



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การพัฒนากระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์น้ำพริกแกงแดง
เพื่อลดปริมาณอะฟลาทอกซิน

โดย ดร.กนิฐพร วังไ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร
คณะอุตสาหกรรมเกษตร ม.เกษตรศาสตร์

สิงหาคม 2557

สัญญาเลขที่ MRG5580214

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

**โครงการ การพัฒนากระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์น้ำพริกแกงแดง
เพื่อลดปริมาณอะฟลาทอกซิน**

ดร. กนิษฐพร วังใน
ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร
คณะอุตสาหกรรมเกษตร ม.เกษตรศาสตร์

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา
สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกอ. และ สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : MRG5580214

ชื่อโครงการ : การพัฒนากระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์น้ำพริกแกงแดงเพื่อลดปริมาณอะฟลาทอกซิน

ชื่อนักวิจัย : ดร. กนิษฐพร วังโน

อีเมลล์ : fagikpp@ku.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : 2 ปี (2 กรกฎาคม 2555 – 1 กรกฎาคม 2557)

บทคัดย่อ:

อะฟลาทอกซิน B₁ เป็นสารพิษจากเชื้อรา *Aspergillus* ที่มีความเป็นพิษสูงที่สุดและจัดเป็นสารก่อมะเร็ง พริกแกงแดง (red curry paste) เป็นเครื่องแกงชนิดหนึ่งที่นิยมใช้ในการปรุงอาหารของคนไทย จากรายงานการตรวจปริมาณการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินในพริกแกงแดงในประเทศไทย พบว่าตัวอย่างพริกแกงแดงร้อยละ 40-60 มีการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซิน ซึ่งส่วนใหญ่เกิดจากพริกแห้งซึ่งเป็นวัตถุดิบหลัก ดังนั้นการหาวิธีในการลดปริมาณอะฟลาทอกซินในพริกแห้งซึ่งเป็นวัตถุดิบเพื่อนำมาผลิตพริกแกงแดงเป็นสิ่งจำเป็นยิ่ง งานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาการใช้สารเคมีในการล้างร่วมกับการให้ความร้อนที่เหมาะสมต่อการลดปริมาณอะฟลาทอกซินในพริกแห้งเพื่อนำไปใช้ในการผลิตพริกแกงแดง โดยส่งผลกระทบต่อคุณภาพทางเคมี กายภาพและประสาทสัมผัสน้อยที่สุด จากการเปรียบเทียบแช่พริกแห้งในสารเคมี 3 กลุ่ม ประกอบด้วย สารเคมีประเภทกรด (กรดซิตริก, กรดแอสซิติค) ต่าง (โซเดียมไบคาร์บอเนต, แคลเซียมไฮดรอกไซด์) และสารออกซิไดส์ (โซเดียมไฮโดรซัลไฟต์, โซเดียมไฮโปคลอไรต์) ที่ความเข้มข้น 0.5 และ 2% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่าสารเคมีดังกล่าวสามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซิน B₁ ได้ 40-72% โดยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% สามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซิน B₁ ได้ดีที่สุด (72.1%) โดยไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพของพริกแกงแดง (ค่าสี ปริมาณแคปไซซิน และปริมาณของสารประกอบฟีนอลรวม) และจากการศึกษาการแช่พริกแห้งในสารละลายนี้ร่วมกับการให้ความร้อน (ลวกด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90 และ 100°C และลวกด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 10 และ 20 นาที) พบว่าความร้อนช่วยกำจัดอะฟลาทอกซิน B₁ ได้มากขึ้น โดยวิธีการให้ความร้อนที่เหมาะสมที่สุดคือการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 20 นาที ซึ่งสามารถลดการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซิน B₁ ในพริกแกงแดงได้ถึง 82.9% โดยไม่มีผลต่อคุณภาพทางกายภาพและประสาทสัมผัส อย่างไรก็ตามวิธีการนี้มีผลทำให้สารประกอบฟีนอลรวมและแคปไซซิน ลดลง 23.8% และ 73.2% ตามลำดับ เมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ใช้สารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์เพียงอย่างเดียว ดังนั้นการนำพริกแห้งมาแช่ในสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นให้ความร้อนโดยการลวกในน้ำร้อน อุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 20 นาที เป็นวิธีการที่เหมาะสมที่สุดในการลดการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน B₁ ในพริกแห้งที่เป็นวัตถุดิบในการผลิตพริกแกงแดง ซึ่งวิธีดังกล่าวนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ทั้งในระดับครัวเรือนและอุตสาหกรรมเพื่อเพิ่มความปลอดภัยให้กับผู้บริโภคในการบริโภคพริกแห้งและผลิตภัณฑ์ต่อไปได้

คำหลัก: อะฟลาทอกซิน, พริกแกงแดง, พริกแห้ง, สารเคมี, ความร้อน

Abstract

Project Code : MRG5580214

Project Title : Development of processing procedures on the reduction of aflatoxins
in red curry paste

Investigator : Kanithaporn Vangnai, Ph.D.

E-mail Address : fagikpp@ku.ac.th

Project Period : 2 years (2 July 2012 – 1 July 2014)

Abstract:

More than 30% of red curry paste sold in Thailand were reported to be contaminated with aflatoxin B₁ (AFB₁), a potent human carcinogen, exceeded the standard levels. Dried red chili, a major ingredient of red curry paste, has been reported as a main contamination source. In our study, AFB₁ artificially contaminated dried red chili was treated with various chemicals including acidic compounds (citric acid and acetic acid), alkaline compounds (sodium bicarbonate and calcium hydroxide), and oxidizing agents (sodium hydrosulfite and sodium hypochlorite) at 0.5 and 2% before applying heat treatments (blanching at 90 or 10 °C and steaming at 100°C, for 10 and 20 min). Maximal reductions of AFB₁ (82.9% reduction) were achieved when dried red chili was treated with 0.5% calcium hydroxide for 2 hrs before blanching at 90°C for 20 min without changing the physical and sensory properties of red curry paste. However, there was an impact on the levels of total phenolic compounds (23.8% reduction) and capsaicin (73.2% reduction). This treatment is an appropriate method for decontamination of AFB₁ in red curry paste and can be further applied for domestic and industry levels which will improve the safety of the consumption of red curry paste in Thailand.

Keywords : aflatoxin, reduction, red curry paste, dried red chili

บทสรุปผู้บริหาร

อะฟลาทอกซิน B₁ เป็นสารพิษจากเชื้อรา *Aspergillus* ที่มีความเป็นพิษสูงที่สุดและจัดเป็นสารก่อมะเร็ง พริกแกงแดง (red curry paste) เป็นเครื่องแกงชนิดหนึ่งที่นิยมใช้ในการปรุงอาหารของคนไทย จากการศึกษาด้านระบาดวิทยาพบว่าการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินมีความสัมพันธ์อย่างมากกับการเกิดโรคมะเร็งตับ จากรายงานการตรวจปริมาณการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินในพริกแกงแดงในประเทศไทย พบว่าตัวอย่างพริกแกงแดงร้อยละ 40-60 มีการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซิน โดยทั่วไปการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินในพริกแกงแดงเกิดจากการที่วัตถุดิบหลักคือพริกแห้งมีปริมาณอะฟลาทอกซินที่สูง โดยจากผลการสำรวจพริกแห้งทั้งเมล็ดในระหว่างปี พ.ศ. 2537 ถึง พ.ศ. 2544 พบว่า ร้อยละ 11 ของกลุ่มตัวอย่างมีการปนเปื้อนเกินกว่าที่มาตรฐานกำหนด ดังนั้นการหาวิธีในการลดปริมาณอะฟลาทอกซินในพริกแห้งซึ่งเป็นวัตถุดิบเพื่อนำมาผลิตพริกแกงแดงเป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่ง ทั้งนี้เพื่อหาแนวทางให้ผู้ผลิตพริกแกงแดง และเพิ่มความปลอดภัยให้กับผู้บริโภคต่อไป

จากการศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสารเคมีที่เหมาะสมในการกำจัดอะฟลาทอกซิน B₁ โดยส่งผลกระทบต่อคุณภาพของพริกแห้งน้อยที่สุดโดยเปรียบเทียบการแช่พริกแห้งในสารเคมี 3 กลุ่ม ประกอบด้วย สารเคมีประเภทกรด (กรดซิตริก, กรดแอสซิดิก) ด่าง (โซเดียมไบคาร์บอเนต, แคลเซียมไฮดรอกไซด์) และสารออกซิไดส์ (โซเดียมไฮโตรซัลไฟต์, โซเดียมไฮโปคลอไรต์) ที่ความเข้มข้น 0.5 และ 2% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่าการแช่พริกแห้งในสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% สามารถลดอะฟลาทอกซิน B₁ ได้สูงถึง 72.1% โดยไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพทางกายภาพและคุณภาพทางเคมีของพริกแห้ง และจากการศึกษาการแช่พริกแห้งในสารละลายนี้ร่วมกับการให้ความร้อน (ลวกด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90 และ 100°C และลวกด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 10 และ 20 นาที) พบว่าความร้อนช่วยกำจัดอะฟลาทอกซิน B₁ ได้มากขึ้น โดยวิธีการให้ความร้อนที่เหมาะสมที่สุดคือการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 20 นาที ซึ่งสามารถลดการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซิน B₁ ได้ถึง 82.9% ดังนั้นการนำพริกแห้งมาแช่ในสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นให้ความร้อนโดยการลวกในน้ำร้อน อุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 20 นาที จึงเป็นวิธีการที่เหมาะสมที่สุดในการลดการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน B₁ ในพริกแห้ง และจากการนำพริกแห้งที่แช่และให้ความร้อนที่สภาวะนี้มาเตรียมเป็นพริกแกงแดงสำหรับทำน้ำแกงแดงมาทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่าผู้บริโภคไม่สามารถแยกความแตกต่างกับแกงแดงที่เตรียมจากพริกแกงแดงสูตรปกติได้

การศึกษานี้เป็นประโยชน์อย่างยิ่งสำหรับอุตสาหกรรมการผลิตพริกแกง ซึ่งในกระบวนการผลิตพริกแกงในระดับอุตสาหกรรมจะมีขั้นตอนการล้างเพื่อล้างสิ่งปนเปื้อนออกจากพริกแห้ง และมีการให้ความร้อนแก่พริกแห้งเพื่อทำลายเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส

(polyphenoloxiase) เป็นการป้องกันการเกิดสีน้ำตาลในผลิตภัณฑ์พริกแกงอยู่แล้วดังนั้นเพียงเพิ่มขั้นตอนการแช่พริกแห้งในสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% ก่อนขั้นตอนการล้าง จะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์พริกแกงที่มีความปลอดภัยจากสารพิษอะฟลาทอกซิน B₁ แก่ผู้บริโภคมากขึ้น

สำหรับข้อเสนอแนะเพิ่มเติมในการศึกษานี้ คือ ควรมีการศึกษาด้านความเป็นพิษและโครงสร้างโมเลกุลของอะฟลาทอกซิน B₁ ที่เปลี่ยนแปลงภายหลังจากที่พริกแห้งผ่านการแช่ในสารเคมีและให้ความร้อน เพื่อให้เกิดความชัดเจนเชิงลึกมากขึ้น

บทนำ

1. อะฟลาทอกซิน

สารพิษอะฟลาทอกซินนี้สร้างขึ้นจากเส้นใยของเชื้อราในสกุล *Aspergillus* ได้แก่ *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* และ *Aspergillus nomius* ที่มักพบในอาหารและผลิตผลทางการเกษตรที่มีความชื้น และมีกระบวนการผลิตและการเก็บรักษาที่ไม่ดีพอ อาทิเช่น ถั่ว ถั่วลิสง ข้าวโพด ข้าวสาลี ข้าวฟ่าง เครื่องเทศ และถั่วชนิดต่างๆ โดยสารพิษอะฟลาทอกซินนี้จัดเป็นสารเคมีอินทรีย์ที่เกิดขึ้นจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโมเลกุลหรือการเมแทบอลิซึมชนิดทุติยภูมิของเชื้อรา (secondary metabolism) (อนงค์, 2546; Coppock *et al.*, 2012) ซึ่งสารพิษอะฟลาทอกซิน เป็นสารพิษสำคัญที่สุดที่พบในอาหารมนุษย์และอาหารสัตว์ (Diener *et al.*, 1987; Williams *et al.*, 2004; Strosnider *et al.*, 2006) สารพิษนี้ส่งผลเสียต่อสุขภาพทั้งในมนุษย์ สัตว์ และสิ่งมีชีวิตอื่นๆ เนื่องจากสารพิษอะฟลาทอกซินมีความเป็นพิษต่อตับ (hepatotoxins) กดภูมิคุ้มกัน (immunosuppressants) ทำให้เกิดการก่อกลายพันธุ์ (mutagens) เป็นสารที่ก่อให้เกิดลูกวิรูป คือ ก่อให้เกิดความผิดปกติต่อทารกที่เกิดจากบิดาหรือมารดาที่ได้รับสารพิษอะฟลาทอกซินเข้าสู่ร่างกาย เป็นสารก่อมะเร็ง (carcinogens) และมีความเชื่อมโยงกับความผิดปกติของการเจริญเติบโต ซึ่งทำให้เกิดลักษณะแคระแกรน รวมทั้งมีผลทำให้เกิดการหย่อนสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ได้ (Robens and Richard, 1992; Eaton and Gallagher, 1994; Bennett and Klich, 2003; Shuaib *et al.*, 2010)

สารพิษอะฟลาทอกซินมีผลกระทบต่อสุขภาพทั้งแบบเฉียบพลันและแบบเรื้อรัง มีประชากรประมาณ 4.5 ล้านคนที่ได้รับสารพิษนี้แบบเรื้อรังจากการที่ไม่สามารถควบคุมการปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซินได้ (Williams *et al.*, 2004) และยังพบว่าประชากรมีความเสี่ยงที่จะได้รับสารพิษอะฟลาทอกซินแบบเรื้อรังมากกว่า 5 ล้านคน (Khlanguiset and Wu, 2010) เนื่องจากการปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซินทั้งในวัตถุดิบทางการเกษตรและอาหารที่ผ่านการแปรรูปแล้ว ดังนั้นในแต่ละประเทศทั่วโลกจึงได้กำหนดปริมาณการปนเปื้อนที่ยอมรับได้สูงสุดของสารพิษอะฟลาทอกซินในอาหาร และอาหารสัตว์ ซึ่งประเทศไทยได้กำหนดให้ปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินที่ยอมรับได้สูงสุด คือ 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม

สารพิษอะฟลาทอกซินที่พบส่วนใหญ่มี 4 ชนิด คือ อะฟลาทอกซิน บี₁ (Aflatoxin B₁, AFB₁) อะฟลาทอกซิน บี₂ (Aflatoxin B₂, AFB₂) อะฟลาทอกซิน จี₁ (Aflatoxin G₁, AFG₁) และอะฟลาทอกซิน จี₂ (Aflatoxin G₂, AFG₂) อะฟลาทอกซินเหล่านี้เป็นสารเคมีอินทรีย์ที่เกิดขึ้นจากการเมแทบอลิซึมชนิดทุติยภูมิของเชื้อรา อะฟลาทอกซินเป็นสารพวก บิส-ฟิวราโน-ไอโซคุ

มาริน (bis-furano-isocoumarin) เชื่อมกับวงแหวนไฮโคลเพนตีโนน ได้เป็นอะฟลาทอกซินชนิด B หรือเชื่อมกับวงแหวนแลคโตน ได้เป็นอะฟลาทอกซินชนิด G ในการสังเคราะห์สารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา นั้น เริ่มจากมีสารตั้งต้น คือ กลีโอะแอซีเตต และกลีโอะมาโลเนต ถูกกระตุ้นด้วยโคเอนไซม์เอ (CoA) ได้เป็นแอซีติลโคเอ (acetyl-CoA) และมาโลนิลโคเอ (malonyl-CoA) ต่อมาสารทั้งสองจะรวมตัวกันได้เป็นสารชนิดใหม่ของไดคีไทด์ (diketides) หรือแอโทแอซีติลโคเอ และปล่อยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ในปฏิกิริยารวมตัวทุกครั้ง หมู่แอซีติลจะถูกเติมลงในสารตัวกลางคีไทด์เพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ จนได้เป็นเดคะคีไทด์ (decaaketides) และจะมีปฏิกิริยาผ่านตัวกลางอีกหลายชนิด ซึ่งสารตัวกลางเหล่านี้จะถูกดีคาร์บอกซีเลต (decarboxylate) ถูกออกซิไดส์และด้วยปฏิกิริยาทางเคมีต่างๆ จะเกิดเป็นวงแหวนกลายเป็นสารพิษอะฟลาทอกซินได้ (Bhatnagar *et al.*, 1991) จากนั้นเมื่ออะฟลาทอกซินเหล่านี้ผ่านกระบวนการเมแทบอลิซึมภายหลังจากการที่ได้รับเข้าสู่ร่างกายคน หรือสัตว์ จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโมเลกุลไปจากเดิม เรียกสารพิษโครงสร้างโมเลกุลใหม่นี้ว่า อะฟลาทอกซินเมแทบอลไลท์ (Aflatoxin metabolites) หรือ อะฟลาทอกซิน M มี 2 ชนิด คือ อะฟลาทอกซิน M₁ และ M₂ โดยอะฟลาทอกซิน M₁ เป็นอะฟลาทอกซินเมแทบอลไลท์ของอะฟลาทอกซิน B₁ ส่วนอะฟลาทอกซิน M₂ คือ สารไฮดรอกซีเลต (Hydroxylated) ของอะฟลาทอกซิน B₂ ซึ่งคุณสมบัติการเรืองแสงอาจมีการเปลี่ยนแปลงหรือไม่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิมและทำให้ความเป็นพิษลดลงได้ เช่น อะฟลาทอกซิน M₁ มีความเป็นพิษน้อยกว่า อะฟลาทอกซิน B₁ โดยพบว่าอะฟลาทอกซิน M₁ และ M₂ มักปนเปื้อนมากับน้ำมันทั้งในน้ำมันคน และน้ำมันวัว (Garrido *et al.*, 2003; Wu *et al.*, 2009; Coppock *et al.*, 2012)

