การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์และปริมาณอะฟลาทอกซินในเมล็ดถั่วลิสงด้วยวิธีลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง

A VALIDATION OF AFLATOXIN ANALYSIS AND AFLATOXIN CONTENT IN PEANUT KERNEL USING HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

วิรตี ปัญจานนท์

VIRATEE PANJANON

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาการจัดการความปลอดภัยอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2560

KMITL-2017-AI-M-054-294

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์และปริมาณอะฟลาทอกซินในเมล็ดถั่วลิสงด้วยวิธีลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง

A VALIDATION OF AFLATOXIN ANALYSIS AND AFLATOXIN CONTENT IN PEANUT KERNEL USING HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

วิรตี ปัญจานนท์

VIRATEE PANJANON

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาการจัดการความปลอดภัยอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2560

KMITL-2017-AI-M-054-294

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

A VALIDATION OF AFLATOXIN ANALYSIS AND AFLATOXIN CONTENT IN PEANUT KERNEL USING HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

VIRATEE PANJANON

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE IN FOOD SAFETY MANAGEMENT

FACULTY OF AGRO-INDUSTRY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2017

KMITL-2017-AI-M-054-294

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2017

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์และปริมาณอะฟลาทอกซินในเมล็ดถั่วลิสงด้วยวิธีลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง

A VALIDATION OF AFLATOXIN ANALYSIS AND AFLATOXIN CONTENT IN PEANUT KERNEL USING HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

ชื่อนักศึกษา นางสาววิรตี ปัญจานนท์

รหัสประจำตัว 58608024

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา การจัดการความปลอดภัยอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร.วริพัสย์ อารีกุล

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม -

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.วริพัสย์ อารีกุล	
ผศ.ดร.ภาวินี ดีแท้	
ดร.วิรามศรี ศรีพจนารถ	
ผศ.ดร.วราภา มหากาญจนกุล	

วัน / เดือน/ ปีที่สอบ 19 ธันวาคม 2560 เวลา 13.00 น. เป็นต้นไป

สถานที่สอบ ณ ห้อง A 302 อาคารเจ้าคุณทหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตรรับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม)

คณบดีคณะอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่ 26 เดือน ธ.ค. พ.ศ. 2560

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์และปริมาณอะฟลาทอกซิน ในเมล็ดถั่วลิสงด้วยวิธีลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง
นักศึกษา	นางสาว วิรตี ปัญจานนท์
รหัสประจำตัว	58608024
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	การจัดการความปลอดภัยอาหาร
พ.ศ.	2560
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร.วริพัสย์ อารีกุล

บทคัดย่อ

การตรวจสอบความใช้ได้ของการวิเคราะห์อะฟลาทอกซิน บี1, บี2, จี1 และจี2 ในเมล็ดถั่วลิสง ใช้ immunoaffinity column ในการกำจัดสิ่งรบกวนร่วมกับ เครื่องลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง ที่ตรวจสอบโดยฟลูออเรสเซนต์ ตัวอย่างจะถูกสกัดด้วยเมทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ แล้วทำให้บริสุทธิ์ด้วย immunoaffinity column จากนั้นจะวิเคราะห์ด้วยการชะแบบ isocratic โดยเฟสเคลื่อนที่เป็นเมทานอล 45 เปอร์เซ็นต์ วิธีการนี้ประสบความสำเร็จในการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการ โดยมีความความจำเพาะสูง ค่าสัมประสิทธิสหสัมพันธ์มากกว่า 0.9993 ปริมาณต่ำสุดที่เครื่องสามารถวิเคราะห์ได้เชิงคุณภาพ (Limit of Detection) เท่ากับ 0.2 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณต่ำสุดที่เครื่องสามารถวิเคราะห์ได้เชิงปริมาณ (Limit of Quantitation) เท่ากับ 0.4 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพันธ์มีค่าต่ำกว่า 8.82 เปอร์เซ็นต์ และ ช่วงเปอร์เซ็นต์การกลับคืน (%recovery) อยู่ระหว่าง 77.4 – 113 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดสอบบ่งชี้ว่า วิธีการนี้สามารถใช้ในการตรวจหาอะฟลาทอกซิน B1, B2, G1 และ G2 ในเมล็ดถั่วลิสงและใช้ในงานการวิเคราะห์แบบประจำได้

เมื่อใช้วิธีการที่ผ่านการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์มาวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซิน ในเมล็ดถั่วลิสงที่จำหน่ายทางการค้าจำนวน 30 ตัวอย่าง แบ่งเป็น 24 ตัวอย่างจากในประเทศ และ 6 ตัวอย่างนำเข้าจากต่างประเทศ จากตลาดค้าส่ง 2 แหล่ง ในกรุงเทพ ระหว่างเดือน เมษายน ถึง มิถุนายน พ.ศ. 2560 พบการปนเปื้อน 12 ตัวอย่าง (40%) ให้ผลบวก และเป็นอะฟลาทอกซิน บี1 และ บี2 เท่านั้น ตัวอย่างถั่วลิสงที่ปลูกในประเทศไทย จำนวน 9 ตัวอย่าง ปนเปื้อนอะฟลาทอกซินทั้งหมด 0.47 - 27.2 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ตัวอย่างถั่วลิสงที่นำเข้า 3 ตัวอย่างจากทั้งหมด 6 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อะฟลาทอกซินทั้งหมดสูงมากในช่วง 170-380 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ทั้งนี้ตัวอย่างเมล็ดถั่วลิสง 5 ตัวอย่างมีปริมาณสูงกว่าค่ายอมรับสูงสุดของกฎหมายไทย

เมล็ดถั่วลิสงทั้งหมดจะถูกอนุโลมว่าใช้เป็นอาหารของมนุษย์ การได้รับสัมผัสจากการบริโภคถั่วลิสง ใช้ฐานข้อมูลปริมาณอาหารที่คนไทยบริโภคฉบับล่าสุด การปนเปื้อนอะฟลาทอกซินเฉลี่ยคำนวณจากโปรแกรม @risk มีค่า 18.4 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ปริมาณการได้รับสัมผัสอะฟลาทอกซินอยู่ระหว่าง 14.7 – 37,285 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน โอกาสความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งประเมินได้เท่ากับ 0.36 - 914 คนต่อปีต่อประชากร 100,000 คน โดยช่วงอายุระหว่าง 18 -35 ปี มีความเสี่ยงต่อมะเร็งสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับช่วงอายุอื่นๆ จากผลการวิจัยเสนอให้เห็นว่าสถานการณ์ปัจจุบันการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินในเมล็ดถั่วลิสงยังคงเป็นจำเป็นต้องตรวจติดตามโดยเฉพาะเมล็ดถั่วลิสงที่นำเข้าจากต่างประเทศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis	A Validation for Aflatoxin Analysis and Aflatoxin Contents in Peanut Kernel Using High Performance Liquid Chromatography
Student	Ms. Viratee Panjanon
Student ID.	58608024
Degree	Master of Science
Program	Food Safety Management
Year	2017
Thesis Advisor	Asst. Prof. Dr. Varipat Areekul

ABSTRACT

The validation of the procedure for the determination of aflatoxin B1, B2 G1 and G2 in raw peanut was carried out by using an immunoaffinity column clean up procedure and high performance liquid chromatography with fluorescence detection. The samples were extracted with 70% methanol enriched and cleaned up by immunoaffinity column. The extracts were analyzed by using isocratic elution with a mobile phase of 45% methanol. The methodology was successfully validated with high selectivity, linearity > 0.9993, limits of detection (LOD) of 0.2 ug/kg, limit and quantification (LOQ) of 0.4 ug/kg, % relative standard deviation (%RSD) lower than 8.82% and recovery values in the 77.4 – 113%. The results indicated that this procedure is applicable for the determination of aflatoxin B1, B2, G1 and G2 in peanut and can be implemented for routine analysis.

Using the validated method, aflatoxins were quantified in 30 commercial samples (24 local and 6 imported peanut kernels) obtained from 2 wholesale markets in Bangkok during April – June 2017. Twelve samples (40%) were positive for aflatoxin and only aflatoxin B1 and B2 were detected. Nine local samples contained 0.47 - 27.2 ug/kg of total aflatoxins. Three of 6 imported samples terrifyingly contained 170-380 ug/kg while the others were not detected. There were 5 samples presented the aflatoxin levels above the maximum limit stipulated by Thai legislation.

All peanut kernels were assumingly produced for human foods. Exposure of aflatoxin in Thai diet was estimated using newest database of food consumption of Thai people. The average of aflatoxin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

contamination was computed by using @risk. The result was 18.40 ug/kg. All aflatoxins ranged from 14.7 – 37,285 ug/kg b.w./ day (lower and upper bound). The potency risk of cancer was estimated at 0.36 - 914 cancer cases/year/100,000 people. Age between 18– 35 years was the most vulnerable risk of cancers among others. These findings suggest that the current situation of aflatoxin contamination in peanut kernels is still essentially monitored especially imported peanut kernels.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ความสำเร็จของวิทยานิพนธ์ เรื่อง การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์และปริมาณอะฟลาทอกซินในเมล็ดถั่วลิสงด้วยวิธีลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูงสามารถสำเร็จลุล่วงเป็นอย่างดีได้นั้น เนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์จากบุคคลหลายท่านโดยเฉพาะ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วริพัสย์ อารีกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้คำปรึกษาและคำแนะนำที่เป็นประโยชน์ระหว่างการดำเนินงานวิจัย เพื่อการปรับปรุงแก้ไขทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น ทางผู้วิจัยจึงขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ที่ค่อยส่งเสริมและผลักดันให้งานวิจัยเล่มนี้ประสบความสำเร็จไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วราภา มหากาญจนกุล ผู้ทรงคุณวุฒิ จากภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่ให้เกียรติมาเป็นประธานในการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ และ ให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ในการจัดทำวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ภาวินี ดีแท้ และ ดร. วิรามศรี ศรีพจนารถ คณะกรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาสละเวลามาช่วยพิจารณาตรวจสอบ และให้ข้อคิดแนวทางในการปรับปรุงแก้ไข เพื่อให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้สามารถเรียบเรียงได้อย่างสมบูรณ์ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ประสิทธิ์ประสาทความรู้ ทำให้ผู้วิจัยมีองค์ความรู้ที่สามารถทำงานวิจัยชิ้นนี้ได้สำเร็จ

ขอกราบขอบพระคุณอุตสาหกรรมมูลนิธิเพื่อสถาบันอาหาร ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้สถานที่ และอุปกรณ์เครื่องมือในการวิเคราะห์

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณบิดา มารดา พี่และน้อง รวมถึงญาติๆ และบุคคลรอบข้างที่ค่อยสนับสนุน ช่วยเหลือ และให้กำลังใจ แก่ผู้วิจัยด้วยดีเสมอมา ทำให้สามารถผ่านอุปสรรคต่างๆมาได้ด้วยดี จนทำให้ได้งานวิจัยที่มีประโยชน์และมีคุณค่า

วิรตี ปัญจานนท์

26 ธันวาคม 2560

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย……I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ……III
กิตติกรรมประกาศ……V
สารบัญ……VI
สารบัญตาราง……IX
สารบัญรูป……XI
บทที่ 1 บทนำ……1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา……1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา……2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย……2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ……3
บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง……4
2.1 ถั่วลิสง……4
2.1.1 แหล่งเพาะปลูกถั่วลิสงในประเทศไทย……4
2.1.2 ฤดูกาลเพาะปลูกถั่วลิสงในประเทศไทย……5
2.1.3 การบริโภค และการนำไปใช้ประโยชน์……6
2.1.4 สถานการณ์การปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในถั่วลิสง และผลิตภัณฑ์……9
2.1.5 งานวิจัยเกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินใน……11
ถั่วลิสงและธัญพืชต่างๆของต่างประเทศ
2.1.6 ผลของกระบวนการผลิตเบื้องต้นต่อการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน……14
2.2 เชื้อราที่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน……16
2.2.1 ชนิดและสายพันธุ์ของเชื้อราที่สร้างอะฟลาทอกซิน……16
2.2.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อรา และการสร้างอะฟลาทอกซิน……18
2.2.3 การเข้าทำลายของเชื้อราในเมล็ดถั่วลิสง……20
2.3 อะฟลาทอกซิน……22
2.3.1 ชนิดของอะฟลาทอกซิน……23
2.3.2 สมบัติของอะฟลาทอกซิน……24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.3 ความเป็นพิษของอะฟลาทอกซิน.....24
2.3.4 การปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในอาหาร.....27
2.3.5 วิธีที่ใช้วิเคราะห์อะฟลาทอกซินในอาหาร.....28
2.3.6 การกำหนดปริมาณอะฟลาทอกซิน.....35
2.4 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ.....36
2.4.1 วิธีทดสอบที่ต้องตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี.....36
2.4.2 คุณลักษณะเฉพาะที่ใช้ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ.....36
2.4.3 กระบวนการทดสอบความใช้ได้ของวิธีการทดสอบ.....42
2.4.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณ
อะฟลาทอกซินในถั่วลิสง.....43
2.5 การประเมินความเสี่ยงทางด้านเคมี.....48
2.5.1 หลักการประเมินความเสี่ยงด้านเคมี.....48
2.5.2 ชนิดของการประเมินความเสี่ยง.....48
2.5.3 ขั้นตอนการประเมินความเสี่ยง.....49
2.5.4 ประโยชน์ของการประเมินความเสี่ยง.....54
2.5.5 หน่วยงานด้านการประเมินความเสี่ยง.....54
2.5.6 การทบทวนเอกสารและข้อมูลที่ข้องเกี่ยวกับการประเมินความเสี่ยง……..55
ของอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงและธัญพืชต่างๆ
บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์ และวิธีการดำเนินการทดลอง……..….....60
3.1 ตัวอย่างเมล็ดถั่ว…….....60
3.1.1 ตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ.....60
3.1.2 ตัวอย่างเมล็ดถั่วลิสง.....60
3.2 สารเคมี.....60
3.3 วัสดุ และอุปกรณ์.....61
3.4 การวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินชนิดต่างๆ ด้วยเครื่องลิควิดโครมาโทกราฟี…….....61
สมรรถนะสูง
3.4.1 สารละลายมาตรฐาน.....61
3.4.2 การเตรียมตัวอย่าง.....62
3.4.3 สภาวะเครื่องลิควิดโครมาโทกราฟฟีสมรรถนะสูง.....64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.4 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ ของปริมาณอะฟลาทอกซิน……...…64
ในเมล็ดถั่วลิสง

3.4.5 การวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินชนิดต่างๆ ในเมล็ดถั่วลิสงที่……..…….69
จำหน่ายในตลาดค้าส่ง

บทที่ 4 ผลการทดลอง และวิจารณ์ผลการทดลอง ……..……...75

4.1 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซิน..……..…....75
บี1, บี2, จี1 และ จี2 ในเมล็ดถั่วลิสง

4.2 ปริมาณอะฟลาทอกซินชนิดต่างๆ ในเมล็ดถั่วลิสงที่จำหน่ายในตลาดค้าส่ง…….…... 85

4.3 การประเมินความเสี่ยงอะฟลาทอกซินในการบริโภคถั่วลิสง.....95

บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ……..……..…101

บรรณานุกรม……103

ภาคผนวก ก……..……115

ภาคผนวก ข……...138

ประวัติผู้เขียน.....142

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 เนื้อที่ และผลผลิตในการปลูกถั่วลิสงแต่ละภาค และ 5 จังหวัดสูงสุดในประเทศไทย……...…...4
2.2 คุณค่าทางโภชนาการของถั่วลิสง……..…….……6
2.3 ค่าเฉลี่ยและค่าเปอร์เซ็นต์ไทล์ที่ 97.5 ของปริมาณการบริโภคถั่วลิสงชนิดต่างๆ
ของประชากรไทยไทย…….……...…….7
2.4 ชนิดและอะฟลาทอกซินที่ตรวจพบในผลิตภัณฑ์ถั่วลิสง…….……9
2.5 ปริมาณสารพิษจากเชื้อราที่พบในถั่วลิสง (ppb) …….…….……10
2.6 ผลการวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงและธัญพืชต่างๆในต่างประเทศ……...……12
2.7 สายพันธุ์ของเชื้อรา *Aspergillus* ที่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน……...…16
2.8 สูตรโมเลกุล น้ำหนักโมเลกุล และจุดหลอมเหลวของอะฟลาทอกซิน……...24
2.9 ผลของความเป็นพิษของสารพิษอะฟลาทอกซินในสัตว์ต่างๆ……...……...25
2.10 ปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินแต่ละชนิดที่ตรวจพบในอาหาร…….....27
2.11 ข้อดีและข้อเสียของวิธีวิเคราะห์อะฟลาทอกซินเชิงคุณภาพ…….....……....28
2.12 สภาวะของเครื่อง HPLC ที่ใช้หาปริมาณอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงและผลิตภัณฑ์……...30
2.13 ข้อดีและข้อเสียของวิธีวิเคราะห์อะฟลาทอกซินเชิงปริมาณ…….....32
2.14 ข้อดีและข้อเสียของวิธีการต่างๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์อะฟลาทอกซิน…….....32
2.15 ปริมาณอะฟลาทอกซินในประเทศต่างๆ…….....35
2.16 พารามิเตอร์ที่ใช้ในการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการทดสอบ.....37
2.17 เกณฑ์กำหนดค่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืน % Recovery ในระดับความเข้มข้นต่างๆ.....38
2.18 เกณฑ์กำหนด Repeatability (RSD_r) และ Reproducibility (RSD_R) ที่ความเข้มข้นต่างๆ.....40
2.19 ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์อะฟลาทอกซินในถั่ว.....44
2.20 ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์อะฟลาทอกซินในตัวอย่างถั่วลิสง.....45
2.21 ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์อะฟลาทอกซินในเฮเซลนัทเข้มข้นต่างๆ.....46
2.22 ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์อะฟลาทอกซินในถั่วลิสง.....47
2.23 การประเมินความเสี่ยงของอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงและธัญพืชต่างๆ โดยใช้โปรแกรม @Risk.55
2.24 ความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งจากอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงและธัญพืชต่างๆในประเทศไทย……..57
3.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน.....62

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 ปริมาณสารละลายมาตรฐานอะฟลาทอกซินแต่ละชนิดในตัวอย่างถั่วลิสง……..…..……..…65
3.3 ตัวอย่างเมล็ดถั่วลิสง.....69
4.1 สมการแสดงค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ของสารละลายมาตรฐาน
และตัวอย่างถั่วลิสงที่เติมสารมาตรฐานอะฟลาทอกซิน บี1 บี2 จี1 และจี2.....78
4.2 ค่า % RSD_r และHORRAT จากการทำซ้ำแบบ Repeatability ……..…..…….....80
4.3 ค่า % RSD_R และHORRAT จากการทำซ้ำแบบ Reproducibility ……...…….....81
4.4 เปอร์เซ็นต์ของการกลับคืน (%Recovery) จากการเติมสารมาตรฐาน
อะฟลาทอกซินทั้ง 4 ชนิดลงในตัวอย่างถั่วลิสง ……..….....82
4.5 ค่า HORRAT และ% RSD ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้เชิงคุณภาพ (LOD)….....83
4.6 ค่า HORRAT และ% RSD ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้เชิงปริมาณ (LOQ) ….....84
4.7 ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ และปริมาณความชื้นในเมล็ดถั่วลิสง .....…….....85
4.8 ปริมาณอะฟลาทอกซินบี1 บี2 จี1 และ จี2 ในเมล็ดถั่วลิสงที่จำหน่าย
ในตลาดไทยและตลาดสี่มุมเมือง .....……89
4.9 ปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในเมล็ดถั่วลิสงที่จำหน่ายในตลาดค้าส่ง .....…95
4.10 ความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งตับของคนไทย ในการบริโภคถั่วลิสงชนิดต่างๆ…….……97
4.11 ผลการประเมินความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งจากการได้รับสัมผัสอะฟลาทอกซินในถั่วลิสง.....99

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

2.1 กระบวนการสังเคราะห์อะฟลาทอกซิน……...……...…….18

2.2 โครงสร้างโมเลกุลของอะฟลาทอกซินบี1 บี2 จี1 และจี2……...…….…….23

3.1 การสกัดตัวอย่างถั่วลิสง…….....……63

3.2 ขั้นตอนการเตรียมสารสกัดถั่วลิสง…….....…….…….64

3.3 พารามิเตอร์และเกณฑ์ที่ใช้ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ.....65

3.4 ขั้นตอนวิเคราะห์ความชื้น.....72

4.1 โครมาโทแกรมของอะฟลาทอกซินที่ความเข้มข้น 2 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม.....76

โดย AFG1 = อะฟลาทอกซินจี1, AFG2 = อะฟลาทอกซินจี 2, AFB1 = อะฟลาทอกซินบี 1 AFB2 = อะฟลาทอกซินบี 2 A = สารละลายมาตรฐาน (Standard Aflatoxin mix), B = ตัวอย่างถั่วลิสงที่เติมสารมาตรฐานอะฟลาทอกซิน (Fortified sample blank) และ C = ตัวอย่างถั่วลิสงที่ไม่เติมสารมาตรฐานอะฟลาทอกซิน (Sample Blank)

4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างความชื้น (Mc) และ วอเตอร์แอคติวิตี้ (A_w) ในเมล็ดถั่วลิสง.....87

4.3 โครมาโทแกรมของตัวอย่าง E1 ……..……..88

4.4 โครมาโทแกมของตัวอย่างเมล็ดถั่วลิสง D2…….……...……..88

4.5 ปริมาณอะฟลาทอกซินรวมที่ตรวจพบตามระยะเวลาในการรอจำหน่าย.....94

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ถั่วลิสงเป็นธัญพืชที่มีคุณค่าทางโภชนาการและมีประโยชน์ต่อร่างกายสูง คนไทยนิยมบริโภคทั้งในรูป ต้ม คั่ว ทอด และอบ นอกจากนี้ยังใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารคาว และหวาน แต่อันตรายที่พบในถั่วลิสง ได้แก่ อะฟลาทอกซิน ซึ่งองค์การอนามัยโลกได้จัดให้สารประกอบนี้เป็นสารก่อมะเร็งในกลุ่มที่ I (ระดับรุนแรงที่สุด) โดยเฉพาะอะฟลาทอกซิน บี1 (IARC, 1993) และเป็นพิษต่อตับ (Shank และคณะ, 1972) ทั้งนี้ ภูมิอากาศแบบร้อนชื้นของประเทศไทยเป็นสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus* ซึ่งเป็นเชื้อที่สำคัญในการสร้างอะฟลาทอกซิน โดยส่วนใหญ่ในธรรมชาติ พบได้ใน 4 รูป ได้แก่ อะฟลาทอกซิน บี1, บี2, จี1 และจี2 (ชาคริยา, 2555) สารพิษชนิดนี้ทนต่อความร้อนสูง ในบางครั้งกระบวนการหุงต้ม และกระบวนการแปรรูปต่างๆ อาจไม่สามารถทำลายอะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในเมล็ดถั่วลิสงลงได้หมด ดังนั้นกระทรวงสาธารณสุขจึงได้กำหนดให้พบปริมาณอะฟลาทอกซินในถั่วได้ไม่เกิน 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และ กำหนดในอาหารไม่เกิน 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม (ประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 98, 2529) เพื่อใช้เป็นเกณฑ์กำหนดคุณภาพและความปลอดภัยของผู้บริโภค

การวิเคราะห์อะฟลาทอกซินสามารถทำได้หลายวิธี แต่ละวิธีมีความแตกต่างกันในแต่ละชนิดของอาหาร อีกทั้งส่วนใหญ่เป็นการวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินทั้งหมด อย่างไรก็ตาม ในการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซินแต่ละชนิดนั้น ยังไม่ได้รับการพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีทดสอบตามระบบ ISO 17025 ซึ่งการพิสูจน์ดังกล่าวนั้น เป็นการยอมรับผลการวิเคราะห์ว่ามีความถูกต้องและแม่นยำในระดับสากล สามารถใช้ในการประกันคุณภาพ และความปลอดภัยของสินค้าได้ ดังนั้น แม้ว่ามีรายงานทางวิชาการ หลายๆ ฉบับระบุปริมาณอะฟลาทอกซินในถั่วลิสง ก็อาจมีความเบี่ยงเบนจากค่าจริง และมีรายงานน้อยมากที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์ชนิดของอะฟลาทอกซินทั้งรูป บี1, บี2, จี1 และ จี2 ซึ่งมีระดับความเป็นพิษแตกต่างกัน

นอกจากนี้ในการประเมินการได้รับสัมผัสอะฟลาทอกซินของคนไทยในปี พ.ศ. 2543 พบว่าปริมาณการได้รับสารพิษชนิดนี้ (Aflatoxin intake) ส่วนใหญ่มาจากถั่วลิสงดิบ และถั่วลิสงป่น (วิเชียร และคณะ, 2548) ดังนั้น ถั่วลิสงจึงเป็นแหล่งที่มีความเสี่ยงต่อสารพิษมากกว่าอาหารชนิดอื่นๆ เช่น แป้งข้าวเจ้า, พริกแห้ง, ข้าวโพด, ธัญพืช เป็นต้น (บดินทร์, 2555) ซึ่งข้อมูลการปนเปื้อนเหล่านี้ควรมีการเฝ้าระวังและติดตามระดับการปนเปื้อนอย่างสม่ำเสมอ เนื่องจากเป็นแหล่งอาหารที่ยังมีความเสี่ยงต่อผู้บริโภค ทั้งนี้การประเมินความเสี่ยงจะเป็นแนวทางสำคัญในการเฝ้าระวังความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปลอดภัยต่อสุขภาพของผู้บริโภค และความเสี่ยงในการได้รับสัมผัสอะฟลาทอกซินในการบริโภคถั่วลิสงที่มีความเสี่ยงสูง เพื่อพิจารณาหาแนวทางป้องกัน และลดระดับความเสี่ยงของผู้บริโภคให้ปลอดภัยได้

ดังนั้น ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีทดสอบตามระบบ ISO 17025 ของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินแต่ละชนิดที่ดัดแปลงมาจาก AOAC 991.31 ในห้องปฏิบัติการ เพื่อให้ได้วิธีการที่เป็นที่ยอมรับระดับสากล และสามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซินชนิดต่างๆ ทั้ง 4 ชนิดที่ปนเปื้อนในถั่วสิสงได้อย่างมีความน่าเชื่อถือและถูกต้องตามหลักวิชาการ และนำข้อมูลการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในเมล็ดถั่วลิสงที่ได้ไปประเมินความเสี่ยงเพื่อใช้เป็นแนวทางป้องกันในการบริหารความเสี่ยง และให้ผู้บริโภคตระหนักถึงอันตรายในการบริโภคถั่วลิสง

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซิน บี1, บี2, จี1 และ จี2 ในเมล็ดถั่วลิสง โดยวิธีลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง

1.2.2 เพื่อประเมินความเสี่ยงของคนไทยต่อการได้รับสัมผัสสารอะฟลาทอกซิน บี1, บี2, จี1 และ จี2 จากการบริโภคถั่วลิสง

1.3 ขอบเขตการวิจัย

1.3.1 การตรวจสอบการใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ อะฟลาทอกซิน บี1, บี2, จี1 และ จี2 ในเมล็ดถั่วลิสง ด้วยวิธีลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง เพื่อตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ตามวิธีทดสอบที่ได้มาตรฐาน AOAC 991.31 โดยใช้พารามิเตอร์ในการตรวจสอบวิธีตามมาตรฐาน EURACHEM ดังนี้ ความจำเพาะของวิธีทดสอบ (Specificity), ช่วงของการใช้งาน (Range), ความเป็นเส้นตรง (Linearity), ความเที่ยง (Precision), ความแม่น (Accuracy), ปริมาณต่ำสุดที่วิธีทดสอบสามารถตรวจพบได้เชิงคุณภาพ (Limit of detection, LOD) และ ปริมาณต่ำสุดที่วิธีทดสอบสามารถตรวจพบได้เชิงปริมาณ (Limit of quantification, LOQ) พร้อมทั้งยืนยันความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โดยการประเมินผลการทดสอบความชำนาญหาปริมาณอะฟลาทอกซินในเมล็ดถั่วลิสง

1.3.2 การสำรวจการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินชนิดต่างๆ ในเมล็ดถั่วลิสง จำนวน 30 ตัวอย่าง ที่จำหน่ายในตลาดไท และตลาดสี่มุมเมือง โดยสุ่มเก็บตัวอย่างทุกเดือนในระหว่างเดือน เมษายน ถึง มิถุนายน พ.ศ. 2560 นำมาประเมินความเสี่ยงของคนไทยต่อการได้รับสัมผัสสารอะฟลาทอกซิน บี1, บี2, จี1 และ จี2 ในการบริโภคถั่วลิสงจากฐานข้อมูลการบริโภคอาหารของประเทศไทย ของสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ พ.ศ. 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 มีวิธีมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณ อะฟลาทอกซิน บี1, บี2, จี1 และ จี2 ในเมล็ดถั่วลิสงได้อย่างถูกต้อง แม่นยำเป็นที่ยอมรับ และน่าเชื่อถือในระดับสากล

1.4.2 เพื่อให้ได้ข้อมูลการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินแต่ละชนิดในเมล็ดถั่วลิสงจำหน่ายในท้องตลาด และใช้ในการประเมินความเสี่ยงต่อผู้บริโภคถั่วลิสงในประเทศไทย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ถั่วลิสง

ถั่วลิสงเป็นพืชตระกูลถั่ว ที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Arachis Hypogaea L.* จัดอยู่ในวงศ์ *Fabaceae* ชื่อสามัญ คือ Peanut, Groundnut, Earthnut, Goober, Pindar, Monkeynut มีภาษาท้องถิ่น ถั่วดิน (ภาคอีสานและภาคเหนือ) ถั่วยี่สง (ภาคกลาง) ถั่วลิง (ภาคกลาง) และ ถั่วใต้ดิน (ภาคใต้) เป็นต้น ถั่วชนิดนี้สามารถปลูกได้ทุกภาคของประเทศไทย โดยสายพันธุ์ที่เพาะปลูกโดยทั่วไป ได้แก่ Hypogaea มีถิ่นกำเนิดมาจากประเทศโบลิเวีย (อานนท์ และคณะ, 2532)

2.1.1 แหล่งเพาะปลูกในประเทศไทย

แหล่งเพาะปลูกถั่วลิสงส่วนใหญ่อยู่ทางภาคเหนือในจังหวัดลำปาง พะเยา เชียงราย รองลงมาได้แก่ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือในจังหวัด กาฬสินธุ์ ศรีสะเกษ นครราชสีมา และแหล่งเพาะปลูกในภาคกลาง ได้แก่ สระบุรี และลพบุรี ตามลำดับ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2549) เนื้อที่ และผลผลิตในการปลูกถั่วลิสงที่สำคัญแสดงดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 เนื้อที่ และผลผลิตในการปลูกถั่วลิสงแต่ละภาค และ 5 จังหวัดสูงสุดในประเทศไทย

จังหวัด	เนื้อที่เพาะปลูก (ไร่)			ผลผลิต (ตัน)		
	2545	2546	2547	2545	2546	2547
ภาคเหนือ	202,378	131,834	123,964	51,758	34,884	33,145
ลำปาง	42,982	27,910	25,755	11,837	7,967	7,362
เชียงใหม่	24,094	15,722	15,179	5,775	3,912	3,857
พะเยา	32,563	13,109	12,132	7,563	3,143	3,118
น่าน	15,478	12,037	11,156	4,298	3,332	3,081
เชียงราย	29,919	12,901	11,091	7,441	3,060	2,671
ตะวันออกเฉียงเหนือ	171,217	123,868	116,917	41,080	31,174	29,016
ศรีสะเกษ	17,531	20,416	18,990	4,475	5,100	4,936
อุบลราชธานี	13,753	15,123	14,033	3,675	3,708	3,409
กาฬสินธุ์	22,902	10,336	10,944	5,512	3,074	2,886
บุรีรัมย์	15,441	13,728	11,254	3,517	3,172	2,686

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

จังหวัด	เนื้อที่เพาะปลูก (ไร่)			ผลผลิต (ตัน)		
	2545	**2546**	**2547**	**2545**	**2546**	**2547**
ขอนแก่น	15,060	5,987	5,725	3,806	1,623	1,482
กลาง	63,011	31,337	30,239	16,887	7,984	8,413
ใต้	11,635	9,309	10,188	2,434	2,028	2,240
รวมทั้งประเทศ	448,241	296,348	281,308	112,149	76,070	72,814

ที่มา : สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2549)

2.1.2 ฤดูกาลเพาะปลูกถั่วลิสงในประเทศไทย

ถั่วลิสงสามารถปลูกได้ทุกภาคในประเทศไทย และสามารถปลูกได้ตลอดทั้งปี โดยถั่วที่ปลูกในฤดูปลายฝน หรือฤดูแล้งจะให้ผลผลิตที่มีคุณภาพดี เนื่องจากช่วงที่เก็บเกี่ยวมีความชื้นต่ำ จึงลดความเสี่ยงในการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน การแบ่งถั่วตามสภาพพื้นที่การเพาะปลูก และฤดูกาล (บุญมี, 2540; วีระ, 2545) เป็นดังนี้

2.1.2.1. ฤดูต้นฝน

เกษตรกรจะเริ่มปลูกถั่วลิสงในเดือนเมษายนถึงพฤษภาคม และจะเก็บเกี่ยวถั่วในเดือนกรกฎาคมถึงสิงหาคม ถั่วที่เพาะปลูกในฤดูฝนนี้ส่วนใหญ่แล้ว จะปลูกในพื้นที่ดอนที่ต้องอาศัยน้ำฝน และปลูกถั่วลิสงอย่างเดียว

2.1.2.2. ฤดูปลายฝน

เกษตรกรจะเริ่มปลูกถั่วลิสงในเดือนกรกฎาคมถึงสิงหาคม และจะเก็บเกี่ยวถั่วในเดือนพฤศจิกายนถึงธันวาคม ส่วนใหญ่แล้วเป็นถั่วที่เพาะปลูกร่วมกับข้าวหรือพืชไร่ และเป็นการปลูกเป็นพืชรองหรือพืชเสริม

2.1.2.3. ฤดูแล้ง

เกษตรกรจะเริ่มปลูกถั่วลิสงในเดือนธันวาคมถึงมกราคม และจะเก็บเกี่ยวถั่วในเดือนมีนาคมถึงเมษายน นิยมปลูกในพื้นที่เขตที่นา พื้นที่ชลประทาน หรือริมแม่น้ำ ซึ่งทำให้ได้ผลผลิตสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3. การบริโภค และการนำไปใช้ประโยชน์

การบริโภคถั่วลิสงมักนิยมนำมากะเทาะเปลือกเป็นเมล็ดถั่วลิสง เพื่อใช้เป็นส่วนประกอบของอาหาร เช่น แกงมัสมั่น น้ำจิ้มหมูสะเต๊ะ น้ำพริก และไส้ขนมชนิดต่างๆ นอกจากนี้ยังสามารถนำมาแปรรูปเพื่อเพิ่มมูลค่าสินค้าได้ เช่น การสกัดเป็นน้ำมัน และ การแปรรูปเป็นส่วนประกอบของขนม เช่น ถั่วเคลือบ ขนมจันอับ ถั่วกระจก ถั่วตัด กระยาสารท และเนยถั่วลิสง เป็นต้น ส่วนกากถั่ว-ลิสงสามารถนำไปผสมทำเป็นอาหารสัตว์ และปุ๋ยได้ (วิชัย และคณะ, 2550)

2.1.3.1 คุณค่าทางโภชนาการของถั่วลิสง

ถั่วลิสงเป็นแหล่งอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และแร่ธาตุ แสดงดังตารางที่ 2.2 (ภูวนาถ, 2531)

ตารางที่ 2.2 คุณค่าทางโภชนาการของถั่วลิสง

ส่วนประกอบทางเคมี	ปริมาณ (ต่อ 100 กรัม)
โปรตีน	26 กรัม
คาร์โบไฮเดรต	23 กรัม
ไขมัน	45 – 50 กรัม
แคลเซียม	52 มิลลิกรัม
เหล็ก	1.9 มิลลิกรัม
ใยอาหาร	1.9 - 3.0 กรัม
พลังงาน	546 แคลอรี

ที่มา : ภูวนาถ (2531)

2.1.3.2 ข้อมูลปริมาณการบริโภคถั่วลิสงในประเทศไทย (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2559)

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติได้สำรวจการบริโภคอาหารของคนไทยในระหว่างปี พ.ศ. 2556 - 2558 โดยแบ่งกลุ่มผู้บริโภคออกเป็น 7 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มที่ 1 อายุ 3 - 6 ปี, กลุ่มที่ 2 อายุ 6 – 13 ปี, กลุ่มที่ 3 อายุ 13 - 18 ปี, กลุ่มที่ 4 อายุ 18 - 35 ปี, กลุ่มที่ 5 อายุ 35 - 65 ปี, กลุ่มที่ 6 อายุ 65 ปีขึ้นไป และกลุ่มที่ 7 อายุ 3 ปีขึ้นไป และรายงานข้อมูลการบริโภคแต่ละชนิดเป็น 2 ลักษณะ คือ ข้อมูลของประชากรทั้งหมด (per capita) และข้อมูลที่รายงานเฉพาะผู้ที่บริโภคอาหารนั้น (eater only) ซึ่งข้อมูลประชากรทั้งหมด เป็นข้อมูลปริมาณการบริโภคอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เฉลี่ยต่อประชากรทั้งหมด หรือ เป็นข้อมูลรวมของทั้งผู้ที่บริโภคอาหารนั้น และผู้ที่ไม่ได้บริโภคอาหารนั้น ส่วนข้อมูลที่รายงานเฉพาะผู้ที่บริโภคอาหารนั้น (eater only) นอกจากนี้ ยังแบ่งการรายงานข้อมูลเป็น ค่าเฉลี่ย (สำหรับการบริโภคตามปกติ) และค่าเปอร์เซ็นต์ไทล์ที่ 97.5 (สำหรับการบริโภคปริมาณสูง)

เมื่อนำข้อมูลปริมาณการบริโภคถั่วลิสงของประชากรในประเทศไทย พบว่า ไม่มีรายการเมล็ดถั่วลิสง แต่มีผลิตภัณฑ์ถั่วอื่นๆ จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ ถั่วลิสงคั่ว ถั่วลิสงอบกรอบเคลือบ-รส ถั่วลิสงทอด และถั่วลิสงป่น โดยข้อมูลปริมาณการบริโภคถั่วลิสงชนิดต่างๆ ของประชากรในประเทศไทย แสดงดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ค่าเฉลี่ยและค่าเปอร์เซ็นต์ไทล์ที่ 97.5 ของปริมาณการบริโภคถั่วลิสงชนิดต่างๆ ของประชากรไทย

อาหาร	ช่วงอายุ	Per capita (กรัม/คน/วัน)		Eater only (กรัม/คน/วัน)	
		50% mean	97.50%	50% mean	97.50%
ถั่วลิสงคั่ว/อบกรอบ เช่น เจดีย์คู่ ทองการ์เด้น	3-5.9	0.84	9	40.04	100
	6-12.9	1.05	14.29	56.68	200
	13-17.9	1.12	12.86	54.25	100
	18-34.9	2.18	28.57	50.92	100
	35-64.9	0.67	7.15	39.19	100
	65 ขึ้นไป	0.44	3.34	43.15	200
	3 ปีขึ้นไป	1.11	12.86	45.63	100
ถั่วลิสงอบกรอบเคลือบรสต่าง ๆ เช่น โก๋แก่	3-5.9	1.18	12.57	21.75	44
	6-12.9	1.34	12.57	28.98	88
	13-17.9	1.81	15.71	32.78	95
	18-34.9	1.09	9.5	33.21	95
	35-64.9	0.39	3.14	31.27	95
	65 ขึ้นไป	0.04	0	17.83	23.75
	3 ปีขึ้นไป	0.75	6.79	30.97	95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 (ต่อ)

อาหาร	ช่วงอายุ	Per capita (กรัม/คน/วัน)		Eater only (กรัม/คน/วัน)	
		50% mean	**97.50%**	**50% mean**	**97.50%**
ถั่วลิสงทอด เช่น ถั่วลิสงทอดแผ่น	3-5.9	0.17	1.65	24.08	66
	6-12.9	0.2	2.36	32.81	72
	13-17.9	0.54	6.6	37.38	66
	18-34.9	0.72	9.43	34.38	72
	35-64.9	0.4	4.72	32.51	72
	65 ขึ้นไป	0.23	1.2	26.6	66
	3 ปีขึ้นไป	0.45	4.72	32.75	72
ถั่วลิสงป่น	3-5.9	0.11	1.26	3.89	8.8
	6-12.9	0.33	3.14	4.98	8.8
	13-17.9	0.55	3.77	5.75	8.8
	18-34.9	0.66	5.03	5.87	8.8
	35-64.9	0.29	3.14	5.02	8.8
	65 ขึ้นไป	0.09	1.26	4.15	8.8
	3 ปีขึ้นไป	0.38	3.77	5.31	8.8
ถั่วลิสงทั้งหมด	3-5.9	2.3	24.48	89.76	218.8
	6-12.9	2.92	32.36	123.45	368.8
	13-17.9	4.02	38.94	130.16	269.8
	18-34.9	4.65	52.53	124.38	275.8
	35-64.9	1.75	18.15	107.99	275.8
	65 ขึ้นไป	0.8	5.8	91.73	298.55
	3 ปีขึ้นไป	2.69	28.14	114.66	275.8

ที่มา: สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.4. สถานการณ์การปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในถั่วลิสง และผลิตภัณฑ์ ในประเทศไทย

ในการเกิดอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงสามารถเกิดได้ทุกขั้นตอนตั้งแต่ การเพาะปลูก การเก็บเกี่ยว การทำให้แห้ง การเก็บรักษา และการขนส่ง เริ่มจากขั้นตอนการเพาะปลูกในสภาวะแล้ง ต้นถั่วขาดน้ำ การพัฒนาฝักจึงไม่สมบูรณ์ เกิดการเข้าทำลายของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ในดินหรือการเข้าทำลายฝักจากแมลงได้ง่าย อย่างไรก็ตามขั้นตอนที่สำคัญของการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงนั้น เกิดขึ้นในขั้นตอนการปฏิบัติการหลังการเก็บเกี่ยว โดยเฉพาะการตากฝัก เนื่องจากไม่สามารถลดปริมาณความชื้นของฝักถั่วลิสงได้ทันเวลาต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราที่สร้างอะฟลาทอกซิน และขั้นตอนการเก็บรักษา ซึ่งส่วนใหญ่จะกองฝักถั่วลิสงไว้กับพื้น และเก็บในกระสอบ หากว่าฝักถั่วลิสงยังมีความชื้นสูงอยู่จะทำให้เกิดการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินจากเชื้อรา *A. flavus* ได้ภายใน 48 ชั่วโมง (อรุณศรี, 2539; วิเชียรและคณะ, 2548)

จากการสำรวจปริมาณอะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในถั่วลิสงและผลิตภัณฑ์ ได้แก่ ถั่วลิสงป่น, ถั่วตัด, ถั่วลิสงอบ, ตุ๊บตั๊บ, ไข่จิ้งจก และถั่วลิสงคั่ว จำนวน 120 ตัวอย่าง ในประเทศไทย พบว่าตัวอย่างจำนวน 64 ตัวอย่างปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน หรือคิดเป็น 53 เปอร์เซ็นต์ ของผลิตภัณฑ์ทั้งหมดที่ปริมาณการปนเปื้อนอยู่ในช่วง 0.40 – 933 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และมีจำนวนถึง 30 ตัวอย่าง หรือคิดเป็น 25 เปอร์เซ็นต์ ของผลิตภัณฑ์ทั้งหมด ที่มีค่าสูงกว่าค่ามาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่องมาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน ฉบับที่ 98 (พ.ศ. 2529) ที่กำหนดไว้ไม่เกิน 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และเมื่อแยกตามประเภท พบว่า ถั่วลิสงป่นพบการปนเปื้อนอยู่ในช่วง 1.85 – 412 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม คิดเป็น 81.6 เปอร์เซ็นต์ ของตัวอย่างถั่วลิสงป่นทั้งหมด (พิทยา และ คณะ, 2530) ดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 ชนิดและอะฟลาทอกซินที่ตรวจพบในผลิตภัณฑ์ถั่วลิสง

ชนิดอาหาร	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	พบ		พบเกินมาตรฐาน		ปริมาณอะฟลาทอกซิน (ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม)	ชนิดที่ตรวจพบ
		จำนวน	เปอร์เซ็นต์	จำนวน	เปอร์เซ็นต์		
ถั่วลิสงป่น	49	40	81.6	27	55.1	1.85-412	B_1 B_2 G_1 G_2
ถั่วตัด	28	10	35.7	1	3.57	0.60-104	B_1 B_2
ถั่วลิสงอบ	19	4	21.1	1	5.26	3.40-933	B_1 B_2
ตุ๊บตั๊บ	10	7	70.0	-	-	0.40-5.00	B_1 B_2
ถั่วลิสงคั่ว	5	3	60.0	1	20.0	4.20-25.5	B_1 B_2
รวม	120	64	53.3	30	25.0		

ที่มา : พิทยา และ คณะ (2530)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ศรีสิทธิ์ (2537) รายงานการสำรวจปริมาณอะฟลาทอกซินในถั่วลิสง และผลิตภัณฑ์ จำนวน 660 ตัวอย่างทั่วประเทศไทย ในระหว่าง ปี พ.ศ. 2525 - 2536 พบการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน จำนวน 561 ตัวอย่าง คิดเป็น 85 เปอร์เซ็นต์ ของตัวอย่างทั้งหมด และมีจำนวน 198 ตัวอย่าง คิดเป็น 30 เปอร์เซ็นต์ ของตัวอย่างทั้งหมดที่มีค่าสูงกว่าค่ามาตรฐาน (ไม่เกิน 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม) โดยพบว่า ถั่วลิสงป่นปนเปื้อนอะฟลาทอกซินปริมาณมากที่สุดจำนวน 172 ตัวอย่าง คิดเป็น 26 เปอร์เซ็นต์ ของตัวอย่างทั้งหมด ต่อมาในปี พ.ศ. 2543 ในการวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซิน ในขนมขบเคี้ยวที่ทำจากถั่วลิสงและข้าวโพดเป็นองค์ประกอบในจังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 12 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน 4 ตัวอย่าง คิดเป็น 19 เปอร์เซ็นต์ โดยพบอะฟลาทอกซินชนิด บี1 จำนวน 2 ตัวอย่าง ชนิด บี1 และ บี2 จำนวน 1 ตัวอย่าง และชนิด จี1 และ จี2 จำนวน 1 ตัวอย่าง (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์,2543)

ในปี พ.ศ. 2537-2545 จากการสำรวจถั่วลิสงและผลิตภัณฑ์ ที่ปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน จากจำนวน 713 ตัวอย่าง ทั้งในประเทศ และนำเข้า พบการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน 115 ตัวอย่าง คิดเป็น 16.1 เปอร์เซ็นต์ ของตัวอย่างทั้งหมด โดยมีปริมาณตั้งแต่ 0.7 – 3,238 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และในจำนวนนี้มีการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินเกินกว่ามาตรฐานกระทรวงสาธารณสุขที่ได้กำหนดไม่เกิน 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 63 ตัวอย่าง คิดเป็น 8.84 เปอร์เซ็นต์ ของตัวอย่างทั้งหมด (ดวงจันทร์ และวนิดา, 2547)

นอกจากนี้ จากรายงานข้อมูลความปลอดภัยในอาหาร ในกลุ่มธัญพืชถั่ว และผลิตภัณฑ์ถั่วตั้งแต่ปี พ.ศ. 2530 –2543 ใช้วิธีการวิเคราะห์แบบลิควิดโครมาโตรกราฟีสมรรถนะสูง (High performance liquid chromatography, HPLC) พบการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงกับถั่วลิสงป่น มีโอกาสปนเปื้อนอะฟลาทอกซินสูงและเกินมาตรฐานกำหนด (วราภา และ คณะ, 2547) ดังตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.5 ปริมาณสารพิษจากเชื้อราที่พบในถั่วลิสง (ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม)

ชนิดอาหาร	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนที่พบ (%)	เกินมาตรฐาน (%)	วิธีทดสอบ	อ้างอิง
ถั่วลิสงดิบ	20	ND	ND	HPLC	อมรา (2543)
	11	ND	3 (27.3)	HPLC	สถาบันอาหาร (2543)
ถั่วลิสงป่น	20	ND	ND	HPLC	อมรา (2543)
	24	ND	ND		จินตนา (2542)
	152	ND	97 (63.8)	HPLC	ศรีสิทธิ์ และคณะ (2538)
	9	ND	2	HPLC	สถาบันอาหาร (2543)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.5 (ต่อ)

ชนิดอาหาร	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนที่พบ (%)	เกินมาตรฐาน (%)	วิธีทดสอบ	อ้างอิง
ถั่วลิสงอบ	19	4 (21.1)	1 (5.26)	-	พิทยา และคณะ (2530)
	9	1 (11.1)	1 (11.1)	-	จินตนา (2542)
ถั่วเคลือบ	25	ND	8	HPLC	ศรีสิทธิ์ และคณะ (2538)
ถั่วตัด, ถั่วทอด	28	10 (35.7)	1 (3.57)	-	พิทยา และคณะ (2530)
	55	37 (67.3)	18 (32.8)	HPLC	ศรีสิทธิ์ และคณะ (2538)

ที่มา : วราภา และ คณะ (2547)

2.1.5. งานวิจัยเกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงและธัญพืชต่างๆของต่างประเทศ

ถั่วลิสงเป็นพืชตระกูลถั่วที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดอะฟลาทอกซินสูงกว่าถั่วชนิดอื่นๆ เนื่องจากเป็นพืชที่มีฝักอยู่ใต้พื้นดิน ทำให้สภาวะแวดล้อมเอื้อต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus* นอกจากนี้กระบวนการหลังการเพาะปลูก เช่น การเก็บเกี่ยว และการเก็บรักษามีความเสี่ยงต่อการเกิดอะฟลาทอกซินเช่นเดียวกัน หากเกษตรกรและผู้ผลิตไม่ปฏิบัติตามมาตรฐานกำหนด (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2543; ดวงจันทร์ และวนิดา, 2547; Luttufullah และ Hussain, 2011; Ding และคณะ, 2012; Schwartzboard และ Brown, 2015) ซึ่งผลการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินในถั่วลิสง ถั่วและธัญพืชต่างๆของประเทศต่างๆ แสดงให้เห็นว่า ปริมาณอะฟลาทอกซินที่พบในถั่วลิสงและธัญพืชต่างๆมีค่าสูง โดยเฉพาะพืชประเภทถั่วสามารถสรุปบางส่วนได้ดังตารางที่ (2.6)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.6 ผลการวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงและธัญพืชต่างๆในต่างประเทศ

