อภินันทนาการ

รายงานการวิจัย

การวิเคราะห์สารพิษที่ปนเปื้อนอยู่ในวัตถุดิบ และที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมัก และการกลั่นสุรา

(Analysis of toxic substances that distribute in raw material and appear on the process of alcohol fermentation and distillation)

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยนเรศวร
วันลงทะเบียน 15 ส.ค. 2554
เลขทะเบียน 15393499
เลขเรียกหนังสือ 2 QA
1242
.A28
ก3315
2551

คณะผู้วิจัย

ผศ. ดร. สิริลักษณ์ ชัยจำรัส
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร มหาวิทยาลัยนเรศวร
ดร. วิสาข์ สุพรรณไพบูลย์
ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

โครงการวิจัยเงินอุดหนุนรายได้คณะวิทยาศาสตร์ปี 2551

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร งบประมาณรายได้ปี 2551 สาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ เทคโนโลยีชีวภาพและการศึกษา และขอขอบคุณสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ให้การสนับสนุน จนโครงการสำเร็จลุล่วงด้วยดี

คณะผู้วิจัย

ม.ค. 2553

บทคัดย่อ

จากการสำรวจและรวบรวมรายชื่อสุราแช่ และสุรากลั่น ที่มีวางจำหน่ายในร้านค้าเขตอำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลกจำนวน 96 ยี่ห้อ ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างสุราในเดือนมกราคม 2551 โดยใช้เทคนิค PPS (Probability Proportional to Size Sampling) ได้จำนวนตัวอย่าง 30 ยี่ห้อ ภายใต้พื้นที่กำหนดเขตศึกษา 3 กลุ่มคือ ชุมชนในเมือง สถานประกอบการรอบมหาวิทยาลัยนเรศวร และชุมชนท้องถิ่นที่มีการผลิตสุรา ตัวอย่างสุราทั้ง 30 ยี่ห้อถูกนำมาวิเคราะห์หาสารพิษปนเปื้อน ในกลุ่มสารประกอบอินทรีย์ คือ acetaldehydes, methanol, formaldehyde และยาฆ่าแมลง 4 กลุ่ม คือ Organophosphate, Carbamate, Organochlorine และ Pyrethroid และในกลุ่มของสารโลหะหนัก Arsenic, Cadmium และ Lead วิเคราะห์โดยใช้เทคนิค ICP-MS, GC-MS และ GC พบปริมาณ acetaldehyde เฉลี่ย 234 ± 155 mg/l (อยู่ในช่วง 0 - 690 mg/l) มีค่าเกินมาตรฐานควบคุม (160 mg/l) และพบสูงสุดในสุราแม่โขง 690 mg/l รองลงไปพบในสุรานำเข้า คือ Black label (309 mg/l) ส่วนสารพิษปนเปื้อนชนิดอื่น พบว่ามีค่าต่ำกว่ามาตรฐานควบคุม ได้แก่ methanol เฉลี่ย 40 ± 28 mg/l (อยู่ในช่วง 0-108 mg/l) สูงสุดพบในสุรากลั่น Spay royal (108 mg/l) สารโลหะหนัก Arsenic พบปริมาณสูงสุด 0.0084 mg/l ในเบียร์ช้าง และ Lead พบปริมาณ 0.11 mg/l ในสุราชุมชนยี่ห้อไทยแท้ แต่ไม่พบ Formaldehyde, Cadmium และสารปราบศัตรูพืชทั้ง 4 กลุ่ม

จากการตรวจทางจุลชีววิทยารอบปากขวดสุรา พบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในสุราชุมชนเป็นส่วนใหญ่ หลังจากการจำแนกเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวด้วยการทดสอบสีแกรม การวัดขนาดโคโลนี และการทดสอบทางชีวเคมี สามารถจำแนกเชื้อจุลินทรีย์ได้ 4 ชนิด คือ *Staphylococcus coagulase negative*, *Micrococcus spp.*, *Streptococcus nonenterococci* และ *Candida spp.* ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้ไม่เป็นอันตรายต่อระบบทางเดินอาหาร

ผลกระทบต่อสุขภาพแบบกึ่งเรื้อรัง (sub-chronic) ในหนู Wistar ที่กำลังอยู่ในวัยรุ่น จากการได้รับแอลกอฮอล์ร่วมกับสารพิษปนเปื้อน และตัวอย่างสุราจริง 2 ยี่ห้อคือ แม่โขง และ Black label ที่ตรวจพบว่ามีปริมาณ acetaldehyde สูงสุด และสูงรองตามลำดับ ระยะเวลานาน 3 เดือน ทำให้ระดับเอนไซม์ในตับ ได้แก่ ALT, AST และ ALP สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากตับถูกทำลาย น้ำหนักตับเพิ่มขึ้น เพราะการสร้างไขมันสะสมในตับเมื่อตับถูกทำลายด้วยแอลกอฮอล์ ปริมาณกลูโคสในเลือดเพิ่มขึ้นมีแนวโน้มของการเป็นเบาหวาน นอกจากนี้จำนวนเซลล์สืบพันธุ์ (sperm) ลดลงอย่างเห็นได้ชัดในกลุ่มที่ได้รับแอลกอฮอล์ ความสามารถในการเคลื่อนไหวของเซลล์สืบพันธุ์ก็ช้าลงด้วย อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

คำสำคัญ; *เครื่องดื่มแอลกอฮอล์, อะซิทัลดีไฮด์, การก่อพิษแบบกึ่งเรื้อรัง, การก่อพิษแบบเรื้อรัง, การวิเคราะห์เซลล์สืบพันธุ์*

Abstract

Survey and collection of alcoholic beverages in Phitsanulok are performed by probability proportional to size sampling (PPS) for 30 from 96 samples on January 2008. The study area was scoped as in the city, around Naresuan University and the local region. Sample of alcoholic beverages were analyzed toxic substances that distribute and contaminant in the group of organic compound as acetaldehyde, methanol, formaldehyde and 4 pesticide group; Organophosphate, carbamate, Organochlorine and Pyrethroid by GC-MS and GC, including heavy metal group as Arsenic, Cadmium and Lead were determined as well by ICP-MS. Acetaldehyde was found in these samples mean 234 ± 155 mg/l (range 0 - 690 mg/l) which had significantly higher acetaldehyde concentration than the limit (160 mg/l). However, the highest acetaldehyde concentration was found in Maakong (690 mg/l) and the second level was found in Black label (309 mg/l). The other toxic substances were found in lower concentration than the limit such as methanol (40 ± 28 mg/l, range 0-108 mg/l). The highest methanol concentration was found in Spay royal (108 mg/l). Arsenic and lead were found the highest concentration in beer Chang (0.0084 mg/l) and in ThaiTaa (0.11 mg/l) but formaldehyde, Cadmium and 4 pesticide group were not detected.

Alcoholic beverages were smeared around the neck of bottle. The most of local spirit was found poor bottle hygiene. Gram strain, colony size by SEM and biochemical test was used to identify contaminant microorganism which found 4 microorganisms as *Staphylococcus coagulase negative*, *Micrococcus spp.*, *Streptococcus nonenterococci* and *Candida spp.* which they are not serious in control.

Health impact of sub-chronic was determined in early age mal Wistar rat by contaminant alcohol and 2 commercial spirits (Maakong and Black label) intake for 3 month. The 2 commercial spirits had highest acetaldehyde. The liver enzyme as ALT, AST and ALP were produced significantly higher in the group of alcohol intake than the control. The high of liver weight to body weight ratio related to fat accumulation caused liver destroy. Glucose in plasma increased significantly lead to diabetes. Moreover, sperm concentration decreased significant when consumed the alcohol and the motility of sperm was also slowly.

Key words; *alcoholic beverages, acetaldehyde, sub-chronic, chronic, semen analysis*

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	i
บทคัดย่อ (ภาษาไทย)	ii
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)	iii
สารบัญ	iv
สารบัญตาราง	v
สารบัญรูป	vi
1. บทนำ	1
วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	9
2. อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง	10
3. ผลการการทดลอง	16
3.1 ผลการสุ่มตัวอย่างสุรา	16
3.2 ผลการวิเคราะห์สารพิษ	18
3.3 ผลการทดสอบทางจุลชีววิทยา (Microbiological test)	20
3.4 ผลการทดสอบทางชีวภาพในหนู Wistar Rat	22
4. วิจารณ์ผลการทดลอง	26
5. สรุปผลการทดลอง	30
6. เอกสารอ้างอิง	30
7. ภาคผนวก	35

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.1	เกณฑ์ในการตรวจติดตามคุณภาพสุราที่ผลิตภายในประเทศ	4
1.2	เกณฑ์มาตรฐานคุณภาพสุราแช่	5
1.3	เกณฑ์ในการควบคุมคุณภาพสุราที่นำเข้าจากต่างประเทศ	6
2.1	รายการทดสอบยาฆ่าแมลง	11
2.2	กลุ่มสัตว์ทดลองลักษณะของการเกิดพิษแบบกึ่งเรื้อรัง (subchronic) และแบบเรื้อรัง (chronic) จากการบริโภคสุราที่มีสารพิษตกค้างและปนเปื้อนในหนูเพศผู้ (Wistar rat) อายุ 5 สัปดาห์ น้ำหนักตัว (121-160 กรัม)	14
3.1	แสดงค่าสะสมความนิยมการบริโภคสุรากลุ่มที่ 1 ในพื้นที่ตัวเมืองจังหวัดพิษณุโลก	16
3.2	แสดงค่าสะสมความนิยมการบริโภคสุรากลุ่มที่ 2 บริเวณสถานประกอบการรอบมหาวิทยาลัยนเรศวร	17
3.3	แสดงค่าสะสมความนิยมการบริโภคสุรากลุ่มที่ 3 สุราชุมชนในเขตอำเภอเมืองจังหวัดพิษณุโลก ข้อมูลจากสำนักงานสรรพสามิตรจังหวัดพิษณุโลก	18
3.4	ผลการวิเคราะห์สารพิษปนเปื้อนในสุราทั้ง 3 กลุ่ม	19
3.5	จำนวนโคโลนีจากการเพาะเชื้อรอบปากขวดสุรา	20
3.6	ผลการทดสอบทางชีวเคมีพบเชื้อในกลุ่ม Streptococci	22
4.1	การวิเคราะห์ Acetaldehyde ในตัวอย่างสุราเปรียบเทียบระหว่าง 2 ห้องปฏิบัติการ	26
4.2	จากการรวบรวมข้อมูล ปริมาณ Acetaldehyde ที่ตรวจพบในสุรากลั่น หน่วย mg/L	29

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1.1	เมทาบอลิซึมของแอลกอฮอล์ในเซลล์ตับ (ADH pathway)	8
3.1	ลักษณะโคโลนีที่ตรวจพบรอบปากขวดบรรจุสุรายี่ห้อแม่ยม	21
3.2	ขนาดโคโลนีที่วัดด้วยกล้อง SEM (Scanning Electron Microscope)	21
3.3	สัดส่วนเอนไซม์ ALT/AST ในตับ	23
3.4	ระดับกลูโคสในเลือด	23
3.5	สัดส่วนน้ำหนักตับต่อน้ำหนักตัว	24
3.6	จำนวนความเข้มข้นของเซลล์สืบพันธุ์	24
3.7	ความสามารถในการเคลื่อนที่ของเซลล์สืบพันธุ์	25

มหาวิทยาลัยนเรศวร

1. บทนำ

มีการตรวจพบสารที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพปนเปื้อนอยู่ในรูปของ acetaldehyde สารตัวนี้เป็นสารกลิ่นที่ระเหยง่ายพบในเครื่องดื่ม และอาหารหลายชนิด (Liu and Pilone, 2000) ถ้าเป็นกลิ่นผลไม้แสดงว่ามีปริมาณอะซิทัลดิไฮด์ในระดับต่ำ แต่ถ้ามีความเข้มข้นสูงจะมีกลิ่นฉุน (Miyake and Shibamonto, 1993) อะซิทัลดิไฮด์ในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์อาจเกิดมาจากยีสต์ หรือแบคทีเรียที่ผลิตกรดอะซิติก และอาจเกิดจากปฏิกิริยาควบคู่ของเอทานอล และสารประกอบฟีโนลิกเมื่อมีออกซิเจน (couple auto-oxidation) (Liu and Pilone, 2000) ในกระบวนการหมักแอลกอฮอล์ที่ไม่สมบูรณ์ จะทำให้มีปริมาณ acetaldehyde สูง ซึ่งถ้าอยู่ในรูป formaldehyde สารตัวนี้จะไปกดประสาทผู้ดื่ม นอกจากนี้ acetaldehyde เป็นสารส่วนใหญ่ของกระบวนการสันดาปเอทานอลซึ่งเป็นสารพิษ จากการสังเกตพฤติกรรมของหนูทดลองที่เปลี่ยนไปเมื่อได้รับสารนี้ พบว่าปริมาณระดับความเข้มข้นของ noradrenaline และ serotonin จะสูงขึ้นหลังจากมีการให้สาร acetaldehyde ที่แตกต่างกัน (Javier Franco-Perez, et.al., 2006)

อะซิทัลดิไฮด์จะมีฤทธิ์อย่างมากเมื่อเข้าเกาะกับโปรตีน ที่ตำแหน่งจำเพาะกับเปปไทด์กลูตาไทโอน (glutathione) หรือกรดอะมิโนแต่ละตัวที่เป็นสารประกอบให้กลิ่น (Liu and Pilone, 2000; Miyake and Shibamonto, 1993) ได้มีการทดสอบกับสัตว์ทดลองในสถาบันมะเร็งแล้ว พบว่าอะซิทัลดิไฮด์ เป็นสารก่อมะเร็งตัวหนึ่งที่สำคัญ และเป็นไปได้ที่จะเกิดกับมนุษย์ด้วย (IARC, 1999) ได้มีการศึกษากลไกของการเกิดอะซิทาลดิไฮด์ในเมทาบอลิสมของมนุษย์ หลังจากบริโภคเอทานอล ซึ่งเอทานอลจะถูกเปลี่ยนเป็นอะซิทาลดิไฮด์โดยเอนไซม์ aldehyde dehydrogenase (ALDH) และเป็นสาเหตุของการเกิดเนื้อร้าย (Baan et al., 2007) อะซิทัลดิไฮด์เป็นสาเหตุของการกลายพันธุ์เฉพาะจุดในสารพันธุกรรม DNA ที่นำไปสู่การเกิดมะเร็ง (Cheng et al., 2003; Fang and Vaca, 1997; Hecht et al., 2001; Noori and Hou, 2001; Wang et al., 2000; Linderborg et al., 2008) เมื่อเร็วๆ นี้มีการทดลองพบว่าอะซิทัลดิไฮด์ปริมาณ 100μM สามารถก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ระดับเซลล์ (Theruvathu et al., 2005) และสามารถตรวจพบอะซิทัลดิไฮด์ในน้ำลายมนุษย์ หลังจากการย่อยแอลกอฮอล์ความเข้มข้นระหว่าง 18-143 μM ภายใน 40 นาที (Homann et al., 2002) อะซิทัลดิไฮด์ความเข้มข้น 40-200 μmol/l สามารถเหนี่ยวนำการกลายพันธุ์และเป็นสาเหตุของการเกิดมะเร็ง (Homann et al., 1997a; Salaspuro et al., 2002) นอกจากนี้อะซิทัลดิไฮด์ยังไปรบกวนการซ่อมแซม DNA โดยไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในกระบวนการดังกล่าว (Espina et al., 1988)

เอทธิลคาร์บาเมท (ethyl carbamate) หรือ ยูรีเทน (urethane) มักนิยมใช้เป็นยาฆ่าแมลง ละลายน้ำได้ดี ไม่มีกลิ่น เมื่อร่างกายได้รับ จะเกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน สารนี้จะไปกดระบบประสาทส่วนกลางและทำลายไขกระดูก ทำลายไต ตับ ทำให้เกิดการตกเลือด จัดเป็นสารที่ก่อให้เกิดมะเร็งในปอด มะเร็งเม็ดเลือด มะเร็งตับ และเกิดติ่งเนื้อจำนวนมากที่ผิวหนัง รวมทั้งเกิดความพิการของทารกในครรภ์ จะทำให้ทารกเจริญเติบโตช้า รูปร่างผิดปกติและพิการ (Naegle and D'Avanzo, 2001)

ไซยาไนด์ (cyanide) เป็นสารปนเปื้อนที่เกิดจากกระบวนการผลิตที่มีการคัดแยกชิ้นส่วนของวัตถุดิบที่ไม่ดี เช่น มีก้าน หรือเมล็ดธัญพืชพวกข้าสาลี ข้าวบาเล่ย์ ข้าวจ้าวและข้าวเหนียว ปนในกระบวนการผลิต จัดได้ว่าเป็นสารที่เป็นอันตรายมักอยู่ในรูปของ ไฮโดรเจนไซยาไนด์ และเกลือไซยาไนด์ เกลือไซยาไนด์ที่แห้งไม่มีกลิ่น แต่ถ้าชื้นจะมีกลิ่นเล็กน้อย มีกลิ่นคล้ายอัลมอนด์ ถ้าสัมผัสกับสารพวกไนเตรท คลอเรท จะเกิดการระเบิดและลุกเป็นไฟได้ ถ้าร่างกายได้รับในปริมาณเล็กน้อย จะเกิดอาการ ปวดหัว มึนศีรษะ คลื่นไส้ อาเจียน แขน ขา เมื่อยล้า ถ้าได้รับในปริมาณมาก จะเกิดอาการ ปวดหัว จาม คลื่นไส้อาเจียน ประสาทตาและรอบๆตาถูกทำลาย หายใจไม่ออก และหัวใจหยุดเต้น

กากน้ำตาล (Molasses) เป็นวัสดุเหลือทิ้งจากโรงงานผลิตน้ำตาล สามารถนำมาใช้เป็นแหล่งอาหารเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ เช่น ยีสต์ทำขนมปัง หรือใช้ในการผลิตแอลกอฮอล์ (Nikolaos, et. al., 2007) แต่ต้องมีการบำบัดสารปนเปื้อนรวมทั้งดูดซับสีน้ำตาลออกจากน้ำกากน้ำตาล มิฉะนั้นจะไปยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ทั้งความหนืดและความเข้มข้นของกากน้ำตาลค่อนข้างสูง จำเป็นต้องเจือจางด้วยน้ำ และบางสภาวะของการเพาะเลี้ยง จำเป็นต้องเติมสารอาหารลงไปด้วย กากน้ำตาลของแต่ละโรงงานก็มีคุณภาพไม่เท่ากัน บางโรงงานอาจมีโลหะหนักปนเปื้อนอยู่ในปริมาณสูง ต้องบำบัดก่อนนำไปใช้ ซึ่งบางครั้งราคาค่าใช้จ่ายสูงมากในการบำบัด นอกจากกากน้ำตาลแล้วแหล่งวัตถุดิบอื่น ๆ เช่น ธัญพืชที่นำมาใช้ในการหมักแอลกอฮอล์ อาจมีการปนเปื้อนของสารฆ่าแมลง ที่ฉีดพ่นเพื่อป้องกันศัตรูทำลายทั้งก่อนเก็บเกี่ยวและหลังเก็บเกี่ยว จึงต้องระวังในเรื่องของการทำความสะอาด และความปลอดภัยของผู้บริโภคอย่างมากในการนำไปใช้