2. ความเป็นพิษของอะฟลาทอกซิน

สารพิษอะฟลาทอกซินมีความเป็นพิษได้ทั้งแบบเฉียบพลัน และแบบเรื้อรัง โดยอาการเกิดพิษแบบเฉียบพลัน (acute aflatoxicosis) มักเกิดในเด็กมากกว่าผู้ใหญ่ อาการที่เกิดจากการได้รับสารพิษอะฟลาทอกซินในเด็กมักมีอาการคล้ายคลึงกับโรค Reye's syndrome คือ มีอาการชักและหมดสติได้ เนื่องจากมีความผิดปกติของตับและสมอง น้ำตาลในเลือดลดต่ำลง สมองบวม เกิดการสะสมไขมันที่ตับ ไต หัวใจ และปอด โดยที่ในผู้ใหญ่จะพบอาการตับวายเฉียบพลัน มีการตกเลือดภายใน เนื้อตายที่ตับ มีอาการบวม น้ำ หายใจลำบาก หมดสติ เมื่อได้รับอะฟลาทอกซินปริมาณมาก และเสียชีวิตในที่สุดหากไม่ได้รับการรักษาอย่างทันท่วงที ดังในรายงานของ Wild and Gong (2010) กล่าวว่าถ้ามนุษย์ได้รับสารพิษอะฟลาทอกซินมากกว่า 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักร่างกายต่อวัน จะมีผลรุนแรงต่อมนุษย์ และตายได้ภายใน 7 - 21 วัน ส่วนการเกิดพิษแบบเรื้อรัง (chronic aflatoxicosis) เป็นอาการที่เกิดความผิดปกติที่เซลล์ตับ โดยเซลล์ตับจะเกิดการเปลี่ยนแปลงกลายเป็นเซลล์มะเร็งที่ตับได้ อีกทั้งยังทำให้ระบบภูมิคุ้มกันของ

ร่างกายลดต่ำลง โปรตีนในเลือดลดต่ำลง เกิดอาการเจ็บป่วยง่าย (Li *et al.*, 2001) ปัจจัยที่มีผลต่อระดับการเกิดพิษคือ อายุ เพศ ฮอร์โมน การทำงานของเอนไซม์ต่างๆในตับ การบริโภคอาหาร และปริมาณสารพิษที่ได้รับเข้าสู่ร่างกาย อะฟลาทอกซินเป็นสารก่อมะเร็งจากธรรมชาติที่รุนแรงที่สุด จะเห็นได้จากการที่องค์กร International Agency for Research on Cancer (IARC) ได้จัดให้สารพิษอะฟลาทอกซิน B₁ เป็นสารก่อมะเร็ง (Carcinogenic potential) ในมนุษย์กลุ่มที่ 1 (Group 1: Carcinogenic to humans) โดยเฉพาะโรคมะเร็งตับชนิด Hepatocellular carcinoma (HCC) ซึ่งเป็นโรคมะเร็งที่พบมากเป็นอันดับ 8 ของโลก โรคมะเร็งตับชนิด HCC นี้มีสาเหตุมาจากอะฟลาทอกซิน B₁ กับเชื้อไวรัส hepatitis B virus (HBV) ที่ไปมีผลทำให้เกิดความผิดปกติที่เซลล์ตับ (Basappa, 2009)

ในประเทศไทยพบอุบัติการณ์ที่เกิดจากสารพิษอะฟลาทอกซิน โดยพบการเกิดอาการของโรค Reye's syndrome ในเด็กอายุระหว่าง 1-7 ปี ซึ่งมีอาการคลื่นไส้ ชักกระตุกหมดสติ และตายภายในระยะเวลา 24-48 ชั่วโมง มีสาเหตุเนื่องจากบริโภคข้าวเหนียวหนึ่งค่างคืนที่มีการปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซิน ในปี พ.ศ. 2514 ที่จังหวัดอุดรธานี ผลการตรวจพบว่าผู้เสียชีวิตสมองบวม ตับถูกทำลาย ตับมีขนาดโตผิดปกติ ต่อมาน้ำเหลืองบวม บริเวณไตและกล้ามเนื้อหัวใจผิดปกติ และมีไขมันสะสมในตับ (ทิพยา และคณะ, 2530; สุรลักษณ์, 2538)

มีรายงานว่าในประเทศเคนยา ปี ค.ศ.1981 เกิดโรคอะฟลาทอกซิโคซิส (aflatoxicosis) ระบาดอย่างรุนแรง เนื่องจากการบริโภคข้าวโพดที่มีการปนเปื้อนของสารพิษอะฟลาทอกซิน และยังพบว่าโรคมะเร็งเป็นสาเหตุอันดับสองของการเสียชีวิตของประชาชนในประเทศบราซิล โดย 4% ของประชาชนชาวบราซิลที่เสียชีวิตด้วยโรคมะเร็ง เป็นการเสียชีวิตจากโรคมะเร็งตับชนิด HCC (Basappa, 2009)

3. การลดปริมาณการปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซิน

วิธีลดการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในพืชผลทางการเกษตรและอาหารสามารถทำได้หลายวิธี โดยแต่ละวิธีนั้นจำเป็นต้องเป็นวิธีการที่ดี คือเป็นวิธีที่ไม่ผิดข้อกำหนดที่กฎหมายได้กำหนดไว้ สามารถลดระดับการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินให้อยู่ในระดับที่ปลอดภัยและยอมรับได้ และควรมีต้นทุนในการดำเนินงานที่เหมาะสมด้วย ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น วิธีทางกายภาพ วิธีทางเคมี และวิธีทางชีวภาพ ดังนี้

3.1 วิธีทางกายภาพ

การลดการปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซินในอาหารด้วยวิธีทางกายภาพ ประกอบด้วยการคัดเลือกวัตถุดิบ การใช้ความร้อน มีรายละเอียดดังนี้

3.1.1 การคัดเลือกวัตถุดิบ

การคัดเลือกวัตถุดิบที่เสื่อมสภาพ แตกหักหรือมีเชื้อราออก เพื่อเป็นการลดการปนเปื้อนและการแพร่กระจายของเชื้อราและสารพิษอะฟลาทอกซินในวัตถุดิบกลุ่มเดียวกัน ดังเช่น มีการคัดแยกเมล็ดถั่วลิสงดิบที่มีตำหนิออก ลักษณะถั่วลิสงที่มีตำหนิได้แก่ ถั่วลิสงที่มีเมล็ดเหี่ยว เมล็ดมีตำหนิเนื่องจากแมลงหรือเครื่องจักร เมล็ดมีเยื่อหุ้มเมล็ดไม่สมบูรณ์ สีเยื่อหุ้มเมล็ดผิดปกติ มีการงอกของเมล็ดและเชื้อราให้เห็น การคัดแยกถั่วลิสงด้วยวิธีดังกล่าวนี้จะช่วยลดปริมาณการปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงได้ (สุดาทิพย์, 2550)

3.1.2 การใช้ความร้อน

อะฟลาทอกซินจะมีความเสถียรในการให้ความร้อนแบบแห้ง มีจุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 260 °C ความไวของอะฟลาทอกซินต่อความร้อนจะขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม เช่น ความชื้น องค์ประกอบของอาหารชนิดนั้นๆ ระดับของอุณหภูมิ ระยะเวลาการให้ความร้อน และลักษณะการให้ความร้อน มีรายงานว่าต้องให้ความร้อนน้ำมันพืช (มะพร้าว ถั่วลิสง น้ำมันมะกอก) ถึงอุณหภูมิ 200°C เพื่อลดปริมาณอะฟลาทอกซิน (Basappa, 2009) และการอบพีแคน (peacans) ที่อุณหภูมิ 190°C เป็นเวลา 15 นาที สามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซินได้ 80% (Escher *et al.*, 1973)

ความร้อนขึ้นจะมีผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการกำจัดอะฟลาทอกซินได้ดีขึ้น เนื่องจากวงแหวนแลคโตนของโครงสร้างอะฟลาทอกซินถูกทำลายที่ระดับอุณหภูมิต่ำกว่า 260°C ทำให้ความเป็นพิษของอะฟลาทอกซินลดลง โดยปกติแล้วอุณหภูมิที่ใช้ในการแปรรูปอาหารนั้นจะอยู่ระหว่าง 80-200°C ซึ่งพบว่าสามารถลดอะฟลาทอกซินได้ 60% (สภาวะในห้องปฏิบัติการ) และมีบางรายงานที่กล่าวว่า การปรุงอาหารจากถั่วลิสง (ความชื้น 30%) ที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง สามารถลดอะฟลาทอกซินได้ 66% และเพียงลวกข้าวโพดก็สามารถลดอะฟลาทอกซินได้ 28% (Basappa, 2009)

ปัญญาภรณ์ (2555) รายงานว่า การต้มถั่วลิสงที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 60 นาที สามารถลดอะฟลาทอกซิน B_1 ได้ 77% ในขณะที่การคั่วถั่วลิสงที่อุณหภูมิ 170 และ 200°C เป็นเวลา 50 และ 15 นาที สามารถลดอะฟลาทอกซิน B_1 ได้ 36 และ 55% ตามลำดับ อีกทั้งการทอด และบดผัดพริกแห้งด้วยน้ำมันที่อุณหภูมิ 150 และ 150°C เป็นเวลา 3 และ 15 นาที ตามลำดับ สามารถลดอะฟลาทอกซิน B_1 ได้ 53-67%

3.1.3 วิธีทางกายภาพอื่นๆ เช่น การฉายรังสีชนิด Gamma-rays สามารถลดการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินได้แต่วิธีการที่ใช้มีต้นทุนสูงและผู้บริโภคยังไม่ยอมรับวิธีฉายรังสีดังกล่าว และลดการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินด้วยแสงแดด หรือการฉายรังสีอัลตราไวโอเล็ต

3.2 วิธีทางเคมี

การลดการปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซินด้วยวิธีทางเคมีนี้สามารถแบ่งประเภทของสารเคมีที่ช่วยลดปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินเป็น 3 ประเภท ได้แก่ สารเคมีประเภทกรดต่าง และสารออกซิไดซ์ ซึ่งสารเคมีแต่ละประเภทจะมีการออกฤทธิ์ที่แตกต่างกันตามคุณสมบัติของสารเคมีประเภทนั้นๆ ดังนี้

3.2.1 กรด

สารเคมีประเภทกรดจะมีผลทำให้โครงสร้างโมเลกุลของอะฟลาทอกซิน B_1 และ G_1 เปลี่ยนไปกลายเป็นอะฟลาทอกซิน B_{2a} และ G_{2a} ในสภาวะที่มีน้ำ เนื่องจากโมเลกุลของน้ำไปจับกับพันธะคู่ที่วงแหวนฟูแรน ซึ่งกรดจะทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Jalili *et al.*, 2011) ซึ่งอะฟลาทอกซิน B_{2a} และ G_{2a} มีความรุนแรงน้อยกว่าอะฟลาทอกซิน B_1 และ G_1

มีรายงานว่า การใช้กรดซิตริก (citric acid) และ กรดแลคติก (lactic acid) ร่วมกับการแปรรูปแบบเอ็กซ์ทรูชันในข้าวฟ่าง สามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซินได้ 92% และ 67% ตามลำดับ (Mendez-Albores *et al.*, 2009) และยังพบอีกว่าเมื่อแช่พริกไทยขาวด้วยกรดซิตริก และกรดแอซิติก (acetic acid) ที่ความเข้มข้น 2% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง สามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซิน B_1 ได้ 28% และ 23% ตามลำดับ (Jalili *et al.*, 2011) นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้กรดซิตริกที่ความเข้มข้น 1% ล้างพริกแห้งในขั้นตอนการเตรียมพริกแกงจะช่วยลดการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในพริกแกงได้เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ผ่านการล้างด้วยน้ำเท่านั้น (Anupanpong *et al.*, 2010) และ King and Prudente (2005) รายงานว่าสารเคมีประเภทกรดประกอบด้วย anthranilic, benzoic, boric และ oxalic ที่ความเข้มข้น 5 นอร์มอล สามารถลด

ปริมาณอะฟลาทอกซิน B_1 (ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ในข้าวฟ่างได้มากกว่า 90% ถึงแม้ว่าสารเคมีประเภทกรดแก่จะสามารถลดปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน B_1 ได้ แต่กรดจะมีผลน้อยหรือไม่มีผลเลยต่อการลดปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน B_2 G_2 และ B_{2a}

3.2.2 ต่าง

สารเคมีประเภทต่าง เช่น โซเดียมไบคาร์บอเนต (sodium bicarbonate) แคลเซียมไฮดรอกไซด์ (calcium hydroxide) และแอมโมเนีย (ammonia) สารประเภทนี้จะช่วยลดปริมาณอะฟลาทอกซินได้โดยต่างจะไปจับกับวงแหวนแลคโตน ทำให้วงแหวนแลคโตนเปิดออกเกิดเป็นโครงสร้างโมเลกุลใหม่ เรียกว่า beta-keto acid ซึ่งสามารถละลายน้ำได้ดี ดังนั้นจึงล้างหรือกำจัดอะฟลาทอกซินออกได้โดยง่าย แต่โครงสร้างโมเลกุลดังกล่าวจะสามารถกลับสู่โครงสร้างเดิมได้เมื่ออยู่ในสภาวะกรด ทำให้อะฟลาทอกซินมีความเป็นพิษดังเดิมได้ มีการทดลองนำพริกไทยขาวมาแช่ในสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต แอมโมเนีย และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ที่ความเข้มข้น 2% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วล้างออกด้วยน้ำสะอาด พบว่าสามารถลดปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินได้ 33.8%, 46.8% และ 47.0% ตามลำดับ (Jalili *et al.*, 2011) Basappa (2009) รายงานว่าในกระบวนการผลิตขนมข้าวโพดอบกรอบ สามารถลดสารพิษอะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในข้าวโพดที่ความเข้มข้น 1,600 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมได้ 99% ซึ่งกระบวนการผลิตขนมข้าวโพดอบกรอบนั้นประกอบไปด้วย การลวกข้าวโพดใน โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 3% ที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 4 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำ แล้วอบที่อุณหภูมิ 121°C และนำไปทอดที่อุณหภูมิ 196°C เป็นเวลา 15 นาที เป็นขั้นตอนสุดท้าย

3.2.3 สารออกซิไดซ์

สารออกซิไดซ์สามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซินได้โดยที่สารออกซิไดซ์ไปจับกับพันธะคู่ที่วงแหวนฟูแรน ทำให้โครงสร้างของอะฟลาทอกซินเปลี่ยนไปความเป็นพิษของอะฟลาทอกซินจึงลดลง ดังเช่นการลดสารพิษอะฟลาทอกซินในถั่วลิสง โดยการต้มถั่วลิสงในน้ำเดือดที่มีสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ความเข้มข้น 10% ต้มเป็นเวลา 60 นาทีในสภาวะกรด (Conzane *et al.*, 2002) มีการทดลองใช้แก๊สโอโซนในการลดสารพิษอะฟลาทอกซิน B_1 ในพริกป่น โดยInan *et al.* (2007) รายงานว่าการใช้แก๊สโอโซนที่ความเข้มข้น 33 และ 66 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้สัมผัสกับพริกป่นเป็นเวลา 60 นาที สามารถลดปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน B_1 ได้ 80 และ 93% ตามลำดับ โดยไม่มีผลต่อสีและคุณภาพของพริก ญัฐพงษ์ และคณะ (2553) รายงานว่าการใช้แก๊สโอโซนที่ความเข้มข้น 120 มิลลิกรัมต่อลิตร รมพริกชี้หนูแห้งเป็นเวลา 60 นาที สามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์และสารพิษอะฟลาทอกซินจากปริมาณอะฟลา

ทอกซินเริ่มต้นเท่ากับ 5.4 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม หลังผ่านการรมด้วยแก๊สไอโซนปริมาณอะฟลาทอกซินลดลงเหลือเพียง 3.6 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และ Jalili *et al.* 2011 รายงานว่าเมื่อแช่พริกไทยขาวในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (sodium hypochlorite) และ โซเดียมไฮโดรซัลไฟท์ (sodium hydrosulfite) ความเข้มข้น 2% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วล้างออกด้วยน้ำสะอาด สามารถลดปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน ได้ 34.8-44.3% และ 25.0-36.8% ตามลำดับ

3.3 วิธีทางชีวภาพ

การลดและควบคุมเชื้อราและสารพิษอะฟลาทอกซินด้วยวิธีทางชีวภาพนั้น ทำได้โดยการใช้จุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เช่น แบคทีเรีย ยีสต์ รา แอคติโนมัยซิส และอื่นๆ มาทำการทดสอบความสามารถในการควบคุมหรือกำจัดเชื้อราและสารพิษอะฟลาทอกซิน หรือเปลี่ยนรูปแบบโครงสร้างของอะฟลาทอกซินให้มีความเป็นพิษลดลงดังเช่นการใช้ *Rhodococcus erythropolis* ซึ่งสร้างเอนไซม์ที่สามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซินได้ โดยไม่พบสารก่อกลายพันธุ์เมื่อตรวจวัดด้วยวิธี Ames test (Alberts *et al.*, 2006) และยังพบว่า *Bacillus subtilis* strain UTBSP1 สามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซิน B₁ ในถั่วพิสตาชิโอ (pistachio nut) ได้ 95% ในสภาวะที่เหมาะสม คือ ที่อุณหภูมิ 35-40°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดย *B. subtilis* strain UTBSP1 จะไปทำให้โครงสร้างของ อะฟลาทอกซิน B₁ เปลี่ยนแปลงไปเป็นโครงสร้างใหม่ที่ไม่มีความเป็นพิษ (Farzaneh *et al.*, 2012)

4. การปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซินในพริกแห้ง

พริกแห้ง (dried red chili) คือพริกที่ผ่านการตากแห้งหรืออบแห้งแล้ว มีความชื้นต่ำมาก มีสีแดง ปัญหาที่มักพบในพริกแห้งคือ มักมีการเจริญของเชื้อราในพริกแห้ง แล้วเกิดการสร้างสารพิษจากเชื้อรา เช่น อะฟลาทอกซิน B₁ เนื่องจากความชื้นระหว่างการเก็บรักษาและจากการทำแห้งไม่เพียงพอ จึงทำให้เกิดเชื้อราแล้วสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินขึ้นในระหว่างการเก็บรักษารวมถึงการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินในระหว่างกระบวนการเพาะปลูกที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนมากับพริกด้วย ดังนั้นเมื่อนำพริกแห้งมาแปรรูปเพื่อเป็นอาหารสำหรับบริโภค จึงทำให้เกิดการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในอาหารเหล่านั้นได้ โดยเฉพาะในพริกแห้งที่มีขนาดผลใหญ่ เนื้อหนา ทำให้ควบคุมความชื้นได้ยาก อาทิเช่น พริกพันธุ์บางช้าง จึงมักพบปัญหาการเกิดเชื้อรามากในพริกชนิดนี้ และพบว่า 8.3% ของตัวอย่างพริกแห้งมีการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินอยู่ในช่วงระดับความเข้มข้น 23-75 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม (Muansrijun *et al.*, 2009) และจากการสำรวจการปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซินในพริกแห้งแบบเมล็ดเต็ม และแบบป่นละเอียด พบว่ามีการปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซิน 12.26-61.28 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ในพริกแห้งเมล็ดเต็ม และ

