การป้องกันสารพิษแอฟลาทอกซิน ในข้าวโพดความชื้นสูง โดยการรมด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

Control of *Aspergillus flavus* and Aflatoxin Contamination in High Moisture Maize by Carbondioxide Fumigation

วีรวัฒน์ นิลรัตนคุณ[1] วันเพ็ญ ศรีทองชัย[1]
อาคม สุ่มมาตย์[1] อำนาจ ชินเชษฐ[1] และ อำนวย ทองดี[2]
Werawat Nilrattanakoon[1] Wanphen Srithongchai[1]
Arkom Summart[1] Amnart Chinchest[1] and Amnuay Tongdee[2]

ABSTRACT

The experiment on suitable rate of carbondioxide fumigation for controlling fungal growth and aflatoxin contamination of high moisture maize was carried out at Naknon Sawan Filed Crops Research Center in October 1992. The rates of CO_2 0.5, 0.75, 1.0 and 2.0 kg/ton were used to fumigate the maize grain bulks precedingly covered by plastic sheets. Four days after fumigation, it was found that all fumigation rates gave effective control on *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin contamination. Besides, grain quality and temperature in the bulks were not changed. The non-fumigated grain bulks were severely infected by *A. flavus* while level of aflatoxin contamination and grain bulk temperature were significantly increased.

Keywords: maize, aflatoxin, carbondioxide fumigation.

บทคัดย่อ

การศึกษาหาอัตราที่เหมาะสมในการใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ รมกองข้าวโพดความชื้นสูง เพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อราและการเกิดสารพิษแอฟลาทอกซินเป็นการชั่วคราว ทำการทดลองที่ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ เดือนกันยายน พ.ศ. 2535 โดยใช้ก๊าซ CO_2 รมกองข้าวโพดที่คลุมด้วยผืนพลาสติก ในอัตรา 0.5, 0.75, 1.0 และ 2.0 กก./เมล็ด 1 ตัน เป็นเวลา 4 วัน ผลการทดลองพบว่า การรมด้วยก๊าซ CO_2 ในอัตราตั้งแต่ 0.5 กก./เมล็ด 1 ตัน สามารถป้องกันการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* และการเกิดสารพิษแอฟลาทอกซินได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยคุณภาพของเมล็ดและอุณหภูมิในกองข้าวโพดไม่เปลี่ยนแปลง ในขณะที่ข้าวโพดที่กองไว้ในสภาพบรรยากาศปกติถูกเชื้อรา *A. flavus* เข้าทำลายเกือบทั่วทั้งกอง ปริมาณการปนเปื้อนของสารพิษแอฟลาทอกซินและอุณหภูมิภายในกองข้าวโพดเพิ่มสูงขึ้น เมล็ดจับตัวเป็นก้อนและมีกลิ่นเหม็นหืน

คำหลัก : ข้าวโพด แอฟลาทอกซิน การรมด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

(1) ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ กรมวิชาการเกษตร อ.ตากฟ้า จ.นครสวรรค์ 60190
Nakhon Sawan Field Crops Research Center, Department of Agriculture, Amphoe Tak Fa, Changwat Nakhon Sawan, 60190
(2) ผู้เชี่ยวชาญพิเศษด้านพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กทม. 10900
Senior Expert in Field Crops, Department of Agriculture Chatuchak, Bangkok 10900.

คำนำ

การปนเปื้อนของสารพิษแอฟลาทอกซิน เป็นปัญหาสำคัญอย่างหนึ่งในการผลิตข้าวโพดของประเทศไทย จากการศึกษาขั้นตอนต่างๆ ของการผลิตข้าวโพด พบว่าการปนเปื้อนของสารพิษแอฟลาทอกซินเกิดขึ้นหลังการเก็บเกี่ยว (พรรณิภา 2529, Siriacha *et al.* 1983) และพบในปริมาณที่สูงขึ้นเมื่ออยู่ในมือของพ่อค้าท้องถิ่น (Japan International Co-operation Agency 1984, Goto *et al.* 1986, Kositcharoenkul *et al.* 1992) โดยเฉพาะในช่วงของการตากข้าวโพด (Tsuruta *et al.* 1985, Thai-U.K. Project 1986) ทั้งนี้เนื่องจากการเก็บเกี่ยวและการจำหน่ายข้าวโพดส่วนใหญ่อยู่ในช่วงเดือนสิงหาคมถึงตุลาคม ซึ่งเป็นระยะที่มีฝนตกชุก ทำให้การลดความชื้นโดยวิธีการตากแดดบนลานตากของพ่อค้าท้องถิ่นมีปัญหาอยู่เสมอ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่มีลมมรสุมพัดผ่าน จำเป็นต้องกองข้าวโพดไว้เป็นเวลาหลายวันโดยไม่สามารถลดความชื้นได้ ประกอบกับเมล็ดข้าวโพดยังมีความชื้นสูงและบางส่วนมีรอยแตกอันเป็นผลจากการกะเทาะ ทำให้เชื้อจุลินทรีย์เข้าทำลายเมล็ดข้าวโพดภายในกองได้อย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะเชื้อรา *Aspergillus flavus* สามารถเข้าทำลายเมล็ดข้าวโพดและผลิตสารพิษแอฟลาทอกซินได้ภายในเวลา 48 ชั่วโมง (Thai-U.K. Project 1986)

