

วิรัช เรืองศรีตระกูล ทวี พรหมดี และประดิษฐ์ เพื่อรักษา. 2548. การวิเคราะห์แอลฟลาทอกซินชนิด ปี1 ปี2 จี1 และ จี2 ใน

อาหารจำพวกน้ำพริกโดยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง. วารสารงานวิจัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น.
ขอนแก่น. หน้า 242-249.

วิไล รังสาดทอง. 2546. เทคโนโลยีการแปรรูปอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 3. บริษัท เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด.,
กรุงเทพฯ.

ยุวดี จอมพิทักษ์, ทรงชัย สิมะโรจน์, พรชัย สิมะโรจน์, ธวัชชัย สิมะโรจน์ และ มยุรี ภิรมย์โสภะ. 2541. ผัก: อาหารมีพลัง.
รุ่งแสงการพิมพ์, กรุงเทพฯ.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2526. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมพริกป่น 457-

2529. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม, กรุงเทพฯ. สำนักงานมาตรฐานสินค้า
เกษตรและอาหารแห่งชาติ. มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหาร เรื่อง พริก

มกอช 1502-2547. สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์,
กรุงเทพฯ.

สูตรโครงสร้างของแอลฟลาทอกซิน Available at <http://www.aflatoxin.info/aflatoxin.asp>

อมรมา ชินภูติ และ ชวลิต ศรีกรุณาสวัสดิ์. 2547. คู่มือการใช้ชุดตรวจสอบสารแอลฟลาทอกซินสำเร็จรูป DOA-Aflatoxin
ELISA Test Kit. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

Bhat, R; Geeta, H. and Kulkarni. 1987. Microbial profile of cumin seeds and chili powder

sold in retail shops in the city of Bombay. *Journal of Food Protection* 50 (5) 418-419, 433

Eissa, H. A., Mostafa, B. E., & Hussein, A.S. 2007. Capsaicin content and quality characteristics in different
local pepper varieties (*Capsicum Annum*) and acid-brine pasteurized puree. *Journal of Food
Technology*, 5(3), 246-255.

- Ergunes, G. and Tarhan, S.(2006). Color retention of red peppers by chemical pretreatments during greenhouse and open sun drying. *Journal of Food Engineering*. 76:446-452.
- Heldman, D.R.; and Harlet, R.W. 1997 Principles of food processing. Chapman & Hall, London.
- Krajaylang, M., Klieber, A. and Dry, P.2000. Colour at harvest and post-harvest behavior Influence paprika and chili spice quality. *Postharvest. Biol & Technol* 20:269-278.
- Lunning,P.A., Ebbenhorst-Seller, T. and Roozzen, J.P.1995. Effect of hot-air drying on flavor compounds of bell peppers (*Capsicum annuum*). *Journal Science and i. Food Agriculture*. 68: 355-365.
- Maharaj, V. and Sankat,C.K.1996. Quality changes in dehydrated dasheen leaves: effects and drying conditions. *Food Research International*. 29:563-568.
- Massada, Y.; Hashimoto, K.; Incue, T. And Suzuchi, M. 1971. Analysis of Pungent principles of *Capsicum Annuum* by combine Gas chromatography and Mass Spectrometry. *Journal of Food Science*. 36:858-860.
- Minquez-Mosquera,M.I. and Hornero-Mendez,D. 1994a. Comparative study of the effect of paprika processing on the carotenoids in peppers (*Capsicum annuum*) of the Bola and Agridulce varieties. *Journal .Agricultural and Food Chemistry*. 42(7): 1555-1560
- Minquez-Mosquera, M.I., Jaren-Galan, M., and Garrido-Fernandez, J. 1994c. Influence of the industrial drying processes of pepper fruits (*Capsicum annuum* cv. Bola) for paprika on the carotenoid content. *Journal .Agricultural and Food Chemistry*. 42(5): 1190-1193.
- Ramesh, M. N., Wolf, W., Tevini, D., and Jung, G. 2001. Influence of processing parameters on the drying of spice paprika. *Journal of Food Engineering*, 49, 63-72.
- Romagnoli, B., Menna, V., Gruppioni, N., and Bergamini, C. 2007. Aflatoxins in spices, aromatic herbs-teas and medicinal plants marketed in Italy. *Food Control*, 18, 697-701.

