สารพิษ
จากเชื้อราในผลิตผลเกษตร

กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว
และแปรรูปผลิตผลเกษตร
กรมวิชาการเกษตร

สารพิษ
จากเชื้อราในผลิตผลเกษตร

กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว
และแปรรูปผลิตผลเกษตร
กรมวิชาการเกษตร

สารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตร

ที่ปรึกษา

อมรา ชินภูติ
นุชนาฏ ณ ระนอง
สุปรียา ศุขเกษม

คณะทำงาน

จารุวรรณ บางแวก
รัมม์พัน โกศลานันท์
ชวเลิศ ตรีกรุณาสวัสดิ์
บุญญวดี จิระวุฒิ
รัตตา สุทธยาคม
เนตรา สมบูรณ์แก้ว
ศุภรา อัคคะสาระกุล
อัจฉราพร ศรีจุดานุ
สุพี วนศิรากุล

เลขมาตรฐานหนังสือ: ISBN 978-974-436-903-1

สงวนลิขสิทธิ์ตามพระราชบัญญัติลิขสิทธิ์ พ.ศ. 2537

พิมพ์ครั้งที่ 1 : พฤษภาคม 2560
จัดพิมพ์โดย : กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900
พิมพ์ที่ : บริษัท เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด จตุจักร กรุงเทพฯ

คำนำ

กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร ได้จัดทำคู่มือเรื่องสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตร สำหรับนักวิชาการ เจ้าหน้าที่ เกษตรกร ผู้ประกอบการ นักศึกษา และผู้สนใจ เป็นคู่มือที่อธิบายที่มา ความสำคัญ ลักษณะ อันตรายผลกระทบของสารพิษจากเชื้อรา พร้อมทั้งอธิบายวิธีการป้องกันและลดการปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตร อาหาร และอาหารสัตว์ ด้วยเนื้อหาที่เข้าใจง่ายและกระชับ

ขอขอบคุณคณะจัดทำองค์ความรู้ที่รวบรวม แก้ไข และจัดทำคู่มือ รวมทั้งผู้เกี่ยวข้องทุกท่านที่ให้ข้อคิดเห็นในการปรับปรุงเพื่อให้คู่มือฉบับนี้มีความสมบูรณ์ หวังว่าคู่มือสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตรนี้ จะเป็นประโยชน์แก่ผู้สนใจทุกท่าน สำหรับนำไปปรับใช้เพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อราและสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตรต่อไป

(นายธีรชาต วิชิตชลชัย)
ผู้อำนวยการกองวิจัยและพัฒนา
วิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

สารบัญ

เรื่อง		หน้า
บทที่ 1	**ความสำคัญของสารพิษจากเชื้อรา**	**1**
	ข้อกำหนดปริมาณสารพิษจากเชื้อรา	4
บทที่ 2	**เชื้อราที่สร้างสารพิษ**	**7**
	เชื้อรากลุ่ม *Aspergillus*	8
	เชื้อรากลุ่ม *Penicillium*	14
	เชื้อรากลุ่ม *Fusarium*	17
	เชื้อรากลุ่ม *Alternaria*	20
บทที่ 3	**สารพิษจากเชื้อรา**	**23**
	แอฟลาทอกซิน	23
	ฟูโมนิซิน	26
	โอคราทอกซิน	28
	ไตรโคทีซีน	30
	ซีราลิโนน	33
	พาทูลิน	34
บทที่ 4	**ปัจจัยในการสร้างสารพิษของเชื้อรา**	**35**
	ปัจจัยที่ทำให้เชื้อราเจริญและสร้างสารพิษ	35
บทที่ 5	**การปนเปื้อนของเชื้อราและสารพิษจากเชื้อราในกระบวนการผลิต**	**41**
	การปนเปื้อนของเชื้อราที่สร้างสารพิษในผลิตผลเกษตร	42
	การปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซิน	44
	การปนเปื้อนของสารพิษฟูโมนิซิน	47
	การปนเปื้อนของสารโอคราทอกซิน	48
	การปนเปื้อนของสารพิษไตรโคทีซีน	52
	การปนเปื้อนของสารพิษซีราลิโนน	52
	การปนเปื้อนของสารพิษพาทูลิน	53

บทที่ 6 วิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษจากเชื้อรา **55**
ประเภทของวิธีวิเคราะห์ 56
วิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษจากเชื้อรา 57
ชีววิธี 57
วิธีทางเคมี 57
วิธีทางอิมมูนวิทยา 66
บทที่ 7 การจัดการสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตร **73**
ระบบการจัดการสารพิษจากเชื้อรา 74
แผนการการจัดการสารพิษจากเชื้อราเพื่อความปลอดภัยของอาหาร 76
การจัดการสารพิษจากเชื้อราแบบผสมผสาน 77
การลดและกำจัดสารพิษจากเชื้อราหลังการเก็บเกี่ยว 80
บรรณานุกรม **86**

บทที่ 1 ความสำคัญของสารพิษจากเชื้อรา

ผลิตผลเกษตรเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญของประชากรทั้งโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งผลิตผลประเภทธัญพืช ซึ่งเป็นแหล่งของคาร์โบไฮเดรต ด้วยเหตุนี้ทุกชาติต่างก็ให้ความสำคัญต่อธัญพืชทั้งด้านปริมาณและคุณภาพในการผลิต เนื่องจากประชากรโลกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกปี ทุกประเทศต่างมีความกังวลว่าอาหารจะไม่เพียงพอสำหรับบริโภค เพื่อให้เกิดความมั่นคงทางอาหาร (food security) การจัดการอาหารให้เพียงพอ มีคุณค่าทางโภชนาการ และมีความปลอดภัยสำหรับมนุษย์ จึงเป็นสิ่งที่ทุกประเทศให้ความสนใจ และเตรียมพร้อมรับมือ ดังนั้นในการผลิตผลิตผลเกษตรเพื่อเป็นอาหาร (ภาพที่ 1.1) นอกจากจะคำนึงถึงการลดความสูญเสียทางด้านปริมาณ และคุณภาพแล้ว ปัจจุบันทุกประเทศจะให้ความสำคัญกับความปลอดภัยของอาหาร (food safety) กันมากขึ้นเพื่อสุขอนามัยของผู้บริโภค

ภาพที่ 1.1 การผลิตและการเก็บรักษาผลิตผลเกษตรเพื่อเป็นอาหาร
ก) แปลงปลูกข้าวโพด ข) โกดังเก็บข้าว

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมที่มีความอุดมสมบูรณ์ทั้งแหล่งเพาะปลูก ความหลากหลายของพันธุ์พืช และสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม สามารถผลิตสินค้าเกษตรได้ตลอดทั้งปี มีเทคโนโลยีการเพิ่มผลผลิตที่ทันสมัย มีการลงทุนในกระบวนการผลิตเพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีทั้งปริมาณและคุณภาพเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งในและต่างประเทศ แต่ปัญหาที่เกิดขึ้นในระหว่างการเพาะปลูก และหลังการเก็บเกี่ยวที่อาจส่งผลกระทบต่อความสูญเสียของผลผลิตทั้งด้านปริมาณและคุณภาพ ซึ่งความสูญเสียมีสาเหตุหลักมาจาก 1) การเข้าทำลายของแมลงศัตรู 2) การเข้าทำลายของจุลินทรีย์ เช่น เชื้อรา แบคทีเรีย และไวรัส เป็นต้น 3) การเปลี่ยนแปลงทางสรีระของผลิตผลเกษตร และ 4) เกิดจากการกระทำของมนุษย์และสภาพแวดล้อม สาเหตุเหล่านี้ทำให้ผลิตผลเกษตรเกิดการเน่าเสีย คุณภาพไม่ได้ตามมาตรฐาน และไม่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค การสูญเสียของผลิตผลเกษตรหลังการเก็บเกี่ยวสามารถเกิดขึ้นได้ตั้งแต่ก่อนการเก็บเกี่ยว ระหว่างการเก็บเกี่ยว ระหว่างการเก็บรักษา และการขนส่งจนถึงมือผู้บริโภค

การสูญเสียของผลิตผลเกษตรทั้งด้านคุณภาพและความปลอดภัย ส่วนใหญ่จะมีสาเหตุจากการเข้าทำลายของจุลินทรีย์ ได้แก่ เชื้อรา และแบคทีเรีย โดยเฉพาะเชื้อรา (ภาพที่ 1.2) นอกจากจะเป็นสาเหตุการเน่าเสียของผลิตผลเกษตรโดยตรงแล้ว เชื้อราบางกลุ่มยังสร้างสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) ที่เป็นพิษทิ้งไว้ในผลิตผลเกษตรด้วย

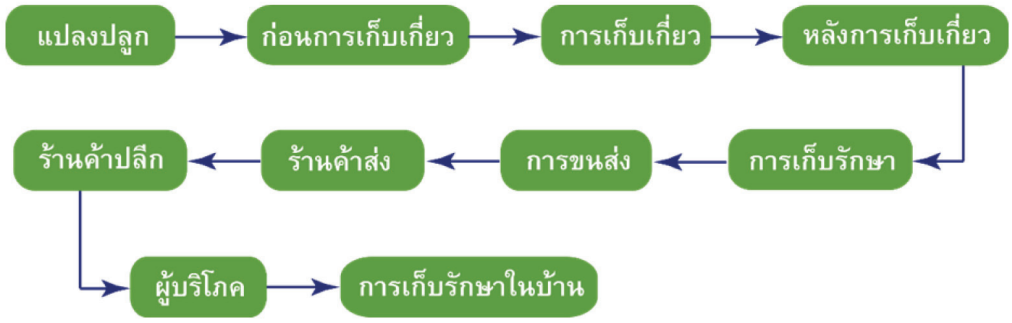
ภาพที่ 1.2 เมล็ดถั่วลิสงที่มีการปนเปื้อนของเชื้อรา *Aspergillus flavus*

มีการบันทึกตั้งแต่สมัยยุคกลาง พบว่ามีการระบาดของโรค holy fire ในยุโรป ประชาชนเจ็บป่วย เกิดแผลเรื้อรังตามแขนขา มีอาการปวด ชัก เพ้อคลั่ง และเสียชีวิตเป็นจำนวนมาก เนื่องจากบริโภคขนมปังที่ทำจากข้าวไรน์ที่มีการปนเปื้อนของเชื้อรา *Claviceps purpurea* ที่สร้างสารพิษเออร์กอตแอลคาลอยด์ (ergot alkaloid) ต่อมาในปี 1913 พบโรคระบาดในประเทศรัสเซีย มีประชาชนเจ็บป่วยและล้มตาย ด้วยโรค alimentary toxic aleukia (ATA) เนื่องจากบริโภคเมล็ดธัญพืชที่มีการปนเปื้อนของเชื้อรากลุ่ม *Fusarium* และ *Cladosporium* ที่สร้างสารพิษกลุ่มไตรโคทีซีน (trichothecenes) และในปี ค.ศ. 1952 ได้เกิดโรคระบาด balkan endemic nephropathy (BKN) ทำให้ระบบการทำงานของไตผิดปกติ ซึ่งพบว่าเกี่ยวข้องกับสารโอคราทอกซิน (ochratoxins) ที่ปนเปื้อนในอาหาร สารพิษชนิดนี้สามารถสร้างโดยเชื้อรา *Aspergillus* sp. และ *Penicillium* sp. และยังพบการล้มตาย

ของปศุสัตว์เป็นจำนวนมากที่มีสาเหตุจากการปนเปื้อนของเชื้อราในช่วงเวลาต่างๆ ต่อมาในปี ค.ศ. 1960 ที่ประเทศอังกฤษเกิดการระบาดของโรค turkey x disease ทำให้ไก่งวงตายเป็นจำนวนมาก ตั้งแต่นั้นมาประชาชนเริ่มมีความตระหนักถึงผลร้ายที่เกิดจากสารพิษจากเชื้อรา และเริ่มศึกษาวิจัยด้วยสหวิชาการอย่างเป็นระบบ จนในที่สุดค้นพบว่า การตายของไก่งวงเกิดจากการกินอาหารที่มีส่วนผสมของกากถั่วลิสงที่ปนเปื้อนเชื้อรา *Aspergillus flavus* และสารแอฟลาทอกซิน (aflatoxins) ซึ่งเป็นสารพิษที่สร้างขึ้นโดยเชื้อราปนเปื้อนอยู่ในกากถั่วลิสงนั้น

ความเป็นพิษของสารพิษจากเชื้อราต่อมนุษย์มีรายงานในหลายประเทศ เช่น ในปี ค.ศ. 1974 ที่ประเทศอินเดีย พบประชากรเป็นโรค aflatoxicosis ประมาณ 397 คน และเสียชีวิต 108 คน ซึ่งการเสียชีวิตพบว่า เกิดจากการบริโภคข้าวโพดที่มีการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินปริมาณ 0.25–15 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และพบว่ามีการบริโภคสารแอฟลาทอกซิน บี1 ต่อวันในปริมาณมากถึง 55 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ในปี ค.ศ. 1982 ที่ประเทศเคนย่า พบว่า 60% ของผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล 20 แห่ง เสียชีวิต เนื่องจากบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนสารแอฟลาทอกซินปริมาณ 38 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน ขณะที่ประเทศจีน พบประชากรป่วยเป็นโรคมะเร็งหลอดอาหาร เนื่องจากได้รับสารพิษฟูโมนิซิน (fumonisin) ที่ปนเปื้อนในธัญพืชและผลิตภัณฑ์ที่บริโภค

ปัจจุบันทุกประเทศทราบและตระหนักถึงอันตรายของสารพิษจากเชื้อราที่ปนเปื้อนในผลิตผลเกษตรที่เป็นอาหารและอาหารสัตว์ ซึ่งเกิดขึ้นได้ในทุกขั้นตอนการผลิตตั้งแต่แปลงปลูกจนถึงผู้บริโภค (ภาพที่ 1.3) นอกจากจะได้รับผลกระทบโดยตรงจากการบริโภคอาหารที่ปนเปื้อนสารพิษแล้ว มนุษย์ก็มีโอกาสได้รับสารพิษจากการบริโภคเนื้อสัตว์ หรือผลิตภัณฑ์จากสัตว์นั้นด้วย เช่น โคนมเมื่อบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนสารแอฟลาทอกซิน บี1 เข้าไป น้ำนมดิบที่ผลิตได้ก็มีโอกาสปนเปื้อนสารแอฟลาทอกซิน เอ็ม1 ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของสารแอฟลาทอกซิน บี1 และมีความเป็นพิษเช่นเดียวกัน เพื่อเป็นการคุ้มครองประชาชนผู้บริโภคให้ได้บริโภคอาหารที่ปลอดภัย จึงมีการกำหนดปริมาณสูงสุดของสารพิษที่อนุญาตให้มีได้ในผลิตผลเกษตรที่เป็นอาหารและอาหารสัตว์ แต่ละประเทศจะมีการกำหนดค่าแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับโอกาสที่ประชากรจะได้รับสารพิษนั้นๆ



ภาพที่ 1.3 ขั้นตอนการผลิตอาหารตั้งแต่แปลงปลูกจนถึงผู้บริโภคที่มีโอกาสปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อรา

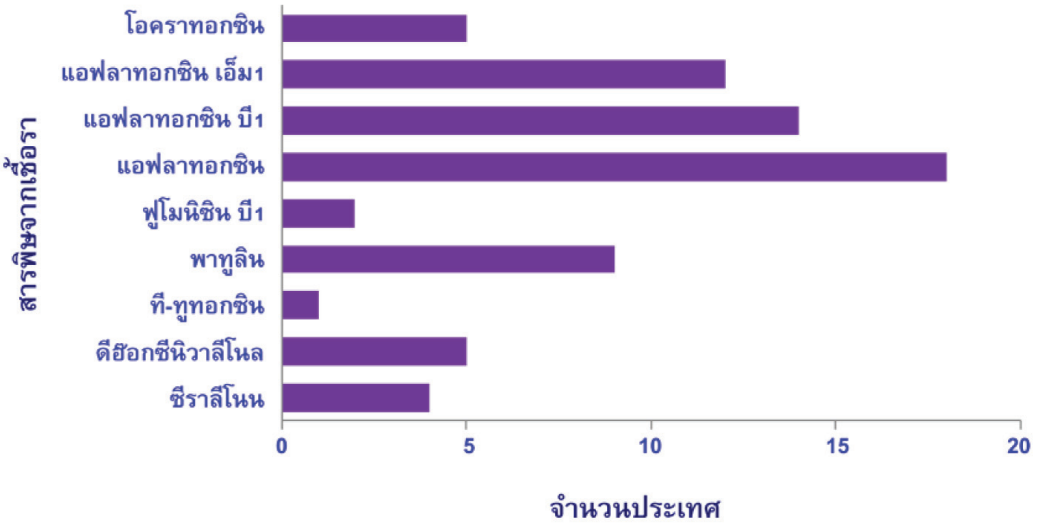
ข้อกำหนดปริมาณสารพิษจากเชื้อรา

เพื่อคุ้มครองความปลอดภัยของผู้บริโภค แต่ละประเทศได้กำหนดระดับปริมาณสารพิษจากเชื้อราสูงสุดที่อนุญาตให้ปนเปื้อนได้ (Maximum Level: ML) ในผลิตผลเกษตร และผลิตภัณฑ์ชนิดต่าง ๆ ซึ่งข้อกำหนดที่แตกต่างกันในแต่ละประเทศขึ้นอยู่กับข้อมูลพื้นฐานที่ใช้อ้างอิง ดังนี้

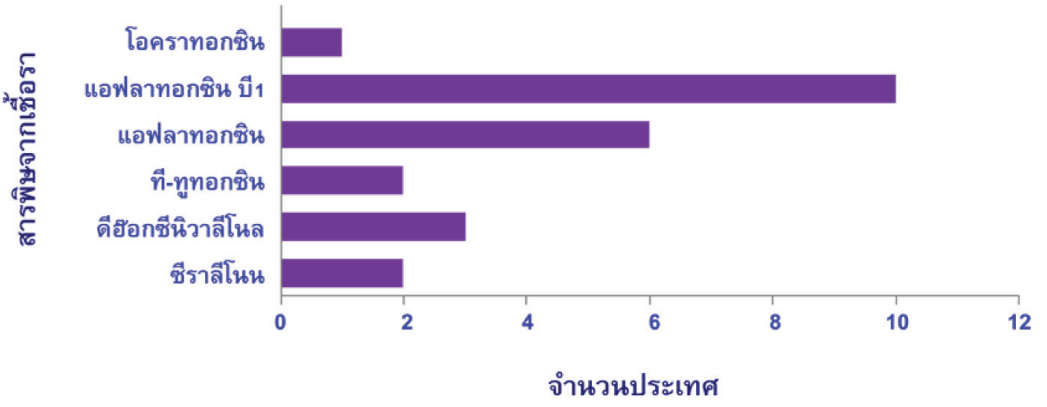
1. ความเสี่ยงของผู้บริโภคที่มีโอกาสสัมผัสสารพิษนั้นๆ
2. โอกาสการเกิดสารพิษจากเชื้อราในแต่ละประเทศ
3. ความเป็นพิษของสารพิษชนิดนั้น ๆ
4. นโยบายของแต่ละประเทศ

ML (Maximum Level) คือ ระดับปริมาณสูงสุดของสารพิษจากเชื้อราที่ยอมให้ปนเปื้อนได้ในอาหาร และอาหารสัตว์ โดยทั่วไปจะกำหนดไว้ในระดับที่ต่ำกว่าระดับความปลอดภัยของสารพิษจากเชื้อราแต่ละชนิดที่ร่างกายสามารถรับได้ในแต่ละวันตลอดชีวิต (ADI: Acceptable Daily Intake)

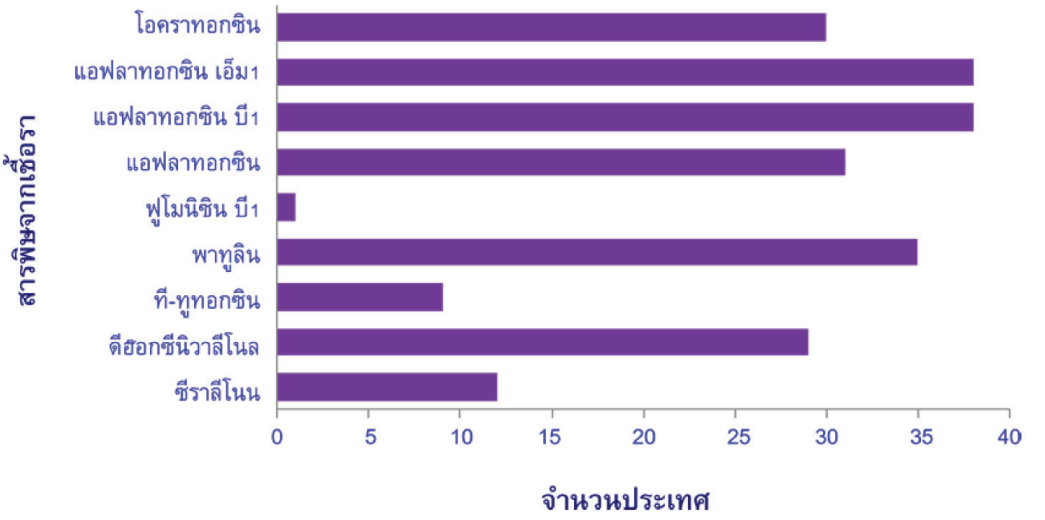
กว่า 99 ประเทศทั่วโลก ทั้งในเอเชีย ยุโรป และประเทศในมหาสมุทรแปซิฟิค ได้มีการกำหนดค่าปริมาณสูงสุดที่อนุญาตให้ปนเปื้อนได้ของสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตร และผลิตภัณฑ์ชนิดต่าง ๆ ซึ่งสารพิษที่หลาย ๆ ประเทศ ให้ความสำคัญมากที่สุด ได้แก่ สารแอฟลาทอกซิน (ภาพที่ 1.4 1.5 และ 1.6)



ภาพที่ 1.4 จำนวนประเทศในทวีปเอเชีย และประเทศในแถบมหาสมุทรแปซิฟิค ที่มีการกำหนดค่าสารพิษจากเชื้อราในอาหาร ที่มา: Food and Agricuture Organization (2004)



ภาพที่ 1.5 จำนวนประเทศในทวีปเอเชีย และประเทศในแถบมหาสมุทรแปซิฟิคที่มีการกำหนดค่าสารพิษจากเชื้อราในอาหารสัตว์ ที่มา: Food and Agricuture Organization (2004)



ภาพที่ 1.6 จำนวนประเทศในทวีปยุโรปที่มีการกำหนดค่าสารพิษจากเชื้อรา ในอาหาร ที่มา: Food and Agricuture Organization (2004)

ปัจจุบันมีการค้นพบสารพิษจากเชื้อรามากกว่า 400 ชนิด แต่สารพิษสำคัญและเกี่ยวข้องกับความปลอดภัยของอาหาร มีประมาณ 20 ชนิด ซึ่งสารพิษในกลุ่มแอฟลาทอกซิน โอคราทอกซิน พาทูลิน ดีอ๊อกซีนิวาลีโนล และซีราลีโนน เป็นสารพิษจากเชื้อราที่ทุกประเทศให้ความสำคัญ เนื่องจากมีความเกี่ยวข้องกับความปลอดภัยของอาหารมากที่สุด ตัวอย่างสารพิษจากเชื้อราที่มีการกำหนดค่าสูงสุดที่อนุญาตให้ปนเปื้อนได้ในอาหาร ดังแสดงในตารางที่ 1.1

ตารางที่ 1.1 ปริมาณสูงสุดของสารพิษจากเชื้อราแต่ละชนิดที่อนุญาตให้ปนเปื้อนได้ในอาหาร

ชนิดสารพิษจากเชื้อรา	ประเทศ	ชนิดอาหาร	ปริมาณที่อนุญาตให้มีการปนเปื้อนสูงสุด (ไมโครกรัม/กิโลกรัม)
แอฟลาทอกซิน	ไทย	อาหารทุกชนิด	20 [1]
	สหภาพยุโรป	อาหารประเภทถั่ว	15 [2]
	สหรัฐอเมริกา	อาหารทุกชนิด	20 [3]
	ญี่ปุ่น	อาหารทุกชนิด	10 [4]
แอฟลาทอกซิน บี1	จีน	ข้าวโพด และถั่วลิสง	20 [5]
	สิงคโปร์	อาหารทุกชนิด	5 [6]
	สหภาพยุโรป	ถั่วลิสงพร้อมบริโภค	2 [2]
ดีอ๊อกซีนิวาลีโนล	จีน	ข้าวสาลี ข้าวโพด	1000 [5]
	บราซิล	แป้งสาลี	1200 [7]
	สหภาพยุโรป	ธัญพืชสำหรับบริโภคโดยตรง	750 [8]
	สหรัฐอเมริกา	ผลิตภัณฑ์จากข้าวสาลี	1000 [9]
ฟูโมนิซิน	บราซิล	อาหารจากข้าวโพด	1000 [7]
	สหภาพยุโรป	อาหารเช้าจากข้าวโพด	800 [2]
โอคราทอกซิน	บราซิล	กาแฟคั่ว	10 [7]
	สหภาพยุโรป	ลูกเกด	10 [8]
พาทูลิน	สิงคโปร์	น้ำผลไม้	50 [6]
	สหรัฐอเมริกา	น้ำแอปเปิ้ล	50 [3]

[1] ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 พ.ศ. 2529

[2] Commission Regulation (EU) No. 165/ 2010

[3] U.S. Food and Drug Administration Compliance Policy Guides

[4] GAIN Report Number: JA0022

[5] GB 2761-2011 Maximum Levels of Mycotoxins in Foods

[6] Agri-Food and Veterinary Authority of Singapore (AVA), Food (Amendment) Regulations 2013

[7] ANVISA: Consulta Pública n° 100, de 21 de dezembro de 2009

[8] Commission Regulation (EU) No. 1881/ 2006

[9] U.S. Guidance for Industry and FDA (June 29, 2010; revised July, 2010)

บทที่ 2 เชื้อรา ที่สร้างสารพิษ

เชื้อรา (fungi) เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก อยู่ในอาณาจักรเห็ดรา เป็นเซลล์ยูแคริโอต (eukaryote cell) มีโครโมโซมเพียงชุดเดียว (haploid) ผนังเซลล์ส่วนใหญ่ประกอบด้วยไคติน (chitin) ไม่มีคลอโรฟิล ไม่สามารถสังเคราะห์อาหารได้ด้วยตนเอง เชื้อรามากกว่า 100,000 ชนิด ที่ดำรงชีพแบบแซบโปรไฟท์ (saprophyte) บนซากอินทรีย์เน่าเปื่อย โดยจะหลั่งเอนไซม์ออกนอกเซลล์เพื่อย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่และซับซ้อนให้ได้เป็นโมเลกุลที่เล็กที่สุด แล้วจึงดูดซับเข้าไปภายในเซลล์ มีเชื้อราประมาณ 50 ชนิด ที่เป็นเชื้อราก่อโรคในมนุษย์และสัตว์ และมากกว่า 80,000 ชนิด ที่เป็นสาเหตุของโรคพืช เชื้อราบางกลุ่มสามารถเจริญได้เฉพาะบนพืชอาศัย (obligate parasite) ขณะที่บางชนิดสามารถเจริญและเพิ่มปริมาณได้ทั้งบนพืชอาศัย และบนซากสารอินทรีย์ (facultative parasite)

การเจริญของเชื้อรามีผลทำให้อาหารเน่าเสีย กลิ่นและรสเปลี่ยนไป รวมทั้งทำให้เกิดความเป็นพิษต่อผู้บริโภค ก่อให้เกิดโรคต่างๆ ในปัจจุบันเชื้อราที่ปนเปื้อนในอาหารและสิ่งแวดล้อมเป็นกลุ่มเชื้อราที่ได้รับความสนใจ เนื่องจากเชื้อรามีการสร้างสารทุติยภูมิที่เป็นพิษต่อคนและสัตว์ ในปี ค.ศ. 1960 มีการค้นพบสารแอฟลาทอกซิน (aflatoxins) ที่สร้างโดยเชื้อรา *Aspergillus flavus* ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง ต่อมาพบว่ามีเชื้อราอีกจำนวนมากที่สามารถสร้างสารพิษได้เช่นเดียวกัน ปัจจุบันมีการค้นพบสารพิษที่สร้างโดยเชื้อรา (mycotoxins) มากกว่า 400 ชนิด

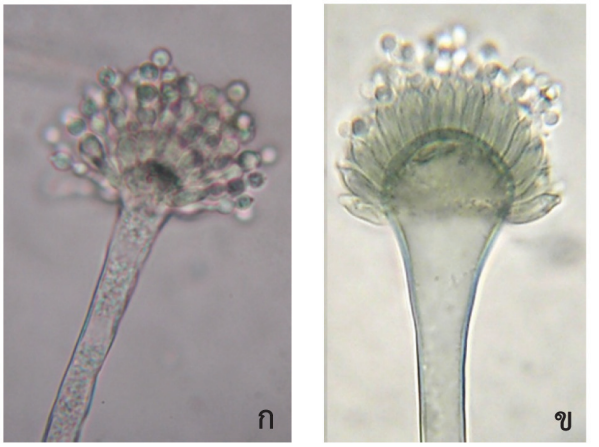
กลุ่มของเชื้อราที่สร้างสารพิษในผลิตผลเกษตร มี 4 กลุ่มใหญ่ คือ

1. *Aspergillus* เช่น *Aspergillus flavus, A. niger* และ *A. ochraceus*
2. *Penicillium* เช่น *Penicillium expansum*
3. *Fusarium* เช่น *Fusarium verticillioides*
4. *Alternaria* เช่น *Alternaria alternata*

เชื้อรากลุ่ม *Aspergillus*

Order Eurotiales **Family** Trichocomaceae

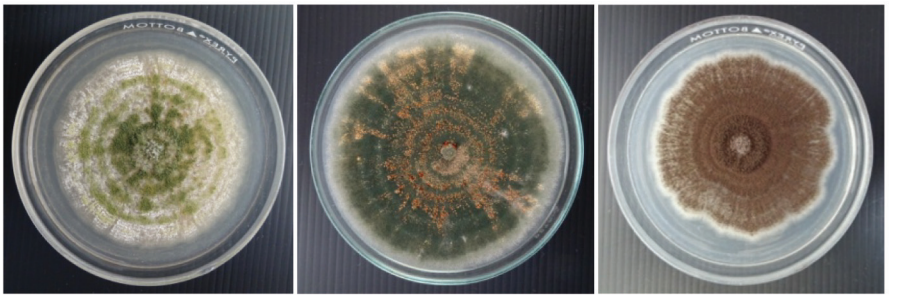
เชื้อรา *Aspergillus* พบกระจายอยู่ทุกประเทศทั่วโลก ทั้งที่เป็นประโยชน์ และเป็นโทษต่อมนุษย์ เชื้อรา *Aspergillus oryzae* (ภาพที่ 2.1ก) *A. sojae* และ *A. awamori* เป็นเชื้อราที่นำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น เต้าเจี้ยว ซีอิ๊ว เป็นต้น และทางการแพทย์เชื้อราที่นำมาใช้ ได้แก่ *A. terreus* ซึ่งสร้างสารโลวาสแตติน (lovastatin) ใช้ในการลดไขมันในเส้นเลือด ขณะที่เชื้อรา *Aspergillus* ที่เป็นโทษ สามารถเข้าทำลายผลิตผลเกษตรทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว และสร้างสารพิษที่เป็นอันตรายต่อมนุษย์และสัตว์เลี้ยง บางสายพันธุ์ก่อให้เกิดโรคในคนอีกด้วย เช่น *A. fumigatus* (ภาพที่ 2.1ข) เป็นสาเหตุของโรคแอสเปอร์จิลโลซิส (aspergillosis) ที่เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินหายใจ



ภาพที่ 2.1 ก) เชื้อรา *Aspergillus oryzae*
ข) เชื้อรา *Aspergillus fumigatus* ที่มา: Anonymous (2016)

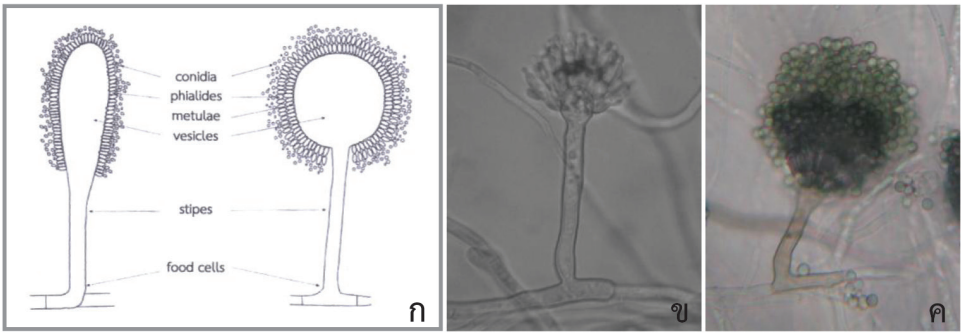
สัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Aspergillus*