ประเทศ	ตัวอย่าง	วิธีวิเคราะห์	ปริมาณอะฟลาทอกซิน (ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม)	อ้างอิง
มาเลเซีย	ถั่ว จำนวน 196 ตัวอย่าง ได้แก่ ถั่วลิสงดิบ ถั่ววอลนัท ถั่วลิสงเคลือบ ถั่วกังตัง(gung tang) เค้กบัตเตอร์ถั่ว ผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ที่มีส่วนผสมของถั่ว และท็อฟฟี่ถั่ว	ELISA	16.6-711	Leong และคณะ (2010)
สาธารณประชาธิปไตยคองโก	ถั่วลิสงดิบ จำนวน 60 ตัวอย่าง	TLC	ฤดูแล้ง = 1.5-390 ฤดูฝน = 12-937	Kamika และ Takoy (2011)
ปากีสถาน	ผลไม้แห้งและถั่ว จำนวน 180 ตัวอย่าง	HPLC	14.5	Luttfullah และ Hussain (2011)
ปากีสถาน	ผลไม้แห้งและถั่ว จำนวน 132 ตัวอย่าง	HPLC	ค่าเฉลี่ย = 0.99 - 7.89	Masood และคณะ (2015)
จีน	ถั่วลิสงดิบมีเปลือก จำนวน 1,040 ตัวอย่าง	HPLC	0.01-720	Ding และคณะ (2012)
อินเดีย	ถั่ว จำนวน 264 ตัวอย่าง ได้แก่ ถั่วลิสง ถั่วพิตาชิโอ เม็ดมะม่วงหิมพานต์ เฮเซลนัท และ อัลมอนต์	HPLC	1.0-110	El Tawila และคณะ (2013)
เฮติ	ถั่ว จำนวน 62 ตัวอย่าง ได้แก่ ถั่วลิสงดิบ เนยถั่ว	HPLC	137-2,720	Schwartzboard และ Brown (2015)
สาธารณรัฐแซมเบีย	ถั่วดิบ จำนวน 92 ตัวอย่าง	HPLC	0.014-48.7	Bumbangi และคณะ (2016)

หมายเหตุ ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay), TLC (Thin layer chromatography) และ HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 2.6 พบว่า การวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงสามารถวิเคราะห์ด้วยวิธี ELISA, TLC และ HPLC แต่งานวิจัยส่วนใหญ่นิยมใช้ HPLC อย่างไรก็ตามทั้ง 3 วิธีแสดงให้เห็นว่า พืชตระกูลถั่วมีการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินจำนวนมาก ซึ่งปัจจัยการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในถั่วมีดังต่อไปนี้

งานวิจัยของ Kamika และ Takoy (2011) ศึกษาปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในถั่วดิบโดยแบ่งการสำรวจออกเป็น 2 ช่วงคือ ฤดูแล้ง (พฤษภาคม ถึง มิถุนายน) และฤดูฝน (ตุลาคม ถึง พฤศจิกายน) พบว่าปริมาณอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงเพิ่มมากขึ้นในช่วงฤดูฝน คิดเป็น 70 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Leong และคณะ (2010) ที่พบว่า อุณหภูมิสูงและความชื้นในประเทศมาเลเซียเป็นปัจจัยหลักของการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในถั่วลิสง รวมถึงงานวิจัยในสาธารณรัฐแซมเบีย (Bumbangi และคณะ, 2016) ที่เก็บตัวอย่างถั่วลิสงดิบในเขตการเพาะปลูกที่มีอากาศร้อนชื้น พบว่า 55.4 เปอร์เซ็นต์ ของตัวอย่างทั้งหมดปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน (0.014-48.67 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม) นอกจากนี้ ผลการทดลองของ Wu และคณะ (2016) ยังพบว่า ในสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสมต่อการปลูกถั่ว คือ ช่วงที่มีฝนตกน้อย อุณหภูมิต่ำสุดและสูงสุดอยู่ระหว่าง 23 - 29 องศาเซลเซียส ค่าเฉลี่ยของอุณหภูมิอยู่ที่ 20 องศาเซลเซียส ดังนั้น ภูมิอากาศ อุณหภูมิและความชื้นเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในถั่วลิสง

ระยะเวลา และการเก็บรักษา เป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในถั่วลิสง โดย Luttfullah และ Hussain (2011) ศึกษาปริมาณอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงและถั่วชนิดอื่นๆ โดยแบ่งถั่วเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีเปลือกหุ้มเมล็ด และกลุ่มที่กระเทาะเปลือกออก พบว่า ถั่วในกลุ่มที่ 2 มีปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินมากกว่า โดยมีปริมาณอะฟลาทอกซินสูงที่สุดคือ 14.5 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม คณะผู้วิจัยได้ระบุว่า การกระเทาะเปลือกทำให้เชื้อรา *Aspergillus* ปนเปื้อนถั่วได้โดยตรง นอกจากนี้ การเก็บพักถั่วไว้บนพื้นดินในแปลงปลูกหลังจากการเก็บเกี่ยว ก็เป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่ส่งผลต่อการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในถั่ว Ding และคณะ (2012) พบว่า จากการสุ่มเก็บตัวอย่างถั่วลิสงดิบในประเทศจีน จำนวน 1,040 ตัวอย่าง มาวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซิน บี1 โดยใช้เทคนิคลิควิดโคมาโทกราฟี พบว่า มีการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในช่วง 0.01 – 720 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม คิดเป็น 25 เปอร์เซ็นต์ ของตัวอย่างทั้งหมด ทั้งนี้สภาวะแวดล้อมในการจัดเก็บถั่วลิสงหลังการเก็บเกี่ยวที่ไม่ถูกสุขลักษณะจึงเป็นสาเหตุให้ปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน

จากงานวิจัยของ El Tawila และคณะ (2013) ที่สำรวจถั่วในเมืองเมกกะ ซึ่งเป็นศูนย์กลางการนำเข้าถั่วจากต่างประเทศ ของประเทศอินเดีย พบการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินสูงถึง 1.0 - 110 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ถั่วเหล่านี้มีแหล่งผลิตจากประเทศอิหร่าน จีน ไซเรีย ตุรกี สหรัฐอเมริกา ซูดาน และอียิปต์ เป็นต้น ดังนั้นจึงมีความหลากหลายทั้งทางสภาพภูมิอากาศในการเพาะปลูก เกณฑ์การควบคุมและมาตรฐานต่างๆที่นำมาบังคับใช้ เช่น Good Agriculture Practices

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และ Good Manufacturing Practice เป็นต้น จึงทำให้การควบคุมการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในถั่วลำบากมากขึ้น

สถานที่การเก็บวัตถุดิบ หรือ ผลิตภัณฑ์ ก็มีผลต่อการตรวจพบอะฟลาทอกซินในถั่ว กล่าวคือ หากเก็บตัวอย่างจากตลาดหรือซุปเปอร์มาร์เก็ต ผู้จำหน่ายจะมีการคัดแยกถั่วที่ไม่สมบูรณ์หรือมีสีดำจากเชื้อราออกก่อนการแปรรูปหรือจำหน่าย จึงทำให้การปนเปื้อนอะฟลาทอกซินน้อยลง (Schwartzboard และ Brown, 2015)

นอกจากนี้งานวิจัยของ Bumbangi และคณะ (2016) เก็บตัวอย่างถั่วดิบจำนวน 96 ตัวอย่าง จากตลาดสดและซุปเปอร์มาร์เกตในสาธารณรัฐแซมเบีย พบว่า 51 ตัวอย่าง (55.4 เปอร์เซ็นต์) ปนเปื้อนอะฟลาทอกซินคิดเป็น 0.014 - 48.67 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม

2.1.6. ผลของกระบวนการผลิตเบื้องต้นต่อการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน

ถั่วลิสงเป็นพืชที่อยู่ใต้ดิน จึงมีความเสี่ยงต่อการเข้าทำลายฝักของเชื้อรา *Aspergillus* เนื่องจากเชื้อราชนิดนี้อาศัยอยู่ในดิน โดยจะอาศัยช่วงที่ถั่วลิสงขาดน้ำ ทำให้เชื้อแข่งขันตัวอื่นที่อาศัยอยู่บนผิวเปลือกหยุดการเจริญเติบโต และการป้องกันตัวเองจากธรรมชาติของถั่วลิสงลดลง เมื่อเชื้อชนิดอื่นๆเจริญได้น้อยลง ทำให้เพิ่มพื้นที่ผิวในการเจริญของเชื้อ *Aspergillus* ได้มากขึ้น ถ้าหากเปลือกฝักของถั่วลิสงมีบาดแผลจากแมลงหรือเครื่องมือทางการเกษตรก็จะเป็นปัจจัยหนึ่งที่ช่วยทำให้เชื้อรา *Aspergillus* เข้าทำลายฝักของถั่วลิสง อีกทั้งถ้ามีสภาวะแวดล้อมที่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราก็จะทำให้มีปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินเพิ่มมากขึ้น (โสภณ และ สนั่น, 2554)

2.1.6.1 อายุการเก็บเกี่ยวถั่วลิสง

ระยะเวลาการเพาะปลูกถั่วลิสงที่ให้ผลผลิตสูง และมีคุณภาพดีเหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยวจะมีอายุประมาณ 100 - 120 วัน เมล็ดถั่วลิสงที่แก่ หรืออ่อนเกินไป จะมีโอกาสปนเปื้อนอะฟลาทอกซินจากเชื้อรา *Aspergillus* มากกว่าเมล็ดถั่วลิสงที่สุกพอดี เนื่องจากเมล็ดถั่วลิสงที่อ่อนเกินไปจะทำให้เชื้อรา *Aspergillus* เข้าทำลายเมล็ดถั่วลิสงได้ง่าย เพราะการป้องกันตัวเองจากธรรมชาติต่ำ ส่วนถั่วลิสงที่สุกแก่เกินไปจะทำให้เปลือกฝักของถั่วลิสงปลิดออกง่ายต่อการเข้าทำลายของแมลง และเป็นช่องทางการปนเปื้อนของเชื้อรา *Aspergillus* ที่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้ง่าย ดังนั้นการเก็บเกี่ยวถั่วลิสงที่ตรงต่ออายุการเก็บเกี่ยวจะช่วยให้ลดการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินได้ และทำให้เมล็ดถั่วลิสงมีคุณภาพดี (อรุณศรี, 2540)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.6.2 วิธีการเก็บเกี่ยวถั่วลิสง

ในการเก็บเกี่ยวถั่วลิสงในประเทศไทยนั้นนิยมใช้แรงงานคนมากกว่าเครื่องจักร ทำให้ใช้เวลานานในการเก็บเกี่ยว ซึ่งเกษตรกรมักขุดและทิ้งฝักถั่วลิสงกองไว้ในไร่ ประมาณ 1 - 4 วัน เพื่อให้ดินแห้งและร่วนออกจากฝักถั่วลิสง (สุจรรยา และคณะ, 2531) อีกทั้งบางพื้นที่สภาพพื้นดินที่ใช้ปลูกถั่วลิสงนั้นมีสภาพแข็งและเหนียวทำให้ยากต่อการขุด เกษตรกรจึงปล่อยน้ำลงในแปลงปลูก เพื่อทำให้ดินอ่อนตัว และง่ายต่อการเก็บเกี่ยว แต่วิธีการนี้จะที่ทำให้ถั่วลิสงมีความชื้นสูง (จวงจันทร์, 2540; นรินทร์, 2545; เสถียร, 2530) ดังนั้นในการเก็บเกี่ยวถั่วลิสงควรใช้เวลาให้น้อยที่สุด และใช้วิธีที่ทำให้ถั่วลิสงนั้นมีความชื้นต่ำ เพื่อลดการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus*

2.1.6.3 การลดความชื้นเบื้องต้น

ในขั้นตอนการตากฝักถั่วลิสงเพื่อลดความชื้นนั้น สามารถทำได้โดยการนำไปผึ่งแดด โดยไม่ควรที่จะตากถั่วฝักลิสงบนพื้นดิน และควรระวังไม่ให้ฝักถั่วลิสงโดนฝน หรือเปียกน้ำจากแปลงปลูก ควรตากฝักถั่วลิสงให้มีระยะห่างออกจากกัน ไม่ตากฝักถั่วลิสงกองซ้อนกัน เพราะจะทำให้เกิดการสะสมความร้อน และทำให้ถั่วลิสงมีความชื้นเพิ่มมากขึ้น ทำให้ได้เมล็ดถั่วลิสงที่ไม่มีคุณภาพ (เสถียร, 2530)

2.1.6.4 การปลิดฝักถั่วลิสง

การปลิดฝักถั่วลิสงนั้นควรทำโดยระมัดระวังไม่ให้เมล็ดถั่วลิสงนั้นปลิดแตก ซึ่งในขั้นตอนนี้สามารถทำได้ 3 วิธี คือ การปลิดฝักถั่วลิสงด้วยมือ การปลิดฝักถั่วลิสงโดยการฟาด และการปลิดถั่วลิสงด้วยเครื่องจักร ซึ่งแต่ละวิธีนั้นมีข้อดี และข้อเสียแตกต่างกัน โดยการปลิดฝักถั่วลิสงด้วยมือนั้นจะทำให้ได้ถั่วลิสงที่สะอาด แต่ใช้เวลานานและได้ปริมาณน้อย ส่วนการปลิดฝักถั่วลิสงโดยการฟาดจะทำให้ถั่วลิสงนั้นปลิดแตกได้ง่าย แต่เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว และต้นทุนต่ำ และการปลิดถั่วลิสงด้วยเครื่องจักรนั้นจะทำให้ได้ปริมาณมาก แต่ต้นทุนสูง (จวงจันทร์, 2440; อารีย์, 2544)

2.1.6.5 การตากแห้ง

ก่อนการบรรจุเมล็ดถั่วลิสงลงถุงหรือกระสอบนั้น ควรนำถั่วลิสงไปตากแดดก่อนให้มีความชื้น 7-10 เปอร์เซ็นต์ (เสถียร, 2530) เนื่องจากเมล็ดถั่วลิสงที่ปลิดออกจากฝักนั้นจะมีความชื้นสูงประมาณ 25-50 เปอร์เซ็นต์ โดยถั่วลิสงที่ปลูกในฤดูฝนจะมีความชื้นสูงกว่าถั่วลิสงที่ปลูกในฤดูแล้ง และเมล็ดถั่วลิสงที่อ่อนจะมีความชื้นมากกว่าเมล็ดถั่วลิสงที่แก่ ซึ่งความชื้นเหล่านี้อาจทำให้เกิดการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินจากเชื้อรา *Aspergillus* ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.6.6 การกะเทาะถั่วลิสง

ในการกะเทาะเมล็ดถั่วลิสงสามารถทำได้หลายวิธีทั้งการใช้เครื่องกะเทาะเมล็ดหรือใช้มือ จากการศึกษาโดยใช้เครื่องกะเทาะถั่วลิสง 3 แบบ คือ เครื่องกะเทาะแบบล้อยาง เครื่องกะเทาะแบบใบพัดไม้ และเครื่องกะเทาะแบบไม้ พบว่าการใช้เครื่องกะเทาะทั้ง 3 แบบ ทำให้เมล็ดถั่วลิสงเกิดความเสียหาย เมื่อเทียบกับวิธีการกะเทาะแบบใช้มือ (จวงจันทร์,2527) ถ้าหากไม่มีขั้นตอนการคัดแยกเมล็ดที่เกิดความเสียหายออก จะทำให้เกิดการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินได้มากขึ้น

2.1.6.7 การเก็บรักษา

ในการเก็บรักษาถั่วลิสงนั้น ควรเก็บในห้องที่ปิดมิดชิด สามารถป้องกันแมลงและสัตว์กัดแทะได้ สภาพแวดล้อมควรมีการถ่ายเทอากาศที่ดี สะอาด และแห้ง ไม่เป็นห้องอับชื้น และไม่วางถั่วลิสงไว้กับพื้นดินโดยตรง เนื่องจากจะทำให้ถั่วลิสงดูดซับความชื้นจากพื้นดินได้ ควรใช้วัสดุวางรองกระสอบถั่วลิสง หรือใช้แคร่ไม้

2.2 เชื้อราที่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน

2.2.1 ชนิดและสายพันธุ์ของเชื้อราที่สร้างอะฟลาทอกซิน

การสร้างสารพิษของเชื้อราแต่ละสปีชีย์นั้นมีความแตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 2.7 โดยส่วนใหญ่เชื้อราที่สร้างอะฟลาทอกซิน ได้แก่ *A. flavus* และ *A. parasiticus* ที่สามารถสร้างอะฟลาทอกซิน บี1 บี2 จี1 และ จี2 ในถั่วลิสง ข้าว และข้าวสาลี ส่วน *A. oryzae* สามารถสร้างอะฟลาทอกซิน บี1 และบี2 ในถั่วลิสงและข้าว และ *A. warholumas* สามารถสร้างได้เฉพาะอะฟลาทอกซิน บี1 และบี2 ในอาหาร นอกจากนี้ *A. niger*, *A.ruber*, *A. sinus*, *Penicellium*, *P. puberrum*, *P. valerian*, *P. chrysogenum* และ *Rhizopus* สามารถสร้างอะฟลาทอกซิน บี1 และ จี1 ได้เป็นส่วนใหญ่ และสร้างอะฟลาทอกซิน บี2 และจี2 ได้ปริมาณน้อย (Glinsukol และคณะ, 1976)

ตารางที่ 2.7 สายพันธุ์ของเชื้อรา *Aspergillus* ที่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน

สายพันธุ์	ประเทศ	สายพิษที่ตรวจพบ
A. bombycis	ญี่ปุ่น อินโดนีเซีย	AFB, AFG, KA
A. flavus	พบได้ทั่วโลก	AFB_1, AFB_2, KA, CPA และอื่นๆ
A. nomius	สหรัฐอเมริกา ไทย ทวีปอเมริกาใต้	AFB, AFG, KA และ อื่นๆ
A. parasiticus	มีแนวโน้มพบได้ทั่วโลก	AFB, AFG, KA และ อื่นๆ
A. parvisclerotigenus	แอฟริกา	AFB, AFG, CPA และ KA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.7 (ต่อ)

สายพันธุ์	ประเทศ	สายพิษที่ตรวจพบ
A. minisclerotigenes	สหรัฐอเมริกา แอฟริกา ออสเตรเลีย ทวีปอเมริกาใต้	AFB, AFG, CPA KA และอื่นๆ
A. arachidicola	ทวีปอเมริกาใต้	AFB, AFG, CPA KA และอื่นๆ
A. pseudotamarii	ญี่ปุ่น ทวีปอเมริกาใต้	AFB1, KA, และ CPA
A. ochraceoroseus	แอฟริกา	AFB_1, AFB_2, ST และอื่นๆ
A. rambellii	แอฟริกา	AFB_1, AFB_2, ST และอื่นๆ

หมายเหตุ AFB หมายถึง อะฟลาทอกซิน B

AFG หมายถึง อะฟลาทอกซิน G

KA หมายถึง kojic acid

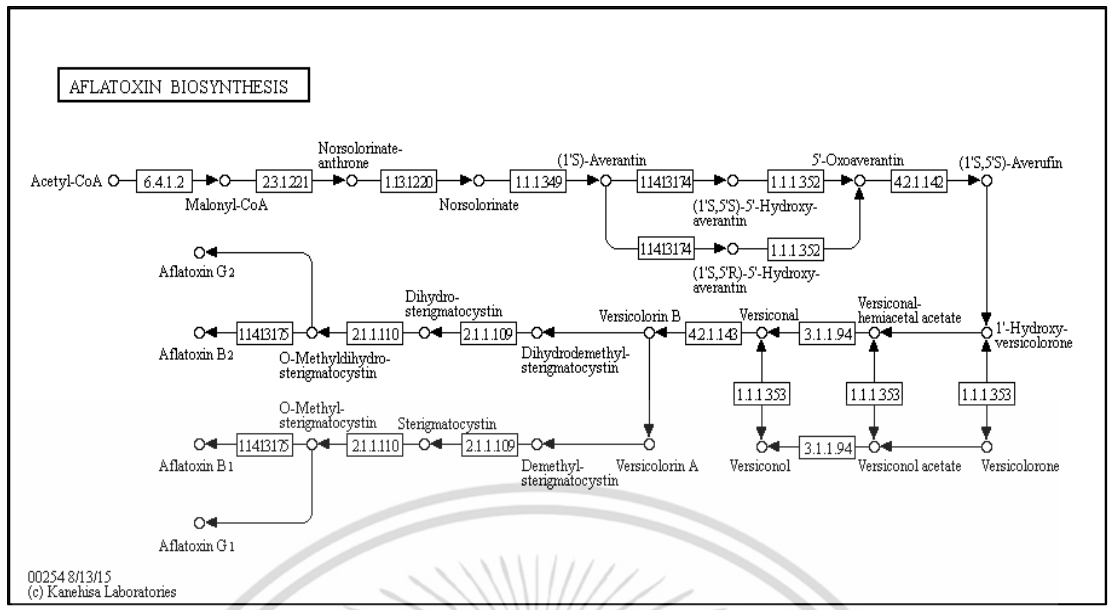
CPAหมายถึง cyclopiazonic acid

ST หมายถึง sterigmatocystin

ที่มา Varga และคณะ (2009)

กระบวนการสังเคราะห์อะฟลาทอกซิน เกิดจากการสังเคราะห์สารพิษทางชีวภาพจากสารตัวกลางในกลุ่มคีไตด์ (ketide) โดยสารตั้งต้นคือ แอซีเตต (acetate) จากนั้นจะเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเป็นวงแหวนของกรดไซคลิกโพลีคีโต (cyclicpolyketo acid) อะเวรูฟิน (averufin) เวอร์ซิโนคอล (versinocol) และ สเตอริกมาโตซิสติน (sterigmatocystin) ตามลำดับ จนเกิดเป็นสารพิษ อะฟลาทอกซิน ดังภาพที่ 2.1 โดยสารตั้งต้นที่เหมาะสมต่อการสร้างอะฟลาทอกซิน คือ ไนโตรเจน และกรดอะมิโน เช่น แอสพาราจีน (asparagine) แอสพาเตท (aspartate) ไกลซีน (glycine) และ กลูตามีน (glutamine) ซึ่งพบว่าการสังเคราะห์อะฟลาทอกซินจากการเลี้ยงเชื้อ *A. flavus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ และวัตถุดิบอาหารสัตว์ จะเกิดขึ้นภายในเวลา 48 ชั่วโมง และปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินสูงที่สุดในวันที่ 7 (Heathcote, 1984)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.1 กระบวนการสังเคราะห์อะฟลาทอกซิน

ที่มา : http://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?map=map00254&show_description=show

2.2.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อรา และการสร้างอะฟลาทอกซิน

2.2.2.1 แหล่งอาหาร

อาหารแต่ละชนิดจะมีธาตุ และสารอาหารที่แตกต่างกัน โดยธาตุและสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญและสร้างสารพิษจากเชื้อรา ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไนโตรเจน และธาตุอาหารเสริม เช่น เหล็ก สังกะสี เป็นต้น (สุดาทิพย์, 2550)

(1). ธาตุไนโตรเจนจากกรดอะมิโนมีความจำเป็นในการสร้างอะฟลาทอกซินมาก โดยจากการศึกษา พบว่า เมื่อเพิ่มกรดแอสปาร์ติก (aspartic acid) และ แอมโมเนียมซัลเฟต ในสารอาหารจะช่วยให้เชื้อรา *Aspergillus* สร้างอะฟลาทอกซินเพิ่มขึ้น (Reddy และคณะ, 1971)

(2). ธาตุคาร์บอนที่ได้จากน้ำตาลชนิดต่างๆ เช่น ซูโครส ฟรุคโตส ไซโลส และไรโบส โดยเป็นแหล่งอาหารที่ช่วยในการเจริญเติบโตของเชื้อราที่สร้างอะฟลาทอกซิน โดยเฉพาะน้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งอาหารที่ช่วยให้เชื้อราผลิตสารพิษได้ดีที่สุด (Lin และDianese, 1976)

(3). เกลือแร่ ธาตุอาหารเกลือแร่ที่จำเป็นต่อการสร้างอะฟลาทอกซิน ได้แก่ สังกะสีไอออน ถ้ามีน้อยจะทำให้เชื้อราสร้างอะฟลาทอกซินได้น้อย (Purchase, 1972)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2.2 ความชื้น และความชื้นสัมพัทธ์

ความชื้น และความชื้นสัมพัทธ์ จากสภาวะแวดล้อม รวมถึงความชื้นภายในเมล็ดพืช ที่เหมาะสมจะเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เชื้อรา *Aspergillus* สามารถเจริญเติบโต และสร้างอะฟลาทอกซินได้ โดยความชื้นสัมพัทธ์ภายในอากาศมากกว่า 85 เปอร์เซ็นต์ หรือ มีค่าวอเตอร์-แอคทีวิตี้ ประมาณ 0.70 – 0.99 และความชื้นภายในเมล็ดพืช 18 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้เชื้อราเจริญได้รวดเร็ว และสามารถสร้างสารพิษได้ จึงได้มีการกำหนดค่าความชื้นภายในเมล็ดพืชที่ปลอดภัยต่อการเจริญของเชื้อรา เช่น ถั่วเหลือง 8 เปอร์เซ็นต์ ข้าวโพด 13 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดฝ้าย 10 เปอร์เซ็นต์ และถั่วลิสง 7 เปอร์เซ็นต์ เป็นต้น (ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีแห่งชาติ, 2548) วุฒิศักดิ์ และคณะ (2540) รายงานการถ่ายเชื้อราชนิดนี้ ลงในแปลงถั่วลิสงในสภาวะธรรมชาติที่ความชื้นต่ำกว่า 8.3 เปอร์เซ็นต์นั้น ไม่พบการสร้างอะฟลาทอกซิน แต่เมื่อเพิ่มความชื้นเป็น 14.7 – 25.4 เปอร์เซ็นต์ พบปริมาณอะฟลาทอกซิน 0.83 – 8.33 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ดังนั้น ในการเก็บรักษาถั่วลิสงควรมีการลดปริมาณความชื้นในเมล็ดถั่วลิสงให้ต่ำกว่า 7 เปอร์เซ็นต์ หรือ ตากแสงแดด ประมาณ 7 – 8 ครั้ง เพื่อป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อดังกล่าว *Aspergillus* (วุฒิศักดิ์ และคณะ, 2540)

2.2.2.3 อุณหภูมิ

เชื้อ *Aspergillus* มีช่วงอุณหภูมิในการเจริญเติบโตค่อนข้างกว้าง ถ้าหากมีความชื้นเหมาะสม เชื้อราจะสามารถเจริญเติบโตและสร้างอะฟลาทอกซินได้ตั้งแต่ช่วงอุณหภูมิ 6 – 46 องศาเซลเซียส เช่น *A. flavus* เจริญได้สูงสุดนั้นอยู่ในช่วง 29 – 35 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ *A. parasiticus* อยู่ในช่วง 30 – 35 องศาเซลเซียส สำหรับช่วงอุณหภูมิที่เชื้อราสามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้ คือ 25 – 30 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิที่เชื้อราสามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้สูงที่สุดในอาหารเลี้ยงเชื้อ คือ 25 องศาเซลเซียส โดยเฉพาะการสร้าง อะฟลาทอกซิน บี1 ของเชื้อรา *A. flavus* และ อะฟลาทอกซิน จี1 ของเชื้อรา *A. parasiticus* ในถั่วลิสง (Diener และ Davis, 1986) ทั้งนี้การเพิ่มอุณหภูมิจาก 15 เป็น 28 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณอะฟลาทอกซินเพิ่มขึ้นเป็น 4 เท่า ภายในเวลา 48 ชั่วโมง (West และคณะ, 1973) ดังนั้น ในการป้องการเจริญเติบโตของเชื้อราและการสร้างสารพิษ ควรเก็บเมล็ดพืชในที่แห้งและเย็น

2.2.2.4 แสง

แสงแดดมีผลต่อการเจริญของเส้นใย การงอก และการสร้างสปอร์ของเชื้อรา ส่งผลให้เชื้อราสร้างสารพิษได้น้อยลง Joffe and Lisker (1969) รายงานว่า ภายใต้สภาวะแวดล้อมที่มีแสงมาก เชื้อจะสร้างอะฟลาทอกซินลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2.5 ปริมาณออกซิเจน และคาร์บอนไดออกไซด์

ปริมาณออกซิเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ มีผลต่อการเจริญ และการสร้างสปอร์ของเชื้อราโดยรวมถึงการสร้างอะฟลาทอกซิน โดยเมื่อลดปริมาณออกซิเจนลง แต่เพิ่มปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้น พบว่า การผลิตอะฟลาทอกซินของเชื้อรานั้นลดลง ดังนั้นเชื้อราส่วนใหญ่จึงต้องการออกซิเจนในการเจริญ (Aerobic fungi) แต่ก็สามารถทนต่อสภาวะที่มีออกซิเจนต่ำได้ (ดารา และคณะ, 2526) อีกทั้ง เมื่อเพิ่มปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์จาก 0.03 ถึง 20 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้การสร้างอะฟลาทอกซิน ของเชื้อรา *A. flavus* ลดลงถึง 75 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อปริมาณออกซิเจนลดลงเหลือ 1 เปอร์เซ็นต์ เชื้อรายังสามารถเจริญได้บ้าง แต่การสร้างอะฟลาทอกซินจะลดลงด้วย (Landers และคณะ, 1967)

2.2.3 การเข้าทำลายของเชื้อราในเล็ดถั่วลิสง

เชื้อราสามารถเข้าทำลายเมล็ดถั่วลิสงได้ ตั้งแต่ ถั่วลิสงที่กำลังเจริญเติบโตหรือพัฒนาฝักอยู่ใต้ดิน ภายหลังจากการขุดขึ้นมาจากดิน ระหว่างการตากแห้งเพื่อลดความชื้น และขณะเก็บรักษาเพื่อรอการจำหน่าย โดยเชื้อราที่เป็นสาเหตุหลัก คือ *A. flavus* และ *A. parasiticus* เมื่อมีสภาวะ-แวดล้อมที่เหมาะสม เชื้อราจะสร้างอะฟลาทอกซินขึ้นมา

2.2.3.1 การพัฒนาฝักถั่วลิสง

เชื้อ *Aspergillus* เป็นเชื้อราที่เจริญได้ดีในดิน ดังนั้นเมื่อฝักถั่วลิสงเกิดการผสมเกสรแล้วส่วนของเข็ม (peg) แทงลงใต้ดิน ส่วนของปลายเข็มจะเจริญเป็นฝักอยู่ในดิน จึงทำให้มีโอกาสที่เชื้อราจะติดมากับฝักถั่วลิสงได้มาก เมื่อสปอร์เริ่มงอกจนถึงวันที่ 4 เส้นใยจะแทงทะลุผ่านเข้าไปในเยื่อหุ้มของเมล็ดถั่วลิสงตรงบริเวณ central cavity ติดกับ protective layer ชั้นนอก บริเวณที่มีการสัมผัสระหว่าง spore tube กับ intracavity substance จะเริ่มมีการย่อยสลาย เมื่อเส้นใยทะลุผ่านจนถึงชั้น epidermis และ parenchyma เข้าไปยังเมล็ดจะทำให้เชื้อราเริ่มมีการแบ่งเซลล์อย่างรวดเร็วจนเกิดการสร้างอะฟลาทอกซิน (Waliyar and Aabadie, 1978)

2.2.3.2 การขาดน้ำของถั่วลิสง

การขาดน้ำของถั่วลิสง จะทำให้ถั่วลิสงอ่อนแอ และเกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของพืช ง่ายต่อการเข้าทำลายของเชื้อราและเป็นผลให้เกิดการปนเปื้อนอะฟลาทอก-ซินก่อนการเก็บเกี่ยวได้ แต่การเกิดอะฟลาทอกซินจากการขาดน้ำนั้นจะแตกต่างกันตามสายพันธุ์ของถั่วลิสง โดยสายพันธุ์ของถั่วลิสงที่อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อราหลังจากเกิดสภาวะการขาดน้ำ 3 สัปดาห์ และอาจเกิดการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินสูงถึง 81 เปอร์เซ็นต์ และในบางครั้งพบว่าในช่วงที่เกิดการขาดน้ำจะมีปริมาณอะฟลาทอกซินต่ำ แต่ก็จะมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นหลังจากเกิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สภาวะการขาดน้ำของถั่วลิสง (Jones และคณะ, 1981) อรุณศรี (2537) รายงานว่าถั่วลิสงพันธุ์ไทนาน 9 ที่ขาดน้ำ 20 วัน และ 30 วัน ก่อนการเก็บเกี่ยว มีการเข้าทำลายของเชื้อราในฝัก และเมล็ดถั่วลิสง ทำให้เกิดการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินสูง เนื่องจากความชื้นที่เปลือกถั่วลิสงลดลง ทำให้เชื้อชนิดอื่นๆหยุดการเจริญ หรือมีการเจริญช้าลง จึงเป็นสภาวะที่เหมาะสมทำให้เชื้อรา *Aspergillus* สามารถเจริญขึ้นมาแทนที่และสร้างสารพิษได้ (โสภณ และสนั่น, 2554)

2.2.3.3 ความเสียหายของเมล็ด และฝักถั่วลิสง

ความเสียหายของเมล็ดที่เกิดจากการเข้าทำลายของแมลงจะส่งผลให้เกิดการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงมากขึ้น เนื่องจากการทำลายของแมลงจะทำให้พืชอ่อนแอแล้วยังทำให้เกิดความเสียหายของฝักถั่วลิสงทำให้ความชื้นภายในเมล็ดสูงขึ้น และยังเป็นช่องทางให้เชื้อราเข้าสู่ฝักถั่วลิสงได้ง่าย ซึ่งการเข้าทำลายของแมลงสามารถเกิดได้ทั้งก่อนการเก็บเกี่ยวและหลังการเก็บเกี่ยว บุญมี (2540) รายงานว่า ถั่วลิสงที่มีแมลงเข้าทำลายในระยะการเก็บเกี่ยว มีปริมาณอะฟลาทอกซินสูงถึง 1,000 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และจะเพิ่มขึ้นหลังการตากและทำความสะอาดแล้วนำมากะเทาะเมล็ดหากไม่มีการคัดแยกเมล็ดที่เสียออก

2.2.3.4 อายุการเก็บเกี่ยวถั่วลิสง

การเก็บเกี่ยวเมล็ดถั่วลิสงที่อ่อนหรือแก่เกินไป จะมีผลต่อปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน เนื่องจากเมล็ดถั่วลิสงที่อ่อนเกินไปจะทำให้เชื้อราเข้าทำลายเมล็ดถั่วลิสงได้ง่ายกว่าเมล็ดที่สุก และเมล็ดถั่วลิสงที่สุกเกินไปจะทำให้ฝักของถั่วลิสงปลิดออก เป็นช่องทางการเข้าทำลายของแมลงได้ ดังนั้น การเก็บเกี่ยวถั่วลิสงควรเก็บในระยะเวลาที่ฝักถั่วลิสงสุกพอดี โดยถั่วลิสงที่นิยมปลูกในประเทศไทยจะมีอายุการเก็บเกี่ยวประมาณ 100 - 120 วัน (กรมวิชาการเกษตร, 2545)

2.2.3.5 การลดความชื้น

เมื่อเก็บฝักถั่วลิสงมาแล้วควรมีขั้นตอนการลดความชื้นโดยเร็ว เนื่องจากความชื้นเป็นปัจจัยสำคัญในการเจริญเติบโตของเชื้อรา และการสร้างอะฟลาทอกซิน โดยส่วนใหญ่การลดความชื้นนิยมนำฝักถั่วลิสงมาผึ่งแดดจนกว่าฝักถั่วลิสงจะแห้ง อย่างไรก็ตาม ไม่ควรตากฝักถั่วลิสงกับพื้นดิน ควรเว้นระยะห่างในการตาก และไม่ควรสุ่มฝักถั่วลิสงเป็นกอง หรือ ซ้อนทับต้นฝักถั่วลิสงที่พึ่งถอนและมีความชื้นสูง ทำให้เกิดการสะสมความร้อนเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ความชื้นสูงขึ้นและเมล็ดพันธุ์เสื่อมสภาพ จากการสุ่มตัวอย่างถั่วลิสงในไร่ในระยะก่อนการเก็บเกี่ยว พบว่ามีเชื้อราเจริญในเมล็ดน้อยกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อถั่วลิสงแก่พร้อมเก็บเกี่ยวจะพบว่าเชื้อรามีปริมาณสูงขึ้น และเริ่มสร้างอะฟลาทอกซินในปริมาณต่ำ ถ้าหากไม่สามารถลดความชื้นของถั่วลิสงลงได้จะทำให้เกิดการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินหลังการเก็บเกี่ยวมากขึ้น (พวงทอง และสนั่น, 2526)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3.6 การขุด และการถอน

การเก็บเกี่ยวถั่วลิสงในประเทศ นิยมใช้แรงงานคนในการเก็บ เพื่อลดต้นทุนในการซื้อเครื่องจักร แต่ในบางพื้นที่สภาพพื้นดินค่อนข้างแข็ง และเหนียวจึงไม่สามารถที่จะถอนขึ้นมาได้ เกษตรกรจึงใช้วิธีการปล่อยน้ำเข้าแปลงถั่วลิสง เพื่อให้ดินอ่อนตัวลงและง่ายต่อการถอน แต่วิธีการนี้จะทำให้ถั่วลิสงมีความชื้นสูง และอาจมีปัญหาการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินได้ง่าย (จวงจันทร์, 2540; นรินทร์, 2545: เสถียร, 2530)

2.2.3.7 การเก็บรักษา

สถานที่การเก็บรักษาถั่วลิสง ควรสะอาด มีการถ่ายเทอากาศสะดวก ไม่ร้อนไม่อับชื้น เป็นสถานที่ปิดมิดชิดสามารถป้องกันสัตว์และแมลงได้ และไม่ควรวางถั่วลิสงไว้กับพื้น เนื่องจาก ถั่วลิสงจะดูดความชื้นจากพื้นดิน ควรปูด้วยวัสดุที่สามารถกันความชื้น โดยทั่วไปนิยมวางบนแคร่ไม้ พวงทอง (2526) พบว่า เกษตรกรส่วนใหญ่จะเก็บถั่วลิสงไว้บริเวณโดยรอบบ้านเพื่อรอการจำหน่ายให้พ่อค้าคนกลาง ซึ่ง 56 เปอร์เซ็นต์ จะกองสุ่มไว้ และ 36 เปอร์เซ็นต์ จะเก็บไว้ในกระสอบหรือถุงปุ๋ย โดยเก็บไว้บนบ้านหรือใต้ถุนบ้าน และยุ้งข้าว

2.3 อะฟลาทอกซิน

อะฟลาทอกซินถูกพบครั้งแรกในปี ค.ศ.1961ในประเทศอังกฤษ จากอุบัติการณ์การตายของไก่งวงนับแสนตัว เนื่องจากกินอาหารสัตว์ผสมกากถั่วลิสงที่ปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในปริมาณสูง ที่เป็นอาหารสัตว์นำเข้าจากประเทศบราซิล (Blount, 1961) ต่อมาได้ตั้งชื่อสารพิษจากเชื้อราชนิดนี้ว่า อะ-ฟลา-ทอกซิน (A-fla-toxin) โดย อะ (A) เป็นชื่อขึ้นต้นของแอสเปอร์จิลลัส ส่วน ฟลา (fla) มาจาก ฟลาวัส (flavus) ซึ่งหมายถึง เหลืองหรือ บรอนซ์ และทอกซิน (toxin) หรือ สารพิษ และเรียกชื่อโรคนี้ ว่า อะฟลาทอกซิโคซิส (Aflatoxicosis) (Stevenson , 1962)

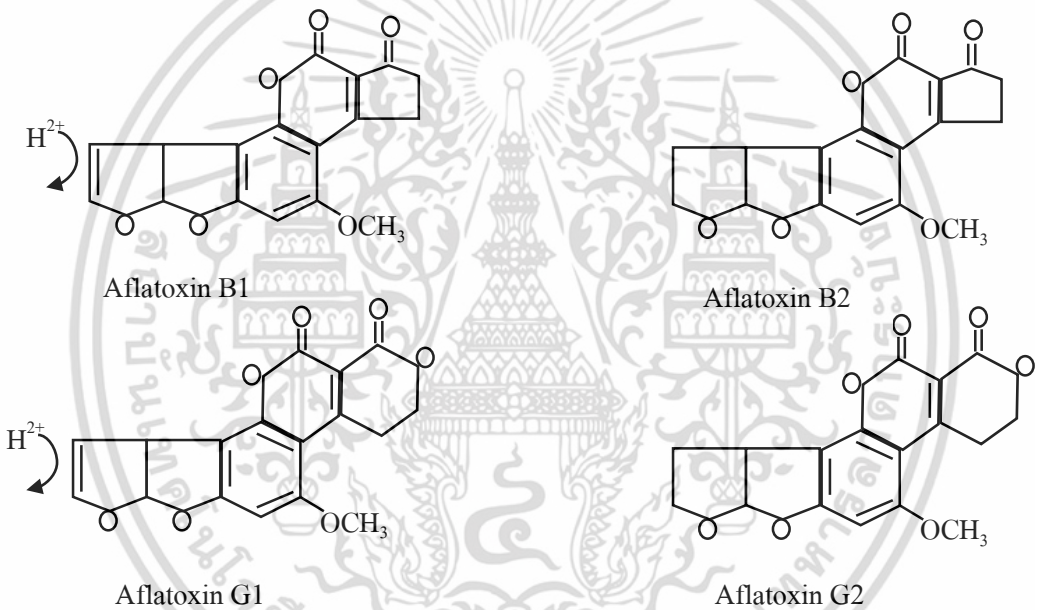
สารพิษชนิดนี้ถูกสร้างจากเมตาบอลิสมของเชื้อรา *Aspergillus* ทำให้เกิดสารพิษอะฟลาทอกซินชนิดต่างๆ โดยสภาวะที่เหมาะสมต่อการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อราชนิดนี้ คือ อุณหภูมิในช่วง 24-35 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 80-85 เปอร์เซ็นต์ และความชื้นประมาณ 17 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งประเทศไทยมีสภาวะอากาศแบบอบอุ่นอยู่ในเขตร้อนชื้นจึงเหมาะสมต่อการเจริญและสร้างอะฟลาทอกซิน (อนงค์, 2546) สารพิษชนิดนี้มักพบปนเปื้อนในผลผลิตทางเกษตร เช่น ถั่วลิสง ข้าวโพด ข้าวสาร มันสำปะหลัง หอม กระเทียม พริกแห้ง งา ถั่วเหลืองและถั่วอื่นๆ เป็นต้น (ปริศนา, 2534) การปนเปื้อนนี้ นอกจากจะทำให้ผลผลิตทางการเกษตรเสียหายไม่ได้คุณภาพแล้วนั้น ยังเป็นอันตรายต่อสุขภาพคนและสัตว์อีกด้วย ดังนั้นกระทรวงสาธารณสุขจึงได้กำหนดให้พบปริมาณอะฟลาทอกซินในถั่วได้ไม่เกิน 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และ กำหนดในอาหารไม่เกิน 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม (ประกาศกระทรวง ฉบับที่ 98, 2529)

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.1 ชนิดของอะฟลาทอกซิน

อะฟลาทอกซินเป็นอนุพันธ์ของคูมาริน (coumarin) ต่อกับวงแหวนไบฟูแรน (bifuran-ring) สามารถแบ่งตามโครงสร้างได้ 2 กลุ่ม คือ difurocoumaro-cyclopentenone จะมีวงแหวน cyclopentanone จับกับคูมาริน ทางด้านขวาได้แก่ B_1, B_2, B_{2a}, M_1, M_2, M_{2a}, aflatoxicol และกลุ่มที่ 2 ได้แก่ difurocoumaro-lactone จะมีวงแหวน 6-member lactone จับกับคูมารินทางด้านขวา ได้แก่ G_1, G_2, G_{2a}, G_{M1}, G_{M2}, G_{M2A}, และ B_3

เมื่อวงแหวนฟูแรน (furan ring) ของอะฟลาทอกซิน บี1 และอะฟลาทอกซิน จี1 ถูกเติมไฮโดรเจน 2 อะตอมเข้าไป จะเปลี่ยนเป็นอะฟลาทอกซิน บี2 และ และอะฟลาทอกซิน จี2 ซึ่งมีความเป็นพิษลดลง ดังภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างโมเลกุลของอะฟลาทอกซินบี1 บี2 จี2 และจี2

2.3.2 สมบัติของอะฟลาทอกซิน

อะฟลาทอกซินมีสมบัติที่สำคัญ คือ สามารถเรืองแสงอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 256 - 365 นาโนเมตร สามารถละลายน้ำ และสารทำละลายที่มีขั้วได้เล็กน้อย แต่จะละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เบนซิน อะซีโทน คลอโรฟอร์ม เอทานอล และเมทานอล รวมทั้งโมเลกุลไม่เสถียรในสภาวะที่เป็นเบส เช่น เบสแก่ แอมโมเนีย โซเดียมไฮโปคลอไรท์ และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เป็นต้น ทั้งนี้วงแหวนแลคโตนจะแตกออกจากกัน สารใหม่นี้จะมีความเป็นพิษลดลง แต่เมื่อปรับสภาวะให้เป็นกรดหรือกลาง ก็สามารถกลับสู่โครงสร้างเดิมได้ นอกจากนี้ การใช้ความร้อนที่ต่ำกว่า 250 องศาเซลเซียส จากกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์ และสเตอร์ริไรซ์ หรือกระบวนการหุงต้มทั่วๆไป ไม่สามารถทำลายอะฟลาทอกซินได้ เนื่องจากมีจุดหลอมเหลวสูง ดังตารางที่ 2.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แต่อะฟลาทอกซินสามารถเสื่อมสลายได้ภายใต้แสงอัลตราไวโอแลต แสงแดด และรังสีแกมมา (อนงค์,2546)

ตารางที่ 2.8 สูตรโมเลกุล น้ำหนักโมเลกุล และจุดหลอมเหลวของอะฟลาทอกซิน

ชนิดของอะฟลาทอกซิน	สูตรโมเลกุล	น้ำหนักโมเลกุล	จุดหลอมเหลว (°C)
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	244-246
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

ที่มา: Wogan (1966)

2.3.3 ความเป็นพิษของอะฟลาทอกซิน

องค์การอนามัยโลกกำหนดให้อะฟลาทอกซินเป็นสารพิษที่ก่อให้เกิดมะเร็ง (กลุ่มที่ 1) โดยปริมาณอะฟลาทอกซินเพียง 1 ไมโครกรัมและการได้รับติดต่อกันเป็นเวลานาน จะทำให้แบคทีเรียกลายพันธุ์เป็นเซลล์มะเร็งได้ ซึ่งชนิดของอะฟลาทอกซินที่ก่อให้เกิดอันตรายมากที่สุด คือ อะฟลาทอกซินบี1 รองลงมา คือ บี2, จี1 และ จี2 ตามลำดับ (ธีระยุทธ และชัยวัฒน์, 2524)

2.3.3.1 ผลและการเกิดโรคระบาดในมนุษย์

อะฟลาทอกซินทำให้เกิดมะเร็งโดยเฉพาะมะเร็งตับ เมื่อได้รับสารพิษเข้าไปจะส่งผลต่อ ระบบหายใจ และระบบภูมิคุ้มกัน (Ellis และคณะ, 2000) สารพิษบางส่วนจะถูกขับออกทางปัสสาวะ อุจจาระ และน้ำนม แต่ยังมีบางส่วนที่ไม่สามารถขับออกจากร่างกายได้ สารพิษเหล่านี้จะถูกสะสมในร่างกายผ่านกระบวนการเมตาบอลิซึม จนก่อให้เกิดสารพิษร้ายแรง 2,3-epoxide-aflatoxin B1 ซึ่งเป็นสารก่อให้เกิดมะเร็ง สารพิษนี้จะจับตัวกับดีเอ็นเอ (DNA) และอาร์เอ็นเอ (RNA) ทำให้การสังเคราะห์โปรตีนในเซลล์ผิดปกติ และเป็นสาเหตุให้เกิดมะเร็งตับ จึงเรียกโรคที่เกิดจากอะฟลาทอกซินในมนุษย์ว่า โรค aflatoxicosis (มาลินี, 2527)

เมื่อ ปี พ.ศ. 2514 มีรายงานการป่วยของเด็กอายุระหว่าง 1-7 ปี ในจังหวัดอุดรธานี โดยเริ่มจากการมีไข้ ชัก จนหมดสติ อาการทรุดลงอย่างรวดเร็วและถึงแก่ความตายภายใน 24-48 ชั่วโมง จากการตรวจสอบผู้เสียชีวิตพบว่า มีอาการสมองบวม ตับโต ต่อมน้ำเหลืองบวม ไตและกล้ามเนื้อหัวใจผิดปกติ จากการรับประทานข้าวเหนียวนึ่งที่ค้างหลายวัน (พิทยา และคณะ, 2530; สุรีลักษณ์, 2538)

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในต่างประเทศก็มีรายงานการเจ็บป่วยจากอะฟลาทอกซินเช่นกัน ในปี พ.ศ. 2510 มีรายงานเด็กจำนวนมากในประเทศอินเดียป่วยและตาย เนื่องจากรับประทานถั่วลิสงที่ปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน โดยมีอาการ ตับบวม มีไขมันสะสมเป็นจำนวนมาก เซลล์ของตับมีการสร้างเนื้อเยื่อมากกว่าปกติ จึงทำให้เซลล์แตกง่ายและตายในที่สุด (อรุณศรี, 2539)

2.3.3.2 ผลและการเกิดโรคระบาดในสัตว์

สัตว์ที่กินอาหารที่ปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน จะทำให้อวัยวะภายในทำงานผิดปกติ มีอาการเบื่ออาหาร และหากได้รับปริมาณสารอาหารไม่เพียงพอจะส่งผลให้อัตราการเจริญโต และผลผลิตลดลง เกิดภาวะโลหิตจาง และดีซ่าน รวมถึงเกิดการติดเชื้อจนเป็นผลให้ระบบภูมิคุ้มกันต่ำ นอกจากนี้ หากสัตว์จำพวกวัวได้รับอะฟลาทอกซิน บี1 เข้าสู่ร่างกาย สารพิษเหล่านี้จะถูกขับออกในรูปน้ำนม ซึ่งเป็นผลให้น้ำนมเกิดการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซิน เอ็ม1 ได้ สำหรับความรุนแรงของการได้รับอะฟลาทอกซินในสัตว์จะแตกต่างกันออกไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิด สายพันธุ์ อายุ เพศ และภูมิคุ้มกันของสัตว์ ดังตารางที่ 2.9 ซึ่งสัตว์ที่อยู่ในวัยเจริญเติบโต จะไวต่อสารพิษมากกว่าสัตว์ที่โตเต็มวัยแล้ว (สุกัญญา, 2530)

ในปี พ.ศ. 2503 ที่ประเทศอังกฤษ พบการเกิดโรค Turkey-X ในไก่งวงที่กินอาหารสัตว์ที่มีส่วนผสมของกากถั่วลิสงที่ปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน และตายเป็นจำนวนมาก (อรุณศรี, 2539)

ตารางที่ 2.9 ผลของความเป็นพิษของสารพิษอะฟลาทอกซินในสัตว์ต่างๆ

ชนิดของสัตว์	**LD_{50} (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว)**
กระต่าย	0.3
ลูกเป็ดอายุ 1 วัน	0.34
แมว	0.55
หมู	0.6
ปลาเทราท์	0.8
สุนัข	0.5-1.0
แกะ	1.0-2.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.9 (ต่อ)

ชนิดของสัตว์	LD_{50} (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว)
ลิงบาบูน	2.0
ลูกไก่	6.3
หนูตัวผู้	5.5-7.2
หนูตัวเมีย	17.9

ที่มา: ดุษณี (2530)

