

วิจารณ์ผลการทดลอง

1. อายุการเก็บรักษาต่อปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินและเชื้อรา

1.1 อิทธิพลของการเก็บรักษาต่อการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซิน

จากผลของการวิเคราะห์ตัวอย่างผักแห้งที่รับซื้อมาเก็บรักษาในโรงเก็บของโรงงาน ในช่วงแรก ๆ (ที่ 0 วัน) มีการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินเพียง 15.4 และ 9.5 ppb ในฤดูฝนและฤดูแล้งปี 2537 ตามลำดับ ปริมาณอะฟลาทอกซินที่วิเคราะห์ได้นี้มาจากการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อราในไร่ ซึ่งอาจจะมีการติดเชื้อราจากดิน เชื้อมีการเจริญเติบโต และมีการพัฒนาอยู่ภายในผัก สร้างอะฟลาทอกซิน ตั้งแต่ก่อนเก็บเกี่ยว (Diener *et al.*, 1982) จากผลการทดลองพบว่าค่าวิเคราะห์อะฟลาทอกซินจะเพิ่มขึ้นตามเวลาของการเก็บรักษาที่นานขึ้นทั้งในฤดูฝนและฤดูแล้ง ปริมาณอะฟลาทอกซินในวันเก็บรักษาที่ 28 มีค่าสูงที่สุด เมื่อพิจารณาถึงการสะสมอะฟลาทอกซินตามระยะเวลาของการเก็บรักษา พบว่าแนวโน้มของการสะสมอะฟลาทอกซินเพิ่มขึ้น ตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่ยาวนานขึ้น จากปริมาณการปนเปื้อน 15.4 ppb ในวันแรก เพิ่มขึ้นเป็น 728.9 ppb ในวันเก็บรักษาที่ 28 ซึ่งมีสาเหตุมาจากปริมาณเชื้อราที่เพิ่มขึ้นในอายุต่าง ๆ ของการเก็บรักษาและน่าจะเป็นไปได้ที่เชื้อที่หยุดการเจริญแล้วนั้นกลับเจริญขึ้นมาได้อีก เมื่อเมล็ดหรือผักแห้งได้รับความชื้นจากโรงเก็บรักษา โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อมีฝนตกขณะเก็บรักษา ทำให้ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศสูงขึ้น หรือเกิดการติดเชื้อจากเชื้อราในโรงเก็บของโรงงานเอง ซึ่งตามปกติแล้วมักจะพบเชื้อราในโรงเก็บในรูปของเส้นใย หรือสปอร์ได้ทั่วไปในอากาศ เมล็ดเก่าที่ตกค้างอยู่ตามซอกของเครื่องกะเทาะหรือตกอยู่ที่พื้นดินรอบ ๆ โรงเก็บ รวมทั้งสายพานที่ใช้ลำเลียงเมล็ดในโรงงานใหญ่ ๆ (กัญจน, 2538) เชื้อราตามที่ต่าง ๆ เหล่านี้จะเป็นแหล่งสะสมเส้นใยและสปอร์ ทำให้เกิดการติดเชื้อกับตัวอย่างรุ่นใหม่ ๆ ที่เข้าสู่โรงงานและมีการสร้างอะฟลาทอกซิน เพิ่มขึ้นเนื่องจากเชื้อราได้รับปัจจัยเช่น อาหาร อุณหภูมิ ความชื้น ที่เหมาะสม

จากผลการทดลองในวันเก็บรักษาที่ 28 ของถั่วแห้ง มีค่าอะฟลาทอกซินลดลง (46.7 ppb) จากวันเก็บรักษาที่ 12 (240.8 ppb) ในฤดูเดียวกันนั้น น่าจะมีสาเหตุมาจากการแข่งขันในการใช้ปัจจัยที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา ที่เจริญอยู่ร่วมกันบนเมล็ดถั่วลิสง เช่น

อาหาร ในระยะแรกของการเก็บรักษาเชื้อราที่สร้างอะฟลาทอกซินอาจจะมีความสามารถในการเจริญและสามารถสร้างสารพิษได้ดีกว่าเชื้อชนิดอื่น ๆ เมื่อเวลาผ่านไปเชื้อราที่สร้างอะฟลาทอกซินมีการเจริญเติบโตลดลง ทำให้เชื้ออื่นที่มีความสามารถในการใช้ปัจจัยในการเจริญเติบโตได้ดีกว่า รวมทั้งอาจจะใช้เชื้อราที่สร้างอะฟลาทอกซินและใช้อะฟลาทอกซินเป็นอาหารได้เจริญขึ้นมาแทนที่ (Demain, 1973 ; O'Dell *et al.*, 1973 อ้างถึงใน คมสัน, 2530)