โคโลนีของเชื้อรา *Aspergillus* มีสีขาว สีเหลือง สีน้ำตาลอมเหลือง สีน้ำตาลจนถึงสีดำ หรือบางชนิดมีสีเขียว (ภาพที่ 2.2)



ภาพที่ 2.2 โคโลนีของเชื้อรา *Aspergillus*

เส้นใยของเชื้อราไม่มีสี แตกแขนงและมีผนังกั้น เซลล์ของเส้นใยมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเป็นรูปตัวแอล (L) หรือที (T) บริเวณฐานโคนิดิโอฟอร์ (conidiophore) เรียกบริเวณนี้ว่า ฟูตเซลล์ (foot cell) ส่วนปลายของก้านชูโคนิเดียจะเจริญโป่งออกเป็นเวสซิเคิล (vesicle) ซึ่งมีรูปร่างหลายแบบ ในสปีชีส์ที่มีไฟอะลายด์ (phialide) เจริญบนเวสซิเคิล และส่วนปลายสุดของ ไฟอะลายด์ จะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ที่ไม่ใช้เพศของเชื้อรา เรียกว่า โคนิเดีย (conidia) ซึ่งเป็นลักษณะที่มีไฟอะลายด์ชั้นเดียว เรียกลักษณะของเชื้อราในกลุ่มนี้ว่า ยูนิเซอริเอท (uniseriate) แต่ในสปีชีส์ที่มีส่วนของเมตูเล (metulae) เจริญแทรกกลางระหว่างเวสซิเคิล และไฟอะลายด์เป็นสองชั้น เรียกกลุ่มนี้ว่า ไบเซอริเอท (biseriate) (ภาพที่ 2.3)



ภาพที่ 2.3 เชื้อรา *Aspergillus*
ก) โครงสร้างของเชื้อรา *Aspergillus* ที่มา: Samson *et al.* (2004)
ข) และ ค) ลักษณะโคนิเดียล เฮด (conidial head) และโคนิเดีย (conidia)

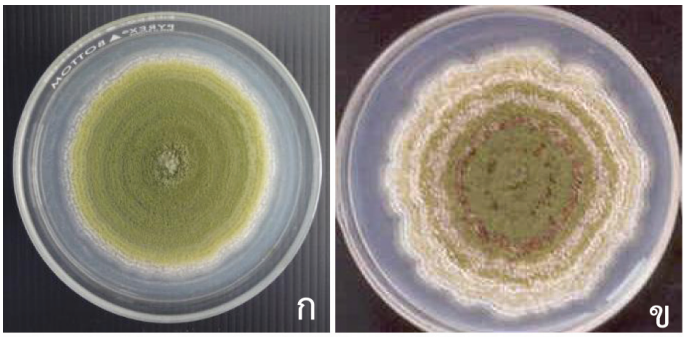
Aspergillus flavus

Aspergillus flavus เป็นเชื้อราที่สร้างสารแอฟลาทอกซิน ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งตับทั้งในมนุษย์และสัตว์เลี้ยง เชื้อรา *A. flavus* สามารถเจริญบนผลิตผลเกษตรหลังการเก็บเกี่ยวหลายชนิด พบมากในเมล็ดธัญพืช และพืชน้ำมันชนิดต่าง ๆ ที่มีองค์ประกอบของแป้งและโปรตีนสูง เช่น ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ข้าว ข้าวสาลี ถั่วลิสง พริก มะพร้าว เครื่องเทศ และสมุนไพร (ภาพที่ 2.4)

ภาพที่ 2.4 ลักษณะของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ที่เจริญบนเมล็ดถั่วลิสง

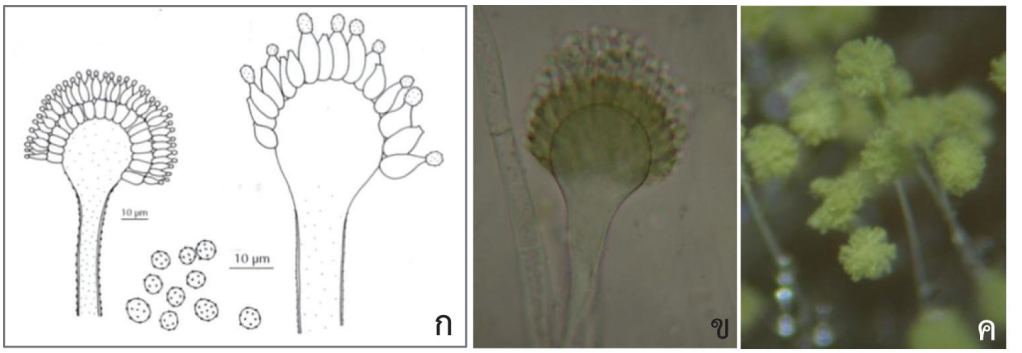
สัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Aspergillus flavus*

ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *A. flavus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อพีดีเอ (Potato Dextrose Agar: PDA) มีสีเขียว หรือเขียวอมเหลือง เส้นใยละเอียดสีขาว บางครั้งพบว่าเชื้อราสามารถสร้างเม็ดสเคลอโรเตียม (sclerotium) สีน้ำตาลบริเวณขอบของโคโลนี เชื้อรา *A. flavus* สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการสร้างสารพิษสูง มักสร้างเม็ดสเคลอโรเตียมจำนวนมาก (ภาพที่ 2.5)



ภาพที่ 2.5 โคโลนีของเชื้อรา *Aspergillus flavus* บนอาหารพีดีเอ
ก) ไม่สร้างเม็ดสเคลอโรเตียม (sclerotium)
ข) สร้างเม็ดสเคลอโรเตียม

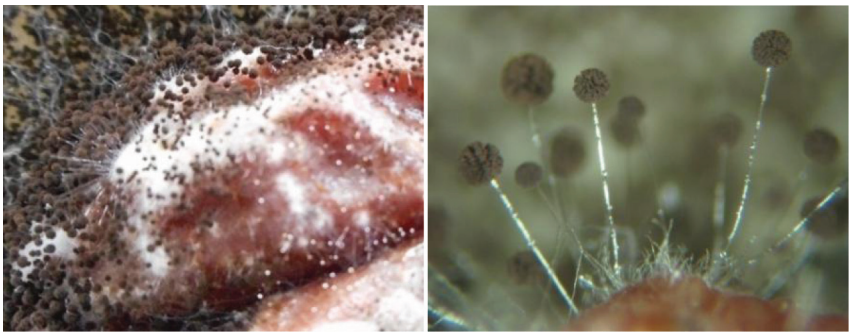
เส้นใยเชื้อราเจริญแผ่บาง ๆ สร้างโคนิเดียล เฮด (conidial head) เป็นช่อคล้ายดอกกระถิน มีสีเขียวอมเหลือง เมื่ออายุมากขึ้นจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอมน้ำตาล และแตกออกเป็นแท่งหลวม ๆ โคนิดิโอฟอร์ผนังหนาและมีหนาม เวสซิเคิลรูปร่างค่อนข้างกลม ไฟอะลายด์เกิดโดยตรงบนเวสซิเคิล หรือบนเมตูเล โคนิเดียรูปร่างทรงกลมถึงรูปไข่ ผิวไม่เรียบ โคนิเดียต่อกันเป็นสายยาว (ภาพที่ 2.6)



ภาพที่ 2.6 เชื้อรา *Aspergillus flavus*
ก) โครงสร้างของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ที่มา: Samson *et al.* (2004)
ข) และ ค) ลักษณะโคนิเดียล เฮด (conidial head) และโคนิเดีย (conidia)

Aspergillus niger

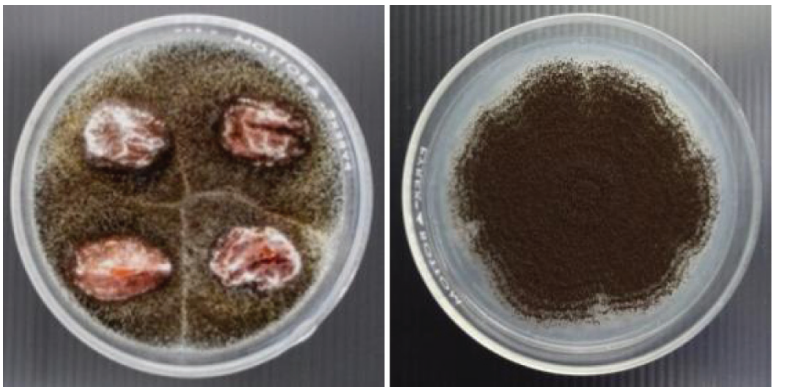
เชื้อรา *A. niger* มีโคโลนีสีดำ หรือเรียกว่า “ราดำ” เป็นเชื้อราที่พบแพร่กระจายทั่วโลก ทั้งในเขตหนาวและเขตร้อนชื้น สร้างสารทุติยภูมิหลายชนิด มีการใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารสำหรับผลิตเอนไซม์ต่าง ๆ เช่น อะไมเลส (amylase) เซลลูโลส (cellulose) แลคเตส (lactase) อะไมโลกลูโคซิเดส (amyloglucosidase) และเพคติเนส (pectinase) นอกจากนี้เชื้อรา *A. niger* ยังสามารถเข้าทำลายและสร้างสารพิษบนผลิตผลสดหลังการเก็บเกี่ยว และผลิตผลแห้ง เช่น หอมหัวใหญ่ ผลไม้แห้ง และธัญพืชต่าง ๆ (ภาพที่ 2.7) สารพิษที่เชื้อรา *A. niger* สร้าง เช่น สารโอคราทอกซิน (ochratoxins) ในองุ่น กาแฟ และโกโก้ และยังพบสร้างสารพิษฟูโมนิซิน (fumonisins) ในกาแฟ ซึ่งเป็นสารที่ก่อให้เกิดมะเร็งได้



ภาพที่ 2.7 ลักษณะโคนิเดียล เฮด (conidial head) และ โคนิเดีย (conidia) ของเชื้อรา *Aspergillus niger* ที่ปนเปื้อนบนลูกเกด

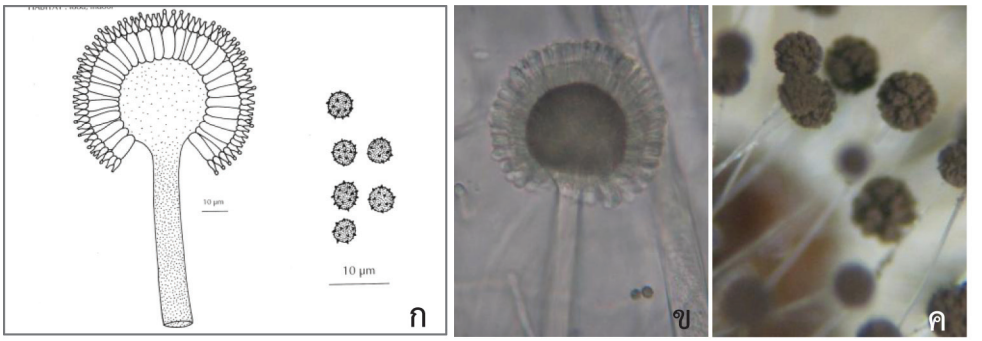
สัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Aspergillus niger*

โคโลนีเป็นวงซ้อนกัน สีน้ำตาลเข้มจนถึงสีดำ เส้นใยสีขาวใสมีผนังกั้นตามขวาง เจริญบนอาหารบาง ๆ ด้านใต้โคโลนีมีสีขาว หรือเหลืองอ่อน (ภาพที่ 2.8)



ภาพที่ 2.8 โคโลนีของเชื้อรา *Aspergillus niger* บนอาหารพีดีเอ

ลักษณะโคนิเดียล เฮด สีดำหรือสีน้ำตาลเข้ม รูปร่างค่อนข้างกลม ขนาดใหญ่ เมื่อแก่จะแตกเป็นหลายแฉกในแนวรัศมี โคนิดิโอฟอร์ ใส ไม่มีสี ตรง เกิดเดี่ยว ๆ ผนังเรียบ ยาว 0.6-1.2 มิลลิเมตร ส่วนปลายพองออกเป็นรูปวงกลมเรียกว่า เวสซิเคิล ชนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 40-50 ไมโครเมตร มีเมตูเลและไฟอะลายด์ โคนิเดียมีเซลล์เดียว รูปร่างกลม เส้นผ่านศูนย์กลาง 3-4 ไมโครเมตร สีน้ำตาลอ่อนจนถึงสีน้ำตาลเข้ม ส่วนใหญ่ผนังขรุขระ มีหนาม (ภาพที่ 2.9)

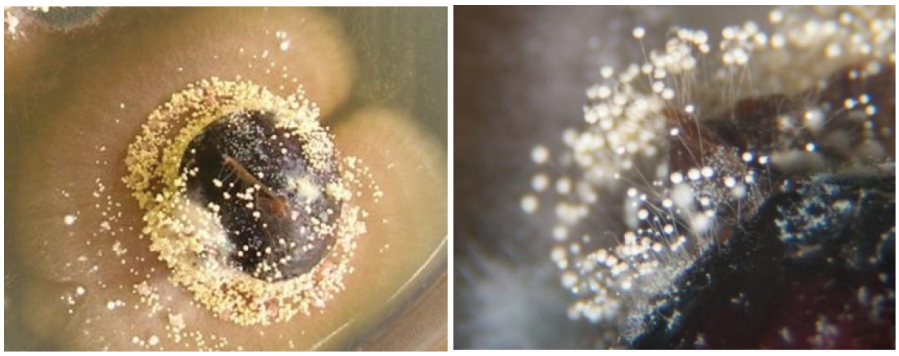


ภาพที่ 2.9 เชื้อรา *Aspergillus niger*
ก) โครงสร้างของเชื้อรา *A. niger* ที่มา: Samson *et al.* (2004)
ข) และ ค) ลักษณะโคนิเดียล เฮด (conidial head) และโคนิเดีย (conidia)

Aspergillus ochraceus

เชื้อรา *A. ochraceus* เป็นเชื้อราที่เจริญได้ดีในสภาพอากาศร้อนชื้นและแห้งแล้ง อาจพบได้ในดิน แต่ส่วนใหญ่จะพบปนเปื้อนในผลิตผลเกษตรหลังการเก็บเกี่ยวทั้งในผลไม้และธัญพืชชนิดต่าง ๆ เป็นเชื้อราที่สามารถสร้างสารโอคราทอกซิน เอ ซึ่งเป็นอันตรายต่อระบบการทำงานของไตทั้งในมนุษย์และสัตว์

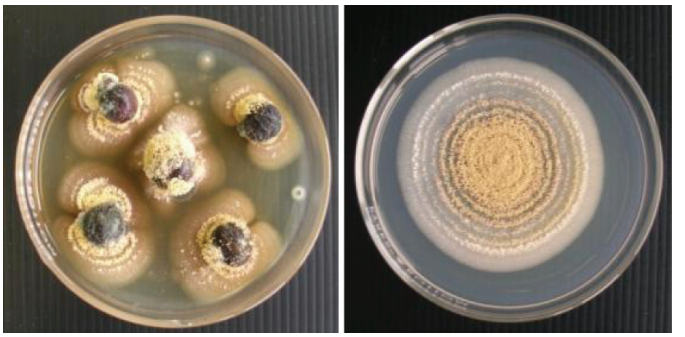
ในประเทศไทยมีการตรวจพบการปนเปื้อนเชื้อรา *A. ochraceus* ในกาแฟ ผลไม้อบแห้งหลายชนิด โดยเฉพาะในผลลำไยอบแห้งที่มีการเก็บรักษาไม่ถูกวิธี และเก็บไว้เป็นเวลานาน (ภาพที่ 2.10)



ภาพที่ 2.10 เชื้อรา *Aspergillus ochraceus* ที่ปนเปื้อนบนเนื้อลำไยอบแห้ง

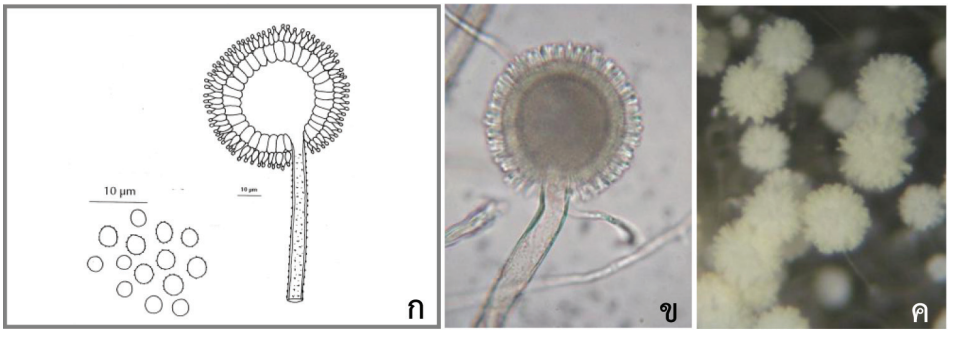
สัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Aspergillus ochraceus*

โคโลนีของเชื้อรา *A. ochraceus* เจริญบนอาหารพีดีเอค่อนข้างช้า เมื่ออายุ 14 วัน มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.5 เซนติเมตร ระยะแรกเส้นใยจะมีสีขาว ต่อมาจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง (ภาพที่ 2.11)



ภาพที่ 2.11 โคโลนีของเชื้อรา *Aspergillus ochraceus* บนอาหารพีดีเอ

ลักษณะของโคนิดิโอฟอร์มีหนาม เกิดรวมกันเป็นช่อ หรือเป็นกลุ่ม ที่ปลายสร้างโคนิเดียล เฮด แบบกลม ด้านใต้อาหารไม่เปลี่ยนสี เส้นใยมีลักษณะบาง ไม่ฟู เวสซิเคิลมีรูปร่างกลม (globose) เส้นผ่านศูนย์กลาง 25-30 ไมโครเมตร เชื้อราสร้างเมตูเลที่ไม่มีสี ขนาด 7-11 x 4.5-7 ไมโครเมตร และไฟอะลายด์ขนาด 7-10 x 1.5-2.5 ไมโครเมตร โคนิเดียมีลักษณะกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3-4 ไมโครเมตร ไม่มีสี ผนังขรุขระ (ภาพที่ 2.12)



ภาพที่ 2.12 เชื้อรา *Aspergillus ochraceus*

ก) โครงสร้างของเชื้อรา *A. ochraceus* ที่มา: Samson *et al.* (2004)

ข) และ ค) ลักษณะโคนิเดียล เฮด (conidial head) และ โคนิเดีย (conidia)

เชื้อรากลุ่ม *Penicillium*

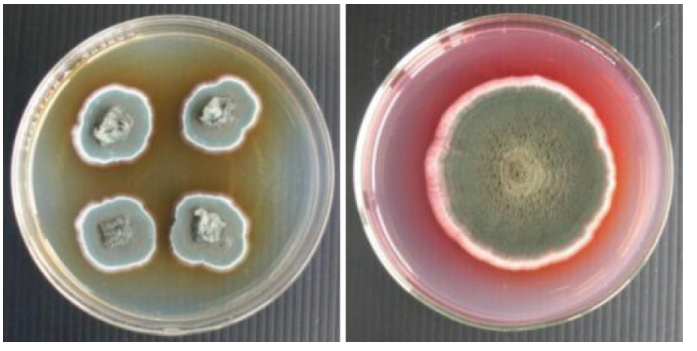
Order Eurotiales **Family** Trochocomaceae

Penicillium เป็นกลุ่มของเชื้อราที่มีความสำคัญมาก และมีการศึกษาวิจัยกันอย่างกว้างขวาง ส่วนใหญ่เป็นเชื้อราที่มีประโยชน์สามารถผลิตแอนตีไบโอติกสำหรับใช้ในวงการแพทย์ เช่น เพนิซิลลิน (penicillin) กรดไมโคฟีโนลิก (mycophenolic acid) และคอมแพคติน (compactin) ในอุตสาหกรรมอาหารมีการใช้ *Penicillium* ในการทำเนยแข็ง ในอีกด้านหนึ่ง *Penicillium* สามารถก่อให้เกิดปัญหาทางด้านการเกษตรมากมาย เช่น ทำให้ผลิตผลหลังการเก็บเกี่ยวเน่าเสียโดยเฉพาะในผลไม้ เช่น เชื้อรา *Penicillium expansum* ทำให้เกิดอาการโรคผลเน่า (blue rot) ในส้ม (ภาพที่ 2.13) แอปเปิ้ล และลูกแพร์ เป็นต้น โคนิเดียของเชื้อรา *Penicillium* ยังสามารถทำให้เกิดโรคภูมิแพ้ในคนได้ ถึงแม้ผู้บริโภคจะตัดส่วนเน่าเสียของผลไม้ทิ้งก่อนบริโภค แต่อาจไม่ปลอดภัย เพราะเชื้อรา *P. expansum* สามารถสร้างสารพิษพาทูลิน (patulin) ทิ้งไว้ในผลไม้ส่วนที่ยังไม่เน่าได้

ภาพที่ 2.13 โรคผลเน่าของส้มเกิดจากเชื้อรา *Penicillium expansum*

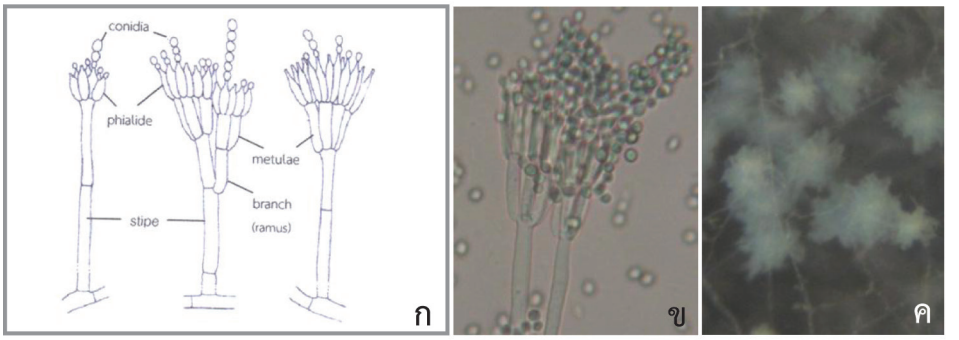
สัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Penicillium*

Penicillium เป็นเชื้อราที่มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ส่วนใหญ่โคโลนีมีสีเขียวอมน้ำเงินหรือ สีเทา เส้นใยฝังอยู่ในอาหาร บนอาหารมีเฉพาะโคนิดิโอฟอร์เกิดขึ้นอย่างหนาแน่น ทำให้ผิวหน้าโคโลนี มีลักษณะคล้ายกำมะหยี่ (ภาพที่ 2.14)



ภาพที่ 2.14 โคโลนีของเชื้อรา *Penicillium* sp. บนอาหารพีดีเอ

ลักษณะโคนิดิโอฟอร์เป็นแบบแตกกิ่งก้านมี 1-3 ชั้น ไฟอะลายด์มีลักษณะเป็นลูกชมพู่ ส่วนปลายก้านโคนิดิโอฟอร์แตกแขนงเป็นไฟอะลายด์หรือเมตูเล ให้กำเนิดโคนิเดียเรียกว่า ไฟอะโลสปอร์ (phialospore) รูปร่างกลม เกิดต่อกันเป็นโซ่ยาว (ภาพที่ 2.15)



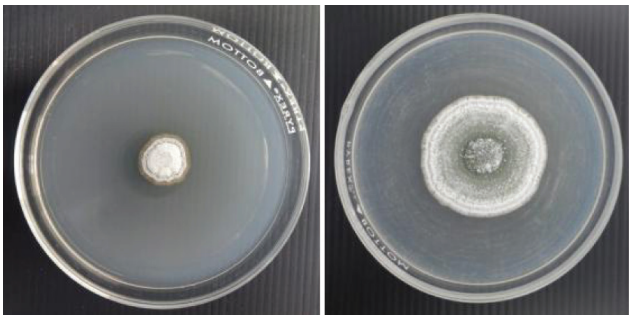
ภาพที่ 2.15 เชื้อรา *Penicillium*
ก) โครงสร้างของเชื้อรา *Penicillium* ที่มา: Samson *et al.* (2004)
ข) ลักษณะไฟอะลายด์ (phialide) และโคนิเดีย (conidia)

Penicillium expansum

P. expansum พบปนเปื้อนในผลิตผลเกษตรหลังการเก็บเกี่ยว เช่น แอปเปิ้ล ส้ม และเมล็ดธัญพืชในโรงเก็บ เป็นสาเหตุทำให้ผลไม้และผลิตผลทางการเกษตรเกิดการเน่าเสีย นอกจากนี้ยังสามารถสร้างสารพิษพาทูลิน ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งทิ้งไว้ในผลิตผลเกษตร พบมากในน้ำแอปเปิ้ลและผลิตภัณฑ์จากแอปเปิ้ล

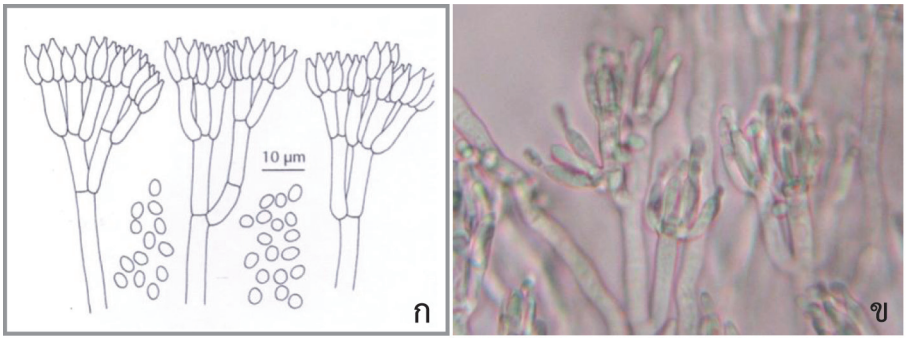
สัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Penicillium expansum*

โคโลนีของเชื้อรา *P. expansum* บนอาหารพีดีเอ มีสีเขียว ผิวหน้าโคโลนีมีลักษณะคล้ายกำมะหยี่ เจริญช้า (ภาพที่ 2.16)



ภาพที่ 2.16 โคโลนีของเชื้อรา *Penicillium expansum* บนอาหารพีดีเอ
ก) โคโลนี อายุ 7 วัน ข) โคโลนี อายุ 14 วัน

โคนิดิโอฟอร์ผนังเรียบ มีการแตกกิ่งแบบเวอร์ติซิเลท (verticillate) มีเมตูเล และไฟอะลายด์ ลักษณะขวดรูปชมพู่ (flask-shaped) คอสั้นแคบ โคนิเดียลักษณะรี ผนังเรียบ (ภาพที่ 2.17)



ภาพที่ 2.17 เชื้อรา *Penicillium expansum*

ก) โครงสร้างของเชื้อรา *P. Expansum* ที่มา: Samson *et al.* (2004)

ข) ลักษณะไฟอะลายด์ (phialide) และ โคนิเดีย (conidia)

เชื้อรากลุ่ม *Fusarium*

Order Hypocreales **Family** Nectriaceae

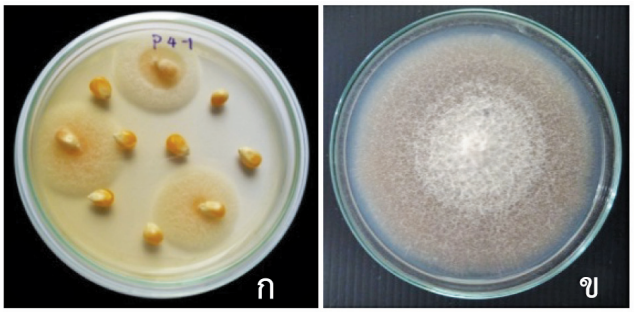
เชื้อรา *Fusarium* ส่วนใหญ่จะพบปนเปื้อนในผลิตผลเกษตรจำพวกพืชไร่ และธัญพืชชนิดต่าง ๆ เช่น ข้าว ข้าวโพด เดือย งา และแมงลัก เป็นต้น เชื้อรา *Fusarium* สามารถเข้าทำลายพืชได้ทั้งในแปลงปลูกและในผลิตผลเกษตรหลังการเก็บเกี่ยว

การตรวจสอบเมล็ดแมงลักหลังการเก็บเกี่ยวพบการปนเปื้อนของเชื้อรา *Fusarium* ในปริมาณที่สูง (ภาพที่ 2.18) เชื้อรากลุ่ม *Fusarium* สามารถสร้างสารพิษในผลิตผลเกษตรหลังการเก็บเกี่ยวทำให้ผลิตผลเกษตรเกิดความเสียหาย เป็นอันตรายต่อมนุษย์และสัตว์เลี้ยง เช่น เชื้อรา *Fusarium culmorum*, *F. graminearum, F. semitectum, F. sporotrichioides, F. poae* และ *F. equiseti* สามารถสร้างสารพิษไตรโคทีซีน (trichothecenes) และสารพิษซีราริโนน (zearalenone) ขณะที่เชื้อรา *F. verticillioides* สามารถสร้างสารพิษฟูโมนิซิน และสารพิษโมนิริฟอร์มิน (moniliformin)

ภาพที่ 2.18 ก) ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Fusarium* sp. ที่ปนเปื้อนในกิ่งแมงลัก
ข) ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Fusarium* sp. ที่ปนเปื้อนในดอกแมงลัก
ค) สปอร์ของเชื้อรา *Fusarium* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

สัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Fusarium*

ลักษณะโคโลนีของเชื้อราบนอาหารพีดีเอ เส้นใยฟู ละเอียด สีขาวนวล-สีส้มอ่อน บางชนิดอาจมีสีม่วง เจริญอย่างรวดเร็ว (ภาพที่ 2.19)



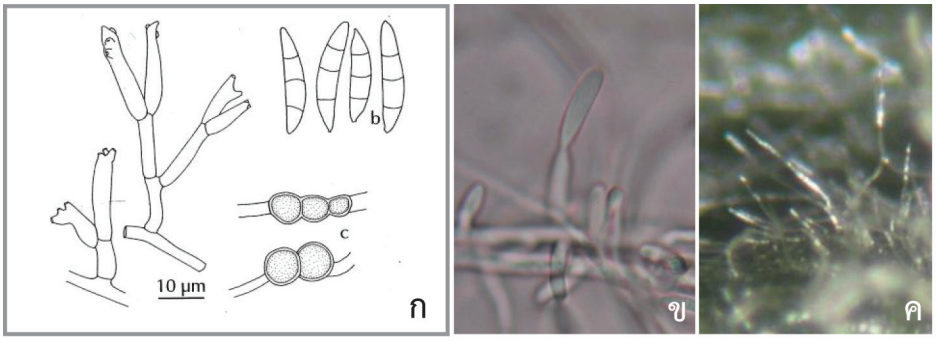
ภาพที่ 2.19 ก) ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Fusarium* ที่ปนเปื้อนในเมล็ดข้าวโพด
ข) ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Fusarium* บนอาหารพีดีเอ

เชื้อราสร้างโคนิเดียบนกลุ่มของเส้นใย (sporodochium) หรือ โคนิดิโอฟอร์ที่อัดตัวกันเป็นสโตรมา (stroma) โคนิดิโอฟอร์ อาจแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่มีการแตกแขนง และกลุ่มที่ไม่มีแขนง เชื้อราสร้างโคนิเดีย 3 แบบ (ภาพที่ 2.20) คือ

มาโครโคนิเดีย (macroconidia) รูปร่างคล้ายเคียว ใส ไม่มีสี มีผนังกั้น 3-5 อัน

ไมโครโคนิเดีย (microconidia) รูปไข่ ยาวรี สั้น รูปร่างคล้ายเคียวป้อม จนถึงรูปทรงกระบอก ใส ไม่มีสี มี 1-2 เซลล์

คลามิโดสปอร์ (chlamydospore) รูปไข่หรือทรงกลม ผนังเรียบ เกิดบริเวณส่วนปลายเส้นใยและส่วนกลางเส้นใย



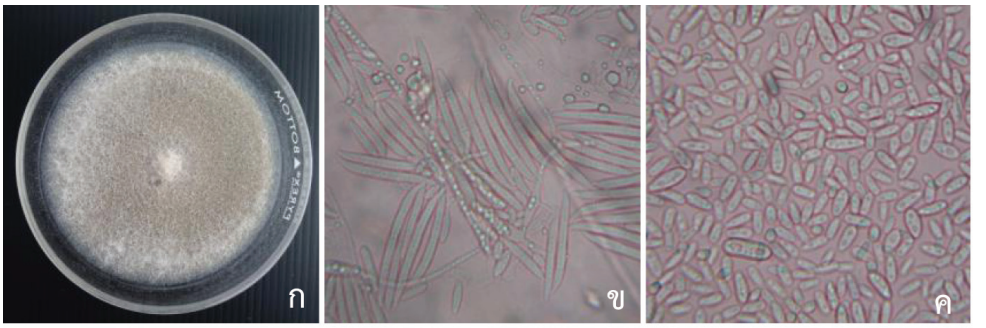
ภาพที่ 2.20 เชื้อรา *Fusarium*
ก) โครงสร้างของเชื้อรา *Fusarium* ที่มา: Samson *et al.* (2004)
ข) และ ค) ลักษณะโคนิดิโอฟอร์ (conidiophore) และโคนิเดีย (conidia)