2.3.3.3 ผลกระทบต่อสภาวะเศรษฐกิจ และการค้าระหว่างประเทศ

อะฟลาทอกซินเป็นสารพิษที่เป็นอันตรายต่อสุขอนามัยของผู้บริโภคและก่อปัญหาในวงจรห่วงโซ่อาหาร จึงเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการสูญเสียทั้งคุณภาพและปริมาณผลผลิตของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากพืชและสัตว์โภชนาการ ทั้งการเสื่อมสภาพของอาหาร ผลผลิตลดต่ำลง มีผลต่อการสูญเสียทางเศรษฐกิจด้านเกษตรกรรม ตลอดจนอุตสาหกรรมอาหารและอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ ส่งผลกระทบทั้งทางตรงและทางอ้อม เช่น การสูญเสียผลกำไรจากการตาย หรือ ดูแลสัตว์ป่วย การสูญเสียวัตถุดิบในการเป็นส่วนประกอบของอาหาร ค่าใช้จ่ายในการตรวจสอบเฝ้าระวัง และการกำจัดวัตถุดิบที่ไม่ได้คุณภาพ เป็นต้น (ภัทรา และปัณรสี, 2556)

ประเทศไทยเป็นประเทศหนึ่งที่ส่งสินค้าด้านเกษตรกรรมทั้งพืชและสัตว์ไปขายยังต่างระเทศ โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์ด้านการเกษตร การปศุสัตว์ และสัตว์น้ำ สามารถครองตลาดโลกในอันดับต้นๆ เช่น ข้าว ไก่ กุ้ง เป็นต้น รายได้ส่วนใหญ่ได้จากผลิตภัณฑ์เหล่านี้ จึงเสริมสร้างความเข้มแข็งทางเศรษฐกิจของชาติได้เป็นอย่างดี อย่างไรก็ตามประเทศไทยเป็นประเทศในเขตภูมิอากาศแบบร้อนชื้น จึงมีความเสี่ยงสูงต่อการปนเปื้อนของสารพิษอะฟลาทอกซินในผลิตผลทางเกษตรกรรม ซึ่งใช้เป็นวัตถุดิบทั้งในอาหารคนและอาหารสัตว์ ซึ่งหากผลผลิตทางการเกษตรลดลงทั้งคุณภาพและปริมาณ ก็จะส่งผลกระทบเป็นวงกว้าง

ปัจจุบันการค้าระหว่างประเทศแข่งขันสูงในด้านคุณภาพและความปลอดภัย โดยกำหนดปริมาณอะฟลาทอกซินที่อนุญาตให้มีปนเปื้อนสูงสุดในอาหารคนและอาหารสัตว์ในระดับที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นกับ ข้อมูลความเป็นพิษทางวิทยาศาสตร์ พื้นฐานสังคมและเศรษฐกิจของแต่ละประเทศ เพื่อคุ้มครองสุขอนามัยและความปลอดภัยของผู้บริโภคในแต่ละประเทศเป็นสำคัญ รวมทั้งเกิดความเป็นธรรมในการค้าระหว่างประเทศ (อนงค์, 2546)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.4 การปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในอาหาร

การปนเปื้อนอะฟลาทอกซินนั้นสามารถพบได้ทั้งอาหาร และอาหารสัตว์ ที่มีส่วนประกอบจากถั่วชนิดต่างๆ โดยเฉพาะถั่วลิสงและยังสามารถพบได้ในอาหารประเภทธัญพืช เช่น ข้าวโพด ข้าว งา เมล็ดพืช รวมถึงวัตถุดิบจากการเกษตร เช่น พริก แป้ง เครื่องเทศ ผลไม้แห้ง ตลอดจนผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสัตว์ เช่น กุ้งแห้ง ปลาแห้ง นมและผลิตภัณฑ์ ดังตารางที่ 2.10 โดยการปนเปื้อนสามารถเกิดขึ้นได้ตั้งแต่ กระบวนการเพาะปลูก การเก็บเกี่ยว การขนส่งและการเก็บรักษา หากมีการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในอาหาร อาจทำให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้ เนื่องจากสารพิษชนิดนี้ทนความร้อนสูงและยากต่อการทำลาย (ธีรยุทธ และชัยวัฒน์, 2524)

ตารางที่ 2.10 ปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินแต่ละชนิดที่ตรวจพบในอาหาร

ชนิดอาหาร	จำนวนตัวอย่าง	ตรวจพบ		เกินมาตรฐาน		ปริมาณอะฟลาทอกซิน	อ้างอิง
		พบ	เปอร์เซ็นต์	เกิน	เปอร์เซ็นต์		
เต้าเจียว	8	0	0	0	0	-	ทิพยาและคณะ, 2530
ซีอิ้ว	8	0	0	0	0	-	ทิพยาและคณะ, 2530
ซอสปรุงรส	8	1	12.5	0	0	12.8[a]	ทิพยาและคณะ, 2530
น้ำนมดิบ	67	66	98.5	17	25.37	0.01-0.50[b]	Saitanu, 1997
เครื่องแกง	30	7	23.3	0	0	0.04-1.04[a]	ชาคริยา และสุนันทา, 2555
ข้าว	240	133	55.4	1	0.42	1.43-26.6[a]	Iamtaweejaroen, 2016
พริกป่น	40	31	77.5	0	0	2-12[c]	วิเชียรและคณะ, 2547

หมายเหตุ a ชนิดอะฟลาทอกซินที่ตรวจพบ คือ บี1, บี2

b ชนิดอะฟลาทอกซินที่ตรวจพบ คือ เอ็ม1

c ปริมาณอะฟลาทอกซินที่ตรวจพบทั้งหมด คือ บี1, บี2, จี1, จี2

ในช่วงปี พ.ศ. 2542 – 2544 มีรายงานการตรวจพบ อะฟลาทอกซินในถั่วลิสง และผลิตภัณฑ์เพื่อส่งออก มีปริมาณเกินมาตรฐาน สินค้าที่ถูกกักกันส่วนใหญ่ คือ ซอสที่ทำจากถั่วลิสง (Peanut sauce satay) ตรวจพบอะฟลาทอกซินและถูกกันกักมากถึง 13 ครั้ง (วิเชียร และคณะ, 2548) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า หน่วยงานรัฐของประเทศเซอร์เบียออกคำสั่งให้เรียกเก็บผลิตภัณฑ์นมวัวออกจากชั้นวางสินค้า เนื่องจากตรวจสอบพบอะฟลาทอกซินในปริมาณสูงอาจก่อให้เกิดมะเร็งได้ และสำนักงานควบคุมคุณภาพตรวจสอบและกักกันโรคแห่งสาธารณรัฐประชาชนจีน (AQSIQ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจพบและสืบสวนการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์นม 5 ชนิดของบริษัทแห่งหนึ่งในมณฑลกวางตุ้ง ซึ่งต่อมา ทางโรงงานได้เรียกคืนผลิตภัณฑ์ในกลุ่มที่พบการปนเปื้อน (สำนักงานเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2559)

2.3.5 วิธีที่ใช้วิเคราะห์อะฟลาทอกซินในอาหาร

2.3.5.1 ประเภทการวิเคราะห์อะฟลาทอกซินในอาหาร

(1). การวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (Qualitative analysis)

การวิเคราะห์เชิงคุณภาพ ส่วนใหญ่ใช้วิธีวิเคราะห์ทางภูมิคุ้มกัน ซึ่งเป็นการบ่งบอกว่าตัวอย่างที่วิเคราะห์นั้นมีสารพิษปนเปื้อนหรือไม่ โดยอาศัยหลักการจำเพาะระหว่างแอนติบอดี และแอนติเจน ตรวจวัดโดยการเปลี่ยนสี หรือการเรืองแสงของสารติดฉลาก เช่น ฟลูออเรสเซนต์ และเอนไซม์ เป็นต้น เช่น ELISA, Immunofiltration และ Lateral flow dipstick (Li และคณะ, 2009) แต่ละวิธีมีข้อดี ข้อเสียแตกต่างกัน ดังตารางที่ 2.11

ตารางที่ 2.11 ข้อดีและข้อเสียของวิธีวิเคราะห์เชิงคุณภาพ

วิธีวิเคราะห์	ข้อดี	ข้อเสีย
Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)	ทำได้ง่าย ค่าใช้จ่ายน้อย ใช้ตัวทำละลายน้อย และมีความไวในการวิเคราะห์	ผลที่ได้นั้นอาจมีความคลาดเคลื่อนเนื่องจากการรบกวนของตัวอย่าง (Matrix inference) ต้องมีการยืนยันผล
Immunofiltration หรือ Flow-through assay	ใช้เวลาน้อย เครื่องมือราคาไม่แพง สามารถทำได้ง่ายสะดวก	เกิดปฏิกิริยาข้ามจากการรบกวนของตัวอย่าง (Matrix inference)
Lateral flow dipstick หรือ Lateral flow immunoassay (LFLA)	ใช้เวลาไม่นาน และสามารถนำไปใช้ในงานภาคสนามได้ เนื่องจากไม่ต้องใช้เครื่องมือในการวิเคราะห์ สะดวกและรวดเร็ว	เกิดปฏิกิริยาข้ามจากการรบกวนของตัวอย่าง (Matrix inference)

ที่มา : ณัฐสิทธิ์ และศศิประภา (2559)

- Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) เทคนิค ELISA เป็นเทคนิคที่อาศัยความสามารถของแอนติบอดีในการจำแนกโครงสร้างของอะฟลาทอกซิน ซึ่งแบ่งเป็น 2 ชนิด คือ แบบไม่แข่งขัน (Non-competitive assay) และ แบบแข่งขัน (Competitive assay) โดยแบบไม่แข่งขันเกิดจากอะฟลาทอกซินในตัวอย่างจับกับแอนติบอดี้ เมื่อเติมสารตั้งต้น (Substrate) ที่ทำปฏิกิริยาเฉพาะกับเอนไซม์ จะทำให้เกิดการเปลี่ยนสี ซึ่งจะสามารถหาปริมาณของอะฟลาทอกซิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้จากความเข้มข้นของสีที่เปลี่ยนแปลง (Pittet, 2005) ในขณะที่แบบแข่งขันเกิดจากอะฟลาทอก-ซินในตัวอย่างแข่งขันกับอะฟลาทอกซินที่ติดฉลากด้วยเอนไซม์ในการจับกับแอนติบอดี หากในตัวอย่างมีการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินมาก จะทำให้อะฟลาทอกซินที่ติดฉลากด้วยเอนไซม์จับกับแอนติบอดีได้น้อยลง แต่การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคนี้อาจเกิดปัญหาความเข้มข้นของสารพิษที่ตรวจพบอาจมีค่าต่ำหรือสูงกว่าค่าจริง จากสารรบกวนที่มีอยู่ในตัวอย่าง (Matrix inference) หรืออาจเกิดจากปฏิกิริยาข้าม (Cross-reaction) จากชนิดย่อยของสารพิษได้ (Pittet, 2005)

- Immunofiltration หรือ Flow through assay วิธีนี้อาศัยหลักการแข่งขันกันระหว่างแอนติเจนในตัวอย่างและแอนติเจนที่ติดฉลากด้วยเอนไซม์ เพื่อจับกับแอนติบอดี้ที่ถูกตรึงอยู่บนแผ่นเมมเบรน เมื่อเติมสารตั้งต้นลดลงไปถ้าตัวอย่างไม่มีการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซิน จะปรากฏจุดสีบนเมมเบรน แต่ในกรณีที่ไม่ปรากฏจุดสีแดงแสดงว่าตัวอย่างมีการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซิน (Reiter และคณะ, 2009) ซึ่งข้อดีของวิธีการนี้ คือ ใช้เวลาน้อย เครื่องมือราคาไม่แพง และสามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์เชิงกึ่งปริมาณได้ แต่อาจพบปัญหาจากสารรบกวน (Saha และคณะ, 2013)

- Lateral flow dipstick หรือ Lateral flow immunoassay (LFLA) หลักการของวิธีนี้จะอาศัยการไหลของสารละลายตัวอย่างบนแผ่นเมมเบรน และอ่านค่าจากแถบสีที่ปรากฏ โดยตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินจะปรากฏแถบสีเพียงแถบเดียว เนื่องจากแอนติบอดีที่ติดฉลากด้วยทอง (Gold-antibody conjugate) จะจับกับอะฟลาทอกซินในตัวอย่างและแอนติบอดีที่ตำแหน่งควบคุม แต่ไม่จับกับอะฟลาทอกซินที่ตำแหน่งทดสอบ ในขณะที่ตัวอย่างที่ไม่มีการปนเปื้อนจะปรากฏแถบสีสองแถบ เนื่องจากแอนติบอดีที่ติดฉลากด้วยทองจะอยู่ในรูปอิสระ จึงจับทั้งแอนติบอดีที่ตำแหน่งควบคุม และอะฟลาทอกซินที่ตำแหน่งทดสอบ การวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้สามารถทำได้ง่าย ใช้เวลาไม่นาน และสามารถนำไปใช้ในงานภาคสนามได้เนื่องจากไม่ต้องใช้เครื่องมือในการวิเคราะห์ แต่พบว่ามีข้อจำกัดในเรื่องของความไวในการวิเคราะห์ (Pittet, 2005)

- โครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง (Thin Layer Chromatography, TLC) ตัวอย่างจะถูกจุด (spot) ลงบนเฟสอยู่กับที่และเคลื่อนที่ไปบนผิวบางๆของเฟสอยู่กับที่เคลือบอยู่บนแผ่นกระจกหรือแผ่นอะลูมิเนียม ข้อดีของวิธีนี้ คือ ทำง่ายและต้นทุนต่ำ แต่มีข้อเสีย คือ ใช้เวลานาน มีความไวและความจำเพาะต่ำ จึงไม่จัดเป็นการวิเคราะห์เพื่อยืนยันผลแต่อย่างไรก็ตามเทคนิคนี้ยังถูกนำมาใช้ในการวิเคราะห์อะฟลาทอกซินในอาหารและวัตถุดิบอาหารสัตว์หลายชนิด (Stroka และ Anklam, 2002)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(2). การวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Quantitative analysis)

การวิเคราะห์เชิงปริมาณส่วนใหญ่มักใช้เทคนิคโครมาโทรกราฟี และแสดงในรูปความเข้มข้นของอะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในตัวอย่าง โดยอาศัยหลักการความสามารถในการพา (Distribute) ของสารที่สนใจบนเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) และความสามารถในการแยก (Partition) เฟสอยู่กับที่ (Stationary phase) ได้แก่ โครมาโทรกราฟีแบบแผ่นบาง, โครมาโทรกราฟี-ของเหลวสมรรถนะสูง และลิควิดโครมาโทรกราฟีแมสสเปกโทรเมทรี เป็นต้น

- ลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง(High Performance Liquid Chromatography, HPLC) เป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยกสารผสมเพื่อหาชนิดและปริมาณของสารที่วิเคราะห์ โดยอาศัยแรงดันในการพาเฟสเคลื่อนที่และสารตัวอย่างผ่านเฟสอยู่กับที่ ที่มีความสามารถในการดูดซับสารแตกละชนิดแตกต่างกัน ทำให้เกิดการแยกของสารผสม และตรวจวัดสัญญาณด้วยตัววัดชนิดต่างๆ สำหรับอะฟลาทอกซินจะใช้รังสีอัลตร้าไวโอเลต (UV) หรือ ฟลูออเรสเซนต์ในการตรวจวัด และอาจเพิ่มความไวในการวิเคราะห์โดยอาศัยกระบวนการทำอนุพันธ์ (Derivatization) ของอะฟลาทอกซิน ได้แก่ การทำอนุพันธ์ก่อนฉีดเข้าคอลัมน์ (Pre-column derivatization) เช่น การเติมกรดไตรฟลูออโรอะซิติก หรือการทำอนุพันธ์หลังจากผ่านคอลัมน์ (Post-column derivatization) เช่น การเติมโบรไมค์ หรือ ไอโอดีน ในการวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซินด้วยวิธีนี้สามารถใช้สภาวะในการทดสอบด้วยเครื่อง HPLC และเครื่องตรวจวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ได้หลากหลาย (ณัฐสิทธิ์ และศศิประภา, 2559) แสดงดังตารางที่ 2.12

ตารางที่ 2.12 สภาวะของเครื่อง HPLC ที่ใช้หาปริมาณอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงและผลิตภัณฑ์

Solvent	Column	Mobile phase	Fluorescence detector	Flow rate (ml/min)	อ้างอิง
Water : Methanol (30:70)	C18 : 250×4.6 mm, 5 µm	Water : methanol : acetonitrile (65:15:20)	λ_{EX} 365 nm, λ_{EM} 455 nm	1.2	ศศิธร และคณะ, 2558
Water : celite : chloroform (20:25:200)	C18 ODS 250 × 4 mm : 5µm	Water : methanol : acetonitrile (65:15:20)	λ_{EX} 365 nm, λ_{EM} 455 nm	1	ศรีสิทธิ์ และคณะ, 2537
Water : Methanol (30:70)	C18 Purospher star 4.6 × 250 mm : 5µm	Water : methanol : acetonitrile (54:38:8)	λ_{EX} 365 nm, λ_{EM} 435 nm	0.4	Afsah-Hejri และคณะ, 2011

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.12 (ต่อ)

Solvent	Column	Mobile phase	Fluorescence detector	Flow rate (ml/min)	อ้างอิง
Methanol–water (87.5:37.5, v/v)	C18 ODS 250 × 4.6 mm : 5 µm	Water : methanol : acetonitrile (60:30:20)	λ_{EX} 360 nm, λ_{EM} 430 nm	1	Hepsag และคณะ, 2014
Acetonitrile :water (90:10, v/v)	C18 Supelco 250 × 4.6 mm : 5 µm	Acetonitrile : methanol : water (15:25:60)	λ_{EX} 360 nm, λ_{EM} 440 nm	1	Khayoon และคณะ, 2012
70% Methanol	C18 Supelco 250 × 4.6 mm : 5 µm	Acetonitrile : methanol : water (10:10:30)	λ_{Ex} 360 nm, λ_{EM} 450 nm	1	Bjornsdottir และคณะ, 2015
70% Methanol	C18 Novapak 150 × 4.6 mm : 5 µm	40% Methanol	λ_{EX} 365 nm, λ_{EM} 435 nm	1	Zhang และคณะ, 2011
80% Methanol	C18 ODS 250 ×4.6 mm : 5µm	Acetonitrile : methanol : water (20:30:60)	λ_{EX} 360 nm, λ_{EM} 420 nm	1	Stroka และคณะ, 2000

ที่มา : ดัดแปลงมาจาก ณัฐสิทธิ์ และศศิประภา (2559)

- ลิควิดโครมาโทกราฟีแมสสเปกโทรเมทรี (Liquid Chromatography Mass Spectrometry) ใช้หลักการเช่นเดียวกับลิควิดโครมาโทกราฟีในการแยกสารผสม และเมื่อแยกแล้วจะตรวจวิเคราะห์สารด้วยเครื่องแมสเปกโทรเมทรี ที่เป็นเทคนิคที่ใช้ในการพิสูจน์ลักษณะจำเพาะและศึกษาโครงสร้างโมเลกุล โดยการวัดค่ามวลต่อประจุของไอออน ซึ่งวิธีการนี้สามารถตรวจวิเคราะห์สารพิษจากเชื้อรารวมทั้งเมทาบอไลท์ได้หลายชนิดในการวิเคราะห์เพียงครั้งเดียว แต่ต้นทุนในการวิเคราะห์สูง เครื่องมือราคาแพง และมักพบปัญหาการกดการแตกตัว (Ionization suppression) หรือกระตุ้นการแตกตัว (Ionization enhancement) จากสารรบกวน ซึ่งจะส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์การกลับคืน (% Recovery) ของสารที่สนใจวิเคราะห์ (Reiter และคณะ, 2009)

ในการวิเคราะห์สารประกอบด้วยเทคนิคต่างๆ นั้น แต่ละวิธีมีข้อดี ข้อเสียแตกต่างกัน ได้สรุปไว้ดังตารางที่ 2.13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.13 ข้อดีและข้อเสียของวิธีวิเคราะห์อะฟลาทอกซินเชิงปริมาณ

วิธีการวิเคราะห์	ข้อดี	ข้อเสีย
TLC	มีขั้นตอนที่ง่าย และต้นทุนต่ำ	ใช้เวลานาน มีความไวและความจำเพาะต่ำ
HPLC	มีความไวในการวิเคราะห์ มีความจำเพาะถูกต้อง แม่นยำ ใช้เวลาในการวิเคราะห์เพียงเล็กน้อย	เครื่องมือราคาแพง อาศัยผู้มีความรู้ความชำนาญ ต้องทำอนุพันธ์เพื่อเพิ่มความไวในการวิเคราะห์
LC-MS	สามารถวิเคราะห์สารพิษได้หลากหลายชนิดต่อครั้งไม่ต้องทำอนุพันธ์ของอะฟลาทอกซิน	เครื่องมือมีราคาแพง อาศัยผู้มีความรู้ความชำนาญในการวิเคราะห์ อาจเกิดปัญหาจากสารรบกวนในตัวอย่าง

ที่มา : ณัฐสิทธิ์ และศศิประภา (2559)

(3) เทคนิคการวิเคราะห์อื่นๆ

ในปัจจุบันได้มีการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซินขึ้นมาหลากหลายวิธี เพื่อให้ได้วิธีที่สามารถตรวจได้ผลรวดเร็ว และมีความถูกต้องแม่นยำ สะดวกต่อการใช้งานมากยิ่งขึ้น เช่น Biosensors, Fluorometry, Fluorescence polarization (FP), Capillary Electrophoresis (CE) เป็นต้น ซึ่งแต่ละวิธีนั้นมีข้อดี และข้อเสียแต่ต่างกันไป ดังตารางที่ 2.14

ตารางที่ 2.14 ข้อดี และข้อเสียของวิธีการต่างๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์อะฟลาทอกซิน

วิธีการวิเคราะห์	ข้อดี	ข้อเสีย
Biosensors	มีวิธีการที่ง่าย ตัวอย่างไม่จำเป็นต้องทำให้บริสุทธิ์ราคาไม่แพง	เกิดปฏิกิริยาข้าม ความแม่นยำต่ำ
Fluorometry	สะดวกรวดเร็ว มีความปลอดภัยสำหรับผู้วิเคราะห์ ต้นทุนต่ำ ไม่ต้องใช้เครื่องมือที่ซับซ้อน	ต้องทำอนุพันธ์อะฟลาทอกซิน อาจเกิดปัญหาผลบวกเทียม ไม่สามารถแยกชนิดของสารพิษได้
FP	มีวิธีการที่ง่าย ตัวอย่างไม่ต้องผ่านการทำให้บริสุทธิ์	เกิดปฏิกิริยาข้ามจากสารรบกวนในตัวอย่าง
FLORIDA	มีขั้นตอนที่สะดวก ง่ายต่อการวิเคราะห์	เกิดปฏิกิริยาข้ามจากสารรบกวน
CE	ใช้ตัวทำละลายและตัวอย่างปริมาณน้อย	ความไวในการวิเคราะห์ต่ำ

ที่มา : ณัฐสิทธิ์ และคณะ (2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Biosensors ประกอบด้วยส่วนของตัวแปลงสัญญาณ (Transducer) ทำหน้าที่แปลงสัญญาณเฉพาะให้เป็นสัญญาณไฟฟ้า และสารชีวโมเลกุล ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการวิเคราะห์อย่างจำเพาะเจาะจง โดยในการวิเคราะห์อะฟลาทอกซินมักใช้แอนติบอดีเป็นสารชีวภาพ และอาจเรียกวิธีนี้ว่าอิมมูโนเซนเซอร์ (Immunosensor) การจับกันอย่างจำเพาะระหว่างแอนติบอดีกับแอนติเจนจะทำให้สมบัติทางกายภาพหรือทางเคมีเปลี่ยนไปซึ่งจะถูกตรวจด้วยตัวตรวจวัดชนิดต่างๆ และสัญญาณตอบสนองที่วัดได้จะสัมพันธ์กับปริมาณของสารพิษ ข้อดีของวิธีนี้คือ ทำได้ง่าย มีความไว ต้นทุนต่ำ และใช้เวลาไม่นานแต่มีข้อเสียคือความจำเพาะต่ำ (ศิริวรรณ, 2555)

- Fluorometry หรือ Fluorometric assay วิธีนี้เป็นการวัดการเรืองแสงของอะฟลาทอกซินหลังจากการทำอนุพันธ์ด้วยสารละลายโบรไมด์ โดยเครื่อง Fluorometer จัดเป็นการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ มีความสะดวก รวดเร็ว ใช้สารเคมีเพียงเล็กน้อย ต้นทุนต่ำ ไม่จำเป็นต้องใช้เครื่องมือที่ซับซ้อนอย่างไรก็ตามอาพบปัญหาผลบวกเทียม (False positive) จากสารรบกวนได้ง่าย และไม่สามารถตรวจแยกชนิดย่อยของอะฟลาทอกซินได้ (ณัฐสิทธิ์ และศศิประภา, 2559)

- Fluorescence polarization (FP) วิธีนี้อาศัยการตรวจวัดระนาบแสง (Polarization) ของสารพิษที่ติดฉลากด้วย ฟลูออเรสเซนต์ (Tracer) กรณีที่ตัวอย่างมีการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในตัวอย่างจะจับกับแอนติบอดี ทำให้อะฟลาทอกซินที่ติดฉลากอยู่ในรูปอิสระซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ จึงเกิดการหมุนได้รวดเร็ว ทำให้ระนาบของแสงต่ำ แต่ในกรณีที่ตัวอย่างไม่มีการปนเปื้อน อะฟลาทอกซินที่ติดฉลากจะจับกับแอนติบอดีเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีน้ำหนักโมเลกุลเพิ่มขึ้น ส่งผลให้การหมุนเกิดขึ้นช้าลง ทำให้ระนาบแสงเพิ่มขึ้น แต่การวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้อาจเกิดปฏิกิริยาข้าม (Cross reaction) จากสารรบกวนแทรกได้ (ศิริวรรณ, 2555)

- Fluoerescence labeled optical read immune dipstick assay (FLORIDA) เป็นเทคนิคที่มีความรวดเร็วและมีความไวในการวิเคราะห์สูง สามารถตรวจวัดโดยอาศัยหลักการเดียวกันกับวิธี LFIA แต่ใช้ฟลูออเรสเซนต์เป็นสารติดฉลาก การอ่านผลจะอ่านจากแถบสีเช่นเดียวกัน คือกรณีที่ตัวอย่างไม่มีการปนเปื้อนของสารพิษจะปรากฏแถบสีขึ้น 2 แถบ แต่กรณีที่ตัวอย่างมรการปนเปื้อนจะปรากแถบสีเพียงแถบเดียว (ศิริวรรณ, 2555)

- Capillary Electrophoresis (CE) เป็นเทคนิคการแยกสารโดยอาศัยความแตกต่างศักย์ไฟฟ้า คือ สารละลายบัฟเฟอร์จะบรรจุอยู่ใน silica capillary ซึ่งภายในมีสนามไฟฟ้า การแยกจะเกิดจากการย้ายของประจุไฟฟ้าจากขั้วบวกไปยังขั้วลบ และตรวจวัดสัญญาณด้วยการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเลตหรือฟลูออเรสเซนต์ วิธีนี้จะมีข้อดี คือ ลดการใช้ตัวทำละลาย ใช้ตัวอย่างปริมาณน้อย และสามารถเพิ่มความไวโดยการทำอนุพันธ์ของอะฟลาทอกซินได้ (Pittet, 2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.5.2 ขั้นตอนการวิเคราะห์อะฟลาทอกซิน

ในขั้นตอนการวิเคราะห์อะฟลาทอกซินนั้นจะต้องคำนึงถึงศักยภาพของห้องปฏิบัติการ และความชำนาญของผู้ทดสอบเป็นหลัก รวมถึงงบประมาณในการทดสอบ นอกจากนี้วิธีทดสอบที่นำมาใช้ก็เป็นสิ่งสำคัญเพื่อให้ได้ผลการทดสอบที่ถูกต้อง และตรงต่อความต้องการของลูกค้า ทั้งในด้านระดับปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้ หรือชนิดของสารพิษที่มีความรุนแรงแตกต่างกัน อย่างมีความถูกต้องและน่าเชื่อถือ ซึ่งขั้นตอนที่สำคัญในการวิเคราะห์อะฟลาทอกซินแต่ละวิธีมีขั้นตอน (อรุณศรี, 2539) ดังนี้

(1). การสุ่มตัวอย่าง

ในการสุ่มตัวอย่างเป็นขั้นตอนแรกที่สำคัญ เนื่องจากปริมาณอะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในอาหารนั้นมีการกระจายตัวแบบไม่สม่ำเสมอ หรือ ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน โดยเฉพาะตัวอย่างที่เป็นของแข็ง ดังนั้น วิธีการสุ่มตัวอย่างและขนาดการสุ่มตัวอย่างจึงเป็นสิ่งสำคัญ และต้องคำนึงถึงลักษณะงานรวมถึงการปฏิบัติงานจริง ถ้าการสุ่มตัวอย่างไม่เหมาะสมก็อาจทำให้ผลการวิเคราะห์คลาดเคลื่อนได้

(2). การเตรียม และการเก็บรักษาตัวอย่าง

ในกรณีที่ไม่สามารถทดสอบตัวอย่างได้ทันที ควรป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อราเพื่อไม่ให้เกิดการเพิ่มปริมาณอะฟลาทอกซิน โดยเก็บถั่วลิสงในภาชนะปิดสนิท ป้องกันความชื้น และเก็บไว้ในที่อุณหภูมิต่ำ จากนั้นจึงนำตัวอย่างทั้งหมดที่สุ่มเก็บ มาบดให้ละเอียด และคลุกเคล้าให้ทั่วกันก่อนนำไปวิเคราะห์

(3). การสกัดตัวอย่าง

เป็นขั้นตอนการนำตัวอย่างมาสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์

(4). การกำจัดสิ่งรบกวนออกจากตัวอย่าง

การกำจัดสิ่งรบกวน เป็นขั้นตอนที่ใช้กำจัดพวก สี ไขมัน โดยนิยมใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสม แต่ต้องไม่ละลายสารอะฟลาทอกซินออกไป

(5). การวิเคราะห์ชนิด และปริมาณ

การตรวจวิเคราะห์นิยมใช้เครื่องมือขั้นสูงที่จำเป็นจะต้องใช้ผู้ทดสอบที่มีความชำนาญ เพื่อให้ได้ผลการทดสอบที่ถูกต้อง เช่น ลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography), ลิควิดโครมาโทกราฟ แมสสเปกโทรมิเตอร์ (Liquid Chromatography/Mass Spectrometry), เครื่องฟลูออโรมิเตอร์ (Fluorometer) เป็นต้น

(6). การรายงานผลการทดสอบ

ในการรายงานผลการทดสอบนิยมใช้หน่วยไมโครกรัมต่อกิโลกรัม (μg/kg) หรือ นาโนกรัมต่อกรัม (ng/g) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1 พีพีบี (ppb) คือ ปริมาณอะฟลาทอกซิน 1 ส่วนในพันล้านส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.6 การกำหนดปริมาณอะฟลาทอกซิน

จากประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 (พ.ศ. 2529) เรื่อง มาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน ได้กำหนดให้มีอะฟลาทอกซินได้ไม่เกิน 20 ไมโครกรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม และมาตรฐานสินค้าเกษตร เรื่อง เมล็ดถั่วลิสง ข้อกำหนดปริมาณอะฟลาทอกซิน ได้กำหนดให้ปริมาณอะฟลาทอกซินทั้งหมด (total aflatoxins) ในเมล็ดถั่วลิสงต้องไม่เกิน 20 ไมโครกรัม ต่อ กิโลกรัม) (มกษ. 4702-2557) นอกจากนี้คณะกรรมาธิการโครงการมาตรฐานอาหารโคเด็กซ์ (Codex) และ JECFA ได้ร่วมกันพิจารณาและกำหนดให้ปริมาณอะฟลาทอกซินรวม คือ อะฟลาทอกซิน บี1 บี2 จี1 และ จี2 ปนเปื้อนได้สูงสุดในถั่วลิสง 15 ไมโครกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม และในต่างประเทศก็ได้มีการกำหนดปริมาณอะฟลาทอกซินในอาหารเช่นกัน ดังตารางที่ 2.15

ตารางที่ 2.15 ปริมาณอะฟลาทอกซินในประเทศต่างๆ

ประเทศ	ปริมาณอะฟลาทอกซินในอาหาร (ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม)		
	บี1	รวม	ชนิดอาหาร
จีน, ญี่ปุ่น, ไทย, ตุรกี, อียิปต์	-	10	ถั่วลิสง
อินโดนีเซีย, มาเลเซีย, ไต้หวัน, ออสเตรีย	-	15	ถั่วลิสง
เคนย่า	-	20	ถั่วลิสง
รัสเซีย	5	-	ถั่วลิสง
แคนาดา	-	15	ถั่ว และผลิตภัณฑ์
อินเดีย	-	30	ทุกชนิด
ฟิลิปปินส์	-	20	ถั่ว และผลิตภัณฑ์
สิงคโปร์		5	ถั่ว
สหรัฐอเมริกา	-	20	ทุกชนิด
เวียดนาม	-	10	ทุกชนิด

ที่มา: CODEX (2013)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ (Method validation) คือกระบวนการพิสูจน์ว่าวิธีทดสอบที่ห้องปฏิบัติการนำมาใช้นั้นเป็นไปตามวัตถุประสงค์ที่ต้องการ มีความเหมาะสมเป็นไปตามข้อกำหนด ISO/IEC 17025 เพื่อให้ค่าที่ได้ มีความแม่นยำ ใกล้เคียงค่าที่แท้จริงมากที่สุด และมีความคลาดเคลื่อนอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด ทั้งนี้ ห้องปฏิบัติการจะต้องจัดทำเอกสารหลักฐานยื่นยันตามวัตถุประสงค์ของการทดสอบ เพื่อเป็นการประกันคุณภาพของห้องปฏิบัติการ (Eurachem guide, 2014)

2.4.1 วิธีการทดสอบที่ต้องตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี

วิธีการทดสอบที่ต้องดำเนินการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี มีหลายประเภท (สถาบันอาหาร, 2547) ได้แก่

(1). วิธีการทดสอบที่ไม่ใช่วิธีมาตรฐาน (non-standard method) เป็นวิธีการที่คิดค้นขึ้นมาใหม่ยังไม่ได้เป็นที่ยอมรับทั่วไป หรือยังไม่ได้ตีพิมพ์และนำมาใช้ตามห้องปฏิบัติการต่างๆ จึงจำเป็นต้องมีการพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีการทดสอบและปัจจัยที่มีผลกระทบต่อวิธีทดสอบ

(2). วิธีทดสอบที่ใช้ อยู่นอกขอบเขตวิธีมาตรฐาน เช่น การทดสอบกับตัวอย่างที่ไม่อยู่ในขอบข่ายของวิธีมาตรฐาน หรือ การปรับปรุงเปลี่ยนแปลงจากวิธีการมาตรฐาน เป็นต้น

(3). การนำวิธีการไปใช้ในห้องปฏิบัติการอื่นๆ หรือเครื่องมือตัวอื่นๆ

(4). การพิสูจน์ให้เห็นว่าวิธีทดสอบ 2 วิธี ไม่แตกต่างกัน เช่น การเปรียบเทียบผลการทดสอบของวิธีมาตรฐานกับวิธีที่พัฒนาขึ้นมาใหม่ เป็นต้น

อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าวิธีที่นำมาใช้ทดสอบนั้นจะเป็นวิธีมาตรฐานแล้วก็ตาม ก็ควรตรวจพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีทดสอบ เพื่อเป็นการทวนสอบวิธีวิเคราะห์ภายใต้สภาวะแวดล้อมที่กำหนดว่าให้ผลการทดสอบที่ไม่แตกต่างไปจากที่กำหนดไว้ในมาตรฐาน ดังนั้น ทางองค์กร EURACHEM จึงได้กำหนดแนวทางที่ใช้ตรวจสอบความสามารถของวิธีทดสอบ เพื่อให้ได้ผลการทดสอบที่ถูกต้อง และมีความน่าเชื่อถือ สามารถนำไปใช้ตรวจวิเคราะห์ และประกันคุณภาพความปลอดภัยทางอาหารได้

2.4.2 คุณลักษณะเฉพาะที่ใช้ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ (Method Performance Characteristics) (Eurachem, 2014)

การกำหนดคุณลักษณะเฉพาะในแต่ละพารามิเตอร์ที่จะใช้ในการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบนั้นเป็นสิ่งสำคัญ ที่ผู้ทดสอบจะต้องพิจารณาถึงวัตถุประสงค์ของการทดสอบ และเลือกใช่พารามิเตอร์ที่เหมาะสมให้สอดคล้องกับวัตถุประสงค์ของการทดสอบ ทั้งนี้ไม่จำเป็นที่จะต้องใช้ทุกพารามิเตอร์ แต่ผู้วิเคราะห์จะต้องสามารถอธิบายและชี้แจงเหตุผล และความจำเป็นที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เลือกใช้พารามิเตอร์ใดๆ ที่นำมาทดสอบ หรือ ไม่ใช้ในการทดสอบได้ พารามิเตอร์ที่จะใช้ในการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบแสดงดังตารางที่ 2.16

ตารางที่ 2.16 พารามิเตอร์ที่ใช้ในการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการทดสอบ

Performance characteristic	**Types of analytical application**			
	Identification test	**Quantitative test for impurity**	**Limit test for impurity**	**Quantification of main component**
Selectivity	X	x	x	x
Limit of detection			x	
Limit of quantification		x		
Working range including linearity		x		x
Accuracy (Trueness)		x		x
Precision		x		x

ที่มา: Eurachem (2014)

2.4.2.1. ช่วงการทดสอบ (Range)

ช่วงที่ใช้ในการทดสอบโดยกำหนดค่าต่ำสุดและสูงสุดของช่วงทดสอบที่มีความเที่ยง และความแม่นยำตามเกณฑ์ยอมรับ โดยมีขั้นตอน ดังนี้

(1) กำหนดช่วงความเข้มข้นของสารที่ต้องการทดสอบ

(2) วิเคราะห์สารที่ทดสอบ ในช่วงที่กำหนดอย่างน้อย 5 ความเข้มข้น

(3) นำผลที่วิเคราะห์ได้มาหาพลอตกราฟเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์ และพื้นที่ใต้กราฟ จากนั้นพิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรง โดยต้องมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient, r^2) มากกว่า 0.995

2.4.2.2. ความเป็นเส้นตรง (Linearity)

ความสามารถของวิธีการที่ให้ผลการทดสอบเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสารที่วิเคราะห์นั้นเป็นขั้นตอนทางคณิตศาสตร์ที่ใช้ยืนยันช่วงการทดสอบ ที่มีเกณฑ์การยอมรับคือ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ มากกว่า 0.995 โดยมีรายละเอียดของขั้นตอนดังนี้

(1) วิเคราะห์ช่วงความเข้มข้นของสารที่ต้องการทดสอบ โดยการทำซ้ำ เริ่มตั้งแต่การสกัดตัวอย่างอย่างน้อยความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(2) นำผลที่วิเคราะห์ได้มาหาค่าเฉลี่ย และพลอตกราฟเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์กับพื้นที่ใต้กราฟ และคำนวณสมการเส้นตรง โดยกำหนดให้สมการที่ยอมรับ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ มากกว่า 0.995

2.4.2.3 ความถูกต้อง (Accuracy)

ค่าที่แสดงความใกล้เคียงระหว่างผลการทดสอบกับค่าจริง ซึ่งเป็นวัตถุอ้างอิง (reference material, RM) หรือ ตัวอย่างที่ทราบปริมาณสารที่ต้องการวิเคราะห์อย่างถูกต้อง แต่ในบางครั้งไม่สามารถจัดหาสารอ้างอิงได้ เนื่องจากมีราคาแพง หรือไม่เพียงพอต่อการทดสอบ ก็สามารถวิเคราะห์ได้ด้วยการเติมสารมาตรฐานลงในตัวอย่างอาหารที่ต้องการวิเคราะห์ และใช้เกณฑ์การพิจารณาจากเปอร์เซ็นต์การกลับคืน (% Recovery) โดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

(1) จัดเตรียมตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ (Blank sample) โดยตัวอย่างนี้จะต้องไม่ปนเปื้อน หรือเจือปนสารที่ต้องการวิเคราะห์

(2) นำตัวอย่างที่ได้มาเติมสารมาตรฐานที่ต้องการวิเคราะห์ (Fortified sample) ที่มีความเข้มข้นภายใต้ช่วงของการทดสอบ อย่างน้อย 3 ความเข้มข้น แล้วจึงวิเคราะห์ตามขั้นตอนทั้งหมด ตั้งแต่การสกัด ทำให้บริสุทธิ์ จนถึงการตรวจวิเคราะห์ โดยการทำซ้ำอย่างน้อยความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ

(3) การคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืน จากสมการ

$$\text{ค่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืน} = \frac{(\text{ค่าที่วิเคราะห์ได้} - \text{ค่าจากตัวอย่าง})}{\text{ค่าที่เติมลงในตัวอย่าง}} \times 100$$

การพิจารณาค่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืน จะใช้เกณฑ์การยอมรับทั่วไปของ AOAC (AOAC, 2016) ที่แสดงดังตารางที่ 2.17

ตารางที่ 2.17 เกณฑ์กำหนดค่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืนในระดับความเข้มข้นต่างๆ

Analyte, %	Mass fraction (C)	Unit	Mean recovery, %
100	1	100%	98-102
10	10^{-1}	10%	
1	10^{-2}	1%	97-103
0.1	10^{-3}	0.1%	95-105
0.001	10^{-4}	100 ppm (mg/kg)	90-107

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.17 (ต่อ)

Analyte, %	Mass fraction (C)	Unit	Mean recovery, %
0.0001	10^{-5}	10 ppm (mg/kg)	80-110
0.00001	10^{-6}	1 ppm (mg/kg)	
0.000001	10^{-7}	100 ppb (µg/kg)	
0.0000001	10^{-8}	10 ppb (µg/kg)	60-115
0.00000001	10^{-9}	1 ppb (µg/kg)	40-120

ที่มา: AOAC (2016)

พิมพร (2550) ทดสอบเปอร์เซ็นต์การกลับคืนเฉลี่ย ในการวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินด้วยวิธีลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูงร่วมกับการใช้ Immunoaffinity column ในถั่วลิสงที่เติมสารละลายมาตราฐานอะฟลาทอกซินบี1 เข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม พบว่าสามารถตรวจวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินเฉลี่ยเท่ากับ 19.09 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การกลับคืนเฉลี่ย เท่ากับ 95.4 เปอร์เซ็นต์

2.4.2.4 ความเที่ยง (Precision)

ความเที่ยงเป็นความใกล้เคียงระหว่างผลการวิเคราะห์ของวิธีการทดสอบ เมื่อทำการวิเคราะห์ในตัวอย่างเดียวกันหลายๆครั้ง โดยผลการวิเคราะห์ที่ได้สามารถแสดงให้รูปแบบของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative standard deviation, % RSD) และค่า HORRAT ซึ่งค่า HORRAT นี้ เป็นค่าแสดงความเที่ยง โดยทั่วไปสามารถวิเคราะห์ได้ 2 ลักษณะ ดังนี้

(1) ความสามารถในการทวนซ้ำภายใต้สภาวะการทดลองเดียวกัน (Repeatability, RSD_r) เป็นการแสดงความใกล้เคียงของผลการวิเคราะห์ในการทำซ้ำของตัวอย่าง(เดิม) ภายใต้สภาวะแวดล้อมที่เหมือนกันในห้องปฏิบัติการเดียวกัน รวมตั้งแต่ วิธีการทดสอบ ผู้ทดสอบ และเครื่องมือทดสอบเดียวกัน

(2) ความสามารถในการทวนซ้ำภายใต้สภาวะการทดลองที่แตกต่างกัน (Reproducibility, RSD_R) เป็นการแสดงความใกล้เคียงของผลการวิเคราะห์ในการทำซ้ำในตัวอย่าง (เดิม) โดยใช้ ผู้ทดสอบ เครื่องมือ ห้องปฏิบัติการ และเวลาของการทดสอบที่แตกต่างกัน

ขั้นตอนการทดสอบค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ เป็นดังนี้

- เตรียมตัวอย่างที่ต้องการทดสอบที่มีสารมาตรฐาน อย่างน้อย 3 ความเข้มข้น ที่อยู่ในช่วงของการทดสอบ แล้ววิเคราะห์โดยการซ้ำอย่างน้อยความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ แล้วคำนวณหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ดังสมการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\%RSD = \frac{SD \times 100}{\bar{x}}$$

หมายเหตุ x = ค่าเฉลี่ยของผลทดสอบ

SD = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของผลทดสอบ

%RSD = Experimental RSD

คำนวณหาค่า HORRAT โดยมีเกณฑ์การยอมรับไม่เกิน 2 (นันทนา และนุชนาท, 2555)

$$HORRAT = \frac{\text{Experimental RSD}}{\text{predicted } RSD_r \text{ หรือ predicted } RSD_R}$$

หมายเหตุ HORRAT = ค่าความเที่ยงไม่เกิน 2

predicted RSD_r = $0.66 \times 2^{(1-0.5\log C)}$

predicted RSD_R = $2^{(1-0.5\log C)}$

หมายเหตุ C = ความเข้มข้น

AOAC (2016) ได้กำหนดเกณฑ์การยอมรับผลการวิเคราะห์ที่แสดงในค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ไว้ดังตารางที่ 2.18

ตารางที่ 2.18 เกณฑ์กำหนด Repeatability (RSD_r) และ Reproducibility (RSD_R) ที่ความเข้มข้นต่างๆ

Analyte, %	Mass fraction (C)	Unit	RSD_r, %	RSD_R, %
100	1	100%	1.3	2
10	10^{-1}	10%	1.9	3
1	10^{-2}	1%	2.7	4
0.1	10^{-3}	0.1%	3.7	6
0.001	10^{-4}	100 ppm (mg/kg)	5.3	8
0.0001	10^{-5}	10 ppm (mg/kg)	7.3	11
0.00001	10^{-6}	1 ppm (mg/kg)	11	16
0.000001	10^{-7}	100 ppb (µg/kg)	15	22
0.0000001	10^{-8}	10 ppb (µg/kg)	21	32
0.00000001	10^{-9}	1 ppb (µg/kg)	30	45

ที่มา: AOAC (2016)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kalcher (2005) ได้ตรวจพิสูจน์ความเที่ยงในการวิเคราะห์ปริมาณ อะฟลาทอกซิน บี1ในตับ ด้วยวิธีลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง พบว่า ความสามารถในการทวนซ้ำภายใต้สภาวะการทดลองเดียวกัน (Repeatability) โดยการเติมสารละลายมาตรฐานอะฟลาทอกซิน บี1 ที่ความเข้มข้น 0.025,0.050 , 0.075 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และทดสอบที่ระดับความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ พบว่า มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD) เท่ากับ 7.5, 7.1 และ 4.8 ตามลำดับ ส่วนความสามารถในการทวนซ้ำภายใต้สภาวะการทดลองที่แตกต่างกัน (Reproducibility) โดยใช้ห้องปฏิบัติการ และวันในการทดสอบที่แตกต่างกัน พบว่า มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD) เท่ากับ 18, 22, และ 22 ตามลำดับ ซึ่งค่าที่ได้อยู่ในเกณฑ์ AOAC ที่ยอมรับได้

2.4.2.5. ปริมาณต่ำสุดที่วิธีทดสอบสามารถตรวจพบได้เชิงคุณภาพ (Limit of detection, LOD)

เป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่เครื่องมือสามารถตรวจพบได้ จากวิธีการวิเคราะห์สารที่ต้องการทดสอบ แต่ค่าที่ได้นั้นไม่จำเป็นต้องทราบว่ามีปริมาณเท่าไร หรืออาจเป็นค่าที่มีความแน่นอนต่ำ ภายใต้สภาวะการทดสอบที่กำหนดก็ได้ โดยต้องกำหนดให้สัญญาณที่ตรวจพบในการวิเคราะห์ตัวอย่างนั้นมีค่าเป็นสามเท่าของสัญญาณรบกวน (signal to noise ratio, S/N) หรือ อาจได้จาก การวิเคราะห์จากตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นต่ำสุดที่เครื่องมือจะสามารถวิเคราะห์ได้ โดยค่าที่ได้จะเป็นสามเท่าของส่วนเบนเบี่ยงมาตรฐาน (3SD) และวิเคราะห์ซ้ำอย่างน้อย 7 ซ้ำ

2.4.2.6. ปริมาณต่ำสุดที่วิธีทดสอบสามารถตรวจพบได้เชิงปริมาณ (Limit of quantification, LOQ)

เป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่วิเคราะห์ได้จากเครื่องมือทดสอบ จากการตรวจหาค่าความเข้มข้นของสารที่วิเคราะห์ได้เชิงปริมาณ โดยมีความแม่นและความเที่ยงที่แน่นอนอยู่ในช่วงที่กำหนดภายใต้สภาวะการทดสอบที่กำหนด ซึ่งมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

(1) วิเคราะห์ตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ ซึ่งสัญญาณที่ตรวจพบนั้นจะมีค่าสิบเท่าของสัญญาณรบกวน หรือ วิเคราะห์จากตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นต่ำสุดที่เครื่องมือจะสามารถวิเคราะห์ได้ โดยค่าที่ได้จะเป็นสิบเท่าของส่วนเบนเบี่ยงมาตรฐาน (10SD) ที่ได้จากการวิเคราะห์หาส่วนเบนเบี่ยงมาตรฐานของ LOD และวิเคราะห์ซ้ำอย่างน้อย 7 ซ้ำ

(2) นำค่าที่วิเคราะห์ได้ มาคำนวณค่าความเที่ยง และความถูกต้อง โดยกำหนดให้อยู่ในเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐานกำหนด

Mukund (2014) วิเคราะห์สารอะฟลาทอกซิน บี1 ในตัวอย่างถั่วลิสงและผลไม้แห้งจำนวน 30 ตัวอย่าง ด้วยเครื่อง HPLC พบว่า มีสารอะฟลาทอกซิน บี1 ปนเปื้อนคิดเป็น 80.0 เปอร์เซ็นต์ โดยมีช่วงความเข้มข้น 1.45-12.0 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อตรวจสอบความถูกต้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของปริมาณต่ำสุดที่วิธีทดสอบสามารถตรวจพบได้เชิงคุณภาพ และเชิงปริมาณ มีค่าเท่ากับ 0.84 และ 2.70 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

2.4.2.7. ความจำเพาะของวิธีทดสอบ (selectivity หรือ specificity)

เป็นความสามารถของวิธีทดสอบที่สามารถแยกสารที่ต้องการวิเคราะห์ออกจากสารอื่นที่รบกวน หรือสารที่มีคุณสมบัติคล้ายกันได้ วิธีการทดสอบนี้ มีความเฉพาะเจาะจงต่อสารที่ต้องการทดสอบเท่านั้น ซึ่งสามารถวิเคราะห์ได้จากการเปรียบเทียบค่าที่ได้จากการเติมสารมาตรฐานที่ต้องการทดสอบลงในตัวอย่าง และตัวอย่างชนิดเดียวกันที่เติมสารมาตรฐานและสารรบกวน (matrix effect) โดยการพิจารณาโครมาโตแกรม หรือการคำนวณเปอร์เซ็นต์ของการกลับคืน

Mucarella และคณะ (2009) ได้ศึกษาผลกระทบของสารรบกวนในการวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซิน บี1 บี2 จี1 และ จี2 ในตัวอย่าง ถั่วอัลมอนด์ ถั่วพิสตาชิโอ ข้าวโพด และข้าวโอ๊ต ด้วยวิธีลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง พบว่า ตัวอย่างอาหารดังกล่าวไม่มีผลกระทบของสารรบกวนที่ศึกษา โดยคณะผู้วิจัยเติมสารละลายมาตรฐานอะฟลาทอกซิน บี1 บี2 จี1 และ จี2 ลงในตัวอย่าง แล้ววิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC เปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่มีอะฟลาทอกซิน (Sample blank) ในการพิจารณาเวลาที่พีคของโคมาโตแกรมขึ้น โดยไม่มีพีคอื่นๆรบกวน หรือซ้อนทับกลับพีคของสารละลายมาตรฐาน