1.2 การปนเปื้อนของเชื้อรา

จากผลการทดลองตรวจไม่พบเชื้อราในวันแรกของการเก็บรักษาทั้ง ๆ ที่มีการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินถึง 15.4 และ 9.5 ppb ในฤดูฝนและฤดูแล้งตามลำดับ เนื่องจากเหตุผลประการแรกคือมีอิทธิพลของการทำให้สารละลายตัวอย่างเจือจางลงก่อนนำไปเพาะเชื้อบน rose bengal agar ทำให้มีโอกาสที่จะตรวจไม่พบเชื้อถ้าในตัวอย่างมีเชื้ออยู่เพียงเล็กน้อย ประการที่สองตัวลิสงที่เก็บเกี่ยวมาใหม่ ๆ นั้นเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดอาจจะอยู่ในสภาพ microsclerotia ผังตัวอยู่ในเมล็ด ซึ่งเชื้อที่อยู่ในสภาพนี้มีปริมาณน้อยมากตรวจพบได้ยาก พอเชื้อได้รับสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมจะมีการสร้างสปอร์ออกมามากมาย และเป็นสาเหตุของการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินต่อไป ประการที่สาม ในช่วงเก็บเกี่ยวเชื้อราอาจจะได้รับสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมทำให้เชื้อหยุดงักการเจริญเติบโต เช่นการตากแห้งในแปลงปลูก จึงตรวจไม่พบเชื้อราในวันแรกของการนำตัวลิสงฝักแห้งมาเก็บรักษาไว้ในโรงงานแต่ปริมาณ อะฟลาทอกซินที่เชื้อราสร้างไว้แล้วไม่ได้ถูกทำลายยังคงอยู่ในตัวลิสง ซึ่งโดยทั่วไปอะฟลาทอกซินมีความคงทนค่อนข้างสูง คือยังคงสภาพอยู่ได้แม้ว่าจะได้รับอุณหภูมิสูง (อุดมลักษณ์, 2526 ; ประภา, 2526)

สำหรับความสัมพันธ์ระหว่างการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินกับปริมาณเชื้อรานั้น จากผลการทดลอง เมื่อวิเคราะห์อะฟลาทอกซินได้ในช่วงต่ำ 2 - 21 ppb พบเชื้อรา *A. flavus* และ *A. niger* ปนเปื้อนมากับตัวลิสงในปริมาณ 0 - 500 และ 0 - 2,916.7 โคโลนี/กรัม ตามลำดับ ในช่วงต่อมาก็คือวิเคราะห์อะฟลาทอกซินได้ปานกลาง 23 - 87 ppb พบปริมาณเชื้อรา *A. flavus* และ *A. niger* สูงขึ้นเป็น 83.3 - 6,916.7 และ 250 - 1,583.3 โคโลนี/กรัม ตามลำดับ ถ้าวิเคราะห์อะฟลาทอกซินได้สูง 105 - 275 ppb กลับมีปริมาณ *A. flavus* ลดลงเป็น 0 - 4,333.3 โคโลนี/กรัม ส่วนช่วงการติดเชื้อของ *A. niger* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เป็น 0 - 3,166.7 โคโลนี/กรัม ส่วนค่าวิเคราะห์อะฟลาทอกซินสูงสุด 590 - 2,392.5 ppb เชื้อทั้ง 2 มีช่วงการปนเปื้อนสูงที่สุดสอดคล้องกันโดยมีเชื้อ 250 - 8,333.3 และ 250 - 17,750 โคโลนี/กรัม ตาม

ลำดับ ซึ่งเมื่อคุณผลสรุปในปริมาณของเชื้อในกลุ่ม *Aspergillus spp.* รวมทั้งหมดพบว่าปริมาณอะฟลาทอกซินบี 1 ทั้ง 4 ช่วง มาจากการเพิ่มขึ้นในช่วงของปริมาณเชื้อ จาก 0 - 3,333.3, 333.3 - 7,083.3 , 0 - 7,333.3 และ 416.7 - 20,500 โคโลนี/กรัมถั่วลิสง ตามลำดับ ดังนั้น ปริมาณ อะฟลาทอกซินที่เกิดขึ้น น่าจะเป็นผลการเจริญของเชื้อทั้ง 2 ชนิดนี้ร่วมกัน