- Russell, R., and Paterson, M. 2007. Aflatoxins contaminations in chili samples from Pakistan. *Food Control*, 18, 817-820.
- Schweiggert, U., Schieber, A., and Carle, R. 2006 Effects of blanching and storage on capsaicinoid stability and peroxidase activity of hot chili peppers (*Capsicum frutescens* L.). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 7, 217-224.
- Tarhan, S. 2007. Selection of chemical and thermal pretreatment combination for plum drying at low and moderate drying air temperature. *Journal of Food Engineering*, 79:255-260.
- Topuz, A., and Ozdemir, F. 2007. Assessment of carotenoids, capsaicinoids and ascorbic acid composition of some selected pepper cultivars (*Capsicum annuum* L.) grown in Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 596-602.
- Tunde-Akintunde, T. Y., Afolabi, T. J., and Akintunde, B. O. 2005. Influence of drying methods on drying of bell-pepper (*Capsicum annuum*). *Journal of Food Engineering*, 68, 439-442.
- Vega-Galvez, A., Lemus-Mondaca, R., Bilbao-Sainz, c. Fito, P. and Andres, A. 2008. Effect of air drying temperature on the quality of rehydrated dried red bell paper (var. Lamuyo). *Journal of Food Engineering*, 85:42-50.

ภาคผนวก 1

ก. วิเคราะห์และทดลอง

1. การวิเคราะห์ ความชื้น

- อบด้วยอุณหภูมิเยยมเปล่าในตู้อบอุณหภูมิ 103 ± 2 °ซ ประมาณ 1 ชั่วโมง
- นำถ้วยอุณหภูมิเยยมเปล่าทิ้งไว้ในเย็นใส่ในโถดูดความชื้น (desiccators)
- ชั่งถ้วยอุณหภูมิเยยมเปล่า จดบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน (W_c)
- ชั่งตัวอย่างลงในถ้วยอุณหภูมิเยยม ประมาณ 2-3 กรัม บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน (W_s)
- นำไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 103 ± 2 °ซ ประมาณ 16 ชั่วโมง
- นำถ้วยอุณหภูมิเยยมทิ้งไว้ในเย็นใส่ในโถดูดความชื้น (desiccators) ประมาณ 30 – 45 นาที
- ชั่งน้ำหนักพร้อมกับการบันทึก (W_1)
- นำถ้วยอุณหภูมิเยยมไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 103 ± 2 °ซ อีกครั้ง ประมาณ 1 ชั่วโมง
- นำถ้วยอุณหภูมิเยยมทิ้งไว้ในเย็นใส่ในโถดูดความชื้น (desiccators) ประมาณ 30 – 45 นาที
- ชั่งน้ำหนักพร้อมกับการบันทึก (W_2)
- ทำซ้ำจนกว่าผลต่างของ W_1 และ W_2 มีค่าไม่เกิน 0.005 กรัม
- คำนวณหาร้อยละของความชื้นที่มีอยู่

$$\text{ร้อยละความชื้น (w/w)} = \frac{W_s - (W_2 - W_c) \times 100}{W_s}$$

2. การวิเคราะห์ค่าการสกัดสีแดง (ASTA)

- การเตรียมตัวอย่างและวิธีวิเคราะห์
- ชั่งตัวอย่างประมาณ 1 กรัม ใส่ลงในขวดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 100 มล. บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน
- เติมน้ำ Acetone จนปริมาตรครบ 100 มล.
- ทิ้งไว้ในที่มืด 16-20 ชั่วโมง
- กรองด้วยกระดาษกรอง No.4
- วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 460 nm บันทึกค่าที่แน่นอน

