนุษย์ (Hendrick, 1994)

อะฟลาทอกซิน เอ็ม1 เป็นเมทาบอลไลท์ของอะฟลาทอกซิน บี1 ซึ่งถูกขับออกทางน้ำนมได้มากที่สุด มีฤทธิ์เป็นอันตรายต่อสารพันธุกรรมต่ำกว่าอะฟลาทอกซิน บี1 เพียง 2 เท่า และมีฤทธิ์ก่อการกลายพันธุ์ต่ำกว่าอะฟลาทอกซิน บี1 ประมาณ 3.2 เท่า (Green *et al.*, 1982) สถาบันวิจัยมะเร็งนานาชาติ

(International Agency for Research on Cancer, IARC) จึงได้จัดให้อะฟลาทอกซิน เอ็ม1 เป็นสารก่อมะเร็งในกลุ่ม 2B คือเป็นสารที่อาจจะทำให้เกิดมะเร็งในมนุษย์ได้

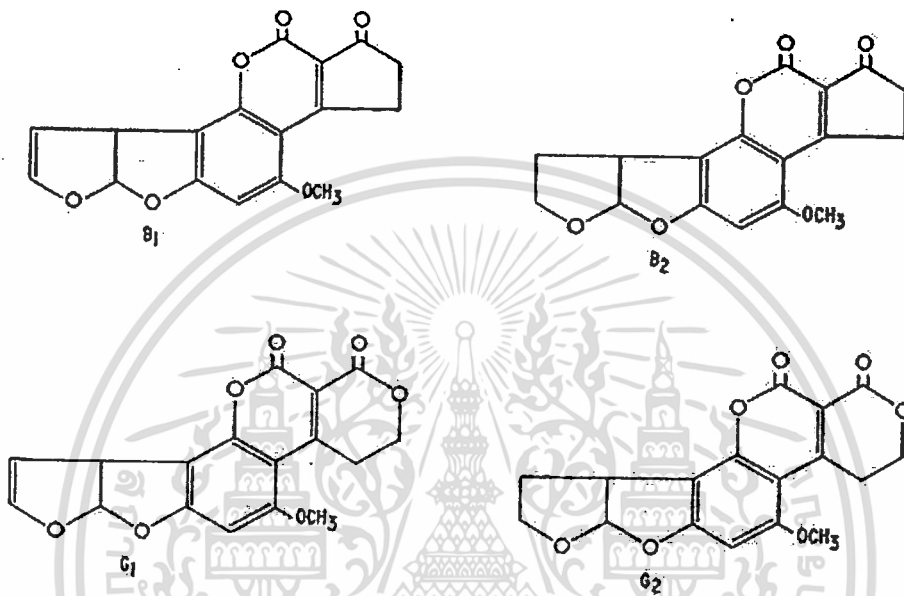


Fig. 1 Structures of aflatoxins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, and G<sub>2</sub>.

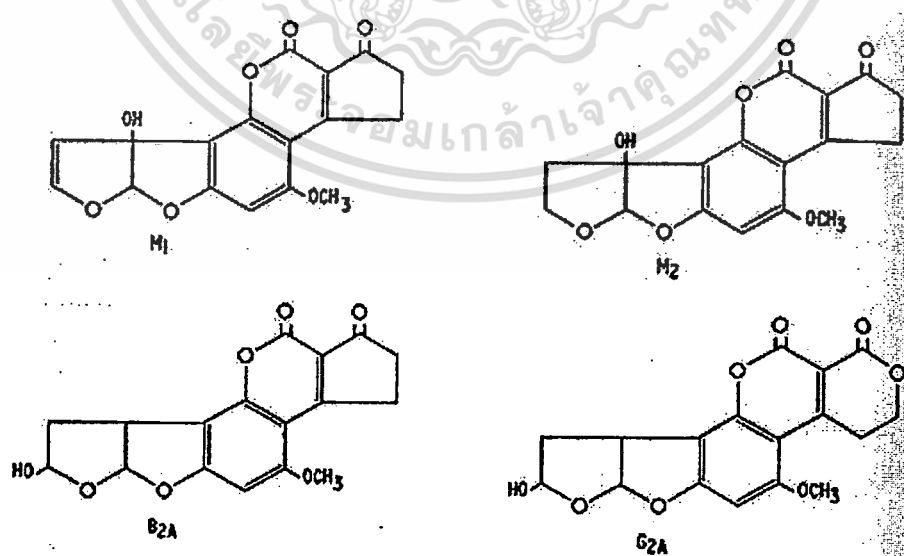


Fig. 2 Structures of aflatoxins M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub>, B<sub>2A</sub>, and G<sub>2A</sub>.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของอะฟลาทอกซิน

Aflatoxin	Molecular formula	Molecular weight	Melting point
B <sub>1</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	312	268-269
B <sub>2</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	314	286-289
G <sub>1</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	328	244-246
G <sub>2</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	330	237-240
M <sub>1</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	328	299
M <sub>2</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	330	293
B <sub>2A</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	330	240
G <sub>2A</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>8</sub>	346	190

การศึกษาทางเภสัชจลนศาสตร์ แสดงให้เห็นว่าอะฟลาทอกซิน เอ็ม1 เริ่มถูกขับออกมาในน้ำนม 12 ชั่วโมงภายหลังจากโคได้กินอาหารที่ปนเปื้อนด้วยอะฟลาทอกซิน บี1 และถูกขับออกมาสูงสุดที่ 24 ชั่วโมง แล้วจึงลดลง (Frobish et al., 1986) จากการศึกษาพบว่าปริมาณอะฟลาทอกซิน เอ็ม1 ที่ถูกขับออกมาในน้ำนมมีความสัมพันธ์กับปริมาณอะฟลาทอกซิน บี1 ที่โคกินเข้าไปในแต่ละวัน จึงสามารถนำความสัมพันธ์นี้มาใช้ในการคำนวณปริมาณอะฟลาทอกซิน บี1 ในอาหารโคนม เพื่อควบคุมระดับของอะฟลาทอกซิน เอ็ม1 ในน้ำนมมิให้เกินไปจากค่าความปลอดภัยมาตรฐานสากล

U.S. FDA กำหนดให้อาหารโคนมมีอะฟลาทอกซิน บี1 ปนเปื้อนในอาหารโคนมได้ไม่เกิน 20 ppb (Wood, 1992)

European Commission (EC) กำหนดให้อาหารโคนมมีอะฟลาทอกซิน บี1 ปนเปื้อนได้ไม่เกิน 10 ppb (Pettersson, 1989)

สำหรับประเทศไทย ได้กำหนดมาตรฐานการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินในอาหารโคนม ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่องกำหนดลักษณะของอาหารสัตว์เสื่อมคุณภาพ (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2537 กำหนดให้วัตถุดิบประเภทกากถั่วเหลือง มีปริมาณอะฟลาทอกซินได้ไม่มากกว่า 50 ไมโครกรัมต่อหนึ่งกิโลกรัม กากถั่วลิสง ข้าวโพดปน และข้าวโพดเมล็ด มีปริมาณอะฟลาทอกซินได้ไม่มากกว่า 500 ไมโครกรัมต่อหนึ่งกิโลกรัม ส่วนวัตถุดิบที่ผสมแล้วกำหนดให้อาหารสำเร็จรูปโคอายุไม่เกิน 1 ปี มีปริมาณอะฟลาทอกซินได้ไม่มากกว่า 100 ไมโครกรัมต่อหนึ่งกิโลกรัม และอาหารสำเร็จรูปโคอายุตั้งแต่ 1 ปีขึ้นไป มีปริมาณอะฟลาทอกซินได้ไม่มากกว่า 200 ไมโครกรัมต่อหนึ่งกิโลกรัม ซึ่งประกาศฉบับดังกล่าวคง

ควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์ ได้กำหนดปริมาณอะฟลาทอกซินในอาหารโค โดยใช้ผลการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซินในอาหารโคที่มีจำหน่ายในประเทศ เนื่องจากทางกองฯ ยังไม่มีข้อมูลเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณอะฟลาทอกซิน บี1 ในอาหารโค และปริมาณอะฟลาทอกซิน เอ็ม1 ที่ถูกขับออกมาในน้ำนมที่ศึกษาในประเทศไทย ดังนั้นจึงยังไม่มีกำหนดมาตรฐานอะฟลาทอกซินในอาหารโคนมโดยเฉพาะ

## 2.2 รายงานการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในอาหารโคนมและน้ำนมดิบในประเทศไทย

กรมปศุสัตว์ (2544) ได้เก็บตัวอย่างวัตถุดิบและอาหารโคนมในระหว่างปี พ.ศ. 2539 ถึง 2540 จำนวนทั้งสิ้น 1,709 ตัวอย่าง แบ่งเป็นวัตถุดิบชนิดต่างๆ ได้แก่ กากมะพร้าว กากถั่วลิสง กากปาล์ม ข้าวโพด กากถั่วเหลือง รำละเอียด มันเส้น และอาหารสำเร็จรูป ทำการตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินโดยวิธี Immunoaffinity column (Aflatest<sup>®</sup>, Vicam USA) แล้วอ่านผลด้วย Spectrofluorometer พบว่าปริมาณอะฟลาทอกซินเฉลี่ย 139.3, 229.5, 22.5, 73.4, 12.5, 7.7, 3.47 และ 19.49 ไมโครกรัมต่อหนึ่งกิโลกรัมตามลำดับ และผลการตรวจในอาหารหยาบ พบว่าหญ้าสดไม่มีการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซิน แต่ในต้นข้าวโพดแห้งสามารถตรวจพบได้ตั้งแต่ 0-10 ppb และฝักข้าวโพดพบได้ในปริมาณสูงถึง 13 ppb

สุเทพและเบญจมาศ (2539) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณอะฟลาทอกซินในอาหารและในน้ำนมของโคนมในเขตจังหวัดนครปฐม – สุพรรณบุรี จำนวน 4 ฟาร์ม ใช้โคนมทั้งหมด 9 ตัว โดยมีตัวอย่างอาหารชั้นทั้งหมด 60 ตัวอย่าง แบ่งเป็นอาหารสำเร็จรูปชนิดเม็ด 42 ตัวอย่าง และอาหารชนิดผสมเปลือกถั่วเหลืองและมันสำปะหลัง 18 ตัวอย่าง ทำการสกัดด้วย silica gel column แล้วอ่านผลด้วย Densitometer พบว่ามีการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินทุกตัวอย่าง โดยอาหารสำเร็จรูปชนิดเม็ดมีปริมาณอะฟลาทอกซิน 26-52 ppb และในอาหารชนิดผสมเปลือกถั่วเหลืองและมันสำปะหลังมีปริมาณอะฟลาทอกซิน 16-45 ppb ส่วนในน้ำนมเก็บตัวอย่างจากแม่โครายตัว 308 ตัวอย่าง นำมาสกัดด้วย C<sub>18</sub> Sep Pak และ Silica gel minicolumn อ่านผลด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatographs (HPLC) พบว่ามีปริมาณการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซิน เอ็ม1 ทุกตัวอย่าง โดยมีปริมาณตั้งแต่ 0.01-1.44 ppb

อุมาและดวงจันทร์ (2537) เก็บตัวอย่างน้ำนมดิบจากถังรวม จำนวน 47 ตัวอย่าง ทำการวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซิน เอ็ม1 ด้วยวิธี HPLC พบว่ามีการปนเปื้อน 12 ตัวอย่างและมีปริมาณการปนเปื้อนตั้งแต่ 0.15-0.84 ppb

Saitanu (1997) ทำการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ อะฟลาทอกซิน เอ็ม1 ในตัวอย่างน้ำนมดิบที่เก็บจากศูนย์รวมน้ำนม จำนวน 67 ตัวอย่าง พบว่ามี 1 ตัวอย่างที่ตรวจไม่พบการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซิน เอ็ม1 การปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน เอ็ม1 ในระดับ 0 - 0.05 ppb ตรวจพบ 9 ตัวอย่าง ระดับ 0.05 - 0.25 ppb ตรวจพบ 35 ตัวอย่าง ระดับ 0.25 - 0.5 ppb ตรวจพบ 5 ตัวอย่าง และระดับ 0.5 ppb ตรวจพบ 17 ตัวอย่าง

ความแตกต่างของปริมาณอะฟลาทอกซิน บี1 ที่พบในวัตถุดิบและอาหารสำเร็จรูปต่างๆ ส่วนหนึ่งเกิดจากความแตกต่างของชนิด ลักษณะ แหล่งที่มา และระยะเวลาในการเก็บรักษาของวัตถุดิบ ซึ่งจะส่งผลทำให้เกิดความแตกต่างของปริมาณอะฟลาทอกซิน เอ็ม1 ในน้ำนมจากแม่โคด้วย

### 2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา

ในกระบวนการของการผลิตอาหารชั้นสำหรับโคนมนั้น มีปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา มีอยู่ 3 ปัจจัย คือ ชนิดและสายพันธุ์ของเชื้อรา อาหารที่เชื้อราต้องการ และสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม

#### ชนิดและสายพันธุ์ของเชื้อรา

เชื้อราในตระกูล *Aspergillus* มีทั้งหมด 18 กลุ่ม (Serogroups) 132 สายพันธุ์ (Species) และ 18 ชนิด (Varieties) เชื้อชนิดที่สามารถสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน ได้แก่ *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. nomius*, *A. niger*, *A. wentii*, และ *A. rubber* และมีเชื้อราตระกูล *Penicillium spp.* บางสายพันธุ์ที่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้ (Wilson and Payne, 1994) *A. flavus* และ *A. parasiticus* เป็นเชื้อรา 2 ชนิดที่แยกได้จากวัตถุดิบมากกว่า 80% ของเชื้อราที่พบทั้งหมด Shotwell (1991) แยกเชื้อราจากข้าวโพดอาหารสำเร็จรูป และพืชอาหารสัตว์อื่นๆ พบว่า เป็นเชื้อรา *A. flavus* 80% และ 90% ของอะฟลาทอกซินที่ตรวจพบเป็นอะฟลาทอกซิน บี1 Moss (1991) ศึกษาการเพาะเชื้อ *A. flavus* และ *A. parasiticus* จากวัตถุดิบ พบว่าเชื้อราที่แยกได้จากถั่วลิสง และเมล็ดฝ้าย สามารถผลิตอะฟลาทอกซินได้ประมาณ 74 - 100% แต่มีเชื้อราเพียง 20 - 58% ที่เพาะแยกได้จากข้าวเท่านั้นที่ผลิตอะฟลาทอกซิน จะเห็นได้ว่ากา

ตรวจพบเชื้อราไม่ได้หมายความว่าจะมีอะฟลาทอกซินอยู่มากหรือน้อย และในขณะเดียวกันการไม่พบเชื้อรา ก็ไม่ได้หมายความว่าไม่มีอะฟลาทอกซิน เพราะถ้าอาหารและสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม เชื้อราจะถูกลดปริมาณลงแต่อะฟลาทอกซินที่เชื้อราผลิตนั้นมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมและความร้อน ดังนั้นการตรวจสอบระดับการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินในอาหาร ควรวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซินโดยตรงจะได้ค่าที่แท้จริงกว่าการเพาะเชื้อ