2. การสุ่มเก็บตัวอย่าง

การสุ่มเก็บตัวอย่างเป็นขั้นตอนสำคัญที่ทำให้เกิดความแตกต่างระหว่างค่าวิเคราะห์ของปริมาณอะฟลาทอกซินในแต่ละอายุของการเก็บรักษา จากผลการทดลองพบว่าปริมาณอะฟลาทอกซินในตัวอย่างและตัวอย่างย่อยมีความแตกต่างกันเนื่องจากการสุ่มตัวอย่างถั่วลิสงซึ่งเป็นผลผลิตทางการเกษตรที่ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน (heterogeneous sample) (ไตรรัตน์, 2536) มักจะทำให้ค่าวิเคราะห์มีความแปรปรวน เชื้อราที่สร้างอะฟลาทอกซินมักจะมีอยู่ในบางจุด บางเมล็ดของถั่วลิสงในกองหรือกระสอบเท่านั้น ในการสุ่มเก็บตัวอย่างถ้าเก็บตรงเมล็ดที่มีเชื้อราพอดี ก็จะวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินได้สูง ถ้าสุ่มเก็บตรงที่เมล็ดไม่มีเชื้อราเลยก็จะวิเคราะห์ไม่พบอะฟลาทอกซิน ดังนั้นในวันเก็บรักษาเดียวกัน เช่น อายุการเก็บ 3 วัน ในฤดูฝน จากการสุ่มเก็บตัวอย่างถั่วลิสงฝักแห้ง 4 ตัวอย่าง หรือ 4 จุด และมีการสุ่มตัวอย่างย่อยถั่วลิสงที่บดละเอียดจุดละ 2 ตัวอย่างย่อย สามารถวิเคราะห์อะฟลาทอกซินได้ตั้งแต่ 13.6 ppb ถึง 316.5 ppb ในวันเก็บรักษาเดียวกัน สำหรับในวันเก็บรักษาที่ 9 ของฤดูฝนมีค่าอะฟลาทอกซินต่ำมาก และวันเก็บรักษาที่ 3 ของฤดูแล้งมีค่าอะฟลาทอกซินสูงมากผิดปกติเมื่อเทียบกับวันเก็บรักษาอื่น ๆ น่าจะเป็นผลมาจากการสุ่มเก็บตัวอย่างเนื่องจากมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติระหว่างการสุ่มเก็บตัวอย่างในทุกการทดลองของถั่วฝน และถั่วแล้ง ความแตกต่างที่เกิดขึ้นสามารถบอกได้ถึงการกระจายตัวของเมล็ดถั่วลิสงที่มีการปนเปื้อนของเชื้อราและสารพิษอะฟลาทอกซิน ซึ่งมีผลอย่างยิ่งต่อปริมาณอะฟลาทอกซินในตัวอย่าง ถ้าเมล็ดที่มีการปนเปื้อนอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม ก็มีโอกาที่จะสุ่มพบเฉพาะเมล็ดที่มีเชื้อรา หรืออาจจะไม่พบเมล็ดที่มีเชื้อราเลย ทำให้ผลการวิเคราะห์ในวันดังกล่าวมากหรือน้อยผิดปกติ แต่ในระหว่างตัวอย่างย่อย 2 ตัวอย่างที่สุ่มมาจากที่ถั่วลิสงบดในตัวอย่างจุดเดียวกัน พบความแตกต่างระหว่างค่าวิเคราะห์น้อยมาก เนื่องจากตัวอย่างถั่วลิสงที่บดแล้วจะเป็นตัวอย่างที่สม่ำเสมอ ค่อนข้างเป็นเนื้อเดียวกันมีความเป็น Homogeneous sample มากขึ้น

3. อิทธิพลของการคัดขนาดเมล็ดต่อปริมาณอะฟลาทอกซิน

ผลการวิเคราะห์อะฟลาทอกซินในถั่วฤดูฝนแยกเกรด ถั่วทุกเกรดมีอะฟลาทอกซินสูง ซึ่งถั่วทุกเกรดดังที่กล่าวมาแล้วไม่เหมาะที่จะนำไปบริโภคเป็นอย่างยิ่ง สำหรับที่อายุการเก็บรักษา 28 วัน นั้นการคัดขนาดเมล็ดถั่วลิสงมีประสิทธิภาพต่อการลดปริมาณอะฟลาทอกซินมาก เนื่องจากสามารถลดอะฟลาทอกซิน จาก 728.9 ppb ในถั่วที่ยังไม่ผ่านการคัดขนาด เป็น 33.0 , 6.5 , 188.6 และ 689.7 ppb ในถั่วเกรด 1 , 2 , 3 และ 4 ตามลำดับ และค่าวิเคราะห์ปริมาณ อะฟลาทอกซิน ของถั่วเกรด 1 - 4 จากทั้ง 2 อายุการเก็บรักษาพบว่าอะฟลาทอกซินปริมาณสูงอยู่ในถั่วเกรด 4 ซึ่งถ้าขจัดอะฟลาทอกซินส่วนนี้ออกไปน่าจะทำให้คุณภาพของถั่วลิสงดีขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของสนั่น และคณะ (2539) พบว่าการคัดเลือกฝักเสียและเมล็ดเสียซึ่งเป็นส่วนสำคัญในการลดการปนเปื้อนของสารอะฟลาทอกซินได้อย่างดียิ่งเมล็ดที่ถูกคัดทิ้งจะมีปริมาณอะฟลาทอกซินสูงถึง 620 ppb ในขณะที่เมล็ดดีที่เหลือจะมีปริมาณ อะฟลาทอกซินเพียง 0, 12 และ 12.5 ppb ในถั่วลิสงที่ผลิตจากจังหวัดสุรินทร์เกรด 1 , 2 และ 3 ตามลำดับ