การวิเคราะห์สารประกอบที่เป็นพิษ ความเป็นพิษนั้นขึ้นกับความเข้มข้นของสาร ในสุรากลั่นบางครั้งพบเมทานอล (Methanol) อยู่ในปริมาณสูง สาเหตุจากวัตถุดิบที่นำมาใช้ในการผลิตไม่ได้มาตรฐาน รวมทั้งสุขลักษณะในกระบวนการผลิตด้วย ส่วนในกระบวนการหมักจะพบสารในกลุ่ม acetaldehyde, ethyl acetate และ amyl alcohols เป็นหลัก ซึ่งอะซีตัลดีไฮด์เกิดจากการออกซิเดชั่นของเอทานอลในระหว่างการกลั่นและการบ่ม และจะพบอัลดีไฮด์อีกกลุ่มหนึ่ง คือ อะโรมาติกอัลดีไฮด์ ซึ่งเกิดขึ้นในระหว่างการกลั่นและเก็บบ่มบรั่นดีในถังไม้โอ๊ค และจะมีผลต่อกลิ่นรสบรั่นดี โดยจะให้กลิ่นของเหล้าองุ่น และกลิ่น “Nutty” (Apostolopoulou, 2005)

โลหะหนัก (heavy metal) เป็นสารปนเปื้อนที่คาดว่าน่าจะมาจากอุปกรณ์ที่ใช้ในการหมัก และบางครั้งอาจมาจากน้ำ และวัตถุดิบที่ใช้ จากรายงานผลการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วที่พบสัมพันธ์กับปริมาณเหล็ก จึงสันนิษฐานได้ว่าตะกั่วที่เกิดขึ้นน่าจะมาจากอุปกรณ์ที่ใช้ในการหมัก นอกจากนั้นอาจมาจากชนิดของบรรจุภัณฑ์ที่ไม่เหมาะสมทำให้มีโลหะปนเปื้อนได้

ปฏิกิริยาของแอลกอฮอล์

1. Alcohol Oxidation

$$\text{Ethanol} + NAD^{+} \xrightarrow{\text{alcohol dehydrogenase}} \text{acetaldehyde} + NADH + H^{+}$$

$$\text{Ethanol} + \text{NADPH} + H^+ + O_2 \xrightarrow{\text{the microsomal cytochrome P450 2E1 system}} \text{acetaldehyde} + NADP^+ + \text{water}$$

$$\text{Fatty acid} + O_2 \xrightarrow{\text{beta-oxidation}} \text{oxidized fatty acid} + \text{hydrogen peroxide}$$

$$\text{Ethanol} + \text{hydrogen peroxide} \xrightarrow{\text{catalase}} \text{acetaldehyde} + \text{water}$$

2. Acetaldehyde Oxidation

$$\text{Acetaldehyde} + NAD^+ + \text{water} \xrightarrow{\text{alcohol dehydrogenase}} \text{acetate} + NADH + H^+$$

3. NADH oxidation (in the mitochondria)

$$NADH + H^+ + 1/2O_2 \longrightarrow NAD^+ + \text{water}$$

ในกระบวนการกลั่นวัสดุทำหม้อกลั่นมีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบต่างๆในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เช่น ไวน์ ดังนั้นการกลั่นไวน์ ผลไม้ที่ผลิตได้ ควรจะมีการทดสอบผลของวัสดุที่ใช้ทำหม้อกลั่นต่อองค์ประกอบของบรั่นดีที่กลั่น เพราะไวน์ผลไม้แต่ละชนิดมีสารประกอบที่เป็นองค์ประกอบในไวน์ที่ต่างกัน ในการกลั่นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์นั้น เมื่อมีการกลั่นโดยใช้วัสดุทำหม้อกลั่นที่เป็นเหล็กกล้าไร้สนิมหรือแก้วจะให้ผลของการยอมรับของผู้บริโภคต่ำกว่า เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่กลั่นจากเครื่องกลั่นที่ทำจากทองแดง

การศึกษาผลของการผลิต Cachacas ซึ่งเป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่ได้รับความนิยมในประเทศบราซิลโดยเปรียบเทียบทางประสาทสัมผัสของ Cachacas จากการกลั่นโดยใช้หม้อกลั่นทองแดง และหม้อกลั่นเหล็กกล้าไร้สนิม ผลที่ได้ผู้ทดสอบชิมให้ความชอบใน Cachacas ที่กลั่นโดยใช้หม้อกลั่นทองแดงมากกว่า Cachacas ที่กลั่นโดยหม้อกลั่นเหล็กกล้าไร้สนิม (Bettin, et.al., 2002) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาผลของทองแดง เหล็กกล้าไร้สนิม และแก้วที่นำมาใช้เป็นวัสดุทำหม้อกลั่นต่อคุณภาพของบรั่นดีที่ผลิตจากไวน์มะขามสรุปว่าการใช้หม้อกลั่นทองแดง เหล็กกล้าไร้สนิม และแก้วเมื่อนำมาทำการกลั่นไวน์มะขามจะได้องค์ประกอบของสารที่อยู่ในบรั่นดีแตกต่างกัน โดยบรั่นดีที่กลั่นจากหม้อทองแดง มีองค์ประกอบที่ให้กลิ่นรสที่ดีได้แก่ ปริมาณของ อะซิตัลดีไฮด์ เอทิลอะซิเตท และ ฟูเซลล์ออย สูงกว่าการกลั่นโดยใช้สเตนเลส สตีล และแก้ว (ชาญณรงค์, 2543)

เนื่องจากมีผู้นิยมดื่มแอลกอฮอล์เป็นจำนวนมาก แต่สุราจัดเป็นเครื่องดื่มที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย และยังมีโอกาสได้รับอันตรายเพิ่มจากสารปนเปื้อนในสุราได้อีก ได้แก่ เมทานอล (methanol) อะเซตาลดีไฮด์ (acetaldehyde) เอธิลอะซิเตต (ethyl acetate) แอลกอฮอล์โมเลกุลสูง (higher alcohols) ฟูเซลออยล์ (fusel oil) เป็นต้น โดยที่สารเหล่านี้จะเกิดขึ้นระหว่างกระบวนการผลิตสุราแช่ การศึกษาวิเคราะห์ปริมาณ เมทานอล อะเซตาลดีไฮด์ และ เอธิลอะซิเตต ซึ่งปนเปื้อนในสุราแช่ เพื่อใช้เป็นแนวทางปรับปรุงและควบคุมขั้นตอนต่างๆ ในการผลิตให้ถูกต้อง เพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพมาตรฐานต่อผู้บริโภค (ยุพา ศรีนาค, 2531)

เมทานอลหรือเมทิลแอลกอฮอล์ เป็นผลิตภัณฑ์ที่ไม่ได้เกิดจากการหมักแอลกอฮอล์แต่เป็นผลมาจาก การไฮโดรไลซีสของ Methylate pectin ที่พบในผลไม้ โดยเอนไซม์ Pectin methylesterase (PE) (Hernandez-Gomez, et.al., 2003) เมทานอลในบรั่นดีจะพบในปริมาณที่แตกต่างกันออกไป ตามชนิดและปริมาณเพคติน ในผลไม้แต่ละชนิด โดยทั่วไปจะพบ 0.1188 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (Amerine, et.al., 1980) ปัจจุบันยังไม่เป็นที่แน่ชัดว่าเมทานอลมีบทบาททางประสาทสัมผัสอย่างไร แต่เมื่อมีปริมาณมากจะเป็นอันตรายกับร่างกายโดยเมทานอลจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นทำให้เกิดเป็นสารฟอร์มาลดีไฮด์ และกรดฟอร์มิคที่เป็นอันตราย ทั้งนี้เมทานอลจะมีผลต่อระบบประสาทโดยตรง จึงต้องมีการควบคุมให้มีปริมาณเหมาะสมในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ โดยองค์กรที่มีหน้าที่ในการกำหนดค่ามาตรฐานอุตสาหกรรมประเภทสุรากลั่น (มอก. 2088-2544) ซึ่งระบุไว้ในตารางที่ 1.1, 1.2 และ1.3

ตารางที่ 1.1 เกณฑ์ในการตรวจติดตามคุณภาพสุราที่ผลิตภายในประเทศ

1. สุรากลั่น ที่ได้รับอนุญาตให้ผลิตได้ตาม ประกาศกระทรวงการคลัง เรื่อง วิธีบริหารงานสุรา ฉบับที่ 1 และ 2		2. สุรากลั่น ที่ได้รับอนุญาตให้ผลิตได้ตามประกาศกระทรวงการคลัง เรื่อง วิธีบริหารงานสุรา ฉบับที่ 4 (สุรากลั่นชุมชน)	
รายการวิเคราะห์	ค่าไม่เกิน	รายการวิเคราะห์	ค่าไม่เกิน
1.1 แรงแอลกอฮอล์	+/- 1	1.1 แรงแอลกอฮอล์	+/- 1
1.2 ฟูเซลออยล์	5500 ppm	1.2 ฟูเซลออยล์	5500 ppm
1.3 เฟอร์ฟิวรัล	50 ppm	1.3 เฟอร์ฟิวรัล	50 ppm
1.4 เอสเทอร์ (เอทิลแอซิเทต)	1200 ppm	1.4 เอสเทอร์ (เอทิลแอซิเทต)	1200 ppm
1.5 แอลดีไฮด์ (แอซิทัลดีไฮด์)	160 ppm	1.5 แอลดีไฮด์ (แอซิทัลดีไฮด์)	160 ppm
1.6 เมทิลแอลกอฮอล์	420 ppm	1.6 เมทิลแอลกอฮอล์	420 ppm
1.7 เอทิลคาร์บาเมต	400 ppb	1.7 เอทิลคาร์บาเมต	400 ppb
1.8 ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ทั้งหมด	350 ppm	1.8 กรดเบนโซอิกหรือเกลือของกรดเบนโซอิก	200 ppm
1.9 กรดเบนโซอิกหรือเกลือของกรดเบนโซอิก	200 ppm	1.9 สารหนู	0.1 ppm
1.10 กรดซอร์บิกหรือเกลือของกรดซอร์บิก	200 ppm	1.10 ตะกั่ว	0.2 ppm
1.11 สารหนู	0.1 ppm		
1.12 ตะกั่ว	0.2 ppm		
1.13 ทองแดง	5 ppm		

หมายเหตุ มีการตรวจติดตามคุณภาพสุราในประเทศอย่างน้อยปีละ 1 ครั้ง

ตารางที่ 1.2 เกณฑ์มาตรฐานคุณภาพสุราแช่

3. สุราแช่ที่ได้รับอนุญาตให้ผลิตได้ตามประกาศกระทรวงการคลัง เรื่อง วิธีบริหารงานสุรา ฉบับที่ 1 และ 2		4. สุราแช่ที่ได้รับอนุญาตให้ผลิตได้ตามประกาศกระทรวงการคลัง เรื่อง วิธีบริหารงานสุรา ฉบับที่ 3 (สุราแช่พื้นเมือง)		5. สุราแช่ประเภทเบียร์ที่ได้รับอนุญาตให้ผลิตได้ตามประกาศกระทรวงการคลัง เรื่อง วิธีบริหารงานสุรา ฉบับที่ 1 และ 2	
รายการวิเคราะห์	ค่าไม่เกิน	รายการวิเคราะห์	ค่าไม่เกิน	รายการวิเคราะห์	ค่าไม่เกิน
1.1 แรงแอลกอฮอล์	+/-1	1.1 แรงแอลกอฮอล์	+/-1	1.1 แรงแอลกอฮอล์	+/-1
1.2 ฟูเซลออยล์	2500 ppm	1.2เมทิลแอลกอฮอล์	420 ppm	1.2 ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ทั้งหมด	30 ppm
1.3 เอสเทอร์ (เอทิลแอซิเทต)	1200 ppm	1.3 ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ทั้งหมด	300 ppm	1.3 ทองแดง	1.5 ppm
1.4 แอลดีไฮด์ (แอซิทัลดีไฮด์)	160 ppm	1.4 กรดเบนโซอิกหรือเกลือของกรดเบนโซอิก	250 ppm	1.4 เหล็ก	1.5 ppm
1.5 เมทิลแอลกอฮอล์	420 ppm	1.5 กรดซอร์บิกหรือเกลือของกรดซอร์บิก	200 ppm		
1.6 เอทิลคาร์บาเมต	200 ppb	1.6 สารหนู	0.1 ppm		
1.7 ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ทั้งหมด	300 ppm	1.7 ตะกั่ว	0.2 ppm		
1.8 กรดเบนโซอิกหรือเกลือของกรดเบนโซอิก	250 ppm	1.8 ทองแดง	5 ppm		
1.9 กรดซอร์บิกหรือเกลือของกรดซอร์บิก	200 ppm	1.9 เหล็ก	15 ppm		
1.10 สารหนู	0.1 ppm	1.10 เฟอร์โรไซยาไนด์	ไม่พบ		
1.11 ตะกั่ว	0.2 ppm				
1.12 ทองแดง	5 ppm				
1.13 เหล็ก	15 ppm				
1.14 เฟอร์โรไซยาไนด์	ไม่พบ				

ตารางที่ 1.3 เกณฑ์ในการควบคุมคุณภาพสุราที่นำเข้าจากต่างประเทศ

สุรากลั่น (มอก.2088-2544)		ไวน์ (มอก.2089-2544)		เบียร์ (มอก.2090-2544)	
รายการวิเคราะห์	ค่าไม่เกิน	รายการวิเคราะห์	ค่าไม่เกิน	รายการวิเคราะห์	ค่าไม่เกิน
1.1 แรงแอลกอฮอล์	+/-1	1.1 แรงแอลกอฮอล์	+/-1	1.1 แรงแอลกอฮอล์	+/-1
1.2 ฟูเซลออยล์	2500 ppm	1.2 เมทิลแอลกอฮอล์	420 ppm	1.2 ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ทั้งหมด	30 ppm
1.3 เอสเทอร์ (เอทิลแอซิเทต)	1200 ppm	1.3 ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ทั้งหมด	300 ppm	1.3 ทองแดง	1.5 ppm
1.4 แอลดีไฮด์ (แอซิทัลดีไฮด์)	160 ppm	1.4 กรดเบนโซอิกหรือเกลือของกรดเบนโซอิก	250 ppm	1.4 เหล็ก	1.5 ppm
1.5 เมทิลแอลกอฮอล์	420 ppm	1.5 กรดซอร์บิกหรือเกลือของกรดซอร์บิก	200 ppm		
1.6 เอทิลคาร์บาเมต	200 ppb				
1.7 ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ทั้งหมด	300 ppm	1.6 สารหนู	0.1 ppm		
		1.7 ตะกั่ว	0.2 ppm		
1.8 กรดเบนโซอิกหรือเกลือของกรดเบนโซอิก	250 ppm	1.8 ทองแดง	5 ppm		
		1.9 เหล็ก	15 ppm		
1.9 กรดซอร์บิกหรือเกลือของกรดซอร์บิก	200 ppm	1.10 เฟอร์โรไซยาไนด์	ไม่พบ		
1.10 สารหนู	0.1 ppm				
1.11 ตะกั่ว	0.2 ppm				
1.12 ทองแดง	5 ppm				
1.13 เหล็ก	15 ppm				
1.14 เฟอร์โรไซยาไนด์	ไม่พบ				

ที่มา : http://lab.excise.go.th/group1/spirit/scer.htm

เฟอร์ฟูรอล (furfural) เป็นผลพลอยได้จากการให้ความร้อนในการกลั่นสุรา เมื่อร่างกายได้รับเข้าไปจะเกิดการระคายเคืองต่อระบบหายใจและปอด ทำให้เกิดการไอ อาจมีอาการน้ำท่วมปอด และมะเร็งตับ

เอสเทอร์ หรือเอทธิลอะซิเตท (ester/ethyl acetate) ละลายน้ำได้ในสัดส่วน 83.1กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร มีจุดเดือดที่ 77.2 องศาเซลเซียส ถ้าร่างกายได้รับเข้าไป จะเกิดอาการปวดหัว มึนงง คลื่นไส้ และหมดสติ

มาตรฐานการตรวจวิเคราะห์ ทำการทดสอบโดยวิธี AOAC (1995) ซึ่งเป็นมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมสุราตามประกาศของกระทรวงการคลัง โดยสุราแช่จะยึดตามมาตรฐานคุณภาพน้ำสุราแช่ตามนโยบายสนับสนุนเศรษฐกิจชุมชน ซึ่งเป็นข้อกำหนดบางส่วนของมาตรฐาน

ผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมไวน์ (มอก.2089-2544) โดยจะทำการตรวจวิเคราะห์ 10 รายการ คือ แรงแอลกอฮอล์ เมทิลแอลกอฮอล์ วัตถุเจือปนในอาหาร ได้แก่ ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ กรดเบนโซอิก สารปนเปื้อนในอาหาร ได้แก่ ทองแดง เหล็ก ตะกั่ว สารหนู เฟอร์โรไซยาไนด์ ส่วนสุรากลั่นชุมชน จะยึดตามมาตรฐานสุรากลั่นชุมชนตามนโยบายสนับสนุนเศรษฐกิจชุมชน ซึ่งเป็นข้อกำหนดบางส่วนของมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมสุรากลั่น (มอก.2088-2544) โดยจะทำการตรวจวิเคราะห์ 10 รายการ คือ แรงแอลกอฮอล์ คุณลักษณะทางเคมี ได้แก่ ฟูเซลออยล์ เฟอร์ฟิวรัล เอสเทอร์ แอลดีไฮด์ เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลคาร์บาเมต วัตถุเจือปนในอาหาร ได้แก่ กรดเบนโซอิก สารปนเปื้อนในอาหาร ได้แก่ ตะกั่ว สารหนู โดยเครื่องมือที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ ได้แก่ GC , HPLC, AAS และ UV-VIS

สุราส่งผลต่อสุขภาพร่างกายทั้งแบบเฉียบพลัน (acute) ซึ่งจะเกิดการเสียการควบคุมระบบกล้ามเนื้อ (muscular incoordination) (Sullivan, 1995) ระยะเวลาการตัดสินใจช้าลง สมรรถภาพการมองเห็นลดลง ขาดความยับยั้งชั่งใจ มีความกล้ามากขึ้น ขับรถด้วยความประมาท มึนงง (stuporous) ยังตรวจพบระดับน้ำตาลในเลือดต่ำ การหายใจและการเต้นของหัวใจถูกกด (Johnson, 1995) ประสาทสัมผัสต่าง ๆ จะเสียไป ไม่รู้สึกตัว (unconciousness) การหายใจช้าลง และอาจเสียชีวิตได้ (ปริทรรศ ศิลปกิจ, 2542) ผู้ที่ดื่มสุราติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน จะส่งผลต่อร่างกายแบบเรื้อรัง ทำให้เกิดการเป็นพิษต่ออวัยวะทุกส่วนของร่างกาย ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคต่าง ๆ ดังนี้ เช่น

จากการศึกษาของ Fazakas และคณะ (2005) ที่ศึกษาผลต่อระบบประสาทของการได้รับแอลกอฮอล์ 5% v/v ร่วมกับโลหะหนัก 2 ชนิดคือ ปรอทและตะกั่ว โดยใช้เวลาในการศึกษา 12 สัปดาห์ ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าการได้รับแอลกอฮอล์ร่วมกับโลหะหนักมีผลทำให้การเกิดพิษต่อระบบประสาททั้ง central และ/หรือ peripheral neurotxic มากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Pecze และคณะ (2005) ที่แสดงให้เห็นถึงผลกระทบของการได้รับแอลกอฮอล์ร่วมกับตะกั่ว ที่ส่งผลต่อระบบประสาททั้งแบบเฉียบพลัน และกึ่งเรื้อรังเช่นกัน