### อาหารที่เชื้อราต้องการ

โครงสร้างทางเคมีของอะฟลาทอกซิน ประกอบด้วยธาตุคาร์บอนเป็นองค์ประกอบหลัก ธาตุคาร์บอนที่ได้มาจากโปรตีน ไขมันและคาร์โบไฮเดรตที่มีอยู่ในอาหาร เมื่อเชื้อราดูดซึมสารอาหารผ่านผนังเซลล์ เข้าสู่กระบวนการเผาผลาญ (Metabolism) ของสิ่งมีชีวิต เพื่อผลิตพลังงานไว้ใช้ในการดำรงชีวิต แต่ถ้ากระบวนการ Metabolism ถูกขัดขวางหรือยังไม่สิ้นสุด เชื้อราจะผลิตสารเมทาโบไลต์ชนิดที่ 2 ( $2^{\text{nd}}$  Metabolite) ขึ้นมา ซึ่งอะฟลาทอกซินนั้นเป็นเมทาโบไลต์ชนิดที่ 2 เชื้อราอาศัยกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนและไขมันเพื่อสร้าง Acetate unit ซึ่งใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับการผลิตอะฟลาทอกซิน พืชที่มีองค์ประกอบของกลุ่มกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง (Polyunsaturated fatty acid) จะถูกออกซิไดส์ได้ง่าย กลายเป็นแหล่งคาร์บอน (Carbon source promoting) ให้เชื้อราใช้ในการเจริญเติบโตและสร้างสารพิษ มีการทดลองเพาะเชื้อ *A. parasiticus* บนเมล็ดทานตะวันและถั่วลิสง ซึ่งเมล็ดทานตะวันมีส่วนประกอบของ linoleic acid 75% ส่วนถั่วลิสงมีส่วนประกอบของ linoleic acid เพียง 29% เมื่อทำการตรวจปริมาณอะฟลาทอกซิน พบว่าเมล็ดทานตะวันมีอะฟลาทอกซินปนเปื้อนในปริมาณถึง 712  $\mu\text{g/g}$  ในขณะที่ถั่วลิสงพบเพียง 335  $\mu\text{g/g}$  (Zaika and Buchanan, 1987)

Mehan และคณะ (1991) รายงานถึงความสัมพันธ์ของการเจริญเติบโต และสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. parasiticus* ในกลุ่มธัญพืชหลายชนิด เช่น พืชตระกูลถั่ว พืชที่มีหัวใต้ดิน และเมล็ดพืช โดยจัดแบ่งพืชเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยพืชที่มีแป้งเป็นส่วนประกอบหลัก กลุ่มที่ 2 เป็นพืชที่มีส่วนประกอบเป็นไขมันในปริมาณสูง และกลุ่มที่ 3 เป็นพืชที่มีส่วนประกอบเป็นโปรตีนในปริมาณที่สูง พบว่า เชื้อราสามารถเจริญเติบโตได้ดีในพืชกลุ่มที่ 1 และ 2 และพบว่าในกลุ่มที่ 2 เชื้อราสามารถผลิตอะฟลาทอกซินได้สูงสุดในปริมาณตั้งแต่ 4.4 – 1,223  $\mu\text{g/g}$  ส่วนในกลุ่มที่ 1 และ 3 พบว่าเชื้อราสามารถผลิตอะฟลาทอกซินได้ในปริมาณ 0.1 – 172 และ 0.9 – 10.2  $\mu\text{g/g}$  ตามลำดับ Moss (1991) รายงานว่าการผลิตอะฟลาทอกซินในปริมาณที่สูงจะสัมพันธ์กับพืชที่มีองค์ประกอบเป็นไขมันและโปรตีนในสัดส่วนที่สูง นอกจากนี้ Zaika และ Buchanan (1987) รายงานว่าเชื้อราต้องการวิตามินและแร่

ธาตุอีกหลายชนิดสำหรับการเจริญเติบโตและสร้างสารพิษ โดยเฉพาะ สังกะสี (Zinc) เป็นแร่ธาตุที่จำเป็นมากสำหรับการสังเคราะห์อะฟลาทอกซิน เนื่องจากเป็นส่วนสำคัญในการเปลี่ยนแปลงสารตั้งต้นและเอนไซม์ที่ใช้เพื่อเปลี่ยนโครงสร้างของ Acetate units ไปเป็น อะฟลาทอกซิน นอกจากนี้สารอาหารที่เชื้อราต้องการแล้วยังพบว่าสมบัติทางเคมีของอาหารก็มีผลต่อการเจริญเติบโตและสร้างสารพิษด้วย โดย Mahanna (1999) รายงานว่าความเป็นกรด - ด่าง ที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตและสร้างสารพิษของเชื้อราควรอยู่ที่ประมาณ 4 - 5 Samarajeewa (1991) รายงานว่าการหมักในขั้นตอนการทำเบียร์ทำให้ค่าความเป็นกรด - ด่างในวัตถุดิบลดลง แต่ไม่สามารถกำจัดอะฟลาทอกซินได้ทั้งหมด โดยยังมีอะฟลาทอกซินตกค้างอยู่ประมาณ 18 - 27% ของปริมาณที่ตรวจพบในครั้งแรกซึ่งมีค่าประมาณ 1 - 10 ppb

## สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม

### 1. ความชื้น

ความชื้นที่พบในวัตถุดิบมาจาก 3 ทาง คือ ความชื้นที่มีตามธรรมชาติในวัตถุดิบ ความชื้นจากกระบวนการผลิต และความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ Dickens (1997) รายงานว่าสำหรับการผลิตอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงที่มีความชื้น 15% ที่อุณหภูมิ 32.2 °C ใช้เวลานานเพียง 2 วันหลังการเพาะเชื้อเท่านั้น แต่ในถั่วลิสงที่มีความชื้น 20% ที่อุณหภูมิ 21.1 °C ใช้เวลานานถึง 4 วัน Sahin และ Cerci (1994) รายงานว่าการเปลี่ยนแปลงความชื้นของข้าวโพดจาก 12.20% เป็น 16.65% ทำให้ปริมาณอะฟลาทอกซินเพิ่มขึ้นจาก 3.36 ppb เป็น 11.12 ppb และรายงานเพิ่มเติมว่าการป้องกันไม่ให้เชื้อราในกลุ่ม *Aspergillus* เจริญเติบโตต้องควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ให้ต่ำกว่า 65% หรือควบคุมปริมาณน้ำที่จุลินทรีย์ใช้ประโยชน์ได้ (Water activity,  $a_w$ ) ให้น้อยกว่า 0.7

### 2. อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในการเก็บรักษาวัตถุดิบและอาหาร

อุณหภูมิที่เหมาะสม สำหรับการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. flavus* ประมาณที่ 25 °C และ *A. parasiticus* อยู่ในช่วง 25 - 35 °C ส่วนอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการสร้างอะฟลาทอกซินอยู่ระหว่าง 25 - 28 °C (Gourama and Bullerman, 1995) Aidoo (1991) อ้างถึงรายงานของ Hall (1969) ในรายงานอุณหภูมิสูงสุดและต่ำสุด ที่เชื้อราสามารถผลิตอะฟลาทอกซินได้ คืออยู่ที่อุณหภูมิ 13°C ± 1°C เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อที่ความชื้นสัมพัทธ์ 98 ± 1% เป็นเวลา 21 วัน และอุณหภูมิ 41.5 °C ± 1.5 °C เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อที่ความชื้นสัมพัทธ์ 98 ± 1% เป็นเวลา 12 วัน นอกจากนี้เชื้อรา *Aspergillus* ยังต้องการความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 70% สำหรับการเจริญเติบโต Bhatnagar (1994) รายงานว่า

ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 24 – 34 °C ความชื้น 14 – 30% เชื้อราสามารถเจริญเติบโตและสร้างสารพิษได้ในเวลา 7 – 14 วัน โดยสารพิษอะฟลาทอกซินจะถูกสร้างสูงสุดในวันที่ 7 แล้วค่อยๆ ลดลงจนถึงวันที่ 10 Gourama และ Bullerman (1995) รายงานว่าเมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อภายใต้อุณหภูมิ 24 °C เชื้อราจะผลิตสารพิษอะฟลาทอกซินได้สูงสุดในวันที่ 4–7

