

พัฒนาการวิเคราะห์อพลาทอกซินโดยวิธีมินิคอลัมน์

ไพโรจน์ วิริยจารี

ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร

คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

เชียงใหม่ 50002

DEVELOPING MINICOLUMN METHOD FOR AFLATOXIN ANALYSIS

Pairote Wiriyacharee

Department of Food Science Technology

Faculty of Agriculture, Chiang Mai University

Chiang Mai 50002

SUMMARY : Until now, an improved minicolumn method for aflatoxin analysis has been developed. The purpose of this work is to find an acceptable method that can screen a wide range of commodities. Preliminary purification of extract is necessary to remove the major portion of some interfering substances. The method must be more rapid and simple to be employed and be practical for field or in-plant application. It belongs to procedure which requires only plastic and glass tubes that reduces a lot of maintenance. In certain steps of analysis the use of some suitable chemicals also lessens potential toxicity in the laboratory, as well as environmental pollution.

ความย่อ : การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์อพลาทอกซินโดยใช้มินิคอลัมน์ มีจุดประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีวิเคราะห์ให้สามารถใช้ได้กับตัวอย่างหลายประเภท ขั้นตอนการสกัดอพลาทอกซินให้บริสุทธิ์จากตัวอย่างแต่ละประเภทมีความสำคัญต่อการกำกัดสารต่างๆ ที่มีผลต่อการวิเคราะห์ นอกจากนี้ยังต้องสามารถวิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็ว ง่าย และสะดวก

เพื่อที่จะได้นำไปใช้นอกสถานที่ การให้หลอดพลาสติกหรือหลอดแก้วบรรจุสารต่าง ๆ เพื่อวิเคราะห์ชนิดและปริมาณอฟลาทอกซินได้ถูกพัฒนาขึ้น ซึ่งเป็นการลดค่าใช้จ่าย การใช้สารเคมีที่เหมาะสมยิ่งขึ้น ในระหว่างการวิเคราะห์จะช่วยลดปัญหาการเป็นพิษแก่ผู้ปฏิบัติการในห้องทดลอง และมีผลดีต่อสภาพแวดล้อมอีกด้วย

คำนำ

สารพิษที่พบในอาหารมีอันตรายต่อการดำรงชีพของมนุษย์เป็นอย่างมาก อฟลาทอกซินเป็นสารพิษชนิดหนึ่งที่พบในอาหารบางชนิด โดยเฉพาะในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร สารพิษชนิดนี้สร้างโดยเชื้อราหลายเหล่า เช่น *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. และ *Rhizopus* sp. เป็นต้น (Goldblatt 1969) เชื้อราเหล่านี้สามารถเจริญเติบโตได้ในที่มีความชื้นสัมพัทธ์ ประมาณร้อยละ 80-85 และมีอุณหภูมิที่เหมาะสมประมาณ 30 องศาเซลเซียส (Coker et al. 1984) ด้วยเหตุผลนี้จึงพบสารพิษอฟลาทอกซินได้มากที่สุดในเขตร้อน แต่เชื้อราเหล่านี้ก็สามารถเจริญเติบโตได้แม้ในที่มีอุณหภูมิต่ำ แต่การเจริญเติบโตเป็นไปอย่างช้า ๆ สารพิษดังกล่าวเมื่อปนเปื้อนในอาหารไม่สามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า เมื่อรับประทานเข้าไปจะก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค โดยเฉพาะอาจเป็นสาเหตุของการเกิดมะเร็งที่ตับ (กลีนลูนอร์ 2524) ซึ่งเป็นเหตุผลอันหนึ่งที่ทำให้งานค้นคว้าวิจัยทางด้านสารพิษอฟลาทอกซินมีความสำคัญมากในปัจจุบัน เพื่อป้องกันสุขภาพอนามัยของผู้บริโภคที่อาจจะได้รับอันตรายจากสารพิษดังกล่าวจึงได้มีสถาบัน องค์การต่าง ศึกษาค้นคว้า และพัฒนาวิธีป้องกันการเกิดสารพิษนี้ ตลอดจนพัฒนาวิธีการวิเคราะห์เพื่อให้ทราบถึงชนิดและปริมาณที่พบในอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพื่อหาตรรกะยืนยันว่าอาหารนั้นเหมาะสมแก่การบริโภคหรือไม่ การวิเคราะห์อฟลาทอกซินใช้หลักการที่สารพิษนี้ สามารถเรืองแสงได้ภายใต้แสงอุลตราไวโอเลต เช่น อฟลาทอกซิน B₁, B₂ และอฟลาทอกซิน

