

การวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินชนิด บี<sub>1</sub> บี<sub>2</sub> จี<sub>1</sub> และ จี<sub>2</sub>  
ในอาหารจำพวกน้ำพริกโดยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง  
Determination of aflatoxin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> and G<sub>2</sub> in chilli paste by  
high performance liquid chromatography

วิรัช เรืองศรีตระกูล (Wirat Ruengsitagoon)<sup>1</sup>

ทวี พรหมดี (Tawee Promdee)<sup>2</sup>

ประดิษฐ์ เพียรรักษา (Pradit Pearruksa)<sup>3</sup>

### บทคัดย่อ

ได้ทำการศึกษาปริมาณอะฟลาทอกซินชนิด บี<sub>1</sub>, บี<sub>2</sub>, จี<sub>1</sub> และ จี<sub>2</sub> ในตัวอย่างอาหารจำพวกน้ำพริกได้ตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดปริมาณอะฟลาทอกซินจะใช้เฟสเคลื่อนที่ที่เป็นสารละลายผสมของ 0.5% กรดไตรฟลูออโรอะซิติก : อะซีโตนไนโตร : เมทานอล (65 : 20 : 15) ใช้อัตราเร็วของเฟสเคลื่อนที่เท่ากับ 1.5 มิลลิลิตร/นาที ใช้ตัวตรวจวัดสัญญาณแบบฟลูออเรสเซนซ์ที่ใช้คลื่นแสงที่มีความยาวคลื่นในการใช้พลังงานกระตุ้นที่ 324 นาโนเมตร และวัดความยาวคลื่นแสงที่คายออกมาที่ความยาวคลื่น 424 นาโนเมตร ตามลำดับ ตัวอย่างอาหารจำพวกน้ำพริกจำนวน 76 ตัวอย่างได้เก็บมาจากตลาด ในเขตอำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น ตัวอย่างอาหารจะถูกสกัดด้วยสารละลายคลอโรฟอร์ม และทำปฏิกิริยาอนุพันธ์กับกรดไตรฟลูออโรอะซิติกหลังจากกำจัดสิ่งเจือปนโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ภายใต้สภาวะการวิเคราะห์ที่เหมาะสมพบว่าสามารถแยกอะฟลาทอกซินชนิด จี<sub>1</sub>, บี<sub>1</sub>, จี<sub>2</sub> และ บี<sub>2</sub> ได้โดยพบค่าเวลารีเทนชันที่ 6.40, 8.24, 11.71 และ 16.30 นาที ตามลำดับ ปริมาณของอะฟลาทอกซิน บี<sub>1</sub> บี<sub>2</sub> จี<sub>1</sub> และจี<sub>2</sub> พบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 0.0-12.6, 0.0-0.0, 0.0-226.9 และ 0.0-38.4 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ

### Abstract

In this study aflatoxin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> and G<sub>2</sub> in chili paste samples were determined by high performance liquid chromatography (HPLC). The optimum conditions for aflatoxin determination were 0.5 % trifluoroacetic acid : acetonitrile : methanol (65 : 20 : 15) as mobile phase with a suitable flow rate of 1.5 ml min<sup>-1</sup> and fluorescence detector with the excitation and emission wavelengths of 324 and 424 nm, respectively. The 76 samples of chili paste samples were collected from markets in Amphur Muang, Khon Kaen Province. The food samples were extracted with chloroform and derivatized with trifluoroacetic acid after clean-up by column chromatography. Under optimum conditions satisfactory separation of aflatoxins G<sub>1</sub>, B<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> and B<sub>2</sub> was obtained with the retention times of 6.40, 8.24, 11.71 and 16.30 minutes, respectively. The results of aflatoxin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> and G<sub>2</sub> level of samples were found to be in the range of 0.0-12.6, 0.0-0.0, 0.0-226.9 and 0.0-38.4 µg kg<sup>-1</sup>, respectively.