### 3. ปริมาณอากาศหรือออกซิเจน

เชื้อราต้องการออกซิเจนไปใช้ในกระบวนการ Hexose monophosphate pathway ซึ่งให้ผลผลิตเป็นกลูโคสเพื่อใช้เป็นพลังงานในการดำรงชีวิต และเชื้อรายังใช้ออกซิเจนในการเร่งกลูโคสที่ผลิตได้ให้เข้าสู่วงจรกรดซิตริก (Citric acid cycle) แล้วเปลี่ยนเป็น Acetate เพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตอะฟลาทอกซิน (Zaika and Buchanan, 1987) ปริมาณออกซิเจนที่ลดลงจึงมีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา และการสังเคราะห์อะฟลาทอกซินให้น้อยลงด้วย แต่ต้องเป็นการลดลงในปริมาณที่มาก จึงจะเห็นผลต่อการลดของอะฟลาทอกซินอย่างชัดเจน Moss (1991) พบว่าเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้น CO<sub>2</sub> ในอากาศจาก 0.03% (ซึ่งเป็นความเข้มข้นในอากาศปกติ) เป็น 20% ภายใต้อุณหภูมิ 25 °C ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ 99% ทำให้เชื้อราผลิตอะฟลาทอกซินลดลง 75% แต่ถ้าอุณหภูมิลดลงเหลือ 17 °C และความชื้นสัมพัทธ์อยู่ระหว่าง 86 – 92% การผลิตอะฟลาทอกซินจะถูกยับยั้งได้ทั้งหมด

### 4. ระยะเวลาในการเก็บรักษา

การเจริญเติบโตและสร้างสารพิษของเชื้อราจะใช้เวลาที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับปัจจัยที่กล่าวมาข้างต้น ในวัตถุดิบชนิดเดียวกัน อุณหภูมิ ความชื้น ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ และปริมาณอากาศแตกต่างกันทำให้ระยะเวลาที่เชื้อราจะเจริญและสร้างสารพิษนั้นต่างกัน Sahin และ Cerci (1994) ศึกษาสภาวะการเก็บรักษาอาหารสำเร็จรูปสำหรับโค ในสภาพที่มีการหมุนเวียนอากาศไม่ดีนัก โดยแบ่งระยะเวลาการเก็บรักษาออกเป็น 4 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ระยะเวลาการเก็บรักษา 1 – 3 วัน กลุ่มที่ 2 ระยะเวลาการเก็บรักษา 4 – 8 วัน กลุ่มที่ 3 ระยะเวลาการเก็บรักษา 9 – 15 วัน และกลุ่มที่ 4 ระยะเวลาการเก็บรักษา 16 – 30 วัน พบว่า เมื่อเริ่มต้นอาหารสำเร็จรูปมีความชื้นประมาณ 12.20% หลังจากทำการศึกษาแล้ว ปรากฏว่าทั้ง 4 กลุ่มมีความชื้นเพิ่มขึ้นในระดับที่แตกต่างกันจนถึงสูงสุดที่ 16.65% และพบการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซิน ปี 1 ในกลุ่มที่ 3 และ 4 เพิ่มขึ้นในปริมาณ 3.36 และ 11.12 ppb ตามลำดับ เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ความชื้น ระยะเวลาในการเก็บรักษา และปริมาณอะฟลาทอกซิน ปี 1 ที่เปลี่ยนแปลง พบว่าค่าต่างๆเหล่านี้มีความสัมพันธ์กันทางสถิติ

## 5. การแตกหักของเมล็ดหรือฝัก

การแตกหักของเมล็ด เนื่องจากการกัดแทะ ของแมลง นก และสัตว์ฟันแทะ ทำให้เชื้อรามีโอกาสเข้าสู่เมล็ด และใช้เป็นแหล่งอาหารสำหรับการเจริญเติบโตและสร้างสารพิษได้ง่ายขึ้น

### 2.4 การกำหนดปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในอาหารสัตว์และน้านม

ระดับการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินสูงสุดที่ยอมให้มีได้ (Maximum tolerated level) ของสารพิษเชื้อราในอาหารสัตว์ น้านมและผลิตภัณฑ์จากนมของแต่ละประเทศที่ได้กำหนดไว้ ซึ่งรวบรวมโดย FAO (1995)

ตารางที่ 2 ระดับการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินสูงสุดที่ยอมให้มีได้ ของสารพิษเชื้อราในอาหารสัตว์น้านมและผลิตภัณฑ์จากนม

ประเทศ	ประเภทอาหาร	สารพิษจากเชื้อรา	ระดับสูงสุดที่ยอมให้มีได้ (ppb)
USA	Wholemilk, skim milk, low fat milk	M1	0.5
USA	Feedstuffs	B1, B2, G1, G2	20
	Cottonseed meal	B1, B2, G1, G2	300
	Peanut product	B1, B2, G1, G2	100
EU	Feedstuffs	B1	50
	Groundnut, copra, palmnut, Cottonseed	B1	20
EU	Milk, Milk powder	M1	0.05
Brazil	Peanut meal	B1, B2, G1, G2	50
India	Peanut meal	B1, B2, G1, G2	120
Thailand	All food	B1, B2, G1, G2	20

ที่มา : ดัดแปลงจาก FAO (1995)

สำหรับประเทศไทยยังไม่มีข้อกำหนดค่ามาตรฐานการปนเปื้อนของ AFM 1 ในน้านม แต่อนุโลมให้ใช้ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 พ.ศ. 2529 ที่กำหนดปริมาณการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินรวมในอาหารได้ไม่เกิน 20 ppb สำหรับวัตถุดิบอาหารสัตว์ในโคนมนั้น การกำหนดปริมาณการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินอนุโลมให้ใช้ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ พ.ศ. 2537 เรื่อง

กำหนดลักษณะอาหารสัตว์เสื่อมคุณภาพ ซึ่งระบุรายละเอียดไว้เฉพาะ กากถั่วเหลือง กากถั่วลิสง ปลาปน  
รำข้าว (รำละเอียด รำหยาบ รำสกัดน้ำมัน) ข้าวโพดปน ข้าวโพดเมล็ด หัวอาหารสัตว์ สำหรับไก่ เป็ด  
สุกร และโค กระบือ อาหารสำเร็จรูป สำหรับไก่ไข่ ไก่เนื้อ เป็ด สุกร และโค

### ตารางที่ 3 ข้อกำหนดลักษณะอาหารสัตว์เสื่อมคุณภาพ

ชนิดอาหารสัตว์	ปริมาณอะฟลาทอกซิน (ppb)
กากถั่วเหลือง	> 50 ไมโครกรัมต่อ 1 กิโลกรัม
กากถั่วลิสง	> 500 ไมโครกรัมต่อ 1 กิโลกรัม
ปลาปน	> 40 ไมโครกรัมต่อ 1 กิโลกรัม
ข้าวโพดปน	> 100 ไมโครกรัมต่อ 1 กิโลกรัม
ข้าวโพดเมล็ด	> 100 ไมโครกรัมต่อ 1 กิโลกรัม
รำข้าว รำละเอียด รำสกัดน้ำมัน	> 50 ไมโครกรัมต่อ 1 กิโลกรัม
หัวอาหารไก่	> 50 ไมโครกรัมต่อ 1 กิโลกรัม
หัวอาหารเป็ด	> 50 ไมโครกรัมต่อ 1 กิโลกรัม
หัวอาหารโค กระบือ	> 100 ไมโครกรัมต่อ 1 กิโลกรัม
หัวอาหารสุกร	> 50 ไมโครกรัมต่อ 1 กิโลกรัม
อาหารสำเร็จรูปไก่ไข่	> 100 ไมโครกรัมต่อ 1 กิโลกรัม
อาหารสำเร็จรูปไก่เนื้อ	> 100 ไมโครกรัมต่อ 1 กิโลกรัม
อาหารสำเร็จรูปเป็ด	> 30 ไมโครกรัมต่อ 1 กิโลกรัม
อาหารสำเร็จรูปสุกรแรกเกิดถึงน้ำหนัก 15 กก.	> 50 ไมโครกรัมต่อ 1 กิโลกรัม
อาหารสำเร็จรูปสุกรน้ำหนัก 15 กก.ขึ้นไป	> 100 ไมโครกรัมต่อ 1 กิโลกรัม
อาหารสำเร็จรูปโคอายุไม่เกิน 1 ปี	> 100 ไมโครกรัมต่อ 1 กิโลกรัม
อาหารสำเร็จรูปโคอายุตั้งแต่ 1 ปีขึ้นไป	> 200 ไมโครกรัมต่อ 1 กิโลกรัม