M_1 , M_2 สามารถเรืองแสงสีฟ้าเงินเมื่ออยู่ภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต ส่วนอพลาทอกซิน G_1 และ G_2 สามารถเรืองแสงสีเขียว เมื่ออยู่ภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต

ตามปกติการวิเคราะห์เพื่อให้ทราบชนิดและปริมาณอพลาทอกซินที่แน่นอน มักใช้วิธีการที่เรียกว่า ทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี (Thin Layer Chromatography, TLC) ร่วมกับเครื่องมือ Fluorodensitometer (Jones 1972) ปัจจุบันการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์อพลาทอกซินได้ใช้เทคโนโลยีขั้นสูงมากขึ้น โดยการใช้วิธีที่เรียกว่า High Pressure Liquid Chromatography; HPLC (Pons *et al.* 1976, 1978) ซึ่งทั้งสองวิธีที่กล่าวข้างต้น เป็นวิธีการที่ค่อนข้างยุ่งยากซับซ้อนให้ผลที่ถูกต้องและแม่นยำมาก ในด้านการวิเคราะห์ทั้งชนิดและปริมาณอพลาทอกซิน แต่เครื่องมือดังกล่าวมีราคาแพงสูง และไม่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์นอกสถานที่หรือภาคสนาม คงใช้ได้เฉพาะในห้องปฏิบัติการใหญ่เท่านั้น

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์อพลาทอกซินด้วยวิธีมินิคอลัมน์ (Minicolumn Method)

เพื่อที่จะศึกษาหาวิธีการที่เหมาะสมในการวิเคราะห์อพลาทอกซิน ให้สามารถนำไปใช้นอกสถานที่ได้ ซึ่งยังไม่มีเครื่องมือพิเศษในการวิเคราะห์ จึงได้มีการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ในหลายรูปแบบ การวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณอพลาทอกซินด้วยวิธีมินิคอลัมน์ เป็นวิธีการ ที่พัฒนามาจากขั้นตอนการทำให้อพลาทอกซินบริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโตกราฟี (Column Chromatography) โดยในคอลัมน์ดังกล่าวมีสารซิลิกาเจล (silica gel) บรรจุอยู่ และปิดหัวท้ายด้วยโซเดียมซัลเฟต แอนไฮไดรรัส (sodium sulphate anhydrous) อพลาทอกซินจะถูกดูดซับที่ชั้นของซิลิกาเจล

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์อพลาทอกซินด้วยวิธีมินิคอลัมน์ สามารถแบ่งการพัฒนาได้ดังนี้

1. การพัฒนาขนาดคอลัมน์ สารบรรจุในมินิคอลัมน์ และวิธีการวิเคราะห์

Holaday (1968) ได้ทดลองวิเคราะห์สารพิษอฟลาทอกซินโดยใช้มินิคอลัมน์ แก้วขนาด 4 X 75 มิลลิเมตร บรรจุสารซิลิกาเจล ประมาณ 4.5 เซนติเมตร เมื่อจุ่มหลอดแก้วลงในสารละลายสกัดอฟลาทอกซินที่ผสมคลอโรฟอร์ม และเมทานอล จะปรากฏอฟลาทอกซินในชั้นซิลิกาเจล ห่างจากด้านล่างของคอลัมน์ประมาณ 10 มิลลิเมตร และสามารถตรวจสอบสารพิษดังกล่าว ที่ระดับ 5 ส่วนในพันล้านส่วน ขึ้นไปภายในเวลา 15-25 นาที แต่เป็นวิธีที่สามารถบ่งชี้การปรากฏอฟลาทอกซินในตัวอย่างได้คร่าว ๆ เมื่อเทียบกับการใช้กินเลเยอร์โครมาโตกราฟี ซึ่งให้ผลชัดเจนแน่นอนกว่า ดังแสดงในตารางที่ 1

Table 1. Comparison of aflatoxin contents in five peanut samples between those obtained by minicolumn method and TLC (Holaday 1968)