7.84-14.40 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ในพริกป่นละเอียด (ดวงจันทร์ และวนิดา, 2545) และจากการสำรวจวัตถุดิบที่เป็นส่วนประกอบของพริกแกงเผ็ดแดงในเขตจังหวัดสุพรรณบุรี ซึ่งประกอบด้วยพริกแห้ง กระเทียม และพริกไทย มีการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน 100 50 และ 100% ตามลำดับ (กิตติรัตน์, 2551) ด้วยเหตุนี้จึงมีความพยายามที่จะหาวิธีการต่างๆ เพื่อป้องกันการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในพริกแห้ง อาทิเช่น การอบแห้ง การตัดก้าน และการเก็บรักษาไว้ในที่แห้ง เป็นต้น อย่างไรก็ตามวิธีการเหล่านี้ก็ไม่สามารถป้องกันและกำจัดอะฟลาทอกซินได้อย่างสมบูรณ์ ดังนั้นการศึกษาวิธีการที่เหมาะสมเพื่อช่วยลดหรือกำจัดอะฟลาทอกซินในระหว่างกระบวนการแปรรูปผลิตภัณฑ์จากพริกแห้งจึงมีความสำคัญอย่างยิ่งที่จะช่วยลดความเสี่ยงในการได้รับสารพิษอะฟลาทอกซินของผู้บริโภค อันตรายจากสารพิษอะฟลาทอกซินที่มีผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์และสัตว์อีกทั้งยังส่งผลให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจในด้านการเสื่อมเสียของผลิตผลทางการเกษตรและด้านการกีดกันทางการค้าด้วย

พริกแกงแดง (red curry paste) เป็นเครื่องแกงชนิดหนึ่งที่นิยมใช้ในการปรุงอาหารของคนไทย เช่น แกงเผ็ด ผัดเผ็ด เป็นต้น พริกแกงแดงมีส่วนผสม ประกอบด้วย พริกแห้ง กระเทียม หอมแดง ตะไคร้ ข่า และเครื่องเทศอื่นๆ สารอะฟลาทอกซิน จัดเป็นสารก่อมะเร็งที่สำคัญ จากการศึกษาด้านระบาดวิทยาพบว่าการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินมีความสัมพันธ์อย่างมากกับการเกิดโรคมะเร็งตับ จากรายงานการตรวจปริมาณการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินในพริกแกงแดงในประเทศไทย พบว่าตัวอย่างพริกแกงแดงร้อยละ 40-60 มีการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซิน ถึงแม้ว่าในมาตรฐานอุตสาหกรรมไทยและมาตรฐานสินค้าชุมชนจะมีการกำหนดปริมาณสูงสุดของอะฟลาทอกซินให้ได้ไม่เกิน 20 ppb แต่เนื่องจากอะฟลาทอกซินเป็นสารก่อมะเร็งที่มีความสามารถก่อกลายพันธุ์ร่วมด้วย ดังนั้นจึงแนะนำให้ควรลดปริมาณอะฟลาทอกซินในพริกแกงแดงให้ต่ำที่สุดเท่าที่จะทำได้ตามหลักการของ ALARA (AS Low As Reasonably Achievable) ทั้งนี้เพื่อเพิ่มความปลอดภัยให้กับผู้บริโภค โดยทั่วไปการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินในพริกแกงแดงเกิดจากการที่วัตถุดิบหลักคือพริกแห้งมีปริมาณอะฟลาทอกซินที่สูง ดังนั้นการหาวิธีในการลดปริมาณอะฟลาทอกซินในพริกแห้งซึ่งเป็นวัตถุดิบเพื่อนำมาผลิตพริกแกงแดงเป็นสิ่งจำเป็นยิ่ง ทั้งนี้เพื่อหาแนวทางให้ผู้ผลิตพริกแกงแดง และเพิ่มความปลอดภัยให้กับผู้บริโภคต่อไป

วัตถุประสงค์งานวิจัย

1. เพื่อหาสารเคมีร่วมกับการให้ความร้อนที่เหมาะสมต่อการลดปริมาณอะฟลาทอกซินในพริกแห้งเพื่อนำไปใช้ในการผลิตพริกแกงแดง
2. ประเมินผลกระทบของการใช้สารเคมีร่วมกับการให้ความร้อนต่อคุณภาพทางเคมีและกายภาพของน้ำพริกแกงแดง
3. เพื่อพัฒนากระบวนการผลิตพริกแดงที่สามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซินได้มากที่สุดโดยไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพของพริกแกงแดง

ระเบียบวิธีวิจัย

1. การเตรียมตัวอย่างการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน B_1 ในพริกแห้ง

นำพริกแห้ง (ไม่มีการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน B_1) มาตัดเป็นสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 3 ตารางเซนติเมตร แช่น้ำสะอาดนาน 30 นาที ผึ่งให้แห้ง จากนั้นสร้างการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินเทียมโดยเติมสารมาตรฐานอะฟลาทอกซิน B_1 ให้พริกแห้งมีอะฟลาทอกซิน B_1 ปนเปื้อน 50 ± 10 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม โดยหดยดสารละลายมาตรฐานอะฟลาทอกซิน B_1 ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ลงบนพริก แล้วผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

2. ผลของการใช้สารเคมีต่อคุณภาพและการลดปริมาณอะฟลาทอกซิน B_1 ในพริกแกงแดง

นำพริกแห้งที่ปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน B_1 แช่ในสารละลายสารเคมีที่มีความเข้มข้น 0.5% และ 2% สารเคมีที่ใช้ศึกษาประกอบด้วยสารเคมีประเภทกรด (กรดซิตริก, กรดแอสซิดิก) ต่าง (โซเดียมไบคาร์บอเนต, แคลเซียมไฮดรอกไซด์) และสารออกซิไดส์ (โซเดียมไฮโดรซัลไฟต์, โซเดียมไฮโปคลอไรต์) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ตัวอย่างควบคุมคือ พริกที่แช่น้ำกลั่นแทนสารเคมี หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำสะอาดจนมีค่า พีเอช 6.5-7.5 จากนั้นนำพริกแต่ละตัวอย่างมาบดให้ละเอียดเพื่อเตรียมพริกแกงแดง แล้ววิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซิน B_1 และคุณภาพทางเคมีกายภาพ ดังนี้

2.1 คุณภาพทางกายภาพ

2.1.1 สี วัดด้วยเครื่องวัดสี Hunter colorimeter (Miniscan XE Plus 45/0 LAV, Reston, USA) ใช้มาตรฐานระบบ CIE Lab ($L^*a^*b^*$)

2.1.2 ค่าสีแดง ทำการสกัดค่าสีแดงดัดแปลงจากวิธีของ AOAC International (2002) โดยนำตัวอย่างพริกแดงบด 1 ± 0.001 กรัม มาสกัดด้วย acetone สั่นสะเทือนด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง นาน 30 นาที จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงแล้วเจือจางสารสกัดที่ได้ด้วย acetone วัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้ spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 460 นาโนเมตร แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณด้วยวิธี American Spices and Trade Association (ASTA)

2.2 คุณภาพทางเคมี

2.2.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม ทำการตรวจสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมได้โดยใช้วิธี Folin- Ciocalteu Colorimetric Method ตามวิธีของ Inchuen *et al.* (2010) โดยดัดแปลงเล็กน้อยด้วยการนำสารสกัดพริกปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร เติม Folin-Ciocalteu reagent ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันทิ้งไว้ 4 นาที และเติม sodium carbonate ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 1.6 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันในหลอดทดลอง ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที ที่อุณหภูมิ 25°C จากนั้นวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วย UV-visible spectrophotometer ซึ่งปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมวัดจากปริมาณ gallic acid (มิลลิกรัม) equivalent ต่อ กรัมวัตถุดิบแห้ง

2.2.2 ปริมาณแคปไซซิน วิเคราะห์หาปริมาณแคปไซซิน ดัดแปลงจากวิธีของ Choi และคณะ (2006) โดยนำตัวอย่างพริกแดงบด 8 กรัม ผสมกับเมทานอลปริมาตร 20 มิลลิลิตร แล้วนำมาปั่นผสมนาน 2 นาที สั่นสะเทือนด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง เวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมาหมุนเหวี่ยงด้วย ที่อุณหภูมิ 25°C นำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman ขนาด $0.45\ \mu\text{m}$ จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณแคปไซซินด้วยเครื่อง HPLC ที่ใช้ UV detector

2.3 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน B₁

2.3.1 การตรวจวิเคราะห์สารพิษอะฟลาทอกซิน B₁ ด้วยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ดัดแปลงจากวิธีของ Rahmani และคณะ (2010) โดยการนำ

ตัวอย่างพริกแกงแดงที่บดละเอียด ปริมาณ 25 ± 0.1 กรัม ปั่นผสมกับโซเดียมคลอไรด์ปริมาณ 5 กรัม และสารละลายเมทานอลต่อน้ำ (อัตราส่วน 80 ต่อ 20, ปริมาตรต่อปริมาตร) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman จากนั้นบีบอัดสารละลายปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman GF/C (glass fiber filter) จากนั้นกรองผ่านคอลัมน์ immuno-affinity columns (IAC) ผ่านสารละลายเมทานอลต่อน้ำ (อัตราส่วน 20 ต่อ 80 ปริมาตรต่อปริมาตร) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วอะฟลาทอกซินจะถูกชะด้วยเมทานอล HPLC grade ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำสารละลายปริมาตร 20 ไมโครลิตร ฉีดเข้าไปในเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ C18 ในการตรวจวิเคราะห์

2.3.2 การตรวจวิเคราะห์สารพิษอะฟลาทอกซิน B_1 ด้วยวิธี Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) เริ่มด้วยทำการสกัดตัวอย่างพริก โดยนำพริกที่บดละเอียด ปริมาณ 20 ± 0.1 กรัม ปั่นผสมกับสารละลายเมทานอลต่อน้ำ (อัตราส่วน 70 ต่อ 30 ปริมาตรต่อปริมาตร) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำสารละลายดังกล่าวมาวิเคราะห์ด้วยชุดทดสอบ ELISA โดยการผสมสารละลาย ปริมาตร 100 ไมโครลิตร กับ conjugate ปริมาตร 200 ไมโครลิตร บีบอัดสารละลายผสม 100 ไมโครลิตร มาใส่ในหลุมทดสอบ antibody coated microwell บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เวลา 15 นาที เทสารทิ้งแล้วล้างด้วยน้ำกลั่น 5 ครั้ง คว่ำหลุมทดสอบบนกระดาษซับแล้วเคาะให้แห้ง เติม substrate ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในหลุมทดสอบ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เวลา 5 นาที เติม stop solution ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เพื่อหยุดปฏิกิริยา และอ่านค่าความเข้มข้นของสีด้วย Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร ควรอ่านผลการทดสอบภายใน 60 นาที หลังการเติมสารละลายหยุดปฏิกิริยา ในการหยุดปฏิกิริยา

3. ผลของการใช้สารเคมีร่วมกับความร้อนต่อการลดอะฟลาทอกซิน B_1 และคุณภาพของพริกแกงแดง

นำพริกแห้งที่ป่นเปื้อน อะฟลาทอกซิน B_1 แخذในสารละลายสารเคมีชนิดและความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุด (ตามผลการทดลองในข้อ 2) จากนั้นให้ความร้อนด้วยวิธีการลวกด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิระดับต่างกัน 2 ระดับ คือ 90 และ 100°C และลวกด้วยไอน้ำร้อน (อุณหภูมิ 100°C) เป็นเวลา 10 และ 20 นาที โดยมีตัวอย่างควบคุมคือ พริกแห้งที่แช่ในสารละลาย 0.5% แคลเซียมไฮดรอกไซด์ แต่ไม่ให้ความร้อน และพริกแห้งที่แช่ในน้ำกลั่นและไม่ได้ให้ความร้อน จากนั้นนำพริกมาบดให้ละเอียด แล้ววิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซิน B_1 ด้วยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) และคุณภาพทางเคมีกายภาพเช่นเดียวกับการทดลองข้อ 2

4. การทดสอบทางประสาทสัมผัส

4.1 การเตรียมน้ำแกงแดง

นำพริกแห้งแกะเอาเมล็ดออกแช่ในสารเคมีชนิดและความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุด (ตามผลการทดลองในข้อ 2) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วล้างด้วยน้ำสะอาด และนำไปให้ความร้อนด้วยอุณหภูมิและวิธีการที่เหมาะสมที่สุด (ตามผลการทดลองในข้อ 3) ลดอุณหภูมิทันทีด้วยน้ำเย็นที่อุณหภูมิ 1-4°C เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเตรียมพริกแกงแดงโดยนำพริกที่ได้มาบดผสมกับส่วนผสมต่างๆของพริกแกงแดง แล้วนำไปเตรียมเป็นน้ำแกงแดง ตัวอย่างควบคุมคือน้ำแกงแดงที่ปรุงจากพริกแกงที่เตรียมโดยการนำพริกแห้งที่ไปแช่ในน้ำสะอาด เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยไม่ผ่านการให้ความร้อน

4.2 การทดสอบทางประสาทสัมผัส

ทดสอบทางประสาทสัมผัสน้ำแกงแดงโดยใช้วิธีทดสอบความแตกต่างแบบ

Triangle test เป็นการทดสอบความแตกต่างระหว่างตัวอย่างน้ำแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการแช่ด้วยน้ำสะอาด และไม่ผ่านการให้ความร้อน ซึ่งเป็นตัวอย่างควบคุม กับตัวอย่างน้ำแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการแช่ด้วยสารเคมีร่วมกับการให้ความร้อน โดยนำเสนอตัวอย่างน้ำแกงแดงให้ผู้ทดสอบ 3 ตัวอย่างพร้อมกัน ซึ่งตัวอย่าง 3 ตัวอย่างดังกล่าวประกอบด้วย ตัวอย่างที่ผลิตจากสูตรเดียวกัน 2 ตัวอย่าง และตัวอย่างที่ผลิตจากสูตรแตกต่างอีก 1 ตัวอย่าง แต่ละตัวอย่างจะถูกให้รหัสตัวเลขสุ่มสามหลักที่แตกต่างกัน ทดสอบแต่ละคนจะต้องบ่งชี้ว่าตัวอย่างใดมีความแตกต่าง โดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 30 คน

ผลการวิจัย

เนื่องจากในงานวิจัยนี้มุ่งศึกษาการใช้สารเคมีร่วมกับการให้ความร้อนต่อคุณภาพและการลดปริมาณอะฟลาทอกซินในพริกแห้งซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักของพริกแกงแดง ในการศึกษาครั้งนี้จึงใช้พริกแห้งเป็นวัตถุดิบในการผลิตพริกแกงแดงเพียงอย่างเดียว เพื่อให้สามารถสรุปผลได้ถูกต้องและชัดเจน

1. ผลของการใช้สารเคมีต่อคุณภาพและการลดปริมาณอะฟลาทอกซิน B₁ ในพริกแกงแดง

การศึกษาผลของสารเคมีต่อคุณภาพและการลดปริมาณอะฟลาทอกซิน B₁ ในพริกแกงแดงนี้ ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาผลของสารเคมีต่อคุณภาพของพริกแกงแดงซึ่งประกอบด้วย ลักษณะปรากฏ ค่าสี ($L^*a^*b^*$) ค่าสีแดง (ASTA) ปริมาณแคปไซซิน และปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม โดยมีรายละเอียดดังนี้

1.1 ผลของสารเคมีต่อลักษณะปรากฏของพริกแกงแดง

ลักษณะปรากฏที่พิจารณา คือ สีและกลิ่นของพริกแกงแดงหลังจากผ่านการแช่ด้วยสารเคมีประเภทกรด (กรดซิตริก, กรดแอสซิติค) ด่าง (โซเดียมไบคาร์บอเนต, แคลเซียมไฮดรอกไซด์) และสารออกซิไดส์ (โซเดียมไฮโดรซัลไฟต์, โซเดียมไฮโปคลอไรต์) ที่ความเข้มข้น 0.5% และ 2% ผลการทดลองในตารางที่ 1 แสดงให้เห็นถึงลักษณะของพริกแกงแดงที่ผ่านการแช่ในสารเคมีต่างๆ ที่ความเข้มข้น 0.5% และ 2% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากการพิจารณาสีของพริกแกงแดงด้วยสายตา พบว่าพริกแกงแดงที่ผ่านการเตรียมจากพริกแห้งที่แช่ในสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% และ 2% และโซเดียมไบคาร์บอเนตที่ความเข้มข้น 2% มีผลทำให้มีสีเข้มขึ้นเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม (น้ำกลั่น) ในทางกลับกันพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการแช่ในสารละลายโซเดียมไฮโดรซัลไฟต์ที่ความเข้มข้น 2% จะมีสีซีดลงเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม (น้ำกลั่น) อย่างไรก็ตามการพิจารณาสีของพริกที่ผ่านการแช่ในสารเคมีต่างๆ ด้วยสายตาเพียงอย่างเดียวทำให้เห็นผลไม่ชัดเจนนัก ผู้วิจัยจึงได้ทำการวัดค่าสีด้วยระบบสีของ CIE color system เพื่อให้ทราบผลที่ชัดเจนมากขึ้นซึ่งผลการทดลองแสดงในหัวข้อ 1.2 และเมื่อทดลองสุดดมกลิ่นสารเคมีที่อาจตกค้างในพริก พบว่าพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการแช่ในสารละลายโซเดียมไฮโดรซัลไฟต์ และโซเดียมไฮโปคลอไรต์ที่ความเข้มข้น 2% มีกลิ่นของสารเคมีตกค้างอยู่ซึ่งเป็นลักษณะที่ไม่พึงประสงค์