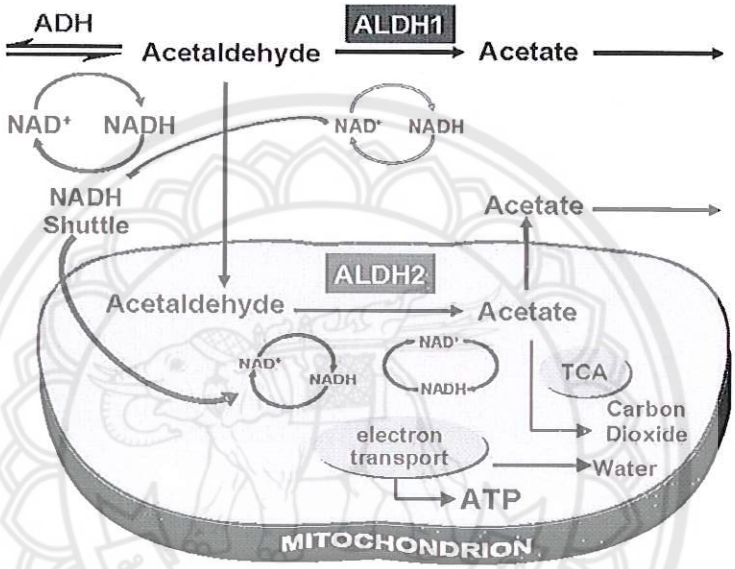
ผลต่อไตแอลกอฮอล์จะลดการผลิตฮอร์โมนแอนตี้ไดยูเรติค (antidiuretic hormone) ของต่อมพิทูอิทารี (pituitary) จะทำให้ร่างกายสูญเสียโซเดียมออกมามาก ร่างกายจะดูดน้ำเข้าสู่ระบบไหลเวียนเลือดทีละมาก ๆ อาจทำให้เกิดภาวะน้ำเป็นพิษได้ (ศูนย์บำบัดรักษา ยาเสพติดขอนแก่น, 2546)

จากการทดสอบในหนูพบว่า acetaldehyde ทำให้เกิดการสร้างเซลล์มะเร็ง และทำให้โครโมโซมในเซลล์ผิดปกติ เกิด sister chromatid exchanges และพบว่า acetaldehyde ทำให้เกิดปฏิกิริยาในลักษณะการรวมตัวกันของ DNA เป็น N(2)-ethyl-2'-deoxyguanosine ซึ่งพบปริมาณมากขึ้นในเซลล์ตับของหนูที่ให้กินแอลกอฮอล์ และในเม็ดเลือดขาวของคนที่ดื่มแอลกอฮอล์แบบอันตราย (alcohol abusers) (Qiu, 2005) และมีการรายงานของศูนย์ IARC กล่าวว่า acetaldehyde ส่งผลทำให้มีความผิดปกติในการตั้งท้องของสัตว์และยังเป็นสารทำให้เกิดมะเร็งในมนุษย์อีกด้วย (IARC, 1984)

เซลล์ตับทำหน้าที่หลายประการ เช่น เกิดขบวนการเมแทบอลิซึมของสารอาหาร สร้างวิตามิน สร้างและหลั่งน้ำดี กำจัดสารพิษที่ได้รับจากภายนอกหรือสร้างจากร่างกายเอง สารหลายชนิดที่สร้างจาก

ตับจะถูกขับออกทางท่อน้ำดี การทดสอบตับโดยการตรวจวัดเอนไซม์ที่บ่งชี้ว่ามีการทำลายหรือซ่อมแซมเซลล์ตับการเพิ่มขึ้นของเอ็นไซม์จะขึ้นกับชนิด ความรุนแรง ระยะเวลาของสิ่งกระตุ้น การเปลี่ยนแปลงค่าเอ็นไซม์อาจไม่บ่งบอกถึงการกลับมาทำงานตามปกติของตับในช่วงเวลาที่ตรวจก็ได้

ผลต่อตับเนื่องจากตับเป็นแหล่งสันดาปที่สำคัญของแอลกอฮอล์ (รูปที่ 1.1) ดังนั้นตับจึงเป็นอวัยวะที่รับพิษของแอลกอฮอล์มากกว่าอวัยวะอื่น (Naegle and D'Avanzo, 2001) พิษของแอลกอฮอล์จะทำให้เกิดการสะสมไขมันและโปรตีนในตับนำไปสู่โรคตับเหลือง (fatty liver) ตับอักเสบเนื่องจากพิษของสุรา (alcoholic hepatitis) และตับแข็ง (cirrhosis)



รูปที่ 1.1 เมทาบอลิซึมของแอลกอฮอล์ในเซลล์ตับ (ADH pathway)

แอลกอฮอล์เป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่วนใหญ่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มเอนไซม์ในตับ และยังเกี่ยวเนื่องระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้รับกับแอลกอฮอล์ที่ชักนำให้เกิดโรคตับ การศึกษาของชาวอิตาลีพบว่าแอลกอฮอล์น่าจะเป็นสาเหตุของการป่วยเป็นโรคตับถึง 23% และพบว่าการวิเคราะห์จำแนกเอนไซม์ตับ จากผลของน้ำหนักตัวหรือการบริโภคแอลกอฮอล์มีความแตกต่างกัน (Duk-Hee, 2001)

รายงานเกี่ยวกับโมเดลหนูแบบใหม่ซึ่งใช้หนูแรทสายพันธุ์ Wistar เพศเมีย โดยได้รับแอลกอฮอล์ปริมาณ 5 g/kg BW ทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าแอลกอฮอล์สามารถชักนำให้มีการสะสมไขมันมากขึ้น เช่น โรคไขมันอุดตันในเส้นเลือด รวมทั้งทำให้เกิดการอักเสบและการตายของเนื้อเยื่อตับเพิ่มมากขึ้น (Enomoto, 1999)

เอนไซม์ Alanine aminotransferase (ALT) หรือ SGPT การเปลี่ยนแปลงความสามารถในการซึมผ่านของผนังเซลล์ตับจะเกิดการหลั่งเอ็นไซม์ ระดับการเพิ่มขึ้นของเอ็นไซม์สะท้อนถึงปริมาณของเซลล์ตับที่เสียหาย พบว่าค่าครึ่งชีวิตของ ALT มีค่าเป็นชั่วโมง แต่ในทางคลินิกค่าครึ่งชีวิตจะยาวนานจากปัจจัยอื่นๆ

นอกจาก ALT ยังมีเอ็นไซม์อีกชนิดคือ Aspartate aminotransferase (AST) หรือ SGOT ซึ่งพบในเซลล์ตับและในเซลล์กล้ามเนื้อด้วย เนื่องจากการอักเสบของกล้ามเนื้อพบได้น้อยในสุนัขและแมว การวัดแอคทิวิตีของเอนไซม์ creatine kinase จะบ่งบอกภาวะกล้ามเนื้อได้ดีกว่า ดังนั้น AST จึงสามารถใช้ทดสอบตับได้ด้วย โดย AST มี 2 รูปแบบ คือละลายได้ใน cytosol (Soluble form) หรือจับกับ organelles ภายในเซลล์ (Bound form) ดังนั้นการเปลี่ยนความสามารถในการซึมผ่านของผนังเซลล์ตับจะมีการหลั่ง AST รูป soluble form ออกมา แต่ถ้าตับถูกทำลายรุนแรงขึ้น จึงจะหลั่ง bound form

ในกรณีที่ตับถูกทำลายอย่างเฉียบพลันจะมีการเพิ่มขึ้นของ enzyme ALT และ AST โดยพบว่า AST จะกลับเข้าสู่ปกติเร็วกว่า ตับมีการผลิตเอนไซม์ alanine aminotransferase (ALT) เมื่อได้รับความเสียหาย บาดเจ็บ หรือเป็นโรคเกี่ยวกับตับ โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคตับแข็ง และโรคตับอักเสบซึ่งมีสาเหตุมาจากแอลกอฮอล์ ยา หรือไวรัส การวัดปริมาณเอนไซม์ ALT โดยการเจาะเลือดซึ่งเห็นผลภายใน 24 ชั่วโมง จะใช้ร่วมกับการวัดปริมาณเอนไซม์ aspartate aminotransferase (AST) อัตราส่วนของ AST ต่อ ALT บ่งบอกถึงการที่ตับได้รับความเสียหายจากปริมาณของแอลกอฮอล์ (Sydney, 2006)

จากสถิติการป่วยด้วยโรคมะเร็งตับในโรงพยาบาลจังหวัดพิษณุโลกเพิ่มมากขึ้น ประกอบกับข้อมูลเบื้องต้นจากการตราจวิเคราะห์หาสารพิษในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่วางจำหน่ายในท้องตลาดเขตอำเภอเมืองพิษณุโลก ส่วนใหญ่พบสารพิษในกลุ่มอะซิทาลดิไฮด์เกินค่ามาตรฐานควบคุม เป็นเหตุให้ต้องทำการวิเคราะห์หาสารพิษตกค้างและปนเปื้อนชนิดอื่นร่วมด้วย เพื่อทดสอบผลของการบริโภคสุราที่มีสารพิษเหล่านี้ต่อการทำลายเซลล์ตับในหนูแรท

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อทราบปริมาณสารพิษตกค้าง และปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์สุรา
2. เพื่อทราบชนิดของจุลินทรีย์ปนเปื้อนอยู่กับบรรจุภัณฑ์สุราที่ไม่ถูกสุขอนามัย
3. เพื่อทราบผลกระทบต่อสุขภาพจากการบริโภคสุราที่มีสารพิษปนเปื้อนในหนูทดลอง

2. อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

2.1 ตัวอย่าง (Samples)

2.1.1 รวบรวมรายชื่อยี่ห้อสุราแช่และสุรากลั่นได้ 96 ยี่ห้อในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2550 และเดือนธันวาคม 2550 ที่วางจำหน่ายในเขตอำเภอเมืองจังหวัดพิษณุโลก โดยแบ่งเป็น 3 กลุ่มคือ

1. ในเขตตัวเมืองจังหวัดพิษณุโลก
2. สถานประกอบการใกล้กับสถานศึกษามหาวิทยาลัยนเรศวร
3. หมู่บ้านที่มีผลิตภัณฑ์ของชุมชน

2.1.2 สุ่มเก็บตัวอย่างสุราจำนวน 1 ใน 3 ของจำนวนที่รวบรวมได้ในแต่ละกลุ่ม ด้วยเทคนิค PPS (Probability proportional to size sampling technique) ซึ่งใช้การสำรวจความนิยมในการบริโภคสุราแต่ละยี่ห้อ (ภาคผนวก ก) โดยใช้แบบสอบถาม และการสัมภาษณ์ สำหรับตัวอย่างสุรากลุ่มที่ 1 และ 2 คือ สุราในเขตตัวเมืองจังหวัดพิษณุโลก และสุราบริเวณสถานประกอบการใกล้กับสถานศึกษาตามลำดับ ส่วนกลุ่มที่ 3 สุราชุมชนในเขตอำเภอเมืองจังหวัดพิษณุโลก ค่าความนิยมมาจากข้อมูลสุราที่เสียภาษีตามจำนวนขวด ของสำนักงานสรรพสามิตจังหวัดพิษณุโลก (ธันวาคม 2550)

2.1.3 จัดอันดับให้กับสุราแต่ละยี่ห้อภายในกลุ่มการทดลองโดยการจับสลาก (ลำดับที่ 1-34, กลุ่ม 1; ลำดับที่ 1-34 กลุ่ม 2; ลำดับ 1-28, กลุ่ม 3) แต่ละกลุ่มจะกำหนดค่าประชากรสะสมเริ่มต้น ก่อนนำไปคำนวณคะแนนค่าสะสมของความนิยมเพื่อหาค่า Sampling Interval (SI) คือ จำนวนประชากรสะสมทั้งหมดหารด้วยจำนวนประชากรที่ถูกเลือกในที่นี้คือ 10 และค่า Random Start (RS) คือค่าประชากรสะสมเริ่มต้น โดยเลือกค่าเริ่มต้นขึ้นมา 1 ค่าและนำไปคำนวณเพื่อหาตัวอย่างที่ถูกเลือกดังนี้ RS, RS+SI, RS+2SI,RS+3SI, RS+4SI, RS+5SI, RS+6SI, RS+7SI, RS+8SI, RS+9SI ซึ่งเป็นการสุ่มที่สมบูรณ์โดยไร้ความลำเอียง

2.2 การวิเคราะห์ทางเคมี (Chemical analysis)

เป็นการวิเคราะห์หาชนิด และปริมาณสารพิษที่ตกค้างหรือปนเปื้อนอยู่ในตัวอย่างสุราที่ได้รับการสุ่มเก็บ โดยจำแนกประเภทสารพิษเป็น 2 กลุ่มหลักคือ

1. ประเภทสารอนินทรีย์ในกลุ่มสารโลหะหนัก คือ Arsenic, Cadmium และ Lead วิเคราะห์ด้วยเทคนิค ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry)

2. ประเภทสารอินทรีย์ คือ สารในกลุ่มของ acetaldehydes, methanol, formaldehyde ยืนยันผลด้วยเทคนิค FID และยาฆ่าแมลง 4 กลุ่ม คือ Organophosphate, Carbamate, Organochlorine และ Pyrethroid วิเคราะห์ด้วย GC-MS (Gas chromatography) (ตารางที่ 2.1)

ตารางที่ 2.1 รายการทดสอบยาฆ่าแมลง

กลุ่ม	รายการทดสอบ	กลุ่ม	รายการทดสอบ
Organophosphate group	Methamidophos Mevinphos Diazinon Monocrotophos Dimethoate Pirimiphos-methyl Chlorpyrifos Parathion-methyl Pirimiphos-ethyl Malathion Prothiofos Profenofos triazophos	Organochlorine group	Total BHC - Alpha-BHC - Beta-BHC - Gamma-BHC (lindane) Heptachlor&Heptachlor epoxide Aldrin & Dieldrin Total DDT Total Endosulfan Total Chlordane Endrin Dicofol
Carbamate group	Oxamyl Methomyl Carbaryl Isoprocarb Fenobucarb Methiocarb Total aldicarb Total carbofuran	Pyrethroid group	Bifenthrin Permethrin L-Cyhalothrin Cypermethrin Cyfluthrin Fenvalerate deltamethrin

ตัวอย่างสุราจะถูกซื้อมาจากร้านค้าที่วางขาย เก็บรวบรวมไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25°C และจะไม่ถูกเปิดออกก่อนทำการวิเคราะห์ ซึ่งทำการวิเคราะห์โดยบริษัทห้องปฏิบัติการกลางตรวจสอบผลิตภัณฑ์เกษตร และอาหาร (ประเทศไทย) จำกัด ซึ่งเป็นหน่วยตรวจสอบที่ได้มาตรฐานสากล เพื่อสนับสนุนการส่งออกและคุ้มครองผู้บริโภคในประเทศ และศูนย์วิจัยการหมักเพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร มหาวิทยาลัยขอนแก่น ซึ่งได้รับอนุญาตจากกรมสรรพสามิต ให้เป็นหน่วยงานตรวจวิเคราะห์คุณภาพสุราแช่ และผลิตภัณฑ์ รวมทั้งเป็นหน่วยงานตรวจวิเคราะห์สุรากลั่นชุมชน

2.3 **การทดสอบทางจุลชีววิทยา** (Microbial test)

2.3.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ (Media preparation)

ใช้สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar (NA) เป็นอาหารที่เหมาะสมสำหรับเลี้ยงเชื้อบักเตรีทั่วๆ ไป ใน 1 ลิตร ประกอบด้วย Beef extract 3 g, Peptone 5 g, Agar 15 g แบ่งน้ำกลั่นออกเป็น 2 ส่วน ส่วนละ 500 ml ละลาย Peptone และ beef extract ลงในน้ำส่วนที่หนึ่ง นำน้ำส่วนที่สองไปต้มกับวุ้นหลอมละลายดีแล้ว จึงนำทั้งสองส่วนผสมมาเทปนกัน เติมน้ำกลั่นที่ขาดหายไปจากการระเหยจนครบ 1000 ml

2.3.2 ทดสอบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ ที่อยู่รอบ ๆ ปากขวดบรรจุสุรา โดยใช้สำลีป้ายรอบคอขวด 2-3 รอบ แล้วนำสำลีนั้นไปสัมผัสกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ และนำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อ เพื่อตรวจนับชนิด และปริมาณเชื้อจุลินทรีย์

2.3.3 การย้อมสี Gram จะแบ่งแบคทีเรียออกเป็น 2 พวก ซึ่งขึ้นอยู่กับการติดสี แบคทีเรียที่ติดสี crystal violet (สีน้ำเงินหรือม่วง) หลังจากการล้างด้วยแอลกอฮอล์เรียกว่า "Gram-positive" ส่วนพวกที่ไม่ติดสีของ crystal violet แต่ติดสีที่ย้อมทับ (Counter stain) ของ Safranin (สีแดง) เรียกว่า Gram-negative

วิธีการย้อมแกรม

1. สเมียร์ (smear) เชื้อที่ป้ายจากรอบๆ ปากขวดสุราลงบนสไลด์ ทิ้งไว้ให้แห้ง นำแผ่นสไลด์ผ่านเปลวไฟอย่างเร็ว โดยให้ด้านที่มีแบคทีเรียอยู่ด้านบน ระวังอย่าให้แผ่นสไลด์ร้อนจนเกินไป การลนไฟเพื่อให้เซลล์ของแบคทีเรียติดแน่นอยู่บนแผ่นสไลด์ระหว่างขั้นตอนการย้อมสี

2. หยดสารละลาย Crystal violet ให้ท่วมเซลล์แบคทีเรียทิ้งไว้นาน 1 นาที เทสารละลายออก ใช้น้ำล้างสีย้อมเบา ๆ จนไม่มีสีย้อมละลายออกไปกับน้ำอีก

3. หยดสีย้อม Lugol's iodine ให้ท่วม ทิ้งไว้ 1 นาที ล้างน้ำอีกครั้ง ซับให้แห้ง

4. หยด ethyl alcohol 95% ลงบนเซลล์แบคทีเรีย 2 – 3 วินาที (อย่าให้นานเกิน 30 วินาที) ซับแผ่นสไลด์ให้แห้ง

5. หยดสีย้อม Safranin O ทิ้งไว้นาน 20 วินาที ล้างน้ำอีกครั้ง แล้วซับแผ่นสไลด์ให้แห้ง ตรวจสอบแบคทีเรียภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope กำลังขยาย 1,000 เท่า โดยใช้ oil immersion แบคทีเรียแกรมบวกจะติดสีฟ้าม่วง ส่วนแกรมลบจะติดสีแดงอมชมพู

การเตรียมสีในการย้อมแกรม

1. Ammonium oxalate crystal violet

เตรียมสารละลาย Gram's crystal violet และAmmonium oxalate ผสมเข้าด้วยกัน โดยวิธีการเตรียมทำตามขั้นตอนต่อไปนี้

1.1 เตรียม Gram's crystal violet ทำการละลาย Crystal violet 2.0 กรัม ในเอทิลแอลกอฮอล์ 20 มิลลิลิตร

1.2 เตรียม Ammonium oxalate ชั่ง Ammonium oxalate, C.P 0.8 กรัม ละลายใน น้ำกลั่น 80 มิลลิลิตร

มื่อได้ทั้ง Gram's crystal violet และ Ammonium oxalate แล้ว จากนั้นให้ผสมสารละลายทั้งสองเข้าด้วยกันและคนให้เข้ากัน

