รายงานการวิจัย

เรื่อง

การสำรวจวิเคราะห์ปริมาณอัฟฟล่าท็อกซินตกค้างในตับไก่ ก่อนและหลังการปรุงอาหาร

Determination of Aflatoxin B_1 Residue in Raw and Cooked Chicken Liver

โดย

วรา พานิชเกรียงไกร

อรวรรณ จำรัสฉาย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

SF81
.T29L
2539

มิถุนายน 2539

ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน พ.ศ. 2533

B 14376937

รายงานการวิจัย

เรื่อง

การสำรวจวิเคราะห์ปริมาณอัฟฟล่าท็อกซินตกค้างในตับไก่ ก่อนและหลังการปรุงอาหาร

Determination of Aflatoxin B_1 Residue in Raw and Cooked Chicken Liver

โดย

วรา พานิชเกรียงไกร
อรวรรณ จำรัสฉาย

ห้องสมุด
คณะสัตวแพทยศาสตร์
ได้รับความเอื้อเฟื้อจาก

ลงทะเบียนรับ 369
วันที่ 16 กันยายน 2539

มิถุนายน 2539

ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน พ.ศ.2533

SF81
.3296
1539

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	1
บทนำ	2
อุปกรณ์และวิธีการ	4
ผลการทดลอง	11
วิจารณ์	13
เอกสารอ้างอิง	20
Summary	21

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การสำรวจวิเคราะห์ปริมาณอัฟฟล่าท็อกซินตกค้างในตับไก่ก่อนและหลังการปรุงอาหาร

วรา พานิชเกรียงไกร*
อรวรรณ จำรัสฉาย*

บทคัดย่อ

ทำการสำรวจวิเคราะห์ปริมาณอัฟฟล่าท็อกซินตกค้างในตับไก่ที่ซื้อจากตลาด โดยใช้อัฟฟล่าท็อกซินบี1 เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบวิเคราะห์โดยใช้วิธีมินิคอลัมน์พลาสติก พบว่าสามารถใช้วิธีการนี้ในการหาระดับของอัฟฟล่าท็อกซินได้ในระดับสูงกว่า 10 พีพีบี เมื่อนำตับมาผ่านความร้อนที่ 70 ^{o}C และ 100 ^{o}C นาน 5 นาทีหรือคลุกน้ำมะนาวแล้วผ่านความร้อนไม่พบความแตกต่างของระดับอัฟฟล่าท็อกซิน เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งเป็นตับดิบ อาจเนื่องจากไม่สามารถบอกได้แน่นอนว่าตับดิบนั้นไม่มีอัฟฟล่าท็อกซินหรือมีในระดับต่ำกว่า 10 พีพีบี เพราะความไวในการวิเคราะห์จำกัดที่ระดับ 10 พีพีบีและสูงกว่า

คำสัญ : อัฟฟล่าท็อกซิน
สารตกค้าง
ตับไก่
มินิคอลัมน์

---

* ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ถนนอังรีดูนังต์ กรุงเทพฯ 10330

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทนำ

สารพิษจากเชื้อราพบในข้าวโพดถั่วลิสง เมล็ดฝ้าย และธัญพืชรวมทั้งผลิตภัณฑ์จากธัญพืชเหล่านี้ เชื้อราสามารถเกิดขึ้นได้ไม่ว่าจะในขั้นตอนใด เช่น ขณะพืชเติบโต ขณะเก็บเกี่ยว ขณะขนส่ง หรือขณะเก็บในโกดัง ปัจจัยที่มีผลต่อการเติบโตของเชื้อรามักขึ้นอยู่กับความชื้นขณะเก็บเกี่ยว หรือเก็บรักษา การปนเปื้อนของสารพิษจะแตกต่างกันตั้งแต่ระดับไมโครกรัม จนถึงมิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของผลิตผล การปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อรามักเกี่ยวข้องกับธัญพืชที่มีคุณภาพต่ำ และไม่ใช้เป็นอาหารของมนุษย์ สารพิษจากเชื้อราหลักๆ ที่พบในธัญพืช ได้แก่ อัฟฟล่าท็อกซิน (aflatoxins), sterigmatocystin, ochratoxin A, zearalenone, T-2 toxin และ vomitotoxin หากคนหรือสัตว์กินอาหารที่มีการปนเปื้อนเหล่านี้เข้าไปอาจก่อให้เกิดอันตรายหลายรูปแบบได้แก่ การเกิดมะเร็ง การกลายพันธุ์ การเกิดความพิการในลูก แต่ปัญหาใหญ่จะเกิดในสัตว์เศรษฐกิจ เช่น โคนม โคเนื้อ สุกร สัตว์ปีก ซึ่งได้รับอาหารข้นที่มีส่วนผสมของข้าวโพด ถั่ว ที่มีการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อรา

ฤทธิ์ของสารพิษจากเชื้อราต่อสัตว์อาจแบ่งได้เป็น 3 รูปแบบใหญ่ๆ (Smith,1989a) คือ

1. ความเป็นพิษปฐมภูมิอย่างเฉียบพลัน (acute primary mycotoxicoses) ที่เกิดจากสารพิษขนาดสูงมาก จะก่อให้เกิดอาการตับอักเสบ ลำไส้อักเสบ ไตวาย และตาย ตัวอย่างที่เกิดขึ้นในประเทศไทยคือ การตายอย่างเฉียบพลันของลูกสุนัขจำนวน 24 ตัวของศูนย์การสุนัขทหาร ตำบลจันทึก อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา ซึ่งประกอบด้วยพันธุ์ Labrador Retriever, พันธุ์ German Shepherd และพันธุ์ผสมของ 2 พันธุ์นี้ เมื่อวิเคราะห์อาหารที่ใช้เลี้ยงสุนัข พบอัฟฟล่าท็อกซิน บี1 ระหว่าง 5.1-61.3 พีพีบี (ppb; parts per billion) และอัฟฟล่าท็อกซิน บี2 4.0-31.2 พีพีบี (วิทยาและคณะ, 1977)

2. ความเป็นพิษปฐมภูมิอย่างเรื้อรัง (chronic primary mycotoxicoses) ซึ่งจะพบว่าอัตราผลผลิตของสัตว์จะลดต่ำลง เช่น เติบโตช้า ประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ลดลง คุณภาพซากต่ำและอัตราแลกเนื้อต่ำ ซึ่งมักเกิดจากสารพิษระดับต่ำถึงปานกลาง