การคำนวณ

$$\text{ASTA 20} = \frac{\text{Absorbance} \times 16.4 \times I_f}{\text{Weight of sample (g)}}$$

3. การวิเคราะห์สีแบบ CIE

- เปิดเครื่องวัดสี Color Quest พร้อมเปิดคอมพิวเตอร์
- แลกรโปรแกรมที่ใช้วัดสี และ calibrate เครื่อง
- เติมตัวอย่างลงในภาชนะแก้วที่ใช้สำหรับวัดสีให้เต็ม
- ทำการวัดสีและบันทึกค่าที่ใช้ในการวัดสีคือ L, a, b, C และ h

4. การวิเคราะห์ขนาดอนุภาคเฉลี่ย

4.1 การเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์

- ชั่งตะแกรงร่อนขนาด 2000, 1000, 600, 500, 250, 125, 63 มม. และ ถาดรอง บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน
- ชั่งตัวอย่าง 200 กรัม ใส่ลงในตะแกรงด้านบนสุด
- วางลงบนเครื่องเขย่า และเขย่าประมาณ 20 นาที โดยใช้ระดับความเร็วที่ 2
- ชั่งตะแกรงร่อนแต่ละขนาด เพื่อหาปริมาณของตัวอย่างที่ตกค้างแต่ละตะแกรง
- นำมาวิเคราะห์ผล

5. การวิเคราะห์หา moisture sorption

- เตรียมสารเคมีที่มีความชื้นสัมพัทธ์ (Relative Humidity) ต่างๆกัน
- ชั่งตัวอย่างประมาณ 10 กรัมใส่ลงในแก้ว
- นำแก้วใส่ในโถที่มีความชื้นสัมพัทธ์ (Relative Humidity) ต่างๆกันปิดฝาให้สนิท
- ทิ้งไว้ประมาณ 15-30 วัน
- นำตัวอย่างในแต่ละโถมาวิเคราะห์ค่า a_w และความชื้น
- สร้างกราฟระหว่าง a_w กับความชื้นที่เปลี่ยนแปลง

หมายเหตุ: ตัวอย่างที่อยู่ในโถที่มีความชื้นสัมพัทธ์ (Relative Humidity) ระหว่าง 93-100 ควรใส่ แอลกอฮอล์ เพื่อป้องกันไม่ให้เชื้อราขึ้น

6. การวิเคราะห์หา อะฟลาทอกซิน

a. การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์

i. การเตรียม washing buffer

นำ Washing buffer ในขวดมาเจือจางเป็น 0.01 M PBS-T โดยเติมน้ำกลั่น 900 มล. สำหรับนำไปใช้ในการเจือจางตัวอย่าง และใช้ล้าง Micro ELISA plate เก็บที่อุณหภูมิ 5°C

ii. การเตรียม substrate solution

ผสม Substrate solution A และ substrate solution B ในอัตราส่วน 1:1 ควรเตรียมในปริมาณที่ต้องการเท่านั้นและใช้ภายใน 1 ชั่วโมง

iii. สารพิษอะฟลาทอกซินมาตรฐาน พร้อมใช้ในการวิเคราะห์

iv. การเตรียม enzyme conjugate

เติม Conjugate buffer 1 มล. ลงไปในหลอดเอ็นไซม์ คอนจูเกต 1 หลอด เขย่าเล็กน้อยให้ เป็นเนื้อเดียวกัน หรือ กลับหลอดขึ้นลงให้เข้ากัน ถ้าใช้ไม่หมดส่วนที่เหลือสามารถเก็บในหลอดเดิมปิดฝาให้สนิทแล้วเก็บที่อุณหภูมิ 5°C สำหรับ ครั้งต่อไป ส่วนเอ็นไซม์ คอนจูเกตหลอดที่ยังไม่ได้เจือจางเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 0 °C