2.4.2.8. ความคงทนต่อวิธีการทดสอบ (ruggedness/robustness)

ความสามารถของวิธีการทดสอบที่มีต่อความคงทนต่อการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมของการทดสอบเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย เช่น ปริมาณ เวลา อุณหภูมิ และ ค่าความเป็นกรด-ด่าง เป็นต้น เพื่อกำหนดช่วงของการทดสอบที่มีผลต่อการทดสอบในขณะปฏิบัติงาน โดยพิจารณาจากค่าความเที่ยงของค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ซ้ำ ว่าอยู่ในเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐานกำหนด ภายใต้สภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนไปในแต่ละพารามิเตอร์ที่ทดสอบ

2.4.3 กระบวนการทดสอบความใช้ได้ของวิธีการทดสอบ

การทดสอบความใช้ได้ของวิธีการทดสอบนั้นจำเป็นต้องเตรียมความพร้อม และการวางแผนการดำเนินงานที่ดี ทั้งด้านบุคลากรที่มีความชำนาญ ด้านวิธีการทดสอบที่เป็นมาตรระดับสากล ด้านเครื่องมือและอุปกรณ์ที่เพียงพอต่อการปฏิบัติงานและให้ผลการทดสอบที่มีความถูกต้องและแม่นยำ รวมถึง สารมาตรฐานและสารเคมีอื่นๆ ที่ได้มาตรฐาน และงบประมาณในการทดสอบ เพื่อให้ได้ผลการทดสอบบรรลุตามวัตถุประสงค์ที่ต้องการ โดยการทดสอบความใช้ได้ของวิธีการทดสอบมีขั้นตอนตามลำดับ (สถาบันอาหาร, 2547) ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(1) กำหนดวัตถุประสงค์ และขอบข่ายการดำเนินงาน

(2) กำหนดพารามิเตอร์ที่ต้องการทดสอบตามวัตถุประสงค์ที่ต้องการทดสอบ และเกณฑ์การยอมรับ

(3) วางแผนขั้นตอนการดำเนินงาน

(4) จัดหาอุปกรณ์เครื่องมือ, สารเคมี, สารมาตรฐาน หรือวัตถุอ้างอิง

(5) ตรวจสอบอุปกรณ์เครื่องมือ และสารเคมีที่นำมาใช้

(6) กำหนดเงื่อนไขที่จำเป็นที่มีผลต่อการทดสอบ

(7) ทดสอบความถูกต้องของวิธี (Pre validate)

(8) ปรับสภาวะการทดสอบ เพื่อให้เป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

(9) ดำเนินการทดสอบความใช้ได้ของวิธีการทดสอบตามพารามิเตอร์ที่กำหนดไว้

(10) จัดทำคู่มือการปฏิบัติงาน (Standard Operating Procedure : SOP) เพื่อใช้ทดสอบในงานประจำ

(11) กำหนดการทวนสอบ หรือตรวจสอบการควบคุมคุณภาพในการปฏิบัติงาน

(12) จัดทำรายงาน และผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

2.4.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินในถั่วลิสง

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์อะฟลาทอกซินนั้น ถือว่าเป็นสิ่งที่สำคัญที่จะสามารถพิสูจน์ได้ว่าเครื่องมือ หรือวิธีการทดสอบที่นำมาวิเคราะห์นั้นมีความสามารถในการให้ผลทดสอบที่มีความถูกต้อง และแม่นยำในการวิเคราะห์ ซึ่งพารามิเตอร์ที่ใช้ในการตรวจสอบนั้นมีความสำคัญแตกต่างกันไป โดยจะขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ที่ในแต่ละห้องปฏิบัติการจะเลือกนำมาพิสูจน์ เพื่อให้ได้ผลประเมินที่สามารถยืนยันตามวัตถุประสงค์ที่ต้องการพิสูจน์ได้ตามวิธีการต่างๆ ที่นำมาวิเคราะห์

2.4.4.1 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์อะฟลาทอกซินด้วยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง

จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซิน บี1, บี2, จี1 และ จี2 ในถั่วที่จำหน่ายในตลาดที่ประเทศเกาหลีใต้ วิเคราะห์ผลโดยใช้เครื่องลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูงที่ใช้เครื่องตรวจวัดสัญญาณแบบฟลูออเรสเซนต์ ที่ความยาวคลื่น 365 และ 418 นาโนเมตร ด้วย คอลัมน์ μ-Bondapak C18 วิเคราะห์แบบ Isocratic อัตราส่วนเฟสเคลื่อนที่ water : acetonitrile (3:1) และใช้ตัวทำละลายในการสกัดเป็น 1% NaCl : n-hexane (1:1) พารามิเตอร์ที่ใช้ในการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี ได้แก่ ช่วงของการใช้งาน, ความเป็นเส้นตรง, ความเที่ยง, ความแม่น, LOD และ LOQ ผลแสดงดังตารางที่ 2.19 พบว่า มีช่วงของการใช้งาน 0.15-100 ไมโครกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อกิโลกรัม ให้ค่าสัมประสิทธิสหสัมพันธ์ 0.9978-1.0000 มีค่าความเที่ยงในช่วง 5.42-27.8 เปอร์เซ็นต์ และค่าความแม่นในช่วง 83.4-102 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งวิธีนี้มีค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.08 และ 0.15 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (Chun และคณะ, 2007)

ตารางที่ 2.19 ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์อะฟลาทอกซินในถั่ว

Aflatoxin	LOD (µg/kg)	LOQ (µg/kg)	Correlation (R^2)	%Recovery	%RSD
B1	0.08	0.15	0.9996	102	7.11
B2	0.13	0.40	1.0000	84.8	22.6
G1	0.40	1.30	0.9994	102	5.42
G2	1.25	2.50	0.9978	83.4	27.8

ที่มา: Chun และคณะ (2007)

นอกจากนี้ในประเทศมาเลเซีย Khayoon และคณะ (2012) ได้พิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินทั้ง 4 ชนิด ในตัวอย่างถั่วลิสง โดยใช้ตัวทำละลายในสกัด คือ acetonitrile : water (90:10) และวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC เครื่องตรวจวัดสัญญาณแบบฟลูออเรส-เซนต์ ที่ความยาวคลื่น 360 และ 440 นาโนเมตร คอลัมน์ที่ตรวจวิเคราะห์ Supelco C18 (250 - 4.6 mm) อัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่ acetonitrile : water (90:10) ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 2.20 พบว่า ช่วงของการใช้งานอยู่ในช่วง 5.0 – 50.0 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์มากกว่า 0.999 และไม่พบสารรบกวน โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ มากกว่า 0.9986 วิธีนี้สามารถตรวจสอบอะฟลาทอกซินบี1, บี2, จี1 และ จี2 ในเชิงคุณภาพได้ต่ำสุด 0.19, 0.10, 0.16 และ 0.07 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และสามารถตรวจสอบเชิงปริมาณได้ต่ำสุด 0.58, 0.2, 0.48 และ 0.23 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งให้ผลความเที่ยงแบบความสามารถในการทวนซ้ำภายใต้สภาวะการทดลองเดียวกัน (Repeatability, RSD_r) ในช่วง 1.00 – 5.34 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และ แบบความสามารถในการทวนซ้ำภายใต้สภาวะการทดลองที่แตกต่างกัน (Reproducibility, RSD_R) ในช่วง 3.07-10.7 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม มีค่าความแม่นของวิธีทดสอบในช่วง 86.4 – 105 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.20 ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์อะฟลาทอกซินในตัวอย่างถั่วลิสง

พารามิเตอร์	ชนิดอะฟลาทอกซิน	ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติมในตัวอย่างถั่วลิสง (ไมโครกรัม/กิโลกรัม)		
		7.5	**25**	**50**
Repeatability	B1	2.32	1.63	1.77
	B2	3.34	1.02	1.67
	G1	5.34	2.53	1.99
	G2	3.47	2.00	1.04
Reproducibility	B1	4.65	4.89	5.32
	B2	6.67	3.07	5.02
	G1	10.70	7.60	5.99
	G2	6.94	5.97	3.14
% Recovery	B1	86.38	97.52	99.33
	B2	98.54	99.46	98.81
	G1	93.24	94.29	98.13
	G2	97.82	100.10	104.50

ที่มา : Khayoon และคณะ (2012)

ในการพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีทดสอบ ด้วยเครื่อง HPLC พบว่า สามารถนำวิธีดังกล่าวไปพิสูจน์ในตัวอย่างที่มีเมทริกซ์คล้ายกันได้ Kabak (2016) ได้ทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบอะฟลาทอกซินทั้ง 4 ชนิด ในตัวอย่าง เฮเซลนัท โดยใช้ตัวทำละลายในการสกัดเป็น methanol : water (8 : 2) และเฟสเคลื่อนที่เป็น water : acetonitrile : methanol (6 : 2 : 3) ใช้เครื่องตรวจวัดสัญญาณแบบฟลูออเรสเซนต์ ที่ความยาวคลื่น 360 และ 440 นาโนเมตร ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 2.21 พบว่า อะฟลาทอกซิน บี1 และ จี1 มีช่วงในการทดสอบ 0.5-20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และ อะฟลาทอกซิน บี2 และ จี2 มีช่วงในการทดสอบ 0.15 - 6 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ โดยค่า LOD และ LOQ ในช่วง 0.06 – 0.08 และ 0.21 - 0.27 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ค่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืน ในช่วง 88.6 – 94.2 เปอร์เซ็นต์ ค่าความเที่ยงแบบความสามารถในการทวนซ้ำภายใต้สภาวะการทดลองเดียวกัน ในช่วง 2.2 – 7.4 เปอร์เซ็นต์ และความสามารถในการทวนซ้ำภายใต้สภาวะการทดลองที่แตกต่างกัน ในช่วง 3.1 – 8.5 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.21 ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์อะฟลาทอกซินในเฮเซลนัท

ชนิด อะฟลาทอกซิน	Level of spiking (µg/kg)	LOD (µg/kg)	LOQ (µg/kg)	Recovery (%)	Repeatability (%RSD_r)	Reproducibility (%RSD_R)
B1	0.5	0.07	0.24	88.6	4.8	7.3
	5	-	-	91.5	3.6	3.1
B2	0.15	0.06	0.21	90.4	3.5	5.2
	1.5	-	-	94.2	2.2	5.8
G1	0.5	0.08	0.27	89.8	7.4	6.5
	5	-	-	89.6	5.5	6.1
G2	0.15	0.06	0.22	94.0	5.3	8.5
	1.5	-	-	93.6	4.6	4.1

ที่มา: Kabak (2016)

Hepsag และคณะ (2014) ในการพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินบี1 บี2 จี1 และจี2 ในถั่วลิสงที่ดัดแปลงมาจาก AOAC 991.31 โดยใช้ตัวทำลายในการสกัดเป็น 70% เมธานอล ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 2.22 โดยมีช่วงในการใช้งานระหว่าง 0.1 – 5 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ มากกว่า 0.9992 มีค่าเปอร์เซ็นต์ของการกลับคืน 87.8 – 97.5 เปอร์เซ็นต์ ความเที่ยงแบบความสามารถในการทวนซ้ำภายใต้สภาวะการทดลองเดียวกัน ในช่วง 2.30 – 6.18 เปอร์เซ็นต์ ส่วน LOD และ LOQ อยู่ในช่วง 0.10 - 0.11 และ 0.11 – 0.14 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.22 ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์อะฟลาทอกซินในถั่วลิสง

ชนิดอะฟลาทอกซิน	Level of spiking (µg/kg)	Mean recovery (%)	Repeatability (%RSD_r)	LOD (µg/kg)	LOQ (µg/kg)
G1	0.5	87.9	2.74	0.11	0.12
	3	87.8	2.30	-	-
G2	0.5	97.5	4.39	0.11	0.14
	3	96.7	3.84	-	-
B1	0.5	89.1	5.32	0.10	0.11
	3	88.5	3.80	-	-
B2	0.5	91.2	6.18	0.10	0.11
	3	95.7	3.26	-	-

หมายเหตุ Repeatability (%RSD) หมายถึง ความสามารถในการทวนซ้ำภายใต้สภาวะการทดลองเดียวกัน ในการทำซ้ำของตัวอย่างเดิม

ที่มา: Hepsag และคณะ (2014)

2.4.4.2 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์อะฟลาทอกซินด้วยเทคนิคอื่นๆ

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์อะฟลาทอกซินอื่นๆ เช่น Lateral flow immunoassay และ Immunochromatographic assay (ICA) ซึ่งวิธีทดสอบเหล่านี้เป็นการวิเคราะห์เชิงคุณภาพเท่านั้น และในบางครั้ง อาจต้องยืนยันผลด้วยวิธีอื่นๆ อีกครั้ง เพื่อทดสอบผลบวกเทียม (False positive) จากเมทริกซ์ของตัวอย่าง เช่น Chen และคณะ (2016) พัฒนาเทคนิคการหาปริมาณอะฟลาทอกซิน บี1 ในตัวอย่างถั่วลิสง ด้วยวิธี Lateral flow immunoassay (LFA) พบว่า มีช่วงของการทดสอบ 0.13 – 7.2 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และ LOD เท่ากับ 0.13 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ส่วน Zhang และคณะ (2011) ใช้เทคนิค Immunochromatographic assay (ICA) ในการตรวจวิเคราะห์อะฟลาทอกซินบี1 ในถั่วลิสง พบว่า มีช่วงของการทดสอบ 1 – 30 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และ LOD เท่ากับ 1 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม

นอกจากนี้ยังมีการใช้เทคนิค Spectrofluorescence โดย Luna (2013) วิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินบี2 และ จี2 ในถั่วลิสง พบว่า LOD มีค่าเท่ากับ 0.05 และ 0.04 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และ LOQ มีค่าเท่า 0.16 และ 0.12 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ส่วน Huang และคณะ (2010) ใช้เทคนิค Ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UHPLC–MS/MS) ในการพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์อะฟลาทอกซินทั้ง 4 ชนิด ในถั่วลิสง

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ห้ามนำไปใช้เพื่อการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบว่า มีช่วงของการใช้งาน 0.10 – 20.00 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์มากกว่า 0.9990 มี LOD ในช่วง 0.009 – 0.212 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และ LOQ เท่ากับ 0.212 – 0.273 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม การกลับคืน 74.7 – 86.0 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความเที่ยงแบบความสามารถในการทวนซ้ำภายใต้สภาวะการทดลองเดียวกันในช่วง 1.6 – 9.1 เปอร์เซ็นต์ และแบบความสามารถในการทวนซ้ำภายใต้สภาวะการทดลองที่แตกต่างกัน ในช่วง 2.0 – 10.4 เปอร์เซ็นต์

2.5 การประเมินความเสี่ยงทางเคมี (Chemical risk assessment)

การประเมินความเสี่ยงทางเคมี หมายถึง การประเมินความน่าจะเป็นในการเกิดผลเสียต่อสุขภาพมนุษย์ จากการได้รับสารเคมีที่ปนเปื้อนหรือตกค้างในอาหารจากธรรมชาติหรือความตั้งใจของมนุษย์ในการใช้สารเคมี ซึ่งผลการประเมินความเสี่ยงที่ได้นั้นจะเป็นข้อมูลสำคัญที่ใช้ในการบริหารจัดการความเสี่ยง เพื่อประกอบการตัดสินใจในการดำเนินการแก้ไขหรือป้องกันอันตรายนั้นๆ ในการลดความเสี่ยงที่เกิดจากการปนเปื้อนหรือตกค้างของสารเคมีในอาหารหรือสิ่งแวดล้อมให้อยู่ในระดับที่ไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค (กรมอนามัย,2555)

2.5.1 หลักการประเมินความเสี่ยงด้านเคมี

หลักการสำคัญของการประเมินความเสี่ยง คือ การคำนวณค่าความปลอดภัยของสารเคมี (Safe dose) ซึ่งเป็นปริมาณสารเคมีที่มนุษย์ได้รับจากอาหารในแต่ละวันตลอดชีวิต โดยไม่ทำให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพ โดยใช้ข้อมูลจากการศึกษาในมนุษย์หรือสัตว์ทดลอง การคำนวณความเสี่ยงจากการได้รับสารเคมีสามารถทำได้โดยเปรียบเทียบปริมาณที่มนุษย์ได้รับสารเคมีในแต่ละวันกับค่าความปลอดภัยของสารเคมี ซึ่งถ้ามีค่าน้อยกว่า แสดงว่าการปนเปื้อนหรือการตกค้างของสารเคมีนั้นยังอยู่ในระดับที่ปลอดภัย แต่ถ้ามีค่ามากกว่า แสดงว่า การปนเปื้อนหรือการตกค้างของสารเคมีนั้นมีความเสี่ยงที่จะทำให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค จำเป็นต้องจัดการดำเนินการแก้ไขเพื่อลดการปนเปื้อนหรือการตกค้างของสารเคมีนั้นๆ ให้อยู่ในระดับที่ปลอดภัย (พิพัฒน์, 2537)

2.5.2 ชนิดของการประเมินความเสี่ยง

การประเมินความเสี่ยงมีวัตถุประสงค์เพื่ออธิบายลักษณะและความน่าจะเป็นของอันตรายที่เกิดขึ้นจากการได้รับสัมผัสสารเคมีที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพมนุษย์ ซึ่งสามารถอธิบายลักษณะความเสี่ยงที่เกิดขึ้นได้ 2 ลักษณะ คือ ข้อมูลเชิงคุณภาพ และข้อมูลเชิงปริมาณ โดยมีรายละเอียด (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2554) ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.2.1 ข้อมูลเชิงคุณภาพ (Qualitative)

การอธิบายความเสี่ยงเชิงคุณภาพเป็นการประเมินระดับของความเสี่ยงที่เกิดขึ้น ใน 3 รูปแบบ ได้แก่ สูง ปานกลาง และ ต่ำ ซึ่งข้อมูลการประเมินความเสี่ยงเชิงคุณภาพจะเหมาะสำหรับการประเมินความเสี่ยงแบบรวดเร็ว โดยการประเมินในรูปแบบนี้จำเป็นจะต้องอาศัยข้อมูลที่มีอยู่ เพื่อนำมาวิเคราะห์

2.5.2.2 ข้อมูลเชิงปริมาณ (Quantitative)

การอธิบายความเสี่ยงเชิงปริมาณเป็นการประเมินความเสี่ยงที่เกิดขึ้นตามตัวเลขที่คาดการณ์ไว้ โดยเป็นขั้นตอนของการประเมินที่มีโครงสร้างและการออกแบบการทดลอง เพื่อพิจารณาปัจจัยต่างๆที่มีความสัมพันธ์ต่อการประเมินความเสี่ยง แต่การประเมินในรูปแบบนี้อาจมีค่าความไม่แน่นอนต่างๆเกิดขึ้น เช่น การนำรูปแบบการจำลองมาใช้คาดการณ์ความเสี่ยง ซึ่งจะสามารถบอกความรุนแรงของความเสี่ยงต่อสุขภาพประชากรได้

2.5.3 ขั้นตอนการประเมินความเสี่ยง

ขั้นตอนการประเมินความเสี่ยงแบ่งออกเป็น 4 ขั้นตอนดังนี้

2.5.3.1 การบ่งชี้อันตราย (Hazard identification)

การบ่งชี้อันตราย เป็นการรวบรวมข้อมูลของสารเคมีว่ามีอันตรายต่อสุขภาพหรือไม่ โดยศึกษาจากข้อมูลทางด้านวิชาการ เช่น การศึกษาความเป็นพิษในสัตว์ทดลอง และการศึกษาในมนุษย์ โดยมีรายละเอียด (สุนันทา, 2538 และพาลาภ, 2540) ดังนี้

(1) การศึกษาข้อมูลในสัตว์ทดลอง จะเป็นข้อมูลทางพิษวิทยาที่ได้จากการศึกษาในสิ่งมีชีวิต โดยสามารถแบ่งลักษณะความเป็นพิษ ออกเป็น 3 ลักษณะ ดังนี้

- พิษแบบเฉียบพลัน (Acute toxicity) เป็นการศึกษาผลกระทบของสารเคมีขนาดเดียวในสัตว์ทดลอง หรือ การที่สัตว์ทดลองได้รับพิษเพียงครั้งเดียวแล้วแสดงอาการเจ็บป่วยแบบเฉียบพลันภายใน 24 ชั่วโมง

- พิษกึ่งเรื้อรัง (Sub-chronic toxicity) เป็นการประเมินอวัยวะเป้าหมาย หรือดูความเป็นพิษ และการสะสมของสารพิษในระดับต่างๆ จากการได้รับสัมผัสอย่างเรื้อรัง

- พิษแบบเรื้อรัง (Chronic toxicity) เป็นการศึกษาความเป็นพิษในระยะยาว และการเกิดมะเร็ง เช่น ความเป็นพิษทางพันธุกรรม ความเป็นพิษต่อพัฒนาการ เป็นต้น

(2) การศึกษาข้อมูลในมนุษย์ ส่วนใหญ่จะเป็นข้อมูลที่ทำการศึกษาทางระบาดวิทยา ในกลุ่มประชากรที่ได้รับสัมผัสสารเคมี หรือโดยวิธีทางพิษวิทยาเมื่อมีกรณีตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(3) การศึกษาข้อมูลอื่นๆ เป็นการศึกษาที่ได้ข้อมูลจากลักษณะอื่นๆ เช่น การศึกษาในหลอดทดลองจากนักพิษวิทยาในห้องปฏิบัติการ หรือการศึกษาสิ่งคุกคามทางชีวอนามัย และอนามัยจากสิ่งแวดล้อม เป็นต้น

2.5.3.2 การอธิบายลักษณะของอันตราย (Hazard characterization)

เป็นการประเมินขนาดและการตอบสนอง เชิงปริมาณ เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างการรับสารเคมีที่มีผลต่อสุขภาพมนุษย์ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความเป็นพิษของสารเคมี และสิ่งที่เกี่ยวข้องกับการเกิดพิษ เพื่อเป็นแนวทางในการวางแผนการป้องกันไม่ให้มนุษย์ได้รับผลกระทบทางสุขภาพจากการได้รับสัมผัสทางเคมี โดยปกติสารเคมีทุกชนิดจะมีระดับความเป็นพิษที่แตกต่างกัน และบ้างชนิดอาจมีความเสี่ยงต่ำมากจนไม่มีผลกระทบต่อสุขภาพ ซึ่งเรียกว่า ปัจจัยปลอดภัย (Safety factor) ประเมินการตอบสนองของสารเคมีแบ่งเป็น 2 แบบใหญ่ๆ (อนามัย, 2555) คือ

(1) การประเมินการตอบสนองของสารเคมีที่ไม่เกิดมะเร็ง มักใช้การความปลอดภัย เพื่อช่วยลดการความไม่แน่นอนต่างๆที่เกิดขึ้น โดยปกติจะกำหนดค่าปริมาณสารเคมีที่ร่างกายได้รับแล้วไม่เกิดอันตรายหรือส่งผลต่อสุขภาพมนุษย์ มักจะกำหนดเป็นค่าที่ต่ำกว่าค่า NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นสารเคมีสูงสุดที่สัตว์ทดลองได้รับแล้วไม่แสดงความผิดปกติ ปัจจัยปลอดภัย หรือค่าที่ยอมรับได้ (Acceptable Daily Intake: ADI) จะถูกนำมาใช้เพื่อประเมินการตอบสนองต่อสารเคมี

(2) การประเมินการตอบสนองของสารเคมีก่อมะเร็ง สารเคมีที่ก่อมะเร็ง แม่ว่าจะได้รับสัมผัสเพียงเล็กน้อยก็จะส่งผลต่อสุขภาพ ทำให้เกิดการกระตุ้นต่อการเกิดมะเร็ง จึงได้พิจารณาว่าสารก่อมะเร็งเป็นสารแบบไม่มีขีดระดับเริ่มต้น (Non- threshold) โดยสารก่อมะเร็งแต่ละชนิดจะมีระดับความรุนแรงแตกต่างกัน ดังนั้นจึงนิยมใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์มาประเมินความสัมพันธ์ระหว่างขนาดการได้รับสัมผัสและการตอบสนองต่อร่างกาย เพื่อประเมินผลกระทบของสารก่อมะเร็งต่อการเกิดมะเร็ง รูปแบบจำลองที่นิยมนำมาใช้ เช่น ไลเนียมัลติสเตจ (Linearized multistage model) โพรบิต (Probit) ไวบุลล์ (Weibull) และ แอนดิสันดาวน์ริ่ง (Anderson drawing)

ในการอธิบายความเสี่ยงของอะฟลาทอกซิน พบว่า สารพิษชนิดนี้ก่อให้เกิดมะเร็งตับชนิด Hepatocellular carcinoma (HCC) ซึ่งเกิดร่วมระหว่างอะฟลาทอกซิน กับเชื้อไวรัสตับอักเสบบี (Hepatitis B virus: HBV) ที่ทำให้เกิดความผิดปกติที่เซลล์ตับ ซึ่งผู้ที่ป่วยเป็นไวรัสตับอักเสบบี (HBsAg) มีโอกาสการเกิดมะเร็งมากกว่าคนปกติ 30 เท่า (Wu และคณะ, 2009) ทั้งนี้ Kirk และคณะ (2005) ได้สำรวจประชากรในเอเชียตะวันออก พบมีผู้ที่เป็นไวรัสตับอักเสบบีถึง 0.02 เปอร์เซ็นต์ จากประชากรทั้งหมด ซึ่งบุคคลที่ป่วยนี้ มีความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็ง จากการได้รับอะฟลาทอกซินมากกว่าคนปกติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับในประเทศไทย Ott และคณะ (2012) รายงานผู้ป่วยเป็นไวรัสตับอักเสบบีร้อยละ 5 ของประชากรทั้งหมด และเมื่อประเมินการได้รับสัมผัสอะฟลาทอกซินในช่วงความเข้มข้น 53-73 นาโนกรัม/น้ำหนักตัว/วัน พบว่า ทำให้เกิดโรคมะเร็งตับถึง 15.9 -21.9 คนต่อประชากรแสนคนในผู้ที่เป็นไวรัสตับอักเสบบี และ 0.53 – 0.73 คนต่อต่อประชากรแสนคนสำหรับผู้ที่ไม่ป่วย ดังนั้น ผู้ที่เป็นไวรัสตับอักเสบบีมีโอกาสเป็นมะเร็งตับสูงกว่าผู้ที่ป่วยถึง 30 เท่า และยังพบว่าค่า Average potency เท่ากับ 0.0245 โดยคำนวณได้จากสมการที่ 2.1

$$\textbf{Average potency} = (0.3 \times HBsAg^{+}\text{ prevalence rate}) + (HBsAg^{-}\text{ prevalence rate}) \quad (2.1)$$

$$= (0.3 \times 0.05) + (0.01 \times 0.95)$$

$$= 0.0245$$

โดย $HBsAg^{+}$ prevalence rate หมายถึง ร้อยละประชากรไทยที่ป่วยเป็นไวรัสตับอักเสบบี

$HBsAg^{-}$ prevalence rate หมายถึง ร้อยละประชากรไทยที่ไม่ป่วยเป็นไวรัสตับอักเสบบี

Shephard และคณะ (2008) ระบุว่า จำนวนผู้ป่วยมากกว่า 1 คน ต่อปีต่อแสนคนนั้น แสดงถึง ความเสี่ยงสูง แต่ถ้ามีค่าต่ำกว่า 1 คน แสดงว่ามีความเสี่ยงระดับต่ำ

2.5.3.3 การประเมินการได้รับสัมผัส (Exposure Assessment)

เป็นการวัดปริมาณสารเคมีที่มนุษย์มีโอกาสได้รับจากอาหารเข้าสู่ร่างกาย โดยสามารถประเมินได้ 2 วิธี (อนามัย, 2555) คือ วิธีทางตรง เช่น การเก็บตัวอย่างที่ตัวบุคคล การเก็บตัวอย่างทางชีวภาพ และวิธีทางอ้อม เช่น การบันทึกข้อมูล การใช้แบบสอบถาม เป็นต้น โดยนำข้อมูลการบริโภคอาหารในแต่ละประเภทจากการอ้างอิงข้อมูลการบริโภคอาหารของคนไทย (มกอช, 2559) มาคูณกับปริมาณการปนเปื้อนที่วิเคราะห์ได้จากโปรแกรม @Risk ดังนี้

Shephard (2008) ได้ใช้สมการในการคำนวณปริมาณการได้รับสัมผัส ดังนี้

$$\text{Exposure} = \frac{\text{Concentration} \times \text{Consumption}}{\text{Body weight}} \quad (2.2)$$

โดย Exposure คือ ปริมาณการได้รับสัมผัสสารนั้นๆของบุคคลหนึ่งจากการบริโภคอาหาร (นาโนกรัม/น้ำหนักตัว/วัน)

Concentration คือ ปริมาณการปนเปื้อน หรือความเข้มข้นของสารนั้นๆ ในอาหาร (นาโนกรัม/กรัม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Consumption คือ ปริมาณการบริโภคอาหารของแต่ละบุคคล (กรัม/วัน)

Body weight คือ น้ำหนักตัวเฉลี่ย (กิโลกรัม)

สถาบันอาหาร (2559) ได้รายงานการศึกษาปริมาณการได้รับสัมผัสอะฟลาทอกซินทั้งหมด (บี1, บี2, จี1, จี2) ในพริกไทย โดยคำนวณปริมาณการปนเปื้อนโดยใช้วิธีการสุ่มแบบ Monte Carlo จำนวน 10,000 รอบ ด้วยโปรแกรม @Risk และ ประเมินปริมาณการได้รับสัมผัสจากสมการ 2.2 โดยใช้ข้อมูลปริมาณการบริโภคอาหารประจำปี พ.ศ. 2559 ของสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหาร พบว่า ผู้บริโภคในกลุ่ม Per capita ที่ช่วงอายุ 18 – 35 ปี และกลุ่ม Eater only ที่ช่วงอายุ 3 - 6 ปี และช่วงอายุ 35 – 65 ปี ได้รับสัมผัสอะฟลาทอกซินสูงสุดเท่ากับ 0.31, 0.22, 0.88 นาโนกรัมต่อกิโลกรัมต่อน้ำหนักตัวต่อวัน

2.5.3.4 การอธิบายลักษณะความเสี่ยง (Risk Characterization)

การอธิบายลักษณะความเสี่ยงเป็นการนำข้อมูลทั้ง 3 ขั้นตอน ได้แก่ การบ่งชี้อันตราย การอธิบายลักษณะของอันตราย และการประเมินการได้รับสัมผัส มาประเมินความเสี่ยง และสรุปผลข้อมูลโดยอธิบายลักษณะความเป็นพิษต่อสุขภาพประชากร โดยแบ่งได้เป็น 2 กรณี (พงศ์เทพ, 2549) คือ

(1) สารที่ไม่ก่อมะเร็ง สามารถอธิบายความเสี่ยงของสารดังกล่าวจากการคำนวณหาค่าที่ยอมรับได้ (Hazard Quotient: HQ) ด้วยการนำค่าความเข้มข้นที่คำนวณได้จากการประเมินการได้รับสัมผัส มาหารด้วยค่าความเข้มข้นอ้างอิง (Reference Concentration: RfD) โดย ถ้าค่าที่ยอมรับได้มีค่าน้อยกว่า หรือ เท่าหนึ่ง แสดงว่า ปริมาณสารเคมีดังกล่าวอยู่ในระดับที่ร่างกายยอมรับได้ตลอดช่วงอายุขัย แต่ถ้ามีค่ามากกว่าหนึ่ง แสดงว่า ปริมาณสารเคมีดังกล่าวอยู่ในระดับที่ยอมรับไม่ได้ หรือ เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค โดยค่า HQ คำนวณจากสมการ 2.3 ดังต่อไปนี้

$$\text{Hazard Quotient} = \frac{\text{Chronic Daily Intake}}{\text{Reference Concentration หรือ Reference Dose: (RfD)}} \qquad 2.3$$

โดย Chronic Daily Intake หมายถึง การรับสัมผัสอย่างเรื้อรังเป็นประจำ (มิลลิกรัม/กิโลกรัมของน้ำหนักตัว/วัน)

Reference Concentration หมายถึง ค่าความเข้มข้นอ้างอิง (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)

Reference Dose (RfD) หมายถึง ค่าขนาดอ้างอิง (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(2) สารก่อมะเร็ง เป็นการอธิบายความเสี่ยงของสารดังกล่าว จากการประเมินโอกาสความเป็นไปได้ (Probability) ด้วยการคำนวณปริมาณสารเคมีที่ได้รับประจำเรื้อรัง (Chronic Daily Intake: CDI) ที่มีหน่วยเป็นมิลลิกรัม/กิโลกรัมของน้ำหนักตัว/วัน แล้ว คูณกับค่าความชันของการเกิดมะเร็ง (Carcinogenic Potency Slope: CPS) ที่มีหน่วยเป็น มิลลิกรัม/กิโลกรัมของน้ำหนักตัว/วัน หรือค่า Q (Carcinogenic Potency factor) โดยค่าความเสี่ยง (Risk) คำนวณจากสมการ 2.4 ดังต่อไปนี้

ความเสี่ยง (Risk) == CPS × CDI

หรือ = Exposure × Average potency _____2.4

โดย CPS หมายถึง ค่าเฉลี่ยของปริมาณสารที่ได้รับในแต่ละวัน (มิลลิกรัม/กิโลกรัมของน้ำหนักตัว/วัน)

CDI หมายถึง ปริมาณสารเคมีที่ได้รับประจำเรื้อรัง (มิลลิกรัม/กิโลกรัมของน้ำหนักตัว/วัน)

Exposure หมายถึง ปริมาณการได้รับสัมผัสสารนั้นๆของบุคคลหนึ่งจากการบริโภคอาหาร (นาโนกรัม/น้ำหนักตัว/วัน)

Average potency หมายถึง อัตราเฉลี่ยโอกาสในการเกิดมะเร็ง (คนต่อปีต่อ 100,000 คน)

Ding (2012) ได้ประเมินความเสี่ยงระดับความเสี่ยงสูง (97.5 เปอร์เซ็นต์ไทล์) ในการบริโภคถั่วลิสงในประเทศจีน พบว่า ผู้ใหญ่ที่บริโภคถั่วลิสงมาก มีความเสี่ยงในการเกิดมะเร็ง 24.6 ราย หรือประมาณ 25 คนต่อปีต่อ 100,000 คน สำหรับประเทศไทยนั้น Kooprasertying (2016) ได้ประเมินความเสี่ยงอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงดิบ ถั่วลิสงคั่ว และถั่วลิสงป่น ที่จำหน่ายในประเทศไทย จำนวน 60 ตัวอย่าง ตัวอย่างในช่วงเดือนพฤศจิกายน ถึง มกราคม พ.ศ. 2557 พบว่า 80 เปอร์เซ็นต์ตัวอย่างถั่วลิสงปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน ในขณะที่ 100 เปอร์เซ็นต์ของตัวอย่างถั่วลิสงคั่วและถั่วลิสงป่นปนเปื้อนอะฟลาทอกซินระดับสูง โดยที่ตัวอย่างถั่วลิสงป่นปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน สูงสุดถึง 362 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม จากผลจากการประเมินความเสี่ยง พบว่า อัตราการเกิดมะเร็งประมาณเท่ากับ 0.01-0.12 คน/ปี/100,000 คน แสดงถึงสถานการณ์ปัจจุบันของการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงป่นมีความเสี่ยงต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.4 ประโยชน์ของการประเมินความเสี่ยง

การประเมินความเสี่ยงสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายกรณี (อนามัย , 2555) ดังนี้

(1) ใช้สำหรับในการคำนวณค่ามาตรฐานของสารเคมีที่ปนเปื้อนหรือตกค้างในอาหารที่อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค เพื่อให้ประชาชนเกิดความมั่นใจในการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนหรือตกค้างสารเคมีที่ไม่ส่งผลต่อสุขภาพของผู้บริโภคได้

(2) ผลของการประเมินความเสี่ยงของสารเคมีที่ปนเปื้อนหรือตกค้างในอาหาร จะเป็นข้อมูลสำคัญที่จะนำไปใช้ เพื่อเป็นแนวทางในการตัดสินใจในการบริหารความเสี่ยงและการอนุญาตหรือออกกฎหมายในการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพผู้บริโภคได้

2.5.5 หน่วยงานด้านการประเมินความเสี่ยง

หน่วยงานสำคัญที่มีบทบาทในการประเมินความเสี่ยงทางด้านเคมี แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ

(1) หน่วยงานภาครัฐของประเทศต่างๆ เช่น U.S. EPA (United States Environmental Protection Agency) และ TSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) ของประเทศสหรัฐอเมริกา Health Canada ของประเทศแคนาดา RIVM (Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu) ของประเทศเนเธอร์แลนด์ และ EFSA (European Food Safety Authority) ของสหภาพยุโรป

(2) หน่วยงานระหว่างประเทศ เช่น JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) และ JMPR (The Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues) ขององค์การสหประชาชาติ

หน่วยงานของประเทศต่างๆที่กล่าวข้างต้นได้พัฒนาหลักการประเมินความเสี่ยงด้านเคมีไว้ใช้ภายในประเทศ และยังเป็นต้นแบบของการพัฒนาของประเทศอื่นๆอีกด้วย สำหรับหน่วยงานระหว่างประเทศนั้น จะประกอบไปด้วยตัวแทนจากหลายประเทศที่ได้พัฒนาหลักการประเมินความเสี่ยงไว้ เพื่อเป็นหลักการที่ยอมรับของนานาประเทศ

(3) หน่วยงานประเมินความเสี่ยงในประเทศไทย เช่น ศูนย์ประเมินความเสี่ยงประเทศไทย (Thailand Risk Assessment Center : TRAC) ของสถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล, ศูนย์ปฏิบัติการความปลอดภัยด้านอาหาร สำนักส่งเสริมและสนับสนุนอาหารปลอดภัยของกระทรวงสาธารณสุข และ ศูนย์วิจัยและประเมินความเสี่ยงด้านอาหารปลอดภัยของสถาบันอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.6 การทบทวนเอกสารและข้อมูลที่ข้องเกี่ยวกับการประเมินความเสี่ยงของอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงและธัญพืชต่างๆ

รายงานวิจัยจำนวนมากระบุการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงตั้งแต่ขั้นตอนการเก็บเกี่ยว การเก็บรักษา การผลิต การแปรรูป รวมถึงผลิตภัณฑ์พร้อมบริโภค หากผู้บริโภคเหล่านี้รับปริมาณอะฟลาทอกซินมากเกินไป อาจทำให้เกิดมะเร็งตับได้ (Park และคณะ, 2004; Sugita-Konishi และคณะ, 2010; Kamika และ Takoy, 2011; Ding และคณะ, 2012) อีกทั้งการกำหนดปริมาณอะฟลาทอกซินที่สามารถพบได้ในถั่วลิสง และปริมาณอะฟลาทอกซินที่ตรวจพบของแต่ละประเทศมีค่าแตกต่างกัน (อนงค์,2546) ทั้งนี้อาจเนื่องจากปัจจัยทางภูมิอากาศที่ส่งผลต่อการเก็บรักษาถั่วลิสง และพฤติกรรมการบริโภคถั่วลิสงของผู้บริโภคในแต่ละประเทศแตกต่างกัน จึงทำให้ความเสี่ยงในการรับอะฟลาทอกซินและการเกิดโรคมะเร็งแตกต่างกันด้วย

2.5.6.1 งานวิจัยเกี่ยวข้องกับการประเมินความเสี่ยงในถั่วลิสงและธัญพืชต่างๆของต่างประเทศ

ผลการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการประเมินความเสี่ยงในถั่วลิสงและธัญพืชต่างๆของต่างประเทศ แสดงให้เห็นว่าชนิดอะฟลาทอกซินที่พบในถั่วลิสงและธัญพืชอื่นๆ เช่น ข้าว ข้าวโพด และแป้งสาลี คือ อะฟลาทอกซิน บี และรายงานการประเมินความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งตับ สามารถสรุปบางส่วนได้ดังตารางที่ 2.23

ตารางที่ 2.23 การประเมินความเสี่ยงของอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงและธัญพืชต่างๆ โดยใช้โปรแกรม @Risk

ประเทศ	ตัวอย่าง	ปริมาณอะฟลาทอกซิน*	ความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็ง**	อ้างอิง
จีน	ถั่วดิบ	0.01-720	0.003	Ding และคณะ (2012)
ญี่ปุ่น	ถั่วดิบ และผลิตภัณฑ์ถั่ว	0.21- 28.0	0.00004 – 0.00005	Sugita-Konishi และคณะ (2010)
มาเลเซีย	อาหารที่มีส่วนผสมของถั่ว	24.3-34.00	0.61– 0.85	Chin และคณะ (2012)
บราซิล	ผลิตภัณฑ์ถั่ว	6.7-36.9	0.3056	Andrade และคณะ (2012)

หมายเหตุ หน่วย *ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และ ** คนต่อปีต่อ 100,000 คน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่า ในแถบเอเชียโดยเฉพาะประเทศจีนนั้นได้ศึกษาปริมาณอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงและธัญพืชต่างๆ เช่น ข้าวโพด ข้าว และแป้งสาลีในมณฑลต่างๆจำนวนมาก เนื่องจากชาวจีนส่วนใหญ่นิยมบริโภคอาหารที่มีส่วนประกอบจากธัญพืชต่างๆ เหล่านี้ ซึ่งผลการวิจัยของ Sun และ คณะ (2011) พบอะฟลาทอกซินในข้าวโพด 0.256 - 1.22 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ข้าว 0.244 – 49.8 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และแป้งสาลี 1.01 – 14.5 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม

นอกจากนี้ Ding และคณะ (2012) พบปริมาณอะฟลาทอกซินในถั่วดิบสูงเกินกว่าค่ามาตรฐานโดยมีปริมาณตั้งแต่ 0.01-720 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ถึงแม้ผลประเมินความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งจะมีความเสี่ยงต่ำ 0.003 คนต่อปีต่อ 100,000 คน แต่แนวโน้มของการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน และความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งยังคงต้องเฝ้าระวังต่อไป

งานวิจัยของ Sugita-Konishi และคณะ (2010) ได้ศึกษาปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในถั่วดิบและผลิตภัณฑ์ถั่ว ทั้งหมด 884 ตัวอย่าง ในประเทศญี่ปุ่น พบว่า ปริมาณอะฟลาทอกซินในถั่วบางตัวอย่างสูงกว่ามาตรฐานที่ประเทศกำหนดไว้ไม่เกิน 10 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม เช่นกัน โดยตรวจพบระหว่าง 0.21-28.0 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อนำข้อมูลมาประเมินความเสี่ยงโดยใช้โปรแกรม @Risk ผลการประเมินโอกาสการเกิดมะเร็งตับมีค่าเพียง 0.00004-0.00005 คนต่อปีต่อ 100,000 คน แสดงถึงว่า ประชากรญี่ปุ่นที่บริโภคถั่วลิสงมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งต่ำมาก

นอกจากนี้ ประเทศมาเลเซียเป็นอีกหนึ่งประเทศที่ตรวจพบปริมาณอะฟลาทอกซินในถั่ว โดย Chin และคณะ (2012) สำรวจปริมาณการปนเปื้อนของอะฟลา-ทอกซินในตัวอย่างอาหารที่มีส่วนผสมของถั่วลิสง จำนวน 236 ตัวอย่าง ด้วยวิธี HPLC พบว่าอาหารส่วนใหญ่ปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน ในช่วง 24.3 – 34.0 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และประเมินความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งตับเพียง 0.61-0.85 คนต่อปีต่อ 100,000 คน ดังนั้น ประชากรชาวมาเลเซียมีความเสี่ยงต่ำในการเกิดโรคจากการบริโภคถั่ว

ในทวีปอเมริกาใต้นั้น บราซิลเป็นประเทศผู้ผลิตสินค้าเกษตรที่หลากหลายรายใหญ่ของโลก อาทิ กล้วย กาแฟ ข้าวโพด หัวน้ำส้มเข้มข้น ข้าว แอลกอฮอล์ อ้อย รวมถึงถั่ว แต่เพราะภูมิประเทศอยู่ในเขตป่าฝนที่ใหญ่ที่สุดของโลก จึงทำให้มีความชื้นในอากาศสูง ส่งผลต่อคุณภาพการเก็บรักษาสินค้าทางการเกษตร Andrade และคณะ (2012) พบว่า ผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงในประเทศบราซิลปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน ในช่วง 6.7-36.9 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และประเมินความเสี่ยงไว้ที่ 0.3056 คนต่อปีต่อ 100,000 คน งานวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kamika และ Takoy (2011) ที่ศึกษาในสาธารณรัฐประชาธิปไตยคองโกของทวีปแอฟริกา ที่มีอากาศร้อนชื้นและฝนตกชุก โดยใช้ตัวอย่างถั่วลิสงดิบจำนวน 60 ตัวอย่างจากช่วงแล้งและช่วงฤดูฝน พบว่าในช่วงฤดูแล้งตัวอย่างถั่วปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน 1.5-390ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม แต่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในช่วงฤดูฝน การปนเปื้อนอะฟลาทอกซินสูงเป็น 12-937 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ดังนั้น สภาพภูมิอากาศส่งผลต่อการเกิดอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงเช่นกัน

2.5.6.2 งานวิจัยเกี่ยวข้องกับการประเมินความเสี่ยงในถั่วลิสงและธัญพืชต่างๆของประเทศไทย

สำหรับในประเทศไทยผลการสำรวจปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน ในถั่วลิสงและธัญพืชต่างๆ ยังคงพบการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินเกินกว่ามาตรฐานกำหนดจำนวนมาก (Kooprasertying และคณะ, 2016; สถาบันอาหาร, 2559; Iamtaweejaroen, 2016) ดังนั้นจึงมีการนำผลการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินที่ตรวจพบ มาประเมินความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็ง ดังตารางที่ 2.24

ตารางที่ 2.24 ความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งจากอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงและธัญพืชต่างๆในประเทศไทย

ตัวอย่าง	ปริมาณอะฟลาทอกซิน (ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม)	การประเมินความเสี่ยง ความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็ง (คน/ปี/ 100,000 คน)		อ้างอิง
		Low[a]	High[b]	
ถั่วดิบ	ND[c] -304	0.01	0.04	Kooprasertying และคณะ, 2016
ถั่วคั่ว	0.53-33.6	0.01	0.02	
ถั่วป่น	0.93-362	0.03	0.12	
กระเทียม	ND	0.0004	0.0020	สถาบันอาหาร, 2559
พริกไทย	ND	0.000005	0.000032	
ขมิ้นผง	3.98	0.0000001	0.0000015	
ลูกผักชี	ND	0.000004	0.000011	
ข้าวกล้อง	0.09-26.6	0.01	0.03	Iamtaweejaroen, 2016
ข้าวขัดสี	0.09-5.80	0.01	0.04	

หมายเหตุ Low[a] หมายถึง อัตราการเกิดมะเร็งที่ปนเปื้อนอะฟลาทอกซินเฉลี่ยที่ 50 th percentile

High[b] หมายถึง อัตราการเกิดมะเร็งที่ปนเปื้อนอะฟลาทอกซินสูงที่ 97.5th percentile

ND[c] หมายถึง ไม่พบปริมาณอะฟลาทอกซิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทบทวนวรรณกรรม พบว่า ในประเทศไทยได้มีการสำรวจปริมาณอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงดิบ ถั่วลิสงคั่ว และถั่วลิสงป่น ที่เก็บมาจาก ตลาดค้าปลีก และตลาดขายส่งในกรุงเทพ จำนวน 60 ตัวอย่าง ในช่วงเดือนพฤศจิกายน – มกราคม พบการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินทั้งหมดในช่วง not detected-362 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม โดยตัวอย่างถั่วลิสงทั้งหมดส่วนใหญ่พบการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินบี1, บี2, จี1, และจี2 คิดเป็น 92, 93, 12 และ 13 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำค่าการปนเปื้อนที่วิเคราะห์ได้ไปประเมินความเสี่ยงใช้โปรแกรม @Risk (Monte Carlo) พบว่าความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งจากการบริโภคถั่วดิบ, ถั่วลิสงคั่ว และถั่วลิสงป่น อยู่ในช่วง 0.01 – 0.12 คนต่อปีต่อ 100,000 คน ซึ่งสถานการณ์ปัจจุบันของการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินในถั่วลิสง และผลิตภัณฑ์ถั่วลิสง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในถั่วลิสงบดมีผลกระทบต่อสุขภาพของคนไทยมากกว่าถั่วชนิดอื่นๆ (Kooprasertying และคณะ, 2016)

สถาบันอาหาร (2059) ได้มีการสำรวจปริมาณอะฟลาทอกซินทั้งหมดในเครื่องเทศ จำนวน 170 ตัวอย่าง โดยแบ่งเป็น กระเทียม 46 ตัวอย่าง พริกไทย 79 ตัวอย่าง ขมิ้น 23 ตัวอย่าง และลูกผักชี 22 ตัวอย่าง ทำการวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินด้วยวิธีลิควิดโครมาโตกราฟีสมรรถนะสูง พบการปนเปื้อน อะฟลาทอกซินเพียง 1 ตัวอย่าง ในขมิ้นผง 3.98 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม โดยมีค่าปริมาณต่ำสุดที่เครื่องสามารถวิเคราะห์ได้เชิงปริมาณ (LOQ) เท่ากับ 0.40 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อนำมาประเมินความเสี่ยงการได้รับสัมผัสของอะฟลาทอกซินทั้งหมดในเครื่องเทศ โดยอธิบายในรูปความเสี่ยงของการเกิดโรคมะเร็งตับรายงานเป็นจำนวนประชากรที่มีโอกาสเป็นโรคมะเร็งตับคนต่อปีต่อ 100,000 คน ซึ่งได้ผลการประเมินความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็งตับ เท่ากับ 0.0000001 - 0.0020 คนต่อปีต่อ 100,000 คน ซึ่งเป็นระดับความเสี่ยงต่ำ แสดงว่าการบริโภคเครื่องเทศของประชากรไทยมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งต่ำ

นอกจากนี้ ในปี 2016 ผลการสำรวจปริมาณอะฟลาทอกซิน บี1 ในข้าวกล้อง และข้าวขัดสีในประเทศไทย จำนวน 240 ตัวอย่าง ด้วยวิธีลิควิดโครมาโตกราฟีสมรรถนะสูงในช่วงเดือนมิถุนายน ถึง กรกฎาคม พบว่า มีการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในช่วง 0.09 - 26.6 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม คิดเป็น 59 เปอร์เซ็นต์ และช่วงเดือนธันวาคม ถึง มกราคม พบว่า มีการปนเปื้อนอะฟลา-ทอกซินในช่วง 0.09-3.51 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม คิดเป็น 10 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำค่าการปนเปื้อนที่วิเคราะห์ได้ไปประเมินความเสี่ยงใช้โปรแกรม @Risk (Monte Carlo) พบว่า ความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งจากการบริโภคข้าวกล้องที่มีการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินเฉลี่ย และสูง มีค่าเท่า 0.011 และ 0.033คนต่อปีต่อ 100,000 คน และ ความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งจากการบริโภคข้าวขัดสีที่มีการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินเฉลี่ย และสูง มีค่าเท่า 0.01 และ 0.04 คนต่อปีต่อ 100,000 คน ดังนั้นในการบริโภคข้าวที่เป็นอาหารหลักของคนไทยยังคงมีความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็งต่ำ ถึงแม้ว่าบางตัวอย่างยังคงมีค่าเกินกว่ามาตรฐานกำหนด จึงควรมีการควบคุม และเฝ้าระวังการปนเปื้อนอะฟลา-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทอกซิน เพื่อไม่ให้เกิดการปนเปื้อนระดับสูงที่อาจก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อผู้บริโภคได้ (Iamtaweejaroen, 2016)