Peanut	MCC (ppb.)	TLC (ppb.)
1	100-150	119
2	<30	22
3	60-100	75
4	>150	180
5	30-60	43

หลังจากนั้น ได้มีการพัฒนาคอลัมน์ของ Holaday (1968) โดยการเพิ่มชั้นของอลูมินา (alumina) เติมชั้นซิลิกาเจล ประมาณ 90 มิลลิเมตร เพื่อช่วยกำจัดสารรบกวนอื่น ๆ จากสารละลายสกัดอฟลาทอกซินซึ่งจะมีผลกระทบต่อวิธีการวิเคราะห์อฟลาทอกซินในชั้นซิลิกาเจลได้

ข้อจำกัดของการแช่มีนาคอสมันในสารละลายสกัดฟลาทอกซินมีมากมาย เช่น ความผันแปรในเรื่องปริมาณของสารละลายสกัดที่ถูกดูดซึมขึ้นสู่คอสมันหรือความสูงของแถบฟลาทอกซินที่ปรากฏ และแถบฟลาทอกซินที่กระจายเกินขอบเขตหลังจากยกคอสมันออกจากสารละลายสกัด

ดังนั้น Velasco (1972) ได้ทำการทดลองใหม่ โดยการนำสารละลายสกัดฟลาทอกซินที่ทราบปริมาณแน่นอนเติมใส่มีนาคอสมันที่ด้านบน และปล่อยให้ไหลตามแรงดึงดูดของโลก ซึ่งเป็นการแก้ปัญหาความผันแปรในเรื่องปริมาตรได้ ส่วนความผันแปรอีก 2 อย่าง เขาได้พัฒนาสารบรรจุในมีนาคอสมัน โดยเพิ่มชั้นฟลอริซิล (florisil) ได้ชั้นซิลิกาเจล และผ่านสารละลายสกัดฟลาทอกซินผ่านคอลัมน์โครมกับอะซีโตนแทนเมทานอล แถบฟลาทอกซินจะปรากฏที่ชั้นบนของฟลอริซิลในลักษณะที่มีแถบชัดเจนขึ้น ทั้งนี้เพราะฟลอริซิลช่วยป้องกันมิให้แถบฟลาทอกซินมีการกระจาย โดยมีชั้นทรายเป็นฐานของชั้นฟลอริซิล

Romer (1975) ได้พัฒนาวิธีของ Velasco (1972) ต่อไป โดยเพิ่มชั้นของแคลเซียมซิลเฟตแอนไฮดรัส ปิดหัวท้ายของมีนาคอสมันแทนชั้นของทราย และขยายเส้นผ่าศูนย์กลางหลอดมีนาคอสมันออกเป็น 6 มิลลิเมตร (ภาพที่ 1) การเพิ่มชั้นแคลเซียมซิลเฟตแอนไฮดรัส เพื่อเป็นสารดูดซับน้ำที่อาจปนมากับสารละลายสกัดฟลาทอกซิน และช่วยป้องกันความชื้นจากบรรยากาศไม่ให้สัมผัสกับสารที่บรรจุในคอสมัน ส่วนการขยายเส้นผ่าศูนย์กลางของคอสมันนั้น ช่วยเพิ่มปริมาตรของสารละลายสกัดฟลาทอกซินที่จะผ่านมีนาคอสมันให้มากขึ้น

Holaday (1975) ได้ทดลองบรรจุสารฟลอริซิล และอลูมินา อย่างละ 15 มิลลิเมตร ในมีนาคอสมัน (ดังภาพที่ 1) เพื่อวิเคราะห์ฟลาทอกซิน แต่จากการเปรียบเทียบการนำสารละลายสกัดฟลาทอกซินโดยวิธีของ Holaday (1975) มาผ่านในหลอดแก้วที่พัฒนาโดย Velasco (1972) และโดย Holaday เอง ปรากฏว่าการใช้หลอด