2. สารละลายไอโอดีน โดยชั่ง Iodine, C.P 1.0 กรัม และ Potassium Iodide, C.P (KI) 2.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 300.0 มิลลิลิตร

3. สารละลาย Safranin โดยชั่ง Safranin 0.25 กรัม ละลายในเอทธิลแอลกอฮอล์ 10 มิลลิลิตร น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ทำการคนให้เข้ากัน จากนั้นกรองผ่านกระดาษกรองเอาแต่ส่วนที่เป็นของเหลวสีแดงไปใช้

2.3.4 การใช้กล้อง SEM (Scanning Electron Microscope) (LEO รุ่น 1450 VP) วัดขนาดโคโลนีทั้ง 3 สี

2.3.5 การทดสอบเชื้อทางชีวเคมี

1. การทดสอบ gelatin liquefaction
2. การทดสอบความทนต่อ 1% acetic acid
3. การทดสอบ urea hydrolysis
4. การทดสอบการสร้าง extracellular amyloid compound
5. การทดสอบความสามารถในการเจริญบน 50% glucose medium
6. การทดสอบความสามารถในการเจริญบน 10% NaCl plus 5% glucose medium
7. การทดสอบการทำปฏิกิริยากับ fast blue B salt หรือ Diazonium Blue B
8. การทดสอบความสามารถในการหมักคาร์โบไฮเดรต

2.4 การทดสอบทางชีวภาพในหนู Wistar rat

2.4.1 การเตรียมสารประกอบสุราปนเปื้อนสารพิษที่จัดทำขึ้น (artificial alcohol) โดยทำการผสมเอทิลแอลกอฮอล์ ร่วมกับสารพิษในปริมาณเท่าที่วิเคราะห์พบสูงสุดในตัวอย่างสุรา (ตารางที่ 2.2) และใช้ตัวอย่างสุราจริง 2 ยี่ห้อซึ่งเป็นตัวแทนของสุราที่ผลิตในประเทศคือ A29 และตัวอย่างสุรานำเข้าจากต่างประเทศคือ A19 เหตุที่ใช้ 2 ยี่ห้อนี้คือ การตรวจพบปริมาณสารอะซิทัลดิไฮด์ (Acetaldehyde) สูงสุดและสูงรองตามลำดับ

2.4.2 การทดสอบในหนูเพศผู้ (Wistar rat) อายุ 5 สัปดาห์ อยู่ในช่วงวัยรุ่น (น้ำหนักระหว่าง 121-160 กรัม) ใช้หนูทดลอง 8 ตัวต่อกลุ่ม (ทั้งหมด 9 กลุ่ม) ระยะเวลาศึกษานาน 3 เดือน สำหรับศึกษาการก่อพิษแบบกึ่งเรื้อรัง (Sub-chronic) และใช้หนู 10 ตัวต่อกลุ่ม ใน 9 กลุ่มทดลองเช่นกัน (ตารางที่ 2.2) เป็นเวลานาน 6 เดือนสำหรับการก่อพิษแบบเรื้อรัง (Chronic) หนูทดลองได้รับสารประกอบสุราที่ปนเปื้อนสารพิษที่จัดทำขึ้น (artificial alcohol) ใช้ความเข้มข้นของเอทิลแอลกอฮอล์ 35% (v/v) หรือ 1.95 g/Kg BW/day ปริมาตรที่ให้ 7.0 ml/Kg BW/day ให้วันละ 1 ครั้ง และใช้วิธีป้อนแบบส่งตรงถึงกระเพาะอาหาร (gavage)

ตารางที่ 2.2 กลุ่มสัตว์ทดลองลักษณะของการเกิดพิษแบบกึ่งเรื้อรัง (subchronic) และแบบเรื้อรัง (chronic) จากการบริโภคสุราที่มีสารพิษตกค้างและปนเปื้อน ในหนูเพศผู้ (Wistar rat) อายุ 5 สัปดาห์ น้ำหนักตัว (121-160 กรัม)

กลุ่มสัตว์ทดลอง (กลุ่มละ 8-10 ตัว)	ชนิดของสารพิษที่ให้ (9 กลุ่ม)	ลักษณะการให้สารพิษ	ระยะเวลาของการติดตามผลกระทบต่อตับ
กลุ่มบริโภคปริมาณสูง 1 (heavy alcohol Consumption)	1. สารประกอบสุราที่ตกค้างและปนเปื้อนสารพิษผสมที่จัดทำขึ้น (artificial alcohol)	ทุกวัน (gavage)	ทำการวิเคราะห์ระดับของเอนไซม์ตับในซีรั่ม 2 ชนิด คือ AST และ ALT วัดปริมาณน้ำตาล และสารเคมีอื่นๆ ระยะเวลาเมื่อสิ้นสุดเดือนที่ 3 และ 6
กลุ่มบริโภคปริมาณสูง 2 (control) (heavy alcohol Consumption) สุราผสมสารพิษสูง 2 ระดับ ที่จัดทำขึ้น (artificial alcohol)	2. Acetaldehyde สูงสุด	ทุกวัน (gavage)	
	3. Acetaldehyde สูงรอง	ทุกวัน (gavage)	
กลุ่มบริโภคปริมาณสูง 2 (heavy alcohol Consumption) สารประกอบสุราที่มีสารพิษตกค้างและปนเปื้อนสารพิษสูงสุด (ตัวอย่างสุราจริง) 2 ยี่ห้อ	4. Acetaldehyde สูงสุด (ยี่ห้อ A29)	ทุกวัน (gavage)	
	5. Acetaldehyde สูงรอง (ยี่ห้อ A19)	ทุกวัน (gavage)	
กลุ่มบริโภคปริมาณปานกลาง (medium alcohol Consumption)	6. สารประกอบสุราที่ตกค้างและปนเปื้อนสารพิษที่จัดทำขึ้น	4 วันต่อสัปดาห์ (gavage)	
	น้ำกลั่น	3 วันต่อสัปดาห์	
กลุ่มบริโภคปริมาณน้อย (low alcohol Consumption)	7. สารประกอบสุราที่ตกค้างและปนเปื้อนสารพิษที่จัดทำขึ้น	1 วันต่อสัปดาห์ (gavage)	
	น้ำกลั่น	6 วันต่อสัปดาห์	
กลุ่มควบคุม 1 (control 1)	8. เอทานอล 35% V/V *	ทุกวัน (gavage)	
กลุ่มควบคุม 2 (control 2)	9. น้ำกลั่น	ทุกวัน	

2.4.3 เมื่อครบกำหนดเวลา 3 และ 6 เดือน จะทำให้หนูตายโดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และดูดเลือดออกจากหัวใจ ก่อนผ่าเอาอวัยวะภายในแยกเก็บในไนโตรเจนเหลว และแช่ฟอร์มาลีนไว้

ดำเนินการวิจัยโดยมีเอกสารรับรองการทำวิจัยในสัตว์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ภายใต้การดูแล และความร่วมมือกับสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา จังหวัดนครปฐม ตั้งแต่การเตรียมหนูทดลองและการทดสอบเบื้องต้น ก่อนทำการทดลองจริงระหว่างเดือนพฤษภาคม และเดือนตุลาคม 2551

ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ให้กับหนู เท่ากับ 2.5 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ซึ่งเป็นปริมาณที่ระบุในการศึกษาของ Pecze et al (2005) และอยู่ในช่วงมาตรฐานของการบริโภคน้ำของหนูที่ 10 มิลลิลิตรต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน (Harkness and Wagner, 1989; Olfert et al., 1993) และเป็นปริมาณที่สอดคล้องกับปริมาณที่ระบุไว้ในงานวิจัยของ Gupta and Gill (2000) คือ 1-5 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

3. ผลการทดลอง

3.1 ผลการสุ่มตัวอย่างสุรา

3.1.1 ผลการสุ่มตัวอย่างสุรากลุ่มที่ 1 สุราในเขตตัวเมืองจังหวัดพิษณุโลก

ค่า Sampling Interval (SI) คือจำนวนประชากรสะสมทั้งหมด (657) หารด้วยจำนวนประชากรที่ถูกเลือก (10) เท่ากับ 65.7 ค่า Random Start (RS) ที่ถูกเลือกคือ 59 ฉะนั้นสุราที่ถูกเลือกตามลำดับคือ 59, 59+65.7, 59+(2x65.7), 59+(3x65.7), 59+(4x65.7), 59+(5x65.7), 59+(6x65.7), 59+(7x65.7), 59+(8x65.7), 59+(9x65.7) หรือ 59, 125, 191, 257, 323, 389, 455, 521, 587 และ 653 ตามลำดับ (ตารางที่ 3.1)

ตารางที่ 3.1 แสดงค่าสะสมความนิยมการบริโภคสุรากลุ่มที่ 1 ในพื้นที่ตัวเมืองจังหวัดพิษณุโลก

ลำดับ	ยี่ห้อสุรา	ค่าสะสม	คัดเลือก	ลำดับ	ยี่ห้อสุรา	ค่าสะสม	คัดเลือก
1	A1	26		18	A18	367	
2	A2	61	59	19	A19	387	389
3	A3	75		20	A20	409	
4	A4	118		21	A21	423	
5	A5	132	125	22	A22	443	
6	A6	146		23	A23	452	
7	A7	158		24	A24	465	455
8	A8	164		25	A25	483	
9	A9	188		26	A26	544	521
10	A10	203	191	27	A27	551	
11	A11	230		28	A28	565	
12	A12	250		29	A29	583	587
13	A13	268	257	30	A30	600	
14	A14	292		31	A31	608	
15	A15	312		32	A32	619	
16	A16	332	323	33	A33	638	
17	A17	352		34	A34	657	653

3.1.2 ผลการสุ่มตัวอย่างสุรากลุ่ม 2 สุราบริเวณสถานประกอบการรอบมหาวิทยาลัยนเรศวร

ค่า Sampling Interval (SI) คือจำนวนประชากรสะสมทั้งหมด (10137) หารด้วยจำนวนประชากรที่ถูกเลือก (10) เท่ากับ 1013.7 ค่า Random Start (RS) ที่ถูกเลือกคือ 939 ฉะนั้นสุราที่ถูกเลือกตามลำดับคือ 59, 59+65.7, 59+(2x65.7), 939+(3x1013.7), 939+(4x1013.7), 939+(5x1013.7), 939+(6x1013.7), 939 +(7x1013.7), 939 +(8x1013.7), 939 +(9x1013.7) หรือ 939, 1953, 2967, 3981, 4995, 6009, 7023, 8037, 9051 และ 10065 ตามลำดับ (ตารางที่ 3.2)

ตารางที่ 3.2 แสดงค่าสะสมความนิยมการบริโภคสุรากลุ่มที่ 2 บริเวณสถานประกอบการรอบมหาวิทยาลัยนเรศวร

ลำดับ	ยี่ห้อสุรา	ค่าสะสม	คัดเลือก	ลำดับ	ยี่ห้อสุรา	ค่าสะสม	คัดเลือก
1	B1	279		18	B18	5403	
2	B2	547		19	B19	5707	
3	B3	948	939	20	B20	6051	6009
4	B4	1225		21	B21	6326	
5	B5	1508		22	B22	6760	
6	B6	1802		23	B23	7027	7023
7	B7	2130	1953	24	B24	7303	
8	B8	2394		25	B25	7572	
9	B9	2662		26	B26	7879	
10	B10	2919		27	B27	8146	8037
11	B11	3174	2967	28	B28	8436	
12	B12	3664		29	B29	8700	
13	B13	3985	3981	30	B30	9011	
14	B14	4250		31	B31	9286	9051
15	B15	4630		32	B32	9579	
16	B16	4885		33	B33	9838	
17	B17	5140	4995	34	B34	10137	10065

3.1.3 ผลการสุ่มตัวอย่างสุรากลุ่ม 3 สุราชุมชนในเขตอำเภอเมืองจังหวัดพิษณุโลก

ค่า Sampling Interval (SI) คือจำนวนประชากรสะสมทั้งหมด (15400) หารด้วยจำนวนประชากรที่ถูกเลือก (10) เท่ากับ 1540 ค่า Random Start (RS) ที่ถูกเลือกคือ 809 ฉะนั้นสุราที่ถูกเลือกตามลำดับ

คือ 809, 809 +65.7, 809 +(2x65.7), 809 +(3x1013.7), 809 +(4x1540), 809 +(5x1540), 809 +(6x1540), 809 +(7x1540), 809 +(8x1540), 809 +(9x1540) หรือ 809, 2349, 3889, 5429, 6969, 8509, 10049, 11589, 13129 และ 14669 ตามลำดับ (ตารางที่ 3.3)

ตารางที่ 3.3 แสดงค่าสะสมความนิยมการบริโภคสุรากลุ่มที่ 3 สุราชุมชนในเขตอำเภอเมืองจังหวัดพิษณุโลก ข้อมูลจากสำนักงานสรรพสามิตรจังหวัดพิษณุโลก (ธันวาคม 2550)

ลำดับ	ยี่ห้อสุรา	ค่าสะสม	คัดเลือก	ลำดับ	ยี่ห้อสุรา	ค่าสะสม	คัดเลือก
1	C1	200		15	C15	6500	
2	C2	800		16	C16	8500	6969
3	C3	1000	809	17	C17	9500	8509
4	C4	1100		18	C18	9700	
5	C5	2200		19	C19	10900	10049
6	C6	2700	2349	20	C20	11000	
7	C7	2900		21	C21	11200	
8	C8	3250		22	C22	11800	11589*
9	C9	4150	3889	23	C23	12300	
10	C10	4350		24	C24	13100	
11	C11	4550	5429	25	C25	13400	13129*
12	C12	4750		26	C26	13800	
13	C13	6250	4995	27	C27	14900	14669
14	C14	6350		28	C28	15400	

3.2 ผลการวิเคราะห์สารพิษในสุรา

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารโลหะหนักในกลุ่มของ Asenic, Cadmium และ Lead ไม่พบแคดเมียมในตัวอย่างสุราทุกยี่ห้อ แต่พบ Arsenic และ Lead เพียงเล็กน้อยในบางตัวอย่าง ปริมาณ Arsenic ที่พบสูงสุด 0.0084 mg/l ในเบียร์ช้าง และพบ Lead สูงสุด 0.11 mg/l ในสุรากลั่นชุมชนไทยแท้ ส่วนสารอินทรีย์ระเหยง่ายไม่พบ formaldehyde แต่พบ acetaldehyde ปริมาณสูงสุด 690.22 mg/l ในแม่โขง และพบ methanol ปริมาณสูงสุด 108.27 mg/l ใน spay royal นอกจากนี้ไม่พบยาฆ่าแมลงทั้ง 4 กลุ่ม คือ Organophosphate, Carbamate, Organochlorine และ Pyrethroid ในทุกยี่ห้อ (ตารางที่ 3.4)

ตารางที่ 3.4 ผลการวิเคราะห์สารพิษปนเปื้อนในสุราทั้ง 3 กลุ่ม

กลุ่ม	ยี่ห้อสุรา	Acetaldehyde (mg/l)	Formaldehyde (mg/l)	Methanol (mg/l)	Arsenic (mg/l)	Cadmium (mg/l)	Lead (mg/l)
a1	A2	231.21	ND	87.85	ND	ND	ND
a2	A5	392.323	ND	91.3	ND	ND	ND
a3	A10	161.81	ND	33.5	ND	ND	ND
a4	A13	113.60	ND	108.27	ND	ND	ND
a5	A16	93.37	ND	ND	ND	ND	ND
a6	A19	309.9	ND	30.1	ND	ND	ND
a7	A24	52.99	ND	8.1	ND	ND	ND
a8	A26	140.69	ND	22.5	ND	ND	ND
a9	A29	690.22	ND	11.1	ND	ND	ND
a10	A34	127.82	ND	23.34	ND	ND	ND
b1	B3	<10.00	ND	ND	0.0084	ND	ND
b2	B7	59.17	ND	15.03	ND	ND	ND
b3	B11	260.98	ND	20.28	ND	ND	ND
b4	B13	ND	ND	MD	<0.006	ND	ND
b5	B17	189.2	ND	17.1	ND	ND	ND
b6	B20	<20.00	ND	15.26	ND	ND	ND
b7	B23	214.65	ND	30.9	ND	ND	ND
b8	B27	122.57	ND	ND	ND	ND	ND
b9	B31	45.74	ND	ND	<0.006	ND	ND
b10	B34	164.48	ND	56.48	ND	ND	ND
c1	C3	373.28	ND	51.49	ND	ND	0.11
c2	C6	408.8	ND	42.73	ND	ND	ND
c3	C9	269.96	ND	75.46	ND	ND	0.0084
c4	C11	321.88	ND	58.26	ND	ND	ND
c5	C12	226.1	ND	14.23	ND	ND	<0.0060
c6	C17	545.61	ND	63.01	<0.006	ND	ND
c7	C19	319.65	ND	<5	ND	ND	ND
c8*	C22	37.68	ND	<5	ND	ND	ND
c9*	C25	199.26	ND	25.6	ND	ND	ND
c10	C27	245.13	ND	35.21	ND	ND	0.0079
	mean	234 ± 155		40 ± 28			
	Range	0 - 690		0 - 108			

หมายเหตุ * ตัวอย่างสุรายี่ห้อ c8 และ c9 เป็นผลิตภัณฑ์สุราชุมชน ได้ถูกบันทึกไว้ในขณะรวบรวมรายชื่อเพื่อทำการสุ่ม แต่โรงงานปิดไปก่อนการเก็บตัวอย่างสุราจะเริ่มขึ้น จึงนำสุราชนิดที่มีการบริโภคสูง 2 ยี่ห้อมาทดแทนคือ C22 และ C25

ND = not detected

LOD (Limit of Detection) for formaldehyde and acetaldehyde = 4 mg/L

LOD (Limit of Detection) for methanol 10 mg/L

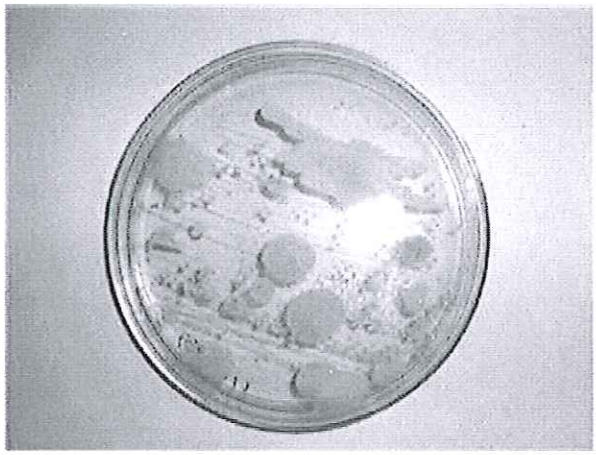
LOQ (Limit of Quantification) of acetaldehyde and formaldehyde = 10 mg/L

3.3 ผลการทดสอบทางจุลชีววิทยา (Microbiological test)