การป้องกันการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* และการเกิดสารพิษแอฟลาทอกซินหลังการเก็บเกี่ยวข้าวโพด โดยเฉพาะในช่วงที่เมล็ดมีความชื้นสูง และยังไม่สามารถลดความชื้นจนถึงระดับที่ปลอดภัยได้ ปฏิบัติได้หลายวิธี เช่น การควบคุมสภาพบรรยากาศ(Controlled atmosphere) การปรับสภาพบรรยากาศ (Modified atmosphere) และ การใช้สารเคมี

การปรับสภาพบรรยากาศ เป็นวิธีการหนึ่งที่ใช้ในการควบคุมการเจริญของเชื้อ *A. flavus* เพื่อป้องกัน การเกิดสารพิษแอฟลาทอกซินในข้าวโพด จากการศึกษาของ Wilson and Jay (1975) พบว่าการเก็บข้าวโพดที่มีความชื้นเริ่มต้น 29.4% ในสภาพบรรยากาศที่มีความเข้มข้นของ CO_2 สูง คือ 61.7% CO_2, 8.7% O_2 และ 29.6%, N_2 สามารถเก็บ ข้าวโพดไว้ได้นานถึง 4 สัปดาห์ โดยมีการปนเปื้อนของสารพิษแอฟลาทอกซินไม่เกิน 20 ppb. ในขณะเดียวกัน Hale *et al.* (1978) พบว่าการเก็บข้าวโพดที่มีความชื้น 18.8% ในสภาพบรรยากาศที่ประกอบด้วย 14.3% CO_2, 0.5% O_2 และ 85.2% N_2 สามารถเก็บข้าวโพดไว้ได้นานถึง 109 วัน และพบสารแอฟลาทอกซินเพียง 15 ppb. Kawashima *et al.* (1990a) พบว่าการเก็บข้าวโพดที่มีความชื้นสูงในถุงพลาสติดที่ปิดแน่น สามารถป้องกันการเจริญของเชื้อราและสารพิษแอฟลาทอกซินได้นานถึง 2 เดือน และจากการศึกษาของวีรวัฒน์ และคณะ (2535) พบว่าการรมกองข้าวโพดที่มีความชื้นสูงด้วยก๊าซ N_2 ในอัตรา 1 กก./ตัน สามารถป้องกันการเจริญของเชื้อรา และการปนเปื้อนของสารพิษแอฟลาทอกซิน ในระยะ 4-5 วันได้อย่าง มีประสิทธิภาพ

วัตถุประสงค์ของการทดลองนี้เพื่อหาอัตราที่เหมาะสมในการรมด้วยก๊าซ CO_2 เพื่อป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อรา และการปนเปื้อนของสารพิษแอฟลาทอกซิน ในระยะ 4-5 วัน

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองทำที่ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ ระหว่างวันที่ 5-11 ตุลาคม 2535 โดยเก็บรวบรวมข้าวโพดพันธุ์ต่างๆ และนำมากะเทาะฝัก หลังจากเก็บเกี่ยวแล้ว 10 วันได้เมล็ดข้าวโพดจำนวน 11.6 ตัน แบ่งเมล็ดข้าวโพดออกเป็น 5 กอง กองแรกมีปริมาณ 850 กก. กองไว้ในสภาพบรรยากาศปกติ(control) ตลอดการทดลอง กองที่ 2,3,4 และ 5 แบ่งปริมาณเท่าๆ กัน คือ กองละ 2,700 กก. กองไว้ในสภาพบรรยากาศปกติเป็นเวลา 24 ชม. แล้วใช้ผืนพลาสติก PVC ซึ่งหนา 0.25 มม. คลุมกองเมล็ดข้าวโพดโดยแยกกองออกจากกัน ทับชายพลาสติกรอบกองด้วยกระสอบทราย แล้วด้วย CO_2 1 ครั้ง ในอัตรา 0.5, 0.75, 1 และ 2 กก./ตัน ในกองที่ 2,3,4 และ 5 ตามลำดับ และปล่อยทิ้งไว้ 4 วัน จึงเปิดพลาสติกที่คลุมออก

ทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดข้าวโพดก่อนและหลังการรมด้วยก๊าซ CO_2 เพื่อตรวจดูจำนวนเมล็ดที่ถูกเชื้อรา *A. flavus* และเชื้อราชนิดอื่นๆ ที่เข้าทำลาย ตรวจการปนเปื้อนของสารพิษแอฟลาทอกซินในข้าวโพด วัดอุณหภูมิภายในกองข้าวโพด และวัดความชื้นเมล็ด และประเมินลักษณะและคุณภาพของเมล็ดข้าวโพด ดังนี้

1. การตรวจจำนวนเมล็ดข้าวโพดที่ถูกเชื้อรา *A. flavus* และเชื้อราชนิดอื่นที่เข้าทำลาย กระทำทั้งก่อนและหลังการรมก๊าซ ก่อนการรมก๊าซทำการตรวจสอบ 2 วิธี คือ การตรวจสอบด้วยสายตาและการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ

การตรวจสอบด้วยสายตา ใช้เมล็ดข้าวโพดประมาณ 1500 เมล็ด ทั้งเมล็ดดีและเมล็ดแตกนำไปตรวจนับจำนวนเมล็ดที่พบเชื้อราเจริญอยู่ ส่วนวิธีการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อตรวจจำนวนเมล็ดที่ถูกเชื้อราเข้าทำลายภายในเมล็ด โดยใช้

