

การปนเปื้อนเชื้อราและอะฟลาทอกซิน ในผลิตภัณฑ์ถั่วพร้อมบริโภค

ศศิธร จุติเพชรกุล* กนกพรรณ สมยรรพ์* ก่อเกียรติ ศาสตรินทร์* ประภาศรี บุญประภาพันธ์*
และนันทวรรณ เมฆา**

*สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร **สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์
นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ จากการเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์ถั่วพร้อมบริโภคจากร้านค้าปลีก ร้านค้าส่ง ห้างสรรพสินค้า ซูเปอร์มาร์เก็ต ตลาดสด และตลาดนัดในเขตกรุงเทพมหานคร จำนวน 266 ตัวอย่าง ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ถั่วลิสง พิสทาชิโอ อัลมอนต์ แมคคาเดเมีย ถั่วลิสงคั่ว ถั่วลิสงคั่วเคลือบ และเมล็ดมะม่วงหิมพานต์ มาทำการวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อรา สารอะฟลาทอกซิน และค่า water activity (a_w) พบการปนเปื้อนเชื้อราหลายชนิดในตัวอย่าง 67 ตัวอย่าง (25.19%) ในปริมาณ ตั้งแต่ 10-520 CFU/g พบสารอะฟลาทอกซินใน 12 ตัวอย่าง (4.51%) ในปริมาณ 1.02- 204.90 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม โดยจำนวนนี้มี 7 ตัวอย่าง ที่มีสารอะฟลาทอกซินเกินมาตรฐานตามประกาศของกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 พ.ศ. 2529 ที่กำหนดให้ไม่เกิน 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม หรือคิดเป็น 58.33% ของจำนวนที่ตรวจพบสารอะฟลาทอกซิน ส่วนค่า a_w ของตัวอย่างทั้งหมดมีค่าในช่วงพิสัยตั้งแต่ 0.09-1.00 ค่าสหสัมพันธ์ระหว่าง a_w กับปริมาณเชื้อราและสารอะฟลาทอกซิน เท่ากับ 0.41 และ 0.34 ตามลำดับ ในขณะที่ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อรากับสารอะฟลาทอกซินเท่ากับ 0.18 ผลการศึกษานี้พบการปนเปื้อนของเชื้อราและสารอะฟลาทอกซิน ในผลิตภัณฑ์จากถั่วลิสงซึ่งได้แก่ ถั่วลิสงอบกรอบ ขนมถั่วลิสง และถั่วลิสงปั่น เท่านั้น

Accepted for publication, 14 September 2015

บทนำ

ถั่วเป็นธัญพืชที่มีคุณค่าทางอาหารสูง และเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญรองจากเนื้อสัตว์ อีกทั้งหาง่ายราคาไม่แพงจึงนิยมบริโภคแพร่หลาย นอกจากหาบริโภคได้ง่าย แล้วยังเป็นส่วนประกอบอาหารคาวหวานต่างๆ และเป็นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป ที่นิยมซื้อตามท้องตลาดมาเป็นของขบเคี้ยว ซึ่งผู้บริโภคอาจไม่ทันได้สังเกตอันตรายที่แฝงอยู่ ได้แก่ เชื้อราและสารอะฟลาทอกซินซึ่งเป็นสารพิษที่เกิดจากเชื้อรา⁽¹⁾

ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อราวมถึงการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน ได้แก่ อุณหภูมิและความชื้น โดยช่วงภาวะเหมาะสมคือ 27-43 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 70-90% ซึ่งเป็นสภาวะสิ่งแวดล้อมของประเทศไทย^(2, 3, 4, 5)

เบื้องต้นสามารถป้องกันพิษผลทางการเกษตรได้โดยการลดความชื้นของผลิตผลหลังการเก็บเกี่ยวด้วยการทำแห้งอย่างรวดเร็วเพื่อลด water activity (a_w) ให้ต่ำกว่าที่เชื้อราจะเจริญ และสร้างสารพิษ เนื่องจาก a_w เป็นปัจจัยที่ขึ้นระดับปริมาณน้ำอิสระในอาหารที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตและเกิดปฏิกิริยาต่างๆ⁽⁶⁾ นอกจากนี้ยังเป็นดัชนีของความปลอดภัยในการแบ่งประเภทของอาหาร และเป็นทางเลือกหนึ่งในการทำนายการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่สร้างสารพิษที่อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค หลายประเทศโดยเฉพาะสหรัฐอเมริกาหน่วยงาน USDA ได้ออกกฎหมายใช้ค่า a_w เป็นดัชนีของความปลอดภัยในการแบ่งประเภทอาหาร โดย a_w มีมาตราส่วนอยู่ในช่วง 0 (แห้งสนิท) ถึง 1 (น้ำบริสุทธิ์) สำหรับอาหารที่แห้งมาก ส่วนใหญ่มีระดับ a_w ประมาณ 0.2 ขณะที่อาหารสดและชื้นประมาณ 0.99 สำหรับจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะมีค่า a_w ต่ำสุดสำหรับการเจริญที่แตกต่างกันกล่าวคือ แบคทีเรียต้องการ a_w ในการเจริญที่สูงกว่าราและยีสต์ หรือแม้แต่ในกลุ่มแบคทีเรียด้วยกันยังต้องการ a_w ในการเจริญที่แตกต่างกัน สำหรับราสามารถเจริญเติบโตในอาหารที่มีค่า a_w ต่ำได้ดีกว่าแบคทีเรียจึงอาจเป็นปัญหาในอาหารแห้ง โดยเชื้อราจะเจริญเติบโตได้ดีที่ a_w เท่ากับ 0.80 แต่เชื้อราบางชนิดสามารถเจริญเติบโตได้ที่ a_w เท่ากับ 0.61⁽⁷⁾ ดังนั้น ค่า a_w ของอาหารเป็นทางเลือกหนึ่งในการทำนายการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้