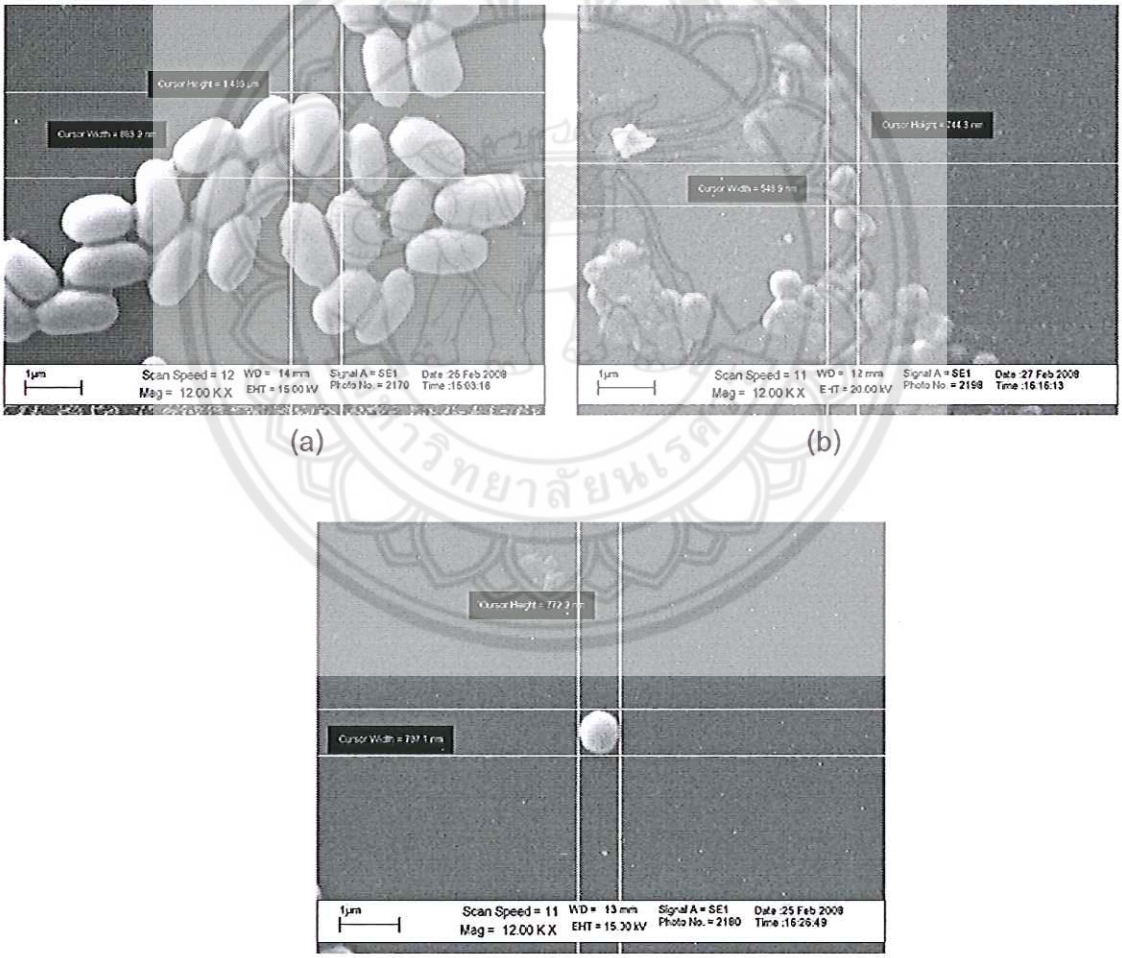
เชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนรอบปากขวดสุรา (รูปที่ 3.1) ส่วนใหญ่เป็นขวดของผลิตภัณฑ์สุราชุมชน พบจำนวนโคโลนีสีขาว เหลือง และส้ม ดังตารางที่ 7 โดยเฉพาะสุราแม่ยมจะพบโคโลนีทั้ง 3 ชนิดในปริมาณมากที่สุด (ตารางที่ 3.5) โคโลนีเหล่านี้จะถูกนำไปวัดขนาดโคโลนีด้วยกล้อง SEM พบว่าโคโลนีสีขาว (1.489 x 0.884 µm) สีเหลือง (0.744 x 0.549 µm) และสีส้ม (0.772 x 0.707 µm) มีขนาดแตกต่างกัน (รูปที่ 3.2) เมื่อนำไปทดสอบผลทางชีวเคมี (ภาคผนวก จ และตารางที่ 3.6) เพื่อจัดจำแนกเชื้อที่พบ

ตารางที่ 3.5 จำนวนโคโลนีจากการเพาะเชื้อรอบปากขวดสุรา

ยี่ห้อสุรา	จำนวนโคโลนี			หมายเหตุ
	ขาว	เหลือง	ส้ม	
A34	1	-	-	
B23	1	-	1	
B27	2	-	-	
C3	4	-	2	
C6	23	21	14	โคโลนีสีขาวขุ่น
C9	43	-	-	
C11	43	-	-	
C16	34	-	-	
C17	27	-	-	
C19	10	-	-	



รูปที่ 3.1 ลักษณะโคโลนีที่ตรวจพบรอบปากขวดบรรจุสุรายีห้อ C6



รูปที่ 3.2 ขนาดโคโลนีที่วัดด้วยกล้อง SEM (Scanning Electron Microscope)
(a) โคโลนีสีขาว (b) โคโลนีสีเหลือง (c) โคโลนีสีส้ม

ตารางที่ 3.6 ผลการทดสอบทางชีวเคมีพบเชื้อในกลุ่ม Streptococci

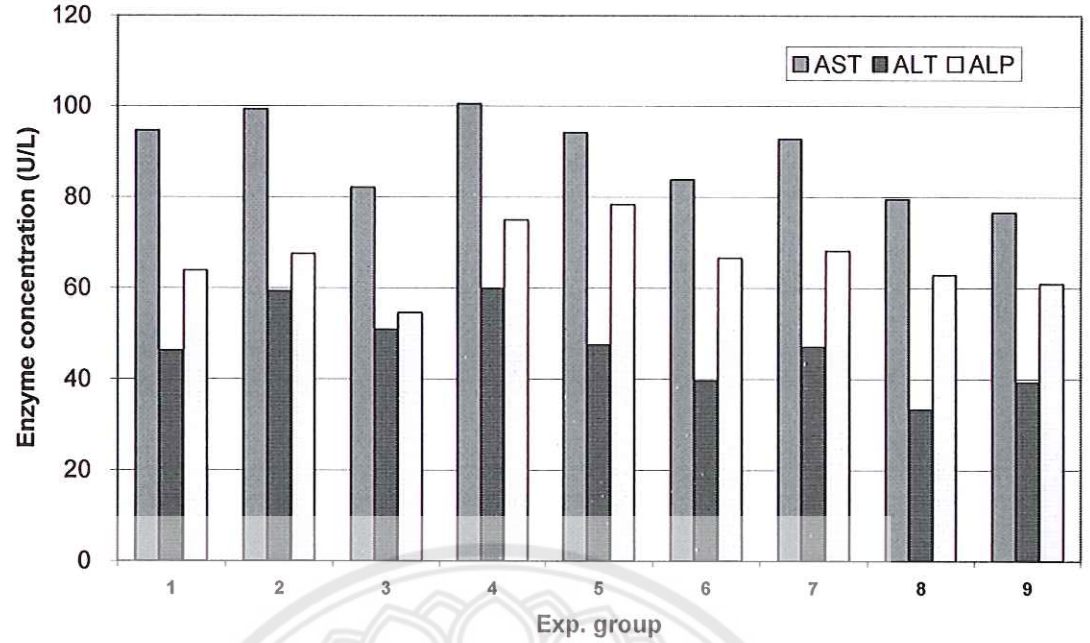
Test	Enterococcus				Non – Enterococcus	
	E.faecalis	E.faecium	E. durans	E.gallinarum	S.bovis 1	S.bovis 2
Bile-esculin	+	+	+	+	+	+
6.5% NaCl	+	+	+	+	-	-
Haemolysis	γ(β)	γ (∝)	γ (∝,β)	γ (∝,β)	γ (∝)	γ (∝)
Arabinose	-	+	-	+	-	-
Mannitol	+	+	-		+	-
Sorbitol	+	-(+)	-	-	-	-
Motility	-	-		+		

การทดสอบหาเชื้อจุลินทรีย์ (bacteria, yeasts, molds) ที่มีการปนเปื้อนบริเวณปากขวดบรรจุภัณฑ์สุราที่ได้รับการสุ่มทั้งหมด พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ส่วนใหญ่จากสุรากลุ่ม 3 ผลิตภัณฑ์ชุมชน วิธีที่ใช้ในการตรวจสอบคือ การย้อมสีแกรม การทดสอบทางชีวเคมี และการถ่ายภาพด้วยกล้อง SEM (Scanning Electron Microscope) สามารถจำแนกเชื้อที่พบได้ 4 ชนิดคือ *Staphylococcus coagulase negative*, *Micrococcus spp.*, *Streptococcus nonenterococci* และ *Candida spp.*

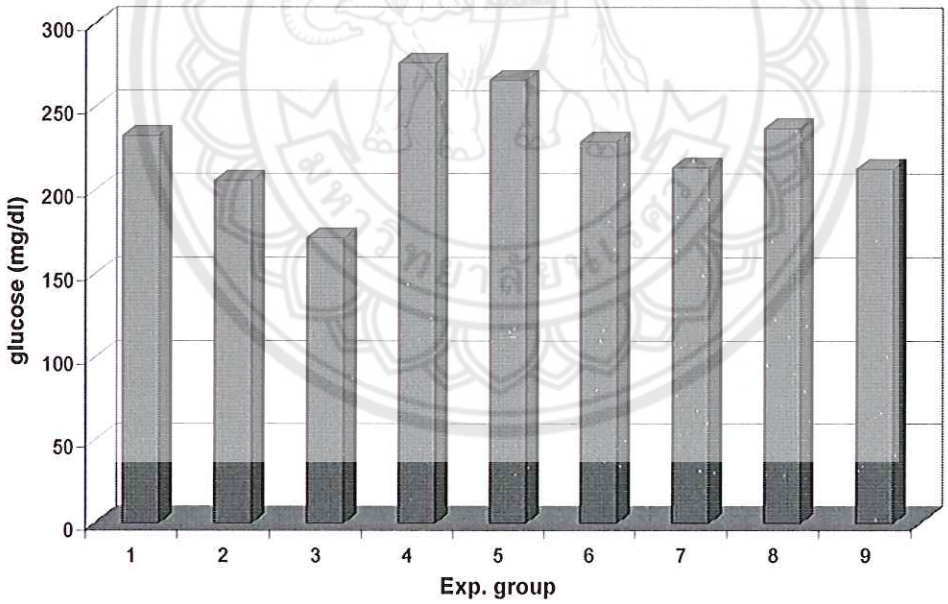
3.4 ผลการทดสอบทางชีวภาพในหนู Wistar Rat

ผลการทดสอบความเป็นพิษแบบกึ่งเรื้อรัง หลังจากป้อนสุราร่วมกับสารพิษในหนูทดลองเป็นระยะเวลานาน 3 เดือน

3.4.1 ผลกระทบต่อปริมาณสารต่างๆ จากการตรวจเลือดทางด้านเคมีคลินิก พบความแตกต่างในแต่ละกลุ่มการทดลองของปริมาณเอนไซม์ในตับ ได้แก่ ALP, ALT, AST อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (รูปที่ 3.3) นอกจากนี้ยังพบความแตกต่างของปริมาณกลูโคส (รูปที่ 3.4) อย่างมีนัยสำคัญด้วย แต่ไม่พบความแตกต่างของปริมาณ Triglyceride, Cholesterol, BUN, T.Bili, Globulin, Albumin, Uric acid และ Total protein

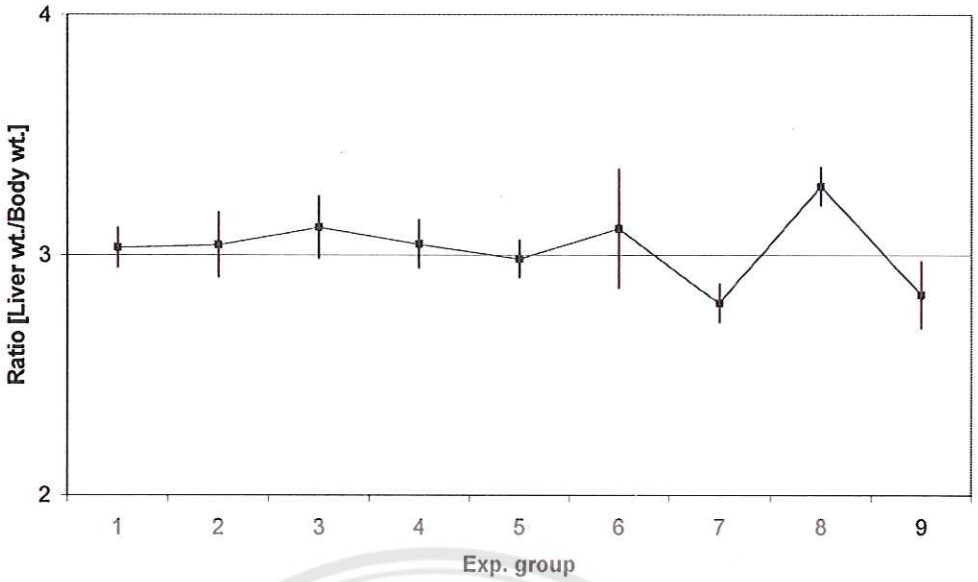


รูปที่ 3.3 ระดับเอนไซม์ในตับ



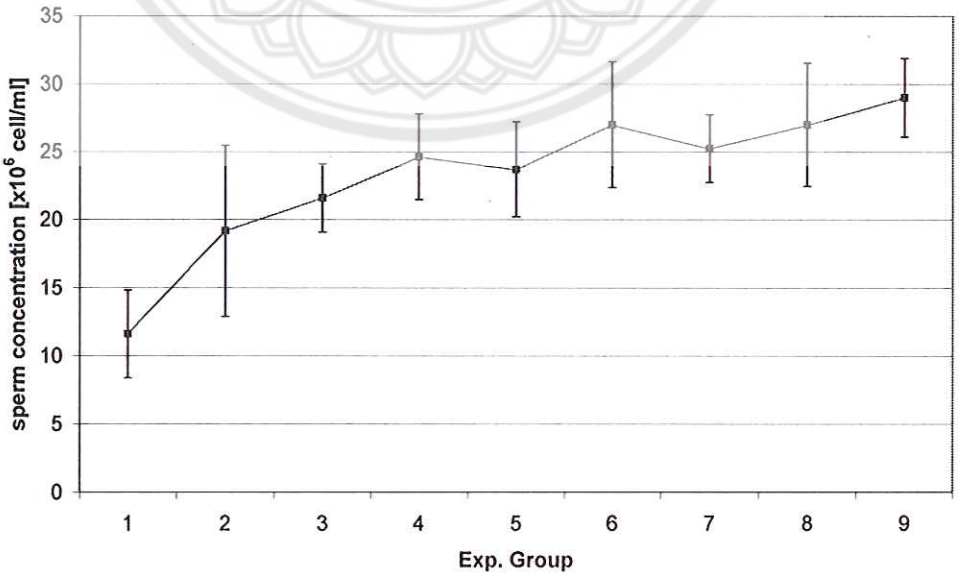
รูปที่ 3.4 ระดับกลูโคสในเลือด

3.4.2 ผลกระทบต่อสัดส่วนน้ำหนักตับต่อน้ำหนักตัว พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากรูปที่ 3.5 จะเห็นว่า การได้รับแอลกอฮอล์อย่างเดียวทุกวัน จะมีผลทำให้ขนาดตับใหญ่ขึ้น



รูปที่ 3.5 สัดส่วนน้ำหนักตับต่อน้ำหนักตัว

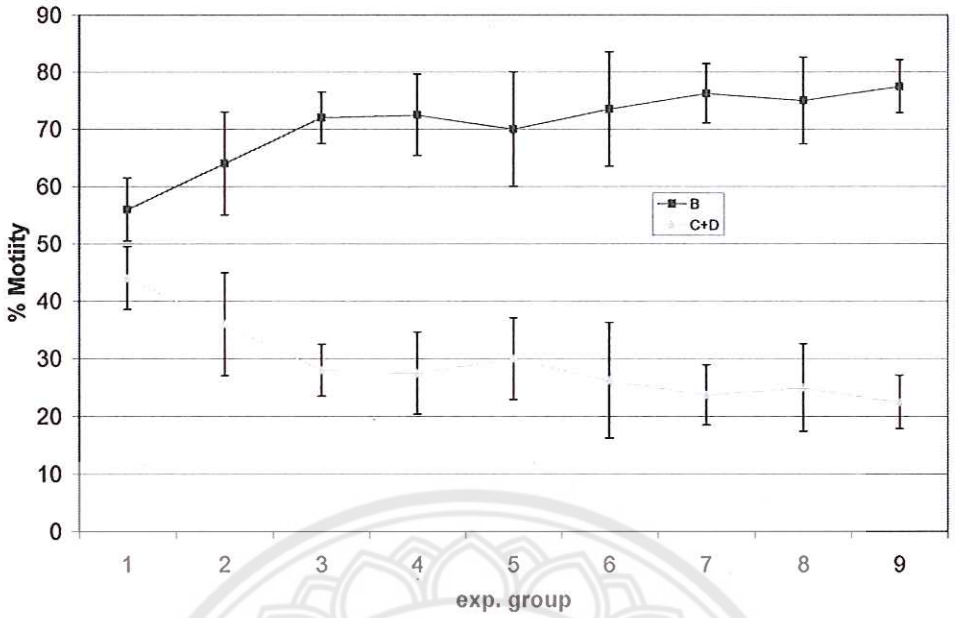
3.4.3 ผลกระทบต่อเซลล์สืบพันธุ์หนู ที่ได้รับแอลกอฮอล์ร่วมกับสารพิษ และสุราจริง ทุกวันจะมีจำนวนเซลล์สืบพันธุ์ที่เจริญเต็มที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (รูปที่ 3.6) และคุณภาพของเซลล์สืบพันธุ์ ที่สังเกตจากการเคลื่อนไหวของหัวและหรือหางของตัวเซลล์สืบพันธุ์ ถ้าเคลื่อนไหวทั้งหัวและหางแสดงว่ามีความสมบูรณ์ แต่ถ้าเคลื่อนไหวอย่างใดอย่างหนึ่งจะเป็นส่วนหัวหรือหางมีปริมาณเพิ่มขึ้นแสดงว่าเซลล์สืบพันธุ์มีคุณภาพลดลง และมีความแตกต่างกันในกลุ่มการทดลองอย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน (รูปที่ 3.7)



รูปที่ 3.6 ความเข้มข้นของเซล์สืบพันธุ์

15593499

สำนักหอสมุด
15 ส.ค. 2554
QA
1242
.A2
ก731ร
2551



รูปที่ 3.7 การเคลื่อนที่ของเซลล์สืบพันธุ์

B = เซลล์สืบพันธุ์มีการเคลื่อนไหวทั้งหัวและหาง

C+D = หัวหรือหางเซลล์สืบพันธุ์มีการเคลื่อนไหว

4. วิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การตรวจวิเคราะห์สารพิษปนเปื้อนในสุรา