3. โรคแบบทุติยภูมิที่เกิดจากสารพิษเชื้อรา (secondary mycotoxin diseases) เกิดจากระดับสารพิษต่ำมาก และมักเป็นรูปแบบของความเป็นพิษที่พบได้บ่อยที่สุด อย่างไรก็ตาม การวิเคราะห์โรค หรือสังเกตพบอาการของโรคทำได้ยาก อาจเกิดการกดภูมิคุ้มกันมีผลให้ไวต่อการติดเชื้อทุติยภูมิได้ (secondary infection)

คนจะมีโอกาสได้รับสารพิษจากเชื้อราต่ำกว่าสัตว์ ทำให้พบความเป็นพิษเฉียบพลันไม่บ่อยนัก โอกาสของความเป็นพิษในคนจะเป็นแบบเรื้อรังหรือแบบทุติยภูมิซึ่งสังเกตเห็นได้ยาก โดยทั่วไปคนมักจะระมัดระวังในเรื่องการบริโภคอาหารพวกธัญพืช เช่น ถั่วลิสง ข้าวโพด เนื่องจากเกรงว่าจะมีอัฟฟล่าท็อกซินอยู่ แต่สัตว์อาจได้รับถั่วและธัญพืชจากการผสมเป็นอาหารสัตว์ ซึ่งอาจมีคุณภาพต่ำและมีการปนเปื้อนของอัฟฟล่าท็อกซิน หากได้รับมากๆ อาจเกิดมะเร็งตับ หรือมีการทำลายของเซลล์ตับ นอกจากนี้ ตับยังเป็นอวัยวะที่ร่างกายใช้ในการทำลายสารพิษทุกชนิดรวมทั้งสารพิษจากเชื้อราด้วย โอกาสที่ตับจะมีการตกค้างของสารพิษจึงมีสูง การทดลองครั้งนี้เพื่อวิเคราะห์การตกค้างของสารพิษอัฟฟล่าท็อกซิน โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานอัฟฟล่าท็อกซินบี1 ซึ่งเป็นสารพิษจากเชื้อราที่รุนแรงและพบได้บ่อย และศึกษาผลของการปรุงอาหารต่อระดับของอัฟฟล่าท็อกซินที่อาจตกค้างอยู่ในตับไก่

อุปกรณ์และวิธีการ

การวิเคราะห์อัฟฟล่าท็อกซินใช้วิธีมินิคอลัมน์พลาสติก ที่รายงานโดย ศรีสิทธิ์ และทัศนีย์ (1984)

<u>อุปกรณ์</u>

1. เครื่องปั่นอาหาร ชนิดโถแก้วมีฝาปิด ขนาด 1 ลิตร (Moulinex)

2. หลอดดูดน้ำหวานโพลีเอธีลีน (polyethylene) ชนิดใส ไม่มีสี ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร (มม.) ยาว 250 มม.

3. เครื่องแก้ว

3.1 บีคเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร (มล.)

3.2 กระบอกตวงขนาด 25, 50, 100 มล.

3.3 กรวยแยกชั้น (Separatory funnel) ขนาด 125 มล.

3.4 กรวยแก้ว (funnel) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 75 มม.

3.5 หลอดทดลอง ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 15 มม. ยาว 150 มม

3.6 Pasteur pipette ขนาด 5 มล.

3.7 แท่งแก้ว ขนาดยาว 150-170 มม.

3.8 ขวด (vial) ขนาด 4 มล.

3.9 กระดาษกรอง Whatman No.1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 125 มม.

4. Ultraviloet light (UV light) ความยาวคลื่น 365 nm.

<u>สารเคมี</u>

1. Acetic acid (glacial)
2. Acetone
3. Ammonium sulphate; $(NH_4)_2SO_4$
4. Benzene
5. Celite 545 (No.22140)
6. Chloroform
7. Isopropanol
8. Methanol (MeOH)
9. Phosphoric acid (H_3PO_4)
10. Potassium chloride (KCl)
11. Standard aflatoxin B_1
12. Zinc acetate; $Zn(OAc)_2$

<u>การเตรียมสารเคมี</u>

1. น้ำยาสกัด (extracting solvent) ได้แก่

   MeOH : 4% KCl = 60:40

2. น้ำยาเร่งการตกตะกอน (precipitating solution)

   2.1 Zinc acetate solution เตรียมโดย ชั่ง $Zn(OAc)_2$ จำนวน 125 กรัมและ $(NH_4)_2SO_4$ 62.5 กรัม ละลายน้ำเล็กน้อย เติม glacial acetic acid 1 มล. แล้วเติมน้ำครบ 1,000 มล.

   2.2 0.1 M H_3PO_4 5.6 มล. ในน้ำ และเติมน้ำจนครบ 1,000 มล.

3. Eluting solution ได้แก่ chloroform : acetone: isopropanol = 90: 10: 2.5

<u>สารที่ใช้ในการเตรียมมินิคอลัมน์</u>

1. Alumina neutral 100-200 mesh
2. Calcium sulfate anhydrous 20-40 mesh
3. Florisil 100-200 mesh
4. Silica gel 60
5. Sodium sulfate anhydrous
6. สำลี ปราศจากไขมัน

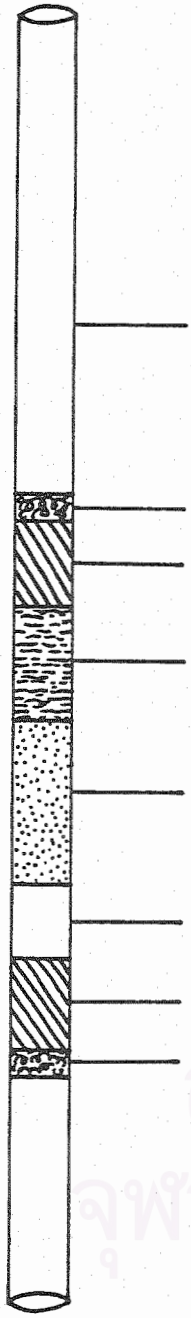
สาร 1,3 และ 4 ต้องอบที่ 110 ^{o}C นาน 1-2 ชั่วโมง เก็บไว้ในภาชนะปิดสนิท ก่อนใช้