คำสำคัญ: น้ำพริก อะฟลาทอกซิน บี<sub>1</sub> บี<sub>2</sub> จี<sub>1</sub> และ จี<sub>2</sub> โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

Keywords: chili paste, aflatoxin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> and G<sub>2</sub>, high performance liquid chromatography

<sup>1</sup>ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

<sup>2</sup>พนักงานวิทยาศาสตร์ ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

<sup>3</sup>นักวิทยาศาสตร์ งานบริการทางวิชาการและวิจัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

## บทนำ

ไมโคทอกซิน (mycotoxins) คือ สารพิษและสารก่อมะเร็งที่ผลิตโดยเชื้อราพบในธรรมชาติทั่วไป สารพิษเหล่านี้จะทำให้เกิดความผิดปกติเกิดขึ้นในมนุษย์และสัตว์ ปัจจุบันพบว่ามีการประกอบมากกว่า 300 ชนิด ที่ถูกจัดเป็นไมโคทอกซิน อะฟลาทอกซิน (aflatoxin) จัดอยู่ในจำพวกหนึ่งของไมโคทอกซินซึ่งพบครั้งแรกในประเทศอังกฤษในปี 1960 เรียกว่า "Turkey X disease" อะฟลาทอกซินมีหลายชนิด เช่น อะฟลาทอกซิน บี<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) อะฟลาทอกซิน บี<sub>2</sub> (AFB<sub>2</sub>) อะฟลาทอกซิน จี<sub>1</sub> (AFG<sub>1</sub>) และ อะฟลาทอกซิน จี<sub>2</sub> (AFG<sub>2</sub>) อะฟลาทอกซิน บี<sub>1</sub> มีความเป็นพิษสูงสุดในหมู่อะฟลาทอกซินทั้งหมด (Kamimura, 1993) การปนเปื้อนของอะฟลาทอกซิน มีอยู่ในธัญพืชต่างๆ ตามธรรมชาติ เมื่อมีการเก็บเกี่ยวธัญพืชเหล่านี้ก็จะมี การปนเปื้อนอะฟลาทอกซินมาด้วยหรือการปนเปื้อนอาจจะเกิดจากการเก็บรักษาธัญพืชในสภาวะที่เหมาะสมต่อการเติบโตของไมโคทอกซิน เช่น อุณหภูมิ ความชื้นของสิ่งแวดล้อม สถานที่ตั้งทางภูมิศาสตร์ และฤดูกาล เป็นต้น เมื่อมนุษย์หรือสัตว์มีการบริโภคธัญพืชที่มีการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินเหล่านี้ก็จะทำให้เกิดความเป็นพิษต่อมนุษย์และสัตว์ได้

ได้มีการตรวจวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในถั่วลิสงและผลิตภัณฑ์ที่ใช้บริโภคเป็นอาหารในประเทศไทย (ศรีสิทธิ์ และคณะ, 2538) ในช่วงระหว่างปี พ.ศ. 2525-2536 พบว่าถั่วลิสงมีการปนเปื้อนมากที่สุด ได้มีการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินชนิด บี<sub>1</sub> บี<sub>2</sub> จี<sub>1</sub> และจี<sub>2</sub> โดย Wilson และ Romer (1991), Nawaz et al. (1992), Roch et al. (1995), Cespedes และ Diaz (1997) และ Scott และ Lawrence (1997) สำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่าง ธัญพืช (ข้าว ฝ้าย ข้าวโพด) ปาล์ม ผลิตภัณฑ์ถั่ว แป้งสาลี และเบียร์ ตามลำดับ

อาหารจำพวกน้ำพริกเป็นอาหารที่ผลิตมาจากธัญพืช มีโอกาสที่จะพบการเติบโตของเชื้อราที่เป็นแหล่งกำเนิดของอะฟลาทอกซิน อาหารจำพวกน้ำพริกเป็นอาหารยอดนิยมของประชาชนในทุกๆ ภาคเนื่องด้วยเป็นอาหารที่มีราคาไม่แพงนำมาปรุงอาหารให้เกิดรสชาติที่ดีได้ รวมทั้งสามารถหาบริโภคได้ทุกๆ ฤดูกาล การศึกษาอาหารประเภทน้ำพริกในครั้งนี้ได้แบ่งอาหารดังกล่าวออกเป็นประเภทใหญ่ๆ ได้สามประเภท คือ หนึ่ง อาหารประเภทน้ำพริกแห้ง (crushed chili) เช่น น้ำพริกนรก น้ำพริกสวรรค์ เป็นต้น สอง อาหารประเภทน้ำพริกที่มีการเก็บในรูปที่มีของเหลวละลายอยู่ (chili in oil, chili paste) เช่น น้ำพริกเผา น้ำพริกน้ำปลาหวาน เป็นต้น และสาม อาหารประเภทน้ำพริกสำหรับปรุงอาหาร (chili as condiments) เช่น พริกแกง พริกตำ ยำ เป็นต้น ถ้าหากได้มีการศึกษาถึงปริมาณของอะฟลาทอกซินในอาหารประเภทน้ำพริกแล้ว ก็จะได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์สำหรับการคุ้มครองประชาชนผู้บริโภค และยังทำให้ประชาชนได้เกิดความตระหนักในการบริโภคอาหารประเภทน้ำพริก รวมทั้งยังเป็นข้อมูลสำหรับการอ้างอิงสำหรับการศึกษาวิจัยต่อไป