จากการวิเคราะห์ของบริษัทห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด ซึ่งถือได้ว่าเป็น reference lab พบว่า Aldehyde ในรูปของ acetaldehyde ของตัวอย่างสุราส่วนใหญ่ที่นำมาตรวจสอบ พบว่ามีค่าสูงเกินมาตรฐานอุตสาหกรรมสุรากลั่น (มอก. 2088-2544) ซึ่งระบุไว้ไม่เกิน 160 mg/l ขณะเดียวกันได้ส่งตัวอย่างเดียวกันไปวิเคราะห์ใหม่ ที่ศูนย์วิจัยการหมักเพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร ม.ขอนแก่น ซึ่งที่นี่ได้รับอนุญาตจากกรมสรรพสามิตให้เป็นผู้ตรวจสอบมาตรฐานสุรากลั่นชุมชน ผลปรากฏว่าตัวอย่างสุราทุกชนิดกลับมีค่าต่ำกว่ามาตรฐานทุกยี่ห้อ จากความแตกต่างของค่าที่วิเคราะห์ได้จากทั้ง 2 แห่งนี้มีค่าสูงมาก ดังนั้นจึงให้ทั้ง 2 ห้องปฏิบัติการ วิเคราะห์ใหม่อีกครั้งเพื่อยืนยันผล ปรากฏว่าได้ผลเหมือนเดิม เนื่องจาก acetaldehyde เป็นสารระเหยง่าย จึงเป็นไปได้ว่าวิธีการเตรียมตัวอย่างก่อนส่งเข้าเครื่องวิเคราะห์ และวิธีการวิเคราะห์ จะต่างกันทำให้ค่าที่วิเคราะห์ออกมาเป็นไปในทางเดียวกันทั้งชุด

ตารางที่ 4.1 จากการรวบรวมข้อมูล ปริมาณ Acetaldehyde ที่ตรวจพบในสุรากลั่น หน่วย mg/L

References	Country	Number (n)	Mean	Range	Method
Lachenmeier and Sohnius (2008)	Germany	834	61 ± 101	0 -1159	GC
Linderborg et al. (2008)	Finland	25	78 ± 38	20 - 173	GC
Geroyiannaki et al. (2007)	Greece	28	325 ± 8	196 - 536	GC-FID
Miranda et al. (2007)	Brazil	94	80 ± 52	0 - 328	GC
Coton and Coton (2003)	France		400	150 -1000	GC
Ronaldo et al. (1997)	Brazil	56	44.8 ± 16	0 - 80	HPLC
Miyake and Shibamoto (1993)	Japan			25-102	GC
This work (2008)	Thailand	30	234 ± 155	0 - 690	GC-FID

จากข้อมูลที่ต่างกันดังกล่าว ทำให้ผู้วิจัยได้ติดต่อกับกรมวิทยาศาสตร์บริการ เพื่อทำการวิเคราะห์ตรวจสอบความถูกต้อง แต่ทางสถาบันแจ้งว่ายังไม่เคยวิเคราะห์สารตัวนี้มาก่อน จำเป็นต้องศึกษาและใช้เวลานานพอสมควรประมาณ 3 เดือน ต่อมาได้ปรึกษากับทาง สวทช. ซึ่งที่นี่รับวิเคราะห์สารระเหยง่าย acetaldehyde และ formaldehyde ที่มีอยู่ในอากาศ แต่สามารถปรับให้มาวิเคราะห์ในของเหลวได้ ทางผู้วิจัยของ สวทช. จึงสนใจจะทำวิจัยเชิงคุณภาพให้ โดยเสนอที่จะวิเคราะห์ด้วย HPLC เพราะจะให้ความไว (sensitivity) และความเสถียรในการวิเคราะห์มากกว่า GC สามารถวิเคราะห์ได้ค่า LOD ต่ำว่า 1 mg/l

เพราะการวิเคราะห์สารระเหยง่ายที่ทำให้อยู่ในสภาวะของเหลวก่อน จะเสถียรกว่าการวิเคราะห์ในสภาวะก๊าซ รวมทั้งการเตรียมตัวอย่างที่จำเป็น ต้องเติมสารเคมีบางชนิดในปริมาณที่เหมาะสม เพื่อทำให้สารระเหยง่ายที่ต้องการวิเคราะห์มีความเสถียรก่อนการวิเคราะห์ ก็เป็นสิ่งจำเป็น ซึ่งจากการสอบถามทางศูนย์วิจัยการหมักของ มข. ยังไม่ได้ระวังในจุดนี้ แต่ทางศูนย์ฯ กำลังตรวจสอบคุณภาพการวิเคราะห์อย่างเร่งด่วนเช่นกัน

จากการสืบค้นข้อมูล พบว่ามีการตรวจสอบปริมาณ acetaldehyde ในสุราหลายชนิดทั้งในยุโรปและบราซิล พบว่าสุราของแต่ละประเทศมีความแตกต่างกันของปริมาณ acetaldehyde ค่อนข้างมาก (ตารางที่ 4.1) ในอดีตขั้นตอนการวิเคราะห์ และการรายงานผลยังไม่ครอบคลุมนัก จนกระทั่งปัจจุบัน Lachenmeier and Sohnius (2008) ได้ทำการสำรวจเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ตั้งแต่ปี 2000-2008 ที่วางจำหน่ายในร้านค้าของประเทศสาธารณรัฐเยอรมันนี มีทั้งผลิตภัณฑ์ที่ผลิตในประเทศและสุรานำเข้าจากทางเอเชียและอเมริกาใต้หลายยี่ห้อถูกรวบรวมได้มากกว่า 1500 ชนิด เพื่อศึกษาวิเคราะห์ปริมาณ acetaldehyde เนื่องจากความเป็นพิษของ acetaldehyde มีผลไปทำลายสารพันธุกรรม DNA ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์และเป็นสารก่อมะเร็งสำหรับผู้ดื่ม ซึ่งไม่พบความแตกต่างของปริมาณ acetaldehyde ในสุราแช่และสุรากลั่น หากคำนวณปริมาณ acetaldehyde ต่อปริมาณเอทานอลบริสุทธิ์

Miyake and Shibamoto (1993) พบปริมาณ acetaldehyde ในเบียร์อยู่ในช่วง 5-12 mg/l ไวน์ 33-66 mg/l และวิสกี้ 25-102 mg/l ส่วน Lachenmeier และ Sohnius (2008) ตรวจพบสุรากลั่นที่มาจากเอเชียมีปริมาณ acetaldehyde สูงมาก เช่น ที่มาจากประเทศจีนตรวจพบ 620 mg/l เหตุที่สูงอธิบายได้เนื่องจากยีสต์ที่ใช้ทำให้เกิดการสะสมของ acetaldehyde ในระหว่างการหมัก และการกลั่นน้ำแรกที่ไม่สามารถแยก acetaldehyde ที่มีปริมาณสูงออกไป ส่วนสุรากลั่นจากประเทศบราซิล ที่ผลิตจากกากน้ำตาลพบ acetaldehyde ปริมาณ 52 - 328 mg/l (Miranda et al., 2007) มาตรฐานควบคุมของบราซิลต่ำกว่าของไทยคือ 120 mg/l

Acetaldehyde จะถูกผลิตขึ้นจากเซลล์ยีสต์ในการหมักเอทานอล และแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในขณะหมัก เช่น acetic acid bacteria นอกจากนี้ยังเกิดจากปฏิกิริยาการออกซิไดซ์เอทานอล และสารประกอบฟีโนลิกที่ผสมอยู่ ส่วนสภาวะที่มีผลต่อการเกิด acetaldehyde คือ อุณหภูมิ ระดับของออกซิเจน และอาหารที่ใช้เลี้ยงยีสต์ รวมทั้งกระบวนการผลิตที่ไม่ถูกสุขอนามัย อาจทำให้เกิดการปนเปื้อนของสารนี้ได้ (Lachemeier, 2007) เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่ผลิตจากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* จะเกิด Acetadehdye 0.5-286 mg/l สูงกว่าใช้ยีสต์ *Kloeckera apiculata* (9.5-66 mg/l) (Liu and Pilone, 1993)

เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่ขึ้นชื่อของฝรั่งเศส คือสุราแช่ Cider ผลิตจากผลแอปเปิ้ลใช้สำหรับการผลิตสุรากลั่น Cavados ตรวจพบปริมาณ Acetaldehyde ตั้งแต่ระดับปานกลาง 150-400 mg/l จนสูงถึง 1000 mg/l (Coton and Coton, 2003) ขณะที่มาตรฐานควบคุมของฝรั่งเศสไม่เกิน 120 mg/l การที่ Cavados มีปริมาณ acetaldehyde สูงจะก่อให้เกิดมะเร็งกับผู้บริโภค (Linderborg et al., 2008)

มีผู้ให้ข้อสังเกตุว่าในระหว่างกระบวนการผลิต Cavados อาจทำให้มีระดับ acetaldehyde สูงกว่าปกติดังที่มีรายงานไว้อาจเนื่องมาจาก

ประการแรก เชื้อที่ใช้ในการหมัก Cider หรือไวน์แอปเปิ้ล คือ *Zymomonas mobilis* ทำให้เกิดการสะสม acetaldehyde สูง (200 mg/l)

ประการที่สอง ระบบการกลั่นที่ทำให้เกิดการสะสมของ acetaldehyde สูง (Claus and Berglund, 2005) การกลั่นซ้ำ (double distillation system) จะทำให้มีระดับของ acetaldehyde สูงกว่ากลั่นแบบต่อเนื่อง (rectification still system)

ประการที่สาม การใช้หม้อทองแดงในการกลั่นทำให้ตรวจวัดระดับ acetaldehyde ได้สูงเนื่องจาก acetaldehyde จะฟอร์มอยู่ที่ผิวของทองแดง (Rodríguez Madrera et al., 2006)

ประการที่สี่ ชนิดของไม้ที่ใช้ในการบ่มสุราบางชนิดทำให้มี acetaldehyde เพิ่มขึ้น (ไม้โอ๊คสายพันธุ์ฝรั่งเศส) บางชนิดทำให้มี acetaldehyde ลดลง (ไม้โอ๊คสายพันธุ์อเมริกา)

รัฐบาลฝรั่งเศสจึงมีข้อกำหนดให้การกลั่นน้ำแรก (the first fraction) ที่มี alcohol, acetaldehyde และ ester สูงถูกแยกออกไปจากผลิตภัณฑ์ก่อน ซึ่งจะทำให้มีปริมาณ acetaldehyde สูงสุดไม่เกิน 100 และ 200 mg/l (République Francaise, 2000)

4.2 การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์รอบปากขวดสุรา

จากการทดสอบย้อมสีแกรมแบคทีเรีย การวัดขนาดโคโลนีด้วยกล้อง SEM และการทดสอบทางชีวเคมีสามารถจำแนกชนิดของแบคทีเรียได้ 4 ชนิดคือ *Staphylococcus coagulase negative*, *Micrococcus spp.*, *Streptococcus nonenterococci* และ *Candida spp.* ซึ่งไม่เป็นเชื้อที่มีอันตรายต่อระบบทางเดินอาหาร

4.3 การทดสอบความเป็นพิษของสุราในหนูทดลอง

ผลกระทบต่อสุขภาพแบบกึ่งเรื้อรัง (sub-chronic) จากการได้รับแอลกอฮอล์ร่วมกับสารพิษปนเปื้อน และตัวอย่างสุราจริง ในหนูทดลอง ระยะเวลานาน 3 เดือน ทำให้ระดับเอนไซม์ในตับ ได้แก่ ALT, AST และ ALP สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95% แสดงว่าตับถูกทำลาย น้ำหนักตับก็เพิ่มขึ้นเช่นกันสัมพันธ์กับการสร้างไขมันสะสมอยู่ในตับเมื่อถูกทำลายด้วยแอลกอฮอล์ ปริมาณกลูโคสในเลือดเพิ่มขึ้นมีแนวโน้มของการเป็นเบาหวาน นอกจากนี้ยังพบว่าจำนวนเซลล์สืบพันธุ์ (sperm) ลดลงอย่างเห็นได้ชัดเมื่อบริโภคแอลกอฮอล์ และความสามารถในการเคลื่อนไหวของเซลล์สืบพันธุ์ก็ลดลงเช่นกัน อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

5. สรุปผลการทดลอง

จำนวนเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่ถูกสุ่ม 30 ตัวอย่าง ตรวจพบปริมาณ acetaldehyde เฉลี่ย 234 ± 155 mg/l อยู่ในช่วง 0 - 690 mg/l มีค่าเกินมาตรฐานควบคุม และพบสูงสุดในสุรายี่ห้อ A29 690 mg/l รองลงไปพบในสุรานำเข้าคือ A19 (309 mg/l) สารพิษปนเปื้อนอื่นๆ มีค่าอยู่ต่ำกว่ามาตรฐานควบคุม ได้แก่ methanol เฉลี่ย 40 ± 28 mg/l (0-108 mg/l) สูงสุดพบในสุรากลั่น A13 (108 mg/l) พบสารโลหะหนัก Arsenic ปริมาณสูงสุด 0.0084 mg/l ในเบียร์ช้าง และ lead ปริมาณ 0.11 mg/l ในสุราชุมชนยี่ห้อไทยแท้ แต่ไม่พบ formaldehyde, Cadmium และสารปราบศัตรูพืชทั้ง 4 กลุ่ม

จากการตรวจทางจุลชีววิทยารอบปากขวดสุรา พบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในสุราชุมชนเป็นส่วนใหญ่ หลังจากการจำแนกเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวด้วยการทดสอบสีแกรม การวัดขนาดโคโลนี และการทดสอบทางชีวเคมี สามารถจำแนกแบคทีเรียออกเป็น 4 ชนิด คือ *Staphylococcus coagulase negative*, *Micrococcus spp.*, *Streptococcus nonenterococci* และ *Candida spp.* ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้ไม่เป็นอันตรายต่อระบบทางเดินอาหาร

ผลกระทบต่อสุขภาพแบบกึ่งเรื้อรัง (sub-chronic) จากการได้รับแอลกอฮอล์ร่วมกับสารพิษปนเปื้อน และตัวอย่างสุราจริง ในหนู Wistar ระยะเวลานาน 3 เดือน ทำให้ระดับเอนไซม์ในตับ ได้แก่ ALT, AST และ ALP สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95% แสดงว่าตับถูกทำลาย น้ำหนักตับก็เพิ่มขึ้น สัมพันธ์กับการสร้างไขมันสะสมอยู่ในตับเมื่อถูกทำลายด้วยแอลกอฮอล์ ปริมาณกลูโคสในเลือดเพิ่มขึ้นมีแนวโน้มของการเป็นเบาหวาน นอกจากนี้ยังพบว่าจำนวนเซลล์สืบพันธุ์ (sperm) ลดลงอย่างเห็นได้ชัดเมื่อบริโภคแอลกอฮอล์ และความสามารถในการเคลื่อนไหวของเซลล์สืบพันธุ์ลดลงเช่นกัน อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

6. เอกสารอ้างอิง

กรมสุขภาพจิต. (2547) รายงานประจำปีกรมสุขภาพจิต. กรุงเทพฯ. ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย.

ชาญณรงค์ ชมนาวัง. (2543) ผลของวัตถุดิบ วัสดุที่ใช้ทำหม้อกลั่น และการบ่มแบบเร่ง ที่มีต่อคุณภาพของฟรุทบรั่นดีที่ ผลิตจากมะขาม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ปริทรรศ ศิลปกิจ และคณะ. (2542) รายงานการวิจัยความชุกและภาวะสุขภาพจิตของคนไทยที่ติดสุรา. เชียงใหม่. โรงพยาบาลสวนปรุง.

พันธุ์นภา กิตติรัตน์ไพบูลย์. (2547) การดื่มอย่างฉลาด รายงานการนำเสนอผลงานในการประชุมวิชาการแห่งชาติครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ. สยามมาเกตติ้ง.

ไพรัตน์ พฤกษชาติคุณากร. (2542) ตำราจิตเวชศาสตร์. (พิมพ์ครั้งที่ 1). เชียงใหม่. โรงพิมพ์แสงศิลป์.

ยุพา ศรีนาค. (2531) การตรวจหาปริมาณสารที่อาจเป็นอันตรายในสุราเถื่อนและสุราทั่วไป. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สาวิตรี อัษณางค์กรชัย และสุวรรณา อรุณพงศ์ไพศาล. (2543). รายงานการทบทวนองค์ความรู้เรื่องมาตรการในการป้องกันและแก้ไขปัญหาจากแอลกอฮอล์. สถาบันวิจัยระบบสาธารณสุข. (มปพ).

สุวนีย์ เกี่ยวกิ่งแก้ว. (2544) แนวคิดพื้นฐานทางการพยาบาลจิตเวช (พิมพ์ครั้ง 3). พิษณุโลก มหาวิทยาลัยนเรศวร.

ศูนย์บำบัดรักษายาเสพติดขอนแก่น กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. (2546) แนวทางการดูแลผู้ป่วยที่ติดสุรา. กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข.

Amerine, M.A., Berg, H.W., Kunkee, R.E., Ough, C.S. and Singletons , A.D. (1980) Technology of wine making. The AVI Publishing Company, Inc., U.S.A.

Apostolopoulou, A.A., Flouros, I.A., Demertzis, G.P. and Akrida-Demertzi, K. (2005) Differences in concentration of principal volatile constitutents in traditional Greek distillates. Food Control. 16, 157-164.

Barbara Jaruge, Feng Hong, Won-Ho Kim, rui Sun, Saijun Fan, Bin Gao, (2004) Chronic alcohol consumption accelerates liver injury in t cell mediated hepatitis: alcohol dysregulation of hepatic NF-xB and STAT signaling pathways. J Physiol Gastrointest Liver Physiol (in press).

Bettin, S. M., Cervoni, J. L., Lima Neto, B. S. and Franco, D. W. (2002) Determination of polycyclic aromatic hydrocarbon in sugar cane spirit by HPLC. II Brazilian Meeting on the chemistry of food and beverage. Araraquara-SP, 1-3.

Claus, M.J. and Berglund, K.A. (2005) Fruit brandy production by batch column distillation with reflux. J. Food Process Eng. 28, 53-67.

Coton, E. and Coton, M. (2003) Microbiological origin of "framboisé" in French ciders. J. Inst. Brew. 109, 299-304.

Daugulis, A.J., Brown, N.M., Cluett, W.R. and Dunlop, D.B. (1981) Production of ethanol by adsorbed yeast cells. Biotechnol. Lett. 3, 651-656.

Duk-Hee Lee, Myung-Hwa Ha and David C Christiani. (2001) Body weight, alcohol consumption and liver enzyme activity—a 4-year follow-up study. Epidemiology.

Enomoto, N., Yamashina, S., and Kono, H. (1999) Development of a new, simple model of early alcohol-induced liver injury based on sensitization of Kupffer cells. Hepatology 29(6):1680-1689.

Fazakas Z, Lengyel Z and Nagymajtenyi L. (2005) Combined effects of subchronic exposure to lead,mercury and alcohol on the spontaneous and evoked cortical activity in rats. Arh Hig RadaToksikol. Sep; 56(3):249-56

Gupta, V., Gill, K.D., (2000) Influence of ethanol on lead distribution and biochemical changes in rats Exposed to lead. Alcohol. 20, 9-17

Harkness, J.E., Wagner, J.E., (1989)The Biology and Medicine of Rabbits and Rodents, third ed. Lea & Febiger, Philadelphia.

Hernandez-Gomez, L. F. and Briones, J. U. B. A. (2003) Melon fruit distillates: comparison of different distillation methods. Food Chemistry. 82, 539–543.

Hough, J.S., (1985) The Biotechnology of Malting and Brewing Cambridge University Press, Cambridge. 70-71.

IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. (1984) Allyl Compounds, Aldehydes, Epoxides and Peroxides, International Agency for Research on Cancer:Lyon. 36, 101-132.

Javier Franco-Perez, Monica Padilla, and Carios Paz. (2006) Sleep and brain monoamine change produced by acute and chronic acetaldehyde administration in rats. 174, 86-92.

Johnson, B.S. (1995) Child, Adolescent, and Family Psychiatric Nursing. Philadelphia. J.B.Lippincott.

Lachenmeier, D.W. (2007) Consequences of IARC re-evaluation of alcoholic beverage consumption and ethyl carbamate on food control. Deut. Lebensm. Rundsch. 103, 307-311.