สำหรับในฤดูแล้งถั่วเกรด 4 มีอะฟลาทอกซินต่ำกว่าถั่วเกรดอื่น ๆ ทั้ง 2 วันเก็บรักษา ทั้ง ๆ ที่มีปริมาณเชื้อรา *A. flavus* มากกว่าถั่วเกรดอื่น ๆ ดังนั้นการที่ถั่วเกรด 4 มีอะฟลาทอกซินต่ำ อาจเนื่องจาก *A. flavus* ที่ปนเปื้อนอยู่นั้นเป็นสายพันธุ์ที่ไม่สร้างอะฟลาทอกซิน (อรุณศรี , 2526) ซึ่งอาจปนเปื้อนอยู่ในปริมาณที่สูงกว่าสายพันธุ์ที่สร้างอะฟลาทอกซิน และยังพบว่าถั่วแยกเกรดทุกเกรดของฤดูแล้งในวันเก็บรักษาที่ 28 มีปริมาณ อะฟลาทอกซินต่ำเมื่อเทียบกับวันเก็บรักษาที่ 12 เนื่องจากอาจจะมีการปนเปื้อนจากเชื้ออื่นที่ยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซิน ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น

4. อิทธิพลของฤดูกาลกับการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน

ฤดูกาลเป็นปัจจัยที่ทำให้เกิดสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมหรือไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อรา สภาพแวดล้อมที่เป็นปัจจัยสำคัญคือ ความชื้น และอุณหภูมิ ดังนั้นผลผลิตที่เก็บเกี่ยวในฤดูฝน ถึงแม้ว่าจะมีการลดความชื้นของฝักและเมล็ดลงจนมีความชื้นอยู่ในระดับที่ปลอดภัย ถ้าฝนตกในระหว่างการเก็บรักษา ทำให้ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศเพิ่มขึ้นและความชื้นของถั่วจะเพิ่มขึ้นตาม ประกอบกับสภาพอากาศที่มีอุณหภูมิสูง และมีแมลงเข้าทำลายทำให้เกิดสภาพที่เหมาะสมต่อการเข้าทำลาย

ของเชื้อ ต่อไป (Diener and Davis , 1977) โดยในเรื่องของความชื้น และสภาพของเมล็ดที่มีบาดแผลต่อปริมาณอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงจากการศึกษาการสร้างอะฟลาทอกซินโดยเชื้อ *A. flavus*, *A. parasiticus* และ *A. niger* ในวิทยานิพนธ์นี้ พบว่าการเพิ่มความชื้นของเมล็ดถั่วลิสงจาก 8.55 % เป็น 27% ทำให้อะฟลาทอกซินเพิ่มขึ้นจาก 0 เป็น 1,250 ppb ในถั่วที่ไม่มีบาดแผล และเมื่อทำให้ถั่วมีบาดแผลยิ่งทำให้มีการสร้างอะฟลาทอกซินเพิ่มขึ้นเป็น 5,000 ppb และสอดคล้องกับการศึกษาของ สนั่น และคณะ (2539) ที่รายงานว่าตัวอย่างถั่วลิสงจากเกษตรกรที่ไม่สามารถลดความชื้นให้ต่ำลงได้คือมีความชื้นของเมล็ดมากกว่า 14% จะมีปริมาณอะฟลาทอกซิน 25 ppb ในขณะที่ตัวอย่างจากเกษตรกรที่สามารถลดความชื้นให้ต่ำลงได้ต่ำกว่า 14 % จะตรวจไม่พบอะฟลาทอกซิน และตรวจไม่พบอะฟลาทอกซินในแปลงที่ไม่มีการระบาดของแมลงในดิน ส่วนในแปลงที่มีการทำลายของแมลงในดินพบปริมาณอะฟลาทอกซินในเมล็ดถั่วลิสงสูงถึง 1,000 ppb