<u>การเตรียมมินิคอลัมน์ (plastic minicolumn)</u>

ใช้หลอดดูดน้ำหวานโพลีเอธิลีน ใส ไม่มีสี ไม่เรืองแสงภายใต้แสงอัลตร้าไวโอเลต สะอาด แห้งสนิท บรรจุสำลีหนา 2 มม. ไว้ส่วนล่างของหลอด สูงจากปลายหลอดขึ้นมาประมาณ 20 มม. (รูปที่ 1) เติมสารตามลำดับดังนี้

- Calcium sulfate anhydrous หนา 1.0 เซนติเมตร (ซม.)
- Florisil 1.0 ซม.
- Silica gel 2.5 ซม.
- Alumina neutral 1.5 ซม.
- Calcium sulfate anhydrous 1.0 ซม.

พยายามให้ผิวหน้าของแต่ละชั้นเรียบ โดยการเขย่าหรือใช้แท่งแก้วเขี่ยเบาๆ ปิดทับชั้นบนสุดด้วยสำลีอัดให้แน่น ลนปลายหลอดทั้งสองด้านให้ปิดสนิทด้วยความร้อน



รูปที่ 1 ลักษณะคอลัมน์ และชั้นต่าง ๆ ในคอลัมน์ สำหรับทดลอบ Aflatoxin

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<u>การทดลอง</u>

ซื้อตับไก่สดจากตลาด แต่ละครั้งประมาณ 1/2 กิโลกรัมเพื่อพอที่จะแบ่งเป็น 6 กลุ่มคือ

1. ตับสดดิบ
2. ตับที่ผ่านความร้อน 70 ^{o}C นาน 5 นาที (สุกๆ ดิบๆ)
3. ตับที่ผ่านความร้อน 100 ^{o}C นาน 5 นาที (สุก)
4. ตับสด + น้ำมะนาว
5. ตับสด + น้ำมะนาว แล้วผ่านความร้อน 70 ^{o}C นาน 5 นาที
6. ตับสด + น้ำมะนาว แล้วผ่านความร้อน 100 ^{o}C นาน 5 นาที

การทดลองทั้ง 6 กลุ่มจะต้องผ่านกรรมวิธี 3 ขั้นตอน คือ

1. extraction : การสกัดด้วยน้ำยาสกัด
2. purification : การทำให้บริสุทธิ์
3. detection : การตรวจหาภายใต้ UV light ในห้องมืด

โดยมีรายละเอียดของแต่ละกลุ่มดังนี้

<u>กลุ่มที่ 1</u>

ชั่งตับไก่ 50 กรัม ใส่ในเครื่องปั่น เติมน้ำยาสกัด MeOH : 4% KCl อัตราส่วน 120:80 จำนวน 200 มล. ปั่นด้วยความเร็วปานกลาง นาน 3 นาที กรองโดยใช้กระดาษกรองเก็บน้ำยาที่ได้มา 40 มล.ใส่ใน flask ขนาด 250 มล. เติม 0.1M H_3PO_4 40 มล. ใช้แท่งแก้วคนให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที โดยคนนาทีละ1 ครั้ง (ถ้าตะกอนขุ่นขาว ไม่นอนก้น ให้เติม celite จำนวน 5 กรัม ลงไป) คนให้เข้ากัน กรอง

นำน้ำยาที่กรองได้ 50มล.ใส่ในกรวยแยกชั้นขนาด 125 มล.เติม benzene 4 มล. ปิดจุดเขย่าแรงๆ นาน 1 นาที ปล่อยให้แยกชั้น ไขน้ำยาชั้นล่างทิ้งไป เก็บส่วนของ benzene ที่อยู่ชั้นบนนำมาใส่ sodium sulfate anhydrous 1-2 กรัม เขย่าเบาๆ นำสารที่ได้เก็บไว้ใน vial เพื่อนำไปทำให้บริสุทธิ์โดยการผ่านมินิคอลัมน์

<u>กลุ่มที่ 2</u>

ชั่งตับไก่ 50 กรัม นำมาลวกในน้ำอุณหภูมิ 70 ^{o}C นาน 5 นาที แล้วจึงนำมาใส่ในเครื่องปั่น เติมน้ำยาสกัดตามขั้นตอนดังกล่าวในกลุ่มที่ 1

<u>กลุ่มที่ 3</u>

ชั่งตับไก่ 50 กรัม นำมาต้มในน้ำเดือดจนสุกนาน 5 นาที แล้วจึงทำตามขั้นตอนที่กล่าวในกลุ่มที่ 1

<u>กลุ่มที่ 4</u>

ชั่งตับไก่ 50 กรัม บีบมะนาว 7 มล. ลงไปบนตับ คลุกให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 5 นาที จึงนำไปทำตามขั้นตอนดังกล่าวในกลุ่มที่ 1

<u>กลุ่มที่ 5</u>

ชั่งตับไก่ 50 กรัม บีบมะนาว 7 มล. ทิ้งไว้ 5 นาที จึงนำไปทำตามขั้นตอนที่กล่าวในกลุ่มที่ 1

<u>กลุ่มที่ 6</u>

ชั่งตับไก่ 50 กรัม บีบมะนาว 7 มล. ทิ้งไว้ 5 นาที จึงนำไปต้มให้เดือดนาน 5 นาที จึงทำตามขั้นตอนที่กล่าวในกลุ่มที่ 1

<u>การผ่านมินิคอลัมน์</u>

ประกอบด้วย 3 กลุ่มใหญ่

1. หลอดที่มีสารอัฟฟล่าท็อกซินมาตรฐาน (standard aflatoxin B_1) โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานของอัฟฟล่าท็อกซิน บี1 ในขนาดความเข้มข้น 5, 10, 20, 30 และ 50 พีพีบี. (ppb ; parts per billion) นำ 1 มล. มาผ่านมินิคอลัมน์ เพื่อเป็น standard เทียบกับตัวอย่าง

2. หลอดที่เป็นหลอดควบคุม ใส่เฉพาะ benzene 1 มล.