ในปี พ.ศ. 2532 ถึง พ.ศ. 2534 ได้มีการศึกษาปริมาณอะฟลาทอกซินที่คนไทยได้รับเข้าสู่ร่างกาย จากการบริโภคอาหารในกลุ่มข้าวและผลิตภัณฑ์ กลุ่มถั่วและผลิตภัณฑ์ กลุ่มเนื้อสัตว์และนม กลุ่มสัตว์ปีกและไข่ กลุ่มไขมันและน้ำมัน และกลุ่มเครื่องปรุงรส นำค่าการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินรวมที่ได้จากอาหารทั้ง 6 กลุ่ม มาคำนวณเป็นอัตราความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งตับต่อประชากร 100,000 คน พบว่ามีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งตับ เท่ากับ 2.21, 2.23 และ 2.38 คนต่อปีต่อ 100,000 คน (ศรีสิทธิ์, 2537) ซึ่งจากผลประเมินความเสี่ยงในกลุ่มถั่วและผลิตภัณฑ์ และกลุ่มข้าวและผลิตภัณฑ์ ตั้งแต่อดีต ที่มีความเสี่ยงระดับสูง จนถึงปัจจุบัน พบว่า มีความเสี่ยงลดลงจนถึงระดับความเสี่ยงต่ำ แสดงให้เห็นว่าในประเทศไทยได้มีการจัดการและควบคุมการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในอาหาร เพื่อเป็นการเฝ้าระวังความปลอดภัยของผู้บริโภค

ดังนั้น จากการทบทวนวรรณกรรมทั้งไทย และต่างประเทศ พบว่า มีการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในถั่วลิสง และธัญพืชต่างๆ มีปริมาณการปนเปื้อนสูงเกินกว่ามาตรฐานกำหนด โดยเฉพาะถั่วลิสงที่ส่วนใหญ่แล้วมักพบการปนเปื้อนสูง จึงเป็นประเด็นที่น่าสนใจทำให้เกิดการประเมินความเสี่ยงต่อผู้บริโภค แต่เมื่อนำถั่วลิสงมาประเมินความเสี่ยงแล้วกลับไม่พบความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งของผู้บริโภค อาจเป็นเพราะปัจจัยที่นำมาวิเคราะห์ของแต่ละประเทศแตกต่างกัน รวมถึงพฤติกรรมการบริโภคถั่วลิสงในแต่ละประเทศแตกต่างกัน จึงควรมีการทบทวนข้อมูลและประเมินความเสี่ยงเพื่อเป็นการเฝ้าระวังความปลอดภัยของผู้บริโภคสม่ำเสมอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วัสดุอุปกรณ์ และวิธีการดำเนินการทดลอง

3.1 ตัวอย่างเมล็ดถั่ว

3.1.1 ตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ

นำตัวอย่างเมล็ดถั่วลิสงที่ไม่มีการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน จำนวน 4 กิโลกรัม นำมาปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นผสมความเร็วสูง (high speed) 20,000 รอบต่อนาที อย่างน้อย 10 นาที ผสมตัวอย่างเข้าด้วยกัน แล้ว แบ่งใส่ถุงพลาสติกซิปล็อค (Polyethylene zip lock bag) ถุงละ 1 กิโลกรัม จำนวน 4 ถุง เก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

หมายเหตุ ตัวอย่างเมล็ดถั่วลิสงที่ไม่มีการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินได้จากการนำตัวอย่างถั่วลิสงจากธรรมชาติมาวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซินด้วยวิธีลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง แล้วไม่พบสัญญาณของโครมาโทแกรมในตัวอย่างเมล็ดถั่วลิสง

3.1.2 ตัวอย่างเมล็ดถั่วลิสง

เก็บตัวอย่างถั่วลิสงจำนวน 30 ตัวอย่าง ที่จำหน่ายในตลาดไทและตลาดสี่มุมเมือง ตัวอย่างละอย่างน้อย 1 กิโลกรัม โดยสุ่มเก็บตัวอย่างทุกเดือนในร้านจำหน่ายเดิม เป็นเวลา 3 เดือน ระหว่างเดือน เมษายน ถึง มิถุนายน พ.ศ. 2560

นำตัวอย่างมาปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นผสมความเร็วสูง (high speed) 20,000 รอบต่อนาที อย่างน้อย 10 นาที แล้วบรรจุลงในถุงพลาสติกซิปล็อค แล้วเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

3.2 สารเคมี

3.2.1 น้ำปราศจากไอออน (Deionization water)

3.2.2 เมธานอล (Methanol HPLC grade และ AR grade ยี่ห้อ Fisher Scientific, USA)

3.2.3 โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride, AR grade ยี่ห้อ Fisher Scientific, USA)

3.2.4 Immuno affinity column (Aflatest test ยี่ห้อ water, USA)

3.2.5 สารมาตรฐาน อะฟลาทอกซิน บี1 (Aflatoxin B1), อะฟลาทอกซิน บี2 (Aflatoxin B2), อะฟลาทอกซิน จี1 (Aflatoxin G1), อะฟลาทอกซิน จี2 (Aflatoxin G2) ความบริสุทธิ์ไม่ต่ำกว่า 98% (Sigma Aldrich, USA)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 วัสดุ และอุปกรณ์

3.3.1 เครื่องลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง (Agilent 1200 Series, USA)

3.3.2 เครื่องตรวจวัดสัญญาณชนิดฟลูออเรสต์เซ็นต์ (Fluorescence Detector) (Agilent, USA)

3.3.3 คอลัมน์ Novapak C18 (4 ไมโครเมตร, 3.9 × 150 มิลลิเมตร) (Waters, USA)

3.3.4 เครื่อง Photochemical reactor (PHRED, USA) 230 Volt 50 Hz 8 Watt

3.3.5 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (Sartorius, Thailand)

3.3.6 เครื่องปั่นไฟฟ้าและโถปั่นสแตนเลส

3.3.7 อุปกรณ์ Vacuum manifold (Water, USA)

3.3.8 เครื่องผสม (Vortex mixer)

3.3.9 Micropipette ขนาด 10 – 100 ไมโครลิตร, 100 – 1000 ไมโครลิตร และ 10 มิลลิลิตร

3.3.10 กระดาษกรอง Whatman เบอร์ GF/C (glass microfiber filter)

3.3.11 กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4

3.3.12 ชุดกรอง Mobile phase

3.3.13 กรวยพลาสติก

3.3.14 บีกเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตร และ 250 มิลลิลิตร

3.3.15 ขวดรูปชมพู่ ขนาด 125 มิลลิลิตร

3.3.16 กระบอกตวง ขนาด 100 มิลลิลิตร, 250 มิลลิลิตร และ 1,000 มิลลิลิตร

3.3.17 หลอดฉีดยาพลาสติก ขนาด 5 มิลลิลิตร และ 20 มิลลิลิตร

3.3.18 ขวดแก้วสีชาขนาด 10 มิลลิลิตร

3.3.19 Vial ขนาด 2 มิลลิลิตร สีชา สำหรับเครื่อง HPLC พร้อมฝาปิด

3.3.20 Volumetric flask ขนาด 2 มิลลิลิตร และ 1,000 มิลลิลิตร

3.3.21 กระดาษกรอง Membrane nylon filter ขนาด 0.45 ไมโครเมตร

3.4 การวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินชนิดต่างๆ ด้วยเครื่องลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง

3.4.1. สารละลายมาตรฐาน

3.4.1.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้น 150 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร

นำสารมาตรฐานอะฟลาทอกซิน บี1, บี2, จี1, และจี2 แต่ละชนิดที่ความเข้มข้น 3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มาเจือจางด้วยเมธานอล (HPLC grade) ใน ขวดปรับปริมาตร ขนาด 20 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.1.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้น 10 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร (Intermediate mixed standard)

ปิเปตสารละลายมาตรฐานอะฟลาทอกซิน บี1, บี2, จี1, และจี2 จากข้อ 3.4.1.1 ตัวละ 0.67 มิลลิลิตร ลงใน ขวดปรับปริมาตร ขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย เมธานอล 50 เปอร์เซ็นต์

3.4.1.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.2 – 5 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร (Calibration curve)

เจือจางสารละลายมาตรฐานที่ได้จาก ข้อ 3.4.1.2 ให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ ด้วย เมธานอล 50 เปอร์เซ็นต์ (HPLC grade) ดังตารางที่ 3.1 จากนั้นนำสารละลายที่ได้มาวิเคราะห์หาเวลาที่สารแต่ละชนิดใช้ผ่านคอลัมน์ (Retention time, RT) และ พื้นที่ใต้กราฟ เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่าง ความเข้มข้น และ พื้นที่ใต้กราฟ

ตารางที่ 3.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

สารละลายมาตรฐานที่ต้องการเตรียม		**สารละลาย Intermediate mixed standard**		**สารละลายที่ใช้ปรับปริมาตร**
ความเข้มข้น (นาโนกรัม/กิโลกรัม)	**ปริมาตร (มิลลิลิตร)**	**ความเข้มข้น (นาโนกรัม/กิโลกรัม)**	**ปริมาตร (มิลลิลิตร)**	
0.2	2	10	0.04	50% เมธานอล
0.5	2	10	0.1	
1	2	10	0.2	
3	2	10	0.6	
5	2	10	1	

3.4.2. การเตรียมตัวอย่าง

3.4.2.1 การสกัดตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่างถั่วลิสงที่บดแล้ว 25.00 กรัม และโซเดียมคลอไรด์ 5 กรัม ในบีกเกอร์ แล้วใส่ลงในโถปั่น ชะบีกเกอร์ด้วย เมธานอล 70 เปอร์เซ็นต์ปริมาตร 125 มิลลิลิตร จากนั้น ปั่นตัวอย่างที่ความเร็ว 20,000 รอบต่อนาที นาน 2 นาที ด้วยเครื่องปั่นผสม แล้วจึงนำส่วนผสมที่ได้ มากรองด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 4 แล้ว ปิเปตสารละลายที่กรองได้ 15 มิลลิลิตรใส่ลงในขวดรูปชมพู่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

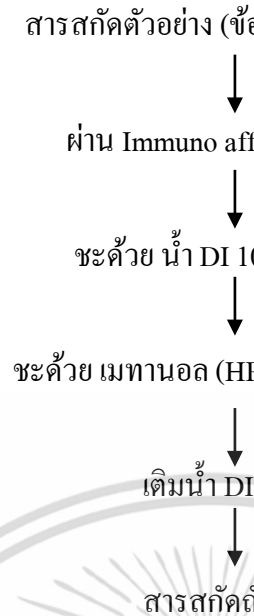
และเติมน้ำปราศจากอิออน (Deionized water, DI) 30 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วจึงกรองด้วยกระดาษกรองแก้ว (GF/C) อีกครั้ง โดยขั้นตอนการสกัดตัวอย่างแสดงดังภาพที่ 3.1

ภาพที่ 3.1 การสกัดตัวอย่างถั่วลิสง

3.4.2.2 การเตรียมสารสกัดถั่วลิสง

ปิเปตสารสกัดตัวอย่างจากข้อ 3.4.2.1 ปริมาตร 15 มิลลิลิตร ใส่ในคอลัมน์ Immunoaffinity column รอจนสารสกัดผ่านคอลัมน์จนหมด แล้วล้างคอลัมน์ด้วยน้ำปราศจากอิออน ปริมาตร 10 มิลลิลิตร 2 รอบ ปล่อยให้ไม่มีน้ำเหลือในคอลัมน์ แล้วจึง ชะอะฟลาทอกซินออกจากคอลัมน์ด้วยเมธานอล (HPLC grade) 1 มิลลิลิตร และ น้ำปราศจากอิออน 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวด vial ตัวอย่างนี้ จะเรียกว่า สารสกัดถั่วลิสง จากนั้นนำไปวิเคราะห์ทันทีด้วยเครื่องลิควิดโครมาโท-กราฟีสมรรถนะสูง โดยขั้นตอนเตรียมสารสกัดถั่วลิสง แสดงดังภาพที่ 3.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.2 ขั้นตอนการเตรียมสารสกัดถั่วลิสง

3.4.3. สภาวะเครื่องลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง

การวิเคราะห์หาปริมาณในการทดสอบ อะฟลาทอกซิน บี1, บี2, จี1, และจี2 ในเมล็ดถั่วลิสง ด้วยวิธีลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูงที่ดัดแปลงมาจากวิธี AOAC 991.31 (2016) โดยมีรายละเอียดดังนี้

นำสารสกัดถั่วลิสงที่ได้จากข้อ 3.4.2.2 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร นำมาฉีดเข้าเครื่องลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง โดยมีสภาวะของเครื่องดังนี้ คอลัมน์ C18 (4 μm, .9× 150 mm), เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วย เมธานอล : น้ำ (45 : 55), อัตราไหลของเฟสเคลื่อนที่ 0.6 มิลลิลิตรต่อนาที, อุณหภูมิคอลัมน์ 42 องศาเซลเซียส และระยะเวลาในการวิเคราะห์ 25 นาทีต่อเข็ม แล้วตรวจวัดด้วยเครื่องตรวจวัดแบบฟลูออเรสเซนส์ (Fluorescence detector) ที่กำหนดความยาวคลื่นของการกระตุ้น (λexcitation) และ ความยาวคลื่นของการเปล่งแสง (λemission) เท่ากับ 365 และ 430 นาโนเมตร ตามลำดับ

3.4.4 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method validation) ของปริมาณอะฟลาทอกซิน ในเมล็ดถั่วลิสง

การทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ของอะฟลาทอกซินทั้ง บี1, อะฟลาทอกซินบี2, อะฟลาทอกซินจี1 และ อะฟลาทอกซินจี2 ในถั่วลิสง ด้วยเครื่องลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง ดำเนินการตามมาตรฐาน EURACHEM (2014) และ AOAC (2016) โดยมีข้อสรุป ดังภาพที่ 3.3 นี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sample Blank	• วิเคราะห์ Sample blank	**Accuracy**	• % Recovery
Range	• Correlation coefficient	**Precision**	• % RSD • HORRAT
Linearity	• Correlation coefficient	**LOD**	• % RSD HORRAT • % Recovery
Specificity	• Retention time	**LOQ**	• % RSD HORRAT • % Recovery

ภาพที่ 3.3 พารามิเตอร์และเกณฑ์ที่ใช้ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ

3.4.4.1 การเตรียมตัวอย่างถั่วลิสงที่เติมสารมาตรฐาน (Fortified sample blank)

นำสารละลายมาตรฐานที่ได้จากข้อ 3.4.1.2 ที่ความเข้มข้น 10 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร มาเติมลงในตัวอย่างถั่วลิสงที่บดแล้ว ดังตารางที่ 3.2 เก็บไว้ในที่มืด อย่างน้อย 30 นาที แล้วสกัดตัวอย่างตามวิธีในข้อ 3.4.2. แล้วนำไปทดสอบพารามิเตอร์ต่างๆ ตามข้อกำหนด ดังนี้

ตารางที่ 3.2 ปริมาณสารละลายมาตรฐานอะฟลาทอกซินแต่ละชนิดในตัวอย่างถั่วลิสง

พารามิเตอร์ที่ใช้ตรวจวัด	**ความเข้มข้นที่ต้องการ (ไมโครกรัม/กิโลกรัม)**	**สารละลายมาตรฐานที่เติมลงในตัวอย่าง**	
		ความเข้มข้น (นาโนกรัม/มิลลิลิตร)	**ปริมาตร (มิลลิลิตร)**
ความจำเพาะของวิธี (Specificity)	2	10	5
ความเที่ยง (Precision) และความแม่น (Accuracy)	0.4	10	1
	2	10	5
	10	10	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.2 (ต่อ)

พารามิเตอร์ที่ใช้ตรวจวัด	ความเข้มข้นที่ต้องการ (ไมโครกรัม/กิโลกรัม)	สารละลายมาตรฐานที่เติมลงในตัวอย่าง	
		ความเข้มข้น (นาโนกรัม/มิลลิลิตร)	ปริมาตร (มิลลิลิตร)
ปริมาณต่ำสุดที่วิธีทดสอบสามารถตรวจพบได้เชิงคุณภาพ (LOD)	0.2	10	0.5
ปริมาณต่ำสุดที่วิธีทดสอบสามารถตรวจพบได้เชิงปริมาณ (LOQ)	0.4	10	1

3.4.4.2 Sample Blank

นำตัวอย่างเมล็ดถั่วลิสงจากท้องตลาดมาสกัด และ วิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซิน จำนวน 10 ซ้ำ โดยสกัดตัวอย่างตามวิธีในข้อ 3.4.2.1 และ 3.4.2.2 ตามลำดับ ตัวอย่างถั่วลิสงที่ใช้เป็นตัวแทนในการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีจะต้องไม่มีปริมาณอะฟลาทอกซิน โดยนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง แล้วต้องไม่พบสัญญาณที่ตำแหน่ง retention time (RT) ของอะฟลาทอกซิน ทั้ง 4 ชนิด บนโครมาโตแกรมของตัวอย่างถั่วลิสง

3.4.4.3 ความจำเพาะของวิธี (Specificity)

ทดสอบโดยการฉีดสารละลายมาตรฐาน และสารสกัดถั่วลิสงที่เติมสารมาตรฐานที่ความเข้มข้น 2 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และสารละลายตัวอย่าง (Sample blank) ตามลำดับ จากนั้นเปรียบเทียบ RT ของสารแต่ละชนิด

3.4.4.3 ช่วงของการใช้งาน (Range)

ทดสอบโดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ ระหว่าง 0.4 – 10.0 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ดังตารางที่ 3.1 จำนวน 5 ระดับความเข้มข้น จากนั้นนำผลการวิเคราะห์มาพลอตกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น และพื้นที่ใต้กราฟ แล้วคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient, r^2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.4.4 ความเป็นเส้นตรง (Linearity)

1) เตรียมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ ระหว่าง 0.4 – 10.0 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ดังตารางที่ 3.1 จำนวน 5 ระดับความเข้มข้น การทดสอบซ้ำ 5 ซ้ำ จากนั้นนำผลการวิเคราะห์มาพลอตกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น และพื้นที่ใต้กราฟ แล้วคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์

2) เตรียมสารมาตรฐานอะฟลาทอกซิน บี1, บี2, จี1, และ จี2 ระหว่างความเข้มข้น 0.4 – 10.0 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ดังตารางที่ 3.1 แล้วปรับปริมาตรด้วยสารสกัดถั่วลิสง ทำการทดสอบระดับละ 5 ซ้ำ นำผลที่ได้มาหาความสัมพันธ์ระหว่าง ความเข้มข้น และ ค่าเฉลี่ยพื้นที่ใต้กราฟ (Peak area) แล้วจึงคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์

3.4.4.5 ความเที่ยง (Precision)

1) ทดสอบความสามารถในการทวนซ้ำภายใต้สภาวะการทดลองเดียวกัน (Repeatability, RSD_r) ในตัวอย่างถั่วลิสงที่เติมสารมาตรฐานอะฟลาทอกซิน บี1, บี2, จี1, และ จี2 ที่ความเข้มข้น 0.4, 2 และ 10 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ดังตารางที่ 3.2 ทำการทดสอบซ้ำที่ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ ตามวิธีการสกัดข้อ 3.4.2 โดยทำการสกัดซ้ำของตัวอย่างถั่วลิสงในแต่ละความเข้มข้น ใช้ผู้ทดสอบคนเดียวในวันเดียวกัน และเครื่องมือเดียวกัน

2) ทดสอบคความสามารถในการทวนซ้ำภายใต้สภาวะการทดลองที่แตกต่างกัน (Reproducibility, RSD_R) ในตัวอย่างถั่วลิสงที่เติมสารมาตรฐานอะฟลาทอกซิน บี1, บี2, จี1, และ จี2 ที่ความเข้มข้น 2 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ดังตารางที่ 3.2 ทำการทดสอบต่างวัน จำนวน 55 วัน ครั้งละ 2 ซ้ำ ตามวิธีการสกัดข้อ 3.4.2 จากผู้ทดสอบทั้งหมด 3 คน และใช้เครื่องมือในการวิเคราะห์คนละเครื่องกัน

จากนั้นนำผลที่วิเคราะห์ได้มาคำนวณหา ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพันธ์ (relative standard deviation, %RSD) และ HORRAT value ตามสมการที่ 3.1 ดังนี้

โดย %RSD = $\frac{SD \times 100}{\bar{x}}$ (3.1)

Repeatability RSD_r = $0.66 \times 2^{(1-0.5 \log C)}$

Reproducibility RSD_R = $2^{(1-0.5 \log C)}$

เมื่อ C = Concentration ratio

โดย HORRAT = $\frac{\%RSD}{RSD_r}$ หรือ $\frac{\%RSD}{RSD_R}$ (3.2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.4.6 ความแม่น (Accuracy)

1) เติมสารมาตรฐานทั้ง 4 ชนิด ในตัวอย่างถั่วลิสงที่ความเข้มข้น 0.4 , 2 และ 10 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ดังตารางที่ 3.2 ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ จากนั้นนำค่าที่วิเคราะห์ได้มาคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์ของการกลับคืน (% Recovery) ตามสมการที่ 3.2 ดังนี้

$$\%\text{Recovery} = \frac{C_{sp} \times 100}{C_a} \quad (3.3)$$

เมื่อ C_{sp} = ปริมาณอะฟลาทอกซินที่คำนวณได้ (ไมโครกรัม/กิโลกรัม)

C_a = ความเข้มข้นของอะฟลาทอกซินที่เติมในถั่ว (ไมโครกรัม/กิโลกรัม)

2) ยืนยันความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โดยประเมินผลการทดสอบความชำนาญปริมาณอะฟลาทอกซินในเมล็ดถั่วลิสง ของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จากการสกัดตัวอย่างถั่วลิสงที่ได้มาจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ตามข้อที่ 3.4.2 แล้วทำการวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซิน ด้วยเครื่องลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง ตามข้อ 3.4.3 จากนั้นส่งผลที่วิเคราะห์ได้ เพื่อให้กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ประเมินผล โดยผลการประเมินค่า Z Score จะอยู่ในช่วง ±2

3.4.4.7 ปริมาณต่ำสุดที่วิธีทดสอบสามารถตรวจพบได้เชิงคุณภาพ (Limit of detection, LOD)

เติมสารมาตรฐานอะฟลาทอกซินทั้ง 4 ชนิด ในตัวอย่างถั่วลิสง ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่เครื่องลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง สามารถตรวจพบสัญญาณของโครมาโตแกรมได้ แล้วนำค่าความเข้มข้นมาคำนวณหาค่า 3SD (Standard Deviation : SD) (สมการ 3.4) ที่คำนวณได้มายืนยัน ความเที่ยง และความแม่น โดยคำนวณจาก ค่า HORRAT value (สมการที่ 3.2) และเปอร์เซ็นต์ของการกลับคืน (% Recovery) (สมการที่ 3.3)

$$3SD = \sqrt{\frac{(x-\bar{x})^2}{n-1}} \quad (3.4)$$

3.4.4.8 ปริมาณต่ำสุดที่วิธีทดสอบสามารถตรวจพบได้เชิงปริมาณ (Limit of quantification, LOQ)

นำค่าที่ได้จากการเติมสารละลายมาตรฐานอะฟลาทอกซิน บี1 บี2 จี1 และ จี2 จากข้อ 3.4.4.7 มาคำนวณหาค่า 10SD (Standard Deviation : SD) (สมการ 3.5) ของปริมาณอะฟลาทอกซิน ทั้ง 4 ชนิด นำค่าที่คำนวณได้มายืนยัน ความเที่ยง และความแม่น โดยคำนวณจาก ค่า HORRAT value (สมการที่ 3.2) และเปอร์เซ็นต์ของการกลับคืน (% Recovery) (สมการที่ 3.3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$10SD = \sqrt{\frac{(x-\bar{x})^2}{n-1}} \quad (3.5)$$

3.4.5 การวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินชนิดต่างๆ ในเมล็ดถั่วลิสงที่จำหน่ายในตลาดค้าส่ง

3.4.5.1 การสุ่มและการเตรียมตัวอย่างเมล็ดถั่วลิสง

สุ่มเก็บตัวอย่างเมล็ดถั่วลิสงที่แบ่งขายจากร้านค้าปลีกในตลาดค้าส่งจำนวน 10 ร้าน ได้แก่ ตลาดไท (18 ตัวอย่าง) และตลาดสี่มุมเมือง (12 ตัวอย่าง) ตัวอย่างละ 1 กิโลกรัม โดยเลือกจากร้านค้าขายส่งเมล็ดถั่วลิสงแบ่งขายที่วัตถุดิบไม่มีฉลาก และบันทึกรายละเอียดของตัวอย่าง ได้แก่ ชื่อร้านค้า ลักษณะการจำหน่าย สถานที่เพาะปลูก และ ระยะเวลาการเก็บถึงวันที่จำหน่าย

ตัวอย่างเมล็ดถั่วลิสงจะสุ่มเก็บทุกๆ เดือน จากร้านค้าปลีกที่กำหนดไว้ ในระหว่างเดือน เมษายน ถึง มิถุนายน พ.ศ. 2560 รวมจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 30 ตัวอย่าง โดยรายละเอียดตัวอย่างเมล็ดถั่วลิสงแสดงดังตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 ตัวอย่างเมล็ดถั่วลิสง

รหัสตัวอย่าง	ชื่อร้านค้า	เดือนที่เก็บตัวอย่าง	สถานที่ปลูก	ระยะเวลาเก็บก่อนจำหน่าย	บรรจุภัณฑ์	สถานที่เก็บ
1	A	เมษายน	พม่า	1 เดือน	ถุงพลาสติกตักขายเปิดปากถุง	ตลาดไท
2	A	พฤษภาคม	พม่า	1 เดือน	ถุงพลาสติกตักขายเปิดปากถุง	ตลาดไท
3	A	มิถุนายน	พม่า	4 วัน	ถุงพลาสติกตักขายเปิดปากถุง	ตลาดไท
4	B	เมษายน	อินเดีย	1 เดือน	กองกับพื้นตักแบ่งขายใส่ถุงพลาสติก	ตลาดไท
5	B	พฤษภาคม	อินเดีย	1 เดือน	กองกับพื้นตักแบ่งขายใส่ถุงพลาสติก	ตลาดไท
6	B	มิถุนายน	อินเดีย	1 เดือน	กองกับพื้นตักแบ่งขายใส่ถุงพลาสติก	ตลาดไท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.3 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อร้านค้า	เดือนที่เก็บตัวอย่าง	สถานที่ปลูก	ระยะเวลาเก็บก่อนจำหน่าย	บรรจุภัณฑ์	สถานที่เก็บ
7	C	เมษายน	ไทย	2 อาทิตย์	ถุงพลาสติกมัดปากถุง	ตลาดไท
8	C	พฤษภาคม	ไทย	2 อาทิตย์	ถุงพลาสติกมัดปากถุง	ตลาดไท
9	C	มิถุนายน	ไทย	1 อาทิตย์	ถุงพลาสติกมัดปากถุง	ตลาดไท
10	D	เมษายน	ไทย	1-2 อาทิตย์	ถุงพลาสติกตักขายเปิดปากถุง	ตลาดไท
11	D	พฤษภาคม	ไทย	2 อาทิตย์ -1 เดือน	ถุงพลาสติกตักขายเปิดปากถุง	ตลาดไท
12	D	มิถุนายน	ไทย	2 อาทิตย์ -1 เดือน	ถุงพลาสติกตักขายเปิดปากถุง	ตลาดไท
13	E	เมษายน	ไทย	2 เดือน	ถุงพลาสติกมัดปากถุง	ตลาดไท
14	E	พฤษภาคม	ไทย	1-2 เดือน	ถุงพลาสติกมัดปากถุง	ตลาดไท
15	E	มิถุนายน	ไทย	2 เดือน	ถุงพลาสติกมัดปากถุง	ตลาดไท
16	F	เมษายน	ไทย	1 เดือน	ถุงพลาสติกมัดปากถุง	ตลาดไท
17	F	พฤษภาคม	ไทย	1 เดือน	ถุงพลาสติกมัดปากถุง	ตลาดไท
18	F	มิถุนายน	ไทย	1 อาทิตย์	ถุงพลาสติกมัดปากถุง	ตลาดไท
19	G	เมษายน	ไทย	1 อาทิตย์	ถุงพลาสติกมัดปากถุง	ตลาดสี่มุมเมือง
20	G	พฤษภาคม	ไทย	2-3 อาทิตย์	ถุงพลาสติกมัดปากถุง	ตลาดสี่มุมเมือง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.3 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อร้านค้า	เดือนที่เก็บตัวอย่าง	สถานที่ปลูก	ระยะเวลาเก็บก่อนจำหน่าย	บรรจุภัณฑ์	สถานที่เก็บ
21	G	มิถุนายน	ไทย	2 อาทิตย์	ถุงพลาสติกมัดปากถุง	ตลาดสี่มุมเมือง
22	H	เมษายน	ไทย	2 อาทิตย์	ถุงพลาสติกมัดปากถุง	ตลาดสี่มุมเมือง
23	H	พฤษภาคม	ไทย	2 อาทิตย์	ถุงพลาสติกมัดปากถุง	ตลาดสี่มุมเมือง
24	H	มิถุนายน	ไทย	2 วัน	ถุงพลาสติกมัดปากถุง	ตลาดสี่มุมเมือง
25	I	เมษายน	ไทย	1 อาทิตย์	ถุงพลาสติกมัดปากถุง	ตลาดสี่มุมเมือง
26	I	พฤษภาคม	ไทย	1-2 อาทิตย์	ถุงพลาสติกมัดปากถุง	ตลาดสี่มุมเมือง
27	I	มิถุนายน	ไทย	3 วัน	ถุงพลาสติกมัดปากถุง	ตลาดสี่มุมเมือง
28	J	เมษายน	ไทย	4 วัน	ถุงพลาสติกมัดปากถุง	ตลาดสี่มุมเมือง
29	J	พฤษภาคม	ไทย	3 วัน	ถุงพลาสติกมัดปากถุง	ตลาดสี่มุมเมือง
30	J	มิถุนายน	ไทย	2-3 อาทิตย์	ถุงพลาสติกมัดปากถุง	ตลาดสี่มุมเมือง

นำตัวอย่างเมล็ดถั่วลิสงแต่ละตัวอย่าง จะนำมาบดละเอียดดังข้อ 3.1.1 แล้วแบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 ส่วน โดยส่วนที่ 1 บรรจุลงในถุงพลาสติกซิปล็อค แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซิน และส่วนที่ 2 บรรจุลงในถุงพลาสติกแบบสุญญากาศ เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น และวอเตอร์แอคติวิตี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

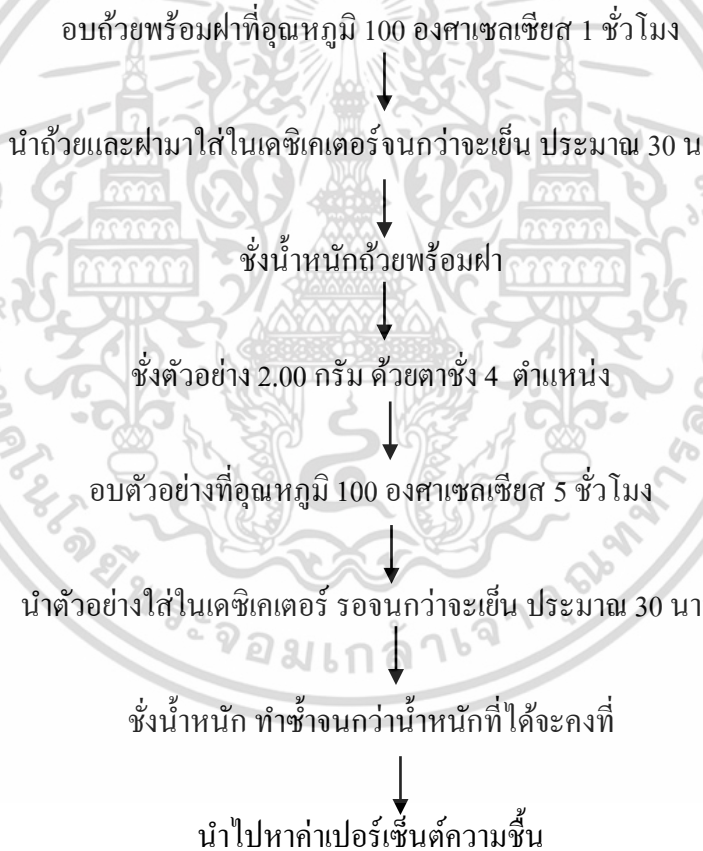
3.4.5.2 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

1) ปริมาณอะฟลาทอกซินชนิดต่างๆ

การวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซินชนิดต่างๆ ใช้วิธีการดังข้อ 3.4

2) ความชื้น AOAC 925.40 (2012)

อบถ้วยอะลูมิเนียมพร้อมฝาที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง แล้วทิ้งไว้ให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ประมาณ 30 นาที ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของถ้วยอะลูมิเนียม 4 ตำแหน่ง จากนั้นชั่งน้ำหนักถั่วลิสง 2 กรัม ลงในถ้วยอะลูมิเนียม บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน แล้วนำตัวอย่างไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส 5 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำตัวอย่างออกมาทิ้งไว้ในเดซิเคเตอร์ให้เย็นประมาณ 30 นาที แล้วบันทึกน้ำหนักหลังอบตัวอย่าง อบซ้ำจนได้น้ำหนักคงที่ หรือสองครั้งสุดท้ายต่างกันไม่เกิน 0.0005 กรัม แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นตามสมการที่ (3.6)



ภาพที่ 3.4 ขั้นตอนวิเคราะห์ความชื้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{ความชื้น (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{W \times 100}{WS} \quad (3.6)$$

เมื่อ W = น้ำหนักความชื้น (กรัม) = WS- (WT - WB)

WS = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

WT = น้ำหนักถ้วยที่มีตัวอย่างหลังอบแห้ง (กรัม)

WB = น้ำหนักถ้วยอะลูมิเนียมเปล่า (กรัม)

3) วอเตอร์แอคติวิตี้ AOAC 978.18 (2012)

ใส่ตัวอย่างถั่วลิสงในตลับพลาสติกประมาณ 2 กรัม แล้วนำไปวัดค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ ด้วยเครื่องวอเตอร์แอคติวิตี้ (AQUA LAB ; model Series 3 TE) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จำนวน 2 ซ้ำ โดยมีผลต่างของการทำซ้ำไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์

3.4.5.3 การประเมินความเสี่ยงอะฟลาทอกซินในเมล็ดถั่วลิสง

1) การวิเคราะห์ปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในเมล็ดถั่วลิสง (Contamination)

นำผลวิเคราะห์ชนิดและปริมาณอะฟลาทอกซินรวม (Total aflatoxin) ที่ได้จากกลุ่มตัวอย่างที่เพาะปลูกจากแหล่งตัวอย่าง แบ่งเป็น (1) ถั่วลิสงที่เพาะปลูกในประเทศไทย (2) ถั่วลิสงที่นำเข้าจากต่างประเทศ และ (3) ถั่วลิสงทั้งที่เพาะปลูกในไทยและต่างประเทศ มาคำนวณความเข้มข้น หรือ ปริมาณการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินในถั่วโดยใช้ โปรแกรม @Risk (version 7.5) Trial กำหนดวิธีการสุ่มแบบ Monte Carlo จำนวน 10,000 รอบ แล้วคำนวณหาระดับการปนเปื้อนเฉลี่ย (50 เปอร์เซ็นต์ไทล์) และระดับการปนเปื้อนสูง (97.5 เปอร์เซ็นต์ไทล์) ตามลำดับ

2) การวิเคราะห์ปริมาณการบริโภคถั่วลิสงของคนไทย (Consumption)

นำข้อมูลปริมาณการบริโภคถั่วลิสงชนิดต่างๆ จาก ฐานข้อมูลปริมาณอาหารที่คนไทยบริโภค (Database of food consumption of Thai people) ของสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (2559) (ดังตารางที่ 2.3) ได้แก่ ถั่วลิสงคั่ว ถั่วลิสงอบ ถั่วลิสงทอด และถั่วลิสงป่น และแบ่งกลุ่มผู้บริโภคออกเป็น 7 ช่วงอายุ ดังนี้ กลุ่มที่ 1 อายุ 3 - 6 ปี, กลุ่มที่ 2 อายุ 6 – 13 ปี, กลุ่มที่ 3 อายุ 13 - 18 ปี, กลุ่มที่ 4 อายุ 18 - 35 ปี, กลุ่มที่ 5 อายุ 35 - 65 ปี, กลุ่มที่ 6 อายุ 65 ปีขึ้นไป และกลุ่มที่ 7 อายุ 3 ปีขึ้นไป

จากนั้น ประเมินปริมาณการบริโภคของประชากรไทย (∑Consumption) จากการบริโภคถั่วลิสงทั้ง 4 ชนิด เป็น 2 แบบ ได้แก่ ผู้บริโภคอาหารของประชากรทั้งหมด (per capita)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และ เฉพาะผู้ที่บริโภคอาหารเฉพาะ(eater only) ที่แบ่งย่อยเป็นแบบเฉลี่ย (50 เปอร์เซ็นต์ไทล์) และแบบสูง (97.5 เปอร์เซ็นต์ไทล์) ตามลำดับ

3) การประเมินการได้รับสัมผัส (Exposure assessment)

การประเมินการได้รับสัมผัสคำนวณได้ดังสมการที่ 3.7 โดยใช้ค่าความเข้มข้น หรือ ปริมาณการปนเปื้อน และปริมาณการบริโภคถั่วลิสงของคนไทย

$$\text{Exposure (ng/kg body weight per day)} = \frac{\text{Contamination level (ng/g)} \times \sum \text{Consumption (g/day)}}{\text{Body weight (kg)}} \quad (3.7)$$

เมื่อ Exposure คือ ปริมาณการได้รับสัมผัสอะฟลาทอกซินจากการบริโภคถั่วลิสง

Contamination คือ ปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินรวมในถั่วลิสง โดยคำนวณจากระดับการปนเปื้อนเฉลี่ย และระดับการปนเปื้อนสูง จากข้อ (1)

∑Consumption คือ ผลรวมของปริมาณการบริโภคถั่วลิสงของคนไทย โดยคำนวณ จากผู้บริโภคอาหารของประชากรทั้งหมด และ เฉพาะผู้ที่บริโภคอาหารเฉพาะในแต่ละช่วงอายุ ในแต่ละช่วงอายุ (7 ช่วง) จาก ข้อ (2)

Body weight คือ น้ำหนักตัวเฉลี่ย ในแต่ละช่วงอายุ จากฐานข้อมูลอาหารที่คนไทยบริโภค (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2559)

4) การอธิบายความเสี่ยง (Risk characterization)

การอธิบายความเสี่ยงของสารอะฟลาทอกซิน แสดง ในรูปของ ปริมาณของผู้ป่วยมะเร็งต่อปีต่อ 100,000 คน ได้จากการคำนวณในสมการที่ 3.8 (JECFA, 1998) โดยนำข้อมูลปริมาณการได้รับสัมผัสอะฟลาทอกซิน จากการบริโภคถั่วลิสงที่ได้จาก ข้อ 3 มาคูณกับค่าอัตราการเกิดมะเร็งตับของประชากรไทย (Average potency) ดังนี้

$$\text{Potency (cancer/year/100,000)} = \text{Exposure} \times \text{Average potency} \quad (3.8)$$

โดย Average potency เท่ากับ 0.0245

เมื่อ Potency คือ ความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งตับ

Average potency คือ อัตราการเกิดมะเร็งตับของประชากรไทย

HBsAg+ prevalence rate คือ ร้อยละประชากรไทยที่เป็นไวรัสตับอักเสบบี

HBsAg- prevalence rate คือ ร้อยละประชากรไทยที่ไม่เป็นไวรัสตับอักเสบบี

หมายเหตุ ผู้ป่วยที่เป็นไวรัสตับอักเสบบี ในประเทศไทยร้อยละ 5 ของประชากรทั้งหมด (Ott และคณะ, 2012)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลอง และวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซิน บี1, บี2, จี1 และ จี2 ในเมล็ดถั่วลิสง

ในการพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีทดสอบอะฟลาทอกซิน บี1, บี2, จี1 และ จี2 ในเมล็ดถั่วลิสง ด้วยวิธีลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง ตามวิธีทดสอบที่ได้มาตรฐาน AOAC 991.31 โดยใช้พารามิเตอร์ในการตรวจสอบวิธีตามมาตรฐาน EURACHEM ได้แก่ ความจำเพาะของวิธีทดสอบ (Specificity), ช่วงของการใช้งาน (Range), ความเป็นเส้นตรง (Linearity), ความเที่ยง (Precision), ความแม่น (Accuracy), ปริมาณต่ำสุดที่วิธีทดสอบสามารถตรวจพบได้เชิงคุณภาพ (Limit of detection, LOD) และ ปริมาณต่ำสุดที่วิธีทดสอบสามารถตรวจพบได้เชิงปริมาณ (Limit of quantification, LOQ) ได้ผลการวิเคราะห์ตามลำดับดังนี้

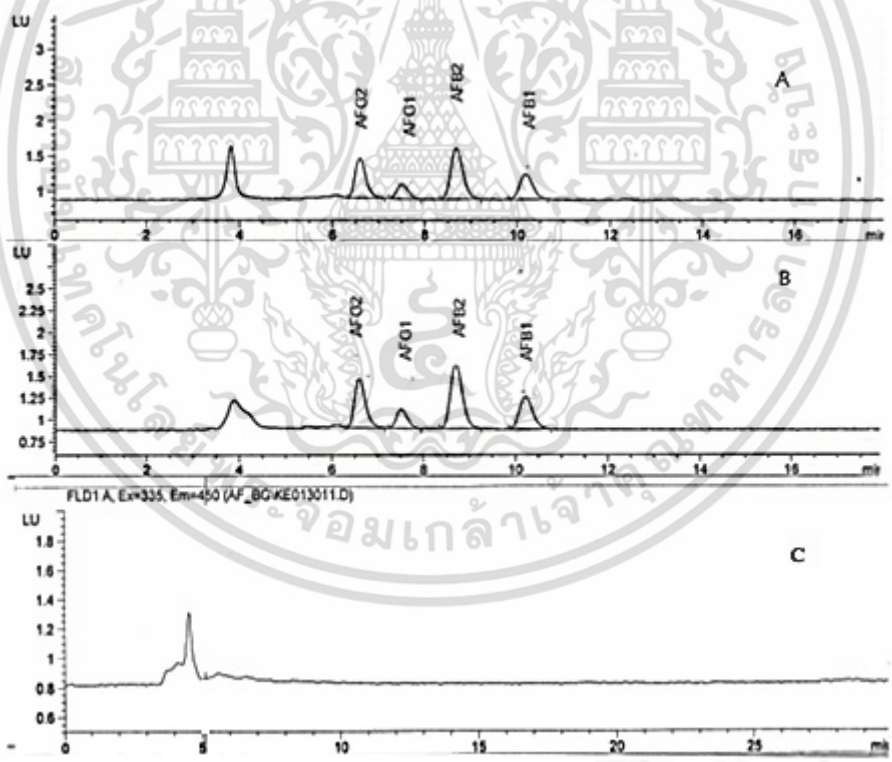
4.1.1 ความจำเพาะของวิธีการทดสอบ

โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานอะฟลาทอกซิน บี1, บี2, จี1 และจี2 ด้วยเครื่องลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง แสดงดังภาพ 4.1 (A) โดย retention time (RT) หรือ เวลาที่สารแต่ละชนิดใช้ผ่านคอลัมน์จากจุดเริ่มต้นถึงจุดสูงสุดของพีค (peak) มีค่าตั้งแต่ 6.593 ถึง 10.351 นาที โดยเรียงลำดับของการออกของอะฟลาทอกซินตาม RT จากน้อยไปมาก ดังนี้ อะฟลาทอกซิน จี2, จี1, บี2 และ บี1 ตามลำดับ นอกจากนี้ ยังพบว่าวิธีการวิเคราะห์นี้ สามารถแยกสารอะฟลาทอกซินแต่ละชนิด โดยไม่มีการซ้อนทับกันของพีค แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพในการแยกสารทั้ง 4 ชนิดออกจากกันได้อย่างสมบูรณ์ และเมื่อพิจาณาโครมาโตแกรมของสารตัวอย่าง Blank (Sample blank) (ภาพที่ 4.1(C)) พบว่า เส้น baseline ราบเรียบ ไม่มีพีครบกวนในช่วงเวลาที่สารอะฟลาทอกซินทั้ง 4 ชนิด

เมื่อเปรียบเทียบโครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานเปรียบเทียบกับโครมาโตแกรมของตัวอย่างถั่วลิสงที่เติมสารมาตรฐานอะฟลาทอกซินทั้ง 4 ชนิด (ภาพที่ 4.1(A) และ 4.1 (B)) พบว่ามี RT ที่ตำแหน่งเดียวกัน แสดงให้เห็นว่า องค์ประกอบในตัวอย่างถั่วไม่มีผลต่อการแยกและการซ้อนทับของพีคอะฟลาทอกซินทั้ง 4 ชนิด รวมถึงไม่มีพีคอื่นๆรบกวน แสดงให้เห็นว่า ขั้นตอนการสกัด โดยเฉพาะ การผ่านสารสกัดตัวอย่างด้วยคอลัมน์ Immunoaffinity column เป็นวิธีที่มีความจำเพาะสูง สามารถแยกสารรบกวนอื่นๆ ออกจากอะฟลาทอกซินทั้ง 4 ชนิดได้ เนื่องจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภายใน Immunoaffinity column บรรจุแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่ออะฟลาทอกซิน บี1 บี2 จี1 และจี2 ทำให้สารอื่นๆ ไม่สามารถจับกับในส่วน เฟสคงที่ (stationary phase) ได้ และหลุดออกจากคอลัมน์ คงเหลือไว้เพียงอะฟลาทอกซินทั้ง 4 ชนิด และถูกชะออกมาภายหลัง จึงทำให้โครมาโทแกรม (Chromatogram) ของตัวอย่างถั่วลิสงที่เติมสารมาตรฐานอะฟลาทอกซินทั้ง 4 ชนิดมีรูปร่างและลักษณะเช่นเดียวกับโครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน และไม่มีพีคอื่นๆ ของเมทริกซ์ (matrix) รวบกวน ดังนั้น วิธีการวิเคราะห์นี้ จึงมีความจำเพาะของวิธีการทดสอบและสามารถให้ผลวิเคราะห์เชิงปริมาณในตัวอย่างถั่วลิสงได้ ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ของ Khayoon และคณะ (2012) ได้พิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีทดสอบปริมาณอะฟลาทอกซินทั้ง 4 ชนิด ในตัวอย่างถั่วลิสง ด้วยวิธีลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง โดยการนำตัวอย่างถั่วลิสงที่ผ่านวิธีการสกัดแล้วมาวิเคราะห์เปรียบเทียบพีคของโครมาแกรมสารละลายมาตรฐาน กับตัวอย่างถั่วลิสงที่เติมสารละลายมาตรฐานพบว่า ไม่พบพีคหรือสัญญาณรบกวน ในช่วงเวลาที่โคมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานขึ้น โดยให้ค่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r^2) เท่ากับ 0.9991



ภาพที่ 4.1 โครมาโทแกรมของอะฟลาทอกซินที่ความเข้มข้น 2 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม

โดย AFG1 = อะฟลาทอกซินจี 1, AFG2 = อะฟลาทอกซินจี 2, AFB1 = อะฟลาทอกซินบี 1 AFB2 = อะฟลาทอกซินบี 2 A = สารละลายมาตรฐาน (Standard Aflatoxin mix), B = ตัวอย่างถั่วลิสงที่เติมสารมาตรฐานอะฟลาทอกซิน (Fortified sample blank) และ C = ตัวอย่างถั่วลิสงที่ไม่เติมสารมาตรฐานอะฟลาทอกซิน (Sample Blank)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อพิจารณา พื้นที่ใต้กราฟของอะฟลาทอกซินทั้ง 4 ที่ความเข้มข้น 2 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมนี้ (ภาพที่ 4.1 (A) และ (B)) พบว่า พื้นที่ใต้กราฟของอะฟลาทอกซินบี2 มีค่าสูงสุดเท่ากับ 13.19 รองลงมาได้แก่ อะฟลาทอกซินจี2 และ บี1 มีค่าเท่ากับ 9.19 และ 6.97 ตามลำดับ โดยพื้นที่ใต้กราฟของอะฟลาทอกซินจี1 มีค่าต่ำที่สุด เท่ากับ 3.42 ทั้งนี้ พื้นที่ใต้กราฟ เป็นค่าที่ได้จากสัญญาณการอ่านของเครื่องตรวจวัดฟลูออเรสเซนต์ที่มี λ excitation และ λ emission เท่ากับ 365 และ 430 นาโนเมตรตามลำดับ ดังนั้น หากปริมาณสารเท่ากัน แต่ค่าที่ได้จากเครื่องตรวจวัด หรือ พื้นที่ใต้กราฟมีค่ามากกว่า แสดงว่าสารชนิดนั้น มีความไวต่อวิธีการทดสอบมากกว่า เนื่องจากอะฟลาทอกซินทั้ง 4 ชนิดมีคุณสมบัติในการเรืองแสงภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต จึงสามารถใช้คุณสมบัติการเรืองแสงนี้ เป็นวิธีตรวจสอบเพื่อหาปริมาณอะฟลาทอกซินได้ (อนงค์, 2546) จากผลการวิเคราะห์นี้ พบว่า อะฟลาทอกซินบี2 มีความไว (sensitivity) ต่อการวิเคราะห์สูงที่สุด ในขณะที่อะฟลาทอกซินจี1 มีความไวต่ำที่สุด

4.1.2 การทดสอบช่วงของการใช้งาน (Range) และความเป็นเส้นตรง (Linearity)

การทดสอบช่วงของการใช้งาน และความเป็นเส้นตรง เป็นการวิเคราะห์หาช่วงความเข้มข้นของการใช้งานที่เหมาะสมตามข้อกำหนด โดยการวิเคราะห์ใน 2 รูปแบบ คือ (1) สารละลายมาตรฐานอะฟลาทอกซินรวมที่ความเข้มข้นระหว่าง 0.4 – 10.0 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และ (2) ตัวอย่างถั่วลิสงที่เติมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นเดียวกัน ซึ่งทดสอบจำนวน 5 ซ้ำในแต่ละความเข้มข้น แล้วพลอตกราฟระหว่างความเข้มข้น (x) กับพื้นที่ใต้กราฟ (y) เพื่อหาสมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 4.1