จากเหตุผลดังกล่าวปริมาณเชื้อรา *Aspergillus spp.* และปริมาณอะฟลาทอกซินที่อายุการเก็บรักษา 12 และ 28 วัน ในถั่วฝักจึงมากกว่าถั่วแห้ง โดยที่อายุการเก็บรักษา 12 วัน มีปริมาณเชื้อรา 5,583 และ 3,333 โคโลนี/กรัมของถั่วลิสงในถั่วฝักและถั่วแห้งตามลำดับ ที่อายุการเก็บรักษา 28 วัน มีปริมาณเชื้อรา 2,000 และ ตรวจไม่พบเชื้อรา ในถั่วฝักและถั่วแห้งตามลำดับ ส่วนปริมาณ อะฟลาทอกซิน บี1 ที่ 12 และ 28 วัน ในถั่วฝักและถั่วแห้ง มีดังนี้ที่ 12 วันมีอะฟลาทอกซิน 296.6 และ 240.8 ppb และที่ 28 วัน มีอะฟลาทอกซิน บี 1 728.9 และ 46.7 ppb ในถั่วฝักและถั่วแห้งตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของเกศรา (2527) ที่กล่าวว่าตัวอย่างถั่วลิสงที่เก็บในถั่วแห้ง จะมีสารพิษอะฟลาทอกซินต่ำกว่าในถั่วฝัก และตรงกับงานวิจัยของ วุฒิสักดิ์ และคณะ (2536) ที่พบว่าทุกส่วนของถั่วลิสงที่ปลูกในถั่วฝักมีการติดเชื้อรา *A. flavus* มากกว่าที่ปลูกในถั่วแห้ง รวมทั้งฝักที่ตากอยู่ในลานและฝักแห้งที่เก็บไว้ในโรงเก็บ และเมล็ดที่เก็บไว้ในโรงเก็บเป็นระยะเวลานานมากขึ้นจะตรวจพบเชื้อรามากขึ้นด้วย โดย พบ 5.67 , 6.58 และ 8.38% ในช่วงการเก็บ 2 , 4 และ 6 สัปดาห์ ตามลำดับ ซึ่งผลการทดลองในเรื่องระยะเวลาในการเก็บรักษา ต่อปริมาณเชื้อราของ วุฒิสักดิ์ และ คณะ (2536) ดังกล่าว ขัดแย้งกับผลการทดลองนี้ เนื่องจากปริมาณเชื้อราเพิ่มขึ้นในช่วงการเก็บจาก 0 ถึง 12 วันเท่านั้น แต่กลับลดลงในวันเก็บที่ 28 ทั้งในถั่วฝักและถั่วแห้ง แต่ในถั่วฝักปริมาณอะฟลาทอกซินจากอายุการเก็บ 28 วัน (728.9 ppb) กลับเพิ่มขึ้นจาก 12

วัน (296.6 ppb) ทั้ง ๆ ที่ปริมาณเชื้อรา *A. flavus* ที่อายุการเก็บ 28 วัน (417 โคโลนี/กรัม) ลดลงจากอายุ 12 วัน (4,333 โคโลนี/กรัม) ในฤดูฝน ส่วนในฤดูแล้งปริมาณเชื้อ *A. flavus* ลดลงสอดคล้องกับปริมาณอะฟลาทอกซินที่ลดลงด้วย ซึ่งน่าจะมีความแตกต่างมาจากฤดูกาล และปฏิกริยาสัมพันธ์ระหว่างเชื้อ *A. flavus* และ *A. niger* ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น ในฤดูฝนมีสภาพแวดล้อมหรือปัจจัยทางความชื้นและอุณหภูมิเหมาะสมต่อการสร้างอะฟลาทอกซิน ประกอบกับปริมาณเชื้อ *A. flavus* ที่อายุการเก็บ 12 วัน ในฤดูฝนมีจำนวนมากถึง 4,333 โคโลนี/กรัม จึงมีปริมาณอะฟลาทอกซินสะสมอยู่ก่อนแล้ว ถึง 296.6 ppb โดยมีอะฟลาทอกซินที่สร้างเพิ่มขึ้นมาอีกในช่วง 12 - 28 วัน และปริมาณอะฟลาทอกซินที่สร้างขึ้นในช่วงนี้ไม่ได้สูญสลายไปจึงมีการสะสมเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ส่วนในฤดูแล้งมีสภาพที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างอะฟลาทอกซิน ของ *A. flavus* โดยที่อายุการเก็บ 12 วัน มีปริมาณเชื้อ *A. flavus* และ *A. niger* เท่ากับ 417 และ 2,917 โคโลนี/กรัม ถ้าวัดลงตามลำดับ และมีการสร้างอะฟลาทอกซินได้ถึง 240.8 ppb ซึ่งเชื้อราทั้ง 2 ชนิดนี้เป็นปฏิปักษ์ต่อกัน และการที่ปริมาณ *A. niger* มากกว่า *A. flavus* ดังนั้น *A. niger* จึงไปยับยั้งการเจริญเติบโตและยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินของ *A. flavus* ประกอบกับสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมสำหรับ *A. flavus* จึงเป็นเหตุผลของปริมาณ อะฟลาทอกซิน ลดลงที่อายุของการเก็บรักษา 28 วัน ในฤดูแล้งดังกล่าว