3. หลอดที่ใส่สารที่สกัดได้จากตัวอย่างตับ ซึ่งแต่ละครั้งจะมี 6 หลอด (ตัวอย่างจาก 6 กลุ่มที่กล่าวมาแล้ว)

ขั้นตอนทำโดยนำหลอดแก้วทดลอง (test tube) ใส่กระดาษนุ่มรองลงไว้ที่ก้นหลอด วางหลอดใน rack แล้วจึงนำมินิคอลัมน์ที่เตรียมไว้แล้ว ตัดปลายทั้งสองออก วางมินิคอมลัมน์ลงในหลอดแก้วที่มีกระดาษนุ่มรองก้นหลอดเพื่อดูดซับน้ำยา นำน้ำยาที่สกัดจากกลุ่ม 1-6 หรือ สาร standard หรือ benzene จำนวน 1 มล. ใส่ลงในมินิคอลัมน์ เติม eluting solution คือ chloroform : acetone อัตราส่วน 9:1 ลงในมินิคอลัมน์ครั้งละ 2 มล. 2 ครั้ง เมื่อน้ำยาไหลออกหมดจึงนำมินิคอลัมน์ไปตรวจดูใต้แสง UV ความยาวคลื่น 365 nm. ในห้องมืด

ทำการทดลองซ้ำ 25 ครั้ง (n=25) นอกจากนี้ก่อนการทดลองจริงได้ทำการตรวจสอบวิธีการสกัดว่าใช้ได้หรือไม่ โดยการเติมอัฟฟล่าท็อกซินมาตรฐาน ขนาดความเข้มข้นต่างๆ กันดังกล่าวแล้ว ลงในตัวอย่างก่อนการสกัด (spike) แล้วนำมาเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานในระดับเดียวกันที่ไม่ได้ผ่านการสกัด

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการทดลอง

การ verify วิธีการโดย spike ตัวอย่างตับด้วยอัฟฟล่าท็อกซินมาตรฐาน พบว่าระดับของอัฟฟล่าท็อกซิน โดยการดูด้วยตาเปล่าภายใต้แสง UV 365 nm. ในห้องมืด ไม่พบความแตกต่างระหว่างตับที่ spike ด้วยสารมาตรฐานแล้วจึงสกัด กับสารมาตรฐานที่ใส่หลังสกัด ในระดับสารมาตรฐานระหว่าง 10-50 พีพีบี จึงอนุมานว่าสามารถใช้วิธีการนี้ในการหาระดับของอัฟฟล่าท็อกซินได้ในระดับไม่ต่ำกว่า 10 พีพีบี แต่สำหรับกลุ่ม 5 พีพีบี ไม่สามารถตรวจสอบด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน ดังนั้นในการทดลองต่อจึงใช้สารมาตรฐานขนาด 10 พีพีบี เป็นตัวทดสอบทุกครั้ง

ผลการทดลองใน 6 กลุ่ม ได้แก่

1. ตับสด
2. ตับผ่านความร้อน 70 ^{o}C นาน 5 นาที
3. ตับสดผ่านความร้อน 100 ^{o}C นาน 5 นาที
4. ตับสด + น้ำมะนาว
5. ตับสด + น้ำมะนาว แล้วผ่านความร้อน 70 ^{o}C นาน 5 นาที
6. ตับสด + น้ำมะนาว แล้วผ่านความร้อน 100 ^{o}C นาน 5 นาที

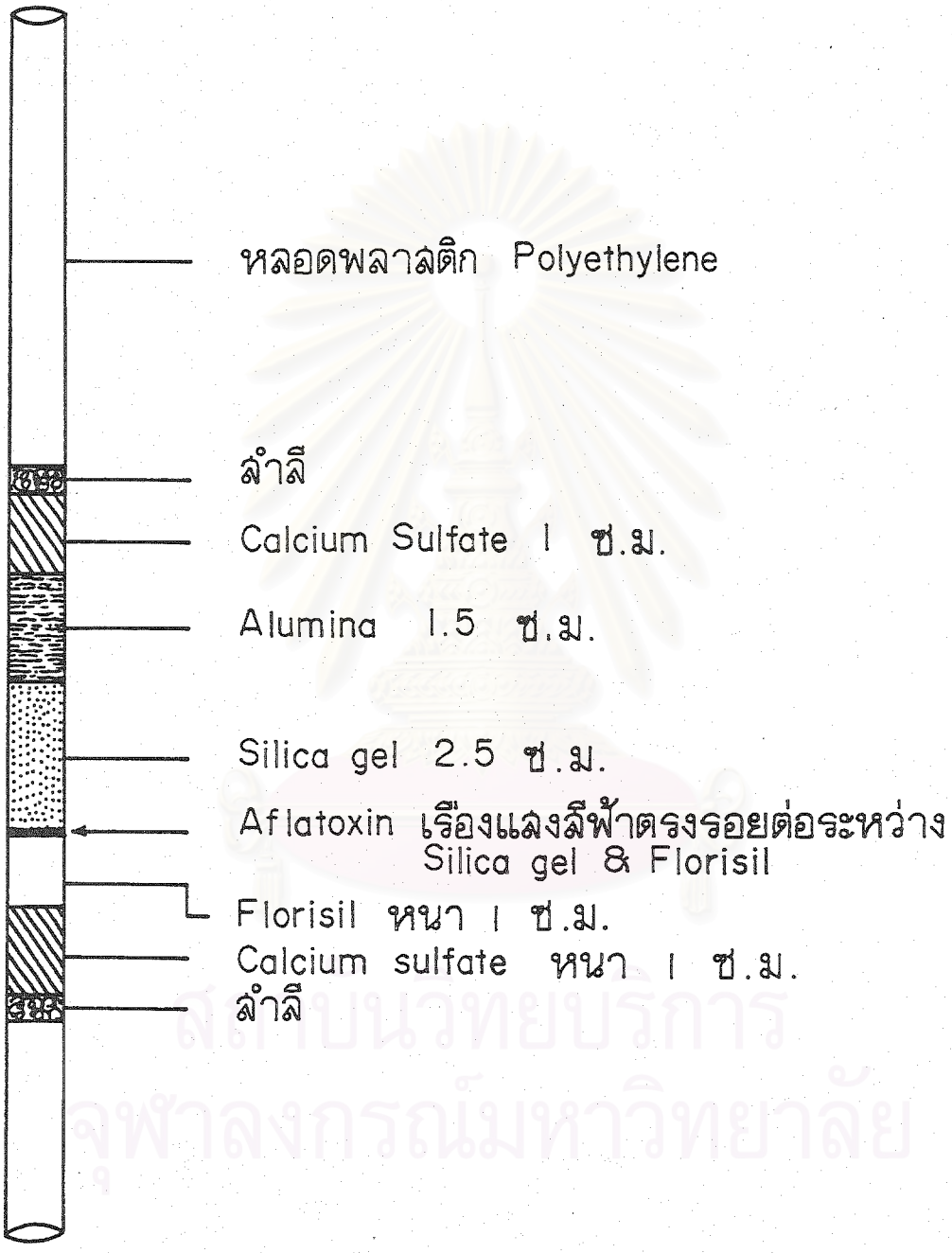
พบว่าทุกกลุ่มมีปริมาณอัฟฟล่าท็อกซิน ต่ำกว่า 10 พีพีบี ซึ่งเป็นปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจได้โดยวิธีนี้ จึงไม่สามารถบอกปริมาณที่แน่นอนได้จาก 0-9 เนื่องจากการเรืองแสงที่เกิดขึ้นมีความชัดเจนน้อยกว่าสารมาตรฐานที่ 10 พีพีบี