ตารางที่ 1 พริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งผ่านการแช่ในสารเคมีต่างๆที่ความเข้มข้น 0.5% และ 2% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

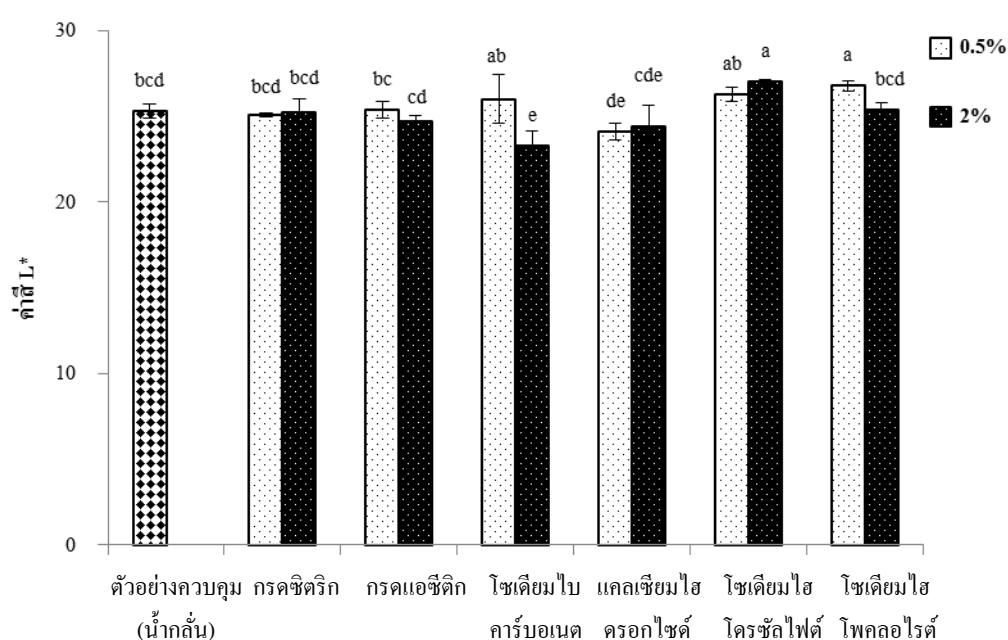
ความเข้มข้น	ชื่อสารเคมี					
	กรดซิตริก	กรดแอสซิติค	โซเดียมไบคาร์บอเนต	แคลเซียมไฮดรอกไซด์	โซเดียมไฮโดรซัลไฟด์	โซเดียมไฮโปคลอไรต์
0.5%						
2%						

หมายเหตุ ตัวอย่างควบคุม (น้ำกลั่น)



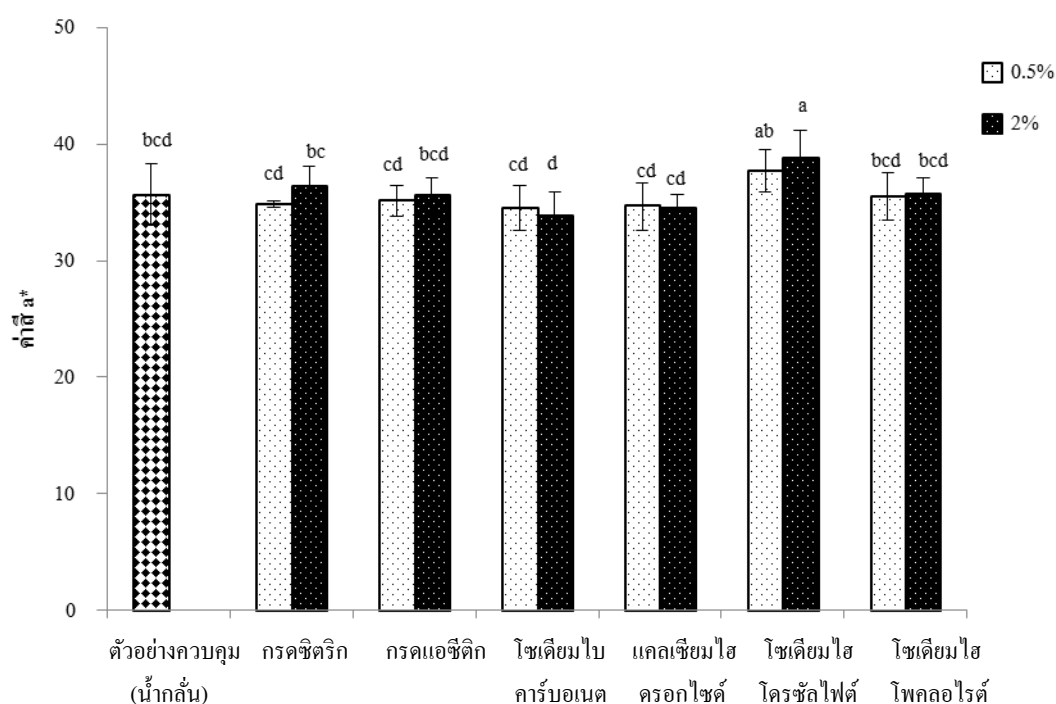
1.2 ผลของสารเคมีต่อค่าสี ($L^*a^*b^*$) ในพริกแกงแดง

จากการทดลองแช่พริกแห้งในสารเคมีประเภทกรด (กรดซิตริก, กรดแอสซิดิก) ต่าง (โซเดียมไบคาร์บอเนต, แคลเซียมไฮดรอกไซด์) และสารออกซิไดส์ (โซเดียมไฮโดรซัลไฟด์, โซเดียมไฮโปคลอไรต์) ที่ความเข้มข้น 0.5% และ 2 แล้วนำมาบดละเอียดเพื่อเตรียมเป็นพริกแกงแดง พบว่าสารเคมีดังกล่าวมีผลต่อค่าสี L^* (ค่าความสว่าง) a^* (ค่าสีแดง) และ b^* (ค่าสีเหลือง) ของพริกแกงแดง โดยพบว่าพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการแช่ด้วยสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนตที่ความเข้มข้น 2% ค่า L^* หรือค่าความสว่างของพริก (L^* เท่ากับ 23.5) ลดลงจากตัวอย่างควบคุม (น้ำกลั่น) (L^* เท่ากับ 25.3) ($p \leq 0.05$) ในทางกลับกันพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการแช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ที่ความเข้มข้น 0.5% และโซเดียมไฮโดรซัลไฟด์ที่ความเข้มข้น 2% มีค่า L^* (L^* เท่ากับ 26.8 และ 27.0 ตามลำดับ) เพิ่มขึ้นจากตัวอย่างควบคุม (น้ำกลั่น) ($p \leq 0.05$) ดังภาพที่ 1



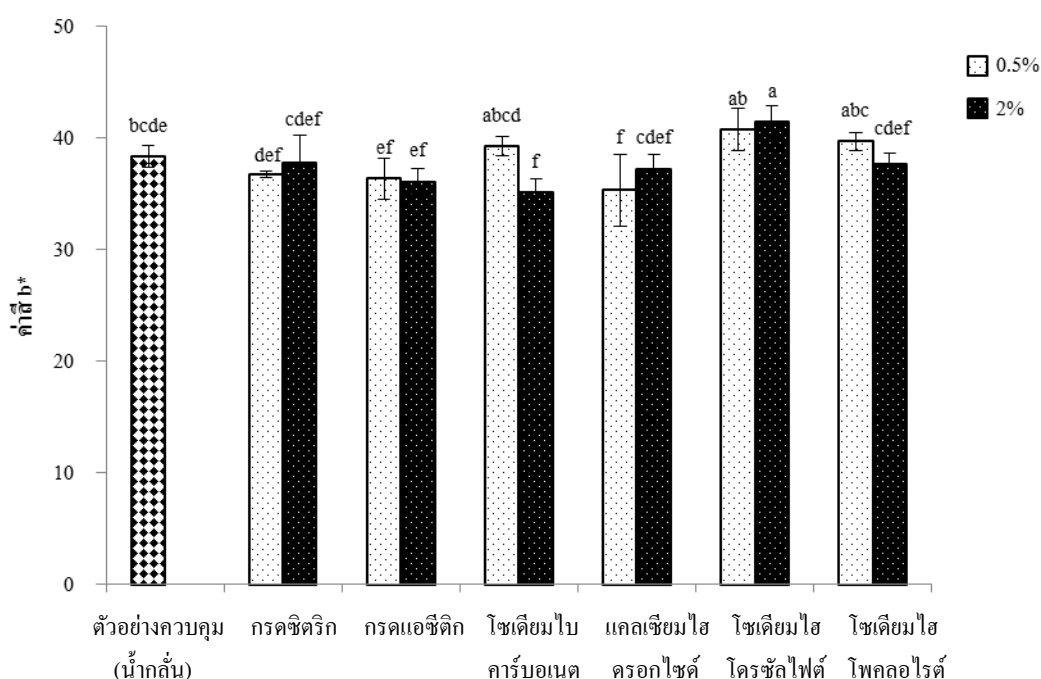
ภาพที่ 1 ค่าสี L^* ของพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่แช่ด้วยกรดซิตริก กรดแอสซิดิก โซเดียมไบคาร์บอเนต แคลเซียมไฮดรอกไซด์ โซเดียมไฮโดรซัลไฟด์ และโซเดียมไฮโปคลอไรต์ที่ความเข้มข้น 0.5% และ 2% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
ตัวอักษร a-e ที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ผลการวัดค่า a^* หรือค่าสีแดง พบว่าสารเคมีโซเดียมไฮโดรซัลไฟด์ที่ความเข้มข้น 2% (a^* เท่ากับ 38.7) มีผลทำให้พริกแกงแดงมีค่าสีแดงเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม (น้ำกลั่น) ($p \leq 0.05$) โดยที่ตัวอย่างควบคุมวัดค่า a^* ได้เท่ากับ 35.7 (ภาพที่ 2) ในขณะที่สารเคมีอื่นๆไม่ทำให้ค่าสีแดงของพริกแกงเปลี่ยนแปลงไปเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม ($p \leq 0.05$)



ภาพที่ 2 ค่าสี a^* ของพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่แช่ด้วยกรดซิตริก กรดแอซีติก โซเดียมไบคาร์บอเนต แคลเซียมไฮดรอกไซด์ โซเดียมไฮโดรซัลไฟด์ และโซเดียมไฮโปคลอไรต์ที่ความเข้มข้น 0.5% และ 2% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
ตัวอักษร a-d ที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ผลการวัดค่า b^* หรือค่าสีเหลือง พบว่าพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการแช่ในสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% (b^* เท่ากับ 35.4) และโซเดียมไบคาร์บอเนตที่ความเข้มข้น 2% (b^* เท่ากับ 35.1) มีผลทำให้พริกแกงแดงมีค่า b^* ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม (น้ำกลั่น) ($p \leq 0.05$) โดยตัวอย่างควบคุมวัดค่า b^* ได้เท่ากับ 38.4 (ภาพที่ 3) และยังพบพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่แช่ในสารละลายโซเดียมไฮโดรซัลไฟด์ที่ความเข้มข้น 2% (b^* เท่ากับ 41.5) มีค่า b^* เพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม ($p \leq 0.05$)

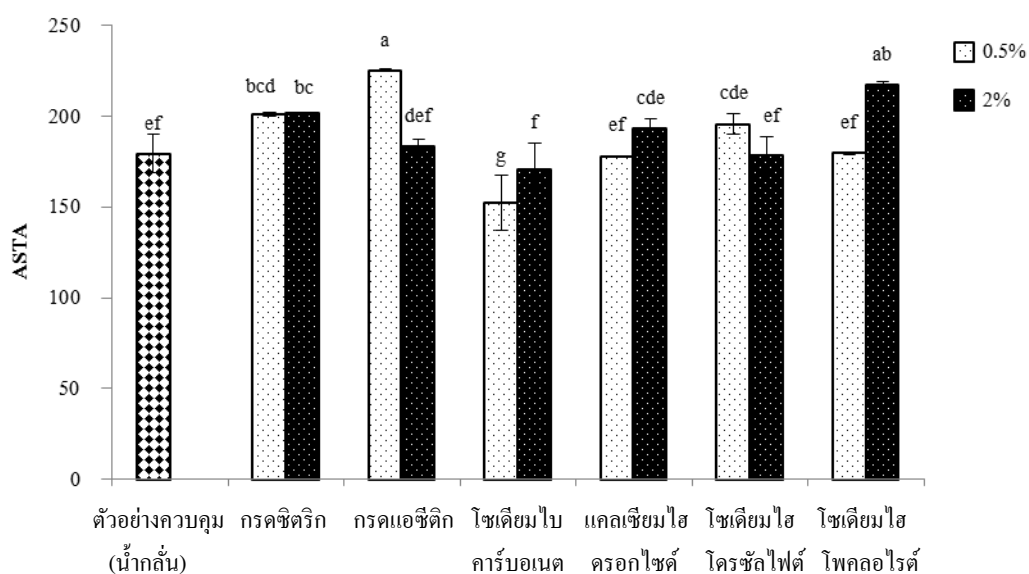


ภาพที่ 3 ค่าสี L^* ของพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่แช่ด้วยกรดซิตริก กรดแอสซิดิก โซเดียมโบคาร์บอเนต แคลเซียมไฮดรอกไซด์ โซเดียมไฮโดรซัลไฟด์ และโซเดียมไฮโปคลอไรต์ที่ความเข้มข้น 0.5% และ 2% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ตัวอักษร a-f ที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ที่ความเข้มข้น 0.5% มีผลทำให้ค่า a^* ของพริกแกงแดงเพิ่มขึ้น และโซเดียมไฮโดรซัลไฟด์ที่ความเข้มข้น 2% มีผลทำให้ค่า L^* และ b^* ของพริกแกงแดงเพิ่มขึ้น เนื่องจากโซเดียมไฮโปคลอไรต์ และโซเดียมไฮโดรซัลไฟด์มีสมบัติเป็นสารฟอกขาว ทำให้สีของพริกมีความสว่างมากขึ้น พริกจึงมีสีแดงที่ชัดเจนขึ้น โดยโซเดียมไฮโดรซัลไฟด์จะมีความรุนแรงมากกว่าโซเดียมไฮโปคลอไรต์ ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานของ Jalili *et al.* (2011) ที่ทำการศึกษาการลดปริมาณอะฟลาทอกซินในพริกไทยขาว และพริกไทยดำโดยการแช่ในสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และโซเดียมไฮโปคลอไรต์ และพบว่าสารละลายเหล่านี้มีผลทำให้ผิวนอกของพริกไทยขาวขาวสว่างขึ้น ในขณะที่ทำให้ผิวด้านนอกของพริกไทยดำมีสีซีดลง ส่วนการแช่ในสารละลายโซเดียมโบคาร์บอเนตที่ความเข้มข้น 2% มีผลทำให้ค่าความสว่างของพริกไทยลดลง

1.3 ผลของสารเคมีต่อค่าความเข้มสีแดง (ASTA)

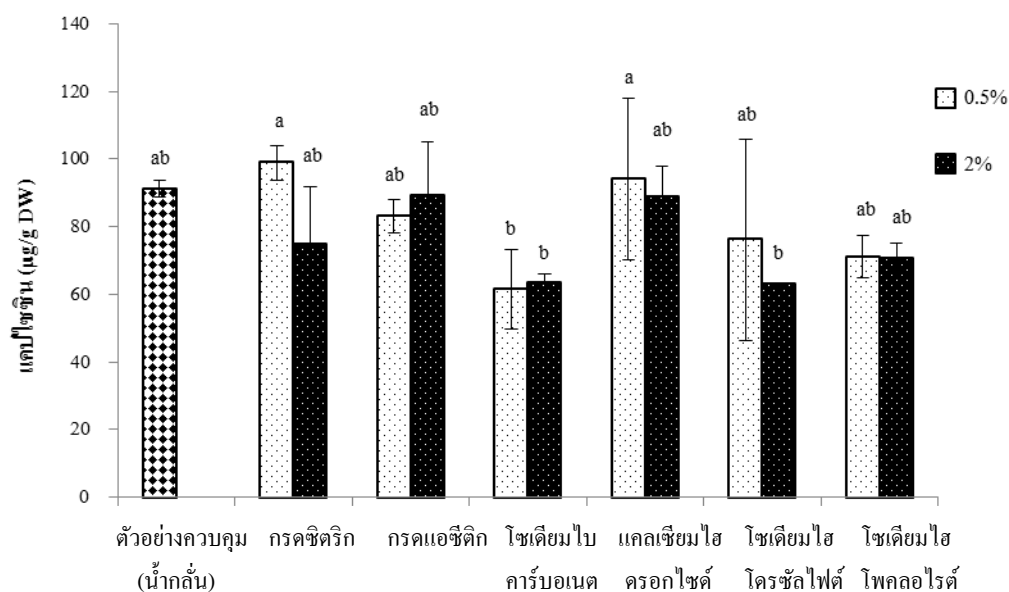
การวัดค่าสีแดงในพริกแห้งด้วยวิธี ASTA เป็นอีกวิธีหนึ่งที่นิยมใช้วัดค่าสีในพริกเพื่อบ่งบอกถึงระดับคุณภาพของพริกแห้งหรือแบ่งเกรด การวัดค่าสีแดงในพริกแห้งด้วยวิธี ASTA สามารถทำได้โดยนำพริกที่ผ่านการบดแล้วมาสกัดด้วยอะซีโตน แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 460 นาโนเมตร จากการวัดค่าสีแดงในพริกที่ผ่านการแช่ในสารเคมีประเภท กรด (กรดซิตริก, กรดแอสซิดิก) ต่าง (โซเดียมไบคาร์บอเนต, แคลเซียมไฮดรอกไซด์) และสารออกซิไดส์ (โซเดียมไฮโดรซัลไฟต์, โซเดียมไฮโปคลอไรต์) ที่ความเข้มข้น 0.5% และ 2% พบว่า พริกแห้งที่ผ่านการแช่ในสารละลายกรดซิตริกที่ความเข้มข้น 0.5 และ 2% (ASTA เท่ากับ 201.0 และ 202.0 ตามลำดับ) สารละลายกรดแอสซิดิกที่ความเข้มข้น 0.5% (ASTA เท่ากับ 225.4) และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ที่ความเข้มข้น 2% (ASTA เท่ากับ 217.1) มีค่าความเข้มสีแดงเพิ่มขึ้นจากตัวอย่างควบคุม (น้ำกลั่น) ที่วัดค่า ASTA ได้เท่ากับ 179.5 ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการที่กรดซิตริกและกรดแอสซิดิกมีค่าพีเอชที่ต่ำ ทำให้ไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส (เป็นเอนไซม์ที่ทำให้เกิดสีน้ำตาล) ซึ่งพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าวอยู่ในช่วงพีเอช 5-7 (นิธิยา, 2549; นาริสา และคณะ, 2552) ในขณะที่โซเดียมไฮโปคลอไรต์เป็นสารออกซิไดส์อาจทำให้สีของพริกมีความสว่างและพริกมีสีแดงที่ชัดเจนขึ้น ในทางกลับกันภายหลังจากแช่พริกแห้งด้วยสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนตที่ความเข้มข้น 0.5% (ASTA เท่ากับ 152.6) พบว่ามีค่าความเข้มสีแดงลดลงจากตัวอย่างควบคุม (น้ำกลั่น) (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 ค่าความเข้มสีแดง (ASTA) ของพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่แช่ ด้วยกรดซิตริก กรดแอสซิติค โซเดียมไบคาร์บอเนต แคลเซียมไฮดรอกไซด์ โซเดียมไฮโดรซัลไฟด์ และ โซเดียมไฮโป คลอไรต์ที่ความเข้มข้น 0.5% และ 2% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ตัวอักษร a-g ที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