Fusarium verticillioides

เชื้อรา *F. verticillioides* แพร่กระจายอยู่ทั่วไปในแถบเขตร้อน และเขตอบอุ่นของโลก แต่ไม่พบในบริเวณที่มีอากาศหนาวเย็น เป็นเชื้อสาเหตุโรคต้นเน่าและฝักเน่าในข้าวโพด ข้าวฟ่าง ข้าว ถั่วหลายชนิด เมล็ดพืชน้ำมัน พืชตระกูลส้ม และผลไม้อื่น ๆ *F. verticillioides* สร้างสารพิษฟูโมนิซิน ซึ่งเป็นสาเหตุโรคระบบประสาท (leukoencephalomalacia) ในม้า มะเร็งในตับหนู และอาจเป็นสาเหตุโรคมะเร็งหลอดอาหารในมนุษย์

สัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Fusarium verticillioides*

โคโลนีของเชื้อราบนอาหารพีดีเอ มีเส้นใยฟู ละเอียด สีขาว เชื้อราสร้างโคนิเดีย 2 แบบ มาโครโคนิเดีย เป็นโคนิเดียขนาดใหญ่ ลักษณะโคนิเดียผอมยาว ส่วนมากเหยียดตรง ผนังบาง ฐานเซลมีรูปร่างคล้ายเท้า และไมโครโคนิเดีย เป็นโคนิเดียขนาดเล็ก สร้างจากโมโนไฟอะลายด์ (monophialide) รูปร่างยาวรีจนถึงรูปคล้ายกระบอง สร้างเกิดต่อเนื่องเป็นลูกโซ่ ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของเชื้อรา (ภาพที่ 2.21)



ภาพที่ 2.21 ก) โคโลนีของเชื้อรา *Fusarium verticillioides* บนอาหารพีดีเอ
ข) ลักษณะของมาโครโคนิเดีย (macroconidia)
ค) ลักษณะของไมโครโคนิเดีย (microconidia)

เชื้อรากลุ่ม *Alternaria*

Order Pleosporales **Family** Pleosporaceae

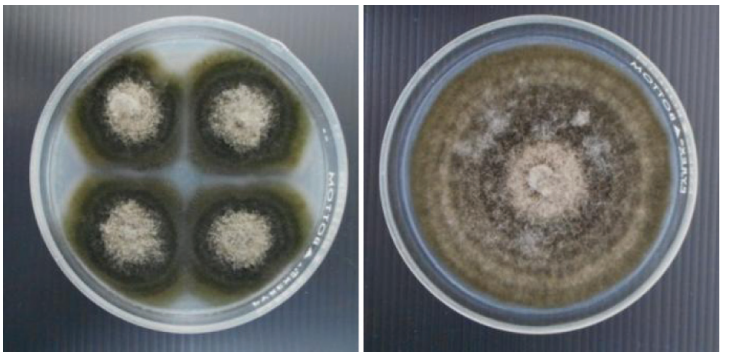
เชื้อรา *Alternaria* เจริญได้ดีที่อุณหภูมิระหว่าง 22-28 องศาเซลเซียส และสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำถึง -3 องศาเซลเซียส พบการเข้าทำลายของเชื้อรา *Alternaria* sp. ในมะเขือเทศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8-12 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกับในพริกหวานที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำกว่า 7 องศาเซลเซียส จะพบการเน่าเสียเนื่องจากเชื้อรา *Alternaria* sp. เช่นกัน (ภาพที่ 2.22)

เชื้อรา *Alternaria alternata* เป็นสายพันธุ์ที่พบมากในผัก และผลไม้หลังเก็บเกี่ยว ปัจจุบันพบว่าเชื้อราสายพันธุ์นี้สามารถสร้างสารพิษหลักได้ถึง 5 ชนิด ได้แก่ alternariol, alternariol methyl ether, altenuene, tenuazonic acid และ altertoxin-I อย่างไรก็ตามเชื้อรา *Alternaria* สายพันธุ์อื่น สามารถสร้างสารพิษได้เช่นกัน เช่น *A. capsici-annui*, *A. citri, A. tenuissima, A. brassicae, A. solani*, *A. cucumerina, A. longipes* และ *A. porri* สร้างสาร alternariol และ alternariol monomethyl ether เป็นต้น

ภาพที่ 2.22 การเข้าทำลายของเชื้อรา *Alternaria* sp. บนผลมะเขือเทศและพริกหวาน

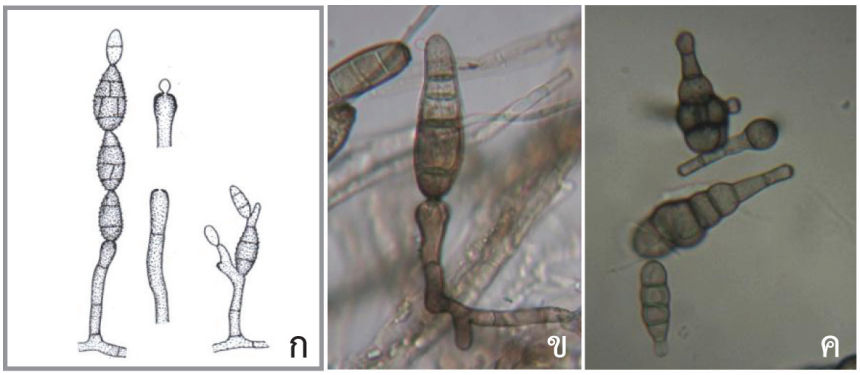
สัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Alternaria*

ลักษณะโคโลนีของเชื้อราบนอาหารพีดีเอ เส้นใยมีสีเทาเข้มถึงดำ เรียบ ละเอียด (ภาพที่ 2.23)



ภาพที่ 2.23 โคโลนีของเชื้อรา *Alternaria* sp. บนอาหารพีดีเอ

ลักษณะของเส้นใย สีน้ำตาล มีผนังกั้น (septate) โคนิเดียมีสีน้ำตาล มีผนังกั้นทั้งตามยาวและตามขวาง แบ่งเป็นเซลล์ย่อย ๆ หลายเซลล์ โคนิเดียเกิดต่อเป็นเส้นสาย รูปไข่ (obclavate) ส่วนปลายของโคนิเดียหรือส่วนคอ (beak) เซลล์ปลายสุดใช้ในการจำแนกสายพันธุ์ (species) ได้ (ภาพที่ 2.24)



ภาพที่ 2.24 เชื้อรา *Alternaria*

ก) โครงสร้างของเชื้อรา *Alternaria* ที่มา: Barnett *et al.* (1986)

ข) และ ค) ลักษณะโคนิดิโอฟอร์ (conidiophore) และโคนิเดีย (conidia)

บทที่ 3 สารพิษจากเชื้อรา

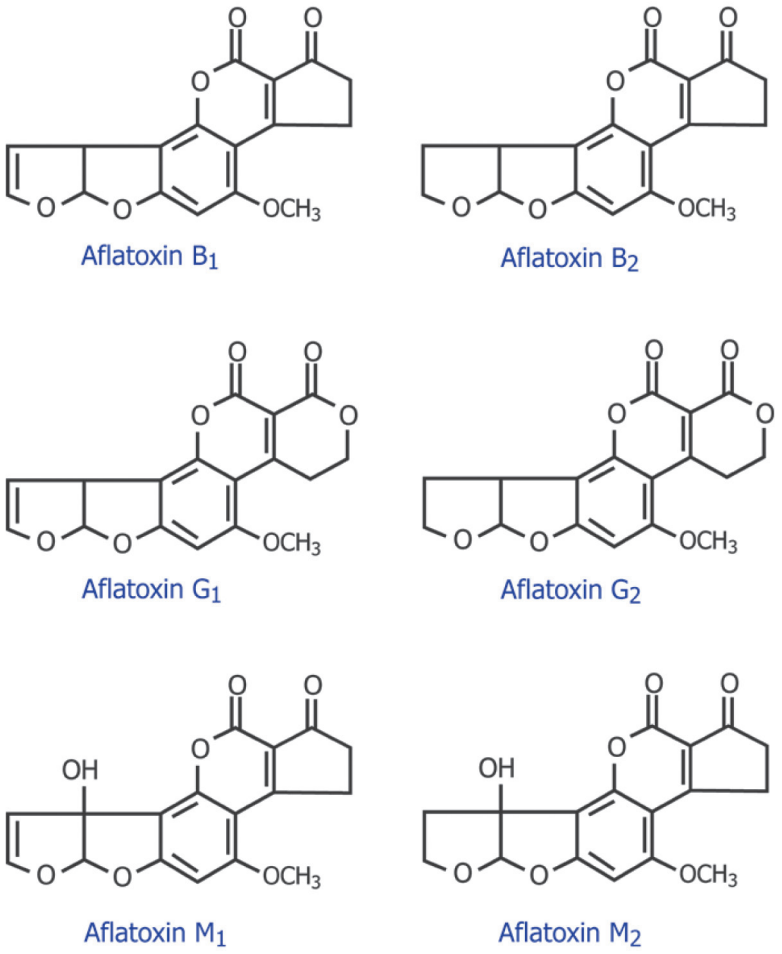
สารพิษจากเชื้อรา (mycotoxins) เป็นสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) ที่เชื้อราสร้างขึ้น เป็นสารที่ก่อให้เกิดอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะเมื่อมนุษย์และสัตว์ได้รับสารพิษนี้เข้าสู่ร่างกาย จะทำให้เกิดอาการเจ็บป่วย (mycotoxicosis) ทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรัง ขึ้นอยู่กับลักษณะความเป็นพิษ ปริมาณของสารพิษ อายุและเพศของผู้ที่ได้รับพิษ และรวมถึงลักษณะทางพันธุกรรม โดยสารพิษจากเชื้อราเข้าไปทำลาย DNA RNA และโปรตีน ส่งผลให้มนุษย์หรือสัตว์เกิดอาการผิดปกติหรือถึงแก่ชีวิตได้

ปัจจุบันพบสารพิษจากเชื้อราหลายชนิด ชนิดที่สำคัญและมักพบปนเปื้อนในผลิตผลเกษตรและผลิตภัณฑ์ ได้แก่ สารแอฟลาทอกซิน (aflatoxins: AF) สารพิษพาทูลิน (patulin) สารพิษฟูโมนิซิน (fumonisins: FM) สารโอคราทอกซิน (ochratoxins: OT) สารพิษไตรโคทีซีน (trichothecenes) และสารพิษซีราลีโนน (zearalenone) บางครั้งพบสารพิษมากกว่าหนึ่งชนิดในผลิตผลเกษตรชนิดเดียวกัน เช่น พบสารแอฟลาทอกซินกับสารพิษฟูโมนิซินในข้าวโพด และสารโอคราทอกซินกับสารแอฟลาทอกซินในพริกแห้ง เป็นต้น สารพิษจากเชื้อราที่สำคัญและมักพบในผลิตผลเกษตร ได้แก่

แอฟลาทอกซิน (Aflatoxins)

สารแอฟลาทอกซิน ถูกค้นพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1960 เป็นสารพิษที่สร้างโดยเชื้อราหลายชนิด ได้แก่ *Aspergillus flavus, A. parasiticus*, *A. tamarii* และ *A. nomius* ในประเทศไทยพบ *A. flavus* เป็นเชื้อราสาเหตุสำคัญที่สร้างสารแอฟลาทอกซินปนเปื้อนในผลิตผลเกษตร โดยเฉพาะเมล็ดธัญพืช พืชน้ำมัน และเครื่องเทศชนิดต่าง ๆ เช่น ข้าวโพด ข้าว ข้าวสาลี ถั่วลิสง พริก มะพร้าว และสมุนไพร นอกจากนี้มีการตรวจพบสารแอฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์แปรรูปแทบทุกชนิด ที่ใช้วัตถุดิบจากผลิตผลเกษตรที่มีเชื้อราชนิดนี้ปนเปื้อนอยู่ก่อน ปัจจุบันมีสารแอฟลาทอกซินมากกว่า 20 ชนิด แต่ที่พบตามธรรมชาติมี 4 ชนิด ได้แก่ สารแอฟลาทอกซิน บี1 (AFB_1) บี2 (AFB_2) จี1 (AFG_1) และ จี2 (AFG_2) โดยแอฟลาทอกซิน บี1 มีความเป็นพิษสูงสุด รองลงมาได้แก่ แอฟลาทอกซิน จี1, บี2 และจี2 ตามลำดับ

นอกจากนี้ยังพบว่าหากสัตว์ที่กำลังให้น้ำนมได้รับอาหารที่มีการปนเปื้อนสารแอฟลาทอกซิน บี1 หรือ บี2 เข้าสู่ร่างกาย น้ำนมที่ผลิตได้จะมีอนุพันธ์ของแอฟลาทอกซิน บี1 และบี2 ปนเปื้อน โดยอนุพันธ์ทั้งสอง คือ สารแอฟลาทอกซิน เอ็ม1 (AFM_1) และเอ็ม2 (AFM_2) ตามลำดับ (ภาพที่ 3.1) สารแอฟลาทอกซินเป็นสารที่มีความเป็นพิษรุนแรง เนื่องจากเป็นสารก่อมะเร็ง (carcinogen) สารก่อกลายพันธุ์ (mutagen) และสารก่อลูกวิรูป (teratogen) หรือสารที่ทำให้เกิดความผิดปกติในการเจริญของตัวอ่อนหรือทารกในครรภ์ ปัจจุบันองค์การวิจัยโรคมะเร็งนานาชาติ (The International Agency for Research on Cancer: IARC) จัดให้สารแอฟลาทอกซินเป็นสารก่อมะเร็งร้ายแรงในมนุษย์ ชนิด Class I



ภาพที่ 3.1 โครงสร้างทางเคมีของสารแอฟลาทอกซิน

คุณสมบัติทางเคมี

สารแอฟลาทอกซิน เป็นผลึกโปร่งแสง (crystalline substances) ละลายได้ดีในสารทำละลายจำพวกมีขั้ว เช่น คลอโรฟอร์ม (chloroform) ไดเมทธิว ซัลฟอกไซด์ (dimethyl sulfoxide) และ เมทานอล (methanol) สามารถเรืองแสงได้ภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต (ultraviolet : UV) ที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร คุณสมบัติที่สำคัญทางด้านเคมีและกายภาพของสารแอฟลาทอกซินแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของสารแอฟลาทอกซินชนิดต่าง ๆ

ชนิดของสารแอฟลาทอกซิน	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 - 248
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: European Mycotoxins Awareness Network (2014)

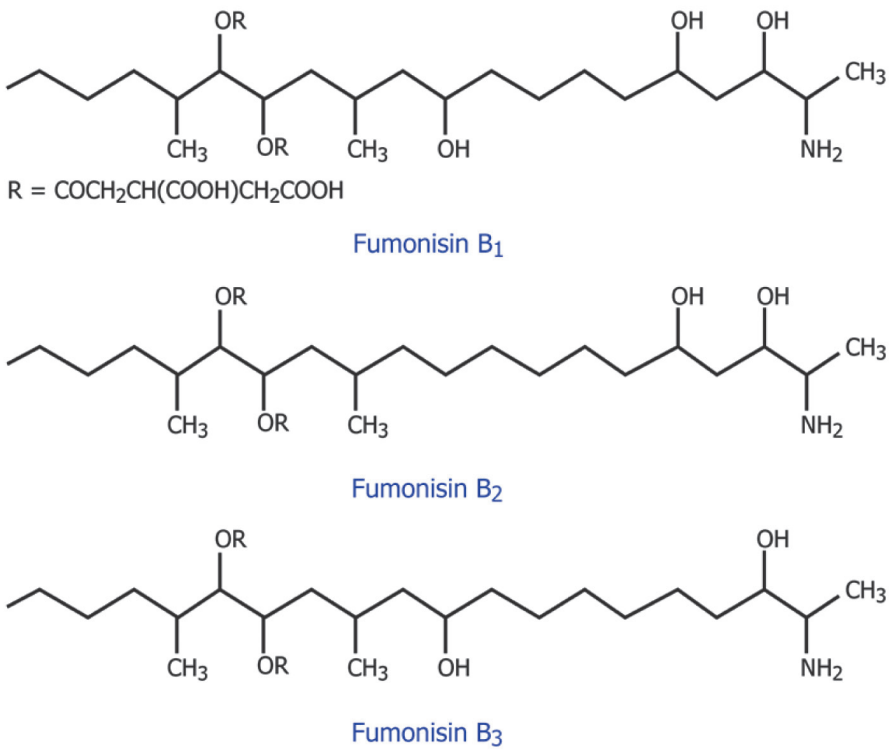
ความเป็นพิษของสารแอฟลาทอกซิน

สารแอฟลาทอกซินเกิดจากสารกลุ่ม coumarin เชื่อมกับ cyclopentanone ring ทำให้เกิดสารแอฟลาทอกซิน บี (AFB) เรืองแสงสีน้ำเงินภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต หากสารกลุ่ม coumarin เชื่อมกับ lactone ring จะได้สารแอฟลาทอกซิน จี (AFG) เรืองแสงสีเขียวภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต สำหรับโครงสร้างของสารแอฟลาทอกซิน บี1 ประกอบด้วย bifuran และ coumarin เชื่อมกับ cyclopentanone ring มีพันธะคู่ (double bond) ที่ตำแหน่ง 8-9 ใน bifuran ring ทำให้มีความเป็นพิษมากกว่าสารแอฟลาทอกซินชนิดอื่น เพราะพันธะคู่นี้สามารถถูกเปลี่ยนเป็น epoxide ซึ่งสามารถจับกับ DNA หรือ RNA และ albumin ได้ง่าย โดยจับกับ DNA ที่ตำแหน่งของ guanine ทำให้เกิดเซลล์ผิดปกติขยายใหญ่กลายเป็นเนื้องอกและมะเร็งในที่สุด ซึ่งส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นที่ตับ และมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคไวรัสตับอักเสบบีด้วย ดังนั้นภาครัฐควรให้ความรู้แก่ประชาชนในการหลีกเลี่ยงอาหาร และผลิตผลเกษตรที่มีการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซิน ควบคู่กับการออกข้อบังคับ เพื่อควบคุมปริมาณการปนเปื้อนของสารพิษนี้ในผลิตผลเกษตรและอาหาร

เนื่องจากความเป็นพิษที่ร้ายแรง และการเป็นสารก่อมะเร็งของสารแอฟลาทอกซินซึ่งเป็นอันตรายแก่ชีวิตของมนุษย์และสัตว์ จึงได้มีการกำหนดปริมาณสูงสุดของสารแอฟลาทอกซิน ที่อนุญาตให้มีการปนเปื้อนได้ในอาหาร (Maximum Level: ML) ซึ่งแต่ละประเทศจะกำหนดค่าแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับความเสี่ยงของผู้บริโภคในประเทศนั้น ๆ จะมีโอกาสได้รับสารพิษจากผลิตผลเกษตรและอาหารที่บริโภคมากน้อยเพียงใด

ฟูโมนิซิน (Fumonisins)

สารพิษฟูโมนิซิน เป็นสารที่สร้างโดยเชื้อรากลุ่ม *Fusarium* spp. ชนิดที่สำคัญได้แก่ *Fusarium verticillioides* และ *F. proliferatum* เชื้อรากลุ่มนี้พบมากในข้าวโพด ข้าว และข้าวฟ่าง สารพิษฟูโมนิซินเป็นสารจำพวก amino polyalcohols มีลักษณะรูปร่างคล้ายกับสาร สฟิงโกซีน (sphingosine) ซึ่งเป็นสารจำพวกอะมิโนแอลกอฮอล์ ที่มีคาร์บอน 18 อะตอม สารพิษฟูโมนิซินที่พบในปัจจุบันมีทั้งหมด 28 ชนิด แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม A, B, C และ P แต่ที่พบมากในธรรมชาติโดยเฉพาะในธัญพืช ได้แก่ สารพิษฟูโมนิซิน บี1 (FB_1) บี2 (FB_2) และบี3 (FB_3) โดยมีสูตรโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 3.2



ภาพที่ 3.2 โครงสร้างทางเคมีของสารพิษฟูโมนิซิน

คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ

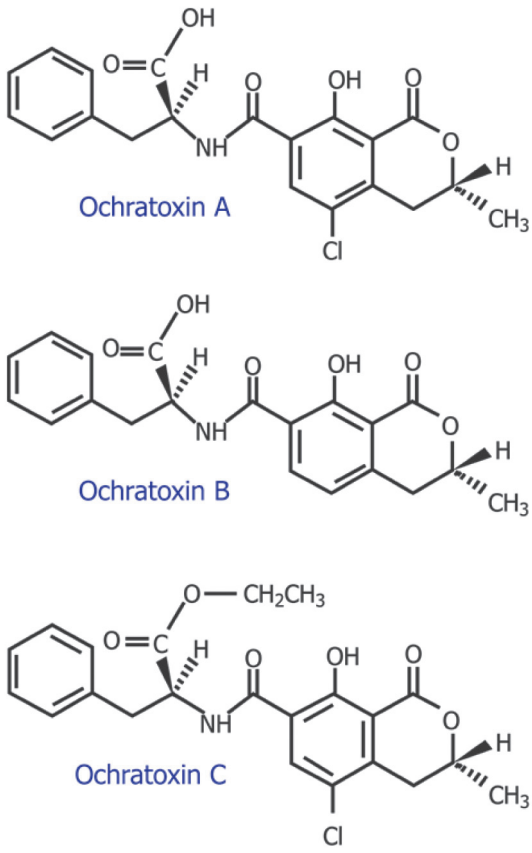
สารพิษฟูโมนิซินเป็นสารสีขาว มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 721 โครงสร้างมีคาร์บอกซีล กรุ๊ป (carboxyl group) ที่อิสระ 4 ตัว ทำให้สามารถละลายน้ำได้ดี และละลายได้ในอะซีโตรไนไตรล์และเมทานอล แต่ละลายไม่ดีในคลอโรฟอร์มและเฮกเซน สารพิษฟูโมนิซินสามารถคงตัวได้ดีเมื่อเก็บในเมทานอลที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส สารพิษชนิดนี้ทนความร้อนได้ดี มีรายงานว่าความร้อนจากการหุงต้มไม่สามารถทำลายสารพิษฟูโมนิซินได้ และสามารถคงตัวอยู่ได้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นานถึง 6 เดือน

ความเป็นพิษของสารพิษฟูโมนิซิน

สารพิษฟูโมนิซิน บี1 บี2 และ บี3 เป็นสารก่อมะเร็ง ความเป็นพิษของสารพิษชนิดนี้มีรายงานในสัตว์หลายชนิด โดยเฉพาะม้า ซึ่งเป็นสัตว์ที่ไวต่อสารพิษฟูโมนิซินมากที่สุด ก่อให้เกิดความเป็นพิษในระบบประสาท ทำให้เกิดโรค equine leukoencephalomalacia (ELEM) ม้าจะเสียการทรงตัวและตายเนื่องจากสมองถูกทำลาย นอกจากนี้ยังเป็นสาเหตุของอาการปอดบวมน้ำ (pulmonary edema) ในสุกร และผลจากอาการดังกล่าวนำไปสู่ความเป็นพิษต่อระบบหัวใจและหลอดเลือดของสุกร โดยทำให้การทำงานของหัวใจด้านซ้ายล้มเหลว สารพิษฟูโมนิซินยังก่อให้เกิดโรคมะเร็งหลอดอาหารในมนุษย์ (human esophageal cancer) และเป็นสารชักนำให้เกิดกระบวนการทำลายเซลล์ (apoptosis) ในมนุษย์ด้วย

โอคราทอกซิน (Ochratoxins)

พบสารโอคราทอกซินครั้งแรกในปี ค.ศ. 1965 เป็นสารพิษที่สร้างโดยเชื้อรา *Aspergillus ochraceus* และต่อมาพบว่าสารพิษนี้สามารถสร้างโดยเชื้อรา *Aspergillus* spp. ทั้งหมด 8 ชนิด ได้แก่ *A. ochraceus*, *A. alliaceus*, *A. ostianus*, *A. melleus*, *A. petrakii*, *A. sclerotiorum*, *A. sulphureus* และ *A. glaucus* ในปัจจุบันยังพบว่าเชื้อรา *Aspergillus* กลุ่มที่สร้างสปอร์สีดำ สามารถสร้างสารโอคราทอกซินได้ เช่น *A. carbonarius*, *A. niger* และ *A. foetidus* นอกจากนี้เชื้อรากลุ่ม *Penicillium* spp. ในกลุ่มประเทศแถบอากาศเย็น สามารถสร้างสารโอคราทอกซินได้ ได้แก่ *P. aurantiogriseum*, *P. viridicatum* และ *P. verrucosum* สารโอคราทอกซินสามารถจำแนกออกเป็น 3 ชนิด ได้แก่ สารโอคราทอกซิน เอ (OTA) บี (OTB) และซี (OTC) (ภาพที่ 3.3) โดยสารโอคราทอกซิน เอ มีความเป็นพิษสูงที่สุด และพบการปนเปื้อนในผลิตผลเกษตรมากกว่าชนิดบี และซี



ภาพที่ 3.3 โครงสร้างทางเคมีของสารโอคราทอกซิน

คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ

สารโอคราทอกซินเป็นสารประกอบที่เป็นผลึก ไม่มีสี มีน้ำหนักโมเลกุล 403 สามารถเรืองแสงภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต ละลายได้ในสารละลายอินทรีย์ที่มีขั้ว และสารละลายโซเดียมไบคาร์โบเนต แต่ละลายได้เล็กน้อยในน้ำ สารพิษชนิดนี้มีความคงตัวระหว่างกระบวนการผลิตอาหาร โดยมีการศึกษาพบว่า สามารถทนความร้อนได้สูงสุดถึง 250 องศาเซลเซียส และในการอบข้าวสาลีที่มีสารโอคราทอกซินปนเปื้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 160 นาที สามารถลดปริมาณการปนเปื้อนสารโอคราทอกซิน ได้เพียง 20% เท่านั้น

ความเป็นพิษของสารโอคราทอกซิน

สารโอคราทอกซินถูกจัดให้เป็นสารก่อมะเร็งในมนุษย์ กลุ่ม 2B โดยพบว่ามีความเป็นพิษต่อการทำงานของไตและตับทั้งในมนุษย์และสัตว์ เป็นสารกดภูมิคุ้มกัน สารก่อมะเร็งในระบบทางเดินปัสสาวะ และก่อให้เกิดลูกวิรูปในสัตว์ทดลอง นอกจากนี้ยังมีความเกี่ยวข้องกับการเกิดโรค balkan endemic nephropathy ในมนุษย์ โดยพบครั้งแรกในประชากรที่อาศัยในแถบชนบทของ Balkan Peninsular (พื้นที่ในแถบยุโรปตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ประเทศโรมาเนีย บัลแกเรีย บอสเนีย เป็นต้น) ซึ่งทำให้เกิดอาการไตวายเฉียบพลัน นอกจากนี้มีรายงานการตรวจพบสารโอคราทอกซินในเลือดของผู้ป่วยโรคไต 39 คน พบว่าผู้ป่วย 8 คน มีปริมาณสารโอคราทอกซินในกระแสเลือด 0.17-2.42 ไมโครกรัม/ลิตร แสดงให้เห็นว่าผู้บริโภคมีความเสี่ยงในการรับสารพิษชนิดนี้เข้าสู่ร่างกาย ซึ่งส่วนมากรับสารพิษจากการบริโภคผลิตผลเกษตร และผลิตภัณฑ์อาหารที่มีการปนเปื้อนสารโอคราทอกซิน

ไตรโคทีซีน (Trichothecenes)

สารพิษไตรโคทีซีนเป็นกลุ่มของสารจำพวกเซสควิเทอร์ปีนอยด์ (sesquiterpenoid: สารที่มีคาร์บอน 15 อะตอม) เกิดจากเชื้อราหลายชนิด เช่น *Fusarium* sp., *Myrothecium* sp., *Spicellum* sp., *Stachybotrys* sp., *Cephalosporium* sp., *Trichoderma* sp. และ *Trichothecium* sp. เป็นต้น โดยเชื้อรากลุ่ม *Fusarium* sp. ที่สามารถสร้างสารพิษกลุ่มสารไตรโคทีซีน ได้แก่ *F. sporotrichioides*, *F. verticillioides*, *F. poae* และ *F. graminaerum* สารพิษกลุ่มนี้มีจำนวนมากกว่า 150 ชนิด สามารถแบ่งออกเป็น 4 ประเภท ตามคุณสมบัติทางเคมี และชนิดเชื้อราที่สร้างสารพิษ ได้แก่

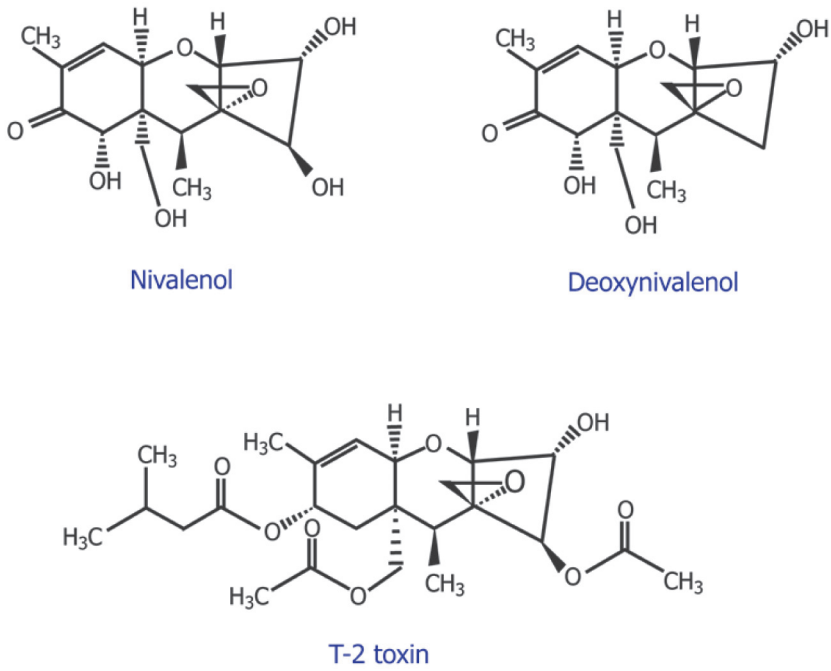
Type A: เป็นสารพิษที่สร้างขึ้นจากเชื้อรา *Fusarium* spp. ประกอบด้วยวงแหวนไตรโคทีเคน (trichothecane ring) มีกลุ่มอะตอมที่แสดงลักษณะเฉพาะ (functional group) จับที่ตำแหน่งที่ 8 สารพิษนี้มีความเป็นพิษสูง เช่น สารที-ทู ทอกซิน (T-2 toxin) สารเอชที-ทู ทอกซิน (HT-2 toxin) และสารพิษ 4,15-DAS เป็นต้น

Type B: เป็นสารพิษที่สร้างขึ้นจากเชื้อรา *Fusarium* spp. มีกลุ่ม carbonyl functions ที่ตำแหน่งที่ 8 มีความเป็นพิษสูง เช่น DON, NIV, FUS-X, 3-acetyl-deoxynivalenol และ 15-acetyl-deoxynivalenol

Type C: second epoxide group ที่ตำแหน่ง C7,8 หรือ C9,10 เช่น crotocin และ baccharin

Type D: macrocyclic ring system ระหว่างคาร์บอนตำแหน่งที่ 4 และ 15 เชื่อมด้วย 2 ester linkages เช่น satratoxin G, H, roridin A และ verrucarin A

แต่ที่พบตามธรรมชาติและเป็นปัญหาต่อผู้บริโภคทั้งมนุษย์และสัตว์ มีผลกระทบทางเศรษฐกิจนั้น มี 3 ชนิด ได้แก่ สารพิษดีอ็อกซีนิวาลีโนล (deoxynivalenol: DON) สารพิษ นิวาลีโนล (nivalenol: NIV) และสารที-ทู ทอกซิน ซึ่งมีโครงสร้างทางเคมีของสารกลุ่มไตรโคทีซีนแสดงในภาพที่ 3.4



ภาพที่ 3.4 โครงสร้างทางเคมีของสารพิษกลุ่มไตรโคทีซีน

คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ

สารพิษกลุ่มไตรโคทีซีน ประกอบด้วย เอสเตอร์ กรุ๊ป (ester group) สูตรโครงสร้างมีพันธะคู่อยู่ระหว่างคาร์บอนตำแหน่งที่ 9 และ 10 และมีวงแหวนอีพ็อกซี่ (epoxy) อยู่ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 12-13 เรียกว่า 12, 13-epoxytrichothecenes ซึ่งเป็นส่วนสำคัญที่ทำให้เกิดพิษในสิ่งมีชีวิต มีความคงตัวเป็นระยะเวลานาน และทนทานต่อความร้อนได้ดีมาก แต่ความเป็นพิษสามารถลดลงได้ในสภาวะที่เป็นกรดและด่าง สารพิษกลุ่มนี้ละลายได้ดีใน เอธิล-อะซิเตท อะซิโตน คลอโรฟอร์ม เมธิลีน-คลอไรด์ และ ไดเอธิล-อีเทอร์