สารอะฟลาทอกซิน (Aflatoxin) พบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1960 มีความสำคัญเกี่ยวข้องกับสุขภาพของมนุษย์โดยตรง เนื่องจากมีพิษรุนแรงถูกจัดเป็นสารก่อมะเร็งโดย International Association Research Cancer (IARC)⁽⁸⁾ พบทั่วไปในผลิตผลเกษตร ได้แก่ ถั่วลิสง ข้าวโพด กระจิเมียม หัวหอม ข้าวสาลี เป็นต้น อะฟลาทอกซินที่พบตามธรรมชาติมี 4 ชนิด คือ B1, B2, G1 และ G2 โดย B1 มีความเป็นพิษสูงที่สุด โดยเกิดจากเชื้อราในกลุ่ม *Aspergillus* ssp. ได้แก่ *A. flavus*, *A. parasiticus* และ *A. nomius*⁽⁹⁾ แต่มักผลิตจาก *A. flavus* เป็นส่วนใหญ่^(10, 11)

นอกจากนี้สารอะฟลาทอกซินยังเป็นสารพิษที่ทนความร้อนได้ถึง 268 องศาเซลเซียส ดังนั้นการหุงต้มธรรมดาไม่สามารถทำลายพิษได้ เมื่อร่างกายได้รับสารอะฟลาทอกซินจะทำให้เกิดอาการชัก หายใจลำบาก ตับถูกทำลาย หัวใจและสมองบวม นอกจากนี้ สารอะฟลาทอกซิน B1 ยังเป็นสารพิษที่ทำให้เกิดโรคมะเร็งในตับได้อีกด้วย⁽¹²⁾ ตามประกาศของกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 พ.ศ. 2529 กำหนดให้มีสารอะฟลาทอกซินปนเปื้อนในอาหารได้ไม่เกิน 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ของอาหาร⁽¹³⁾ จากการทบทวนวรรณกรรมงานวิจัยด้านการปนเปื้อนเชื้อราในอาหารพบว่างานวิจัยส่วนใหญ่ จะมุ่งเน้นในถั่วลิสงปน และรายงานการตรวจพบข้อมูลที่ได้ไม่เป็นปัจจุบัน ในการศึกษาจึงได้ทำการสำรวจใหม่ในผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงและผลิตภัณฑ์ถั่วประเภทอื่นๆ ด้วย เช่น พิสทาชิโอ แมคคาเดเมีย ปาก้า เป็นต้น ทั้งนี้เพื่อเป็นการคุ้มครองผู้บริโภคในประเทศ โดยผลการศึกษาที่ได้จะนำไปใช้เป็นข้อมูลสำหรับกำหนดแนวทางให้ประชาชนสามารถดูแลตัวเองให้มีความปลอดภัยในการบริโภคผลิตภัณฑ์ถั่วชนิดต่างๆ ซึ่งเป็นอาหารที่มีความเสี่ยงสูงต่อการปนเปื้อนเชื้อรา และสารอะฟลาทอกซิน

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่าง

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ถั่ว ทั้งหมด 266 ตัวอย่าง ได้แก่ ถั่วลิสงอบ เคลือบ ทอด คั่ว ปั่น ขนมนุ่มดับดับ ถั่วตัด ถั่วแพทอด รวม 132 ตัวอย่าง และผลิตภัณฑ์ถั่วอื่นๆ ได้แก่ ลันเตา ปากอ้า เขียวผ่าซีก พิสทาชิโอ แมคคาเดเมีย อัลมอนด์ เม็ดมะม่วงหิมพานต์ เกาลัด รวม 134 ตัวอย่าง โดยเก็บตัวอย่างจากร้านค้าปลีก ร้านค้าส่ง ห้างสรรพสินค้า ซูเปอร์มาร์เก็ต ตลาดสด และตลาดนัดในเขตกรุงเทพมหานคร จำนวน 14 แห่ง ตั้งแต่ กรกฎาคม 2555-กรกฎาคม 2556