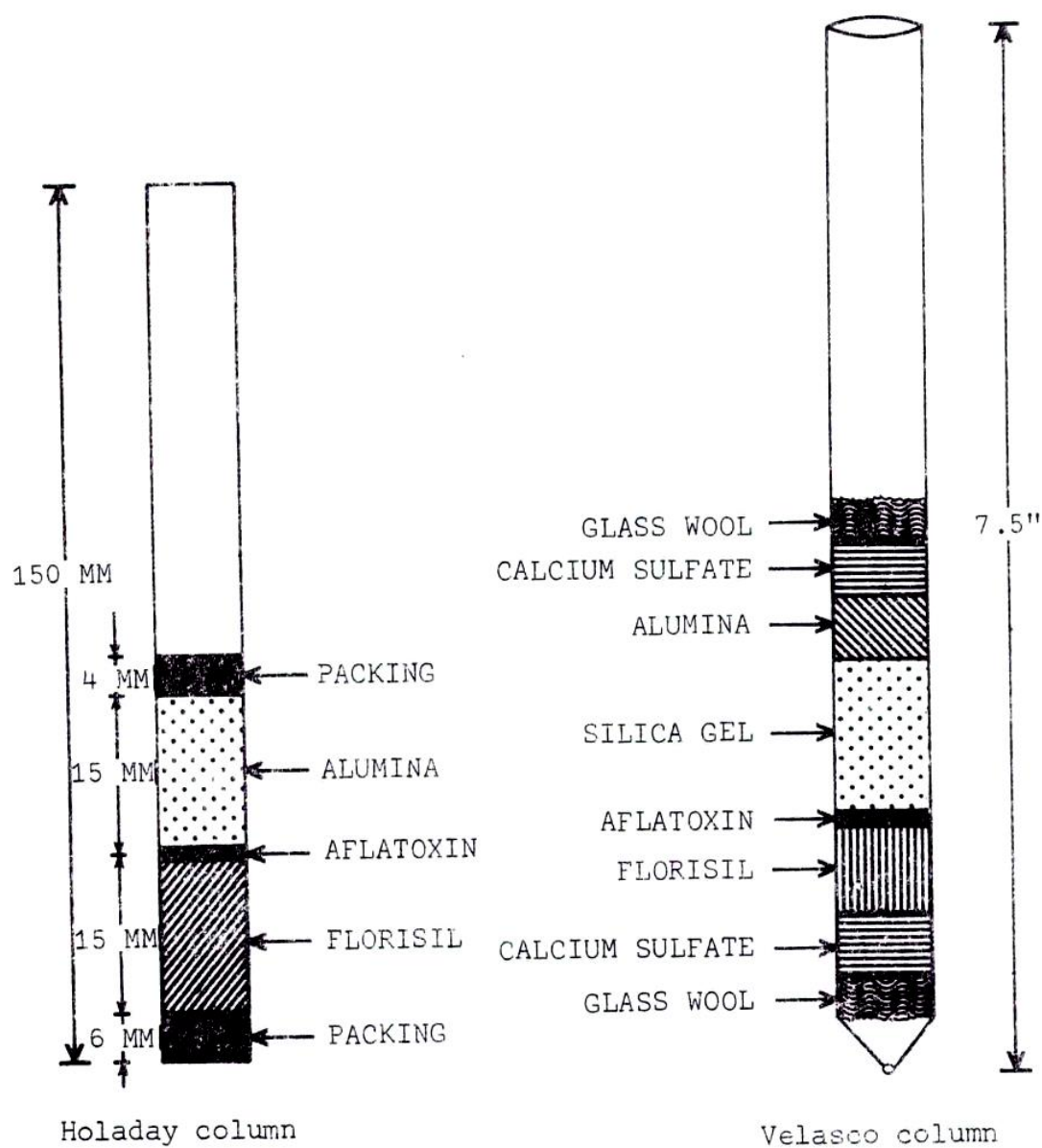


Figure 1. Diagram of column developed by Holaday (1975) and Velasco (1972)

ตาม Velasco ให้ผลการวิเคราะห์ที่ดีกว่า ซึ่งปัจจุบันวิธีการดังกล่าวได้รับการยอมรับจาก AOAC