สารพิษดีอ๊อกซีนิวาลีโนล เป็นสารจำพวกมีขั้วสามารถละลายในน้ำ และสารละลายมีขั้ว เช่น เมทานอล มีน้ำหนักโมเลกุล 296 สามารถเรืองแสงภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต ขณะที่สารที-ทู ทอกซิน มีลักษณะเป็นเกล็ดแหลม สีขาว มีน้ำหนักโมเลกุล 466 มีจุดหลอมเหลวสูงมากกว่า 150 องศาเซลเซียส สามารถทนความร้อนจากกระบวนการแปรรูปได้ เรืองแสงภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต ไม่ละลายในน้ำ แต่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เอธานอล สำหรับสารพิษนิวาลีโนล มีน้ำหนักโมเลกุล 312 มีความคงตัวสูง ทนต่อความร้อนในกระบวนการแปรรูปได้ดีเช่นเดียวกับสารพิษดีอ๊อกซีนิวาลีโนล และสารที-ทูทอกซิน

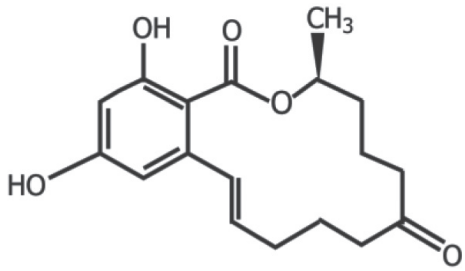
ความเป็นพิษของสารพิษกลุ่มไตรโคทีซีน

สารพิษไตรโคทีซีน เป็นสารที่มีฤทธิ์เฉียบพลัน แม้ได้รับสารพิษในระดับความเข้มข้นต่ำ ทำให้ระบบทางเดินอาหารผิดปกติ เกิดอาการท้องร่วง และอาเจียนอย่างรุนแรง จนทำให้มีการเรียกสารพิษกลุ่มนี้ว่า โวมิททอกซิน (vomitoxin) ความเป็นพิษของสารกลุ่มนี้ในมนุษย์ มีรายงานในประเทศรัสเซียว่าเกิด alimentary toxic aleukia (ATA) เป็นสาเหตุทำให้เกิดรอยแผลที่ผิวหนัง มีผื่นขึ้น คลื่นไส้อาเจียน ปวดศีรษะ ท้องร่วง เม็ดโลหิตผิดปกติ รวมทั้งลดการสร้างภูมิคุ้มกันของร่างกาย และอาจเสียชีวิตได้ นอกจากนี้อาจทำให้สัตว์แท้งลูกได้

สารกลุ่มนี้เป็นสารพิษที่สามารถยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ DNA RNA และโปรตีนในสัตว์อย่างรวดเร็ว การทดลองให้สัตว์รับสารพิษกลุ่มนี้ทางปาก พบว่า สารพิษเข้าสู่กระแสโลหิตภายในเวลา 1 ชั่วโมง มีรายงานการทดสอบระดับความเข้มข้นของสารพิษกลุ่มนี้ (LD_{50}) ในสัตว์ทดลอง พบว่า สารพิษดีอ็อกซีนิวาลีโนล ปริมาณ 70 มิลลิกรัม (ต่อน้ำหนักตัวสัตว์ 1 กิโลกรัม) ทำให้ 50% ของสัตว์ทดลองที่ได้รับสารพิษตายลง ขณะที่สารที-ทู ทอกซิน และสารพิษนิวาลีโนล มีความเป็นพิษมากกว่า โดยพบว่าสารพิษเพียง 4 - 5 มิลลิกรัม (ต่อน้ำหนักตัวสัตว์ 1 กิโลกรัม) ส่งผลให้สัตว์ทดลองตายลง 50%

ซีราลีโนน (Zearalenone)

สารพิษซีราลีโนน เป็นสารจำพวก phenolic resorcyclic acid lactone (ภาพที่ 3.5) สร้างโดยเชื้อรา *Fusarium graminearum*, *F. culmorum* และ *F. crookwellense* เป็นเชื้อราที่เจริญและสร้างสารพิษได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ และความชื้นสูง



ภาพที่ 3.5 โครงสร้างทางเคมีของสารพิษซีราลีโนน

คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ

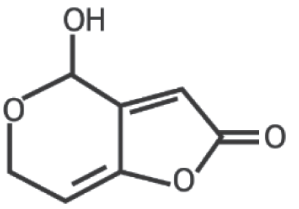
สารพิษซีราลีโนนมีลักษณะเป็นผลึกสีขาว น้ำหนักโมเลกุล 318 สามารถเรืองแสงสีฟ้า-เขียวภายใต้แสงอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 360 นาโนเมตร และปรากฏเป็นสีฟ้าเข้มขึ้นที่ช่วงความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร ละลายได้ดีใน เบนซีน อะซีโตไนไตรล์ เมทานอล เอธานอล และอะซีโตน แต่ละลายได้เล็กน้อยใน เฮกเซน และสามารถละลายน้ำได้ประมาณ 0.002 กรัม/100 มิลลิลิตร จุดหลอมเหลวของสารพิษซีราลีโนน คือ 165 องศาเซลเซียส ทำให้คงสภาพได้ดีถึงแม้มีอุณหภูมิสูง อย่างไรก็ตามสารพิษชนิดนี้สามารถสลายตัวได้ประมาณ 60% ด้วยความร้อน

ความเป็นพิษของสารพิษซีราลีโนน

สารพิษซีราลีโนนเป็นสารกลุ่ม nonsteroidal estrogen มีฤทธิ์ใกล้เคียงกับฮอร์โมนเอสโทรเจนหรือฮอร์โมนเพศหญิง มีผลยับยั้งการสังเคราะห์และการหลั่งของ gonadotropins จากต่อมใต้สมอง เมื่อสัตว์ได้รับสารพิษนี้เข้าไป ร่างกายจะเกิดภาวะมีฮอร์โมนเอสโตรเจนสูงกว่าปกติ ทำให้อวัยวะสืบพันธุ์บวมแดง มดลูกขยายขนาดใหญ่ขึ้น กระตุ้นให้ต่อมน้ำนมเจริญ ทำให้มีน้ำนมไหล และยังชะลอการฝังตัวของตัวอ่อน ทำให้เกิดอาการแท้งลูกในสัตว์ สารพิษนี้สามารถส่งผลถึงมนุษย์ได้ หากบริโภคเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ที่มีการปนเปื้อนสารพิษซีราลีโนน สารพิษสามารถกดภูมิคุ้มกัน ทำให้ระบบโลหิตเป็นพิษ รวมทั้งมีผลกระทบต่อการทำงานของตับด้วย

พาทูลิน (Patulin)

สารพิษพาทูลิน เป็นสารที่จัดอยู่ในกลุ่ม polyketide lactone (ภาพที่ 3.6) สร้างโดยเชื้อรา *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp. และ *Byssochlamys* sp.



ภาพที่ 3.6 โครงสร้างทางเคมีของสารพิษพาทูลิน

คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ

สารพิษพาทูลิน มีขนาดโมเลกุลเล็ก น้ำหนักโมเลกุล 154 เป็นผลึกสีขาว สามารถละลายได้ดีในน้ำ และเมทานอล มีจุดหลอมเหลวที่ 110 องศาเซลเซียส แต่ถูกทำลายได้โดยก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO_2)

ความเป็นพิษของสารพาทูลิน

ความเป็นพิษของสารพาทูลิน อาจเป็นได้ทั้งแบบเฉียบพลันและแบบเรื้อรัง สารพิษพาทูลินยังเป็นสารก่อลูกวิรูป และเป็นสารก่อกลายพันธุ์ สารพิษนี้จะจับกับซัลฟ์ไฮดริลกรุ๊ป (sulfhydryl groups) เกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ต่าง ๆ ในร่างกายมนุษย์ ทำให้เกิดอาการปั่นป่วน และอาการเกร็งของกล้ามเนื้ออย่างรุนแรง ระบบการย่อยอาหารไม่สมบูรณ์ ทำให้ปอดทำงานผิดปกติ เซลล์บวมน้ำ และทำลายระบบประสาทส่วนกลาง

บทที่ 4 ปัจจัยในการสร้างสารพิษของเชื้อรา

ปัจจัยที่ทำให้เชื้อราเจริญและสร้างสารพิษ

เชื้อราเป็นสิ่งมีชีวิตที่เจริญได้ด้วยอาหาร ซึ่งมักเป็นวัตถุดิบจากผลิตผลทางการเกษตรที่มีสารอาหารต่าง ๆ เชื้อราดูดซึมสารอาหารเข้าสู่เซลล์ เมื่อมีสภาวะแวดล้อมเหมาะสมจึงสร้างสารทุติยภูมิหลายชนิด รวมถึงสารพิษจากเชื้อรา ดังนั้นการสร้างสารพิษของเชื้อราประกอบด้วย 3 ปัจจัยหลัก ได้แก่ ชนิดของเชื้อรา ความสมบูรณ์ของสารอาหาร และความเหมาะสมของสภาพแวดล้อม (ภาพที่ 4.1) โดยปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเจริญของเชื้อราและการสร้างสารพิษมีรายละเอียดต่าง ๆ ดังนี้

ภาพที่ 4.1 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเจริญของเชื้อราและการสร้างสารพิษ

1. ชนิดของเชื้อรา (fungi)

เชื้อราแต่ละชนิดมีประสิทธิภาพในการสร้างสารพิษต่างกัน บางสายพันธุ์สร้างสารพิษมาก บางสายพันธุ์สร้างน้อยหรือไม่สร้างสารพิษเลย ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความสามารถของเชื้อราเอง ปัจจุบันจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อราโดยอาศัยทางเทคนิคชีวโมเลกุล พบว่าเชื้อราที่สร้างสารพิษจะมีการแสดงออกของยีนที่ควบคุมการสร้างสารพิษ เชื้อราที่พบว่ามีการสร้างสารพิษ ได้แก่ *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. และ *Penicillium* spp. ซึ่งมักพบปนเปื้อนในผลิตผลเกษตร ตั้งแต่ในแปลงปลูกจนถึงขั้นตอนการเก็บรักษาในโรงเก็บ

2. อาหารที่เชื้อราใช้ในการเจริญ (substrate)

เชื้อรากลุ่มที่สร้างสารพิษได้ มักเป็นกลุ่มเชื้อราในโรงเก็บ ส่วนใหญ่สามารถเจริญได้บนอาหารเกือบทุกชนิด รวมถึงอาหารสัตว์ สารอาหารที่เชื้อราต้องการในการเจริญและสร้างสารพิษ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และวิตามิน ซึ่งในผลิตผลเกษตรประกอบด้วยสารอาหารเหล่านี้ ตัวอย่างเช่น การศึกษาการปนเปื้อนสารแอฟลาทอกซินในผลมะเดื่อฝรั่งสุก (fig) พบว่า มะเดื่อมีปริมาณคาร์โบไฮเดรต ซึ่งเป็นอาหารสำคัญของเชื้อรากลุ่ม *Aspergillus* ทำให้เหมาะแก่การเจริญและสร้างสารแอฟลาทอกซิน เช่นเดียวกันกับในผลิตผลเกษตรที่เป็นกลุ่มพืชไร่ ซึ่งส่วนใหญ่มีแป้งเป็นองค์ประกอบสำคัญ ทำให้เกิดปัญหาการปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อรา นอกจากนี้น้ำตาลและเกลือแอมโมเนียมชนิดต่าง ๆ ที่มีในอาหาร เช่น ซูโครส และแอมโมเนียมซัลเฟต มีผลต่อการเจริญและการสร้างสารพิษของเชื้อรา โดยกระตุ้นให้เชื้อราสร้างสารแอฟลาทอกซินได้เพิ่มมากขึ้น ปริมาณเกลือแร่มีผลต่อการสร้างสารพิษเช่นกัน เชื้อราสร้างสารพิษได้น้อยในอาหารที่มีปริมาณสังกะสีไอออนต่ำ จากการศึกษาในถั่วเหลืองพบปริมาณกรดไฟติก (phytic acid) สูง กรดไฟติกนี้จับตัวกับสังกะสีไอออนได้ดี จึงมีสังกะสีไอออนเหลือในเมล็ดถั่วเหลืองน้อย ทำให้เชื้อราที่ปนเปื้อนในถั่วเหลืองสร้างสารแอฟลาทอกซินได้น้อยกว่าถั่วชนิดอื่น ๆ

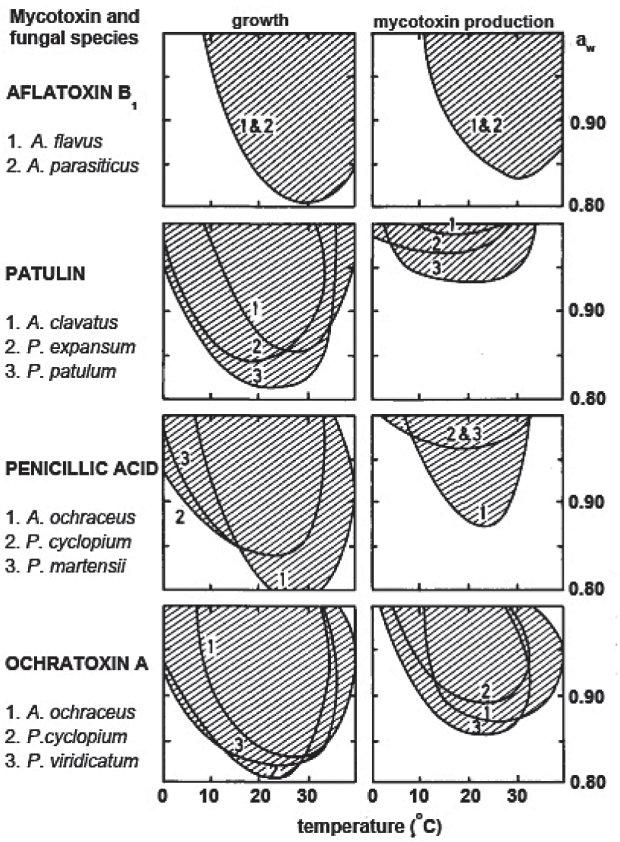
3. สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม

เป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลอย่างมากต่อการเจริญของเชื้อรา การสร้างสารพิษ และปริมาณสารพิษที่สร้าง ดังนั้นในการป้องกันการเกิดสารพิษจากเชื้อราควรหาแนวทางควบคุมปัจจัยต่าง ๆ เหล่านี้ สภาพแวดล้อมที่มีอิทธิพลต่อการสร้างสารพิษที่สำคัญ ได้แก่

3.1 อุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสม ในประเทศแถบร้อนชื้น มีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อราที่สร้างพิษอยู่ระหว่าง 25-40 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสร้างสารพิษคือ 25-35 องศาเซลเซียส เชื้อรากลุ่ม *Penicillium* ส่วนใหญ่เจริญได้ในช่วงอุณหภูมิที่ต่ำกว่าเชื้อรากลุ่ม *Aspergillus* โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรากลุ่ม *Penicillium* ส่วนใหญ่อยู่ระหว่าง 25-30 องศาเซลเซียส และเชื้อรากลุ่ม *Aspergillus* อยู่ระหว่าง 30-40 องศาเซลเซียส ในประเทศแถบหนาวเชื้อราบางชนิดสามารถเจริญและสร้างสารพิษได้ที่อุณหภูมิ 1-15 องศาเซลเซียส เช่น เชื้อรา *Penicillium expansum* สามารถสร้างสารพิษพาทูลินในผลแอปเปิ้ลได้ที่อุณหภูมิ 1-4 องศาเซลเซียส ขณะที่เชื้อรากลุ่ม *Fusarium* หลายสายพันธุ์สามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 8-15 องศาเซลเซียส

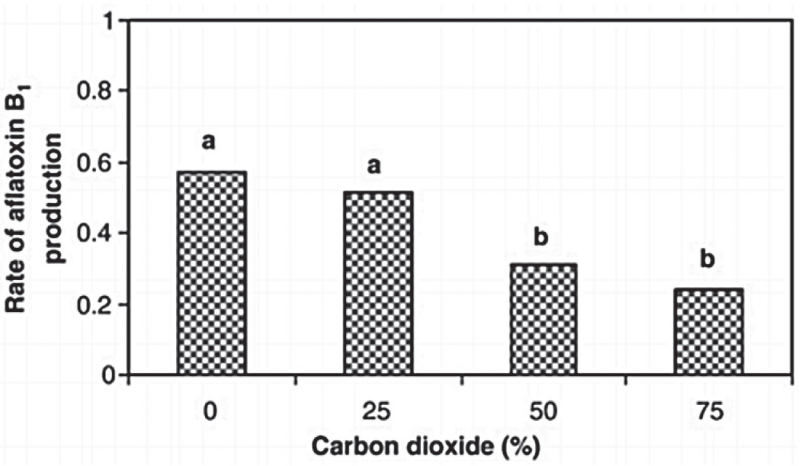
นอกจากนี้ระยะเวลาที่เหมาะสมก็มีอิทธิพลต่อการสร้างสารพิษ มีรายงานว่าเชื้อรา *A. flavus* สามารถสร้างสารแอฟลาทอกซินได้สูงสุดระหว่างวันที่ 11 ถึง 13 ของการเลี้ยงเชื้อรา ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ขณะที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เชื้อราสามารถสร้างสารพิษได้สูงสุดระหว่างวันที่ 7-9 และที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เชื้อราสามารถสร้างสารแอฟลาทอกซินได้สูงสุดระหว่างวันที่ 5-7 สำหรับประเทศไทยนั้นพบว่าเชื้อราจะสร้างสารแอฟลาทอกซินได้ดีระหว่างวันที่ 7-14 ของการเลี้ยงเชื้อรา

3.2 ความชื้นสัมพัทธ์ที่เหมาะสม โดยทั่วไปความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ (relative humidity) มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ จะเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อราและการสร้างสารพิษ หรือปริมาณน้ำอิสระ (water activity: a_w) ที่เหมาะสมอยู่ในช่วงประมาณ 0.70-0.99 ปริมาณน้ำอิสระในอาหารมีความสำคัญต่อการเจริญของเชื้อรามาก ถ้าความชื้นในอาหารต่ำทำให้เชื้อราเจริญช้าและสร้างสารแอฟลาทอกซินได้น้อย เช่น เชื้อรา *Aspergillus* sp. เจริญได้ดีในอาหารหรือผลิตผลเกษตรที่มีความชื้นประมาณ 10-17 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเชื้อรา *Penicillium* sp. ต้องการความชื้นประมาณ 16-21 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อรา *Fusarium* sp. เจริญได้ดีในผลิตผลเกษตรที่มีความชื้นประมาณ 18-33 เปอร์เซ็นต์ โดยเชื้อราแต่ละชนิดต้องการปริมาณน้ำอิสระ และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญและการสร้างสารพิษแตกต่างกัน (ภาพที่ 4.2)



ภาพที่ 4.2 ปริมาณน้ำอิสระ (a_w) และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญและการสร้างสารพิษโดยเชื้อราสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่มา: Northolt (1979)

3.3 ปริมาณออกซิเจน (oxygen: O_2) และคาร์บอนไดออกไซด์ (carbon dioxide: CO_2) เชื้อราในโรงเก็บส่วนใหญ่เป็นกลุ่มที่ต้องการปริมาณออกซิเจนสูงในการเจริญเติบโต จากการศึกษาพบว่าถ้าเพิ่มปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์เป็น 80 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราในจานเลี้ยงเชื้อได้มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าคาร์บอนไดออกไซด์เข้มข้น 25-50 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดการเจริญของ *A. flavus* และการสร้างสารแอฟลาทอกซินในเมล็ดข้าวโพดในโรงเก็บรักษาได้ (ภาพที่ 4.3)



ภาพที่ 4.3 ผลของความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการผลิตสารแอฟลาทอกซิน บี1 (AFB_1) โดยเชื้อรา *A. flavus* ข้อมูลในแกน Y แสดงถึงอัตราการผลิตสารพิษ (0: ไม่มีการผลิต AFB_1, 1: มีการผลิต AFB_1 สูงสุด) และรวมชุดข้อมูลจากทั้ง *in vitro* และการทดลองในเมล็ดข้าวโพด หลังจากบ่มไว้ 14 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส กรรมวิธีที่ตามด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
ที่มา: Giorni *et al*. (2008)

นอกจากนี้สามารถแบ่งปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อราและการสร้างสารพิษในธัญพืชเป็น 2 ปัจจัยใหญ่ๆ (ตารางที่ 4.1)

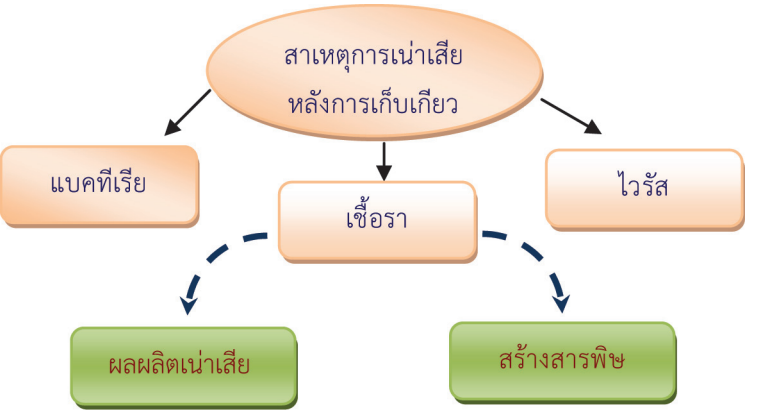
ตารางที่ 4.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อราและการสร้างสารพิษในธัญพืช

ปัจจัยภายใน	ปัจจัยภายนอก
องค์ประกอบ: ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และแร่ธาตุต่างๆ	**ความชื้นสัมพัทธ์ (RH):** ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า70% เหมาะแก่การเจริญของเชื้อรา
ความเป็นกรดหรือด่าง (pH): การเจริญของเชื้อราจะลดลงเมื่อค่า pH ลดลง ซึ่งเป็นพื้นฐานของการใช้สารอินทรีย์ เช่น การใช้ propionic acid ในการควบคุมการเจริญของเชื้อราในการเก็บรักษาเมล็ด	**อุณหภูมิ:** อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อราและการสร้างสารพิษจะแตกต่างกันไปตามชนิดของเชื้อรา โดยทั่วไปเชื้อรากลุ่ม *Aspergillus* และ *Penicillium* จะเจริญได้ดีในสภาพอุณหภูมิที่สูงกว่าเชื้อราในกลุ่ม *Fusarium*
ความชื้นในเมล็ด: ความชื้นในเมล็ดมากกว่า 13% เหมาะสมต่อการเจริญของรากลุ่ม saprophytic fungi (เช่น *Aspergillus* sp. และ *Penicillium* sp.) และความชื้นในเมล็ดมากกว่า 20% เหมาะสำหรับเชื้อราสาเหตุโรคพืช (เช่น *Fusarium* sp.)	**ออกซิเจน และคาร์บอนไดออกไซด์:** เชื้อราต้องการออกซิเจนในการเจริญ (aerobic organisms) การเก็บเมล็ดพืชในสภาพอากาศที่มีออกซิเจน 5% และคาร์บอนไดออกไซด์ 40% ส่งผลกระทบต่อการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* sp. และไม่พบการสร้างสารพิษจากเชื้อรานี้
ปริมาณน้ำอิสระ (a_w): เป็นตัวแปรที่เกี่ยวข้องกับปริมาณน้ำอิสระที่เชื้อราสามารถนำไปใช้ในการเจริญได้ เช่น ถั่วลิสงที่มีความชื้นในเมล็ดต่ำ (9%) แต่มีปริมาณน้ำอิสระสูง มีส่วนช่วยในการเจริญและสร้างสารพิษของเชื้อรา *Aspergillus* sp. ได้ดี	**พื้นที่ผิวของเมล็ด:** เมล็ดที่มีขนาดเล็กจะทำให้มีพื้นที่ผิวมากกว่า ทำให้เชื้อรามีโอกาสเจริญมากกว่า

ที่มา : Leeson and Summers (2001)

บทที่ 5 การปนเปื้อนของเชื้อราและสารพิษจากเชื้อราในกระบวนการผลิต

ความเสียหายที่เกิดจากเชื้อราและสารพิษจากเชื้อรา เป็นปัญหาที่ทำให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจทั้งภายในและระหว่างประเทศ การเข้าทำลายของเชื้อราในแปลงปลูกจะทำให้พืชเป็นโรค สูญเสียผลผลิต และกระทบต่อคุณภาพของผลิตผลเกษตรหลังการเก็บเกี่ยว เชื้อราบางชนิดนอกจากจะทำให้ผลิตผลเน่าเสียแล้วยังสร้างสารพิษทิ้งไว้ ส่งผลกระทบโดยตรงต่อผู้บริโภค (ภาพที่ 5.1) องค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (Food and Agriculture Organization: FAO) ได้ประเมินความเสียหายของผลิตผลเกษตรที่เกิดจากการปนเปื้อนเชื้อราและสารพิษจากเชื้อรา พบการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อรา ประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์ ของผลิตผลเกษตรที่ประเมิน โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารแอฟลาทอกซิน อันเกิดจากเชื้อรา *Aspergillus flavus* และถือเป็นปัญหาสำคัญในประเทศแถบร้อนชื้น ความเสียหายทางเศรษฐกิจที่เกิดจากสารพิษส่งผลกระทบทั้งทางตรงและทางอ้อม ความเสียหายทางตรง ได้แก่ ผลผลิตเกษตรลดลงไม่ว่าจะเป็นอาหารหรืออาหารสัตว์ และยังส่งผลกระทบต่อผู้ผลิต เนื่องจากทำให้สัตว์ เช่น โคและสุกร เป็นโรค และราคาตกต่ำ ส่วนผลกระทบต่อเศรษฐกิจทางอ้อม คือ ใช้เป็นข้อกีดกันทางการค้า ปัจจุบันมีหลายประเทศได้นำปัญหาการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราในอาหารและผลิตผลเกษตรมาเป็นข้อกีดกันทางการค้าในการนำเข้าและส่งออก



ภาพที่ 5.1 การเกิดโรคและการเน่าเสียของพืช และการปนเปื้อนสารพิษในผลิตผลเกษตร

เชื้อราที่เข้าทำลายผลิตผลเกษตรและสร้างสารพิษสามารถจำแนกตามแหล่งที่เชื้อราเข้าทำลายผลิตผลเกษตร ได้ 2 กลุ่ม ดังนี้

1. เชื้อราที่เกิดขึ้นในแปลงปลูก (field fungi) เช่น *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Penicillium* sp. และ *Fusarium* sp. เป็นต้น เชื้อรากลุ่มนี้เข้าทำลายทั้งพืชไร่และพืชสวนก่อนการเก็บเกี่ยว การเข้าทำลายจะขึ้นอยู่กับความสัมพันธ์ระหว่างพืชกับชนิดของเชื้อรา เชื้อรากลุ่มนี้มีความต้องการน้ำในการเจริญสูง โดยทั่วไปต้องการปริมาณน้ำอิสระประมาณ 0.80-0.90 โดยเชื้อรา *A. alternata* เป็นเชื้อที่เข้าทำลายผลไม้ตั้งแต่ในแปลงปลูก และสร้างกรดทีนูอะโซนิค (tenuazonic acid) ซึ่งเป็นสารพิษในผลไม้ สำหรับเชื้อรา *Claviceps purpurea* สามารถเข้าทำลายผลิตผลพืชไร่ เช่น ข้าวไรน์ ตั้งแต่ในแปลงปลูก โดยเชื้อรานี้จะผลิตสารเออร์ก็อต แอลคาลอยด์ (ergot alkaloid) ที่เป็นพิษในผลิตผลเกษตร

2. เชื้อราที่เกิดขึ้นหลังการเก็บเกี่ยวหรือในโรงเก็บ (storage fungi) ซึ่งลักษณะการเข้าทำลายของเชื้อรากลุ่มนี้ถูกจำกัดด้วยปัจจัยทางกายภาพ การปนเปื้อนส่วนใหญ่เกิดขึ้นจากสปอร์หรือโคนิเดีย (conidia) และชิ้นส่วนเส้นใยของเชื้อราที่กระจายอยู่ในสภาพแวดล้อมทั่วๆ ไป ทั้งในดินและอากาศ เชื้อรากลุ่มนี้สามารถเจริญได้ที่ระดับความชื้นต่ำ ที่มีปริมาณน้ำอิสระ 0.75-0.80 ได้แก่ เชื้อรากลุ่ม *Aspergillus, Pencillium* และ *Fusarium* ซึ่งมีลักษณะรูปร่างของสปอร์แตกต่างกัน เชื้อราเหล่านี้สามารถสร้างสารพิษที่เป็นอันตรายต่อมนุษย์และสัตว์ได้

การปนเปื้อนของเชื้อราที่สร้างสารพิษ (mycotoxigenic fungi) ในผลิตผลเกษตร

ผลิตผลเกษตรในประเทศไทยหลายชนิด มีการปนเปื้อนของเชื้อราที่สร้างสารพิษ ในปริมาณมากน้อยต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของผลิตผลเกษตร และลักษณะการเก็บรักษา โดยพบเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของ *A. niger* สูงสุด รองลงมา ได้แก่ *A. flavus* (ตารางที่ 5.1) นอกจากนี้ยังพบว่าผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรหลายชนิดทั้งรูปแบบผง แคปซูล และแบบถุงชา มีการปนเปื้อนของเชื้อราหลังการเก็บเกี่ยวโดยเฉพาะ *Aspergillus* sp.