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

- ◆ 3 M™ Petrifilm™ Yeast & Mold Count Plates
- ◆ Butterfield's buffered phosphate diluent
 1. เตรียม stock solution โดยละลาย KH_2PO_4 34 กรัมในน้ำ 500 มิลลิลิตร ปรับพีเอช 7.2 เติมน้ำปรับปริมาตรรวมเป็น 1 ลิตร หนึ่งฆ่าเชื้อ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที
 2. นำ stock solution 1.25 มิลลิลิตร เติมน้ำปรับปริมาตรรวมเป็น 1 ลิตร แบ่งใส่ขวด 90 มิลลิลิตร หนึ่งฆ่าเชื้อ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที
- ◆ สารความเข้มข้นมาตรฐาน (a_w salt standard) ได้แก่ SAL-98, SAL-90, SAL-75, SAL-53, SAL-33, SAL-11 (NOVASINA)
- ◆ acetonitrile, benzene, methanol, hexane, sodium chloride, trifluoroacetic acid, sodium hypochlorite, tween®20
- ◆ สารมาตรฐาน Aflatoxin B1, B2, G1, G2 (SIGMA)

เครื่องมือและอุปกรณ์

- เครื่องหนึ่งฆ่าเชื้อ ตู้บ่มเชื้อ เครื่องนับโคโลนี กล้องจุลทรรศน์ เครื่องตีผสมอาหาร ขวดแก้ว งานเพาะเชื้อ ปิเปต
- เครื่องวัดปริมาณน้ำอิสระ NOVASINA รุ่น 9407002 ตลับพลาสติกใส่ตัวอย่าง คีม ช้อน เครื่องปั่น ผสมอาหาร
- เครื่อง HPLC รุ่น water detector 2475 (Column: C18 250 × 4.6 mm id, 5 μm , mobile phase: $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{OH}:\text{CH}_3\text{CN}$, Wavelength: EX 365 nm, EM 455 nm) Flow rate: 1.2 ml/min, Injection volume: 20 μl)
- เครื่อง UV-VIS spectrophotometer SHIMADZU รุ่น UV-1700
- ชุด vacuum manifold

วิธีการ

1. สุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์ถั่ว ทั้งหมด 266 ตัวอย่าง มาวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อรา ด้วยวิธี Dry Rehydratable Film Method (Petrifilm™ Method) AOAC (2005) 997.02

2. วิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซิน

โดยสกัดอะฟลาทอกซินในตัวอย่างด้วย $\text{CH}_3\text{OH}+\text{H}_2\text{O}$ จากนั้นนำสารละลายที่สกัดได้มาผ่าน immunoaffinitycolumns (Afla Test® column) ที่บรรจุ monoclonal antibodies ซึ่งมีคุณสมบัติเฉพาะเจาะจง

ต่ออะฟลาทอกซิน จากนั้น elute ด้วย methanol⁽¹⁴⁾ แล้วนำส่วนที่ได้มาเตรียม derivative ด้วย trifluoroacetic acid จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างไปวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซินด้วย HPLC ใช้ fluorescence detector ที่ความยาวคลื่น excitation 365 nm และ emission 455 nm โดยใช้สารมาตรฐาน Aflatoxin 4 ชนิด B1, B2, G1, G2 เป็น calibration curve⁽¹⁵⁾

3. วิเคราะห์ค่า a_w ด้วยวิธี AOAC (2012) 978.18B. (a) เทียบกับสารความชื้นมาตรฐาน (a_w salt standard)

4. พิสูจน์เอกลักษณ์ของสายพันธุ์เชื้อราที่ตรวจพบ โดยเฉพาะเลี้ยงเชื้อราที่ต้องการจำแนกบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) บ่มเพาะเชื้อราที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ประมาณ 3-7 วัน บันทึกลักษณะโคโลนีของเชื้อราด้วยตาเปล่า ได้แก่ สีของโคโลนีเชื้อราทั้งด้านหน้าและด้านหลัง ความละเอียดผิวโคโลนี จากนั้นดูการสร้างสปอร์และชนิดของเชื้อราด้วยกล้องจุลทรรศน์ เปรียบเทียบลักษณะรูปร่างของเชื้อรา ทั้งลักษณะโคโลนีด้วยตาเปล่า ลักษณะรูปร่างจากกล้องจุลทรรศน์กับหนังสือ และตำราวิชาการ⁽¹⁶⁾

ผล

ศึกษาการปนเปื้อนจากเชื้อรา สารอะฟลาทอกซิน และ a_w ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ถั่วพร้อมบริโภค