## สารเคมี อุปกรณ์-เครื่องมือ และวิธีการ

### 1. สารเคมี

สารละลายมาตรฐานอะฟลาทอกซิน (Aflatoxin B<sub>1</sub>, Aflatoxin B<sub>2</sub>, Aflatoxin G<sub>1</sub> และ Aflatoxin G<sub>2</sub>, Sigma) เมทานอล (Methanol, Merck) อะซีโตนไนไตรท์ (Acetonitrile, Merck) กรดไตรฟลูออโรอะซีติก (Trifluoroacetic acid, Fluka) คลอโรฟอร์ม (Chloroform, J.T. Baker) อีเทอร์ (Ether, J.T. Baker) และเฮกเซน (Hexane, J.T. Baker)

### 2. อุปกรณ์-เครื่องมือ

2.1 เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography : HPLC)

2.1.1 HPLC Pump : เครื่อง TSP  
product<sup>®</sup> รุ่น P2000

2.1.2 Fluorescence detector : เครื่อง  
TSP product<sup>®</sup> รุ่น FL2000

2.1.3 Autoinjector : เครื่อง TSP  
product<sup>®</sup> รุ่น AS3000

2.1.4 Integrator : เครื่อง TSP  
product<sup>®</sup> รุ่น Data jet integrator

2.1.5 Column : Supelcosil<sup>™</sup>,  
LC-18 (25 cm X 4.9 mm, 5  $\mu$ m)

2.2 สภาวะสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณ  
อะฟลาทอกซิน มีรายละเอียดดังนี้

อัตราเร็วของเฟสเคลื่อนที่ (Flow Rate) :  
1.5 ml min<sup>-1</sup>

เฟสเคลื่อนที่ (Mobile Phase) : 0.5%  
Trifluoroacetic acid : Acetonitrile : Methanol  
(65 : 20 : 15 )

ตัวตรวจวัด (Detector) : Fluorescence

Excitation wavelength : 324 nm

Emission wavelength : 424 nm

ปริมาณที่ฉีด (Injection Volume) : 40  $\mu$ l

### 3. วิธีการศึกษา

#### 3.1 การเก็บตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างอาหารประเภทน้ำพริก  
ต่างๆ คือ อาหารประเภทน้ำพริกแห้ง (crushed chili)  
อาหารประเภทน้ำพริกที่เก็บในรูปที่มีของเหลวอยู่  
(chili in oil , chili paste) และอาหารประเภทน้ำพริก  
ที่ใช้ปรุงอาหาร (chili as condiments) ได้ทำการเก็บ  
ตัวอย่างแบบสุ่มอย่างง่าย (simple random sampling)  
จากตลาดสดทั้งสามแห่ง คือ ตลาด อ.จระ ตลาด  
บางลำภู ตลาดเทศบาล และร้านค้าปลีกขนาดใหญ่ ใน  
อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น

ตัวอย่างอาหารที่อาจพบการปนเปื้อนของอะ  
ฟลาทอกซิน ได้ทำการเก็บตัวอย่างแบบสุ่มอย่างง่ายมา  
โดยแบ่งเป็นประเภทต่างๆ ดังนี้

3.1.1 อาหารประเภทน้ำพริกแห้ง เช่น  
น้ำพริกนรก น้ำพริกสวรรค์ น้ำพริกปลาป่น เป็นต้น  
จำนวน 28 ตัวอย่าง

3.1.2 อาหารประเภทน้ำพริกที่เก็บใน  
รูปที่มีของเหลวอยู่ เช่น น้ำพริกเผา น้ำพริกปลาหวาน  
 เป็นต้น จำนวน 30 ตัวอย่าง

3.1.3 อาหารประเภทน้ำพริกที่ใช้ปรุง  
อาหาร เช่น น้ำพริกแกงส้ม น้ำพริกต้มยำ น้ำพริกแกง  
เขียวหวาน เป็นต้น จำนวน 18 ตัวอย่าง