ตารางที่ 5.1 ชนิดและปริมาณของเชื้อราชนิดต่างๆ ที่ตรวจพบในผลิตผลเกษตรในประเทศไทย

ผลิตผลเกษตร	การปนเปื้อนของเชื้อรา (%)					
	A. flavus	*A. niger*	*A. candidus*	*A.tamarii*	*Pencillium*	*Fusarium*
กระเทียม	2.00 (1/50)**	36.00 (18/50)			10.00 (5/50)	6.00 (3/50)
หอมแดง		100 (25/25)			84.00 (21/25)	
พริกไทยขาว						4.00 (1/25)
พริกไทยดำ	1.10 (19/1760)	0.85 (15/1760)		0.23 (8/1760)	0.17 (4/1760)	3.41 (60/1760)
พริกแห้ง	18.00 (204/1110)	36.00 (403/1110)		0.72 (8/1110)	0.36 (4/1110)	1.53 (17/1110)
พริกแห้งป่นหยาบ	7.90 (130/1655)	27.00 (449/1655	0.32 (5/1655)		0.38 (3/1655)	0.12 (2/1655)
พริกแห้งป่นละเอียด	12.60 (98/780)	37.20 (290/780)				
ลูกเดือย	20.10 (350/1745)	13.29 (232/1745)		0.46 (8/1745)	9.74 (170/1745)	9.68 (168/1745)
มะม่วงหิมพานต์		48.00 (12/25)	4.00 (1/25)			
เห็ดหูหนู	8.00 (2/25)	8.00 (2/25)				4.00 (1/25)
ถั่วลิสง	38,07 (637/1710)	48.37 (793/1710)		1.40 (24/1710)	2.40 (41/1710)	1.05 (18/1710)
งาดำ	14.25 (637/4525)	24.97 (1123/4525)		0.09 (4/4525)	0.02 (1/4525)	0.02 (1/4525)
งาขาว (ขัด)		4.00 (1/25)			4.00 (1/25)	
ถั่วเหลือง		4.00 (1/25)				4.00 (1/25)
เม็ดบัว	60.00 (15/25)	68.00 (17/25)			12.00 (3/25)	

** ตัวเลขในวงเล็บคือจำนวนเมล็ดที่ตรวจพบเชื้อ/จำนวนเมล็ดที่ตรวจสอบ

ที่มา: อมราและคณะ (2544)

การปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซิน

สารแอฟลาทอกซิน เป็นสารพิษที่พบปนเปื้อนในผลิตผลเกษตรหลังการเก็บเกี่ยวหลายชนิด รวมทั้งในผลิตภัณฑ์ที่แปรรูปมาจากผลิตผลเกษตรที่ปนเปื้อนสารแอฟลาทอกซิน การปนเปื้อนสารแอฟลาทอกซินเกิดขึ้นได้ทั้งผลิตผลเกษตรที่เป็นพืชไร่ และพืชสวน สามารถเกิดขึ้นได้ตลอดโซ่อุปทานผลิตผลเกษตรจำพวกพืชไร่ที่มักพบปัญหาการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซิน และส่งผลต่อสุขอนามัยของผู้บริโภค เช่น ข้าว ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ถั่วลิสง เดือย ข้าวสาลี งา และแมงลัก เป็นต้น ผลิตผลเกษตรด้านพืชสวน เช่น พริก สมุนไพร เครื่องเทศ มะเดื่อ มะพร้าวแห้ง และผลไม้อบแห้ง เป็นต้น

จากการสำรวจการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินในผลิตผลเกษตร 17 ชนิด พบว่าถั่วลิสงและพริกป่น มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซิน บี1 สูงสุด บางตัวอย่างของถั่วลิสงตรวจพบสารพิษในปริมาณที่สูงกว่า 1,000 ไมโครกรัม/กิโลกรัม เกินมาตรฐานกำหนดของประเทศไทย (20 ไมโครกรัม/กิโลกรัม) (ตารางที่ 5.2) ตัวอย่างถั่วลิสงและพริกป่นจากแหล่งจำหน่ายต่าง ๆ มีปริมาณการปนเปื้อนที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน ขึ้นอยู่กับแหล่งที่มา การปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยวก่อนนำมาขาย และสถานที่วางจำหน่าย

ตารางที่ 5.2 การปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินในผลิตผลเกษตรที่วางจำหน่ายในประเทศไทย

ผลิตผลเกษตร	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างที่พบสารพิษ	การปนเปื้อน (%)	ปริมาณแอฟลาทอกซิน (ไมโครกรัม/กิโลกรัม)	จำนวนตัวอย่างที่มีสารพิษเกินมาตรฐาน (%)*
กระเทียม	50	3	6.00	0.40-0.50	0.00
หอมแดง	198	25	12.63	0.40-3.50	0.00
พริกไทยขาว	294	257	87.41	0.40-10.30	0.00
พริกไทยดำ	376	376	100.00	0.70-34.40	0.74
เห็ดหอม	212	151	71.23	0.40-8.60	0.00
พริกแห้ง	385	351	91.16	0.40-175.30	2.43
พริกแห้งป่นหยาบ	385	357	92.73	0.50-60.40	12.29
พริกแห้งป่นละเอียด	240	240	100.00	0.60-66.10	17.84
ลูกเดือย	336	300	89.30	0.40-19.10	0.00
มะม่วงหิมพานต์	173	23	13.29	0.40-3.20	0.00
ถั่วเขียว	293	93	31.74	0.40-12.00	0.00
เห็ดหูหนู	212	95	45.28	0.40-8.20	0.00
ถั่วลิสง	351	337	96.01	0.40-38731.40	17.09
งาดำ	375	346	92.28	0.40-179.40	6.13
งาขาว	285	36	12.63	0.40-7.70	0.00
ถั่วเหลือง	257	176	68.48	0.40-5.30	0.00
เม็ดบัว	136	65	47.79	0.40-4.40	0.00
รวม	4,559	3239	71.81		

* มาตรฐานกำหนดไม่เกิน 20 ไมโครกรัม/กิโลกรัม

ที่มา: อมราและคณะ (2544)

การปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินในผลิตผลเกษตรสามารถพบได้ในผลไม้ชนิดต่าง ๆ และผลิตภัณฑ์ มีรายงานการตรวจพบสารแอฟลาทอกซินในผลไม้สด และผลไม้อบแห้งหลายชนิด (ตารางที่ 5.3)

ตารางที่ 5.3 การปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินในผลไม้สดและผลไม้อบแห้งชนิดต่าง ๆ

ชนิดผลไม้	ปริมาณสารแอฟลาทอกซิน (ไมโครกรัม/กิโลกรัม)	เอกสารอ้างอิง
ผลไม้สด		
ส้ม	120.00	Ragab *et al*., 1999
มะนาว	811.70	Bamba and Sumbali, 2005
แอปเปิ้ล	350.00	Hasan, 2000
อินทผลัม	11,610.00	Shenasi *et al*., 2002
ผลไม้อบแห้ง		
มะเดื่อฝรั่ง	241.00	Roy, 1990
ลูกเกด	300.00	Youssef *et al*., 2000

ที่มา: Barkai-Golan and Paster (2008)

กรมวิชาการเกษตรได้มีการสำรวจการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินในผลไม้อบแห้งที่วางจำหน่ายในตลาดในประเทศไทย ทั้งที่ผลิตในประเทศ และที่นำเข้าจากต่างประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา ฝรั่งเศส และอิสราเอล เป็นต้น พบว่า แครนเบอร์รี่อบแห้งที่นำเข้าจากประเทศสหรัฐอเมริกา มีการปนเปื้อนสารแอฟลาทอกซินปริมาณ 42.9 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ซึ่งเกินค่ามาตรฐานที่กระทรวงสาธารณสุขของประเทศไทยกำหนด (20 ไมโครกรัม/กิโลกรัม) ขณะที่ผลไม้อบแห้งที่ผลิตในประเทศพบปริมาณการปนเปื้อนสารแอฟลาทอกซินต่ำมาก หรือไม่พบเลย (ตารางที่ 5.4)

ตารางที่ 5.4 การปนเปื้อนสารแอฟลาทอกซินในผลไม้อบแห้งที่จำหน่ายในประเทศไทย

ชนิดผลไม้อบแห้ง	สารแอฟลาทอกซิน บี 1 (ไมโครกรัม/กิโลกรัม)	แหล่งผลิต
แครนเบอร์รี	0.00	สหรัฐอเมริกา
บลูเบอร์รี	42.90	สหรัฐอเมริกา
ฝรั่ง	0.00	ไทย
พรุน	0.00	ฝรั่งเศส
มะขาม	5.60	ไทย
มะเขือเทศ	0.00	ไทย
มะม่วง	0.00	ไทย
ลำไย	0.10	ไทย
ลูกเกดขาว	8.90	สหรัฐอเมริกา
ลูกเกดดำ	0.00	สหรัฐอเมริกา
สตรอเบอร์รี่	0.00	ไทย
อินทผลัม	0.00	อิสราเอล

ที่มา: Wanasirakul *et al*. (2012)

สารแอฟลาทอกซิน เป็นสารพิษจากเชื้อราที่มีความสำคัญมากที่สุด และเป็นปัญหาสำคัญของผลิตผลเกษตรหลังการเก็บเกี่ยวที่ทั่วโลกให้ความสนใจ และศึกษาวิจัยถึงวิธีการป้องกันกำจัด เพื่อให้ผู้บริโภคได้รับอาหารที่มีคุณภาพและปลอดภัย

การปนเปื้อนของสารพิษฟูโมนิซิน

ผลิตผลเกษตรที่พบปัญหาการปนเปื้อนของสารพิษฟูโมนิซินมากที่สุด และเป็นปัญหาในทุกประเทศทั่วโลกคือ ข้าวโพด รองลงมา ได้แก่ ข้าว และข้าวฟ่าง รวมทั้งผลิตภัณฑ์ที่แปรรูปมาจากข้าวโพด หรือมีส่วนผสมของข้าวโพด เช่น แป้งข้าวโพด อาหารเช้า (breakfast cereals) ขนมปัง ขนมขบเคี้ยว และเบียร์ เป็นต้น (ภาพที่ 5.2) ประเทศไทยมีรายงานการตรวจพบสารพิษฟูโมนิซินในข้าวโพดจากแหล่งปลูกในภาคกลาง 52 เปอร์เซ็นต์ โดยพบปริมาณสารพิษอยู่ระหว่าง 0.053-0.809 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และพบการปนเปื้อนเชื้อรา *F. verticillioides* ซึ่งเป็นสาเหตุของการปนเปื้อนสารพิษฟูโมนิซินในผลผลิตข้าวโพด โดยพบว่าตัวอย่างข้าวโพดที่ปลูกในฤดูฝนมีการปนเปื้อน 0-1.2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ข้าวโพดที่ปลูกในฤดูแล้งพบการปนเปื้อนสูงกว่าโดยตรวจพบปริมาณสูงสุด 2.8 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

ภาพที่ 5.2 ผลิตภัณฑ์อาหารที่มีส่วนผสมของข้าวโพดและมีโอกาสปนเปื้อนสารพิษฟูโมนิซิน

การปนเปื้อนของสารโอคราทอกซิน

สารโอคราทอกซินที่พบปนเปื้อนในผลิตผลเกษตรส่วนใหญ่ คือ สารโอคราทอกซิน เอ พบมากในข้าวโพด ข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลี ข้าวโอ๊ต ข้าว ถั่วชนิดต่างๆ เมล็ดกาแฟ โกโก้ เครื่องเทศ เบียร์ น้ำองุ่น ไวน์ น้ำผลไม้ ผลไม้อบแห้ง และผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ยังพบในผลิตภัณฑ์จากสัตว์ เช่น ไก่ และสุกร ที่กินอาหารที่ปนเปื้อนสารพิษโอคราทอกซินอีกด้วย

ในต่างประเทศพบการปนเปื้อนสารโอคราทอกซินในผลไม้สด และผลไม้อบแห้ง มีปริมาณการปนเปื้อนสารโอคราทอกซิน ดังแสดงในตารางที่ 5.5

ตารางที่ 5.5 การปนเปื้อนของสารโอคราทอกซินในผลไม้สดและผลไม้อบแห้งชนิดต่างๆ

ตัวอย่าง	ปริมาณสารโอคราทอกซิน (ไมโครกรัม/กิโลกรัม)	เอกสารอ้างอิง
ผลไม้สด		
มะเดื่อฝรั่ง	9,600.00	Doster *et al*., 1996
เชอร์รี	27.10	Engelhardt *et al*., 1999
มะเขือเทศ	1.44	Engelhardt *et al*., 1999
สตรอเบอร์รี	1.44	Engelhardt *et al*., 1999
แอปเปิ้ล	0.41	Engelhardt *et al*., 1999
ผลไม้อบแห้ง		
มะเดื่อฝรั่ง	337.00	Gelosa, 1990
ลูกเกด	250.00	Youssef *et al*., 2000
แอพริคอต	110.00	Zohri and Ardel-Gawad, 1993
พลัม	280.00	Zohri and Ardel-Gawad, 1993

ที่มา: Barkai-Golan and Paster (2008)

สำหรับประเทศไทยมีการศึกษาการปนเปื้อนของสารโอคราทอกซิน เอ ในผลิตผลหลายชนิด เช่น 6.8% ของตัวอย่างกาแฟคั่วที่สุ่มตรวจ มีการปนเปื้อนอยู่ระหว่าง 1.0-4.6 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ในตัวอย่างข้าวโพด พบปริมาณ 0.0-4.9 ไมโครกรัม/กิโลกรัม และพบการปนเปื้อนในตัวอย่างข้าวกล้องที่เก็บจากตลาดเฉลี่ย 0.292 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ขณะที่ผลไม้อบแห้ง (ภาพที่ 5.3) ทั้งที่ผลิตในประเทศไทย และนำเข้าจากต่างประเทศ เช่น ลูกเกดดำ ลูกเกดขาว มะขามหวาน พุทราจีน พรุน อินทผลัม แครนเบอร์รี่ และลำไยอบแห้ง พบสารโอคราทอกซิน เอ ในบลูเบอร์รี่อบแห้งที่นำเข้าจากประเทศสหรัฐอเมริกา ปริมาณการปนเปื้อนระหว่าง 16.05-24.10 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ซึ่งเกินค่ามาตรฐานที่สหภาพยุโรปกำหนด คือ 10 ไมโครกรัม/กิโลกรัม (ตารางที่ 5.6)

ภาพที่ 5.3 ผลไม้อบแห้งที่มีโอกาสปนเปื้อนสารโอคราทอกซิน

ตารางที่ 5.6 การปนเปื้อนของสารโอคราทอกซิน เอ ในผลไม้อบแห้งที่วางจำหน่ายในประเทศไทย

ชนิดผลไม้อบแห้ง	สารโอคราทอกซิน เอ (ไมโครกรัม/กิโลกรัม)
กีวี	0.50
แครนเบอร์รี	4.50 - 9.55
บลูเบอร์รี	16.05 - 24.10
แอพริคอต	0.00 - 1.00
บิง เชอร์รี	0.90 - 6.40
ฝรั่ง	2.50 - 4.85
พรุน	0.00 - 4.40
พุทราจีน	0.70 - 3.30
มะเดื่อฝรั่ง	1.30 - 2.50
มะเขือเทศ	0.00 - 9.40
มะขาม	1.20 - 5.10
มะม่วง	0.30 - 3.00
ลำไย	0.00 - 2.30
ลิ้นจี่	0.00 - 8.00
ลูกเกดขาว	0.50 - 13.00
ลูกเกดดำ	0.00 - 1.30
สตรอเบอร์รี	1.00 - 6.40
สับปะรด	0.10
อินทผลัม	0.35 - 1.15

ที่มา: สุพีและคณะ (2555)

นอกจากนี้พบการปนเปื้อนสารโอคราทอกซิน เอ ในผลิตภัณฑ์จากผลไม้ เช่น ไวน์และน้ำผลไม้ มีรายงานจากประเทศเยอรมนีพบการปนเปื้อนของสารโอคราทอกซิน เอ ในไวน์แดง ไวน์กุหลาบ และไวน์ขาว สูงสุดอยู่ที่ระดับ 7.0, 2.4 และ 1.2 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 5.7) ซึ่งมีสาเหตุสำคัญจากการเข้าทำลายของเชื้อราตั้งแต่แหล่งปลูกจนถึงขั้นตอนการแปรรูป ดังนั้นผู้ผลิตจำเป็นต้องให้ความสำคัญในการลดปัญหาการปนเปื้อนดังกล่าว เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค

ตารางที่ 5.7 การปนเปื้อนของสารโอคราทอกซิน เอในน้ำผลไม้และไวน์

ตัวอย่าง	ปริมาณสารโอคราทอกซิน เอ (ไมโครกรัม/ลิตร)	เอกสารอ้างอิง
น้ำผลไม้		
น้ำองุ่นแดง	0.31	Zimmerli and Dick, 1996
น้ำมะเขือเทศ	0.03	Majerus *et al*., 2000
น้ำองุ่นขาว	1.30	Majerus *et al*., 2000
น้ำเกรปฟรุ๊ต	1.16	Filali *et al*., 2001
น้ำแบล็คเคอแร็นท์	0.06	Majerus *et al*., 2000
ไวน์		
ไวน์แดง (เยอรมนี)	7.00	Majerus *et al*., 2000
ไวน์กุหลาบ (เยอรมนี)	2.40	Majerus *et al*., 2000
ไวน์ขาว (เยอรมนี)	1.20	Majerus *et al*., 2000
ไวน์แดง (เมดิเตอเรเนียน)	3.40	Markaki *et al*., 2001
ไวน์แดง (แคนาดา)	0.39	Ng *et al*., 2004
ไวน์แดง (โปแลนด์)	6.71	Czerwiecki *et al*., 2005

ที่มา: Barkai-Golan and Paster (2008)

การปนเปื้อนของสารพิษไตรโคทีซีน

การปนเปื้อนสารพิษกลุ่มไตรโคทีซีน มักพบในผลิตผลเกษตรจำพวกพืชไร่ ได้แก่ ข้าวโพด ข้าว ข้าวบาร์เลย์ ข้าวไรน์ ถั่วเหลือง ข้าวสาลี ผลิตภัณฑ์จากผลิตผลเกษตรเหล่านี้ และอาหารสัตว์ด้วย โดยเกิดจากเชื้อรากลุ่ม *Fusarium* ที่เจริญบนธัญพืชดังกล่าวซึ่งต้องการปริมาณน้ำอิสระ 0.87-0.90 และอุณหภูมิ 22.5 - 35.0 องศาเซลเซียส ในการเจริญเติบโตและการสร้างสารพิษ และมักพบการปนเปื้อนตั้งแต่ผลิตผลยังอยู่ในแปลงปลูก (ภาพที่ 5.4)

ภาพที่ 5.4 ข้าวบาร์เลย์และข้าวโพดที่ถูกเชื้อรา *Fusarium* เข้าทำลายและเกิดการปนเปื้อนของสารพิษกลุ่มไตรโคทีซีน
ที่มา: www.plantwise.org

สารพิษในกลุ่มไตรโคทีซีน ที่พบปนเปื้อนในผลิตผลเกษตร ส่วนใหญ่คือสารพิษดีอ๊อกซีนิวาลีโนล (DON) สารพิษนี้มีผลกระทบต่อสุขภาพสัตว์ที่กินอาหารที่ผลิตจากผลิตผลเกษตรที่ปนเปื้อนสารพิษชนิดนี้

การปนเปื้อนของสารพิษซีราลีโนน

การปนเปื้อนของสารพิษซีราลีโนนมักพบในธัญพืชต่าง ๆ เช่น ข้าวโพด ข้าวสาลี ข้าวโอ๊ต ข้าวฟ่าง ข้าว อาหารเช้าประเภทธัญพืชพร้อมทาน (breakfast cereals) ขนมปัง เบียร์ และอาหารสัตว์ เป็นต้น (ภาพที่ 5.5) นอกจากนี้ยังมีรายงานการปนเปื้อนของสารพิษซีราลีโนน ในถั่วเหลือง ถั่วลิสง และพืชน้ำมันหลายชนิด

ภาพที่ 5.5 ผลิตผลเกษตรที่มีโอกาสเกิดการปนเปื้อนสารพิษซีราลีโนน

การปนเปื้อนของสารพิษพาทูลิน

เชื้อรากลุ่มหลักที่สามารถสร้างสารพิษพาทูลินได้ คือ เชื้อราในกลุ่ม *Penicillium* เช่น *P. expansum* และ *P. patulum* นอกจากนี้มีรายงานพบว่าเชื้อรา *Aspergillus* บางชนิด สามารถผลิตสารพิษพาทูลิน เช่น เชื้อรา *Aspergillus clavatus* โดยทั่วไปพบเชื้อราเหล่านี้เจริญบนผลไม้ชนิดต่าง ๆ เช่น แอปเปิ้ล แพร์ และองุ่น เป็นต้น ในปัจจุบันมีการตรวจพบสารพิษพาทูลินในผักและเมล็ดธัญพืชด้วย ผลไม้ที่พบสารพิษนี้ปนเปื้อนมากที่สุดคือ แอปเปิ้ล และผลิตภัณฑ์จากแอปเปิ้ล เช่น น้ำแอปเปิ้ลไซเดอร์ และซอสแอปเปิ้ล โดยการปนเปื้อนของเชื้อราส่วนใหญ่จะมาจากแหล่งปลูก และการเก็บรักษาหลังการเก็บเกี่ยวที่ไม่ถูกต้อง (ภาพที่ 5.6) ผู้บริโภคอาจได้รับสารพิษนี้เข้าสู่ร่างกายจากการบริโภคน้ำแอปเปิ้ลไซเดอร์ ที่แปรรูปจากผลไม้ที่ปนเปื้อนเชื้อราอยู่ก่อน ดังนั้นการดูแลเรื่องความสะอาดของสถานที่และบริเวณโดยรอบ รวมถึงขั้นตอนการบรรจุ และการเก็บรักษาจึงเป็นสิ่งสำคัญ เชื้อราสามารถสร้างสารพิษพาทูลินได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 23-25 องศาเซลเซียส แต่มีรายงานว่า เชื้อรากลุ่ม *Penicillium* สามารถสร้างสารพิษพาทูลินได้ที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียสด้วย

นอกจากแอปเปิ้ลแล้ว ผลไม้ชนิดอื่นที่มีการปนเปื้อนสารพิษพาทูลิน เช่น องุ่น แบล็คเบอร์รี่ แครนเบอร์รี่ มะกอก แอพริคอต และเชอร์รี่ ในประเทศฝรั่งเศสมีการสำรวจการปนเปื้อนสารพิษพาทูลินในตัวอย่างน้ำแอปเปิ้ล พบว่า ตัวอย่างทั้งหมดมีการปนเปื้อนสารพิษนี้ ในปริมาณเฉลี่ยสูงถึง 610 ไมโครกรัม/กิโลกรัม นอกจากนี้มีการศึกษาการปนเปื้อนของสารพิษพาทูลินในผลิตภัณฑ์อีกหลายชนิด (ตารางที่ 5.8)

ภาพที่ 5.6 การเข้าทำลายผลแอปเปิ้ลของเชื้อรา
(ก) ผลแอปเปิ้ลที่ถูกเชื้อราเข้าทำลาย
(ข) ผลแอปเปิ้ลผ่าซีกแสดงให้เห็นอาการที่เชื้อราเข้าทำลายถึงเนื้อผล

ตารางที่ 5.8 การปนเปื้อนของสารพิษพาทูลินในน้ำผลไม้และผลิตภัณฑ์

ผลิตภัณฑ์	ปริมาณสารพิษพาทูลิน (ไมโครกรัม/ลิตร)	ประเทศ
น้ำแอปเปิ้ล	72.00	ฟินแลนด์
น้ำแอปเปิ้ล	610.00	ฝรั่งเศส
น้ำแอปเปิ้ล	38.80	เบลเยียม
น้ำแอปเปิ้ล	53.40	อิตาลี
น้ำแอปเปิ้ล	10.00	ญี่ปุ่น
น้ำแอปเปิ้ล	434.00	สหราชอาณาจักร
น้ำแอปเปิ้ล	39.90	ไต้หวัน
น้ำแอปเปิ้ล	17.00	บราซิล
น้ำแอปเปิ้ลผสมน้ำผลไม้รวม	1130.00	ออสเตรเลีย
น้ำองุ่น	5.20	เยอรมนี
น้ำลูกแพร์ ออร์แกนิค	61.00	อิตาลี
น้ำแอปเปิ้ลไซเดอร์	300.00	ฝรั่งเศส
น้ำแอปเปิ้ลไซเดอร์	6.10	เบลเยียม
อาหารทารกจากแอปเปิ้ล	17.70	อิตาลี
น้ำส้มสายชูจากแอปเปิ้ล ออร์แกนิค	4.20	อิตาลี

ที่มา: Bohoun and Driieau (1980)

บทที่ 6 วิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษจากเชื้อรา

สารพิษจากเชื้อราเป็นสารพิษที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติและพบปนเปื้อนในผลิตผลเกษตรและผลิตภัณฑ์หลายชนิด ถึงแม้ว่าสารพิษเหล่านั้นจะสร้างโดยเชื้อรา แต่การที่ไม่พบเชื้อราไม่สามารถระบุได้ว่าอาหารหรือผลิตผลเกษตรนั้นไม่มีการปนเปื้อนของสารพิษ เพราะเชื้อราอาจถูกทำลายโดยความร้อนหรือสภาวะแวดล้อมได้ แต่สารพิษที่เชื้อราสร้างไว้ยังคงอยู่ภายในผลิตผลเกษตรนั้นๆ สารพิษจากเชื้อราส่วนใหญ่จะปราศจากสี กลิ่น และรส การตรวจสอบด้วยสายตาไม่สามารถบอกได้ว่ามีปริมาณสารพิษมากน้อยเพียงใด ดังนั้นวิธีการตรวจวิเคราะห์ที่เหมาะสมรวดเร็วและแม่นยำ จึงเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการหาปริมาณสารพิษที่ปนเปื้อนในผลิตผลเกษตรและผลิตภัณฑ์ ข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์สามารถนำไปใช้ประกอบการพิจารณาเพื่อหาแนวทางหรือวิธีการจัดการสารพิษที่เหมาะสมเพื่อลดความเสี่ยงของผู้บริโภค

ข้อควรพิจารณาในการวิเคราะห์สารพิษ

การตรวจวิเคราะห์สารพิษจากเชื้อรามีความเกี่ยวข้องกับปัจจัยหลายประการ การเลือกวิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสมกับชนิดของสารพิษและสภาพของตัวอย่าง จึงมีความสำคัญต่อประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ ซึ่งมีข้อควรพิจารณา ดังนี้

1. โครงสร้างโมเลกุลของสารพิษ ทำให้คุณสมบัติทั้งทางเคมีและฟิสิกส์แตกต่างกัน ดังนั้นวิธีการวิเคราะห์จึงจำเป็นต้องพัฒนาขึ้นให้เหมาะสมสำหรับสารพิษแต่ละกลุ่มหรือแต่ละชนิด

2. ปริมาณสารพิษที่ปนเปื้อนอยู่ในอาหารและอาหารสัตว์ อาจมีปริมาณมากหรือน้อยแตกต่างกันไป ดังนั้นการสกัดสารพิษออกจากตัวอย่างจึงเป็นขั้นตอนที่สำคัญมาก

3. สารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตรมีการกระจายตัวไม่สม่ำเสมอ การสุ่มตัวอย่างจึงเป็นขั้นตอนที่สำคัญ ควรปฏิบัติให้ถูกต้องตามหลักการสุ่มตัวอย่าง เพื่อให้เป็นตัวแทนที่ดีของผลิตผลเกษตรนั้นได้

ประเภทของวิธีวิเคราะห์

วิธีวิเคราะห์สารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตรที่มีประสิทธิภาพและนิยมใช้ในปัจจุบันมีหลายวิธี สามารถจำแนกตามความละเอียดของผลการวิเคราะห์ ได้เป็น 3 ระดับ ได้แก่

1. วิธีการสันนิษฐานเบื้องต้น (Presumptive test)

วิธีการตรวจสอบตัวอย่างหรือวัตถุดิบในเบื้องต้น มีขั้นตอนไม่ซับซ้อน ค่าใช้จ่ายน้อย และได้ผลรวดเร็ว ผู้ประกอบการ เช่น ไซโล และพ่อค้าท้องถิ่น นำไปใช้ตรวจสอบคุณภาพขั้นต้นเพื่อรับซื้อวัตถุดิบอย่างกว้างขวาง วิธีนี้ให้ผลทดสอบเชิงคุณภาพ คือ แสดงผลการตรวจสอบว่ามีหรือไม่มีสารพิษปนเปื้อนเท่านั้น ตัวอย่างวิธีการสันนิษฐานเบื้องต้นนี้ได้แก่ วิธี Bright Greenish Yellow Fluorescence (BGYF) ซึ่งนิยมใช้ตรวจสอบสารแอฟลาทอกซิน (aflatoxin) ในเมล็ดธัญพืช เช่น ข้าวโพด และเมล็ดฝ้าย โดยนำเมล็ดธัญพืชมาตรวจสอบด้วยสายตาภายใต้รังสีอัลตราไวโอเลต (UV) ที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร หากเมล็ดธัญพืชมีสารพิษปนเปื้อนจะพบการเรืองแสงเป็นสีฟ้า ซึ่งการเรืองแสงนี้เกิดจากปฏิกิริยาระหว่าง kojic acid ที่สร้างโดยเชื้อราและเอนไซม์ peroxidase ในเมล็ดธัญพืช ทั้งนี้ความเข้มหรือจางของสีฟ้าที่ปรากฏไม่ได้บ่งชี้ถึงปริมาณของสารแอฟลาทอกซินที่ปนเปื้อน

2. วิธีการตรวจขั้นต้นแบบรวดเร็ว (Rapid screening test)

เป็นวิธีการตรวจสอบที่มีขั้นตอนไม่ซับซ้อน และให้ผลการทดสอบรวดเร็ว ผลการตรวจสอบได้จากการเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของตัวอย่าง กับการเปลี่ยนแปลงของสารพิษมาตรฐานที่กำหนด ผลการตรวจวิเคราะห์มีความน่าเชื่อถือมากกว่าวิธีการสันนิษฐานเบื้องต้น วิธีการตรวจสอบแบบรวดเร็วที่นิยมในปัจจุบัน ได้แก่ วิธี minicolumn และ วิธี Enzyme- Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ทั้งนี้วิธี ELISA สามารถให้ค่าการวิเคราะห์ที่แม่นยำมากกว่า และสามารถแสดงผลการวิเคราะห์ได้ทั้งแบบเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ

3. วิธีการตรวจสอบชนิดและปริมาณโดยละเอียด (Quantitative method)

การตรวจวิเคราะห์สารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตรและอาหารโดยละเอียดที่สามารถบอกได้ทั้งปริมาณและชนิดสารพิษที่ปนเปื้อนอยู่ แต่วิธีนี้มีขั้นตอนในการปฏิบัติที่ซับซ้อน และต้องใช้เครื่องมือชั้นสูง ผู้วิเคราะห์ต้องมีความชำนาญ และใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน แต่ผลของการวิเคราะห์เป็นที่ยอมรับตามมาตรฐานสากล วิธีการที่ใช้วิเคราะห์ในปัจจุบัน เช่น วิธี Thin Layer Chromatography (TLC), High Performance Liquid Chromatography (HPLC) และ Gas Chromatography (GC) เป็นต้น

วิธีวิเคราะห์ทั้ง 3 ประเภทนี้ ให้ผลการวิเคราะห์ที่แตกต่างกันในระดับของความละเอียดของการปนเปื้อน ซึ่งมีความเหมาะสมแตกต่างกันไปตามวัตถุประสงค์ที่จะนำผลการวิเคราะห์ไปใช้

วิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษจากเชื้อรา (Analytical Methods)

วิธีการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษจากเชื้อราที่ปนเปื้อนในผลิตผลเกษตร สามารถแบ่งตามเทคนิคที่ใช้ในการตรวจได้เป็น 3 วิธี โดยเป็นวิธีการแบบดั้งเดิม (conventional method) 2 วิธี คือ ชีววิธี และวิธีทางเคมี สำหรับวิธีการที่พัฒนาขึ้นใหม่ 1 วิธี คือ วิธีทางอิมมูนวิทยา

1.ชีววิธี (Biological method)

วิธีทางชีววิทยาเป็นวิธีการตรวจสอบ โดยจะใช้สิ่งมีชีวิตที่อ่อนไหวต่อสารพิษเป็นตัวชี้วัด โดยทั่วไปวิธีนี้เหมาะสำหรับการคัดเลือกว่าสารที่ต้องการตรวจวิเคราะห์เป็นสารพิษหรือไม่ มีความเป็นพิษมากน้อยแค่ไหน สิ่งมีชีวิตที่นิยมนำมาใช้ในการทดสอบ สามารถแบ่งได้เป็น 5 กลุ่มคือ

1.1 จุลินทรีย์ (micro-organisms) เช่น พวกแบคทีเรีย *Bacillus* sp.