1.4 ผลของสารเคมีต่อปริมาณแคปไซซินในพริกแห้ง

แคปไซซินเป็นสารสำคัญอีกชนิดหนึ่งในพริก เนื่องจากแคปไซซินเป็นสารที่ให้รสชาติเผ็ดร้อนในพริกซึ่งเป็นลักษณะเด่นของพริก ในการวิเคราะห์ปริมาณแคปไซซินในพริกนั้นจะทำการสกัดพริกที่ผ่านการบดแล้วด้วยเมทานอล จากนั้นวิเคราะห์หาปริมาณแคปไซซินด้วยเทคนิค HPLC ซึ่งจากการทดลองวิเคราะห์หาปริมาณแคปไซซินในพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการแช่ในสารเคมีที่เป็นกรด (กรดซิตริก, กรดแอสซิติค) ต่าง (โซเดียมไบคาร์บอเนต, แคลเซียมไฮดรอกไซด์) และสารออกซิไดส์ (โซเดียมไฮโดรซัลไฟด์, โซเดียมไฮโปคลอไรต์) ที่ความเข้มข้น 0.5% และ 2% พบว่า ปริมาณแคปไซซินในพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งผ่านการแช่สารเคมีข้างต้นไม่มีความแตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม ($p > 0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 5

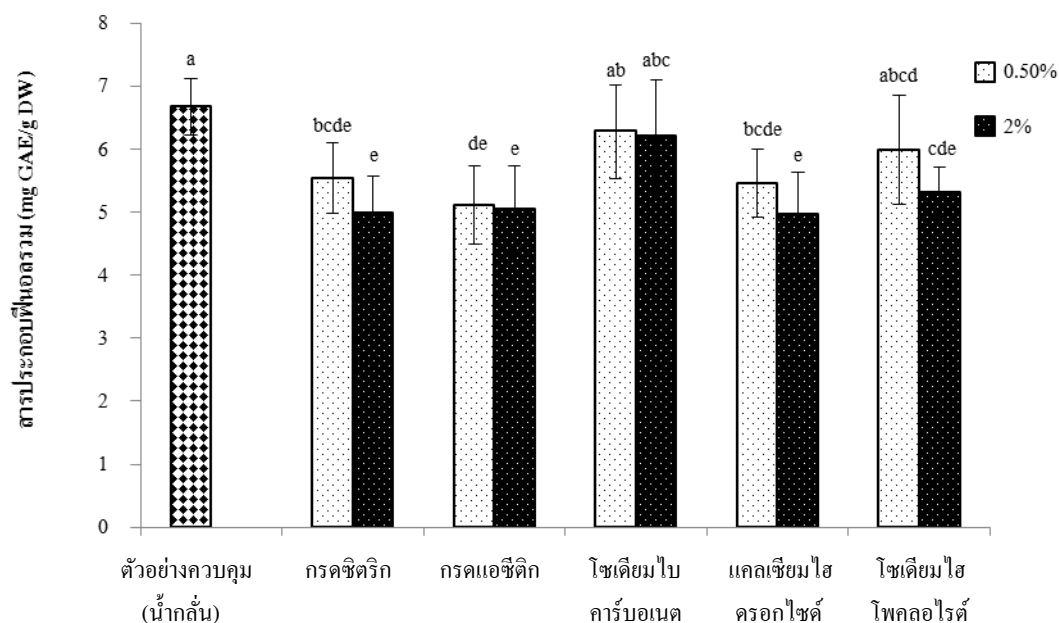


ภาพที่ 5 ปริมาณแคปไซซินในพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่แช่ด้วยกรดซิตริก กรดแอสซิดิก โซเดียมไบคาร์บอเนต แคลเซียมไฮดรอกไซด์ โซเดียมไฮโดรซัลไฟด์ และ โซเดียมไฮโปคลอไรต์ที่ความเข้มข้น 0.5% และ 2% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ตัวอักษร a-b ที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

1.5 ผลของสารเคมีต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม

สารประกอบฟีนอลรวม (total phenolic compound) เป็นสารที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ พบได้ตามธรรมชาติในพืชหลายชนิด เช่น ผัก ผลไม้ สมุนไพร ธัญพืช เครื่องเทศ รวมทั้งในพริกด้วย สารประกอบฟีนอลรวมในพริก เช่น อะพิจินิน (apigenin) และลูทีโอลิน (luteolin) เป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ มีคุณสมบัติสามารถละลายน้ำได้ ซึ่งในการทดลองนี้ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมโดยการนำพริกแห้งที่ผ่านการแช่ด้วยสารเคมีชนิดและความเข้มข้นต่างๆ มาบดละเอียดเพื่อเตรียมพริกแกงแดงแล้วสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้น 80% จากนั้นนำส่วนในไปวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu Colorimetric Method จากการทดลองดังกล่าวพบว่า การแช่พริกแห้งในสารละลายกรดซิตริก กรดแอสซิดิก และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% และ 2% รวมทั้งโซเดียมไฮโปคลอไรต์ที่ความเข้มข้น 2% มีผลทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมในพริกแกงแดงลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม ($p \leq 0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 6 ซึ่งน่าจะเป็นผลมาจากเนื้อเยื่อและเซลล์ของพริกแห้งถูกทำลายด้วยสารเคมีดังกล่าวทำให้มีลักษณะเปื่อยยุ่ย ดังนั้นสารประกอบฟีนอลในเนื้อเยื่อพริกจึงมีโอกาสสัมผัสกับน้ำและละลายน้ำออกมาซึ่งได้มากขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาของ Milbury *et al.* (2006) ที่รายงานว่า การลวกอัลมอนต์

ด้วยน้ำร้อน เป็นเวลา 2 นาที ทำให้ผิวเปลือกนอกของเมล็ดอัลมอนต์หลุดออก เมื่อวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลในเนื้ออัลมอนต์ และในน้ำที่ใช้ลวกพบว่าสารประกอบฟีนอลถูกปลดปล่อยออกจากเนื้ออัลมอนต์มาอยู่ในส่วนของน้ำที่ใช้ลวกปริมาณ 74-88%



ภาพที่ 6 ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมในพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่แช่ด้วยกรดซิตริก กรดแอสซิติค โซเดียมไบคาร์บอเนต แคลเซียมไฮดรอกไซด์ และโซเดียมไฮโปคลอไรต์ที่ความเข้มข้น 0.5% และ 2% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

ตัวอักษร a-e ที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

สำหรับตัวอย่างที่ผ่านการแช่ด้วยสารละลายโซเดียมไฮโดรซัลไฟด์นั้นไม่สามารถตรวจวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ได้เนื่องจากสารโซเดียมไฮโดรซัลไฟด์ เกิดปฏิกิริยากับสาร Folin ให้สารสีน้ำเงินเข้มทำให้รบกวนการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย ดังนั้นจึงไม่สามารถกล่าวได้ว่าสารละลายโซเดียมไฮโดรซัลไฟด์มีผลต่อสารประกอบ ฟีนอลรวมในพริกแห้งหรือไม่

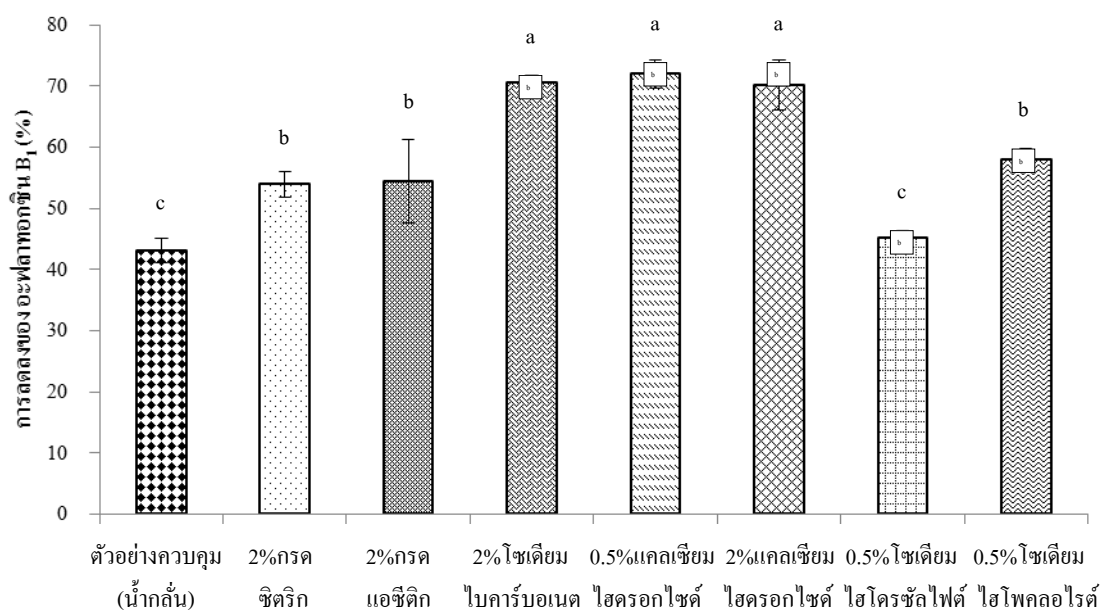
1.6 ผลของสารเคมีต่อการลดปริมาณอะฟลาทอกซิน B₁ ในพริกแกงแดง

การศึกษาการลดอะฟลาทอกซิน B₁ ในพริกแกงแดงด้วยการแช่พริกแห้งในสารเคมีนั้นได้คัดเลือกสารเคมีที่เหมาะสมโดยพิจารณาจากลักษณะปรากฏ สี และกลิ่น จากผลการทดลองข้างต้น และคำนึงถึงประสิทธิภาพในการลดสารพิษอะฟลาทอกซิน B₁ ด้วย ซึ่งสารเคมีที่ไม่ได้รับ

การคัดเลือก คือ โซเดียมไฮโดรซัลไฟด์ และโซเดียมไฮโปคลอไรต์ ที่ความเข้มข้น 2% เนื่องจากมีกลิ่นของสารเคมีดังกล่าวติดอยู่ที่ผลพริกซึ่งเป็นสิ่งที่ไม่ต้องการ และโซเดียมไฮโดรซัลไฟด์ที่ความเข้มข้น 2% ซึ่งมีผลทำให้สีของพริกแกงแดงซีดจางลง ส่วนกรดซิตริก กรดแอสซิดิก โซเดียมไบคาร์บอเนต และแคลเซียมไฮดรอกไซด์นั้นทั้งที่ความเข้มข้น 0.5 และ 2% ไม่มีผลทางลบต่อลักษณะปรากฏและคุณภาพของพริกแกงแดง ผู้วิจัยจึงเลือกใช้สารเคมีเหล่านี้ที่ระดับความเข้มข้น 2% เนื่องจากคาดว่าจะให้ประสิทธิภาพในการลดปริมาณอะฟลาทอกซิน B₁ ได้ดีกว่าที่ความเข้มข้น 0.5% และจากการทดลองเบื้องต้นพบว่าพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการแช่ในสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% และ 2% สามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซิน B₁ ได้เท่ากับ 72.4% และ 70.9% ตามลำดับ และพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการแช่ในสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนตที่ความเข้มข้น 0.5% และ 2% สามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซิน B₁ ได้เท่ากับ 62.6% และ 70.6% ตามลำดับ ดังนั้นในการศึกษาผลของสารเคมีต่อการลดอะฟลาทอกซิน B₁ นั้น ชนิดของสารเคมีและระดับความเข้มข้นของสารเคมีที่เลือกใช้ประกอบด้วย สารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% โซเดียมไฮโดรซัลไฟด์ที่ความเข้มข้น 0.5% โซเดียมไฮโปคลอไรต์ที่ความเข้มข้น 0.5% กรดซิตริกที่ความเข้มข้น 2% กรดแอสซิดิกที่ความเข้มข้น 2% โซเดียมไบคาร์บอเนตที่ความเข้มข้น 2% และ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 2%

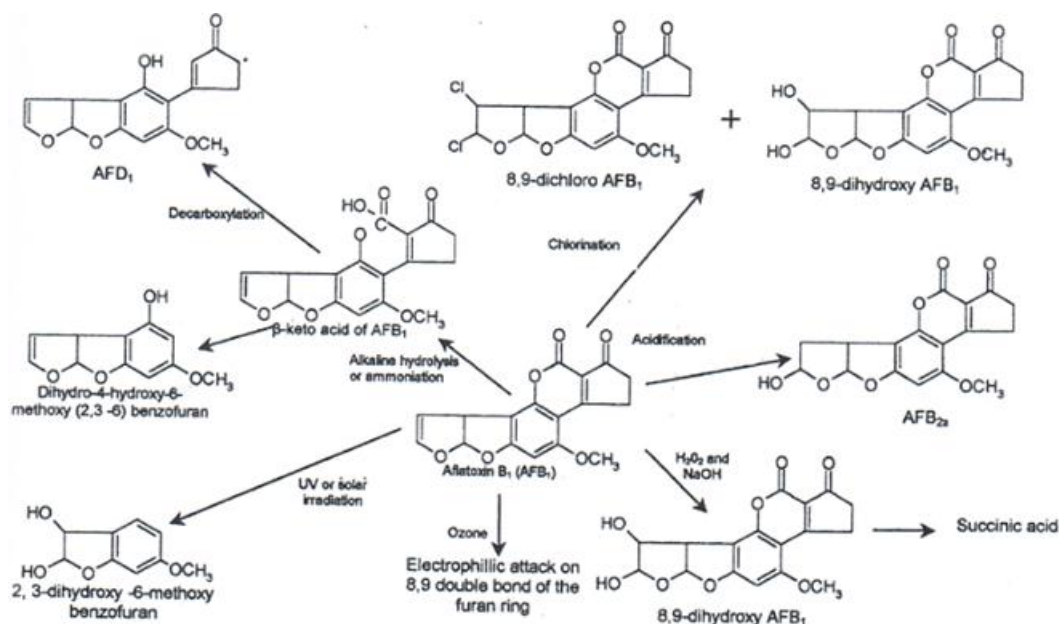
จากการเตรียมตัวอย่างสร้างการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน B₁ ในพริกแห้งโดยคำนวณให้มีการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน B₁ ที่ความเข้มข้น 50 ± 10 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม จากการวิเคราะห์ด้วยชุดทดสอบ ELISA พบว่าค่าปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน B₁ ในตัวอย่างที่ได้จริงเท่ากับ 44.19 ± 0.2 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งจะใช้ค่านี้ในการเปรียบเทียบกับตัวอย่างพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งภายหลังการแช่ในสารละลายกรดซิตริก กรดแอสซิดิก โซเดียมไบคาร์บอเนต และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ที่ความเข้มข้น 2% และสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ โซเดียมไฮโดรซัลไฟด์ และโซเดียมไฮโปคลอไรต์ที่ความเข้มข้น 0.5% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ปริมาณอะฟลาทอกซิน B₁ ที่เหลือและปริมาณการลดลงของอะฟลาทอกซิน B₁ ในพริกแกงแดง ภายหลังการล้างด้วยสารเคมีชนิดต่างๆ แสดงในภาพที่ 7 จะเห็นว่าตัวอย่างพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการแช่ในสารละลายโซเดียมไฮโดรซัลไฟด์ที่ความเข้มข้น 0.5% มีผลทำให้ปริมาณอะฟลาทอกซิน B₁ ลดลง 45.2% ซึ่งไม่มีความแตกต่างกับตัวอย่างควบคุม (น้ำกลั่น) ($p > 0.05$) ที่มีปริมาณอะฟลาทอกซิน B₁ ลดลง 43.0% ส่วนตัวอย่างพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการแช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ที่ความเข้มข้น 0.5% กรดซิตริก และกรดแอสซิดิกที่ความเข้มข้น 2% มีผลทำให้ปริมาณอะฟลาทอกซิน B₁ ลดลง 58.0%, 54.0% และ 54.5% ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างจากตัวอย่างควบคุม (น้ำกลั่น) อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยสารละลายดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณอะฟลาทอกซิน B₁ รองจากสารละลายประเภทต่าง

ประกอบด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% และ 2% และโซเดียมไบคาร์บอเนตที่ความเข้มข้น 2% ที่สามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซิน B₁ ได้ถึง 72.1% 70.1% และ 70.5% ตามลำดับ



ภาพที่ 7 ปริมาณการลดลงของอะฟลาทอกซิน B₁ ในพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งภายหลังจากแช่ด้วยกรดซิตริก กรดแลคติก โซเดียมไบคาร์บอเนต แคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 2% และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ และโซเดียมไฮโปคลอไรต์ที่ความเข้มข้น 0.5% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
ตัวอักษร a-c ที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ทั้งนี้จะอธิบายได้จากการที่สารละลายกรดมีผลทำให้โครงสร้างโมเลกุลของอะฟลาทอกซิน B₁ เปลี่ยนไปกลายเป็นอะฟลาทอกซิน B_{2a} ในสภาวะที่มีน้ำ (ภาพที่ 8) โดยโมเลกุลของน้ำไปจับกับพันธะคู่ที่วงแหวนฟูแรน ซึ่งกรดจะทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Jalili *et al.*, 2011) โดยอะฟลาทอกซิน B_{2a} มีความรุนแรงน้อยกว่าอะฟลาทอกซิน B₁ มีบางรายงานที่กล่าวว่าการใช้กรดซิตริก (citric acid) และกรดแลคติก (lactic acid) ร่วมกับการแปรรูปแบบ extrusion ในข้าวฟ่าง สามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซินได้ 92% และ 67% ตามลำดับ (Mendez-Albores *et al.*, 2009)