รูปที่ 2 แสดงบริเวณที่มีการเรืองแสงของอัฟฟล่าท็อกซิน เมื่อส่องดูด้วยแสงอัลตร้าไวโอเลต ความยาวคลื่น 365 nm. ในห้องมืด การเรืองแสงจะเกิดตรงรอยต่อระหว่าง silica gel และ florisil

รูปที่ 3 แสดงปริมาณที่มีการเรืองแสง เมื่อมีส่วนผสมของน้ำมะนาวในสารที่ผ่านคอลัมน์ การเรืองแสงจะเกิดเฉพาะในชั้นของ florisil ทั้งชั้น

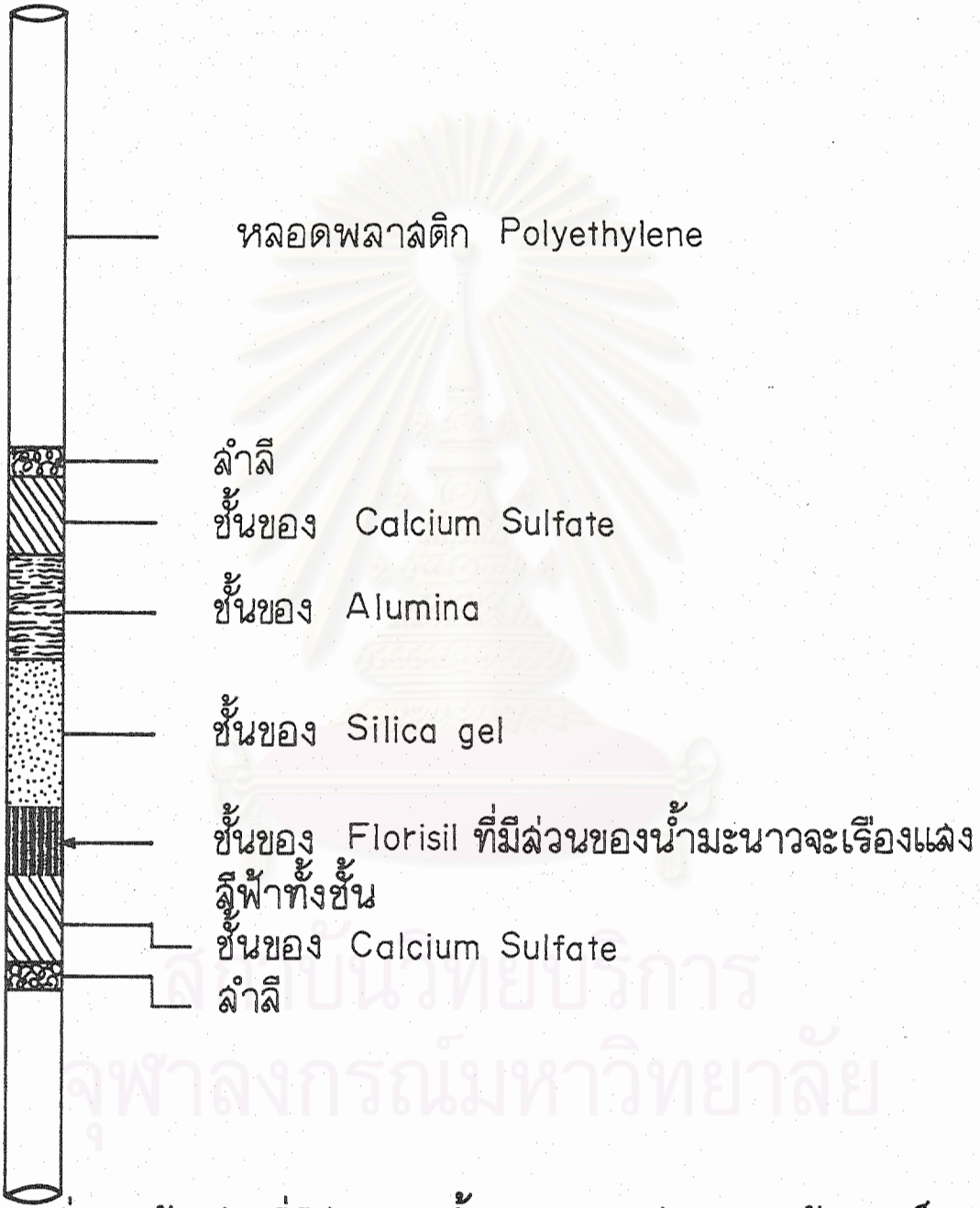
รูปที่ 4 แสดงบริเวณที่มีการเรืองแสงเมื่อสารที่ผ่านคอลัมน์มีอัฟฟล่าท็อกซิน และน้ำมะนาว โดยการเรืองแสงที่เกิดจากอัฟฟล่าท็อกซินจะอยู่ตรงรอยต่อระหว่าง silica gel และ florisil หรือกล่าวได้ว่าตรงขอบบนของ florisil ส่วนการเรืองแสงของน้ำมะนาวจะเกิดขึ้นในทั้งชั้นของ florisil เมื่อเปรียบเทียบสีพบว่าสีที่เกิดจากน้ำมะนาวจะจางกว่าสีของอัฟฟล่าท็อกซิน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