ที่มา : ดัดแปลงจากประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (2537)

### บทที่ 3

#### วิธีดำเนินการวิจัย

##### 3.1 สหกรณ์โคนม

สหกรณ์โคนมที่เข้าร่วมโครงการทั้งสิ้น 8 แห่ง ซึ่งอยู่ในเขตพื้นที่จังหวัดชุมพร ได้แก่ สหกรณ์โคนมชุมพร และกลุ่มผู้เลี้ยงโคนมชุมโค ในเขตพื้นที่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ได้แก่ สหกรณ์โคนมบ้านเนินดินแดง สหกรณ์โคนมห้วยสัตว์ใหญ่ สหกรณ์โคนมกุยบุรี สหกรณ์โคนมประจวบคีรีขันธ์ สหกรณ์โคนมอ่าวน้อย และสหกรณ์โคนมบางสะพาน

##### 3.2 ตัวอย่างอาหารโคนมและน้ำนมดิบ

ทำการเก็บตัวอย่างอาหารโคนม (อาหารข้น และอาหารหยาบ) และตัวอย่างน้ำนมดิบจากฟาร์มโคนม ซึ่งเป็นสมาชิกของสหกรณ์โคนมที่เข้าร่วมโครงการ โดยทำการเก็บ 2 ครั้ง ในเดือนมีนาคม – เดือนเมษายน 2549 เป็นตัวแทนของฤดูร้อน และ ในเดือนมิถุนายน – เดือนกรกฎาคม 2549 เป็นตัวแทนของฤดูฝน

##### 3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณ Aflatoxin M1

###### การเตรียมตัวอย่างนม

เปิดตัวอย่างนม 20 มิลลิลิตร ใส่ใน beaker ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 50°ซ 20 มิลลิลิตร เทตัวอย่างนมที่เจือจางแล้วใส่ในหลอดฉีดขนาด 50 มิลลิลิตร ที่ต่อกับ Sep-Pak C18 cartridge ให้น้ำนมผสมไหลผ่าน Sep-Pak ซะ (elute) Aflatoxin M1 ออกจาก Sep-Pak โดยใช้ ether 10 มิลลิลิตร ให้ ether ไหลลงสู่ minicolumn ซึ่งบรรจุ silica gel 60 เป็น cleanup column สำหรับทำให้ Aflatoxin M1 มีความบริสุทธิ์มากขึ้น elute Aflatoxin M1 ออกจาก minicolumn โดยใช้สารละลายผสมที่ประกอบด้วย dichloromethane : ethyl alcohol อัตราส่วน 95 : 5 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ให้สารละลายไหลลงสู่ test tube ระเหยแห้งสารละลายที่ elute ได้โดยใช้ nitrogen

ทำการละลาย Aflatoxin M1 ด้วย *n*-hexane ปริมาตร 200  $\mu$ l เปิดสารละลายที่ได้ใส่ใน vial ขนาด 10 มิลลิลิตร เติมน้ำ trifluoroacetic acid ปริมาตร 200  $\mu$ l ปิดฝา vial แล้วแช่ใน waterbath ที่อุณหภูมิ 40°ซ เป็นเวลา 10 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา derivatization เปลี่ยน Aflatoxin M1 ให้เป็น aflatoxin M<sub>2a</sub> ซึ่งมีค่า absorptivity มากกว่า Aflatoxin M1 ระเหยแห้งสารละลายที่ได้โดยใช้ nitrogen ละลาย residue ด้วยสารละลายผสม น้ำ : acetonitrile อัตราส่วน 75 : 25 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร กรอง

สารละลายที่ได้ผ่าน nylon filter ขนาด pore 0.45 ไมครอน วิเคราะห์หาปริมาณ Aflatoxin M1 ในสารละลายที่กรองได้ด้วยเครื่อง HPLC (High Performance Liquid Chromatograph)

### เงื่อนไขของ HPLC สำหรับการวิเคราะห์ Aflatoxin M1 มีดังนี้

Column	Spherisorb ODS-2 (5 $\mu$ m) ขนาด 4.6 $\times$ 250 มิลลิเมตร
Mobile phase	water : isopropanol : acetonitril 80 : 12 : 8
Flow rate	1.0 มิลลิเมตร / นาที
Detector	fluorometer
	excitation 365 นาโนเมตร
	Emission 455 นาโนเมตร

### สารมาตรฐาน Aflatoxin M1

เตรียม stock solution ของสารมาตรฐาน Aflatoxin M1 โดยละลายในน้ำ HPLC ให้ได้ความเข้มข้น 400 ไมโครกรัม/มิลลิเมตร เจือจาง stock solution ของสารมาตรฐาน Aflatoxin M1 ด้วยน้ำให้มีความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1, และ 5 ไมโครกรัม/ลิตร สำหรับเตรียมกราฟมาตรฐาน (standard curve)

### การหาค่า % recovery ของวิธีการหาปริมาณ Aflatoxin M1 ในน้ำนม

เติมสารละลายมาตรฐาน Aflatoxin M1 ในตัวอย่างนม ที่ความเข้มข้น 0.05, 0.25 และ 0.5 ppb สกัดและหาปริมาณ Aflatoxin M1 เช่นเดียวกับตัวอย่างนม เพื่อหาค่า % recovery ของวิธีการหาปริมาณ Aflatoxin M1 ในน้ำนม

### การคำนวณหาปริมาณ Aflatoxin M1 ในน้ำนม

คำนวณปริมาณ Aflatoxin M1 ในสารละลายสุดท้ายจากพื้นที่ใต้กราฟ (area under the curve) เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน Aflatoxin M1 ซึ่งเตรียมจากสารละลายมาตรฐาน Aflatoxin M1 ความเข้มข้น 12.5, 25 และ 50 ppb

## บทที่ 4

### ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

#### ผลการวิเคราะห์หาปริมาณ Aflatoxin M1 ในนํ้านมดิบ

การหาค่า % recovery ของวิธีการหาปริมาณ Aflatoxin M1 ในนํ้านม

% recovery ของ Aflatoxin M1 ที่เติมในนํ้านมที่ความเข้มข้น 0.05, 0.25 และ 0.5 ppb มีค่าเท่ากับ 86.31% (n = 6), 90.08% (n = 6) และ 92.09% (n = 7) ตามลำดับ

#### ตารางที่ 4 ปริมาณ Aflatoxin M1 ในนํ้านมดิบแต่ละฟาร์มของสหกรณ์โคนมชุมพร

ลำดับ ที่	ทะเบียน สมาชิก	ปริมาณ AFM 1 ในนํ้านม	
		ฤดูร้อน	ฤดูฝน
1	1	0.026	0.193
2	2	0.038	0.276
3	3	0.024	0.274
4	7	0.023	0.477
5	8	0.030	0.485
6	10	0.023	0.153
7	11	0.039	0.153
8	13	0.022	0.166
9	17	0.025	0.144
10	20	0.021	0.191
11	24	0.035	0.199
12	26	0.039	0.107
13	27	0.022	0.173