จากการตรวจวิเคราะห์เชื้อรา และสารอะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ถั่ว โดยจำแนกเป็นผลิตภัณฑ์จากถั่วลิสง และผลิตภัณฑ์ถั่วประเภทอื่น ๆ ที่นิยมบริโภคอย่างแพร่หลาย (ตารางที่ 1) พบว่าจากตัวอย่างทั้งหมด 266 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อนเชื้อรา 67 ตัวอย่าง คิดเป็น 25.19% โดยปริมาณที่ตรวจพบอยู่ในระหว่าง 10-520 CFU/g พบการปนเปื้อนของสารอะฟลาทอกซิน 12 ตัวอย่าง คิดเป็น (4.51%) ที่ปริมาณตั้งแต่ 1.02- 204.90 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ในถั่วลิสงอบกรอบ ขนมตัดบับ และถั่วลิสงป่น โดยตัวอย่างที่พบเกินเกณฑ์มาตรฐานพระราชบัญญัติกระทรวงสาธารณสุข 2522 ที่กำหนดให้ไม่เกิน 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 7 ตัวอย่าง หรือคิดเป็น 58.33% ของจำนวนตัวอย่าง ที่ตรวจพบซึ่งได้แก่ ขนมตัดบับ และถั่วลิสงป่น (ตารางที่ 1)

จากการวิเคราะห์หาค่า a_w ในผลิตภัณฑ์ถั่วทั้งหมด 266 ตัวอย่าง ค่า a_w ที่ตรวจพบ มีค่าตั้งแต่ 0.09-1.00 โดยค่าสหสัมพันธ์ระหว่าง a_w กับ ปริมาณเชื้อรา และสารพิษอะฟลาทอกซินเท่ากับ 0.41 และ 0.34 ตามลำดับ ขณะที่ค่าสหสัมพันธ์ระหว่าง ปริมาณเชื้อรากับสารพิษอะฟลาทอกซินเท่ากับ 0.18

พิสูจน์เอกลักษณ์ของสายพันธุ์เชื้อราที่ตรวจพบ

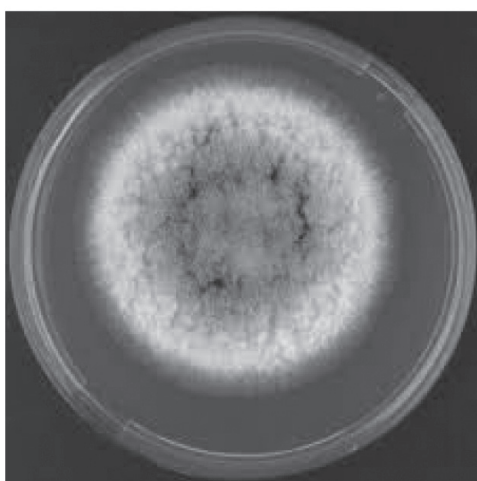
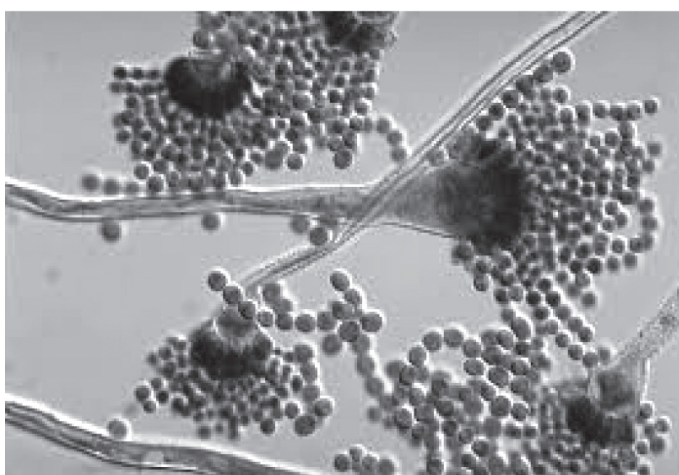
เชื้อราที่ตรวจพบจากตัวอย่างผลิตภัณฑ์ถั่ว จำนวน 67 ตัวอย่าง นำมาพิสูจน์เอกลักษณ์ชนิดของสายพันธุ์ (ตารางที่ 2) โดยพบการปนเปื้อนของเชื้อราหลากหลายสายพันธุ์รวมทั้ง *Aspergillus flavus* (ภาพที่ 1) ที่เป็นหนึ่งในสายพันธุ์ของเชื้อราที่สามารถสร้างสารอะฟลาทอกซิน โดยพบในแมคคาเดเมีย ถั่วลิสงทอด ถั่วลิสงอบ ถั่วลิสงเคลือบ ขนมตัดบับ และถั่วลิสงป่น (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณเชื้อรา สารอะฟลาทอกซิน และ a_w ที่ตรวจพบในผลิตภัณฑ์ถั่ว