ภาพที่ 8 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างอะฟลาทอกซิน B₁ ภายหลังจากได้รับการรักษาด้วยวิธีทางกายภาพ และวิธีทางเคมี

ที่มา: Basappa (2009)

ในกรณีของสารออกซิไดซ์สามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซินได้ น่าจะเป็นผลมาจากสารออกซิไดซ์ไปจับกับพันธะคู่ของวงแหวนฟูแรน ทำให้โครงสร้างอะฟลาทอกซิน B₁ เปลี่ยนไป ปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน B₁ จึงลดลง และผลของสารละลายต่างต่อการลดอะฟลาทอกซิน B₁ น่าจะอธิบายได้จากการที่สารละลายต่างไปจับกับวงแหวนแลคโตนในโครงสร้างอะฟลาทอกซิน B₁ ทำให้วงแหวนแลคโตนเปิดออกเกิดเป็นโครงสร้างโมเลกุลใหม่ เรียกว่า beta-keto acid (ภาพที่ 8) ซึ่งสามารถละลายน้ำได้ดี ดังนั้นจึงล้างหรือกำจัดอะฟลาทอกซินออกได้โดยง่าย (Jalili *et al.*, 2011) ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับรายงานของ Price and Jorgensen (1985) ที่รายงานว่า เมื่อต้มข้าวโพดในสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% ทำให้สามารถลดปริมาณการปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซินในข้าวโพดได้ 43%

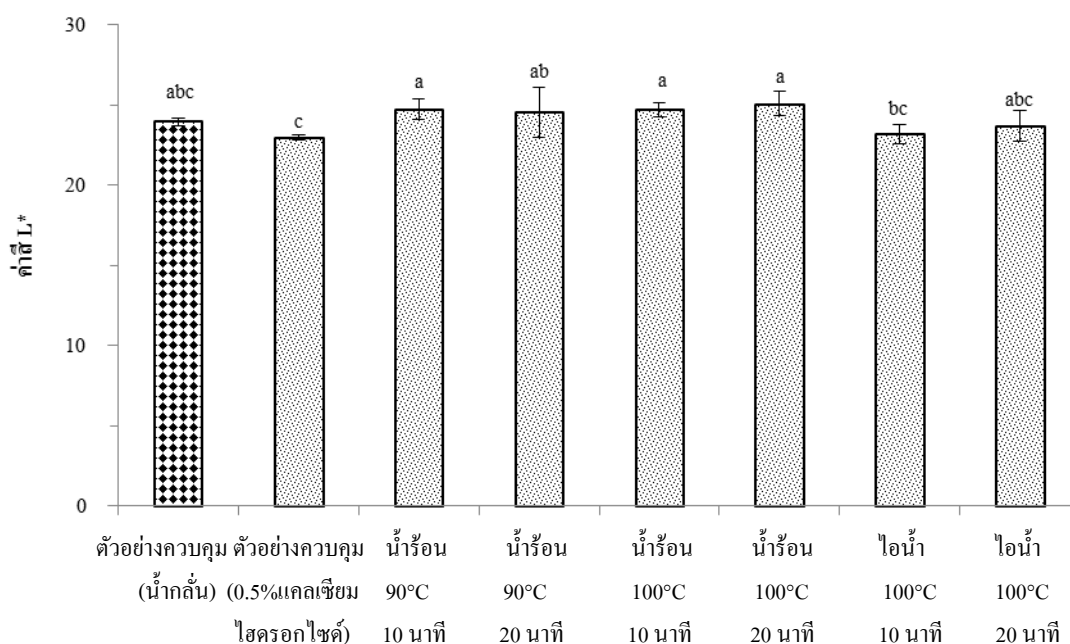
2. ผลของการใช้สารเคมีร่วมกับความร้อนต่อการลดอะฟลาทอกซิน B₁ และคุณภาพของพริกแกงแดง

ในการทดลองเพื่อศึกษาผลของสารเคมีและความร้อนต่อการลดอะฟลาทอกซิน B₁ และคุณภาพของพริกแกงแดงนี้ จะเลือกใช้สารเคมีที่เหมาะสมที่สุดในการลดสารพิษอะฟลาทอกซิน B₁ ตามผลการทดลองข้อ 1.6 ซึ่งพบว่าสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5%

สามารถลดสารพิษอะฟลาทอกซิน B₁ ได้ดีที่สุด คือ 72.1% โดยไม่มีผลต่อคุณภาพด้านต่างๆ ของพริกแกงแดง เมื่อเปรียบเทียบกับสารเคมีอื่นๆ ที่ใช้ในการทดลอง และเป็นการใช้สารเคมีที่มีระดับความเข้มข้นต่ำ ดังนั้นจึงเลือกใช้สารละลาย 0.5% แคลเซียมไฮดรอกไซด์ มาศึกษา ร่วมกับการให้ความร้อนวิธีต่างๆ ประกอบด้วย การให้ความร้อนด้วยการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90°C และ 100°C และการลวกด้วยไอน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 10 และ 20 นาที

2.1 ผลของสารเคมีและความร้อนต่อค่าสี ($L^*a^*b^*$) ในพริกแห้ง

จากการทดลองเตรียมพริกแกงแดง ภายหลังจากการแช่พริกแห้งในสารละลาย แคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำมาผ่านการให้ความร้อนด้วยการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90°C และ 100°C และลวกด้วยไอน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 10 และ 20 นาที ทำการบดละเอียด แล้ววัดค่าด้วยเครื่องวัดสี พบว่าค่า L^* หรือค่าความสว่าง ในตัวอย่างพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ให้ความร้อนด้วยวิธีการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90°C (เป็นเวลา 10 และ 20 นาที) และ 100°C (เป็นเวลา 10 และ 20 นาที) วัดค่า L^* ได้เท่ากับ 24.7, 24.6, 24.7 และ 25.1 ตามลำดับ ซึ่งค่า L^* ดังกล่าวมีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ผ่านการแช่ด้วย 0.5% แคลเซียมไฮดรอกไซด์ แต่ไม่ได้รับการให้ความร้อน (ค่า L^* เท่ากับ 23.0) (ภาพที่ 9) ทั้งนี้ น่าจะเป็นผลมาจากตัวอย่างที่ผ่านการต้มจะมีน้ำเข้าไปแทรกอยู่ภายในเนื้อเยื่อของพริกแทนที่อากาศมากขึ้น จึงทำให้สีของพริก เต็มชัดขึ้น และเพิ่มความสว่างให้กับสีของพริกด้วย ส่วนในตัวอย่างที่ลวกด้วยไอน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100°C (เป็นเวลา 10 และ 20 นาที) ซึ่งวัดค่า L^* ได้เท่ากับ 23.2 และ 23.7 ตามลำดับ เนื่องด้วยวิธีการลวกด้วยไอน้ำร้อนดังกล่าวพริกไม่ได้สัมผัสกับน้ำโดยตรงในขณะที่ให้ความร้อน ดังนั้นค่า L^* จึงไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุม ($p>0.05$) (ตัวอย่างควบคุมคือ พริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการแช่ในน้ำกลั่นโดยไม่ผ่านการให้ความร้อน (ค่า L^* เท่ากับ 24.0) และ พริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการแช่ในสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% โดยไม่ผ่านการให้ความร้อน (ค่า L^* เท่ากับ 23.0))

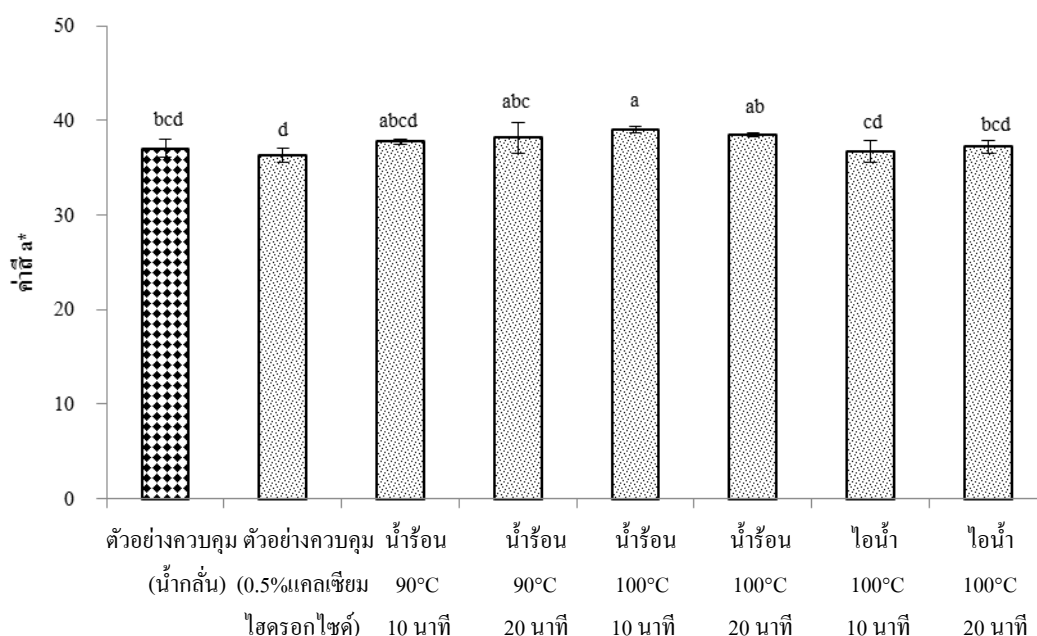


ภาพที่ 9 ค่าสี L^* ของพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการแช่ด้วยสารละลาย แคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วให้ความร้อนด้วยการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90°C และ 100°C และลวกด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 10 และ 20 นาที

ตัวอักษร a-c ที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

สำหรับผลของค่า a^* หรือสีแดงของพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งแช่พริกแห้งที่แช่ในสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% แล้วให้ความร้อนต่อโดยการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 10 และ 20 นาที 100°C เป็นเวลา 20 นาที และลวกด้วยไอน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 10 และ 20 นาที สามารถวัดค่า a^* ได้เท่ากับ 37.8, 38.1, 38.5, 36.7 และ 37.2 ซึ่งค่าที่ได้ไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุม (พริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการแช่ในน้ำกลั่นและพริกแห้งที่ผ่านการแช่สารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% โดยไม่ผ่านการให้ความร้อน) ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 10) ส่วนตัวอย่างที่ให้ความร้อนด้วยวิธีการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 10 นาที วัดค่า a^* ได้เท่ากับ 39.0 ซึ่งเพิ่มขึ้นจากตัวอย่างควบคุม อาจจะเป็นผลมาจากเมื่อพริกผ่านการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิสูง (100°C) ทำให้เกิดการไล่อากาศออกจากผลพริกจึงทำให้พริกมีสีแดงสดขึ้น แต่เมื่อเพิ่มเวลาในการต้มจาก 10 นาที เป็น 20 นาที จะมีผลทำให้ค่า a^* ลดลง ซึ่งอาจเป็นผลมาจาก *trans* beta-carotene เปลี่ยนเป็น *cis* beta-carotene ทำให้มีสีแดงซีดลง ดังการศึกษาของ Noryati and Revathi (2006) ที่รายงานว่า ในการลวกพริกที่อุณหภูมิ 90°C เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการลวก

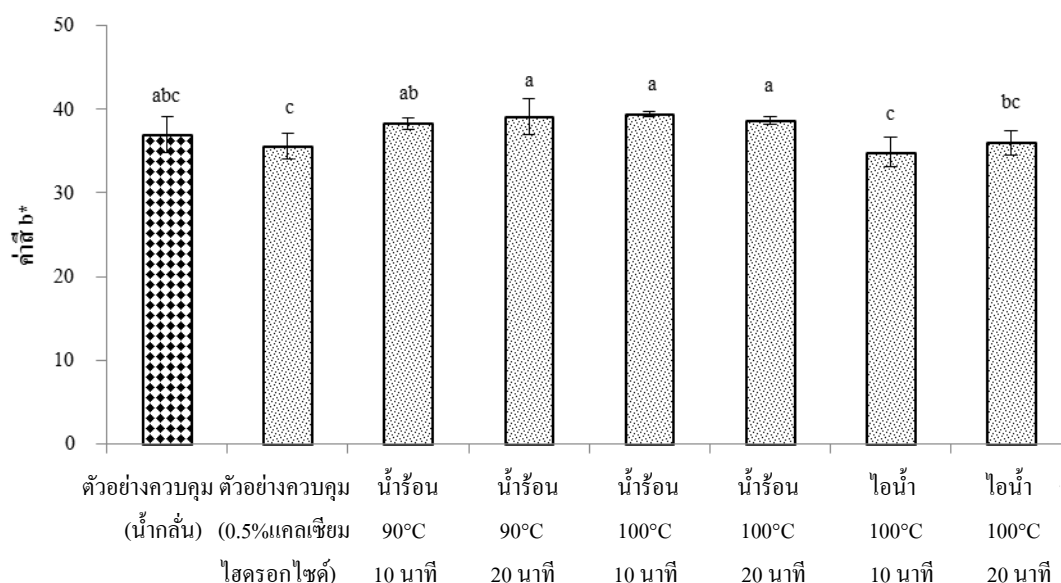
จาก 10 นาที เป็น 20 นาที จะทำให้ค่า a^* ลดลงจาก 44.95 เป็น 44.86 ตามลำดับ ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการให้ความร้อนจะทำให้สีแดงของพริกลดลง



ภาพที่ 10 ค่าสี a^* ของพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการแช่ด้วยสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วให้ความร้อนด้วยการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90°C และ 100°C และลวกด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 10 และ 20 นาที

ตัวอักษร a-d ที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

สำหรับค่า b^* หรือค่าสีเหลือง พบว่า พริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการให้ความร้อนด้วยวิธีการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90°C และ 100°C เป็นเวลา 10 และ 20 นาที จะมีค่า b^* เท่ากับ 38.3, 39.1, 39.4 และ 38.7 ตามลำดับ (ภาพที่ 11) ซึ่งค่า b^* จะเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม (พริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการแช่ในสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% โดยไม่ผ่านการให้ความร้อน) ($p \leq 0.05$) ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าการให้ความร้อนด้วยวิธีการลวกในน้ำร้อนจะทำให้พริกแกงแดงมีสีเหลืองมากขึ้น ส่วนตัวอย่างพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการลวกด้วยไอน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 10 และ 20 นาที จะมีค่า b^* ไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุม (พริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการแช่ในสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% โดยไม่ผ่านการให้ความร้อน) เนื่องจากขณะให้ความร้อนพริกไม่ได้สัมผัสกับน้ำโดยตรง



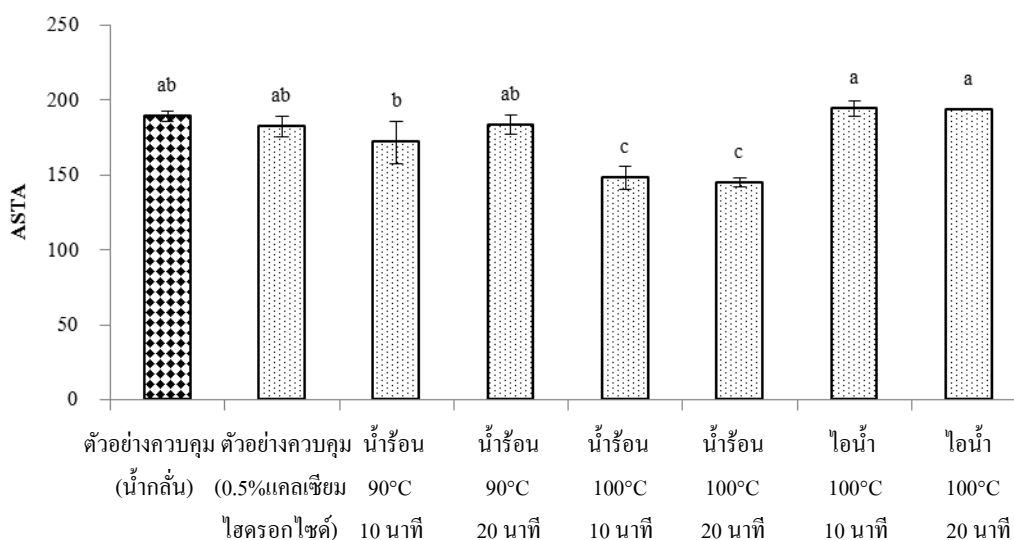
ภาพที่ 11 ค่าสี b^* ของพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการแช่ด้วยสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วให้ความร้อนด้วยการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90°C และ 100°C และลวกด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 10 และ 20 นาที

ตัวอักษร a-c ที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

2.2 ผลของสารเคมีและความร้อนต่อค่าความเข้มของสีแดง (ASTA)

การศึกษาผลของสารเคมีและความร้อนต่อค่าความเข้มของสีแดง โดยการเตรียมพริกแกงแดงโดยการแช่พริกแห้งในสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำมาผ่านการให้ความร้อนด้วยการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90°C และ 100°C และการลวกด้วยไอน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 10 และ 20 นาที ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 12 โดยพบว่าความเข้มสีแดงของพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการให้ความร้อนด้วยการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 10 และ 20 นาที มีค่าความเข้มของสีแดง (ASTA เท่ากับ 148.2 และ 145.0 ตามลำดับ) ลดลงจากตัวอย่างควบคุม (พริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการแช่น้ำกลั่น และพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการแช่ในสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% โดยไม่ผ่านการให้ความร้อน ที่มีค่า ASTA เท่ากับ 189.2 และ 182.2 ตามลำดับ) ($p \leq 0.05$) ซึ่งอาจเป็นผลมาจากความร้อนไปมีผลต่อโครงสร้างของ carotenoids ทำให้โครงสร้างของ carotenoids เปลี่ยนจากโครงสร้าง *trans* เป็นโครงสร้าง *cis* ทำให้ความเข้มของสีแดงลดลง ในขณะที่การให้ความร้อนด้วยการลวกด้วยไอน้ำร้อนที่อุณหภูมิ