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ลำดับ ที่	ทะเบียน สมาชิก	ปริมาณ AFM 1 ในน้ำมัน	
		ฤดูร้อน	ฤดูฝน
14	28	0.088	0.231
15	29	0.053	0.226
16	34	0.029	0.189
17	43	0.057	0.299
18	45	0.028	0.183
19	47	0.102	0.198
20	50	0.021	0.249
21	51	0.022	0.228
22	53	0.075	0.119
23	60	0.080	0.230
24	63	0.117	0.228
25	65	0.384	0.227
26	70	0.138	0.096
27	79	0.107	0.238
28	80	0.414	0.102
29	88	0.101	0.193
30	90	0.098	0.469
31	92	0.043	0.143
32	93	0.125	0.264
33	94	0.023	0.218
34	102	0.086	0.077
35	103	0.161	0.359

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับ **86404** การศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 ปริมาณ Aflatoxin M1 ในน้ำนมดิบแต่ละฟาร์มของกลุ่มผู้เลี้ยงโคนมชุมชนโค

ลำดับ ที่	ทะเบียน สมาชิก	ปริมาณ AFM 1 ในน้ำนม	
		ฤดูร้อน	ฤดูฝน
1	1	0.147	0.323
2	2	0.398	0.190
3	3	0.115	0.212
4	4	0.017	0.177
5	6	0.033	0.150
6	7	0.088	0.201
7	8	0.354	0.404
8	9	0.210	0.353
9	10	0.042	0.376
10	11	0.183	0.492
11	12	0.193	0.376
12	13	0.094	0.073
13	14	0.146	0.315
14	15	0.165	0.159
15	16	0.146	0.147
16	17	0.184	0.064
17	19	0.259	0.229
18	20	0.482	0.417
19	22	0.098	0.449
20	23	0.206	0.457

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลำดับ ที่	ทะเบียน สมาชิก	ปริมาณ AFM 1 ในน้ำนม	
		ฤดูร้อน	ฤดูฝน
21	24	0.232	0.431
22	26	0.105	0.377
23	27	0.112	0.280
24	28	0.047	0.279
25	29	0.109	0.353

ตารางที่ 6 ปริมาณ Aflatoxin M1 ในน้ำนมดิบแต่ละฟาร์มของสหกรณ์โคนมเนินดินแดง

ลำดับ ที่	ทะเบียน สมาชิก	ปริมาณ AFM 1 ในน้ำนม	
		ฤดูร้อน	ฤดูฝน
1	009	0.111	0.034
2	011	0.219	0.215
3	027	0.224	0.179
4	031	0.084	0.259
5	038	0.074	0.360
6	040	0.083	0.354
7	043	0.067	0.299
8	055	0.155	0.462
9	059	0.082	0.321
10	064	0.099	0.345
11	066	0.172	0.361
12	079	0.376	0.361
13	080	0.220	0.205
14	083	0.127	0.338

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลำดับ ที่	ทะเบียน สมาชิก	ปริมาณ AFM 1 ในน้ำมัน	
		ฤดูร้อน	ฤดูฝน
15	089	0.121	0.324
16	104	0.123	0.342
17	108	0.114	0.135
18	115	0.122	0.331
19	116	0.122	0.142
20	125	0.116	0.301
21	139	0.229	0.264
22	143	0.215	0.195
23	166	0.179	0.348
24	172	0.095	0.070
25	180	0.172	0.201
26	203	0.173	0.448
27	227	0.141	0.372
28	228	0.184	0.353
29	233	0.066	0.190
30	240	0.106	0.408
31	251	0.114	0.474

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 ปริมาณ Aflatoxin M1 ในนํ้านมดิบแต่ละฟาร์มของสหกรณ์โคนมห้วยสัตว์ใหญ่

ลำดับ ที่	ทะเบียน สมาชิก	ปริมาณ AFM 1 ในนํ้านม	
		ฤดูร้อน	ฤดูฝน
1	4	0.138	0.333
2	5	0.221	0.325
3	6	0.061	0.355
4	9	0.126	0.354
5	14	0.271	0.354
6	35	0.168	0.351
7	58	0.133	0.339
8	67	0.063	0.184
9	79	0.175	0.193
10	103	0.215	0.318
11	121	0.120	0.210
12	123	0.204	0.108
13	130	0.097	0.177
14	131	0.035	0.312
15	142	0.183	0.406
16	162	0.144	0.295
17	182	0.080	0.260
18	195	0.151	0.275
19	203	0.283	0.227
20	226	0.032	0.171

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลำดับ ที่	ทะเบียน สมาชิก	ปริมาณ AFM 1 ในน้ำมัน	
		ฤดูร้อน	ฤดูฝน
21	237	0.150	0.226
22	243	0.183	0.236
23	275	0.169	0.212
24	293	0.043	0.185
25	307	0.099	0.189
26	323	0.050	0.257
27	336	0.197	0.268
28	343	0.240	0.305
29	389	0.104	0.308
30	395	0.204	0.404
31	399	0.097	0.496

ตารางที่ 8 ปริมาณ Aflatoxin M1 ในน้ำมันดิบแต่ละฟาร์มของสหกรณ์โคนมกฤษบุรี

ลำดับ ที่	ทะเบียน สมาชิก	ปริมาณ AFM 1 ในน้ำมัน	
		ฤดูร้อน	ฤดูฝน
1	003	0.035	0.276
2	005	0.183	0.252
3	010	0.144	0.162
4	013	0.080	0.161
5	015	0.151	0.151
6	017	0.283	0.157
7	021	0.032	0.350
8	024	0.150	0.368

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลำดับ ที่	ทะเบียน สมาชิก	ปริมาณ AFM 1 ในน้ำมัน	
		ฤดูร้อน	ฤดูฝน
9	025	0.183	0.453
10	026	0.169	0.283
11	029	0.043	0.309
12	030	0.099	0.209
13	033	0.050	0.299
14	034	0.197	0.324
15	036	0.240	0.283
16	038	0.104	0.160
17	041	0.083	0.242
18	045	0.104	0.214
19	051	0.189	0.206
20	052	0.303	0.087
21	053	0.146	0.372
22	060	0.092	0.319
23	066	0.374	0.160
24	081	0.140	0.178
25	096	0.139	0.121
26	106	0.088	0.089
27	109	0.368	0.116
28	111	0.235	0.383

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 ปริมาณ Aflatoxin M1 ในน้ำนมดิบแต่ละฟาร์มของสหกรณ์โคนมประจวบฯ

ลำดับ ที่	ทะเบียน สมาชิก	ปริมาณ AFM 1 ในน้ำนม	
		ฤดูร้อน	ฤดูฝน
1	06	0.088	0.350
2	07	0.111	0.330
3	10	0.074	0.461
4	11	0.093	0.470
5	13	0.080	0.351
6	16	0.274	0.447
7	19	0.157	0.080
8	20	0.361	0.269
9	21	0.067	0.123
10	22	0.200	0.087
11	24	0.057	0.045
12	25	0.185	0.198
13	26	0.070	0.246
14	27	0.084	0.387
15	33	0.001	0.314
16	35	0.098	0.402
17	40	0.234	0.137
18	43	0.140	0.388
19	44	0.092	0.313
20	45	0.094	0.246

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลำดับ ที่	ทะเบียน สมาชิก	ปริมาณ AFM 1 ในน้ำนม	
		ฤดูร้อน	ฤดูฝน
21	48	0.107	0.251
22	50	0.288	0.321
23	51	0.061	0.026
24	53	0.201	0.173
25	60	0.202	0.126
26	61	0.197	0.256
27	62	0.085	0.244
28	64	0.051	0.200
29	74	0.094	0.213
30	79	0.242	0.191

ตารางที่ 10 ปริมาณ Aflatoxin M1 ในน้ำนมดิบแต่ละฟาร์มของสหกรณ์โคนมบางสะพาน

ลำดับ ที่	ทะเบียน สมาชิก	ปริมาณ AFM 1 ในน้ำนม	
		ฤดูร้อน	ฤดูฝน
1	002	0.224	0.203
2	006	0.223	0.275
3	009	0.225	0.272
4	015	0.135	0.234
5	051	0.139	0.235
6	053	0.079	0.276
7	062	0.128	0.257
8	079	0.078	0.208
9	086	0.079	0.229