ผลิตภัณฑ์ถั่ว	จำนวนทั้งหมด	การปนเปื้อนเชื้อรา (ตัวอย่าง)							การปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน (ตัวอย่าง)			a _w	
		<10	10-100	101-200	201-300	301-400	401-500	>500	ไม่พบ	0.01-20	>20	ต่ำสุด	สูงสุด
		CFU/g							ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม				
มะม่วงหิมพานต์	27	25	2						27			0.23	0.86
แมคคาเดเมีย	22	5	13	2	2				22			0.32	0.51
ปาก้า	12	12							12			0.09	0.51
อัลมอนด์	11	9	2						11			0.22	0.45
ลิ้นเตา	18	16	2						18			0.11	0.45
ถั่วเขียวผ่าซีก	7	7							7			0.17	0.37
พิสทาชิโอ	9	8	1						9			0.24	0.30
เกาลัด	9	9							9			0.91	1.00
ถั่วผสม (mixed nut)	19	14	5						19			0.20	0.55
ถั่วลิสงทอด	20	18	2						20			0.21	0.53
ถั่วลิสงคั่ว	10	6	3			1			10			0.15	0.32
ถั่วลิสงเคลือบ	19	16	3						19			0.16	0.78
ถั่วลิสงอบ	35	29	5		1				33	2 (1.02-2.00)		0.09	0.59
ถั่วลิสงตัด	17	13	4						17			0.15	0.54
ถั่วลิสงแพทอด	9	8	1						9			0.30	0.52
ขนมคุกกี้	8		8						6	1 (2.29)	1 (30.66)	0.30	0.46
ถั่วลิสงป่น	14	4	2	2	3	2		1	6	2 (13.97-15.88)	6 (24.49-204.90)	0.17	0.68
รวม	266	199	53	4	6	3		1	254	5	7		

ตารางที่ 2 สายพันธุ์เชื้อราที่ตรวจพบจากตัวอย่างผลิตภัณฑ์ถั่ว

ผลิตภัณฑ์ถั่ว	สายพันธุ์เชื้อราที่ตรวจพบ
มะม่วงหิมพานต์	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Cladosporium cladosporioides</i> , <i>Phialophora verrucosa</i>
แมคคาเดเมีย	<i>Absidia corymbifera</i> , <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Cladosporium cladosporioides</i> , <i>Penicillium solitum</i>
อัลมอนต์	<i>Cladosporium sphaerospermum</i>
ลันเตา	<i>Cladosporium sphaerospermum</i>
พิสทาชิโอ	<i>Cladosporium cladosporioides</i>
ถั่วผสม (mixed nut)	<i>Syncephalastrum racemosum</i> , <i>Rhizopus arrhizus</i> , <i>Rhizopus microsporus</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Penicillium expansum</i>
ถั่วลิสงทอด	<i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Trichoderma longibrachiatum</i>
ถั่วลิสงคั่ว	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Curvularia lunata</i> , <i>Penicillium citrinum</i> , Non sporulating mold (Hyphae septate, hyaline without conidia production)
ถั่วลิสงเคลือบ	<i>Acremonium sp.</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus flavus</i>
ถั่วลิสงอบ	<i>Acremonium sp.</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus flavus</i>
ถั่วลิสงตัด	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Lecythophora hoffmannii</i>
ถั่วลิสงแพทอด	<i>Acremonium sp.</i> , <i>Aspergillus niger</i>
ขนมถั่วตัด	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aureobasidium pullulans</i> , <i>Rhizopus microsporus</i>
ถั่วลิสงปั่น	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus terreus</i>

*Aspergillus flavus*, 30°C, 5 days*Aspergillus flavus* 460x

ที่มา : Deanna et al. 1998

ภาพที่ 1 *Aspergillus flavus* ในจานเพาะเชื้อ PDA และในกล้องจุลทรรศน์ที่ตรวจพบจากตัวอย่างผลิตภัณฑ์ถั่ว