การวิเคราะห์ออฟลาทอกซินโดยมินิคอสมันน์ สามารถจะใช้แรงดันเพื่อให้การไหลของสารละลายในคอลัมน์ผ่านเร็วขึ้น แต่อย่างไรก็ตามการใช้แรงดันมีข้อจำกัดคือไม่ควรให้สารละลายไหลเร็วเกิน 1 มิลลิลิตรต่อนาที เพราะความเร็วที่สูงกว่านี้ทำให้สารเรืองแสงประเภทอื่น หรือออฟลาทอกซินเองกระจายในชั้นต่าง ๆ ของ มินิคอสมันน์ เช่น ออฟลาทอกซินจะกระจายไปสู่ชั้นฟลอริซิล และจะเกิดแถบเรืองแสงม่วง ๆ ในชั้นฟลอริซิลได้ ส่วนสารเรืองแสงอื่นจะผ่านชั้นอลูมินา และซิลิกาเจลมายังชั้นฟลอริซิล ซึ่งผลทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนในการอ่านค่าที่วิเคราะห์ได้

2. การพัฒนาวิธีการกำจัดสารเรืองแสงอื่น และการทดแทนสารอันตรายในขั้นตอนการสกัดออฟลาทอกซิน

ปัญหาการวิเคราะห์ออฟลาทอกซินโดยวิธีมินิคอสมันน์ในระยะแรก พบว่าสารละลายสกัดออฟลาทอกซินมีสารเรืองแสงประเภทอื่นปะปนมาด้วย มีผลทำให้แถบเรืองแสงของออฟลาทอกซินเข้มขึ้น หรือมีขนาดกว้างขึ้น ทำให้ค่าที่วิเคราะห์ได้คลาดเคลื่อน Velasco (1972) จึงได้คิดค้นวิธีการกำจัดสารเรืองแสงอื่นโดยเพิ่มขั้นตอนการทำให้สารเรืองแสงดังกล่าวตกตะกอน โดยใช้เฟอร์ริก เจล (ferric gel) แต่วิธีนี้มีปัญหาในขั้นตอนการเตรียมสารละลายเฟอร์ริก เจล เพราะต้องเตรียมให้สารละลายมีความเป็นกรดที่ค่า 4.6 มิฉะนั้นจะทำให้อนุภาคมีขนาดเล็กมากจนสามารถเล็ดลอดผ่านกระดาษกรองได้ ซึ่ง วริยจากรี (2524) ก็เคยสังเกตพบว่าสารละลายนี้ขึ้นเกินควร เป็นสาเหตุให้ Holaday (1973) คิดปรับปรุงโดยใช้ตะกั่วอะซิเตท (lead acetate) ช่วยในขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์ ทำให้สามารถกำจัดสารเรืองแสงอื่น ๆ ได้ และสามารถให้ความแม่นยำในการตรวจสอบที่ระดับ 3-5 ส่วนในพันล้านส่วน โดยใช้เวลาวิเคราะห์ 15 นาที

แต่ตะกั่วอะซิเตท เป็นสารเคมีอันตรายต่อผู้ปฏิบัติการ ดังนั้น McKinney (1975) ได้เปลี่ยนไปใช้สังกะสีอะซิเตท (zinc acetate) แทน ทำให้อฟลาทอกซินไม่สูญเสียไปในระหว่างการวิเคราะห์ อีกทั้งเป็นการลดปัญหาทางด้านมลภาวะด้วย

Holaday (1975) ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์อฟลาทอกซินให้มีความแม่นยำมากขึ้นในการตรวจสอบตัวอย่างต่าง ๆ (ตารางที่ 2) เช่น การใช้สังกะสีอะซิเตทในขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์และสกัดใหม่อีกครั้งด้วยเบนซีน ตลอดจนได้พัฒนาการใช้วัสดุที่ง่ายและสะดวกต่อการนำไปใช้ยังสถานที่ต่าง ๆ เช่น ได้ใช้หมึกผสมกับพลาสติกแทนหลอดแล้ว เป็นต้น

Table 2. Minicolumn results on a number of spiked samples (Holaday 1975).

Sample identification	Amount of aflatoxin added, ppb.	Minicolumn analysis, ppb.
Peanut meal A	Neg.	Neg.
Peanut meal B	15	8-16
Peanut meal C	20	8-16
Peanut butter A	20	8-16
Peanut butter B	15	8-16
Peanut butter C	Neg.	Neg.
Corn A	15	8-16
Corn B	30	16-32
Corn C	Neg.	Neg.
Rice A	Neg.	Neg.
Rice B	8	4-8
Rice C	15	8-16
Cottonseed meal A	20	8-16
Cottonseed meal B	15	8-16
Cottonseed meal C	Neg.	Neg.