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลำดับ ที่	ทะเบียน สมาชิก	ปริมาณ AFM 1 ในน้ำมันม	
		ฤดูร้อน	ฤดูฝน
10	093	0.153	0.256
11	176	0.135	0.262
12	185	0.137	0.305
13	190	0.098	0.299
14	208	0.134	0.357
15	210	0.078	0.371
16	211	0.156	0.355
17	248	0.126	0
18	283	0.126	0.358
19	289	0.105	0.292
20	295	0.068	0.269
21	324	0.130	0.360
22	325	0.069	0.371
23	332	0.068	0.356
24	333	0.119	0.347
25	353	0.051	0.388
26	355	0.048	0.356
27	359	0.052	0.344
28	364	0.116	0.343
29	369	0.079	0.360
30	373	0.086	0.346
31	387	0.122	0.357

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 11 ปริมาณ Aflatoxin M1 ในน้ำมันดิบแต่ละฟาร์มของสหกรณ์โคนมอำเภอน้อย

ลำดับ ที่	ทะเบียน สมาชิก	ปริมาณ AFM 1 ในน้ำมัน	
		ฤดูร้อน	ฤดูฝน
1	006	0.131	0.372
2	014	0.104	0.477
3	016	0.098	0.344
4	031	0.109	0.317
5	033	0.159	0.369
6	034	0.176	0.314
7	049	0.162	0.348
8	053	0.102	0.370
9	054	0.100	0.373
10	062	0.099	0.074
11	065	0.110	0.400
12	079	0.116	0.220
13	092	0.077	0.225
14	095	0.029	0.141
15	097	0.076	0.140
16	103	0.106	0.130
17	104	0.102	0.128
18	120	0.193	0.131
19	131	0.098	0.142
20	132	0.099	0.139

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลำดับ ที่	ทะเบียน สมาชิก	ปริมาณ AFM 1 ในน้ำมัน	
		ฤดูร้อน	ฤดูฝน
21	142	0.175	0.139
22	146	0.151	0.218
23	261	0.077	0.146
24	272	0.080	0.223
25	301	0.083	0.204
26	312	0.095	0.308
27	314	0.098	0.150
28	322	0.060	0.191
29	323	0.095	0.214
30	338	0.148	0.094

ข้อมูลการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน เอ็ม 1 ในน้ำมันโดยมีค่าต่ำสุดเท่ากับ 0.001 ppb และมีค่าสูงสุดเท่ากับ 0.477 ppb ซึ่งไม่เกินจากค่ามาตรฐานที่ Codex กำหนดไว้

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณอะฟลาทอกซิน เอ็ม 1 ในน้ำมัน Randomized Block Experiment ใช้แสดงความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นของ Aflatoxin M1 ในน้ำมัน และ Duncan Multiple Comparison Test ใช้แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างความเข้มข้นของ Aflatoxin M1 ในน้ำมันระหว่างฤดูร้อนและฤดูฝน

## บทที่ 5

### อภิปรายผล สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 อภิปรายผล

ในการวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาปริมาณอะฟลาทอกซิน เอ็ม 1 โดยทำการเก็บตัวอย่างอาหารโคนม (อาหารข้น และอาหารหยาบ) และตัวอย่างน้ำนมดิบจากฟาร์มโคนมซึ่งเป็นสมาชิกของสหกรณ์โคนมที่เข้าร่วมโครงการ โดยทำการเก็บ 2 ครั้ง ในเดือนมีนาคม – เดือนเมษายน 2549 เป็นตัวแทนของฤดูร้อน และ ในเดือนมิถุนายน – เดือนกรกฎาคม 2549 เป็นตัวแทนของฤดูฝน จากสหกรณ์โคนมที่เข้าร่วมโครงการทั้งสิ้น 8 แห่ง ซึ่งอยู่ในเขตพื้นที่จังหวัดชุมพร ได้แก่ สหกรณ์โคนมชุมพร และกลุ่มผู้เลี้ยงโคนมชุมโค ในเขตพื้นที่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ได้แก่ สหกรณ์โคนมบ้านเนินดินแดง สหกรณ์โคนมห้วยสัตว์ใหญ่ สหกรณ์โคนมกุยบุรี สหกรณ์โคนมประจวบคีรีขันธ์ สหกรณ์โคนมอ่าวน้อย และสหกรณ์โคนมบางสะพาน

การปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน เอ็ม 1 ในน้ำนมโดยมีค่าต่ำสุดเท่ากับ 0.001 ppb และมีค่าสูงสุดเท่ากับ 0.477 ppb ซึ่งไม่เกินจากค่ามาตรฐานที่ Codex กำหนดไว้ ผลการศึกษา % recovery ของ Aflatoxin M1 ที่เติมในน้ำนมที่ความเข้มข้น 0.05, 0.25 และ 0.5 ppb มีค่าเท่ากับ 86.31% (n = 6), 90.08% (n = 6) และ 92.09% (n = 7) ตามลำดับ

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณอะฟลาทอกซิน เอ็ม 1 ในน้ำนม Randomized Block Experiment ใช้แสดงความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นของ Aflatoxin M1 ในน้ำนม และ Duncan Multiple Comparison Test ใช้แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างความเข้มข้นของ Aflatoxin M1 ในน้ำนมระหว่างฤดูร้อนและฤดูฝน

การวิจัยครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าปริมาณอะฟลาทอกซิน เอ็ม 1 ในน้ำนมดิบในเขตพื้นที่ของจังหวัดประจวบคีรีขันธ์และชุมพรมีค่าไม่เกินจากมาตรฐานที่ Codex และประกาศกระทรวงสาธารณสุข กำหนดไว้ ส่วนการศึกษาด้านฤดูกาล ซึ่งถือเป็นปัจจัยด้านสภาพแวดล้อมนั้น ได้พบว่า ในฤดูฝนจะมีปริมาณอะฟลาทอกซิน เอ็ม 1 มากกว่าในฤดูร้อน แสดงว่า ปัจจัยด้านสภาพแวดล้อม เช่น ความชื้น อุณหภูมิและ

ความขึ้นสัมพันธ์ในการเก็บรักษาวัตถุดิบมีผลต่อปริมาณอะฟลาทอกซิน บี 1 ในอาหารโคนม ซึ่งส่งผลต่อปริมาณอะฟลาทอกซิน เอ็ม 1 ในน้ำนมดิบด้วย

## 5.2 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การศึกษาปริมาณอะฟลาทอกซิน เอ็ม 1 ในน้ำนมดิบครั้งนี้ มีปริมาณอะฟลาทอกซิน เอ็ม 1 ต่ำสุดเท่ากับ 0.001 ppb และมีค่าสูงสุดเท่ากับ 0.477 ppb ผลการศึกษา % recovery ของ Aflatoxin M1 ที่เติมในน้ำนมที่มีความเข้มข้น 0.05, 0.25 และ 0.5 ppb มีค่าเท่ากับ 86.31% (n = 6), 90.08% (n = 6) และ 92.09% (n = 7) ตามลำดับ ในฤดูฝนจะมีปริมาณอะฟลาทอกซิน เอ็ม 1 มากกว่าในฤดูร้อนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ด้วย Duncan Multiple Comparison Test