5. ปฏิกริยาสัมพันธ์ระหว่างเชื้อรา

ในส่วนของเชื้อราที่เจริญอยู่บนเมล็ดถั่วลิสงนั้นมีหลายชนิด หลายสายพันธุ์ และมีความแตกต่างกันในชนิดและสายพันธุ์ของเชื้อราในการสร้างอะฟลาทอกซิน (ดาราและคณะ, 2526) โดยเชื้อราที่พบในการทดลองนี้มีทั้ง...*A. flavus* , *A. parasiticus* และ *A. niger* ทั้ง 3 ชนิดนี้มีรายงานว่าสามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้ในปริมาณที่แตกต่างกัน และมักมีปฏิกริยาสัมพันธ์กัน (Joffe , 1969 ; Calvert et al., 1978) จากผลการทดลองพบว่า มีจำนวนตัวอย่างถึง 82.4% ของตัวอย่างทั้งหมดที่มีการปนเปื้อนของ *A. niger* มากกว่า *A. flavus* ดังนั้นถ้ามี *A. niger* มากน่าจะมีการตรวจพบ *A. flavus* และอะฟลาทอกซินในปริมาณต่ำ เนื่องจาก *A. niger* จำนวนมากนั้นไปยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินของ *A. flavus* ซึ่งขัดแย้งกับผลการศึกษาของ Burnett et al., 1972 ที่รายงานว่า metabolite ที่สร้างขึ้นจากขบวนการเจริญเติบโตของ *A. niger* ไปยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินของ *A. flavus*

สำหรับการที่ตรวจพบ *A. niger* จำนวนมากในตัวอย่างที่มีอะฟลาทอกซินสูงน่าจะเกิดจากความสามารถของ *A. niger* ในการแข่งขันกับ *A. flavus* โดยเฉพาะในช่วงหลังจากที่ *A. flavus* สะสมสารพิษแล้ว *A. niger* อาจดบังการเจริญของ *A. flavus* จึงทำให้ตรวจพบ *A. flavus* น้อยทั้ง ๆ ที่มีปริมาณอะฟลาทอกซินสูง

6. การสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อ *A. flavus* , *A. parasiticus* และ *A. niger*

จากผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพของเชื้อ *A. flavus* , *A. parasiticus* และ *A. niger* ในการสร้างอะฟลาทอกซินพบว่า ความชื้น การเกิดบาดแผล และปริมาณของเชื้อที่สามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้เป็นปัจจัยสำคัญต่อปริมาณอะฟลาทอกซินในถั่วลิสง โดยเฉพาะความชื้นเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุด ในสภาพธรรมชาติถั่วที่ถูกทำให้แห้งแล้วหากกลับมีความชื้นเพิ่มขึ้นอีก เช่นได้รับความชื้นจากการที่มีฝนตกในระหว่างการตาก ประกอบกับถั่วมีบาดแผลอยู่แล้วจะทำให้มีการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินเพิ่มขึ้น สำหรับปัจจัยในเรื่องของเชื้อที่สร้างอะฟลาทอกซิน ในการทดลองนี้เชื้อสร้างอะฟลาทอกซินได้มาจาก 2 แหล่ง คือ เชื้อที่ติดมากับเมล็ดตามธรรมชาติเป็นเชื้อที่มีอยู่แล้วในเมล็ดก่อนทำการปลูกเชื้อ และเชื้อ *A. flavus* , *A. parasiticus* , *A. niger* ที่ปลูกให้กับถั่วลิสง การที่เชื้อจากแหล่งใดจะเป็นตัวการสำคัญในการสร้างอะฟลาทอกซินนั้นขึ้นกับสภาพของเมล็ด เช่นการเกิดบาดแผล ซึ่งนอกจากจะเป็นช่องทางที่ทำให้เชื้อจากภายนอกเข้าทำลายถั่วแล้ว ในสภาพที่ไม่มีเชื้อจากภายนอกเข้ามาปนเปื้อนเพิ่มขึ้น บาดแผลอาจจะเป็นสิ่งที่กระตุ้นให้เชื้อที่มีอยู่แล้วในเมล็ดมีการเจริญได้ดีกว่า และตรวจพบอะฟลาทอกซินได้มากกว่าถั่วที่ไม่ได้ทำแผล ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของสนั่น และคณะ (2539) ที่พบการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินในตัวอย่างถั่วลิสงที่มีบาดแผลจากการเข้าทำลายของแมลงในดิน(เสี้ยนดินและหนอนด้วงปีกแข็ง)ในปริมาณที่สูงถึง 1,000 ppb ในระยะขณะเก็บเกี่ยว และมีการปนเปื้อนเพิ่มขึ้นเป็น 1,200 ppb หลังจากตากแห้ง เมื่อนำไปกะเทาะและคัดแยกเกรดแล้วยังมีการปนเปื้อนในถั่วเกรด 1 , 2 , 3 และถั่วที่คัดทิ้งสูงถึง 190 , 550 , 2,500 และ 2,600 ppb ตามลำดับ