ในปัจจุบัน พบว่าสารเคมีบางชนิดก่อให้เกิดมะเร็งได้ เช่น เบนซีน และ คลอโรฟอร์ม ซึ่งนำสารเคมีอื่นมาใช้ทดแทนเช่น ใช้โทลูอีน (toluene) แทนเบนซีนและ ใช้เมทิลีนคลอไรด์ (methylene chloride) แทนคลอโรฟอร์ม แต่อย่างไรก็ดีการใช้สารเคมีทดแทนในวิธีการวิเคราะห์ ต้องมีการศึกษาถึงประสิทธิภาพและความแม่นยำของผลการวิเคราะห์ที่ผลาทอกขึ้นด้วย

การวิเคราะห์ผลาทอกขึ้นโดยวิธีมินิคอลัมน์ในประเทศไทย

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดย การุณยะวณิช (2521) ได้ทดลองใช้มินิคอลัมน์ เป็นหลอดแก้วขนาดเล็ก 4 X 150 มิลลิเมตร ปลายบนเป็นรูปกรวย ภายในหลอดบรรจุสาร 3 ชนิด คือ อลูมินา ซิลิกาเจล และฟลูออซิล โดยมีโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส เป็นสารดูดความชื้น สารอผลาทอกขึ้นจะถูกดูดซึมที่ผิวด้านนอกของชั้นฟลูออซิล ตรวจสอบได้โดยการเรืองแสงเป็นแถบสีฟ้าหรือสีฟ้าอมเขียว ภายใต้แสงอุลตราไวโอเลตชนิดคลื่นยาว วิธีนี้ใช้เวลาทั้งสิ้นประมาณ 1 ชั่วโมงและสามารถตรวจสอบผลาทอกขึ้นในระดับ 4 ส่วน ในพันล้านส่วนได้

วีริยจาร (2524) ได้ศึกษาชนิดของสารที่ใช้บรรจุในมินิคอลัมน์และวิธีกำสัดสารเรืองแสงขึ้นในขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์ ซึ่งผลการทดลองพบว่า การใช้ซิลิกาเจลเพียงอย่างเดียว และการเชื่อมขั้นตอนการใช้เฟอริกเจลหรือตะกั่วอะซิเตท จะทำให้ได้ผลถูกต้องมากขึ้น แต่ผู้วิเคราะห์ต้องระวังอันตรายจากสารนี้ด้วย

การุณยะวณิช (2526) พบว่าการนำมินิคอลัมน์ไปใช้นอกสถานที่จะมีปัญหาเรื่องความชื้น ทำให้สารที่บรรจุภายในเสื่อมสภาพและเสียเวลาการตรวจสอบนานกว่าที่กำหนด จึงเปลี่ยนมาใช้หลอดพลาสติก (หลอดดูดเครื่องดื่ม) ซึ่งมีลักษณะใกล้เคียงและสามารถปิดผนึกปลายให้สนิทด้วยความร้อน กลายเป็นหลอดอับอากาศ หลอดพลาสติกที่ใช้

ควร เป็นหลอดพลาสดีกประเภทโพลีเอทรีลีนใส ไม่เรืองแสงภายใต้แสงอุลตราไวโอเลต มีขนาด 6 - 220 มิลลิเมตร บรรจุสารต่าง ๆ เช่นเดียวกับมินิคอสัมน์แก้ว โดยเปลี่ยน สารดูดความชื้นเป็นแคลเซียมซิลเฟตแอนไฮดรัส (ดังภาพที่ 2) สารละลายที่ใช้ในการ ตกตะกอนสารเรืองแสงประเภทอื่นคือ น้ำเกลืออิมัลชันจากเมธานอลกับโซเดียม-คลอไรด์ (ร้อยละ 1) ในอัตราส่วน 60 ต่อ 40 และแยกออกด้วยการตกตะกอนในสภาพ เป็นกรด เป็นผลให้ออฟลาทอกซินถูกสกัดออกมาได้ดียิ่งขึ้น นอกจากนี้การใช้แรงดันอ่อน ๆ จากลูกยางขนาด 50 มิลลิตร ที่ความเร็วในการไหลของสารละลายไม่ควรเกิน 1 มิลลิตรต่อนาที ช่วยดันให้สารละลายไหลได้รวดเร็วยิ่งขึ้น โดยไม่ทำให้การตรวจสอบ นิศพลาต การตรวจสอบด้วยมินิคอสัมน์พลาสดีกนี้ใช้เวลา 15 นาที และมีความแม่นยำถึง ระดับ 4 ส่วนในพันล้านส่วน ซึ่งวิธีนี้ปัจจุบันมีการนำไปใช้นอกสถานที่ทั่วไปแล้ว