### 4. การวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซิน ในตัวอย่าง อาหาร

จะใช้วิธีการนำตัวอย่างอาหารมาทำการสกัด  
อะฟลาทอกซิน ด้วยสารละลายสกัดที่เหมาะสม ตัวอย่าง  
ประเภทน้ำพริกแห้งจะชั่งตัวอย่างมา 25 กรัม หากเป็น  
ตัวอย่างน้ำพริกที่เก็บในรูปที่มีของเหลวอยู่จะชั่งมา  
50 กรัม เติมน้ำกลั่น 12.5 มิลลิลิตรและคลอโรฟอร์ม  
125 มิลลิลิตร ทำการเขย่าสกัดอะฟลาทอกซินด้วย  
กรวยสกัดเป็นเวลา 20 นาที ถ่ายเทสารละลายในชั้น  
คลอโรฟอร์มมาเพื่อนำไปกำจัดสิ่งเจือปนด้วยเทคนิค  
โครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ โดยใช้ซิลิกาเจล (silica gel  
for column chromatography) เป็นเฟสอยู่นิ่ง (stationary  
phase) ผ่านสารละลายเฮกเซน (hexane) 150 มิลลิลิตร  
และอีเธอร์ที่ปราศจากน้ำ (anhydrous ether) 150  
มิลลิลิตร จากนั้นทำการชะล้าง (eluted) สารตัวอย่าง  
อะฟลาทอกซินโดยใช้สารละลายผสมระหว่างคลอโรฟอร์ม  
และเมทานอล (chloroform-methanol) เป็นเฟสเคลื่อนที่  
(mobile phase) ในอัตราส่วน 97 : 3 นำสารละลาย  
ตัวอย่างที่ผ่านออกมาจากคอลัมน์ไประเหยด้วยเครื่อง  
ระเหยสารละลายภายใต้สุญญากาศ (rotaevaporator)  
จนสารละลายมีปริมาตรประมาณ 1- 2 มิลลิลิตร  
เก็บสารละลายดังกล่าวในหลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตร  
นำสารละลายดังกล่าวไประเหยแห้งด้วยกระบอกทรายที่  
อุณหภูมิ 70 °C ภายใต้สภาวะของก๊าซเฉื่อย นำสารละลาย  
ที่ระเหยแห้งมาทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ (derivatization)  
กับกรดไตรฟลูออโรอะซิติก (trifluoroacetic acid)  
จำนวน 100 ไมโครลิตรและระเหยแห้งอีกครั้ง ซึ่ง

จะเกิดสารผลิตภัณฑ์เป็นสารประกอบพวกเฮมิอะซีเทิล (hemiacetal) ที่สามารถเกิดการเรืองแสงเมื่อได้รับคลื่นแสงที่มีความยาวคลื่น 364 นาโนเมตร (excitation wavelength) และวัดคลื่นแสงที่คายออกมาที่มีความยาวคลื่น 424 นาโนเมตร (emission wavelength) โดยนำสารตัวอย่างมาเติมเมทานอล 1 มิลลิลิตรเขย่าให้สารตัวอย่างละลายอย่างสมบูรณ์และนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงต่อไป วิธีวิเคราะห์ที่ใช้นี้ได้ดัดแปลงมาจากวิธีมาตรฐานของ AOAC (1995) ตัวอย่างหนึ่งตัวอย่างจะทำการวิเคราะห์จำนวน 2 ครั้ง (duplicate)

## ผลการทดลอง

*ผลการวิเคราะห์อะฟลาทอกซินด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง*

วิธีดังกล่าวนี้สามารถแยกพีคของอะฟลาทอกซิน จี1 บี1 จี2 และ บี2 ที่เวลา (retention time) เท่ากับ 6.40, 8.24, 11.71 และ 16.30 นาที ตามลำดับตามที่แสดงในรูปที่ 1 และพบว่าค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ (limit of detection; LOD) ซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงความเข้มข้นของสารที่วิเคราะห์ให้ความสูงของสัญญาณที่มีความแตกต่างเมื่อเทียบกับสารละลายเปรียบเทียบกับ (blank) มีค่าเท่ากับจำนวน 3 เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสารละลายเปรียบเทียบกับ ( $s/n = 3$ ) สำหรับการศึกษากการวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซิน บี1 บี2 จี1 และ จี2 ในครั้งนี้มีค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์เท่ากับ 0.5, 0.25, 1.0 และ 1.0 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

การศึกษากการสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานอะฟลาทอกซิน โดยการศึกษาความเข้มข้นของอะฟลาทอกซิน บี1 ในช่วงความเข้มข้น 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 นาโนกรัม/มิลลิลิตร อะฟลาทอกซิน บี2 ในช่วงความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 และ 4.0 นาโนกรัม/มิลลิลิตร อะฟลาทอกซิน จี1 ในช่วงความเข้มข้น 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 และ 10.0 นาโนกรัม/มิลลิลิตร และอะฟลาทอกซิน จี2 ในช่วง

ความเข้มข้น 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 และ 10.0 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ พบค่า  $r^2$ : correlation coefficient ของ อะฟลาทอกซิน บี1 บี2 จี1 และ จี2 มีค่าเฉลี่ย ( $n=5$ ) เท่ากับ  $0.9964 + 0.003$ ,  $0.9993 + 0.002$ ,  $0.9979 + 0.003$  และ  $0.9999 + 0.001$  ตามลำดับ และมีค่าเฉลี่ย ความชัน (Slope;  $n=5$ ) ของกราฟมาตรฐานมีค่าเท่ากับ  $1.3308 + 0.313$ ,  $2.1457 + 0.383$ ,  $0.4163 + 0.057$  และ  $0.8026 + 0.098$  ตามลำดับ และจากข้อมูลความชันของกราฟมาตรฐาน พบว่าความว่องไวในการวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินจะเรียงลำดับจากมากไปน้อย คืออะฟลาทอกซินชนิด บี2 บี1 จี2 และ จี1 ตามลำดับ

จากการศึกษาเปอร์เซ็นต์การย้อนกลับ (% recovery) ของการวิเคราะห์ปริมาณของอะฟลาทอกซิน บี1 บี2 จี1 และ จี2 ที่ความเข้มข้น 3.0, 2.0, 6.0 และ 6.0 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การสกัดแบบย้อนกลับของอะฟลาทอกซิน บี1 บี2 จี1 และ จี2 มีค่าเท่ากับ 96.12%, 96.85%, 95.94% และ 95.83 % ( $n=5$ ) ตามลำดับ

*ผลการวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินในตัวอย่างน้ำพริก*

ตัวอย่างอาหารประเภทน้ำพริกแห้งจำนวน 28 ตัวอย่าง ตรวจวิเคราะห์พบปริมาณอะฟลาทอกซิน บี1 บี2 จี1 และ จี2 จำนวน 2, 0, 21 และ 1 ตัวอย่างตามลำดับ พบอะฟลาทอกซิน บี1 มีปริมาณเท่ากับ 4.3 และ 12.6 ไมโครกรัม/กิโลกรัม พบอะฟลาทอกซิน จี1 อยู่ในช่วงระหว่าง 3.6-120.7 ไมโครกรัม/กิโลกรัม และพบอะฟลาทอกซิน จี2 เพียงหนึ่งตัวในปริมาณ 32.0 ไมโครกรัม/กิโลกรัม แต่สำหรับปริมาณอะฟลาทอกซิน บี2 ตรวจไม่พบเลยในตัวอย่างทั้ง 28 ตัวอย่าง

ตัวอย่างอาหารประเภทน้ำพริกที่เก็บในรูปแบบที่มีของเหลวอยู่ จำนวน 30 ตัวอย่าง ตรวจวิเคราะห์พบปริมาณอะฟลาทอกซิน บี1 บี2 จี1 และ จี2 จำนวน 4, 0, 23 และ 0 ตัวอย่างตามลำดับ พบอะฟลาทอกซิน บี1 มีปริมาณเท่ากับ 4.3, 4.3, 12.1 และ 12.6 ไมโครกรัม/กิโลกรัม พบอะฟลาทอกซิน จี1 อยู่ในช่วงระหว่าง 8.2-174.0 ไมโครกรัม/กิโลกรัม และสำหรับปริมาณ อะฟลาทอกซิน บี2 และ จี2 ตรวจไม่พบเลยในตัวอย่างทั้ง 30 ตัวอย่าง