ข้าวโพดจำนวน 300 เมล็ด ใส่ใน flash ที่มีสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น 1% เขย่าด้วยมือนาน 1 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง นำเมล็ดไปวางบนกระดาษกรองซึ่งนึ่งฆ่าเชื้อแล้วเพื่อซับน้ำ จากนั้นนำเมล็ดไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ซึ่งมีส่วนผสมของ Chloramphenical 30 มก. rose bengal 30 มก. และแอลกอฮอล์ (95%) 10 มล. ต่อ PDA 1000 มล. เก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4-6 วัน แล้วนำมาตรวจนับจำนวนเมล็ดข้าวโพดที่พบ colony ของเชื้อราโดยตัวอย่างที่สุ่มใช้เป็นตัวแทนของข้าวโพดทุกกอง

การตรวจสอบหลังการรมก๊าซ ทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดข้าวโพดจากกองที่ 2, 3, 4 และ 5 หลังจากเปิดพลาสติกคลุมออกแล้ว โดยใช้หลาวแทงสุ่มตัวอย่างจากทุกส่วนของแต่ละกอง แล้วนำเมล็ดที่สุ่มได้ไปวัดความชื้นเมล็ดบันทึกข้อมูลไว้ แบ่งเมล็ดที่สุ่มตัวอย่างจากแต่ละกองเป็น 4 ตัวอย่าง ๆ แรกจำนวน 1500 เมล็ด ตัวอย่างที่ 2 300 เมล็ด ตัวอย่างที่ 3 100 เมล็ด ทั้ง 3 ตัวอย่างนำไปตรวจสอบจำนวนเมล็ดที่ถูกเชื้อราทำลาย สำหรับตัวอย่างที่ 4 ประมาณ 5 กก. ใช้สำหรับการตรวจสอบการปนเปื้อนของสารพิษแอฟลาทอกซิน

การตรวจสอบจำนวนเมล็ดที่ถูกเชื้อราทำลาย กระทำ 2 วิธีเช่นเดียวกันกับการตรวจสอบก่อนการรมก๊าซ โดยการตรวจสอบด้วยสายตาใช้เมล็ดข้าวโพดตัวอย่างแรก 1,500 เมล็ด ทั้งเมล็ดดีและเมล็ดแตกมาตรวจนับจำนวนเมล็ดที่ถูกเชื้อราทำลาย ส่วนการตรวจสอบด้วยวิธีการเลี้ยงเชื้อ ใช้เมล็ดข้าวโพดตัวอย่างที่ 2 300 เมล็ด กระทำเช่นเดียวกับการตรวจสอบเมล็ดก่อนการรมก๊าซดังกล่าวแล้ว ส่วนการตรวจสอบจำนวนเมล็ดที่มีเชื้อราปนเปื้อนบนผิวรอบนอกเมล็ด ใช้เมล็ดข้าวโพดตัวอย่างที่ 3 100 เมล็ด วางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยไม่ผ่านการล้างเมล็ด เก็บตัวอย่างไว้ในอุณหภูมิห้อง 4-6 วัน จึงนำมาตรวจนับจำนวนเมล็ดที่มี colony ของเชื้อรา

2. การตรวจสอบปริมาณการปนเปื้อนของสารพิษแอฟลาทอกซิน นำเมล็ดข้าวโพดจากตัวอย่างที่ 4 5 กก. มาแบ่งออกเป็น 4 ส่วนเท่าๆ กัน นำมาอบที่อุณหภูมิ 80°ซ จนเหลือความชื้นประมาณ 12% แล้วนำไปบดให้ละเอียด จากนั้นจึงนำไปสกัดสารพิษแอฟลาทอกซินจากเมล็ดข้าวโพดด้วยวิธี Modified CB Method และวิเคราะห์ปริมาณการปนเปื้อนสารพิษแอฟลาทอกซินด้วยวิธี TLC (Thin Layer Chromatography)

3. การบันทึกอุณหภูมิภายในกองขณะทำการทดลอง บันทึกอุณหภูมิภายในกองข้าวโพดแต่ละกอง ทุกๆ 4 ชม. ตลอดการทดลอง โดยใช้หัววัดแบบ thermocouple(ชนิด K type) วัดกองละ 2 จุด ที่ความลึกจากผิว กองประมาณ 50 ซม. นำค่าที่วัดได้มาหาค่าเฉลี่ย

4. การตรวจสอบความชื้นในเมล็ด นำตัวอย่างข้าวโพดที่สุ่มมาตรวจสอบเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดข้าวโพดโดยใช้เครื่องวัดความชื้น Steinlite

5. การประเมินลักษณะและคุณภาพของกองข้าวโพด โดยสังเกตการเจริญของเชื้อราบนเมล็ดในกองข้าวโพดแต่ละกอง สีและความมันของเมล็ด การเลื่อนไหลของเมล็ด และกลิ่นของกองข้าวโพดโดยสังเกตร่วมกับเจ้าหน้าที่ที่ร่วมปฏิบัติงาน และสอบถามข้อมูลเรื่องกลิ่นของข้าวโพดจากเจ้าหน้าที่ฝ่ายจัดซื้อของโรงงานอาหารสัตว์

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การตรวจจำนวนเมล็ดข้าวโพดที่ถูกเชื้อรา *A. flavus* และเชื้อราชนิดอื่นเข้าทำลาย