ค่าคงที่ (constant) หรือค่า fluorescence quantum yield (ϕ fluor) ของตัวแปร x (ความเข้มข้น) ของสมการเส้นตรงแสดงถึงความชันของกราฟ ซึ่งจะแปรผกผันกับตัวแปร y (พื้นที่ใต้กราฟ) ดังนั้น เมื่อกำหนดค่า y ให้เท่ากัน สารใดที่มีค่า ϕ fluor สูงกว่า ก็จะสามารถวิเคราะห์หา x ในปริมาณที่ต่ำกว่าได้ หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งว่า สารดังกล่าวมีความไวมากกว่า ซึ่งจากตารางที่ 4.1 พบว่า สมการของสารมาตรฐานทั้ง 4 นั้น สารอะฟลาทอกซิน บี2 มีค่า ϕ fluor สูงที่สุด (15.438) รองลงมาได้แก่ อะฟลาทอกซิน จี2 (10.096) บี1 (7.9682) และ จี1 (3.9258) ตามลำดับ สอดคล้องกับผลการทดสอบที่พบว่า พื้นที่ใต้กราฟของอะฟลาทอกซินบี2 มีค่ามากกว่าอะฟลาทอกซินอื่นๆ หรือ แสดงให้เห็นว่า อะฟลาทอกซิน บี2 มีความไวต่อการตรวจวิเคราะห์มากกว่านั้นเอง อย่างไรก็ตาม เมื่อเติมสารมาตรฐานลงในถั่ว พบว่าค่า ϕ fluor มีค่าแตกต่างกัน เช่น ค่า ϕ fluor ของอะฟลาทอกซิน บี1 มีค่าเท่ากับ 7.9682 และ 10.054 ของสมการสารละลายมาตรฐานและตัวอย่างถั่วลิสงที่เติมสารมาตรฐาน พบว่า มีค่าแตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่า การรบกวนของเมทริกซ์ของถั่วในการวิเคราะห์ โดยทำให้การตรวจวิเคราะห์มีความไวเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับกับอะฟลาทอกซินบี2 ที่มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าสัมประสิทธิ์เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาค่า ϕ fluor ของอะฟลาทอกซินจี1 และ จี2 กลับให้ผลในทิศทางตรงกันข้าม ทั้งนี้ การตรวจวัดสมบัติของสารด้วยวิธีการฟลูออเรสเซ็นต์นั้น เป็นวิธีการที่สภาพแวดล้อมในการวิเคราะห์มีอิทธิพลสูง ซึ่งสารเจือปน (impurity) จะมีอิทธิพลต่อการเรืองแสงฟลูออเรสเซ็นต์ ดังนั้น จากผลการทดลอง แสดงว่า การใช้ คอลัมน์ Immunoaffinity column ที่มีความจำเพาะในการจับกับระหว่าง แอนติเจนของอะฟลาทอกซิน และ แอนติบอดีที่เกาะบนเฟสคงที่ของคอลัมน์ ในขั้นตอนการทำความสะอาด (clean up) เพื่อลดสารเจือปนออกนี้ ยังคงมีสารเจือปนหลงเหลืออยู่บ้าง จึงส่งผลทำให้ค่า ϕ fluor มีค่าเปลี่ยนแปลงไป

ตารางที่ 4.1 สมการแสดงค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ของสารละลายมาตรฐาน และตัวอย่างถั่วลิสงที่เติมสารมาตรฐานอะฟลาทอกซิน บี1 บี2 จี1 และจี2

ชนิด อะฟลาทอกซิน	ตัวอย่าง	สมการ	สัมประสิทธิ์ สหสัมพันธ์ (r^2)
บี1	**สารละลายมาตรฐาน**	y=7.9682x - 0.0202	0.9998
	ตัวอย่างถั่วลิสงที่เติมสารมาตรฐาน	y=10.054x + 0.6036	0.9997
บี2	**สารละลายมาตรฐาน**	y=15.438x + 1.5228	0.9996
	ตัวอย่างถั่วลิสงที่เติมสารมาตรฐาน	y=18.685x + 0.3848	0.9998
จี1	**สารละลายมาตรฐาน**	y=3.9258x - 0.0665	0.9997
	ตัวอย่างถั่วลิสงที่เติมสารมาตรฐาน	y=2.5237x + 0.0549	0.9996
จี2	**สารละลายมาตรฐาน**	y=10.096x + 0.1535	0.9995
	ตัวอย่างถั่วลิสงที่เติมสารมาตรฐาน	y=5.4855x + 0.2239	0.9995

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2)ในแต่ละสมการของสารละลายมาตรฐานอะฟลาทอกซินทั้ง 4 มีค่ามากกว่า 0.9995 (ตารางที่ 4.1) ซึ่งเป็นไปตามเกณฑ์ AOAC กำหนด ต้องมากกว่า 0.995 (AOAC, 2016) ดังนั้น ช่วงความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่ใช้ในการทดสอบนี้มีความเหมาะสม นอกจากนี้ ยังพบว่า ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ในแต่ละสมการจากตัวอย่างถั่วลิสงที่เติมสารมาตรฐานอะฟลาทอกซินทั้ง 4 ก็มีค่ามากกว่า 0.9995 เช่นกัน แสดงให้เห็นว่า สารรบกวนจากตัวอย่างถั่วลิสงไม่มีผลต่อการทดสอบความเป็นเส้นตรง และช่วงความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่ใช้ในการทดสอบนี้มีความเหมาะสมเช่นกัน

4.1.3 การทดสอบความเที่ยง (Precision)

การทดสอบความเที่ยงเป็นการทดสอบความสามารถในการทวนซ้ำภายใต้สภาวะการทดลองเดียวกัน (Repeatability, RSD_r) และ ทดสอบความสามารถในการทำซ้ำภายใต้สภาวะการทดลองที่แตกต่างกัน (Reproducibility, RSD_R) แล้วคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation, %RSD) และ HORRAT (Horwitz ' s ratio) ผลการทดลองแสดงดังต่อไปนี้

(1) การทดสอบความสามารถในการทวนซ้ำภายใต้สภาวะการทดลองเดียวกัน (Repeatability, RSD_r) เป็นการวิเคราะห์ตัวอย่างถั่วลิสงที่เติมสารมาตรฐานอะฟลาทอกซินทั้ง 4 ที่ความเข้มข้น 0.4 - 10.0 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม โดยทดสอบที่ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ นั้น โดยค่า %RSD และ HORRAT value แสดงดังตารางที่ 4.2 ทั้งนี้ เป็นการทดสอบความเที่ยงของวิธีทดสอบว่าให้ผลการทดสอบแม่นยำหรือไม่ โดยวิเคราะห์ซ้ำในวันเดียวกัน ใช้เครื่องมือเดียวกัน และผู้ทดสอบคนเดียวกัน หากค่า $\%RSD_r$ ที่วิเคราะห์มีค่าน้อย และ ค่า HORRAT มีค่า ≤ 2 แสดงว่าให้ผลวิเคราะห์ที่มีความเที่ยงสูง และเป็นที่ยอมรับในระดับสากล (AOAC, 2016)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ค่า % RSD_r และHORRAT จากการทำซ้ำแบบ Repeatability

ชนิดอะฟลาทอกซิน	ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม)	% RSD_r	HORRAT
บี1	0.4	1.14	0.03
	2	4.76	0.16
	10	2.45	0.10
บี2	0.4	3.95	0.10
	2	3.70	0.12
	10	2.67	0.11
จี1	0.4	4.68	0.12
	2	3.70	0.12
	10	1.44	0.06
จี2	0.4	4.50	0.11
	2	3.92	0.13
	10	4.94	0.21

จากผลการวิเคราะห์ พบว่า %RSD_r อยู่ในช่วง 1.14 – 4.94 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้ค่า %RSD เป็นค่าที่ได้จากการคำนวณ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานต่อค่าเฉลี่ยในรูปเปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นถึง ค่าที่วิเคราะห์ได้ จะมีความใกล้เคียงกันในทุก การทำซ้ำ ดังนั้น หากมีค่าน้อย แสดงว่า วิธีการนี้มีความแม่นยำสูง ผลการวิเคราะห์พบว่า ค่าที่ได้ มีค่าต่ำกว่า 5.0 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อพิจารณาค่า HORRAT พบว่าอยู่ในช่วง 0.03 - 0.21 โดยค่า HORRAT ของอะฟลาทอกซิน บี1 ที่ความเข้มข้น 0.4 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม มีค่าน้อยที่สุด แสดงให้เห็นว่าวิธีทดสอบนี้สามารถวิเคราะห์สารในปริมาณต่ำได้ดีโดยให้ความแม่นยำในการทดสอบสูง ซึ่งผลการทดลองที่ได้มีค่าใกล้เคียงกับ Baltaci และคณะ (2012) ที่ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการหาปริมาณอะฟลาทอกซินด้วยเครื่องมือเดียวกันนี้ พบว่ามีค่า %RSD อยู่ในช่วง 4 – 5 เปอร์เซ็นต์ และในประเทศมาเลเซีย Khayoon และคณะ (2012) ได้พิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีทดสอบปริมาณอะฟลาทอกซินทั้ง 4 ชนิด ในตัวอย่างถั่วลิสง ด้วยเครื่องมือแบบเดียวกัน พบว่ามีค่า %RSD อยู่ในช่วง 1.00 – 5.34 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกัน

(2) ทดสอบความสามารถในการทำซ้ำภายใต้สภาวะการทดลองที่แตกต่างกัน (Reproducibility, RSD_R) เป็นการทดสอบวิธีเดียวกัน ภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน แต่ทดสอบในวันที่แตกต่างกัน รวม 5 ครั้ง ระหว่างเดือนมกราคม ถึงกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2560 โดยทดสอบวันละ 2 ซ้ำ และใช้เครื่อง HPLC จำนวน 5 เครื่อง และ ผู้ทดสอบ 3 คน ในการวิเคราะห์ตัวอย่างถั่วลิสงที่เติม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารมาตรฐานอะฟลาทอกซิน 2 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งการทดสอบนี้จะทำให้ทราบว่าวิธีการนี้จะมีผลต่อความคลาดเคลื่อนของผลการวิเคราะห์มากน้อยเพียงใด ทั้งความคลาดเคลื่อนของผู้ทดสอบ เครื่องมือ และอื่นๆ โดยพิจารณาจากผลการประเมินค่า HORRAT และ %RSD ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ค่า % RSD_R และHORRAT จากการทำซ้ำแบบ Reproducibility

ชนิด อะฟลาทอกซิน	ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/กิโลกรัม)	% RSD_R	HORRAT
บี1	2	8.82	0.30
บี2	2	8.60	0.29
จี1	2	6.24	0.21
จี2	2	3.38	0.11

ค่า HORRAT และ %RSD_R ในช่วง 0.11 - 0.30 และ 3.38-8.82 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.3) ตามลำดับ และเป็นไปตามเกณฑ์ที่ AOAC กำหนด (AOAC, 2016) จากผลที่ได้ แสดงว่า วิธีทดสอบนี้มีความแม่น และความเที่ยงดี ในขณะที่ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2554) รายงานค่า %RSD_R เท่ากับ 16.15 เปอร์เซ็นต์ และมีค่า HORRAT เท่ากับ 0.57 จากการทดสอบการวิเคราะห์ในตัวอย่างถั่วลิสงด้วยวิธีวิเคราะห์เดียวกันนี้ ทั้งนี้ ความแตกต่างของค่า %RSD ในการทดสอบความเที่ยงแบบความสามารถในการทำซ้ำ มีปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับความคลาดเคลื่อนของผลการทดสอบมากกว่า ซึ่งอาจเกิดจาก ประสิทธิภาพของเครื่องมือแต่ละเครื่อง ความคลาดเคลื่อนจากบุคคลที่อาจมีความชำนาญ หรือ องค์ประกอบอื่นๆ ที่แตกต่างกัน สภาวะในการทดสอบที่อาจแตกต่างกัน รวมถึงล็อตของสารเคมีที่ใช้ ที่อาจส่งผลให้เกิดความคลาดเคลื่อนได้ทั้งสิ้นอาจเนื่องมาจากทักษะความชำนาญการของผู้ทดสอบ หรือ ความจำเพาะของเครื่องมือที่แตกต่างกัน อีกทั้ง การทดสอบในแต่ละครั้งจึงอาจให้ผลที่แตกต่าง ส่งผลให้ค่า HORRAT และ %RSD_R มีค่าเพิ่มขึ้น หรือ ลดลงได้ แต่อย่างไรก็ตาม ค่าที่วิเคราะห์ได้นั้น จะพิจารณาจากค่า HORRAT เป็นสำคัญ ทั้งนี้ ค่า HORRAT เป็นค่าที่คำนวณจากค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน กับค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่คำนวณได้ แสดงให้เห็นความคลานเคลื่อนของวิธีทดสอบ โดยมีค่าสูงสุดที่ยอมรับได้คือ 2 ดังนั้น จากผลการทดสอบในตารางที่ 4.3 แสดงให้เห็นว่า วิธีวิเคราะห์นี้มีความเที่ยงแบบความสามารถในการทำซ้ำที่ดี ผลการทดสอบความสามารถในการทวนซ้ำ และความสามารถในการทำซ้ำ อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดทั้งคู่ แสดงให้เห็นว่าวิธีทดสอบนี้มีความเที่ยงสูง สามารถให้ผลวิเคราะห์อยู่ในช่วงเดียวกันทั้งในสภาวะการทดสอบเดียวกันหรือต่างสภาวะกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.4 การทดสอบความถูกต้อง (Accuracy)

การทดสอบความถูกต้อง เป็นค่าที่แสดงค่าความใกล้เคียงระหว่างผลการทดสอบและค่าจริงที่ยอมรับได้ โดยการเติมสารมาตรฐานอะฟลาทอกซินที่ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 0.4, 2 และ 10 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ลงในตัวอย่างถั่วลิสง จากนั้นวิเคราะห์หาความเข้มข้น ด้วยการทำซ้ำจำนวน 10 ซ้ำ แล้วจึงคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์ของการกลับคืน ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 เปอร์เซ็นต์ของการกลับคืน (%Recovery) จากการเติมสารมาตรฐานอะฟลาทอกซินทั้ง 4 ชนิดลงในตัวอย่างถั่วลิสง

ชนิด อะฟลาทอกซิน	ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม)	ช่วง % Recovery	ค่าเฉลี่ย % Recovery
บี1	0.4	111 - 115	113
	2	88.2 - 102	96.0
	10	77.7 - 85.4	81.1
บี2	0.4	99.3 - 109	107
	2	94.0 - 106	97.9
	10	82.8 - 90.5	84.8
จี1	0.4	81.5 - 92.5	88.2
	2	90.7 - 104	97.4
	10	83.9 - 88.2	85.0
จี2	0.4	83.5 - 94.5	88.3
	2	86.7 - 98.5	90.8
	10	70.8 - 81.6	77.4

ค่าเปอร์เซ็นต์ของการกลับคืนของอะฟลาทอกซินทั้ง 4 ชนิด อยู่ในช่วง 77.4 - 113 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน AOAC ที่กำหนดของความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมไว้ในช่วง 60 – 115 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2.16) จากตารางที่ 4.4 พบว่า ค่าเปอร์เซ็นต์ของการกลับคืนพบทั้งค่าที่ต่ำกว่า และสูงกว่าค่าจริง ทั้งนี้ การที่พบค่าต่ำกว่าค่าจริง อาจเนื่องจากขั้นตอนของการสกัดตัวอย่างที่ต้องเจือจาง และ การกรอง ตัวอย่างหลายขั้นตอน ทำให้เกิดการสูญเสียอะฟลาทอกซิน ส่วนการที่พบค่าสูงกว่าค่าจริง อาจเนื่องมาจากขั้นตอนการเติมสารละลายมาตรฐานลงในตัวอย่างถั่วลิสงก่อนทำการสกัดตัวอย่าง หากผู้ทดสอบไม่มีความชำนาญในการใช้เครื่องมือทดสอบ อาจทำให้ค่าที่ได้เกิดการคลาดเคลื่อนได้ จากผลดังกล่าว ทำให้เปอร์เซ็นต์ของการกลับคืนมีความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แตกต่างกันไป แต่อยู่ในช่วงที่ที่กำหนด ซึ่งผลการทดสอบนี้ ให้ผลเช่นเดียวกับการทดสอบของ Hepsag และคณะ (2014) ในการพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีการที่ดัดแปลงมาจาก AOAC 991.31 ในวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซิน ในถั่วลิสง แต่ใช้เมทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวทำละลาย พบว่ามีค่าเปอร์เซ็นต์ของการกลับคืนในช่วง 87.8 – 97.5 เปอร์เซ็นต์

จากการประเมินผลการทดสอบความชำนาญ (Proficiency Testing) ตาม ISO 13528 : 2005 ของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ของห้องปฏิบัติการทั่วประเทศไทยจำนวน 42 ห้องปฏิบัติการ ในการทดสอบถั่วลิสงด้วยวิธีการสกัดเดียวกันนี้ พบว่า ได้ค่า Z Score เท่ากับ 0.31 ซึ่งผ่านเกณฑ์ที่กำหนดไว้ น้อยกว่า 2 (ISO, 1996) แสดงว่าวิธีการวิเคราะห์มีความเหมาะสม สามารถวิเคราะห์ค่าการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินทั้ง 4 ชนิด ได้อย่างมีความถูกต้อง

4.1.5 ปริมาณต่ำสุดที่วิธีทดสอบสามารถตรวจพบได้เชิงคุณภาพ (LOD)

ในการวิเคราะห์ปริมาณต่ำสุดที่วิธีทดสอบสามารถตรวจพบได้เชิงคุณภาพในตัวอย่างถั่วลิสง ใช้การคำนวณจาก 3 เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (3SD) ของปริมาณอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงที่เติมสารมาตรฐานเข้มข้น 0.2 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งเป็นปริมาณต่ำสุดที่เครื่องสามารถวิเคราะห์ได้ เมื่อนำมาคำนวณหาค่าดังกล่าว พบว่ามีค่า LOD ของปริมาณอะฟลาทอกซิน บี1, บี2, จี1 และจี2 เท่ากับ 0.01, 0.01, 0.02 และ 0.01 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้นดังกล่าว ตรวจไม่พบสัญญาณของพีคบนโครมาโทแกรม โดยสัญญาณไม่แตกต่างจาก S/N ratio จากนั้น เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 0.2 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม พบว่า พีคมีพื้นที่ใต้กราฟอยู่ระหว่าง 0.6694 – 0.8901 และเมื่อ คำนวณค่า HORRAT value และ %RSD (ตารางที่ 4.5) พบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 0.10 – 0.12 และ 3.89 – 4.70 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังนั้น วิธีการวิเคราะห์นี้มีความเที่ยงในตรวจสอบความเข้มข้นต่ำสุดได้ 0.2 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และถือเป็นค่า ปริมาณต่ำสุดที่วิธีทดสอบสามารถตรวจพบได้เชิงคุณภาพ หรือ LOD

ตารางที่ 4.5 ค่า HORRAT และ% RSD ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้เชิงคุณภาพ (LOD)

ชนิดอะฟลาทอกซิน	ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม)	% RSD	HORRAT
บี1	0.2	3.94	0.10
บี2	0.2	3.89	0.10
จี1	0.2	4.65	0.12
จี2	0.2	4.70	0.12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.6 ปริมาณต่ำสุดที่วิธีทดสอบสามารถตรวจพบได้เชิงปริมาณ (LOQ)

การวิเคราะห์ปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้เชิงปริมาณ เป็นค่าที่คำนวณค่า 10 เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (10SD) ของปริมาณอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงที่เติมสารละลายมาตรฐานเข้มข้น 0.2 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม มีค่า LOQ ของอะฟลาทอกซิน บี1, บี2, จี1 และ จี2 เท่ากับ 0.04, 0.04, 0.05 และ 0.05 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ เมื่อทำการพิสูจน์ตามความเข้มข้นดังกล่าว พบว่า เครื่อง HPLC ไม่สามารถตรวจพบได้ จึงได้พิสูจน์ ค่า LOQ ที่ความเข้มข้น 0.4 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งมีความถูกต้องของค่าเปอร์เซ็นต์ของการกลับคืนในช่วง 88.8 – 111 เปอร์เซ็นต์ และพิจารณาความเที่ยงจากค่า %RSD และ HORRAT (ตารางที่ 4.6) พบว่า มีค่าในช่วง 2.48 – 4.86 เปอร์เซ็นต์ และ 0.07 – 0.13 ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์กำหนดของ AOAC

ตารางที่ 4.6 ค่า HORRAT และ% RSD ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้เชิงปริมาณ (LOQ)

ชนิด อะฟลาทอกซิน	ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม)	% RSD	HORRAT	% Recovery เฉลี่ย
บี1	0.4	2.48	0.07	111
บี2	0.4	4.79	0.13	105
จี1	0.4	4.86	0.13	96.8
จี2	0.4	4.54	0.12	88.8

LOQ ของอะฟลาทอกซินทั้ง 4 ชนิด มีค่า 0.4 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งมีค่าต่ำกว่าค่าที่กำหนดไว้ตามกฎหมาย ทั้งในประกาศกระทรวงสาธารณสุข และมาตรฐานโคเด็กซ์ ที่กำหนดไว้ไม่เกิน 20 และ 15 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ในถั่วลิสง (Codex, 2013) แสดงว่าวิธีการตรวจสอบนี้สามารถวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินทั้ง 4 ชนิด ได้ ตามค่าต่ำสุดที่กฎหมายกำหนดไว้ ดังนั้น จึงสามารถนำวิธีการวิเคราะห์นี้ไปตรวจสอบปริมาณอะฟลาทอกซินในถั่วลิสง เพื่อเป็นการประกันคุณภาพความปลอดภัยให้กับสินค้าได้ ค่า LOQ จากผลการทดลองนี้ มีค่าต่ำกว่ารายงานของ Mukund (2014) ที่รายงานค่า LOQ ของอะฟลาทอกซิน บี1 เท่ากับ 2.70 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมในถั่วลิสง ด้วยเทคนิคเดียวกันนี้ แสดงให้เห็นว่า วิธีวิเคราะห์นี้มีความไวมากกว่า และ สามารถตรวจวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินที่มีอยู่ในระดับต่ำๆ ได้อย่างน่าเชื่อถือ เนื่องจากวิธีการที่นำมาทดสอบนั้นมีการดัดแปลงให้สามารถตรวจวิเคราะห์ได้หลายเมทริกซ์ โดยใช้ เมทานอล 60 เปอร์เซ็นต์ จึงอาจทำให้การสกัดสารอะฟลาทอกซินที่มีความจำเพาะต่อเมทริกซ์ถั่วลิสงลดลง เพราะ อะฟลาทอกซินนั้นสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เบนซิน อะซีโทน คลอโรฟอร์ม เอทานอล และเมทานอล (อนงค์, 2546)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ปริมาณอะฟลาทอกซินชนิดต่างๆ ในเมล็ดถั่วลิสงที่จำหน่ายในตลาดค้าส่ง

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดถั่วลิสงจากร้านค้าปลีก จำนวน 10 ร้านในตลาดไท และตลาดสี่มุมเมือง โดยสุ่มตัวอย่างทุกๆ เดือน ระหว่าง เดือนเมษายน ถึง มิถุนายน พ.ศ. 2560 รวม 3 เดือน มีจำนวนตัวอย่างรวมทั้งสิ้น 30 ตัวอย่าง จากนั้น นำมาวิเคราะห์ปริมาณความชื้น ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ และปริมาณอะฟลาทอซินชนิดต่างๆ โดยวิธีการวิเคราะห์ทั้งหมด ได้ผ่านการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการทดสอบ (ISO 17025) แล้ว ผลการทดลองเป็นดังนี้

ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ เป็นปริมาณน้ำในเมล็ดถั่วลิสง ที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตและสร้างสารพิษได้ จากผลการวิเคราะห์ในตัวอย่างทั้ง 30 ตัวอย่าง แสดงดังตารางที่ 4.7 โดยพบว่า ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ มีค่าอยู่ระหว่าง 0.52 – 0.78 แสดงให้เห็นว่า ตัวอย่างเมล็ดถั่วลิสงบางตัวอย่างอยู่ในสภาวะที่เชื้อรา *Aspergillus* เจริญเติบโตและสามารถสร้าง อะฟลาทอกซินได้ โดย ปริศนา และศุภัตน์ (2532) รายงานว่า เชื้อ *Aspergillus* สามารถเจริญได้ที่ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ต่ำที่สุดเท่ากับ 0.62 ในเมล็ดถั่วลิสงที่กะเทาะเปลือกแล้ว นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า เชื้อรา *Aspergillus* สามารถเจริญได้น้อยเมื่อมีความชื้นสัมพันธ์ต่ำกว่า 85 เปอร์เซ็นต์ หรือ เมล็ดถั่วลิสงมีความชื้นต่ำกว่า 16 เปอร์เซ็นต์ (Sauer และ Burroughs, 1980) ดังนั้นในการเก็บรักษาเมล็ดถั่วลิสงควรมีการควบคุมความชื้นสัมพันธ์ และความชื้นในเมล็ดถั่วลิสงให้ต่ำกว่าปริมาณที่เชื้อราจะสามารถเจริญได้ เมื่อพิจารณาจากค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ พบว่า ตัวอย่างเมล็ดถั่วลิสง จำนวน 26 ตัวอย่าง มีค่าวอเตอร์แอคติวิตี้สูงกว่า 0.62 จึงอาจมีความเสี่ยงต่อเจริญของเชื้อรา และ การเพิ่มขึ้นของปริมาณสารอะฟลาทอกซินได้

ตารางที่ 4.7 ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ และปริมาณความชื้นในเมล็ดถั่วลิสง

ลำดับตัวอย่าง	ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้	ปริมาณความชื้น (%)
A1	0.66	5.31
A2	0.67	5.38
A3	0.78	5.25
B1	0.56	4.52
B2	0.65	5.42
B3	0.74	5.78
C1	0.52	4.20
C2	0.64	5.63
C3	0.67	6.78

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

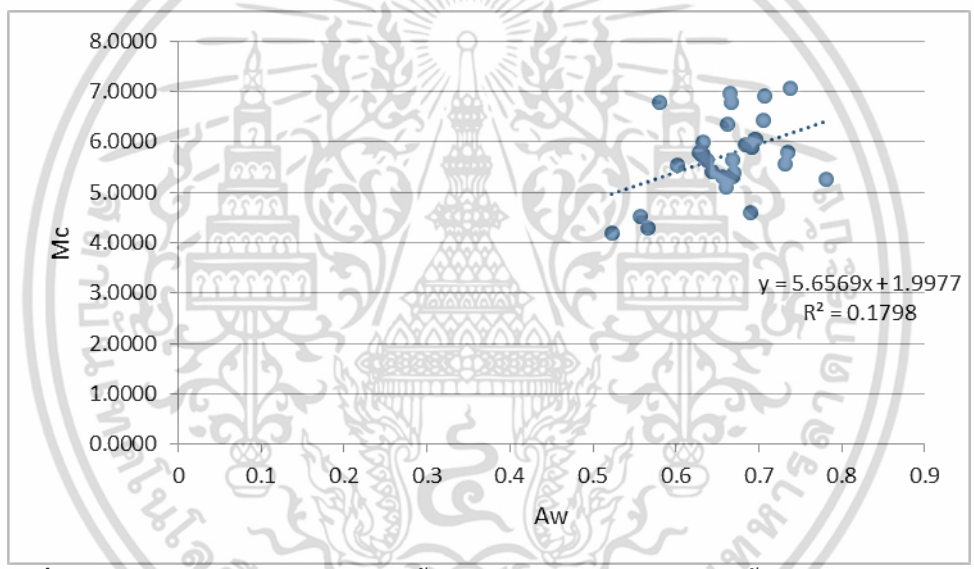
ตารางที่ 4.7 (ต่อ)

ลำดับตัวอย่าง	ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้	ปริมาณความชื้น (%)
D1	0.67	6.95
D2	0.64	6.01
D3	0.68	5.95
E1	0.63	5.79
E2	0.67	5.63
E3	0.73	5.56
F1	0.57	4.28
F2	0.71	6.92
F3	0.70	6.04
G1	0.63	5.73
G2	0.71	6.43
G3	0.67	5.32
H1	0.66	5.11
H2	0.69	4.59
H3	0.74	7.06
I1	0.64	5.75
I2	0.66	6.36
I3	0.70	6.04
J1	0.60	5.53
J2	0.58	6.78
J3	0.69	5.91

หมายเหตุ ลำดับตัวอย่าง[a] ตัวอักษรหมายถึง รหัสร้านค้าส่ง และ เลขหมายถึงลำดับเดือนที่เก็บ (1) เดือนเมษายน, (2) พฤษภาคม และ (3) มิถุนายน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

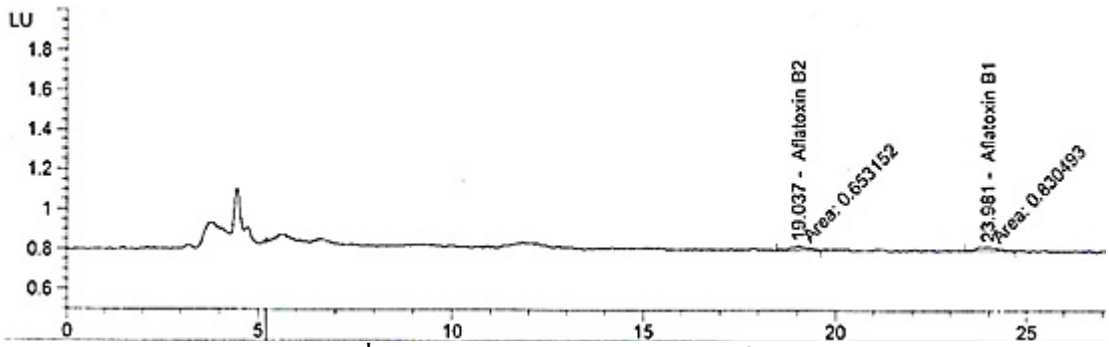
เมื่อวิเคราะห์ปริมาณความชื้น พบว่า เมล็ดถั่วลิสงมีความชื้นระหว่าง 4.2 – 7.1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งหากเมล็ดถั่วลิสงมีความชื้นสูงก็มีโอกาสเสี่ยงต่อการเจริญของเชื้อและการสร้างสารพิษดังกล่าวเช่นกัน อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาค่าวอเตอร์แอคติวิตี้และปริมาณความชื้นมีความสัมพันธ์เชิงบวก โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.1798 ได้ (ภาพที่ 4.2) แม้ว่าค่าทั้ง 2 น่าจะมีความสัมพันธ์เชิงบวก แต่ความสัมพันธ์มีค่าค่อนข้างต่ำ จึงไม่สามารถระบุความสัมพันธ์ได้ โดยหากค่าวอเตอร์แอคติวิตี้มีค่าสูง ปริมาณความชื้นอาจสูง หรือปานกลางก็ได้ เช่น A-3 มีค่าวอเตอร์แอคติวิตี้มี 0.78 แต่มีปริมาณความชื้นเพียง 5.25 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ J-2 ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้เพียง 0.58 แต่มีปริมาณความชื้นสูงถึง 6.78 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้ การตรวจวิเคราะห์ทั้งค่าวอเตอร์แอคติวิตี้และปริมาณความชื้นนั้น เครื่องมือที่ใช้ในการวัดค่ามีการสอบเทียบเครื่องมือ และ ห้องปฏิบัติการได้รับการรับรองในขอบเขตดังกล่าว



ภาพที่ 4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างความชื้น (Mc) และ วอเตอร์แอคติวิตี้ (A_w) ในเมล็ดถั่วลิสง

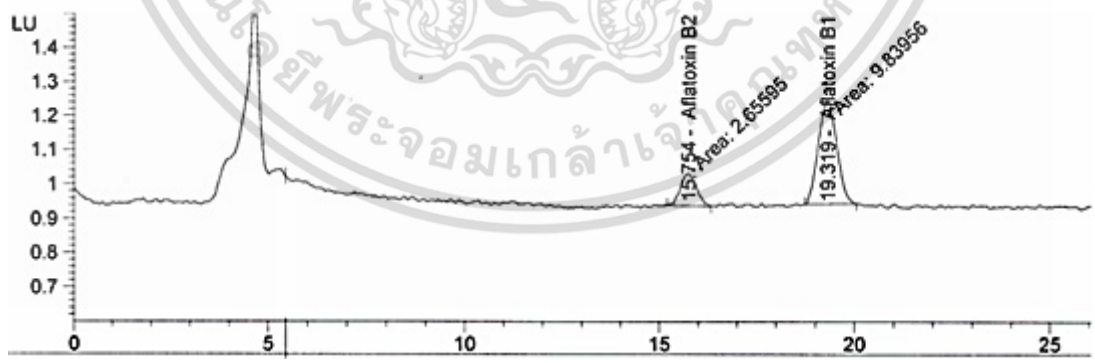
เมื่อวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินในเมล็ดถั่วลิสง พบว่า ตัวอย่าง จำนวน 14 ตัวอย่างไม่สามารถวิเคราะห์ได้ เนื่องจาก ไม่มีพีค หรือ สัญญาณบนโครมาโทแกรมในตำแหน่ง RT ของอะฟลาทอกซินทั้ง 4 หรือ คิดเป็น 46.67 เปอร์เซ็นต์ ของตัวอย่างทั้งหมด นอกจากนี้ ยังพบว่า เมล็ดถั่วลิสง 4 ตัวอย่างมีพีค หรือ สัญญาณของโครมาโทแกรมที่ต่ำกว่าค่า LOQ (ภาพที่ 4.3) คิดเป็น 13.33 เปอร์เซ็นต์ ของตัวอย่างทั้งหมด ซึ่งแสดงว่า มีตัวอย่างเมล็ดถั่วลิสงที่ปริมาณอะฟลาทอกซินชนิดต่างๆ ต่ำกว่าค่าที่เชื่อมั่นตามวิธีการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการดังกล่าว หรือ มีค่าต่ำกว่า 0.4 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม รวมจำนวน 18 ตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.3 โครมาโทแกรมของตัวอย่างถั่ว E1

สำหรับเมล็ดถั่วลิสงอีก 12 ตัวอย่าง มีสัญญาณของพีคสูงกว่า LOQ (รูปที่ 4.4) สามารถคำนวณหาปริมาณอะฟลาทอกซินในตัวอย่างเมล็ดถั่วลิสงได้ โดยพบการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินทั้งหมดในช่วงความเข้มข้น 0.47 – 191 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม หรือ คิดเป็น 40 เปอร์เซ็นต์ ของตัวอย่างทั้งหมด (ตารางที่ 4.8) ทั้งนี้ประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 98 พ.ศ. 2529 และสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกษ. 4702-2557) ได้กำหนดให้พบปริมาณอะฟลาทอกซินในเมล็ดถั่วลิสงได้ไม่เกิน 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ดังนั้น เมื่อพิจารณาจากผลการวิเคราะห์ตัวอย่างเมล็ดถั่วลิสงที่มีปริมาณอะฟลาทอกซินทั้งหมดสูงเกินกว่ากฎหมายกำหนด พบว่ามีจำนวน 5 ตัวอย่างหรือคิดเป็น 16.67 เปอร์เซ็นต์ ของตัวอย่างทั้งหมด ซึ่งเมล็ดถั่วลิสงเหล่านี้ เมื่อนำไปบริโภคอาจเกิดอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภคได้ เนื่องจากความร้อนในกระบวนการแปรรูปต่างๆไม่สามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซินได้ (อนงค์, 2546)



ภาพที่ 4.4 โครมาโทแกมของตัวอย่างเมล็ดถั่วลิสง D2

เมื่อพิจารณาร้านค้าที่ขายเมล็ดถั่วลิสงทั้งหมด 10 ร้าน พบว่า ร้านค้าปลีก 7 ร้าน ตรวจพบการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน (ตารางที่ 4.8) ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากร้านค้าส่งเหล่านี้ไม่มีเกณฑ์หรือวิธีการปฏิบัติในการตรวจสอบคุณภาพถั่วลิสงก่อนการรับสินค้า โดยอาจซื้อจากผู้จำหน่ายที่ไม่มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความรู้ความเข้าใจในอันตรายที่อาจเกิดขึ้น รวมถึงขาดความเข้าใจในวิธีการจัดเก็บเมล็ดถั่วลิสง เพื่อป้องกันการเจริญ และการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินตามสุขลักษณะที่ดีของสถานที่จำหน่าย โดยร้านค้าบางร้านยังคงพบการเก็บเมล็ดถั่วลิสงไว้ในกล่องกระดาษลัง วางไว้กับพื้น ซ้อนทับกันโดยไม่มีการระบายอากาศ นอกจากนี้ วิเชียร (2548) รายงานว่า โรงงานกะเทาะเปลือกบางโรงงาน ได้เพิ่มขั้นตอนการพรมน้ำก่อนการกะเทาะเปลือก เพื่อช่วยให้เยื่อหุ้มเมล็ดถั่วลิสงเกาะติดเมล็ดถั่ว ทำให้ได้น้ำหนักเพิ่มขึ้นและลดการแตกหักของเมล็ด ทำให้มีราคาดีขึ้น ซึ่งหากขั้นตอนถัดมา ไม่มีการทำแห้งเมล็ดถั่ว ก็มีโอกาสที่เชื้อราจะเจริญและสร้างสารพิษขึ้นมาระหว่างการเก็บรักษาและรอการจำหน่ายได้ ดังนั้นร้านค้าจึงควรมีขั้นตอนการควบคุมสุขลักษณะในการจัดเก็บถั่วลิสงเพื่อรอจำหน่าย หรือ มีกระบวนการคัดแยกถั่วลิสงที่ไม่ได้คุณภาพออก เพื่อไม่ให้เกิดการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน ซึ่ง Schwartzboard และ Brown (2015) ระบุว่า ผู้จำหน่ายที่มีการคัดแยกถั่วที่ไม่สมบูรณ์หรือมีสีดำจากเชื้อราออกก่อนการแปรรูปหรือจำหน่าย ในระหว่างการเก็บจะทำให้การปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน ลดลงได้ รวมถึงมาตรฐานสินค้าเกษตร (มกษ. 4702-2557) เรื่อง เมล็ดถั่วลิสง: ข้อกำหนดปริมาณอะฟลาทอกซินได้กำหนดให้ผู้ผลิตเมล็ดถั่วลิสงต้องมีมาตรการควบคุมการผลิต คัดแยกเมล็ดขึ้นรา เมล็ดแตกหัก เมล็ดเสียหาย และสิ่งแปลกปลอมก่อนส่งจำหน่าย

ตารางที่ 4.8 ปริมาณอะฟลาทอกซินบี1 บี2 จี1 และ จี2 ในเมล็ดถั่วลิสงที่จำหน่ายในตลาดไทยและตลาดสี่มุมเมือง

รหัสร้าน	ลำดับตัวอย่าง[a]	ปริมาณอะฟลาทอกซิน (ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม)					ระยะ[c] เวลาเก็บก่อนจำหน่าย (วัน)	หมายเหตุ
		อะฟลาทอกซิน บี1	อะฟลาทอกซิน บี2	อะฟลาทอกซิน จี1	อะฟลาทอกซิน จี2	อะฟลาทอกซินทั้งหมด[b]		
A	1	158	32.8	ND	ND	191	30	-ใส่ถุงพลาสติกเปิดปากถุง พร้อมตักแบ่งขาย - นำเข้าจากพม่า
	2	154	16.9	ND	ND	170	30	
	3	ND	ND	ND	ND	ND	4	
B	1	ND	ND	ND	ND	ND	30	- กองกับพื้นตักแบ่งขาย - นำเข้าจากอินเดีย
	2	376	3.89	ND	ND	380	30	
	3	ND	ND	ND	ND	ND	30	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 (ต่อ)

รหัสร้าน	ลำดับตัวอย่าง [a]	ปริมาณอะฟลาทอกซิน (ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม)					ระยะ[c] เวลาเก็บก่อนจำหน่าย (วัน)	หมายเหตุ
		อะฟลาทอกซิน บี1	อะฟลาทอกซิน บี2	อะฟลาทอกซิน จี1	อะฟลาทอกซิน จี2	อะฟลาทอกซินทั้งหมด [b]		
C	1	ND	ND	ND	ND	ND	14	-แบ่งใส่ถุงๆ ละครึ่งกิโลกรัม -เพาะปลูกในประเทศไทย
	2	ND	ND	ND	ND	ND	14	
	3	ND	ND	ND	ND	ND	7	
D	1	1.35	ND	ND	ND	1.35	7 - 14	-ใส่ถุงพลาสติกเปิดปากถุง พร้อมตักแบ่งขาย -เพาะปลูกในประเทศไทย
	2	8.49	1.02	ND	ND	9.51	14 -30	
	3	25.2	4.49	ND	ND	29.7	14 -30	
E	1	ND	ND	ND	ND	ND	60	- แบ่งใส่ถุงๆ ละครึ่งกิโลกรัม - เพาะปลูกในประเทศไทย
	2	ND	ND	ND	ND	ND	30 - 60	
	3	ND	ND	ND	ND	ND	60	
F	1	ND	ND	ND	ND	ND	30	- แบ่งใส่ถุงๆ ละครึ่งกิโลกรัม - เพาะปลูกในประเทศไทย
	2	ND	ND	ND	ND	ND	30	
	3	ND	ND	ND	ND	ND	7	
G	1	ND	ND	ND	ND	ND	7	-แบ่งใส่ถุงๆ ละครึ่งกิโลกรัม -เพาะปลูกในประเทศไทย
	2	6.45	0.71	ND	ND	7.16	14 – 21	
	3	2.30	0.40	ND	ND	2.71	14	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 (ต่อ)

รหัสร้าน	ลำดับตัวอย่าง [a]	ปริมาณอะฟลาทอกซิน (ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม)					ระยะ[c] เวลาเก็บก่อนจำหน่าย (วัน)	หมายเหตุ
		อะฟลาทอกซิน บี1	อะฟลาทอกซิน บี2	อะฟลาทอกซิน จี1	อะฟลาทอกซิน จี2	อะฟลาทอกซินทั้งหมด [b]		
H	1	ND	ND	ND	ND	ND	14	-แบ่งใส่ถุงๆ ละครึ่งกิโลกรัม -เพาะปลูกในประเทศไทย
	2	22.8	4.46	ND	ND	27.2	14	
	3	ND	ND	ND	ND	ND	2	
I	1	0.47	ND	ND	ND	0.47	7	-แบ่งใส่ถุงๆ ละครึ่งกิโลกรัม -เพาะปลูกในประเทศไทย
	2	5.14	0.83	ND	ND	5.97	7 - 14	
	3	ND	ND	ND	ND	ND	3	
J	1	ND	ND	ND	ND	ND	4	-แบ่งใส่ถุงๆ ละครึ่งกิโลกรัม -เพาะปลูกในประเทศไทย
	2	ND	ND	ND	ND	ND	3	
	3	3.81	0.54	ND	ND	4.35	14 – 21	

อะฟลาทอกซินทั้งหมด[b] หมายถึง ปริมาณอะฟลาทอกซินบี1 บี2 จี1 และจี2

ระยะเวลาเก็บ[c] หมายถึง ระยะเวลาตั้งแต่การรับซื้อเมล็ดถั่วลิสงจนถึงวันที่จำหน่าย

ND หมายถึง ปริมาณอะฟลาทอกซินที่ต่ำกว่าปริมาณต่ำสุดที่วิธีทดสอบสามารถตรวจพบได้เชิงปริมาณ (LOQ)

เมื่อพิจารณาชนิดของการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน พบว่า ตัวอย่างเมล็ดถั่วลิสง 30 ตัวอย่าง ปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน บี1 และ บี2 จำนวน 12 ตัวอย่าง คิดเป็น 40 เปอร์เซ็นต์ และ 10 ตัวอย่าง คิดเป็น 33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งส่วนใหญ่แล้วในเมล็ดถั่วลิสงมักพบการปนเปื้อนของเชื้อรา *A. parasiticus* ที่สามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้ ทั้ง 4 ชนิด เชื้อรานี้สามารถปรับตัวและเจริญได้ดีในดิน ส่วนเชื้อรา *A. flavus* สามารถแพร่กระจายได้ดีในอากาศ มักพบการปนเปื้อนของอะฟลา-ทอกซินชนิด บี (Davis และ Diener, 1983) ดังนั้น เมล็ดถั่วลิสงที่มีการปนเปื้อนหลังการเก็บเกี่ยว จึง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาจปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินชนิดบี เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งจากรายงานผลิตผลทางการเกษตรตามธรรมชาติ ส่วนใหญ่แล้วมักตรวจพบอะฟลาทอกซินชนิด บี1 มากที่สุด (วิเชียร และคณะ, 2548) เมื่อพิจารณาแหล่งเพาะปลูก แบ่งเป็น ถั่วลิสงที่เพาะปลูกในประเทศ และ นำเข้า จำนวน 24 และ 6 ตัวอย่างตามลำดับ พบการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินจำนวน 9 และ 3 ตัวอย่าง ตามลำดับ แต่ ถั่วลิสงนำเข้า ตรวจพบปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินรวมในช่วงความเข้มข้น 170 – 380 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และมีปริมาณเกินมาตรฐานกำหนดอย่างมากถึง 8.5 – 19 เท่า ในทั้ง 3 ตัวอย่างที่พบการปนเปื้อน ซึ่งเป็นข้อที่ควรพิจารณา เนื่องจาก พื้นที่การเพาะปลูกถั่วลิสงของประเทศไทยมีแนวโน้มลดลง จึงทำให้ปริมาณผลผลิตถั่วลิสงไม่เพียงพอต่อความต้องการใช้ภายในประเทศ โดยส่วนใหญ่ประเทศที่นำเข้ามักได้แก่ จีน อินเดีย พม่า กัมพูชา และ ลาว เป็นต้น (สนั่น และคณะ, 2554) จึง มีการนำเข้าถั่วลิสงจากต่างประเทศที่มีแนวโน้มสูงขึ้นทุกๆ ปี (ศรัณย์, 2540) ทั้งนี้ โดยช่องทางการนำเข้าถั่วลิสงมายังประเทศไทยนั้นมีหลายช่องทาง ทั้งช่องทางที่สามารถควบคุมได้ และช่องทางที่ไม่สามารถควบคุมได้ โดยช่องทางที่สามารถควบคุมได้จะมีการรับรองคุณภาพ และการควบคุมการตรวจสอบปริมาณอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงของประเทศผู้ผลิต ก่อนที่จะนำเข้ามายังประเทศไทย แต่การตรวจสอบปริมาณอะฟลาทอกซินนั้น ก็อาจไม่สามารถยืนยันได้อย่างสมบูรณ์ ว่าถั่วลิสงล็อตนั้นจะปลอดภัยจากสารพิษดังกล่าว

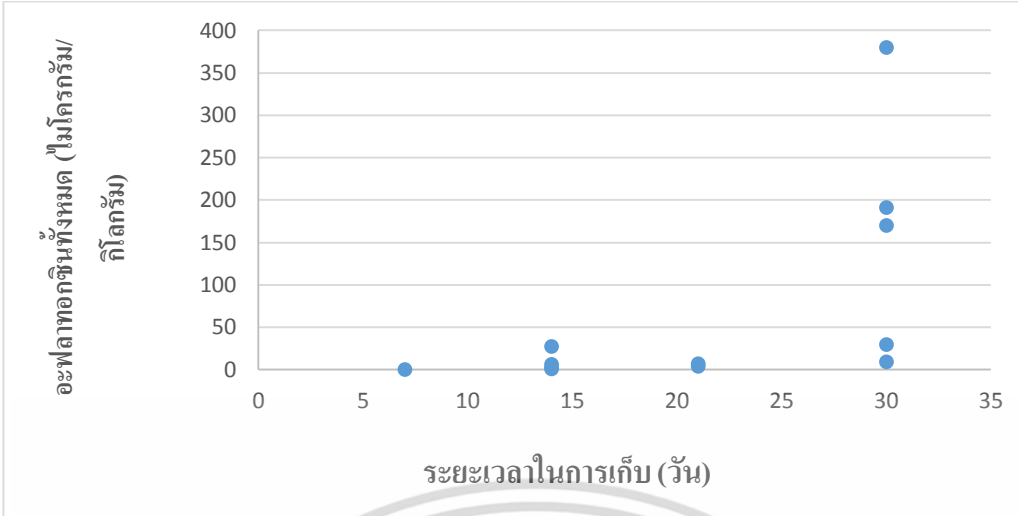
ในแต่ละประเทศได้มีข้อกำหนดปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินสูงสุดแตกต่างกันไป เช่น ประเทศอินเดียที่กำหนดปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงและผลิตภัณฑ์ไม่เกิน 30 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม (อนงค์, 2546) ซึ่งสูงกว่าที่ประเทศไทยถึง 3 เท่า ของประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่องมาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน ฉบับที่ 98 (พ.ศ. 2529) นอกจากนี้ การเกิดอะฟลาทอกซินในเมล็ดถั่วลิสงนั้นอาจจะเกิดเป็นจุดๆ และไม่กระจายตัวเป็นเนื้อเดียวกัน ดังนั้นขั้นตอนการสุ่มตัวอย่างเพื่อให้เป็นตัวแทนของล็อต จึงมีความสำคัญอย่างมากในการวิเคราะห์ การสุ่มตัวอย่างที่ไม่เหมาะสมหรือไม่ดี อาจทำให้ผลการวิเคราะห์ผิดพลาดได้ นอกจากนี้ ระยะเวลาในการขนส่งและการจัดเก็บวัตถุดิบก็มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา ถ้าหากอยู่สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญ ก็จะสามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้ภายใน 2 วัน (West และคณะ, 1973) จึงอาจเป็นสาเหตุให้เมล็ดถั่วลิสงมีปริมาณอะฟลาทอกซินเพิ่มมากขึ้นในระหว่างการขนส่ง หรือ การเก็บรักษาจนเกินปริมาณที่กฎหมายกำหนดได้ นอกจากนี้ ปัญหาที่สำคัญ คือ การนำสินค้าเกษตรผ่านทางช่องทางที่ ภาครัฐยังไม่สามารถควบคุมได้ หรือ อาจเกิดจากการลักลอบนำเข้ามาจากขอบชายแดน เช่น ลาว พม่า และกัมพูชา เป็นต้น ซึ่งประเทศเหล่านี้ยังไม่ได้พัฒนาระบบการรับรองคุณภาพมาตรฐานในการผลิตและการควบคุมปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน ทำให้อาจตรวจพบถั่วที่มีปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน สูง เช่น ตัวอย่าง A ที่นำเข้าถั่วลิสงจากประเทศพม่า จำนวน 3 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน 2 ตัวอย่างที่ความเข้มข้น 191 และ 170 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากข้อมูลการสำรวจของ สนั่นและคณะ (2554) พบว่า ถั่วลิสงที่นำเข้าจากชายแดนที่ไม่มีผ่านการรับรองคุณภาพนั้น ตรวจพบการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในปริมาณสูงกว่ากฎหมายกำหนด โดยส่วนใหญ่ถั่วเหล่านี้จะถูกส่งไปยังโรงงานกะเทาะถั่วลิสงและถูกปะปนไปกับถั่วที่ผลิตภายในประเทศ ส่วนถั่วลิสงที่เพาะปลูกในประเทศไทย พบการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน 9 ตัวอย่าง คิดเป็น 37.50 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินรวมในช่วงความเข้มข้น 0.47 – 29.7 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม โดยมี 2 ตัวอย่างที่มีปริมาณอะฟลาทอกซินรวมสูงกว่าที่กฎหมายกำหนด ทั้งนี้ การที่ตัวอย่างถั่วลิสงในประเทศไทยมีปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินต่ำกว่าถั่วลิสงที่นำเข้าจากต่างประเทศ อาจเนื่องจากในประเทศไทยมีมาตรฐานและข้อกำหนดเกี่ยวกับโรงผลิต ที่ต้องควบคุมคุณภาพและการตรวจสอบปริมาณอะฟลาทอกซินในการจำหน่ายถั่วลิสง แต่ในบางครั้งอาจพบการปนเปื้อน อะฟลาทอกซินเพิ่มขึ้นในขณะการเก็บรักษาเพื่อรอการจำหน่ายได้ หากมีสภาพแวดล้อมในการจัดเก็บที่ไม่เหมาะสม