v. Stopping Solution

พร้อมใช้ในการวิเคราะห์

b. วิธีการสกัดตัวอย่าง

- ชั่งตัวอย่าง 20 กรัม ในบีกเกอร์ขนาด 250 มล.
- เติม 100 มล. ของ 70%เมทานอล (อัตราส่วนของตัวอย่าง ต่อ 70%เมทานอล = 1:5)
- ปิดปากบีกเกอร์ และเขย่าทิ้งไว้ 30 นาที
- กรองตัวอย่างผ่านกระดาษกรองเบอร์ 4 เก็บส่วนใสที่กรองได้หลอดแก้วสะอาดปิดสนิท ความเข้มข้นของสารสกัดคือ 1:5 เท่า
- เจือจางสารสกัดเป็น 1:20 เท่า โดยใช้สารละลาย washing buffer (0.01M PBS-T) โดยเจือจางในอัตราส่วน 1:3 (สารสกัดตัวอย่าง 1 มล. + สารละลาย 0.01M PBS-T 3 มล.)

c. วิธีการวิเคราะห์

- วางแผนการให้หลุมการทดลองในแต่ละ plate ว่าจะใช้สารพิษมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น และใส่สารสกัดตัวอย่างในหลุมใด

- หยดสารพิษมาตรฐานอะฟลาทอกซิน ระดับความเข้มข้นต่างๆ (4-5 ความเข้มข้น) ปริมาณ 50 ไมโครลิตร ลงในหลุมทดสอบ หลุมละความเข้มข้น และหยดสารสกัดตัวอย่างที่เจือจางแล้ว ปริมาณ 50 ไมโครลิตร ลงในหลุมทดสอบที่เหลือ
- หยดเอ็นไซม์ คอนจูเกต (AFB₁-HRP conjugate) ที่เจือจางใน Conjugate Buffer ปริมาณ 50 ไมโครลิตร ลงในหลุมทดสอบ เขย่าเล็กน้อย แล้วบ่มไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที
- หลังจากครบเวลาการบ่มแล้วเทสารในหลุมทดสอบทิ้งโดยการคว่ำหลุม
- ล้างหลุมทดสอบโดยเติม washing buffer (0.01M PBS-T) ลงในหลุมให้เต็มทุกหลุม แล้วคว่ำทิ้ง ทำการล้างอย่างน้อย 3 ครั้ง
- คว่ำหลุมทดสอบบนกระดาษซับแล้วเคาะจนแห้ง
- หยด substrate solution ที่เตรียมใหม่ๆ ปริมาณ 100 ไมโครลิตร ลงในหลุมทดสอบทุกหลุม แล้วบ่มไว้ในที่มืดเป็นเวลา 5-10 นาที จะเกิดปฏิกิริยาสีฟ้า ตามลำดับความเข้มข้นของอะฟลาทอกซิน ตัวอย่างที่มีสีฟ้าเข้มแสดงว่าไม่มีอะฟลาทอกซิน หรือมีน้อยและตัวอย่างที่มีสีฟ้าจางหรือขาวแสดงว่ามีความเข้มข้นของอะฟลาทอกซินมาก (การอ่านผลเชิงคุณภาพ)

7.การวิเคราะห์หาปริมาณเบต้า-แคโรทีน

7.1 วิธีการสกัดตัวอย่าง

- ชั่งตัวอย่าง 50 กรัม เติมอะซิโตน (Acetone) 100 มล.
- บดผสมหรือ Sonicate จนกว่าสีของเนื้อพริกจางลง
- ระเหยอะซิโตน (Acetone) ให้มีปริมาตรประมาณ 50 มล. โดยเครื่องกลั่นที่อุณหภูมิ 50 °ซ
- ใส่ใน Separation funnels พร้อมเติม diethyl ether ประมาณ 100 มล.
- เติม 10% โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 100 มล.
- เก็บ Supernatant และล้างด้วย 2% Na₂SO₄ ประมาณ 100 มล.
- เติม 10% potassium hydroxide in methanol ประมาณ 50 มล. ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง (ขั้นตอนนี้จะเกิดปฏิกิริยาของสบู่ saponification)
- เติม 10% โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 100 มล. เพื่อหยุดปฏิกิริยา (เก็บส่วนข้างบนไว้)
- ล้างด้วยน้ำสะอาดจนกว่าน้ำจะมีพีเอชเป็นกลาง (700 มล.) (เก็บส่วนข้างบนไว้)
- ล้างด้วย 2% Na₂SO₄ ประมาณ 100 มล. (เก็บส่วนข้างบนไว้)
- นำส่วนข้างบนที่เก็บไว้ประเหยเอา diethyl ether ออก จนแห้ง
- เติม Acetone ประมาณ 10-15 มล.
- กรองตัวอย่างใส่ขวดสีชาปริมาตร 1.5 มล. เพื่อนำไปวิเคราะห์ HPLC