วิจารณ์

ปัจจุบันเราได้รับข่าวสารที่ผู้คนได้รับอันตรายที่แฝงจากการบริโภคอาหารตามสื่อต่าง ๆ มากมาย บางครั้งสามารถหลีกเลี่ยง หรือป้องกันได้ จากการสังเกตก่อนซื้ออาหาร หรือติดตามข่าวสารต่าง ๆ ดังนั้น เพื่อเผยแพร่ความรู้แก่ผู้บริโภค และแจ้งเตือนภัยถึงพิษภัยของเชื้อรา และสารอะฟลาทอกซิน ในการเลือกซื้อสินค้าที่ปลอดภัยตลอดจนเพื่อป้องกันโรคภัยไข้เจ็บที่เกิดจากการบริโภค ผลจากการสำรวจผลิตภัณฑ์ถั่วพร้อมบริโภคที่จำหน่ายในท้องตลาด เพื่อแสดงสถานการณ์การปนเปื้อนเชื้อรา และสารอะฟลาทอกซิน ในการศึกษาที่ตรวจพบสารอะฟลาทอกซินเกินเกณฑ์มาตรฐานในขนมตัดบับ และถั่วลิสงป่น ขณะที่ไม่พบการปนเปื้อนสารพิษดังกล่าวในผลิตภัณฑ์ถั่วประเภทอื่น ๆ และจากการศึกษาความสัมพันธ์ของเชื้อรากับอะฟลาทอกซิน พบว่าปริมาณเชื้อราที่ปนเปื้อนในตัวอย่างกับการสร้างสารอะฟลาทอกซินมีค่าสหสัมพันธ์เพียง 0.18 แสดงว่ามีความสัมพันธ์น้อยมากซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาก่อนหน้านี้⁽⁵⁾ ที่พบว่าบางครั้งถึงแม้ไม่พบเชื้อรา หรือมีเชื้อราในปริมาณต่ำ ๆ ในตัวอย่างก็ไม่ได้แสดงว่าจะไม่มีสารอะฟลาทอกซินในตัวอย่างนั้น กล่าวคือ เชื้อราอาจจะถูกทำลายไป แต่สารอะฟลาทอกซินที่สร้างไว้ยังคงอยู่ อีกทั้งการสร้างสารอะฟลาทอกซินนั้นจะต้องมีปัจจัยที่เหมาะสมตั้งแต่ ความชื้นในเมล็ดพืช ความชื้นสัมพัทธ์ ระยะเวลาในการเก็บรักษา อุณหภูมิ อุดมภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง ต้องมีความเหมาะสมอีกด้วย^(17, 18, 19) ขณะที่สหสัมพันธ์ระหว่างค่า a_w กับปริมาณเชื้อรา และ a_w กับการสร้างสารอะฟลาทอกซินเท่ากับ 0.41 และ 0.34 ตามลำดับ กล่าวคือ มีความสัมพันธ์กันค่อนข้างน้อย ทั้งนี้เนื่องจาก a_w เป็นเพียงหนึ่งในปัจจัยภายในที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา และการสร้างสารอะฟลาทอกซิน ยังมีปัจจัยภายในอื่นที่เกี่ยวข้อง เช่น สารอาหาร ความเป็นกรด-ด่าง ตลอดจนสารยับยั้งจุลินทรีย์ในอาหาร ขณะเดียวกันก็มีปัจจัยภายนอกมาเกี่ยวข้องอีกด้วย เช่น ความชื้นสัมพัทธ์ของสภาพแวดล้อม ปริมาณออกซิเจน รวมทั้งอุณหภูมิในการเก็บรักษาอาหาร

นอกจากนี้ พบว่า ในทุกตัวอย่างที่พบสารพิษอะฟลาทอกซินจะพบการปนเปื้อน *A. flavus* ร่วมด้วยเสมอ ในขณะที่ ตัวอย่างที่พบการปนเปื้อน *A. flavus* ไม่จำเป็นจะต้องตรวจพบการสร้างสารอะฟลาทอกซิน ทั้งนี้ เนื่องจาก *A. flavus* มีหลายสายพันธุ์ และบางสายพันธุ์ไม่ได้สร้างสารอะฟลาทอกซิน^(9, 20)

สถานการณ์การปนเปื้อนของเชื้อราและอะฟลาทอกซิน ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งอันเกิดจาก *A. flavus* และ *A. parasiticus* ยังคงเป็นปัญหาในถั่วลิสงอบกรอบ ถั่วลิสงป่น และขนมตัดบับ ซึ่งเป็นปัญหาของประเทศไทย ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน อันเนื่องมาจากสภาวะอากาศซึ่งเป็นแบบร้อนชื้น จึงเหมาะแก่การเจริญเติบโตของเชื้อรา⁽¹⁾ ขณะที่พบการปนเปื้อนเชื้อราในผลิตภัณฑ์ถั่วประเภทอื่น ๆ บ้าง แต่ไม่พบการปนเปื้อนของสารอะฟลาทอกซิน เนื่องจากเชื้อรา *A. flavus* และ *A. parasiticus* มีถิ่นอาศัยในดินประกอบกับถั่วลิสงก็เป็นพืชตระกูลถั่วที่มีการสร้างฝักอยู่ในดินโอกาสที่เชื้อทั้งสองจะเข้าทำลายฝักและสร้างอะฟลาทอกซินในเมล็ดถั่วลิสงจึงสูงกว่าถั่วชนิดอื่น ๆ ที่เป็นถั่วยืนต้น (Tree Nuts)⁽²⁰⁾