ลักษณะการเจริญของเชื้อราบนถั่วที่มีการปลูกเชื้อเมื่อบ่มไว้ 10 วัน พบเส้นใยของเชื้อรามากกว่าสปอร์และมีผลการวิเคราะห์อะฟลาทอกซิน ปี1 ต่ำ จึงสันนิษฐานได้ว่าเชื้อที่ปลูกลงไปมีความสามารถในการเจริญเติบโตเหนือกว่า เชื้อที่มีอยู่แล้วในเมล็ดจึงบดบังการเจริญ และการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อในเมล็ดทำให้ผลการวิเคราะห์อะฟลาทอกซิน

ออกมาดำ ยกเว้นตัวที่ได้รับการปลูกเชื้อ *A. flavus* ไอโซเลตที่สร้าง cleistothecium ที่มีการสร้างอะฟลาทอกซินได้สูงที่สุดของการทดลองนี้คือ 7,800 ppb ในตัวที่ไม่มีเมล็ด แสดงว่า *A. flavus* สายพันธุ์นี้เป็นสายพันธุ์ที่สร้างอะฟลาทอกซินได้ดี และสามารถเจริญแข่งขันกับเชื้อที่มีอยู่แล้วในเมล็ดได้ด้วย จึงทำให้ตรวจพบอะฟลาทอกซินในปริมาณสูงดังกล่าว สำหรับเชื้อไอโซเลตอื่น ๆ โดยเฉพาะ *A. niger* เป็นเชื้อไอโซเลตที่ไม่สามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้หรือสร้างได้น้อย สำหรับการตรวจพบอะฟลาทอกซินในตัวอย่างที่ปลูกเชื้อ *A. niger*, *A. flavus* และ *A. parasiticus* จำนวนไม่มากนักนั้นน่าจะมีผลมาจากการเจริญของเชื้อสายพันธุ์ที่สร้างอะฟลาทอกซินที่มีอยู่แล้วในเมล็ด ซึ่งมีบางส่วนที่อาจเจริญแข่งขันกับเชื้อที่ปลูกให้กับเมล็ดได้ แม้จะเป็นส่วนน้อยก็ตาม

7. ประสิทธิภาพของการวิเคราะห์อะฟลาทอกซินโดยวิธี ELISA

สำหรับประสิทธิภาพของการวิเคราะห์อะฟลาทอกซินโดยวิธี ELISA นั้น มีการทดสอบประสิทธิภาพในการทดลองที่ 3 และ 5 โดยการทดลองที่ 3 เป็นการทดสอบประสิทธิภาพจากการวิเคราะห์ 2 ครั้ง เวลาห่างกัน 7 วัน แต่ในการทดลองที่ 5 เป็นการวิเคราะห์ซ้ำ 2 plate ในเวลาเดียวกัน ผลการทดลองที่ 3 เมื่อ วิเคราะห์ต่างเวลาไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างการวิเคราะห์ครั้งที่ 1 กับครั้งที่ 2 แต่เมื่อพิจารณาถึงผลการวิเคราะห์จากแต่ละตัวอย่างพบว่าบางตัวอย่างมีค่าแตกต่างกันมาก เช่น ค่าวิเคราะห์ของตัวอย่างที่ 1 ได้ผลการวิเคราะห์ครั้งที่ 1 และ 2 เป็น 1.98 และ 7.52 ppb ตามลำดับ ซึ่งค่าวิเคราะห์ที่ถูกต้องและแม่นยำนั้น ควรจะมีค่าที่ใกล้เคียงกันมากกว่านี้ แต่ในการทดลองที่ 5 เมื่อวิเคราะห์ในคราวเดียวกันแต่ต่าง plate (ทำซ้ำ) กลับได้ค่าวิเคราะห์ที่ใกล้เคียงกันระหว่าง plate 1 กับ plate 2 โดยมีค่าอะฟลาทอกซิน บี 1 จากการวัดทั้ง 2 plate มีสหสัมพันธ์ซึ่งกันและกัน และมีค่าสัมประสิทธิ์ของสหสัมพันธ์ = 1.0 เมื่อนำค่าวิเคราะห์ทั้ง 2 plate ไปคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างพบว่าค่าวิเคราะห์ครั้งที่ 2 แตกต่างจากครั้งที่ 1 ตั้งแต่ 0 - 50.9 % อย่างไรก็ตามในการใช้เทคนิค ELISA วิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินนี้ยังอยู่ในขั้นตอนของการพัฒนาเทคนิค ยังมีปัจจัยอีกหลายประการที่จะต้องมีการศึกษาเพิ่มขึ้น เพื่อให้เกิดความถูกต้องของเทคนิคมากขึ้นในการใช้ตรวจวัดอะฟลาทอกซิน