การตรวบสอบด้วยสายตา จากการสุ่มตรวจนับเมล็ดที่ถูกเชื้อราเข้าทำลายด้วยสายตา ปรากฏว่าในกองข้าวโพดที่รมด้วยก๊าซ CO_2 ทุก ๆ อัตรา ไม่พบเชื้อรา ในขณะที่ในกองข้าวโพด Control พบเมล็ดที่มีเชื้อรา *A. flavus* เจริญอยู่เป็นจำนวนมาก และส่วนมากจะพบบนเมล็ดแตก กล่าวคือ พบเชื้อราบนเมล็ดที่สมบูรณ์เพียง 0.1% เท่านั้น และพบบนเมล็ดแตกถึง 24.1% (Table 1) นอกจากนี้ยังพบเมล็ดเน่าดำ จากการทำลายของเชื้อ *Botryodiplodia* sp. ในกอง Control ถึง 5.4% และพบในกองอื่นๆ เพียง 1.4-2.1% เท่านั้น

การตรวจสอบหลังการรมก๊าซ การเจริญของเชื้อ *A. flavus* พบว่าการรมด้วยก๊าซ CO_2 ทุกอัตรา สามารถป้องกันการเจริญของเชื้อในกองข้าวโพดได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยตรวจพบการเจริญของเชื้อราเฉพาะที่บริเวณผิวกองเพียงเล็กน้อย และเป็นบางจุดเท่านั้น ในขณะที่กองข้าวโพด Control พบการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* มากที่บริเวณผิวกองถึงระดับความลึกประมาณ 15 ซม. โดยเฉพาะเมล็ดแตกสามารถมองเห็นเชื้อราซึ่งมีสีเขียวได้อย่างชัดเจน

การตรวจสอบโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อพบว่ากองข้าวโพด

Table 1 Percentage of visible mold observed on maize kernel after CO_2 fumigation.

Fumigation rate (kg./ton)	*A. flavus*[1]		*A. niger*[1]		black kernel[3]
	sound kernel	damaged[2] kernel	sound kernel	damaged[2] kernel	
Initial	0	0	0	0	0
Control	0.1 ± 0.1	18.5 ± 7.7	0	0.5 ± 1.0	5.4 ± 3.8
0.50	0	0	0	0	2.1 ± 1.1
0.75	0	0	0	0	1.8 ± 1.0
1.0	0	0	0	0	1.4 ± 0.6
2.0	0	0	0	0	2.1 ± 1.3

(1) Average from 5 replications (300 kernels/replication)
(2) calculated from damaged kernel only
(3) infected by *Botryodiplodia* sp.

Table 2 Percentage of infection and surface contamination with *A. flavus* and *A. niger* in maize kernel after CO_2 fumigation.

Fumigation rate (kg./ton)	*A. flavus*		*A. niger*	
	Infection	Contamination	Infection	Contamination
Initial	1.3 ± 3.4	100.0 ± 0.0	0.3 ± 1.8	94.0 ± 8.0
Control	46.0 ± 23.7	100.0 ± 0.0	4.3 ± 6.7	100.0 ± 6.6
0.50	10.3 ± 10.5	100.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	31.0 ± 23.0
0.75	11.0 ± 10.8	100.0 ± 0.0	0.3 ± 1.8	61.0 ± 24.3
1.0	9.3 ± 9.3	100.0 ± 0.0	1.0 ± 3.0	40.0 ± 21.9
2.0	8.3 ± 9.7	99.0 ± 3.0	1.0 ± 3.0	40.0 ± 19.5

Control มีจำนวนเมล็ดที่ถูกเชื้อรา *A. flavus* และ *A. niger* เข้าทำลายภายในเมล็ดมากที่สุด คือเพิ่มจาก 1.3% และ 0.3% เมื่อเริ่มการทดลอง เป็น 46.0% และ 4.3% เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ในขณะที่กองข้าวโพดที่รมก๊าซ CO_2 ในอัตราต่างๆ พบเมล็ดที่มีเชื้อราอยู่ในช่วง 8.3-10.3% และ 0.3-1.0% เท่านั้น(Table 2)

การที่เชื้อราเข้าทำลายและเจริญเติบโตบนเมล็ดข้าวโพดจนสามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าในระยะเวลาเพียง 2-3 วัน นั้น สอดคล้องกับรายงานของ Kawashima *et al.* (1990b) ที่กล่าวว่าหลังการกะเทาะเมล็ดหากไม่ทำการลดความชื้นจนถึงระดับที่ปลอดภัย เชื้อราจะเข้าทำลายเมล็ดอย่างรวดเร็ว และการเก็บข้าวโพดทั้งฝักที่ระดับความชื้นเท่ากันสามารถเก็บได้นานกว่า แสดงให้เห็นว่าการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินในประเทศไทยส่วนหนึ่งน่าจะเกิดขึ้นมากในช่วงหลังการกะเทาะเมล็ด โดยมีปัจจัยที่สำคัญคือความชื้นในเมล็ดที่สูงและรอยแตกบนเมล็ดที่เกิดจากการกะเทาะ ทำให้เชื้อรา *A. flavus* ซึ่งเป็น weak parasite (Gloumbic and Kulic 1969) สามารถเข้าทำรายได้รวดเร็วยิ่งขึ้น

การที่พบเชื้อราเจริญอยู่เฉพาะที่บริเวณผิวของกองข้าวโพดที่รมด้วยก๊าซ CO_2 นั้น อาจเนื่องมาจากการแยกชั้นของก๊าซภายในกอง โดยก๊าซ CO_2 ซึ่งมีน้ำหนักมากกว่าจะตกลงด้านล่าง ส่วนก๊าซ O_2 ที่มีน้ำหนักน้อยกว่าจะลอยขึ้นด้านบน ประกอบกับช่องว่างระหว่างบริเวณผิวกองและผืนพลาสติกมีมาก ทำให้มี O_2 เพียงพอสำหรับการเจริญเติบโตของเชื้อราในระยะแรกๆ

นอกจากนี้ยังได้ตรวจนับเชื้อราอีก 2 ชนิด ซึ่งสามารถสร้างสารพิษในข้าวโพดเช่นเดียวกันคือ *Fusarium moniliforme*

Table 3. Percentage of infection and surface contamination of *Fusarium moniliforme* and *Penicillium funiculosum* in maize kernel after CO_2 fumigation.