ผู้ประกอบการควรเลือกถั่วคุณภาพดี ไม่ขึ้น ไม่ปนเปื้อนเชื้อรา ไม่มีร่องรอยแมลงกัดแทะ ไม่มีกลิ่นหืน โดยมุ่งเน้นไปที่การจัดการสุขลักษณะของกระบวนการหลังการเก็บเกี่ยวของผู้ผลิต มาเป็นวัตถุดิบในการผลิตเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค ขณะที่ผู้บริโภคก็เลือกซื้อผลิตภัณฑ์ถั่วที่มีบรรจุภัณฑ์ที่สะอาด และปิดสนิทเพื่อลดปริมาณ a_w ของอาหารให้ต่ำกว่าเกณฑ์ที่เชื้อราจะเจริญเติบโตและสร้างสารพิษ

สรุป

สถานการณ์การปนเปื้อนเชื้อรา และสารอะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์ถั่วที่จัดเป็นปัญหาสำคัญของประเทศไทย ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบันยังคงเป็นผลิตภัณฑ์จากถั่วลิสง ทั้งนี้หน่วยงานที่เกี่ยวข้องของภาครัฐบาลต้องพยายามรณรงค์ให้ผู้ประกอบการคำนึงถึงอันตราย ตลอดจนช่วยกันแก้ไขปัญหาลดการปนเปื้อนของเชื้อราและสารพิษ ซึ่งมีโอกาส

ปนเปื้อนในทุกกระบวนการของห่วงโซ่ในการผลิต ตลอดจนการจัดจำหน่าย และการบริโภค การแก้ปัญหาจำเป็นต้องกระทำในทุกภาคส่วน ตั้งแต่เกษตรกรที่ปลูกถั่วลิสง จะต้องมีการผลิตทางการเกษตรที่ดี และเหมาะสม (GAP) เพื่อควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อราที่สามารถสร้างสารอะฟลาทอกซินตั้งแต่เริ่มต้นคัดเลือกเมล็ดพันธุ์ ควบคุมกระบวนการเพาะปลูก การเก็บเกี่ยว การขนส่ง และการบรรจุ โรงงานผู้ผลิตต้องมีสุขลักษณะการผลิตที่ดี (GMP) ขณะที่นักวิชาการที่เกี่ยวข้อง ต้องทำการเฝ้าระวังอย่างสม่ำเสมอ และเผยแพร่ประชาสัมพันธ์ความรู้ให้แก่ ผู้ผลิต ผู้บริโภคทราบถึงสถานการณ์การปนเปื้อน ตลอดจนเสนอแนะวิธีปฏิบัติในการคัดเลือกซื้อถั่ว และผลิตภัณฑ์ที่จะนำไปจำหน่ายให้แก่ผู้บริโภคได้อย่างปลอดภัย รวมไปถึงสินค้าอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง ทั้งนี้เพื่อให้ประเทศไทยก้าวเข้าสู่ประชาคมเศรษฐกิจอาเซียน และครัวของโลกได้อย่างเข้มแข็งและยั่งยืน

เอกสารอ้างอิง

1. อนงค์ บินทวิท. สารพิษจากเชื้อรา: อะฟลาทอกซิน. กรุงเทพฯ: ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2546.
2. Ashworth LJ, Schroeder HW, Langley BC. Aflatoxins: environmental factor governing occurrence in Spanish peanuts. *Science* 1965; 148(3674): 1228-9.
3. วนิดา ยุธยาดี. อะฟลาทอกซินตกค้างในผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงที่ผ่านการคัดแยกถั่วลิสงดิบด้วยน้ำ. สมุทราการ: คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง; 2551.
4. ศรีสิทธิ์ การุณยะวนิช, ดวงจันทร์ สุประเสริฐ, อูมา บริบูรณ์, สุวัฒน์ โพษะวัฒนากุล, นพารณ ปัญจะ. อะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในถั่วลิสงและผลิตภัณฑ์ในประเทศไทย. *ว. กรมวิทย์ พ* 2538; 37(1): 19-32.
5. อมรา ชินภูติ. สถานการณ์การปนเปื้อนของเชื้อราและสารอะฟลาทอกซินในถั่ว. [ออนไลน์]. 2552; [7 หน้า]. เข้าถึงได้จาก: URL: <http://www.oocities.org/ubfcr/12.doc>.
6. นุชนารถ ทรัพย์พาณิชย์. Water activity กับ การควบคุมอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร. *วารสารจารย์พา* 2545; 9(68): 48-51.
7. Beuchat LR, Food and beverage mycology. Westport, CT: Avi Publishing; 1978. p. 2, 45-82.
8. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans Vol. 56. Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. UK: International Agency for Research on Cancer; 1993. p. 245-521.
9. อรุณศรี วงศ์ไธ. ความสามารถในการสร้างอะฟลาทอกซินของ *Aspergillus flavus* จากดินในไร่ถั่วลิสง. ใน : รายงานการสัมมนาเรื่องถั่วลิสงแห่งชาติ ครั้งที่ 12. ขอนแก่น: กรมวิชาการเกษตร; 2540. หน้า 230-232.
10. Glinsukon T, Thamavit W, Ruchirawat M. Studies on the population of toxigenic fungi in market food and foodstuffs. I. Mycoflora contamination. *J Sci Soc Thailand* 1976; 2: 179-84.
11. Moss MO. Mycotoxin fungi. In: Eley AR, edited. Microbial food poisoning. London: Chapman & Hall; 1994. p. 73-91.
12. Uma RM, Gulla S, Nagalakshmi AVD. Influence of temperature and moisture in extrusion processing on the reduction of aflatoxin B1 in corn products. *Int J Food Sci Technol Nutr* 2012; 6: 71-77.
13. พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 (พ.ศ.2529) เรื่อง มาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน. ราชกิจจานุเบกษาฉบับพิเศษ เล่มที่ 103 ตอนที่ 23 (ลงวันที่ 16 กุมภาพันธ์ 2529).
14. Trucksess MW, Chapter editor: Chapter 49 Natural toxins. In: Official methods of analysis of AOAC INTERNATIONAL 19th ed. Gaithersburg, MD: AOAC INTERNATIONAL; 2012. AOAC official method 997.22; p. 4-5, 991.31; p. 21-23.
15. Tarter E.J, Hanchay JP, Scott PM. Improved liquid chromatographic method for determination of aflatoxins in peanut butter and other commodities. *J Assoc Off Anal Chem* 1984; 67(3): 597-600.