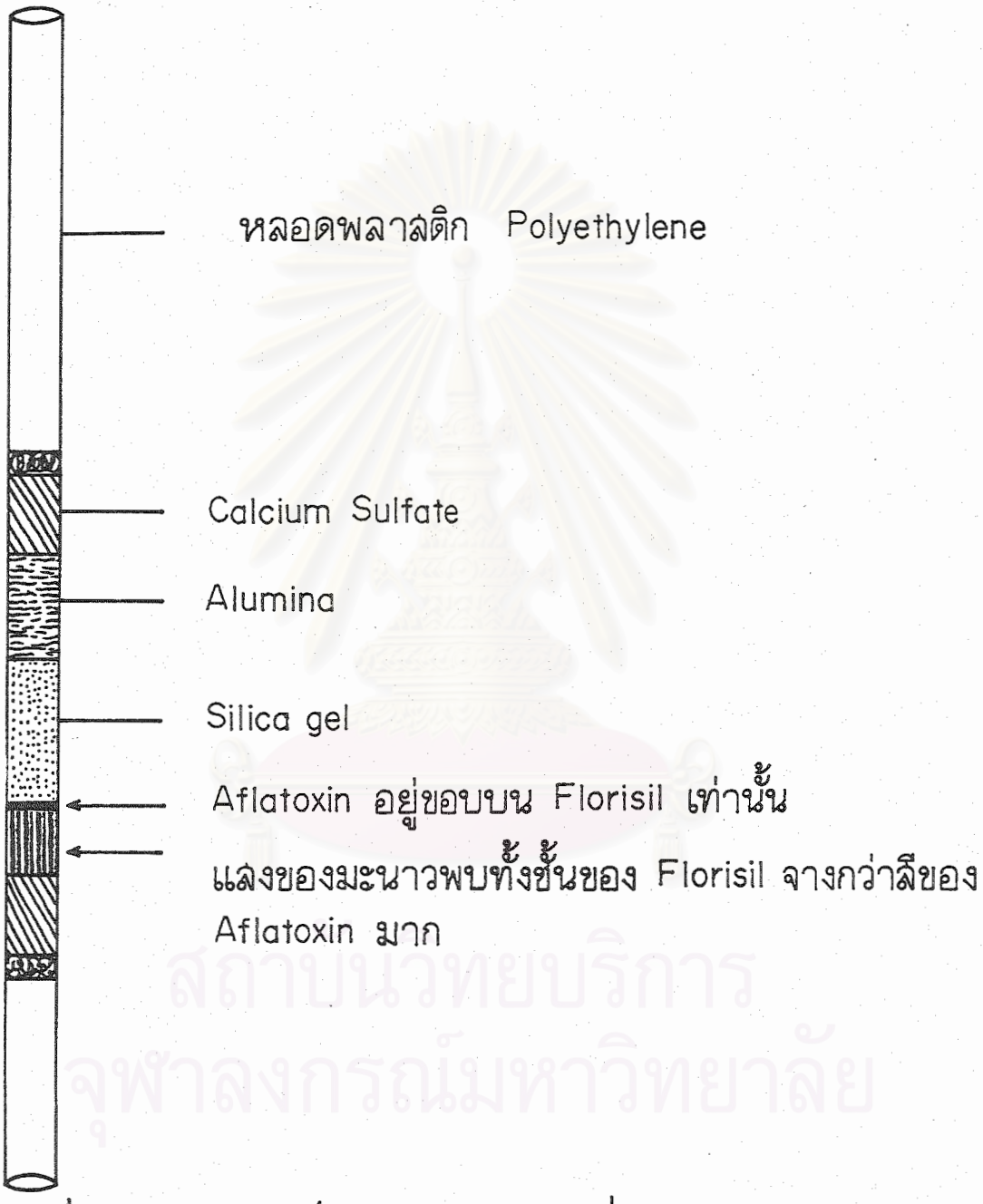


รูปที่ 2 บริเวณที่เห็นการเรืองแสงของ Aflatoxin

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3 ตัวอย่างที่มีส่วนของน้ำมะนาวผสมก่อนการสกัด จะเห็นการเรืองแสงลีฟ้าอมเขียวจาง สว่างทั้งชั้นของ Florisil แต่ถ้าเป็น Aflatoxin จะเห็นเป็นวงลีฟ้าชัดเจนเฉพาะขอบบนของ Florisil เท่านั้น



รูปที่ 4 แสดงให้เห็นบริเวณเรืองแสงที่แตกต่างกันระหว่าง Aflatoxin และ น้ำมะนาว

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิจารณ์

สารพิษตามธรรมชาตินับพันชนิดมีผลเสียต่อสุขภาพของมนุษย์และสัตว์ สารพิษตามธรรมชาติกลุ่มใหญ่ที่ปนเปื้อนในอาหารได้แก่ สารพิษจากเชื้อรา (mycotoxins) การปนเปื้อนของเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรทั้งก่อนและหลังเก็บเกี่ยว อาจประมาณได้ถึง 25% ของผลิตผลต่อปี ความรุนแรงอาจแตกต่างกันขึ้นอยู่กับความชื้นในแหล่งปลูก ความชื้นในโกดังเก็บผลผลิตทางการเกษตร อุณหภูมิ พฤติกรรมการเก็บเกี่ยว รวมทั้งการเกิดโรคจากแมลงศัตรูพืช

ในสัตว์เศรษฐกิจ เช่น โคนม สุกร สัตว์ปีก การปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราจะทำให้การเจริญเติบโตลดลง อัตราแลกเนื้อลดลง การเจริญพันธุ์ลดลง ลดความต้านทานต่อโรคติดเชื้อ ลดประสิทธิภาพของวัคซีนและทำให้เกิดการทำลายของตับและอวัยวะอื่นๆ บางตัวมีฤทธิ์เป็นสารก่อมะเร็ง