ประโยชน์ของการวิเคราะห์ออฟลาทอกซินโดยวิธีมินิคอสัมน์

การวิเคราะห์ออฟลาทอกซินโดยวิธีมินิคอสัมน์ สามารถวิเคราะห์ให้ทราบได้ทันทีว่า ตัวอย่างนั้นมีสารออฟลาทอกซินอยู่หรือไม่ ซึ่งเป็นวิธีที่ช่วยคัดตัวอย่างที่มีและไม่มี สารออฟลาทอกซินนอกจากกันก่อน และสามารถบอกชนิดและปริมาณอย่างคร่าว ๆ ของ สารออฟลาทอกซินในตัวอย่างที่ตรวจพบด้วย สามารถตรวจสอบค่าออฟลาทอกซินที่ต่ำกว่า ระดับการยอมรับของออฟลาทอกซินในสินค้าการเกษตรที่ส่งออก ซึ่งโดยทั่วไปจะอยู่ระหว่าง 30-100 ส่วนในพันล้านส่วน (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ 1985) ดังนั้นการใช้วิธีมินิคอสัมน์ในการตรวจสอบเบื้องต้นจึงนับว่ามีประโยชน์อย่างมาก ทำให้ทราบคุณภาพของวัตถุดิบ ซึ่งจะมีผลต่อการกำหนดราคาวัตถุดิบที่มีการส่งจำหน่ายออกต่างประเทศ ซึ่งประสบปัญหาการเกิดออฟลาทอกซินเสมอ ๆ เช่น ข้าวโพด และถั่วลิสง เป็นต้น

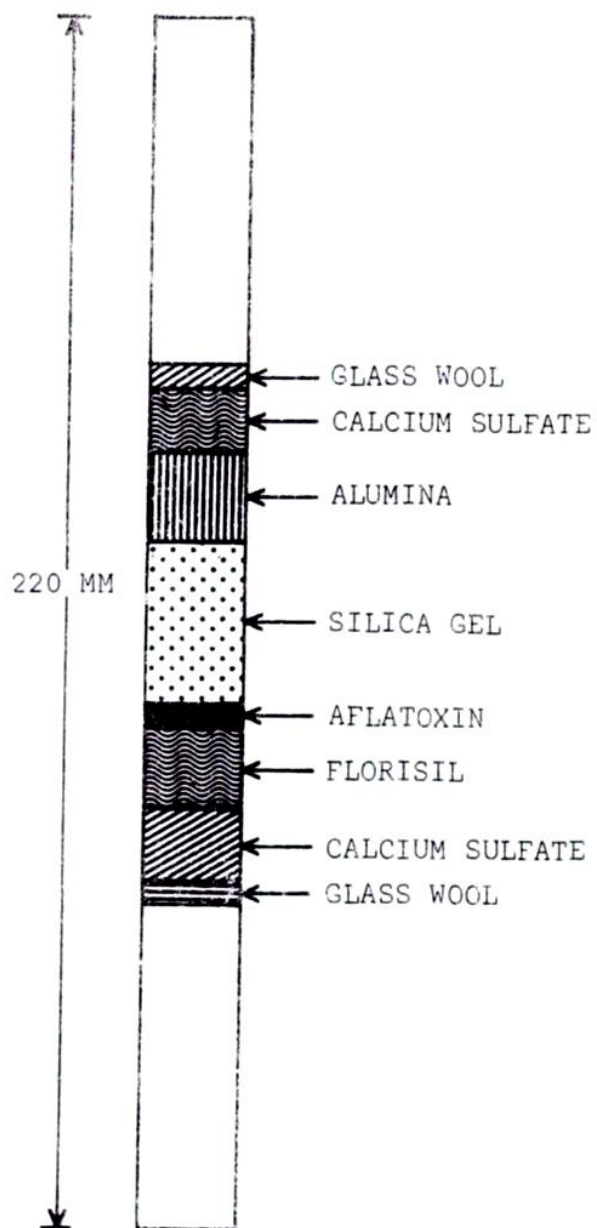


Figure 2. Diagram of plastic polyethylene minicolumn.