16. Sutton DA, Fothergill AW, Rinaldi MG. Guide to clinically significant fungi. Maryland: Williams & Wilkins; 1998.
17. เนตรนภิส หัสมินทร์, ทรงศักดิ์ ศรีอนุชาต, วันเพ็ญ รัตมีโสภภาพร. การปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงอบรมควันอบแห้งในเขตกรุงเทพมหานคร. กรุงเทพฯ: สถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล; 2545.
18. อมรา ชินภูติ, ศุภรา อุตตะสาระกุล, อรุณศรี วงษ์อุไร, ชวเลศ ตรีภานุสวัสต์, พรทิพย์ วิสารทนนท์, ไพศาล รัตนเสถียร. การควบคุมการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* และยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินในข้าวโพดโดยใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพร. กรุงเทพฯ: สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร; 2550.
19. ทิพย์ ปาณะโตชะ, ศิริพรรณ เอี่ยมรุ่งโรจน์, วารุณี เสนสภ, ทรงพล รัตนพันธุ์. รายงานการศึกษาวิจัย การปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในอาหารสำเร็จรูปที่ทำจากถั่ว. กรุงเทพฯ: สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข; 2530.
20. โสภณ วงศ์แก้ว, สนั่น จอกลอย. อะฟลาทอกซินในถั่วลิสง: ข้อเสนอแนะวิธีแก้ปัญหา. แก่นเกษตร 2554; 39 (พิเศษ 3): 1-11.

Fungus & Aflatoxin Contamination in Ready to Eat Nuts Products

Sasithorn Thitipetchrakul* Kanokpan Somyoonsup* Kokeiat Sattarin*
Prapasri Boonyaprapapan* and Nanthawan Mekha**

*Bureau of Quality and Safety of Food, **National Institute of Health, Department of Medical Sciences, Tiwanon Road, Nonthaburi 11000, Thailand.

ABSTRACT Ready to Eat Nut Products including peanuts products and pistachios, almonds, macadamia nuts, peas, broad beans, chestnuts, half and half green beans, and cashews from retailer, supermarkets, fresh and community markets, surrounding Bangkok Metropolitan, 266 samples were collected for determination of fungus, aflatoxin and water activity (a_w). Various kinds of fungal contamination in a sample and a total of 67 samples (25.19%) were found with the concentrations of 10–520 CFU/g whereas aflatoxin an amount of 1.02–204.90 $\mu\text{g/kg}$ in 12 samples (4.51%) was analyzed. Only seven among twelve samples (58.33%), their aflatoxin above the standard criteria of 20 $\mu\text{g/kg}$ as claimed by Ministry of Public Health Standard no. 98 (2529) were detected. In addition a_w of all samples are in the range of 0.09–1.00. Statistical analysis showed that correlation between a_w and fungus concentration and aflatoxin were 0.41 and 0.34, respectively while the one of 0.18 did between fungus concentration and aflatoxin. In this study aflatoxin and fungus contamination were found only in peanuts products such as crispy baked peanuts, peanut cake and ground peanuts.

Key words: fungus, water activity, aflatoxin, nut products