1.2 สัตว์น้ำ (aquatic animal) เช่น กุ้ง และปลา (ปลาเทราส์ ปลาม้าลาย)

1.3 สัตว์บก (terrestrial animal) เช่น ลูกเป็ด ตัวอ่อนของไก่

1.4 เซลล์เพาะเลี้ยง (cell culture) เช่น การใช้เซลล์ของตับ ไต และเซลล์กล้ามเนื้อ โดยการเติมสารพิษที่สงสัยลงในเซลล์ที่เลี้ยงไว้และสังเกตการเปลี่ยนแปลงในช่วงระยะหนึ่ง

1.5 พืชต่าง ๆ (plants) เป็นการทดสอบความเป็นพิษของสารในการยับยั้งการงอกของเมล็ดพืช เช่น สารแอฟลาทอกซินที่ความเข้มข้น 25 ไมโครกรัม/กิโลกรัม สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ด watercress ได้ หรือ ทีทู-ทอกซิน สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดถั่วลิสงได้ 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อแช่ถั่วลิสงค้างคืนในน้ำที่มีสารพิษนี้ 0.5 ไมโครกรัม/กิโลกรัม เป็นต้น

2. วิธีทางเคมี (Chemical method)

การวิเคราะห์สารพิษด้วยวิธีทางเคมีได้รับความนิยมมากที่สุดในปัจจุบัน เป็นวิธีการแยกสารพิษออกจากผลิตผลเกษตรและผลิตภัณฑ์ โดยอาศัยหลักการที่สารแต่ละชนิดมีคุณสมบัติแตกต่างกัน ในการกระจายตัวในตัวดูดซับหรือวัฏภาคนิ่ง (stationary phase) และในตัวทำละลายหรือวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) ดังนั้นสารต่างชนิดกันจึงเคลื่อนที่ผ่านตัวดูดซับไปกับตัวทำละลายได้ต่างกัน การเคลื่อนที่หรือกระจายตัวที่แตกต่างกันนี้ทำให้สารเกิดการแยกตัวออกจากกัน สารตัวหนึ่งอาจเคลื่อนที่เร็วหรือช้ากว่าอีกตัวหนึ่ง ขึ้นอยู่กับชนิดของตัวดูดซับ ตัวทำละลาย และสารพิษที่ต้องการวิเคราะห์

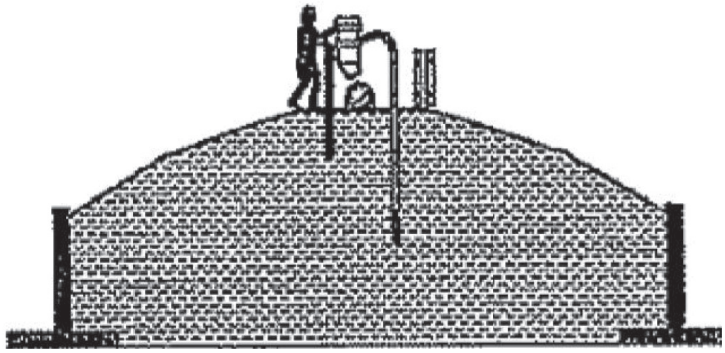
เพื่อให้ได้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้องและแม่นยำ ผู้วิเคราะห์ต้องให้ความสำคัญและปฏิบัติตามขั้นตอนพื้นฐาน 6 ขั้นตอนได้อย่างสมบูรณ์ ซึ่งประกอบด้วย การสุ่มตัวอย่าง การเตรียมตัวอย่าง การสกัดสารพิษออกจากตัวอย่าง การกำจัดสิ่งเจือปนออกจากสารสกัด การวิเคราะห์ปริมาณสารพิษ และการยืนยันผลการวิเคราะห์ (ภาพที่ 6.1)

ภาพที่ 6.1 ขั้นตอนพื้นฐานที่สำคัญในการวิเคราะห์ทางเคมี

2.1 การสุ่มตัวอย่าง (Sampling)

การสุ่มตัวอย่างเป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญ ในการที่จะได้มาซึ่งตัวอย่างที่เป็นตัวแทนของผลิตผลเกษตร จากแต่ละส่วนของกองผลิตผลเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ จำเป็นต้องอาศัยหลักการทางวิทยาศาสตร์ในการเลือกกลุ่มตัวอย่างเพื่อเป็นตัวแทนที่ดีสำหรับการทดสอบ ขั้นตอนการสุ่มตัวอย่างขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของผลิตผลทั้งหมด รวมถึงชนิดของสารพิษจากเชื้อราที่ต้องการวิเคราะห์ มีการกำหนดมาตรฐานวิธีการดำเนินงานการสุ่มตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์โดยหลายหน่วยงาน เช่น สหภาพยุโรป มีข้อกำหนด Commission Regulation (EC) No. 401/2006 of 23 February 2006 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in foodstuffs หรือ The Codex Alimentarius โดยความร่วมมือระหว่างองค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) และองค์การอนามัยโลก (WHO) กำหนด The Methods of Analysis and Sampling และ The Secretariat of the International Plant Protection Convention กำหนดมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ลำดับ 31 (International Standards for Phytosanitary Measures: ISPM No.31) เรื่องวิธีการดำเนินงานการสุ่มตัวอย่างสินค้าที่ส่งมอบ เป็นต้น สำหรับมาตรฐานการสุ่มตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์สารพิษในประเทศไทย ตามมาตรฐานสินค้าเกษตร (มกษ.) โดยสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ เลือกใช้วิธีสุ่มตัวอย่างที่กำหนดในภาคผนวกของเอกสารมาตรฐานทั่วไปสำหรับสารปนเปื้อนและสารพิษในอาหารและอาหารสัตว์ (CODEX STAN 193-1995 General Standard for Contaminants and Toxins in Food and Feed)

ขณะเดียวกันเครื่องมือที่ใช้สุ่มตัวอย่างก็ต้องเหมาะสมกับจำนวนและชนิดของตัวอย่าง เช่น การใช้หลาวสุ่มตัวอย่างธัญพืชที่บรรจุกระสอบ ขณะที่การสุ่มเก็บตัวอย่างธัญพืชในไซโลขนาดใหญ่จำเป็นต้องใช้เครื่องมือที่มีขนาดใหญ่และมีการทำงานที่ซับซ้อนกว่า (ภาพที่ 6.2) สิ่งที่ต้องคำนึงถึงในการสุ่มตัวอย่างคือ ขนาดของตัวอย่าง วิธีการสุ่มตัวอย่าง การปฏิบัติ และการเก็บรักษาตัวอย่าง รวมทั้งการแบ่งตัวอย่างในขั้นตอนการวิเคราะห์



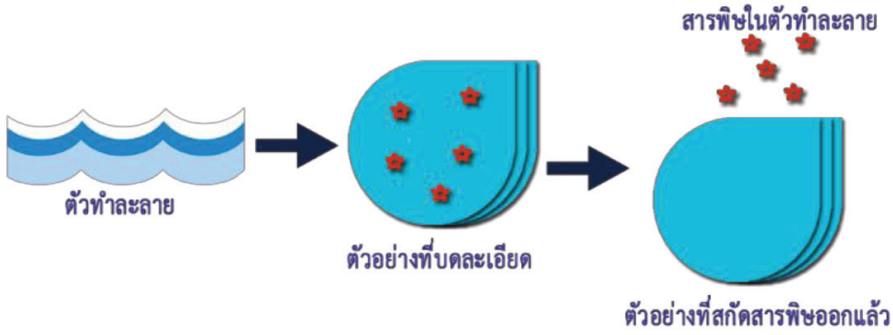
ภาพที่ 6.2 การสุ่มเก็บตัวอย่างจากตัวอย่างที่มีกองสูงกว่า 2 เมตร ที่มา: European Commission (2006)

2.2 การเตรียมตัวอย่าง (Sample preparation)

การเตรียมตัวอย่างให้เหมาะสมกับการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ เริ่มต้นด้วยการแบ่งตัวอย่างเพื่อให้ได้ขนาดของตัวอย่างที่เหมาะสมและสม่ำเสมอ เพื่อใช้เป็นตัวแทนในการวิเคราะห์ บดตัวอย่างให้ละเอียด นำมาผ่านตะแกรงร่อนขนาด 20 mesh และชั่งแบ่งตัวอย่างประมาณ 500 กรัม เพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป ในกรณีที่ตัวอย่างเป็นเมล็ดพืชที่มีไขมันและความชื้นมาก ไม่สามารถบดให้เป็นผงละเอียดได้ (ตัวอย่างอาจจับตัวกันเป็นก้อน) ต้องใช้วิธี slurry techniqueโดยใช้การปั่นตัวอย่างย่อย (sub-sample) กับน้ำด้วยเครื่องปั่นความเร็วสูง (high speed blender) เพื่อให้ตัวอย่างผสมเป็นเนื้อเดียวกัน และมีการกระจายตัวของสารพิษอย่างสม่ำเสมอ แล้วจึงแบ่งตัวอย่างในปริมาณที่ต้องการออกมาวิเคราะห์

2.3 การสกัดตัวอย่าง (Extraction)

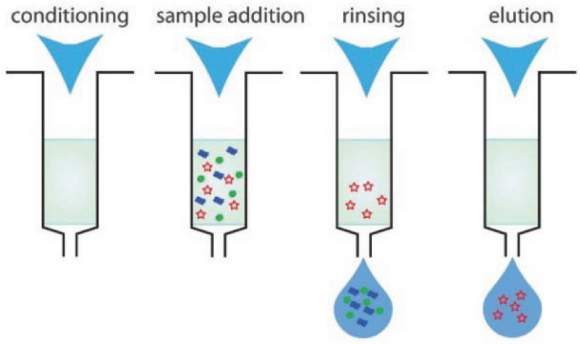
เป็นการใช้สารเคมีที่เป็นตัวทำละลายสกัดแยกสารพิษออกจากเนื้อเยื่อตัวอย่างผลิตผลเกษตรหรืออาหาร สารพิษจะละลายปนออกมาในรูปของสารละลาย และในการสกัดนั้นต้องทำให้ตัวทำละลายสัมผัสกับเนื้อของตัวอย่างได้อย่างทั่วถึง (ภาพที่ 6.3) โดยการเขย่าอย่างแรงด้วยเครื่องเขย่า นาน 30-45 นาที หรือปั่นรวมกันในเครื่องปั่นความเร็วสูง 3-5 นาที สารตัวทำละลายที่นิยมใช้ในการสกัดได้แก่ คลอโรฟอร์ม เมทานอล อะซีโตน อะซีโตไนไตรล์ และน้ำ เป็นต้น สารละลายที่ใช้สกัดจะมีส่วนผสมของน้ำอยู่ด้วย เพราะน้ำจะช่วยให้สารตัวทำละลายแทรกเข้าไปในเนื้อเยื่อต่างๆได้ดี ทำให้มีประสิทธิภาพในการสกัดสารพิษออกจากตัวอย่างได้ดียิ่งขึ้น



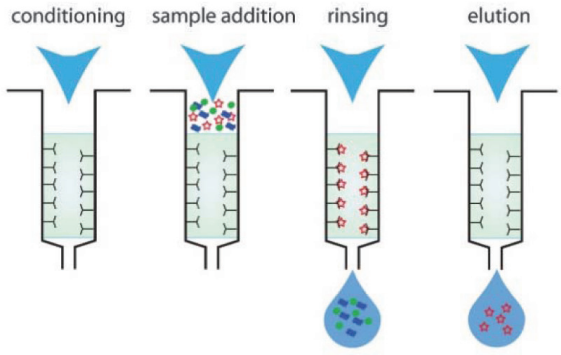
ภาพที่ 6.3 การสกัดสารพิษออกจากตัวอย่างผลิตผลเกษตร

2.4 การกำจัดสิ่งเจือปน (Clean-up)

สารละลายที่ได้จากการสกัดตัวอย่างอาจมีสิ่งเจือปนอื่น ๆ หลายชนิด เช่น ไขมัน เม็ดสี โปรตีน เป็นต้น ซึ่งสารเหล่านี้อาจรบกวนผลการตรวจวิเคราะห์ (interference) ทำให้เกิดความคลาดเคลื่อน จึงจำเป็นต้องกำจัดสิ่งเจือปนต่าง ๆ ออกไปให้หมดก่อนนำไปวิเคราะห์ โดยการใช้เทคนิคการ clean–up ซึ่งทำได้หลายวิธี เช่น liquid-solid extraction, liquid-liquid partition, co-precipitation ปัจจุบันมีการพัฒนาคอลัมน์สำเร็จรูปออกมาหลายชนิด เพื่อใช้ในการกำจัดสารรบกวนต่าง ๆ เช่น solid phase extraction, immunoaffinity column (ภาพที่ 6.4) และ multifunctional column เป็นต้น เนื่องจากตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์มีคุณสมบัติแตกต่างกัน ทำให้ขั้นตอนการกำจัดสิ่งเจือปนแตกต่างกันไป เช่น เมล็ดกาแฟจะต้องกำจัดคาเฟอีนด้วย tetrahydrofuran หรือการกำจัด theobromine ซึ่งเป็นสาร alkaloid ออกจากสารสกัดเมล็ดโกโก้ด้วย silver nitrate เป็นต้น



ขั้นตอนการกำจัดสิ่งเจือปนด้วย Solid Phase Extraction



ขั้นตอนการกำจัดสิ่งเจือปนด้วย Immunoaffinity column

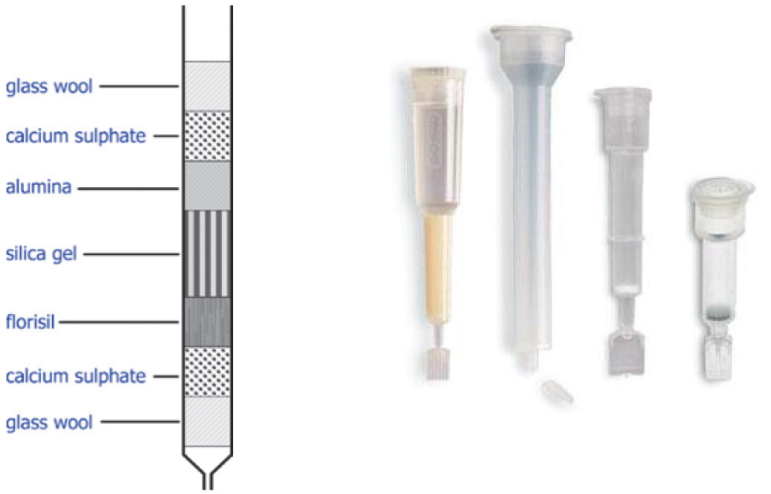
ภาพที่ 6.4 ขั้นตอนการกำจัดสิ่งเจือปนในสารสกัดตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ทางเคมีด้วย Solid Phase Extraction และ Immunoaffinity column

2.5 การวิเคราะห์ปริมาณ (Analysis)

สารสกัดที่ผ่านขั้นตอนการกำจัดสิ่งเจือปนเรียบร้อยแล้ว ถูกนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษด้วยวิธีทางเคมี ซึ่งอาจทำได้หลายวิธี เช่น

2.5.1 Open Column Chromatography

เป็นเทคนิคที่ใช้บ่อยในขั้นตอนการกำจัดสิ่งเจือปน (clean-up) ซึ่งมีมินิคอลัมน์เป็นรูปแบบพิเศษ ที่สามารถใช้ในการตรวจวิเคราะห์สารพิษจากเชื้อราบางชนิดในผลิตผลเกษตรได้ ในการเตรียมมินิคอลัมน์ จะใช้แท่งแก้วขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 5 มิลลิเมตร ภายในบรรจุเม็ดสารดูดซับ (silica gel) อลูมินา (alumina) และโฟริซิล (florisil) โดยมี calcium sulphate และ glass wool บรรจุอยู่ที่ปลายทั้ง 2 ด้านของหลอด (ภาพที่ 6.5) เมื่อสารสกัดตัวอย่างผ่านลงไป สารพิษจะถูกดักจับอยู่ที่ส่วนของ florisil และจะเรืองแสงสีฟ้าภายใต้แสง UV วิธีนี้ให้ผลการวิเคราะห์ที่รวดเร็ว แต่อาจเกิดข้อผิดพลาดในการอ่านผลและมีความไวในการตรวจจับสารพิษค่อนข้างต่ำ



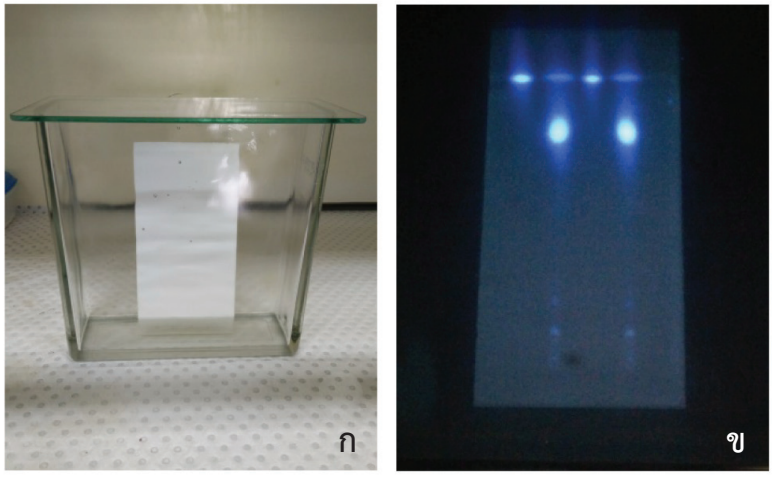
ภาพที่ 6.5 ส่วนประกอบและลักษณะของ minicolumn แบบต่าง ๆ

2.5.2 Thin Layer Chromatography (TLC)

วิธีวิเคราะห์แบบ TLC สามารถใช้ตรวจสอบสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตรได้หลายชนิด คือ ถั่วลิสง ข้าวโพด มะพร้าว กาแฟ และผลิตภัณฑ์ต่างๆ สิ่งที่จำเป็นสำหรับวิธีการนี้ประกอบด้วย 2 ส่วน ได้แก่ วัฏภาคนิ่ง (stationary phase) ทำหน้าที่เป็นตัวดูดซับ ส่วนใหญ่ผลิตจากแผ่นกระจกหรือพลาสติกที่เคลือบด้วยสารดูดซับ (silica gel) เรียกว่าแผ่น TLC (TLC plate) และวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) หรือตัวทำละลาย ชนิดและสัดส่วนของตัวทำละลายสามารถเปลี่ยนตามชนิดของสารพิษและตัวอย่างที่วิเคราะห์ อาจเป็นตัวทำละลายเดี่ยว เช่น เมทานอล หรือตัวทำละลายแบบผสม เช่น สารละลาย TEF ประกอบด้วย toluene: ethyl acetate: formic acid (90%) ในอัตรา 5:4:1 หรือสารละลาย TAM ซึ่งประกอบด้วย toluene: acetone: methanol ในอัตรา 5:3:2 เป็นต้น การหาสูตรตัวทำละลายที่เหมาะสม สามารถทดสอบโดยจุดสารสกัดลงบนแผ่น TLC หลาย ๆ แผ่น นำแต่ละแผ่นไปวางในตัวทำละลายสูตรต่าง ๆ เริ่มจากตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำไปยังขั้วสูง

ขั้นตอนการวิเคราะห์ด้วยวิธี TLC เริ่มจากหยดหรือจุดสารสกัดจากตัวอย่าง (spotting) ลงบนแผ่น TLC โดยให้ตำแหน่งห่างจากขอบล่างของแผ่น TLC ประมาณ 1.0-1.5 เซนติเมตร และเส้นผ่านศูนย์กลางของจุดไม่ควรเกิน 2 มิลลิเมตร รอจนจุดของสารสกัดแห้ง วางแผ่น TLC ในภาชนะแก้วที่บรรจุตัวทำละลายที่เหมาะสม โดยที่จุดของสารสกัดอยู่สูงกว่าระดับของตัวทำละลายเล็กน้อย ปิดภาชนะแก้วให้สนิท เพื่อให้ในภาชนะแก้วอิ่มตัวด้วยไอระเหยของตัวทำละลาย ซึ่งจะช่วยให้ตัวทำละลายเคลื่อนที่ขึ้นไปบนแผ่น TLC ได้เร็วยิ่งขึ้น เมื่อตัวทำละลายเคลื่อนที่จนเกือบถึงขอบบนของแผ่น TLC (solvent front) จึงนำออกจากภาชนะแก้ว แล้วขีดเส้นแนวของตัวทำละลายทันที เพื่อนำมาใช้คำนวณค่า Rf (retention factor) ซึ่งเป็นอัตราส่วนของระยะทางที่สารเคลื่อนที่จากจุดที่ทำการหยดสารไปถึงตำแหน่งสุดท้าย เทียบกับระยะทางทั้งหมดที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ (จาก spotting ถึง solvent front) เนื่องจากสารต่างชนิดกัน มีน้ำหนักโมเลกุลไม่เท่ากัน จึงเดินทางผ่านวัฏภาคนิ่งออกมากับวัฏภาคเคลื่อนที่ได้ไม่พร้อมกัน จึงเกิดการแยกชั้น ค่า Rf ของสารแต่ละชนิดในวัฏภาคนิ่งและวัฏภาคเคลื่อนที่หนึ่ง ๆ จะเป็นค่าคงที่ และใช้ในการบ่งบอกชนิดของสารได้ โดยการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน

จากนั้นนำแผ่น TLC ไปส่องใต้แสง UV ในที่มืด สารพิษที่เกิดการเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ (fluorescent) เช่น สารแอฟลาทอกซิน และสารโอคราทอกซิน จะเรืองแสงเป็นสีฟ้า (ภาพที่ 6.6) ในปัจจุบันได้มีการใช้เครื่องหยดสารอัตโนมัติลงบนแผ่น TLC เพื่อความแม่นยำของปริมาณสารที่หยด และใช้เครื่อง densitometer มาช่วยในการวิเคราะห์และประมวลผลในการวัดขนาดพื้นที่เรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ ทำให้การตรวจวิเคราะห์รวดเร็วและแม่นยำยิ่งขึ้น



ภาพที่ 6.6 (ก) แผ่น TLC แช่ในตัวทำละลาย
(ข) การเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ภายใต้แสง UV ที่แยกได้ด้วยวิธี TLC

2.5.3 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

วิธีการ HPLC ใช้ในการแยกสารประกอบที่อยู่ในสถานะของเหลว ซึ่งอาศัยความแตกต่างของอัตราการเคลื่อนที่ของสารประกอบตัวอย่างที่ผ่านไปในวัฏภาคนิ่ง ที่มีลักษณะเป็นคอลัมน์ (column) สารประกอบตัวอย่างถูกชะออกจากคอลัมน์ด้วยตัวทำละลายหรือส่วนที่เรียกว่าวัฏภาคเคลื่อนที่ด้วยแรงดันสูงไม่เกิน 1 มิลลิลิตร/นาที ตัวทำละลายที่ใช้อาจเป็นตัวทำละลายเดี่ยวหรือตัวทำละลายหลายชนิดรวมกัน เช่น เมทานอล 100% สำหรับวิเคราะห์สารแอฟลา ทอกซิน และสารละลายอะซีโตไนไตรล์: น้ำ: กรดอะซิติก อัตราส่วน 51:47:2 สำหรับวิเคราะห์สารโอคราทอกซิน เป็นต้น ตัวทำละลายจำเป็นต้องมีความบริสุทธิ์สูง (HPLC grade) ทั้งสารละลายตัวอย่าง และตัวทำละลายควรผ่านตัวกรองซึ่งมีความละเอียดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.2 ไมโครเมตร ก่อนนำไปใช้งาน เพื่อป้องกันไม่ให้สิ่งสกปรกที่อาจปนเปื้อนในตัวอย่างสารสกัดและตัวทำละลาย ทำให้คอลัมน์เกิดการอุดตัน ซึ่งจะส่งผลให้ระบบมีแรงดันสูงเกินกว่าปกติ จนเกิดความเสียหายได้ ภายในคอลัมน์ประกอบด้วย solid support หรือตัวพยุงที่ผิวมีรูปร่าง ขนาด และรูพรุนที่มีขนาดเล็กมาก มีหน้าที่สร้างแรงหน่วง (retension force) ที่ทำให้สารต่าง ๆ เคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ด้วยความเร็วแตกต่างกัน และในเวลาที่แตกต่างกัน ชนิดของคอลัมน์ที่นิยมใช้วิเคราะห์สารพิษจากเชื้อรา คือ Reversed phase C-18 ปัจจุบันวิธีวิเคราะห์ด้วย HPLC ถูกพัฒนาจนมีประสิทธิภาพสูง ใช้งานสะดวก และให้ผลรวดเร็ว (ภาพที่ 6.7)

ภาพที่ 6.7 เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC)
ที่มา: www.agilent.com

2.5.4 Gas Chromatography (GC)

การวิเคราะห์ด้วยวิธี GC (ภาพที่ 6.8) มีหลักการคล้ายกับวิธี HPLC แตกต่างที่ GC ใช้แยกสารผสมที่อยู่ในสถานะก๊าซ โดยใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ที่เป็นก๊าซ เป็นตัวพาสารสกัดผ่าน วัฏภาคนิ่งซึ่งเป็นขดคอลัมน์ที่มีสารดูดซับอยู่ข้างใน ข้อจำกัดของวิธีการนี้คือ ใช้ได้ดีกับสารพิษที่ระเหยได้ แต่สารพิษส่วนใหญ่ไม่มีคุณสมบัติข้อนี้ ดังนั้นต้องเปลี่ยนเป็นอนุพันธ์ (derivatized) ของสารพิษที่ระเหยได้ก่อนที่จะผ่านเครื่อง GC อย่างไรก็ตามวิธีนี้เหมาะที่จะใช้กับสารพิษที่ไม่เรืองแสง เช่น สารพิษพาทูลิน และไตรโคทีซีน เป็นต้น

ภาพที่ 6.8 เครื่อง Gas Chromatography (GC)

2.6 การตรวจสอบยืนยันผล (Comfirmation)

เนื่องจากผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษโดยวิธีการต่างๆ อาจมีความคลาดเคลื่อนเกิดขึ้นได้ เช่น การเลือกวิธีไม่เหมาะสม จึงจำเป็นต้องมีการยืนยันผลการวิเคราะห์ เช่น การวิเคราะห์ซ้ำ การทำ standard addition โดยการเติมสารพิษมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นลงในตัวอย่างแล้ววิเคราะห์ซ้ำ หรือด้วยวิธีการ Negative Ion Chemical Ionization Mass Spectrometry โดยใช้เครื่อง LC-MS (ภาพที่ 6.9)

ภาพที่ 6.9 เครื่อง Liquid Chromatography - Mass Spectrometer (LC-MS)
ที่มา: www.agilent.com

3. วิธีทางอิมมูนวิทยา (Immunological method)

Immunological assay เป็นวิธีที่อาศัยหลักการทำปฏิกิริยาเฉพาะเจาะจงระหว่างแอนติเจน (antigen) และแอนติบอดี (antibody) ดังนั้นส่วนประกอบที่สำคัญของวิธีนี้ คือ แอนติบอดีต่อสารพิษเป้าหมาย

แอนติบอดี เป็นสารพวก immunoglobulin ที่ถูกสร้างขึ้นในสัตว์เลือดอุ่น เพื่อตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอมที่เรียกว่าแอนติเจน ที่เข้าสู่ร่างกาย และสามารถทำปฏิกิริยาเฉพาะเจาะจงกับแอนติเจนนั้น ๆ การผลิตแอนติบอดีทำได้ในสัตว์หลายชนิด แต่ที่นิยมใช้กันมาก ได้แก่ กระต่าย แพะ และหนู

แอนติเจน หมายถึง สารใด ๆ ที่สามารถกระตุ้นให้เกิดการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันภายในตัวสัตว์เลือดอุ่น หรือสารที่มีปฏิกิริยาเฉพาะเจาะจงกับแอนติบอดีนั้น ๆ โดย ทั่วไปแอนติเจนต้องมีน้ำหนักโมเลกุลอย่างน้อยประมาณ 3,000-5,000 KDal แอนติเจนอาจจะเป็นสารอินทรีย์ เช่น จุลินทรีย์ ผลผลิตของจุลินทรีย์ (สารพิษ) หรือคาร์โบไฮเดรตบางชนิด

การวิเคราะห์สารพิษจากเชื้อราโดยวิธีทาง Immunoassay

ด้วยหลักการทำปฏิกิริยาเฉพาะเจาะจงระหว่างแอนติบอดีต่อแอนติเจน จึงมีการศึกษาวิจัยการผลิตแอนติบอดีที่เฉพาะเจาะจงต่อสารพิษจากเชื้อรา เช่น แอฟลาทอกซิน โอคราทอกซิน เป็นต้น และพัฒนาจนสามารถใช้ในการตรวจสอบสารพิษที่ปนเปื้อนในผลผลิตได้ วิธีวิเคราะห์ทาง Immunoassay ที่นิยมใช้มี 2 รูปแบบ คือ

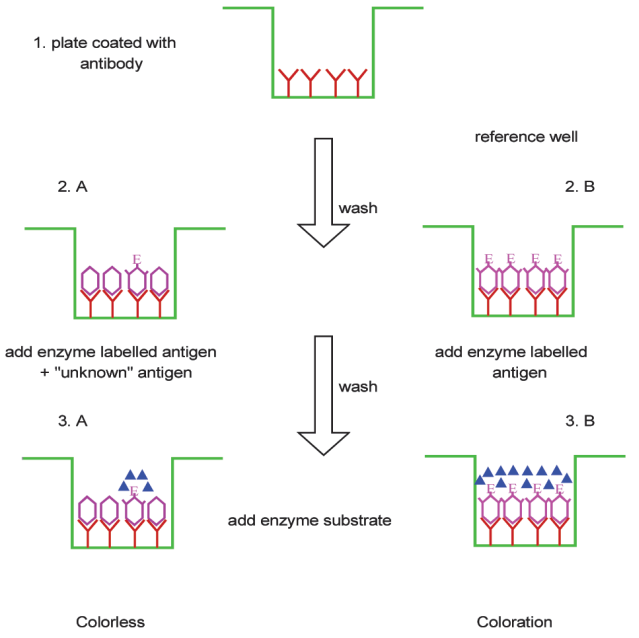
1. Competitive ELISA (Competitive Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)

Competitive ELISA เป็นเทคนิคที่นิยมใช้ในการตรวจสารพิษจากเชื้อรา เป็นแบบแข่งขัน โดยอาศัยพื้นฐานของการแข่งขันระหว่างสารพิษอิสระในตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ หรือสารพิษมาตรฐานซึ่งเป็นสารพิษอิสระ กับสารพิษที่ผูกติดกับเอนไซม์ชี้บอก (labelled toxin) ในการเกาะจับกับแอนติบอดีของสารพิษ ที่เคลือบไว้ในหลุมทดสอบ (microtitration plate) สารที่ไม่มีการเกาะจับกับแอนติบอดีจะถูกล้างออกไป ส่วนของสารพิษที่ผูกติดกับเอนไซม์ชี้บอกที่เกาะจับอยู่ที่หลุมทดสอบสามารถประเมินได้โดยการบ่มไว้กับ substrate ซึ่งจะทำปฏิกิริยาเฉพาะเจาะจงกับเอนไซม์ชนิดนั้น ๆ ความเข้มของสีที่เกิดขึ้นจากผลของปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์กับ substrate สามารถอ่านได้ด้วยสายตาเปรียบเทียบสีที่เกิดขึ้นกับสารพิษมาตรฐาน (qualitative result) และสามารถอ่านผลวิเคราะห์เป็นปริมาณสารพิษ (quantitative result) ได้ด้วยเครื่อง micro ELISA reader ความเข้มของสีที่เพิ่มขึ้นจะมีความสัมพันธ์โดยตรงกับปฏิกิริยา และมีความสัมพันธ์ในทางตรงข้ามเป็นสัดส่วนกับปริมาณสารพิษที่ปนเปื้อนในตัวอย่างนั้น ๆ (ภาพที่ 6.10)

ภาพที่ 6.10 หลักการวิเคราะห์โดยวิธี Competitive ELISA

จากหลักการพื้นฐานของเทคนิค Competitive ELISA สามารถแบ่งวิธีการวิเคราะห์เป็น 3 วิธี คือ

1. Direct competitive ELISA เป็นวิธีการแข่งขันแบบตรง ซึ่งวิธีนี้แอนติบอดีจะถูกเคลือบที่ผิวของหลุมทดสอบเป็นขั้นตอนแรก แล้วจึงหยดสารสกัดตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ หรือสารพิษมาตรฐานลงไปในหลุมตามแผนที่วางไว้ (lay out) หยดสารพิษที่ผูกติดกับเอนไซม์ชี้บอกตามลงไปทุกหลุม บ่มปฏิกิริยาไว้ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากการล้างส่วนที่เกินจากการทำปฏิกิริยาออกแล้ว จึงหยด substrate ลงไป จะเกิดสีตามชนิดของ substrate ที่ใช้ วิธีวิเคราะห์แบบ direct competitive ELISA นิยมใช้ในการวิเคราะห์สารพิษจากเชื้อรา ซึ่งขั้นตอนการวิเคราะห์ดังแสดงในภาพที่ 6.11



ภาพที่ 6.11 ขั้นตอนการวิเคราะห์สารพิษจากเชื้อราโดยวิธี Direct competitive ELISA

2. Indirect competitive ELISA เป็นวิธีการแข่งขันทางอ้อม สารพิษที่ผูกติดกับโปรตีน (toxin-protein conjugate) จะถูกเคลือบไว้ที่ผิวของหลุมทดสอบ แล้วจึงหยดสารสกัดตัวอย่างที่ต้องการตรวจสอบ และแอนติบอดีที่เฉพาะเจาะจงต่อสารพิษนั้นตามลงไป แอนติบอดีจะทำปฏิกิริยาเกาะจับกับ toxin–protein conjugate ที่เคลือบอยู่ที่หลุมทดสอบ หลังจากล้างส่วนเกินทิ้งแล้ว จะเติมแอนติบอดีตัวที่สอง (second antibody) เช่น goat anti rabbit IgG เป็นต้น ซึ่งจะถูกผูกติดด้วยเอนไซม์ชี้บอก เช่น Horseradish peroxidase (HRP) เมื่อเติม substrate ลงไปจะทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ เกิดเป็นสีขึ้นอยู่กับ substrate ที่ใช้ ดังนั้นวิธีการนี้สารพิษจากตัวอย่างจะแข่งขันกับสารพิษที่เคลือบอยู่ที่หลุมทดสอบ วิธี Indirect competitive ELISA มีข้อดีคือ ไม่จำเป็นต้องเตรียม toxin-enzyme conjugate

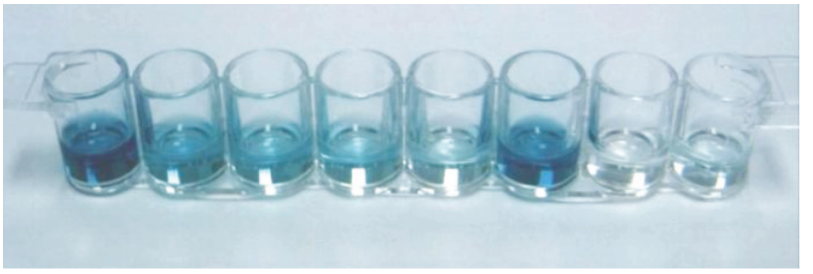
3. Modified competitive ELISA วิธีการนี้คล้ายกับวิธี Indirect competitive ELISA คือจะใช้ toxin-protein conjugate เคลือบที่ผิวของหลุมทดสอบเหมือนกัน แต่ขั้นตอนจะลดลงไปหนึ่งขั้นตอน เพราะไม่มีการใช้แอนติบอดีตัวที่สอง เนื่องจากวิธีนี้จะนำแอนติบอดีต่อสารพิษนั้น ๆ ไปผูกติดกับเอนไซม์ชี้บอกโดยตรง

การอ่านผลการวิเคราะห์

ผลการวิเคราะห์สารพิษด้วยวิธีทาง competitive ELISA สามารถอ่านได้ทั้งแบบเชิงคุณภาพ (qualitative) และเชิงปริมาณ (quantitative) ขึ้นอยู่กับความพร้อมของแต่ละห้องปฏิบัติการ และความชำนาญของผู้ปฏิบัติงาน

การอ่านผลเชิงคุณภาพ (Qualitative result)

สามารถอ่านได้ด้วยสายตา โดยการเปรียบเทียบความเข้มสีของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ กับสีของปฏิกิริยาที่เกิดกับสารพิษมาตรฐาน ซึ่งค่าที่อ่านได้จะบอกเป็นปริมาณมากกว่า หรือน้อยกว่าค่าที่กำหนด หรือไม่มีสารพิษ ตัวอย่างที่มีสีฟ้าเข้มแสดงว่าไม่มีสารพิษหรือมีน้อย และตัวอย่างที่มีสีฟ้าจางหรือใส แสดงว่ามีสารพิษมาก (ภาพที่ 6.12)