100°C เป็นเวลา 10 และ 20 นาที ค่าความเข้มสีแดงของพริกแกงแดง (ASTA เท่ากับ 194.5 และ 193.4 ตามลำดับ) ไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุม ซึ่งเป็นผลมาจากพริกไม่ได้สัมผัสกับน้ำโดยตรงจึงไม่ทำให้เกิดสีซีดจาง

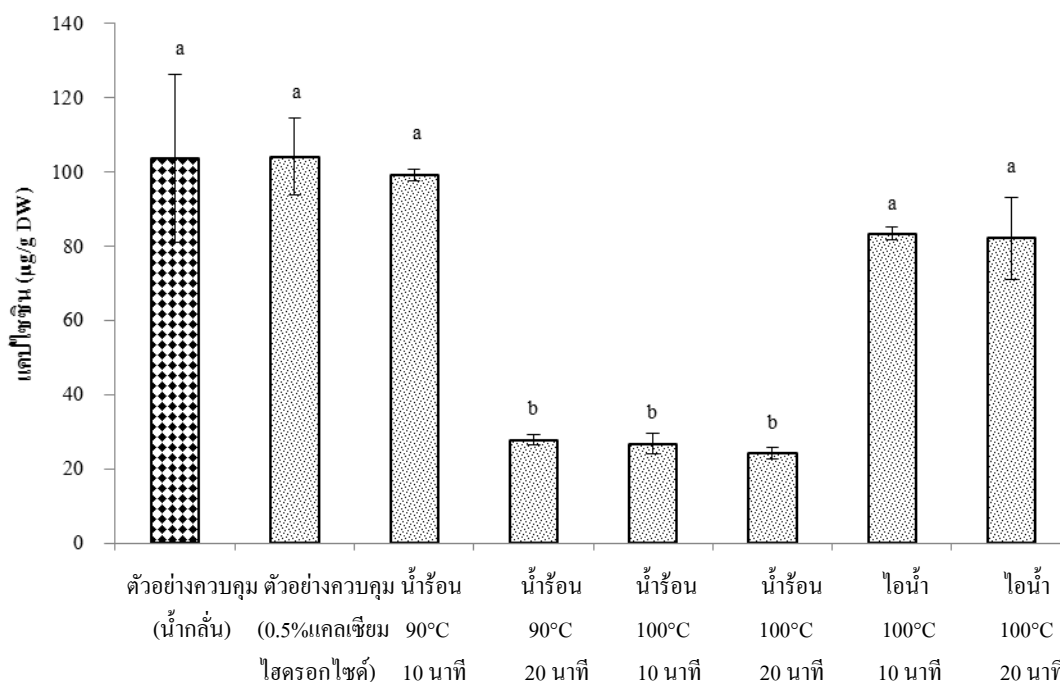


ภาพที่ 12 ค่าความเข้มสีแดง (ASTA) ของพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการแช่ด้วยสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วให้ความร้อนด้วยการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90°C และ 100°C และลวกด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 10 และ 20 นาที
ตัวอักษร a-c ที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

2.3 ผลของสารเคมีและความร้อนต่อปริมาณแคปไซซินในพริกแกงแดง

จากการเตรียมพริกแกงแดงหลังจากการแช่พริกแห้งในสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำมาผ่านการให้ความร้อนด้วยการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90°C, 100°C และการลวกด้วยไอน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 10 และ 20 นาที แล้วนำมาบดละเอียด พบว่า เมื่อวิเคราะห์หาปริมาณแคปไซซินที่คงเหลือในพริกด้วยการสกัดด้วยเมทานอล แล้ววิเคราะห์ด้วย HPLC จากผลการทดลองในภาพที่ 13 จะเห็นได้ว่าพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการลวกด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 20 นาที และ 100°C เป็นเวลา 10 และ 20 นาที (ปริมาณแคปไซซินเท่ากับ 27.9 26.8 และ 24.2 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ) จะมีปริมาณแคปไซซินลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม (พริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่แช่ในน้ำ

กลับ, แหในสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% ไม่ผ่านการให้ความร้อน มีปริมาณแคลไซซินคงเหลือ 103.7 และ 104.2 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ) และพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการให้ความร้อนด้วยวิธีการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 10 นาที มีปริมาณแคลไซซินคงเหลือ 99.2 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (ลดลง 4.8% จากตัวอย่างควบคุม 0.5% แคลเซียมไฮดรอกไซด์ ไม่ผ่านการให้ความร้อน) ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) กับพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการให้ความร้อนด้วยวิธีการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 20 นาที และ 100°C เป็นเวลา 10 และ 20 นาที (ลดลง 73.2% 74.3% และ 76.8% จากตัวอย่างควบคุมที่แช่พริกแห้งในสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% แล้วไม่ผ่านการให้ความร้อน ตามลำดับ) เนื่องจากความร้อนสูงมีผลทำให้ปริมาณแคลไซซินลดลง ซึ่งแคลไซซินมีจุดหลอมเหลวเท่ากับ 65°C สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Schweiggert *et al.* (2006) ที่รายงานว่า ปริมาณแคลไซซินน้อยลงในพริกลดลง 21.7-28.3% เมื่อลวกพริกในน้ำร้อนอุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 5 นาที และเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการลวกก็ยิ่งทำให้เกิดการสูญเสียแคลไซซินน้อยมากขึ้น ขณะที่พริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการให้ความร้อนด้วยการลวกด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 10 และ 20 นาที มีปริมาณแคลไซซินคงเหลือไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุมเนื่องจากพริกไม่ได้สัมผัสกับน้ำร้อนโดยตรงจึงทำให้สารแคลไซซินในพริกไม่ถูกทำลาย



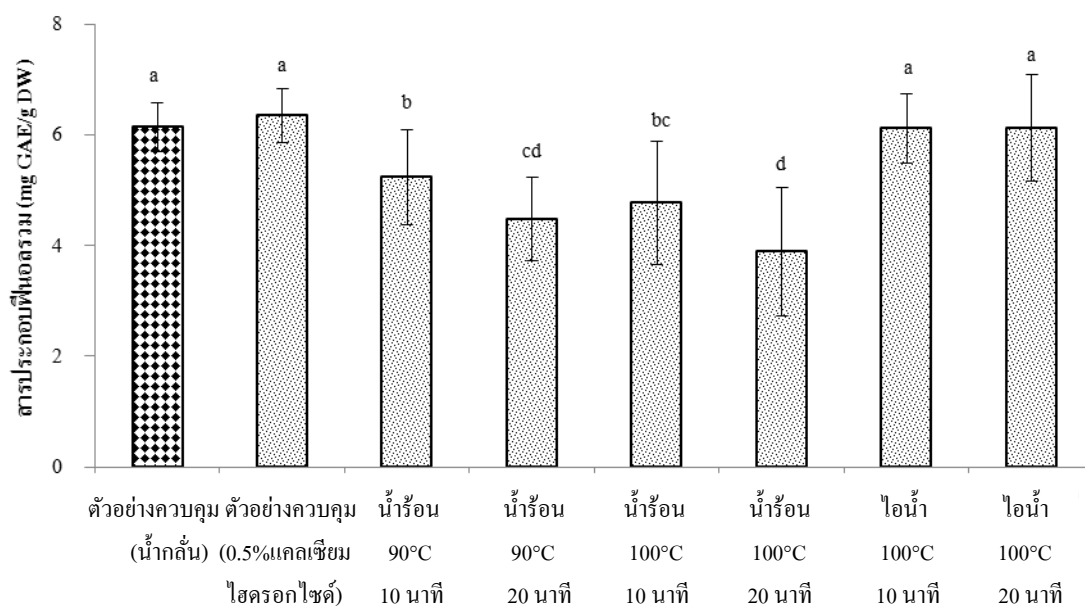
ภาพที่ 13 ปริมาณแคปไซซินในพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการแช่ด้วยสารละลายแอสคอร์บิกไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วให้ความร้อนด้วยการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90°C และ 100°C และลวกด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 10 และ 20 นาที

ตัวอักษร a-c ที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

2.4 ผลของสารเคมีและความร้อนต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม

จากการทดลองเตรียมพริกแกงแดงภายหลังจากการแช่พริกแห้งในสารละลายแอสคอร์บิกไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นล้างด้วยน้ำสะอาด แล้วนำมาผ่านการให้ความร้อนด้วยการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90 °C และ 100 °C และลวกด้วยไอน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 10 และ 20 นาที พบว่าตัวอย่างพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการแช่ในสารละลายแอสคอร์บิกไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% แล้วผ่านการให้ความร้อนด้วยวิธีการลวกในน้ำร้อนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม กล่าวคือ ตัวอย่างพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการให้ความร้อนด้วยการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90°C และ 100°C มีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมอยู่ในช่วง 3.9-5.2 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (ภาพที่ 14) ส่วนตัวอย่างควบคุม (พริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่แช่ในน้ำกลั่น และสารละลายแอสคอร์บิกไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.5% ที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน) วัดปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมได้

เท่ากับ 6.2 และ 6.3 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาถึงผลของอุณหภูมิต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมพบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการให้ความร้อนด้วยวิธีการลวกในน้ำร้อนจากอุณหภูมิ 90°C เป็น 100°C ที่ระยะเวลาให้ความร้อนเท่ากัน ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ส่วนระยะเวลาการให้ความร้อนด้วยวิธีการลวกในน้ำร้อนมีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม โดยพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมลดลงเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการให้ความร้อน ดังเช่นการลวกพริกแห้งในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90°C เมื่อเพิ่มระยะเวลาการให้ความร้อนจาก 10 นาที เป็น 20 นาที ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมในพริกแกงแดงที่วัดได้ลดลงจาก 5.2 เป็น 4.5 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ส่วนการลวกพริกแห้งในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เมื่อเพิ่มระยะเวลาการให้ความร้อนจาก 10 นาที เป็น 20 นาที ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมในพริกแกงแดงที่วัดได้ลดลงจาก 4.8 เป็น 3.9 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ในขณะที่การเพิ่มระยะเวลาการให้ความร้อนด้วยการลวกด้วยไอน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100°C ไม่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม น่าจะมีสาเหตุเนื่องมาจากการลวกตัวอย่างพริกแห้งด้วยน้ำร้อนโดยตรง มีผลทำให้สารประกอบฟีนอลรวมในพริกถูกชะไปอยู่ในส่วนของน้ำที่ใช้ลวก จึงทำให้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลลดลงได้ ดังรายงานของ Hugheya *et al.* (2012) ที่กล่าวว่าเมื่อลวกเมล็ดอัลมอนต์ในน้ำที่อุณหภูมิ 25°C และ 100°C เป็นเวลา 10 นาที จะเกิดการชะเอาสารประกอบฟีนอลที่ผิวเมล็ดอัลมอนต์ไปอยู่ในส่วนของน้ำที่ใช้ลวกประมาณ 30% (25°C) และ 90% (100°C) และยิ่งเพิ่มระยะเวลาในการลวกมากขึ้นก็จะทำให้เกิดการสูญเสียสารประกอบฟีนอลเพิ่มขึ้นด้วย



ภาพที่ 14 ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมในพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการแช่ด้วยสารละลายแอสคอร์บิกไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วให้ความร้อนด้วยการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90°C และ 100°C และลวกด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 10 และ 20 นาที

ตัวอักษร a-d ที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

2.5 ผลของสารเคมีและความร้อนต่อการลดปริมาณอะฟลาทอกซิน B₁ ในพริกแกงแดง

การศึกษาลดปริมาณอะฟลาทอกซิน B₁ ในพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการแช่ในสารเคมีร่วมกับการให้ความร้อนจะเลือกใช้สารเคมีที่เหมาะสมและสามารถลดสารพิษอะฟลาทอกซิน B₁ ได้ดีที่สุดจากผลการทดลองข้อที่ 1.6 สารเคมีดังกล่าวคือ 0.5% แอสคอร์บิกไฮดรอกไซด์ นำพริกแห้งที่สร้างการปนเปื้อนเทียมด้วยอะฟลาทอกซิน B₁ (ความเข้มข้นสารพิษอะฟลาทอกซินเริ่มต้น 39.5 ± 3.2 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม) แช่ในสารละลาย 0.5% แอสคอร์บิกไฮดรอกไซด์ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำมาผ่านการให้ความร้อนด้วยการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90°C และ 100°C และลวกด้วยไอน้ำร้อนอุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 10 และ 20 นาที แล้วบดละเอียด จากนั้นวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซิน B₁ คงเหลือในพริกด้วย HPLC เพื่อให้ปริมาณอะฟลาทอกซิน B₁ ที่เหลือในตัวอย่างพริกแกงแดงสามารถวัดได้ทุกตัวอย่าง เนื่องจากการวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซิน B₁ ด้วยวิธี HPLC มีค่า Limit of Detection (LOD) และ Limit of Quantitation (LOQ) ที่ต่ำกว่า ELISA กล่าวคือ HPLC จะมีค่า LOD เท่ากับ 0.05 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และมีค่า LOQ เท่ากับ 0.15 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ส่วน

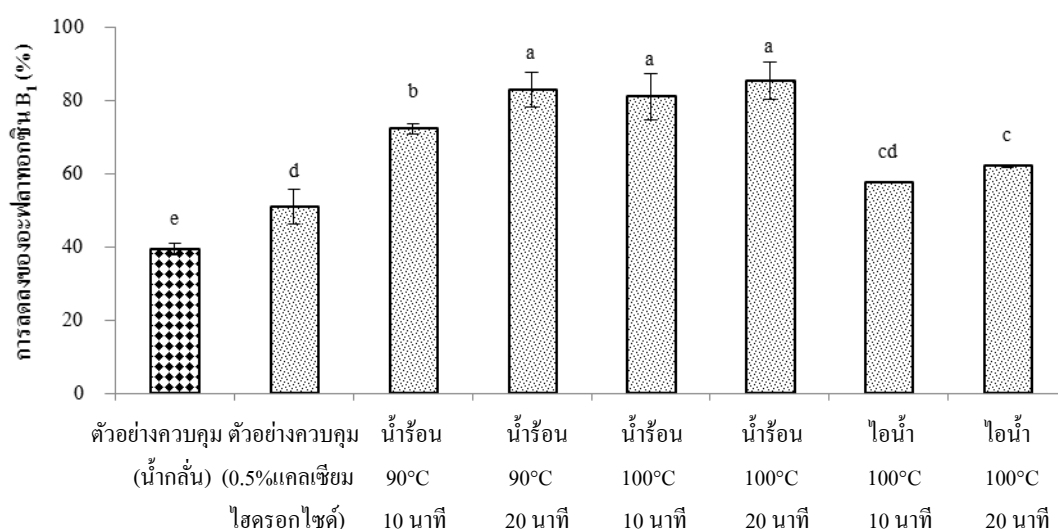
ELISA จะมีค่า LOD เท่ากับ 2 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และมีค่า LOQ เท่ากับ 2 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม

จากผลการทดลองในภาพที่ 15 พบว่าการเตรียมพริกแกงแดงโดยการแช่พริกแห้งในสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% ร่วมกับการให้ความร้อนทุกวิธีสามารถลดการปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซิน B₁ ในพริกแกงแดงได้ กล่าวคือ การให้ความร้อนด้วยการลวกพริกแห้งในน้ำร้อน (90 และ 100°C) สามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซิน B₁ ในพริกแกงแดงได้ 72.1-85.3% ซึ่งมีประสิทธิภาพดีกว่าการให้ความร้อนด้วยการลวกด้วยไอน้ำร้อน (100°C) ที่สามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซิน B₁ ได้เพียง 57.6-62.1% (ภาพที่ 15) อีกทั้งยังพบว่าการเพิ่มอุณหภูมิการให้ความร้อนจะช่วยลดปริมาณอะฟลาทอกซิน B₁ ได้สูงขึ้นที่ระยะเวลาการให้ความร้อนเท่ากัน ดังเช่นที่ระยะเวลาการให้ความร้อนคือ 10 นาที พบว่าตัวอย่างพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90°C จะสามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซิน B₁ ได้ 72.1% ส่วนตัวอย่างพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100°C จะสามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซิน B₁ ได้ 81.0% และเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการลวกจะช่วยลดปริมาณอะฟลาทอกซิน B₁ ได้สูงขึ้นด้วยเช่นกัน ดังจะเห็นได้จากตัวอย่างพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90°C เมื่อเพิ่มระยะเวลาการให้ความร้อนจาก 10 นาทีเป็น 20 นาที พบว่าสามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซิน B₁ ได้สูงขึ้นจาก 72.1% เป็น 82.9%

ดังนั้นจากผลการทดลองข้างต้นสามารถกล่าวได้ว่าวิธีการให้ความร้อนที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการลดอะฟลาทอกซิน B₁ ในพริกแกงแดง คือการให้ความร้อนด้วยวิธีการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 20 นาที 100°C เป็นเวลา 10 นาที และ 100°C เป็นเวลา 20 นาที ที่สามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซิน B₁ ได้สูงถึง 82.9%, 81.0% และ 85.3% ตามลำดับ โดยเฉพาะอย่างยิ่งวิธีการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 20 นาที ที่สามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซิน B₁ ได้สูงสุด (85.3%) ซึ่งน่าจะมีผลมาจากการที่ต่างไปจากกับวงแหวนแลคโตนภายในโครงสร้างของอะฟลาทอกซิน B₁ ทำให้วงแหวนแลคโตนเปิดออกเกิดเป็นโครงสร้างโมเลกุลใหม่ เรียกว่า beta-keto acid ซึ่งสามารถละลายน้ำได้ดี (Jalili *et al.*, 2011) และความร้อนก็มีส่วนช่วยลดปริมาณอะฟลาทอกซิน B₁ ด้วย ดังนั้นจึงล้างหรือกำจัดอะฟลาทอกซิน B₁ ออกได้โดยง่ายในระหว่างการลวกในน้ำร้อน เพราะพริกได้สัมผัสกับน้ำโดยตรง ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Price and Jorgensen (1985) ที่รายงานไว้ว่า เมื่อต้มข้าวโพดในสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% ทำให้สามารถลดปริมาณการปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซินในข้าวโพดได้ถึง 43% อีกทั้ง Camou-Arriola and Price (1989) ได้รายงานไว้ว่าเมื่อต้มข้าวโพดที่มีการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินโดยธรรมชาติที่ความเข้มข้น 1,600

ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 3% ที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 4 นาที สามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซิน B₁ และอะฟลาทอกซิน B₂ ได้ 93% และจากการศึกษาของ Hwang and Lee (2006) ที่รายงานว่า เมื่อต้มข้าวสาลีในน้ำเดือดที่อุณหภูมิ 100±2°C เป็นเวลา 15 นาที สามารถลดปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในข้าวสาลีแห้งได้ถึง 71%

อย่างไรก็ตามการให้ความร้อนด้วยวิธีการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 20 นาที มีผลกระทบในทางลบต่อคุณภาพของพริกแกงแดง (ค่าความเข้มข้นสีแดง ปริมาณแคปไซซิน และปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม) ที่รุนแรงกว่าการให้ความร้อนด้วยวิธีการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 20 นาที และการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 10 นาที อย่างไรก็ตามพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 10 นาที จะมีค่าความเข้มข้นของสีแดงลดลงมากกว่าพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 20 นาที ดังนั้นเมื่อพิจารณาจากผลกระทบต่อคุณภาพของพริกแกงแดงร่วมกับประสิทธิภาพในการลดปริมาณอะฟลาทอกซิน B₁ อาจกล่าวได้ว่าการให้ความร้อนด้วยวิธีการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 20 นาที เป็นวิธีการที่เหมาะสมที่สุดในการลดสารพิษอะฟลาทอกซิน B₁ ในพริกแกงแดง



ภาพที่ 15 ปริมาณการลดลงของอะฟลาทอกซิน B₁ ในพริกแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการแช่ด้วยสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วให้ความร้อนด้วยการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90°C และ 100°C และลวกด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 10 และ 20 นาที

ตัวอักษร a-e ที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

3. ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส

เนื่องจากผู้วิจัยสนใจที่จะศึกษาถึงการนำวิธีการที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการลดปริมาณอะฟลาทอกซิน B₁ ในพริกแกงแดง (นำพริกแห้งแช่ในสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% เป็นเวลา 2 ชั่วโมงแล้วล้างออกด้วยน้ำสะอาด จากนั้นนำมาลวกในน้ำร้อนอุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำมาบดละเอียด) มาใช้จริงในการประกอบอาหารเพื่อการบริโภค ผู้วิจัยได้เลือกน้ำแกงแดง (Red curry) มาเป็นอาหารตัวอย่างในการทดลองนี้ จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสน้ำแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งภายหลังจากการแช่ในสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปล้างด้วยน้ำสะอาดแล้วให้ความร้อนด้วยวิธีการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 20 นาที เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมซึ่งเป็นน้ำแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ผ่านการแช่น้ำและไม่ผ่านการให้ความร้อน ด้วยวิธีการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยใช้วิธีทดสอบความแตกต่างแบบ Triangle test ระหว่างตัวอย่างน้ำแกงแดงที่เตรียมจากพริกแห้งที่ถูกเตรียมด้วยวิธีการข้างต้น จากผลการทดลองพบว่าจากผู้ทดสอบทั้งหมด 30 คน มีผู้ทดสอบที่สามารถแยกความแตกต่างของตัวอย่างได้ถูกต้องจำนวน 11 คน และมีผู้ทดสอบที่ไม่สามารถแยกความแตกต่างของตัวอย่างได้ถูกต้องจำนวน 19 คน เมื่อทดสอบทางสถิติด้วย chi-square test พบว่า ตัวอย่างน้ำแกงแดงทั้งสองสูตรไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าสภาวะที่ดีที่สุดที่ผู้วิจัยเลือกใช้ในการผลิตพริกแกงแดงดังกล่าวให้ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุม (แช่พริกแห้งในน้ำและไม่ผ่านการให้ความร้อน)

สรุปผล

จากการศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสารเคมีที่เหมาะสมในการกำจัดอะฟลาทอกซิน B₁ ในพริกแห้งซึ่งเป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตพริกแกงแดงโดยใช้สารเคมีร่วมกับความร้อน

โดยเปรียบเทียบการแช่พริกแห้งในสารเคมี 3 กลุ่ม ประกอบด้วย สารเคมีประเภทกรด (กรดซิตริก, กรดแอสซิดิก) ต่าง (โซเดียมไบคาร์บอเนต, แคลเซียมไฮดรอกไซด์) และสารออกซิไดส์ (โซเดียมไฮโครซัลไฟต์, โซเดียมไฮโปคลอไรต์) ที่ความเข้มข้น 0.5 และ 2% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่าการแช่พริกแห้งในสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% สามารถลดอะฟลาทอกซิน B₁ ได้สูงถึง 72.1% โดยไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพทางกายภาพและคุณภาพทางเคมีของพริกแห้ง และจากการศึกษาการแช่พริกแห้งในสารละลายนี้ร่วมกับการให้ความร้อน (ลวกด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90 และ 100°C และลวกด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 10 และ 20 นาที) พบว่าความร้อนช่วยกำจัดอะฟลาทอกซิน B₁ ได้มากขึ้น โดยวิธีการให้ความร้อนที่เหมาะสมที่สุดคือการลวกในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 20 นาที ซึ่งสามารถลดการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซิน B₁ ได้ถึง 82.9% ดังนั้นการนำพริกแห้งมาแช่ในสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นให้ความร้อนโดยการลวกในน้ำร้อน อุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 20 นาที จึงเป็นวิธีการที่เหมาะสมที่สุดในการลดการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน B₁ ในพริกแห้ง และจากการนำพริกแห้งที่แช่และให้ความร้อนที่สภานี้มาเตรียมเป็นพริกแกงส้มสำหรับทำน้ำแกงส้มมาทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่าผู้บริโภคไม่สามารถแยกความแตกต่างกับแกงส้มที่เตรียมจากพริกแกงส้มสูตรปกติได้

จากผลการศึกษาเป็นประโยชน์อย่างยิ่งสำหรับอุตสาหกรรมการผลิตพริกแกง ซึ่งในกระบวนการผลิตพริกแกงในระดับอุตสาหกรรมจะมีขั้นตอนการล้างเพื่อล้างสิ่งปนเปื้อนออกจากพริกแห้ง และมีการให้ความร้อนแก่พริกแห้งเพื่อทำลายเอนไซม์พอร์ลิฟิโนลออกซิเดส (PPO) เป็นการป้องกันการเกิดสีน้ำตาลในผลิตภัณฑ์พริกแกงอยู่แล้วดังนั้นเพียงเพิ่มขั้นตอนการแช่พริกแห้งในสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% ก่อนขั้นตอนการล้าง จะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์พริกแกงที่มีความปลอดภัยจากสารพิษอะฟลาทอกซิน B₁ แก่ผู้บริโภคมากขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- กิตติรัตน์ วงศ์อินทร์. 2551. ความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งตับเนื่องจากการได้รับอะฟลาทอกซินจากการบริโภคเครื่องแกงเผ็ดแดงของประชากรในเขตชนบทของจังหวัดสุพรรณบุรี. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยมหิดล.
- ณัฐพงษ์ จิตรภักธรรม, กานดา หวังชัย และ จำนง อุทัยบุตร. 2553. ผลของโอโซนต่อการลดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์และสารอะฟลาทอกซินในพริกชี้ฟ้าแห้ง. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 41 (1) (พิเศษ): 349-352.
- ดวงจันทร์ สุขประเสริฐ และ วนิดา ยุธยาติ. 2545. สารพิษอะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในเครื่องเทศ. วารสารสุขภาพอาหาร. ปีที่ 4(ฉบับที่ 2): หน้า 33-37.
- ทิพยา ปาณโต, ศิริพรรณ เอี่ยมรุ่งโรจน์, วารุณี เสนสุภา และทรงพล รัตนพันธ์. 2530. การปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในอาหารสำเร็จรูปที่ทำจากถั่ว. ฝ่ายค้นคว้าและวิจัยกองวิชาการสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยากระทรวงสาธารณสุขกรุงเทพมหานคร, 54 น.
- นาริส บินหะยีติง, ปิยาภรณ์ ภาษิตกุล และ วิภา พลันสังเกตุ. 2552. ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณแคโร-ทีนอยด์และสีใน *Capsicum annuum* L. var. *acuminatum* Fingerh, น. 1-9. ใน รายงานการประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัย มหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 19. มหาวิทยาลัยทักษิณ, สงขลา.
- นริยา รัตนพานนท์. 2549. เคมีอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 2. โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.
- ปัญญาภรณ์ อุดคำเที่ยง. 2555. ผลของอุณหภูมิในการหุงต้มต่อการลดอะฟลาทอกซินบี 1 ในถั่วงอกและผลิตภัณฑ์พริกแห้ง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สุดาทิพย์ แซ่ตัน. 2550. การลดความเสี่ยงจากการปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซินในถั่วงอกดิบด้วยวิธีการคัดเลือกคุณภาพถั่วงอกและโครงข่ายประสาทเทียม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สุรลักษณ์ รอดทอง. 2538. จุลินทรีย์และโรคที่เกิดจากอาหาร. สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, นครราชสีมา. (เอกสารอัดสำเนา)

อนงค์ บิณฑวิหค. 2546. สารพิษจากเชื้อรา: อะฟลาทอกซิน. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์แห่ง
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

Ahmed, J., U.S. Shivhare and H.S. Ramaswamy. 2002. A Fraction conversion kinetic model for thermal degradation of color in red chilli puree and paste. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**. 35: 497-503.

Alberts, J.F., Y. Engelbrecht, P.S. Steyn, W.H. Holzapfel and W.H. van Zyl. 2006. Biological degradation of aflatoxin B1 by *Rhodococcus erythropolis* cultures. **Food Microbiology**. 109: 121-126.

Anupanpong, T., P. Weerapon, W. Natorn and P. Wongsu. 2010. Effects of pre-treatment and storage temperature on quality attributes of red curry paste, pp. 128-138. *In Proceeding of Food Innovation Asia Conference 2010*. Bangkok, Thailand.

AOAC International. 2002. 43.1.02 Color extractable in spices. *In* W. Horwitz, ed. **AOAC methods 971.26, Vol. 2**. Maryland.

AOAC. 2000. **Official Method of Analysis of AOAC International**. 17th ed. Arlington. Va: Association of Official of Analytical Chemists. Inc.

Basappa, S.C. 2009. **Aflatoxins Formation, Analysis and Control**. Alpha Science International Ltd., Oxford, U.K.

Bennett, J.W. and M. Klich. 2003. Mycotoxins. **Clinical Microbiology Reviews**. 16: 497-516.

Bhatnagar, D., K.C. Ehrlich and T.E. Cleveland. 1991. Oxidation-reduction reactions in biosynthesis of secondary metabolites, pp. 86-255. *In* D. Bhatnaga, E.B. Lillehoj and D.K. Arora, eds. **Mycotoxins in Ecological Systems**. Marcel Dekker, New York.

Camou-Arriola, J.P. and R.L. Price. 1989. Destruction of aflatoxin and reduction of mutagenicity of naturally contaminated corn during production of a corn snack. **Journal of Food Science**. 52: 814-817.

- Choi, S.H., B.S. Suh, E. Kozukue, N. Kozukue, C.E. Levin and M. Friedman. 2006. Analysis of the contents of pungency compounds in fresh Korean red peppers and in pepper-containing foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 54: 9024-9031.
- Conzane, R.S., W.R. Stenzel and L.W. Kroh. 2002. Reducing the aflatoxin content in peanuts. **Deutsche Lebensmittel-Rundschau**. 98: 321-325.
- Coppock, R.W. and G.R. Christian. 2007. **Aflatoxins. In Veterinary Toxicology: Basic and Clinical**. Principles, Gupta RC (ed.). Elsevier, New York.
- Coppock, R.W., R.G. Christian and B.J. Jacobsen. 2012. **Aflatoxins**. Veterinary Toxicology, Gupta RC (ed.). Elsevier, New York.
- Diener, U.L., R.J. Cole, T.H. Sanders, G.A. Payne, L.S. Lee and M.A. Klichl. 1987. Epidemiology of aflatoxin formation by *Aspergillus flavus*. **Annual review of phytopathology**. 25: 249-270.
- Eaton, D.L. and E.P. Gallagher. 1994. Mechanisms of aflatoxin carcinogenesis. **Annual review of pharmacology and toxicology**. 34: 135-172.
- Escher, F.E., P.E. Koehler and J.C. Ayres. 1973. Effect of roasting on aflatoxin content of artificially contaminated pecans. **Journal of Food Science**. 38: 889-892.
- Farzaneh, M., Z.Q. Shi, A. Ghassempour, N. Sedaghat, M. Ahmadzadeh, M. Mirabolfathy and M. Javan-Nikkhah. 2012. Aflatoxin B1 degradation by *Bacillus subtilis* UTBSP1 isolated from pistachio nuts of Iran. **Food Control**. 23: 100-106.
- Garrido, N.S., M.H. Iha, M.R. Santos Ortolani and R.M. Duarte Fávoro. 2003. Occurrence of aflatoxins M(1) and M(2) in milk commercialized in Ribeirao Preto-SP, Brazil. **Food Additives & Contaminants**. 20: 70-73.
- Hugheya, C.A., R. Januszewicz, C.S. Minardi, J. Phunga, B.A. Huffmana, L. Reyes, B.E. Wilcoxa and A. Prakashc. 2012. Distribution of almond polyphenols in blanch water and skins as a function of blanching time and temperature. **Food Chemistry**. 131: 1165-1173.

- Hwang, J.H. and K. Lee. 2006. Reduction of aflatoxin B1 contamination in wheat by various cooking treatments. **Food Chemistry**. 98: 71-75.
- Inan, F., M. Pala and I. Doymaz. 2007. Use of ozone in detoxification of aflatoxin B1 in red pepper. **Journal of Stored Products Research**. 43: 425-429.
- Inchuen, S., W. Narkrugsa and P. Pornchaloempong. 2010. Effect of drying methods on chemical composition, color and antioxidant properties of Thai red curry paste. **Kasetsart Journal (Natural Science)**. 44: 142-151.
- Jalili, M., S. Jinap and R. Son. 2011. The effect of chemical treatment on reduction of aflatoxins and ochratoxin A in black and white pepper during washing. **Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess**. 28: 485-493.
- Khlangwiset, P. and F. Wu. 2010. Costs and efficacy of public health interventions to reduce aflatoxin-induced human disease. **Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess**. 27(7): 998-1014.
- King, J.M. and Jr. A.D. Prudente. 2005. Chemical detoxification of aflatoxins in food and feed pp. 543-553. *In* H.K. Abbas, ed. **Aflatoxin and Food Safety**. CRC Taylor and Francis, New York.
- Mendez-Albores, A., J. Veles-Medina, E. Urbina-Alvarez, F. Martinez-Bustos and E. Moreno-Martinez. 2009. Effect of citric acid on aflatoxin degradation and on functional and textural properties of extruded sorghum. **Animal Feed Science and Technology**. 150: 316-329.
- Milbury, P.E., C.Y. Chen, G.G. Dolnikowskia and J.B. Blumberg. 2006. Determination of flavonoids and phenolics and their distribution in almonds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 54(14): 5027-5033.
- Muangrijun, N., W. Benjapong, W. Karnpanij and P. Pattanakulanan. 2009. Aflatoxin contamination in commercial red curry paste sold in fresh markets. **KKU Science Journal**. 37: 221-230.

- Noryati, I. and R. Revathi. 2006. Studies on the effects of blanching time, evaporation time temperature and hydrocolloid on physical properties of chili (*Capsicum annum var kulai*) puree. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**. 39: 91-97.
- Price, R.L. and K.V. Jorgensen. 1985. Effect of processing on aflatoxin levels and on mutagenic potential of tortillas made from naturally contaminated corn. **Journal of Food Science**. 50: 347-357.
- Rahmani, A., S. Jinap and F. Soleimany. 2010. Validation of the procedure for the Simultaneous determination of aflatoxinsochratoxin A and zearalenone in cereals using HPLC-FLD. **Food Additives & Contaminants**. 27: 1683-1693.
- Robens, J.F. and J.L. Richard. 1992. Aflatoxins in animal and human health. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**. 127: 69-94.
- Schweiggert, U., A. Schieber and R. Carle. 2006. Effect of blanching and storage on capsaicinoid stability and peroxidase activity of hot chili peppers (*Capsicum frutescens* L.). **Innovative Food Science & Emerging Technologies**. 7: 217-224.
- Shuaib, F.M., J. Ehiri, A. Abdullahi, J.H. Williams and P.E. Jolly. 2010. Reproductive Health effects of aflatoxins: a review of the literature. **Reproductive Toxicology**. 29(3): 262-270.
- Strosnider, H., E. Azziz-Baumgartner, M. Banziger, R.V. Bhat, R. Breiman, M.N. Brune, K. DeCock, A. Dilley, J. Groopman, K. Hell, S.H. Henry, D. Jeffers, C. Jolly, P. Jolly, G.N. Kibata, L. Lewis, X. Liu, G. Lubber, L. McCoy, P. Mensah, M. Miraglia, A. Misore, H. Njapau, C.N. Ong, M.T. Onsongo, S.W. Page, D. Park, M. Patel, T. Phillips, M. Pineiro, J. Pronczuk, H.S. Rogers, C. Rubin, M. Sabino, A. Schaafsma, G. Shephard, J. Stroka, C. Wild, J.T. Williams and D. Wilson. 2006. Workgroup report: public health strategies for reducing aflatoxin exposure in developing countries. **Environmental Health Perspectives**. 114(12): 1898-1903.
- Wild, C.P. and Y.Y. Gong. 2010. Mycotoxins and human disease: a largely ignored global health issue. **Carcinogenesis**. 31(1). 71-82.

Williams, J.H., T.D. Phillips, P.E. Jolly, J.K. Stiles, C.L. Jolly and D. Aggarwal. 2004.

Humanaflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. **American Journal of Clinical Nutrition.** 80: 1106-1122.

Wu, Q., A. Jezkova, Z. Yuan, L. Pavlikova, V. Dohnal and K. Kuca. 2009. Biological degradation of aflatoxins. **Drug Metabolism Reviews.** 41(1): 1-7.

Xiu-Ju Luo , Jun Peng , Yuan-Jian Li. 2011. Recent advances in the study on capsaicinoids and capsinoids. **European Journal of Pharmacology.** 650: 1-7.

Zhao, X., D.W. Schaffner and T. Yue. 2013. Quantification of aflatoxin risk associated with Chinese spices: Point and probability risk assessments for aflatoxin B1. **Food Control.** 33: 366-377.