การศึกษาปริมาณอะฟลาทอกซิน เอ็ม 1 ในน้ำนมดิบในอนาคต ควรมีการศึกษาในเขตจังหวัดที่มีการเลี้ยงโคนมโดยแบ่งกลุ่มศึกษาตามภาคต่าง ๆ ของประเทศไทย และการศึกษาควรมีการศึกษาทั้งในน้ำนมดิบและผลิตภัณฑ์จากนมในรูปแบบต่าง ๆ เช่น นมพาสเจอร์ไรซ์ นมยูเอชที นมสเตอริไรซ์ เพื่อให้เป็นตัวแทนที่ดีของนมในประเทศไทย ซึ่งจะทำให้การศึกษามีความสมบูรณ์มากขึ้น และสามารถนำผลการศึกษาไปควบคุมหรือสร้างแนวทางการลดการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน ในอาหารได้ต่อไป ทั้งนี้จะเป็นการส่งผลดีโดยตรงต่อสุขภาพของคนไทย

## รายการอ้างอิง

- เกษตรและสหกรณ์, กระทรวง. 2537. ประกาศเรื่องกำหนดลักษณะของอาหารสัตว์เสื่อมคุณภาพ (ฉบับที่ 2) เล่มที่ 110 ตอนที่ 9. กรุงเทพมหานคร : กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- ปศุสัตว์, กรม. 2544. การแก้ปัญหาอะฟลาทอกซินในอาหารโคนม. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย.
- สาธารณสุข, กระทรวง. 2529. ประกาศฉบับที่ 18 เรื่องมาตรฐานอาหารที่มีการปนเปื้อน เล่มที่ 103 ตอนที่ 3. กรุงเทพมหานคร : กระทรวงสาธารณสุข.
- สุเทพ เรื่องพิเศษ และ เบญจมาศ มโหสถนันท์. 2539. ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณอะฟลาทอกซิน บี1 ในอาหารโคนมและปริมาณอะฟลาทอกซิน เอ็ม1 ในน้ำนม. รายงานผลการวิจัยทุนรัชดาภิเษกสมโภช จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ดุมมา บริบูรณ์ และ ดวงจันทร์ สุประเสริฐ. 2537. การวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซิน เอ็ม1 และเอ็ม2 ในนมและ ผลิตภัณฑ์นม. วารสารกระทรวงสาธารณสุข 13 : 108-113.
- Codex. 2001. Draft maximum level of aflatoxin M1 in milk. Report on 33<sup>rd</sup> session of the Codex Committee on Food Additives and Contaminants, 12-16 March 2001. Hague, Netherlands.
- Coulome, R.A. 1994. Nonhepatic disposition and effects of aflatoxin B1. In D.L.Eaton and J.D.Groopman (eds.), The toxicology of aflatoxins human health, veterinary, and agricultural significance. pp. 89-102. New York : Academic Press.
- Cullen JM, Ruebner BH, Hsieh LS, Hyde DM, and Hsieh DP. 1987. Carcinogenicity of dietary aflatoxin M1 in male Fisher rats compared to aflatoxin B1. Cancer Res; 47 : 1913-1917.
- Cullen, J.M., and Newberne, P.M. 1994. Acute hepatotoxicity of aflatoxins. In D.L.Eaton and J.D.Groopman (eds.), The toxicology of aflatoxins human health, veterinary, and agricultural significance. pp. 3-26. New York : Academic Press.
- Frobish RA, Bradley BD, Wagner DD, Long-Bardley PE, and Hairston H. 1986. Aflatoxin Residues in milk of dairy cows after ingestion of naturally contaminated grain. J Food Prot ; 49 : 781-785

- Hendricks, J.D. 1994. Carcinogenicity of aflatoxins in nonmammalian organisms. In D.L.Eaton and J.D.Groopma (eds.), The toxicology of aflatoxins human health, veterinary, and agricultural significance. pp. 103-136. New York : Academic Press.
- Mahanna, B. 1999. Prevention and (If necessary) management of moldy silage. Moldy Feed. Disseration Abstracts.
- Petterson H, Bertilsson J, and Wennberg O. 1989. Carry-over of aflatoxin from dairy cattle feed to milk. In : Healthy animals, Safe foods, Healthy man. World Association of Veterinary Food Hygienists Xth (Jubilee) International Symposium in Stockholm. Proceedings ; 97-102.
- Saitanu, S. 1997. Incidence of aflatoxin M1 in Thai milk products. Journal of Food Protection 60 (8) : 1010-1012.
- van Egmond HP. 1989. Aflatoxin M1 : Occurrence, toxicity, regulation. In : Mycotoxin in Dairy Products. Edited by van Egmond H.P. pp. 11-55. Cambridge Elsevier Science Publishers Limited.
- Wood, G.E. 1992. Mycotoxins in foods and feeds in the United States. J. anim. Sci. 70 : 3941-3949.
- Yoshizawa, T. 1991. Natural occurrence of mycotoxins in small grains (wheat, barley, rye, oats, sorghum, millet, rice). In J.E.Smith and R.S.Henderson (eds), Mycotoxins and animal foods. pp. 301-324. Florida : CRC Press.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่	สมาชิก	ขอ - สกุล	ที่อยู่	1	2	ฤดูร้อน	ฤดูฝน
1	006	นายถวิล หัตถกรรม	847/3 ม.6 ต.อ่าวน้อย	30 Apr 06	-	/	25 Jun 06
2	014	นายเอื้อน เยื่อใย	129/1 ม.7 ต.อ่าวน้อย	30 Apr 06	-	/	25 Jun 06
3	016	นายประชา ไตจัน	229 ม.6 ต.อ่าวน้อย	30 Apr 06	-	/	25 Jun 06
4	031	นายทองล้วน ชีขาว	605/1 ม.8 ต.อ่าวน้อย	30 Apr 06	-	/	25 Jun 06
5	033	นายทองม้วน ชีขาว	606 ม.8 ต.อ่าวน้อย	30 Apr 06	-	/	25 Jun 06
6	034	นายพรชัย ฤกษ์สง่า	294 ม.11 ต.อ่าวน้อย	30 Apr 06	-	/	25 Jun 06
7	049	นายสุนทร พวงธานี	911/1 ม.8 ต.อ่าวน้อย	30 Apr 06	-	/	25 Jun 06
8	053	นายประมวล จันทรแจ่ม	13 ม.5 ต.อ่าวน้อย	30 Apr 06	-	/	25 Jun 06
9	054	นายปกรณ์ น่วมนิม	82/1 ม.5 ต.อ่าวน้อย	30 Apr 06	-	/	25 Jun 06
10	062	นายสมนึก เรืองฤทธิ์	74/1 ม.11 ต.อ่าวน้อย	30 Apr 06	-	/	25 Jun 06
11	065	นางสุภัสชา สิ้นสุวรรณ	82/2 ม.6 ต.อ่าวน้อย	30 Apr 06	-	/	25 Jun 06
12	079	นายทองมูล น่วมนิม	82/2 ม.5 ต.อ่าวน้อย	30 Apr 06	-	/	25 Jun 06
13	092	นายพงษ์ศักดิ์ วุฒิรัตน์	334 ม.9 ต.อ่าวน้อย	30 Apr 06	-	/	25 Jun 06
14	095	นายประเสริฐ ศรีไธ	1050 ม.9 ต.อ่าวน้อย	30 Apr 06	-	/	25 Jun 06
15	097	นายชด อั้งลี	4/2 ม.5 ต.อ่าวน้อย	30 Apr 06	-	/	25 Jun 06
16	103	นางสาวละเอียด เหมือนพงษ์	375 ม.9 ต.อ่าวน้อย	30 Apr 06	-	/	25 Jun 06
17	104	นายพิษณุ พลศรี	67 ม.6 ต.อ่าวน้อย	30 Apr 06	-	/	25 Jun 06
18	120	น.ส.อุบลวรรณ ทองแดง	64/1 ม.4 ต.อ่าวน้อย	30 Apr 06	-	/	25 Jun 06
19	131	นายชัยยา เยื่อใย	15 ม.5 ต.อ่าวน้อย	30 Apr 06	-	/	25 Jun 06
20	132	นางสาววิษรา บุญสิทธิ์	484/1 ม.6 ต.อ่าวน้อย	30 Apr 06	-	/	25 Jun 06