ถ้าหากต้องการทราบชนิดและปริมาณที่แน่นอนจากตัวอย่างที่พบสารอพลาทอกซีน โดยวิธีหมักคอสมัส สามารถทราบสัปดาห์ที่เชื้อจากวิธีดังกล่าวสามารถนำมาตรวจสอบชนิดและปริมาณโดยละเอียดด้วยวิธีกินเลเยอร์โครมาโตกราฟี ซึ่งเป็นการลดค่าใช้จ่ายและเวลาในการวิเคราะห์ตัวอย่างได้อย่างมาก

เอกสารอ้างอิง

- การุณยะวณิช, ศรัลสิทธิ์. (2521). มินิคอสัมพันธ์สำหรับตรวจล่องบอปลาทอกซิน. กอง-
วิเคราะห์อาหาร, กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, กระทรวงสาธารณสุข.
- การุณยะวณิช, ศรัลสิทธิ์; จุฬามรรค หัตถ์นิย และ นันทจิตต์ เกษม. (2526). มินิคอสัม-
พันธ์สำหรับตรวจล่องบอปลาทอกซิน. รายงานการสัมมนาเชิงปฏิบัติการเรื่อง
งานวิจัยถั่วลิสง. ครั้งที่ 2. ณ. ศูนย์วิจัยพืชไร่ จังหวัดนครสวรรค์.
- กลิ่นสุคนธ์, ธีระบุทร และ ต่อสกุลแก้ว ชัยวัฒน์. (2524). แอฟฟลาทอกซิน. ภาค
วิชาการวิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยมหิดล.
- วิริยจารี, ไพโรจน์. (2524). การตรวจล่องบอปลาทอกซินโดยวิธีมินิคอสัม-
พันธ์พิเศษปฏิกิริยา. ภาควิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร, คณะ-
เกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- วิริยจารี, ไพโรจน์. (2524) การตรวจล่องบอปลาทอกซินโดยวิธีร่วมระหว่างวิธีมินิ-
คอสัมพันธ์และทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี. สัมมนาปริญญาโท ภาควิชาการวิทยาศาสตร์
และเทคโนโลยีการอาหาร, คณะอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- Coker, R.D.; Jones, B.D.; Nagler, M.J.; Gilman, G.A.; Wall
bridge, A.J. and Panigrahi, S. (1984). Mycotoxin training
manual. Tropical Development and Research Institute.
London.
- Goldblatt, L.A. (1969). Aflatoxin. Academic Press. New York
and London.

- Holaday, C.E. (1968). Rapid method for detecting aflatoxin in peanuts. J. Am. Oil Chem. Soc. 45(10):680-682.
- Holaday, C.E. and Barnes, Jr. P.C. (1973). Sensitive procedure for aflatoxin detection in peanuts, peanut butter, peanut meal and other commodities. J. Agric. Food Chem. 21(4): 650-652.
- Holaday, C.E. and Lansden, J. (1975). Rapid screening method for aflatoxin in a number of products. J. Agric. Food Chem. 23(6):1134-1136.
- Jones, B.D. (1972). Methods of aflatoxin analysis. Tropical Products Institute. London.
- Mckinney, J.D. (1975). Use of zinc acetate in extract purification for aflatoxin assay of cottonseed products. J. Am. Oil Chem. Soc. 52(6):213.
- Ministry of Agriculture and Cooperatives, The Kingdom of Thailand. (1985). Rural Investment Overseas Limited.
- Pons, W.A. and Franz, A.O. (1976). High performance liquid chromatography of aflatoxin in cottonseed products. J. of AOAC. 60(1):89-95.

- Pons, W.A. and Franz. A.O. (1978). High pressure liquid chromatographic determination of aflatoxins in peanut products. J. of AOAC. 61(4):793-800.
- Romer, T.R.; Ghouri, H.; and Boling, T.M. (1979). Minicolumn screening methods for detecting aflatoxin : State of the art. J. Am. Oil Chem. Soc. 56:795-797.
- Velasco. J. (1972). Detection of aflatoxin using small columns of florisil. J. Am. Oil Chem. Soc. 49(2):141-142.