ตัวอย่างอาหารประเภทน้ำพริกที่ใช้ปรุงอาหารจำนวน 18 ตัวอย่าง ตรวจวิเคราะห์พบปริมาณอะฟลาทอกซิน บี1 บี2 จี1 และ จี2 จำนวน 1, 0, 10 และ 1 ตัวอย่างตามลำดับ พบอะฟลาทอกซิน บี1 มีปริมาณเท่ากับ 11.0 ไมโครกรัม/กิโลกรัม พบอะฟลาทอกซิน จี1 อยู่ในช่วงระหว่าง 0.8-226.9 ไมโครกรัม/กิโลกรัม และพบอะฟลาทอกซิน จี2 เพียงหนึ่งตัวในปริมาณ 38.4 ไมโครกรัม/กิโลกรัม แต่สำหรับปริมาณอะฟลาทอกซิน บี2 ตรวจไม่พบเลยในตัวอย่างทั้ง 18 ตัวอย่าง

ปริมาณอะฟลาทอกซินของตัวอย่างอาหารน้ำพริกประเภทต่างๆ ที่กำหนดมาตรฐานโดยมาตรฐานอุตสาหกรรม มอก. 429 (2525) มอก. 456 (2526) มอก. 457 (2526) มอก. 1152 (2536) และ มอก. 1176 (2536) ซึ่งได้กำหนดให้อาหารประเภทน้ำพริกตรวจพบปริมาณรวมอะฟลาทอกซิน(บี1 บี2 จี1 และ จี2) รวมกันต้องไม่เกิน 20 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ในตารางที่ 1 ได้แสดงปริมาณรวมของอะฟลาทอกซินที่ตรวจพบ สำหรับอาหารประเภทน้ำพริกแห่งจำนวน 11, 8, 8, 1 และ 0 ตัวอย่าง สำหรับอาหารประเภทน้ำพริกที่เก็บในรูปแบบที่มีของเหลวจำนวน 10, 6, 9, 5 และ 0 ตัวอย่าง สำหรับอาหารประเภทน้ำพริกที่ใช้ในการปรุงอาหารจำนวน 14, 3, 0, 0 และ 1 ตัวอย่าง ที่พบปริมาณรวมของอะฟลาทอกซินในช่วงปริมาณ 0.0-20.0, 20.1-50.0, 50.1-100.0, 100.1-200.0 และมากกว่า 200.0 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ

## สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

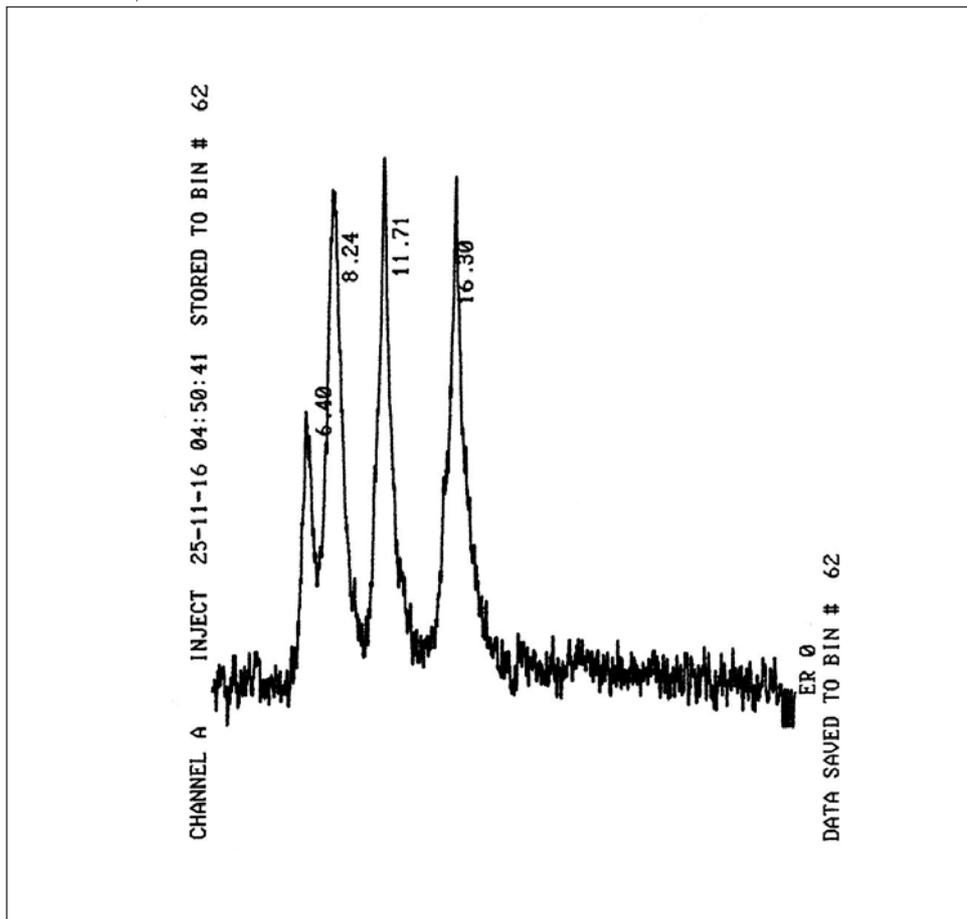
ผลการศึกษาจำนวนตัวอย่างที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณรวมของอะฟลาทอกซิน (บี1 บี2 จี1 และจี2) เมื่อเทียบกับมาตรฐานของ มอก. ซึ่งแสดงในตารางที่ 2 ได้พบว่าตัวอย่างอาหารประเภทน้ำพริกแห่งจำนวน 17 ตัวอย่างจาก 28 ตัวอย่างหรือคิดเป็นร้อยละ 60.71 มีปริมาณอะฟลาทอกซินรวมไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ตัวอย่างอาหารประเภทน้ำพริกที่เก็บในรูปแบบที่มีของเหลวอยู่ จำนวน 20 ตัวอย่างจาก 30 ตัวอย่างหรือคิดเป็นร้อยละ 66.67 มีปริมาณอะฟลาทอกซินรวมไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ตัวอย่างอาหารประเภทน้ำพริกที่ใช้ปรุงอาหารจำนวน 4 ตัวอย่าง จาก 18 ตัวอย่างหรือคิดเป็นร้อยละ 22.22 มีปริมาณอะฟลาทอกซินรวมไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม หากพิจารณาตัวอย่างทั้งหมด 76 ตัวอย่างพบว่า มีตัวอย่างจำนวน 41 ตัวอย่างหรือร้อยละ 53.94 ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม แต่ถ้าหากพิจารณาเฉพาะปริมาณอะฟลาทอกซิน บี1 ซึ่งเป็นไมโคทอกซินที่เป็นพิษสูงสุด จะพบว่ามีเพียง 7 ตัวอย่างจากตัวอย่างอาหารประเภทน้ำพริกทั้งหมด 76 ตัวอย่างที่ตรวจวิเคราะห์พบอะฟลาทอกซินชนิด บี1 เท่านั้นโดยคิดเป็นร้อยละเพียง 9.2 และจากการตรวจวิเคราะห์พบว่า อะฟลาทอกซินชนิด บี1 จำนวน 7 ตัวอย่างนั้นจะพบในตัวอย่างน้ำพริกแห่ง น้ำพริกที่เก็บในรูปแบบของเหลวและน้ำพริกที่ใช้ปรุงอาหาร จำนวน 2, 4 และ 1 ตัวอย่างตามลำดับ

## กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้ศึกษาวิจัยขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัยขอนแก่นที่สนับสนุนทุนวิจัยสำหรับโครงการวิจัยนี้ ผ่านทุนอุดหนุนทั่วไปมหาวิทยาลัยขอนแก่น และขอขอบพระคุณงานบริการทางวิชาการและวิจัย รวมทั้งภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ ที่สนับสนุนการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