7.2 การวิเคราะห์ HPLC

- Mobile phase; Acetone: water, 75:25
- Column C18
- Temperature 30°C
- Flow rate 1ml/min
- Time 34 min

8 การวิเคราะห์หาปริมาณแคปไซซินทั้งหมด

- ชั่งตัวอย่าง 2 กรัม ในบีกเกอร์ขนาด 250 มล.
- เติม Acetone ประมาณ 10 มล.
- กวนผสมจนสีตัวอย่างจาง
- บั่นเหวี่ยง โดยใช้ความเร็วประมาณ 10,000 rpm ประมาณ 10 นาที
- ดูดส่วนใสข้างบนประมาณ 1 มล. ใส่ใน test tube
- ระบายจนแห้งใน Water bath
- เติม 0.4% NaOH 5 มล. และ 3% Phosphomolybdic acid 3 มล. เพื่อละลายตัวอย่างที่แห้ง
- เขย่าและทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง
- กรองและบั่นเหวี่ยง โดยใช้ความเร็วประมาณ 5000 rpm ประมาณ 15 นาที
- วัด Absorbance ที่ 650 nm (blank คือ 0.4% NaOH 5 มล. และ 3% Phosphomolybdic acids 3 มล.)

9 การวิเคราะห์หา a_w (Water activity)

- ทำการ calibrate เครื่องวัด a_w
- ใส่ตัวอย่างในกล่องพลาสติก
- ใส่ตัวอย่างในเครื่องวัด
- กดที่จุด start จนไฟขึ้นที่ analyze
- รอเครื่องวิเคราะห์ จะมีเสียงดังและไฟติดที่ปุ่ม ok
- นำตัวอย่างออก พร้อมใส่ silica gel แทนที่
- ใส่ตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ต่อไป

ภาคผนวก
 ข . รูปภาพขั้นตอนการดำเนินการ



1.พริกพันธุ์จินดาจากตลาด



2.การคัดสิ่งแปลกปลอมออก



3.การคัดเลือกตามสีของพริกสด



4.พริกสด



5.การแบ่งพริกสดตามชุดทดลอง



6.พริกสดชุดควบคุม



7. ชูดทดลองลวกด้วยน้ำเดือด



8. ชูดทดลองลวกด้วยการนึ่ง



9. ชูดทดลองแช่สารละลาย



10. การสะเด็ดน้ำหลังแช่น้ำเดือด



11. พริกสดหลังการลวก



12. พริกสดหลังการนึ่ง



13. พริกสดหลังแช่สารละลาย T1



14. พริกสดหลังแช่สารละลาย T2



15. พริกสดหลังแช่สารละลาย T3



16. พริกสดหลังแช่สารละลาย T4



17. พริกสดหลังแช่สารละลาย T5



18. พริกสดหลังแช่สารละลาย T6



19.พริกสดบนตะแกรงก่อนอบ



20. ตะแกรงวางในตู้อบ



21.พริกแห้งชุดควบคุม



22.พริกแห้งชุดทดลอง



23.พริกแห้งชุดทดลองนี้



24.พริกแห้งชุดทดลอง T1



25.พริกแห้งชุดทดลอง T2



26.พริกแห้งชุดทดลอง T3



27.พริกแห้งชุดทดลอง T4



28.พริกแห้งชุดทดลอง T5



29.พริกแห้งชุดทดลอง T6