เมื่อพิจารณาระยะเวลาในการรอจำหน่ายสินค้า พบว่า การเก็บถั่วระหว่างรอจำหน่ายเป็นระยะเวลานาน มีโอกาสทำให้ปริมาณอะฟลาทอกซินเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 4.5) พบว่า ระหว่างรอการจำหน่ายเป็นเวลา 30 วันนั้น ตัวอย่าง 4 ใน 5 มีปริมาณอะฟลาทอกซินสูงกว่าที่กฎหมายกำหนด ส่วนตัวอย่างที่มีระยะเวลาจำหน่ายสั้นจะมี 1 จาก 7 ตัวอย่างที่มีปริมาณอะฟลาทอกซินสูงกว่าที่กฎหมายกำหนด ทั้งนี้เนื่องมาจากในการเก็บเมล็ดถั่วลิสงเป็นระยะเวลานาน ทำให้เมล็ดถั่วลิสงเสื่อมสภาพ เมื่อมีอุณหภูมิและความชื้นสูงขึ้น จะทำให้เกิดกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้นซึ่งเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญในการเจริญเติบโตของเชื้อราและสร้างอะฟลาทอกซินได้ (วันชัย, 2537) ทั้งนี้ Bhattacharya และ Raha (2002) รายงานการเก็บถั่วลิสงในอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 12 เดือน พบปริมาณคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมันลดลง และมีกรดไขมันอิสระเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากคาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งพลังงานของเชื้อรา และโปรตีนเป็นแหล่งของคาร์บอนและไนโตรเจนที่เชื้อราสามารถนำไปใช้ในกระบวนการเมตาบอลิซึมได้ ส่วนไขมันที่ลดลงนั้นตามระยะเวลาในการเก็บนั้น พบว่า จะเกิดการย่อยเป็นกรดไขมันอิสระที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตและสร้างสารพิษได้ ถ้าหากมีสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.5 ปริมาณอะฟลาทอกซินรวมที่ตรวจพบตามระยะเวลาในการรอจำหน่าย

จากการเก็บข้อมูลเบื้องต้นของการจำหน่ายเมล็ดถั่วลิสงในตลาดค้าส่งทั้ง 2 แหล่ง พบว่า หากแบ่งบรรจุเมล็ดถั่วลิสงลงในถุงพลาสติกมัดปากถุง จะลดการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน ส่วนวิธีการตักแบ่งขายถั่วลิสงในถุงกระสอบพลาสติกนั้น มีโอกาสปนเปื้อนจากสารอะฟลาทอกซินมากกว่า โดยพบ 5/6 ตัวอย่าง หรือ 83.3 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเมล็ดถั่วลิสงที่กองกับพื้นซีเมนต์ที่มีเศษดินปนเปื้อนด้วย พบการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน 1/3 ตัวอย่าง คิดเป็น 33.33 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น เมล็ดถั่วลิสงที่ตักแบ่งขายจากถุงกระสอบมีความโอกาสปนเปื้อนอะฟลาทอกซินมากที่สุด ทั้งนี้ อาจเนื่องจากกระสอบพลาสติกมีความจุ 50 กิโลกรัม และการตักขายแต่ละครั้ง 1-3 กิโลกรัม ทำให้มีระยะเวลาในการจัดเก็บสินค้าที่นานกว่า ร่วมถึงอาจเกิดการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินจากการใช้ถุงซ้ำๆ หรือ การเทถั่วลงในกระสอบ เพื่อให้ดูเต็มอยู่เสมอ อาจทำให้เกิดการปนเปื้อนเชื้อราได้ ในขณะที่การกองถั่วบนพื้น ก็อาจทำให้เกิดการปนเปื้อนเชื้อรา และส่งผลต่อการเพิ่มปริมาณอะฟลาทอกซินต่อไปได้ หากสภาวะการจัดเก็บที่ไม่เหมาะสม

ทั้งนี้ Ding และคณะ (2012) พบว่า จากการสุ่มเก็บตัวอย่างเมล็ดถั่วลิสงในประเทศจีน มาวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซิน บี1 พบว่า มีการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในช่วง 0.01 – 720 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม คิดเป็น 25 เปอร์เซ็นต์ ของตัวอย่างทั้งหมด สาเหตุมาจากการกองฝักถั่วลิสงไว้ในแปลงปลูกที่สัมผัสกับดินโดยตรง จะทำให้เสี่ยงต่อการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินมากที่สุด เพราะการพักถั่วไว้บนพื้นในแปลงปลูกจะทำให้ถั่วสัมผัสกับอะฟลาทอกซินในดินโดยตรงหากพักถั่วไว้เป็นระยะเวลานาน จะยิ่งทำให้เชื้อเติบโตมากยิ่งขึ้น ดังนั้นการเก็บรักษาถั่วที่ไม่ถูกสุขลักษณะจึงเป็นสาเหตุให้ปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน สำหรับเมล็ดถั่วลิสงที่บรรจุในถุงพลาสติกมัดปากถุงนั้น ผู้จำหน่าย แบ่งใส่ถุงๆ ละครึ่งกิโลกรัม ทำให้จำหน่ายสินค้าได้เร็วกว่า นอกจากนี้ ศรีสิทธิ์ (2537) รายงานว่า ถั่วลิสงที่ใส่ภาชนะบรรจุที่สามารถควบคุมความชื้น แสง และอากาศได้ เช่น ถุง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อลูมิเนียม จะสามารถเก็บถั่วลิสงไว้ที่อุณหภูมิห้องได้นานกว่า 3 เดือน และถ้าเก็บไว้ในที่เย็น ที่มีอุณหภูมิ 2-5 องศาเซลเซียส จะสามารถเก็บถั่วลิสงได้นานถึง 6 เดือน

ในการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงนั้นสามารถปนเปื้อนได้ตั้งแต่ก่อนการเก็บเกี่ยว ซึ่งขั้นตอนก่อนการเก็บเกี่ยวนั้นจะเป็นปัจจัยสำคัญในการเกิดการปนเปื้อนเชื้อราเริ่มต้นที่ส่งผลในการเพิ่มปริมาณอะฟลาทอกซินได้ เช่น การเข้าทำลายฝักถั่วลิสงจากเชื้อราในสภาวะที่ถั่วลิสงขาดน้ำ การเสียหายของเมล็ดถั่วลิสงที่เกิดจากแมลง หรือ กระบวนการเก็บเกี่ยวถั่วลิสงที่ไม่ถูกวิธี (วิเชียร, 2548) ถึงแม้ว่าจะมีขั้นตอนการลดความชื้นหลังการเก็บเกี่ยว แต่ปริมาณอะฟลาทอกซินที่มีปริมาณเริ่มต้นจากในแปลงปลูกนั้นก็ยังคงอยู่ จากการศึกษาของอรุณศรี และคณะ (2526) พบว่า การปนเปื้อนอะฟลาทอกซินก่อนการเก็บเกี่ยวอยู่ในระดับต่ำ หากไม่รีบลดความชื้นหลังการเก็บเกี่ยวให้อยู่ในเกณฑ์ที่ปลอดภัยต่อการเจริญของเชื้อราก็จะทำให้ถั่วเน่าเสีย และมีปริมาณอะฟลาทอกซินเพิ่มมากขึ้นถึง 1,350 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมได้ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของสุพัตรา (2547) พบว่า จากการศึกษาปริมาณอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงไม่มีความสัมพันธ์ต่อปริมาณความชื้นและปริมาณน้ำอิสระ ซึ่งปริมาณอะฟลาทอกซินน่าจะเพิ่มขึ้นในขั้นตอนหลังการเก็บเกี่ยว

4.3 การประเมินความเสี่ยงอะฟลาทอกซินในการบริโภคถั่วลิสง

เมื่อนำค่าการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน บี1 บี2 จี1 และ จี2 ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีการที่ผ่านการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการ โดยแบ่งถั่วออกเป็น 3 กลุ่มคือ เมล็ดถั่วลิสงที่เพาะปลูกในประเทศไทย เมล็ดถั่วลิสงที่นำเข้า และเมล็ดถั่วลิสงทั้งหมด ไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม @Risk เพื่อวิเคราะห์ระดับการปนเปื้อนเฉลี่ย (50 เปอร์เซ็นต์ไทล์) และ ระดับการปนเปื้อนสูง (97.5 เปอร์เซ็นต์ไทล์) โดยตัวอย่างที่เป็นไม่สามารถตรวจวัดเชิงปริมาณ (Not Detect) จะใช้ความเข้มข้นที่คำนวณได้จากครึ่งหนึ่งของค่า LOQ หรือมีค่าเท่ากับ 0.20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ผลการวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรมดังกล่าว แสดงดังตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 ปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในเมล็ดถั่วลิสงที่จำหน่ายในตลาดค้าส่ง

แหล่งเพาะปลูก	ค่าการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินรวม (ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม)	
	ค่าการปนเปื้อนเฉลี่ย[a]	ค่าการปนเปื้อนสูง[b]
ไทย	2.55	13.4
นำเข้า	65.2	435
ทั้งหมด	18.4	101

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ ค่าการปนเปื้อนเฉลี่ย[a] หมายถึง ค่าการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินที่ 50 เปอร์เซ็นต์ไทล์
ค่าการปนเปื้อนสูง[b] หมายถึง ค่าการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินที่ 97.5 เปอร์เซ็นต์ไทล์

จากตารางที่ 4.9 พบว่า เมล็ดถั่วลิสงที่เพาะปลูกในประเทศไทยมีระดับการปนเปื้อนเฉลี่ย (50 เปอร์เซ็นต์ไทล์) และระดับการปนเปื้อนสูง (97.5 เปอร์เซ็นต์ไทล์) เท่ากับ 2.55 และ 13.4 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนเมล็ดถั่วลิสงที่นำเข้าจากต่างประเทศ ซึ่งพบว่า ระดับการปนเปื้อนเฉลี่ย (50 เปอร์เซ็นต์ไทล์) และระดับการปนเปื้อนสูง (97.5 เปอร์เซ็นต์ไทล์) เท่ากับ 65.2 และ 435 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งเป็นปริมาณสูงกว่าถั่วที่เพาะปลูกในไทย ถึง 25.6 และ 32.5 เท่าตามลำดับ และสูงกว่าปริมาณที่กฎหมายกำหนด ส่วนปริมาณการปนเปื้อนของถั่วทั้งหมดมีค่า เฉลี่ย 18.4 และ 101 ตามลำดับ ทั้งนี้ เนื่องจากค่าการปนเปื้อนของถั่วที่นำเข้าทั้ง 3 ตัวอย่าง จาก 6 ตัวอย่าง มีค่าสูงมาก ส่งผลให้ค่าการปนเปื้อนของถั่วทั้งหมดเพิ่มสูงขึ้นอย่างมาก ดังนั้น การลักลอบนำเข้าถั่วลิสงจากต่างประเทศที่ไม่มีมาตรฐานการควบคุมปริมาณอะฟลาทอกซินในถั่วลิสง จึงอาจทำให้ได้รับปริมาณการสัมผัสสูงและมีโอกาสทำให้เกิดมะเร็งมากขึ้น ซึ่งการควบคุมคุณภาพการนำเข้าถั่วลิสงจากต่างประเทศ โดยเฉพาะประเทศเพื่อนบ้าน ควรมีการควบคุมและรับรองคุณภาพความปลอดภัยก่อนส่งออก และด่านนำเข้าสินค้าเกษตรและอาหารของประเทศไทยควรตรวจสอบการปนเปื้อนอย่างเข้มงวดก่อนการนำเข้า เพื่อจำหน่ายหรือนำไปใช้ประโยชน์อื่น

ผลการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินที่ได้ ไปคำนวณปริมาณการได้รับสัมผัสของคนไทยจากการบริโภคถั่วลิสง (ตารางที่ 2.3) โดยการนำข้อมูลการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในเมล็ดถั่วลิสงที่วิเคราะห์ได้จากตลาดค้าส่งมาประเมินการบริโภคเมล็ดถั่วลิสงของคนไทยที่ได้จากข้อมูลการบริโภคอาหารของคนไทย สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรแห่งชาติ (มกอช, 2559) ในการบริโภคถั่วลิสง 4 ชนิด ได้แก่ ถั่วลิสงคั่ว ถั่วลิสงอบ ถั่วลิสงทอด และถั่วลิสงป่น ในแต่ละช่วงอายุ รวม 7 แบบ โดยประเมินจากผู้บริโภคอาหารของประชากรทั้งหมด (per capita) แบบเฉลี่ย (50 เปอร์เซ็นต์ไทล์) แล้วนำมาคำนวณความเสี่ยง โดยใช้ค่า อัตราการเกิดมะเร็งตับของประชากรไทย (Average potency) ของการเกิดมะเร็งตับของคนไทย เท่ากับ 0.0245 คนต่อปีต่อ 100,000 คน (Ott และคณะ, 2012) ผลการประเมินแสดงดังตารางที่ 4.10 โดยพบว่า ประชากรไทยมีโอกาสการเกิดมะเร็งจากการบริโภคถั่วลิสงคั่ว ถั่วลิสงอบ ถั่วลิสงทอด และถั่วลิสงป่น ในช่วง 0.02 – 0.98 คนต่อปีต่อ 100,000 คน ซึ่งถือว่าเป็นความเสี่ยงระดับต่ำ ผลการทดลองนี้ สอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Ding และคณะ (2012) ที่รายงานปริมาณอะฟลาทอกซินในถั่วดิบที่สูงเกินกว่ามาตรฐานกำหนด แต่ผลการประเมินความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งกลับมีความเสี่ยงต่ำ 0.003 คนต่อปีต่อ 100,000 คน อย่างไรก็ตาม เมื่อใช้ค่าระดับการปนเปื้อนสูง (97.5 เปอร์เซ็นต์ไทล์) มาประเมินนั้น พบว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประชากรไทยมีโอกาสการเกิดมะเร็งจากการบริโภคถั่วลิสงคั่ว ถั่วลิสงอบ ถั่วลิสงทอด และถั่วลิสงป่นในช่วง 0.10 – 5.40 คนต่อปีต่อ 100,00 คน ซึ่งถือว่าเป็นความเสี่ยงระดับสูง ทั้งนี้ หากจำนวนผู้ป่วยต่อปีต่อแสนคน เกินกว่า 1 คน ในประชากรแสนคน แสดงว่ามีความเสี่ยงสูง แต่ถ้าต่ำกว่า 1 คน แสดงว่ามีความเสี่ยงระดับต่ำ (Shephard และคณะ, 2008)

จากการประเมินความเสี่ยงอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงทั้ง 4 ชนิด พบว่า ผู้บริโภคในช่วงอายุ 18 – 35 ปี ที่บริโภคถั่วลิสงคั่วมีความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งมากกว่าถั่วชนิดอื่นๆ เนื่องจากปริมาณการได้รับสัมผัสสูง ถั่วคั่วเป็นผลิตภัณฑ์ที่ผู้บริโภคนิยมทานมากกว่าถั่วชนิดอื่นๆ อีกทั้งกระบวนการผลิตไม่ยุ่งยาก จึงสามารถนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ชุมชน หรือสามารถนำมาทำกินเองได้ จึงอาจไม่ได้ตรวจสอบและการควบคุมคุณภาพการผลิตให้ถูกสุขลักษณะ อย่างไรก็ตาม เมล็ดถั่วลิสงที่นำมาเป็นตัวแทนในการประเมินความเสี่ยงเป็นถั่วลิสงดิบ ซึ่งในการทำถั่วคั่วนั้นบางครั้งอาจมีการคัดเกรดของถั่วลิสงที่นำมาผลิต จึงทำให้ได้ถั่วลิสงเต็มเมล็ดที่มีคุณภาพดี จึงอาจช่วยให้ลดการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน จากเมล็ดถั่วที่แตกหักได้ นอกจากนี้ เมล็ดถั่วลิสงที่นำมาประเมินความเสี่ยงนั้นเป็นถั่วที่ยังไม่ผ่านกระบวนการแปรรูป ซึ่งมีรายงานว่าความร้อนชื้นจะมีผลต่อการลดปริมาณอะฟลาทอกซินในอาหารได้ แต่ก็ต้องใช้อุณหภูมิสูง และระยะเวลานาน ทั้งนี้ ปัญญาภรณ์ (2555) รายงานว่า การต้มถั่วลิสงที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที สามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซินบี1 ได้ 77 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่คั่วถั่วลิสงคั่วที่อุณหภูมิ 170 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 50 นาที สามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซินบี1 ได้ 36 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสาเหตุเหล่านี้อาจทำให้ลดความเสี่ยงในการบริโภคถั่วลิสงได้ อย่างไรก็ตามผู้ผลิตควรคัดเลือกวัตถุดิบที่มีคุณภาพและได้มาตรฐานการรับรอง และควรป้องกันการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในถั่วลิสง ไม่ให้เกิดการปนเปื้อนสูง เพื่อลดความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งตับในผู้บริโภคถั่วลิสงได้

ตารางที่ 4.10 ความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งตับของคนไทย ในการบริโภคถั่วลิสงชนิดต่างๆ

ชนิดถั่วลิสง	ช่วงอายุ	Potency (cancer case/year/100,000people)	
		concentration 50%	concentration 97.5%
คั่ว	3-5.9	0.38	2.08
	6-12.9	0.47	2.60
	13-17.9	0.50	2.77
	18-34.9	0.98	5.40
	35-64.9	0.30	1.66
	65 ขึ้นไป	0.20	1.09
	3 ปีขึ้นไป	0.50	2.75

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 (ต่อ)

ชนิดถั่วลิสง	ช่วงอายุ	Potency (cancer case/year/100,000people)	
		concentration 50%	concentration 97.5%
อบ	3-5.9	0.53	2.92
	6-12.9	0.60	3.32
	13-17.9	0.82	4.48
	18-34.9	0.49	2.70
	35-64.9	0.18	0.97
	65 ขึ้นไป	0.02	0.10
	3 ปีขึ้นไป	0.34	1.86
ทอด	3-5.9	0.08	0.42
	6-12.9	0.09	0.50
	13-17.9	0.24	1.34
	18-34.9	0.32	1.78
	35-64.9	0.18	0.99
	65 ขึ้นไป	0.10	0.57
	3 ปีขึ้นไป	0.20	1.11
ป่น	3-5.9	0.05	0.27
	6-12.9	0.15	0.82
	13-17.9	0.25	1.36
	18-34.9	0.30	1.63
	35-64.9	0.13	0.72
	65 ขึ้นไป	0.04	0.22
	3 ปีขึ้นไป	0.17	0.94

จากผลการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในเมล็ดถั่วลิสง 30 ตัวอย่าง ที่เพาะปลูกในประเทศไทย และนำเข้าจากต่างประเทศ พบปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินอยู่ในช่วง Not Detect – 380 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม นำค่าการปนเปื้อนที่ได้ไปคำนวณปริมาณการได้รับสัมผัสของคนไทยจากการบริโภคถั่วลิสงรวมทั้ง 4 ชนิด โดยใช้ตัวแทนจากเมล็ดถั่วลิสงมาประเมินการได้รับสัมผัสอะฟลาทอกซิน จากผู้บริโภคอาหารของประชากรทั้งหมด (per capita)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และเฉพาะผู้ที่บริโภคอาหารเฉพาะ (eater only) แบบเฉลี่ย (50 เปอร์เซ็นต์ไทล์) และ แบบสูง (97.5 เปอร์เซ็นต์ไทล์) แล้วนำมาคำนวณความเสี่ยง โดยใช้ค่า อัตราการเกิดมะเร็งตับของประชากรไทย (Average potency) ของการเกิดมะเร็งตับของคนไทย เท่ากับ 0.0245 คนต่อปีต่อ 100,000 คน มาคำนวณ จากระดับการปนเปื้อนเฉลี่ย และระดับการปนเปื้อนสูง ผลการคำนวณแสดงดังตารางที่ 4.11 โดย ประชากรไทยมีโอกาสการเกิดมะเร็ง จากการบริโภคถั่วลิสงในช่วง 0.36 – 913.50 คนต่อปีต่อ 100,000 คน ซึ่งถือว่าเป็นความเสี่ยงระดับสูงมาก เนื่องจากเป็นการประเมินความเสี่ยงในระดับความน่าจะเป็นสูง โดยใช้ปริมาณการได้รับสัมผัสอะฟลาทอกซินจากการบริโภคถั่วลิสงรวมทั้ง 4 ชนิด มาคำนวณความเสี่ยงในการบริโภคถั่วลิสง ดังนั้นจึงมีโอกาสที่จะได้รับปริมาณการได้รับสัมผัสในการบริโภคสูง จึงควรเฝ้าระวัง การปนเปื้อนของปริมาณอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงอยู่เป็นประจำ และ ควรมีการจัดการความปลอดภัยนับตั้งแต่ฟาร์ม เพื่อลดการปนเปื้อนอะฟลาทอก-ซินในถั่วลิสง

ตารางที่ 4.11 ผลการประเมินความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งจากการได้รับสัมผัสอะฟลาทอกซินในถั่วลิสง

Consumption (g/คน/day)		**ช่วงอายุ**	**Potency (cancer case/year/100,000people)**	
			Concentration 50%	**Concentration 97.5%**
Per capita	**50% mean**	3-5.9	1.04	5.70
		6-12.9	1.32	7.23
		13-17.9	1.81	9.96
		18-34.9	2.10	11.52
		35-64.9	0.79	4.33
		65 ขึ้นไป	0.36	1.98
		3 ปีขึ้นไป	1.21	6.66

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 (ต่อ)

Consumption (g/คน/day)		ช่วงอายุ	Potency (cancer case/year/100,000people)	
			Concentration 50%	Concentration 97.5%
Per capita	**97.5%**	3-5.9	11.04	60.64
		6-12.9	14.59	80.15
		13-17.9	17.55	96.45
		18-34.9	23.68	130.11
		35-64.9	8.18	44.96
		65 ขึ้นไป	2.61	14.37
		3 ปีขึ้นไป	12.69	69.70
Eater only	**50% mean**	3-5.9	40.46	222.33
		6-12.9	55.65	305.78
		13-17.9	58.68	322.40
		18-34.9	56.07	308.08
		35-64.9	48.68	267.49
		65 ขึ้นไป	41.35	227.21
		3 ปีขึ้นไป	51.69	284.01
	97.5%	3-5.9	98.64	541.96
		6-12.9	166.26	913.50
		13-17.9	121.63	668.28
		18-34.9	124.33	683.14
		35-64.9	124.33	683.14
		65 ขึ้นไป	134.59	739.49
		3 ปีขึ้นไป	124.33	683.14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปและข้อเสนอแนะ

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซินบี1, บี2, จี1, และ จี2 ในเมล็ดถั่วลิสง ด้วยวิธีลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง ซึ่งดัดแปลงมาจากวิธี AOAC 991.31 พบว่า วิธีมีความจำเพาะ ช่วงของการใช้งานและความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.4 - 10 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณต่ำสุดที่วิธีทดสอบสามารถตรวจพบได้เชิงคุณภาพ และปริมาณต่ำสุดที่วิธีทดสอบสามารถตรวจพบได้เชิงปริมาณ มีค่า 0.2 และ 0.4 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม วิธีการมีความเที่ยงทั้งแบบความสามารถในการทวนซ้ำ และแบบความสามารถในการทำซ้ำ รวมถึง ความแม่น อยู่ในเกณฑ์กำหนด วิธีวิเคราะห์นี้จึงมีความเหมาะสมต่อการทดสอบทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณของวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินชนิดต่างๆ ทั้ง 4 ชนิดที่ปนเปื้อนในถั่วสิสงได้อย่างมีความน่าเชื่อถือและถูกต้องตามหลักวิชาการทำให้ได้ผลการวิเคราะห์ที่มีความถูกต้องและแม่นยำ สามารถใช้ในการประกันคุณภาพ และความปลอดภัยของเมล็ดถั่วลิสงได้

เมื่อวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซินในเมล็ดถั่วลิสง จำนวน 30 ตัวอย่างจากตลาดค้าส่ง พบตัวอย่างเมล็ดถั่วลิสงที่ไม่พบการปนเปื้อนสารดังกล่าว จำนวน 18 ตัวอย่าง และ ตัวอย่างที่ปนเปื้อน อะฟลาทอกซินทั้งหมด ในช่วงความเข้มข้น 0.47 – 9.51 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และไม่ผ่านมาตรฐาน มีจำนวน 5 ตัวอย่างในช่วงความเข้มข้น 27.2 - 380 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ตัวอย่างถั่วมีปริมาณอะฟลาทอกซินทั้งหมดสูงกว่ามาตรฐานกำหนด เป็นตัวอย่างที่นำเข้า จากประเทศเพื่อนบ้านเป็นส่วนใหญ่ และตัวอย่างที่บรรจุถุงแบ่งขายมีแนวโน้มปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในระดับที่ต่ำกว่าการแบ่งขายในถุงกระสอบพลาสติก หรือ กองไว้ที่พื้น

เมื่อนำค่าการปนเปื้อนที่ได้มาประเมินผู้บริโภคอาหารของประชากรทั้งหมด (per capita) แบบเฉลี่ย (50 เปอร์เซ็นต์ไทล์) พบว่า มีโอกาสการเกิดมะเร็งจากการบริโภคถั่วลิสงคั่ว ถั่วลิสงอบ ถั่วลิสงทอด และถั่วลิสงป่น แต่ละชนิด ที่ระดับการปนเปื้อนเฉลี่ย (50 เปอร์เซ็นต์ไทล์) มีความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งต่ำ ในช่วง 0.02 – 0.98 คนต่อปีต่อ 100,000 คน แต่เมื่อนำค่าระดับการปนเปื้อนสูง (97.5 เปอร์เซ็นต์ไทล์) มาประเมิน พบว่า มีโอกาสการเกิดมะเร็ง 0.10 – 5.40 คนต่อปีต่อ 100,000 คน ซึ่งถือว่าเป็นความเสี่ยงระดับสูง และในการประเมินจากระดับการบริโภคถั่วลิสงของประชากรทั้งหมด (per capita) และกลุ่มผู้ที่บริโภคถั่วลิสงเฉพาะ (eater only) ที่ 50 เปอร์เซ็นต์ไทล์ และ 97.5 เปอร์เซ็นต์ไทล์ จากระดับการปนเปื้อนเฉลี่ย และระดับการปนเปื้อนสูง พบว่า มีโอกาสการเกิดมะเร็งจากการบริโภคถั่วลิสงในช่วง 0.36 – 914 คนต่อปีต่อ 100,000 คน ซึ่งถือว่าเป็นความเสี่ยงระดับสูงมาก เนื่องมาจากปริมาณการได้รับสัมผัสในการบริโภคสูง ดังนั้น การเฝ้าระวังการปนเปื้อนของปริมาณอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงจึงควรดำเนินการเป็นประจำ และ ควรมีการจัดการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความปลอดภัยนับตั้งแต่ขั้นตอนการจัดการเพาะปลูกจนถึงมือผู้บริโภค เพื่อลดการปนเปื้อนอะฟลา-ทอกซินในถั่วชนิดนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2545. **เกษตรดีที่เหมาะสมสำหรับถั่วลิสง.** พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ.

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2543. รายงานประจำปีของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ประจำปี 2543. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข.

กรมวิทยาศาสตร์การแพยทย์. 2554. **แนวทางการประเมินความเสี่ยงทางจุลชีววิทยา.** กรุงเทพฯ: อรุณการพิมพ์.

กระทรวงสาธารณสุข. 2529. **ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 (พ.ศ. 2529) เรื่องมาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน.** กรุงเทพฯ: กระทรวงสาธารณสุข.

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2557. **เมล็ดถั่วลิสง: ข้อกำหนดปริมาณอะฟลาทอกซิน มกษ. 4702-2557.** กรุงเทพฯ: กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

จวงจันทร์ ดวงพัตรา. 2527. อิทธิพลของเครื่องกะเทาะที่มีต่อความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง, น. 371-377. ในรายงานการสัมมนาเชิงปฏิบัติการ งานวิจัยถั่วลิสงครั้งที่ 3. ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

จวงจันทร์ ดวงพัตรา. 2540. วิทยาการก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวและการป้องกันการเกิดสารพิษอะฟลาทอกซินในถั่วลิสง, น. 135-141. ใน สุกัญญา กองเงิน, นันทวรรณ สโรบล, ชูทิพย์ ชนะเสนีย์ และ สมศักดิ์ สุริโย, ผู้รวบรวม. **คู่มือวิชาการ เรื่องอะฟลาทอกซินในถั่วลิสง.** บริษัทนิวธรรมดาการพิมพ์, กรุงเทพฯ.

ชาคริยา ฉลาด และ สุนันทา ข้องสาย. 2555. **จุลินทรีย์และสารพิษอะฟลาทอกซินในอาหารที่จำหน่ายในจังหวัดตรัง.** วิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย 4(2) : 56-69.

ณัฐสิทธิ์ ตันสกุล และศศิประภา ชูช่วย. 2559. **หลักและวิธีการวิเคราะห์สารพิษอะฟลา.** วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง. 24(2): 1-8.

ดวงจันทร์ สุประเสริฐ และวนิดา ยุรญาติ. 2547. **สารพิษอะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในถั่วลิสงและผลิตภัณฑ์ระหว่างปี พ.ศ. 2537-2545.** อาหาร 34 (1) 30-33.

ดารา พวงสุวรรณ, ประวัติ ตันบุญเอก, ปริศนา สิริอาชา และอรุณศรี วงษ์อุไร. 2526. **สารพิษจากเชื้อรา.** สาขาโรคพืชผลิตผลการเกษตร, กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพ. 20.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดุษณี เดโชวิบูลย์, นวลพรรณ ณ ระนอง และสุขใจ โสมะฐิติ. 2530. การสำรวจหาสารพิษจากเชื้อรา ในอาหารสัตว์และการป้องกัน การประชุมวิชาการทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ 20-22 ตุลาคม 2530. 704-705.

ธีระยุทธ กลิ่นสุคนธ์ และชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว. 2524. แอฟาท็อกซิน (สารพิษจากเชื้อราที่ทำให้เกิดมะเร็งในตับ). สำนักพิมพ์ ดร.สกล พงศกร, กรุงเทพฯ. 159น.

นรินทร์ พุ่มดียิ่ง. 2545. **การปฏิบัติการหลังการเก็บเกี่ยวที่มีผลต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ และการปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซินในถั่วลิสง.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นันทนา กันยานุวัฒน์ และนุชนาท นาคา. 2555. **แนวทางการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบทางเคมี.** กรุงเทพฯ: สำนักอุตสาหกรรมพื้นฐาน กรมอุตสาหกรรมพื้นฐานและการเหมืองแร่.

นันทวุฒิ จงรั้งกลาง, โสภณ วงศ์แก้ว, และทักษิณา ศันสยะวิชัย. 2554. **การศึกษาวิเคราะห์การกำหนดมาตรฐานอาหารและสินค้าเกษตร เรื่องถั่วลิสงเพื่อเป็นมาตรฐานบังคับ.** รายงานผลการวิจัยเสนอสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

บดินทร์ บุตรอินทร์. 2555. **สารพิษจากเชื้อรา: อะฟลาทอกซิน.** เทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 45(2) : 1-8.

บุญมี ศิริ. 2540. สารอะฟลาทอกซิน : การปนเปื้อนและการป้องกันในระบบการผลิตและหลังการเก็บเกี่ยวถั่วลิสง. หน้า 142-154. ใน **คู่มือวิชาการเรื่องอะฟลาทอกซินในถั่วลิสง.** กลุ่มพืชน้ำมัน กองส่งเสริมพืชไร่นา กรมส่งเสริมการเกษตร, กรุงเทพ.

ปริศนา สิริอาชา. 2534. **การตรวจสอบฟลาทอกซินอย่างรวดเร็ว.** กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

ปริศนา สิริอาชา และศุภัตน์ โฆษิตเจริญกุล. 2532. วิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวเพื่อป้องกันอะฟลาทอกซิน, หน้า 109-115. ใน **กองแผนงานและโครงการพิเศษ. เทคโนโลยีการผลิตถั่วลิสง.** กองส่งเสริมพืชพันธุ์ กรมส่งเสริมการเกษตร. กรุงเทพฯ.

ปัญญาภรณ์ อุดคำเที่ยง. 2555. **ผลของอุณหภูมิในการหุงต้มต่อการลดอะฟลาทอกซินบี1 ในถั่วลิสงและผลิตภัณฑ์พริกแห้ง.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พงศ์เทพ วิวรรธนะเดช. 2549. **การประเมินความเสี่ยงด้านสุขภาพ.** กรุงเทพฯ: กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข.

พิทยา ปาณะโตษะ, ศิริพรรณ เอี่ยมรุ่งโรจน์, วารุณี เสนสุภา และทรงพล รัตนพันธุ์. 2530. **การปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในอาหารสำเร็จรูปที่ทำจากถั่ว.** ฝ่ายค้นคว้าวิจัย กองวิชาการ สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. กรุงเทพฯ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พิพัฒน์ ลักษมีจรัลกุง. 2537. การประเมินความเสี่ยงทางจุลินทรีย์และการจัดการ. กรุงเทพฯ: เจริญดีการพิมพ์

พิมพร วงษ์สุทธิโชติ. 2550. “การพัฒนาอิมมูโนแอฟฟินิตีคอลัมน์ต้นแบบจากโพลีโคลนอลแอนติบอดีจำเพาะต่ออะฟลาทอกซินบี1 ในการตรวจถั่วลิสง” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พวงทอง ยินอัศวพรรณ และสนั่น จอกลอย. 2526. การศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับการปฏิบัติของเกษตรกรหลังการเก็บเกี่ยวถั่วลิสง. หน้า 329-332. ใน **รายงานการสัมนาเชิงปฏิบัติการเรื่องวิจัยถั่วลิสง ครั้งที่ 2, ณ ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ ตากฟ้า นครสวรรค์**, 11-13 กุมภาพันธ์ 2526.

พาลาภ สิงหเสนี. 2540. **การประเมินความเสี่ยงจากพิษของวัตถุอันตราย : หลักการประยุกต์ใช้.** กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

มาลินี ลิ้มโภคา. 2527. **พิษวิทยาและปัญหาที่พบในสัตว์.** แพร่พิทยา. กรุงเทพฯ.

ภัทรา พลับเจริญสุข และปัณรสี สู่ศิริรัตน์, 2556. **การพัฒนาชุดตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของเชื้อรา Aspergillus สายพันธุ์สร้าง Aflatoxin ในขมิ้นชันและขิง.** กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิตย์.

ภูวนาถ นนทรี. 2531. **รายงานการสัมมนาถั่วลิสงแห่งชาติ ครั้งที่ 8**. รายงานประชุมคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.วันที่ 3-5. พฤษภาคม 2532.

วิชัย หฤทัยธนาสันติ์, เพ็ญขวัญ ชมปรีดา, จวงจันทร์ ดวงพัตรา และธงชัย สุวรรณสิชณน์. 2550. **สองทศวรรษ งานวิจัยและถ่ายทอดเทคโนโลยีถั่วลิสงในประเทศไทย พ.ศ. 2524-2550**. ครั้งที่ 1 ม.ป.ท.

วิเชียร ยงมานิตชัย, วราภา มหากาญจนกุล, สุวรรณา กลัดพันธุ์, อมรา ชินภูติ และมาลัย บุญรัตนกิจ. 2548. **การจัดการเพื่อลดการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในถั่วลิสง**. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ เสนอสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ทุนประจำปี 2547, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพ.

วุฒิศักดิ์ บุตรธนู, สุทธิ สุริยะ, ธนิต โสภโณดร และประวัติ ตันบุญเอก. 2540. **ปัจจัยที่มีผลต่อการปลูกเชื้อรา *Aspergillus flavus* และการผลิตสารพิษอะฟลาทอกซินบนถั่วลิสง**. 131-139.

วีระ ภาคอุทัย. 2545. **สถานการณ์ถั่วลิสง**. หน้า 12-24. ใน จวงจันทร์ ดวงพัตรา, บรรยง ทุมแสน สนั่น จอกลอย, ชัยโรจน์ วงศ์วิวัฒน์ไชย และ วิมลรัตน์ ศุกรินทร์, บรรณาธิการ. รายงานสัมมนาถั่วลิสงแห่งชาติ ครั้งที่ 16. โรงพิมพ์พระธรรมขันธ์.

วราภา มหากาญจนกุล, น้ำฝน ลำดับวงศ์, กุลนาถ ทองขาว และ ณัฐา พัฒนกุล. 2547. **การศึกษาสถานการณ์และระบบการจัดการความปลอดภัยด้าน อาหารกลุ่มธัญพืช ถั่ว เมล็ด และ**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลิตภัณฑ์ในประเทศไทย. รายงานการวิจัยคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ฝ่ายสนับสนุนการวิจัย พัฒนาและวิศวกรรม. 2548. **ชุดตรวจหาสารพิษจากเชื้อรา "อะฟลาทอกซิน: ไทยทำ ไทยใช้ ไทยเจริญ. สรรสาระมาเล่า.** [Online]. เข้าถึงได้จาก : http://rde.biotec.or.th/Aflatoxin.pdf.

ศรันย์ วรรธนัจฉริยา. 2540. "สถานการณ์การผลิตและการตลาดถั่วลิสงในประเทศไทย ปี พ.ศ. 2540" หน้า 1. ใน **คู่มือวิชาการเรื่อง อะฟลาทอกซินในถั่วลิสง**. กรมส่งเสริมการเกษตร, กรุงเทพฯ.

ศิริวรรณ ตี้ภู่. 2555. การประยุกต์ใช้อิมมูโนเซนเซอร์ สำหรับการวิเคราะห์ทางอาหาร. **วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา.** 17(2): 197-204.

ศรีสิทธิ์ การุณยะวนิช. 2537. **ปริมาณอฟลาทอกซินที่คยไทยได้รับจากการบริโภคอาหารประจำวันลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งตับ**. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 36(4) : 253-261.

ศศิธร ถิ่นนคร. 2528. "สารพิษจากเชื้อรา (Mycotoxins) ในวัตถุดิบอาหารสัตว์ในเขตร้อน. รายงานเสนอในวิชาโภชนาสัตว์ไม่เคี้ยวเอื้อง." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สนั่น จอกลอย, วีระ ภาคอุทัย, ธนาภรณ์ กระสวยทอง, ฉวัลย์ เกษมาลา, ดรุณี พวงบุตร, นันทวุฒิ จงรั้งกลาง, โสภณ วงศ์แก้ว, และทักษิณา ศันสยะวิชัย. 2554. **การศึกษาวิเคราะห์การกำหนดมาตรฐานอาหารและสินค้าเกษตร เรื่องถั่วลิสงเพื่อเป็นมาตรฐานบังคับ.** รายงานผลการวิจัยเสนอสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สุกัญญา กองเงิน. 2540. **อะฟลาทอกซินในถั่วลิสง.** กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

สุกัญญา จัตตุพรพงษ์. 2530. **วัตถุดิบอาหารสัตว์ การใช้และการตรวจสอบคุณภาพ.** โรงพิมพ์เมืองพิมพ์. กรุงเทพฯ.

สุจรรยา บุญวรรณโณ, เสมอใจ ชื่นจิตต์ และ ปัญญา คงปาน. 2531. **การสำรวจการปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยวถั่วลิสง**, น. 602-607. ในรายงานการสัมมนางานวิจัยถั่วลิสง ครั้งที่ 6, ณ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา และอุทยานแห่งชาติทะเลบันสตูล, 18-20 มีนาคม 2530.

สุดาทิพย์ แซ่ตั้น. 2550. **การลดความเสี่ยงจากการปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงดิบด้วยวิธีการคัดเลือกคุณภาพถั่วลิสงและโครงข่ายประสาทเทียม**. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาพัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุนันทา พันธุ์วรรณ์. 2538. **การประเมินความเสี่ยงอันตรายจากสารเคมี (Chemical Risk Assessment).** กรุงเทพฯ: สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา.

สถาบันอาหาร. 2547 รายงานฉบับสมบูรณ์ (Final Report) การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์.

สถาบันอาหาร. 2559. รายงานฉบับสมบูรณ์ (Final Report) การประเมินความเสี่ยงของคนไทยต่อการได้รับสารพิษจากเชื้อราผ่านการบริโภคพริกแห้งและเครื่องเทศที่ผลิตภายในประเทศ.

สุพัตรา พิชัย. 2547. "การปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงป่นที่จำหน่ายในตลาดสดของจังหวัดเชียงใหม่." บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สุรีลักษณ์ รอดทอง. 2538. **จุลินทรีย์และโรคที่เกิดจากอาหาร.** สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, นครราชสีมา.

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. 2522. **พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่98 (พ.ศ.2529) เรื่อง มาตรฐานอาหาร ที่มีสารปนเปื้อน.**

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559. **ข้อมูลการบริโภคอาหารของประเทศไทย.** สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2549. **ถั่วลิสง: เนื้อที่ ผลผลิต และผลผลิตต่อไร่ เป็นรายภาค ปี 2544-2546.** สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. [Online]. เข้าถึงได้จาก : http://www.oae.go.th/statistic/yearbook/2003/Section2/sec2table36.pdf.

เสถียร บุญฤทธิ์. 2530. **การผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง**. กองขยายพันธุ์พืช กรมส่งเสริมการเกษตร

โสภณ วงศ์แก้ว และสนั่น จอกลอย. 2554. **อะฟลาทอกซินในถั่วลิสง: ข้อเสนอวิธีแก้ปัญหา.** แก่นเกษตร. 39(3):1-11.

อนงค์ บิณฑวิหค. 2546**. สารพิษจากเชื้อรา: อะฟลาทอกซิน.** โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ.

อนามัย (ธีรวิโรจน์) เทศกะทึก. 2555. การประเมินผลกระทบต่อสุขภาพ. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรมหาวิทยาลัย.

อมรา ชินภูติ. 2543. สารพิษอะฟลาทอกซินในผลิตผลการเกษตรและวิธีการลดสารพิษก่อนบริโภค. **วารสารข่าวสารโรคพืชและจุลชีววิทยา.** 10(2): 34-40.

อรุณศรี วงษ์อุไร, ปริศนา เหมสุจิ, ประวัติ ตันบุญเอก และดารา พวงสุวรรณ. 2526. "งานวิจัยแอฟาทอกซินในถั่วลิสง." หน้า 247-249. ใน **รายงานสัมมนาเชิงปฏิบัติการเรื่องงานวิจัยถั่วลิสงครั้งที่2. 11-13 กุมภาพันธ์ 2526.** ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์. นครสวรรค์.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อรุณศรี วงษ์อุไร. 2537. "ความสามารถในการสร้างอะฟลาทอกซินของ *Aspergillus flavus* จากดินในไร่ถั่วลิสง." 230-231. ใน **รายงานสัมมนาถั่วลิสงแห่งชาติครั้งที่ 12.** โรงแรมเจริญโฮเต็ล, อุดรธานี.

อรุณศรี วงษ์อุไร. 2539. "อะฟลาทอกซินในถั่วลิสง." 19-26. ใน **คู่มือวิชาการเรื่อง อะฟลาทอกซินในถั่วลิสง.** กลุ่มพืชน้ำมัน, กองส่งเสริมพืชไร่นา, กรมส่งเสริมการเกษตร, กรุงเทพฯ.

อรุณศรี วงษ์อุไร. 2540. "อะฟลาทอกซินในถั่วลิสง." 41-47. ใน **คู่มือวิชาการเรื่อง อะฟลาทอกซินในถั่วลิสง.** บริษัท นิวธรรมดาการพิมพ์, กรุงเทพฯ.

อานนท์ วาทยานนท์, สงบภัย นามไพศาลสถิต, ศิริวรรณ ศรีเสน และ มณเฑียร โสมภีร์. 2532. **การศึกษาการเกิดเมล็ดลีบในถั่วลิสงที่มีสาเหตุมาจากลักษณะทางพฤกษศาสตร์บางประการของถั่วลิสงพันธุ์ไทนาน 9 และ C5B1**. รายงานสัมมนาเชิงปฏิบัติการงานวิจัยถั่วลิสง ณ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สงขลา 20 มีนาคม.

อารีย์ วรัญญูวัฒก์. 2554. **ถั่วเหลือง ถั่วลิสง และละหุ่ง.** โรงพิมพ์โชติวงศ์, กรุงเทพฯ.

Afsah-Hejri, L., Jinap, S., Arzandeh, S. and Mirhosseini, H. 2011."Optimization of HPLC conditions for quantitative analysis of aflatoxins in contaminated peanut." **Food Control.** 22 (3-4) : 381-388.

Andrade, M. Homem de Mello, Franca, J.A. and Caldas, E.D. 2012. Aflatoxins in food products consumed in Brazil: a preliminary dietary risk assessment. **Food additives and Contaminants**. 30(1): 127-136.

AOAC. 2016. Official Method of Analysis of AOAC International. 20th ed. The Association of Official Analytical Chemists, Rockville

Baltaci, C., ilyasoglu, H. and Yüksel, F. 2012. **Single-Laboratory Validation for the Determination of Aflatoxin B1, B2, G1, and G2 in Foods Based on Immunoaffinity Column and Liquid Chromatography with Postcolumn Derivatization and Fluorescence Detection.** Food Analytical Methods. 6(1): 36-44.

Bbosa, G. S. 2013. **Aflatoxins metabolism, effects on epigenetic mechanisms and their role in carcinogenesis**. [Online]. Available:http://file.scirp.org/pdf/Health_2013103116144.pdf.

Bhattacharya, K. and S. Raha. 2002. Deteriorative changes of maize, groundnut and soybean seeds by fungi in storage. **Mycopathologia** 155: 135-141.

Bjornsdottir-Butler, K., Bencsath, F. and Benner, Jr, R. 2015. "Modification and Single-Laboratory Validation of AOAC Official Method 977.13 for Histamine in Seafood to Improve Sample Throughput." **Journal of AOAC International,** 98(3) : 622-627.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Blount, W. P. 1961. **Turkey "X" disease**. Journal of British Turkey Federation. 9(52): 52-61.

Bumbangi, N. F., Muma, J. B., Choongo, K., Velu, M. R., Veldman, F., Hatloy, A. and Mapatano, M. A. 2016. **Occurrence and factors associated with aflatoxin contamination of raw peanuts from Lusaka district's markets, Zambia**. Food Control. 68: 291-296.

Chen, Y., Chen, Q., Han, M., Zhou, J., Gong, L., Niu, Y., Zhang, Y., He, L. and Zhang, L. 2016. **Development and optimization of a multiplex lateral flow immunoassay for the simultaneous determination of three mycotoxins in corn, rice and peanut**. Food Chemistry. 213: 478-484.

Chin, C. K., Abdullah, A. and Sugita-Konishi, Y. 2012. **Dietary intake of aflatoxins in the adult Malaysian population – an assessment of risk**. Food additives and Contaminants. 5(4): 286-294.

Chun, H.S., Kim, H.J., Ok, H.E., Hwang. J.B., & Chung, D. H. 2007. "Determination of aflatoxin levels in nuts and their products consumed in South Korea." **Food Chemistry.** 102(1) : 385-391.

Codex. 2013."Codex general standards for contaminants and toxins in food and feeds, codex standard193-1995" [Online].Available : www.fao.org/input/download/standards/2015. pdf

Davis N.D., Diener U.L. "Some characteristics of toxigenic and nontoxigenic isolates of A. flavus and A. parasiticus. In: Diener U.L., Asquith R.I., Dickens J.W., editors. Aflatoxin and A. flavus in Corn. " Vol. 279. 1983. 1–5.

Diener, U. L. and N. D. Davis. 1977. **Aflatoxin formation in peanuts by *Aspergillus flavus***. Alabama Agr. Exp. Sta. Bull. 493. 45p.

Diener, U. L. and N. D. Davis. 1986. **Biology of *Aspergillus flavus* and *A.parasiticus,*** pp.33-40. In El Batan (ed.). Aflatoxin in Maizze, A proceedings of the workshop. Mexico.

Ding, X., Li, P., Bai, Y. and Zhou, H. 2012. **Aflatoxin B1 in post-harvest peanuts and dietary risk in China**. Food Control, 23(1): 143-148.

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

El tawila, M. M., Neamatallah, A. and Serdar, S. A. 2013. **Incidence of aflatoxins in commercial nuts in the holy city of Mekkah**. Food Control. 29: 121-124.

EURACHEM GUIDE. 2014. **The Fitness for Purpose of Analytical Methods**. A Laboratory Guide Method Validation and Related Topics.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Glinsukol, T., W. Thamavit and M. Ruchirawar. 1976. **Studies on the population of toxigenic fungi market foods and food stuffs. I. mycoflora contamination**. Journal of the Scientific Soceity Thailand. 2: 176.

Heathcote, J. G. 1984. **Aflatoxin and related toxins. Mycotoxins-production, isolation, separation and purification.** Netherlands: Elsevier Science Publishers B.V.

Hepsag, F., Golge, O. and Kabak, B. 2014. **Quantitation of aflatoxins in pistachios and groundnuts using HPLC-FLD method**. Food Control. 38: 75-81.

Huang, B., Han, Z., Cai, Z., Wu, Y. and Ren, Y. 2010. **Simultaneous determination of aflatoxins B1, B2, G1, G2, M1 and M2 in peanuts and their derivative products by ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry.** Analytica Chimica Acta. 662: 62-68.

Iamtaweejaroen, P., Kooprasertying, P., Maneeboon, T., Anukul, N. and Mahakarnchanakul, W. 2016. **Exposure to aflatoxin B1 in Thailand by consumption of brown and color rice**. Mycotoxin Research. 16(32): 19-25.

IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. 1993. **Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins**. UK: International Agency for Research on Cancer (56): 245-521

International Agency for Research on Cancer (IARC). 1993. **In Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins.** Aflatoxins. WHO IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. 56:245-395.

ISO/IEC Guide. 1996. **Proficiency testing by international comparisons Part1: Development and operation of proficiency testing schemes**. Geneva: ISO/IEC Copyright Office, 11: 43-1.

JECFA. 2007. **Safety evaluation of certain food additives and contaminates in food: aflatoxin.** Sixty-eighth Meeting of the joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Food Additives Series, 59. Geneva: WHO. 305-356.

Joffe, A. Z. and Lisker, N. 1969**. Effects of light, temperature and pH value on aflatoxin production in vitro.** Applied Microbialogy**.** 18:517-518.

Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). 1998. **Safety evaluation of certain food additives and contaminates in food: aflatoxin. Forty-ninth Meeting of the joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives.** WHO Food Additives

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Series, 40. Geneva: WHO. 359-469.

Jones, R.K., Dunvan, H.E. and Hamilton, P.B. 1981. **Planting date, harvest data and irrigation effects on infection and aflatoxin production by *Aspergillus flavus* in field corn**. Phytopathology. 71: 810-816.

Kabak, B. 2016. **Aflatoxins in hazelnuts and dry figs: Occurrence and exposure assessment**. Food Chemistry. 211: 8-16.

Kalcher, G. T., Vrtac, K., Pestevsek, U. and Vengust, A. 2005. **Validation of the procedure for the determination of aflatoxin B1 in animal liver using immunoaffinity columns and liquid chromatography with postcolumn derivatisation and fluorescence detection**. Food Control. 7(18): 333–337.

Kamika, I. and Takoy, L. L. 2011. **Natural occurrence of Aflatoxin B1 in peanut collected from Kinshasa, Democratic Republic of Congo**. Food Control. 22: 1760-1764.

Kanehisa Laboratories. 2015. **Aflatoxin Biosynthesis.** [Online]. Available : http://www. genome.jp/keggbin/show_pathway?map=map00254&show_description=show.

Khayoon, W. S., Saad, B., Lee, T. P. and Salleh, B. 2012. **High performance liquid chromatographic determination of aflatoxins in chilli, peanut and rice using silica based monolithic column**. Food Chemistry. 133: 489-496.

Kirk, G., Lesi, O., Mendy, M., Szymañska, K., Whittle, H., Goedert, J., Hainaut, P. and Montesano, R. 2005. "249ser TP53 mutation in plasma DNA, hepatitis B viral infection and risk of hepatocellular carcinoma. Oncogene." 24(38) : 5858-5867.