**เอกสารอ้างอิง**

- กระทรวงอุตสาหกรรม. 2525. **มาตรฐานอุตสาหกรรม**  
**น้ำพริกแกง มอก. 429-2525.** กรุงเทพฯ :  
กระทรวงอุตสาหกรรม.
- กระทรวงอุตสาหกรรม. 2526. **มาตรฐานอุตสาหกรรม**  
**พริกแห้ง มอก. 456-2526.** กรุงเทพฯ :  
กระทรวงอุตสาหกรรม.
- กระทรวงอุตสาหกรรม. 2526. **มาตรฐานอุตสาหกรรม**  
**กรรมพริกป่น มอก. 457-2526.** กรุงเทพฯ :  
กระทรวงอุตสาหกรรม.
- กระทรวงอุตสาหกรรม. 2536. **มาตรฐานอุตสาหกรรม**  
**กรรมน้ำพริกเผา มอก. 1152-2536.**  
กรุงเทพฯ : กระทรวงอุตสาหกรรม.
- กระทรวงอุตสาหกรรม. 2536. **มาตรฐานอุตสาหกรรม**  
**กรรมน้ำพริกแกง มอก. 1176-2536.**  
กรุงเทพฯ : กระทรวงอุตสาหกรรม.
- ศรีสิทธิ์ การุณยะวนิช, ดวงจันทร์ สุประเสริฐ, อูมา  
บริบูรณ์, สุวัฒน์ โปษยะวัฒนากุล และ  
นพภรณ์ ปัญจะ. 2538. อะฟลาทอกซินที่  
ปนเปื้อนในถั่วลิสงและผลิตภัณฑ์ในประเทศไทย.  
ว. กรมวิทย์. พ. 37(1): 19-32.
- AOAC official methods of analysis. 1995.  
Official Methods of Analysis of AOAC In-  
ternational. 15th Edition. Virginia : AOAC  
International.
- Cepedes, A.E. and Diaz, G.J. 1997. Analysis of  
aflatoxins in poultry and pig feeds and  
feedstuffs used in columbia. **J. of AOAC  
International.** 80(6): 1215-1219.
- Kamimura, H. 1993. **Problem of mycotoxins in food  
sanitation.** Tokyo Metropolitan Research  
Laboratory of Public Health, Tokyo, Japan.
- Nawaz, S., Coker, R.D. and Haswell, S.J. 1992.  
Development and evaluation of analytical  
methodology for the determination of  
aflatoxins in palm kernels. **Analyst** 117(1):  
67-74.
- Roch, O.G., Blunden, G., Coker, R.D. and Nawaz,  
S. 1995. The validation of a solid phase  
clean-up procedure for the analysis of  
aflatoxins in groundnut cake using HPLC.  
**Food Chemistry** 52: 93-98.
- Scott, P.M. and Lawrence, G.A. 1997. Determi-  
nation of aflatoxins in beer. 1997. **J. of  
AOAC International** 80(6): 1229-1234.
- Wilson, T.J. and Romer, T.R. 1991. Used of the  
mycosep multifunctional cleanup column for  
liquid chromatographic determinations of  
aflatoxins in agricultural products. **J. Assoc.  
Off. Anal. Chem.** 74(6): 951-956.



รูปที่ 1 โครมาโทแกรมของอะฟลาทอกซิน จี1 บี1 จี2 และ บี2 ที่เวลา 6.40, 8.24, 11.71 และ 16.30 นาที ตามลำดับ

ตารางที่ 1 ค่าเปรียบเทียบปริมาณอะฟลาทอกซินรวมของตัวอย่างอาหารประเภทน้ำพริกต่าง ๆ

ประเภทตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างที่พบปริมาณอะฟลาทอกซินรวมในช่วงปริมาณ ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )					จำนวน ตัวอย่าง
	0.0-20.0	20.1-50.0	50.1-100.0	100.1-200.0	> 200.0	
	อาหารประเภทน้ำพริกแห้ง	11	8	8	1	
อาหารประเภทน้ำพริกที่เก็บ ในรูปที่มีของเหลวอยู่	10	6	9	5	-	30
อาหารประเภทน้ำพริกที่ใช้ ในการปรุงอาหาร	14	3	-	-	1	18

<sup>a</sup>อะฟลาทอกซิน บี1 บี2 จี1 และ จี2ตารางที่ 2 เปรียบเทียบปริมาณอะฟลาทอกซินรวมของตัวอย่างอาหารประเภทน้ำพริกต่าง ๆ กับมาตรฐาน  
อุตสาหกรรม

ประเภทตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง		รวมจำนวน ตัวอย่าง ทั้งหมด	มาตรฐานอุตสาหกรรม กำหนดปริมาณรวม <sup>a</sup> ของอะฟลาทอกซิน
	ผ่านมาตรฐาน อุตสาหกรรม	ไม่ผ่านมาตรฐาน อุตสาหกรรม		
	อาหารประเภทน้ำพริกแห้ง	11		
อาหารประเภทน้ำพริกที่เก็บ ในรูปที่มีของเหลวอยู่	10	20	30	ต้องไม่เกิน $20 \mu\text{g kg}^{-1}$
อาหารประเภทน้ำพริกที่ใช้ ในการปรุงอาหาร	14	4	18	ต้องไม่เกิน $20 \mu\text{g kg}^{-1}$
<b>รวม</b>	<b>35</b>	<b>41</b>	<b>76</b>	

<sup>a</sup>อะฟลาทอกซิน บี1 บี2 จี1 และ จี2