อัฟฟล่าท็อกซิน บี1 เป็นตัวก่อโรคที่รุนแรง และพบได้ทั่วไปในอาหารของคนและสัตว์ องค์การอาหารและยา (FDA; Food and Drug Administration) ของสหรัฐอเมริกาได้ระบุให้ระดับสูงสุดที่อนุญาตให้มีได้ในอาหารคือ 20 พีพีบี ของสารพิษเชื้อราโดยรวม สำหรับระดับสูงสุดของอัฟฟล่าท็อกซิน เอ็ม1 ซึ่งเป็นเมตาโบไลต์ของอัฟฟล่าท็อกซิน บี1 ที่อนุญาตให้มีได้ในน้ำนมคือ 0.5 พีพีบี (Coulombe, 1993) ระดับที่เสนอแนะอื่นๆสำหรับอัฟฟล่าท็อกซิน บี1 ได้แก่ 20 พีพีบี ในข้าวโพดที่ใช้เลี้ยงโคนม 300 พีพีบี ในข้าวโพดสำหรับเลี้ยงโคเนื้อ และสุกร และ 100 พีพีบี ในอาหารของสัตว์ที่ใช้ทำพันธุ์ เชื่อว่าระดับนี้จะไม่ทำให้เกิดการตกค้างของสารพิษในตัวสัตว์ อย่างไรก็ตามระดับที่ยินยอมให้มีได้ในอาหารสัตว์จะมีค่าต่างกันไปในแต่ละประเทศ จาก 10-600 พีพีบี

Smith (1989b) กล่าวว่านับเป็นโชคดีอยู่บ้างที่มีอัตราส่วนกว้างระหว่างความเข้มข้นของสารพิษในอาหารและปริมาณตกค้างในผลิตภัณฑ์สัตว์ ตัวอย่างเช่น โคเนื้อที่กินอาหารที่ปนเปื้อนด้วยอัฟฟล่าท็อกซิน จะพบอัตราส่วนของปริมาณสารตกค้างในเนื้อหรือ feed:meat ratio เป็น 14,000 : 1 แต่เมื่อสัตว์ขณะให้น้ำนม เช่น โคนม แพะ แกะได้รับอัฟฟล่าท็อกซินบี1 จะมี

เมตาโบไลท์เป็นอัฟฟล่าท็อกซินเอ็ม1 ขับออกมากับน้ำนม อัตราส่วนประมาณ 200:1 แม้ว่าปริมาณนี้จะลดลงอีกเมื่อผ่านขบวนการ เช่น การทำให้แห้ง พาสเจอร์ไรเซชั่น สเตอริไลเซชั่น แต่ก็ยังมีศักยภาพในการก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค

เมื่อสารพิษจากเชื้อราผ่านเข้าห่วงโซ่อาหาร คงต้องคำนึงถึงว่า นานเพียงใด ที่สารนั้นจะคงอยู่และก่อให้เกิดอันตราย พบว่า อัฟฟล่าท็อกซินจะคงทนในผลิตภัณฑ์อาหารส่วนใหญ่ การผ่านขบวนการความร้อนตามปกติ (normal thermal processing) จะไม่ทำให้สารพิษลดลง ขณะที่การย่างจะทำให้สารพิษจากเชื้อราลดลงได้ 40-60% การทำให้เป็นด่าง (alkaline treatment) และการผ่านขบวนการ refining ของ food oils จะทำลายหรือขจัดอัฟฟล่าท็อกซินส่วนใหญ่ได้ จากการทดลองครั้งนี้พบว่ามีความจำกัดในวิธีการวิเคราะห์ซึ่งใช้มินิคอลัมน์ที่อาจไม่ไวพอ ทำให้ไม่สามารถระบุปริมาณแน่นอนที่ต่ำกว่า 10 พีพีบี ได้ ดังนั้นจึงไม่พบความแตกต่างของการปรุงอาหารวิธีการต่างๆ ต่อระดับของอัฟฟล่าท็อกซิน บี1 และแม้แต่ระดับของอัฟฟล่าท็อกซินบี1ในตับที่ไม่ได้รับการปรุงหรือตับดิบ ก็พบว่าอาจมีอัฟฟล่าท็อกซินในระดับต่ำกว่า 10 พีพีบี ซึ่งไม่เกินระดับที่อนุญาตให้มีได้ในอาหาร

การป้องกันการเกิดเชื้อราในอาหารของคนและสัตว์เป็นวิธีการที่ดีที่สุดที่จะลดสารพิษจากเชื้อรา วิธีการลดสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลหลังเก็บเกี่ยว ได้แก่

1. ต้องพยายามตรวจให้พบเชื้อราที่ขึ้นอยู่บนผลิตผลให้เร็วที่สุด เช่น ข้าวโพดทั้งฝัก ถั่วลิสง หรือใช้แสงตรวจจับเพื่อคัดทิ้ง ซึ่งวิธีการนี้อาจได้ผลกับถั่วลิสง แต่ไม่ได้ผลในการคัดออกข้าวโพดและเมล็ดฝ้าย

2. รมควันด้วยก๊าซแอมโมเนีย (ammoniation) เป็นวิธีการที่ยอมรับกันว่าสามารถขจัดสารพิษจากเชื้อราในเมล็ดฝ้ายและข้าวโพดได้ดี เนื่องจากใช้กับผลิตผลจำนวนมากได้และขจัดอัฟฟล่าท็อกซินได้เกือบหมด

3. ใช้สารอนินทรีย์ที่มีฤทธิ์ดูดซับ ผสมอาหาร เพื่อป้องกันการดูดซึมของสารพิษเชื้อราในสัตว์ เช่น hydrated sodium calcium aluminosilicate ซึ่งยอมรับโดย FDA ให้ใช้ในอาหารสัตว์ ซึ่ง

จะสามารถลดระดับของอัฟฟล่าท็อกซิน บี1 ที่มีอยู่ในเลือด (bioavailability) และลดความเป็นพิษในสุกรได้