Konishi, Y. S., Sato, T., Saito, S., Nakajima, M., Tabata, S., Tanaka, T., Norizuki, H., Itoh, Y., Kai, S. Sugiyama, K., Kamata, Y., Yoshiike, N. and Kumagai, S. 2010. **Exposure to aflatoxins in Japan: risk assessment for aflatoxin B1.** Food additives and Contaminants. 27(3): 365-372.

Kooprasertying, P., Maneeboon T., Hongprayoon R. and Mahakarnchanakul, W. 2016**. Exposure assessment of aflatoxins in Thai peanut consumption.** Cogent Food & Agriculture. 16(2): 1204683.

KRIENGSAG SAITANU 1997. Incidence of Aflatoxin M_1 in Thai Milk Products**. Journal of Food Protection.** Vol. 60, No. 8 : 1010-1012.

Lander, K. E., Davis, N.D. and Diener, U.L. 1967. **Influence of atmospheric gases in aflatoxin production by Aspergillus flavus in peanuts**. Phytopathology. 56: 1086-1090.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Leong, Y. H., Ismail, N., Latif, A. A. and Ahmad, R. 2010. **Aflatoxin occurrence in nuts and commercial nutty products in Malaysia**. Food Control. 21: 334-338.

Li, P., Zhang, Q. and Zhang, W. 2009. **Immunoassays for aflatoxins**. Trend in Analytical Chemistry. 28(9): 1115-1126.

Lin, M.T. and Deanese, J.C. 1976. **Coconut-agar medium for rapid detection of aflatoxin production by *Aspergillus spp***. Phytopathology. 66: 1466-1469.

Luna, A., Luiz, R., Lima, I., Março, P., Valderrama, P., Boqué, R. and Ferre, J. 2013. S**imultaneous determination of aflatoxins B2 and G2 in peanuts using spectrofluorescence coupled with parallel factor analysis.** Analytica Chimica Acta, 778: 9-14.

Luttufullah, G. and Hussian, A. 2011. **Studies on contamination level of aflatoxins in some dried fruits and nuts of Pakistan**. Food Control. 22: 426-429.

Masood, M., Iqbal, S. Z., Asi, M. R. and Malik, N. 2015. **Natural occurrence of Aflatoxins in dry fruits and edible nuts**. Food Control. 55: 62-65.

Miranda, M. M., Ocampob, G. T. and Moreanob, M. R. 2015. **Validation of a High Performance Liquid Chromatography Method for Aflatoxins Determination in Corn Arepas**. Article. 17(4): 797-803.

Mukund Nagarnaik, Arun Sarjoshi, Neeta Phatak, Mangesh Wandhare, Meenal Dhabale, and Girish Pandya. 2014. A Validation Study of Aflatoxin in Real Samples of Peanuts and Dry Fruits in Urban City by HPTLC. **Food and Dairy Technology.** 14(2): 13-20.

Muscarella, M., Lammarino, M., Nardiello, D., Magro, S., Palermo, C., Centonze, D. and Palermo, D. 2009. Validation of a confirmatory analytical method for the determination of aflatoxins B1,B2G1 and G2 in foods and feed materials by HPL with on-line photochemical derivatization and fluorescence detection**. Food Additives and Contaminants: Part A.** 26(10): 1402-1410

Nagarnaik, M., Sarjoshi, A., Phatak, N., Wandhare, M., Dhabale, M. and Pandya, G. 2014**. A Validation Study of Aflatoxin in Real Samples of Peanuts and Dry Fruits in Urban City by HPTLC**. Food and Dairy Technology. 14(2): 13-20.

Ott J.J., Stevens G.A., Groeger, J. and Wierama, S.T. 2012. **Global epidemiology of hepatitis B virus infection: new estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity**. Vaccine**.** 30:2212-2219.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Park, J., Kim, E. and Kim, Y. 2004. "Estimation of the daily exposure of Koreans to aflatoxin B1through food consumption." **Food Additives and Contaminants.** 21(1) : 70-75.

Pittet, A. 2005. **Modern methods and trends in mycotoxin analysis**. Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene. 96: 424-444

Purchase, J. F. H. 1972. **Aflatoxin residues in food of animal origin**. Food and Cosmetic Toxicology. 10: 531-544.

Reddy, T.V., Viswanathan, L. and Venkitasuramanian, T. A. 1971. **High aflatoxin production on a Chemically defined medium**. Applied Microbiology. 22(3): 393-396.

Reiter, E., Zentek, J. and Razzazi, E. 2009. **Review sample preparation strategies and methods used for the analysis of aflatoxins in food and feed.** Molecular Nutrition & Food Research. 53: 508-524.

Saha, D., Roy, D. and Dhar, T. K. 2013. **Immunofiltration assay for aflatoxin B1 based on the separation of pre-immune complexes**. Journal of immunological methods. 392:24-28.

Sargeant, K., A. .o' Kelly, S. J. and Carnaghan, R.B.A. 1961. **Toxicity associated with certain samples of groundnuts.** Nature. 192: 1096-1097.

Sauer, D. and Burroughs, R. 1980. Fungal Growth, Aflatoxin Production, and Moisture Equilibration in Mixtures of Wet and Dry Corn. **Phytopathology.** 70(6) : 516.

Schwartzbord, J. R. and Brown, D. L. 2015. **Aflatoxin contamination in Haitian peanut products and maize and the safety of oil processed from contaminated peanuts.** Food Control. 56: 114-115.

Shank, R. C., Gordon, J. E., Wogan, G. N., Nondasuta, A. and Subhamani, B. 1972. **Dietary aflatoxins and human liver cancer. Lll. Field survey of rural Thai families for ingested aflatoxins.** Food and Cosmetic Toxicology. 10: 71-84

Shephard, G. S. 2008. **Risk assessment of aflatoxins in food in Africa**. Food Additive and Contaminant: Part A. 25(10): 1246-1256.

Stevenson, D. E. 1962. **Toxicity associated with certain batch of groundnuts**. British Veterinary Journal. 531-2.

Stroka, J. and Anklarm, E. 2000. **Development of simplified densitometer for the determination if aflatoxins by thin layer chromatography**. Journal of Chromatography A. 904: 263-268

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Stroka J, Anklam E, Jörissen U, Gilbert J. "Immunoaffinity column cleanup with liquid chromatography using post-column bromination for determination of aflatoxins in peanut butter, pistachio paste, fig paste, and paprika powder: collaborative study." AOAC Int. 2000 Mar-Apr ; 83(2) : 320-40.

Sugita-Konishi, Y., Sato, T., Saito, S., Nakajima, M., Tabata, S., Tanaka, T., Norizuki, H., Itoh, Y., Kai, S., Sugiyama, K., Kamata, Y., Yoshiike, N. and Kumagai, S. (2010). "Exposure to aflatoxins in Japan: risk assessment for aflatoxin B1. Food Additives & Contaminants: Part A." 27(3) : 365-372.

Sun, G., Wang, S., Hu, X., Su, J., Zhang, Y., Zhang, H., Tang, L. and Wang, J. S. 2011. **Co-contamination of aflatoxin B_1 in food and human dietary exposure in three areas of China**. Food Additive and Contaminants. 28(4): 461-470.

Varga, J., Frisvad, J.C. and Samson, R.A. 2009. **A reappraisal of fungi producing aflatoxins**. World Mycotoxin Journal**.** 2(3): 263-277.

Waliyar, F. and Abadie, M. 1978. **The penetration of *Aspergillus flavus* Link. Into the groundnut due to store after artificial contamination : utra-structeral analysis**. Oleagineux 33(8-9): 447-453.

West, S., Wyatt, R. D. and Hamilton, P. B. 1973. **Improved yield of aflatoxin by ineremental increases of temperature**. Applied Microbiology. 25: 1018-1019.

Wogan, G. N. 1966. **Chemical nature and biological effect of aflatoxins.** Bacteriology review. 57(14): 195-215.

Wu, L. X., Ding, X. X., Li, P.W., Du, X. H., Zhou, H. Y., Bai, Y. Zh. and Zhang, L. X. 2016**. Aflatoxin contamination of peanuts at harvest in China from 2010 to 2013 and its relationship with climatic conditions**. Food Control. 60: 117-123.

Wu, Q., Jezkova, A., Yuan, Z., Pavlikova, L., Dohnal, V. and Kuca, K. 2009. **Biological degradation of aflatoxins.** Drug Metabolism Reviews**.** 41(1): 1-7.

ZHANG, C., ZHOU, X., CHEN, J. and ZHANG, W. 2011. "Determination of aflatoxins by high performance liquid chromatography with post-column photochemical derivatization." **JOURNAL OF HUNAN AGRICULTURAL UNIVERSITY.** 36(5) : 569-573.

Zhang, D., Li, P., Yang, Y., Zhang, Q., Zhang, W., Xiao, Z. and Ding, X. 2011. **A high selective immunochromatographic assay for rapid detection of aflatoxin B_1**. Talanta. 85: 736-742.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

การประเมินความเสี่ยงอะฟลาทอกซินในถั่วลิสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. วิธีการคำนวณค่าอัตราการเกิดมะเร็ง

Average potency = (0.3 × HBsAg+ prevalence rate) + (0.01 × HBsAg- prevalence rate)

= (0.3 × 0.05) + (0.01 × 0.95)

= 0.0245

เมื่อ Potency คือ ความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งตับ

Average potency คือ อัตราการเกิดมะเร็งตับของประชากรไทย

HBsAg+ prevalence rate คือ ร้อยละประชากรไทยที่เป็นไวรัสตับอักเสบบี

HBsAg- prevalence rate คือ ร้อยละประชากรไทยที่ไม่เป็นไวรัสตับอักเสบบี

หมายเหตุ ผู้ป่วยที่เป็นไวรัสตับอักเสบบี ในประเทศไทยร้อยละ 5 ของประชากรทั้งหมด (Ott และคณะ, 2012)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ตารางประเมินความเสี่ยงอะฟลาทอกซินของถั่วแต่ละชนิดที่เพาะปลูกในประเทศไทย และนำเข้าจากต่างประเทศ

อาหาร	ช่วงอายุ	consumption (g/คน/day)		Exposure (ng/kg bw/day)		Potency (cancer case/year/100000people)	
				concentration 50% (18.40 ng/g)	concentration 97.5% (101.1 ng/g)	concentration 50%	concentration 97.5%
ถั่วลิสง คั่ว	3-5.9	per capita 50% mean	0.84	15.46	84.92	0.38	2.08
	6-12.9		1.05	19.32	106.16	0.47	2.60
	13-17.9		1.12	20.61	113.23	0.50	2.77
	18-34.9		2.18	40.11	220.40	0.98	5.40
	35-64.9		0.67	12.33	67.74	0.30	1.66
	65 ขึ้นไป		0.44	8.10	44.48	0.20	1.09
	3 ปีขึ้นไป		1.11	20.42	112.22	0.50	2.75
	3-5.9	per capita 97.5%	9	165.60	909.90	4.06	22.29
	6-12.9		14.29	262.94	1444.72	6.44	35.40
	13-17.9		12.86	236.62	1300.15	5.80	31.85
	18-34.9		28.57	525.69	2888.43	12.88	70.77
	35-64.9		7.15	131.56	722.87	3.22	17.71
	65 ขึ้นไป		3.34	61.46	337.67	1.51	8.27
	3 ปีขึ้นไป		12.86	236.62	1300.15	5.80	31.85

2. ตารางประเมินความเสี่ยงอะฟลาทอกซินของถั่วแต่ละชนิดที่เพาะปลูกในประเทศไทย และนำเข้าจากต่างประเทศ (ต่อ)

อาหาร	ช่วงอายุ	consumption (g/คน/day)		Exposure (ng/kg bw/day)		Potency (cancer case/year/100000people)	
				concentration 50% (18.40 ng/g)	concentration 97.5% (101.1 ng/g)	concentration 50%	concentration 97.5%
ถั่วลิสงคั่ว	3-5.9	eater only 50% mean	40.04	736.74	4048.04	18.05	99.18
	6-12.9		56.68	1042.91	5730.35	25.55	140.39
	13-17.9		54.25	998.20	5484.68	24.46	134.37
	18-34.9		50.92	936.93	5148.01	22.95	126.13
	35-64.9		39.19	721.10	3962.11	17.67	97.07
	65 ขึ้นไป		43.15	793.96	4362.47	19.45	106.88
	3 ปีขึ้นไป		45.63	839.59	4613.19	20.57	113.02
	3-5.9	eater only 97.5%	100	1840.00	10110.00	45.08	247.70
	6-12.9		200	3680.00	20220.00	90.16	495.39
	13-17.9		100	1840.00	10110.00	45.08	247.70
	18-34.9		100	1840.00	10110.00	45.08	247.70
	35-64.9		100	1840.00	10110.00	45.08	247.70
	65 ขึ้นไป		200	3680.00	20220.00	90.16	495.39
	3 ปีขึ้นไป		100	1840.00	10110.00	45.08	247.70

2. ตารางประเมินความเสี่ยงอะฟลาทอกซินของถั่วแต่ละชนิดที่เพาะปลูกในประเทศไทย และนำเข้าจากต่างประเทศ (ต่อ)

อาหาร	ช่วงอายุ	consumption (g/คน/day)		Exposure (ng/kg bw/day)		Potency (cancer case/year/100000people)	
				concentration 50% (18.40 ng/g)	concentration 97.5% (101.1 ng/g)	concentration 50%	concentration 97.5%
ถั่วลิสงอบ	3-5.9	per capita 50% mean	1.18	21.71	119.30	0.53	2.92
	6-12.9		1.34	24.66	135.47	0.60	3.32
	13-17.9		1.81	33.30	182.99	0.82	4.48
	18-34.9		1.09	20.06	110.20	0.49	2.70
	35-64.9		0.39	7.18	39.43	0.18	0.97
	65 ขึ้นไป		0.04	0.74	4.04	0.02	0.10
	3 ปีขึ้นไป		0.75	13.80	75.83	0.34	1.86
	3-5.9	per capita 97.5%	12.57	231.29	1270.83	5.67	31.14
	6-12.9		12.57	231.29	1270.83	5.67	31.14
	13-17.9		15.71	289.06	1588.28	7.08	38.91
	18-34.9		9.5	174.80	960.45	4.28	23.53
	35-64.9		3.14	57.78	317.45	1.42	7.78
	3 ปีขึ้นไป		6.79	124.94	686.47	3.06	16.82

2. ตารางประเมินความเสี่ยงอะฟลาทอกซินของถั่วแต่ละชนิดที่เพาะปลูกในประเทศไทย และนำเข้าจากต่างประเทศ (ต่อ)

อาหาร	ช่วงอายุ	consumption (g/คน/day)		Exposure (ng/kg bw/day)		Potency (cancer case/year/100000people)	
				concentration 50% (18.40 ng/g)	concentration 97.5% (101.1 ng/g)	concentration 50%	concentration 97.5%
ถั่วลิสงอบ	3-5.9	eater only 50% mean	21.75	400.20	2198.93	9.80	53.87
	6-12.9		28.98	533.23	2929.88	13.06	71.78
	13-17.9		32.78	603.15	3314.06	14.78	81.19
	18-34.9		33.21	611.06	3357.53	14.97	82.26
	35-64.9		31.27	575.37	3161.40	14.10	77.45
	65 ขึ้นไป		17.83	328.07	1802.61	8.04	44.16
	3 ปีขึ้นไป		30.97	569.85	3131.07	13.96	76.71
	3-5.9	eater only 97.5%	44	809.60	4448.40	19.84	108.99
	6-12.9		88	1619.20	8896.80	39.67	217.97
	13-17.9		95	1748.00	9604.50	42.83	235.31
	18-34.9		95	1748.00	9604.50	42.83	235.31
	35-64.9		95	1748.00	9604.50	42.83	235.31
	65 ขึ้นไป		23.75	437.00	2401.13	10.71	58.83
	3 ปีขึ้นไป		95	1748.00	9604.50	42.83	235.31

2. ตารางประเมินความเสี่ยงอะฟลาทอกซินของถั่วแต่ละชนิดที่เพาะปลูกในประเทศไทย และนำเข้าจากต่างประเทศ (ต่อ)

อาหาร	ช่วงอายุ	consumption (g/คน/day)		Exposure (ng/kg bw/day)		Potency (cancer case/year/100000people)	
				concentration 50% (18.40 ng/g)	concentration 97.5% (101.1 ng/g)	concentration 50%	concentration 97.5%
ถั่วลิสงทอด	3-5.9	per capita 50% mean	0.17	3.13	17.19	0.08	0.42
	6-12.9		0.2	3.68	20.22	0.09	0.50
	13-17.9		0.54	9.94	54.59	0.24	1.34
	18-34.9		0.72	13.25	72.79	0.32	1.78
	35-64.9		0.4	7.36	40.44	0.18	0.99
	65 ขึ้นไป		0.23	4.23	23.25	0.10	0.57
	3 ปีขึ้นไป		0.45	8.28	45.50	0.20	1.11
	3-5.9	per capita 97.5%	1.65	30.36	166.82	0.74	4.09
	6-12.9		2.36	43.42	238.60	1.06	5.85
	13-17.9		6.6	121.44	667.26	2.98	16.35
	18-34.9		9.43	173.51	953.37	4.25	23.36
	35-64.9		4.72	86.85	477.19	2.13	11.69
	65 ขึ้นไป		1.2	22.08	121.32	0.54	2.97
	3 ปีขึ้นไป		4.72	86.85	477.19	2.13	11.69

2. ตารางประเมินความเสี่ยงอะฟลาทอกซินของถั่วแต่ละชนิดที่เพาะปลูกในประเทศไทย และนำเข้าจากต่างประเทศ (ต่อ)

อาหาร	ช่วงอายุ	consumption (g/คน/day)		Exposure (ng/kg bw/day)		Potency (cancer case/year/100000people)	
				concentration 50% (18.40 ng/g)	concentration 97.5% (101.1 ng/g)	concentration 50%	concentration 97.5%
ถั่วลิสง ทอด	3-5.9	eater only 50% mean	24.08	443.07	2434.49	10.86	59.64
	6-12.9		32.81	603.70	3317.09	14.79	81.27
	13-17.9		37.38	687.79	3779.12	16.85	92.59
	18-34.9		34.38	632.59	3475.82	15.50	85.16
	35-64.9		32.51	598.18	3286.76	14.66	80.53
	65 ขึ้นไป		26.6	489.44	2689.26	11.99	65.89
	3 ปีขึ้นไป		32.75	602.60	3311.03	14.76	81.12
	3-5.9	eater only 97.5%	66	1214.40	6672.60	29.75	163.48
	6-12.9		72	1324.80	7279.20	32.46	178.34
	13-17.9		66	1214.40	6672.60	29.75	163.48
	18-34.9		72	1324.80	7279.20	32.46	178.34
	35-64.9		72	1324.80	7279.20	32.46	178.34
	65 ขึ้นไป		66	1214.40	6672.60	29.75	163.48
	3 ปีขึ้นไป		72	1324.80	7279.20	32.46	178.34

2. ตารางประเมินความเสี่ยงอะฟลาทอกซินของถั่วแต่ละชนิดที่เพาะปลูกในประเทศไทย และนำเข้าจากต่างประเทศ (ต่อ)

อาหาร	ช่วงอายุ	consumption (g/คน/day)		Exposure (ng/kg bw/day)		Potency (cancer case/year/100000people)	
				concentration 50% (18.40 ng/g)	concentration 97.5% (101.1 ng/g)	concentration 50%	concentration 97.5%
ถั่วลิสงทอด	3-5.9	eater only 50% mean	24.08	443.07	2434.49	10.86	59.64
	6-12.9		32.81	603.70	3317.09	14.79	81.27
	13-17.9		37.38	687.79	3779.12	16.85	92.59
	18-34.9		34.38	632.59	3475.82	15.50	85.16
	35-64.9		32.51	598.18	3286.76	14.66	80.53
	65 ขึ้นไป		26.6	489.44	2689.26	11.99	65.89
	3 ปีขึ้นไป		32.75	602.60	3311.03	14.76	81.12
	3-5.9	eater only 97.5%	66	1214.40	6672.60	29.75	163.48
	6-12.9		72	1324.80	7279.20	32.46	178.34
	13-17.9		66	1214.40	6672.60	29.75	163.48
	18-34.9		72	1324.80	7279.20	32.46	178.34
	35-64.9		72	1324.80	7279.20	32.46	178.34
	65 ขึ้นไป		66	1214.40	6672.60	29.75	163.48
	3 ปีขึ้นไป		72	1324.80	7279.20	32.46	178.34

2. ตารางประเมินความเสี่ยงอะฟลาทอกซินของถั่วแต่ละชนิดที่เพาะปลูกในประเทศไทย และนำเข้าจากต่างประเทศ (ต่อ)

อาหาร	ช่วงอายุ	consumption (g/คน/day)		Exposure (ng/kg bw/day)		Potency (cancer case/year/100000people)	
				concentration 50% (18.40 ng/g)	concentration 97.5% (101.1 ng/g)	concentration 50%	concentration 97.5%
ถั่วลิสงป่น	3-5.9	per capita 50% mean	0.11	2.02	11.12	0.05	0.27
	6-12.9		0.33	6.07	33.36	0.15	0.82
	13-17.9		0.55	10.12	55.61	0.25	1.36
	18-34.9		0.66	12.14	66.73	0.30	1.63
	35-64.9		0.29	5.34	29.32	0.13	0.72
	65 ขึ้นไป		0.09	1.66	9.10	0.04	0.22
	3 ปีขึ้นไป		0.38	6.99	38.42	0.17	0.94
	3-5.9	per capita 97.5%	1.26	23.18	127.39	0.57	3.12
	6-12.9		3.14	57.78	317.45	1.42	7.78
	13-17.9		3.77	69.37	381.15	1.70	9.34
	18-34.9		5.03	92.55	508.53	2.27	12.46
	35-64.9		3.14	57.78	317.45	1.42	7.78
	65 ขึ้นไป		1.26	23.18	127.39	0.57	3.12
	3 ปีขึ้นไป		3.77	69.37	381.15	1.70	9.34

2. ตารางประเมินความเสี่ยงอะฟลาทอกซินของถั่วแต่ละชนิดที่เพาะปลูกในประเทศไทย และนำเข้าจากต่างประเทศ (ต่อ)

อาหาร	ช่วงอายุ	consumption (g/คน/day)		Exposure (ng/kg bw/day)		Potency (cancer case/year/100000people)	
				concentration 50% (18.40 ng/g)	concentration 97.5% (101.1 ng/g)	concentration 50%	concentration 97.5%
ถั่วลิสงป่น	3-5.9	eater only 50% mean	3.89	71.58	393.28	1.75	9.64
	6-12.9		4.98	91.63	503.48	2.24	12.34
	13-17.9		5.75	105.80	581.33	2.59	14.24
	18-34.9		5.87	108.01	593.46	2.65	14.54
	35-64.9		5.02	92.37	507.52	2.26	12.43
	65 ขึ้นไป		4.15	76.36	419.57	1.87	10.28
	3 ปีขึ้นไป		5.31	97.70	536.84	2.39	13.15
	3-5.9	eater only 97.5%	8.8	161.92	889.68	3.97	21.80
	6-12.9		8.8	161.92	889.68	3.97	21.80
	13-17.9		8.8	161.92	889.68	3.97	21.80
	18-34.9		8.8	161.92	889.68	3.97	21.80
	35-64.9		8.8	161.92	889.68	3.97	21.80
	65 ขึ้นไป		8.8	161.92	889.68	3.97	21.80
	3 ปีขึ้นไป		8.8	161.92	889.68	3.97	21.80

3. ตารางประเมินความเสี่ยงอะฟลาทอกซินของถั่วแต่ละชนิดที่เพาะปลูกในประเทศไทย

อาหาร	ช่วงอายุ	consumption		Exposure (ng/kg bw/day)		Potency (cancer case/year/100000people)	
				concentration 50% (2.552)	concentration 97.5% (13.37)	concentration 50%	concentration 97.5%
ถั่วลิสงคั่ว	3-5.9	per capita 50% mean	0.84	2.14	11.23	0.05	0.28
	6-12.9		1.05	2.68	14.04	0.07	0.34
	13-17.9		1.12	2.86	14.97	0.07	0.37
	18-34.9		2.18	5.56	29.15	0.14	0.71
	35-64.9		0.67	1.71	8.96	0.04	0.22
	65 ขึ้นไป		0.44	1.12	5.88	0.03	0.14
	3 ปีขึ้นไป		1.11	2.83	14.84	0.07	0.36
	3-5.9	per capita 97.5%	9	22.97	120.33	0.56	2.95
	6-12.9		14.29	36.47	191.06	0.89	4.68
	13-17.9		12.86	32.82	171.94	0.80	4.21
	18-34.9		28.57	72.91	381.98	1.79	9.36
	35-64.9		7.15	18.25	95.60	0.45	2.34
	65 ขึ้นไป		3.34	8.52	44.66	0.21	1.09
	3 ปีขึ้นไป		12.86	32.82	171.94	0.80	4.21

3. ตารางประเมินความเสี่ยงอะฟลาทอกซินของถั่วแต่ละชนิดที่เพาะปลูกในประเทศไทย (ต่อ)

อาหาร	ช่วงอายุ	consumption		Exposure (ng/kg bw/day)		Potency (cancer case/year/100000people)	
				concentration 50% (2.552)	concentration 97.5% (13.37)	concentration 50%	concentration 97.5%
ถั่วลิสงคั่ว	3-5.9	eater only 50% mean	40.04	102.18	535.33	2.50	13.12
	6-12.9		56.68	144.65	757.81	3.54	18.57
	13-17.9		54.25	138.45	725.32	3.39	17.77
	18-34.9		50.92	129.95	680.80	3.18	16.68
	35-64.9		39.19	100.01	523.97	2.45	12.84
	65 ขึ้นไป		43.15	110.12	576.92	2.70	14.13
	3 ปีขึ้นไป		45.63	116.45	610.07	2.85	14.95
	3-5.9	eater only 97.5%	100	255.20	1337.00	6.25	32.76
	6-12.9		200	510.40	2674.00	12.50	65.51
	13-17.9		100	255.20	1337.00	6.25	32.76
	18-34.9		100	255.20	1337.00	6.25	32.76
	35-64.9		100	255.20	1337.00	6.25	32.76
	65 ขึ้นไป		200	510.40	2674.00	12.50	65.51
	3 ปีขึ้นไป		100	255.20	1337.00	6.25	32.76

3. ตารางประเมินความเสี่ยงอะฟลาทอกซินของถั่วแต่ละชนิดที่เพาะปลูกในประเทศไทย (ต่อ)

อาหาร	ช่วงอายุ	consumption		Exposure (ng/kg bw/day)		Potency (cancer case/year/100000people)	
				concentration 50% (2.552)	concentration 97.5% (13.37)	concentration 50%	concentration 97.5%
ถั่วลิสงอบ	3-5.9	per capita 50% mean	1.18	3.01	15.78	0.07	0.39
	6-12.9		1.34	3.42	17.92	0.08	0.44
	13-17.9		1.81	4.62	24.20	0.11	0.59
	18-34.9		1.09	2.78	14.57	0.07	0.36
	35-64.9		0.39	1.00	5.21	0.02	0.13
	65 ขึ้นไป		0.04	0.10	0.53	0.00	0.01
	3 ปีขึ้นไป		0.75	1.91	10.03	0.05	0.25
	3-5.9	per capita 97.5%	12.57	32.08	168.06	0.79	4.12
	6-12.9		12.57	32.08	168.06	0.79	4.12
	13-17.9		15.71	40.09	210.04	0.98	5.15
	18-34.9		9.5	24.24	127.02	0.59	3.11
	35-64.9		3.14	8.01	41.98	0.20	1.03
	65 ขึ้นไป		0	0.00	0.00	0.00	0.00
	3 ปีขึ้นไป		6.79	17.33	90.78	0.42	2.22

3. ตารางประเมินความเสี่ยงอะฟลาทอกซินของถั่วแต่ละชนิดที่เพาะปลูกในประเทศไทย (ต่อ)

อาหาร	ช่วงอายุ	consumption		Exposure (ng/kg bw/day)		Potency (cancer case/year/100000people)	
				concentration 50% (2.552)	concentration 97.5% (13.37)	concentration 50%	concentration 97.5%
ถั่วลิสงอบ	3-5.9	eater only 50% mean	21.75	55.51	290.80	1.36	7.12
	6-12.9		28.98	73.96	387.46	1.81	9.49
	13-17.9		32.78	83.65	438.27	2.05	10.74
	18-34.9		33.21	84.75	444.02	2.08	10.88
	35-64.9		31.27	79.80	418.08	1.96	10.24
	65 ขึ้นไป		17.83	45.50	238.39	1.11	5.84
	3 ปีขึ้นไป		30.97	79.04	414.07	1.94	10.14
	3-5.9	eater only 97.5%	44	112.29	588.28	2.75	14.41
	6-12.9		88	224.58	1176.56	5.50	28.83
	13-17.9		95	242.44	1270.15	5.94	31.12
	18-34.9		95	242.44	1270.15	5.94	31.12
	35-64.9		95	242.44	1270.15	5.94	31.12
	65 ขึ้นไป		23.75	60.61	317.54	1.48	7.78
	3 ปีขึ้นไป		95	242.44	1270.15	5.94	31.12

3. ตารางประเมินความเสี่ยงอะฟลาทอกซินของถั่วแต่ละชนิดที่เพาะปลูกในประเทศไทย (ต่อ)

อาหาร	ช่วงอายุ	consumption		Exposure (ng/kg bw/day)		Potency (cancer case/year/100000people)	
				concentration 50% (2.552)	concentration 97.5% (13.37)	concentration 50%	concentration 97.5%
ถั่วลิสงทอด	3-5.9	per capita 50% mean	0.17	0.43	2.27	0.01	0.06
	6-12.9		0.2	0.51	2.67	0.01	0.07
	13-17.9		0.54	1.38	7.22	0.03	0.18
	18-34.9		0.72	1.84	9.63	0.05	0.24
	35-64.9		0.4	1.02	5.35	0.03	0.13
	65 ขึ้นไป		0.23	0.59	3.08	0.01	0.08
	3 ปีขึ้นไป		0.45	1.15	6.02	0.03	0.15
	3-5.9	per capita 97.5%	1.65	4.21	22.06	0.10	0.54
	6-12.9		2.36	6.02	31.55	0.15	0.77
	13-17.9		6.6	16.84	88.24	0.41	2.16
	18-34.9		9.43	24.07	126.08	0.59	3.09
	35-64.9		4.72	12.05	63.11	0.30	1.55
	65 ขึ้นไป		1.2	3.06	16.04	0.08	0.39
	3 ปีขึ้นไป		4.72	12.05	63.11	0.30	1.55

3. ตารางประเมินความเสี่ยงอะฟลาทอกซินของถั่วแต่ละชนิดที่เพาะปลูกในประเทศไทย (ต่อ)

อาหาร	ช่วงอายุ	consumption		Exposure (ng/kg bw/day)		Potency (cancer case/year/100000people)	
				concentration 50% (2.552)	concentration 97.5% (13.37)	concentration 50%	concentration 97.5%
ถั่วลิสงทอด	3-5.9	eater only 50% mean	24.08	61.45	321.95	1.51	7.89
	6-12.9		32.81	83.73	438.67	2.05	10.75
	13-17.9		37.38	95.39	499.77	2.34	12.24
	18-34.9		34.38	87.74	459.66	2.15	11.26
	35-64.9		32.51	82.97	434.66	2.03	10.65
	65 ขึ้นไป		26.6	67.88	355.64	1.66	8.71
	3 ปีขึ้นไป		32.75	83.58	437.87	2.05	10.73
	3-5.9	eater only 97.5%	66	168.43	882.42	4.13	21.62
	6-12.9		72	183.74	962.64	4.50	23.58
	13-17.9		66	168.43	882.42	4.13	21.62
	18-34.9		72	183.74	962.64	4.50	23.58
	35-64.9		72	183.74	962.64	4.50	23.58
	65 ขึ้นไป		66	168.43	882.42	4.13	21.62
	3 ปีขึ้นไป		72	183.74	962.64	4.50	23.58

3. ตารางประเมินความเสี่ยงอะฟลาทอกซินของถั่วแต่ละชนิดที่เพาะปลูกในประเทศไทย (ต่อ)

อาหาร	ช่วงอายุ	consumption		Exposure (ng/kg bw/day)		Potency (cancer case/year/100000people)	
				concentration 50% (2.552)	concentration 97.5% (13.37)	concentration 50%	concentration 97.5%
ถั่วลิสงป่น	3-5.9	per capita 50% mean	0.11	0.28	1.47	0.01	0.04
	6-12.9		0.33	0.84	4.41	0.02	0.11
	13-17.9		0.55	1.40	7.35	0.03	0.18
	18-34.9		0.66	1.68	8.82	0.04	0.22
	35-64.9		0.29	0.74	3.88	0.02	0.09
	65 ขึ้นไป		0.09	0.23	1.20	0.01	0.03
	3 ปีขึ้นไป		0.38	0.97	5.08	0.02	0.12
	3-5.9	per capita 97.5%	1.26	3.22	16.85	0.08	0.41
	6-12.9		3.14	8.01	41.98	0.20	1.03
	13-17.9		3.77	9.62	50.40	0.24	1.23
	18-34.9		5.03	12.84	67.25	0.31	1.65
	35-64.9		3.14	8.01	41.98	0.20	1.03
	65 ขึ้นไป		1.26	3.22	16.85	0.08	0.41
	3 ปีขึ้นไป		3.77	9.62	50.40	0.24	1.23

3. ตารางประเมินความเสี่ยงอะฟลาทอกซินของถั่วแต่ละชนิดที่เพาะปลูกในประเทศไทย (ต่อ)

อาหาร	ช่วงอายุ	consumption		Exposure (ng/kg bw/day)		Potency (cancer case/year/100000people)	
				concentration 50% (2.552)	concentration 97.5% (13.37)	concentration 50%	concentration 97.5%
ถั่วลิสงป่น	3-5.9	eater only 50% mean	3.89	9.93	52.01	0.24	1.27
	6-12.9		4.98	12.71	66.58	0.31	1.63
	13-17.9		5.75	14.67	76.88	0.36	1.88
	18-34.9		5.87	14.98	78.48	0.37	1.92
	35-64.9		5.02	12.81	67.12	0.31	1.64
	65 ขึ้นไป		4.15	10.59	55.49	0.26	1.36
	3 ปีขึ้นไป		5.31	13.55	70.99	0.33	1.74
	3-5.9	eater only 97.5%	8.8	22.46	117.66	0.55	2.88
	6-12.9		8.8	22.46	117.66	0.55	2.88
	13-17.9		8.8	22.46	117.66	0.55	2.88
	18-34.9		8.8	22.46	117.66	0.55	2.88
	35-64.9		8.8	22.46	117.66	0.55	2.88
	65 ขึ้นไป		8.8	22.46	117.66	0.55	2.88
	3 ปีขึ้นไป		8.8	22.46	117.66	0.55	2.88

4. ตารางประเมินความเสี่ยงอะฟลาทอกซินของถั่วลิสงทั้งหมดที่จำหน่ายในประเทศ

อาหาร	ช่วงอายุ	consumption		Exposure (ng/kg bw/day)		Potency (cancer case/year/100000people)	
				concentration 50% (18.40 ng/g)	concentration 97.5% (101.1 ng/g)	concentration 50%	concentration 97.5%
ถั่วลิสง	3-5.9	per capita 50% mean	2.3	42.32	232.53	1.04	5.70
	6-12.9		2.92	53.73	295.21	1.32	7.23
	13-17.9		4.02	73.97	406.42	1.81	9.96
	18-34.9		4.65	85.56	470.12	2.10	11.52
	35-64.9		1.75	32.20	176.93	0.79	4.33
	65 ขึ้นไป		0.8	14.72	80.88	0.36	1.98
	3 ปีขึ้นไป		2.69	49.50	271.96	1.21	6.66
	3-5.9	per capita 97.5%	24.48	450.43	2474.93	11.04	60.64
	6-12.9		32.36	595.42	3271.60	14.59	80.15
	13-17.9		38.94	716.50	3936.83	17.55	96.45
	18-34.9		52.53	966.55	5310.78	23.68	130.11
	35-64.9		18.15	333.96	1834.97	8.18	44.96
	65 ขึ้นไป		5.8	106.72	586.38	2.61	14.37
	3 ปีขึ้นไป		28.14	517.78	2844.95	12.69	69.70

4. ตารางประเมินความเสี่ยงอะฟลาทอกซินของถั่วลิสงทั้งหมดที่จำหน่ายในประเทศ (ต่อ)

อาหาร	ช่วงอายุ	consumption		Exposure (ng/kg bw/day)		Potency (cancer case/year/100000people)	
				concentration 50% (18.40 ng/g)	concentration 97.5% (101.1 ng/g)	concentration 50%	concentration 97.5%
ถั่วลิสง	3-5.9	eater only 50% mean	89.76	1651.58	9074.74	40.46	222.33
	6-12.9		123.45	2271.48	12480.80	55.65	305.78
	13-17.9		130.16	2394.94	13159.18	58.68	322.40
	18-34.9		124.38	2288.59	12574.82	56.07	308.08
	35-64.9		107.99	1987.02	10917.79	48.68	267.49
	65 ขึ้นไป		91.73	1687.83	9273.90	41.35	227.21
	3 ปีขึ้นไป		114.66	2109.74	11592.13	51.69	284.01
	3-5.9	eater only 97.5%	218.8	4025.92	22120.68	98.64	541.96
	6-12.9		368.8	6785.92	37285.68	166.26	913.50
	13-17.9		269.8	4964.32	27276.78	121.63	668.28
	18-34.9		275.8	5074.72	27883.38	124.33	683.14
	35-64.9		275.8	5074.72	27883.38	124.33	683.14
	65 ขึ้นไป		298.55	5493.32	30183.41	134.59	739.49
	3 ปีขึ้นไป		275.8	5074.72	27883.38	124.33	683.14

5. ตารางประเมินความเสี่ยงอะฟลาทอกซินของถั่วลิสงทั้งหมดที่เพาะปลูกในประเทศไทย

อาหาร	ช่วงอายุ	consumption		Exposure (ng/kg bw/day)		Potency (cancer case/year/100000people)	
				Exposure (ng/kg bw/day)	concentration 97.5% (13.37)	concentration 50%	concentration 97.5%
ถั่วลิสง	3-5.9	per capita 50% mean	2.3	5.87	30.75	0.14	0.75
	6-12.9		2.92	7.45	39.04	0.18	0.96
	13-17.9		4.02	10.26	53.75	0.25	1.32
	18-34.9		4.65	11.87	62.17	0.29	1.52
	35-64.9		1.75	4.47	23.40	0.11	0.57
	65 ขึ้นไป		0.8	2.04	10.70	0.05	0.26
	3 ปีขึ้นไป		2.69	6.86	35.97	0.17	0.88
	3-5.9	per capita 97.5%	24.48	62.47	327.30	1.53	8.02
	6-12.9		32.36	82.58	432.65	2.02	10.60
	13-17.9		38.94	99.37	520.63	2.43	12.76
	18-34.9		52.53	134.06	702.33	3.28	17.21
	35-64.9		18.15	46.32	242.67	1.13	5.95
	65 ขึ้นไป		5.8	14.80	77.55	0.36	1.90
	3 ปีขึ้นไป		28.14	71.81	376.23	1.76	9.22

5. ตารางประเมินความเสี่ยงอะฟลาทอกซินของถั่วลิสงทั้งหมดที่เพาะปลูกในประเทศไทย (ต่อ)

อาหาร	ช่วงอายุ	consumption		Exposure (ng/kg bw/day)		Potency (cancer case/year/100000people)	
				Exposure (ng/kg bw/day)	concentration 97.5% (13.37)	concentration 50%	concentration 97.5%
ถั่วลิสง	3-5.9	eater only 50% mean	89.76	229.07	1200.09	5.61	29.40
	6-12.9		123.45	315.04	1650.53	7.72	40.44
	13-17.9		130.16	332.17	1740.24	8.14	42.64
	18-34.9		124.38	317.42	1662.96	7.78	40.74
	35-64.9		107.99	275.59	1443.83	6.75	35.37
	65 ขึ้นไป		91.73	234.09	1226.43	5.74	30.05
	3 ปีขึ้นไป		114.66	292.61	1533.00	7.17	37.56
	3-5.9	eater only 97.5%	218.8	558.38	2925.36	13.68	71.67
	6-12.9		368.8	941.18	4930.86	23.06	120.81
	13-17.9		269.8	688.53	3607.23	16.87	88.38
	18-34.9		275.8	703.84	3687.45	17.24	90.34
	35-64.9		275.8	703.84	3687.45	17.24	90.34
	65 ขึ้นไป		298.55	761.90	3991.61	18.67	97.79
	3 ปีขึ้นไป		275.8	703.84	3687.45	17.24	90.34

ภาคผนวก ข.

มาตรฐานสินค้าเกษตร มกษ. 4702-2557

เมล็ดถั่วลิสง: ข้อกำหนดปริมาณอะฟลาทอกซิน

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มาตรฐานสินค้าเกษตร เมล็ดถั่วลิสง: ข้อกำหนดปริมาณอะฟลาทอกซิน

1. ขอบข่าย

มาตรฐานสินค้าเกษตรนี้ กำหนดปริมาณและการควบคุมอะฟลาทอกซินในเมล็ดถั่วลิสงแห้งดิบที่นำมาใช้ เป็นอาหาร เพื่อบังคับใช้ในการผลิต การค้า และการควบคุมตรวจสอบเมล็ดถั่วลิสงแห้งดิบที่ผลิต นำเข้า หรือส่งออก

2. นิยาม

ความหมายของคำที่ใช้ในมาตรฐานสินค้าเกษตรนี้ มีดังต่อไปนี้

2.1 อะฟลาทอกซิน (aflatoxin) หมายถึง สารพิษที่สร้างขึ้นโดยเชื้อรา โดยเฉพาะแอสเพอร์จิลลัส ฟลาวัส (Aspergillus flavus) และแอสเพอร์จิลลัส พาราซิติคัส (Aspergillus parasiticus) อะฟลาทอกซิน โดยทั่วไปที่พบในถั่วลิสง มี 4 ชนิด คือ อะฟลาทอกซิน บี1 (B1) บี2 (B2) จี1 (G1) และจี2 (G2)

2.2 อะฟลาทอกซินทั้งหมด (total aflatoxins) หมายถึง ผลรวมของปริมาณอะฟลาทอกซินบี1 (B1) บี2 (B2) จี1 (G1) และจี2 (G2)

2.3 ถั่วลิสงแห้งทั้งเปลือก (dried in-shell peanut) หมายถึง ฝักถั่วลิสงที่ปลิดออกจากต้น และนำไปตาก หรืออบให้แห้งแล้ว

2.4 เมล็ดถั่วลิสง (peanut kernel) หมายถึง เมล็ดที่ได้หลังจากการนำถั่วลิสงแห้งทั้งเปลือกไปกะเทาะ เปลือกออกแล้วได้เมล็ดถั่วลิสงแห้งดิบ ไม่รวมถึงเมล็ดถั่วลิสงที่ใช้ทำพันธุ์

2.5 ผู้ผลิตเมล็ดถั่วลิสง (peanut kernel producer) หมายถึง ผู้ที่นำถั่วลิสงแห้งทั้งเปลือกมากะเทาะแยก เมล็ดถั่วลิสงออกได้เมล็ดถั่วลิสงแห้งดิบเพื่อการค้า ทั้งนี้รวมถึงผู้รวบรวม ผู้บรรจุหีบห่อ และคลังสินค้า เมล็ดถั่วลิสง เพื่อการค้า

3. ข้อกำหนดปริมาณอะฟลาทอกซิน และการควบคุม

3.1 ปริมาณอะฟลาทอกซินทั้งหมด (total aflatoxins) ในเมล็ดถั่วลิสงต้องไม่เกิน 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม

3.2 ผู้ผลิตเมล็ดถั่วลิสงต้องมีมาตรการควบคุมการผลิต ดังต่อไปนี้

3.2.1 คัดแยกเมล็ดขึ้นรา เมล็ดแตกหัก เมล็ดเสียหาย และสิ่งแปลกปลอมก่อนส่งจำหน่าย และบันทึก ข้อมูลการคัดแยกเมล็ดไว้เป็นหลักฐาน โดยเมล็ดที่มีข้อบกพร่องที่คัดออกต้องแยกเก็บในภาชนะที่ติดป้าย บ่งชี้อย่างชัดเจน และห้ามนำไปจำหน่ายเพื่อบริโภคหรือแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงที่ใช้เป็นอาหาร

เอกสารนี้ใช้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2 เพื่อให้มั่นใจว่าเมล็ดถั่วลิสงที่ส่งจำหน่ายมีปริมาณอะฟลาทอกซินไม่เกินปริมาณที่กำหนดในข้อ 3.1 ผู้ผลิตเมล็ดถั่วลิสง ในกรณีของโรงกะเทาะต้องตรวจสอบปริมาณอะฟลาทอกซินในเมล็ดถั่วลิสงทุกรุ่น ก่อนจำหน่าย ในกรณีของผู้รวบรวม ผู้บรรจุหีบห่อ และคลังสินค้า ให้สุ่มตรวจสอบปริมาณอะฟลาทอกซิน ในเมล็ดถั่วลิสงที่อยู่ระหว่างเก็บรักษา และเก็บบันทึกข้อมูลผลการตรวจสอบนั้นไว้เพื่อให้ผู้ประกอบการ ตรวจสอบมาตรฐาน หรือให้พนักงานเจ้าหน้าที่ตรวจประเมินเมื่อได้รับการร้องขอ

3.2.3 ให้เก็บบันทึกข้อมูลตามข้อ 3.2.1 และ 3.2.2 ไว้ไม่น้อยกว่า 2 ปี

3.3 ผู้ส่งออกเมล็ดถั่วลิสงต้องแสดงหลักฐานว่าเมล็ดถั่วลิสงที่ส่งออกเป็นเมล็ดถั่วลิสงที่ผลิตมาจากผู้ผลิต เมล็ดถั่วลิสงที่ได้รับใบอนุญาตและใบรับรองตามมาตรฐานสินค้าเกษตรฉบับนี้ พร้อมผลการตรวจสอบ ปริมาณอะฟลาทอกซิน ซึ่งมีปริมาณไม่เกินมาตรฐานที่กำหนดของประเทศคู่ค้า

3.4 ผู้นำเข้าเมล็ดถั่วลิสงต้องแสดงหลักฐานว่าเมล็ดถั่วลิสงที่นำเข้าผลิตมาจากผู้ผลิตที่มีการควบคุมการผลิต ตามข้อ 3.2 และมีผลการตรวจสอบอะฟลาทอกซินไม่เกินปริมาณที่กำหนดในข้อ 3.1 จากหน่วยราชการ ที่มีอำนาจหน้าที่ หรือห้องปฏิบัติการที่เป็นที่ยอมรับ

4. วิธีชักตัวอย่าง

การชักตัวอย่างให้ใช้วิธีชักตัวอย่างที่กำหนดในภาคผนวกของเอกสารมาตรฐานทั่วไปสำหรับสารปนเปื้อน และสารพิษในอาหารและอาหารสัตว์ (CODEX STAN 193 General Standard for Contaminants and Toxins in Food and Feed)

5. วิธีวิเคราะห์อะฟลาทอกซิน

5.1 วิธีวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินทั้งหมดให้ใช้ตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 วิธีวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินทั้งหมด

ข้อกำหนด	วิธีวิเคราะห์	หลักการ
ปริมาณอะฟลาทอกซินทั้งหมด	เอโอเอซี (AOAC) 991.31	อิมมูโนแอฟฟินิตีคอลัมน์ (Immunoaffinity column; Aflatest)
	เอโอเอซี(AOAC) 993.17	โครมาโทกราฟีแบบชั้นบาง (Thin layer
	เอโอเอซี (AOAC) 975.36	โรเมอร์มินิคอลัมน์ (Romer minicolumn)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ข้อกำหนด	วิธีวิเคราะห์	หลักการ
ปริมาณอะฟลาทอกซินทั้งหมด	อีเอ็น (EN) 12955 ไอเอสโอ (ISO) 16050	โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ที่มี โพสต์คอลัมน์ดีไรเวไทเซชัน และอิมมูโนแอฟฟินิตีคอลัมน์สำหรับทำความสะอาด (HPLC with post column derivatization and immunoaffinity column clean up)
	เอโอเอซี (AOAC) 979.18	ฮอลาเดย์เวลาสโค มินิคอลัมน์ (HoladayVelasco minicolumn)

5.2 กรณีที่ไม่สามารถใช้วิธีวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินทั้งหมดตามตารางที่ 1 ให้เลือกวิธีอื่นที่พิจารณาแล้ว ว่าเป็นวิธีวิเคราะห์ที่สามารถตรวจวิเคราะห์อะฟลาทอกซินที่ปริมาณเท่ากับหรือต่ำกว่าค่าปริมาณ อะฟลาทอกซินสูงสุดตามข้อ 3.1 และเป็นวิธีที่มีคุณสมบัติการใช้งาน (performance characteristics) เหมาะสม และเป็นไปตามหลักเกณฑ์ข้อใดข้อหนึ่ง ดังต่อไปนี้

5.2.1 เป็นวิธีวิเคราะห์ที่ประกาศโดยองค์การแห่งชาติ หรือองค์การระหว่างประเทศด้านมาตรฐาน หรือ ตีพิมพ์ในเอกสารคู่มือ หรือสิ่งตีพิมพ์ที่เป็นที่ยอมรับระดับสากล

5.2.2 เป็นวิธีวิเคราะห์ที่มีผลการประเมินความใช้ได้ (validation) ของผลการทดสอบว่ามีความถูกต้อง และเหมาะสม โดยห้องปฏิบัติการที่มีการร่วมศึกษากับเครือข่าย (collaborative study) ตามหลักเกณฑ์ ที่สอดคล้องกับองค์การนานาชาติซึ่งเป็นที่ยอมรับทั่วไป

5.2.3 กรณีไม่มีวิธีวิเคราะห์ตาม 5.2.1 หรือ 5.2.2 ให้ใช้วิธีวิเคราะห์ที่ได้ประเมินความใช้ได้ของผลการทดสอบ ว่ามีความถูกต้องและเหมาะสมโดยห้องปฏิบัติการที่มีระบบคุณภาพแห่งเดียว (single laboratory validation) ตามหลักเกณฑ์ที่เป็นที่ยอมรับในระดับระหว่างประเทศ

5.2.4 ชุดตรวจสอบอะฟลาทอกซิน (aflatoxin test kit) ให้ใช้กับการคัดกรองเบื้องต้นสำหรับการควบคุม และการตรวจสอบอะฟลาทอกซินโดยผู้ผลิตเมล็ดถั่วลิสงตามข้อ 3.2.2 โดยต้องเป็นชุดตรวจสอบที่ผ่าน การประเมินความใช้ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาว วิรตี ปัญจานนท์
วัน เดือน ปีเกิด	21 พฤศจิกายน 2533
ที่อยู่	594/537 คอนโดป.ปิ่นเกล้า ถ.แก้วเงินทอง แขวงคลองชักพระ เขตตลิ่งชัน กรุงเทพฯ 10170 โทร.085-9167442
ประวัติการศึกษา	2550 - 2554 วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหารและโภชนาการ (เกียรตินิยมอันดับ1) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร
ความชำนาญเฉพาะด้าน	1.) วิเคราะห์อาหารทางด้านเคมี เช่น วัตถุเจือปนอาหาร วิตามิน และสารพิษจากเชื้อรา
ประสบการณ์การทำงาน พ.ศ.2557-ปัจจุบัน	ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ สถาบันอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้