8. ปัจจัยที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินของถั่วลิสงในระดับโรงงานกะเทาะเปลือก

สำหรับปริมาณอะฟลาทอกซิน ปี 1 ที่ปนเปื้อนในระดับโรงงานกะเทาะเปลือกถั่วลิสง จากผลการทดลองพบว่าถั่วลิสงที่เข้าสู่ระบบการผลิตของโรงงาน แล้วออกจากโรงงานไป ภายใน 28 วัน มีผลทำให้เกิดการสะสมสารพิษอะฟลาทอกซินได้ทั้งในฤดูฝนและฤดูแล้ง นอกจากนี้จะมีการคัดขนาดจึงจะทำให้คุณภาพถั่วลิสงดีขึ้น ซึ่งในถั่วลิสงที่เข้ามาสู่ระบบการ ตลาดในส่วนนี้จะมีอะฟลาทอกซินเพิ่มขึ้นได้นั้นมีสาเหตุมาจากระยะเวลาในการเก็บรักษา ของโรงงานตั้งแต่ถั่วลิสงที่รับซื้อจากพ่อค้าเร่หรือเกษตรกรเข้ามาในระบบการเก็บรักษาของ โรงงาน จนถึงวันที่ถั่วลิสงออกจากโรงงานหลังจากที่มีการกะเทาะเปลือกและคัดเกรดแล้ว สาเหตุอีกประการหนึ่งคือสภาพแวดล้อมของการเก็บรักษาของโรงงานที่จะทำให้เกิดปัจจัยที่ ส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อรา เช่น ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ อุณหภูมิของการเก็บ รักษา และปริมาณสปอร์ของเชื้อราที่ติดมาจากไร่และสปอร์ของเชื้อราที่มีอยู่ในโรงเก็บของ โรงงาน โดยเฉพาะโรงงานที่ทำการศึกษานี้มีการเก็บรักษาและดำเนินการกะเทาะเปลือก ถั่วลิสงมานานถึง 14 ปีแล้ว ยังมีโอกาสที่จะมีสปอร์ของเชื้อราชนิดที่สร้างอะฟลาทอกซิน สะสมอยู่ในโรงเก็บมากขึ้นและจะทำให้เกิดการติดเชื้อตามธรรมชาติได้ จากผลการสำรวจ ข้อมูลโรงงานจะรับซื้อเฉพาะถั่วแห้งเท่านั้น ซึ่งก็เป็นข้อมูลที่บอกถึงความพยายามที่จะควบคุมคุณภาพและลดปัญหาการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินในระดับโรงงานกะเทาะเปลือก ถั่วลิสง ถ้าโรงงานทุกโรงสามารถปฏิบัติได้อย่างจริงจัง เนื่องจากพ่อค้าเร่และเกษตรกรส่วนใหญ่ยังมีความเข้าใจว่าถั่วที่มีความชื้นสูงจะได้น้ำหนักดี การตากแห้งทำให้น้ำหนักหายไป จึงต้องมีการให้ความรู้เกี่ยวกับอันตรายจากการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินแก่ผู้ที่เกี่ยวข้อง ในระบบการผลิตถั่วลิสงให้มากขึ้น โดยเฉพาะการรณรงค์ให้โรงงานรับซื้อตามความชื้นที่ กำหนดจะเป็นการลดปัจจัยที่จะส่งเสริมการเจริญเติบโตและการสร้างอะฟลาทอกซิน ที่สำคัญที่สุด แต่ต้องระมัดระวังในเรื่องการควบคุมความชื้นในการเก็บรักษาของถั่วในฤดูฝน เนื่องจาก เป็นสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา การคัดเกรดถั่วลิสงฝักแห้ง และ การคัดเกรด เมล็ดถั่วลิสงก็เป็นการควบคุมคุณภาพอีกประการหนึ่งโดยถั่วลิสงที่ได้เกรดต่าง ๆ จะนำไปใช้ แปรรูปตามขนาดและคุณภาพของถั่วลิสง แต่ยังไม่เป็นห่วงถึงผลิตภัณฑ์ที่ทำจากถั่วลิสง เกรด 2 และ 3 ที่มีคุณภาพต่ำ เช่น น้ำมันถั่วลิสง และถั่วป่น ว่าจะมีการลดปริมาณ อะฟลา ทอกซินในผลิตภัณฑ์เหล่านี้ได้หรือไม่ ซึ่งสนั่น และคณะ (2539) รายงานว่าหากมีการคัด

แยกเมล็ดเสียที่มีเชื้อราทิ้งจะลดปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินได้ และการคัดเมล็ดเสีย
ทั้งเป็นขั้นตอนที่โรงงานกะเทาะเปลือกได้ปฏิบัติตามปกติอยู่แล้ว