ภาพที่ 6.12 การอ่านผลเชิงคุณภาพ (qualitative) โดยการเปรียบเทียบความเข้มสี หลุมตัวอย่างที่มีสีเข้มแสดงว่ามีสารพิษน้อยหรือไม่มี

การอ่านผลเชิงปริมาณ (Quantitative result)

สามารถบอกได้เป็นปริมาณความเข้มข้น ไมโครกรัม/กิโลกรัม (ส่วนในพันล้านส่วน: ppb) โดยการอ่านความเข้มสีของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น (absorbance value) ด้วยเครื่องอ่าน micro ELISA reader และนำค่า absorbance ที่ได้ของสารพิษมาตรฐานมาสร้างเป็น standard curve โดยการพล็อตค่าลงบนกระดาษกราฟ semilogarithmic ให้ค่าความเข้มของแสงเป็นแกน Y และค่าความเข้มข้นของสารพิษมาตรฐานเป็นแกน X ค่าปริมาณสารพิษจากตัวอย่างสามารถอ่านได้จากการเทียบค่าความเข้มแสงกับ standard curve นั้น ๆ (ภาพที่ 6.13) ปัจจุบันได้มีการพัฒนาโปรแกรมคอมพิวเตอร์โดยอาศัยหลักการดังกล่าวมาทำเป็นโปรแกรมสำเร็จรูปสำหรับอ่านปริมาณสารพิษเป็น ไมโครกรัม/กิโลกรัม ได้โดยตรง

ภาพที่ 6.13 เครื่อง micro ELISA reader สำหรับอ่านค่าความเข้มของสี และคำนวณเป็นปริมาณสารพิษโดยใช้โปรแกรม Log-Logit/Log

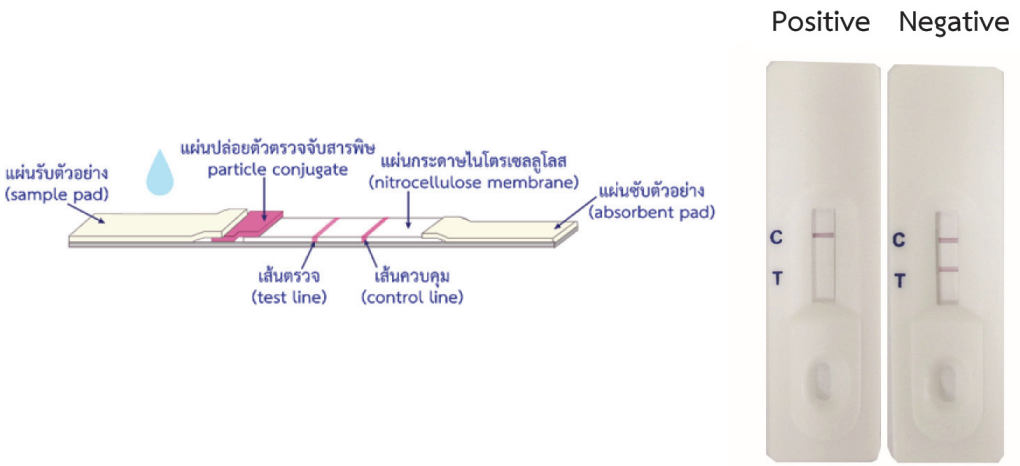
ปัจจุบันได้มีการพัฒนาวิธีการทาง immunoassay โดยเฉพาะวิธี ELISA ขึ้นมาใช้ในการตรวจสอบสารพิษจากเชื้อราหลายชนิด เช่น สารแอฟลาทอกซิน สารโอคราทอกซิน สารพิษฟูโมนิซิน สารพิษซีราลิโนน สารพิษดีออกซีนิวาลิโนล เป็นต้น และได้มีการพัฒนาเป็นชุดตรวจสอบสำเร็จรูป (test kit) ออกมาจำหน่าย ทำให้สะดวกในการวิเคราะห์ และสามารถทราบผลได้ในเวลาอันรวดเร็ว สามารถตัดสินใจในการจัดการกับผลิตผลเกษตรเหล่านั้นได้อย่างถูกต้องทันต่อเวลา และเพิ่มความปลอดภัยทางอาหารให้แก่ผู้บริโภค

สำหรับประเทศไทยโดยกรมวิชาการเกษตรได้ประสบความสำเร็จในการพัฒนาชุดตรวจสอบสารแอฟลาทอกซินสำเร็จรูป (DOA-Aflatoxin ELISA test kit) (ภาพที่ 6.14) เพื่อให้ผู้เกี่ยวข้องในประเทศนำไปใช้ เพราะเป็นวิธีที่ง่าย สะดวก รวดเร็ว และประหยัด สามารถทดแทนการนำเข้าชุดทดสอบจากต่างประเทศที่มีราคาสูง ชุดตรวจสอบนี้ได้ผ่านการทดสอบแล้วว่ามีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์เทียบเท่ากับวิธีมาตรฐานสากล (TLC และ HPLC) และชุดตรวจสอบที่นำเข้าจากต่างประเทศซึ่งปัจจุบันได้ผลิตและจำหน่ายในเชิงพาณิชย์เรียบร้อยแล้ว

ภาพที่ 6.14 ชุดตรวจสอบสารแอฟลาทอกซินสำเร็จรูป (DOA-Aflatoxin ELISA test kit) ที่ผลิตโดยกรมวิชาการเกษตร

2. Lateral flow immunoassays (LFIAs)

เป็นวิธีการทาง immunoassay ที่ได้พัฒนารูปแบบการทำปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจน และแอนติบอดี โดยใช้แผ่นกระดาษ nitrocellulose membrane เป็นตัวรองรับปฏิกิริยา วิธีการนี้สามารถอ่านผลเชิงคุณภาพได้อย่างรวดเร็วภายในเวลา 15 นาที ซึ่งรวดเร็วกว่าวิธี ELISA หลักการของวิธีการนี้ คือ สารละลายตัวอย่างจะเคลื่อนไปบนแผ่น membrane จนถึงโซนดักจับ (capture zone) ซึ่งมีแอนติบอดีผูกติดกับอนุภาคทอง (antibodies conjugated to gold nanoparticles) เคลือบอยู่ แล้วสารพิษจะจับยึดกับแอนติบอดีดังกล่าว ขณะเดียวกันจะปิดกั้นไม่ให้แอนติบอดีที่ผูกติดกับอนุภาคทองมาจับทำให้ไม่เกิดเส้นบนเส้นตรวจ (test line) แอนติบอดีที่เหลือก็จะเคลื่อนที่ไปจับกับเส้นที่เป็นจุดควบคุม (control line) ถ้าผลการวิเคราะห์ออกมาเกิดสีเพียงเส้นเดียวที่จุดควบคุม แสดงว่าตัวอย่างนั้นมีการปนเปื้อนสารพิษ (ภาพที่ 6.15) ปัจจุบันได้พัฒนาให้สามารถอ่านผลการตรวจสอบในเชิงปริมาณได้ในระดับหนึ่ง สำหรับชุดทดสอบบางชนิดสามารถต่อเข้ากับเครื่องอ่าน (ภาพที่ 6.16) ทำให้ทราบปริมาณการปนเปื้อนของสารพิษได้เช่นเดียวกับวิธี ELISA



ภาพที่ 6.15 การตรวจวิเคราะห์สารพิษด้วยวิธี Lateral Flow Immunoassays

ภาพที่ 6.16 การอ่านค่าความเข้มข้นสารพิษจาก strip โดยเครื่องอ่าน
ที่มา: www.romerlabs.com

ได้มีการนำวิธีการ Lateral Flow Immunoassays แบบ strip test ไปใช้ในการตรวจ หาสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตรหลายชนิด เช่นการตรวจหาสารแอฟลาทอกซินใน ข้าว ข้าวสาลี เมล็ดทานตะวัน เมล็ดฝ้าย พริก และแอลมอนด์ ได้ผลการวิเคราะห์ไม่แตกต่างจากการวิเคราะห์โดยวิธี ELISA และได้มีการพัฒนาวิธีการนี้สำหรับตรวจสารโอคราทอกซิน เอ ในข้าวสาลี ตรวจสารแอฟลาทอกซิน เอ็ม1 ในน้ำนม ตรวจสารพิษฟูโมนิซิน บี1 ในข้าวโพด เป็นต้น ปัจจุบันกรมวิชาการเกษตรได้พัฒนาวิธี Lateral Flow Immunoassays แบบ test strip สำหรับตรวจสารแอฟลาทอกซิน เอ็ม1 ในน้ำนม ขึ้นมาใช้ในประเทศไทยเช่นกัน (ภาพที่ 6.17)

ภาพที่ 6.17 ชุดทดสอบสารแอฟลาทอกซิน เอ็ม1 ในน้ำนม พัฒนาโดยกองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว กรมวิชาการเกษตร

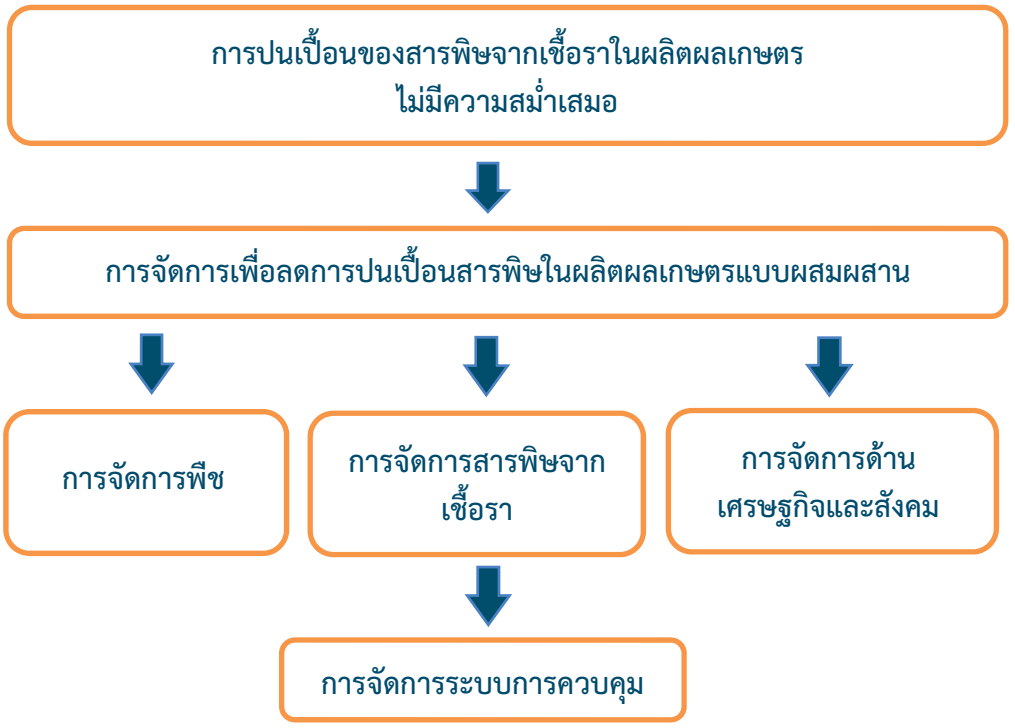
สรุป

สารพิษจากเชื้อราเป็นสารพิษที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ โดยทั่วไปมีน้ำหนักโมเลกุลเล็กมาก ส่วนใหญ่เป็นสารที่ไม่มีสี กลิ่น และรส การที่จะทราบว่าผลิตผลเกษตรหรืออาหารมีการปนเปื้อนของสารพิษอยู่หรือไม่นั้นต้องอาศัยวิธีการตรวจวิเคราะห์ที่เหมาะสม การตรวจวิเคราะห์โดยทั่วไปมี 3 วิธี คือ วิธีทางชีววิธี วิธีทางเคมี และวิธีทางอิมมูนวิทยา ซึ่งแต่ละวิธีมีหลักการพื้นฐานแตกต่างกันไปตามชนิดของสารพิษและผลิตผลเกษตรที่มีการปนเปื้อน ด้วยเหตุนี้การเลือกวิธีการวิเคราะห์สารพิษจากเชื้อราที่เหมาะสม ควรคำนึงถึงปัจจัยต่อไปนี้

1. ความยากง่ายของวิธีการวิเคราะห์
2. เวลาที่ต้องใช้ในการตรวจวิเคราะห์
3. ความถูกต้องเที่ยงตรงของวิธีการที่จะนำมาใช้วิเคราะห์
4. การวิเคราะห์สารที่มีปริมาณต่ำมาก
5. ความเฉพาะเจาะจงต่อชนิดของตัวอย่างและสารพิษ
6. ค่าใช้จ่ายของเครื่องมือในการดำเนินการวิเคราะห์

บทที่ 7 การจัดการสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตร

การปนเปื้อนของสารพิษในอาหารและอาหารสัตว์ เป็นสิ่งที่หลีกเลี่ยงและคาดการณ์ได้ยาก สารพิษอาจปนเปื้อนในอาหารทั้งที่ไม่พบเชื้อราบนอาหารนั้นเลย เพราะหลังจากสร้างสารพิษแล้ว เชื้อราเหล่านั้นอาจตายหรือถูกล้างกำจัดออกไปในขั้นตอนต่าง ๆ ของกระบวนการผลิต จึงเป็นการยากที่จะใช้วิธีการใดวิธีการหนึ่งในการป้องกันหรือกำจัดสารพิษที่เชื้อราสร้าง นอกจากนี้สารพิษเหล่านี้ปนเปื้อนในธรรมชาติได้ในทุกขั้นตอน ปริมาณการปนเปื้อนไม่มีรูปแบบชัดเจน ทำให้เกิดความผิดพลาดในขั้นตอนการเก็บตัวอย่างและการวิเคราะห์สารพิษได้ ดังนั้นการจัดการและควบคุมสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตรและอาหารจึงจำเป็นต้องวางแผนอย่างเป็นระบบในทุกขั้นตอน ตั้งแต่ในแปลงปลูกสู่ผู้บริโภค ซึ่งอาจใช้วิธีจัดการแบบผสมผสาน (integrated system) เช่น การประยุกต์ใช้ Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) มาใช้ร่วมด้วย รวมถึงหลักการในการป้องกัน ควบคุม การปฏิบัติการที่ดีในกระบวนการผลิต และการควบคุมคุณภาพในทุกขั้นตอนของการผลิต ซึ่งการจัดการแบบผสมผสานนี้สามารถปฏิบัติในช่วงเวลาต่าง ๆ ได้แก่ ช่วงเวลาก่อนการเก็บเกี่ยว (pre-harvest) ระหว่างการเก็บเกี่ยว (harvest) และช่วงหลังการเก็บเกี่ยว (postharvest) ซึ่งในสภาพความเป็นจริงกระบวนการผลิตและการจัดการสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตรมีระบบเกี่ยวข้องอยู่ 4 ส่วน ได้แก่ การจัดการพืช (commodity system) การจัดการสารพิษจากเชื้อรา (mycotoxin system) การจัดการด้านเศรษฐกิจและสังคม (socio-economic system) และการจัดการระบบการควบคุม (controlling system) (ภาพที่ 7.1)



ภาพที่ 7.1 ระบบต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการจัดการสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตร

ระบบการจัดการสารพิษจากเชื้อรา

1. การจัดการพืช (Commodity system)

ประกอบด้วย การผลิต การตลาด และการนำพืชชนิดนั้นๆ ไปใช้ประโยชน์ ซึ่งรวมถึงขั้นตอนเกี่ยวกับการจัดการศัตรูพืช การเก็บเกี่ยว การเก็บรักษา การแปรรูป และราคาของผลิตผลเกษตร นอกจากนี้ยังเกี่ยวข้องกับนโยบายของรัฐบาล และวัฒนธรรมประจำถิ่นอีกด้วย เกษตรกรจะปลูกพืชตามความต้องการของตลาดหรือพืชที่มีราคาดี ปริมาณผลิตผลที่ได้มีปริมาณมากและจัดเก็บในสภาพไม่เหมาะสม อาจส่งผลกระทบต่อระบบการจัดการสารพิษจากเชื้อราได้

2. การจัดการสารพิษจากเชื้อรา (Mycotoxin system)

เป็นขั้นตอนการจัดการสารพิษที่เชื้อราสร้างขึ้น ซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางเคมีทั้งในเชื้อราและผลิตผลเกษตรที่เกิดการปนเปื้อนสารพิษ และเกี่ยวเนื่องจนถึงสุขภาพของมนุษย์และสัตว์ที่ได้บริโภคผลิตผลเกษตรที่มีการปนเปื้อนเข้าสู่ร่างกาย การจัดการสารพิษมีหลายวิธีการตั้งแต่การป้องกัน ลดปริมาณ และกำจัดสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตร

3. การจัดการด้านเศรษฐกิจ-สังคม (Socio-economic system)

เป็นการจัดการที่เกี่ยวข้องกับนโยบาย ประเพณี และวัฒนธรรมในชุมชนนั้น ๆ เป็นระบบที่มีความสำคัญที่สุด เพราะการจัดการทุกอย่างจะสำเร็จได้ขึ้นอยู่กับความเข้าใจ และความเอาใจใส่ของทุกภาคส่วนที่เกี่ยวข้อง การรณรงค์ทำความเข้าใจและประชาสัมพันธ์ของรัฐบาล ราคาผลิตผลเกษตร และความต้องการของผู้บริโภค ล้วนมีอิทธิพลต่อการควบคุมสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตร สิ่งสำคัญที่ต้องทำ คือ การให้ความรู้เกี่ยวกับสารพิษจากเชื้อรา ความเสี่ยงอันตรายต่อผู้บริโภค และวิธีการควบคุม โดยเผยแพร่ความรู้ให้แก่เกษตรกร ผู้ผลิต ผู้นำท้องถิ่น พ่อค้าคนกลาง บุคลากรของรัฐในพื้นที่ และผู้ประกอบการส่งออก (ภาพที่ 7.2)

ภาพที่ 7.2 การให้ความรู้เกี่ยวกับสารพิษจากเชื้อรา และวิธีการแก้ปัญหาการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตรให้ผู้เกี่ยวข้องทุกภาคส่วน

4.การควบคุม (Controlling system)

การควบคุมสารพิษจากเชื้อรานั้นควรทำทั้งการป้องกัน (prevention) และการกำจัดหรือทำลาย (control and decontamination) โดยทั่วไปนำระบบการผลิตอาหารปลอดภัยมาประยุกต์ใช้ ซึ่งมีองค์ประกอบ 3 ส่วน คือ

1.การปฏิบัติทางเกษตรที่ดีและเหมาะสม (Good Agricultural Practice: GAP)

2.หลักเกณฑ์และวิธีการที่ดีในการผลิต (Good Manufacturing Practice: GMP)

3.การวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤติที่ต้องควบคุม (Hazard Analysis and Critical Control Point: HACCP)

การจัดการก่อนการเก็บเกี่ยวเป็นวิธีควบคุมการปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อราที่ดีที่สุด ตามด้วยการเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมกับอายุพืช การลดความชื้นในผลิตผลเกษตร และการทำความสะอาด หากวิธีการป้องกันยังไม่สามารถลดปัญหาการปนเปื้อนของสารพิษได้อย่างมีประสิทธิภาพ จะต้องทำการควบคุมหรือหาวิธีการกำจัดหลังการเก็บเกี่ยวอีกครั้ง การควบคุมนี้ต้องมีการวางแผนเป็นขั้นตอนอย่างรอบคอบ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมให้มากยิ่งขึ้น

แผนการจัดการสารพิษจากเชื้อราเพื่อความปลอดภัยของอาหาร

การวางแผนการจัดการในทุกขั้นตอนการผลิต โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าผลิตผลเกษตรต้องนำมาใช้เป็นอาหารและอาหารสัตว์ จำเป็นต้องมีการจัดการลดความเสี่ยงจากการปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อรา ดังนั้นเพื่อให้การจัดการควบคุมมีประสิทธิภาพ ควรมีการจัดทำแผนการจัดการเพื่อความปลอดภัยแก่ผู้บริโภค ดังนี้

1) การกำหนดกรอบการดำเนินงาน

- การสำรวจผลิตผลเกษตรแต่ละชนิดว่ามีระดับการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราอย่างไร
- การสำรวจช่วงอายุของผลิตผลเกษตร ผู้บริโภคนิยมบริโภคผลิตผลเกษตรในช่วงอายุใดเป็นช่วงที่เสี่ยงต่อการเข้าทำลายของเชื้อราหรือไม่
- ทำการประเมินข้อมูลความเป็นพิษของสารพิษที่เชื้อราผลิต
- การกำหนดความสามารถในการวิเคราะห์

2) การจัดทำแผนการสำรวจ

- การจัดทำแผนการสุ่มตัวอย่าง
- การเก็บตัวอย่าง
- การเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์
- การวิเคราะห์ตัวอย่าง
- การอนุญาตใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีการปนเปื้อนของสารพิษ

3) การควบคุมโดยหลักการผลิตทางการเกษตรที่ดีและเหมาะสม (GAP)

- แหล่งปลูก เช่น สภาพพื้นที่ ลักษณะดิน สภาพภูมิอากาศ
- พันธุ์พืช
- การปลูก เช่น การเตรียมดิน และระยะปลูก
- การดูแลรักษา การให้ปุ๋ย ให้น้ำ
- สุขลักษณะ และความสะอาด
- การป้องกันกำจัดศัตรูพืช
- การปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยว

4) การควบคุมผ่านกระบวนการผลิต

• หลักเกณฑ์วิธีการที่ดีและเหมาะสมในการผลิตอาหาร (GMP) เป็นข้อกำหนดขั้นพื้นฐานที่จำเป็นในการผลิตและควบคุม เพื่อให้ผู้ผลิตปฏิบัติตามและทำให้สามารถผลิตอาหารได้อย่างปลอดภัย โดยเน้นการป้องกันและลดความเสี่ยงที่อาจจะทำให้อาหารเป็นพิษ เป็นอันตราย หรือเกิดความไม่ปลอดภัยแก่ผู้บริโภค

• การควบคุมคุณภาพผลิตผลและผลิตภัณฑ์ (Quality Control: QC)

• การวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม (HACCP) เป็นระบบป้องกันที่เน้นเรื่องการประเมินและวิเคราะห์อันตรายที่อาจปนเปื้อนในอาหาร (food hazard) ได้แก่ อันตรายทางชีวภาพ (biological hazard) จุลินทรีย์ก่อโรค (pathogen) อันตรายทางเคมี (chemical hazard) และอันตรายทางกายภาพ (physical hazard) การมีระบบตรวจติดตาม การแก้ไข และการทวนสอบวิธีการ

5) การลดการปนเปื้อนโดยใช้วิธีการที่เฉพาะ

• การประเมินผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้

• การตัดสินใจในการใช้ผลิตผลเกษตรที่มีการใช้วิธีการลดการปนเปื้อนนั้นๆ

6) การให้ความรู้ความเข้าใจในเรื่องของสารพิษจากเชื้อรากับผู้ผลิตและผู้บริโภค

การให้ความรู้แก่ผู้บริโภคและผู้ที่เกี่ยวข้องทั้งภาครัฐและเอกชนเป็นสิ่งสำคัญที่สุด ในการจัดการสารพิษจากเชื้อราให้ประสบความสำเร็จได้

การจัดการสารพิษจากเชื้อราแบบผสมผสาน

1. การควบคุมก่อนการเก็บเกี่ยว

การป้องกันไม่ให้สารพิษจากเชื้อราปนเปื้อนตั้งแต่ในวัตถุดิบทางการเกษตรก่อนที่จะนำมาใช้เป็นวิธีที่ดีที่สุด การจัดการตั้งแต่เริ่มเตรียมแปลงปลูกจนถึงระยะก่อนเก็บเกี่ยวเป็นขั้นตอนสำคัญมาก การจัดการก่อนการเก็บเกี่ยวควรปฏิบัติดังนี้

1.1 การป้องกันแมลงศัตรูพืช

การเข้าทำลายของแมลงจะทำให้ผลิตผลเกษตรเกิดรอยแผล เชื้อราสามารถเข้าทำลายได้ง่ายขึ้น และแมลงเป็นพาหะนำสปอร์ของเชื้อราให้แพร่กระจายอย่างรวดเร็ว การจัดการแมลงในแปลงปลูกทำให้ผลิตผลมีคุณภาพดี ลดการปนเปื้อนของเชื้อราที่สร้างสารพิษ และสารพิษในผลิตผลเกษตร เชื้อรา *Aspergillus flavus* จะเข้าทำลายฝักข้าวโพดที่เป็นแผลมากกว่าฝักข้าวโพดที่ดี ทำให้ฝักข้าวโพดที่เป็นแผลมีโอกาสที่จะปนเปื้อนสารแอฟลาทอกซินสูงกว่าฝักข้าวโพดปกติ

1.2 การจัดการเศษซากพืชในแปลง

เศษซากพืชอยู่ในแปลง เป็นแหล่งสะสมของเชื้อราหลายชนิด รวมถึงเชื้อราที่สร้างสารพิษด้วย เศษซากพืชเหล่านี้ เกิดจากเศษพืชหลังการเก็บเกี่ยวผลผลิต การตัดแต่งกิ่งเพื่อให้มีการออกดอกและติดผล การตัดแต่งกิ่งที่เป็นโรคและแมลงศัตรูพืช ไม่ควรทิ้งเศษซากพืชไว้ในแปลง เพื่อลดแหล่งสะสมของเชื้อราและแมลงในแปลงปลูก

1.3 การปลูกพืชหมุนเวียน

การปลูกพืชชนิดเดียวซ้ำๆ ในพื้นที่เดิมเป็นเวลานานอาจทำให้เกิดการสะสมของเชื้อราและมีการแพร่กระจายได้ง่าย ควรมีการปลูกพืชชนิดอื่นหมุนเวียนสลับกันไป การปลูกถั่วลิสงติดต่อกันทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อรา *A. flavus* และสารแอฟลาทอกซินมากกว่าการปลูกถั่วลิสงสลับกับพืชอื่นที่ไม่ใช่พืชอาศัย

1.4 การจัดการเกี่ยวกับลักษณะดินและการชลประทาน

การขาดน้ำของพืชมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของพืช เป็นผลให้ผลิตผลเกษตรมีโอกาสปนเปื้อนสารพิษก่อนการเก็บเกี่ยว การขาดน้ำก่อนการเก็บเกี่ยว และมีการให้น้ำตามทันที จะเป็นสภาพแวดล้อมที่เหมาะต่อการสร้างสารพิษฟูโมนิซิน (Fumonisin) ของเชื้อรา *Fusarium* spp.

ข้าวโพดที่กระทบสภาพแล้งในช่วงการพัฒนาฝักจะทำให้มีการสร้างสารแอฟลาทอกซินในระยะก่อนเก็บเกี่ยวมากขึ้น เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบคาร์บอนและสารประกอบไนโตรเจนในเมล็ดขณะกำลังพัฒนา และมีการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนในทางที่เหมาะสมต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *A. flavus* และการสร้างสารแอฟลาทอกซิน

2. การจัดการช่วงการเก็บเกี่ยว

การเก็บเกี่ยวผลผลิตควรมีการควบคุมปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อรา เช่น ระยะเวลาในการเก็บเกี่ยว การทำความสะอาด และการตากแห้งผลิตผลเกษตรเพื่อลดความชื้น การเก็บเกี่ยวควรทำเมื่อพืชมีอายุสมบูรณ์พร้อมเก็บเกี่ยว การจัดการในช่วงการเก็บเกี่ยวที่ดีจะเป็นประโยชน์อย่างมากต่อการป้องกันการเกิดสารพิษจากเชื้อราหลังการเก็บเกี่ยวผลิตผลเกษตร เช่น

การจัดการเก็บเกี่ยวเมล็ดแมงลัก

1. การเก็บเกี่ยวแมงลักควรทำเมื่อช่อดอกเปลี่ยนเป็นสีดำประมาณ 90% โดยใช้เคียวเกี่ยวทั้งต้น

2. หลังเก็บเกี่ยวควรวางส่วนช่อดอกที่เกี่ยวแล้วบนต้นตอ ไม่ควรวางสัมผัสดินโดยตรง เพราะเชื้อราที่อยู่ในดินอาจปนเปื้อนและเกิดสารพิษได้

3. ตากช่อดอกให้แห้ง (ประมาณ 2-3 วัน) มัดช่อดอกเป็นฟ่อนนำมาวางบนผ้าพลาสติกในไร่กลางแจ้งที่แดดส่องถึง โดยวางให้ช่อดอกตั้งขึ้นอย่าวางกองบนพื้นดินแบบสุมทับกัน เพราะจะเป็นการเพิ่มความชื้นในกองและทำให้เกิดสารพิษได้ง่าย (ภาพที่ 7.3)

ภาพที่ 7.3 การตากแห้งผลิตผลเกษตรชนิดต่างๆหลังการเก็บเกี่ยวทันทีเพื่อลดความชื้นเมล็ด

3. การจัดการหลังการเก็บเกี่ยว

ถึงแม้จะมีการจัดการป้องกันที่ดีแล้วก็ตาม การปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราก็ยังมีโอกาสเกิดขึ้นได้ ในช่วงหลังการเก็บเกี่ยว ระหว่างการขนส่งและการเก็บรักษา (ภาพที่ 7.4) ดังนั้นการควบคุมหลังการเก็บเกี่ยวและขั้นตอนการลดปริมาณหรือทำลายสารพิษจึงเป็นสิ่งสำคัญในการลดความเสี่ยงต่อการได้รับสารพิษของผู้บริโภค

การป้องกันการเกิดสารพิษช่วงการเก็บรักษา ควรปฏิบัติดังนี้

1) จัดการห้องหรือสถานที่เก็บรักษาผลิตผลเกษตรให้แห้ง ควรมีการป้องกันการรั่วซึมของน้ำเข้ามาในสถานที่เก็บ
2) วางถุงบรรจุผลิตผลเกษตรบนพาเลต (pallet) เหนือพื้น
3) มีการควบคุมป้องกันการเข้าทำลายของแมลง ซึ่งอาจใช้วิธีการรมยาได้
4) มีการป้องกันนก และหนู ที่จะเข้ามาในโรงเก็บผลิตผลเกษตร
5) โรงเก็บรักษาหรือห้องเก็บผลิตผลเกษตร ควรมีการจัดการระบายอากาศที่ดี
6) ก่อนการเก็บรักษาควรมีการคัดเลือกผลิตผลเกษตรที่เสียทิ้ง
7) โรงเก็บผลิตผลเกษตรควรมีอุณหภูมิต่ำ

ภาพที่ 7.4 การวางถุงบรรจุผลิตผลเกษตรบนพาเลตภายในโรงเก็บ

การป้องกันการเกิดสารพิษช่วงการขนส่ง ควรปฏิบัติดังนี้

- ทำความสะอาดรถบรรทุกให้ปราศจากแมลงและเศษดินก่อนนำมาบรรทุกผลิตผลเกษตร
- ป้องกันไม่ให้รถบรรทุกเปียก หรือได้รับความชื้น ขณะขนส่งควรมีผ้าพลาสติกกันน้ำปิดคลุม
- ระหว่างขนส่งอาจใช้ถุงชนิดป้องกันแมลงบรรจุผลิตผลเกษตร

การลดและกำจัดสารพิษจากเชื้อราหลังการเก็บเกี่ยว

วิธีการลดหรือทำลายสารพิษจากเชื้อรามีหลายวิธี กระบวนการจัดการส่วนใหญ่จะเป็นวิธีกล ซึ่งสามารถลดปริมาณสารพิษได้ดีเท่ากับการทำลายสารพิษด้วยวิธีทางเคมี แต่อย่างไรก็ตาม ประสิทธิภาพของแต่ละวิธี จะเฉพาะเจาะจงกับผลิตผลเกษตรและชนิดของสารพิษที่ปนเปื้อนในผลิตผลเกษตรนั้น ๆ หลักการประเมินการเลือกใช้วิธีการลดสารพิษควรพิจารณาดังนี้

1) วิธีการนั้นสามารถทำลาย ลดความเป็นพิษ หรือทำให้สารพิษหมดไปหรือไม่
2) วิธีการนั้นต้องไม่ทิ้งสิ่งที่เป็นพิษอย่างอื่นไว้ทั้งในอาหารและอาหารสัตว์
3) วิธีการนั้นต้องยังคงคุณค่าทางโภชนาการของอาหารให้เหมือนเดิมหรือยอมรับได้
4) วิธีการนั้นต้องไม่ทำให้คุณสมบัติของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนไป
5) วิธีการนั้นต้องทำลายสปอร์ของเชื้อราได้

วิธีการลดหรือทำลาย สารพิษจากเชื้อรา ที่นิยมใช้มี 3 วิธี ดังนี้

1. การใช้วิธีทางกายภาพ (Physical methods)