Linderborg, K., Joly, J.P., Visapää, J.P. and Salaspuro, M. (2008) Potential mechanism for Calvados-related oesophageal cancer. Food Chem. Toxicol. 45, 476-479.

Liu, S.Q. and Pilone, G.J. (2000) An overview of formation and roles of acetaldehyde in winemaking with emphasis on microbiological implications. Int. J. Food Sci. Technol. 35, 49-61.

Kano, M., F. Ishikawa, S. Matsubara, H. Kikuchi-Hayakawa and Y. Shimakawa, (2002) Soymilk Products Affect Ethanol Absorption and Metabolism in Rats during Acute and Chronic Ethanol Intake, Yakult Central Institute for Microbiological Research, Yaho 1796, Kunitachi, Tokyo 186-8650, Japan, J. Nutr. 132:238-244.

Kato, H., and Tsuchida, H. (1981). Estimation of Melanoidin Structure by Pyrolysis and Oxidation. Prog. Food Nutr. Sci., 5, 147-156.

Kida, K., Morimura, S. and Zhong, Y.L. (1997) Production of ethanol from molasses by flocculating yeast for use as an alternative energy source. Seibutus-kogaku. Kais. 75(1), 15-34.

Kolovou, G.D., Milkhailidis, D.P., Adamopoulou, E.N., Salpea, K.D., Kafaltis, N., Bilianou, N., Malakos, J., Pilatis, N.D., Mykoniatis, M., Cokkinos, D.V. (2005) The effect of nicotinic acid and alcohol co-administration in Wistar rats 27(1): 17

Lobo, C.P, Jauaribe, F.E., Rodrigues, J. D Rocha da, A.A.F. (2007) Economics of alternative sugar cane milling options. Applied Thermal Engineering. 27, 1405-1413.

Michael D, Hammond B,Sc. (1975) The Use of an Internal Standard in the Determination of Ethanol in Blood, Brain and Vapour. Addiction 70 (2), 162–164.

Naegle, M.A., and D'Avanzo, C.E. (2001) Addiction and substance abuse: Strategies for advanced practice nursing. New Jersey: Prentice Hall.

Nikander, P., Seppaelae, T., Kilonzo, P.G., Huttunen, P., Saarinen, L., Kilima, E. and Pitkaenen, T. (1991) Ingredients and contaminants of traditional alcoholic beverages in Tanzania. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. Volume 85, Issue 1, 133-135 pp.

Nikolaos Kopsahelis, Nikolaos Agouridis, Argyro Bekatorou and Maria Kanellaki. (2006) Comparative study of spent grains and delignified spent grains as yeast supports for alcohol production from molasses. Bioresource Technology. 98, 1440-1447.

Nikolaos Kopsahelis, Maria Kanellaki and Argyro Bekatorou. (2007) Low temperature brewing using cells immobilized on brewer's spent grains. Food Chemistry. (in press)

Olfert, E.D.,Cross, B.M., Mcwilliam, A.A. (Eds.), (1993) Guide to the Care and Use of Experimental Animals, vol. 1, second ed. Canadian Council on Animal Care, Ontario, 211pp

Pecze La 'szlo', Papp Andra' s, Institoris La 'szlo', Szabo' Andrea and Nagymajte' nyi La 'szlo'. (2005) Acute and subchronic effects of lead on the central and peripheral nervous systems in rats in combination with alcohol. Ecotoxicology and Environmental Safety. 61, 139-144.

Qiu D., Kurosawa M., Lin Y., Inaba Y., Matsuba T., Kikuchi S., Yagyu K., Motohashi Y., and Tamakoshi A. JACC Study Group. (2005) Overview of the epidemiology of pancreatic cancer focusing on the JACC Study. Alcohol. 35, 187-193.

Rehm J, Room R, Monteiro M, Gmel G, Graham K, Rehn T, Sempos CT, Frick U, Jernigan D. Alcohol. (2004) In: WHO (ed),Comparative quantification of health risks: Global and regional burden of disease due to selected major risk factors. Geneva:WHO.

République Française (2000) Décret du 2 juin 2000 relatif á l'appellation d'origine contrôlée "Pays d'Auge'. J. Off. République Française 4 juin, 8425-8428.

Rodríguez Madrera, R., Suárez Valles, B., García Hevia, A., García Fernandez, O., Fernández Tascôn, N.,and Mangas Alonso, J.J. (2006) Production and composition of cider spirits distilled in "Alquitara". J. Agri Food Chem. 54, 9992-9997.

Silva, M. L. and Malcata, F. X. (1998). Relationships between storage conditions of spirits obtained here form. American Journal of Enology and Viticulture. 49, 56-64.

Sullivan, E.J. (1995) Nursing care of clients with substance abuse. St. Louis. Mosby.

Sydney Youngerman-Cole, RN, BSN, RNC. (2006) Alanine Aminotransferase (ALT). Gastroenterology.

Zoecklein, B.W., Fugelsang, K.c., Gump, B.H. and Nury, F.S. (1995). Wine Analysis and Production. Chapman and Hall, New York.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก ตารางค่าความนิยมของการบริโภคสุราแต่ละยี่ห้อ

ตารางที่ 1 แสดงค่าความนิยมการบริโภคสุรากลุ่มที่ 1 ในพื้นที่ตัวเมืองจังหวัดพิษณุโลก

ลำดับ	รายชื่อสุรา	ค่าความนิยม	ลำดับ	รายชื่อสุรา	ค่าความนิยม
1	Red lable	26	18	Blue egle	15
2	Ben more	35	19	Black lable	20
3	เชี่ยงซุน	14	20	ลีโอ	22
4	Blend 285	43	21	เบียร์เชียร์	14
5	swing	14	22	ไฮเนเก้น	20
6	Troopers	14	23	Dewar's	9
7	ไทเบียร์	12	24	John master	13
8	Ballantine's	6	25	มังกรทอง	18
9	Regency	24	26	100 Piper	61
10	William lawson's	15	27	Jack daniel's	7
11	หงส์ทอง	27	28	Golden knight	14
12	สุราโรงงาน 40 ดีกรี	20	29	แม่โขง	18
13	Spay royal	18	30	Chevas legal	17
14	แสงโสม	24	31	Cooper	8
15	สิงห์	20	32	Red suntory	11
16	Master blend	20	33	อาซา	19
17	ช้าง	20	34	Clown 99	19

หมายเหตุ ค่าความนิยมคำนวณจากแบบสอบถาม และการสัมภาษณ์ร้านค้าจำนวน 25 ร้าน ในพื้นที่ตัวเมืองจังหวัดพิษณุโลก (ธันวาคม 2550) โดยแต่ละร้านจะถูกจัดลำดับความนิยมสุราที่มีการจำหน่ายมากที่สุด 3 อันดับแรก เรียงจากมากไปน้อย เพื่อให้คะแนน

อันดับ 1 ให้ 4 คะแนน

อันดับ 2 ให้ 3 คะแนน

อันดับ 3 ให้ 2 คะแนน

และสุราที่มีจำหน่ายแต่ไม่ถูกเลือกให้ 1 คะแนน

ตารางที่ 2 แสดงค่าสะสมความนิยมการบริโภคสุรากลุ่มที่ 2 บริเวณสถานประกอบการใกล้กับสถานศึกษา

ลำดับ	รายชื่อสุรา	ค่าความนิยม	ลำดับ	รายชื่อสุรา	ค่าความนิยม
1	แม่โขง	279	18	Blue egle	263
2	Blend 285	328	19	หงส์ทอง	304
3	ช้าง	401	20	Jack daniel's	264
4	Cooper	277	21	Regency	275
5	มังกรทอง	283	22	ลีโอ	434
6	ไฮเนเก้น	294	23	Master blend	276
7	Blend 285	268	24	Chevas legal	267
8	แสงโสม	344	25	John master	269
9	Golden knight	268	26	สุราโรงงาน 40 ดีกรี	307
10	William lawson's	257	27	สาโท	267
11	เซี่ยงซุน	255	28	Spay royal	290
12	100 Piper	490	29	Clown 99	264
13	สิงห์	321	30	Black lable	311
14	swing	265	31	เบียร์เชียร์	275
15	Ben more	380	32	อาซา	293
16	Dewar's	255	33	Ballantine's	259
17	Troopers	255	34	Red lable	299

หมายเหตุ ค่าความนิยมคำนวณจากแบบสอบถาม และการสัมภาษณ์นิสิตในมหาวิทยาลัยนเรศวร จำนวน 255 คน (ธันวาคม 2550) โดยการให้คะแนนจากการเรียงอันดับสุราที่นิสิตดื่มเป็นประจำ 3 อันดับแรกเรียงจากมากไปน้อย เพื่อให้คะแนน

อันดับ 1 ให้ 4 คะแนน

อันดับ 2 ให้ 3 คะแนน

อันดับ 3 ให้ 2 คะแนน

และสุราที่มีจำหน่ายแต่ไม่ถูกเลือกให้ 1 คะแนน

ตารางที่ 3 แสดงค่าสะสมความนิยมการบริโภคสุรากลุ่มที่ 3 สุราชุมชนในเขตอำเภอเมืองจังหวัดพิษณุโลกข้อมูลปี 2550 (สำนักงานสรรพสามิตจังหวัดพิษณุโลก, 2550)

ลำดับ	รายชื่อสุรา	ค่าความนิยม	ลำดับ	รายชื่อสุรา	ค่าความนิยม
1	จระเข้ 0.330 L	200	15	ไวน์จุฑารส 0.640 L (กระซายดำ)	150
2	เทวา 0.330 L	600	16	สามเฒ่า 0.625 L	2000
3	ไทยแท้ 0.625 L	200	17	ข้าวไทย 0.625 L	1000
4	Songkwae Wine 0.750 L	100	18	จระเข้ 0.625 L	200
5	โคไท 0.330 L	1100	19	กวางแรนเดียร์ 0.625 L	1200
6	แม่ยม 0.330 L	500	20	หนองพญายอ 0.330 L	100
7	ละเอียดไวน์ไทย 0.640 L (กระเจี๊ยบ)	200	21	ละเอียดไวน์ไทย 0.640 L (เถาวัลย์เปรียง)	200
8	ไวน์จุฑารส 0.640 L (กระแช่)	350	22	สุราขาว 40 ดีกรี 0.625 L	600
9	ใบโพธิ์เงิน 0.625 L	900	23	แสงทอง 0.625 L	500
10	แม่ยม 0.625 L	200	24	ท่าทอง 0.625 L	800
11	ไก่คู่ 0.625 L	200	25	ไวน์จุฑารส (สับปะรด) 0.750 L	300
12	ต้นโพธิ์ 0.625 L	200	26	กวางแรนเดียร์ 0.330 L	400
13	ไก่คู่ 0.625 L	1500	27	เทวา 0.625 L	1100
14	หนองพญายอ 0.625 L	100	28	ทุ่งทอง 0.625 L	500

หมายเหตุ ค่าความนิยมคำนวณจากจำนวนแสตมป์ที่ซื้อ จากสำนักงานสรรพสามิตพื้นที่พิษณุโลก ประจำเดือนธันวาคม 2550 รายงานยืนยันการชำระภาษี ณ สำนักงานสรรพสามิตพื้นที่พิษณุโลก สาขาเมืองพิษณุโลก

ภาคผนวก ข ข้อมูลพื้นฐานตัวอย่างสุราที่ถูกสุ่ม

ตัวอย่าง	ยี่ห้อ	ราคา (บาท)	ประเภทสุรา	วัตถุดิบ	ดีกรี
A1	Ben more	285	สุราสี	premium	40
A2	swing	1511	สุราพิเศษ	super premium	40
A3	William lawson's	349	สุราพิเศษ	premium	40
A4	Spay royal	279	สุราสี	premium	40
A5	Master blend	195	สุราพิเศษ	standard	40
A6	Black lable	1050	สุราพิเศษ	premium	40
A7	John master	169	สุราสี	premium	30
A8	100 Piper	249	สุราสี	premium	40
A9	แม่โขง	129	สุราปรุงพิเศษ	กากน้ำตาล	40
A10	Clown 99	189	สุราสี	premium	35
B1	ช้าง	38	เบียร์	ข้าว	6.4
B2	Blend 285	189	สุราสี	premium	35
B3	เซี่ยงซุน	88	สุราผสม	กากน้ำตาล	30
B4	สิงห์	46	เบียร์	ข้าว	5
B5	Troopers	229	สุราสี	กากน้ำตาล	35
B6	หงส์ทอง	158	สุราสี	กากน้ำตาล	40
B7	Chevas legal	849	สุราพิเศษ	premium	43
B8	สยามสาโท	26	สุราแช่	ข้าวเหนียว	8
B9	เบียร์เชียร์	33	เบียร์	ข้าว	5
B10	Red lable	619	สุราพิเศษ	standard	40
C1	ไทยแท้	60	สุราขาว	ข้าวเหนียว	40
C2	แม่ยม	65	สุราขาว	ข้าวเหนียว	40
C3	ใบโพธิ์เงิน	70	สุราขาว	ข้าวเหนียว	40
C4	ไก่คู่	60	สุราขาว	ข้าวเหนียว	40
C5	สามเฒ่า	65	สุราขาว	ข้าวเหนียว	40
C6	ข้าวไทย	60	สุราขาว	ข้าวเหนียว	40
C7	กวางแรนเดียร์	65	สุราขาว	ข้าวเหนียว	40
C8	หงส์ทอง	75	สุราขาว	กากน้ำตาล	40
C9	สุราขาว 40 ดีกรี	85	สุราขาว	กากน้ำตาล	40
C10	เทวา	60	สุราขาว	ข้าวเหนียว	40

ภาคผนวก ค แบบสอบถามและสัมภาษณ์ความนิยมของการบริโภคเครื่องดื่มแอลกอฮอล์

แบบสอบถาม"ความนิยมของการบริโภคเครื่องดื่มแอลกอฮอล์"

ชื่อร้าน.....

ที่อยู่.....

Black lable		แสงโสม	
Chevas legal		หงส์ทอง	
Red lable		มังกรทอง	
100 Piper		แม่โขง	
Regency		สุราโรงงาน 40 ดีกรี	
Ben more		สุราโรงงาน 30 ดีกรี	
Blue egle		สุราโรงงาน 28 ดีกรี	
Master blend		เชี่ยงชุน	
Blend 285		ไฮเนเก้น	
Clown 99		สิงห์	
Red suntory		ช้าง	
Spay royal		ลีโอ	
Swing		อาซา	
Dewar's		อาซาฮี	
William lawson's		เบียร์เชียร์	
Jack daniel's		ไทเบียร์	
Ballantine's		ไทเกอร์	
Golden knight		ไวน์ในประเทศ	
Troopers		สาโท	
Cooper		กระแช่	
John master		อุ	

ภาคผนวก ง แบบสอบถามและสัมภาษณ์ปริมาณการบริโภคเครื่องดื่มแอลกอฮอล์

แบบสอบถามปริมาณการบริโภคเครื่องดื่มแอลกอฮอล์

1. สถานภาพส่วนบุคคล

1.1 เพศ

☐ ชาย ☐ หญิง

1.2 อายุ

☐ ต่ำกว่า 18 ☐ 18-25

☐ 26-30 ☐ 31-35

☐ 36-40 ☐ อื่นๆ.....

1.3 อาชีพ

☐ นักเรียน/นักศึกษา ☐ ข้าราชการ/พนักงานรัฐวิสาหกิจ

☐ พนักงานบริษัท ☐ กิจการส่วนตัว

☐ รับจ้างทั่วไป ☐ เกษตรกร

☐ อื่นๆระบุ.....

1.4 ระดับการศึกษา

☐ ประถมศึกษา ☐ มัธยมต้น/ปวช.

☐ อนุปริญญา/ปวส. ☐ ปริญญาตรี

☐ สูงกว่าปริญญาตรี ☐ อื่นๆระบุ.....

1.5 รายได้ต่อเดือน

☐ น้อยกว่า 6,000 บาท ☐ 6,001-8,000 บาท

☐ 8,001-10,000 บาท ☐ 10,001-15,000 บาท

☐ 15,001-20,000 บาท ☐ 20,001-30,000 บาท

☐ 30,001-40,000 บาท ☐ มากกว่า 40,000 บาท

☐ อื่นๆระบุ.....

2. ข้อมูลเกี่ยวกับการบริโภคเครื่องดื่มแอลกอฮอล์

2.1 คุณเริ่มดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์อายุ.....ปี

2.2 โดยปกติคุณดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ยี่ห้ออะไร เลือก 3 อันดับที่ดื่มเป็นประจำ (โดยระบุเป็นตัวเลขเรียงจากมากไปน้อย)

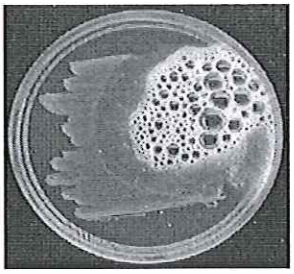
☐ Black lable
☐ Chevas legal
☐Red lable
☐ 100 Piper
☐ Regency
☐ Ben more
☐ Blue egle
☐ Master blend
☐ Blend 285
☐ Clown 99
☐ Red suntory
☐ Spay royal
☐ swing
☐ Dewar's
☐ William lawson's
☐ Jack daniel's
☐ Ballantine's
☐ Golden knight
☐ Troopers
☐ Cooper
☐ John master
☐ แสงโสม
☐ หงส์ทอง
☐ มังกรทอง
☐ แม่โขง
☐ เซี่ยงซุน
☐ สุราโรงงาน 40 ดีกรี
☐ สุราชาวบ้าน
☐ ไฮเนเก้น
☐ สิงห์
☐ ช้าง
☐ ลีโอ
☐ อาซา
☐ อาซาฮี
☐ เบียร์เซียร์
☐ ไทเบียร์
☐ ไทเกอร์
☐ ไวน์ในประเทศ
☐ สาโท
☐ กระแช่
☐ อุ
☐ อื่นๆระบุ.....

2.3 เหตุผลของการเลือกเครื่องดื่มแอลกอฮอล์คืออะไร (ตอบได้มากกว่า 1 คำตอบ โดยระบุเป็นตัวเลขเรียงจากมากไปน้อย)

☐ราคาถูก
☐ รสชาติดี
☐ ปริมาณของสินค้า
☐ ความชอบส่วนตัว
☐ ตามความนิยม
☐ อื่นๆระบุ.....