อัฟฟล่าท็อกซิน บี1เป็นสารก่อมะเร็งในสัตว์หลายชนิด โดยมีอวัยวะเป้าหมาย คือ ตับ มีข้อมูลสนับสนุนทฤษฎีที่ว่าอัฟฟล่าท็อกซิน บี1 จากอาหารเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญของ hepatocellular carcinomas (HCC)ในคน บางแห่งจะมีอุบัติการของ HCC สูง เช่นเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์ระหว่างอัฟฟล่าท็อกซินกับการเกิดมะเร็งตับในประชากรของอัฟริกา อินเดีย และฟิลิปปินส์ (Smith, 1989b)

แม้ว่าความสนใจจะอยู่ที่อาหารที่คนหรือสัตว์กินเข้าไป แต่ควรจะต้องคำนึงถึงปัจจัยอื่นด้วย เช่น คนงานที่ทำหน้าที่ในการผลิตอาหารและเมล็ดธัญพืช ในการเก็บเกี่ยว ในการขนส่งและอุตสาหกรรมแปรรูปอาหาร ซึ่งมักหายใจเอาฝุ่นผงที่มีการปนเปื้อนของอัฟฟล่าท็อกซิน บี1 เข้าไป ปัจจุบันมีการใช้ biomarker ในการตรวจวิเคราะห์ผู้ที่ได้รับอัฟฟล่าท็อกซิน บี1 โดยดูจาก DNA หรือ serum albumin เพื่อตรวจสอบความเสี่ยงของบุคคลเหล่านั้น (Coulombe, 1993)

การศึกษาครั้งนี้อาจให้ประโยชน์ไม่ได้มากเท่าที่ควร อาจเนื่องจากวิธีการที่ใช้ไม่ไวพอจึงไม่สามารถบอกถึงระดับของอัฟฟล่าท็อกซินในระดับต่ำได้ การวิเคราะห์สารพิษจากเชื้อราอาจใช้วิธี TLC (Thin Layer Chromatography) และ HPLC (High Performance Liquid Chromatography) ซึ่งสามารถวิเคราะห์ได้ในระดับต่ำ แต่ต้องการตัวอย่างที่บริสุทธิ์มาก ซึ่งต้องผ่านวิธีการหลายอย่างทำให้เสียเวลาและค่าใช้จ่าย จึงมีการพัฒนาวิธีการที่รวดเร็วและง่าย โดยใช้หลักการทางอิมมูนวิทยา (immunoassays) ที่เฉพาะเจาะจง และไม่ซับซ้อนเหมือน TLC และ HPLC วิธีการเหล่านี้ได้แก่ radioimmunoassays (RIA's), enzyme linked immunosorbent assays (ELISA's) และ affinity chromatography (Chu,1984; Groopman et al., 1984) วิธีเหล่านี้มีความไวสูง เฉพาะเจาะจง ราคาค่อนข้างถูกและรวดเร็ว เนื่องจากการเตรียมตัวอย่างไม่ซับซ้อน สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างจำนวนมากได้ในขณะเดียวกัน

สิ่งที่ควรทำต่อไปในอนาคตคือ (Coulombe,1993)

- พัฒนาวิธีการตรวจที่ง่าย รวดเร็ว และมีความไวสูงมากขึ้น เพื่อป้องกันไม่ให้ผลิตผลที่ปนเปื้อนออกสู่ท้องตลาด
- คิดค้นหาวิธีการขจัดการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราทุกตัวให้ได้ผลดียิ่งขึ้น
- ศึกษาความเสี่ยงของผู้บริโภคที่ได้รับอาหารที่ปนเปื้อนด้วยสารพิษจากเชื้อรา เพื่อให้เข้าใจถึงกลไกที่เกี่ยวข้องกับฤทธิ์ในการก่อมะเร็งของสารเหล่านี้
- แยกแยะปัจจัยความเสี่ยงที่อาจเสริมความเป็นพิษซึ่งกันและกันของสารพิษจากอาหารตัวอื่นๆ รวมถึงสารที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อ และสารเคมีสังเคราะห์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

วิทยา ธรรมวิทย์ บุญมี สัญญสุจจารี สมพงษ์ สหพงษ์ ศุภกิจ อังศุภากร ธีรยุทธ กลิ่นสุคนธ์ สุขุม สุจริต และ กานดา ร่มรื่น 1977(2520) การเป็นพิษเนื่องจากอัฟฟล่าท็อกซินในสุนัข เวชชสารสัตวแพทย์ 7(2):144-157

ศรีสิทธิ์ การุณยะวนิช และทัศนีย์ จุฬามรกต 1984(2527) มินิคอลัมน์พลาสติกสำหรับตรวจอัฟฟล่าท็อกซิน วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 26(2):75-82

Cha, F.S.1984. Immunoassays for analysis of mycotoxins. J.Food Prot. 47:562-569.

Coulombe, R.A.1993. Biological action of mycotoxins. J.Dairy Sci 76:880-891.

Groopman, J.D., Trudel, L.T., Donahue, P.R., Marshank-Rothstein, A., and Wagan, G.N. 1984. High affinity monoclonal antibodies for aflatoxins and their potential application to solid hose immunoassays. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 81:7728-7731.

Smith, J.E. 1989a. Immunodiagnostics for mycotoxin determination. In Biotechnology for Animal Feed Industry Conference at Dept. of Biotechnology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok, Thailand 19-29 April, 1989.

Smith, J.E. 1989b. Mycotoxins. In Biotechnology for Animal Feed Industry Conference at Dept. of Biotechnology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok, Thailand 19-29 April, 1989.

Determination of aflatoxin B_1 residue in raw and cooked chicken liver

Wara Panichkriangkrai*

Orawan Jamratchai*

Summary

Aflatoxin residue was determined in chicken liver bought from the market by plastic minicolumn method with standard aflatoxin B_1 as a reference. This method could be used to detect aflatoxin at the level as low as 10 ppb.

Liver was processed by cooking in hot water at 70°C and 100°C for 5 minutes or mixing with lemon juice before cooking. These procedures seemed not to have any influence on aflatoxin content, if any, in the liver compared to raw liver of the control group. However, there was no certainty if the raw liver contained no aflatoxin or contained but less than 10 ppb. as the sensitivity of the method is limited to 10 ppb aflatoxin detection .

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Keywords : aflatoxin
residue
chicken liver
minicolumn

---

*Department of Veterinary Pharmacology, Faculty of Veterinary Sciences, Chulalongkorn University, Henri-Dunant Street, Bangkok 10330