Fumigation rate (kg./ton)	*F. monilioforme*		*P. funiculosum*	
	Infection	Contamination	Infection	Contamination
Initial	45.7 ± 22.8	0.0 ± 0.0	12.0 ± 10.1	24.0 ± 21.1
Control	12.3 ± 10.2	0.0 ± 0.0	12.0 ± 10.5	0.0 ± 0.0
0.50	16.7 ± 19.6	7.0 ± 9.0	1.0 ± 4.0	6.0 ± 9.2
0.75	14.0 ± 19.3	9.0 ± 13.7	1.0 ± 3.0	1.0 ± 3.0
1.0	16.0 ± 17.2	15.0 ± 15.7	1.3 ± 3.4	2.0 ± 4.0
2.0	13.7 ± 19.7	13.7 ± 19.7	0.3 ± 1.8	3.0 ± 4.6

Table 4 Aflatoxin contamination in maizea after CO_2 fumigation.

Fumigation rate (kg./ton)	Aflatoxin (ppb)[1]			
	B1	B2	G1	G2
Initial	0.4 ± 0.4	ND	ND	ND
Control	16.6 ± 2.5	ND	ND	ND
0.50	0.4 ± 0.4	ND	ND	ND
0.75	0.9 ± 0.2	ND	ND	ND
1.0	1.7 ± 0.7	ND	ND	ND
2.0	2.8 ± 2.8	0.3 ± 0.3	0.7 ± 0.7	0.6 ± 0.6

(1) Average from 2 replications
ND = non detected

และ *Penicillium funiculosum* พบว่าการรมก๊าซ CO_2 สามารถลดจำนวนเชื้อทั้งสองชนิดได้ยกเว้นเชื้อ *F. moniliforme* ที่บริเวณผิวเมล็ดซึ่งมีปริมาณเพิ่มมากขึ้น (Table 3)

2. การปนเปื้อนของสารพิษแอฟลาทอกซิน ข้าวโพดที่รมด้วยก๊าซ CO_2 ในอัตราต่างๆ พบว่ามีการปนเปื้อนของสารพิษแอฟลาทอกซินเพียงเล็กน้อย ก่อนการทดลองมีปริมาณสารพิษ 0.4 ppb. หลังการทดลองพบสารพิษในปริมาณ 0.4-2.8 ppb. ในขณะที่กองข้าวโพด Control มีปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซิน เพิ่มขึ้นถึง 16.6 ppb. (Table 4)

เป็นที่น่าสังเกตว่าปริมาณการปนเปื้อนของสารพิษแอฟลาทอกซินในกองข้าวโพด Control มีปริมาณค่อนข้างต่ำ คือ 16.6 ppb. เท่านั้น ทั้งๆ ที่เมื่อพิจารณาจากสภาพของกองข้าวโพดที่ถูกเชื้อราเข้าทำลายทั่วทั้งกอง จนแทบจะสูญเสียคุณค่าทางการตลอดไป ซึ่งผลการทดลองนี้ยืนยันผลการทดลองของวีรวัฒน์ และคณะ(2535) และเช่นเดียวกับผลการทดลองของ Kawashima *et al.* (1990c,d) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะในระยะ 4-5 วันแรกหลังจากการกะเทาะเมล็ด เป็นระยะที่เชื้อราเริ่มเจริญเติบโต จึงผลิตสารพิษออกมาเพียงเล็กน้อยเท่านั้น และเป็นเหตุผลหนึ่งที่อธิบายได้ว่า ข้าวโพดที่ทำการเก็บเกี่ยวและจำหน่ายในช่วงต้นฤดูการเก็บเกี่ยวซึ่งเป็นระยะที่มีฝนตกชุก และข้าวโพดมีความชื้นสูง มีการปนเปื้อนของสารพิษแอฟลาทอกซินในปริมาณที่ต่ำกว่าช่วงอื่นๆ ดังรายงานของ Siriacha (1985) ทั้งนี้เพราะข้าวโพดชุดดังกล่าวถูกส่งไปยังตลาดปลายทาง และถูกลดความชื้นจนอยู่ในระดับที่ปลอดภัยภายในระยะเวลาอันสั้น คือประมาณ 4-5 วันเท่านั้น (Harteveld, 1984;

Kawashima *et al.* 1990e)

จากการเปรียบเทียบจำนวนการเข้าทำลายของเชื้อรา และปริมาณการปนเปื้อนของสารพิษแอฟลาทอกซิน ในกองข้าวโพดที่รมด้วยก๊าซ CO_2 ในอัตราต่างๆ พบว่าประสิทธิภาพไม่แตกต่างกัน ดังนั้นการรมก๊าซในอัตรา 0.5 กก./ตัน ก็เพียงพอที่จะลดความเข้มข้นของ O_2 ในกองลงจนเชื้อราไม่สามารถเจริญเติบโตได้ แต่การรมก๊าซในอัตราต่างๆ ก็ไม่สามารถทำลายหรือหยุดการเจริญของสปอร์ของเชื้อราได้ ดังนั้นหลังเปิดกองต้องทำการลดความชื้นให้อยู่ในระดับที่ปลอดภัย

3. การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิภายในกองขณะทำการทดลอง ในระยะ 24 ชม. แรกก่อนที่จะรมทำการรมก๊าซ พบว่าอุณหภูมิในกองข้าวโพดทุกกองเพิ่มขึ้น 4-6 °ซ แต่หลังจากทำการรมก๊าซ ปรากฏว่าอุณหภูมิในกองที่รมด้วยก๊าซ CO_2 ทั้ง 4 กองคงที่ตลอดการทดลอง ในขณะที่อุณหภูมิในกองข้าวโพด Control สูงขึ้นตลอดเวลาจนถึง 53 °ซ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (Figure 1)

การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิภายในกองข้าวโพด เกิดจากขบวนการหายใจของเมล็ดและของเชื้อจุลินทรีย์ภายในกอง ดังนั้นความแตกต่างของอุณหภูมิภายในกองข้าวโพดระหว่างกองข้าวโพด Control กับกองที่รมด้วยก๊าซ CO_2 น่าจะเป็นผลมาจากการรมก๊าซ CO_2 ทำให้ความเข้มข้นของ O_2 ภายในกองลดต่ำลงจนไม่เพียงพอต่อการเจริญของเชื้อรา หลังจาก O_2 ถูกใช้จนหมด การหายใจภายในกองก็จะเป็นแบบไม่ใช้ O_2 ซึ่งจะให้พลังงานออกมาต่ำ ในขณะที่กองข้าวโพด Control ซึ่งมี O_2 อย่างเพียงพอการหายใจจะเป็นแบบใช้ O_2 ซึ่งจะให้พลังงานออกมาสูง

Table 5 Percentage of grain moisture content before and after CO_2 fumigation.

Fumigation rate (kg./ton)	Moisture content (%)				
	Samples No.	Average	Max.	Min.	Sd.
Initial	266	27.10	29.18	19.52	1.39
0.50	18	29.16	30.46	27.52	0.91
0.75	20	28.96	29.20	26.79	1.09
1.0	20	28.07	29.20	27.21	0.52
2.0	16	27.58	29.88	23.48	1.75

การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิภายในกองข้าวโพด น่าจะเป็นตัวชี้ให้เห็นถึงสภาพการเจริญและปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ภายในกองข้าวโพด เนื่องจากความร้อนที่เกิดขึ้นส่วนมากจะเกิดจากการหายใจของเชื้อจุลินทรีย์มากกว่าการหายใจของเมล็ด ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Christensen and Kaufman (1969)

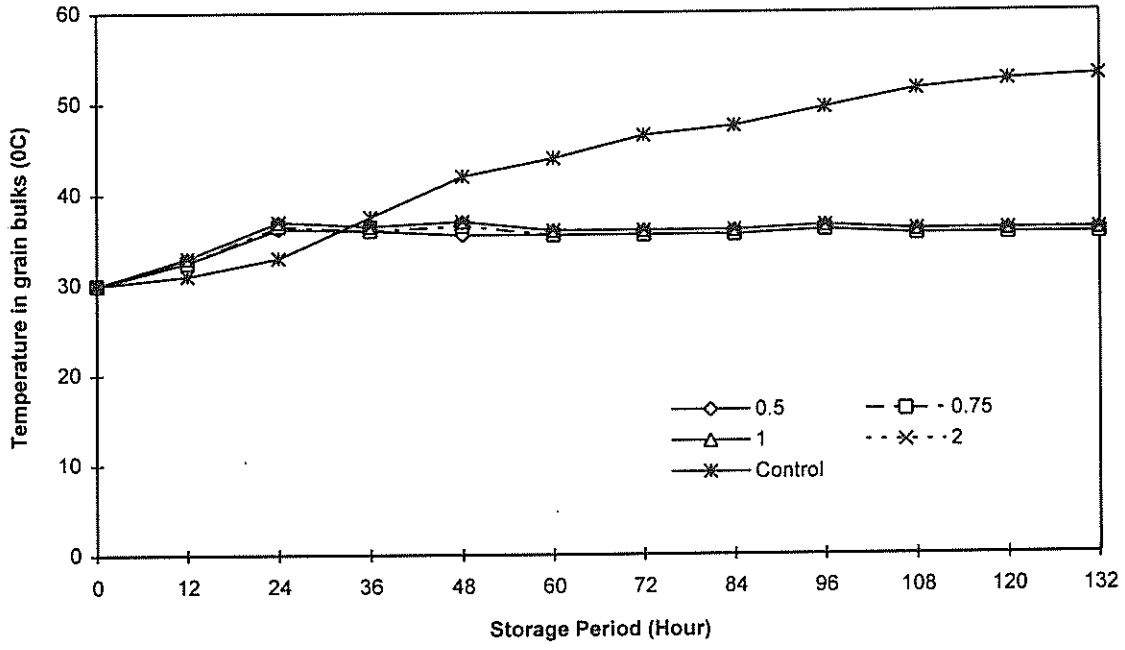

Figure 1. Changes of temperature in grain bulks during CO_2 fumigation.