ผลิตผลเกษตรที่มีการปนเปื้อนของเชื้อราหลังเก็บเกี่ยวจนถึงกระบวนการผลิต การทำความสะอาด และการคัดเลือกเป็นขั้นตอนแรกที่ควรทำ ในบางกรณีวิธีการนี้เป็นวิธีการที่ดีที่สุดในการลดปริมาณสารพิษในผลิตผลได้ เช่น การปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินในถั่วลิสงสามารถลดลงได้เมื่อผ่านกระบวนการคัดแยกด้วยมือ และเครื่องคัดแยกไฟฟ้า วิธีทางกายภาพที่นิยมใช้ ได้แก่

1.1 การคัดเลือกผลิตผลเกษตรที่มีการปนเปื้อนออก

คัดเลือกผลิตผลที่มีลักษณะผิดปกติ เช่น เมล็ดที่มีเชื้อรา หรือมีลักษณะลีบเล็ก น้ำหนักเบา และเปลี่ยนสีจากเดิมออกจากกอง โดยการคัดแยกด้วยมือ ใช้เครื่องสี (dry milling) หรือเครื่องคัดแยกการร่อนหรือการเป่าลมเพื่อขจัดเศษดินและสิ่งปนปลอมอื่นๆ ออก ช่วยลดการปนเปื้อนได้ดี ส่วนใหญ่ใช้ในการคัดเลือกเมล็ดมีขนาดเล็ก เช่น เมล็ดแมงลัก เป็นต้น (ภาพที่ 7.5 และตารางที่ 7.1)

ภาพที่ 7.5 การคัดแยกผลิตผลเกษตรที่มีการปนเปื้อนออกด้วยมือและเครื่อง

ตารางที่ 7.1 ประสิทธิผลของวิธีทางกายภาพในการลดปริมาณสารแอฟลาทอกซิน (AF) ในถั่วลิสงระหว่างขั้นตอนการปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยว

วิธีการ	ปริมาณสาร AF (µg/kg)	ปริมาณสาร AF ที่ลดลง (%)	ปริมาณสาร AF ที่ลดลงสะสม (%)
เก็บในโรงเรือนของเกษตรกร	217.90	-	-
คัดแยกด้วยเครื่องคัดแยกแบบสายพาน	140.00	36	35.00
กระเทาะเปลือกในโรงกระเทาะ	100.00	29	64.00
คัดแยกสี	30.00	70	86.00
คัดแยกตามความหนาแน่นของเมล็ด	25.00	16	88.00
ลวกเพื่อลอกเยื่อหุ้มเมล็ดและคัดสี	2.20	91	99.00
คัดสีอีกครั้ง	1.60	27	99.30

Result from the processing of a 40,000 kg segregation 1 lot of contaminated peanut

แหล่งที่มา: Park and Liang (1993)

1.2 การใช้อุณหภูมิความร้อนในการทำลายสารพิษ

การใช้ความร้อนในการลดสารพิษขึ้นอยู่กับลักษณะการให้ความร้อน ระดับอุณหภูมิ และระยะเวลาการให้ความร้อน สารพิษส่วนใหญ่มีคุณสมบัติทางเคมี สามารถทนความร้อนได้สูงจึงไม่สามารถทำลายได้อย่างสมบูรณ์ ความร้อนชื้นจะมีผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการกำจัดสารแอฟลาทอกซินได้ดีขึ้น เนื่องจากวงแหวนแลคโตนของโครงสร้างสารแอฟลาทอกซินถูกทำลายที่ระดับอุณหภูมิต่ำกว่า 260 องศาเซลเซียส ทำให้ความเป็นพิษของสารแอฟลาทอกซินลดลง เช่น การต้มถั่วลิสงที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที สามารถลดสารแอฟลาทอกซิน บี1 ได้ 77 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การคั่วถั่วลิสงที่อุณหภูมิ 170 และ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 50 และ 15 นาที สามารถลดสารแอฟลาทอกซิน บี1 ได้ 36 และ 55 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เป็นต้น

การสลายตัวของสารแอฟลาทอกซินจะแตกต่างกันตามกรรมวิธีการปรุงอาหาร (ตารางที่7.2) การใช้ไมโครเวฟที่ความร้อนขนาดกลางนาน 7 นาที สามารถลดปริมาณสารแอฟลาทอกซินในถั่วลิสงป่นได้ 71.42%

ตารางที่ 7.2 เปอร์เซ็นต์การลดลงของสารแอฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในอาหารเมื่อใช้กรรมวิธีในการปรุงอาหารต่างๆ กัน

กรรมวิธีการปรุงอาหาร	การลดลงของสารแอฟลาทอกซิน (%)
การหุงข้าวแบบธรรมดา	49
การทำอาหารที่ใช้ความดัน ที่อุณหภูมิ 120°	73
การทำอาหารที่ใช้ความดัน และมีน้ำเกินกำหนด	82
การใช้หม้อนึ่งความดันที่ 120°	9-39
การปิ้งที่ 145-165°	40-81
การใช้ไมโครเวฟกับถั่วลิสง 6.0 kw 4 นาที	95
1.6 kw 16 นาที	95
0.7 kw 8.5 นาที	48-61

แหล่งที่มา: วรนันท์ (2538)

1.3 การใช้พลังงานแสงอาทิตย์และแสงอัลตราไวโอเลต

แสงอัลตราไวโอเลต (UV) จากแสงแดด เป็นส่วนสำคัญของการทำลายสารแอฟลาทอกซิน แสงสามารถทำลายสารแอฟลาทอกซินบริสุทธิ์ได้ง่ายกว่าสารแอฟลาทอกซินที่อยู่ในวัสดุทางการเกษตร การทำลายขึ้นอยู่กับชนิด ความหนาของตัวกลางที่จะยอมให้แสง UV ผ่าน และส่วนประกอบทางเคมีของอาหาร สารใหม่ที่ได้จากกระบวนการทำลายของแสง UV จะไม่เรืองแสง และมีพิษน้อย เมื่อเทียบกับสารแอฟลาทอกซินก่อนผ่านกระบวนการทำลาย

1.4 การใช้สารดูดซับสารพิษ

การใช้สารดูดซับช่วยลดอันตรายให้แก่สัตว์ที่เสี่ยงต่ออาหารที่มีการปนเปื้อนสารพิษ สารดูดซับชนิดต่างๆ จะถูกใส่เข้าไปในอาหารที่มีการปนเปื้อนสารแอฟลาทอกซินเพื่อที่จะป้องกันการดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย สารดูดซับมีหลายชนิด เช่น ถ่านกัมมันต์ (activated charcoal) เบนโทไนท์ (bentonite) ซิโอไลท์ (zeolite) และไฮเดรทโซเดียมแคลเซียมอลูมิโนซิลิเกต (Hydrated Sodium Calcium Aluminosilicates ; HSCAS) เป็นต้น การใช้เบนโทไนท์ หรือ อลูมิเนียมซิลิเกต มีประสิทธิภาพในการดูดสารแอฟลาทอกซินออกจากน้ำนม และอาหารสุกร สารเบนโทไนท์นี้ร่างกายสัตว์ไม่สามารถดูดซึมผ่านลำไส้ได้ เมื่อเบนโทไนท์ดูดซับสารแอฟลาทอกซินออกจากอาหารสุกรจึงถูกขับรวมกับมูลออกนอกร่างกายสัตว์ เบนโทไนท์ 5 กิโลกรัม/ตันอาหาร (0.5%) ในอาหารสุกรที่มีแอฟลาทอกซิน 140 ไมโครกรัม/กิโลกรัม เบนโทไนท์จะสามารถดูดซับสารพิษได้เฉลี่ย 97.9-98.5% สารไฮเดรทโซเดียมแคลเซียมอลูมิเนียมซิลิเกต สามารถดูดซับสารพิษจากเชื้อราในอาหารสัตว์และของเหลว เช่น น้ำนม โดยไฮเดรทโซเดียมแคลเซียมอลูมิเนียมซิลิเกตจะดูดซับสารพิษจากเชื้อราที่บริเวณผิว เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน ทำให้มีความเป็นพิษน้อยลง ส่วนถ่านกัมมันต์ใช้ในการดูดซับสารพาทูลินในน้ำผลไม้

2. การใช้วิธีทางเคมี (Chemical methods)

การลดปริมาณสารพิษด้วยวิธีทางเคมี เช่น การใช้กรด-ด่าง และตัวออกซิไดส์ (oxidizing agent) เป็นต้น เพื่อทำลายหรือเปลี่ยนโครงสร้างของสารพิษให้มีความเป็นพิษน้อยลง หรือสามารถละลายน้ำได้ และกำจัดสารพิษโดยการล้างสารพิษออกจากตัวผลิตผล สารเคมีที่ใช้ในการลดสารพิษจากเชื้อรา ได้แก่

2.1 โซเดียมไฮโปคลอไรต์ (sodium hypochlorite, NaOCl) เป็นสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในน้ำยาซักผ้าขาว มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ และสามารทำลายสารแอฟลาทอกซินที่ติดกับเครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการได้ โซเดียมไฮโปคลอไรต์ในสภาพด่าง (pH 9) ทำให้โมเลกุล ของสารแอฟลาทอกซิน บี1 แตกออกจากกันและหมดพิษ

2.2 กรดซิตริก (citric acid) 0.1 N หรือกรดซัลฟูริค (sulfuric acid) 1 N ที่อุณหภูมิ 70-100 °C นาน 10 นาที ทำให้ปฏิกิริยาไฮดรอกซีเลชั่น (hydroxylation) การเติมหมู่ไฮดรอกซิลลงไปที่พันธะคู่ของวงแหวนฟูแรน ด้วยการเร่งปฏิกิริยาของกรด ถ้าเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ แอฟลาทอกซิน บี1 จะถูกเปลี่ยนให้เป็น แอฟลาทอกซิน บี2 เอ และ แอฟลาทอกซิน จี1 จะกลายเป็น แอฟลาทอกซิน จี2 เอ สารใหม่ที่เกิดขึ้นมีพิษน้อยมาก เมื่อเทียบกับ แอฟลาทอกซิน บี1 และ แอฟลาทอกซิน จี1

2.3 โอโซน (ozonation) มีประสิทธิภาพในการทำลาย แอฟลาทอกซิน บี1 และ แอฟลาทอกซิน จี1 (ยกเว้น แอฟลาทอกซิน บี2) ปฏิกิริยาของก๊าซโอโซน (O_3) การเติมโอโซนลงในกากพืชน้ำมันร้อน 100°C อบนาน 1-2 ชม. จะลดสารพิษได้ประมาณ 80% ของสารพิษทั้งหมด และการใช้โอโซนที่ความเข้มข้น 33 และ 66 มิลลิกรัม/ลิตร ให้สัมผัสกับพริกป่น เป็นเวลา 60 นาที สามารถลดสารแอฟลาทอกซิน บี1 ได้ 88 และ 90% ตามลำดับ โดยไม่มีผลต่อสีและคุณภาพของพริก

2.4 โซเดียมไฮดรอกไซด์ หรือเมทิลอะมีน หรือแอมโมเนีย หรือไดเอทธานอลอะมีน หรือน้ำปูนใส (แคลเซียมไฮดรอกไซด์ หรือโซเดียมไบคาร์บอเนต) เป็นสารเคมีประเภทด่าง สามารถลดปริมาณสารแอฟลาทอกซินได้ โดยด่างจะไปจับกับวงแหวนแลคโตน ทำให้วงแหวนแลคโตนเปิดออก เกิดเป็นโครงสร้างโมเลกุลใหม่ เรียกว่า beta-keto acid ซึ่งสามารถละลายน้ำได้ดี ดังนั้นจึงล้างหรือกำจัดสารแอฟลาทอกซินออกได้ง่าย แต่โครงสร้างโมเลกุลจะสามารถกลับสู่โครงสร้างเดิมได้เมื่ออยู่ในสภาวะกรด ทำให้สารแอฟลาทอกซินมีความเป็นพิษเหมือนเดิม

2.5 การใช้แอมโมเนียในการควบคุม สารแอฟลาทอกซิน บี1 เป็นวิธีการทางเคมีที่แพร่หลายและยอมรับ ทำให้โครงสร้างของสารแอฟลาทอกซิน บี1 เปลี่ยนโครงสร้างเป็น สารแอฟลาทอกซิน ดี1 มีน้ำหนักโมเลกุล 286 ซึ่งไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค

3. การใช้วิธีทางชีวภาพ (Biological methods)

ปัจจุบันการควบคุมศัตรูพืช และกระบวนการผลิตต่าง ๆ นิยมใช้วิธีทางชีวภาพ เพื่อลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค โดยการใช้จุลินทรีย์ เช่น เชื้อรา แบคทีเรีย และยีสต์ ในการทำลายสารพิษจากเชื้อรา เช่น สาร aflastatin A ซึ่งสร้างโดย *Streptomyces* sp. สามารถยับยั้งการสร้างสารแอฟลาทอกซินโดย *Aspergillus parasiticus* ได้ และการใช้แบคทีเรีย *Flavobacterium aurantiacum* สามารถทำลายสารแอฟลาทอกซินได้ถึง 74% เมื่อบ่มสารพิษไว้กับเซลล์ของแบคทีเรีย นาน 68 ชั่วโมง นอกจากนี้กระบวนการหมักธัญพืชที่มีการปนเปื้อนของสารพิษก็สามารถลดปริมาณสารพิษได้ เช่น การหมักโดยใช้ยีสต์ ลดปริมาณสารพิษพาทูลินในน้ำผลไม้ได้ วิธีการทางชีวภาพที่นิยมนำมาใช้มีดังนี้

3.1 การใช้สารสกัดจากพืช

พืชสมุนไพรหลายชนิดมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราและการสร้างสารแอฟลาทอกซิน กระเทียมและโหระพา สามารถทำลายสารแอฟลาทอกซินได้โดยตรง เช่นเดียวกับรายงานในหลายประเทศพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากกานพลู สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรากลุ่ม *Penicillium Aspergillus* และ *Fusarium* ได้ และมีการศึกษาพบว่า น้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้น 5% สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* และ *Penicillium* sp. ที่ติดมากับน้ำคั้นกระเทียมได้ 100% และน้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้นตั้งแต่ 2.5 % ขึ้นไป หลังบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *A. flavus* ได้ 100%

3.2 การใช้จุลินทรีย์และสารสกัดจากจุลินทรีย์

การควบคุมการเจริญของเชื้อราที่สร้างสารพิษโดยใช้จุลินทรีย์ และสารสกัดจากจุลินทรีย์กำลังได้รับความสนใจในปัจจุบัน เพราะในธรรมชาติมีความหลากหลายทางชีวภาพมาก จุลินทรีย์ที่นำมาใช้เพื่อลดการปนเปื้อนปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซิน ได้แก่ ยีสต์ เชื้อรา แบคทีเรีย แอคติโนไมซีสต์ และสาหร่าย การใช้แบคทีเรีย *Flavobacterium aurantiacum* สามารถลดปริมาณสารแอฟลาทอกซินเอ็ม1 ในน้ำนม และทำลายพิษของสารแอฟลาทอกซินในอาหารได้ โดยการเปลี่ยนโครงสร้างทางเคมีของสารแอฟลาทอกซินทำให้ความเป็นพิษหมดไป การใช้สาร aflastatin A และ B และ สาร blasticidin A ซึ่งเป็นสารทุติยภูมิของเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* sp. สามารถยับยั้งการสร้างสารแอฟลาทอกซินได้ และยีสต์สามารถลดปริมาณสารพิษพาทูลินในน้ำแอปเปิ้ล ได้มากกว่า 50% ภายในเวลา 24 ชั่วโมง ในปัจจุบันมีการนำเชื้อรา *A. flavus* สายพันธุ์ที่ไม่สร้างสารพิษมาควบคุมเชื้อรา *A. flavus* สายพันธุ์ที่สร้างสารพิษอีกด้วย

3.3 การใช้พันธุ์พืชต้านทานเชื้อราและสารพิษ

การปรับปรุงพันธุ์ต้านทานสามารถแบ่งได้เป็น 3 ประเภท คือ พันธุ์ที่ต้านทานการเข้าทำลายของเชื้อราสร้างสารพิษ ต้านทานต่อการเจริญของเชื้อราที่สร้างสารพิษ และต้านทานต่อการสร้างสารพิษ แต่ละลักษณะควบคุมโดยพันธุกรรมต่างชุดกัน ซึ่งการเข้าทำลายและการเจริญของเชื้อราที่สร้างสารพิษจะสัมพันธ์กัน แต่การผลิตสารพิษอาจตรงกันข้าม เช่น ถั่วลิสงพันธุ์ต้านทานการเข้าทำลายของเชื้อรา *A. flavus* ฝักถั่วลิสงที่แก่จะมีการสร้างลิกนิน (lignin) มากกว่าพันธุ์ที่ไม่ต้านทาน ลักษณะของเยื่อหุ้มเมล็ดที่ต้านทานต่อการเข้าทำลาย พบปริมาณแทนนินในเยื่อหุ้มเมล็ดสูง จะสามารถยับยั้งการสร้างสารแอฟลาทอกซินได้

การพัฒนากลยุทธ์ในการจัดการควบคุมสารพิษจากเชื้อราเป็นสิ่งจำเป็น เพื่อประกันความปลอดภัยของผู้บริโภค เนื่องจากสารพิษจากเชื้อราสามารถเกิดขึ้นได้ทุกสถานการณ์ โดยไม่สามารถคาดการณ์ได้ล่วงหน้า และสารพิษจากเชื้อรามีการกระจายตัวไม่สม่ำเสมอในธรรมชาติ จึงไม่มีวิธีการใดเลยที่สามารถทำลายหรือกำจัดสารพิษได้ร้อยเปอร์เซ็นต์ ดังนั้นการใช้ระบบ HACCP ในการควบคุมการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราในทุกขั้นตอนการผลิต และหลังการผลิต สามารถช่วยลดปัญหาการปนเปื้อนของสารพิษและความเป็นพิษได้ การจัดการเกี่ยวกับสารพิษจากเชื้อราแบบผสมผสาน ควรคำนึงถึงจุดที่ต้องควบคุม (control point) ตั้งแต่ในแปลงปลูกจนถึงผู้บริโภค และการจัดการต้องมีการประสานงานกันระหว่างผู้ปฏิบัติ ทั้งในช่วงก่อนการเก็บเกี่ยว การเก็บเกี่ยว และหลังการเก็บเกี่ยว ในทุก ๆ ขั้นตอนของการผลิตถ้ามีการควบคุมอย่างถูกวิธี มีความร่วมมือกันทุกภาคส่วนทั้งภาครัฐและเอกชน จะสามารถลดปริมาณการปนเปื้อนของสารพิษได้ ทำให้อาหารและอาหารสัตว์ที่ผลิตออกมามีความปลอดภัย

บรรณานุกรม

ปริศนา เหมสุจิ. 2524. สารพิษจากเชื้อราในเมล็ดพืชอาหาร. หน้า 80-93. *ใน: การสัมมนาเรื่องวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวของข้าวพืชไร่และพืชสวน.* 19-20 พฤศจิกายน 2524. ณ สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ บางเขน กรุงเทพฯ.

วรนันท์ ศุภพิพัฒน์. 2538. อาหารโภชนาการและสารเป็นพิษ. แสงการพิมพ์ กรุงเทพ. 282 หน้า.

สุพี วนศิรากุล, เนตรา สมบูรณ์แก้ว, อัจฉราพร ศรีจุดานุ และอมรา ชินภูติ. 2555. ศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อราและสารโอคราทอกซิน เอ ในผลไม้อบแห้งและการลดปริมาณสารพิษโดยวิธีทางกายภาพ. หน้า 88-101. *ใน: รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มประจำปี 2555*. สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร.

อมรา ชินภูติ อรุณศรี วงศ์อุไร และ กัญจนา พุทธสมัย. 2544. การปนเปื้อนของเชื้อราที่สร้างสารแอฟลาทอกซินใน ผลิตภัณฑ์จากธัญญพืชและสมุนไพร. *เอกสารประกอบการประชุมการ วิชาอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 5 เรื่อง อารักขาพืช : ผลิตอาหารเพื่อประชากรโลก* วันที่ 21-23 พฤศจิกายน 2544 ณ. โรงแรมเฟลิกซ์ ริ เวอร์แคว อำเภอเมือง กาญจนบุรี : 229-256.

อมรา ชินภูติ และ ศุภรา อัคคะสาระกุล. 2552. การปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซิน บี1 และ สารโอคราทอกซิน เอ ในข้าวกล้องและข้าวขาว. *วารสารวิชาการข้าว*. 3 (2): 57-65.

Agrios, G.N. 1978. Plant Pathology. 2nded. Academic press. Inc. New York. 305 p.

Anonymous. 2016. *Aspergillus.* Available source: http://website.nbm-mnb.ca/mycologywebpages/Moulds/Aspergillus.html. June 2, 2016.

Bamba, R. and G. Sumbali. 2005. Co-occurrence of Aflatoxin B_1 and Cyclopiazonic Acid in Sour Lime (*Citrus aurantifolia* Swingle) during Post-harvest Pathogenesis by *Aspergillus flavus. Mycopathologia*. 159: 407-411.

Barkai-Golan, R. and N. Paster. 2008. *Mycotoxins in Fruits and Vegetables*. Academic Press.

Belli, N., A.J. Ramos, V. Sanchis and S. Marin. 2004. Incubation Time and Water Activity Effects on Ochratoxin a Production by *Aspergillus* Section *Nigri* Strains Isolated from Grapes*. Lett. Applied Microbiol*. 38: 72-77.

Biing-Hui, L. and F.S. Chu. 1998. Regulation of *AflR* and Its Product, *AflR*, Associated with Aflatoxin Biosynthesis. *Appl. and Environ. Microbiol*. 64 (10): 3718-3723.

Bilgrami, K.S., K.K. Sinha and A.K. Sinha. 1992. Inhibition of Aflatoxin Production and Growth of *Aspergillus flavus* by Eugenol and Onion and Garlic Extracts. *Indian Journal. Med Res.* 96: 171-175.

Boudra, H., P. Le Bars and J. Le Bar. 1995. Thermo Stability of Ochratoxin A in Wheat Under Two Moisture Conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 61: 1156-1159.

Cary, J.W., K. Rajasekaran, R. L. Brown, M. Luo, Z.Y. Chen and D. Bhatnagar. 2011. Developing Resistance to Aflatoxin in Maize and Cottonseed. *Toxins (Basel).* 3 (6): 678-696.

Chi, M.S., T.S. Robinson., C.J. Mirocha., S.P. Swanson and W. Shimoda. 1978. Excretion and Tissue Distribution of Radioactivity from Tritium Labelled T-2 Toxin in Chicks. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 45: 391-402.

Chinaphuti, A. 1999. Decontamination of Aflatoxin in Food Using Microwave Oven. Pages 272-276. *In*: *Proceeding of International Symposium of Mycotoxicology* on *Mycotoxin Contamination: Health Risk and Prevention Project.* September 9-10. Chiba University, Keyaki Kaikan, Chiba, Japan.

Chinaphuti, A. 2008. Mycotoxins Management in Food and Feed: from Farm to Fork. Pages 17-22. *In*: *NARO International Symposium on Food Safety 2008.* Tsukuba, International Congress Center Convention Hall.

Chinaphuti, A. and R. Suttayakom. 2011. Monitoring of Mycotoxins in Agricultural Products Using DOA-Aflatoxin Elisa Test Kit. Pages 35-44. *In: International Seminar on Risk Assessment and Risk Management of Mycotoxins for Food Safety in Asia.* September 5-9, 2011. Bangkok.

Chinaphuti, A. and S. Aukkasarakul. 2007. Selection of Common Edible Herbs Which Inhibit Aflatoxin Production or Fungal Growth. Pages 225-230. *In: Proceeding of International Symposium of Mycotoxicology "New Strategies for Mycotoxin Research in Asia.* December 12-45, 2006. Bangkok, Thailand.

Chinaphuti, A., C. Trikarunasaward, A. Wongurai and S. Kositcharoenkul. 2002. Production of In-house ELISA Test Kit for Detection of Aflatoxin in Agricultural Commodities and Their Validations. *Kasetsart Journal (Nat.Sci.).* 36: 179-186.

Chompurat, S., K. Sato, W. Mahakarnchanakul, J. Sirisorn and S. Kladpan. 2007. Determination of Ochratoxin A in Roasted Coffee and Corn by Immunoaffinity Column Clean Up with High-Performance Thin Layer Chromatography. Pages 197-201. *In: Proceeding of International Symposium of Mycotoxicology "New Strategies for Mycotoxin Research in Asia.* December 12-45, 2006. Bangkok, Thailand.

Chu, F.S. 1986. Immunoassays for Mycotoxins. Pages 207-237. *In:* Cole RJ, (ed). Modern Methods in the Analysis and Structural Elucidation of Mycotoxin. Academic Press Inc. New York.

Coker, R.D. 1997. Mycotoxin and Their Control: Constraints and Opportunities. NRI Bulletin 73 Chatham, UK: Natural Resources Institute. 74 p.

Czerwiecki, L., G. Wilczynska, and A. Kwiecien. 2005. Ochratoxin A: an Improvement Cleanup and HPLC Method Used to Investigate Wine and Grape Juice on the Polish Market. *Food addit. Contam*. 22: 158-162.

Daniela, C., M. rosalia-Corbo and M. Siniganglia. 2010. Antifungal Activity of Eugenol Against *Penicillium, Aspergillus* and *Fusarium* species. *Journal of Plant Protection*. 73(6): 1124-1128.

Decker, W.J. 1980. Activated Charcoal Absorbs Aflatoxin B1. *Vet. Human Toxicol*. 22: 388.

Dennis, C. 1983. Soft Fruits. Pages 23-42. *In: Dennis C. (ed). Post-Harvest Pathology of fruits and Vegetables.* New York. Academic Press.

Desjardins, A.E. and T.M. Hohn. 1997. Mycotoxin in Plant Pathogenesis. *Mol. Plant Mlicrob. Inter.* 10: 147-152.

Dharmaputra, O.S., H.S. Stjitrosomo, F. Ariyani and M. Sidik. 1990. The Effect of Carbondioxide on Storage Fungi of Maize. Pages 291-301. *In: Proceeding of the 5th International Working Conference on Stored-product Protection*. Bordeaux, France. September 9-14, 1990.

Doster, M.A., T.J. Michailides and D.P. Morgan. 1996. *Aspergillus* Species and Mycotoxins in Figs from Californian Orchards. *Plant Dis*. 80: 484-489.

Engelhardt, G., M. Ruhland and P.R. Wallnofer. 1999. Occurrence of Ochratoxin A in Moldy Vegetables and Fruits Analyzed After Removal of Rotten Tissue Parts. *Adv. Food Sci*. 3: 88-92.

Filali, A., L. Ouamni, and A.M. Betbeder. 2001. Ochratoxin A in Beverages from Morocco: A Preliminary Survey. *Food addit. Contam*. 18: 565-568.

Food and Agricuture Organization. 2004. *Worldwide Regulations for Mycotoxins in Food and Feed 2003*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy.

Gelosa, L. 1990. Aflatoxin Research in Imported Dried Figs. *Industrie Alimentari* 29: 25-27.

Giorni, P., P. Battilani, A. Pietri and N. Magan. 2008. Effect of A_w and CO_2 level on *Aspergillus flavus* Growth and Aflatoxin Production in High Moisture Maize Post-harvest. *Int J Food Microbiol.* 122 (1-2): 109-13.

Grant, P.G. and T.D. Phillips. 1998. Isothermal Adsorption of Aflatoxin B_1 on HSCAS Clay. *J. Agric. Food Chem.* 46: 599-605.

Hasan, H.A.H. 2000. Patulin and Aflatoxin in Brown Rot Lesions of Apple Fruit and Their regulation. *World J. Microbiol. and Biotechnol*. 16: 607-612.

International Agency for Research on Cancer (IARC). 1993. Aflatoxins in Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines, and Mycotoxins. *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans* 56: 245-395.

Le Bars, J. 1990. Contribution to a Practical Strategy for Preventing Aflatoxin Contamination of Dried Figs. *Microbiol Alim. Nutr*. 8: 265-270.

Lillehoj, E.B., R.D. Stubblefield, G.M. Shannon and O.L. Shotwell. 1971. Aflatoxin M_1 Removal from Aqueous Solutions by *Flavobacterium aurantiacum*. *Mycopathologia et Mycologia applicata* 45(3-4): 259-266.

Lopez-Garcia, R. and D.L. Park. 1998. Effectiveness of Post-harvest Procedures in Management of Mycotoxin hazards. Pages 407-433. *In:* D. Bhatnagar and S. Sinha (eds). Mycotoxins in agriculture and food safety. New York.

Majerus, P. and H. Otteneder. 1996. Detection and Occurrence of Ochratoxin A in Wine and Grape Juice. *Deut. Lebens. Rundschau* 92: 388-390.

Majerus, P., H. Bresch and H. Otteneder. 2000. Ochratoxin A in Wines, Fruit Juices and Seasonings. *Archiv Lebensmit*. 51: 95-97.

Markaki, P., C. Delpont Binet, F. Grosso and S. Dragacci. 2001. Determination of Ochratoxin A in Red Wine and Vinegar by Immunoaffinity High-Pressure Liquid Chromatography. *J. Food Prot*. 64: 533-537.

Ng, W., M. Mankotia and P. Pantazupoulos. 2004. Ochratoxin A in Wine and Grape Juice Sold in Canada. *Food Addit. Contam*. 21: 971-981.

Northolt, M.D. 1979. The Effect of Water Activity and Temperature on the Production of Some Mycotoxins. Ph.D. Dissertation, Holland: Bilthoven.

Northolt, M.D., H.P. Van Egmond and W.E. Paulsch. 1978. Patulin Production by Some Fungal Species in Relation to Water Activity and Temperature. *J.Food Prot*. 41: 855-890.

Park, D.L. and B. Liang. 1993. Perspectives on Aflatoxin Control for Human Food and Animal Feed. *Trends Food Sci. Technol*. 4: 334.

Pestka, J.J., M.N. Abouzied and Sutikno. 1995. Immunological Assays for Mycotoxin Detection. *Food technology* 49 (2): 120-128.

Ragab, W.S., M.A. Rashwan and M.A. Saleim. 1999. Natural Occurrence and Experimental Proliferation of Aflatoxims on Orange Fruits. *J. Agric. Sci. Mansoura Univ*. 9: 4885-4893.

Roy, R. 1990. Aflatoxins in Imported Figs. *Acta Hortic*. 269: 521-525.

Sakuda, S., T. Yoshinari, K. Nakamura, T. Akiyama, Y.Takahashi, Y. Muraoka, Y. Nonomura and H. Nagasawa. 2007. Studies on Inhibitors for Mycotoxin Production. Pages 135-140. *In: Proceeding of International Symposium of Mycotoxicology "New Strategies for Mycotoxin Research in Asia.* December 12-45, 2006. Bangkok, Thailand.

Samson, R.A. and J.C. Frisvad. 2004. *Penicillium* Subgenus *Penicillium*: New Taxonomic Schemes, Mycotoxins and Other Extrolites. Studies in Mycology 49, Centraalbureau voor schimmelcultures-Utrecht, The Netherlands, 260 pp.

Shenasi, M., A.A.G. Candlish and K.E. Aidoo. 2002. The Production of Aflatoxins in Fresh Date Fruits and Under Simulated Storage Condition. *J. Sci. Food Agric*. 82: 848-853.

Sydenham, E.W., P.G. Thiel, W.F.O. Marasas, G.S. Shepard, D.J. Van Schalkwyk and K.R. Koch. 1990. Natural Occurance of Some Fusarium Mycotoxin in Corn from Low and High Oesophageal Cancer Prevalence Areas of the Transkei, Southern Africa. *J. Agric. Food.Chem.* 38: 1990-1903.

Varga, J. and J. Teren. 1999. Recent Progress in Mycotoxin Research. *Acta microbiologica et. Immunologica Hungarica* 46(2-3): 233-243.

Wanasirakul, S., N. Somboonkaew and A. Chinaphuti. 2012. Ochratoxin A and Aflatoxin B_1 Contents of Dried Fruits Sold in Retail Market in Thailand. Page 138. *In: Abstract of the international conference on tropical and subtropical plant diseases 2012.* February 7-10, 2012. The Empress Hotel, Cheing Mai Thailand.

Youssef, M.S., N.F. Abo-Dahab and A.A. Abou-Seidah. 2000. Mycobiota and Mycotoxin Contamination of Dried Raisins in Egypt. *Afr. J. Mycol. Biotechnol*. 8: 69-86.

Zimmerli, B. and R. Dick. 1996. Ochratoxin A in Table Wine and Grape Juice: Occurrence and Risk Assessment. *Food Addit. Contam.* 13: 655-668.

Zinedine, A., J.M. Soriano, J.C. Molto and J. Manes. 2007. Review on the Toxicity, Occurrence, Metabolism, Detoxification, Regulation and Intake of Zearalenone: an Oestrogenic Mycotoxin. *Food and Chemical Toxicology* 45: 1-18.

Zohri, A.A. and K.M. Ardel-Gewad. 1993. Survey of Mycoflora and Mycotoxins of Some Dried Fruits in Egypt. *J. Basic. Microbiol*. 33: 279-288.