ภาคผนวก จ โคโลนีที่เกิดขึ้นจะถูกนำไปทดสอบผลทางชีวเคมี เพื่อจัดจำแนกเชื้อพบ

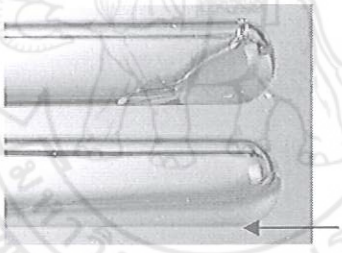
1. **ผลการสร้างเอนไซม์** Catalase เพื่อแยกแบคทีเรีย staphylococci ออกจาก streptococci และใช้ในการแยกแบคทีเรียอื่นๆ ถ้ามีการสร้างฟอง O_2 ถือว่าเป็นผลบวก ไม่เกิดฟองเป็นผลลบ



รูปที่ 1 การแสดงผลบวก (เกิดฟองแก๊ส) ของการสร้าง catalate

2. ผลการสร้าง coagulase เป็นลักษณะสำคัญที่จะแยกเชื้อ *staphylococcus aureus* ออกจาก *Staphylococcus* sp. อื่นๆ เพราะ *s.aureus* ส่วนมากจะสร้างเอนไซม์ coagulase ที่ทำให้ plasma จับตัวแข็งเป็นก้อน แสดงว่าเชื้อที่ทดสอบสร้าง coagulase หากไม่มีการสร้าง Plasma จะเหลว

หมายเหตุ : การแข็งตัวของ plasma มีหลายระดับ อาจจะแข็งเป็นบางส่วนหรือแข็งทั้งหลอดก็ได้

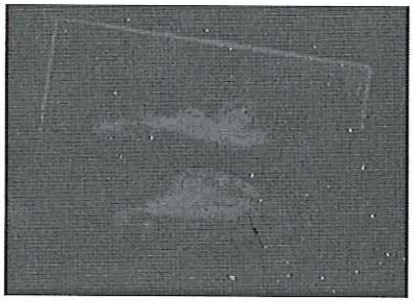


รูปที่ 2 การแสดงผลการสร้าง Coagulase

3. **ผลการเกิดออกซิไดส์และการหมัก** (Oxidation-Fermentation Test)

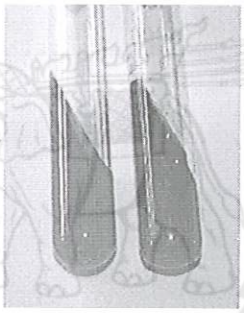
อาหารด้านบนเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นเหลือง แสดงว่าเป็น oxidation แต่ถ้าอาหารด้านล่างเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นเหลือง แสดงว่าเป็น fermentation แต่ถ้าเกิดอาหารเปลี่ยนสีทั้งหลอด แสดงว่าเป็น oxidation and fermentation

4. ผลการสร้างสายและโคนิเดียป่อง(Dalmau plate)



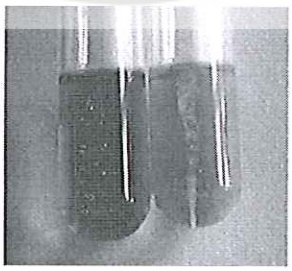
รูปที่ 3 แสดงวิธีการทำ Dalmau plate

5. ผลการสร้าง Bile esculin ใช้เพื่อแยกเชื้อกลุ่ม enterococci (Group D streptococci) ผลบวกอาหารจะถูกเปลี่ยนเป็นสีดำ ส่วนผลลบอาหารจะไม่เปลี่ยนสี

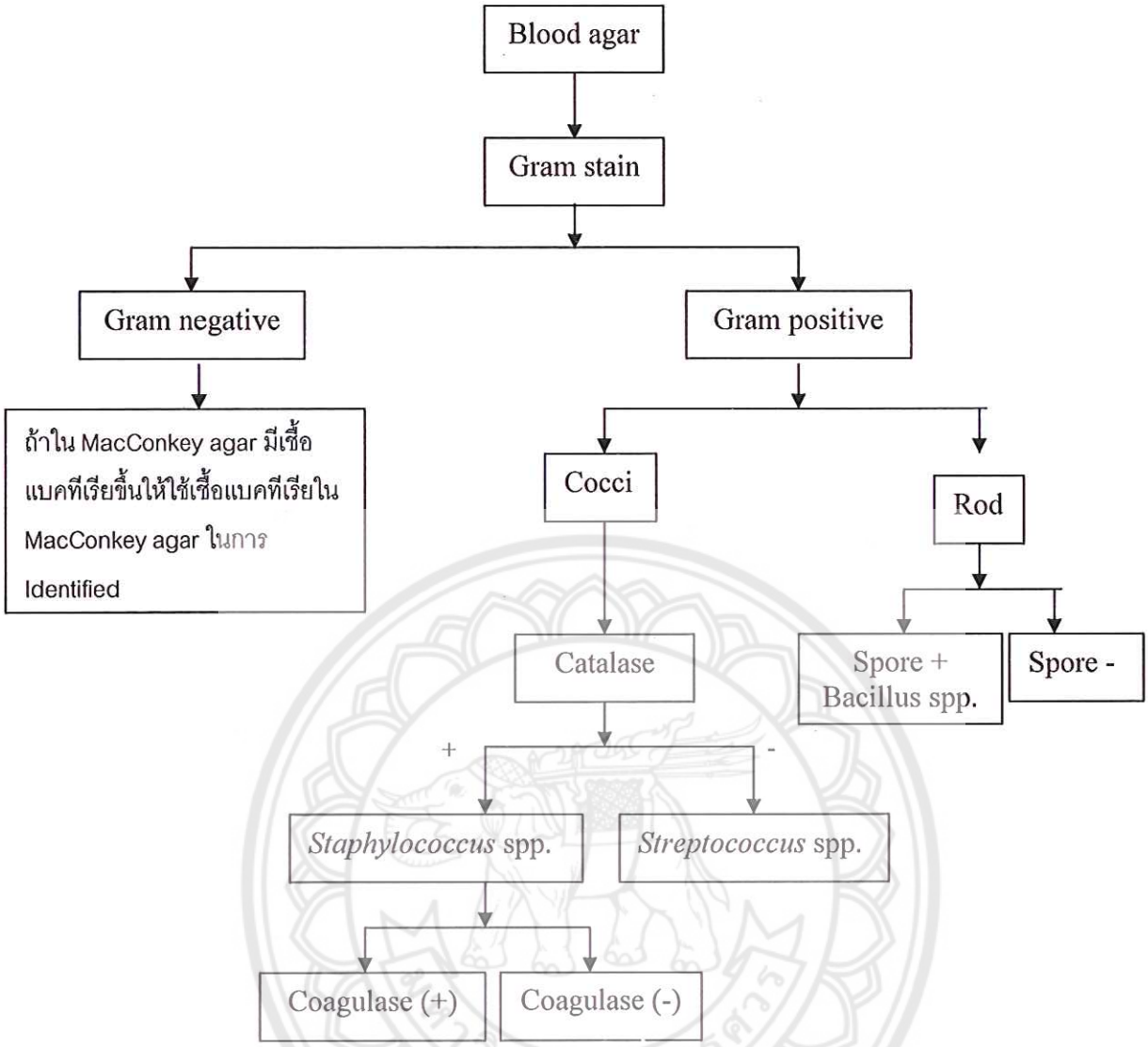


รูปที่ 4 แสดงการทดสอบ Bile esculin

6. ผลการทดสอบ 6.5 % NaCl ผลการทดสอบเป็นบวกจะเกิดสีเหลือง ส่วนผลลบจะเกิดสีแดง



รูปที่ 5 แสดงการทดสอบ 6.5 % NaCl



รูปที่ 6 แผนผังการจัดจำแนกแบคทีเรียบนอาหาร Blood agar

ภาคผนวก จ ตารางการคำนวณค่าทางสถิติ

GLU (mg/dl)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	273.8	216.6	152.9	186.1	224.4	236.6	159.3	223.3	129.8
	235.5	200.8	177.9	220.4	240.1	205.5	197.1	232.8	226.7
	241.8	238.1	175.5	168.9	273.8	228.0	189.0	196.4	230.0
	211.5	159.5	180.0	263.7	135.6	224.1	208.6	250.2	241.8
	200.9	222.9		368.8	371.0	230.9	235.1	261.1	197.5
		196.9		400.0	319.8	226.7	222.1	260.8	236.9
				299.1	298.0	252.1	283.3		227.0
				304.0					
รวม	1163.5	1234.8	686.3	2211.0	1862.7	1603.9	1494.5	1424.6	1489.7	13171
ค่าเฉลี่ย	232.7	205.8	171.6	276.4	266.1	229.1	213.5	237.4	212.8	2045.4
จำนวนซ้ำ	5	6	4	8	7	7	7	6	7	57
ผลรวมแต่ละตัว^2	273986.99	257822.08	118227.07	659164.52	530074.21	368676.73	328319.17	341421.58	326265.03	3203957.38

SOV	df	S.S.	M.S.	F-value	F จากตาราง
Treatment	8	47776.56	5972.07	2.54	2.14
Error	48	112755.54	2349.07		
Total	56	160532.10			
	C.F.	3043425.28		C.V.	2.37

ดังนั้น สรุปได้ว่า การทดลองนี้มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

CREA (mg/dl)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	0.56	0.47	0.51	0.47	0.48	0.44	0.42	0.53	0.40
	0.50	0.44	0.46	0.59	0.49	0.44	0.49	0.46	0.46
	0.53	0.56	0.43	0.43	0.52	0.45	0.45	0.42	0.48
	0.61	0.47	0.40	0.61	0.47	0.48	0.42	0.45	0.48
	0.53	0.43		0.47	0.50	0.44	0.52	0.40	0.46
		0.55		0.55	0.55	0.46	0.50	0.48	0.50
				0.48	0.49	0.52	0.51		0.46
				0.54					
รวม	2.7	2.9	1.8	4.1	3.5	3.2	3.3	2.7	3.2	27.61
ค่าเฉลี่ย	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	4.4
จำนวนซ้ำ	5	6	4	8	7	7	7	6	7	57
ผลรวมแต่ละตัว^2	1.50	1.44	0.82	2.17	1.75	1.50	1.58	1.26	1.51	13.52

SOV	df	S.S.	M.S.	F-value	F จากตาราง
Treatment	8	0.05	0.01	2.96	2.14
Error	48	0.09	0.00		
Total	56	0.14			
	C.F.	13.37		C.V.	1.02

ดังนั้น สรุปได้ว่า การทดลองนี้มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

Ratio ALT/AST	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
(U/L)	58.12	50.0	56.55	42.89	39.72	43.70	42.62	38.44	30.53	
	39.98	44.05	75.38	56.46	51.24	52.67	42.59	45.74	55.03	
	53.37	57.08	71.70	42.06	46.30	42.56	34.79	40.04	42.80	
	43.35	69.24	46.02	72.61	29.05	48.81	69.74	39.60	42.33	
	51.76	70.58		74.84	44.42	32.54	60.37	45.00	70.79	
		64.01		59.66	62.10	54.15	66.20	42.11	59.04	
				56.29	58.16	54.86	34.69		48.96	
				61.12						
รวม	246.6	355.0	249.7	465.9	331.0	329.3	351.0	250.9	349.5	2928.8087
ค่าเฉลี่ย	49.3	59.2	62.4	58.2	47.3	47.0	50.1	41.8	49.9	465.3
จำนวนซ้ำ	5	6	4	8	7	7	7	6	7	57
ผลรวมแต่ละตัว^2	12382.86	21571.52	16138.78	28133.10	16402.94	15878.28	18934.76	10539.39	18478.08	158459.71
SOV	df	S.S.	M.S.	F-value	F จากตาราง					
Treatment	8	2070.83	258.85	2.11	2.14					
Error	48	5899.05	122.90							
Total	56	7969.88								
	C.F.	150489.83		C.V.	2.38					

ดังนั้น สรุปได้ว่า การทดลองนี้ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ALT (U/L)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
	51.9	38.0	48.8	37.4	31.3	34.0	36.7	29.6	19.6	
	36.1	42.6	59.1	69.0	51.6	39.5	39.4	40.3	36.1	
	49.9	62.1	56.0	40.8	50.0	42.6	31.9	38.8	31.2	
	53.5	78.1	39.3	81.1	47.2	45.0	61.3	25.5	27.6	
	39.6	60.7		103.5	42.2	22.0	64.9	31.5	58.4	
		73.8		46.3	55.7	48.9	66.0	33.9	64.0	
				47.0	53.8	45.7	29.0		37.8	
				52.5						
รวม	231.0	355.3	203.2	477.6	331.8	277.7	329.2	199.6	274.7	2680.1
ค่าเฉลี่ย	46.2	59.2	50.8	59.7	47.4	39.7	47.0	33.3	39.2	422.5
จำนวนซ้ำ	5	6	4	8	7	7	7	6	7	57
ผลรวมแต่ละตัว^2	10917.24	22345.71	10554.74	32222.80	16147.86	11519.71	17083.56	6797.40	12357.97	139946.99

SOV	df	S.S.	M.S.	F-value	F จากตาราง
Treatment	8	4176.66	522.08	2.57	2.14
Error	48	9753.91	203.21		
Total	56	13930.57			
	C.F.	126016.42		C.V.	3.37

ดังนั้น สรุปได้ว่า การทดลองนี้มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

AST (U/L)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	89.3	76.0	86.3	87.2	78.8	77.8	86.1	77.0	64.2
	90.3	96.7	78.4	122.2	100.7	75.0	92.5	88.1	65.6
	93.5	108.8	78.1	97.0	108.0	100.1	91.7	96.9	72.9
	123.4	112.8	85.4	111.7	162.5	92.2	87.9	64.4	65.2
	76.5	86.0		138.3	95.0	67.6	107.5	70.0	82.5
		115.3		77.6	89.7	90.3	99.7	80.5	108.4
				83.5	92.5	83.3	83.6		77.2
				85.9					
รวม	473.0	595.6	328.2	803.4	727.2	586.3	649.0	476.9	536.0	5175.6
ค่าเฉลี่ย	94.6	99.3	82.1	100.4	103.9	83.8	92.7	79.5	76.6	812.8
จำนวนซ้ำ	5	6	4	8	7	7	7	6	7	57
ผลรวมแต่ละตัว^2	45950.64	60378.26	26987.02	83922.28	80047.52	49861.43	60590.06	38607.83	42507.10	488852.14

SOV	df	S.S.	M.S.	F-value	F จากตาราง
Treatment	8	5306.76	663.35	2.34	2.14
Error	48	13600.90	283.35		
Total	56	18907.66			
	C.F.	469944.48		C.V.	2.07

ดังนั้น สรุปได้ว่า การทดลองนี้มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ALP (U/L)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	65	69	55	68	53	59	74	54	63
	58	62	58	68	74	48	73	61	68
	63	57	57	86	75	77	65	56	61
	70	72	48	77	80	81	52	60	63
	63	66		64	96	60	69	46	47
		79		85	69	88	82	100	68
				74	103	53	62		56
				78					
รวม	319.0	405.0	218.0	600.0	550.0	466.0	477.0	377.0	426.0	3838
ค่าเฉลี่ย	63.8	67.5	54.5	75.0	78.6	66.6	68.1	62.8	60.9	597.8
จำนวนซ้ำ	5	6	4	8	7	7	7	6	7	57
ผลรวมแต่ละตัว^2	20427.00	27635.00	11942.00	45454.00	44896.00	32428.00	33063.00	25489.00	26252.00	267586.00

SOV	df	S.S.	M.S.	F-value	F จากตาราง
Treatment	8	2499.39	312.42	2.25	2.14
Error	48	6661.28	138.78		
Total	56	9160.67			
	C.F.	258425.33		C.V.	1.97

ดังนั้น สรุปได้ว่า การทดลองนี้มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ratio	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
LW/BW	3.03	3.49	2.74	2.98	2.89	3.58	2.82	3.20	3.13	
	3.04	2.71	3.12	3.16	3.03	2.38	2.63	3.23	3.18	
	2.78	2.94	3.48	2.81	2.89	3.03	2.60	3.41	3.10	
	3.06	3.00	3.07	3.30	3.13	3.25	2.70	3.21	2.38	
	3.24	3.22	3.13	3.08	3.29	3.19	3.05	3.24	2.80	
		2.94		2.80	3.08	3.95	2.98	3.26	2.74	
				3.33	2.39	2.63	2.76	3.10	2.63	
				2.96		3.02	2.90	3.62	2.71	
รวม	15.14	18.2985377	15.54	24.4346543	20.7015311	25.0425773	22.4327409	26.2739761	22.6855934	190.55
ค่าเฉลี่ย	3.03	3.05	3.10856285	3.05	2.95736159	3.13	2.80	3.28	2.84	3.02
จำนวนซ้ำ	5	6	5	8	7	8	8	8	8	63
ผลรวมแต่ละตัว^2	45.96	56.17	48.59	74.91	61.71	80.11	63.09	86.47	64.88	581.89

SOV	df	S.S.	M.S.	F-value	F จากตาราง
Treatment	8	1.38	0.17	2.25	2.1
Error	54	4.14	0.08		
Total	62	5.52			
	C.F.	576.36		C.V.	9.16

ดังนั้น สรุปได้ว่า การทดลองนี้มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

Concentration (*106 cell / ml)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
	7	12	23	26	20	26	25	20	26	
	10	20	20	21	21	32	28	25	27	
	12	12	18	20	24	25	21	25	32	
	15	20	24	26	21	22	24	27	33	
	14	23	23	24	24	20	25	24	28	
		28		26	26	30	29	32	28	
				30	30	28	24	34	26	
				24		33	26	29	32	
รวม	58.00	115	108.00	197	166	216	202	216	232	1510.00
ค่าเฉลี่ย	11.60	19.17	21.6	24.63	23.7142857	27.00	25.25	27.00	29.00	23.97
จำนวนซ้ำ	5	6	5	8	7	8	8	8	8	63
ผลรวมแต่ละตัว^2	714.00	2401.00	2358.00	4921.00	4010.00	5982.00	5144.00	5976.00	6786.00	38292.00

SOV	df	S.S.	M.S.	F-value	F จากตาราง
Treatment	8	1297.90	162.24	10.92	2.1
Error	54	802.04	14.85		
Total	62	2099.94			
	C.F.	36192.0635		C.V.	16.08

ดังนั้น สรุปได้ว่า การทดลองนี้มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

% Motility B	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
	50	60	70	70	60	80	80	80	80	
	60	70	70	60	60	80	80	80	80	
	60	50	70	70	80	80	80	80	80	
	60	70	80	80	60	70	70	80	80	
	50	70	70	80	70	60	70	80	80	
				70	80	70	80	70	70	
				80	80	70	70	60	80	
				70		80	80	70	70	
รวม	280.00	320	360.00	580	490	590	610	600	620	4450.00
ค่าเฉลี่ย	56.00	64.00	72	72.50	70	73.75	76.25	75.00	77.50	71.77
จำนวนซ้ำ	5	5	5	8	7	8	8	8	8	62
ผลรวมแต่ละตัว^2	15800.00	20800.00	26000.00	42400.00	34900.00	43900.00	46700.00	45400.00	48200.00	324100.00

SOV	df	S.S.	M.S.	F-value	F จากตาราง
Treatment	8	2109.84	263.73	5.39	2.1
Error	53	2595.00	48.96		
Total	61	4704.84			
	C.F.	319395.16		C.V.	9.75

ดังนั้น สรุปได้ว่า การทดลองนี้มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

% Motility C+D	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
	50	40	30	30	40	20	20	20	20	
	40	30	30	40	40	20	20	20	20	
	40	50	30	30	20	20	20	20	20	
	40	30	20	20	40	30	30	20	20	
	50	30	30	20	30	40	30	20	20	
				30	20	30	20	30	30	
				20	20	30	30	40	20	
				30		20	20	30	30	
รวม	220.00	180	140.00	220	210	210	190	200	180	1750.00
ค่าเฉลี่ย	44.00	36.00	28	27.50	30	26.25	23.75	25.00	22.50	28.23
จำนวนซ้ำ	5	5	5	8	7	8	8	8	8	62
ผลรวมแต่ละตัว^2	9800.00	6800.00	4000.00	6400.00	6900.00	5900.00	4700.00	5400.00	4200.00	54100.00

SOV	df	S.S.	M.S.	F-value	F จากตาราง
Treatment	8	2109.84	263.73	5.39	2.1
Error	53	2595.00	48.96		
Total	61	4704.84			
	C.F.	49395.16		C.V.	24.79

ดังนั้น สรุปได้ว่า การทดลองนี้มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%