Wallace (1971) ดังจะเห็นได้ว่ากองข้าวโพด Control ซึ่งมีเชื้อจุลินทรีย์เจริญอยู่ทั่วทั้งกอง มีอุณหภูมิที่สูงกว่ากองที่รมด้วยก๊าซ CO_2 ซึ่งมีเชื้อจุลินทรีย์เจริญอยู่ในปริมาณที่ต่ำ

4. การตรวจสอบความชื้นในเมล็ด หลังการทดลองความชื้นในเมล็ดเฉลี่ยของกองข้าวโพดที่รมก๊าซเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจาก 27.10% เมื่อเริ่มต้นการทดลองเป็น 27.58-29.16% (Table 5) ส่วนกองข้าวโพดในสภาพบรรยากาศปกติไม่สามารถทำการตรวจสอบได้ การที่ความชื้นของข้าวโพดสูงขึ้น อาจเนื่องมาจากเกิดการถ่ายเทความชื้นระหว่างเมล็ดภายในกองทำให้ความชื้นเฉลี่ยภายในกองสูงขึ้น

5. การประเมินลักษณะและคุณภาพของข้าวโพด ข้าวโพดในกองที่รมด้วยก๊าซ CO_2 เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่ายังมีสีเหลืองมันเป็นประกาย และเมล็ดที่บริเวณยังเลื่อนไหลเป็นปกติ แต่มีกลิ่นเปรี้ยวเล็กน้อยในขณะที่ข้าวโพดจากกอง Control พบเชื้อราเข้าทำลายเกือบทั่วทั้งกอง โดยเฉพาะบนเมล็ดแตกสามารถมองเห็นเชื้อราที่มีสีเขียวได้อย่างชัดเจน เมล็ดในกองเริ่มจับตัวกันเป็นก้อนและมีกลิ่นเหม็นหืน

กลิ่นเปรี้ยวที่เกิดขึ้นในกองข้าวโพดเป็นกลิ่นของแอลกอฮอล์ ที่เกิดจากการหายใจแบบไม่ใช้ O_2 และไม่เป็นอันตรายต่อการใช้เป็นอาหารสัตว์ กลิ่นนี้จะหายไปเมื่อลดความชื้นในเมล็ดลงเหลือ 18% โดยการตากแดด จากการศึกษาของ Wilson *et al.* (1977) ในการเลี้ยงหมูและไก่จากอาหารที่ผสมด้วยข้าวโพดซึ่งเก็บด้วยวิธีต่างๆ กัน พบว่าหมูและไก่ชอบกินอาหารที่ผสมด้วยข้าวโพดที่เก็บแบบปรับสภาพอากาศ(นาน 35 วัน) และข้าวโพดแห้ง มากกว่าข้าวโพดที่คลุกด้วย 0.8% propionic acid และไม่พบความแตกต่างในการย่อยอาหาร และจากการศึกษาของ Hale *et al.*(1978) พบว่าหมูชอบกินอาหารที่ผสมด้วยข้าวโพดที่เก็บในสภาพปรับอากาศ (109 วัน) และข้าวโพดแห้งมากกว่าข้าวโพดที่คลุกด้วย 0.95% propionic acid และยังพบว่ามีความสามารถในการย่อย crude protein ในอาหารที่ผสมด้วยข้าวโพดจากการเก็บในสภาพปรับอากาศ และที่คลุกด้วย propionic acid ดีกว่าอาหารที่มีข้าวโพดแห้งผสมอยู่ ส่วนอาหารชนิดอื่นไม่พบความแตกต่าง Siriacha (1992) รายงานว่าการใช้อาหารที่ผสมด้วยข้าวโพดที่มีความชื้นสูง ที่เก็บในถุงพลาสติกในสภาพขาด O_2 สามารถใช้เป็นอาหารเลี้ยงไก่ โดยไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพของเนื้อไก่

สรุปผลการทดลอง

1. การรมกองข้าวโพดที่มีความชื้นสูง ด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ในทุกอัตราไม่มีความแตกต่างกันตั้งแต่ 0.5 กก./เมล็ด 1 ตัน สามารถป้องกันและหยุดการเจริญของเชื้อรา และการปนเปื้อนของสารพิษแอฟลาทอกซินในข้าวโพด หลังจากการกะเทาะได้ในระยะเวลาอย่างน้อย 5 วัน

2. เมล็ดแตกที่เกิดจากการกะเทาะ เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เชื้อ *A. flavus* สามารถเข้าทำลายได้ง่ายและรวดเร็วขึ้น

3. กลิ่นเปรี้ยวของกองข้าวโพดเกิดจากการหายใจโดยไม่ใช้ออกซิเจน สามารถใช้เป็นอาหารสัตว์ โดยไม่มีผลกระทบต่อการเจริญ และคุณภาพอาหารสัตว์

4. การป้องกันการเน่าเสียของข้าวโพด จากการเข้าทำลายของเชื้อรา และการปนเปื้อนของสารพิษแอฟลาทอกซินในข้าวโพด โดยการรมด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ มีความเป็นไปได้จริงและเหมาะที่จะแนะนำให้พ่อค้าคนกลางนำไปปฏิบัติ เพราะเป็นวิธีการที่สะดวก สามารถรมข้าวโพดได้ครั้งละมากๆ และมีต้นทุนต่ำ เพราะมีอุปกรณ์ที่จำเป็นเพียง ผืนพลาสติก ถังบรรจุก๊าซ สายยางปล่อยก๊าซ และเครื่องชั่งเท่านั้น

คำนิยม

ขอขอบคุณกลุ่มงานวิจัยผลิตผลการเกษตร กองโรคพืชและจุลชีววิทยา ที่ให้ความอนุเคราะห์ตรวจสอบปริมาณสารแอฟลาทอกซินในข้าวโพด

เอกสารอ้างอิง

พรรณิภา ปรัชญา. 2529. ผลของวันปลูก วันเก็บเกี่ยวและสภาพการเก็บรักษาต่อปริมาณแอฟลาทอกซินในเมล็ดข้าวโพด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 85 หน้า.

วีรวัฒน์ นิลรัตนคุณ, วันเพ็ญ ศรีทองชัย, อาคม สุ่มมาตย์ และอำนวย ทองดี. 2535. การป้องกันการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินในข้าวโพดโดยใช้ก๊าซ O_2 หรือ N_2 รมกองข้าวโพด. สรุปผลงานวิจัยข้าวโพดข้าวฟ่าง, การประชุมวิชาการข้าวโพดข้าวฟ่างแห่งชาติครั้งที่ 23. กรมวิชาการเกษตร, กรมส่งเสริมการเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, โรงแรมแกรนจอมเทียนพาเลซ พัทยา ชลบุรี หน้า 14.

Christensen, C. M. and H. H. Kuafmann. 1969. Grain Storage-The Role of Fungi in Quality Loss. University of Press. Minneapolis. 53 pp.

Golumbic, C. and Martin M. Kulic. 1969. Fungal Spoilage in Store Crops and Its Control. Aflatoxin. Scientific Background, Control and Implication. Academic Press. USA. 458 pp.

Goto, T., S. Kawasugi, O. Tsuruta, P. Siriacha, D. Buangsuwan. and M. Manabe.1986. Aflatoxin Contamination of Maize in Thailand 2. Aflatoxin Contamination of Maize Harvest in Rainy Seasons of 1984 and 1985. *In* Proceeding of Japanese Association of Mycotoxicology. No. 24 Japan.

Hale, O.M., D.M. Wilson and E. Jay. 1978. Acceptability and digestibility of swine diets containing corn stored under different conditions. *J. of Animal Sci.* 47(1): 47-50

Harteveld, K. 1984. Maize Production and Marketing in Thailand: Implications as Regards Drying Methods. Part I. Draft Final Report. Royal Tropical Institute, Rural Development Program, The Netherlands. 60 pp.

Japan International Co-operative Agency. 1984. The Report for the Technical Co-operation Project on Maize Development in Thailand 1971-1984. Japan International Co-operation Agency, Bangkok. 211 pp.

Kawashima, K., P. Siriach, S. Kawasugi, M. Saito, H. Okasaki, P. Tonboon-EK, M. Manabe and D. Buangsuwon. 1990a. Distribution and storage test of high moisture maize in plastic bag. *In* Study on Quality Preservation of Maize by the Prevention of Aflatoxin Contamination in Thailand Part II. Cooperative Research work between DOA, Thailand and TARC, Japan. p. 155-167.

———.1990b. Effect of moisture content of maize to the infection by *Aspergillus flavus* and Aflatoxin contamination. *In* Study on Quality Preservation of Maize by the Prevention of Aflatoxin Contamination in Thailand Part II. Cooperative Research Work between DOA, Thailand and TARC, Japan. p. 97-109.

———.1990c. Post harvest contamination of Thai maize with *Aspergillus flavus. In* Study on Quality Preservation of Maize by the Prevention of Aflatoxin Contamination in Thailand Part II. Cooperative Research Work between DOA, Thailand and TARC, Japan. p. 74-96.

———.1990d. Effect of alcohols to the infection of *Aspergillus flavus* and aflatoxin contamination in high moisture content maize. *In* Study on Quality Preservation of Maize by the Prevention of Aflatoxin Contamination in Thailand Part II. Cooperative Research Work between DOA, Thailand and TARC, Japan. p. 135-144.

———.1990e. Interview to local middlemen and brokers-flow of high moisture. *In* Study on Quality Preservation of Maize by the Prevention of Aflatoxin Contamination in Thailand Part II. Cooperative Research Work between DOA, Thailand and TARC, Japan. p 20-73.

Kositcharoenkul, S., K. Bhudhasamai, P. Tanboo-Ek, O. Tsuruta, and K. Arai. 1992. *Aspergillus flavus* infection and aflatoxin contamination of maize in Thailand. Research Report on Maize Quality Improvenment Research Center Project. DOA, Thailand JICA, Japan. p. 13-22.

Siriacha, P., A. Wongurai, P. Tanboon-ek and D. Buangsuwan. 1983. Incidence of Aflatoxin in Corn. Paper Presented at the regional Grain Post-harvest Workshop. May, 3-6 1983. Punack, Indonesia, 14 pp.

Siriacha, P. 1985. Survey of Aflatoxin in Maize. Seminar on Progress of Post Harvest Research. 10-12 July 1985. Department of Agriculture, 11 pp.

Siriacha, P. 1992. Control of *Aspergillus flavus* and aflatoxin contamination in high moisture maize by airtight storage. Research Report on Maize Quality Improvement Research Centre Project. DOA, Thailand/ JICA, Japan. pp. 81-103

Thai-U.K. Project. 1986. Aflatoxin in Maize in Thailand. Phase II. Rural Investment Overseas Limited. England. 186 pp.

Tsuruta, O., S. Kawasugi, M. Saito and M. Manabe. 1985. An Examination on *Aspergillus flavus* Infection of Thailand Maize. *In* Proceeding of Japanese Association of mycotoxicology. No. 21. Japan. p. 32-33

Wallace, H.A.H..1971. Fungi Associated with Stored Grain. Grain Storage-Part of a System. London. p. 71-98.

Wilson, D.M. and E. Jay. 1975. Influence of modified atmosphere storage on aflatoxin production in high moisture corn. *App. Microbiology.* 29 (2) : 224-228.

Wilson, D.M., E. Jay, O.M. Hale and L. Huang 1977. *Ann. of Technol. Agric.* 27(3) : 339-342.